

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC BÁCH KHOA HÀ NỘI

TRẦN THỊ MINH

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH
SINH HỌC CỦA CÂY CHÓC MÁU (*SALACIA CHINENSIS* L.)
HỌ DÂY GỐI (CELASTRACEAE) VÀ CÂY NGỌC NỮ BIỂN
(*CLERODENDRUM INERME* GAERTN.) HỌ CỎ ROI NGỰA
(VERBENACEAE)**

Chuyên ngành: Hóa Hữu cơ

Mã số: 62.44.27.01

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

Hà Nội – 2010

Công trình được hoàn thành tại: Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.

Người hướng dẫn khoa học: 1. GS.TSKH. Trần Văn Sung
2. PGS. TS. Vũ Đào Thắng

Phản biện 1: PGS. TS. Nguyễn Văn Đậu

Phản biện 2: PGS. TS. Đỗ Đình Răng

Phản biện 3: GS. TS. Phạm Xuân Sinh

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Nhà nước
hợp tại: Phòng 318-C1, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.

Vào hồi 14 giờ ngày 10 tháng 6 năm 2010

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc Gia.
- Thư viện Tạ Quang Bửu - Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.

2. Tran Thi Minh, Nguyen Thi Hoang Anh, Vu Dao Thang, and Tran Van Sung (2009), Chemical constituents of *Salacia chinensis* L. growing in Vietnam, *Journal of Chemistry of Vietnam*, Vol.47(2A), pp.469-473.
3. Tran Thi Minh, Nguyen Thi Hoang Anh, Vu Dao Thang, and Tran Van Sung (2009), Chemical constituents from *Clerodendrum inerme* species in Viet Nam, *Traditional and Alternative Medicine (Research & Policy Perspectives)*, pp. 170-174.
4. Tran Thi Minh, Nguyen Thi Hoang Anh, Vu Dao Thang, and Tran Van Sung (2008), Study on chemical constituents of *Salacia chinensis* L. collected in Vietnam, *Z. Naturforsch.*, Vol. 63b, No 12, pp. 1411-1414.
5. Tran Thi Minh, Nguyen Thi Hoang Anh, Vu Dao Thang, and Tran Van Sung (2008), Triterpenes from *Salacia chinensis* L. collected in Quang Binh Province, Viet Nam, *International Scientific conference on "Chemistry for development and Integration"*, Hanoi, pp. 397-402.
6. Tran Thi Minh, Nguyen Thi Hoang Anh, Vu Dao Thang, Tran Van Sung (2008), Study on chemical constituents of *Salacia chinensis* L. collected in Thua Thien Hue, *Journal of Chemistry of Vietnam*, Vol.46(1), pp.47-51.
7. Trần Thị Minh, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Vũ Đào Thắng, Trần Văn Sung (2008), Một số kết quả nghiên cứu thành phần hóa học cây Ngọc nữ biển Việt Nam (*Clerodendrum inerme*), *Hội nghị Khoa học và Công nghệ Hóa Dược toàn Quốc lần thứ I*, Hà Nội 12/2008, Tr. 285-290.
8. Trần Thị Minh, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Vũ Đào Thắng, Trần Văn Sung (2007), Bước đầu nghiên cứu thành phần hóa học và thăm dò hoạt tính sinh học của cây Ngọc nữ biển (*Clerodendrum inerme*) Việt Nam, *Hội nghị Khoa học và Công nghệ Hoá học Hữu cơ toàn quốc*, Hà nội 10/2007, Tr.460-464.
9. Trần Thị Minh, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Vũ Đào Thắng, Trần Văn Sung (2007), Andrographolid và lupenyleste từ cây Ngọc nữ biển Việt Nam (*Clerodendrum inerme* Gaertn.), *Tạp chí Hóa học*, T.45 (6A), Tr. 166-170.

A. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Ý nghĩa của luận án

Cây Chóc máu (*Salacia chinensis* L.) họ Celastraceae và cây Ngọc nữ biển (*Clerodendrum inerme* Gaertn.) họ Verbenaceae là hai cây được dân gian sử dụng trong các bài thuốc để chữa các bệnh: tiểu đường, ung thư, viêm khớp, phong thấp, trợ tim, kháng khuẩn, đau dạ dày, sốt rét, viêm gan ...[1, 2]. Trên thế giới, đã có một số công trình công bố về hóa học cũng như hoạt tính chữa bệnh tiểu đường của loài *Salacia chinensis* L. [7, 29, 30, 51, 52, 53, 57, 93, 95]. Các nghiên cứu về hóa học và hoạt tính kháng viêm, cũng như tác dụng ức chế sinh trưởng và phát triển của côn trùng ở một số chất phân lập từ cây *Clerodendrum inerme* Gaertn. cũng đã được công bố [11, 12, 18, 36, 37, 46, 66, 67, 76, 82, 84]. Tuy nhiên, ở Việt Nam hai cây này mới chỉ được sử dụng trong dân gian để làm thuốc chữa bệnh mà chưa được nghiên cứu về hóa học và hoạt tính sinh học. Vì vậy, nhiệm vụ luận án đặt vấn đề nghiên cứu một cách hệ thống về hóa học và hoạt tính sinh học của hai cây trên, nhằm góp phần định hướng nghiên cứu và sử dụng các loài cây này ở Việt Nam.

2. Mục tiêu của luận án

- Thu thập mẫu, xác định tên khoa học của hai cây nghiên cứu.
- Phân lập và xác định cấu trúc hóa học của các chất có trong cây Chóc máu (*Salacia chinensis* L.) và cây Ngọc nữ biển (*Clerodendrum inerme* Gaertn.) của Việt Nam.
- Bước đầu thăm dò hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định và hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các dịch chiết và các chất phân lập được từ hai cây trên.

3. Những đóng góp mới của luận án

Cây Chóc máu thu tại Thừa Thiên Huế, Quảng Bình và cây Ngọc nữ biển thu tại Thái Bình đã lần đầu tiên được nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học tại Việt Nam.

3.1. Từ cành cây Chóc máu (*Salacia chinensis* L.) thu tại **Thừa Thiên Huế**,

đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 6 chất đó là các triterpen khung lupan, hopan và daucosterol.

Trong đó axit 28-hydroxy-3-oxo-30-lupanoic (**S5**) là **chất mới** và 3-oxo-30-lupanal (**S1**) là **chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên**.

3.2. Từ cành và lá cây Chóc máu (*Salacia chinensis* L.) thu tại **Quảng Bình**, đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của 13 chất, đó là các triterpen khung friedelan (8 chất), betulin, 14-taraxeren-3 β -ol (**S8**), quercitrin (**SF1**), mangiferin (**SF2**) và daucosterol (**121**).

Trong đó hai chất 7 α ,21 α -dihydroxyfriedelan-3-on (**SCE1**) và 7 α ,29-dihydroxy friedelan-3-on (**SCE3**) là **hai chất mới**.

3.3. Từ lá cây Ngọc nữ biển (*Clerodendrum inerme* Gaertn.) thu tại Thái Bình, đã phân lập được năm chất, bao gồm: 20(29)-lupen-3 β -O-yl hexacosanoat (**CE1**), stigmast-5-en-3 β -ol (**CE2**), acacetin (**CE3**), apigenin (**CE4**) và andrographolid (**CE5**). Đây là **lần đầu tiên** các chất **CE1** và **CE5** được phân lập từ cây này.

3.4. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các dịch chiết từ hai cây nghiên cứu cho thấy: Dịch chiết methanol của thân cây Chóc máu Quảng Bình có hoạt tính mạnh đối với chủng *Sa*, dịch chiết ethyl axetat của cây Ngọc nữ biển có phản ứng dương tính đối với hầu hết các chủng đem thử.

3.5. Đã thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên bốn dòng (MCF7, Hep-G2, LU, KB) của 10 chất phân lập từ hai cây nghiên cứu kết quả cho thấy:

- Andrographolid (**CE5**, **130**) có khả năng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư phổi (**LU**) với giá trị $IC_{50} = 4,32\mu\text{g/ml}$ và có khả năng ức chế sự phát triển của các dòng tế bào còn lại ở $IC_{50} = 11,09 - 20,00\mu\text{g/ml}$.
- **Chất mới 124 (SCE1)** có khả năng ức chế sự phát triển của 4 dòng tế bào ung thư thử nghiệm ở các giá trị $IC_{50} = 16,22 - 27,35\mu\text{g/ml}$.
- **Chất mới 120 (S5)** có thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của cả

4 dòng tế bào thử nghiệm và rõ rệt nhất đối với dòng LU ($IC_{50} = 25,77 \mu\text{g/ml}$)

Đây là lần đầu tiên nghiên cứu về hoạt tính gây độc đối với 4 dòng tế bào ung thư của các chất andrographolid, $7\alpha,21\alpha$ -dihydroxyfriedelan-3-on và axit 28-hydroxy-3-oxo-30-lupanoic được công bố.

4. Bố cục của luận án

Luận án gồm 130 trang với 4 chương, 12 bảng, 27 hình, 7 sơ đồ, 99 tài liệu tham khảo (tiếng Việt: 7, tiếng Anh: 92) và phụ lục gồm 93 hình (92 hình phổ, 1 trang ảnh thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư). Luận án được bố cục như sau: mở đầu: 2 trang, tổng quan: 27 trang, phương pháp nghiên cứu: 3 trang, thực nghiệm: 23 trang, kết quả và thảo luận: 62 trang, kết luận: 2 trang, tài liệu tham khảo: 11 trang, danh mục công trình liên quan đến luận án: 2 trang.

B. NỘI DUNG CỦA LUẬN ÁN

Chương 1: Tổng quan

Trong phần tổng quan, luận án đã tổng kết các công trình nghiên cứu ở trong nước cũng như trên thế giới về đặc điểm thực vật, ứng dụng trong y học cổ truyền, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của hai cây *Salacia chinensis* L. và *Clerodendrum inerme* Gaertn.. Tóm tắt đặc trưng về cấu trúc hóa học và hoạt tính nổi bật của các chất từ hai đối tượng nghiên cứu. Tổng quan về hóa học và hoạt tính sinh học của lớp chất triterpen, là thành phần hóa học chủ yếu của cây *Salacia chinensis* L..

1.1. Cây Chóc máu (*Salacia chinensis* L.), họ Celastraceae.

1.1.1. Cây Chóc máu

Cây Chóc máu thu tại Ấn Độ và Thái Lan đã được nghiên cứu về hóa học và hoạt tính sinh học. Các công trình công bố cho thấy thành phần hóa học chủ yếu của cây Chóc máu là các triterpen với các bộ khung khác nhau. Các megastigman glycosid, eudesman-sesquiterpen,

flavon, mangiferin, salacinol, kotalanol cũng được tìm thấy từ cây này. Một số chất phân lập được từ cây Chóc máu có khả năng chữa bệnh tiểu đường và chống ung thư.

1.1.2. Các hợp chất triterpen

Phần này giới thiệu về phân loại, các dạng cấu trúc và sinh tổng hợp các triterpen, lớp chất chủ yếu được tìm thấy trong cây Chóc máu. Tổng quan những kết quả nghiên cứu gần đây về hoạt tính sinh học của các hợp chất triterpen như: hoạt tính kháng viêm, hoạt tính chống ung thư và khối u, hoạt tính kháng virus, kháng khuẩn.

1.2. Cây Ngọc nữ biển (*Clerodendrum inerme* Gaertn.), họ Verbenaceae

Các kết quả nghiên cứu trên thế giới cho thấy cây Ngọc nữ biển có thành phần hoá học rất đa dạng, các chất phân lập được thuộc nhiều lớp chất khác nhau như: terpenoid, steroid, flavonoid. Các neoclerodan diterpenoid phân lập được từ cây này đều thể hiện hoạt tính gây ngán ăn và ức chế sự sinh trưởng và phát triển của côn trùng.

Chương 2: Phương pháp nghiên cứu

Chương này giới thiệu các phương pháp sử dụng để phân lập các chất từ cặn chiết. Các phương pháp xác định cấu trúc của các chất phân lập được. Phương pháp và quy trình thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các dịch chiết và thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các chất phân lập được từ 2 cây nghiên cứu.

Chương 3: Thực nghiệm

3.1. Mô tả chi tiết nguyên liệu dùng cho nghiên cứu: Mẫu thực vật, hóa chất dùng cho nghiên cứu.

3.2. Chiết tách, tinh chế và xác định cấu trúc của các hợp chất: Mô tả chi tiết quy trình chiết tách, phân lập và tinh chế các chất từ hai cây nghiên cứu.

3.2.1. Chiết tách và số liệu phổ của các hợp chất từ cây Chóc máu (*Salacia chinensis* L.) thu tại Thừa Thiên Huế: Mô tả chi tiết quy trình

phân lập, tinh chế và liệt kê hằng số vật lý, số liệu phổ hồng ngoại (FT-IR), phổ khối (EI-MS, ESI-MS, HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân (^1H -, ^{13}C -NMR) của các chất (**S1-S5**) và daucosterol phân lập được từ cành cây này.

3.2.2. Chiết tách, tinh chế và số liệu phổ của các hợp chất từ cây Chóc máu (*Salacia chinensis* L.) thu tại Quảng Bình (13chất).

3.2.3. Chiết tách, tinh chế và số liệu phổ của các hợp chất từ cây Ngọc nữ biển (*Clerodendrum inerme* Gaertn.): Mô tả chi tiết quá trình phân lập, tinh chế và liệt kê hằng số vật lý, các số liệu phổ của 5 chất phân lập được từ lá cây Ngọc nữ biển (**CE1-CE5**).

3.3. Thử nghiệm hoạt tính sinh học: Thử nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định và hoạt tính gây độc tế bào ung thư (*in vitro*).

3.3.1. Thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các dịch chiết từ cây Chóc máu thu tại Quảng Bình và cây Ngọc nữ biển thu tại Thái Bình.

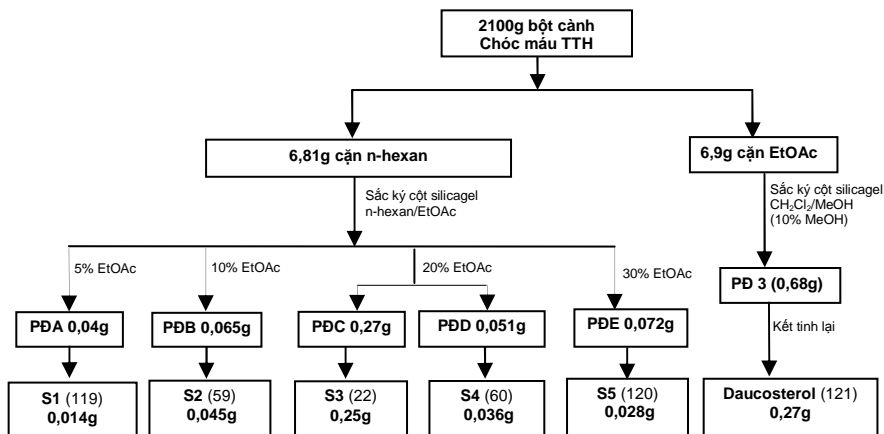
3.3.2. Thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên 4 dòng (**LU, MCF7, Hep-G2, KB**) của 10 chất phân lập từ hai cây nghiên cứu.

Chương 4: Kết quả và thảo luận

Chương này biện luận và phân tích xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được bằng cách kết hợp các phương pháp phổ như: phổ hồng ngoại (FT-IR), phổ khối (EI-MS, ESI-MS, HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (1D-NMR) như: ^1H -, ^{13}C -NMR, DEPT và hai chiều (2D-NMR) như: ^1H - ^1H -COSY, HSQC, HMBC, NOESY.

4.1. Cây Chóc máu (*Salacia chinensis* L.) thu tại Thừa Thiên Huế.

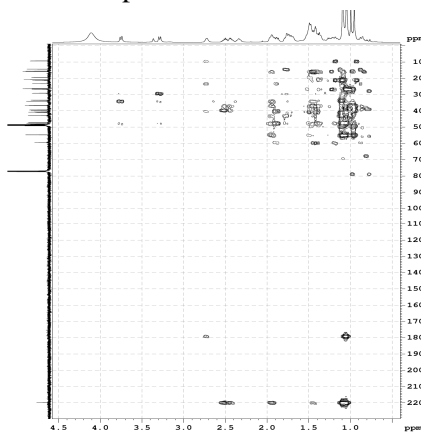
Qui trình phân lập các chất từ cành Chóc máu được mô tả ở sơ đồ 3.3. Cấu trúc hóa học của các chất được xác định bằng cách kết hợp các phương pháp phổ IR, MS, ^1H -, ^{13}C -NMR (bảng 4.1), 2D-NMR và so sánh với các tài liệu tham khảo.



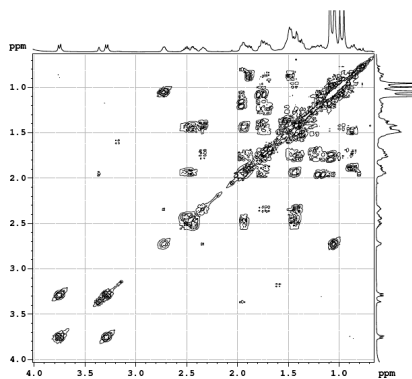
Sơ đồ 3.3: Phân lập các chất từ cành cây Chóc máu Thừa Thiên Huế

• *Axit 28-hydroxy-3-oxo-30-lupanoic (S5)*: Phổ IR của **S5** cho các đỉnh hấp thụ tại 3490 cm^{-1} (ν_{OH}), 1733 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$ axit), 1706 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$ xeton). Kết hợp dữ liệu các phổ: ESI-MS: $m/z = 471$ [M-H]⁻, HR-ESI-MS: $m/z = 471,34761$ ($\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{O}_4$, tính toán 471,34798, [M-H]⁻), phổ ^{13}C -NMR và DEPT đã xác định được công thức phân tử của chất **S5** là $\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{O}_4$, chất này được dự đoán là một triterpen. Phổ ^{13}C -NMR, DEPT cho biết 30 nguyên tử cacbon của chất **S5** bao gồm: $6 \times \text{CH}_3$, $11 \times \text{CH}_2$, $6 \times \text{CH}$ và $7 \times \text{Cq}$, trong đó có một nhóm C=O xeton ($\delta_{\text{C}} = 220,2$; C-3), một nhóm cacboxyl ($\delta_{\text{C}} = 179,3$; C-30), và một nhóm hydroxymetylen ($\delta_{\text{C}} = 59,8$; C-28). Phổ ^1H -NMR cho các tín hiệu hoàn toàn phù hợp với phổ ^{13}C -NMR. Phân tích dữ liệu các phổ, kết hợp so sánh độ chuyển dịch hóa học của các nhóm metyl trong **S5** với các nhóm metyl trong các dẫn xuất của triterpen khung lupan trong tài liệu [37] có thể kết luận chất **S5** là một triterpen có khung lupan. Các dữ liệu của phổ cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều HMBC và ^1H - ^1H COSY của **S5** cho phép xác định được vị trí của nhóm cacboxyl tại C-30 thể hiện ở sự tương tác của C-30 ($\delta_{\text{C}} = 179,3$) với H-20 ($\delta_{\text{H}} = 2,72$) và 3H-29 ($\delta_{\text{H}} = 1,04$). Nhóm hydroxymetylen được gán ở vị trí C-28 thể hiện ở

các tương tác $^3J_{CH}$ giữa 2H-28 ($\delta_H = 3,75; 3,28$) với C-22 ($\delta_C = 34,4$), C-16 ($\delta_C = 29,5$), và C-17 ($\delta_C = 47,9$). Nhóm 3-oxo được suy luận từ sự tương tác $^3J_{CH}$ giữa C-3 ($\delta_C = 220,2$) với 3H-23 ($\delta_H = 1,09$), 3H-24 ($\delta_H = 1,05$), và 2H-2 ($\delta_H = 2,52$) trên phổ HMBC. Qua việc phân tích các dữ liệu phổ trên và sau khi tra trong Science Finder cho phép khẳng định cấu trúc của **S5** là một triterpen mới có tên là: axit 28-hydroxy-3-oxo-30-lupanoic.



Hình 4.8: Phổ HMBC của chất **S5**



Hình 4.10: Phổ 1H - 1H COSY của chất **S5**

• **3-oxo-30-lupanal (S1)**: Công thức phân tử được suy ra từ các dữ liệu phổ ESI-MS ($m/z = 439 [M-H]^+$), 1H -, và ^{13}C -NMR là $C_{30}H_{48}O_2$. Phổ IR cho các đỉnh hấp thụ tại $1699\text{ cm}^{-1}(\nu_{C=O})$, $2708\text{ cm}^{-1}(\nu_{C-H}$ andehyt). Các dữ liệu về phổ 1H và ^{13}C -NMR của **S1** rất trùng khớp với **S5**, ngoại trừ 2 điểm khác biệt do có sự hiện diện của nhóm $-CHO$ ($\delta_H = 9,63$ (1H, s); $\delta_C = 205,0$) và không thấy có tín hiệu của nhóm $-CH_2OH$. Phân tích dữ liệu các phổ của **S1** và so sánh với **S5** cho phép khẳng định cấu trúc phân tử của **S1** là 3-oxo-30-lupanal. Đây là chất lần đầu tiên được phân lập từ thiên nhiên. Trước đây, 3-oxo-30-lupanal đã được tổng hợp từ 3-oxo-lup-20(29)-en-30-al, một hợp chất được phân lập từ loài *Maytenus nemerosa* [79].

Bảng 4.1: Số liệu phổ ^{13}C -NMR của các chất **S1-S5**

[125MHz, CDCl_3 (**S1-S3**), $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ (**S4, S5**), $\delta(\text{ppm})$]

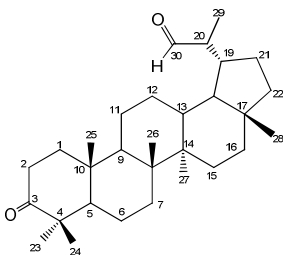
Chất C	S1	S5	S3	S2	S4
1	39,6	39,8	38,9	39,8	39,9
2	34,1	34,4	27,2	34,1	27,6
3	218,0	220,2	79,0	218,1	79,5
4	47,1	47,8	38,9	47,3	39,7
5	54,9	55,1	55,4	54,8	56,5
6	19,7	19,9	18,4	19,7	19,2
7	33,7	33,8	34,4	33,5	35,3
8	40,8	41,2	41,0	40,7	41,8
9	49,7	49,7	50,5	49,6	49,8
10	36,9	37,1	37,2	36,9	38,1
11	21,3	21,5	20,9	21,5	22,0
12	27,3	27,1	25,4	27,2	27,8
13	37,5	37,2	37,4	49,5	44,8
14	42,9	43,2	42,8	42,8	43,7
15	26,5	26,7	27,1	34,9	28,4
16	23,7	29,5	29,3	27,7	36,4
17	43,1	47,9	47,8	52,6	51,6
18	49,4	48,0	48,8	43,1	43,9
19	37,9	40,4	47,8	39,5	40,7
20	47,4	41,4	150,7	27,3	32,6
21	40,5	23,6	29,9	37,2	39,2
22	35,3	34,4	34,1	212,7	155,6
23	26,7	26,8	28,0	26,8	28,5
24	21,1	21,2	15,4	21,0	15,0
25	15,9	16,1	16,1	15,7	16,0
26	15,8	15,9	16,0	16,0	16,5
27	14,3	14,7	14,8	18,0	16,6
28	17,9	59,8	60,2	14,4	18,1
29	7,4	9,7	109,6	-	107,0
30	205,0	179,3	19,1	29,2	64,9

• *Betulin* (**S3**): Từ các dữ liệu phổ thu được (IR, EI-MS, ^1H -, ^{13}C -NMR và DEPT) kết hợp tham khảo tài liệu [75], kết luận chất **S3** là 20(29)-lupen-3,28-diol hay betulin. Chất này có mặt trong nhiều loài thực vật thuộc các họ khác nhau. Các nghiên cứu về hoạt tính gây độc tế bào, chống HIV và

tác dụng bảo vệ gan của betulin đã được công bố [19], [60].

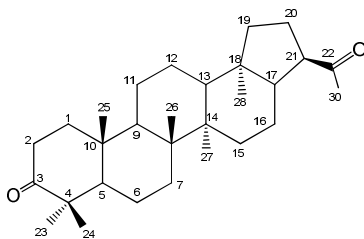
- *29-nor-21 α -H-hopan-3,22-dion (S2)*: Phân tích các phổ của **S2**, kết hợp so sánh với tài liệu [37], cấu trúc của **S2** được xác định là 29-nor-21 α -H-hopan-3,22-dion. Chất này đã được phân lập trước đây từ loài *Mallotus paniculatus* thuộc họ Euphorbiaceae.

- *21 α -H-22(29)-hopen-3 β ,30-diol (S4)*: Từ các dữ liệu phổ thu được, kết hợp tham khảo tài liệu [36], kết luận chất **S4** là 21 α -H-22(29)-hopen-3 β ,30-diol. Chất này đã được phân lập trước đây từ cây *Rhodomyrtus tomentosa*, họ Myrtaceae.

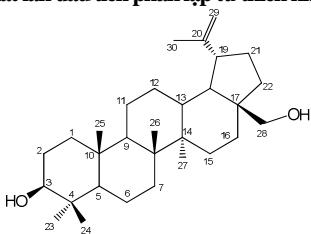


S1(119)

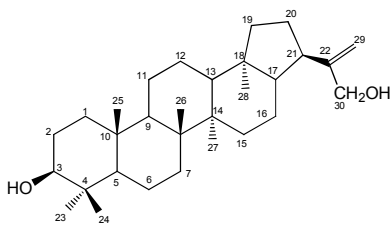
Chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên



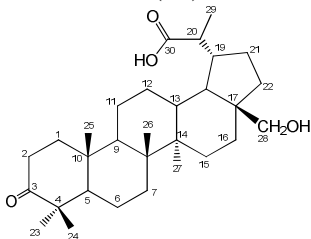
S2 (59)



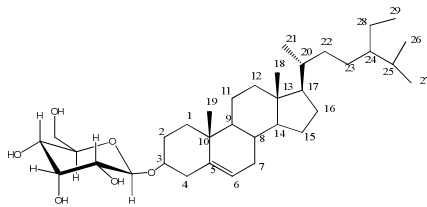
S3 (22)



S4 (60)



S5 (120) - Chất mới



Daucosterol (121)

• *Daucosterol*: Phân tích dữ liệu các phổ IR và ¹H-NMR của chất này, kết hợp so sánh với daucosterol trên sắc ký bản mỏng và tham khảo tài liệu [21], khẳng định chất phân lập được là daucosterol.

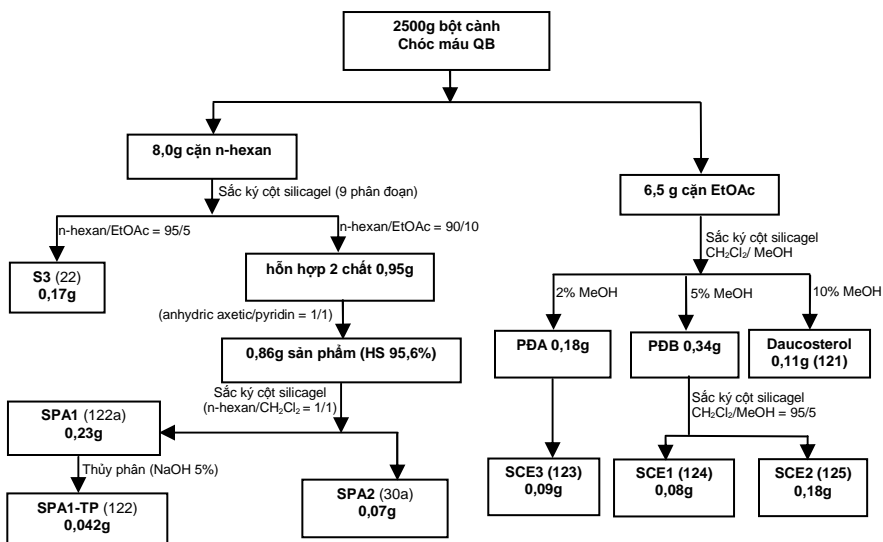
4.2. Cây Chóc máu thu tại Quảng Bình

4.2.1. Xác định cấu trúc các chất được phân lập từ cành Chóc máu

Quy trình phân lập các chất từ cành Chóc máu được mô tả ở sơ đồ 3.4.

* Từ cặn n-hexan của cành Chóc máu:

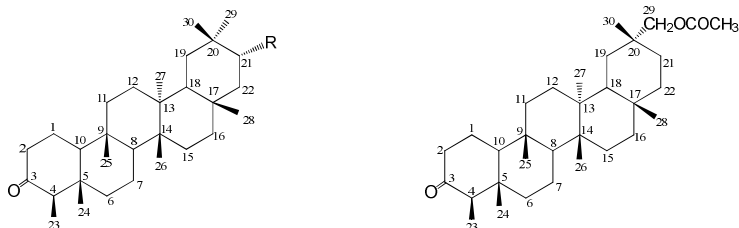
- *Betulin*: Được xác định khi so sánh dữ liệu các phổ thu được với betulin (S3), đã phân lập từ cành Chóc máu thu tại Thừa Thiên Huế.
- *21 α -axetoxfriedelan-3-on (SPA1)* và *21 α -hydroxyfriedelan-3-on (SPA1-TP)*: Từ các dữ liệu phổ thu được của 2 chất, kết hợp tham khảo tài liệu [93] kết luận chất SPA1 là 21 α -axetoxfriedelan-3-on. Như vậy, chất gốc có trong cây Chóc máu là 21 α -hydroxyfriedelan-3-on (SPA1-TP).



Sơ đồ 3.4: Phân lập các chất từ cành Chóc máu Quảng Bình

- *29-axetoxfriedelan-3-on (SPA2)*: Các số liệu phổ thu được của SPA2 hoàn toàn đồng nhất với số liệu của chất 29-axetox friedelan-3-on

trong các tài liệu [9], [15], [65]. Kết luận chất **SPA2** là 29-axetoxyfriedelan-3-on, hợp chất thiên nhiên có trong cây Chóc máu là 29-hydroxyfriedelan-3-on.



SPA1(122a): R = OCOCH₃

SPA2 (30a)

SPA1-TP (122): R = OH

Bảng 4.2: Số liệu phổ ¹³C-NMR của **SPA1**, **SPA1-TP**, và **SPA2**

[125MHz, CDCl₃, δ(ppm)]

C	SPA1	SPA1-TP	SPA2	C	SPA1	SPA1-TP	SPA2
1	22,3	22,3	22,3	17	32,0	32,5	30,0
2	41,5	41,5	41,5	18	43,3	44,3	42,6
3	213,0	213,1	213,0	19	35,9	36,0	30,2
4	58,2	58,2	58,2	20	33,5	34,4	31,9
5	42,1	42,1	42,1	21	76,4	74,3	28,2
6	41,3	41,3	41,3	22	43,2	47,1	38,1
7	18,3	18,3	18,3	23	6,8	6,8	6,8
8	52,3	51,6	53,1	24	14,6	14,7	14,7
9	37,5	37,5	37,5	25	18,1	17,8	18,0
10	59,5	59,6	59,5	26	18,9	18,2	18,6
11	35,4	35,3	35,6	27	19,0	19,3	20,1
12	30,4	30,2	30,4	28	32,7	33,2	32,1
13	39,3	39,1	39,8	29	30,8	31,9	72,7
14	38,5	38,8	38,3	30	26,3	24,9	29,5
15	31,3	30,5	32,3	OCOCH ₃	171,0	-	171,4
16	36,5	36,1	35,9	OCOCH ₃	21,2	-	21,0

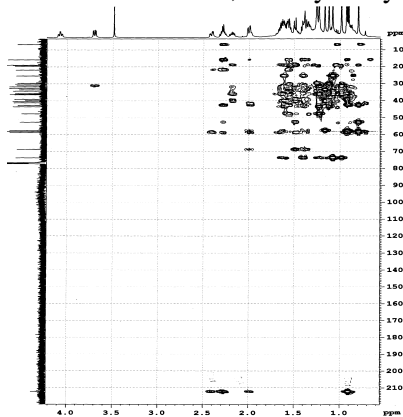
* *Từ dịch chiết ethyl axetat của cành Chóc máu:*

• **7 α ,21 α -dihydroxyfriedelan-3-on (SCE1)**: Phổ IR cho các đỉnh hấp thụ tại ν_{\max} : 3446 cm⁻¹ (OH) và 1716 cm⁻¹ (C=O). Phổ EI-MS cho pic ion phân tử tại $m/z = 458$ [M]⁺. Phổ HR-ESI-MS cho mảnh ion quan trọng

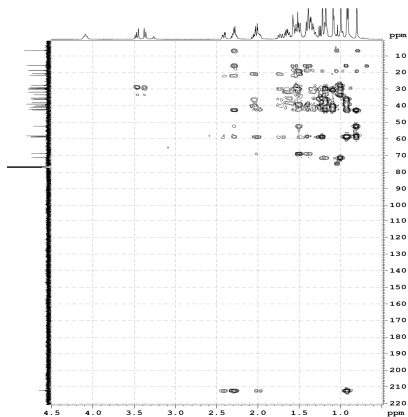
tại $m/z = 481,36494$ ($C_{30}H_{50}O_3Na$, theo tính toán 481,36522, $[M+Na]^+$). Như vậy công thức phân tử của **SCE1** là $C_{30}H_{50}O_3$, dự đoán hợp chất này là một triterpen. Phổ ^{13}C -NMR và DEPT cho biết phân tử chất **SCE1** có 30 nguyên tử cacbon trong đó: tín hiệu của một nhóm $>C=O$ tại δ_C 212,3; hai nhóm $>CH-OH$ tại δ_C 68,8 và δ_C 73,8; các tín hiệu còn lại là: $8 \times CH_3$, $9 \times CH_2$, $4 \times CH$, và $6 \times Cq$. Các tín hiệu proton trên phổ 1H -NMR hoàn toàn đồng nhất với phổ ^{13}C -NMR. So sánh số liệu của các nhóm methyl trong **SCE1** với các dẫn xuất triterpen khung friedelan trong các tài liệu [8], [92] có thể kết luận chất **SCE1** là một friedelanon triterpen có 2 nhóm thế hydroxyl. Kết luận này được khẳng định thêm nhờ các ion phân mảnh đặc trưng của khung này tại $m/z = 271, 245, 203, 177$ và 151 [33]. Phân tích số liệu các phổ 2D-NMR cho biết: một nhóm hydroxyl được gắn vào vị trí C-7 α thể hiện ở các tương tác giữa C-7 ($\delta_C = 68,8$) với 2H-6 ($\delta_H = 2,00; 1,41$) và H-8 ($\delta_H = 1,49$) trên phổ HMBC; giữa H-7 ($\delta_H = 4,08$) với 2H-6 ($\delta_H = 2,00; 1,41$) và H-8 ($\delta_H = 1,49$) trên phổ 1H - 1H COSY; giữa H-7 ($\delta_H = 4,08$) với 3H-24 ($\delta_H = 0,8$), 3H-25 ($\delta_H = 0,93$) và 3H-26 ($\delta_H = 1,17$) trên phổ NOESY. Nhóm hydroxyl thứ hai được xác định ở C-21 α thể hiện ở các tương tác giữa C-21 ($\delta_C = 73,8$) với 3H-29 ($\delta_H = 0,98$), 3H-30 ($\delta_H = 1,08$), 3H-28 ($\delta_H = 1,23$), và 2H-22 ($\delta_H = 1,61; 1,25$) trên phổ HMBC; giữa H-21 ($\delta_H = 3,7$) với 2H-22 ($\delta_H = 1,61; 1,25$) trên phổ 1H - 1H COSY; giữa H-21 ($\delta_H = 3,7$) với 3H-28 ($\delta_H = 1,23$) và 3H-30 ($\delta_H = 1,08$) trên phổ NOESY. Nhóm C=O được khẳng định ở vị trí C-3 nhờ các tương tác $^3J_{CH}$ giữa C-3 ($\delta_C = 212,3$) với 3H-23 ($\delta_H = 0,91$), 2H-1 ($\delta_H = 1,99; 1,68$), và 2H-2 ($\delta_H = 2,41; 2,30$) trên phổ HMBC. Qua các dữ liệu phổ đã phân tích ở trên và sau khi tra trên Science Finder kết luận chất **SCE1** là một triterpen mới có cấu trúc 7 $\alpha,21\alpha$ -dihydroxyfriedelan-3-on.

• *7 $\alpha,29$ -dihydroxyfriedelan-3-on (SCE3)*: Phổ IR của chất **SCE3** cho các đỉnh hấp thụ tại $\nu_{max} = 3532$ (OH) và 1714 cm^{-1} (C=O). Phổ HR-ESI-MS cho pic ion phân tử tại $m/z = 497,33922$ ($C_{30}H_{50}O_3K$, theo tính

toán 497,33915, $[M+K]^+$). Công thức phân tử được suy ra từ dữ liệu các phổ MS, ^{13}C -NMR và DEPT là $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3$. Phổ ^1H -, ^{13}C -NMR và DEPT của **SCE3** khá phù hợp so với **SCE1**, ngoại trừ khác biệt do một nhóm methyl đã bị thay thế bằng nhóm hydroxymetylen và chỉ có tín hiệu của 1 nhóm $>\text{CHOH}$. Các dữ liệu phổ của **SCE3** cho phép dự đoán chất này cũng là một dihydroxyfriedelan-3-on tương tự như **SCE1**, nhưng có sự khác biệt về vị trí của nhóm hydroxyl. Căn cứ vào các mối tương tác trên các phổ HMBC, ^1H - ^1H COSY và NOESY, nhóm $>\text{CH-OH}$ cũng được xác định tại vị trí C-7 α tương tự như **SCE1**. Nhóm $-\text{CH}_2\text{OH}$ được xác định ở C-29, nhờ các mối tương tác xa giữa δ_{C} 71,4 (C-29) với δ_{H} 1,00 (H_3 -30) và δ_{H} 1,19 (H-19); giữa δ_{H} 3,37 (H_b -29) với δ_{C} 29,5 (C-19) và δ_{C} 33,5 (C-20); giữa δ_{H} 3,46 (H_a -29) với δ_{C} 29,1 (C-30) và δ_{C} 33,5 (C-20) trên phổ HMBC; tương tác NOE giữa δ_{H} 1,18 (H-28) với δ_{H} 1,00 (H-30) cho thấy ở vị trí C-30 phải là nhóm methyl, như vậy ở vị trí C-29 sẽ là 29-hydroxyl, kết luận này được khẳng định thêm khi so sánh các số liệu phổ đã phân tích ở trên với số liệu phổ của chất 29-hydroxyfriedelan-3-on trong tài liệu [15], [96]. Kết hợp các dữ liệu phổ và sau khi tra trên Science Finder kết luận chất **SCE3** một triterpen mới có cấu trúc 7 α ,29-dihydroxyfriedelan-3-on.



Hình 4.17: Phổ HMBC của **SCE1**



Hình 4.25: Phổ HMBC của **SCE3**

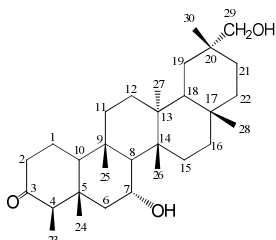
Bảng 4.3*: Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của **SCE1**, **SCE2**, **SCE3**

[125Hz, CDCl_3 , $\delta(\text{ppm})$].

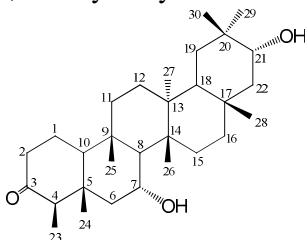
(4.3* :có nội dung gộp lại từ các bảng (4.3+4.4+4.5) trong luận án).

C	SCE3	SCE1	SCE2	C	SCE3	SCE1	SCE2
1	21,9	21,9	22,2	16	36,1	36,5	36,0
2	41,2	41,2	41,3	17	29,7	31,8	32,2
3	212,3	212,3	214,4	18	42,4	43,5	44,1
4	58,3	58,2	58,1	19	29,5	36,2	29,5
5	42,6	42,6	42,0	20	33,5	34,3	38,3
6	52,3	52,6	41,0	21	28,0	73,8	71,2
7	68,9	68,8	18,1	22	38,3	47,6	44,6
8	58,7	57,6	50,8	23	6,9	6,9	6,5
9	39,1	39,1	37,4	24	15,9	15,9	14,4
10	58,9	58,9	59,3	25	19,0	19,2	19,1
11	35,9	35,7	35,0	26	20,8	19,0	19,4
12	30,4	30,2	29,7	27	18,9	19,7	19,4
13	40,1	40,3	39,0	28	31,9	32,8	32,9
14	40,4	39,7	38,7	29	71,4	25,4	16,5
15	35,4	33,6	29,8	30	29,2	31,2	73,3

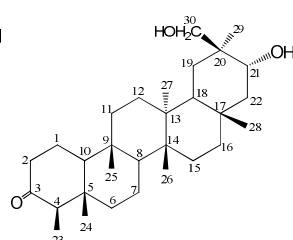
• **21 α ,30-dihydroxyfriedelan-3-on (SCE2)**: Từ các dữ liệu phổ thu được của **SCE2**, kết hợp so sánh với tài liệu [91], đã xác định được chất **SCE2** có cấu trúc là 21 α ,30-dihydroxyfriedelan-3-on.



SCE3(123): Chất mới



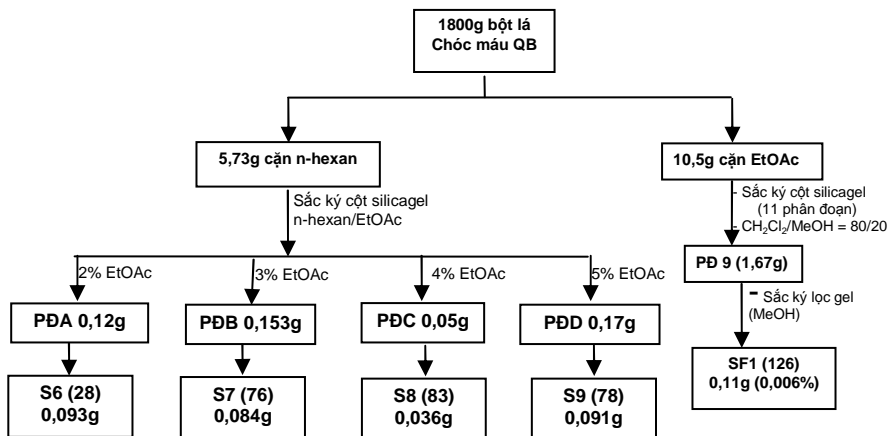
SCE1(124): Chất mới



SCE2 (125)

4.2.2. Các chất phân lập từ lá cây Chóc máu thu tại Quảng Bình

Sơ đồ 3.5 mô tả qui trình phân lập các chất từ các cặn chiết của lá Chóc máu.

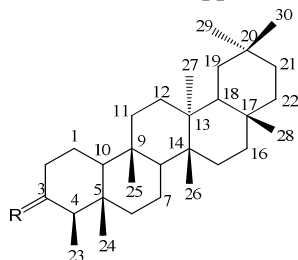


Sơ đồ 3.5: Phân lập các chất từ lá Chóc máu Quảng Bình

- *Friedelan-3-on (S6)*: Phân tích các dữ liệu phổ thu được của **S6** (IR, ESI-MS, ^1H -, ^{13}C -NMR, DEPT), kết hợp so sánh với tài liệu đã công bố [34], kết luận cấu trúc của **S6** là *friedelan-3-on*.
- *Friedelan-3 β -ol (S7)*: Từ các dữ liệu phổ thu được của **S7**, kết hợp tham khảo tài liệu [49], cấu trúc của chất **S7** được xác định là *friedelan-3 β -ol*.
- *14-taraxeren-3 β -ol (S8)*: Công thức phân tử của chất **S8** được xác định thông qua các dữ liệu phổ ESI-MS ($m/z = 427 [\text{M}+\text{H}]^+$) và phổ ^{13}C -NMR là $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$. Tín hiệu của các nhóm methyl trên phổ ^1H -NMR và độ chuyển dịch hóa học của các nguyên tử cacbon trên phổ ^{13}C -NMR cho biết chất **S8** là một triterpen khung taraxeran. So sánh các dữ liệu phổ của **S8** với tài liệu [11], cho phép kết luận chất **S8** là *14-taraxeren-3 β -ol*. Đây là lần đầu tiên hợp chất này được phân lập từ loài *Salacia chinensis* L. Chất **S8** có khả năng ức chế enzym acetylcholinesterase (AChE) với giá trị $\text{IC}_{50}=79\mu\text{M}$ [63].
- *Axit 3,4-secofriedelan-3-oic (S9)*: Từ các dữ liệu phổ thu được của **S9**, kết hợp tham khảo tài liệu [90] cho phép kết luận hợp chất **S9** chính là *axit 3,4-secofriedelan-3-oic*.

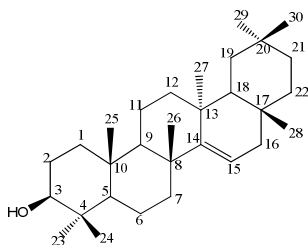
Bảng 4.6: Dữ liệu phổ ^{13}C -NMR của **S6-S9** [125Hz, CDCl_3 , δ (ppm)]

C	S6	S7	S8	S9
1	22,3	15,8	37,8	21,1
2	41,5	35,2	27,2	37,4
3	213,1	72,7	79,1	179,1
4	58,2	49,2	39,0	36,1
5	42,1	37,1	49,3	37,8
6	41,3	41,7	18,8	39,0
7	18,2	17,6	33,7	18,1
8	53,1	53,2	38,8	53,0
9	37,5	38,4	48,8	39,1
10	59,5	61,4	37,6	59,8
11	35,6	35,4	17,5	35,3
12	30,5	30,6	35,2	30,2
13	39,8	37,8	37,7	39,6
14	38,3	39,7	158,1	38,3
15	32,8	32,4	116,9	32,3
16	36,0	36,1	36,7	36,1
17	30,0	30,0	38,0	30,0
18	42,8	42,8	48,8	42,9
19	35,4	35,6	41,4	35,3
20	28,2	28,2	28,8	28,2
21	32,5	32,8	33,7	32,9
22	39,3	39,3	33,1	39,3
23	6,8	10,0	33,4	7,6
24	14,7	16,4	21,3	19,4
25	18,0	18,3	29,9	17,9
26	20,3	18,7	25,9	20,2
27	18,7	20,1	28,0	18,8
28	32,1	31,8	18,8	32,1
29	31,8	35,0	15,4	35,0
30	35,0	32,1	15,5	31,9

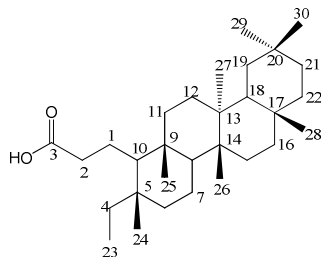


S6 (28): R = O

S7 (76): R = H, OH



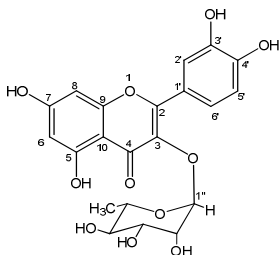
S8 (83)



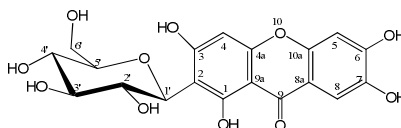
S9 (78)

- *Quercitrin* (**SF1**): Từ số liệu các phổ ESI-MS ($m/z = 447$ $[\text{M}-\text{H}]^-$), ^{13}C -NMR, và DEPT cho biết công thức phân tử của **SF1** là $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$. Phân tích số liệu các phổ ^1H - và ^{13}C -NMR, và tham khảo tài liệu [95], khẳng định chất **SF1** là quercitrin hay quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside.
- *Mangiferin* (**SF2**) chiết từ lá Chóc máu: Phân tích phổ IR, ^1H -, ^{13}C -

NMR và DEPT kết hợp so sánh với các số liệu trong tài liệu [74], kết luận chất **SF2** là mangiferin. Hợp chất này có nhiều trong loài *Mangifera indica* L. và có hoạt tính kháng virus cao. Nó còn được tìm thấy với hàm lượng cao trong các loài thuộc chi *Salacia*. Các nghiên cứu gần đây cho thấy khi thử nghiệm trên chuột, mangiferin có khả năng làm giảm glucose trong máu ở bệnh tiểu đường type 2 [31].



SF1 (126)



SF2 (52)

Như vậy, thành phần hóa học cơ bản của cây Chóc máu là các triterpen có các khung lupan, hopan, friedelan, taraxeran. Hai mẫu cây nghiên cứu được thu hái ở hai vùng với địa hình, khí hậu, thổ nhưỡng khác nhau và vào hai thời điểm khác nhau (năm 2006 và 2007), nên phần lớn các triterpen thu được từ 2 mẫu cây này có các bộ khung khác nhau, và khác với các triterpen được phân lập từ cây *Salacia chinensis* L. có nguồn gốc từ Thái Lan.

4.3. Cây Ngọc nữ biển (*Clerodendrum inerme* Gaertn.)

Từ dịch chiết ethyl axetat của lá cây Ngọc nữ biển đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 5 chất đó là:

- *20(29)-lupen-3β-O-yl hexacosanoat (CE1)*: Phổ FT-IR của **CE1** cho các đỉnh hấp thụ đặc trưng ở 3074 cm^{-1} ($=\text{CH}$); 1727 cm^{-1} ($>\text{C}=\text{O}$ este). Phổ ESI-MS cho pic ion phân tử ở $m/z = 805$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, pic cơ bản tại m/z : 409 $[\text{C}_{30}\text{H}_{48}+\text{H}]^+$ và các ion phân mảnh cách nhau 14 hoặc 28 đơn vị khối lượng ở 299; 285; 271; 243; 229; 191; 163; 149. Sự xuất hiện mảnh ion ở $m/z = 409$ của triterpen là do sự cắt mảnh ở liên kết C-O.

Các số liệu phổ khối phân tích ở trên cho phép dự đoán **CE1** là một triterpen ancol este hóa với một axit béo mạch thẳng. Từ các dữ liệu trên có thể suy ra công thức phân tử của axit béo là $C_{25}H_{51}COOH$ ($M = 396$). Phổ 1H - và ^{13}C -NMR khẳng định cho giả thiết trên. Phân tích chi tiết dữ liệu các phổ 1H -, ^{13}C -NMR (bảng 4.7) và DEPT kết hợp so sánh với tài liệu [16], cấu trúc chất **CE1** được xác định là 20(29)-lupen-3 β -O-yl hexacosanoat.

Bảng 4.7: Số liệu phổ ^{13}C -NMR của chất **CE1** ($CDCl_3$, 125 MHz)

Vị trí	δ_C (ppm)	Vị trí	δ_C (ppm)	Vị trí	δ_C (ppm)
1	38,4 t	13	38,1 d	25	16,6 q
2	31,9 t	14	42,9 s	26	16,2 q
3	80,7 d	15	27,5 t	27	14,6 q
4	37,9 s	16	35,6 t	28	18,0 q
5	55,4 d	17	43,0 s	29	109,4 t
6	18,2 t	18	48,4 d	30	19,3 q
7	34,3 t	19	48,0 d	1'	173,7 s
8	40,9 s	20	150,9 s	2'	34,9 t
9	50,4 d	21	29,7 t	3' – 25'	
10	37,1 s	22	40,0 t	26'	14,1 q
11	21,0 t	23	28,0 q		
12	25,2 t	24	16,0 q		

- *Stigmast-5-en-3 β -ol* (**CE2**): Phân tích số liệu các phổ EI-MS ($m/z = 414 [M]^+$), 1H -, ^{13}C -NMR và DEPT của chất **CE2**, kết hợp tham khảo tài liệu [71], kết luận chất **CE2** là stigmast-5-en-3 β -ol.
- *Apigenin* (**CE4**): Các dữ liệu phổ IR, MS, 1H -, ^{13}C -NMR và DEPT của **CE4** hoàn toàn đồng nhất với dữ liệu phổ của chất 5,7,4'-trihydroxy flavon (apigenin) [82]. Đây là một hợp chất có nhiều hoạt tính sinh học quý giá như: chống oxi hoá, kháng viêm và chống ung thư, ngăn cản sự hình thành axit uric,.... Apigenin hầu như không độc nên có thể là một hoạt chất rất cần thiết trong dược phẩm [22], [47], [50], [73].

• *Acacetin* (**CE3**): Từ các dữ liệu phổ thu được, kết hợp tham khảo tài liệu [52], kết luận **CE3** là acacetin. Bên cạnh hoạt tính chống oxy hóa, acacetin còn thể hiện hoạt tính gây độc trên một số dòng tế bào ung thư ở người [52].

Bảng 4.8: Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR của **CE3** và **CE4**
[500, 125 MHz, DMSO- d_6 , δ (ppm)]

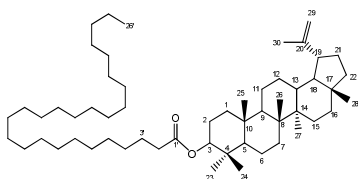
Vị trí	CE4		CE3	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2	-	163,7	-	163,3
3	6,77 (1H, s)	102,8	6,86 (1H,s)	103,5
4	-	181,7	-	181,7
5	-	161,1	-	161,4
6	6,19(1H, d, 2,0)	98,8	6,20 (1H, d, 2,0)	98,9
7	-	164,1	-	164,2
8	6,48 (1H, d, 2,0)	93,9	6,51 (1H, d, 2,0)	94,0
9	-	157,3	-	157,3
10	-	103,7	-	103,7
1'	-	121,1	-	122,8
2'	7,92 (2H, dd, 6,9, 1,9)	128,4	8,03 (2H, d, 8,9)	128,2
3'	6,93(2H, dd, 6,9, 1,9)	115,9	7,11 (2H, d, 8,9)	114,5
4'	-	161,4	-	162,3
5'	6,93(2H, dd, 6,9, 1,9)	115,9	7,11 (2H, d, 8,9)	114,5
6'	7,92(2H, dd, 6,9, 1,9)	128,4	8,03 (2H, d, 8,9)	128,2
5-OH	12,95 (1H, s)	-	12,91 (1H, s)	-
7-OH	10,82 (1H, s)	-	-	-
4'-OH	10,3 (1H, s)	-	-	-
4'-OCH ₃	-	-	3,86 (3H,s)	55,5

• *Andrographolid* (**CE5**): Phân tích các dữ liệu phổ IR, ESI-MS, 1D- và 2D-NMR của CE5, kết hợp so sánh với tài liệu [56] cho phép kết luận cấu trúc của chất **CE5** là $3\alpha,14\alpha,19$ -trihydroxy-8(17),12E-ent-labdadien-16,15-olid hay andrographolid. Đây là một diterpen có khung ent-labdan được phân lập trước đây từ cây Xuyên tâm liên [*Andrographis paniculata* (Acanthaceae)]. Hoạt tính kháng viêm và gây độc tế bào ung thư

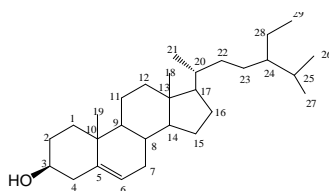
bạch cầu dòng M1 của andrographolid và các dẫn xuất của nó đã được công bố [46], [56].

Bảng 4.9: Dữ liệu phổ ^1H -, ^{13}C -NMR, của chất **CE5**
[500, 125 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]

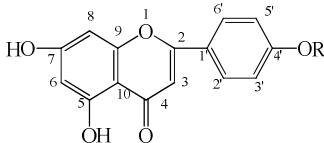
V_i <i>trí</i>	^1H	^{13}C	V_i <i>trí</i>	^1H	^{13}C
1	1,85 (m, 1H) 1,20 (m, 1H)	37,4 t	11	2,55 (m, 1H) 2,57 (m, 1H)	25,0 t
2	1,80 (m, 2H)	28,2 t	12	6,91 (dt, 1,6, 6,8, 1H)	149,2 d
3	3,42 (m, 1H)	80,3 d	13	-	128,5 s
4	-	42,8 s	14	4,95 (d, 6,1)	65,8 d
5	1,24 (m, 1H)	55,6 d	15	4,45 (dd, 6,1, 10,3, 1H) 4,22 (dd, 2,2, 10,3, 1H)	75,2 t
6	1,82 (m, 1H) 1,29 (m, 1H)	24,2 t	16	-	171,8 s
7	1,98 (m, 1H) 2,41 (m, 1H)	38,1 t	17	4,89 (s, 1H) 4,63 (s, 1H)	109,1 t
8	-	147,2s	18	1,24 (s, 3H)	23,0 q
9	1,84 (m, 1H)	56,5d	19	4,17 (d, 11,0, 1H) 3,31 (d, 11,0, 1H)	64,4 t
10	-	39,2s	20	0,71 (s, 3H)	15,3 q



CE1 (127)

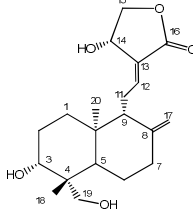


CE2 (128)



CE3 (116): R = CH₃

CE4 (129): R = H



CE5 (130)

4.4. Hoạt tính sinh học

4.4.1. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các dịch chiết

Các dịch chiết từ thân và lá cây Chóc máu thu tại Quảng Bình và lá cây Ngọc nữ biển thu tại Thái Bình được đem thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định, kết quả được trình bày ở *bảng 4.10* và *bảng 4.11*.

Bảng 4.10: Các dịch chiết từ cây Chóc máu thu tại Quảng Bình

Stt	Tên mẫu	Tên chủng vi sinh vật kiểm định (IC ₅₀)				
		<i>Ec</i>	<i>Pa</i>	<i>Bs</i>	<i>Sa</i>	<i>Ca</i>
1	n-hexan cành	-	-	-	-	-
2	EtOAc cành	-	-	-	195,6	-
3	MeOH cành	-	-	-	65,5	-
4	n-hexan lá	-	-	-	-	-
5	EtOAc lá	-	-	-	-	-
6	MeOH lá	-	-	-	140,2	-

Bảng 4.11: Các dịch chiết từ lá cây Ngọc nữ biển

Stt	Cận chiết	Tên chủng vi sinh vật kiểm định									
		<i>Ca</i>		<i>Ec</i>		<i>Pa</i>		<i>Bs</i>		<i>Sa</i>	
		<i>MIC</i>	<i>MBC</i>	<i>MIC</i>	<i>MBC</i>	<i>MIC</i>	<i>MBC</i>	<i>MIC</i>	<i>MBC</i>	<i>MIC</i>	<i>MBC</i>
1	n-hexan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	EtOAc	-	-	128	-	128	-	128	128	128	128
3	MeOH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Kết quả cho thấy dịch chiết methanol của thân cây Chóc máu Quảng Bình có hoạt tính mạnh đối với chủng *Staphylococcus aureus* (*Sa*) là khuẩn tụ cầu gây bệnh ở người chủ yếu là các bệnh cấp tính. Dịch chiết ethyl axetat của lá cây Ngọc nữ biển có thể hiện hoạt tính đối với hầu hết các chủng đem thử, đối với chủng *Bs* và *Sa* còn có cả tác dụng ức chế (*MIC*) và gây chết (*MBC*).

4.4.2. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào

Kết quả thử hoạt tính gây độc trên 4 dòng tế bào ung thư của 10 chất phân lập từ 2 cây nghiên cứu được đưa ra ở *bảng 4.12*.

Bảng 4.12: Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào

Stt	Ký hiệu mẫu	Tên dòng tế bào [IC ₅₀ (µg/ml)]			
		MCF7	LU	HepG2	KB
1	Andrographolid (CE5)	11,09	4,32	18,36	20,00
2	29-nor-21α-H-hopan-3,22-dion (S2)	>128	117,33	>128	>128
3	Axit 28-hydroxy-3-oxo-30-lupanoic (S5)	69,48	25,77	61,79	62,90
4	Friedelan-3-on (S6)	>128	>128	>128	>128
5	Friedelan-3β-ol (S7)	>128	>128	>128	>128
6	Axit 3,4-secofriedelan-3-oic (S9)	77,12	67,07	88,14	83,61
7	7α,21α-dihydroxyfriedelan-3-on (SCE1)	27,35	19,27	16,22	16,86
8	21α,30-dihydroxyfriedelan-3-on (SCE2)	>128	>128	>128	>128
9	7α,29-dihydroxyfriedelan-3-on (SCE3)	>128	>128	>128	>128
10	21α-axetoxifiedelan-3-on (SPA1)	>128	>128	>128	>128
11	Elipticine	0,31-0,62	0,31-0,62	0,31-0,62	0,62-1,25

Kết quả thử hoạt tính cho thấy:

+ Chất **CE5** (andrographolid), một diterpen phân lập từ cây Ngọc nữ biển có khả năng ức chế 50% sự phát triển của cả 4 dòng tế bào ung thư thử nghiệm. Với dòng tế bào ung thư phổi chất này thể hiện hoạt tính rõ rệt nhất với IC₅₀ = 4,32µg/ml.

+ Chất mới 7α,21α-dihydroxyfriedelan-3-on (**SCE1**) phân lập từ cây Chóc máu Quảng Bình có khả năng ức chế sự phát triển của bốn dòng tế bào ung thư thử nghiệm với các giá trị IC₅₀ từ 16,22 đến 27,35µg/ml, và rõ rệt nhất đối với dòng tế bào **Hep-G2**.

+ Chất mới là axit 28-hydroxy-3-oxo-30-lupanoic (**S5**) phân lập từ cây Chóc máu Thừa Thiên Huế cũng thể hiện khả năng kìm hãm sự phát triển đối với 4 dòng tế bào ung thư và rõ nhất với dòng tế bào **LU**.

KẾT LUẬN

Cây Chóc máu thu tại Thừa Thiên Huế, Quảng Bình và cây Ngọc nữ biển thu tại Thái Bình đã lần đầu tiên được nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học tại Việt Nam.

1. Từ cành cây Chóc máu (*Salacia chinensis*) thu tại **Thừa Thiên Huế**, đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 6 chất, bao gồm: 3-oxo-30-lupanal (**S1, 119**), 29-nor-21 α -H-hopan-3,22-dion (**S2, 59**), betulin (**S3, 22**), 21 α -H-22(29)-hopen-3 β ,30-diol (**S4, 60**), axit 28-hydroxy-3-oxo-30-lupanoic (**S5, 120**) và daucosterol (**121**).

Trong đó axit 28-hydroxy-3-oxo-30-lupanoic (**S5**) là **chất mới** và 3-oxo-30-lupanal (**S1**) là **chất lần đầu tiên được phân lập từ thiên nhiên**.

2. Từ cành và lá cây Chóc máu (*Salacia chinensis* L.) thu tại **Quảng Bình**, đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học của 13 chất, bao gồm:

- 7 α ,29-dihydroxyfriedelan-3-on (**SCE3, 123**), 7 α ,21 α -dihydroxyfriedelan-3-on (**SCE1, 124**), 21 α ,30-dihydroxyfriedelan-3-on (**SCE2, 125**), friedelan-3-on (**S6, 28**), friedelan-3 β -ol (**S7, 76**), axit 3,4-secofriedelan-3-oic (**S9, 78**), 14-taraxeren-3 β -ol (**S8, 83**), betulin (**22**), quercitrin (**SF1, 126**), mangiferin (**SF2, 52**) và daucosterol (**121**).

Trong đó chất 7 α ,21 α -dihydroxyfriedelan-3-on (**SCE1**) và 7 α ,29-dihydroxy friedelan-3-on (**SCE3**) là **hai chất mới**.

- Hai chất gốc có trong cây là 21 α -hydroxyfriedelan-3-on (**122**) và 29-hydroxyfriedelan-3-on (**30**) được xác định thông qua việc phân lập và xác định cấu trúc các sản phẩm axetyl hóa của chúng.
3. Từ lá cây Ngọc nữ biển (*Clerodendrum inerme* Gaertn.) thu tại Thái Bình đã phân lập được 5 chất: lup-20(29)-en-3 β -O-yl hexacosanoat

(**CE1, 127**), stigmast-5-en-3 β -ol (**CE2, 128**), acacetin (**CE3, 116**), apigenin (**CE4, 129**) và andrographolid (**CE5, 130**). Đây là lần đầu tiên các chất **CE1** và **CE5** được phân lập từ cây này.

4. Hoạt tính sinh học:

4.1. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định: Dịch chiết methanol của thân cây Chóc máu Quảng Bình có hoạt tính rõ rệt đối với chủng *Staphylococcus aureus* (*Sa*) với giá trị $IC_{50} = 65,5\mu\text{g/ml}$. Dịch chiết ethyl axetat của lá cây Ngọc nữ biển có hoạt tính đối với hầu hết các chủng đem thử với $MIC = 128\mu\text{g/ml}$.

4.2. Hoạt tính gây độc tế bào: Đã thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên bốn dòng: ung thư vú (**MCF7**), ung thư gan (**Hep-G2**), ung thư phổi (**LU**), ung thư biểu mô (**KB**) của 10 chất phân lập từ hai cây nghiên cứu, kết quả cho thấy:

Hai chất mới **124** (**SCE1**), **120** (**S5**) và andrographolid (**CE5, 130**) đều có khả năng ức chế sự phát triển của bốn dòng tế bào ung thư thử nghiệm. Trong đó, andrographolid thể hiện rõ rệt nhất với dòng **LU** ở $IC_{50} = 4,32\mu\text{g/ml}$, chất **SCE1** thể hiện ở các giá trị IC_{50} từ 16,22 đến 27,35 $\mu\text{g/ml}$, và chất **S5** thể hiện rõ rệt với dòng **LU** ở $IC_{50} = 25,77\mu\text{g/ml}$.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ

1. Trần Thị Minh, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Vũ Đào Thắng, Trần Văn Sung (2009), Các kết quả tiếp theo về thành phần hóa học của cây Chóc máu (*Salacia chinensis* L.), *Tạp chí Hóa học*, Vol. 47 (4A), pp. 192-196.

2. Tran Thi Minh, Nguyen Thi Hoang Anh, Vu Dao Thang, and Tran Van Sung (2009), Chemical constituents of *Salacia chinensis* L. growing in Vietnam, *Journal of Chemistry of Vietnam*, Vol.47(2A), pp.469-473.
3. Tran Thi Minh, Nguyen Thi Hoang Anh, Vu Dao Thang, and Tran Van Sung (2009), Chemical constituents from *Clerodendrum inerme* species in Viet Nam, *Traditional and Alternative Medicine (Research & Policy Perspectives)*, pp. 170-174.
4. Tran Thi Minh, Nguyen Thi Hoang Anh, Vu Dao Thang, and Tran Van Sung (2008), Study on chemical constituents of *Salacia chinensis* L. collected in Vietnam, *Z. Naturforsch.*, Vol. 63b, No 12, pp. 1411-1414.
5. Tran Thi Minh, Nguyen Thi Hoang Anh, Vu Dao Thang, and Tran Van Sung (2008), Triterpenes from *Salacia chinensis* L. collected in Quang Binh Province, Viet Nam, *International Scientific conference on "Chemistry for development and Integration"*, Hanoi, pp. 397-402.
6. Tran Thi Minh, Nguyen Thi Hoang Anh, Vu Dao Thang, Tran Van Sung (2008), Study on chemical constituents of *Salacia chinensis* L. collected in Thua Thien Hue, *Journal of Chemistry of Vietnam*, Vol.46(1), pp.47-51.
7. Trần Thị Minh, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Vũ Đào Thắng, Trần Văn Sung (2008), Một số kết quả nghiên cứu thành phần hóa học cây Ngọc nữ biển Việt Nam (*Clerodendrum inerme*), *Hội nghị Khoa học và Công nghệ Hóa Dược toàn Quốc lần thứ I*, Hà Nội 12/2008, Tr. 285-290.
8. Trần Thị Minh, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Vũ Đào Thắng, Trần Văn Sung (2007), Bước đầu nghiên cứu thành phần hóa học và thăm dò hoạt tính sinh học của cây Ngọc nữ biển (*Clerodendrum inerme*) Việt Nam, *Hội nghị Khoa học và Công nghệ Hoá học Hữu cơ toàn quốc*, Hà nội 10/2007, Tr.460-464.
9. Trần Thị Minh, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Vũ Đào Thắng, Trần Văn Sung (2007), Andrographolid và lupenyleste từ cây Ngọc nữ biển Việt Nam (*Clerodendrum inerme* Gaertn.), *Tạp chí Hóa học*, T.45 (6A), Tr. 166-170.