VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN HÓA HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN

PHỤ LỤC

**ĐỀ TÀI HỢP TÁC THEO NGHỊ ĐỊNH THƯ
VIỆT NAM – CHLB ĐỨC**

"NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG SINH CÁC CHẤT HOẠT ĐỘNG SINH HỌC CỦA MỘT SỐ LOÀI NẤM LỚN THUỘC BASIDIOMYCETES PHÂN LẬP TỪ RỪNG MƯA NHIỆT ĐỚI BẮC VIỆT NAM"

(2006- 2008)

Cơ quan chủ trì: **Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên**

Chủ nhiệm đề tài: **TS. Lê Mai Hương**

7408-1
15/6/2009

Hà Nội, 2008

MỘT SỐ HÌNH ẢNH VỀ ĐI THỰC ĐỊA LẤY MẪU VÀ NẤM LỚN Ở RỪNG PHÍA BẮC VIỆT NAM

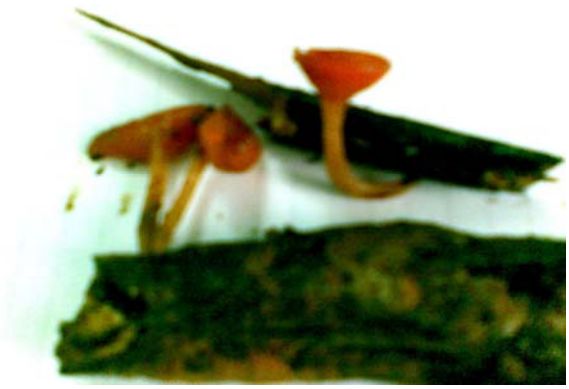
23/07/2005

23/07/2005

23/07/2005

23/07/2005

GIẺ GAI LÁ CÒNG
01.02.2007



01.02.2007

01.02.2007

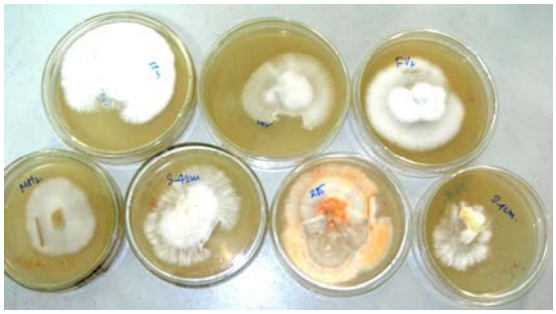
CP 071
02.02.2007

23/07/2005

23/07/2005

2002/ 9/ 6 2:14pm

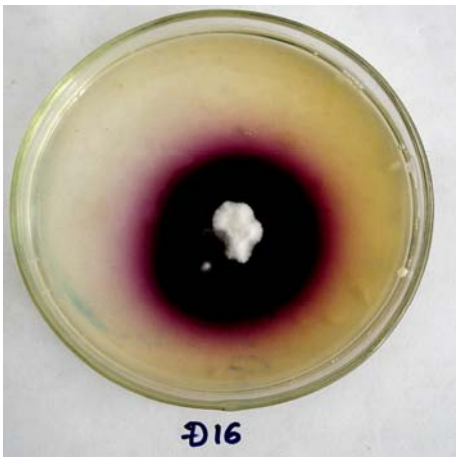
MỘT SỐ HÌNH ẢNH VỀ NUÔI CẤY NẤM LỚN TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM



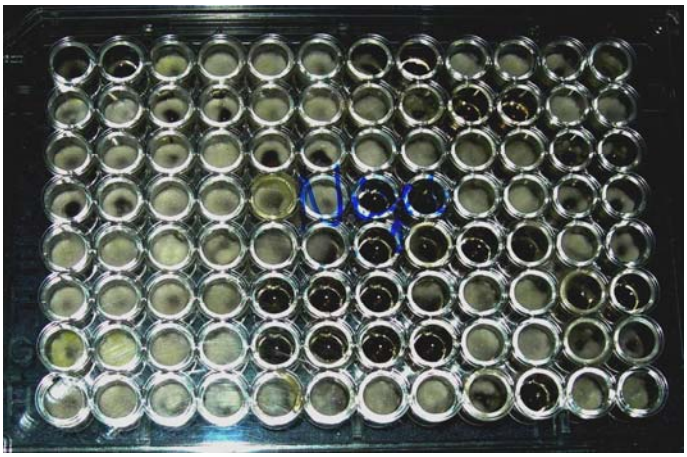
HÌNH ẢNH CÁC CHỦNG NẤM NUÔI CẤY TRÊN MÔI TRƯỜNG RẮN (RƠM)

K+
K+
VCAP

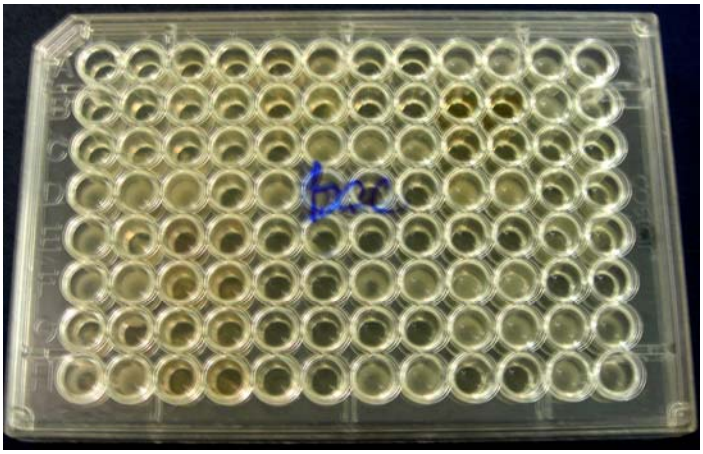
MỘT SỐ HÌNH ẢNH VỀ THỬ HOẠT TÍNH TẠI PHÒNG SINH HỌC THỰC NGHIỆM



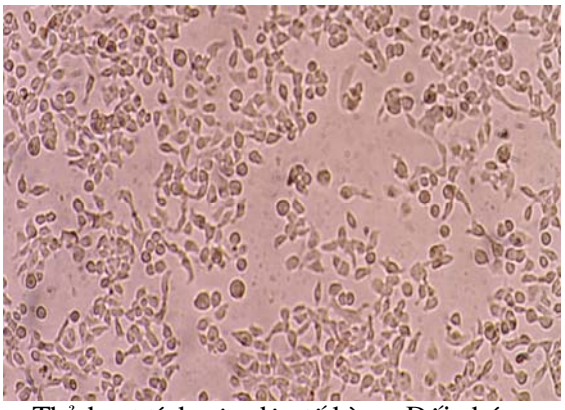
Thử khả năng sinh enzyme



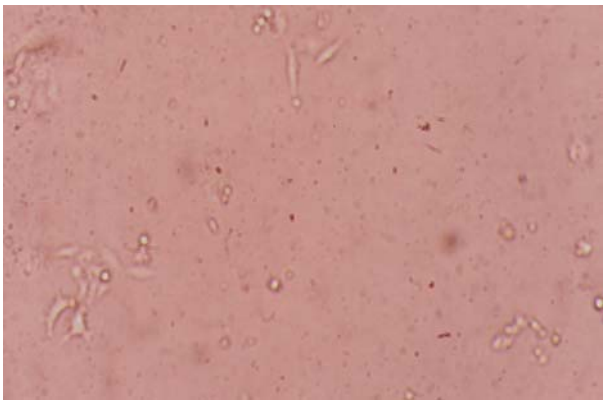
Thử Hoạt tính kháng VSVKĐ



Thử Hoạt tính kháng VSVKĐ

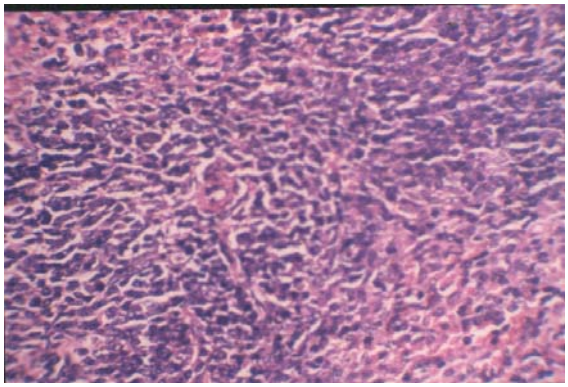


Thử hoạt tính gây độc tế bào – Đối chứng

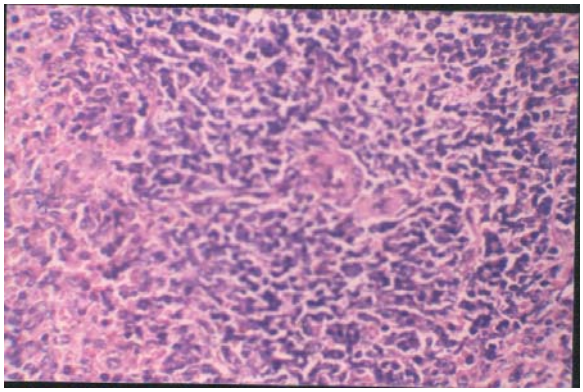


Thử hoạt tính gây độc tế bào – Mẫu có hoạt tính

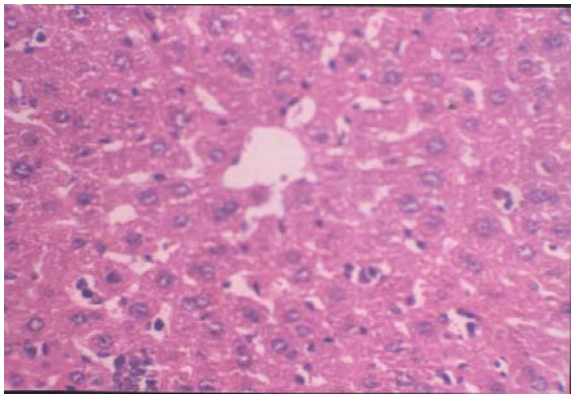
KẾT QUẢ THỬ HOẠT TÍNH *IN VI VO* CÁC CHIẾT PHẨM CỦA NẤM HẦU THỦ



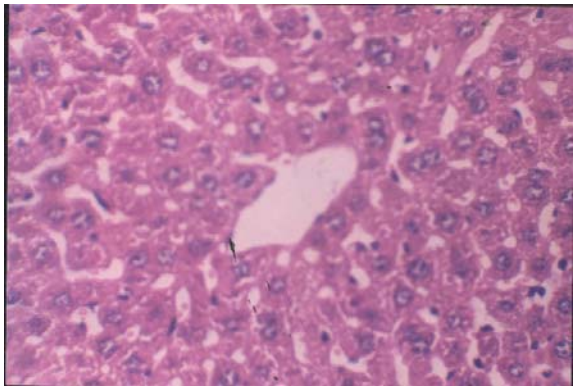
Lách nhóm chứng



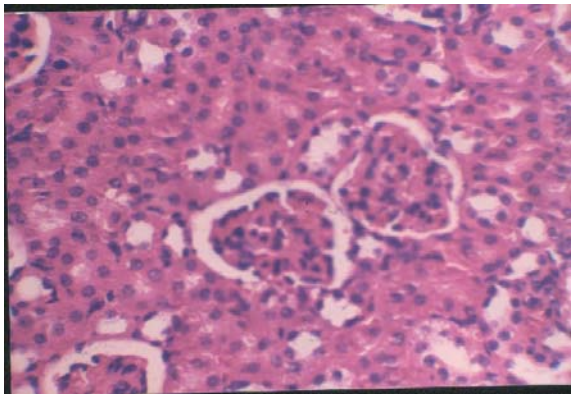
Lách nhóm thử



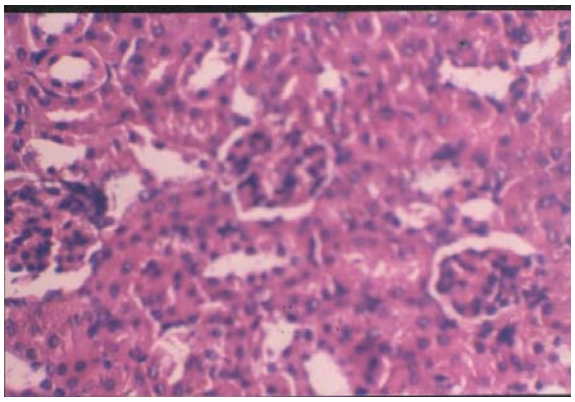
Gan nhóm chứng



Gan nhóm thử



Thận nhóm chứng



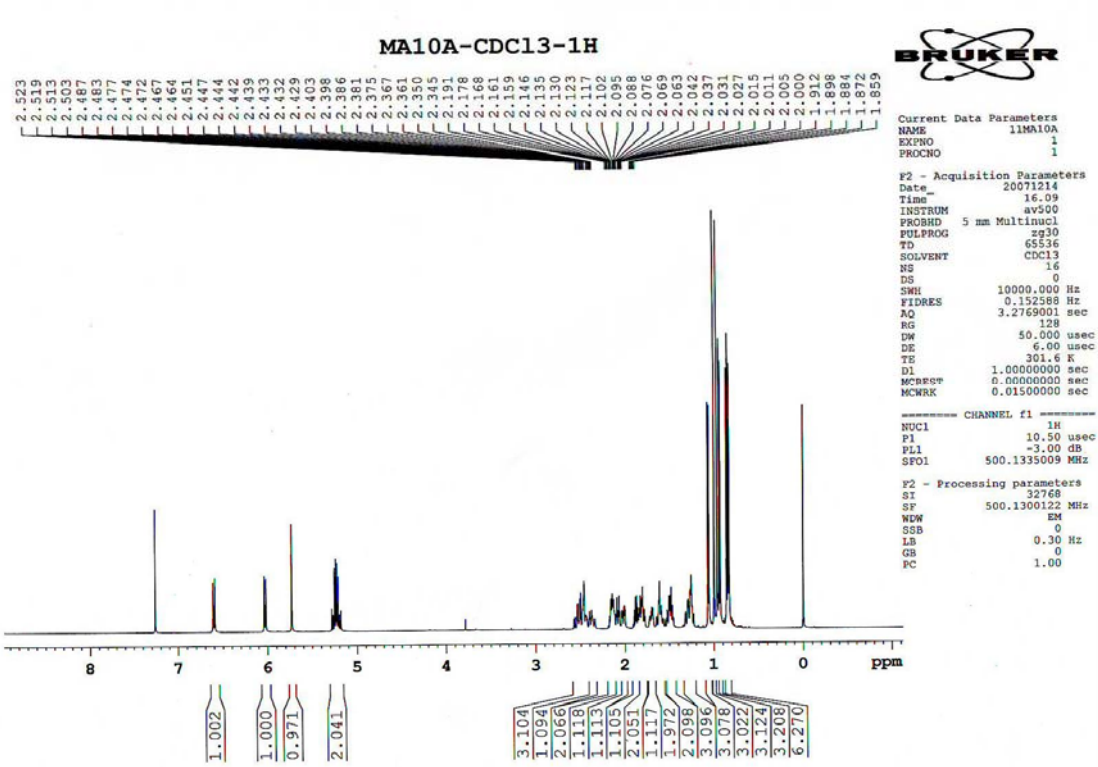
Thận nhóm thử

DỮ LIỆU VÀ HÌNH ẢNH PHỔ CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ CÁC CHỦNG MA10 VÀ HT

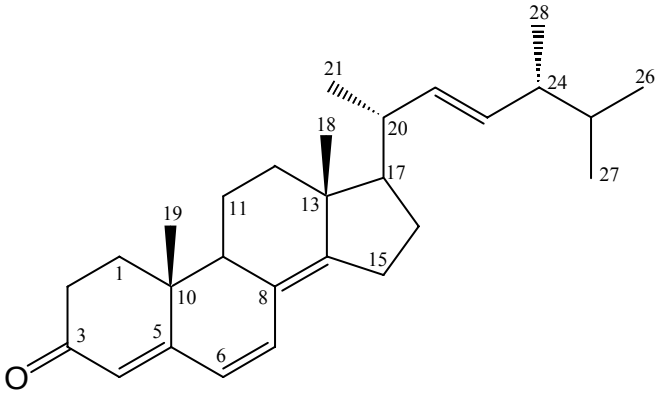
I. CHỦNG MA10

a. Hợp chất MA10A - Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one

Hợp chất **MA10A** nhận được dưới dạng chất bột màu vàng với công thức phân tử là $C_{28}H_{40}O$ được xác định bởi các dữ liệu phổ khối với píc ion $[M+H]^+$ tại 393,1 cùng với các dữ liệu phổ ^{1}H-, ^{13}C- NMR và các phổ DEPT.



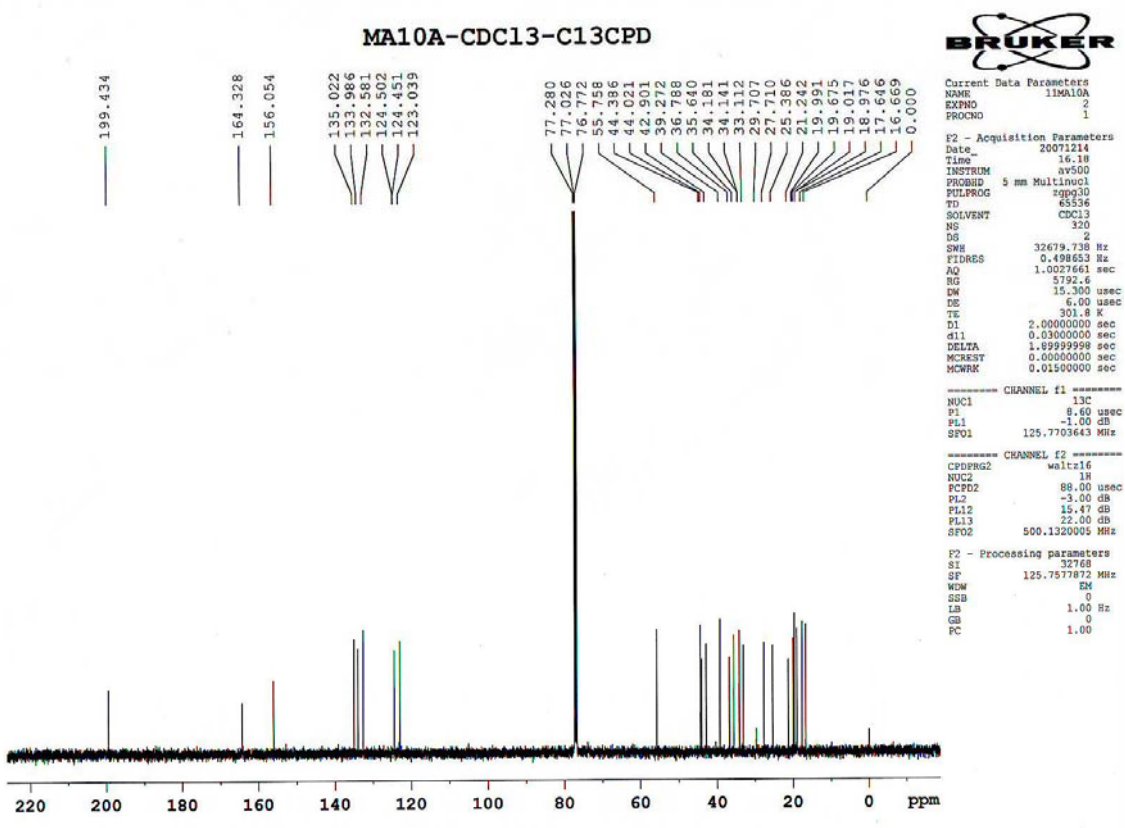
*Hình 2.2.1.a. Phổ ^{1}H-NMR của **MA10A***



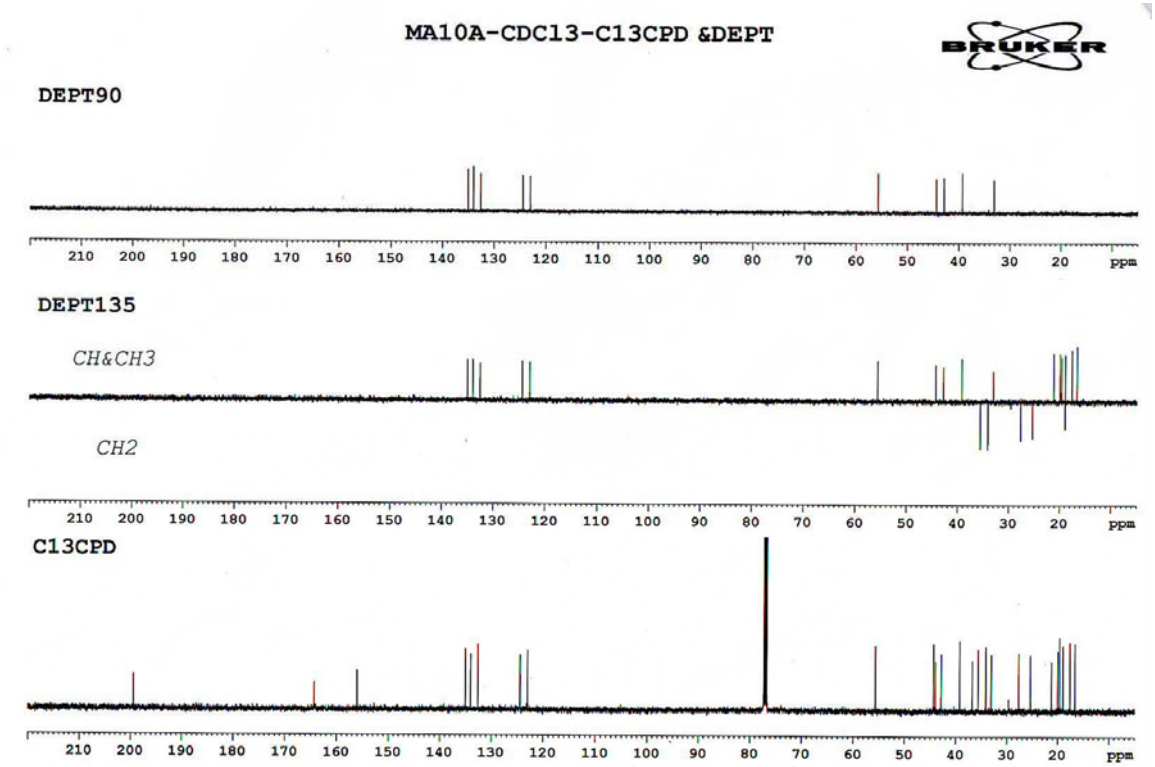
*Hình 2.2.1.b. Cấu trúc hóa học của **MA10A***

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{1}H-NMR của **MA10A** đặc trưng cho một hợp chất steroit. Trên phổ ^{1}H-NMR của **MA10A** xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của 1

proton olefin tại δ_H 5,73 ppm (1H, s, H-4), proton của nối đôi nội vòng bị thế 2 vị trí tại δ_H 6,06 ppm (1H, d, *J* = 9,5 Hz, H-6) và 6,61 ppm (1H, d, *J* = 9,5 Hz, H-7), các proton của nối đôi ngoại vòng có cấu hình *trans* tại δ_H 5,21 ppm (1H, dd, *J* = 15,5, 7,5 Hz, H-22) và 5,26 ppm (1H, dd, *J* = 15,5, 7,5 Hz, H-23) (cấu hình trans của nối đôi được xác định bởi hằng số tương tác lớn: *J* = 15,5 Hz của các proton), của 2 nhóm metyl gắn với cacbon bậc 4 tại δ_H 0,96 ppm (3H, s, H-18) và 1,00 ppm (3H, s, H-19), 4 nhóm metyl bậc 3 tại δ_H 1,06 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-21), 0,83 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-26), 0,86 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-27) và 0,93 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-28). Sự xuất hiện các tín hiệu của 6 nhóm metyl trong đó có 2 nhóm metyl bậc 3 và 4 nhóm metyl bậc hai gợi ý có sự có mặt của một hợp chất steroit dạng ergosterol.



Hình 2.2.1.c. Phổ ^{13}C-NMR của ***MA10A***



*Hình 2.2.1.d. Phổ ^{13}C-NMR và các phổ DEPT của **MA10A***

Trên phổ ^{13}C- NMR và các phổ DEPT xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của khung ergosterol 28 cacbon với các tín hiệu phổ của 5 cacbon thế 2 của liên kết đôi tại δ_C 124,50 (C-6), 123,04 (C-4), 133,98 (C-7), 132,58 (C-23) và 135,02 (C-22), 3 cacbon olefin bậc 4 tại δ_C 124,45 (C-8), 156,05 (C-14) và 164,33 (C-5) và của nhóm cacbonyl tại δ_C 199,43 (C-3). Do đó **MA10A** có 1 nối đôi ngoại vòng và 4 nối đôi nội vòng và 1 nhóm cacbonyl. Ngoài ra còn có tín hiệu của 4 nhóm metin tại δ_C 39,27 (C-20), 33,11 (C-25), 55,76 (C-17) và 42,90 (C-20), 6 nhóm metyl tại δ_C từ 16,67-21,24 ppm.

Để xác định giá trị phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton gắn với các bon tương ứng, phổ cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều tương tác trực tiếp HSQC đã được tiến hành. Qua các tương tác trên phổ HSQC đã xác định được các liên kết C-H. Kết quả được chỉ ra ở bảng 1.

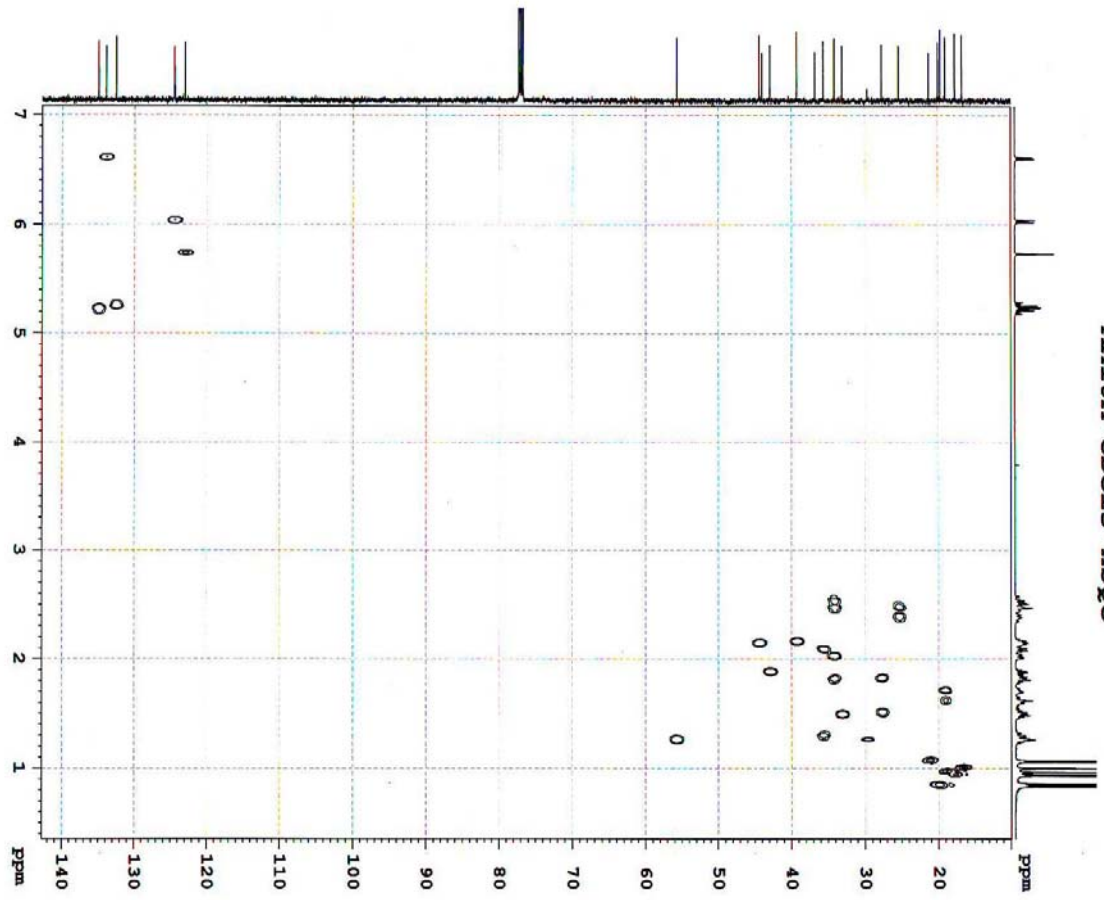
*Bảng 1: Kết quả phổ NMR của **MA10A***

C	δ_C [a] [1]	δ_C [a, b]	δ_H [a, c] mul, (*J* in Hz)	HMBC (H to C)
1	34,2	34,18	2,03 m/1,81 m	
2	34,2	34,14	2,55 m/2,48 m	3
3	199,5	199,43	-	
4	123,0	123,04	5,73 s	2, 6, 10
5	164,3	164,33	-	
6	124,5	124,50	6,04 d (9,5)	4, 5, 8, 10
7	134,0	133,98	6,61 d (9,5)	5, 9, 14
8	124,4	124,45	-	

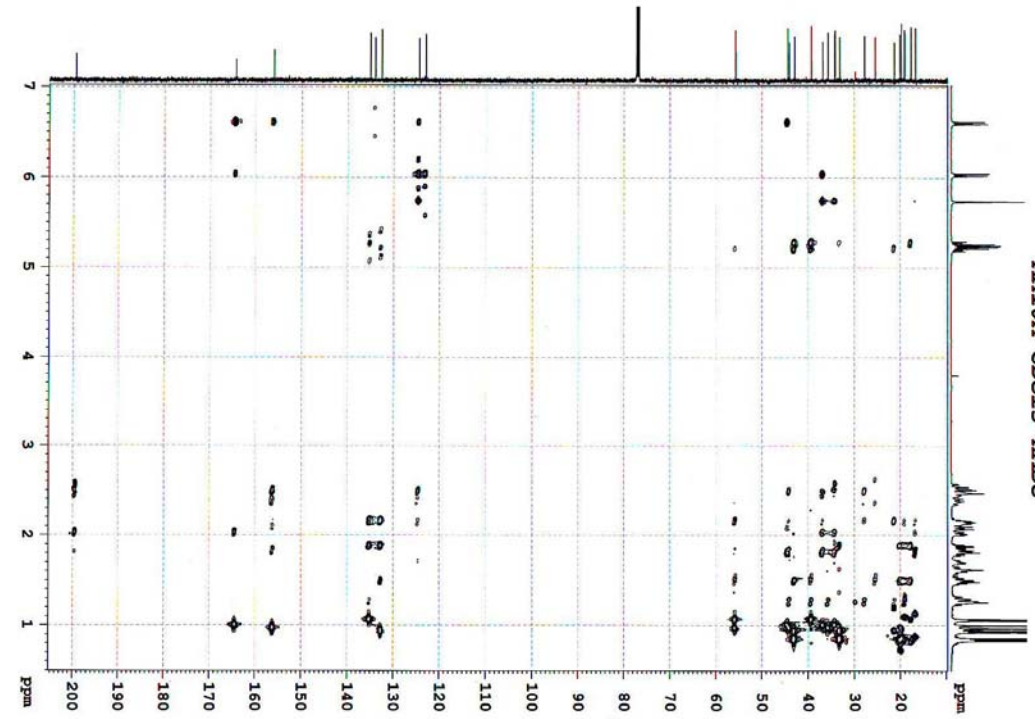
9	44,3	44,38	2,16 m	
10	36,8	36,79	-	
11	19,0	19,02	1,71 m/1,61 m	
12	35,6	35,64	2,09 m/1,31 m	
13	44,0	44,02	-	
14	156,1	156,05	-	
15	25,4	25,38	2,47 m/2,39 m	8, 14
16	27,7	27,71	1,82 m/1,52 m	17
17	55,7	55,76	1,26 m	
18	19,0	18,97	0,96 s	12, 13, 14, 17
19	16,7	16,67	1,00 s	1, 5, 9, 10
20	39,3	39,27	2,17 m	17, 22, 23
21	21,2	21,24	1,06 d (7,0)	17, 20, 22
22	135,0	135,02	5,21 dd (15,5, 7,5)	21, 24
23	132,6	132,58	5,26 dd (15,5, 7,5)	21, 24, 25
24	42,9	42,90	1,88 m	22, 23
25	33,1	33,11	1,49 m	23
26	19,7	19,67	0,83 d (7,0)	24, 25, 27
27	20,0	19,99	0,86 d (7,0)	24, 25, 26
28	17,7	17,56	0,93 d (7,0)	23, 24, 25

[a]recorded in CDCl3, [b]125 MHz, [c]500 MHz

Để xác định các vị trí nhóm thế và kiểm tra các giá trị độ dịch chuyển hoá học của các vị trí, phổ HMBC đã được đo. Trên phổ HMBC, nhóm 2 nhóm metyl được khẳng định tại vị trí C-18 và C-19 bởi tương tác HMBC của proton H-18, δ_H 0,96 với C-12(δ_C 35,64), C-13(δ_C 44,02), C-17(δ_C 55,76), C-14(δ_C 156,05) và của proton H-19, δ_H 1,00 với C-1(δ_C 34,18), C-5(δ_C 164,33), C-9(δ_C 44,38), C-10(δ_C 36,79).Vị trí của 3 nhóm metyl còn lại cũng được khẳng định vị trí qua các tương tác trên phổ HMBC : proton H-21 với C-17, C-20, C-22, proton H-26 với C-24, C-25, C-27, proton H-27 với C-24, C-25, C-26 và proton H-28 với C-23, C-24, C-25.

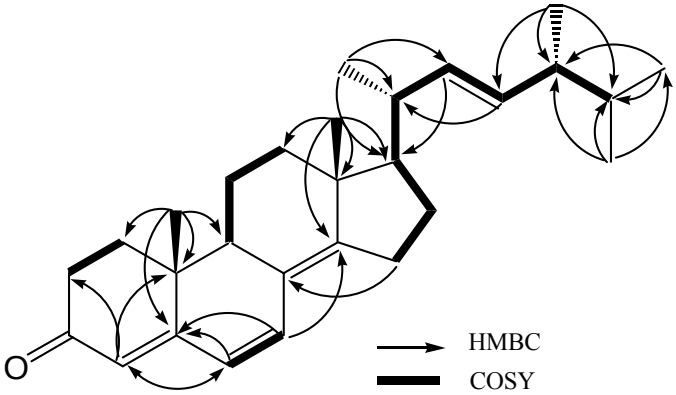


*Hình 2.2.1.e. Phổ HSQC của **MA10A***

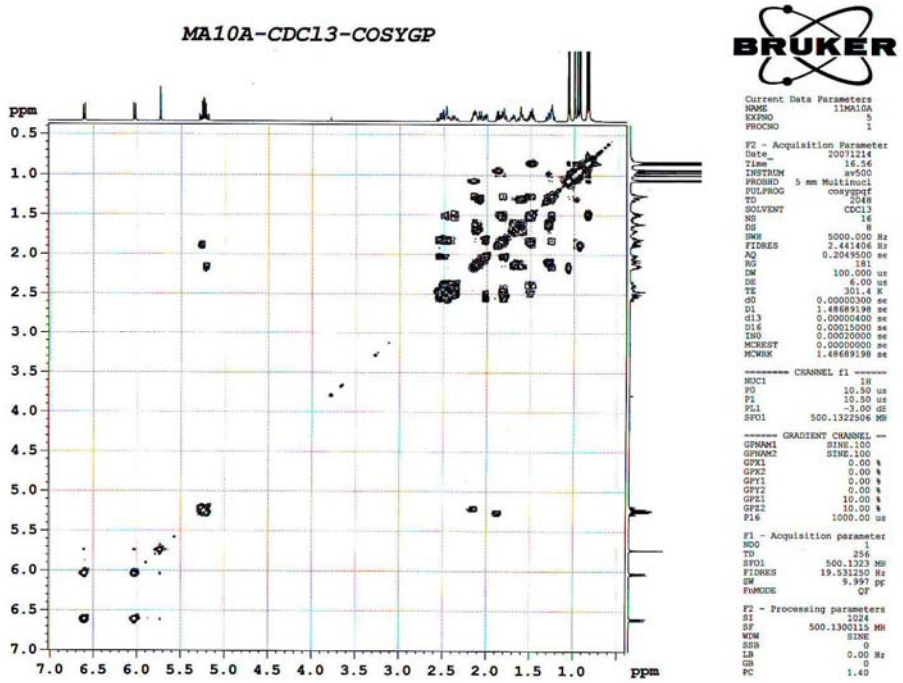


*Hình 2.2.1.f. Phổ HMBC của **MA10A***

Tiến hành đo phổ COSY của **MA10A** xác định được các tương tác của proton đính trên các nguyên tử cacbon cạnh nhau, do đó xác định được các liên kết C(1)-C(2), C(6)-C(7), C(9)-C(11)-C(12), C(15)-C(16)-C(17)-C(20)-C(22)-C(23)-C(24)-C(25) như hình 2.2.1.g.



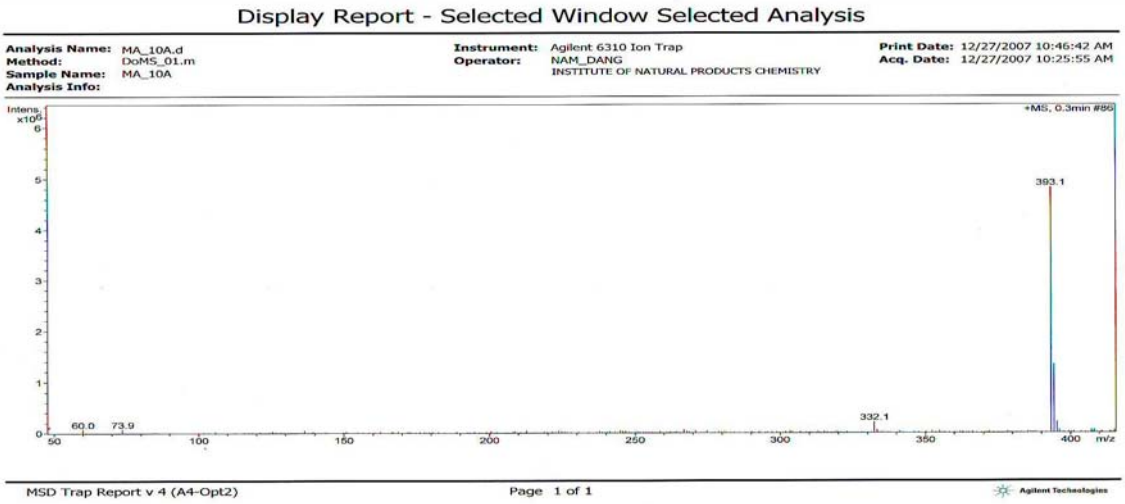
*Hình 2.2.1.g. Tương tác HMBC và COSY của **MA10A***



*Hình 2.2.1.h. Phổ COSY của **MA10A***

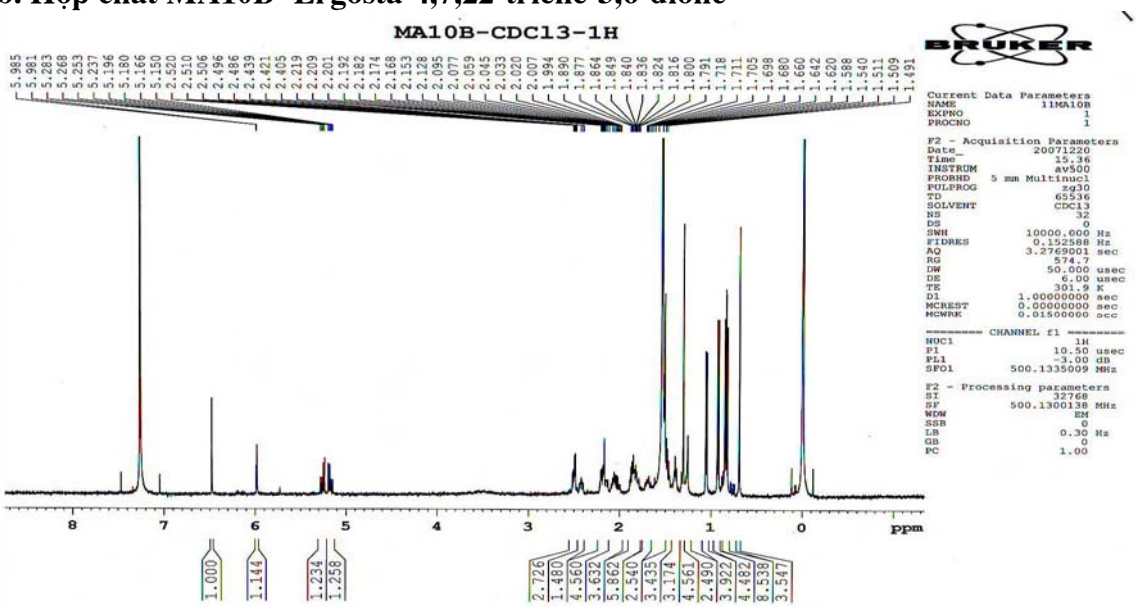
Các kết quả phân tích nêu trên kết hợp với các dữ kiện phổ khối lượng cho phép khẳng định hợp chất **MA10A** là Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one. Đem so sánh các dữ kiện phổ của **MA10A** với Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one [1] (bảng 1) cho thấy sự trùng khớp hoàn toàn về các giá trị phổ tương ứng. Hợp chất này đã được tìm thấy trước đó từ nấm *Pleurotus ostreatus, Scleroderma polyrhizum* và

Acremonium coenophialu. Tuy nhiên, đây là lần đầu tiên hợp chất này được phân lập từ loài *Pyrrhoderma adamanticum*.

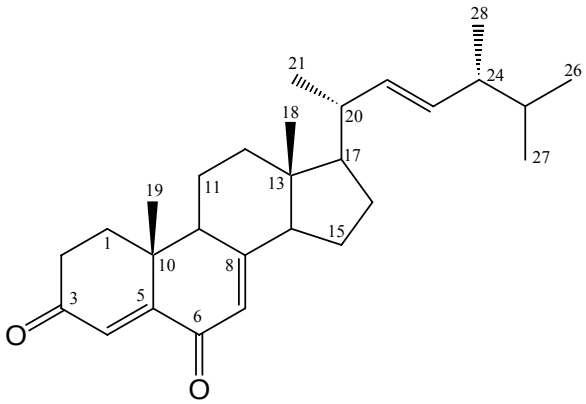


*Hình 2.2.2.i. Phổ ESI-MS của **MA10A***

b. Hợp chất MA10B- Ergosta-4,7,22-triene-3,6-dione

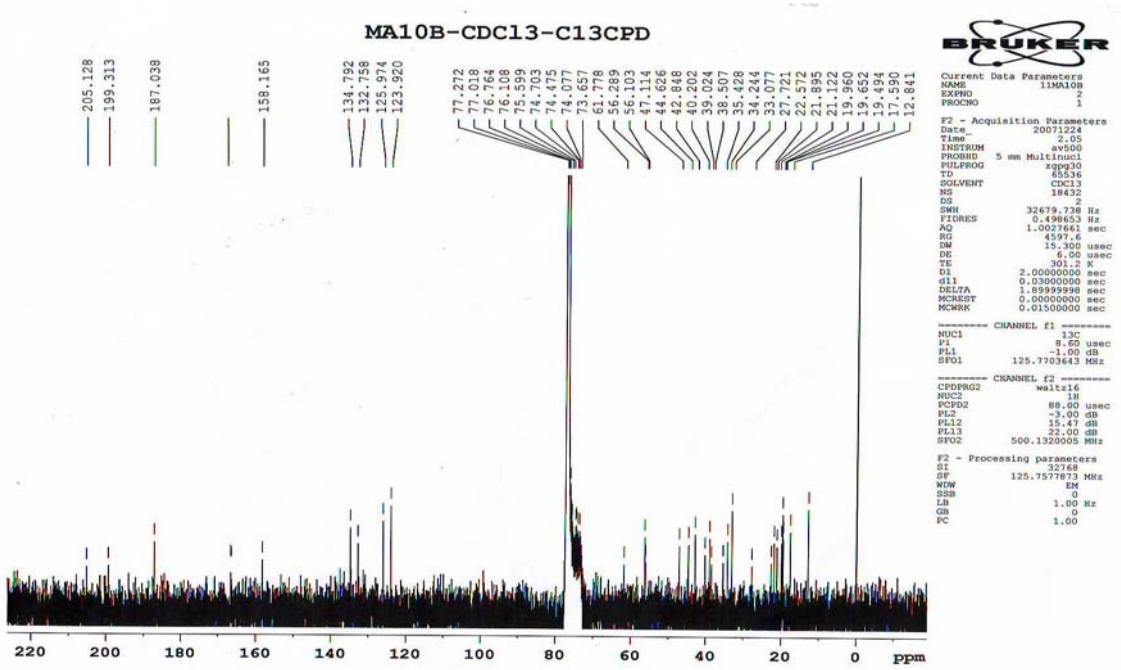


*Hình 2.2.2.a. Phổ ^{1}H-NMR của **MA10B***

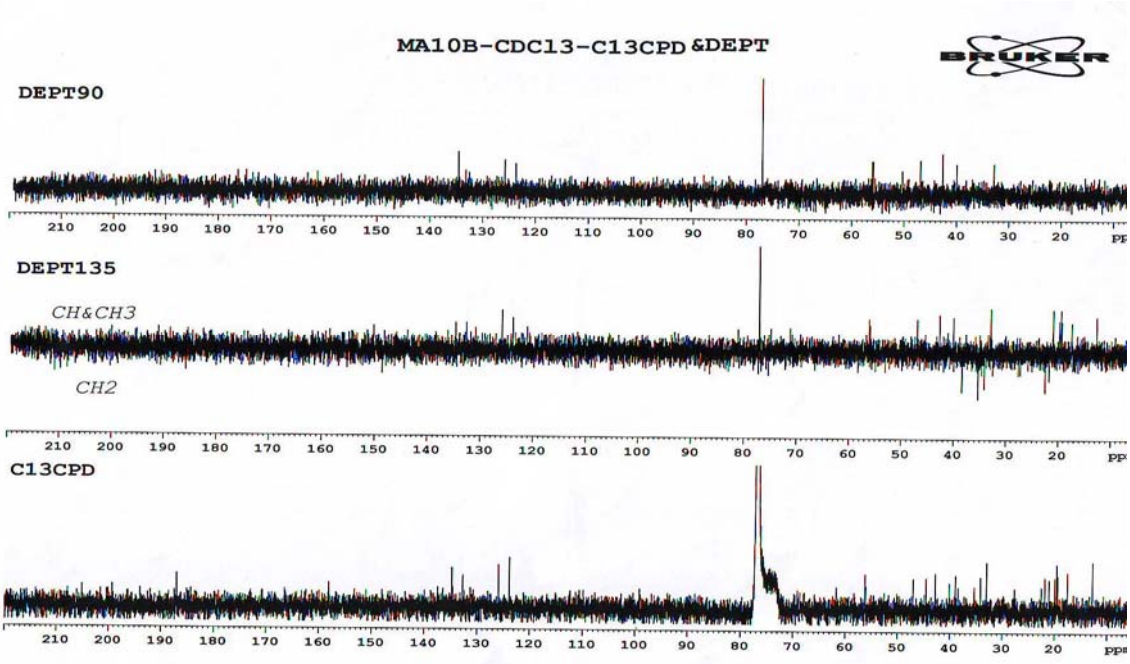


*Hình 2.2.2.b. Cấu trúc hóa học của **MA10B***

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{1}H-NMR của **MA10B** gần giống của **MA10A**, đặc trưng cho khung ergosterol. Trên phổ ^{1}H-NMR của **MA10B** mất đi tín hiệu 2 proton của nối đôi nội vòng khi so với **MA10A**, thay vào đó là 1 proton olefin biệt lập δ_H 5,98 ppm (1H, d, *J* = 2 Hz, H-7). Trên phổ ^{1}H-NMR của **MA10B** cũng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của 1 proton olefin biệt lập tại δ_H 6,47 ppm (1H, s, H-4), 2 proton của nối đôi ngoại vòng có cấu hình *trans* tại δ_H 5,18 ppm (1H, dd, *J* = 15,0, 8,0 Hz, H-22) và 5,26 ppm (1H, dd, *J* = 15,0, 7,5 Hz, H-23), 2 nhóm metyl bậc 4 tại δ_H 0,69 ppm (3H, s, H-18) và 1,30 ppm (3H, s, H-19), của 4 nhóm metyl gắn với nhóm CH tại δ_H 1,05 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-21), 0,83 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-26), 0,85 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-27) và 0,92 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-28).



*Hình 2.2.2.c. Phổ ^{13}C-NMR của **MA10B***



*Hình 2.2.2.d. Phổ DEPT của **MA10B***

Trên phổ ^{13}C- NMR và các phổ DEPT xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một khung ergosterol có 2 nối đôi trong vòng và 2 nhóm cacbonyl với các tín hiệu đặc trưng của 2 nhóm cacbonyl tại δ_C 199,31 (C-3) và 187,04 (C-6), 5 cacbon thế 2 của liên kết đôi tại δ_C 123,92 (C-4), 125,97 (C-7), 134,79 (C-22) và 132,76 (C-23), 2 cacbon olefin bậc 4 tại δ_C 158,16 (C-5) và 167,75 (C-8).Các Các dữ kiện phổ còn lại gần giống với **MA10A**, nhất là phần mạch nhánh.

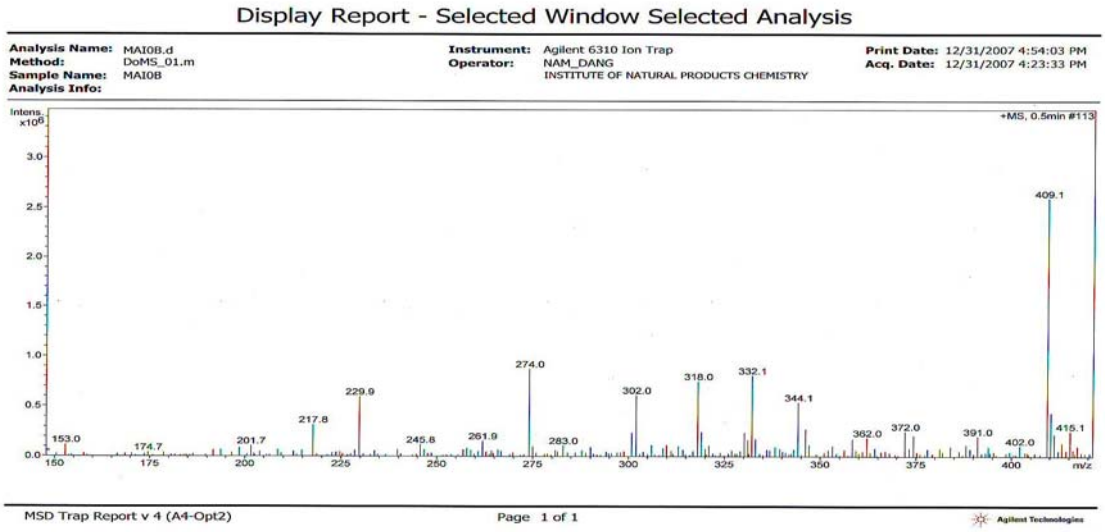
*Bảng 2: Kết quả phổ NMR của **MA10B***

C	δ_C [a] [2]	δ_C [a, b]	δ_H [a, b] mul, (*J* in Hz)
1	35,4	35,43	
2	34,3	34,24	
3	199,3	199,31	
4	123,9	123,92	6,47 s
5	158,2	158,16	
6	187,0	187,04	
7	126,0	125,97	5,98 d (2,0)
8	167,7	167,75	
9	47,1	47,11	
10	39,1	39,02	
11	22,6	22,57	
12	38,5	38,51	
13	44,6	44,63	
14	56,1	56,10	
15	21,9	21,89	
16	27,7	27,72	
17	56,3	56,29	
18	12,8	12,84	0,69 s
19	19,7	19,65	1,30 s

20	40,2	40,20	
21	21,1	21,12	1,05 d (7,0)
22	134,8	134,79	5,17 dd (15,0, 8,0)
23	132,8	132,76	5,26 dd (15,0, 7,5)
24	42,9	42,85	
25	33,1	33,08	
26	19,5	19,49	0,85 d (7,0)
27	20,0	19,96	0,83 d (7,0)
28	17,6	17,59	0,92 d (7,0)

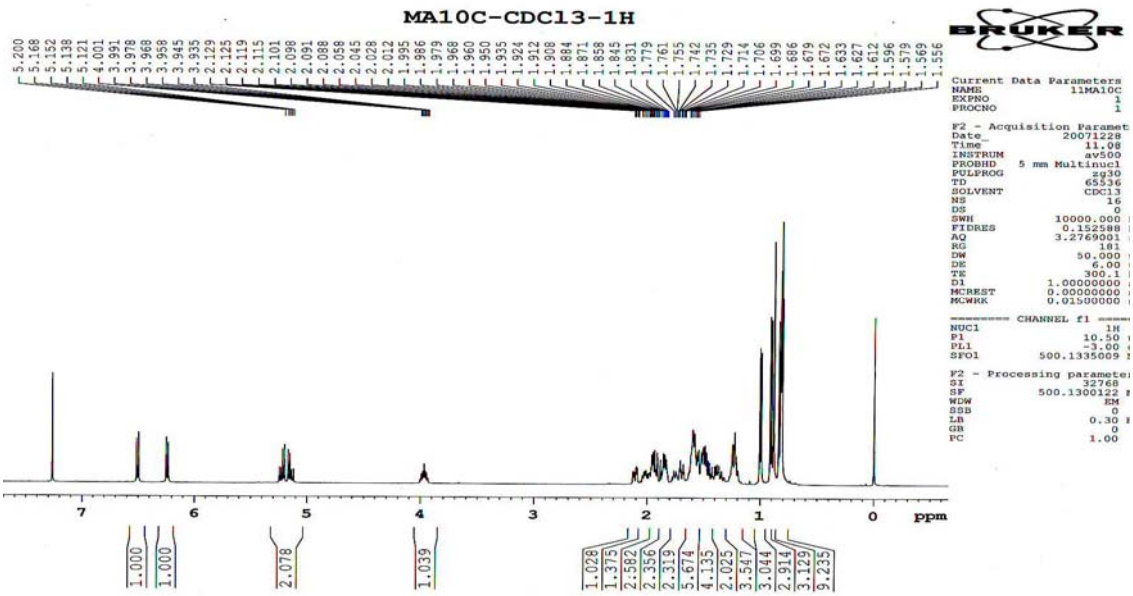
[a]recorded in $CDCl_3$, [b]125 MHz, [c]500 MHz

Các kết quả phân tích nêu trên được đem so sánh với các dữ kiện phổ của hợp chất Ergosta-4,7,22-triene-3,6-dione [2] (bảng 2)và sự trùng khớp hoàn toàn về các giá trị phổ tương ứng kết hợp với các dữ kiện phổ khối lượng cho phép khẳng định hợp chất **MA10B** là Ergosta-4,7,22-triene-3,6-dione, hợp chất này đã được tìm thấy trước đó từ nấm *Ganoderma lucidum* [2]. Tuy nhiên, đây là lần đầu tiên hợp chất này được phân lập từ loài *Pyrrhoderma adamanticum.*



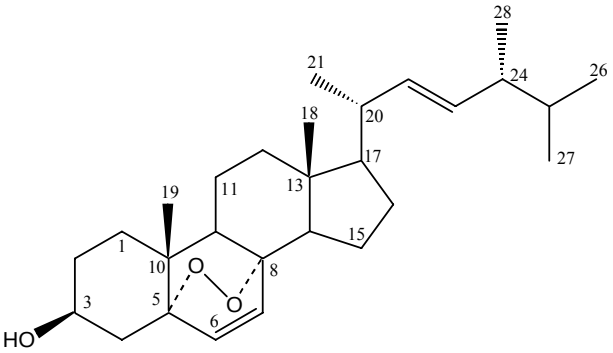
*Hình 2.2.2.e.Phổ EI-MS của **MA10B***

c.Hợp chất MA10C- Ergosterol peroxide



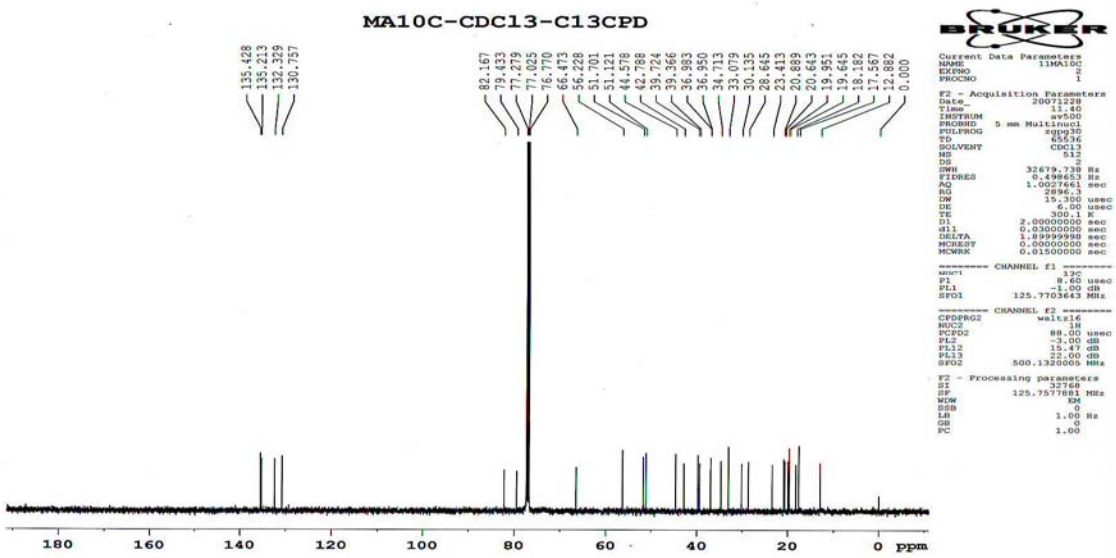
*Hình 2.2.3.a. Phổ ^{1}H-NMR của **MA10C***

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{1}H-NMR của **MA10C** khá giống của **MA10A**, đặc trưng cho khung ergosterol.Nhưng trên phổ của **MA10C** mất đi tín hiệu của 1 proton olefin cô lập ở vị trí 4, thay vào đó xuất hiện thêm tín hiệu của 1 nhóm metilen.

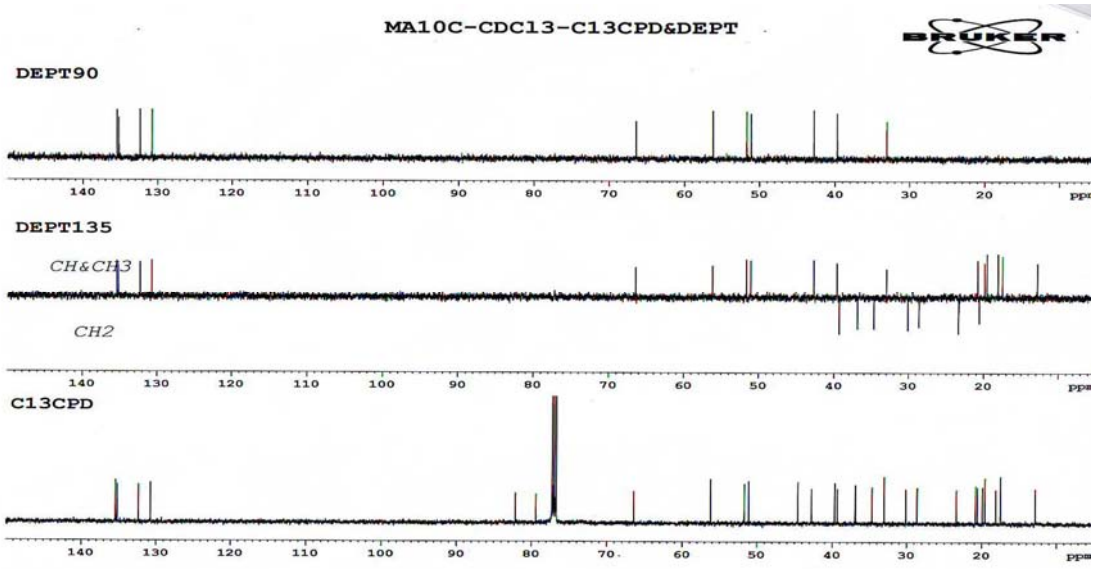


*Hình 2.2.3.b. Cấu trúc hóa học của **MA10C***

Trên phổ ^{1}H-NMR của **MA10C** cũng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của 2 proton của nối đôi nội vòng tại δ_H 6,24 ppm (1H, d, J = 8,5 Hz, H-6) và 6,50 ppm (1H, d, J = 8,5 Hz, H-7), 2 proton của nối đôi ngoại vòng có cấu hình *trans* tại δ_H 5,14 ppm (1H, dd, J = 15,5, 8,0 Hz, H-22) và 5,26 ppm (1H, dd, J = 15,5, 8,0 Hz, H-23), của 2 nhóm metyl bậc 4 tại δ_H 0,82 ppm (3H, s, H-18) và 0,88 ppm (3H, s, H-19), của 4 nhóm metyl bậc 3 tại δ_H 1,06 ppm (3H, d, J = 7,0 Hz, H-21), 0,82 ppm (3H, d, J = 7,0 Hz, H2-6), 0,83 ppm (3H, d, J = 7,0 Hz, H-27) và 0,91 ppm (3H, d, J = 7,0 Hz, H-28).



*Hình 2.2.3.c.Phổ ^{13}C-NMR của **MA10C***



*Hình 2.2.3.d.Phổ DEPT của **MA10C***

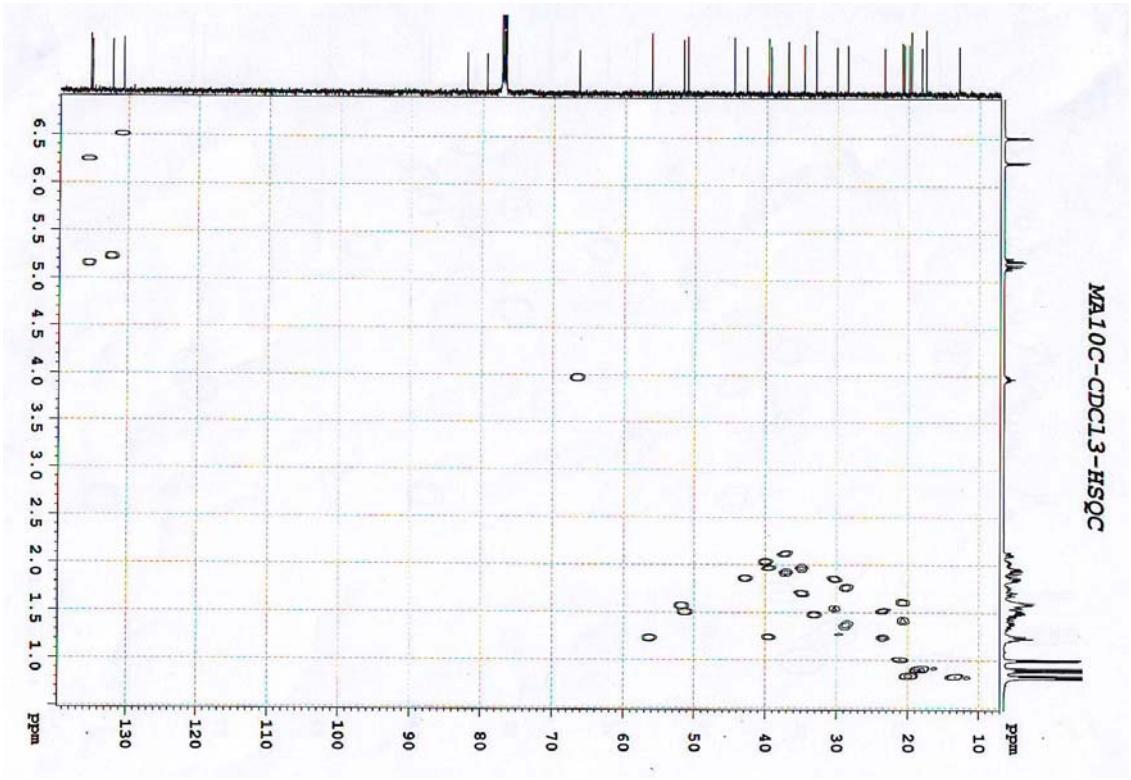
Các dữ kiện phổ ^{13}C- NMR của **MA10C** gần giống **MA10A**, nhất là phần mạch nhánh. Trên phổ của **MA10C** xuất hiên tín hiệu đặc trưng của 1 cacbon bậc 3 liên kết với oxi tại δ_C 66,47 ppm thay cho nhóm cacbonyl ở vị trí 3 của **MA10A**. Ngoài ra còn xuất hiện các tín hiệu của 2 cacbon bậc 4 liên kết với oxi tại δ_C 82,17 ppm(C-5) và 79,43 ppm (C-8), điều này gợi ý cho ta về một cầu peroxide giữa chúng. Trên phổ ^{13}C- NMR và các phổ DEPT cũng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của 4 cacbon thế 2 của liên kết đôi tại δ_C 135,43 (C-6), 130,76 (C-7), 135,21 (C-22) và 132,33 (C-23), của 5 nhóm metin tại δ_C 51,70 (C-14), 56,23 (C-17), 39,72 (C-20), 42,79 (C-24) và 33,08 (C-25) và của 6 nhóm metyl tại δ_C từ 12,88-23,41 ppm.

*Bảng 3: Kết quả phổ NMR của **MA10C***

C	δ_C [a] [3]	δ_C [a, b]	δ_H [a, c] mul, (*J* in Hz)	**HMBC** (H to C)
1	34,9	34,71	1,92 m/1,71 m	3

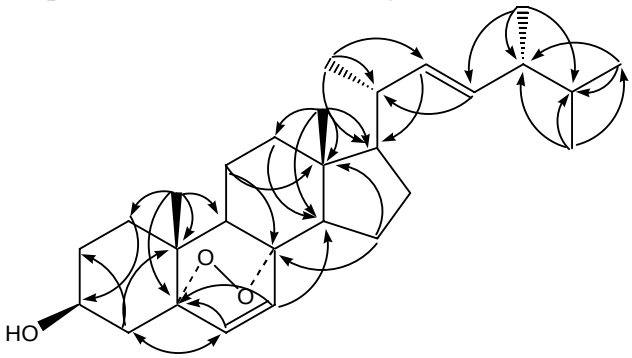
2	30,4	30,14	1,84 m/1,55 m	3
3	66,7	66,47	3,97 m	
4	37,2	36,95	2,10m/1,92 m	2, 6, 10
5	82,4	82,17	-	
6	135,7	135,43	6,24 d (8,5)	4, 5, 8, 10
7	131,0	130,76	6,50 d (8,5)	5, 9, 14
8	79,7	79,43	-	
9	51,4	51,12	1,51 m	
10	37,2	36,98	-	
11	23,6	23,41	1,52 m/1,24 m	8,13
12	39,6	39,37	1,97 m/1,25 m	14
13	44,8	44,58	-	
14	51,9	51,70	1,58 m	
15	20,9	20,64	1,60 m/1,41 m	13
16	28,9	28,65	1,76 m/1,37 m	
17	56,5	56,23	1,24 m	
18	13,1	12,88	0,82 s	12, 13, 14, 17
19	18,4	18,18	0,88 s	1, 5, 9, 10
20	40,0	39,72	2,17 m	17, 22, 23
21	21,1	20,89	1,06 d (7,0)	17, 20, 22
22	135,4	135,21	5,14 dd (15,0, 8,0)	21, 24
23	132,6	132,33	5,26 dd (15,0, 8,0)	21, 24, 25
24	43,0	42,79	1,86 m	22, 23
25	33,3	33,08	1,48 m	23
26	19,9	19,65	0,82 d (7,0)	24, 25, 27
27	20,2	19,95	0,83 d (7,0)	24, 25, 26
28	17,8	17,57	0,91 d (6,5)	23, 24, 25

[a]recorded in CDCl3, [b]125 MHz, [c]500 MHz

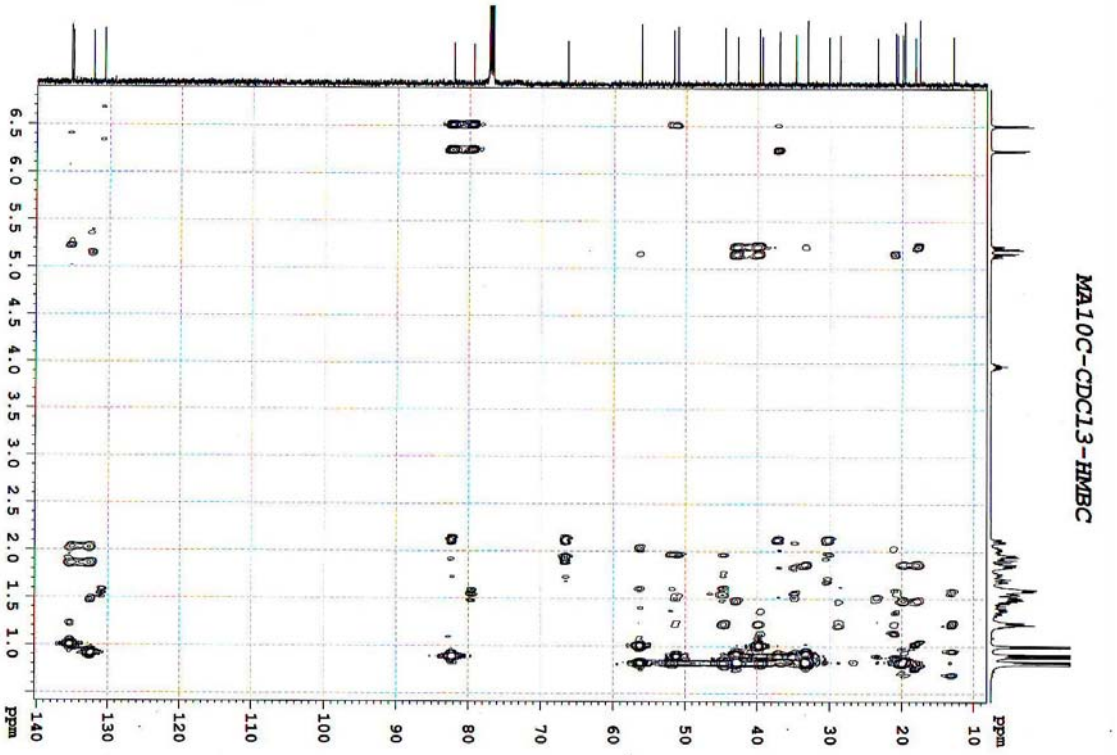


*Hình 2.2.3.e.Phổ HSQC của **MA10C***

Để xác định các vị trí nhóm thế và kiểm tra các giá trị độ dịch chuyển hoá học của các vị trí, phổ HSQC và HMBC đã được đo.Qua các tương tác trên phổ HSQC xác định được các liên kết C-H của **MA10C**. Trên phổ HMBC, 2 nhóm metyl được khẳng định tại vị trí C-18 và C-19 bởi tương tác HMBC của H-18, δ_H 0,96 với C-12(δ_C 39,37), C-13(δ_C 44,58), C-17(δ_C 56,23), C-14(δ_C 51,70) và của H-19, δ_H 1,00 với C-1(δ_C 34,71), C-5(δ_C 82,17), C-9(δ_C 51,12), C-10(δ_C 36,98). Vị trí của 3 nhóm metyl còn lại trên mạch nhánh cũng được khẳng định vị trí qua các tương tác trên phổ HMBC.Kết quả được thể hiện trên bảng 3.

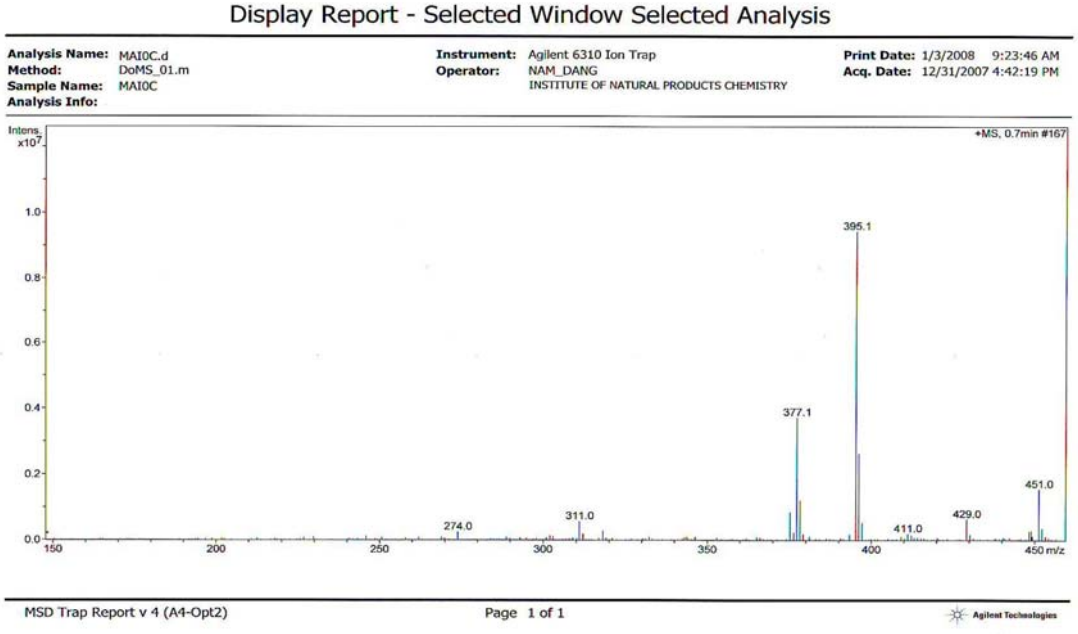


*Hình 2.2.3.f. Tương tác HMBC của **MA10C***



*Hình 2.2.3.g.Phổ HMBC của **MA10C***

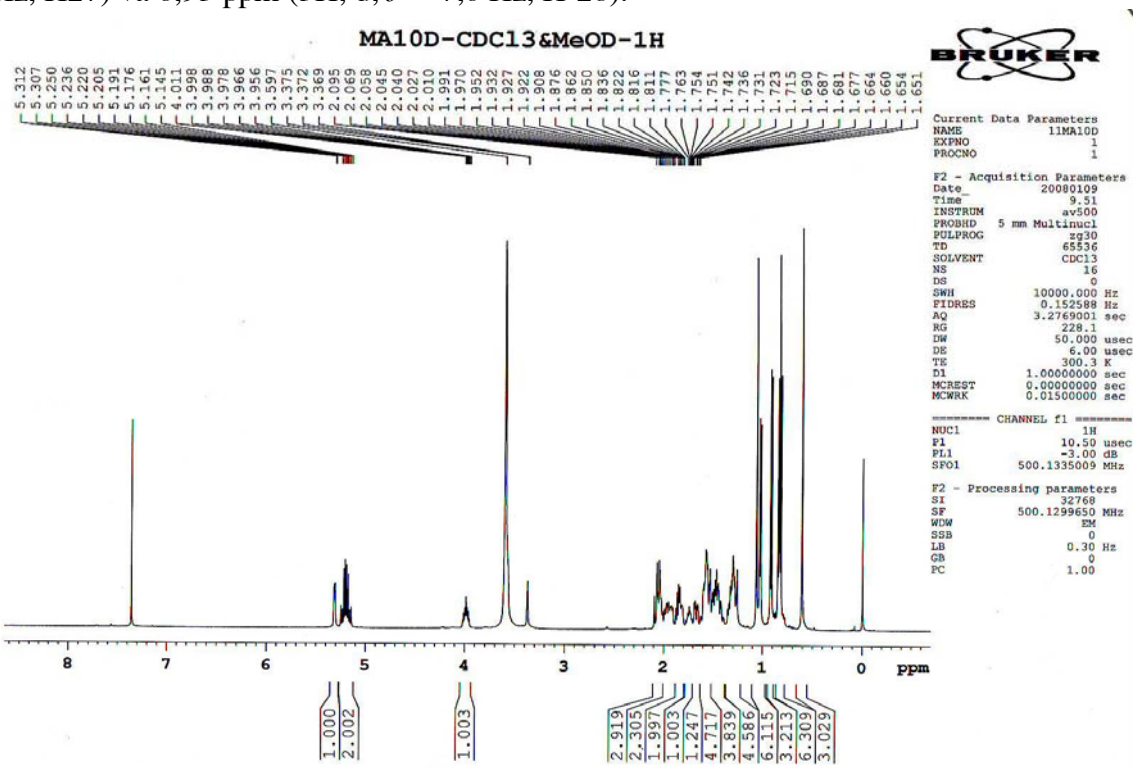
Các kết quả phân tích nêu trên được kết hợp với các dữ kiện phổ khối lượng cho phép khẳng định hợp chất **MA10C** là Ergosterol peroxide. Đem so sánh với các dữ kiện phổ của hợp chất Ergosterol peroxide [3] cho thấy sự trùng khớp hoàn toàn về các giá trị phổ tương ứng. Hợp chất này đã được tìm thấy phổ biến từ các loài nấm. Ergosterol peroxide có hoạt tính chống ung thư và khuẩn lao.



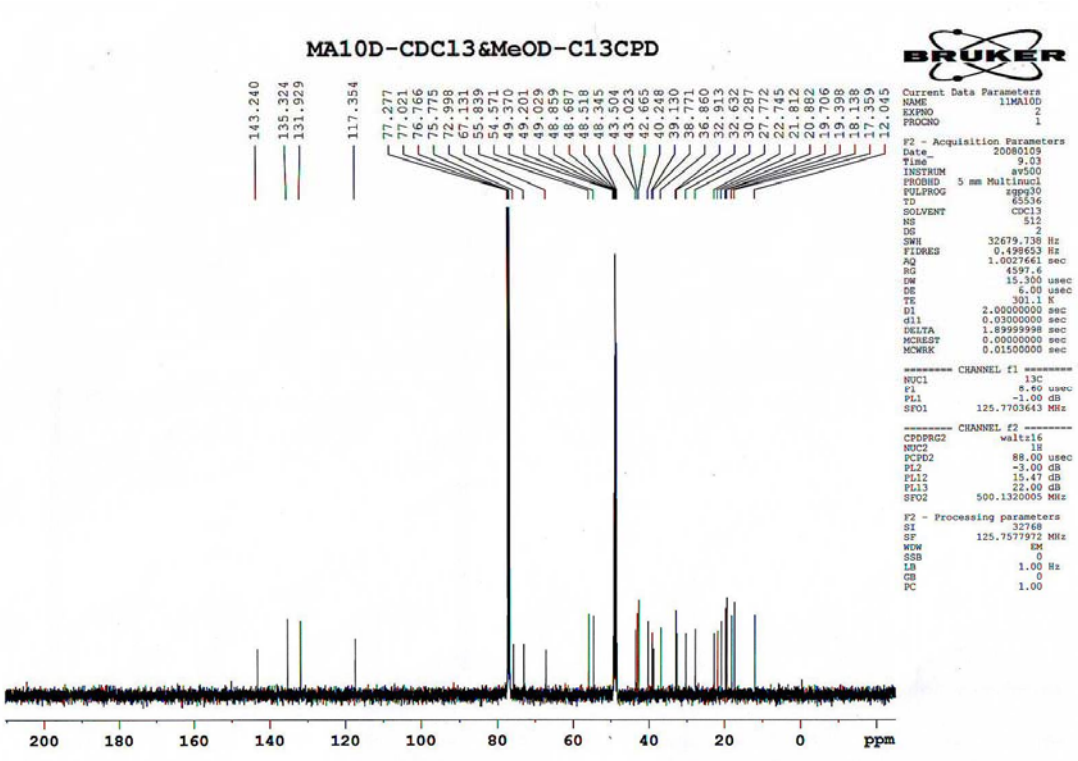
*Hình 2.2.3.h.Phổ EI-MS của **MA10C***

d.Hợp chất MA10D- Cerevisterol (Ergosta-7,22*E*-diene-3β,5α,6β-triol)

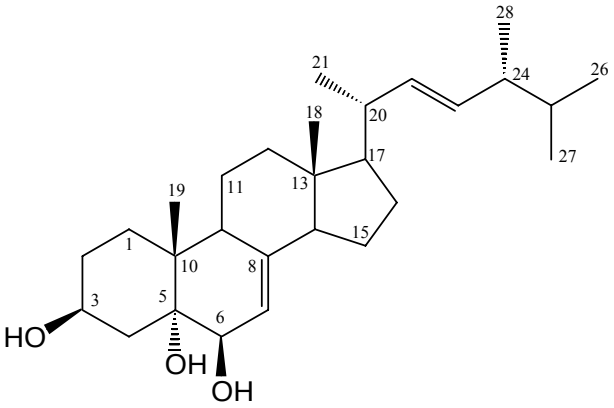
Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{1}H-NMR của **MA10D** gần giống **MA10C**, đặc trưng cho khung ergosterol. Trên phổ ^{1}H-NMR của **MA10D** mất đi các tín hiệu của 2 proton của nối đôi nội vòng, chỉ còn 1 proton olefin biệt lập tại δ_H 5,31 ppm (1H, t, *J* = 2,5 Hz, H-7). Giống như **MA10C**, **MA10D** cũng có 2 proton của nối đôi ngoại vòng có cấu hình *trans* tại δ_H 5,18 ppm (1H, dd, *J* = 15,3, 7,8 Hz, H-22) và 5,24 ppm (1H, dd, *J* = 15,3, 7,0 Hz, H-23), của 2 nhóm metyl bậc 4 tại δ_H 0,61 ppm (3H, s, H-18) và 1,06 ppm (3H, s, H-19), của 4 nhóm metyl bậc 3 tại δ_H 1,03 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-21), 0,83 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-26), 0,84 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H27) và 0,93 ppm (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-28).



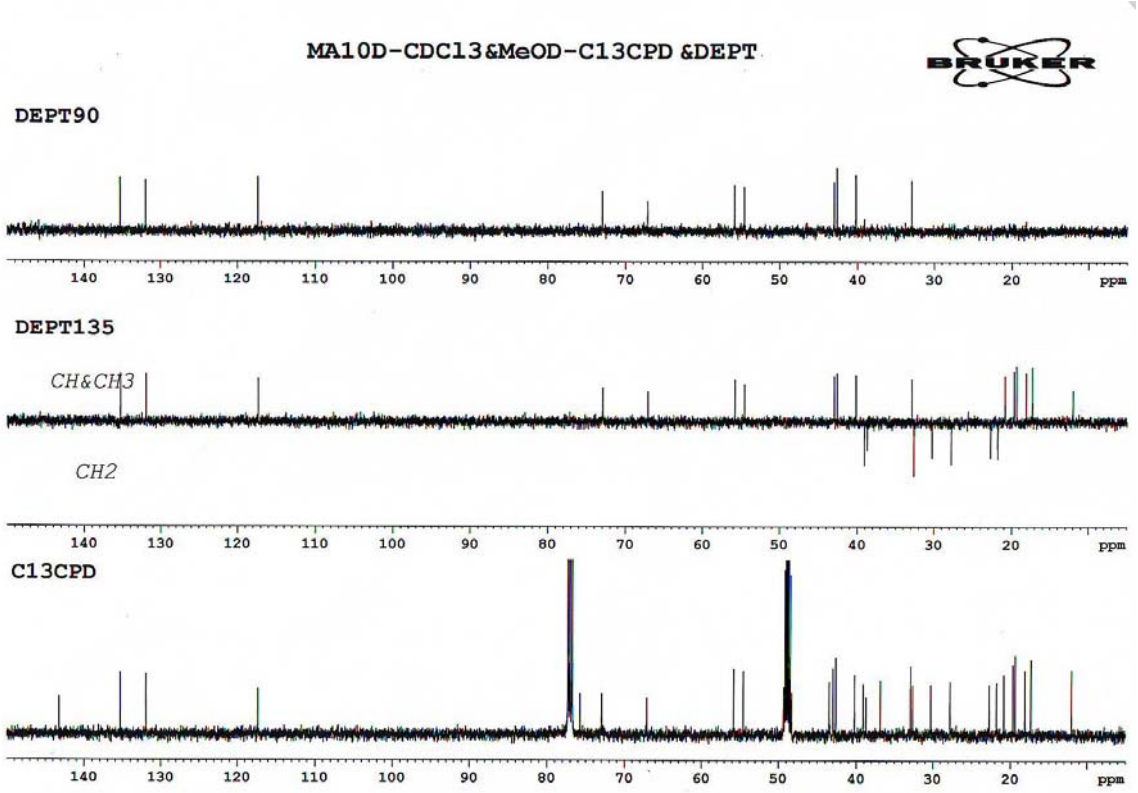
*Hình 2.2.4.a.Phổ ^{1}H-NMR của **MA10D***



*Hình 2.2.4.b.Phổ ^{13}C-NMR của **MA10D***



*Hình 2.2.4.c. Cấu trúc hóa học của **MA10D***



*Hình 2.2.4.c.Phổ DEPT của **MA10D***

Phổ ^{13}C- NMR và các phổ DEPT của **MA10D** tương đối giống **MA10C**, thay vì cacbon olefin ở C-6 và cacbon bậc 4 gắn với oxi ở C-8 của **MA10C** là cacbon liên kết với oxi ở C-6 và cacbon bậc 4 olefin ở C-8. Trên phổ ^{13}C- NMR và các phổ DEPT của **MA10D** cũng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của 3 cacbon thế 2 của liên kết đôi tại δ_C 117,35 (C-7), 135,32 (H-22) và 131,93 (H-23, cacbon olefin bậc 3 tại δ_C 67,13 (C-3) và 73,00 (C-6), 1 cacbon olefin bậc 4 tại δ_C 75,77 (C-5) và của 6 metyl δ_C từ 12,88-23,41 ppm.

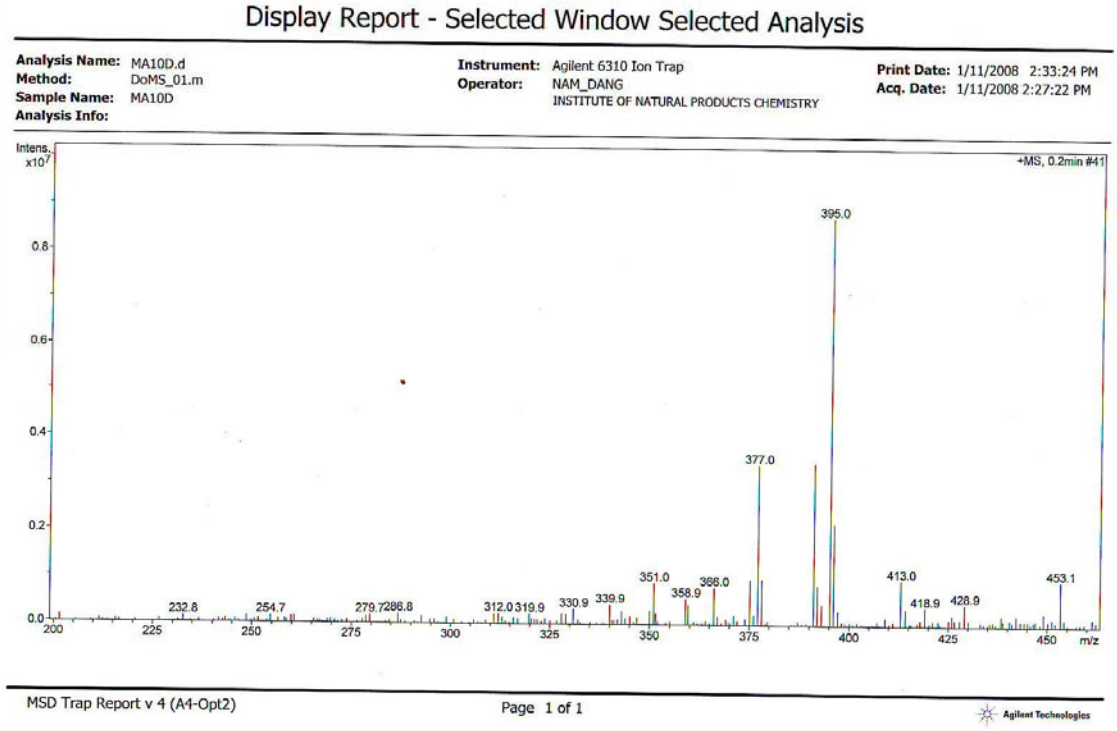
*Bảng 4: Kết quả phổ NMR của **MA10D***

C	δ_C [a] [4]	δ_C [a, b]	δ_H [a, b] mul, (*J* in Hz)
1	33,0	32,63	
2	30,4	30,29	
3	67,3	67,13	3,99 m
4	39,2	39,13	
5	75,9	75,77	
6	73,1	73,00	
7	117,4	117,35	5,31 t (2,5)
8	143,5	143,24	
9	43,2	43,02	
10	37,0	36,86	
11	21,9	21,81	
12	38,9	38,27	

13	43,6	43,50	
14	54,7	54,57	
15	22,8	22,74	
16	27,9	27,77	
17	55,9	55,84	
18	12,2	12,04	0,61 s
19	18,4	18,14	1,06 s
20	40,6	40,25	
21	21,0	20,88	1,03 d (7,0)
22	135,4	135,32	5,18 dd (15,3, 7,8)
23	132,0	131,93	5,24 dd (15,3, 7,0)
24	42,7	42,67	
25	32,8	32,91	
26	19,8	19,71	0,84 d (7,0)
27	19,5	19,40	0,83 d (7,0)
28	17,5	17,36	0,93 d (7,0)

[a]recorded in $CDCl_3$+CD_3OD, [b]125 MHz, [c]500 MHz

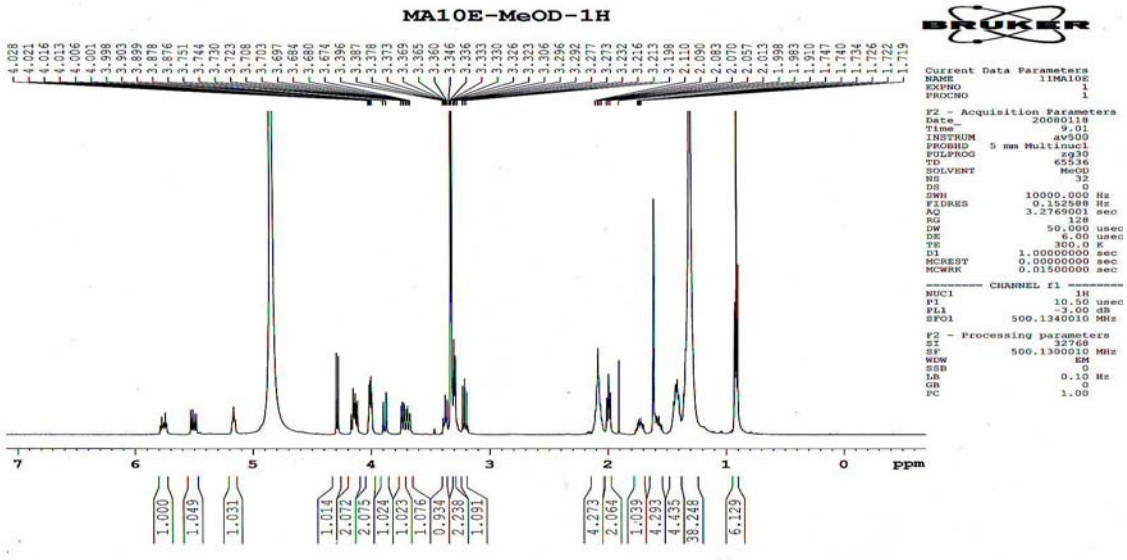
Các kết quả phân tích nêu trên được đem so sánh với các dữ kiện phổ của hợp chất Cerevisterol [4] và sự trùng khớp hoàn toàn về các giá trị phổ tương ứng kết hợp với các dữ kiện phổ khối lượng cho phép khẳng định hợp chất **MA10D** là Cerevisterol (Ergosta-7,22*E*-diene-3β,5α,6β-triol). Hợp chất này đã được tìm thấy trước đây từ các loài nấm *Ganoderma applanatum*[4].Cerevisterol có hoạt tính kháng proteaza HIV.



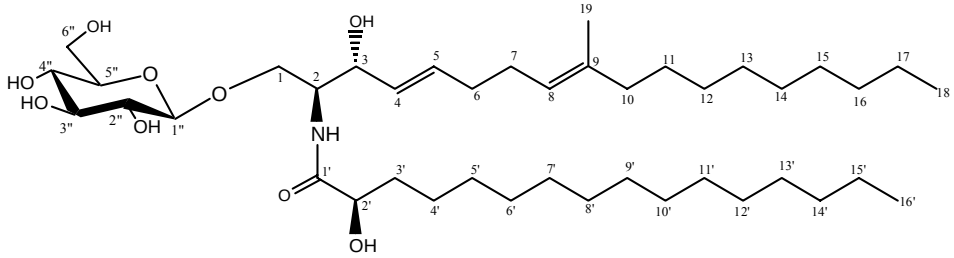
*Hình 2.2.4.e.Phổ EI-MS của **MA10D***

e. Hợp chất MA10E - Cerebroside B

Hợp chất **MA10E** nhận được dưới dạng chất bột màu trắng với công thức phân tử là $C_{41}H_{77}NO_9$ được xác định bởi các dữ liệu phổ khối với píc ion $[M+Na]^+$ tại 750,3 cùng với các dữ liệu phổ ^{1}H-, ^{13}C- NMR và các phổ DEPT.

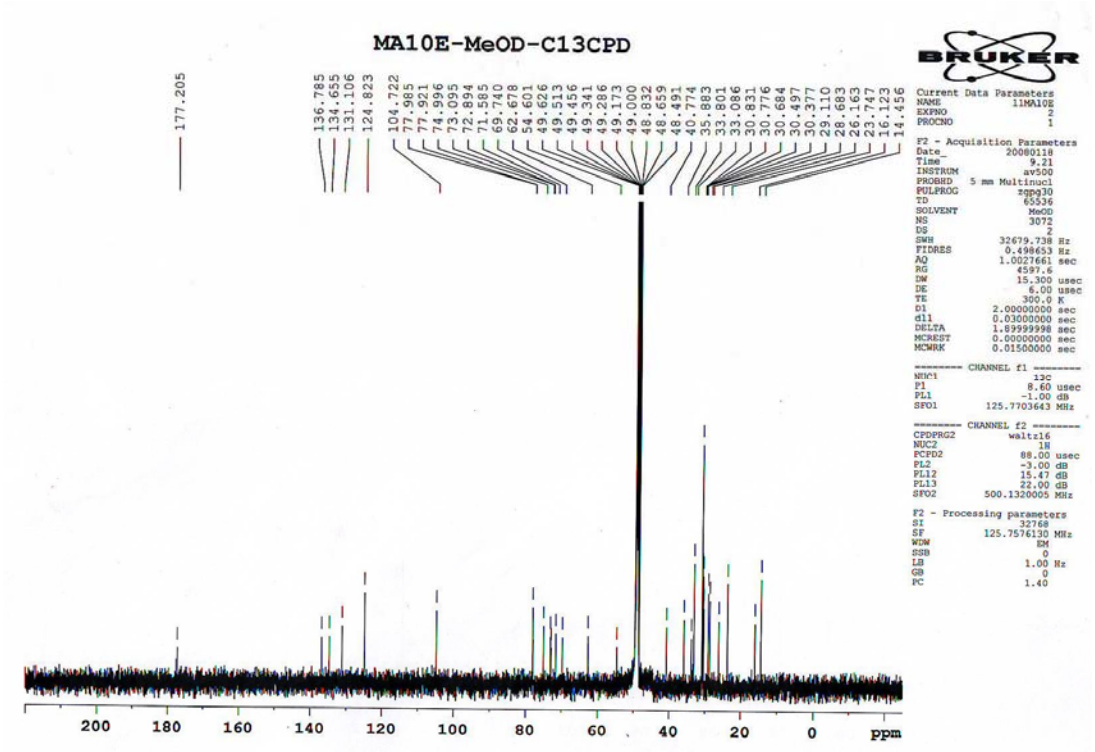


*Hình 2.2.5.a. Phổ ^{1}H-NMR của **MA10E***



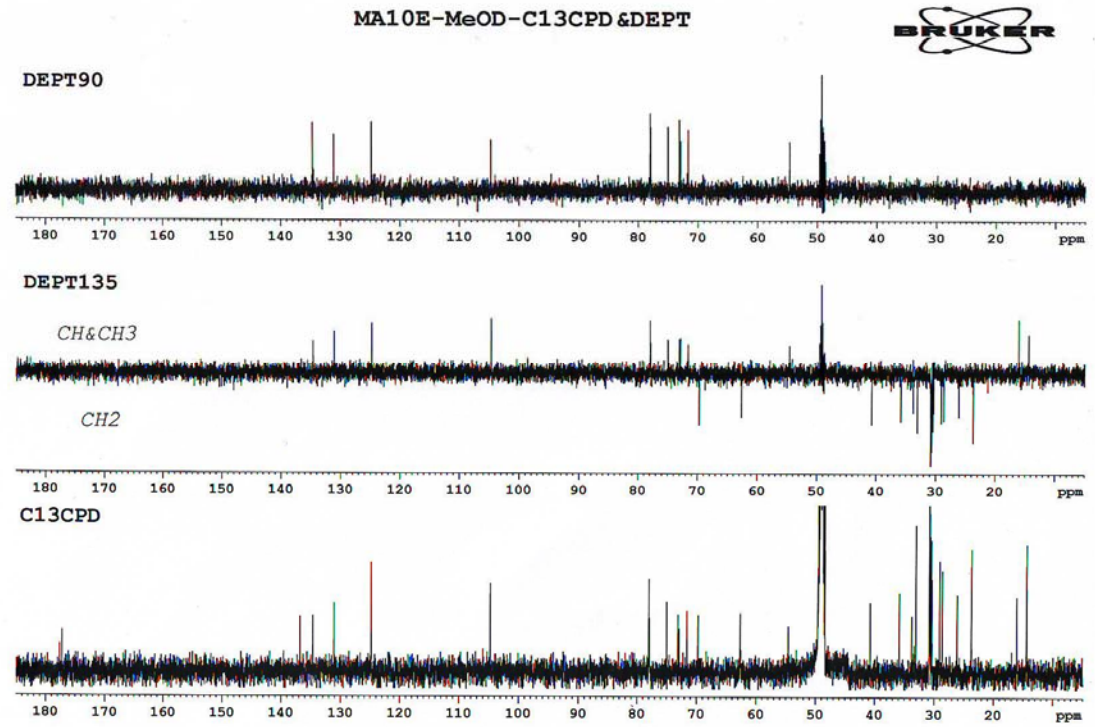
*Hình 2.2.5.b.Cấu trúc hóa học của **MA10E***

Trên phổ ^{1}H-NMR xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một glycosphingolipid với 3 nhóm metyl tại δ_H 0,92 (6H, t, J = 7,0 Hz) và 1,62 (3H, s), tín hiệu bị che lấp của hai mạch hydrocacbon no dài tại δ_H 1,31 (42H, brs), một proton gắn với cacbon anome tại δ_H 4,29 (1H, d, J = 8,0 Hz).



*Hình 2.2.5.C. Phổ ^{13}C-NMR của **MA10E***

Trên phổ ^{13}C-NMR xuất các hiện tín hiệu của một cacbon gắn với nitơ tại δ_C 54,60; 3 nhóm metyl tại δ_C 16,12 và 14,46 (x2); 4 cacbon olefin tại δ_C 136,79, 134,66, 131,11 và 124,82; 2 cacbon gắn với ôxy tại δ_C 73,10 (x2), Thêm vào đó, 6 tín hiệu của một phân tử đường β-D-glucopyranoside xuất hiện tại δ_C 104,72 (C-1”), 78,00 (C-5”), 77,92 (C-3”), 75,00 (C-2”), 71,59 (C-4”) và 62,68 (C6”).



*Hình 2.2.5.d. Phổ DEPT của **MA10E***

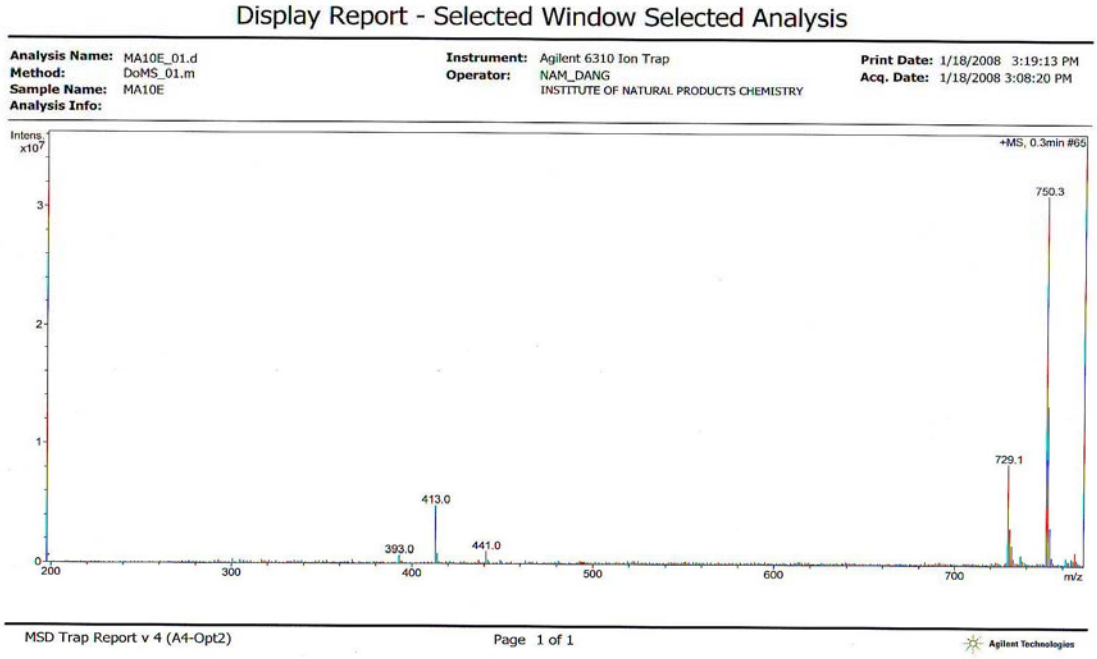
Các kết quả phân tích nêu trên được so sánh với các dữ kiện phổ của hợp chất Cerebroside B [5] và catacerebroside A[6] và thấy sự trùng khớp hoàn toàn về các giá trị phổ tương ứng. Cùng với khối lượng phân tử của **MA10E** là M=727 đã được xác định bằng phổ khối lượng tại *m/z* 750,3 $[M+Na]^+$ (Hình 2,2,1,f), cấu trúc của nó được xác định là 1-O-β-D-glucopyranosyl-(2*S*,3*R*,4*E*,8*E*)-2-[(2*R*)-2-hydroxyhexadecanoylamino]-9-methyl-4,8-octadeca-diene-1,3-diol hay Cerebroside B. Hợp chất này đã được phân lập từ các loài *Pachybasium* sp., *Clitocybe* sp. và *Schizophyllum commune*. Hợp chất này cũng đã được chúng tôi phân lập từ nấm hầu thủ *Hericium erinaceus* [7]. Tuy nhiên, đây là lần đầu tiên nó được phân lập từ loài *Pyrrhoderma adamanticum*. Theo tài liệu đã công bố, hợp chất này kích thích sự biệt hóa tế bào, tăng cường sự hình thành quả thể ở nấm và có hoạt tính kháng một số chủng nấm.

*Bảng 5: Kết quả phổ NMR của **MA10E***

C	δ_H [a] [7]	δ_C [a, b]	δ_H [a, c] mul, (*J* in Hz)
1	70,13	69,74	1,92 m/1,71 m
2	55,01	54,60	1,84 m/1,55 m
3	73,29	73,10	3,97 m
4	131,51	131,11	2,10m/1,92 m
5	135,04	134,66	-
6	34,02	33,08	6,24 d (8,5)
7	29,09	28,68	6,50 d (8,5)
8	125,22	124,82	-
9	137,18	136,79	1,51 m
10	41,18	40,77	-
11	29,52	29,11	1,52 m/1,24 m
12-15	30,79-31,24		
16	33,49	33,08	-
17	24,15	23,74	1,58 m
18	14,86	14,46	1,60 m/1,41 m
19	16,53	16,12	1,76 m/1,37 m
1’	177,60	177,21	1,24 m
2’	73,49	73,10	0,82 s
3’	36,28	35,88	0,88 s
4’	26,57	26,16	2,17 m
5-13’	30,79-31,24		
14’	33,49	33,08	5,14 dd (15,0, 8,0)
15’	24,15	23,75	5,26 dd (15,0, 8,0)
16’	14,86	14,46	1,86 m
1”	105,13	104,72	1,48 m
2”	75,39	75,00	0,82 d (7,0)
3”	78,31	77,92	0,83 d (7,0)

4”	71,97	71,59	0,82 d (7,0)
5”	78,38	78,00	0,83 d (7,0)
6”	63,08	62,68	0,91 d (6,5)

[a]recorded in MeOD, [b]125 MHz, [c]500 MHz



*Hình 2.2.5.e. Phổ ESI-MS của **MA10E***

Bảng IV.3.11. Dữ liệu phổ ^{13}C-NMR của hợp chất 1 và 2 (chủng HT)

STT	**Hợp chất 1** ($CDCl_3$, 125MHz)	**Tài liệu [1,2]** ($CDCl_3$, 125MHz)	**Hợp chất 2** ($CDCl_3$, 125MHz)	**Tài liệu [3]** ($CDCl_3$, 125MHz)
1	39.3	39.5	38.4	38.3
2	30.1	30.1	32.0	31.7
3	66.5	66.5	70.5	70.0
4	34.7	36.8	40.8	40.5
5	82.2	82.1	139.8	139.3
6	135.4	135.4	119.6	119.5
7	130.8	130.8	116.3	115.9
8	79.4	79.5	141.3	140.7
9	51.1	51.1	46.3	46.2
10	36.9	36.9	37.1	37.0
11	20.6	20.6	21.1	21.1
12	36.9	39.5	39.1	39.1
13	44.6	44.7	42.8	42.7
14	51.7	51.6	54.6	54.4
15	23.4	23.4	23.0	23.6
16	28.6	28.2	28.3	28.2
17	56.2	56.4	55.8	55.7

18	12.9	12.9	12.1	12.1
19	18.2	18.7	16.3	16.3
20	39.7	39.7	40.4	40.2
21	19.6	19.6	21.1	21.1
22	132.3	132.3	132.0	131.5
23	135.2	135.2	135.6	135.0
24	42.8	42.8	42.8	42.7
25	33.1	33.0	33.1	33.0
26	19.9	19.9	20.0	19.9
27	20.9	20.7	19.6	19.6
28	17.6	17.5	17.6	17.6

II. CHỦNG HẦU THỦ (Phương pháp 1)

Hằng số vật lý và dữ kiện phổ của các hợp chất

2.1.a. Hợp chất MH1 - Cerebroside B.

Chất bột màu trắng, điểm chảy 180-190°C, phổ khối lượng ESI-MS: *m/z* 726,6 $[M-H]^+$, *m/z* 750,5 $[M+Na]^+$, *m/z* 728,3 $[M+H]^+$, *m/z* 710,5 $[M-H_2O+H]^+$, *m/z* 548,3 $[M\text{-glucose}+H]^+$ ($C_{41}H_{77}NO_9$, M = 727).

^{1}H-NMR (500 MHz, CD_3OD) 3,73 (1H, H_a-1), 4,13 (1H, H_b-1), 4,01 (1H, H-2), 4,16 (1H, H-3), 5,50 (1H, dd, *J* = 7,0, 15,5 Hz, H-4), 5,76 (1H, dt, *J* = 15,5, 6,0 Hz, H-5), 2,07 (2H, H-6), 2,10 (2H, H-7), 5,17 (1H, t, *J* = 7,0 Hz, H-8), 2,00 (1H, H-10), 1,43 (1H, H-11), 1,31 (2H, H-16), 1,33 (2H, H-17), 0,92 (3H, t, *J* = 7,0 Hz, H-18) 1,62 (3H, s, H-19), 4,01 (1H, H-2'), 1,57 (1H, H_a-3'), 1,74 (1H, H_b-3'), 1,44 (2H, H-4'), 1,31 (2H, H-14'), 1,33 (2H, H-15'), 0,92 (3H, t, *J* = 7,0 Hz, H-16'), 4,29 (1H, d, *J* = 7,5 Hz, H-1"), 3,22 (1H, H-2"), 3,37 (1H, H-3"), 3,31 (1H, H-4"), 3,30 (1H, H-5"), 3,69 (1H, H_a-6") và 3,89 (1H, dd, *J* = 2,0, 11,5 Hz, H_b-6") ppm.

^{13}C-NMR (125 MHz, CD_3OD) 70,13 (t, C-1), 55,01 (d, C-2), 73,29 (d, C-3), 131,51 (d, C-4), 135,04 (d, C-5), 34,02 (t, C-6), 29,09 (t, C-7), 125,22 (d, C-8), 137,18 (s, C-9), 41,18 (t, C-10), 29,52 (t, C-11), 30,79-31,24 (t, C-12 đến 15), 33,49 (t, C-16), 24,15 (t, C-17), 14,86 (q, C-18), 16,53 (q, C-19), 177,60 (s, C-1'), 73,49 (d, C-2'), 36,28 (t, C-3'), 26,57 (t, C-4'), 30,79-31,24 (t, C-5' đến 13'), 33,49 (t, C-14'), 24, 15 (t, C-15'), 14,86 (q, C-16'), 105,13 (d, C-1"), 75,39 (d, C-2"), 78,31 (d, C-3"), 71,97 (d, C-4"), 78,38 (d, C-5") và 63,08 (t, C-6") ppm.

2.1.b. Hợp chất MH2 - Hericenone D

Chất kết tinh màu trắng, điểm chảy 41-43°C, phổ khối lượng ESI-MS: *m/z* 599,2 $[M + H]^+$, *m/z* 597,4 $[M - H]^-$ ($C_{37}H_{58}O_6$, M = 598).

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 6,53 (1H, s, H-6), 5,32 (2H, s, H-7), 10,11 (1H, s, H-8), 3,91 (3H, s, H-9), 3,40 (2H, d, *J* = 7,5 Hz, H-1'), 5,32 (1H, d, *J* = 7,5 Hz, H-2'), 3,00 (2H, s, H-4'), 6,09 (1H, t, *J* = 1,0, 1,5 Hz, H-6'), 1,84 (3H, d, *J* = 1,5 Hz, H-8'), 2,12 (3H, d, *J* = 1,0 Hz, H-9'), 1,78 (3H, d, *J* = 0,5 Hz, H-10'), 2,33 (2H, d, *J* = 7,5 Hz, H-2"), 1,62 (2H, m, H-3"), 1,25 (26H, m, H-4"-17"), 0,88 (3H, m, H-18") và12,37 (1H, s, OH) ppm.

^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 138,70 (s, C-1), 112,91 (s, C-2), 162,94 (s, C-3), 117,33 (s, C-4), 163,49 (s, C-5), 105,55 (d, C-6), 62,90 (t, C-7), 193,10 (d, C-8), 55,93 (q, C-9), 21,62 (t, C-1'), 126,27 (d, C-2'), 130,35 (s, C-3'), 55,55 (t, C-4'), 199,54 (s, C-5'), 122,85 (d, C-6'), 155,42 (s, C-7'), 27,66 (q, C-8'), 20,67 (q, C-9'), 16,41 (q, C-10'), 173,20 (s, C-1"), 34,25 (t, C-2"), 24,89 (t, C-3"), 29,13-31,94 (t, C-4"-17") và 14,12(q, C-18") ppm.

2.1.c. Hợp chất MH3 - Ergosterol

Chất tinh thể hình kim màu trắng, điểm chảy 168^{o}C, phổ khối lượng ESI-MS: *m/z* 397,3 $[M + H]^+$ ($C_{28}H_{44}O$, M = 396)

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 1,25 (1H, m, H-1a), 1,75 (1H, m, H-1b), 1,50 (1H, m, H_a-2), 1,78 (1H, m, H_b-2), 3,63 (1H, m, H-3), 2,28 (2H, t, *J* = 13,5 Hz, H-4), 5,56 (1H, dd, *J* = 2,0, 5,5 Hz, H-6), 5,38 (1H, m, H-7), 1,97(1H, m, H-9), 1,65 (1H, m, H-11), 1,34 (1H, m, H_a-12), 1,90 (1H, m, H_b-12), 1,92 (1H, m, H-14), 1,67 (1H, m, H-15), 1,28 (1H, m, H_a-16), 1,74 (1H, m, H_b-16), 1,25 (1H, m, H-17), 0,63 (3H, s, H-18), 0,95 (3H, s, H-19), 2,05 (1H, m, H-20), 1,03 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, H-21), 5,17 (1H, dd, *J* = 8,5, 15,5 Hz, H-22), 5,22 (1H, dd, *J* = 8,5, 15,5 Hz, H-23), 1,76 (1H, m, H-24), 1,38 (1H, m, H-25), 0,84 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, H-26), 0,82 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, H-27) và 0,91 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, H-28) ppm.

^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 38,39 (t, C-1), 32,02 (t, C-2), 70,47 (d, C-3), 40,83 (t, C-4), 141,36 (s, C-5), 119,60 (d, C-6), 116,30 (d, C-7), 139,80 (s, C-8), 46,27 (d, C-9), 37,04 (s, C-10), 21,13 (t, C-11), 39,11 (t, C-12), 42,41 (s, C-13), 54,57 (d, C-14), 23,01 (t, C-15), 28,29 (t, C-16), 55,76 (d, C-17), 12,06 (q, C-18), 16,30 (q, C-19), 40,82 (d, C-20), 21,11 (q, C-21), 135,60 (d, C-22), 131,99 (d, C-23), 42,85 (d, C-24), 33,10 (d, C-25), 19,66 (q, C-26), 19,96 (q, C-27) và 17,62 (q, C-28) ppm.

2.1.d. Hợp chất MH4 - Ergosterol peroxide

Chất tinh thể hình kim màu trắng, điểm chảy 181-183^{o}C, phổ khối lượng ESI-MS: *m/z* 429,3 $[M + H]^+$ ($C_{28}H_{44}O_3$, M = 426).

^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 1,56 (1H, m, H_a-1), 1,85 (1H, m, H_b-1), 1,72 (1H, m, H_a-2), 1,96 (1H, m, H_b-2), 3,97 (1H, m, H-3), 1,27 (1H, m, H_a-4), 1,97 (1H, m, H_b-4), 6,24 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-6), 6,50 (1H, d, *J* = 8,5 Hz, H-7), 1,51 (1H, m, H-9), 1,41 (1H, m, H_a-11), 1,62 (1H, m, H_b-11), 1,55 (1H, m, H_a-12), 2,11 (1H, m, H_b-12), 1,58 (1H, m, H-14), 1,25 (1H, m, H_a-15), 1,53 (1H, m, H_b-15), 1,37 (1H, m, H_a-16), 1,78 (1H, m, H_b-16), 1,24 (1H, m, H-17), 0,86 (3H, s, H-18), 0,88 (3H, s, H-19), 2,03 (1H, m, H-20), 1,01 (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-21), 5,14 (1H, dd, *J* = 8,5, 15,5 Hz, H-22), 5,22 (1H, dd, *J* = 8,5, 15,5 Hz, H-23), 1,87 (1H, m, H-24), 1,50 (1H, m, H-25), 0,88 (3H, d, *J* = 6,6 Hz, H-26), 0,83 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, H-27) và 0,91 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, H-28) ppm

^{13}C-NMR (125 MHz, CDCl3): 30,09 (t, C-1), 34,71 (t, C-2), 66,49 (d, C-3), 39,37 (t, C-4), 82,17 (s, C-5), 135,22 (d, C-6), 130,75 (d, C-7), 79,44 (s, C-8), 51,12 (d, C-9), 36,99 (s, C-10), 20,64 (t, C-11), 39,91 (t, C-12), 44,58 (s, C-13), 51,70 (d, C-14), 23,42 (t, C-15), 28,65 (t, C-16), 56,23 (d, C-17), 12,88 (q, C-18), 18,18 (q, C-19), 39,73 (d, C-20), 20,89 (q, C-21), 135,44 (d, C-22), 132,33 (d, C-23), 42,79 (d, C-24), 33,08 (d, C-25), 19,65 (q, C-26), 19,96 (q, C-27), và17,57 (q, C-28) ppm

2.1.e. Hợp chất MH5 - β-Adenosine

Chất tinh thể hình kim màu trắng, điểm chảy 234-235^{o}C, phổ khối lượng ESI-MS: *m*/*z* 267,8 $[M + H]^+$, 289,8 $[M + Na]^+$ ($C_{10}H_{13}N_5O_4$, M = 267).

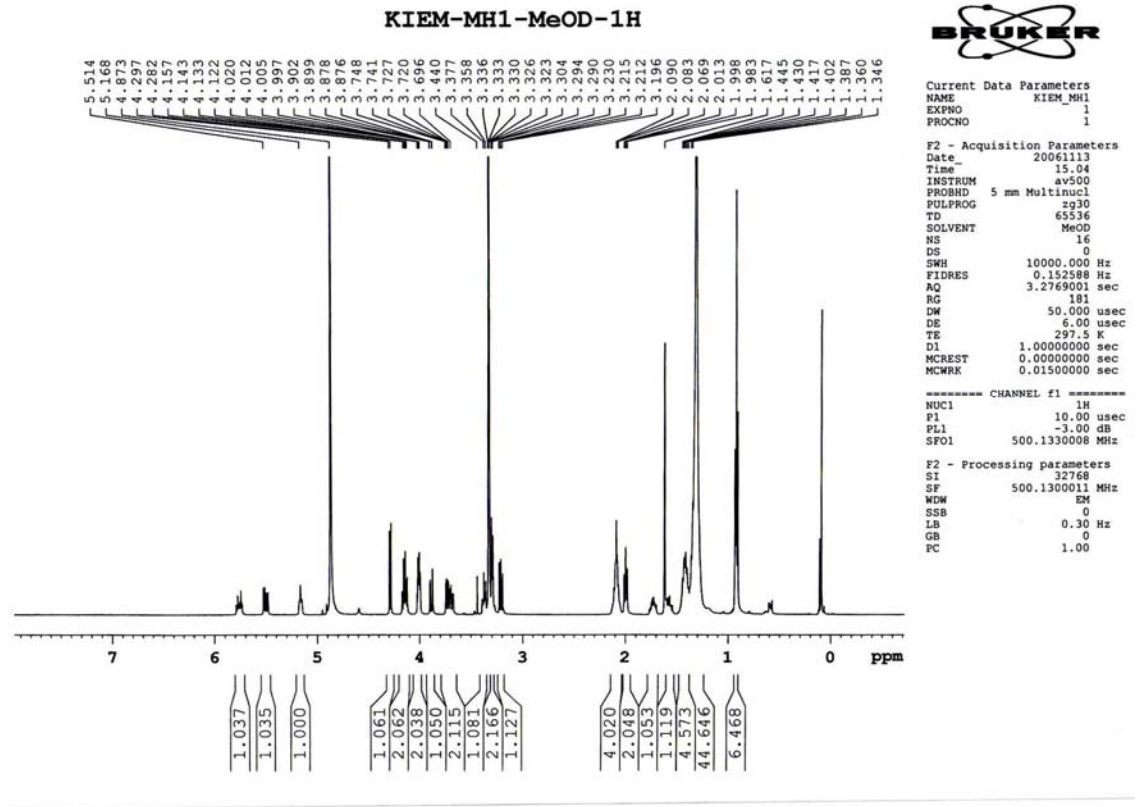
^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ_H: 8,14 (1H, s, H-2), 8,34 (1H, s, H-8), 5,88 (1H, d, *J* = 6,5 Hz, H-1'), 4,61 (1H, dd, *J* = 4,0, 10,5, H-2'), 4,15 (1H, br s, H-3') 3,97 (1H, dd, *J* = 3,5, 6,5 Hz, H-4'), 3,57 (1H, m, H-5'a), 3,68 (1H, m, H-5'b), 7,32 (2H, s, NH_2), 5,42 (1H, OH-2'), 5,17 (1H, d, *J* = 3,0, OH-3') và 5,43 (1H, OH-5') ppm

^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ_C: 152,41 (d, C-2), 149,08 (s, C-4), 119,37 (s, C-5), 156,17 (s, C-6), 139,95 (d, C-8), 87,95 (d, C-1'), 73,47 (d, C-2'), 70,68 (d, C-3'), 85,92 (d, C-4'), 61,69 (t, C-5') ppm.

Xác định cấu trúc hóa học của các chất.

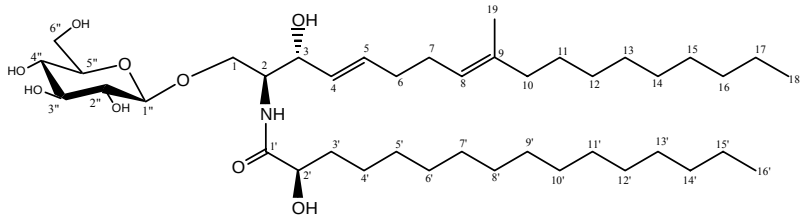
2.2.1. Hợp chất MH1 - Cerebroside B.

Hợp chất MH1 nhận được dưới dạng chất bột màu trắng với công thức phân tử là $C_{41}H_{77}NO_9$ được xác định bởi các dữ liệu phổ khối với píc ion $[M+Na]^+$ tại 750,5, $[M+H]^+$ tại 728,3 và $[M-H]^+$ tại 726,6 cùng với các dữ liệu phổ ^1H-, ^{13}C- NMR và các phổ DEPT.

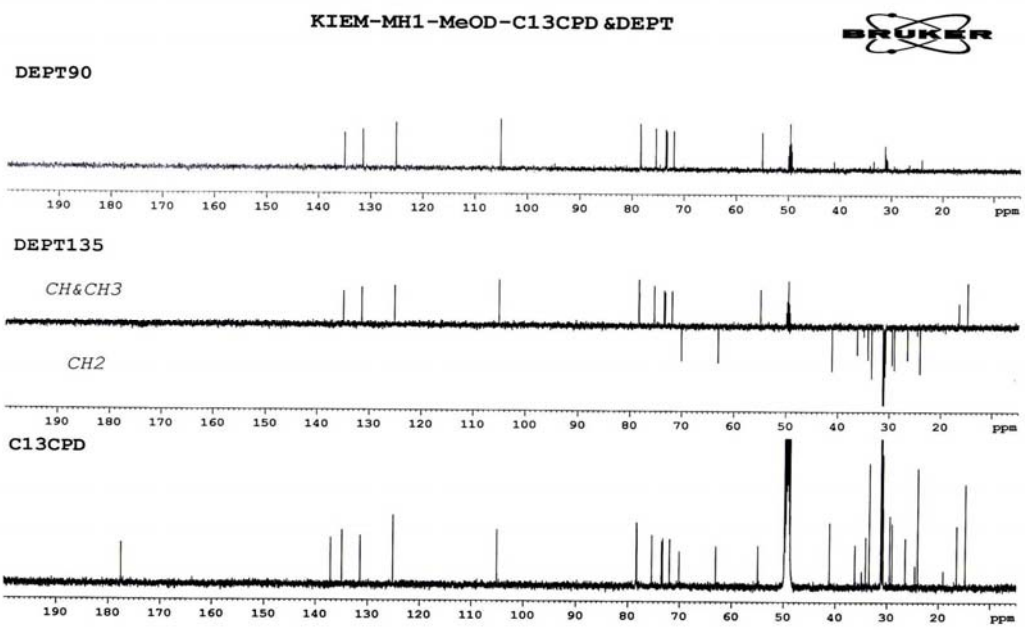


Hình 2.2.1.a. Phổ ^1H-NMR của MH1

Trên phổ ^1H-NMR xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một glycosphingolipid với 3 nhóm metyl tại δ_H 0,92 (6H, t, J = 7.0 Hz) và 1,62 (3H, s), tín hiệu bị che lấp của hai mạch hydrocacbon no dài tại δ_H 1,31 (44H, brs), một proton gắn với cacbon anome tại δ_H 4,29 (1H, d, J = 7,5 Hz).

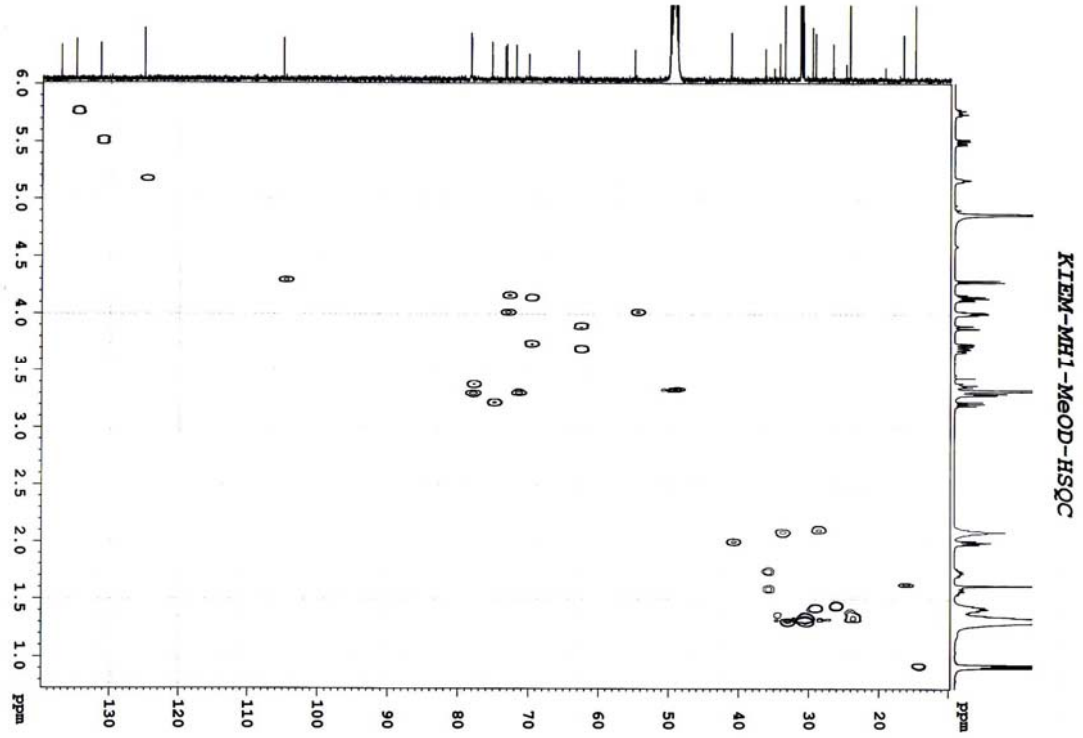


Hình 2.2.1.b. Cấu trúc hóa học của MH1



Hình 2.2.1.c. Phổ ^{13}C-NMR và các phổ DEPT của MH1

Trên phổ ^{13}C-NMR xuất các hiện tín hiệu của một cacbon gắn với nitơ tại δ_C 55,01; 3 nhóm metyl tại δ_C 16,53 và 14.86 (x2); 4 cacbon olefin tại δ_C 137,18, 135,04, 131,51 và 125,22; 2 cacbon gắn với ôxy tại δ_C 73,49 và 73,29. Thêm vào đó, 6 tín hiệu của một phân tử đường β-D-glucopyranoside xuất hiện tại δ_C 105,13 (C-1”), 78,38 (C-5”), 78,31 (C-3”), 75,39 (C-2”), 71,97 (C-4”) và 63,08 (C6”).



Hình 2.2.1.d. Phổ HSQC của MH1

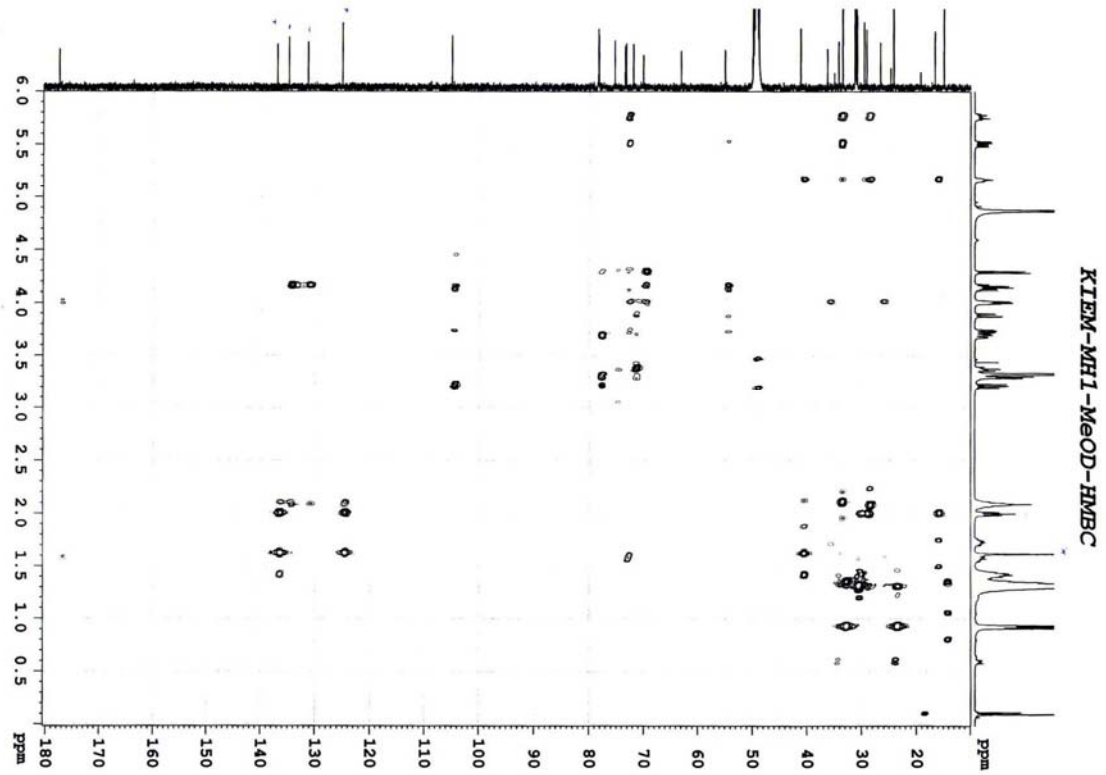
Trên phổ HMBC xuất hiện tương tác của píc proton anome tại δ_H 4,29 (1H, d, *J*=7,5 Hz) với cacbon metylen ở δ_C 70,13 (C-1). Tín hiệu singlet tại vị trí δ_H 1,62 cho phép khẳng định có một nhóm metyl phải được gắn vào một trong 2 liên kết đôi. Cấu hình *trans* của nối đôi ở vị trí 4-5 được xác định bởi hằng số tương tác vicinal lớn ($J_{4\text{-}5}$ = 11.5 Hz). Theo các tài liệu đã công bố [1, 2], các cerebroside từ nấm thường chứa: đường glucose, bazơ sphingoid là (4*E*,8*E*)-9-methyl-4,8-sphingadienine và axit béo chứa nhóm hydroxyl tại vị trí cacbon số 2 với độ dài mạch từ 14-18 cacbon hay từ 22-26 cacbon. Các phân tích chi tiết phổ ^{1}H-, ^{13}C-NMR, Dept và các tương tác trên phổ HMBC (bảng 1) khẳng định sự có mặt của đường glucose, bazơ sphingoid là (4*E*,8*E*)-9-methyl-4,8-sphingadienine và axit béo chứa nhóm hydroxyl tại vị trí cacbon số 2.

Bảng 1: Kết quả phổ NMR của MH1

C	$\delta_C^{*,a}$ [3]	$\delta_C^{\#,b}$ [4]	$\delta_C^{b,c}$	$\delta_H^{c,d}$ (J, Hz)	HMBC (H→C)
1	70,1 t	70,3 t	70,13 t	3,73/4,13	C-2, 1’
2	54,5 d	55,1 d	55,01 d	4,01	C-1, 3
3	72,3 d	73,4 d	73,29 d	4,16	C-1, 2, 4, 5
4	131,8 d	131,6 d	131,51 d	5,50 (dd, 7,0, 15,5)	C-2, 3, 6
5	132,3 d	135,1 d	135,04 d	5,76 (dt, 15,5, 6,0)	C-3, 6, 7
6	33,0 t	34,9 t	34,02 t	2,07	C-5, 7
7	28,1 t	29,2 t	29,09 t	2,10	C-6, 8
8	124,1 d	125,3 d	125,22 d	5,17 (t, 7,0)	C-6, 7, 10, 19
9	136,0 s	137,3 s	137,18 s	-	
10	39,9 t	41,3 t	41,18 t	2,00	C-8, 9, 11, 19
11	29,5-29,9 t	29,5 t	29,52 t	1,43	
12-15	29,5-29,9 t	30,8-31,4 t	30,79-31,24 t		
16	32,0 t	33,6 t	33,49 t	1,31	
17	22,9 t	24,2 t	24,15 t	1,33	
18	14,2 q	15,0 q	14,86 q	0,92 (t, 7,0)	C-16, 17
19	16,0 q	16,7 q	16,53 q	1,62 (s)	C-8, 9, 10
1’	-	177,7 s	177,60 s	-	
2’	72,4 d	73,6 d	73,49 d	4,01	C-1’, 3’, 4’
3’	35,6 t	36,4 t	36,28 t	1,57/1,74	C-1’
4’	25,8 t	26,7 t	26,57 t	1,44	

5’-13’	29,5-29,9 t	-	30,79-31,24 t		
14’	32,0 t	33,6 t (C-22’)	33,49 t	1,31	
15’	22,9 t	24,2 t (C-23’)	24,15 t	1,33	
16’	14,2 q	15,0 q (C-24’)	14,86 q	0,92 (t, 7,0)	C-14’, 15’
1”	105,6 d	105,2 d	105,13 d	4,29 (d, 7,5)	C-1
2”	75,0 d	75,5 d	75,39 d	3,22	C-1”
3”	78,4 d	78,5 d	78,31 d	3,37	
4”	71,4 d	72,0 d	71,97 d	3,31	
5”	78,5 d	78,5 d	78,38 d	3,30	
6”	62,6 t	63,2 t	63,08 t	3,69/3,89 (dd, 2,0, 11,5)	

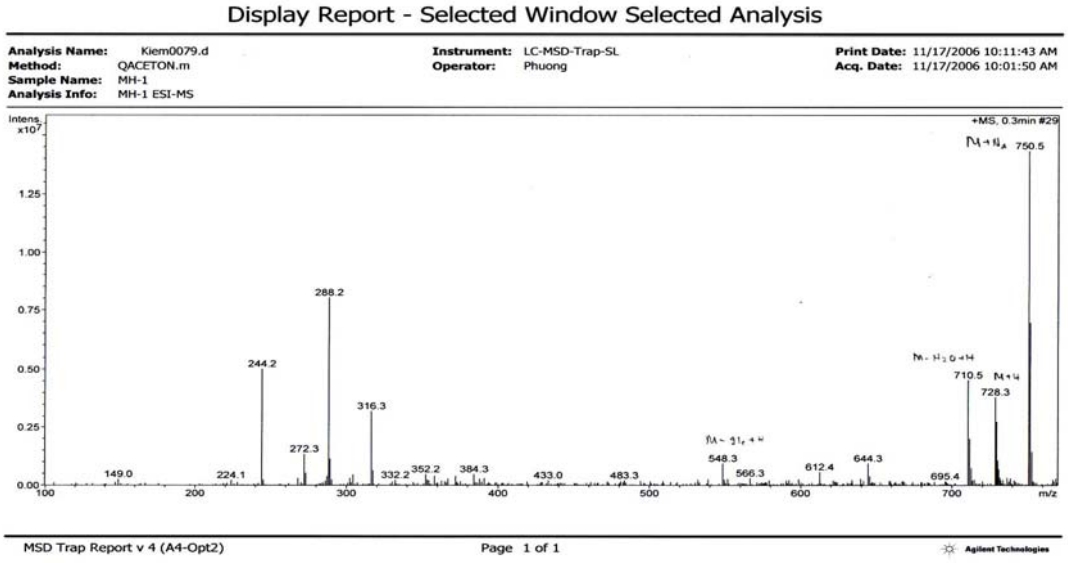
**số liệu NMR của cerebroside B, [#]số liệu NMR của catacerebroside A, [a]đo trong piridin-d_5, [b]đo trong MeOD-d_4, [c]125 MHz, [d]500 MHz*



Hình 2.2.1.e. Phổ HMBC của MH1

Bằng các phân tích đã nêu, dữ liệu phổ ^{13}C-NMR của MH1 được so sánh trực tiếp với các số liệu đã được công bố của hợp chất Cerebroside B [3] và cho thấy sự trung khớp. Tuy nhiên ở một vài vị trí có sự khác biệt đáng kể, đặc biệt ở vị trí C-5 đã thay đổi gần 2 ppm từ δ_C 135,04 sang 132,3. Tuy nhiên điều này có thể được giải thích là do sự thay đổi dung môi đo phổ từ metanol sang piridin. Để khẳng định điều này số liệu ^{13}C-NMR của MH1 được so sánh lại với một hợp chất có cấu trúc tương tự và cũng được đo trong dung môi metanol thì cho thấy sự trùng khớp hoàn toàn [4]. Cùng với khối lượng phân tử của MH1 là M=727 đã được xác định bằng phổ khối lượng (Hình 2.2.1.f), cấu trúc của nó được xác định là 1-O-β-D-glucopyranosyl-(2*S*,3*R*,4*E*,8*E*)-2-[(2*R*)-2-hydroxyhexadecanoylami-no]-9-methyl-4,8-octadecadiene-1,3-diol được gọi tên là Cerebroside B. Hợp chất này đã được phân lập từ các loài *Pachybasium* sp., *Clitocybe* sp. và *Schizophyllum commune*, tuy nhiên đây là lần đầu tiên nó được phân lập từ các loài *Hericium*. Theo tài liệu đã công bố, hợp chất này kích thích sự biệt hóa tế bào, tăng cường sự hình thành quả thể ở nấm và có hoạt tính kháng một số chủng nấm.

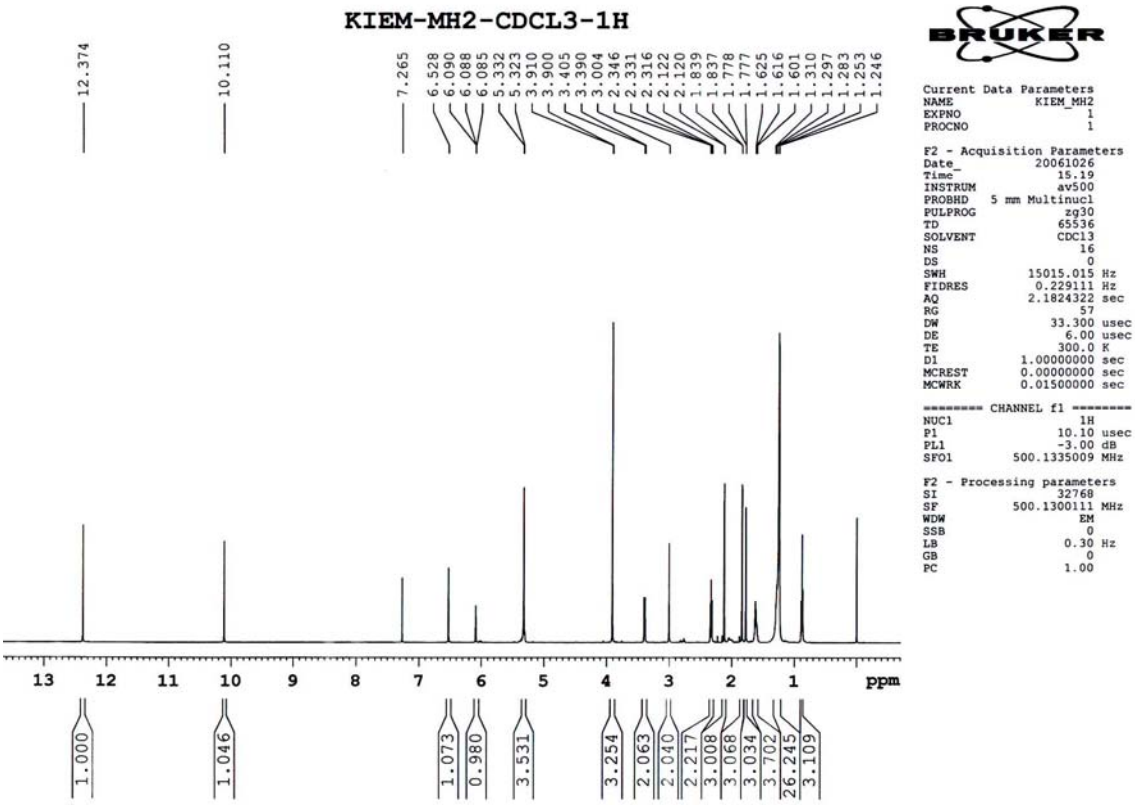
M = 727



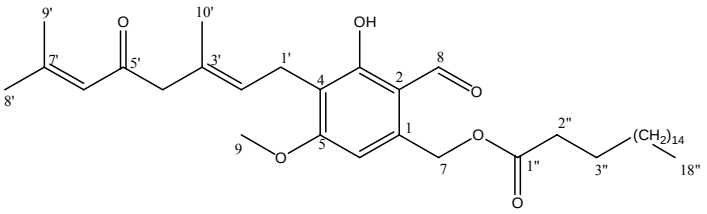
Hình 2.2.1.f. Phổ ESI-MS của MH1

2.2.2. Hợp chất MH2 - Hericenone D

Hợp chất MH2 nhận được dưới dạng dầu không màu với công thức phân tử là $C_{37}H_{58}O_6$ được xác định bởi các dữ liệu phổ khối với píc ion $[M+H]^+$ tại 599,2 và $[M-H]^+$ tại 597,4 cùng với các dữ liệu phổ ^{1}H-, ^{13}C- NMR và các phổ DEPT.

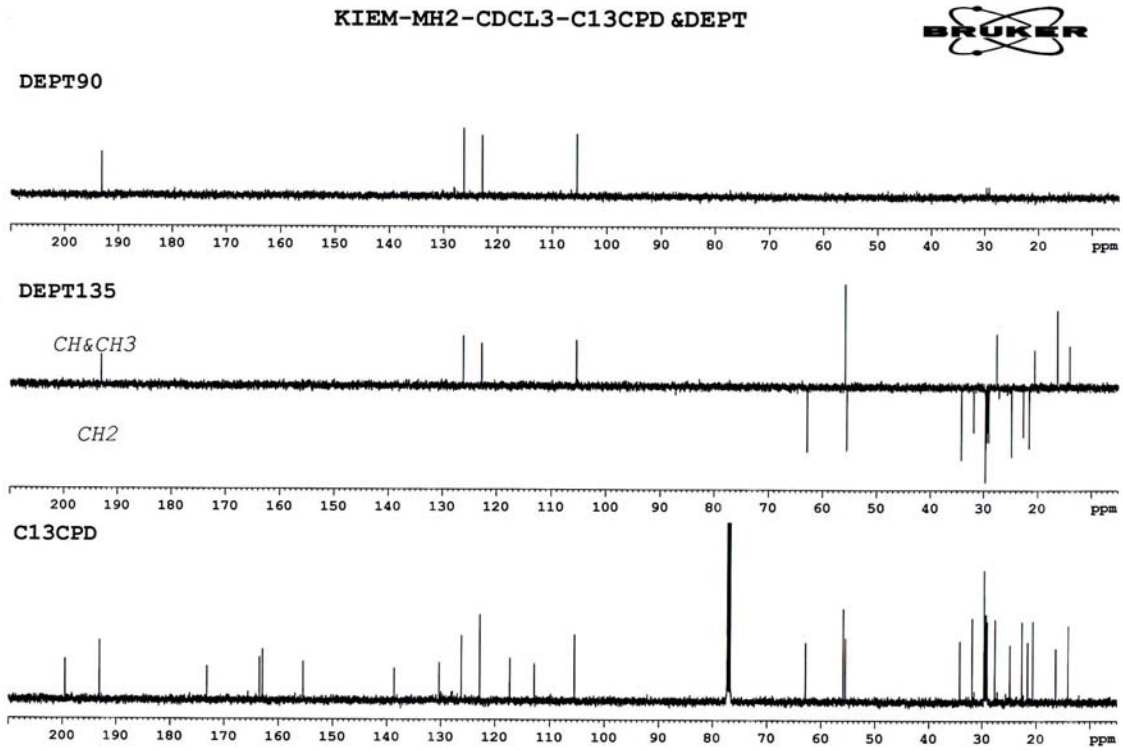


Hình 2.2.2.a. Phổ ^{1}H-NMR của MH2



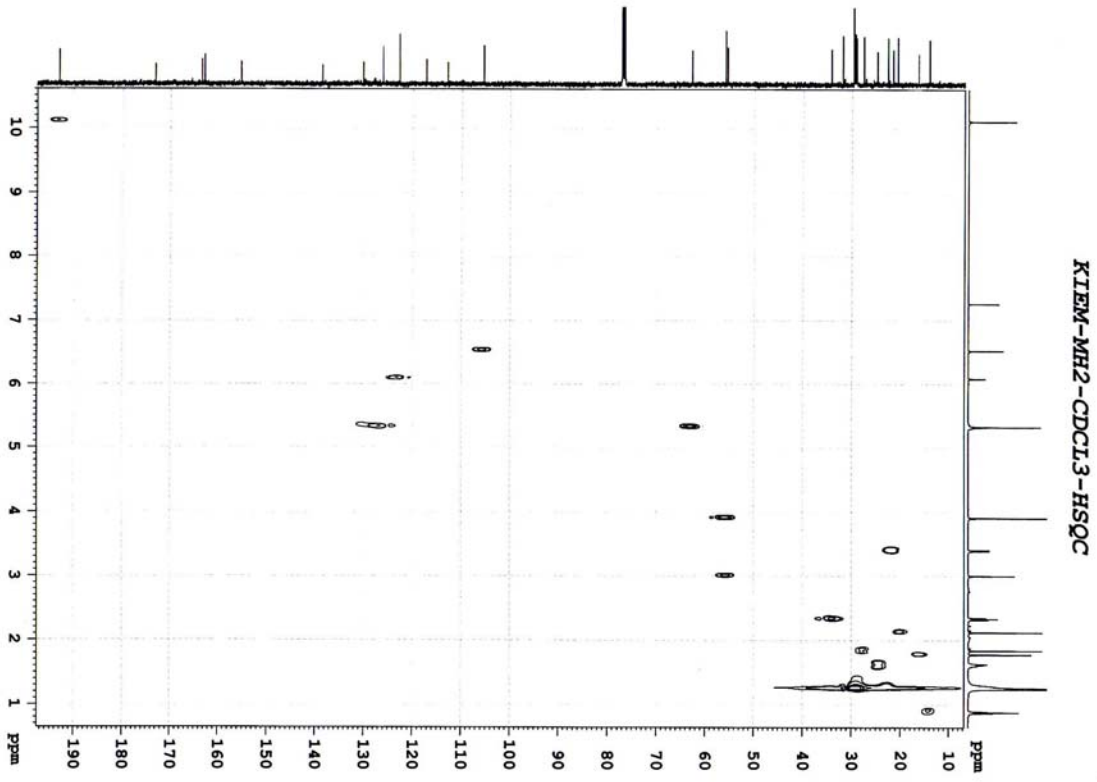
Hình 2.2.2.b. Cấu trúc hóa học của MH2

Trên phổ ^{1}H-NMR của MH2 xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của 1 proton vòng thơm tại δ_H 6,53 (1H, s), một proton của nhóm hydroxyl, một nhóm formyl và một nhóm metoxi đều gắn vào vòng thơm tại δ_H 12,37 (1H, s), 10,11 (1H, s) và 3,92 (3H, s), hai tín hiệu của 2 liên kết đôi đều bị thế ba vị trí tại δ_H 5,32 (1H, d, J = 7,5Hz) và 6,09 (1H, t, J = 1,5Hz), 3 nhóm metyl tại δ_H 0,88 (3H, m), 1,84 (3H, d, J = 1,5Hz) và 2,12 (3H, d, J = 1,0Hz) và các tín hiệu bị che lấp của mạch hydrocacbon no dài tại δ_H 1,25 (26H, m).



Hình 2.2.2.c. Phổ ^{13}C-NMR và các phổ DEPT của MH2

Trên phổ ^{13}C- NMR và các phổ DEPT xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một vòng thơm tại δ_C 105,55, 112,91, 117,33, 138,70, 162,94 và 163,49; một nhóm formyl tại δ_C 193,10; một nhóm metoxy tại δ_C 55,93, hai liên kết đôi đều thế 3 tại δ_C 126,27 (CH), 122,85 (CH), 130,35 (C) và 155,42 (C); một cacbon cacbonyl tại δ_C 199,54, một cacbon cacboxylat tại δ_C 173,20; 3 nhóm metyl tại δ_C 14,12, 20,67 và 27,66; các tín hiệu CH_2 của mạch hydrocacbon no dài tại δ_C 22,70-31,94.



Hình 2.2.2.d. Phổ HSQC của MH2

Để xác định chính xác định độ dịch chuyển hoá học tương ứng của cacbon và proton, phổ HSQC đã được đo và các giá trị của chúng được đưa ra chi tiết trên bảng 2.

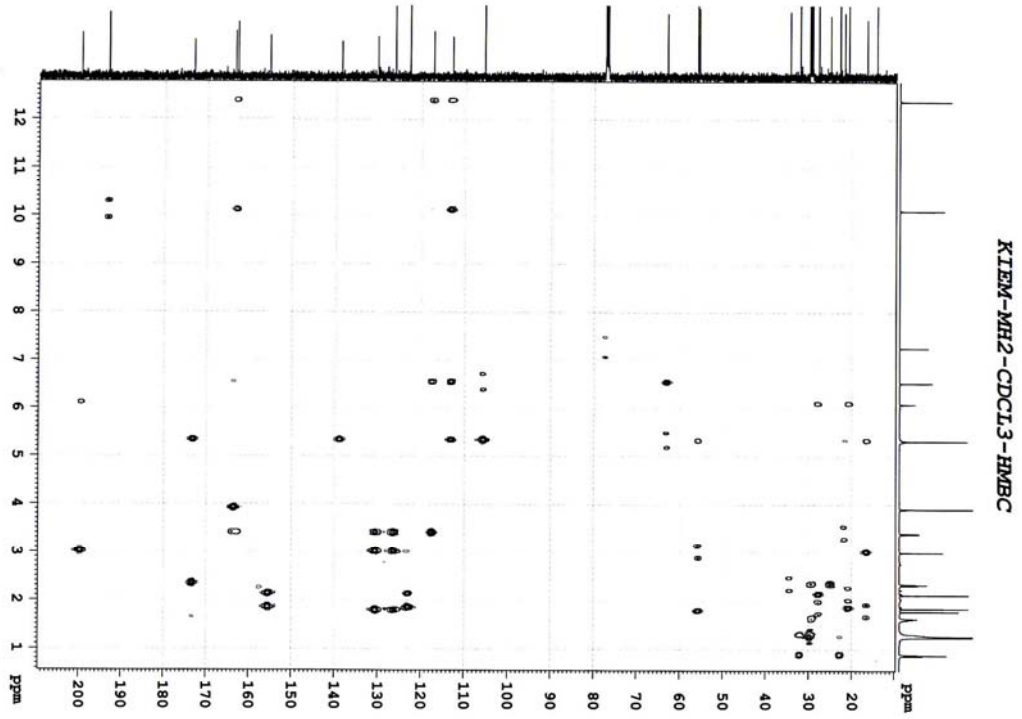
Bảng 2: Kết quả phổ NMR của MH2

C	δ_C*,[a] [5]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (J, Hz)	HMBC (H→C)
1	138,7 s	138,70 s	-	
2	112,9 s	112,91 s	-	
3	162,9 s	162,94 s	-	
4	117,3 s	117,33 s	-	
5	163,5 s	163,49 s	-	
6	105,6 d	105,55 d	6,53 (s)	C-2, 4, 7
7	62,9 t	62,90 t	5,32 (s)	C-1, 2, 6, 1”
8	193,1 d	193,10 d	10,11 (s)	C-2, 3
9	55,9 q	55,93 q	3,91 (s)	C-5
1’	21,6 t	21,62 t	3,40 (d, 7,5)	C-3, 4, 5, 2’, 3’
2’	126,3 d	126,27 d	5,32 (d, 7,5)	C-4, 2’, 4’, 10’
3’	130,3 s	130,35 s	-	

4’	55,6 t	55,55 t	3,00 (s)	C-2’, 5’, 6’, 10’
5’	199,5 s	199,54 s	-	
6’	122,8 d	122,85 d	6,09 (t, 1,0, 1,5)	C-5’, 8’, 9’
7’	155,5 s	155,42 s	-	
8’	27,7 q	27,66 q	1,84 (d, 1,5)	C-6’, 7’, 9’
9’	20,7 q	20,67 q	2,12 (d, 1,0)	C-6’, 7’, 8’
10’	16,4 q	16,41 q	1,78 (d, 0,5)	C-2’, 3’, 4’
1”	173,2 s	173,20 s	-	
2”	34,2 t	34,25 t	2,33 (t, 7,5)	C-1”, 3”
3”	24,9 t	24,89 t	1,62 (m)	
18”	14,3 q	14,12q	0,88 (m)	
OH			12,37 (s)	C-2, 3, 4
4”-17”	31,9 t	31,94 t	1,25 (m)	
	29,7 t	29,70 t		
	29,7 t	29,70 t		
	29,7 t	29,70 t		
	29,7 t	29,70 t		
	29,7 t	29,68 t		
	29,7 t	29,65 t		
	29,6 t	29,60 t		
	29,4 t	29,45 t		
	29,4 t	29,37 t		
	29,2 t	29,23 t		
	29,1 t	29,13 t		
	24,9 t	24,89 t		
	22,7 t	22,70 t		

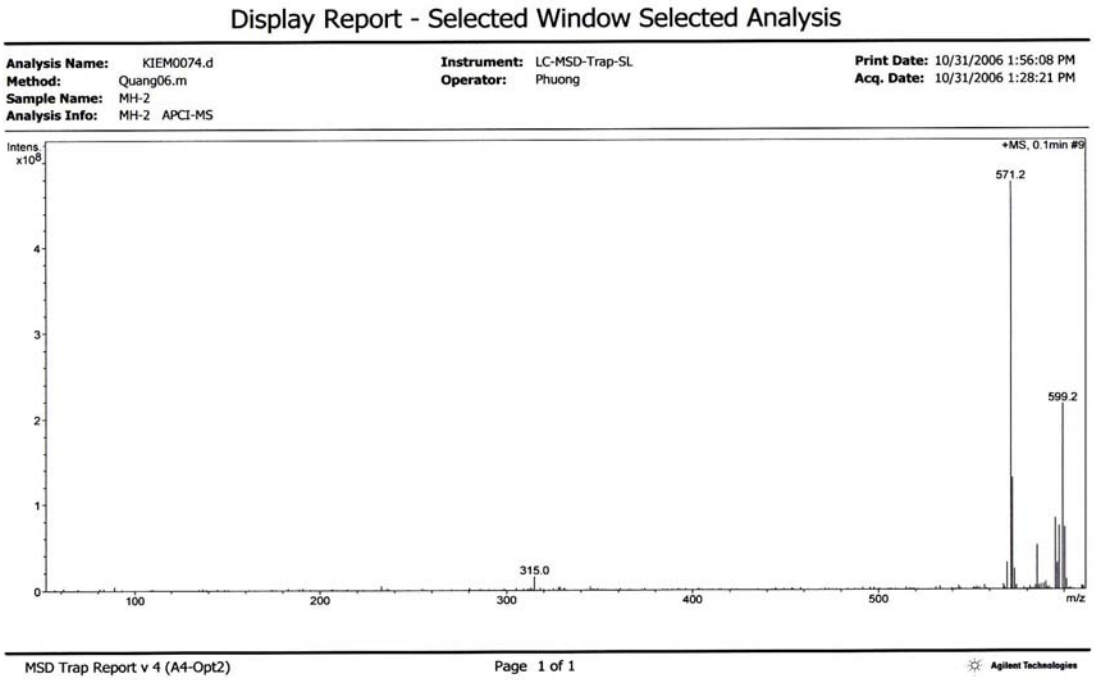
*số liệu NMR của hericenone D, [a]đo trong $CDCl_3$, [b]125 MHz, [c]500 MHz

Để xác định các vị trí nhóm thế và kiểm tra các giá trị độ dịch chuyển hoá học của các vị trí, phổ HMBC đã được đo. Trên phổ HMBC, nhóm OH được khẳng định tại vị trí C-3 bởi tương tác HMBC của H (OH, δ 12,37) với C-2 (δ 112,91), C-3 (δ 162,94) và C-4 (δ 117,33), nhóm metoxy ở vị trí C-5 bởi tương tác của proton H-9 (δ 3,91) với C-5 (δ 163,49). Bằng các phân tích tương tự cho phép khâu nối các giá trị phổ, dự đoán cấu trúc hóa học của MH2 như được chỉ ra ở Hình 2.2.2.a và chi tiết được đưa ra trên bảng 2.



Hình 2.2.2.e. Phổ HMBC của MH2

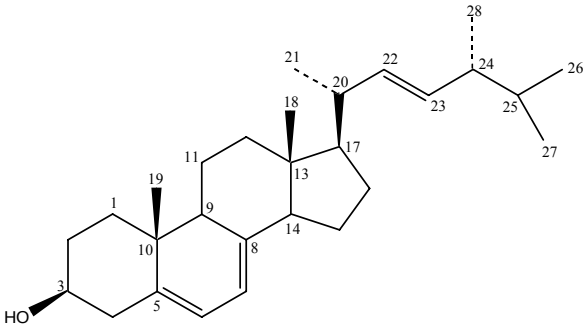
Các kết quả phân tích nêu trên được đem so sánh với các dữ kiện phổ của hợp chất Hericenone D [5] và sự trùng khớp hoàn toàn về các giá trị phổ tương ứng kết hợp với các dữ kiện phổ khối lượng cho phép khẳng định hợp chất MH2 là Hericenone D. Hợp chất này đã được tìm thấy trước đó từ nấm *Hericeum erinaceus* và thể hiện hoạt tính kích thích mạnh sự tổng hợp nhân tố kích thích sự phát triển của tế bào thần kinh [5, 6].



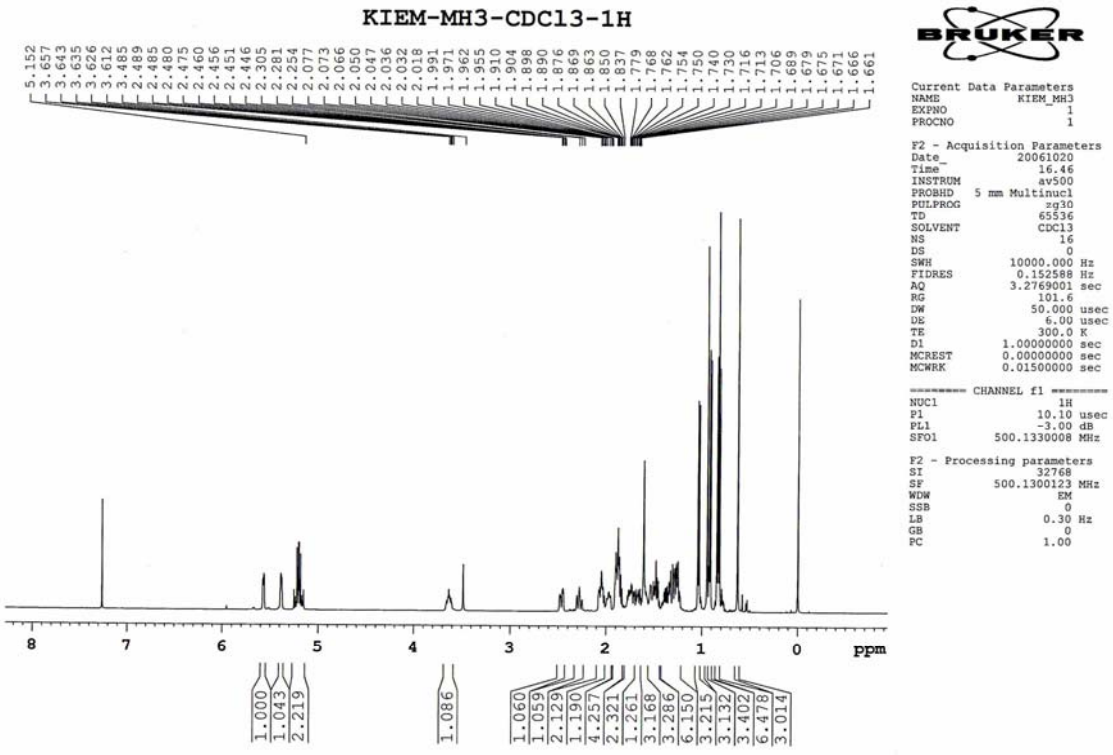
Hình 2.2.2.f. Phổ ESI-MS của MH2

2.2.3. Hợp chất MH3 - Ergosterol.

Hợp chất MH3 nhận được dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. Phổ ^{1}H-NMR của nó đặc trưng cho một steroit trong đó xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một cacbon nối với nhóm -OH tại δ_H 3,63 (1H, m, H-3), hai liên kết đôi bị thế 3 vị trí tại δ_H 5,56 (dd, J = 2,0 và 5,5 Hz) và 5,38 (m), một liên kết đôi ngoại vòng bị thế 2 vị trí tại δ_H 5,17 (1H, dd, J = 8,5, 15,5Hz, H-22) và 5,22 (1H, dd, J = 8,5 và 15,5Hz, H-23), sáu nhóm metyl tại δ_H 0,63 (s), 0,82 (d, J = 6,5 Hz), 0,84 (d, J = 6,5 Hz), 0,91 (d, J = 6,5 Hz), 0,95 (s) và 1,03 (d, J = 6,5 Hz).



Hình 2.2.3.a. Cấu trúc hóa học của MH-3



Hình 2.2.3.b. Phổ ^{1}H-NMR của MH-3

Phổ ^{13}C-NMR của HM3 xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một steroit có 28 cacbon. Trong đó một nhóm oximetin được khẳng định tại δ 70,47 (d), hai nối đôi bị

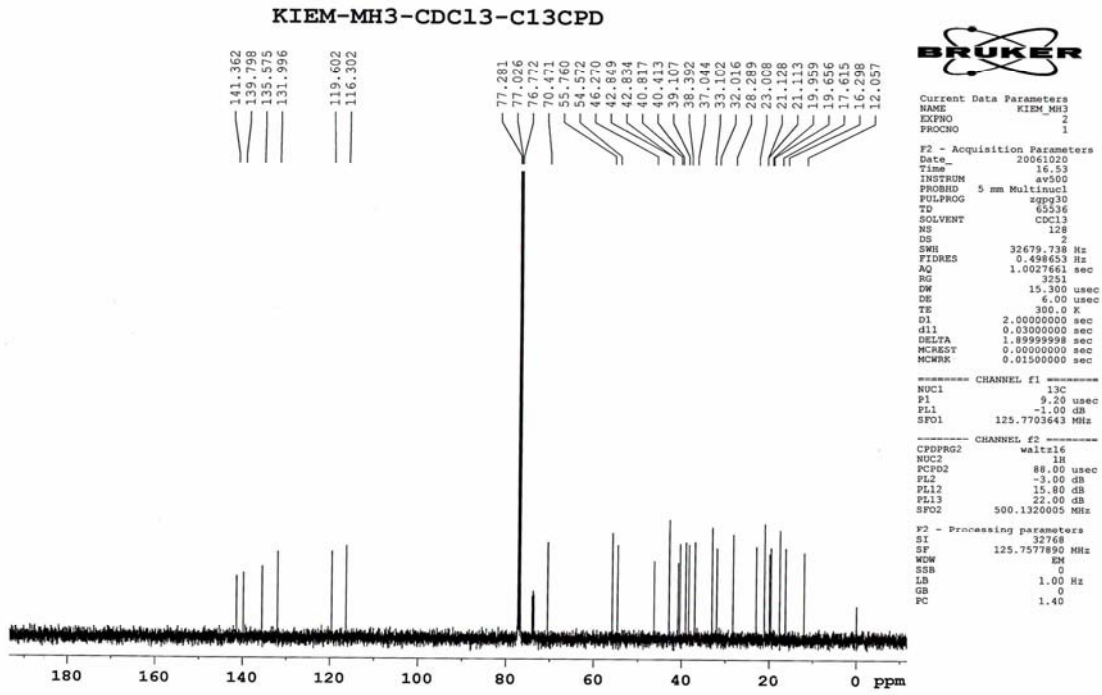
thế 3 vị trí tại δ 141,36 (s, C-5)/119,60 (d, C-6) và 117,30 (d, C-7)/139,80 (s), một nối đôi ngoại vòng tại δ 135,60 (d, C-22)/131,99 (C-23), và 6 nhóm metyl tại δ 12,06 (q, C-18), 16,30 (q, C-19), 21,11 (q, C-21), 17,76 (q, C-26), 19,65 (q, C-27) và 19,96 (q, C-26) (Bảng 3 và Hình 2.2.3.c).

Bảng 3: Kết quả phổ NMR của MH3

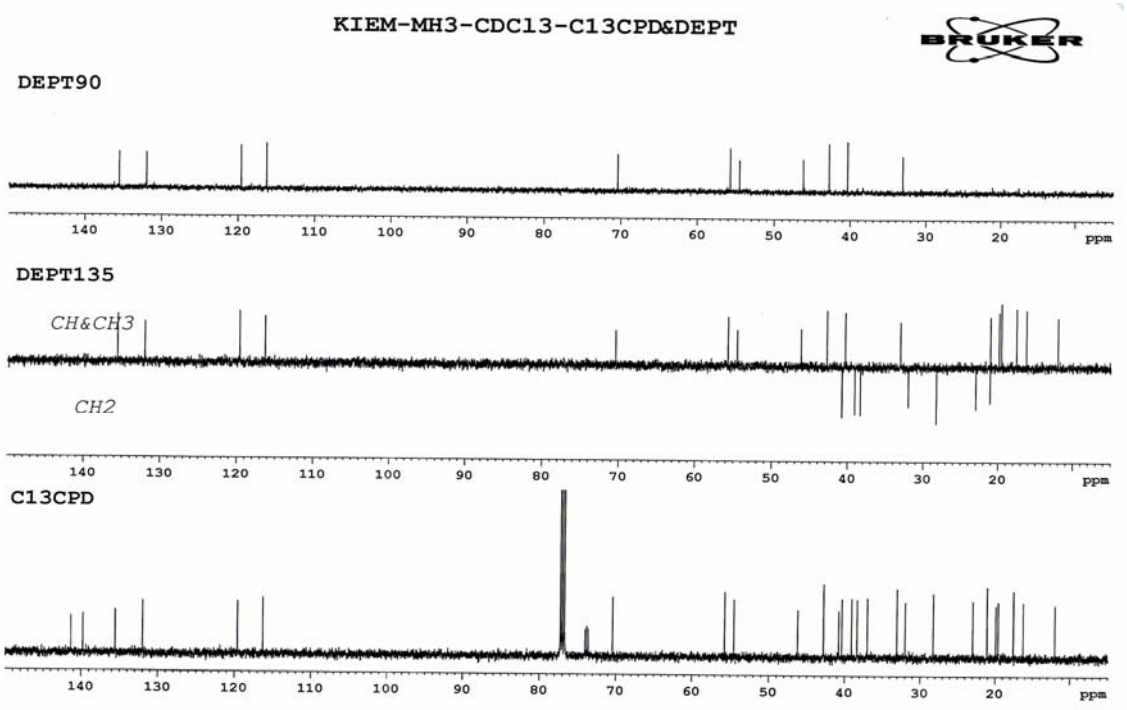
C	δ_C [7]	δ_C[a, b]	δ_H[a, c] (multicipility, J in Hz)
1	38,32 t	38,39 t	1,25 m
			1,75 m
2	31,15 t	32,02 t	1,50 m
			1,78 m
3	69,11 d	70,47 d	3,63 m
4	40,46 t	40,83 t	2,28 (t, 13,5)
5	141,18 s	141,36 s	-
6	119,05 d	119,60 d	5,56 (dd, 2,0, 5,5)
7	117,05 d	116,30 d	5,38 m
8	139,20 s	139,80 s	-
9	45,97 d	46,27 d	1,97m
10	36,97 s	37,04 s	-
11	20,81 t	21,13 t	1,65 m
12	39,35 t	39,11 t	1,34 m
			1,90 m
13	42,48 s	42,41 s	-
14	54,41 d	54,57 d	1,92 m
15	23,19 t	23,01 t	1,67 m
16	28,29 t	28,29 t	1,28 m
			1,74 m
17	55,67 d	55,76 d	1,25 m
18	12,02 q	12,06 q	0,63 s
19	15,65 q	16,30 q	0,95 s
20	40,97 d	40,82 d	2,05 m
21	21,51 q	21,11 q	1,03 (d, 6,5)
22	135,71 d	135,60 d	5,17 (1H, dd, J=8,5, 15,5Hz)
23	131,84 d	131,99 d	5,22 (1H, dd, J=8,5, 15,5Hz)

24	43,23 d	42,85 d	1,76 m
25	32,85 d	33,10 d	1,38 m
26	19,44 q	19,66 q	0,84 (d, J=6,5 Hz)
27	21,51 q	19,96 q	0,82 (d, J=6,5 Hz)
28	17,76 q	17,62 q	0,91 (d, J=6,5 Hz)

[a]đo trong CDCl3, [b]125 Mhz, [c]500MHz



Hình 2.2.3.c. Phổ ^{13}C-NMR của MH-3

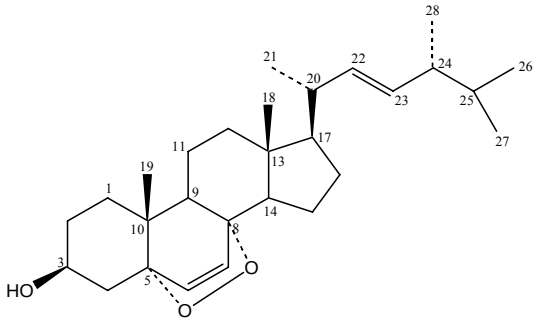


Hình 2.2.3.d. Phổ ^{13}C-NMR và các phổ DEPT của MH-3

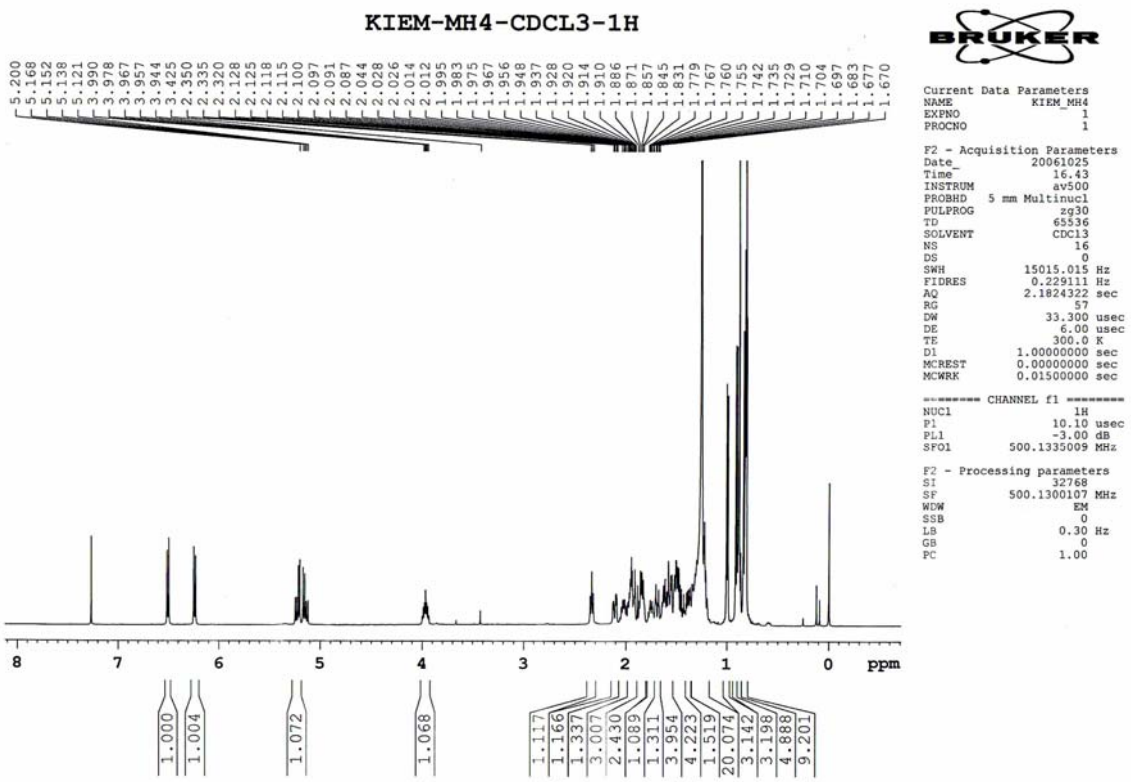
Độ chuyển dịch hóa học và dạng píc đa vạch tại δ_H 3,63 (1H, m, H-3) đặc trưng cho cấu hình α của proton H-3 tương ứng với cấu hình β của nhóm OH tại vị trí này [8]. Nối đôi ngoại vòng được xác định ở dạng *trans* bởi giá trị hằng số tương tác lớn (J = 15,5 Hz). Cùng với sự xuất hiện của 6 nhóm metyl, 2 nối đôi nội vòng đều bị thế 3 vị trí gợi ý tới hợp chất ergosterol, một steroit khá phổ biến trong thiên nhiên. Từ tất cả các phân tích đã nêu, giá trị phổ ^{13}C-NMR của MH3 được mang so sánh với các giá trị đã được công bố của ergosterol [13]. Sự phù hợp hoàn toàn ở các vị trí tương ứng cho phép khẳng định hợp chất MH-3 chính là ergosterol.

4. Hợp chất MH4 - Ergosterol peroxide

Hợp chất MH4 cũng nhận được dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. Công thức phân tử là $C_{28}H_{44}O_3$ được xác định bởi các dữ liệu phổ khối với píc ion $[M+H]^+$ tại 429,2 cùng với các dữ liệu phổ ^{1}H-, ^{13}C- NMR và các phổ DEPT.

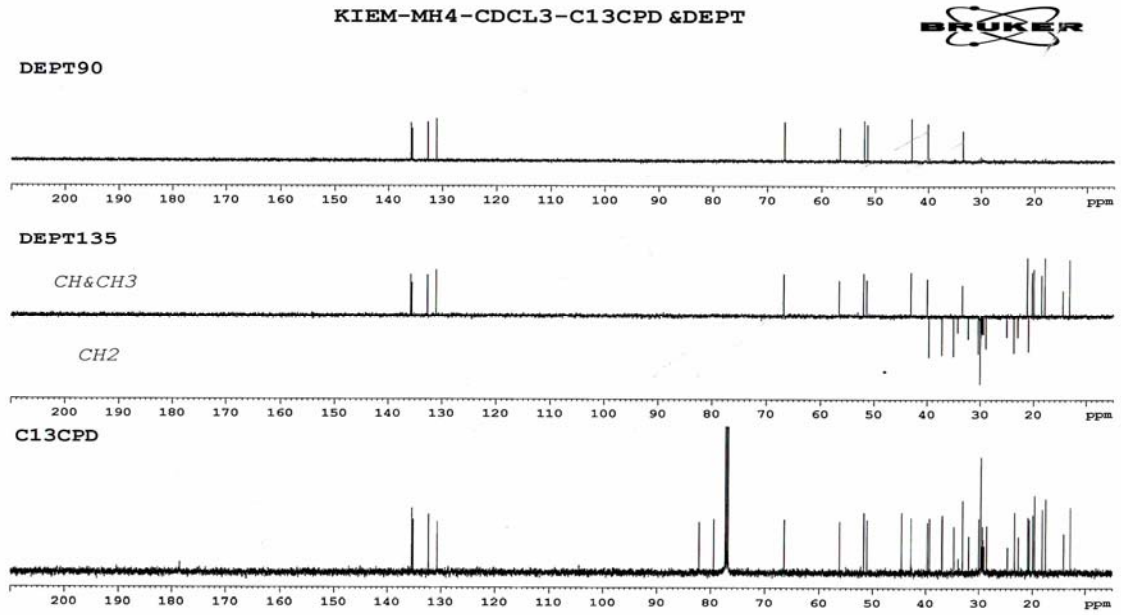


Hình 2.2.4.a. Cấu trúc hóa học của MH-4



Hình 2.2.4.b. Phổ ^{1}H-NMR của MH-4

Phổ ^{1}H và ^{13}C-NMR của MH4 rất tương tự như của MH3 ngoại trừ sự mất đi 2 tín hiệu cacbon của nối đôi và thay vào đó là sự xuất hiện 2 tín hiệu của các cacbon bậc bốn liên kết trực tiếp với nguyên tử ôxy ở vùng trường thấp tại δ 79,44 (s) và 82,17 (s). Điều này gợi ý tới sự xuất hiện của một cầu peroxide và MH4 là một dạng dẫn xuất của MH3.



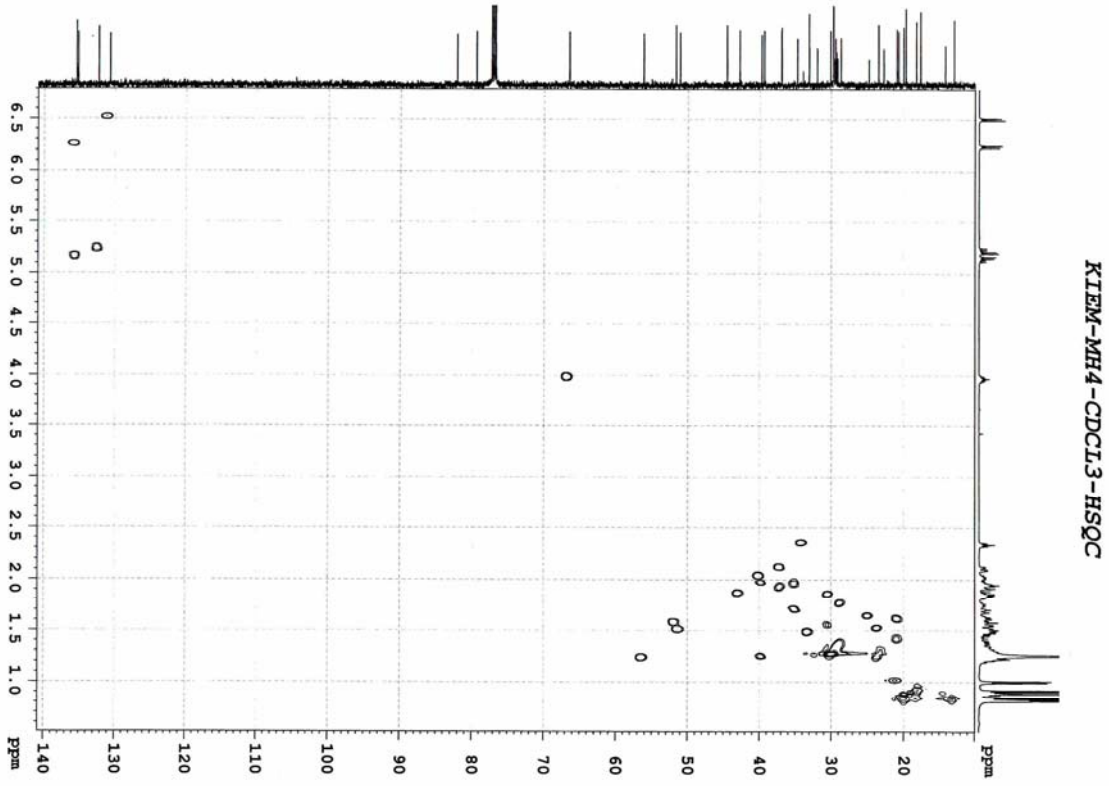
Hình 2.2.4.c. Phổ ^{13}C-NMR và các phổ DEPT của MH-4

Bảng 4. Giá trị phổ NMR của MH4

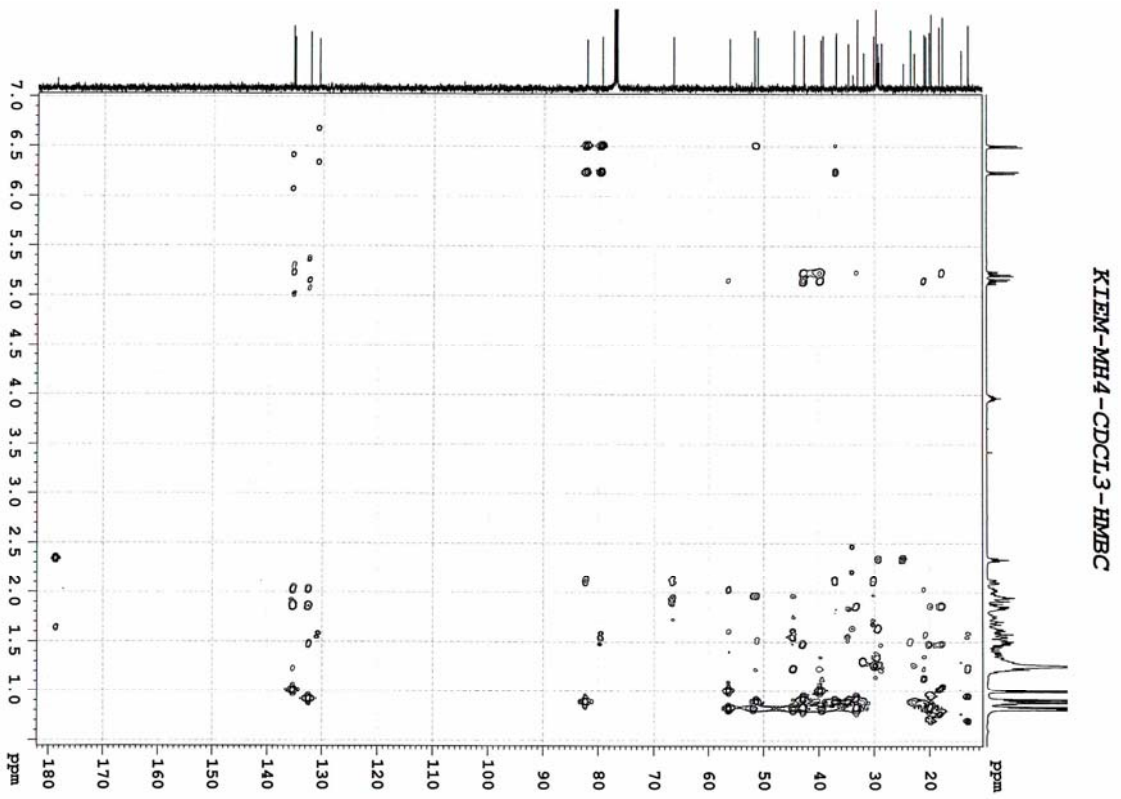
C	δ_C [9]	δ_C [a, b]	δ_H [a, c] (multicipility, J in Hz)	HMBC (H→C)
1	30,20 t	30,09 t	1,56 (m) 1,85 (m)	
2	34,77 t	34,71 t	1,72 (m) 1,96 (m)	
3	66,47 d	66,49 d	3,97 (m)	
4	39,44 t	39,37 t	1,27 (m) 1,97 (m)	
5	82,15 s	82,17 s	-	
6	135,22 d	135,22 d	6,24 (d, 8,5)	C-5, 8, 10
7	130,77 d	130,75 d	6,50 (d, 8,5)	C-5, 8, 9, 10
8	79,42 s	79,44 s	-	
9	51,25 d	51,12 d	1,51 (m)	
10	37,03 s	36,99 s	-	
11	20,66 t	20,64 t	1,41 (m) 1,62 (m)	
12	37,03 t	39,91 t	1,55 (m) 2,11 (m)	
13	44,61 s	44,58 s	-	
14	51,76 d	51,70 d	1,58 (m)	
15	23,44 t	23,42 t	1,25 (m) 1,53 (m)	
16	28,59 t	28,65 t	1,37 (m) 1,78 (m)	
17	56,33 d	56,23 d	1,24 (m)	
18	12,90 q	12,88 q	0,86 (m)	
19	18,18 q	18,18 q	0,88 (m)	
20	39,64 d	39,73 d	2,03 (m)	
21	20,90 q	20,89 q	1,01 (d, 7,0)	C-17, 20, 22
22	135,45 d	135,44 d	5,14 (dd, 8,5,	C-20, 21, 24

			15,5)	
23	132,39 d	132,33 d	5,22 (dd, 8,5, 15,5)	C-20, 24, 28
24	42,82 d	42,79 d	1,87 (m)	
25	33,11 d	33,08 d	1,50 (m)	
26	19,64 q	19,65 q	0,88 (d, 6,5)	
27	19,93 q	19,96 q	0,83 (d, 6,5)	
28	17,56 q	17,57 q	0,91 (d, 6,5)	

[a]đo trong CDCl3, [b]125 Mhz, [c]500MHz



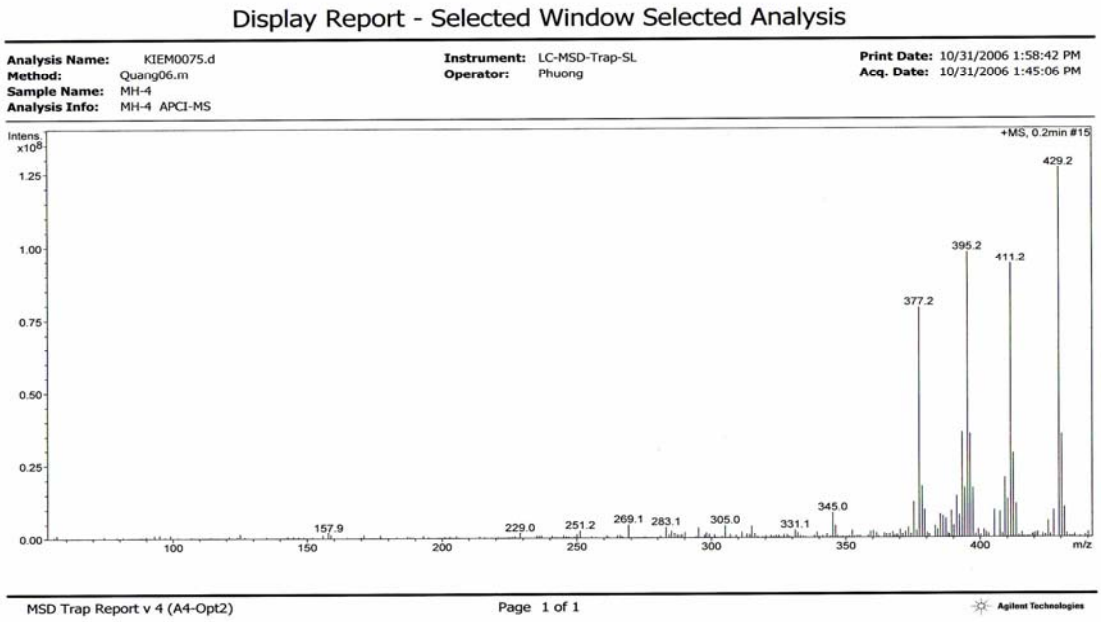
Hình 2.2.4.d. Phổ HSQC của MH-4



Hình 2.2.4.e. Phổ HMBC của MH-4

Từ tất cả các phân tích đã nêu, các số liệu phổ ^{13}C-NMR của MH4 được mang so sánh với các số liệu đã được công bố của hợp chất ergosterol peroxide [9], sự trùng khớp hoàn toàn tại các giá trị tương ứng cho phép khẳng định cấu trúc hóa học của MH4 là 5α,8α-epidioxyergosta-6,22-dien-3β-ol (egosterol peroxide). Ngoài ra điều này còn một lần nữa được khẳng định bởi các tương tác trên phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều HMBC (Bảng 4 và Hình 2.2.4.e).

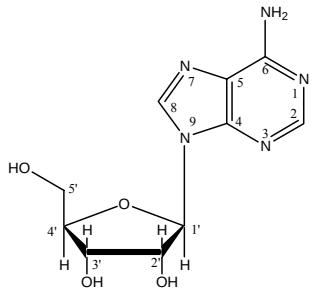
Theo các tài liệu đã công bố, hợp chất này thể hiện hoạt tính kháng *Escherichia coli* và *Salmonella typhimurium* (với giá trị IC_{50} tương ứng là 350 và 500 àg/ml) [10], chống dị ứng [11]. Ngoài ra hợp chất này còn thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với các dòng tế bào ung thư dạ dày (SNU-1), ung thư gan (SNU-354), ung thư trực tràng và sarcoma-180 chuột với giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (IC_{50}) tương ứng là 18,7, 158,2, 84,6 và 74,1 μg/ml [12].



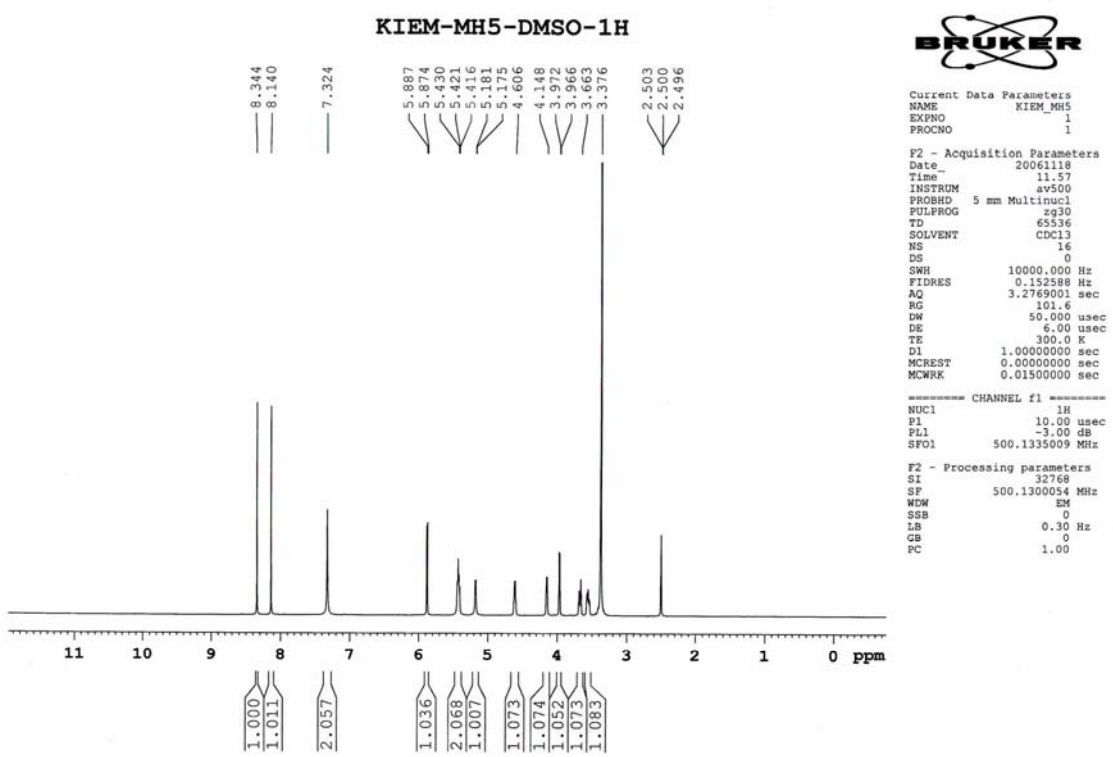
Hình 2.2.4.f. Phổ ESI-MS của MH-4

2.2.5. Hợp chất MH5 - β-Adenosine

Hợp chất MH5 nhận được dưới dạng tinh thể hình kim màu trắng. Công thức phân tử của nó được xác định là $C_{10}H_{13}N_5O_4$ dựa trên kết quả phổ khối lượng ESI-MS (tại m/z 267,8 $[M+H]^+$ và 289,8 $[M+Na]^+$) và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (^{1}H, ^{13}C-NMR và DEPT).



Hình 2.2.5.a. Cấu trúc hóa học của MH-5



Hình 2.2.5.b. Phổ ^{1}H-NMR của MH-5

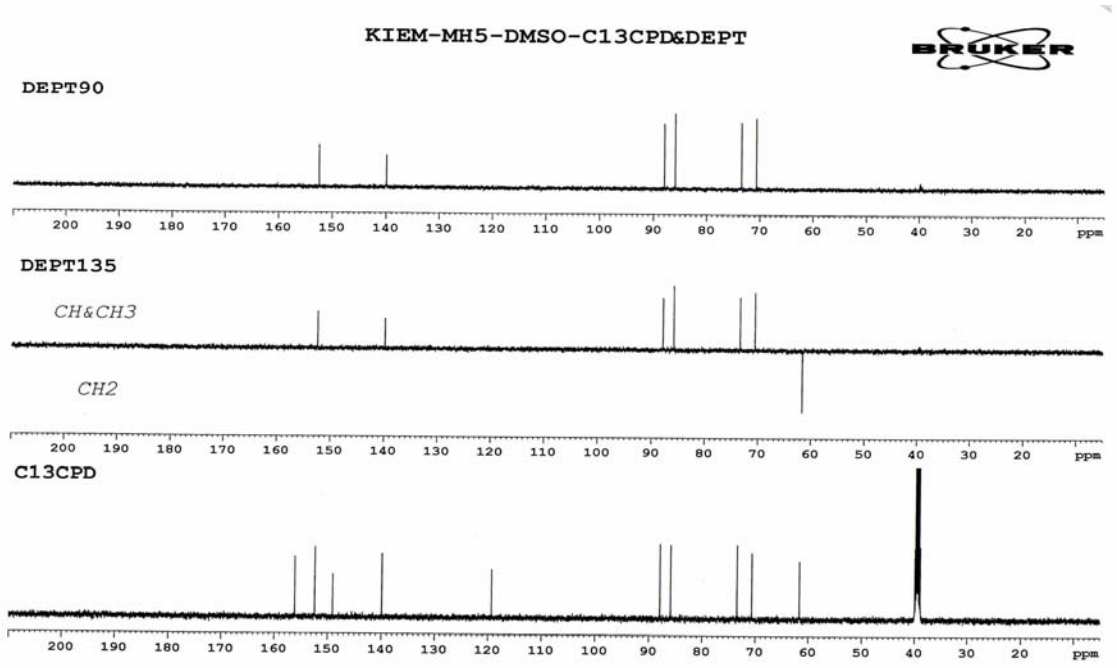
Trên phổ 1H-NMR của MH5 xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một đơn vị đường β-D-Ribofuranosyl tại δ 5,88 (d, *J* = 6,5 Hz, H-1'), 4,61 (dd, *J* = 4,0 và 10,5 Hz, H-2'), 4,15 (br s, H-3'), 3,97 (dd, *J* = 3,5 và 6,5 Hz, H-4'), 3,57 (m, H_a-5') và 3,68 (m, H_b-5').

Bảng 5. Kết quả phổ NMR của MH5

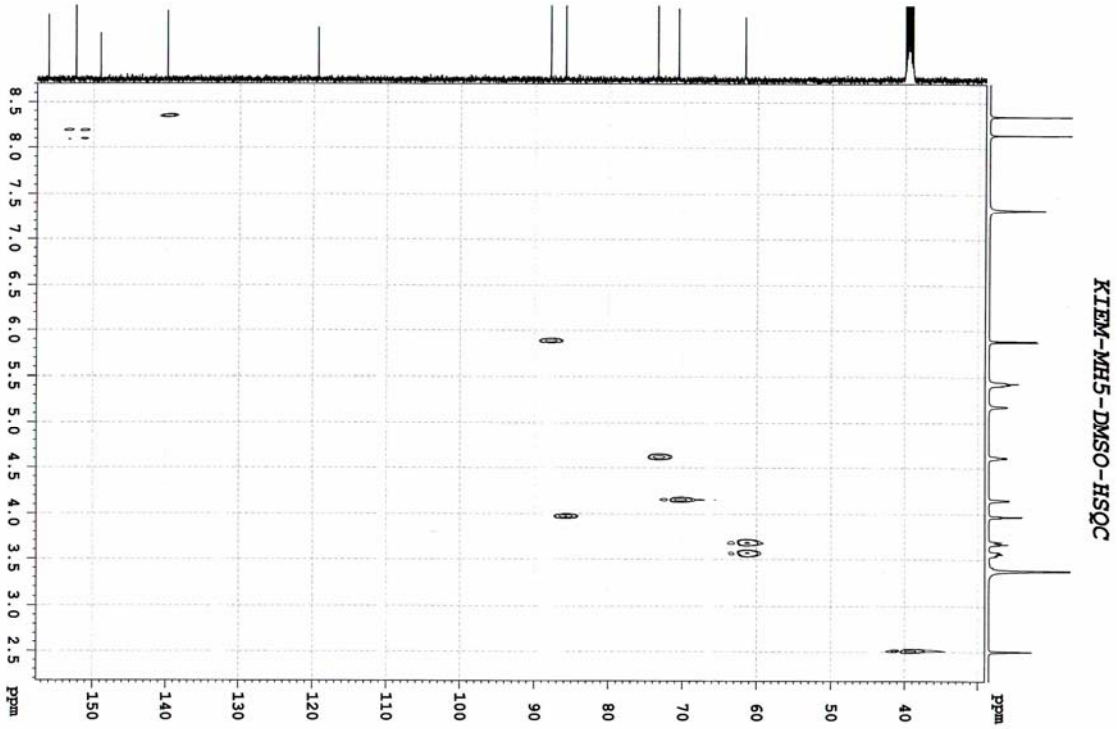
C	δ_C [13]	$\delta_C^{a, b}$	$\delta_H^{a, c}$ (multiplicity, J in Hz)	HMBC (H→C)
2	152,5 d	152,41 d	8,14 (s)	C-4, 6
4	149,1 s	149,08 s	-	
5	119,4 s	119,37 s	-	
6	156,2 s	156,17 s	-	
8	140,0 d	139,95 d	8,34 (s)	C-4, 5
1'	88,1 d	87,95 d	5,88 (d, 6,5)	C-4, 8, 2'
2'	73,6 d	73,47 d	4,61 (dd, 4,0, 10,5)	
3'	70,8 d	70,68 d	4,15 (br s)	
4'	86,1 d	85,92 d	3,97 (dd, 3,5, 6,5)	
5'	61,8 t	61,69 t	3,57 (m)	

			3,68 (m)	
NH2	-	-	7,32 (s)	C-5
OH-2’	-	-	5,42 *	
OH-3’	-	-	5,17 (d, 3,0)	
OH-5’	-	-	5,43 *	

[a]đo trong DMSO, [b]125 Mhz, [c]500MHz

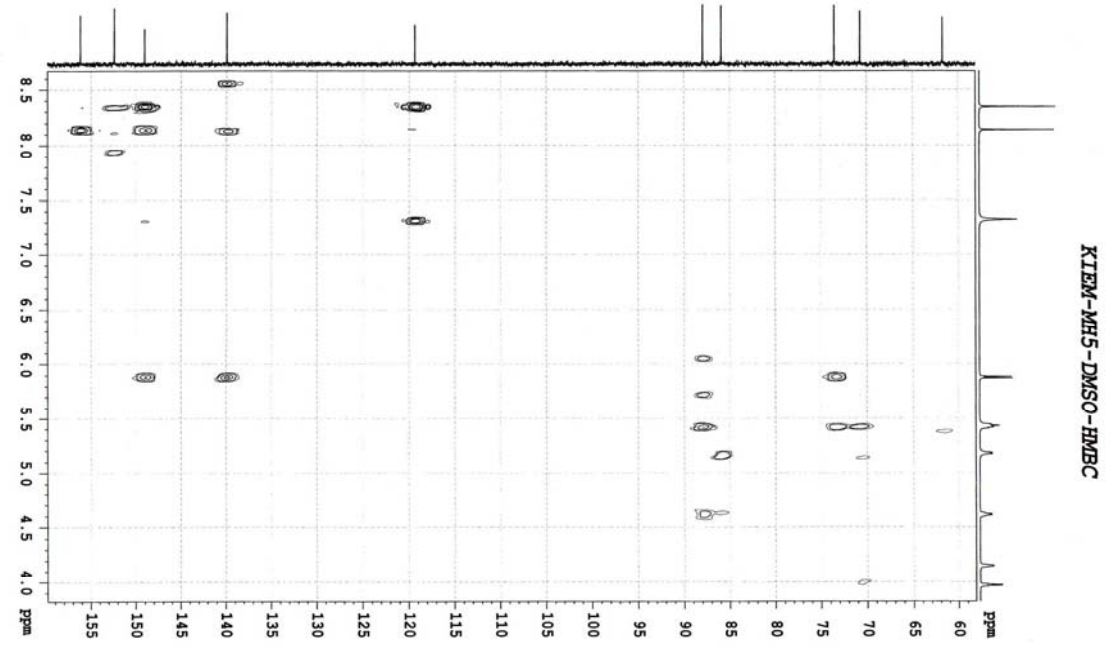


Hình 2.2.5.c. Phổ ^{13}C-NMR và các phổ DEPT của MH-5

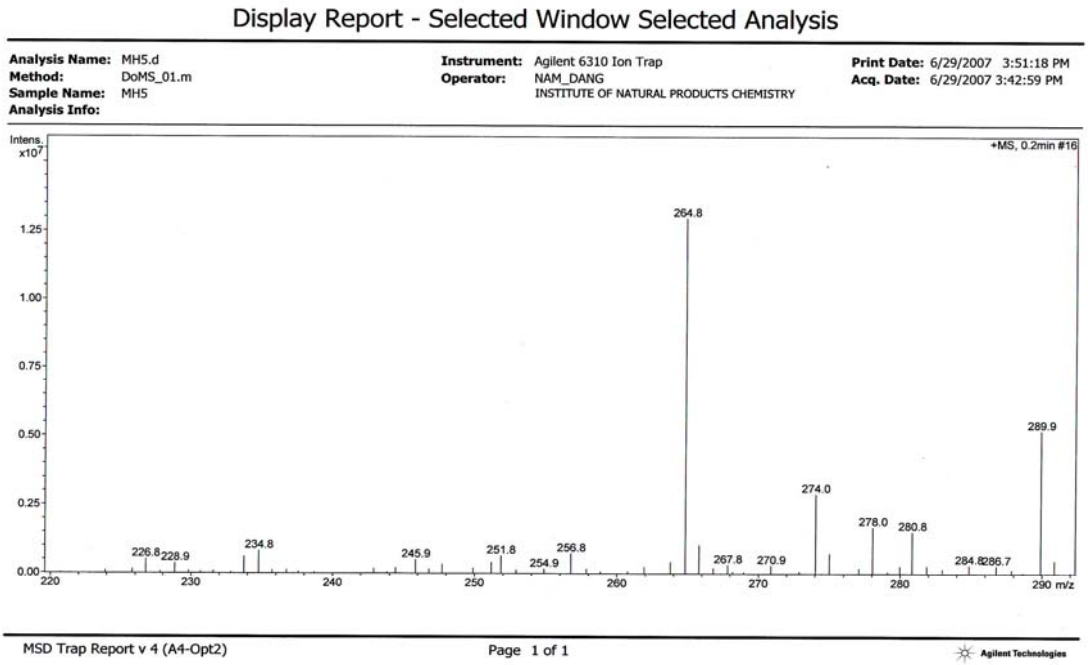


Hình 2.2.5.d. Phổ HSQC của MH-5

Trên phổ 13C-NMR xuất hiện các tín hiệu của 10 cacbon với 3 C, 6 CH và 1 CH_2. Trong đó, các tín hiệu của 1 đơn vị đường β-D-Ribofuranosyl được khẳng định tại δ 87,95 (d, C-1'), 73,47 (d, C-2'), 70,68 (d, C-3'), 85,92 (d, C-4') và 61,69 (t, C-5') [14].



Hình 2.2.5.e. Phổ HSQC của MH-5



Hình 2.2.5.f. Phổ ESI-MS của MH-5

Từ các phân tích đã nêu trên, số liệu phổ 13C-NMR của MH5 được mang so sánh với các giá trị đã công bố của hợp chất β-Adenosine [13]. Sự phù hợp hoàn toàn ở các giá trị tương ứng cho phép khẳng định cấu trúc hóa học của MH5 là 9-β-D-Ribofuranosyladenine hay β-Adenosine. Điều này một lần nữa được khẳng định bởi các tương tác trên phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều HMBC (Bảng 5 và Hình 2.2.5.e).

III. CHỦNG HÀU THỦ (Phương pháp 2)

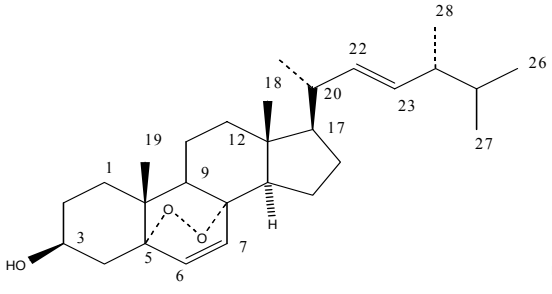
Bằng sắc kí cột nhiều lần với chất hấp phụ silica gel và các hệ dung môi rửa giải khác nhau chúng tôi đã thu được ba hợp chất từ dịch chiết diclometan của *H.erinaceum*.

Hợp chất **1** thu được ở dạng tinh thể màu trắng, có đ.n.c 178-180^{0}C. Phổ hồng ngoại cho đỉnh hấp thụ đặc trưng cho dao động hoá trị của nhóm hydroxyl (OH) ở 3400cm^{-1} và của liên kết C-O-C ở 1050cm^{-1}. Phổ khối bụi electron ESI-MS cho pic ion phân tử tại m/z 427 $[M-H]^+$ tương ứng với công thức phân tử $C_{28}H_{44}O_3$ và hoàn toàn phù hợp với kết quả của phổ NMR. Phổ ^{13}C-NMR xuất hiện tín hiệu của 28 nguyên tử cacbon đặc trưng cho khung sterol, bao gồm: 4 cacbon bậc bốn, 11 nhóm metin CH, 7 nhóm metylen CH_2 và 6 nhóm metyl CH_3. Trong đó tín hiệu của hai nguyên tử cacbon bậc bốn liên kết với một cầu nối epidioxy ở δ_C: 79.4ppm (C-8) và 82.2ppm (C-5) hoàn toàn phù hợp với tín hiệu đã được sắp xếp lại bởi phổ HMQC và HMBC của *Chau Van Minh và cộng sự (Chau Van Minh et al., 2004)*. Phổ ^{1}H-NMR cho các tín hiệu đặc trưng cho các liên kết đôi với hai duplet ở δ_H: 6.24ppm (1H, d, J=7.5Hz, H-6); 6.51ppm (1H, d, J=7.5Hz, H-7) và hai duplet duplet ở δ_H: 5.16ppm (1H, dd, J=7.5 và 14.5Hz, H-22); 5.22ppm (1H, dd, J=7.0 và 15.0Hz, H-23), ngoài ra còn tín hiệu của một multiplet ở δ_H 3.96ppm (1H, m, H-3) với độ chuyển dịch của nguyên tử cacbon tại δ_C 66.5ppm (C-3) khẳng định cho sự có mặt của nhóm OH liên kết với cacbon ở vị trí số 3 với cấu hình -3β-ol (*Sheu et al. 2000*). Qua việc phân tích phổ của hợp chất **1** và so sánh với tài liệu, chúng tôi đã nhận dạng được hợp chất **1** là *5,8-Epidioxy-5α, 8α-ergosta-6,22E-dien-3β-ol* hay *ergosterol peroxide* đã được phân lập từ một loài nấm mục gỗ *Inonotus radiatus* (Kristi karlos & CS,1989). Các dữ liệu phổ của hợp chất **1** hoàn toàn trùng hợp với tài liệu tham khảo (bảng III.4.11).

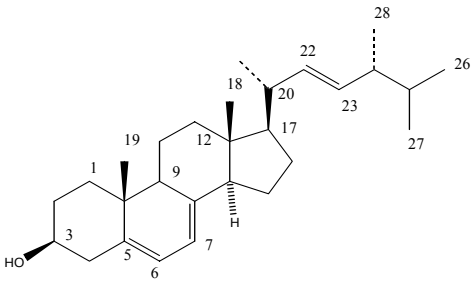
5,8-Epidioxy-5α, 8α-ergosta-6,22E-dien-3β-ol (1)

Tinh thể hình kim, mầu trắng, đ.n.c 178-180^{0}C, $[\alpha]^0_D$-29 ($CHCl_3$, c.0.8);

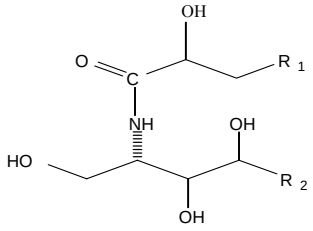
IR^{KBr} λ_{max} cm^{-1}: 3400 (br, OH), 1050 (C-O-C). ESI-MS (m/z) 427 $[M-H]^+$ ($C_{28}H_{44}O_3$). ^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): 1.90-1.95 (2H, m, H-1); 1.55-1.58 (2H, m, H-2); 3.96 (1H, m, H-3); 1.83-1.88 (2H, m, H-4); 6.24 (1H, d, J=7.5Hz, H-6); 6.51 (1H, d, J=7.5Hz, H-7); 1.67 (1H, m, H-9); 1.19-1.22 (2H, m, H-11), 1.42 (2H, m, H-12); 1.71(1H, m, H-14); 1.42-1.48 (2H, m, H-15); 1.47-1.50 (2H, m, H-16); 1.26 (1H, m, H-17); 0.83 (3H, s, H-18); 0.88 (3H, s, H-19); 1.65 (1H, m, H-20); 1.00 (3H, d, J= 6.5Hz, H-21); 5.16 (1H, dd, J=7.5 và 14.5Hz, H-22); 5.22 (1H, dd, J= 7.0 và 15.0Hz, H-23); 2.09-2.11 (2H, m, H-24, H-25); 0.79 (3H, d, J=5.5Hz, H-26); 0.81 (3H, d, J= 5.5Hz, H-27); 0.92 (3H, d, J=6.0Hz, H-28). ^{13}C-NMR (125MHz, $CDCl_3$) xem bảng III.3.11.



1



2



3

Bảng IV.3.11. Dữ liệu phổ ^{13}C-NMR của hợp chất 1 và 2

STT	**Hợp chất 1** ($CDCl_3$, 125MHz)	**Tài liệu [1,2]** ($CDCl_3$, 125MHz)	**Hợp chất 2** ($CDCl_3$, 125MHz)	**Tài liệu [3]** ($CDCl_3$, 125MHz)
1	39.3	39.5	38.4	38.3
2	30.1	30.1	32.0	31.7
3	66.5	66.5	70.5	70.0
4	34.7	36.8	40.8	40.5
5	82.2	82.1	139.8	139.3
6	135.4	135.4	119.6	119.5
7	130.8	130.8	116.3	115.9
8	79.4	79.5	141.3	140.7
9	51.1	51.1	46.3	46.2
10	36.9	36.9	37.1	37.0
11	20.6	20.6	21.1	21.1
12	36.9	39.5	39.1	39.1
13	44.6	44.7	42.8	42.7
14	51.7	51.6	54.6	54.4
15	23.4	23.4	23.0	23.6
16	28.6	28.2	28.3	28.2
17	56.2	56.4	55.8	55.7
18	12.9	12.9	12.1	12.1
19	18.2	18.7	16.3	16.3
20	39.7	39.7	40.4	40.2
21	19.6	19.6	21.1	21.1
22	132.3	132.3	132.0	131.5
23	135.2	135.2	135.6	135.0
24	42.8	42.8	42.8	42.7
25	33.1	33.0	33.1	33.0

26	19.9	19.9	20.0	19.9
27	20.9	20.7	19.6	19.6
28	17.6	17.5	17.6	17.6

Hợp chất **2** phân lập được ở dạng tinh thể màu trắng, đ.n.c 168-169^{0}C. Phổ ^{13}C-NMR cũng cho tín hiệu của các nguyên tử cacbon đặc trưng cho khung sterol-C_{28} tương tự hợp chất **1**, tuy nhiên tín hiệu của hai nguyên tử cacbon bậc bốn trong hợp chất **2** tại δ_C 139.8ppm (C-5)/119.6 (C-6) và 141.3ppm (C-8)/116.3 (C-7) cho thấy sự có mặt của hai liên kết đôi trong vòng B. Điều này hoàn toàn phù hợp với các tín hiệu của phổ ^{1}H-NMR với δ_H : 5.56ppm (1H, dd, J=3.0 và 5.0Hz, H-6) và 5.39ppm (1H, dd, J=3.0 và 5.0Hz , H-7); cùng với hai duplet duplet tại δ_H 5.18ppm (1H, dd, J=7.5 và 14.5Hz, H-22); 5.23ppm (1H, dd, J=7.0 và 15.0Hz, H-23); một multiplet ở δ_H 3.63ppm (1H, m, H-3) với δ_C 70.5ppm (C-3) đặc trưng cho -3β-ol. Chúng tôi nhận dạng được hợp chất **2** là ergosterol, dữ liệu phổ của nó trùng hợp với tài liệu tham khảo.

Ergosterol (2)

Tinh thể hình kim, mầu trắng, đ.n.c 168-169^{0}C, $[\alpha]^0_D$ -132 ($CHCl_3$, c.0.5);

ESI-MS (m/z) 395 $[M-H]^+$ ($C_{28}H_{44}O$). ^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): 3.63 (1H, m, H-3); 5.56 (1H, dd, J=3.0 và 5.0Hz, H-6); 5.39 (1H, dd, J=3.0 và 5.0Hz, H-7); 0.63 (3H, s, H-18); 0.95 (3H, s, H-19); 1.03 (3H, d, J=8.0Hz, H-21); 5.18 (1H, dd, J=7.5 và 14.5Hz, H-22); 5.23(1H, dd, J=7.0 và 15.0Hz, H-23); 0.78 (3H, d, J=6.0Hz, H-26); 0.79 (3H, d, J=6.0Hz, H-27); 0.92 (3H, d, J=6.0Hz, H-28). ^{13}C-NMR (125MHz, $CDCl_3$). (bảng III.3.11)

Hợp chất **3** có dạng bột mầu trắng, các dữ liệu phổ NMR của hợp chất này đặc trưng cho kiểu cấu trúc của hợp chất ceramide. Phổ ^{1}H-NMR cho tín hiệu của một duplet tại δ_H 7.49 (1H, d, J=9.0Hz) đặc trưng cho proton NH, tín hiệu của 4 proton carbinol tại δ_H 3.76 (1H, dd, J=4.5 và 11.5Hz, H-1a), 3.81 (1H, dd, J=4.5 và 11.5Hz, H-1b); 3.55 (1H, dd, J=2.5 và 3.5Hz, H-3); 3.54 (1H, m, H-4); và 4.05 (1H, dd, J=4.0 và 8.5Hz, H-2'). Ngoài ra còn các tín hiệu của một singlet tù ở δ_H 1.29 và một triplet của hai nhóm CH_3 đầu mạch tại δ_H 0.88 (6H, t, J=6.5Hz) điển hình cho kiểu hợp chất ceramide với một nhánh là hidrocacbon no mạch dài và một nhánh là axit béo 2-hydroxy. Phổ ^{13}C-NMR cho tín hiệu của nhóm cacbonyl tại δ_C 176.0ppm, tín hiệu của nguyên tử cacbon liên kết với nitơ ở δ_C 51.9ppm cùng với tín hiệu của 4 cacbon carbinol tại δ_C 61.4ppm (C-1); 75.8ppm (C-3); 72.6ppm (C-4) và 72.2ppm (C-2'). Dữ liệu phổ của hợp chất này đã được so sánh với alomacrorrhiza A cho thấy hoàn toàn phù hợp với cấu trúc kiểu hợp chất ceramide . Tuy nhiên, để nhận dạng chính xác cấu trúc của hợp chất này cần phải có thêm một vài nghiên cứu khác nữa. Vì hợp chất này không thể hiện hoạt tính độc tế bào do vậy chúng tôi không tiếp tục đi sâu nghiên cứu về cấu trúc và chỉ nhận dạng hợp chất **3** là một ceramide.

Ceramide (3)

Chất bột màu trắng. ^{1}H-NMR (500MHz, $CDCl_3$): 3.76 (1H, dd, J=4.5 và 11.5Hz, H-1a), 3.81 (1H, dd, J=4.5 và 11.5Hz, H-1b); 4.11 (1H, dd, J=4.5 và 8.5Hz, H-2); 3.55 (1H, dd, J=2.5 và 3.5Hz, H-3); 3.54 (1H, m, H-4); 1.60 (2H, m, H-5); 4.05 (1H, dd, J=4.0 và 8.5Hz, H-2'); 1.77 (1H, m, H-3a); 1.67 (1H, m, H-3b); 7.49 (1H, d, J=9.0Hz, NH); 0,88 (6H, t, J=6.5Hz, CH_3). ^{13}C-NMR (125MHz, $CDCl_3$):

61.4ppm (C-1); 51.9 (C-2); 75.8ppm (C-3); 72.6ppm (C-4); 176.0 (C=O, C-1') và 72.2 (C-2').