

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH  
KHOA HÓA**

**TRẦN THỊ KIM LIÊN**

**KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC CÂY  
PHÈN PHYLLANTHUS RETICULATUS POIR.  
HỌ THẦU DẦU (EUPHORBIACEAE)**

**KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP**

**Người hướng dẫn: Nguyễn Thị Ánh Tuyết**

**Thành phố Hồ Chí Minh 2013**

# LỜI CẢM ƠN

Luận văn được thực hiện tại phòng hóa hữu cơ, thuộc khoa Hóa, trường đại học Sư Phạm thành phố Hồ Chí Minh.

Với lòng trân trọng và biết ơn sâu sắc, em xin chân thành cảm ơn cô Nguyễn Thị Ánh Tuyết, người cô luôn hết lòng, tận tình hướng dẫn, giúp đỡ tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp em hoàn thành tốt khóa luận này. Cô không những truyền đạt cho em những tri thức khoa học, những kinh nghiệm nghiên cứu quý báu, mà còn là tấm lòng nghiên cứu khoa học giúp cho em có những hành trang cần thiết trên bước đường nghiên cứu và học tập.

Em xin cảm ơn quý thầy cô bộ môn hóa, khoa hóa – đại học sư phạm tp.HCM, các thầy cô đã hết lòng hướng dẫn, giảng dạy, truyền thụ cho em nhiều kiến thức khoa học quý báu trong suốt thời gian em học tại trường.

Em xin gửi lời cảm ơn đến các bạn phòng thí nghiệm hóa hữu cơ trường đại học Sư Phạm thành phố Hồ Chí Minh và đại học Khoa Học Tự Nhiên đã tận tình truyền đạt những kinh nghiệm quý báu, quan tâm, nhiệt tình hướng dẫn và tạo mọi điều kiện giúp đỡ em trong suốt quá trình thực hiện đề tài.

Con xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến cha mẹ, các anh chị, những người luôn bên con khích lệ, ủng hộ con về mặt vật chất và tinh thần để con yên tâm hoàn thành khóa luận.

Tôi xin gửi lời cảm ơn đến đến tất cả bạn bè tôi, đã luôn bên tôi giúp đỡ và động viên tôi hoàn thành khóa luận này.

Xin chân thành cảm ơn và gửi lời chúc tốt đẹp nhất đến tất cả mọi người!

# MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

DANH MỤC CÁC BẢNG

DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ

DANH MỤC CÁC HÌNH

DANH MỤC CÁC PHỤ LỤC

LỜI MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1 .....	2
TỔNG QUAN.....	2
1.1. ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT CÂY PHÈN ĐEN [6] .....	3
1.1.1. Mô tả chung [6] .....	3
1.1.2. Vùng phân bố, thu hái [6].....	3
1.2. CÁC NGHIÊN CỨU VỀ DƯỢC TÍNH.....	4
1.2.1. Dược tính theo y học cổ truyền [4,6] .....	4
1.2.2. Các nghiên cứu về dược tính của một số loài thuộc chi <i>Phyllanthus</i> .....	5
1.3. CÁC NGHIÊN CỨU VỀ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC .....	6
1.3.1. <i>Phyllanthus acidus</i> .....	9
1.3.2. <i>Phyllanthus acuminatus</i> .....	9
1.3.3. <i>Phyllanthus amarus</i> L.....	11
1.3.4. <i>Phyllanthus discoides</i> .....	12
1.3.5. <i>Phyllanthus emblica</i> L.....	13
1.3.6. <i>Phyllanthus flexuosus</i> .....	15
1.3.7. <i>Phyllanthus fraternus</i> .....	16
1.3.8. <i>Phyllanthus myrtifolius</i> .....	17
1.3.9. <i>Phyllanthus niruroides</i> .....	18
1.3.10. <i>Phyllanthus niruri</i> L.....	18
1.3.11. <i>Phyllanthus oxyphyllus</i> .....	20
1.3.12. <i>Phyllanthus polyanthus</i> .....	20
1.3.13. <i>Phyllanthus sellowianus</i> .....	21
1.3.14. <i>Phyllanthus simplex</i> .....	21

1.3.15.	<i>Phyllanthus tenellus</i> .....	21
1.3.16.	<i>Phyllanthus urinaria</i> .....	22
1.3.17.	<i>Phyllanthus watsonii</i> .....	24
<b>CHƯƠNG 2 .....</b>		<b>26</b>
<b>THỰC NGHIỆM.....</b>		<b>26</b>
2.1.	<b>HOÁ CHẤT, THIẾT BỊ, PHƯƠNG PHÁP .....</b>	<b>27</b>
2.1.1.	Hoá chất .....	27
2.1.2.	Thiết bị .....	27
2.1.3.	Phương pháp tiến hành .....	27
2.2.	<b>NGUYÊN LIỆU .....</b>	<b>28</b>
2.2.1.	Thu hái nguyên liệu.....	28
2.2.2.	Xử lý mẫu nguyên liệu .....	28
2.3.	<b>ĐIỀU CHẾ CÁC LOẠI CAO .....</b>	<b>28</b>
2.4.	<b>CÔ LẬP CÁC HỢP CHẤT HỮU CƠ TRONG CÂY PHYLLANTHUS RETICULATUS POIR 30</b>	
2.4.1	Sắc kí cột silica gel trên cao ether dầu hoả .....	30
2.4.2	Cô lập các hợp chất hữu cơ trong cao ethyl acetate.....	32
<b>CHƯƠNG 3 .....</b>		<b>35</b>
<b>KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>		<b>35</b>
3.1.	Khảo sát cấu trúc hóa học của hợp chất S3.....	36
3.2.	Khảo sát cấu trúc hóa học của hợp chất L1.....	39
<b>CHƯƠNG IV KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT.....</b>		<b>43</b>
4.1.	<b>KẾT LUẬN.....</b>	<b>44</b>
4.2.	<b>ĐỀ XUẤT.....</b>	<b>45</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>		<b>46</b>
<b>PHỤ LỤC</b>		

# DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Tiếng Việt

$^1\text{H-NMR}$	Proton (1) Nuclear Magnetic Resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của proton (1)
$^{13}\text{C-NMR}$	Carbon (13) Nuclear Magnetic Resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của carbon (13)
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer	
COSY	Correlation Spectroscopy	
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation	Phổ tương tác dị hạt nhân qua một liên kết
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Coherence	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
<i>S</i>	Singlet	Mũi đơn
<i>D</i>	Doublet	Mũi đôi
<i>T</i>	Triplet	Mũi ba
<i>Dd</i>	Double of doublet	Mũi đôi đôi
<i>M</i>	Multiplet	Mũi đa
$\delta$	Chemical shift	Độ dịch chuyển hoá học
<i>J</i>	Coupling constant	Hằng số ghép spin
Ppm	Par per million	Một phần một triệu
Rp-18	Reversed Phase-18	Pha đảo C-18
SKC		Sắc ký cột
SKLM		Sắc ký lớp mỏng

## DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1. Sắc ký cột silica gel trên cao ether dầu hỏa .....	30
Bảng 2. Sắc ký cột silica gel trên phân đoạn EA3 của bảng 1 .....	31
Bảng 3. Sắc kí cột silica gel trên cao ethyl acetate.....	32
Bảng 4. Sắc ký cột silica gel trên phân đoạn EA2 của bảng 3 .....	32
Bảng 5. Sắc ký cột silica gel trên phân đoạn EA23 của bảng 4 .....	33
Bảng 6. Số liệu phổ NMR của hợp chất S3.....	38
Bảng 7. Số liệu phổ NMR của hợp chất L1.....	42

# DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 1. Qui trình điều chế cao ether dầu hoả (ED) và ethyl acetate (EA).....	29
Sơ đồ 2. Sơ đồ cô lập hợp chất hữu cơ S3 trong cao ether dầu hỏa .....	31
Sơ đồ 3. Sơ đồ cô lập hợp chất hữu cơ L1 trong cao ethyl acetate .....	34

# DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1. Trái phèn đen .....	3
Hình 2. Thân, lá phèn đen.....	3
Hình 3. Tương quan HMBC của hợp chất L1 .....	41



# DANH MỤC CÁC PHỤ LỤC

Phụ lục 1. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất S3

Phụ lục 2. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất S3

Phụ lục 3. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR giãn rộng của hợp chất S3

Phụ lục 4. Phổ DEPT-NMR của hợp chất S3

Phụ lục 5. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất L1

Phụ lục 6. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất L1

Phụ lục 7. Phổ HR-MS-ESI của hợp chất L1

Phụ lục 8. Phổ DEPT-NMR của hợp chất L1

Phụ lục 9. Phổ COSY của hợp chất L1

Phụ lục 10. Phổ HSQC của hợp chất L1

Phụ lục 11. Phổ HMBC của hợp chất L1

# LỜI MỞ ĐẦU

Xu hướng hiện nay của thế giới cũng như nước ta là quay về các sản phẩm có nguồn gốc từ tự nhiên. Nghiên cứu các hợp chất thiên nhiên đã và đang đóng góp những thành tựu quý báu cho ngành hóa học cũng như ngành sinh học và y dược học. Sự kết hợp những chứng cứ khoa học từ lĩnh vực nghiên cứu các hợp chất thiên nhiên và hoạt tính sinh học đã góp phần củng cố và phát triển nền y học cổ truyền.

Từ lâu, Y học dân gian đã phát hiện khoảng 20 loại cây cỏ có khả năng chữa trị viêm gan, trong đó đáng chú ý là các loài thuộc chi *Phyllanthus* (họThầu dầu, Euphorbiaceae) [2]. Cây phèn đen (*Phyllanthus reticulatus* Poir.) cũng như là thực vật thuộc chi *Phyllanthus* được dùng trong Y học cổ truyền của Việt Nam và nhiều nước trên thế giới. Các bộ phận của cây đều được sử dụng làm thuốc: rễ phèn đen thường được dùng trị lỵ, viêm ruột, ruột kết hạch, viêm gan, viêm thận.... Lá thường dùng chữa sốt, lỵ, phù thũng, ứ huyết do đờn ngã, huyết nhiệt sinh đình nhọt.Vỏ thân được dùng để chữa lên đậu có mủ và tiểu tiện khó khăn.

Chính vì các loài thuộc chi *Phyllanthus* có nhiều hoạt tính sinh học như vậy và cây *Phyllanthus reticulatus* Poir.chỉ mới được nghiên cứu sơ bộ về thành phần hóa học nên chúng tôi quyết định chọn cây *Phyllanthus reticulatus* Poir để khảo sát thành phần hóa học.

# **CHƯƠNG 1**

## **TỔNG QUAN**

## 1.1. ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT CÂY PHÈN ĐEN [6]

Tên thông thường: Phèn đen

Tên gọi khác: Nỗ, Sáp tràng thảo, Tảo phàn điệp, Diệp hạ châu mạng

Thuộc họ Thầu dầu (Euphorbiaceae)

Tên khoa học: *Phyllanthus reticulatus* Poir.



Hình 1: Trái phèn đen



Hình 2: Thân, lá phèn đen

### 1.1.1. Mô tả chung [6]

Phèn đen là cây bụi mọc tự nhiên ở bờ bụi, ven đường, ven rừng, cây cao 2-4m, cành gãy mảnh đen nhạt, đôi khi hợp từ 2 đến 3 cành trên cùng một đốt dài 10-20 cm.

Lá có hình dạng thay đổi, hình trái xoan, hình bầu dục hay hình trứng ngược nhọn, hay tù ở hai đầu, phiến lá rất mỏng, dài 1,5 - 3cm, rộng 6 - 12mm, mặt trên có màu sẫm hơn mặt dưới, lá kèm hình tam giác hẹp.

Cụm hoa hình chùm, mọc dưới nách lá, riêng lẻ hay xếp 2-3 cái một. Quả hình cầu, khi chín màu đen, dài 5 mm, rộng 3mm. Hạt hình 3 cạnh, màu nâu, có những đốm rất nhỏ. Cây ra hoa kết quả từ tháng 8 -10 hàng năm.

### 1.1.2. Vùng phân bố, thu hái [6]

Phèn đen là loài cây nhiệt đới nên có phân bố rất rộng, vùng Đông Nam Á, Nam Trung Quốc, Tây và Nam Phi

Ở nước ta, phèn đen mọc thành bụi tự nhiên, có thể tìm dễ dàng ở bờ bụi, ven đường, ven rừng.

## **1.2. CÁC NGHIÊN CỨU VỀ DƯỢC TÍNH**

Các loài cây thuộc chi *Phyllanthus* (Euphorbiaceae) được sử dụng rộng rãi trong y học dân tộc của nhiều nước như chữa bệnh thận, tiểu đường, viêm gan B,...[8]. Trong đó, các loài được dùng làm thuốc nhiều hơn cả là *Phyllanthus urinaria* L., *Phyllanthus reticulatus* Poir. Và *Phyllanthus amarus* Schum et Thonn [3].

### **1.2.1. Dược tính theo y học cổ truyền [4,6]**

Phèn đen vị đắng chất, tính mát, có tác dụng làm se, giảm đau, sát khuẩn, giải độc. Chủ trị làm thuốc cầm máu, chữa đau mùa, chữa viêm cầu thận, chữa lỵ, tiêu chảy. Trong đó rễ phèn đen có vị chất, tính lạnh, có tác dụng tiêu viêm, thu liễm, chỉ tả. Lá phèn đen có tác dụng thanh nhiệt giải độc, sát trùng, lợi tiểu...

Chữa kiết lỵ: dùng rễ cây phèn đen, dây mơ lông, cỏ seo gà, cỏ tranh bằng nhau, mỗi vị 20g, gừng 2 lát 2g - sắc uống (Nam dược thần hiệu).

Chữa bị đòn máu ú ở trong nguy cấp: lá phèn đen giã nhỏ, chế rượu vào và vắt lấy nước uống (Bách gia trân tàng), hoặc dùng 40g sắc rồi chế thêm một chén rượu - uống.

Chữa nhọt độc mới phát: lá phèn đen và lá bèo ván giã nát rồi đắp (Bách gia trân tàng).

Chữa nhiệt tả và lỵ: cây phèn đen cả cành và lá, đậu đen sao, mỗi thứ 40g, đổ 4 bát nước sắc lấy 1 bát, chia ra uống làm 3 lần (Hoạt nhân toát yếu của Hoàng Đôn Hòa).

Chữa đại tiện ra máu: cây phèn đen cả cành và lá, thái nhỏ 3 bát, sắc đặc uống (Bách gia trân tàng).

Chữa chảy máu nướu răng: lá phèn đen phối hợp với lá long não và lá xuyên tiêu phơi khô, chế thành viên rồi ngậm.

Trị rắn cắn: lá phèn đen tươi nhai nát nuốt hết nước rồi lấy bã đắp lên chỗ rắn cắn.

### 1.2.2. Các nghiên cứu về dược tính của một số loài thuộc chi *Phyllanthus*

Ở Quảng Tây Trung Quốc, cây *Phyllanthus reticulatus* Poir.(Euphorbiaceae) là một loại thuốc được sử dụng để chống viêm khớp và điều trị bệnh thấp khớp [48].

Năm 1997, E. Omulokoki và cộng sự [14] đã sử dụng dịch chiết từ lá của loài *Phyllanthus reticulatus* Poir. để khảo sát khả năng chống ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium falciparum* ở nồng độ thử nghiệm cho kết quả  $IC_{50} < 10\mu\text{g/ml}$ .

Năm 2010, một số báo cáo đã chứng minh rằng các chất chiết xuất của lá cây *Phyllanthus reticulatus* Poir.(Euphorbiaceae) có tác dụng ngăn ngừa bệnh đái tháo đường, kháng khuẩn độc tế bào và bảo vệ gan [49].

- Dược tính của một số cây khác cùng chi:

Năm 1961, Phòng Đông Y - Viện Vi trùng Việt Nam, nghiên cứu tác dụng kháng khuẩn của cây chó đẻ răng cưa (*Phyllanthus urinaria* L.) cho thấy kết quả tác dụng kháng khuẩn như sau: *Tụ cầu trùng* (0,5 cm), *Salmonella typhi* (0,9 cm), *Shigella flexneri* (1,1cm), *Shigella sonnei* (0 cm), *Shigella shigae* (1cm), *Bacillus subtilis* (0,4 cm), *Escherichia coli* (0 cm) [1].

Năm 1988, Blunberg và cộng sự [5] đã nghiên cứu tác dụng của hai loài cây chó đẻ răng cưa, *Phyllanthus amarus* và *Phyllanthus niruri* trên các bệnh nhân viêm gan siêu vi B. Kết quả cho thấy có 22/37 bệnh nhân âm tính sau 30 ngày điều trị bằng hai loài chó đẻ răng cưa trên. Các tác giả còn chứng minh cây *Phyllanthus amarus* có chứa chất làm ức chế men polymerase DNA của virus viêm gan siêu vi B.

Năm 2002, Nguyễn Bá Kinh và cộng sự [7] công bố kết quả nghiên cứu lâm sàng trên bệnh nhân viêm gan mãn tính. Chế phẩm LIV/94 được sản xuất từ 3 loại thảo dược: chó đẻ răng cưa (*Phyllanthus urinaria* L.), cây chua ngọt (*Embelia ribes* Burn) và cỏ nhọ nồi (*Eclipta prostrata* L.) được dùng để điều trị cho các bệnh nhân viêm gan mãn tính trong 2 năm (2001-2002). Kết quả nghiên cứu cho thấy thuốc có tác dụng làm giảm và sạch HBsAg của bệnh nhân.

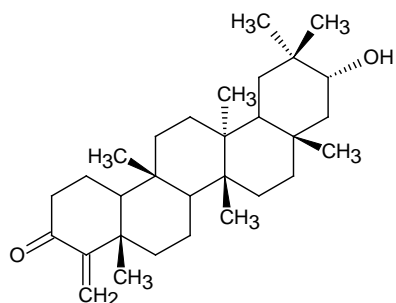
Bên cạnh đó, năm 2007 các nhà khoa học Ấn độ đã khảo sát khả năng chống oxy hóa từ dịch chiết methanol của 5 loài *Phyllanthus* là: *Phyllanthus debilis*, *Phyllanthus*

*urinaria*, *Phyllanthus virgatus*, *Phyllanthus maderaspatensis*, *Phyllanthus amarus*. Kết quả cho thấy các dịch chiết này đều thể hiện tính kháng oxi hóa [21].

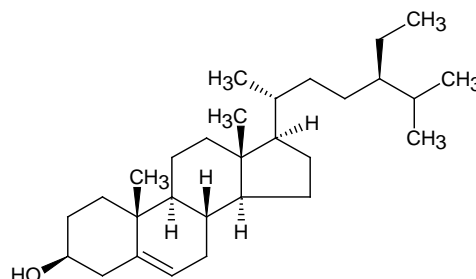
### 1.3. CÁC NGHIÊN CỨU VỀ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC

Chi *Phyllanthus*, họ Thầu dầu (Euphorbiaceae) có trên 700 loài gồm từ những cây thân thảo đến cây bụi hay cây gỗ nhỏ. Ở Việt Nam có 44 loài, các loài đáng được chú ý nhiều hơn cả là *Phyllanthus urinaria* L. (cây chó đẻ răng cưa), *Phyllanthus reticulatus* Poir. (cây phèn đen) và *Phyllanthus amarus* Schum et Thonn. (cây diệp hạ châu đắng). Thành phần hoá học của chi này rất phong phú và đa dạng [10].

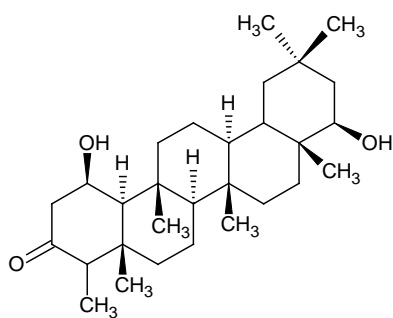
Năm 1976, Wai-Haan Hui và cộng sự [40] đã cô lập được 21- $\alpha$ -hydroxyfriedel-4(23)-en-3-one (1),  $\beta$ -sitosterol (2), friedelin-1 $\beta$ ,22 $\beta$ -diol(3) và glochidonol (4) khi nghiên cứu trên loài *Phyllanthus reticulatus* Poir.



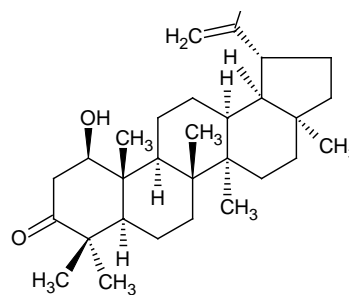
21- $\alpha$ -Hydroxyfriedel-4(23)-en-3-one (1)



$\beta$ -Sitosterol(2)

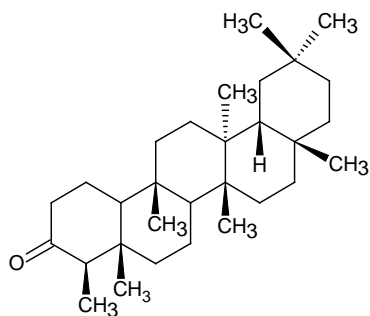


Friedelin-1 $\beta$ ,22 $\beta$ -diol (3)

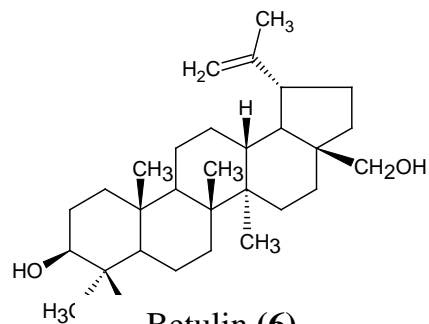


Glochidonol (4)

Năm 1981, Joshi và cộng sự [47], đã cô lập được các hợp chất phân cực kém như friedelin (5), betulin (6) và  $\beta$ -sitosterol (2) từ rễ và thân cây *Phyllanthus reticulatus* Poir.

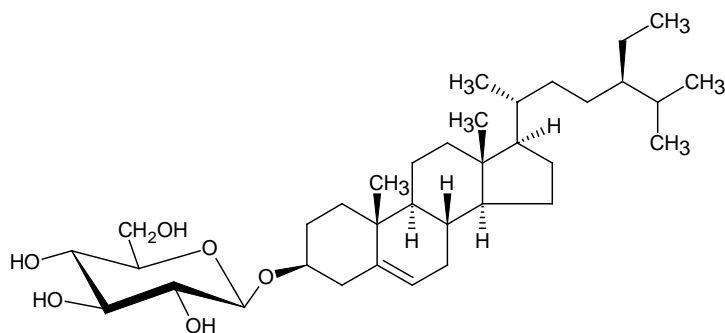


Friedelin (5)

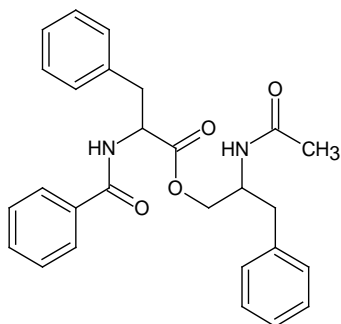


Betulin (6)

Năm 2009, Phan Văn Dân [1] khảo sát thành phần hoá học cây *Phyllanthus reticulatus* Poir. Kết quả cho thấy rằng cây *Phyllanthus reticulatus* Poir. có chứa các hợp chất  $\beta$ -sitosterol(2),  $\beta$ -sitosterol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosid(7), 2-acetamido-3-phenylpropyl 2-benzamido-3-phenylpropanoate(8).



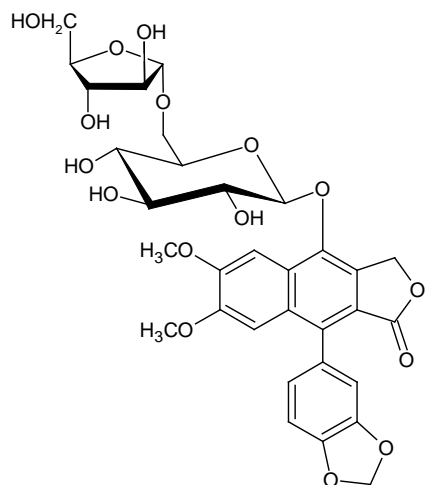
$\beta$ -Sitosterol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosid (7)



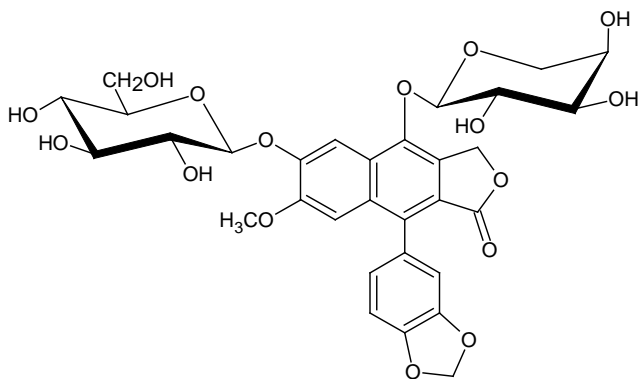
2-Acetamido-3-phenylpropyl 2-benzamido-3-phenylpropanoate (8)



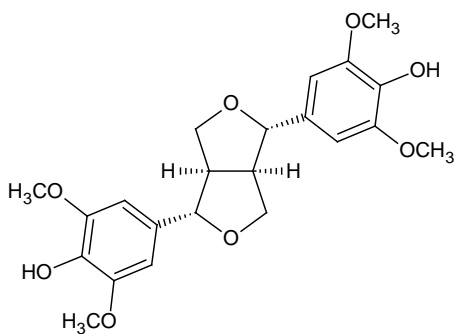
Năm 2012, J. Xiong Ma và cộng sự [50] đã phân lập được hai aryl-naphthalene lignan glycoside từ dịch chiết methanol của cây *Phyllanthus reticulatus* Poir., đó là reticulatusides A (**9**) và reticulatusides B (**10**). Ngoài ra, tác giả này còn đề cập tới sự hiện diện của syringaresinol (**11**) trong cây này.



Reticulatusides A (**9**)



Reticulatusides B (**10**)

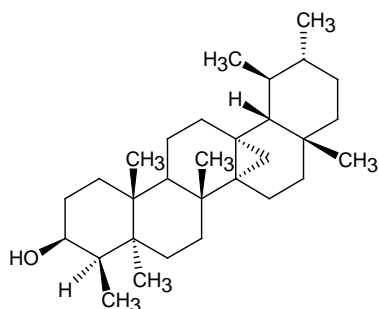


Syringaresinol (**11**)

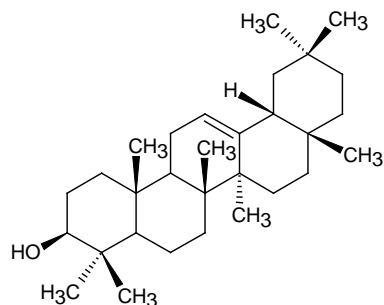
Do chưa có nhiều công trình nghiên cứu trên cây phèn đen (*Phyllanthus reticulatus* Poir.) nên chúng tôi trình bày thêm thành phần hoá học của một số cây khác cùng chi.

### 1.3.1. *Phyllanthus acidus*

Năm 1966, Sengupta và cộng sự [32] đã tách được hai pentacyclic triterpenoid, đó là: phyllanthol (**12**) và olean-12-en-3 $\beta$ -ol ( $\beta$ -amyrin) (**13**).



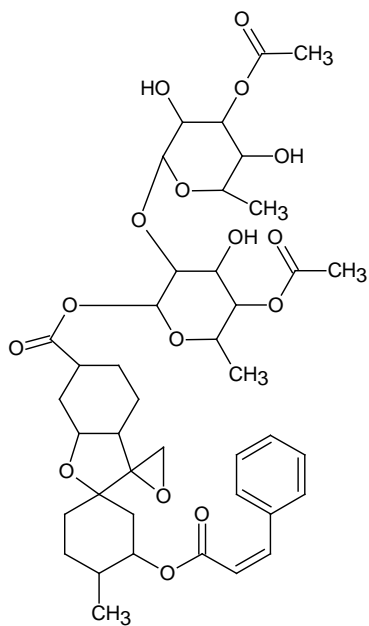
Phyllanthol (**12**)



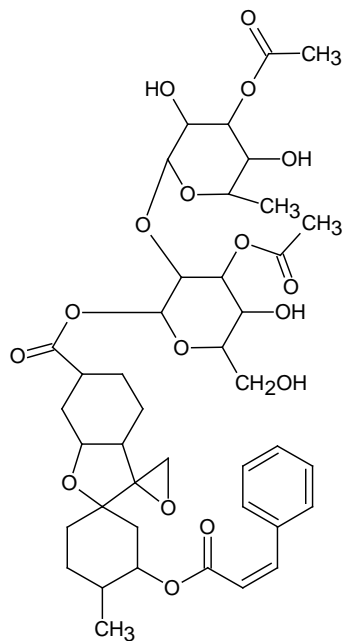
$\beta$ -Amyrin (**13**)

### 1.3.2. *Phyllanthus acuminatus*

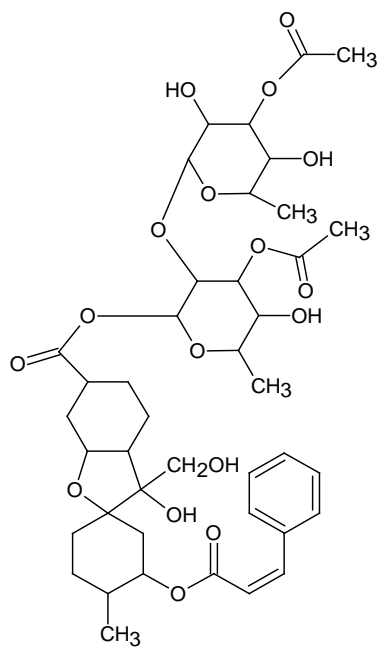
Năm 1984-1985, Pettit và cộng sự [27,28] đã tách được phyllanthostatin 1 (**14**), phyllanthostatin 2 (**15**), phyllanthostatin 3 (**16**), phyllanthostatin 4 (**17**) và phyllanthostatin 5 (**18**).



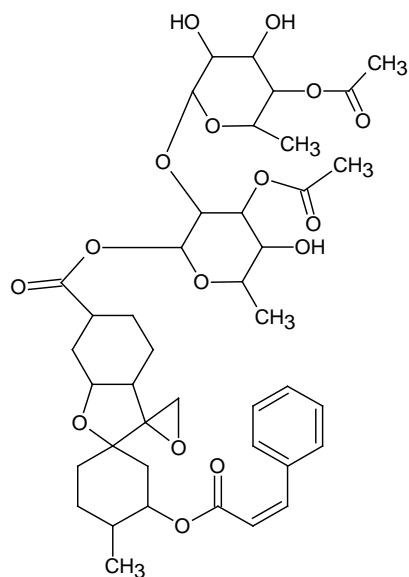
Phyllanthostatin 1(**14**)



Phyllanthostatin 2(**15**)

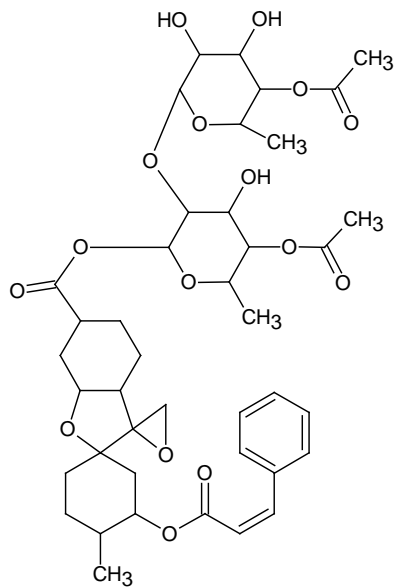


Phyllanthostatin 3 (**16**)

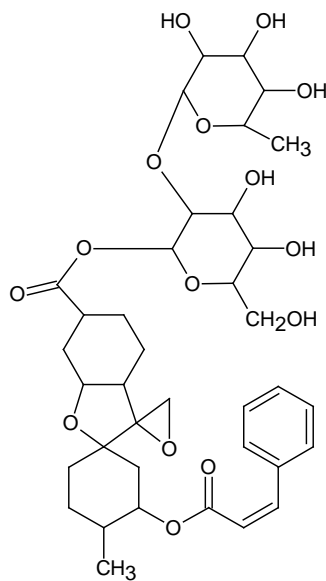


Phyllanthostatin 4 (**17**)

Năm 1990, Pettit và cộng sự [26] cũng đã cô lập được phyllanthostatin 6 (**19**).



Phyllanthostatin 5 (**18**)



Phyllanthostatin 6 (**19**)

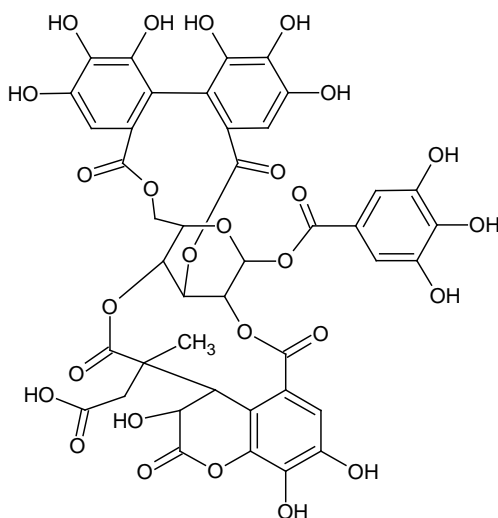
### 1.3.3. *Phyllanthus amarus* L.

Năm 1995, Yeap Foo [22] phân lập được acid amariinic (20).

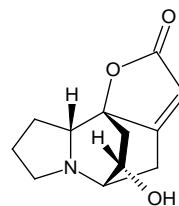
Năm 1996, Peter J. Houghton và cộng sự [25] đã tách được 2 alkaloid mới là isobubbialine (21) và epibubbialine (22) cùng với 3 alkaloid đã biết là phyllanthine (23), securinine (24) và *nor*-securinine (25). Cấu trúc của chúng được xác định dựa vào các dữ liệu phổ UV, IR, MS và NMR.

Năm 2005 và 2007, Herbert Kolodziej và Farah Naaz [15,17] cô lập được acid shikimic (26), epigallocatechin gallate (27).

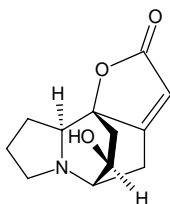
Năm 2008, Thales R.Cipriani và cộng sự [38] phân lập được acid thiobarbituric (28) và acid ascorbic (29).



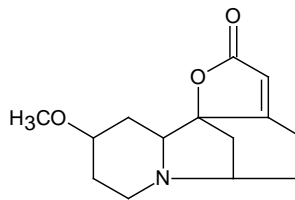
Acid amariinic (20)



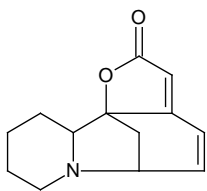
Isobubbialine (21)



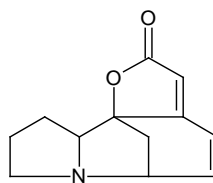
Epibubbialine (22)



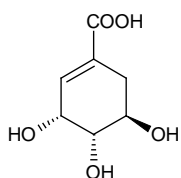
Phyllanthine (23)



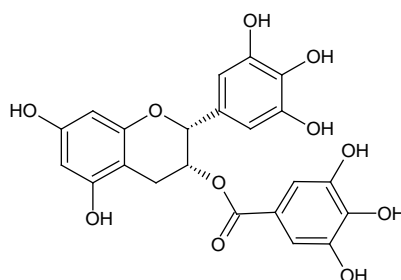
Securinine(24)



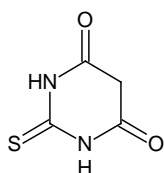
*nor*-Securinine(25)



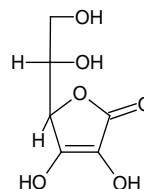
Acid shikimic (26)



Epigallocatechin gallate (27)



Acid thiobarbituric (28)



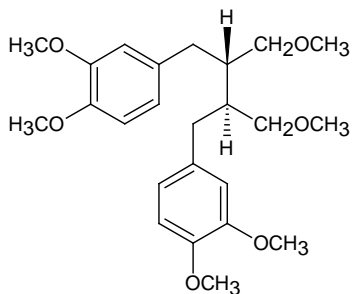
Acid ascorbic (29)

#### 1.3.4. *Phyllanthus discoides*

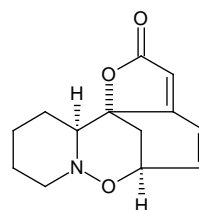
Năm 1973, Manske và cộng sự [23] đã tách được phyllanthin (30) và hai alkaloid là phyllanthine (23) và phyllantidine (31).

Năm 1983, Aripova và cộng sự [33] đã cô lập được phyllalbine (32).

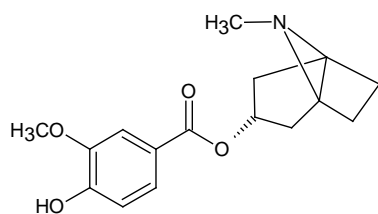
Năm 1988, Calixto và cộng sự [10] phân lập được 14,15-dihydroallosecurinine-15 $\beta$ -ol (33).



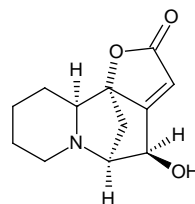
Phyllanthin (30)



Phyllantidine(31)



Phyllalbine (32)



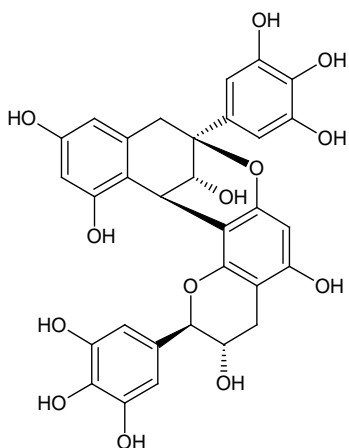
14,15-Dihydroallosecurinine-15-ol (33)

### 1.3.5. *Phyllanthus emblica* L.

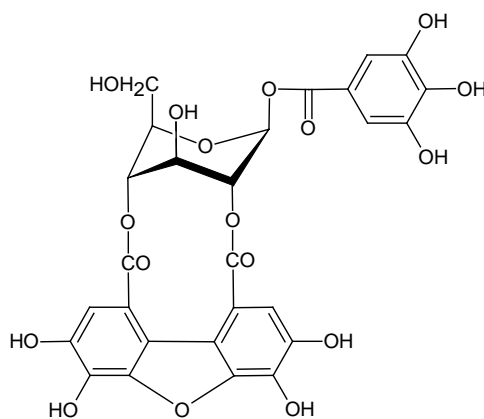
Năm 1992, Kumar Roy và cộng sự [20] đã cô lập được acid ascorbic (29).

Năm 1995, Mekkiawy [13] phân lập được putranjivain A (34).

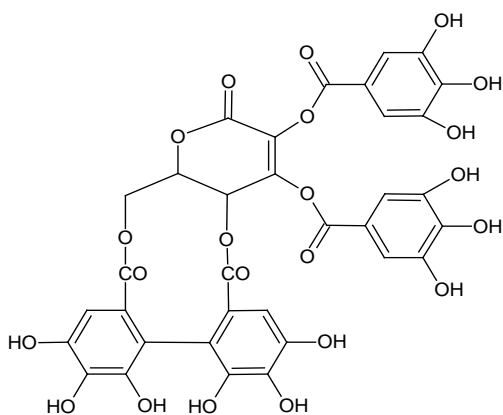
Năm 1996, Ghosal [16] đã tách được phyllanemblinin A (35), emblicanin-A (36) và emblicanin-B (37).



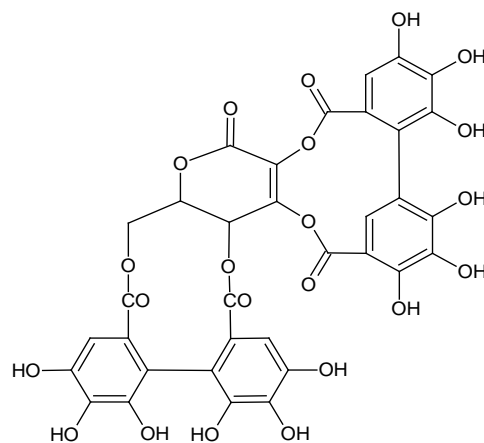
Putranjivain A(34)



Phyllanemblinin A (35)



Emblicanin-A (36)

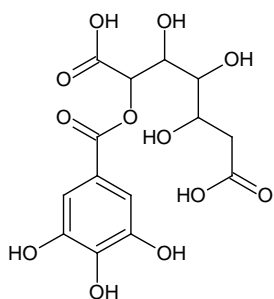


Emblicanin-B (37)

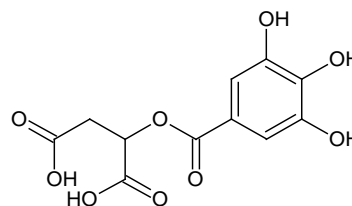
Năm 1988, Calixto và cộng sự [10] đã cô lập được acid 2-*O*-galloylgalactaric (**38**) và acid galloylmalic (**39**).

Năm 2000, Zhang và cộng sự [45] đã tách được prodelphinidin A1 (**40**).

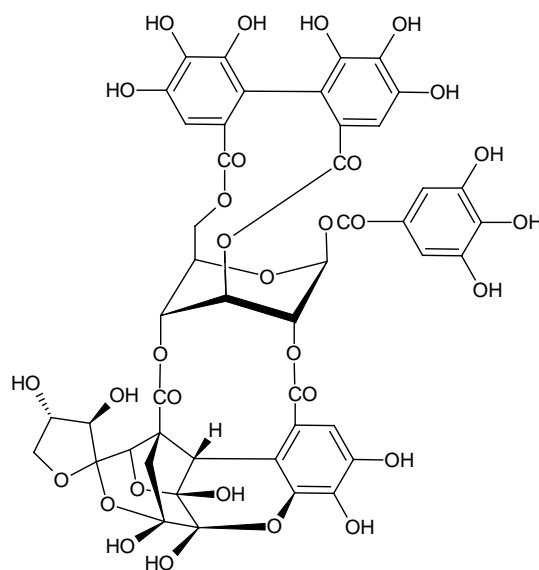
Năm 2002, Zang và cộng sự [46] đã phân lập được 1-([2-*O*-D-glucopyranoside]-4,6-dihydroxyphenyl)-2-metylpropan-1-one (**41**) và 1-([2-*O*-[D-apiofuranosyl-(1→6)-D-glucopyranoside]]-4,6-dihydroxyphenyl)-2-metylpropan-1-one (**42**).



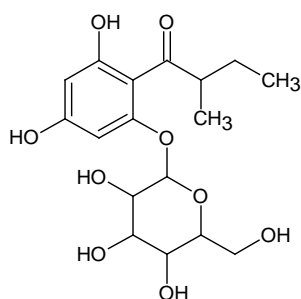
Acid 2-*O*-galloylgalactaric (**38**)



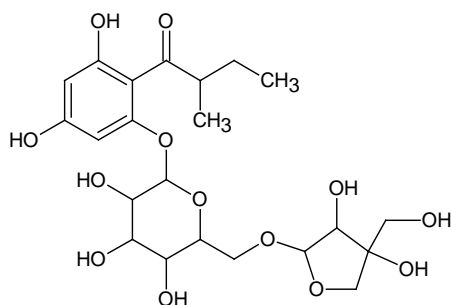
Acid galloylmalic (**39**)



Prodelphinidin A1(**40**)



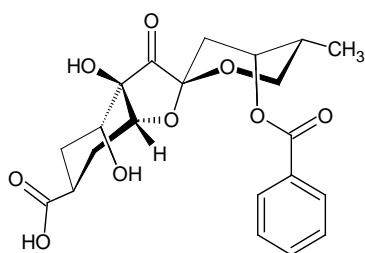
1-([2-O-D-glucopyranoside]-4,6-dihydroxyphenyl)-2-methylpropan-1-one **(41)**



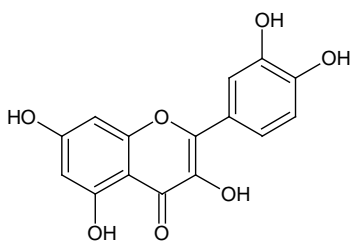
1-({2-O-[D-apiofuranosyl-(16)-D-glucopyranoside]})-4,6-dihydroxyphenyl)-2-methylpropan-1-one **(42)**

Năm 2006, Ying-Jun Zhang **[43]** đã tách được acid phyllaemblic **(43)**.

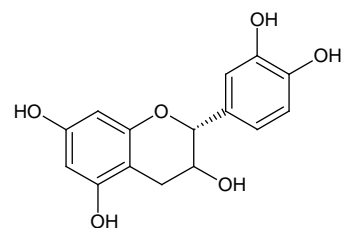
Năm 2008, Xiaoli Li và cộng sự **[42]** đã phân lập từ dịch chiết methanol được quercetin **(44)** và catechin **(45)**, đây là hai chất có hoạt tính chống oxi hóa cao.



Acid phyllaemblic **(43)**



Quercetin **(44)**

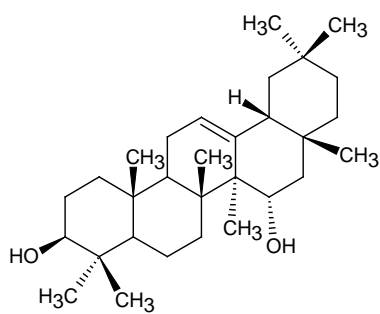


Catechin **(45)**

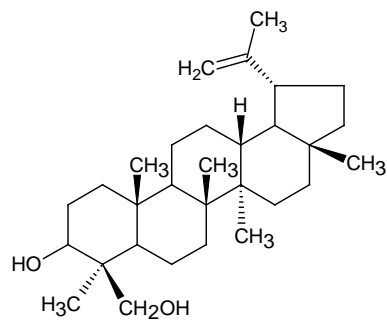
### 1.3.6. *Phyllanthus flexuosus*

Năm 1993, Tanaka và các cộng sự **[37]** đã phân lập được 5 triterpenoid có tên gọi như sau: olean-12-en-3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -diol **(46)**; lup-20(29)-en-3 $\beta$ ,24-diol **(47)**; olean-12-en-3 $\beta$ , 24-diol **(48)**; oleana-11,13(18)-dien-3 $\beta$ ,24-diol **(49)**, olean-12-en-3 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,24-triol **(50)**, betulin **(6)** và lup-20(29)-en-3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -diol **(51)**.

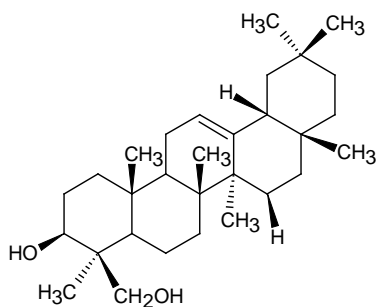




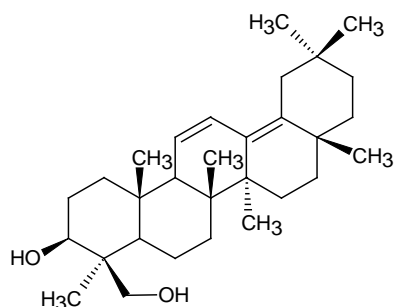
Oleana-12-en-3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -diol(**46**)



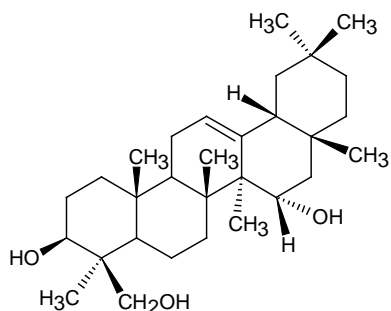
Lup-20(29)-en-3 $\beta$ ,24-diol (**47**)



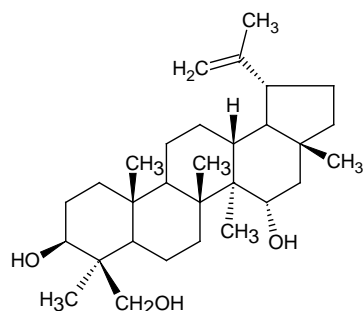
Olean-12-en-3 $\beta$ ,24-diol(**48**)



Oleana-11,13(18)-dien-3 $\beta$ ,24-diol(**49**)



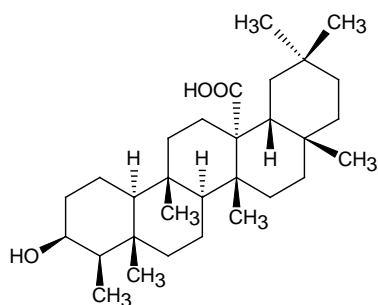
Olean-12-en-3 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,24-triol (**50**)



Lup-20(29)-en-3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -diol(**51**)

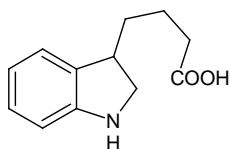
### 1.3.7. *Phyllanthus fraternus*

Năm 1988, Shunyo Matsunaga và cộng sự [35] công bố đã tách được acid trichadenic B (**52**).

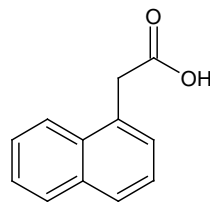


Acid trichadenic B (**52**)

Năm 1997, Rajasubramaniam cùng các cộng sự [29] đã tách được acid indole-3-butyrin (**53**), acid 1-naphthaleneacetic (**54**).



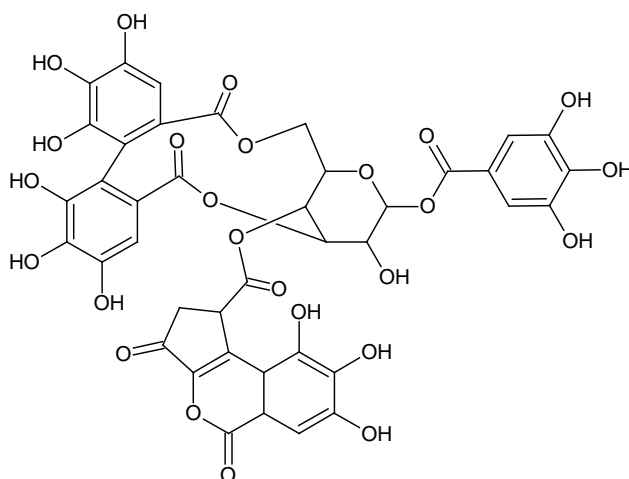
Acid indole-3-butyrin(**53**)



Acid 1-naphthaleneacetic (**54**)

### 1.3.8. *Phyllanthus myrtifolius*

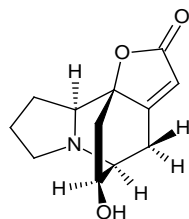
Năm 1999, Chen Lui và cộng sự [12] đã phân lập và nhận danh được 4-*O*-brevifolincarboxyl-1-*O*-galloyl-3,6-*O*-hexahydroxydiphenoyl-D-glucopyranos (**55**).



4-*O*-brevifolincarboxyl-1-*O*-galloyl-3,6-*O*-hexahydroxydiphenoyl-D-glucopyranos (**55**)

### 1.3.9. *Phyllanthus niruroides*

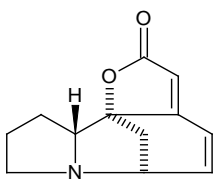
Năm 1996, Babady Bila và cộng sự [9] đã phân lập được một hợp chất mới thuộc nhóm alkaloid là niruroidine (2,7-diepimer) (56).



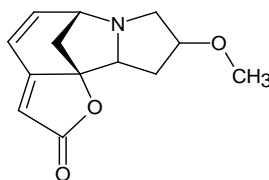
Niruroidine (56)

### 1.3.10. *Phyllanthus niruri* L.

Năm 1986, Joshi và cộng sự [19] đã tách được nirurine (57) và 4-methoxy-*nor*-securinine (58).

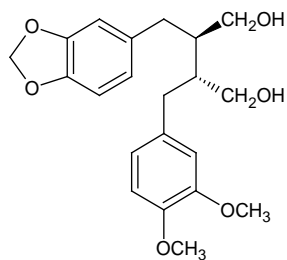


Nirurine (57)

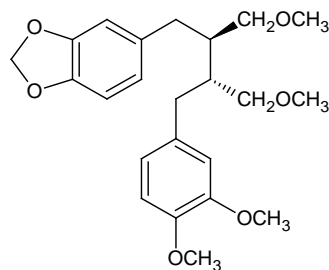


4-Methoxy-*nor*-securinine (58)

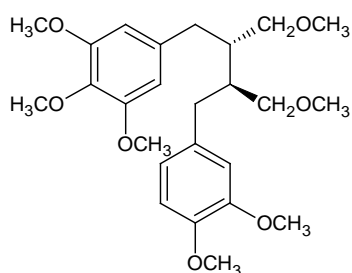
Năm 1991, Satyanarayana và Venkateswarlu [31] đã tách được 4 diarylbutane lignin: 2,3-desmethoxy *seco*-isolintetralin (59), 5-desmethoxyniranthin (60), linnanthin (61) và cuối cùng là demethylenedioxyniranthin (62).



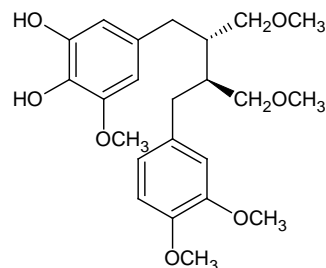
2,3-Desmethoxy *seco*-isolintetralin (59)



5-Desmethoxyniranthin (60)



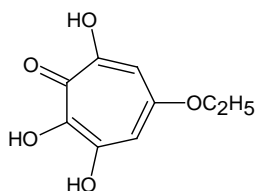
Linnanthin (**61**)



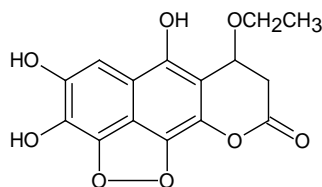
Demethylenedioxyyniranthin (**62**)

Năm 2007, tại vùng Đình Bảng, Từ Sơn, Bắc Ninh từ phần dịch chiết ethylacetate đã phân lập được hai chất là: 2,4,6-cyclohepta-trien-2,3,7-trihydroxy-5-ethoxy-1-one (**63**) và 5,7,8 - trihydroxy-9,10-peroxy-4-ethoxybenzo[2,3-d]coumarin (**64**) [3].

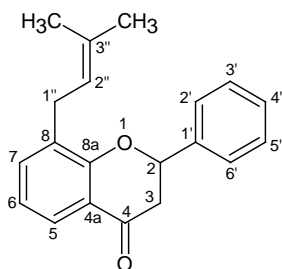
Năm 2008, Shakil và Pankaj [34] đã tách được 2 flavanone: 8-(3- methyl-but-2-enyl)-2-phenylchroman-4-one (**65**) và 2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methyl-but-2-enyl)-chroman-4-one (**66**) có khả năng làm thuốc chữa bệnh gout và bệnh thận.



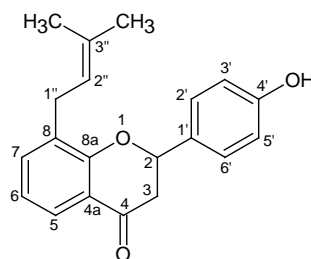
2,4,6-cyclohepta-trien-2,3,7-trihydroxy-5-ethoxy-1-one (**63**)



5,7,8-Trihydroxy-9,10-peroxy-4-ethoxybenzo[2,3-d]coumarin (**64**)



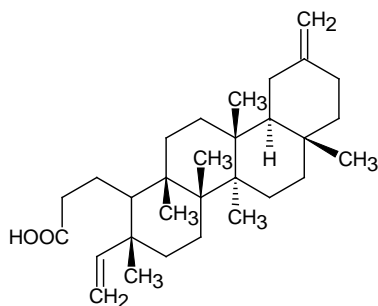
8-(3-Metyl-but-2-enyl)-2-phenylchroman-4-one (**65**)



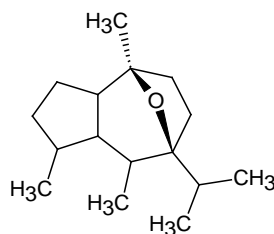
2-(4-Hydroxyphenyl)-8-(3-metyl-but-2-enyl)-chroman-4-one (**66**)

### 1.3.11. *Phyllanthus oxyphyllus*

Năm 2003, Sutthivaiyakit và cộng sự [36] đã tách được: acid 29-nor-3,4-seco-friedelan (67) và guaiane (68). Những hợp chất này được đánh giá là có khả năng chống oxi hóa tốt ở nồng độ  $IC_{50} = 0.017 \pm 0.001$  mM.



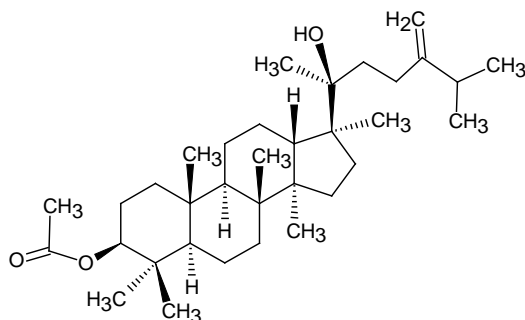
Acid 29-nor-3,4-seco-friedelan (67)



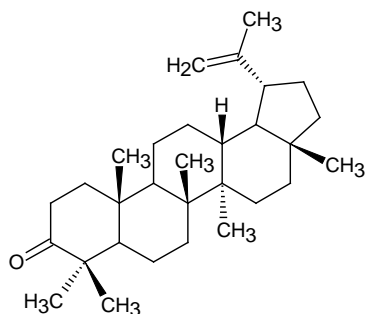
Guaiane (68)

### 1.3.12. *Phyllanthus polyanthus*

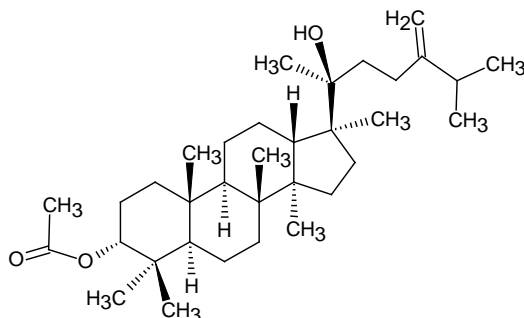
Năm 2008, Vuyelwa J.N. và cộng sự [39] đã tìm ra được một số triterpenoid gồm (20S)-3 $\beta$ -acetoxy-24-methylenedammaran-20-ol (69), lupenone (70) và (20S)-3 $\alpha$ -acetoxy-24-methylenedammaran-20-ol (71).



(20S)-3 $\beta$ -Acetoxy-24-methylenedammaran-20-ol (69)



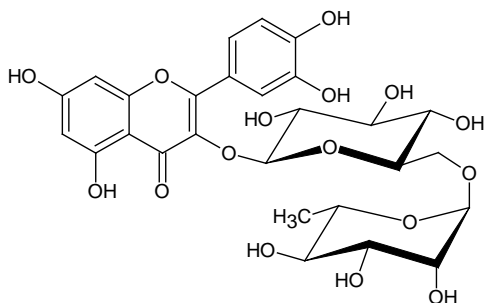
Lupenone (70)



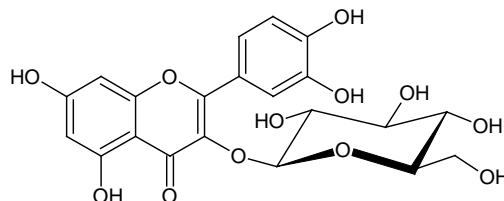
(20S)-3 $\alpha$ -Acetoxy-24-methylenedammaran-20-ol (71)

### 1.3.13. *Phyllanthus sellowianus*

Năm 2002, Hnatyszyn [18] đã phân lập được rutin (72) và isoquercitrin (73).



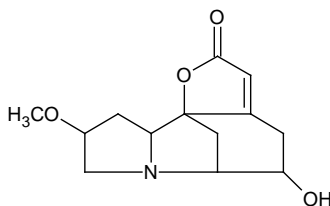
Rutin (72)



Isoquercitrin (73)

### 1.3.14. *Phyllanthus simplex*

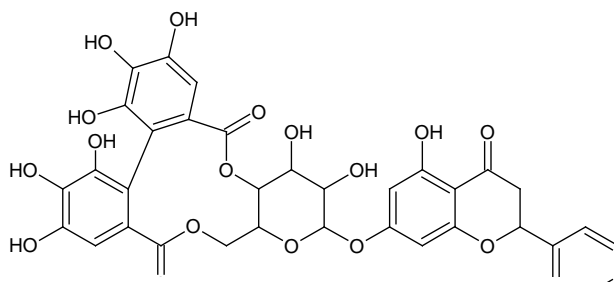
Năm 1998, Rajkishor S. Negi và Thawra M. Fakhir [30] đã phân lập được (14-hydroxy-4-methoxy-13,14-dihydronorsecurinine) (74) và phyllanthin (30). Chất (74) đã và đang được sử dụng làm thuốc tây y dạng viên nén (sản phẩm có tên là simplexin), phổ biến trên thị trường.



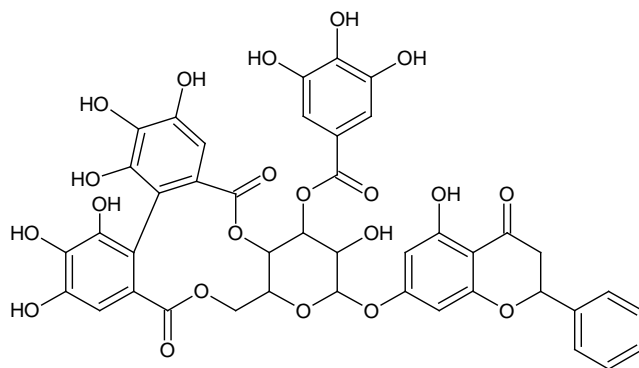
14-Hydroxy-4-methoxy-13,14-dihydronorsecurinine (74)

### 1.3.15. *Phyllanthus tenellus*

Năm 1971, 1972, 1974, các tác giả lần lượt là Asakawa, Bick và Bilia đã phân lập được tenellus-1 (75) và tenellus-2 (76) [1].



Tenellus-1 (75)



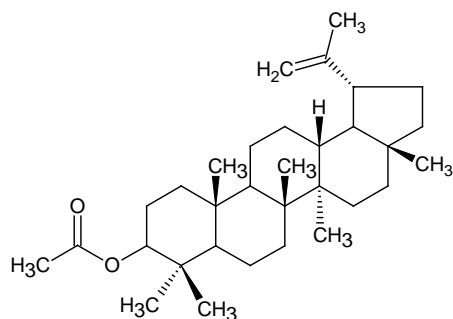
Tenellus-2 (**76**)

### 1.3.16. *Phyllanthus urinaria*

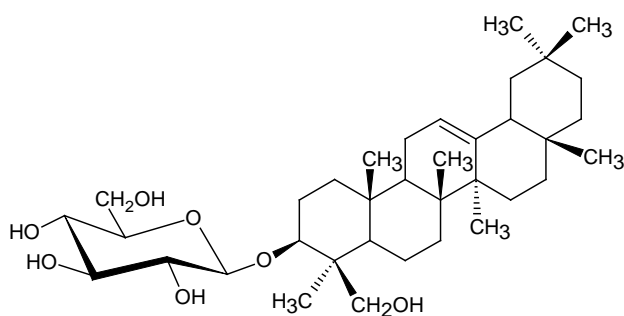
Năm 2000, Zhang L.Z. [44] đã tách được một số triterpenoid như: lupeol acetate (**77**),  $\beta$ -amyrin (**13**),  $\beta$ -amrylglucosid (**78**), lupeol (**79**).

Năm 2003, Chang và cộng sự [11] đã cô lập được 2,3-desmethoxy *seco*-isolintetralin diacetate (**80**), linnanthin (**61**), phyllanthin (**30**), hypophyllanthin (**81**), niranthin (**82**), nirtetralin (**83**) và phyltetralin (**84**). Cấu trúc của các hợp chất này được xác định bằng cách thủy giải và dựa vào các dữ liệu phổ khối lượng và phổ cộng hưởng từ hạt nhân.

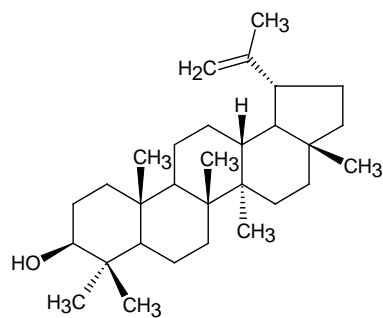
Năm 2005, Wanxing Wei và cộng sự [41] đã phân lập được acid pentahydroxybenzoic (**85**).



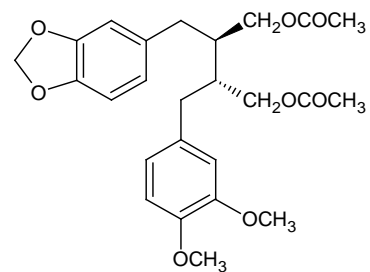
Lupeol acetate (**77**)



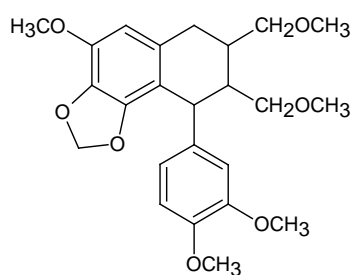
$\beta$ -Amyrylglucosid (**78**)



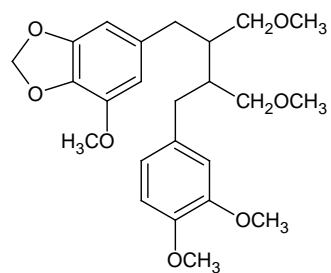
Lupeol (**79**)



2,3-desmethoxy *seco*-isolintetralin diacetate(**80**)

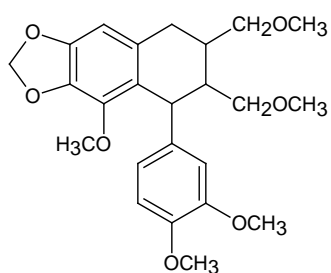


Hypophyllanthin (**81**)

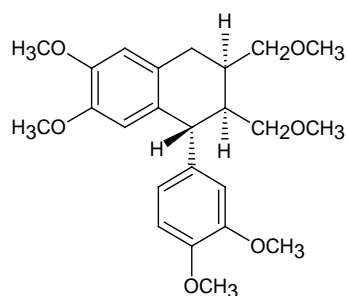


Niranthin (**82**)

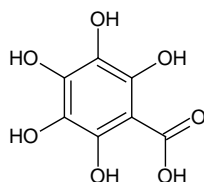




Nirtetralin (**83**)



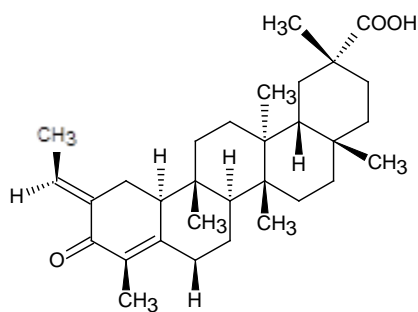
Phyltetralin (**84**)



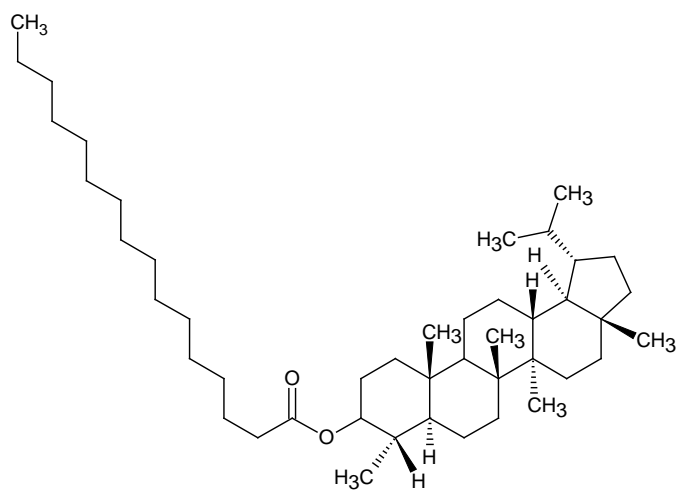
Acid pentahydroxybenzoic (**85**)

### 1.3.17. *Phyllanthus watsonii*

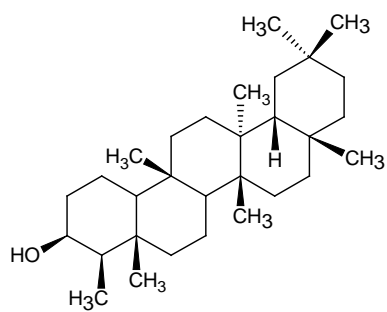
Năm 1992, Matsunaga và Tanaka đã tách được hợp chất triterpen: 26-Nor-D:A-friedooleanane (**86**), lupenyl palmitate(**87**), friedelin (**5**), *epi*-friedelanol(**88**), glochidone(**89**), glochidonol (**4**), lupeol (**79**), lup-20(29)-en-3 $\beta$ ,24-diol (**47**) [24].



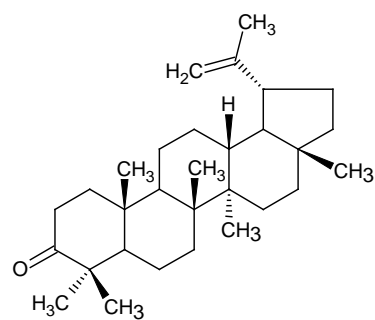
26-Nor-D:A-friedooleanane (**86**)



Lupenyl palmitate(87)



*Epi*-friedelanol (88)



Glochidone (89)

# **CHƯƠNG 2**

## **THỰC NGHIỆM**

## 2.1. HOÁ CHẤT, THIẾT BỊ, PHƯƠNG PHÁP

### 2.1.1. Hoá chất

- Silica gel: silica gel 60, 0,04-0,06 mm, Merck dùng cho cột sắc ký.
- Silica gel pha đảo, RP-18, Merck dùng cho sắc ký cột.
- Sắc ký bảng mỏng loại 25DC – Aflufolin 20×20, Kiesel gel 60F<sub>254</sub>, Merck.
- Sắc ký bảng mỏng loại 25DC, RP-18, Merck.
- Dung môi dùng cho quá trình thí nghiệm gồm: ether dầu hoả, ethanol, chloroform, ethyl acetate, acetone, methanol và nước cất.
- Thuốc thử hiện hình các vết chất hữu cơ trên bảng mỏng: sử dụng H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30%

### 2.1.2. Thiết bị

- Các thiết bị dùng để giải ly, dụng cụ chứa mẫu.
- Các cột sắc ký
- Máy cô quay chân không
- Bếp cách thuỷ
- Đèn soi UV: bước sóng 254 nm và 365 nm hiệu
- Cân điện tử Sartorius Mass 620g.

### 2.1.3. Phương pháp tiến hành

#### 2.1.3.1. Phương pháp phân lập các hợp chất

Sử dụng kỹ thuật SKC silica gel pha thường, pha đảo Rp-18 kết hợp SKLM.

Hiện hình sắc ký lớp mỏng bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30%.

#### 2.1.3.2. Phương pháp xác định cấu trúc hoá học các hợp chất

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz), <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz), 2D-NMR trên máy Bruker Avance tại Phòng thí nghiệm phân tích trung tâm, Đại học Khoa Học Tự Nhiên 227 Nguyễn Văn Cừ, Q5, Tp.HCM.

Khối phổ phân giải cao HR-ESI-MS đo trên máy Bruker MicrOTOF Q-II.

## **2.2. NGUYÊN LIỆU**

### **2.2.1. Thu hái nguyên liệu**

Mẫu cây dùng trong nghiên cứu khoá luận là lá, thân và rễ cây phèn đen (*Phyllanthus reticulatus* Poir.) được thu hái tại huyện Tân Uyên, Bình Dương, vào tháng 7/2012.

Mẫu cây đã được GS.TS Võ Văn Chi nhận danh tên khoa học là “*Phyllanthus Reticulatus* Poir.”, họ Thầu dầu (Euphorbiaceae).

### **2.2.2. Xử lý mẫu nguyên liệu**

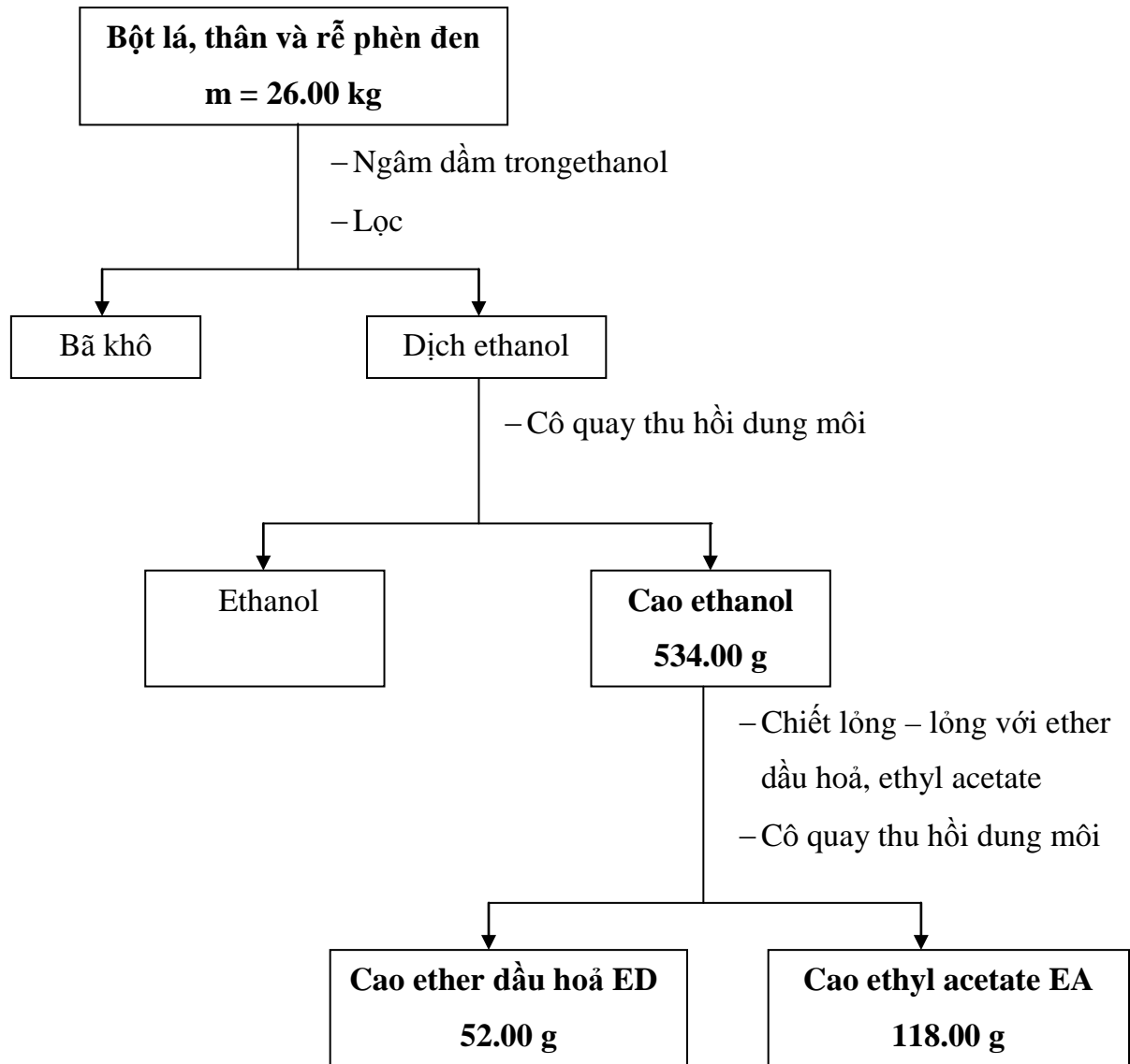
Mẫu nguyên liệu được rửa sạch, loại bỏ phần sâu bệnh, phơi khô trong bóng râm, rồi xay thành bột mịn. Sau đó tiến hành ngâm chiết và phân lập các hợp chất.

## **2.3. ĐIỀU CHẾ CÁC LOẠI CAO**

Lá, thân và rễ cây Phèn đen (*Phyllanthus reticulatus* Poir.) được phơi khô, chặt nhỏ và nghiền thành bột mịn, sấy khô đến khối lượng không đổi ( $m = 26.00$  kg). Nguyên liệu bột mịn được tận trích với ethanol 96<sup>0</sup> bằng phương pháp ngâm dầm, lọc và cô quay loại dung môi dưới áp suất thấp thu được cao ethanol thô (534,00 g).

Cao ethanol thô được chiết lỏng – lỏng lần lượt với ether dầu hoả, ethyl acetate thu được cao ether dầu hoả (52,00 g), cao ethyl acetate (118,00 g), . Quá trình thực hiện được tóm tắt theo sơ đồ 1.

**Sơ đồ 1.** Qui trình điều chế cao ether dầu hoả và ethyl acetate



## 2.4. CÔ LẬP CÁC HỢP CHẤT HỮU CƠ TRONG CÂY *PHYLLANTHUS RETICULATUS* POIR.

### 2.4.1 Sắc Ký cột silica gel trên cao ether dầu hoả

Thực hiện SKC silica gel trên cao ether dầu hoả (52,00 g) với hệ dung môi rửa giải ED:EA có độ phân cực tăng dần từ 10% đến 100% ethyl acetate. Dịch giải ly qua cột được hứng vào các lọ. Theo dõi quá trình giải ly bằng sắc ký lớp mỏng. Những lọ cho kết quả sắc ký lớp mỏng giống nhau được gộp chung thành 1 phân đoạn. Kết quả thu được 4 phân đoạn (ED1-ED4), được trình bày trong bảng 1.

**Bảng 1.** Sắc ký cột silica gel trên cao ether dầu hoả

Phân đoạn	Dung môi giải ly	Trọng lượng (g)	Sắc ký lớp mỏng	Ghi chú
ED1	ED:EA 9:1	16,00	Vết dài	Chưa khảo sát
ED2	ED:EA 7:3	0,60	Nhiều vết, tách rõ	Chưa khảo sát
<b>ED3</b>	<b>ED:EA 1:1</b>	<b>8,20</b>	<b>Nhiều vết, tách rõ</b>	<b>Khảo sát</b>
ED4	EA 100%	4,80	Nhiều vết	Chưa khảo sát

Ghi chú: **ED** (ether dầu hỏa), **EA** (ethyl acetate)

#### **Sắc ký cột silica gel trên phân đoạn ED3 của bảng 1**

Sắc ký lớp mỏng trên phân đoạn ED3 (8,20g) của bảng 1 cho nhiều vết có vết tách rõ nên phân đoạn ED3 được SKC silica gel với hệ dung môi rửa giải C:Me có độ phân cực tăng dần từ 0% đến 5% methanol. Dịch giải ly qua cột được hứng vào các lọ. Theo dõi quá trình giải ly bằng sắc ký lớp mỏng. Kết quả thu được 3 phân đoạn (ED31-ED33), được trình bày trong bảng 2.

#### **Nhận xét:**

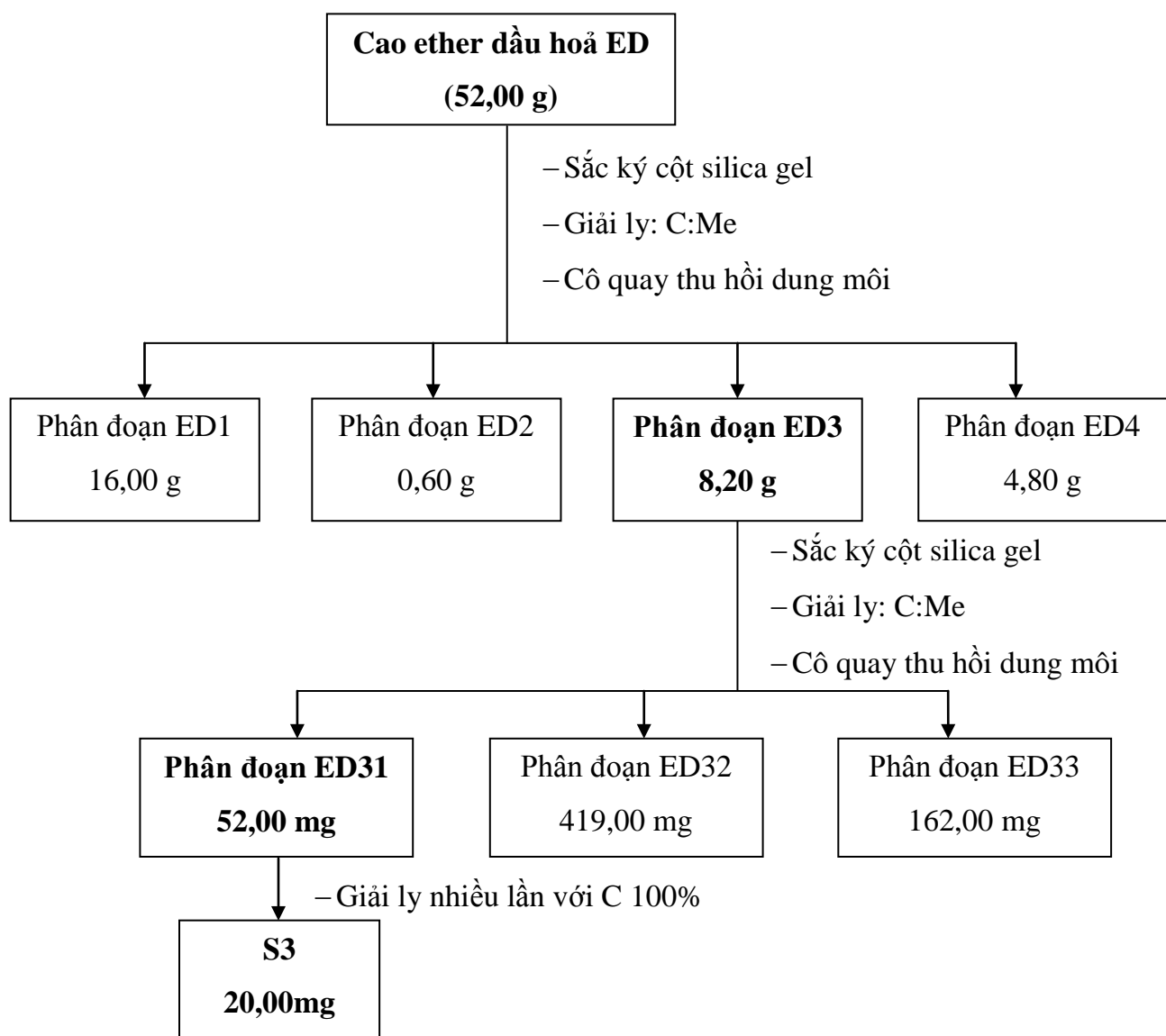
Sắc ký lớp mỏng trên phân đoạn EA31, giải ly bằng dung môi chloroform, hiện hình bằng thuốc thử  $H_2SO_4$  30%, thu được một vết hồng tím,  $R_f=0.8$ , kết tinh lại trong  $CHCl_3$ , thu được tinh thể hình kim (20mg), ký hiệu là **S3**.

**Bảng 2.**Sắc kí cột silica gel trên phân đoạn ED3 của bảng 1

<b>Phân đoạn</b>	<b>Dung môi giải ly</b>	<b>Trọng lượng (g)</b>	<b>Sắc ký lớp mỏng</b>	<b>Ghi chú</b>
<b>ED31</b>	<b>C 100%</b>	<b>0,52</b>	<b>Vết hồng tím, rõ</b>	<b>Thu được S3</b>
ED32	C:Me 98:2	4,19	Nhiều vết	Chưa khảo sát
ED33	C:Me 95:5	1,62	Nhiều vết	Chưa khảo sát

*Ghi chú: C (chlorofom), Me (methanol)*

**Sơ đồ 2.**Sơ đồ cô lập hợp chất hữu cơ S3 trong cao ether dầu hoả





## 2.4.2 Cô lập các hợp chất hữu cơ trong cao ethyl acetate

Thực hiện SKC silica gel trên cao ethyl acetate (118,00 g) với hệ dung môi rửa giải ED:EA có độ phân cực tăng dần từ 20% đến 100% ethyl acetate. Dịch giải ly qua cột được hứng vào các lọ. Theo dõi quá trình giải ly bằng sắc ký lớp mỏng. Những lọ cho kết quả sắc ký lớp mỏng giống nhau được gộp chung thành 1 phân đoạn. Kết quả thu được 4 phân đoạn (EA1-EA4), được trình bày trong bảng 3.

**Bảng 3.**Sắc ký cột silica gel trên cao ethyl acetate

Phân đoạn	Dung môi giải ly	Trọng lượng (g)	Sắc ký lớp mỏng	Ghi chú
EA1	ED:EA 4:1	86,00	Vết dài	Chưa khảo sát
<b>EA2</b>	<b>ED:EA 7:3</b>	<b>7,90</b>	<b>Nhiều vết</b>	<b>Khảo sát</b>
EA3	ED:EA 1:1	2,53	Nhiều vết	Chưa khảo sát
EA4	EA 100%	2,65	Nhiều vết	Chưa khảo sát

**Ghi chú:** *ED* (ether dầu hoả), *EA* (ethyl acetate)

### 2.4.2.1. Sắc ký cột silica gel trên phân đoạn EA2 của bảng 3

Sắc ký lớp mỏng trên phân đoạn EA2 (7.90g) của bảng 3 cho nhiều vết, có vết hiện rõ nên phân đoạn EA2 tiếp tục được sắc ký cột với hệ dung môi rửa giải C:Me có độ phân cực tăng dần từ 0% đến 20% methanol. Dịch giải ly qua cột được hứng vào các lọ. Theo dõi quá trình giải ly bằng sắc ký lớp mỏng. Kết quả thu được 3 phân đoạn (EA21-EA23), được trình bày trong bảng 4.

**Bảng 4.**Sắc ký cột silica gel trên phân đoạn EA2 của bảng 3

Phân đoạn	Dung môi giải ly	Trọng lượng (g)	Sắc ký lớp mỏng	Ghi chú
EA21	C 100%	1,02	Nhiều vết, kéo dài	Chưa khảo sát
EA22	C:Me 9:1	1,88	Nhiều vết, tách rõ	Chưa khảo sát
<b>EA23</b>	<b>C:Me 4:1</b>	<b>2,74</b>	<b>Nhiều vết, tách rõ</b>	<b>Khảo sát</b>

**Ghi chú:** *C* (chlorofom), *Me*(methanol), *EA* (ethyl acetate)

#### 2.4.2.2. Sắc ký cột silica gel trên phân đoạn EA22 của bảng 4

Phân đoạn EA23 (2.74g) được SKC silica gel, với hệ dung môi rửa giải C:EA:AA có độ phân cực lần lượt tăng dần. Dịch giải ly qua cột được hứng vào các lọ. Theo dõi quá trình giải ly bằng sắc ký lớp mỏng. Những lọ cho kết quả sắc ký lớp mỏng giống nhau được gộp chung thành 1 phân đoạn. Kết quả thu được 3 phân đoạn (EA231-EA233), được trình bày trong bảng 5.

**Bảng 5.**Sắc ký cột silica gel trên phân đoạn EA23 của bảng 4

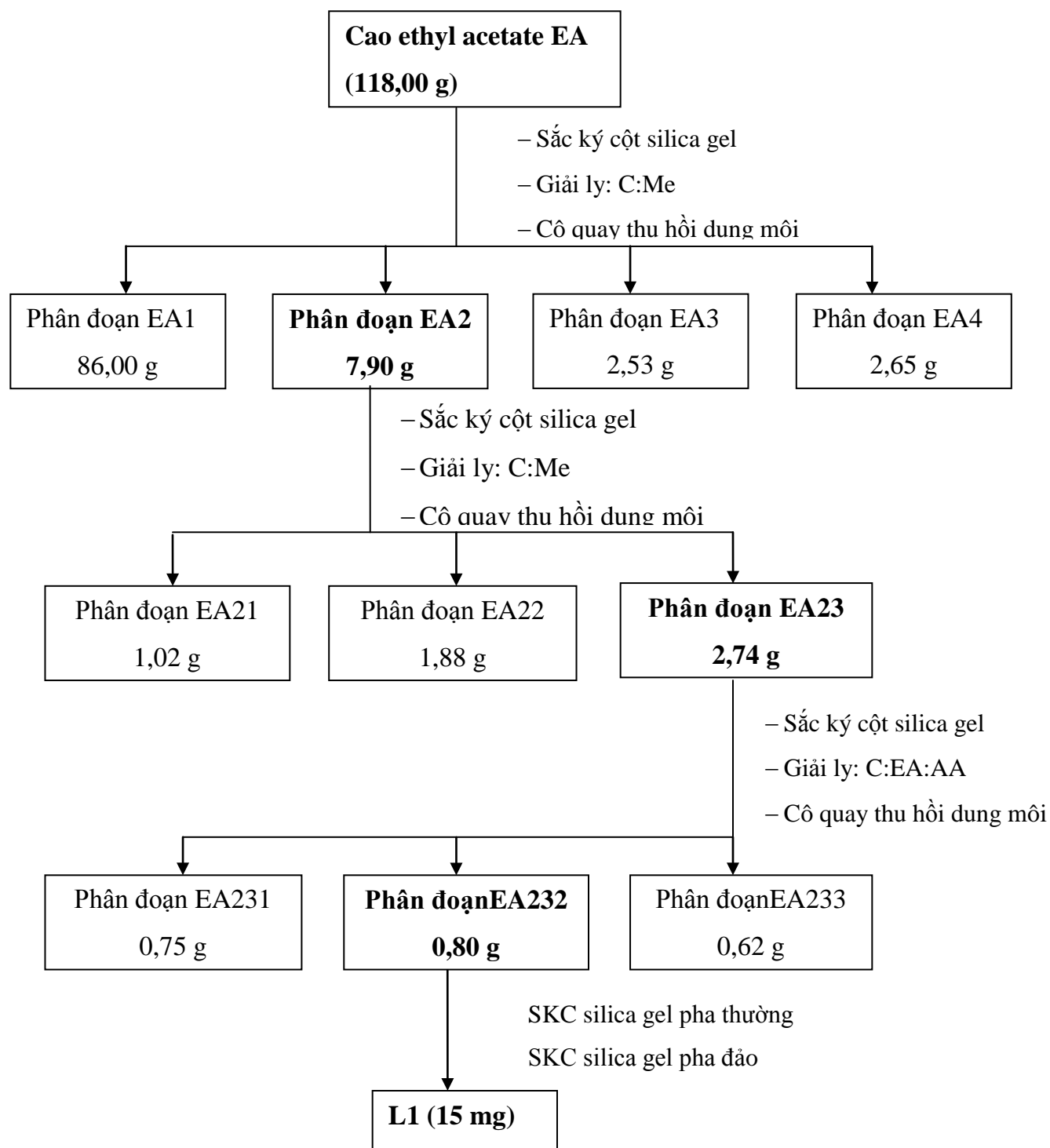
Phân đoạn	Dung môi giải ly	Trọng lượng (g)	Sắc ký lớp mỏng	Ghi chú
EA231	C:EA:AA 3:7:0.1	0,75	Hai vết chính dính nhau, phía dưới có nhiều vết mờ	Chưa khảo sát
<b>EA232</b>	<b>C:EA:AA 1:4:0.1</b>	<b>0,80</b>	<b>Có hai vết đen, vạch rõ</b>	<b>Khảo sát</b>
EA233	C:EA:AA 1:9:0.1	0,62	Nhiều vết mờ	Chưa khảo sát

**Ghi chú:** *C* (chlorofom), *Me* (methanol), *EA* (ethyl acetate), *AA* (axit axetic)

#### 2.4.2.3. Sắc ký cột silica gel trên phân đoạn EA232 của bảng 5

Sắc ký lớp mỏng trên phân đoạn EA232 (0.80g) cho thấy 2 vết màu đen hiện hình bằng thuốc thử  $H_2SO_4$  30% đun nóng nên phân đoạn EA232 được SKC silica gel pha thường và pha đảo RP – 18 nhiều lần thu được chất ở dạng bột màu trắng 15 mg  $R_f=0.4$  kí hiệu **L1**.

**Sơ đồ 3:** Sơ đồ cô lập hợp chất hữu cơ L1 trong cao ethyl acetate



# **CHƯƠNG 3**

## **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### 3.1. Khảo sát cấu trúc hóa học của hợp chất S3

Hợp chất S3 (20 mg) thu được từ phân đoạn ED31 của sơ đồ 1 có những đặc điểm quan trọng như sau:

- Hợp chất ở dạng tinh thể màu trắng.
- Kết quả sắc kí lớp mỏng với hệ dung môi giải ly chloroform, hiện hình bằng thuốc thử  $\text{H}_2\text{SO}_4$  30%, đun nóng bằng, thu được một vết hồng tím,  $R_f=0.3$ .
- Phổ  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , phụ lục 1),  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 5.35 ( $=\text{CH}-$ ,  $d$ ,  $J=5.0$  Hz); 5.15 ( $=\text{CH}-$ ,  $dd$ ,  $J=15.5, 8.5$  Hz); 5.03 ( $=\text{CH}-$ ,  $dd$ ,  $J=15.5, 9.0$  Hz); 3.51 (1H,  $m$ ,  $>\text{CH}-\text{OH}$ )..
- Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR kết hợp với DEPT - NMR ( $\text{CDCl}_3$ , phụ lục 2,3, 4),  $\delta_{\text{C}}$  (ppm): 140,9 ( $=\text{C}<$ ); 138.4 ( $=\text{CH}-$ ); 129.5 ( $=\text{CH}-$ ); 121.9 ( $=\text{CH}-$ ); 71.9 ( $>\text{CH}-\text{OH}$ ). Độ chuyển dịch hóa học của các carbon khác được trình bày trong bảng 6.

#### ❖ Biện luận cấu trúc

Phổ  $^1\text{H}$ -NMR cho thấy tín hiệu cộng hưởng của proton olefin ở  $\delta_{\text{H}}$  5.35 ( $d$ ,  $J=5.0$  Hz); hai proton olefin khác cộng hưởng ở  $\delta_{\text{H}}$  5.15 ( $dd$ ,  $J=15.5, 8.5$  Hz) và 5.03 ( $dd$ ,  $J=15.5, 9.0$  Hz) hằng số ghép  $J$  của 2 proton olefin này bằng 15.5 nên nổi đôi có cấu hình *trans*.

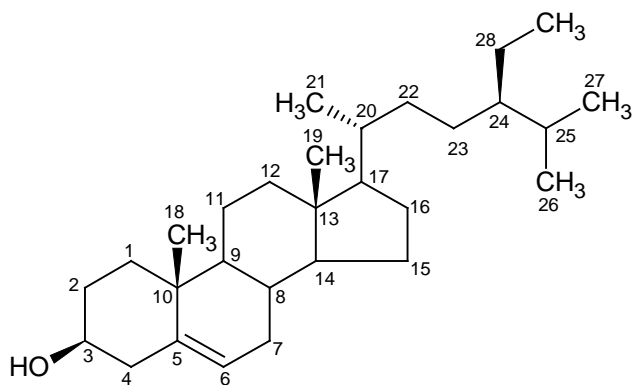
Ngoài ra, phổ  $^1\text{H}$ -NMR còn thể hiện tín hiệu cộng hưởng của proton gắn trên carbon mang oxygen ở  $\delta_{\text{H}}$  3.52 ( $m$ ); các tín hiệu cộng hưởng ở vùng từ trường cao ứng với các mũi cộng hưởng của proton bão hòa  $>\text{CH}-$ ,  $-\text{CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_3$ .

Phổ  $^{13}\text{C}$  kết hợp với DEPT – NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) cho thấy S3 có 58 nguyên tử carbon. Trong đó, có 12 carbon loại  $-\text{CH}_3$ , 20 carbon loại  $-\text{CH}_2-$ , 4 carbon loại  $=\text{CH}-$ , 2 carbon loại  $=\text{C}<$ , 14 carbon loại  $>\text{CH}-$ , 4 carbon loại  $>\text{C}<$ , 2 carbon loại  $>\text{CH}-\text{OH}$ . Các carbon olefin cộng hưởng ở  $\delta_{\text{C}}$  140.9 ( $>\text{CH}=$ ), 138.4 ( $-\text{CH}=$ ), 129.5 ( $=\text{CH}-$ ) và 121.9 ( $=\text{CH}-$ ).

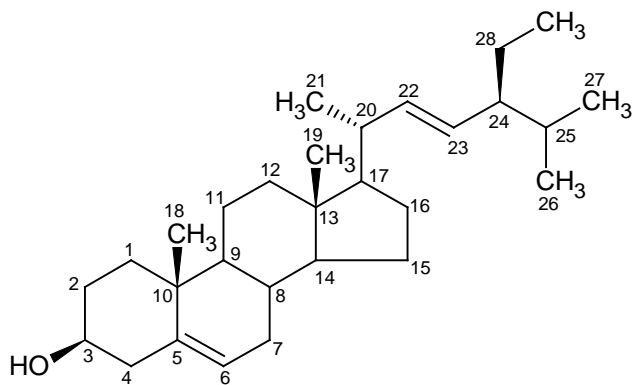
Từ tín hiệu cộng hưởng của cặp carbon olefin ở  $\delta_{\text{C}}$  140.9 ( $>\text{CH}=$ ), 121.9 ( $=\text{CH}-$ ), và cặp mũi cộng hưởng của carbon olefin còn lại tại  $\delta_{\text{C}}$  138.4 ( $-\text{CH}=$ ), 129.5 ( $=\text{CH}-$ ), kết hợp với tín hiệu cộng hưởng của proton olefin và các tín hiệu có vùng từ trường cao cho thấy S1 có khung stigman với nổi đôi ở vị trí 5 và 22.

Từ việc phân tích các dữ liệu phổ nghiệm ở trên, kết hợp so sánh với số liệu phổ nghiệm của stigmasterol và  $\beta$ -sitosterol cho thấy có sự tương đồng nên chúng tôi đề nghị S3 là hỗn hợp của stigmasterol và  $\beta$ -sitosterol.

Proton H-6 có cường độ tích phân là 1, proton H-22,H-23 có cường độ tích phân là 0.3, nên stigmasterol và  $\beta$ -sitosterol có tỉ lệ là 3:7.



**$\beta$ -sitosterol (Sa)**



**Stigmasterol (Sb)**

**Bảng 6.** Số liệu phổ NMR của hợp chất S3

Vị trí	$\beta$ -sitosterol <sup>[53]</sup>	Hợp chất S3 (CDCl <sub>3</sub> )				Stigmasterol <sup>[53]</sup>
	$\delta_C$ (ppm)	S3a $\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm) (J-Hz)	S3b $\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm) (J-Hz)	$\delta_C$ (ppm)
1	37.3	37.4		37.4		37.3
2	31.6	31.8		31.8		31.7
3	71.8	71.9	3.52 <i>m</i>	71.9	3.52 <i>m</i>	71.8
4	42.3	42.4		42.4		42.3
5	140.8	140.9		140.9		140.8
6	121.7	121.8	5.35, <i>d</i> , <i>J</i> =5.0 Hz	121.8	5.35, <i>d</i> , <i>J</i> =5.0 Hz	121.7
7	31.9	32.0		32.0		31.9
8	31.9	32.0		32.0		31.9
9	50.2	50.3		50.3		50.2
10	36.5	36.6		36.6		36.5
11	21.1	21.2		21.2		21.1
12	39.8	39.9		39.8		39.7
13	42.3	42.4		42.4		42.2
14	56.8	56.9		57.0		56.9
15	24.3	24.4		24.5		24.4
16	28.3	28.4		29.0		28.9
17	56.1	56.2		56.1		56.0
18	11.9	12.1		12.2		12.0
19	19.4	19.9		19.1		19.3
20	36.2	36.3		40.6		40.5
21	18.8	18.9		21.2		21.2
22	34.0	34.1		138.4	5.15, <i>dd</i> , <i>J</i> =15.5, 8.5 Hz	138.3
23	26.1	26.3		129.4	5.03, <i>dd</i> , <i>J</i> =15.5, 9.0 Hz	129.3
24	45.9	46.0		51.4		51.2
25	29.3	29.3		32.0		31.9
26	19.8	19.5		19.2		20.9
27	19.1	21.3		21.2		18.9
28	23.1	24.4		25.5		25.4
29	12.0	12.0		12.3		12.4

### 3.2. Khảo sát cấu trúc hóa học của hợp chất L1

Hợp chất L1 (15 mg) thu được từ phân đoạn EA232 của sơ đồ 3 có những đặc điểm sau:

- Chất ở dạng bột màu trắng.
- Kết quả sắc kí lớp mỏng với hệ dung môi giải ly C:Me hiện hình bằng thuốc thử  $\text{H}_2\text{SO}_4$  30%, đun nóng bằng, thu được một vết màu đen,  $R_f=0.4$ .
- Phổ  $^1\text{H}$ -NMR (MeOD, phụ lục 5),  $\delta_{\text{H}}$  (ppm): 7.72 (2H, *d*,  $J=16.0$  Hz), 6.54 (2H, *d*,  $J=16.0$  Hz), 7.59 (4H, *m*), 7.41 (6H, *m*), 5.16 (1H, *d*,  $J=3.5$  Hz), 4.56 (1H, *d*,  $J=8.0$  Hz).
- Phổ HS-MS-ESI (phụ lục 6) cho mũi ion giả phân tử có  $m/z=333.096$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  phù hợp với công thức phân tử  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{Na}$  với  $M=333.095$ , sai số 0.001 minimas.
- Phổ  $^{13}\text{C}$  kết hợp với DEPT – NMR (MeOD, phụ lục 7, 8),  $\delta_{\text{C}}$  (ppm) 168.5 và 168.4 ( $>\text{C}=\text{O}$ ), 146.4 và 118.6 ( $=\text{CH}-$ ), 98.1 và 93.9 ( $-\text{O}-\text{CH}-\text{O}-$ ). Độ chuyển dịch hóa học của các carbon khác được trình bày trong bảng 7.
- Phổ COSY, HSQC, HMBC (phụ lục 9, 10, 11).

#### ❖ Biện luận cấu trúc

Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất L1 xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của hai proton olefin cộng hưởng tại  $\delta_{\text{H}}$  (ppm) 7.72 (2H, *d*,  $J=16.0$  Hz), 6.54 (2H, *d*,  $J=16.0$  Hz). Hằng số ghép  $J$  của 2 cặp proton olefin bằng 16.0 Hz nên nối đôi có cấu hình là *trans*.

Bên cạnh đó, phổ  $^1\text{H}$ -NMR còn thể hiện 10 proton gắn trên vòng thơm ở  $\delta_{\text{H}}$  7.60 (4H, *m*), 7.41 (6H, *m*); 2 proton anomer tại  $\delta_{\text{H}}$  5.16 (1H, *d*,  $J=3.5$  Hz), 4.56 (1H, *d*,  $J=8.0$  Hz); các proton  $>\text{CH}-\text{O}-$  của phân tử đường cộng hưởng trong vùng  $\delta_{\text{H}}$  3.20-4.55.

Phổ  $^{13}\text{C}$  kết hợp với DEPT – NMR cho thấy L1 có 2 carbon  $>\text{C}=\text{O}$  cộng hưởng tại  $\delta_{\text{C}}$  168.5 và 168.4; 4 carbon olefin  $=\text{CH}-$  ở  $\delta_{\text{C}}$  =146.4 (2C), 118.6 (2C); các carbon của vòng thơm cộng hưởng ở vùng  $\delta_{\text{C}}$  129.1-135.6. Tín hiệu cộng hưởng của 2 phân tử đường hexose bao gồm 2 carbon anomer ở  $\delta_{\text{C}}$  98.1 và 93.9, 8 carbon  $>\text{CH}-\text{O}$  ( $\delta_{\text{C}}$  77.8, 76.1, 75.3, 74.7, 73.7, 71.9, 71.7, 70.7), 2 nhóm methylene mang oxygen ở  $\delta_{\text{C}}$  65.1 và 65.0.

Như vậy, L1 được dự đoán là hợp chất có cấu trúc gồm 2 đơn vị cinnamoyl và 2 phân tử đường hexose.



Tương quan HSQC giữa proton  $\delta_H 7.72$  (2H, *d*,  $J=16.0$  Hz) với carbon  $\delta_C 146.4$  (2C), giữa proton  $\delta_H 6.54$  (2H, *d*,  $J=16.0$  Hz) với carbon  $\delta_C 118.6$  (2C) cho nên proton  $\delta_H 7.72$  (H-7') sẽ gắn trên carbon olefin  $\delta_C 146.4$  (C-7'), proton  $\delta_H 6.54$  (H-8') sẽ gắn trên carbon  $\delta_C 118.6$  (C-8'). Tương tự, proton anomer ở  $\delta_H 5.16$  (1H, *d*,  $J=3.5$  Hz) sẽ tương ứng với carbon anomer tại  $\delta_C 93.9$  (C-1b) cũng như proton anomer ở  $\delta_H 4.56$  (1H, *d*,  $J=8.0$  Hz) sẽ ứng với carbon anomer tại  $\delta_C 98.3$  (C-1a). Các tương quan HSQC khác sẽ xác định sự gắn kết của các proton còn lại trên các carbon tương ứng.

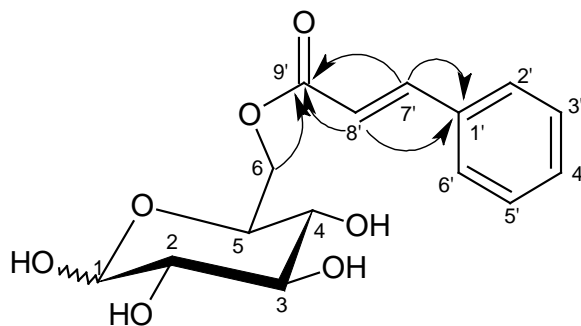
Phổ COSY cho thấy proton anomer ở  $\delta_H 4.56$  (H-1a) tương quan với proton tại  $\delta_H 3.22$  (*dd*,  $J=8.0, 8.5$  Hz, H-2a), proton tại  $\delta_H 3.43$  (H-3a) tương quan với proton  $\delta_H 3.22$  (H-2a) và proton  $\delta_H 3.42$  (H-4a). Qua đó, kết hợp với phổ HSQC, HMBC xác định được các tín hiệu cộng hưởng của các carbon C-1a ( $\delta_C 98.1$ ), C-2a ( $\delta_C 76.1$ ), C-3a ( $\delta_C 77.8$ ), C-4a ( $\delta_C 71.9$ ). Phân tử đường thứ 1 có hằng số ghép của proton anomer là 8.0 Hz và của proton H-4a lần lượt là 9.0/ 9.0 Hz nên phân tử đường này là đường  $\beta$ -D-glucose.

Tương tự, từ các tương quan HSQC, MS, HMBC cho thấy phân tử đường thứ 2 gồm có 6 carbon  $>CH-O-$  cộng hưởng ở  $\delta_C 93.9$  (C-1b), 73.7 (C-2b), 74.7 (C-3b), 71.7 (C-4b), 70.7 (C-5b), 65.5 (C-6b). Phân tử đường thứ 2 có hằng số ghép của proton anomer là  $J=3.5$  Hz và hằng số ghép của proton H-5b lần lượt là 10.0/ 5.5/ 2.0 Hz cùng với C-1b có  $\delta_C 93.9$  nên đây là đường của  $\alpha$ -D-glucose.

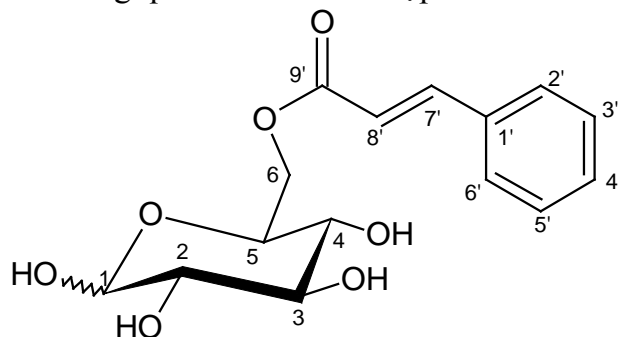
Phổ HMBC không thể hiện tương quan nào của 2 phân tử đường.

Phổ HS-MS-ESI cho mũi ion giả phân tử có  $m/z = 333.096$   $[M+Na]^+$  phù hợp với công thức phân tử  $C_{15}H_{18}O_7Na$ .

Từ sự phân tích các dữ liệu phổ nghiệm của hợp chất L1, kết hợp so sánh dữ liệu phổ của 6'-O (4-methoxy-*trans*-cinnamoyl) $\alpha/\beta$ -D-glucopyranose[54] cho thấy có sự tương đồng, ngoại trừ hợp chất L1 không có tín hiệu  $-OCH_3$  ở vị trí 4'. Do đó, công thức của hợp chất L1 được đề nghị là 6-O-cinnamoyl- $\alpha/\beta$ -D-glucopyranose.



**Hình 4.** Tương quan HMBC của hợp chất L1



**6-*O*-cinnamoyl- $\alpha/\beta$ -D-glucopyranose.**

**Bảng 7. Số liệu phổ NMR của L1**

	Vị trí	Hợp chất L1 (MeOD)			Hợp chất so sánh <sup>[54]</sup> (MeOD)
		$\delta_H$ (ppm),(J=Hz)	$\delta_C$ (ppm)	HMBC ( $^1H \rightarrow ^3C$ )	
<b>Glucose</b>	<b>1</b>	5.16 , <i>d</i> , (3.5)/ 4.56, <i>d</i> , (8.0)	93.9/98.1		94.0/98.2
	<b>2</b>	3.43, <i>dd</i> , (3.5, 8.5)/ 3.22, <i>dd</i> , (8.0, 8.5)	73.7/76.1	1, 3	74.8/73.8
	<b>3</b>	3.75, <i>dd</i> , (9.0, 9.5)/ 3.43, <i>dd</i> , (8.5, 9.0)	74.7/77.8		72.0/77.9
	<b>4</b>	3.42 (m) <sup>a</sup> / 3.41, <i>dd</i> , (9.0, 9.0)	71.7/71.9		76.9/76.2
	<b>5</b>	4.08, <i>ddd</i> , (10.0, 5.5, 2.0)/ 3.59 <i>ddd</i> , (9.0, 6.0, 2.0)	70.7/75.3	6, 5	71.8/75.6
	<b>6</b>	4.35, <i>dd</i> , (12.0, 5.5), 4.50, <i>dd</i> , (12.0, 2.0) 4.55, <i>dd</i> , (12.0, 2.0), 4.34, <i>dd</i> , (12.0, 6.0)	65.0/65.0	5, 9	64.8/64.9
<b>Cinnamoyl</b>	<b>1'</b>		135.6		127.0
	<b>2'</b>	7.59 (m) <sup>a</sup>	129.1		132.1
	<b>3'</b>	7.41 (m) <sup>a</sup>	129.9		116.5
	<b>4'</b>	7.41 (m) <sup>a</sup>	131.5		161.3
	<b>5'</b>	7.41 (m) <sup>a</sup>	129.9		116.5
	<b>6'</b>	7.59 (m) <sup>a</sup>	129.1		132.5
	<b>7'</b>	7.72, <i>d</i> , (16.0)	146.4	1', 2', 8', 9'	146.7
	<b>8'</b>	6.54, <i>d</i> , (16.0)	118.6	7', 9'	114.9
	<b>9'</b>		168.5 168.4	7', 8'	168.4

**a: tín hiệu bị chồng chập**

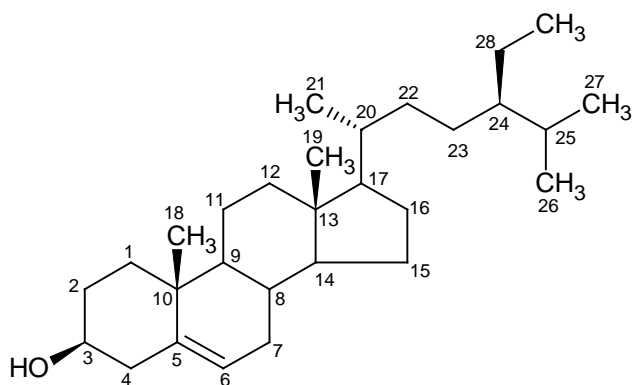
# **CHƯƠNG IV**

## **KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT**

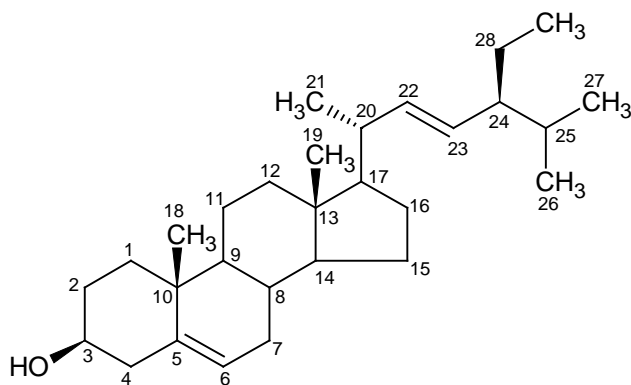
#### 4.1. KẾT LUẬN

Việc khảo sát thành phần hóa học của cây phèn đen *Phyllanthus reticulatus* Poir, thu hái tại Tân Uyên – Bình Dương đã thu được những kết quả như sau:

Từ phân đoạn **ED31** (sơ đồ 2) cao ether dầu hỏa, sử dụng các phương pháp trích ly, chiết xuất, đã cô lập được hợp chất với kí hiệu **S3**. Sử dụng các phương pháp phân tích hóa lí hiện đại NMR, kết hợp so sánh với các tài liệu tham khảo đã đề nghị cấu trúc **S3** hỗn hợp của  $\beta$ -sitosterol và stigmasterol theo tỉ lệ là 7:3.

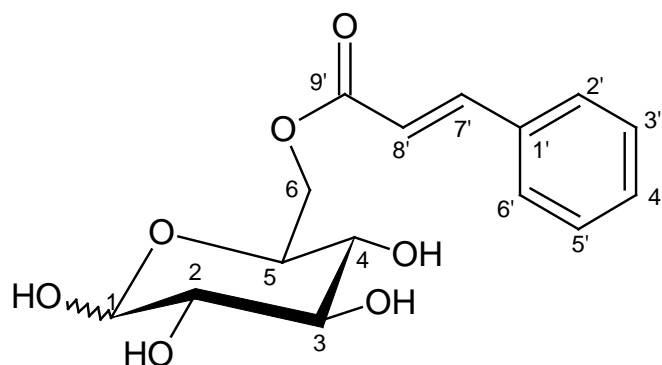


**$\beta$ -sitosterol (Sa)**



**Stigmasterol (Sb)**

Từ phân đoạn **EA232** (sơ đồ 3) cao ethyl acetate, sử dụng các phương pháp trích ly, chiết xuất, đã cô lập được hợp chất với kí hiệu **L1**. Sử dụng các phương pháp phân tích hóa lí hiện đại NMR, kết hợp so sánh với các tài liệu tham khảo đã đề nghị cấu trúc **L1** như sau:



**6-*O*-cinnamoyl- $\alpha/\beta$ -D-glucopyranose.**

## 4.2. ĐỀ XUẤT

Do hạn chế về thời gian nên còn rất nhiều phân đoạn chúng tôi chưa nghiên cứu. Trong khóa luận này, chúng tôi chỉ mới tiến hành phân lập với cao ether dầu hỏa và ethylacetate. Ngoài ra, còn nhiều phần cao khác như cao butanol và methanol chúng tôi chưa khảo sát. Vì vậy, thời gian tới chúng tôi sẽ tiếp tục nghiên cứu những loại cao và phân đoạn còn lại, đồng thời tiến hành thử hoạt tính sinh học đối với các loại cao và các hợp chất đã cô lập được.

# TÀI LIỆU THAM KHẢO

## ❖ TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT

- [1] Phan Văn Dân (2009), “Nghiên Cứu Thành Phần Hoá Học Có Trong Cây Phèn Đen (*Phyllanthus Reticulatus* Poir. Euphorbiaceae)”, *Luận văn cao học*, Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên, 12-40.
- [2] Nguyễn Văn Đậu, Lưu Hoàng Ngọc, Nguyễn Đình Chung (2003), “Nghiên cứu hoạt chất sinh học từ cây chó đẻ thân xanh (*Phyllanthus niruri* L. Euphorbiaceae)”, *Tạp chí Dược học*, 9 , 12-15.
- [3] Nguyễn Văn Đậu, Trần Thị Thu Hà (2007), “Nghiên cứu hóa thực vật cây chó đẻ răng cưa (*Phyllanthus urinaria* L. Euphorbiaceae)”. *Tạp chí dược học*, 369 , 15-18.
- [4] Lê Trần Đức (1997), “Cây thuốc Việt Nam”, NXB Nông nghiệp Hà Nội, 724-725.
- [5] Đỗ Tất Lợi (1997), “Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam”, NXB Y học Hà Nội, 65-67.
- [6] Đỗ Tất Lợi (2000), “Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam”, NXB Y học, 550-551.
- [7] Nguyễn Thượng Phong (2001), “Khảo sát công dụng làm thuốc của một số loài *Phyllanthus* ở Việt Nam”, *Tạp chí dược liệu*, 6, 72-75.
- [8] Trần Đình Thắng, Bùi Quang Chính, Hoàng Văn Lựu, Nguyễn Xuân Dũng (2007), “Phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất phenolic từ cây chó đẻ răng cưa”, *Tạp chí Dược học*, 371, 14-17.

## ❖ TÀI LIỆU TIẾNG ANH

- [9] Babady-Bila (1996), “Niruroidine, a norsecurinine-type alkaloid from *Phyllanthus niruroides*”, *Phytochemistry*, 41(5), 1441-1443.
- [10] Calixto J. B., Santos A. R. (1998), “A review of the plants of the genus *Phyllanthus*”, *Pharmacology, Medicinal Research Reviews*, 18(4), 225-258.

- [11] Chang, C.-C., Lien, Y.-C, Liu, K.C.S.C., and Lee, S.-S.(2003), "Lignans from *Phyllanthus urinaria*", *Phytochemistry*, 63(7), 825-833.
- [12] Chen Lui (1999), "A new flavanone isolated from *Rhizoma Smilacis Glabrae* and the structural requirements of its derivatives for preventing immunological hepatocyte damage", *Planta Med.*, 65, 43-46.
- [13] El-Mekkawy (1995), "Inhibitory effects of Egyptian folk medicines on human immunodeficiency virus (HIV) reverse transcriptase". *The Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 43, 641-648.
- [14] E. Omulokoli, B. Khan, S.C. Chhabra (1997), "Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants", *Journal of Ethnopharmacology*, 56, 133-137.
- [15] Farah Naaz, Saleem Javed, M.Z. Abdin (2007), "Hepatoprotective effect of ethanolic extract of *Phyllanthus amarus* Schum. et Thonn", *Ethnopharmacology*, 113(3), 503-509.
- [16] Ghosal (1996), "Active constituents of *Emblica Officinalis*: part 1. The chemistry and antioxidative effects of two new hydrolysable tannins, emblicanin A and B". *Indian Journal of Chemistry*, 35B(9), 941-948.
- [17] Herbert Kolodziej (2005), "Tannins and related compounds induce nitric oxide synthase and cytokines gene expressions in *Leishmania major*", *Bioorganic*, 13(23), 6470-6476.
- [18] Hnatyszyn, (2002), "The hypoglycemic effect of *Phyllanthus sellowianus* fractions", *Phytomedicine*, 9(6), 556-559.
- [19] Joshi (1986), "Crystalline compounds of the roots of *Phyllanthus niruri*". *Journal of the Indian Chemical society*, 58, p.102-103.
- [20] Kumar Roy, H. Dhir, A. Sharma (1992), "Modification of metal-induced micronuclei formation in mouse bone marrow erythrocytes", *Toxicology Letters*, 62(1), 9-17.
- [21] Kumaran, Karunakaran (2007), "In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India", *Food Science*, 40(2), p.344-352.
- [22] L. Yeap Foo (1995), "Amariinic acid and related ellagitannins from *Phyllanthus amarus*", *Phytochemistry*, 39(1), 217-224.



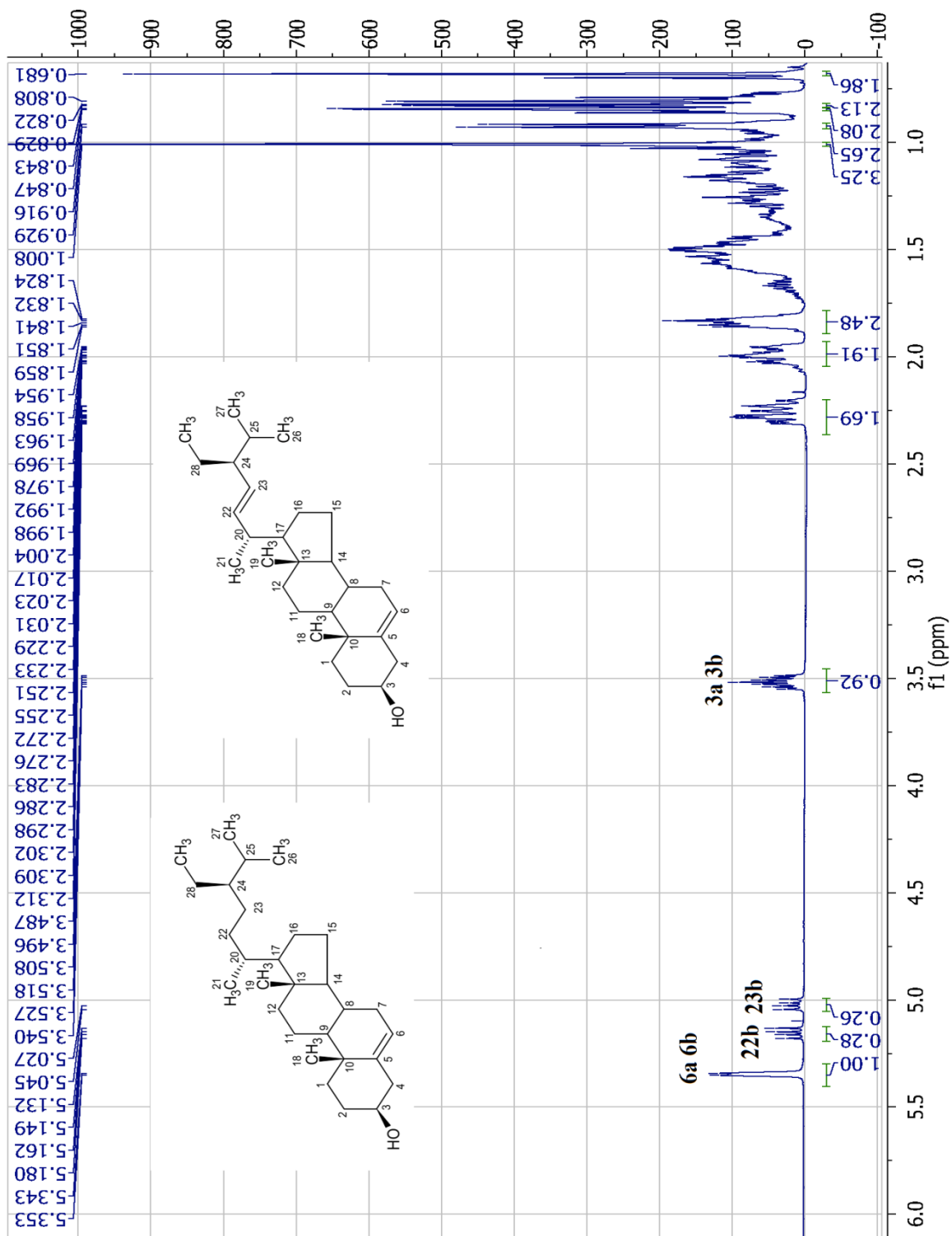
- [23] Manske R. H. F (1925), "The alkaloids chemistry and physiology", *Phytochemistry*, 15, 428.
- [24] Matsunaga, Tanaka (1992), "26-Nor-D:A-friedooleananetriol terpenes from *Phyllanthus watsonii*", *Phytochemistry*, 32(1), 165-170.
- [25] Peter J. Houghton, Tibebe Z. Woldemariam (1996), "Two securinega-type alkaloids from *Phyllanthus amarus*", *Phytochemistry*, 43(3), 715-717.
- [26] Pettit GR, Schaufelberger DE, Nieman RA, Dufresne C, Saenz-Renauld JA (1990), "Antineoplastic agents, 177. Isolation and structure of phyllanthostatin 6", *Journal of Organic Chemistry*, 53(6), 1406-1413.
- [27] Pettit GR, Cragg GM, (1984), "Antineoplastic Agents 104. Isolation and Structure of the *Phyllanthus-Acuminatus* Euphorbiaceae Glycosides". *Journal of Organic Chemistry*, 49, 4258-4266.
- [28] Pettit GR, Cragg GM, Suffness M (1985), "Phyllanthostatin 1 Phyllanthoside Orthoacid Rearrangement". *Journal of Organic Chemistry*, 50, 5060-5063.
- [29] Rajasubramaniam, Pardha Saradhi (1997), "Rapid multiplication of *Phyllanthus fraternus*: a plant with anti-hepatitis viral activity", *Industrial Crops and Products*, 6(1), 35-40.
- [30] Rajkishor S. Negi, Thawra M. Fakhir (1998), "An alkaloid from *Phyllanthus simplex*", *Phytochemistry*, 27(9), 3027-3028.
- [31] Satyanarayana, Venkateswarlu (1991), "Isolation, structure and synthesis of new diarylbutane lignans from *Phyllanthus niruri*", *Tetrahedron*, 47(42), 8931-8940.
- [32] Sengupta, Mukhopadhyay (1966), "Terpenoids and related compounds-VII: Triterpenoids of *Phyllanthus acidus* Skeels", *Phytochemistry*, 5(3), 531-534.
- [33] S. F. Aripova (1983), "Tropane alkaloids of two species of plants of the *Phyllanthus discoides*", 16, 677.
- [34] Shakil, Pankaj (2008), "Nematicidal prenylated flavanones from *Phyllanthus niruri*", *Phytochemistry*, 63(3), 759-764.

- [35] Shunyo Matsunaga, Reiko Tanaka, (1988), “Revised structure of trichadenic acid B”, *Tetrahedron Letters*, 29(37), 4751-4754.
- [36] Sutthivaiyakit, Nakorn N. (2003), “A new guaiane sesquiterpene from the roots of *Phyllanthus oxyphyllus*”, *Tetrahedron*, 59(50), 9991-9995.
- [37] Tanaka, K. Masuda and S. Matsunaga (1993), “Lup-20(29)-en-3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -diol and ocotillol-II”, *Phytochemistry*, 32(2), 472-474.
- [38] Thales R. Cipriani, Caroline G. Mellinger (2008), “Acidic heteroxylans from medicinal plants and their anti-ulcer activity”, *Carbohydrate Polymers*, 74(2), 274-278.
- [39] Vuyelwa J. N., Neil R. C. (2008), “Triterpenoids from the African tree *Phyllanthus polyanthus*”, *Phytochemistry Letters*, 1(1), 11-17.
- [40] Wai-Haan Hui, Man-Moon Li, Kam-Moon Wong (1976), “A new compound, 21 $\alpha$ -hydroxyfriedel-4(23)-en-3-one and other triterpenoids from *Phyllanthus reticulatus*”, *Phytochemistry*, 5(15), 797-798.
- [41] Wanxing Wei, Yuanjiang Pan (2005), “Carboxylic acids from *Phyllanthus urinaria*”, *Chemistry of Natural Compounds*, 41(1), 17-20.
- [42] Xiaoli Liu, Chun Cui, M. Zhao (5/2008), “Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit”, *Journal of Food*, 21(3), 219-228.
- [43] Ying-Jun Zhang (2006). “A novel highly oxygenated norbisabolane from the roots of *Phyllanthus emblica*”, *Faculty of Pharmaceutical Sciences, Japan*, 1-14.
- [44] Zhang L. Z., Guo Y. J. (2000), “Studies on chemical constituents of *Phyllanthus urinaria* L.”, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 10(25), 615-617.
- [45] Zhang, Y. J., Tanaka, T., and Iwamoto (2000), “Novel Norsesquiterpenoids from the roots of *Phyllanthus emblica*”, *Journal of Natural Products*, 63(11), 1507-1511.
- [46] Zhang (2002), “Two new acylated flavanone glycosides from the leaves and branches of *Phyllanthus emblica*”, *Chem. Pharm. Bull.*, 50, 841.

- [47] Joshi KC, Singh P, Mehra A. (1981), "Crystalline components of the roots of *Phyllanthus reticulatus*", *J Ind Chem Soc* ,58, 102–103.
- [48]The Health Bureau of Guangxi Province (1974), "Compilation of Medicinal Herbs in Guangxi", II, *Guangxi People Press, Nanning*, 1588.
- [49]Ming-Sheng Lana, Jian-Xiong Ma, Chang-Heng Tan, Song Wei, and Da-Yuan Zhu (2010), "Chemical Constituents of *Phyllanthus reticulatus*", *Helvetica Chimica Acta*, 93, 2276.
- [50]Jian-Xiong Ma , Ming-Sheng Lan , Shi-Jin Qu, Jun-Jie Tan, Hong-Feng Luo, Chang-Heriter pene Glucoside and other constituents from *Spirara canesens*Heng Tan & Da-Yuan Zhu (2012), "Arylnaphthalene lignan glycosides and other constituents from *Phyllanthus reticulatus*", *Journal of Asian Natural Products Research*, 14, 1073-1077.
- [51]Kotaro Takahashi, Toshie Nakagawa (1966), "Studies on constituents of medicinal plants, the stereochemistry of paulowin and isopaulowin", *Chem . Pharm . Bull.*  , 14(6), 641-647.
- [52]Robert S. Ward (1997), "Lignan, neolignan and related compounds", *Nat. Prod. Rep.* , 14, 43-74.
- [53] L.Jonh Goad, Toshihiro Akihasa (1997) "Analysis of Sterol", Blackie Acedemic & profestional. (378-380)
- [54] M.Iqbal Chouchary, Nadra Naheed, Ahmed AbbasKhan (2009), *Sajjad Al, Atta-ur-Rahman*" Phytochemistry 1467-1473.

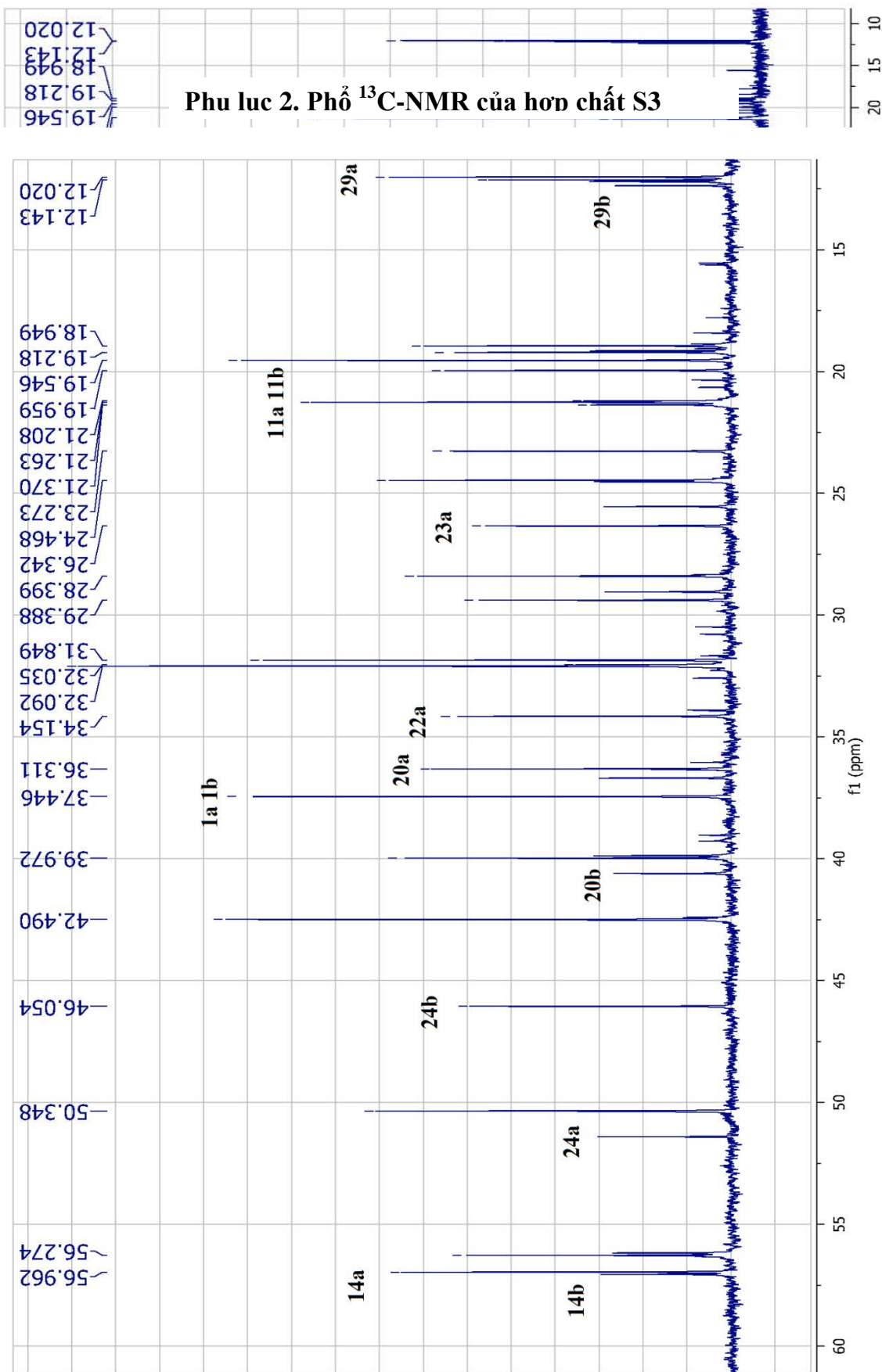
# PHỤ LỤC

# S3-CDCL3-1H

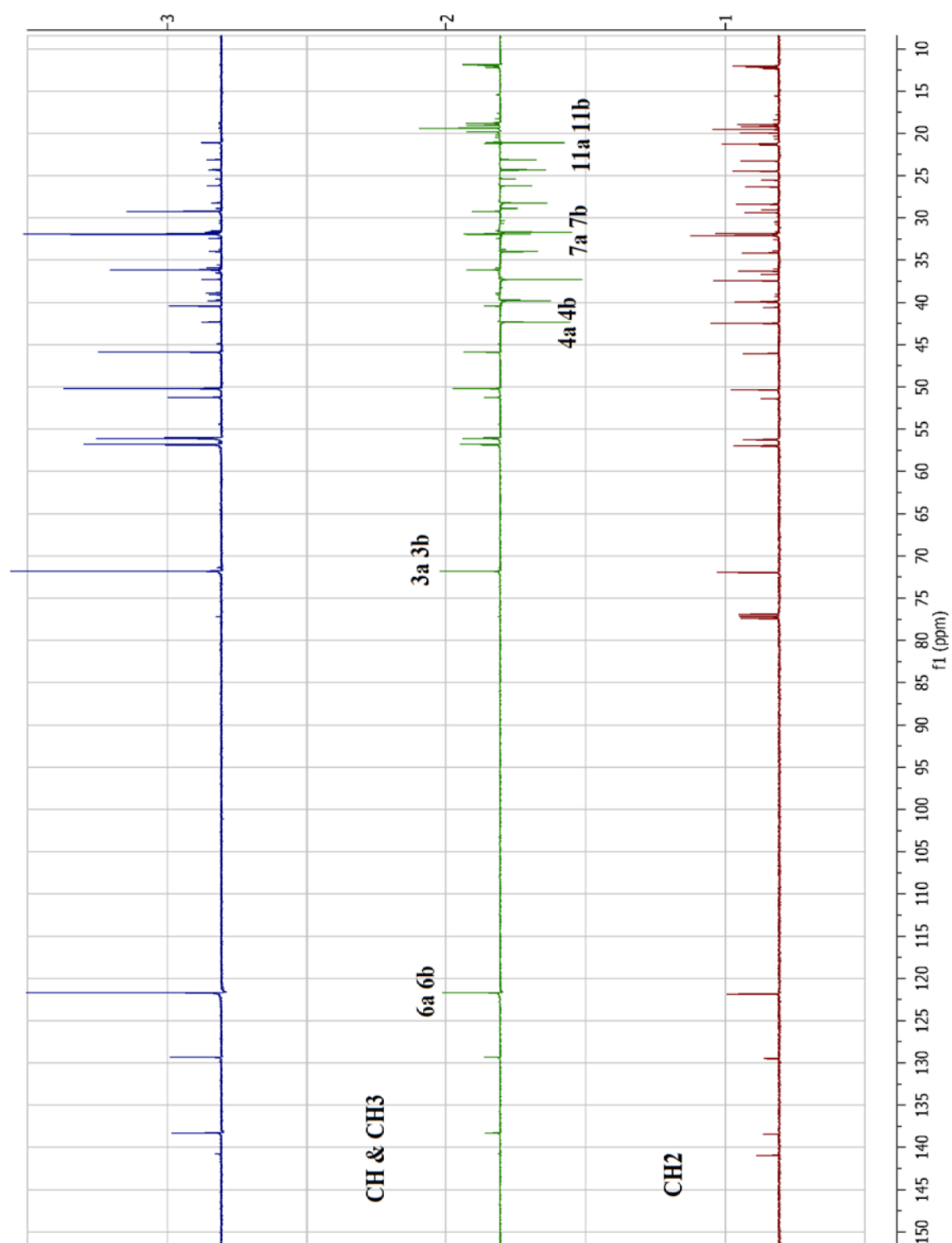


Phu luc 1. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất S3

# **S3-CDCL3-13C**

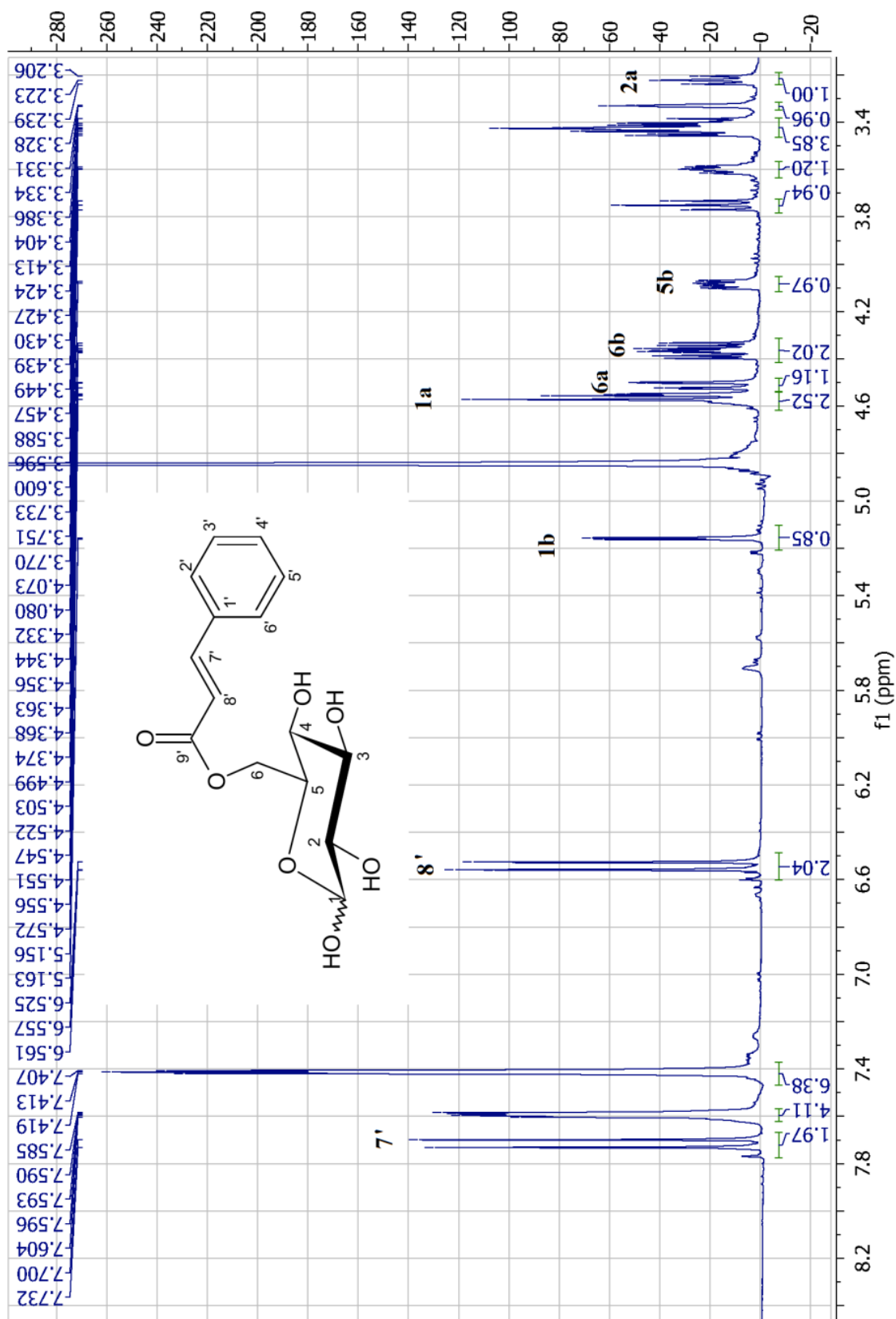


## S3-CDCL3-DEPT



**Phụ lục 4. Phổ DEPT-NMR của hợp chất S3**

# L1-MEOD-1H



Phu luc 5. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất L1



## Display Report

### Analysis Info

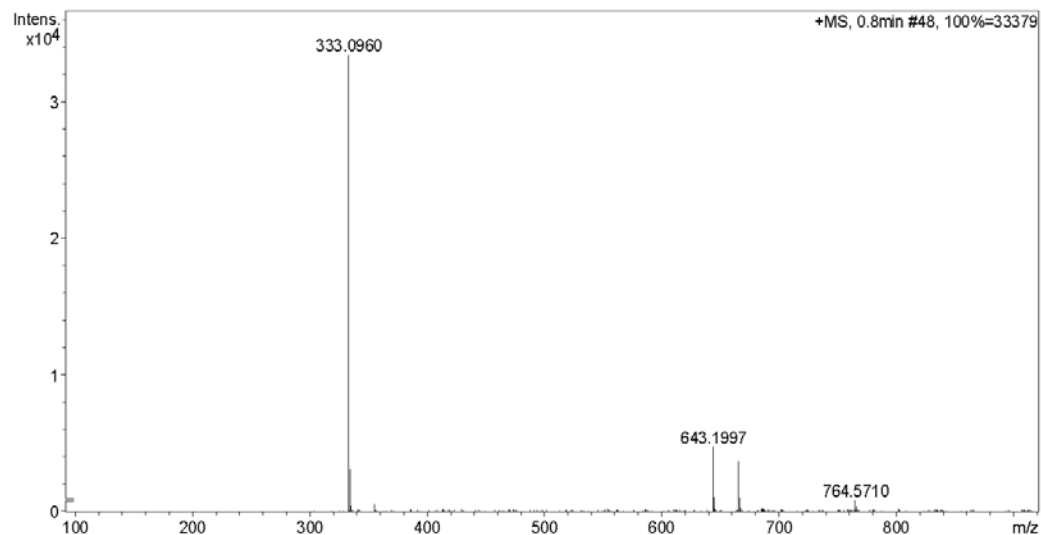
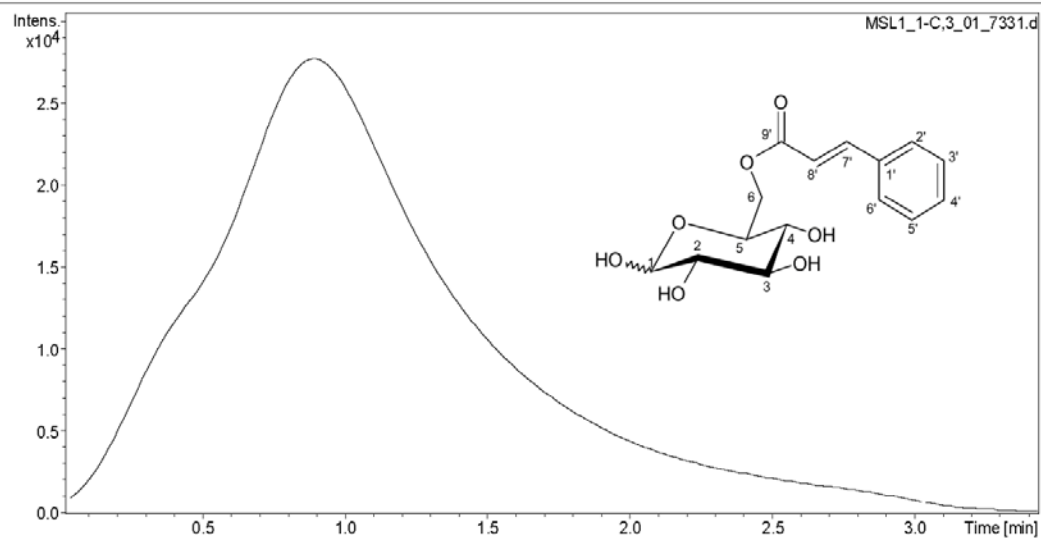
Analysis Name D:\Data\data dmm 2013\MSL1\_1-C,3\_01\_7331.d  
Method dmm.m  
Sample Name MSL1  
Comment

Acquisition Date 4/25/2013 6:41:17 PM

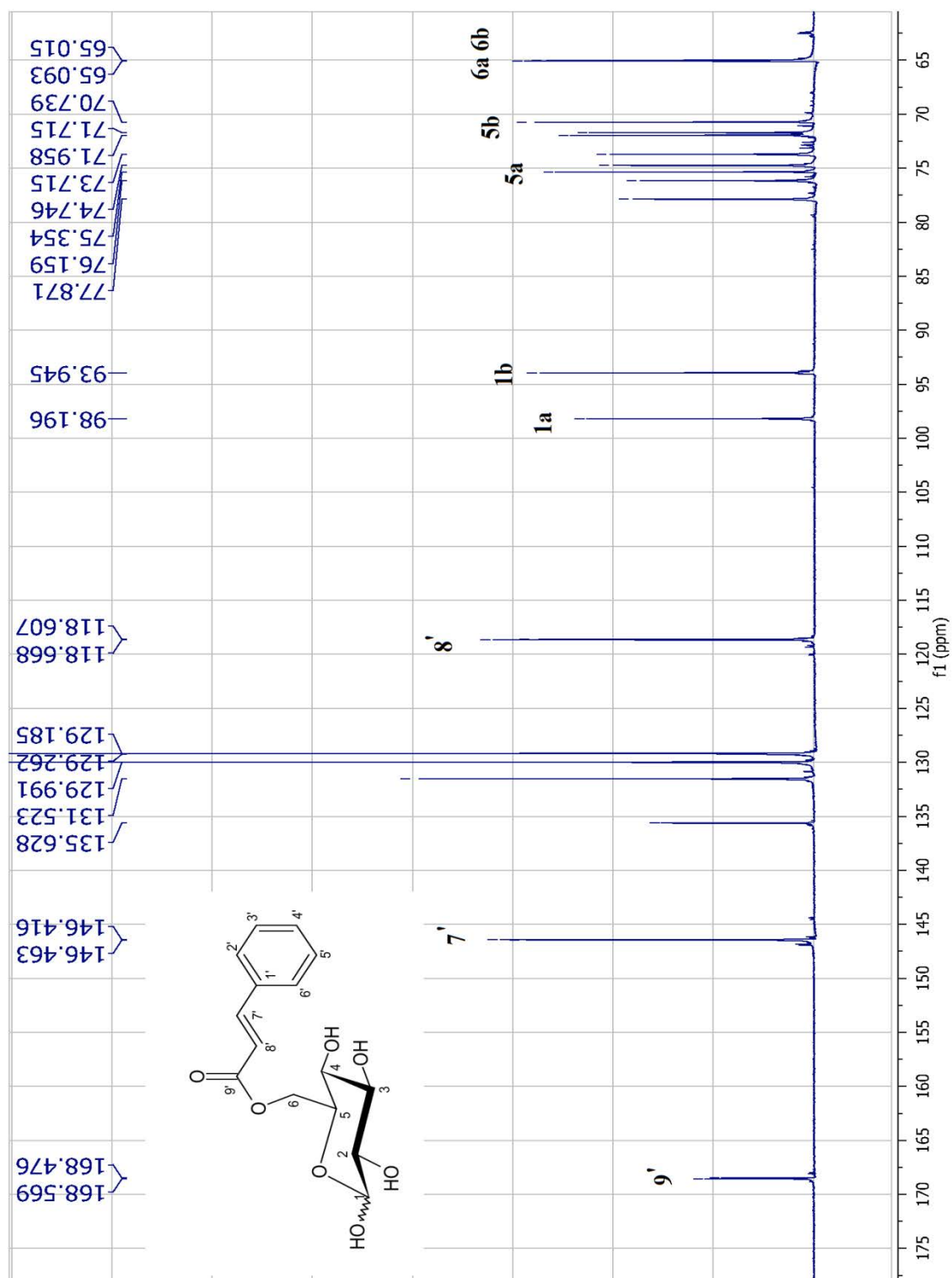
Operator Mai  
Instrument micrOTOF-Q 10187

### Acquisition Parameter

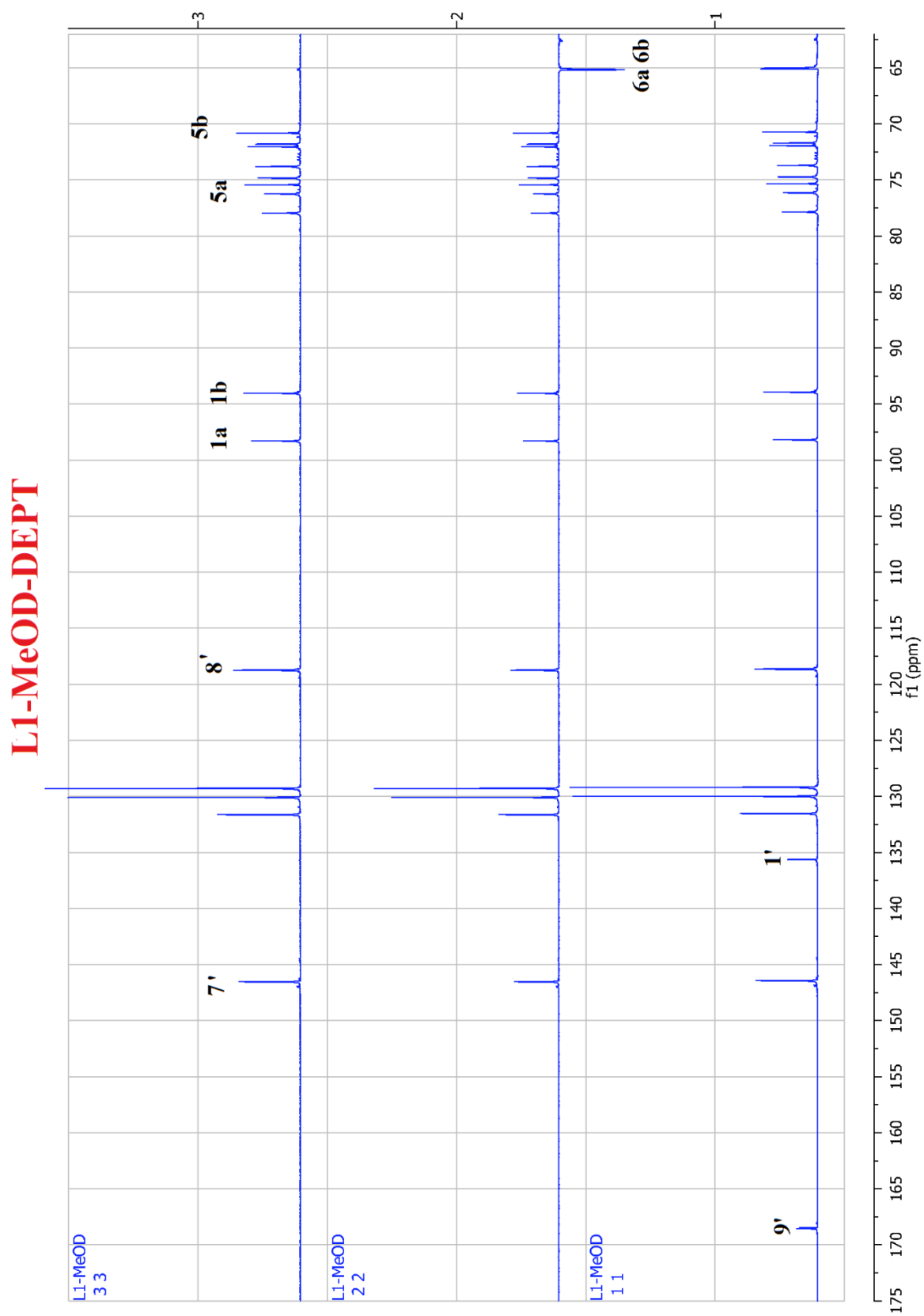
Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	1.2 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	100 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	8.0 l/min
Scan End	3000 m/z	Set Collision Cell RF	650.0 Vpp	Set Divert Valve	Source



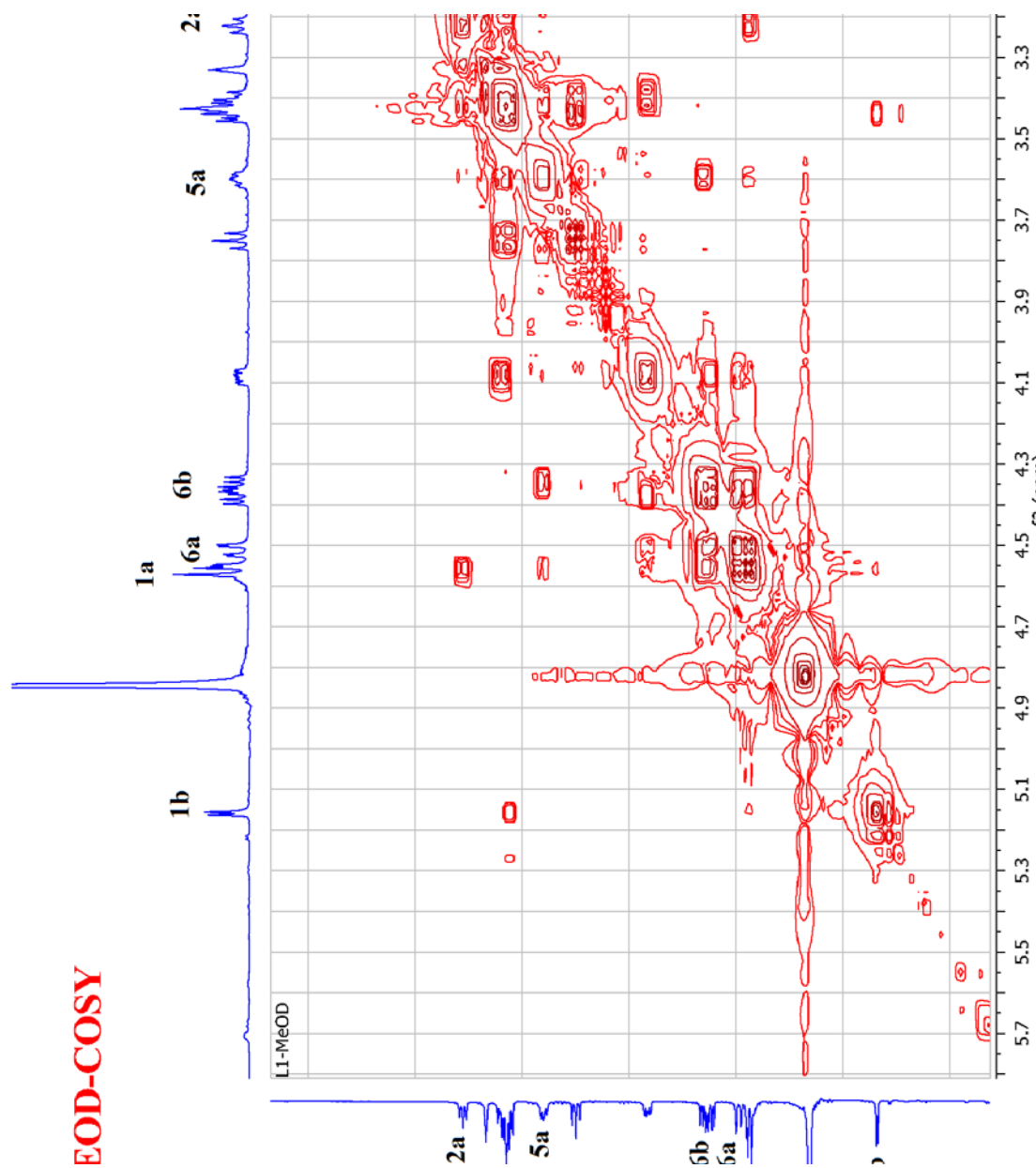
## L1-MEOD-13C



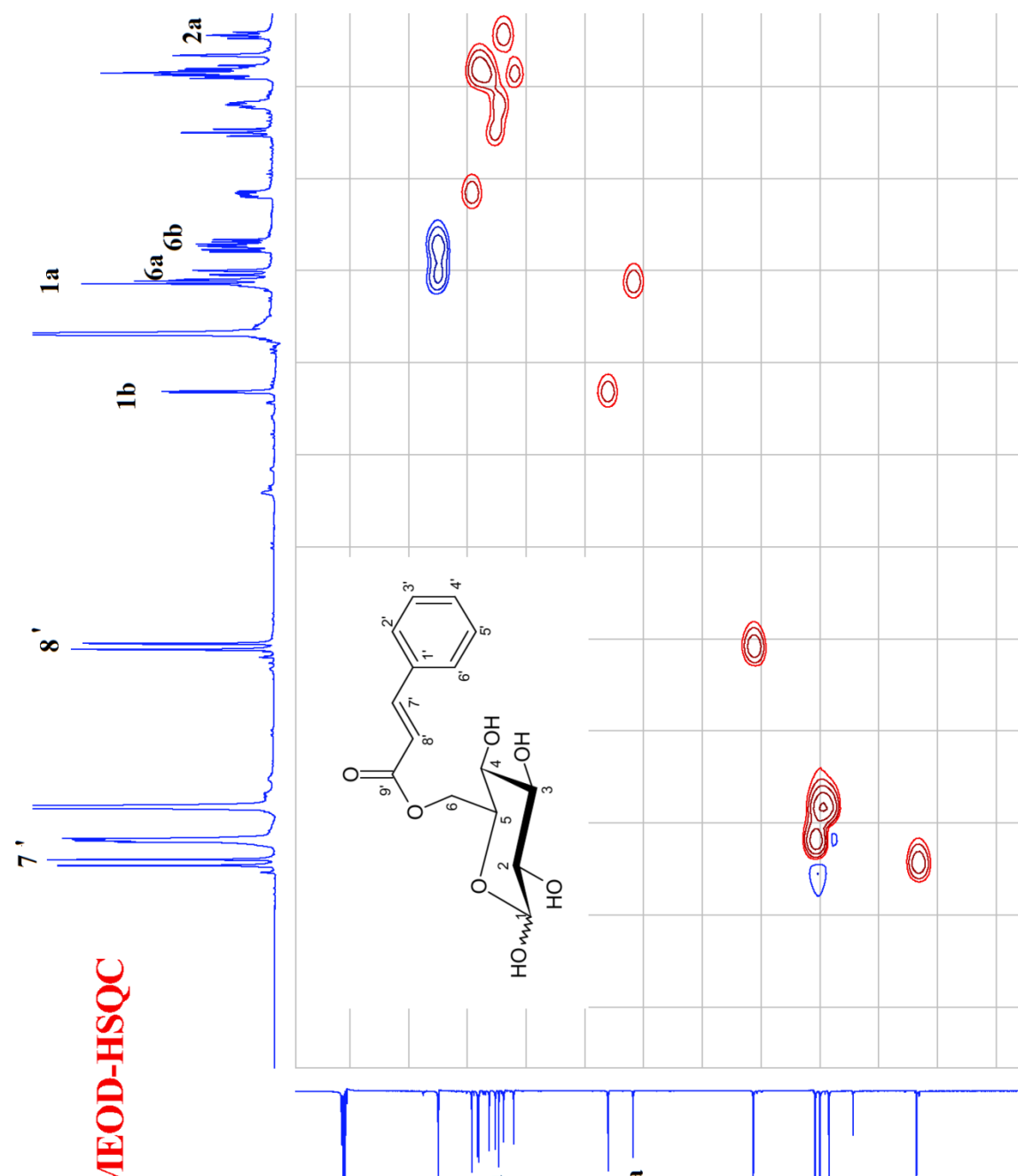
Phụ lục 7. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất L1



**Phụ lục 8. Phổ DEPT-NMR của hợp chất L1**



**Phụ lục 9. Phổ COSY-NMR của hợp chất L1**



Phụ lục 10. Phổ HSQC-NMR của hợp chất L1

# L1-MEOD-HMBC

