BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU

Ngô Sỹ Thịnh

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT, THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ MỘT SỐ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CÂY LÃNH CÔNG RỢT (*Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr.), Họ Na (Annonaceae)

Chuyên ngành: Dược liệu - Dược học cổ truyền
Mã số: 9720206

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

Hà Nội, năm 2023

Công trình hoàn thành tại:
- Viện Dược liệu
- Viện Hóa sinh biển và Viện Sinh học (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam)
- Trường Đại học Yonsei - Hàn Quốc

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS. TS. Nguyễn Thị Bích Thu
2. PGS. TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

Phản biện 1 : …….....
…….....
Phản biện 2 : …….....
…….....
Phản biện 3 : …….....
…….....

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường họp tại : ……
Vào hồi ……..giờ……ngày……tháng.....năm 2023

Có thể tìm đọc Luận án tại:
- Thư viện Quốc gia Hà Nội.
- Thư viện Viện Dược liệu.

A. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Tính cấp thiết của luận án

Cây Lãnh công rợt (*Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr.), thuộc chi *Fissistigma* Griff., họ Na (Annonaceae), phân bố từ Bắc vào Nam ở rừng thứ sinh hoặc nguyên sinh, rừng rậm, rừng còi, ven rừng. Theo kinh nghiệm dân gian, cây Lãnh công rợt được sử dụng điều trị nhiều bệnh khác nhau như bệnh loạn dưỡng cơ, gan to, chứng to gan lách, đau do chấn thương, co cơ, viêm khớp, thấp khớp và bệnh hen suyễn. Từ trước tới nay chỉ có một vài công trình nghiên cứu về cây Lãnh công rợt cho các kết quả. Về thành phần hóa học đã phân lập được các hợp chất: fissispallin, afzelin, germacren D, bicycloelemen, bicyclogermacren... Về hoạt tính sinh học cho thấy sesquiterpen glucosid được phân lập từ lá cây Lãnh công rợt có hoạt tính kháng khuẩn mạnh. Trong đó, fissispallin là sesquiterpen glucosid phân lập được, có hoạt tính kháng vi sinh vật.

Từ thực tế trên, với mục đích nghiên cứu một cách hệ thống và đầy đủ, nhất là về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây thuốc Lãnh công rợt, luận án:“ ***“Nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hóa học và một số hoạt tính sinh học của cây Lãnh công rợt (Fissistigma pallens (Fin. & Gagnep.) Merr.), Họ Na (Annonaceae)”***.

2. Mục tiêu và nội dung của Luận án

2.1. Mục tiêu của Luận án

Mục tiêu 1. Nghiên cứu đặc điểm thực vật, xác định tên khoa học và xác định đặc điểm vi phẫu, đặc điểm bột của thân, lá cây Lãnh công rợt.

Mục tiêu 2. Nghiên cứu về thành phần hóa học của lá cây Lãnh công rợt.

Mục tiêu 3**:** Đánh giá một số hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập từ lá cây Lãnh công rợt.

2.2. Nội dung của Luận án

➢ *Về thực vật*

- Mô tả đặc điểm hình thái, giám định tên khoa học mẫu nghiên cứu

- Xác định đặc điểm vi học của cây nghiên cứu góp phần tiêu chuẩn hóa dược liệu

➢ *Về thành phần hóa học*

- Định tính sự có mặt của các nhóm hợp chất có trong lá cây Lãnh công rợt.

- Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất tinh khiết từ lá cây Lãnh công rợt.

➢ *Về hoạt tính sinh học*

- Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ cây Lãnh công rợt

- Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất phân lập được từ lá cây Lãnh công rợt.

- Đánh giá hoạt tính chống viêm của các hợp chất phân lập được từ lá cây Lãnh công rợt.

3. Những đóng góp mới của Luận án

3.1. Về thực vật học

Luận án là tài liệu đầu tiên mô tả chi tiết đặc điểm hình thái thực vật, đặc điểm vi phẫu thân, lá và bột thân, lá của cây Lãnh công rợt (*Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr.).

3.2. Về hóa học

Từ lá cây *Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr. đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 23 hợp chất, trong đó:

- 9 hợp chất mới, bao gồm 6 sesquiterpen glucosid (fissispallin A-F) và 3 flavonol glycosid (fissflavosid A-C);

- 12 hợp chất lần đầu tiên phân lập được từ chi *Fissistigma* Griff. (alismol; 4*β*,11-dihydroxyguaian-6,10-dien, alismoxid; 10-*O*-methyl-alismoxid; 1*α*H,5*β*H-aromandendran-4*β*,10*α*-diol; 15-hydroxy-*α*-cadinol; kaempferol 3-rutinosid; rutin; kaempferol 3-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl (1→6)-*β*-D-galactopyranosid; isorhamnetin 3-robinobiosid; kaempferol 3-*O*-[*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-galactopyranosid; rhamnetin 3-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosid)

- 2 hợp chất đã phân lập được từ chi Fissistigma Griff. là fissispallin và spathulenol.

3.3. Về hoạt tính sinh học

Luận án là công bố đầu tiên về:

- Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất fissispallin A-F và fissispallin được phân lập từ cây Lãnh công rợt

- Hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất fissflavosid A-C, hợp chất rhamnetin 3-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosid lần đầu tiên được thử hoạt tính chống oxy hóa và hợp chất kaempferol

3-rutinosid, kaempferol 3-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl (1→6)-*β*-D-galactopyranosid, isorhamnetin 3-robinobiosid, kaempferol 3-*O*-[*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-galactopyranosid lần đầu tiên thực hiện hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp ORAC. Các hợp chất fissflavosid A-C, kaempferol 3-rutinosid, rutin, kaempferol 3-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl (1→6)-*β*-D-galactopyranosid, isorhamnetin 3-robinobiosid, kaempferol 3-*O*-[*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-galactopyranosid, rhamnetin 3-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D- thể hiện khả năng khử thông qua việc tạo ra nồng độ cao ion Cu^{+} được khử từ ion Cu^{2+}.

- Hoạt tính chống viêm của các hợp chất mới fissispallin A-D được phân lập từ cây Lãnh công rợt như ức chế sản sinh NO và các cytokin tiền viêm như TNF-*α*, IL-6, IL-10.

4. Ý nghĩa của luận án

Đây là lần đầu tiên loài Lãnh công rợt mọc tự nhiên ở Việt Nam được nghiên cứu đầy đủ về thực vật, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học.

- Tên khoa học của mẫu nghiên cứu đã được xác định giúp cho các kết quả nghiên cứu về hóa học và tác dụng sinh học được khẳng định rõ nguồn gốc.

- Đặc điểm vi học góp phần nhận biết và tiêu chuẩn hóa dược liệu.

- Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học đã giúp bổ sung tư liệu cho ngành hóa học các hợp chất thiên nhiên nói chung cũng như chi *Fissistigma* Griff. và cây *Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr., nói riêng.

- Kết quả nghiên cứu về hoạt tính sinh học của cây Lãnh công rợt góp phần giải thích kinh nghiệm sử dụng của dân gian và làm cơ sở cho việc sử dụng cây Lãnh công rợt. Đồng thời đây là cơ sở khoa học mở ra triển vọng nghiên cứu đầy đủ hơn để có thể sử dụng rộng rãi dược liệu này theo hướng điều trị các bệnh liên quan đến ung thư và chống viêm.

5. Bố cục của luận án

Luận án có 136 trang, gồm 4 chương, 41 bảng, 49 hình, 242 tài liệu tham khảo và 24 phụ lục. Các phần chính trong luận án: Đặt vấn đề (2 trang), Tổng quan (30 trang), Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu (13 trang), Kết quả nghiên cứu (61 trang), Bàn luận (27 trang), Kết luận và kiến nghị (3 trang).

B. NỘI DUNG CỦA LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

Đã tổng hợp và trình bày một cách hệ thống các kết quả nghiên cứu từ trước đến nay về thực vật, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chi *Fissistigma* Griff.. và cây *Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr., trên thế giới và ở Việt Nam.

CHƯƠNG 2: NGUYÊN VẬT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

Nguyên liệu nghiên cứu là thân và lá của cây Lãnh công rợt mọc tự nhiên, có đầy đủ các bộ phận (cành, lá, hoa) thu thập tại Khu bảo tồn Pù Hoạt tại xã Tiền Phong, huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An thu hái vào tháng 5/2016. Tiêu bản được lưu giữ tại Phòng tiêu bản của khoa Tài nguyên - Viện Dược liệu (số hiệu DL-260516) và Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (số hiệu FC1603).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thẩm định tên khoa học loài nghiên cứu trên cơ sở phân tích đặc điểm hình thái thực vật, so sánh với các tài liệu đã công bố của loài và các khóa phân loại thực vật.
- Xác định đặc điểm vi phẫu thân, lá và đặc điểm bột dược liệu bằng phương pháp hiển vi.
- Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được dựa trên các thông số vật lý và các phương pháp phổ ESI-MS, HR-EI-MS, NMR 1 chiều và 2 chiều (COSY, HMBC, NOESY) và kết hợp đối chiếu với tài liệu đã công bố.
- Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư bằng phương pháp MTT.
- Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa: Phương pháp đo khả nảng hấp thụ gốc tự do oxi (ORAC) và phương pháp xác định khả năng khử.
- Đánh giá hoạt tính chống viêm *in vitro* bằng phương pháp xác định khả năng ức chế sản sinh NO của đại thực bào RAW 264.7 và phương pháp xác định khả năng điều hòa cytokin *in vitro* sử dụng tế bào RAW264.7.

3.1. Kết quả nghiên cứu về thực vật

3.1.1. Thẩm định tên khoa học

Đã giám định tên khoa học của cây Lãnh công rợt thu hái tại Khu bảo tồn Pù Hoạt tại xã Tiền Phong, huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An là (*Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr.), họ Na (Annonaceae).

3.1.2. Đặc điểm hình thái

Bụi trườn dài 5-6 m. Cành non không có lông. Lá phần lớn hinh bầu dục thuôn, cỡ 20-27 x 8-11 cm, không có lông, mặt dưới khi khô màu xanh xám hoặc màu vàng nâu; gân chính khác phần lớn các loài khác, nổi rõ ở mặt trên; gân bên 15-20 đôi, cong hình cung; cuống lá dài 1-1,5 cm. Hoa họp thành nhóm 1-3 chiếc, mọc đối diện với lá; cuống chung cỡ 2-3 mm; cuống hoa dài 1-2,5 cm. Nụ hoa hình cầu. Lá đài hình tam giác, dài 3-4 mm, ở gốc hợp thành đấu rõ. Cánh hoa ngoài hình trứng, dài 15-18 mm, rộng 10-12 mm, ở mặt ngoài có lông rậm; cánh hoa trong dài 12-14 mm. Nhị dài 2-3 mm. Lá noãn khoảng 4-10, dài trên 5 mm; bầu có lông; vòi rất ngắn, không có lông; núm nhụy nguyên. Noãn 20-30. Phân quả hình cầu, đường kính cỡ 2 cm, không có lông; cuống phân quả dài 10-15 mm; vỏ quả dày gần 2 mm. Hạt láng, màu nâu.

3.1.3. Đặc điểm vi học

*** Vi phẫu thân:** Lớp bần gồm 2-3 lớp tế bào, màng tế bào dày hóa bần, có chỗ bị rách, nứt. Lớp mô mềm vỏ hẹp là tế bào hình nhiều cạnh, màng mỏng, có nhiều tế bào chứa chất dự trữ. Sợi tế bào có màng dày, khoang hẹp tạo thành từng đám xen kẽ là libe, xếp xen kẽ theo hình bậc thang các dải libe - sợi này bị các tia tủy cắt thành từng luống tương đối đều nhau. Tầng phát sinh libe - gỗ là 1 hàng tế bào bị ép dẹp. Gỗ chiếm từ tầng phát sinh libe - gỗ vào đến gần tâm, khoảng 2/3 đường bán kính, mạch gỗ to rải rác và xen kẽ trong mô mềm gỗ. Vùng mô mềm ruột tế bào màng mỏng có đám mô cứng.

*** Vi phẫu lá**:

Gân lá: Biểu bì gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Mô mềm vỏ gồm những tế bào gần tròn. Bó libe gỗ gồm: một bó libe - gỗ (libe xếp phía ngoài, gỗ xếp phía trong) lớn xếp thành hình trái tim, nối liền với bó libe - gỗ nhỏ hình cung hướng lên biểu bì trên, các bó libe - gỗ được chia thành đám tương đối đều nhau Sợi được bao xung quanh libe - gỗ. Mô mềm tuỷ được xắp xếp gần giống hình chữ" X" có

thành mỏng. Đặc biệt có tế bào tiết tinh dầu đơn bào hình gần tròn thường đính ở vị trí mô mềm vỏ.

Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới giống với phần gân lá. Lông che chở đa bào chân 1 tế bào có thành cứng, tế bào đầu dài mảnh dễ vụn lát, lỗ khí ở biểu bì dưới. Mô dậu là hang tế bào hình chữ nhật dài xếp xít nhau. Tế bào tiết tinh dầu nhiều nằm trong mô mềm phiến lá.

*** Đặc điểm bột thân và lá:**

Bột thân: lớp bần gồm 2-3 lớp tế bào, màng tế bào dày hóa bần, có chỗ bị rách, nứt. Lớp mô mềm vỏ hẹp là tế bào hình nhiều cạnh, màng mỏng, có nhiều tế bào chứa chất dự trữ. Sợi tế bào có màng dày, khoang hẹp tạo thành từng đám xen kẽ là libe, xếp xen kẽ theo hình bậc thang các dải libe - sợi này bị các tia tủy cắt thành từng luống tương đối đều nhau. Tầng phát sinh libe - gỗ là 1 hàng tế bào bị ép dẹp. Gỗ chiếm từ tầng phát sinh libe - gỗ vào đến gần tâm, khoảng 2/3 đường bán kính, mạch gỗ to rải rác và xen kẽ trong mô mềm gỗ. Vùng mô mềm ruột tế bào màng mỏng có đám mô cứng.

Bột lá: Bột màu xanh xám. Soi kính hiển vi thấy: Lông che chở có thể còn nguyên hay bị tách rời phần chân lông được thấy nhiều hơn. Tế bào lỗ khí đứng riêng lẻ hay ở trong mảnh tế bào. Sợi đứng riêng lẻ háy có thể quan sát mặt cắt ngang. Tinh thể calci oxalat hình thoi khối nhỏ kích thước 0,5-0,7µm. Những mảnh phiến lá có thể thấy các lớp tế bào mô mềm là tế bào hình gần tròn tương đối đều. Mảnh biểu bì tế bào đa giác tương đối đều. Đặc biệt quan sát thấy rất nhiều tế bào nang thạch hình tròn khuyết kích thước 0,3-0,5 mm.

3.2. Kết quả nghiên cứu về hóa học

3.2.1. Định tính các nhóm hợp chất hữu cơ

Kết quả cho thấy các nhóm hợp chất có trong lá của cây Lãnh công rợt gồm: flavonoid, saponin, đường khử, polysaccharid, tanin, acid amin.

3.2.2. Chiết xuất, phân lập các hợp chất

Bằng các phương pháp sắc ký đã tiến hành phân lập được 23 hợp chất **(FP1-FP23)** từ lá cây Lãnh công rợt. Cấu trúc của các hợp chất được xác định dựa trên việc phân tích các dữ liệu phổ cũng như so sánh với các tài liệu đã công bố.

3.2.3. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất

*** Hợp chất FP1: Fissispallin A (chất mới)** có dạng bột màu trắng, vô định hình. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$= -300,0 (*c* =1,0, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 537,2822 $[M+Na]^+$, CTPT: $C_{30}H_{42}O_7$. **Phổ ^{1}H-NMR** cho thấy tín hiệu của proton nhóm vinyl tại δ_H 4,78 (d, *J* = 17,2 Hz), 4,80 (d, *J* = 11,2 Hz) và 5,72 (dd, *J* = 11,2, 17,2 Hz); 2 proton olefin methylen tại δ_H 4,47 (s) và 4,69 (s); 4 nhóm methyl tại δ_H 0,87; 1,12; 1,17 và 1,59 (3H, s); 2 proton olefin; 5 proton thơm và 1 proton anome. **Phổ ^{13}C-NMR và DEPT** xác định có 30 carbon bao gồm 1 carbonyl, 4 carbon không liên kết trực tiếp với H, 15 nhóm methin, 6 nhóm methylen và 4 nhóm methyl, gợi ý sự xuất hiện của một sesquiterpen, một nhóm cinnamoyl, một monosaccharid. Phân tích dữ liệu phổ 1H- và 13C-NMR cho thấy FP1 có cấu trúc hóa học giống với *α*-elemol 11-O-*β*-D-fucopyranosid, ngoại trừ sự có mặt của nhóm acylglucopyranosyl tại C-11. Tương tác HMBC giữa H-14 (δ_H 0,87) và C-1 (δ_C 150,2)/C-5 (δ_C 52,5)/C-10 (δ_C 39,7); H-15 (δ_H 1,59) và C-3 (δ_C 112,0)/C-4 (δ_C 147,7)/C-5 (δ_C 52,5); H-12 (δ_H 1,12)/H-13 (δ_H 1,17) và C-7 (δ_C 48,1)/C-11 (δ_C 80,4) xác định sự xuất hiện của vòng cyclohexan liên kết với nhóm isopropenyl và isopropyl tại C-5 và C-7, cũng như với nhóm vinyl và methyl tại C-10. Hằng số tương tác giữa H-5 và H_α-6/ H_β-6, *J*= 3,2 và 12,8 Hz, gợi ý cấu hình của H-5 là hướng *axial* (*α*). Thêm vào đó H-5, H-7 và nhóm methyl tại C-10 được định hướng *axial* được chứng minh thông qua tương tác NOESY giữa H-5 (δ_H 1,86) và H-2 (δ_H 4,78)/H-7 (δ_H 1,38). Phần monosaccharid được xác định là *β*-D-glucopyranosyl dựa trên sự thủy phân trong môi trường acid của FP1. Hằng số tương tác giữa glc H-1′ và glc H-2′, *J* = 8,0 Hz xác nhận cấu hình của proton anome là hướng *axial* (*β*-D-glucopyranosyl). Hơn nữa, vị trí *β*-D-glucopyranosyl tại C-11 được xác định bằng tương tác HMBC từ glc H-1′ (δ_H 4,68) đến C-11 (δ_C 80,4). Tương tác HMBC giữa glc H-2′ (δ_H 4,88) và C-9″ (δ_C 166,6) gợi ý vị trí cinnamoyl tại C-2 của glucopyranosyl. Từ các dữ liệu trên, cấu trúc của **FP1** được xác định là elemol-11-*O*-(2-(*E*)-cinnamoyl)-*β*-D-glucopyranosid. Đây là một hợp chất mới và được đặt tên là **fissispallin A**.

*** Hợp chất FP2: fissispallin B (chất mới)** có dạng bột màu trắng, vô định hình. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$ = -170,0 (*c* =1,0, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 555,2934 $[M+Na]^+$, CTPT: $C_{30}H_{44}O_8$. **Phổ ^{1}H-NMR** của **FP2** cho thấy tín hiệu của 4 proton nhóm methyl tại δ_H

0,76; 1,03; 1,06 và 1,16 (3H, s), gợi ý sự hiện diện của khung sesquiterpen; 1 nhóm cinnamoyl và 1 proton anome tại δ_H 4,65 (1H, d, J = 7,8 Hz). **Phổ ^{13}C-NMR và HSQC** của **FP2** cho biết tín hiệu của 30 carbon, trong đó 6 carbon của glucopyranosyl, 9 carbon của nhóm cinnamoyl và 15 carbon sesquiterpen thuộc khung sesquiterpen. Phân tích dữ liệu phổ ^{1}H- và ^{13}C-NMR của **FP2** cho thấy khung sesquiterpen giống với proximadiol. Vị trí và cấu hình của các nhóm được xác định dựa trên các tương tác trên phổ 2D-NMR. Tương tác HMBC giữa H-15 (δ_H 1,06) và C-3 (δ_C 42,3)/C-4 (δ_C 72,9)/C-5 (δ_C 53,8) gợi ý vị trí nhóm hydroxyl tại C-4. Tương tác HMBC giữa H-12 (δ_H 1,03)/H-13 (δ_H 1,16) và C-7 (δ_C 48,1)/C-11 (δ_C 81,1) gợi ý sự có mặt của nhóm isopropyl tại C-7. Thêm vào đó, vị trí *β*-D-glucopyranosyl tại C-11 được xác định bởi tương tác HMBC từ glc H-1′ (δ_H 4,65) đến C-11 (δ_C 81,1). Vị trí của nhóm cinnamoyl tại C-2′ của glucopyranosyl được xác định bằng tương tác HMBC từ H-2′ (δ_H 4,91) đến C-9″ (δ_C 166,0). Hướng *axial* của nhóm methyl tại C-4 và C-10 cũng như tại H-5 và H-7 được chứng minh bởi tương tác NOESY giữa H-14 (δ_H, 0,76) và H-15 (δ_H 1,06); H-5 (δ_H 1,18) và H-7 (δ_H 1,51). Khung sesquiterpen của **FP2** được xác định là eudesmane-4*α*,11-diol bằng việc so sánh phổ ^{13}C-NMR tại C-7 (δ_C 48,2) với *ent*-eudesman sesquiterpen, prerodontosid A [δ_C 42,5 (C-7)] và eudesman sesquiterpen, celerodie E [δ_C 48,2 (C-7)] [110]. Do đó, cấu trúc của **FP2** được xác định là 4*α*-hydroxyeudesman-11-*O*-(2-(*E*)-cinnamoyl)-*β*-D-glucopyranosid, một hợp chất mới được đặt tên là **fissispallin B**.

*** Hợp chất FP3: fissispallin C (chất mới)** có dạng bột màu trắng, vô định hình. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$ = -240,0 (*c*= 1,0, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 569,3085 $[M+Na]^+$, CTPT: $C_{31}H_{46}O_8$. **Phổ ^{1}H-NMR** của rhamnetin 3-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosid) cho thấy sự có mặt của khung sesquiterpen với 4 nhóm mehtyl tại δ_H 0,82; 1,00; 1,05 và 1,16 (3H, s) và 1 nhóm (*E*)-cinnamoyl bao gồm 2 proton olefin tại δ_H 7,72 (1H, d, J = 16,0 Hz), 6,43 (1H, d, J = 16,0 Hz), 5 proton thơm tại δ_H 7,49 (2H, d, J = 8,0 Hz), 7,37 (2H, t, J = 8,0 Hz), 7,38 (1H, t, J = 8,0 Hz); 1 proton anome tại δ_H 4,65 (1H, d, J = 8,0 Hz) và 1 nhóm methoxy tại δ_H 3,16 (s). So sánh dữ liệu phổ ^{1}H- và ^{13}C-NMR của **FP3** với **FP2** cho thấy cấu trúc có sự giống nhau ngoại trừ sự có mặt thêm nhóm methoxy tại C-4. Vị trí của nhóm methoxy tại C-4 được chứng minh bởi tương

tác HMBC giữa H-15 (δ_H 1,00) và C-3 (δ_C 37,5)/C-4 (δ_C 76,9)/C-5 (δ_C 52,8) và giữa nhóm methoxy (δ_H 3,16) và C-4 (δ_C 76,9). Hướng *axial* của H-5, H-7 và nhóm methyl tại C-4 và C-10 được xác định bằng tương tác NOESY giữa H-14 (δ_H 0,82) và H_β-2 (δ_H 1,38)/H-15 (δ_H 1,00); H-5 (δ_H 1,17) và H-7 (δ_H 1,52). Do đó, cấu trúc của hợp chất mới **FP3** được xác định là 4*α*-methoxyeudesman 11-*O*-(2-(*E*)-cinnamoyl)-*β*-D-glucopyranosid và đặt tên là **fissispallin C**.

*** Hợp chất FP4: fissispallin D (chất mới)** có dạng bột vô định hình màu trắng. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$ = +340,0 (*c*= 0,1, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 537,2824 $[M+Na]^+$, CTPT: $C_{30}H_{42}O_7$. **Phân tích dữ liệu phổ 1D- và 2D-NMR** của **FP4** đã gợi ý cấu trúc của **FP4** gồm có 1 khung sesquiterpen, 1 nhóm cinnamoyl và 1 monosaccharid. Phần đường được xác định là *β*-D-glucopyranosyl với tín hiệu đặc trưng trong phổ ^{1}H- và ^{13}C-NMR cũng như sự thủy phân trong môi trường acid của **FP4**. Hơn nữa, cấu trúc của **FP4** được nhận thấy có sự giống nhau với 2′-*O*-acetyl-4-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-germacra-1(10),5-dien, ngoại trừ sự thay thế của nhóm acetyl bằng cinnamoyl. Điều này được xác nhận bằng tương tác HMBC từ glc H-2′ đến cin C-9″. Tương tác HMBC từ H-12 (δ_H 0,81) /H-13 (δ_H 0,88) đến C-7 (δ_H 1,90) /C-11 (δ_H 1,44); từ H-14 (δ_H 1,41) đến C-1 (δ_C 129,2)/C-9 (δ_C 41,2)/C-10 (δ_C 131,8); từ H-15 (δ_H 1,31) đến C-3 (δ_C 34,3)/C-4 (δ_C 81,4) /C-5 (δ_C 137,9)/ gợi ý vị trí nhóm methyl tại C-4 và nhóm isopropyl tại C-11 và hai liên kết đôi tại C-5/C-6 và C-1/C-10. Cấu hình của hai liên kết đôi tại C-1/C-10 và C-5/C-6 được chứng minh là cấu hình *E* xác nhận bằng tương tác NOESY giữa H-1 (δ_H 4,74) và H-9 (δ_H 2,12) và hằng số tương tác giữa H-5 và H-6, *J* = 16,0 Hz. Hơn nữa, hướng *β* nhóm methyl và isopropyl tại C-4 và C-7 được xác định bằng tương tác NOESY tại H_α-3 (δ_H 1,67)/H-5 (δ_H 4,97)/H-7 (δ_H 1,90); H-6 (δ_H 5,10)/H-15 (δ_H 1,31); H-14 (δ_H 1,41) và H-15 (δ_H 1,31). Từ những phân tích trên, cho thấy cấu trúc của hợp chất **FP4** là germacra-1(10),5-dien-4-*O*-(2-(*E*)-cinnamoyl)-*β*-D-glucopyranosid và đặt tên là **fissispallin D.**

*** Hợp chất FP5: fissispallin E (chất mới)** có dạng bột vô định hình màu trắng. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$ = -15,0 (*c*= 1,0, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 537,2814 $[M+Na]^+$, CTPT: $C_{30}H_{42}O_7$. Phổ ^{1}H và ^{13}C-NMR của hợp chất **FP5** cho thấy sự hiện diện của 1 khung sesquiterpen, 1 phần đường, 1 nhóm cinnamoyl. Nghiên cứu tài liệu

cho thấy cấu trúc của **FP5** giống với undulatumosid B, ngoại trừ sự khác nhau của nhóm thế tại C-11. 4 nhóm methyl xuất hiện ở phổ ^{1}H NMR cũng như 2 nhóm methyl bậc 3 tại δ_H 1,15 (s) và 1,18 (s), 2 nhóm methyl bậc 2 tại δ_H 0,90 (d, J = 7,2 Hz) và 0,93 (d, J = 7,2 Hz). Tương tác HMBC từ H-15 (δ_H 0,90) đến C-3 (δ_C 30,8)/C-4 (δ_C 46,2)/C-5 (δ_C 139,0); từ H-6 (δ_H 1,84 và 2,15) đến C-1 (δ_C 139,7)/C-4 (δ_C 46,2)/C-5 (δ_C 139,0) và từ H-14 (δ_H 0,93) đến C-1 (δ_C 139,7)/C-9 (δ_C 33,7)/C-10 (δ_C 33,6) chứng minh hai vòng cyclopentan và cycloheptan tại C-1/C-5, được xác định là sesquiterpen guaian, guai-1(5)-en-11-ol. Sự liên quan hóa học lập thể khung sesquiterpen của **FP5** được suy luận từ dữ liệu phổ ^{1}H- và 1^{3}C-NMR của undulatumosid B cũng như tương tác NOESY. Sự tương tác NOESY giữa H-4 (δ_H 2,50) và H$_\alpha$-3 (δ_H 1,91)/H$_\alpha$-6 (δ_H 2,15); H-7 (δ_H 1,72) và H$_\alpha$-6 (δ_H 2,15) và giữa H$_\beta$-8 (δ_H 1,38) và H$_\beta$-6 (δ_H 1,84)/H-14 (δ_H 0,93) chỉ ra rằng hướng của H-4, H-7 và H-10 ở cùng một phía của phân tử. Giống như các hợp chất **FP1-FP3**, acylglucopyranosid của **FP5** được xác định là 6-(*E*)-cinnamoyl-*β*-D-glucopyranosid và gắn với C-11 của guai-1(10)-ene bằng tương tác HMBC từ glc H-6′ (δ_H 4,40) đến cin C-9″ (δ_C 167,3); từ glc H-1′ (δ_H 4,45) đến C-11 (δ_C 81,3). Từ những dữ liệu trên, cấu trúc của **FP5** là guai-1(5)-en-11-*O*-(6-(*E*)-cinnamoyl-*β*-D-glucopyranosid và đặt tên là **fissispallin E**.

*** Hợp chất FP6: fissispallin F (chất mới)** có dạng bột vô định hình màu trắng. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$ = +70,0 (c= 1,0, MeOH). Phổ của hợp chất **FP6** cho kết quả giống như hợp chất **FP5** với công thức phân tử là $C_{30}H_{42}O_7$. **Phổ ^{1}H- và ^{13}C-NMR** của hợp chất **FP6** cho thấy gần giống với **FP5**. Chỉ khác nhau duy nhất là sự dịch chuyển vị trí liên kết đôi từ C-1/C-5 sang C-1/C-10. Phân tích phổ NMR cho thấy sesquiterpen được xác định là bulnesol. Phân tích các tương tác trên phổ HMBC đã gợi ý vị trí của nhóm methyl tại C-4, C-14 và C-11. Thêm vào đó, acylglucosid được xác định là 6-(*E*)-cinnamoyl-*β*-D-glucopyranosid tại C-11 của bulsenol. Tương tác NOESY giữa H-5 (δ_H 2,36) và H$_\alpha$-3 (δ_H 1,58)/H-4 (δ_H 2,04)/H-7 (δ_H 1,60); giữa H$_\beta$-6 (δ_H 0,69) và H-15 (δ_H 0,85)/H-13 (δ_H 1,12) gợi ý hướng của các proton cùng hướng (cấu hình α). Do đó, cấu trúc của **FP6** được xác định là bulnesol-11-*O*-(6-(*E*)-cinnamoyl)-*β*-D-glucopyranosid và đặt tên là **fissispallin F**

*** Hợp chất FP7: fissispallin** có dạng bột màu trắng, vô định hình. **Phổ ^{1}H-NMR** (CDCl, ¸800 MHz), δ_H (ppm): 1,01 (1H, H-1a);

1,26 (1H, H-1b); 1,39 (1H, m, H-2a); 1,48 (1H, m, H-2b); 1,59 (1H, H-3a); 1,73 (1H, H-3b); 1,46 (1H, br, d, *J*= 14,0 Hz, H-5); 1,26 (1H, m, H-6a); 1,93 (1H, m, H-6b); 2,25 (1H, m, H-7); 1,59 (1H, m, H-8a); 1,73 (1H, m, H-8b)**;** 1,26 (1H, H-9a); 1,33 (1H, H-9b); 4,82 (1H, br, s, H-12a)**;** 4,85 (1H, br, s, H-12b)**;** 1,68 (3H, s, H-13)**;** 0,87 (3H, s, H-14); 1,06 (3H, s, H-15); 4,47 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-1′); 4,79 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-2′); 3.67 (1H, dd, *J*= 8,0; 8,4 Hz, H-3′); 3,42 (dd, *J*= 8,0; 8,8 Hz, H-4′); 3,52 (1H, m, H-5′); 3,78 (1H, dd, *J*= 5,0; 11,6 Hz, H-6′a); 3,87 (1H, br, d, *J*= 11,6, H-6′b); 7,49 (1H, dd, *J*= 3,9; 8,0, H-2″) 7,49 1H, dd, *J*= 3,9; 8,0, H- 6″); 7,37 (1H, t, *J*= 8,0 Hz, H-3′)′; 7,37 (1H, t, *J*= 8,0 Hz, H-5″)**;** 7,37 (1H, t, *J*= 8,0 Hz, H-4″)**;** 7,37 (1H, t, *J*= 16,0 Hz, H-7″)**;** 6,42 (1H, dd, *J*= 3,9; 8,0 Hz, H-8″). **Phổ ^{13}C-NMR** ($CDCl_3$, 125 MHz), δ_C (ppm): 40,8 (C-1); 19,6 (C-2); 39,8 (C-3); 79,8 (C-4); 47,5 (C-5); 22,6 (C-6); 39,3 (C-7); 23,2 (C-8); 40,5 (C-9); 35,1 (C-10); 146,7 (C-11); 110,8 (C-12); 22,8 (C-13); 18,9 (C-14); 18,3 (C-15); 94,3 (C-1′); 74,7 (C-2′); 75,9 (C-3′); 75,6 (C-4′); 70,8 (C-5′); 62,4 (C-6′); 134,2 (C-1″); 128,2 (C-2″, 6″); 128,9 (C-3″, 5″); 130,5 (C-4″); 145,8 (C-7″); 117,5 (C-8″); 166,7 (C-9″).

*** Hợp chất FP8: alismol** có dạng bột màu trắng, vô định hình. **Phổ ^{1}H-NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz), δ_H (ppm): 2,20 (1H, m, H-1); 1,68 (1H, m, H-2a); 1,93 (1H, m, H-2b); 1,71 (2H, m, H-3); 2,24 (1H, m, H-5), 5,52 (1H, br, s, H-6); 1,94 (1H, m, H-8a); 2,26 (1H, m, H-8b); 1,90 (1H, m, H-9a); 2,48 (1H, m, H-9b); 2,26 (1H, m, H-11); 0,95 (1H, d, *J*= 6,0 Hz, H-12) ; 0,95 (3H, d, *J*= 6,0 Hz, H-12); 1,21 (3H, s, H-14); 4,67 (1H, s, H-15a); 4,73 (1H, s, H-15b). **Phổ ^{13}C-NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz), δ_C (ppm): 47,2 (C-1); 24,7 (C-2); 40,2 (C-3); 80,5 (C-4); 54,9 (C-5); 121,3 (C-6); 149,7 (C-7); 29,9 (C-8); 37,0 (C-9); 153,9 (C-10); 37,4 (C-11); 21,3 (C-12); 21,4 (C-13); 24,0 (C-14); 106,5 (C-15).

*** Hợp chất FP9: 4*β*,11-dihydroxyguaian-6,10-dien** có dạng bột màu trắng, vô định hình. **Phổ ^{1}H-NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz), δ_H (ppm): 2,23 (1H, m, H-1); 1,72 (1H, m, H-2a); 1,92 (1H, m, H-2b); 1,73 (2H, m, H-3); 2,28 (1H, m, H-5); 5,92 (1H, d, *J*= 2,4 Hz, H-6); 2,08 (1H, dd, *J*= 11,2; 13,0 Hz, H-8a); 2,37 (dd, *J*= 8,8; 13,0 Hz, H-8b); 1,99 (1H, m, H-9a); 2,49 (1H, dd, *J*= 8,8; 13,0 Hz, H-9b); 1,32 (3H, s, H-12); 1,31 (3H, s, H-13); 1,25 (3H, s, H-14); 4,71 (1H, s, H-15a); 4,75 (1H, s, H-15b). **Phổ ^{13}C-NMR** ($CDCl_3$, 100 MHz), δ_C (ppm): 47,1 (C-1); 24,6 (C-2); 40,2 (C-3); 80,6 (C-4); 55,0 (C-5); 121,6 (C-6); 150,2

(C-7); 28,5 (C-8); 37,2 (C-9); 153,4 (C-10); 73,9 (C-11); 28,7 (C-12); 28,5 (C-13); 24,3 (C-14); 106,7 (C-15).

*** Hợp chất FP10: spathulenol** có dạng bột màu trắng, vô định hình. **Phổ ^{1}H-NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz), δ_H (ppm): 2,18 (1H, m, H-1); 1,60 (1H, m, H-2a); 1,86 (1H, m, H-2b); 1,55 (1H, m, H-3a); 1,75 (1H, m, H-3b); 1,28 (1H, m, H-5); 0,45 (1H, m, H-6); 0,69 (1H, m, H-7); 0,99 (1H, m, H-8a); 1,96 (1H, m, H-8b); 2,01 (1H, m, H-9a); 2,40 (1H, m, H-9b); 1,02 (3H, s, H-12); 1,03 (3H, s, H-13); 1,26 (3H, s, H-14); 4,64 (1H, s, H-15a); 4,67 (1H, s, H-15b). **Phổ ^{13}C-NMR** ($CDCl_3$, ¸100 MHz), δ_C (ppm): 53,4 (C-1); 26,7 (C-2); 41,7 (C-3); 80,9 (C-4); 54,3 (C-5); 29,9 (C-6); 27,4 (C-7); 24,7 (C-8); 38,8 (C-9); 153,4 (C-10); 20,2 (C-11); 28,6 (C-12); 16,3 (C-13); 26,1 (C-14); 106,6 (C-15).

*** Hợp chất FP11: alismoxid** có dạng bột màu trắng, vô định hình. **Phổ ^{1}H-NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz), δ_H (ppm): 1,77 (1H, m, H-1); 1,52 (1H, m, H-2a); 1,66 (1H, m, H-2b); 1,55 (2H, m, H-3); 2,08 (1H, m, H-5); 5,41 (1H, br, s, H-6); 1,82 (1H, m, H-8a); 2,10 (1H, m, H-8b); 1,37 (1H, m, H-9a); 1,70 (1H, m, H-9b); 2,14 (1H, m, H-11); 0,89 (3H, d, *J*= 6,0 Hz, H-12) ; 0,88 (3H, d, *J*= 6,0 Hz, H-13); 1,09 (3H, s, H-14); 1,16 (3H, s, H-15). **Phổ ^{13}C-NMR** ($CDCl_3$, ¸100 MHz), δ_C (ppm): 50,4 (C-1); 24,1 (C-2); 40,2 (C-3); 80,0 (C-4); 50,0 (C-5); 121,4 (C-6); 149,3 (C-7); 24,9 (C-8); 42,4 (C-9); 75,2 (C-10); 37,2 (C-11); 21,2 (C-12); 21,2 (C-13); 22,3 (C-14); 21,1 (C-15).

*** Hợp chất FP12: 10-*O*-methyl-alismoxid** có dạng bột màu trắng, vô định hình. **Phổ ^{1}H-NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz), δ_H (ppm): 2,00 (1H, m, H-1); 1,57 (1H, m, H-2a); 1,70 (1H, m, H-2b); 1,58 (1H, m, H-3a); 1,64 (1H, m, H-3b); 2,22 (1H, m, H-5); 5,44 (1H, br, s, H-6); 1,84 (1H, m, H-8a); 2,19 (1H, m, H-8b); 1,57 (1H, m, H-9a); 1,71 (1H, m, H-9b); 2,19 (1H, m, H-11); 0,96 (3H, d, *J*= 6,0 Hz, H-12); 0,95 (3H, d, *J*= 6,0 Hz, H-13); 1,16 (3H, s, H-14); 1,17 (3H, s, H-15); 3,15 (3H, s, H-16). **Phổ ^{13}C-NMR** ($CDCl_3$, ¸100 MHz), δ_C (ppm): 47,9 (C-1); 21,6 (C-2); 40,5 (C-3); 80,2 (C-4); 50,1 (C-5); 121,1 (C-6); 149,6 (C-7); 24,5 (C-8); 35,4 (C-9); 79,2 (C-10); 37,2 (C-11); 21,2 (C-12); 21,5 (C-13); 17,9 (C-14); 22,4 (C-15); 48,7 (C-16).

*** Hợp chất FP13: 1*α*H,5*β*H-aromandendran-4*β*,10*α*-diol** có dạng bột màu trắng, vô định hình. **Phổ ^{1}H-NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz), δ_H (ppm): 1,80 (1H, m, H-1); 0,85 (1H, m, H-2a); 1,75 (1H, m, H-2b); 1,52 (1H, m, H-3a); 1,60 (1H, m, H-3b); 1,14 (1H, m, H-5); 0,36

(1H, dd, J=10,0; 10,0 Hz, H-6); 0,57 (1H, m, H-7); 0,85 (1H, m, H-8a); 1,76 (1H, m, H-8b); 1,46 (1H, dd, J=12,4; 12,4 Hz, H-9a); 1,68 (1H, m, H-9b); 0,98 (3H, s, H-12); 0,98 (3H, s, H-13); 1,19 (3H, s, H-14); 1,11 (3H, s, H-15). **Phổ ^{13}C-NMR** ($CDCl_3$, ¸100 MHz), δ_C (ppm): 56,3 (C-1); 23,7 (C-2); 41,1 (C-3); 80,3 (C-4); 48,3 (C-5); 28,3 (C-6); 26,5 (C-7); 20,1 (C-8); 44,3 (C-9); 75,0 (C-10); 19,5 (C-11); 16,4 (C-12); 28,6 (C-13); 24,4 (C-14); 20,2 (C-15).

*** Hợp chất FP14: 15-hydroxy-*α*-cadinol** có dạng bột màu trắng, vô định hình. **Phổ ^{1}H-NMR** ($CDCl_3$, 400 MHz), δ_H (ppm): 1,23 (1H, m, H-1); 1,23 (1H, m, H-2a); 2,06 (1H, m, H-2b); 2,07 (2H, m, H-3); 5,77 (1H, br, s, H-5); 1,74 (1H, m, H-6); 1,06 (1H, m, H-7); 1,59 (2H, m, H-8); 1,40 (1H, m, H-9a); 1,78 (1H, m, H-9b); 2,16 (1H, m, H-11); 0,75 (3H, d, J= 7,2 Hz, H-12); 0,90 (3H, d, J= 7,2 Hz, H--13); 1,09 (3H, s, H-14); 3,99 (1H, s, H-15). **Phổ ^{13}C-NMR** ($CDCl_3$, ¸100 MHz), δ_C (ppm): 50,1 (C-1); 22,3 (C-2); 26,4 (C-3); 138,2 (C-4); 123,6 (C-5); 39,6 (C-6); 46,4 (C-7); 22,0 (C-8); 42,1 (C-9); 72,3 (C-10); 26,0 (C-11); 15,1 (C-12); 21,5 (C-13); 20,7 (C-14); 67,3 (C-15).

*** Hợp chất FP15: Fissflavosid A (chất mới)** có dạng bột màu vàng, vô định hình. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$= -63 (c =0,5, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 925,2396 $[M+Na]^+$, CTPT: $C_{30}H_{42}O_7$. **Phổ ^{1}H-NMR** cho thấy tín hiệu của 4 proton thơm tại δ_H 6,90 (2H, d, J = 8,4 Hz) và 8,09 (2H, d, J = 8,4 Hz), gắn với hệ phổ AA′BB′ của vòng B; 2 proton thơm của vòng A tại δ_H 6,20 (1H, br s) và 6,41 (1H, br s); 3 proton anomeric tại δ_H 4,45 (1H, br s), 4,53 (1H, d, J = 8,0 Hz) và 5,21 (d, J = 5,2 Hz) và 1 nhóm methyl bậc 2 tại δ_H 1,08 (3H, d, J = 5,6 Hz), gợi ý sự xuất hiện của ba đơn vị đường. Tín hiệu proton tại δ_H 6,82 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,48 (2H, d, J = 8,4 Hz), 6,36 (1H, d, J = 16,0 Hz) và 7,63 (1H, d, J = 16,0 Hz) được gắn vào nhóm *(E)*-coumaroyl. **Phổ ^{13}C-NMR và HSQC** của **FP15** cho thấy tín hiệu của 42 carbon trong đó 15 carbon gắn vào khung flavonol, 18 carbon gắn vào ba nhóm monosaccharid và 9 carbon gắn vào nhóm coumaroyl. Tương tác HMBC giữa H-6 (δ_H 6,20) và C-5 (δ_C 163,0)/C-7 (δ_C 166,4)/C-8 (δ_C 95,1)/C-10 (δ_C 105,6); giữa H-8 (δ_H 6,41) và C-6 (δ_C 100,1)/C-7 (δ_C 166,4)/C-9 (δ_C 158,5)/C-10 (δ_C 105,6) xác nhận vị trí của các nhóm hydroxy tại C-5 và C-7. Các đơn vị đường được xác định là D-glucose, D-galactose và L-rhamnose bằng cách thủy phân của **FP15** trong

môi trường acid. Hơn nữa, nhiều tín hiệu proton tại gal H-1″ [5,21 (d, J = 5,2 Hz], rha H-1‴ [4,45 (br s)] và glc H-1⁗ [4,53 (d, J = 8,0 Hz)] trên phổ ^{1}H-NMR của **FP15** đã chứng minh ba đơn vị đường là β-D-galactopyranosyl, α-L-rhamnopyranosyl và β-D-glucopyranosyl. Tương tác HMBC giữa rha H-1‴ (δ_H 4,45) và gal C-6″ (δ_C 67,0); giữa glc H-1⁗ (δ_H 4,53) và rha C-4‴ (δ_C 83,0) đã gợi ý chuỗi liên kết của đường là *O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-galactopyranosyl. Vị trí của coumaroyl tại gal C-4″ được xác định bằng tương tác HMBC từ gal H-4″ (δ_H 5,35) đến cou C-9′′′′′ (δ_C 168,8). Ngoài ra, tương tác HMBC từ gal H-1″ (δ_H 5,21) đến C-3 (δ_C 135,3) đã gợi ý trisaccharid tại C-3 của flavonol. Do đó, cấu trúc của **FP15** là kaempferol-3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-L rhamnopyranosyl-(1→6)-[4-(*E*)-coumaroyl]-β-D galactopyranosid và đặt tên là **fissflavosid A**.

*** Hợp chất FP16: Fissflavosid B (chất mới)** có dạng bột màu vàng, vô định hình. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$= -63 (*c* =0,5, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 955,2498 $[M+Na]^+$, CTPT: $C_{44}H_{48}O_{23}$. **Phổ ^{1}H-NMR** gợi ý rằng **FP16** là một flavonol acylglycosid với các tín hiệu: 2 *meta*-proton của vòng A tại δ_H 6,19 (1H, br s) và 6,41 (1H, br s); hệ phổ AA′BB′ của vòng B tại δ_H 6,90 (2H, d, J = 8,4 Hz) và 8,09 (2H, d, J = 8,4 Hz); 3 proton anome tại δ_H 4,46 (1H, br s), 4,54 (1H, d, J = 8,0 Hz) và 5,22 (d, J = 5,0 Hz) xác nhận sự hiện diện của ba đơn vị đường; tín hiệu proton tại δ_H 7,20 (1H, d, s), 6,82 (1H, d, J = 8,4 Hz), 7,08 (1H, d, J = 8,4 Hz), 6,40 (1H, d, J = 16,0 Hz) và 7,64 (1H, d, J = 16,0 Hz) được gắn vào nhóm (*E*)-feruloyl. **Phổ ^{13}C-NMR và HSQC** chỉ ra tín hiệu của 42 carbon, bao gồm 2 nhóm cabonyl, 11 carbon không liên kết trực tiếp với hydro, 25 nhóm methin, 2 nhóm methylen và 2 nhóm methyl. Phổ ^{1}H- và ^{13}C-NMR của **FP16** được thấy rằng giống với **FP15** ngoại trừ sự khác nhau của nhóm feruloyl tại gal C-4″. Tương tác HMBC giữa rha H-1‴ (δ_H 4,46) và gal C-6″ (δ_C 67,0); glc H-1⁗ (δ_H 4,54) và rha C-4‴ (δ_C 82,9); giữa gal H-4″ (δ_H 5,37) và fer C-9′′′′′ (δ_C 168,8) chứng minh liên kết của đường là *O*-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-galactopyranosyl và feruloyl tại gal C-4″. Cuối cùng, tương tác HMBC từ gal H-1″ (δ_H 5,22) đến C-3 (δ_C 135,3) đã xác định vị trí của trisaccharid tại C-3 của flavonol. Dựa vào những

dữ liệu trên, cấu trúc của hợp chất mới **FP16** được xác định là kaempferol 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→4)-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-[4-(*E*)-feruloyl]-*β*-D-galactopyranosid và đặt tên là **fissflavosid B**.

*** Hợp chất FP17: Fissflavosid C (chất mới)** có dạng bột màu vàng, vô định hình. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$= -105,0 (*c* =0,5, MeOH). Phổ HR-ESI-MS: *m/z* 955,2498 $[M+Na]^+$, CTPT: $C_{44}H_{50}O_{24}$. **Phổ ^{1}H- và ^{13}C-NMR** của **FP17** cho thấy sự có mặt của 1 kaempferol, 1 trisaccharid và 1 feruloyl. **Phổ ^{1}H-, ^{13}C-NMR, HSQC và HMBC** thể hiện sự liên kết các proton và carbon cũng như sự liên kết giữa các nhóm kaempferol, feruloyl, galactopyranosyl, rhamnopyranosyl và glucopyranosyl. So sánh dữ liệu phổ ^{1}H- và ^{13}C-NMR của **FP17** và **FP16** thấy sự tương đồng. Khác nhau duy nhất giữa hai hợp chất là sự thay thế của nhóm feruloyl bằng nhóm (*E*)-sinapoyl tại gal C-4″ và được xác nhận bằng sự tương tác HMBC từ gal H-4″ (δ_H 5,38) đến sin C-9′′′′′ (δ_C 168,7). Như vậy, cấu trúc của FP17 được xác định là kaempferol 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→4)-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-[4-(*E*)-sinapoyl]-*β*-D-galactopyranosid và đặt tên là **fissflavosid C**.

*** Hợp chất FP18: kaempferol 3-rutinosid** có dạng bột màu vàng. **Phổ ^{1}H-NMR** (CD_3OD, 400 MHz), δ_H (ppm): 6,17 (1H, br, s, H-6); 6,36 (1H, br, s, H-8); 8,03 (1H, d, *J*= 8,0, H-2′); 6,86 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-3′); 6,86 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-5′); 8,03 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-6′); 5,10 (1H, d, *J*= 7,2 Hz, H-1″); 3,42 (1H, m, H-2″); 3,41 (1H, m, H-3″); 3,24 (1H, m, H-4″); 3,32 (1H, m, H-5″); 3,35 (1H, m, H-6″a); 3,79 (1H, br, d, *J*= 10,4 Hz, H-6″b); 4,50 (1H, br, s, H-1‴); 3,62 (1H, br, s, H-2‴); 3,50 (1H, m, H-3‴); 3,26 (1H, m, H-4‴); 3,43 (1H, m, H-5‴); 1,10 (1H, d, *J*= 6,4 Hz, H -6‴). **Phổ ^{13}C-NMR** (CD_3OD, 100 MHz), δ_C (ppm): 159,3 (C-2); 135,5 (C-3); 179,3 (C-4); 162,9 (C-5); 100,0 (C-6); 166,0 (C-7); 94,9 (C-8); 158,5 (C-9); 105,6 (C-10); 122,7 (C-1′); 132,4 (C-2′); 116,1 (C-3′); 161,5 (C-4′); 116,1 (C-5′); 132,4 (C-6′); 104,6 (C-1″); 75,8 (C-2″); 78,1 (C-3″); 71,4 (C-4″); 77,2 (C-5″); 68,5 (C-6″); 102,4 (C-1‴); 72,1 (C-2‴); 72,3 (C-3‴); 73,9 (C-4‴); 69,7 (C-5‴); 17,9 (C-6‴).

*** Hợp chất FP19: rutin** có dạng bột màu vàng. **Phổ ^{1}H-NMR** (CD_3OD, 400 MHz), δ_H (ppm): 6,17 (1H, s, H-6); 6,36 (1H, s, H-8); 7,65 (1H, s, H-2′); 6,85 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-5′); 7,60 (1H, d, *J*= 8,0

Hz, H-6′); 5,08 (1H, d, *J*= 7,2 Hz, H-1″); 3,45 (1H, m, H-2″); 3,41 (1H, m, H-3″); 3,26 (1H, m, H-4″); 3,31 (1H, m, H-5″); 3,36 (1H, m, H-6″a); 3,78 (1H, br, d, *J*= 10,4 Hz, H-6″b); 4,50 (1H, br, s, H-1‴); 3,63 (1H, br, s, H-2‴); 3,52 (1H, m, H-3‴); 3,27 (1H, m, H-4‴); 3,42 (1H, m, H-5‴); 1,10 (1H, d, *J*= 6,4 Hz, H -6‴). **Phổ ^{13}C-NMR** (CD_3OD, ¸100 MHz), δ_C (ppm): 159,3 (C-2); 135,6 (C-3); 179,4 (C-4); 162,9 (C-5); 99,9 (C-6); 166,0 (C-7); 94,9 (C-8); 158,4 (C-9); 105,6 (C-10); 123,1 (C-1′); 116,0 (C-2′); 145,8 (C-3′); 149,8 (C-4′); 117,7 (C-5′); 123,5 (C-6′); 104,7 (C-1″); 75,7 (C-2″); 78,1 (C-3″); 71,4 (C-4″); 77,2 (C-5″); 68,5 (C-6″); 102,4 (C-1‴); 72,1 (C-2‴); 72,2 (C-3‴); 73,9 (C-4‴); 69,7 (C-5‴); 17,9 (C-6‴).

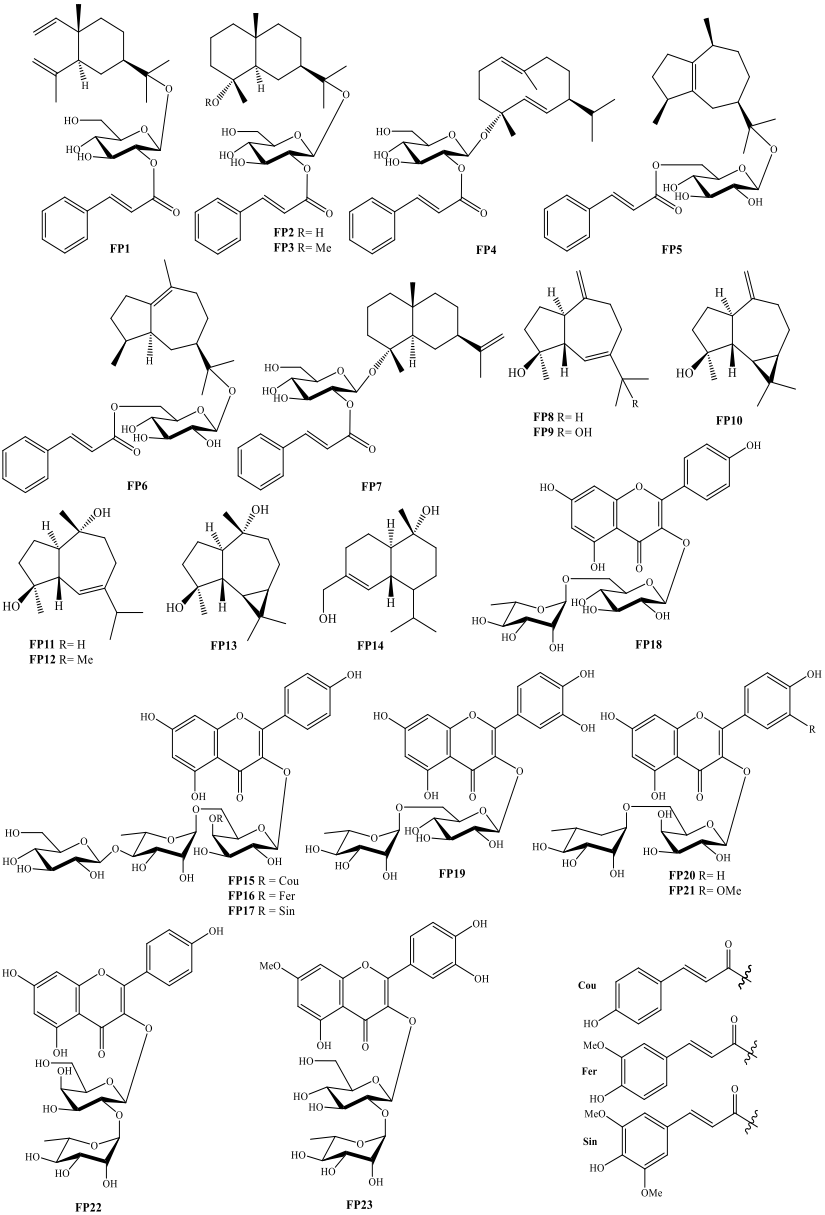
*** Hợp chất FP20: kaempferol 3-*O*-*α*-L-rhamnopyranosyl (1→6)-*β*-D-galactopyranosid** có dạng bột màu vàng. **Phổ ^{1}H-NMR** (CD_3OD, 400 MHz), δ_H (ppm): 6,18 (1H, s, H-6); 6,38 (1H, s, H-8); 8,07 (1H, d, *J*= 8,4 Hz, H-2′); 6,86 (1H, d, *J*= 8,4 Hz, H-3′); 6,86 (1H, d, *J*= 8,4 Hz, H-5′); 8,07 (1H, d, *J*= 8,4 Hz, H-6′); 5,02 (1H, d, *J*= 7,6 Hz, H-1″); 3,76 (1H, m, H-2″); 3,51 (1H, m, H-3″); 3,75 (1H, br, s, H-4″); 3,60 (1H, m, H-5″); 3,37 (1H, m, H-6″a); 3,70 (1H, m, H-6″b); 4,50 (1H, br, s, H-1‴); 3,57 (1H, br, s, H-2‴); 3,48 (1H, m, H-3‴); 3,26 (1H, m, H-4‴); 3,50 (1H, m, H-5‴); 1,16 (1H, d, *J*= 6,4, H -6‴). **Phổ ^{13}C-NMR** (CD_3OD, ¸100 MHz), δ_C (ppm): 159,3 (C-2); 135,7 (C-3); 179,6 (C-4); 163,0 (C-5); 100,0 (C-6); 166,2 (C-7); 94,9 (C-8); 158,5 (C-9); 105,5 (C-10); 122,6 (C-1′); 132,5 (C-2′); 116,1 (C-3′); 161,6 (C-4′); 116,1 (C-5′); 132,5 (C-6′); 105,5 (C-1″); 73,0 (C-2″); 75,0 (C-3″); 70,1 (C-4″); 75,3 (C-5″); 67,4 (C-6″); 101,9 (C-1‴); 72,1 (C-2‴); 72,3 (C-3‴); 73,9 (C-4‴); 69,7 (C-5‴); 18,0 (C-6‴).

*** Hợp chất FP21: isorhamnetin 3-robinobiosid** có dạng bột màu vàng. **Phổ ^{1}H-NMR** (CD_3OD, 400 MHz), δ_H (ppm): 6,17 (1H, s, H-6); 6,37 (1H, s, H-8); 7,99 (1H, s, H-2′); 6,88 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-5′); 7,57 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-6′); 3,94 (1H, s, 3′-OMe); 5,19 (1H, d, *J*= 7,6 Hz, H-1″); 3,80 (1H, m, H-2″); 3,55 (1H, m, H-3″); 3,76 (1H, br, s, H-4″); 3,64 (1H, m, H-5″); 3,43 (1H, m, H-6″a); 3,72 (1H, m, H-6″b); 4,51 (1H, br, s, H-1‴); 3,56 (1H, br, s, H-2‴); 3,47 (1H, m, H-3‴); 3,25 (1H, m, H-4‴); 3,51 (1H, m, H-5‴); 1,15 (1H, d, *J*= 6,4 Hz, H -6‴). **Phổ ^{13}C-NMR** (CD_3OD, ¸100 MHz), δ_C (ppm): 158,8 (C-2); 135,5 (C-3); 179,4 (C-4); 162,9 (C-5); 100,0 (C-6); 166,1 (C-7); 94,9 (C-8); 158,4 (C-9); 105,6 (C-10); 122,9 (C-1′); 114,6 (C-2′); 148,3

(C-3′); 150,8 (C-4′); 115,9 (C-5′); 123,7 (C-6′); 56,9 (3′-OMe); 105,6 (C-1″); 73,1 (C-2″); 75,0 (C-3″); 70,0 (C-4″); 75,5 (C-5″); 67,7 (C-6″); 101,9 (C-1‴); 72,1 (C-2‴); 72,3 (C-3‴); 73,8 (C-4‴); 69,7 (C-5‴); 18,0 (C-6‴).

*** Hợp chất FP22: kaempferol 3-*O*-[*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-galactopyranosid** có dạng bột màu vàng. **Phổ ^{1}H-NMR** (CD_3OD, 400 MHz), δ_H (ppm): 6,15 (1H, s, H-6); 6,34 (1H, s, H-8); 8,05 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-2′); 6,87 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-3′); 6,87 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-5′); 8,05 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-6′); 5,68 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-1″); 3,92 (1H, dd, *J*= 8,0; 8,8 Hz, H-2″); 3,68 (1H, m, H-3″); 3,80 (1H, br, s, H-4″); 3,46 (1H, m, H-5″); 3,48 (1H, m, H-6″a); 3,59 (1H, m, H-6″b); 5,19 (1H, br, s, H-1‴); 3,97 (1H, br, s, H-2‴); 3,75 (1H, br, d, *J*= 9,6 Hz, H-3‴); 3,31 (1H, m, H-4‴); 4,00 (1H, m, H-5‴); 0,91 (1H, d, *J*= 6,4 Hz, H -6‴). **Phổ ^{13}C-NMR** (CD_3OD, ¸100 MHz), δ_C (ppm): 158,4 (C-2); 134,4 (C-3); 179,5 (C-4); 163,2 (C-5); 99,8 (C-6); 166,0 (C-7); 94,6 (C-8); 158,3 (C-9); 105,8 (C-10); 123,0 (C-1′); 132,2 (C-2′); 116,2 (C-3′); 161,3 (C-4′); 116,2 (C-5′); 132,2 (C-6′); 100,6 (C-1″); 77,7 (C-2″); 75,8 (C-3″); 70,8 (C-4″); 77,0 (C-5″); 62,2 (C-6″); 102,6 (C-1‴); 72,3 (C-2‴); 72,4 (C-3‴); 74,0 (C-4‴); 69,8 (C-5‴); 17,5 (C-6‴).

*** Hợp chất FP23: rhamnetin 3-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosid** có dạng bột màu vàng. **Phổ ^{1}H-NMR** (CD_3OD, 400 MHz), δ_H (ppm): 6,28 (1H, br, s, H-6); 6,54 (1H, br, s, H-8); 7,63 (1H, br, s, H-2′); 6,86 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-5′); 7,61 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-6′); 3,85 (1H, s, 7-OMe); 5,75 (1H, d, *J*= 8,0 Hz, H-1″); 3,65 (1H, m, H-2″); 3,54 (1H, m, H-3″); 3,2 (1H, m, H-5″); 3,52 (1H, m, H-6″a); 3,71 (1H, m, H-6″b); 5,21 (1H, br, s, H-1‴); 3,98 (1H, br, s, H-2‴); 3,75 (1H, m, H-3‴); 3,310 (1H, m, H-4‴); 4,00 (1H, m, H-5‴); 0,90 (1H, d, *J*= 8,0, H -6‴). **Phổ ^{13}C-NMR** (CD_3OD, ¸100 MHz), δ_C (ppm): 158,7 (C-2); 134,8 (C-3); 179,4 (C-4); 162,9 (C-5); 98,8 (C-6); 167,0 (C-7); 92,9 (C-8); 158,2 (C-9); 106,8 (C-10); 123,25 (C-1′); 116,0 (C-2′); 146,0 (C-3′); 149,7 (C-4′); 117,3 (C-5′); 123,25 (C-6′); 56,4 (7-OMe); 100,3 (C-1″); 80,1 (C-2″); 78,9 (C-3″); 71,7 (C-4″); 78,3 (C-5″); 62,5 (C-6″); 102,6 (C-1‴); 72,3 (C-2‴); 72,4 (C-3‴); 74,0 (C-4‴); 70,0 (C-5‴); 17,5 (C-6‴).



Hình 4.1. Cấu trúc học học của 23 hợp chất phân lập từ cây Lãnh công rợt

3.3. Kết quả nghiên cứu về hoạt tính sinh học

3.3.1. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ lá cây Lãnh công rợt

*Bảng 3.26. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất **FP1-FP7***

	IC_{50} (µM)		
Hợp chất	**HT-29**	**A-2058**	**A-549**
FP1	1,5 ± 0,3	0,6 ± 0,1	1,1 ± 0,2
FP2	5,8 ± 0,8	6,7 ± 0,5	7,2 ± 0,8
FP3	4,1 ± 0,9	4,5 ± 0,9	4,5 ± 1,2
FP4	3,8 ± 0,4	4,4 ± 1,0	4,1 ± 0,2
FP5	15,5 ± 2,7	20,3 ± 5,9	15,6 ± 3,3
FP6	18,5 ± 2,8	23,9 ± 5,0	18,7 ± 4,3
FP7	5,0 ± 1,2	0,4 ± 0,3	5,7 ± 0,8
Mitoxantron	8,7 ± 0,8	10,3 ± 1,1	7,8 ± 0,9

Kết quả ở bảng 3.26. cho thấy hợp chất **FP1** có hoạt tính rất mạnh trên 3 dòng tế bào ung thư HT-29, A-2058, A-549 với IC_{50} < 1,5 µM. Hợp chất **FP7** cũng hoạt tính rất mạnh với IC_{50}= 0,4 ± 0,3 µM. Hợp chất **FP2- FP6** thể hiện hoạt tính mạnh với IC_{50}= 3,8 - 7,2 µM trên cả 3 dòng tế bào ung thư HT-29, A-2058, A-549. Các chất còn lại không thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư.

3.3.2. Hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất phân lập được từ lá cây Lãnh công rợt

*Bảng 3.27. Kết quả hoạt tính thu dọn gốc tự do $ROO^{\bullet}$ của các hợp chất **FP15-FP23** và catechin*

Hợp chất	*1,0 µM*	*2,0 µM*
	$ORAC_{RCOO\bullet}$ (µM trolox tương đương)	
FP15	6,87 ± 0,21	8,51 ± 0,24
FP16	7,79 ± 0,34	9,47 ± 0,16
FP17	8,82 ± 0,25	10,24 ± 0,28
FP18	6,10 ± 0,23	7,50 ± 0,21
FP19	5,20 ± 0,10	6,70 ± 0,21
FP20	6,00 ± 0,24	7,82 ± 0,19
FP21	4,08 ± 0,16	4,91 ± 0,21
FP22	6,20 ± 0,19	7,93 ± 0,21
FP23	4,50 ± 0,15	5,14 ± 0,19
Catechin	6,50 ± 0,22	9,10 ± 0,19

Kết quả ở Bảng 3.27. cho thấy các hợp chất **FP15-FP23** thể hiện hoạt tính thu dọn gốc tự do peroxyl khá tốt (tương đương từ 4,4 đến 8,6 μM trolox) ở nồng độ 1,0 μM.

Bảng 3.28. Kết quả khả năng khử ion đồng Cu^{2+} của các hợp chất FP15-FP23 và catechin

Hợp chất	*1,0 μM*	*2,0 μM*
	Nồng độ ion Cu^{+} (μM)	
FP15	1,30 ± 0,10	2,30 ± 0,30
FP16	1,70 ± 0,13	2,90 ± 0,27
FP17	1,50 ± 0,09	2,80 ± 0,21
FP18	0,37 ± 0,11	0,50 ± 0,09
FP19	2,70 ± 0,25	6,50 ± 0,40
FP20	0,46 ± 0,08	0,90 ± 0,80
FP21	1,50 ± 0,19	2,80 ± 0,13
FP22	0,42 ± 0,06	1,00 ± 0,11
FP23	3,00 ± 0,40	6,90 ± 0,26
Catechin	4,10 ± 0,21	8,20 ± 0,46

Kết quả ở Bảng 3.27. cho thấy ở nồng độ 1,0 và 2,0 μM, các hợp chất **FP19, FP23** thể hiện khả năng khử ion đồng Cu^{2+} mạnh thể hiện bằng việc tạo ra nồng độ cao ion Cu^{+} từ 2,7 đến 6,9 μM.

3.3.2. Hoạt tính chống viêm của các hợp chất phân lập được từ lá cây Lãnh công rợt

*Bảng 3.29. Hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất **FP1-FP4** trên đại thực bào RAW 264.7*

Nồng độ (μM)	**% Tế bào sống sót**				
	FP1	**FP2**	**FP3**	**FP4**	**L-NMMA**
1,25	101,17 ± 1,55	105,70 ± 5,60	93,22 ± 5,19	100 ± 1,20	98,73 ± 2,85
2,5	95,27 ± 1,00	104,07 ± 5,55	86,51 ± 0,50	90,71 ± 0,45	96,56 ± 1,59
5	74,40 ± 1,85	90,43 ± 0,05	74,51 ± 0,50	76,34 ± 5,59	90,24 ± 3,42
10	68,86 ± 3,04	85,03 ± 1,30	68,43 ± 1,70	72,63 ± 1,35	85,25 ± 2,17

Kết quả ở bảng 3.29. cho thấy các hợp chất **FP1-FP4** không độc ở nồng độ thử cao nhất 10 μM và lượng tế bào sống đạt trên 68% so với đối chứng dương **L-NMMA** đo ở các nồng độ 0,8; 4; 20 và 100 μg/mL có lượng tế bào sống sót trên 85%, vì vậy tiếp tục được đưa vào nghiên cứu tiếp theo.

*Bảng 3.30. Hoạt tính ức chế sinh NO của các hợp chất **FP1-FP4***

Nồng độ (μM)	**% Ức chế sản sinh NO**				
	FP1	**FP2**	**FP3**	**FP4**	**L-NMMA**
1,25	31,81 ± 3,40	34,21 ± 1,70	24,04 ± 2,55	22,21 ± 5,09	11,22 ± 1,01
2,5	42,02 ± 2,55	39,62 ± 0,85	56,42 ± 9,34	54,02 ± 2,55	34,46 ± 1,93
5	51,62 ± 5,94	53,42 ± 3,40	61,22 ± 4,24	63,63 ± 4,24	70,08 ± 2,48
10	67,23 ± 9,34	71,43 ± 5,09	72,63 ± 5,00	70,83 ± 2,55	93,85 ± 3,22
IC_{50} (μM)	**3,91 ± 0,10**	**3,68 ± 0,35**	**3,01 ± 0,49**	**3,04 ± 0,02**	**8,08 ± 0,90 (**μg/mL)

Kết quả ở bảng 3.30 cho thấy các hợp chất **FP1-FP4** thể hiện hoạt tính ức chế mạnh sản sinh NO với giá trị IC_{50} từ < 5 μM, mạnh hơn cả **L-NMMA**, một chất chuẩn dương thử nghiệm ở các nồng độ 0,8; 4; 20 và 100 μg/mL; với giá trị IC_{50} là 8,08 ± 0,90 **(**μg/mL) (tương ứng 42,93 ± 4,78 μM).

*Bảng 3.31. Hoạt tính ức chế sự sản sinh TNF-α của các hợp chất **FP1-FP4***

Nồng độ (μM)	**% Sản sinh TNF-*α***			
	FP1	**FP2**	**FP3**	**FP4**
1,25	72,37* ± 2,49	100,02 ± 2,34	93,69 ± 0,73	92,65 ± 2,49
2,5	59,85** ± 0,59	99,38 ± 3,22	64,71** ± 3,07	62,96** ± 1,17
5	57,68** ± 0,15	56,33** ± 1,17	49,50** ± 3,22	60,47** ± 0,88
10	50,95** ± 1,46	51,06** ± 0,44	40,91** ± 5,71	53,02** ± 0,59

**** p < 0,05 và ** p < 0,01 so với đối chứng không xử lí mẫu***

Kết quả ở bảng 3.31 cho thấy các hợp chất **FP1-FP4** đều ức chế mạnh sản sinh TNF-*α*, trong đó hợp chất **FP3** đã ức chế cao nhất,

được 59,09% sự sản sinh cytokin này ở nồng độ 10 μM và giảm dần theo mức giảm nồng độ của hợp chất.

*Bảng 3.32. Hoạt tính ức chế sự sản sinh IL-6 của các hợp chất **FP1-FP4***

Nồng độ (μM)	% Sản sinh IL-6			
	FP1	**FP2**	**FP3**	**FP4**
1,25	93,35 ± 3,34	88,47 ± 2,37	100,01 ± 7,25	99,44 ± 3,16
2,5	90,13 ± 4,86	85,27 ± 1,00	99,35 ± 5,01	87,15 ± 4,74
5	86,27 ± 4,25	82,12 ± 5,53	93,30 ± 8,69	78,21 ± 1,58
10	85,19 ± 5,16	54,19* ± 2,37	61,45* ± 9,48	40,22* ± 3,16

**** p < 0,05 so với đối chứng không xử lí mẫu***

Kết quả ở bảng 3.32 cho thấy hợp chất **FP1** chưa thể hiện rõ hoạt tính ức chế sự sản sinh IL-6, chỉ đạt 14,81% ở nồng độ 10 μM. Ba hợp chất còn lại đã cho thấy hoạt tính ức chế mạnh sự sản sinh IL-6, như **FP4** đạt 59,78% ở nồng độ 10 μM và ở mức có ý nghĩa so với đối chứng không xử lí mẫu ($p < 0,05$). Mức hoạt tính này giảm dần theo mức giảm nồng độ các hợp chất.

*Bảng 3.33. Hoạt tính cảm ứng tăng sinh IL-10 của các hợp chất **FP1-FP4***

Nồng độ (μM)	% Sản sinh IL-10			
	FP1	**FP2**	**FP3**	**FP4**
1,25	102,73 ± 5,41	94,81 ± 9,66	104,64 ± 8,89	87,70 ± 15,07
2,5	101,91 ± 3,48	95,22 ± 1,16	102,73 ± 4,64	96,72 ± 0,77
5	104,10 ± 3,48	97,27 ± 2,32	104,73 ± 0,77	101,37 ± 1,93
10	106,01 ± 4,64	99,18 ± 3,48	109,02 ± 6,57	103,55 ± 2,70

Kết quả ở bảng 3.33. cho thấy các hợp chất **FP1-FP4** chưa thể hiện rõ hoạt tính cảm ứng tăng sinh IL-10 ở các nồng độ. Trong số các mẫu, **FP3** đã cảm ứng tăng sinh IL-10 tốt nhất, đạt 9,02% ở nồng độ thử mẫu cao nhất nhưng chưa ở mức có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

Đã có một số ý kiến bàn luận về giá trị khoa học và ý nghĩa thực tiễn về kết quả của Luận án.

KẾT LUẬN

1. Về đặc điểm thực vật cây *Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr.

- Đã thẩm định được tên khoa học của cây Lãnh công rợt thu hái tại khu bảo tồn Pù Hoạt tại xã Tiền Phong, huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An là *Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr., thuộc họ Na (Annonaceae).

- Đã mô tả, phân tích đặc điểm hình thái thực vật, đặc điểm giải phẫu thân, lá và xác định được đặc điểm bột thân, lá cây Lãnh công rợt.

2. Về thành phần hóa học của cây *Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr.

- Đã chiết xuất, phân lập, xác định cấu trúc hóa học 23 hợp chất từ lá cây Lãnh công rợt gồm: có 07 sesquiterpen glucosid, 07 sesquiterpen, 09 flavonol glycosid. Trong đó có:

- 9 hợp chất mới là: elemol 11-*O*-(2-(*E*)-cinnamoyl)-*β*-D-glucopyranosid (Fissispallin A) (**FP1**), 4*α*-hydroxyeudesman-11-*O*-(2-(*E*)-cinnamoyl)-*β*-D-glucopyranosid (Fissispallin B) (**FP2**), 4*α*-methoxyeudesman 11-*O*-(2-(*E*)-cinnamoyl)-*β*-D-glucopyranosid (Fissispallin C) (**FP3**), germacra-1(10),5-dien-4-*O*-(2-(*E*)-cinnamoyl)-*β*-D-glucopyranosid (Fissispallin D) (**FP4**), guai-1(5)-en-11-*O*-(6-(*E*)-cinnamoyl-*β*-D-glucopyranosid (Fissispallin E) (**FP5**), bulnesol-11-*O*-(6-(*E*)-cinnamoyl)-*β*-D-glucopyranosid (Fissispallin F) (**FP6**), kaempferol 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→4)-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-[4-(*E*) coumaroyl]-*β*-D-galactopyranosid (Fissflavosid A) (**FP15),** kaempferol 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→4)-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-[4-(*E*)-feruloyl]-*β*-D-galactopyranosid (Fissflavosid B) (**FP16),** kaempferol 3-*O*-*β*-D-glucopyranosyl-(1→4)-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-[4-(*E*)-sinapoyl]-*β*-D-galactopyranosid (Fissflavosid C) (**FP17).**

- 12 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Fissistigma*: alismol (**FP8**), 4*β*,11-dihydroxyguaian-6,10-dien (**FP9**), alismoxid (**FP11**), 10-*O*-methyl-alismoxid (**FP12**), 1*α*H,5*β*H-aromandendran-4*β*,10*α*-diol (**FP13**), 1*α*H,5*β*H-aromandendran-4*β*,10*α*-diol (**FP14**), kaempferol 3-rutinosid (**FP18**), rutin (**FP19),** kaempferol 3-*O*-*α*-L-

rhamnopyranosyl (1→6)-*β*-D-galactopyranosid (**FP20**), isorhamnetin 3-robinobiosid (**FP21**) và kaempferol 3-*O*-[*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-galactopyranosid (**FP22**), rhamnetin 3-O-*α*-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-*β*-D-glucopyranosid (**FP23**).

- 2 hợp chất đã phân lập được từ chi *Fissistigma* là eudesm-11-en-4a-*O*-*β*-D-2-cinnamoyloxy glucopyranosid (Fissispallin) (**FP7**) và spathulenol (**FP10**).

3. Về hoạt tính sinh học cây *Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr.

- Hợp chất **FP1** có hoạt tính gây độc rất mạnh trên ba dòng tế bào ung thư người HT-29, A-2058, A-549 với giá trị IC_{50} lần lượt là 1,5 ± 0,3 µM; 0,6 ± 0,1 µM; 1,1 ± 0,2 µM. Hợp chất **FP2**, **FP3, FP4**, **FP7** cũng có hoạt tính mạnh trên 3 dòng tế bào ung thư HT-29, A-2058, A-549 với giá trị IC_{50} từ 0,4 - 7,2 µM. Các hợp chất **FP5-FP6** thể hiện hoạt tính trung bình với giá trị IC_{50} từ 15,5 - 23,9 µM.

- Các hợp chất **FP15** - **FP23** thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh, trong đó ba hợp chất mới **FP15** - **FP17** thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh (tương đương từ 6,87 đến 10,24 µM trolox). Hai hợp chất **FP19** và **FP23** thể hiện khả năng khử mạnh thông qua việc tạo ra nồng độ cao ion Cu^{+} được khử từ ion Cu^{2+}.

- Các hợp chất **FP1** - **FP4** thể hiện hoạt tính ức chế mạnh sự sản sinh NO của các đại thực bào RAW 264.7 trong điều kiện bị kích thích bởi LPS với giá trị IC_{50} từ 3,04 - 3,68 µM. Hợp chất **FP1** - **FP3** ức chế mạnh nhất sản sinh cytokin tiền viêm TNF-*α* với % ức chế là 47,98% - 59,09 % ở nồng độ 10 µM ($p < 0,01$). Các hợp chất **FP2-FP4** cho thấy hoạt tính ức chế sản sinh IL-6 với % ức chế là 38,55 % - 59,78% ở nồng độ 10 µM ($p < 0,05$).

KIẾN NGHỊ

- Nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của cao chiết từ lá cây Lãnh công rợt.

- Tiếp tục nghiên cứu về tác dụng chống ung thư của các sesquiterpen của Lãnh công rợt; đặc biết xem tác dụng đối với hợp chất **FP1**.

- Tiếp tục nghiên cứu thành phần hóa học (tập trung vào các terpenoid và flavonoid) của cây Lãnh công rợt và các tác dụng sinh học của các thành phần.

CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Nguyen Xuan Nhiem, Ngo Sy Thinh, Nguyen Thi Bich Thu, Luu The Anh, Tran Minh Ngoc, Bui Huu Tai, Pham Hai Yen, Phan Van Kiem, Chau Van Minh, Seonju Park, Seung Hyun Kim (2019), Three new flavonol glycosides from *Fissistigma pallens*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 83(12), pp. 2177-2182.

2. Ngo Sy Thinh, Nguyen Thi Bich Thu, Tran Minh Ngoc, Nguyen Minh Khoi, Bui Huu Tai, Phan Van Kiem, Chau Van Minh, Nguyen Xuan Nhiem, Yohan Seo, Wan Namkung, SeonJu Park, Seung Hyun Kim (2020), Cytotoxic sesquiterpene glucosides from *Fissistigma pallens, Phytochemistry* 172; pp. 112255.

3. Ngo Sy Thinh, Nguyen Thi Bich Thu, Do Thi Trang, Pham Van Kiem, Bui Huu Tai, Nguyen Xuan Nhiem (2019), Sesquiterpenes from *Fissistigma pallens* (Fin. & Gagn.) Merr., *Vietnam Journal of Chemistry*, 57(5), pp. 552-557.

4. Ngô Sỹ Thịnh, Nguyễn Thị Bích Thu, Nguyễn Xuân Nhiệm, Nguyễn Thế Cường (2018), Nghiên cứu đặc điểm hình thái, đặc điểm vi học và khảo sát sơ bộ thành phần hóa học loài Cách thư tái (*Fissistigma pallens* (Fin. & Gagnep.) Merr.), *Tạp chí Dược học, 480, tr.* 60-64.

5. Ngo Sy Thinh, Nguyen Thi Bich Thu, Nguyen Minh Khoi, Tran Minh Ngoc, Bui Huu Tai, Phan Van Kiem, Nguyen Xuan Nhiem (2020), Flavonol glycosides from the leaves of *Fissistigma pallens* (Fin. & Gagn.) Merr., *Vietnam Journal of Science and Technology*, 58(5), pp. 526-532.