

CÁC HỢP CHẤT TRITECPEN GLYCOSIT KHUNG CUCURBITANE PHÂN LẬP TỪ QUẢ MƯỚP ĐẮNG (*MOMORDICA CHARANTIA* L.) (Phần 1)

Phạm Hải Yến, Hoàng Lê Tuấn Anh, Dương Thị Dung, Châu Văn Minh, Nguyễn Xuân Nhiệm
Đan Thị Thúy Hằng, Dương Thị Hải Yến, Nguyễn Thị Cúc, Bùi Văn Thanh, Phan Văn Kiệm*

¹Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện Sinh thái và Tài Nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đến Tòa soạn 24-9-2013

Abstract

From the methanol extract of fruits of *Momordica charantia* L., five compounds: goyaglycoside-c (1), goyaglycoside-d (2), momordicoside F₁ (3), momordicoside N (4), and momordicoside M (5) were isolated. Their structures were determined by spectrometry methods and in comparison with the published data.

Keywords: *Momordica charantia* L., goyaglycoside-c, goyaglycoside-d, momordicoside F₁, momordicoside N, and momordicoside M.

1. MỞ ĐẦU

Mướp đắng có tên khoa học là *Momordica charantia* L. thuộc họ Bầu bí (Cucurbitaceae) là loại dây leo [1]. Trái Mướp đắng có vị đắng, tính hàn, không độc, được trồng ở khắp nơi trên thế giới để lấy trái ăn và chữa một số bệnh như: đái tháo đường, loét dạ dày, mụn nhọt, giải nhiệt, giảm đau, ... [2].

Nhiều tác giả trên thế giới cũng như nước ta đã quan tâm nghiên cứu thành phần hóa học và tác dụng sinh học của trái Mướp đắng. Ở Việt Nam, năm 2001, tác giả Phạm Văn Thanh và cộng sự đã chứng minh tác dụng hạ đường huyết của nhóm glycoside trên thỏ gây đái tháo đường thực nghiệm bằng Alloxan [3]. Năm 2007, tác giả Nguyễn Ngọc Hạnh và cộng sự đã phân lập charantin từ trái Mướp đắng và thử hoạt tính ức chế α -glucosidase [4].

Với mục đích làm rõ hơn về thành phần hóa học của quả Mướp đắng, bài báo này thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc năm chất từ dịch chiết metanol của quả mướp đắng.

2. THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mẫu thực vật

Mẫu quả Mướp đắng (*Momordica charantia*) thu tại Thái Bình vào tháng 6 năm 2011 và được TS. Bùi Văn Thanh Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật

giám định. Mẫu tiêu bản lưu giữ tại Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Hóa chất thiết bị

Sắc ký lớp mỏng (TLC): Thực hiện trên bản mỏng trắng sẵn DC-Alufolien 60 F254 (Merck 1,05715), RP18 F254s (Merck); phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 368 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng từ từ đến khi hiện màu.

Sắc ký cột (CC): Được tiến hành với chất hấp phụ là Silica gel pha thường và pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh). Silica gel pha đảo ODS hoặc YMC (30-50 μ m, Fuji Silica Chemical Ltd.).

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR): Đo trên máy Bruker AM500 của Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phổ khối lượng (ESI-MS): Đo trên máy LC-MSD Agilent 1200 Series (USA) của Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.3. Phân lập các chất

Quả mướp đắng được phơi khô, nghiền thành bột (5,0 kg), ngâm chiết với metanol ba lần, sau đó

loại dung môi thu được 350 g cặn chiết metanol. Cặn này được hoà tan vào 3 lít nước cất và chiết lần lượt bằng hexan, clorofoc và etylaxeat. Sau khi loại dung môi dưới áp suất thấp thu được cặn hexan (100 g), clorofoc (90 g), etylaxetat (75 g) và nước (85 g).

Cặn etylaxetat được tẩm vào 150 g silica gel, cô đui dung môi cho đến khi thu được bột tơi, khô sau đó tiến hành phân lập bằng sắc ký cột nhồi silica gel pha thường cỡ hạt 230-400 mesh (0,04-0,063 mm), rửa giải bằng hệ dung môi clorofoc/metanol với độ phân cực tăng dần (từ 20/1-2/1, v/v) thu được 5 phân đoạn chính là F1 (20,0 g), F2 (12,5 g), F3 (8,5 g), F4 (12,0 g) và F5 (18,0 g). Phân đoạn F1 (20,0 g) được tiến hành sắc ký trên cột nhồi Silica gel với hệ dung môi rửa giải là clorofoc/metanol (8/1, v/v) thu được hợp chất **1** (20 mg) và hợp chất **2** (30 mg). Phân đoạn F2 (12,5 g) được tiếp tục phân lập bằng sắc ký cột Silica gel với hệ dung môi rửa giải là clorofoc/metanol/nước (60/10/0,5, v/v/v) thu được 4 phân đoạn F2A (5,5 g), F2B (1,4 g), F2C (3,7 g) và F2D (1,6 g). Phân đoạn F2A (1,5 g) được phân lập bằng cột Silica gel với hệ dung môi clorofoc/axeton/nước(10/20/1, v/v/v) thu được hợp chất **3** (35 mg). Từ phân đoạn F2C (1,7 g) được tiến hành phân lập bằng sắc ký cột pha đảo hệ dung môi axeton/nước (2/3, v/v) thu được hợp chất **4** (22 mg) và **5** (15 mg).

Goyaglycoside-c (**1**): bột màu trắng. Độ quay cực $[\alpha]_D^{26}$: -110,8 (MeOH, *c*: 0,5). ESI-MS *m/z* 685 $[M+Na]^+$ và 661 $[M-H]^-$, công thức phân tử $C_{38}H_{62}O_9$, *M* = 662.

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) và ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD), xem bảng 1.

Goyaglycoside-d (**2**): bột màu trắng. Độ quay cực $[\alpha]_D^{26}$: -144,1 (MeOH, *c*: 0,1). ESI-MS *m/z* 685 $[M+Na]^+$ và 661 $[M-H]^-$, công thức phân tử $C_{38}H_{62}O_9$, *M* = 662.

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) và ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD), xem bảng 1.

Momordicoside F1 (**3**): tinh thể màu trắng. Nhiệt độ nóng chảy: 198-203 °C. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -111,0 (MeOH, *c*: 1,0). ESI-MS *m/z* 655 $[M+Na]^+$, 631 $[M-H]^-$, công thức phân tử $C_{37}H_{60}O_8$, *M* = 632.

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) và ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD), xem bảng 1.

Momordicoside N (**4**): bột màu trắng. ESI-MS *m/z* 819 $[M+Na]^+$ và 795 $[M-H]^-$, công thức phân tử $C_{42}H_{68}O_{16}$, *M* = 796.

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD): 1,44 (2H, H-1), 1,80 (1H, H_a-2), 2,20 (1H, H_b-2), 3,41 (1H, br s, H-3), 6,12 (1H, dd, *J* = 10,0 Hz và 2,0 Hz, H-6), 5,64 (1H, dd, *J* = 10,0 Hz và 4,0 Hz, H-7), 2,40 (1H, br s, H-8), 2,30 (1H, dd, *J* = 11,5 Hz và 6,0 Hz, H-10), 1,53 (1H, H_a-11), 1,79 (1H, H_b-11), 1,60 (2H, dd, *J*

= 10,0 Hz và 2,0 Hz, H-12), 1,38 (2H, t, *J* = 13,0 Hz, H-15), 1,50 (1H, H_a-16), 1,96 (1H, H_b-16), 1,81 (1H, s, H-17), 0,92 (1H, s), 3,67 (1H, H-19), 3,53 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-19), 1,84 (1H, m, H-20), 0,99 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, H-21), 3,69 (1H, dd, *J* = 5,0 Hz và 9,0 Hz, H-22), 4,23 (1H, dd, *J* = 10,0 Hz và 9,0 Hz, H-23), 5,27 (1H, br d, *J* = 10,0 Hz, H-24), 1,78 (3H, s, H-26), 1,81 (3H, s, H-27), 1,15 (3H, s, H-28), 0,96 (3H, s, H-29), 0,86 (3H, s, H-30), 4,64 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-1'), 4,07 (1H, dd, *J* = 8,0, 3,0 Hz, H-2'), 3,35 (1H, dd, *J* = 3,0, 3,0 Hz, H-3'), 3,50 (1H, dd, *J* = 3,0, 9,0 Hz, H-4'), 3,66 (1H, m, H-5'), 3,83 (1H, br d, *J* = 12,0 Hz, H_a-6), 3,77 (1H, dd, *J* = 12,0 Hz và 1,5 Hz, H_b-6'), 4,74 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-1''), 4,07 (1H, dd, *J* = 8,0, 3,0 Hz, H-2''), 3,35 (1H, dd, *J* = 3,0, 3,0 Hz, H-3''), 3,50 (1H, dd, *J* = 3,0, 9,0 Hz, H-4''), 3,66 (1H, m, H-5'') và 3,67 (1H, dd, *J* = 12,0, 2,5 Hz, H_a-6''), 3,33 (1H, dd, *J* = 12,0, 5,5 Hz, H_b-6'').

^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD): 19,5 (C-1), 28,1 (C-2), 87,0 (C-3), 39,7 (C-4), 87,8 (C-5), 134,0 (C-6), 131,4 (C-7), 53,3 (C-8), 46,0 (C-9), 41,0 (C-10), 24,6 (C-11), 32,1 (C-12), 46,6 (C-13), 48,8 (C-14), 34,5 (C-15), 28,8 (C-16), 47,5 (C-17), 14,9 (C-18), 80,7 (C-19), 41,9 (C-20), 14,6 (C-21), 77,2 (C-22), 81,4 (C-23), 124,5 (C-24), 37,4 (C-25), 26,5 (C-26), 18,9 (C-27), 20,5 (C-28), 26,5 (C-29), 20,7 (C-30), 104,9 (C-1'), 72,9 (C-2'), 72,5 (C-3'), 69,1 (C-4'), 75,5 (C-5'), 63,0 (C-1), 102,4 (C-1''), 72,8 (C-2''), 72,5 (C-3''), 68,7 (C-4''), 75,3 (C-5'') và 63,3 (C-6'').

Momordicoside M (**5**): bột màu trắng. ESI-MS *m/z* 819 $[M+Na]^+$ và 795 $[M-H]^-$, công thức phân tử $C_{42}H_{68}O_{16}$, *M* = 796.

1H -NMR (500 MHz, CD_3OD): 3,42 (1H, br s, H-3), 6,12 (1H, dd, *J* = 10,0 Hz và 2,0 Hz, H-6), 5,65 (1H, dd, *J* = 10,0 Hz và 4,0 Hz, H-7), 0,92 (3H, s, H-18), 0,99 (3H, d, *J* = 6,5 Hz, H-21), 5,25 (1H, br d, *J* = 10,0 Hz, H-24), 1,78 (3H, s, H-26), 1,81 (3H, s, H-27), 1,14 (3H, s, H-28), 0,96 (3H, s, H-29), 0,86 (3H, s, H-30), 4,25 (1H, d, *J* = 7,5 Hz, H-1') và 4,75 (1H, d, *J* = 8,0 Hz, H-1'').

^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD): 19,5 (C-1), 28,1 (C-2), 87,0 (C-3), 39,7 (C-4), 87,8 (C-5), 133,9 (C-6), 131,4 (C-7), 53,2 (C-8), 46,0 (C-9), 41,0 (C-10), 24,6 (C-11), 32,0 (C-12), 46,6 (C-13), 48,8 (C-14), 34,5 (C-15), 28,8 (C-16), 47,5 (C-17), 14,9 (C-18), 80,7 (C-19), 41,9 (C-20), 14,6 (C-21), 77,2 (C-22), 81,4 (C-23), 124,4 (C-24), 137,4 (C-25), 26,2 (C-26), 18,9 (C-27), 20,4 (C-28), 26,5 (C-29), 20,8 (C-30), 107,6 (C-1'), 75,2 (C-2'), 77,5 (C-3'), 71,8 (C-4'), 77,7 (C-5'), 62,9 (C-6'), 102,4 (C-1''), 72,8 (C-2''), 72,9 (C-3''), 68,7 (C-4''), 75,5 (C-5'') và 63,0 (C-6'').

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** thu được dưới dạng chất bột màu

trắng. Dữ kiện phổ khối lượng (pic ion giả phân tử tại m/z 685 $[M+Na]^+$ và 661 $[M-H]^-$) cùng với phổ NMR có thể dự đoán công thức phân tử của **1** là $C_{38}H_{62}O_9$. Phổ 1H -NMR của **1** xuất hiện tín hiệu singlet của 6 nhóm methyl bậc ba tại δ 0,95 (3H, H-18), 1,27 (6H, H-26, 27), 1,24 (3H, H-28), 0,93 (3H, H-29) và 0,91 (3H, H-30), 1 nhóm methyl bậc 2 dưới dạng tín hiệu doublet tại δ 0,97 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21) đặc trưng cho khung Cucurbitane [6]. Hai nhóm thế metoxi được xác định tại δ 3,40 (3H, s, 19-OMe) và 3,16 (3H, s, 25-OMe). Hai liên kết đôi cũng được xác định tại δ 6,19 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz và 2,0 Hz) và 5,52 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz và 3,5 Hz); 5,64 (1H, ddd, $J = 15,5$ Hz, 8,5 Hz và 3,0 Hz) và 5,41 (1H, d, $J = 15,5$ Hz) trong đó có một nối đôi dạng *cis* ($J = 10,0$ Hz) và một nối đôi dạng *trans* ($J = 15,5$ Hz). Tín hiệu một nhóm metin có δ_H bị chuyển dịch mạnh về phía trường thấp do liên kết trực tiếp với 2 nguyên tử oxi tại δ 4,43 (1H, s) đặc trưng cho H-19 của vòng epoxy; H-3 dưới dạng tín hiệu singlet từ chứng tỏ H-3 chiếm vị trí *equatorial*. Ngoài ra, còn xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một phân tử đường glucose tại δ 4,33 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,25 (1H, dd, $J = 8,0$ Hz và 3,0 Hz, H-2'), 3,26 (1H, t, $J = 9,5$ Hz, H-3'), 3,31 (1H, dd, $J = 9,5$ Hz và 3,0 Hz, H-4'), 3,36 (1H, m, H-5'), 3,87 (1H, dd, $J = 12,0$ Hz và 2,0 Hz, H_a-6'), 3,69 (1H, dd, $J = 12,0$ Hz và 5,0 Hz, H_b-6'). Giá trị $J_{H-1'/2'} = 8,0$ Hz chứng tỏ H-1' và H-2' đều chiếm vị trí *axial*. Phổ ^{13}C -NMR và các phổ DEPT của **1** xuất hiện tín hiệu của 38 nguyên tử cacbon trong đó có 30 nguyên tử cacbon đặc trưng cho khung Cucurbitane (bảng 1); 2 nhóm thế metoxi tại δ 57,3 (19-OMe) và 50,5 (25-OMe); 6 nguyên tử cacbon tại δ 106,7 (C-1'), 75,8 (C-2'), 77,7 (C-3'), 71,8 (C-4'), 78,0 (C-5') và 62,9 (C-6') phù hợp với đường glucopyranoside. Để xác định chính xác cấu trúc của khung và vị trí liên kết của phân tử đường phổ 2 chiều HSQC và HMBC được đo. Phân tích chi tiết các tương tác trên phổ HSQC và HMBC (bảng 1) một lần nữa khẳng định **1** có cấu trúc khung Cucurbita-6,23-dien. Các tương tác nhận được trên phổ HMBC giữa proton H-6 (δ 6,19) với C-5/C-8/C-10; giữa H-7 (δ 5,52) với C-5/C-8/C-9/C-14 chứng tỏ có một liên kết đôi nội vòng tại C-6/C-7; liên kết đôi thứ hai được xác định tại vị trí C-23/C-24 dựa vào tương tác giữa proton H-23 (δ 5,64) với C-22/C-24/C-25 và giữa H-24 (δ 5,41) với C-22/C-23/C-25/C-26/C-27; tương tác giữa proton metoxi (δ 3,40) với C-19 và giữa H-19 (δ 4,43) với nguyên tử C có δ 57,3 (OCH₃) chứng tỏ có một nhóm thế metoxi tại C-19; nhóm thế metoxi thứ 2 được xác định tại vị trí C-25 dựa vào tương tác

giữa proton của nhóm metoxi (δ 3,16) với C-25 (δ 76,5). Tương tác giữa proton H-3 (δ 3,47) với C-1/C-5/C-1' và giữa H-1' (δ 4,33) với C-3 khẳng định đường gluco nối vào C-3. Từ những phân tích nêu trên cùng với việc so sánh các dữ kiện phổ và độ quay cực của **1** với các dữ liệu phổ tương ứng đã công bố [6], hợp chất **1** được xác định là 19(*R*),25-methoxy-5 β ,19-epoxycucurbita-6,23-dien-3 β -glucopyranoside hay goyaglycoside-c, một hợp chất đã được phân lập từ quả mướp đắng Nhật Bản [5].

Hợp chất **2** thu được dưới dạng chất bột màu trắng. Công thức phân tử dự kiến của **2** là $C_{38}H_{62}O_9$ dựa trên kết quả phổ khối lượng (m/z 685 $[M+Na]^+$ và 661 $[M-H]^-$) và phân tích phổ NMR. Phổ NMR của **2** khá giống với phổ của **1** cũng xuất hiện tín hiệu singlet của 6 nhóm methyl bậc ba tại δ 0,91 (3H, H-18), 1,27 (6H, H-26, 27), 1,22 (3H, H-28), 0,93 (3H, H-29) và 0,88 (3H, H-30), 1 nhóm methyl bậc 2 dưới dạng tín hiệu doublet tại δ 0,96 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21) cho thấy chất **2** cũng có khung Cucurbitane. Hai nhóm thế metoxi được xác định tại δ 3,46 (3H, s, 19-OMe) và 3,17 (3H, s, 25-OMe). Hai liên kết đôi cũng được xác định tại δ 6,06 (1H, dd, $J = 9,5$ Hz và 1,5 Hz) và 5,55 (1H, dd, $J = 9,5$ Hz và 1,5 Hz); 5,63 (1H, ddd, $J = 15,5$ Hz, 8,5 Hz và 5,5 Hz) và 5,41 (1H, d, $J = 15,5$ Hz) trong đó có một nối đôi dạng *cis* và một nối đôi dạng *trans*. Tín hiệu một nhóm metin có δ_H bị chuyển dịch mạnh về phía trường thấp do liên kết trực tiếp với 2 nguyên tử oxi đặc trưng cho vị trí H-19 của vòng epoxy khung Cucurbitane tại δ 4,69 (1H, s) và một nhóm oximetin vị trí C-3 tại δ 3,52 (1H, br s) với cấu hình H-3 α . Hz chứng tỏ H-1' và H-2' đều chiếm vị trí *axial*. Ngoài ra, tín hiệu H-1' tại δ 4,80 với hằng số tương tác spin $J_{H-1'/2'} = 7,5$ Hz chứng tỏ H-1' và H-2' chiếm vị trí *axial*.

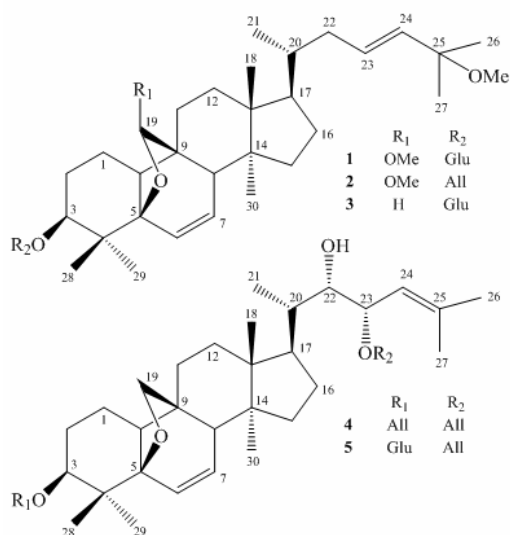
Phổ ^{13}C -NMR và các phổ DEPT của **2** xuất hiện tín hiệu của 38 nguyên tử cacbon trong đó có 30 nguyên tử cacbon đặc trưng cho khung Cucurbitane; 2 nhóm thế metoxi tại δ 58,6 và 50,5; 6 nguyên tử cacbon của một đơn vị đường tại δ 103,1 (C-1'), 73,3 (C-2'), 72,1 (C-3'), 69,0 (C-4'), 75,7 (C-5') và 63,3 (C-6') đặc trưng cho đường allopopyranoside. Đặc biệt, phân tích tương tác spin-coupling trên phổ 1H cho thấy $J_{H-2'/3'} = J_{H-3'/4'} = 3,0$ Hz chứng tỏ H-3' chiếm vị trí *equatorial*, phù hợp với cấu hình đường allose. Như vậy, **2** có cấu trúc khung giống chất **1** chỉ khác phân đường là allopopyranoside. Các dữ kiện phổ nêu trên cùng với độ quay cực của **2** hoàn toàn phù hợp với hợp chất 19(*R*),25-methoxy-5 β ,19-epoxycucurbita-6,23-dien-3 β -allopopyranoside hay goyaglycoside-d, một hợp chất đã được biết từ quả mướp đắng Nhật Bản [5].

Bảng 1: Số liệu phổ NMR của 1, 2 và 3

| C | 1 | | | 2 | | 3 | | |
|----------------|------------------|---------------------------------|--------------------|------------------|------------------------------|------------------|----------------------------------|-----------------------|
| | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,c}$ | HMBC (H→C) | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,c}$ | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,c}$ | HMBC (H→C) |
| Aglycon | | | | | | | | |
| 1 | 18,7 | 1,27* | | 19,2 | | 19,5 | 1,63 m | |
| 2 | 27,9 | 1,75 m 2,08 m | | 27,8 | | 28,1 | 2,36 m 1,94 m | |
| 3 | 86,6 | 3,47 br s | 1, 5, 1' | 85,4 | 3,52 br s | 86,9 | 3,58 br s | 5, 29, 1' |
| 4 | 39,7 | - | | 39,8 | | 39,7 | - | |
| 5 | 85,4 | - | | 86,9 | | 87,7 | - | |
| 6 | 135,5 | 6,19 dd (10,0, 2,0) | 5, 8, 10 | 133,5 | 6,06 dd (9,5, 1,5) | 133,9 | 6,29 dd (10,0, 1,5) | 4, 5, 8, 10 |
| 7 | 130,4 | 5,52 dd (10,0, 3,5) | 5, 9, 14 | 132,5 | 5,55 dd (9,5, 1,5) | 131,4 | 5,78 dd (10,0, 2,0) | 5, 9 |
| 8 | 51,0 | 2,34 * | 7, 30 | 43,2 | | 53,2 | 2,59 * | 6, 7, 30 |
| 9 | 50,0 | - | | 48,4 | | 45,9 | - | |
| 10 | 39,9 | 2,31 dd (12,5, 5,5) | | 42,5 | | 40,9 | 2,50 dd (11,5, 6,0) | 1, 19 |
| 11 | 22,5 | 1,90 t (14,0)/1,75 * | | 24,1 | | 24,6 | 1,94 t (14,0)/1,71 * | |
| 12 | 31,7 | 1,92 */1,80 * | | 31,8 | | 31,9 | 1,94 */1,88 * | |
| 13 | 46,3 | - | | 46,2 | | 46,4 | - | |
| 14 | 50,0 | - | | 48,4 | | 49,3 | - | |
| 15 | 34,8 | 1,68* | | 34,7 | | 34,3 | 1,62 * | |
| 16 | 28,9 | | | 29,0 | | 29,0 | 2,20 dd (13,0, 2,5) 1,63 * | |
| 17 | 51,4 | 1,57* | | 51,3 | | 51,2 | 1,57 * | |
| 18 | 15,5 | 0,95 s | 12, 13, 14, 17 | 15,2 | 0,91 s | 15,5 | 1,12 s | 12, 13, 14, 16, 17 |
| 19 | 115,9 | 4,43 s | 5, 8, 9, 10, 11 | 113,9 | 4,69 s | 80,7 | 3,84 (d, 8,0) 3,72 (d, 8,0) | 5, 8, 9, 10, 11 |
| 20 | 37,5 | 1,67* | | 37,4 | | 37,4 | 1,77 * | |
| 21 | 19,2 | 0,97 d (6,5) | 17, 20, 22 | 19,2 | 0,96 d (6,5) | 19,3 | 1,12 d (6,0) | 17, 20, 22 |
| 22 | 40,5 | 2,33 dd (11,0, 1,5) 1,87* | | 40,5 | | 40,5 | 2,40 * 1,85* | |
| 23 | 130,0 | 5,64 ddd (15,5, 8,5, 3,0) | 24, 25 | 130,0 | 5,63 ddd (15,5, 8,5, 3,0) | 129,9 | 5,77 ddd (15,5, 8,5, 3,0) | 22, 24, 25 |
| 24 | 137,7 | 5,41 d (15,5) | 22, 23, 25, 27 | 137,6 | 5,41 d (15,5) | 137,7 | 5,57 (d, 16,0) | 22, 23, 25, 27 |
| 25 | 76,5 | - | | 76,5 | - | 76,4 | - | |
| 26 | 26,2 | 1,27 s | 24, 25, 27 | 26,2 | 1,27 s | 26,3 | 1,43 s | 24, 25, 27 |
| 27 | 26,5 | 1,27 s | 24, 25, 26 | 26,5 | 1,27 s | 26,5 | 1,44 s | 25, 26 |
| 28 | 20,9 | 1,124 s | 3, 4, 5, 29 | 21,1 | 1,22 s | 20,4 | 1,31 s | 3, 4, 5, 29 |
| 29 | 25,8 | 0,93 s | 3, 4, 5, 28 | 25,5 | 0,93 s | 26,2 | 1,10 s | 3, 4, 5, 28 |
| 30 | 20,5 | 0,91 s | 8, 13, 15 | 20,2 | 0,88 s | 20,7 | 1,10 s | 8, 13, 15 |
| 19-OMe | 57,3 | 3,40 s | 19 | 58,6 | 3,46 s | | 3,30 s | 25 |
| 25-OMe | 50,5 | 3,16 s | 25 | 50,5 | 3,17 s | 50,6 | | |
| | 3-Glucose | | | 3-Allose | | 3-Glucose | | |
| 1' | 106,7 | 4,33 d (8,0) | 3 | 103,1 | 4,80 d (7,5) | 107,6 | 4,41 d (7,5) | 3 |
| 2' | 75,8 | 3,25 dd (8,0, 9,0) | | 73,3 | 3,68 dd (7,5, 3,0) | 75,2 | 3,25 dd (7,5, 9,0) | 4' |
| 3' | 77,7 | 3,26 dd (9,0, 9,0) | 1', 4', 5' | 72,1 | 4,11 dd (3,0, 3,0) | 77,6 | 3,15 dd (9,0, 9,0) | 1', 5' |
| 4' | 71,8 | 3,31 dd (9,0, 9,0) | 6' | 69,0 | 3,50 dd (3,0, 9,0) | 71,7 | 3,45 dd (9,0, 9,0) | 2' |

| C | 1 | | | 2 | | 3 | | |
|----|------------------|--|------------------|------------------|--|------------------|--|------------|
| | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,c}$ | HMBC (H→C) | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,c}$ | $\delta_C^{a,b}$ | $\delta_H^{a,c}$ | HMBC (H→C) |
| 5' | 78,0 | 3,36 m | | 75,7 | 3,36 m | 77,5 | 3,20 m | 3', 6' |
| 6' | 62,9 | 3,87 dd (12,0, 2,5) 3,69 dd (12,0, 5,5) | 4', 5' 4', 5' | 63,3 | 3,85 dd (12,0, 2,5) 3,65 dd (12,0, 5,5) | 62,8 | 3,56 dd (12,0, 5,5) 3,75 dd (12,0, 2,5) | 5' 5' |

^ađo trong CD₃OD, ^b125 MHz, ^c500 MHz, *tín hiệu chập.



Hình 1: Cấu trúc hóa học của các hợp chất 1-5

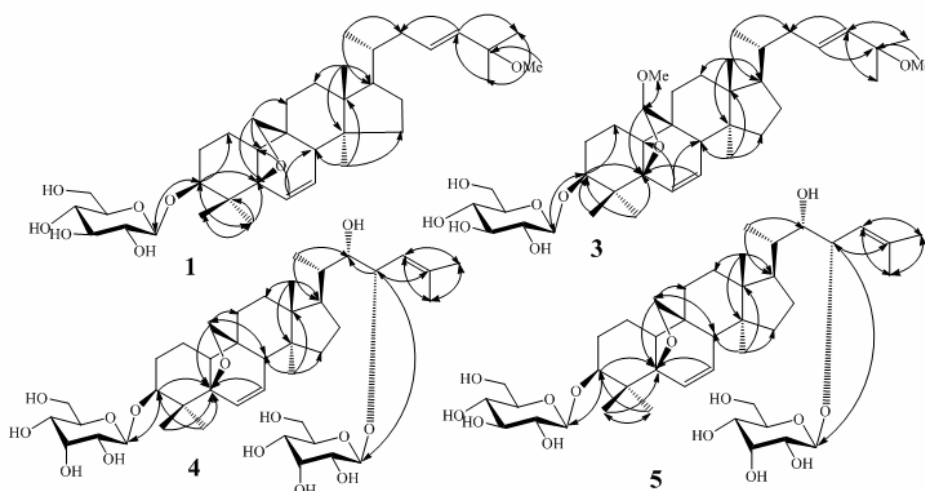
Hợp chất **3** thu được dưới dạng tinh thể màu trắng, phổ khối lượng xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 655 $[M+Na]^+$ và 631 $[M-H]^-$ kết hợp với phổ NMR dự đoán công thức phân tử là C₃₇H₆₀O₈. Phổ ¹H-NMR của **3** tương tự như chất **1** và **2** đều xuất hiện tín hiệu của 6 nhóm methyl bậc ba dưới dạng singlet tại δ 1,12 (3H, H-18), 1,43 (3H, H-26), 1,43 (3H, H-27), 1,31 (3H, H-28), 1,10 (6H, H-29 và 30), 1 nhóm methyl bậc 2 dưới dạng tín hiệu doublet tại δ 1,12 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-21) đặc trưng cho khung Cucurbitane. Một nhóm thế metoxi được xác định tại δ 3,30 (3H, s, 25-OMe). Hai liên kết đôi cũng được xác định tại δ 6,29 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz và 1,5 Hz) và 5,78 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz và 2,0 Hz); 5,77 (1H) và 5,57 (1H, d, $J = 16,0$ Hz) trong đó có một nối đôi dạng *cis* và một nối đôi dạng *trans*. Tín hiệu một nhóm metin có δ_H bị chuyển dịch mạnh về phía trường thấp không thấy xuất hiện thay vào đó là tín hiệu một nhóm oximetilen tại δ 3,84 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) và 3,72 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) chứng tỏ vị trí C-19 của khung Cucurbitane chỉ có cấu epoxy không có nhóm thế tại metoxi. Tín hiệu nhóm oximetin vị trí C-3 xuất hiện tại δ 3,47 (1H, br s) với cấu hình H-3 dạng α . Ngoài ra, còn xuất hiện tín hiệu của một phân tử đường tại δ 4,41 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'), 3,25 (1H, t, $J = 7,5$ Hz, H-2'), 3,15 (1H,

H-3'), 3,45 (1H, t, $J = 8,6$ Hz, H-4'), 3,20 (1H, H-5'), 3,56 (1H, dd, $J = 12,0$ Hz và 6,0 Hz, H_a-6'), 3,75 (1H, dd, $J = 12,0$ Hz và 3,6 Hz, H_b-6'). Tín hiệu tại δ 4,41 (1H, d) của proton anomeric với hằng số tương tác spin $J = 7,5$ Hz chứng tỏ rằng cấu hình của đường là β . Phổ ¹³C-NMR và các phổ DEPT của **3** xuất hiện tín hiệu của 37 nguyên tử carbon trong đó có 30 nguyên tử carbon đặc trưng cho khung Cucurbitane; 1 nhóm thế metoxi tại δ 50,6 (25-OMe); 6 nguyên tử carbon của một đơn vị đường tại δ 107,6 (C-1'), 75,2 (C-2'), 77,6 (C-3'), 71,7 (C-4'), 77,5 (C-5') và 62,8 (C-6') đặc trưng cho đường glucopyranoside. Để xác định chính xác cấu trúc của khung và vị trí liên kết của phân tử đường phổ 2 chiều HSQC và HMBC được đo. Phân tích chi tiết các tương tác trên phổ HSQC và HMBC (bảng 1) một lần nữa khẳng định chất **3** có cùng cấu trúc khung Cucurbita-6,23-dien giống chất **1** và **2**. Các tương tác thu nhận được trên phổ HMBC giữa proton H-6 (δ 6,29) với C-4/C-5/C-8/C-10 và H-7 (δ 5,78 với C-5/C-9 chứng tỏ có một liên kết đôi nội vòng tại C-6/C-7; liên kết đôi thứ hai được xác định tại vị trí C-23/C-24 dựa vào tương tác giữa proton H-23 (δ 5,77) với C-22/C-24/C-25 và H-24 (δ 5,57) với C-22/C-23/C-25/C-26/C-27; nhóm thế metoxi được xác định tại vị trí C-25 dựa vào tương tác giữa proton của nhóm metoxi (δ 3,30) với C-25 (δ 76,4). Tương tác giữa proton H-3 (δ 3,58) với C-1/C-4/C-5/C-1' và H-1' (δ 4,41) với C-3 khẳng định vị trí nối giữa khung với đường gluco tại vị trí C-3. Chi tiết các tương tác HMBC được trình bày trên bảng 1 và hình 2. Từ những phân tích nêu trên cùng với việc so sánh các dữ kiện phổ và độ quay cực của **3** với các dữ liệu phổ tương ứng đã công bố [6], hợp chất **3** được xác định là 5 β ,19-epoxycucurbita-6,23-dien-3 β -glucopyranoside hay momordicoside F₁, một hợp chất đã được phân lập từ quả mướp đắng Nhật Bản [6].

Hợp chất **4** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, phổ khối lượng xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 819 $[M+Na]^+$ và 795 $[M-H]^-$ kết hợp với phổ NMR dự đoán công thức phân tử là C₄₂H₆₈O₁₆. Phổ ¹H-NMR của **4** tương tự như chất **1**, **2** và **3** đều xuất hiện tín hiệu của 6 nhóm methyl bậc ba dưới dạng

singlet tại δ 0,92 (3H, H-18), 1,78 (3H, H-26), 1,81 (3H, H-27), 1,15 (3H, H-28), 0,96 (3H, H-29) và 0,86 (3H, H-30), 1 nhóm metyl bậc 2 dưới dạng tín

hiệu doublet tại δ 0,99 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21) đặc trưng cho khung Cucurbitane. Một liên kết đôi được xác định tại δ 6,12 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz và 2,0 Hz)



Hình 2: Các tương tác HMBC chính của chất 1, 3-5

và 5,64 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz và 4,0 Hz) đặc trưng cho nối đôi trong vòng tại C-6/C-7; một tín hiệu của proton tại 5,27 (1H, br d, $J = 10,0$ Hz) đặc trưng cho một nối đôi bị thế 3 lần tại C-24/C-25. Tín hiệu một nhóm oximetilen tại δ 3,53 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) và 3,67 chứng tỏ vị trí C-19 của khung Cucurbitane có cầu epoxy. Nhóm hydroxy tại C-3 chiếm vị trí *equatorial* bởi tín hiệu H-3 tại δ 3,41 có dạng singlet tù. Ngoài ra, còn xuất hiện tín hiệu của hai proton anomeric của hai phân tử đường tại δ 4,64 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1') và 4,74 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1''). Hai proton anomeric này cùng có hằng số tương tác spin $J = 8,0$ Hz chứng tỏ các proton H-1', H-2', H-1'' và H-2'' đều chiếm vị trí *axial*. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và các phổ DEPT của 4 xuất hiện tín hiệu của 42 nguyên tử cacbon trong đó có 30 nguyên tử cacbon đặc trưng cho khung Cucurbitane; 12 nguyên tử cacbon của hai đơn vị đường tại δ 104,9 (C-1'), 72,9 (C-2'), 72,5 (C-3'), 69,1 (C-4'), 75,5 (C-5'), 63,0 (C-6'), 102,4 (C-1''), 72,8 (C-2''), 72,5 (C-3''), 68,7 (C-4''), 75,3 (C-5'') và 63,3 (C-6'') khá đặc trưng cho 2 đường allopyranoside, đặc biệt phân tích tương tác spin-coupling giữa các proton của 2 phân tử đường này đều cho thấy H-3' và H-3'' đều chiếm vị trí *equatorial*. Phân tích chi tiết các tương tác trên phổ HSQC và HMBC (hình 2) một lần nữa khẳng định 4 có cấu trúc khung Cucurbita-6,24-dien. Các tương tác trên phổ HMBC giữa proton H-6 (δ 6,12) với C-5 và giữa H-7 (δ 5,64) với C-5 chứng tỏ có một liên kết đôi nội vòng tại C-6/C-7; liên kết đôi thứ hai được xác định tại vị trí C-24/C-25 dựa vào tương tác giữa proton H-26 (δ 1,78) với C-24/C-25/C-27 và giữa H-

27 (δ 1,81) với C-24/C-25/C-26. Tương tác giữa proton H-3 (δ 3,41) với C-5/C-1' và giữa H-1' (δ 4,64) với C-3 khẳng định một đường allozo nối với C-3; phân tử đường allozo thứ hai được xác định nối với C-23 thông qua các tương tác giữa proton H-1'' (δ 4,74) với C-23 và giữa proton H-23 (4,23) với C-22/C-25/C-1''. Từ những phân tích nêu trên cùng với việc so sánh các dữ kiện phổ của 4 với các dữ liệu phổ tương ứng đã công bố [7], hợp chất 4 được xác định là 5 β ,19-epoxycucurbita-6,24-dien-3 β , 23 α -diallopyranoside hay momordicoside N.

Hợp chất 5 thu được dưới dạng chất bột màu trắng, phổ khối lượng xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 819 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ và 795 $[\text{M}-\text{H}]^-$ kết hợp với phổ NMR dự đoán công thức phân tử là $\text{C}_{42}\text{H}_{68}\text{O}_{16}$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của 5 tương tự như chất 4 đều xuất hiện tín hiệu của 6 nhóm metyl bậc ba dưới dạng singlet tại δ 0,92 (3H, H-18), 1,78 (3H, H-26), 1,81 (3H, H-27), 1,14 (3H, H-28), 0,96 (3H, H-29) và 0,86 (3H, H-30), 1 nhóm metyl bậc 2 dưới dạng tín hiệu doublet tại δ 0,99 (3H, d, $J = 6,5$ Hz, H-21) đặc trưng cho khung Cucurbitane. Một liên kết đôi được xác định tại δ 6,12 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz và 2,0 Hz) và 5,65 (1H, dd, $J = 10,0$ Hz và 4,0 Hz) đặc trưng cho nối đôi trong vòng tại C-6/C-7; một tín hiệu của proton tại 5,25 (1H, br d, $J = 10,0$ Hz) đặc trưng cho một nối đôi bị thế 3 lần tại C-24/C-25. Tín hiệu nhóm oximetin vị trí C-3 xuất hiện tại δ 3,42 (1H, br s) với cấu hình H-3 α , hai proton anomeric của hai phân tử đường tại δ 4,25 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1') và 4,75 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1''). Các giá trị hằng số tương tác $J = 7,5-8,0$ Hz chứng tỏ các proton H-1',

H-2', H-1'', H-2'' đều chiếm vị trí *axial*. Phổ ^{13}C -NMR và các phổ DEPT của **5** xuất hiện tín hiệu của 42 nguyên tử cacbon trong đó có 30 nguyên tử cacbon đặc trưng cho khung Cucurbitane [7]; 12 nguyên tử cacbon của hai đơn vị đường glucopyranoside và allopyranoside. Phân tích các giá trị J của các proton của đường allose cho thấy giá trị $J_{\text{H-2}''/3''} = J_{\text{H-3}''/4''} = 3,0$ Hz. Các tương tác HMBC giữa proton H-6 ($\delta 6,12$) với C-5 và giữa H-7 ($\delta 5,65$) với C-5 chứng tỏ có một liên kết đôi nội vòng tại C-6/C-7; liên kết đôi thứ hai được xác định tại vị trí C-24/C-25 dựa vào tương tác giữa proton H-26 ($\delta 1,78$) với C-24/C-25/C-27 và giữa H-27 ($\delta 1,81$) với C-24/C-25/C-26. Tương tác giữa proton H-3 ($\delta 3,42$) với C-5/C-1' và giữa H-1' ($\delta 4,25$) với C-3 khẳng định vị trí nối giữa khung với đường glucose tại C-3; giữa proton H-1'' ($\delta 4,75$) với C-23 khẳng định đường allose nối vào C-23. Từ những phân tích nêu trên cùng với việc so sánh các dữ kiện phổ của **5** với các dữ liệu phổ tương ứng đã công bố [7], hợp chất **5** được xác định là 5 β ,19-epoxycucurbita-6,24-dien-3 β -glucopyranosyl-23 α -allopyranoside hay momordicoside M, một hợp chất đã được phân lập từ quả mướp đắng Trung Quốc [7].

4. KẾT LUẬN

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp, năm hợp chất goyaglycoside-c (**1**), goyaglycoside-d (**2**), momordicoside F₁ (**3**), momordicoside N (**4**) và momordicoside M (**5**), đã được phân lập từ quả mướp đắng (*Momordica charantia* L.). Cấu trúc hóa học của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ khối lượng, phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của đề tài Khoa học Công nghệ cấp

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (mã số VAST04.02/12-13).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb. Y học, 696-697 (1999).
2. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Thu, Nguyễn Tập. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nxb. Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, tập II, 335-341 (2003).
3. Phạm Văn Thanh, Phạm Xuân Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Thượng Dong. *Nghiên cứu thành phần hóa học của cây mướp đắng và chứng minh tác dụng hạ đường máu của nhóm glycosid trên thỏ gây đái tháo đường*, Tạp chí Dược liệu, **6**, số 2+3, 48-54 (2001).
4. Nguyễn Ngọc Hạnh, Phùng Văn Trung, Phan Nhật Minh, Nguyễn Đông Trúc, Phạm Thị Thùy Dương, Lê Thị Kim Hà, Lê Thị Tuyết Anh. *Phân lập charantin từ trái mướp đắng (Momordica charantia L.) và thử hoạt tính ức chế α -glucosidase*, Tuyển tập các công trình hội nghị Khoa học và Công nghệ Hoá học Hữu cơ toàn quốc lần thứ Tư, 376-381 (2007).
5. M. Toshiyuki, E. Akihito, M. Hisashi, and Y. Masayuki, Medicinal Foodstuffs. XXI. *Structures of new Cucurbitane-Type triterpene glycosides, Goyaglycosides-a, -b, -c, -d -e, -f, -g, and -h, and new Oleanane-Type triterpene saponins, Goyasaponins I, II, and III, from the fresh fruit of Japanese Momordica charantia L.*, Chem. Pharm. Bull, **49(1)**, 54-63 (2001).
6. H. Okabe, Y. Miyahara, T. Yamauchi. *Structures of momordicosides F1, F2, G, I, K, and L, novel cucurbitacins in the fruits of Momordica charantia L.* Tetrahedron Letters, **23(1)**, 77-80 (1982).
7. Qing-Yan Li, Hu-Biao Chen, Zhen-Ming Liu, Bin Wang, and Yu-Ying Zhao. *Cucurbitane triterpenoids from Momordica charantia*, Magn. Reson. Chem., **45**, 451-456 (2007).

Liên hệ: **Phan Văn Kiệm**

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Số 18, Đường Hoàng Quốc Việt, Quận Cầu Giấy, Hà Nội
E-mail: phankiem@vast.ac.vn
Điện thoại: 0983555031.