

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

VIỆN DƯỢC LIỆU



HOÀNG THỊ DIỆU HƯƠNG

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC
VÀ MỘT SỐ TÁC DỤNG SINH HỌC CỦA
CÂY CHÙA DÙ
(*Elsholtzia penduliflora* W. W. Smith.)**

Chuyên ngành: Dược liệu - Dược học cổ truyền
Mã số: 972.02.06

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

Hà Nội, năm 2022

Công trình hoàn thành tại:

- Viện Dược liệu

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS. TS. Đỗ Thị Hà
2. TS. Lê Thị Kim Vân

Phản biện 1: GS.TS. Nguyễn Mạnh Cường

Phản biện 2: PGS.TS. Nguyễn Mạnh Tuyển

Phản biện 3: PGS.TS. Bùi Thanh Tùng

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Viện tổ chức tại Viện Dược liệu.

Vào hồi 8 giờ, ngày 30 tháng 11 năm 2022

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

Chùa dù có tên khoa học là *Elsholtzia penduliflora* W.W. Smith thuộc chi *Elsholtzia* Willd., họ Lamiaceae, phân bố ở Trung Quốc, Thái Lan và Việt Nam. Loài này cũng được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền ở các nước với công dụng chủ yếu là chữa cảm cúm, chữa các chứng viêm, chữa các khối u... Ngoài ra, Chùa dù còn được người dân ở các tỉnh miền núi phía Bắc như Sapa, Bát Xát (Lào Cai), Sin Hồ (Lai Châu), Quản Bạ (Hà Giang) trồng và sử dụng rất phổ biến vì nhiều công dụng hữu ích cho sức khỏe. Mặc dù loài *E. penduliflora* W.W. Smith đã được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền các nước với nhiều tác dụng tốt, tuy nhiên, cho đến nay, các nghiên cứu về loài này còn rất khiêm tốn, chỉ mới có một vài công bố về hóa học và tác dụng sinh học. Ở Việt Nam, có rất ít tác giả nghiên cứu về loài này, chủ yếu tập trung vào tinh dầu, mà chưa có nghiên cứu nào đi sâu về thành phần hóa học cũng như tác dụng sinh học của loài này.

Để góp phần giải thích, chứng minh tác dụng của dược liệu Chùa dù dựa trên căn cứ khoa học, cũng như cung cấp cơ sở dữ liệu về hóa học và dược lý làm căn cứ khoa học cho việc khai thác, sử dụng và phát triển loài này, đề tài “**Nghiên cứu thành phần hóa học và một số tác dụng sinh học của cây Chùa dù (*Elsholtzia penduliflora* W. W. Smith)**” được thực hiện.

2. Mục tiêu và nội dung của luận án

2.1. Mục tiêu của luận án

- Mục tiêu 1. *Nghiên cứu về thành phần hoá học*: Xác định được hàm lượng và các thành phần chính của tinh dầu; Định tính được các nhóm chất hữu cơ; Chiết xuất, phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của một số hợp chất phân lập được từ phần trên mặt đất cây Chùa dù.

- Mục tiêu 2. *Nghiên cứu về tác dụng sinh học*: Đánh giá được tác dụng chống viêm *in vitro* và tác dụng gây độc trên một số dòng tế bào ung thư *in vitro* của cao chiết toàn phần, cao chiết phân đoạn và một số hợp chất phân lập được từ phần trên mặt đất cây Chùa dù.

2.2. Nội dung của luận án

➤ Về hóa học:

- Chung cất tinh dầu, xác định hàm lượng và các thành phần chính có trong tinh dầu của phần trên mặt đất cây Chùa dù.

- Định tính các nhóm chất hữu cơ có trong phần trên mặt đất cây Chùa dù.

- Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của một số hợp chất phân lập được từ phần trên mặt đất cây Chùa dù.

➤ *Về tác dụng sinh học:*

- Đánh giá tác dụng chống viêm *in vitro* của cao chiết toàn phần, cao chiết phân đoạn và một số hợp chất phân lập được từ phần trên mặt đất cây Chùa dù trên tế bào RAW 264.7.

- Đánh giá tác dụng gây độc trên một số dòng tế bào ung thư người (A549, MCF-7, HepG2, K562) *in vitro* của cao chiết toàn phần, cao chiết phân đoạn và một số hợp chất phân lập được từ phần trên mặt đất cây Chùa dù.

3. Những đóng góp mới của luận án

3.1. Về hóa học

Luận án là công bố đầu tiên về:

- Hàm lượng tinh dầu Chùa dù thu ở Sìn Hồ là 0,87%, ở Sa Pa là 0,85% và ở Bát Xát là 0,88%. Thành phần chính của tinh dầu ở 3 địa điểm trên là 1,8-cineol với hàm lượng 57,73 - 74,42%.

- Từ phần trên mặt đất của Chùa dù đã phân lập và xác định cấu trúc của 23 hợp chất trong đó có 7 hợp chất mới lần đầu tiên phân lập từ tự nhiên là **Pendulosid A-G** và 11 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Elsholtzia* Willd. là: sericosid (**EP1**), 2 α ,3 α ,19 α ,24-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester (**EP2**), kaji-ichigosid F1 (**EP9**), rosamultin (**EP10**), officinoterpenosid B (**EP11**), pruvulosid B (**EP13**), 24-hydroxytormentic acid ester glucosid (**EP14**), niga-ichigosid F1 (**EP15**), thymoquinol 5-*O*- β -D-glucopyranosid (**EP21**), thymoquinol 2-*O*- β -D-glucopyranosid (**EP22**) và foliachinenosid A1 (**EP23**) và 5 hợp chất đã biết khác là: acid *trans*-cinnamic (**EP19**), acid hyptadienic (**EP16**), tectochrysin (**EP20**), β -sitosterol (**EP17**) và daucosterol (**EP18**).

3.2. Về tác dụng sinh học

Luận án là công bố đầu tiên về tác dụng chống viêm và gây độc tế bào ung thư *in vitro* của cao chiết và các hợp chất phân lập được từ Chùa dù.

➤ *Tác dụng chống viêm in vitro:*

Cao phân đoạn ethyl acetat (**EPE**) ở nồng độ 20 μ g/mL và các hợp chất pendulosid E (**EP4**), pendulosid C (**EP5**) và rosamultin (**EP10**) ở nồng độ 3 μ M có tác dụng ức chế mức độ sản sinh PGE₂ và làm giảm mức độ biểu hiện mRNA của COX-2 trên tế bào RAW 264.7.

➤ *Tác dụng gây độc trên một số dòng tế bào ung thư in vitro:*

- Cao phân đoạn ethyl acetat (**EPE**) có tác dụng gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} lần lượt là 16,86 $\mu\text{g/mL}$ (dòng A549), 22,67 $\mu\text{g/mL}$ (dòng MCF-7), 29,49 $\mu\text{g/mL}$ (dòng HepG2) và 29,20 $\mu\text{g/mL}$ (dòng K562).

- Hợp chất sericosid (**EP1**) có tác dụng gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} lần lượt là: 7,725 μM (dòng A549), 12,65 μM (dòng MCF-7), 16,91 μM (dòng HepG2), 13,10 μM (dòng K562).

- Hợp chất pendulosid C (**EP5**) có tác dụng gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} lần lượt là: 7,846 (dòng A549), 10,79 μM (dòng MCF-7), 12,52 μM (dòng HepG2), 12,49 μM (dòng K562).

- Hợp chất pendulosid G (**EP12**) có tác dụng gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} lần lượt là: 4,882 μM (dòng A549), 5,406 μM (dòng MCF-7), 6,333 μM (dòng HepG2), 7,350 μM (dòng K562).

4. Ý nghĩa của luận án

4.1. Ý nghĩa khoa học: Những kết quả nghiên cứu về hóa học của Chùa dù đã bổ sung vào cơ sở dữ liệu các hợp chất thiên nhiên thông tin mới về 7 hợp chất saponin triterpenoid lần đầu tiên phân lập từ tự nhiên, cung cấp dữ liệu khoa học về thành phần hóa học của dược liệu Chùa dù *Elsholtzia penduliflora* W. W. Smith và chi *Elsholtzia* Willd. Kết quả nghiên cứu về tác dụng chống viêm và chống ung thư của Chùa dù góp phần giải thích, chứng minh công dụng của dược liệu Chùa dù dựa trên căn cứ khoa học, làm sáng tỏ việc sử dụng cây thuốc này theo tri thức dân gian dưới góc nhìn khoa học hiện đại.

4.2. Ý nghĩa thực tiễn: Làm cơ sở khoa học cho việc phát triển sản phẩm từ Chùa dù, vừa phục vụ nhu cầu chăm sóc sức khỏe cộng đồng, vừa góp phần vào công tác bảo tồn, khai thác, phát triển sản phẩm từ Chùa dù giúp phát triển kinh tế cho người dân ở địa phương.

5. Bố cục của luận án

Luận án có 148 trang, gồm 4 chương, 29 bảng, 49 hình, 220 tài liệu tham khảo và 27 phụ lục. Các phần chính trong luận án gồm: Đặt vấn đề (2 trang), Tổng quan (38 trang), Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu (14 trang), Kết quả nghiên cứu (66 trang), Bàn luận (26 trang), Kết luận và kiến nghị (2 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, tác dụng sinh học và công dụng của chi *Elsholtzia* Willd. và loài *Elsholtzia penduliflora* W. W. Smith trên thế giới và ở Việt Nam; đồng thời đã tổng hợp các thông tin tổng quan về viêm và ung thư.

CHƯƠNG 2: NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

- Mẫu nghiên cứu chiết xuất, phân lập các hợp chất là phần trên mặt đất của cây Chùa dù được thu hái tại xã Khánh Thủy, huyện Sìn Hồ, tỉnh Lai Châu vào tháng 10/2018.

- Các mẫu nghiên cứu tinh dầu gồm: Mẫu 1 (CD-1): giống mẫu nghiên cứu chiết xuất, phân lập các hợp chất; mẫu 2 (CD-2): phần trên mặt đất cây Chùa dù được thu hái tại thị trấn Sa Pa, tỉnh Lào Cai vào tháng 10/2020 và mẫu 3 (CD-3): phần trên mặt đất cây Chùa dù được thu hái tại xã Tòng Sành, huyện Bát Xát, tỉnh Lào Cai vào tháng 9/2020.

- Mẫu nghiên cứu được lý giống mẫu nghiên cứu chiết xuất, phân lập các hợp chất, bao gồm: cao toàn phần EtOH 80% (EPT) và các cao phân đoạn: *n*-hexan (EPH), dichloromethan (EPD), ethyl acetat (EPE), cao nước (EPW) và một số hợp chất phân lập được từ phần trên mặt đất của cây Chùa dù.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Tinh dầu được định lượng bằng cách cất kéo hơi nước. Các thành phần chính của tinh dầu được xác định bằng phương pháp sắc ký khí kết hợp khối phổ.

- Định tính các nhóm chất bằng các phản ứng hóa học đặc trưng.

- Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được dựa trên các dữ liệu phổ như phổ khối lượng (MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (^1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều (HMBC, HSQC, COSY, ROESY), kết hợp phân tích, so sánh, đối chiếu với các tài liệu tham khảo. Xác định cấu hình của phần đường bằng phương pháp thủy phân. Cấu trúc của các chất mới được kiểm tra trên hệ thống SciFinder.

- Đánh giá tác dụng chống viêm *in vitro* của Chùa dù trên mức độ ức chế sản sinh PGE2 bằng phương pháp ELISA và mức độ ức chế biểu hiện mRNA của COX-2 trên tế bào RAW 264.7 bằng kỹ thuật RT-PCR.

- Đánh giá tác dụng gây độc tế bào trên 4 dòng tế bào ung thư A549, MCF-7,

HepG2, K562 theo phương pháp nhuộm màu với MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid) để đánh giá mức độ ảnh hưởng của các mẫu nghiên cứu lên khả năng sống sót của tế bào và xác định giá trị IC_{50} .

- Phương pháp xử lý số liệu: Với các số liệu thuộc phân phối chuẩn, biến liên tục, kết quả được biểu diễn dưới dạng $M \pm SE$ (hoặc SD). So sánh giá trị trung bình giữa các lô bằng one-way ANOVA, dùng hậu kiểm Dunnett's test để so sánh giá trị trung bình của các lô thử so với lô chứng. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học

3.1.1. Xác định hàm lượng và thành phần của tinh dầu

Hàm lượng và thành phần tinh dầu trong cây Chùa dù thu hái ở Sìn Hồ (Lai Châu) (0,87%) không có sự khác biệt đáng kể so với 2 mẫu Chùa dù thu hái ở Sa Pa (0,85%) và Bát Xát (Lào Cai) (0,88%). Có khoảng hơn 30 hợp chất được phát hiện trong tinh dầu Chùa dù, trong đó thành phần chính và có hàm lượng cao nhất là 1,8-cineol (57,73 - 74,42%), ngoài ra còn có một số thành phần khác như *o*-cymen (3,62 - 6,62%), cumeen (3,33 - 7,29%), β -pinen (2,21 - 4,04%) và một số hợp chất khác có hàm lượng dưới 2%.

3.1.2. Định tính các nhóm hợp chất hữu cơ

Kết quả định tính sơ bộ cho thấy trong phần trên mặt đất cây Chùa dù có các nhóm hợp chất: flavonoid, saponin, triterpenoid, chất béo, phytosterol, coumarin, acid amin, đường khử tự do và anthranoid

3.1.3. Chiết xuất, phân lập các hợp chất

Từ phần trên mặt đất cây Chùa dù, bằng các phương pháp sắc ký đã tiến hành phân lập được 23 hợp chất (**EP1-EP23**), trong đó: có 15 hợp chất từ cao phân đoạn **EPE** (hợp chất **EP1-15**), 5 hợp chất từ cao **EPH** (hợp chất **EP16-20**) và 3 hợp chất từ cao **EPW** (hợp chất **EP21-23**).

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

Cấu trúc của các hợp chất được xác định dựa trên việc phân tích các dữ liệu phổ kết hợp so sánh với các tài liệu đã công bố.

* **Hợp chất EP1: sericoside** dạng bột màu vàng. **Phổ ESI-MS**: m/z 689,60 $[M+Na]^+$ và 665,55 $[M-H]^-$, CTPT: $C_{36}H_{58}O_{11}$. **Phổ 1H NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 0,92 (1H, m, H-1a), 1,95 (1H, dd, $J = 4,0$; 12,5 Hz, H-1b); 3,80* (H-2), 3,07 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, H-3), 1,00* (H-5), 1,42 (1H, m, H-6a), 1,62 (1H, m, H-6b),

1,32 (1H, m, H-7a), 1,49 (1H, m, H-7b), 1,80* (H-9), 2,00 (2H, m, H-11), 5,35 (1H, br s, H-12), 1,02 (1H, m, H-15a), 1,80* (H-15b), 1,72 (1H, m, H-16a), 2,34 (1H, m, H-16b), 3,06 (1H, br s, H-18), 3,29 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-19), 1,68* (H-21a), 1,80* (H-21b), 1,68* (H-22a), 1,79* (H-22b), 1,25 (3H, s, H-23), 3,4* (H-24a), 4,05 (1H, d, $J = 11,5$ Hz, H-24b), 1,00 (3H, s, H-25), 0,75 (3H, s, H-26), 1,31 (3H, s, H-27), 0,96 (3H, s, H-29), 0,97 (3H, s, H-30), 5,39 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-1'), 3,33* (H-2'), 3,37* (H-3'), 3,36* (H-4'), 3,42 (1H, m, H-5'), 3,69 (1H, dd, $J = 4,5; 12,0$ Hz, H-6'a), 3,83* (H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 47,8 (C-1), 69,6 (C-2), 86,0 (C-3), 45,1 (C-4), 57,3 (C-5), 20,0 (C-6), 34,1 (C-7), 40,9 (C-8), 48,8 (C-9), 39,2 (C-10), 25,1 (C-11), 124,7 (C-12), 144,4 (C-13), 42,6 (C-14), 29,4 (C-15), 28,4 (C-16), 47,1 (C-17), 45,1 (C-18), 82,5 (C-19), 36,0 (C-20), 29,5 (C-21), 33,3 (C-22), 23,7 (C-23), 66,2 (C-24), 17,4 (C-25), 17,7 (C-26), 24,9 (C-27), 178,6 (C-28), 28,6 (C-29), 25,2 (C-30), 95,8 (C-1'), 73,9 (C-2'), 78,7 (C-3'), 71,1 (C-4'), 78,4 (C-5'), 62,4 (C-6').

* **Hợp chất EP2: 2 α ,3 α ,19 α ,24-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid 28-O- β -D-glucopyranosid** dạng bột màu trắng. **Phổ ESI-MS**: m/z 689,60 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ và 665,55 $[\text{M}-\text{H}]^-$, CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$. **Phổ ^1H NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 1,31 (1H, m, H-1a), 1,57* (H-1b), 3,92 (1H, br d, $J = 11,0$ Hz, H-2), 3,78 (1H, br s, H-3), 1,38* (H-5), 1,38* (H-6a), 1,52 (1H, m, H-6b), 1,30* (H-7a), 1,50 (1H, m, H-7b), 1,71 (1H, m, H-9), 2,00 (2H, m, H-11), 5,35 (1H, br s, H-12), 1,02 (1H, m, H-15a), 1,70* (H-15b), 1,72 (1H, m, H-16a), 2,35 (1H, m, H-16b), 3,07 (1H, br s, H-18), 3,30 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-19), 1,70* (H-21a), 1,79* (H-21b), 1,69* (H-22a), 1,80* (H-22b), 1,11 (3H, s, H-23), 3,41* (H-24a), 3,69* (H-24b), 0,98 (3H, s, H-25), 0,74 (3H, s, H-26), 1,32 (3H, s, H-27), 0,96 (3H, s, H-29), 0,98 (3H, s, H-30), 5,38 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,35* (H-2'), 3,36* (H-3'), 3,38* (H-4'), 3,42* (H-5'), 3,84 (1H, br d, $J = 11,5; 12,0$ Hz, H-6'a), 3,69* (H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 42,7 (C-1), 67,0 (C-2), 74,7 (C-3), 45,4 (C-4), 50,1 (C-5), 19,5 (C-6), 34,2 (C-7), 41,1 (C-8), 48,8 (C-9), 39,3 (C-10), 25,2 (C-11), 124,9 (C-12), 144,4 (C-13), 42,5 (C-14), 29,4 (C-15), 28,5 (C-16), 47,2 (C-17), 45,1 (C-18), 82,5 (C-19), 35,9 (C-20), 29,5 (C-21), 33,3 (C-22), 23,1 (C-23), 65,8 (C-24), 17,2 (C-25), 17,7 (C-26), 25,0 (C-27), 178,6 (C-28), 28,6 (C-29), 25,2 (C-30), 95,8 (C-1'), 73,9 (C-2'), 78,7 (C-3'), 71,1 (C-4'), 78,3 (C-5'), 62,4 (C-6').

* **Hợp chất EP3: pendulosid F (chất mới)** dạng bột màu trắng. **Phổ HR-ESI-MS**: m/z 669,3423 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$, CTPT: $\text{C}_{35}\text{H}_{54}\text{O}_{10}$. **Phổ ^1H NMR** (500 MHz, CD_3OD)

δ_{H} (ppm): 2,17 (1H, m, H-1a), 2,38 (1H, dd, $J = 7,0$; 12,5 Hz, H-1b), 4,33 (1H, dd, $J = 7,0$; 12,5 Hz, H-2), 2,54 (1H, m, H-4), 1,06 (1H, m, H-5), 1,46 (1H, m, H-6a), 1,62 (1H, m, H-6b), 1,35 (1H, m, H-7a), 1,49 (1H, m, H-7b), 1,83 (1H, m, H-9), 2,12 (2H, m, H-11), 5,37 (1H, t, $J = 3,0$ Hz, H-12), 1,03 (1H, m, H-15a), 1,79 (1H, m, H-15b), 1,75* (H-16a), 2,34 (1H, m, H-16b), 3,10 (1H, br s, H-18), 3,30 (1H, d, $J = 4,0$ Hz, H-19), 1,75* (H-21a), 1,80* (H-21b), 1,70* (H-22a), 1,82* (H-22b), 1,03 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-23), 1,26 (3H, s, H-25), 0,82 (3H, s, H-26), 1,30 (3H, s, H-27), 0,96 (3H, s, H-29), 0,97 (3H, s, H-30), 5,41 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,36 (1H, m, H-2'), 3,38* (H-3'), 3,38* (H-4'), 3,38* (H-5'), 3,70 (1H, dd, $J = 5,0$; 12,0 Hz, H-6'a), 3,84 (1H, dd, $J = 1,5$; 12,0 Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 51,4 (C-1), 73,3 (C-2), 214,2 (C-3), 44,2 (C-4), 56,4 (C-5), 23,3 (C-6), 32,9 (C-7), 40,8 (C-8), 46,9 (C-9), 38,8 (C-10), 25,5 (C-11), 124,7 (C-12), 144,7 (C-13), 42,8 (C-14), 29,4 (C-15), 28,4 (C-16), 47,1 (C-17), 45,1 (C-18), 82,4 (C-19), 36,0 (C-20), 29,5 (C-21), 33,3 (C-22), 11,6 (C-23), 14,8 (C-25), 18,0 (C-26), 25,0 (C-27), 178,6 (C-28), 28,6 (C-29), 25,2 (C-30), 95,9 (C-1'), 74,0 (C-2'), 78,8 (C-3'), 71,2 (C-4'), 78,4 (C-5'), 62,4 (C-6').

* **Hợp chất EP4: pendulosid E (chất mới)** dạng bột màu trắng. **Phổ HR-ESI-MS**: m/z 715,3461 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$, CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{12}$. **Phổ ^1H NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 1,25 (1H, t, $J = 12,0$ Hz, H-1a), 1,62 (1H, dd, $J = 4,0$; 12,0 Hz, H-1b), 4,18 (1H, br d, $J = 12,0$ Hz, H-2), 3,97 (1H, br s, H-3), 1,44 (1H, t, $J = 11,5$ Hz, H-5), 1,70* (H-6a), 1,87 (1H, m, H-6b), 1,36 (1H, m, H-7a), 1,50 (1H, m, H-7b), 1,84 (1H, m, H-9), 2,02 (2H, m, H-11), 5,36 (1H, br s, H-12), 1,02* (H-15a), 1,68* (H-15b), 1,75* (H-16a), 2,33 (1H, ddd, $J = 3,5$; 13,0; 13,5 Hz, H-16b), 3,08 (1H, br s, H-18), 3,30 (1H, d, $J = 3,5$ Hz, H-19), 1,02* (H-21a), 1,70* (H-21b), 1,70* (H-22a), 1,80* (H-22b), 1,33 (3H, s, H-23), 0,92 (3H, s, H-25), 0,78 (3H, s, H-26), 1,33 (3H, s, H-27), 0,97 (3H, s, H-29), 0,96 (3H, s, H-30), 5,40 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,34* (H-2'), 3,38* (H-3'), 3,40* (H-4'), 3,42* (H-5'), 3,70 (1H, dd, $J = 3,5$; 11,5 Hz, H-6'a), 3,84 (1H, br d, $J = 11,5$ Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 42,9 (C-1), 67,1 (C-2), 75,2 (C-3), 49,9 (C-4), 49,0 (C-5), 21,0 (C-6), 34,0 (C-7), 41,0 (C-8), 48,3 (C-9), 39,8 (C-10), 24,9 (C-11), 125,1 (C-12), 144,3 (C-13), 43,1 (C-14), 29,6 (C-15), 28,5 (C-16), 47,2 (C-17), 45,1 (C-18), 82,5 (C-19), 35,9 (C-20), 29,4 (C-21), 33,3 (C-22), 24,9 (C-23), 181,0 (C-24), 14,8 (C-25), 17,7 (C-26), 24,9 (C-27), 178,7 (C-28), 25,2 (C-29), 28,5 (C-30), 95,8 (C-1'), 73,9 (C-2'), 78,7 (C-3'), 71,1 (C-4'), 78,3 (C-5'), 62,4 (C-6').

*** Hợp chất EP5: pendulosid C (chất mới)** dạng bột màu trắng. **Phổ HR-ESI-MS:** m/z 685,3697 $[M+Cl]^-$, CTPT: $C_{36}H_{58}O_{10}$. **Phổ 1H NMR** (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H (ppm): 1,10* (H-1a), 1,38* (H-1b), 3,77 (1H, br d, $J = 11,5$ Hz, H-2), 3,14 (1H, br s, H-3), 1,12 (1H, d, $J = 11,5$ Hz, H-5), 1,24 (1H, m, H-6a), 1,33 (1H, m, H-6b), 1,20 (1H, m, H-7a), 1,36* (H-7b), 1,55* (H-9), 1,59 (1H, m, H-11a), 1,91 (1H, m, H-11b), 5,18 (1H, br s, H-12), 0,92 (1H, m, H-15a), 1,70 (1H, m, H-15b), 1,80 (2H, m, H-16), 2,75 (1H, br d, $J = 10,0$ Hz, H-18), 1,00 (1H, m, H-19a), 1,70 (1H, m, H-19b), 1,03 (1H, m, H-21a), 1,40* (H-21b), 1,52* (H-22a), 1,57* (H-22b), 0,88 (3H, s, H-23), 0,77 (3H, s, H-24), 0,88 (3H, s, H-25), 0,67 (3H, s, H-26), 1,09 (3H, s, H-27), 3,04 (2H, br s, H-29), 0,82 (3H, s, H-30), 5,24 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,10* (H-2'), 3,20 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-3'), 3,11* (H-4'), 3,14* (H-5'), 3,44 (1H, dd, $J = 5,0; 11,5$ Hz, H-6'a), 3,62 (1H, br d, $J = 11,5$ Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, DMSO- d_6) δ_C (ppm): 41,6 (C-1), 64,7 (C-2), 77,7 (C-3), 37,8 (C-4), 47,7 (C-5), 17,6 (C-6), 32,2 (C-7), 39,4 (C-8), 47,0 (C-9), 38,0 (C-10), 22,5 (C-11), 121,5 (C-12), 143,6 (C-13), 41,3 (C-14), 27,1 (C-15), 23,0 (C-16), 46,2 (C-17), 39,9 (C-18), 39,8 (C-19), 35,4 (C-20), 27,9 (C-21), 31,0 (C-22), 28,8 (C-23), 21,8 (C-24), 16,2 (C-25), 16,7 (C-26), 25,6 (C-27), 175,2 (C-28), 72,2 (C-29), 19,1 (C-30), 94,1 (C-1'), 72,4 (C-2'), 76,7 (C-3'), 69,6 (C-4'), 77,9 (C-5'), 60,7 (C-6').

*** Hợp chất EP6: pendulosid D (chất mới)** dạng bột màu trắng. **Phổ HR-ESI-MS:** m/z 701,3677 $[M+Cl]^-$, CTPT: $C_{36}H_{58}O_{11}$. **Phổ 1H NMR** (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H (ppm): 1,12 (1H, m, H-1a), 1,38* (H-1b), 3,71 (1H, m, H-2), 3,54 (1H, br s, H-3), 1,18* (H-5), 1,23 (1H, m, H-6a), 1,39* (H-6b), 1,19 (1H, m, H-7a), 1,31 (1H, m, H-7b), 1,55 (1H, dd, $J = 3,0; 12,5$ Hz, H-9), 1,81 (2H, br d, $J = 6,5$ Hz, H-11), 5,18 (1H, t, $J = 3,0$ Hz, H-12), 0,93 (1H, m, H-15a), 1,70* (H-15b), 1,59* (H-16a), 1,91 (1H, m, H-16b), 2,75 (1H, dd, $J = 4,0; 14,0$ Hz, H-18), 1,00 (1H, dd, $J = 4,0; 14,0$ Hz, H-19a), 1,70* (1H, m, H-19b), 1,04 (1H, m, H-21a), 1,39* (H-21b), 1,52 (1H, m, H-22a), 1,59* (H-22b), 0,93 (3H, s, H-23), 3,19 (1H, m, H-24a), 3,42 (1H, m, H-24b), 0,85 (3H, s, H-25), 0,65 (3H, s, H-26), 1,08 (3H, s, H-27), 3,04 (2H, d, $J = 5,5$ Hz, H-29), 0,82 (3H, s, H-30), 4,00 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, 2-OH), 3,86 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, 3-OH), 4,20 (1H, t, $J = 10,0$ Hz, 24-OH), 4,46 (1H, t, $J = 5,5$ Hz, 29-OH), 5,23 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,10 (1H, m, H-2'), 3,20 (1H, m, H-3'), 3,12 (1H, m, H-4'), 3,14 (1H, m, H-5'), 3,44 (1H, m, H-6'a), 3,62 (1H, dd, $J = 5,5; 12,0$ Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, DMSO- d_6) δ_C (ppm): 41,8 (C-1), 64,6 (C-2), 72,5 (C-3), 43,7 (C-4), 48,2 (C-5), 17,9 (C-6), 32,6 (C-7), 39,0 (C-8), 47,1 (C-9),

37,6 (C-10), 23,1 (C-11), 121,5 (C-12), 143,6 (C-13), 41,3 (C-14), 27,1 (C-15), 22,5 (C-16), 46,2 (C-17), 40,1 (C-18), 40,0 (C-19), 35,3 (C-20), 27,9 (C-21), 30,9 (C-22), 22,8 (C-23), 63,7 (C-24), 16,5 (C-25), 16,5 (C-26), 25,6 (C-27), 175,2 (C-28), 72,2 (C-29), 19,1 (C-30), 94,0 (C-1'), 72,3 (C-2'), 76,6 (C-3'), 69,5 (C-4'), 77,7 (C-5'), 60,7 (C-6').

* **Hợp chất EP7: pendulosid A (chất mới)** dạng bột màu trắng. **Phổ HR-ESI-MS**: m/z 683,3557 $[M+Cl]^-$, CTPT: $C_{36}H_{56}O_{10}$. **Phổ 1H NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 0,97 (1H, m, H-1a), 2,20 (1H, dd, $J = 4,5$; 12,5 Hz, H-1b), 3,70 (1H, m, H-2), 2,95 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, H-3), 0,94 (1H, m, H-5), 1,50 (1H, m, H-6a), 1,65 (1H, m, H-6b), 1,40 (2H, m, H-7), 2,08 (1H, br s, H-9), 5,70 (1H, dd, $J = 1,5$; 10,0 Hz, H-11), 6,01 (1H, dd, $J = 3,0$; 10,0 Hz, H-12), 1,18 (1H, m, H-15a), 1,83 (1H, m, H-15b), 1,52 (1H, m, H-16a), 2,20 (1H, m, H-16b), 5,42 (1H, s, H-18), 2,58 (1H, m, H-20), 1,40 (1H, m, H-21a), 1,67 (1H, m, H-21b), 1,52 (1H, m, H-22a), 1,69 (1H, m, H-22b), 1,04 (3H, s, H-23), 0,82 (3H, s, H-24), 1,01 (3H, s, H-25), 0,75 (3H, s, H-26), 0,99 (3H, s, H-27), 2,17 (3H, s, H-29), 1,09 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-30), 5,48 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,35* (H-2'), 3,35* (H-3'), 3,39* (H-4'), 3,40* (H-5'), 3,68 (1H, m, H-6'a), 3,82 (1H, dd, $J = 2,0$; 11,5 Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_C (ppm): 47,7 (C-1), 69,5 (C-2), 84,5 (C-3), 40,5 (C-4), 56,3 (C-5), 19,3 (C-6), 33,2 (C-7), 41,8 (C-8), 55,6 (C-9), 38,9 (C-10), 128,4 (C-11), 131,2 (C-12), 144,8 (C-13), 42,3 (C-14), 27,0 (C-15), 28,3 (C-16), 48,4 (C-17), 127,3 (C-18), 215,9 (C-19), 48,2 (C-20), 28,4 (C-21), 39,2 (C-22), 29,0 (C-23), 16,9 (C-24), 19,6 (C-25), 17,1 (C-26), 20,3 (C-27), 175,7 (C-28), 28,6 (C-29), 16,6 (C-30), 96,0 (C-1'), 74,1 (C-2'), 78,8 (C-3'), 71,1 (C-4'), 78,2 (C-5'), 62,5 (C-6').

* **Hợp chất EP8: pendulosid B (chất mới)** dạng bột màu trắng. **Phổ HR-ESI-MS**: m/z 683,3554 $[M+Cl]^-$, CTPT: $C_{36}H_{56}O_{10}$. **Phổ 1H NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 1,32 (1H, m, H-1a), 1,82 (1H, dd, $J = 4,0$; 12,0 Hz, H-1b), 4,00 (1H, dt, $J = 12,0$; 4,5 Hz, H-2), 3,35 (1H, br s, H-3), 1,35* (H-5), 1,42 (1H, m, H-6a), 1,51 (1H, m, H-6b), 1,38 (1H, m, H-7a), 1,43 (1H, m, H-7b), 2,17 (1H, m, H-9), 5,72 (1H, dd, $J = 1,5$; 10,0 Hz, H-11), 6,00 (1H, dd, $J = 3,0$; 10,0 Hz, H-12), 1,16 (1H, m, H-15a), 1,83 (1H, m, H-15b), 1,50* (H-16a), 2,23 (1H, m, H-16b), 5,41 (1H, s, H-18), 2,57 (1H, t, $J = 7,0$ Hz, H-20), 1,40 (1H, m, H-21a), 1,67 (1H, m, H-21b), 1,50* (H-22a), 1,68* (H-22b), 1,00 (3H, s, H-23), 0,88 (3H, s, H-24), 0,99 (3H, s, H-25), 0,75 (3H, s, H-26), 1,00 (3H, s, H-27), 2,19 (3H, s, H-29), 1,09 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-30), 5,48 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,35* (H-2'), 3,35* (H-3'), 3,39* (H-

4'), 3,40* (H-5'), 3,68 (1H, dd, $J = 4,5$; 12,0 Hz, H-6'a), 3,80 (1H, dd, $J = 2,0$; 12,0 Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 42,3 (C-1), 67,0 (C-2), 80,1 (C-3), 39,3 (C-4), 49,0 (C-5), 19,0 (C-6), 33,3 (C-7), 42,0 (C-8), 55,4 (C-9), 39,5 (C-10), 128,6 (C-11), 131,1 (C-12), 144,8 (C-13), 42,4 (C-14), 27,0 (C-15), 28,3 (C-16), 48,5 (C-17), 127,1 (C-18), 215,9 (C-19), 48,2 (C-20), 28,4 (C-21), 39,1 (C-22), 29,1 (C-23), 21,9 (C-24), 19,5 (C-25), 17,2 (C-26), 20,3 (C-27), 175,8 (C-28), 28,6 (C-29), 16,6 (C-30), 96,0 (C-1'), 74,1 (C-2'), 78,8 (C-3'), 71,1 (C-4'), 78,2 (C-5'), 62,5 (C-6').

* **Hợp chất EP9: kaji-ichigoside F1** dạng bột màu trắng. **Phổ ESI-MS**: m/z 673,60 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ và 685,55 $[\text{M}-\text{Cl}]^-$, CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{10}$. **Phổ ^1H -NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 1,30 (1H, m, H-1a), 1,60 (1H, m, H-1b), 3,95 (1H, dt, $J = 11,0$; 3,0 Hz, H-2), 3,35* (H-3), 1,25* (H-5), 1,40 (1H, m, H-6a), 1,45 (1H, m, H-6b), 1,32* (H-7a), 1,59 (1H, m, H-7b), 1,85* (H-9), 2,01 (2H, m, H-11), 5,33 (1H, br s, H-12), 1,02 (1H, m, H-15a), 1,85* (H-15b), 1,65* (H-16a), 2,64 (1H, m, H-16b), 2,54 (1H, br s, H-18), 1,38* (H-20), 1,25* (H-21a), 1,76* (H-21b), 1,65 (1H, m, H-22a), 1,80 (1H, m, H-22b), 1,01 (3H, s, H-23), 0,88 (3H, s, H-24), 1,01 (3H, s, H-25), 0,79 (3H, s, H-26), 1,36 (3H, s, H-27), 1,22 (3H, s, H-29), 0,95 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-30), 5,34 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,34* (H-2'), 3,35* (H-3'), 3,40* (H-4'), 3,41 (1H, m, H-5'), 3,70 (1H, dd, $J = 4,5$; 12,0 Hz, H-6'a), 3,82 (1H, dd, $J = 2,0$; 12,0 Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 42,9 (C-1), 67,2 (C-2), 80,1 (C-3), 39,4 (C-4), 49,2 (C-5), 19,3 (C-6), 34,0 (C-7), 41,4 (C-8), 48,2 (C-9), 39,4 (C-10), 24,8 (C-11), 129,6 (C-12), 139,7 (C-13), 42,8 (C-14), 29,6 (C-15), 26,5 (C-16), 49,9 (C-17), 55,0 (C-18), 73,7 (C-19), 42,9 (C-20), 27,2 (C-21), 38,3 (C-22), 29,2 (C-23), 22,5 (C-24), 17,0 (C-25), 17,7 (C-26), 24,8 (C-27), 178,6 (C-28), 27,1 (C-29), 17,0 (C-30), 95,8 (C-1'), 73,9 (C-2'), 78,6 (C-3'), 71,2 (C-4'), 78,3 (C-5'), 62,5 (C-6').

* **Hợp chất EP10: rosamultin** dạng bột màu trắng. **Phổ ESI-MS**: m/z 673,60 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ và 685,55 $[\text{M}-\text{Cl}]^-$, CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{10}$. **Phổ ^1H -NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 0,92 (1H, m, H-1a), 1,96 (1H, m, H-1b), 3,64 (1H, ddd, $J = 4,5$; 9,5; 11,5 Hz, H-2), 2,93 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, H-3), 5,33 (1H, br s, H-12), 1,03 (3H, s, H-23), 0,83 (3H, s, H-24), 1,03 (3H, s, H-25), 0,80 (3H, s, H-26), 1,35 (3H, s, H-27), 1,22 (3H, s, H-29), 0,95 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-30), 5,34 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,34* (H-2'), 3,35* (H-3'), 3,40* (H-4'), 3,41* (H-5'), 3,70 (1H, dd, $J = 4,5$; 12,0 Hz, H-6'a), 3,82 (1H, dd, $J = 2,0$; 12,0 Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C}

(ppm): 48,5 (C-1), 69,5 (C-2), 84,6 (C-3), 39,2 (C-4), 56,7 (C-5), 19,7 (C-6), 34,1 (C-7), 41,3 (C-8), 48,2 (C-9), 40,5 (C-10), 24,8 (C-11), 129,5 (C-12), 139,7 (C-13), 42,7 (C-14), 29,6 (C-15), 26,5 (C-16), 49,5 (C-17), 55,0 (C-18), 73,6 (C-19), 42,9 (C-20), 27,2 (C-21), 38,3 (C-22), 29,3 (C-23), 17,5 (C-24), 17,2 (C-25), 17,7 (C-26), 24,7 (C-27), 178,5 (C-28), 27,1 (C-29), 16,6 (C-30), 95,8 (C-1'), 73,9 (C-2'), 78,9 (C-3'), 71,3 (C-4'), 78,3 (C-5'), 62,5 (C-6').

* **Hợp chất EP11: officinoterpenosid B** dạng bột màu trắng. **Phổ ESI-MS:** m/z 835,60 $[M+Na]^+$ và 811,65 $[M-H]^-$, CTPT: $C_{42}H_{68}O_{15}$. **Phổ 1H -NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 0,93 (1H, m, H-1a), 1,96 (1H, m, H-1b), 3,64* (H-2), 2,93 (1H, d, $J = 10,0$ Hz, H-3), 5,32 (1H, br s, H-12), 1,03 (3H, s, H-23), 0,84 (3H, s, H-24), 1,03 (3H, s, H-25), 0,79 (3H, s, H-26), 1,35 (3H, s, H-27), 1,22 (3H, s, H-29), 0,95 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-30), 5,44 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,67 (1H, m, H-2'), 3,43 (1H, m, H-3'), 3,38 (1H, m, H-4'), 3,67 (1H, m, H-5'), 3,70 (1H, dd, $J = 4,5, 11,5$ Hz, H-6'a), 3,82 (1H, br d, $J = 11,5$ Hz, H-6'b), 4,80 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1''), 3,26 (1H, dd, $J = 8,0; 9,0$ Hz, H-2''), 3,40 (1H, m, H-3''), 3,16 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-4''), 3,30 (1H, m, H-5''), 3,64* (H-6''a), 3,91 (1H, dd, $J = 2,5; 11,5$ Hz, H-6''b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_C (ppm): 48,5 (C-1), 69,6 (C-2), 84,6 (C-3), 40,5 (C-4), 56,8 (C-5), 19,6 (C-6), 34,3 (C-7), 41,4 (C-8), 48,2 (C-9), 39,2 (C-10), 24,8 (C-11), 129,5 (C-12), 139,8 (C-13), 42,6 (C-14), 30,4 (C-15), 26,2 (C-16), 49,5 (C-17), 55,0 (C-18), 73,7 (C-19), 42,6 (C-20), 27,3 (C-21), 38,2 (C-22), 29,3 (C-23), 17,5 (C-24), 17,1 (C-25), 17,6 (C-26), 24,8 (C-27), 178,6 (C-28), 27,1 (C-29), 16,6 (C-30), 94,0 (C-1'), 78,9 (C-2'), 79,1 (C-3'), 70,9 (C-4'), 78,6 (C-5'), 62,4 (C-6'), 103,8 (C-1''), 75,8 (C-2''), 78,5 (C-3''), 72,6 (C-4''), 78,1 (C-5''), 63,8 (C-6'').

* **Hợp chất EP12: pendulosid G** dạng bột màu trắng. **Phổ HR-ESI-MS:** m/z 830,4887 $[M+NH_4]^+$, CTPT: $C_{42}H_{68}O_{15}$. **Phổ 1H -NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 1,29 (1H, t, $J = 11,0$ Hz, H-1a), 1,60 (1H, dd, $J = 4,0; 11,0$ Hz, H-1b), 3,96 (1H, br d, $J = 11,0$ Hz, H-2), 3,35* (H-3), 1,25* (H-5), 1,40 (1H, m, H-6a), 1,48 (1H, m, H-6b), 1,37* (H-7a), 1,58 (1H, m, H-7b), 1,82* (H-9), 2,01 (2H, m, H-11), 5,33 (1H, br s, H-12), 0,96 (1H, m, H-15a), 1,85* (H-15b), 1,75* (H-16a), 2,56 (1H, m, H-16b), 2,54 (1H, br s, H-18), 1,38* (H-20), 1,37* (H-21a), 1,76* (H-21b), 1,66 (1H, m, H-22a), 1,80 (1H, m, H-22b), 1,00 (3H, s, H-23), 0,88 (3H, s, H-24), 1,00 (3H, s, H-25), 0,77 (3H, s, H-26), 1,35 (3H, s, H-27), 1,21 (3H, s, H-29), 0,94 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-30), 5,43 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,83 (1H, dd, $J = 8,0; 9,0$ Hz, H-2'), 3,67 (1H, m, H-3'), 3,43 (1H, m, H-4'), 3,38 (1H, m, H-5'), 3,70 (1H, dd,

$J = 3,5, 11,5$ Hz, H-6'a), 3,84 (1H, br d, $J = 11,5$ Hz, H-6'b), 4,81 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1''), 3,26 (1H, t, $J = 8,5$ Hz, H-2''), 3,40 (1H, m, H-3''), 3,16 (1H, t, $J = 9,0$ Hz, H-4''), 3,32 (1H, m, H-5''), 3,64 (1H, dd, $J = 4,0; 11,5$ Hz, H-6''a), 3,91 (1H, dd, $J = 2,0; 11,5$ Hz, H-6''b). **Phổ $^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 42,6 (C-1), 67,2 (C-2), 80,0 (C-3), 39,4 (C-4), 49,2 (C-5), 19,2 (C-6), 34,1 (C-7), 41,5 (C-8), 48,2 (C-9), 39,3 (C-10), 24,7 (C-11), 129,6 (C-12), 139,6 (C-13), 42,5 (C-14), 30,3 (C-15), 26,1 (C-16), 49,5 (C-17), 54,9 (C-18), 73,7 (C-19), 42,9 (C-20), 27,1 (C-21), 38,1 (C-22), 29,2 (C-23), 22,4 (C-24), 16,9 (C-25), 17,6 (C-26), 24,9 (C-27), 178,8 (C-28), 27,2 (C-29), 16,6 (C-30), 93,9 (C-1'), 78,2 (C-2'), 78,8 (C-3'), 70,8 (C-4'), 78,4 (C-5'), 62,3 (C-6'), 103,6 (C-1''), 75,7 (C-2''), 77,9 (C-3''), 72,6 (C-4''), 77,9 (C-5''), 63,7 (C-6'').

* **Hợp chất EP13: pruvulosid B** dạng bột màu trắng. **Phổ ESI-MS:** m/z 689,60 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ và 665,60 $[\text{M}-\text{H}]^-$, CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$. **Phổ $^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 1,30 (1H, m, H-1a), 1,60 (1H, m, H-1b), 3,93 (1H, dt, $J = 11,5; 3,0$ Hz, H-2), 3,78 (1H, d, $J = 3,0$ Hz, H-3), 1,38* (H-5), 1,38* (H-6a), 1,52 (1H, m, H-6b), 1,32 (1H, m, H-7a), 1,58 (1H, m, H-7b), 1,88 (1H, m, H-9), 1,97 (1H, m, H-11a), 2,08 (1H, m, H-11b), 5,34 (1H, br s, H-12), 1,00 (1H, m, H-15a), 1,85* (H-15b), 1,62* (H-16a), 2,63 (1H, m, H-16b), 2,54 (1H, br s, H-18), 1,38* (H-20), 1,25* (H-21a), 1,78* (H-21b), 1,62 (1H, m, H-22a), 1,80 (1H, m, H-22b), 1,10 (3H, s, H-23), 3,40 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-24a), 3,67 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-24b), 0,98 (3H, s, H-25), 0,78 (3H, s, H-26), 1,36 (3H, s, H-27), 1,21 (3H, s, H-29), 0,95 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-30), 5,35 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,33* (H-2'), 3,33* (H-3'), 3,37* (H-4'), 3,40 (1H, m, H-5'), 3,68 (1H, dd, $J = 5,0; 11,5$ Hz, H-6'a), 3,82 (1H, dd, $J = 2,0; 11,5$ Hz, H-6'b). **Phổ $^{13}\text{C-NMR}$** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 42,7 (C-1), 67,0 (C-2), 74,6 (C-3), 45,4 (C-4), 49,9 (C-5), 19,5 (C-6), 34,4 (C-7), 41,4 (C-8), 48,5 (C-9), 39,2 (C-10), 24,9 (C-11), 129,6 (C-12), 139,7 (C-13), 42,7 (C-14), 29,6 (C-15), 26,5 (C-16), 49,5 (C-17), 55,0 (C-18), 73,9 (C-19), 42,9 (C-20), 27,2 (C-21), 38,3 (C-22), 23,1 (C-23), 65,8 (C-24), 17,4 (C-25), 17,6 (C-26), 24,7 (C-27), 178,6 (C-28), 27,1 (C-29), 16,6 (C-30), 95,8 (C-1'), 73,9 (C-2'), 78,6 (C-3'), 71,2 (C-4'), 78,3 (C-5'), 62,5 (C-6').

* **Hợp chất EP14: 24-hydroxytormentic acid ester glucosid** dạng bột màu trắng. **Phổ ESI-MS:** m/z 689,60 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ và 665,55 $[\text{M}-\text{H}]^-$, CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$. **Phổ $^1\text{H-NMR}$** (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 0,92 (1H, m, H-1a), 1,95 (1H, m, H-1b), 3,80 (1H, m, H-2), 3,08 (1H, d, $J = 9,5$ Hz, H-3), 5,23 (1H, br s, H-12), 1,25 (3H, s,

H-23), 3,40* (H-24a), 4,06 (1H, d, $J = 11,5$ Hz, H-24b), 1,01 (3H, s, H-25), 0,78 (3H, s, H-26), 1,35 (3H, s, H-27), 1,22 (3H, s, H-29), 0,95 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-30), 5,34 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'), 3,33* (H-2'), 3,33* (H-3'), 3,37* (H-4'), 3,40* (H-5'), 3,68 (1H, dd, $J = 4,5; 12,0$ Hz, H-6'a), 3,82 (1H, dd, $J = 2,0; 11,5$ Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 47,9 (C-1), 69,6 (C-2), 86,0 (C-3), 44,4 (C-4), 57,2 (C-5), 19,9 (C-6), 34,4 (C-7), 41,3 (C-8), 48,7 (C-9), 39,0 (C-10), 25,0 (C-11), 129,4 (C-12), 139,7 (C-13), 42,7 (C-14), 29,6 (C-15), 26,5 (C-16), 49,3 (C-17), 54,9 (C-18), 73,6 (C-19), 42,9 (C-20), 27,2 (C-21), 38,3 (C-22), 23,8 (C-23), 66,2 (C-24), 17,5 (C-25), 17,6 (C-26), 24,6 (C-27), 178,5 (C-28), 27,1 (C-29), 16,6 (C-30), 95,8 (C-1'), 73,9 (C-2'), 78,6 (C-3'), 71,2 (C-4'), 78,3 (C-5'), 62,5 (C-6').

* **Hợp chất EP15: niga-ichigosid F1** dạng bột màu trắng. **Phổ ESI-MS**: m/z 689,60 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ và 665,60 $[\text{M}-\text{H}]^-$, CTPT: $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$. **Phổ ^1H -NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 0,90 (1H, m, H-1a), 1,96 (1H, dd, $J = 4,5; 12,5$ Hz, H-1b), 3,72 (1H, m, H-2), 3,37* (H-3), 1,30* (H-5), 1,42 (2H, m, H-6), 1,30* (H-7a), 1,68 (1H, m, H-7b), 1,80* (H-9), 2,01 (2H, m, H-11), 5,33 (1H, br s, H-12), 1,01 (1H, m, H-15a), 1,82 (1H, m, H-15b), 1,62* (H-16a), 2,63 (1H, m, H-16b), 2,54 (1H, br s, H-18), 1,38* (H-20), 1,28* (H-21a), 1,72* (H-21b), 1,62* (H-22a), 1,80* (H-22b), 3,29 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-23a), 3,53 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-23b), 0,72 (3H, s, H-24), 1,06 (3H, s, H-25), 0,80 (3H, s, H-26), 1,36 (3H, s, H-27), 1,23 (3H, s, H-29), 0,96 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, H-30), 5,34 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'), 3,34* (H-2'), 3,36* (H-3'), 3,36* (H-4'), 3,42 (1H, m, H-5'), 3,69 (1H, dd, $J = 4,5; 12,0$ Hz, H-6'a), 3,83 (1H, br d, $J = 12,0$ Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 47,9 (C-1), 69,7 (C-2), 78,6 (C-3), 44,1 (C-4), 48,3 (C-5), 19,2 (C-6), 33,5 (C-7), 41,3 (C-8), 48,7 (C-9), 39,0 (C-10), 24,8 (C-11), 129,6 (C-12), 139,7 (C-13), 42,8 (C-14), 29,6 (C-15), 26,5 (C-16), 49,3 (C-17), 54,9 (C-18), 73,9 (C-19), 42,9 (C-20), 27,2 (C-21), 38,3 (C-22), 66,5 (C-23), 13,8 (C-24), 17,6 (C-25), 17,7 (C-26), 24,7 (C-27), 178,7 (C-28), 27,1 (C-29), 16,6 (C-30), 95,8 (C-1'), 73,7 (C-2'), 78,4 (C-3'), 71,2 (C-4'), 78,3 (C-5'), 62,5 (C-6').

* **Hợp chất EP16: acid hyptadienic**, dạng bột màu trắng. CTPT: $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_4$. **Phổ ^1H -NMR** (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm): 5,38 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H-3), 5,30 (1H, m, H-12), 0,93 (3H, s, H-23), 0,81 (3H, s, H-24), 1,12 (3H, s, H-25), 0,76 (3H, s, H-26), 1,19 (3H, s, H-27), 1,02 (3H, s, H-29), 0,92 (3H, d, $J = 5,5$ Hz, H-30). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}+\text{CDCl}_3$) δ_{C} (ppm): 60,6 (C-1), 154,5 (C-2),

133,7 (C-3), 41,2 (C-4), 62,9 (C-5), 17,1 (C-6), 33,9 (C-7), 41,5 (C-8), 42,3 (C-9), 50,5 (C-10), 26,6 (C-11), 128,7 (C-12), 138,7 (C-13), 41,3 (C-14), 28,6 (C-15), 28,2 (C-16), 47,6 (C-17), 55,2 (C-18), 72,8 (C-19), 42,9 (C-20), 26,5 (C-21), 38,6 (C-22), 29,5 (C-23), 21,2 (C-24), 18,3 (C-25), 15,4 (C-26), 24,8 (C-27), 180,9 (C-28), 27,8 (C-29), 15,0 (C-30).

* **Hợp chất EP17: β -sitosterol** dạng bột màu trắng. CTPT: $C_{29}H_{50}O$. **Phổ 1H -NMR** (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H (ppm): 5,35 (1H, t, $J = 2,4$ Hz, H-6), 3,52 (1H, m, H-3), 1,01 (3H, s, H-19), 0,92 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-21), 0,85 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, H-29), 0,84 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-27), 0,81 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-26), 0,68 (3H, s, H-18).

* **Hợp chất EP18: daucosterol** bột màu trắng. CTPT: $C_{35}H_{60}O_6$. **Phổ 1H -NMR** (600 MHz, $CDCl_3$ & CD_3OD) δ_H (ppm): 5,37 (1H, br s, H-6), 4,41 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1'), 3,84 (1H, dd, $J = 3,0$; 12,0 Hz, H-6'), 3,76 (1H, dd, $J = 4,8$; 12,0 Hz, H-6'), 3,45 (2H, m, H-3', H-4'), 3,30 (1H, m, H-5'), 3,28 (1H, m, H-2'), 1,01 (3H, s, H-19), 0,92 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-21), 0,85 (3H, t, $J = 7,2$ Hz, H-29), 0,84 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-27), 0,82 (3H, d, $J = 6,6$ Hz, H-26), 0,68 (3H, s, H-18).

* **Hợp chất EP19: acid *trans*-cinnamic** dạng bột màu trắng. **Phổ ESI-MS: m/z** 147,15 $[M-H]^-$, CTPT: $C_9H_8O_2$. **Phổ 1H -NMR** (600 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 7,61 (2H, m, H-2, H-6), 7,42 (3H, m, H-3, H-4, H-5), 7,69 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-7), 6,50 (1H, d, $J = 15,6$ Hz, H-8). **Phổ ^{13}C -NMR** (150 MHz, CD_3OD) δ_C (ppm): 135,9 (C-1), 129,2 (C-2, C-6), 130,0 (C-3, C-5), 131,4 (C-4), 146,3 (C-7), 119,4 (C-8).

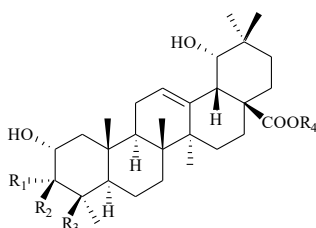
* **Hợp chất EP20: tectochrysin** dạng bột màu vàng. **Phổ ESI-MS: m/z** 269,20 $[M+H]^+$, CTPT: $C_{16}H_{12}O_4$. **Phổ 1H -NMR** (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H (ppm): 6,66 (1H, s, H-3), 6,37 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-6), 6,49 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-8), 7,88 (2H, d, $J = 7,2$ Hz, H-2', H-6'), 7,53 (3H, m, H-3', H-4', H-5'), 12,72 (1H, s, 5-OH), 3,88 (1H, s, 7-OCH₃). **Phổ ^{13}C -NMR** (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C (ppm): 164,0 (C-2), 105,9 (C-3), 182,5 (C-4), 162,2 (C-5), 98,2 (C-6), 165,6 (C-7), 92,7 (C-8), 157,8 (C-9), 105,7 (C-10), 131,3 (C-1'), 126,3 (C-2', C-6'), 129,1 (C-3', C-5'), 131,8 (C-4'), 55,8 (7-OCH₃).

* **Hợp chất EP21: thymoquinol 5-O- β -D-glucopyranosid** dạng bột màu trắng. **Phổ ESI-MS: m/z** 327,20 $[M-H]^-$, CTPT: $C_{16}H_{24}O_7$. **Phổ 1H -NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_H (ppm): 7,00 (1H, s, H-3), 6,54 (1H, s, H-6), 2,20 (3H, s, H-7), 3,23 (1H, m, H-8), 1,20 (6H, d, $J = 7,0$ Hz, H-9, H-10), 4,69 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'), 3,38 (1H, m, H-2'), 3,48 (1H, m, H-3'), 3,35 (1H, m, H-4'), 3,46 (1H, m, H-5'), 3,73 (1H,

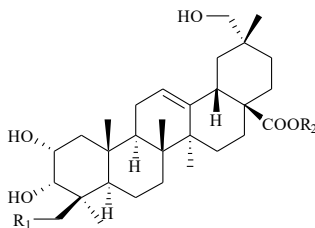
dd, $J = 5,5$; 12,0 Hz, H-6'a), 3,89 (1H, dd, $J = 2,0$, 12,0 Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 134,2 (C-1), 150,5 (C-2), 117,9 (C-3), 127,2 (C-4), 150,7 (C-5), 116,1 (C-6), 16,1 (C-7), 28,0 (C-8), 23,1 (C-9, C-10), 104,5 (C-1'), 75,1 (C-2'), 78,0 (C-3'), 71,6 (C-4'), 78,0 (C-5'), 62,7 (C-6').

* **Hợp chất EP22: thymoquinol 2-O- β -D-glucopyranosid** dạng bột màu trắng. **Phổ ESI-MS**: m/z 327,20 $[\text{M}-\text{H}]^-$, CTPT: $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_7$. **Phổ ^1H -NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 6,94 (1H, s, H-3), 6,64 (1H, s, H-6), 2,15 (3H, s, H-7), 3,35 (1H, m, H-8), 1,18 (6H, d, $J = 6,5$ Hz, H-9, H-10), 4,72 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,38 (1H, m, H-2'), 3,48 (1H, m, H-3'), 3,36 (1H, m, H-4'), 3,47 (1H, m, H-5'), 3,73 (1H, dd, $J = 5,5$; 12,0 Hz, H-6'a), 3,91 (1H, dd, $J = 2,0$; 12,0 Hz, H-6'b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 138,2 (C-1), 149,2 (C-2), 120,3 (C-3), 123,2 (C-4), 151,8 (C-5), 113,1 (C-6), 16,0 (C-7), 27,0 (C-8), 23,7 (C-9), 23,6 (C-10), 104,4 (C-1'), 75,2 (C-2'), 78,3 (C-3'), 71,6 (C-4'), 78,0 (C-5'), 62,7 (C-6').

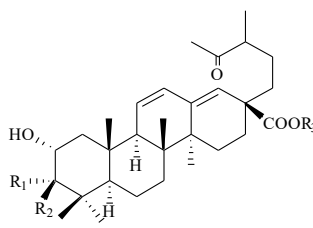
* **Hợp chất EP23: foliachinenosid A1** dạng bột màu vàng. **Phổ ESI-MS**: m/z 591,30 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, CTPT: $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$. **Phổ ^1H -NMR** (500 MHz, CD_3OD) δ_{H} (ppm): 7,01 (2H, d, $J = 8,5$ Hz, H-3, H-5), 7,38 (3H, m, H-4), 5,31 (1H, d, $J = 12,5$ Hz, H-8a), 5,47 (1H, d, $J = 12,5$ Hz, H-8b), 7,51 (2H, d, $J = 7,0$ Hz, H-2', H-6'), 7,38 (2H, d, $J = 7,0$ Hz, H-3', H-5'), 7,34 (1H, m, H-4'), 4,95 (2H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'', H-1'''), 3,38 (2H, m, H-2'', H-2'''), 3,40 (2H, m, H-3'', H-3'''), 3,37 (2H, m, H-4'', H-4'''), 3,44 (2H, m, H-5'', H-5'''), 3,68 (2H, dd, $J = 5,5$, 12,0 Hz, H-6''a, H-6''b), 3,87 (2H, dd, $J = 2,0$, 12,0 Hz, H-6''b, H-6''b). **Phổ ^{13}C -NMR** (125 MHz, CD_3OD) δ_{C} (ppm): 117,5 (C-1), 156,5 (C-2, C-6), 111,7 (C-3, C-5), 132,8 (C-4), 168,2 (C-7), 68,4 (C-8), 137,3 (C-1'), 129,5 (C-2', C-6'), 129,3 (C-3', C-5'), 129,2 (C-4'), 103,0 (C-1'', C-1'''), 74,9 (C-2'', C-2'''), 78,3 (C-3'', C-3'''), 71,3 (C-4'', C-4'''), 78,0 (C-5'', C-5'''), 62,6 (C-6'', C-6''').



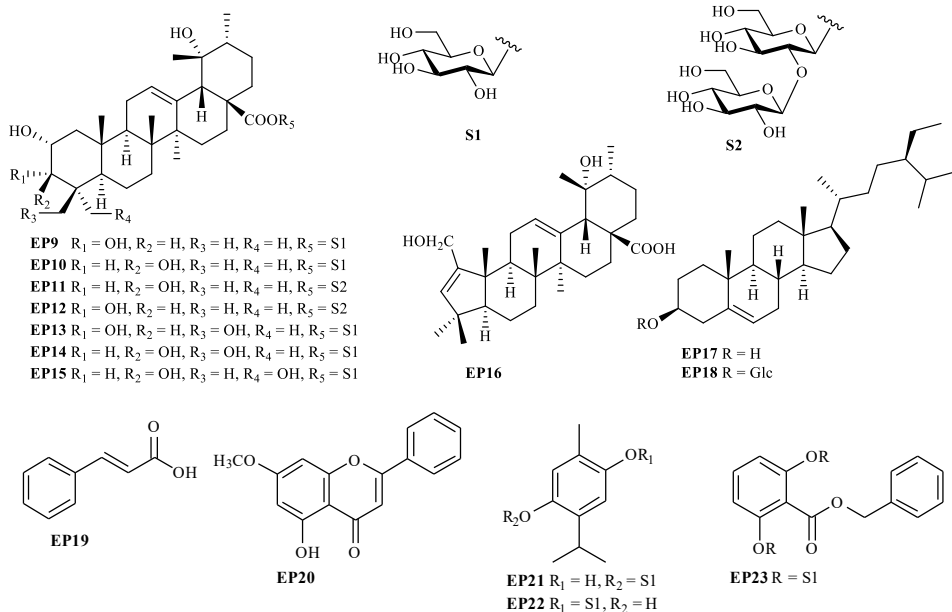
EP1 $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{OH}$, $\text{R}_3 = \text{CH}_2\text{OH}$, $\text{R}_4 = \text{S1}$
EP2 $\text{R}_1 = \text{OH}$, $\text{R}_2 = \text{H}$, $\text{R}_3 = \text{CH}_2\text{OH}$, $\text{R}_4 = \text{S1}$
EP3 $\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{O}$, $\text{R}_3 = \text{H}$, $\text{R}_4 = \text{S1}$
EP4 $\text{R}_1 = \text{OH}$, $\text{R}_2 = \text{H}$, $\text{R}_3 = \text{COOH}$, $\text{R}_4 = \text{S1}$



EP5 $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{S1}$
EP6 $\text{R}_1 = \text{OH}$, $\text{R}_2 = \text{S1}$



EP7 $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{OH}$, $\text{R}_3 = \text{S1}$
EP8 $\text{R}_1 = \text{OH}$, $\text{R}_2 = \text{H}$, $\text{R}_3 = \text{S1}$

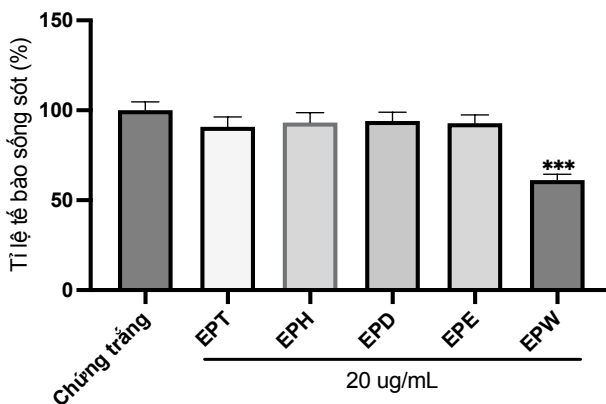


Hình 3.1. Cấu trúc hóa học của 23 hợp chất phân lập từ Chùa dù

3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng sinh học

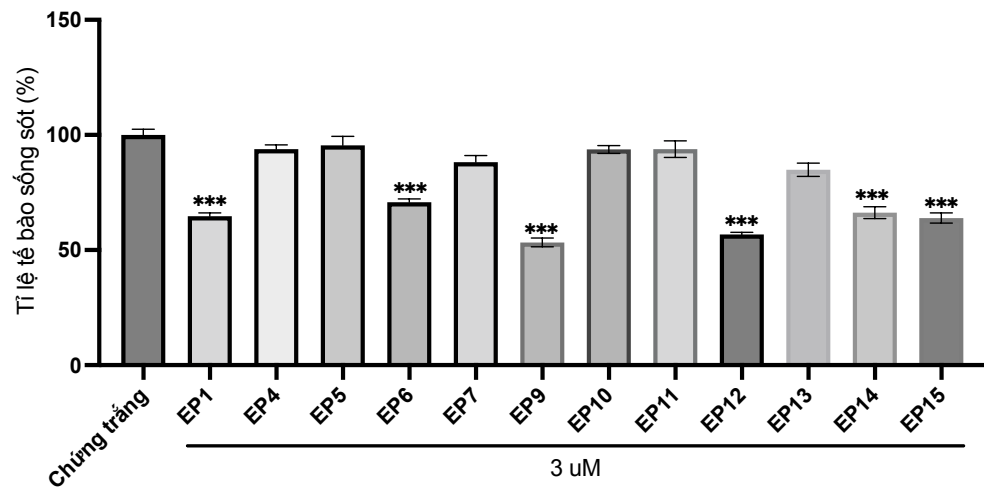
3.2.1. Kết quả đánh giá tác dụng chống viêm *in vitro* của các cao chiết và hợp chất tinh khiết phân lập được

3.2.1.1. Ảnh hưởng của các cao chiết và các hợp chất tinh khiết đến khả năng sống sót của tế bào RAW 264.7



Hình 3.2. Ảnh hưởng của các cao chiết lên khả năng sống sót của tế bào RAW264.7

Cao chiết (nồng độ 20 µg/mL) của Chùa dù được ủ với tế bào RAW264.7 trên đĩa 96 giếng trong 24 giờ. Mẫu chứng trắng được ủ với DMSO 1%. Sau đó MTT 10 mg/mL trong PBS (100 µl) được ủ với tế bào khoảng 45 phút cho đến khi xuất hiện màu tím. Sản phẩm được đo quang ở bước sóng 570 nm. ***: $p < 0,001$ khi so sánh với chứng trắng.

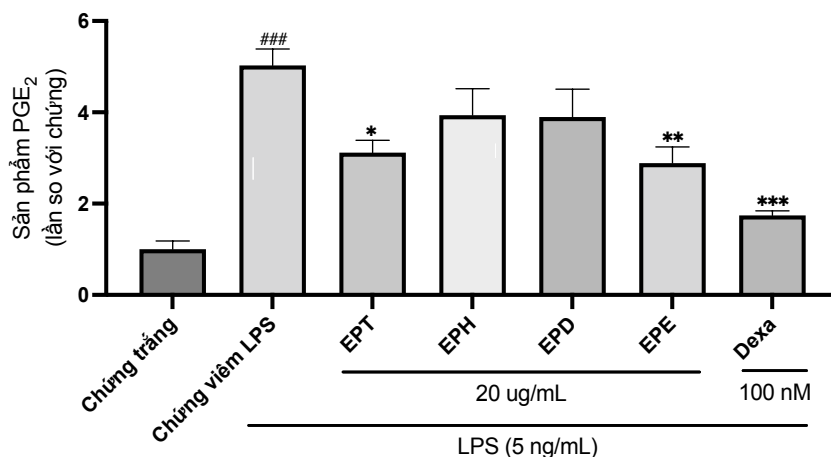


Hình 3.3. Ảnh hưởng của các hợp chất tinh khiết lên khả năng sống sót của tế bào RAW 264.7. Các chất tinh khiết (nồng độ 3 µM) của Chùa dù được ủ với tế bào RAW264.7 trên đĩa 96 giếng trong 24 giờ. Mẫu chứng trắng được ủ với DMSO 1%. Sau đó MTT 10 mg/mL trong PBS (100 µl) được ủ với tế bào khoảng 45 phút cho đến khi xuất hiện màu tím. Sản phẩm được đo quang ở bước sóng 570 nm. ***: $p < 0,001$ khi so sánh với chứng trắng.

Kết quả hình 3.2 và 3.3 cho thấy, các cao chiết **EPT, EPH, EPD, EPE** ở nồng độ 20 µg/mL và các hợp chất **EP4, EP5, EP7, EP10, EP11, EP13** ở nồng độ 3 µM hầu như không làm ảnh hưởng đến sự sống sót của tế bào RAW 264.7 (tỉ lệ sống sót của tế bào đều trên 80%). Trong khi đó, cao chiết **EPW** và các hợp chất **EP1, EP6, EP9, EP12, EP14, EP15** ở nồng độ 3 µM có tác dụng gây độc đối với tế bào RAW 264.7, với tỉ lệ sống sót của tế bào đều dưới 70%.

3.2.1.2. Kết quả đánh giá mức độ ức chế sản sinh PGE₂ của các cao chiết và các hợp chất tinh khiết

a) Kết quả đánh giá mức độ ức chế sản sinh PGE₂ của các cao chiết



Hình 3.4. Ảnh hưởng của cao chiết toàn phần và cao chiết phân đoạn đến mức độ sản sinh PGE₂. Các cao chiết (20 µg/mL) của Chùa dù được ủ cùng với chất gây cảm ứng viêm LPS (5 ng/mL) với tế bào RAW 264.7 trên đĩa 96 giếng trong 24 giờ. Mẫu chứng trắng được ủ với DMSO 1%. Dịch môi trường tế bào được thu và thử phản ứng ELISA theo hướng dẫn của nhà sản xuất. ###: $p < 0,001$ của LPS so với chứng trắng, *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$ khi so sánh với chứng viêm LPS.

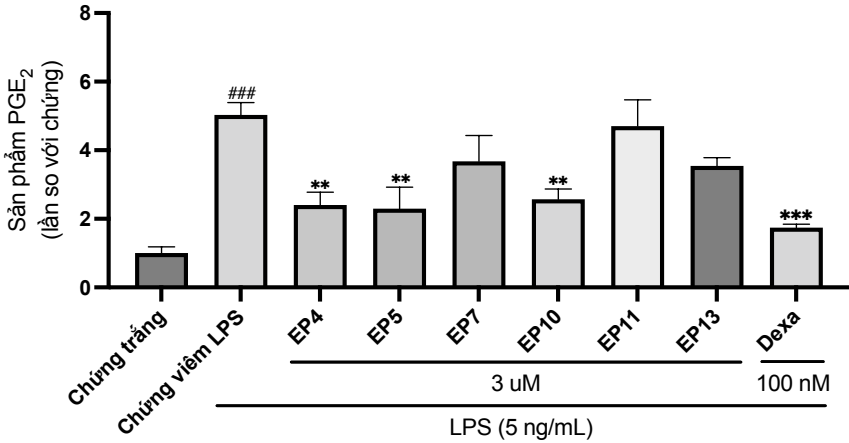
Kết quả hình 3.4 cho thấy:

- Khi tế bào bị kích thích viêm bởi LPS 5 ng/mL thì nồng độ PGE₂ trong dịch tế bào tăng lên 5,03 lần so với mẫu chứng trắng ($p < 0,001$). Và khi được điều trị bằng dexamethason 100 nM thì nồng độ PGE₂ trong tế bào chỉ tăng 1,74 lần so với mẫu chứng trắng.

- Các cao **EPT** và **EPE** ở nồng độ 20 µg/mL thể hiện tác dụng ức chế sản sinh PGE₂ đạt ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng viêm LPS, mức độ sản sinh PGE₂ lần lượt là $3,12 \pm 0,27$; $2,89 \pm 0,35$. Trong đó, phân đoạn **EPE** từ phần trên mặt đất cây Chùa dù thể hiện hoạt tính ức chế PGE₂ *in vitro* mạnh nhất, làm giảm PGE₂ gần 2 lần so với nhóm chứng viêm LPS ($p < 0,01$).

- Cao **EPH** và **EPD** ở nồng độ thử nghiệm làm giảm không đáng kể mức độ sản sinh PGE₂ so với nhóm đối chứng viêm LPS, mức độ sản sinh PGE₂ lần lượt là $3,94 \pm 0,58$, $3,90 \pm 0,61$ và không đạt ý nghĩa thống kê.

b) Kết quả đánh giá mức độ ức chế sản sinh PGE₂ của các hợp chất tinh khiết



Hình 3.5. Ảnh hưởng của các hợp chất tinh khiết đến mức độ sản sinh PGE₂.

Các chất tinh khiết ở nồng độ 3 μ M của Chùa dù được ủ cùng với chất gây cảm ứng viêm LPS (5 ng/mL) với tế bào RAW264.7 trên đĩa 96 giếng trong 24 giờ. Mẫu trắng được ủ với DMSO 1%. Dịch môi trường tế bào được thu và thử phản ứng ELISA với theo hướng dẫn của nhà sản xuất. ###: $p < 0,001$ của LPS so với chứng trắng, *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$ khi so sánh với chứng viêm LPS.

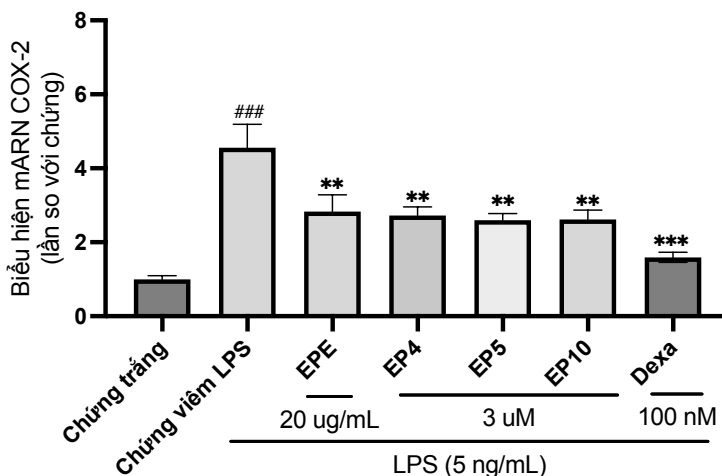
Kết quả hình 3.5 cho thấy:

- Khi tế bào bị kích thích viêm bởi LPS 5 ng/mL thì nồng độ PGE₂ trong dịch tế bào tăng lên 5,03 lần so với mẫu chứng trắng ($p < 0,001$). Và khi được điều trị bằng dexamethason 100 nM thì nồng độ PGE₂ trong tế bào chỉ tăng 1,74 lần so với mẫu chứng trắng.

- Các chất **EP4**, **EP5** và **EP10** ở nồng độ 3 μ M làm giảm đáng kể mức độ sản sinh PGE₂ so nhóm đối chứng viêm LPS đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$), mức độ sản sinh PGE₂ lần lượt là $2,41 \pm 0,37$; $2,30 \pm 0,63$; và $2,57 \pm 0,30$. Trong đó, **EP5** thể hiện tác dụng mạnh nhất.

- Các chất **EP7**, **EP11** và **EP13** ở nồng độ 3 μ M làm giảm không đáng kể mức độ sản sinh PGE₂ so với nhóm đối chứng viêm LPS, mức độ sản sinh PGE₂ lần lượt là $3,67 \pm 0,76$; $4,70 \pm 0,77$ và $3,54 \pm 0,25$, mức giảm chưa đạt ý nghĩa thống kê.

3.2.1.3. Ảnh hưởng của cao chiết và các hợp chất tinh khiết tiềm năng lên mức độ biểu hiện mRNA của COX-2



Hình 3.6. Ảnh hưởng của cao chiết EPE và các hợp chất tiềm năng từ Chùa dù lên mức độ biểu hiện mRNA của COX-2. Mức độ biểu hiện mRNA của COX-2 phân tích bằng qCPR; ####: $p < 0,001$ của LPS so với chứng trắng, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$ khi so sánh với chứng viêm LPS.

Kết quả hình 3.6 cho thấy:

- Tế bào RAW246.7 khi bị kích thích viêm bởi LPS (nồng độ 5 ng/mL) thì mức độ biểu hiện mRNA của COX-2 tăng 4,56 lần so với mẫu chứng trắng ($p < 0,001$). Và khi được điều trị bằng dexamethason 100 nM thì mức độ biểu hiện mRNA của COX-2 chỉ tăng 1,59 lần so với mẫu chứng trắng.

- Cao EPE ở nồng độ 20 $\mu\text{g/mL}$ và các hợp chất EP4, EP5 và EP10 ở nồng độ 3 μM làm giảm đáng kể mức độ biểu hiện mRNA của COX-2 (lần lượt là $2,83 \pm 0,46$; $2,73 \pm 0,23$, $2,60 \pm 0,18$ và $2,62 \pm 0,25$) so với đối chứng viêm LPS, các kết quả đều đạt ý nghĩa thống kê (với $p < 0,01$).

3.2.2. Kết quả đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư *in vitro* của các cao chiết và hợp chất tinh khiết

3.2.2.1. Kết quả đánh giá tác dụng gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư A549 và MCF-7 của các cao chiết và hợp chất tinh khiết

Bảng 3.1. Tỷ lệ sống sót của tế bào A549 và MCF-7 sau 48 giờ ủ với cao toàn phần và các cao phân đoạn

STT	Mẫu thử		% Tế bào sống sót	
			A549	MCF-7
1	DMSO 1%		100,00 ± 4,36	100,00 ± 4,65
2	EPT	20 µg/mL	68,15 ± 1,83	72,90 ± 4,67
3	EPH		84,17 ± 5,34	87,25 ± 3,57
4	EPD		74,28 ± 2,43	77,48 ± 4,29
5	EPE		49,33 ± 4,22	53,66 ± 3,36
6	EPW		66,51 ± 4,33	65,88 ± 2,68
7	Doxorubicin (100 nM)		45,10 ± 2,15	
8	Doxorubicin (10 µM)			39,47 ± 2,48

Kết quả ở bảng 3.1 cho thấy, cao **EPE** ở nồng độ 20 µg/mL thể hiện tác dụng tốt nhất trên 2 dòng tế bào thử: đối với dòng A549 có % tế bào sống sót là 49,33%, thấp hơn so với chứng dương doxorubicin ở nồng độ 100 nM (với tỉ lệ tế bào sống sót là 45,10%) và đối với dòng MCF-7 có % tế bào sống sót là 53,66%. Các cao chiết còn lại ở nồng độ 20 µg/mL thể hiện tác dụng gây độc trên 2 dòng tế bào thử nghiệm ở mức độ trung bình và yếu, với tỉ lệ tế bào sống sót trên 65%.

Bảng 3.2. Tỷ lệ sống sót của tế bào A549 và MCF-7 sau 48 giờ ủ với các chất tinh khiết phân lập được

STT	Mẫu thử		% Tế bào sống sót	
			A549	MCF-7
1	DMSO 1%		100,00 ± 4,36	100,00 ± 4,65
2	EP1	10 µM	48,84 ± 2,70	52,34 ± 3,12
3	EP4		69,61 ± 3,57	69,97 ± 3,67
4	EP5		48,58 ± 3,75	50,06 ± 3,05
5	EP6		65,48 ± 3,18	64,15 ± 3,59
6	EP7		78,04 ± 3,67	80,50 ± 4,39
7	EP9		64,10 ± 2,89	61,78 ± 3,58
8	EP10		71,68 ± 4,04	71,96 ± 4,33
9	EP11		76,81 ± 2,64	80,24 ± 3,59
10	EP12		38,46 ± 3,68	36,79 ± 2,79
11	EP13		85,76 ± 3,79	81,53 ± 3,45
12	EP14		73,37 ± 3,16	73,98 ± 5,89

13	EP15		$81,29 \pm 2,33$	$80,75 \pm 3,84$
14	Doxorubicin (100 nM)		$45,10 \pm 2,15$	
15	Doxorubicin (10 μ M)			$39,47 \pm 2,48$

Kết quả ở bảng 3.2 cho thấy, 3 hợp chất **EP1**, **EP5** và **EP12** (ở nồng độ 10 μ M) thể hiện tác dụng tốt nhất trên 2 dòng tế bào thử nghiệm, với phần trăm tế bào sống sót lần lượt là 48,84%, 48,58%, 38,46% đối với dòng tế bào A549 và 52,34%, 50,06%, 36,79% đối với dòng tế bào MCF-7. Trong đó chất **EP12** ở nồng độ 10 μ M thể hiện tác dụng tốt hơn so với chứng dương doxorubicin 100 nM trên dòng tế bào A549 và doxorubicin 10 μ M trên dòng tế bào MCF-7.

3.2.2.2. Kết quả đánh giá tác dụng gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư A549, MCF-7, HepG2, K562 của cao chiết và các hợp chất tiềm năng theo nồng độ

Bảng 3.3. Giá trị IC_{50} của cao EPE và 3 chất tinh khiết tiềm năng theo nồng độ tế bào ung thư A549, MCF-7, HepG2, K562

STT	Mẫu thử	Giá trị IC_{50}			
		A549	MCF-7	HepG2	K562
1	EPE (μ g/mL)	16,86 (15,20 – 18,64)	22,67 (19,28 – 26,60)	29,49 (27,16 – 32,05)	29,20 (25,82 – 33,13)
2	EP1 (μ M)	7,725 (5,991 – 9,599)	12,65 (9,785 – 15,92)	16,91 (12,73 – 22,01)	13,10 (10,43 – 16,10)
3	EP5 (μ M)	7,846 (6,669 – 9,103)	10,79 (8,205 – 13,73)	12,52 (10,16 – 15,16)	12,49 (9,196 – 16,34)
4	EP12 (μ M)	4,882 (2,680 – 7,354)	5,406 (3,206 – 7,867)	6,333 (3,964 – 8,985)	7,350 (7,000 – 7,705)
5	Doxorubicin (μ M)	0,07762 (0,03462 – 0,1740)	7,612 (5,245 – 11,05)	0,2075 (0,1567 – 0,2747)	4,243 (3,817 – 4,716)

Chú thích: Giá trị IC_{50} (khoảng tin cậy 95% của IC_{50})

Kết quả bảng 3.3 cho thấy:

- Cao **EPE** có tác dụng tốt nhất trên dòng tế bào A549, yếu hơn trên dòng MCF-7 và tác dụng yếu nhất trên dòng K562 và HepG2 với giá trị IC_{50} lần lượt là 16,86; 22,67; 29,20; 29,49 μ g/mL.

- Chất **EP1** thể hiện hoạt tính tốt nhất trên dòng A549, hoạt tính yếu hơn trên dòng MCF-7, K562 và yếu nhất trên dòng HepG2 với giá trị IC_{50} lần lượt là 7,725; 12,65; 13,10; 16,91 μM .

- Chất **EP5** có tác dụng mạnh nhất trên dòng A549, tác dụng yếu hơn trên dòng MCF-7 và tác dụng yếu nhất trên 2 dòng K562 và HepG2 với giá trị IC_{50} lần lượt là 7,846; 10,79; 12,49; 12,52 μM .

- Chất **EP12** có tác dụng mạnh nhất trên dòng A549 và MCF-7, tác dụng yếu hơn trên 2 dòng HepG2 và K562. Trong 3 chất **EP1**, **EP5** và **EP12**, chất **EP12** thể hiện tác dụng mạnh nhất trên cả 4 dòng tế bào thử nghiệm, trong đó tác dụng trên dòng MCF-7 của **EP12** (IC_{50} là 5,406 μM) mạnh hơn so với chứng dương doxorubicin (IC_{50} là 7,612 μM).

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

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

KẾT LUẬN

1. Về hóa học

- Đã xác định hàm lượng tinh dầu Chùa dù thu ở Sìn Hồ là 0,87%, ở Sa Pa là 0,85% và ở Bát Xát là 0,88%. Thành phần chính của tinh dầu ở cả 3 địa điểm trên là 1,8-cineol với hàm lượng 57,73 - 74,42%.
- Đã xác định được phần trên mặt đất cây Chùa dù có flavonoid, saponin, triterpenoid, chất béo, phytosterol, coumarin, acid amin, đường khử tự do và anthranoid.
- Đã phân lập và xác định cấu trúc của 23 hợp chất từ phần trên mặt đất của cây Chùa dù, bao gồm:
 - 15 hợp chất saponin triterpenoid, trong đó có 7 hợp chất mới lần đầu tiên phân lập từ tự nhiên, được đề nghị gọi tên là **Pendulosid A-G** và 8 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Elsholtzia* Willd. là: Sericosid (**EP1**), 2 α ,3 α ,19 α ,24-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid 28-*O*- β -D-glucopyranosid (**EP2**), kaji-ichigosid F1 (**EP9**), rosamultin (**EP10**), officinoterpenosid B (**EP11**), pruvulosid B (**EP13**), 24-hydroxytormentic acid ester glucosid (**EP14**), niga-ichigosid F1 (**EP15**).
 - 04 hợp chất phenolic: Acid *trans*-cinnamic (**EP19**) và 3 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ chi *Elsholtzia* Willd. là: thymoquinol 5-*O*- β -D-

glucopyranosid (**EP21**), thymoquinol 2-*O*- β -D-glucopyranosid (**EP22**), foliachinenosid A1 (**EP23**).

- 01 hợp chất triterpenoid: Acid hyptadienic (**EP16**).
- 01 hợp chất flavonoid: Tectochrysin (**EP20**).
- 02 hợp chất steroid: β -Sitosterol (**EP17**) và daucosterol (**EP18**).

2. Về tác dụng sinh học

➤ *Tác dụng chống viêm in vitro trên tế bào RAW 264.7:*

- Cao phân đoạn ethyl acetat (**EPE**) ở nồng độ 20 $\mu\text{g/mL}$ có tác dụng ức chế mức độ sản sinh PGE_2 và làm giảm mức độ biểu hiện mRNA của COX-2 trên tế bào RAW 264.7.

- Các hợp chất pendulosid E (**EP4**), pendulosid C (**EP5**) và rosamultin (**EP10**) ở nồng độ 3 μM có tác dụng ức chế mức độ sản sinh PGE_2 và làm giảm mức độ biểu hiện mRNA của COX-2 trên tế bào RAW 264.7.

➤ *Tác dụng gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư A549, MCF-7, HepG2, K562 in vitro:*

- Cao phân đoạn ethyl acetat (**EPE**) có tác dụng gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} lần lượt là 16,86 $\mu\text{g/mL}$ (dòng A549), 22,67 $\mu\text{g/mL}$ (dòng MCF-7), 29,49 $\mu\text{g/mL}$ (dòng HepG2) và 29,20 $\mu\text{g/mL}$ (dòng K562).

- Hợp chất **sericosid** (**EP1**) có tác dụng gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} lần lượt là: 7,725 μM (dòng A549), 12,65 μM (dòng MCF-7), 16,91 μM (dòng HepG2), 13,10 μM (dòng K562).

- Hợp chất pendulosid C (**EP5**) có tác dụng gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} lần lượt là: 7,846 (dòng A549), 10,79 μM (dòng MCF-7), 12,52 μM (dòng HepG2), 12,49 μM (dòng K562).

- Hợp chất pendulosid G (**EP12**) có tác dụng gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} lần lượt là: 4,882 μM (dòng A549), 5,406 μM (dòng MCF-7), 6,333 μM (dòng HepG2), 7,350 μM (dòng K562).

KIẾN NGHỊ

- Tiếp tục nghiên cứu về thành phần hóa học phần trên mặt đất cây Chùa dù.

- Tiếp tục nghiên cứu tác dụng của hợp chất pendulosid G (**EP12**) và pendulosid C (**EP5**) trên các dòng tế bào ung thư khác như: MDA-MB 231, 4T1.

- Tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về tác dụng chống viêm *in vitro* trên các tín hiệu khác như: oxyd nitric (NO), các cytokin (TNF- α , IL-1 β , IL-6) của cao chiết **EPE** và hợp chất pendulosid C (**EP5**).

CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Thi Dieu Huong Hoang, Thi Kim Van Le, Thi Ha Do (2022), Triterpene glycosides from the aerial parts of *Elsholtzia penduliflora* W. W. Smith and their cytotoxic activity, *Fitoterapia*, 162, 105264, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2022.105264>.
2. Hoàng Thị Diệu Hương, Đỗ Thị Hà, Lê Thị Kim Vân (2022), Một số hợp chất saponin từ phân đoạn ethyl acetat của Chùa dù (*Elsholtzia penduliflora* W. W. Smith), *Tạp chí Nghiên cứu Dược và Thông tin thuốc*, 13(1), 1-8.
3. Hoàng Thị Diệu Hương, Lê Thị Kim Vân, Nguyễn Văn Chính, Đỗ Thị Hà (2021), Thành phần hóa học của tinh dầu và phân đoạn *n*-hexan của phân trên mặt đất Chùa dù, *Tạp chí Dược liệu*, 26(6), 282-287.
4. Hoang Thi Dieu Huong, Do Thi Ha, Le Thi Kim Van (2021), Saponins and phenolic glycosides from aerial parts of *Elsholtzia penduliflora* W. W. Smith, *Journal of Medicinal Materials*, Vol. 26, No. 1+2, 24-28.