

ĐẠI HỌC QUỐC GIA TP. HCM
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

ĐẶNG HOÀNG PHÚ

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH ỨC
CHẾ ENZYME TYROSINASE CỦA CÂY SỪNG CÓ ĐUÔI
(*SEMECARPUS CAUDATA*) VÀ XUÂN THÔN NHIỀU HOA
(*SWINTONIA FLORIBUNDA*) HỌ ĐÀO LỘN HỘT
(*ANACARDIACEAE*)**

Ngành: Hóa Hữu cơ

Mã số ngành: 62 44 01 14

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỮU CƠ

Tp. Hồ Chí Minh, năm 2019

Công trình được hoàn thành tại:

TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN, ĐHQG TP. HỒ CHÍ MINH

Người hướng dẫn khoa học: **PGS.TS. Nguyễn Trung Nhân**

Phản biện 1: **PGS.TS. Phạm Thành Quân**

Phản biện 2: **PGS.TS. Lê Tiến Dũng**

Phản biện 3: **TS. Võ Thị Ngà**

Phản biện độc lập 1: **PGS.TS. Nguyễn Mạnh Cường**

Phản biện độc lập 2: **PGS.TS. Phạm Thế Chính**

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Cơ sở đào tạo họp tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM,
vào hồi giờ, ngày tháng năm 2019

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

1. Thư viện Tổng hợp Quốc gia Tp.HCM
2. Thư viện trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU.....	1
ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN	1
BỐ CỤC CỦA LUẬN ÁN	2
NỘI DUNG LUẬN ÁN.....	2
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	2
CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM	2
2.1 Đối tượng nghiên cứu	2
2.2 Hóa chất và thiết bị.....	2
2.3 Phương pháp nghiên cứu	2
2.3.1 Phương pháp sàng lọc các mẫu cây có hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase	2
2.3.2 Phương pháp điều chế các cao phân đoạn và phân lập các hợp chất tinh khiết.....	3
2.3.3 Phương pháp xác định cấu trúc của các hợp chất tinh khiết.....	4
2.3.4 Phương pháp docking phân tử trên mô hình enzyme tyrosinase	4
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN.....	4
3.1 Nghiên cứu sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase.....	4
3.1.1 Sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các mẫu cao MeOH	4
3.1.2 Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các mẫu cao phân đoạn	5
3.2 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất phân lập được từ cao CHCl_3 của thân cây Sưng có đuôi (<i>Semecarpus caudata</i>).....	5
3.2.1 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung phenol	5
3.2.2 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung diarylalkanoid.....	6
3.2.3 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung flavonoid.....	8
3.2.4 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung lignan	11
3.2.5 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung steroid.....	11
3.3 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất phân lập được từ cao EtOAc của vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (<i>Swintonia floribunda</i>)	11
3.3.1 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung phenol	11
3.3.2 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung diarylalkanoid.....	14
3.3.3 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung lignan	14
3.3.3 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung triterpenoid	14
3.4 Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các hợp chất phân lập được.....	14
3.4.1 Kết quả thử hoạt tính <i>in vitro</i> của các hợp chất phân lập được	14
3.4.2 Nhận xét về tương quan giữa hoạt tính và cấu trúc	15
3.4.3 Kết quả docking phân tử <i>in silico</i> trên mô hình enzyme oxytyrosinase	16
CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	20
4.1 Kết luận	20
4.2 Kiến nghị	22
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ.....	22

MỞ ĐẦU

Nám da là một bệnh rất phổ biến, đặc biệt là ở các khu vực có lượng ánh sáng mặt trời với cường độ cao như ở nước ta. Nám da thường ảnh hưởng nhiều đến phái nữ, do sự tăng sắc tố ở những vùng đặc biệt của làn da như vùng mặt sẽ làm giảm mức độ thẩm mỹ. Hiện nay, nhu cầu làm đẹp và chăm sóc sắc đẹp càng ngày càng tăng và việc điều trị nám da là một trong những ưu tiên làm đẹp hàng đầu của nhiều người. Mặc dù, đã có khá nhiều phương pháp điều trị mới, có rất nhiều mỹ phẩm và thuốc điều trị nám da trên thị trường nhưng vẫn chưa đáp ứng được hết cho nhu cầu làm đẹp hiện nay, thêm vào đó những phương pháp này vẫn còn khá nhiều tác dụng phụ không mong muốn. Vì vậy, vẫn rất cần những nghiên cứu để tìm ra những loại thuốc khác giúp hỗ trợ cho việc điều trị và ít gây ra các tác dụng phụ không mong muốn.

Để hướng đến điều trị bệnh nám da thì một số nghiên cứu ở nước ta tập trung vào việc tìm kiếm các cây thuốc và hoạt chất ức chế enzyme tyrosinase giúp ngăn ngừa sự tạo thành sắc tố melanin. Tuy nhiên các nghiên cứu liên quan đến các loại dược liệu có khả năng ức chế enzyme tyrosinase vẫn còn rất ít.

Trong luận án này, nhóm chúng tôi đã tiến hành quá trình sàng lọc sơ bộ một số mẫu cây thuốc theo định hướng về hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase. Trong số mẫu cây thuốc đã khảo sát, mẫu thân cây Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*) và vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) lần đầu tiên được phát hiện có hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase và trên thế giới cũng chưa có công bố nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của hai loài cây này. Do đó, việc thực hiện đề tài nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của cây Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*) và Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) là rất cần thiết.

Luận án sẽ cung cấp thông tin về thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các hợp chất phân lập được từ hai loài cây chưa được nghiên cứu trên thế giới. Ngoài ra, chúng tôi cũng áp dụng phương pháp docking phân tử nhằm đánh giá các tương tác giữa hợp chất và vùng hoạt tính của enzyme, giúp cung cấp thông tin rõ ràng hơn về mối tương quan giữa cấu trúc và hoạt tính.

Các kết quả của luận án sẽ góp phần nâng cao giá trị của dược liệu Việt Nam, làm tiền đề phát triển thêm các loại sản phẩm mới hỗ trợ điều trị bệnh nám da nhằm bảo vệ sức khỏe và đáp ứng nhu cầu làm đẹp của người dân.

ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Luận án đã thực hiện sàng lọc 25 mẫu cao MeOH của 16 mẫu cây theo hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase, thu được 18/25 mẫu cao MeOH có hoạt tính với giá trị $IC_{50} < 100 \mu g mL^{-1}$. Trong đó, mẫu cao MeOH của thân cây Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*) và vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) thể hiện hoạt tính ức chế (giá trị IC_{50} lần lượt là 23.26 và $11.61 \mu g mL^{-1}$) và cả hai loài cây này đều chưa được nghiên cứu về hóa thực vật ở trong nước và trên thế giới.

Từ mẫu cao $CHCl_3$ của thân cây Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*), 20 hợp chất (1–20) đã được phân lập. Mặt khác, từ mẫu cao EtOAc của vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) đã phân lập được 22 hợp chất (9–11, 16, 17, 21–37). Ngoại trừ hợp chất 22, tất cả các hợp chất đều chưa từng được phân lập trong chi *Semecarpus* và *Swintonia*. Cấu trúc của các hợp chất phân lập được thuộc nhiều nhóm khung khác nhau, trong đó có 14 hợp chất phenol (1–5, 21–29), năm hợp chất diarylalkanoid (6–8, 30, 31), 10 hợp chất flavonoid (9–15, 32–34), bốn hợp chất lignan (16–18, 35), hai hợp chất steroid (19, 20), và hai hợp chất triterpenoid (36, 37). Trong đó, hai hợp chất diarylalkanoid 7 và 8, hợp chất bischromanone 15, và hợp chất dimer alkylresorcinol 28 là bốn hợp chất mới lần đầu tiên được công bố trên thế giới. Thêm vào đó, hợp chất ganoderic acid F (37) có khung triterpenoid đặc trưng chỉ được phân lập từ chi nấm *Ganoderma* và đây là lần đầu tiên được công bố có trong một loài thực vật bậc cao. Ngoài ra, hợp chất isoevernic acid (25) lần đầu tiên được phân lập trong tự nhiên và được công bố dữ liệu phổ NMR.

Trong luận án cũng đã tiến hành thử hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các hợp chất phân lập được từ hai mẫu cây Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*) và Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*). Kết quả cho thấy có

12/37 hợp chất (**2**, **4**, **6–8**, **11–14**, **28**, **30** và **34**) thể hiện hoạt tính với giá trị $IC_{50} < 100 \mu M$, trong đó hợp chất morachalcone A (**6**) thể hiện hoạt tính mạnh nhất với giá trị IC_{50} là $0.013 \mu M$. Thêm vào đó, 3/4 hợp chất mới (**7**, **8**, **28**) đều thể hiện hoạt tính, trong đó hợp chất diarylpentanoid **7** ($IC_{50} 0.033 \mu M$) và diarylheptanoid **8** ($IC_{50} 0.11 \mu M$) lần lượt thể hiện hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase mạnh hơn 1300 lần và 400 lần khi so sánh tương ứng với chất đối chứng dương là kojic acid ($IC_{50} = 44.6 \mu M$). Trong khi đó, hợp chất dimer alkylresorcinol **28** ($IC_{50} = 48.2 \mu M$) thể hiện hoạt tính tương đương với kojic acid.

Mối tương quan giữa hoạt tính và cấu trúc của các hợp chất thuộc khung phenol, diarylalkanoid, và flavonoid cũng được đề nghị dựa vào các kết quả thử hoạt tính *in vitro*. Mặt khác, tiến hành docking phân tử *in silico* một số hợp chất khung phenol, diarylalkanoid, và flavonoid trên mô hình enzyme oxytyrosinase, nhằm làm rõ hơn những ảnh hưởng của cấu trúc khung và nhóm thế đến hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase.

Luận án này là nghiên cứu đầu tiên trên thế giới về thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của cây Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*) và Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*).

BỐ CỤC CỦA LUẬN ÁN

Luận án gồm 209 trang, với phần nội dung chính 189 trang được phân ra thành các phần như sau: Mở đầu (2 trang), Chương 1: Tổng quan (21 trang), Chương 2: Thực nghiệm (12 trang), Chương 3: Kết quả và Biện luận (85 trang), Kết luận và Kiến nghị (3 trang), Tài liệu tham khảo (15 trang, với 125 tài liệu tham khảo), Danh mục công trình công bố (1 trang), Phụ lục (50 trang với 99 phụ lục phổ). Toàn bộ luận án có 89 hình ảnh và 44 bảng.

NỘI DUNG LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

Melanin và sự hình thành melanin, enzyme tyrosinase và vai trò của enzyme tyrosinase, mối liên hệ giữa enzyme tyrosinase và bệnh nám da, cơ chế ức chế và phân loại các hợp chất ức chế enzyme tyrosinase.

Giới thiệu docking phân tử, ứng dụng và phân loại docking, các giai đoạn của quá trình docking phân tử.

Tìm hiểu về cây Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*) và Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*).

Định hướng nghiên cứu của luận án.

CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM

2.1 Đối tượng nghiên cứu

16 mẫu cây (Bảng 2.1) được thu hái tại rừng Mã Đà, khu Bảo tồn Thiên nhiên-Văn hóa Đồng Nai, tỉnh Đồng Nai, Việt Nam vào tháng 4 năm 2014. Các mẫu cây được định danh bởi PGS.TS. Trần Hợp, Viện Sinh học Nhiệt đới Tp. Hồ Chí Minh. Các tiêu bản mẫu cây được lưu trữ ở Phòng thí nghiệm của chuyên ngành Hóa dược, Khoa Hóa học, trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Tp. Hồ Chí Minh.

2.2 Hóa chất và thiết bị

Trình bày ngắn gọn về các hóa chất, thiết bị và nơi tiến hành thử nghiệm trong luận án.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Phương pháp sàng lọc các mẫu cây có hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase

2.3.1.1 Điều chế cao MeOH của các mẫu cây

Các mẫu cây sau khi thu về sẽ được phân loại, cắt nhỏ, và phơi khô. Mỗi mẫu cây (~100–200 g) sẽ được trích nóng với MeOH (300 mL) trong 3 giờ và lặp lại 3 lần. Các dịch trích MeOH sẽ được cô quay dưới áp suất kém, thu được các mẫu cao MeOH. Từ 16 mẫu cây qua phân loại các bộ phận và ly trích đã thu được 25 mẫu cao MeOH.

2.3.1.2 Phương pháp thử hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các mẫu thử

Đệm phosphate (pH = 6.8) cùng với mẫu thử sẽ được lắc đều với nhau. Sau đó, 50 μL enzyme tyrosinase được cho vào hỗn hợp trên. Sau 30 phút ủ ở 30°C, thì thêm vào 500 μL dung dịch nền L-DOPA, lắc đều, và tiếp tục ủ thêm

7 phút. Sau khi ủ, thì đem dung dịch đo mật độ quang ở bước sóng 475 nm. Giá trị phần trăm ức chế (I %) được tính toán thông qua biểu thức sau:

$$I \% = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \%$$

Trong đó:

$A_{control}$: giá trị mật độ quang của dung dịch khi không có mẫu thử.

A_{sample} : giá trị mật độ quang của dung dịch khi có mẫu thử.

Giá trị IC_{50} ($\mu g\ mL^{-1}$ hay μM) là nồng độ của một mẫu thử nghiệm mà tại đó mẫu có thể ức chế 50 % hoạt tính của enzyme tyrosinase. Giá trị này sẽ được tính dựa vào phương trình đường thẳng $y = ax + b$ (y là phần trăm ức chế I % và x là nồng độ mẫu) với hai giá trị a và b suy ra từ đồ thị.

Bảng 2.1 Tên khoa học, tên địa phương, và bộ phận khảo sát của các mẫu cây

STT	Tên khoa học	Tên địa phương	Bộ phận khảo sát
1	<i>Kibatalia laurifolia</i> (Ridl.) Woodson (Apocynaceae)	Thần linh lá quế	Thân và lá
2	<i>Artocarpus rigida</i> (Moraceae)	Mít nài	Thân
3	<i>Semecarpus caudata</i> Pierre (Anacardiaceae)	Sung có đuôi	Thân
4	<i>Swintonia floribunda</i> Griff. (Anacardiaceae)	Xuân thôn nhiều hoa	Vỏ thân
5	<i>Buchanania lucida</i> Blume (Anacardiaceae)	Chây sáng	Thân
6	<i>Mangifera reba</i> Pierre (Anacardiaceae)	Quéo	Thân
7	<i>Mangifera camptosperma</i> Pierre (Anacardiaceae)	Xoài bụi	Thân và vỏ thân
8	<i>Dipterocarpus dyeri</i> Pierre (Dipterocarpaceae)	Dầu song nạng	Thân
9	<i>Dipterocarpus turbinatus</i> Gaertn. (Dipterocarpaceae)	Dầu con rái đỏ	Thân và vỏ thân
10	<i>Dipterocarpus alatus</i> Roxb. (Dipterocarpaceae)	Dầu con rái trắng	Thân
11	<i>Dipterocarpus costatus</i> Gaertn. (Dipterocarpaceae)	Dầu cát	Thân và vỏ thân
12	<i>Hopea odorata</i> Pierre (Dipterocarpaceae)	Sao đen	Thân và vỏ thân
13	<i>Hopea recopei</i> Pierre (Dipterocarpaceae)	Chò chai	Thân và vỏ thân
14	<i>Anisoptera costata</i> Korth. (Dipterocarpaceae)	Vên vên	Thân và vỏ thân
15	<i>Shorea thorelii</i> Pierre (Dipterocarpaceae)	Chai thorel	Thân và vỏ thân
16	<i>Vatica odorata</i> (Griff.) Symington (Dipterocarpaceae)	Lầu tấu trắng	Thân và lá

2.3.2 Phương pháp điều chế các cao phân đoạn và phân lập các hợp chất tinh khiết

2.3.2.1 Khảo sát thành phần hóa học của thân cây Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*)

Từ 7 kg mẫu khô của thân cây Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*) tiến hành xay nhỏ và đun hoàn lưu với MeOH. Toàn bộ dịch trích được đem cô quay áp suất kém, thu được cao thô MeOH (700 g). Tiến hành phân tán cao MeOH vào nước và thực hiện chiết lỏng-lỏng lần lượt với các dung môi *n*-hexane, $CHCl_3$, và EtOAc thu được các cao phân đoạn tương ứng, tuy nhiên cao EtOAc có khối lượng rất ít nên đã gom chung với cao $CHCl_3$. Khối lượng các cao phân đoạn lần lượt là cao *n*-hexane (37.0 g), cao $CHCl_3$ (500.0 g), và cao nước (135.0 g). Tiến hành sắc ký cột cao $CHCl_3$ với hệ dung môi giải ly là *n*-hexane–EtOAc và $CHCl_3$ –MeOH có độ phân cực tăng dần, thu được 12 phân đoạn (SCD1–12). Các phân đoạn SCD1–9 sẽ lần lượt được tiến hành sắc ký cột và sắc ký điều chế trên silica gel pha thuận hoặc pha đảo với các hệ dung môi giải ly khác nhau, thu được 20 hợp chất tinh khiết (1–20).

2.3.2.2 Khảo sát thành phần hóa học của vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*)

Tiến hành trích nóng 5 kg mẫu khô của vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) với MeOH. Toàn bộ dịch trích được cô quay áp suất kém, thu được cao thô MeOH (500 g). Phân tán cao MeOH vào nước và tiến hành chiết lỏng-lỏng lần lượt với các dung môi *n*-hexane, $CHCl_3$, và EtOAc thu được các cao phân đoạn, tuy nhiên cao $CHCl_3$ có khối lượng rất ít nên đã gom chung với cao EtOAc. Khối lượng các cao phân đoạn lần lượt là cao *n*-hexane (7.1 g), cao EtOAc (122.0 g), và cao nước (330.0 g). Tiến hành sắc ký cột cao EtOAc với hệ dung môi giải ly $CHCl_3$ –MeOH có độ phân cực tăng dần, thu được 11 phân đoạn (XTNH1–11). Các phân đoạn XTNH1–7 sẽ lần

lượt được tiến hành sắc ký cột và sắc ký điều chế trên silica gel pha thuận hoặc pha đảo với các hệ dung môi giải ly khác nhau, thu được 22 hợp chất tinh khiết (9–11, 16, 17, 21–37).

2.3.3 Phương pháp xác định cấu trúc của các hợp chất tinh khiết

Cấu trúc hóa học của các hợp chất tinh khiết được xác định dựa vào các phương pháp phổ hồng ngoại IR, phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR (^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, NOESY), khối phổ phân giải cao HR-MS, mô hình hóa phân tử kết hợp hóa tính toán, và thực hiện phản ứng thủy giải với xúc tác acid kết hợp so sánh năng lực triển quang $[\alpha]_D$.

2.3.4 Phương pháp docking phân tử trên mô hình enzyme tyrosinase

Toàn bộ quá trình được thực hiện trên phần mềm Molecular Operating Environment 2016 (MOE 2016.0802). Cấu trúc của các ligand sẽ được nhập liệu vào phần mềm thông qua công cụ Builder. Các cấu trúc sẽ được tối ưu hóa năng lượng đến RMS gradient 0.0001 trong trường lực Amber12:EHT, và không sử dụng mô hình solvat hóa. Mô hình enzyme oxytyrosinase (PDB ID: 1WX2) sẽ được tải về từ Ngân hàng dữ liệu protein Hoa Kỳ (<https://www.rcsb.org>). Trong phần mềm MOE, sử dụng công cụ Sequence Editor để xóa 3 chuỗi 1WX2.B của phân tử protein ORF378, chỉ giữ lại các chuỗi 1WX2.A của phân tử enzyme oxytyrosinase. Chuỗi 1WX2.A sẽ được hiệu chỉnh thông qua công cụ QuickPrep bao gồm các bước hiệu chỉnh các nối hóa học, chuẩn hóa điện tích và trạng thái ion hóa của các nguyên tử, thêm các nguyên tử hydrogen còn thiếu, và loại bỏ các phân tử nước. Mặt khác, vùng hoạt tính của enzyme được xác định bằng công cụ Site Finder và được xác định là vùng có chỉ số PLB (Propensity for Ligand Binding) lớn nhất, trong đó tâm xúc tác là hai ion Cu^{2+} và nhóm peroxide $[\text{O}-\text{O}]^{2-}$. Quá trình docking sử dụng phương pháp sắp đặt (Placement method) là Triangle Matcher, phương pháp hiệu chỉnh (Refinement method) là Induced Fit, và phương pháp tính điểm (Scoring method) là London dG và GBVI/WSA dG. Kết quả thu được là năm mô hình phức hợp enzyme-ligand có điểm đánh giá (chỉ số S) tốt nhất. Số lượng tương tác, năng lượng tương tác (kcal mol^{-1}), và khoảng cách tương tác (Å) sẽ được phân tích bằng công cụ Ligand Interactions.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN

3.1 Nghiên cứu sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase

3.1.1 Sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các mẫu cao MeOH

25 mẫu cao MeOH từ 16 mẫu cây được tiến hành sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase. Các mẫu cao được tiến hành thử ở bốn nồng độ khác nhau trong khoảng $1\text{--}100\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. Trong thí nghiệm này, kojic acid được sử dụng làm chất đối chứng dương ($\text{IC}_{50} = 6.34\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$).

Kết quả sàng lọc cho thấy có 18/25 mẫu cao MeOH thể hiện phần trăm ức chế enzyme trên 50 % tại nồng độ cao chiết là $100\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ (Bảng 3.1). Trong khi đó, tại nồng độ cao chiết là $50\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ có 15/25 mẫu thể hiện hoạt tính với $I > 50\%$. Ngoài ra, 9/25 mẫu thử thể hiện hoạt tính ức chế enzyme ($I > 50\%$) ở nồng độ $25\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. Trong số 25 mẫu cao chỉ có mẫu cao MeOH của thân cây Mít nài (*Artocarpus rigida*) thể hiện hoạt tính mạnh với $I = 78.43\%$ ở nồng độ $10\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$, do đó mẫu cao này được tiến hành thử lại ở các nồng độ nhỏ hơn. Kết quả thu được tại nồng độ $2.5\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ mẫu cao vẫn thể hiện hoạt tính ức chế mạnh với $I > 50\%$.

Mẫu cao MeOH của vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) với $\text{IC}_{50} = 11.61\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. Mặt khác, chi *Swintonia* gần như chưa được nghiên cứu trên thế giới và cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) cũng chưa được nghiên cứu về hóa thực vật. Vì vậy, mẫu cao MeOH của vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) được chọn để tiếp tục khảo sát về thành phần hóa học.

Ngoài ra, các mẫu cao MeOH của cây Xoài bụi (*Mangifera camptosperma*), Chây sáng (*Buchanania lucida*), Dầu con rái trắng (*Dipterocarpus alatus*), Dầu con rái đỏ (*Dipterocarpus turbinatus*), và Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*) cũng thể hiện hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase với giá trị IC_{50} trong khoảng $14.13\text{--}23.26\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. Trong đó, chi *Mangifera* và chi *Dipterocarpus* đã được nghiên cứu khá nhiều về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học, do đó các mẫu cây thuộc hai chi này sẽ không được chọn để tiếp tục khảo sát. Theo các tài liệu tham khảo thì cả hai loài Chây sáng (*Buchanania lucida*) và Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*) đều chưa được nghiên cứu về hóa thực

vật và hoạt tính sinh học. Tuy nhiên khi khảo sát để thu hái lượng mẫu lớn, nhận thấy rằng cây Chây sáng (*Buchanania lucida*) phân bố rải rác và có số lượng ít, do đó rất khó để có được lượng mẫu đủ lớn nhằm khảo sát thành phần hóa học. Chính vì lý do đó, chúng tôi đã chọn cây Sưng có đuôi (*Semecarpus caudata*), mẫu cây có thể thu hái với số lượng lớn, để tiếp tục khảo sát về thành phần hóa học.

Bảng 3.1 Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase (IC_{50} , $\mu\text{g mL}^{-1}$) của các mẫu cao MeOH

STT	Tên khoa học	Phần trăm ức chế (I %)				IC_{50}
		$100 \mu\text{g mL}^{-1}$	$50 \mu\text{g mL}^{-1}$	$25 \mu\text{g mL}^{-1}$	$10 \mu\text{g mL}^{-1}$	
1	<i>Kibatalia laurifolia</i> ¹	13.37 ± 0.49	2.31 ± 0.09			> 100
2	<i>Kibatalia laurifolia</i> ³	44.4 ± 1.0	25.16 ± 0.54	22.88 ± 0.67	15.03 ± 0.95	> 100
3	<i>Semecarpus caudata</i> ¹	> 100	74.52 ± 0.86	54.8 ± 2.0	13.7 ± 2.9	23.26
4	<i>Swintonia floribunda</i> ²	> 100	67.2 ± 2.3	59.38 ± 0.65	49.6 ± 1.4	11.61
5	<i>Buchanania lucida</i> ¹	> 100	99.68 ± 0.40	67.83 ± 0.76	41.7 ± 1.0	14.54
6	<i>Mangifera reba</i> ¹	82.42 ± 0.52	70.3 ± 1.2	35.9 ± 1.2	23.4 ± 1.6	41.66
7	<i>Mangifera camptosperma</i> ¹	79.3 ± 1.7	72.3 ± 1.8	63.3 ± 1.4	22.7 ± 1.5	20.10
8	<i>Mangifera camptosperma</i> ²	70.19 ± 0.37	70.50 ± 0.78	59.0 ± 2.7	46.0 ± 1.5	14.13
9	<i>Dipterocarpus dyeri</i> ¹	32.7 ± 1.6	21.2 ± 1.6			> 100
10	<i>Dipterocarpus turbinatus</i> ¹	74.4 ± 1.8	64.01 ± 0.69	35.99 ± 0.79	29.7 ± 1.7	44.25
11	<i>Dipterocarpus turbinatus</i> ²	77.78 ± 0.94	71.98 ± 0.38	58.5 ± 1.2	33.33 ± 0.70	22.00
12	<i>Dipterocarpus alatus</i> ¹	> 100	63.83 ± 0.79	56.91 ± 0.95	41.22 ± 0.90	21.40
13	<i>Dipterocarpus costatus</i> ¹	72.0 ± 2.0	52.7 ± 1.0	47.58 ± 0.54	36.5 ± 1.8	40.39
14	<i>Dipterocarpus costatus</i> ²	80.17 ± 0.50	69.2 ± 1.1	49.6 ± 1.3	30.03 ± 0.73	25.32
15	<i>Hopea recopei</i> ¹	> 100	65.9 ± 1.2	41.30 ± 0.84	30.7 ± 1.5	34.07
16	<i>Hopea recopei</i> ²	57.0 ± 1.3	48.5 ± 1.2	35.84 ± 0.21	27.0 ± 1.6	52.50
17	<i>Hopea odorata</i> ¹	68.3 ± 1.3	53.72 ± 0.67	40.77 ± 0.45	20.39 ± 0.57	42.95
18	<i>Hopea odorata</i> ²	81.42 ± 0.60	62.83 ± 0.53	50.2 ± 1.3	34.81 ± 0.95	24.86
19	<i>Anisoptera costata</i> ¹	40.50 ± 0.58	35.3 ± 1.1	27.27 ± 0.48	15.15 ± 0.64	> 100
20	<i>Anisoptera costata</i> ²	43.25 ± 0.77	34.71 ± 0.84	21.8 ± 1.1	14.60 ± 0.69	> 100
21	<i>Shorea thorelii</i> ¹	67.58 ± 0.82	49.15 ± 0.43	35.8 ± 1.7	23.9 ± 1.9	58.81
22	<i>Shorea thorelii</i> ²	56.52 ± 0.69	46.1 ± 1.2	36.0 ± 1.2	27.54 ± 0.32	73.51
23	<i>Vatica odorata</i> ¹	48.9 ± 1.6	3.7 ± 2.0	0.31 ± 2.0		> 100
24	<i>Vatica odorata</i> ³	40.6 ± 1.5	22.46 ± 0.75	9.85 ± 0.52	0.9 ± 2.6	> 100
		$10 \mu\text{g mL}^{-1}$	$5 \mu\text{g mL}^{-1}$	$2.5 \mu\text{g mL}^{-1}$	$1 \mu\text{g mL}^{-1}$	
25	<i>Artocarpus rigida</i> ¹	78.43 ± 0.62	72.88 ± 0.44	66.0 ± 1.0	40.5 ± 2.4	1.06
	Kojic acid					6.34

¹ Thân, ² Vô thân, ³ Lá

3.1.2 Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các mẫu cao phân đoạn

Từ mẫu cao MeOH của thân cây Sưng có đuôi (*Semecarpus caudata*) điều chế được các cao phân đoạn *n*-hexane, CHCl_3 , và H_2O . Các mẫu cao phân đoạn này được thử hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase, chỉ thu được mẫu cao CHCl_3 có hoạt tính ức chế yếu với giá trị $IC_{50} = 99.47 \mu\text{g mL}^{-1}$.

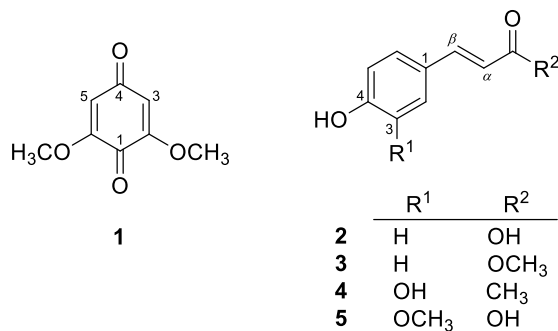
Mặt khác, từ mẫu cao MeOH vô thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) điều chế được các cao phân đoạn *n*-hexane, EtOAc, và H_2O , trong đó chỉ có mẫu cao EtOAc thể hiện hoạt tính ức chế trung bình với giá trị $IC_{50} = 35.81 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Từ kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase, mẫu cao CHCl_3 của thân cây Sưng có đuôi (*Semecarpus caudata*) và mẫu cao EtOAc của vô thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) được chọn để khảo sát thành phần hóa học.

3.2 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất phân lập được từ cao CHCl_3 của thân cây Sưng có đuôi (*Semecarpus caudata*)

3.2.1 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung phenol

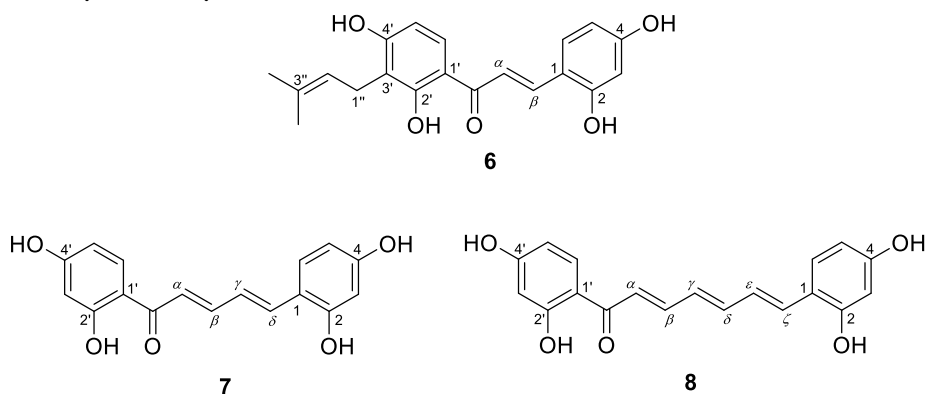
Từ cao CHCl_3 của thân cây Sưng có đuôi (*Semecarpus caudata*), chúng tôi đã phân lập được 5 hợp chất có khung phenol (1–5) (Hình 3.1). Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định thông qua phổ NMR, kết hợp so sánh với các dữ liệu từ tài liệu tham khảo.



Hình 3.1 Cấu trúc của các hợp chất 1–5

3.2.2 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung diarylalkanoid

Từ cao CHCl₃ của thân cây Sưng có đuôi (*Semecarpus caudata*), chúng tôi đã phân lập được 3 hợp chất có khung diarylalkanoid (**6–8**) (Hình 3.2). Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định thông qua phổ NMR, kết hợp so sánh với các dữ liệu từ tài liệu tham khảo.

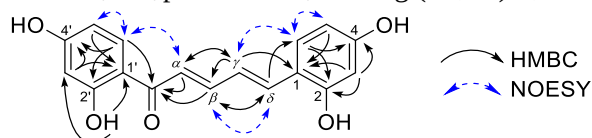


Hình 3.2 Cấu trúc của các hợp chất 6–8

3.2.2.1 Cấu trúc hợp chất 7

Phổ IR của hợp chất **7** cho thấy có sự xuất hiện của nhóm hydroxy (3455 cm⁻¹) và nhóm carbonyl (1620 cm⁻¹). Phổ ¹H NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) của hợp chất **7** cho các tín hiệu cộng hưởng của một vòng benzene A thế ở vị trí 1, 2, 4 [δ_H 7.94 (d, J = 8.9 Hz, H-6'), 6.45 (dd, J = 8.9 và 2.4 Hz, H-5'), 6.35 (d, J = 2.4 Hz, H-3')], một vòng benzene B thế ở vị trí 1, 2, 4 [δ_H 7.43 (d, J = 8.5 Hz, H-6), 6.47 (d, J = 2.4 Hz, H-3), 6.42 (dd, J = 8.5 và 2.4 Hz, H-5)], và hai cặp proton *trans*-olefin [δ_H 7.27 (brd, J = 14.5 Hz, H- α), 7.68 (ddd, J = 14.5, 11.3 và 0.8 Hz, H- β), 7.17 (ddd, J = 15.6, 11.3 và 0.8 Hz, H- γ), 7.35 (brd, J = 15.6 Hz, H- δ)] (Bảng 3.2). Ngoài ra, trên phổ ¹H NMR cũng thể hiện tín hiệu của nhóm hydroxy kiềm nổi tại δ_H 13.68 (s).

Phổ ¹³C NMR cho thấy có các tín hiệu cộng hưởng của 17 carbon, trong đó có một carbon carbonyl (δ_C 192.8, C=O), 12 carbon thơm (δ_C 103.7–167.6), và bốn carbon olefin [δ_C 122.1 (C- α), 147.3 (C- β), 125.0 (C- γ), 139.5 (C- δ)] (Bảng 3.2). Từ các dữ liệu trên kết luận hợp chất **7** thuộc khung (2*E*,4*E*)-1,5-diaryl-penta-2,4-dien-1-one.



Hình 3.3 Các tương quan HMBC và NOESY của hợp chất 7

Phổ HMBC của hợp chất **7** cho các tương quan 2'-OH/C-1', 2'-OH/C-3', H-3'/C-1', H-3'/C-4', H-5'/C-1', H-6'/C-2', H-6'/C-4', H-3/C-1, H-3/C-2, H-3/C-4, H-5/C-1, H-6/C-2, và H-6/C-4 giúp xác nhận vị trí của các nhóm hydroxy lần lượt tại C-2', -4' và C-2, -4 của vòng benzene A và B (Hình 3.3). Ngoài ra, các tương quan HMBC giữa H-6'/C=O, H- α /C=O, H- β /C=O, H- α /C- γ , H- β /C- δ , H- γ /C- α , H- γ /C- β , H- γ /C-1, H- δ /C- β , và H- δ /C-6 xác nhận sự hiện diện của nhóm carbonyl $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -bất bão hòa và nhóm này sẽ gắn với vòng benzene A và B lần lượt tại C-1' và C-1. Phổ

NOESY cho các tương quan H-5'/H-6', H-6'/H- α , H- β /H- δ , H- γ /H-6, H-6/H-5 (Hình 3.3) giúp xác nhận cấu hình lập thể của hợp chất **7** là *trans,trans*-1,5-bis(2,4-dihydroxyphenyl)penta-2,4-dien-1-one.

Phổ HRESIMS thể hiện mũi ion phân tử giả $[M + Na]^+$ tại m/z 321.0752, sai lệch 1.3 mDa so với giá trị giá trị tính toán lý thuyết 321.0739 ứng với công thức phân tử $C_{17}H_{14}O_5Na$. Theo cơ sở dữ liệu SciFinder (Đại học quốc gia Chungnam, tháng 10/2018), hợp chất **7** là hợp chất mới lần đầu tiên được công bố trên thế giới và được đặt tên là semedienone.

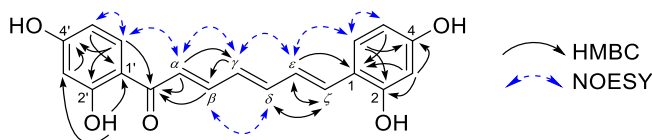
Bảng 3.2 Dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR (acetone- d_6) của hợp chất **7**

Vị trí	7	
	δ_C , loại C	δ_H (J, Hz)
1'	114.5, C	
2'	167.6, C	
3'	103.8, CH	6.35, d (2.4)
4'	165.5, C	
5'	108.7, CH	6.45, dd (8.9, 2.4)
6'	132.9, CH	7.94, d (8.9)
C=O	192.8, C	
α	122.1, CH	7.27, brd (14.5)
β	147.3, CH	7.68, ddd (14.5, 11.3, 0.8)
γ	125.0, CH	7.17, ddd (15.6, 11.3, 0.8)
δ	139.5, CH	7.35, brd (15.6)
1	116.5, C	
2	158.5, C	
3	103.7, CH	6.47, d (2.4)
4	161.0, C	
5	108.9, CH	6.42, dd (8.5, 2.4)
6	130.2, CH	7.43, d (8.5)
2'-OH		13.68, s

3.2.2.2 Cấu trúc hợp chất **8**

Phổ IR của hợp chất **8** cho thấy có sự xuất hiện của nhóm hydroxy (3305 cm^{-1}) và nhóm carbonyl (1650 cm^{-1}). Phổ 1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) của hợp chất **8** và semedienone (**7**) đều thể hiện tín hiệu của vòng benzene A và B thể ở vị trí 1, 2, 4. Tuy nhiên, phổ 1H NMR của hợp chất **8** xuất hiện tín hiệu của ba cặp proton *trans*-olefin [δ_H 7.26 (d, $J = 14.5$ Hz, H- α), 7.61 (dd, $J = 14.5$ và 11.5 Hz, H- β), 6.62 (dd, $J = 13.7$ và 11.5 Hz, H- γ), 7.00 (2H, m, H- δ và H- ϵ), 7.13 (d, $J = 14.6$ Hz, H- ζ)] (Bảng 3.3). Ngoài ra, trên phổ 1H NMR cũng thể hiện tín hiệu của nhóm hydroxy kiềm nổi δ_H 13.64 (s).

Phổ ^{13}C NMR cho thấy có các tín hiệu cộng hưởng của 19 carbon, trong đó có một carbon carbonyl (δ_C 192.6, C=O), 12 carbon thơm (δ_C 103.7–167.4), và sáu carbon olefin [δ_C 122.8 (C- α), 145.8 (C- β), 129.4 (C- γ), 145.8 (C- δ), 126.1 (C- ϵ), 134.3 (C- ζ)] (Bảng 3.3). Từ các dữ liệu trên kết luận hợp chất **8** thuộc khung (2*E*,4*E*,6*E*)-1,7-diarylhepta-2,4,6-trien-1-one.



Hình 3.4 Các tương quan HMBC và NOESY của hợp chất **8**

Phổ HMBC của hợp chất **8** cho các tương quan 2'-OH/C-1', 2'-OH/C-3', H-3'/C-4', H-5'/C-1', H-6'/C-2', H-6'/C-4', H-3/C-1, H-3/C-2, H-3/C-4, H-5/C-1, H-6/C-2, và H-6/C-4 giúp xác nhận vị trí của các nhóm hydroxy lần lượt tại C-2', -4' và C-2, -4 của vòng benzene A và B (Hình 3.4). Ngoài ra, các tương quan HMBC giữa H-6'/C=O, H- α /C=O, H- β /C=O, H- α /C- γ , H- γ /C- β , H- δ /C- ζ , H- ϵ /C- ζ , H- ϵ /C-1, H- ζ /C- δ , và H- ζ /C- ϵ xác nhận sự hiện diện của nhóm carbonyl $\alpha,\beta,\gamma,\delta,\epsilon,\zeta$ -bất bão hòa và nhóm này sẽ gắn với vòng benzene A và B lần lượt tại C-1' và C-1. Phổ

NOESY cho các tương quan H-5'/H-6', H-6'/H- α , H- α /H- γ , H- β /H- δ , H- γ /H- ε , H- ε /H-6, H-6/H-5 (Hình 3.4) giúp xác nhận cấu hình lập thể của hợp chất **8** là *trans,trans,trans*-1,7-bis(2,4-dihydroxyphenyl)hepta-2,4,6-trien-1-one.

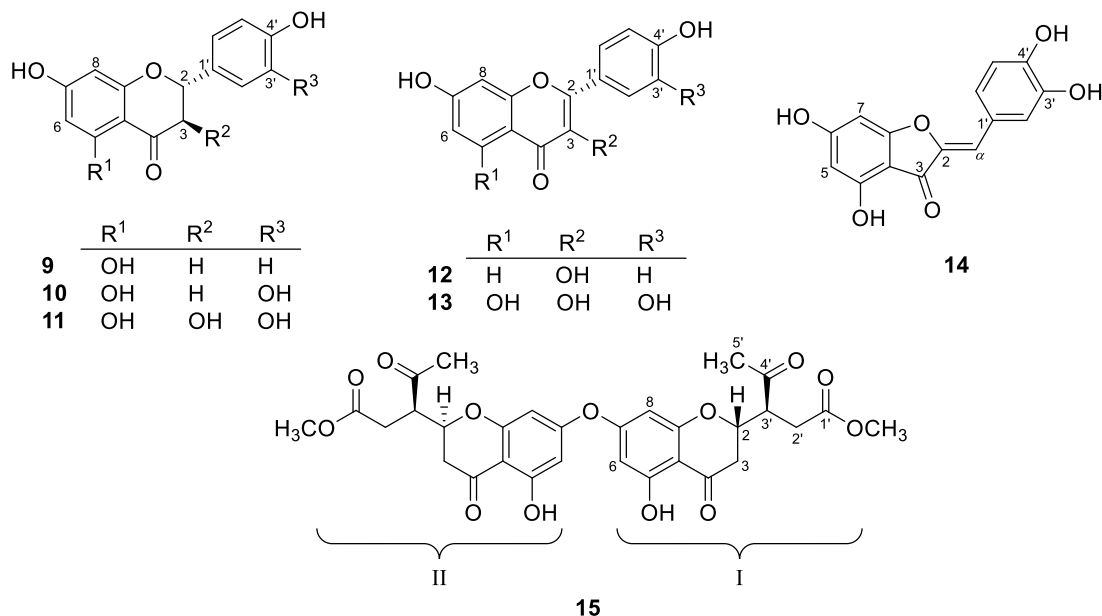
Phổ HRESIMS thể hiện mũi ion phân tử giả $[M + Na]^+$ tại m/z 347.0902, sai lệch 0.7 mDa so với giá trị giá trị tính toán lý thuyết 347.0895 ứng với công thức phân tử $C_{19}H_{16}O_5Na$. Theo cơ sở dữ liệu SciFinder (Đại học quốc gia Chungnam, tháng 10/2018), hợp chất **8** là hợp chất mới lần đầu tiên được công bố trên thế giới và được đặt tên là semetrienone.

Bảng 3.3 Dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR (acetone- d_6) của hợp chất **8**

Vị trí	8	
	δ_C , loại C	δ_H (J, Hz)
1'	114.9, C	
2'	167.4, C	
3'	103.8, CH	6.35, d (2.4)
4'	165.9, C	
5'	108.8, CH	6.45, dd (8.9, 2.4)
6'	132.6, CH	7.92, d (8.9)
C=O	192.6, C	
α	122.8, CH	7.26, d (14.5)
β	145.8, CH	7.61, dd (14.5, 11.5)
γ	129.4, CH	6.62, dd (13.7, 11.5)
δ	145.8, CH	7.00, m
ε	126.1, CH	7.00, m
ζ	134.3, CH	7.13, d (14.6)
1	116.6, C	
2	157.8, C	
3	103.7, CH	6.45, d (2.4)
4	161.0, C	
5	108.8, CH	6.39, dd (8.5, 2.4)
6	129.3, CH	7.39, d (8.5)
2'-OH		13.64, s

3.2.3 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung flavonoid

Từ cao $CHCl_3$ của thân cây Sưng có đuôi (*Semecarpus caudata*) chúng tôi đã phân lập được 7 hợp chất có khung flavonoid (**9–15**) (Hình 3.5), trong đó hợp chất **15** là hợp chất mới lần đầu tiên được công bố trên thế giới. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định thông qua phổ NMR, giá trị năng lực triền quang, kết hợp so sánh với các dữ liệu từ tài liệu tham khảo.



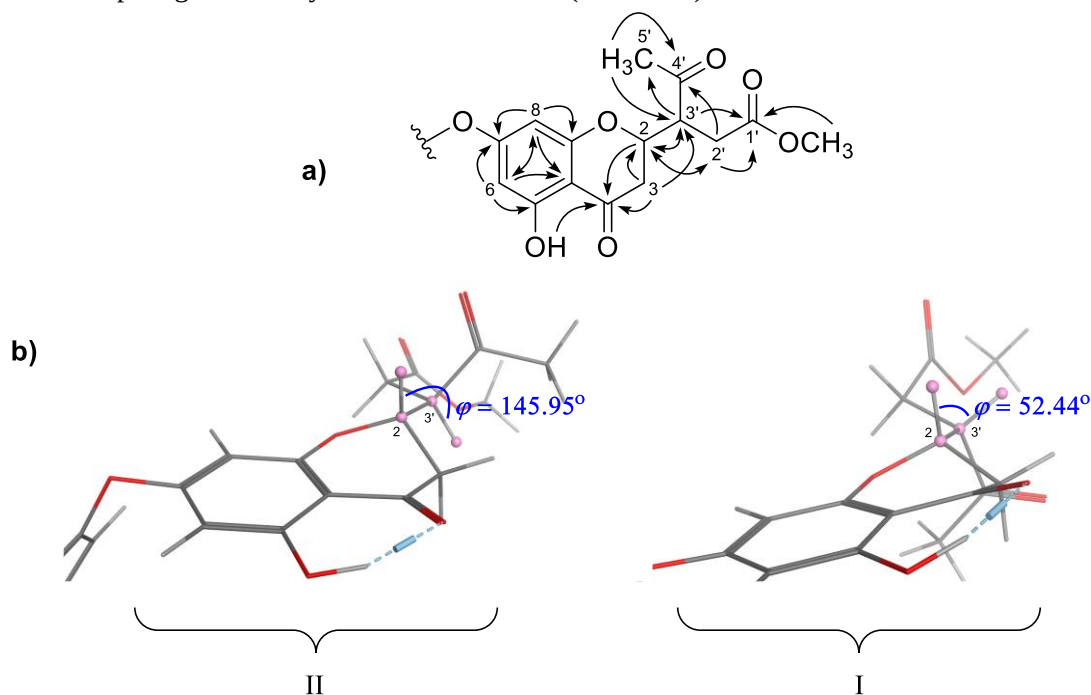
Hình 3.5 Cấu trúc của các hợp chất **9–15**

3.2.3.1 Cấu trúc hợp chất 15

Phổ IR của hợp chất **15** cho thấy có sự xuất hiện của nhóm hydroxyl (3395 cm^{-1}) và nhóm carbonyl (1730 , 1725 , và 1640 cm^{-1}). Phổ ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) thể hiện tín hiệu của hai vòng benzene mang 4 nhóm thế ở vị trí 1, 2, 3, 5 [δ_{H} 5.86 (d, $J = 2.1\text{ Hz}$, H-6_I), 5.80 (d, $J = 2.1\text{ Hz}$, H-8_I), 5.87 (d, $J = 2.1\text{ Hz}$, H-6_{II}), và 5.83 (d, $J = 2.1\text{ Hz}$, H-8_{II})], hai proton oxymethine [δ_{H} 4.90 (ddd, $J = 13.3, 4.3, 2.8\text{ Hz}$, H-2_I) và 4.66 (ddd, $J = 12.9, 7.4, 2.9\text{ Hz}$, H-2_{II})], hai proton methine [δ_{H} 3.37 (ddd, $J = 9.7, 4.3, 4.0\text{ Hz}$, H-3'_I) và 3.43 (ddd, $J = 10.6, 7.4, 4.1\text{ Hz}$, H-3'_{II})], bốn nhóm methylene [δ_{H} 2.94 (dd, $J = 17.1, 13.3\text{ Hz}$, H-3_{I-ax}), 2.55 (dd, $J = 17.1, 2.8\text{ Hz}$, H-3_{I-eq}), 2.88 (dd, $J = 17.1, 12.9\text{ Hz}$, H-3_{II-ax}), 2.52 (dd, $J = 17.1, 2.9\text{ Hz}$, H-3_{II-eq}), 2.76 (dd, $J = 17.1, 9.7\text{ Hz}$, H-2'_I), 2.66 (dd, $J = 17.1, 4.0\text{ Hz}$, H-2'_I), 2.74 (dd, $J = 17.1, 10.6\text{ Hz}$, H-2'_{II}), và 2.62 (dd, $J = 17.1, 4.1\text{ Hz}$, H-2'_{II})], hai nhóm methoxy (δ_{H} 3.60 và 3.59), hai nhóm acetyl (δ_{H} 2.28 và 2.25), và hai nhóm hydroxy kiềm nổi (δ_{H} 2×12.04 , brs) (Bảng 3.4). Khi xem xét hai phân mảnh I và II trong cấu trúc hợp chất **15**, hằng số ghép cặp $^3J_{\text{H-2/H-3}}$ (13.3 và 2.8 Hz của mảnh I; 12.9 và 2.9 Hz của mảnh II), $^3J_{\text{H-2/H-3'}}$ (4.3 Hz của mảnh I và 7.4 Hz của mảnh II), và $^3J_{\text{H-2'/H-3'}}$ (9.7 và 4.0 Hz của mảnh I; 10.6 và 4.1 Hz của mảnh II) thể hiện mạch nhánh -C(3)H₂-C(2)H-C(3')H-C(2')H₂-.

Phổ ^{13}C NMR thể hiện các tín hiệu cộng hưởng của 6 nhóm carbonyl (δ_{C} 207.9, 206.8, 195.8, 195.3, 172.1, và 171.8), 12 carbon thơm (δ_{C} 166.6; 166.5; 2×163.4 ; 162.2; 162.1; 2×101.6 ; 96.1, C-6_{II}; 96.0, C-6_I; và 2×94.8 , C-8_I và II), hai carbon oxymethine (δ_{C} 77.0, C-2_{II} và 76.0, C-2_I), hai carbon methine (δ_{C} 2×51.0 , C-3'_I và II), bốn carbon methylene (δ_{C} 38.6 và 38.3, C-3_I và II; 31.1 và 29.9, C-2'_I và II), hai carbon methoxy (δ_{C} 51.7 và 51.6), và hai carbon methyl (δ_{C} 31.3 và 29.4) (Bảng 3.4).

Dựa vào dữ liệu ^1H và ^{13}C NMR, đề nghị cấu trúc của hợp chất **15** bao gồm hai phân mảnh 4-chromanone mang nhóm thế ở vị trí C-2 với cấu hình lập thể khác nhau. Các tương quan HMBC cho thấy hai phân mảnh 4-chromanone đều có cấu trúc phẳng là 2,3-dihydrosawarachromone (Hình 3.6a).



Hình 3.6 a) Các tương quan HMBC của hợp chất **15**; b) Mô phỏng cấu trạng bền nhất của hợp chất **15** bởi phần mềm MOE 2016.0802

Tương quan HMBC giữa $\text{CH}_3\text{-}5'/\text{C}4'=\text{O}$, $\text{CH}_3\text{-}5'/\text{C-}3'$, $\text{H-}3'/\text{C}4'=\text{O}$, và $\text{H-}3'/\text{CH}_3\text{-}5'$ suy ra nhóm acetyl gắn tại vị trí C-3'. Dựa vào tương quan HMBC của các proton H-2', H-3', và OMe-1' lần lượt với carbon carbonyl C-1', khẳng định vị trí của nhóm methoxycarbonyl tại C-2'. Mặt khác, tương quan HMBC giữa H-2'/C4'=O, H-2'/C-2, H-3'/C-2, và H-3/C-3' kết luận nhóm 1-acetyl-2-methoxycarbonyl ethyl gắn tại vị trí C-2 của khung 4-chromanone (Hình 3.6a). Trong phổ ^{13}C NMR, sự xuất hiện của 6 carbon vòng thơm gần với oxygen [δ_{C} 166.6 (C-8_{aI}), 166.5 (C-8_{aII}),

2×163.4 (C-7_I và II), 162.2 (C-5_I), và 162.1 (C-5_{II})] và hai nhóm hydroxy kiềm nối ($\delta_H 2 \times 12.04$) góp phần khẳng định liên kết (I-7,O,II-7) giữa hai phân mảnh 4-chromanone.

Cấu hình tuyệt đối của carbon C-2 được đề nghị là cấu hình S, dựa vào các tài liệu tham khảo về khung flavanone trong tự nhiên. Hơn nữa, các giá trị hằng số ghép cặp $^3J_{H-2_I/H-3'_I}$ và $^3J_{H-2_{II}/H-3'_{II}}$ lần lượt là 4.3 và 7.4 Hz, từ đó đề nghị cấu hình tuyệt đối của carbon C-3' trong hai phân mảnh 4-chromanone là khác nhau. Cấu trạng bền nhất của hợp chất **15** với I-(2S,3'S*),II-(2S,3'R*) (Hình 3.6b) được mô phỏng và tối ưu hóa tới RMS gradient 0.0001 bằng gói phần mềm Molecular Operating Environment 2016.0802 sử dụng trường lực MMFF94x. Từ kết quả mô phỏng suy ra góc nhị diện giữa H-2S/H-3'S* và H-2S/H-3'R* lần lượt là 52.44° và 145.95°. Dựa vào công thức tính của Klaus G. R. Pachler đề nghị vào năm 1972, các giá trị hằng số ghép cặp $^3J_{H-2S/H-3'S*}$ và $^3J_{H-2S/H-3'R*}$ lần lượt được suy ra là 4.20 và 7.97 Hz. Dựa vào sự sai biệt nhỏ giữa giá trị tính toán và thực nghiệm của $^3J_{H-2/H-3'}$ ($\Delta = -0.10$ và $+0.57$ Hz), cấu hình tuyệt đối của carbon C-3' được kết luận là I-(3'S*),II-(3'R*). Mặt khác, hợp chất **15** không thể hiện năng lực triền quang. Từ đó, cấu trúc của hợp chất **15**, semecarpanone, được đề nghị là (S,S)-2,3-dihydrosawarachromone-(I-7-O-II-7)-(S,R)-2,3-dihydrosawarachromone. Hợp chất **15** có thể được hình thành từ hợp chất bisflavanone thông qua sự oxy hóa mở vòng B của khung flavonoid.

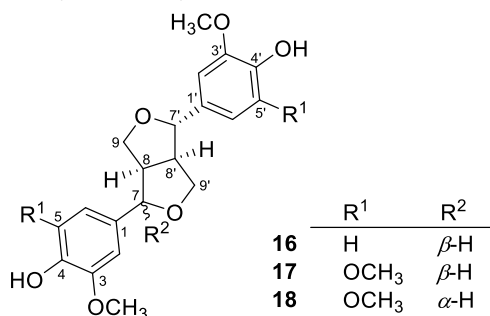
Bảng 3.4 Dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR (DMSO- d_6) của hợp chất **15**

Vị trí	15		
	δ_C , loại C	δ_H (J, Hz)	
2 _I	76.0, CH	4.90, ddd (13.3, 4.3, 2.8)	
3 _{I-ax}	38.6, CH ₂	2.94, dd (17.1, 13.3)	
3 _{I-eq}		2.55, dd (17.1, 2.8)	
4 _I	195.8, C		
4a _I	101.6, C		
5 _I	162.2, C		
6 _I	96.0, CH	5.86, d (2.1)	
7 _I	163.4, C		
8 _I	94.8, CH	5.80, d (2.1)	
8a _I	166.6, C		
1' _I	172.1, C		
2' _I	29.9, CH ₂	2.76, dd (17.1, 9.7)	
		2.66, dd (17.1, 4.0)	
3' _I	51.0, CH	3.37, ddd (9.7, 4.3, 4.0)	
4' _I	207.9, C		
5' _I	31.3, CH ₃	2.28, s	
1'-OMe _I	51.7, CH ₃	3.60, s	
5-OH _I		12.04, s	
2 _{II}	77.0, CH	4.66, ddd (12.9, 7.4, 2.9)	
3 _{II-ax}	38.3, CH ₂	2.88, dd (17.1, 12.9)	
3 _{II-eq}		2.52, dd (17.1, 2.9)	
4 _{II}	195.3, C		
4a _{II}	101.6, C		
5 _{II}	162.1, C		
6 _{II}	96.1, CH	5.87, d (2.1)	
7 _{II}	163.4, C		
8 _{II}	94.8, CH	5.83, d (2.1)	
8a _{II}	166.5, C		
1' _{II}	171.8, C		
2' _{II}	31.1, CH ₂	2.74, dd (17.1, 10.6)	
		2.62, dd (17.1, 4.1)	
3' _{II}	51.0, CH	3.43, ddd (10.6, 7.4, 4.1)	
4' _{II}	206.8, C		
5' _{II}	29.4, CH ₃	2.25, s	
1'-OMe _{II}	51.6, CH ₃	3.59, s	
5-OH _{II}		12.04, s	

Phổ HRFABMS và HRESIMS thể hiện tín hiệu $[M + H]^+$ tương ứng tại m/z 599.1810 và 599.1778, sai lệch so với giá trị lý thuyết lần lượt là 4.5 và 1.3 mDa (giá trị tính toán lý thuyết cho $C_{30}H_{31}O_{13}$ là 599.1765). Theo cơ sở dữ liệu SciFinder (Đại học Quốc gia Chungnam, tháng 09/2017), hợp chất **15** là hợp chất mới lần đầu tiên được công bố trên thế giới.

3.2.4 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung lignan

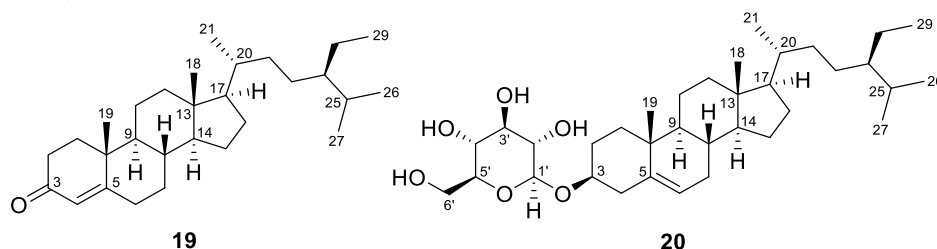
Từ cao $CHCl_3$ của thân cây Sưng có đuôi (*Semecarpus caudata*) chúng tôi đã phân lập được 3 hợp chất có khung lignan (**16–18**) (Hình 3.7). Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định thông qua phổ NMR, giá trị năng lực triền quang, kết hợp so sánh với các dữ liệu từ tài liệu tham khảo.



Hình 3.7 Cấu trúc của các hợp chất **16–18**

3.2.5 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung steroid

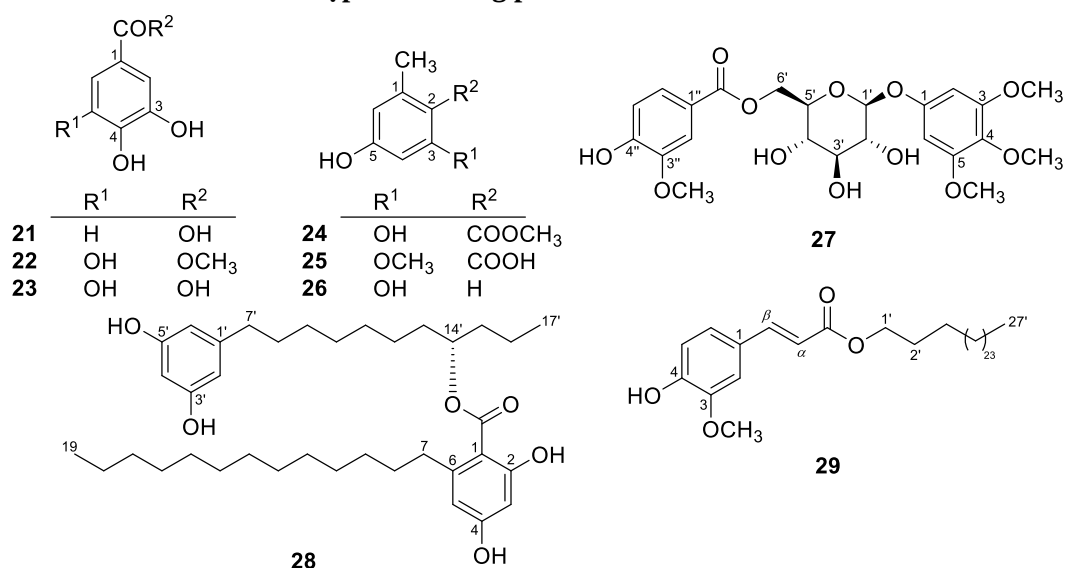
Từ cao $CHCl_3$ của thân cây Sưng có đuôi (*Semecarpus caudata*) chúng tôi đã phân lập được 2 hợp chất có khung steroid (**19** và **20**) (Hình 3.8). Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định thông qua phổ NMR kết hợp so sánh với các dữ liệu từ tài liệu tham khảo.



Hình 3.8 Cấu trúc của các hợp chất **19** và **20**

3.3 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất phân lập được từ cao EtOAc của vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*)

3.3.1 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung phenol



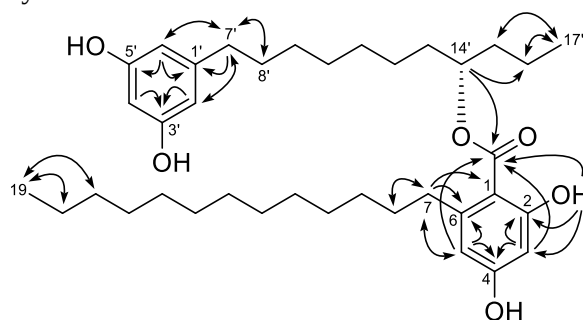
Hình 3.9 Cấu trúc của các hợp chất **21–29**

Từ cao EtOAc của vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) chúng tôi đã phân lập được chín hợp chất có khung phenol (**21–29**) (Hình 3.9), trong đó hợp chất **28** là hợp chất mới lần đầu tiên được công bố trên thế giới và hợp chất **25** lần đầu tiên được phân lập trong tự nhiên và công bố dữ liệu phổ NMR. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định thông qua phổ NMR, giá trị năng lực triển quang, kết hợp so sánh với các dữ liệu từ tài liệu tham khảo.

3.3.1.1 Cấu trúc hợp chất 28

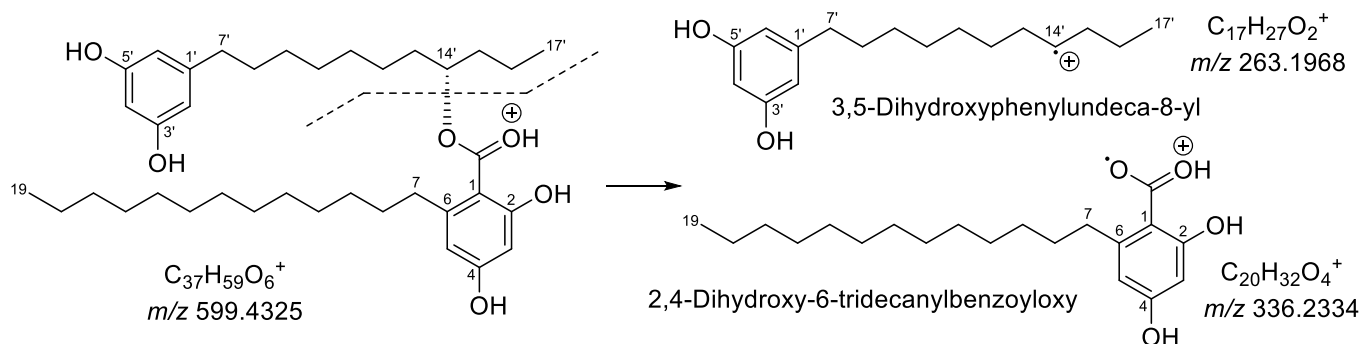
Phổ IR của hợp chất **28** cho thấy sự hiện diện của nhóm hydroxy (3355 cm^{-1}) và carbonyl (1702 cm^{-1}). Phổ ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) thể hiện các tín hiệu của một vòng benzene thế ở vị trí 1, 3, 5 [δ_{H} 6.21 (2H, d, $J = 2.1\text{ Hz}$, H-2' và H-6'), 6.18 (brs, H-4')], một vòng benzene thế ở vị trí 1, 2, 3, 5 [δ_{H} 6.29 (d, $J = 2.6\text{ Hz}$, H-3), 6.24 (d, $J = 2.6\text{ Hz}$, H-5)], một proton oxymethine [δ_{H} 5.26 (m, H-14')], hai nhóm methyl [δ_{H} 0.94 (t, $J = 7.3\text{ Hz}$, H-17'), 0.88 (t, $J = 6.9\text{ Hz}$, H-19)], hai nhóm methylene kế cận vòng benzene [δ_{H} 2.86 (dt, $J = 12.9$ và 7.9 Hz , H-7a) 2.81 (dt, $J = 12.9$ và 7.9 Hz , H-7b), 2.44 (2H, t, $J = 7.7\text{ Hz}$, H-7')], một nhóm hydroxy kiềm nổi (δ_{H} 12.13, brs, 2-OH), và một số nhóm methylene mạch hở [δ_{H} 1.53 (m, H-8 và H-8'), 1.22–1.45 (H-9–H-16, H-10', và H-11'), 1.26 (m, H-17), 1.29 (m, H-18), 1.35 (m, H-9'), 1.36 (m, H-12'), 1.65 (m, H-13' và H-15'), 1.41 (m, H-16')] (Bảng 3.5).

Phổ ^{13}C và HSQC NMR thể hiện các tín hiệu cộng hưởng ứng với sự hiện diện của một nhóm carbonyl (δ_{C} 171.7, -COO-), 12 carbon thơm [δ_{C} 165.4 (C-2), 160.4 (C-4), 156.8×2 (C-3' và C-5'), 149.1 (C-6), 146.1 (C-1'), 111.0 (C-5), 108.2×2 (C-2' và C-6'), 105.5 (C-1), 101.6 (C-3), 100.4 (C-4')], một carbon oxymethine (δ_{C} 76.0, C-14'), hai carbon methyl [δ_{C} 14.3 (C-19), 14.1 (C-17')], và 21 carbon methylene mạch hở [δ_{C} 37.1 (C-7), 35.9 (C-7'), 19.0–36.8 (C-8–C-18, C-8'–C-13', C-15', và C-16')] (Bảng 3.5). Dựa vào các dữ liệu ^1H and ^{13}C NMR, hợp chất **28** được đề nghị là một dimer của alkylresorcinol.



Hình 3.10 Các tương quan HMBC của hợp chất **28**

Các tương quan HMBC của H-7 lần lượt với C-1, C-5, C-6, C-8; của H-5 lần lượt với C-4, C-6; của H-3 lần lượt với C-2, C-4; của 2-OH lần lượt với C-2, C-3 giúp xác nhận sự hiện diện của dây alkyl tại C-6 của nhóm 2,4-dihydroxybenzoyl. Vị trí của dây alkyl thứ hai được xác định tại C-1' của nhóm 3,5-dihydroxyphenyl, dựa vào các tương quan HMBC của H-7' lần lượt với C-1', C-2', C-6', C-8'; của H-2'(-6') lần lượt với C-1', C-3'(-5'), C-7'; của H-4' với C-3'(-5'). Ngoài ra, các tương quan HMBC lần lượt của H-14', 2-OH, H-3, H-5 với carbon carbonyl (δ_{C} 171.7, 1-COO-) giúp xác nhận hai phân mảnh alkylresorcinol gắn kết với nhau thông qua nối ester giữa C-1 và C-14' (Hình 3.10).



Hình 3.11 Sự phân mảnh MS của hợp chất **28**

Phổ HRESIMS thể hiện mũi ion phân tử giả $[M + H]^+$ tại m/z 599.4325, sai lệch 1.3 mDa so với giá trị giá trị tính toán lý thuyết 599.4312 ứng với công thức phân tử $C_{37}H_{59}O_6$. Ngoài ra, phổ MS còn cho các mũi ion đặc trưng tại m/z 263.1968 $[M - C_{20}H_{31}O_4]^+$ (giá trị tính toán lý thuyết của $C_{17}H_{27}O_2$ là 263.2011) và 336.2334 $[M - C_{17}H_{27}O_2 + H]^+$ (giá trị tính toán lý thuyết của $C_{20}H_{32}O_4$ là 336.2301) ứng với sự đứt nối C14'-O (Hình 3.11). Các dữ liệu MS đã xác nhận sự hiện diện của hai phân mảnh 3,5-dihydroxyphenylundeca-8-yl và 2,4-dihydroxy-6-tridecanylbenzoyloxy trong cấu trúc của hợp chất **28**. Từ các dữ liệu NMR và MS, cấu trúc phẳng của hợp chất **28** được đề nghị tương tự như hợp chất 15-dehydroxyintegracin B với 14'R.

Bảng 3.5 Dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR ($CDCl_3$) của hợp chất **28**

Vị trí	28	
	δ_C , loại C	δ_H (J, Hz)
1	105.5, C	
2	165.4, C	
3	101.6, CH	6.29, d (2.6)
4	160.4, C	
5	111.0, CH	6.24, d (2.6)
6	149.1, C	
7	37.1, CH_2	2.86, dt (12.9, 7.9) 2.81, dt (12.9, 7.9)
8	32.4, CH_2	1.53, m
9–16	29.0–29.9, CH_2	1.22–1.45
17	32.1, CH_2	1.26, m
18	22.8, CH_2	1.29, m
19	14.3, CH_3	0.88, t (6.9)
1'	146.1, C	
2', 6'	108.2, CH	6.21, d (2.1)
3', 5'	156.8, C	
4'	100.4, CH	6.18, brs
7'	35.9, CH_2	2.44, t (7.7)
8'	30.9, CH_2	1.53, m
9'	30.2, CH_2	1.35, m
10', 11'	29.0–29.9, CH_2	1.22–1.45
12'	25.5, CH_2	1.36, m
13'	34.4, CH_2	1.65, m
14'	76.0, CH	5.26, m
15'	36.8, CH_2	1.65, m
16'	19.0, CH_2	1.41, m
17'	14.1, CH_3	0.94, t (7.3)
C=O	171.7, C	
2-OH		12.13, brs

Thực hiện phản ứng thủy giải hợp chất **28** với xúc tác acid thu được hai sản phẩm **28a** (2.0 mg) và **28b** (2.5 mg). Phổ HRESIMS của hai sản phẩm thủy giải **28a** và **28b** cho hai mũi ion phân tử giả $[M + H]^+$ tương ứng tại m/z 281.2092 và 351.2547. Dựa vào dữ liệu MS, sản phẩm **28a** và **28b** được xác định lần lượt là 5-(8-hydroxyundecyl)benzene-1,3-diol và methyl 2,4-dihydroxy-6-tridecylbenzoate.

Tiến hành thực hiện phương pháp Mosher³⁸ trên hợp chất **28a** từ đó suy ra cấu hình tuyệt đối tại C-14' trong cấu trúc của hợp chất **28**. Tuy nhiên vì khối lượng của hợp chất **28a** thu được ít và nhóm 14'-OH gắn trên carbon bậc 2 nên phản ứng với (R)-(-)- và (S)-(+)-MTPA-Cl trong dung môi pyridine tại nhiệt độ phòng trong 18 giờ không thu được sản phẩm như mong muốn. Do đó, cấu hình tuyệt đối của hợp chất **28** chưa thể xác định bằng phương pháp Mosher.

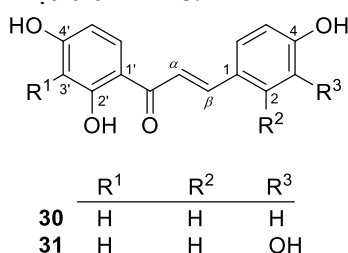
Năng lực triển quang của hợp chất **28a** được ghi nhận có giá trị $[\alpha]_{25}^D +13.3$ (c 0.1, $CHCl_3$), và giá trị này tương đồng với giá trị $[\alpha]_{25}^D +8.7$ (c 0.13, $CHCl_3$) của hợp chất (S)-5-(8-hydroxyundecyl)benzene-1,3-diol. Do đó, cấu hình

tuyệt đối tại C-14' của hợp chất **28** được đề nghị là cấu hình *S*, trong khi đó hợp chất 15-dehydroxyintegracin B có cấu hình tuyệt đối là 14'*R*.

Từ các dữ liệu trên, cấu trúc của hợp chất **28** được đề nghị là *ent*-15-dehydroxyintegracin B và được đặt tên là integracin E. Theo cơ sở dữ liệu SciFinder (Đại học quốc gia Chungnam, tháng 05/2018), hợp chất **28** là hợp chất mới lần đầu tiên được công bố trên thế giới.

3.3.2 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung diarylalkanoid

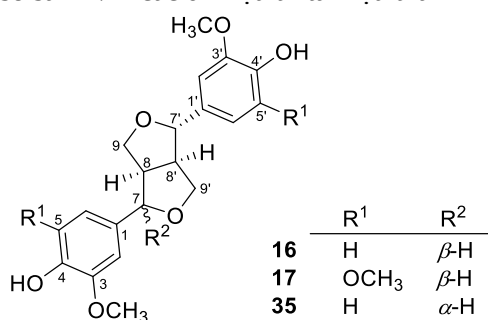
Từ cao EtOAc của vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) chúng tôi đã phân lập được hai hợp chất có khung diarylalkanoid (**30**, **31**) (Hình 3.12). Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định thông qua phổ NMR, kết hợp so sánh với các dữ liệu từ tài liệu tham khảo.



Hình 3.12 Cấu trúc của các hợp chất **30** và **31**

3.3.3 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung lignan

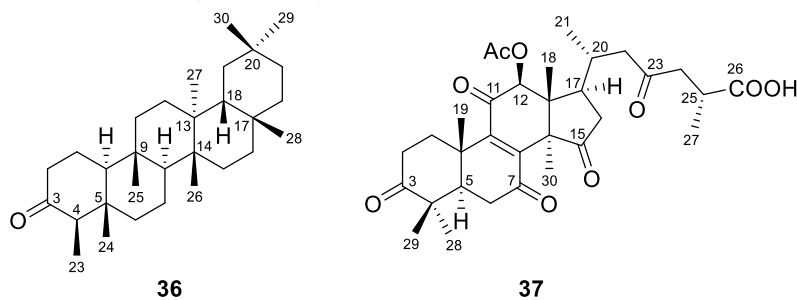
Từ cao EtOAc của vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) chúng tôi đã phân lập được ba hợp chất có khung lignan (**16**, **17**, **35**) (Hình 3.13). Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định thông qua phổ NMR, giá trị năng lực triển quang, kết hợp so sánh với các dữ liệu từ tài liệu tham khảo.



Hình 3.13 Cấu trúc của các hợp chất **16**, **17**, và **35**

3.3.3 Khảo sát cấu trúc của các hợp chất khung triterpenoid

Từ cao EtOAc của cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) chúng tôi đã phân lập được hai hợp chất có khung triterpenoid (**36** và **37**) (Hình 3.14), trong đó hợp chất **37** là hợp chất đặc trưng chỉ có trong chi nấm *Ganoderma* và lần đầu tiên được phân lập trong thực vật bậc cao. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định thông qua phổ NMR, kết hợp so sánh với các dữ liệu từ tài liệu tham khảo.



Hình 3.14 Cấu trúc của các hợp chất **36** và **37**

3.4 Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các hợp chất phân lập được

3.4.1 Kết quả thử hoạt tính *in vitro* của các hợp chất phân lập được

Bảng 3.6 Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của các hợp chất phân lập được

Khung	Hợp chất	Phần trăm ức chế (I %)				IC ₅₀ (μM)
		100 μM	50 μM	25 μM	10 μM	
Phenol	1	< 1				> 100
		10 μM	5 μM	2.5 μM	1 μM	
	2	80.73 ± 0.29	66.47 ± 0.89	51.93 ± 0.89	33.13 ± 0.85	2.35
		100 μM	50 μM	25 μM	10 μM	
	3	45.63 ± 0.89	39.48 ± 0.63	32.86 ± 0.89	26.48 ± 0.63	> 100
	4	77.8 ± 1.0	60.2 ± 1.0	46.0 ± 1.8	32.5 ± 1.0	27.0
	5	< 1				> 100
	21	25.94 ± 0.40	16.8 ± 1.3	3.65 ± 0.90		> 100
	22	26.17 ± 0.93	21.6 ± 1.0	13.9 ± 1.2	10.0 ± 1.0	> 100
	23	< 1				> 100
	24	< 1				> 100
	25	< 1				> 100
	26	48.8 ± 1.0	26.5 ± 1.4	17.2 ± 1.1	7.3 ± 1.6	> 100
	27	< 1				> 100
	28	90.0 ± 1.0	54.9 ± 0.66	9.8 ± 1.4		48.2
	29	< 1				> 100
Diarylalkanoid		0.1 μM	0.05 μM	0.025 μM	0.01 μM	
	6	77.5 ± 0.5	75.5 ± 1.2	67.0 ± 0.7	31.5 ± 0.8	0.013
	7	82.9 ± 1.5	57.50 ± 0.63	46.3 ± 1.8	33.1 ± 2.3	0.033
		1 μM	0.5 μM	0.25 μM	0.10 μM	
	8	> 100	86.20 ± 0.68	66.4 ± 1.6	49.5 ± 1.6	0.11
		100 μM	50 μM	25 μM	10 μM	
Flavonoid	30	53.85 ± 0.97	43.8 ± 1.2	35.04 ± 0.74	20.11 ± 0.83	75.4
	31	47.96 ± 0.84	46.92 ± 0.94	38.66 ± 0.86	35.84 ± 0.82	> 100
	9	15.00 ± 0.87				> 100
	10	3.33 ± 1.31				> 100
	11	98.76 ± 0.64	80.3 ± 1.9	52.7 ± 1.8	32.5 ± 1.3	20.9
	12	61.36 ± 0.56	35.03 ± 0.99	22.51 ± 0.91	10.19 ± 0.52	76.3
	13	77.1 ± 1.3	62.4 ± 1.6	58.7 ± 1.5	34.13 ± 0.94	21.1
	14	58.2 ± 1.2	49.24 ± 0.66	29.9 ± 1.3	11.32 ± 0.82	61.4
	15	24.3 ± 1.2				> 100
	32	26.5 ± 1.8	4.3 ± 1.4			> 100
	33	44.2 ± 1.6	12.9 ± 1.1			> 100
	34	57.6 ± 1.6	48.6 ± 2.2	40.6 ± 1.4	12.7 ± 1.1	56.7
Lignan	16	15.38 ± 0.53				> 100
	17	< 1				> 100
	18	< 1				> 100
	35	14.23 ± 0.86	2.32 ± 0.55			> 100
Steroid	19	13.8 ± 1.4				> 100
	20	< 1				> 100
Triterpenoid	36	< 1				> 100
	37	2.89 ± 0.90				> 100
Kojic acid						44.6

Kết quả cho thấy có 12/37 hợp chất (**2**, **4**, **6–8**, **11–14**, **28**, **30** và **34**) thể hiện hoạt tính với giá trị IC₅₀ < 100 μM (Bảng 3.6). Các hợp chất thuộc khung lignan (**16–18** và **35**), steroid (**19** và **20**), và triterpenoid (**36** và **37**) đều không thể hiện hoạt tính (IC₅₀ > 100 μM). Các hợp chất khung phenol hầu như không thể hiện hoạt tính, chỉ có 3/14 hợp chất thể hiện hoạt tính trong đó hợp chất **2** thể hiện hoạt tính mạnh với giá trị IC₅₀ = 2.35 μM. Trong khi đó, các hợp chất thuộc khung diarylalkanoid, ngoại trừ hợp chất **31**, đều thể hiện hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase, trong đó ba hợp chất **6–8** thể hiện hoạt tính rất mạnh với giá trị IC₅₀ lần lượt là 0.013, 0.033, và 0.11 μM, và lần lượt mạnh hơn 3400, 1300, và 400 lần khi so sánh với chất đối chứng dương kojic acid (IC₅₀ = 44.6 μM). Mặt khác, 5/10 hợp chất

thuộc khung flavonoid thể hiện hoạt tính, trong đó có hai hợp chất **11** và **13** thể hiện hoạt tính mạnh hơn hai lần so với chất đối chứng dương.

3.4.2 Nhận xét về tương quan giữa hoạt tính và cấu trúc

Các kết quả về hoạt tính và cấu trúc hóa học của các hợp chất giúp xác định vai trò quan trọng của hệ vòng thơm gắn các nhóm hydroxy và nhóm carbonyl bất bão hòa đối với việc thể hiện hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase.

Đối với các hợp chất phenol, nhóm hydroxycarbonyl α,β -bất bão hòa của khung cinnamic acid giúp gia tăng hoạt tính ức chế (**2** >> **3**, **29**). Nếu có sự hiện diện của nhóm thế methoxy tại C-3 của vòng benzene sẽ làm giảm mạnh hoạt tính (**2** >> **5**). Ngoài ra, nhóm hydroxy tại C-3 của khung cinnamic acid sẽ giúp tăng hoạt tính ức chế (**4**, $IC_{50} = 27.0 \mu M$).

Các hợp chất diarylalkanoid **6–8** có nhóm carbonyl bất bão hòa và hệ vòng benzene B mang hai nhóm hydroxy tại vị trí C-2' và C-4' do đó thể hiện hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase rất mạnh. Với mục đích làm rõ vai trò của nhóm prenyl, tiến hành thử hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của hợp chất 2,4,2',4'-tetrahydroxychalcone (**38**) (có nguồn gốc tổng hợp) thu được giá trị $IC_{50} = 0.016 \mu M$. Từ đó, kết luận sự hiện diện của nhóm prenyl gần như không góp phần gia tăng hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase. Ngoài ra, độ dài của mạch carbon liên hợp càng tăng (2C, 4C, 6C) thì hoạt tính ức chế lại càng giảm (**38** > **7** > **8**).

Đối với các hợp chất thuộc khung flavonoid thì số lượng và vị trí của các nhóm hydroxy trên vòng thơm sẽ có ảnh hưởng ít nhiều đến hoạt tính của hợp chất. Tại nồng độ $100 \mu M$, phần trăm ức chế (I %) của hợp chất **9** gấp gần ba lần của hợp chất **10**, từ đó có thể kết luận số lượng nhóm hydroxy của vòng B trong cấu trúc khung flavonoid có ảnh hưởng đến hoạt tính ức chế. Mặt khác, sự hiện diện đồng thời của nhóm hydroxy tại C-3 và C-5 sẽ làm gia tăng hoạt tính đáng kể (**11** >> **33** > **32**, **13** > **34**).

3.4.3 Kết quả docking phân tử *in silico* trên mô hình enzyme oxytyrosinase

Enzyme tyrosinase có 3 dạng cấu trúc là mettyrosinase, oxytyrosinase, và deoxytyrosinase. Trong đó, chỉ có dạng oxytyrosinase xúc tác cho cả hai quá trình oxy hóa monophenol thành o-diphenol và oxy hóa o-diphenol thành o-quinone. Quá trình xúc tác xảy ra được là nhờ vào sự hiện diện của hai ion Cu^{2+} và nhóm peroxide nằm trong vùng hoạt tính. Mặt khác, enzyme tyrosinase chiết xuất từ nấm *Agaricus bisporus* (EC 1.14.18.1) được sử dụng trong thực nghiệm cũng có khả năng xúc tác cho cả hai quá trình oxy hóa giống như đặc tính của dạng cấu trúc oxytyrosinase. Vì vậy, chúng tôi chọn mô hình enzyme oxytyrosinase cho quá trình docking phân tử nhằm đạt được sự tương đồng giữa kết quả thử hoạt tính *in vitro* và *in silico*, giúp giải thích chính xác cơ chế ức chế enzyme tyrosinase của các hợp chất.

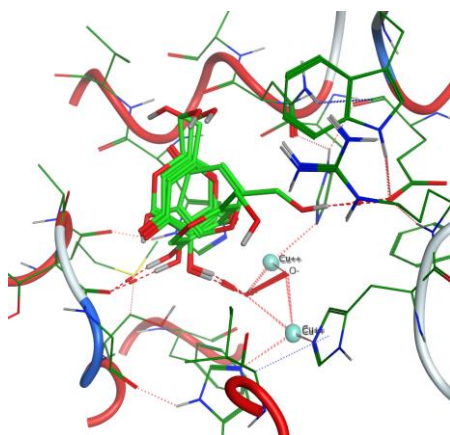
Quá trình docking phân tử trên mô hình enzyme oxytyrosinase (PDB ID: 1WX2) sẽ được thực hiện bằng phần mềm MOE 2016.0802. Trường lực (Forcefield) sử dụng cho toàn bộ quá trình là Amber12:EHT. Tiến hành hiệu chỉnh cấu trúc enzyme và xác định vùng hoạt tính bằng các công cụ của phần mềm. Vùng hoạt tính của enzyme được xác định gồm hai ion Cu^{2+} , nhóm peroxide $[O-O]^{2-}$, và 19 nhóm amino acid. Sau khi quá trình docking hoàn tất, thu được năm mô hình phức hợp enzyme-ligand thể hiện mức độ tương tác tốt nhất được đánh giá qua điểm docking S. Sau đó, tiến hành phân tích các tương tác nhằm đánh giá và so sánh khả năng ức chế enzyme tyrosinase của các hợp chất.

Trong vùng hoạt tính của enzyme, hai ion Cu^{2+} và nhóm peroxide đóng vai trò xúc tác cho quá trình oxy hóa phenol/catechol thành o-quinone. Do đó, các hợp chất thể hiện nhiều tương tác với hai ion Cu^{2+} hoặc nhóm peroxide là các hợp chất có tiềm năng làm bất hoạt khả năng xúc tác phản ứng oxy hóa của enzyme tyrosinase. Ngoài ra, các hợp chất thể hiện các tương tác với các nhóm amino acid trong vùng hoạt tính cũng sẽ khóa tâm xúc tác của enzyme.

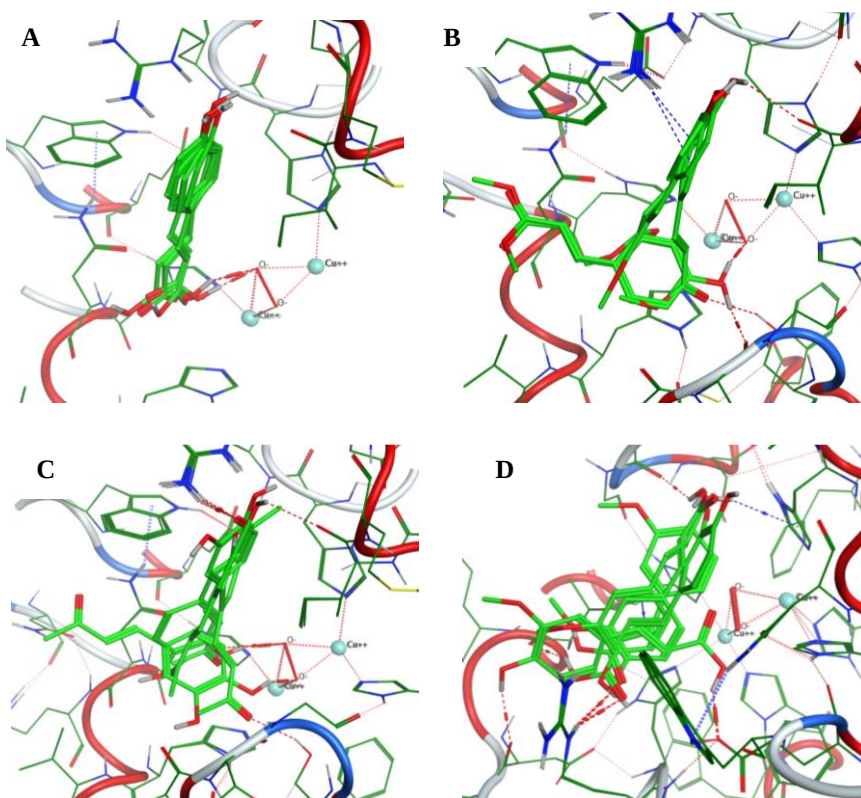
Cấu trúc của chất đối chứng dương kojic acid, các hợp chất khung phenol (**2–5**), diarylalkanoid (**6–8**, **38**), và khung flavonoid (**9–11**, **13**, **32–34**) được mô hình hóa và tối ưu năng lượng bằng phần mềm MOE để sử dụng cho quá trình docking. Sau khi tiến hành docking, trong các mô hình phức hợp enzyme-ligand thì phân tử ligand được biểu diễn bằng các màu xanh lá cây, đỏ, và xám tương ứng với các nguyên tử C, H, và O. Mặt khác, tương tác cho

hydrogen và π -hydrogen lần lượt được biểu diễn bằng các đường đứt nét màu đỏ và màu xanh dương đậm. Năng lượng tương tác E (kcal mol⁻¹) giữa các nhóm mang giá trị âm và tương tác càng mạnh thì giá trị E càng âm.

Kết quả phân tích docking phân tử của kojic acid cho thấy có 2/5 mô hình thể hiện tương tác mạnh giữa nhóm 5-OH với nhóm peroxide (Hình 3.15), điều này giúp giải thích hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của kojic acid (IC₅₀ = 44.6 μ M).

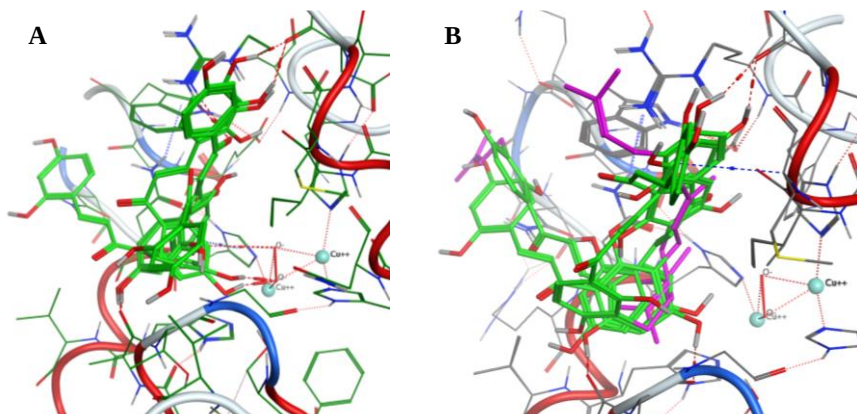


Hình 3.15 Các kết quả docking của kojic acid



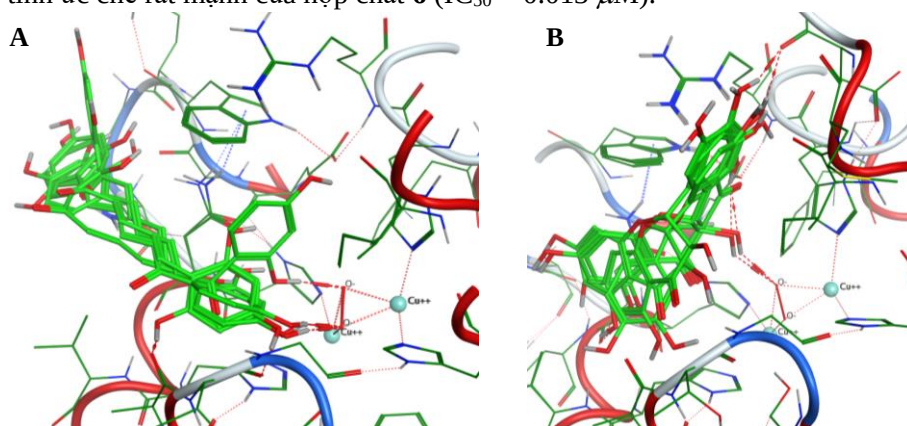
Hình 3.16 Các kết quả docking của hợp chất 2 (A), 3 (B), 4 (C), và 5 (D)

Đối với các hợp chất khung phenol, kết quả phân tích docking phân tử cho thấy với 3/5 mô hình phức hợp enzyme-hợp chất 2 có tương tác giữa nhóm -COOH với nhóm peroxide (Hình 3.16A). Trong khi đó với hợp chất 3, là dẫn xuất ester của hợp chất 2, thì chỉ có 1/5 mô hình phức hợp enzyme-ligand có tương tác giữa nhóm 4-OH với nhóm peroxide (Hình 3.16B). Những kết quả trên chứng tỏ nhóm hydroxycarbonyl (-COOH) là nhóm quyết định hoạt tính của khung cinnamic acid, điều này giải thích cho hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase mạnh của hợp chất *p*-coumaric acid (2) (IC₅₀ = 2.35 μ M). Ngoài ra, sự hiện diện của nhóm 3-OH trên vòng benzene cũng giúp gia tăng hoạt tính. Điều này được khẳng định dựa vào tương tác giữa nhóm 3-OH với nhóm peroxide trong phức hợp enzyme-hợp chất 4 (Hình 3.16C). Ngược lại, nếu có sự hiện diện của nhóm 3-OCH₃ thì hoạt tính sẽ bị giảm đáng kể, do không có tương tác giữa ligand với nhóm peroxide của tâm xúc tác trong phức hợp enzyme-hợp chất 5 (Hình 3.16D).



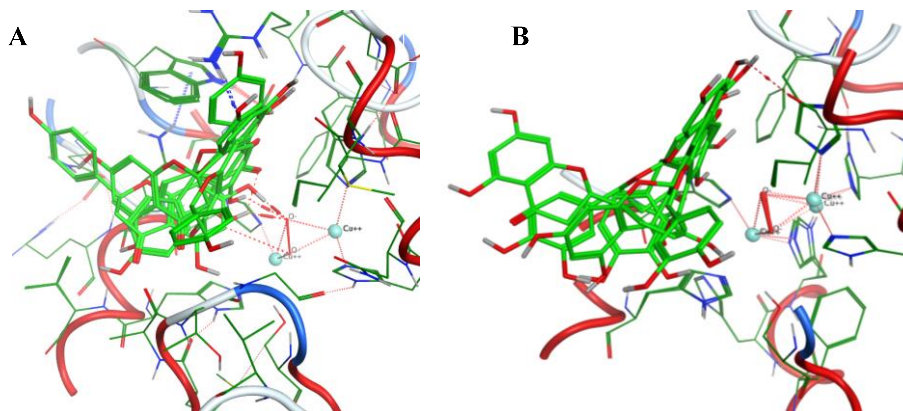
Hình 3.17 Các kết quả docking của hợp chất **38** (A) và **6** (B)

Đối với các hợp chất khung diarylalkanoid, kết quả phân tích cho thấy 2/5 mô hình phức hợp enzyme-hợp chất **38** có tương tác mạnh giữa nhóm 4'-OH và nhóm peroxide ($E = -15.0$ và $-13.3 \text{ kcal mol}^{-1}$) (Hình 3.17A). Điều này giải thích cho hoạt tính ức chế mạnh của hợp chất **38** ($IC_{50} = 0.016 \mu\text{M}$). Mặt khác, trong các mô hình phức hợp enzyme-hợp chất **6** chỉ thể hiện tương tác giữa các nhóm hydroxy với các nhánh amino acid xung quanh tâm xúc tác (Hình 3.17B), điều này cho thấy sự hiện diện của nhóm prenyl tại C-3' làm cản trở sự tương tác của nhóm 4'-OH với nhóm peroxide. Tuy nhiên, trong 3/5 mô hình phức hợp thì nhóm prenyl (được biểu diễn bằng màu hồng tím) đóng vai trò che chắn tâm xúc tác (Hình 3.17B) và cản trở không cho chất nền tiếp xúc với vùng hoạt tính, điều này có thể giải thích cho hoạt tính ức chế rất mạnh của hợp chất **6** ($IC_{50} = 0.013 \mu\text{M}$).



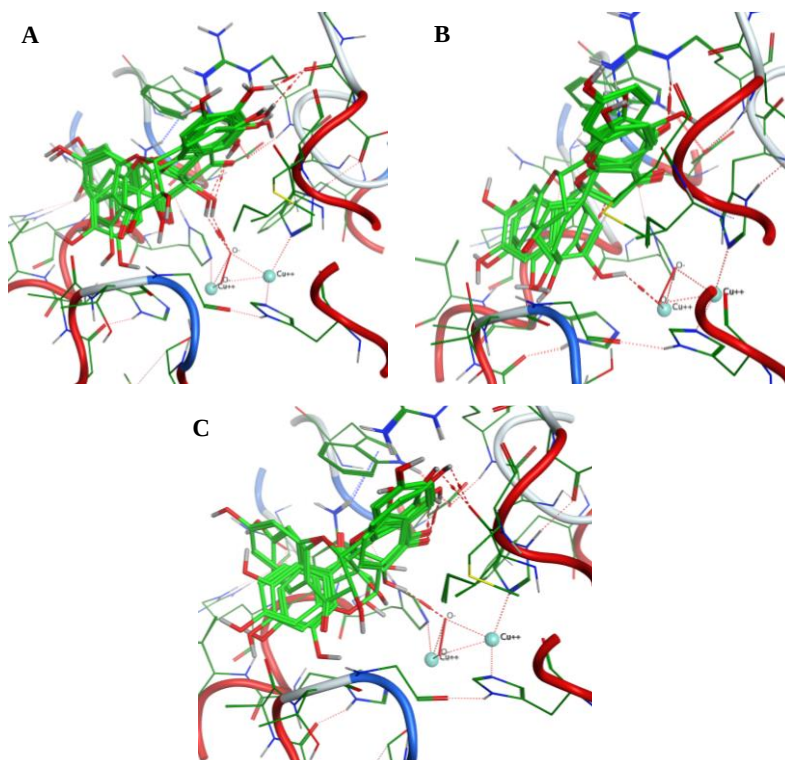
Hình 3.18 Các kết quả docking của hợp chất **7** (A) và **8** (B)

Đối với hợp chất **7**, có 4/5 mô hình phức hợp enzyme-ligand thể hiện tương tác giữa các nhóm 2'-OH, 4'-OH, và 4-OH với nhóm peroxide ($E > -14.4 \text{ kcal mol}^{-1}$) (Hình 3.18A). Trong khi đó, chỉ có 3/5 mô hình phức hợp enzyme-hợp chất **8** thể hiện tương tác giữa các nhóm 4'-OH và 4-OH với nhóm peroxide ($E > -13.9 \text{ kcal mol}^{-1}$) (Hình 3.18B). Đồng thời cả hai hợp chất **7** và **8** đều thể hiện các tương tác giữa nhóm 2-OH với nhánh Ala202 và giữa nhóm 4-OH với nhánh Thr203. Từ các kết quả trên cho thấy hai hợp chất **7** và **8** đều thể hiện hoạt tính mạnh và hoạt tính của hợp chất **7** ($IC_{50} = 0.033 \mu\text{M}$) mạnh hơn hợp chất **8** ($IC_{50} = 0.11 \mu\text{M}$). Mặc dù với hợp chất **38** chỉ có 2/5 mô hình phức hợp enzyme-ligand có tương tác giữa nhóm hydroxy và nhóm peroxide (Hình 3.68A) nhưng hoạt tính của hợp chất **38** mạnh hơn hai lần so với hợp chất **7** và gần bảy lần so với hợp chất **8**. Điều này có thể giải thích thông qua giá trị năng lượng tương tác E giữa nhóm hydroxy với nhóm peroxide trong các phức hợp enzyme-ligand, trong đó giá trị E càng âm càng thể hiện độ mạnh của tương tác. Trong các mô hình phức hợp giữa enzyme với hợp chất **38**, **7**, hoặc **8** có các tương tác mạnh với giá trị $E_{\text{OH/peroxide}}$ lần lượt là -15.5 , -14.4 , và $-13.9 \text{ kcal mol}^{-1}$, chứng tỏ hoạt tính của hợp chất **38** $> 7 > 8$. Kết quả này tương đồng với các công bố trước đây về vai trò của nhóm carbonyl β -phenyl- α,β -bất bão hòa (chỉ có trong hợp chất **38**) đối với hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase.



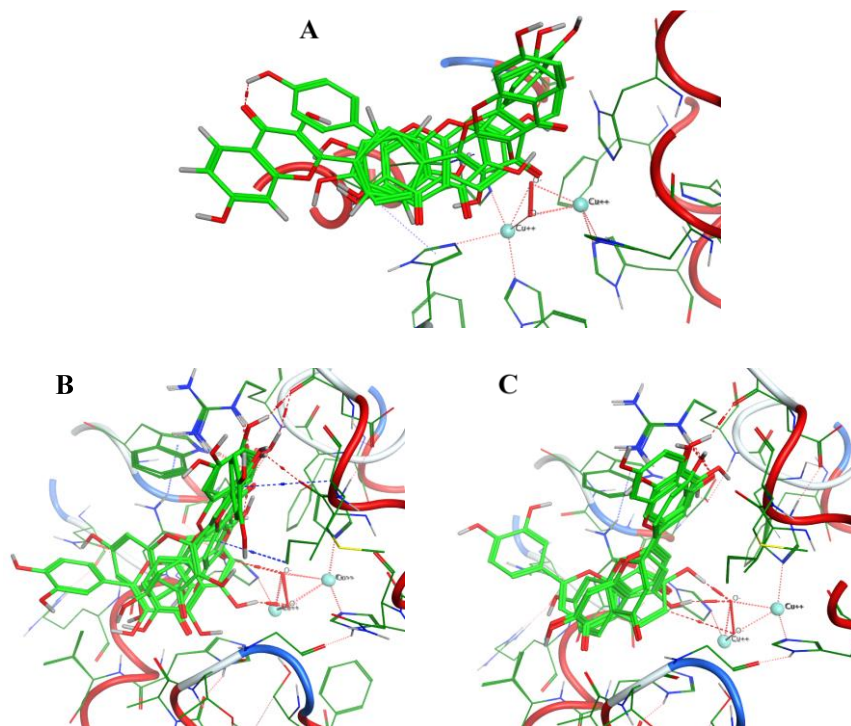
Hình 3.19 Các kết quả docking của hợp chất **9** (A) và **10** (B)

Đối với các hợp chất khung flavanone, phân tích tương tác trong các mô hình phức hợp giữa enzyme và hợp chất **9** cho thấy 3/5 mô hình có tương tác cho hydrogen giữa các nhóm hydroxy trên vòng A với nhóm peroxide (Hình 3.19A). Trong khi đó, các phức hợp giữa enzyme và hợp chất **10** đều không thể hiện tương tác gì đối với nhóm peroxide, mà chỉ có xuất hiện một số tương tác cho hydrogen giữa các nhóm hydroxy trên vòng B với các nhánh amino acid (Hình 3.19B). Kết quả phân tích cho thấy sự tăng thêm một nhóm hydroxy trên vòng B của hợp chất **9** tạo nên hợp chất **10**, sẽ làm gia tăng khả năng tương tác của hợp chất với các nhóm amino acid nằm xung quanh tâm xúc tác, do đó sẽ làm các nhóm hydroxy trên vòng A mất khả năng tiếp cận nhóm peroxide dẫn đến giảm hoạt tính ức chế.



Hình 3.20 Các kết quả docking của hợp chất **11** (A), **32** (B), và **33** (C)

Vai trò của nhóm 3-OH và 5-OH trong khung flavonoid được làm rõ dựa vào việc phân tích các tương quan trong các phức hợp giữa enzyme và ligand (**9–13**, **32–34**). Đối với các hợp chất khung flavanone (**9–11**, **32**, **33**), kết quả cho thấy có 2/5 mô hình phức hợp enzyme-hợp chất **11** có đồng thời tương tác của nhóm 3-OH với nhóm peroxide và của nhóm 5-OH với nhánh Asn191 (Hình 3.20A). Khi xem xét sự tương tác giữa hợp chất **32** với enzyme thì chỉ có 1/5 mô hình cho tương tác yếu giữa nhóm 3'-OH của vòng B với nhóm peroxide ($E = -1.5 \text{ kcal mol}^{-1}$) (Hình 3.20B). Mặt khác, đối với các phức hợp enzyme-hợp chất **33** cũng chỉ có 1/5 mô hình có tương tác giữa nhóm 3-OH và nhóm peroxide (Hình 3.20C). Kết quả trên cho thấy hợp chất **11** ($\text{IC}_{50} = 20.9 \mu\text{M}$) cho nhiều tương tác với tâm xúc tác hơn hợp chất **9**, **10**, **32** và **33** ($\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$), do đó thể hiện hoạt tính ức chế mạnh hơn.



Hình 3.21 Các kết quả docking của hợp chất **12** (A), **13** (B), và **34** (C)

Đối với các hợp chất khung flavone (**12**, **13**, **34**), kết quả phân tích cho thấy hợp chất **12** chỉ thể hiện các tương tác yếu giữa nhóm 4'-OH với nhánh Asp45 và Ile42, và giữa nhóm 3-OH với nhánh Ile42 (Hình 3.21A). Do đó, hợp chất **12** thể hiện hoạt tính yếu với $IC_{50} = 76.3 \mu M$. Trong khi đó, các mô hình phức hợp giữa enzyme-hợp chất **13** thể hiện tương tác mạnh giữa nhóm 5-OH với nhóm peroxide ($E = -14.4 \text{ kcal mol}^{-1}$) và nhánh Asp45, và giữa nhóm 3-OH với nhánh Ile42 (Hình 3.21B). Mặt khác, trong các mô hình phức hợp enzyme-hợp chất **34** cho tương tác của nhóm 7-OH và 3'-OH với nhóm peroxide ($E = -13.6$ và $-10.9 \text{ kcal mol}^{-1}$) (Hình 3.21C). Dựa vào năng lượng tương tác E (kcal mol^{-1}) cho thấy, tương tác giữa nhóm 5-OH với nhóm peroxide mạnh hơn so với tương tác giữa nhóm 7-OH hoặc 3'-OH với nhóm peroxide. Do đó, hợp chất **13** ($IC_{50} = 21.1 \mu M$) thể hiện hoạt tính ức chế mạnh hơn hợp chất **34** ($IC_{50} = 56.7 \mu M$). Từ những kết quả trên cho thấy các nhóm 3-OH và 5-OH trong khung flavonoid có vai trò làm gia tăng hoạt tính ức chế.

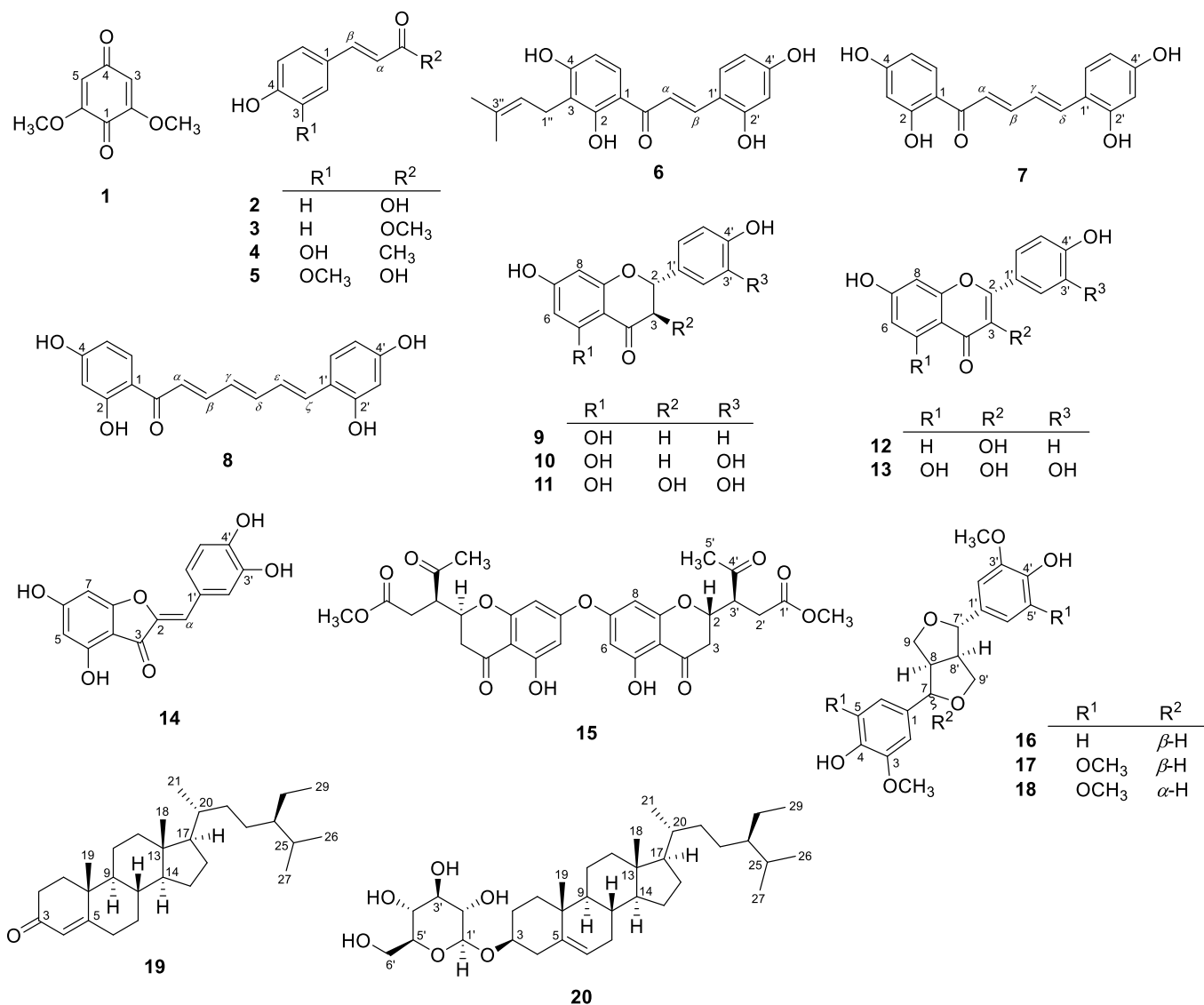
CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1 Kết luận

L luận án đã thực hiện sàng lọc 25 mẫu cao MeOH của 16 mẫu cây theo hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase, thu được 18/25 mẫu cao MeOH có hoạt tính với giá trị $IC_{50} < 100 \mu g \text{ mL}^{-1}$. Trong đó, mẫu cao MeOH của thân cây Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*) và vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*) thể hiện hoạt tính ức chế tốt (giá trị IC_{50} lần lượt là 23.26 và $11.61 \mu g \text{ mL}^{-1}$).

Từ mẫu cao CHCl_3 của thân cây Sung có đuôi, 20 hợp chất đã được phân lập (Hình 4.1), bao gồm:

- ✓ Hợp chất phenol: 2,6-dimethoxybenzoquinone (**1**), *p*-coumaric acid (**2**), methyl *p*-coumarate (**3**), 3,4-dihydroxybenzalactone (**4**), và ferulic acid (**5**).
- ✓ Hợp chất diarylalkanoid: morachalcone A (**6**), semedienone (**7**), và semetrienone (**8**). Hai hợp chất **7** và **8** là hợp chất mới.
- ✓ Hợp chất flavonoid: (–)-naringenin (**9**), (–)-eriodictyol (**10**), (+)-taxifolin (**11**), resokaempferol (**12**), quercetin (**13**), (Z)-aureusidin (**14**), và semecarpanone (**15**). Hợp chất **15** là hợp chất mới.
- ✓ Hợp chất ligan: (+)-pinoresinol (**16**), (+)-syringaresinol (**17**), và (+)-episyngaresinol (**18**).
- ✓ Hợp chất steroid: sitostenone (**19**) và daucosterol (**20**).



Hình 4.1 Cấu trúc của các hợp chất phân lập được từ thân cây Sung có đuôi (*Semecarpus caudata*)

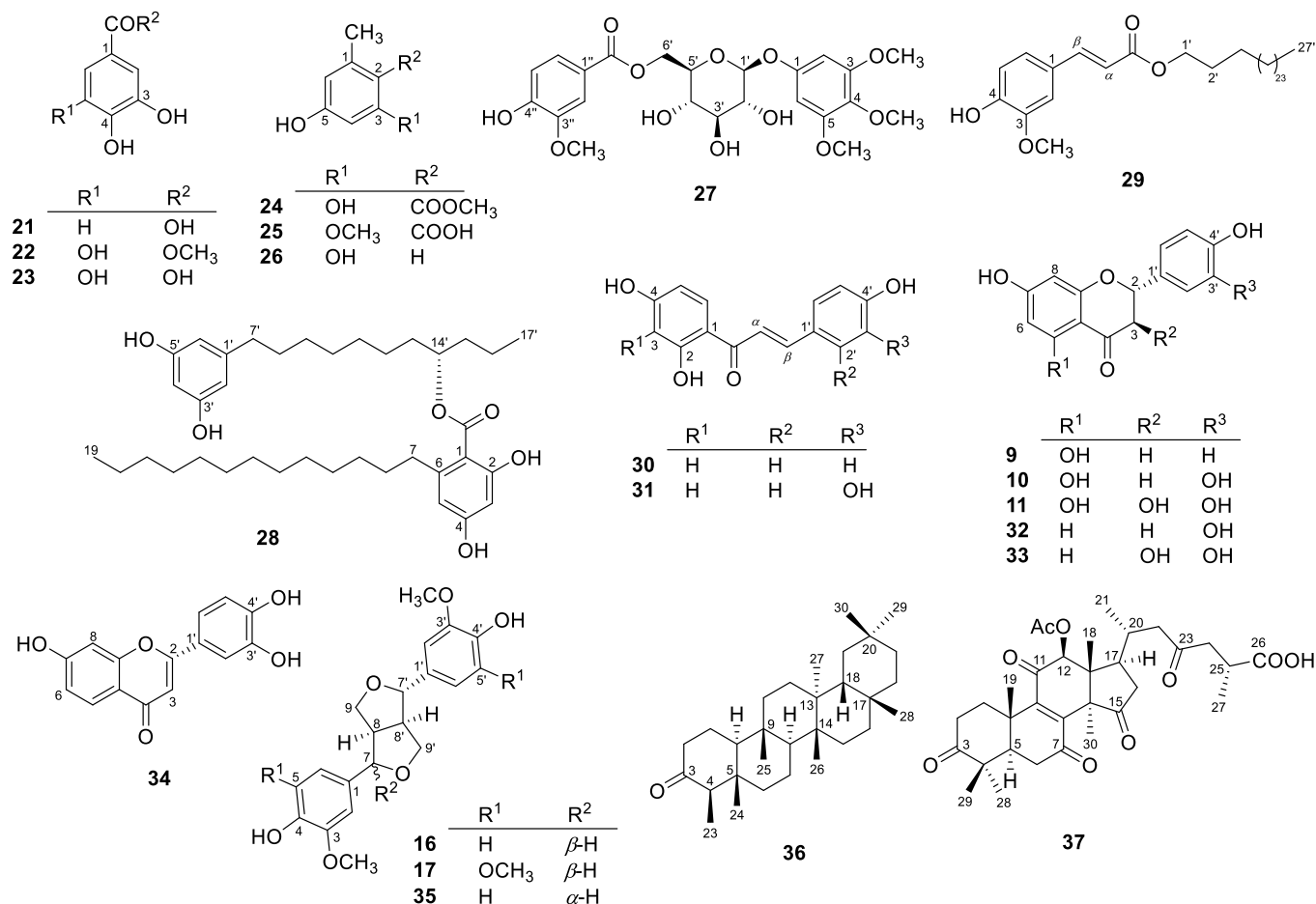
Từ mẫu cao EtOAc của vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa đã phân lập được 22 hợp chất (Hình 4.2), bao gồm:

- ✓ Hợp chất phenol: protocatechuic acid (**21**), methyl gallate (**22**), gallic acid (**23**), methyl orsellinate (**24**), isoevernic acid (**25**), orcinol (**26**), tetracentronside A (**27**), integracin E (**28**), và *n*-heptacosyl *trans*-ferulate (**29**). Hợp chất **28** là hợp chất mới. Ngoài ra, hợp chất **25** lần đầu tiên được phân lập trong tự nhiên và được công bố dữ liệu phổ NMR.
- ✓ Hợp chất diarylalkanoid: isoliquiritigenin (**30**) và butein (**31**).
- ✓ Hợp chất flavonoid: (–)-naringenin (**9**), (–)-eriodictyol (**10**), (+)-taxifolin (**11**), (–)-butin (**32**), (–)-fustin (**33**), và 3',4',7-trihydroxyflavone (**34**).
- ✓ Hợp chất ligan: (+)-pinoresinol (**16**), (+)-syringaresinol (**17**), và (+)-epipinoresinol (**35**).
- ✓ Hợp chất triterpenoid: friedelin (**36**) và ganoderic acid F (**37**). Hợp chất **37** lần đầu tiên được công bố có trong một loài thực vật bậc cao.

Các hợp chất phân lập được từ hai mẫu cây Sung có đuôi và Xuân thôn nhiều hoa đều được thử hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase. Kết quả cho thấy có 12/37 hợp chất thể hiện hoạt tính với giá trị $IC_{50} < 100 \mu M$, trong đó hợp chất morachalcone A (**6**) thể hiện hoạt tính mạnh nhất với giá trị $IC_{50} = 0.013 \mu M$. Thêm vào đó, 3/4 hợp chất mới (**7**, **8**, và **28**) đều thể hiện hoạt tính, trong đó hợp chất diarylpentanoid **7** ($IC_{50} = 0.033 \mu M$) và diarylheptanoid **8** ($IC_{50} = 0.11 \mu M$) lần lượt thể hiện hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase mạnh hơn 1300 lần và 400 lần khi so sánh tương ứng với chất đối chứng dương là kojic acid ($IC_{50} = 44.6 \mu M$).

Mối tương quan giữa hoạt tính và cấu trúc của các hợp chất thuộc khung phenol, diarylalkanoid, và flavonoid cũng được đề nghị và giải thích dựa vào các kết quả thử hoạt tính *in vitro* và phương pháp docking phân tử *in silico*.

Tóm lại, luận án này là nghiên cứu đầu tiên trên thế giới về thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của cây Sưng có đuôi (*Semecarpus caudata*) và Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*).



Hình 4.2 Cấu trúc của các hợp chất phân lập được từ vỏ thân cây Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*)

4.2 Kiến nghị

Tiếp tục khảo sát thành phần hóa học của các phân đoạn còn lại của hai mẫu cây Sưng có đuôi (*Semecarpus caudata*) và Xuân thôn nhiều hoa (*Swintonia floribunda*), nhằm tìm ra các hợp chất mới và có hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase mạnh.

Tiếp tục nghiên cứu hoạt tính làm trắng da của các hợp chất thể hiện hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase mạnh trên mô hình thử nghiệm *in vitro* khác như mô hình ức chế sinh tổng hợp melanin trong tế bào B16.

Nghiên cứu tổng hợp các dẫn xuất từ các hợp chất phân lập được có lượng lớn, theo định hướng gia tăng hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ

- Phu Hoang Dang**, Tinh Thi Nguyen, Tho Huu Le, Hai Xuan Nguyen, Mai Thanh Thi Nguyen, Nhan Trung Nguyen (2018), A new bischromanone from the stems of *Semecarpus caudata*, *Natural Product Research*, 32(15), pp. 1745–1750.
- Phu Hoang Dang**, Linh Thuy Thi Nguyen, Hue Thu Thi Nguyen, Tho Huu Le, Truong Nhat Van Do, Hai Xuan Nguyen, Nghia Dinh Le, Mai Thanh Thi Nguyen, Nhan Trung Nguyen (2018), A new dimeric alkylresorcinol from the stem barks of *Swintonia floribunda* (Anacardiaceae), *Natural Product Research*, DOI: 10.1080/14786419.2018.1509329, pp. 1–7.

3. **Phu Hoang Dang**, Tho Huu Le, Hai Xuan Nguyen, Truong Nhat Van Do, Mai Thanh Thi Nguyen, Nhan Trung Nguyen (2017), Study on tyrosinase inhibitory activity of medicinal plants in Ma Da forest-Dong Nai, *Vietnam Journal of Chemistry*, 55(3e), pp. 103–106.
4. **Phu Hoang Dang**, Tinh Thi Nguyen, Tho Huu Le, Mai Thanh Thi Nguyen, Nhan Trung Nguyen (2017), Chemical constituents and tyrosinase inhibitory activity of the stem of *Semecarpus caudata* Pierre. (Anacardiaceae), *Vietnam Journal of Chemistry*, 55(3e), pp. 80–83.
5. **Phu Hoang Dang**, Hai Xuan Nguyen, Tho Huu Le, Truong Nhat Van Do, Nhan Trung Nguyen, Mai Thanh Thi Nguyen (2018), Chemical constituents of the stem barks of *Swintonia floribunda* Griff. (Anacardiaceae), *Journal of Science and Technology Development*, 2(1), pp. 71–75.
6. **Phu Hoang Dang**, Tinh Thi Nguyen, Nhan Trung Nguyen, A new bischromanone from the stems of *Semecarpus caudata*, *Hội nghị Khoa học lần thứ 11 năm 2018, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Tp.HCM*, báo cáo treo (9–10/11/2018).
7. **Phu Hoang Dang**, Linh Thuy Thi Nguyen, Hue Thu Thi Nguyen, Nhan Trung Nguyen, A new dimeric alkylresorcinol from the stem barks of *Swintonia floribunda* (Anacardiaceae), *Hội nghị Khoa học lần thứ 11 năm 2018, trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Tp.HCM*, báo cáo treo (9–10/11/2018).