

Phân lập một số hợp chất từ dịch chiết ethyl acetat của lá cây Dây lữa ít gân (*Rourea oligophlebia* Merr.)

Đinh Ngọc Thức^{1*}, Lê Nguyễn Thành²

¹Trường Đại học Hồng Đức

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

Ngày nhận bài 15/11/2019; ngày chuyển phản biện 19/11/2019; ngày nhận phản biện 20/12/2019; ngày chấp nhận đăng 6/1/2020

Tóm tắt:

Cây Dây lữa ít gân có tên khoa học là *Rourea oligophlebia* Merr. thuộc họ Dây trường điều (*Connaraceae*). Theo y học cổ truyền, loài *Rourea oligophlebia* có hoạt tính kháng sinh và được sử dụng để điều trị các trường hợp chảy máu, gãy xương. Cây còn được sử dụng để tăng cường sinh lý. Trong nghiên cứu này, từ dịch chiết ethyl acetat của lá cây đã phân tách và xác định cấu trúc ba hợp chất là β -sitostenone (1), sitoindoside I (2) và bis-(2-ethylhexyl) terephthalate (3). Các hợp chất này lần đầu tiên được phân lập từ loài Dây lữa ít gân cũng như chi *Rourea*.

Từ khóa: bis-(2-ethylhexyl) terephthalate, phân lập, *Rourea oligophlebia*, sitoindoside I, β -sitostenone.

Chỉ số phân loại: 2.4

Mở đầu

Chi Dây khế *Rourea* thuộc họ Dây trường điều (*Connaraceae*) bao gồm khoảng 100 loài, phân bố ở châu Á và Nam Mỹ như Trung Quốc, Ấn Độ, Myanmar, Thái Lan, Lào, Campuchia, Việt Nam, Braxin, Panama. Các loài thuộc chi *Rourea* được sử dụng làm thuốc chữa thấp khớp, bệnh chagas, sốt rét. Các nghiên cứu về các loài thuộc chi *Rourea* cho thấy, thành phần hóa học có chứa đa dạng các hợp chất như flavonoid, triterpen, coumarin, quinon. Dịch chiết và các hợp chất phân lập thể hiện một số hoạt tính sinh học đáng quan tâm như kháng khuẩn, chống viêm, chống oxy hoá, chống tiểu đường và chống sốt rét.

Tại Việt Nam, đã tìm thấy 7 loài thuộc chi *Rourea* phân bố tại các vùng rừng núi của các tỉnh Tuyên Quang, Thái Nguyên, Thanh Hóa, Nghệ An, Quảng Trị, Đồng Nai, Kiên Giang [1, 2]. Trong đó, loài Dây lữa ít gân (còn được gọi là Mú tùm) có tên khoa học là *Rourea oligophlebia* Merr., là dạng dây leo thân gỗ, mới chỉ tìm thấy tại Việt Nam và Malaysia [3]. Theo y học cổ truyền, loài *Rourea oligophlebia* có hoạt tính kháng sinh và được sử dụng để điều trị các trường hợp chảy máu, gãy xương. Gần đây, loài này còn được ngâm rượu uống để tăng cường sinh lý. Tại Nghệ An, đã có dự án nghiên cứu về bảo tồn và phát triển loài cây này nhằm hướng đến mục tiêu cung cấp nguồn dược liệu cho sản xuất thuốc và thực phẩm chức năng [4, 5]. Tuy nhiên có ít công bố về thành phần hóa học của loài này [6-8]. Nghiên cứu của Đỗ Ngọc Đài và cs về thành phần hóa học tinh dầu cây *Rourea oligophlebia* thu hái ở Nghệ An cho thấy, hàm lượng tinh dầu thu được từ lá và rễ cây này tương

ứng là 0,07 và 0,05% về khối lượng. Trong lá có 41 cấu tử thành phần, chiếm 90,8% tổng thành phần của tinh dầu với các chất chính là nerolidol (45,2%), spathulenol (10,3%), myrcene (7,05%) và neral (6,6%). Trong rễ có 30 cấu tử thành phần trong tinh dầu rễ, chiếm 91,7% tổng thành phần tinh dầu với các chất chính là nerolidol (22,7%), myrcene (15,9%), spathulenol (12,7%) [9]. Một công bố gần đây của chúng tôi nghiên cứu về thành phần hóa học của các chất không bay hơi từ lá của cây này đã xác định được các hợp chất là phytol, 3 β -hydroxystigmast-5-en-7-on, 3 β ,16 α ,17-trihydroxy-ent-kauran [10]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi báo cáo phân lập 3 hợp chất là β -sitostenone (1), sitoindoside I (2) và bis-(2-ethylhexyl) terephthalate (3) từ dịch chiết ethyl acetate của lá cây. Các hợp chất này lần đầu tiên được phân lập từ loài này cũng như chi *Rourea*.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu

Mẫu thực vật được lấy nguyên cành lá tại Vườn quốc gia Bến En, huyện Như Thanh, tỉnh Thanh Hóa vào tháng 10/2018 và được TS Đỗ Ngọc Đài (Trường Đại học Kinh tế Nghệ An) giám định tên khoa học là *Rourea oligophlebia* Merr., họ Dây trường điều (*Connariaceae*). Mẫu tiêu bản (MT-201) được lưu giữ tại Viện Hóa sinh biển thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hóa chất, dung môi, máy móc, trang thiết bị

Dung môi, hóa chất dùng để chiết xuất và phân lập gồm n-hexan, ethyl acetat, methanol, dicloromethan đạt tiêu

*Tác giả liên hệ: Email: dinhngocthuc@hdu.edu.vn

Isolation of some compounds from ethyl acetate extract of leaves of *Rourea oligophlebia* Merr.

Ngoc Thuc Dinh^{1*}, Nguyen Thanh Le²

¹Hong Duc University

²Institute of Marine Biochemistry,
Vietnam Academy of Science and Technology

Received 15 November 2019; accepted 6 January 2020

Abstract:

Rourea oligophlebia is a species which belongs to the family of Connaraceae. According to the traditional medicine, *Rourea oligophlebia* species has antibiotic activity and has been used for treatment of bleeding and fractures. This plant has also been used to enhance physiology. In this study, from the ethyl acetate extract of the leaves of *Rourea oligophlebia*, three compounds have been isolated and structurally elucidated as β -sitostenone (1), sitoindoside I (2) and bis-(2-ethylhexyl) terephthalate (3). These compounds have been isolated from *Rourea oligophlebia* species as well as *Rourea* genus for the first time.

Keywords: bis-(2-ethylhexyl) terephthalate, isolation, *Rourea oligophlebia*, sitoindoside I, β -sitostenone.

Classification number: 2.4

chuẩn thí nghiệm. Sắc ký cột thường được thực hiện trên silica gel (Merck) cỡ hạt 40-63 μ m hay Sephadex LH-20. Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn (Merck 60 F₂₅₄), hiện màu bằng đèn tử ngoại bước sóng 254 nm hay thuốc thử Ce-Mo.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT) được đo trên máy Bruker Avance 500 MHz (Viện Hóa học) với dung môi đo phổ CDCl₃ hãng Sigma-Aldrich. Phổ khối lượng (ESI-MS) được đo trên máy sắc ký lỏng ghép khối phổ LC/MS Agilent 1260, sử dụng phương pháp phun mù điện tử. Nhiệt độ nóng chảy và góc quay cực được đo trên máy MELT-TEMP 3.0. (Viện Hóa sinh biển).

Kết quả và thảo luận

Thực nghiệm và kết quả

Lá cây Dây lữa ít gân được phơi khô dưới bóng râm, sau đó xay nhỏ. Lá khô (0,7 kg) được ngâm chiết với MeOH ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ (6 lít \times 3 lần). Dịch chiết được gộp lại và cô dưới áp suất giảm thu được 20 g cặn MeOH. Hòa cặn MeOH với 1 lít nước cất, chiết phân bố với dung môi ethyl acetat. Dịch chiết sau khi loại bỏ dung môi thu được 18 g cặn ethyl acetat.

Cặn ethyl acetat (18 g) được phân tách trên cột silica gel, rửa giải gradient với hệ dung môi *n*-hexan/acetone (0-100% acetone). Kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng, gộp các ống có cùng thành phần và cất loại dung môi để thu được 12 phân đoạn (T1-T12).

Phân đoạn T4 (1,3 g) được tinh chế trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexan/acetone (9/1) thu được 3 phân đoạn (T4.1-T4.3). Phân đoạn T4.3 (15 mg) được tinh chế qua sắc ký silica gel điều chế với hệ dung môi *n*-hexan/dichloromethan (8/2) thu được hợp chất (1) (4 mg).

Phân đoạn T9 (0,7 g) được tinh chế qua cột chế trên cột Sephadex, rửa giải với hệ dung môi dichloromethan/methanol (1/9) thu được 2 phân đoạn T9.1 và LMT9.2. Phân đoạn T9.1 (0,51 g) được tinh chế trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexan/acetone (7/3) thu được hợp chất (2) (12 mg).

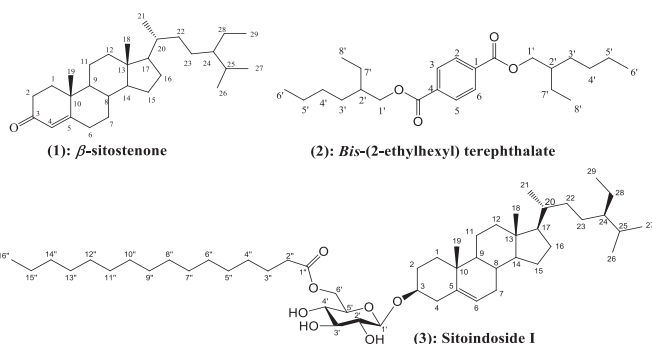
Phân đoạn T10 (0,9 g) được tinh chế qua cột trên cột Sephadex, rửa giải với hệ dung môi dichloromethan/methanol (1/9) thu được hợp chất (3) (10 mg).

β -sitostenone (1): chất rắn, màu trắng; ESI-MS *m/z*: 413 [M+H]⁺. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 5,71 (1H, s, H-4); 1,17 (3H, s, H-19); 0,91 (3H, d, *J*=6,5 Hz, H-21); 0,84 (3H, t, *J*=7,5 Hz, H-29); 0,83 (3H, d, *J*=7,0 Hz, H-27); 0,81 (3H, d, *J*=7,0 Hz, H-26); 0,70 (3H, s, H-18). ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 199,6 (C-3); 171,6 (C-5); 123,7 (C-4); 56,0 (C-14); 55,9 (C-17); 53,8 (C-9); 45,8 (C-24); 42,4

(C-13); 39,6 (C-12); 38,6 (C-10); 36,1 (C-20); 35,7 (C-1); 35,6 (C-8); 33,9 (C-2); 33,9 (C-22); 32,9 (C-6); 32,0 (C-7); 29,1 (C-25); 28,1 (C-16); 26,1 (C-23); 24,1 (C-15); 23,0 (C-28); 21,0 (C-11); 19,8 (C-26); 19,0 (C-27); 18,7 (C-21); 17,3 (C-19); 11,9 (C-29); 11,9 (C-18).

Bis-(2-ethylhexyl) terephthalate (2): chất dầu màu trắng, ESI-MS m/z : 391 $[M+H]^+$. 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ_H (ppm) 8,09 (4H, s, H-2, 3, 5, 6), 4,26 (4H, m, 2 x H-1'), 1,73 (2H, septet, $J=5,0$ Hz, 2 x H-2'), 1,48-1,26 (16H, m, 2 x H-3'', 4', 5', 7'), 0,95 (t, $J=7,5$ Hz, 6H, H-8'), 0,90 (6H, t, $J=7,5$ Hz, H-6'). ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ_C (ppm) 165,9 (2 x C=O), 134,2 (C-1, C-4), 129,4 (C-2, C-3, C-5, C-6), 67,7 (2 x C-1'), 38,9 (2x C-2'), 30,5 (C-3'), 28,9 (C-4'), 24,0 (C-7'), 22,9 (C-5'), 14,0 (C-8'), 11,0 (C-6').

Sitoindoside I (3): chất rắn, màu trắng; ESI-MS m/z : 815,2 (M+H)⁺. 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) 5,37 (1H, m, H-6); 4,48 (1H, dd, $J=12,5$ Hz, 4,5 Hz, H-6'a); 4,38 (1H, d, $J=7,5$ Hz, H-1'); 4,28 (1H, br, d, $J=12,5$ Hz, H-6'b); 3,4-3,6 (5H, m, H-3, 2', 3', 4', 5'); 1,01 (3H, s, Me-19); 0,92 (3H, d, $J=6,5$ Hz, Me-21); 0,88 (3H, t, $J=7,0$ Hz, Me-16''); 0,85 (3H, t, $J=7,5$ Hz, Me-29). 0,84 (3H, d, $J=6,5$ Hz, Me-27). 0,82 (3H, d, $J=6,5$ Hz, Me-26). 0,68 (3H, s, Me-18). ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$): δ : 174,7 (C-1''); 140,3 (C-5); 122,2 (C-6); 101,2 (C-1'); 79,6 (C-3); 76,0 (C-3'); 74,0 (C-5'); 73,6 (C-2'); 70,1 (C-4'); 63,2 (C-6'); 56,8 (C-14); 56,1 (C-17); 50,2 (C-9); 45,9 (C-24); 42,3 (C-13); 39,8 (C-12); 38,9 (C-4); 37,3 (C-1); 36,7 (C-10); 36,2 (C-20); 34,2 (C-2''); 34,0 (C-22); 31,9 (C-7, 8, 14''); 29,2-29,7 (C-2, 4-13''); 28,3 (C-16); 26,1 (C-23); 25,0 (C-3''); 24,3 (C-15); 23,1 (C-28); 22,7 (C-15''); 21,1 (C-11); 19,8 (C-27); 19,4 (C-19); 19,0 (C-26); 18,8 (C-21); 14,1 (C-16''); 12,0 (C-29); 11,9 (C-18).



Cấu trúc của các hợp chất phân lập từ lá cây Dây lữa ít gân.

Cấu trúc của các hợp chất phân lập từ lá cây Dây lữa ít gân.

Bàn luận

β -sitostenone (1)

Hợp chất **1** thu được dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ khối ESI-MS của hợp chất **1** xuất hiện pic ion phân

từ proton hóa ở m/z 413 $[M+H]^+$, tương ứng với công thức phân tử $C_{29}H_{48}O$ có khối lượng phân tử là 412.

Phổ 1H -NMR có các tín hiệu đặc trưng của hợp chất sterol với tín hiệu của 6 nhóm methyl ở các vị trí δ_H 1,17 (3H, s, H-19); 0,91 (3H, d, $J=6,5$ Hz, H-21); 0,84 (3H, t, $J=7,5$ Hz, H-29); 0,83 (3H, d, $J=7,0$ Hz, H-27); 0,81 (3H, d, $J=7,0$ Hz, H-26); 0,70 (3H, s, H-18). Ngoài ra, còn có tín hiệu proton của 1 nối đôi tại δ_H 5,81 (1H, s, H-4).

Phổ ^{13}C -NMR, DEPT cho thấy tín hiệu của 29 carbon trong đó có 6 tín hiệu nhóm CH_3 , 11 tín hiệu nhóm CH_2 , 8 tín hiệu nhóm CH (trong đó tín hiệu $\underline{CH=C}$ ở vị trí 123,7 (C-4)), 4 tín hiệu C bậc 4 trong đó có 1 nhóm carboxyl C=O ở vị trí 199,6 (C-3).

Từ các dữ liệu phổ khối và phổ NMR đã phân tích ở trên, đồng thời so sánh với nghiên cứu của Qiu-Yue Wang và cs [11] nhận thấy hợp chất **1** là hợp chất β -sitostenone. Các kết quả thu được hoàn toàn tương đồng với tài liệu tham khảo [11].

Bis-(2-ethylhexyl) terephthalate (2)

Hợp chất **2** thu được dưới dạng chất dầu màu trắng. Phổ khối ESI-MS của hợp chất **2** xuất hiện pic ion phân tử proton hóa ở m/z 391 $[M+H]^+$, tương ứng với công thức phân tử $C_{24}H_{38}O_4$ có khối lượng phân tử là 390. Kết hợp với phổ NMR gợi ý cho hợp chất với cấu trúc đối xứng.

Trên phổ 1H -NMR xuất hiện 1 tín hiệu ở vùng thơm tại δ_H 8,09 (4H, s), tín hiệu nhóm chức methylene ester tại 4,26 (4H, m, 2 x H-1'), còn lại là tín hiệu của mạch nhánh 1,73 (2H, septet, $J=5,0$ Hz, 2 x H-2'), 1,48-1,26 (16H, m, H-3', 4', 5', 7'), 0,95 (t, $J=7,5$ Hz, 6H, H-8'), 0,90 (6H, t, $J=7,5$ Hz, H-6').

Phổ ^{13}C cho tín hiệu của 11 carbon trong đó có nhóm carbonyl tại 165,9 (2 x C=O), 2 tín hiệu C vùng thơm là 134,2 (C-1, C-4), 129,4 (C-2, C-3, C-5, C-6), tín hiệu nhóm methylene oxy tại 67,7 (C-1'), còn lại là tín hiệu 2-ethylhexyl tại 38,9 (C-2'), 30,5 (C-3'), 28,9 (C-4'), 24,0 (C-7'), 22,9 (C-5'), 14,0 (C-8'), 11,0 (C-6').

Từ phổ khối và phổ NMR đã phân tích ở trên cho phép xác định hợp chất **2** là dẫn chất *bis*-(2-ethylhexyl) terephthalate. Hợp chất này được báo cáo phân lập từ cây *Melodinus fusiformis*. Kết hợp so sánh với các nghiên cứu của Wang và cs, Firdovsi và cs đã công bố có thể kết luận hợp chất **2** là *bis*-(2-ethylhexyl) terephthalate [12, 13].

Sitoindoside I (3)

Hợp chất **3** thu được dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ khối ESI-MS của hợp chất **2** xuất hiện pic ion phân tử proton hóa ở m/z 815,2 $[M+H]^+$, tương ứng với công thức phân tử $C_{51}H_{90}O_7$ có khối lượng phân tử là 814.

Trên phổ $^1\text{H-NMR}$ xuất hiện các tín hiệu đặc trưng cho hợp chất sterol glucoside este. Các tín hiệu của khung sterol được quan sát thấy với một nối đôi ở vị trí δ_{H} 5,37 (1H, m, H-6); có một nhóm CH-O ở vị trí δ_{H} 3,4-3,6 (1H, m, H-3) và 6 nhóm methyl trong đó có 2 singlet tại δ_{H} 0,68 (3H, s) và 1,01 (3H, s); 3 tín hiệu doublet tại δ 0,92 (3H, d, $J=6,5$ Hz); 0,84 (3H, d, $J=6,5$ Hz); 0,82 (3H, d, $J=6,5$ Hz) và một tín hiệu triplet tại δ 0,85 (3H, t, $J=7,5$ Hz). Tín hiệu của phân tử đường glucose được phát hiện bởi 4 nhóm CHOH ở vị trí δ_{H} 3,4-3,6 (4H, m). Tín hiệu nhóm CH_2O tại δ_{H} 4,48 (1H, dd, $J=12,5$ Hz, 4,5 Hz, H-6'a); 4,28 (1H, br, d, $J=12,5$ Hz, H-6'b); và đặc biệt là tín hiệu proton anome của đường ở vị trí δ_{H} 4,38 (1H, d, $J=7,5$ Hz). Tín hiệu của một acid béo được phát hiện dựa trên tín hiệu nhóm CH_2 tại δ_{H} 2,35 (2H, t, $J=7,0$ Hz). nhóm metyl CH_3 cuối mạch dài ở vị trí δ_{H} 0,88 (3H, t, $J=7,0$ Hz) và tín hiệu nhóm CH_2 mạch dài ở δ_{H} 1,25 (m).

Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ cũng cho các tín hiệu đặc trưng của hợp chất sterol glucoside este. Các tín hiệu của nhân sterol gồm 6 nhóm methyl tại δ_{C} 19,8 (C-27); 19,4 (C-19); 19,0 (C-26); 18,8 (C-21); 12,0 (C-29); 11,9 (C-18); nhóm CH-O tại δ_{C} 79,6 (C-3) và tín hiệu của 1 nối đôi CH=C tại δ_{C} 140,3 (C-5); 122,2 (C-6). Tín hiệu của nhóm đường trong phân tử được phát hiện dựa trên tín hiệu C anomer tại δ_{C} 101,2 (C-1') cùng với 5 tín hiệu khác của các nhóm $\text{CH}_2\text{-O-}$ và CHOH tại δ_{C} 76,0 (C-3''); 74,0 (C-5''); 73,6 (C-2''); 70,1 (C-4''); 63,2 (C-6''). Nhóm chức este được phát hiện bằng tín hiệu nhóm C=O tại δ_{C} 174,7 (C-1''). Các tín hiệu khác của acid béo mạch dài gồm tín hiệu tại δ_{C} 34,2 (C-2''); tín hiệu mạch bão hòa CH_2 tại 29,2 đến 29,7 (C-2, 4-13'') và 1 nhóm methyl tại δ_{C} 14,1 (C-16'').

Từ phổ khối và phổ NMR đã phân tích ở trên cho phép xác định hợp chất **3** là một dẫn chất sterol glucoside este với acid béo bão hòa mạch dài. Kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo có thể kết luận hợp chất **3** là sitoindoside I [14].

Kết luận

Từ dịch chiết ethyl acetat của lá cây Dây lữa ít gân đã phân lập và xác định được cấu trúc của 3 hợp chất bao gồm β -sitostenone (**1**), bis-(2-ethylhexyl) terephthalate (**2**) và sitoindoside I (**3**). Những hợp chất này lần đầu được phân lập từ loài Dây lữa ít gân. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của các chất sẽ được công bố trong thời gian tới.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ kinh phí từ Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED) thông qua đề tài mã số 104.01-2018.08.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Tiến Bản (2003), *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- [2] Phạm Hoàng Hộ (2003), *Cây cỏ Việt Nam*, Nhà xuất bản Trẻ TP Hồ Chí Minh, **Quyển 1**, tr.758-760.
- [3] R. van Crevel (1958), *Flora Malesiana*, National Parks Board Singapore.
- [4] Phạm Hồng Ban, Đỗ Ngọc Đài (2015a), “Dẫn liệu về cây Mú tùm”, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nghệ An*, **7**, tr.31.
- [5] Phạm Hồng Ban, Đỗ Ngọc Đài (2015b), “Kết quả bước đầu xây dựng mô hình bảo tồn cây thuốc Mú tùm tại xã Mường Nọc, huyện Quế Phong”, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nghệ An*, **9**, tr.7.
- [6] M. Kalegari, et al. (2014), “Chemical composition and antinociceptive effect of aqueous extract from *Rourea induta* Planch. leaves in acute and chronic pain models”, *Journal of Ethnopharmacology*, **153(3)**, pp.801-809.
- [7] M.M. Laikowski, et al. (2017), “*Rourea cuspidata*: chemical composition and hypoglycemic activity”, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **7(8)**, pp.712-718.
- [8] Z.D. He, et al. (2006), “Rourinoside and rouremin, antimalarial constituents from *Rourea minor*”, *Phytochemistry*, **67(13)**, pp.1378-1384.
- [9] Đỗ Ngọc Đài, Tăng Văn Tân, Phạm Hồng Ban, Trần Đình Thắng (2013), *Thành phần hóa học tinh dầu loài Dây lữa ít gân (*Rourea oligophlebia* Merr.) họ Dây khế ở Nghệ An*, Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 6.
- [10] Đinh Ngọc Thúc, Đỗ Văn Dục, Lê Nguyễn Thành (2018), “Một số hợp chất phân lập từ lá cây Dây lữa ít gân (*Rourea oligophlebia* Merr.)”, *Tạp chí Dược học*, **520(59)**, tr.33-36.
- [11] Qiu-Yue Wang, Guang-Xin Cui, Ji-Chun Wu, Ye-Gao Chen (2015), “Steroid from *Trigonostemon heterophyllus*”, *Chemistry of Natural Compounds*, **51(6)**, pp.1196-1198.
- [12] Wang Dingwei, Luo Xiaodong, Jiang Bei (2012), “Chemical constituents in twigs and leaves of *Melodinus fusiformis*”, *Zhongcaoyao*, **43(4)**, pp.653-657.
- [13] S.T. Firdovsi, M. Yagoub, A.E. Parvin (2007), “Transesterification reaction of dimethyl terephthalate by 2-Ethylhexanol in the presence of heterogeneous catalysts under solvent-free condition”, *Chinese Journal of Chemistry*, **25(2)**, pp.246-249.
- [14] Chuan-Rui Zhang, Saleh A. Aldosari, Polana S.P.V. Vidyasagar, Karun M. Nair, Muraleedharan G. Nair (2013), “Antioxidant and anti-inflammatory assays confirm bioactive compounds in Ajwa date fruit”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61(24)**, pp.5834-5840.