

## HAI SAPONIN TỪ LÁ CÂY DUNG LÁ THON SYMPLOCOS LANCIFOLIA SIEB. & ZUCC (SYMPLOCACEAE)

Đến Tòa soạn 15-11-2007

ĐOÀN THỊ MAI HƯƠNG<sup>1</sup>, NGUYỄN VĂN HÙNG<sup>1</sup>, LAURENCE VOUTQUENNE<sup>2</sup>,  
CATHERINE LAVAUD<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Khoa Dược, Trường ĐH Reims, CH Pháp

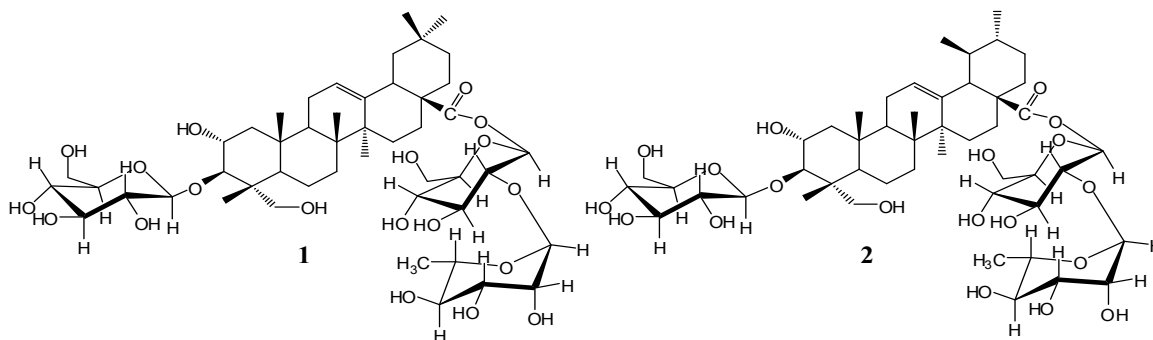
### SUMMARY

The triterpenoid saponins, 2,23-dihydroxy-3O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-12-oleanen-28-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1->2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]ester (Polygalasaponin II, **1**) and 2,23-dihydroxy-3O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-12-ursen-28-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1->2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]ester (**2**) have been isolated from the leaves of *Symplocos lancifolia* Sieb. & Zucc - Symplocaceae. This latter is a new compound and the first time, these compounds was isolated from this plant. The structure was established by spectroscopy methods, including 2D NMR spectroscopy (COSY, TOCSY, HMQC, HMBC, NOESY).

### I - MỞ ĐẦU

Cây Dung lá thon của Việt Nam có tên khoa học là *Symplocos lancifolia* Sieb. & Zucc. thuộc họ Dung (Symplocaceae) là loại cây đại mộc cao khoảng 20m, phân bố ở đông bắc Ấn Độ, Trung Quốc, Việt Nam, Phillipin và Nhật Bản [1]. Lá của cây Dung lá thon thường được dùng để nấu nước uống thay trà, rễ cây được dùng làm thuốc trị đôn ngã. Đã có nhiều hợp chất saponin mới có cấu trúc lý thú được tách ra từ

các loài thuộc chi *Symplocos* [2,3]. Trong khuôn khổ bài báo này, chúng tôi thông báo về việc lần đầu tiên phân lập được 2 saponin : 2,23-dihydroxy-3O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-12-oleanen-28-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1->2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]ester (Polygalasaponin II, **1**) và 2,23-dihydroxy-3O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-12-ursen-28-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1->2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]este (**2**) từ lá của cây *Symplocos lancifolia* Sieb. & Zucc. Trong hai hợp chất saponin trên có hợp chất **2** là một chất mới.



## II - THỰC NGHIỆM

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz với TMS là chất chuẩn nội. Phổ khối ESI-MS được ghi trên máy sắc ký lỏng ghép khối phổ với đầu dò MSD (LC/MSD Agilent series 1100).

Lá cây Dung lá thon (*Symplocos lancifolia* Sieb. & Zucc (Symplocaceae)), được thu hái ở Bắc Quảng - Hà Giang vào tháng 4 năm 2003. Mẫu tiêu bản có tên VN 0193 được lưu giữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật.

### Xử lý và chiết tách chất từ lá cây dung lá thon (*S. lancifolia*)

Lá cây Dung lá thon (*Symplocos lancifolia* Sieb. & Zucc (Symplocaceae)), sau khi sấy khô, xay nhỏ, được ngâm chiết với ete dầu hỏa trong 22h (1x10l). Dịch chiết ete dầu hỏa sau khi loại dung môi thu được 14,48 g cặn dịch. Cặn lá được ngâm chiết tiếp với hỗn hợp MeOH/H<sub>2</sub>O (80/20) trong 15h30, đun nóng trong 3 h, dịch MeOH/H<sub>2</sub>O thu được sau khi lọc được chiết với EtOAc. Sau khi cô cạn dung môi thu được 23,4 g cặn dịch EtOAc và 51,4 g cặn dịch MeOH/H<sub>2</sub>O. Từ cặn dịch MeOH/H<sub>2</sub>O sau khi xử lý theo qui trình tinh chế saponin [6] thu được 3,31 cặn saponin tổng. Từ cặn tổng saponin, sau khi chạy cột ngược pha với hệ dung môi MeOH-H<sub>2</sub>O (50/50 - 100/0) thu được 5 phân đoạn chính, từ phân đoạn FII, sau khi chạy cột ngược pha với hệ dung môi MeOH-H<sub>2</sub>O (50/50 - 100/0) cho 8 phân đoạn chính, từ phân đoạn FII 13-18 sau khi chạy cột silicagel với hệ dung môi CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O và tiếp tục tách trên cột bán điều chế HPLC (silicagel C18) với hệ dung môi acetonitril/ H<sub>2</sub>O gradient cho 5 mg hợp chất **1** và 4,7 mg hợp chất **2**.

## III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Lá cây Dung lá thon *Symplocos lancifolia* Sieb. & Zucc (Symplocaceae), sau khi sấy khô, xay nhỏ, được ngâm chiết với ete dầu hỏa trong 22h (1x10l). Dịch chiết ete dầu hỏa sau khi loại dung môi thu được 14,48 g cặn dịch. Cặn lá được ngâm chiết tiếp với hỗn hợp MeOH/H<sub>2</sub>O (80/20) trong 15h30, đun nóng trong 3 h, dịch MeOH/H<sub>2</sub>O thu được sau khi lọc được chiết với

EtOAc. Sau khi cô cạn dung môi thu được 23,4 g cặn dịch EtOAc và 51,4 g cặn dịch MeOH/H<sub>2</sub>O. Từ cặn dịch MeOH/H<sub>2</sub>O sau khi xử lý theo qui trình tinh chế saponin thu được 3,31 g cặn saponin tổng. Từ cặn tổng saponin chúng tôi đã phân lập được 2 saponin là 2,23-dihydroxy-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-12-oleanen-28-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1->2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]ester (Polygalasaponin II, **1**) and 2,23-dihydroxy-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-12-ursen-28-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1->2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]ester (**2**) Chất tách ra được xác định cấu trúc bằng sự kết hợp các phương pháp phổ khối lượng (MS), phổ cộng hưởng từ proton và cacbon (<sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C-NMR) và các phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều COSY, TOCSY, HMQC, HMBC, ROESY.

### Polygalasaponin II (1)

Phân đoạn FII 13-18 sau khi chạy cột silicagel với hệ dung môi CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O được tiếp tục tách trên cột bán điều chế HPLC (silicagel C18) với hệ dung môi acetonitril/ H<sub>2</sub>O gradient cho 5 mg hợp chất **1**. Phổ khối ESI-MS ion dương có pic ion tại *m/z* 981 [M+Na]<sup>+</sup> và các mảnh *m/z* 673 [M+Na-(Glc-Rha)]<sup>+</sup>; *m/z* 331 [(Glc-Rha)+Na]<sup>+</sup> ứng với công thức phân tử C<sub>48</sub>H<sub>78</sub>O<sub>19</sub>. Phổ khối phân giải cao (HR-MS) cho pic ion ở *m/z* 981,5053 [M+Na]<sup>+</sup> (theo tính toán: 981,5035) chứng tỏ rằng công thức phân tử của chất **2** là đúng theo dự đoán.

Phổ <sup>13</sup>C-NMR và phổ DEPT của **2** trong MeOH cho biết sự có mặt của 48 nguyên tử cacbon trong phân tử trong đó có 18 cacbon của 3 đường và 30 cacbon của khung terpen.

Trên phổ <sup>1</sup>H-NMR, COSY cho thấy:

- Phân terpen có tín hiệu của 6 methyl ở 1,20 ppm (s); 0,96 ppm (s); 0,92 ppm (s); 1,07 ppm (s); 0,83 ppm (s); 0,76 ppm (s); 1 proton olefinic ở 5,30 ppm (t, J = 3,4 Hz); 1 proton H-3 dưới dạng doublet ở 3,48 ppm (J = 9,5 Hz); 1 proton H-2 dưới dạng ddd (J = 10,9; 9,5 ; 4,3 Hz) ở 3,83 ppm; 2 proton của nhóm CH<sub>2</sub>-OH dưới dạng doublet (J = 12 Hz) ở 3,74 và 3,27 ppm; 1 proton H-18 deblinde do anisotropic của carbonyl C-28 ở 2,26 ppm (J = 11,5 Hz).

- Phân đường cho thấy tín hiệu các proton của 3 đường:

Glucose 1: proton H-1' (d, J = 7,8 Hz) ở 4,43 ppm tương tác với H-2' ở 3,60 ppm (dd, J = 8,7; 7,8 Hz); H-2' tương tác với H-3' ở 3,39 ppm (m); H-3' tương tác với H-4' ở 3,36 ppm (m); H-4' tương tác với H-5' ở 3,36 ppm (m); H-5' tương tác với H-6a' ở 3,70 ppm (dd, 11,7; 5 Hz); H-5' tương tác với H-6b' ở 3,88 ppm (d, J = 11,7 Hz).

Glucose 2: proton H-1'' (d, J = 7,5 Hz) ở 5,46 ppm tương tác với H-2'' ở 3,60 ppm (dd, J = 8,3; 7,5 Hz); H-2'' tương tác với H-3'' ở 3,57 ppm (t, J = 8,5 Hz); H-3'' tương tác với H-4'' ở 3,42 ppm (t, J = 9,3 Hz); H-4'' tương tác với H-5'' ở 3,35 ppm (m); H-5'' tương tác với H-6a'' ở 3,69 ppm (dd, 12; 4,3 Hz); H-5'' tương tác với H-6b'' ở 3,81 ppm (dd, J = 12; 1,9 Hz).

1 rhamnose: nhóm methyl (H-6''') ở 1,26 ppm (d, J = 6,2 Hz) tương tác với H-5''' ở 3,77 ppm (m); H-5''' tương tác với H-4''' ở 3,40 ppm (t, J = 9,8 Hz); H-4''' tương tác với H-3''' ở 3,68 ppm (dd, J = 9; 3 Hz); H-3''' tương tác với H-2''' ở 3,96 ppm (m) và H-2''' tương tác với H-1''' ở 5,38 ppm (J = 1,3 Hz).

Trên phổ TOCSY phân đường cho thấy tương tác giữa proton H-1' tương tác với H-2', H-3', H-4', H-5', H-6a' và H-6b'; H-1'' tương tác với H-2'', H-3'', H-4'', H-5'' H-6a'' và H-6b''; H-1''' tương tác với H-2''', H-3''', H-4''', H-5''' và H-6'''.

Trên phổ HMBC cho thấy H-1''' tương tác với C-2''; H-1'' tương tác với C-28 chứng tỏ rằng glucose 2 gắn với vòng terpen ở vị trí C-28 và rhamnose gắn với glucose 2 (1→2); H-1' tương tác với C-3 chứng tỏ là glucose 1 gắn với khung terpen ở vị trí C-3.

Trên phổ ROESY cho biết cấu hình  $\alpha$  của proton H-3 qua sự tương tác H-1' của glucose 1 với H-3 và H-3 với H-5. Proton H-3 tương tác với H-23b chứng tỏ cấu hình  $\alpha$  của nhóm CH<sub>2</sub>OH ở vị trí C-4. Proton H-2 tương tác với CH<sub>3</sub>-25 và CH<sub>3</sub>-24 chứng tỏ cấu hình  $\beta$  của H-2. Ngoài ra còn có các tương tác giữa H-1''' với H-2'', H-12 với H-18, H-26 với H-25, H-24 với H-25 và các tương tác của các proton trong

đường như H-1' với H-3' và H-5', H-1'' với H-3'' và H-5'', H-1''' với H-2'''. Qua phân tích các phổ, chúng tôi đi đến kết luận hợp chất **1** chính là polygalasaponin II. Hợp chất này cũng được tách ra từ cây *Polygala japonica* [4, 5].

### **2,23-dihydroxy-3O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-12-ursen-28-O-[ $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]este (2)**

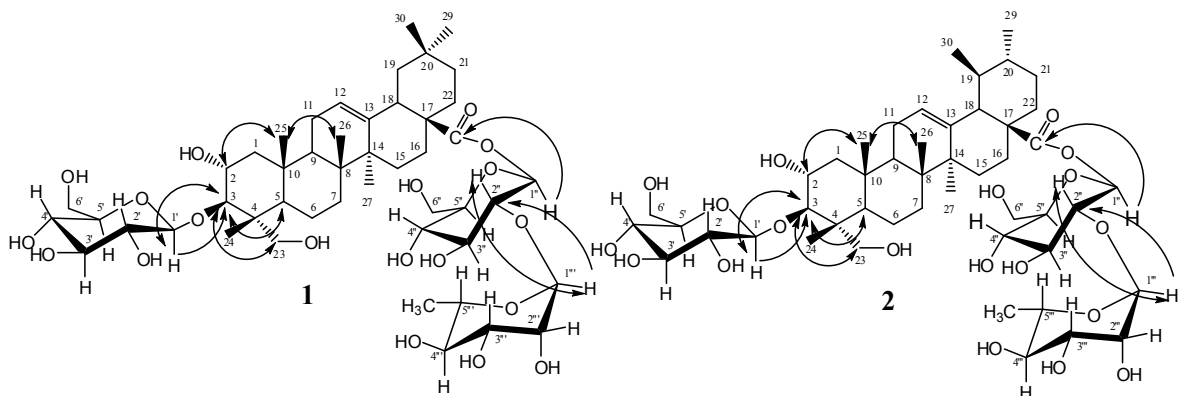
Phân đoạn FII 13-18 sau khi chạy cột silicagel với hệ dung môi CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O được tiếp tục tách trên cột bán điều chế HPLC (silicagel C18) với hệ dung môi acetonitril/ H<sub>2</sub>O gradient cho 5 mg hợp chất **2**. Phổ khối ESI-MS ion dương có pic ion tại  $m/z$  981 [M+Na]<sup>+</sup> và các mảnh  $m/z$  673 [M+Na-(Glc-Rha)]<sup>+</sup>;  $m/z$  331 [(Glc-Rha)+Na]<sup>+</sup> ứng với công thức phân tử C<sub>48</sub>H<sub>78</sub>O<sub>19</sub>. Phổ khối phân giải cao (HR-MS) cho pic ion ở  $m/z$  981,5062 [M+Na]<sup>+</sup> (theo tính toán: 981,5035) chứng tỏ rằng công thức phân tử của chất **2** là đúng theo dự đoán.

Cũng như hợp chất **1**, phổ <sup>13</sup>C-NMR và phổ DEPT của **2** trong MeOH cho biết sự có mặt của 48 nguyên tử cacbon trong phân tử trong đó có 18 cacbon của 3 đường và 30 cacbon của khung terpen.

Hợp chất **2** có phổ <sup>1</sup>H-NMR gần giống với phổ của hợp chất **1**, chỉ khác là trong 6 nhóm methyl của terpenes thì có 2 nhóm dưới dạng doublet với hằng số tương tác là 6,3 Hz ở 0,97 ppm và 0,92 ppm, chứng tỏ rằng 2 nhóm CH<sub>3</sub> này gắn với khung terpenes ở 2 vị trí khác nhau.

Trên phổ HMBC cũng cho thấy tương tác xa của H-1''' (5,47 ppm, d, J = 1,3 Hz) với C-2'' (76,4 ppm); H-1'' (5,41 ppm, d, J = 7,7 Hz) tương tác với C-28 (178 ppm) chứng tỏ rằng glucose 2 gắn với vòng terpen ở vị trí C-28 và rhamnose gắn với glucose 2 (1→2); H-1' (4,43 ppm, d, J = 7,8 Hz) tương tác với C-3 (88,7 ppm) chứng tỏ là glucose 1 gắn với khung terpen ở vị trí C-3.

Qua phân tích các phổ COSY, TOCSY, HMQC, ROESY chúng tôi đi đến kết luận hợp chất **2** chính là tritecpen saponin có 3 đường 3-Glu; 28-Glu-Rham, với khung terpen là ursane (axit asiatic). Đây là một hợp chất mới.



Một số tương tác quan trọng trên phổ HMBC  $\curvearrowright$  và ROESY  $\curvearrowright$

Bảng 1: Số liệu phổ  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  của hợp chất **1** và **2**

C	<b>1</b>		<b>2</b>	
	$\delta_{\text{H}}$ (ppm) ( $J=\text{Hz}$ ) (MeOD, 500 MHz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm) (MeOD, 125 MHz)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm) ( $J = \text{Hz}$ ) (MeOD, 500 MHz)	$\delta_{\text{C}}$ (ppm) (MeOD, 125 MHz)
	2	3	4	5
1				
1a	0,89 m		0,90 m	
1b	2,02 dd ( $J = 12,7; 4,3$ Hz)	47,3	2,06 dd ( $J = 12,7; 4,4$ Hz)	47,4
2	3,83 ddd ( $J = 10,9; 9,5; 4,3$ Hz)	68,2	3,84 m	68,3
3	3,48 d ( $J = 9,5$ Hz)	88,7	3,48 d ( $J = 9,3$ Hz)	88,7
4		45,2		45,2
5	1,33 d ( $J = 13$ Hz)	47,8	1,33 d ( $J = 13$ Hz)	47,8
6a	1,40 m		1,49 m	
6b	1,51 m	18,9	1,49 m	18,9
7a	1,42 m		1,39 m	
7b	1,61 m	33,3	1,65 m	33,7
8		40,7		41,1
9	1,69 m	49,1	1,62 m	49,0
10		38,6		38,6
11	1,98 m	24,7	2,01 m	24,5
12	5,30 t ( $J = 3,4$ Hz)	123,4	5,29 t ( $J = 3,5$ Hz)	127,1
13		145,0		139,1
14		43,2		43,5
15a	1,65 m		1,18 d ( $J = 13$ Hz)	
15b	1,22 m	29,2	1,87 td ( $J = 13; 4$ Hz)	29,2
16a	2,09 td ( $J = 13,4; 4,2$ Hz)		2,12 td ( $J = 13; 4$ Hz)	
16b	1,67 m	24,0	1,71 dm ( $J = 13$ Hz)	25,4
17		48,1		49,9
18	2,85 dd ( $J = 13; 3,5$ Hz)	42,9	2,26 d ( $J = 11,5$ Hz)	54,3
19a	1,75 m		1,42 m	
19b	1,17 m	47,3		40,4

1	2	3	4	5
20		31,6	1,12 m	39,8
21a	1,24 m		1,35 m	
21b	1,42 m	34,9	1,54 td (J = 13; 3 Hz)	31,7
22a	1,63 m		1,68 m	
22b	1,83 t (J = 13,9; 3,6 Hz)	33,0	1,80 td (J = 13; 3 Hz)	37,4
23a	3,27 d (J = 12 Hz)		3,27 d (J = 11,5 Hz)	
23b	3,74 d (J = 12 Hz)	64,0	3,74 d (J = 11,5 Hz)	64,1
24	0,76 s	14,4	0,76 s	14,5
25	1,07 s	17,7	1,09 s	17,9
26	0,83 s	17,8	0,87 s	18,2
27	1,20 s	26,2	1,16 s	23,9
28		178,0		178,0
29	0,93 s	33,5	0,92 d (J = 6,3 Hz)	17,6
30	0,96 s	24,1	0,97 d (J = 6,3 Hz)	21,5
3-β-glucose (glucose 1)				
1'	4,43 d (J = 7,8 Hz)	105,5	4,43 d (J = 7,8 Hz)	105,6
2'	3,26 dd (J = 8,7; 7,8 Hz)	75,4	3,26 t (J = 7,9 Hz)	75,4
3'	3,39 m	78,2	3,38 m	78,2
4'	3,36 m	71,3	3,37 m	71,3
5'	3,36 m	78,1	3,36 m	78,1
6a'	3,70 dd (J = 11,7; 5 Hz)		3,70 dm (J = 11,8 Hz)	
6b'	3,88 dl (J = 11,7 Hz)	62,3	3,88 dl (J = 11,8 Hz)	62,3
28-β-glucose (glucose 2)				
1''	5,46 d (J = 7; 5 Hz)	95,1	5,41 d (J = 7,8 Hz)	95,0
2''	3,60 dd (J = 8,3; 7,5 Hz)	77,2	3,63 t (J = 8 Hz)	76,4
3''	3,57 t (J = 8,5 Hz)	79,2	3,57 t (J = 8,6 Hz)	79,5
4''	3,42 t (J = 9,3 Hz)	71,3	3,41 t (J = 9,4 Hz)	71,5
5''	3,35 m	78,4	3,34 m	78,4
6a''	3,69 dd (J = 12; 4,3 Hz)		3,69 dd (J = 11,8; 4 Hz)	
6b''	3,81 dd (J = 12; 1,9 Hz)	62,3	3,79 dd (J = 11,8; 2,2 Hz)	62,6
2''-β-rhamnose				
1'''	5,38 d (J = 1,3 Hz)	101,7	5,47 d (J = 1,3 Hz)	101,3
2'''	3,96 m	71,9	3,93 dd (J = 3,1; 1,5 Hz)	72,0
3'''	3,68 dd (J = 9; 3 Hz)	72,2	3,66 dd (J = 9,6; 3,3 Hz)	72,2
4'''	3,40 t (J = 9,8 Hz)	73,7	3,41 t (J = 9,6 Hz)	73,7
5'''	3,77 m	70,3	3,84 m	70,2
CH <sub>3</sub>	1,26 d (J = 6,2 Hz)	18,2	1,29 d (J = 6,2 Hz)	18,4

**Lời cảm ơn:** Các kết quả nghiên cứu này thu được trong khuôn khổ hợp tác Việt- Pháp về nghiên cứu thảo thực vật Việt Nam.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Văn Chi, Từ điển thực vật thông dụng, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Tập II, tr. 2380.
2. Higuchi, R. et al., Phytochemistry, 21, 907 - 910 (1982).
3. Shen, M. et al. J. Nat. Prod., 2004, 67, 1969 - 1974 (2004).
4. Zhang Dongming, Miyase Toshio, Kuroyanagi Masanori, Umehara Kaoru, Ueno Akira. Chem. Pharm. Bull., 1995, 43 (1), 115 - 120 (1995).
5. Li Ting-Zhao, Zhang, Wei-Dong, Yang Gen-Jin, Liu Wen-Yong, Chen Hai-Sheng, Shen Yun-Heng, Journal of Natural Products, 2006, 69(4), 591 - 594 (2006).
6. Laurence Voulequin. Luận án tiến sĩ (1997).