

ISOLATION OF TRITERPENOID SAPONINS FROM THE LEAVES OF *WEIGELA* X “BRISTOL RUBY”

Nguyen Duc Hung*, Tu Quang Tan, Sy Danh Thuong

TNU - University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 06/02/2022	<i>Weigela</i> genus of Asparagaceae family contains 10 species which are distributed mainly in Asia region, however, there are more than 200 species which have been cultivated for many profits such as environmental beauty and medicinal use. Because of its beautiful flowering and facilitating growth, <i>W. x “Bristol ruby”</i> , a shrub ornamental plant distributing commonly in Europe, are being planted for ornamental purpose. Previously, study on the roots of this species led to an identification of monodesmosidic oleanane-type triterpenoid saponins possessing a good cytotoxicity against a mouse colon cancer cell line (CT26). Based on chromatographical techniques, in combination with spectroscopic methods (1D and 2D NMR) and mass spectroscopy (ESI-MS in positive mode), two bidesmosidic oleanane-type triterpenoid saponins were isolated in success from the extract of the leaves of <i>W. x “Bristol ruby”</i> . A suggestion of further experiments was carried out on other evaluations of biological activity in order to achieve an overview on those compounds.
Revised: 08/4/2022	
Published: 13/4/2022	
KEYWORDS	
Ornamental shrub	
Triterpenoid saponin	
<i>Weigela x “Bristol Ruby”</i>	
NMR	
Oleanolic saponin	

PHÂN LẬP TRITERPENOID SAPONIN TỪ LÁ CỦA LOÀI *WEIGELA* X “BRISTOL RUBY”

Nguyễn Đức Hùng*, Từ Quang Tân, Sỹ Danh Thường

Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 06/02/2022	Chi <i>Weigela</i> , thuộc họ Kim ngân (Caprifoliaceae) gồm 10 loài có vùng phân bố chủ yếu tại châu Á. Tuy nhiên, có tới hơn 200 loài đã được lai tạo với các mục đích khác nhau như trang trí và thuốc chữa bệnh. <i>W. x “Bristol ruby”</i> là một loài cây bụi, có vùng phân bố chủ yếu tại châu Âu và được trồng với mục đích làm cảnh do có đặc tính dễ sinh trưởng và cho hoa màu sắc đẹp. Trước đó, phần rễ của loài thực vật này có chứa các hợp chất saponin triterpenoid dạng olean có một mạch đường, có hoạt tính gây độc mạnh trên dòng tế bào ung thư đại trực tràng (CT26). Dựa trên các phương pháp sắc ký, kết hợp với phương pháp phổ hiện đại một và hai chiều (1D và 2D NMR) và phổ khối lượng (ESI-MS), 2 hợp chất saponin triterpenoid dạng olean có hai mạch đường đã được tách chiết thành công từ cao chiết ethanol của lá của loài <i>W. x “Bristol ruby”</i> . Nghiên cứu đề xuất cần tiếp tục tiến hành đánh giá hoạt tính sinh học khác để có nhận định tổng quan về các hợp chất này.
Ngày hoàn thiện: 08/4/2022	
Ngày đăng: 13/4/2022	
TỪ KHÓA	
Cây cảnh	
Triterpenoid saponin	
<i>Weigela x “Bristol Ruby”</i>	
Phổ cộng hưởng từ hạt nhân	
Oleanolic saponin	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5501>

* Corresponding author. Email: hungnd@tnue.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Cây cảnh giữ vai trò quan trọng trong cuộc sống của con người. Nhiều loài cây cảnh có hoa với nhiều màu sắc đẹp, dễ phát triển nên được trồng phổ biến tại nhà, nơi làm việc, các viện nghiên cứu... với mục đích trang trí và nâng cao chất lượng cuộc sống [1]. Một số loài cây cảnh trồng trong nhà được sử dụng với mục đích loại bỏ các chất hóa học độc hại có trong không khí như formaldehyde, benzene, carbon monoxide và một số hợp chất độc khác [2]. Bên cạnh đó, các loài cây cảnh có hàm lượng các hợp chất thiên nhiên cao, có hoạt tính sinh học như phenolic, hợp chất chống oxy hóa, carotenoid... được trồng để sử dụng trong y học [3]. Điều này cho thấy, cây cảnh có thể là nguồn cung cấp các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học mà khoa học chưa khám phá đầy đủ.

Chi *Weigela*, thuộc họ Kim ngân (Asparagaceae) gồm 10 loài có vùng phân bố chủ yếu tại châu Á. Tuy nhiên, có tới hơn 200 loài đã được lai tạo với các mục đích khác nhau như trang trí và thuốc chữa bệnh [4]. Các hợp chất flavonoid và saponin tách chiết từ chi thực vật này có hoạt tính sinh học mạnh như kháng oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, miễn dịch, kháng tế bào ung thư và hoạt tính gây độc... [5]-[11]. Do đó, nghiên cứu về các hợp chất hóa học của *Weigela* nhằm tìm kiếm hợp chất hóa học mới, đồng thời đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất này cần được tiếp tục thực hiện.

W. x “Bristol ruby” là một loài cây bụi, có vùng phân bố chủ yếu tại châu Âu và được trồng với mục đích làm cảnh do có đặc tính dễ sinh trưởng và cho hoa màu sắc đẹp. Nguyễn và cộng sự (2019) đã nghiên cứu phần rễ của loài thực vật này và chứng minh sự có mặt của các hợp chất saponin triterpenoid dạng olean có 1 mạch đường, đồng thời hoạt tính sinh học của các hợp chất này đã được đánh giá về hoạt tính gây độc trên dòng tế bào ung thư đại trực tràng (CT26) [12]. Hiện nay, việc tách chiết hợp chất saponin từ phần lá của loài *W. x “Bristol ruby”* chưa có tác giả nào công bố. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu về nội dung này, góp phần hoàn thiện hệ thống phân loại hóa học thực vật đối với các loài thuộc chi *Weigela*. Sau khi tạo được cao chiết ethanol từ lá của loài *W. x “Bristol ruby”* bằng phương pháp hỗ trợ vi sóng, nghiên cứu tiến hành tách chiết saponin bằng các phương pháp sắc ký khác nhau. Cấu trúc hóa học của hợp chất saponin được xác định bằng phương pháp phổ hiện đại một chiều và hai chiều NMR (1D và 2D NMR), kết hợp với phổ khối lượng (ESI-MS). Nghiên cứu đề xuất cần tiếp tục tiến hành đánh giá hoạt tính sinh học khác để có nhận định tổng quan về các hợp chất này.

2. Đối tượng, phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu sử dụng trong nghiên cứu là phần lá của loài *W. x “Bristol ruby”* được thu tại Jardiland®, Chenove, Pháp ở tọa độ 47°17'06,4"N, 5°01'28,1"E. Sau đó, mẫu vật được giám định theo phương pháp của Chase và cộng sự (2016) [13]. Mẫu tiêu bản được đánh số 20.160.110 và lưu giữ tại phòng thí nghiệm Laboratoire de Pharmacognosie, Université de Bourgogne Franche-Comté, Pháp (Hình 1).



Hình 1. Hình ảnh loài *W. x “Bristol Ruby”*

2.2. Hóa chất và thiết bị

Các dung môi bao gồm EtOH, MeOH, CHCl₃ đều đạt tiêu chuẩn kỹ thuật trước khi sử dụng. Sắc ký bản mỏng (Thin layer chromatography - TLC) và sắc ký bản mỏng hiệu năng cao (High performance thin layer chromatography - HPTLC) sử dụng pha thuận tráng silica gel 60F₂₅₄ (Merck, Đức). Sắc ký lỏng chân không (Vacuum liquid chromatography - VLC) được thực hiện trên pha đảo silica gel RP-18, kích thước 70-200 μ m (Silicycle, Canada). Chất hấp phụ của sắc ký cột (CC) là Sephadex[®] LH20 (Sigma Aldrich, Pháp). Sắc ký lỏng hiệu năng trung bình (MPLC) được thực hiện trên pha thuận silica gel 60, kích thước 15-40 μ m (Merck, Đức), sử dụng cột sắc ký thủy tinh Büchi kích thước 460 mm x 25 mm, 460 mm x 15 mm và 110 mm x 15 mm. Thuốc thử sử dụng để nhận biết saponin là vanilin/axit sunfuric (1% vanillin trong EtOH/H₂SO₄ 50/1).

Mẫu nghiên cứu được chiết bằng máy vi sóng MARS 6 (CEM[®], Mỹ). Cao chiết được phân tách trên hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng trung bình (MPLC), sử dụng bơm mẫu M305 (Gilson[®], Mỹ). Cao chiết và các phân đoạn saponin được đông khô bằng hệ thống đông khô chân không Heto Drywinner DW 6-55-1 (Thermo Fisher Scientific, Mỹ). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1 và 2 chiều (1D and 2D NMR) được đo trên máy Varian INOVA 600 (Agilent Technologies[®], USA), trong đó phổ proton ¹H-NMR và phổ cacbon ¹³C lần lượt được đo ở tần số 600 MHz và 150 MHz, sử dụng pyridine-*d*₅ là dung môi hòa tan. Hằng số tương tác (*J*) được tính theo đơn vị Hz và độ dịch chuyển hóa học (δ) được tính theo đơn vị ppm. Phổ khối lượng ion hóa phun mù điện tử (ESI-MS) được đo trên máy Bruker micrOTOF II mass spectrometer (Bruker[®], Đức).

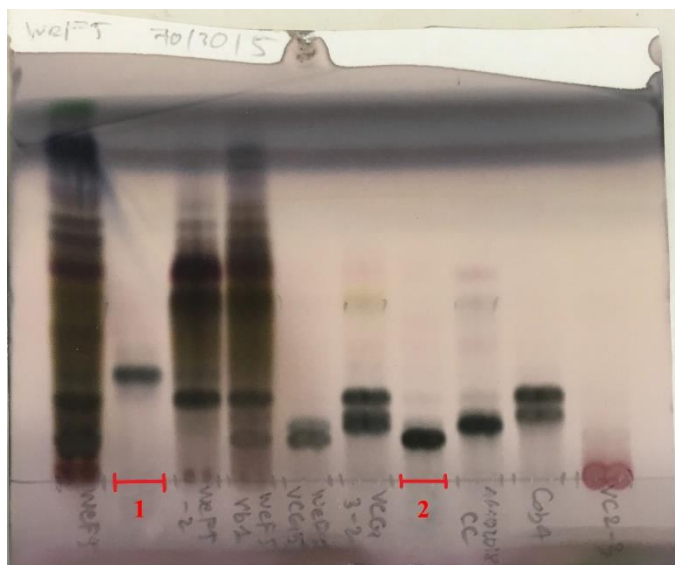
2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp tạo cao chiết

Phần lá khô của loài *W. x* “Bristol ruby” được nghiền thành bột mịn (20g), sau đó được tạo dịch chiết bằng phương pháp hỗ trợ vi sóng (Microwave-assisted extraction), sử dụng dung môi EtOH:H₂O tỷ lệ 75:35 ở nhiệt độ 60°C, công suất 200W, chiết 30 phút, lặp lại 3 lần cho tới khi chiết kiệt. Sau đó, dịch chiết được tách dung môi bằng cô quay chân không thu được cao chiết. Tiến hành đông khô chân không cao chiết để được loại bỏ nước còn tồn dư, thu được cao chiết khô hoàn toàn.

2.3.2. Phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất saponin

Cao chiết khô hoàn toàn (6,7 g) được tách phân đoạn bằng sắc ký VLC silica gel RP-18 và được rửa lần lượt với dung môi 500 mL H₂O 100%, 500 mL hỗn hợp H₂O:EtOH tỉ lệ 1:1 và 500 mL EtOH 100% thu được lần lượt 3 phân đoạn A - C. Sau khi loại bỏ dung môi bằng hệ thống cô quay chân không, phân đoạn B (203,7 mg) được đưa qua hệ thống sắc ký MPLC pha thuận silica gel 60, sử dụng hệ dung môi CHCl₃:MeOH:H₂O tỉ lệ 75:25:3, 70:30:5 (v/v/v) thu được 4 phân đoạn (B1-B4). Phân đoạn B2 (36,8 mg) giàu saponin tiếp tục được phân đoạn lần 2 bằng hệ thống MPLC pha thuận silica gel 60, sử dụng hệ dung môi CHCl₃:MeOH:H₂O tỉ lệ 75:25:3 (v/v/v), thu được 3 phân đoạn (B2.1 - B2.3). Phân đoạn B2.2 (15,4 mg) được tinh sạch qua sắc ký CC, sử dụng pha tĩnh Sephadex[®] LH20 và dung môi rửa giải EtOH 96% thu được hợp chất 1 (VCob2C) (4,3 mg). Tiếp tục tiến hành phân đoạn giàu saponin B3 (59,6 mg) bằng hệ thống MPLC pha thuận silica gel 60, sử dụng hệ dung môi CHCl₃:MeOH:H₂O tỉ lệ 70:30:5 (v/v/v) thu được 3 phân đoạn (B3.1 - B3.3). Tinh sạch phân đoạn B3.2 (13,6 mg) qua sắc ký CC, sử dụng pha tĩnh Sephadex[®] LH20 và dung môi rửa giải EtOH 96% thu được hợp chất 2 (VGC3-1) (4,7 mg) (Hình 2).



Hình 2. HPTLC của hợp chất **1** (VCob2C) và **2** (VGC3-1)

Cấu trúc của hợp chất **1** và **2** được xác định bằng các phương pháp phân tích cấu trúc hiện đại, bao gồm phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và phổ khối lượng (MS). Đồng thời, các phân tử đường của hợp chất được xác định bằng phương pháp thủy phân axit và cấu hình tuyệt đối của các phân tử đường được thực hiện theo mô tả của Nguyễn và cộng sự (2019) [12]. Thủy phân lần lượt 3 mg hợp chất **1** và **2** bằng 5 mL CF_3COOH trong 3 giờ ở nhiệt độ 95°C . Dung dịch sau đó được chiết bằng CH_2Cl_2 (5 mL/lần, lặp lại 3 lần). Dịch chiết sau đó được loại bỏ dung môi bằng cô quay chân không, sau đó phân tích bằng sắc ký TLC, sử dụng pha động là hệ dung môi $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ tỉ lệ 8:5:1 (v/v/v) và được so sánh với chất chuẩn để xác định loại phân tử đường. Ngoài ra, các phân tử đường tiếp tục được hòa tan trong 100 μL anhydrous pyridine, sau đó bổ sung L-cysteine methyl ester hydrochloride (nồng độ 0,06 mol/L). Hỗn hợp sẽ được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong 1 giờ, sau đó bổ sung 150 μL hexamethyldisilazane:trimethylchlorosilane tỷ lệ 3:1. Hỗn hợp tiếp tục được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong 30 phút. Phần kết tủa sau khi được ly tâm sẽ được loại bỏ và phần nổi phía trên sẽ được cô đặc dưới dòng N_2 . Phần cặn được phân đoạn lần lượt bằng 0,1 mL *n*-hexane và 1 mL H_2O . Sau đó, 1 μL phần hexane sẽ được phân tích bởi sắc ký khí (GC). Cấu hình tuyệt đối của phân tử đường sẽ được xác định bằng cách so sánh thời gian lưu (retention time) với các dẫn xuất thiazolidine được điều chế theo cách tương tự từ đường chuẩn (Sigma-Aldrich, Pháp).

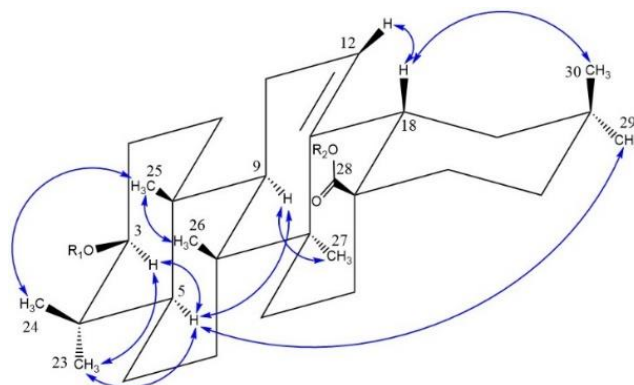
3. Kết quả và bàn luận

3.1. Xác định cấu trúc hóa học của hợp chất **1**

Công thức phân tử của hợp chất **1** được xác định là $\text{C}_{52}\text{H}_{84}\text{O}_{20}$ dựa trên dữ liệu về một pic ion phân tử tại m/z 1051,5427 từ phổ khối lượng ESI-MS (tính toán lý thuyết cho $\text{C}_{52}\text{H}_{84}\text{NaO}_{20}$, 1051,5453 $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

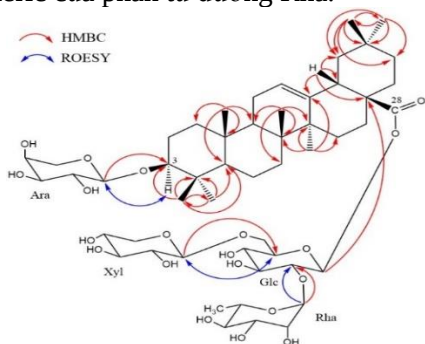
Dữ liệu từ phổ proton ^1H -NMR cho thấy có sự xuất hiện của sáu tín hiệu signet đặc trưng cho nhóm CH_3 là δ_{H} 1,14; 0,86; 0,85; 1,01; 1,21; 0,83 và 0,79. Các tín hiệu trên tương ứng với các vị trí cacbon trên vùng aglycone của hợp chất **1** là C-23, C-24, C-25, C-26, C-27, C-29 và C-30. Tín hiệu olefinic proton tại δ_{H} 5,40 (1H, *t*-like, H-12), kết hợp với hai tín hiệu olefinic cacbon tại δ_{C} 124,0 và 145,4 gợi ý sự khẳng định sự có mặt của một liên kết đôi tại vị trí 12 của aglycone. Trên vùng aglycone từ 3,0 đến 3,50 ppm có sự xuất hiện của một tín hiệu oxymethine proton tại δ_{H} 3,23 (tương ứng với vị trí 3). Tần số vạch bội của tín hiệu này được xác định là dạng bội hai x bội hai, có hằng số tương tác $J = 11,5; 4,1$ gợi ý về định hướng α -axial của proton H-3. Nhận định

này được chứng minh qua tương tác hai chiều ROESY giữa δ_H 3,23 (H-3 α)/ δ_H 0,69 (H-5 α), δ_H 1,14 (H-23 α)/ δ_H 3,23 (H-3 α) (Hình 3). Các tín hiệu khác trên phổ cacbon ^{13}C và proton ^1H NMR cho thấy có sự trùng khớp với phần tín hiệu của vùng aglycone của khung oleanolic acid trước đó đã được mô tả trên một số hợp chất saponin triterpenoids được tách chiết từ một số loài thuộc chi *Weigela* [9], [12].

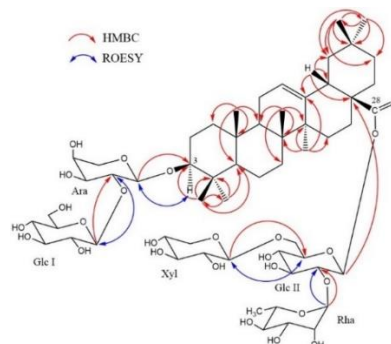


Hình 3. Tương tác ROESY trên vùng aglycone của hợp chất **1** (mũi tên xanh)

So sánh cấu phổ cacbon ^{13}C -NMR của hợp chất **1** với hợp chất Flaccidoside I và hợp chất acid oleanolic cho thấy, độ dịch chuyển hóa học của tín hiệu cacbon tại vị trí C-3 thay đổi về vùng trường thấp (δ_C 89,8; +11,9 ppm) và vị trí C-28 thay đổi về vùng trường cao (δ_C 178,0; -2,1 ppm) [14]. Từ dẫn chứng trên rút ra kết luận về sự liên kết của hai chuỗi phân tử đường vào vị trí C-3 và C-28 của vùng aglycone. Sự xuất hiện của bốn tín hiệu cacbon anomeric trên vùng đường tại δ_C 108,1; 102,5; 106,4 và 96,1, tương ứng với bốn proton anomeric tại δ_H 4,72 (1H, *d*, $J = 6,4$ Hz), 6,39 (1H, *br s*), 4,78 (1H, *d*, $J = 7,0$ Hz) và 6,01 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz) gợi ý về sự có mặt của bốn phân tử đường trong cấu trúc hóa học của hợp chất **1** (Bảng 1 và 2). Tín hiệu cacbon tại δ_C 16,7 và tín hiệu dạng bội hai của nhóm CH_3 tại δ_H 1,69 (3H, *d*, $J = 5,8$ Hz) chỉ ra có sự hiện diện của một phân tử đường 6-deoxy. Dựa trên tín hiệu của phổ NMR 2 chiều (COSY, HSQC, HMBC, ROESY, TOCSY) kết hợp với kết quả của phản ứng thủy phân acid, các phân tử đường của hợp chất **1** được nhận diện bao gồm một phân tử đường arabinose (Ara), một phân tử đường xylose (Xyl), một phân tử đường glucose (Glc) và một phân tử đường rhamnose (Rha). Cấu hình tuyệt đối của các phân tử đường được xác định là D cho Glc và Xyl, L cho Ara và Rha dựa trên kết quả phân tích sắc ký khí (GC). Hằng số tương tác (J) giữa hai phân tử proton H-1 và H-2 của phân tử đường Ara, Glc và Xyl trong khoảng 6,4-7,6 Hz xác định dạng α anomeric cho phân tử đường Ara và dạng β anomeric cho phân tử đường Glc và Xyl. Ngoài ra, giá trị hằng số tương tác giữa phân tử proton H-1 và carbon C-1 trong khoảng 167 Hz đã xác định dạng α -pyranoid anomeric của phân tử đường Rha.



Hình 4. Cấu trúc hóa học và tương tác NMR hai chiều HMBC (mũi tên đỏ) và ROESY (mũi tên xanh) của hợp chất **1**



Hình 5. Cấu trúc hóa học và tương tác NMR hai chiều HMBC (mũi tên đỏ) và ROESY (mũi tên xanh) của hợp chất **2**

Dữ liệu trên phổ hai chiều HMBC và ROESY cung cấp thông tin về chuỗi oligosaccharide của hợp chất **1**. Cụ thể, tương tác HMBC giữa δ_H 4,72 (Ara H-1) và δ_C 89,8 (C-3 vùng aglycone), và tương tác ROESY giữa δ_H 4,72 (Ara H-1) và δ_H 3,23 (H-3 vùng aglycone) tiết lộ phân tử đường Ara liên kết vào vị trí C-3 của phần aglycone. Hai tín hiệu trường thấp tại δ_C 96,0 (Glc C-1) và δ_C 178,0 (C-28 vùng aglycone) đưa ra dẫn chứng của một liên kết giữa phân tử đường Glc vào vị trí C-28 của phần aglycone. Điều này được kiểm chứng qua tương tác HMBC giữa δ_H 6,01 (Glc H-1) và δ_C 178,0 (C-28 vùng aglycone). Trên phổ ^{13}C -NMR, tín hiệu trường cao tại δ_C 70,3 (Glc C-6) đưa ra dẫn chứng về một liên kết của một phân tử đường vào vị trí C-6 của phân tử đường Glc. Tương tác HMBC giữa δ_H 4,78 (Xyl H-1) và δ_C 70,3 (Glc C-6), và tương tác ROESY giữa δ_H 4,78 (Xyl H-1) và δ_H 4,54 (Glc H-6a) xác nhận phân tử đường Xyl liên kết với vị trí C-6 của phân tử đường Glc. Ngoài ra, tương tác HMBC giữa δ_H 6,39 (Rha H-1) và δ_C 76,7 (Glc C-2), và tương tác ROESY giữa δ_H 6,39 (Rha H-1) và δ_H 4,28 (Glc H-2) xác nhận phân tử đường Rha liên kết với vị trí C-2 của phân tử đường Glc. Cấu hình tuyệt đối của nhóm $3\beta\text{-OH}$ và $28\beta\text{-COOH}$ của hợp chất **1** tương đồng với dữ liệu phổ 1D và 2D-NMR của hợp chất triterpenoid saponin dạng olean tách chiết từ loài *W. florida* “Jean’s Gold” [15]. Từ những dữ liệu được cung cấp, cấu trúc hóa học của hợp chất **1** được xác định là olean-12-en-28-oic acid, 3-(β -D-arabinopyranosyloxy)-, O- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O-6-deoxy-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-glucopyranosyl ester, (3 β)- (Hình 4).

3.2. Xác định cấu trúc hóa học của hợp chất 2

Công thức phân tử của hợp chất **2** được xác định là $\text{C}_{58}\text{H}_{94}\text{O}_{25}$ dựa trên dữ liệu về một pic ion phân tử tại m/z 1213,6004 từ phổ khối lượng ESI-MS (tính toán lý thuyết cho $\text{C}_{58}\text{H}_{94}\text{NaO}_{25}$, 1213,5982 $[\text{M}+\text{Na}]^+$). So sánh dữ liệu trên phổ một chiều và hai chiều NMR của hợp chất **2** (^1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC, ROESY, TOCSY) và hợp chất **1** cho thấy có sự tương đồng về các tín hiệu trên vùng aglycone. Sự sai khác giữa hai hợp chất này thể hiện ở vùng đường, cụ thể: hợp chất **2** có năm phân tử đường, tương đương với năm tín hiệu proton anomeric tại δ_H 4,88 (1H, *d*, $J = 5,8$ Hz), 6,37 (1H, *br s*), 4,77 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz), 5,12 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz) và 6,01 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz), tương ứng với năm tín hiệu cacbon anomeric tại δ_C 105,9; 102,6; 106,4; 106,5 và 95,9. Dựa trên tín hiệu của phổ NMR hai chiều (COSY, HSQC, HMBC, ROESY, TOCSY) kết hợp với kết quả của phản ứng thủy phân acid, các phân tử đường của hợp chất **2** được nhận diện bao gồm một phân tử đường arabinose (Ara), một phân tử đường xylose (Xyl), một phân tử đường rhamnose (Rha) và hai phân tử đường glucose (Glc). Dựa trên dữ liệu trên phổ hai chiều HMBC và ROESY, kết hợp so sánh với tín hiệu của hợp chất **1**, chuỗi oligosaccharide của hợp chất **2** được xác định gồm một chuỗi gồm hai phân tử đường liên kết vào vị trí C-3 và một chuỗi gồm ba phân tử đường liên kết vào vị trí C-28 của vùng aglycone. Vị trí C-2 của phân tử Ara liên kết với vị trí C-3 của vùng aglycone độ dịch chuyển hóa học về vùng trường cao (δ_C 81,4, +7,7 ppm), dẫn chứng về sự liên kết của một phân tử đường Glc vào vị trí này. Nhận định này được kiểm chứng qua tương tác HMBC giữa δ_H 5,12 (Glc I H-1) và δ_C 81,4 (Ara C-2) và tương tác ROESY giữa δ_H 5,12 (Glc I H-1) và δ_H 4,55 (Ara H-2). Từ các dẫn chứng trên đưa ra kết luận về cấu trúc hóa học của hợp chất **2** là olean-12-en-28-oic acid, 3-[(3-O- β -D-glucopyranosyl- α -L-arabinopyranosyl)oxy]-, O- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-O-6-deoxy-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- β -D-glucopyranosyl ester, (3 β)- (Hình 5) [15].

Bảng 1. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của vùng aglycone của hợp chất **1** và **2**

	1		2	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	40,1	0,89, 1,49	39,9	0,77, 1,44
2	28,0	1,77, 2,04	28,1	1,76, 1,98
3	89,8	3,23 <i>dd</i> (11,5, 4,1)	90,4	3,13 <i>dd</i> (11,7, 3,9)
4	40,7	–	41,2	–
5	57,0	0,69 <i>d</i> (11,1)	57,1	0,61 <i>d</i> (11,7)

	1		2	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
6	19,6	1,23, 1,34	19,9	1,25, 1,36
7	34,2	1,37, 1,62	34,3	1,34, 1,59
8	41,3	–	41,1	–
9	49,2	1,55	49,2	1,53
10	38,1	–	38,2	–
11	24,9	1,83, 1,88	25,1	1,84, 1,93
12	124,5	5,40 <i>t-like</i>	124,0	5,38 <i>t-like</i>
13	145,7	–	145,3	–
14	43,6	–	43,3	–
15	29,6	1,51, 2,03	30,3	1,49, 1,96
16	24,3	1,98, 2,15	24,5	1,97, 2,14
17	48,2	–	48,1	–
18	43,5	3,07	43,3	3,07
19	47,5	1,14, 1,75	47,7	1,14, 1,69
20	32,4	–	31,9	–
21	35,4	1,12, 1,33	34,9	1,07, 1,32
22	32,9	1,74, 1,95	33,5	1,72, 1,94
23	29,1	1,14 s	29,4	1,08 s
24	18,4	0,86 s	17,9	0,93 s
25	16,7	0,85 s	16,8	0,82 s
26	18,6	1,01 s	18,6	1,00 s
27	27,3	1,21 s	27,1	1,19 s
28	178,0	–	178,0	–
29	34,4	0,83 s	34,3	0,82 s
30	24,7	0,79 s	25,0	0,85 s

Bảng 2. Dữ liệu phổ 1H và ^{13}C NMR của vùng đường của hợp chất 1 và 2

	1		2	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
Ara-1	108,1	4,72 <i>d</i> (6,4)	105,9	4,88 <i>d</i> (5,8)
2	73,7	4,39	81,4	4,55
3	75,4	4,16	74,5	4,33
4	70,4	4,32 <i>m</i>	69,7	4,34 <i>m</i>
5	67,6	3,78, 4,27	66,5	3,76, 4,24
Rha-1	102,5	6,39 <i>br s</i>	102,6	6,37 <i>br s</i>
2	73,1	4,72 <i>br s</i>	73,3	4,73 <i>br s</i>
3	73,4	4,47 <i>dd</i> (9,4, 3,0)	73,7	4,47 <i>dd</i> (9,3, 3,0)
4	74,7	4,27 <i>dd</i> (9,4, 9,4)	74,8	4,26 <i>dd</i> (9,3, 9,2)
5	71,4	4,44 <i>dq</i> (9,4, 6,0)	71,3	4,43 <i>dq</i> (9,2, 6,0)
6	16,7	1,69 <i>d</i> (6,0)	19,9	1,68 <i>d</i> (6,0)
Xyl-1	106,4	4,78 <i>d</i> (7,0)	106,4	4,77 <i>d</i> (7,6)
2	75,6	3,88	76,2	3,87
3	79,2	4,08	79,1	4,07
4	72,2	4,09	72,0	4,09
5	68,4	3,56 <i>t</i> (10,0), 4,21	68,0	3,55 <i>t</i> (11,2), 4,22
Glc I-1	96,1	6,01 <i>d</i> (7,6)	106,5	5,12 <i>d</i> (7,6)
2	76,7	4,28	77,2	3,99
3	80,4	4,19	79,0	4,13
4	71,7	4,26	72,7	4,16
5	78,4	4,01 <i>m</i>	79,3	3,76
6	70,3	4,18, 4,54	63,8	4,29, 4,38
Glc II-1			95,9	6,01 <i>d</i> (7,6)
2			77,3	4,27

	1		2	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
3			80,2	4,16
4			71,6	4,26
5			78,6	4,03
6			69,9	4,18, 4,56

4. Kết luận

Nghiên cứu chiết xuất thành công cao chiết ethanol từ phần lá khô của loài *W. x* “Bristol ruby” dựa trên phương pháp chiết xuất có hỗ trợ vi sóng, sử dụng dung môi nước và ethanol. Hai hợp chất saponin đã được tách chiết từ cao chiết ethanol dựa trên các phương pháp sắc ký hiện đại. Cấu trúc hóa học của các hợp chất này được xác định là saponin triterpenoid dạng olean có hai mạch đường dựa trên dữ liệu từ phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR một chiều và hai chiều, kết hợp với dữ liệu từ phổ khối lượng (ESI-MS).

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] I. Saini, J. Chauhan, and P. Kaushik, “Medicinal value of domiciliary ornamental plants of the Asteraceae family,” *J. Young Pharm.*, vol. 12, no. 1, p. 3, 2020.
- [2] X. Wei, S. Lyu, Y. Yu, Z. Wang, H. Liu, D. Pan, and J. Chen, “Phylloremediation of air pollutants: exploiting the potential of plant leaves and leaf-associated microbes,” *Frontiers in Plant Science*, vol. 8, p. 1318, 2017.
- [3] P. Kaushik, I. Andújar, S. Vilanova, M. Plazas, P. Gramazio, F. J. Herraiz, N. S. Brar, and J. Prohens, “Breeding vegetables with increased content in bioactive phenolic acids,” *Molecules*, vol. 20, no. 10, 2015, doi: 10.3390/molecules201018464.
- [4] N. Andriamisaina, A. -C. Mitaine-Offer, B. Pruvot, J. Chluba, T. Miyamoto, C. Tanaka, and M. -A. Lacaille-Dubois, “Phytochemistry of *Weigela x 'kosteriana variegata'* (Caprifoliaceae),” *Nat. Prod. Commun.*, vol. 13, no. 4, pp. 403-406, 2018, doi: 10.1177/1934578X1801300406.
- [5] P. T. Thuong, B. -S. Min, W. Jin, M. Na, J. Lee, R. Seong, Y. -M. Lee, K. Song, Y. Seong, H. -K. Lee, K. Bae, and S. S. Kang, “Anti-complementary activity of ursane-type triterpenoids from *Weigela subsessilis*,” *Biol. Pharm. Bull.*, vol. 29, no. 4, pp. 830-833, 2006, doi: 10.1248/bpb.29.830.
- [6] H. -J. Lim, E. Y. Jie, I. -S. Park, S. -J. Kim, W. S. Ahn, S. -I. Jeong, S. W. Kim, and C. -H. Jung, “Anti-inflammatory effects of *Weigela subsessilis* callus extract via suppression of MAPK and NF- κ B signaling,” *Plants*, vol. 10, no. 8, 2021, doi: 10.3390/plants10081635.
- [7] Y. -M. Won, Z. -K. Seong, J. -L. Kim, H. -S. Kim, H. -H. Song, D. -Y. Kim, J. -H. Kim, S. -R. Oh, H. -W. Cho, J. -H. Cho, and H. -K. Lee, “Triterpene glycosides with stimulatory activity on melanogenesis from the aerial parts of *Weigela subsessilis*,” *Arch. Pharm. Res.*, vol. 38, no. 8, pp. 1541-1551, Aug. 2015, doi: 10.1007/s12272-014-0524-0.
- [8] Y. C. Yoo, G. W. Lee, and Y. H. Cho, “Antioxidant and anti-inflammatory effects of extracts from the flowers of *Weigela subsessilis* on RAW 264.7 macrophages,” *J. Life Sci.*, vol. 26, no. 3, pp. 338-345, Mar. 2016, doi: 10.5352/JLS.2016.26.3.338.
- [9] A. Rezgui, A. -C. Mitaine-Offer, T. Miyamoto, C. Tanaka, S. Delemasure, P. Dutartre, and M. -A. Lacaille-Dubois, “Oleanolic acid and hederagenin glycosides from *Weigela stelzneri*,” *Phytochemistry*, vol. 123, pp. 40-47, 2016, doi: 10.1016/j.phytochem.2015.12.016.
- [10] T. Murayama, A. Kasahara, Y. Shiono, and M. Ikeda, “Structure elucidation of a triterpene glycoside isolated from *Weigela hortensis*,” *Nat. Med.*, vol. 57, no. 5, pp. 181-184, 2003.
- [11] A. -S. Champy-Tixier, A. -C. Mitaine-Offer, F. Real Fernández, T. Miyamoto, C. Tanaka, A. -M. Papini, and M. -A. Lacaille-Dubois, “Oleanane-type glycosides from the roots of *Weigela florida* ‘rumba’ and evaluation of their antibody recognition,” *Fitoterapia*, vol. 128, pp. 198-203, 2018, doi: 10.1016/j.fitote.2018.04.017.
- [12] D. H. Nguyen, A. -C. Mitaine-Offer, S. Maroso, A. -M. Papini, T. Paululat, P. -S. Bellaye, B. Collin, O. Chamblin, and M. -A. Lacaille-Dubois, “Cytotoxic glycosides from the roots of *Weigela x* ‘Bristol Ruby,’” *Fitoterapia*, vol. 137, p. 104242, Sep. 2019, doi: 10.1016/J.Fitote.2019.104242.
- [13] A. N. Sennikov, D. E. Soltis, D. J. Mabberley, J. W. Byng, M. F. Fay, M. J. M. Christenhusz, M. W. Chase, P. F. Stevens, P. S. Soltis, W. S. Judd, and T. A. P. Group, “An update of the Angiosperm

- Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV,” *Bot. J. Linn. Soc.*, vol. 181, no. 1, pp. 1-20, Apr. 2016, doi: 10.1111/boj.12385.
- [14] L. Zhao, W. Chen, and Q. -C. Fang, “Triterpenoid Saponins from *Anemone flaccida*,” *Planta Med*, vol. 56, no. 01, pp. 92-93, 1990.
- [15] D. H. Nguyen, A. -C. Mitaine-Offer, T. Miyamoto, C. Tanaka, P. -S. Bellaye, B. Collin, O. Chambin, and M. -A. Lacaille-Dubois, “Phytochemical analysis of two *Weigela florida* cultivars, ‘Pink Poppet’ and ‘Jean’s Gold,’” *Phytochem. Lett.*, vol. 37, pp. 85-89, 2020, doi: 10.1016/j.phytol.2020.04.009.