

# THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO CỦA LOÀI KIM GIAO NÚI ĐẤT (*NAGEIA WALLICHIANA*) THU TẠI TỈNH LÂM ĐỒNG

## PHẦN 1. CÁC HỢP CHẤT DITERPENOID

Nguyễn Thị Liễu<sup>1</sup>, Phạm Thị Ninh<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Hoàng Anh<sup>2</sup>, Trịnh Thị Thủy<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Lưu<sup>2</sup>,  
Trần Văn Lộc<sup>2</sup>, Đinh Thị Phòng<sup>3</sup>, Trần Thị Phương Thảo<sup>2</sup>, Trần Văn Sung<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Đại học Thủ Đức, 98 Dương Quảng Hàm, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>3</sup>Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đền Tòa soạn 16-12-2015; Chấp nhận đăng 21-12-2015

### Abstract

From the ethyl acetate extract of *Nageia wallichiana*, collected in Lam Dong province, Vietnam four diterpenoids with the abietane skeleton and one nor-diterpene dilactone have been isolated. Their structures were elucidated by using combined spectroscopic methods as IR, MS and NMR. The cytotoxic activity of three of five compounds against 8 human cancer cell lines has been evaluated. The nor-diterpene dilactone showed strong activity on all tested cancer cell lines. This is the first report on the chemical constituents and the cytotoxic activity of *Nageia wallichiana*.

**Keywords.** Diterpenoids, nor-diterpene dilactone *Nageia wallichiana*, cytotoxicity.

### 1. MỞ ĐẦU

*Nageia* [họ Podocarpaceae] là một chi nhỏ của các loài cây lá kim bao gồm cây bụi thường xanh và cây gỗ, chúng cao từ 1-54 mét [1]. Các loài *Nageia* phân biệt với các loài của các chi khác trong họ Podocarpaceae bởi hình lá rộng, bằng phẳng, không có gân chính. Sáu loài đã được ghi nhận trong chi này là: *N. fleuriji*, *N. formosensis*, *N. maxima*, *N. motleyi*, *N. Nagi* và *N. wallichiana* [2], trong đó có hai loài là: *N. wallichiana* và *N. nagi* đã được mô tả.

*Nageia wallichiana* [syn. *Decussocarpus wallichiana* (Presl.) De Laub., *Nageia blumei* (Endl.) Gordon, *Podocarpus agathifolia* Blume, *Podocarpus blumei* Endl., *Podocarpus latifolia* var. *ternatensis* de Boer. *Podocarpus wallichianus* (Presl.) là một cây tán trung bình cao đến 34 m, phân bố ở Myanmar, Nam Trung Quốc, Ấn Độ (Assam), bán đảo Malay, Malesia qua New Guinea, Thái Lan, Campuchia, Việt Nam và Lào. Gỗ của nó được sử dụng để chế tạo các dụng cụ âm nhạc, đũa, hàng thủ công mỹ nghệ, dụng cụ gia đình và làm cây cảnh [3]. Cho đến nay chỉ có một báo cáo về thành phần hóa học từ *Podocarpus blumei* Endl., một tên đồng nghĩa của *N. wallichiana* [4], trong khi biflavonoids, terpenoids bao gồm cả nor- và dinorditerpen dilacton được biết đến như là thành phần chính từ chi

*Podocarpus* [5, 6]. Chúng có phổ hoạt tính sinh học rộng như độc tính với côn trùng, gây ngán ăn, chống viêm, tác dụng ức chế  $\beta$ -secretase [6, 9]. Tuy nhiên, cho đến nay hầu như chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây Kim giao núi đất ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Bài báo này thông báo về phân lập, xác định cấu trúc và hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất diterpenoid từ loài Kim giao núi đất [*Nageia wallichiana* (C.Presl) Kuntze] thu hái tại Lâm Đồng, trong khuôn khổ Chương trình Tây Nguyên 3.

### 2. THỰC NGHIỆM

#### 2.1. Vật liệu và phương pháp

##### 2.1.1. Nguyên liệu thực vật.

Lá và cành của cây *Nageia wallichiana* được thu tại tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam vào tháng Tám năm 2012 và xác định tên bởi Tiến sĩ Nguyễn Tiến Hiệp, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) Mẫu tiêu bản Nr. CPC 4715 được lưu giữ tại Viện Hóa học và Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

### 2.1.2. Tế bào ung thư và nuôi cấy

Tất cả các dòng tế bào ung thư người được cung cấp bởi giáo sư JM Pezzuto, Đại học Hawaii và GS Jeanette Maier, Milan, Italy. Các dòng tế bào ung thư đơn lớp gồm: ung thư gan (Hep-G2), ung thư miệng (KB), ung thư phổi (LU-1), ung thư vú (MCF-7), ung thư hắc tố (SK-Mel2), ung thư bạch cầu cấp tính (HL60), ung thư buồng trứng (SW626) và ung thư ruột kết (SW480) được nuôi cấy trong môi trường Dulbecco's Eagle cải tiến (DMEM) với 2 mM L-glutamin, 10 mM HEPES, 1 mM natri pyruvate và 10 % huyết thanh bào thai bò (FBS) (Gibco). Các tế bào được cấy 3-5 ngày với tỷ lệ 1:3 và ủ ở 37 °C trong bầu không khí ẩm có 5 % CO<sub>2</sub>.

### 2.1.3. Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào

Các hợp chất thử nghiệm được đánh giá hoạt tính trên dòng tế bào HL60 theo phương pháp MTT [10, 11] và trên bảy dòng tế bào khác còn lại theo phương pháp của Monk và cộng sự [12]. Khả năng gây độc tế bào được đánh giá bằng cách xác định qua định lượng chất sulforhodamin B (SRB) liên kết với protein và thực hiện trong đĩa giếng vi lượng. Các mẫu thử nghiệm được kiểm tra với một khoảng nồng độ 0,8-100 µg/ml. DMSO 10 % được sử dụng làm đối chứng âm. Ellipticine (Sigma) làm đối chứng dương với nồng độ 10, 2, 0,4 và 0,08 µg/ml. Dịch nuôi cấy tế bào được đưa lên đĩa giếng vi lượng (Costar, USA) có chứa 20 µL của mỗi mẫu thử nghiệm và 180 µL môi trường (10 % FBS) ở mỗi giếng với mật độ 6000 tế bào / giếng. Thời gian thử nghiệm là 3 ngày. Đĩa giếng được ủ trong môi trường không khí ẩm có 5 % CO<sub>2</sub>, ở 37 °C trong 72 h, trong khi giếng đối chứng ngày 0 (ngày bắt đầu) được ủ trong 1 giờ. Sau khi ủ, các tế bào được cố định trong 30 phút trên chất mang là nền nhựa bằng cách cho thêm 100 µL dung dịch axit tricloaxetic (TCA) lạnh 20 % trong vòng ít nhất 1h ở 4 °C. Các tế bào sau khi được cố định được nhuộm bằng 0,4 % SRB (w/v) hòa tan trong 1 % axit axetic. Các chất màu đã gắn vào tế bào được hòa tan khi cho thêm 10 mmol Tris base (Sigma) không chứa chất đệm. Độ hấp thụ được đo ở 515 nm với một đầu đọc vi giếng (BioRad). Tất cả các thí nghiệm đã được thực hiện ba lần và lấy giá trị trung bình.

### 2.2. Chiết xuất và phân lập các chất từ lá và cành cây

Bột lá và cành cây (1100 g) khô được chiết xuất theo thứ tự với *n*-hexan, etyl axetat và metanol ở nhiệt độ thường. sau khi cất loại dung môi ta thu được 16, 39, và 20 g dịch chiết tương ứng. Cao chiết

EtOAc (39 g) được sắc ký cột (silicagel, *n*-hexan/EtOAc, 100:0 → 0:100) thu được 33 phân đoạn (EA1-EA33). Sắc ký cột phân đoạn EA32 (3 g) trên silica gel với hỗn hợp CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH từ 100:0 → 50:50 thu được 10 phân đoạn (EA32.1-EA32.10). Tiếp tục sắc ký cột phân đoạn EA32.5 (613 mg) trên silica gel (*n*-hexan/EtOAc 80:20 → 40:60) cho 13 phân đoạn (EA32.5.1 → EA32.5.13). Phân đoạn EA32.5.13 kết tinh cho 20 mg norditerpen dilacton **1** (phiên trắng, mp = 125-128 °C). Phân đoạn EA22 (830 mg) được sắc ký cột (silica gel, *n*-hexan/EtOAc/MeOH 95:5:0 → 80:15:5) thu 6 phân đoạn (EA22.1 -EA22.6), sắc ký cột tiếp phân đoạn EA22.4 (silica gel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc 9:1) cho 13 mg hợp chất **2** (3β-hydroxytatarol). Phân đoạn EA22.5 (60 mg) được sắc ký trên cột Sephadex LH20, rửa giải bằng MeOH thu được 23 mg hợp chất **3** (axit totarol-19-cacboxylic).

### 2.3. Chiết xuất và phân lập các chất từ vỏ, thân

Bột vỏ, thân khô (300 gram) được chiết lần lượt với *n*-hexan, EtOAc và MeOH. Các dung môi hữu cơ được cô quay ở áp suất thấp thu được các dịch chiết *n*-hexan, EtOAc và MeOH (2,6; 5,8; 20 g) tương ứng. Dịch chiết *n*-hexan (2,6 g) được sắc ký trên cột silica gel, với hỗn hợp *n*-hexan/EtOAc (98:2 → 0:100 v/v) thu được 10 phân đoạn (HE1-HE10). Tiếp tục sắc ký phân đoạn HE8 (150 mg) trên cột silica gel (dung môi: *n*-hexan/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 2:1) thu được 2 phân đoạn (HE8.1, HE8.2). Sắc ký cột tiếp phân đoạn HE8.1 (80 mg) trên silica gel (*n*-hexan/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 2:1) thu được 15 mg hợp chất **4** (ferruginol) và 25 mg hợp chất **5** (sugiol).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Xác định cấu trúc của các hợp chất phân lập được

Hợp chất **1** cho thấy các dải hấp thụ ở 1779, 1694 và 1058 cm<sup>-1</sup> trong phổ FT-IR. Phổ <sup>13</sup>C-NMR và phổ DEPT chứa 19 tín hiệu cacbon, bao gồm 4 nhóm methyl, một nhóm metylen, 7 nhóm metin và 7 nguyên tử cacbon bậc bốn, gợi ý một bộ khung norditecpen. Phổ <sup>1</sup>H-NMR cho thấy một proton thơm (δH 6,46, s, H-11), 4 nhóm metin oxi tại δH 3,88 (m, H-2), 4,04 (d, *J* = 7,3 Hz, H-1), 4,99 (dd, *J* = 6,8, 8,4 Hz, H-6), 5,29 (d, *J* = 8,4, H-7), 2 tín hiệu methyl singlet tại δH 1,42, 1,44 và một nhóm isopropyl với δH 1,25, 1,33 (mỗi 3H, d, *J* = 6,8 Hz, H-16, H-17), 3,28 (1H, hept., *J* = 6,8 Hz, H-15). Phổ HR-ESI-MS (ion dương) của **1** cho thấy hai đỉnh quan trọng tại *m/z* = 387,1409 (100, C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>Na, tính toán là 387,1414) và 365,1587 (90, C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>O<sub>7</sub>,

tính toán là 365,1595  $[M + H]^+$ ). Phổ MS / MS<sup>2</sup> của đỉnh m/z 365.1587 chứa một đỉnh ở m/z 347,1483 (100, C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>O<sub>6</sub>  $[M+H-H_2O]^+$ ). Do đó, công thức phân tử của chất **1** là C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub>. So sánh với các dữ liệu trong tài liệu [13] hợp chất **1** được xác định là nagilacton được phân lập lần đầu tiên từ lá và hạt của cây *Podocarpus nagi* [14].

Bảng 1: Dữ liệu phổ NMR của các chất 2-4

Vị trí	Chất 2	Chất 3	Chất 4
1	37,74	40,12	38,87
2	28,15	20,05	19,23 <sup>c</sup>
3	78,85	37,22	41,69
4	38,79	43,76	33,44
5	49,05	52,08	50,35
6	19,13	21,10	19,32 <sup>c</sup>
7	29,05	30,00	29,76
8	133,8	134,28	127,30
9	142,26	140,99	148,67
10	37,51	38,52	37,51
11	123,0	124,14	110,97
12	114,42	114,58	150,67
13	152,23	152,05	131,37
14	131,07	130,88	126,62
15	27,26	27,26	26,81
16	20,29	20,30	22,75
17	20,29	20,40	22,56
18	15,32	28,61	33,32
19	28,12	183,92	21,62
20	25,16	23,20	24,80

Gán các tín hiệu dựa trên sự phân tích phổ H, H-COSY, HSQC và HMBC; b đo trong CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz; c có thể được hoán đổi trong một cột.

Hợp chất **2** Phổ FT-IR của hợp chất **2** cho thấy các đỉnh hấp thụ tại 3600-3250 (OH), 3060 (vòng thơm), 2934 và 2860 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>). Trong phổ <sup>1</sup>H-NMR có tín hiệu của ba nhóm methyl ở δH 0,89, 1,07, 1,18 (mỗi 3H, s) và một nhóm isopropyl tại δH 1,33, 1,34 (mỗi 3H, d, *J* = 7 Hz) và 3,26 (1H, m), hai proton thơm ở vị trí *ortho* với δH 6,51 (d, *J* = 8,5 Hz), δC 114,42 và δH 6,96 (d, *J* = 8,5 Hz), δC 123,0 một nhóm metin hydroxi hóa tại δH 3,29 (dd, *J* = 11,3, 6,5 Hz), δC 78,85. Phổ <sup>13</sup>C-NMR cho thấy tín hiệu của 20 nguyên tử cacbon, bao gồm 5 nhóm methyl, 4 nhóm metylen, 5 nhóm metin, 6 nguyên tử cacbon bậc 4. Sự khác biệt giữa các dữ liệu phổ NMR của hợp chất **2** với hợp chất **4** là sự xuất hiện của một nhóm metin hydroxi hóa thay thế một nhóm metylen và vị trí *ortho*- của hai proton thơm. Sự kết nối của nhóm hydroxyl ở C-3 được xác định bởi các

tương tác giữa H-3 (δH 3,29) và C-18 (δC 15,32), C-19 (δC 28,12), H-18 (δH 1,07) và C-3 (δC 78,85) trong phổ HMBC. Vị trí của nhóm isopropyl và nhóm hydroxyl ở C-13 và C-14 trong vòng thơm được chứng minh bởi các tương tác giữa H-15 (δH 3,26) và C-16, C-17 (δC 20,9), C-8 (δC 133,80), C-14 (δC 131,07), C-13 (δC 152,23), H-12 (δH 6,51), H-11 (δH 6,96), H-15 (δH 3,26) và C-13 (δC 152,23). Trong phổ ESI-MS của chất **2** có một pic ở m/z = 285,2 (100,  $[M + H-H_2O]^+$ ). So sánh với tài liệu [15], hợp chất **2** được xác định là 3β-hydroxytatarol. Các dữ liệu phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất này chưa được công bố và được đưa trong bảng 1.

Hợp chất **3** cho thấy sự hiện diện của một nhóm axit cacboxylic trong phổ FT-IR (1693,91 cm<sup>-1</sup>) và phổ <sup>13</sup>C-NMR (δC 183,92), thay thế cho nhóm methyl C-19 trong phổ tương ứng của hợp chất **2**. Tín hiệu của nhóm metin hydroxi biến mất trong phổ <sup>1</sup>H- và <sup>13</sup>C-NMR của chất **3**. Các phần khác của phổ NMR của chất **3** cũng tương tự như của hợp chất **2**. Phổ ESI-MS ion âm của chất **3** cho thấy một pic ion giả phân tử tại m/z = 315,12 (100,  $[M-H]^-$ ). So sánh với các dữ liệu trong tài liệu [15] hợp chất **3** được xác định là axit totarol-19-cacboxylic. Dữ liệu phổ <sup>13</sup>C-NMR của chất này vẫn chưa được công bố và được đưa trong bảng 1.

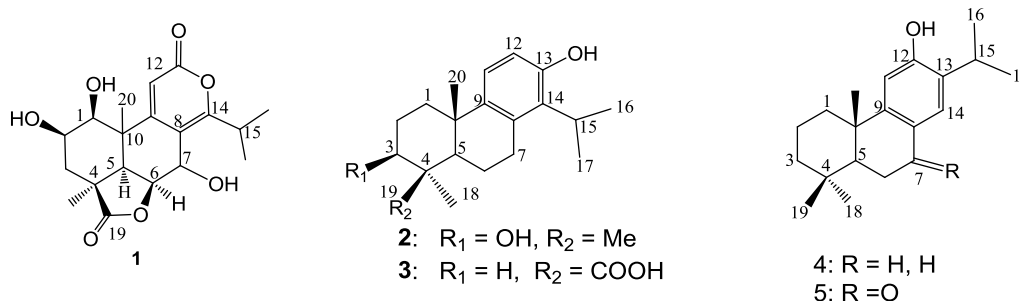
Hợp chất **4** cho thấy một đỉnh ion giả phân tử tại m/z 287  $[M + H]^+$  phổ ESI-MS ion dương. Phổ FT-IR chỉ ra đỉnh hấp thụ ở 3481 cm<sup>-1</sup> (-OH). Phổ <sup>1</sup>H-NMR có 3 tín hiệu methyl singlet tại δH 0,91, 0,94, 1,17 và một nhóm isopropyl với δH 1,22 và 1,23 (mỗi 3H, d, *J* = 7,0 Hz). Phổ <sup>13</sup>C-NMR và DEPT của chất **4** cho thấy 20 tín hiệu của một bộ khung diterpen với 5 nhóm methyl, 5 nhóm metylen, 4 nhóm metin và 6 nguyên tử cacbon bậc 4. Sự hiện diện của một vòng thơm trong phân tử của chất **4** được thể hiện bởi các tín hiệu ở δH 6,63, 6,83 (mỗi 1H, s, H-11 và H-14), δC 110,97 (C-11), 126,2 (C-14) và bốn cacbon bậc 4 tại δC 148,67 (C-9), 150,67 (C-12), 127,30 (C-8), 131,37 (C-13). Sự kết nối của các nhóm hydroxyl ở C-12 và isopropyl tại C-13 được rút ra từ sự tương tác giữa H-15 (3,11)/C-12 (150,67), C-13 (131,37), C-14 (126,62), C-16 (22,75), C-17 (22,56) và giữa H-11 (6,63) và C-10 (37,51), C-12 (150,67), C-13 (131,37) trong phổ HMBC. Bằng cách so sánh với số liệu phổ công bố trong tài liệu [16] hợp chất **4** được xác định là ferruginol. Chất ferruginol được phát hiện lần đầu tiên trong cây *Podocarpus ferrugineus* [17]. Tuy nhiên, các dữ liệu phổ <sup>13</sup>C-NMR của **4** chưa được công bố và được đưa ra trong bảng 1.

Hợp chất **5** cho thấy phổ <sup>1</sup>H- và <sup>13</sup>C-NMR tương tự với phổ <sup>1</sup>H- và <sup>13</sup>C-NMR của chất **4**, ngoại trừ một nhóm cacbonyl thay thế một nhóm metylen

trong chất **4**. Phổ ESI-MS ion dương chứa một đỉnh ở  $m/z = 301 [M+H]^+$ . Bằng cách so sánh các dữ liệu phổ NMR của chất **5** với các số liệu ở tài liệu [18] của sugiol, chất **5** đã được chứng minh là sugiol.

### Tác dụng gây độc tế bào

Ba hợp chất phân lập được là **1**, **2** và **3** đã được thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào trên tám dòng tế bào ung thư người với ellipticine là đối chứng dương. Các kết quả được đưa trong bảng 2.



Hình 1: Cấu trúc của các chất phân lập từ loài Kim giao núi đất

Bảng 2: Hoạt tính gây độc tế bào của các chất 1-3

Chất	Độc tính gây độc tế bào <i>in vitro</i> IC <sub>50</sub> (μg/mL)							
	Hep G2	KB	LU-1	MCF7	SK-Mel2	HL60	SW626	SW480
<b>1</b>	<b>4,99</b>	<b>3,02</b>	<b>5,28</b>	<b>5,97</b>	<b>5,59</b>	<b>2,70</b>	<b>6,13</b>	<b>5,04</b>
<b>2</b>	87,38	92,35	79,81	79,23	91,37	83,41	94,97	87,12
<b>3</b>	41,34	47,19	36,21	33,93	46,78	34,09	39,88	34,08
<b>Ellipticine</b>	0,41	0,46	0,34	0,38	0,44	0,43	0,39	0,41

Hợp chất **1** có hoạt tính mạnh nhất với tất cả các dòng tế bào thử nghiệm với các giá trị IC<sub>50</sub> dao động từ 2,70-6,13 μg/ml. Điều thú vị là hoạt tính của chất **1** so với các dòng tế bào HL60 (IC<sub>50</sub> 2,70 μg/ml) và HepG2 (IC<sub>50</sub> 4,99 μg/ml) là khá cao và cần được tiếp tục nghiên cứu.

Đây là công bố đầu tiên về thành phần hóa học và hoạt tính chống ung thư của các hợp chất diterpenoid từ loài Kim giao núi đất.

**Lời cảm ơn.** Công trình này được hỗ trợ tài chính bởi Chương trình Tây Nguyên 3 với đề tài có mã số TN15. Các tác giả xin chân thành cảm ơn Chương trình.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Christopher N. Page. "Podocarpaceae" pages 332-346. In: Klaus Kubitzki (general editor); Karl U. Kramer and Peter S. Green (volume editors) *The Families and Genera of Vascular Plants* volume I. Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, Germany (1990).
- Eckenwalder James E. *Conifers of the World*. Timber Press: Portland, OR, USA (2009).
- Nguyen Tien Hiep, Phan Ke Loc, Nguyen Duc To
- Luu, P.I. Thomas, A. Farjon, L. Averyanov & J. Regalado Jr. *Vietnam Conifers: Conservation Status Review 2004. Fauna & Flora International*, Vietnam Programme, Hanoi (2004).
- Galbraith M. N. and Horn. D. H. S. *Structures of the natural products blumenols A, B, and C*, J. Chem. Soc., Chem. Commun., 113-114 (1972).
- Yu-Jen Kuo, Shy-Yuan Hwang, Ming-Der Wu, Chia-Ching Liao, Yu-Han Liang, Yao-Haur Kuo and Hsiu-O Ho. *Cytotoxic constituents from Podocarpus fasciculus*, Chem. Pharm. Bull., **56**, 585-588 (2008).
- Hiroaki Sasaki, Kazuhiko Miki, Kaoru Kinoshita, Kiyotaka Koyama, Lia D. Juliawaty, Sjamsul A. Achmad, Euis H. Hakim, Miyuki Kaneda, Kunio Takahashi. *β-Secretase (BACE-1) inhibitory effect of biflavonoids*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, **20**, 4558-4560 (2010).
- W. -J. Kwak, C. K. Han, K. H. Son, H. W. Chang, S. S. Kang, B. K. Park, H. P. Kim. *Effects of Ginkgetin from Ginkgo biloba Leaves on Cyclooxygenases and In vivo Skin Inflammation*, Planta Med., **68**, 316-321 (2002).
- Hiroe Yasui. *Sequestration of Host Plant-Derived Compounds by Geometrid Moth, Milionia basalis, Toxic to a Predatory Stink Bug, Eocanthecona furcellata*, Journal of Chemical Ecology, **27**, 1345-1353 (2001).

9. Yuji Hayashi, Yukinaga Kim, Yoshinori Hayashi, Chairul. *Nagilactones as an Anti-Feedant from Podocarpus nagi for Herbivorous Mammals*, Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, **56**, 1302-1303 (1992).
10. Dominic A. Scudiero, Robert H. Shoemaker, Kenneth D. Paull, Anne Monks, Siobhan Tierney, Thomas H. Nofziger, Michael J. Currens, Donna Seniff and Michael R. Boyd. *Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines*, Cancer Research, **48**, 4827-4833 (1988).
11. Yvonne P. Keepers, Paulo E. Pizao, Godefridus J. Peter, Jannette van Ark-Otte, Benjamin Winograd and Herbert M. Pinedo. *Comparison of the sulforhodamine B protein and tetrazolium (MTT) assays for in vitro chemosensitivity testing*, Eur. J. Cancer, **27**, 897-900 (1991).
12. Carlos Alberto Carbonezi, Lidilhone Hamerski, A. A. Leslie Gunatilaka, Alberto Cavalheiro, Ian Castro-Gamboa, Dulce Helena Siqueira Silva, Maysa Furlan, Maria Claudia Marx Young, Marcia Nasser Lopes, Vanderlan da Silva Bolzani. *Bioactive flavone dimers from Ouratea multiflora (Ochnaceae)*, Brazilian, J. Pharm, **17**, 319-324 (2007).
13. Yuji Hayashi, Takeshi Matsumoto, Motokazu Uemura. *Carbon-13 NMR studies of the biologically active nor-diterpenoid dilactones from Podocarpus plants*, Organic Magnetic Resonance, **14**, 86-92 (1980).
14. Yuji Hayashi, Shigenobu Takahashi, Hisao Ona, Takeo Sakan. *Structures of Nagilacton A, B, C and D, novel nor- and bisnorditerpenoids*, Tetrahedron Letters, **17**, 2071-2076 (1968).
15. Jayr De Paiva Campello, Sebastiao Ferreira Fonseca. *Terpenes of Podocarpus lambertius*, Phytochemistry, **14**, 243-248 (1975).
16. Takashi Matsumoto, Shuji Usui, Toshitaka Morimoto. *A Convenient Synthesis of (±)Taxodione, (±)-Ferruginol, and (±)Sugiol*, Bulletin of the Chemical Society of Japan, **50**, 1575-1579 (1977).
17. Lindsay H. Briggs, R. W. Cawley, J. A. Loe and W. I. Taylor, *Diterpenes. Part III. The diterpenes from Podocarpus ferrugineus*, J. Chem. Soc., 955-958 (1950).
18. H. M. Chang, K. P. Chang, T. F. Choang, H. F. Chow, K. Y. Chui, P. M. Hon, F. N. L. Tan, Y. Yang, Z. P. Zhong, C. M. Lee, H. L. Sham, C. F. Chan, Y. X. Cui, and H. N. C. Wong. *Structure elucidation and total synthesis of new tanshinones isolated from Salvia miltiorrhiza Bunge (Danshen)*, J. Org. Chem., **55**, 3537-3543 (1990).

**Liên hệ: Trần Văn Sung**

Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam  
 Số 18, Đường Hoàng Quốc Việt, Quận Cầu Giấy, Hà Nội  
 E-mail: tranvansungvhh@gmail.com.