

## BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CÂY NIỆT GIÓ (*WIKSTROEMIA INDICA*. C. A. MEY, THYMELAEACEAE)

Đến Tòa soạn 30-8-2006

TRẦN VĂN THUỶ<sup>1</sup>, DƯƠNG ANH TUẤN<sup>1</sup>, NGUYỄN VĂN TUYẾN<sup>1</sup>, BÙI KIM ANH<sup>1</sup>,  
LUC VAN PUYVELDE<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Tibotec bva, Gen. De Wittelaan L11 B3, B-2800 Mechelen, Belgium

### SUMMARY

Two lignans, (+)-lariciresinol (**2**), (-)-secoisolariciresinol (**3**), the flavonoid triclin (**1**) and the bis-coumarin **4** were isolated from the dichloromethane extract of the stem bark of *Wikstroemia indica* C. A. Mey, Thymelaeaceae. The structures of these compounds were determined by spectroscopic methods.

### I - MỞ ĐẦU

Cây Niết gió có tên khoa học là *Wikstroemia indica* C. A. Mey, thuộc họ trâm hương (Thymelaeaceae) là cây bụi cao, mọc rải rác ở các vùng cận nhiệt đới. Ở Việt Nam, cây mọc ở khắp mọi nơi. Trong dân gian, người ta sử dụng vỏ rễ và vỏ thân để chữa tuyến lâm ba kết hạch, hen suyễn, viêm tuyến màng tai, sưng amidal, ho gà, lá được dùng ngoài giã tươi, thêm dầu vừng hay dầu lạc đắp chữa đinh nhọt, sưng tấy, bị thương, rắn cắn [1].

Trên thế giới, đã có một số công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây này [2, 5 - 7]. Ở Việt Nam, hầu như chưa có công trình nào nghiên cứu về cây Niết gió. Nhằm làm sáng tỏ các bài thuốc y học cổ truyền cũng như nghiên cứu tìm kiếm các chất có hoạt tính sinh học, chúng tôi đã nghiên cứu thành phần hóa học của cây này và đã đạt được một số kết quả bước đầu.

Trong bài báo này, chúng tôi công bố kết quả chiết tách và xác định cấu trúc của 4 chất: triclin (**1**), (+)-lariciresinol (**2**), (-)-secoisolariciresinol (**3**) và daphnoretin (**4**) từ dịch chiết

diclometan của cành cây này.

### II - THỰC NGHIỆM

#### 1. Hóa chất thiết bị

Các phổ sau đây được đo tại Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Phổ FT-IR được đo trên máy Nicolet IMPACT 410 (CHLB Đức). Phổ khối lượng được đo trên máy MS 5989B (Hewlett Parkerd, Mỹ). Phổ cộng hưởng từ proton (500 MHz) và cacbon-13 (125 MHz) được đo trên máy AVANCE 500 (Bruker, CHLB Đức). Điểm nóng chảy đo trên máy Buchi B-545.

#### 2. Mẫu thực vật

Mẫu cây Niết gió được thu hái vào tháng 11-2004 tại Nam Đông, Tỉnh Thừa-Thiên-Huế. Tên Khoa học đã được nhà thực vật Nguyễn Kim Đào, phòng Sinh thái Thực vật, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam xác định. Mẫu tiêu bản được lưu tại phòng Hóa bảo vệ Thực vật Viện Hóa học.

#### 3. Xử lý và chiết tách

Mẫu thực vật được phơi và sấy khô ở 45°C,

nghiên nhỏ rồi ngâm chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần từ *n*-hexan đến diclometan và cuối cùng là etanol. Phần dịch diclometan được loại dung môi dưới áp suất thấp, cặn được phân tách bằng sắc ký cột silicagel, dung môi giải hấp là *n*-hexan/EtOAc (9:1, 8:2,...) và EtOAc/MeOH (9:1, 8:2,...). Các phân đoạn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột thường, cột trung áp với các hệ dung môi thích hợp thu được các chất **1**, **2**, **3** và **4**.

**Chất triclin (1):** Tiến hành sắc ký cột MPLC silicagel (cỡ hạt 0,015 - 0,04 mm) với hệ dung môi CHCl<sub>3</sub>/EtOAc gradien thu được chất triclin (**1**). Chất **1** được kết tinh trong axeton ở dạng tinh thể hình kim màu vàng, điểm nóng chảy 276 - 278°C.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, axeton); δ(ppm): 3,98 (6H, s, 3'-OCH<sub>3</sub> và 5'-OCH<sub>3</sub>); 6,27 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-6); 6,46 (1H, d, J = 2 Hz, H-8); 6,74 (1H, s, H-3); 7,40 (2H, s, H-2' và H-6'); 13,02 (1H, s, 5-OH).

<sup>13</sup>C-NMR: 165,1 (C-2); 104,7 (C-3); 183,1 (C-4), 158,8 (C-5); 99,8 (C-6); 165,1 (C-7); 94,8 (C-8); 103,4 (C-4a); 163,4 (C-8a); 122,4 (C-1'); 105,3 (C-2'); 149,2 (C-3'); 141,1 (C-4'); 149,2 (C-5'); 105,3 (C-6'); 57,0 (3'-OCH<sub>3</sub>); 57,0 (5'-OCH<sub>3</sub>).

FT-IR (KBr) ν<sub>max</sub> 3392, 1656, 1614, 1504, 1460, 1359 và 1117.

EI-MS (70 eV) *m/z*: 330 [M]<sup>+</sup>; 301, 178 và 153.

**Chất (+)-lariciresinol (2):** Chạy sắc ký cột MPLC silicagel (0,015 - 0,040 mm), hệ dung môi CHCl<sub>3</sub>/MeOH thu được chất **2**. Chất **2** được kết tinh lại trong CHCl<sub>3</sub> ở dạng tinh thể hình kim màu trắng, điểm nóng chảy 163 - 165°C.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>); δ(ppm): H-7 (2,92; dd; J = 5,0; J = 13,5 Hz và 2,55; dd; J = 11,0; J = 13,5 Hz); H-9 (4,06; dd; J = 7; J = 8,5 Hz và 3,75; dd; J = 6,5; J = 8,5 Hz); H-9' (3,93; m và 3,79; dd; J = 6; J = 11 Hz); 2,41 (1H, t, J = 7,0 Hz, H-8'); 2,73 (1H, dd, J = 5,0 và J = 11 Hz, H-8); 4,79 (1H, d, J = 6,5 Hz, H-7'); 6,68 (2H, dd, J = 1,5 và J = 5 Hz, H-2 và H-5); 6,84 (1H, d, J = 8,5 Hz, H-6); 6,87 (1H, d, J = 5 Hz, H-2'); 6,81 (1H, dd, J = 8,5 và J = 2,0 Hz, H-5'); 6,86 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-6'); 3,89 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>); 3,87 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR: 132,3 (C-1); 111,24 (C-2); 146,55 (C-3); 144,03 (C-4); 114,44 (C-5); 121,23 (C-6); 33,36 (C-7); 42,44 (C-8); 72,92 (C-9); 134,82 (C-1'); 108,35 (C-2'); 146,66 (C-3'); 145,07 (C-4'); 114,21 (C-5'); 118,78 (C-6'); 82,86 (C-7'); 52,62 (C-8'); 60,96 (C-9'); 55,95 (3-OCH<sub>3</sub> và 3'-OCH<sub>3</sub>).

EI-MS (70 eV) *m/z*: 360 [M]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub> +16° (c 1,0; CH<sub>3</sub>OH).

**Chất (-)-secoisolariciresinol (3):** Tiến hành chạy sắc ký cột silicagel cỡ hạt 0,04 - 0,063 mm với hệ dung môi CHCl<sub>3</sub>/MeOH gradien và cột Sephadex LH20, thu được chất **3**. Chất **3** được kết tinh lại trong CHCl<sub>3</sub>/MeOH có dạng tinh thể hình kim màu trắng, điểm nóng chảy 103 - 105°C.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, MeOD); δ(ppm): H-7 và H-7' (2,59; dd; J = 7,5; J = 13,5 Hz và 2,68; dd; J = 7,5; J = 13,5 Hz); 1,93 (2H; m; H-8 và H-8'); 6,13 (2H; d; J = 1,5 Hz; H-2 và H-2'); 6,68 (2H; d; J = 8 Hz; H-5 và H-5'); 6,57 (2H; dd; J = 1,5; J = 8 Hz; H-6 và H-6'); 3,61 (4 H; m; H-9 và H-9'); 3,76 (6H; s; 3-OCH<sub>3</sub> và 3'-OCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR: 133,85 (C-1 và C-1'); 113,36 (C-2 và C-2'); 148,75 (C-3 và C-3'); 145,41 (C-4 và C-4'); 115,76 (C-5 và C-5'); 122,68 (C-6 và C-6'); 35,99 (C-7 và C-7'); 44,09 (C-8 và C-8'); 62,08 (C-9 và C-9'); 56,16 (3-OCH<sub>3</sub> và 3'-OCH<sub>3</sub>).

IR (KBr): ν<sub>max</sub> 3433, 1607, 1512, 1269, 1154 và 804.

EI-MS (70 eV) *m/z*: 362 [M]<sup>+</sup>; [α]<sub>D</sub> - 30° (c 1,0, CH<sub>3</sub>OH).

**Chất daphnoretin (4):** Tiến hành chạy sắc ký cột silicagel cỡ hạt 0,04 - 0,063 mm với hệ dung môi *n*-hexan/EtOAc gradien, thu được chất **4**. Chất **4** được kết tinh lại trong CHCl<sub>3</sub>/MeOH ở dạng tinh thể hình kim màu vàng, điểm nóng chảy 245 - 246°C.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>); δ(ppm): 7,87 (1H; s; H-4); 7,21 (1H; s; H-5); 6,86 (1H; s; H-8); 6,38 (1H; d; J = 9,5 Hz; H-3'); 8,04 (1H; J = 9,5 Hz; H-4'); 7,70 (1H; d; J = 8,5 Hz; H-5'); 7,10 (1H; d; J = 8,5 Hz; H-6'); 7,17 (1H; s; H-8'); 3,82 (3H; s; 6-OCH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C-NMR}$ : 159,9 (C-2); 135,7 (C-3); 130,9 (C-4); 109,4 (C-5); 145,7 (C-6); 150,3 (C-C-7); 102,7 (C-8); 110,1 (C-4a); 147,4 (C-8a); 159,6 (C-2'); 113,9 (C-3'); 141,0 (C-4'); 130,0 (C-5'); 113,4 (C-6'); 156,9 (C-7'); 104,0 (C-8'); 114,4 (C-4a'); 155,0 (C-8a'); 56,0 (6-OCH<sub>3</sub>).

IR (KBr):  $\nu_{\text{max}}$  3336, 1706, 1609, 1280, 1130 và 848.

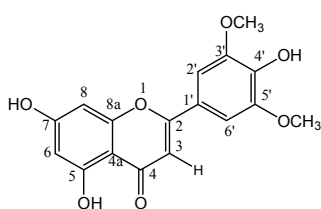
EI-MS (70 eV)  $m/z$ : 352 [M]<sup>+</sup>; 309, 179 và 146.

### III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

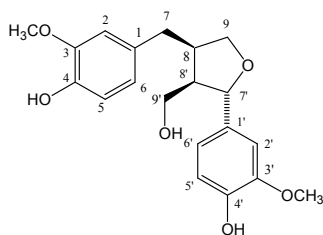
Dịch chiết diclometan của cành cây Niệt gió được chạy sắc ký cột nhiều lần trên silicagel với hệ dung môi giải hấp là *n*-hexan/etylaxetat và etylaxetat/metanol. Các chất thu được lần lượt là: tricrin (**1**), (+)-lariciresinol (**2**), (-)-secoisolariciresinol (**3**), daphnoretin (**4**).

\* Chất **1** có pic ion phân tử  $m/z$  330 [M]<sup>+</sup> trên phổ khối và chạm electron (EI-MS), ứng với

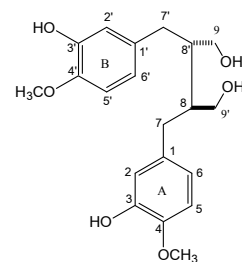
công thức phân tử C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>. Phổ hồng ngoại có giải hấp thụ ở 3392 cm<sup>-1</sup> đặc trưng cho nhóm OH trong phân tử; 1656 cm<sup>-1</sup> đặc trưng cho nhóm cacbonyl có liên kết cầu hidro nội phân tử. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  chỉ ra tín hiệu singlet (6H) ở  $\delta_{\text{H}}$  3,98 ppm của 2 nhóm metoxy; tín hiệu các proton ở vị trí 3, 6, 8, 2' và 6' của khung flavon ở vùng trường thấp ( $\delta_{\text{H}}$  6,74, 6,27, 6,56, 7,40 và 7,40 ppm tương ứng). Tín hiệu proton của nhóm hidroxy chuyển về trường rất thấp do tạo liên kết hidro nội phân tử với nhóm C=O ở vị trí 4 ( $\delta_{\text{H}}$  13,02, 1H, s, OH-5). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  cho tín hiệu của 2 nhóm metoxy ở  $\delta_{\text{C}}$  57,01 ppm; ngoài ra còn có các tín hiệu của 5 cacbon của vòng thơm ở  $\delta_{\text{C}}$  158,8 (C-5);  $\delta_{\text{C}}$  165,1 (C-7);  $\delta_{\text{C}}$  149,2 (C-3' và C-5');  $\delta_{\text{C}}$  141,1 (C-4') và tín hiệu của nhóm cacbonyl ở  $\delta_{\text{C}}$  183,1 (C-4). Từ các dữ liệu về phổ khối, phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C-NMR}$  và phổ DEPT, so sánh với các dữ kiện phổ đã công bố của tricrin, có thể khẳng định chất **1** là tricrin [2].



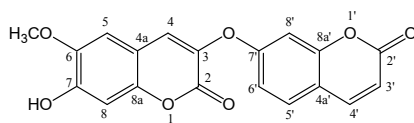
**1:** Tricin



**2:** (+)-Lariciresinol



**3:** (-)-Secoisolariciresinol



**4:** Daphnoretin

\*Chất **2** có pic ion phân tử  $m/z$  360 [M]<sup>+</sup> trên phổ khối và chạm electron (EI-MS), ứng với công thức phân tử C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub>. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  cho 2 tín hiệu singlet của 2 nhóm metoxy ở  $\delta_{\text{H}}$  3,89 và 3,88 ppm; tín hiệu proton của 3 nhóm metylen: CH<sub>2</sub>-9 ( $\delta_{\text{H}}$  4,06; dd; J = 7; J = 8,5 Hz và 3,75;

dd; J = 6,5; J = 8,5 Hz), CH<sub>2</sub>-9' ( $\delta_{\text{H}}$  3,92; m và 3,79; dd; J = 6; J = 11,5 Hz) và CH<sub>2</sub>-7 ( $\delta_{\text{H}}$  2,92; dd; J = 5,0; J = 13,5 Hz và 2,55; dd; J = 11,0; J = 13,5 Hz). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  cũng cho kết quả phù hợp với thông tin từ phổ  $^1\text{H-NMR}$ . Tín hiệu của nhóm hidroxy methyl C-9' ở  $\delta_{\text{C}}$  60,96 ppm và tín

hiệu của 2 nhóm metylen C-9 ở  $\delta_C$  72,92; C-7 ở  $\delta_C$  33,36 ppm. Tín hiệu cacbon của 2 nhóm metoxy ở  $\delta_C$  55,95 ppm; ngoài ra có các tín hiệu của 2 cacbon bậc bốn gắn trực tiếp với nhóm metoxy C-3' ( $\delta_C$  146,66); C-3 ( $\delta_C$  146,55) và 2 cacbon bậc bốn gắn trực tiếp với nhóm hydroxy C-4 ( $\delta_C$  144,03) và C-4' ( $\delta_C$  145,07). Thông tin từ phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR, DEPT cho thấy chất **2** có 20 nguyên tử cacbon, trong đó có 3 nhóm  $\text{CH}_2$ ; 6 cacbon bậc bốn; 9 nhóm CH và 2 nhóm metoxy. Phổ HMBC (có sự tương tác của H-7' với C-1', C-2', C-6', C-8, C-9'; H-7 với C-1, C-2, C-6, C-8, C-9; H-9 với C-7, C-8, C-8'; H-9', C-7', C-8, C-8'). Qua phân tích các phổ 1 chiều, 2 chiều cũng như so sánh điểm nóng chảy, chỉ số quay cực  $\alpha_D$  và phổ  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR với các số liệu tương ứng của tài liệu [3] cho phép kết luận chất **2** là (+)-lariciresinol.

\* Chất **3** có pic ion phân tử  $m/z$  362  $[\text{M}]^+$  trên phổ khối và chạm electron (EI-MS), ứng với công thức phân tử  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6$ . Phổ hồng ngoại có dải hấp thụ ở  $3433\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho nhóm OH,  $1607, 1512\text{ cm}^{-1}$  (aromatic  $-\text{C}=\text{C}-$ ). Phổ  $^1\text{H}$ -NMR có tín hiệu singlet ở  $\delta_H$  3,76 ppm của 2 nhóm metoxy; tín hiệu doublet kép của 2 nhóm metylen ở vị trí 7 ở  $\delta_H$  2,59 và  $\delta_H$  2,68 ppm; và ở vị trí 7'  $\delta_H$  2,59 và  $\delta_H$  2,68 ppm. Trên phổ  $^1\text{H}$ -NMR còn có các tín hiệu multiplet của 2 nhóm metylen H-9 và H-9' ở  $\delta_H$  3,61 ppm; tín hiệu multiplet của 2 nhóm metil (H-8 và H-8') ở  $\delta_H$  1,93 ppm. Các tín hiệu doublet và doublet kép của các proton vòng benzen vị trí 2; 5; 6 ở  $\delta_H$  6,13;  $\delta_H$  6,68 và  $\delta_H$  6,57 ppm tương ứng. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR có tín hiệu nhóm metoxy ở  $\delta_C$  44,9 ppm; tín hiệu của các nhóm metylen vị trí 7; 7'; 9 và 9' ở  $\delta_C$  35,99 và  $\delta_C$  62,1 ppm. Ngoài ra các tín hiệu của cacbon vòng thơm gắn trực tiếp với nhóm hydroxy ở  $\delta_C$  145,4 ppm và gắn với nhóm metoxy ở  $\delta_C$  148,8 ppm. Trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR và phổ DEPT cho thấy **3** có 20 nguyên tử cacbon, trong đó có 4 nhóm  $\text{CH}_2$  (2 nhóm  $\text{CH}_2$  gắn với nhóm OH), 8 nhóm CH, 6 cacbon bậc bốn và 2 nhóm metoxy. Phổ H- H COSY có tương tác của H-8 với H-7 và H-9. Phổ HMBC của **3** cho thấy có tương tác của H-7 với C-1, C-2, C-6, C-8, C-9; H-8 với C-7, C-1, C-9; H-9 với C-7, C-8. Từ những phân tích trên ta thấy vòng A được nối

với C-7 tại C-1, tương tự vòng B được nối với C-7' tại C-1'. Từ các số liệu phổ nhận được, so sánh với các dữ liệu phổ đã công bố của (-)-secoisolariciresinol, có thể khẳng định chất **3** là (-)-secoisolariciresinol [4].

\*Chất **4** có pic ion phân tử  $m/z$  352  $[\text{M}]^+$  trên phổ khối và chạm electron (EI-MS), ứng với công thức phân tử  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{O}_7$ . Phổ hồng ngoại có dải hấp thụ ở  $3336\text{ cm}^{-1}$  (OH),  $1706\text{ cm}^{-1}$  ( $-\text{C}=\text{O}$ ),  $1609, 1504\text{ cm}^{-1}$  (aromatic  $-\text{C}=\text{C}-$ ),  $1280\text{ cm}^{-1}$  ( $=\text{C}-\text{O}-$ ). Phổ  $^1\text{H}$ -NMR cho tín hiệu singlet của nhóm metoxy ở  $\delta_H$  3,82 ppm; ngoài ra còn có các tín hiệu singlet và doublet của vòng thơm ở vùng trường thấp ( $\delta_H$  7,21 ppm, 1H, s, H-5; 6,8 ppm 1H, s, H-8; 7,70 ppm, 1H, d, J = 8,5, H-5'; 7,71, 1H, d, J = 8,5, H-6'; 7,17 ppm, 1H, s, H-8'). Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của chất **4** cho tín hiệu nhóm metoxy ở  $\delta_C$  56,0 ppm; các tín hiệu của nhóm xeton tại  $\delta_C$  159,9 (C-2),  $\delta_C$  159,6 (C-2'); bên cạnh đó còn có các tín hiệu của 2 cacbon bậc bốn của vòng thơm ở  $\delta_C$  145,7;  $\delta_C$  150,3 là của C-6 và C-7 và các tín hiệu của cacbon trong vòng benzen và cacbon của nối đôi ở vùng trường thấp. Trên phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR, DEPT cho thấy chất **4** có 19 nguyên tử cacbon trong đó 1 nhóm metoxy, 8 nhóm CH, 10 cacbon bậc bốn. Từ các dữ liệu về phổ khối, phổ hồng ngoại và phổ cộng hưởng từ hạt nhân  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR, phổ DEPT và có so sánh với các dữ kiện phổ của chất daphnoretin, có thể khẳng định chất **4** là daphnoretin [5].

#### IV- KẾT LUẬN

Đã tiến hành nghiên cứu hóa thực vật cây Niết gió thu tại Nam Đông, Tỉnh Thừa-Thiên-Huế. Từ dịch chiết diclometan của cành của cây này đã phân lập và xác định cấu trúc của 4 chất là: tricinin, (+)-lariciresinol, (-)-secoisolariciresinol và daphnoretin.

**Lời cảm ơn:** Công trình này được thực hiện với sự giúp đỡ về tài chính của Dự án hợp tác Quốc tế về nghiên cứu sàng lọc các chất có hoạt tính để chữa bệnh nhiệt đới, các bệnh hiểm nghèo từ một số loài thực vật và một số sinh vật biển Việt Nam giữa Viện Hóa học và Công ty TIBOTEC (Vương quốc Bỉ).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ. Cây cỏ Việt Nam, quyển II, Nxb. Trẻ, Tr. 36 - 41 (2000).
2. Kuo-Hsiung Lee, Kiyoshi Tagahara, Hideyo Suzuki, Rong-Yang Wu. Mitsumasa and Iris H. Hall., 44 (5), P. 530 - 535 (1981).
3. Sebastiao Ferreira Fonseca, Jayr De Paiva Campello, Lauro E. S. Barata and Edmundo A. Ruveda. Phytochem., 17, P. 499 - 502 (1978).
4. Nikolas Fokialakis, Prokopios Magitis, Sofia Mitaku, Harris Pratsinis, Francois Tillequin. Planta Med, 69, P. 566 - 568 (2003).
5. Lie-Chwen Lin, Kuo-Yi Yang, Yen-Fei Chen, Shau-Chun Wang, Tung-Hu Tsai. J. Chroma. A, 1073, P. 285 - 289 (2005).
6. A. Kato and Y. Hashimoto. J. natural products, 44 (2), P. 159 - 192 (1979).
7. L. D. Greng, C. Zhong, Y. Q. Xiao Zhonggua Zhong Yao Za Zhi, Jan, 31 (1), P. 43 - 45 (2006).