

STUDY ON ISOLATION AND STRUCTURE DETERMINATION OF SAPONINS FROM THE ROOTS OF *WEIGELA FLORIDA* “JEAN’S GOLD”

Phung Thi Phan¹, Nguyen Huu Quan², Tu Quang Tan², Nguyen Duc Hung^{2*}

¹Cao Bang High School, ²TNU - University of Education

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 30/4/2022	Species of <i>Weigela</i> genus, thus Caprifoliaceae family are currently used in folk medicine, specifically in Asia. Saponins isolated from this species possess interesting biological activities such as anti-oxidant activity, anti-inflammatory, and cytotoxicity. In this study, ethanolic crude extract was achieved using microwave-assisted method. Two saponin compounds were isolated from the ethanolic crude extract by various chromatographic techniques. The structures of these compounds were established as olean-12-en-28-oic acid, 3-[(O-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)]-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-xylopyranosyl-(1→3)-6-deoxy-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-arabinopyranosyl)oxy]-, (3β)- (1), and olean-12-en-28-oic acid, 3-[(O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)]-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-xylopyranosyl-(1→3)-6-deoxy-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-xylopyranosyl)oxy]-, (3β)- (2). These compounds were previously isolated from species of the <i>Weigela</i> genus, thus Caprifoliaceae family.
Revised: 24/6/2022	
Published: 24/6/2022	
KEYWORDS	
Chromatographic methods	
NMR	
Oleanolic acid	
Triterpenoid saponin	
<i>Weigela florida</i> “Jean’s Gold”	

NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC HÓA HỌC CỦA HỢP CHẤT SAPONIN TỪ PHẦN RỄ CỦA LOÀI *WEIGELA FLORIDA* “JEAN’S GOLD”

Phùng Thị Phan¹, Nguyễn Hữu Quân², Từ Quang Tân², Nguyễn Đức Hùng^{2*}

¹Trường THPT Thành phố Cao Bằng

²Trường Đại học Sư phạm – ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 30/4/2022	Chi <i>Weigela</i> , thuộc họ Kim ngân (Caprifoliaceae) được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền tại các nước châu Á. Các hợp chất saponin phân lập được từ chi <i>Weigela</i> có nhiều hoạt tính sinh học mạnh như kháng oxy hóa, kháng viêm và kháng ung thư. Nghiên cứu đã tạo được cao chiết ethanol từ loài <i>Weigela florida</i> “Jean’s Gold” bằng phương pháp chiết xuất có hỗ trợ vi sóng. 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 olean-12-en-28-oic acid, 3-[(O-β-D-glucopyranosyl-(1→3)-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)]-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-xylopyranosyl-(1→3)-6-deoxy-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-arabinopyranosyl)oxy]-, (3β)- (1), and olean-12-en-28-oic acid, 3-[(O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-[β-D-xylopyranosyl-(1→4)]-β-D-xylopyranosyl-(1→4)-β-D-xylopyranosyl-(1→3)-6-deoxy-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-xylopyranosyl)oxy]-, (3β)- (2). Đây là các hợp chất đã được phân lập trước đây từ các loài cùng thuộc chi <i>Weigela</i> , họ Caprifoliaceae.
Ngày hoàn thiện: 24/6/2022	
Ngày đăng: 24/6/2022	
TỪ KHÓA	
Phương pháp sắc ký	
Phổ cộng hưởng từ hạt nhân	
Oleanolic acid	
Triterpenoid saponin	
<i>Weigela florida</i> “Jean’s Gold”	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5929>

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

1. Đặt vấn đề

Từ xa xưa, con người đã khám phá thiên nhiên để tìm kiếm các loài thực vật có tác dụng chữa bệnh. Quá trình này gắn liền với nghiên cứu các hợp chất chuyển hóa thứ cấp. Đó là những hợp chất được tạo ra trong cơ thể của sinh vật nhằm phản ứng lại các stress sinh học và phi sinh học [1]. Trong thực vật, các hợp chất chuyển hóa thứ cấp có hoạt tính sinh học mạnh mẽ như tăng cường sức khỏe con người và chống lại bệnh tật và được sử dụng rộng rãi trong ngành công nghiệp dược phẩm [2]. Một số hợp chất chuyển hóa thứ cấp như alkaloid, terpenoid và phenylpropanoid hiện đang được nghiên cứu để phát triển các loại thuốc mới [3].

Các loài thuộc chi *Weigela*, họ Caprifoliaceae có chứa các hợp chất saponin có hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa, kháng viêm và kháng ung thư [4]–[8]. Chi *Weigela* thuộc họ Kim ngân (Caprifoliaceae) bao gồm hơn 200 loài lai tạo và có vùng phân bố rộng ở châu Á, châu Âu và châu Mỹ [9]. Trong số đó, *Weigela florida* “Jean’s Gold” là loài cây được trồng làm cảnh tại châu Âu do có màu sắc hoa đẹp và dễ phát triển. Nghiên cứu bước đầu trên phần lá của loài thực vật này cho thấy có chứa các hợp chất saponin dạng oleanolic và hederagenine có hai mạch đường [7]. Tuy nhiên, phần rễ của loài *W. florida* “Jean’s Gold” chưa được nghiên cứu và đây là cơ sở để tiến hành nghiên cứu trên phần rễ của loài thực vật này, nhằm tìm kiếm các hợp chất saponin mới.

Trong nghiên cứu này, cao chiết của phần rễ loài *W. florida* “Jean’s Gold” sẽ được chiết bằng phương pháp chiết vi sóng, sử dụng hệ dung môi nước và ethanol. Sau đó, các hợp chất saponin sẽ được phân lập từ cao chiết bằng các phương pháp sắc ký hiện đại (VLC, MPLC). Cấu trúc hóa học của các hợp chất được phân lập sẽ được xác định bằng các phương pháp phổ hiện đại (1 chiều và 2 chiều NMR) và phổ khối lượng (ESI-MS).

2. Đối tượng, phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu vật: Phần rễ của loài *Weigela florida* “Jean’s Gold” thu được tại Botanic®, Quetigny, Pháp năm 2016 tại tọa độ 47°18'45.6"N, 5°05'41.4"E. Sau đó, hình thái của mẫu vật sẽ được kiểm tra theo phương pháp của Chase và cộng sự (2016) để xác định đúng loài thực vật [10]. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại phòng thí nghiệm Dược liệu học, UFR Sciences de Santé, Pháp (Hình 1).



Hình 1. Hình ảnh loài *Weigela florida* “Jean’s Gold”

2.2. Hóa chất và thiết bị

Các dung môi sử dụng trong nghiên cứu bao gồm EtOH, MeOH, CHCl₃, EtOAc đều đạt tiêu chuẩn kỹ thuật. Kết quả phân tách các phân đoạn được kiểm tra trên TLC và HPTLC tráng silica gel pha thuận (60F₂₅₄, Merck, Đức). Phân đoạn cao chiết trên VLC được thực hiện với pha tĩnh là silica gel pha đảo RP-18 (Silicycle, Canada). Sắc ký cột (CC) sử dụng pha tĩnh là Sephadex LH20 (Sigma Aldrich, Pháp). Phân đoạn để phân lập saponin được thực hiện trên sắc ký MPLC với pha tĩnh là silica gel 60 pha thuận, kích thước 15-40 µm (Merck, Đức). Thuốc thử sử dụng để nhuộm sắc ký là vanilin/axit sunfuric (pha 1% vanillin trong EtOH/H₂SO₄ 50/1).

Hệ thống phá mẫu bằng vi sóng MARS 6 (CEM®, Mỹ) được sử dụng để chiết mẫu nghiên cứu. Hệ thống MPLC được sử dụng để phân tách cao chiết với hệ thống bơm mẫu M305 (Gilson®, Mỹ). Đồng khô chân không cao chiết và các phân đoạn saponin bằng hệ thống Heto Drywinner DW 6-55-1 (Thermo Fisher Scientific, Mỹ). Máy Varian INOVA 600 (Agilent Technologies®, USA) được sử dụng để đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân, sử dụng tần số 600 MHz và 150 MHz để đo phổ ^1H -NMR và phổ ^{13}C , pyridine- d_5 là dung môi hòa tan. Máy Bruker micrOTOF II mass spectrometer (Bruker®, Đức) được sử dụng để đo phổ khối lượng ESI-MS.

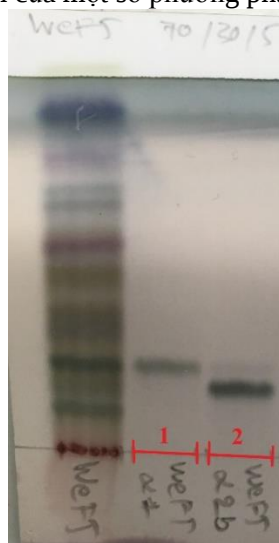
2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp tạo cao chiết

Phần rễ khô của loài *Weigela florida* “Jean’s Gold” được nghiền thành bột mịn (22,6 g), sau đó sử dụng hệ thống MARS 6 để tạo dịch chiết với EtOH/H₂O (75/35) (2 lần x 350 mL, 30 phút ở 60°C, 200W). Cắt loại bỏ dung môi và loại bỏ nước, thu được cao chiết khô hoàn toàn (8,3 g).

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

Nghiên cứu phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất saponin được thực hiện theo phương pháp của Nguyễn Đức Hùng và cộng sự (2019) [6]. Theo đó, cao chiết khô hoàn toàn (8,3 g) được tách phân đoạn bằng hệ thống VLC, sử dụng pha tĩnh là silica gel RP-18 pha đảo và pha động là 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 A1 - A3. Bay hơi dung môi bằng hệ thống cô quay chân không và đưa phân đoạn A2 (316,6 mg) vào hệ thống MPLC, sử dụng pha tĩnh silica gel 60 pha thuận và pha động là hệ dung môi CHCl₃:MeOH:H₂O tỉ lệ 70:30:5 (v/v/v) thu được 5 phân đoạn A2.1 - A2.5. Lặp lại quy trình tách chiết như trên với phân đoạn A2.3 (53,6 mg) thu được hợp chất 1 (WeFJa1) (3,8 mg). Tiếp tục tiến hành tách chiết phân đoạn giàu saponin A2.4 (60,6 mg) bằng hệ thống MPLC, sử dụng pha tĩnh là silica gel 60 pha thuận và pha động là hệ dung môi CHCl₃:MeOH:H₂O tỉ lệ 60:32:7 (v/v/v) thu được 3 phân đoạn (A2.4.1 - A2.4.3). Tinh sạch phân đoạn A2.4.2 (9,2 mg) qua sắc ký cột (CC), sử dụng pha tĩnh Sephadex® LH20 và pha động là EtOH 96% thu được hợp chất 2 (WeFJa2b) (3,2 mg) (Hình 2). So với các phương pháp tách chiết khác như chiết hồi lưu Soxhlet và chiết ngâm dầm (Maceration), phương pháp chiết sử dụng trong nghiên cứu này có nhiều ưu điểm hơn như lượng mẫu sử dụng ít, thời gian hoàn thiện nhanh và thu được kết quả tốt. Điều này trùng khớp với nhận định trước đó của Abubakar và Haque (2020) về ưu và nhược điểm của một số phương pháp tách chiết hợp chất từ thực vật [11].



Hình 2. HPTLC của hợp chất 1 (WeFJa1) và 2 (WeFJa2b)

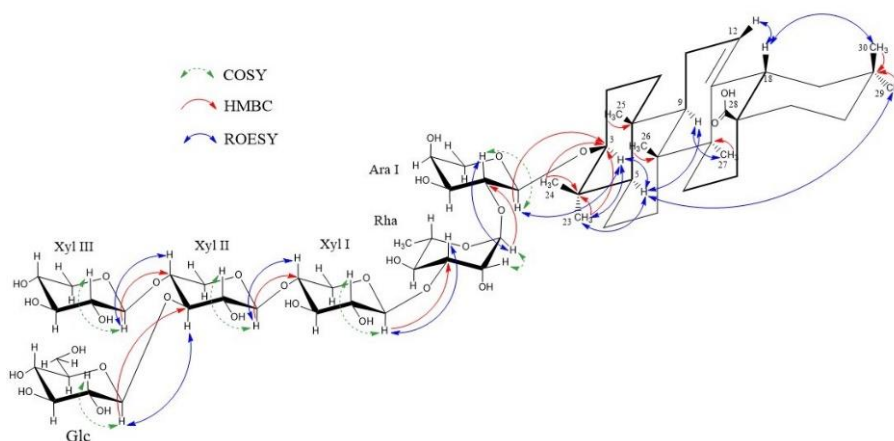
3. Kết quả và bàn luận

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

Hợp chất 1 thu được ở dạng bột trắng, có công thức hóa học là $C_{62}H_{100}O_{28}$ (pic ESI-MS: m/z 1315,8 (tính toán lý thuyết cho $C_{62}H_{100}NaO_{28}$, 1315,6301 $[M+Na]^+$).

Quan sát tín hiệu trên phổ proton ^{13}C -NMR trên vùng aglycone cho thấy sự xuất hiện của 30 tín hiệu carbon, trong đó có 8 carbon không liên kết với hydro tại δ_C 39,7 (C-4); 39,9 (C-8); 36,9 (C-10); 145,0 (C-13); 41,9 (C-14); 47,0 (C-17); 30,9 (C-20) và 180,0 (C-28); 5 carbon methin tại δ_C 89,0 (C-3); 55,9 (C-5); 47,9 (C-9); 122,6 (C-12) và 41,9 (C-18); 10 carbon methylen tại δ_C 39,0 (C-1); 26,8 (C-2); 18,8 (C-6); 33,4 (C-7); 24,0 (C-11); 28,2 (C-15); 24,1 (C-16); 47,0 (C-19); 34,5 (C-21) và 33,4 (C-22); 7 carbon methyl tại δ_C 27,9 (C-23); 16,9 (C-24); 15,7 (C-25); 17,6 (C-26); 25,9 (C-27); 33,5 (C-29) và 23,9 (C-30) (Bảng 1). Trên phổ proton 1H -NMR cho thấy có sự xuất hiện của 7 tín hiệu dạng vạch đơn tại δ_H 1,25; 1,09; 0,84; 1,00; 1,29; 0,99 và 1,01. Các tín hiệu này tương ứng với các tín hiệu carbon trên phổ ^{13}C -NMR tại C-23, C-24, C-25, C-26, C-27, C-29 và C-30. Cấu hình tương đối của vùng aglycone của hợp chất 1 được xác định thông qua dữ liệu thu thập được từ phổ 2 chiều ROESY (Hình 2). Liên kết ROESY giữa δ_H 3,23 (1H, H-3) và δ_H 0,84 (1H, H-5), δ_H 1,25 (3H, s, H-23) và δ_H 3,23 (1H, H-3) cho phép xác định có định hướng α cho H-3. Vị trí H-9 được xác định có định hướng α dựa trên liên kết ROESY giữa δ_H 1,69 (1H, H-9) và δ_H 0,84 (1H, H-5), δ_H 1,69 (1H, H-9) và δ_H 1,29 (3H, s, H-27). Định hướng β được xác định cho H-12 và H-18 thông qua liên kết ROESY giữa δ_H 5,50 (1H, *br t*, $J = 3,7$ Hz, H-12) và δ_H 1,01 (3H, s, H-30), δ_H 5,50 (1H, *br t*, $J = 3,7$ Hz, H-12) và δ_H 3,29 (1H, H-18). So sánh với tín hiệu vùng aglycone của khung oleanoic được công bố trước đó bởi Zhao và cộng sự (1990), tín hiệu tại C-3 của hợp chất 1 ở dạng bị giảm che chắn (δ_C 89,0; +11,1 ppm), chứng tỏ có sự liên kết của một chuỗi phân tử đường vào vị trí OH-3 của vùng aglycone [12].

Trên phổ HSQC cho thấy 6 tín hiệu proton anomer tại δ_H 4,79 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz)/ δ_C 104,9; δ_H 4,86 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz)/ δ_C 103,3; δ_H 5,26 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz)/ δ_C 106,9; δ_H 5,40 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz)/ δ_C 104,0; δ_H 5,88 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz)/ δ_C 102,9; δ_H 6,20 (1H, *br s*)/ δ_C 102,0. Từ kết quả phân tích sắc ký khí (GC) và phản ứng thủy phân acid cho thấy có sự xuất hiện của các phân tử đường bao gồm 1 Ara (arabinose), 1 Rha (rhamnose), 3 Xyl (xylose) và 1 Glc (glucose), với các cấu hình tuyệt đối là L cho Ara và Rha và D cho Xyl và Glc. Định hướng cấu trúc α anomeric được xác định đối với Ara và β anomeric cho các Xyl và Glc dựa vào hằng số tương tác (J) giữa phân tử H-1 và H-2 của các phân tử đường ($J_{H-1, H-2} = 6,4-7,6$ Hz). Định hướng cấu trúc α -pyranoid anomeric được xác định cho Rha [13].



Hình 3. Tương tác 2 chiều COSY (mũi tên đứt đoạn), HMBC (mũi tên đỏ) và ROESY (mũi tên xanh) của hợp chất 1

Chuỗi oligosaccharide của hợp chất 1 được xác định dựa trên phân tích các tín hiệu trên phổ 2 chiều COSY, HMBC và ROESY (Hình 3). Cụ thể, thông qua liên kết COSY, tín hiệu proton H-2

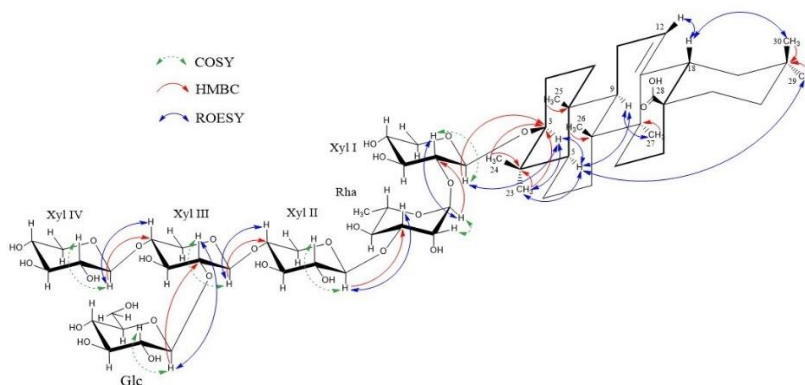
của các phân tử đường lần lượt là δ_H 4,61 (Ara H-2); 4,79 (*br s*, Rha H-2); 3,99 (Xyl I H-2); 4,11 (Xyl II H-2); 4,19 (Xyl III H-2); 4,06 (Glc H-2). Tín hiệu carbon của các proton trên được xác định thông qua liên kết HSQC, cụ thể là δ_C 75,8 (Ara C-2); 72,0 (Rha C-2); 74,9 (Xyl I C-2); 75,0 (Xyl II C-2); 73,9 (Xyl III C-2); 75,1 (Glc C-2). Liên kết HMBC giữa δ_H 4,79 (Ara H-1) và δ_C 89,0 (C-3 aglycone); và liên kết ROESY giữa δ_H 4,79 (Ara H-1) và δ_H 3,29 (H-3 vùng aglycone) khẳng định Ara liên kết vào C-3 aglycone. Sự liên kết của Rha vào C-2 Ara được xác định qua liên kết HMBC giữa δ_H 6,20 (Rha H-1) và δ_C 75,8 (Ara C-2); và liên kết ROESY giữa δ_H 6,20 (Rha H-1) và δ_H 4,61 (Ara H-2). Liên kết HMBC giữa δ_H 5,26 (Xyl I H-1) và δ_C 82,9 (Rha C-3), và liên kết ROESY giữa δ_H 5,26 (Xyl I H-1) và δ_H 4,70 (Rha H-3) xác định sự liên kết của Xyl I vào C-3 Rha. Xyl II được chứng minh liên kết vào C-4 của Xyl I thông qua liên kết HMBC giữa δ_H 5,40 (Xyl II H-1) và δ_C 71,0 (Xyl I C-4), và liên kết ROESY giữa δ_H 5,40 (Xyl II H-1) và δ_H 4,18 (Xyl I H-4). Nghiên cứu các tương tác của các Xyl III và Glc trên phổ HMBC và ROESY cho thấy các phân tử đường này cùng liên kết vào Xyl II tại C-3 đối với Glc và tại C-4 đối với Xyl III. Khẳng định này được chứng minh qua liên kết HMBC giữa δ_H 4,86 (Glc H-1) và δ_C 77,8 (Xyl II C-3), δ_H 5,88 (Xyl III H-1) và δ_C 71,0 (Xyl II C-4), và liên kết ROESY giữa δ_H 4,86 (Glc H-1) và δ_H 4,09 (Xyl II H-3), δ_H 5,88 (Xyl III H-1) và δ_C 4,19 (Xyl II H-4) (Bảng 2).

Như vậy, hợp chất **1** được xác định là olean-12-en-28-oic acid, 3-[(O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-6-deoxy- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-arabinopyranosyl)oxy]-, (3 β)- (Hình 3). Hợp chất này đã được phân lập lần đầu tiên từ phần rễ của loài *Weigela* x “*kosteriana variegata*”, thuộc chi *Weigela*, họ Caprifoliaceae. Theo đó, hợp chất **1** thể hiện hoạt tính gây độc và hiệu ứng gây quái thai yếu đối với loài cá sọc ngựa (*Danio rerio*) trong thời gian nghiên cứu 72 giờ, với hiệu ứng gây phù màng tim là 50% ở nồng độ 2 μ M, và 39% ở nồng độ 3 μ M [9].

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

Hợp chất **2** có dạng bột trắng, công thức hóa học là $C_{62}H_{100}O_{28}$ (pic ESI-MS: m/z 1315,7 (tính toán lý thuyết cho $C_{62}H_{100}NaO_{28}$, 1315,6299 [M+Na] $^+$).

So sánh các tín hiệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1D và 2D NMR của hợp chất **2** giống hợp chất **1** ở vùng aglycone. Trên phổ HSQC cho thấy có 6 tín hiệu proton anomer trên vùng đường tại δ_H 4,76 (1H, *d*, $J = 6,0$ Hz)/ δ_C 105,9; δ_H 5,31 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz)/ δ_C 106,8; δ_H 5,12 (1H, *d*, $J = 6,8$ Hz)/ δ_C 104,9; δ_H 4,92 (1H, *d*, $J = 7,2$ Hz)/ δ_C 104,2; δ_H 5,02 (1H, *d*, $J = 7,6$ Hz)/ δ_C 102,9; δ_H 6,49 (1H, *br s*)/ δ_C 102,1. Từ kết quả phân tích sắc ký khí (GC) và phản ứng thủy phân acid cho thấy có sự xuất hiện của các phân tử đường bao gồm 4 Xyl (xylose), 1 Glc (glucose) và 1 Rha (rhamnose), với các cấu hình tuyệt đối là L cho Ara và Rha; và D cho Xyl và Glc.



Hình 4. Tương tác 2 chiều COSY (mũi tên đứt đoạn), HMBC (mũi tên đỏ) và ROESY (mũi tên xanh) của hợp chất 2

Vùng đường của hợp chất **2** có sự khác biệt so với hợp chất **1** về phân tử đường liên kết với C-3 của vùng aglycone, và vị trí liên kết của phân tử đường Glc. Cụ thể, Xyl I được xác định liên

kết với vị trí C-3 của vùng aglycone ở hợp chất **2**, thay vì Ara ở hợp chất **1**. Nhận định này được chứng minh thông qua liên kết HMBC giữa δ_H 4,76 (Xyl I H-1) và δ_C 88,8 (C-3 aglycone), và liên kết ROESY giữa δ_H 4,76 (Xyl I H-1) và δ_H 3,28 (H-3 vùng aglycone). Ngoài ra, sự liên kết của Glc vào C-2 Xyl III thông qua liên kết HMBC giữa δ_H 5,02 (Glc H-1) và δ_C 73,8 (Xyl III C-2), và liên kết ROESY giữa δ_H 5,02 (Glc H-1) và δ_H 4,01 (Xyl III H-2). Do đó, cấu trúc của hợp chất **2** được xác định là olean-12-en-28-oic acid, 3-[(O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-6-deoxy- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-xylopyranosyl]oxy]-, (3 β)- (Hình 4). Hợp chất này đã được tách chiết trước đó từ phần rễ của loài *Weigela stelzneri*, thuộc chi *Weigela*, họ Caprifoliaceae [14]. Nghiên cứu về hoạt tính sinh học trước đó cho thấy, hợp chất **2** có hoạt tính gây độc mạnh trên dòng tế bào ung thư đại trực tràng ở người SW480 và ung thư vú ở chuột EMT-6 khi so sánh với đối chứng dương là etoposide và methotrexate. Nhóm tác giả nhận định, sự liên kết của chuỗi oligosaccharide vào vị trí C-3 của phần aglycone đã tăng cường hoạt tính gây độc của hợp chất **2** trên các dòng tế bào ung thư trên. Một nghiên cứu khác cho thấy, hợp chất **2** có hoạt tính kháng viêm mạnh, với kết quả giảm tỷ lệ viêm xuống dưới 50% ở nồng độ 0,8 μ M. Ở nồng độ này, tác giả nhận định đây là mức nồng độ có hoạt tính gây độc thấp (28%) trong thời gian điều trị 24 giờ [14].

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

	1		2	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	39,0	0,94 m, 1,49 m	39,1	1,00 m, 1,61 m
2	26,8	1,87 m, 2,08 m	27,0	1,90 m, 2,18 m
3	89,0	3,29	88,8	3,28
4	39,7	–	39,9	–
5	55,9	0,84	55,8	0,87
6	18,8	1,29, 1,49 m	18,9	1,25, 1,50
7	33,4	1,30, 1,47 m	33,5	1,30, 1,51
8	39,9	–	40,0	–
9	47,9	1,69	47,8	1,67
10	36,9	–	36,8	–
11	24,0	1,89, 1,94	24,2	1,86, 1,89
12	122,6	5,50 br t (3,7)	122,7	5,51 br t (4,7)
13	145,0	–	145,1	–
14	41,9	–	41,8	–
15	28,2	1,19 m, 2,20	27,9	1,19 m, 2,22
16	24,1	1,95 m, 2,21	23,7	2,00 m, 2,23
17	47,0	–	47,1	–
18	41,9	3,29	41,8	3,28
19	47,0	1,29, 1,79	47,1	1,28, 1,78
20	30,9	–	30,8	–
21	34,5	1,19 m, 1,50 m	34,6	1,18 m, 1,51 m
22	33,4	1,85, 2,07 m	33,5	1,79, 2,11 m
23	27,9	1,25 s	27,8	1,29 s
24	16,9	1,09 s	16,8	1,19 s
25	15,7	0,84 s	16,1	0,90 s
26	17,6	1,00 s	18,0	0,99 s
27	25,9	1,29 s	25,8	1,28 s
28	180,0	–	180,1	–
29	33,5	0,99 s	32,9	1,01 s
30	23,9	1,01 s	24,2	1,06 s

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

	1		2	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
Ara-1	104,9	4,79 d (7,6)		
2	75,8	4,61		
3	73,9	4,31		
4	68,8	4,32		
5	64,9	3,82 m, 4,31 m		
Rha-1	102,0	6,20 br s	102,1	6,49 br s
2	72,0	4,79 br s	72,1	4,89 br s
3	82,9	4,70 dd (9,3, 3,5)	82,8	4,69 dd (9,3, 2,9)
4	73,0	4,51 dd (9,4, 9,3)	73,1	4,53 dd (9,3, 9,3)
5	69,5	4,60 dq (9,4, 6,4)	69,2	4,69 dq (9,3, 6,4)
6	17,9	1,61 d (6,4)	17,8	1,59 d (6,4)
Xyl I-1	106,9	5,26 d (7,6)	105,9	4,76 d (6,0)
2	74,9	3,99	78,1	4,18
3	75,8	4,09	77,1	4,09
4	76,9	4,18	70,1	4,22
5	65,0	3,60 , 4,41	66,9	3,69, 4,29
Xyl II-1	104,0	5,40 d (7,6)	106,8	5,31 d (7,6)
2	75,0	4,11	74,9	3,99
3	77,8	4,09	75,9	4,09
4	71,0	4,19	76,9	4,18
5	67,0	3,69, 4,51	65,2	3,70, 4,41
Xyl III-1	102,9	5,88 d (7,6)	104,9	5,12 d (6,8)
2	73,9	4,19	73,8	4,01
3	76,5	4,11	76,2	4,09
4	71,2	4,17	75,9	4,18
5	65,6	3,68, 4,63	65,9	3,59, 4,28
Xyl IV-1			104,2	4,92 d (7,2)
2			74,1	3,98
3			76,8	4,09
4			70,8	4,07
5			66,9	3,72, 4,28
Glc-1	103,3	4,86 d (7,6)	102,9	5,02 d (7,6)
2	75,1	4,06	73,2	4,11
3	77,6	4,11	75,9	4,20
4	70,6	4,18	71,2	4,03
5	78,1	3,82 m	77,1	3,92 m
6	62,2	4,19, 4,41	62,3	4,36, 4,38

4. Kết luận

Nghiên cứu chiết xuất thành công cao chiết từ phần rễ của loài *W. florida* “Jean’s Gold”. Hai hợp chất saponin đã được phân lập dựa trên các phương pháp sắc ký hiện đại. Các hợp chất này được xác định là olean-12-en-28-oic acid, 3-[(O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-6-deoxy- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-arabinopyranosyl)oxy]-, (3 β)- (**1**), và olean-12-en-28-oic acid, 3-[(O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-6-deoxy- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-xylopyranosyl)oxy]-, (3 β)- (**2**). Đây là các hợp chất đã được phân lập trước đây từ các loài cùng thuộc chi *Weigela*, họ Caprifoliaceae.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] B. Field, F. Jordán, and A. Osbourn, "First encounters – deployment of defence-related natural products by plants," *New Phytol.*, vol. 172, no. 2, pp. 193-207, Oct. 2006, doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01863.x.
- [2] Y. Li, D. Kong, Y. Fu, M. R. Sussman, and H. Wu, "The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants," *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 148, pp. 80-89, 2020, doi: 10.1016/j.plaphy.2020.01.006.
- [3] Sanchita and A. Sharma, "Chapter 23 - Gene Expression Analysis in Medicinal Plants Under Abiotic Stress Conditions," in *Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress*, P. Ahmad, M. A. Ahanger, V. P. Singh, D. K. Tripathi, P. Alam, and M. N. Alyemeni, Eds. Academic Press, 2018, pp. 407-414, doi: 10.1016/B978-0-12-812689-9.00023-6.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] D. H. Nguyen, A.-C. Mitaine-Offer, S. Maroso, A.-M. Papini, T. Paululat, P.-S. Bellaye, B. Collin, O. Chambin, 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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, Jan. 2018, doi: 10.1177/1934578X1801300406.
- [10] 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.
- [11] A. R. Abubakar and M. Haque, "Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes," *J. Pharm. Bioallied Sci.*, vol. 12, no. 1, pp. 1-10, 2020, doi: 10.4103/jpbs.JPBS_175_19.
- [12] L. Zhao, W. Chen, and Q. -C. Fang, "Triterpenoid Saponins from *Anemone flaccida*," *Planta Med.*, vol. 56, no. 01, pp. 92-93, 1990.
- [13] D. H. Nguyen, Q. T. Tu, and H. M. Chu, "Study on isolation of triterpenoid saponins from the leaves of *Weigela florida* 'Pink Poppet'," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 227, no. 05, pp. 109-116, Apr. 2022, doi: 10.34238/tnu-jst.5536.
- [14] 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.