CÁC HỢP CHẤT LIMONOIT VÀ TRITECPENOIT PHÂN LẬP TỪ LÁ CÂY DẦU DÀU LÁ NHẴN *(TETRADIUM GLABRIFOLIUM)*

Trương Thị Thu Hiền[1,3], Hoàng Lê Tuấn Anh[2], Phạm Hải Yến[2], Đan Thị Thúy Hằng[2], Nguyễn Thị Cúc[2], Dương Thị Hải Yến[2], Dương Thị Dung[2], Nguyễn Xuân Nhiệm[2], Nguyễn Anh Hưng[4], Nguyễn Văn Tuyến[1], Phan Văn Kiệm[2]*

[1]*Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

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

[3]*Học viện Quân Y, Bộ Quốc Phòng*

[4]*Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2*

Đến Tòa soạn 15-12-2012

Abstract

Six compounds 12-hydroxyevodol **(1)**, rutaevine **(2)**, lupeol **(3)**, friedelan-3-one **(4)**, stigmasterol **(5)**, and daucosterol **(6)** were isolated from the methanol extract of the leaves of *Tetradium glabrifolium* by various chromatographic experiments. Their chemical structures were elucidated by ESI-MS, 1D and 2D NMR experiments in comparison with the reported data.

Keywords: *Tetradium glabrifolium*, Rutaceae.

1. MỞ ĐẦU

Cây Dầu dầu lá nhẵn (*Tetradium glabrifolium* (Benth.) Hartl.) thuộc họ Cam quýt (Rutaceae). Trong những năm gần đây, chi *Tetradium* được các nhà khoa học trên thế giới, quan tâm nghiên cứu và nhiều hoạt chất đã được phát hiện từ cây thuốc này như: phenol, limonoit, alcaloit, flavonoit, triterpenoit, lignan và courmarin [1-3]. Tuy nhiên, hiện nay các nghiên cứu trong nước về loài *T. glabrifolium* 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 cây Dầu dầu lá nhẵn chúng tôi đã tiến hành các nghiên cứu về thành phần hóa học và một số hoạt tính sinh học của loài này.

Bài báo này thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc của 6 hợp chất 12-hydroxyevodol (**1**), rutaevine (**2**), lupeol (**3**), friedelan-3-one (**4**), stigmasterol (**5**) và daucosterol (**6**) từ dịch chiết metanol lá cây *T. glabrifolium*.

2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mẫu thực vật

Mẫu lá cây *Tetradium glabrifolium* được thu hái vào tháng 6 năm 2011 tại Tây Thiên, Vĩnh Phúc. Tên khoa học được ThS. 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 tráng 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 hơ 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 µm, FuJisilisa 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 (ESI-MS): Đo trên máy LC-MSD Agilent 1200 Series (USA) của Viện Hóa học

các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3. Phân lập các hợp chất

Lá cây *Tetradium glabrifolium* khô đã được nghiền thành bột (3,5 kg) được chiết 3 lần mỗi lần 6 lít metanol nóng trên thiết bị chiết siêu âm (ở 50°C, mỗi lần 1 giờ). Dịch chiết được lọc qua giấy lọc, gom lại và loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm thu được 180 g cặn chiết metanol. Cặn chiết này được hòa tan vào 2 lít nước cất và tiến hành chiết phân bố lần lượt với hexan và etyl axetat (2×3l) thu được các cặn dịch hexan (TGL-H, 50g) và (TGL-E, 40 g) và lớp nước (TGL-N).

Cặn chiết TGL-E (40 g) được hòa tan bằng metanol, bổ sung silica gel tỉ lệ 1:1, cất loại dung môi đến khô rồi nghiền mịn. Hỗn hợp này phân tách thành bốn phân đoạn TGL-E1, TGL-E2, TGL-E3 và TGL-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 TGL-E1 được tiếp tục phân tách thành 4 phân đoạn TGL-E1A, TGL-E1B, TGL-E1C và TGL-E1D bằng sắc ký cột silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi rửa giải hexan/axeton:10/1 (v/v). Hợp chất **3** thu được sau khi tinh chế phân đoạn TGL-E1A (250 mg) 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: 5/1 (v/v).

Hợp chất **4** và **5** được tinh chế từ phân đoạn TGL-E2 (800 mg) bằng sắc ký cột silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi rửa giải hexan/axeton/etyl axetat: 30/1/1 (v/v/v).

Phân đoạn TGL-E4 được tiếp tục phân tách thành 4 phân đoạn TGL-E4A, TGL-E4B, TGL-E4C và TGL-E4D bằng sắc ký cột silica gel pha thường với hệ dung môi rửa giải cloroform/metanol: 30/1 (v/v). Hợp chất **6** được tinh chế từ phân đoạn TGL-E4B (500 mg) bằng sắc ký cột silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi rửa giải hexan/etyl axetat:2/1 (v/v) kết hợp với sắc ký cột silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi rửa giải cloroform/axeton:15/1 (v/v).

Lớp nước (TGL-N) của dịch chiết metanol được cho chạy qua cột sắc ký trao đổi ion với chất hấp phụ là Dianion HP-20 (Mitsubishi Kasci Co. Ltd, Tokyo, 1000 g) với hệ dung môi rửa giải tăng dần nồng độ metanol trong nước (0, 25, 50, 75 và 100%) thu được 5 phân đoạn (TGV-N1 - TGV-N5). Hợp chất **1** và **2** thu được sau khi tinh chế tinh chế phân đoạn TGL-E4D (1,1 g) bằng sắc ký cột silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi rửa giải hexan/axeton: 2/1(v/v) kết hợp với sắc ký cột silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi rửa giải cloroform/etyl axetat: 3/1 (v/v).

12-hydroxyevodol (1): dạng vô định hình màu vàng nhạt. Công thức phân tử $C_{26}H_{28}O_{10}$ (M = 500).

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO) và ^{13}C-NMR (125 MHz, MeOD) xem bảng 1.

Rutaevine (2): Tinh thể màu không màu. Công thức phân tử $C_{26}H_{30}O_9$ (M = 486).

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO) và ^{13}C-NMR (125 MHz, MeOD), xem bảng 1.

Lupeol (3): tinh thể màu trắng. Công thức phân tử $C_{30}H_{50}O$ (M = 426).

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$), xem bảng 2.

Friedelan-3-one (4): tinh thể màu trắng; điểm nóng chảy 267-268°C. Công thức phân tử $C_{30}H_{50}O$, (M = 426).

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$-DMSO) xem bảng 2.

Stigmasterol (5): tinh thể hình kim màu trắng; điểm chảy 170°C. Công thức phân tử $C_{29}H_{48}O$, (M = 412).

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 3,53 (m, H-3), 5,35 (br d, J = 3,5 Hz, H-6), 0,84 (3H, s, H-18), 1,03 (3H, s, H-19), 0,91 (3H, d, J = 6,5 Hz, H-21), 5,15 (1H, dd, J = 8,5, 15,0 Hz, H-22), 5,02 (1H, dd, J = 8,5, 15,0 Hz, H-23), 0,84 (3H, t, J = 8,5 Hz, H-26), 0,81 (3H, d, J = 6,8 Hz, H-28) và 0,68 (3H, d, J = 9,5 Hz, H-29).

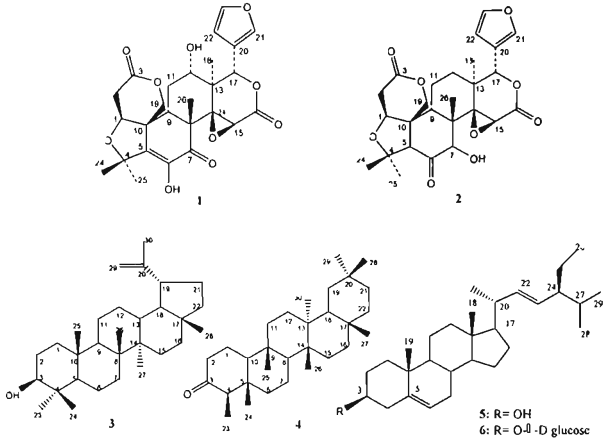
^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 37,26 (C-1), 31,66 (C-2), 71,82 (C-3), 42,30 (C-4), 140,76 (C-5), 121,73 (C-6), 31,90 (C-7), 31,90 (C-8), 50,16 (C-9), 36,52 (C-10), 21,09 (C-11), 39,78 (C-12), 42,30 (C-13), 56,87 (C-14), 24,37 (C-15), 28,93 (C-16), 56,05 (C-17), 11,99 (C-18), 19,41 (C-19), 40,51 (C-20), 21,22 (C-21), 138,33 (C-22), 129,27 (C-23), 51,24 (C-24), 31,90 (C-25), 21,22 (C-26), 25,42 (C-27), 19,04 (C-28) và 12,26 (C-29).

Daucosterol (6): bột màu trắng; điểm nóng chảy 283-284°C. Công thức phân tử $C_{35}H_{60}O_6$ (M = 576).

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO) δ (ppm): 3,43 (1H, m, H-3), 5,32 (1H, br s, H-6), 0,68 (3H, s, H-18), 0,96 (3H, s, H-19), 0,91 (3H, d, J = 6,5 Hz, H-21), 0,84 (3H, t, J = 7,6 Hz, H-26), 0,81 (3H, d, J = 6,8 Hz, H-27), 0,83 (3H, d, J = 7,3 Hz, H-29), 4,22 (1H, d, J = 8,0 Hz, H-1′), 2,90 (m, H-2′), 3,12 (m, H-3′), 3,02 (m, H-4′), 3,07 (m, H-5′), 3,40 (m, H_a-6′) và 3,64 (dd, J = 6,0, 10,0 Hz, H_b-6′).

^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO) δ (ppm): 36,79 (C-1), 29,22 (C-2), 76,94 (C-3), 38,29 (C-4), 140,42 (C-5), 121,11 (C-6), 31,33 (C-7), 31,38 (C-8), 49,58 (C-9), 36,16 (C-10), 20,55 (C-11), 39,33 (C-12), 41,81 (C-13), 56,14 (C-14), 23,80 (C-15), 27,73 (C-16), 55,42 (C-17), 11,61 (C-18), 18,90 (C-19), 35,43

(C-20), 18,56 (C-21), 33,33 (C-22), 25,47 (C-23), 45,13 (C-24), 28,70 (C-25), 19,63 (C-26), 22,59 (C-27), 19,03 (C-28), 11,73 (C-29), 100,79 (C-1′), 73,42 (C-2′), 76,67 (C-3′), 70,08 (C-4′), 76,67 (C-5′) và 61,07 (C-6′).



Hình 1: Cấu trúc hoá học của **1-6**

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** thu được dưới dạng bột vô định hình, màu vàng. Phổ proton ^{1}H-NMR xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 4 nhóm metyl bậc ba tại δ 0,86 (3H, s, H-18), 0,91 (3H, s, H-26), 1,35 (3H, s, H-25) và 1,47 (3H, *s*, H-24); 4 tín hiệu singlet xuất hiện ở δ 3,82, (1H, s, H-12), 4,06 (1H, s, H-15), 4,08 (1H, s, H-1) và 5,46 (1H, H-17) gợi ý sự có mặt 4 nhóm oximetin; 2 tín hiệu proton của 1 nhóm oximetilen đều ở dạng doublet với hằng số J = 12,5 Hz tại δ 4,67 (H_a-19), 4,57 (H_b-19). Bên cạnh đó trên phổ proton cũng xuất hiện 3 tín hiệu proton olefin tại các vị trí δ 7,47 (1H, s, H-21), 7,61 (1H, s H-23) và 6,49 (1H, s, H-22) gợi ý sự có mặt của vòng furan thế *β*. Những tín hiệu trên phổ ^{1}H-NMR của **1** gợi ý cấu trúc dạng limonoid [4].

Phổ ^{13}C-NMR và phổ DEPT của **1** xuất hiện tín hiệu của 26 nguyên tử cacbon trong đó có 4 nhóm metyl, 3 nhóm metilen, 8 nhóm metin và 11 cacbon bậc 4. Thông qua các tương tác trực tiếp H-C trên phổ HSQC, độ chuyển dịch hóa học của các nguyên tử proton được gán với các cacbon tương ứng (bảng 1). So sánh với số liệu phổ của của hợp chất 12*α*-hydroxyevodol [4] thấy hoàn toàn phù hợp tại các vị trí tương ứng. Cấu trúc của **1** được khẳng định thêm dựa trên kết quả phân tích phổ 2 chiều HMBC. Trên phổ HMBC, xuất hiện tương tác giữa tín hiệu proton *δ* 4,08 (H-1) với các tín hiệu cacbon *δ* 169,83 (C-3)/69,32 (C-19); tương tác giữa tín hiệu proton *δ* 2,92 (H_a-2) và 2,75 (H_b-2) với các tín hiệu cacbon *δ* 79,01 (C-1)/169,83 (C-3)/46,87 (C-10) cho phép xác định bộ khung của vòng lacton. Các nguyên tử cacbon của vòng epoxy-lacton cũng được xác định thông qua tương tác HMBC giữa tín hiệu proton *δ* 4,06 (H-15) với các tín hiệu cacbon *δ* 64,90 (C-14)/166,60 (C-16) và giữa tín hiệu proton *δ* 5,46 (H-17) với các tín hiệu cacbon *δ* 42,14 (C-13)/64,90 (C-14)/12,91 (C-18). Tương tác giữa tín hiệu proton metyl *δ* 0,86 (H-18) với các tín hiệu cacbon *δ* 65,95 (C-12)/42,14 (C-13)/64,90 (C-14)/76,63 (C-17) cho thấy có nhóm hydroxy tại vị trí C-12. Cấu hình lập thể của H-12 được xác định là *β* thông qua việc so sánh độ chuyển dịch cacbon và hằng số tương tác *J* với hợp chất 12*α*-hydroxyevodol [4]. Tương tác

HMBC giữa tín hiệu proton δ 7,74 (H-21) với các tín hiệu cacbon δ 119,74 (C-20)/110,45 (C-22)/142,93 (C-23); giữa tín hiệu proton δ 6,49 (H-22) với các tín hiệu cacbon δ 119,74 (C-20)/141,72 (C-21)/142,93 (C-23); giữa tín hiệu proton δ 7,61 (H-23) với các tín hiệu cacbon δ 119,74 (C-20)/141,72 (C-21)/110,45 (C-22) khẳng định sự xuất hiện của một vòng furan. Vòng furan này được xác định liên kết với vòng epoxy-lacton tại vị trí C-17 thông qua các tương tác HMBC giữa tín hiệu proton δ 5,46 (H-17) với các tín hiệu cacbon δ 119,74 (C-20)/141,72 (C-21)/110,45 (C-22). Từ các phân tích trên, hợp chất **1** được xác định là 12α-hydroxyevodol, một hợp chất đã được phân lập từ loài *Evodia rutaecarpa* [4].

Hợp chất **2** thu được dưới dạng tinh thể không màu. Các phổ NMR của **2** khá giống **1** gợi ý hợp chất này cũng có cấu trúc khung dạng limonoit. Phổ proton ^{1}H-NMR cũng xuất hiện tín hiệu của 4 nhóm metyl bậc ba tại δ 0,66 (3H, s, H-26), 1,22 (3H, s, H-24), 1,35 (3H, s, H-25) và 1,36 (3H, s, H-18); 4 tín hiệu singlet của nhóm oximetin xuất hiện ở δ 4,16 (1H, s, H-15), 4,36 (1H, s, H-7), 4,39 (1H, brs, H-1) và 5,51 (1H, s, H-17); hai tín hiệu proton của 1 nhóm oximetilen đều ở dạng doublet với hằng số J = 12,5 Hz tại δ 4,30 (1H, H_a-19), 4,18 (1H, H_b-19). Một vòng furan thế β đặc trưng cho các hợp chất limonoit cũng được quan sát thấy tại δ 7,45 (1H, br s, H-21), 7,44 (1H, d, J = 1,5 Hz, H-23) và 6,39 (1H, br s, H-22).

Phổ ^{13}C-NMR và phổ DEPT của **2** xuất hiện tín hiệu của 26 nguyên tử cacbon trong đó có 4 nhóm metyl, 4 nhóm metilen, 9 nhóm metin và 9 cacbon bậc 4. Thông qua các tương tác trực tiếp H-C trên phổ HSQC, độ chuyển dịch hóa học của các nguyên tử proton được gán với các cacbon tương ứng (bảng 1). Dựa vào bảng 1, có thể nhận thấy sự sai khác giữa **1** và **2** ở cường độ cộng hưởng của tín hiệu cacbon C-7 đến C-13. Sự biến mất của 2 tín hiệu cacbon bậc 4 của nối đôi tại C-5 (140,30) và C-6 (141,94) cũng như tín hiệu oximetin C-12 (65,95) của hợp chất **1**. Bên cạnh đó là sự xuất hiện thêm 2 tín hiệu cacbon metin tại vị trí cộng hưởng 81,47 (C-7), 63,61 (C-5) và sự chuyển dịch về phía trường yếu của nhóm cacbonyl (206,81 so với 195,32) của hợp chất **2**. Điều này gợi ý sự thay đổi chủ yếu xảy ra tại vị trí C-5, C-6, C-7 và C-12. Từ những dữ kiện phổ trên kết hợp với so sánh số liệu phổ ^{13}C-NMR của hợp chất rutaevin [4] thấy hoàn toàn phù hợp ở tất cả các vị trí tương ứng.

Các vị trí liên kết được khẳng định lại dựa trên kết quả phân tích phổ 2 chiều HMBC. Tương tác HMBC giữa tín hiệu proton metyl δ 1,36 (H-18) với các tín hiệu cacbon δ 31,97 (C-12, CH_2)/37,55 (C-13)/65,47 (C-14)/77,78 (C-17) khẳng định sự mất đi của nhóm hydroxy tại vị trí C-12. Tương tác giữa tín hiệu proton metyl δ 0,66 (H-26) với các tín hiệu cacbon δ 81,47 (C-7, CH)/48,66 (C-8)/45,60 (C-9)/65,47 (C-14) khẳng định sự có mặt của nhóm hydroxy tại vị trí cacbon C-7. Nhóm cacbonyl δ 206,81 được xác định tại vị trí C-6 dựa vào tương tác HMBC của tín hiệu proton δ 3,10 (H-5) với tín hiệu cacbon C-6. Từ các phân tích trên và sự phù hợp hoàn toàn về các dữ kiện phổ của **2** và rutaevin có thể khẳng định hợp chất **2** chính là rutaevin, một hợp chất đã được phân lập từ loài *Evodia rutaecarpa* [4].

Hợp chất **3** phân lập được dưới dạng tinh thể, màu trắng. Phổ ^{1}H-NMR có dạng một hợp chất triterpenoit khung lup-20(29)-en với các tín hiệu của 7 nhóm metyl CH_3 cộng hưởng ở vùng trường mạnh, trong đó có 6 nhóm metyl bậc ba CH_3 tại các giá trị δ_H 0,97 (3H, s, H-23), 0,76 (3H, s, H-24), 0,83 (3H, s, H-25), 1,03 (3H, s, H-26), 0,94 (3H, s, H-27), 0,79 (3H, s, H-28) và một tín hiệu CH_3 tại δ 1,68 (3H, br s, H-29) thuộc nhánh iso-propenyl. Tín hiệu của 2 proton olefin thuộc nhánh iso-propenyl tại δ_H 4,68 (1H, br s, H_a-30) và 4,56 (1H, br s, H_b-30) rất đặc trưng của hợp chất lupan-20,29-en. Ngoài ra, tín hiệu tại 3,19 (1H, dd J = 11,5, 5,0 Hz, H-3) khẳng định sự có mặt của một nhóm oximetin (CH-O) thường xuất hiện tại C-3

Phổ ^{13}C-NMR của **3** xuất hiện tín hiệu của 30 nguyên tử cacbon. Phân tích các tín hiệu trên phổ DEPT xác nhận được gồm 7 cacbon metyl (CH_3), 11 cacbon metilen (CH_2), 6 cacbon metin (CH) và 6 cacbon không liên kết với hiđro (C). Nhánh iso propenyl được xác nhận bởi các tín hiệu của 1 cacbon metilen tại δ 109,33 (C-29) cùng với tín hiệu của 1 cacbon bậc bốn tại δ 150,96 (C-20) và 1 cacbon metyl δ 19,33 (C-29). Ngoài ra, tín hiệu của 1 cacbon oximetin tại δ 79,03 (C-3) cho phép xác nhận có 1 nhóm hydroxyl trong phân tử của hợp chất **3**.

So sánh số liệu phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **3** với số liệu của hợp chất triterpen khung lup-20(29)-en đã biết là lupeol (3β-hydroxylup-20(29)-ene) [2] nhận được sự phù hợp hoàn toàn ở tất cả các vị trí tương ứng (xem bảng 2). Nhận định này được khẳng định thêm khi xem xét đến hằng số tương tác J của proton H-3. Proton H-3 cộng hưởng tại δ 3,19 (dd, J = 11,5, 5,0 Hz), với hằng số tương tác $J_{H-3\,H-2}$ lớn, vì vậy H-3 ở vị trí axial (a) hay α, tức là nhóm OH tại C-3 chiếm vị trí equatorial (e) hay β [5]. Từ các phân tích nêu trên hợp chất **3** được xác định là 3β-hydroxylup-20(29)-ene hay lupeol.

Hợp chất **4** thu được dưới dạng chất kết tinh màu trắng. Kết quả phổ khối lượng ESI-MS (tại m/z: 427 $[M+H]^+$ và 449 $[M+Na]^+$) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân cho phép xác định công thức

phân tử là $C_{30}H_{50}O$ (M = 426). Phổ ^{1}H-NMR xuất hiện tín hiệu của 8 nhóm metyl trong đó có 7 nhóm metyl bậc 3 tại δ 0,72, 0,87, 1,01, 1,00, 1,18, 1,05 và 0,95 dưới dạng các singlet và một nhóm metyl bậc 2 tại δ 0,88 dưới dạng một tín doublet (*J* = 6,5 Hz). Nhìn chung, phổ ^{1}H-NMR có dạng phổ của một hợp chất triterpen.

Bảng 1: Dữ kiện phổ NMR của **1, 2** và các chất tham khảo

C	**1**					**2**				
	$^a\delta_C$	δ_C [a,b]	DEPT	δ_H [a,c] mult, (*J* = Hz)	HMBC (H→C)	$^s\delta_C$	δ_C [d,b]	DEPT	δ_H [d,c] mult, (*J* = Hz)	HMBC (H→C)
1	79,0	79,01	CH	4,08 (br s)	3, 9, 19	81,9	82,68	CH	4,39 (br s)	2, 3
2	35,0	34,96	CH_2	2,92 (dd, 17,0, 2,0) 2,75 (dd, 17,0, 3,0)	1, 3, 10	35,9	35,88	CH_2	2,71 (dd, 16,0, 3,0) 2,91 (dd, 16,0, 3,0)	1, 3, 10, 19
3	169,7	169,83	C	-		170,9	169,98	C	-	
4	81,1	81,13	C	-		81,4	82,35	C	-	
5	140,3	140,30	C			64,5	63,61	CH	3,10 (s)	4, 5, 10, 19, 25,26
6	141,9	141,94	C	-		207,2	206,81	C	-	
7	195,3	195,33	C	-		81,4	81,47	CH	4,36 (s)	6, 9,
8	47,3	47,30	C	-		48,6	48,66	C	-	
9	42,8	42,89	CH	2,78 (d, 12,0)	1, 7, 8, 10, 11, 12,19, 26	45,3	45,60	CH	2,78 (d, 12,0)	7, 8, 10, 11, 12, 19
10	46,9	46,87	C	-		45,6	46,02	C	-	
11	31,9	31,83	CH_2	1,90 (ddd, 17,0,14,0, 4,0) 1,58 (d, 14,0)	8, 9, 12, 13	19,3	19,66	CH_2	1,76*/ 1,86*	9, 12
12	65,9	65,95	CH	3,83 (br s)		31,0	31,97	CH_2	1,58*/ 1,84*	1, 3, 5
13	42,2	42,14	C	-		37,2	37,55	C	-	
14	64,4	64,90	C	-		65,9	65,47	C	-	
15	50,6	50,63	CH	4,06 (s)	14, 16	50,8	50,78	CH	4,16 (s)	14, 16
16	166,5	166,60	C	-		166,9	166,89	C	-	
17	76,6	76,63	CH	5,46 (s)	12, 13, 14, 18, 20, 21, 22	77,5	77,78	CH	5,51 (s)	13, 14, 18, 20, 21
18	12,9	12,91	CH_3	0,86 (s)	12, 13, 14, 17	20,5	20,97	CH_3	1,36 (s)	13, 14, 17
19	69,3	69,32	CH_2	4,67 (d, 12,5) 4,57 (d, 12,5)	1, 3, 9, 10	69,8	69,78	CH_2	4,30 (d, 12,5) 4,18 (d, 12,5)	12, 13, 26
20	119,7	119,74	C	-		120,0	119,54	C	-	
21	141,6	141,72	CH	7,74 (s)	20, 22, 23	141,6	140,86	CH	7,45 (br s)	20, 22, 23
22	110,4	110,45	CH	6,49 (s)	20, 21, 23	110,3	109,45	CH	6,39 (br s)	20, 21, 22
23	142,9	142,93	CH	7,61 (s)	20, 21, 22	143,4	143,07	CH	7,44 (d, 1,5)	20, 21, 22
24	25,5	25,54	CH_3	1,47 (s)	4, 5, 25	23,8	23,93	CH_3	1,22 (s)	4, 5,26
25	25,0	25,04	CH_3	1,35 (s)	4, 5, 24	28,8	28,35	CH_3	1,43 (s)	4, 5, 25
26	17,5	17,05	CH_3	0,91 (s)	7, 8, 9, 14	14,7	14,57	CH_3	0,66 (s)	7, 9, 14

[a]đo trong DMSO, [b]125 MHz, [c]500 MHz, [d]đo trong $CDCl_3$ [s]δ_C của 12-hydroxyevodol đo trong DMSO, 400 MHz [4], [s]δ_C của rutaevine đo trong DMSO ở 90 MHz [4].

Phổ ^{13}C-NMR xuất hiện tín hiệu của 30 cacbon, trong đó dựa vào kết quả của các phổ DEPT cho thấy hợp chất **4** có 7 cacbon bậc bốn tại δ 212,82 (C-3), 41,88 (C-5), 37,21 (C-9), 39,42 (C-13), 38,07 (C-14), 29,75 (C-17), 27,92 (C-20); 5 cacbon metin tại δ 57,94 (C-4), 52,84 (C-8), 59,21 (C-10), 30,25 (C-12), 42,59 (C-18); 10 cacbon metilen tại δ 22,03 (C-1), 41,27 (C-2), 41,04 (C-6), 17,99 (C-7), 35,78 (C-11), 32,57 (C-15), 35,78 (C-16), 35,38 (C-19), 32,18 (C-21), 39,00 (C-22); 8 cacbon metyl tại δ 6,57 (C-23), 14,41 (C-24), 17,69 (C-25), 20,00 (C-26), 18,40 (C-27), 31,86 (C-28), 31,56 (C-29), 35,10 (C-30).

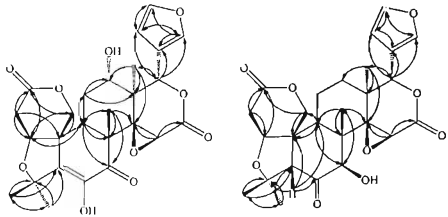
Trong đó, tín hiệu của nhóm cacbonyl (C=O) được xác định tại δ 212,82 (C-3), tín hiệu một nhóm metyl bậc 2 tại δ_C 6,57/δ_H 0,88 (d, J = 7,0 Hz) đặc trưng cho nhóm metyl liên kết với cacbon C-4 của khung friedelan. Từ các dữ kiện phổ nêu trên cho phép dự đoán hợp chất 4 là friedelan-3-one. So sánh thêm các dữ kiện phổ của 4 với hợp chất friedelan-3-one [6], đặc biệt là giá trị δ_C và hằng số tương tác J-coupling của các proton ta thấy hoàn toàn trùng khớp. Như vậy, hợp chất 4 được khẳng định là friedelan-3-one với công thức phân tử là $C_{30}H_{50}O$ (M = 426).

Các hợp chất 5 và 6 được xác định là stigmasterol (5) [7] và daucosterol (6) [8] bằng cách so sánh dữ kiện phổ và các hằng số vật lý với các hợp chất đã được công bố.

Bảng 2. Dữ kiện phổ NMR của 3, 4 và các chất tham khảo

C	3				4			
	[a]δ_C	δ_C[b,d]	DEPT	δ_H[d,c] mult. (J = Hz)	[c]δ_C	δ_C[b,d]	DEPT	δ_H[d,c] (mult, J = Hz)
1	38,7	38,76	CH_2		22,28	22,03	CH_2	1,96 (m)
2	27,5	27,46	CH_2		41,53	41,27	CH_2	2,39 (dd, 4,0, 14,0) 2,28 (m)
3	79,0	79,03	CH	3,19 dd (11,5, 5,0)	213,17	212,82	C	-
4	38,9	38,89	C		58,24	57,94	CH	2,28 (m)
5	55,3	55,36	CH		42,14	41,88	C	-
6	18,3	18,35	CH_2		41,30	41,04	CH_2	
7	34,3	34,34	CH_2		18,24	17,99	CH_2	
8	40,9	40,88	C		53,12	52,84	CH	
9	50,5	50,50	CH		37,45	37,21	C	
10	37,2	37,21	C		59,50	59,21	CH	
11	21,0	20,97	CH_2		35,64	35,78	CH_2	
12	25,2	25,21	CH_2		30,50	30,25	CH_2	
13	38,1	38,11	CH		39,71	39,42	C	-
14	42,9	42,87	C		38,31	38,07	C	-
15	27,5	27,49	CH_2		32,78	32,57	CH_2	
16	35,6	35,62	CH_2		36,01	35,78	CH_2	
17	43,0	43,03	-		29,99	29,75	C	-
18	48,0	48,36	CH		42,81	42,59	CH	
19	48,3	48,01	CH	2,38 ddd (11, 11, 6,0)	35,35	35,38	CH_2	
20	150,9	150,96	C		28,18	27,92	C	-
21	29,9	29,90	CH_2		32,44	32,18	CH_2	
22	40,0	40,03	CH_2		39,24	39,00	CH_2	
23	28,0	28,01	CH_3	0,97 s	6,81	6,57	CH_3	0,88 (d, 6,5)
24	15,3	15,38	CH_3	0,76 s	14,65	14,41	CH_3	0,72 (s)
25	16,1	16,13	CH_3	0,83 s	17,94	17,69	CH_3	0,87 (s)
26	16,0	16,01	CH_3	1,03 s	20,25	20,00	CH_3	1,01 (s)
27	14,6	14,58	CH_3	0,94 s	18,65	18,40	CH_3	1,00 (s)
28	18,0	18,03	CH_3	0,79 s	32,09	31,86	CH_3	1,18 (s)
29	19,3	19,33	CH_3	1,68 br s	31,77	31,56	CH_3	1,05 (s)
30	109,3	109,33	CH_2	4,68 br s, 4,56 br s	35,01	35,10	CH_3	0,95 (s)

[d]đo trong $CDCl_3$, [b]125 MHz, [c]500 MHz, [#]δ_C của lupeol đo trong $CDCl_3$ [5], [@]δ_C của friedelan-3-one đo trong $CDCl_3$, 67,9 MHz [6].



(1) (2)

Hình 2: Các tương tác HMBC (H → C) chính của **1** và **2**

4. KẾT LUẬN

Bằng các phương pháp phổ kết hợp, cấu trúc hóa học của lần lượt được xác định là: 12- hydroxyevodol (**1**), rutaevine (**2**), lupeol (**3**), friedelan-3-one (**4**), stigmasterol (**5**) và daucosterol (**6**).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ. *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. W. Tian-Shung, C. Feng-Chu, W. Pei-Lin, K. Chang - Sheng, and C. Ih-Sheng. *Constituents of Leaves of Tetradium glabrifolium*, Journal of Chinese Chemical Society, **42**. 929-934 (1995).
4. S. Tohru, M. Toshio, K Masanori and U. Akira. *Limonoids and Quinolone Alkaloids from Evodia rutaecarpa*. Bentham. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, **36(11)**, 4453-4461 (1988).
5. M. Sholichin, K. Yamasaki, R. Kasai, O. Tanaka. *^{13}C Nuclear magnetic resonance of lupane – type triterpenes, Lupeol, Betulin and betuliniic acid*, Chemical and Pharmaceutical Bulletin, **28(3)**, 1006-1008 (1980).
6. A. Hisham, G. ɔ. Kumar, Y. Fujimoto, and N. Hara. *Salacianone and salacianol, two triterpenes from Salacia beddomei*, Phytochemistry, **40(4)**, 1227-1231 (1995).
7. K. Darong, W. Juraithip, D. Wanchai. *Biosynthesis of β-sitosterol and stigmasterol proceeds exclusively via the mevalonate pathway in cell suspension culture of Croton stellatopilosus*. Tetrahedron Letters, **49**, 4067-4072 (2009).
8. V. Laurence, L. Catherine, M. Georges, S Thierry, A. H. Hamid. *Cytotoxic isoprenes and glycosides of long-chain fatty alcohols from Dimocarpus fumatus*, Phytochemistry, **50(1)**, 63-69 (1999).

Liên hệ: **Phan Văn Kiệm**
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.