

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



ĐOÀN XUÂN ĐÌNH

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT,
THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ MỘT SỐ TÁC
DỤNG SINH HỌC CỦA CÂY THỦY BỒN THẢO
(*Sedum sarmentosum* Bunge, Crassulaceae)**

CHUYÊN NGÀNH: DƯỢC LIỆU - DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN

MÃ SỐ: 972.02.06

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2024

Công trình hoàn thành tại:
Viện Dược liệu

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS. TS. Nguyễn Thượng Dong
2. PGS. TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng

Phản biện 1 :

Phản biện 2 :

Phản biện 3 :

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp
Viện tại Viện Dược liệu, họp tại:.....
Vào hồi.....giờ.....ngày.....tháng.....năm 2024

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

Nước ta nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa quanh năm nóng ẩm, có hệ thực vật vô cùng phong phú và đa dạng. Từ xa xưa, cha ông ta đã sử dụng dược liệu làm thuốc chữa bệnh rất hiệu quả. Ngày nay, những hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học được phân lập từ cây cỏ đã được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực, trong đó ngành Dược dùng để sản xuất thuốc phòng và chữa bệnh. Vì vậy, nguồn cây thuốc dân gian, cũng như kinh nghiệm sử dụng phong phú của đồng bào các dân tộc vẫn là kho tàng quý giá để khám phá, tìm kiếm nhiều loại thuốc mới.

Ở Việt Nam, cây Thủy bồn thảo thuộc họ Thuốc bỏng - Crassulaceae, được người dân tộc H'Mông sử dụng để tắm cho trẻ em rôm sảy, người bị mẩn ngứa, toàn cây dùng sắc uống điều trị viêm gan hoàng đản, đau họng sưng đau, mụn nhọt, rắn độc cắn, đòn ngã tổn thương [3], [7]. Với mục đích góp phần nghiên cứu về đặc điểm thực vật, thành phần hóa học cũng như một số tác dụng sinh học của cây Thủy bồn thảo. Nghiên cứu sinh lựa chọn đề tài: **“Nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của cây Thủy bồn thảo (*Sedum sarmentosum* Bunge), Crassulaceae”**.

2. Mục tiêu và nội dung của Luận án

2.1. Mục tiêu của Luận án

Mục tiêu 1. Mô tả được đặc điểm thực vật, vi phẫu thân và định tính được các nhóm chất có trong cây Thủy bồn thảo.

Mục tiêu 2. Xác định được các nhóm hợp chất chủ yếu, phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất có trong cây Thủy bồn thảo.

Mục tiêu 3. Đánh giá được độc tính cấp, độc tính bán trường diễn, tác dụng bảo vệ gan của cao toàn phần Thủy bồn thảo và khả năng chống ung thư cổ tử cung của một số hợp chất phân lập được.

2.2. Nội dung của Luận án

➤ Về thực vật

- Mô tả đặc điểm hình thái thực vật, phân tích đặc điểm của cơ quan sinh sản để thẩm định tên khoa học của mẫu nghiên cứu.

- Xác định đặc điểm vi phẫu, bột dược liệu, nhằm tiêu chuẩn hóa dược liệu Thủy bồn thảo.

➤ *Về thành phần hóa học*

- Định tính các nhóm chất trong dược liệu nghiên cứu.

- Chiết xuất phân lập một số hợp chất từ phần trên mặt đất.

- Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được.

➤ *Về hoạt tính sinh học*

- Thử độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của cao chiết methanol toàn phần từ phần trên mặt đất Thủy bồn thảo.

- Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của cao chiết methanol toàn phần từ phần trên mặt đất Thủy bồn thảo.

- Thử tác dụng chống ung thư cổ tử cung HELA đối với một số hợp chất phân lập được.

3. Những đóng góp mới của Luận án

3.1. Về thực vật học

Luận án là tài liệu đầu tiên tại Việt Nam mô tả chi tiết đặc điểm hình thái thực vật, đặc điểm vi phẫu thân, đặc điểm bột dược liệu, và giám định tên khoa học của loài Thủy bồn thảo - *Sedum sarmentosum* Bunge, họ Thuộc bông Crassulaceae”.

3.2. Về hóa học

Từ phần trên mặt đất nghiên cứu sinh đã phân lập được 18 hợp chất tinh khiết, bao gồm 1 megastigman (SSH2 - *Sarmentol A*), 5 megastigman glycosid (SSH3 - *Myrsinionosid A*, SSH4 - *Simplicifloranosid*, SSH7 - *Sedumosid I*, SSH9 - *Sedumosid C* và SSH24 - *Sedumosid K*), 1 flavon (SSH1 - *Luteolin*), 5 flavon glycosid (SSH8 - *Isorhamnetin-3,7-O-di-β-D-glucosid*, SSH10 - *2-phenylethyl-D-rutinosid*, SSH12 - *3'-Methoxy-3,5,4'-trihydroxyflavon-7-neohesperidosid*, SSH13 - *Quercetin-3-O-β-D-glucopyranose* và SSH17

- 3'-methoxyluteolin-7-O- β -D-glucopyranosid), 1 lignan glycosid (SSH25 - Lariciresinol-9-O- β -D-glucopyranosid), 2 alcohol (SSH22 - Tyrosol và SSH29 - 3,4-dimethoxybenzyl alcohol) và 3 acid phenolic (SSH19 - Acid Ferulic, SSH20 - Acid p-Hydroxybenzoic và SSH21 - Acid trans-p-coumaric), trong đó có 1 chất mới là **SSH24**, đặt tên là **Sedumosid K**.

3.3. Về độc tính và hoạt tính sinh học

- Kết quả nghiên cứu công bố Thủy bồn thảo không có độc tính cấp và độc tính bán trường diễn ở mức liều sử dụng và bằng đường uống.

- Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan cấp bởi paracetamol, nghiên cứu đã cho thấy: cao methanol toàn phần Thủy bồn thảo liều 0,5 và 1g/kgTT chuột, có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan cấp bằng paracetamol, thể hiện thông qua khả năng làm giảm hoạt độ ALT ở cả 2 mức liều và AST ở mức liều 0,5g/kgTT.

- Tác dụng bảo vệ gan của cao chiết methanol Thủy bồn thảo trên mô hình gây tổn thương gan mạn bằng paracetamol cũng được nghiên cứu trên 2 mức liều 0.5g và 1g/kgTT chuột và cũng cho kết quả là: cao chiết methanol toàn phần Thủy bồn thảo có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan mạn bằng paracetamol, thể hiện thông qua khả năng làm giảm hoạt độ ALT ở liều 0,5g/kgTT và AST ở mức liều 1g/kgTT.

- Thử nghiệm đánh giá tác dụng gây độc trên tế bào ung thư HeLa của 12 hợp chất (SSH24, SSH9, SSH3, SSH4, SSH7, SSH2, SSH8, SSH13, SSH19, SSH21, SSH20, và SSH22) được tiến hành tại Phòng thí nghiệm của GS. Suresh, Trường Đại học Toyama, Nhật Bản. Kết quả cho thấy rằng: Ở nồng độ 200 μ M, 12 hợp chất phân lập từ Thủy bồn thảo đều có tác dụng gây độc mạnh đối với tế bào HeLa, đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$ (tỷ lệ tế bào chết dao động khoảng 92,5% đến 100%). Ở nồng độ 100 μ M, các hợp chất số 10, 14, 15, và 16 có tác dụng diệt tế

bào HeLa, với tỷ lệ tế bào chết lần lượt là 30%, 26%, 18% và 24%. Ở nồng độ 50 μM , cả 12 hợp chất đều chưa thể hiện tác dụng gây độc đối với tế bào HeLa. Như vậy, 12 hợp chất phân lập từ Thuỷ bồn thảo đem thử đều có tác dụng diệt tế bào ung thư cổ tử cung HeLa ở mức độ trung bình.

4. Ý nghĩa của luận án

Đây là lần đầu tiên loài Thuỷ bồn thảo ở Việt Nam được nghiên cứu đầy đủ về đặc điểm thực vật, thành phần hóa học và một số tác dụng 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 *Sedum* L, và loài Thuỷ bồn thảo - *Sedum sarmentosum* Bunge, nói riêng.

- Kết quả nghiên cứu về hoạt tính sinh học của loài Thuỷ bồn thảo góp phần giải thích kinh nghiệm sử dụng trong dân gian và làm cơ sở cho việc sử dụng loài Thuỷ bồn thảo. 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 các bệnh về gan và ung thư.

5. Bố cục của luận án

Luận án có 134 trang, gồm 4 chương, 31 bảng, 41 hình, 145 tài liệu tham khảo và 19 phụ lục. Các phần chính trong luận án: Đặt vấn đề (1 trang), Tổng quan (45 trang), Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu (15 trang), Kết quả nghiên cứu (58 trang), Bàn luận (14 trang), Kết luận và kiến nghị (1 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 *Sedum* L, một số loài tiêu biểu trong chi và loài loài Thuỷ bồn thảo - *Sedum sarmentosum* Bunge, 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 phần trên mặt đất của cây Thuỷ bồn thảo mọc tự nhiên, có đầy đủ các bộ phận (phần trên mặt đất và có mang hoa) thu hái tại Sapa - Lào Cai tháng 4, 5 và tháng 06 năm 2015. Tiêu bản được lưu giữ tại Phòng tiêu bản Khoa tài nguyên dược liệu - Viện Dược liệu - NIMM (số hiệu DL-300615); đồng thời mẫu cũng được giám định bởi phòng Thực vật - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

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 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.

- Thử độc tính cấp và độc tính bán trường diễn theo hướng dẫn khảo sát độc tính cấp của thuốc do Bộ Y tế ban hành và các tài liệu.

- Đánh giá tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây viêm gan cấp bởi Paracetamol (với silymarin làm chứng dương): Phương pháp định lượng hoạt độ enzym ALT, AST.

- Đánh giá tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây viêm gan mạn bởi Paracetamol (với silymarin làm chứng dương): Phương pháp định lượng hoạt độ enzym ALT, AST.

- Thử nghiệm độc tính tế bào chống lại dòng tế bào ung thư HeLa đối với các chất tinh khiết phân lập được thực hiện tại trường đại học Toyama - Nhật Bản. Quy trình thử nghiệm được tiến hành theo công bố của tác giả Lombe và cộng sự (2018).

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu về thực vật

3.1.1. Giám định tên khoa học

Đã giám định tên khoa học của loài Thuỷ bồn thảo thu hái tại Sapa - Lào Cai tháng 4, 5 và tháng 06 năm 2015 là *Sedum sarmentosum* Bunge, họ Thuốc bỏng (Crassulaceae).

3.1.2. Đặc điểm hình thái

Sedum sarmentosum Bunge, thân cỏ sống nhiều năm, thân bò, rễ bám ở các đốt. Lá mọc đối hay vòng 3, thân cây mọng nước; phiến lá hình mác ngược đến hình tròn dài, dài 10-25 mm, rộng 1,5-4 mm, chóp lá nhọn, gốc lá rộng, mép nguyên và nhẵn. Cụm hoa dạng xim tán, phân nhánh 3-5. Hoa nhỏ, không có cuống. Đài 5, hình mác-tròn dài, dài 3-5 mm, chóp tù, gốc không có cựa. Tràng màu vàng nhạt, 5 cánh hình mác-hình tròn dài, dài 5-7 mm, chóp nhọn. Nhị 10, ngắn hơn cánh hoa. Lá noãn 5, rời, dài 5 mm. Quả nang mở làm hai mảnh. Mùa hoa quả tháng 5 đến tháng 8.

3.1.3. Đặc điểm vi học

* **Vi phẫu thân:** Tiết diện cắt ngang thân, quan sát dưới kính hiển vi mặt cắt ngang thấy có: Biểu bì là một lớp tế bào hình tròn xếp đều đặn thành hơi hoá cutin. Mô mềm vỏ là những tế bào hình tròn kích thước to nhỏ khác nhau, xếp không khít nhau và để hở những khoảng gian bào nhỏ. Bó libe - gỗ nằm ở tâm của thân, libe nằm ngoài và hơi bị ép ra phía

ngoài, mạch gỗ nằm ở bên trong. Mô mềm ruột là những tế bào nhỏ nằm sát nhau ở bên trong mạch gỗ.

*** Đặc điểm bột dược liệu (phần trên mặt đất):**

Bột có màu nâu nhạt, mùi thơm nhẹ, không vị. Quan sát dưới kính hiển vi thấy có: mảnh mô mềm; mảnh mô mềm mang tinh bột; sợi; mảnh biểu bì mang lỗ khí; mảnh mạch xoắn; mảnh mạch điếm; tế bào cứng; hạt tinh bột.

3.2. Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học

3.2.1. Định tính các nhóm hợp chất hữu cơ

Kết quả định tính bằng phản ứng hóa học cho thấy trong dược liệu có chứa các nhóm chất carotenoid, phytosterol, coumarin, flavonoid, acid hữu cơ, acid amin, alcaloid, tanin và đường khử, không chứa các nhóm chất saponin, chất béo, anthranoid và glycosid tim.

Kết quả định tính bằng phương pháp TLC cho thấy dược liệu Thủy bồn thảo có chứa các nhóm chất steroid, flavonoid, coumarin và alcaloid.

3.2.2. Chiết xuất, phân lập các hợp chất

Từ phần trên mặt đất của mẫu dược liệu Thủy bồn thảo, bằng các phương pháp sắc ký cột NCS đã phân lập được 18 hợp chất tinh khiết, bao gồm 1 megastigman (SSH2/sarmentol A), 5 megastigman glycosid (SSH3, SSH4, SSH7, SSH9 và SSH24), 1 flavon (SSH1/luteolin), 5 flavon glycosid (SSH8, SSH10, SSH12, SSH13 và SSH17), 1 lignan glycosid (SSH25), 2 alcohol (SSH22 và SSH29) và 3 acid phenolic (SSH19, SSH20 và SSH21), trong đó có **1 chất mới là SSH24, đặt tên là Sedumosid K**. Phần lớn các hợp chất phân lập được đều có tác dụng sinh học, đặc biệt là các chất thuộc các nhóm megastigman, megastigman glycosid và flavon glycosid. Cấu trúc của các hợp chất được xác định dựa trên việc phân tích các dữ liệu phổ và so sánh với các tài liệu đã công bố.

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

* *Hợp chất SSH1: Luteolin* ($C_{15}H_{10}O_6$; M: 286)

Hợp chất **SSH1** thu được dưới dạng chất bột, màu vàng. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **SSH1** xuất hiện tín hiệu của 6 proton thơm tại δ_{H} 6,18 (1H, s), 6,43 (1H, s), 6,64 (1H, s), 6,88 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,39 (1H, s), 7,40 (1H, d, $J = 8,0$ Hz). Bên cạnh đó, trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của **SSH1** quan sát thấy tín hiệu của 15 carbon, gồm: 8 carbon bậc 4, 6 carbon methin và một nhóm carbonyl. Các tín hiệu phổ ^1H , $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của **SSH1** cho phép dự đoán đây là một flavon. Các tương tác trên phổ HMBC giữa H-2' (δ_{H} 7,39) với C-2 (δ_{C} 163,8)/ C-3' (δ_{C} 145,8)/C-4' (δ_{C} 149,9)/ C-6' (δ_{C} 118,9), H-5' (δ_{H} 6,88) với C-1' (δ_{C} 121,3)/ C-4' (δ_{C} 149,9) và H-6' (δ_{H} 7,40) với C-2 (δ_{C} 163,8)/ C-2' (δ_{C} 113,3)/ C-4' (δ_{C} 149,9) xác định giá trị độ dịch chuyển hóa học của các carbon thuộc vòng C. Tương tự, giá trị độ dịch chuyển hóa học của các carbon thuộc vòng A và B được xác định dựa vào các tương tác HMBC giữa H-3 (δ_{H} 6,64) với C-2 (δ_{C} 163,8)/ C-4 (δ_{C} 181,5)/ C-10 (δ_{C} 103,5), H-6 (δ_{H} 6,18) với C-5 (δ_{C} 161,4)/ C-7 (δ_{C} 164,4)/ C-8 (δ_{C} 93,8)/ C-10 (δ_{C} 103,5) và H-8 (δ_{H} 6,43) với C-6 (δ_{C} 98,9)/ C-7 (δ_{C} 164,4)/ C-9 (δ_{C} 157,3)/ C-10 (δ_{C} 103,5). Vị trí của 4 nhóm hydroxy tại C-5, C-7, C-3' và C-4' được xác định dựa vào độ dịch chuyển hóa học của các carbon tương ứng lần lượt là δ_{C} 161,4, 164,4, 145,8, và 149,9. Từ những phân tích trên kết hợp so sánh giá trị phổ NMR của luteolin, cho phép khẳng định hợp chất **SSH1** là luteolin.

* *Hợp chất SSH2: Sarmentol A* ($\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}_5$; M: 230)

Hợp chất **SSH2** thu được dưới dạng dầu trong không màu. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **SSH2** xuất hiện tín hiệu của ba nhóm methyl tại δ_{H} 0,75 (3H, s), 0,87 (3H, s), 0,89 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), một nhóm oxymethylen δ_{H} 3,23 (2H, dd, $J = 5,0, 11,0$ Hz), hai nhóm oxymethin tại δ_{H} 3,30 (1H, m), 3,51 (1H, m). Bên cạnh đó, trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của **SSH2** xuất hiện tín hiệu của 13 carbon, bao gồm: ba nhóm methyl, năm nhóm methylen, bốn nhóm methin và một carbon bậc 4. Các tín hiệu phổ ^1H - và $^{13}\text{C-NMR}$ của **SSH2** gợi ý đây là một megastigman. Trên phổ HMBC của **SSH2** cho thấy có tương tác giữa H-11 (δ_{H} 0,75) và H-12 (δ_{H}

0,87) với C-1 (δ_C 35,4)/ C-2 (δ_C 51,1)/ C-6 (δ_C 52,4) xác định vị trí của hai nhóm methyl tại C-1. Vị trí của nhóm 2 methyl còn lại tại C-5 được xác định dựa vào tương tác giữa H-13 (δ_H 0,89) với C-4 (δ_C 45,8)/C-5 (δ_C 33,1)/ C-6 (δ_C 52,4). Vị trí của nhóm hydro tại C-3 được xác định dựa vào giá trị độ chuyển dịch hóa học tại C-3 (δ_C 64,6) và tương tác HMBC giữa H-4 (δ_H 0,79, 1,76) với C-3 (δ_C 64,6). Tương tác HMBC giữa H-10 (δ_H 3,23) với C-8 (δ_C 35,8)/ C-9 (δ_C 71,7) và giá trị độ dịch chuyển hóa học tại C-9 (δ_C 71,7), C-10 (δ_C 65,8) cho phép xác định vị trí của hai nhóm hydro còn lại tại C-9 và C-10. Từ các bằng chứng phổ trên kết hợp đối chiếu so sánh số liệu phổ thu được của **SSH2** với dữ liệu phổ của hợp chất sarmentol A, hợp chất **SSH2** được xác định là sarmentol A. Hợp chất này được Yoshikawa và cộng sự thông báo phân lập lần đầu tiên từ loài *Sedum sarmentosum* năm 2007.

* *Hợp chất SSH3: Myrsininosid A* ($C_{19}H_{34}O_7$; M: 374) (*Lần đầu phân lập từ chi Sedum*)

Hợp chất **SSH3** thu được dưới dạng chất bột màu trắng. Trên phổ 1H -NMR của **SSH3** quan sát thấy tín hiệu của bốn nhóm methyl tại δ_H 0,75 (3H, s), 1,05 (3H, s), 1,07 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 1,18 (3H, d, $J = 6,5$ Hz) và một proton anom tại δ_H 4,33 (d, 8,0). Trên phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **SSH3** xuất hiện tín hiệu của 19 carbon, gồm: bốn nhóm methyl, năm nhóm methylen, tám nhóm methin và hai carbon không liên kết với hydro. Giá trị độ dịch chuyển hóa học của các carbon thuộc phần đường (102,1, 75,1, 78,1, 71,8, 77,8, 62,9) cùng với hằng số tương tác của proton anom $J_{H-1'/H-2'} = 8,0$ Hz cho phép xác định sự có mặt của phần đường β -glucopyranosyl trong cấu trúc hóa học của **SSH3**. Các tín hiệu phổ 1D-NMR của **SSH3** gợi ý đây là một megastigman glycosid. Các tương tác HMBC giữa H-11 (δ_H 0,75)/ H-12 (δ_H 1,05) với C-1 (δ_C 40,4)/ C-2 (δ_C 57,1)/ C-6 (δ_C 53,5) xác định vị trí của hai nhóm methyl tại C-1. Vị trí của hai nhóm methyl còn lại tại C-5 và C-9 lần lượt được xác định dựa vào các tương tác HMBC giữa H-13 (δ_H 1,07) với C-4 (δ_C 50,9)/ C-5 (δ_C

37,6)/ C-6 (δ_C 53,5) và H-10 (δ_H 1,18) với C-8 (δ_C 40,4)/ C-9 (δ_C 75,9). Vị trí của nhóm carbonyl tại C-3 được xác định dựa vào tương tác giữa H-2 (δ_H 1,95, 2,36) với C-3 (δ_C 214,5) và giá trị độ dịch chuyển hóa học của C-3 (δ_C 214,5). Ngoài ra, phần đường β -glucopyranosyl gắn với phần khung chất tại C-9 được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa proton anom (δ_H 4,33) với C-9 (δ_C 75,9). Tổng hợp các dữ liệu phổ thu được kết hợp với tài liệu tham khảo, hợp chất **SSH3** được xác định là myrsiniosid A. Hợp chất này được Otsuka và cộng sự (2001) thông báo phân lập được lần đầu tiên từ loài *Myrsine seguinii*.

* *Hợp chất SSH4: Simplicifloranosid* (C₁₉H₃₂O₇; M: 372) (Lần đầu phân lập từ chi *Sedum*)

Hợp chất **SSH4** thu được dưới dạng chất bột vô định hình. Trên phổ ¹H-NMR của **SSH4** xuất hiện tín hiệu của bốn nhóm methyl tại δ_H 0,84 (3H, s), 0,96 (3H, d, $J = 6,5$ Hz), 1,03 (3H, s), 1,33 (3H, d, $J = 6,5$ Hz) đặc trưng của hợp chất megastigman, hai proton olefin tại δ_H 5,46 (1H, dd, $J = 9,5, 15,5$ Hz), 5,71 (1H, dd, $J = 7,0, 15,5$ Hz) gợi ý sự có mặt của liên kết CH=CH cấu hình *E* và một proton anom tại δ_H 4.39 (1H, d, $J = 7,5$ Hz). Trên phổ ¹³C-NMR và HSQC của **SSH4** xuất hiện tín hiệu của 19 carbon gồm: bốn nhóm methyl, ba nhóm methylen, 10 nhóm methin và hai carbon không liên kết với hydro. Số liệu phổ thu được từ **SSH4** khá tương đồng với **SSH3** ngoại trừ sự có mặt của một liên kết đôi CH=CH cấu hình *E*, do đó hợp chất **SSH4** được dự đoán là một megastigman glycosid. Vị trí của liên kết CH=CH được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa H-7 (δ_H 5,46) với C-5 (δ_C 34,8)/C-6 (δ_C 57,9)/ C-9 (δ_C 77,6) và H-8 (δ_H 5,71) với C-6 (δ_C 57,9)/ C-10 (δ_C 21,7). Tương tác giữa proton anom H-1' (δ_H 4,39) với C-9 (δ_C 77,6) cho phép xác định vị trí của phần đường liên kết với khung chất tại C-9 qua cầu nối ether. Những bằng chứng phổ trên và kết quả đối chiếu số liệu phổ của **SSH4** với tài liệu tham khảo, hợp chất **SSH4** được xác định là simplicifloranosid.

* *Hợp chất SSH7: Sedumosid I* (C₁₉H₃₂O₈; M: 388)

Hợp chất **SSH7** thu được dưới dạng chất bột vô định hình. Trên phổ ¹H-NMR của **SSH7** quan sát thấy tín hiệu của ba nhóm methyl tại δ_H 0,80 (3H, s), 1,09 (3H, s), 1,11 (3H, d, *J* = 6,5 Hz) và proton anom tại δ_H 4,33 (1H, d, *J* = 8,0 Hz).

Trên phổ ¹³C-NMR và HSQC của **SSH7** quan sát thấy tín hiệu của hai nhóm carbonyl tại δ_C 210,7, 214,0; một carbon bậc 4 tại δ_C 40,3; bảy nhóm methin tại δ_C 37,50, 52,7, 71,6, 75,0, 77,9, 78,2, 104,3; sáu nhóm methylen tại δ_C 23,3, 41,4, 57,1, 50,8, 62,8, 74,8 và ba nhóm methyl tại 21,0, 21,3, 30,3. Số liệu phổ NMR của **SSH7** gợi ý đây là một megastigman glycosid. Giá trị độ dịch chuyển hóa học của các carbon thuộc phần đường và hằng số tương tác của proton anom (*J*_{H-1'-H-2'} = 7,5 Hz) cho phép xác định phần đường của **SSH7** là β-glucopyranosyl. Các tương tác HMBC giữa H-2 (δ_H 2,01, 2,42)/ H-4 (δ_H 2,19, 2,25) với C-3 (δ_C 214,0) và H-7 (δ_H 1,50, 1,87)/ H-8 (δ_H 2,71) với C-9 (δ_C 210,7) xác định vị trí của hai nhóm carbonyl tại C-3 và C-9. Phần đường liên kết với khung chất tại C-10 được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa proton anom H-1' (δ_H 4,33) với C-10 (δ_C 74,8). Từ các phân tích trên kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất **SSH7** được xác định là sedumosid I.

* *Hợp chất SSH8: Isorhamnetin-3,7-O-di-β-D-glucosid* (C₂₈H₃₂O₁₇; M: 640).

Hợp chất **SSH8** thu được dưới dạng chất bột màu vàng. Các tín hiệu trên phổ ¹H- và ¹³C-NMR của **SSH8** gợi ý đây là một flavon glycosid với các tín hiệu của một vòng thơm thể ABX tại δ_H 7,94 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, H-2'), 6,93 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-5'), 7,54 (1H, dd, *J* = 2,0, 8,5 Hz, H-6'); hai proton thơm meta-coupled tại δ_H 6,45 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H-6) và 6,80 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H-8), hai proton anom tại δ_H 5,57 (1H, d, *J* = 7,5 Hz, H-1'''), 5,08 (1H, d, *J* = 7,5 Hz, H-1'''), và một nhóm methoxy tại δ_H 3,84 (3H, s, 3'-OCH₃). Phân tích giá trị độ dịch chuyển hóa học của

các carbon thuộc phần đường và hằng số tương tác của hai proton anom, xác định phần đường của **SSH8** là β -glucopyranosyl. Tương tác HMBC giữa H-1'' (δ_H 5,57) với C-3 (δ_C 133,3) và H-1''' (δ_H 5,08) với C-7 (δ_C 162,9) lần lượt xác định vị trí của các phần đường nối với khung chất tại C-3 và C-7. Ngoài ra, vị trí của nhóm methoxy tại C-3' được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa các proton thuộc nhóm methoxy (δ_H 3,84) với C-3' (δ_C 147,0). Từ những phân tích trên hợp chất **SSH8** được xác định là isorhamnetin-3,7-O-di- β -D-glucosid.

* *Hợp chất SSH9: Sedumosid C* ($C_{19}H_{34}O_8$; M: 390)

Hợp chất **SSH9** thu được dưới dạng chất bột, vô định hình. Trên phổ 1H -NMR của **SSH9** quan sát thấy tín hiệu của ba nhóm methyl tại δ_H 0,88 (3H, s), 1,11 (3H, s), 1,13 (3H, d, $J = 6,5$ Hz) và một proton anom tại δ_H 4,33 (1H, d, $J = 8,0$ Hz). Bên cạnh đó, trên phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **SSH9** xuất hiện tín hiệu của 19 carbon gồm: ba nhóm methyl, sáu nhóm methylen, một nhóm carbonyl và một carbon bậc 4. Số liệu phổ 1H - và ^{13}C -NMR của **SSH9** khá giống với **SSH7** ngoại trừ sự thiếu vắng một nhóm carbonyl và có nhiều hơn một nhóm oxymethin so với **SSH7**. Điều này gợi ý hợp chất **SSH9** là một megastigman glycosid. Vị trí của nhóm oxymethin tại C-9 được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa H-7 (δ_H 1,22, 1,78)/ H-8 (δ_H 1,53, 1,68) với C-9 (δ_C 72,1). Ngoài ra, số liệu phổ NMR của **SSH9** hoàn toàn trùng khớp với số liệu của sedumosid C trong tài liệu đã công bố. Từ tất cả các bằng chứng trên hợp chất **SSH9** được xác định là sedumosid C.

* *Hợp chất SSH10: 2-phenylethyl-D-rutinosid* ($C_{20}H_{30}O_{10}$; M: 389)

Hợp chất **SSH10** thu được dưới dạng chất bột vô định hình. Số liệu phổ NMR của **SSH10** cho thấy sự có mặt của một phenylethyl alcohol và hai đơn vị đường trong cấu trúc của **SSH10**. Các tín hiệu của năm proton thuộc vòng thom thể một vị trí tại δ_H 7,28 (2H, dd, $J = 8,0, 11,0$ Hz, H-2/H-6), 7,27 (2H, s, H-3/H-5), 7,19 (1H, ddd, $J = 3,0, 6,5, 8,0$

Hz, H-4); hai proton thuộc nhóm oxymethylen tại δ_H 3,79 (1H, m, H₁- β), 4,05 (1H, m, H₂- β) và hai proton thuộc nhóm methylen tại δ_H 2,96 (2H, ddd, $J = 3,0, 7,5, 10,0$ Hz, H- α) xác định sự có mặt của phần khung phenylethyl alcohol. Sự có mặt của tín hiệu methyl tại δ_H 1,28 và δ_C 18,0 trên phổ ¹H- và ¹³C-NMR gợi ý sự có mặt của phần đường rhamnopyranosyl. Ngoài ra, giá trị độ dịch chuyển hóa học của các carbon thuộc phần đường còn lại 104,4, 75,0, 78,0, 71,6, 76,8, 68,1 và hằng số tương tác của proton anom tương ứng $J_{H-1'/H-2'} = 7,5$ Hz gợi ý phần đường này là β -glucopyranosyl. Vị trí của phần đường β -glucopyranosyl liên kết với khung chất tại C- β được xác định dựa vào tương tác giữa proton anom H-1' (δ_H 4,31) với C- β (δ_C 71,8).

Tương tác HMBC giữa H-1'' (δ_H 4,77) với C-6' (δ_C 68,1) và H-6' (δ_H 3,64, 4,00) với C-1'' (δ_C 102,2) xác định phần đường α -rhamnopyranosyl kết nối phần đường β -glucopyranosyl tại C-1'' và C-6' qua cầu nối ether. Từ các bằng chứng trên, hợp chất **SSH10** được xác định là 2-phenylethyl-D-rutinosid. Dữ liệu phổ của **SSH10** cũng hoàn toàn phù hợp với số liệu phổ của 2-phenylethyl-D-rutinosid ở công bố trước đây.

* *Hợp chất SSH12: 3'-Methoxy-3,5,4'-trihydroxyflavon-7-neohesperidosid* (C₂₈H₃₂O₁₆; M: 624) (*Lần đầu phân lập từ chi Sedum*)

Hợp chất **SSH12** thu được dưới dạng chất bột màu vàng. Số liệu phổ 1D-NMR thu được của **SSH12** gợi ý đây là một flavon glycosid. Trên phổ ¹H-NMR của **SSH12** xuất hiện tín hiệu của ba proton thuộc hệ tương tác spin-spin ABX tại δ_H 7,95 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 6,91 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5'), 7,57 (1H, dd, $J = 2,0, 8,5$ Hz, H-6''); hai proton thơm meta-coupled tại 6,45 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 6,84 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8); hai proton anom tại δ_H 5,57 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1''), 5,56 (1H, s, H-1'''); một nhóm methoxy tại δ_H 3,85 (3H, s, 3'-OCH₃) và một nhóm methyl tại δ_H 1,12 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, C-6''). Trên phổ ¹³C-NMR và HSQC của **SSH12** quan sát thấy tín hiệu của 15 carbon thuộc phần khung flavon

gồm: một nhóm carbonyl, năm oxygenat carbon; bốn carbon bậc 4 và năm nhóm methin. Ngoài ra còn quan sát thấy tín hiệu của 13 carbon thuộc hai đơn vị đường và một nhóm methoxy (bảng 3.10). Sự có mặt của tín hiệu methyl tại δ_H 1,12 và δ_C 17,9 trên phổ 1H - và ^{13}C -NMR gợi ý sự có mặt của phần đường rhamnopyranosyl. Giá trị độ dịch chuyển hóa học của 12 carbon thuộc hai phần đường hoàn toàn phù hợp với công bố trước đây của -O- α -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucopyranose (neohesperidose). Phân tích các tương tác trên phổ HMBC giữa nhóm methoxy (δ_H 3,85) với C-3' (δ_C 147,0) và proton H-1'' (δ_H 5,57) với C-7 (δ_C 161,6) lần lượt xác định vị trí của nhóm methoxy và phần đường glucopyranosyl gắn vào phần khung chất tại C-3' và C-7. Sự chuyển dịch về vùng trường thấp của C-2'' với giá trị độ dịch chuyển hóa học δ_C 76,3 gợi ý phần đường còn lại kết nối với phần đường glucopyranosyl thông qua cầu nối ether tại C-1''' và C-2'' . Bên cạnh đó, kết quả đối chiếu số liệu phổ NMR của hợp chất **SSH12** với số liệu được công bố của hợp chất 3'-methoxy-3,5,4'-trihydroxyflavon-7-neohesperidosid cho thấy các giá trị đều phù hợp. Từ những bằng chứng đã phân tích trên, hợp chất **SSH12** được xác định là 3'-methoxy-3,5,4'-trihydroxyflavon-7-neohesperidosid.

* *Hợp chất SSH13: Quercetin-3-O- β -D-glucopyranose* ($C_{21}H_{20}O_{12}$; M: 464)

Hợp chất **SSH13** thu được dưới dạng chất bột, màu vàng. Phổ NMR thu được của **SSH13** gợi ý đây là một flavon glycosid. Trên phổ 1H -NMR của **SSH13** xuất hiện tín hiệu của hai proton meta-coupled tại δ_H 6,19 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6), 6,40 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8), ba proton thuộc hệ ABX tại δ_H 7,57 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2'), 6,84 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-5'), 7,57 (1H, dd, $J = 2,0, 9,0$ Hz, H-6') và tín hiệu của một proton anom tại δ_H 5,45 (1H, d, $J = 7,0$ Hz, H-1'''). Trên phổ ^{13}C -NMR của **SSH13** xuất hiện tín hiệu của 21 carbon gồm 15 carbon thuộc phần khung flavon và sáu carbon thuộc phần đường. Giá trị độ dịch chuyển hóa học của các carbon thuộc phần đường gồm δ_C 100,9 (C-1'''), 74,1 (C-2''), 76,5

(C-3''), 69,9 (C-4''), 77,5 (C-5''), 61,0 (C-6'') và hằng số tương tác $J_{H-1''-H-2''} = 7,0$ Hz xác định phần đường của **SSH13** là β -glucopyranosyl. Tương tác HMBC giữa H-1'' (δ_H 5,45) với C-3 (δ_C 133,3) xác định vị trí của phần đường tại C-3. Từ những phân tích trên hợp chất **SSH13** được xác định là quecertin-3-O- β -D-glucopyranose.

* *Hợp chất SSH17: 3'-methoxyluteolin-7-O- β -D-glucopyranosid* (C₂₂H₂₂O₁₁; M: 462).

Hợp chất **SSH17** thu được dưới dạng chất bột màu vàng. Phổ 1D-NMR của **SSH17** gợi ý đây là một flavon glycosid. Trên phổ ¹H-NMR của **SSH17** xuất hiện tín hiệu của sáu proton thơm tại δ_H 6,45 (1H, d, $J = 2,0$), 6,87 (1H, d, $J = 2,0$), 6,97 (1H, s), 7,58 (1H, s), 6,95 (1H, d, $J = 8,5$), 7,59 (1H, brd, $J = 7,0$), ba proton thuộc một nhóm methoxy tại δ_H 3,90 (3H, s) và một proton anom tại δ_H 5,06 (1H, d, $J = 7,0$ Hz). Trên phổ ¹³C-NMR và HSQC của **SSH17** quan sát thấy tín hiệu của một nhóm carbonyl, tám carbon không liên kết với hydro, 11 nhóm methin, một nhóm methylen và một nhóm methoxy. Số liệu phổ NMR của **SSH17** khá giống với **SSH8** ngoại trừ sự thiếu vắng một đơn vị đường glucopyranose ở **SSH17**. Tương tác HMBC giữa proton của nhóm methoxy (δ_H 3,90) với C-3' (δ_C 148,0) và proton anom H-1'' (δ_H 5,06) với C-7 (δ_C 163,0) lần lượt xác định vị trí của nhóm methoxy tại C-3' và phần đường tại C-7. Từ các phân tích phổ trên cùng với kết quả so sánh số liệu phổ thu được của **SSH17** và số liệu phổ được công bố của 3'-methoxyluteolin-7-O- β -D-glucopyranosid, hợp chất **SSH17** được xác định là 3'-methoxyluteolin-7-O- β -D-glucopyranosid.

* *Hợp chất SSH19: Acid Ferulic* (C₁₀H₁₀O₄; M: 194).

(Lần đầu phân lập từ loài *Sedum sarmentosum* Bunge)

Hợp chất **SSH19** thu được dưới dạng chất bột vô định hình. Trên phổ ¹H-NMR của **SSH19** quan sát thấy tín hiệu của ba proton thơm thuộc hệ tương tác ABX tại δ_H 7,18 (1H, d, $J = 2,0$ Hz), 6,83 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,07 (1H, dd, $J = 2,0, 8,0$ Hz); hai proton của một nhóm ethenyl cấu

hình *E* tại δ_{H} 7,61 (1H, d, $J = 16,0$ Hz), 6,32 (1H, d, $J = 16,0$ Hz) và ba proton của một nhóm methoxy tại δ_{H} 3,90 (s). Trên phổ ^{13}C -NMR của **SSH19** xuất hiện tín hiệu của 10 carbon bao gồm một nhóm carbonyl tại δ_{C} 171,0, tám carbon olefin tại δ_{C} 150,5, 149,3, 146,9, 127,8, 123,9, 116,5, 115,9, 111,7 và một nhóm methoxy tại δ_{C} 56,5. Phân tích số liệu phổ ^1H - và ^{13}C -NMR của **SSH19** cho thấy sự có mặt của một vòng thơm thế 1,3,4; một liên kết đôi $\text{CH}=\text{CH}$ cấu hình *E*, một nhóm carbonyl và một nhóm methoxy trong cấu trúc hóa học của hợp chất này. So sánh số liệu phổ NMR thu được của **SSH19** với hợp chất acid ferulic ở tài liệu đã công bố [100]. Kết quả cho thấy số liệu của **SSH19** và acid ferulic hoàn toàn trùng khớp ở tất cả các vị trí. Từ tất cả các phân tích trên **SSH19** được xác định là acid ferulic.

* *Hợp chất SSH20: Acid p-hydroxybenzoic* ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$; M: 138).

Hợp chất **SSH20** thu được dưới dạng tinh thể, không màu. Trên phổ ^1H -NMR của **SSH20** xuất hiện tín hiệu của bốn proton thuộc vòng thơm thế 1,4 tại δ_{H} 6,84 (2H, d, $J = 9,0$ Hz), 7,90 (2H, d, $J = 9,0$ Hz). Trên phổ ^{13}C -NMR của **SSH20** quan sát thấy tín hiệu của năm carbon, gồm: bốn nhóm methin tại δ_{C} 116,0 (2xCH), 133,0 (2xCH) và một carbon không liên kết với hydro. Ngoài ra, hai carbon không liên kết khác được xác định dựa vào tương tác trên HMBC tại δ_{C} 122,7 và 170,1. Các bằng chứng phổ trên gợi ý hợp chất **SSH20** là acid *p*-hydroxybenzoic. Các tương tác HMBC giữa H-2 (δ_{H} 7,90) với C-3 (δ_{C} 116,0)/C-4 (δ_{C} 163,2)/COOH (δ_{C} 170,1) và H-3 (δ_{H} 6,84) với C-1 (δ_{C} 122,7)/ C-2 (δ_{C} 133,0)/ C-4 (δ_{C} 163,2) xác định giá trị độ dịch chuyển hóa học của các vị trí thuộc vòng thơm và sự có mặt của các nhóm hydroxy và carbonnyl tại C-1 và C-4. Từ tất cả các phân tích trên hợp chất **SSH20** được xác định là acid *p*-hydroxybenzoic.

* *Hợp chất SSH21: Acid trans-p-coumaric* ($\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$; M: 164).

(Lần đầu phân lập từ loài *Sedum sarmentosum* Bunge)

Hợp chất **SSH21** thu được dưới dạng tinh thể hình kim, màu trắng. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **SSH21** quan sát thấy tín hiệu của bốn proton thuộc vòng thơm thế 1,4 tại δ_{H} 6,83 (2H, d, $J = 9,0$ Hz), 7,45 (2H, d, $J = 9,0$ Hz) và hai proton olefin thuộc một liên kết đôi CH=CH cấu hình *E* tại δ_{H} 6,30 (1H, d, $J = 16,0$ Hz), 7,62 (1H, d, $J = 16,0$ Hz). Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **SSH21** xuất hiện tín hiệu của chín carbon gồm: một nhóm carbonyl, hai carbon không liên kết với hydro và sáu nhóm methin. Các tín hiệu phổ $^1\text{H-}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của **SSH21** cho thấy cấu trúc của hợp chất này có mặt một nhóm carbonyl, một liên kết đôi CH=CH và một vòng thơm thế 1,4. Ngoài ra, giá trị độ dịch chuyển hóa học của C-4 (δ_{C} 161,1) gợi ý sự có mặt của một nhóm hydroxy tại vị trí này. Từ các phân tích trên hợp chất **SSH21** được xác định là acid *trans-p*-coumaric.

* *Hợp chất SSH22: Tyrosol* ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$; M: 138).

Hợp chất **SSH22** thu được dưới dạng dầu, màu nâu nhạt. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **SSH22** quan sát thấy tín hiệu của bốn proton thuộc vòng thơm thế 1,4 tại δ_{H} 6,73 (2H, d, $J = 8,5$ Hz), 7,05 (2H, d, $J = 8,5$ Hz), hai proton thuộc một nhóm oxygenmethylen tại δ_{H} 3,71 (2H, t, $J = 7,0$ Hz) và hai proton thuộc một nhóm methylen tại δ_{H} 2,74 (2H, t, $J = 7,0$ Hz). Bên cạnh đó, trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **SSH22** xuất hiện tín hiệu của tám carbon tại δ_{C} 156,7, 131,0, 130,9 (2xC), 116,1 (2xC), 64,5, 39,3. Số liệu phổ thu được $^1\text{H-}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của **SSH22** gợi ý đây là một phenylethyl alcohol. Từ các phân tích trên kết hợp đối chiếu với tài liệu tham khảo cho phép khẳng định **SSH22** là phenylethyl alcohol.

* *Hợp chất SSH24: Sedumosid K* ($\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_8$; M: 390) (*chất mới*)

Hợp chất **SSH24** thu được dưới dạng dầu, màu vàng nhạt. Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ của **SSH24** quan sát thấy tín hiệu của ba nhóm methyl tại δ_{H} 0,81 (3H, s), 1,12 (3H, s), 1,14 (3H, d, $J = 6,5$ Hz) và một proton anom tại δ_{H} 4,48 (1H, d, $J = 7,5$ Hz). Bên cạnh đó, trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của **SSH24** xuất hiện tín hiệu của một nhóm carbonyl tại δ_{C} 214,6; một carbon bậc 4 tại δ_{C} 40,4; tám nhóm methin tại δ_{C} 37,6, 53,7, 71,7, 75,5,

77,9, 78,0, 82,3, 103,9; sáu nhóm methylen tại δ_C 26,0, 34,9, 50,9, 57,1, 62,9, 64,8 và ba nhóm methyl tại δ_C 21,1, 21,5, 30,3. Hằng số tương tác của proton anom ($J_{H-1'-H-2'} = 7,5$ Hz) cùng với giá trị độ dịch chuyển hóa học của các carbon thuộc phần đường, cho phép xác định phần đường của **SSH24** là β -glucopyranosyl. Số liệu phổ của hợp chất **SSH24** khá giống với số liệu phổ của hợp chất sedumosid C (**SSH9**) ngoại trừ tại các vị trí C-8 (δ_C 34,9), C-9 (δ_C 82,3) và C-10 (δ_C 64,8) ở **SSH24** so với C-8 (δ_C 36,4), C-9 (δ_C 72,1) và C-10 (δ_C 75,3) ở **SSH9**. Điều này cho phép dự đoán cấu trúc hóa học của **SSH24** và **SSH9** khá giống nhau ngoại trừ vị trí gắn kết của phần đường. Sự dịch chuyển về vùng trường thấp hơn của tín hiệu C-9 và dịch chuyển về vùng trường cao hơn của C-10 ở **SSH24** gợi ý phần đường của hợp chất **SSH24** liên kết với phần aglycon tại C-9. Ngoài ra, tương tác HMBC giữa proton H-2 (δ_H 2,01, 2,43)/ H-4 (δ_H 2,20, 2,25) và C-3 (δ_C 214,6) xác định vị trí của nhóm carbonyl tại C-3. Vị trí của phần đường tại C-9 và nhóm hydroxy tự do tại C-10 được xác định dựa vào các tương tác HMBC giữa H-1' (δ_H 4,48)/H-7 (δ_H 1,25, 1,80)/ H-8 (δ_H 1,69, 1,79)/ H-10 (δ_H 3,59, 3,71) với C-9 (δ_C 82,3) cùng với giá trị độ dịch chuyển hóa học tại C-10 (δ_C 64,8). So sánh giá trị độ dịch chuyển hóa học các carbon C-9 (δ_C 82,3) và C-10 (δ_C 64,8) của **SSH24** với hợp chất sedumosid A₂ có cấu hình 9S [(C-9, δ_C 82,5), (C-10, δ_C 64,8)] và hợp chất sedumosid B có cấu hình 9R [(C-9, δ_C 83,2), (C-10, δ_C 65,9)].

Hằng số tương tác lớn ($J_{1',2'} = 7,5$ Hz) gợi ý cấu hình trans của H-1' (α) và H-2' (β). Tương tác NOESY giữa H-1'/H-3' và H-1'/H-5' gợi ý H-1' có hướng α -axial, trong khi tương tác giữa H-2' và H-4' gợi ý hướng H-2' hướng β -axial (hình 3.25). Với các nghiên cứu gần đây, phân tích cấu hình ở MM2, kết hợp với tối ưu hóa hình học sử dụng DFT ở mức CAM-B3LYP/6-31G*, cho cấu hình bền nhất như trong hình 3.25. Tính toán ECD lý thuyết về tối ưu hóa hình học được tiến hành cùng mức so sánh với lý thuyết. Kết quả tính toán ECD cho 5R,6S,9R và 5R,6S,9S cho các giá trị âm tại bước sóng 280 nm. Kết quả ECD thu được

là dương, hợp chất mới này phải có cấu hình tuyệt đối là 5*S*,6*R*. Hơn nữa, cường độ quay của hiệu ứng Cotton hoàn toàn phù hợp với dữ liệu thực nghiệm của cấu hình 5*S*,6*R*,9*R*. Từ các bằng chứng phổ trên cấu trúc hóa học của **SSH24** được xác định là (5*S*,6*R*,9*R*)-megastigman-3-*on*-9,10-diol-9- β -glucopyranosid. Tra cứu trên cơ sở dữ liệu Scifinder cho phép kết luận **SSH24** là một hợp chất mới. Hợp chất này được đặt tên là **Sedumosid K**.

* *Hợp chất SSH25: Lariciresinol-9-O- β -D-glucopyranosid* (C₂₆H₃₄O₁₁; M: 522).

Hợp chất **SSH25** thu được dưới dạng chất bột, màu trắng. Trên phổ ¹H-NMR của **SSH25** xuất hiện tín hiệu của sáu proton thơm thuộc hai hệ tương tác spin-spin ABX tại δ_{H} 6,68 (1H, dd, $J = 2,0, 8,0$ Hz), 6,73 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 6,78 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 6,82 (1H, brdd, $J = 2,0, 6,5$ Hz), 6,83 (1H, d, $J = 2,0$ Hz), 6,95 (1H, d, $J = 2,0$ Hz), bốn proton thuộc hai nhóm oxymethylen tại δ_{H} 3,75 (2H, dd, $J = 6,5, 8,0$ Hz), 4,01 (1H, dd, $J = 6,5, 8,0$ Hz), 4,07 (1H, dd, $J = 6,5, 9,5$ Hz), sáu proton thuộc hai nhóm methoxy tại δ_{H} 3,85 (6H, s) và một proton anom tại δ_{H} 4,32 (1H, d, $J = 8,0$ Hz). Trên phổ ¹³C-NMR và HSQC của **SSH25** quan sát thấy tín hiệu của 26 carbon gồm: sáu carbon không liên kết với hydro, 14 nhóm methin, bốn nhóm methylen và hai nhóm methoxy. Số liệu phổ NMR của **SSH25** gợi ý đây là một lignan glycosid với phần khung có chứa nhân furan. Phần đường của hợp chất này được xác định là β -glucopyranosyl dựa vào giá trị độ dịch chuyển hóa học của các carbon thuộc phần đường (104,8, 75,2, 78,2, 71,7, 78,0, 62,8) và hằng số tương tác của proton anom ($J_{\text{H-1''-H-2''}} = 8,0$ Hz). Vị trí của 2 nhóm methoxy tại C-3, C-3' và phần đường tại C-9 lần lượt được xác định dựa vào tương tác giữa các proton thuộc hai nhóm methoxy (δ_{H} 3,85) với C-3 (δ_{C} 149,0)/C-3' (δ_{C} 149,0) và tương tác giữa proton anom H-1'' (δ_{H} 4,32) với C-9 (δ_{C} 68,5). Từ những phân tích trên và tham khảo số liệu phổ của lariciresinol-9-*O*-

β -D-glucopyranosid [28], hợp chất **SSH25** được xác định là lariciresinol-9-O- β -D-glucopyranosid.

* Hợp chất **SSH29**: 3,4-dimethoxybenzyl alcohol ($C_9H_{12}O_3$; M: 168).

Hợp chất **SSH29** thu được dưới dạng dầu, không màu. Trên phổ 1H -NMR của **SSH29** xuất hiện tín hiệu của ba proton thơm tại δ_H 6,91 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 6,93 (1H, d, $J = 8,0$ Hz), 7,40 (1H, s), hai proton của một nhóm oxymethylen tại δ_H 4,55 (2H, s) và sáu proton thuộc hai nhóm methoxy tại δ_H 3,84 (3H, s), 3,86 (3H, s). Trên phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **SSH29** quan sát thấy tín hiệu của chín carbon gồm: ba carbon không liên kết với hydro tại δ_C 135,7, 149,9, 150,5; ba nhóm methin tại δ_C 112,4, 113,0, 120,8; một nhóm oxymethylen tại δ_C 65,1 và hai nhóm methoxy tại δ_C 56,4, 56,6. Giá trị độ dịch chuyển hóa học của các vị trí thuộc vòng thơm được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa H-2 (δ_H 7,40)/H-6 (δ_H 6,91) với C-4 (δ_C 149,9) và H-5 (δ_H 6,93) với C-1 (δ_C 135,7)/ C-3 (δ_C 150,5). Tương tác HMBC giữa H-2 (δ_H 7,40)/H-6 (δ_H 6,91) với C-7 (δ_C 65,1) và giá trị độ dịch chuyển hóa học của C-7 xác định vị trí của nhóm oxymethylen tại C-1. Vị trí của hai nhóm methoxy tại C-3 và C4 lần lượt được xác định dựa vào các tương tác giữa các proton của nhóm methoxy thứ nhất (δ_H 3,86) với C-3 (δ_C 150,5) và nhóm methoxy thứ hai (δ_H 3,84) với C-4 (δ_C 149,9). Từ những phân tích trên hợp chất **SSH29** được xác định là 3,4-dimethoxybenzyl alcohol.

3.3. Kết quả nghiên cứu về độc tính và tác dụng sinh học

3.3.1. Độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của cao chiết methanol toàn phần Thủy bồn thảo

Kết quả thử độc tính cấp cao chiết methanol toàn phần Thủy bồn thảo đã xác định được liều LD_{50} là 25,56g cao/kgTT. Theo cách tính toán liều an toàn và liều có tác dụng của cao chiết phải nhỏ hơn ít nhất 10 lần liều LD_{50} , hệ số này càng lớn thì cao chiết có độ an toàn cao. Liều dự kiến thử tác dụng sinh học của cao Thủy bồn thảo là 0,5 và 1g/kgTT, như vậy

liều LD₅₀ cao gấp 25,5 và 51 lần liều dự kiến, nên cao chiết methanol Thủy bồn thảo đem thử là an toàn khi thử trên chuột nhắt.

Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn cho thấy, trọng lượng chuột ở tất cả các lô thử đều tăng, sự tăng này giữa lô thử và lô chứng là như nhau, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, tuy nhiên có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của 3 lần thử so với lần 1, như vậy cao toàn phần methanol Thủy bồn thảo không ảnh hưởng đến cân nặng ở chuột. Sau 15 và 30 ngày uống cao chiết Thủy bồn thảo, số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, nồng độ hemoglobin, giá trị hematocrit, % lympho bào ở cả 3 lô thử đều không có sự khác biệt ($p>0,05$). Các chỉ số hóa sinh về chức năng gan như nồng độ bilirubin, protein, hoạt độ AST và ALT ở cả 2 lô uống Thủy bồn thảo đều không có sự khác biệt ($p>0,05$). Chỉ số sinh hóa về chức năng thận như nồng độ creatinin ở 2 lô uống Thủy bồn thảo (liều 0,5 và 1g/kgTT) không có sự khác biệt với lô chứng ($p>0,05$). Về đại thể các cơ quan như gan, thận ở cả 3 lô đều không có sự thay đổi bệnh lý. Về đại thể các cơ quan tim, phổi, gan, lách, thận, hệ thống tiêu hóa, qua xét nghiệm mô học nhận thấy, không có sự khác biệt trong hình ảnh vi thể giữa lô chuột uống liều thấp, liều cao và lô chuột sinh lý, sau 30 ngày uống cao Thủy bồn thảo. Như vậy, cao chiết methanol toàn phần Thủy bồn thảo là an toàn.

3.3.2. Tác dụng sinh học

3.3.2.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây viêm gan cấp và mạn tính bởi paracetamol

Kết quả đánh giá tác dụng bảo vệ gan của các mẫu thử cho thấy, ở 2 mức liều 0,5 và 1g/kgTT chuột cao chiết methanol toàn phần Thủy bồn thảo, làm giảm hoạt độ 2 men gan AST và ALT có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. Paracetamol làm tăng hoạt độ AST ở tất cả các lô thử. Lô uống Thủy bồn thảo liều 0,5g/kgTT ức chế 49,6% so với lô chứng bệnh lý, đạt ý nghĩa thống kê. Lô uống liều 1g/kgTT có xu hướng ức chế sự tăng của AST 41,3%, tuy nhiên chưa đạt ý nghĩa thống kê

($p > 0,05$). Silymarin cũng có tác dụng ức chế sự tăng hoạt độ AST gây bởi paracetamol ($p < 0,05$). Như vậy, cao methanol toàn phần Thủy bồn thảo liều 0,5 và 1g/kgTT chuột, có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan cấp bằng paracetamol, thể hiện thông qua khả năng làm giảm hoạt độ ALT ở cả 2 mức liều và AST ở mức liều 0,5g/kgTT.

Tác dụng bảo vệ gan của cao chiết methanol Thủy bồn thảo trên mô hình gây tổn thương gan mạn cũng bằng paracetamol cũng được nghiên cứu trên 2 mức liều 0.5g và 1g/kgTT chuột và quan sát đại thể gan chuột và đánh giá ảnh hưởng của cao chiết Thủy bồn thảo lên hoạt độ các men gan ALT và AST ở chuột bị gây tổn thương gan mạn bằng paracetamol. Kết quả cho thấy, paracetamol làm tăng hoạt độ ALT ở tất cả các lô thử ($p < 0,05$), lô uống cao Thủy bồn thảo liều 0,5g/kgTT và lô uống silymarin liều 0,2g/kgTT có tác dụng ức chế sự tăng hoạt độ ALT đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ và % ức chế lần lượt là 52,5 và 53,8%, nhưng ở lô cho uống mức liều 1g/kgTT lại không có sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê giữa lô chuột uống cao methanol toàn phần Thủy bồn thảo so với lô chứng bệnh lý. Trong khi đó, paracetamol làm tăng hoạt độ AST ở tất cả các lô ($p < 0,05$). Hai lô uống cao methanol toàn phần Thủy bồn thảo liều 0,5 và 1g/kgTT ức chế 43,6% và 52,6% so với lô chứng bệnh lý, nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Lô chuột uống silymarin liều 0,2g/kgTT ức chế sự tăng hoạt độ AST 70,4% ($p < 0,05$). Như vậy, cao chiết methanol toàn phần Thủy bồn thảo có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan mạn bằng paracetamol, thể hiện thông qua khả năng làm giảm hoạt độ ALT ở liều 0,5g/kgTT và AST ở mức liều 1g/kgTT.

3.3.2.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng gây độc trên tế bào ung thư HeLa của 12 hợp chất phân lập được

Thử nghiệm đánh giá tác dụng gây độc trên tế bào ung thư HeLa của 12 hợp chất (ký hiệu 1- SSH24, 2- SSH9, 3- SSH3, 4- SSH4, 5- SSH7, 6- SSH2, 8- SSH8, 10- SSH13, 13- SSH19, 14- SSH21, 15-

SSH20, và 16- SSH22) được tiến hành tại Phòng thí nghiệm của GS. Suresh, Trường Đại học Toyama, Nhật Bản.

Kết quả cho thấy rằng: Ở nồng độ 200 μM , 12 hợp chất phân lập từ TBT đều có tác dụng gây độc mạnh đối với tế bào HeLa, đạt ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$ (tỷ lệ tế bào chết dao động khoảng 92,5% đến 100%). Ở nồng độ 100 μM , các hợp chất số 10, 14, 15, và 16 có tác dụng diệt tế bào HeLa, với tỷ lệ tế bào chết lần lượt là 30%, 26%, 18% và 24%. Ở nồng độ 50 μM , cả 12 hợp chất đều chưa thể hiện tác dụng gây độc đối với tế bào HeLa. Như vậy, 12 hợp chất phân lập từ Thủy bồn thảo đem thử đều có tác dụng diệt tế bào ung thư cổ tử cung HeLa ở mức độ trung bình.

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

Luận án đã hoàn thành 3 mục tiêu nghiên cứu:

(1) Đã mô tả được đặc điểm hình thái dược liệu Thủy bồn thảo thu tại Sa Pa Lào Cai và giám định đúng tên khoa học là *Sedum sarmentosum* Bunge. Đã mô tả đặc điểm vi phẫu thân và đặc điểm bột phần trên mặt đất.

(2) Đã định tính bằng phản ứng hóa học và sắc ký lớp mỏng và xác định trong Thủy bồn thảo có chứa các nhóm chất như carotenoid, phytosterol, coumarin, flavonoid, acid hữu cơ, acid amin, alcaloid, tanin và đường khử, không chứa saponin, chất béo, anthranoid và glycosid trợ tim.

Từ phần trên mặt đất nghiên cứu sinh đã phân lập được 18 hợp chất tinh khiết, bao gồm 1 megastigman (SSH2 - *Sarmentol A*), 5 megastigman glycosid (SSH3 - *Myrsinionosid A*, SSH4 - *Simplicifloranosid*, SSH7 - *Sedumosid I*, SSH9 - *Sedumosid C* và SSH24 - *Sedumosid K*), 1 flavon (SSH1 - *Luteolin*), 5 flavon glycosid (SSH8 -

Isorhamnetin-3,7-O-di-β-D-glucosid, SSH10 - *2-phenylethyl-D-rutinosid*, SSH12 - *3'-Methoxy-3,5,4'-trihydroxyflavon-7-neohesperidosid*, SSH13 - *Quercetin-3-O-β-D-glucopyranose* và SSH17 - *3'-methoxyluteolin-7-O-β-D-glucopyranosid*), 1 lignan glycosid (SSH25 - *Lariciresinol-9-O-β-D-glucopyranosid*), 2 alcohol (SSH22 - *Tyrosol* và SSH29 - *3,4-dimethoxybenzyl alcohol*) và 3 acid phenolic (SSH19 - *Acid Ferulic*, SSH20 - *Acid p-Hydroxybenzoic* và SSH21 - *Acid trans-p-coumaric*), trong đó có 1 chất mới là **SSH24**, đặt tên là **Sedumosid K**.

(3) Đã chứng minh cao chiết methanol toàn phần Thủy bồn thảo an toàn khi sử dụng với mức liều 0,5g và 1g/kgTT chuột.

Đã chứng minh cao chiết methanol toàn phần Thủy bồn thảo liều 0,5g và 1g/kgTT chuột, có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan cấp bằng paracetamol, thể hiện thông qua khả năng làm giảm hoạt độ ALT ở cả 2 mức liều và AST ở mức liều 0,5g/kgTT.

Đã chứng minh cao chiết methanol toàn phần Thủy bồn thảo có tác dụng bảo vệ gan trên mô hình gây tổn thương gan mạn bằng paracetamol, thể hiện thông qua khả năng làm giảm hoạt độ ALT ở liều 0,5g/kgTT và AST ở mức liều 1g/kgTT.

Đã chứng minh được 12 hợp chất phân lập từ Thủy bồn thảo có tác dụng diệt tế bào ung thư cổ tử cung người (HeLa) ở mức độ trung bình.

KIẾN NGHỊ

Bổ sung cây Thủy bồn thảo vào các tài liệu về cây thuốc Việt Nam, cần được bảo vệ và phát triển.

Tiếp tục nghiên cứu sâu hơn nữa nhằm tạo ra các thuốc từ cây Thủy bồn thảo để chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1	Đoàn Xuân Đình, Nguyễn Minh Dũng, Nguyễn Thương Đông, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Lê Cảnh Việt Cường, Lê Thị Liên, Nguyễn Phúc Khánh Nhi, Hoàng Lê Tuấn Anh (2018), “ Ba hợp chất Flavonoid glycosid phân lập từ cao chiết nước của cây Thủy bồn thảo (<i>Sedum sarmentosum</i> Bunge) thu tại Sapa ”, <i>Tạp chí Dược học</i> , số 12/2018, (số 512 năm 58), trang: 17-20.
2	Đoàn Xuân Đình, Nguyễn Minh Dũng, Nguyễn Thương Đông, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Lê Cảnh Việt Cường, Lê Thị Liên, Nguyễn Phúc Khánh Nhi, Hoàng Lê Tuấn Anh (2019), “ Các hợp chất Flavon và Phenolic phân lập từ phân đoạn Ethyl acetat của cây Thủy bồn thảo (<i>Sedum sarmentosum</i> Bunge) thu tại Sapa ”, <i>Tạp chí Dược học</i> , số 1/2019, (số 513 năm 59), trang: 58-61.
3	Dinh Xuan Doan, Sijia Sun, Ashraf M. Omar, Dong Thuong Nguyen, Anh Le Tuan Hoang, Hironori Fujiwara, Kinzo Matsumoto, Hang Thi Nguyet Pham, Suresh Awale (2020), “ Chemical constituents and absolute configuration reassignment of megastigmanes’ isolated from <i>Sedum sarmentosum</i> Bunge ” <i>Natural Product Research</i> , Published online: 20 Oct 2020.
4	Doan Xuan Dinh, Nguyen Thuong Dong, Pham Thi Nguyet Hang (2022), “ Hepatoprotective Effects and Safety Evaluation of Methanolic Extract from <i>Sedum sarmentosum</i> Bunge ” <i>Journal of Medicinal Materials</i> , 8/2022, Vol. 27, No. 4, 2022, 244-251.

