

CÁC HỢP CHẤT AMIT VÀ α -TOCOPHEROL PHÂN LẬP TỪ VỎ CÂY DẦU DẦU LÁ NHẪN (*TETRADIMUM GLABRIFOLIUM*)

Trương Thị Thu Hiền^{1,2}, Hoàng Lê Tuấn Anh², Phạm Hải Yến², Đan Thị Thúy Hằng², Nguyễn Thị Cúc², Dương Thị Hải Yến², Dương Thị Dung², Nguyễn Xuân Nhiệm², Nguyễn Văn Tuyền³, Phan Văn Kiệm^{2*}

¹Học viện Quân Y, Bộ Quốc Phòng

²Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đến Tòa soạn 15-12-2012

Abstract

Three amides, N-isobutyl-2E,4E-tetradecadicnamide (1), N-isobutyl-2E,4E-decadienamamide (pellitorine) (2), N-isobutyl-2E,4E,8E-tetradecatrienamamide (3), and α -tocopherol (4) were isolated from the methanol extract of barks of *Tetradium glabrifolium* by various chromatographic experiments. The structure elucidation of isolated compounds was done by spectroscopic methods including FT-ICR-MS, 1D- and 2D-NMR, and in comparison with the literature values. This is the first report of 1-4 from *Tetradium* genus.

Keywords: Tetradium glabrifolium, Rutaceae, alkamides

1. MỞ ĐẦU

Cây dầu dầu lá nhẵn (*Tetradium glabrifolium* Benth. Hartl.) thuộc họ Cam quýt (Rutaceae) được thông báo có nhiều hoạt tính lý thú như hoạt tính kháng nấm, kháng viêm, hoạt tính chống ung thư [1-3]. Tuy nhiên, các công trình nghiên cứu về thành phần hóa học của cây này còn rất hiếm. Nhằm góp phần làm sáng tỏ thành phần hóa học và tìm kiếm các hoạt chất có hoạt tính sinh học của loài *T. glabrifolium* chúng tôi đã tiến hành các nghiên cứu về loài này.

Bài báo này thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc của ba hợp chất amide và α -tocopherolquinone từ dịch chiết metanol của vỏ cây *T. glabrifolium*. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định là N-isobutyl-2E,4E-tetradecadienamamid (1, 12 mg), N-isobutyl-2E,4E-decadienamamid (pellitorine) (2, 10 mg), N-isobutyl-2E,4E,8E-tetradecatrienamamid (3, 10 mg) và α -tocopherol (4, 15 mg) bằng phổ khối lượng (ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều (1D và 2D NMR).

2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu vỏ cây *T. glabrifolium* được thu hái vào tháng 6 năm 2011 tại Tây Thiên, Tam Đảo, Vĩnh

Phúc. Tên khoa học được Th.S. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật giám định. Mẫu tiêu bản được lưu trữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật và Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Hóa chất thiết bị

Sắc ký lớp mỏng (TLC): Thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn DC-Alufolien 60 F254 (Merck 1,05715), RP18 F254s (Merck); phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 368 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H_2SO_4 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng từ từ đến khi hiện màu.

Sắc ký cột (CC): Được tiến hành với chất hấp phụ là Silica gel pha thường và pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240 - 430 mesh). Silica gel pha đảo ODS hoặc YMC (30-50 μ m, FujiSilica Chemical Ltd.).

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): Đo trên máy Bruker AM500 của Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phổ khối lượng phân giải cao (FT-ICR-MS): Đo trên máy Varian FT-CR-MS (USA) của Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ VN.

Vỏ cây *T. glabrifolium* được phơi khô, nghiền nhỏ thu được 2,4 kg bột khô. Bột này được ngâm

chiết bằng metanol nóng (3 lần x 5 lít) trên thiết bị chiết siêu âm (ở 50°C, mỗi lần 1 giờ). Các dịch chiết được gom lại, lọc qua giấy lọc và cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 127 g cặn chiết metanol. Cặn chiết này được phân bố vào 2 lít nước cất và tiến hành chiết lần lượt với hexan, etyl axetat. Các dịch chiết hexan, etyl axetat được cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được các cặn dịch hexan (TGV-H, 61 g), etyl axetat (TGV-E, 52 g) và lớp nước (TGV-N).

Cặn chiết TGV-E (52 g) được hòa tan bằng metanol, bổ xung silica gel với tỉ lệ 1:1,5, cất loại dung môi đến khô, nghiền mịn. Hỗn hợp này được phân tách thành bốn phân đoạn TGV-E1, TGV-E2, TGV-E3 và TGV-E4 bằng sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải gradient có độ phân cực tăng dần hexan/axeton 50/1 → 1/1 (v/v). Phân đoạn TGV-E1 được tiếp tục phân tách thành 4 phân đoạn TGV-E1A, TGV-E1B, TGV-E1C và TGV-E1D trên sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải hexan/axeton: 10/1 (v/v).

Hợp chất 1, 2, 3 thu được sau khi tinh chế phân đoạn TGV-E1D (18 g) trên sắc ký cột silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi rửa giải hexan/etyl axetat: 6/1 (v/v) kết hợp với sắc ký cột silica gel pha đảo rửa giải bằng metanol/axeton/nước: 3/1/1 (v/v/v).

Hợp chất 4 được tinh chế từ phân đoạn TGV-E1A (15 g) bằng sắc ký cột silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi rửa giải hexan/etyl axetat. 1/1 (v/v) kết hợp với sắc ký cột silica gel pha đảo rửa giải bằng axeton/nước: 7/1 (v/v).

N-isobutyl-2E,4E-tetradecadienamide (1): dạng dầu, không màu. Công thức phân tử $C_{18}H_{33}NO$ ($M = 279$). 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$), xem bảng 1.

N-isobutyl-2E,4E-decadienamide (pellitorine) (2): bột màu trắng. Công thức phân tử $C_{14}H_{25}NO$ ($M = 223$). 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) và ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD), xem bảng 1.

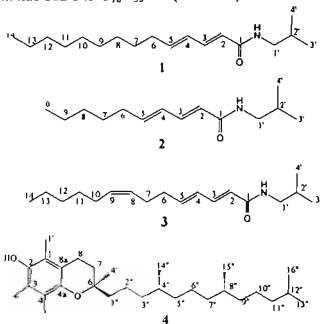
N-isobutyl-2E,4E,8E-tetradecatrienamide (3): dạng dầu, không màu. Công thức phân tử $C_{18}H_{31}NO$ ($M = 277$). 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$), xem bảng 1.

α -tocopherol (4): dạng dầu, màu vàng. Công thức phân tử $C_{29}H_{50}O_2$ ($M = 430$). 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$), xem bảng 2.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất 1 nhận được dưới dạng dầu, không màu. Trên phổ khối lượng phân giải cao (FT-ESI-MS) xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 280,26401

$[M+H]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{18}H_{33}NO$: 280,26404). Cùng với việc phân tích các phổ NMR cho phép xác định công thức phân tử chính xác của 1 là $C_{18}H_{33}NO$ ($M = 279$).



Hình 1: Cấu trúc hoá học của hợp chất 1-4

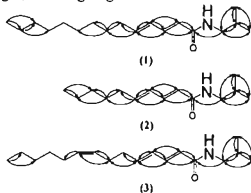
Trên phổ proton 1H -NMR xuất hiện tín hiệu đặc trưng của 1 nhóm isobutyl [δ 3,16 (2H, d, $J = 6,5$ Hz), 1,80 (1H, m), và 0,92 (6H, d, $J = 7,0$ Hz)]; 4 proton olefin tại δ 7,19 (1H, dd, $J = 10,0$ và 15,0 Hz), 6,12 (1H, dd, $J = 10,0$ và 15,5 Hz), 6,07 (1H, m) và 5,76 (1H, d, $J = 14,5$ Hz); 8 nhóm metilen tại δ 2,15 (2H, q, $J = 7,0$ và 14,0 Hz), 1,40 (2H, m), 1,30 (2H, m), 1,26 (10H, m) và 1 nhóm methyl bậc 1 ở 0,86 (3H, t, $J = 7,0$ Hz). Trên phổ ^{13}C -NMR và DEPT của 1 xuất hiện tín hiệu của 18 nguyên tử cacbon trong đó có 1 cacbonyl, 5 metin, 9 metilen và 3 methyl. Dựa vào độ chuyển dịch hóa học, xác định được tín hiệu đặc trưng của 1 nhóm cacbonyl nối với nguyên tử nitơ tại δ 166,39 (C); một nhóm metilen gần với nguyên tử nitơ tại δ 46,94 (CH_2); 2 liên kết đôi bị thế 2 vị trí ở δ 143,23 (CH), 141,32 (CH), 128,20 (CH) và 121,72 (CH). Sự có mặt của nhóm isobutyl cũng được xác nhận [δ 46,94 (CH_2), 28,64 (CH), 20,12 ($2 \times CH_3$)].

Các tín hiệu proton được gán với tín hiệu cacbon tương ứng dựa trên kết quả phân tích phổ hai chiều HSQC (bảng 1). Phân tích chi tiết các tương tác trên phổ HMBC cho phép ghép nối cấu trúc của nhánh isobutyl với nhánh tetradecadienamide qua tín hiệu tương tác giữa proton H-1' (δ 3,16) với cacbon C-1 (δ 166,39). Nhánh isobutyl một lần nữa được xác định dựa vào những tương tác HMBC giữa tín hiệu proton H-1' (δ 3,16) với các cacbon C-2' (δ 28,64)/C-3' (δ 20,12)/C-4' (δ 20,12); proton H-2' (δ 1,80) với cacbon C-1' (δ 46,94)/C-3' (δ 20,12)/C-4'

(δ 20,12). Hai nối đôi của nhánh tetradecadienamide được xác định tại vị trí C-2 và C-4 ($\Delta^{2,4}$) dựa trên tương tác HMBC giữa các tín hiệu proton H-2 (δ 5,76)/H-3 (δ 7,19) với cacbon C-1 (δ 166,39); proton H-4 (δ 6,12) với cacbon C-2 (δ 121,72)/C-3 (δ 141,32) và proton H-5 (δ 6,07) với C-3 (δ 141,32)/C-4 (δ 128,20)/C-6 (δ 32,96)/C-7 (δ 29,53). Cấu hình *trans* (2E,4E) của liên kết đôi được xác định bởi giá trị hằng số tương tác lớn ($J = 15,0$ Hz). Nhóm methyl bậc 1 δ_c 14,10/ δ_h 0,86 (3H, t, $J = 7,0$ Hz) được xác định tại vị trí cuối của mạch nhánh tetradecadien vì có dạng triplet. Dựa vào các tương tác chi tiết HMBC kết hợp so sánh với số liệu phổ trong tài liệu [4] khẳng định 1 là N-isobutyl-2E,4E-dodecadienamide, một hợp chất đã được phân lập từ loài *Piper sarmentosum* [4].

Hợp chất 2 nhận được dưới bột, màu trắng. Phổ proton $^1\text{H-NMR}$ của 2 cũng tương tự phổ của 1 với sự xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của 1 nhóm isobutyl [δ 3,08 (2H, d, $J = 6,5$ Hz), 1,81 (1H, m) và 0,94 (6H, d, $J = 7,0$ Hz)]; 4 proton olefin tại δ 7,13 (1H, dd, $J = 10,5$ và 15,0 Hz), 6,21 (1H, dd, $J = 10,5$ và 15,0 Hz), 6,12 (1H, m) và 5,94 (1H, d, $J = 15,0$ Hz); 4 nhóm metilen tại δ 2,19 (2H, q, $J = 7,0$ và 14,0 Hz), 1,46 (2H, m), 1,32 - 1,38 (4H, m) và 1 nhóm methyl bậc 1 ở 0,91 (3H, overlap). Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT của 2 xuất hiện tín hiệu của 14 nguyên tử cacbon trong đó có 1 carbonyl, 5 metin, 5 nhóm metilen và 3 methyl. Tín hiệu đặc trưng của 1 nhóm cacbonyl nối với N tại δ 169,19 (C); một nhóm metilen gần với nguyên tử nitơ có độ dịch chuyển hóa học khá cao tại δ 48,03 (CH_2); 2 liên kết đôi bị thế 2 vị trí ở δ 143,94 (CH), 142,12 (CH), 129,80 (CH) và 123,07 (CH). Sự có mặt của nhóm isobutyl cũng được xác nhận bởi các tín hiệu tại δ 48,03 (CH_2), 29,74 (CH), 20,50 ($2 \times \text{CH}_3$). Từ những dữ kiện phổ có được, có thể khẳng định hợp chất 2 cũng là một amide có cấu trúc tương tự hợp chất 1 nhưng có mạch cacbon ngắn hơn 4 nhóm metilen CH_2 . Các tín hiệu proton được gán với tín hiệu cacbon tương ứng dựa trên kết quả phân tích phổ hai chiều HSQC (bảng 1). Phân tích chi tiết các tương tác trên phổ HMBC cho phép ta ghép nối cấu trúc của nhánh isobutyl với nhánh decadienamide qua tương tác xa giữa H-1' (δ 3,08) với C-1 (δ 169,19). Nhánh isobutyl một lần nữa được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa proton H-1' (δ 3,08) với các tín hiệu cacbon C-2' (δ 29,73), C-3'/C-4' (δ 20, 50); proton H-2' (δ 1,81) với các tín hiệu cacbon C-1' (δ 46,94)/C-3' (δ 20, 49)/C-4' (δ 20, 49). Vị trí hai nối đôi của nhánh decadienamide được xác định tại C-2

và C-4 ($\Delta^{2,4}$) dựa trên tương tác HMBC giữa các tín hiệu proton H-2 (δ 5,94)/H-3 (δ 7,13) với tín hiệu cacbon C-1 (δ 169,19); proton H-4 (δ 6,21) với các tín hiệu cacbon C-2 (δ 123,07)/C-3 (δ 142,12); proton H-5 (δ 6,12) với các tín hiệu cacbon C-3 (δ 142,13)/C-4 (δ 129,80)/C-6 (δ 33,86)/C-7 (δ 29,68). Cấu hình của liên kết đôi được xác định đều ở dạng *trans* (2E,4E) trên cơ sở hằng số tương tác lớn ($J = 15,0$ Hz). Từ những phân tích nêu trên kết hợp với so sánh số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của 2 với hợp chất pellitorine phân lập từ loài *Asiasarum heterotropoides* [5] ta thấy hoàn toàn phù hợp ở tất cả những vị trí tương ứng.



Hình 2: Một số tương tác HMBC chính của 1-3

Hợp chất 3 nhận được dưới dạng dầu không màu. Phổ khối lượng phân giải cao (HR ESI-MS) xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 278,24833 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{NO}$: 278,24839). Phổ proton $^1\text{H-NMR}$ của 3 tương tự như của 1, ngoại trừ sự xuất hiện thêm tín hiệu của một nối đôi thế hai lần. Trên phổ proton $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện tín hiệu đặc trưng của 1 nhóm isobutyl [δ 3,16 (2H, d, $J = 6,5$ Hz), 1,80 (1H, m) và 0,92 (6H, d, $J = 7,0$ Hz)]; 6 proton olefin tại δ 7,19 (1H, dd, $J = 10,5$ và 15,0 Hz), 6,16 (1H, dd, $J = 11,0$ và 15,0 Hz), 6,08 (1H, m) và 5,75 (1H, d, $J = 15,0$ Hz); 6 nhóm metilen tại δ 2,18 (2H, m), 2,16 (2H, m), 2,01 (2H, q, $J = 6,5$ và 13,5 Hz), 1,35-1,37 (6H, m) và 1 nhóm methyl bậc 1 ở 0,88 (3H, t, $J = 6,5$ Hz). Phổ cacbon $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT của 3 cũng xuất hiện tín hiệu của 18 nguyên tử cacbon như hợp chất 1 trong đó có 1 carbonyl, 7 metin, 7 metilen và 3 methyl. Tín hiệu cộng hưởng đặc trưng của 1 nhóm NC=O tại δ 166,36 (C); một nhóm metilen gần với nguyên tử nitơ tại δ 46,94 (CH_2); liên kết đôi bị thế 2 vị trí ở δ 142,23 (CH), 141,10 (CH), 130,98 (CH), 128,55 (CH), 128,22 (CH) và 122,06 (CH). Nhóm isobutyl cũng được xác nhận bởi các tín hiệu [δ 46,94 (CH_2), 28,62 (CH), 20,11 ($2 \times \text{CH}_3$)]. Từ những dữ kiện phổ trên gợi ý rằng hợp chất 3 là một amide

Bảng 1: Dữ kiện phổ NMR của 1-3 và các chất tham khảo

C	1				2				3			
	δ_c	δ_c^{ac}	$\delta_1^{a,d}$	HMBC (H→C)	δ_c	δ_c^{bc}	$\delta_{11}^{b,d}$	HMBC (H→C)	δ_c	δ_c^{ac}	$\delta_1^{a,d}$	HMBC (H→C)
1	166,4	166,39			166,7	169,19			166,37	166,36		
2	121,7	121,72	5,76 (d, 15,0)	1, 3, 4	122,1	123,07	5,94 (d, 15,0)	1, 4	121,95	122,06	5,75 (d, 15,0)	1, 4
3	141,3	141,32	7,19 (dd, 10,0, 15,0)	1, 5	140,7	142,12	7,13 (dd, 10,5, 15,0)	1, 5	141,19	141,10	7,19 (dd, 10,5, 15,0)	1, 5
4	128,2	128,20	6,12 (dd, 10,0, 15,5)	2, 3	128,4	129,80	6,21 (dd, 10,5, 15,0)	2, 3, 5, 6	128,51	128,55	6,16 (dd, 11,0, 15,0)	3, 6
5	143,3	143,23	6,07 (m)	3, 4	141,3	143,94	6,12 (m)	3, 4, 6, 7	142,34	142,23	6,08 (m)	3, 6, 7
6	33,0	32,96	2,15 (dt, 14,0, 7,0)	4, 5, 7	33,0	33,86	2,19 (dt, 14,0, 7,0)	4, 5, 7, 8	33,03	33,03	2,18 (m)	4, 5
7	28,7	29,53	1,26-1,40	6, 8	28,6	29,68	1,46 (m)	5, 8, 9	26,50	26,53	2,16 (m)	4, 5, 9
8	31,8	29,45	1,26-1,40	-	31,4	32,52	1,32-1,38	-	128,20	128,22	5,33 (m)	7
9	29,1	29,30	1,26-1,40	-	22,5	23,49	1,32-1,38	-	130,97	130,98	5,40 (m)	7
10	29,1	29,18	1,26-1,40	-	14,0	14,31	0,91 overlap	8, 9	27,22	27,23	2,01 (td, 6,5, 13,5)	8, 9, 11
11	-	28,83	1,26-1,40	-	-	-	-	-	29,30	29,31	1,35-1,37	9, 12
12	-	31,98	1,26-1,40	-	-	-	-	-	31,94	31,50	1,35-1,37	11, 13
13	22,6	22,67	1,26-1,40	11, 12, 14	-	-	-	-	22,50	22,55	1,35-1,37	-
14	14,1	14,10	0,86 (t, 7,0)	11, 12	-	-	-	-	14,04	14,04	0,88 (t, 6,5)	11, 12
1'	46,9	46,94	3,17 (d, 6,5)	1', 2', 3', 4'	47,1	46,94	3,08 (d, 6,5)	1', 2', 3', 4'	46,93	46,94	3,16 (d, 6,5)	1', 2', 3', 4'
2'	28,8	28,64	1,80 (m)	1', 3', 4'	28,7	29,73	1,81 (m)	1', 3', 4'	28,60	28,62	1,80 (m)	1', 3', 4'
3'	20,1	20,12	0,92 (d, 7,0)	1', 2', 4'	20,2	20,50	0,94 (d, 7,0)	1', 2', 4'	20,09	20,11	0,92 (d, 7,0)	1', 2', 4'
4'	20,1	20,12	0,92 (d, 7,0)	1', 2', 3'	20,2	20,50	0,94 (d, 7,0)	1', 2', 3'	20,09	20,11	0,92 (d, 7,0)	1', 2', 3'

^ađo trong CDCl₃, ^bđo trong CD₂OD, ^c125 MHz, ^d500 MHz, ^eđo N-isobutyl-2E,4E-dodecadienamide [4], ^fđo của pellitorin do trong CDCl₃ [5], ^gđo của (2E,4E,8Z)-N-isobutyltetradecatrienamide do trong CDCl₃ [7].

Bảng 2: Dữ kiện phổ NMR của 4 và chất tham khảo

C	δ_c	δ_c^{ac}	DEPT	$\delta_1^{a,d}$	C	δ_c [3]	δ_c^{ac}	DEPT	$\delta_1^{a,d}$
1	118,5	118,47	C	-	3''	37,46	37,46	CH ₂	
2	144,5	144,47	C	-	4''	32,72	32,72	CH	
3	121,0	121,02	C	-	5''	37,31	37,3	CH ₂	
4	122,6	122,63	C	-	6''	24,81	24,81	CH ₂	
4a	145,5	145,57	C	-	7''	37,44	37,30	CH ₂	
6	74,5	74,54	C	-	8''	32,81	32,81	CH	
7	31,5	31,57	CH ₂		9''	37,47	37,44	CH ₂	
8	20,8	20,77	CH ₂		10''	24,46	24,45	CH ₂	
8a	117,4	117,38	C	-	11''	39,39	39,39	CH ₂	
1'	11,8	11,77	CH ₃	2,11 (s)	12''	28,00	27,99	CH	1,51 (m)
2'	12,2	12,21	CH ₃	2,16 (s)	13''	22,63	22,63	CH ₂	0,87 (d, 7,0)
3'	11,3	11,27	CH ₃	2,11 (s)	14''	19,67	19,66	CH ₃	0,86 (d, 6,0)
4'	23,81	23,81	CH ₃	1,23 (s)	15''	19,76	19,76	CH ₃	0,87 (d, 7,0)
1''	39,8	39,84	CH ₂		16''	22,73	22,72	CH ₂	0,87 (d, 7,0)
2''	21,0	21,05	CH ₂						

^ađo trong CDCl₃, ^b125 MHz, ^c500 MHz, ^dđo của α -tocopherol do trong CDCl₃ [8].

có cấu trúc tương tự hợp chất 1 có cùng độ dài mạch cacbon nhưng có 3 nối đôi trong phân tử.

Các tín hiệu proton được gán với tín hiệu cacbon tương ứng dựa trên kết quả phân tích phổ hai chiều HSQC (bảng 1). Phân tích chi tiết các tương tác trên phổ HMBC cho phép ta ghép nối cấu trúc của nhánh

isobutyl với nhánh tetradecatrienamide qua tương tác xa giữa proton H-1' (δ 3,16) với tín hiệu cacbon C-1 (δ 166,31). Nhánh isobutyl một lần nữa cũng được xác định dựa vào những tương tác giữa proton H-1' (δ 3,17) với các tín hiệu cacbon C-2' (δ 28,62) /C-3' (δ 20,11)/C-4' (δ 20,11); proton H-2' (δ 1,80)

với các tín hiệu cacbon C-1' (δ 46,94)/C-3' (δ 20,11)/C-4' (δ 20,11).

Như vậy, mạch amide còn lại có 14 cacbon. Vị trí của ba nối đôi của nhánh tetradecatrienamamide được xác định tại C-2, C-4 và C-8 ($\Delta^{2,4,8}$) dựa trên tương tác HMBC giữa các tín hiệu proton H-2 (δ 5,76)/H-3 (δ 7,19) với tín hiệu cacbon C-1 (δ 166,36); proton H-4 (δ 6,16) với các tín hiệu cacbon C-2 (δ 122,06)/C-3 (δ 141,10); proton H-5 (δ 6,08) với các tín hiệu cacbon C-3 (δ 141,10)/C-4 (δ 128,55)/C-6 (δ 33,03)/C-7 (δ 26,53); proton H-7 (δ 2,16) với các tín hiệu cacbon C-5 (δ 142,23)/C-8 (δ 128,22)/C-9 (δ 130,98); proton H-8 (δ 5,33) với tín hiệu cacbon C-7 (δ 26,53); proton H-9 (δ 5,40) với các tín hiệu cacbon C-7 (δ 26,53)/C-10 (δ 27,23). Cấu hình của liên kết đôi tại C-2 và C-4 cũng được xác định đều ở dạng *trans* (2*E*,4*E*) bởi hằng số tương tác lớn ($J = 15,0$ Hz). Tuy nhiên cấu hình của liên kết đôi tại C-8 rất khó xác định nếu dựa trên phổ $^1\text{H-NMR}$ do proton H-8 và H-9 bị che phủ nhưng có thể xác định dựa vào sự khác biệt của cacbon allylic trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ [5]. Sự chuyển dịch tuyến tính của tín hiệu cacbon allylic của đồng phân *Z* ($\delta < 29$) về phía trường mạnh hơn đồng phân *E* ($\delta > 31$) khoảng 5 ppm. Với độ dịch chuyển của C-7 là 26,53 ppm và C-10 là 37,23 ở hợp chất 3 thì cấu hình của nối đôi tại C-8/C-9 được xác định là *Z* [6]. Nhóm methyl δ_{C} 14,04/ δ_{H} 0,88 (3H, t, $J = 6,5$ Hz) được xác định tại vị trí cuối của nhánh tetradecatrienamamide vì tín hiệu có dạng triplet. Dựa vào các tương tác chi tiết HMBC giữa proton và cacbon kết hợp với so sánh số liệu phổ của hợp chất (2*E*,4*E*,8*Z*)-*N*-isobutyltetradecatrienamamide (C₁₈H₃₁NO₂) [7] thấy độ dịch chuyển hóa học hoàn toàn phù hợp ở những vị trí tương ứng. Như vậy, 3 được xác định là (2*E*,4*E*,8*Z*)-*N*-isobutyltetradecatrienamamide.

Hợp chất 4 thu được dưới dạng dầu, màu vàng. Phổ proton $^1\text{H-NMR}$ cho thấy hợp chất này có một mạch dài với nhiều nhóm CH₂ và 4 doublet của 4 nhóm methyl bậc I, có 3 tín hiệu singlet với độ dịch chuyển hóa học khá cao (>2 ppm) được gọi ý là nối trực tiếp vào vòng benzen, ngoài ra còn một tín hiệu singlet khác tại δ 1,23. Các tín hiệu proton nêu trên phù hợp với các tín hiệu của hợp chất α -tocopherol thường gặp trong tự nhiên.

Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT thấy xuất hiện tín hiệu của 29 nguyên tử cacbon trong đó có 8 nhóm methyl, 3 nhóm metin, 11 nhóm metilen và 7 cacbon

không nối với nguyên tử hydro nào. Sự có mặt của một vòng benzen được khẳng định bởi 6 tín hiệu cacbon có độ dịch chuyển hóa học từ 117 đến 146 ppm. Đặc biệt trên phổ cacbon và DEPT thấy rõ 1 tín hiệu cacbon bậc ba nối với oxi tại δ 74,54 (C-6). Các dữ kiện trên cho dự đoán cấu trúc của 4 là α -tocopherol. Việc so sánh các dữ kiện phổ tương ứng với α -tocopherol cũng như kiểm chứng bằng phổ 1D và 2D-NMR (HSQC, HMBC) đi đến kết luận hợp chất 4 là α -tocopherol (bảng 2) [8]. một hợp chất được biết đến với khả năng chống oxi hóa khá cao.

4. KẾT LUẬN

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp, bốn hợp chất *N*-isobutyl-2*E*,4*E*-decadienamamide (pellitorine) (1), *N*-isobutyl-2*E*,4*E*-tetradecadienamamide (2), *N*-isobutyl-2*E*,4*E*,8*E*-tetradecatrienamamide (3) và α -tocopherol (4) đã được phân lập. Cấu trúc hóa học của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ khối lượng, phổ khối lượng phân giải cao, phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều. Đây là lần đầu tiên các hợp chất 1-4 được biết đến từ chi *Tetradium*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hồ. *Cây cỏ Việt Nam*, Nxb. Trẻ, tập II, 413 (2003).
2. *Dictionary of Natural Products on DVD*, version 18.1, Copyright© 1982-2009 CRC Press
3. S. W. Tian, C. C. Feng, L. W. Pei, S. K. Chang, and S. C. Ih. *Constituents of Leaves of Tetradium glabrifolium*, Journal of Chinese Chemical Society, 42, 929-934 (1995)
4. J. R. Stohr, P. G. Xiao, R. Bauer. *Isobutylamides and a new methylbutylamide from Piper sarmentosum*, Planta Medica, 65, 175-177 (1999).
5. I. Yasuda, K. Takeya, and H. Itokawa. *Structures of Amides from Asiasarum heterotropoides* Maek. Var. Mandshuricum Maek, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 29, 564-556 (1981).
6. Q. Xiong, D. Shi, H. Yamamoto, and M. Mizuno. *Alkylamides from pericarpis of Zanthoxylum Bungeanum*, Phytochemistry, 46, 1123-1126 (1997).
7. R. H. Su, M. Kim, S. Nakajima, S. Takahashi, and M. Y. Liu. *Amides from the Fruits of Phellodendron chinense*, Journal of Integrative Plant Biology, 36(10), 817-820 (1994)
8. K. Junichi, K. Kaoru, A. Masanobu, and T. Yasuko. *Constituents of Ficus pumila leaves*, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 46(10), 1647-1649 (1998).

Liên hệ: Phan Văn Kiệt

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

E-mail: phankiem@yahoo.com; Điện thoại: 0983555031.