

ISSN 1859 - 4735



TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

SỐ 2 - 2018

TẬP 23

Journal of Medicinal Materials-Hanoi

Trang	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC	Page	SCIENTIFIC RESEARCH
67	Thành phần hóa học phần trên mặt đất của cây thạch tùng đuôi ngựa - Đoàn Thị Hương, Hồ Việt Đức, Phạm Thanh Kỳ, Nguyễn Thị Hoài	67	Phytochemical Constituents of the Aerial Parts of <i>Huperzia phlegmaria</i> (L.) Rothm. - Doan Thi Huong, Ho Viet Duc, Pham Thanh Ky, Nguyen Thi Hoai
72	Các hợp chất terpen phân lập từ cây hy thiêm - Trần Thanh Hà, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Thế Hùng	72	Terpene Compounds Isolated from <i>Siegesbeckia orientalis</i> L. - Tran Thanh Ha, Do Thi Ha, Nguyen The Hung
77	Các hợp chất physalin và acid phenolic phân lập từ cây tầm bóp thu hái tại Việt Nam - Hoàng Thái Hòa, Trần Thị Oanh, Nguyễn Thượng Đông, Nguyễn Thế Hùng	77	Physalins and Phenolic Acids Isolated from <i>Physalis angulata</i> L. Collected in Vietnam - Hoang Thai Hoa, Tran Thi Oanh, Nguyen Thuong Dong, Nguyen The Hung
82	Nghiên cứu thành phần saponin của thân rễ sâm vũ diệp thu hái ở Sa Pa, Lào Cai - Nguyễn Thị Thu Thủy, Nguyễn Thị Huệ, Đặng Thị Thủy, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Dương Thị Phương, Phạm Thị Tuyết Nhung, Hà Văn Oanh, Dương Thị Ly Hương, Nguyễn Hữu Tùng	82	Study on the Saponin Composition of the Rhizome of <i>Panax bipinnatifidus</i> Seem. Collected in Sa Pa, Lao Cai - Nguyen Thi Thu Thuy, Nguyen Thi Hue, Dang Thi Thuy, Nguyen Thi Hoang Anh, Duong Thi Phuong, Pham Thi Tuyet Nhung, Ha Van Oanh, Duong Thi Ly Huong, Nguyen Huu Tung
88	Định lượng hàm lượng diosgenin trong thân rễ mài gừng - Nguyễn Hoàng Tuấn, Nguyễn Thị Kiều Anh, Ngô Thanh Mai	88	Quantitative Determination of Diosgenin from the Rhizomes of <i>Dioscorea zingiberensis</i> C.H Wright - Nguyen Hoang Tuan, Nguyen Thi Kieu Anh, Ngo Thanh Mai
94	Tác dụng chống viêm và giảm đau <i>in vivo</i> của phần trên mặt đất cây nho rừng - Phùng Thanh Long, Đỗ Thị Hà, Hà Văn Oanh, Đỗ Thị Nguyệt Quế, Nguyễn Thị Huyền Trang, Đỗ Thị Hoàng Hải	94	<i>In vivo</i> Anti-inflammatory and Analgesic Activities of the Aerial Parts of <i>Vitis heyneana</i> - Phung Thanh Long, Do Thi Ha, Ha Van Oanh, Do Thi Nguyet Que, Nguyen Thi Huyen Trang, Do Thi Hoang Hai
98	Đánh giá tác dụng bảo vệ gan và lợi mật của bài thuốc dân gian “Bàn tay ma” thuộc tỉnh Bắc Kạn - Bùi Văn Trung, Nguyễn Thanh Hải, Dương Hồng Anh, Phạm Hùng Việt, Dương Thị Duyên, Hoàng Thị Thủy, Hồ Thị Hằng, Bùi Thanh Tùng	98	Study on the Hepatoprotective and Choleric Effect of the Herbal Formulation “Ghost hands” (“Ban tay ma”) Collected in Bac Kan Province - Bui Van Trung, Nguyen Thanh Hai, Duong Hong Anh, Pham Hung Viet, Duong Thi Duyen, Hoang Thi Thuy, Ho Thi Hang, Bui Thanh Tung
104	Tác dụng bảo vệ thần kinh của cao chiết giàu flavonoid từ lá hồng trên mô hình đột quỵ não thực nghiệm - Lê Thị Xoan, Đặng Thị Hạnh, Trần Nguyên Hồng, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Văn Tài, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Hà Văn Oanh	104	Neuroprotective Effects of Flavonoid-Enriched Extract from <i>Diospyros kaki</i> Leaves on Cerebral Ischemia-Induced Injury in Mice - Le Thi Xoan, Dang Thi Hanh, Tran Nguyen Hong, Nguyen Thi Phuong, Nguyen Van Tai, Pham Thi Nguyet Hang, Ha Van Oanh
110	Tác dụng bảo vệ gan của cao chiết cỏ từ rễ cây thân xạ hương - Nguyễn Hoàng Minh, Mai Đình Trí, Nguyễn Thị Thu Hương	110	Hepatoprotective Effects of the Ethanol Extract from <i>Luvunga scandens</i> (Roxb.) Buch. Ham. Roots - Nguyen Hoang Minh, Mai Dinh Tri, Nguyen Thi Thu Huong
116	Tác dụng kiểu nội tiết tố sinh dục nam của cao chiết từ cây ngải đen - Hà Quang Thanh, Mai Thành Chung, Trần Mỹ Tiên, Nguyễn Thị Ngọc Đan, Nguyễn Thị Thu Hương	116	The Androgenic Effect of Ethanol and Aqueous Extracts from <i>Kaempferia parviflora</i> Wall. Ex. Baker - Ha Quang Thanh, Mai Thanh Chung, Tran My Tien, Nguyen Thi Ngoc Dan, Nguyen Thi Thu Huong
121	Nghiên cứu tác dụng bảo vệ gan và chống oxy hóa của bài thuốc tỉnh An Giang - Phạm Thị Nguyệt Hằng, Dương Thị Mộng Ngọc, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Thị Ngọc Đan	121	Study on the Hepatoprotective Effect and Antioxidant Activity of Aqueous Extract of an An Giang Traditional Remedy - Phan Thi Nguyet Hang, Duong Thi Mong Ngoc, Nguyen Thi Phuong, Nguyen Thi Ngoc Dan

THÀNH PHẦN HÓA HỌC PHẦN TRÊN MẶT ĐẤT CỦA CÂY
THẠCH TÙNG ĐUÔI NGỰA

Đoàn Thị Hương¹, Hồ Việt Đức², Phạm Thanh Kỳ³, Nguyễn Thị Hoài^{2, *}

¹Viện Dược liệu; ²Đại học Y Dược, Đại học Huế; ³Đại học Dược Hà Nội

*Email: hoai77@gmail.com

(Nhận bài ngày 23 tháng 3 năm 2018)

Tóm tắt

Năm hợp chất đã được phân lập từ phần trên mặt đất của cây thạch tùng đuôi ngựa (*Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm.) thu hái ở Việt Nam gồm 1 alkaloid: fawcettidin (1), 1 abietan diterpenoid: lycoxanthol (2) và 3 triterpenoid khung serratan: 21 β -hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetat (3), 21 α -hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetat (4) và 21 α -hydroxyserrat-14-en-3 β -ol (5). Cấu trúc hóa học của chúng được xác định dựa trên cơ sở dữ liệu các phổ thực nghiệm và các đặc trưng lý hóa có so sánh đối chiếu với các tài liệu tham khảo đã công bố. Trong đó (1) và (2) là công bố lần đầu tiên phân lập được từ loài thạch tùng đuôi ngựa.

Từ khóa: *Huperzia phlegmaria*, Fawcettidin, Lycoxanthol, 21 α -Hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetat, 21 α -Hydroxyserrat-14-en-3 β -ol, 21 β -Hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetat.

Summary

Phytochemical Constituents of the Arial Parts of *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm.

From the arial parts of *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm., five compounds (1-5) were isolated by using various chromatographic methods. Isolated compounds were identified as one alkaloid fawcettidine (1), one abietane diterpenoid - lycoxanthol (2) and three serratane frame triterpenoids including 21 β -hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetate (3), 21 α -hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetate (4) and 21 α -hydroxyserrat-14-en-3 β -ol (5) by analyzing their spectroscopic and comparison with the literature data. Among them, compounds (1) and (2) were isolated from *H. phlegmaria* for the first time.

Keywords: *Huperzia phlegmaria*, Fawcettidine, Lycoxanthol, 21 α -Hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetate, 21 α -Hydroxyserrat-14-en-3 β -ol, 21 β -Hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetate.

1. Đặt vấn đề

Cây thạch tùng đuôi ngựa có tên khoa học *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm. là loài thuộc chi *Huperzia* Bernh., họ Thông đất, Lycopodiaceae, ưa ẩm và bóng, thường sống bám trên cây gỗ hay các tảng đá ẩm có nhiều rêu và mùn trong rừng rậm, được sử dụng trong bài thuốc dân gian để chữa bệnh đau họng, thùy thũng, đòn ngã tổn thương [1]. Thành phần hóa học chính của các loài thuộc chi *Huperzia* Bernh. đã phân lập được bao gồm alkaloid, terpenoid, flavonoid, glycosid và tannin. Theo các nghiên cứu trên thế giới, alkaloid phân lập từ *H. phlegmaria* và một số loài thuộc chi này đã được chứng minh có tác dụng hiệu quả và an toàn trên các triệu chứng bệnh Alzheimer, là bệnh đang khan hiếm

thuốc điều trị và gây tổn kém nhiều chi phí đặc biệt ở các nước đang phát triển [2]. Tại Việt Nam chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học của cây thạch tùng đuôi ngựa. Bài báo này trình bày kết quả phân lập và xác định cấu trúc của một số hợp chất từ loài *H. phlegmaria* thu mẫu tại Quảng Trị.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu dùng trong nghiên cứu là phần trên mặt đất của cây thạch tùng đuôi ngựa thu hái tại huyện Đakrông, tỉnh Quảng Trị vào tháng 5 năm 2016. Mẫu được xác định tên khoa học là *Huperzia phlegmaria* (L.) Rothm., họ Thông đất (Lycopodiaceae) bởi TS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Số hiệu

mẫu: HP01 được lưu tại Khoa Dược, Đại học Y dược Huế.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chiết xuất, phân lập các hợp chất:

Bột dược liệu được chiết xuất bằng phương pháp ngâm ở nhiệt độ phòng, sau đó tiến hành chiết xuất phân đoạn lỏng-lỏng. Phân lập các hợp chất bằng sắc ký cột và sắc ký lớp mỏng. Sắc ký lớp mỏng được tiến hành trên bản mỏng tráng sẵn *silica gel* pha thường 60F₂₅₄ (Merk) và bản mỏng pha đảo *silica gel* RP (Merk). Thuốc thử hiện màu là dung dịch H₂SO₄ 10%, thuốc thử Dragendorff, đèn UV 254 nm và 365 nm. Sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ là *silica gel* pha thường (60 N, spherical, 40-50 μm, Kanto Chemical Co., Inc., Tokyo, Nhật Bản), *silica gel* pha đảo RP-18 (Fuji Silysia Chemical Ltd, Kasugai, Aichi, Nhật Bản) và sắc ký lọc qua gel Sephadex LH-20 (Dowex[®] 50WX2-100, Sigma-Aldrich, Mỹ).

2.2.2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất:

Cấu trúc của các hợp chất được xác định dựa trên các thông số vật lý và các phương pháp phổ: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều, hai chiều (1D, 2D-NMR) được ghi trên máy Bruker Avance-500 MHz (Bruker, Massachusetts, Mỹ), chuẩn nội TMS (tetramethyl silan) tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam, phổ lưỡng sắc tròn (CD) đo trên máy Chirascan tại Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam, phổ UV đo trên máy Shimadzu UV-1800 tại Đại học Sư phạm Huế và kết hợp với các tài liệu đã công bố.

2.3. Chiết xuất và phân lập các hợp chất

Phần trên mặt đất của cây thạch tùng đuôi ngựa được rửa sạch, thái nhỏ, sấy khô ở 50°C (1,5 kg) sau đó tán thành bột thô, chiết bằng MeOH (3 lần, mỗi lần 5,0 L) ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết gộp lại và tiến hành cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 75 g cao toàn phần. Cao toàn phần được hòa tan bằng acid tartaric 3% (1,0 L) và lọc để tách riêng phần cặn. Dịch lọc acid được điều chỉnh đến pH 10 với dung dịch bão hòa Na₂CO₃, sau đó lọc với dicloromethan (CH₂Cl₂) (3 lần, mỗi lần 2,0 L), gộp dịch chiết dicloromethan, loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn alcaloid toàn

phần (HC, 8 g). Cặn HC được đưa lên cột sắc ký pha thường với hệ dung môi CH₂Cl₂-MeOH (40:1 → 10:1, v/v) thu được 6 phân đoạn (HC1-HC6). Phân đoạn HC1 (0,51g) được đưa lên cột sắc ký pha đảo RP-18 với hệ dung môi Aceton-MeOH-H₂O (1:1:0,1, v/v) thu được hợp chất (1) (7,2 mg).

Phần cặn (57 g) được rửa với nước cất đến khi trung hòa và chiết với EtOAc thu được phân đoạn EtOAc (HE, 38 g). Phân đoạn HE được đưa lên cột sắc ký pha thường với hệ dung môi CH₂Cl₂-MeOH (100:0 → 0:100, v/v) thu được 3 phân đoạn (HE1-HE3). Phân đoạn HE1 (12g) được đưa lên cột sắc ký pha thường với hệ dung môi *n*-hexan-aceton (20:1,v/v) thu được 8 phân đoạn (HE1.1-HE1.8). Phân đoạn HE1.4 (1,27 g) được tiến hành trên cột sắc ký pha đảo RP-18 với hệ dung môi MeOH-aceton-H₂O (1:2:0,2, v/v) thu được hợp chất (2) (7,9 mg) và hợp chất (3) (30,3 mg). Phân đoạn HE3 (14,6 g) được đưa lên cột sắc ký pha thường với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂-aceton (60:0 → 1:1, v/v) thu được 12 phân đoạn (HE3.1-HE3.12). Phân đoạn HE3.2 dạng tinh thể được lọc rửa với MeOH thu được hợp chất (4) (50,0 mg). Tương tự, phân đoạn HE3.4 dạng tinh thể được lọc rửa nhiều lần với MeOH thu được hợp chất (5) (17,1 mg).

3. Kết quả và bàn luận

Hợp chất 1: Hợp chất (1) được tách ở dạng bột trắng. Phổ ¹H-NMR chỉ ra các tín hiệu đặc trưng của 1 proton olefin tại δ_H 5,74; 1 nhóm methyl bậc hai tại δ_H 1,08 (d, *J* = 6,8 Hz). Phổ ¹³C-NMR và HMQC chỉ ra 16 tín hiệu carbon bao gồm 1 nhóm methyl, 8 nhóm methylen, 4 nhóm methin và 3 carbon không mang hydro. Trong đó, sự hiện diện 1 nhóm carbonyl được ghi nhận tại δ_C 220,5 (C-5), liên kết đôi 3 lần thế tại δ_C 146,7 (C-13), 128,7 (C-14). Các dữ kiện phổ trên gợi ý hợp chất (1) là một alcaloid lycopodium loại C₁₆N. Các tương tác COSY H-1 (δ_H 2,94, 3,12)/H-2 (δ_H 1,33, 1,80)/H-3 (δ_H 1,80, 2,23)/H-4 (δ_H 2,22); H-6 (δ_H 1,99, 2,03)/H-7 (δ_H 2,20)/H-8 (δ_H 1,22, 1,41)/H-15 (δ_H 2,34)/H-14 (δ_H 5,74); H-9 (δ_H 3,03)/H-10 (δ_H 1,60, 2,00)/H-8 (δ_H δ_H 1,22, 1,41)/H-11 (δ_H 1,60, 2,10) cho phép xây dựng hệ thống 4 vòng ngưng tụ. Tương tác HMBC (Hình 2) giữa H-16 (δ_H 1,08) và C-8 (δ_C

35,1)/C-15 (δ_C 29,1)/C-14 (δ_C 128,7) cùng tương tác COSY H-15/H-16 khẳng định nhóm methyl bậc hai tại C-15 và nối đôi Δ -14.

Từ các lập luận trên, kết hợp so sánh với số liệu phổ của chất tham khảo [3], hợp chất số (1) được xác định là fawcettidin (Hình 1). Hợp chất này được phân lập lần đầu tiên từ loài *Lycopodium fawcettii* bởi Burnell và cộng sự [4] nhưng phải đến năm 1970, cấu trúc hóa học của nó mới được xác định chính xác [5].

Hợp chất 2: Hợp chất (2) được tách ra dưới dạng bột màu vàng nhạt. Phổ UV (MeOH) cho các cực đại hấp thụ tại λ_{max} 295, 335 và 381 nm gợi ý sự hiện diện của nhân benzen và enon liên hợp trong phân tử. Phổ $^1\text{H-NMR}$ chỉ ra các tín hiệu proton đặc trưng của 1 nhóm oxymethylen tại α_H 4,28 và 4,80; 3 nhóm methyl bậc ba tại δ_H 1,45, 1,48 và 1,68; 1 nhóm methyl bậc hai tại δ_H 1,38 (d, $J = 7,0$ Hz).

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT và HSQC của hợp chất (2) chỉ ra 20 tín hiệu carbon, gồm 4 nhóm methyl, 4 nhóm methylen, 1 nhóm methin và 11 carbon không mang hydro. Trong số đó có một số tín hiệu đặc trưng như 1 carbon carbonyl tại δ_C 185 (C-7), 1 carbon của nhóm oxymethylen tại δ_C 81,5 (C-16). Các dữ kiện trên xác định hợp chất (2) là một abietan diterpenoid.

Các tương tác HMBC (Hình 2) giữa H-18 (δ_H 1,45)/H-19 (δ_H 1,48) và C-3 (δ_C 37,4)/C-4 (δ_C 37,5)/C-5 (δ_C 144,9) cho phép định vị nhóm gem-dimethyl tại C-4 và liên kết bội tại C-5. Tương tự, tương tác HMBC từ H-20 (δ_H 1,68) đến C-1 (δ_C 30,8)/C-5 (δ_C 144,9)/C-9 (δ_C 142,0)/C-10 (δ_C 43,2) khẳng định nhóm methyl bậc ba còn lại tại C-10. Nhóm methyl bậc hai (C-17) tại C-15 được xác định qua các tương tác HMBC giữa H-17 (δ_H 1,38) và C-13 (δ_C 117,1)/C-15 (δ_C 36,5)/C-16 (δ_C 81,5). Ngoài ra, tương tác giữa H-16 (δ_H 4,28, 4,80) và C-12 (δ_C 157,5) chứng tỏ C-16 liên kết với C-12 qua cầu oxy, tạo thành vòng tetrahydrofuran thế 1, 2, 3. Các lập luận trên cho phép xác định cấu trúc của hợp chất số 2 là 12,16-epoxy-6,11,14-trihydroxy-5,8,11,13-abietatetraen-7-on.

Phổ CD (MeOH) của hợp chất số 2 thể hiện hiệu ứng Cotton (-) tại bước sóng 305 nm chứng tỏ hợp chất này là một abietan diterpen có cấu

trúc tuyệt đối tương tự coleon C [6], mandaron A [7], (10S)-12, 16-epoxy-17 (15 \rightarrow 16)-abeo-3,5,8,12,15-abietapentaen-2,7,11,14-tetraon [8]. Vậy cấu trúc hóa học của hợp chất số 2 được xác định là (15R)-12, 16-epoxy-6,11,14-trihydroxy 5,8,11,13-abietatetraen-7-on, còn gọi là lycoxanthol (Hình 1).

Hợp chất số 3:

Hợp chất (3) được tách ở dạng bột trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ chỉ ra các tín hiệu đặc trưng của 1 proton olefin tại δ_H 5,33; proton của 2 nhóm carbinol tại δ_H 4,46 (dd, $J = 11,5, 5,0$ Hz, H-3), 3,45 (br s, H-21); proton của nhóm acetyl methyl tại δ_H 2,04 (s). Ngoài ra, tín hiệu của 7 nhóm methyl singlet tại δ_H 0,69, 0,82, 0,84 (6H), 0,85, 0,87 và 0,93 cũng được ghi nhận.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT và HSQC chỉ ra 32 tín hiệu carbon, thuộc về 8 nhóm methyl, 10 nhóm methylen, 7 nhóm methin và 7 carbon không mang hydro. Trong đó có một số tín hiệu đặc trưng như carbon carbonyl tại δ_C 171,00 (C-1'), 2 carbon olefin tại δ_C 122,2 (C-15), 138,5 (C-14), 2 carbon của nhóm oxymethin tại δ_C 80,9 (C-3) và 76,26 (C-21). Các dữ kiện trên xác định hợp chất (3) là một triterpenoid khung serratan.

Các tương tác HMBC (Hình 2) giữa H-23 (δ_H 0,85)/H-24 (δ_H 0,84) và C-3 (δ_C 80,9)/C-4 (δ_C 38,32)/C-5 (δ_C 55,87), giữa H-25 (δ_H 0,82) và C-1 (δ_C 38,13)/C-5/C-9 (δ_C 62,81)/C-10 (δ_C 37,47), giữa H-26 (δ_H 0,84) và C-7 (δ_C 45,08)/C-8 (δ_C 37,17)/C-9/C-27 (δ_C 56,21), giữa H-28 (δ_H 0,69) và C-13 (δ_C 56,9)/C-17 (δ_C 43,45)/C-18 (δ_C 35,98)/C-19 (δ_C 31,24), giữa H-29 (δ_H 0,87)/H-30 (δ_H 0,93) và C-17/C-21 (δ_C 76,26)/C-22 (δ_C 37,93) đề nghị vị trí của các nhóm methyl lần lượt tại C-4, C-8, C-10, C-18 và C-22 cũng như các nhóm hydroxy lần lượt tại C-3 và C-21. Ngoài ra, tương tác giữa H-16 (δ_H 1,88, 1,67)/H-27 (δ_H 2,23, 1,70) và C-14 (δ_C 138,5)/C-15 (δ_C 122,2) khẳng định vị trí của liên kết đôi tại Δ -14. Tương tự, vị trí của nhóm acetoxy tại C-3 được thiết lập qua tương tác HMBC giữa H-3 và C-1'.

Hóa lập thể của hợp chất 3 được thiết lập chủ yếu qua phân tích hằng số tương tác (J) cũng như so sánh giá trị độ chuyển dịch hóa học với các giá trị tương ứng của chất tham khảo. Cụ thể, H-3 (δ_H 4,46) tương tác với 2 proton H-2a (δ_H 1,79),

H-2b (δ_H 1,18) với các giá trị $J_1 = J_{aa} = 11,5$ Hz, $J_2 = J_{ae} = 5,0$ Hz gợi ý định hướng α -axial của H-3 trong cấu dạng ghế của vòng A. Trong khi đó, định hướng của nhóm 21-OH được xác định là β thông qua việc so sánh giá trị δ_C của C-17 (43,45), C-21 (76,26) với giá trị tương ứng của 2 đồng phân 21-epimer [21 α -OH: δ_C 50,2 (C-17), 78,4 (C-21); 21 β -OH: δ_C 43,9 (C-17), 75,3 (C-21)] [6]. Từ các lập luận trên, cấu trúc hóa học của hợp chất 3 được xác định là 21 β -hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetat hay còn được gọi là 21-episerratenediol-3-*O*-acetat [9] (Hình 1).

Hợp chất 4:

Hợp chất 4 được tách ở dạng bột trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ chỉ ra các tín hiệu đặc trưng của 1 proton olefin tại δ_H 5,33; proton của 2 nhóm carbinol tại δ_H 4,46 (dd, $J = 12,0, 5,0$ Hz, H-3), 3,23 (dd, $J = 11,5, 4,5$ Hz, H-21); proton của nhóm acetyl methyl tại δ_H 2,04 (s). Ngoài ra, tín hiệu của 7 nhóm methyl singlet tại δ_H 0,67, 0,83 (9H), 0,84, 0,85 và 0,96 cũng được quan sát.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT và HSQC chỉ ra 32 tín hiệu carbon bao gồm 8 nhóm methyl, 10 nhóm methylen, 7 nhóm methin và 7 carbon không mang hydro. Trong đó có một số tín hiệu đặc trưng như carbon carboxyl tại δ_C 171,00 (C-1'), 2 carbon olefin tại δ_C 122,3 (C-15), 138,1 (C-14), 2 carbon của nhóm oxymethin tại δ_C 80,84 (C-3) và 79,16 (C-21).

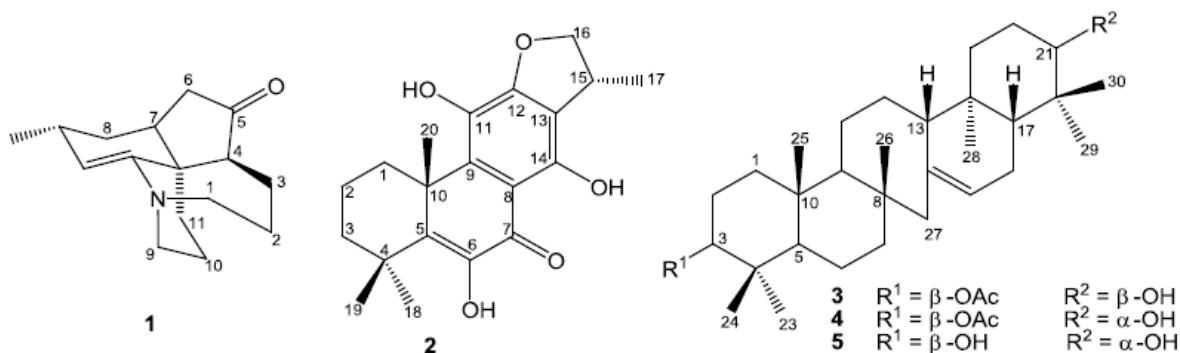
Các dữ kiện phổ 1D-NMR của hợp chất 4 nhìn chung rất giống với các giá trị tương ứng của hợp chất 3 gợi ý sự tương đồng về mặt cấu trúc giữa chúng. Sự chênh lệch lớn giá trị δ_C của C-17, C-19, C-21 và C-29 giữa hai hợp chất này gợi ý sự khác biệt cấu hình tại C-21. Hơn nữa, giá trị δ_C của C-17 (49,51) và C-21 (79,16) xác

định cấu hình 21 α -OH đối với hợp chất 4 [6]. Điều này cũng được củng cố thêm bằng các hằng số tương tác giữa H $_{\beta/axial}$ -21 (δ_H 3,23) và H-20 (δ_H 1,63) [$J_1 = J_{aa} = 11,5$ Hz, $J_2 = J_{ae} = 4,5$ Hz] [10]. Sự gán ghép chi tiết cho các proton và carbon cũng được thực hiện bằng việc phân tích phổ HMBC, tương tự như đối với hợp chất 3. Do vậy, cấu trúc hóa học của hợp chất 4 được kết luận là 21 α -hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetat hay còn được gọi là serratenediol-3-*O*-acetat [9] (Hình 1).

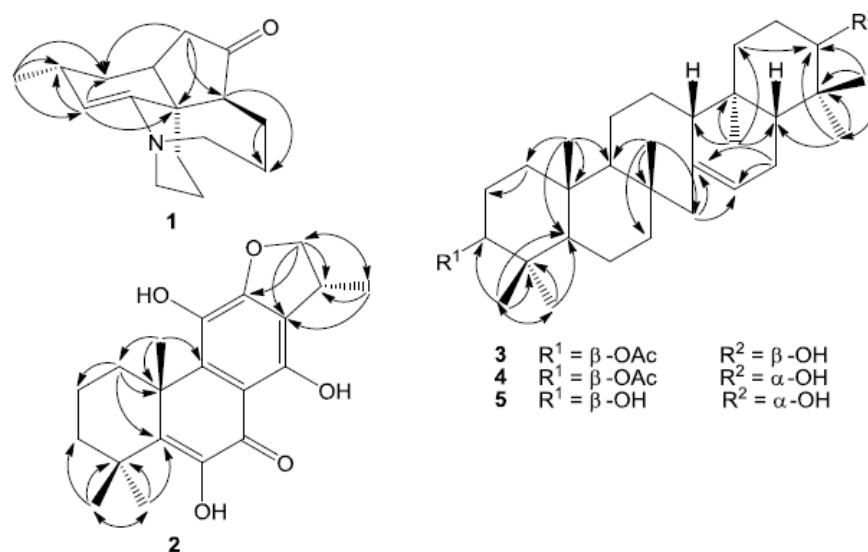
Hợp chất 5: Hợp chất 5 được tách ở dạng bột trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ chỉ ra các tín hiệu đặc trưng của 1 proton olefin tại δ_H 5,33; proton của 2 nhóm carbinol tại δ_H 3,17 (dd, $J = 10,5, 5,5$ Hz, H-3), 3,21 (dd, $J = 11,0, 5,0$ Hz, H-21), 7 nhóm methyl singlet tại δ_H 0,67, 0,76, 0,81, 0,82, 0,83, 0,95 và 0,96.

Phổ $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT và HSQC chỉ ra 30 tín hiệu carbon bao gồm 7 nhóm methyl, 10 nhóm methylen, 7 nhóm methin và 6 carbon không mang hydro. Trong đó có một số tín hiệu đặc trưng như 2 carbon olefin tại δ_C 122,00 (C-15) và 138,10 (C-14), 2 carbon của nhóm oxymethin tại δ_C 78,49 (C-3) và 78,80 (C-21).

Các dữ kiện phổ 1D-NMR gợi ý hợp chất 5 có cấu trúc tương tự hợp chất 4 ngoại trừ sự vắng mặt nhóm acetoxy tại C-3. Điều này có thể nhận thấy qua sự dịch chuyển về trường cao của C-3 [78,49 so với 80,84] và theo chiều ngược lại của C-2 [27,16 so với 23,85]. Sự gán ghép chi tiết cho các proton và carbon được thực hiện bằng việc phân tích phổ HMBC. Do vậy, cấu trúc hóa học của hợp chất 5 được kết luận là 21 α -hydroxyserrat-14-en-3 β -ol hay còn được gọi là serratenediol [9] (Hình 1).



Hình 1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất từ 1-5



Hình 2. Tương tác HMBC của các hợp chất từ 1-5

4. Kết luận

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp với các phương pháp phổ, chúng tôi đã phân lập và xác định được cấu trúc của 5 hợp chất từ loài *H. phlegmaria* thu mẫu tại Việt Nam. Trong số các hợp chất phân lập được, fawcettidin (1) và lycoxanthol (2) lần đầu tiên phân lập được từ

loài *Huperzia phlegmaria*, 3 hợp chất 21 β -hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetat (3), 21 α -hydroxyserrat-14-en-3 β -yl acetat (4) và 21 α -hydroxyserrat-14-en-3 β -ol (5) đã được báo cáo có trong một số loài thuộc chi *Huperzia* Bernh. trước đó.

Tài liệu tham khảo

1. Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Tập 2, tr. 808-813, NXB Y học.
2. Yu P. N., Terry C. T. O., Nancy Y. P., (2015), Plant alkaloids as drug leads for Alzheimer's disease, *Neurochemistry International*, 89, 260-270.
3. Li P., Huang W., Zhuo J., Guo Z., Cao W., Xu L., Ma L., Chen Z. E., Kennelly E. J., Wu S. B., Long, C. (2015), Seven new *Lycopodium* alkaloids from the aerial parts of *Phlegmariurus squarrosus*, *Tetrahedron*, 71(33), 5308-5314.
4. Burnell R. H., Chin C. G., Mootoo B. S., Taylor D. R. (1963), *Lycopodium* alkaloids: Part viii. New alkaloids from Jamaican *Lycopodium* species, *Canadian Journal of Chemistry*, 41(12), 3091-3094.
5. Ishii H., Yasui B., Nishino R., Harayama T., Inubushi Y. (1970), Structure of serratinidine and fawcettidine. A new type of *Lycopodium* alkaloid, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 18(9), 1880-1888.
6. Rüedi P., Schmid J. M., Eugster C. H. (1982), Nachweis von C (15)-epimeren Coleonen C und D in der natur und ihre bedeutung für den sterischen verlauf der bildung des spirocyclopropanrings, *Helvetica Chimica Acta*, 65(7), 2181-2188.
7. Fan T., Min Z., Song G., Inuma M., Tanaka T. (1999), Abietane diterpenoids from *Clerodendrum mandarinorum*, *Phytochemistry*, 51(8), 1005-1008.
8. Xu M. F., Jia O. Y., Wang S. J., Zhu Q. (2016), A new bioactive diterpenoid from *Pestalotiopsis adusta*, an endophytic fungus from *Clerodendrum canescens*, *Natural Product Research*, 30(23), 2642-264.
9. Armijos C., Gilardoní G., Amay L., Lozano A., Bracco F., Ramirez J., Bec N., Larroque C., Finzi P. V., Vidari G. (2016), Phytochemical and ethnomedicinal study of *Huperzia* species used in the traditional medicine of Saraguros in Southern Ecuador; AChE and MAO inhibitory activity, *Journal of Ethnopharmacology*, 193, 546-554.
10. Zhou H., Tan C. H., Jiang S. H., Zhu D. Y. (2003), Serratene-type triterpenoids from *Huperzia serrata*, *Journal of Natural Products*, 66(10), 1328-1332.