

TỔNG HỢP MỘT SỐ DẪN XUẤT CỦA CÁC *ENT*-KAURAN DITERPENOID TỪ CÂY KHỔ SÂM BẮC BỘ (*CROTON TONKINENSIS* GAGNEP., EUPHORBIACEAE)

Phan Minh Giang¹, Lê Anh Dũng, Phan Tổng Sơn

Khoa Hoá học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Đến Tòa soạn -11-2012

Abstract

Solution-phase combinatorial synthesis was applied to transform D ring of the main three *ent*-kaurane diterpenoids of *Croton tonkinensis* Gagnep. (Euphorbiaceae) into their oxygenated derivatives. Structures of the reaction products were confirmed by using MS, 1D and 2D NMR techniques.

Keywords. *Croton tonkinensis*, Euphorbiaceae, *ent*-kaurane, diterpenoid, transformation.

1. MỞ ĐẦU

Chi *Croton* là một chi lớn thuộc họ Thầu dầu (Euphorbiaceae) đang được quan tâm nghiên cứu trên thế giới [1]. Các hợp chất *ent*-kauran diterpenoid mới được phát hiện trong một số ít loài thuộc chi này, trong số đó có cây Khổ sâm bắc bộ (*Croton tonkinensis* Gagnep., Euphorbiaceae) [2-7]. Đây là một nhóm các diterpenoid bốn vòng thiên nhiên rất được quan tâm trong thời gian gần đây do sự phát hiện các hoạt tính gây độc tế bào và ức chế yếu tố phiên mã NF-kappa B của oridonin, ponicipidin, kamebanin, kamebakaurin, excisarin A, inflexinol và của *ent*-7 β -hydroxy-15-oxokaur-16-en-18-yl acetat từ cây Khổ sâm bắc bộ; các hoạt tính này là cơ sở khoa học quan trọng cho việc phát triển các tác nhân chống viêm và chống ung thư [8]. Để có thể phát triển các nghiên cứu ảnh hưởng của cấu trúc khung *ent*-kauran diterpenoid [9] lên các hoạt tính kháng viêm và chống ung thư, một số lượng các *ent*-kauran diterpenoid đã được phân lập từ cây Khổ sâm bắc bộ. Việc phân lập các *ent*-kauran diterpenoid chỉ xuất hiện với lượng nhỏ trong thực vật hiện đang là thách thức cho các nghiên cứu này, tuy nhiên, một số hợp chất có thể được dễ dàng điều chế từ các *ent*-kauran diterpenoid thành phần chính từ cây Khổ sâm bắc bộ qua con đường chuyển hóa hóa học sử dụng các phản ứng như oxi hóa, khử hóa, este hóa hoặc thủy phân... tại các vị trí các nhóm chức trên khung *ent*-kauran để tạo ra các dẫn xuất tương tự như các hợp chất có thể được tạo thành trong thiên nhiên trong quá trình sinh tổng hợp các terpenoid. Trong thực vật sự sinh tổng hợp các terpenoid thường xảy

qua hai giai đoạn: giai đoạn đóng vòng (*cyclase phase*) và giai đoạn oxi hóa (*oxidase phase*) các anken và liên kết C-H để tạo thành sự đa dạng cấu trúc của các terpenoid [10]. Trong nghiên cứu này chúng tôi đã áp dụng phương pháp tổng hợp tổ hợp pha lỏng [11] để thực hiện các phản ứng chuyển hóa các *ent*-kauran diterpenoid thành phần chính từ cây Khổ sâm bắc bộ là *ent*-7 β -hydroxy-15-oxokaur-16-en-18-yl acetat (1), *ent*-1 α ,14 α -diacetoxy-7 β -hydroxykaur-16-en-15-on (2) và *ent*-1 α ,7 β -diacetoxy-14 α -hydroxykaur-16-en-15-on (3) thành các dẫn xuất *ent*-kauran diterpenoid chứa oxi mới.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Phương pháp và Thiết bị

Phổ EI-MS được ghi trên thiết bị Hewlett Packard 5989B-MS Engine. Phổ ESI-MS được ghi trên thiết bị LTQ Orbitrap XL mass spectrometer (Thermo Scientific). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton (¹H-NMR, 500 MHz) và cacbon 13 (¹³C-NMR, 125 MHz) được ghi trên thiết bị Bruker Avance 500 với tetrametylsilan (TMS) là chất chuẩn nội zero ($\delta = 0$). Tính bội của các tín hiệu cacbon 13 được xác định bằng các kỹ thuật phổ DEPT. Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt, CHLB Đức) với lớp silica gel dày 0,2 mm trên nền nhôm. Phát hiện vết chất bằng các thuốc thử vanilin/H₂SO₄ đặc 1%. Sắc ký cột tĩnh chế (Mini-C) được sử dụng trong các bước tinh chế sản phẩm trên silica gel (Merck) với cỡ hạt 40-63 μ m.

2.2. Hóa chất

Hỗn hợp các *ent-7 β -hydroxy-15-oxokaur-16-en-18-yl* acetat (1), *ent-1 α ,14 α -diacetoxy-7 β -hydroxykaur-16-en-15-on* (2) và *ent-1 α ,7 β -diacetoxy-14 α -hydroxykaur-16-en-15-on* (3) đã được phân lập từ lá cây Khô sâm bắc bộ (*Croton tonkinensis* Gagnep., Euphorbiaceae) như đã được mô tả [12].

2.3. Tổng hợp các dẫn xuất *ent-kauran diterpenoid*

2.3.1 Phản ứng oxy hóa bằng $KMnO_4$

Cho 200 mg hỗn hợp các chất đầu 1-3 trong 5 ml acetone vào bình phản ứng có dung tích 25 ml. Chuẩn bị 75 mg $KMnO_4$ và 50 mg $MgSO_4$ trong 5 ml acetone. Làm lạnh bình phản ứng và hỗn hợp $KMnO_4/MgSO_4$ tới $-10^\circ C$. Cho từ từ hỗn hợp $KMnO_4/MgSO_4$ vào bình phản ứng, khuấy đều trong 30 phút sau đó khuấy tiếp ở nhiệt độ phòng trong 72 giờ. Sau khi phản ứng kết thúc lọc bỏ chất rắn, thêm 10 ml nước cất rồi cất loại hết acetone. Dịch nhận được được chiết bằng CH_2Cl_2 5 lần (mỗi lần 5 ml). Gộp các dịch chiết CH_2Cl_2 lại, làm khan bằng Na_2SO_4 và cất loại CH_2Cl_2 dưới áp suất giảm cho một cận thỏ. Cận thỏ này được phân tách bằng Mini-C (1×10 cm), *n*-hexan-aceton 6:1, cho các chất 4 (15 mg), 5 (21 mg) và 6 (9 mg).

***Ent-1 α ,7 β -diacetoxy-14 α ,16 β ,17-trihydroxykauran-15-on* (4):** Tinh thể hình kim màu trắng, d.n.c. $195-199^\circ C$. R_f 0,32 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu nâu sẫm khi hiện với thuốc thử vanillin/ H_2SO_4 đặc 1%. ESI-MS: 475,34 ($[M+Na]^+$, $C_{24}H_{36}O_8Na$). ^1H-NMR ($CDCl_3$, ppm): δ 0,87 (3H, s, 19- CH_3), 0,97 (3H, s, 18- CH_3), 1,15 (3H, s, 20- CH_3), 1,93 (3H, s, 7-OAc), 1,94 (3H, s, 1-OAc), 2,55 (1H, s br, H-13), 3,62 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-17a), 3,89 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-17b), 4,9 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-14), 5,36 (1H, m, H-7). $^{13}C-NMR$ ($CDCl_3$, ppm): δ 16,9 (t, C-11), 18,6 (q, C-18), 21,2 (q, C-19), 22,6 (t, C-2), 25,1 (t, C-6), 26,3 (t, C-12), 32,9 (q, C-20), 33,0 (s, C-4), 34,9 (t, C-3), 42,6 (s, C-10), 44,9 (d, C-13), 46,9 (d, C-9), 48,4 (d, C-5), 62,3 (t, C-17), 62,4 (s, C-8), 72,3 (d, C-1), 73,9 (d, C-7), 76,6 (d, C-14), 78,9 (s, C-16), 168,0 (s)/21,4 (q) (7-OAc), 170,1 (s)/21,2 (q) (1-OAc), 216,7 (s, C-15).

***Ent-18-axetoxy-7 β ,16 β ,17-trihydroxykauran-15-on* (5):** Tinh thể hình kim không màu, d.n.c. $155-157^\circ C$. R_f 0,21 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu nâu sẫm khi phun với thuốc thử vanillin/ H_2SO_4 đặc 1%. ESI-MS: 393,6 ($[M - H]^-$, $C_{22}H_{33}O_6$). ^1H-NMR ($CDCl_3$, ppm): δ

0,84 (3H, s, 19- CH_3), 1,11 (3H, s, 20- CH_3), 2,09 (3H, s, 18-OAc), 2,36 (1H, d br, $J = 4,5$ Hz, H-13), 3,64 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-17a), 3,65 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-18a), 3,88 (1H, dd, $J = 11,5$ Hz, 4,5 Hz, H-7), 3,89 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-17b), 3,97 (1H, d, $J = 12,0$ Hz, H-18b). $^{13}C-NMR$ ($CDCl_3$, ppm): δ 17,41 (q, C-19), 17,44 (t, C-2), 18,2 (q, C-20), 18,4 (t, C-11), 25,8 (t, C-12), 26,8 (t, C-14), 27,9 (t, C-6), 35,4 (t, C-3), 36,4 (s, C-10), 38,8 (t, C-1), 39,0 (d, C-13), 39,3 (s, C-4), 46,5 (d, C-5), 52,7 (d, C-9), 59,4 (s, C-8), 63,1 (t, C-17), 70,8 (d, C-7), 72,3 (t, C-18), 77,4 (s, C-16), 171,3 (s)/21,1 (q) (18-OAc), 222,3 (s, C-15).

***Ent-1 α ,14 α -diacetoxy-7 β ,16 β ,17-trihydroxykauran-15-on* (6):** Tinh thể hình kim không màu, d.n.c. $240-244^\circ C$. R_f 0,55 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu tím đen khi phun với thuốc thử vanillin/ H_2SO_4 đặc 1%. ^1H-NMR ($CDCl_3$, ppm): δ 0,89 (3H, s, 19- CH_3), 0,97 (3H, s, 18- CH_3), 1,13 (3H, s, 20- CH_3), 2,00 (3H, s, 1-OAc), 2,13 (3H, s, 14-OAc), 2,53 (1H, s br, H-13), 4,12 (1H, d, $J = 11,5$ Hz, H-17a), 4,20 (1H, dt, $J = 11,5$ Hz, 4,0 Hz, H-7), 4,43 (1H, d, $J = 11,5$ Hz, H-17b), 4,79 (1H, s br, H-1), 5,04 (1H, s br, H-14). $^{13}C-NMR$ ($CDCl_3$, ppm): δ 17,1 (t, C-11), 18,5 (q, C-18), 20,8 (q, C-19), 22,6 (t, C-2), 26,3 (t, C-6), 28,2 (t, C-12), 32,9 (s, C-4), 33,2 (q, C-20), 34,9 (t, C-3), 42,5 (s, C-10), 45,2 (d, C-13), 47,1 (d, C-9), 47,8 (d, C-5), 62,4 (s, C-8), 63,6 (t, C-17), 72,4 (d, C-1), 73,9 (d, C-7), 77,3 (d, C-14), 78,4 (s, C-16), 170,1 (s)/21,2 (q) (1-OAc), 171,1 (s)/21,3 (q) (14-OAc), 217,0 (s, C-15).

2.3.2 Phản ứng khử hóa bằng $NaBH_4$

Cho 200 mg hỗn hợp các chất đầu 1-3 vào bình phản ứng dung tích 25 ml. Thêm 10 ml MeOH sau đó cho từ từ 50 mg $NaBH_4$ vào dung dịch phản ứng, khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 ngày. Sau khi phản ứng kết thúc thêm 10 ml nước cất vào bình phản ứng, cất loại MeOH, sau đó chiết dung dịch nhận được với CH_2Cl_2 5 lần (mỗi lần 5 ml). Gộp các dịch chiết CH_2Cl_2 lại, làm khan bằng Na_2SO_4 sau đó cất loại CH_2Cl_2 dưới áp suất giảm thu được một cận thỏ. Cận thỏ này được phân tách bằng Mini-C (1×10 cm), *n*-hexan-aceton 12:1, cho các chất 7 (24 mg), 8 (30 mg) và 9 (15 mg).

***16(R)-Ent-18-axetoxy-7 β -hydroxykauran-15-on* (7):** Tinh thể hình lá màu trắng, d.n.c. $165-170^\circ C$. R_f 0,6 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu đỏ tươi khi hiện với thuốc thử vanillin/ H_2SO_4 đặc 1%. ESI-MS: 385 ($[M + Na]^+$, $C_{22}H_{34}O_6Na$). ^1H-NMR ($CDCl_3$, ppm): δ 0,84 (3H, s, 18- CH_3), 1,1 (3H, d, $J = 7,0$ Hz, 17- CH_3), 1,12 (3H, s, 20- CH_3), 2,08 (3H, s, 18-OAc), 2,23 (1H, quintet,

$J = 7,0$ Hz, H-16), 2,47 (1H, d br, $J = 2,5$ Hz, H-13), 3,64 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-18a), 3,86 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-18b), 3,91 (1H, dd, $J = 11,5$ Hz, 4,0 Hz, H-7). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): δ 9,9 (q, C-17), 17,4 (q, C-19), 17,5 (t, C-2), 17,8 (t, C-11), 18,2 (q, C-20), 25,2 (t, C-12), 28,3 (t, C-6), 28,4 (t, C-14), 34,4 (d, C-13), 35,5 (t, C-3), 36,4 (s, C-4), 38,7 (s, C-10), 39,2 (t, C-1), 46,5 (d, C-5), 48,3 (d, C-16), 51,7 (d, C-9), 58,4 (s, C-8), 71,2 (d, C-7), 72,3 (t, C-18), 171,2 (s)/21,0 (q) (18-OAc), 223,9 (s, C-15).

16(R)-Ent-1 α -acetoxy-7 β ,14 α -dihydroxykauran-15-on (8): Tinh thể hình kim không màu, đ.n.c. 154-157 °C. R_f 0,45 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu nâu đen khi phun với thuốc thử vanillin/ H_2SO_4 đặc 1%. ESI-MS: 377,28 ([M-H]⁻, $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_5$). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): δ 0,89 (3H, s, 19-CH₃), 0,96 (3H, s, 18-CH₃), 1,11 (3H, d, $J = 7,5$ Hz, 17-CH₃), 1,15 (3H, s, 20-CH₃), 2,01 (3H, s, 1-OAc), 2,45 (1H, d br, $J = 5,5$ Hz, H-13), 2,89 (1H, quintet, $J = 7,5$ Hz, H-16), 4,25 (1H, dt, $J = 11,5$ Hz, 4,0 Hz, H-7), 4,83 (1H, s br, H-1), 4,98 (1H, s, H-14). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): δ 9,2 (q, C-17), 16,7 (t, C-11), 18,6 (q, C-20), 21,3 (q, C-19), 22,7 (t, C-2), 24,6 (t, C-6), 28,2 (t, C-12), 32,9 (s, C-4), 33,2 (q, C-18), 35,1 (t, C-3), 42,0 (d, C-13), 42,5 (d, C-16), 42,7 (s, C-10), 46,7 (d, C-9), 47,4 (d, C-5), 60,8 (s, C-8), 72,6 (d, C-1), 74,9 (d, C-14), 75,2 (d, C-7), 170,2 (s)/21,4 (q) (1-OAc), 222,4 (s, C-15).

Ent-7 β ,15 α ,18-trihydroxykaur-16-en (9): Tinh thể dạng hạt nhỏ màu trắng, đ.n.c. 183-185 °C. R_f 0,23 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu tím đen khi hiện với thuốc thử vanillin/ H_2SO_4 đặc 1%. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): δ 0,74 (3H, s, 19-CH₃), 1,09 (3H, s, 20-CH₃), 2,71 (1H, s br, H-13), 3,03 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-18a), 3,48 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-18b), 3,62 (1H, dd, $J = 11,0$ Hz, 4,0 Hz, H-7), 4,48 (1H, s br, H-15), 4,98 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, H-17a), 5,11 (1H, s, H-17b). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): δ 17,8 (q, C-19), 17,9 (t, C-2), 18,0 (t, C-11), 18,2 (q, C-20), 27,5 (t, C-6), 29,0 (t, C-14), 33,8 (t, C-12), 34,9 (t, C-3), 37,4 (s, C-4), 38,3 (s, C-10), 38,9 (t, C-1), 39,9 (d, C-13), 44,9 (d, C-9), 45,7 (d, C-5), 51,1 (s, C-8), 71,3 (t, C-18), 71,7 (d, C-7), 75,7 (d, C-15), 105,1 (t, C-17), 158,0 (s, C-16).

2.3.3. Phản ứng với MeOH được xúc tác bằng $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

Cho 200 mg hỗn hợp các chất dầu 1-3 vào bình phản ứng dung tích 25 ml, thêm 5 ml MeOH và 5 ml benzen vào bình phản ứng, khuấy đều rồi thêm tiếp 1,5 ml $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. Đun hồi lưu hỗn hợp phản ứng ở 70 °C trong 3 ngày. Sau khi phản ứng kết thúc thêm 10 ml nước cất vào bình phản ứng, cất loại MeOH

sau đó chiết dung dịch nhận được với CH_2Cl_2 5 lần (mỗi lần 5 ml). Gộp các dịch chiết rồi làm khan bằng Na_2SO_4 và cất loại CH_2Cl_2 dưới áp suất giảm, thu được một cặn thô. Cặn thô này được phân tách bằng Mini-C (1 \times 10 cm), *n*-hexan-aceton 12:1, cho các chất 10 (21 mg) và 11 (45 mg).

Ent-1 α -acetoxy-7 β ,14 α -dihydroxykaur-16-en-15-on (10): Tinh thể hình kim màu trắng, đ.n.c. 119-122 °C. R_f 0,45 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu đỏ nâu khi hiện với thuốc thử vanillin/ H_2SO_4 đặc 1%. ESI-MS: 375,61 ([M-H]⁻, $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_5$). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): δ 0,9 (3H, s, 18-CH₃), 0,98 (3H, s, 19-CH₃), 1,16 (3H, s, 20-CH₃), 1,99 (3H, s, 1-OAc), 3,07 (1H, s br, H-13), 4,38 (1H, dd, $J = 12,5$ Hz, 4,0 Hz, H-7), 4,85 (1H, s br, H-1), 4,89 (1H, s, H-14), 5,41 (1H, s, H-17a), 6,18 (1H, s, H-17b). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): δ 16,8 (t, C-11), 18,6 (q, C-20), 21,5 (q, C-19), 22,7 (t, C-2), 27,7 (t, C-6), 30,9 (t, C-12), 32,9 (s, C-4), 33,3 (q, C-18), 34,9 (t, C-3), 42,8 (s, C-10), 45,9 (d, C-13), 46,3 (d, C-5), 47,3 (d, C-9), 61,4 (s, C-8), 72,8 (d, C-1), 74,6 (d, C-7), 74,9 (d, C-14), 118,2 (t, C-17), 147,4 (s, C-16), 170,1 (t)/21,2 (q), 1-OAc), 207,9 (s, C-15).

16(S)-Methoxymethyl-ent-7 β ,18-dihydroxykauran-15-on (11): Tinh thể dạng hạt nhỏ màu trắng, đ.n.c. 98-100 °C. R_f 0,27 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu đen khi hiện với thuốc thử vanillin/ H_2SO_4 đặc 1%. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): δ 0,76 (3H, s, 19-CH₃), 1,11 (3H, s, 20-CH₃), 2,69 (1H, s br, H-13), 3,09 (1H, d, $J = 10,5$ Hz, H-18a), 3,36 (3H, s, 17-OCH₃), 3,42 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz, 9,0 Hz, H-17a), 3,44 (1H, d, $J = 10,5$ Hz, H-18b), 3,78 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz, 4,5 Hz, H-7), 3,97 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz, 4,5 Hz, H-17b). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , ppm): δ 17,5 (q, C-19), 17,6 (t, C-2), 18,1 (t, C-11), 18,2 (q, C-20), 25,4 (t, C-14), 28,1 (t, C-6), 28,3 (t, C-12), 32,1 (d, C-13), 34,9 (t, C-3), 37,5 (s, C-4), 38,7 (t, C-1), 39,1 (s, C-10), 45,7 (d, C-5), 51,9 (d, C-9), 54,3 (d, C-16), 58,8 (s, C-8), 58,9 (q, 17-OCH₃), 69,3 (t, C-17), 71,1 (d, C-7), 71,6 (t, C-18), 221,3 (s, C-15).

2.3.4. Phản ứng thủy phân bằng KOH/MeOH

Cho 200 mg chất dầu vào bình cầu phản ứng có dung tích 25 ml. Thêm 5 ml dung dịch 15% KOH/MeOH vào bình phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được đun hồi lưu ở nhiệt độ 60°C trong 12 giờ. Sau khi phản ứng kết thúc thêm 30 ml nước cất vào hỗn hợp trên và cất loại MeOH. Chiết dung dịch nhận được 5 lần bằng CH_2Cl_2 (mỗi lần 5 ml). Rửa bằng nước cất đến pH 7, gộp các dịch chiết CH_2Cl_2 lại, làm khan bằng Na_2SO_4 và cất loại CH_2Cl_2 , thu được một cặn thô. Cặn thô này được phân tách bằng Mini-C (1 \times 10 cm), *n*-hexan-aceton 9:1, cho chất 10 (34 mg).

Ent-1a-acetoxy-7 β ,14 α -dihydroxykaur-16-en-15-on (10): Tinh thể hình kim màu trắng, đ.n.c. 119-122°C. R_f 0,45 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu đỏ nâu khi hiện với thuốc thử vanilin/H₂SO₄ 1%. Phổ ESI-MS, ¹H-NMR (CDCl₃) và ¹³C-NMR (CDCl₃) đồng nhất với các phổ tương ứng của chất 10 ở Mục 2.3.3.

2.3.5. Phản ứng epoxi hóa và mở vòng epoxid bằng thủy phân kiềm

Cho 0,5 g hỗn hợp các chất đầu 1-3 vào bình cầu phản ứng có dung tích 50 ml. Hòa tan hết chất đầu trong 16 ml CH₂Cl₂. Hòa tan 0,4 g MCPBA (acid *meta*-chloroperbenzoic) trong 16 ml CH₂Cl₂. Làm lạnh bình phản ứng đến -10°C. Làm lạnh dung dịch peracid đến -5°C. Nhỏ giọt dung dịch peracid vào bình phản ứng, khuấy đều trong thời gian 40 phút. Khuấy tiếp hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng rồi để yên trong 3 ngày. Sau khi phản ứng kết thúc hỗn hợp sau phản ứng được rửa với dung dịch NaHCO₃ bão hòa 3 lần (mỗi lần 30 ml), chiết lớp nước với CH₂Cl₂. Cuối cùng rửa bằng nước cất 4 lần đến pH trung tính. Làm khan dung dịch nhận được bằng Na₂SO₄. Cất loại dung môi dưới áp suất giảm cho sản phẩm thô (215 mg).

Cho 200 mg sản phẩm thô vào bình phản ứng có dung tích 25 ml. Đun hồi lưu hỗn hợp phản ứng với 10 ml dung dịch 2,5% NaOH trong MeOH ở nhiệt độ 60 °C trong 2 giờ. Sau khi phản ứng kết thúc thêm nước cất vào bình phản ứng. Chiết hỗn hợp phản ứng 5 lần bằng CH₂Cl₂ (mỗi lần 5 ml). Gộp các dịch chiết CH₂Cl₂ lại, rửa bằng nước cất đến môi trường trung tính. Làm khan dung dịch nhận được bằng Na₂SO₄, lọc và cất loại CH₂Cl₂ dưới áp suất giảm, thu được một cận thỏ. Cận thỏ này được tinh chế bằng Mini-C trên silica gel, *n*-hexan-aceton 6:1, cho hỗn hợp các chất 12 và 13 (18 mg) và 10 (35 mg).

Hỗn hợp ent-7 β ,18-dihydroxykauran-15-on-16,17-oxid (12) và ent-1a-acetoxy-7 β ,14 α ,16,17-tetrahydroxykauran-15-on (13) (¹H-NMR, 2:1): Bột vô định hình màu trắng. R_f 0,48 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu nâu đen khi hiện với thuốc thử vanilin/H₂SO₄ đặc 1%. ¹H-NMR (CDCl₃, ppm) (12): δ 0,77 (3H, s, 19-CH₃), 1,16 (3H, s, 20-CH₃), 2,96 (1H, d, *J* = 7,5 Hz, H-17a), 3,06 (1H, d, *J* = 11,0 Hz, H-18a), 3,25 (1H, d, *J* = 7,5 Hz, H-17b), 3,47 (1H, d, *J* = 11,0 Hz, H-18b), 4,09 (1H, dd, *J* = 11,5 Hz, 4,5 Hz, H-7). ¹H-NMR (CDCl₃, ppm) (13): δ 0,89 (3H, s, 19-CH₃), 0,97 (3H, s, 18-CH₃), 1,16 (3H, s, 20-CH₃), 1,99 (3H, s, 1-OAc), 3,68 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-17a), 3,84 (1H, d, *J* = 10,0 Hz, H-17b), 4,09 (1H, dd, *J* = 11,5 Hz, 4,5 Hz, H-7), 4,82 (1H, s br, H-1), 4,94 (1H, s br, H-14).

Ent-1a-acetoxy-7 β ,14 α -dihydroxykaur-16-en-15-on (10): Tinh thể hình kim màu trắng, đ.n.c. 119-122°C. R_f 0,45 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu đỏ nâu khi hiện với thuốc thử vanilin/H₂SO₄ đặc 1%. Phổ ¹H-NMR (CDCl₃) đồng nhất với phổ của chất 10 ở Mục 2.3.3.

2.3.6 Phản ứng acetyl hóa

Cho 100 mg hỗn hợp các chất đầu 1-3 vào bình cầu phản ứng có dung tích 25 ml. Thêm 0,7 ml anhydrid acetic, sau đó cho 0,5 ml pyridin (làm khan kỹ bằng KOH rắn và chưng cất trước khi dùng) vào bình phản ứng. Khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 ngày. Sau phản ứng, thêm nước cất và dung dịch HCl 7M vào bình phản ứng. Chiết hỗn hợp phản ứng 7 lần bằng CH₂Cl₂ (mỗi lần 6 ml). Gộp các dịch chiết CH₂Cl₂ lại, rửa bằng nước cất đến môi trường trung tính. Làm khan và cất loại CH₂Cl₂ ở áp suất giảm cho một cận thỏ. Cận thỏ này được phân tách bằng Mini-C trên silica gel, *n*-hexan-aceton 12:1, cho các chất 14 (21 mg) và 15 (18 mg).

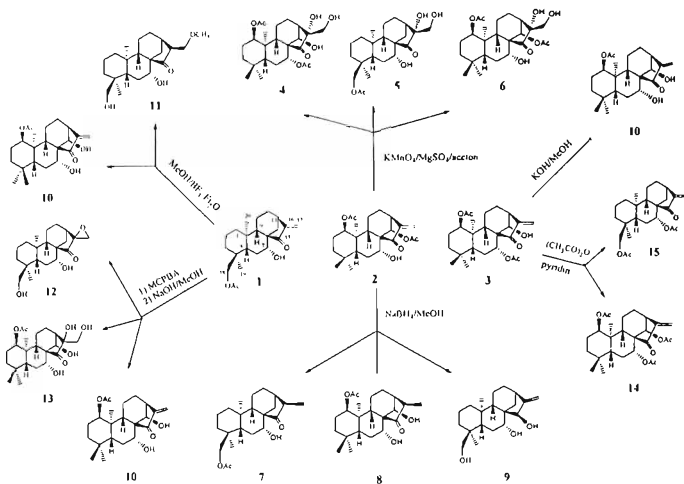
Ent-1a,7 β ,14 α -triacetoxykaur-16-en-15-on (14): Tinh thể hình kim màu trắng, đ.n.c. 254-257°C. R_f 0,67 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu tím hồng khi hiện với thuốc thử vanilin/H₂SO₄ đặc 1%. EI-MS: *m/z* 460 (C₂₆H₃₆O₇, M⁺). ¹H-NMR (CDCl₃, ppm): δ 0,86 (3H, s, 19-CH₃), 0,92 (3H, s, 18-CH₃), 1,29 (3H, s, 20-CH₃), 1,93 (3H, d, *J* = 1,0 Hz), 1,98 (3H, d, *J* = 1,0 Hz), 2,01 (3H, d, *J* = 1,0 Hz) (1-OAc, 7-OAc, 14-OAc), 3,03 (1H, s, H-13), 4,85 (1H, s, H-1), 5,27 (1H, dd, *J* = 10,5 Hz, 5,0 Hz, H-7), 5,38 (1H, s, H-17a), 6,02 (1H, s, H-14), 6,12 (1H, s, H-17b). ¹³C-NMR (CDCl₃, ppm): δ 16,5 (t, C-11), 18,6 (q, C-20), 22,6 (q, C-19), 22,9 (t, C-2), 24,3 (t, C-6), 32,4 (t, C-12), 32,9 (s, C-4), 33,1 (q, C-18), 34,9 (t, C-3), 42,9 (s, C-10), 44,2 (d, C-13), 47,3 (d, C-5), 48,5 (d, C-9), 60,9 (s, C-8), 72,8 (d, C-1), 73,7 (d, C-7), 74,9 (d, C-14), 117,8 (t, C-17), 145,5 (s, C-16), 169,6 (s)/21,2 (q), 170,2 (s)/21,3 (q), 170,8 (s)/21,4 (q) (1-OAc, 7-OAc, 14-OAc), 204,1 (s, C-15).

Ent-7 β ,18-diacetoxykaur-16-en-15-on (15) Tinh thể hình kim màu trắng, R_f 0,63 (TLC, silica gel, *n*-hexan-aceton 2:1, v:v), vết chất có màu tím hồng khi hiện với thuốc thử vanilin/H₂SO₄ đặc 1%. ¹H-NMR (CDCl₃, ppm): δ 0,82 (3H, s, 19-CH₃), 1,15 (3H, s, 20-CH₃), 1,91 (3H, s, 7-OAc), 2,13 (3H, s, 18-OAc), 3,10 (1H, s br, H-13), 3,6 (1H, d, *J* = 11,0 Hz, H-18a), 3,85 (1H, d, *J* = 11,0 Hz, H-18b), 5,1 (1H, dd, *J* = 11,0 Hz, 4,5 Hz, H-7), 5,29 (1H, s, H-17a), 5,96 (1H, s, H-17b). ¹³C-NMR (CDCl₃, ppm): δ 17,6 (t, C-2), 17,7 (q, C-19), 17,9 (t, C-11), 18,2 (q, C-20), 24,4 (t, C-6), 29,2 (t, C-14), 32,6 (t, C-12), 35,7 (t, C-3), 35,7 (d, C-13), 36,4 (s, C-4), 38,9 (t, C-1), 39,6 (s, C-10), 45,8 (d, C-5), 51,9 (d, C-9), 56,2 (s, C-8), 71,9 (d, C-7), 73,1 (t, C-18), 115,2 (t, C-17), 148,7

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các *ent*-kauran diterpenoid *ent*-7 β -hydroxy-15-

oxokaur-16-en-18-yl acetat (1), *ent*-1 α ,14 α -diacetoxy-7 β -hydroxykaur-16-en-15-on (2) và *ent*-1 α ,7 β -diacetoxy-14 α -hydroxykaur-16-en-15-on (3) đã được chuyển hoá ở vòng D của khung *ent*-kauran để cho các dẫn xuất mới (Sơ đồ 1).



Sơ đồ 1: Chuyển hóa các *ent*-kauran diterpenoid 1-3

Nghiên cứu đã thực hiện thành công phản ứng oxi hóa liên kết đôi exomethylen của vòng D của các *ent*-kauran diterpenoid 1-3 để cho các dẫn xuất *ent*-16,17-dihydroxykauran-15-on; phản ứng khử hóa bằng NaBH_4 các keton α,β không no ở vòng D của dãy *ent*-kauran diterpenoid cho các dẫn xuất 16(*R*)-*ent*-kauran-15-on và *ent*-15 α -hydroxykaur-16-en; phản ứng thủy phân các nhóm acetoxy trong các *ent*-kauran diterpenoid cho dẫn xuất dihydroxykaur-16-en-15-on; phản ứng cộng nucleophilin (MeOH) theo kiểu Michael cho *ent*-17-methoxykauran-15-on; phản ứng epoxi hóa và nối tiếp mở vòng epoxid bằng thủy phân kiểm cho *ent*-7 β ,18-dihydroxykauran-15-on-16,17-oxid, *ent*-1 α -acetoxy-7 β ,14 α ,16,17-tetrahydroxykauran-15-on và *ent*-1 α -acetoxy-7 β ,14 α -dihydroxykaur-16-en-15-on và phản ứng acetyl hóa các *ent*-kauran diterpenoid thành *ent*-1 α ,7 β ,14 α -triacetoxykaur-16-en-15-on và *ent*-7 β ,18-diacetoxykaur-16-en-15-on. Các *ent*-kauran tổng

hợp được đều chứa các nhóm chức thường gặp ở vòng D của các *ent*-kauran diterpenoid được phân lập từ thiên nhiên. Cấu trúc của 12 hợp chất *ent*-kauran diterpenoid tổng hợp đã được xác định bằng các phương pháp phổ (MS và NMR).

Phản ứng oxi hóa liên kết đôi exomethylen ở vòng D của các chất 1, 2 và 3 đã được thực hiện với $\text{KMnO}_4/\text{acetone}$ với MgSO_4 làm chất xúc tác. Tiến trình phản ứng được theo dõi bằng TLC cho thấy sự chuyển hóa các chất đầu thành ba sản phẩm chính có các giá trị R_f lần lượt là 0,21, 0,32 và 0,55 (TLC, hệ dung môi *n*-hexan-aceton 2:1). Phân tách các sản phẩm này bằng Mini-C, hệ dung môi rửa giải *n*-hexan-aceton 6:1. Các sản phẩm được phân tích cấu trúc bằng các phổ ESI-MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và DEPT cho thấy các chất này là *ent*-1 α ,7 β -diacetoxy-14 α ,16 β ,17-trihydroxykauran-15-on (4), *ent*-18-acetoxy-7 β ,16 β ,17-trihydroxykauran-15-on (5) và *ent*-1 α ,14 α -diacetoxy-7 β ,16 β ,17-trihydroxykauran-

15-on (6). Kết quả thực nghiệm này cho thấy các chất 1, 2 và 3 đã được chuyển hóa thành các sản phẩm oxy hóa liên kết đôi C_{16}/C_{17} thành các dẫn xuất 16,17-diol tương ứng. Hóa lập thể 16 α -hydroxy-16 β -hydroxymethyl của các hợp chất nhận được đã được xác định trên cơ sở sự phù hợp các độ chuyển dịch hóa học của C-15, C-16 và C-17 của vòng D với các giá trị của đây tương tự các *ent*-kauranoid được phân lập từ thiên nhiên [13].

Phản ứng khử hóa các keton α,β không no ở vòng D của các chất 1, 2 và 3 đã được thực hiện với $NaBH_4$ trong MeOH. Tiến trình phản ứng được theo dõi bằng TLC cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn các chất đầu thành ba sản phẩm chính có các giá trị R_f lần lượt là 0,6, 0,45 và 0,23 (TLC, hệ dung môi *n*-hexan-aceton 2:1). Phân tách các sản phẩm này bằng Mini-C, hệ dung môi rửa giải *n*-hexan-aceton 12:1. Các sản phẩm được phân tích cấu trúc bằng các phổ ESI-MS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR và DEPT cho thấy các chất này là *ent*-18-acetoxy-7 β -hydroxykauran-15-on (7), *ent*-1 α -acetoxy-7 β ,14 α -dihydroxykauran-15-on (8) và *ent*-7 β ,15 α ,18-trihydroxykaur-16-en (9). Các kết quả thực nghiệm này cho thấy chất 1 đã chuyển thành các sản phẩm được khử hóa ở liên kết đôi C_{16}/C_{17} (theo kiểu cộng Michael các nucleophin vào các nối đôi α,β không no) (7) và nhóm carbonyl ở vị trí C_{15} (khử hóa nhóm carbonyl α,β không no) (9). Sự khử hóa theo kiểu này đã được mô tả trong một số hợp chất carbonyl α,β không no [14]. Các chất 2 và 3 cũng bị khử nối đôi C_{16}/C_{17} thành nhóm 16-methyl (8) Tuy nhiên, trong điều kiện thời gian phản ứng dài các nhóm 7 α -acetoxy và 14 β -acetoxy cũng đồng thời bị khử thành các nhóm hydroxy. Hóa lập thể 16(*R*) của các nhóm methyl ở 7 và 8 đã được xác định bằng cách so sánh các độ chuyển dịch hóa học cacbon 13 của C-16 và C-17 với các hợp chất 16(*R*)-*ent*-kauran-15-on (δ_{C-16} 48,3 và δ_{C-17} 9,9) và 16(*S*)-*ent*-kauran-15-on (δ_{C-16} 46,8 và δ_{C-17} 15,3) [15].

Các nhóm acetoxy trong các *ent*-kauran diterpenoid thường được thủy phân trong môi trường kiềm để cho các nhóm hydroxy. Chúng tôi đã tiến hành thủy phân hỗn hợp các chất 1, 2 và 3 với dung dịch 15% KOH trong MeOH. Tiến trình phản ứng được theo dõi bằng TLC cho thấy xuất hiện một sản phẩm mới có R_f 0,45 (TLC, hệ dung môi *n*-hexan-aceton 2:1). Phân lập sản phẩm này bằng Mini-C, hệ dung môi rửa giải *n*-hexan-aceton 9:1, thu được sản phẩm 10. Phân tích cấu trúc bằng các phổ ESI-MS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR và DEPT cho thấy 10 là *ent*-1 α -acetoxy-7 β ,14 α -dihydroxykaur-16-en-15-on. Các kết quả thực nghiệm cho thấy trong điều kiện này các nhóm 14 β -acetoxy và 7 α -acetoxy của các chất 2 và 3 đã bị thủy phân thành các nhóm hydroxy. Khả năng phản ứng

kém hơn của nhóm 1 β -acetoxy trong các phản ứng thủy phân có thể là do hiệu ứng không gian của nhóm methyl ở C-10, tuy nhiên điều này còn cần có các khảo sát thêm.

Phản ứng với MeOH với xúc tác axit Lewis $BF_3 \cdot Et_2O$ của các *ent*-kauran diterpenoid 1, 2 và 3 đã được thực hiện. Tiến trình phản ứng được theo dõi bằng TLC cho thấy có sự chuyển hóa các chất đầu thành hai sản phẩm chính có các giá trị R_f tương ứng là 0,45 và 0,27 (TLC, hệ dung môi *n*-hexan-aceton 2:1). Phân tách các sản phẩm này bằng Mini-C với hệ dung môi rửa giải *n*-hexan-aceton 12:1. Các sản phẩm được phân tích cấu trúc bằng các phổ ESI-MS, 1H -NMR, ^{13}C -NMR và DEPT cho thấy các hợp chất này là *ent*-1 α -acetoxy-7 β ,14 α -dihydroxykaur-16-en-15-on (10) và 16(*S*)-methoxymethyl-*ent*-7 β ,18-dihydroxykauran-15-on (11). Các kết quả thực nghiệm này cho thấy chất 1 đã chuyển thành chất 11 là sản phẩm của phản ứng cộng nucleophin theo kiểu Michael trong đó tác nhân nucleophin là MeOH, đồng thời có quá trình thủy phân nhóm 18-acetoxy; các nhóm 14 β -acetoxy và 7 α -acetoxy của các chất 2 và 3 cũng dễ dàng bị thủy phân thành nhóm hydroxy để cho sản phẩm 10.

Liên kết đôi exometylen ở vòng D của các *ent*-kauran-16-en-15-on có thể tạo liên kết với oxy qua vòng epoxid bằng phản ứng oxi hóa bằng tác nhân MCPBA (acid *meta*-chloroperbenzoic), mặc dù nối đôi bị epoxi hóa thuộc cấu trúc keton α,β không no. Phản ứng đã được thực hiện ở nhiệt độ phòng. Sau đó phản ứng mở vòng epoxid bằng thủy phân kiềm đã được thực hiện với sản phẩm thô nhận được. Các epoxid có khả năng phản ứng mạnh do đó có thể bị thủy phân hoặc dung môi phân (solvolysis) để tạo thành các 1,2-diol hoặc các ether tương ứng. Do đó, đây là phương pháp thích hợp để nhận được các diol trong trường hợp các phản ứng oxi hóa bằng osmi tetroxid hoặc kali pemanganat có thể dẫn đến sự phân cắt liên kết C-C của diol được tạo thành. Tiến trình phản ứng được theo dõi bằng TLC cho thấy sự chuyển hóa các chất đầu thành 2 sản phẩm chính. Phân tách các sản phẩm này bằng Mini-C, hệ dung môi rửa giải *n*-hexan-aceton 6:1. Các sản phẩm được phân tích cấu trúc bằng phổ 1H -NMR cho thấy một hỗn hợp của 2 chất *ent*-7 β ,18-dihydroxykauran-15-on-16,17-oxid (12) và *ent*-1 α -acetoxy-7 β ,14 α ,16,17-tetrahydroxykauran-15-on (13) cùng với *ent*-1 α -acetoxy-7 β ,14 α -dihydroxykaur-16-en-15-on (10) đã được tạo thành. Kết quả thực nghiệm này cho thấy chất 1 đã được chuyển hóa thành chất 12 là sản phẩm của phản ứng epoxi hóa, đồng thời có sự thủy phân nhóm 18-acetoxy. Chất 2 và 3 đã được chuyển hóa thành chất 13 là sản phẩm của phản ứng epoxi hóa sau đó mở vòng epoxid bằng thủy phân kiềm, đồng thời các nhóm 14 β -acetoxy và 7 α -acetoxy của các

hydroxy. Chất 10 là sản phẩm thủy phân các nhóm 14 β -acetoxy và 7 α -acetoxy của các chất 2 và 3, cho thấy một phần các chất này đã không bị chuyển thành epoxid trong phản ứng epoxi hóa liên kết đôi.

Phản ứng acetyl hóa các nhóm hydroxy ở vòng D của các chất 1, 2 và 3 đã được thực hiện với (CH₃CO)₂O và xúc tác pyridin. Tiến trình phản ứng được theo dõi bằng TLC cho thấy sự chuyển hóa các chất đầu thành hai sản phẩm có giá trị R_f lần lượt là 0,67 và 0,63 (TLC, hệ dung môi n-hexan-aceton 2:1). Phân tách các sản phẩm này bằng Mini-C, hệ dung môi rửa giải n-hexan-aceton 12 l. Các sản phẩm được phân tích cấu trúc bằng các phổ EI-MS, ¹H-NMR và ¹³C-NMR cho thấy các chất này là *ent*-1 α ,7 β ,14 α -triacetoxykaur-16-en-15-on (14) và *ent*-7 β ,18-diacetoxykaur-16-en-15-on (15). Kết quả thực nghiệm này cho thấy các chất 2 và 3 đã được chuyển hóa thành chất 14 là sản phẩm của phản ứng acetyl hóa các nhóm 7 α -hydroxy và 14 β -hydroxy và chất 1 đã được chuyển hóa thành sản phẩm 15 là sản phẩm của phản ứng acetyl hóa nhóm 7 α -hydroxy.

4. KẾT LUẬN

Một nhóm các dẫn xuất *ent*-kauran diterpenoid đã được tổng hợp từ các *ent*-kauran diterpenoid thành phần chính của cây Khổ sâm bắc bộ (*Croton tonkinensis* Gagnep., Euphorbiaceae) bằng phương pháp tổng hợp tổ hợp pha lỏng. Phương pháp tiếp tục được áp dụng với các phản ứng khác nhằm tiếp tục mở rộng tập hợp các dẫn xuất có khung *ent*-kauran diterpenoid.

Lời cảm ơn: Công trình nghiên cứu này được hoàn thành với sự tài trợ của Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED), Hà Nội, Việt Nam, mã số 104.01.137.09.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. A. Salatino, M. L. Faria Salatino, G. Negri. *Traditional uses and pharmacology of Croton species (Euphorbiaceae)*, J. Braz. Chem. Soc., **18**, 11-33 (2007).
2. Phan Tổng Sơn, Văn Ngọc Hương, Phan Minh Giang, Taylor W. C. *Đóng góp vào việc nghiên cứu hoạt chất sinh học từ cây khổ sâm Bắc Bộ (Croton tonkinensis Gagnep., Euphorbiaceae)*, Tạp chí Hoá học, **37**, 57-59 (1999).

3. *Đóng góp vào việc nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính sinh học cây khổ sâm Bắc Bộ (Croton tonkinensis Gagnep., Euphorbiaceae)*, Tạp chí Hoá học, **40**, 53-57 (2002).
4. Phan M. G., Jin H. E., Phan T. S., Lee J. H., Hong Y. S., Lee J. J. *ent*-Kaurane diterpenoids from *Croton tonkinensis* inhibit LPS-induced NF- κ B activation and NO production, J. Nat. Prod., **66**, 1217-1220 (2003).
5. Phan M. G., Phan T. S., Lee J. J., Otsuka H., Taylor Walter C. *Chemical constituents and therapeutic potential of the Vietnamese medicinal plant Croton tonkinensis Gagnep. (Euphorbiaceae)*, Asian Symposium on Medicinal Plants, Spices and Other Natural Products (ASOMPS XI), October 2003, Kunming, China (2003).
6. Phan M. G., Phan T. S., Hamada Y., Otsuka H. *Cytotoxic diterpenoids from Vietnamese medicinal plant Croton tonkinensis Gagnep.*, Chem. Pharm. Bull., **53**, 296-300 (2005).
7. Phan M. G., Phan T. S., Matsunami K., Otsuka H., *Anti-staphylococcal activity of ent-kaurane-type diterpenoids from Croton tonkinensis*, J. Nat. Med., **60**, 93-95 (2006).
8. B. de las Heras, S. Hostelano. *Molecular basis of the anti-inflammatory effects of terpenoids*, Inflammation & Allergy-Drug Targets, **8**, 28-29 (2009).
9. D. J. Newman, G. M. Cragg. *Natural product scaffolds as leads to drugs*, Future Medicinal Chemistry, **1**, 1415-1427 (2009).
10. K. Chen, P. S. Baran. *Total synthesis of eudesmane terpenes by site-selective C-H oxidations*, Nature, **459**, 824-828 (2009).
11. K. Kumar, H. Waldmann. *Synthesis of natural product inspired compound collections*, Angew. Chem. Int. Ed., **48**, 3224-3242 (2009).
12. Phan Tổng Sơn, Phan Minh Giang, Văn Ngọc Hương, Đào Văn Phan. *Phương pháp chiết tách hỗn hợp ent-kauran diterpenoid có tác dụng chống viêm từ lá cây Khổ sâm Bắc Bộ (Croton tonkinensis Gagnep., Euphorbiaceae)*, Bằng độc quyền sáng chế số 9226 (2011)
13. S. Shimizu, T. Miyase, K. Umehara, A. Ueno. *Kaurane-type terpenes from Adenostemma lavenia O. Kuntze*, Chem. Pharm. Bull., **38**, 1308-1312 (1990).
14. *Organikum (Organisch-chemisches Grundpraktikum)*, 18. durchgesehene Auflage, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin (1990).
15. M. S. Buchanan, T. D. Connolly, A. A. Kadir, D. S. Rycroft. *Sesquiterpenoids and diterpenoids from the livewort Jungermania truncata*, Phytochemistry, **42**, 1641-1646 (1996).

Tác giả liên hệ: Phan Minh Giang

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên
Đại học Quốc gia Hà Nội
19 Lê Thánh Tông, Hà Nội, Việt Nam
Email: phanminhgiang@yahoo.com.