

QUYẾT ĐỊNH

**Về việc bổ nhiệm chức danh phó giáo sư, nhiệm kỳ 2025-2030
cho ông Hoàng Phú Hiệp**

HIỆU TRƯỞNG TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

Căn cứ Nghị định số 31/CP ngày 04 tháng 4 năm 1994 của Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái Nguyên;

Căn cứ Thông tư số 10/2020/TT-BGDĐT ngày 14 tháng 5 năm 2020 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của đại học vùng và các cơ sở giáo dục đại học thành viên;

Căn cứ Nghị quyết số 39/NQ-HĐĐHTN ngày 19 tháng 11 năm 2021 của Hội đồng Đại học Thái Nguyên ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Thái Nguyên; Nghị quyết số 58/NQ-HĐĐHTN ngày 08 tháng 7 năm 2022 về việc sửa đổi bổ sung điều 11 của Quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Thái Nguyên được ban hành kèm theo Nghị quyết số 39/NQ-HĐĐHTN ngày 19 tháng 11 năm 2021 của Hội đồng Đại học Thái Nguyên;

Căn cứ Nghị quyết số 40/NQ-HĐT ngày 29 tháng 12 năm 2020 của Hội đồng trường Trường Đại học Sư phạm ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Trường Đại học Sư phạm; Nghị quyết số 54/NQ-HĐT ngày 12 tháng 12 năm 2022 của Hội đồng trường Trường Đại học Sư phạm về việc Sửa đổi, bổ sung một số điều và sửa đổi phụ lục của Quy chế tổ chức và hoạt động của Trường Đại học Sư phạm ban hành kèm theo Nghị quyết số 40/NQ-HĐT ngày 29 tháng 12 năm 2020 của Hội đồng trường Trường Đại học Sư phạm; Nghị quyết số 72/NQ-HĐT ngày 24 tháng 10 năm 2024 về việc Sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị quyết số 40/NQ-HĐT ngày 29 tháng 12 năm 2020 của Hội đồng trường ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Trường Đại học Sư phạm;

Căn cứ Quyết định số 37/2018/QĐ-TTg ngày 31 tháng 8 năm 2018 của Thủ tướng Chính phủ ban hành Quy định tiêu chuẩn, thủ tục xét công nhận đạt tiêu chuẩn và bổ nhiệm chức danh giáo sư, phó giáo sư; thủ tục xét hủy bỏ công nhận chức danh và miễn nhiệm chức danh giáo sư, phó giáo sư; Quyết định số 25/2020/QĐ-TTg ngày 31 tháng 8 năm 2020 của Thủ tướng Chính phủ Sửa đổi, bổ sung một số điều của Quyết định số 37/2018/QĐ-TTg ngày ngày 31 tháng 8 năm 2018 của Thủ tướng Chính phủ ban hành Quy định tiêu chuẩn, thủ tục xét công nhận đạt tiêu chuẩn và bổ nhiệm chức danh giáo sư, phó giáo sư; thủ tục xét hủy bỏ công nhận chức danh và miễn nhiệm chức danh giáo sư, phó giáo sư;



Căn cứ Quyết định số 89/QĐ-HĐGSNN ngày 19 tháng 11 năm 2024 của Chủ tịch Hội đồng giáo sư Nhà nước công nhận đạt tiêu chuẩn chức danh giáo sư, phó giáo sư năm 2024;

Căn cứ Biên bản cuộc họp Hội đồng xét bổ nhiệm chức danh giáo sư, phó giáo sư năm 2024 của Trường Đại học Sư phạm ngày 13 tháng 12 năm 2024;

Theo đề nghị của Trường phòng Phòng Hành chính - Tổ chức.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Bổ nhiệm ông Hoàng Phú Hiệp (sinh ngày 15/8/1984, quê quán: Bình Lục, Hà Nam), tiến sĩ, Khoa Sinh học vào chức danh phó giáo sư ngành Sinh học, chuyên ngành Công nghệ sinh học, nhiệm kỳ 2025-2030.

Điều 2. Ông Hoàng Phú Hiệp thực hiện nhiệm vụ của phó giáo sư tại Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên.

Quyền và nghĩa vụ của ông Hoàng Phú Hiệp được thực hiện theo quy định hiện hành của Nhà nước.

Việc đánh giá hằng năm đối với phó giáo sư được thực hiện như quy định hiện hành đối với giảng viên.

Điều 3. Quyết định có hiệu lực kể từ ngày 01 tháng 01 năm 2025.

Các Trường đơn vị: Phòng Hành chính - Tổ chức, Phòng Kế hoạch - Tài chính, Khoa Sinh học, các đơn vị, cá nhân có liên quan và ông Hoàng Phú Hiệp chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Bộ Giáo dục và Đào tạo (để b/c);
- ĐHTN (để b/c);
- Như Điều 3;
- Lưu: VT, HCTC (11).



CỘNG HÒA PHÁP

BẢN DỊCH

BỘ ĐÀO TẠO SAU ĐẠI HỌC, NGHIÊN CỨU VÀ ĐỔI MỚI
CỘNG ĐỒNG CÁC ĐẠI HỌC VÀ CƠ SỞ ĐÀO TẠO ĐẠI HỌC
BOURGOGNE - FRANCE - COMTÉ

BẰNG TIẾN SĨ

Căn cứ luật giáo dục, nhất là các điều khoản L.612-7, L.613-1, D.613-3 và D.613-6 ;

Căn cứ luật nghiên cứu, nhất là điều khoản L.412-1 ;

Căn cứ nghị định ngày 28/03/2017 liên quan tới việc ủy nhiệm cho cộng đồng các đại học và cơ sở đào tạo đại học Bourgogne - France - Comté có đủ tư cách cấp bằng tốt nghiệp quốc gia ;

Căn cứ vào hồ sơ minh chứng được cung cấp bởi ông NGUYỄN ĐỨC HÙNG, sinh ngày 12 tháng 7 năm 1986 tại Thái Nguyên (VIỆT NAM) nhằm đăng ký theo học Tiến sỹ ;

Căn cứ biên bản của hội đồng đào tạo chứng nhận sỹ chứng nhận người có tên nói trên đã bảo vệ thành công ngày 9 tháng 11 năm 2020 luận án Tiến sỹ có tiêu đề "Tăng cường các sản phẩm thuốc có nguồn gốc tự nhiên: từ chiết xuất tới đóng gói viên nang", được nghiên cứu và chuẩn bị tại trường đào tạo Tiến sỹ "Môi trường Sức khỏe", trước một hội đồng bảo vệ luận án do Bà Dominique LAURAIN-MATTAR, Giáo sư đại học làm Chủ Tịch hội đồng, và gồm Bà Odile CHAMBIN, Giáo sư đại học, Bà Anne SAPIN MINET, P.Giáo sư, Bà Anne-Claire MITAINE-OFFER, Giáo sư đại học ;

Căn cứ quyết định của hội đồng bảo vệ luận án :

Bằng **TIẾN SĨ** lĩnh vực **DƯỢC HỌC**, được thực hiện tại Đại học Dijon, được cấp cho ông **NGUYỄN ĐỨC HÙNG**, niên khóa đại học 2019-2020 và trao cho ông học vị Tiến sỹ,

để ông được hưởng các quyền và đặc quyền gắn với văn bằng này.

Được làm ngày 5 tháng 2 năm 2021

Người được áp bằng
Nguyễn Đức Hùng
Số: UBFC 15319148

Tịch Đại học BFC
Dominique GREVEY
(ký, đóng dấu)
201920200185

Giám đốc Viện hàn lâm Vùng
Chương án đại học (ký, đóng dấu)
Jean-Francois CHANET

Nguyễn Đức Hùng

R É P U B L I Q U E F R A N Ç A I S E

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR, DE LA RECHERCHE ET DE L'INNOVATION COMMUNAUTÉ D'UNIVERSITÉS ET ÉTABLISSEMENTS UNIVERSITÉ BOURGOGNE - FRANCHE-COMTÉ

DOCTORAT

Vu le code de l'éducation, notamment ses articles L.612-7, L.613-1, D.613-3 et D.613-6 ;

Vu le code de la recherche, notamment son article L.412-1 ;

Vu l'arrêté du 28 mars 2017 relatif à l'accréditation de la Communauté d'universités et établissements Bourgogne Franche-Comté habilitant à délivrer des diplômes nationaux ;

Vu les pièces justificatives produites par Monsieur Duc Hung NGUYEN né le 12 juillet 1986 à Thai Nguyen (Vietnam) en vue de son inscription en doctorat ;

Vu le procès-verbal du jury attestant que l'intéressé a soutenu le 9 novembre 2020 une thèse portant sur le sujet suivant : « Valorisation des produits médicamenteux naturels : de l'extraction à l'encapsulation »

préparée au sein de l'école doctorale "Environnements Santé", devant un jury présidé par Mme Dominique LAURAIN-MATTAR, Professeur des Universités, et composé de Mme Odile CHAMBIN, Professeur des Universités, Mme Anne SAPIN-MINET, Maître de conférences, Mme Anne-Claire MITAINE-OFFER, Professeur des Universités ;

Vu la délibération du jury :

Le diplôme de **DOCTORAT en PHARMACIE**, préparé au sein de l'Université de Dijon, est délivré à Monsieur Duc Hung NGUYEN au titre de l'année universitaire 2019-2020 et confère le grade de docteur, pour en jouir avec les droits et prérogatives qui y sont attachés.

Fait le 5 février 2021

Le titulaire

Duc Hung NGUYEN

N° UBFC 15319148

201920200185

Le Président d'UBFC
Dominique GREVEY



Duc Hung

Jean-François CHANET

Le recteur de la région académique
Chancelier des universités

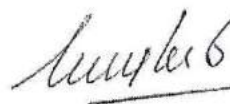


Tôi: **Hoàng Công Đình**, chứng minh nhân dân số 090679420, cấp ngày 19/03/2011, tại Công an tỉnh Thái Nguyên.

Cam đoan đã dịch chính xác, phù hợp với nội dung Văn bản tiếng Pháp sang tiếng Việt, được chụp đính kèm theo.

Ngày 27 tháng 05 năm 2021

NGƯỜI DỊCH



Hoàng Công Đình

TH
NC
G
TH

LỜI CHỨNG CỦA CÔNG CHỨNG VIÊN

Hôm nay, ngày 27 tháng 05 năm 2021 (Ngày hai mươi bảy tháng năm, năm hai nghìn không trăm hai mươi mốt).

Tại Văn phòng Công chứng Bùi Hạ, địa chỉ: tổ 04, phường Trung Vương, thành phố Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên.

Tôi: **Bùi Thị Hạ**, Công chứng viên, trong phạm vi trách nhiệm của mình theo quy định của pháp luật,

CHỨNG NHẬN:

- Bản dịch này do ông Hoàng Công Đình, cộng tác viên phiên dịch của Văn phòng Công chứng Bùi Hạ, tỉnh Thái Nguyên dịch từ tiếng Pháp sang tiếng Việt;

- Chữ ký trong bản dịch đúng là chữ ký của ông Hoàng Công Đình;

- Nội dung bản dịch chính xác, không vi phạm pháp luật, không trái đạo đức xã hội;

- Văn bản công chứng này được lập thành 06 (sáu) bản chính, mỗi bản gồm 04 tờ, 04 trang, lưu 01 bản Văn phòng Công chứng Bùi Hạ, tỉnh Thái Nguyên.

Số công chứng*78*....., quyền số 01/2021/TP/CC-SCC/BD



Bùi Thị Hạ

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR, DE LA RECHERCHE ET DE L'INNOVATION
COMMUNAUTÉ D'UNIVERSITÉS ET ÉTABLISSEMENTS UNIVERSITÉ BOURGOGNE - FRANCHE-COMTÉ

DOCTORAT

Vu le code de l'éducation, notamment ses articles L.612-7, L.613-1, D.613-3 et D.613-6 ;

Vu le code de la recherche, notamment son article L.412-1 ;

Vu l'arrêté du 28 mars 2017 relatif à l'accréditation de la Communauté d'universités et établissements Bourgogne Franche-Comté l'habilitant à délivrer des diplômes nationaux ;

Vu les pièces justificatives produites par Monsieur Duc Hung NGUYEN né le 12 juillet 1986 à Thai Nguyen (Vietnam) en vue de son inscription en doctorat ;

Vu le procès-verbal du jury attestant que l'intéressé a soutenu le 9 novembre 2020 une thèse portant sur le sujet suivant : « Valorisation des produits médicamenteux naturels : de l'extraction à l'encapsulation »

préparée au sein de l'école doctorale "Environnements Santé", devant un jury présidé par Mme Dominique LAURAIN-MATTAR, Professeur des Universités, et composé de Mme Odile CHAMBIN, Professeur des Universités, Mme Anne SAPIN-MINET, Maître de conférences, Mme Anne-Claire MITAINE-OFFER, Professeur des Universités ;

Vu la délibération du jury :

Le diplôme de **DOCTORAT en PHARMACIE**, préparé au sein de l'Université de Dijon,

est délivré à **Monsieur Duc Hung NGUYEN**

au titre de l'année universitaire 2019-2020

et confère le **grade de docteur**,

pour en jouir avec les droits et prérogatives qui y sont attachés.

Fait le 5 février 2021

Le titulaire

Duc Hung NGUYEN

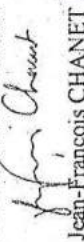
N° UBFC 15319148

201920200185



Le Président d'UBFC
Dominique GREVEY

Le recteur de la région académique,
Chancelier des universités


Jean-François CHANET



GIẤY CÔNG NHẬN

CỤC TRƯỞNG CỤC QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG

CÔNG NHẬN

Văn bằng của Trường Đại học Bourgogne - Franche-Comté, Cộng hòa Pháp

Số hiệu: UBFC 15319148; cấp ngày 05 tháng 02 năm 2021 cho:

Ông Nguyễn Đức Hùng

Sinh ngày 12 tháng 7 năm 1986

Là văn bằng: Tiến sĩ

Chuyên ngành đào tạo: Dược học

Thời gian đào tạo: 04 năm

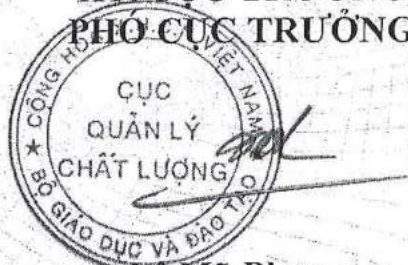
Hình thức đào tạo: Trực tiếp tại Cộng hòa Pháp

Nhận xét: Trình độ đào tạo tương đương Bậc 8 trong Khung trình độ quốc gia Việt Nam

Hà Nội, ngày 25 tháng 7 năm 2022

KT. CỤC TRƯỞNG

PHÓ CỤC TRƯỞNG



Lê Mỹ Phong



Số vào sổ cấp giấy công nhận: 025.10/2022/TS

Địa chỉ cổng thông tin điện tử truy cập để kiểm tra: <https://naric.edu.vn/front/tra-cuu-van-bang>

SOCIALIST REPUBLIC OF VIET NAM

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM



HIỆU TRƯỞNG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM -
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

THE RECTOR
UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND FORESTRY -
THAI NGUYEN UNIVERSITY

confers

cấp

THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN AGRICULTURE

BẰNG TIẾN SĨ

NÔNG NGHIỆP

Dinh dưỡng và thức ăn chăn nuôi

Animal nutrition and feed

Upon: Mr. TU QUANG TRUNG

Cho ông: TỬ QUANG TRUNG

Born on: 10 April 1988

Sinh ngày: 10/4/1988

Given under the seal of University of Agriculture and Forestry -
Thai Nguyen University

Thái Nguyên, ngày 03 tháng 01 năm 2018

HIỆU TRƯỞNG



PGS.TS. Trần Văn Điền

Serial number: A 0088

Số hiệu: A 0088

Reference number: 0028

Số vào sổ cấp bằng: 0028

CHỨNG THỰC
BẢN SAO NÀY ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Ngày: 13-02-2025
0067 01
Số chứng thực:.....Quyển số:.....



TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM -
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
KT: CHỦ TỊCH
PHÓ CHỦ TỊCH
Luyện Thanh Vân

SOCIALIST REPUBLIC OF VIET NAM
Independence - Freedom - Happiness

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc



THE PRESIDENT OF THAI NGUYEN UNIVERSITY

Confers

THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY

In Agriculture

Upon: Ms. *Luong Thi Thuy Van*

Born on: 26 February 1978 in Lang Son

GIÁM ĐỐC ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

BẰNG TIẾN SĨ

Cần giữ kết luận của Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Đại học
hợp ngày 05 tháng 08 năm 2012 tại Đại học Thái Nguyên

CÔNG NHẬN HỌC VỊ VÀ CẤP BẰNG
TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP

Cho bà: *Luong Thi Thuy Van*

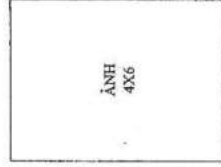
Sinh ngày: 26 / 02 / 1978 tại *Lang Son*

Thái Nguyên, ngày 27 tháng 12 năm 2012



PGS.TS. Đặng Kim Vui

CÔNG CHỨNG VIÊN
Âu Văn Đại



Given under the seal of Thai Nguyen University

Reference number: 0051

Serial number: 0051

Quyết định cấp bằng số: 1750/QĐ-ĐHTN

Số vào sổ: 0051

Số bằng: 0051

CHỨNG THỰC
BẢN SAO ĐÚNG VỚI BẢN CHÍNH
Ngày: 20-07-2022
Số chứng thực: 0578-4-01BS

SOCIALIST REPUBLIC OF VIET NAM

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM



THE PRESIDENT OF
THAI NGUYEN UNIVERSITY

Confers

THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN BIOLOGY

Major: Ecology

Upon: Mr. NGUYEN VU BAO

Born on: 04 October 1989 in *Thai Binh*

Given under the seal of Thai Nguyen University

Serial number: 6831

Reference number: 7674

GIÁM ĐỐC
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

Cấp

BẰNG THẠC SĨ

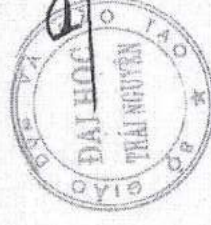
SINH HỌC

Chuyên ngành: Sinh thái học

Cho ông: NGUYỄN VŨ BẢO

Sinh ngày: 04 / 10 / 1989 tại *Thai Binh*

Thai Nguyen, ngày 29 tháng 12 năm 2014
GIÁM ĐỐC



Số hiệu: 6831

Số vào sổ cấp bằng: 7674

GS.TS. Đặng Kim Vui

**CÁC QUYẾT ĐỊNH TUYỂN DỤNG/
HỢP ĐỒNG LAO ĐỘNG CỦA GIẢNG VIÊN
THAM GIA ĐỀ ÁN MỞ NGÀNH
SINH HỌC ỨNG DỤNG**

Mục lục**Trang**

S TT	Họ và tên, ngày sinh	Học hàm/ học vị	Ngành đào tạo ghi theo văn bằng tốt nghiệp	Trong Quyển 1 – Phần 3
1	Vũ Thị Thu Thủy	PGS.TS	Di truyền học	34
2	Nguyễn Thị Ngọc Lan	PGS.TS	Sinh lý học thực vật	34
3	Chu Hoàng Mậu	GS.TS	Di truyền học	34
4	Từ Quang Tân	PGS.TS	Di truyền học chọn giống	34
5	Sỹ Danh Thường	PGS.TS	Thực vật học	34
6	Nguyễn Hữu Quân	PGS.TS	Công nghệ sinh học	34
7	Hoàng Văn Ngọc	PGS.TS	Động vật học	34
8	Phạm Thị Thanh Nhân	PGS.TS	Di truyền học	34
9	Nguyễn Thị Thu Nga	PGS.TS	Di truyền học	34
10	Hoàng Phú Hiệp	PGS.TS	Di truyền học	34
11	Nguyễn Đức Hùng	PGS.TS	Dược học	34
12	Từ Quang Trung	Tiến sĩ	Dinh dưỡng và thức ăn	34
13	Lương Thị Thúy Vân	Tiến sĩ	Trồng trọt	34
14	Nguyễn Vũ Bảo	Thạc sĩ	Sinh thái học	34

Thái nguyên, ngày 16 tháng 6 năm 2004.

QUYẾT ĐỊNH CỦA HIỆU TRƯỞNG
V/V thu nhận và phân công công tác cán bộ

HIỆU TRƯỞNG TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

- Căn cứ nghị định số 31/CP của Thủ tướng Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái nguyên ;
- Căn cứ quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Thái nguyên được ban hành tại Quyết định số 2103/GD - ĐT ngày 25/06/1997 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục Đào tạo;
- Căn cứ công văn số 510/CV-TCCB ngày 16/6/2004 về việc tuyển dụng viên chức của Đại học Thái Nguyên;

QUYẾT ĐỊNH

Điều I: Nay thu nhận và phân công công tác ông Hoàng Văn Ngọc về làm Giảng viên tại Khoa Sinh - Kỹ thuật nông nghiệp - Trường Đại học Sư phạm.

- Nhiệm vụ cụ thể của ông Hoàng Văn Ngọc do ông Trưởng Khoa Sinh - Kỹ thuật nông nghiệp phân công.

- Ông Trưởng Khoa Sinh - Kỹ thuật nông nghiệp có trách nhiệm cử cán bộ hướng dẫn tập sự ông Hoàng Văn Ngọc.

Điều II: Ông Hoàng Văn Ngọc phải qua thời gian tập sự 12 tháng; được hưởng lương hệ số 85% 2,16 của ngạch Giảng viên (15111) và các khoản phụ cấp khác theo quy định hiện hành kể từ ngày 16/6/2004.

Điều III: Thủ trưởng các đơn vị trong trường, ông Trưởng Khoa Sinh - Kỹ thuật nông nghiệp và ông Hoàng Văn Ngọc chịu trách nhiệm thi hành quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như điều III
- Lưu (HC, TCCB, Tài chính) 



GS.TS: *Nguyễn Văn Bào*

Số: 289 /QĐ-TCCB

Thái Nguyên, ngày 25 tháng 02 năm 2008

QUYẾT ĐỊNH
Về việc tiếp nhận và bố trí công tác cho cán bộ

HIỆU TRƯỞNG TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

- Căn cứ Nghị định số 31/CP, ngày 04/4/1994 của Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái Nguyên ;
- Căn cứ Quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Thái Nguyên được phê duyệt tại Quyết định số 3647/QĐ-BGDĐT ngày 10/7/2007 của Bộ Giáo dục và Đào tạo;
- Căn cứ Quyết định số 121/QĐ-TCCB ngày 25/02/2008 của Giám đốc Đại học Thái Nguyên về việc tuyển dụng viên chức năm 2007;

QUYẾT ĐỊNH

Điều 1: Tiếp nhận bà Phạm Thị Thanh Nhân về làm giảng viên Khoa Sinh - KTNN Trường Đại học Sư phạm. Nhiệm vụ cụ thể của bà Phạm Thị Thanh Nhân do ông Trưởng Khoa Sinh - KTNN phân công.

Điều 2: Bà Phạm Thị Thanh Nhân được hưởng lương ngạch Giảng viên (mã ngạch 15.111), hệ số 85% x 2,67 và được hưởng chế độ bảo hiểm xã hội, bảo hiểm y tế, phụ cấp ưu đãi giáo viên theo quy định của Nhà nước kể từ ngày 01/02/2008.

Điều 3: Các bộ phận công tác có liên quan, Ban chủ nhiệm Khoa Sinh - KTNN và bà Phạm Thị Thanh Nhân chịu trách nhiệm thi hành quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 3
- Lưu VT, TCCB



PGS-TS Nguyễn Văn Lộc

Số 121 /QĐ-TCCB

Thái Nguyên, ngày 25 tháng 02 năm 2008

QUYẾT ĐỊNH

Về việc tuyển dụng viên chức năm 2007

GIÁM ĐỐC ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

- Căn cứ Nghị định số 31/CP ngày 04/4/1994 của Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái Nguyên;

- Căn cứ Quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Thái Nguyên được phê duyệt tại Quyết định số 3647/QĐ - BGDDT ngày 10/7/2007 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo;

- Căn cứ Nghị định số 116/2003/NĐ - CP ngày 10/10/2003 của Chính phủ về việc tuyển dụng, sử dụng và quản lý cán bộ, công chức trong các cơ quan nhà nước và Nghị định số 121/2006/NĐ - CP ngày 23/10/2006 của Chính phủ sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định 116/2003/NĐ - CP ngày 10/10/2003 của Chính phủ về việc tuyển dụng, sử dụng và quản lý cán bộ, công chức trong các cơ quan nhà nước

- Căn cứ Quyết định số 118/QĐ - TCCB ngày 22/02/2008 của Đại học Thái Nguyên về việc công nhận kết quả trúng tuyển viên chức năm 2007;

Theo đề nghị của ông Trưởng ban Ban Tổ chức cán bộ,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Tuyển dụng các ông, bà (có tên trong danh sách kèm theo) đã trúng tuyển Kỳ thi tuyển viên chức năm 2007 của Đại học Thái Nguyên, kể từ ngày 01/02/2008.

STT	Họ và tên	Mã ngạch viên chức	H.Số lương	Mốc tính lương
17	Phạm Thị Thanh Nhân	15.111	85% x 2,67	02/2008

Điều 2. Lương và các chế độ khác của các ông, bà có tên trong danh sách tại điều 1 được thực hiện theo Nghị định 116/2003/NĐ - CP ngày 10/10/2003, Nghị định số 121/2006/NĐ - CP ngày 23/10/2006 của Chính phủ sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định 116/2003/NĐ - CP ngày 10/10/2003 của Chính phủ về việc tuyển dụng, sử dụng và quản lý cán bộ, công chức trong các cơ quan nhà nước; Quy định về chính sách trong tuyển dụng và ưu đãi đối với giảng viên ban hành kèm theo Quyết định số 805/QĐ - TCCB ngày 05/10/2007 của Giám đốc Đại học Thái Nguyên.

Điều 3. Các ông (bà) Chánh Văn phòng, Trưởng ban chức năng, Thủ trưởng các đơn vị có liên quan và các ông, bà có tên ở điều 1 chịu trách nhiệm thi hành quyết định này.

GIÁM ĐỐC

Đã ký, GS.TS. Từ Quang Hiến

Nơi nhận:

- Như điều 3;
- Lưu VP, TCCB.

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

Số: 93 /QĐSL- TCCB

TRÍCH SAO BẢN CHÍNH

Thái Nguyên, ngày 29 tháng 02 năm 2008

KT. GIÁM ĐỐC

PHÓ GIÁM ĐỐC



Ngô Văn Hải

Số 121 /QĐ-TCCB

Thái Nguyên, ngày 25 tháng 02 năm 2008

QUYẾT ĐỊNH

Về việc tuyển dụng viên chức năm 2007

GIÁM ĐỐC ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

- Căn cứ Nghị định số 31/CP ngày 04/4/1994 của Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái Nguyên;

- Căn cứ Quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Thái Nguyên được phê duyệt tại Quyết định số 3647/QĐ - BGDDT ngày 10/7/2007 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo;

- Căn cứ Nghị định số 116/2003/NĐ - CP ngày 10/10/2003 của Chính phủ về việc tuyển dụng, sử dụng và quản lý cán bộ, công chức trong các cơ quan nhà nước và Nghị định số 121/2006/NĐ - CP ngày 23/10/2006 của Chính phủ sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định 116/2003/NĐ - CP ngày 10/10/2003 của Chính phủ về việc tuyển dụng, sử dụng và quản lý cán bộ, công chức trong các cơ quan nhà nước

- Căn cứ Quyết định số 118/QĐ - TCCB ngày 22/02/2008 của Đại học Thái Nguyên về việc công nhận kết quả trúng tuyển viên chức năm 2007;

Theo đề nghị của ông Trưởng ban Ban Tổ chức cán bộ,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Tuyển dụng các ông, bà (có tên trong danh sách kèm theo) đã trúng tuyển Kỳ thi tuyển viên chức năm 2007 của Đại học Thái Nguyên, kể từ ngày 01/02/2008.

STT	Họ và tên	Mã ngạch viên chức	H.Số lương	Mức tính lương
14	Nguyễn Thị Thu Nga	15.111	85% x 2,67	02/2008

Điều 2. Lương và các chế độ khác của các ông, bà có tên trong danh sách tại điều 1 được thực hiện theo Nghị định 116/2003/NĐ - CP ngày 10/10/2003, Nghị định số 121/2006/NĐ - CP ngày 23/10/2006 của Chính phủ sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định 116/2003/NĐ - CP ngày 10/10/2003 của Chính phủ về việc tuyển dụng, sử dụng và quản lý cán bộ, công chức trong các cơ quan nhà nước; Quy định về chính sách trong tuyển dụng và ưu đãi đối với giảng viên ban hành kèm theo Quyết định số 805/QĐ - TCCB ngày 05/10/2007 của Giám đốc Đại học Thái Nguyên.

Điều 3. Các ông (bà) Chánh Văn phòng, Trưởng ban chức năng, Thủ trưởng các đơn vị có liên quan và các ông, bà có tên ở điều 1 chịu trách nhiệm thi hành quyết định này.

Nơi nhận:

- Như điều 3
- Lưu VP, TCCB.

GIÁM ĐỐC

Đã ký, GS.TS. Từ Quang Hiến

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

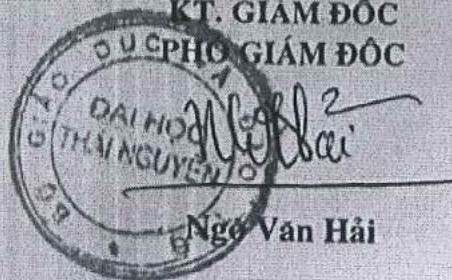
Số: 90 /QĐSL- TCCB

TRÍCH SAO BẢN CHÍNH

Thái Nguyên, ngày 29 tháng 02 năm 2008

KT. GIÁM ĐỐC

PHÓ GIÁM ĐỐC



Ngô Văn Hải

Số: 1514/QĐ-TCCB

Thái Nguyên, ngày 14 tháng 8 năm 2008

QUYẾT ĐỊNH
Về việc bố trí công tác cho viên chức

HIỆU TRƯỞNG TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

- Căn cứ Nghị định số 31/CP, ngày 04/4/1994 của Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái Nguyên;
- Căn cứ Quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Thái Nguyên được phê duyệt tại Quyết định số 3647/QĐ-BGDDT ngày 10/7/2007 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo;
- Căn cứ Quyết định số 636/QĐ-TCCB ngày 31/7/2008 của Giám đốc Đại học Thái Nguyên về việc tuyển dụng viên chức đợt 1 năm 2008;

QUYẾT ĐỊNH:

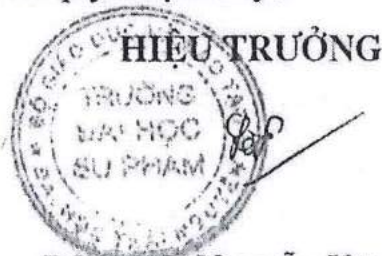
Điều 1: Tiếp nhận ông Hoàng Phú Hiệp về làm giảng viên Khoa Sinh-KTNN Trường Đại học Sư phạm. Nhiệm vụ cụ thể của ông Hoàng Phú Hiệp do ông Trưởng khoa Khoa Sinh-KTNN phân công.

Điều 2: Ông Hoàng Phú Hiệp được hưởng lương ngạch Giảng viên (mã ngạch 15.111), hệ số 85%.2,34 và được hưởng chế độ bảo hiểm xã hội, bảo hiểm y tế, phụ cấp ưu đãi giáo viên theo quy định của Nhà nước, kể từ ngày 01/8/2008.

Điều 3: Các bộ phận công tác có liên quan, Ban chủ nhiệm Khoa Sinh-KTNN và ông Hoàng Phú Hiệp chịu trách nhiệm thi hành quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như điều 3
- Lưu VT, TCCB



PGS. TS Nguyễn Văn Lộc

Số: 2395/QĐ-HCTC

Thái Nguyên, ngày 20 tháng 9 năm 2012

QUYẾT ĐỊNH

Về việc ký hợp đồng tạo nguồn giảng viên năm 2012

HIỆU TRƯỞNG TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

Căn cứ Nghị định số 31/CP, ngày 04/4/1994 của Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái Nguyên;

Căn cứ Quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Thái Nguyên được phê duyệt tại Quyết định số 3647/QĐ-BGDĐT ngày 10/7/2007 của Bộ Giáo dục và Đào tạo;

Căn cứ kết quả thi tạo nguồn giảng viên năm 2012 và biên bản họp Hội đồng thi tuyển tạo nguồn giảng viên ngày 19/9/2012;

Căn cứ nhu cầu của các khoa chuyên môn và đề nghị của Trường phòng Hành chính-Tổ chức,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ký hợp đồng lao động làm trợ giảng đối với 13 thí sinh đã trúng tuyển kỳ thi tạo nguồn giảng viên năm 2012 (có danh sách kèm theo).

Điều 2. Các cán bộ có tên ở Điều 1 được hưởng 85% hệ số lương 2,34 - mã ngạch giảng viên (15.111) và được tham gia, đóng bảo hiểm theo quy định của Nhà nước, kể từ ngày 01/10/2012.

Kinh phí chi trả lấy từ nguồn thu ngoài ngân sách Nhà nước.

Điều 3. Thủ trưởng các đơn vị có liên quan, Các cán bộ có tên ở Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành quyết định này. / *Quang*

Nơi nhận:

- Như kính gửi;
- Lưu VT, HCTC.

HIỆU TRƯỞNG



PGS. TS Phạm Hồng Quang

QUYẾT ĐỊNH
Về việc tuyển dụng viên chức năm 2015

HIỆU TRƯỞNG TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

Căn cứ Nghị định số 31/CP, ngày 04/4/1994 của Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái Nguyên;

Căn cứ Thông tư số 08/2014/TT-BGDĐT ngày 20/3/2014 của Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của đại học vùng và các cơ sở giáo dục đại học thành viên;

Căn cứ Luật viên chức năm 2010;

Căn cứ Quyết định số 2664/QĐ-ĐHSP ngày 19/8/2015 của Hiệu trưởng Trường Đại học Sư phạm về việc thành lập Hội đồng thi tuyển viên chức năm 2015;

Căn cứ Biên bản số 2809/BB-HCTC ngày 31/8/2015 của Hội đồng thi tuyển viên chức về việc xét kết quả thi và công nhận trúng tuyển đối với thí sinh dự thi tuyển viên chức năm 2015;

Xét đề nghị của Trường phòng Phòng Hành chính-Tổ chức,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Tuyển dụng 14 viên chức năm 2015 của Trường Đại học Sư phạm (có danh sách kèm theo) kể từ ngày 01/9/2015.

STT	Họ và tên	Mã ngạch viên chức	Hệ số lương	Mức tính lương
13	Từ Quang Trung	15.111	2,67	01/9/2015

Điều 2. Các viên chức có tên ở Điều 1 được hưởng lương và các chế độ theo quy định hiện hành kể từ ngày 01/9/2015.

Điều 3. Trường phòng Hành chính - Tổ chức, Phòng Kế hoạch - Tài chính, các đơn vị có liên quan và 14 viên chức có tên ở Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 3 (dề t/h);
- Lưu VT, HCTC.

HIỆU TRƯỞNG

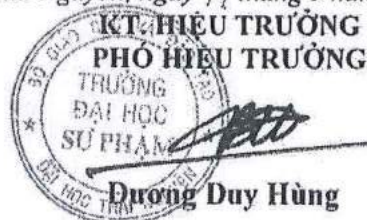
Đã ký, PGS.TS Phạm Hồng Quang

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

TRÍCH SAO BẢN CHÍNH

Số : 3127/QĐ-ĐHSP

Thái Nguyên, ngày 11 tháng 9 năm 2015



Đ/c Lương Thị Thuý Vân

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
Trường Đại học Sư phạm
Số 111/QĐ-TCCB

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

— o0o —

Thái Nguyên, ngày 13 tháng 7 năm 2001

QUYẾT ĐỊNH CỦA HIỆU TRƯỞNG
V/v thu nhận và phân công công tác cán bộ

BẢN SAO

HIỆU TRƯỞNG TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

- Căn cứ Nghị định số 31/CP ngày 04/4/1994 của Thủ tướng Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái Nguyên;

- Căn cứ quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Thái Nguyên được ban hành tại quyết định số 2103/GD-ĐT ngày 25/6/1997 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo;

- Căn cứ Quyết định số 160/QĐ-TCCB ngày 12/7/2001 của Giám đốc Đại học Thái Nguyên về việc thu nhận và phân công công tác cán bộ;

QUYẾT ĐỊNH

Điều I: Nay thu nhận và phân công công tác bà Lương Thị Thuý Vân về làm giảng viên tại khoa Sinh-KTNN, Trường Đại học Sư phạm.

Nhiệm vụ cụ thể của bà Lương Thị Thuý Vân do ông Trưởng khoa Sinh-KTNN phân công.

Điều II: Bà Lương Thị Thuý Vân phải qua thời gian tập sự 12 tháng, được hưởng lương 85% hệ số khởi điểm 1,92 của ngạch giảng viên đại học và các khoản phụ cấp khác theo quy định hiện hành kể từ ngày 13/7/2001.

Điều III: Thủ trưởng các đơn vị trong trường, ông Trưởng khoa Sinh-KTNN và bà Lương Thị Thuý Vân chịu trách nhiệm thi hành quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như điều III
- Lưu (HC, TCCB, Tài vụ)



CÔNG CHỨNG VIÊN
HÀ THỊ HOÀN



TS. Nguyễn Văn Lộc

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
-11-

Số 160/QĐ-TCCB

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

-----MII-----

Thái Nguyên, ngày 12 tháng 7 năm 2001

QUYẾT ĐỊNH
CỦA GIÁM ĐỐC ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
(V/v Thu nhận và phân công công tác cán bộ)

BẢN SAO

GIÁM ĐỐC ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

- Căn cứ Nghị định số 31/CP ngày 04/4/1994 của Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái Nguyên;

- Căn cứ Quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Thái Nguyên ban hành theo Quyết định số 2103/GĐ-ĐT ngày 25/6/1997 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo.

- Căn cứ Quyết định số 4116/QĐ-BGD&ĐT-TCCB ngày 10/7/2001 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc tiếp nhận cán bộ.

- Theo đề nghị của ông Trưởng Ban Tổ chức Cán bộ.

QUYẾT ĐỊNH

Điều 1: Nay thu nhận và phân công công tác bà Lương Thị Thuý Vân về làm giảng viên tại trường Đại học Sư phạm thuộc Đại học Thái Nguyên.

Nhiệm vụ cụ thể của bà Lương Thị Thuý Vân do ông Hiệu trưởng nhà trường phân công.

Điều 2: Bà Lương Thị Thuý Vân phải qua thời gian tập sự 12 tháng, được hưởng lương 85% hệ số khởi điểm 1.92 của ngạch giảng viên đại học và các khoản phụ cấp khác theo quy định hiện hành kể từ ngày nhận công tác.

Điều 3: Các ông Chánh Văn phòng, Trưởng các ban chức năng của Đại học Thái Nguyên, ông Hiệu trưởng trường Đại học Sư phạm và bà Lương Thị Thuý Vân chịu trách nhiệm thi hành quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như điều 3

- Lưu VP, TCCB



**CÔNG CHỨNG VIÊN
HÀ THỊ HOÀN**

Số 1116/QĐ-BGD&ĐT-TCCB

Hà Nội, ngày 10 tháng 7 năm 2001

QUYẾT ĐỊNH
CỦA BỘ TRƯỞNG BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
Về việc tuyển dụng công chức

BỘ TRƯỞNG BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

- Căn cứ Nghị định số 29/CP ngày 30/3/1994 của Chính phủ về nhiệm vụ, quyền hạn và tổ chức bộ máy của Bộ Giáo dục và Đào tạo;
- Căn cứ Nghị định số 15/CP ngày 2/3/1993 của Chính phủ về nhiệm vụ, quyền hạn và trách nhiệm quản lý Nhà nước của Bộ, cơ quan ngang Bộ;
- Căn cứ Quyết định số 1836/QĐ-BGD&ĐT-TCCB ngày 25/5/1999 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc giao quyền ký quyết định về nhân sự cho Vụ trưởng Vụ Tổ chức Cán bộ;
- Theo đề nghị của ông Giám đốc Đại học Thái Nguyên tại công văn số: 200/CV-TCCB ngày 10/4/2001 và nguyện vọng của đương sự;
- Theo đề nghị của ông Vụ trưởng Vụ Tổ chức Cán bộ.

QUYẾT ĐỊNH

Điều 1: Nay tuyển dụng Bà Lương Thị Thuý Vân, sinh ngày 26/02/1978 làm giảng viên Đại học Thái Nguyên.

Điều 2: Bà Lương Thị Thuý Vân trải qua thời gian tập sự 12 tháng tính từ ngày nhận việc; hưởng lương 85% hệ số lương khởi điểm 1,92 của ngạch giảng viên đại học và các khoản phụ cấp theo quy định của Nhà nước.

Điều 3: Các ông Chánh văn phòng, Vụ trưởng Vụ Tổ chức - Cán bộ, Vụ trưởng Vụ Kế hoạch và Tài chính, Giám đốc Đại học Thái Nguyên và bà Lương Thị Thuý Vân có trách nhiệm thi hành quyết định này.

TUQ. BỘ TRƯỞNG BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
VỤ TRƯỞNG VỤ TỔ CHỨC - CÁN BỘ

Nơi nhận:

- Như điều 3

Lưu VP, Vụ TCCB.



Đỗ Xuân Thụ

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Số 446 /CV-TCCB

Thái Nguyên, ngày 11 tháng 6 năm 2004

(V/v tuyển dụng viên chức năm 2004)

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM THÁI NGUYÊN

C.V	Số: 625
ĐẾN	Ngày: 11/6/2004

Kính gửi: Trường Đại học Sư phạm thuộc Đại học Thái Nguyên

Căn cứ Quyết định số 2876/QĐ-BGD&ĐT-TCCB ngày 01 tháng 6 năm 2004 của Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc tuyển dụng viên chức Đại học Thái Nguyên năm 2004.

Đại học Thái Nguyên thông báo danh sách những người đã trúng tuyển trong kỳ thi tuyển viên chức Đại học Thái Nguyên năm 2004 của trường Đại học Sư phạm (có danh sách kèm theo).

Đề nghị Nhà trường thông báo cho những người có tên trong danh sách :

Đúng 15h30 ngày 15/6/2004 có mặt tại phòng họp B Đại học Thái Nguyên để làm thủ tục tuyển dụng.

Nơi nhận:

- Như trên
- Lưu VP, TCCB.



Ngô Văn Hải

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

TRÍCH DANH SÁCH TRÚNG TUYỂN KỲ THI TUYỂN VIÊN CHỨC NĂM 2004
ĐƯỢC TUYỂN DỤNG VÀO BIÊN CHẾ CỦA ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN NĂM 2004
(Kèm theo Quyết định số 2876/QĐ-BGD&ĐT-TCCB ngày 01/6/2004)

TT	Họ Tên	Ngày tháng năm sinh		Quê quán	Trình độ ĐT	Ngạch v.c dự thi	Hệ số lương	Ghi chú
		Nam	Nữ					
1.	Ngô sĩ Nguyễn Thị Tuyết	23/5/72		Đồng Hỷ-TN	ĐH	15111	2,16	CCT
2.	Chinh Thủy		01/02/72	Hiệp Hoà-Bắc Giang	ĐH	01003	2,10	CCT
3.	Vũ Thị Thu		04/9/75	Vũ Bản-Nam Định	Th.s	15111	85%x2,16	
4.	Hoàng Văn Ngọc	25/8/76		Bắc Sơn-Lạng Sơn	Th.s	15111	85%x2,16	
5.	Ngọc Minh Châu	16/8/79		Thị xã Cao Bằng	ĐH	15111	85%x1,92	
6.	Đinh Thị Hải Yến		24/11/71	Đức Thọ-Hà Tĩnh	ĐH	15111	1,92	CCT
7.	Phan Thị Phương Thảo		27/11/77	Hương Khê - Hà Tĩnh	ĐH	15111	2,16	CCT
8.	Nguyễn Thị Thắm		07/4/79	Hưng Hà-TN	ĐH	15111	85%x1,92	
9.	Nguyễn Thị Hà		05/6/78	Đan Phượng-Hà Tây	ĐH	15111	85%x1,92	
10.	Dương Công Đạt	21/7/79		Phú Bình -TN	ĐH	15111	85%x1,92	
11.	Đặng Quỳnh Trâm		16/4/79	Hàng Long-Hà Nội	ĐH	15111	85%x1,92	
12.	Nguyễn T.Thanh Hà		6/12/76	Việt Yên-Bắc Giang	ĐH	15111	85%x1,92	
13.	Tạ Thu Hằng		01/11/81	Phủ Bình-TN	ĐH	15111	85%x1,92	
14.	Nguyễn Công Biên	5/10/72		Thịnh Đán-TN	ĐH	13096	85%x1,46	
15.	Trần Nguyễn An	11/10/81		Diễn Châu- Nghệ An	ĐH	15111	85%x1,92	
16.	Nguyễn Thị Hiền Hạnh		22/2/80	Phủ Bình- TN	ĐH	15111	85%x1,92	
17.	Trần Ngọc Tú	2/3/80			ĐH	15111	85%x1,92	
18.	Nguyễn Thành Trung	24/9/80			ĐH	15111	85%x1,92	

Ấn định danh sách là 18 người

Lưu TCCB.

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
Trường Đại học Sư phạm
Số: 708.../QĐ-TCCB

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Thái nguyên, ngày 16 tháng 6 năm 2004.

QUYẾT ĐỊNH CỦA HIỆU TRƯỞNG
V/V thu nhận và phân công công tác cán bộ

HIỆU TRƯỞNG TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

- Căn cứ nghị định số 31/CP của Thủ tướng Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái nguyên ;
- Căn cứ quy chế tổ chức và hoạt động của Đại học Thái nguyên được ban hành tại Quyết định số 2103/GD - ĐT ngày 25/06/1997 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục Đào tạo;
- Căn cứ công văn số 510/CV-TCCB ngày 16/6/2004 về việc tuyển dụng viên chức của Đại học Thái Nguyên;

QUYẾT ĐỊNH

Điều I: Nay thu nhận và phân công công tác bà Vũ Thị Thu Thủy về làm Giảng viên tại Khoa Sinh - Kỹ thuật nông nghiệp - Trường Đại học Sư phạm.

- Nhiệm vụ cụ thể của bà Vũ Thị Thu Thủy do ông Trưởng Khoa Sinh - Kỹ thuật nông nghiệp phân công.

- Ông Trưởng Khoa Sinh - Kỹ thuật nông nghiệp có trách nhiệm cử cán bộ hướng dẫn tập sự bà Vũ Thị Thu Thủy.

Điều II: Bà Vũ Thị Thu Thủy phải qua thời gian tập sự 12 tháng; được hưởng lương hệ số 85% 2,16 của ngạch Giảng viên (15111) và các khoản phụ cấp khác theo quy định hiện hành kể từ ngày 16/6/2004.

Điều III: Thủ trưởng các đơn vị trong trường, ông Trưởng Khoa Sinh - Kỹ thuật nông nghiệp và bà Vũ Thị Thu Thủy chịu trách nhiệm thi hành quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như điều III
- Lưu (HC, TCCB, Tài chính)



TS: Nguyễn Văn Lộc

**CÁC BÀI BÁO KHOA HỌC
CỦA GIẢNG VIÊN THAM GIA ĐỀ ÁN MỞ NGÀNH
SINH HỌC ỨNG DỤNG**

Mục lục**Trang**

S TT	Họ và tên, ngày sinh	Học hàm/ học vị	Ngành đào tạo ghi theo văn bằng tốt nghiệp	Trong Quyển 1 – Phần 3
1	Vũ Thị Thu Thủy	PGS.TS	Di truyền học	34
2	Nguyễn Thị Ngọc Lan	PGS.TS	Sinh lý học thực vật	34
3	Chu Hoàng Mậu	GS.TS	Di truyền học	34
4	Từ Quang Tân	PGS.TS	Di truyền học chọn giống	34
5	Sỹ Danh Thường	PGS.TS	Thực vật học	34
6	Nguyễn Hữu Quân	PGS.TS	Công nghệ sinh học	34
7	Hoàng Văn Ngọc	PGS.TS	Động vật học	34
8	Phạm Thị Thanh Nhân	PGS.TS	Di truyền học	34
9	Nguyễn Thị Thu Nga	PGS.TS	Di truyền học	34
10	Hoàng Phú Hiệp	PGS.TS	Di truyền học	34
11	Nguyễn Đức Hùng	PGS.TS	Dược học	34
12	Từ Quang Trung	Tiến sĩ	Dinh dưỡng và thức ăn	34
13	Lương Thị Thúy Vân	Tiến sĩ	Trồng trọt	34
14	Nguyễn Vũ Bảo	Thạc sĩ	Sinh thái học	34

PGS.TS. VŨ THỊ THU THỦY



Article

Analysis of the Chloroplast Genome of *Ficus simplicissima* Lour Collected in Vietnam and Proposed Barcodes for Identifying *Ficus* Plants

Thuy Thi Thu Vu ¹, Lien Thi Kim Vu ^{2,3}, Lam Tung Le ⁴, Thu Thi Mai Lo ⁵ and Mau Hoang Chu ^{1,*}

¹ Department of Genetics and Biotechnology, TNU-University of Education, Thanh Nguyen 250000, Vietnam

² Institute of Theoretical and Applied Research, Duy Tan University, Hanoi 100000, Vietnam

³ Faculty of Natural Sciences, Duy Tan University, Da Nang 550000, Vietnam

⁴ VAST Institute of Biotechnology, Hanoi 100000, Vietnam

⁵ Department of Biology, Taybac University, Sonla 34100, Vietnam

* Correspondence: chuhoangmau@tnu.edu.vn

Abstract: *Ficus simplicissima* Lour. is an Asian species of fig tree in the family Moraceae. The chloroplast (cp) genome of *F. simplicissima* m3 was sequenced using the PacBio sequel platform. The *F. simplicissima* cpDNA has a size of 160,321 bp in length, of which GC content accounts for 36.13%. The cp genome of *F. simplicissima* consists of a single large copy (LSC) with a size of 91,346 bp, a single small copy (SSC) with a size of 20,131 bp, and a pair of inverted repeats with a size of 24,421 to 24,423 bp. The cp genome of *F. simplicissima* has 127 genes, including 85 protein-coding genes, eight rRNA genes, and 34 tRNA genes; 92 simple sequence repeats and 39 long repeats were detected in the cpDNA of *F. simplicissima*. A comparative cp genome analysis among six species in the *Ficus* genus indicated that the genome structure and gene content were highly conserved. The non-coding regions show more differentiation than the coding regions, and the LSC and SSC regions show more differences than the inverted repeat regions. Phylogenetic analysis supported that *F. simplicissima* m3 had a close relationship with *F. hirta*. The complete cp genome of *F. simplicissima* was proposed as a chloroplast DNA barcoding for genus-level in the Moraceae family and the *psbA-trnH* gene region for species-level identification.

Keywords: chloroplast genome; DNA barcode; *Ficus simplicissima*; medicinal plants; phylogeny

Citation: Vu, T.T.T.; Vu, L.T.K.; Le, L.T.; Lo, T.M.T.; Chu, M.H. Analysis of the Chloroplast Genome of *Ficus simplicissima* Lour Collected in Vietnam and Proposed Barcodes for Identifying *Ficus* Plants. *Curr. Issues Mol. Biol.* **2023**, *45*, 1024–1036. <https://doi.org/10.3390/cimb45020067>

Academic Editors: Quan Zou and Ran Su

Received: 31 December 2022

Revised: 19 January 2023

Accepted: 23 January 2023

Published: 27 January 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The chloroplast (cp) genome is circular and relatively conserved among plants in terms of size, structure, and gene content [1]. The cp genome generally comprises two copies of inverted regions that divide the genome into a large single-copy region (LSC) and a small single-copy region (SSC). The cp genome provides genes participating in photosynthesis, transcription, and translation. In addition, its non-coding intergenic spacer regions are highly conserved and can be used for phylogenetics, population genetics, and species identification [2]. Earlier research used partial cp sequences for plant barcoding [3], but they are only universal for some plant taxa and have limitations at lower taxonomic levels [4,5]. Therefore, the whole cp genome is informative and extensive for plant barcoding [6,7]. With the advance of next-generation sequencing, whole chloroplast genome acquisition is now simpler and faster than ever. Coverage of four cp junctions between the inverted repeat (IR) and single-copy regions is performed by a third-generation sequencer, the PacBio system with Single Molecule Real-Time (SMRT) technology [8].

Ficus simplicissima Lour. is a species of fig tree in the *Ficus* genus. This genus contains about 1000 species of trees, shrubs, and vines and is distinct with a unique fruit structure known as syconium [9]. The species is found predominantly native to East Asian tropical

regions. In folk medicine, *F. simplicissima* was used to treat pneumonia, vitiligo, diarrhea, tonsillitis, cough, and rheumatic pain and promote lactation [10]. Moreover, combining modified Radix Fici Simplicissimae with Western medicines was considered a potential treatment for SARS-CoV-2 patients [11].

Although the *Ficus* genus has different applications, its phylogenetic relationship is controversial. The *Ficus* classification system was based on morphological characteristics, and analysis of ribosomal DNA was reported by Corner (1965) and Huang et al. (2022). The information on the cp genomes of *Ficus* can be used in species identification and phylogenetic analysis of *Ficus* species [12,13]. However, the cp genome of *F. simplicissima* Lour. needed more because there were only raw reads of the cp genome of *F. simplicissima* Lour. at the China National GenBank [13].

The purpose of this study was to sequence and annotate the cp genome of *F. simplicissima* Lour. m3; cp genome analysis, evaluate diversity and molecular evolutionary analysis of *Ficus* genus in the Moraceae family, search for cpDNA markers as potential DNA barcodes for *Ficus* species identification.

2. Materials and Methods

2.1. Plant Material, DNA Extraction, and cp Genome Sequencing

Ficus simplicissima Lour. m3 seeds were collected in the Thai Nguyen province (Hung Son township, Dai Tu district), then cultured on Murashige and Skoog medium. Regeneration of plants in vitro and plants grown in pots and in experimental gardens. *Ficus simplicissima* samples were identified by comparative morphology by the Department of Botany, Thai Nguyen University of Education, Vietnam (Figure 1). Fresh leaves from plantlets were harvested for genomic DNA extraction using the DNeasy® Plant Mini Kit. Absorption spectroscopy analysis on a Shimadzu Biospec Nano instrument at wavelengths A260 and A230 assessed DNA sample purity.

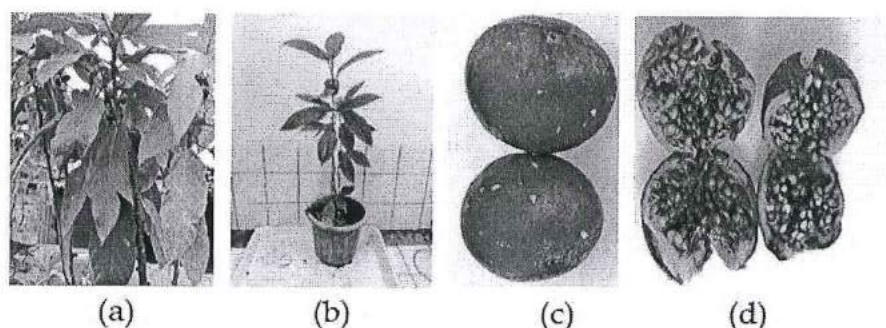


Figure 1. Sample image of *Ficus simplicissima* Lour. m3 regenerated from seeds collected in the Thai Nguyen province (Hung Son township, Dai Tu district). (a) Plants regenerated in vitro from seeds grown in the experimental garden and (b) grown in pots, they are kept at the Department of Biology, Thai Nguyen University of Education; (c,d) fruit of *F. simplicissima*.

The concentration of DNA was determined using a Qubit 3 Fluorometer and Qubit HS DNA reagents. The integrity of the gDNA is assessed by 0.8% agarose gel electrophoresis. Besides, the total genomic DNA was used for library preparation using SMRTbell Express Template Prep Kit 2.0 (Pacific Biosciences, Menlo Park, CA, USA) following the manufacturer's protocol (Pacific Biosciences). SMRTbell libraries were loaded on one chip and sequenced on a Pacbio SEQUEL system at the Key Laboratory for Gene Technology, Institute of Biotechnology (Hanoi, Vietnam).

2.2. Genome Assembly and Annotation

The cp genome sequences were determined via pbmm2 (<https://github.com/Pacific-Biosciences/pbmm2>, accessed on 20 August 2022) by mapping to *Ficus hirta* cp genomes (NC_051532.1) as the reference. Afterward, the CANU program [14] was used to assemble

Cloning and Overexpression of *GmDREB2* Gene from a Vietnamese Drought-resistant Soybean Variety

Dao Xuan Tan¹, Ho Manh Tuong², Vu Thi Thu Thuy¹, Le Van Son² and Chu Hoang Mau^{1*}

¹Thai Nguyen University of Education; Vietnam. ²Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology; Vietnam

ABSTRACT

This work studied the amplification, cloning and determination of the *GmDREB2* gene from the soybean cultivar DT2008 and five Vietnamese local soybean cultivars (DT26, DT51, DVN5, CB, CBD) and designed the vector carrying the structure containing *GmDREB2* gene from cultivar DT2008 (best drought tolerant). The coding region of *GmDREB2* gene isolated from six soybean cultivars was 480 nucleotides in length, encoding 159 amino acids. The recombinant structure was designed as 35S- *GmDREB2*- c-myc and its expression was analysed in transgenic tobacco plants. Recombinant *DREB2* protein was expressed in five transgenic tobacco lines with molecular weights close to 20 kDa. During the drought conditions, the proline accumulation of the transgenic tobacco lines was higher than on wild-type (WT) plants, with the rate from 211.17 to 332.44% after five days of drought stress, and from 262.79 to 466.04% after nine days of drought stress. The two lines, TG2 and TG12 had the highest increase rate. These results provided the basis to generate drought-tolerant soybean plants by *GmDREB2* overexpression.

Key words: drought-resistant, *GmDREB2* gene, gene transfer, soybean, transcription factors

INTRODUCTION

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) is a species of legume, which has economic values and high nutrition, plays a key role in improving the soil fertility and the sustainable usage of arable land resources. It is globally an important crop, including in Vietnam. However, soybean is considered one of the most drought sensitive crops, hence, studies for enhancing the drought tolerant ability are significant in improving the productivity and qualities of soybean. Some genes have been described as having responded to drought stress in the transcription level (Li et al. 2005). In 1994, Yamaguchi and Shinozaki discovered a *cis*- acting element, which responded to dehydration and was controlled by the

COR78/RD29A promoter involved in the drought, low temperature and high salt stresses.

Trans factor- DREB protein can bind to *cis*- acting element to stimulate the expression in the plants by stress signal from the environment. DREB protein belongs to the transcript factor AP2/ERF family, which can control the expression of genes induced by the drought, high salt and low temperature stresses, resulting in the tolerant ability of environment stresses in the plants. *DREB* genes have been isolated from different crops such as *Arabidopsis*, *Oryza sativa* (L.), *Zea mays* (L.), *Triticum aestivum* and other crops (Li et al. 2005; Chen et al. 2007; Andeani et al. 2009). At least 10 members of *GmDREB* subfamily were identified in the genome of soybean (*GmDREBa*, *GmDREBb*, *GmDREBc*, *GmDREB1*, *GmDREB2*, *GmDREB3*, *GmDREB5*, *GmDREB6*, and

*Author for correspondence: chuhoangmau@tnu.edu.vn

GmDREB7) (Riechmann et al. 2000). Chen et al. (2007) isolated *GmDREB2* gene from soybean and based on the sequence identity of the AP2 domain, *GmDREB2* gene was classified into A-5 subgroup in *DREB* gene subfamily. Upregulation of *GmDREB2* gene is induced by the drought, high salt, and ABA environment. The expression of *GmDREB2* gene in transgenic tobacco plants accumulated high levels of proline (Kobayashi et al. 2008). The nucleotide sequence of *GmDREB2* gene was published in GeneBank by Wang et al. (2006). *GmDREB2* was found in soybean under drought stress, low temperature and high salt conditions. These results indicated that *GmDREB2* gene could improve the drought-tolerance of soybean (Chen et al. 2007; Kobayashi et al. 2008; Mizoi et al. 2013). This work aimed to study the cloning and expression of *GmDREB2* gene from Vietnamese drought-resistant soybean cultivars in order to provide basis for improving the drought tolerance of soybean in Vietnam.

MATERIAL AND METHODS

Material

The Vietnamese soybean cultivars, labeled CB, CBD, DT26, DT51, DVN5 and DT2008 offered by the Vietnam Institute of Agricultural Genetics were used for isolation and molecular cloning of *GmDREB2* gene. Cloning vector pBT, vector pRTRA7/3 containing the 35S promoter and c-myc tag, pBI121 vector were provided by the Laboratory of Applied DNA Technology. *A. tumefaciens* CV58, *N. tabacum* K326 were provided by the Laboratory of Plant Cell Biotechnology, Institute of Biotechnology, Vietnam.

Methods

Total RNA of soybean was extracted using the Gene JET Plant RNA Purification Mini Kit (Thermo Scientific) according to the instructions of manufacturer. The cDNA was synthesized from the total RNA using RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific). *DREB2* cDNA was amplified by the PCR using primer pairs, which were designed from the nucleotide sequence in the GenBank database of *DREB2* code number DQ054363 (Wang et al. 2006).

GmDREB2-NcoI:

5' CATGCCATGGATGGAAGAAGCGGGTTTAG 3'

GmDREB2-NotI:

5' TTGCGGCCGCATCTTCAGGTTTGGGA 3'

The PCR reaction was done as following: 94°C for 4 min, followed by 30 cycles of 94°C for 30 s, 58°C for 30 s, 72°C for 30 s, and 1 cycle of 72°C for 10 min. The amplified PCR products were analyzed by electrophoresis on 1% agarose gel in 1X TAE electrophoresis buffer. The amplified products were cloned according to Sambrook and Russell (2001). PCR products were purified from agarose gel using DNA extraction kit (Fermentas) and ligated into pBT, then were transformed into *E.coli* DH5α. Plasmid isolation was performed using the Plasmid Miniprep kit (Qiagen). The nucleotide sequence was determined using the sequencing machine ABI PRISM® 3100 Advant Genetic Analyzer (Applied Biosystem). The analysis of nucleotide sequence was done by the BioEdit software and DNASTar.

Construction of 35S- *GmDREB2*- c- myc

The target gene from the cloning vector pBT-*GmDREB2* was cut out from the cloning vector pBT using restriction enzymes *NcoI* and *NotI*, then ligated into pRTRA 7/3, which carried 35S promoter and c-myc tag.

Construction of transgenic vector and transferred into tobacco plants

The recombinant structure 35S- *GmDREB2*- c-myc were cut out from the vector pRTRA, then ligated into pBI121 and transformed into *E. coli* DH5α. The recombinant vector was isolated following Sambrook and Russell method (2001), then was checked using the restriction enzyme *HindIII*. The existence of *GmDREB2* gene was identified by the PCR using primer pairs *GmDREB2-NcoI/GmDREB2-NotI*. The selected recombinant vector *pBI121/35S-GmDREB2-c-myc* was transformed into *A. tumefaciens* CV58.

Transformation of *pBI121/35S-GmDREB2-c-myc* into tobacco cultivars K326 by *A. tumefaciens* was performed following the protocol of Topping et al. (1998). The transgenic samples were regenerated on MS medium supplemented with BAP, cefotaxime (500 mg/L) and kanamycine (50mg/L). To investigate the existence of the target gene, tobacco leaves were used for DNA extraction and PCR reaction with specific primer pairs, *GmDREB2-NcoI/NotI*. Transgenic tobacco plants, which were confirmed to be positive by PCR, were subjected for the analysis of expression of the recombinant *GmDREB2* by Western Blot.



BÁO CÁO KHOA HỌC

HỘI NGHỊ CÔNG NGHỆ SINH HỌC TOÀN QUỐC 2022

PROCEEDINGS

OF VIETNAM NATIONAL CONFERENCE ON BIOTECHNOLOGY 2022

HÀ NỘI - 2022

ĐẶC ĐIỂM TRÌNH TỰ ĐOẠN GEN *matK* VÀ *rbcL* CỦA CÂY VÚ BÒ (*Ficus simplicissima* LOUR.)

Hoàng Phú Hiệp, Vũ Văn Trung, Lục Văn Dương, Nguyễn Thị Thu Hà, Vũ Thị Thu Thủy*, Chu Hoàng Mậu
Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên

TÓM TẮT

Cây Vú bò (*Ficus simplicissima* Lour.) hay còn gọi là Thổ hoàng kỳ, Vú bò sẻ, Vú chó, Vú lợn, Ngải phún, Sung ba thù. *F. simplicissima* là 1 trong khoảng 850 loài thuộc chi Đa đề (*Ficus*). Các bộ phận của cây Vú bò được sử dụng làm thuốc bao gồm rễ, nhựa, thân và lá. Cây Vú bò thường được sử dụng để chữa các bệnh như phong thấp tê bại, ho do lao phế quản, ra mồ hôi trộm, mệt mỏi chân tay, viêm gan, phụ nữ sau sinh không có sữa. Ở Việt Nam, cây được gọi là Vú bò có nhiều loại khác nhau, vì vậy, việc sử dụng mã vạch DNA để hỗ trợ định danh cây Vú bò là cần thiết. Trong nghiên cứu này, trình tự đoạn gen *matK* và *rbcL* của cây Vú bò được xác định. Kết quả cho thấy, đoạn gen *matK* có kích thước 778 nucleotide và đoạn gen *rbcL* có kích thước 602 nucleotide. So sánh hai đoạn gene *matK* và *rbcL* bằng BLAST trên NCBI đã cho thấy độ tương đồng ở mức trên 99% với các trình tự gen *matK* và *rbcL* thuộc chi *Ficus*. Khoảng cách trung bình giữa các mẫu được xác định bằng phần mềm MEGAX là 0,231%. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng dựa trên trình tự đoạn gen *matK* và *rbcL* bằng phương pháp Maximum Parsimony với giá trị bootstrap lặp lại 1000 đã cho thấy được sự khác biệt ở mức dưới loài với hệ số bootstrap trong khoảng 46 - 71.

Từ khóa: Cây dược liệu, mã vạch DNA, *matK*, *rbcL*, Vú bò.

MỞ ĐẦU

Cây Vú bò hay còn gọi là Thổ hoàng kỳ, Vú bò sẻ, Vú chó, Vú lợn, Ngải phún, Sung ba thù,... thuộc chi Đa đề hay còn gọi là chi Sung (*Ficus*), họ Dâu tằm (Moraceae). Các bộ phận của cây Vú bò được sử dụng làm thuốc bao gồm rễ, nhựa, thân và lá. Các bài thuốc sử dụng nguyên liệu là Vú bò thường chữa phong thấp tê bại, ho do lao phế quản, ra mồ hôi trộm, mệt mỏi chân tay, viêm gan, phụ nữ sau sinh không có sữa [1].... Trên thế giới đã có một số nghiên cứu về chi *Ficus*. Trong nghiên cứu của Lepcha và Shama năm 2021, tác giả đã xác định được 36 trong 115 loài có ở Sikkim, Ấn Độ. Tác giả cũng đã đề cập tới vai trò của chi *Ficus* trong đời sống của người dân trong các lĩnh vực như thảo dược chữa bệnh, thức ăn chăn nuôi,... [2]. Ở Việt Nam, năm 2014, Nguyễn Thị Tâm và cs. nghiên cứu thành công về việc nhân giống *in vitro* cây Vú bò [3]. Vũ Thị Thu Thủy và cs. (2022) cũng đã mô tả xác định và mô tả được các đặc điểm về hình thái, giải phẫu cơ quan dinh dưỡng, xác định khả năng kháng một số vi khuẩn gây bệnh của dịch chiết ethanol từ rễ cây Vú bò [4]. Các nghiên cứu về cây Vú bò cho thấy cây có nhiều loại [1-2]. Vì vậy, việc sử dụng mã vạch DNA để phân loại cây Vú bò là cần thiết. Mã vạch DNA là một đoạn gen ngắn, chuẩn được sử dụng để định danh các loài sinh vật chưa biết bằng phương pháp so sánh với trình tự DNA của ngân hàng gen. Ở thực vật, một số gen đã được sử dụng dùng cho phân loại như gen *matK*, *rbcL*, *rpoB*, *rpoC1*... Trong đó, gen *matK* và *rbcL* là một trong các gen được sử dụng làm mã vạch cho nhiều loài thực vật [5]-[7]... Năm 2009, Kress và dtg đã nghiên cứu sử dụng mã vạch DNA để phân loại 296 loài thuộc cây thân gỗ, thân bụi trên đảo Barro Colorado, Panama. Mười loài *Ficus* đã được xác định quan hệ bằng *matK* và *trnH-psbA* [7]. Bài báo này cung cấp thông tin về đặc điểm trình tự hai đoạn gen *matK* và *rbcL* của loài *Ficus simplicissima* L. thu thập tại Thái Nguyên nhằm bổ sung trình tự gen lục lạp cho mục đích phân loại loài *Ficus*.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Lá non của cây Vú bò (*Ficus simplicissima* L.) thu thập tại xã Hùng Sơn, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu. Mẫu cây đã được xác định và mô tả được các đặc điểm về hình thái, giải phẫu theo nghiên cứu theo nghiên cứu trước đây của Vũ Thị Thu Thủy và cs. [4].

Tách chiết DNA

Tách chiết và tinh sạch DNA tổng số bằng phương pháp CTAB theo Saghai-Marooof và cs. (1984) [8]. Các bước cơ bản gồm: Rửa sạch lá non (dạng bánh tẻ) bằng nước cất; Nghiền khoảng 50-100 mg lá cho đến dạng bột mịn trong nitrogen lỏng, bổ sung 600 μ L dung dịch CTAB 2X đã ủ ở 65°C, đảo đều. Thu dịch và tiếp tục ủ dịch ở 65°C trong 1 giờ. Thêm 100 μ L dung dịch Chloroform: Isoamyl alcohol, lắc mạnh, ly tâm 13,000 vòng trong 5 phút. Hút 500 μ L dịch trong phía trên chuyển sang ống Eppendorf mới, thêm 500 μ L dung dịch Isopropanol đảo nhẹ, ủ ở nhiệt độ

ESTABLISHMENT OF HAIRY ROOT LINES IN VIETNAMESE

Ficus simplicissima Lour.

Vu Thi Thu Thuy, Vu Manh Cuong, Tran Thi Hong, Chu Hoang Mau, Nguyen Thi Thu Nga*

TNU - University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 23/9/2022	<i>Ficus simplicissima</i> Lour. contains flavonoids and saponins with strong antioxidant capacity, used to treat a number of diseases such as inflammation, allergies, stomach ulcers... However, the content of natural synthetic flavonoids very low in <i>Ficus simplicissima</i> Lour. (about 0.897 mg/g fresh leaves). Therefore, a method has been proposed to enhance the flavonoid content in <i>Ficus simplicissima</i> Lour. plant is the application of tissue culture techniques to create hairy root lines to increase biomass. This study presents the results of the induction and culture of hairy root lines through <i>A. rhizogenes</i> in <i>Ficus simplicissima</i> Lour. Of the two materials infecting with <i>A. rhizogenes</i> (stem segment, leaf tissue), leaf tissue is the suitable material for hairy root formation. Bacterial density corresponds to OD ₆₀₀ = 0.8; AS concentration 150 µmol/l; infection time 10 minutes; co-cultivation time 2 days; The concentration of cefotaxime 550 mg/l were suitable conditions for induction of hairy root formation from leaf tissue. MS medium in liquid state, without adding growth regulators, cultured in shaking condition is the suitable medium for hairy root growth. The results of checking the presence of <i>rolC</i> gene by PCR method and the absence of <i>virD2</i> gene confirmed that 5 hairy root lines were created from <i>Ficus simplicissima</i> Lour. plant.
Revised: 19/10/2022	
Published: 26/10/2022	
KEYWORDS	
<i>Agrobacterium rhizogenes</i>	
Leaf tissue	
Biomass	
<i>Ficus simplicissima</i> Lour	
Hairy roots	

NGHIÊN CỨU CẢM ỨNG VÀ NUÔI CÂY TẠO RỄ TƠ CÂY VÚ BÒ
(*Ficus simplicissima* Lour.)

Vũ Thị Thu Thủy, Vũ Mạnh Cường, Trần Thị Hồng, Chu Hoàng Mậu, Nguyễn Thị Thu Nga*

Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 23/9/2022	Cây Vú bò (<i>Ficus simplicissima</i> Lour.) chứa flavonoid và saponin có khả năng chống oxy hóa mạnh, được dùng để điều trị một số bệnh như viêm nhiễm, dị ứng, loét dạ dày... Tuy nhiên, hàm lượng flavonoid tổng hợp tự nhiên trong cây Vú bò rất thấp (khoảng 0,897 mg/g lá tươi). Do đó, một phương pháp đã được đề xuất để tăng cường hàm lượng flavonoid trong cây Vú bò là ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô tạo dòng rễ tơ tăng sinh khối. Nghiên cứu này trình bày kết quả quá trình cảm ứng và nuôi cấy tạo dòng rễ tơ thông qua <i>A. rhizogenes</i> ở cây Vú bò. Trong 2 loại vật liệu lây nhiễm với <i>A. rhizogenes</i> (đoạn thân, mô lá) thì mô lá là vật liệu thích hợp cho tạo rễ tơ. Mật độ vi khuẩn tương ứng với giá trị OD ₆₀₀ = 0,8; nồng độ AS 150 µmol/l; thời gian nhiễm khuẩn 10 phút; thời gian đồng nuôi cấy 2 ngày; nồng độ cefotaxime 550 mg/l là những điều kiện thích hợp cho cảm ứng tạo rễ tơ từ mô lá. Môi trường MS ở trạng thái lỏng, không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng, nuôi trong điều kiện lắc là môi trường thích hợp cho sự tăng trưởng rễ tơ. Kết quả kiểm tra sự có mặt của gen <i>rolC</i> bằng phương pháp PCR và sự vắng mặt của gen <i>virD2</i> đã khẳng định 5 dòng rễ tơ được tạo ra từ cây Vú bò.
Ngày hoàn thiện: 19/10/2022	
Ngày đăng: 26/10/2022	
TỪ KHÓA	
<i>Agrobacterium rhizogenes</i>	
Mô lá	
Sinh khối	
Vú bò	
Rễ tơ	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6552>

* Corresponding author. Email: nganttt.bio@tnue.edu.vn

1. Giới thiệu

Cây Vú bò (*Ficus simplicissima* Lour.) là loại cây chưa được trồng phổ biến, mọc hoang dại trong rừng thứ sinh ở nước ta. Bộ phận dùng là rễ và vỏ rễ, thu hái quanh năm, được dùng thay thế hoàng kỳ nên có tên gọi khác là thô hoàng kỳ. Trong vú bò có nhiều acid hữu cơ, các acid amin, các chất triterpen, alcaloid và coumarin. Cây được sử dụng làm thuốc bằng cách thu hái trong tự nhiên. Các bộ phận của cây Vú bò được sử dụng làm thuốc bao gồm rễ, nhựa, thân và lá. Các bài thuốc sử dụng nguyên liệu là Vú bò thường là bài thuốc bổ có tác dụng kiện tỳ, bổ phế, hành khí lợi thấp, tráng gân cốt. Một số bệnh có sử dụng Vú bò như chữa phong thấp tê bại, ho do lao phế quản, ra mồ hôi trộm, mệt mỏi chân tay, ăn ít bụng trướng, viêm gan, phụ nữ sau sinh không có sữa...

Theo Đái Duy Ban (2008), ở đa số các họ thực vật, rễ là nơi tổng hợp và tích lũy các chất chuyển hóa thứ cấp chính bao gồm triterpen, alkaloid và coumarin. Các chất này có hoạt tính sinh học mạnh, là đối tượng nghiên cứu của nhiều nhà khoa học. Chỉ tính riêng coumarin, ít nhất cũng có 1300 coumarin khác nhau đã được xác định. Coumarin có các hoạt động chống huyết khối, chống viêm và giãn mạch. Coumarins cũng có thể có tác dụng kháng virus và rất độc đối với loài gặm nhấm. Một số hợp chất coumarin có thể sử dụng để chữa bệnh nấm Candida âm đạo. Ngoài ra, coumarin có thể tạo ra các đại thực bào, tác động tiêu cực đến nhiễm trùng do vi khuẩn [1]... Theo Sivanesan và cộng sự (2009), những hợp chất thứ cấp tổng hợp ở rễ cây có thể được tổng hợp theo cách tương tự trong rễ tơ [2].

Agrobacterium rhizogenes, còn được gọi là *Rhizobium rhizogenes*, là vi khuẩn đất Gram âm và là mầm gây bệnh thực vật. *A. rhizogenes* lây nhiễm qua vết thương và gây bệnh rễ tơ trên nhiều loài thực vật có hoa bằng cách chuyển một số gen cảm ứng rễ (root-inducing plasmid, Ri plasmid) vào hệ gen thực vật. Sự biểu hiện Ri plasmid ở thực vật dẫn đến tăng sinh tổng hợp hormone thực vật auxin, ảnh hưởng đến sự phát triển của rễ và thúc đẩy sự ra rễ bên [3]. Khả năng tạo ra hệ thống rễ phát triển vô hạn này đã được nghiên cứu, từ đó tìm hiểu về khả năng sản xuất các dược chất ở thực vật và protein tái tổ hợp [4]. Dòng *A. rhizogenes* ATCC 15834 được sử dụng cho việc nuôi cấy rễ tơ đầu tiên trên cả chua làm cây mô hình [5]. Ở Việt Nam, ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào để tạo dòng rễ tơ tăng sinh khối cũng đã thành công trên nhiều cây dược liệu như Cây Thỏ nhàn sâm (*Talinum paniculatum* Gaertn.), Đan Sâm (*Salvia miltiorrhiza* Bunge), Đẳng Sâm (*Codonopsis javanica*)... [6]-[8]. Với mục đích bước đầu nghiên cứu tạo sinh khối rễ tơ để khai thác các chất có hoạt tính sinh học từ cây dược liệu, bài báo này báo cáo kết quả nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng cảm ứng và tạo sinh khối rễ tơ cây Vú bò.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Mẫu thực vật

Quả Vú bò thu tại xã Mỹ Yên, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên được sử dụng cho nuôi cấy *in vitro*. Mẫu nghiên cứu được định danh bởi PGS.TS Sỹ Danh Thường, trường Đại học Sư phạm – Đại học Thái Nguyên. Chọn quả Vú bò chín đỏ thẫm, không bị sâu bệnh (Hình 1A). Loại bỏ lớp thịt quả, thu hạt và rửa hạt bằng nước sạch nhiều lần. Hạt được lã trong ethanol 70% trong khoảng thời gian 1 phút. Tráng hạt 5 lần bằng nước cất khử trùng. Tiếp tục lã hạt trong dung dịch javen 60%, lã đều trong khoảng thời gian 15 phút. Sau đó rửa sạch hạt bằng nước cất khử trùng 5 lần, rồi cấy lên môi trường MS cơ bản (Hình 1B). Số mẫu hạt gieo vào mỗi bình có thể tích 250 ml khoảng 50 - 60 hạt. Nuôi cấy tại phòng sinh trưởng với điều kiện chiếu sáng theo quang chu kỳ 16 giờ sáng và 8 giờ tối, nhiệt độ phòng $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, cường độ chiếu sáng 2000 lux. Lá và thân cây Vú bò *in vitro* khoảng 6-8 tuần tuổi được sử dụng làm vật liệu khảo sát tạo rễ tơ (Hình 1C).

Chủng vi khuẩn

Chủng *Agrobacterium rhizogenes* (*A. rhizogenes*) ATTC 15834 được cung cấp từ Viện Công nghệ sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

THE MORPHOLOGICAL, ANATOMICAL CHARACTERISTICS AND ANTIMICROBIAL ABILITY OF *FICUS SIMPLICISSIMA* PLANTS

Vu Thi Thu Thuy¹, Vu Van Trung², Nguyen Thi Thu Ha¹, Tran Thi Hong¹, Chu Hoang Mau^{1*}

¹TNU - University of Education

²Bac Giang Department of Education and Training

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 17/01/2022	<i>Ficus simplicissima</i> Lour collected in Thai Nguyen was compared with the morphology and anatomy of wild plants and <i>in vitro</i> plants. The results of the comparison showed that there is no difference. <i>F. simplicissima</i> Lour has a woody stem, tap-root, simple leaves, board of leaves are not lobed, edges of leaves are serrated. The anatomy of nutrient organs of the plant by double staining method showed cork, phylum, soft tissue, libe and xylem. The similarity between the morphology and anatomy of the plant is the basis for increasing the biomass of biologically active substances in the plant. The pure ethanol extract obtained by the Ultrasound-assisted extraction method from <i>F.simplicissima</i> Lour was resistant <i>S. aureus</i> from 22.67 mm (extraction 2 nd) to 23.67 mm (extraction 1 st). Correspondingly, <i>P. aeruginosa</i> from 18,00 mm to 20,33 mm and <i>C. freundii</i> from 18.33 mm to 19.67 mm. When the extract concentration was reduced to 50% the antibacterial ability was reduced to 50%, the antibacterial ability was reduced and no antibacterial ability when the extract was reduced by 25%.
Revised: 28/01/2022	
Published: 28/01/2022	
KEYWORDS	
<i>Ficus simplicissima</i>	
Anatomy	
Morphological	
Antimicrobial	
Ethanol extract	

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI, GIẢI PHẪU VÀ KHẢ NĂNG KHÁNG KHUẨN CỦA CÂY VÚ BÒ (*Ficus simplicissima* Lour)

Vũ Thị Thu Thủy¹, Vũ Văn Trung², Nguyễn Thị Thu Hà¹, Trần Thị Hồng¹, Chu Hoàng Mậu^{1*}

¹Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

²Sở Giáo dục và Đào tạo Bắc Giang

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 17/01/2022	Cây Vú bò (<i>Ficus simplicissima</i> Lour) thu hái tại Thái Nguyên được so sánh hình thái và giải phẫu của cây ngoài tự nhiên và cây <i>in vitro</i> , không nhận thấy sự khác biệt. Cây Vú bò dạng thân gỗ, rễ cọc, lá đơn nguyên, phiến lá không chia thùy, mép lá có khía răng cưa. Giải phẫu cơ quan dinh dưỡng của cây trồng ngoài tự nhiên và cây <i>in vitro</i> bằng phương pháp nhuộm kép với tiêu bản tạm thời xác định tốt cấu trúc của các lớp: bần, tầng phát sinh, mô mềm, libe và gỗ. Sự tương đồng giữa hình thái và giải phẫu của cây là căn cứ để tăng sinh khối các chất có hoạt tính sinh học trong cây Vú bò. Dịch chiết ethanol nguyên chất thu được bằng phương pháp hỗ trợ sóng siêu âm từ rễ cây Vú bò có khả năng kháng vi khuẩn <i>S. aureus</i> từ 22,67 mm (lần chiết 2) đến 23,67 mm (lần chiết 1). Tương ứng ở <i>P. aeruginosa</i> được 18,00 mm đến 20,33 mm và <i>C. freundii</i> được 18,33 mm đến 19,67 mm. Khi nồng độ dịch chiết giảm xuống 50%, khả năng kháng vi khuẩn bị giảm và không có khả năng kháng khuẩn khi dịch chiết giảm đến 25%.
Ngày hoàn thiện: 28/01/2022	
Ngày đăng: 28/01/2022	
TỪ KHÓA	
Cây Vú bò	
Giải phẫu	
Hình thái	
Kháng khuẩn	
Dịch chiết ethanol	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5470>

* Corresponding author. Email: chuhoangmau@tnu.edu.vn

1. Giới thiệu

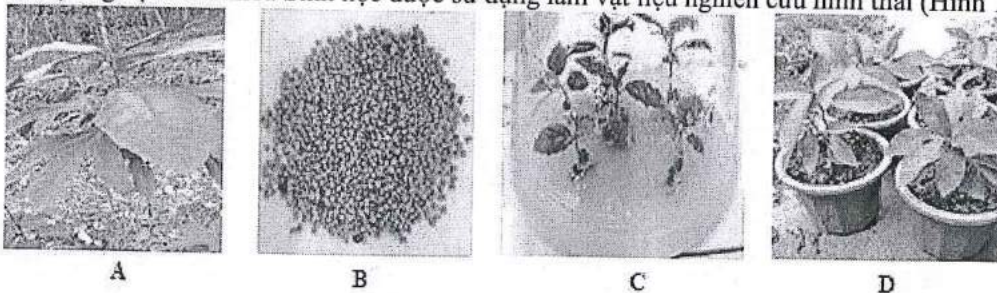
Trong những năm gần đây, các nghiên cứu về cây dược liệu ở nước ta đã đề cập đến tính đa dạng và tìm hiểu kiến thức bản địa trong chữa trị bệnh ở người [1], [2]; đồng thời phân tích thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học của các dược chất từ cây dược liệu [3]. Ứng dụng công nghệ sinh học trong việc nâng cao hiệu quả khai thác các dược chất bằng cách sử dụng công nghệ tế bào để tăng sinh khối cây dược liệu [4], sử dụng công nghệ gen trong cải thiện hàm lượng dược chất trong cây dược liệu là những cách tiếp cận mới, mang tính thời sự. Có thể kể đến một số nghiên cứu như tăng cường biểu hiện gen *AcF3'5'H* làm tăng tổng hợp flavonoid ở cây Ô đầu [5], biểu hiện mạnh gen *CHI* liên quan để tăng cường tích lũy flavonoid ở cây Sâm đất [6], chuyển gen nhằm nâng cao hàm lượng alkaloid ở cây dừa cạn [7] và bình vôi [8]...

Cây Vú bò là một trong số các loài thảo dược được thu hái trong tự nhiên để làm thuốc. Vú bò có nhiều loại, tất cả đều là các cây chưa được trồng chính thức và Vú bò hay còn gọi là Thổ hoàng kỳ, Vú bò sè, Vú chó, Vú lợn, Ngải phún, Sung ba thù... có tên khoa học là *Ficus simplicissima* Lour. Vú bò (*Ficus simplicissima* Lour) là 1 trong khoảng 850 loài thuộc chi Đa đề, còn gọi là chi Sung (*Ficus*), họ Dâu tằm (*Moraceae*), bộ Gai (*Urticales*), phân lớp Sau Sau (*Hamamelididae*), lớp Hai lá mầm (*Magnoliopsida*) [9], [10].

Các bộ phận của cây Vú bò được sử dụng làm thuốc bao gồm rễ, nhựa, thân và lá. Các bài thuốc sử dụng nguyên liệu là Vú bò thường là bài thuốc bổ có tác dụng kiện tỳ, bổ phế, hành khí lợi thấp, tráng gân cốt... [11]. Ứng dụng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* vào việc nhân giống nhằm bảo tồn và phát triển nguồn gen cây dược liệu khá thành công trên nhiều đối tượng cây trồng. Sự tổng hợp các chất ở cây ngoài tự nhiên cũng có thể được tổng hợp theo cách tương tự trong cây *in vitro* [12]. Bài báo này trình bày kết quả phân tích hình thái, giải phẫu và đánh giá khả năng kháng khuẩn của dịch chiết của cây Vú bò nhằm tạo cơ sở cho việc ứng dụng công nghệ gen và công nghệ tế bào thực vật vào việc nghiên cứu, khai thác các chất có hoạt tính sinh học từ cây Vú bò.

2. Phương pháp nghiên cứu

Hạt của cây Vú bò thu thập tại xã Hùng Sơn - Đại Từ - Thái Nguyên được làm sạch, sau đó gieo vô trùng *in vitro* trên môi trường Murashige-Skoog thành cây hoàn chỉnh và trồng trong vườn thực nghiệm của khoa Sinh học được sử dụng làm vật liệu nghiên cứu hình thái (Hình 1).



Hình 1. Hình ảnh mẫu cây Vú bò làm vật liệu nghiên cứu. A, B: Cây và hạt Vú bò thu thập tại Thái Nguyên 10/2020; C: Mẫu *in vitro* từ đoạn thân sau 5 tuần tuổi; D: Mẫu cây *in vitro* trồng ngoài vườn ươm

Phương pháp xác định tên khoa học loài Vú bò được thực hiện bằng phương pháp hình thái so sánh dựa trên tài liệu về “Cây cỏ Việt Nam” của Phạm Hoàng Hộ (2003) [9].

Phương pháp làm tiêu bản giải phẫu dựa trên tài liệu của Hoàng Thị Sản và cs (2003) [13]. Theo đó, các bước làm tiêu bản giải phẫu là: (1) Cắt mẫu thành những lát mỏng, tẩy sạch nội chất của tế bào bằng javen trong 20-30 phút. Loại dung dịch tẩy bằng axit acetic 10% trong 15 phút; (2) Nhuộm kép màu tiêu bản gồm: nhuộm đỏ bằng dung dịch carmin trong 20-30 phút, nhuộm xanh với xanh methylen trong 1 phút, sau đó rửa sạch bằng nước cất; (3) Quan sát tiêu bản trên kính hiển vi ở độ phóng đại 40, chụp ảnh và phân tích.

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
Đơn vị: Trường Đại học Sư phạm

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

**PHIẾU XÁC NHẬN
NGHIỆM THU ĐỀ TÀI KHCN CẤP BỘ**

1. Tên đề tài: Nghiên cứu ứng dụng của tài liệu các dòng học tiếng tạo
ra bằng phương pháp nước cây mi từ biển thực vật.....

Mã số: B2009 - TN04 - 04

2. Chủ nhiệm đề tài: Th.S. Đỗ Thị Thanh Thủy.....

3. Cơ quan thực hiện đề tài: Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên

4. Thời gian thực hiện: Từ tháng: 1 năm: 2009 đến tháng: 12 năm: 2010

5. Ngày nghiệm thu: 18 / 6 / 2011

6. Kinh phí được cấp: 60.000.000 đồng.....

Viết bằng chữ: Sáu mươi triệu đồng chẵn.....

7. Đánh giá kết quả và xếp loại: Tốt.....

Ngày 18 tháng 6 năm 2011
Chủ tịch Hội đồng

Đinh

PGS TS Lương Văn Hùng

Ngày tháng năm

T/T HĐKH Trường



TRƯỜNG PHÒNG KHOA HỌC-CN VÀ HTQT

PGSTS. Đỗ Hồng Thái

Số: 1646/QĐ-ĐHSP

Thái Nguyên, ngày 11 tháng 5 năm 2016

QUYẾT ĐỊNH

Về việc thành lập Hội đồng khoa học đánh giá nghiệm thu cấp cơ sở
đề tài Bảo tồn và lưu giữ quỹ gen cấp Bộ năm 2015

HIỆU TRƯỞNG TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

Căn cứ Nghị định số 31/CP ngày 04/4/1994 của Chính phủ về việc thành lập Đại học Thái Nguyên;

Căn cứ Thông tư số 08/2014/TT-BGDĐT ngày 20/3/2014 của Bộ trưởng Bộ GD&ĐT về việc Ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của đại học vùng và các cơ sở giáo dục của đại học thành viên;

Căn cứ thông tư số 22/2011/TT-BGDĐT ngày 30/5/2011 của Bộ trưởng Bộ GD&ĐT ban hành quy định về hoạt động khoa học và công nghệ trong các cơ sở giáo dục đại học;

Căn cứ quyết định số 84/QĐ-ĐHTN ngày 27/01/2011 của Giám đốc Đại học Thái Nguyên ban hành qui định về công tác quản lý KH&CN của Đại học Thái Nguyên;

Xét đề nghị của Trường phòng Phòng KH-CN&HTQT,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng khoa học đánh giá nghiệm thu cấp cơ sở đề tài Bảo tồn và lưu giữ quỹ gen cấp Bộ năm 2015, mã số B2015-15-11-GEN: “Bảo tồn và lưu giữ cây thất diệp nhất chi hoa (*Paris polyphylla* sm) phục vụ khai thác và phát triển nguồn gen cây thuốc quý ở vùng cao nguyên đá Hà Giang” do TS. Vũ Thị Thu Thủy làm chủ nhiệm, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên là cơ quan chủ trì gồm các thành viên trong danh sách kèm theo.

Điều 2. Hội đồng có nhiệm vụ đánh giá toàn diện việc thực hiện đề tài theo thuyết minh đã được Bộ Giáo dục và Đào tạo phê duyệt. Sau khi hoàn thành nhiệm vụ, Hội đồng tự giải thể. Quyết định này có hiệu lực 45 ngày kể từ ngày ký.

Điều 3. Trường phòng Phòng KH-CN&HTQT, Trường khoa Sinh học, các thành viên trong Hội đồng và chủ nhiệm đề tài chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. *[Chữ ký]*

Nơi nhận:

- Hiệu trưởng (để b/c);
- Như Điều 3 (để t/h);
- Lưu: VT, KHCN *[Chữ ký]*

KT.HIỆU TRƯỞNG
PHÓ HIỆU TRƯỞNG



PGS.TS. Mai Xuân Trường

PGS.TS. NGUYỄN THỊ NGỌC LAN

Antibacterial, Antioxidant and Anti - Cancerous Activities of *Adiandra megaphylla* Hu Leaf Extracts

Lan Thi Ngoc Nguyen¹, Quan Huu Nguyen^{1*}, Nga Thi Thu Nguyen¹, Thuy Thi Xuan Vi², Thuong Danh Sy¹, Tam Thi Nguyen¹ and Mau Hoang Chu¹

¹Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen 250000, Vietnam.

²Faculty of Science and Technology, Tay Bac University, Son La 360000, Vietnam.

ABSTRACT

Adinandra megaphylla Hu which belongs to *Adinandra* genus, Theaceae family, only narrowly distributed in Vietnam. Biological activities of this plant's secondary compounds have been left open yet. In this study, the antibacterial, antioxidant abilities and inhibiting cancer cell lines activity of leaf extract of *A. megaphylla* collected in Lao Cai province, Vietnam were initially investigated. Poultice extracted from leaves of *Adinandra megaphylla* with three solvents of ethanol, ethyl acetate and dichloromethane were quantified and determined composition of the polyphenol, flavonoid and coumarin groups. The ethanol extract, ethyl acetate extract and dichloromethane extract have been shown to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *Sarcina lutea*, *Lactobacillus plantarum* and *Escherichia coli* at concentration of 200 µg mL⁻¹. The ethyl acetate extract and dichloromethane extract have DPPH free-radical activities; the EC50 value reached 30.3 and 33.2 µg mL⁻¹, respectively. In particular, antimicrobial and free-radical activities of the dichloromethane extract were better than ethanol and ethyl acetate extracts. Extracts from *A. megaphylla* showed inhibition of gastric, lung and breast cancer cell lines with values of 67.76, 77.02 and 84.46 µg mL⁻¹, respectively. Research results show that *A. megaphylla* is a potential plant containing many compounds with antibacterial, antioxidant abilities and inhibiting cancer cell lines.

KEY WORDS: ADINANDRA MEGAPHYLLA, ANTIOXIDANT, ANTIBACTERIAL, ANTI-CANCER, POULTICE.

INTRODUCTION

Vietnam has high potential for medicinal plants, which their chemical composition and pharmacological activities of some herbaceous species have been studied in previous studies (Hung et al., 2019; Minh et al., 2010; Vu et al., 2019), but there are still many species that

have not been assessed their medicinal value, including *Adinandra megaphylla* of the genus *Adinandra*, the tea family (Theaceae). In the world, there are about 85 species in the *Adinandra* genus distributed in Bangladesh, Cambodia, China, India, Indonesia, Southern Japan, Laos, Malaysia, Myanmar, New Guinea, Philippines, Sri Lanka, Thailand, Vietnam and African rainforests. In China, the genus *Adinandra* has 22 species, of which up to 17 are endemic (Min and Bruce, 2007). In "An illustrated flora of Vietnam", Pham Hoang Ho (1999) indicated that the genus *Adinandra* in Vietnam contains about 11 species which scattered throughout the country.

Species of the genus *Adinandra* consist of secondary compounds with antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant, anti-free radical and anti-cancer activities. However, studies on the genus *Adinandra* have been

Article Information:

Corresponding author email: quannh@tnue.edu.vn
Received 09/07/2020 Accepted after revision 29/09/2020
P-ISSN: 0974-6455 E-ISSN: 2321-4007
Thomson Reuters ISI Clarivate Analytics
Web of Science ESCI Indexed Journal

Identifiers & Pagination:

Vol 13(3) E-Pub 30th Sep 2020 Pp- 1403-1402
This is an open access article under Creative Commons
License Attribution International (CC-BY 4.0)
Published by Society for Science & Nature India
DOI: <http://dx.doi.org/10.21786/bbrc/13.3/5>

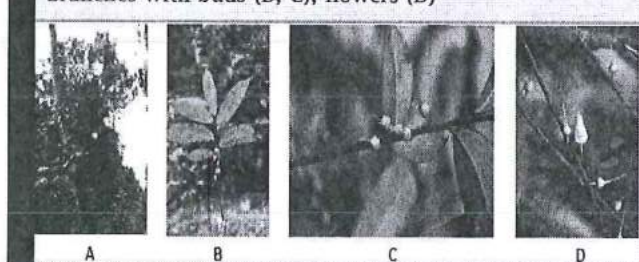
mainly focused on the species *Adinandra nitida*. In 2008, Liu et al. isolated camellianin A from *A. nitida* Merr. ex Li by column chromatography and determined its content by HPLC. At the same time, their study demonstrated high antioxidant capacity from flavonoids extracted by DPPH and free radical cleaning method (Liu et al., 2008). In addition, Liu et al. (2013) optimized flavonoid extraction method and obtained camellianin A from *A. nitida* leaves; flavonoids were also reported to have antioxidant ability at the concentration of 0.02 mg mL⁻¹ (Liu et al., 2013).

Thus, previous studies have shown that flavonoids like epicatechin, apigenin, quercitrin, camellianin A and camellianin B to have biological and antioxidant activities. Chemical composition of *A. nitida* has been isolated and determined by Wang et al. (2008) using column chromatography. The structure of saponins compounds comprise 6 types, including 2alpha, 3alpha, 19alpha- trihydroxy-olean-12-en-28-oic acid-28-O-beta-D-glucopyranoside; arjunetin; sericoside; glucosyl tormentate; nigaichigoside F1 and arjunglucoside I. Among of which, 2alpha, 3alpha, 19alpha-trihydroxy-olean-12-en-28-oic acid-28-O-beta-D-glucopyranoside is a new substance. The remaining substances were first discovered in *A. nitida* (Wang et al., 2008).

Moreover, in the *Adinandra* genus, *Adinandra lienii* was initially studied for its geographical distribution and *matK* sequence to help identify this species in Lao Cai province, Vietnam. Meanwhile, there have been not any studies on chemical composition and biological activity of total extracts from *Adinandra megaphylla* yet. In this study, we present results of qualitative analysis of chemical composition and evaluation of antibacterial, antioxidant, anti-cancer activities of the *A. megaphylla* Hu extracts.

MATERIAL AND METHODS

Figure 1: Morphological characteristics of *A. megaphylla* Hu collected in Lao Cai province, Vietnam. Life form (A), branches with buds (B, C), flowers (D)



***A. megaphylla* samples:** *A. megaphylla* samples was collected from Lao Cai province, Vietnam in the 1200–1800 m altitude at 21°59'15"N; 104°19'28"E. *A. megaphylla* Hu samples (branches with leaves and flowers) were collected to determine the scientific name in laboratory. *A. megaphylla* Hu leaves were used for poultice extraction with ethanol, ethyl acetate and dichloromethane. The scientific name of species

is determined by comparative morphological methods according to monograph including “An Illustrate Flora of Vietnam” and “Flora of China” (Figure 1).

Bacterial strains and cancer cell lines: Bacterial strains (*Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Sarcina lutea*, and *Lactobacillus plantarum*) were selected for the antibacterial activity assay. They were grown in liquid Luria-Bertani (LB) medium (0.5% (w/v) yeast extract, 1.0% (w/v) peptone, 1.0% (w/v) NaCl, pH 7.0) overnight at 28°C, and the diluted bacterial suspension (10⁶ mL⁻¹) was ready for detection. Solid LB medium contained additionally 2.0% (w/v) agar. Cancer cell lines, including the breast cancer cell line (MDA-MB-231), the stomach cancer cell line (AGS) and the lung cancer cell line (A549) were used in cytotoxicity assays.

Materials and chemicals: Yeast extract and peptone were purchased from Bio Basic Inc. (USA); Ethanol, ethyl acetate and dichloromethane were from Fluka (China); TLC silica gel 60 F254 was from Merck (Germany).

Method of sample preparation: The leaves of *A. megaphylla* are washed thoroughly, then cut into pieces and dried at a temperature of 50°C to constant mass. The crushed sample is extracted twice with ethanol in an ultrasonic machine at room temperature. The crude extracts were collected by solvent removal under reduced pressure conditions, at 50°C and extracted with solvents of dichloromethane and ethyl acetate. The residue of ethanol, dichloromethane and ethyl acetate were cleaned solvent and dried at 50°C to collect ethanol extract, dichloromethane extract and ethyl acetate extract, respectively.

Polyphenols were detected by reaction with iron salts (III)/sulfuric acid: Reaction with iron salts (III): 5 mL of ethanol extract were added into two tubes, denoted by I and II, respectively. The tube II was supplemented with 0.5 mL iron salts (III), shake and observe color. Depending on the number and location of hydroxyl groups in polyphenol molecules, results are green, blue or brown.

Reaction with sulfuric acid: 2 mL of ethanol extract were added into two tubes, denoted by I and II, respectively. The tube II was supplemented with 1–2 drops of H₂SO₄, shake and observe color. Add H₂SO₄ concentrate to flavones and flavonols to give a deep yellow; to chalcones and aurones to produce a red, crimson red or bright red solution; to flavanones to give orange red.

Flavonoids were detected by reaction with hydrochloric acid and magnesium powder: The tube contained 0.05g ethanol extract and 10 mL CH₃OH, which were shaken, heated to dissolve and filtered through filter paper. 2 mL of filtrate was added into two tubes, denoted by I and II, then was added a pinch of magnesium powder and shaken. The tube II was supplemented with five drops of HCl and boiled for 3 mins. The solution changed to yellow, red to green colors, as it contained flavonoids. Coumarin was detected by reaction with NaOH solution:

2 mL of ethanol extract were added into two tubes, denoted by I and II. The tube II was supplemented with 0.5 mL of 10% NaOH solution. Two tubes were boiled, cooled down to room temperature and added 4 mL distilled water. The tube II is more transparent or clear than tube I, indicates the presence of coumarin. When the two test tubes were added with a few drops of HCl, the solution turned a dull yellow, so the coumarin was determined following this method (Nguyen and Hung, 2008).

Thin layer chromatographic method (TLC): Ethanol extract from *A. megaphylla* leaves were detected by TLC (3.5 × 10 cm layer of silica gel 60), performed with two mobile phases of n-hexane/acetone (1:1, v/v) and dichloromethane/n-hexane (3:1, v/v). The products were visualized by spraying the TLC plate with 10% (v/v) sulfuric acid in ethanol and incubating at 100°C until color appeared.

Determination of antibacterial activity of extracts: Antibacterial activity of extracts was performed according to the method of Mahesh and Satish (2008). In order to determine antibacterial activity of the extracts, 70 mL of diluted bacterial suspension (106 mL^{-1}) was brushed on 0.5-cm-thick LB plates. The LB plates were perforated with 0.5-cm-diameter holes, and each hole was supplemented with 100 mL of each ethanol, ethyl acetate and dichloromethane extract from *A. megaphylla* Hu leaves with different concentrations (20, 60 and 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$) or with DMSO for the control. The inhibition activity of extracts against bacterial growth was observed after incubation at 30°C for 18-40 hours. The antibacterial levels were determined by diameter of inhibition zones (in millimeters) around the holes. The diameter of antibacterial ring was determined by the formula: $H = D - d$ (mm). In which: D is the diameter of the antibacterial ring from the center of perforations (mm); d is the diameter of perforated agar (mm).

Determination of oxidation activity of extracts: Antioxidant activity of *A. megaphylla* extracts was determined by Tabart et al. (2009) using DPPH radical scavenging. 100 μL of each extract at five concentrations, including 0.5, 2, 8, 32 and 64 $\mu\text{g mL}^{-1}$ were added with 2.9 mL of 0.1 mM DPPH solution mixed in methanol solution, shook and left in the dark for 30 min at room temperature, the absorbance was measured at 517 nm. The inhibition of DPPH radical by the samples was calculated by following formula: DPPH activity (%) = $100 \times (A_c - A_s) / A_c$, in which A_c : the absorbance of control, A_s : the absorbance of sample. Antioxidant activity was determined based on EC_{50} values (the concentration of DPPH free radical scavenging samples is 50%) (Tabart et al., 2009).

Cytotoxic assays: Cancer cytotoxicity was determined using the method of Monks et al. (1991) (Monks et al., 1991). Poultice extracted from *A. megaphylla* leaves was prepared and tested at four concentrations, including 100, 20, 4 and 0.8 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Ellipticine was used as a reference at four concentrations: 10, 2, 0.4 and 0.08 μg

mL^{-1} . Dimethyl sulfoxide (DMSO) at 10% concentration was used as a negative control. Total protein content of a cell is determined based on the optical density (OD) when proteins of the cell are stained with sulforhodamine B (SRB). The OD results were read on a wave step of 515 nm in an ELISA Plate Reader. OD values are proportional to the amount of SRB, which is attached to protein molecules. The larger the OD value, higher the amount of protein and higher the amount of cells. Cytotoxicity was expressed as the concentration of drug that inhibited cell growth by 50%. Inhibitory concentration 50% (IC_{50}) is the concentration of the sample at which it can inhibit 50% of cells. The substance is considered to have good activity when $IC_{50} = 5 \text{ mM}$ (Hughes et al., 2011).

RESULTS AND DISCUSSION

Results of thin layer chromatographic analysis show that, there were 7 marks in the ethanol extract and 6 marks in the ethyl acetate extract for the n-hexane/acetone at a 1:1 ratio (Figure 2A). There were 3 marks in the ethanol extract and 6 marks in the ethyl acetate extract for the dichloromethane/n-hexane solvent system at a 3:1 ratio (Figure 2B). Thus, on the thin layer chromatographic analysis with two different solvent systems showed that the extract from *A. megaphylla* Hu has many bands with different colors.

Figure 2: Results of thin layer chromatographic analysis of ethanol extract (A) and ethyl acetate extract (B) in the n-hexane/acetone at a 1:1 ratio (I) and dichloromethane/n-hexane solvent system at a 3:1 ratio (II)

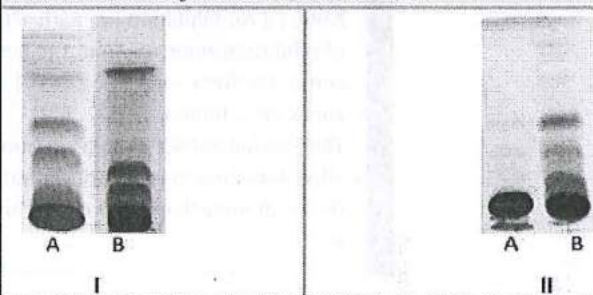
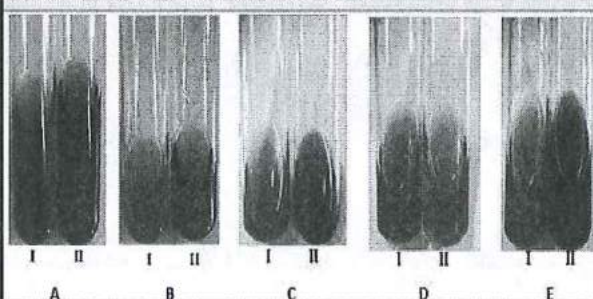


Figure 3: Color reactions for detection of polyphenols (A, B), flavonoids (C) and coumarin (D, E) in the ethanol extract from leaves of *A. megaphylla*. The ethanol extract before (I) and after (II) reacting with iron salts (III) (3A); with sulfuric acid (3B); with Mg in HCl solution (3C); with NaOH (3D); with HCl solution (3E).



The extract of *A. megaphylla* was quantified polyphenols, flavonoids and coumarin by different reagents. The results were shown in Figure 3.

Polyphenols in the ethanol extract was detected by reacting with iron salts (III), the solution in the tube II turned dark green due to reaction between polyphenols and iron salts (III). The solution in the tube II turned dark yellow (Figure 3B), if flavonoid reacted with sulfuric acid. According to flavonoids qualitative, the solution in the tube II changed color from yellow to dark red (Figure 3C). Coumarin was detected by reaction with 10% NaOH solution, the results showed in tube II is more transparent than tube I (Figure 3D). Then, when a few drops of HCl were added to both tubes, the tube II changed from dark opaque yellow to light transparent yellow color (Figure 3E). Therefore, it is clear from these results that the extract of *A. megaphylla* leaves contained polyphenols, flavonoids and coumarin. Previous studies

have also demonstrated that leaves of *Adinandra nitida* contained total flavonoids Gao et al., 2010; Chen et al., 2017. Bioactive compounds in these plants have an important role in producing medicinal products as well as a basis for further research.

Antibacterial activity of ethanol, ethyl acetate and dichloromethane extracts from leaves of *A. megaphylla* Hu was tested at different concentrations using bacteria via the agar diffusion method (Table 1 and figure 4). The ethanol extract had no bactericidal effects at a concentration of 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, and had low activity at 60 and 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ concentrations on *B. subtilis*. Whereas, the ethyl acetate and dichloromethane extract showed antibacterial activity against *B. subtilis* at all concentrations tested, and the dichloromethane extract at 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ had the strongest antibacterial activity (Figure 4A).

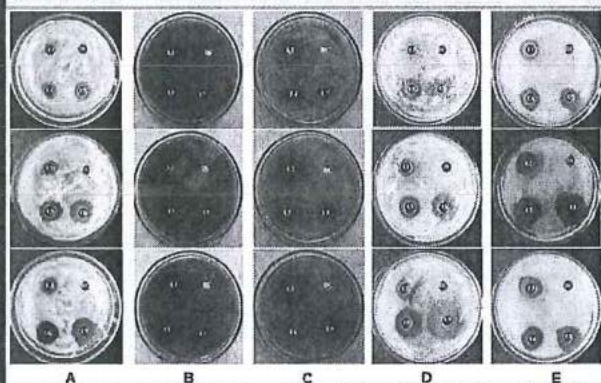
Table 1. Antibacterial activities of extracts from leaves of *A. megaphylla* Hu

No.	Bacterial	E1	E2	Experimental concentrations of the extracts						
				E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9
1	<i>B. subtilis</i>	-	+	+	+	++	++	++	+++	+++
2	<i>S. marcescens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
3	<i>S. lutea</i>	-	-	-	-	-	-	-	++	+++
4	<i>L. plantarum</i>	+	++	++	++	++	+	+++	+++	+++
5	<i>E. coli</i>	+	+++	+++	++	+++	++	++	+++	+++

Note: (-) No inhibition (no antibacterial zones); (+) Weak inhibition (the diameters of inhibition zones are from 1 to 5 mm); (++) Inhibition (the diameters of inhibition zones are from 6-10 mm); (+++) Strong inhibition (the diameters of inhibition zones are >10mm).

The ethanol extract at concentration of 20 (E1); 60 (E2) and 200 (E3) $\mu\text{g mL}^{-1}$; the ethyl acetate extract at concentration of 20 (E4); 60 (E5) and 200 (E6) $\mu\text{g mL}^{-1}$; the dichloromethane extract at concentration of 20 (E7); 60 (E8) and 200 (E9) $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Figure 4: Antibacterial activities against *B. subtilis* (A), *S. marcescens* (B), *S. lutea* (C), *L. plantarum* (D) and *E. coli* (E) of *A. megaphylla* Hu extracts; DC: Dimethyl sulfoxide (DMSO) served as a control.



The ethanol, ethyl acetate and dichloromethane extracts had no antibacterial activity against *S. marcescens* at all concentrations (Figure 4B). For *S. lutea* bacteria, the ethanol extract, the ethyl acetate extracts at concentration of 20, 60 and 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and the dichloromethane extract at concentration of 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ had no antibacterial activity. While, the dichloromethane extract at 60 and 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ concentrations had strong antibacterial activity against *S. lutea* (Figure 4C). The ethyl acetate and dichloromethane extract had antibacterial activity against *L. plantarum* at all concentrations tested, and the strongest antibacterial activity was observed with the dichloromethane extract at 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figure 4D). The ethanol, ethyl acetate and dichloromethane extracts had antibacterial activity against *E. coli* at all concentrations; The strongest resistance activity was at 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for the dichloromethane extract, followed by the ethyl acetate (Figure 4E).

Two New C₂₁ Steroidal Glycosides from the Leaves of *Hoya parasitica*

Cuong Viet Hoang ¹, Tan Quang Tu ², Lan Thi Ngoc Nguyen ²,
Hung Duc Nguyen ², Quan Huu Nguyen ^{2*} and Mau Hoang Chu ²

¹ Thai Nguyen Department of Education and Training, Thai Nguyen 24000, Viet Nam

² Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen 24000, Viet Nam

(Received July 05, 2023; Revised September 29, 2023; Accepted October 01, 2023)

Abstract: Two new pregnane glycosides, parasiticoside A (1) and parasiticoside B (2), were isolated from the leaves of *Hoya parasitica*. Their structures were determined by spectroscopic analysis 1D and 2D NMR, and mass spectrometry (HR-ESI-MS in positive mode) techniques as 3 β ,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-*O*- β -D-fucopyranoside-20-*O*- β -D-glucopyranoside (1), and 3 β ,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopyranoside-20-*O*- β -D-glucopyranoside (2). These compounds are believed to be the first example of pregnane glycosides from a plant of the genus *Hoya*.

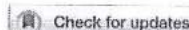
Keywords: *Hoya parasitica*; Apocynaceae; pregnane glycoside; parasiticoside A; parasiticoside B; NMR.
© 2023 ACG Publications. All rights reserved.

1. Introduction

The *Hoya* genus, belonging to the Apocynaceae plant family, contains about 350 species, some of which are planted for ornamental purposes. Majority of species of this genus are distributed in tropical and subtropical South and Southeast Asia [1]. Some species of the genus such as *H. kerrii*, *H. parasitica*, were reported to possess biological activities including antibacterial, anticancer, antinociceptive, antioxidant, and anti-inflammatory activities [2–6]. Previous phytochemical studies on the genus revealed the presence of pregnanes, triterpenoids, sesquiterpenoids, pregnane glycosides, androstanes, phenolic compounds, and oligosaccharides [2,3,7–12].

H. parasitica (synonym: *H. acuta*) of the *Hoya* genus is commonly known in Viet Nam as waxvine, waxflower, or “Lan cam cu”. This species is a parasite creeper with a fragrant flower, whose aerial part is used to cover wounds, increase the milk supply, and treat melasma in children [13]. A previous phytochemical investigation on this plant reported the isolation of triterpenes, triterpenoids, pregnanes, phenolic compounds, triterpenoids [3,11,14]. As part of our ongoing studies for investigation of phytotoxic natural products from Vietnamese medicinal plants, the leaves of *H. parasitica* were further investigated in the present study, led to the isolation of two new pregnane glycosides, named as parasiticoside A (1) and parasiticoside B (2). This paper reports the isolation and structural determination of these new compounds.

*Corresponding author: E-mail: nguyenhuuquan@tnu.edu.vn; Phone: 084-369-238303



Three new minor steroidal glycosides from the whole plants of *Hoya parasitica* (Wall. ex Hornem.) Wight

Tan Quang Tu^a, Yen Thi Hai Nguyen^b, Lan Thi Ngoc Nguyen^a,
Hung Duc Nguyen^a  and Mau Hoang Chu^a

Department of Biology, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen, Viet Nam; ^bDepartment of Biotechnology, Thai Nguyen University of Sciences, Thai Nguyen, Viet Nam

ABSTRACT

Three new minor steroidal glycosides were isolated from the whole plants of *Hoya parasitica* (Wall. ex Hornem.) Wight. Their structures were further elucidated as 3 β ,4 α -dihydroxy-5 β -spirost-(25)27-en-1 β -yl O- α -L-arabinopyranoside (**1**), 3 β -hydroxy-5 β -spirost-25(27)-en-1 β -yl O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-xylopyranoside (**2**), and (23S,24S,25S)-3 β ,4 α ,23,24-tetrahydroxy-5 β -spirostan-1 β -yl O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopyranoside (**3**) through interpretation of the spectroscopic data (one-dimensional and two-dimensional) and mass spectrometry (HR-ESI-MS). To the best of our knowledge, this is the first report of the isolation of spirostane-type steroidal saponins from the *Hoya* genus.

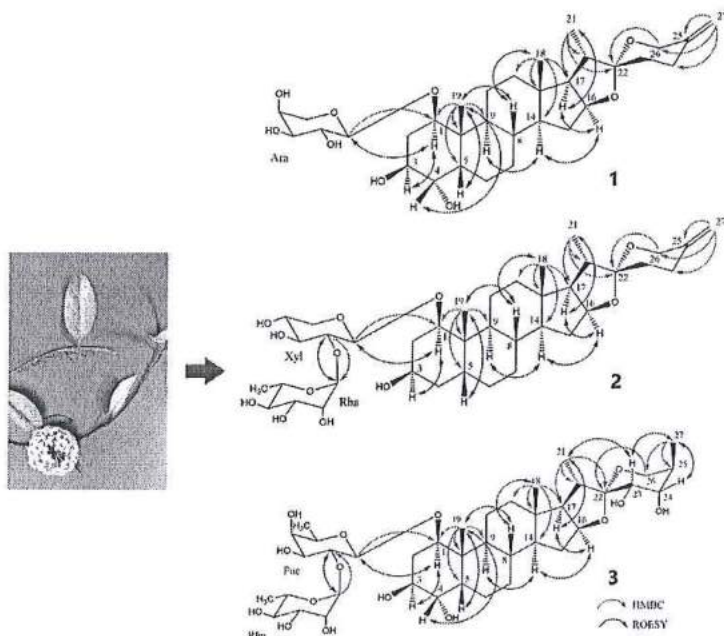
ARTICLE HISTORY

Received 22 April 2023

Accepted 10 August 2023

KEYWORDS

Apocynaceae; *Hoya parasitica* (Wall. ex Hornem.) Wight; NMR; spectroscopic analysis; steroidal glycoside



CONTACT Hung Duc Nguyen  hungnd@tnue.edu.vn

 Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2261601>.

© 2023 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

Two New C₂₁ Steroidal Glycosides from the Leaves of *Hoya parasitica*

Cuong Viet Hoang ¹, Tan Quang Tu ², Lan Thi Ngoc Nguyen ²,
Hung Duc Nguyen ², Quan Huu Nguyen ^{2*} and Mau Hoang Chu ²

¹ Thai Nguyen Department of Education and Training, Thai Nguyen 24000, Viet Nam

² Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen 24000, Viet Nam

(Received July 05, 2023; Revised September 29, 2023; Accepted October 01, 2023)

Abstract: Two new pregnane glycosides, parasiticoside A (1) and parasiticoside B (2), were isolated from the leaves of *Hoya parasitica*. Their structures were determined by spectroscopic analysis 1D and 2D NMR, and mass spectrometry (HR-ESI-MS in positive mode) techniques as 3 β ,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-O- β -D-fucopyranoside-20-O- β -D-glucopyranoside (1), and 3 β ,20-dihydroxy-pregn-5-ene-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopyranoside-20-O- β -D-glucopyranoside (2). These compounds are believed to be the first example of pregnane glycosides from a plant of the genus *Hoya*.

Keywords: *Hoya parasitica*; Apocynaceae; pregnane glycoside; parasiticoside A; parasiticoside B; NMR.
© 2023 ACG Publications. All rights reserved.

1. Introduction

The *Hoya* genus, belonging to the Apocynaceae plant family, contains about 350 species, some of which are planted for ornamental purposes. Majority of species of this genus are distributed in tropical and subtropical South and Southeast Asia [1]. Some species of the genus such as *H. kerrii*, *H. parasitica*, were reported to possess biological activities including antibacterial, anticancer, antinociceptive, antioxidant, and anti-inflammatory activities [2–6]. Previous phytochemical studies on the genus revealed the presence of pregnanes, triterpenoids, sesquiterpenoids, pregnane glycosides, androstanes, phenolic compounds, and oligosaccharides [2,3,7–12].

H. parasitica (synonym: *H. acuta*) of the *Hoya* genus is commonly known in Viet Nam as waxvine, waxflower, or “Lan cam cu”. This species is a parasite creeper with a fragrant flower, whose aerial part is used to cover wounds, increase the milk supply, and treat melasma in children [13]. A previous phytochemical investigation on this plant reported the isolation of triterpenes, triterpenoids, pregnanes, phenolic compounds, triterpenoids [3,11,14]. As part of our ongoing studies for investigation of phytotoxic natural products from Vietnamese medicinal plants, the leaves of *H. parasitica* were further investigated in the present study, led to the isolation of two new pregnane glycosides, named as parasiticoside A (1) and parasiticoside B (2). This paper reports the isolation and structural determination of these new compounds.

*Corresponding author: E-mail: nguyenhuuquan@tnu.edu.vn; Phone: 084-369-238303

2. Materials and Methods

2.1. General Experimental Procedures

An Elmasonic S10H ultrasonicator (Elma, Switzerland) was used for the extraction of the leaves of species. The purification of the compounds was performed on a vacuum liquid chromatography (VLC) system on silica gel RP-18 (75-200 μm , Silicycle, Canada), and silica gel 60 (63-200 μm , Sigma-Aldrich, France). The isolation and further purification of saponins from the subfractions were carried out on medium-pressure liquid chromatography (MPLC) system by using stationary phase on Merck silica gel 60, particle size 15-40 μm (Germany) with a Gilson M 305 pump and a fraction collector (Biopharmacia). A Büchi glass columns (460 mm x 25 mm, 110 mm x 15 mm) were used in the MPLC system. Thin-layer chromatography (TLC) and high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) were performed on Merck silica gel 60F₂₅₄ (Germany), development with CHCl_3 -MeOH- H_2O -AcOH (70:30:5:1). TLC and HPTLC spots were visualized by spraying the plates with a mixture of EtOH- H_2SO_4 (50:1), heated at 100 °C for 10 min. Optical rotation was determined on an AA-10R automatic polarimeter (Optical Activity LTD, England). High resolution electrospray ionization mass spectrum (HR-ESI-MS) was carried out on a Bruker micrOTOF II mass spectrometer (Bruker, Germany) in positive-ion mode. Gas chromatography (GC) was carried out on a ThermoQuest Trace Gas Chromatograph apparatus (Thermo Scientific, USA) using an OV-17 on Silanox (0.3 mm x 50 m) column. 1D and 2D NMR were recorded on an NMR Inova 600 MHz spectrometer (Agilent Technologies, USA) in pyridine-*d*₅.

2.2. Plant Material

Hoya parasitica was collected from at Hop Thanh, Son Duong, Tuyen Quang, Viet Nam in February 2023 at geographic coordinates of 21°41'04" N, 105°29'03" E, and authenticated by Prof. Thuong Danh Sy, Department of Botany. The voucher specimen (N° HOYP202302TQ1) was deposited in the Department of Biology, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen, Viet Nam.

2.3. Extraction and Isolation

The extraction of the dried powdered leaves (53.6 g) of *H. parasitica* was performed by the ultrasound-assisted method using the solvent EtOH/ H_2O (75:35) at the condition following: 200 W, 60 °C, 45 min, 500 mL each x 2 times. After filtration and evaporation, 6.18 g of crude of extract was yielded and further separated by a VLC silica gel RP-18 and eluted respectively with H_2O 100%, EtOH/ H_2O 50:50, EtOH 100%, respectively resulting 3 fractions (A-C) based on a TLC analysis. Fraction B (519.6 mg) was chromatographed on a MPLC silica gel 60 (CHCl_3 /MeOH/ H_2O 80:20:2, 75:25:3, v/v/v) resulting 5 subfractions (B1-B5). Subfraction B2 (32.5 mg) was submitted again on a successive MPLC silica gel 60 (CHCl_3 /MeOH/ H_2O 80:20:2, v/v/v) affording 1 (3.3 mg). Compound 2 (3.1 mg) was obtained from subfraction B3 (64.5 mg) by a successive MPLC silica gel 60 (CHCl_3 /MeOH/ H_2O 75:25:3, v/v/v).

Parasiticoside A (1): Amorphous white powder, $[\alpha]_D^{25} = -38^\circ$ (MeOH, *c* 0.30). HR-ESI-MS: *m/z* 649.3563 [*M*+Na]⁺ (calcd. for $\text{C}_{33}\text{H}_{54}\text{NaO}_{11}$, 649.3558). ¹H and ¹³C NMR data are given in Table 1.

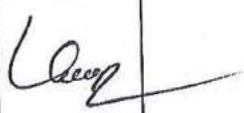
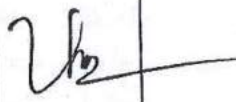
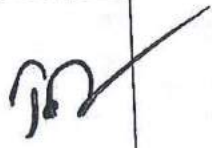
Parasiticoside B (2): Amorphous white powder, $[\alpha]_D^{25} = -45^\circ$ (MeOH, *c* 0.22). HR-ESI-MS: *m/z* 795.4142 [*M*+Na]⁺ (calcd. for $\text{C}_{39}\text{H}_{64}\text{NaO}_{15}$, 795.4137). ¹H and ¹³C NMR data are given in Table 1;

2.4. Acid Hydrolysis and GC Analysis

Hydrolysis of 3 mg of each pregnane glycoside was performed with 5 mL of 2N aq. CF_3COOH (4 mL) and water (1 mL) for 3h at 95 °C. The reaction mixture was then diluted in water (10 mL) and extracted with 5 mL of CH_2Cl_2 (3 times). The CH_2Cl_2 layer was evaporated with MeOH until the solvent became neutral to give the sugar residue, and further chromatographed by TLC over silica gel using

THUYẾT MINH ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP BỘ

1. TÊN ĐỀ TÀI Nghiên cứu biểu hiện gen mã hóa flavonoid 3'5'-hydroxylase để tăng cường tích lũy flavonoid ở cây Ô đầu (<i>Aconitum carmichaelii</i> Debx.)		2. MÃ SỐ B2020-TNA-M		
3. LĨNH VỰC NGHIÊN CỨU Khoa học tự nhiên ☐ Khoa học kỹ thuật và công nghệ ☐ Khoa học y, dược ☐ Khoa học nông nghiệp ☒ Khoa học xã hội ☐ Khoa học nhân văn ☐		4. LOẠI HÌNH NGHIÊN CỨU Cơ bản ☐ Ứng dụng ☒ Triển khai ☐		
5. THỜI GIAN THỰC HIỆN: 24 tháng Từ tháng 01 năm 2020 đến tháng 12 năm 2021 (2021)				
6. TỔ CHỨC CHỦ TRÌ ĐỀ TÀI Tên tổ chức chủ trì: Đại học Thái Nguyên Điện thoại: 02083.654.096 E-mail: banQLKH.DHTN@moet.edu.vn Địa chỉ: Phường Tân Thịnh - TP. Thái Nguyên - Thái Nguyên Họ và tên thủ trưởng tổ chức chủ trì: GS.TS. Phạm Hồng Quang				
7. CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI Họ và tên: TS. Nguyễn Thị Ngọc Lan Học vị: Tiến sĩ Chức danh khoa học: Giảng viên chính Năm sinh: 1979 Địa chỉ cơ quan: Trường ĐH Sư phạm-ĐH Thái Nguyên Điện thoại di động: 0983581979 Điện thoại cơ quan: 20-Lương Ngọc Quyến, Tp Thái Nguyên Fax: E-mail: nguyennngoclan@dhsptn.edu.vn				
8. NHỮNG THÀNH VIÊN THAM GIA NGHIÊN CỨU ĐỀ TÀI				
TT	Họ và tên	Đơn vị công tác và lĩnh vực chuyên môn	Nội dung nghiên cứu cụ thể được giao	Chữ ký
1	TS. Nguyễn Thị Ngọc Lan	Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên Sinh lý thực vật/ Công nghệ sinh học	- Chủ nhiệm đề tài - Viết thuyết minh, thiết kế vector biểu hiện gen và phân tích biểu hiện gen, phân tích và xử lý dữ liệu. - Viết báo công bố, viết báo cáo tổng kết	

2	TS. Nguyễn Hữu Quân	Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên Hóa sinh học/ Công nghệ sinh học	- Thư kí đề tài - Viết đề cương nghiên cứu chi tiết. Phân tích cây thuốc lá chuyển gen bằng PCR, Southern, protein tái tổ hợp và Real time RT-PCR. - Xử lý số liệu, viết báo công bố, viết báo cáo tổng kết	
3	PGS.TS. Vũ Thị Thu Thủy	Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên Di truyền học/ Công nghệ sinh học	Chuyển gen vào cây thuốc lá. Đánh giá chức năng sinh học của gen chuyển ở cây chuyển gen và cây không chuyển gen.	
4	TS. Nguyễn Thị Hải Yến	Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên Di truyền học/ Công nghệ sinh học	- Nghiên cứu hệ thống tái sinh phục vụ chuyển gen ở cây Ô đầu. - Phân tích biểu hiện gen <i>AcF3'5'H</i> ở cây Ô đầu, chọn tạo dòng Ô đầu chuyển gen - Viết báo công bố.	
5	TS. Từ Quang Tân	Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên Công nghệ sinh học	- Phân tích hàm lượng flavonoid của cây Ô đầu chuyển gen, cây nuôi cấy <i>in vitro</i> và cây trồng tự nhiên.	
6	NCS. Hoàng Thị Thu Hoàn	Trường Đại học Tân Trào, Tuyên Quang	Thu mẫu Ô đầu. Thiết kế cặp mồi PCR và nhân bản gen <i>AcF3'5'H</i> từ cây Ô đầu. Nghiên cứu hệ thống tái sinh phục vụ chuyển gen. Phân tích đặc điểm của gen <i>AcF3'5'H</i> . Chuyển gen <i>AcF3'5'H</i> vào thuốc lá và vào cây Ô đầu	

9. ĐƠN VỊ PHỐI HỢP CHÍNH

Tên đơn vị trong và ngoài nước	Nội dung phối hợp nghiên cứu	Họ và tên người đại diện đơn vị
Phòng Công nghệ tế bào thực vật, Viện Công nghệ sinh học, VAST.	Phân tích Real time RT-PCR và một số kỹ thuật phân tử khác	PGS.TS. Lê Văn Sơn

HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ, NGHIỆM THU CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
CẤP BỘ ĐỀ TÀI KH&CN CẤP BỘ, Độc lập - Tự do - Hạnh phúc
BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

Thái Nguyên, ngày 25 tháng 11 năm 2021

**BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ, NGHIỆM THU CẤP BỘ
ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP BỘ**

1. Tên đề tài: Nghiên cứu biểu hiện gen mã hóa flavonoid 3'5'-hydroxylase để tăng cường tích lũy flavonoid ở cây Ô đầu (Aconitum carmichaeli Debx.)
Mã số: B2020-TNA-11
2. Chủ nhiệm đề tài: TS. Nguyễn Thị Ngọc Lan
3. Tổ chức chủ trì: Đại học Thái Nguyên
4. Quyết định thành lập Hội đồng: Số 4349/QĐ-BGDĐT ngày 17/11/2021 của Bộ GD&ĐT
5. Ngày họp: 25/11/2021
6. Địa điểm: Phòng họp A1B, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên
7. Thành viên của Hội đồng: Tổng số: 07 có mặt: 07 vắng mặt: 0
8. Khách mời dự:

9. Kết luận và kiến nghị của Hội đồng:

- 9.1. Về mức độ đáp ứng được yêu cầu số lượng, khối lượng sản phẩm theo Thuyết minh đề tài

Đề tài đáp ứng đủ số lượng và khối lượng sản phẩm theo thuyết minh đề tài được phê duyệt

- 9.2. Về chất lượng sản phẩm và giá trị khoa học, giá trị thực tiễn của các kết quả thực hiện đề tài

Chất lượng sản phẩm của đề tài, giá trị khoa học và thực tiễn đảm bảo, phù hợp với thuyết minh đề tài được phê duyệt

- 9.3 Kết quả đánh giá xếp loại chung của đề tài:

- a) Kết quả đánh giá, xếp loại của Hội đồng ở mức sau (đánh ✓ vào ô tương ứng):

☐ Xuất sắc

☒ Đạt

☐ Không đạt

- b) Phân luận giải của hội đồng về kết quả đánh giá, xếp loại (chọn ✓ vào ô tương ứng và luận giải):

☐ Đề tài được xếp loại "Xuất sắc" bởi những lý do cụ thể dưới đây:

☒ Đề tài được xếp loại "Đạt" bởi những lý do cụ thể dưới đây:

Đề tài đáp ứng đủ các sản phẩm theo thuyết minh

☐ Đề tài được xếp loại "Không đạt" bởi những lý do cụ thể dưới đây:

K

9.4. Kiến nghị của Hội đồng:

a) Chủ nhiệm đề tài điều chỉnh, bổ sung và hoàn thiện báo cáo tổng kết, báo cáo tóm tắt ở những vấn đề sau (nếu có):

Chỉnh sửa lỗi in ấn, lỗi đánh máy

b) Bộ Giáo dục và Đào tạo nghiệm thu các sản phẩm dưới đây:

Danh mục sản phẩm khoa học đáp ứng được yêu cầu hợp đồng:

TT	Tên sản phẩm	Ghi chú
1,	02 bài báo thuộc danh mục ISI (01 bài Q1, 01 bài Q2)	
2,	02 bài báo quốc gia	

c) Chuyển giao, sử dụng kết quả thực hiện đề tài (nếu cụ thể cơ quan, địa chỉ áp dụng, sử dụng từng kết quả thực hiện đề tài):

d) Công bố, xuất bản kết quả thực hiện đề tài:

đ) Không công bố, xuất bản kết quả thực hiện đề tài:

Biên bản họp Hội đồng được thông qua với sự thống nhất của các thành viên Hội đồng dự họp vào ngày 25 tháng 11 năm 2021

THƯ KÝ

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

TS. Nguyễn Đức Hùng

PGS.TS. Nguyễn Thị Tâm

XÁC NHẬN CỦA BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TH. BỘ TRƯỞNG
VỤ TRƯỞNG VỤ KHOA HỌC, CÔNG NGHỆ VÀ MÔI TRƯỜNG



PHÓ VỤ TRƯỞNG VỤ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ VÀ MT

Vũ Thanh Bình

liệu. Các địa chỉ ứng dụng bao gồm:

Các phòng thí nghiệm Sinh học và Công nghệ sinh học của các trường đại học thành viên thuộc Đại học Thái Nguyên.

Tăng cường năng lực nghiên cứu, đào tạo của Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên. Đề tài góp phần tạo điều kiện cho các cán bộ trẻ, sinh viên tham gia nghiên cứu khoa học, tạo ra sản phẩm phục vụ phát triển kinh tế xã hội khu vực trung du, miền núi Bắc bộ. Góp phần sử dụng hiệu quả hệ thống thiết bị nghiên cứu của trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên.

Tạo điều kiện cho phát triển đào tạo ngành Công nghệ sinh học, Di truyền học, Sinh học thực nghiệm tại Trường Đại học Sư phạm và các trường đại học thành viên khác thuộc Đại học Thái Nguyên.

18. TÁC ĐỘNG VÀ LỢI ÍCH MANG LẠI CỦA KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

18.1. Đối với lĩnh vực giáo dục và đào tạo

Kết quả nghiên cứu của đề tài là tài liệu phục vụ nghiên cứu, đào tạo sinh viên, học viên cao học, nghiên cứu sinh ngành sinh học, công nghệ sinh học, góp phần nâng cao chất lượng, hiệu quả đào tạo và nghiên cứu khoa học của Trường Đại học Sư phạm, Trường Đại học khoa học thuộc Đại học Thái Nguyên. Đồng thời là sự gắn kết giữa việc học tập lý thuyết với thực hành và ứng dụng các tiến bộ của công nghệ sinh học hiện đại trong điều kiện thực tiễn Việt Nam. Học viên, sinh viên thực hiện các thí nghiệm trong đề tài được tiếp cận với công nghệ mới, rèn luyện kỹ năng nghiên cứu, thí nghiệm phục vụ cho thực tiễn chuyên môn sau này. Đề tài góp phần đào tạo cán bộ có trình độ cao thạc sĩ, tiến sĩ.

18.2. Đối với lĩnh vực khoa học và công nghệ có liên quan

Kết quả nghiên cứu của đề tài sẽ là cơ sở ứng dụng kỹ thuật tăng cường biểu hiện gen vào việc nâng cao sự tích lũy các hợp chất có hoạt tính sinh học, phục vụ công tác chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

18.3. Đối với phát triển kinh tế-xã hội

Kết quả nghiên cứu tạo vector chuyển gen và tạo được các dòng Ô đầu chuyển gen có hàm lượng flavonoid cao làm cơ sở cho việc sử dụng để chuyển vào các giống cây dược liệu khác, tạo các giống cây dược liệu, nâng cao giá trị sử dụng trong công tác chăm sóc sức khỏe cộng đồng. Kết quả nghiên cứu của đề tài mở ra triển vọng tạo cây dược liệu có sự tích lũy dược chất cao bằng kỹ thuật chuyển gen.

18.4. Đối với tổ chức chủ trì và các cơ sở ứng dụng kết quả nghiên cứu

Đề tài góp phần bồi dưỡng khả năng nghiên cứu của các giảng viên trẻ, hình thành nhóm nghiên cứu mạnh về lĩnh vực ứng dụng công nghệ gen ở cây trồng trong các cơ sở giáo dục đại học liên quan đến Sinh học và Công nghệ sinh học của Đại học Thái Nguyên. Đồng thời, kết quả nghiên cứu khẳng định khả năng làm chủ công nghệ sinh học hiện đại ứng dụng trong nông nghiệp của tổ chức chủ trì và các cơ sở ứng dụng kết quả nghiên cứu.

19. KINH PHÍ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI VÀ NGUỒN KINH PHÍ

Kinh phí thực hiện đề tài: 750 triệu đồng

Trong đó: Ngân sách Nhà nước: 750 triệu đồng;

Các nguồn khác: 0

Đơn vị tính: đồng

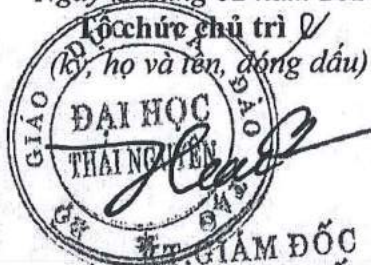
TT	Khoản chi, nội dung chi	Thời gian thực hiện	Tổng kinh phí	Nguồn kinh phí		Ghi chú
				từ NSNN	nguồn khác	
1	Chi tiền công lao động trực tiếp	2020-2021	530.589.000	530.589.000	0	
2	Chi mua vật tư, nguyên, nhiên, vật liệu	2020-2021	149.680.000	149.680.000	0	
3	Chi sửa chữa, mua sắm tài sản cố định		0	0	0	
4	Chi hội thảo khoa học	2020 -2021	18.405.000	18.405.000	0	
5	Chi trả dịch vụ thuê ngoài phục vụ nghiên cứu		0	0	0	
6	Chi điều tra, khảo sát thu thập số liệu		0	0	0	
7	Chi văn phòng, phẩm, thông tin liên lạc, in ấn	2020-2021	7.200.000	7.200.000	0	
8	Chi họp hội đồng đánh giá, nghiệm thu cấp cơ sở	2021	4.950.000	4.950.000	0	
9	Chi quản lý chung	2020-2021	37.500.000	37.500.000	0	
10	Chi khác	2020-2021	1.676.000	1.676.000	0	
	Tổng cộng		750.000.000	750.000.000	0	

Bảy trăm năm mươi triệu đồng chẵn ./.

(Dự toán chi tiết các mục chi kèm theo và xác nhận của cơ quan chủ trì).

Ngày 19 tháng 02 năm 2020

Ngày 12 tháng 02 năm 2020

Ký, họ và tên, đóng dấu)

 TS. Nguyễn Thị Ngọc Lan

Chủ nhiệm đề tài
 (ký, họ và tên)

GIÁM ĐỐC
 PHÓ GIÁM ĐỐC
 PGS. TS. Nguyễn Hữu Dũng
 Ngày 12 tháng 02 năm 2020
 Cơ quan chủ quản duyệt

TS. Nguyễn Thị Ngọc Lan

TL. BỘ TRƯỞNG BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
 VỤ TRƯỞNG VỤ KHOA HỌC, CÔNG NGHỆ VÀ MÔI TRƯỜNG

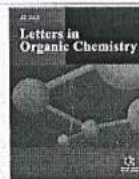


PHÓ VỤ TRƯỞNG VỤ KHOA HỌC CÔNG NGHỆ VÀ MT

Vũ Thanh Bình

GS.TS. CHU HOÀNG MẬU

RESEARCH ARTICLE

BENTHAM
SCIENCEOne New Steroidal Saponin from the Leaves of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev.Tu Quang Tan¹, Nguyen Thi Hai Yen², Chu Hoang Mau¹ and Nguyen Duc Hung^{1,*}¹Department of Biology, Thai Nguyen University of Education, 24000, Thai Nguyen, Vietnam; ²Department of Genetics, Thai Nguyen University of Sciences, 24000, Thai Nguyen, Vietnam

Abstract: The aim of this study is to isolate and identify new chemical constituents from *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. growing in Vietnam. *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. (Synonym: *Cordyline terminalis* L. Kunth), belongs to the Asparagaceae family, is one of the popular plants in folk medicine. This plant has been used to treat various diseases, such as sore throat, neck pain, bloody urine, kidney diseases, headache, infections of mammary glands, and inflammation in the digestive tract. Previous study on the leaves of *C. fruticosa* (L.) A. Chev. reported the presence of cholestane glycosides with cytotoxic activity. The leaves of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. were provided by a flower shop in Thai Nguyen city, Vietnam in 2021 (21°35'53" N, 105°50'17" E). The extraction was performed by the ultrasound-assisted method using the solvent EtOH/H₂O. The crude extract was chromatographed on silica gel to yield one compound. The structure elucidation of isolated compound was determined by spectroscopic analysis 1D and 2D NMR, and mass spectroscopy (HR-ESI-MS in positive mode). A new steroidal saponin was isolated from the leaves of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. The structure of compound was determined as 26-O-β-D-glucopyranosyl-furosta-5,(25)27-diene-1β,3β,22α,26-tetrol-1-O-β-D-glucopyranoside. Phytochemical study on the leaves of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. lead to the isolation and elucidation of one new steroidal saponin. Previous investigation on species of *Cordyline* genus revealed the presence of steroidal saponins, so this study has a significant benefit to complete the chemotaxonomic data about saponins from genus *Cordyline* and thus Asparagaceae family. The biological test of this compound should be further carried out in the next study.

ARTICLE HISTORY

Received: July 16, 2022
Revised: November 03, 2022
Accepted: November 04, 2022DOI:
10.2174/1570178620666230116114218

CrossMark

Keywords: *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev., Asparagaceae, furostane, steroidal saponin, spectroscopic analysis, human leukemia cells.

1. INTRODUCTION

The distribution of the genus *Cordyline*, Asparagaceae family, is mainly in New Zealand, Australia, and Southeast Asia. Some species of this genus have been used as folk medicine to treat dysentery, rheumatism, and inflammation [1-4]. The previous phytochemical studies on some species of the genus *Cordyline*, including *C. cannifolia*, *C. stricta*, *C. rubra*, and *C. fruticosa* have been investigated for the presence of steroidal saponins [3, 5-10]. Pharmacological studies on those compounds have revealed that they possess interesting biological actions, particularly cytotoxic and antimicrobial activities [9, 10]. *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. is an ornamental plant that could be found in Vietnam.

The study on the leaves of *C. fruticosa* (L.) A. Chev. reported the presence of cholestane glycosides with cytotoxic activity against HL-60 human leukemia cells [11]. Our previous study on the roots of *C. fruticosa* (L.) A. Chev. involved the isolation and purification of two new steroidal saponins [12]. In the continuous research of the plant, the isolation and structure determination of a new furostanol saponin, namely 26-O-β-D-glucopyranosyl-furosta-5,(25)27-diene-1β,3β,22α,26-tetrol-1-O-β-D-glucopyranoside (**1**), were reported. The structure of **1** was determined by 1D and 2D NMR spectroscopic analysis (¹H, ¹³C, COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, ROESY), together with mass spectrometry (HR-ESI-MS in positive mode), and by comparison with data published in the literature.

2. RESULTS AND DISCUSSION

The HR-ESI-MS of compound **1** displayed a pseudomolecular peak at *m/z* 793.4107 [M+Na]⁺, indicating the

*Address correspondence to this author at the Department of Biology, Thai Nguyen University of Education, 24000, Thai Nguyen, Vietnam; E-mail: hungnd@tnue.edu.vn

Two new triterpene glycosides from the seeds of *Dimocarpus longan*Tan Quang Tu, Hung Duc Nguyen^{*}, Mau Hoang Chu

Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen, Viet Nam

ARTICLE INFO

Keywords:

Dimocarpus longan Lour.
Sapindaceae
Triterpene glycoside
Structural elucidation
Saponin

ABSTRACT

Two undescribed triterpene glycosides, 3-[(α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-arabinopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid O - β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- O -[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-glucopyranoside (**1**) and 3-[(O - β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- O - α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-arabinopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid O - α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- O -[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-glucopyranoside (**2**), named longanosides A and B, respectively, were isolated from the seeds of *Dimocarpus longan* Lour. by various chromatography methods. The structures of the isolated compounds were established by interpretation of spectroscopic data (1D and ²D NMR) and mass spectrometry (HR-ESI-MS).

1. Introduction

Dimocarpus longan Lour., belonging to the genus *Dimocarpus* and thus the Sapindaceae family, is widely distributed throughout the world, especially in Southeast Asia, including Vietnam (Zhang et al., 2020). The fruit of *D. longan* has gained wide popularity with consumers and is used in folk medicine to treat diseases by promoting blood metabolism, soothing nerves and relieving insomnia (Xue et al., 2015). Despite containing high levels of polyphenolic compounds which could be an exploitable source of natural phenolic antioxidants, the seeds of *D. longan* are largely wasted or burned as fuel during processing (Li et al., 2014; Rangkadilok et al., 2005; Soong and Barlow, 2004). To search for structurally unique and biologically active compounds from medicinal plants in Vietnam, the present study focused on the isolation and identification of two undescribed triterpene glycosides from the seeds of *D. longan*. This is the first report on the isolation of triterpene glycosides from the *Dimocarpus* genus.

2. Results and discussion

The aqueous ethanolic crude extract of the seeds of *D. longan* Lour. was isolated and purified by various chromatographic methods running on normal-phased silica gel resulting in new compounds **1** and **2** (Fig. 1). The structural determination of isolated compounds was carried out by 1D and ²D NMR (¹H, ¹³C, COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, and ROESY) and mass spectrometry (HR-ESI-MS in positive mode). The sugar moieties of isolated compounds were identified by extensive ²D NMR analysis as α -L-arabinopyranosyl (Ara), α -L-rhamnopyranosyl (Rha), β -D-

xylopyranosyl (Xyl) and β -D-glucopyranosyl (Glc). This identification was further proven by the retention times of the sugar moieties resulting from acid hydrolysis at t_R = 10.06 (L-Ara), 10.66 (D-Xyl), 11.07 (L-Rha), and 17.51 min (D-Glc). The absolute configurations of sugars were determined to be D for Xyl and Glc, and L for Ara and Rha by GC analysis (Nguyen et al., 2020). The relatively large ³ $J_{H-1,H-2}$ values of Ara, Xyl and Glc (7.6–8.2 Hz) indicated a β anomeric orientation for Xyl and Glc, and an α anomeric orientation for Ara. The large ³ $J_{H-1,C-1}$ values of Rha (166–168 Hz) confirmed that the anomeric protons were equatorial (α -pyranoid anomeric form) (Nguyen et al., 2021).

Compound **1** was isolated as a white amorphous powder. The molecular formula of **1** was determined to be C₅₇H₉₂O₂₄ based on a pseudomolecular ion peak at m/z 1183.5912 (calcd. for 1183.5876) in the HR-ESI-MS spectrum. The ¹H NMR spectrum revealed the presence of seven tertiary methyl groups at δ_H 1.29 (s, H-23), 1.13 (s, H-24), 0.88 (s, H-25), 0.96 (s, H-26), 1.35 (s, H-27), 0.96 (s, H-29), and 1.03 (s, H-30); one oxymethine proton signal at δ_H 3.32 (m, H-3); and a trisubstituted olefinic proton at δ_H 5.49 (br t, J = 3.5 Hz, H-12). The HMBC spectrum showed ² J_{H-C} and ³ J_{H-C} couplings from the methyl protons (CH₃ 23, 24, 25, 26, 27, 29 and 30), which allowed the assignments of most carbons and protons of this aglycone (Table 1). Moreover, C-3 and C-28 of the aglycone moiety were observed at δ_C 88.9 and 178.2, respectively, suggesting that **1** is a 3,28-bidesmoside (Kuroda et al., 2014). The ¹H NMR spectrum of **1** in the sugar region displayed signals of five anomeric protons at δ_H 4.86 (d, J = 7.6 Hz), 5.05 (d, J = 7.6 Hz), 5.26 (d, J = 7.6 Hz), 6.05 (d, J = 8.0 Hz) and 6.20 (br s), which were correlated in the HSQC spectrum with five anomeric carbon signals at δ_C 105.1, 105.3, 106.8, 96.2 and 101.6, respectively (Table 2). The correlation of

^{*} Corresponding author.E-mail address: hungnd@tnue.edu.vn (H.D. Nguyen).

ISOLATION AND STRUCTURE ELUCIDATION OF A NEW SPIROSTANE GLYCOSIDE FROM THE LEAVES OF *Dracaena fragrans*

Tan Tu Quang, Mau Chu Hoang,
and Hung Duc Nguyen*

A new spirostane glycoside was isolated from the leaves of Dracaena fragrans. The structure of this compound was elucidated as spirosta-5,25(27)-diene-1 β ,3 β -diol-1-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O-[α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-xylopyranoside, which was determined by spectroscopic analysis 1D and 2D NMR, and mass spectrometry (HR-ESI-MS in positive mode).

Keywords: *Dracaena fragrans*, Asparagaceae, spirostane glycoside, NMR, neoruscogenin.

The distribution of the genus *Dracaena*, Asparagaceae family, is found mainly in Africa, Australia, India, and Southeast Asia [1]. Some species of this genus have been used as folk medicine to treat hemorrhage, stomach, wounds, leucorrhea, fractures, diabetes, and tumors [2–6]. Previous phytochemical studies on species of the genus *Dracaena* have been investigated for the presence of steroidal saponins [7–10]. Pharmacological studies of those compounds revealed that they possess interesting biological actions including anti-inflammatory, cytotoxic, antimicrobial, antifungal activities [1, 11–15]. *Dracaena fragrans* (L.) Ker Gawl. belongs to the *Dracaena* genus, and is a common ornamental plant distributed mainly in West Africa and Southeast Asia. In our continuous research of the plants in Vietnam, in order to complete the chemotaxonomic data of the *Dracaena* genus, thus the Asparagaceae family, the isolation and structure determination of a new spirostane glycoside, namely spirosta-5,25(27)-diene-1 β ,3 β -diol-1-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O-[α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-xylopyranoside (**1**), is reported herein. The structure of the isolated compound was determined by 1D and 2D NMR spectroscopic analysis, together with mass spectrometry and by comparison with data published in the literature.

The HR-ESI-MS of compound **1** displayed a pseudo-molecular peak at m/z 861.4272 [$M + Na$]⁺, indicating the molecular formula of C₄₃H₆₆O₁₆. The ¹H NMR spectrum of the aglycon part of **1** showed signals of two tertiary methyl protons at δ 1.44 (s, H-18), 0.86 (s, H-19), a secondary methyl group at δ 1.05 (d, $J = 7.0$ Hz, H-21), an olefinic proton at δ 5.59 (H-6), and two exomethylene protons at δ 4.82 and 4.86 (each br.s, H-27), which were previously characterized to a spirostane-type steroid [16]. Furthermore, the presence of typical carbon signals in the ¹³C NMR spectrum at δ 139.1 (C-5), 124.7 (C-6), 109.5 (C-22), 144.0 (C-25), 64.8 (C-26), and 108.8 (C-27), together with the ¹H $\rightarrow$ ¹³C cross-peaks observed in the HMBC spectrum between δ_H 4.07, 4.48 (each br.d, $J = 11.7$ Hz, H-26) and δ_C 109.5 (C-22) confirmed that the aglycon was a spirostane-type steroid [13, 16, 17].

The sugar moieties of **1** were determined by 2D NMR analyses including HSQC, HMBC, COSY, TOCSY, and ROESY as one xylopyranosyl, one arabinopyranosyl, and one rhamnopyranosyl. The absolute configurations of sugar moieties were further identified to be D for xylose, and to be L for arabinose and rhamnose on the basis of the acid hydrolysis and GC analysis. The relatively large vicinal coupling constant values at $J = 7.0$ – 7.6 Hz observed for the anomeric proton determined the β -anomeric configuration of the xylopyranosyl moiety, and the α -anomeric configuration of the arabinopyranosyl moiety. The large ¹J_{H-1,C-1} value of the Rha at 167 Hz confirmed that the anomeric proton was equatorial (α -pyranoid anomeric form) [18, 19].

Department of Biology, Thai Nguyen University of Education, 24000 Thai Nguyen, Vietnam, e-mail: hungnd@tnue.edu.vn. Published in *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, No. 3, May–June, 2023, pp. 441–443. Original article submitted August 20, 2022.

A NEW FUROSTANOL GLYCOSIDE FROM *Dracaena cambodiana*Thuy Thi Xuan Vi,¹ Hung Duc Nguyen,² Tan Quang Tu,²Thu Thi Mai Lo,¹ and Mau Hoang Chu^{2*}

A new furostanol glycoside (**1**), along with spirosta-5,25(27)-dien-1 β ,3 β -diol 1-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-arabinopyranoside (**2**), were isolated from the leaves of *Dracaena cambodiana*. The structure of **1** was elucidated as (25*R*)-26-O- β -D-glucopyranosyl-22 α -methoxy-5 α -furost-1 β ,3 β ,26-triol-1-O- β -D-glucopyranoside, which was determined by spectroscopic analysis 1D and 2D NMR, and mass spectroscopy (HR-ESI-MS in positive mode).

Keywords: Asparagaceae, *Dracaena cambodiana*, furostanol glycoside, NMR, spirostanol glycoside.

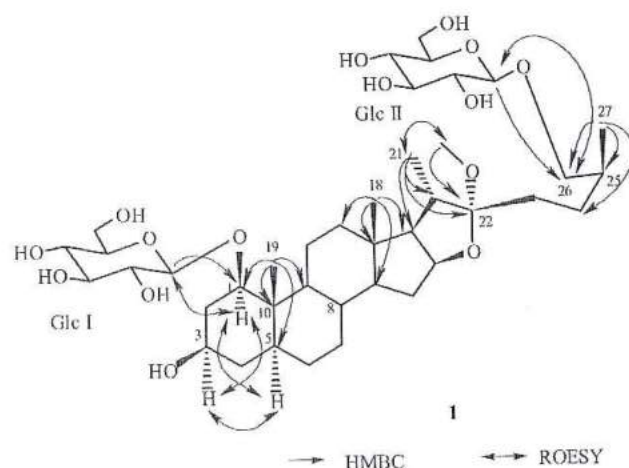
The genus *Dracaena*, with more than 60 species, is distributed in tropical and subtropical regions of the world [1]. Some plants of this genus such as *D. draco*, *D. cochinchinensis*, and *D. cambodiana*, have been used in traditional Chinese medicine due to their astringent and antidiarrheal effects for promoting blood circulation and treating traumatic and visceral hemorrhages [2, 3]. *D. cambodiana* Pierre ex Gagnep. belongs to the *Dracaena* genus, thus the Asparagaceae family, and is distributed in natural places in India, Cambodia, China, Laos, Thailand and Vietnam [4]. A survey of the literature showed that the species *D. cambodiana* has already been chemically studied and found to contain steroidal saponins, which possess interesting biological activities such as cytotoxic and antimicrobial activities [4–6]. In our continuous research of this plant collected in Vietnam, the isolation of a new furostanol glycoside, namely (25*R*)-26-O- β -D-glucopyranosyl-22 α -methoxy-5 α -furost-1 β ,3 β ,26-triol-1-O- β -D-glucopyranoside (**1**), along with one known spirosta-5,25(27)-dien-1 β ,3 β -diol 1-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-arabinopyranoside (**2**), are reported herein in order to complete the chemotaxonomic data of the *Dracaena* genus, thus the Asparagaceae family. The structures of isolated compounds were determined by 1D and 2D NMR spectroscopic analysis, together with mass spectrometry (HR-ESI-MS in positive mode), and by comparison with data published in the literature.

Compound **1** was obtained as a white powder and gave a pseudo-molecular peak at m/z 811.4455 [$M + Na$]⁺ in the HR-ESI-MS, indicating the molecular formula of C₄₀H₆₈O₁₅. The ¹H NMR spectrum of **1** showed two tertiary methyl signals at δ 0.83 (s, H-18), 1.01 (s, H-19), and two secondary methyl signals at δ 1.12 (d, J = 6.4 Hz, H-21), 1.15 (d, J = 7.0 Hz, H-27). In the ¹³C NMR, the signals of eight characteristic carbon signals at δ 38.6 (C-20), 15.1 (C-21), 112.2 (C-22), 32.4 (C-23), 29.5 (C-24), 41.7 (C-25), 73.9 (C-26), 15.2 (C-27) suggested the aglycon of **1** as an (*R*)-isomer furostane-type skeleton (Table 1). The 25*R* orientation of the 27-methyl group was determined by calculating the difference among the chemical shifts of the geminal protons of the glycosyloxy methylene H₂-26 (Δ_{ab} = 0.35 < 0.48) [7]. Furthermore, the signal of another tertiary methyl group at δ_H 3.35 (s) in the ¹H NMR spectrum indicated the presence of a methoxy group linked at the C-22 position of the aglycon. This was confirmed by the HMBC cross-peak between δ_H 3.35 (s, OCH₃) and δ_C 112.2 (C-22). The configuration of the 22-OCH₃ was deduced to be α -orientation due to a correlation observed in the ROESY spectrum between δ_H 3.35 (s, OCH₃) and δ_H 1.12 (d, J = 6.4 Hz, H-21) [8, 9]. The H-5 α orientation was confirmed by the correlations in the ROESY spectrum at δ_H 2.23 (m, H-5)/ δ_H 4.00 (dd, J = 11.1, 2.1 Hz, H-1), and δ_H 2.23 (m, H-5)/ δ_H 3.92 (m, H-3) [10]; thus, the structure of the aglycon of **1** was characterized as (25*R*)-22 α -methoxy-5 α -furostane-1 β ,3 β ,26-triol.

1) Tay Bac University, 34100, Son La, Vietnam; 2) Thai Nguyen University of Education, 24000, Thai Nguyen, Vietnam, e-mail: chuhoangmau@tnu.edu.vn. Published in *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, No. 6, November–December, 2024, pp. 934–936. Original article submitted March 11, 2024.

TABLE 1. ^1H (600 MHz) and ^{13}C (150 MHz) NMR Data of **1** (Py- d_5 , δ , ppm, J/Hz)

C atom	δ_{H}	δ_{C}	C atom	δ_{H}	δ_{C}
1	4.00 (dd, $J = 11.1, 2.1$)	80.8	22	—	112.2
2	2.02 (q, $J = 11.1$); 2.78	36.8	23	2.07; 2.12	32.4
3	3.92 (m)	67.1	24	1.63; 1.93	29.5
4	1.63; 1.69	36.4	25	1.88 (m)	41.7
5	2.23 (m)	40.7	26	4.15 (br.d, $J = 12.3$)	73.9
6	1.31; 1.35	28.7		4.50 (br.d, $J = 12.3$)	
7	0.88; 1.62	32.3	27	1.15 (d, $J = 7.0$)	15.2
8	1.42	36.4	MeO	3.35 (s)	47.2
9	1.48	55.4	Glc I-1	5.03 (d, $J = 7.6$)	100.2
10	—	43.1	2	4.03	75.4
11	1.40; 2.99	24.1	3	4.24	78.0
12	1.18; 1.65	40.3	4	4.06	72.2
13	—	40.2	5	3.99 (m)	78.1
14	0.95	56.3	6	4.25 (dd, $J = 11.5, 5.3$); 4.58	62.8
15	1.35; 1.92	32.1	Glc II-1	4.96 (d, $J = 7.6$)	104.4
16	4.82 (q, $J = 7.6$)	81.2	2	4.04	74.9
17	1.89	62.2	3	4.35	77.9
18	0.83 (s)	16.6	4	4.21	71.5
19	1.01 (s)	8.0	5	3.98 (m)	78.2
20	2.23 (q, $J = 6.4$)	38.6	6	4.33 (dd, $J = 11.3, 5.1$), 4.54	62.4
21	1.12 (d, $J = 6.4$)	15.1			

Fig. 1. Key HMBC and ROESY correlations of compound **1**.

The ^1H NMR spectrum of **1** in the sugar region showed two anomeric protons at δ 5.03 (d, $J = 7.6$ Hz) and 4.96 (d, $J = 7.6$ Hz), which were further identified as two glucopyranosyl units. The absolute configurations of sugar moieties were further identified to be D for glucose. The anomeric configuration of β -D-Glc was established by coupling constants of the anomeric proton signals in the ^1H NMR spectrum [11, 12]. The HMBC spectrum showed the correlation between δ_{H} 5.03 (d, $J = 7.6$ Hz, Glc I H-1) and δ_{C} 80.8 (C-1), indicating the Glc I moiety attached to the C-1 position of the aglycon. This was further confirmed by the correlation in the ROESY spectrum between δ_{H} 5.03 (d, $J = 7.6$ Hz, Glc I H-1) and δ_{H} 4.00 (dd, $J = 11.1, 2.1$ Hz, H-1). The other HMBC correlation between 4.96 (d, $J = 7.6$ Hz, Glc II H-1) and δ_{C} 73.9 (C-26) and the ROESY correlation between 4.96 (d, $J = 7.6$ Hz, Glc II H-1) and δ_{H} 4.50 (br.d, $J = 12.3$ Hz, H-26b) confirmed the glycosidic linkage of the Glc II at the C-26 position of the aglycon. All the preceding evidence led to the elucidation of **1** as (25*R*)-26-*O*- β -D-glucopyranosyl-22 α -methoxy-5 α -furost-1 β ,3 β ,26-triol-1-*O*- β -D-glucopyranoside (Fig. 1). The known compound was identified as spirosta-5,25(27)-dien-1 β ,3 β -diol 1-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-arabinopyranoside (**2**) [13].

EXPERIMENTAL

General Experimental Procedures. Optical rotations were measured on an AA-10R automatic polarimeter (Optical Activity LTD). ^1H and ^{13}C NMR were performed in pyridine- d_5 on a Varian Inova 600 MHz spectrometer with reference to tetramethylsilane (TMS) as the internal standard (600 MHz for ^1H , 150 MHz for ^{13}C , Agilent Technologies). HR-ESI-MS was recorded in positive-ion mode on a Bruker micrOTOF II mass spectrometer. The extraction was performed on the ultrasound apparatus (Elmasonic S10H, Elma). The isolation of compound **1** was performed on a vacuum liquid chromatography (VLC) on RP-18 silica gel (75–200 μm , Silicycle). Medium-pressure liquid chromatography (MPLC) was performed on silica gel 60 (15–40 μm , Merck), whereas TLC was carried out on precoated Kieselgel 60 F254 (Merck) plates developed with CHCl_3 – MeOH – H_2O – AcOH , 70:30:5:1 and was visualized by spraying with 2% vanillin in solvent EtOH – H_2SO_4 (100:2) followed by heating.

Plant Material. The leaves of *D. cambodiana* were collected in a natural place in Thai Nguyen City, Vietnam, in 2022 (21°34'32" N, 105°48'48" E). The voucher specimen (No. NDII202202DCL) was kept in the herbarium of the Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen, Vietnam.

Extraction and Isolation. The dried powder of the leaves of *D. cambodiana* (73.3 g) was extracted by the ultrasound-assisted method using the solvent EtOH – H_2O (70:30) at the following conditions: 50°C, 45 min, 400 mL each $\times$ 3 times. After removal of the solvent under vacuum, the crude extract (4.14 g) was subjected to a VLC on silica gel RP-18, eluting with each 500 mL of solvents including EtOH – H_2O (0:100, 50:50, 100:0) to yield 3 fractions named DC.1–DC.3. Fractions DC.2 (402.1 mg) was subjected to an MPLC on silica gel NP-60 using solvent CHCl_3 – MeOH – H_2O , 75:25:3, 70:30:5, 60:32:7 to yield 3 subfractions named DC.2.1–DC.2.3. MPLC of subfraction DC.2.2 (43.2 mg) on silica gel NP-60 using CHCl_3 – MeOH – H_2O , 70:30:5 as eluent afforded compound **1** (2.9 mg). Subfraction DC.2.3 (33.8 mg) was chromatographed on another MPLC on silica gel NP-60 using CHCl_3 – MeOH – H_2O , 70:30:5, resulting in compound **2** (2.8 mg).

(25*R*)-26-*O*- β -D-Glucopyranosyl-22 α -methoxy-5 α -furost-1 β ,3 β ,26-triol-1-*O*- β -D-glucopyranoside (1**),** white amorphous powder, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ –28° (*c* 0.25, MeOH). ^1H NMR (600 MHz) and ^{13}C NMR (150 MHz) spectral data are shown in Table 1. HR-ESI-MS m/z 811.4455 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ (calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{68}\text{NaO}_{15}$, 811.4450).

Acid Hydrolysis and GC Analysis. The protocol for identification of the sugar moieties and the absolute configurations of the isolated compound was detailed as previously reported [14].

REFERENCES

1. F. A. Moharram and S. M. El-Shenawy, *Planta Med.*, **73** (10), 1101 (2007).
2. Q. A. Zheng, H. Z. Li, Y. J. Zhang, and C. R. Yang, *Steroids*, **71** (2), 160 (2006).
3. Y. Zhu, P. Zhang, H. Yu, J. Li, M. W. Wang, and W. Zhao, *J. Nat. Prod.*, **70** (10), 1570 (2007).
4. M. Xu, C. R. Yang, and Y. J. Zhang, *Helv. Chim. Acta*, **93** (2), 302 (2010).
5. H. Y. Shen, W. J. Zuo, H. Wang, Y. X. Zhao, Z. K. Guo, Y. Luo, X. N. Li, H. F. Dai, and W. L. Mei, *Fitoterapia*, **94**, 94 (2014).
6. Y. Luo, H. Y. Shen, W. J. Zuo, H. Wang, W. L. Mei, and H. F. Dai, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **17** (4), 409 (2015).
7. P. K. Agrawal, *Steroids*, **70** (10), 715 (2005).
8. Y. Mimaki, M. Kuroda, Y. Takaashi, and Y. Sashida, *Phytochemistry*, **47** (7), 1351 (1998).
9. P. K. Agrawal, D. C. Jain, R. K. Gupta, and R. S. Thakur, *Phytochemistry*, **24** (11), 2479 (1985).
10. T. H. Y. Nguyen, H. M. Chu, and D. H. Nguyen, *Nat. Prod. Res.*, **38** (7), 1191 (2024).
11. Q. T. Tan, N. T. Hai Yen, H. C. Mau, and D. N. Hung, *Lett. Org. Chem.*, **20** (6), 579 (2023).
12. T. T. Quang, M. C. Hoang, and H. D. Nguyen, *Chem. Nat. Compd.*, **59**, 520 (2023).
13. Y. Mimaki, Y. Takaashi, M. Kuroda, Y. Sashida, and T. Nikaido, *Phytochemistry*, **42** (6), 1609 (1996).
14. H. D. Nguyen, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **25** (3), 218 (2023).

TWO NEW SPIROSTANOL GLYCOSIDES FROM THE AERIAL PART OF *Cordyline fruticosa*

Hung Duc Nguyen,* Tan Quang Tu, Nga Thi Thu Nguyen,
and Mau Hoang Chu

Two new spirostanol glycosides, (25S)-5 α -spirosta-1 β ,3 β -diol 1-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopyranoside (**1**) and 5 α -spirost-(25)27-ene-1 β ,3 β -diol 1-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-(4-O-sulfo)- β -D-fucopyranosyl 3-O- α -L-rhamnopyranoside (**2**), were isolated from the aerial part of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. Their structures were determined by spectroscopic analysis 1D and 2D NMR, and mass spectrometry (HR-ESI-MS in positive mode).

Keywords: Asparagaceae, *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev., cytotoxicity, NMR, steroidal saponin.

Cordyline fruticosa (L.) A. Chev. (syn.: *Cordyline terminalis* (L.) Kunth), belongs to the Asparagaceae family, and is one of the popular plants used in folk medicine [1]. This plant has been used to treat various diseases, such as sore throat, neck pain, bloody urine, kidney diseases, headache, infections of mammary glands, and inflammation in the digestive tract [1, 2]. Previous chemical investigations of *C. fruticosa* revealed the presence of steroidal glycosides [2–5]. In addition, this plant has been determined to possess biological properties such as antioxidant [6], antimicrobial and cytotoxic activities [2, 7]. In the interest of searching for new biological compounds from the Vietnamese plants, we report herein the isolation and purification of two new steroidal glycosides from the aqueous ethanolic extract of the aerial parts of *C. fruticosa*. The structural determination of isolated compounds was further determined from various spectroscopic data.

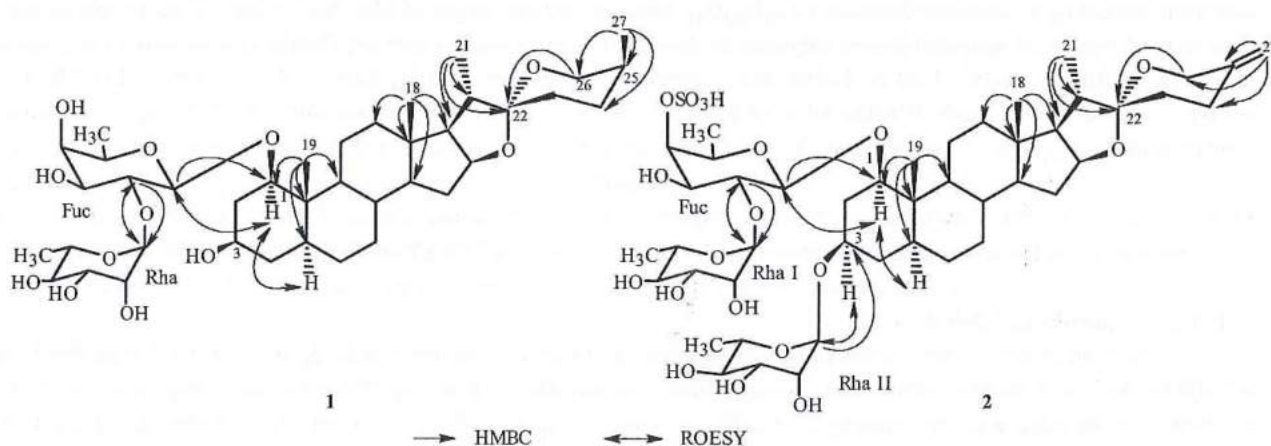
Compound **1** displayed a pseudo-molecular ion peak at m/z 747.4311 $[M + Na]^+$ (calcd 747.4290) in the HR-ESI-MS spectrum, indicating a molecular formula of $C_{39}H_{64}O_{12}$, thus a molecular weight of 724. The 1H and ^{13}C NMR spectroscopic data showed signals of spirostanol-type aglycone as described in the literature data [8] (Table 1) with two tertiary methyl groups at δ_H 0.86 (s, H-18), 1.20 (s, H-19), and a secondary methyl group at δ_H 1.04 (d, $J = 6.4$ Hz, H-21). The C-25 configuration was deduced to be *S* by the value > 0.35 of the difference among the chemical shifts ($\delta_{ab} = \delta_a - \delta_b$) of the geminal protons at H₂-26 ($\delta_{ab} = 0.41$ ppm) [9]. The ^{13}C NMR spectrum of **1** showed signals of a hemiacetal function at δ_C 109.2 (C-22), two oxygenated carbons at δ_C 80.2 (C-1) and 67.8 (C-3), together with five characteristic carbon signals at δ_C 32.9 (C-23), 28.8 (C-24), 42.1 (C-25), 65.0 (C-26), 14.9 (C-27), a spirostanol-type steroid was suggested. The orientation of the H-5 of the aglycone was defined as an α -orientation, proved by the cross-peaks in the ROESY spectrum at δ_H 3.86 (H-1)/ δ_H 0.99 (H-5), δ_H 2.20 (H-2ax)/ δ_H 1.20 (s, H-19), and δ_H 2.79 (H-2eq)/ δ_H 0.99 (H-5) (Fig. 1). Thus, the aglycone of **1** was characterized as (25S)-5 α -spirosta-1 β ,3 β -diol.

In the sugar region, the signals of two cross-peaks in the HSQC spectrum at δ_H/δ_C 4.78 (d, $J = 7.6$ Hz)/99.8, and 6.38 (br.s)/101.2, indicated the presence of two sugar units, Fuc and Rha, respectively (Table 2). The linkage of Fuc to the C-1 position of the aglycone was confirmed by the HMBC correlation at δ_H/δ_C 4.78 (d, $J = 7.6$ Hz, Fuc H-1)/80.2 (C-1), and by the ROESY correlation at δ_H/δ_H 4.78 (d, $J = 7.6$ Hz, Fuc H-1)/3.86 (dd, $J = 11.1, 2.9$ Hz, H-1). The Rha was proved to be linked to the C-2 position of the Fuc by the HMBC correlation at δ_H/δ_C 6.38 (br.s, Rha H-1)/74.3 (Fuc C-2), and by the ROESY correlation at δ_H/δ_H 6.38 (br.s, Rha H-1)/4.51 (dd, $J = 9.4, 7.6$ Hz, Fuc H-2). All the aforementioned evidence led to an identification of **1** as (25S)-5 α -spirosta-1 β ,3 β -diol 1-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopyranoside. The aglycone with a 5 β -hydroxyl derivative was previously isolated from the whole plant of *Reineckea carnea* [10].

Thai Nguyen University of Education, 24000, Thai Nguyen, Vietnam, e-mail: hungnd@tnue.edu.vn. Published in *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, No. 3, May–June, 2024, pp. 411–414. Original article submitted September 4, 2023.

TABLE 1. ^1H and ^{13}C NMR Data of the Aglycone Part of **1** and **2** (Py- d_5 , δ , ppm, J/Hz)

C atom	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	3.86 (dd, $J = 11.1, 2.9$)	80.2	4.44 (dd, $J = 11.7, 4.1$)	79.8
2	2.20, 2.79	33.5	2.25 (q, $J = 11.7, 2.60$)	33.1
3	3.95	67.8	3.77	68.6
4	1.69, 1.76	39.0	1.36, 1.73	34.8
5	0.99	42.5	0.98	42.5
6	1.26, 1.35	29.7	1.28, 1.34	29.7
7	0.85, 2.05	32.1	0.84, 1.66	32.1
8	1.51	36.2	1.52 (m)	36.2
9	1.01	54.9	1.16	55.3
10	—	41.3	—	42.4
11	1.44, 3.14 (dd, $J = 12.9, 2.9$)	23.7	1.42, 3.14	23.1
12	1.20, 1.61	40.5	1.18, 1.63	40.2
13	—	40.4	—	40.1
14	1.12	56.2	1.06	56.8
15	1.56, 2.07	32.2	1.42, 2.00	32.2
16	4.56 (q, $J = 7.6$)	81.3	4.54 (q, $J = 7.0$)	81.4
17	1.82	63.0	1.82	62.8
18	0.86 (s)	16.9	0.83 (s)	16.6
19	1.20 (s)	8.5	1.30 (s)	8.7
20	1.96 (q, $J = 6.4$)	41.8	1.95 (q, $J = 7.0$)	41.7
21	1.04 (d, $J = 6.4$)	14.7	1.04 (d, $J = 7.0$)	14.7
22	—	109.2	—	109.4
23	1.80, 1.83	32.9	1.77, 1.80	32.9
24	2.28, 2.74	28.8	2.25, 2.70	28.7
25	1.98 (m)	42.1	—	144.1
26	4.07 (br.d, $J = 12.3$)	65.0	4.04 (br.d, $J = 12.3$)	64.8
	4.48 (br.d, $J = 12.3$)		4.45 (br.d, $J = 12.3$)	
27	1.11 (d, $J = 7.0$)	14.9	4.78 (br.s), 4.82 (br.s)	108.6

Fig. 1. Key HMBC and ROESY correlations of compounds **1** and **2**.

Compound **2** was isolated as a white amorphous powder with a molecular formula of $\text{C}_{45}\text{H}_{72}\text{O}_{19}\text{S}$, proved by the HR-ESI-MS (m/z 971.4309 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$). The ^1H and ^{13}C NMR data of the aglycone of **2** were in agreement with those of **1**, the main difference being the presence of an exomethylene group with protons at δ_{H} 4.78, 4.82 (br.s each, H_2 -27) in compound **2**. In the HMBC spectrum, the correlations of quaternary carbon signals at δ_{C} 109.4 (C-22) and 144.1 (C-25) with methylene protons at δ_{H} 4.04 (br.d, $J = 12.3$ Hz, H-26a) and δ_{H} 4.45 (br.d, $J = 12.3$ Hz, H-26b) proved the elucidation of aglycone of **2** as 5α -spirost-(25)27-ene- $1\beta,3\beta$ -diol (Table 1). In the sugar region, the ^1H NMR spectrum of **2** showed signals of three anomeric protons at δ_{H} 4.77 (d, $J = 7.6$ Hz), 6.33 (br.s) and 5.54 (br.s), which gave correlations with three anomeric carbon signals in the HSQC spectrum at δ_{C} 99.7, 101.3, and 100.2, respectively.

TABLE 2. ^1H and ^{13}C NMR Data of the Sugar Part of **1** and **2** (Py- d_5 , δ , ppm, J/Hz)

C atom	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
Fuc				
1	4.78 (d, $J = 7.6$)	99.8	4.77 (d, $J = 7.6$)	99.7
2	4.51 (dd, $J = 9.4, 7.6$)	74.3	4.52 (dd, $J = 9.4, 7.6$)	75.5
3	4.14 (dd, $J = 9.4, 2.4$)	76.5	4.20	76.2
4	3.99 (br.s)	73.0	5.16 (br.s)	78.4
5	3.64 (br.q, $J = 5.9$)	71.0	3.85	70.3
6	1.52 (d, $J = 5.9$)	17.0	1.74 (d, $J = 6.4$)	17.2
Rha				
1	6.38 (br.s)	101.2	6.33 (br.s)	101.3
2	4.78 (br.s)	72.2	4.78 (br.s)	72.1
3	4.60 (dd, $J = 9.9, 2.4$)	72.3	4.60 (dd, $J = 9.4, 3.5$)	72.1
4	4.34 (dd, $J = 9.4, 9.9$)	73.8	4.34 (dd, $J = 9.9, 9.4$)	73.9
5	4.82 (dq, $J = 9.4, 5.9$)	69.1	4.82 (dq, $J = 9.9, 5.9$)	69.0
6	1.74 (d, $J = 5.9$)	18.7	1.76 (d, $J = 5.9$)	18.8
Rha II				
1			5.54 (br.s)	100.2
2			4.58 (br.s)	72.4
3			4.65 (dd, $J = 9.4, 3.5$)	72.0
4			4.34 (dd, $J = 9.9, 9.4$)	73.8
5			4.37 (dq, $J = 9.9, 5.9$)	69.8
6			1.72 (d, $J = 5.9$)	18.2

Starting mainly with the TOCSY and ROESY spectra, the sugars were identified as Fuc, Rha I, and Rha II. The HMBC correlation at δ_{H} 4.77 (Fuc H-1)/ δ_{C} 79.8 (C-1) and the ROESY correlation at δ_{H} 4.77 (Fuc H-1)/ δ_{H} 4.44 (dd, $J = 11.7, 4.1$, H-1), indicated the glycosidic linkage of the Fuc to the C-1 of the aglycone (Fig. 1). The HMBC correlation at δ_{H} 6.33 (br.s, Rha I H-1)/ δ_{C} 75.5 (Fuc C-2) and the ROESY correlation at δ_{H} 6.33 (br.s, Rha I H-1)/ δ_{H} 4.52 (dd, $J = 9.4, 7.6$ Hz, Fuc H-2) proved that Rha I was linked to the C-2 position of the Fuc. Furthermore, the downfield shift observed at the C-3 position of the aglycone of **2** compared to that of **1** (74.8 and 67.8, respectively) suggested a glycosidic linkage. The HMBC correlation at δ_{H} 5.54 (br.s) (Rha II H-1)/ δ_{C} 74.8 (C-3) and the ROESY correlation at δ_{H} 5.54 (br.s)/ δ_{H} 3.77 (H-3) determined that Rha II was linked to the C-3 position of the aglycone (Table 2).

The ^1H and ^{13}C NMR data of **2** were in accordance with those of convallamarogenin (**3**, 1- O - α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 20)- β -D-fucopyranosido-3- O - α -L-rhamnopyranoside) in the literature data [11]. The structural differences between these compounds were located at the H-5 of the aglycone and the C-4 of the Fuc unit. The orientation of H-5 of the aglycone of **2** was identified as an α -orientation proved by the correlation at δ_{H} 4.44 (H-1)/ δ_{H} 0.98 (H-5) in the ROESY spectrum, while this orientation in **3** was determined as a β -orientation. Another difference was observed in the HSQC spectrum of **2** which the downfield shifts at δ_{H} / δ_{C} 5.16 (br.s, Fuc H-4)/78.4 (Fuc C-4) indicated that the hydroxyl group at C-4 position of the Fuc was substituted, while the same hydroxyl position in compound **3** was unsubstituted. The substituent in **2** was further identified as SO_3H , confirmed by the difference of molecular weight by 80 amu between those of compounds [2]. All the preceding evidence led to the elucidation of **2** as 5 α -spirost-(25)27-ene-1 β ,3 β -diol 1- O - α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-(4- O -sulfo)- β -D-fucopyranosyl 3- O - α -L-rhamnopyranoside.

EXPERIMENTAL

General Experimental Procedures. Optical rotation was measured on an AA-10R automatic polarimeter. HR-ESI-MS data was carried out on a Bruker micrOTOF II mass spectrometer in a positive-ion mode. NMR spectra including ^1H , ^{13}C , HSQC, HMBC, COSY, TOCSY, and ROESY were performed in pyridine- d_5 on NMR Inova 600 MHz spectrometer (Agilent Technologies). An Elmasonic S10H ultrasound apparatus was used for the extraction. Vacuum liquid chromatography (VLC) was performed using RP-18 silica gel (75–200 μm , Silicycle). Medium-pressure liquid chromatography (MPLC) was performed on silica gel 60 (15–40 μm , Merck). Thin-layer chromatography (TLC, 60F₂₅₄, Silicycle) and high-performance

thin-layer chromatography (HPTLC, 60F₂₅₄, Merck) were used to verify the purity of isolated compounds using solvent system CHCl₃–MeOH–H₂O–AcOH, 70:30:5:1. Saponins in samples were detected using a vanillin–H₂SO₄ reagent.

Plant Material. The aerial part of *C. fruticosa* were collected in 2021 at the flower stage in Thai Nguyen City, Vietnam (21°35'53"N, 105°50'17"E). The plant material was identified by Dr. Hung Duc Nguyen and the voucher specimen under code number NDH202101 was stored in the Department of Biology, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen, Vietnam.

Extraction and Isolation. The extraction of the dried powdered aerial part (18.7 g) of *C. fruticosa* was performed by the ultrasound-assisted method using the solvent EtOH–H₂O (75:35) at the condition following: 200 W, 60°C, 45 min, 300 mL each × 2 times. After filtration and evaporation, 6.18 g of crude of extract was yielded. An aliquot of the resulting extract (3.6 g) was further fractionated by VLC (RP-18, silica gel, H₂O 100%, EtOH–H₂O, 50:50, EtOH 100%) yielding 3 fractions (A–C) based on a TLC analysis. Fraction B (808.7 mg) was separated twice on MPLC silica gel 60 (15–40 μm, CHCl₃–MeOH–H₂O, 90:10:1, 80:20:2, 75:25:3) resulting in five subfractions (B1–B5). Subfraction B3 was submitted again on a successive MPLC silica gel 60 (15–40 μm, CHCl₃–MeOH–H₂O, 80:20:2) affording **1** (3.9 mg). The remaining fractions, rich in saponin, were combined and further chromatographed on MPLC on silica gel 60 (15–40 μm, CHCl₃–MeOH–H₂O, 80:20:2, 75:25:3) affording compound **2** (4.1 mg).

(25S)-5α-Spirosta-1β,3β-diol 1-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-fucopyranoside (1), white amorphous powder, $[\alpha]_D^{25} -36^\circ$ (c 0.29, MeOH). ¹H NMR (600 MHz) and ¹³C NMR (150 MHz) spectral data are shown in Tables 1 and 2. HR-ESI-MS *m/z* 747.4311 [M + Na]⁺ (calcd for C₃₉H₆₄NaO₁₂, 747.4290).

5α-Spirost-(25)27-ene-1β,3β-diol 1-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-(4-O-sulfo)-β-D-fucopyranosyl 3-O-α-L-rhamnopyranoside (2), white amorphous powder, $[\alpha]_D^{25} -46^\circ$ (c 0.15, MeOH). ¹H NMR (600 MHz) and ¹³C NMR (150 MHz) spectral data are shown in Tables 1 and 2. HR-ESI-MS *m/z* 971.4309 [M + Na]⁺ (calcd for C₄₅H₇₂NaO₁₉S, 971.4281).

Acid Hydrolysis and GC Analysis. The sugar moieties and those absolute configurations of isolated compounds were determined as previously described [12]. The retention times of the sugars were found to be *t_R* = 11.07 min (L-Rha), 13.82 min (D-Fuc).

ACKNOWLEDGMENT

This research is funded by Thai Nguyen University of Education under Grant No. TNUE-2023-06.

REFERENCES

1. M. A. Hossain and M. R. Nagooru, *Pharmacogn. J.*, **3** (24), 25 (2011).
2. R. Fouedjou, R. Teponno, L. Quassinti, M. Bramucci, D. Petrelli, L. Vitali, D. Fiorini, A. Taponjdjou, and L. Barboni, *Phytochem. Lett.*, **7**, 62 (2014).
3. A. Yokosuka, T. Suzuki, and Y. Mimaki, *Chem. Pharm. Bull.*, **60** (2), 275 (2012).
4. T. H. Y. Nguyen, H. M. Chu, and D. H. Nguyen, *Nat. Prod. Res.*, **1** (2022).
5. Q. T. Tan, N. T. Hai Yen, H. C. Mau, and D. N. Hung, *Lett. Org. Chem.*, **20** (6), 579 (2023).
6. B. C. Reddy, A. Noor, N. C. Sarada, and M. A. Vijayalakshmi, *Curr. Sci.*, **101** (3), 416 (2011).
7. K. M. Rahman, M. M. Rahman, and M. S. T. Selim, *J. Med. Sci.*, **3** (5), 418 (2003).
8. Y. Mimaki, M. Kuroda, Y. Takaashi, and Y. Sashida, *Phytochemistry*, **47** (1), 79 (1998).
9. P. K. Agrawal, *Magn. Reson. Chem.*, **41** (11), 965 (2003).
10. Z. Q. Zhang, J. C. Chen, X. M. Zhang, Z. R. Li, and M. H. Qiu, *Helv. Chim. Acta*, **91** (8), 1494 (2008).
11. K. Iwagoe, T. Konishi, and S. Kiyosawa, *Yakugaku Zasshi*, **107** (2), 140 (1987).
12. T. T. Quang, M. C. Hoang, and H. D. Nguyen, *Chem. Nat. Compd.*, **59**, 520 (2023).



Two new steroidal saponins from the roots of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev

Thi Hai Yen Nguyen^a, Hoang Mau Chu^b and Duc Hung Nguyen^b 

^aDepartment of Genetics, Thai Nguyen University of Sciences, Thai Nguyen, Viet Nam; ^bDepartment of Biology, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen, Viet Nam

ABSTRACT

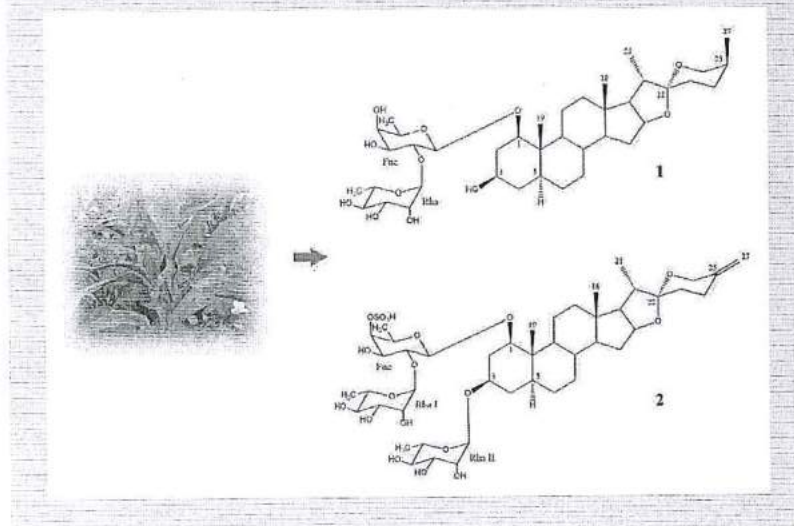
Two new steroidal saponins, 26-O- β -D-glucopyranosyl-22 α -methoxy-5 α -furost-25(27)-ene-1 β ,3 β ,26-triol 1-O- β -D-glucopyranoside (**1**), and 26-O- β -D-glucopyranosyl-22 α -methoxy-furosta-5,25(27)-diene-1 β ,3 β ,26-triol 1-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopyranoside (**2**) were isolated and elucidated from the roots of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. Their structures were established by interpretation of spectroscopic data (1D and 2D NMR) and mass spectrometry (HR-ESI-MS).

ARTICLE HISTORY

Received 23 April 2022
Accepted 5 October 2022

KEYWORDS

Cordyline fruticosa (L.) A. Chev; Asparagaceae; steroidal saponin; Furostane; spectroscopic analysis



1. Introduction

The genus *Cordyline* consists of 27 species distributed in tropical region (Mimaki et al. 1998). Some species of the genus have been used in the traditional medicine to treat diseases (Calixto et al. 1990; Mimaki et al. 1997; Mimaki et al. 1998; Lense 2012; Manicketh et al. 2022). Previous investigations on these plants revealed the presence of steroidal saponins, some of those substances possess interesting biological

CONTACT Nguyen Duc Hung  hungnd@tnue.edu.vn

 Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2135003>.

© 2022 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

properties, mainly in cytotoxic and antimicrobial activities (Jewers et al. 1974; Blunden et al. 1984; Yang et al. 1989; Yang et al. 1990; Yokosuka et al. 2012; Fouedjou et al. 2014; Ponou et al. 2019; Nguyen et al. 2021).

Cordyline fruticosa (L.) A. Chev. is an ornamental plant which could be found in Viet Nam. Previous study on the leaves of *C. fruticosa* (L.) A. Chev. reported the presence of cholestane glycosides with cytotoxic activity (Yokosuka et al. 2012). As our interest of searching for new compounds from the Vietnamese plants, we reported herein the isolation and structural determination of two new steroidal saponins from the roots of *C. fruticosa* (L.) A. Chev. The structural determination of isolated compounds was carried out by a combination of spectroscopic analysis (1D and 2D NMR) and mass spectrometry (HR-ESI-MS), together with comparison their values in literature data.

2. Results and discussion

The aqueous ethanolic crude extract of the roots of *C. fruticosa* (L.) A. Chev. was isolated and purified by various chromatographic methods running on normal phased silica gel resulting new compounds **1** and **2**. The structural determination of isolated compounds was carried out by spectroscopic analysis (^1H , ^{13}C , COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, ROESY) and mass spectroscopy (HR-ESI-MS in positive mode). The sugar moieties of these compounds were determined by 2D NMR analyses including HSQC, HMBC, COSY, TOCSY and ROESY as two glucopyranosyl for **1**, and one fucopyranosyl, one rhamnopyranosyl, one glucopyranosyl for **2**. The absolute configurations of sugar moieties were further identified to be D for glucose (Glc) and fucose (Fuc), and L for rhamnose (Rha). The relatively large values from 7.6 to 8.2 Hz revealed a β anomeric orientation for Fuc and Glc. The relatively large $J_{\text{C-1, H-1}}$ value of Rha from 166 Hz indicated an α -equatorial pyranoid form for this anomeric proton.

Compound **1** was isolated as a white amorphous powder with a molecular formula of $\text{C}_{40}\text{H}_{66}\text{O}_{15}$, proved by the HR-ESI-MS (m/z 809.4334 $[\text{M} + \text{Na}]^+$). The ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic of the aglycone moiety of **1** was in good agreement with the signals of a furostanol saponin as described in the literature data (Mimaki et al. 1998; Nguyen et al. 2021; Table S1). The ^1H NMR spectrum of the aglycone moiety of **1** displayed signal of two tertiary methyl groups at δ_{H} 0.82 (s, H-18), 1.01 (s, H-19), a secondary methyl group at δ_{H} 1.08 (d, $J = 6.4$ Hz, H-21), and two exomethylene protons at δ_{H} 5.07 and 5.37 (each 1H, br s, H-27). Moreover, in the ^1H NMR spectrum, the signal of another tertiary methyl group at δ_{H} 3.33 (s) revealed the presence of a methoxy group at C-22 position of the aglycone. The ^{13}C NMR spectrum displayed signals of a hemiacetal function at δ_{C} 120.4, three secondary alcoholic functions at δ_{C} 80.9 (C-1), 65.7 (C-3), and 81.0 (C-16), and one primary alcoholic function at δ_{C} 71.6 (C-26), suggested a 22 α -methoxy-5 α -furost-25(27)-ene type steroid. The COSY spectrum showed the signal of an oxygen bearing a methine proton at δ_{H} 3.99 (dd, $J = 11.1, 4.7$ Hz, H-1) correlated to the δ_{H} 2.02 (H-2ax) and δ_{H} 2.87 (H-2eq), and the HMBC correlation between δ_{H} 0.82 (s, H-19) and δ_{C} 81.2 (C-1) revealed the location of a hydroxyl group at the C-1 position at the β -orientation and a glycosidic linkage at the C-1 position of the aglycone. Furthermore, tracing out the correlations in the ROESY spectrum led to an identification of α -orientation for the H-1 and H-5 of the aglycone, proved by the cross-peaks

A NEW OLEANANE TRITERPENOID SAPONIN FROM *Dimocarpus longan*

Thuy Thi Xuan Vi,¹ Hung Duc Nguyen,^{2*}
Tan Quang Tu,² Yen Thi Hai Nguyen,³
Quan Huu Nguyen,² and Mau Hoang Chu²

A new oleanane triterpenoid saponin was isolated from the seeds of Dimocarpus longan Lour. The structure of this compound was elucidated as 3-O-β-D-xylopyranosyl-(1→3)-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-xylopyranosyloleanolic acid 28-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl ester (1), named longanoside C. The structure was determined by means of HR-ESI-MS in positive mode and extensive 1D and 2D NMR spectroscopic studies.

Keywords: *Dimocarpus longan* Lour., Sapindaceae, oleanane triterpenoid, saponin.

As part of our chemical investigation into plants of the Sapindaceae family, we have examined the saponin fraction of *Dimocarpus longan* Lour. This plant is well known as longan (dragon's eye) in the Traditional Chinese and Vietnamese Medicine that is used to treat nerve and blood diseases [1–3]. The powder of dried seed of *D. longan* Lour. is used to treat diseases of the blood, stomach, and lymphomata of the neck [4]. We have previously reported the isolation of two novel saponins, longanosides A and B [5]. In this paper, we describe the isolation, structure elucidation, and the complete ¹H and ¹³C NMR assignments of one more compound, longanoside C (**1**), with an oleanane skeleton.

Compound **1** was obtained as a white, amorphous powder. It was deduced to have the molecular formula C₄₃H₆₆O₁₆, as indicated from positive-ion HR-ESI-MS data (*m/z* 1183.5893 [M + Na]⁺). The ¹H and ¹³C NMR spectra showed signals due to 30 aglycone carbon signals, including seven tertiary methyl groups at δ_H 1.35 (s, H₃-23), 1.21 (s, H₃-24), 0.85 (s, H₃-25), 0.98 (s, H₃-26), 1.33 (s, H₃-27), 0.98 (s, H₃-29), and 1.04 (s, H₃-30); one oxygenated methine at δ 3.35 (dd, *J* = 11.5, 3.8 Hz, H-3); and an olefinic proton at δ 5.47 (br.t, *J* = 3.5 Hz, H-12), which were associated with the relevant carbons at δ 28.4 (C-23), 17.3 (C-24), 15.5 (C-25), 17.3 (C-26), 26.4 (C-27), 33.1 (C-29), 23.9 (C-30), 88.3 (C-3), 122.5 (C-12) through the HSQC spectrum. The signals at δ_C 122.5 (C-12), 144.9 (C-13) in combination with the previously assigned seven tertiary methyl carbon signals in the ¹³C NMR spectrum suggested that **1** might belong to an oleanane-type saponin. The downfield ¹³C NMR chemical shift at δ 88.3 (C-3) and the upfield ¹³C NMR chemical shift at δ 178.4 (C-28) suggested that **1** might be a bidesmosidic saponin with glycosidic linkages at C-3 through an ether bond and at C-28 through an ester bond (Table 1) [6].

The ¹³C NMR data of **1** showed the presence of five anomeric carbon signals at δ 106.3, 101.5, 107.2, 105.1, and 96.1, which correlated with the protons at δ 4.84 (d, *J* = 7.6 Hz), 6.49 (br.s), 5.27 (d, *J* = 7.6 Hz), 5.11 (d, *J* = 7.6 Hz), and 6.03 (d, *J* = 8.2 Hz) in the HSQC spectrum respectively, indicating the presence of five sugar units. As the result of acid hydrolysis of **1**, these sugars were further determined to be one glucose (Glc), one rhamnose (Rha), and three xyloses (Xyl I, Xyl II, and Xyl III) by TLC comparison with authentic samples. The anomeric configuration of Glc and Xyl units has been determined as β-configuration on the basis of their coupling constant (*J*_{H1-2} = 7.6, 8.4 Hz) [7, 8].

1) Tay Bac University, 34100, Son La, Vietnam; 2) Thai Nguyen University of Education, 24000, Thai Nguyen, Vietnam, e-mail: hungnd@tnue.edu.vn; 3) Thai Nguyen University of Sciences, 24000, Thai Nguyen, Vietnam. Published in *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, No. 2, March–April, 2024, pp. 252–254. Original article submitted July 5, 2023.



Data Article

Dataset on intergenic spacer regions of chloroplast genome and potential DNA barcode of *Hoya verticillata* var *verticillata* in Vietnam



Cuong Viet Hoang^a, Tan Quang Tu^a, Thu Thi Mai Lo^b,
Mau Hoang Chu^{a,*}

^aThai Nguyen University of Education, Thainguyn City, 24000, Viet Nam

^bTay Bac University, Son La City, 34100, Viet Nam

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 March 2024

Revised 16 April 2024

Accepted 22 April 2024

Available online 25 April 2024

Dataset link: *Hoya verticillata* chloroplast, complete genome (Original data)

Keywords:

DNA marker

Hoya verticillata var *verticillata*

Intergenic spacer region

Nucleotide diversity

Phylogeny

ABSTRACT

Hoya verticillata var *verticillata*, an epiphytic plant, is both an ornamental and a valuable medicinal plant. However, *H. verticillata* has a similar morphology to other species belonging to the *Hoya* genus, so it is challenging to distinguish the *H. verticillata* var *verticillata*, plant accurately. Alternatively, if *H. verticillata* var *verticillata*, is deformed or powdered, it is more challenging to identify. This dataset includes information on *H. verticillata* var *verticillata*, samples collected from the natural environment and four chloroplast DNA markers to support *H. verticillata* var *verticillata*, species identification. Phylogenetic analysis based on sequences of intergenic spacer regions (trnK-rps16, rps16-trnQ, psbI-atpA, and ndhC-trnV) shows that *H. verticillata* var *verticillata*, is very closely related and distributed in the same group as *Hoya carnososa* with a Bootstrap coefficient of 99–100 %. Four intergenic spacer region sequences, trnK-rps16, rps16-trnQ, psbI-atpA, and ndhC-trnV from the chloroplast genome are potential DNA barcoding candidates to distinguish *H. verticillata* var *verticillata*, from different species in the *Hoya* genus.

© 2024 The Author(s). Published by Elsevier Inc.

This is an open access article under the CC BY-NC license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

* Corresponding author.

E-mail address: chuhoangmau@tnu.edu.vn (M.H. Chu).

<https://doi.org/10.1016/j.dib.2024.110471>

2352-3409/© 2024 The Author(s). Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

Specifications Table

Subject	Biological Sciences
Specific subject area	Biotechnology, Genetics diversity, Molecular Phylogenetics, Evolution
Type of data	Raw, sequence data, tables, figures, text files
Data collection	Illumina NovaSeq 6000 (Illumina) sequencer
Data source location	GenBank: OR475244.1 NCBI Reference Sequence: NC_085236.1
Data accessibility	Repository name: NCBI Data identification number: Not applicable Direct URL to data: The NCBI links to the sequenced data can be accessed at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OR475244.1 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_085236.1

1. Value of the Data

- *Hoya verticillata* var *verticillata*, an epiphytic plant, has significant medicinal value. *H. verticillata* var *verticillata* contains many biologically active medicinal substances, effective in treating some for human diseases.
- A dataset on intergenic spacer region sequences, *trnK-rps16*, *rps16-trnQ*, *psbI-atpA*, and *ndhC-trnV* from the chloroplast genome can be used to develop potentially useful molecular markers and support species identification, especially when plant specimens are deformed and in powder form.
- The analysis of molecular phylogeny and evolution of *Hoya* genus based on the intergenic spacer regions sequences.

2. Background

Hoya verticillata var *verticillata*, an epiphyte that climbs and belongs to the Apocynaceae family [1], is a precious medicinal plant. *H. verticillata* var *verticillata* widely used in traditional medicine to treat kidney diseases, urinary tract disorders, rheumatism, jaundice, fever and diarrhea [2]. Therefore, accurate species identification is the basis for the effective use of *H. verticillata* var *verticillata* in medical treatment in traditional medicine in Vietnam.

Chloroplast DNA has a double circular structure, and different regions in the DNA molecule have different mutations [3]. Therefore, it is possible to determine close or distant relationships of plant objects based on the different levels of variation of a particular DNA region. So, regions with high variability are used for phylogenetic analysis and selected as potential DNA barcodes to support species identification. The complete chloroplast genome of *H. verticillata* var *verticillata* has been sequenced, analyzed and registered on GenBank with code OR475244.1 [4]. Accordingly, some intergenic spacer regions belonging to the large single-copy region (LSC) with high nucleotide diversity (Pi), such as *trnK-rps16*, *rps16-trnQ*, *psbI-atpA*, and *ndhC-trnV*, were identified. So, these IS regions may be potential DNA markers for identification and phylogenetic analysis of *Hoya* that need to be explored.

3. Data Description

The present work employs data on *H. verticillata* var *verticillata* specimens. The leaf samples and specimens of *H. verticillata* var *verticillata* samples (Voucher HOYP202305TN) were collected in May 2023 at Hang Trai area, Tan Long commune, Dong Hy district, Thai Nguyen province, Vietnam, in the coordinates of 21°43'34" N, 105°50'52" E (Fig. 1). The *H. verticillata* var *verticillata* plant has a cylindrical root with a strongly developed main root and lateral roots. The small tree trunk is climbing and has 5–20 mm long aerial roots. Leaves are simple, growing oppositely on

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

CHU HOÀNG MẬU - PHẠM THỊ THANH NHÀN
HOÀNG PHÚ HIỆP

SINH HỌC PHÂN TỬ[?]

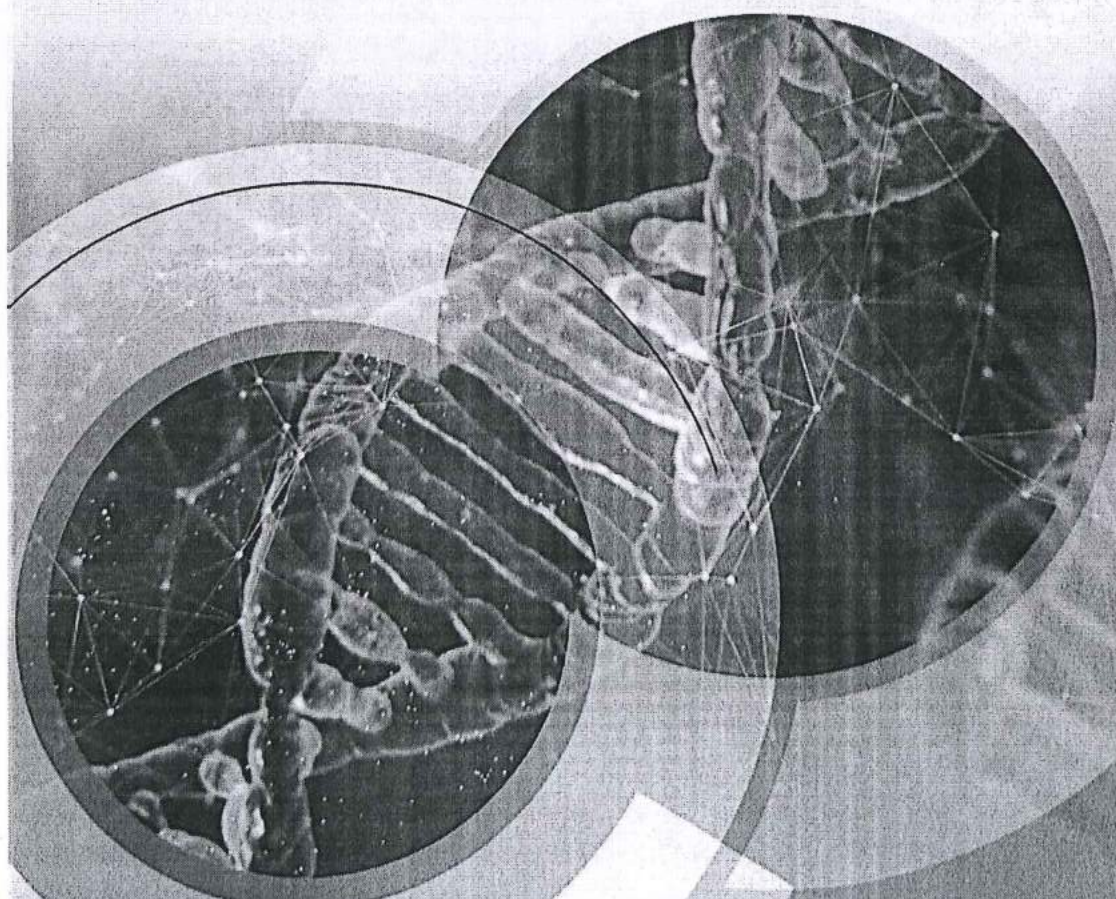


NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM - ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

CHU HOÀNG MẬU (Chủ biên)
PHẠM THỊ THANH NHÂN (Đồng chủ biên)
NGUYỄN THỊ TÂM

DI TRUYỀN HỌC



NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM - ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

GS.TS. CHU HOÀNG MẬU (Chủ biên) - PGS.TS. PHẠM THỊ THANH NHÂN (Đồng chủ biên)

PGS.TS. NGUYỄN THỊ TÂM

DI TRUYỀN HỌC

**(Giáo trình dùng cho sinh viên các ngành Sư phạm Sinh học,
Sư phạm Khoa học tự nhiên, Sinh học, Công nghệ sinh học
và là tài liệu tham khảo cho giảng viên, giáo viên Sinh học,
giáo viên Khoa học tự nhiên)**

NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI

CHU HOÀNG MẬU, HOÀNG PHÚ HIỆP, NGUYỄN HỮU QUÂN

Giáo trình
TIN SINH HỌC
(Bioinformatics)



NHÀ XUẤT BẢN
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

GIẤY CHỨNG NHẬN

ĐĂNG KÝ KẾT QUẢ THỰC HIỆN NHIỆM VỤ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ SỬ DỤNG NGÂN SÁCH NHÀ NƯỚC

Số đăng ký: **2022-52-0427/NS-KQNC**

Tên nhiệm vụ: **Biểu hiện gen mã hóa nhân tố phiên mã
dehydration responsive element binding của đậu tương (GmDREB)
để tăng khả năng chịu hạn ở cây chuyển gen**

(Mã số nhiệm vụ: **106.01-2018.27**)

Cấp nhiệm vụ: **Quốc gia**

Tổ chức chủ trì nhiệm vụ: **Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên**

Cơ quan chủ quản của tổ chức chủ trì: **Bộ Giáo dục và Đào tạo**

Chủ nhiệm nhiệm vụ: **GS.TS. CHU HOÀNG MẬU**

Cá nhân tham gia: **TS. Nguyễn Thị Ngọc Lan, PGS. TS. Vũ Thị Thu Thủy,
TS. Phạm Thị Thanh Nhân, ThS. Trần Thị Hồng**

Hội đồng đánh giá nghiệm thu chính thức kết quả thực hiện nhiệm vụ khoa học và công nghệ được thành lập theo Quyết định số **259/QĐ-HĐQL-NAFOSTED** ngày **31** tháng **12** năm **2019** của **Chủ tịch Hội đồng quản lý Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia**, họp ngày **26** tháng **3** năm **2022**

đã đăng ký kết quả thực hiện nhiệm vụ khoa học và công nghệ./.

Hà Nội, ngày 29 tháng 4 năm 2022

**KT. CỤC TRƯỞNG
PHÓ CỤC TRƯỞNG**



Hồ sơ lưu tại:

Cục Thông tin khoa học và công nghệ quốc gia.

Địa chỉ: 24-26 Lý Thường Kiệt, Hà Nội

Số hồ sơ lưu: **20657/NS-KQNC**

Vũ Anh Tuấn

BỘ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
QUỸ PHÁT TRIỂN KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ QUỐC GIA

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Số: 59/QĐ-HĐQL-NAFOSTED

Hà Nội, ngày 16 tháng 11 năm 2022

QUYẾT ĐỊNH

Về việc công nhận kết quả đánh giá đề tài nghiên cứu cơ bản trong khoa học tự nhiên và kỹ thuật do Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia tài trợ

HỘI ĐỒNG QUẢN LÝ QUỸ PHÁT TRIỂN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ QUỐC GIA

Căn cứ Nghị định số 23/2014/NĐ-CP ngày 03 tháng 4 năm 2014 của Chính phủ về Điều lệ tổ chức và hoạt động của Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia được sửa đổi, bổ sung một số điều theo Nghị định số 19/2021/NĐ-CP ngày 15 tháng 3 năm 2021 của Chính phủ;

Căn cứ Thông tư số 37/2014/TT-BKHCN ngày 12 tháng 12 năm 2014 của Bộ trưởng Bộ Khoa học và Công nghệ quy định quản lý đề tài nghiên cứu cơ bản do Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia tài trợ;

Căn cứ Quyết định số 30/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 17 tháng 3 năm 2017, Quyết định số 198/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 09 tháng 10 năm 2017, Quyết định số 114/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 04 tháng 7 năm 2018, Quyết định số 192/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 09 tháng 11 năm 2018, Quyết định số 38/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 18 tháng 3 năm 2019, Quyết định số 147/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 05 tháng 8 năm 2019, Quyết định số 45/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 06 tháng 3 năm 2020 của Hội đồng quản lý Quỹ về việc phê duyệt Danh mục kinh phí cho các đề tài nghiên cứu cơ bản trong khoa học tự nhiên và kỹ thuật được Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia tài trợ thực hiện năm 2016, 2017, 2018, 2019;

Căn cứ Quyết định số 259/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 31 tháng 12 năm 2019 của Chủ tịch Hội đồng quản lý Quỹ về việc thành lập các Hội đồng khoa học ngành trong khoa học tự nhiên và kỹ thuật nhiệm kỳ 2019 - 2021;

Căn cứ Quyết định số 42/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 26 tháng 5 năm 2022 của Chủ tịch HĐQL Quỹ về việc Kéo dài thời gian hoạt động các Hội đồng khoa học ngành trong lĩnh vực khoa học tự nhiên và kỹ thuật nhiệm kỳ 2019-2021;

Căn cứ hợp đồng khoa học thực hiện đề tài nghiên cứu cơ bản giữa Quỹ với tổ chức chủ trì đề tài và chủ nhiệm đề tài;

Trên cơ sở kết quả tư vấn của các Hội đồng Khoa học ngành đánh giá kết thúc đề tài nghiên cứu cơ bản trong KHTN&KT do Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia tài trợ;

Theo đề nghị của Giám đốc Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Công nhận kết quả đánh giá nghiệm thu đối với 67 đề tài nghiên cứu cơ bản trong khoa học tự nhiên và kỹ thuật do Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia tài trợ (Chi tiết tại Phụ lục 1 và Phụ lục 2 kèm theo).

Điều 2. Giao Cơ quan điều hành Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia tiến hành các thủ tục thanh quyết toán và thanh lý hợp đồng đối với các đề tài nghiệm thu kết quả "Đạt" theo quy định hiện hành; đề xuất phương án xử lý tài chính, trình Hội đồng Quản lý Quỹ phê duyệt đối với các đề tài nghiệm thu kết quả "Không đạt".

Điều 3. Giám đốc Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia, Thủ trưởng tổ chức chủ trì đề tài, Chủ nhiệm đề tài, Thủ trưởng các tổ chức và cá nhân có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu: VT, TKHC ngành.

TM. HỘI ĐỒNG QUẢN LÝ QUỸ
CHỦ TỊCH



Nguyễn Hoàng Giang

PGS.TS. TỪ QUANG TÂN



Two new triterpene glycosides from the seeds of *Dimocarpus longan*

Tan Quang Tu, Hung Duc Nguyen^{*}, Mau Hoang Chu

Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen, Viet Nam

ARTICLE INFO

Keywords:
Dimocarpus longan Lour.
 Sapindaceae
 Triterpene glycoside
 Structural elucidation
 Saponin

ABSTRACT

Two undescribed triterpene glycosides, 3-[(O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-arabinopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid O- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-glucopyranoside (**1**) and 3-[(O- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- α -L-arabinopyranosyl)oxy]olean-12-en-28-oic acid O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]-O-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-glucopyranoside (**2**), named longanosides A and B, respectively, were isolated from the seeds of *Dimocarpus longan* Lour. by various chromatography methods. The structures of the isolated compounds were established by interpretation of spectroscopic data (1D and 2D NMR) and mass spectrometry (HR-ESI-MS).

1. Introduction

Dimocarpus longan Lour., belonging to the genus *Dimocarpus* and thus the Sapindaceae family, is widely distributed throughout the world, especially in Southeast Asia, including Vietnam (Zhang et al., 2020). The fruit of *D. longan* has gained wide popularity with consumers and is used in folk medicine to treat diseases by promoting blood metabolism, soothing nerves and relieving insomnia (Xue et al., 2015). Despite containing high levels of polyphenolic compounds which could be an exploitable source of natural phenolic antioxidants, the seeds of *D. longan* are largely wasted or burned as fuel during processing (Li et al., 2014; Rangkadilok et al., 2005; Soong and Barlow, 2004). To search for structurally unique and biologically active compounds from medicinal plants in Vietnam, the present study focused on the isolation and identification of two undescribed triterpene glycosides from the seeds of *D. longan*. This is the first report on the isolation of triterpene glycosides from the *Dimocarpus* genus.

2. Results and discussion

The aqueous ethanolic crude extract of the seeds of *D. longan* Lour. was isolated and purified by various chromatographic methods running on normal-phased silica gel resulting in new compounds **1** and **2** (Fig. 1). The structural determination of isolated compounds was carried out by 1D and 2D NMR (^1H , ^{13}C , COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, and ROESY) and mass spectrometry (HR-ESI-MS in positive mode). The sugar moieties of isolated compounds were identified by extensive 2D NMR analysis as α -L-arabinopyranosyl (Ara), α -L-rhamnopyranosyl (Rha), β -D-

xylopyranosyl (Xyl) and β -D-glucopyranosyl (Glc). This identification was further proven by the retention times of the sugar moieties resulting from acid hydrolysis at $t_R = 10.06$ (L-Ara), 10.66 (D-Xyl), 11.07 (L-Rha), and 17.51 min (D-Glc). The absolute configurations of sugars were determined to be D for Xyl and Glc, and L for Ara and Rha by GC analysis (Nguyen et al., 2020). The relatively large $^3J_{\text{H-1,H-2}}$ values of Ara, Xyl and Glc (7.6–8.2 Hz) indicated a β anomeric orientation for Xyl and Glc, and an α anomeric orientation for Ara. The large $^3J_{\text{H-1,C-1}}$ values of Rha (166–168 Hz) confirmed that the anomeric protons were equatorial (α -pyranoid anomeric form) (Nguyen et al., 2021).

Compound **1** was isolated as a white amorphous powder. The molecular formula of **1** was determined to be $\text{C}_{57}\text{H}_{92}\text{O}_{24}$ based on a pseudomolecular ion peak at m/z 1183.5912 (calcd. for 1183.5876) in the HR-ESI-MS spectrum. The ^1H NMR spectrum revealed the presence of seven tertiary methyl groups at δ_{H} 1.29 (s, H-23), 1.13 (s, H-24), 0.88 (s, H-25), 0.96 (s, H-26), 1.35 (s, H-27), 0.96 (s, H-29), and 1.03 (s, H-30); one oxymethine proton signal at δ_{H} 3.32 (m, H-3); and a trisubstituted olefinic proton at δ_{H} 5.49 (br t, $J = 3.5$ Hz, H-12). The HMBC spectrum showed $^2J_{\text{H-C}}$ and $^3J_{\text{H-C}}$ couplings from the methyl protons (CH₃ 23, 24, 25, 26, 27, 29 and 30), which allowed the assignments of most carbons and protons of this aglycone (Table 1). Moreover, C-3 and C-28 of the aglycone moiety were observed at δ_{C} 88.9 and 178.2, respectively, suggesting that **1** is a 3,28-bisdesmoside (Kuroda et al., 2014). The ^1H NMR spectrum of **1** in the sugar region displayed signals of five anomeric protons at δ_{H} 4.86 (d, $J = 7.6$ Hz), 5.05 (d, $J = 7.6$ Hz), 5.26 (d, $J = 7.6$ Hz), 6.05 (d, $J = 8.0$ Hz) and 6.20 (br s), which were correlated in the HSQC spectrum with five anomeric carbon signals at δ_{C} 105.1, 105.3, 106.8, 96.2 and 101.6, respectively (Table 2). The correlation of

^{*} Corresponding author.

E-mail address: huongnd@tnu.edu.vn (H.D. Nguyen).

<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2023.05.003>

Received 12 January 2023; Received in revised form 5 May 2023; Accepted 10 May 2023

Available online 19 May 2023

1874-3900/© 2023 Phytochemical Society of Europe. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

ISOLATION AND STRUCTURE ELUCIDATION
OF A NEW SPIROSTANE GLYCOSIDE
FROM THE LEAVES OF *Dracaena fragrans*Tan Tu Quang, Mau Chu Hoang,
and Hung Duc Nguyen*

A new spirostane glycoside was isolated from the leaves of *Dracaena fragrans*. The structure of this compound was elucidated as spirosta-5,25(27)-diene-1 β ,3 β -diol-1-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O-[α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-xylopyranoside, which was determined by spectroscopic analysis 1D and 2D NMR, and mass spectrometry (HR-ESI-MS in positive mode).

Keywords: *Dracaena fragrans*, Asparagaceae, spirostane glycoside, NMR, neoruscogenin.

The distribution of the genus *Dracaena*, Asparagaceae family, is found mainly in Africa, Australia, India, and Southeast Asia [1]. Some species of this genus have been used as folk medicine to treat hemorrhage, stomach, wounds, leucorrhea, fractures, diabetes, and tumors [2–6]. Previous phytochemical studies on species of the genus *Dracaena* have been investigated for the presence of steroidal saponins [7–10]. Pharmacological studies of those compounds revealed that they possess interesting biological actions including anti-inflammatory, cytotoxic, antimicrobial, antifungal activities [1, 11–15]. *Dracaena fragrans* (L.) Ker Gawl. belongs to the *Dracaena* genus, and is a common ornamental plant distributed mainly in West Africa and Southeast Asia. In our continuous research of the plants in Vietnam, in order to complete the chemotaxonomic data of the *Dracaena* genus, thus the Asparagaceae family, the isolation and structure determination of a new spirostane glycoside, namely spirosta-5,25(27)-diene-1 β ,3 β -diol-1-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O-[α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-xylopyranoside (**1**), is reported herein. The structure of the isolated compound was determined by 1D and 2D NMR spectroscopic analysis, together with mass spectrometry and by comparison with data published in the literature.

The HR-ESI-MS of compound **1** displayed a pseudo-molecular peak at m/z 861.4272 [$M + Na$]⁺, indicating the molecular formula of C₄₃H₆₆O₁₆. The ¹H NMR spectrum of the aglycon part of **1** showed signals of two tertiary methyl protons at δ 1.44 (s, H-18), 0.86 (s, H-19), a secondary methyl group at δ 1.05 (d, $J = 7.0$ Hz, H-21), an olefinic proton at δ 5.59 (H-6), and two exomethylene protons at δ 4.82 and 4.86 (each br.s, H-27), which were previously characterized to a spirostane-type steroid [16]. Furthermore, the presence of typical carbon signals in the ¹³C NMR spectrum at δ 139.1 (C-5), 124.7 (C-6), 109.5 (C-22), 144.0 (C-25), 64.8 (C-26), and 108.8 (C-27), together with the ¹H $\rightarrow$ ¹³C cross-peaks observed in the HMBC spectrum between δ_H 4.07, 4.48 (each br.d, $J = 11.7$ Hz, H-26) and δ_C 109.5 (C-22) confirmed that the aglycon was a spirostane-type steroid [13, 16, 17].

The sugar moieties of **1** were determined by 2D NMR analyses including HSQC, HMBC, COSY, TOCSY, and ROESY as one xylopyranosyl, one arabinopyranosyl, and one rhamnopyranosyl. The absolute configurations of sugar moieties were further identified to be D for xylose, and to be L for arabinose and rhamnose on the basis of the acid hydrolysis and GC analysis. The relatively large vicinal coupling constant values at $J = 7.0$ – 7.6 Hz observed for the anomeric proton determined the β -anomeric configuration of the xylopyranosyl moiety, and the α -anomeric configuration of the arabinopyranosyl moiety. The large ¹J_{H-1,C-1} value of the Rha at 167 Hz confirmed that the anomeric proton was equatorial (α -pyranoid anomeric form) [18, 19].

Department of Biology, Thai Nguyen University of Education, 24000 Thai Nguyen, Vietnam, e-mail: hungnd@tneue.edu.vn. Published in *Khimiya Prirodnykh Soedinenii*, No. 3, May–June, 2023, pp. 441–443. Original article submitted August 20, 2022.

RESEARCH ARTICLE

One New Steroidal Saponin from the Leaves of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev.Tu Quang Tan¹, Nguyen Thi Hai Yen², Chu Hoang Mau¹ and Nguyen Duc Hung^{1,*}¹Department of Biology, Thai Nguyen University of Education, 24000, Thai Nguyen, Vietnam; ²Department of Genetics, Thai Nguyen University of Sciences, 24000, Thai Nguyen, Vietnam

ARTICLE HISTORY

Received: July 16, 2022
Revised: November 03, 2022
Accepted: November 04, 2022DOI:
[10.2174/1570178620065230114218](https://doi.org/10.2174/1570178620065230114218)

Abstract: The aim of this study is to isolate and identify new chemical constituents from *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. growing in Vietnam. *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. (Synonym: *Cordyline terminalis* L. Kunth), belongs to the Asparagaceae family, is one of the popular plants in folk medicine. This plant has been used to treat various diseases, such as sore throat, neck pain, bloody urine, kidney diseases, headache, infections of mammary glands, and inflammation in the digestive tract. Previous study on the leaves of *C. fruticosa* (L.) A. Chev. reported the presence of cholestane glycosides with cytotoxic activity. The leaves of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. were provided by a flower shop in Thai Nguyen city, Vietnam in 2021 (21°35'53" N, 105°50'17" E). The extraction was performed by the ultrasound-assisted method using the solvent EtOH/H₂O. The crude extract was chromatographed on silica gel to yield one compound. The structure elucidation of isolated compound was determined by spectroscopic analysis 1D and 2D NMR, and mass spectroscopy (HR-ESI-MS in positive mode). A new steroidal saponin was isolated from the leaves of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. The structure of compound was determined as 26-O-β-D-glucopyranosyl-furosta-5,(25)27-diene-1β,3β,22α,26-tetrol-1-O-β-D-glucopyranoside. Phytochemical study on the leaves of *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. lead to the isolation and elucidation of one new steroidal saponin. Previous investigation on species of *Cordyline* genus revealed the presence of steroidal saponins, so this study has a significant benefit to complete the chemotaxonomic data about saponins from genus *Cordyline* and thus Asparagaceae family. The biological test of this compound should be further carried out in the next study.

Keywords: *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev., Asparagaceae, furostane, steroidal saponin, spectroscopic analysis, human leukemia cells.

1. INTRODUCTION

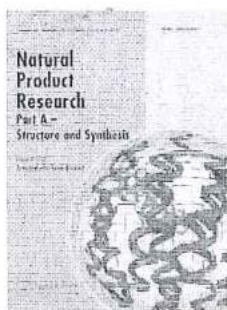
The distribution of the genus *Cordyline*, Asparagaceae family, is mainly in New Zealand, Australia, and Southeast Asia. Some species of this genus have been used as folk medicine to treat dysentery, rheumatism, and inflammation [1-4]. The previous phytochemical studies on some species of the genus *Cordyline*, including *C. canifolia*, *C. stricta*, *C. rubra*, and *C. fruticosa* have been investigated for the presence of steroidal saponins [3, 5-10]. Pharmacological studies on those compounds have revealed that they possess interesting biological actions, particularly cytotoxic and antimicrobial activities [9, 10]. *Cordyline fruticosa* (L.) A. Chev. is an ornamental plant that could be found in Vietnam.

The study on the leaves of *C. fruticosa* (L.) A. Chev. reported the presence of cholestane glycosides with cytotoxic activity against HL-60 human leukemia cells [11]. Our previous study on the roots of *C. fruticosa* (L.) A. Chev. involved the isolation and purification of two new steroidal saponins [12]. In the continuous research of the plant, the isolation and structure determination of a new furostanol saponin, namely 26-O-β-D-glucopyranosyl-furosta-5,(25)27-diene-1β,3β,22α,26-tetrol-1-O-β-D-glucopyranoside (**1**), were reported. The structure of **1** was determined by 1D and 2D NMR spectroscopic analysis (¹H, ¹³C, COSY, TOCSY, HSQC, HMBC, ROESY), together with mass spectrometry (HR-ESI-MS in positive mode), and by comparison with data published in the literature.

2. RESULTS AND DISCUSSION

The HR-ESI-MS of compound **1** displayed a pseudo-molecular peak at *m/z* 793.4107 [M+Na]⁺, indicating the

*Address correspondence to this author at the Department of Biology, Thai Nguyen University of Education, 24000, Thai Nguyen, Viet Nam; E-mail: hungnd@tne.edu.vn



[3]

Natural Product Research

Formerly Natural Product Letters

Published online 22 Sep 2023

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>

Three new minor steroidal glycosides from the whole plants of *Hoya parasitica* (Wall. ex Hornem.) Wight

Tan Quang Tu, Yen Thi Hai Nguyen, Lan Thi Ngoc Nguyen, Hung Duc Nguyen & Mau Hoang Chu

To cite this article: Tan Quang Tu, Yen Thi Hai Nguyen, Lan Thi Ngoc Nguyen, Hung Duc Nguyen & Mau Hoang Chu (22 Sep 2023): Three new minor steroidal glycosides from the whole plants of *Hoya parasitica* (Wall. ex Hornem.) Wight, Natural Product Research, DOI: [10.1080/14786419.2023.2261601](https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2261601)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2261601>



View supplementary material [↗](#)



Published online: 22 Sep 2023.



Submit your article to this journal [↗](#)

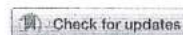


View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=gnpl20>



Three new minor steroidal glycosides from the whole plants of *Hoya parasitica* (Wall. ex Hornem.) Wight

Tan Quang Tu^a, Yen Thi Hai Nguyen^b, Lan Thi Ngoc Nguyen^a,
Hung Duc Nguyen^a  and Mau Hoang Chu^a

Department of Biology, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen, Viet Nam; ^bDepartment of Biotechnology, Thai Nguyen University of Sciences, Thai Nguyen, Viet Nam

ABSTRACT

Three new minor steroidal glycosides were isolated from the whole plants of *Hoya parasitica* (Wall. ex Hornem.) Wight. Their structures were further elucidated as 3 β ,4 α -dihydroxy-5 β -spirost-(25)27-en-1 β -yl O- α -L-arabinopyranoside (**1**), 3 β -hydroxy-5 β -spirost-25(27)-en-1 β -yl O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-xylopyranoside (**2**), and (23S,24S,25S)-3 β ,4 α ,23,24-tetrahydroxy-5 β -spirostan-1 β -yl O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-fucopyranoside (**3**) through interpretation of the spectroscopic data (one-dimensional and two-dimensional) and mass spectrometry (HR-ESI-MS). To the best of our knowledge, this is the first report of the isolation of spirostane-type steroidal saponins from the *Hoya* genus.

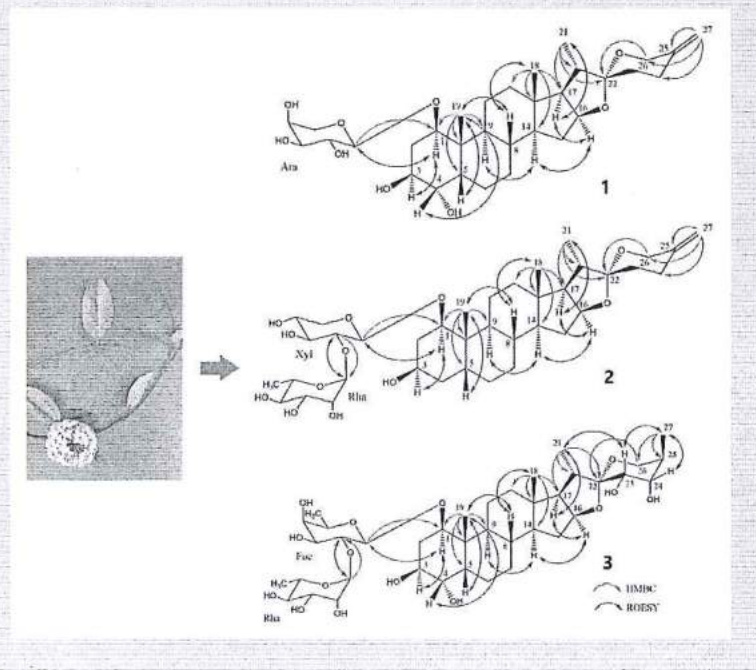
ARTICLE HISTORY

Received 22 April 2023

Accepted 10 August 2023

KEYWORDS

Apocynaceae; *Hoya parasitica* (Wall. ex Hornem.) Wight; NMR; spectroscopic analysis; steroidal glycoside



CONTACT Hung Duc Nguyen  hungnd@tnue.edu.vn

 Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2261601>.

© 2023 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

PGS.TS. SỸ DANH THƯỜNG

Capparis kbangensis (Capparaceae), a new species from central Vietnam

Danh Thuong Sy¹, Do Van Hai², Ritesh Kumar Choudhary³,
The Bach Tran², Hoang Mau Chu¹, Huu Quan Nguyen¹,
Thi Thu Nga Nguyen¹, Gordon C. Tucker⁴, Joongku Lee⁵

1 Faculty of Biology, TNU-University of Education, 20 Luong Ngoc Quyen, Thai Nguyen City, Vietnam **2** Department of Botany, Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam **3** Biodiversity & Palaeobiology Group, Agharkar Research Institute, G.G. Agharkar Road, Pune-411-004, India **4** Department of Biological Sciences, Eastern Illinois University, 600 Lincoln Avenue, Charleston, Illinois 61920-3099, USA **5** Department of Environment and Forest Resources, Chungnam National University, Yuseong-gu, Daejeon 34134, South Korea

Corresponding author: Joongku Lee (joongku@cnu.ac.kr)

Academic editor: K. Marhold | Received 26 January 2020 | Accepted 11 May 2020 | Published 17 June 2020

Citation: Sy DT, Hai DV, Choudhary RK, Tran TB, Chu HM, Nguyen HQ, Nguyen TTN, Tucker GC, Lee J (2020) *Capparis kbangensis* (Capparaceae), a new species from central Vietnam. PhytoKeys 151: 83–91. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.151.50477>

Abstract

Capparis kbangensis Sy & D.V. Hai, a new species from Kbang District, Gia Lai Province, Vietnam, is described and illustrated. The new species is morphologically similar to *Capparis versicolor* but differs by several characters such as emarginate leaf apex, hairy margin of sepals, smaller fruits, and fewer seeds per fruit. Its ecology and conservation status are provided along with a taxonomic key to the closely allied species.

Keywords

Capers, *Capparis versicolor*, Gia Lai Province, taxonomy

Introduction

Capparis Tourn. ex L. is one of the largest genera of the family Capparaceae and is important due to its economic and medicinal value (Rivera et al. 2003; Jiang et al. 2007; Chedraoui et al. 2017). The genus consists of 139 species distributed in tropical and

subtropical Old World to Mongolia (POWO 2019). It occupies mostly xeric habitats, and is characterized by the presence of thorns and saccate outer sepals (Jacobs 1965; Hall et al. 2002, 2004). The genus is represented by the four formal sections namely *Capparis*, *Sodada*, *Monostichocalyx*, and *Busbeckea* (Jacobs 1965) (Jacobs 1965). In Vietnam, they are represented by 37 species, three subspecies and two varieties (Ho 1999; Ban and Dorofeev 2003; Sy et al. 2018). The central highlands of Vietnam possesses a rich floristic diversity and includes five provinces namely Lam Dong, Dak Lak, Dak Nong, Gia Lai and Kon Tum. Our earlier explorations in these areas have resulted in the discovery of two new *Capparis* species, namely *C. dahnongensis* and *C. gialaiensis* (Sy et al. 2013, 2015). The present discovery signifies the importance of the highlands of Vietnam and demands more floristic survey and explorations in these areas.

Material and methods

While revising the taxonomy of *Capparis* in Vietnam, a floristic exploration trip was conducted during 2011 to Kbang District of Gia Lai Province. During this trip, an interesting *Capparis* species with young flowers and ripened fruits was encountered. However, only one individual could be located at that time. During our other trips to the same area conducted during 2017–2018, another population with 11 individuals in both flowering and fruiting stage could be traced. After a thorough examination of the type materials housed at HN, K, E, P, CAL and comparison of the morphological features of the collected taxon with all *Capparis* species from South east Asia (Gagnepain 1908, 1943; Jacobs 1960, 1965; Chayamarit 1991; Raghavan 1993; Ho 1999; Ban and Dorofeev 2003; Srisanga and Chayamarit 2004; Hu 2007; Zhang and Tucker 2008; Sy et al. 2013, 2015, 2018; Fici 2016; Fici et al. 2018, 2020; Souvannakhoummane et al. 2018) led us to conclude that our species does not match perfectly with any of the existing *Capparis* and hence we describe it here as a new species.

Taxonomy

Capparis kbangensis Sy & D.V. Hai, sp. nov.

urn:lsid:ipni.org:names:77209926-1

Figures 1–4

Diagnosis. *Capparis kbangensis* is similar to *Capparis versicolor* Griff. in the number of secondary veins of the leaves, color of petals, number of stamens, the length of gynophore, but differs from it by the leaf characters (emarginate vs acute apex), hairy sepal margins (vs. glabrous), smaller fruits and number of seeds per fruit (4–5 per fruit, reniform vs. 15 per fruit, nearly polygonal).

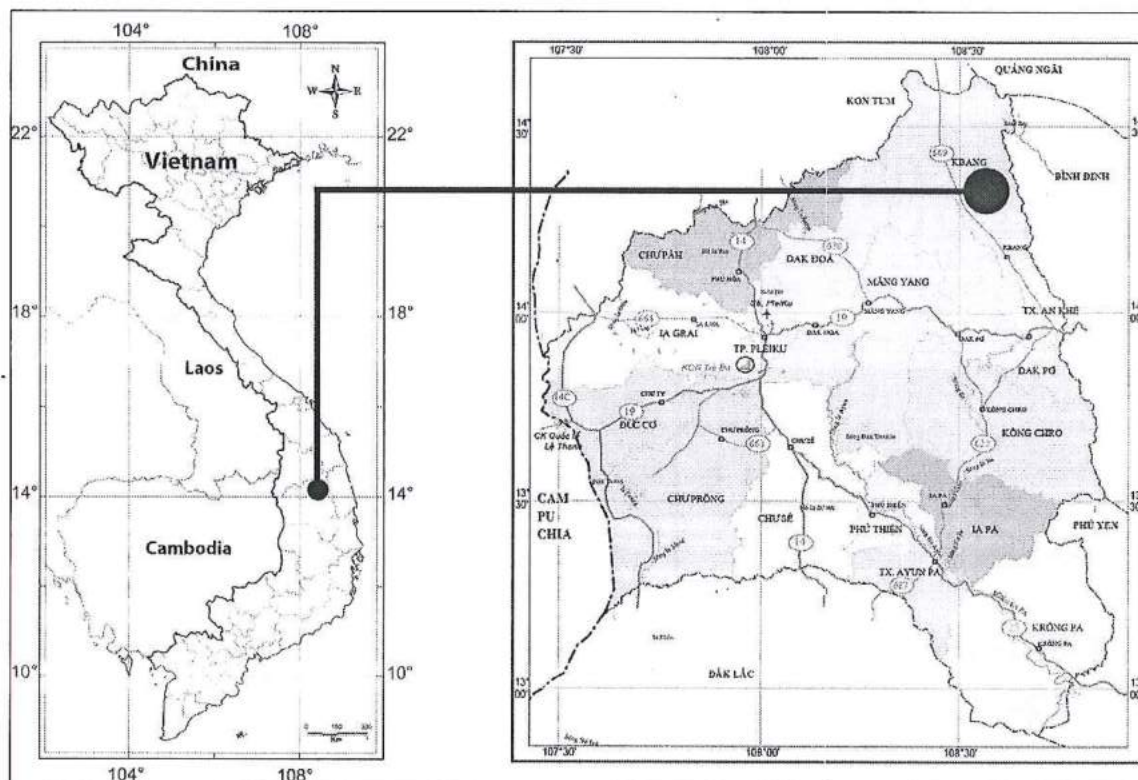


Figure 1. Map of Vietnam indicating type locality of *Capparis kbangensis* Sy & D.V. Hai.

Type. VIETNAM. Gia Lai Province: Kbang District, along the road, on hillocks, alt. 626 m, $14^{\circ}11'44.0''\text{N}$, $108^{\circ}35'40.9''\text{E}$, 07 April 2018, *Sy Danh Thuong, Do Van Hai, Thuong 0704201801* (holotype HN!; isotype, IBSC!).

Description. Scandent shrubs, up to 5 m high. Innovations with densely brown hairs, glabrous when mature. Thorns ca. 3 mm long, reddish brown, recurved. Petiole 6–8 mm long, hairy; blade elliptic to obovate, $4.5\text{--}6 \times 2.8\text{--}3.2$ cm, glabrous, young leaves yellowish green, dark green when older; midvein abaxially raised, adaxially flat; secondary veins 6–7 on each side of midvein, abaxially not obvious; base round or cuneate; apex emarginate. Inflorescence corymbs simple, terminal, with the lower flowers axillary, or few flowered in lateral racemes; pedicels 1.5–1.7 cm long, glabrous. Flower buds globose, 5–6 mm. Sepals $0.9\text{--}1 \times 0.4\text{--}0.5$ cm long, outer pairs hairy along margins, inner pairs hairy inside and along the margins; sepals of outer whorl boat-shaped and inner whorl obovate. Petals white, later turns to light pink, obovate, lower pairs $1.6\text{--}1.7 \times 0.7\text{--}0.9$ cm, upper pairs $1.7\text{--}1.8 \times 0.9\text{--}1$ cm, both surfaces pubescent, especially at the base. Stamens 57–60; filaments 3–3.5 cm long, glabrous, white; anthers ca. 2 mm long. Disk nearly parallelogram shaped. Gynophore 3.8–4.2 cm long, glabrous. Ovary elliptic, 0.2×0.1 cm, top with beak, yellowish green, glabrous, placentas 4. Fruits globose, 1.8–1.9 cm in diam, black when mature, surface with some knobs, beaked apex. Seeds 4–5 per fruit, reniform, $4\text{--}5 \times 2\text{--}3$ mm.

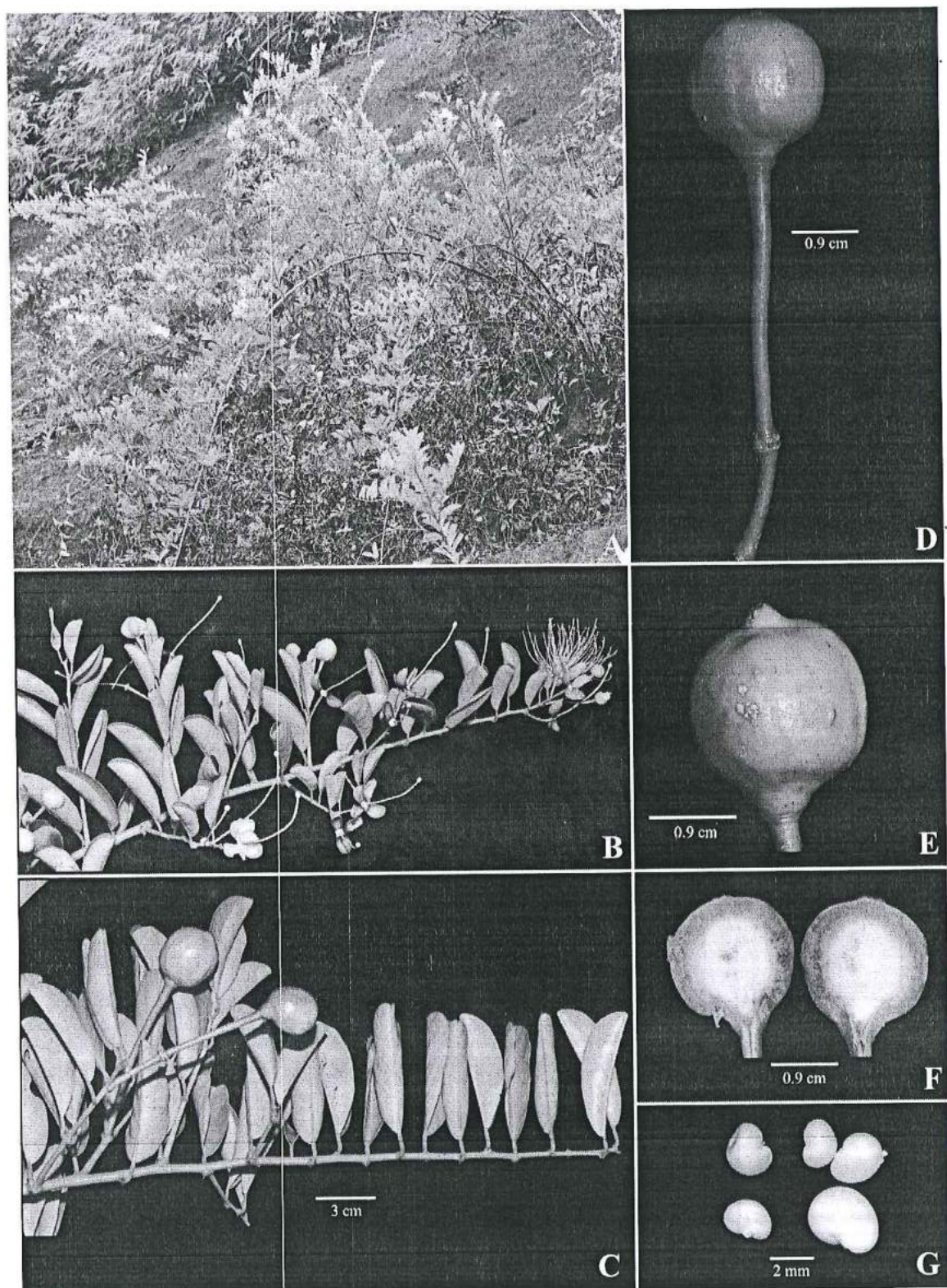


Figure 2. *Capparis kbangensis* Sy & D.V.Hai **A** habit **B** flowering branch **C** fruiting branch **D** fruit **E** fruit showing a distinct beak **F** cross section of the fruit **G** seeds. (Photographs by Sy & D.V. Hai).



Chemical composition and cytotoxic effects of essential oils from *Capparis trinervia* Hook. F. & Thomson on cancer cell lines

Nga Thi Thu Nguyen^a, Lan Thi Ngoc Nguyen^a, Thuong Danh Sy^a, Quan Huu Nguyen^a, Trung Quang Tu^a, Khang Van Pham^b, Tan Quang Tu^a and Mau Hoang Chu^a

^aDepartment of Genetics and Biotechnology, School of Biology, TNU-University of Education, Thai Nguyen City, Viet Nam; ^bDepartment of Applied Chemistry, School of Chemistry, TNU-University of Education, Thai Nguyen City, Viet Nam

ABSTRACT

Capparis trinervia (family Capparaceae) is a common wild plant distributed in various localities in the mountainous region of Vietnam. While essential oils have been found in the leaves and stems of *C. trinervia*, there are no reports to date describing the chemical composition and biological activities to guide further exploration and application of the oils. This study determined the essential oil composition of *C. trinervia*; 8 and 23 distinct essential oil compounds were identified from *C. trinervia* leaves and stems, respectively. Stigmasterol (C₂₉H₄₈O) was identified as the primary compound of essential oil from leaves, accounting for 75.775% of the oils, while 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol (C₂₆H₄₀O) was identified as the main essential oil component in *C. trinervia* stems, accounting for 18.337%. This study also explored the cytotoxic effects of essential oils extracted from *C. trinervia* against five cancer cells lines (A549, MCF7, HeLa, HepG2 and KB). A strong cytotoxic effect on all cancer cell lines was demonstrated by 100 µg mL⁻¹ essential oils derived from *C. trinervia* leaves and stems, which suggests the species is a promising candidate for use in life and public healthcare.

ABBREVIATIONS: DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium; DMSO: Dimethyl sulfoxide; GC: Gas chromatography; GC/MS: Gas chromatography/Mass spectrometry; A549: Human lung carcinoma; MCF7: Human breast carcinoma; HeLa: Human cervix carcinoma; HepG2: Human hepatocarcinoma; KB: Human carcinomas in the mouth; EO: essential oil; LDL: Low-density lipoprotein; OD: Optical density; SRB: Sulforhodamine B.

ARTICLE HISTORY

Received 27 July 2021

Accepted 7 January 2022

KEYWORDS

Capparis trinervia;
cytotoxicity; essential oil;
IC₅₀; Vietnam

Introduction

Capparis is the largest genus of the Capparaceae family; it includes approximately 250 species distributed in tropical and subtropical regions [1]. Many species of this genus are consumed as food and utilized in traditional medicine [2,3]. Traditional medicine values *Capparis* for its use as a diuretic, as well as for treatment of gastrointestinal issues, inflammation, bronchitis, nasal mucositis, menstruation and asthma [1,4]. Extracts of some *Capparis* species have been noted to contain biologically active secondary compounds.

Numerous studies on the biological activity and pharmacological and phytochemical properties of *C. spinosa* have been conducted [5,6]. The content and biological activity of substances is dependent upon the sampling site and extraction method [7,8]. Extracts from *C. spinosa* were shown to have protective effects against cytotoxicity

and tumour growth, as well as anticancer, antibacterial and antifungal properties [9–12].

The biological activities of several other species of *Capparis* have also been assessed. Leaf extracts of *Capparis brevispina* have antioxidant, cytotoxic and anticancer effects [13–15]. Methanol extracts from the fruit of *Capparis ovata* has demonstrated anticancer activity in mouse models [16]. Stem and leaf extracts of *C. flavicans* have also exhibited anticancer activities [17]. Numerous published reports on the composition and bioactivity of essential oils (EOs) from various plants, such as *Thymus daenensis*, *Chromolaena odorata*, *Artemisia fragrans* and *Psidium guajava*, have provided information on the composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of EOs [18–21].

To date, there have been several studies conducted to elucidate the composition and EO bioactivities of *C. spinosa*, *C. spinosa* var. *aegyptiaca*, and *C. ovata* var.

CONTACT Mau Hoang Chu chuhoangmau@tnu.edu.vn Department of Genetics and Biotechnology, School of Biology, TNU-University of Education, Thai Nguyen City 250000, Viet Nam; Thuong Danh Sy thuongsd@tnue.edu.vn Department of Genetics and Biotechnology, School of Biology, TNU-University of Education, Thai Nguyen City 250000, Viet Nam

© 2022 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

canescens. However, there are no published studies on the EOs found in *C. trinervia*, a species that is widely distributed in Vietnam and in secondary forests at altitudes up to 300 m [4]. This study aimed to serve as an initial report on *C. trinervia* EOs with respect to compositional analysis and exploration of their cytotoxic effects on cancer cell lines.

Materials and methods

Materials

Samples of *C. trinervia* were collected in Phuc Yen Town, Vinh Phuc Province, Vietnam (21°23'02"N; 105°42'43"E; altitude 58 m), in the spring of March 2020. Classification was based on the comparative morphology method established by Assoc. Prof. Dr. Sy Danh Thuong, Department of Botany, Faculty of Biology, TNU-University of Education, Vietnam (Figure 1). The voucher specimens (Code number: Sy Danh Thuong 30) were stored at the Museum of Biology, TNU, University of Education, Vietnam. The leaves and stems with an identical code number were collected separately, cut into small pieces of approximately 1 cm, and washed to extract EOs.

The cancer cell lines used in the study included A549 (human lung carcinoma), MCF7 (human breast carcinoma), HeLa (human cervix carcinoma), HepG2 (human hepatocarcinoma) and KB (human carcinomas in the mouth). These cancer cell lines were used in the cytotoxic assays at the Bioassay Laboratory, VAST-Institute of Biotechnology, Vietnam. Five human cancer cell lines were grown in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Hyclone, Logan, Utah, USA) with 10% foetal bovine serum, 2 mmol L⁻¹ L-glutamine, 10 mmol L⁻¹ HEPES and 1 mmol L⁻¹ sodium pyruvate at 37°C in a 5% CO₂ humidified atmosphere.

Essential oil extraction method

EOs from *C. trinervia* leaves and stems were extracted by a steam-aspirated distillation method for 4 h under

normal pressure at approximately 70°C–80°C [22]. The extracts were dissolved in n-hexane and n-butanol to obtain the dissolved EOs. The EOs were stored in glass bottles, which were then wrapped in sealed plastic bags, covered and stored at 4°C. Soluble EO was utilized for determining the composition and testing for cytotoxic activity against selected human cancer cell lines.

Essential oil chemical composition analysis method

A n-hexane-soluble EO sample was used to analyze the chemical composition of the EO. One milliliter of the EO of the plant was obtained following evaporation of the n-hexane solvent, and 0.1 mL of extracted EO was dissolved in 5 mL n-hexane to determine the chemical composition using gas chromatography (GC) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS).

GC was performed using an Agilent Technologies HP 6890 N Plus attached to a FID detector (Agilent Technologies, USA). An HP-5MS chromatographic column with a 30 m length, inner diameter (ID) of 0.25 mm and thin-film layer of 0.25 µm was used. The injection chamber temperature was maintained at 250°C. The detector temperature was set to 260°C. The initial 60°C thermostatic chamber temperature was held for 2 min prior to being increased at a rate of 4°C/min until 220°C was reached and held for 10 min. Helium was used as the carrier gas.

GC/MS was performed using gas chromatography equipment, and GC/MS conjugate spectroscopy was performed on an Agilent Technologies HP 6890 N paired with a mass selective detector (Agilent HP 5973 MSD). The HP-5MS column measured 0.25 m × 30 m × 0.25 mm, and the HP1 measured 0.25 m × 30 m × 0.32 mm. The temperature was held at 60°C for 2 min before being increased by 4°C/min to 220°C; the temperature was subsequently increased at a rate of 20°C/min to 260°C. Helium was the carrier gas.

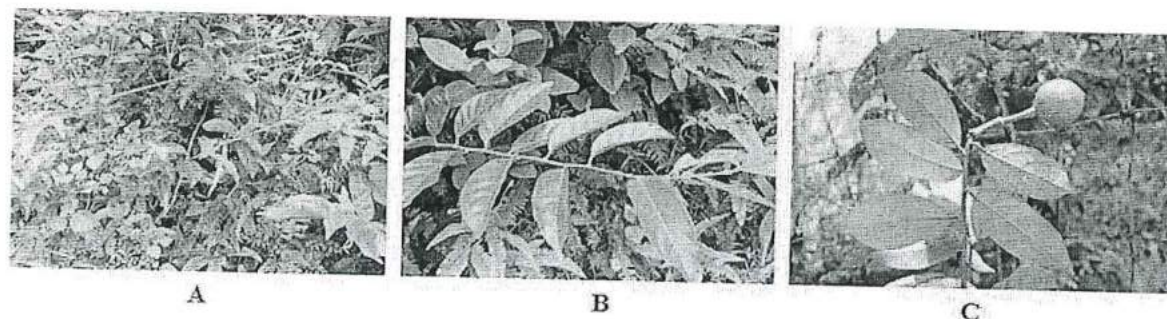


Figure 1. Morphology of *C. trinervia*. (A) *C. trinervia* wildly growing in the secondary forest along with some other plants; (B) leaf-bearing branchlet (upper side); (C) leaf-bearing branchlet (underside) and fruit.



Chemical constituents and biological activities of the leaves of *Adinandra megaphylla*

Nguyen Huu Quan^a, Pho Thi Thuy Hang^{a,b}, Nguyen Thi Thu Nga^a, Ho Viet Duc^c, Vu Thi Hue^d,
Sy Danh Thuong^a, Le Nguyen Thanh^{d,*}, Chu Hoang Mau^{a,*}

^a Thanhuy University of Education, Thai Nguyen University, Thai Nguyen 250000, Viet Nam

^b Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy, 250000, Viet Nam

^c Faculty of Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University, Viet Nam

^d Graduate University of Science and Technology (GUST) and Institute of Marine Biochemistry, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), Hanoi, Viet Nam

ARTICLE INFO

Keywords:

Adinandra megaphylla
Debutylidorycnic acid
Flavonoid glycoside
 α -glucosidase
Cytotoxicity

ABSTRACT

A new cyclobutane derivative 3-(2-butoxy-3-caffeoyl-1-hydroxycyclobutyl)-3-hydroxypropanoic acid named as debutylidorycnic acid (1), and a new flavonoid glycoside named as adinanquercetiside (2), together with thirteen known compounds (3–15) were isolated from leaves of *Adinandra megaphylla* Hu. Their chemical structures were elucidated on the basis of spectroscopic evidence. In the α -glucosidase activity evaluation, compounds 4, 5 and 7 significantly inhibited enzyme activity with IC₅₀ values ranging from 13.67 ± 0.42 μ g/mL to 27.52 ± 0.51 μ g/mL.

1. Introduction

Adinandra is a genus of approximately 100 species of shrubs or wooden plants in the Pentaphylacaceae family, distributed in South East Asian countries, China, Japan, India and African forests (Son and Dung, 2014). In China, *A. nitida* leaves (Shiyacha) has been consumed as a health tea beverage, and it has been reported to have many pharmacological activities, such as antioxidant, anti-inflammatory, antitumor, reduction of blood pressure and antidiabetic effects (Chen et al., 2015, 2022; Liu et al., 2010; Gao et al., 2010). Triterpene saponins and flavonoids have been recognized as their bioactive composition in stems and leaves of *A. nitida* (Gao et al., 2010; Wang et al., 2008; Yuan et al., 2019). Chinese scientists also have reported antioxidant and anti-proliferation activities of several other *Adinandra* plants including *A. millettii*, *A. latifolia*, and *A. jubata* (Chen et al., 2015). In Vietnam, *Adinandra* plants like *A. hainanensis*, *A. integerrima*, and *A. millettii* have been used in traditional medicine for the treatment of cancer, snake bites and stomach aches (Chi, 2012). Recently, our previous studies on the *A. hainanensis* and *A. poilanei* resulted in the isolation of triterpenes, nor-diterpene, megastigmanes and sterols. Plant extracts and isolated compounds showed cytotoxic and α -glucosidase enzyme inhibitory effects (Oanh et al., 2021; Oanh et al., 2022).

Adinandra megaphylla Hu is a native species found in northern

mountains of Vietnam. We have reported the chloroplast genome investigation of this species recently (Nguyen et al., 2021). As part of our continuing studies on the phytochemistry of unexploited Vietnamese plants in the search for new secondary metabolites, we describe herein the isolation and structure elucidation of a new cyclobutane derivative named as debutylidorycnic acid (1) and a new flavonoid glycoside named as adinanquercetiside (2) from the leaves of *A. megaphylla* collected in Lao Cai province, Vietnam along with thirteen known compounds (3–15). Their structures were elucidated on the basis of spectral data and by comparison with the literatures. Several isolated constituents were evaluated for cytotoxicity and α -glucosidase enzyme inhibitory activity.

2. Results and discussion

Compound 1 was isolated as a pale yellow powder. The negative HR-ESI-MS showed negative pseudo-molecular ion peak $[M-H]^-$ at m/z 353.0880, revealing a molecular formula $C_{16}H_{18}O_9$. The IR spectrum exhibited hydroxyl and carbonyl absorptions at 3324 and 1684 cm^{-1} , respectively. The 1H and ^{13}C NMR spectrum showed the presence of a caffeate moiety at δ_H 7.04 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 6.77 (1 H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.99 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, 8.4 Hz, H-6), 7.43 (1 H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7), 6.15 (1 H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8)/ δ_C 125.5 (C-1), 114.7 (C-2), 148.3

* Corresponding authors.

E-mail addresses: lethanh@imb.vast.vn (L.N. Thanh), chuhongmau@tnu.edu.vn (C.H. Mau).

<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2023.06.002>

Received 6 March 2023; Received in revised form 3 June 2023; Accepted 5 June 2023

1874-3900/© 2023 Phytochemical Society of Europe. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

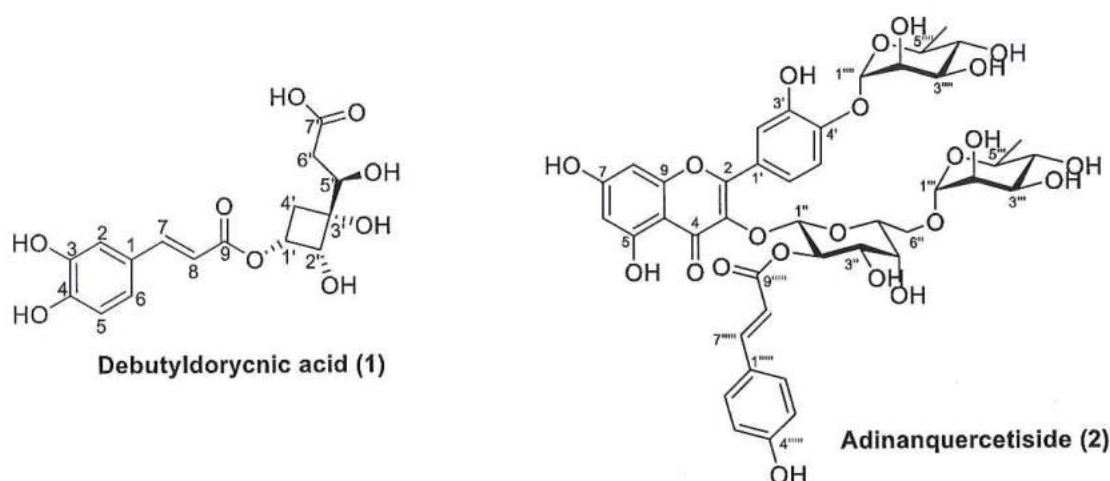


Fig. 1. The chemical structure of compounds 1–2.

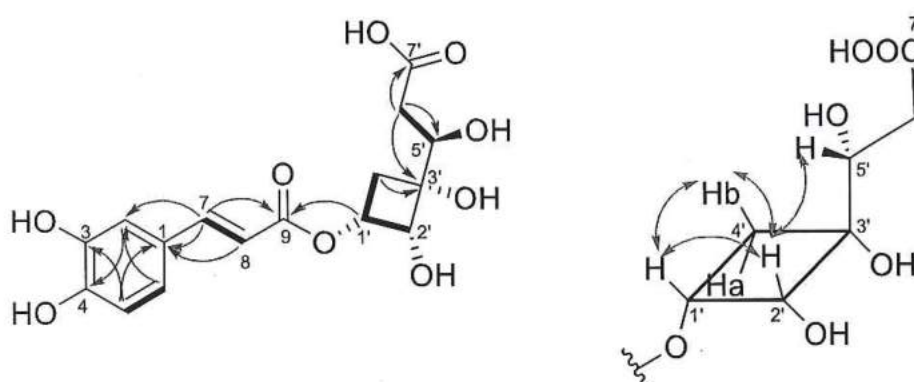


Fig. 2. Key HMBC and NOESY correlations of compound 1.

(C-3), 145.5 (C-4), 115.7 (C-5), 121.3 (C-6), 144.9 (C-7), 114.3 (C-8), 165.7 (C-9). In the HMBC spectrum, an oxymethine proton at δ_{H} 5.08 (1 H, m, H-1')/ δ_{C} 70.8 showed cross-peak to carbonyl group C-9 of caffeate moiety. In the ^1H - ^1H COSY spectrum, this proton H-1' showed correlations with oxymethine proton H-2' (δ_{H} 3.57) and methylene protons H-4' (δ_{H} 2.01 (1 H, m, H-4'a) and 1.96 (1 H, dd, $J = 4.2$ Hz, 13.2 Hz, H-4'b)). The HMBC cross-peaks of H-1' and H-4' to C-3' (δ_{C} 73.4); of H-4' to C-1' (δ_{C} 70.8) and C-2' (δ_{C} 70.4) indicated the presence of a cyclobutyl moiety linked to the caffeate system (Fig. 2). In addition, signals of a 3-hydroxypropanoic acid fragment at δ_{H} 3.94 (br, H-5'), 2.03 (m, 1 H, H-6'a), 1.79 (1 H, dd, $J = 6.6$ Hz, 13.2 Hz, H-6'b)/ δ_{C} 68.1 (C-5'), 37.2 (C-6'), 174.9 (C-7') were observed in the NMR spectra. The ^1H - ^1H COSY spectrum revealed H-5' and H-6' were vicinal. The HMBC spectrum showed the correlations of H-6' to C-5' and C-7'. On the other hand, HMBC cross-peaks of H-6' and C-3' suggested the 3-hydroxypropanoic acid linked to C-3' of cyclobutane ring (Fig. 2). The presented data of compound 1 were similar to those of dorycnic acid and colvoldorine, which both were isolated from *Convolvulus dorycnium* (Hassine et al., 2016; Nacef et al., 2010). The stereochemistry of 1 was assigned by a NOESY spectrum and comparison of optical rotation and NMR data of 1 to dorycnic acid, of which the stereochemistry had been determined by a combination of Mosher's method and the NOESY experiment (Nacef et al., 2010). Similar to those of dorycnic acid, the NOE interactions of H-1'/H-2', H-1'/H-4'b, H-2'/H-4'b and H-2'/H-5' indicating that H-1', H-2', H-5' were on the same side of cyclobutane ring (Fig. 2). In addition, the measured optical rotation of compound 1, comparable to that of dorycnic acid $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -15$ (c 0.13; MeOH) and colvoldorine $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -20.1$ (c

0.10; MeOH). Based on these evidences, the configurations at C-1', C-2', C-3' and C-5' were assigned as *R*, the same as those of dorycnic acid. Compound 1 was thus characterized as 3-(2*R*-hydroxy-3*R*-caffeoyl-1*R*-hydroxycyclobutyl)-3*R*-hydroxypropanoic acid, and named debutyldorycnic acid (Fig. 1).

Compound 2 was obtained from MeOH fraction as a yellow syrup and gave HR-ESI-MS at m/z 903.2595 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ consistent with a molecular formula of $\text{C}_{42}\text{H}_{46}\text{O}_{22}$. The IR spectrum showed hydroxyl absorptions at 3360 cm^{-1} . The ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra of 2 showed characteristic signals of a quercetin moiety with two *meta*-aromatic protons at δ_{H} 6.19 (1 H, $J = 2.4$ Hz, H-6) and 6.36 (1 H, $J = 2.4$ Hz, H-8), three aromatic protons of an ABX system at δ_{H} 7.74 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 7.26 (1 H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 7.62 (1 H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-6'). In addition, signals of a *p*-coumaroyl fragment at δ_{H} 7.70 (1 H, d, $J = 16.2$ Hz, H-7'), 6.39 (1 H, d, $J = 16.2$ Hz, H-8'), 7.46 (2 H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', H-6'), 6.83 (2 H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', H-5')/ δ_{C} 127.3 (C-1'), 131.2 (C-2', C-6'), 116.8 (C-3', C-5'), 161.2 (C-4'), 146.9 (C-7'), 115.3 (C-8'), and 168.9 (C-9') were observed. The sugar region showed three anomeric protons at δ_{H} 5.55 (d, $J = 1.8$ Hz, H-1')/ δ_{C} 100.8, 5.54 (d, $J = 7.8$ Hz, H-1')/ δ_{C} 101.7 and 4.59 (d, $J = 1.8$ Hz, H-1')/ δ_{C} 102.0 as well as two secondary methyl groups at δ_{H} 1.23 (3 H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6') and 1.29 (3 H, d, $J = 6.6$ Hz, H-6'). The sugars were determined as D-galactose and L-rhamnose by hydrolysis, derivatization and GC analysis (Figs. S16–S19). The sugar residues were further assigned as a β -D-galactopyranose and two α -L-rhamnopyranose units based on COSY, HMBC and coupling constant analyses follow up our previous work (Ho et al., 2020). In the HMBC spectrum, the correlations of Rha H-1' (δ_{H} 5.55) to



Chemical constituents of *Adinandra glischroloma* Hand.–Mazz. and their chemotaxonomic significance

Pho Thi Thuy Hang^{a,b}, Nguyen Thi Thu Nga^a, Sy Danh Thuong^a, Le Nguyen Thanh^{c,*},
Nguyen Van Phuong^d, Chu Hoang Mau^a, Nguyen Huu Quan^{a,**}

^a *Thainguyen University of Education, Thai Nguyen University, Thai Nguyen, 250000, Viet Nam*

^b *Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy, 250000, Viet Nam*

^c *Graduate University of Science and Technology (GUST) and Institute of Marine Biochemistry, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), Hanoi, 10000, Viet Nam*

^d *Hanoi University of Pharmacy, Hanoi, 10000, Viet Nam*

ARTICLE INFO

Keywords:

Adinandra glischroloma
Pentaphylacaceae
Pentacyclic triterpenes
Flavonoids
Megastigmane
Lignan

ABSTRACT

The phytochemical investigation of the leaves of *Adinandra glischroloma* Hand.–Mazz. resulted in the isolation of fourteen known compounds including nine triterpenoids: 28-nor-urs-12-ene-3 β ,17 β -diol (1), micromeric acid (2), 23-hydroxy ursolic acid (3), euscaphic acid (4), pomolic acid (5), 3,13-dihydroxy ursolic acid 28,13-olide (6), ursolic acid (7), betulinic acid (8), and oleanolic acid (9); one diterpene: *ent*-kaur-16-en-19-oic-acid (10); one megastigmane: (3S, 5R, 6S, 9R)-megastigmane-3,9-diol (11), one flavonoid: isoquercetin (12); one lignan: syringaresinol (13), and one sterol: β -sitosterol (14). The chemical structures were determined by NMR, MS spectroscopic analyses and comparison with literature values. All of these compounds were isolated from *A. glischroloma* for the first time. Furthermore, this is the first report on the isolation of compounds 1–3, 10, and 11 from the genus *Adinandra* and the Pentaphylacaceae family. Compounds 1–3, 10, and 11 may be used as chemotaxonomic markers to differentiate between *A. glischroloma* from other species of the *Adinandra* genus. Our results showed that *A. glischroloma* plant is rich in pentacyclic triterpenes and possessed a strong relationship with other *Adinandra* species in Vietnam.

1. Subject and source

The genus *Adinandra* is one of the largest genera in the Pentaphylacaceae family and consists of approximately 100 species distributed in South East Asian countries, China, Japan, India and African forests (Son and Dung, 2014). There are fourteen *Adinandra* species in Vietnam, distributed in the northern and central provinces of Vietnam. *Adinandra* plants in Vietnam like *A. hainanensis*, *A. integerrima* and *A. millettii* have been used for the treatment of throat cancer, snake bites and stomach aches (Chi, 2012). The leaves of *Adinandra nitida* in China, have been used as a traditional tea (Shiyacha) due to its various pharmacological activities such as reducing blood pressure and blood lipids, antioxidant, and anti-inflammatory effects (Gao et al., 2010; Liu et al., 2010). Chinese scientists also documented that several other *Adinandra* plants including *A. millettii*, *A. latifolia* and *A. jubata* have possessed antioxidant and antiproliferation activities (Chen et al., 2015). Our recent studies of

A. hainanensis, *A. poilanei* and *A. megaphylla* showed that the plant extracts and isolated compounds exhibited the cytotoxic and α -glucosidase inhibitory activity (Oanh et al., 2021c, 2022; Quan et al., 2023).

In this study, the leaves of *Adinandra glischroloma* plant were collected from Bat Sat district, Lao Cai Province, northern Vietnam (GPS longitude: 103°37'42"E, latitude: 22°37'35"N, altitude: 1844m) in September 2021. The plant materials were identified by Professor Sy Danh Thuong, Botany Department, Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education. A voucher specimen (NHQ-04) was stored at Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education.

2. Previous work

Previous chemical studies of *Adinandra* species including *A. nitida*, *A. hainanensis*, *A. poilane*, *A. lienii* and *A. megaphylla* have revealed the presence of diverse compounds like triterpenoids (Hieu et al., 2021;

* Corresponding author.

** Corresponding author.

E-mail addresses: lethanh@imbc.vast.vn (L.N. Thanh), quannh@tnue.edu.vn (N.H. Quan).

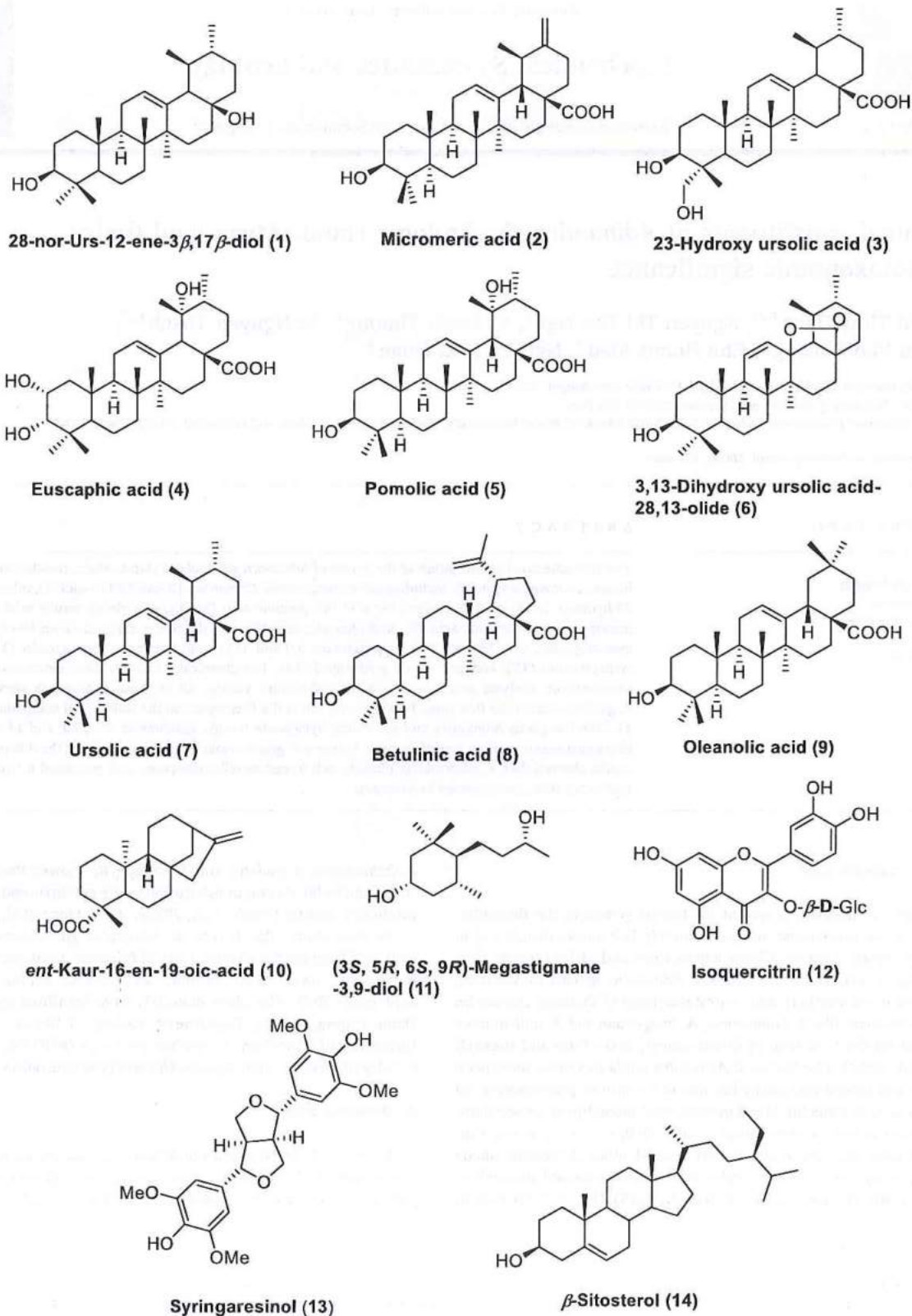


Fig. 1. Chemical structures of isolated compounds from *A. glischromola* leaves.

Oanh et al. 2019a, 2019b, 2021a, 2021b, 2021c, 2022; Quan et al., 2023; Wang et al., 2008; Yuan et al., 2019), *nor*-diterpenoid (Oanh et al., 2021c), flavonoids (Gao et al., 2010; Liu et al., 2010; Hieu et al., 2021; Quan et al., 2023; Yuan et al., 2019), lignans (Oanh et al., 2021c; Quan et al., 2023), megastigmanes (Oanh et al., 2021c; Quan et al., 2023), sterols (Oanh et al., 2021c, 2022) and phenolic compounds (Hieu et al., 2021; Oanh et al., 2021b, 2021c, 2022; Quan et al., 2023). No investigation of chemical constituents of *A. glischroloma* has been reported so far.

3. Present study

Our study aimed to gain the chemical composition information of *A. glischroloma* and discuss the chemotaxonomic significance of the isolated compounds.

3.1. General experimental procedures

Chemical solvents (analytical grade) were purchased from chemical company and used without further purification. Silica gel (Merck, 230–400 mesh), reversed phase C18 (YMC, RP-18, 150 μ m), Sephadex® LH-20 (Sigma Aldrich), and Diaion HP-20 resins (Mitsubishi Chemical) were used for column chromatography (CC). Thin layer chromatography was conducted using precoated aluminium silica gel plates (Merck 60 F₂₅₄). Spots were visualized by spraying with 10% sulfuric acid in water and heating. The Bruker AVANCE 500 MHz or Bruker AVANCE NEO 600 MHz spectrometers were used for recording NMR spectra using TMS as an internal standard. The Agilent 1260 series single quadrupole LC/MS system was utilised for electrospray ionization mass spectra (ESI-MS).

3.2. Extraction and isolation

The dried leaves of *A. glischroloma* (3.2 kg) were extracted with MeOH (4 $\times$ 16 L for 24 h) at room temperature. The MeOH solvents were filtered and evaporated with reduced pressure. The crude extract was diluted with distilled water (1 L) and extracted with EtOAc to give EtOAc residue (70 g) and water layer. The water fraction was applied to Diaion HP-20 CC, eluting with solvent of MeOH/water (0/100; 50/50 and 100/0) to yield MeOH fraction (8 g).

The EtOAc residue was subjected to a silica gel column chromatography (350 g, column 10 cm size), eluted with gradient of *n*-hexane/EtOAc (100/1 to 0/100, v/v) to yield 15 fractions (E1–E15). Fraction E3 (0.59 g) was subjected to silica gel CC (18 g, column 2.0 cm size), eluted with *n*-hexane/CH₂Cl₂ (5:1, v/v) to afford 10 sub-fractions E3.1–E3.10. Sub-fraction E3.7 (35 mg) was further purified by silica gel CC (7 g, column 1.0 cm size), eluted with *n*-hexane/EtOAc (9:1, v/v) to give compound 10 (3.1 mg).

Fraction E4 (0.3 g) was fractionated by silica gel CC (15 g, column 1.5 cm size) using the mobile phase of *n*-hexane/CH₂Cl₂ (5:1, v/v) to yield β -sitosterol (14) and 2 fractions E4.1–E4.2. Fraction E4.2 (80 mg) was purified by silica gel CC (12 g, column 1.5 cm size), and eluted with *n*-hexane/acetone (30:1, v/v) to give compound 1 (3.4 mg).

Fraction E6 (5.3 g) was applied on silica gel CC (106 g, column 5.0 cm size), eluted with *n*-hexane/EtOAc (9:1, v/v) to afford 7 sub-fractions E6.1–E6.7. Fraction E6.6 (506 mg) was subjected to silica gel CC (26 g, column 2.5 cm size), and eluted with *n*-hexane/EtOAc (9:1, v/v) to give 6 fractions E6.6.1–E6.6.6. Compound 8 (6.2 mg) was obtained from fraction E6.6.3. Fraction E6.6.5 (50 mg) was purified by reversed-phase silica gel CC (15 g, column 1.5 cm size) using MeOH/H₂O (10:1, v/v) as the mobile phase to yield compound 9 (5.5 mg).

Fraction E9 (2.5 g) was chromatographed on silica gel CC (50 g, column 3.0 cm size) using CH₂Cl₂/acetone (5:1, v/v) as the mobile phase to afford 9 sub-fractions E9.1–E9.9. Sub-fraction E9.4 (22 mg) was purified by silica gel CC (5 g, column 1.0 cm size), eluted with *n*-hexane/EtOAc (9:1, v/v) to give 6 (2.2 mg). Sub-fraction E9.7 (0.95 g) was

Table 1

The distribution of compounds 4–8, 12 and 13 in the *Adinandra* plants.

Compounds	Name	Plants	Parts	References
4	Euscaphic acid	<i>A. nitida</i>	leaves	Yuan et al. (2019)
5	Pomolic acid	<i>A. poilanei</i>	leaves	Oanh et al. (2021a)
6	3,13-Dihydroxy ursolic acid 28,13-olide	<i>A. hainanensis</i>	leaves	Oanh et al. (2019a)
		<i>A. poilanei</i>	leaves	Oanh et al. (2021b)
7	Ursolic acid	<i>A. poilanei</i>	leaves	Oanh et al. (2021b)
		<i>A. hainanensis</i>	leaves	Oanh et al. (2019b)
		<i>A. megaphylla</i>	leaves	Quan et al. (2023)
		<i>A. lienii</i>	leaves	Hieu et al. (2021)
8	Betulinic acid	<i>A. hainanensis</i>	stems	Oanh et al. (2022)
		<i>A. hainanensis</i>	leaves	Oanh et al. (2019a)
		<i>A. poilanei</i>	stems	Oanh et al. (2021a)
		<i>A. lienii</i>	leaves	Hieu et al. (2021)
9	Oleanolic acid	<i>A. hainanensis</i>	stems	Oanh et al. (2019b)
12	Isoquercitrin	<i>A. megaphylla</i>	leaves	Quan et al. (2023)
13	Syringaresinol	<i>A. poilanei</i>	leaves	Oanh et al. (2021b)

fractionated by reversed-phase silica gel CC (25 g, column 2.5 cm size), eluted with acetone/H₂O (1:1, v/v) to afford 6 fractions E9.7.1–E9.7.6. Fraction E9.7.1 (24 mg) was purified by Sephadex® LH-20 CC (25 g, column 2.0 cm size), eluted with MeOH to give 11 (3.2 mg). Fraction E9.7.4 (0.24 g) was applied to a silica gel CC (24 g, column 2.5 cm size) using the mobile phase of *n*-hexane/EtOAc (8:2, v/v) to afford 2 (2.3 mg). Fraction E9.7.6 (20 mg) was subjected to reversed-phase silica gel CC (5 g, column 1.0 cm size), eluted with acetone/H₂O (2:1, v/v) to obtain 5 (10 mg).

Fraction E12 (4.5 g) was applied to a silica gel CC (90 g, column 4.0 cm size), eluted with *n*-hexane/MeOH (30:1, v/v) to afford 4 fractions E12.1–E12.4. Fraction E12.2 (30 mg) was purified by silica gel CC (6 g, column 1.0 cm size), eluted with *n*-hexane/acetone (4:1, v/v) to give 3 (4.2 mg) and 7 (3.2 mg).

Fraction E15 (3.5 g) was fractionated by silica gel CC (70 g, column 4.0 cm size) eluted with CH₂Cl₂/acetone (40:1, v/v) to yield 3 fractions E15.1–E15.3. Fraction E15.2 (1.1 g) was subjected to reversed-phase silica gel CC (50 g, column 3.0 cm size), eluted with acetone/H₂O (1:3, v/v) to obtain 5 fractions E15.2.1–E15.2.5. Fraction E15.2.1 (30 mg) was purified by silica gel CC (6 g, column 1.0 cm size) using the mobile phase of CH₂Cl₂/MeOH (100:1, v/v) to give 13 (4.0 mg). Fraction E15.2.5 (25 mg) was further purified by reversed-phase silica gel CC (5 g, column 1.0 cm size), eluted with acetone/H₂O (1:1, v/v) to yield compound 4 (2.0 mg).

The MeOH fraction (8 g) was subjected to silica gel CC (160 g, column 5.0 cm size) eluted with CH₂Cl₂/MeOH (50:1, v/v) to afford 7 fractions (W1–W7). Fraction W7 (0.78 g) was fractionated by reversed-phase silica gel CC (25 g, column 2.0 cm size) using acetone/H₂O (1:4, v/v) as mobile phase to yield 5 fractions W7.1–W7.5. Fraction W7.1 (0.15 g) was further purified by Sephadex® LH-20 CC (15 g, column 1.5 cm size), eluted with MeOH to give compound 12 (6 mg).

3.3. Structure identification of isolated compounds

The phytochemical investigation of the leaves of *A. glischroloma* afforded fourteen known compounds identified as 28-*nor*-urs-12-ene-

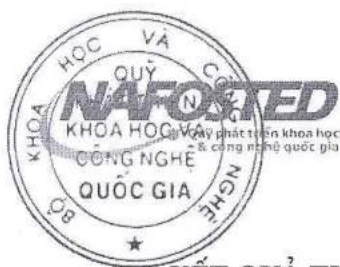
Table 2
The partial distribution of compounds 1–3 and 10–11.

Compounds	Species	References
28-nor-Urs-12-ene-3 β ,17 β -diol (1)	<i>Swertia mileensis</i> (Gentianaceae)	Yuan et al. (2023)
	<i>Alstonia scholaris</i> (Apocynaceae)	Hu et al. (2022b)
	<i>Acokanthera schimperi</i> (Apocynaceae)	Matebie et al. (2019)
	<i>Camptotheca acuminata</i> (Cornaceae)	He et al. (2019)
	<i>Viburnum fordiae</i> (Adoxaceae)	Chen et al. (2018)
	<i>Melodinus suaveolens</i> (Apocynaceae)	Li et al. (2015a)
	<i>Nerium oleander</i> (Apocynaceae)	Bai et al. (2012)
	<i>Hippophae rhamnoides</i> (Elaeagnaceae)	Yang et al. (2013b)
	<i>Eucalyptus cladocalyx</i> (Myrtaceae)	Benyahia et al. (2005)
	<i>Ilex cornuta</i> (Aquifoliaceae)	Lee et al. (2013)
Micromeric acid (2)	<i>Rosmarinus officinalis</i> (Lamiaceae)	Khin et al. (2021)
	<i>Rehmannia glutinosa</i> (Plantaginaceae)	Chen et al. (2022)
	<i>Salvia horminum</i> (Lamiaceae)	Uluhelen and Brieskorn (1975)
	<i>Raphiodon echinus</i> (Lamiaceae)	De Sousa and Kaplan (2006)
	<i>Ledum palustre</i> (Ericaceae)	Bukreyeva et al. (2013)
	<i>Mentha aquatica</i> (Lamiaceae)	Ferhat et al. (2017)
	<i>Scutellaria edelbergii</i> (Lamiaceae)	Shah et al. (2021)
	<i>Rhododendron adamsii</i> (Ericaceae)	Razgonova et al. (2020)
	<i>Salvia barrelieri</i> (Lamiaceae)	Lehbill et al. (2018)
	<i>Thymus algeriensis</i> (Lamiaceae)	Gedara (2008)
23-Hydroxy ursolic acid (3)	<i>Micromeria species</i> (Lamiaceae)	Arteaga et al. (1970)
	<i>Elsholtzia densa</i> (Lamiaceae)	Yang et al. (2022)
	<i>Viburnum lutescens</i> (Adoxaceae)	Huong et al. (2022)
	<i>Gaultheria leucocarpa</i> (Ericaceae)	Hu et al. (2022a)
	<i>Carissa carandas</i> (Apocynaceae)	Bano et al. (2022)
	<i>Schefflera barteri</i> (Araliaceae)	Mbougna et al. (2022)
	<i>Juglans hopeiensis</i> (Juglandaceae)	Lin et al. (2021)
	<i>Myrtus communis</i> (Myrtaceae)	Liang et al. (2020)
	<i>Ilex rotunda</i> (Aquifoliaceae)	Chen et al. (2019)
	<i>Ilex hainanensis</i> (Aquifoliaceae)	Zhao et al. (2019)
	<i>Lagerstroemia speciosa</i> (Lythraceae)	Lu et al. (2019)
	<i>Cyclocarya paliurus</i> (Juglandaceae)	Peng et al. (2018)
	<i>Lyonia ovalifolia</i> (Ericaceae)	Zhao et al. (2018)
	<i>Euscaphis japonica</i> (Staphyleaceae)	Ding and Wang (2018)
	<i>Cussonia bancoensis</i> (Araliaceae)	Won et al. (2018)
	<i>Simira sampaloana</i> (Rubiaceae)	Viana et al. (2017)
	<i>Schisandra grandiflora</i> (Schisandraceae)	Shi et al. (2016)
	<i>Firmiana simplex</i> (Malvaceae)	Woo et al. (2015)
	<i>Alstonia mairei</i> (Apocynaceae)	Li et al. (2015b)
	<i>Rhododendron brachycarpum</i> (Ericaceae)	Zhou et al. (2014)
	<i>Sinningia leucotricha</i> (Gesneriaceae)	Verdan et al. (2013)
	<i>Gardenia jasminoides</i> (Rubiaceae)	Song et al. (2013)

Table 2 (continued)

Compounds	Species	References
	<i>Dracocephalum moldavica</i> (Lamiaceae)	Yang et al. (2013a)
	<i>Patrinia sariculaefolia</i> (Valerianaceae)	An et al. (2011)
	<i>Camellia sinensis</i> (Theaceae)	Chung (2009)
	<i>Actinidia chinensis</i> (Actinidiaceae)	Zhou et al. (2009)
	<i>Guettarda angelica</i> (Rubiaceae)	Sousa et al. (1984)
	<i>Eucalyptus perriniana</i> (Myrtaceae)	Furuya et al. (1987)
	<i>Cigarrilla mexicana</i> (Rubiaceae)	Mata et al. (1988)
	<i>Cynara cardunculus</i> (Asteraceae)	Shimizu et al. (1988)
	<i>Patrinia scabiosaeifolia</i> (Caprifoliaceae)	Kim and Saengnyak (1997)
	<i>Plumeria obtusa</i> (Apocynaceae)	Siddiqui et al. (1990)
ent-Kaur-16-en-19-oic-acid (10)	<i>Valeriana laxiflora</i> (Caprifoliaceae)	Gu et al. (2004)
	<i>Campsis grandiflora</i> (Bignoniaceae)	Kim et al. (2005)
	<i>Potentilla discolor</i> (Rosaceae)	Jang et al. (2006)
	<i>Lagerstroemia reginae</i> (Lythraceae)	Lou et al. (2006)
	<i>Goniothalamus chellensis</i> (Annonaceae)	Zhao et al. (2022)
	<i>Baccharis lateralis</i> (Asteraceae)	Sessa et al. (2020)
	<i>Croton dictyophlebodes</i> (Euphorbiaceae)	Munissi et al. (2020)
	<i>Ageratina deltoidea</i> (Asteraceae)	Arciniegas et al. (2018)
	<i>Acanthopanax senticosus</i> (Araliaceae)	Li et al. (2014)
	<i>Annona squamosa</i> (Annonaceae)	Zhou et al. (2013)
	<i>Aralia cordata</i> (Araliaceae)	Takahashi et al. (2011)
	<i>Wedelia trilobata</i> (Asteraceae)	Qiang et al. (2011)
	<i>Schefflera umbellifera</i> (Araliaceae)	Mithembu et al. (2010)
	<i>Aristolochia constricta</i> (Aristolochiaceae)	Pacheco et al. (2009)
	<i>Plectranthus strigosus</i> (Lamiaceae)	Gaspar-Marques et al. (2008)
	<i>Pleurothyrium cinereum</i> (Lauraceae)	Ericsson and Cuca (2008)
	<i>Copaifera langsdorffii</i> (Leguminosae)	Santos and Rao (2007)
	<i>Xylopia cayennensis</i> (Annonaceae)	Diderot et al. (2005)
	<i>Parinari sprucei</i> (Chrysobalanaceae)	Braca et al. (2004)
	<i>Mitrephora celebica</i> (Annonaceae)	Zgoda-Pols et al. (2002)
Megastigmane-3,9-diol (11)	<i>Elaeoselinum foetidum</i> (Apiaceae)	Mongelli et al. (2002)
	<i>Viguiera hypargyrea</i> (Asteraceae)	Zamilpa et al. (2002)
	<i>Sedum sarmentosum</i> (Crassulaceae)	Ninomiya et al. (2007)
	<i>Vitis vinifera</i> (Vitaceae)	Skouroumounis et al. (2000)

3 β ,17 β -diol (1) (Benyahia et al., 2005), micromeric acid (2) (Altinier et al., 2007), 23-hydroxy ursolic acid (3) (An et al., 2008), euscaphic acid (4) (Yuan et al., 2019), pomolic acid (5) (Thuong et al., 2005), 3, 13-dihydroxy ursolic acid 28,13-olide (6) (Abdel-Monem et al., 2015), ursolic acid (7) (Acebey-Castellon et al., 2011), betulinic acid (8) (Nam et al., 2022), oleanolic acid (9) (Acebey-Castellon et al., 2011), ent-kaur-16-en-19-oic-acid (10) (Jung et al., 2009), (3S, 5R, 6S, 9R)-megastigmane-3,9-diol (11) (Skouroumounis et al., 2000), quercetine-3-glucoside or isoquercetin (12) (Kim et al., 2004),



QT01E_BM11_PDGHĐ
Phụ lục M11

Mã số hồ sơ	106.03-2019.10
(Do cơ quan điều hành Quỹ ghi)	

PHIẾU ĐÁNH GIÁ TỔNG HỢP
KẾT QUẢ THỰC HIỆN ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU CƠ BẢN TRONG KHTN
(Dành cho Hội đồng khoa học)

Hội đồng khoa học ngành: **Sinh học - Nông nghiệp**

Quyết định số 77/QĐ-HĐQL-NAFOSTED ngày 29 tháng 12 năm 2022 của Chủ tịch Hội đồng quản lý Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia về việc thành lập các Hội đồng khoa học trong lĩnh vực khoa học tự nhiên và kỹ thuật nhiệm kỳ 2022-2024

Ngày họp: **2023-11-17**

Địa điểm họp: **Hà Nội**

A. THÔNG TIN CHUNG

- Tên đề tài: **Nghiên cứu tính đa dạng và mối quan hệ phát sinh chủng loại của các họ thuộc bộ Cải (Brassicales) ở Việt Nam**
- Mã số: **106.03-2019.10** Ngành: **Sinh học - Nông nghiệp**
- Chủ nhiệm đề tài: **PGS.TS Sỹ Danh Thường**
- Tổ chức chủ trì thực hiện đề tài: **Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên**

B. ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ (so với thuyết minh đề cương)

1. Kết quả nghiên cứu:

- Đánh giá kết quả nghiên cứu so với mục tiêu đề ra, tính xác thực của kết quả nghiên cứu; Tính mới, ý nghĩa khoa học, ý nghĩa thực tiễn của kết quả nghiên cứu.

☒ Đạt

☐ Không đạt

Nhận xét:

Đã hoàn thành các công việc đề ra theo thuyết minh. Kết quả bám sát mục tiêu và nội dung đăng ký, có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn.

2. Sản phẩm khoa học - bài đăng tạp chí quốc tế trong danh mục ISI

Số TT	Công trình công bố ISI Tên bài báo, tạp chí	Hợp lệ	Không hợp lệ
1	Danh Thuong Sy, Do Van Hai, Ritesh Kumar Choudhary, The Bach Tran, Hoang Mau Chu, Huu Quan Nguyen, Thi Thu Nga Nguyen, Gordon C. Tucker, Joongku Lee (2020), Capparis kbangensis (Capparaceae), a new species f-rom central Vietnam, PhytoKeys, 151: 83-91	☒	☐
2	Satish Maurya, Xavier Cornejo, Changyoung Lee, Soo-Yong Kim, Do Van Hai, Ritesh Kumar Choudhary (2023), Molecular phylogenetic tools reveal the phytogeographic history of the genus Capparis L. and suggest its reclassification, Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 58: 1-16	☒	☐

Kết quả công bố (hoặc được chấp nhận đăng) ISI so với đăng ký, Đánh giá sự phù hợp giữa nội dung của bài báo công bố với hướng nghiên cứu đề tài; vai trò của thành viên đề tài nghiên cứu trong bài báo; Ghi nhận tài trợ của Quỹ

☒ Đạt☐ Không đạt**Nhận xét:**

Đề tài công bố được 02 bài báo trên tạp chí quốc tế. Bài số 1 -2 là TCQTUT, chủ nhiệm đề tài đứng tên đầu. Đạt yêu cầu,

3. Sản phẩm khoa học khác

Đánh giá về kết quả đạt được so với đăng ký về số lượng và chất lượng đối với các sản phẩm khoa học khác (Bài báo quốc tế không thuộc danh mục ISI; Bài báo đăng tạp chí trong nước; Báo cáo/ bài đăng kỷ yếu hội nghị quốc tế, quốc gia; Sách chuyên khảo; Bằng sáng chế, giải thưởng khoa học)

Số TT	Công trình công bố Tên bài báo, tạp chí	Hợp lệ	Không hợp lệ
1	Công trình công bố quốc tế trên tạp chí không thuộc ISI		
1	Nga Thi Thu Nguyen, Lan Thi Ngoc Nguyen, Thuong Danh Sy, Quan Huu Nguyen, Trung Quang Tu, Khang Van Pham, Tan Quang Tu & Mau Hoang Chu (2022), Chemical composition and cytotoxic effects of essential oils f-rom Capparis trinervia Hook. F. & Thomson on cancer cell lines, Biotechnology & Biotechnological Equipment, Vol. 35 (1): 1926-1933	☒	☐
2	Nga Thi Thu Nguyen, Ritesh Kumar Chaudhary, Tan Quang Tu, Mau Hoang Chu, Quan Huu Nguyen, Hai Van Do, Bach The Tran, Joongku Lee, Changyoung Lee & Thuong Danh Sy (2023), Pollen and Seed Morphology of Cleome Species (Cleomaceae) in Vietnam, Sains Malaysiana, 52(7): 1977-1984	☒	☐
2	Công trình công bố trên tạp chí khoa học chuyên ngành trong nước		
1	Nguyễn Thị Thu Ngà, Nguyễn Thị Mai Linh, Phan Thị Phương Anh, Sỹ Danh Thường (2019), Sử dụng mã vạch DNA trong việc định loại mẫu cây Dây tằm cám (Stixis ovata (Korth.) Hall. f. subsp. fasciculata (King) Jacobs), Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (Chuyên đề Giống Cây trồng, vật nuôi), tháng 12, trang 9-14.	☒	☐
2	Nguyễn Thị Thu Ngà, Trần Cẩm Tú, Sỹ Danh Thường (2021), Đặc điểm trình tự đoạn gen ndhF của loài Cáp dắc nông (Capparis daknongensis D.T.Sy, G.C. Tucker, Cornejo & Joongku Lee), Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 417: 82-90.	☒	☐
3	Báo cáo khoa học đăng kỷ yếu hội nghị quốc tế		
1	Sy Danh Thuong, Nguyen Huu Quan (2019), C-haracteristics of hairs and stomata of Stixis Lour. in Vietnam, The 6th Academic conference on natural science for young scientist, master & PhD. student f-rom Asian coutries, 218-222.	☒	☐
4	Báo cáo khoa học đăng kỷ yếu hội nghị quốc gia		
1	Nguyễn Thị Thu Ngà, Sỹ Danh Thường (2020), Định danh loài Cáp gai nhỏ capparis sp. ở Khu Bảo tồn thiên nhiên Tà Kóu, huyện Hàm Thuận Nam, tỉnh Bình Thuận bằng mã vạch DNA, Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc, Huế, 143-148.	☒	☐
5	Sách chuyên khảo		
6	Bằng sáng chế		

Số TT	Công trình công bố <i>Tên bài báo, tạp chí</i>	Hợp lệ	Không hợp lệ
7	Kết quả công bố khác (nếu có)		

Nhận xét:

Đạt yêu cầu

4. Kết quả đào tạo

Đánh giá mức độ đóng góp của đề tài trong đào tạo Nghiên cứu sinh, Thạc sỹ

(Hợp lệ: Có đủ minh chứng và được nhận xét phù hợp với nội dung thuyết minh đề tài) (Không hợp lệ: Không có minh chứng đào tạo kèm theo hoặc nội dung đào tạo không liên quan đến thuyết minh đề tài) trong trường hợp nội dung phù hợp nhưng không có minh chứng cần ghi chú rõ trong nhận xét.

Số TT	Tên nghiên cứu sinh, thạc sỹ <i>Tên bài báo, tạp chí</i>	Hợp lệ	Không hợp lệ
Nghiên cứu sinh			
Học viên cao học			
1	Dịch Thị Phương Anh Nghiên cứu một số đặc điểm hình thái, sinh thái, thành phần hóa học tinh dầu và hoạt tính sinh học của loài Cáp ba gân (<i>Capparis trinervia</i> Hook.ex Thoms) thu thập tại huyện Mê Linh, tỉnh Vĩnh Phúc	☒	☐
2	Siamphai PAVELARDORSY Nghiên cứu đa dạng cây thuốc trong một số trạng thái thảm thực vật ở Xã Phúc Xuân, thành phố Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên	☒	☐

Đạt yêu cầu

5. Tổ chức thực hiện và sử dụng kinh phí

Đánh giá về tổ chức, tiến độ thực hiện đề tài, hợp lý trong sử dụng kinh phí

Phù hợp

6. Kết luận của Hội đồng

6.1. Đánh giá tổng hợp kết quả thực hiện đề tài

☒ Đạt ☐ Không đạt

6.2. Nhận xét bổ sung về kết luận nêu trên, đề xuất khen thưởng (nếu có)

(Giải thích chi tiết nếu đánh giá Mục 2 khác với đánh giá kết quả nghiên cứu ở mục 6.1)

6.3. Đối với đề tài xếp loại không đạt (nêu rõ nguyên nhân và hướng xử lý)

- Kinh phí sử dụng hợp lý để nghị quyết toán: VNĐ

- Kinh phí để nghị thu hồi: VNĐ

Thư ký khoa học của Hội đồng
(Ký, ghi rõ họ tên)



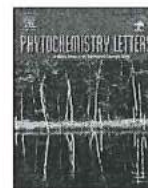
PGS.TS Trần Đăng Khánh

Chủ tịch Hội đồng
(Ký, ghi rõ họ tên)



GS.TS Nguyễn Huy Hoàng

PGS.TS. NGUYỄN HỮU QUÂN



Chemical constituents and biological activities of the leaves of *Adinandra megaphylla*

Nguyen Huu Quan^a, Pho Thi Thuy Hang^{a,b}, Nguyen Thi Thu Nga^a, Ho Viet Duc^c, Vu Thi Hue^d, Sy Danh Thuong^a, Le Nguyen Thanh^{d,*}, Chu Hoang Mau^{a,*}

^a *Thainguyen University of Education, Thai Nguyen University, Thai Nguyen 250000, Viet Nam*

^b *Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy, 250000, Viet Nam*

^c *Faculty of Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University, Viet Nam*

^d *Graduate University of Science and Technology (GUST) and Institute of Marine Biochemistry, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), Hanoi, Viet Nam*

ARTICLE INFO

Keywords:

Adinandra megaphylla
Debutylidorycnic acid
Flavonoid glycoside
 α -glucosidase
Cytotoxicity

ABSTRACT

A new cyclobutane derivative 3-(2-butoxy-3-caffeoyl-1-hydroxycyclobutyl)-3-hydroxypropanoic acid named as debutylidorycnic acid (1), and a new flavonoid glycoside named as adinanquercetiside (2), together with thirteen known compounds (3–15) were isolated from leaves of *Adinandra megaphylla* Hu. Their chemical structures were elucidated on the basis of spectroscopic evidence. In the α -glucosidase activity evaluation, compounds 4, 5 and 7 significantly inhibited enzyme activity with IC_{50} values ranging from $13.67 \pm 0.42 \mu\text{g/mL}$ to $27.52 \pm 0.51 \mu\text{g/mL}$.

1. Introduction

Adinandra is a genus of approximately 100 species of shrubs or wooden plants in the Pentaphylacaceae family, distributed in South East Asian countries, China, Japan, India and African forests (Son and Dung, 2014). In China, *A. nitida* leaves (Shiyacha) has been consumed as a health tea beverage, and it has been reported to have many pharmacological activities, such as antioxidant, anti-inflammatory, antitumor, reduction of blood pressure and antidiabetic effects (Chen et al., 2015, 2022; Liu et al., 2010; Gao et al., 2010). Triterpene saponins and flavonoids have been recognized as their bioactive composition in stems and leaves of *A. nitida* (Gao et al., 2010; Wang et al., 2008; Yuan et al., 2019). Chinese scientists also have reported antioxidant and anti-proliferation activities of several other *Adinandra* plants including *A. milletti*, *A. latifolia*, and *A. jubata* (Chen et al., 2015). In Vietnam, *Adinandra* plants like *A. hainanensis*, *A. integerrima*, and *A. milletti* have been used in traditional medicine for the treatment of cancer, snake bites and stomach aches (Chi, 2012). Recently, our previous studies on the *A. hainanensis* and *A. poilanei* resulted in the isolation of triterpenes, nor-diterpene, megastigmanes and sterols. Plant extracts and isolated compounds showed cytotoxic and α -glucosidase enzyme inhibitory effects (Oanh et al., 2021; Oanh et al., 2022).

Adinandra megaphylla Hu is a native species found in northern

mountains of Vietnam. We have reported the chloroplast genome investigation of this species recently (Nguyen et al., 2021). As part of our continuing studies on the phytochemistry of unexploited Vietnamese plants in the search for new secondary metabolites, we describe herein the isolation and structure elucidation of a new cyclobutane derivative named as debutylidorycnic acid (1) and a new flavonoid glycoside named as adinanquercetiside (2) from the leaves of *A. megaphylla* collected in Lao Cai province, Vietnam along with thirteen known compounds (3–15). Their structures were elucidated on the basis of spectral data and by comparison with the literatures. Several isolated constituents were evaluated for cytotoxicity and α -glucosidase enzyme inhibitory activity.

2. Results and discussion

Compound 1 was isolated as a pale yellow powder. The negative HR-ESI-MS showed negative pseudo-molecular ion peak $[M-H]^-$ at m/z 353.0880, revealing a molecular formula $C_{16}H_{18}O_9$. The IR spectrum exhibited hydroxyl and carbonyl absorptions at 3324 and 1684 cm^{-1} , respectively. The ^1H and ^{13}C NMR spectrum showed the presence of a caffeate moiety at δ_{H} 7.04 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 6.77 (1 H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.99 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, 8.4 Hz, H-6), 7.43 (1 H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7), 6.15 (1 H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8)/ δ_{C} 125.5 (C-1), 114.7 (C-2), 148.3

* Corresponding authors.

E-mail addresses: lethanhh@imbc.vast.vn (L.N. Thanh), chuhoangmau@tnu.edu.vn (C.H. Mau).

<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2023.06.002>

Received 6 March 2023; Received in revised form 3 June 2023; Accepted 5 June 2023

Available online 9 June 2023

1874-3900/© 2023 Phytochemical Society of Europe. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

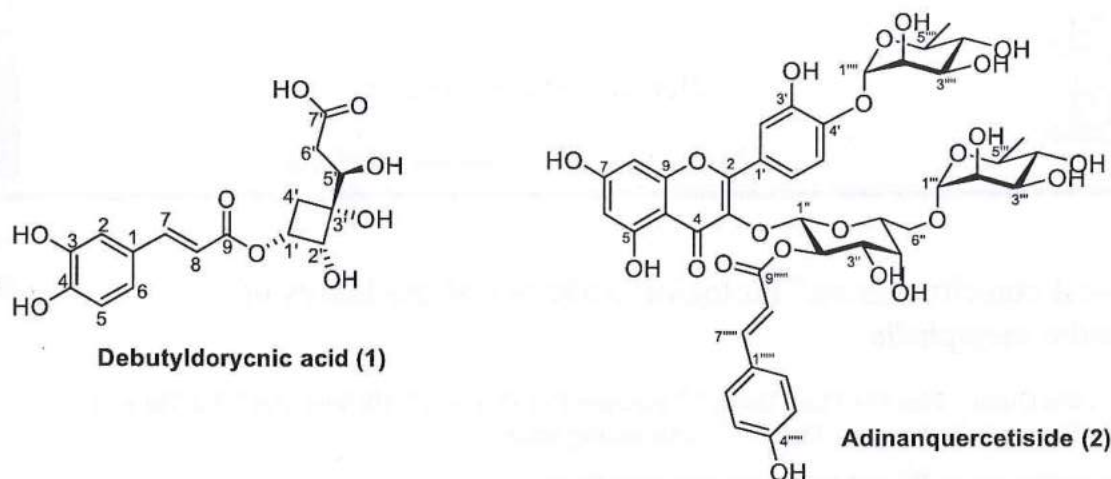


Fig. 1. The chemical structure of compounds 1–2.

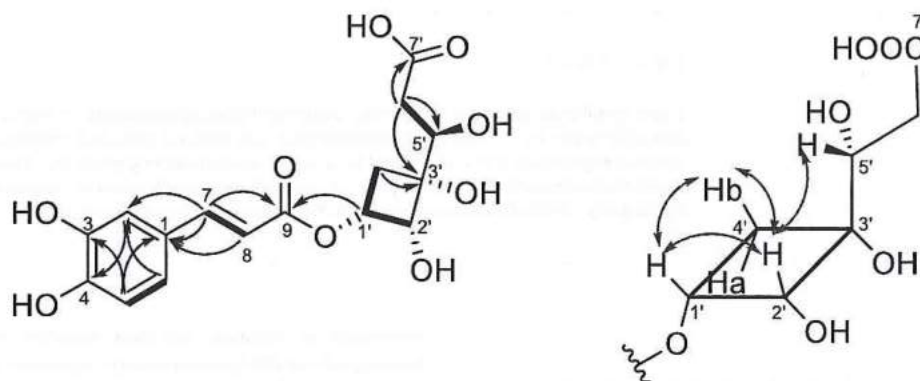


Fig. 2. Key HMBC and NOESY correlations of compound 1.

(C-3), 145.5 (C-4), 115.7 (C-5), 121.3 (C-6), 144.9 (C-7), 114.3 (C-8), 165.7 (C-9). In the HMBC spectrum, an oxymethine proton at δ_{H} 5.08 (1 H, m, H-1')/ δ_{C} 70.8 showed cross-peak to carbonyl group C-9 of caffeate moiety. In the ^1H - ^1H COSY spectrum, this proton H-1' showed correlations with oxymethine proton H-2' (δ_{H} 3.57) and methylene protons H-4' (δ_{H} 2.01 (1 H, m, H-4'a) and 1.96 (1 H, dd, $J = 4.2$ Hz, 13.2 Hz, H-4'b)). The HMBC cross-peaks of H-1' and H-4' to C-3' (δ_{C} 73.4); of H-4' to C-1' (δ_{C} 70.8) and C-2' (δ_{C} 70.4) indicated the presence of a cyclobutyl moiety linked to the caffeate system (Fig. 2). In addition, signals of a 3-hydroxypropanoic acid fragment at δ_{H} 3.94 (br, H-5'), 2.03 (m, 1 H, H-6'a), 1.79 (1 H, dd, $J = 6.6$ Hz, 13.2 Hz, H-6'b)/ δ_{C} 68.1 (C-5'), 37.2 (C-6'), 174.9 (C-7') were observed in the NMR spectra. The ^1H - ^1H COSY spectrum revealed H-5' and H-6' were vicinal. The HMBC spectrum showed the correlations of H-6' to C-5' and C-7'. On the other hand, HMBC cross-peaks of H-6' and C-3' suggested the 3-hydroxypropanoic acid linked to C-3' of cyclobutane ring (Fig. 2). The presented data of compound 1 were similar to those of dorycnic acid and colvoldorine, which both were isolated from *Convolvulus dorycnium* (Hassine et al., 2016; Nacef et al., 2010). The stereochemistry of 1 was assigned by a NOESY spectrum and comparison of optical rotation and NMR data of 1 to dorycnic acid, of which the stereochemistry had been determined by a combination of Mosher's method and the NOESY experiment (Nacef et al., 2010). Similar to those of dorycnic acid, the NOE interactions of H-1'/H-2', H-1'/H-4'b, H-2'/H-4'b and H-2'/H-5' indicating that H-1', H-2', H-5' were on the same side of cyclobutane ring (Fig. 2). In addition, the measured optical rotation of compound 1, comparable to that of dorycnic acid $[\alpha]_{25}^{\text{D}} -15$ (c 0.13; MeOH) and colvoldorine $[\alpha]_{25}^{\text{D}} -20.1$ (c

0.10; MeOH). Based on these evidences, the configurations at C-1', C-2', C-3' and C-5' were assigned as *R*, the same as those of dorycnic acid. Compound 1 was thus characterized as 3-(2*R*-hydroxy-3*R*-caffeoyl-1*R*-hydroxycyclobutyl)-3*R*-hydroxypropanoic acid, and named debutyldorycnic acid (Fig. 1).

Compound 2 was obtained from MeOH fraction as a yellow syrup and gave HR-ESI-MS at m/z 903.2595 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ consistent with a molecular formula of $\text{C}_{42}\text{H}_{46}\text{O}_{22}$. The IR spectrum showed hydroxyl absorptions at 3360 cm^{-1} . The ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra of 2 showed characteristic signals of a quercetin moiety with two *meta*-aromatic protons at δ_{H} 6.19 (1 H, $J = 2.4$ Hz, H-6) and 6.36 (1 H, $J = 2.4$ Hz, H-8), three aromatic protons of an ABX system at δ_{H} 7.74 (1 H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 7.26 (1 H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 7.62 (1 H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-6'). In addition, signals of a *p*-coumaroyl fragment at δ_{H} 7.70 (1 H, d, $J = 16.2$ Hz, H-7'), 6.39 (1 H, d, $J = 16.2$ Hz, H-8'), 7.46 (2 H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', H-6'), 6.83 (2 H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', H-5')/ δ_{C} 127.3 (C-1'), 131.2 (C-2', C-6'), 116.8 (C-3', C-5'), 161.2 (C-4'), 146.9 (C-7'), 115.3 (C-8'), and 168.9 (C-9') were observed. The sugar region showed three anomeric protons at δ_{H} 5.55 (d, $J = 1.8$ Hz, H-1')/ δ_{C} 100.8, 5.54 (d, $J = 7.8$ Hz, H-1')/ δ_{C} 101.7 and 4.59 (d, $J = 1.8$ Hz, H-1')/ δ_{C} 102.0 as well as two secondary methyl groups at δ_{H} 1.23 (3 H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6') and 1.29 (3 H, d, $J = 6.6$ Hz, H-6'). The sugars were determined as D-galactose and L-rhamnose by hydrolysis, derivatization and GC analysis (Figs. S16–S19). The sugar residues were further assigned as a β -D-galactopyranose and two α -L-rhamnopyranose units based on COSY, HMBC and coupling constant analyses follow up our previous work (Ho et al., 2020). In the HMBC spectrum, the correlations of Rha H-1' (δ_{H} 5.55) to

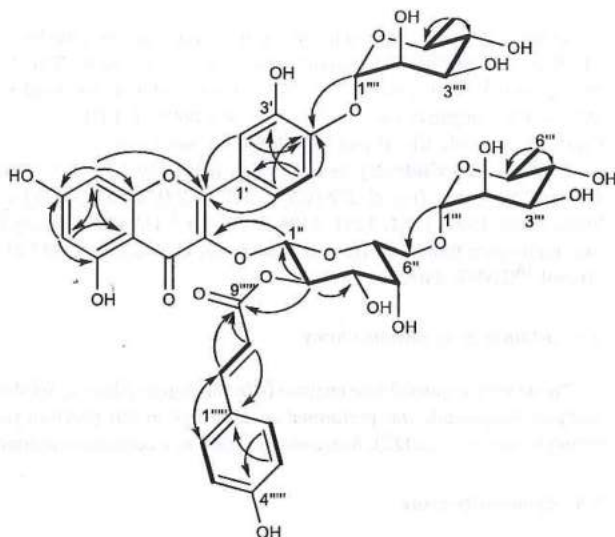


Fig. 3. Key ^1H - ^1H COSY and HMBC correlations of compound 2.

C-4' (δ_{C} : 148.2), Gal H-1' (δ_{H} 5.54) to C-3 (δ_{C} : 88.6), Rha H-1' (δ_{H} 4.59) to C-6' (δ_{C} 67.3), and Gal H-2' (δ_{H} 5.39) to C-9' (δ_{C} 168.9), respectively, indicated α -L-rhamnopyranose was connected with C-4', and [*E*-*p*-coumaroyl-(1 $\rightarrow$ 2), α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-galactopyranoside moiety was connected with C-3 of flavonoid skeleton (Fig. 3). Therefore, compound 2 was thus identified as quercetin-3-O-[*E*-*p*-coumaroyl-(1 $\rightarrow$ 2)][α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- β -D-galactopyranoside-4'-O- α -L-rhamnopyranoside, named adinanquercetiside.

Known compounds including coniferyl aldehyde (3) (Moujir et al., 2008), ursolic acid (Oanh et al., 2021) (4), 4,5-dihydroblumenol (5) (De Marino et al., 2004), methyl gallate (6), 24-hydroxytormentic acid (7) (Houghton and Lian, 1986), gallic acid (8), convoldorin (9) (Hassine et al., 2016) scopolin (10) (Tsukamoto et al., 1985), isoquercitrin (11), horridin (12) (Flamini et al., 2000), phyllygenin (13) (Kwak et al., 2009), syringaresinol β -D-glucoside (14) (Shahat et al., 2004), and cammellikaempferoside B (15) (Yang et al., 2016) were elucidated by comparing their NMR data to the previous literatures (Fig. S1). Except compound 4 and 5, all the remained compounds were found for the first time from *Adinandra* genus.

Several isolated compounds showed good α -glucosidase inhibitory activity in the assay (Table S1). Compounds 4, 5 and 7 showed significant inhibition with IC_{50} values ranging from 13.67 ± 0.42 $\mu\text{g/mL}$ to 27.52 ± 0.51 $\mu\text{g/mL}$. Compounds 15 displayed moderate activity with IC_{50} values of 78.21 ± 2.12 $\mu\text{g/mL}$.

The isolated compounds were also evaluated for their cytotoxicity against four cancer cell lines including SK-LU-1, MKN-7, HepG2, and HEK-293A using sulforhodamine B (SRB) assay. Only compound 7 showed weak cytotoxicity against all tested cancer cell lines with IC_{50} values ranging from 179.37 ± 2.86 $\mu\text{g/mL}$ to 191.87 ± 2.94 while other compounds were inactive at concentration of 200 $\mu\text{g/mL}$. Unfortunately, two new compounds 1 and 2 were not active in our assays. These compounds, that have structural similarity with dorycnic acid (Nacef et al., 2010) and cammellikaempferoside B (Yang et al., 2016), respectively, might be promising agents for the treatment of antioxidant stress and Alzheimer disease.

3. Materials and methods

3.1. Plant materials

The leaves of *Adinandra megaphylla* Hu (Pentaphylacaceae family) were collected in Van Ban district, Lao Cai province, Vietnam in 2019

and identified by Prof. Danh Thuong Sy, Botany Department, Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education. A voucher specimen (NHQ-01) was deposited at the Herbarium of Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education.

3.2. General experimental procedures

Optical rotations were determined on a JASCO P-2000 polarimeter. IR spectra were obtained on a Bruker TENSOR 37 FT-IR spectrometer. The 1D and 2D NMR spectra were recorded on a Bruker AVANCE NEO 600 MHz spectrometer with tetramethylsilane (TMS) used as an internal standard. High-resolution mass spectra (HR-ESI-MS) were obtained on an Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS system. GCMS experiments were performed with a GCMS-QP2010 Plus system (Shimadzu, Kyoto, Japan). Column chromatography (CC) was conducted using 230–400 mesh silica gel, Sephadex LH-20, and RP-18 (YMC*GEL, ODS-A, 30–50 μm). Analytical thin-layer chromatography (TLC) was performed on precoated silica gel 60 F₂₅₄ (Merck) and RP-18 F_{254s} plates (Merck), and the spots were visualized by spraying with 10 % H_2SO_4 in water, followed by heating.

3.3. Extractions and isolation

The dried, powdered leaves of *A. megaphylla* (3.5 kg) were macerated with MeOH (4 $\times$ 20 L for 24 h) at room temperature. The MeOH extracts were combined and evaporated *in vacuo*. The residue was suspended in distilled water and partitioned with EtOAc to give EtOAc residue (156 g) and water layer. The water fraction was subjected to Diaion HP-20 CC, eluting with solvent of MeOH/water (0/100; 50/50 and 100/0) to yield MeOH fraction (93 g).

The EtOAc residue was subjected to silica gel chromatography column (CC) and eluted with solvent gradient of *n*-hexane/EtOAc (100/1–0/100) to afford ten fractions (F1–F10). Fraction F3 (5.0 g) was separated by silica gel CC eluted with *n*-hexane/EtOAc (9:1) to give four sub-fractions F3.1–F3.4. Sub-fraction F3.2 was purified by reversed-phase silica gel CC eluted with MeOH/ H_2O (1:1) to yield compound 3 (3.7 mg). Fraction F5 (7.3 g) was fractionated by silica gel CC eluted with CH_2Cl_2 /acetone (9:1) to give four sub-fractions F5.1–F5.4. Compound 4 (45 mg) was obtained from sub-fraction F5.2 by crystallization in acetone. Sub-fraction F5.3 was purified by reversed-phase silica gel CC eluted with MeOH/ H_2O (1:1) to yield compound 5 (8.2 mg) and two smaller fractions F5.3.1 – 2. Sub-fraction F5.3.1 was chromatographed on silica gel CC eluted with CH_2Cl_2 /acetone (9:1) to afford compound 6 (4.1 mg). Fraction F6 (5.2 g) was purified by silica gel CC and eluted with *n*-hexane/acetone (9:1) to give 7 sub-fractions F6.1–F6.7. Sub-fraction F6.7 (2.1 g) was fractionated by Sephadex® LH-20 CC, eluted with MeOH/ CH_2Cl_2 (9:1) to give 2 smaller fractions F6.7.1–F6.7.2. Fraction F6.7.2 (418 mg) was purified by silica gel CC eluted with CH_2Cl_2 /acetone (9:1) to give compound 7 (3.1 mg) and 8 (4.2 mg). Fraction F9 (4.1 g) was fractionated by Sephadex® LH-20 CC, eluted with MeOH to give 4 sub-fractions F9.1–F9.4. Sub-fraction F9.1 was purified by reversed-phase silica gel CC eluted with MeOH/ H_2O (1:3) to yield compound 9 (16.5 mg). Sub-fraction F9.2 (400 mg) was separated by CC on silica gel, eluted with MeOH/ CH_2Cl_2 (9:1), followed by (19:1) a reversed-phase silica gel CC eluted with MeOH/ H_2O (1:4) to yield compound 10 (5.1 mg). Sub-fraction F9.3 (117 mg) was purified by reversed-phase silica gel CC eluted with MeOH/ H_2O (1:3) to yield compound 1 (8.6 mg).

The MeOH fraction (93 g) was subjected to silica gel CC and eluted with solvent gradient of EtOAc/MeOH to afford 9 fractions (W1–W9). Fraction W2 (4.2 g) was fractionated by Sephadex® LH-20 CC, eluted with MeOH to give 4 sub-fractions W2.1–W2.5. Sub-fraction W2.3 (261 mg) was purified by reversed-phase silica gel CC eluted with MeOH/ H_2O (1:1) to yield compound 11 (3.6 mg) and 12 (4.2 mg). Fraction W4 (4.0 g) was fractionated by Sephadex® LH-20 CC, eluted with MeOH to give 3 sub-fractions W5.1–W5.3. Sub-fraction W4.1 was

Table 1

¹H (600 MHz) and ¹³C NMR (150 MHz) data of compounds 1 in DMSO-*d*₆.

C	δ _H	δ _C
1	-	125.5
2	7.04 (1 H, d, <i>J</i> = 2.4 Hz)	114.7
3	-	148.3
4	-	145.5
5	6.77 (1 H, d, <i>J</i> = 8.4 Hz)	115.7
6	6.99 (1 H, d, <i>J</i> = 2.4 Hz, 8.4 Hz)	121.3
7	7.43 (1 H, d, <i>J</i> = 15.6 Hz)	144.9
8	6.15 (1 H, d, <i>J</i> = 15.6 Hz)	114.3
9	-	165.7
1'	5.08 (1 H, m)	70.8
2'	3.57 (1 H, m)	70.4
3'	-	73.4
4'	2.01 (m, 1 H)	36.3
	1.96 (1 H, dd, <i>J</i> = 4.2 Hz, 13.2 Hz)	
5'	3.94 (br)	68.1
6'	2.03 (m, 1 H)	37.2
	1.79 (1 H, dd, <i>J</i> = 6.6 Hz, 13.2 Hz)	
7'	-	174.9
3-OH	4.89 (br d, <i>J</i> = 1.2 Hz)	
4-OH	4.89 (br d, <i>J</i> = 1.2 Hz)	
2'-OH	4.89 (br d, <i>J</i> = 1.2 Hz)	
5'-OH	4.89 (br s)	

Table 2

¹H (600 MHz) and ¹³C (150 MHz) NMR data of 2 in CD₃OD [δ (ppm), *J* (Hz)].

C	δ _H	δ _C	C	δ _H	δ _C
			6''-O-rha		
2	-	157.7	1''	4.59 d (1.8)	102.0
3	-	135.7	2''	3.65 dd (3.6, 1.8)	72.1
4	-	179.2	3''	3.57°	72.3
5	-	163.1	4''	3.31°	74.2
6	6.19 d (2.4)	100.0	5''	3.58 m	69.8
7	-	166.1	6''	1.23 d (6.0)	18.0
8	6.36 d (2.4)	94.8	4'-O-rha		
9	-	158.4	1'	5.55 d (1.8)	100.8
10	-	105.8	2'	4.16 dd (3.6, 1.8)	71.9
1'	-	126.1	3'	4.01 dd (9.0, 3.6)	72.1
2'	7.74 d (2.4)	118.1	4'	3.52 t (9.0)	73.9
3'	-	148.1	5'	3.78°	71.0
4'	-	148.2	6'	1.29 d (6.6)	18.1
5'	7.26 d (8.4)	117.5	2''-O-coumaroyl		
6'	7.62 dd (8.4, 2.4)	122.6	1'	-	127.3
3-O-gal			2'	7.46 d (8.4)	131.2
1''	5.54 d (7.8)	101.7	3'	6.83 d (8.4)	116.8
2''	5.39 dd (7.8, 10.2)	73.9	4'	-	161.2
3''	3.81°	73.3	5'	6.83 d (8.4)	116.8
4''	3.90 brd (3.6)	70.5	6'	7.46 d (8.4)	131.2
5''	3.78°	75.6	7'	7.70 d (16.2)	146.9
6''	3.81°, 3.56 dd (3.6, 9.6)	67.3	8'	6.39 d (16.2)	115.3
			9'	-	168.9

Assignments were done by HSQC, HMBC, COSY, and NOESY experiments.

gal: β-D-galactopyranosyl, rha: α-L-rhamnopyranosyl.

° Overlapping signals.

purified by reversed-phase silica gel CC eluted with MeOH/H₂O (1:1) to yield compound 13 (7.1 mg). Sub-fraction W4.2 was purified by silica gel CC eluted with MeOH/CH₂Cl₂ (9:1) to yield compound 14 (5.3 mg). Fraction W8 (1.64 g) was fractionated by Sephadex® LH-20 CC, eluted with MeOH to give 5 sub-fractions W8.1–W8.5. Sub-fraction W8.4 (90.3 mg) was purified by reversed-phase silica gel CC eluted with MeOH/H₂O (1:3) to yield compound 15 (3.8 mg) and compound 2 (5.1 mg).

Debutylidorycnic acid (1): Pale yellow amorphous powder. [α]₂₅^D −17.8 (c 0.10; MeOH) UV (MeOH) λ max (log ε) 246 (0.68), 330 (1.13). IR ν_{max} (KBr) 3324, 2953, 1684, 1637, 1599, 1516, 1285, 1181 cm^{−1}; HR-ESI-MS (negative-ion mode) *m/z* 353.0880 [M-H][−] (calcd. for C₁₆H₁₇O₉, 353.0878); ¹H and ¹³C NMR data, see Table 1.

Adinanquercetiside (2): Yellow syrup. [α]₂₅^D −20.1 (c 0.11; MeOH). UV (MeOH) λ max (log ε) 272 (0.94), 317 (1.27). IR ν_{max} (KBr) 3360, 2922, 1582, 1507, 1361, 1241, 1186, 1056 cm^{−1}; HR-ESI-MS (negative-ion mode) *m/z* 937.2195 [M+Cl][−] (calcd. for C₄₂H₄₆ClO₂₂, 937.2175); ¹H and ¹³C NMR data, see Table 2.

3.4. α-Glucosidase inhibition assay

The *in vitro* α-glucosidase enzyme (G0660, Sigma-Aldrich) inhibition assay of compounds was performed as described in our previous publication (Oanh et al., 2022). Acarbose was used as a reference compound.

3.5. Cytotoxicity assay

Cytotoxicity of the isolated compounds toward four human cancer cell lines, including SK-LU-1 (human lung carcinoma), MKN-7 (human gastric carcinoma), HepG2 (human hepatocellular carcinoma) and HEK-293A (human embryonic kidney cells) were evaluated using SRB assay as previously described (Hanh et al., 2019). Ellipticine was used as a positive control.

3.6. Determination of monosaccharide compositions

Monosaccharides of compound 2 was determined by hydrolysis, alditol per-acetate derivatization and GC analysis using our previously reported procedure (Ho et al., 2020). The monosaccharides present in 2 were confirmed to be L-rhamnose and D-galactose by comparing the retention times of the alditol per-acetate derivatives with the corresponding derivatives prepared from standard sugars under the same conditions.

4. Conclusions

Two new compounds debutylidorycnic acid (1) and adinanquercetiside (2), along with thirteen known compounds (3–15), were isolated from the leaves of *A. megaphylla*. Compounds 4, 5 and 7 significantly inhibited α-glucosidase enzyme activity with IC₅₀ values ranging from 13.67 ± 0.42 μg/mL to 27.52 ± 0.51 μg/mL.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

Data availability

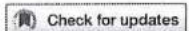
I have shared the data at attach file.

Acknowledgement

This research is funded by Vietnam National Foundation for Science and Technology Development (NAFOSTED) under grant number 106.02-2018.338.

Appendix A. Supporting information

HR-ESI-MS and NMR spectra of compounds 1 and 2. GC chromatograms of monosaccharides of compound 2 and reference sugars. Supplementary data associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.phytol.2023.06.002.



OPEN

Complete chloroplast genome of novel *Adrinandra megaphylla* Hu species: molecular structure, comparative and phylogenetic analysis

Huu Quan Nguyen¹, Thi Ngoc Lan Nguyen^{1✉}, Thi Nhung Doan², Thi Thu Nga Nguyen¹, Mai Huong Pham², Tung Lam Le², Danh Thuong Sy¹, Hoang Ha Chu² & Hoang Mau Chu^{1✉}

Adrinandra megaphylla Hu is a medicinal plant belonging to the *Adrinandra* genus, which is well-known for its potential health benefits due to its bioactive compounds. This study aimed to assemble and annotate the chloroplast genome of *A. megaphylla* as well as compare it with previously published cp genomes within the *Adrinandra* genus. The chloroplast genome was reconstructed using de novo and reference-based assembly of paired-end reads generated by long-read sequencing of total genomic DNA. The size of the chloroplast genome was 156,298 bp, comprised a large single-copy (LSC) region of 85,688 bp, a small single-copy (SSC) region of 18,424 bp, and a pair of inverted repeats (IRa and IRb) of 26,093 bp each; and a total of 51 SSRs and 48 repeat structures were detected. The chloroplast genome includes a total of 131 functional genes, containing 86 protein-coding genes, 37 transfer RNA genes, and 8 ribosomal RNA genes. The *A. megaphylla* chloroplast genome indicated that gene content and structure are highly conserved. The phylogenetic reconstruction using complete cp sequences, *matK* and *trnL* genes from Pentaphragmataceae species exhibited a genetic relationship. Among them, *matK* sequence is a better candidate for phylogenetic resolution. This study is the first report for the chloroplast genome of the *A. megaphylla*.

The chloroplast (cp) acts as a vital and essential organelle playing an indispensable role in several crucial biochemical processes and photosynthesis of plants¹. The cp genome is uniparental inheritance and generally has a quadripartite structure including one large single-copy (LSC) region, one small single-copy (SSC) region, and two inverted repeat regions (IRs) of the same length². In terms of gene structure and composition, the cp genome is more conserved, compared with nuclear and mitochondrial genomes³. These chloroplast DNA features were used by scientists to construct chloroplast DNA phylogenies, demonstrating to be greatly beneficial in the exploration of plant phylogenetic studies and more clarified taxonomic levels^{4,5}. The whole chloroplast genome was reported as circular and its genes were a single evolutionary unit^{6,7}. The chloroplast DNA genome sequencing in complex genome plants has been proven to be comparatively inexpensive and easy^{8,9}.

Adinandra genus has been consumed as a traditional health tea beverage in China, and it has been described to have many curative effects, such as reduction of blood pressure, anti-inflammatory, antibacterial, antitumor, antitoxic, and analgesic effects^{10,11}. Surprisingly, to date, limited reports have been published about *Adinandra* genus. *Adinandra megaphylla* Hu, belonging to the *Adinandra* genus, was first published in Bull. Fan Mem. Inst. Biol., Bot. 6: 172 (1935). The related information is about morphological descriptions¹² and bioactivity assays¹³. A few species were used by molecular phylogenetics, including *A. dumosa*¹⁴, *A. elegans*, *A. formosan*, *A. lasiostyla*, *A. millettii*, *A. yaeyamensis*¹², *A. millettii*, *A. angustifolia*¹⁵. To date, there have not been any studies on the genomes of *A. megaphylla* Hu, especially the chloroplast genome, this leads to the lack of information for estimating the phylogenetic relationships within *Adinandra* genus.

¹Thainguyen University of Education, Thai Nguyen University, Thai Nguyen 250000, Vietnam. ²Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi 100000, Vietnam. ✉email: ntnlan.dhsptn@tnu.edu.vn; chuhoangmau@tnu.edu.vn

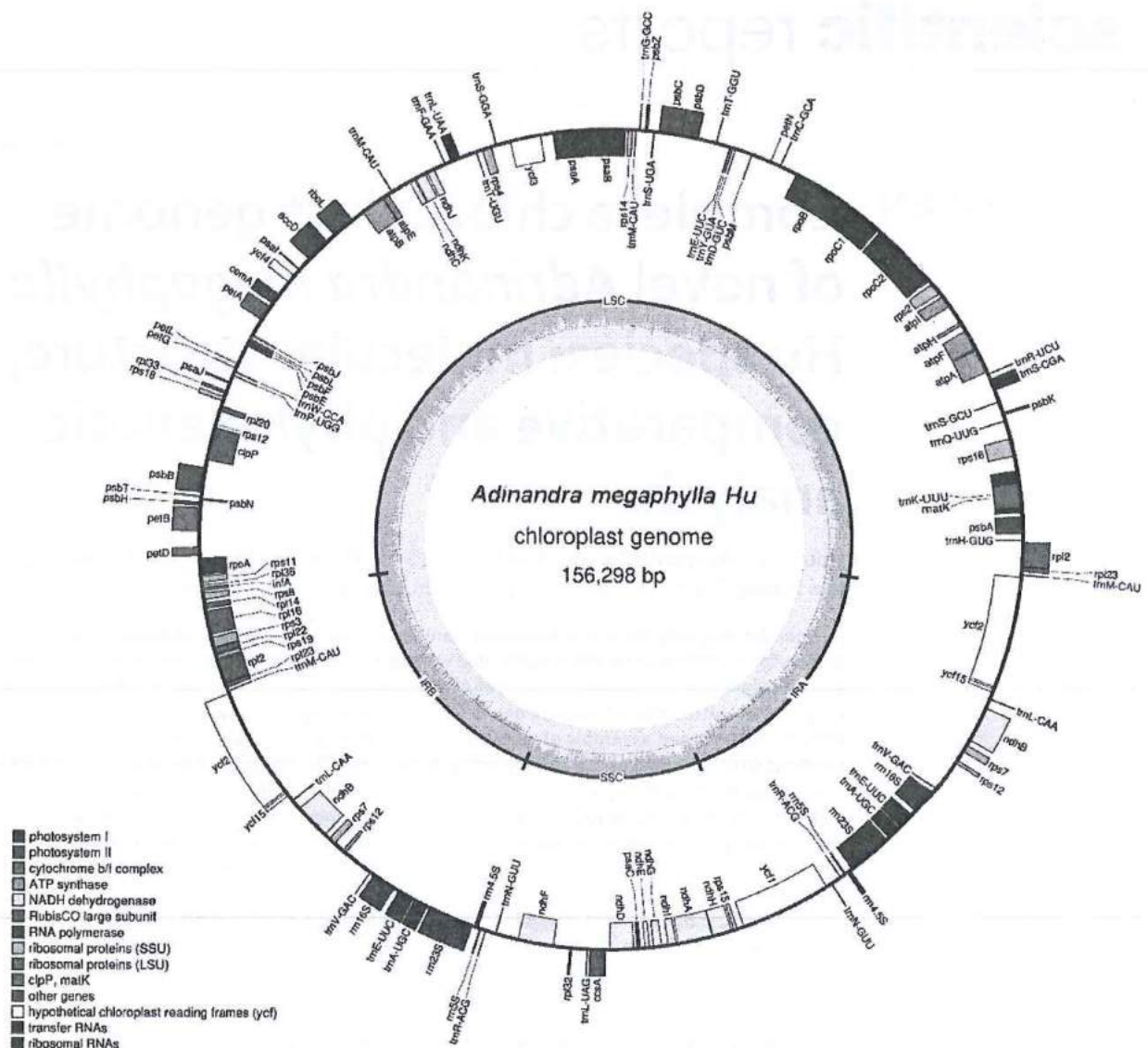


Figure 1. Chloroplast map of *A. megaphylla* Hu in Vietnam. Genes shown inside the circle are transcribed clockwise, whereas genes outside are transcribed counterclockwise. The light gray inner circle shows the AT content, the dark gray corresponds to the GC content.

For the first time, we reported a new complete chloroplast genome of *A. megaphylla* Hu, and combined it with previously published Pentaphragaceae complete chloroplast genomes data to visualize and evaluate the genome organization and phylogenetic relationships.

Results

Chloroplast genome assembly and annotation. Using the PacBio SEQUEL system, 29,815,452 bp of raw sequence data of the whole genome were generated from *A. megaphylla* Hu (Fig. 1). The mean read length is 2938 bp, the N50 contig size is 3594 bp and approximately 5% of the genomic genome belongs to the cp genome with 188× coverage. The cp genome size of 156,298 bp of *A. megaphylla* Hu was derived from the assembly. As shown in most cp genomes, the assembled *A. megaphylla* Hu plastome exhibited the typical quadripartite structure comprising of the four regions, a pair of inverted repeats (IRs 26,093 bp), LSC (85,688 bp), and SSC (18,424 bp). Besides, the cp genome of *A. megaphylla* Hu contains 131 genes, and the percent of the GC content of the cp genome was 37.4% (Table 1).

Chloroplast genome annotation. The cp genome of *A. megaphylla* Hu includes 37 tRNA genes, 8 rRNA genes (16S, 23S, 5S, and 4.5S), and 86 protein-coding genes (Table 1). There were 123 genes assigned into three groups based on their functions. Regarding the photosynthesis-related gene category, there are 43 genes, containing genes encoding the large subunit of RubisCO related to the photosynthetic electron transport chain and

Genome features	<i>A. megaphylla</i> Hu
Genome size (bp)	156,298
LSC size (bp)	85,688
SSC size (bp)	18,424
IR size (bp)	26,093
GC content (%)	37.4
No. of genes	131
No. of PCGs	86
No. of tRNA	37
No. of rRNA	8

Table 1. Summary of the chloroplast genome of *A. megaphylla* Hu species.

Category of genes	Group of genes	Name of genes
Photosynthesis	Subunits of ATP synthase	<i>atpA, atpB, atpE, atpF, atpH, atpI</i>
	Subunits of NADH-dehydrogenase	<i>ndhA^a, ndhB (×2)^a, ndhC, ndhD, ndhE, ndhF, ndhG, ndhH, ndhI, ndhJ, ndhK</i>
	Subunits of cytochrome b/f complex	<i>petL, petB^a, petG, petA, petD, petN</i>
	Subunits of photosystem I	<i>psaI, psaC, psaA, psaL, psaB</i>
	Subunits of photosystem II	<i>psbA, psbB, psbC, psbD, psbE, psbF, psbH, psbI, psbK, psbL, psbM, psbN, psbT, psbZ</i>
	Subunit of rubisco	<i>rbcL</i>
Transcription and translation	Large subunit of ribosome	<i>rpl14, rpl16^a, rpl2 (×2)^a, rpl20, rpl22, rpl23 (×2), rpl32, rpl33, rpl36</i>
	DNA dependent RNA polymerase	<i>rpoB, rpoA, rpoC1^a, rpoC2</i>
	Small subunit of ribosomal proteins	<i>rps11, rps12, rps14, rps15, rps16^a, rps18, rps19 (×2), rps2, rps3, rps4, rps7 (×2), rps8</i>
	rRNA genes	<i>rrn23S (×2), rrn16S (×2), rrn5S (×2), rrn4.5S (×2)</i>
	tRNA genes	<i>trnA-UGC (×2)^a, trnC-ACA^a, trnC-GCA, trnD-GUC, trnE-UUC (×2)^a, trnF-GAA, trnG-GCC, trnH-GUG, trnK-UUU^a, trnL-CAA (×2), trnL-UAA^a, trnL-UAG, trnM-CAU (×2), trnN-GUU (×2), trnP-UGG, trnQ-UUG, trnR-ACG (×2), trnR-UCU, trnS-CGA^a, trnS-GCU, trnS-GGA, trnS-UGA, trnT-GGU, trnT-UGU, trnV-GAC (×2), trnW-CCA, trnY-GUA</i>
	Translational initiation factor	<i>infA</i>
Other genes	Subunit of acetyl-CoA-carboxylase (fatty acid synthesis)	<i>accD</i>
	c-type cytochrome synthesis gene	<i>ccsA</i>
	Envelope membrane protein (carbon metabolism)	<i>cemA</i>
	Protease	<i>clpP^b</i>
	Maturase (RNA processing)	<i>matK</i>
	Conserved open reading frames	<i>ycf1, ycf2 (×2), ycf3^b, ycf4, ycf15 (×2)</i>

Table 2. Gene composition of *A. megaphylla* Hu chloroplast genome. Genes marked with the sign are the gene with a single (a) or double (b) introns and duplicated genes (×2).

putative NADPH dehydrogenase genes. Also, 68 genes were functioning in the transcription and translation processes. The majorities are tRNA genes, and the others are rRNA genes and genes encoding subunits of RNA polymerase and ribosome proteins. The remaining twelve genes with different functions are classified in the category of other genes, including five genes with known functions in fatty acid synthesis (*accD*), c-type cytochrome synthesis (*ccsA*), carbon metabolism (*cemA*), (*clpP*) proteolysis, and RNA processing (*matK*). Otherwise, five genes encoding for the conserved reading frames (*ycf1, ycf2, ycf3, ycf4, ycf15*) with unknown functions were annotated in the plastome. Eighteen genes (all 4 rRNA genes, 7 tRNA genes, 4 ribosomal protein-coding genes, 1 NADH-dehydrogenase protein-coding gene and 2 other genes) were annotated with two copies located in IR regions (Table 2). There are 18 cp genes harbored introns, among which 13 genes (*atpF, rpoC1, rpl2 (×2), ndhB (×2), ndhA, petB, rpl16, trnA-UGC (×2), trnC-ACA, trnE-UUC, trnK-UUU, trnL-UAA* and *trnS-CGA*) contained one intron, while 2 genes (*ycf3, clpP*) contained 2 introns (Table 2).

Repeat sequences and codon analysis. The total number of identified simple sequence repeats (SSRs) in the chloroplast genome of *A. megaphylla* Hu was 40. All repeats were mono repeats composed of A or T (size of 10–19) (Fig. 2A). There were no di-, tri-, tetra-, penta-, and hexa-nucleotide SSRs in the *A. megaphylla* Hu (Fig. 2B).

The cp genome of *A. megaphylla* Hu was identified with 49 repeats consisting of 26 palindromic repeats, 19 forward and 4 reverse repeats. There were no complement repeats (Fig. 3). The smallest unit size of the repeat was 22 bp while the largest unit size was 62 bp. Most of the size of the repeats (72%) was higher than 30 bp.

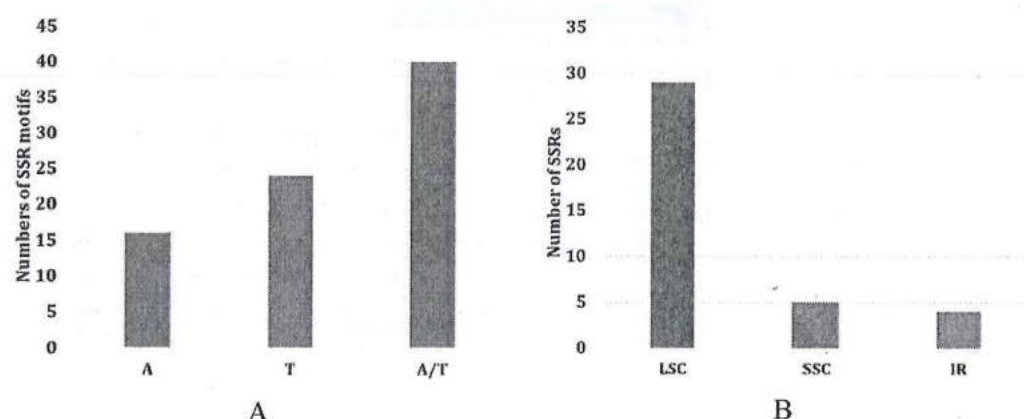


Figure 2. Analysis of single sequence repeats of plastome in *A. megaphylla* Hu. (A) Number of identified SSR sequence motifs; (B) Frequency of repeat types in LSC, SSC, and IR regions.

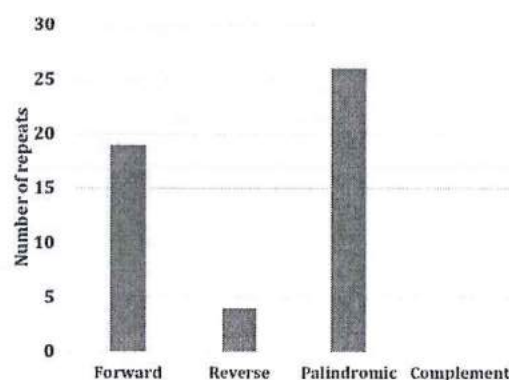


Figure 3. Repeat analysis on a genomic scale in *A. megaphylla* Hu.

The codon usage frequency of 64 protein-coding genes for three *Adinandra* species was evaluated. The total number of codons for protein-coding genes was 52,076 in those coding regions. G- and C-ending are found to be more frequent than their counterparts A and U (Table 3). Among the 20 amino acids, serine was the most abundant (number of codons encoding serine = 4975, 9.55%), leucine ranked second (number of codons encoding leucine = 4883, 9.37%), while the rarest one is tryptophan (677 codons, approximately 1.3%). Thirty codons were observed to be used more frequently than the expected usage at equilibrium ($RSCU > 1$) and thirty-one codons showed the codon usage bias: ($RSCU < 1$). Moreover, the frequency of use for the start codons AUG and UGG (methionine and tryptophan), as well as AUA (isoleucine) showed no bias ($RSCU = 1$).

Comparative chloroplast genomic analysis. To characterize genome divergence, the annotation of *A. megaphylla* Hu was taken as references. The comparison revealed that three chloroplast genomes were highly similar (Fig. 4). The plastome sequences were fairly conserved across the three data with a few regions with a variation. The results exhibited the divergence in LSC and SSC regions were higher than in IR regions. Besides, the sequences in the coding regions tended to be more conserved whereas most of the variations detected were found in conserved non-coding sequences (CNS). The sequences of exons were nearly identical throughout the three taxa. Among the coding genes, the highly disparate regions included *matK*, *rpoC2*, *ndhK*, *ndhD*, *ycf1*.

The sliding window analysis showed that the average pi value of the LSC ($Pi = 0.001569$) and SSC ($Pi = 0.001339$) regions was much higher than that in the IR ($Pi = 0.000219$) regions, which showed that LSC and SSC regions contained the most of the variation (Fig. 5). Among the 3 *Adinandra* species, the average value of nucleotide diversity (Pi) was 0.00119.

IR contraction and expansion in the chloroplast genome. The IR and SC boundaries of the three *Adinandra* were compared. Overall, the results indicated that the size, organization and gene content of the chloroplast genomes were highly similar among the three species. The size of IR ranges from 26,089 bp (*A. megaphylla* Hu) to 26,095 bp (*A. millettii*). And the size of IR of *A. angustifolia* was 26,092 bp. The *ndhF* gene was situated within the LSC region with a 5 bp overlap with the IRa for all three *Adinandra* species. Similarly, the



Chemical constituents of *Adinandra glischroloma* Hand.–Mazz. and their chemotaxonomic significance

Pho Thi Thuy Hang^{a,b}, Nguyen Thi Thu Nga^a, Sy Danh Thuong^a, Le Nguyen Thanh^{c,*},
Nguyen Van Phuong^d, Chu Hoang Mau^a, Nguyen Huu Quan^{a,*,**}

^a *Thainguyen University of Education, Thai Nguyen University, Thai Nguyen, 250000, Viet Nam*

^b *Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy, 250000, Viet Nam*

^c *Graduate University of Science and Technology (GUST) and Institute of Marine Biochemistry, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), Hanoi, 10000, Viet Nam*

^d *Hanoi University of Pharmacy, Hanoi, 10000, Viet Nam*

ARTICLE INFO

Keywords:

Adinandra glischroloma
Pentaphylacaceae
Pentacyclic triterpenes
Flavonoids
Megastigmane
Lignan

ABSTRACT

The phytochemical investigation of the leaves of *Adinandra glischroloma* Hand.–Mazz. resulted in the isolation of fourteen known compounds including nine triterpenoids: 28-nor-urs-12-ene-3 β ,17 β -diol (1), micromeric acid (2), 23-hydroxy ursolic acid (3), euscaphic acid (4), pomolic acid (5), 3,13-dihydroxy ursolic acid 28,13-olide (6), ursolic acid (7), betulinic acid (8), and oleanolic acid (9); one diterpene: *ent*-kaur-16-en-19-oic-acid (10); one megastigmane: (3S, 5R, 6S, 9R)-megastigmane-3,9-diol (11), one flavonoid: isoquercetin (12); one lignan: syringaresinol (13), and one sterol: β -sitosterol (14). The chemical structures were determined by NMR, MS spectroscopic analyses and comparison with literature values. All of these compounds were isolated from *A. glischroloma* for the first time. Furthermore, this is the first report on the isolation of compounds 1–3, 10, and 11 from the genus *Adinandra* and the Pentaphylacaceae family. Compounds 1–3, 10, and 11 may be used as chemotaxonomic markers to differentiate between *A. glischroloma* from other species of the *Adinandra* genus. Our results showed that *A. glischroloma* plant is rich in pentacyclic triterpenes and possessed a strong relationship with other *Adinandra* species in Vietnam.

1. Subject and source

The genus *Adinandra* is one of the largest genera in the Pentaphylacaceae family and consists of approximately 100 species distributed in South East Asian countries, China, Japan, India and African forests (Son and Dung, 2014). There are fourteen *Adinandra* species in Vietnam, distributed in the northern and central provinces of Vietnam. *Adinandra* plants in Vietnam like *A. hainanensis*, *A. integerrima* and *A. millettii* have been used for the treatment of throat cancer, snake bites and stomach aches (Chi, 2012). The leaves of *Adinandra nitida* in China, have been used as a traditional tea (Shiyacha) due to its various pharmacological activities such as reducing blood pressure and blood lipids, antioxidant, and anti-inflammatory effects (Gao et al., 2010; Liu et al., 2010). Chinese scientists also documented that several other *Adinandra* plants including *A. millettii*, *A. latifolia* and *A. jubata* have possessed antioxidant and antiproliferation activities (Chen et al., 2015). Our recent studies of

A. hainanensis, *A. poilanei* and *A. megaphylla* showed that the plant extracts and isolated compounds exhibited the cytotoxic and α -glucosidase inhibitory activity (Oanh et al., 2021c, 2022; Quan et al., 2023).

In this study, the leaves of *Adinandra glischroloma* plant were collected from Bat Sat district, Lao Cai Province, northern Vietnam (GPS longitude: 103°37'42"E, latitude: 22°37'35"N, altitude: 1844m) in September 2021. The plant materials were identified by Professor Sy Danh Thuong, Botany Department, Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education. A voucher specimen (NHQ-04) was stored at Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education.

2. Previous work

Previous chemical studies of *Adinandra* species including *A. nitida*, *A. hainanensis*, *A. poilanei*, *A. lienii* and *A. megaphylla* have revealed the presence of diverse compounds like triterpenoids (Hieu et al., 2021;

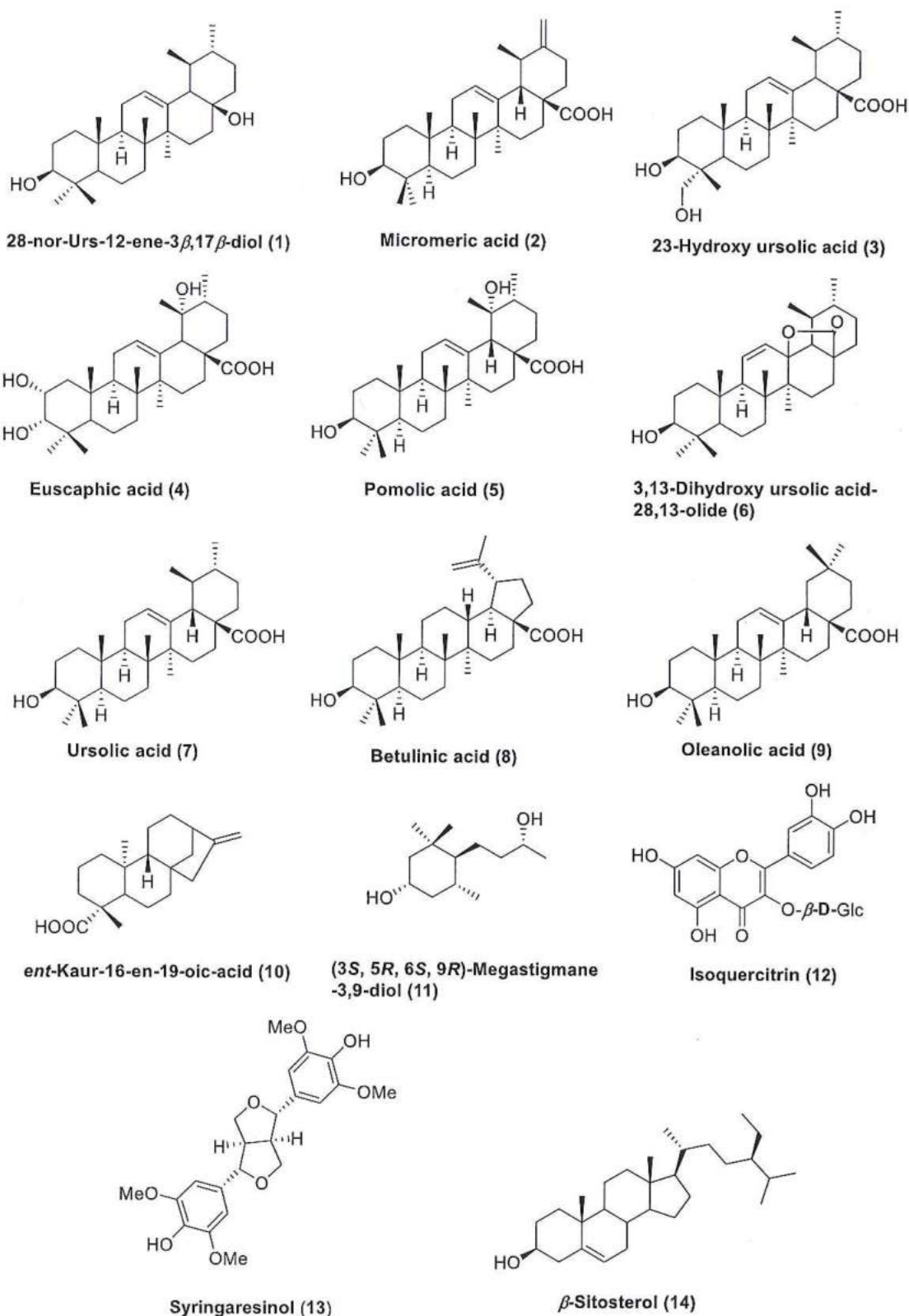
* Corresponding author.

** Corresponding author.

E-mail addresses: lethanh@imb.vast.vn (L.N. Thanh), quanmh@tneue.edu.vn (N.H. Quan).

<https://doi.org/10.1016/j.bse.2024.104803>

Received 22 August 2023; Received in revised form 14 February 2024; Accepted 17 February 2024
0305-1978/© 2024 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Fig. 1. Chemical structures of isolated compounds from *A. glischromola* leaves.

PGS.TS. HOÀNG VĂN NGỌC



Research article

urn:lsid:zoobank.org:pub:6E78DB2B-3476-4F83-A0CF-99BD959EB474

A new species of mossy frog (Anura: Rhacophoridae) from Northeastern Vietnam

Hoa Thi NINH¹, Tao Thien NGUYEN^{2,*}, Huy Quoc NGUYEN³,
 Ngoc Van HOANG⁴, Sonphet SILIYAVONG⁵, Thinh Van NGUYEN⁶,
 Dzung Trung LE⁷, Quyet Khac LE⁸ & Thomas ZIEGLER⁹

^{1,2,3}Vietnam National Museum of Nature and Institute of Genome Research,
 Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Road, Hanoi, Vietnam.

^{4,5}Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen University, 20 Luong Ngoc Quyen,
 Thai Nguyen, Vietnam.

⁶Graduate University of Science and Technology,
 Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, Vietnam.

⁷Ministry of Education and Training, 35 Dai Co Viet Road, Hai Ba Trung District, Vietnam.

⁸Center for Biodiversity Conservation and Endangered Species, 541 Nguyen Duy Trinh Street,
 District 2, Hochiminh City, Vietnam.

⁹AG Zoologischer Garten Köln, Riehler Strasse 173, D-50735 Cologne, Germany.

⁹Institute of Zoology, University of Cologne, Zùlpicher Strasse 47B, D-50674 Cologne, Germany.

*Corresponding author: nguyenthientao@gmail.com

¹ninhhoa.hnue@gmail.com

³huynguyen17295@gmail.com

⁴hoangngocks@dhsptn.edu.vn

⁵sonphet888999@gmail.com

⁶hopluc.cse@gmail.com

⁷letrungdung_sp@hnue.edu.vn

⁸quyet@cbes.vn

⁹ziegler@koelnerzoo.de

¹urn:lsid:zoobank.org:author:E3D33440-C302-4B3E-9309-7310A7AA77C5

²urn:lsid:zoobank.org:author:B020706F-93E6-4A29-BB07-CA24BBF4FBFF

³urn:lsid:zoobank.org:author:0B5CC3D1-D8D5-41CD-9DC3-9F9B7FA3CE82

⁴urn:lsid:zoobank.org:author:5BD4C1C3-7057-4793-ADBE-69C50E540ED8

⁵urn:lsid:zoobank.org:author:F93E8B16-27C4-47C7-8ADB-DBECBFD7FF59

⁶urn:lsid:zoobank.org:author:322982AD-9202-49E4-A861-DFBA7836F09C

⁷urn:lsid:zoobank.org:author:2C2D01BA-E10E-48C5-AE7B-FB8170B2C7D1

⁸urn:lsid:zoobank.org:author:18CBF24E-0354-41CB-9903-6EE00A478934

⁹urn:lsid:zoobank.org:author:5716DB92-5FF8-4776-ACC5-BF6FA8C2E1BB

Abstract. We describe a new species of *Theloderma* from northeastern Vietnam based on morphological differences and molecular divergence. *Theloderma khoii* sp. nov. is distinguishable from its congeners on the basis of a combination of the following characters: large size, SVL 52.1 mm in male, 59.4 mm

in female; head length and width equal; vomerine teeth present; snout pointed and truncated, eye large, ED 4.7 mm in male, 5.6 mm in female, spinules on upper eyelid; tibiotarsal articulation reaches to the posterior border of the eye or the tip of the snout; dorsal skin very rough with large irregular gland ridges and warts, ventral surface of body granular; tips of all digits dilated but all considerably smaller than tympanum; dorsal surface mossy green or olive mottled with dark magenta. The distribution of the new species is unknown but probably extends into adjacent high elevation forested areas in Ha Giang Province, Vietnam and in Yunnan Province, China with an extent of occurrence of only < 1000 km² and continuing decline in the quality of its habitat due to deforestation. Thus, we suggest the species should be considered Endangered following IUCN's Red List categories.

Keywords. *Theloderma khoii* sp. nov., karst forest, molecular phylogeny, taxonomy, Ha Giang Province.

Ninh H.T., Nguyen T.T., Nguyen H.Q., Hoang N.V., Siliyavong S., Nguyen T.V., Le D.T., Le Q.K. & Ziegler T. 2022. A new species of mossy frog (Anura: Rhacophoridae) from Northeastern Vietnam. *European Journal of Taxonomy* 794: 72–90. <https://doi.org/10.5852/ejt.2022.794.1655>

Introduction

The genus *Theloderma* Tschudi, 1838 is a poorly known group of tree frogs due to their cryptic habits and because they are infrequently encountered (Nguyen *et al.* 2014). This genus is currently comprised of 26 species distributed throughout Southeast Asia, southern China and northeastern India (Hou *et al.* 2017; Poyarkov *et al.* 2018; Frost 2021). *Theloderma* is characterized by the combination of the following morphological characters: (1) distinct tympanum, (2) rounded canthus rostralis, (3) absence of bony ridges from canthus rostralis to occiput, (4) skin of head not co-ossified to the skull, (5) having some degree of tuberculate skin, sometimes with calcified warts on the dorsum, and (6) Y-shaped terminal phalanges (Liem 1970; McLeod & Norhayati 2007; Rowley *et al.* 2011; Nguyen *et al.* 2015, 2016; Poyarkov *et al.* 2015, 2018; Dever 2017; Hou *et al.* 2017). However, morphological synapomorphies are lacking for the genus, and the monophyly of *Theloderma* is not certain (Bain *et al.* 2009; Li *et al.* 2009; Rowley *et al.* 2011) according to the recent review by Dubois *et al.* (2021). Many species were described based on a single or a few specimens only, and are still imperfectly known (Stuart & Heatwole 2004; Orlov *et al.* 2006; Bain *et al.* 2009). To date, 16 species have been recorded from Vietnam: *T. albopunctatum* (Liu & Hu, 1962), until recently recorded as *T. asperum* (Boulenger, 1886); *T. annae* Nguyen, Pham, Nguyen, Ngo & Ziegler, 2016; *T. auratum* Poyarkov, Kropachev, Gogoleva & Orlov, 2018; *T. bicolor* (Bourret, 1937); *T. corticale* (Boulenger, 1903); *T. gordonii* Taylor, 1962; *T. laeve* (Smith, 1924); *T. lateriticum* Bain, Nguyen & Doan, 2009; *T. nebulosum* Rowley, Le, Hoang, Dau & Cao, 2011; *T. palliatum* Rowley, Le, Hoang, Dau & Cao, 2011; *T. petilum* (Stuart & Heatwole, 2004); *T. rhododiscus* (Liu & Hu, 1962); *T. ryabovi* Orlov, Dutta, Ghate & Kent, 2006; *T. truongsongense* (Orlov & Ho, 2005); *T. vietnamense* Poyarkov, Orlov, Moiseeva, Pawangkhanant, Ruangsuan, Vassilieva, Galoyan, Nguyen & Gogoleva, 2015 (formerly recorded as *T. stellatum* Taylor, 1962) (Orlov & Ho 2005; Orlov *et al.* 2006, 2012; Orlov 2007; Bain *et al.* 2009; Nguyen *et al.* 2009, 2012, 2015, 2016; Rowley *et al.* 2011; Poyarkov *et al.* 2015, 2018).

During recent field work in Ha Giang Province, northeastern Vietnam, specimens of a tree frog species were collected in deep narrow valleys within limestone mountains, between elevations of 1320 to 1750 m a.s.l. The area was covered by primary and secondary broadleaved karst forests. Molecular comparisons revealed that this taxon was nested within the genus *Theloderma*. Closer morphological examination showed that the newly discovered population from Ha Giang is clearly distinguishable from other known members of *Theloderma* by a combination of morphological features. The phylogenetic analyses revealed this taxon to be sister to *T. bicolor* with a strong support value, but being distinctly separated from it. Due to morphological and molecular differences between the newly collected specimens and all other congeneric species, we herein describe the newly discovered *Theloderma* population from Ha Giang as a new species.



New record and dietary ecology of a poorly known frog, *Amolops shihaitaoi* Wang, Li, Du, Hou & Yu, 2022 (Amphibia, Anura, Ranidae), from Ha Giang Province, Vietnam

Sonephet Siliyavong[‡], Ngoc Van Hoang[§], Tao Thien Nguyen[|], Truong Nguyen^{¶#}, Anh Van Pham^{⊞,«}

[‡] Pakse Teacher Training College, 13 South Road, Champasak, Laos

[§] Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen University, Thai Nguyen, Vietnam

[|] Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, Vietnam

[¶] Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, Vietnam

[#] Graduate University of Science and Technology, VAST, Hanoi, Vietnam

[⊞] Faculty of Environmental Sciences, University of Science, Vietnam National University, Ha Noi, 334 Nguyen Trai Road, Hanoi, Vietnam

[«] The Center for Biodiversity & Environment Research, Tay Bac University, Son La City, Son La Province, Son La, Vietnam

Corresponding author: Ngoc Van Hoang (ngochv@tnue.edu.vn), Anh Van Pham (phamanh@hus.edu.vn)

Academic editor: Bin Wang

Received: 30 Mar 2023 | Accepted: 05 May 2023 | Published: 11 May 2023

Citation: Siliyavong S, Hoang NV, Nguyen TT, Nguyen T, Pham AV (2023) New record and dietary ecology of a poorly known frog, *Amolops shihaitaoi* Wang, Li, Du, Hou & Yu, 2022 (Amphibia, Anura, Ranidae), from Ha Giang Province, Vietnam. Biodiversity Data Journal 11: e104316. <https://doi.org/10.3897/BDJ.11.e104316>

Abstract

Background

The Hekou Torrent Frog (*Amolops shihaitaoi*) was recently discovered from southern China and northern Vietnam in 2022. The knowledge about natural history and feeding ecology of this species is virtually lacking.

New information

Based on our recent fieldwork in northern Vietnam, we report a new population of *A. shihaitaoi* from Ha Giang Province. In this study, we provide novel data on the diet of *A. shihaitaoi*, based on stomach content analyses of 36 individuals (17 males and 19 females). A total of 36 prey categories with 529 items, comprising 515 items of invertebrates and 14 unidentified items, were found in the stomachs of *A. shihaitaoi*. The dominant prey items of the species were Hymenoptera (Formicidae), Orthoptera (Acrididae), Lepidoptera (Lepidoptera other), Mantodea (Mantidae) and Araneae. The importance index (Ix) of prey categories ranged from 7.1% to 11.5%. Hymenoptera (Formicidae) had the highest frequency of prey items, found in 36 stomachs.

Keywords

distribution, new records, morphology, prey items, stomach contents

Introduction

Studying dietary ecology is crucial for understanding natural history, population fluctuations and the impact of habitat change on frog populations (Ogoanah and Uchedike 2011). Identifying prey taxa for each species will help clarify the impact of frogs on local invertebrate fauna and determine which prey species are dietary resources for the frogs (Nakamura and Tominaga 2021). Some species have highly varied diets, but concentrate their consumption on a few prey categories (Siqueira et al. 2006, Lima et al. 2010, Pham et al. 2019), while others have a narrow or specialized diet on certain prey categories (Rödel and Braun 1999, Hirai and Matsui 2000, Solé et al. 2002, Pham et al. 2022). In addition, the diet of amphibian species depends on prey availability in the environment (Toft 1980, Donnelly 1991).

Diet differences between sexes may occur due to differences in energy expenditure and behaviour (Donnelly 1991, Valderrama-Vernaza et al. 2009) or in response to seasonal variations in prey availability (Maneyro et al. 2004). However, both males and females are usually capable of consuming prey of different sizes, so dietary differences between sexes generally occur in the number of prey consumed (Donnelly 1991, Valderrama-Vernaza et al. 2009) or in dietary composition (Brasileiro et al. 2010).

The genus *Amolops* Cope, 1865 currently contains 74 predominantly diurnal species that inhabit forest streams (Patel et al. 2021, Frost 2023). Despite a large number of species, dietary studies in the genus have only been done on *Amolops larutensis* (Berry 2009). In Vietnam, studies on the diet have also been conducted on several amphibian species, including *Quasipaa verrucospinosa* in Thua Thien Hue Province (Ngo et al. 2014) and *Microhyla butleri*, *M. heymonsi* and *Odorrana chapaensis* in Son La Province (Pham et al. 2019, Pham et al. 2022). Those studies demonstrated that these frogs have varied diets, with the majority being ants, beetles, dipterans and insect larvae.

1859 - 2171
2734 - 9098



ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
THAI NGUYEN UNIVERSITY

ISBN 1859 - 2171
2734 - 9098

TẠP CHÍ

KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ

TNU JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

CHUYÊN SAN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP - LÂM NGHIỆP - Y DƯỢC
AGRICULTURE - FORESTRY - MEDICINE & PHARMACY

TẠP CHÍ KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ

Tập 225, số 08, 2020

225(08)
2020

Mục lục	Trang
Nguyễn Quang Tính, Nguyễn Mạnh Hùng, Đỗ Bích Duệ - Nghiên cứu đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> phân lập từ lợn bị viêm phổi nuôi tại huyện Hiệp Hòa, tỉnh Bắc Giang	142
Nguyễn Văn Bình, Đinh Ngọc Bách - Nghiên cứu chọn lọc cá thể lợn đực giống và cái sinh sản từ 3 giống thuần đuroc, piétrain và landrace làm nguyên liệu cho lai tạo đực lai cuối cùng	149
Đồng Thị Hoàng Yến, Phạm Thị Thanh Tâm, Lâm Thị Thu Hương - Nghiên cứu bào chế gel dùng qua da chứa lornoxicam	155
Đồng Quang Huy, Nguyễn Quốc Thịnh, Nguyễn Ngọc Minh, Lê Thu Hoài - Nghiên cứu bào chế kem trị bỏng từ lô hội, rau má, thảo hoàng liên	161
Nguyễn Thị Thoa, Lê Văn Phúc, Phạm Thị Thanh Vân, Phạm Thế Việt - Đa dạng tài nguyên cây thuốc và giải pháp bảo tồn ở khu bảo tồn thiên nhiên Thần Sa - Phượng Hoàng	168
Trịnh Thị Chung, Phạm Bằng Phương, Tạ Thị Lương, Lưu Hồng Sơn, Trần Văn Chí, Đinh Thị Kim Hoa ¹ , Vi Đại Lâm - Nghiên cứu ảnh hưởng của độ tuổi thu hoạch đến chất lượng quả chuối tây Bắc Kạn sau quá trình chín chín bằng khí ethylene ngoại sinh	176
Trần Thanh Vân, Nguyễn Thị Thúy Mỹ, Nguyễn Đức Trường, Nguyễn Thị Bích Đào - Ảnh hưởng của bổ sung acid Park 4 way 2X đến khả năng sản xuất thịt của gà Broiler cobb500 nuôi chuồng kín vụ hè	182
Nguyễn Thị Hoa, Trần Thị Kim Phượng - Hội chứng chuyển hóa ở bệnh nhân ung thư được hóa trị tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên	190
Trần Thị Thanh Hương - Con đường ngăn cản CTLA-4 và PD-1 trong liệu pháp miễn dịch chống ung thư	196
Lê Bình Minh, Trần Ngọc Bích - Khảo sát nguyên nhân dễ khó trên chó tại Bệnh xá Thú y Trường Đại học Cần Thơ	203
Lê Thị Thanh Hương, Nguyễn Thị Quỳnh - Điều tra thực vật sử dụng làm thuốc chữa bệnh về dạ dày theo kinh nghiệm của cộng đồng các dân tộc ở tỉnh Thái Nguyên	209
Trần Thanh Tùng, Hoàng Văn Ngọc - Thành phần loài lưỡng cư, bò sát ở vùng núi Ngọc Thanh, thành phố Phúc Yên, tỉnh Vĩnh Phúc	217
Lưu Minh Châu, Trần Thị Thảo Nguyên, Lý Thị Thùy Duyên, Trần Thị Xuân Nghi, Lê Quốc Việt, Bùi Hoàng Đăng Long, Nguyễn Ngọc Thanh, Huỳnh Xuân Phong - Ứng dụng vi khuẩn lactic trong sản xuất thử nghiệm nước tẩy rửa sinh học từ nước chua tàu hủ	222
Huỳnh Xuân Phong, Lợi Đức Linh, Phạm Hoàng Nam, Nguyễn Ngọc Thanh, Bùi Hoàng Đăng Long - sản xuất chitin từ vỏ tôm sú (<i>Penaeus monodon</i>) sử dụng vi khuẩn <i>Bacillus</i> sp. TV11 và <i>Lactobacillus</i> sp. T432	230
Tangmany SYSOMEPHONE, Ngô Diễm Quỳnh, PHANTHAHAK Santhana, Nongkhan MANISOK, Phạm Thị Thanh Nhân - Nghiên cứu công thức khử trùng mẫu và môi trường nuôi cấy in vitro cây bình vôi vàng (<i>Stephania</i> spp.)	239
Phạm Thị Thanh Nhân, Phạm Quang Sơn, Cao Thị Phương Thảo, Lê Hữu Thiêng - Nghiên cứu phân lập một số vi sinh vật gây bệnh ở thực vật và thử nghiệm hoạt tính kháng của một số chế phẩm có nguồn gốc sinh học	245
Trần Văn Chí, Nguyễn Đức Tuấn, Trần Thị Thu Hà, Mai Anh Khoa - Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình ủ phân bò bằng chế phẩm sinh học tạo phân bón hữu cơ vi sinh tại Hà Giang	252
Chu Thị Thúy Nga, Nghiêm Tiến Chung, Nguyễn Hải Văn, Phạm Ngọc Khánh, Đào Thu Huệ, Nguyễn Thị Tân - Ảnh hưởng của thời vụ và mật độ trồng đến năng suất và chất lượng hạt giống hà thủ ô đỏ (<i>Fallopia multiflora</i> Thunb.) tại Sa Pa - Lào Cai	260
Nguyễn Thị Hoa, Nguyễn Thị Chi - Một số yếu tố liên quan đến rối loạn lipid huyết tương ở bệnh nhân ung thư sau hóa trị tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên	267
Nguyễn Thị Hoa, Lê Thị Hương Lan, Trần Thị Kim Phượng - Một số yếu tố liên quan đến tăng nồng độ glucose huyết tương ở bệnh nhân ung thư sau hóa trị tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên	274
Hà Đăng Chiến, Nguyễn Văn Đính, La Việt Hồng, Vũ Thu Trang, Đào Thị Xuân, Cao Phi Bằng - Nhân giống in vitro lan mokara thông qua protocorm-like body từ mô lá	280
Trần Thanh Tùng, Lê Trung Dũng - Thành phần thức ăn của loài cóc máy phê <i>Brachytarsophrys feae</i> (Boulenger, 1887) và cóc mắt bên <i>Megophrys major</i> (Boulenger, 1908) tại Vườn quốc gia Xuân Sơn, tỉnh Phú Thọ	286
Trương Hữu Dũng, Phùng Đức Hoàn, Hoàng Văn Tuấn, Hồ Lam Sơn - Nghiên cứu khả năng sinh trưởng,	292

THÀNH PHẦN LOÀI LƯỠNG CƯ, BÒ SÁT Ở VÙNG NÚI NGỌC THANH, THÀNH PHỐ PHÚC YÊN, TỈNH VINH PHÚC

Trần Thanh Tùng^{1*}, Hoàng Văn Ngọc²

¹Trường Cao đẳng Vĩnh Phúc, ²Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Vùng núi Ngọc Thanh thuộc thành phố Phúc Yên, tỉnh Vĩnh Phúc còn nhiều diện tích rừng tự nhiên. Do các hoạt động của con người đã tác động đến môi trường làm mất cân bằng sinh thái, mất nơi ở của một số loài trong đó có các loài Lưỡng cư, Bò sát. Nhằm đánh giá hiện trạng thành phần loài nơi đây, nhóm tác giả đã khảo thực địa từ tháng 3 đến 7 năm 2018 và thu thập được 208 mẫu vật của 64 loài lưỡng cư, bò sát thuộc 53 giống, 25 họ, 5 bộ. Trong đó bộ Squamata đa dạng nhất với 13 họ, 26 giống, 33 loài; họ Colubridae đa dạng nhất với 6 giống, 9 loài; giống *Sylvirana* đa dạng nhất có 5 loài. Đã xác định ở vùng nghiên cứu có 15 loài trong Sách Đỏ Việt Nam (2007); 7 loài có tên trong Danh Lục Đỏ IUCN (2018); 8 loài có tên trong Nghị định 06/2019/NĐ-CP của Chính phủ.

Từ khóa: Thành phần loài; lưỡng cư; bò sát; Ngọc Thanh; Vĩnh Phúc.

Ngày nhận bài: 27/3/2020; Ngày hoàn thiện: 14/6/2020; Ngày đăng: 22/6/2020

SPECIES COMPOSITION OF AMPHIBIANS AND REPTILES FROM NGOC THANH MOUNTAIN FOREST, PHUC YEN CITY, VINH PHUC PROVINCE

Tran Thanh Tung^{1*}, Hoang Van Ngoc²

¹Vinh Phuc College, ²TNU - University of Education

ABSTRACT

Many natural forests still exist in the Ngoc Thanh mountainous area in Phuc Yen city, Vinh Phuc province. Human activities have been affecting the environment and causing ecological imbalances. Besides, these activities also cause habitat loss for some species, including amphibians and reptiles. Assessing the current status of species composition, we conducted a field survey in this area from March to July 2018. We collected 208 specimens of 64 species of amphibians and reptiles belonging to 53 genera, 25 families, and five orders. Classification results had recorded the Squamata is the most diverse order with 13 families, 26 genera and 33 species; the Colubridae is the most varied family with six genera and nine species; the most diverse genus is *Sylvirana* with five species. There were 15 species identified in Vietnam's Red Data Book (2007); 7 species are listed in the IUCN Red List of Threatened Species (2020); 8 species are listed in the Decree No. 06/2019/ND-CP dated January 22, 2019, of the Government.

Keywords: Species composition; amphibians; reptiles; Ngoc Thanh; Vinh Phuc

Received: 27/3/2020; Revised: 14/6/2020; Published: 22/6/2020

* Corresponding author. Email: tungbiology3@gmail.com

ISSN 1859 - 2171
2734 - 9098



ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
THAINGUYEN UNIVERSITY

ISSN 1859 - 2171
2734 - 9098

TẠP CHÍ

KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ

TNU JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

CHUYÊN SAN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP - LÂM NGHIỆP - Y DƯỢC
AGRICULTURE - FORESTRY - MEDICINE & PHARMACY

TẠP CHÍ KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ

Tập 228, số 13, 2023

228(13)
2023