

DAMMARANE SAPONINS FROM THE ROOTS OF *PANAX PSEUDOGINSENG*

Hoang Van Hung\*, Luc Quang Tan

TNU - Lao Cai Campus

| ARTICLE INFO               |           | ABSTRACT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----------------------------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Received:                  | 21/4/2022 | From the methanol extract of the roots of <i>Panax pseudoginseng</i> , six saponins compounds with dammarane frame were isolated. The compounds including (20S)-ginsenoside Rh1 (1), (20R)-ginsenoside Rh1 (2), ginsenoside Rk3 (3), 6-acetoxy-ginsenoside Rh1 (4), ginsenoside F1 (5), and ginsenoside Rg3 (6) were identified by high-resolution mass spectrometry analysis (HR-ESI-MS), one-dimensional (1D NMR) and two-dimensional (2D NMR) nuclear magnetic resonance spectroscopy, combined with comparison of existing data. The results of screening evaluation of NO production inhibitory activity against RAW264.7 cells stimulated by LPS showed that all 6 compounds had quite good activity. Compound 1-6 exhibited inhibitory activity on NO production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells with IC <sub>50</sub> value = $17.32 \pm 1.56 \sim 34.61 \pm 2.72 \mu\text{M}$ , compared with the corresponding value of NG-monomethyl-L-arginine (L-NMMA) control, IC <sub>50</sub> = $9.80 \pm 0.78 \mu\text{M}$ . This result helps to clarify more about the chemical composition of the <i>Panax pseudoginseng</i> plant in Vietnam. Furthermore, the results of analysis suggest for further studies on anti-inflammatory and immune-enhancing properties from the roots of <i>Panax pseudoginseng</i> . |
| Revised:                   | 24/6/2022 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Published:                 | 24/6/2022 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| KEYWORDS                   |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Araliaceae                 |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <i>Panax pseudoginseng</i> |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Ginsenoside Rh1            |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Ginsenoside Rg1            |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Ginsenoside Rk3            |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Ginsenoside F1             |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

## CÁC HỢP CHẤT SAPONIN KHUNG DAMMARANE TỪ RỄ CÂY TAM THẮT

Hoàng Văn Hùng\*, Lục Quang Tấn

Phân hiệu Đại học Thái Nguyên tại tỉnh Lào Cai

| THÔNG TIN BÀI BÁO          |           | TÓM TẮT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|----------------------------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ngày nhận bài:             | 21/4/2022 | Từ dịch chiết methanol của rễ cây tam thất ( <i>Panax pseudoginseng</i> ), sáu hợp chất saponin có khung dammarane đã được phân lập. Các hợp chất được xác định là (20S)-ginsenoside Rh1 (1), (20R)-ginsenoside Rh1 (2), ginsenoside Rk3 (3), 6-acetoxy-ginsenoside Rh1 (4), ginsenoside F1 (5), và ginsenoside Rg3 (6) bằng phân tích các phổ khối lượng phân giải cao (HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (1D NMR) và hai chiều (2D NMR), kết hợp so sánh với các dữ liệu đã được công bố. Kết quả đánh giá sàng lọc hoạt tính ức chế sản sinh NO đối với tế bào RAW264,7 kích thích bởi LPS cho thấy cả 6 hợp chất này đều có hoạt tính khá tốt. Hợp chất 1-6 thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO trong các tế bào RAW 264,7 được kích thích bởi LPS với giá trị IC <sub>50</sub> = $17,32 \pm 1,56 \sim 34,61 \pm 2,72 \mu\text{M}$ , so với giá trị tương ứng của chất đối chứng N <sup>G</sup> -monomethyl-L-arginine (L-NMMA), IC <sub>50</sub> = $9,80 \pm 0,78 \mu\text{M}$ . Kết quả này giúp làm rõ thêm về thành phần hóa học của rễ cây tam thất ở Việt Nam. Hơn nữa, kết quả sàng lọc hoạt tính trên gợi mở cho những nghiên cứu tiếp theo đối với các sản phẩm kháng viêm và tăng cường khả năng miễn dịch của rễ cây tam thất. |
| Ngày hoàn thiện:           | 24/6/2022 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Ngày đăng:                 | 24/6/2022 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| TỪ KHÓA                    |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Araliaceae                 |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <i>Panax pseudoginseng</i> |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Ginsenoside Rh1            |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Ginsenoside Rg1            |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Ginsenoside Rk3            |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Ginsenoside F1             |           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5889>\* Corresponding author. Email: [hoangvanhung@tnu.edu.vn](mailto:hoangvanhung@tnu.edu.vn)

## 1. Giới thiệu

Cây tam thất là một cây thuốc quý, từ lâu đã được sử dụng trong các bài thuốc dân tộc để bồi bổ sức khỏe cũng như hỗ trợ chữa một số bệnh. Bộ phận được sử dụng chính gồm có rễ cây (củ) và hoa. Trong khi củ là sản phẩm chính được sử dụng để hỗ trợ điều trị ung thư cũng như bồi bổ sức khỏe thì hoa tam thất được sắc nước uống để hỗ trợ điều trị ung thư và tăng cường khả năng miễn dịch [1]-[3]. Thành phần hóa học chủ yếu của củ và hoa tam thất là các hợp chất saponin có khung dammarane đặc trưng[4]-[8]. Hiện nay, cây tam thất được nhân giống và trồng tại Lào Cai cho kết quả tốt. Để làm rõ hơn về thành phần hóa học của rễ tam thất, bài báo này thông báo kết quả nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 6 hợp chất dammarane glycoside và đánh giá tác dụng ức chế sản sinh NO đối với tế bào RAW 264,7 được kích thích bởi LPS của các saponin thu được.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Mẫu thực vật

Mẫu rễ cây tam thất được thu hái vào tháng 9 năm 2021 tại huyện Si Ma Cai, tỉnh Lào Cai. Tên khoa học của mẫu được xác định là *Panax pseudoginseng* Wall. bởi TS. Nguyễn Thế Cường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Mẫu tiêu bản (NCCT-P147) được lưu giữ tại Phân hiệu Đại học Thái Nguyên tại tỉnh Lào Cai.

### 2.2. Hóa chất

Dung môi kỹ thuật: *n*-hexane: Hàn Quốc; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc: Đài Loan; CH<sub>3</sub>OH: Malaysia

Dung môi tinh khiết ( $\geq 99,8\%$ ): MeOH, ACN (Acetonitrile), H<sub>2</sub>O: Scharlau

Silica gel cỡ hạt 0,040-0,063 mm: Merck; Bản mỏng silica gel pha thường (20×20 cm, silica gel 60 F254, độ dày 0,25 mm): Merck; Bột sắc ký pha đảo C18 (YMC, ODS-A, 12nm, S-150μm): Merck; Diaion HP-20 (Cỡ hạt 250-850μm, cỡ lỗ 1,3 ml/g): Merck.

### 2.3. Quy trình chiết tách và phân lập

Rễ cây tam thất được rửa sạch, sấy khô (3,8 kg), được nghiền nhỏ và chiết bằng dung môi methanol trong thiết bị chiết siêu âm, nhiệt độ 40°C, 15L, 4 giờ, 3 lần chiết. Dịch chiết được loại dung môi thu được 212 g cặn MeOH. Cặn này được huyền phù nước và chiết lần lượt bằng 5L *n*-hexane, 5L EtOAc thu được 52,2 g cặn *n*-hexane, 17,5 g cặn EtOAc, và dịch nước tương ứng. Dịch nước được loại dung môi chiết sau đó được tách trên cột diaion HP-20, đầu tiên là 3L nước cất, sau đó bổ sung tăng dần MeOH, 25%, 50%, 75% và 100%MeOH (mỗi lần 3L), sau khi loại dung môi thu được các cặn tương ứng là PPA (37,2g), PPB (51,0 g), PPC (23,4g), và PPD (37,6 g). Phân đoạn PPD được tiến hành sắc ký trên cột silica gel, dung môi gradien CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH thu được 5 phân đoạn, PPD1-PPD5. Phân đoạn PPD2 (1,3 g) được phân lập trên cột YMC với dung môi MeOH/H<sub>2</sub>O (3/1) thu được 4 phân đoạn, PPD2A-PPD2D. Phân đoạn PPD2A (409,4 mg) được tinh chế bằng HPLC điều chế với dung môi ACN 40% thu được các hợp chất **1** (74,5 mg,  $t_R = 29,37$ ), **2** (11,6 mg,  $t_R = 31,79$ ), **5** (30,2 mg,  $t_R = 34,19$ ). Phân đoạn PPD2B (28,4 mg) được tinh chế bằng HPLC (ACN 40%) thu được hợp chất **4** (12,3 mg,  $t_R = 57,84$ ). Phân đoạn PPD2C (47 mg) được tinh chế bằng HPLC (MeOH/H<sub>2</sub>O 82%) thu được hợp chất **3** (23,9 mg,  $t_R = 40,78$ ). Phân đoạn PPD3 (8,1 g) được tiến hành sắc ký trên cột YMC với dung môi MeOH/H<sub>2</sub>O 2/1 thu được 11 phân đoạn, PPD3A-PPD3M. Phân đoạn PPD3K được tinh chế bằng HPLC (ACN 47%) thu được hợp chất **6** (23,3 mg,  $t_R = 55,16$ ).

### 2.4. Đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO

#### 2.4.1. Vật liệu

Lipopolysaccharide (LPS) từ *Escherichia coli* của hãng Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS) của hãng Life

Technologies, Inc., (Gaithersburg, MD, USA). Sodium nitrite, sulfanilamide, N-1-naphthylethylenediaminedihydrochloride và dimethyl sulphoxide (DMSO) của hãng Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Các hóa chất cần thiết khác dùng trong thử nghiệm hoạt tính sinh học của các hãng Sigma, GIBCO, Invitrogen, Promega.

Dòng tế bào: RAW 264.7 do GS. TS. Domenico Delfino, Đại học Perugia, Itali và GS. TS. Chi-Huang, Đại học quốc gia Yang-Ming, Đài Loan cung cấp.

#### 2.4.2. Phương pháp nuôi cấy tế bào *in vitro*

Dòng tế bào RAW264,7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM với thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES, và 1,0 mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum – FBS (GIBCO). Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày và nuôi trong tủ ấm CO<sub>2</sub> ở điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.

#### 2.4.3. Phương pháp xác định khả năng ức chế sản sinh NO của tế bào macrophage RAW 264,7

Tế bào RAW 264,7 được đưa vào đĩa 96 giếng ở nồng độ  $2 \times 10^5$  tế bào/giếng và nuôi trong tủ ấm ở 37°C và 5% CO<sub>2</sub> trong 24h. Tiếp theo, môi trường nuôi cấy được loại bỏ, thay bằng môi trường DMEM không có FBS trong 3h. Tế bào sau đó được ủ mẫu nghiên cứu ở các nồng độ khác nhau trong 2h trước khi được kích thích sản sinh yếu tố NO bằng LPS (10 µg/mL) trong 24h.

Một số giếng không được ủ mẫu mà chỉ sử dụng dung dịch pha mẫu được coi là đối chứng âm. Trong khi đối chứng dương được sử dụng là N<sup>G</sup>-Methyl-L-arginine acetate (L-NMMA) (Sigma) ở các nồng độ 100; 20; 4 và 0,8 µg/mL.

Nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) được xem là chỉ thị cho việc tạo NO, sẽ được xác định nhờ bộ Griess Reagent System (Promega Cooperation, WI, USA). Cụ thể là, 100 µL môi trường nuôi tế bào (ủ mẫu) được chuyển sang đĩa 96 mới và được thêm vào 100 µL Griess reagent: gồm 50 µL sulfanilamide 1% (w/v), phosphoric acid 5% (v/v) và 50 µL N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride 0,1% (w/v) pha trong nước. Hỗn hợp này được ủ tiếp ở nhiệt độ phòng trong 10 phút và hàm lượng nitrite sẽ được đo bằng máy Microplate Reader ở bước sóng 540 nm. Môi trường DMEM không FBS được sử dụng như giếng trắng (blank). Hàm lượng nitrite của từng mẫu thí nghiệm được xác định thông qua đường chuẩn hàm lượng NaNO<sub>2</sub> và được so sánh % với mẫu chứng âm (LPS).

Khả năng ức chế sản sinh NO của mẫu được xác định nhờ công thức:

$$\% \text{ ức chế} = 100\% - [\text{hàm lượng NO}_{\text{Mẫu vật}} / \text{hàm lượng NO}_{\text{LPS}}] * 100$$

Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ ức chế 50% sự hình thành NO) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Kết quả về cấu trúc của các hợp chất được phân lập

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp, 6 hợp chất saponin đã được phân lập từ dịch chiết methanol của rễ cây tam thất.

Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định bằng các phương pháp phổ. Phổ khối lượng phân giải cao (HR-ESI-MS) được đo trên máy Agilent 6530 Accurate Mass Q-TOF LC/MS, Viện Hóa sinh biển, VAST. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) được đo trên thiết bị Bruker 500 MHz spectrometer, Viện Hóa học, VAST. Các dữ kiện phổ và thông số hóa lý của các hợp chất phân lập được như sau:

(20S)-ginsenoside Rh1 (1): Bột vô định hình không màu; HR-ESI-MS  $m/z$  673,4098, 674,4121, 675,4076 [M+Cl]<sup>-</sup>, tính toán lý thuyết cho công thức C<sub>36</sub>H<sub>62</sub>O<sub>9</sub>Cl: lần lượt là 673,4088, 674,4121, 675,4058. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz) và <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz) (bảng 1).

(20R)-ginsenoside Rh1 (2): Bột vô định hình không màu; HR-ESI-MS  $m/z$  673,4082, 674,4081, 675,4045 [M+Cl]<sup>-</sup>, tính toán lý thuyết C<sub>36</sub>H<sub>62</sub>O<sub>9</sub>Cl: lần lượt là 673,4088, 674,4121, 675,4058. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz) và <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz) (bảng 1).

Bảng 1. Dữ kiện phổ NMR của hợp chất 1-3

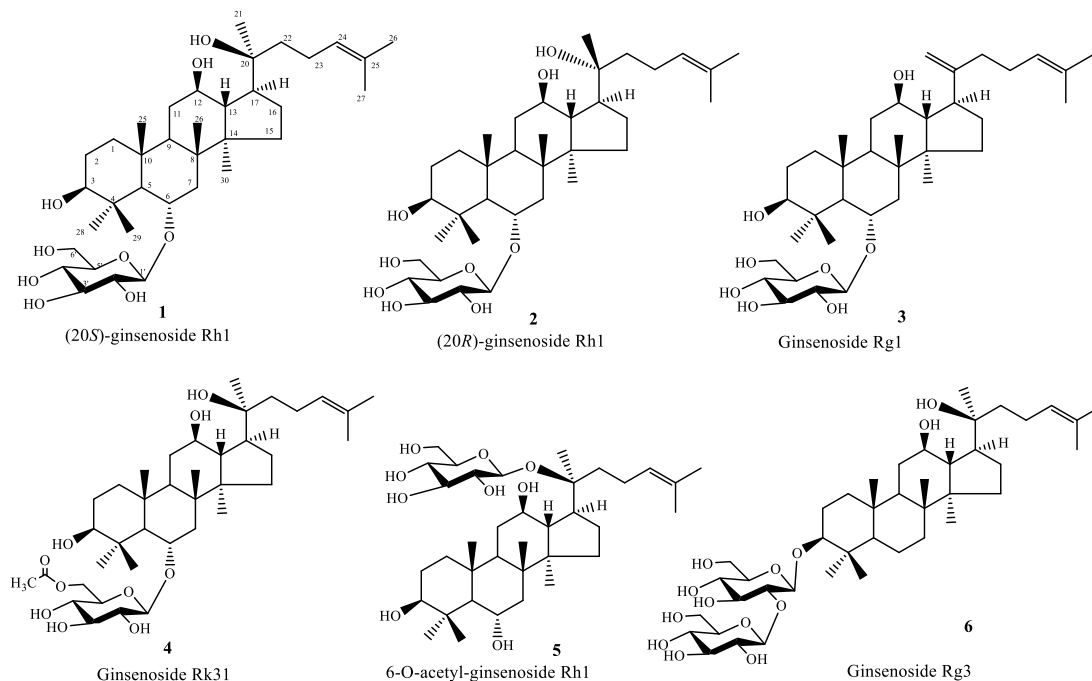
| C              | 1                |                                | 2                |                                | 3                |                                |
|----------------|------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------|
|                | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,b}(J, \text{Hz})$ | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,b}(J, \text{Hz})$ | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,b}(J, \text{Hz})$ |
| 1              | 40,2             | 1,08 (m)/1,76 (m)              | 40,2             | 1,08 (m)/1,76 (m)              | 40,3             | 1,08 (m)/1,75 (m)              |
| 2              | 27,6             | 1,34 (m)/1,89 (m)              | 27,2             | 1,38 (m)/1,88 (m)              | 27,8             | 1,34 (m)/1,89 (m)              |
| 3              | 79,8             | 3,13 (dd, 12,0, 4,8)           | 79,8             | 3,12 (dd, 12,0, 4,8)           | 79,8             | 3,12 (dd, 12,0, 4,8)           |
| 4              | 40,4             | -                              | 40,5             | -                              | 40,5             | -                              |
| 5              | 61,7             | 1,13 (d, 10,8)                 | 61,8             | 1,13 (d, 10,8)                 | 61,8             | 1,12 (d, 10,8)                 |
| 6              | 80,9             | 4,11 (ddd, 10,8, 10,8, 3,6)    | 80,9             | 4,11 (ddd, 10,8, 10,8, 3,6)    | 80,9             | 4,11 (ddd, 10,8, 10,8, 3,6)    |
| 7              | 45,3             | 1,65 (m)/2,05 (dd, 110,8, 3,6) | 45,4             | 1,65 (m)/2,07 (dd, 110,8, 3,6) | 45,5             | 1,65 (m)/2,05 (dd, 110,8, 3,6) |
| 8              | 41,8             | -                              | 41,8             | -                              | 42,0             | -                              |
| 9              | 50,8             | 1,48 (dd, 13,2, 2,4)           | 50,8             | 1,50 (dd, 13,2, 2,4)           | 51,4             | 1,50 (dd, 13,2, 2,4)           |
| 10             | 40,3             | -                              | 40,4             | -                              | 40,5             | -                              |
| 11             | 31,8             | 1,23 (m)/1,88 (m)              | 31,9             | 1,23 (m)/1,88 (m)              | 33,2             | 1,23 (m)/1,88 (m)              |
| 12             | 72,0             | 3,57 (m)                       | 71,9             | 3,57 (ddd, 10,8, 10,8, 5,4)    | 73,8             | 3,57 (ddd, 10,8, 10,8, 5,4)    |
| 13             | 48,6             | 1,75 (dd, 10,8, 10,8)          | 49,0             | 1,75 (dd, 10,8, 10,8)          | 52,7             | 1,87 (dd, 10,8, 10,8)          |
| 14             | 52,5             | -                              | 52,6             | -                              | 52,1             | -                              |
| 15             | 31,9             | 1,15 (m)/1,57 (m)              | 31,9             | 1,15 (m)/1,58 (m)              | 32,7             | 1,17 (m)/1,58 (m)              |
| 16             | 27,4             | 1,60 (m)/1,68 (m)              | 27,6             | 1,60 (m)/1,68 (m)              | 31,6             | 1,60 (m)/1,68 (m)              |
| 17             | 55,1             | 2,04 (m)                       | 50,9             | 2,08 (m)                       | 49,4             | 2,60 (m)                       |
| 18             | 17,6             | 1,11 (s)                       | 17,5             | 1,12 (s)                       | 17,5             | 1,14 (s)                       |
| 19             | 17,9             | 1,01 (s)                       | 17,7             | 1,02 (s)                       | 17,9             | 1,01 (s)                       |
| 20             | 74,4             | -                              | 74,6             | -                              | 156,1            | -                              |
| 21             | 26,5             | 1,17 (s)                       | 22,3             | 1,13 (s)                       | 108,6            | 4,71 (s)/4,90 (s)              |
| 22             | 36,2             | 1,41 (m)/1,55 (m)              | 43,3             | 1,45 (m)/1,55 (m)              | 34,9             | 2,23 (m)/2,05 (m)              |
| 23             | 23,2             | 2,03 (m)/2,17 (m)              | 22,8             | 2,10 (m)/2,14 (m)              | 27,3             | 2,03 (m)/2,15 (m)              |
| 24             | 126,2            | 5,16 (t, 6,6)                  | 125,9            | 5,13 (t, 6,6)                  | 125,7            | 5,18 (t, 6,6)                  |
| 25             | 131,9            | -                              | 131,9            | -                              | 132,2            | -                              |
| 26             | 26,0             | 1,71 (s)                       | 25,9             | 1,69 (s)                       | 25,9             | 1,70 (s)                       |
| 27             | 17,8             | 1,62 (s)                       | 17,8             | 1,64 (s)                       | 17,8             | 1,64 (s)                       |
| 28             | 31,4             | 1,35 (s)                       | 31,4             | 1,35 (s)                       | 31,4             | 1,35 (s)                       |
| 29             | 16,1             | 1,02 (s)                       | 16,1             | 1,03 (s)                       | 16,1             | 1,02 (s)                       |
| 30             | 17,0             | 0,96 (s)                       | 17,3             | 0,97 (s)                       | 17,0             | 0,96 (s)                       |
| <b>6-O-glu</b> |                  |                                |                  |                                |                  |                                |
| 1              | 105,5            | 4,37 (d, 7,8)                  | 105,6            | 4,37 (d, 7,8)                  | 105,5            | 4,37 (d, 7,8)                  |
| 2              | 75,4             | 3,23 (dd, 9,0, 7,8)            | 75,5             | 3,23 (dd, 9,0, 7,8)            | 75,5             | 3,23 (dd, 9,0, 7,8)            |
| 3              | 79,0             | 3,36 (dd, 9,0, 9,0)            | 79,1             | 3,36 (dd, 9,0, 9,0)            | 79,1             | 3,36 (dd, 9,0, 9,0)            |
| 4              | 71,6             | 3,28 (dd, 9,0, 9,0)            | 71,7             | 3,30 (dd, 9,0, 9,0)            | 71,7             | 3,30 (dd, 9,0, 9,0)            |
| 5              | 77,6             | 3,29 (m)                       | 77,7             | 3,28 (m)                       | 77,6             | 3,28 (m)                       |
| 6              | 62,9             | 3,67 (dd, 12,0, 5,4)           | 62,9             | 3,67 (dd, 12,0, 5,4)           | 62,9             | 3,67 (dd, 12,0, 5,4)           |
|                |                  | 3,83 (dd, 12,0, 1,8)           |                  | 3,83 (dd, 12,0, 1,8)           |                  | 3,84 (dd, 12,0, 1,8)           |

**Ginsenoside Rk3 (3):** Bột vô định hình không màu; HR-ESI-MS  $m/z$  638,4645  $[M+NH_4]^+$ , tính toán lý thuyết  $[C_{36}H_{60}O_9NH_4]^+$ : 638,4626,  $m/z$  621,4348  $[M+H]^+$ , tính toán lý thuyết  $[C_{36}H_{61}O_9]^+$ : 621,4361,  $m/z$  643,4182  $[M+Na]^+$ , tính toán lý thuyết  $[C_{36}H_{60}O_9Na]^+$ : 643,4180,  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 600 MHz) và  $^{13}C$  NMR ( $CD_3OD$ , 150 MHz) (bảng 1).

**6-O-acetyl-ginsenoside Rh1 (4):** Bột vô định hình không màu; HR-ESI-MS  $m/z$  715,4191, 716,4216, 717,4215  $[M+Cl]^+$ , tính toán lý thuyết  $C_{38}H_{64}O_{10}Cl$ : lần lượt là 715,4193, 716,4227, 717,4164.  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 600 MHz) và  $^{13}C$  NMR ( $CD_3OD$ , 150 MHz) (bảng 2).

**Ginsenoside F1 (5):** Bột vô định hình không màu; HR-ESI-MS  $m/z$  673,4063, 674,4085, 675,4067  $[M+Cl]^+$ , tính toán lý thuyết  $C_{36}H_{62}O_9Cl$ : lần lượt là 673,4088, 674,4121, 675,4058.  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 600 MHz) và  $^{13}C$  NMR ( $CD_3OD$ , 150 MHz) (bảng 2).

**Ginsenoside Rg3 (6):** Bột vô định hình không màu; HR-ESI-MS  $m/z$  819,4658, 820,4691, 821,4656  $[M+Cl]^-$ , tính toán lý thuyết  $C_{42}H_{72}O_{13}Cl$ : lần lượt là 819,4667, 820,4699, 821,4632.  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ , 600 MHz) và  $^{13}C$  NMR ( $CD_3OD$ , 150 MHz) (bảng 2).



**Hình 1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1-6**

Các phổ NMR của hợp chất **1-6** khá tương tự nhau và được nhận dạng là các dammarane glycoside với khung aglycon có 30 nguyên tử C, phần còn lại là các phân tử đường glucose. Hợp chất **1** có công thức phân tử là  $C_{36}H_{62}O_9$ , được xác định bằng phổ khối lượng phân giải cao. Trên phổ  $^1H$  NMR xuất hiện các tín hiệu đơn của 8 nhóm  $CH_3$  ( $\delta_H$  0,96; 1,01; 1,02; 1,11; 1,17; 1,35; 1,62; 1,71), một nối đôi  $-CH=C<$  ( $\delta_H$  5,16), một proton anome ( $\delta_H$  4,37), 3 proton của ba nhóm CH có nối với nguyên tử Oxygen do có độ dịch chuyển hóa học khá cao tại  $\delta_H$  3,13; 3,57; 4,11. Các tín hiệu proton của một phân tử đường glucose được xác định bao gồm 5 nhóm CH ( $\delta_H$  4,37; 3,23; 3,36; 3,28; 3,29) và một nhóm  $CH_2OH$  tại  $\delta_H$  3,83 và 3,67. Phổ  $^{13}C$  NMR xuất hiện tín hiệu của 36 carbon, bao gồm 30C thuộc khung dammarane và 6C (105,5; 75,4; 79,0; 71,6; 77,6; 62,9) thuộc một phân tử đường glucose. Ở phần aglycone, nối đôi C-24/C-25 ( $\delta_C$  126,2/131,9), 8 nhóm methyl ( $\delta_C$  16,1; 17,0; 17,6; 17,8; 17,9; 26,0; 26,5; 31,4), 4C có nối với nguyên tử ô xi ( $\delta_C$  72,0; 79,8; 80,9 (3xCH), 74,4 (C) cũng được xác định nhờ phổ HSQC. Các kết quả nêu trên gợi ý hợp chất **1** là (20S)-ginsenoside Rh1 khi so sánh các giá trị phổ NMR của **1** với các dữ liệu đã công bố cho hợp chất (20S)-ginsenoside Rh1 [14] thấy sự phù hợp ở tất cả các vị trí. Để nhận dạng chính xác hơn cấu trúc hóa học của hợp chất **1**, phổ HMBC đã được thực hiện. Trên phổ này, tín hiệu tương tác giữa hai nhóm methyl H-28 và H-29 với C-3 ( $\delta_C$  79,8), C-4 ( $\delta_C$  40,4), C-5 ( $\delta_C$  61,7) xác định một nhóm OH gắn vào C-3, tương tác giữa proton anome ( $\delta_H$  4,37) với C-6 ( $\delta_C$  80,9), giữa H-21 với C17, C-20, C-22, giữa H-9 với C-12, giữa H-17 với C-12, cũng như giữa H-26/H-27 với C-24/C-25 cho thấy nhánh đường gắn vào C-6, hai nhóm OH gắn vào C-12 và C-20, và nối đôi được khẳng định tại C-24/C-25 [2]-[8]. Hóa học lập thể của **1** cũng được xác định dựa trên phân tích các tín hiệu tương tác spin của các proton, hằng số tương tác spin so sánh với các công bố trước đây. Kết quả cho thấy các nhóm thế gắn vào aglycon với cấu hình  $3\beta, 6\alpha, 12\beta, 20\beta$  hoàn toàn giống với tất cả các dammarane đã biết từ chi *Panax*. So sánh sự khác nhau về các giá trị độ dịch chuyển hóa học đã công bố cho hai cấu hình 20S/20R có thể nhận thấy

các giá trị  $\delta_{C-17} = 55,1$  và  $\delta_{C-22} = 36,2$  hoàn toàn phù hợp cho cấu hình 20S [2]-[8],[14]. Từ những phân tích nêu trên, hợp chất **1** được khẳng định là (20S)-ginsenoside Rh1 (bảng 1).

**Bảng 2.** Dữ kiện phổ NMR của hợp chất 4-6

| C               | 4                |                                | 5                |                                | 6                |                                |
|-----------------|------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------|
|                 | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,b}(J, \text{Hz})$ | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,b}(J, \text{Hz})$ | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,b}(J, \text{Hz})$ |
| 1               | 40,2             | 1,08 (m)/1,76 (m)              | 40,1             | 1,06 (m)/1,74 (m)              | 40,3             | 1,03 (m)/1,75 (m)              |
| 2               | 27,6             | 1,34 (m)/1,88 (m)              | 27,2             | 1,42 (m)/1,96 (m)              | 27,3             | 1,75 (m)/2,00 (m)              |
| 3               | 79,9             | 3,13 (dd, 12,0, 4,8)           | 79,5             | 3,14 (dd, 12,0, 4,8)           | 91,3             | 3,20 (dd, 13,0, 4,8)           |
| 4               | 40,4             | -                              | 40,5             | -                              | 40,6             | -                              |
| 5               | 61,8             | 1,13 (d, 10,8)                 | 62,1             | 0,93 (d, 10,8)                 | 57,6             | 0,80 (m)                       |
| 6               | 80,4             | 4,11 (ddd, 10,8, 10,8, 3,6)    | 68,9             | 4,06 (ddd, 10,8, 10,8, 3,6)    | 19,2             | 1,50 (m)/1,59 (m)              |
| 7               | 45,7             | 1,65 (m)/2,05 (dd, 110,8, 3,6) | 47,2             | 1,67 (m)/1,57 (dd, 10,8, 3,6)  | 35,9             | 1,31 (m)/1,58 (m)              |
| 8               | 42,0             | -                              | 42,0             | -                              | 41,0             | -                              |
| 9               | 50,9             | 1,48 (dd, 13,2, 2,4)           | 50,4             | 1,50 (dd, 13,2, 2,4)           | 51,4             | 1,45 (dd, 13,2, 3,0)           |
| 10              | 40,4             | -                              | 40,1             | -                              | 37,9             | -                              |
| 11              | 31,9             | 1,23 (m)/1,89 (m)              | 30,9             | 1,21 (m)/1,88 (m)              | 32,0             | 1,23 (m)/1,88 (m)              |
| 12              | 72,0             | 3,57 (m)                       | 71,9             | 3,57 (m)                       | 72,0             | 3,57 (m)                       |
| 13              | 48,6             | 1,75 (dd, 10,8, 10,8)          | 49,2             | 1,75 (dd, 10,8, 10,8)          | 49,4             | 1,77 (dd, 10,8, 10,8)          |
| 14              | 52,5             | -                              | 52,3             | -                              | 52,6             | -                              |
| 15              | 32,1             | 1,15 (m)/1,58 (m)              | 31,6             | 1,10 (m)/1,64 (m)              | 32,0             | 1,07 (m)/1,60 (m)              |
| 16              | 27,2             | 1,60 (m)/1,68 (m)              | 27,8             | 1,63 (m)/1,68 (m)              | 27,4             | 1,35 (m)/1,90 (m)              |
| 17              | 55,1             | 2,04 (m)                       | 53,1             | 2,30 (m)                       | 55,1             | 2,05 (m)                       |
| 18              | 17,6             | 1,11 (s)                       | 17,7             | 1,11 (s)                       | 16,7             | 1,03 (s)                       |
| 19              | 17,8             | 1,01 (s)                       | 18,0             | 0,99 (s)                       | 16,8             | 0,95 (s)                       |
| 20              | 74,4             | -                              | 84,9             | -                              | 74,4             | -                              |
| 21              | 26,5             | 1,17 (s)                       | 22,8             | 1,38 (s)                       | 26,6             | 1,17 (s)                       |
| 22              | 36,3             | 1,42 (m)/1,55 (m)              | 36,6             | 1,64 (m)/1,83 (m)              | 36,3             | 1,42 (m)/1,55 (m)              |
| 23              | 23,3             | 2,02 (m)/2,17 (m)              | 24,2             | 2,10 (q, 6,6)                  | 23,3             | 2,04 (m)/2,17 (m)              |
| 24              | 126,2            | 5,16 (t, 6,6)                  | 125,8            | 5,13 (t, 6,6)                  | 126,2            | 5,17 (t, 6,6)                  |
| 25              | 132,0            | -                              | 132,3            | -                              | 132,0            | -                              |
| 26              | 25,9             | 1,71 (s)                       | 25,9             | 1,71 (s)                       | 25,9             | 1,71 (s)                       |
| 27              | 17,7             | 1,63 (s)                       | 17,7             | 1,64 (s)                       | 17,7             | 1,64 (s)                       |
| 28              | 31,3             | 1,34 (s)                       | 31,5             | 1,32 (s)                       | 28,4             | 1,10 (s)                       |
| 29              | 16,2             | 1,02 (s)                       | 16,1             | 0,99 (s)                       | 16,2             | 0,88 (s)                       |
| 30              | 17,1             | 0,96 (s)                       | 17,2             | 0,96 (s)                       | 17,2             | 0,95 (s)                       |
| <b>6-O-glu</b>  |                  |                                | <b>20-O-glu</b>  |                                | <b>6-O-glu</b>   |                                |
| 1'              | 105,5            | 4,44 (d, 7,8)                  | 98,3             | 4,63 (d, 7,8)                  | 105,4            | 4,46 (d, 7,8)                  |
| 2'              | 75,5             | 3,23 (dd, 9,0, 7,8)            | 75,4             | 3,11 (dd, 9,0, 7,8)            | 81,2             | 3,58 (dd, 9,0, 7,8)            |
| 3'              | 78,7             | 3,36 (dd, 9,0, 9,0)            | 78,2             | 3,37 (dd, 9,0, 9,0)            | 78,3             | 3,57 (dd, 9,0, 9,0)            |
| 4'              | 71,5             | 3,27 (dd, 9,0, 9,0)            | 71,2             | 3,34 (dd, 9,0, 9,0)            | 71,6             | 3,30 (dd, 9,0, 9,0)            |
| 5'              | 75,2             | 3,48 (m)                       | 77,9             | 3,24 (m)                       | 77,7             | 3,28 (m)                       |
| 6'              | 65,2             | 4,08 (dd, 12,0, 5,4)           | 62,5             | 3,66 (dd, 12,0, 5,4)           | 62,9             | 3,67 (dd, 12,0, 5,4)           |
|                 |                  | 4,99 (dd, 12,0, 1,8)           |                  | 3,80 (dd, 12,0, 1,8)           |                  | 3,87 (dd, 12,0, 1,8)           |
| C=              | 172,7            | -                              |                  |                                |                  |                                |
| O               |                  |                                |                  |                                |                  |                                |
| CH <sub>3</sub> | 20,9             | 2,07 (s)                       |                  |                                |                  |                                |
|                 |                  |                                |                  |                                | <b>2'-O-glu</b>  |                                |
| 1''             |                  |                                |                  |                                | 104,5            | 4,69 (d, 7,8)                  |
| 2''             |                  |                                |                  |                                | 76,3             | 3,24 (dd, 9,0, 7,8)            |
| 3''             |                  |                                |                  |                                | 78,5             | 3,28 (dd, 9,0, 9,0)            |
| 4''             |                  |                                |                  |                                | 71,9             | 3,30 (dd, 9,0, 9,0)            |
| 5''             |                  |                                |                  |                                | 77,9             | 3,30 (m)                       |
| 6''             |                  |                                |                  |                                | 63,1             | 3,63 (dd, 12,0, 5,4)           |
|                 |                  |                                |                  |                                |                  | 3,84 (dd, 12,0, 1,8)           |

Hợp chất **2** có các phổ NMR giống với hợp chất **1** ở hầu hết các vị trí (bảng 1), được xác định là có 3 nhóm OH tại C-3, C-12, và C-20, một phân tử đường gắn vào C-6 và một nối đôi tại C-24/C-25 [14]. Các nhóm thế gắn vào 4 vị trí nêu trên, cùng với sự có mặt của một nối đôi cuối mạch nhánh C-24/C-5 là rất phổ biến đối với các hợp chất từ chi *Panax* [2]-[8]. Điểm khác biệt có thể nhận biết được trên phổ NMR của hai hợp chất **1** và **2** là các giá trị phổ NMR tại các vị trí C-17, C-22 của chúng là khác nhau nhiều. Cụ thể là, đối với hợp chất **1** (20S):  $\delta_{C-17} = 55,1$ ,  $\delta_{C-22} = 36,2$ , trong khi đối với hợp chất **2** (20R):  $\delta_{C-17} = 50,9$ ,  $\delta_{C-22} = 43,3$ . Kết quả này hoàn toàn phù hợp với sự khác nhau về cấu hình tại C-20 đã được công bố. Hai hợp chất **1** và **2** có cùng một công thức phân tử  $C_{36}H_{62}O_9$  được khẳng định bằng phổ khối lượng phân giải cao. Giá trị lớn của  $J_{H-2/H-3} = 12,0$  Hz chứng tỏ rằng H-3 phải chiếm vị trí *axial*, tức là  $3\beta$ -OH. Tương tự như vậy,  $J_{H-5/H-6} = 10,8$  Hz,  $J_{H-12/H-13} = 10,8$  Hz khẳng định H-6 và H-12 cũng chiếm vị trí *axial*, tức là  $6\alpha$ -OH và  $12\beta$ -OH. Mặt khác, cấu trúc của hợp chất cũng được chứng minh bằng các phổ HSQC và HMBC cho phép khẳng định hợp chất **2** là (20R)-ginsenoside Rh1 (bảng 1) [14].

Phổ NMR của hợp chất **3** khác với các phổ tương ứng của hợp chất **1** và **2** là xuất hiện thêm tín hiệu của một nối đôi dạng  $>C=CH_2$  ( $\delta_{C-20} 156,1$ ;  $\delta_{C-21} 108,6$ /  $\delta_{H-21} 4,71, 4,90$ ) đồng thời mất đi tín hiệu của nhóm methyl tại C-21. Kết quả này gợi ý hợp chất **3** là ginsenoside Rk3 với hai nhóm hydroxy tại C-3 và C-12, một phân tử đường nối vào C-6, và hai nối đôi C-20/C-21 và C-24/C-25. Công thức phân tử  $C_{36}H_{60}O_8$  được khẳng định cho hợp chất **3** bằng phổ HR-ESI-MS. So sánh các dữ liệu phổ của **3** và ginsenoside Rk3 cho thấy sự phù hợp hoàn toàn. Ngoài ra, bằng phân tích phổ HSQC và HMBC đã khẳng định chính xác vị trí của các nhóm thế, vị trí hai nối đôi, cũng như hóa học lập thể của các nhóm thế của **3** giống với hợp chất ginsenoside Rk3 [15].

Hợp chất **4** có các phổ NMR tương tự như các phổ tương ứng của **1**, tuy nhiên có xuất hiện thêm tín hiệu của nhóm acetyl tại  $\delta_C 172,7$  (C=O),  $\delta_C 20,9$ /  $\delta_H 2,07$  (3H, s). Mặt khác, tín hiệu phổ carbon của C-6 glc của hợp chất **4** ( $\delta_C 65,2$ ) đã dịch chuyển mạnh về phía trường thấp hơn so với hợp chất **1** ( $\delta_C 62,9$ ) gợi ý rằng nhóm acetyl đã gắn vào C-6 của đường glucose. Điều này đã được chứng minh rõ ràng bằng tương tác HMBC giữa proton H-6 glc ( $\delta_H 4,99$  và  $4,08$ ) với carbon C=O ( $\delta_C 172,7$ ) cũng như kết quả thu được trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS. Cuối cùng, các dữ liệu phổ NMR của **4** được so sánh với các dữ liệu tương ứng của hợp chất 6-O-acetyl-ginsenoside Rh1 và cho sự phù hợp hoàn toàn.

Phổ NMR của hợp chất **5** cũng cho thấy đây là một dammarane glycoside có 1 phân tử đường glucose nhưng có sự khác biệt rất rõ so với hợp chất **1** tại các vị trí C-6, C-20 và carbon anome của phân tử đường (xem bảng 1 và bảng 2). Tín hiệu C-6 ( $\delta_{C-6} = 80,9$ ) ở hợp chất **1** đã dịch chuyển về  $\delta_{C-6} 68,9$  ở hợp chất **5** cho thấy chỉ có nhóm hydroxy tự do tại vị trí C-6. Đồng thời tín hiệu C-20 đã dịch chuyển từ  $\delta_C 74,4$  (đối với **1**) lên  $\delta_C 84,9$  (đối với **5**), carbon anome C-1' dịch chuyển từ  $\delta_C 105,5$  (**1**) về  $\delta_C 98,3$  (**5**) cho thấy đường glucose đã chuyển liên kết từ C-6 đến C-20. Điều này hoàn toàn phù hợp với các dữ liệu đã được công bố. Kết quả phổ HR-ESI-MS cho thấy công thức phân tử của **5** hoàn toàn giống như **1**,  $C_{36}H_{62}O_9$ . Sự phân tích trên cùng với kết quả so sánh dữ kiện NMR đã công bố đã khẳng định hợp chất **5** chính là ginsenoside F1 [16].

Các dữ liệu phổ NMR của hợp chất **6** (Bảng 2) cho thấy hợp chất này có 42C bao gồm 30C thuộc khung dammaran aglycon và 12C thuộc hai phân tử đường glucose. Điểm khác biệt dễ nhận ra trên phổ của **6** so với các hợp chất **1-5** là tín hiệu C-3 cộng hưởng về phía trường thấp hơn ( $\delta_C 91,3$ ). Đồng thời, tín hiệu C-6 đã dịch chuyển rất mạnh về phía trường cao ( $\delta_C 19,2$ ,  $CH_2$ ) gợi ý nhánh đường đã nối với C-3 và nhóm thế tại C-6 đã không còn nữa. Các dữ kiện phổ NMR của **6** được so sánh trực tiếp với các dữ liệu đã công bố đối với ginsenoside Rg3 cho sự phù hợp hoàn toàn [17]. Mặt khác, phổ HR-ESI-MS đã khẳng định chính xác công thức phân tử của **6** là  $C_{42}H_{72}O_{13}$ . Hợp chất này cũng đã được biết đến từ rễ cây *Panax pseudoginseng*.

### 3.2. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO của các hợp chất

Các hợp chất **1-6** được đánh giá sàng lọc hoạt tính ức chế sản sinh NO đối với tế bào RAW264,7 kích thích bởi LPS [8] – [13]. Kết quả được nêu ra trên bảng 3 cho thấy các hợp chất

dammarane saponin nói chung đều có hoạt tính ức chế sản sinh NO khá tốt so sánh với chất đối chứng dương L-NMMA. Kết quả này cũng khá phù hợp với các kết quả đã công bố cho các hợp chất dammarane phân lập từ chi *Panax* và cho thấy cần có những nghiên cứu tiếp theo theo hướng tìm kiếm các hoạt chất kháng viêm từ rễ cây tam thất.

**Bảng 3.** Hoạt tính ức chế NO của tế bào RAW264,7 kích thích bởi LPS

| Hợp chất            | IC <sub>50</sub> (μM) | Hợp chất | IC <sub>50</sub> (μM) |
|---------------------|-----------------------|----------|-----------------------|
| 1                   | 28,91 ± 1,72          | 4        | 33,62 ± 2,03          |
| 2                   | 29,46 ± 1,92          | 5        | 29,07 ± 1,98          |
| 3                   | 17,32 ± 1,56          | 6        | 34,61 ± 2,72          |
| L-NMMA <sup>a</sup> | 9,80 ± 0,78           |          |                       |

<sup>a</sup>) Chất đối chứng dương

#### 4. Kết luận

Từ rễ cây tam thất đã phân lập và xác định được 6 hợp chất dammarane saponin, (20S)-ginsenoside Rh1 (1), (20R)-ginsenoside Rh1 (2), ginsenoside Rk3 (3), 6-acetoxy-ginsenoside Rh1 (4), ginsenoside F1 (5), và ginsenoside Rg3 (6). Kết quả đánh giá sàng lọc hoạt tính ức chế sản sinh NO đối với tế bào RAW264,7 kích thích bởi LPS cho thấy cả 6 hợp chất này đều có hoạt tính khá tốt. Các hợp chất dammarane cũng đã được phân lập từ chi *Panax* ở trên thế giới. Kết quả nêu trên cũng làm rõ thêm về thành phần hóa học của rễ cây tam thất ở Việt Nam. Hơn nữa, kết quả sàng lọc hoạt tính trên gợi mở cho những nghiên cứu tiếp theo đối với các sản phẩm kháng viêm và tăng cường khả năng miễn dịch của rễ cây tam thất.

#### Lời cảm ơn

Các tác giả chân thành cảm ơn Đại học Thái Nguyên đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu thông qua đề tài mã số ĐHTN2021-TN11-03.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] V. C. Vo, *Dictionary of Vietnamese Medicinal Plants* (in Vietnamese), Hanoi: Medicine Publishing House, vol. 2, pp. 768-769, 1390, 2012.
- [2] C. F. Chen, W. F. Chiou, and J. T. Zhang, "Comparison of the pharmacological effects of *Panax ginseng* và *Panax quinquefolium*," *Acta Pharmacol. Sin.*, vol. 29, pp. 1103-1108, 2008.
- [3] H. J. Park, D. H. Kim, S. J. Park, J. M. Kim, and J. H. Ryu, "Ginseng in traditional herbal prescriptions," *J. Ginseng Res.*, vol. 36, pp. 225-241, 2012.
- [4] W. Z. Yang, Y. Hu, W. Y. Wu, M. Ye, and D. A. Guo, "Saponins in the genus *Panax* L. (Araliaceae): A systematic review of their chemical diversity," *Phytochemistry*, vol. 106, pp. 7-24, 2014.
- [5] O. Tanaka and S. Yahara, "Dammarane saponins of leaves of *Panax pseudo-ginseng* subsp. *himalaicus*," *Phytochemistry*, vol. 17, no. 8, pp. 1353-1358, 1978.
- [6] O. Tanaka, E. C. Han, H. Yamaguchi, H. Matsuura, T. Murakami, T. Taniyama, and M. Yoshikawa, "Saponins of plants of *Panax* species collected in central Nepal, và their chemotaxonomical significance. III," *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 48, no. 6, pp. 889-892, 2000.
- [7] Morita, J. Zhou, and O. Tanaka, "Saponins from *Panax pseudo-ginseng* Wall. subsp. *pseudo-ginseng* Hara collected at Nielamu, Tibet," *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 34, no. 11, pp. 4833-4835, 1986.
- [8] T. T. H. Hanh, P. T. Cham, D. H. Anh, N. T. Cuong, N. Q. Trung, T. H. Quang, N. X. Cuong, N. H. Nam, and C. V. Minh, "Dammarane-type triterpenoid saponins from the flower buds of *Panax pseudoginseng* with cytotoxic activity," *Nat. Prod. Res.*, Sep. 30, 2021, doi: 10.1080/14786419.2021.1984908.
- [9] H. Liao, L. Banbury, H. Liang, X. Wang, X. Lü, L. Hu, and J. Wu, "Effect of honghua (Flos Carthami) on nitric oxide production in RAW 264.7 cells và  $\alpha$ -glucosidase activity," *J. Trad. Chin. Med.*, vol. 34, no. 3, pp. 362-368, 2014.

- 
- [10] S. Combet, J. L. Balligand, N. Lameire, E. Goffin, and O. Devuyst, "A specific method for measurement of nitric oxide synthase enzymatic activity in peritoneal biopsies," *Kidney International*, vol. 57, no. 1, pp.332-338, 2000.
- [11] P. J. Tsai, T. H. Tsai, C. H. Yu, and S. C. Ho, "Comparison of NO-scavenging và NO-suppressing activities of different herbal teas with those of green tea," *Food Chemistry*, vol. 103, no. 1, pp. 181-187, 2007.
- [12] N. R. Bernardes, M. Heggdorne-Araújo, I. F. Borges, F. M. Almeida, E. P. Amaral, E. B. Lasunskaja, M. F. Muzitano, and D. B. Oliveira, "Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant và antimycobacterial activities of the fruits extract và flavonoid content of *Schinus terebinthifolius*," *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 24, no. 6, pp. 644-650, 2014.
- [13] S. Cheenpracha, E. J. Park, B. Rostama, J. M. Pezzuto, and L. C. Chang, "Inhibition of nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-activated murine macrophage RAW 264.7 cells by the norsesiterpene peroxide, epimuqubilin A," *Marine drugs*, vol. 8, no. 3, pp. 429-437, 2010.
- [14] R. Teng, H. Li, J. Chen, D. Wang, Y. He, and C. Yang, "Spectral assignments và reference data. Complete assignment of  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR data for nine protopanaxatriol glycosides," *Magn. Reson. Chem.*, vol. 40, no. 7, pp. 483-488, 2002.
- [15] I. H. Park, N. Y. Kim, S. B. Han, J. M. Kim, S. W. Kwon, H. J. Kim, K. Park, and J. H. Park, "Three new dammarane glycosides from heat processed ginseng," *Arch. Pharm. Res.*, vol. 25, no. 4, pp. 428-432, 2002.
- [16] K. O. Sung-Ryong, C. Kang-Ju, S. Kei, and S. Yukio, "Enzymatic preparation of ginsenosides Rg2, Rh1, and F1," *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 51, no. 4, pp. 404-408, 2003.
- [17] R. Teng, C. Ang, D. McManus, D. Armstrong, S. Mau, and A. Bacic, "Regioselective acylation of ginsenosides by novozyme 435 to generate molecular diversity," *Helv. Chim. Acta*, vol. 87, pp. 1860-1872, 2004.