

#### 4. Kết luận

Hai hợp chất alcaloid iridoid glycosid và 3 hợp chất bis-iridoid glycosid đã được phân lập từ rễ loài tục đoạn- *Dipsacus japonicus*; cấu trúc của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1 chiều (1D-NMR), 2 chiều (2D-NMR). Các hợp chất 2-5 lần đầu tiên được phân lập

từ loài *D. japonicus*, tuy nhiên chúng đã được phân lập từ các loài thuộc chi *Dipsacus* (*D. asper*, *D. sylvestris*) điều đó cho thấy mối quan hệ gần gũi của *D. japonicus* với các loài khác thuộc chi *Dipsacus*.

**Lời cảm ơn:** Công trình này được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của đề tài KHCN Trọng điểm - Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, mã số: TĐNDTP.05/19-21.

#### Tài liệu tham khảo

1. Võ Văn Chi (2012). Từ điển cây thuốc Việt Nam. NXB Y học - Hà Nội, Tập 2, 1106-1107.
2. Trịnh Thị Thủy, Trần Văn Sung, Guenter Adam (1999), Nghiên cứu thành phần hóa học cây tục đoạn *Dipsacus japonicus*. I - Các hợp chất iridoid và bis-iridoid glycozit. *Tap chí Hóa học*, 37, 64-69.
3. Trịnh Thị Thủy, Trần Văn Sung, Guenter Adam (2002), Nghiên cứu thành phần hóa học cây tục đoạn (*Dipsacus japonicus*). II - Các hợp chất triterpen glycosid. *Tap chí Hóa học*, 40, 14-19.
4. Miao Z. C., Feng R., Zhou Y. X., Wei F. (2000), Chemical structure and NMR of a new saponin from *Dipsacus japonicus* (Dipsacaceae). *Acta Botanica Sinica*, 42, 421-426.
5. Ba Thi Cham, Nguyen Thi Thuy Linh, Do Thi Thao, Nguyen Thi Hoang Anh, Nguyen Thanh Tam, Bui Kim Anh, Muscari Isabella, Adorisio Sabrina, Tran Van Sung, Trinh Thi Thuy, Delfino V. Domenico (2020), Cell Growth Inhibition of Saponin XII from *Dipsacus japonicus* Miq. on Acute Myeloid Leukemia Cells. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25, 3325.
6. Monks A., Scudiero D., Skehan P., Shoemaker R., Paull K., Vistica D., Hose C., Langley J., Cronise P., Vaigro-Wolff A., Gray-Goodrich M., Campbell H., Mayo J., Boyd, M. (1991), Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *Journal of the National Cancer Institute*, 83, 757-766.
7. Koichi Machida, Junko Asano, Masao Kikuchi (1995), Caeruleosides A and B, bis-iridoid glucosides from *Lonicera caerulea*. *Phytochemistry*, 39 111-114.
8. Yu Z., Wang Y., Yu S., Bao J., Yu J., Zhang H. (2019), Absolute structure assignment of an iridoid-monoterpenoid indole alkaloid hybrid from *Dipsacus asper*. *Fitoterapia*, 135, 99-106.
9. Li F., Tanaka K., Watanabe S., Tezuka Y., Saiki I. (2013), Dipasposide A, a novel pyridine alkaloid-coupled iridoid glucoside from the roots of *Dipsacus asper*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 61, 1318-1322.
10. Ma W. G., W. D. Z., Xeng Y. L., Yang C. R. (1992), Iridoidal glycosides from *Triplotegia grandiflora*. *Acta Botanica Yunnanica*, 14, 92-96.
11. Konstantia Graikou, Nektarios Aligiannis, Ioanna B. Chinou, Catherine Harvala (2002), Cantleyoside-dimethyl-acetal and other iridoid glucosides from *Pteroccephalus perennis*-antimicrobial activities. *Zeitschrift Naturforschungs C*, 57, 95-99.
12. Akos Kocsis, László F. Szabó, Benjamin Podányi (1993), New Bis-Iridoids from *Dipsacus laciniatus*. *Journal of Natural Products*, 56, 1486-1499.
13. Xiao-Yan Tian, Ying-Hong Wang, Hong-Yue Liu, Shi-Shan Yu, Wei-Shuo Fang (2007), On the chemical constituents of *Dipsacus asper*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 55, 1677-1681.
14. Søren Rosendal Jensen, Svend Erik Lyse-Petersen, Bent Juhl Nielsen (1979), Novel bis-iridoid glucosides from *Dipsacus sylvestris*. *Phytochemistry*, 18, 273-277.

**Tap chí Dược liệu, tập 26, số 4/2021 (Trang 216 - 221)**

### CÁC HỢP CHẤT DIOSGENIN GLYCOSID TỪ THÂN RỄ BẦY LÁ MỘT HOA VIỆT NAM

Nguyễn Thị Thu<sup>1</sup>, Vũ Thành Duy<sup>1</sup>, Nguyễn Trà My<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Hà Ly<sup>1</sup>, Hoàng Thị Diệu Hương<sup>1</sup>,  
Trịnh Phương Anh<sup>1</sup>, Hà Vân Oanh<sup>2</sup>, Nguyễn Minh Khởi<sup>1</sup>, Đỗ Thị Hà<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Dược liệu; <sup>2</sup>Đại học Dược Hà Nội

\*Email: hado.nimms@gmail.com hoặc hado.vdl@nimm.org.vn

(Nhận bài ngày 06 tháng 7 năm 2021)

#### Tóm tắt

Năm hợp chất saponin đã được phân lập từ thân rễ bầy lá một hoa Việt Nam, bao gồm trillin (1), (25R)-diosgenin-3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosid (2), ophiopogonin C' (3), dioscin (4) và polyphyllin D (5). Cấu trúc của các hợp chất này được xác bằng các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), phổ khối lượng phân tử (MS) và so sánh với dữ liệu phổ đã công bố. Hợp chất 1 lần đầu tiên được báo cáo từ loài này.

**Từ khóa:** *Paris vietnamensis*, Saponin, *Diosgenin-3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosid*, Trillin, *Ophiopogonin C'*, *Dioscin*, *Polyphyllin D*.

#### Summary

#### Diosgenin Glycosides from the Rhizomes of *Paris vietnamensis* (Takht) H.Li

Five saponins were isolated from the rhizomes of *Paris vietnamensis* including trillin (1), (25R)-diosgenin-3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranoside (2), ophiopogonin C' (3), dioscin (4), and polyphyllin D (5). Their chemical structures were identified by using spectroscopic methods (MS and NMR), and comparison with literature data. This is the first report on the presence of compound 1 from *P. vietnamensis*.

**Keywords:** *Paris vietnamensis*, Saponin, *Diosgenin-3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranoside*, *Ophiopogonin C'*, *Dioscin*, *Polyphyllin D*.

#### 1. Đặt vấn đề

Chi *Paris* L. (họ Trọng lâu - Trilliaceae) là một trong số nhiều chi thực vật được sử dụng làm thuốc tại Việt Nam [1]. Bộ phận thường dùng là thân rễ, chứa thành phần chính là các saponin [2]. Y học cổ

truyền Việt Nam, Trung Quốc, Ấn Độ... sử dụng thân rễ các loài chi *Paris* L. để chữa một số bệnh như rần rần, sưng tấy, tiêu đờm, hen suyễn... [3],[4]. Các nghiên cứu về dược lý cho thấy các saponin ở trong chi này có nhiều tác dụng sinh học tiềm năng trên tế

bào ung thư, điều hòa miễn dịch, kháng khuẩn, trị nấm... [5],[6].

*P. vietnamensis* (Takht) H.Li - Bày lá một hoa Việt Nam, một loài thuộc chi *Paris* L., phân bố chủ yếu ở khu vực rừng núi Bắc Bộ, Bắc Trung Bộ và Tây Nguyên ở nước ta [7]. So với một số loài cùng chi, *P. vietnamensis* (Takht) H.Li chưa có nhiều nghiên cứu về cả thành phần hóa học và tác dụng sinh học. Một số công bố cho thấy *P. vietnamensis* có thành phần chính là các saponin (diosgenin-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-( $\alpha$ -L-arabinofuranosyl(1 $\rightarrow$ 4)-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosid, diosgenin-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)-( $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2))-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosid, 26-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl-22-methoxyfurost-5-en-3 $\alpha$ ,26-diol-3-*O*- $\beta$ -gracillimatriosid, 25*R*-spirost-5-en-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -diol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosid, (25*R*)-spirost-5-en-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -diol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucopyranosid, (25*R*)-spirost-5-en-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -diol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)-6-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosid, penogenin-3- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glucopyranosid... [6],[8],[9],[10],[11] với các tác dụng như gây độc đối với các dòng tế bào ung thư [6], ngăn ngừa sự tăng sinh của tế bào u nguyên bào thần kinh đệm và tế bào u nguyên bào thần kinh đệm kháng temozolomid (U87R) [11], kích thích tế bào cơ tim *in vitro* cũng như làm tăng sự hấp thu calci vào tế bào cơ tim [12] và ức chế sự phát triển của các vi sinh vật [6].

Với mục tiêu bổ sung dữ liệu hóa học về nhóm hợp chất saponin từ loài bày lá một hoa Việt Nam, trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày về kết quả phân lập và xác định cấu trúc của 5 hợp chất saponin từ thân rễ của loài này.

## 2. Nguyên liệu, hóa chất và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên liệu

Được liệu thân rễ bày lá một hoa Việt Nam [*Paris vietnamensis* (Takht) H.Li, họ Trọng lâu (Trilliaceae)] thu hái tại xã Ngũ Chỉ Sơn, Sapa, Lào Cai vào tháng 11 năm 2020. Mẫu nghiên cứu được cung cấp bởi ThS. Nguyễn Tiến Dũng - Viện Nghiên cứu và Phát triển vùng-Bộ KH&CN Việt Nam và được giám định tên khoa học bởi Khoa Tài nguyên Dược liệu - Viện Dược liệu. Mẫu được lưu tại Khoa Hóa Phân tích - Tiêu chuẩn, Viện Dược liệu. Mẫu được liệu được xay thô và bảo quản trong túi nilon để nơi khô ráo.

### 2.2. Hóa chất, dung môi

Các dung môi dùng trong chiết xuất và phân lập là các dung môi công nghiệp được cất lại trước khi dùng như: ethanol, *n*-hexan, ethyl acetat (EtOAc), methanol (MeOH), cloroform (C), dicloromethan (DCM), aceton (Việt Nam).

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

Được liệu được chiết hồi lưu bằng EtOH 70%. Lọc loại bã được liệu, gộp các dịch chiết và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được dạng hỗn dịch chiết tổng trong dung môi ethanol thấp độ. Ly tâm tách riêng phần tủa và phần dịch. Phần tủa tách riêng được sấy khô.

Phân lập các hợp chất bằng sắc ký cột với chất hấp phụ là *silica gel* pha thường (0,040 - 0,063 mm, Merck), pha đảo RP-C<sub>18</sub> (30-50  $\mu$ m, Fujisilisa Chemical Ltd). Theo dõi các phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng pha thường DC-Alufolien 60 F<sub>254</sub> (Merck, *silica gel*, 0,25 mm) và pha đảo RP-18 F<sub>254</sub> (Merck, 0,25 mm). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 và 366 nm hoặc dùng dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% trong EtOH 96%, hơi nóng để phát hiện vết chất.

Xác định cấu trúc của các hợp chất phân lập được dựa trên các dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân (Bruker AM 500/600 FT-NMR spectrometer với chất chuẩn nội là TMS của Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học & Công nghệ Việt Nam), phổ khối [hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng ghép nối với detector khối phổ từ cực chậm ba LC-MS/MS và detector DAD (Shimadzu, Nhật Bản)] và kết hợp so sánh với tài liệu tham khảo.

### 2.4. Chiết xuất và phân lập các hợp chất

6,0 kg được liệu thân rễ bày lá một hoa Việt Nam khô sau khi xay nhỏ, được chiết nóng với EtOH 70% 3 lần, mỗi lần 3h ở 80°C, tỉ lệ được liệu/dung môi là 1:6 (kg/L). Lọc loại bã được liệu và gom dịch chiết thu hồi dung môi dưới áp suất giảm đến khi xuất hiện tủa. Ly tâm tách tủa và dịch. Phần tủa sau khi ly tâm được làm khô bằng tủ sấy ở nhiệt độ 60°C thu được 567,0 g. Phân tách phần tủa (555,0 g) thành 17 phân đoạn (PVR1-17) bằng sắc ký cột *silica gel* và rửa giải bằng DCM (100%), EtOAc (100%) và hệ dung môi DCM-MeOH (9:1, 7:3, v/v) và MeOH. Phân đoạn PVR10 (1,08 g) được chia thành 7 phân đoạn (PVR10.1-10.7) bằng sắc ký cột *silica gel* với hệ dung môi rửa giải DCM-MeOH (9:1, v/v). Phân tách phân đoạn PVR10.7 (0,35 g) bằng sắc ký cột pha đảo với hệ dung môi rửa giải aceton-nước (3:2, 7:3, v/v) thu được 10 phân đoạn (PVR10.7.1-10.7.10). Hai hợp chất 1 (3,3 mg) và 2 (8,9 mg) thu được từ phân đoạn PVR10.7.7 (40,0 mg) bằng sắc ký cột *silica gel* với hệ dung môi rửa giải C-EtOAc-MeOH-H<sub>2</sub>O (6:38:11:10, v/v/v/v). Phân tách phân đoạn PVR12 (10,0 g) bằng sắc ký cột *silica gel* với hệ dung môi rửa giải DCM-MeOH (4:1 - 2:3, v/v) thu được 6 phân đoạn (PVR12.1-12.6). Phân đoạn PVR12.5 (5,0 g) được phân tách bằng sắc ký cột pha đảo, rửa giải bằng hệ aceton-nước (6:4, v/v) thu được 4 phân đoạn (PVR12.5.1-12.5.5). Tinh chế phân đoạn PVR12.5.1 (2,0 g) bằng sắc ký cột pha đảo với hệ dung môi rửa giải aceton-nước (2:3, 7:3, v/v) thu được các hợp chất 4 (10,0 mg) và 5 (5,0 mg). Hợp



chất 3 (15,0 mg) thu được từ phân đoạn PVR12.5.3 (1,0 g) bằng sắc ký cột *silica gel* với hệ dung môi rửa giải là EtOAc-MeOH-H<sub>2</sub>O (17:2:1, v/v/v).

Hợp chất 1: Dạng bột màu trắng; APCI-MS: 577,50 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, pyridin-*d*<sub>5</sub>) δ<sub>H</sub>: 3,86 (1H, m, H-3), 5,26 (1H, brd, *J* = 4,8 Hz, H-6), 4,50 (1H, m, H-16), 0,78 (3H, s, H-18), 0,85 (3H, s, H-19), 1,09 (3H, d, *J* = 6,6 Hz, H-21), 3,44 (1H, m, H-26), 3,54 (1H, m, H-26), 0,64 (3H, d, *J* = 5,4 Hz, H-27); 3-*OGlc*: 4,97 (1H, d, *J* = 7,2 Hz, H-1'), 3,99 (1H, t, *J* = 8,4 Hz, H-2'), 4,25 (1H, m, H-3'), 4,16 (1H, m, H-4'), 3,93 (1H, m, H-5'), 4,29 (1H, m, H-6'), 4,48 (1H, m, H-6'); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, pyridin-*d*<sub>5</sub>): Bảng 1.

Hợp chất 2: Dạng bột màu trắng; APCI-MS: 709,55 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, pyridin-*d*<sub>5</sub>) δ<sub>H</sub>: 3,85 (1H, m, H-3), 5,25 (1H, s, H-6), 4,50 (1H, m, H-16), 0,79 (3H, s, H-18), 0,90 (3H, s, H-19), 1,09 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, H-21), 3,45 (1H, m, H-26), 3,56 (1H, m, H-27), 0,66 (3H, brs, H-27); 3-*OGlc*: 4,92 (1H, d, *J* = 7,5 Hz, H-1'), 3,96 (1H, m, H-2'), 4,22 (1H, m, H-3'), 4,36 (1H, m, H-4'), 3,78 (1H, m, H-5'), 4,21-4,30 (2H, m, H-6'); 4'-*Ara*: 5,94 (1H, brd, *J* = 2,0 Hz, H-1''), 4,85 (1H, m, H-2''), 4,75 (1H, m, H-3''), 4,90 (1H, m, H-4''), 4,10 (1H, m, H-5''), 4,22 (1H, m, H-5''); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, pyridin-*d*<sub>5</sub>): Bảng 1.

Hợp chất 3: Dạng bột màu trắng; ESI-MS: 745,65 [M+Na]<sup>+</sup>, 721,60 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, pyridin-*d*<sub>5</sub>) δ<sub>H</sub>: 3,93 (1H, m, H-3), 5,29 (1H, brd, *J* = 0,5 Hz, H-6), 4,54 (1H, m, H-16), 0,81 (3H, s, H-18), 1,04 (3H, s, H-19), 1,12 (3H, d, *J* = 7,0 Hz, H-21), 3,48 (1H, m, H-26), 3,57 (1H, m, H-26), 0,68 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, H-27); 3-*OGlc*: 5,02 (1H, d, *J* = 7,5 Hz, H-1'), 4,24 (1H, m, H-2'), 4,14 (1H, m, H-3'), 3,87 (1H, m, H-4'), 4,26 (1H, m, H-5'), 4,29 (1H, m, H-6'), 4,50 (1H, m, H-6'), 2'-*Rha*: 6,35 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H-1''), 4,78 (1H, m, H-2''), 4,60 (1H, dd, *J* = 3,0; 9,0 Hz, H-3''), 4,32 (1H, m, H-4''), 4,96 (1H, m, H-5''), 1,75 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, H-6''); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, pyridin-*d*<sub>5</sub>): Bảng 1.

Hợp chất 4: Dạng bột màu trắng; ESI-MS: 891,65 [M+Na]<sup>+</sup>, 867,65 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, pyridin-*d*<sub>5</sub>) δ<sub>H</sub>: 3,86 (1H, m, H-3), 5,31 (1H, d, *J* = 4,8 Hz, H-6), 4,51 (1H, m, H-16), 0,82 (3H, s, H-18), 1,04 (3H, s, H-19), 1,12 (3H, d, *J* = 7,2 Hz, H-21), 3,49 (1H, m, H-26), 3,57 (1H, m, H-26), 0,68 (3H, d, *J* = 5,4 Hz, H-27); 3-*OGlc*: 4,93 (1H, d, *J* = 7,2 Hz, H-1'), 4,38 (1H, m, H-2'), 3,63 (1H, m, H-3'), 4,21 (2H, m, H-4', H-5'), 4,20 (1H, m, H-6'), 4,08 (1H, dd, *J* = 3,0; 12,0 Hz, H-6'); 2'-*Rha*: 6,38 (1H, brs, H-1''), 4,81 (1H, m, H-2''), 4,60 (1H, m, H-3''), 4,33 (1H, m, H-4''), 4,95 (1H, m, H-5''), 1,61 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, H-6''); 4'-*Rha*: 5,83 (1H, brs, H-1''), 4,66 (1H, m, H-2''), 4,52 (1H, m, H-3''), 4,33 (1H, m, H-4''), 4,90 (1H, m, H-5''), 1,75 (3H, d, *J* = 6,6 Hz, H-6''); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, pyridin-*d*<sub>5</sub>): Bảng 1.

Hợp chất 5: Dạng bột màu trắng; APCI-MS: 913,50 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, pyridin-*d*<sub>5</sub>) δ<sub>H</sub>: 3,86 (1H, m, H-3), 5,30 (1H, d, *J* = 4,8 Hz, H-6), 4,52 (1H, m, H-16), 0,82 (3H, s, H-18), 1,04 (3H, s, H-19), 1,12 (3H, d, *J* = 7,2 Hz, H-21), 3,49 (1H, m, H-26), 3,57 (1H, m, H-26), 0,68 (3H, d, *J* = 5,4 Hz, H-27); 3-*OGlc*: 4,94 (1H, d, *J* = 7,8 Hz, H-1'), 4,18 (1H, m, H-2'), 4,31 (1H, m, H-3'), 3,75 (1H, m, H-4'), 4,84 (1H, m, H-5'), 4,14 (1H, m, H-6'), 4,22 (1H, m, H-6'); 2'-*Rha*: 6,26 (1H, brs, H-1''), 4,76 (1H, m, H-2''), 4,56 (1H, m, H-3''), 4,31 (1H, m, H-4''), 4,92 (1H, m, H-5''), 1,75 (3H, d, *J* = 6,0 Hz, H-6''); 4'-*Ara*: 5,90 (1H, d, *J* = 1,0 Hz, H-1''), 4,85 (1H, m, H-2''), 4,22 (1H, m, H-3''), 4,85 (1H, m, H-4''), 4,18 (1H, m, H-5''), 4,24 (1H, m, H-5''); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, pyridin-*d*<sub>5</sub>): Bảng 1.

### 3. Kết quả nghiên cứu và bàn luận

Từ cao EtOH 70% thân rễ loài bầy lá một hoa Việt Nam đã phân lập được 5 hợp chất saponin.

Hợp chất 1 thu được dưới dạng bột màu trắng. Phổ ESI-MS xuất hiện pic ion giả phân tử tại *m/z* 577,50 [M+H]<sup>+</sup> phù hợp với công thức phân tử là C<sub>33</sub>H<sub>52</sub>O<sub>8</sub>. Phổ 1D-NMR của 1 cho các tín hiệu đặc trưng của một saponin spirostan khung diosgenin với 4 nhóm methyl tại δ<sub>H</sub> 0,64 (d, *J* = 5,4 Hz), 0,78 (s), 0,85 (s), 1,09 (d, *J* = 7,0 Hz) và 1,75 (s); tín hiệu của một proton thế ba lần tại δ<sub>H</sub> 5,26 (brd, *J* = 4,8 Hz) và 27 carbon trong đó có hai nhóm methin tại δ<sub>C</sub> 62,4 (C-17), 81,0 (C-16) và 1 spiro carbon tại δ<sub>C</sub> 109,2 (C-22) [13]. Vị trí C-3 được xác định tại δ<sub>C</sub> 78,1 bằng tương tác trực tiếp H→C trên phổ HSQC và tương tác HMBC giữa H-19 (δ<sub>H</sub> 0,85) với C-1 (δ<sub>C</sub> 37,2) cùng với chuỗi tương tác COSY H-1/H-2/H-3. Cấu hình 25*R* được xác định giữa trên sự khác nhau về độ chuyển dịch hóa học giữa H-26a và H-26b (Δ<sub>ab</sub> = 0,10 < 0,48) [14]. Phổ <sup>13</sup>C-NMR và DEPT của 1 cho thấy tín hiệu của 33 carbon trong đó có 27 carbon diosgenin và 6 carbon thuộc phân glycosid với gốc đường 6 carbon. Mặt khác trên phổ <sup>1</sup>H-NMR cho tín hiệu của proton anomer tại δ<sub>H</sub> 4,97 (1H, d, *J* = 7,2 Hz, H-1') với hằng số tương tác proton anomer là 7,2 xác định cấu hình β của gốc đường glucopyranosyl. Tương tác H→C trực tiếp trên phổ HSQC xác định độ chuyển dịch hóa học của carbon anomer tại δ<sub>C</sub> 102,8 cũng như các carbon khác của gốc đường tại δ<sub>C</sub> 74,9 (C-2'), 78,1 (C-3'), 71,4 (C-4'), 78,1 (C-5') và 62,6 (C-6'). Vị trí của gốc đường được xác định tại C-3 thông qua tương tác HMBC giữa H-1' (δ<sub>H</sub> 4,97) với aglycon C-3 (δ<sub>C</sub> 78,0). Từ những dữ liệu phổ NMR và MS của 1 kết hợp với tài liệu tham khảo [15] có thể kết luận 1 là (25*R*)-diosgenin-3-*O*-β-D-glucopyranosid hay **trillin** (Hình 1).

Hợp chất 2 cũng thu được dưới dạng bột màu trắng. Công thức phân tử của 2 được xác định là C<sub>38</sub>H<sub>60</sub>O<sub>12</sub> thông qua tín hiệu *m/z* 709,55 [M+H]<sup>+</sup> trên phổ ESI-MS. Dữ liệu phổ 1D-NMR của 2 tương

tự như **1** ngoại trừ sự xuất hiện của gốc đường  $\alpha$ -L-arabinofuranose với tín hiệu của proton anomer tại  $\delta_H$  5,94 (1H, brd,  $J = 2,0$  Hz) và các tín hiệu khác nằm trong vùng trường 4,10–4,90 ppm cũng như các tín hiệu carbon tại  $\delta_C$  109,2, 82,6, 78,0, 86,4 và 62,4. Vị trí của các gốc đường được xác định thông qua các tương tác trên phổ COSY, HSQC và HMBC. Tương tác HMBC giữa H-1' ( $\delta_H$  4,92) với aglycon C-3 ( $\delta_C$  78,2), chuỗi tương tác quan sát được trên phổ COSY gồm H-1'/H-2'/H-3'/H-4'/H-5'/H-6' cùng với các tương tác trực tiếp trên phổ HSQC của các proton này cho phép quy kết các giá trị phổ của đơn vị đường glucose và liên kết *O*-glycosid của đường này với aglycon tại C-3. Tương tác HMBC giữa H-1'' ( $\delta_H$  5,94) và C-4' ( $\delta_C$  76,6) cùng với chuỗi các tương tác COSY H-1''/H-2''/H-3''/H-4''/H-5'' và các tương tác trực tiếp trên phổ HSQC của các proton này cho phép quy kết các giá trị phổ của đơn vị đường arabinose và liên kết (1 $\rightarrow$ 4) giữa đơn vị đường arabinose với đơn vị đường glucose. Đòi hỏi với tài liệu [16], có thể kết luận **2** là **(25R)-diosgenin-3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosid** (Hình 1).

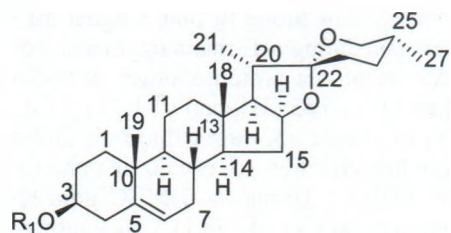
Hợp chất **3** được phân lập dưới dạng bột màu trắng và có công thức phân tử là  $C_{39}H_{62}O_{12}$  do sự xuất hiện pic ion giả phân tử tại  $m/z$  745,65  $[M+Na]^+$  và 721,6  $[M-H]^-$  trên phổ ESI-MS. Phổ 1D-NMR của **3** tương tự như **1**, tuy nhiên **3** xuất hiện thêm một gốc đường hexose với tín hiệu của proton anomer tại  $\delta_H$  6,35 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz) và tín hiệu của nhóm methyl tại  $\delta_H$  1,75 (3H, d,  $J = 6,0$  Hz) đặc trưng cho gốc đường  $\alpha$ -L-rhamnopyranose. Vị trí của 2 gốc đường này cũng được xác định tương tự như **2**. Tương tác HMBC giữa H-1' ( $\delta_H$  5,02) với aglycon C-3 ( $\delta_C$  78,0), chuỗi tương tác quan sát được trên phổ COSY gồm H-1'/H-2'/H-3'/H-4'/H-5'/H-6' cùng với các tương tác trực tiếp trên phổ HSQC của các proton này cho phép quy kết các giá trị phổ của đơn vị đường glucose và liên kết *O*-glycosid của đường này với aglycon tại C-3. Tương tác HMBC giữa H-1'' ( $\delta_H$  6,35) và C-2' ( $\delta_C$  77,9)/C-3'' ( $\delta_C$  72,8)/C-5'' ( $\delta_C$  69,5), cùng với chuỗi các tương tác COSY H-2''/H-3''/H-4''/H-5''/H-6'' và các tương tác trực tiếp trên phổ HSQC của các proton này cho phép quy kết các giá trị phổ của đơn vị đường rhamnose và liên kết (1 $\rightarrow$ 2) giữa đơn vị đường rhamnose với đơn vị đường glucose. Từ những dữ liệu phổ NMR và MS của **3** kết hợp với tài liệu tham khảo [17] có thể kết luận **3** là **(25R)-diosgenin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosid** hay **ophiopogonin C'** (Hình 1).

Hợp chất **4** được tinh chế dưới dạng bột màu trắng. Phổ khối ESI-MS xuất hiện pic ion giả phân tử tại  $m/z$  891,65  $[M+Na]^+$ , 867,65  $[M-H]^-$  phù hợp với công thức phân tử là  $C_{45}H_{72}O_{16}$ . Các dữ liệu phổ

NMR của **4** tương tự như **3** ngoại trừ sự xuất hiện của gốc đường  $\alpha$ -L-rhamnopyranose với các tín hiệu đặc trưng của proton anomer và nhóm methyl lần lượt tại  $\delta_H$  5,83 (1H, brs) và 1,75 (3H, d,  $J = 6,6$  Hz). Vị trí của các gốc đường được xác định tương tự như các hợp chất trên với các dữ liệu phổ COSY, HSQC và HMBC. Tương tác HMBC giữa H-1' ( $\delta_H$  4,95) với aglycon C-3 ( $\delta_C$  78,1), chuỗi tương tác trên phổ COSY gồm H-1'/H-2'/H-3'/H-4'/H-5'/H-6' cùng với các tương tác trực tiếp trên phổ HSQC của các proton này cho phép quy kết các giá trị phổ của đơn vị đường glucose và liên kết *O*-glycosid của đường này với aglycon tại C-3. Tương tác HMBC giữa proton anomer của gốc đường rhamnose thứ nhất H-1'' ( $\delta_H$  6,38) và C-2' ( $\delta_C$  78,7), cùng với chuỗi các tương tác COSY H-1''/H-2''/H-3''/H-4''/H-5''/H-6'' và các tương tác trực tiếp trên phổ HSQC của các proton này cho phép quy kết các giá trị phổ của đơn vị đường rhamnose này và liên kết (1 $\rightarrow$ 2) giữa đơn vị đường rhamnose 1 với đơn vị đường glucose. Vị trí của gốc đường rhamnose thứ 2 được xác định tại C-4' thông qua tương tác HMBC giữa H-1'' ( $\delta_H$  5,83) và C-4' ( $\delta_C$  78,0), cùng với chuỗi các tương tác COSY H-1''/H-2''/H-3''/H-4''/H-5''/H-6'' và các tương tác trực tiếp trên phổ HSQC của các proton này cho phép quy kết các giá trị phổ của đơn vị đường rhamnose thứ 2 và liên kết (1 $\rightarrow$ 4) giữa đơn vị đường rhamnose thứ 2 với đơn vị đường glucose. Như vậy, phần glycosid của **4** được xác định là 3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- $\beta$ -D-glucopyranosid. Dựa trên các phân tích về dữ liệu phổ NMR và MS đồng thời so sánh với tài liệu [18], **4** được xác định là **(25R)-diosgenin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)]- $\beta$ -D-glucopyranosid** hay **dioscin** (Hình 1).

Hợp chất **5** thu được dưới dạng bột màu trắng. Phổ khối APCI-MS của **5** xuất hiện pic ion giả phân tử tại  $m/z$  913,50  $[M-H]^-$  phù hợp với công thức phân tử  $C_{46}H_{74}O_{18}$ . Phổ 1D-NMR của **5** cho các tín hiệu tương tự như **3**. Tuy nhiên, cũng như **4**, **5** xuất hiện thêm 1 gốc đường pentose với các tín hiệu tương tự như đường  $\alpha$ -L-arabinofuranose của **2**. Chuỗi đường của **5** được xác định là 3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)[ $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- $\beta$ -D-glucopyranosid thông qua các tương tác HMBC giữa H-1' ( $\delta_H$  4,94) với C-3 ( $\delta_C$  78,1)/C-2' ( $\delta_C$  77,7)/C-3' ( $\delta_C$  77,1)/C-5' ( $\delta_C$  77,9); H-1'' ( $\delta_H$  4,94) với C-2'/C-2'' ( $\delta_C$  72,4)/C-3'' ( $\delta_C$  72,8)/C-5'' ( $\delta_C$  69,5); H-1''' ( $\delta_H$  4,94) với C-4' ( $\delta_C$  76,7)/C-3''' ( $\delta_C$  77,5)/C-4''' ( $\delta_C$  86,7) cũng như chuỗi tương tác trên phổ COSY giữa H-1'/H-2'/H-3'/H-4', H-5'/H-6'; H-2''/H-3''/H-4''/H-5''/H-6'' và H-2'''/H-3'''/H-4'''/H-5''' ( $\delta_H$  5,83). Các dữ liệu thu được cho thấy, **5** là **(25R)-diosgenin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)[ $\alpha$ -L-arabinofuranosyl(1 $\rightarrow$ 4)]- $\beta$ -D-glucopyranosid** hay **polyphyllin D** [19] (Hình 1).





- R**
- 1 Glc
  - 2 Ara(1→4)Glc
  - 3 Rha(1→2)Glc
  - 4 Rha(1→4)-[Rha(1→2)]Glc
  - 5 Ara(1→4)-[Rha(1→2)]Glc

**Hình 1.** Cấu trúc của các hợp chất saponin phân lập từ thân rễ cây lá một hoa Việt Nam

**Bảng 1.** Dữ liệu phổ <sup>13</sup>C-NMR của các hợp chất (1-5)

Vị trí	1	2	3	4	5
1	37,2	37,3	37,5	37,5	37,5
2	30,0	30,0	30,2	30,2	30,2
3	78,1	78,2	78,0	78,1	78,1
4	39,1	39,1	39,0	39,0	39,0
5	140,8	140,8	140,9	140,8	140,8
6	121,5	121,6	121,7	121,8	121,8
7	31,9	32,0	32,2	32,2	32,2
8	31,4	31,5	31,7	31,7	31,7
9	50,1	50,1	50,3	50,3	50,3
10	36,8	36,8	37,1	37,2	37,1
11	20,9	21,0	21,1	21,1	21,1
12	39,7	39,7	39,9	39,9	39,9
13	40,3	40,3	40,5	40,5	40,5
14	56,4	56,5	56,6	56,7	56,6
15	32,0	32,1	32,3	32,3	32,3
16	81,0	81,0	81,1	81,1	81,1
17	62,4	62,7	62,7	62,9	62,9
18	16,2	16,2	16,3	16,3	16,3
19	19,2	19,2	19,4	19,4	19,4
20	41,8	41,8	42,0	42,0	42,0
21	14,8	14,9	15,0	15,0	15,0
22	109,2	109,2	109,2	109,3	109,6
23	31,6	31,6	31,8	31,8	31,8
24	29,0	29,1	29,3	29,3	29,3
25	30,3	30,4	30,6	30,6	30,6
26	66,7	66,7	66,9	66,9	66,9
27	17,1	17,1	17,3	17,3	17,3
<b>3-OGlc</b>					
1'	102,8	102,2	100,4	100,3	100,2
2'	74,9	74,8	77,9	78,7	77,7
3'	78,1	76,3	71,8	76,9	77,1
4'	71,4	76,6	78,2	78,0	76,7
5'	78,1	76,7	79,6	77,8	77,9
6'	62,6	61,4	62,9	61,3	62,5
		<b>4'-Ara</b>	<b>2'-Rha</b>	<b>2'-Rha</b>	<b>2'-Rha</b>
1''		109,2	102,1	102,0	101,9
2''		82,6	72,6	72,5	72,4
3''		78,0	72,8	72,7	72,8
4''		86,4	74,2	73,9	74,1
5''		62,4	69,5	69,5	69,5
6''			18,7	18,5	18,6
				<b>4'-Rha</b>	<b>4'-Ara</b>
1'''				102,9	109,3
2'''				72,6	82,7
3'''				72,8	77,5
4'''				74,2	86,7
5'''				70,4	61,4
6'''				18,6	109,3

Saponin là một trong những thành phần chính của chi *Paris* L. Nhóm chất này cũng giữ vai trò quan trọng liên quan đến các tác dụng sinh học của các loài thuộc chi này. Các saponin chủ yếu thuộc nhóm steroid, một số ít là triterpenoid. Nhóm saponin steroid được chia thành các nhóm nhỏ (spirostan, furostan, pregnan và polyhydroxyl hóa). Cấu trúc spirostan có thể coi là một cấu trúc phổ biến của các saponin đã biết trong chi *Paris* L., điển hình là diosgenin, penogenin và các dẫn xuất của chúng. Cấu trúc diosgenin đặc trưng bởi hệ 6 vòng ABCDEF, có 1 liên kết đôi tại vị trí giữa C-5 và C-6; nhóm  $\beta$ -OH ở C-3 là vị trí sẽ liên kết với phần glycosyl; cấu hình R ở C-25 [2].

Bây lá một hoa Việt Nam (*P. vietnamensis*) là loài đặc hữu của Việt Nam. Trong nghiên cứu này, 5 hợp chất saponin spirostan khung diosgenin đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học. Hợp chất 1 lần đầu tiên phân lập từ thân rễ loài *P. vietnamensis*, các hợp chất còn lại (2 - 5) đã được báo cáo phân lập từ loài *P. vietnamensis* [9] và một số loài thuộc chi *Paris* [20], đặc biệt 2 hợp chất dioscin (4) và polyphyllin D (5) đã được sử dụng làm chất đánh

dấu (*marker*) trong kiểm soát chất lượng dược liệu từ thân rễ một số loài thuộc chi *Paris* L.... [21], [22]. Kết quả nghiên cứu về loài này là một hoa thu hái tại Lào Cai cũng cho thấy sự có mặt của các saponin spirostan khung penogenin như (25*R*)-spirost-5-en-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -diol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glucopyranosid, (25*R*)-spirost-5-en-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -diol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucopyranosid và (25*R*)-spirost-5-en-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -diol-3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-6-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosid [6].

#### 4. Kết luận

Từ cao EtOH 70% thân rễ loài này là một hoa Việt Nam (*Paris vietnamensis*) đã phân lập được 5 hợp chất saponin spirostan khung diosgenin, bao gồm: trillin (1), (25*R*)-diosgenin-3-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl (1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosid (2), ophiopogonin C' (3), dioscin (4) và polyphyllin D (5), trong đó hợp chất 1 lần đầu tiên được báo cáo từ loài này.

**Lời cảm ơn:** Đề tài này được tài trợ kinh phí bởi đề tài cấp Viện Dược liệu-Bộ Y tế từ nhiệm vụ năm 2021: "Nghiên cứu thành phần hóa học của loài *Paris vietnamensis*, họ Trilliaceae".

#### Tài liệu tham khảo

1. Bộ môn Thực vật (2007), *Thực vật học, NXB Y học*, Hà Nội.
2. Wei J. C., Gao W. Y., Yan X. D., Wang Y., Jing S. S., Xiao P. G. (2014), Chemical constituents of plants from the genus *Paris*, *Chemistry Biodiversity*, 11(9), 1277-1297.
3. Viện Dược liệu (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Tập 1*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
4. Ji Y. H. (2021), *Introduction: Taxonomic history*, 32, 123.
5. Wang Y., Zhang Y.J., Gao W. Y., Yan L. L. (2007), Anti-tumor constituents from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*, *China Journal of Chinese Materia Medica*, 32(14), 1425-1428.
6. Vu T. T. T., Vu L. T. K., Nguyen Q. H., Pham K. V., Nguyen D. T., Nguyen L. T. N., Chu M. H. (2019), Cytotoxic effects of steroidal glycosides isolated from the *Paris vietnamensis* plant on cancer cell lines and against bacterial strains, *Biotechnology Biotechnological Equipment*, 33(1), 1516-1524.
7. Nga N. Q., Huyen P. T., Van Trung P., Van Toan H. (2016), Taxonomy of the genus *Paris* L. (Melanthiaceae) in Vietnam, *Academia Journal of Biology*, 38(3), 333-339.
8. Namba T., Huang X. L., Shu Y. Z., Huang S. L., Hattori M., Kakiuchi N., Wang Q., Xu G. J. (1989), Chronotropic effect of the methanolic extracts of the plants of the *Paris* species and steroidal glycosides isolated from *P. vietnamensis* on spontaneous beating of Myocardial cells, *Planta Medica*, 55(6), 501-505.
9. Huang Y., Cui L. J., Wang Q., Ye W. C. (2006), Separation and identification of active constituents of *Paris vietnamensis*, *Yao Xue Xue Bao*, 41(4), 361-364.
10. Liu Y., Wang M. C., Liu K., Qiu P. C., Zhang S., Lu Y. Y., Tang N., Tang H. F. (2018), New steroidal saponins from the rhizomes of *Paris vietnamensis* and their cytotoxicity, *Molecules*, 23(3), 588.
11. Zhang S., Lu Y., Li H., Ji Y., Fang F., Tang H., Qiu P. (2020), A steroidal saponin form *Paris vietnamensis* (Takht.) reverses temozolomide resistance in glioblastoma cells via inducing apoptosis through ROS/PI3K/Akt pathway, *Bioscience Trends*, 14(2), 123-133.
12. Namba T., Huang X. L., Shu Y. Z., Huang S. L., Hattori M., Kakiuchi N., Wang Q., Xu G. J. (1989), Chronotropic effect of the methanolic extracts of the plants of the *Paris* species and steroidal glycosides isolated from *P. vietnamensis* on spontaneous beating of myocardial cells, *Planta Medica*, 55(06), 501-505.
13. Agrawal P. K., Jain D. C., Pathak A. K. (1995), NMR spectroscopy of steroidal saponins and steroidal saponins: an update, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 33(12), 923-953.
14. Agrawal P. K. (2004), Dependence of  $^1\text{H}$  NMR chemical shifts of geminal protons of glycosyloxy methylene (H2-26) on the orientation of the 27-methyl group of furostane-type steroidal saponins, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 42(11), 990-993.
15. Han X. W., Yu H., Liu X. M., Bao X., Yu B., Li C., Hui Y. Z. (1999), Complete  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR assignments of diosgenyl saponins, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 37(2), 140-144.
16. Feng B., Ma B. P., Kang L. P., Xiong C. Q., Wang S. Q. (2005), The microbiological transformation of steroidal saponins by *Curvularia lunata*, *Tetrahedron*, 61(49), 11758-11763.
17. Hou S. J., Zou C. C., Zhou L., Lei P. S., Yu D. Q. (2006), Synthesis of three natural diosgenyl glycosides, *Journal of Asian Natural Products Research*, 8(8), 689-696.
18. Wang Z., Zhou J., Ju Y., Yao S., Zhang H. (2001), Effects of dioscin extracted from *Polygonatum zanlanscianense* Pamp on several human tumor cell lines, *Tsinghua Science and Technology*, 6(3), 239-242.
19. Deng S., Yu B., Hui Y., Yu H., Han X. (1999), Synthesis of three diosgenyl saponins: dioscin, polyphyllin D, and balanitin 7, *Carbohydrate Research*, 317(1-4), 53-62.
20. Liu X. X., Wang L., Zhang T. T., Wang Q. (2009), A new spirostanol saponin from the rhizomes of *Paris mairei*, *Chinese Chemical Letters*, 20(7), 820-822.
21. Chen P., Jin H. Y., Sun L., Ma S. C. (2016), Multi-component determination and chemometric analysis of *Paris polyphylla* by ultra high performance liquid chromatography with photodiode array detection, *Journal of Separation Science*, 39(18), 3550-3557.
22. Yang G., Lu W., Pan M., Zhang C., Zhou Y., Hu P., Hu M., Song G. (2017), An LC-MS/MS method for simultaneous determination of nine steroidal saponins from *Paris polyphylla* var. in rat plasma and its application to pharmacokinetic study, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 145, 675-681.