

Phân lập một số triterpenoid từ linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) để thiết lập chất đối chiếu hóa học

Dương Minh Tân², Phạm Chí Thanh¹
Phan Nguyễn Trường Thắng¹, Trần Việt Hùng^{1*}
Lê Tiến Khang¹

¹Viện Kiểm nghiệm Thuốc Thành phố Hồ Chí Minh,
²Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương

Summary

From the DCM (Dichloromethane) fractions of Lingzhi medicinal herb which were provided by Tay Nguyen Pharmaceutical Development Joint Stock Company, three compounds (A, B, C) were isolated by chromatography and identified as: Ganodermanontriol, acid lucidenic E2, acid lucidenic N. Their structures were elucidated by IR, MS and NMR.

Keywords: Lingzhi, Ganoderma, ganodermanontriol, acid lucidenic E2, acid lucidenic N.

Đặt vấn đề

Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) là một loại dược liệu được trồng trọt từ lâu đời, không chỉ là nấm ăn, mà còn là một loại dược liệu quý hiếm, được ghi trong sách “Thần Nông bản thảo” từ 2000 năm trước [2]. Linh chi được coi là một sản vật quý hiếm của đất rừng Đại Nam, nổi bật với các tác dụng như: Kiện não, bảo can, cường tâm, kiện vị, cường phế, giải độc, giải cảm và giúp con người sống lâu, tăng tuổi thọ [4]. Giá trị dược lý của linh chi đỏ càng được khẳng định khi Hội nghị Nấm học thế giới thành lập Viện Nghiên cứu linh chi Quốc tế tại New York [1]. Một trong hai nhóm hoạt chất chính được nghiên cứu nhiều nhất trong linh chi đỏ là triterpen – nhóm chất có tiềm năng trong việc phòng ngừa và hỗ trợ điều trị nhiều bệnh khác nhau, đặc biệt giúp ngăn chặn các gốc tự do, chống lại các tế bào khối u và sự phát triển của các tế bào ung thư [5]. Với công dụng phong phú

và đa dạng, các chế phẩm từ nấm linh chi đỏ ra đời ngày càng nhiều nhằm phục vụ chăm sóc sức khỏe của người dân. Tuy nhiên, Dược điển Việt Nam xuất bản lần thứ năm (ĐDVN V) chỉ mới kiểm soát hàm lượng chất chiết được trong dược liệu, chưa kiểm soát các nhóm hoạt chất như triterpenoid, Dược điển Mỹ cũng đã xây dựng chuyên luận kiểm soát chất lượng linh chi đỏ dựa trên 10 triterpenoid, sử dụng chất chuẩn chính là acid ganoderic A và cao chuẩn, nhưng các hoạt chất này có giá thành khá cao và khó khăn khi nhập khẩu. Vì vậy, để góp phần đề xuất nâng cấp chuyên luận linh chi đỏ trong ĐDVN V, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này để thiết lập chất đối chiếu.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu

Nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) được thu hái vào tháng 2 – 3 năm 2019 tại Đắc Lắc (Công ty Cổ phần Phát triển Dược Tây Nguyên cung cấp). Nấm linh chi đỏ được lưu trữ và bảo quản tại Khoa Nghiên cứu – Phát triển – Viện Kiểm nghiệm Thuốc Thành phố Hồ Chí Minh, đạt yêu cầu kiểm tra chất lượng theo ĐDVN V và Dược điển Mỹ (USP 41).

Chịu trách nhiệm: Trần Việt Hùng
Email: tran.viethung168@gmail.com
Ngày nhận: 30/11/2020
Ngày phản biện: 10/01/2021
Ngày duyệt bài: 19/02/2021

Hóa chất, thuốc thử, thiết bị và dụng cụ

Bản mỏng nhôm tráng sẵn silica gel 60 F 254 Merck, thuốc thử phát hiện acid H_2SO_4 10%/ethanol; sắc ký cột sử dụng silica gel cỡ hạt 40 – 63 μm ; máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu LC-2030C 3D, đầu dò PDA (Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP. Hồ Chí Minh); Thiết bị quang phổ hồng ngoại Thermo Scientific Mode iS50FT-IR (Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP. Hồ Chí Minh); Thiết bị đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân (**NMR**) Bruker Ascend TM 400 MHz (Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP. Hồ Chí Minh); Máy sắc ký lỏng khối phổ Shimadzu **LC-MS** IT-TOF (Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP. Hồ Chí Minh).

Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất và phân lập

Dược liệu được chiết bằng phương pháp ngâm kiệt với dung môi ethanol 70% (EtOH 70%) ở nhiệt độ phòng. Hòa tan cao toàn phần trong nước và chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần: Dicloromethan (DCM), ethylacetat (EtOAc). Phân lập các hợp chất bằng sắc ký cột với chất hấp phụ là silica gel pha thường, sắc ký lỏng hiệu năng cao điều chế. Theo dõi các phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng pha thuận, phát hiện chất bằng đèn tử ngoại hoặc dùng thuốc thử, hơi nóng để phát hiện. Cấu trúc các hợp chất phân lập được xác định dựa trên kết quả phân tích phổ **IR**, phổ khối, phổ cộng hưởng từ hạt nhân và so sánh các dữ liệu thu được từ thực nghiệm với các tài liệu đã công bố.

Kiểm tra độ tinh khiết

Kiểm tra bằng SKLM: Kiểm tra độ tinh khiết hợp chất phân lập được bằng **SKLM** với 3 hệ dung môi: Cf – NH_3 (95 : 5); Cf – MeOH (95 : 5, 2 giọt NH_3 đậm đặc); EtAc – MeOH (90 : 10, 2 giọt NH_3 đậm đặc). Phân tích sắc ký đồ dưới **UV** 254 nm, 365 nm, TT H_2SO_4 10% trong ethanol.

Kiểm tra bằng HPLC: Kiểm tra độ tinh khiết với hệ thống **HPLC** với đầu dò PAD, cột C18 (150 x 4,6 mm; 3,5 μm), tốc độ dòng: 1,0 ml/phút, thể tích tiêm 50 μl , bước sóng phát hiện: 254 nm/ 210 nm; Pha động: Acetonitril - nước theo tỉ lệ gradient trong bảng 1. Dựa vào tỷ lệ diện tích các pic trên sắc ký đồ, có thể đánh giá độ tinh khiết của chất phân lập.

Bảng 1. Chương trình gradien dung môi kiểm tra độ tinh khiết

Thời gian (phút)	Dung môi acetonitril (%)	Dung môi nước (%)
0 – 30	40 - 100	60 – 0
30 – 40	100	0
40 - 45	100 - 40	0 - 60
45 - 50	40	60

Kết quả và bàn luận

Kết quả chiết xuất và phân lập

Tiến hành chiết với 20 kg dược liệu linh chi đồ thu được 1,04 kg cao toàn phần. Phân tán cao toàn phần vào 2 lít nước và chiết lỏng - lỏng lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần: Dicloromethan (DCM) và ethyl acetat (EtOAc), thu được 380,64 g cao DCM và 156 g cao EtOAc. Từ 380,6 g cao phân đoạn DCM tiến hành nạp cột với silica gel (cỡ hạt 63- 200 μm) với tỉ lệ 1 : 5. Tiến hành sắc ký cột nhanh với hỗn hợp dung môi DCM – MeOH với tỉ lệ dung môi thay đổi (100:1 – 1:1), mỗi lần tiến hành với 500 ml hỗn hợp dung môi, cô thu hồi dung môi và tiến hành kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng. Thu được 188 phân đoạn nhỏ, tiến hành gộp các phân đoạn giống nhau thu được 8 phân đoạn lớn ký hiệu: D1 - D8.

Phân đoạn D6 (92,4 g) tiếp tục được phân lập bằng sắc ký cột silica gel pha thường, rửa giải bằng hệ dung môi gradient dichloromethan – methanol (30 : 1 – 5 : 1) thu được 188 phân đoạn nhỏ, tiến hành gộp các phân đoạn giống nhau thu được 4 phân đoạn lớn ký hiệu D6.1, D6.2, D6.3 và D6.4.

Phân đoạn D6.3 (6,8 g) được tinh chế trên cột sắc ký pha đảo bằng hệ dung môi methanol – nước (2/1) thu được 2 phân đoạn nhỏ ký hiệu D6.3.1 và D6.3.2:

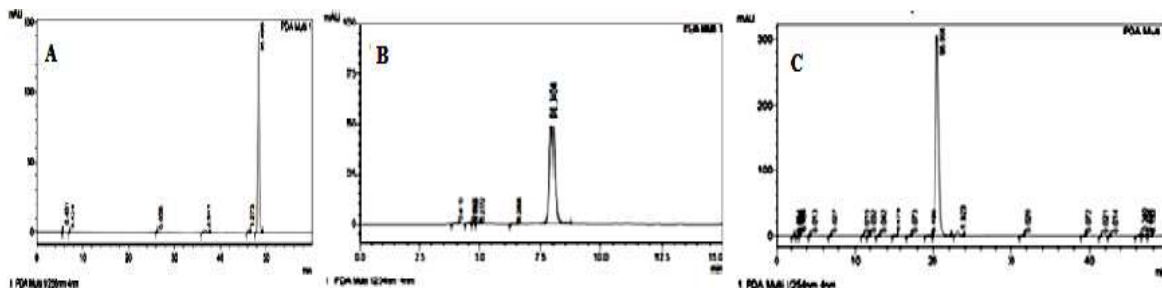
- Tinh chế phân đoạn D6.3.1 (3,9 g) nhiều lần bằng sắc ký cột silica gel pha thuận với hệ dung môi DCM-MeOH (20:1) thu được 2 hợp chất **A** (176,6 mg) và **B** (126,2 mg).

- Tinh chế phân đoạn D6.3.2 (1,2 g) nhiều lần bằng sắc ký cột pha đảo (YMC, s-75 μm , Nhật Bản) có đường kính 3 cm, dài 80 cm, lượng silica gel pha đảo là 500 g) với hệ dung môi MeOH- H_2O (5:1) thu được hợp chất **C** (604,4 mg).

Kiểm tra độ tinh khiết

Hợp chất **A** có thời gian lưu là 49 phút và đạt độ tinh khiết 95,5% tính theo diện tích pic. Hợp chất **B** có thời gian lưu là 8 phút và đạt độ tinh khiết 98,3% tính theo diện tích pic. Hợp chất **C**

có thời gian lưu là 27,5 phút và đạt độ tinh khiết 95,1% tính theo diện tích pic. Như vậy, 3 hợp chất **A**, **B** và **C** phân lập từ phân đoạn dicloromethan đều đạt độ tinh khiết trên 95% và đủ điều kiện làm chất đối chiếu.



Hình 1. Sắc ký đồ độ tinh khiết của **A**, **B** và **C**

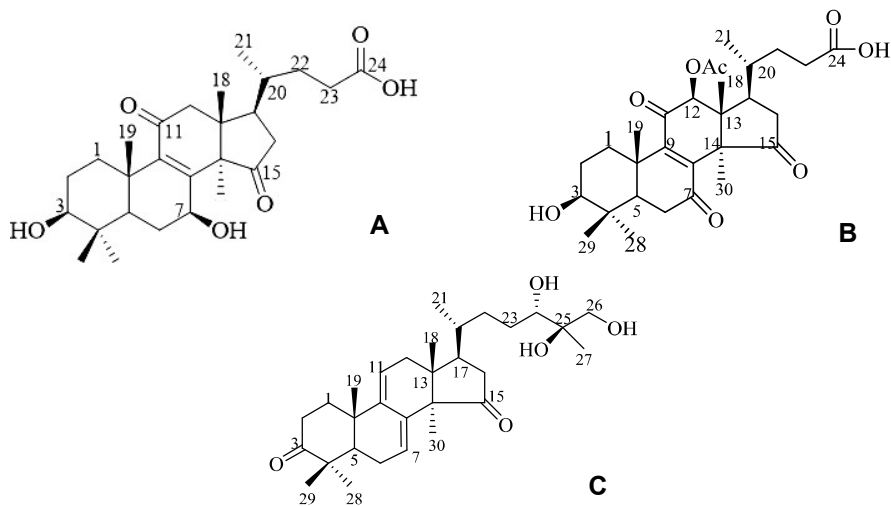
Phân tích phổ và xác định cấu trúc

Hợp chất A: Phổ IR $\nu_{\max}$ (cm^{-1}): 3,300 (cm^{-1}) (nhóm $-\text{OH}$); 1,178 (cm^{-1}) (liên kết $\text{C}-\text{O}$); 1,688 (cm^{-1}) (của nhóm $\text{C}=\text{O}$), 1,726 (cm^{-1}) (nhóm COOH). Phổ khối **ESI-MS**: $m/z = 459,27$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ ($\text{M} = 460$ ứng với công thức phân tử $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_6$). Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz) của chất **A** được trình bày ở bảng 2.

Hợp chất B: Phổ IR $\nu_{\max}$ (cm^{-1}): 3,300 (cm^{-1}) (OH), 1,693 (cm^{-1}) ($\text{C}=\text{O}$), 1,113 (cm^{-1}) ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$),

1,738 (cm^{-1}) (nhóm COOH). Phổ khối **ESI-MS**: $m/z = 517,27$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ ($\text{M} = 516$ ứng với công thức phân tử $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{O}_8$). Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz) của hợp chất **B** được trình bày ở bảng 2.

Hợp chất C: Phổ IR $\nu_{\max}$ (cm^{-1}): 3,300 (cm^{-1}) (OH), 1,698 (cm^{-1}) ($\text{C}=\text{O}$), 1,113 (cm^{-1}) ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$). Phổ khối **ESI-MS**: $m/z = 507,32$ [$\text{M}+\text{Cl}$] $^+$ ($\text{M} = 486$ ứng với công thức phân tử $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_5$). Phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) của chất **C** được trình bày ở bảng 2.



(A) Acid lucidenic N

(B) Acid lucidenic E2

(C) Ganodermanontriol

Hình 2. Cấu trúc các hợp chất **A**, **B**, **C**

Bảng 2. Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất A, B, C và chất tham khảo

Vị trí C	Hợp chất A	Acid Lucidenic N ^[3]		Hợp chất B	Acid lucidenic E2 ^[3]		Hợp chất C	Ganoderma anontriol ^[3]	
	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$ [a]	$^{13}\text{C-NMR}$ [b]	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$ [a]	$^{13}\text{C-NMR}$ [b]	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$ [c]	$^{13}\text{C-NMR}$ [c]
1		34,5	34,8		33	33,3		36,6	36,7
2		26,9	27,6		26,6	27,4		34,8	34,9
3	3,13 (1H, dd, 4,9; 12,0 Hz))	77,5	78,3	3,24 (1H, dd, 5,1; 5,1 Hz)	76,7	77,5	-	216,9	216,9
4		38,3	38,6		40,4	40,5		47,5	47,5
5		48,9	49,1		51,3	51,4		50,7	50,7
6		26,6	26,6		36,2	36,7		23,7	23,7
7	4,85 (1H, dd, 9,5; 8,0 Hz))	66,6	66,9		199,8	198,8	5,51 (1H, d, 6,6 Hz)	119,9	119,4
8		157,4	156,8		151,8	151,6		142,8	142,7
9		142,7	142,7		145,8	146		144,5	144,3
10		38,5	38,8		38,8	39,2		37,2	37,2
11		199,1	198		194,2	194,1	5,41 (1H, d, 6,2 Hz)	117,2	117,2
12		50,1	50,3	5,69 (1H, s)	79,4	79,4		37,8	37,7
13		45,3	45,3		50,7	48		43,7	43,8
14		59,1	59,4		58,4	58,5		50,3	50,3
15		218,8	217,5		207,4	206		27,9	27,8
16		40,4	41		37	37,6		31,4	31,5
17		45,7	46,1		45,1	45,5		51	50,9
18	0,99 (3H, s)	16,4	17,4	0,85 (3H, s)	11,2	12,1	0,61 (3H, s)	15,7	15,8
19	1,05 (3H, s)	17,5	18,4	1,76 (3H, s)	16,9	18	1,21 (3H, s)	22	22,1
20		35	35,1		32,6	33		36,5	36,5
21	1,02 (3H, d, 6,6 Hz)	17,07	18	1,05 (d, 6,6 Hz)	19,2	20,2	0,94 (3H, d, 6,4 Hz)	18,6	18,7
22		30,5	30,4		29,7	30,2		33,5	33,5
23		30,3	30,7		31	31,8		28,9	29,8
24		176,2	178,2		175,2	176,9	3,47 (1H, dd, 1,4 & 10,5 Hz)	79,3	77,2
25	-	-	-	-	-	-		73,9	73,9
26	-	-	-	-	-	-	3,84 & 3,48 (2H, d, 11,2 Hz)	67,7	69,6
27	-	-	-	-	-	-	1,14 (3H, s)	22,5	20,3
28	1,23 (3H, s)	27,3	24,4	1,03 (3H, s)	26,9	27,9	1,12 (3H, s)	25,4	25,4
29	0,86 (3H, s)	14,8	28,1	0,91 (3H, s)	14,8	15,6	1,10 (3H, s)	20,9	22,5

Vị trí C	Hợp chất A		Acid Lucidenic N ^[3]	Hợp chất B		Acid lucidenic E2 ^[3]	Hợp chất C		Ganoderma anontriol ^[3]
	¹ H-NMR	¹³ C-NMR ^[a]	¹³ C-NMR ^[b]	¹ H-NMR	¹³ C-NMR ^[a]	¹³ C-NMR ^[b]	¹ H-NMR	¹³ C-NMR ^[c]	¹³ C-NMR ^[c]
30	1,40 (3H, s)	23,5	15,4	1,37 (3H, s)	20,2	21,4	0,90 (3H, s)	25,3	25,5
COO CH ₃				2,22 (3H, s)	19,5	20,9			
COO CH ₃				-	170,2	170,1			

[c] = [CDCl₃, 100 MHz]; [a] = [CD₃OD, 100 MHz], [b] = [CDCl₃, 75 MHz]

Biện giải cấu trúc

Hợp chất A

Phổ ¹D-NMR của **A** (¹H-NMR, ¹³C-NMR và DEPT) cho tín hiệu đặc trưng của một lanostan-triterpen tương tự như cấu trúc của hợp chất **A**. Trên phổ ¹H-NMR cho tín hiệu của 6 nhóm methyl bao gồm 5 tín hiệu singlet của nhóm methyl liên kết với carbon bậc 4 nội vòng lanostan tại δ_H 0,99 (3H, s, H-18), 1,05 (3H, s, H-19), 1,23 (3H, s, H-28), 0,86 (3H, s, H-29) và 1,40 (3H, s, H-30), 01 tín hiệu doublet của nhóm methyl nối với carbon bậc 3 tại δ_H 1,02 (3H, d, J = 6,6 Hz, H-21). Ngoài ra, hai tín hiệu proton dịch chuyển về trường thấp tại δ_H 4,85 (1H, dd, J = 9,5 & 8,0 Hz, H-7) và 3,13 (1H, dd, J = 4,9 & 12,0 Hz, H-3) đặc trưng cho nhóm hydroxymethin. Hằng số tương tác của proton 3 và 7 có tín hiệu doublet doublet với hằng số tương tác J tương ứng là 4,9 & 12,0 Hz và 9,5 và 8,0 Hz gợi ý về cấu trúc beta của nhóm hydroxy. Phổ ¹³C-NMR của hợp chất **A** cho tín hiệu tương ứng với tín hiệu proton trên phổ ¹H-NMR bao gồm 6 tín hiệu methyl tại δ_C 16,4 (C-18), 17,5 (C-19), 23,5 (C-28), 27,3 (C-29), 14,8 (C-30) và 17,7 (C-21); 2 tín hiệu nhóm hydroxymethin tại δ_C 77,5 (C-3) và 66,6 (C-7). Ngoài ra, trên phổ ¹³C-NMR cho tín hiệu 2 nhóm keton (C=O) tại δ_C 218,8 (C-15) và 199,1 (C-11); tín hiệu 01 nhóm carbonyl tại δ_C 176,2; và tín hiệu một cặp olefin nội vòng tại δ_C 157,4 (C-8), 142,7 (C-9). Phổ DEPT cho tín hiệu 27 carbon với 6 nhóm methyl, 7 nhóm methylen, 5 nhóm metin và 9 carbon khác. Từ các phân tích phổ ¹D-NMR và phổ khối cho thấy hợp chất **A** có cấu trúc là nor-25,26,27-lanostan-triterpen và hợp chất này có một số điểm là:

+ Hợp chất **A** chỉ có 2 nhóm keton.

+ Hợp chất **A** không bị acetyl hóa tại vị trí C-12 mà bị hydroxy hóa tại C-7.

Vị trí carbon khác được xác định dựa vào tương tác trực tiếp H→C trên phổ HSQC thực nghiệm và gán các vị trí tương ứng trong dữ liệu phổ trong tài liệu tham khảo^[3].

Như vậy, từ kết quả phân tích phổ ¹D-NMR, ²D-NMR và phổ khối ESI-MS kết hợp với so sánh dữ liệu phổ tài liệu tham khảo có thể kết luận hợp chất **A** là acid lucidenic N.

Hợp chất B

Phổ ¹D-NMR của **B** cho tín hiệu đặc trưng của một lanostan-triterpen: Trên phổ ¹H-NMR của **B** xuất hiện tín hiệu proton của 7 nhóm methyl gồm: 5 tín hiệu singlet của 5 methyl nối với carbon bậc 4 nội vòng tại δ_H 0,85 (3H, s, H-18); 1,76 (3H, s, H-19); 1,03 (3H, s, H-28); 0,91 (3H, s, H-29) và 1,37 (3H, s, H-30), 1 tín hiệu doublet của nhóm methyl liên kết với carbon bậc 3 tại δ_H 1,05 (3H, d, J = 6,6 Hz, H-21) và nhóm acetoxyl methyl ester tại δ_H 2,22. Tín hiệu proton dịch chuyển về trường thấp tại δ_H 3,24 (1H, dd, J = 11,5 ; 5,1 Hz, H-3) và δ_H 5,69 (1H, s, H-12) gợi ý sự xuất hiện của nhóm hydroxymethin. Hằng số tương tác của proton H-3 và H-12 lần lượt là: 11,5; 5,1 Hz và singlet gợi ý về cấu trúc β-OH. Trên phổ ¹³C-NMR của **B** cho tín hiệu của 29 carbon và hoàn toàn tương ứng với các tín hiệu trên phổ ¹H-NMR gồm: 6 nhóm methyl tại δ_C 11,2 (C-18); 16,9 (C-19); 19,2 (C-21); 26,9 (C-28); 14,8 (C-29), 20,2 (C-30); hai tín hiệu nhóm hydroxymethin tại δ_C 76,7 (C-3) và 79,4 (C-12). Ngoài ra trên phổ ¹³C-NMR cho tín hiệu của 2 nhóm carbonyl tại δ_C 175,2 (C24), 170,2 (COOCH₃); 3 tín hiệu

keton tại δ_C 207,4 (C-15), 199,8 (C-7), 194,2 (C-11); và tín hiệu cặp olefin nội vòng tại δ_C 151,8 (C-8), 145,8 (C-9). Trên phổ **DEPT** của **B** cho tín hiệu của 6 nhóm methyl, 6 nhóm methylen, 5 nhóm methin và 11 tín hiệu carbon khác. Vị trí carbon được xác định nhờ tương tác trực tiếp H $\rightarrow$ C trên phổ **HSQC**. Trên phổ **HMBC** thực nghiệm cho tương tác đặc trưng của khung lanostan-triterpen (xem bảng) gồm:

H18 (δ_H 0,85) $\rightarrow$ C12 (δ_C 79,4), C13 (δ_C 50,7), C14 (δ_C 58,4) và C17 (δ_C 45,1);

H19 (δ_H 1,76) $\rightarrow$ C9 (δ_C 145,8); C10 (δ_C 38,8) và C5 (δ_C 51,3);

H28 (δ_H 1,03) và H29 (δ_H 0,91) $\rightarrow$ C3 (δ_C 76,7), C4 (δ_C 40,4) và C5 (δ_C 51,3);

H30 (δ_H 1,37) $\rightarrow$ C8 (δ_C 151,8), C13 (δ_C 50,7), C14 (δ_C 58,4) và C15 (δ_C 207,4);

H21 (δ_H 1,05) $\rightarrow$ C20 (δ_C 32,6), C17 (δ_C 45,1) và C22 (δ_C 29,7).

Từ phân tích phổ **¹D**, **²D-NMR** và phổ khối **MS** kết hợp với so sánh dữ liệu phổ trong tài liệu tham khảo [3] có thể xác định **B** là acid lucidenic E₂.

Hợp chất C

Phổ **¹D-NMR** (**¹H-NMR**, **¹³C-NMR** và **DEPT**) của hợp chất **C** đặc trưng cho cấu trúc lanostan-triterpen rất phổ biến trong chi *Ganoderma*. Trên phổ **¹H-NMR** của **C** cho tín hiệu của 7 nhóm methyl tại δ_H 0,61 (s, H-18), 1,21 (s, H-19), 0,94 (d, J = 6,4 Hz, H-21), 1,14 (s, H-27), 1,12 (s, H-28), 1,10 (s, H-29) và 0,90 (s, H-30); ba tín hiệu proton dịch chuyển về trường thấp đặc trưng cho các vị trí bị hydroxy hóa tại δ_H 3,47 (1H, dd, J = 1,4 & 10,5 Hz, H-24) và 3,84 & 3,48 (2H, d, J = 11,2 Hz, H-26); 2 tín hiệu nổi đôi của hai cặp olefin tại δ_H 5,51 (1H, d, J = 6,6 Hz, H-7), 5,41 (1H, d, J = 6,2 Hz, H-11). Các tín hiệu carbon trên phổ **¹³C-NMR** của hợp chất **C** hoàn toàn tương ứng với tín hiệu proton trên phổ **¹H-NMR** bao gồm: 7 nhóm methyl tại δ_C 15,7 (C-18), 22,0 (C-19), 18,6 (C-21), 20,9 (C-27), 25,3 (C-28), 22,5 (C-29), 25,4 (C-30); 03 tín hiệu carbon bị hydroxy hóa tại δ_C 79,3 (C-24), 73,9 (C-25) và 67,7 (C-26); 2 cặp olefin tại δ_C (119,9; 142,8) và (144,5, 117,2). Ngoài ra, trên phổ **¹³C-NMR** cho tín hiệu 1 nhóm keton tại δ_C 216,9. Phổ **DEPT** cho tín hiệu 30 carbon với 7 nhóm methyl, 8 nhóm methylen, 6 nhóm methin và 9 carbon khác. Vị trí của carbon khác được

xác định dựa trên dữ liệu phổ **¹³C-NMR**, phổ **HMBC**, **HSQC** và **DEPT**, kết hợp với so sánh dữ liệu phổ tài liệu [3] về hợp chất ganodermanontriol.

Như vậy, từ kết quả phân tích dữ liệu phổ **¹D-NMR**, **MS** kết hợp với so sánh dữ liệu phổ tài liệu tham khảo [3] có thể kết luận hợp chất **C** là 24,25,26 - trihydroxy - 5 - lanosta - 7,9(11) - dien - 3 - one hay còn gọi là ganodermanontriol.

Kết luận

Từ được liệu nấm linh chi đỏ đã được đánh giá chất lượng đầu vào, bằng phương pháp ngâm kiệt, phương pháp sắc ký cột và sắc ký lỏng điều chế đã phân lập được 3 hợp chất. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được thông qua kết quả đo phổ hồng ngoại, phổ khối, phổ cộng hưởng từ hạt nhân và so sánh với các dữ liệu công bố của các hợp chất liên quan. Ba hợp chất phân lập được xác định cấu trúc là: Acid lucidenic N (**A**), acid lucidenic E2 (**B**) và ganodermanontriol (**C**), là những chất thuộc nhóm triterpenoid, cũng là nhóm thành phần hóa học đặc trưng của nấm linh chi đỏ. Đây là nghiên cứu giúp cho việc tiêu chuẩn hóa được liệu này cũng như các thành phẩm của chúng, thiết lập chất chuẩn chất đối chiếu và đề xuất nâng cấp chuyên luận linh chi trong Dược điển Việt Nam.

Tài liệu tham khảo

1. Đỗ Huy Bích & CS. (2002), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập II, NXB. Khoa học và Kỹ thuật, tr. 159 – 161.
2. Đỗ Tất Lợi (2004), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB. Y học, tr. 831.
3. Qing Xia, HuaZheng Zhang et al. (2014), "A comprehensive review of the structure elucidation and biological activity of triterpenoids from *Ganoderma spp.*", *Molecules Review*, 19, pp. 17478 – 17535.
4. Hikino H., Konno C., Mirin Y., Hayashi T. (1985), "Isolation and hypoglycemic activity of ganoderans A and B, glycans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies", *Planata Med.*, 4, pp. 339-340.
5. Zahoor Ahmad Bhat, Abdul Hamid Wani, Mohd Yaqub Bhat, Abdul Rashid Malik (2019), "Major bioactive triterpenoids from *Ganoderma* species and their therapeutic activity", *A Review*, 12 (4), pp. 22-30.