

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



BÙI THỊ XUÂN

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC,
ĐỘC TÍNH VÀ MỘT SỐ TÁC DỤNG SINH HỌC HỖ
TRỢ ĐIỀU TRỊ VIÊM LOÉT DẠ DÀY, TÁ TRÀNG
CỦA LÁ CÂY XÃNG XÊ
(*Sanchezia nobilis* Hook.f.)**

CHUYÊN NGÀNH: DƯỢC LIỆU – DƯỢC HỌC CỔ TRUYỀN

MÃ SỐ: 972.02.06

HÀ NỘI - 2022

Công trình được hoàn thành tại :

- Phòng thí nghiệm trung tâm – Viện Dược liệu
- Khoa dược lý, trường Đại học Y Hà Nội.
- Trường ĐH Y Dược - ĐHQGHN.
- Phòng thí nghiệm trọng điểm – ĐHQGHN.

Người hướng dẫn khoa học :

- TS Trần Minh Ngọc
- TS Trần Thanh Hà

Phản biện 1: PGS.TS Phan Văn Kiệt

Phản biện 2: PGS.TS Phạm Thị Vân Anh

Phản biện 3: PGS.TS Nguyễn Thái An

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án cấp Viện họp tại :

Vào hồi 8 giờ 30 ngày 03 tháng 12 năm 2022

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Viện Dược liệu

A. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Tính cấp thiết của Luận án

Xăng xê có tên khoa học là *Sanchezia nobilis* Hook.f. Một số loài thuộc chi *Sanchezia* Ruiz & Pav được sử dụng trong y học dân gian các nước trong điều trị chống co giật, an thần, ho có đờm, chống lao và chống ung thư. Loại cây này được sử dụng rộng rãi ở Ấn Độ và Bangladesh khi bị rắn cắn, sốt rét, kiết lỵ, tiêu chảy, rối loạn chức năng gan, rề và vỏ cây cũng được dùng trong bệnh dạ dày. Ở Việt Nam, cây được người dân sử dụng trong bệnh viêm loét dạ dày, tá tràng và cắt cơn đau trong các bệnh dạ dày, bệnh do đường tiêu hóa gây ra. Tuy nhiên, hiện nay chưa có nghiên cứu hệ thống nào chứng minh tác dụng này cũng như đánh giá độ an toàn khi sử dụng cây. Vì thế chúng tôi thực hiện đề tài “**Nghiên cứu thành phần hóa học, độc tính và một số tác dụng sinh học hỗ trợ điều trị viêm loét dạ dày, tá tràng của lá Xăng xê (*Sanchezia nobilis* Hook.f.)**” nhằm bổ sung thêm cơ sở dữ liệu hóa học của loài *Sanchezia nobilis* Hook.f. và cung cấp thêm các bằng chứng khoa học về tác dụng sinh học cho việc sử dụng của người dân.

2. Mục tiêu và nội dung của Luận án

2.1. Mục tiêu của luận án

Mục tiêu 1: Phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của một số hợp chất từ lá cây Xăng xê.

Mục tiêu 2: Đánh giá được độc tính, tác dụng chống viêm loét dạ dày tá tràng và giảm đau trung ương của cao toàn phần và các cao phân đoạn lá Xăng xê.

2.2. Nội dung của Luận án

➤ Về thực vật

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

- Về thành phần hóa học
 - Chiết xuất và phân lập 19 hợp chất theo định hướng tác dụng sinh học
 - Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất đã phân lập
- Về độc tính và tác dụng sinh học
 - Xác định độc tính cấp của cao toàn phần và các cao phân đoạn
 - Xác định độc tính bán trường diễn của cao chiết ethyl acetat (phân đoạn có tác dụng tốt nhất trên viêm loét dạ dày)
 - Đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày trên mô hình thắt môn vị (Shay) trên chuột cống trắng
 - Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương trên mô hình tấm nóng và máy đo ngưỡng đau.

3. Những đóng góp mới của Luận án:

3.1. Về thành phần hóa học:

- Luận án đã phân lập và xác định được cấu trúc của 19 hợp chất, trong đó có **1** hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ tự nhiên 13-*O*-acetylfawcettimin (**SXE9**). **12** hợp chất lần đầu tiên phân lập từ chi *Sanchezia* là stigmast-4-ene-3,6-dion (**SXH2**), 7-hydroxy-6-methoxy coumarin (**SXH3**), acid coccinic (**SXH4**), acid betulinic (**SXH6**), fawcettidin (**SXE8**), hispidulin (**SXE10**), kaempferol (**SXE12**), afzelin (**SXE15**), hispidulin-7-*O*- β -glucopyranosid (**SXE16**), hispidulin-4'-*O*- β -glucopyranosid (**SXE17**), hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid methyl ester (**SXE18**), và hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid (**SXE22**).
- Và **6** hợp chất còn lại cũng đã được công bố từ chi *Sanchezia* là: daucosterol (**SXH7**), apigenin (**SXE11**), quercetin (**SXE13**), hyperosid (**SXE14**), apigenin-7-*O*- β -glucuronopyranosid (**SXE19**) và rutin (**SXE20**).

Những công bố của luận án về thành phần hóa học của *Sanchezia nobilis* Hook.f. làm tăng thêm những hiểu biết về thành phần hóa học của cây. Luận án cũng đã cho thấy thành phần hoạt chất chính của cây là nhóm flavonoid, và nhóm chất này tập trung chủ yếu trong phân đoạn ethyl acetat. Kết quả này có thể gợi ý cho các nghiên cứu sâu hơn có thể nghiên cứu làm cao giàu flavonoid, và đánh giá tác dụng sinh học của phân đoạn cao giàu flavonoid để nâng cao hiệu quả sử dụng của cây trên lâm sàng.

3.2. Về tác dụng sinh học:

Luận án đã đánh giá độc tính của lá Xăng xê thông qua kết quả đánh giá độc tính cấp của cao toàn phần và các cao chiết các phân đoạn lá Xăng xê, kết quả đánh giá độc tính bán trường diễn của cao chiết ethyl acetat.

Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày. Người dân nước ta đã và đang sử dụng lá Xăng xê, các sản phẩm có lá Xăng xê hoặc cao lá Xăng xê trong viêm loét dạ dày tá tràng nhưng kết quả nghiên cứu của Luận án là công bố đầu tiên về tác dụng chống viêm loét dạ dày trên mô hình thất môn vị trên chuột cống trắng. Kết quả của luận án giúp cung cấp thêm bằng chứng khoa học cho việc sử dụng của người dân cũng như định hướng sử dụng các cao phân đoạn để làm tăng hiệu quả trong điều trị. Trên Thế giới cũng chưa có một nghiên cứu nào về tác dụng trên viêm loét dạ dày của cây Xăng xê trên mô hình này.

Tác dụng giảm đau trung ương. Luận án là nghiên cứu đầu tiên đánh giá tác dụng giảm đau trung ương trên mô hình máy đo ngưỡng đau của lá Xăng xê. Các phương pháp đánh giá tác dụng giảm đau thường có sai số lớn, độ tin cậy không cao. Luận án đã sử dụng kết

hợp hai phương pháp giúp kết quả nghiên cứu có tính chính xác và độ tin cậy cao hơn.

4. Ý nghĩa của Luận án

Đây là lần đầu tiên cây Xăng xê ở Việt Nam được nghiên cứu đầy đủ về thực vật, thành phần hóa học và 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.

- Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học: đã phân lập được 19 hợp chất ở các phân đoạn chiết khác nhau, trong đó có 1 hợp chất mới, 12 hợp chất lần đầu tiên phân lập được từ chi *Sanchezia* Ruiz & Pav. 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 *Sanchezia* Ruiz & Pav và loài *Sanchezia nobilis* nói riêng.

- Kết quả nghiên cứu về tác dụng sinh học chứng minh cao chiết toàn phần, cao chiết *n*-hexan và ethyl acetat có tác dụng chống viêm loét dạ dày trên mô hình thắt môn vị trên chuột cống trắng (Shay). Cao chiết *n*-hexan và ethyl acetat có tác dụng giảm đau trung ương. 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 bệnh viêm loét dạ dày tá tràng.

5. Cấu trúc của Luận án: Luận án gồm 4 chương, 41 bảng, 43 hình, 2 phụ lục, 214 tài liệu tham khảo. Luận án gồm 137 trang, gồm các phần chính: Đặt vấn đề (02 trang), Tổng quan (32 trang), Nguyên vật liệu và Phương pháp nghiên cứu (13 trang), Kết quả nghiên cứu (62 trang), Bàn luận (26 trang), Kết luận và Đề xuất (02 trang).

B: NỘI DUNG CỦA LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

Đã tổng hợp và trình bày có hệ thống các kết quả nghiên cứu từ trước đến nay về thực vật, thành phần hóa học, tác dụng dược lý, công dụng của chi *Sanchezia* Ruiz & Pav, đồng thời tổng quan về bệnh viêm loét dạ dày và các mô hình đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày.

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

2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

Lá cây *Sanchezia nobilis* Hook.f. (Xăng xê) họ Ô Rô (Acanthaceae) được thu hái vào tháng 1/2018 tại Cỏ Lẽ, Trục Ninh, Nam Định, được phơi sấy, bảo quản trong túi nilon kín, để tiến hành các nghiên cứu về thành phần hóa học, độc tính và tác dụng sinh học. Mẫu được giám định tên khoa học bởi Thạc sĩ Nguyễn Quỳnh Nga, Viện Dược Liệu, Bộ Y tế (Phiếu giám định ngày 28/03/2018 của Viện Dược liệu - Phụ lục 1). Mẫu dược liệu được lưu tại phòng tiêu bản, Khoa Tài Nguyên Cây Thuốc, Viện Dược liệu (số hiệu DL-150118) và được lưu tại Trường ĐH Y Dược, Đại Học Quốc Gia Hà Nội với số hiệu 190DV18 SMP-VNU.

- Động vật, hóa chất, dung môi đạt tiêu chuẩn thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Xác định tên khoa học của cây nghiên cứu dựa trên cơ sở phân tích đặc điểm hình thái thực vật và so sánh đối chiếu với các khóa phân loại chi *Sanchezia* Ruiz & Pav.

- Chiết xuất và các phân đoạn từ cao toàn phần từ dược liệu bằng phương pháp chiết ngâm, chiết lỏng-lỏng.

- Phân lập các chất bằng sắc ký cột (CC) sử dụng pha thuận (silica gel 40-63 μm , Merck), pha đảo RP-18 (30-50 μm , Fuji Silysia Chemical Ltd.), Sephadex LH20 và HPLC điều chế. Theo dõi các phân đoạn sắc ký bằng sắc ký lớp mỏng.

- Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định dựa vào các hằng số vật lý (điểm chảy, góc quay cực) các dữ kiện phổ như phổ khối phun mù điện tử ESI-MS, phổ khối lượng phân giải cao (HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1D ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT) kết hợp với phổ 2D (HMBC, HSQC, COSY và NOESY) và so sánh với các dữ liệu phổ đã công bố trong tài liệu tham khảo

- Đánh giá độc tính cấp theo phương pháp Litchfield-Wilcoxon và theo hướng dẫn của Bộ Y tế; đánh giá độc tính bán trường diễn theo Hướng dẫn kiểm tra độc tính hóa học theo đường uống (OECD).

- Đánh giá tác dụng chống viêm loét dạ dày trên mô hình thắt môn vị trên chuột cống trắng (Shay).

- Đánh giá tác dụng giảm đau trung ương trên mô hình mâm nóng và máy đo ngưỡng đau của cao tổng và các cao phân đoạn.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu thành phần hóa học

3.1.1. Phân lập và xác định cấu trúc hóa học các chất đã phân lập được

Lá của cây Xăng xê (6,8 kg) chiết ngâm bằng EtOH 80% (3 lần x 3 ngày) ở nhiệt độ phòng thu được 567 g cao toàn phần. Lấy 316 g cao toàn chiết lần lượt với *n*-hexan, ethyl acetat, thu được lần lượt các cao *n*-hexan (60 g), ethyl acetat (121 g) còn lại là cao nước (119 g). Một phần cao toàn phần 150 g được chiết phân đoạn tương tự như trên để thử hoạt tính sinh học. Qua kết quả nghiên cứu tác

dụng được lý, cao chiết *n*-hexan và ethyl acetat có tác dụng trên viêm loét dạ dày. Nghiên cứu đã thực hiện phân lập và xác định cấu trúc từ 2 phân đoạn này.

Phần cao chiết *n*-hexan (60 g) được phân tách bằng sắc ký cột pha thường silica gel thu được 9 nhóm phân đoạn **H1** (1-29), **H2** (30-49), **H3** (50-79), **H4** (80-125), **H5** (126-150), **H6** (151-195), **H7** (196-214), **H8** (215-259) và **H9** (260-300). Nhóm phân đoạn **H2** thu được 1 hợp chất **SXH2** (15 mg). Nhóm phân đoạn **H4** thu được **SXH3** (15 mg). Nhóm phân đoạn **H5** thu được **SXH4** (15 mg). Nhóm phân đoạn thu được **SXH6** (27 mg) và **SXH7** (19 mg).

Phần cao chiết ethyl acetat được hòa tan bằng acid tartric 2% (1,0 L) đến pH 1-2, thu được cao phân đoạn alcaloid **E1** 20 g và phần cao còn lại **E2** (101 g). Từ cao **E1** (20 g) phân lập được **SXE8** (15 mg) và **SXE9** (12 mg). Từ cao **E2** (101 g) phân đoạn bằng phương pháp sắc ký cột silica gel pha thu được 5 phân đoạn chính từ **E2.1-E2.5**. Phân đoạn **E2.1** (5,0 g) thu được **SXE10** (10 mg). Phân đoạn **E2.2** (2,0 g) thu được thêm lượng hợp chất **SXE10** (30 mg). Phân đoạn **E2.3** (4,0 g) thu được ba hợp chất lần lượt là **SXE11** (8 mg), **SXE12** (10 mg) và **SXE13** (14 mg). Phân đoạn **E2.4** (2,0 g) thu được **SXE14** (8 mg) và **SXE15** (9 mg). Phân đoạn **E2.4.6** (0,3 g) thu được **SXE16** (9,1 mg) và **SXE17** (12 mg). Phân đoạn **E2.4.8** (0,25 g) thu được **SXE18** (30 mg) và **SXE19** (7 mg). Phân đoạn **E2.5** (3,0 g) phân lập được **SXE20** (16 mg) **SXE22** (30 mg).

* **Hợp chất SXH2: stigmast-4-ene-3,6-dion**, là chất bột màu trắng, T_{nc} : 272-274°C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 1,92 (1H,

dd, $J = 14,0; 5,5$ Hz, H-1a); 2,15 (1H, dd, $J = 11,5; 3,0$ Hz, H-1b); 2,45 (1H, m, H-2a); 2,53 (1H, m, H-2b); 6,2 (1H, s, H-4); 2,01 (1H, dd, $J = 12,5; 3,5$ Hz, H-7a); 2,68 (1H, dd, $J = 20,0; 4,0$ Hz, H-7b); 1,89 (1H, m, H-8); 1,35 (1H, m, H-9); 1,62 (2H, m, H-11); 2,03 (1H, dd, $J = 12,5; 3,5$ Hz, H-12a); 1,26 (1H, m, H-12b); 1,20 (1H, m, H-14); 1,61 (1H, m, H-15a); 1,14 (1H, m, H-15b); 1,90 (1H, m, H-16a); 1,30 (1H, m, H-16b); 1,19 (1H, m, H-17); 0,72 (3H, s, H-18); 1,17 (3H, s, H-19); 1,35 (1H, m, H-20); 0,93 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21); 1,04 (2H, m, H-22); 1,20 (2H, m, H-23); 0,84 (1H, m, H-24); 1,67 (1H, m, H-25); 0,83 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-26); 0,88 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-27); 1,23 (2H, m, H-28); 0,92 (3H, d, $J = 8,0$ Hz, H-29). ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 35,6 (C-1); 34,0 (C-2); 199,1 (C-3); 125,0 (C-4); 160,1 (C-5); 202,0 (C-6); 46,9 (C-7); 34,2 (C-8); 51,0 (C-9); 39,9 (C-10); 20,9 (C-11); 39,2 (C-12); 42,6 (C-13); 56,6 (C-14); 24,0 (C-15); 28,0 (C-16); 55,9 (C-17); 12,0 (C-18); 17,6 (C-19); 36,0 (C-20); 18,8 (C-21); 33,9 (C-22); 26,1 (C-23); 45,8 (C-24); 29,2 (C-25); 19,9 (C-26); 19,0 (C-27); 23,1 (C-28); 11,9 (C-29).

* **Hợp chất SXH3 (scopoletin)**: là chất rắn màu vàng nhạt. ^1H -NMR (acetone- d_6 , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 6,16 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, H-3); 7,83 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, H-4); 7,18 (1H, s, H-5); 6,79 (1H, s, H-8); 3,09 (3H, s, 6-OCH₃). ^{13}C -NMR (acetone- d_6 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 161,2 (C-2); 109,9 (C-3); 144,6 (C-4); 113,3 (C-5); 145,9 (C-6); 151,9 (C-7); 103,7 (C-8); 151,1 (C-9); 112,1 (C-10); 56,7 (6-OCH₃).

* **Hợp chất SXH4 (acid coccinic)**: là tinh thể hình kim không màu, T_{nc} : 151-152°C; ESI-MS: m/z 455,0 [M + H]⁺ (CTPT: C₃₀H₄₆O₃, M = 454,3). ^1H -NMR (CDCl_3 , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 2,11 (1H, m, H-1a), 1,82 (1H, td, $J = 5,4; 13,2$ Hz, H-1b); 2,74 (1H, dddd, $J = 6,32; 13,4; 15,4$ Hz, H-2a); 2,38 (1H, dq, $J = 3,16; 5,32; 15,4$ Hz, H-2b); 1,36

(1H, m, H-5); 1,35 (2H, m, H-6); 1,69 (1H, m, H-7a); 1,41 (1H, m, H-7b); 2,22 (1H, m, H-8); 5,28 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-11); 2,08 (1H, m, H-12a); 1,9 (1H, m, H-12b); 1,34 (2H, m, H-15); 1,94 (1H, m, H-16a); 1,58 (1H, m, H-16b); 1,64 (1H, m, H-17); 0,68 (3H, s, H-18); 1,22 (3H, s, H-19); 1,42 (1H, m, H-20); 0,89 (3H, d, $J = 6,4$ Hz, H-21); 1,55 (1H, m, H-22a); 1,15 (1H, m, H-22b); 2,56 (1H, m, H-23a); 2,46 (1H, m, H-23b); 6,08 (1H, td, $J = 1,2; 7,3$ Hz, H-24); 1,93 (3H, s, H-27); 1,07 (3H, s, H-28); 1,07 (3H, s, H-29); 0,47 (3H, s, H-30). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) δ_{C} (ppm): 36,8 (C-1); 34,9 (C-2); 217,3 (C-3); 47,7 (C-4); 53,4 (C-5); 27,7 (C-6); 22,6 (C-7); 41,9 (C-8); 147,1 (C-9); 39,1 (C-10); 116,3 (C-11); 37,2 (C-12); 44,3 (C-13); 47,0 (C-14); 33,9 (C-15); 28,0 (C-16); 50,9 (C-17); 21,8 (C-18); 14,4 (C-19); 36,1 (C-20); 18,2 (C-21); 35,9 (C-22); 26,9 (C-23); 147,1 (C-24); 125,8 (C-25); 172,6 (C-26); 20,6 (C-27); 22,1 (C-28); 25,6 (C-29); 18,4 (C-30).

* **Hợp chất SXH6 (acid betulinic)**: là tinh thể hình kim màu trắng màu, hiện màu vàng cam với thuốc thử H_2SO_4 10%. ESI-MS: m/z 457,0 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (CTPT: $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$, $M = 456,4$). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz), δ_{H} (ppm): 3,19 (1H, dd, $J = 4,8; 12,0$ Hz, H-3); 0,68 (1H, d, $J = 9,6$ Hz, H-5); 1,48-1,50 (2H, m, H-6); 1,42 (1H, m, H-7a); 1,46 (1H, m, H-7b); 1,26 (1H, m, H-9); 1,47 (2H, m, H-11); 1,08 (1H, m, H-12a); 1,60 (1H, m, H-12b); 1,95 (1H, m, H-13); 1,17 (1H, m, H-15a); 1,54 (1H, m, H-15b); 1,38 (2H, m, H-16); 1,56 (1H, m, H-18); 3,00 (1H, ddd, $J = 7,2; 12,6$ Hz, H-19); 1,4 (2H, m, H-21); 1,39 (2H, m, H-22); 0,98 (3H, s, H-23); 0,97 (3H, s, H-24); 0,82 (3H, s, H-25); 0,75 (3H, s, H-26); 1,03 (3H, s, H-27); 4,74 (2H, d, $J = 1,8$ Hz, H-29); 1,69 (3H, s, H-30). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz): δ_{C} (ppm): 38,7 (C-1); 27,4 (C-2); 79,0 (C-3); 38,9 (C-4); 55,4 (C-5); 18,3 (C-

6); 34,4 (C-7); 40,7 (C-8); 50,4 (C-9); 37,3 (C-10); 20,9 (C-11); 25,6 (C-12); 38,4 (C-13); 42,5 (C-14); 29,7 (C-15); 32,2 (C-16); 56,3 (C-17); 49,3 (C-18); 46,9 (C-19); 150,4 (C-20); 30,6 (C-21); 37,0 (C-22); 28,0 (C-23); 16,1 (C-24); 16,2 (C-25); 15,4 (C-26); 14,7 (C-27); 179,3 (C-28); 109,7 (C-29); 19,4 (C-30).

* **Hợp chất SXH7 (daucosterol)**: là chất rắn màu trắng, T_{nc} : 284-286°C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 1,12 (1H, m, H-1a); 1,92 (1H, m, H-1b); 1,62 (1H, m, H-2a); 1,90 (1H, m, H-2b); 3,58 (1H, m, H-3); 2,28 (1H, m, H-4a); 2,41 (1H, m, H-4b); 5,40 (1H, brs, H-6); 1,56 (1H, m, H-7a); 2,00 (1H, m, H-7b); 1,49 (1H, m, H-8); 0,97 (1H, m, H-10); 1,56 (2H, m, H-11); 1,20 (1H, m, H-12a); 2,03 (1H, m, H-12b); 1,05 (1H, m, H-14); 1,14 (1H, m, H-15a); 1,62 (1H, m, H-15b); 1,89 (2H, m, H-16); 1,16 (1H, m, H-17); 0,70 (3H, s, H-18); 1,08 (3H, s, H-19); 1,36 (1H, m, H-20); 0,96 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21); 1,36 (2H, m, H-22); 1,23 (2H, m, H-23); 0,99 (1H, m, H-24); 1,69 (1H, m, H-25); 0,85 (3H, d, $J = 7,5$ Hz, H-26); 0,92 (3H, d, $J = 7,5$ Hz, H-27); 2,32 (2H, m, H-28); 0,84 (3H, d, $J = 2,0$ Hz, H-29); 4,40 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H-1'); 3,23 (1H, m, H-2'); 3,26 (1H, m, H-3'); 3,29 (1H, m, H-4'); 3,37 (1H, m, H-5'); 3,60 (1H, m, H-6'a); 3,82 (1H, m, H-6'b). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 36,8 (C-1); 29,3 (C-2); 77,5 (C-3); 38,8 (C-4); 141,3 (C-5); 122,0 (C-6); 32,0 (C-7); 29,7 (C-8); (C-9); 36,3 (C-10); 21,1 (C-11); 39,9 (C-12); 42,4 (C-13); 56,9 (C-14); 24,4 (C-15); 26,2(C-16); 56,2 (C-17); 12,1 (C-18); 19,4 (C-19); 34,1 (C-20); 19,1 (C-21); 32,1 (C-22); 23,0 (C-23); 46,0 (C-24); 29,3 (C-25); 18,8 (C-26); 18,9 (C-27); 19,7 (C-28); 12,0 (C-29); 101,2 (C-1'); 75,8 (C-2'); 79,4 (C-3'); 73,6 (C-4'); 77,3 (C-5'); 61,9 (C-6').

* **Hợp chất SXE8 (fawcettidin)**: là chất rắn dạng bột màu trắng, hiện màu vàng cam trên thuốc thử Dragendorff. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 3,13 (1H, m, H-1a); 3,04 (1H, m, H-1b); 1,35 (1H, m, H-2a); 1,75 (1H, m, H-2b); 1,75 (1H, m, H-3a); 2,27 (1H, m, H-3b); 2,32 (1H, m, H-4); 1,89 (1H, m, H-6a); 2,05 (1H, m, H-6b); 1,94-1,98 (1H, m, H-7); 1,23-1,26 (2H, m, H-8); 3,10 (1H, m, H-9a); 2,97 (1H, m, H-9b); 1,60 (1H, m, H-10a); 2,00 (1H, m, H-10b); 1,61 (1H, m, H-11a); 2,10 (1H, m, H-11b); 5,70 (1H, d, $J = 5,2$ Hz, H-14); 2,74 (1H, dd, $J = 16,8; 7,5$ Hz, H-15); 1,05 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-16). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 60,3 (C-1); 29,1 (C-2); 31,0 (C-3); 56,2 (C-4); 218,0 (C-5); 44,1 (C-6); 37,0 (C-7); 34,1 (C-8); 51,9 (C-9); 24,0 (C-10); 39,1 (C-11); 46,1 (C-12); 145,0 (C-13); 127,1 (C-14); 27,7 (C-15); 21,1 (C-16).

* **Hợp chất SXE9 (13-O-acetyl fawcettimin)** (chất mới): là chất rắn vô định hình màu trắng. Hiện màu vàng cam trên thuốc thử Dragendorff. Phổ HR-ESI-MS xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 306,2058 $[\text{M} + \text{H}]^+$, vì thế khối lượng phân tử của **SXE9** là $M = 305,1991$, dựa vào khối lượng có thể dự đoán trong cấu trúc có chứa dị tố nitơ, từ các dữ kiện trên kết hợp với phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cho phép ta có thể dự đoán hợp chất **SXE9** phù hợp với công thức phân tử $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_3$ ($M = 305,1991$). Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất **SXE9** cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của nhóm methyl ở δ_{H} 0,99 (3H, d, $J = 6,5$) và một tín hiệu methyl singlet ở δ_{H} 1,97 (3H, s). Kết hợp giữa $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ HSQC cho thấy sự xuất hiện của 2 nhóm CH_3 , 3 nhóm CH, 9 nhóm CH_2 , 2 carbon không chứa hydro, trong đó một tín hiệu carbon chuyển dịch về trường thấp ở δ_{C} 94,7 và hai nhóm carbonyl ở δ_{C} 216,4 và δ_{C} 180,0. Dựa vào số liên kết pi trong phân tử ($n = 6$), ngoại trừ 2 liên kết đôi ở nhóm $\text{C}=\text{O}$, có thể giả thiết phân tử **SXE9**

có chứa số vòng liên kết là 4. Từ các dữ kiện phổ trên có thể dự đoán hợp chất SXE9 là dẫn xuất của fawcettimin. Thêm vào đó, trên phổ HMBC chỉ ra tương tác giữa proton của nhóm methyl ở H-16 (δ_H 0,99) với C-15 (δ_C 23,6), chứng tỏ nhóm methyl được gắn vào vị trí C-15, nhóm methyl ở H-17 (δ_H 1,97) tương tác với carbonyl ở C-17 (δ_C 180,0) và sự chuyển dịch về phía trường thấp của C-13 (δ_C 94,7) chứng tỏ nhóm acetoxy được gắn ở vị trí C-13 của khung fawcettimin. Ngoài ra các tương tác HMBC giữa H-1 (δ_H 3,44)/H-4 (δ_H 2,04)/H-14 (δ_H 1,86) với C-13 (δ_C 94,7) chứng tỏ được các vị trí liên kết của khung fawcettimin. Thêm vào đó tương tác HMBC của H-4 (δ_H 2,04)/H-6 (δ_H 2,63)/H-7 (δ_H 2,09)/H-3 (δ_H 2,22) với C-5 (δ_C 216,4) chỉ ra các vị trí của proton và C-5. Tương tác HMBC giữa H-11 (δ_H 2,19; 2,07)/H-6 (δ_H 2,15)/H-14 (δ_H 2,2) với C-12 (δ_C 47,2) xác định được vị trí của C-12 trong cấu trúc. Phổ COSY chỉ ra tương tác giữa H-9 (δ_H 3,89; 2,86)/H-11 (δ_H 2,19) với H-10 (δ_H 1,91), tương tác giữa H-1 (δ_H 3,44)/H-3 (δ_H 2,22; 1,57) với H-2 (δ_H 2,22; 1,86), tương tác giữa H-3 (δ_H 2,22) với H-4 (δ_H 2,04), giữa H-6 (δ_H 2,63; 2,15)/H-8 (δ_H 1,7) với H-7 (δ_H 2,07). Ngoài ra còn các tương tác giữa H-16 (δ_H 0,99)/H-14 (δ_H 2,2)/H-8 (δ_H 1,7) với H-15 (δ_H 2,16). Phổ NOESY chỉ ra vị trí tương đối của các proton trong cấu trúc. Từ giá trị của hằng số tương tác của H-6a ở δ_H 2,63 (1H, q, $J = 13,0; 17,75$) và tài liệu tham khảo cho thấy định hướng β của H-6a, thêm vào đó tương tác của H-6a (δ_H 2,63) với H-15 (δ_H 2,16) chỉ ra định hướng β của H-15. Mặt khác tương tác của H-6b (δ_H 2,15) với H-7 (δ_H 2,07)/H-4 (δ_H 2,04) chỉ ra định hướng α của H-7 và H-4. Bên cạnh đó, tương tác giữa H-7 (δ_H 2,07) với H-11 (δ_H 2,40; 2,07) chỉ ra định hướng α của nhóm CH₂ ở vị trí 12. Vì vậy cấu trúc của hợp chất SXE9 được xác định là 13-O-acetyl fawcettimin.

* **Hợp chất SXE10 (hispidulin)**: là chất rắn dạng bột màu vàng, ESI-MS: m/z 301,0 $[M + H]^+$, (CTPT: $C_{16}H_{12}O_6$, $M = 300,1$). 1H -NMR (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ_H (ppm): 6,59 (1H, s, H-3); 6,77 (1H, s, H-8); 7,92 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-2', H-6'); 6,92 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-3', H-5'); 3,75 (3H, s, 3-OCH₃); 13,07 (1H, brs, 5-OH). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz), δ_C (ppm): 163,8 (C-2); 102,4 (C-3); 182,1 (C-4); 152,4 (C-5); 131,3 (C-6); 157,2 (C-7); 94,2 (C-8); 152,4 (C-9); 104,1 (C-10); 121,2 (C-1'); 128,5 (C-2',6'); 116,0 (C-3',5'); 161,2 (C-4'); 60,0 (3-OCH₃).

* **Hợp chất SXE11 (apigenin)**: là chất rắn màu vàng sáng, ESI-MS: m/z 270,9 $[M + H]^+$ (CTPT $C_{15}H_{10}O_5$, $M = 270,1$). 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ_H (ppm): 6,77 (1H, s, H-3); 6,47 (1H, d, H-6); 6,17 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8); 7,91 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-2', 6'); 6,92 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3', 5'); 12,94 (1H, s, 5-OH). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ_C (ppm): 163,7 (C-2); 102,8 (C-3); 181,7 (C-4); 161,4 (C-5); 98,8 (C-6); 164,1 (C-7); 93,9 (C-8); 157,3 (C-9); 103,7 (C-10); 121,1 (C-1'); 128,4 (C-2',4'); 115,9 (C-3',5'); 161,1 (C-4').

* **Hợp chất SXE12 (kaempferol)**: là chất rắn màu vàng sáng, ESI-MS: m/z 284,8 $[M - H]^-$ (CTPT $C_{15}H_{10}O_6$, $M = 286,0$). 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz), δ_H (ppm): 6,18 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6); 6,43 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8); 8,04 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-2',4'); 6,92 (2H, d, $J = 9,0$ Hz, H-3',5'); 12,47 (1H, s, 5-OH). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ_C (ppm): 146,8 (C-2); 135,6 (C-3); 175,9 (C-4); 160,7 (C-5); 98,2 (C-6); 163,8 (C-7); 93,4 (C-8); 156,1 (C-9); 103,0 (C-10); 121,6 (C-1'); 129,4 (C-2',4'); 115,0 (C-3',5'); 159,1 (C-4').

* **Hợp chất SXE13 (quercetin)**: là chất dạng bột màu vàng đậm, ESI-MS: m/z 302,8 $[M + H]^+$ và m/z 300,8 $[M - H]^-$, (CTPT: $C_{15}H_{10}O_7$, $M = 302,0$). 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz), δ_H (ppm): 6,18 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6); 6,40 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8); 7,67 (1H, d, $J = 2,5$

Hz, H-2'); 6,88 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5'); 7,53 (1H, dd, $J = 8,5; 2,5$ Hz, H-6'). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 146,8 (C-2); 135,7 (C-3); 175,8 (C-4); 160,7 (C-5); 98,1 (C-6); 163,8 (C-7); 93,3 (C-8); 156,1 (C-9); 103,0 (C-10); 121,9 (C-1'); 115,0 (C-2'); 145,0 (C-3'); 147,7 (C-4'); 115,6 (C-5'); 119,9 (C-6').

* **Hợp chất SXE14 (hyperosid)**: là chất dạng bột màu vàng, ESI-MS: m/z 465,10 $[\text{M} + \text{H}]^+$ và m/z 463,15 $[\text{M} - \text{H}]^-$ (CTPT: $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$, $\text{M} = 464,10$). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 6,21 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6); 6,42 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8); 7,53 (2H, d, $J = 2,5$ Hz, H-2'); 6,83 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-5'); 7,68 (1H, dd, $J = 2,5; 8,5$ Hz, H-6'); 12,63 (1H, s, 5-OH); 5,39 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'"); 3,46 (1H, m, H-2'"); 3,56 (1H, m, H-3'"); 3,30-3,40 (4H, m, H-4'"; 5'"; 6'"). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 156,3 (C-2); 133,4 (C-3); 177,6 (C-4); 161,3 (C-5); 98,8 (C-6); 164,2 (C-7); 93,6 (C-8); 156,4 (C-9); 103,9 (C-10); 121,3 (C-1'); 115,3 (C-2'); 144,9 (C-3'); 148,5 (C-4'); 115,9 (C-5'); 121,9 (C-6'); 101,9 (C-1'"); 71,3 (C-2'"); 73,3 (C-3'"); 67,9 (C-4'"); 75,9 (C-5'"); 60,2 (C-6'").

* **Hợp chất SXE15 (afzelin)**: là chất rắn màu vàng nhạt. ESI-MS: m/z 433,2 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (CTPT: $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$, $\text{M} = 432,1$). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 6,17 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6); 6,42 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8); 7,74 (2H, d, $J = 7,5$ Hz, H-2', 6'); 6,93 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-3', 5'); 5,39 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-1'"); 4,26 (1H, m, H-2'"); 3,75 (1H, m, H-3'"); 3,36 (1H, m, H-4'"); 3,35 (1H, m, H-5'"); 0,95 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-6'"). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 158,3 (C-2); 136,1 (C-3); 179,4 (C-4); 162,9 (C-5); 99,8 (C-6); 165,6 (C-7); 94,7 (C-8); 159,1 (C-9); 105,8 (C-10); 122,6 (C-1'); 132,2 (C-2', 6'); 116,4 (C-3', 5'); 161,4 (C-4'); 103,4 (C-1'"); 72,1 (C-2'"); 72,9 (C-3'"); 73,2 (C-4'"); 71,8 (C-5'"); 17,6 (C-6'").

* **Hợp chất SXE16 (hispidulin-7-O- β -glucopyranosid)**: là chất rắn màu vàng sáng, ESI-MS: m/z 460,9 [M - H]⁻ và m/z 485,0 [M + Na]⁺, (CTPT: C₂₂H₂₂O₁₁, M = 462,1). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz), δ_H (ppm): 7,00 (1H, s, H-3); 6,81 (1H, s, H-8); 7,92 (2H, d, J = 8,4 Hz, H-2', 6'); 6,90 (2H, d, J = 8,8 Hz, H-3',5'); 13,0 (1H, brs, 5-OH); 5,10 (1H, d, J = 4,6 Hz, H-1''); 3,45-3,33 (1H, m, H-2''); 3,45-3,33 (1H, t, H-3''); 3,21 (1H, t, J = 8,9 Hz, H-4''); 3,45-3,33 (1H, m, H-5''); 3,46 (1H, d, H-6''a); 3,75 (1H, d, J = 10,6 Hz, H-6''b); 3,76 (3H, s, 3-OCH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz), δ_C (ppm): 164,5 (C-2); 102,3 (C-3); 182,3 (C-4); 152,5 (C-5); 132,6 (C-6); 154,6 (C-7); 94,3 (C-8); 152,2 (C-9); 105,7 (C-10); 120,1 (C-1'); 128,6 (C-2',6'); 116,3 (C-3',5'); 162,7 (C-4'); 100,2 (C-1''); 73,2 (C-2''); 76,8 (C-3''); 69,6 (C-4''); 77,3 (C-5''); 60,3 (C-6''); 60,6 (3-OCH₃).

* **Hợp chất SXE17 (hispidulin-4'-O- β -glucopyranosid)**: là chất rắn màu vàng sáng, HR-ESI MS (positive): m/z 463,1232 [M + H]⁺, m/z 461,1088 [M - H]⁻ và m/z 497,0851 [M + Cl]⁻, (CTPT: C₂₂H₂₂O₁₁, M = 462,1162). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz), δ_H (ppm): 6,54 (1H, s, H-3); 6,05 (1H, s, H-8); 7,90 (2H, d, J = 8,9 Hz, H-2', 6'); 7,15 (2H, d, J = 8,9 Hz, H-3', 5'); 12,78 (1H, brs, 5-OH); 4,98 (1H, d, J = 7,5 Hz, H-1''); 3,38-3,27 (1H, m, H-2'',3''); 3,19 (1H, t, J = 9,0 Hz, H-4''); 3,38-3,27 (1H, m, H-5''); 3,49 (1H, d, J = 2,4; 11,7 Hz, H-6''a); 3,70 (1H, dd, J = 2,4; 11,7 Hz H-6''b); 3,65 (3H, s, 3-OCH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz), δ_C (ppm): 160,8 (C-2); 102,8 (C-3); 179,8 (C-4); 151,6 (C-5); 133,8 (C-6); 156,3 (C-7); 96,2 (C-8); 153,4 (C-9); 99,5 (C-10); 125,0 (C-1'); 127,5 (C-2',6'); 116,6 (C-3',5'); 159,6 (C-4'); 100,0 (C-1''); 73,3 (C-2''); 77,2 (C-3''); 69,7 (C-4''); 76,6 (C-5''); 60,7 (C-6''); 58,9 (3-OCH₃).

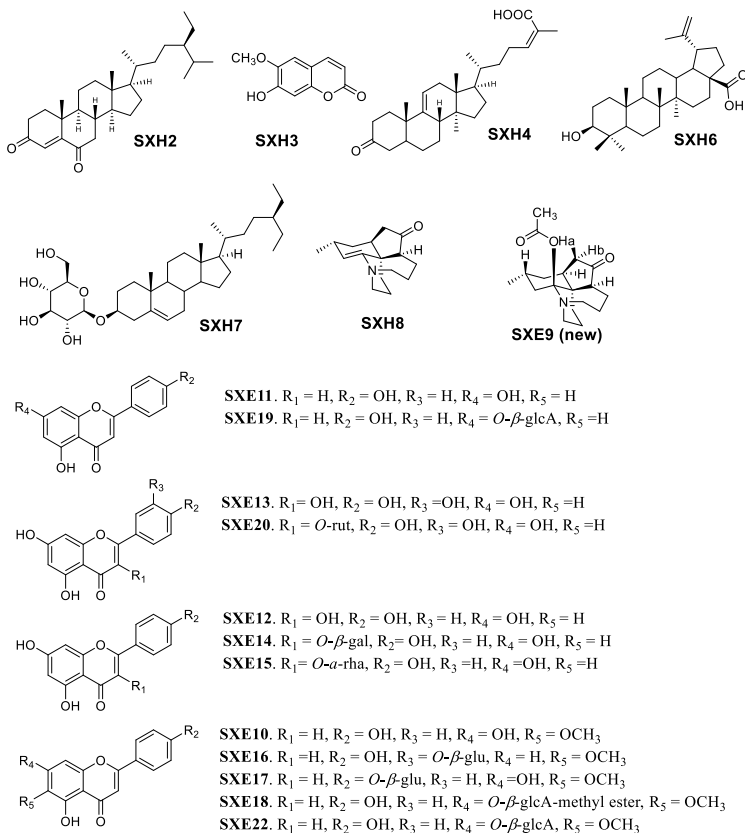
* **Hợp chất SXE18 (hispidulin-7-O- β -glucuronopyranosid methyl ester)**: là chất rắn có màu vàng sáng, phổ ESI-MS: m/z 488,9 [M - H]⁻ và 491,0 [M + H]⁺ (CTPT C₂₃H₂₀O₁₂, M = 490,1). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz), δ_H (ppm): 6,86 (1H, s, H-3); 7,07 (1H, s, H-8); 7,95 (2H, d, J = 8,8 Hz, H-2',6'); 6,95 (2H, d, J = 8,8 Hz, H-3',5'); 13,0 (1H, s, 5-OH); 5,35 (1H, d, J = 7,2 Hz, H-1''); 3,42-3,37 (1H, m, H-2'',4''); 4,20 (1H, d, J = 9,6 Hz, H-5''); 3,66 (3H, s, 6''-OCH₃); 3,75 (3H, s, 3-OCH₃). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz), δ_C (ppm): 164,4 (C-2); 102,8 (C-3); 182,4 (C-4); 152,7 (C-5); 132,5 (C-6); 156,0 (C-7); 93,9 (C-8); 152,2 (C-9); 105,9 (C-10); 121,1 (C-1'); 128,6 (C-2',6'); 116,1 (C-3',5'); 161,4 (C-4'); 99,4 (C-1''); 72,8 (C-2''); 75,7 (C-3''); 71,3 (C-4''); 75,3 (C-5''); 169,2 (C-6''); 52,0 (6''-OCH₃); 60,4 (3-OCH₃).

* **Hợp chất SXE19 (apigenin-7-O- β -glucuronid)**: là chất rắn màu vàng sáng, ESI-MS: m/z 446,8 [M + H]⁺ và m/z 444,9 [M - H]⁻, CTPT C₂₁H₁₈O₁₁ (M = 446,1). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz), δ_H (ppm): 6,81 (1H, s, H-3); 6,81 (1H, s, H-6); 6,41 (1H, s, H-8); 7,90 (2H, d, J = 7,7 Hz, H-2',6'); 6,91 (2H, d, J = 7,7 Hz, H-3',5'); 12,97 (1H, brs, 5-OH); 5,09 (1H, d, J = 4,9 Hz, H-1''); 3,30-3,25 (1H, m, H-2''-4''); 3,68 (1H, d, J = 7,2 Hz, H-5''). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz), δ_C (ppm): 164,7 (C-2); 103,4 (C-3); 182,4 (C-4); 159,5 (C-5); 99,9 (C-6); 163,4 (C-7); 95,1 (C-8); 157,4 (C-9); 105,8 (C-10); 121,2 (C-1'); 128,9 (C-2',6'); 116,5 (C-3',5'); 162,1 (C-4'); 100,1 (C-1''); 73,4 (C-2''); 76,8 (C-3''); 72,4 (C-4''); 74,6 (C-5''); 173,4 (C-6'').

* **Hợp chất SXE20 (rutin)**: là chất rắn màu vàng sáng. ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz), δ_H (ppm): 6,19 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-6); 6,38 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-8); 7,53 (2H, d, J = 2,0 Hz, H-2'); 6,83 (2H, d, J = 8,0 Hz, H-5'); 7,55 (1H, dd, J = 2,0; 8,0 Hz, H-6'); 5,35 (1H, d, J

= 7,5 Hz, H-1''); 3,22-3,5 (4H, m, H-2''); 3,22-3,5 (1H, m, H-3''); 3,22 (1H, m, H-5''); 3,72 (1H, brs, H-6''a); 3,24 (1H, m, H-6''b); 4,38 (1H, s, H-1'''); 3,05-3,39 (4H, m, H-2'''); 3,39 (1H, m, H-3'''); 3,05 (1H, m, H-5'''); 0,98 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-6'''). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 156,6 (C-2); 133,3 (C-3); 177,3 (C-4); 161,2 (C-5); 98,6 (C-6); 164,0 (C-7); 93,5 (C-8); 156,4 (C-9); 103,9 (C-10); 121,2 (C-1'); 116,2 (C-2'); 144,7 (C-3'); 148,4 (C-4'); 115,2 (C-5'); 121,5 (C-6'); 100,2 (C-1''); 7,0 (C-2''); 75,9 (C-3''); 68,2 (C-4''); 16,4 (C-5''); 67,0 (C-6''); 100,7 (C-1'''); 70,5 (C-2'''); 70,3 (C-3'''); 71,8 (C-4'''); 70,0 (C-5'''); 17,7 (C-6''').

* **Hợp chất SXE22 (hispidulin-7-O- β - glucuronopyranosid)**: là chất rắn màu vàng sáng, phổ ESI-MS chỉ ra sự xuất hiện của pic ion giả phân tử m/z 474,9 $[\text{M} - \text{H}]^-$, CTPT $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ ($\text{M} = 476,1$). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 500 MHz), δ_{H} (ppm): 6,68 (1H, s, H-3); 7,02 (1H, s, H-8); 7,92 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-2', 6'); 6,96 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-3', 5'); 5,22 (1H, d, $J = 7,4$ Hz, H-1''); 3,69-3,61 (1H, m, H-2''-4''); 4,01 (1H, d, $J = 9,0$ Hz, H-5''); 3,96 (3H, s, 3-OCH₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 125 MHz), δ_{C} (ppm): 164,3 (C-2); 102,4 (C-3); 182,3 (C-4); 152,4 (C-5); 132,4 (C-6); 156,5 (C-7); 94,1 (C-8); 152,1 (C-9); 105,6 (C-10); 120,6 (C-1'); 128,4 (C-2',6'); 115,9 (C-3',5'); 161,7 (C-4'); 99,7 (C-1''); 73,0 (C-2''); 76,7 (C-3''); 71,9 (C-4''); 73,9 (C-5''); 172,1 (C-6''); 60,3 (3-OCH₃).



Hình 4.1. Cấu trúc hóa học của 19 hợp chất phân lập được từ lá Xăng xê

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

Từ cao toàn phần (567 g) lấy 150 g chiết với các dung môi *n*-hexan, ethyl acetat và nước như trên. Các cao được cô tới khối lượng không đổi và đem đo độ ẩm lần lượt là cao *n*-hexan (28,6 g độ ẩm 2,3%), ethyl acetat (56,8 g độ ẩm 23,0%) và còn lại là cao

nước (55,6 g độ ẩm 22,8%). Các cao này được dùng để đánh giá tác dụng sinh học.

Bảng 2. 1. Các mức liều thử tác dụng sinh học của cao tổng và các cao chiết các phân đoạn lá Xăng xê

Thử nghiệm	Liều nghiên cứu (mg/kg thể trọng chuột/ngày)			
	Liều thấp	Liều tương đương 12 g DL khô/ngày/người	Liều cao	
Chống viêm loét dạ dày cao toàn phần trên chuột cống trắng	50	150	450	
Từ mức liều cao tổng 150 mg/kg thể hiện tác dụng trên viêm loét dạ dày, nghiên cứu xây dựng các mức liều cao phân đoạn như sau:				
Chống viêm loét dạ dày cao các phân đoạn trên chuột cống trắng	<i>n</i> -hexan		50	
	ethyl acetat		50	
	nước		100	
Tác dụng giảm đau trung ương (cả 2 mô hình) trên chuột nhắt trắng	<i>n</i> -hexan		100	300
	ethyl acetat		100	300
	nước		200	600
Độc tính bán trường diễn cao ethyl acetat trên chuột cống trắng		50	250	

3.2.1. Kết quả nghiên cứu độc tính

Độc tính cấp được xác định bằng phương pháp của Litchfield Wilcoxon và hướng dẫn của Bộ Y tế với mức liều tối đa có thể có thể cho chuột uống là 12 g/kg thể trọng/ngày chưa ghi nhận độc tính cấp trên chuột nhắt trắng. Độc tính bán trường diễn được đánh giá trên phân đoạn ethyl acetat là phân đoạn có tác dụng trên viêm loét dạ dày và trong thành phần hóa học có nhóm hợp chất alcaloid, nhóm chất có nguy cơ độc tính. Với mức liều tương đương và mức liều gấp

5 lần liều dùng trên người sau 28 ngày dùng liên tục chưa ghi nhận độc tính bán trường diễn trên chuột công trắng.

3.2.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng sinh học

3.2.2.1. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày của cao toàn phần

* Tỷ lệ chuột có loét ở mỗi lô: Lô chứng sinh lý không có hình ảnh loét ở dạ dày chuột. Lô chứng bệnh và lô dùng mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg và liều 450 mg/kg có tỷ lệ chuột bị loét dạ dày sau thất môn vị là 100%, lô dùng ranitidin và mẫu cao toàn phần liều 150 mg/kg tỷ lệ chuột có loét sau thất môn vị là 90%. Không có sự khác biệt về tỷ lệ chuột bị loét giữa các lô uống mẫu nghiên cứu khi so với lô chứng bệnh

Bảng 3.30. Ảnh hưởng của mẫu cao toàn phần đến điểm số loét trung bình, chỉ số loét

Lô nghiên cứu	n	Điểm số loét trung bình	Chỉ số loét UI
Lô 2: Lô chứng bệnh	10	7,50 ± 2,17	15,10 ± 3,87
Lô 3: Ranitidin	10	3,20 ± 1,93***	7,20 ± 3,77***
Lô 4: Mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg	10	7,03 ± 1,98*	13,24 ± 3,67*
Lô 5: Mẫu cao toàn phần liều 150 mg/kg	10	5,00 ± 1,89*	10,60 ± 3,62*
Lô 6: Mẫu cao toàn phần liều 450 mg/kg	10	3,60 ± 1,84***	7,90 ± 3,31***

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ so với lô chứng bệnh (Kiểm định ANOVA một chiều, hậu kiểm LSD)

Kết quả nghiên cứu ở **Bảng 3.30** cho thấy:

- Ranitidin làm giảm điểm số loét trung bình và chỉ số loét so với lô chứng bệnh. Sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

- Lô uống cao toàn phần liều 50 mg/kg/ngày không làm giảm điểm số loét và chỉ số loét có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh.

- Lô uống cao toàn phần liều 150 mg/kg/ngày làm giảm đáng kể điểm số loét trung bình và điểm số loét, chỉ số loét so với lô chứng bệnh với mức ý nghĩa quan sát được $p < 0,05$.

- Lô uống mẫu cao toàn phần liều 450 mg/kg/ngày làm giảm điểm số loét trung bình và chỉ số loét so với lô chứng bệnh với mức ý nghĩa quan sát được $p < 0,001$.

Bảng 3.31. Ảnh hưởng của mẫu cao toàn phần đến thể tích dịch vị, độ acid tự do, độ acid toàn phần và pH

Lô nghiên cứu	Thể tích dịch vị (mL)	Độ acid tự do (meq/l)	Độ acid toàn phần (meq/l)	pH
Lô 2: Lô chứng bệnh	4,40 ± 1,29	14,87 ± 4,09	30,08 ± 7,70	2,46 ± 0,77
Lô 3: Ranitidin	3,17 ± 0,77*	10,54 ± 2,81*	26,30 ± 7,31	3,82 ± 0,56***
Lô 4: Mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg	3,32 ± 1,09	20,62 ± 5,43	44,77 ± 8,53	2,91 ± 0,85
Lô 5: Mẫu cao toàn phần liều 150 mg/kg	3,78 ± 0,63	11,03 ± 2,60*	22,93 ± 5,01*	3,93 ± 1,07**
Lô 6: Mẫu cao toàn phần liều 450 mg/kg	3,01 ± 1,00*	13,72 ± 3,15	28,73 ± 4,82	3,46 ± 0,62**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ so với lô chứng bệnh (T-test Student)

Kết quả nghiên cứu ở **Bảng 3.34** cho thấy:

- Ranitidin liều 50 mg/kg làm giảm có ý nghĩa thống kê thể tích dịch vị, độ acid tự do, làm tăng pH so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$ và $p < 0,001$). Mẫu cao toàn phần liều 50 mg/kg/ngày không làm thay đổi đáng kể thể tích dịch vị, độ acid tự do, độ acid toàn phần,

pH dịch dạ dày có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$). Mẫu cao toàn phần với liều 150 mg/kg/ngày có tác dụng làm giảm độ acid tự do, độ acid toàn phần, đồng thời làm tăng pH so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$ và $p < 0,01$). Ngoài ra, với liều 150 mg/kg/ngày cao toàn phần có xu hướng làm giảm thể tích dịch vị so với lô chứng bệnh, tuy nhiên sự khác biệt là chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Mẫu cao toàn phần liều 450 mg/kg/ngày làm giảm đáng kể thể tích dịch vị, đồng thời làm tăng pH dịch dạ dày có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$; $p < 0,01$). Mẫu cao toàn phần 450 mg/kg chưa làm giảm độ acid tự do và độ acid toàn phần so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$).

3.2.2.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống viêm loét dạ dày của các cao phân đoạn

- Từ mức liều cao toàn phần có tác dụng là 150 mg/kg/ngày, tính mức liều đánh giá các cao chiết *n*-hexan và ethyl acetat là 50 mg/kg/ngày và cao chiết nước là 100 mg/kg/ngày. Tương tự với phương pháp đánh giá cao toàn phần, kết quả cho thấy cao *n*-hexan và ethyl acetat cho thấy tác dụng chống viêm loét dạ dày.

- Mẫu thử ethyl acetat liều 50 mg/kg làm giảm điểm số loét trung bình và chỉ số loét so với lô chứng bệnh ($p < 0,01$), làm giảm có ý nghĩa thống kê thể tích dịch vị, độ acid toàn phần và làm tăng pH so với lô chứng bệnh ($p < 0,001$ và $p < 0,05$), đồng thời có xu hướng làm giảm độ acid tự do so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$). Mẫu cao *n*-hexan làm giảm điểm số loét trung bình ($p < 0,05$) và có xu hướng làm giảm chỉ số loét so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$), làm giảm đáng kể thể tích dịch vị, độ acid toàn phần so với lô chứng bệnh ($p < 0,001$ và $p < 0,05$) và có xu hướng làm giảm độ acid tự do, tăng pH dịch vị so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$). Mẫu cao nước chưa thể hiện tác dụng chống viêm loét dạ dày.

3.2.2.3. Tác dụng giảm đau trung ương trên mô hình tấm nóng

Bảng 3.36. Ảnh hưởng 4 mẫu thử cao toàn phần và các cao phân đoạn lên thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột nhắt trắng

Lô chuột	n	Thời gian phản ứng với nhiệt độ (M ± SD) (giây)		P _{trước-sau}
		Trước	Sau	
Lô 1 Chứng sinh lý	10	18,89 ± 2,86	19,64 ± 2,18	> 0,05
Lô 2 Codein phosphat 20mg/kg	10	18,71 ± 3,72	25,98 ± 2,87***	< 0,001
% thay đổi so với chứng			↑ 32,3	
Lô 3 Cao toàn phần liều 300 mg/kg/ngày	10	19,14 ± 2,99	20,65 ± 4,55	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 5,1	
Lô 4 Cao toàn phần liều 900 mg/kg/ngày	10	19,75 ± 4,70	21,21 ± 4,04	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 8,0	
Lô 5 Cao n-hexan liều 100 mg/kg/ngày	10	18,26 ± 3,06	22,86 ± 2,73**	< 0,01
% thay đổi so với chứng			↑ 16,4	
Lô 6 Cao n-hexan liều 300 mg/kg/ngày	10	18,86 ± 3,72	23,05 ± 2,53**	< 0,001
% thay đổi so với chứng			↑ 17,4	
Lô 7 Cao ethyl acetat liều 100 mg/kg/ngày	10	19,28 ± 2,98	21,48 ± 4,45	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 9,4	
Lô 8 Cao ethyl acetat liều 300 mg/kg/ngày	10	18,48 ± 3,61	23,89 ± 3,06**	< 0,001
% thay đổi so với chứng			↑ 21,6	
Lô 9 Cao nước liều 200 mg/kg/ngày	10	19,20 ± 1,92	20,84 ± 4,86	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 6,1	
Lô 10 Cao nước liều 600 mg/kg/ngày	10	19,52 ± 3,72	21,26 ± 3,63	> 0,05
% thay đổi so với chứng			↑ 8,2	

Khác biệt so với lô chứng sinh lý (lô 1): *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001 (t-test ghép cặp)

Kết quả ở **Bảng 3.36** cho thấy:

- Codein có tác dụng kéo dài rõ rệt thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$).

- Mẫu cao toàn phần liều 300 và 900 mg/kg/ngày và cao nước liều 200 và 600 mg/kg/ngày đều không thể hiện tác dụng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với lô chứng sinh lý ($p > 0,05$). Mẫu cao chiết *n*-hexan liều 100 và 300 mg/kg/ngày đều thể hiện tác dụng kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$). Mẫu cao chiết ethyl acetat liều 100 mg/kg/ngày có xu hướng làm kéo dài thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với lô chứng sinh lý, tuy nhiên mức tăng chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Mẫu cao chiết ethyl acetat liều 300 mg/kg/ngày kéo dài rõ rệt thời gian phản ứng với nhiệt độ của chuột so với lô chứng sinh lý ($p < 0,01$).

Kết quả thử nghiệm từ cao toàn phần và các cao chiết phân đoạn cho thấy cao toàn phần và cao chiết nước ở cả 2 mức liều không thể hiện tác dụng giảm đau trung ương trên mô hình tẩm nóng, cao chiết *n*-hexan ở cả 2 mức liều đều có xu hướng thể hiện tác dụng có ý nghĩa thống kê. Cao chiết ethyl acetat thì có xu hướng giảm đau trung ương nhưng chỉ mức liều cao là có ý nghĩa thống kê. Ở mô hình tẩm nóng, theo gợi ý của tác giả trong “Nghiên cứu thuốc và các sản phẩm dược phẩm” để khẳng định mẫu nghiên cứu có tác dụng giảm đau có ý nghĩa khi thời gian sau khi dùng mẫu nghiên cứu tăng lên so với trước khi dùng từ 50% đến 100%. Như vậy kết quả của luận án, chưa khẳng định được xu hướng tác dụng giảm đau trung ương của cao chiết *n*-hexan và ethyl acetat. Để tăng độ tin cậy của kết quả nghiên cứu, luận án sử dụng thêm một phương pháp khác để đánh giá tác dụng giảm đau của cao chiết lá Xăng xê. Kết quả

ngiên cứu trên mô hình sử dụng máy đo ngưỡng đau cho thấy ở cả 2 chỉ số là lực gây đau và thời gian phản ứng đều ghi nhận kết quả tương tự với phương pháp tẩm nóng. Cụ thể cao chiết *n*-hexan ở mức liều thấp tăng 18,4% lực gây đau, 19,8% thời gian phản ứng với đau; liều cao tăng lực gây đau 22,5% và 24,5% với thời gian phản ứng với đau có ý nghĩa thống kê; cao chiết ethyl acetat ở mức liều thấp làm tăng chưa có ý nghĩa thống kê ở cả lực gây đau và thời gian phản ứng với đau, ở mức liều cao cao chiết ethyl acetat làm tăng 28,6% lực gây đau, tăng 27,2% thời gian phản ứng với đau có ý nghĩa thống kê. Qua kết quả cả 2 mô hình thì có thể khẳng định cao chiết *n*-hexan làm giảm đau trung ương ở cả 2 mức liều và cao chiết ethyl acetat làm giảm đau trung ương ở mức liều cao.

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 thành phần hóa học loài *Sanchezia nobilis* Hook.F.

Lá loài *Sanchezia nobilis* Hook.f. (Xăng xê) thông qua việc chiết phân đoạn, phân lập và xác định được cấu trúc của 19 hợp chất từ 2 cao chiết *n*-hexan và ethyl acetat, là 2 phân đoạn có tác dụng trên viêm loét dạ dày. Cụ thể là từ cao *n*-hexan thu được 5 hợp chất, từ cao ethyl acetat bằng phương pháp acid-base thu được 2 hợp chất alcaloid, và phần cao ethyl acetat còn lại thu được 12 hợp chất thuộc nhóm flavonoid. Trong đó có:

- 1 hợp chất mới lần đầu tiên phân lập được từ tự nhiên là 13-*O*-acetylfawcettimin (SXE9).

- 12 hợp chất lần đầu tiên phân lập từ chi *Sanchezia* là α -spinasterol (SXH1), stigmast-4-ene-3,6-dion (SXH2), 7-hydroxy-6-

methoxy coumarin (**SXH3**), acid coccinic (**SXH4**), acid betulinic (**SXH6**), fawcettidin (**SXE8**), hispidulin (**SXE10**), kaempferol (**SXE12**), afzelin (**SXE15**), hispidulin-7-*O*- β -glucopyranosid (**SXE16**), hispidulin-4'-*O*- β -glucopyranosid (**SXE17**), hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid methyl ester (**SXE18**) và hispidulin-7-*O*- β -glucuronopyranosid (**SXE22**).

- Và 6 hợp chất cũng đã được công bố là: daucosterol (**SXH7**), apigenin (**SXE11**), apigenin-7-*O*- β -glucuronopyranosid (**SXE19**), quercetin (**SXE13**), hyperosid (**SXE14**), rutin (**SXE20**).

2. Về độc tính và tác dụng sinh học loài *Sanchezia nobilis* Hook.F. (Xăng xê)

- Độc tính cấp: Chưa xác định được liều LD₅₀ của cao toàn phần và các cao chiết phân đoạn dịch chiết lá Xăng xê với mức liều thử 12g/kg thể trọng chuột.

- Độc tính bán trường diễn: Với mức liều 50 và 250 mg/kg thể trọng chuột/ ngày của phân đoạn ethyl acetat không ghi nhận độc tính bán trường diễn trên chuột sau 28 ngày dùng liên tục.

- Về tác dụng chống viêm loét dạ dày:

+ Cao toàn phần (50 mg/kg /ngày) chưa thể hiện tác dụng chống viêm loét dạ dày trên mô hình thắt môn vị trên chuột cống trắng thông qua tác dụng làm giảm điểm số loét, mức độ nặng của tổn thương loét, làm giảm thể tích và pH dịch vị.

+ Cao toàn phần (150 và 450 mg/kg/ngày) có tác dụng giảm viêm loét dạ dày trên mô hình thắt môn vị trên chuột cống trắng.

+ Cao chiết *n*-hexan và ethyl acetat (50 mg/kg/ngày) có tác dụng giảm viêm loét dạ dày trên mô hình thắt môn vị trên chuột cống trắng thông qua tác dụng làm giảm điểm số loét, mức độ nặng của tổn thương loét, độ acid toàn phần và pH dịch vị.

+ Cao chiết nước (100 mg/kg/ngày) chưa thể hiện tác dụng chống viêm loét dạ dày.

- Về tác dụng giảm đau:

+ Cao toàn phần liều 300 và 900 mg/kg/ngày, cao chiết phân đoạn nước liều 200 và 600 mg/kg/ngày, cao chiết phân đoạn ethyl acetat liều 100 mg/kg/ngày (Tương đương với liều giảm loét trên chuột cống) chưa thể hiện tác dụng giảm đau trung ương.

+ Cao chiết *n*-hexan (100 và 300 mg/kg/ngày) và cao chiết ethyl acetat liều 300 mg/kg/ngày có tác dụng giảm đau trung ương trên chuột nhắt trắng.

KIẾN NGHỊ

Kết quả nghiên cứu của luận án là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về mặt thực vật học, hóa học, tác dụng sinh học. Để kế thừa và phát huy những kết quả thu được từ nghiên cứu, các hướng nghiên cứu tiếp theo được kiến nghị bao gồm:

- Đánh giá tác dụng trên viêm loét dạ dày, giảm đau trung ương của một số hợp chất tinh khiết phân lập được từ cây.
- Nghiên cứu tác dụng trên vi khuẩn *H.P* của các cao chiết phân đoạn ethyl acetat và *n*-hexan.

**CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN
LUẬN ÁN TIẾN SỸ DUỢC HỌC**

1. **Bui Thi Xuan**, Tran Minh Ngoc, Vu Duc Loi, Nguyen Minh Khoi, Tran Thanh Ha (2021); “Flavonoids from the leaves of *Sanchezia nobilis* Hook. f” , *Journal of Medicinal Materials*, 1+2 (26), pp. 19-23.
2. **Bùi Thị Xuân**, Trần Minh Ngọc, Trần Thanh Hà (2022), “Tác dụng trên viêm loét dạ dày tá tràng và phân lập các hợp chất từ phân đoạn *n*-hexan lá cây *Sanchezia nobilis* Hook.f.”, *Tạp chí Khoa học – ĐHQGHN*, No 38, Vol 4, pp 71-85.
3. **Bùi Thị Xuân**, Trần Minh Ngọc, Trần Thanh Hà, Đặng Thị Thu Hiền, “Nghiên cứu tác dụng điều trị viêm loét dạ dày của cao chiết lá *Sanchezia nobilis* Hook.f. trên thực nghiệm.”, *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. (chấp nhận đăng)
4. **Bui Thi Xuan**, Tran Minh Ngoc, Vu Duc Loi, Le Hong Duong, (2020); “Chemical constituents and anti *Helicobacter pylori* effect of ethyl acetate fraction from *Sanchezia nobilis* Hook.F”;
International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences, 11(3), pp. 4715-4721.
5. **Bui Thi Xuan**, Tran Minh Ngoc, Tran Thanh Ha, Dang Thi Thu Hien. “Flavonoids and the sub-chronic toxicity, anti-peptic ulcer, and analgesic effects of the ethyl acetate soluble fraction of the ethanol extract from *Sanchezia nobilis* Hook. F. Leaves”. *Natural product communications.*, 2022, DOI: 10.1177/1934578X221126306.