

# Một số hợp chất phân lập từ cây bì lờ đỏ (*Machilus odoratissima* Nees) thu hái ở miền Trung Việt Nam

Trần Thị Oanh<sup>1\*</sup>, Nguyễn Hữu Nghị<sup>1</sup>  
Đặng Thái Dương<sup>2</sup>, Đặng Thái Hoàng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Nghiên cứu và Phát triển các sản phẩm thiên nhiên - IRDOP

<sup>2</sup>Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

## Summary

*Machilus odoratissima* Nees is a timber tree which is distributed mainly in the central and central highlands of Vietnam. It has been used in folk medicine for anti-inflammatory, treating snake bite, and hemostasis agent. Irrespective to its potential health benefits, research on isolation and identification of bioactive compounds from the tree is still limited. The present research, thus, aims to extract and determine bioactive compounds from the bark of *Machilus odoratissima* Nees results are three lignans which are galbelgin (BL1), ent-isolariciresinol-9'- $\beta$ -D-xylopyranoside (BL4) and pinoresinol (BL5) and two sterols including  $\beta$ -sitosterol (BL2) and  $\beta$ -sitosterol-D-glucoside (BL3), were identified. To our knowledge, this is the first time these compounds are reported from *Machilus odoratissima* Nees.

**Keywords:** *Machilus odoratissima* Nees, lignan, sterol, NMR, HR-ESI-MS.

## Đặt vấn đề

Cây bì lờ đỏ có tên khoa học là *Machilus odoratissima* Nees là loài thực vật thuộc chi *Machilus*, họ Long não (Lauraceae). Chúng phân bố rộng ở Việt Nam, tập trung chủ yếu ở một số tỉnh miền Trung và Tây Nguyên và còn được gọi với các tên khác như kháo nhậm, kháo thơm, rẻ vàng, bì lờ đẹt<sup>[1]</sup>. Cây bì lờ đỏ được sử dụng trong y dược cổ truyền để chữa bỏng, chống viêm, giảm đau, cầm máu<sup>[2]</sup>. Cho đến nay, các nhà khoa học đã nghiên cứu, phân lập và xác định được khoảng 140 hoạt chất từ chi *Machilus* bao gồm các lignan, butanolid, flavonoid, proanthocyanidin, alkaloid, sesquiterpen, diterpen, steroid<sup>[3, 4]</sup>. Các hoạt chất từ chi *Machilus* đã được chứng minh có nhiều tác dụng như khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng ung thư, bảo vệ gan và hệ thần kinh<sup>[5, 6]</sup>.

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của các hợp chất từ các loài thuộc chi *Machilus*; tuy nhiên, cho đến nay, các nghiên cứu về cây bì lờ đỏ vẫn còn rất hạn chế<sup>[3]</sup>. Phan Minh Giang và CS. đã nghiên cứu và phân lập một số lignan, neolignan, butanolid từ cây bì lờ đỏ ở Việt Nam<sup>[2, 7]</sup>. Các hoạt chất trong cây bì lờ đỏ cũng đã được chứng minh khả năng chống oxy hóa và diệt khuẩn. Với những tiềm năng về giá trị y dược của cây bì lờ đỏ Việt Nam, chúng tôi tiến hành nghiên cứu tách chiết và xác định một số hoạt chất trong vỏ cây bì lờ đỏ thu thập từ miền Trung Việt Nam.

## Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### Đối tượng

Vỏ cây bì lờ đỏ (*Machilus odoratissima* Nees) được thu hái trên các mẫu cây có tuổi thọ 5,5 tuổi ở các tỉnh Quảng Trị, Quảng Nam và Thừa Thiên Huế. Các mẫu nghiên cứu được so sánh và thẩm định tên khoa học bởi PGS. TS. Đặng Thái Dương - Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế. Kết quả thẩm định tên khoa học của loài được lấy mẫu là *Machilus odoratissima* Nees.

Chịu trách nhiệm: Trần Thị Oanh

Email: oanh.tran@irdop.org

Ngày nhận: 08/10/2020

Ngày phản biện: 04/12/2020

Ngày duyệt bài: 22/01/2021

## Phương pháp nghiên cứu

### Chiết xuất và phân lập các chất từ vỏ cây bời lời đỏ

Vỏ cây bời lời đỏ khô (0,8 kg) được nghiền nhỏ rồi ngâm với cồn (EtOH) 70% ở nhiệt độ phòng (3 lần, mỗi lần 2 ngày). Sau đó các phần dịch chiết được gộp lại và cất loại cồn và nước dưới áp suất giảm thu được cặn chiết tổng (99,55 g; độ ẩm 9,7%). Hòa tan cặn tổng trong hỗn hợp cồn:nước với tỷ lệ 1:1 rồi chiết bằng ethyl acetat, tiến hành làm khan dịch chiết bằng  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  và loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cặn chiết ethyl acetat (40,3 g; độ ẩm 3,1%). Cặn chiết ethyl acetat (25,15 g) được phân tách bằng sắc ký cột thường trên silica gel (Hãng Merck, 0,063 - 0,2 mm) với dung môi rửa giải là dichlometan : methanol với gradient thể tích là 100:1, 20:1, 15:1, 10:1, 4:1, và 2:1. Các phân đoạn có đặc điểm giống nhau trên sắc ký bản mỏng sẽ được gộp lại và cất loại dung môi dưới áp suất giảm. Kết quả thu được 2 nhóm phân đoạn. Nhóm phân đoạn E1 (3,86 g) được rửa bằng aceton cho tinh thể hình kim màu trắng, ký hiệu **BL1** (100 mg). Nhóm phân đoạn E2 (1,24 g) được rửa bằng aceton cho tinh thể hình kim màu trắng, ký hiệu **BL2** (50 mg). Nhóm phân đoạn E3 (1,23 g) được rửa bằng aceton cho chất rắn màu trắng, ký hiệu **BL3** (50 mg). Nhóm phân đoạn E4 (3,50 g) được tiếp tục phân tách bằng sắc ký cột thường với dung môi rửa giải là dichlometan:methanol với gradient thể tích là 10:1 và 4:1 thu được **BL4** (12 mg), và **BL5** (5 mg).

### Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất

Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz) và  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz) được đo bằng máy cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) Bruker Avance AM 500 FT-NMR (Bruker, Germany). Tín hiệu khối phổ (**HR-ESI-MS**) được đo bằng máy sắc ký quang phổ AGILENT 1100 LC-MSD với đầu đọc khối phổ G1946D (AGILENT, Germany). Sắc ký lớp mỏng được thực hiện bằng bản mỏng tráng silica gel pha thường DC-Alufolien 60 GF<sub>254</sub> (Hãng Merck). Các thí nghiệm xác định cấu trúc hóa học (**NMR, HR-ESI-MS**) được thực hiện tại phòng thí nghiệm Khoa Hóa Thực vật, Viện Dược liệu.

## Kết quả nghiên cứu và bàn luận

### Xác định cấu trúc của hợp chất BL1

**BL1** có dạng tinh thể hình kim màu trắng. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của **BL1** (bảng 1) cho các tín hiệu của proton methin của nhân thơm ở  $\delta_{\text{H}}$  6,99 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz, H-2), 6,86 (1H, d,  $J = 3,0$  Hz, H-3), 6,97 (1H, dd,  $J = 1,5; 8,0$  Hz, H-6), tín hiệu của một proton methin khác liên kết với nhóm chức chứa dị tố (ở đây là nhóm hydroxyl) ở  $\delta_{\text{H}}$  4,52 (1H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-7). Tín hiệu ở  $\delta_{\text{H}}$  2,34 (1H, m, H-8) thuộc về một nhóm methin bậc 3, và  $\delta_{\text{H}}$  1,04 (6H, d,  $J = 6,5$  Hz, H-9, 9') là hai nhóm methyl đầu mạch. Ngoài ra tín hiệu của hai nhóm methoxy liên kết với nhân thơm ở  $\delta_{\text{H}}$  3,87 (3H, s) và  $\delta_{\text{H}}$  3,88 (3H, s).

Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của **BL1** (bảng 1) xuất hiện tín hiệu của 11 C, trong đó 6 carbon nhân thơm lần lượt là  $\delta_{\text{C}}$  134,9 (C-1), 109,9 (C-2), 149,1 (C-3), 148,6 (C-4), 111,1 (C-5), 118,6 (C-6). Tín hiệu carbon hydroxymethin xuất hiện ở  $\delta_{\text{C}}$  87,3 (C-7), một carbon methin khác ở  $\delta_{\text{C}}$  44,4 (C-8). Hai nhóm methyl đầu mạch ở  $\delta_{\text{C}}$  12,9 (C-9, 9'), hai nhóm methoxy có độ chuyển dịch 55,8 (4-OMe), 55,9 (5-OMe).

Các tương tác **HMBC** được quan sát thấy (bảng 1) cho ta biết vị trí liên kết của các C-H trong cấu trúc của **BL1**. Từ các phân tích phổ nêu trên, kết hợp tham khảo tài liệu có thể kết luận một phần công thức của hợp chất **BL1** là một phenylpropanoid 1-(3,4-dimethoxyphenyl)-2-methylpropan-1-ol (**1**)<sup>[8]</sup>. Tiếp tục phân tích phổ **HR-ESI-MS** cho pic ion giả phân tử  $m/z$  371,1860  $[\text{M-H}]^-$ ,  $M = 372$ , ứng với công thức phân tử là  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_5$ , trong khi công thức (**1**) chỉ có  $M = 210$ . Như vậy số lượng carbon phải gấp đôi số lượng carbon trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$ . Điều này có nghĩa là phân tử của **BL1** phải có trục đối xứng bậc 2, do đó giả thiết được công thức cấu tạo của **BL1** được tạo thành do sự đóng vòng của hai đơn vị tiểu phân (**1**). Từ đây suy ra công thức cấu tạo của **BL1** là một neolignan: tetrahydro-2,5-bis(3,4-dimethoxyphenyl)-3,4-dimethylfuran (hình 1). Đối chiếu dữ liệu phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và  $^1\text{H-NMR}$  của **BL1** với dữ liệu đã công bố có thể kết luận **BL1** là một neolignan có tên là galbelgin (hình 1)<sup>[8]</sup>. Galbelgin đã được phân lập ở chi *Machilus* và họ Lauraceae; tuy nhiên đây là lần đầu tiên, galbelgin được công bố chiết từ cây bời lời đỏ<sup>[3,4]</sup>.

**Bảng 1. Dữ kiện phổ NMR của hợp chất BL1**

Vị trí C	<sup>13</sup> C-NMR 125 MHz, (δ ppm)	DEPT	<sup>1</sup> H-NMR 500 MHz, (δ ppm, J (Hz))	HMBC (H→C)
1, 1'	134,9	C		
2, 2'	109,9	CH	6,99 (1H, d, J = 2,0 Hz)	C-7, C-1, C-6, C-3
3, 3'	149,1	C		
4, 4'	148,6	C		
5, 5'	111,1	CH	6,86 (1H, d, J = 3,0 Hz)	C-1, C-4, C-3
6, 6'	118,6	CH	6,97 (1H, dd, J = 1,5; 8,0 Hz)	C-7
7, 7'	87,3	CH	4,52 (1H, d, J = 6,5 Hz)	C-1
8, 8'	44,4	CH	2,34 (1H, m)	C-7
9, 9'	12,9	CH <sub>3</sub>	1,04 (3H, d, J = 6,5 Hz)	C-7
5-OMe	55,9	CH <sub>3</sub>	3,88 (3H, s)	
4-OMe	55,8	CH <sub>3</sub>	3,87 (3H, s)	
Dung môi			CDCl <sub>3</sub>	

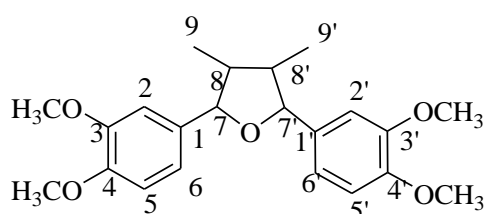
### Cấu trúc của hợp chất BL2

Hợp chất **BL2** thu được dưới dạng tinh thể hình kim không màu. Trên sắc ký lớp mỏng, với thuốc thử H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% trong EtOH, hợp chất này cho màu hồng tươi rồi xanh tím dần dần chứng tỏ đây là một steroid.

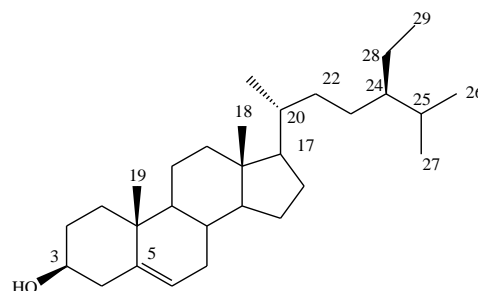
Trên phổ <sup>1</sup>H-NMR (bảng 2) của **BL2** xuất hiện tín hiệu đặc trưng cho hydroxy methin δ<sub>H</sub> 3,52 (1H, m, H-3), thêm vào đó sự có mặt của nhóm methin olefinic thể hiện qua tín hiệu ở δ<sub>H</sub> 5,35 (1H, dd, J = 5,5; 2,5 Hz, H-6). Ngoài ra 6 tín hiệu của nhóm methyl còn lại ở độ chuyển dịch δ<sub>H</sub> 0,68 (3H, s, H-18), 0,80 (3H, s, H-27), 0,82 (3H, d, J = 4,0 Hz, H-26), 0,85 (3H, t, J = 7,5 Hz,

H-29), 0,92 (3H, d, J = 6,5 Hz, H-21), 1,00 (3H, s, H-19) cho ta các giả thuyết về một phần cấu trúc đặc trưng cho terpen khung stigmasteran.

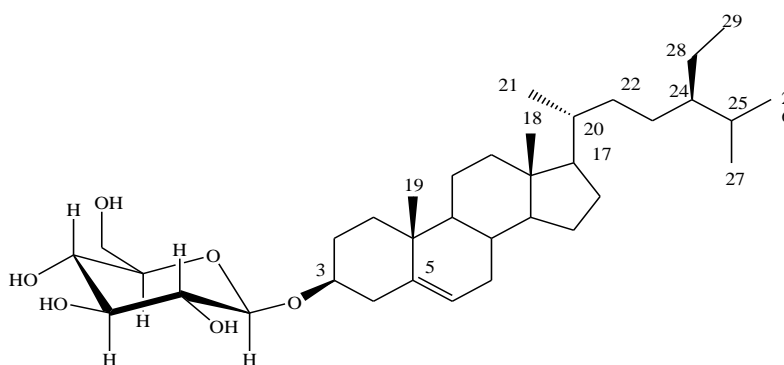
Phổ <sup>13</sup>C (bảng 2) cho thấy **BL2** có 29 C, tín hiệu đặc trưng của liên kết olefinic có độ chuyển dịch δ<sub>C</sub> 121,7 (C-6) và 140,8 (C-5), Độ chuyển dịch δ<sub>C</sub> 71,8 (C-3) đặc trưng cho nhóm methin gắn với nhóm hydroxyl. Thêm vào đó là tín hiệu của 6 nhóm methyl tại δ<sub>C</sub> 11,8 (C-18), 11,9 (C-29), 18,8 (C-21), 19,0 (C-27), 19,4 (C-19), 19,8 (C-26). Từ việc phân tích phổ và dựa vào các tài liệu đã công bố có thể khẳng định **BL2** là stigmaster-5-en-3-ol hay còn gọi là β-sitosterol (hình 1) [9].



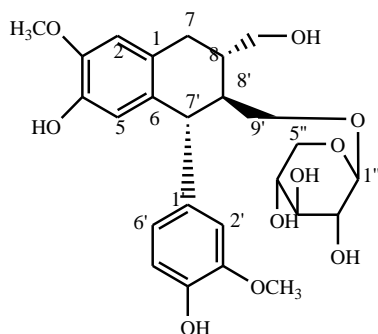
**BL1**



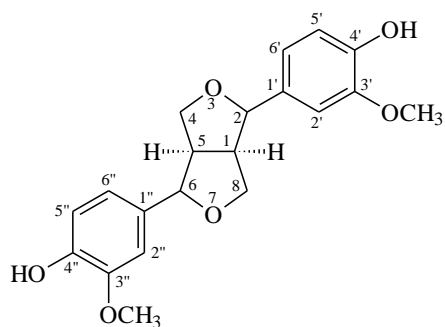
**BL2**



**BL3**



**BL4**



**BL5**

**Hình 1. Công thức cấu tạo của các hợp chất từ cây bời lời đỏ**

**Bảng 2. Dữ kiện phổ NMR của hợp chất BL2 và BL3**

Vị trí C	<sup>13</sup> C-NMR 125 MHz, (δ ppm)		DEPT		<sup>1</sup> H-NMR 500 MHz, (δ ppm, J (Hz))	
	BL 2	BL3	BL 2	BL3	BL2	BL3
1	37,3	38,3	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>		
2	31,7	32,9	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>		
3	71,8	79,9	CH	CH	3,52 (1H, m)	3,60 (1H,m)
4	42,3	40,9	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	2,27 (2H, m)	
5	140,8	141,6	C	C		
6	121,7	122,7	CH	CH	5,35 (1H,dd, 5,5; 2,5)	5,36 (1H, s)
7	31,9	30,8	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>		
8	31,9	33,0	CH	CH		
9	50,2	51,4	CH	CH		
10	36,5	37,7	C	C		
11	21,1	23,9	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>		
12	39,8	39,6	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>		
13	42,3	43,3	C	C		
14	56,9	57,9	CH	CH		
15	24,3	25,1	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>		
16	28,3	30,5	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>		
17	56,1	57,2	CH	CH		
18	11,8	18,3	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	0,68 (3H, s)	0,71 (3H, s)
19	19,4	19,3	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	1,00 (3H, s)	1,02 (3H, s)
20	36,2	37,2	CH	CH		
21	18,8	19,4	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	0,92 (3H, d, 6,5)	0,92 (3H,d, 5,0)
22	33,9	34,9	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>		
23	26,1	27,0	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>		
24	45,9	49,6	CH	CH		
25	29,2	30,2	CH	CH		
26	19,8	20,1	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	0,82 (3H, d, 4,0)	0,82 (3H,s)
27	19,0	19,8	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	0,80 (3H, s)	0,84 (3H, d, 2,5)
28	23,0	29,2	CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>		
29	11,9	12,3	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	0,85 (3H, t, 7,5)	0,83 (3H,d, 2,5)
1'		102,2		CH		4,37 (1H, d, 8,0)
2'		74,8		CH		3,85(1H, dd)
3'		77,8		CH		3,29 (1H, s)
4'		71,4		CH		3,23 (1H, d)
5'		77,5		CH		3,75 (1H, ddd)
6'		62,6		CH <sub>2</sub>		3,41 (2H, m)
Dung môi					CDCl <sub>3</sub>	

### Cấu trúc của hợp chất BL3

Hợp chất này được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ **HR-ESI-MS** thu được cho pic ion giả phân tử tại  $m/z$  576,5462  $[M]^+$ , hoàn toàn phù hợp với công thức phân tử  $C_{35}H_{60}O_6$ .

Phổ  **$^1H$ -NMR** (bảng 2) của **BL3** cho thấy các tín hiệu của một khung sterol nối với một gốc đường. Các tín hiệu của hai nhóm methyl bậc ba [ $\delta_H$  1,02 (3H, s, 19-Me) và 0,71 (3H, s, 18-Me)], một nhóm methyl bậc hai [ $\delta_H$  0,92 (3H, d,  $J = 5,0$  Hz, 21-Me)], một nhóm methyl bậc một [ $\delta_H$  0,83, (3H, t,  $J = 2,5$  Hz, 29-Me)] và một nhóm isopropyl [ $\delta_H$  0,82 (3H, s, 26-Me) và 0,84 (3H, d,  $J = 2,5$  Hz, 27-Me)]; các nhóm sau này thuộc về một mạch nhánh 1-methyl-4-etyl-5-methylhexyl của một khung stigmastan. Một nối đôi thế ba lần [ $\delta_H$  5,36 (1H, br s, H-6);  $\delta_C$  122,7 (C-6), 141,6 (C-5)] là dấu hiệu nhận biết của một khung stigmast-5-en của một dẫn xuất của  $\beta$ -sitosterol. Sự dịch chuyển về phía trường thấp được phát hiện cho các tín hiệu proton và carbon 13 cho thấy đây có thể là một dẫn xuất của  $\beta$ -sitosterol ở vị trí C-3. Khi so sánh tổng số các tín hiệu carbon trên phổ  **$^{13}C$ -NMR** của **BL3** (35C) với của  $\beta$ -sitosterol (29C) chúng ta sẽ thấy khả năng xuất hiện một hexose khẳng định cho cấu trúc một glycosid của **BL3**. Tín hiệu của proton anomeric [ $\delta_H$  4,37 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz, H-1')] và carbon anomeric  $\delta_C$  102,2 (C-1') và các tín hiệu  **$^{13}C$ -NMR** khác nhau ở  $\delta_C$  62,6 (C-6'), 71,4 (C-4'), 74,8 (C-2'), 77,5 (C-5') và 77,8 (C-3') cho thấy hexose này phải là  $\beta$ -glucopyranosid. Nhóm methin carbinol ở C-3 có sự định hướng  $\beta$  dựa trên độ chuyển dịch hóa học ở  $\delta_C$  79,9 của C-3. Cấu hình D của  $\beta$ -glucopyranosid được giả thiết từ sự xuất hiện chủ yếu của nó trong các sterol glycosid thiên nhiên. Trên cơ sở của các phân tích phổ **NMR**, cấu trúc của **BL3** được xác định là  $\beta$ -sitosterol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosid (hình 1).

### Cấu trúc của hợp chất BL4

Hợp chất **BL4** thu được dưới dạng chất bột không màu. Phổ **HR-ESI-MS** cho pic ion giả phân tử ở 493,2054  $[M+H]^+$  tương ứng với khối lượng phân tử  $M = 492$ , phù hợp với công thức phân tử  $C_{25}H_{32}O_{10}$ .

Phổ  **$^1H$ -NMR** (bảng 3) của **BL4** xuất hiện vùng các tín hiệu của các proton vòng thơm và một vùng tín hiệu cộng hưởng ở trường cao hơn đặc trưng cho phân tử đường và các proton của carbon no. Ở vùng trường thấp, hai tín hiệu singlet  $\delta_H$  6,67 (1H, s, H-2), 6,20 (1H, s, H-5) của hai proton ở vị trí para của một vòng thơm,

ba tín hiệu cộng hưởng tại  $\delta_H$  6,66 (1H, dd,  $J = 1,5; 8,0$ , H-6'), 6,79 (1H, d,  $J = 2,0$ , H-2'), 6,76 (1H, d,  $J = 8,0$ , H-5') tương tác với nhau kiểu hệ ABX đặc trưng cho một vòng thơm thế para. Tín hiệu singlet của hai nhóm methoxy tại  $\delta_H$  3,82 (6H), ngoài một phân tử đường xuất hiện tại  $\delta_H$  4,09 (1H, d,  $J = 7,0$ , H-1"), 3,24 (1H, m, H-2"), 3,33 (1H, m, H-3"), 3,48 (1H, m, H-4"), 3,13 (1H, m, H-5a"), 3,87 (1H, m, H-5b"); còn có các tín hiệu khác của hai nhóm oxymethylen tại  $\delta_H$  3,72 (2H, m, H-9), 3,26 (1H, m, H-9a'), 3,97 (1H, m, H-9b'); tín hiệu của ba nhóm methin tại  $\delta_H$  4,07 (1H, m, H-7'), 1,88 (1H, m, H-8'), 2,09 (1H, m, H-8), và một nhóm methylen tại  $\delta_H$  2,82 (2H, m).

Phổ  **$^{13}C$ -NMR** (bảng 3) xuất hiện tín hiệu của 25 nguyên tử carbon, trong đó hai vòng thơm được khẳng định bằng các tín hiệu tại  $\delta_C$  112,5 (C-2), 114,3 (C-2'), 116,1 (C-5'), 117,9 (C-5), 123,6 (C-6'), 129,2 (C-1), 134,3 (C-1'), 138,6 (C-6), 145,2 (C-4'), 145,9 (C-4), 147,2 (C-3'), 148,9 (C-3); phân tử đường xylose đặc trưng bằng các tín hiệu tại  $\delta_C$  105,9 (C-1"), 74,9 (C-2"), 77,9 (C-3"), 71,3 (C-4"), 66,8 (C-5"). Ngoài ra, hai carbon  $CH_2$  khác nối với nguyên tử oxy tại  $\delta_C$  65,2 (C-9), 69,5 (C-9'), ba carbon CH no tại  $\delta_C$  39,7 (C-8), 45,9 (C-8'), 48,5 (C-7'), một carbon  $CH_2$  tại  $\delta_C$  33,8 (C-7), và hai nhóm methoxy tại  $\delta_C$  56,4; 56,5. Ngoại trừ hai tín hiệu của hai nhóm methoxy và 5 tín hiệu của một phân tử đường, thì 18 tín hiệu còn lại rất điển hình cho các hợp chất lignan có khung 3',4,4',5,9,9'-hexahydroxy-2,7'-cycloolignan. Giá trị  $\delta_C$  69,5 (C-9'), cao hơn C-9 (65,2) gợi ý sự tạo thành liên kết este với phân tử đường tại C-9'.

Phân tích các tương tác trên phổ **HSQC** và **HMBC** của **BL4** cho thấy hai proton H-2 và H-5 được xác định bởi tương tác **HMBC** giữa H-2 với C-7 và giữa H-5 với C-7'. Trên vòng thơm thứ hai, tương tác của H-7' với C-2' và C-6' (đều là các CH), đồng thời giá trị hằng số tương tác  $J_{H5'/H-6'} = 8,0$  Hz, cho thấy hai nhóm thế chiếm các vị trí C-3' và C-4'. Nhóm methoxy được xác định là nối vào C-3' bởi tương tác **HMBC** giữa nhóm metoxi với C-3' và không xuất hiện tương tác giữa H-6' với C-3'. Phân tử đường được chứng minh là nối với C-9' bởi ngoài sự dịch chuyển về phía trường thấp hơn của tín hiệu C-9' mà còn có tương tác **HMBC** giữa H-1" với C-9'. Kết hợp với các dữ kiện phổ trong tài liệu đã công bố cho phép khẳng định hợp chất **BL4** phân lập được là *ent*-isolariciresinol-9'- $\beta$ -D-xylopyranoside (hình 1) <sup>[10]</sup>.

**Bảng 3. Dữ kiện phổ NMR của hợp chất BL4**

Vị trí C	<sup>13</sup> C-NMR 125 MHz, (δ ppm)	DEPT	<sup>1</sup> H-NMR 500 MHz, (δ ppm, J (Hz))	HMBC (H→C)
1	129,2	C		
2	112,5	CH	6,67 (1H, s)	C-7
3	148,9	C		
4	145,9	C		
5	117,4	CH	6,20 (1H, s)	C-7'
6	138,6	C		
7	33,8	CH <sub>2</sub>	2,82 (2H, m)	C-8, C-8'
8	39,7	CH	2,09 (1H, m)	
9	65,2	CH <sub>2</sub>	3,72 (2H, m)	C-3, C-8, C-8'
1'	134,3	C		
2'	114,32	CH	6,79 (1H, d, 2,0)	C-7'
3'	147,2	C		
4'	145,2	C		
5'	116,1	CH	6,76 (1H, d, 8,0)	
6'	123,6	CH	6,66 (1H, dd, 1,5, 8,0)	C-7'
7'	48,5	CH	4,07 (1H, m)	
8'	45,9	CH	1,88 (1H, m)	
9'	69,5	CH <sub>2</sub>	3,26 (1H, m) 3,97 (1H, m)	C-7', C-8', C-8
3-OCH <sub>3</sub>	56,4		3,82 (3H, s)	C-3
3'-OCH <sub>3</sub>	56,5		3,82 (3H, s)	C-3'
<i>Xylose</i>				
1''	105,9	CH	4,09 (1H, d, 7,0)	C-9', C-2'', C-3''
2''	74,9	CH	3,24 (1H, m)	C-1'', C-3'', C-4''
3''	77,9	CH	3,33 (1H, m)	C-1'', C-5''
4''	71,3	CH	3,48 (1H, m)	C-2'', C-5''
5''	66,9	CH <sub>2</sub>	3,13 (1H, m) 3,87 (1H, m)	C-1'', C-3'' C-1'', C-3''

### Cấu trúc của hợp chất BL5

**BL5** là một chất vô định hình màu vàng. Phổ <sup>1</sup>H-NMR của **BL5** (bảng 4) xuất hiện 3 tín hiệu của các proton vòng thơm tại δ<sub>H</sub> 6,97 (1H, d, J = 1,5 Hz), 6,83 (1H, dd, J = 8,0; 1,5 Hz) và 6,78 (1H, d, J = 8,0 Hz), gợi ý rằng vòng thơm đã bị thế 3 vị trí. Proton của carbon oxymethin tại δ<sub>H</sub> 4,73 xuất hiện dưới dạng doublet và nhóm CH<sub>2</sub>O- được xác định bởi tín hiệu tại δ<sub>H</sub> 4,25 và 3,85 (đều là các doublet của doublet). Proton methin được xác định tại δ<sub>H</sub> 3,16 (multiplet) và nhóm methoxy tại δ<sub>H</sub> 3,904 (singlet).

Phổ <sup>13</sup>C-NMR của **BL5** (bảng 4) chỉ xuất hiện 10 tín hiệu của carbon tại δ<sub>C</sub> 55,4; 87,5; 72,6; 133,8; 111,0; 149,1; 147,3; 116,1; 120,1; 56,4. Các phổ <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC và <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY đã cho phép nối từng phần cấu trúc của **BL5**, và được kiểm tra bằng phổ HMBC. Trên phổ <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, xuất hiện các tương tác của proton tại δ<sub>H</sub> 3,16 (H-5) với proton tại δ<sub>H</sub> 4,73 (H-6)/ δ<sub>H</sub> 4,25 (Ha-4)/ δ<sub>H</sub> 3,85 (Hb-6), của proton tại δ<sub>H</sub> 6,78

(H-5'') với proton tại δ<sub>H</sub> 6,83 (H-6''). Thêm vào đó, tương tác HMBC của proton ở δ<sub>H</sub> 3,16 (H-5) với carbon ở δ<sub>C</sub> 87,5 (C-6)/δ<sub>C</sub> 72,6 (C-4)/δ<sub>C</sub> 133,8 (C-1''), giữa proton ở δ<sub>H</sub> 4,73 (H-6) với carbon ở δ<sub>C</sub> 133,8 (C-1'')/δ<sub>C</sub> 120,1 (C-6'')/δ<sub>C</sub> 111,0 (C-2'').

Phổ HR-ESI-MS xuất hiện pic ion giả tại m/z 357,1333 [M-H]<sup>-</sup>, tương ứng với công thức phân tử C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub>. Như vậy số lượng carbon phải gấp đôi số lượng carbon trên phổ <sup>13</sup>C-NMR. Điều này có nghĩa là phân tử của **BL5** phải có trục đối xứng bậc 2. Do đó, cấu trúc của **BL5** có thể là pinoresinol (hình 1). Các dữ kiện phổ của **BL5** được so sánh với các dữ kiện phổ của hợp chất này đã công bố và cho sự trùng khớp [11]. Từ những dữ kiện nêu trên, hợp chất **BL5** được khẳng định là (±) 2,6-bis(4'-hydroxy-3'-methoxy-phenyl)-3,7-dioxabicyclo [3.3.0] octane (pinoresinol). Pinoresinol đã được xác định trên loài *Machilus robusta* [12]; tuy nhiên đây là lần đầu tiên lignan này được tìm thấy trên cây bời lời đỏ Việt Nam.

**Bảng 4. Dữ kiện phổ NMR của hợp chất BL5**

Vị trí C	<sup>13</sup> C-NMR		<sup>1</sup> H-NMR		HMBC (H→C)
	125 MHz, (δ ppm)	DEPT	500 MHz, (δ ppm, J (Hz))		
1, 5	55,4	CH	3,16 (1H, m)		C-2, C-4, C-1'
2, 6	87,5	CH	4,73 (1H, d, 4,0)		C-1, C-5, C-8, C-1', C-2', C-6'
4, 8	72,6	CH <sub>2</sub>	4,25 (1H, dd, 7,0; 9,0) 3,85 (1H, dd, 4,0; 9,5)		C-1, C-2, C-1, C-2
1', 1"	133,8	C			
2', 2"	111,0	CH	6,97 (1H, d, 1,5)		C-2, C-1', C-3', C-4', C-6'
3', 3"	149,1	C			
4', 4"	147,3	C			
5', 5"	116,1	CH	6,78 (1H, d, 8,0)		C-1', C-3', C-4', C-6'
6', 6"	120,1	CH	6,83 (1H, dd, 1,5; 8,0)		C-2, C-1', C-2', C-4'
3',3"- OCH <sub>3</sub>	56,4	CH <sub>3</sub>	3,85 (3H, s)		C-3'
Dung môi					CDCl <sub>3</sub>

### Kết luận

Nghiên cứu đã tách chiết và xác định được 3 lignan gồm galbelgin (BL1), *ent*-isolariciresinol-9'-β-D-xylopyranoside (BL4) và pinoresinol (BL5) và hai steroid là β-sitosterol (BL2) và β-sitosterol-D-glucosid (BL3). Mặc dù hai hợp chất trên đã được tìm thấy trong chi *Machilus* nhưng đây là lần đầu tiên hai lignan được tìm thấy trên cây bời lời đỏ (*Machilus odoratissima* Nees). Kết quả này sẽ bổ sung thêm những thông tin về thành phần hóa học của các loài thuộc chi *Machilus* và là tiền đề để tiếp tục nghiên cứu tìm kiếm các hoạt chất có hoạt tính sinh học khác trên cây bời lời đỏ Việt Nam.

### Tài liệu tham khảo

1. Đặng Thái Hoàng, Đặng Thái Dương (2018), "Đặc điểm sinh trưởng của cây bời lời đỏ (*Machilus odoratissima* Nees) ở tỉnh Quảng Nam, Quảng Trị và Thừa thiên Huế", *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, tr. 136–143.
2. Phan Minh Giang, Phan Tong Son, Matsunami K. et al. (2006), "New neolignans and lignans from Vietnamese medicinal plant *Machilus odoratissima* NEES", *Chem. Pharm. Bull.*, 54, pp. 380–383.
3. Zhao J., Ding H. X., Song Q. Y. et al. (2011), "Chemical constituents of plants from the Genus *Machilus*", *Chem. Biodivers.*, 8, pp. 1943–1957.
4. Li Y., Xie S., Ying J. et al. (2018), "Chemical structures of lignans and neolignans isolated from Lauraceae", *Molecules*, pp. 23.
5. Cheng W., Zhu C., Xu W. et al. (2009), "Chemical constituents of the bark of *Machilus*

*wangchiana* and their biological activities", *J. Nat. Prod.*, 72, pp. 2145–2152.

6. Ma C. J., Sung S. H., Kim Y. C. (2004), "Neuroprotective lignans from the bark of *Machilus thunbergii*", *Planta Med.*, 70, pp. 79-80.

7. Phan Minh Giang, Otsuka H., Son P. T. (2011), "A new minor butenolide from *Machilus odoratissima*", *Chem. Nat. Compd.*, 47, pp. 201–202.

8. Rye C. E., Barker D. (2011), "Asymmetric synthesis of (+) -galbelgin, (-) -kadangustin J, (-) -cyclogalgravin and (-) -pyncanthulignenes A and B, three structurally distinct lignan classes, using a common chiral precursor", *J. Org. Chem.*, 76, pp. 6636–6648.

9. Nyigo V., Peter X., Mabiki F. et al. (2016), "Isolation and identification of euphol and β-sitosterol from the dichloromethane extracts of *Synadenium glaucescens*", *J. Phytopharm.*, 5, pp. 100–104.

10. Hoang Thi Le, Do Thi Ha, Chau Thi Anh Minh et al. (2012), "Constituents from the stem barks of *Canarium bengalense* with cytoprotective activity against hydrogen peroxide-induced hepatotoxicity", *Arch Pharm. Res.*, 35, pp. 87–92.

11. Trinh Thi Diep, Phan Van Kiem, Nguyen Thuong Dong et al. (2007), "Pinoresinol and 3,4',5,7-tetrahydroxy-3'-methoxyflavanone from the fruits of *Silybum marianum* (L.) Gaertn.", *J. Chem.*, 45, pp. 219–222.

12. Li Y., Cheng W., Zhu C., et al. (2011), "Bioactive neolignans and lignans from the bark of *Machilus robusta*", *J. Nat. Prod.*, 74, pp. 1444–1452.