

CÁC HỢP CHẤT TRITECPEN GLYCOSIT KHUNG CUCURBITANE PHÂN LẬP TỪ QUẢ MƯỚP ĐẮNG (*Momordica charantia* L.) (Phần 2)

Phạm Hải Yến¹, Hoàng Lê Tuấn Anh¹, Dương Thị Dung¹, Châu Văn Minh¹, Nguyễn Xuân Nhiệm¹,
Đan Thị Thúy Hằng¹, Dương Thị Hải Yến¹, Nguyễn Thị Cúc, Bùi Văn Thanh², Nguyễn Văn Thắng³,
Phan Văn Kiệm^{1*}

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

³Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Đến Tòa soạn 02-10-2013

Abstract

From the methanol extract of the fruits of *Momordica charantia* L., five compounds: charantoside VIII (1), momordicoside K (2), karaviloside II (3), karaviloside V (4), and momordicoside A (5) were isolated. Their structures were determined by spectroscopical methods and in comparison with published data.

Keywords: *Momordica charantia*.

1. MỞ ĐẦU

Mướp đắng là một cây trồng khá phổ biến ở các vùng nhiệt đới. Quả mướp đắng có vị đắng, tính hàn, không độc, được dùng chữa một số bệnh như dai tháo đường, loét dạ dày, mụn nhọt, giải nhiệt, giảm đau, ... [1]. Mướp đắng có tên khoa học là *Momordica charantia* thuộc họ Bầu bí (Cucurbitaceae) [2]. Khung Cucurbitane là khung chính của các hợp chất triterpenoid phân lập được từ cây mướp đắng. Có khoảng trên 50 hợp chất triterpenoid khung Cucurbitane đã được phân lập từ hạt [3], quả [4-12], lá thân [13-15] và rễ [16] cây Mướp đắng. Bài báo này tiếp tục thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc năm hợp chất khung Cucurbitane từ dịch chiết metanol của quả mướp đắng.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Mẫu thực vật

Mẫu quả mướp đắng (*Momordica charantia* L.) thu tại Thái Bình vào tháng 6 năm 2011 và được TS. Bùi Văn Thanh 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 (254 nm và 368 nm) hoặc dùng thuốc thử H₂SO₄ 10%.

Sắc ký cột (CC): Được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel pha thường (0,040-0,063 mm) và silica gel pha đảo ODS hoặc YMC (30-50 μm, FujiSilisa 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 *n*-hexan, clorofoc và etyl axetat. Sau khi loại dung môi dưới áp suất thấp thu được cặn hexan (100 g), clorofoc (90 g), etyl axetat (75 g) và nước

(85 g). Cặn etyl axetat được tẩm vào 150 g silica gel, cô đuổi 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, 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 F3 (8,5 g) được tiến hành sắc ký trên cột nhồi silica gel với hệ dung môi rửa giải là clorofoc/metanol (6/1, v/v) và cột nhồi silica gel pha đảo với hệ dung môi rửa giải là axeton/nước (1/1, v/v) thu được hợp chất 1 (15 mg). Phân đoạn F5 (18,0 g) được tiếp tục phân lập bằng sắc ký cột silica gel với hệ dung môi rửa giải là clorofoc/metanol/nước (40/10/1 v/v/v) thu được 4 phân đoạn F5A (5,8 g), F5B (2,4 g), F5C (5,7 g) và F5D (4,1 g). Phân đoạn F5A (5,8 g) được phân lập bằng cột silica gel pha đảo với hệ dung môi metanol/nước (2/1, v/v) thu được hợp chất 2 (21 mg) và 3 (18 mg). Phân đoạn F5C (5,7 g) được phân lập bằng cột Silica gel pha đảo với hệ dung môi axeton/nước (2/3, v/v) thu được hợp chất 4 (20 mg) và 5 (50 mg).

Charantoides VIII (1): chất bột vô định hình màu trắng. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: +12,4 (MeOH, c: 0,2). ESI-MS m/z 685 [M+Na]⁺ và 661 [M-H]⁻, công thức phân tử C₃₈H₆₂O₉, M = 662.

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) và ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD), xem bảng 1.

Momordicoside K (2): tinh thể màu trắng. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: +63,3 (MeOH, c: 0,1). ESI-MS m/z 671 [M+Na]⁺, 649 [M+H]⁺ và 647 [M-H]⁻, công thức phân tử C₃₇H₆₀O₉, M = 648.

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) và ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD), xem bảng 1.

Karaviloside II (3): bột vô định hình màu trắng. Độ quay cực $[\alpha]_D^{27}$: =39,3 (MeOH, c: 1,0). ESI-MS m/z 671 [M+Na]⁺, 649 [M+H]⁺ và 647 [M-H]⁻, công thức phân tử C₃₈H₆₄O₈, M = 648.

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) và ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD), xem bảng 1.

Karaviloside V (4): bột màu trắng. Độ quay cực $[\alpha]_D^{26}$: +18,3 (MeOH, c: 1,0). ESI-MS m/z 835 [M+Na]⁺, 813[M+H]⁺ và 811 [M-H]⁻, công thức phân tử C₄₁H₇₂O₁₄, M = 812.

¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): 3,49 (1H, br s, H-3), 5,75 (1H, br d, J = 5,0 Hz, H-6), 3,49 (1H, br s, H-7), 2,34 (1H, dd, J = 11,5, 6,0 Hz), 1,40 (2H, t, J = 13,0 Hz), 1,84 (1H, H-17), 0,97 (3H, s, H-18), 0,97 (3H, s, H-19), 1,84 (1H, H-20), 0,99 (3H, d, J = 6,0 Hz, H-21), 3,67 (1H, dd, J = 5,0, 2,0 Hz, H-22), 4,31 (1H, dd, J = 10,0, 2,0 Hz, H-23), 5,23 (1H, br d, J = 10,0 Hz, H-24), 1,74 (3H, s, H-26), 1,80 (3H, s, H-27), 1,05 (3H, s, H-28), 1,27 (3H, s, H-29), 0,71

(3H, s, H-30), 3,36 (3H, s, 7-Ome), 4,66 (1H, d, J = 7,5 Hz, H-1'), 4,07 (1H, dd, J = 7,5, 3,0, H-2'), 4,05 (1H, dd, J = 3,0, 3,0 Hz, H-3'), 3,50 (1H, dd, J = 3,0, 9,0 Hz, H-4'), 3,62 (1H, m, H-5'), 3,84 (1H, dd, J = 12,0, 5,5, H_a-6'), 3,65 (1H, dd, J = 12,0, 2,5 Hz, H_b-6'), 4,74 (1H, d, J = 8,0 Hz, H-1''), 3,34 (1H, dd, J = 8,0, 3,0, H-2''), 4,07 (1H, dd, J = 3,0, 3,0 Hz, H-3''), 3,50 (1H, dd, J = 3,0, 9,0 Hz, H-4''), 3,62 (1H, m, H-5''), 3,78 (1H, dd, J = 12,0, 5,5 Hz, H_a-6'') và 3,65 (1H, dd, J = 12,0, 2,5 Hz, H_b-6'').

¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD): 23,1 (C-1), 29,1 (C-2), 87,8 (C-3), 42,7 (C-4), 150,1 (C-5), 119,7 (C-6), 79,0 (C-7), 48,9 (C-8), 35,5 (C-9), 40,1 (C-10), 33,8 (C-11), 31,4 (C-12), 47,5 (C-13), 48,0 (C-14), 36,0 (C-15), 28,5 (C-16), 47,4 (C-17), 14,7 (C-18), 29,4 (C-19), 42,1 (C-20), 15,3 (C-21), 77,2 (C-22), 81,4 (C-23), 124,6 (C-24), 137,2 (C-25), 26,5 (C-26), 18,8 (C-27), 28,6 (C-28), 26,0 (C-29), 18,9 (C-30), 56,6 (7-Ome), 104,0 (C-1'), 72,7 (C-2'), 72,9 (C-3'), 68,7 (C-4'), 75,5 (C-5'), 63,3 (C-6'), 102,4 (C-1''), 72,9 (C-2''), 73,1 (C-3''), 69,1 (C-4''), 75,1 (C-5'') và 63,0 (C-6'').

Momordicoside A (5): tinh thể màu trắng. Độ quay cực $[\alpha]_D^{20}$: +1,05 (CHCl₃/MeOH, c: 1,0). ESI-MS m/z 839 [M+Na]⁺, 817[M+H]⁺ và 815 [M-H]⁻, công thức phân tử C₄₂H₇₂O₁₅, M = 816.

¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD): 3,38 (1H, br s, H-3), 5,44 (1H, d, J = 5,5 Hz, H-6), 2,23 (1H, H_a-7), 2,30 (1H, H_b-7), 1,67 (1H, H-8), 2,28 (1H, dd, J = 5,0, 11,0 Hz, H-10), 1,65 (2H, H-11), 1,69 (2H, H-12), 0,83 (3H, s, H-18), 0,81 (3H, s, H-19), 0,91 (3H, d, J = 6,0 Hz, H-21), 3,28 (1H, H-23), 3,13 (1H, d, J = 7,0 Hz, H-24), 1,15 (3H, s, H-26), 1,14 (3H, s, H-27), 1,12 (3H, s, H-28), 0,94 (3H, s, H-29), 0,77 (3H, s, H-30), 4,21 (1H, d, J = 8,3 Hz, H-1'), 3,27 (1H, dd, J = 8,3, 9,0, H-2'), 3,28 (1H, dd, J = 9,0, 9,0 Hz, H-3'), 3,50 (1H, dd, J = 9,0, 9,0 Hz, H-4'), 3,62 (1H, m, H-5'), 3,77 (1H, dd, J = 12,0, 5,5 Hz, H_a-6'), 4,00 (1H, dd, J = 12,0, 2,5 Hz, H_b-6'), 4,34 (1H, d, J = 8,3 Hz, H-1''), 3,25 (1H, dd, J = 8,3, 9,0, H-2''), 3,31 (1H, dd, J = 9,0, 9,0 Hz, H-3''), 3,53 (1H, dd, J = 9,0, 9,0 Hz, H-4''), 3,62 (1H, m, H-5''), 3,64 (1H, dd, J = 12,0, 5,5 Hz, H_a-6'') và 3,84 (1H, dd, J = 12,0, 2,5 Hz, H_b-6'').

¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD): 23,1 (C-1), 29,6 (C-2), 88,1 (C-3), 42,3 (C-4), 144,2 (C-5), 119,9 (C-6), 25,3 (C-7), 45,1 (C-8), 35,6 (C-9), 39,4 (C-10), 33,4(C-11), 31,6 (C-12), 47,7 (C-13), 50,0 (C-14), 36,0 (C-15), 28,3 (C-16), 49,8 (C-17), 15,8 (C-18), 28,5 (C-19), 43,3 (C-20), 14,6 (C-21), 72,0 (C-22), 72,2 (C-23), 75,0 (C-24), 75,0 (C-25), 23,5 (C-26), 28,1 (C-27), 25,9 (C-28), 28,7 (C-29), 18,6 (C-30), 106,4 (C-1'), 75,5 (C-2'), 78,0 (C-3'), 71,5 (C-4'), 77,0 (C-5'), 69,8 (C-6'), 104,7 (C-1''), 75,0 (C-2''), 77,8 (C-3''), 71,5 (C-4''), 77,8 (C-5'') và 62,6 (C-6'').

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất 1 thu được dưới dạng chất bột vô định hình màu trắng. Phổ khối lượng xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 685 $[M+Na]^+$ và 661 $[M-H]^-$, kết hợp 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 các tín hiệu singlet của 6 nhóm methyl bậc ba tại δ 0,98 (3H, H-18), 1,26 (3H, H-26), 1,27 (3H, H-27), 1,11 (3H, H-28), 1,34 (3H, H-29) và 0,84 (3H, H-30), 1 tín hiệu doublet của nhóm methyl bậc 2 tại δ 0,99 (3H, $J = 6,0$ Hz, H-21) đặc trưng cho khung Cucurbitane [17]. Hai nhóm thế metoxi tại δ 3,29 (3H, s, 7-OMe) và 3,16 (3H, s, 25-OMe); hai liên kết đôi tại δ 5,93 (1H, d, $J = 5,5$ Hz); 5,63 (1H, ddd, $J = 16,0$ Hz, 8,5 Hz và 5,5 Hz), 5,41 (1H, d, $J = 16,0$ Hz) trong đó một nối đôi có cấu hình *trans* ($J = 16,0$ Hz). Tín hiệu một nhóm metin có δ_H bị chuyển dịch mạnh về phía trường thấp tại δ 9,75 (1H, s) rất đặc trưng cho H-19 của khung Cucurbitane. Tín hiệu proton oximetin H-3 (δ 3,56) có dạng singlet từ chứng tỏ H-3 chiếm vị trí *equatorial*. Ngoài ra, trên phổ còn xuất hiện tín hiệu của một phân tử đường tại δ 4,31 (1H, d, $J = 7,5$ Hz, H-1'), 3,18 (1H, dd, $J = 7,5, 9,0$ Hz, H-2'), 3,37 (1H, dd, $J = 9,0, 9,0$ Hz, H-3'), 3,29 (1H, dd, $J = 9,0, 9,0$ Hz, H-4'), 3,25 (1H, ddd, $J = 9,0, 5,5, 2,5$ Hz, H-5'), 3,85 (1H, dd, $J = 12,0, 5,5$ Hz, H_a-6'), 3,66 (1H, dd, $J = 12,0, 2,5$ Hz, H_b-6'). Giá trị $J_{H-1'2'} = 7,5$ Hz chứng tỏ H-1' và H-2' đều chiếm vị trí *axial*. Phổ ^{13}C -NMR và các phổ DEPT của chất 1 xuất hiện tín hiệu của 38 nguyên tử cacbon trong đó có 30 nguyên tử cacbon của khung Cucurbitane (bảng 1); 2 nhóm thế metoxi tại δ 56,4 và 50,5; 6 nguyên tử cacbon của một đơn vị đường glucopyranoside tại δ 106,5 (C-1'), 75,6 (C-2'), 78,0 (C-3'), 71,8 (C-4'), 77,7 (C-5') và 62,9 (C-6'). Phân tích chi tiết các tương tác trên phổ HSQC và HMBC (bảng 1, hình 2) một lần nữa khẳng định 1 có cấu trúc khung Cucurbita-5,23-dien. Các tương tác trên phổ HMBC giữa proton H-6 (δ 5,93) với C-4/C-10, giữa H-7 (δ 3,55) với C-5/C-6/C-8/C-9 chứng tỏ có một liên kết đôi thế 3 lần tại C-5/C-6; liên kết đôi thứ hai được xác định tại vị trí C-23/C-24 dựa vào tương tác giữa proton H-23 (δ 5,63) với C-22/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 3,29) với C-7 và giữa H-7 (δ 3,55) với cacbon metoxi tại δ 56,4 (OCH_3) chứng tỏ có một nhóm thế metoxi tại C-7; 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 3,56) với C-1/C-1' và giữa H-1' (δ 4,31) với C-3 khẳng định đường 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 [17], hợp chất 1 được xác định là (23*E*)-3 β -Hydroxy-7 β ,25-dimethoxycucurbita-5,23-dien-19-ol-3-*O*- β -D-glucopyranoside hay còn gọi là charantoside VIII.

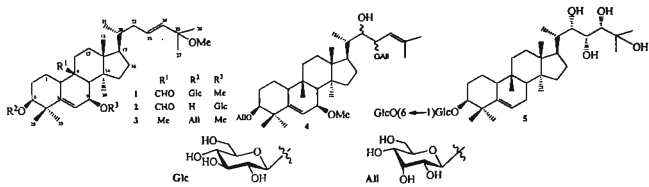
Hợp chất 2 thu được dưới dạng tinh thể màu trắng. Dữ kiện phổ khối lượng (m/z 671 $[M+Na]^+$, 649 $[M+H]^+$ và 647 $[M-H]^-$) kết hợp với phổ NMR dự đoán công thức phân tử là $C_{37}H_{60}O_9$. Phổ NMR của 2 khá giống 1 cũng xuất hiện các tín hiệu singlet của 6 nhóm methyl bậc ba tại δ 0,71, 1,18, 1,17, 0,99, 1,18 và 0,84; tín hiệu doublet của 1 nhóm methyl bậc 2 tại δ 0,84 (3H, $J = 6,0$ Hz, H-21) cho thấy 2 cũng có khung Cucurbitane, trong đó có 1 nhóm metoxi tại δ 3,08 (3H, s, 25-OMe), hai liên kết đôi tại δ 5,86 (1H, d, $J = 4,0$ Hz); 5,46 (1H, ddd, $J = 15,5$ Hz, 8,5 Hz và 5,5 Hz), 5,29 (1H, d, $J = 15,5$ Hz). Giá trị rất đặc trưng cho H-19 của khung Cucurbitane tại δ 9,75 (1H, s); tín hiệu δ 3,56 có dạng singlet từ chứng tỏ H-3 chiếm vị trí *equatorial*. Ngoài ra còn xuất hiện tín hiệu của một phân tử đường tại δ 4,16 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-1'), 3,97 (1H, dd, $J = 8,0, 9,0$ Hz, H-2'), 3,18 (1H, dd, $J = 9,0, 9,0$ Hz, H-3'), 3,29 (1H, dd, $J = 9,0, 9,0$ Hz, H-4'), 3,25 (1H, ddd, $J = 9,0, 5,5, 2,5$ Hz, H-5'), 3,84 (1H, dd, $J = 12,0, 5,5$ Hz, H_a-6'), 3,63 (1H, dd, $J = 12,0, 2,5$ 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 2 xuất hiện tín hiệu của 37 nguyên tử cacbon trong đó có 30 nguyên tử cacbon của khung Cucurbitane (bảng 1); 1 nhóm metoxi tại δ 50,5 (25-OMe); 6 nguyên tử cacbon tại δ 101,0 (C-1'), 72,8 (C-2'), 75,8 (C-3'), 69,6 (C-4'), 76,0 (C-5') và 61,2 (C-6') đặc trưng cho đường glucopyranoside. So sánh giá trị δ_C tại C-3 và C-7 của 2 với 1 ta thấy khác nhau rất lớn chứng tỏ đường glucose của 2 không nối với khung tại vị trí C-3 mà khả năng nối tại vị trí C-7. Để khẳng định chính xác vị trí nối của đường và các nhóm thế khác phổ HSQC và HMBC đã được đo. Phân tích các tương tác trên phổ HSQC và HMBC (bảng 1) chứng tỏ 2 có cấu trúc khung Cucurbita-5,23-dien. Tương tác giữa proton H-7 (δ 3,11) với C-1' (δ 101,0) và giữa H-1' (δ 4,16) với C-7 (δ 73,1) khẳng định vị trí nối giữa khung với đường glucose tại vị trí C-7, tương tác giữa proton metoxi (δ 3,08) với C-25 chứng tỏ có một nhóm thế metoxi tại C-25 (δ 76,5). Các dữ kiện phổ của 2 hoàn toàn phù hợp với hợp chất (23*E*)-7 β -Hydroxy-25-methoxycucurbita-5,23-dien-3 β -ol-19-ol-7-*O*- β -D-glucopyranoside hay là momordicoside K [17].

Hợp chất 3 thu được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Công thức phân tử dự kiến của 3 là $C_{38}H_{64}O_9$ dựa trên kết quả phổ khối lượng (m/z 671 $[M+Na]^+$, 649 $[M+H]^+$ và 647 $[M-H]^-$) và phân tích

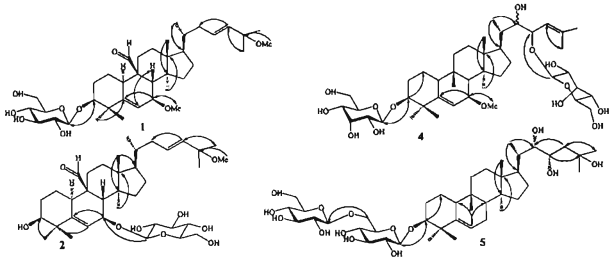
Bảng 1: Số liệu phổ NMR của 1-3

C	1			2			3	
	δ_C^{Ab}	δ_H^{Ac}	HMBC (H→C)	δ_C^{Ab}	δ_H^{Ac}	HMBC (H→C)	δ_C^{Ab}	δ_H^{Ac}
Aglycon								
1	22,8	1,61*		20,7			23,1	
2	28,7	1,44* 2,12 dq (13,2, 2,6)		28,5			29,2	
3	87,4	3,56 br s	1, 1'	75,6	3,49 br s	1	87,8	3,49 br s
4	42,7	-		41,0			42,7	-
5	149,2	-		146,5	-		150,1	-
6	121,6	5,93 d (5,5)	4, 8, 10	121,9	5,86 d (4,0)	4, 8, 10	119,7	5,75 d (5,0)
7	77,0	3,55 d (5,5)	5, 6, 8, 9	73,1	3,11 br s	1'	79,0	3,50 br s
8	46,3	2,08 s	6, 10, 14, 30	45,7	2,00 s	6, 10, 14, 30	48,8*	
9	51,2	-		49,8	-		35,1	-
10	37,2	2,62 dd (12,5, 5,0)	1, 5, 9, 19	35,6	1,50 m		40,2	
11	23,4	1,46 m/2,41 m		21,9			33,9	
12	30,1	1,72*		28,2			31,3	
13	46,9	-		45,2	-		47,3	-
14	48,6*	-		47,0	-		48,4*	-
15	35,9	1,42*		34,3	1,25 d (9,0)		35,8	
16	28,4	1,92*		26,9			28,6	
17	51,1	3,14 dd (5,5, 1,0)		49,6	3,08*		51,2	
18	15,3	0,98 s	12, 13, 14, 17	14,7	0,71 s	13, 14, 17	15,9	1,00 s
19	209,6	9,75 s		209,6	9,75 s	9, 11, 19	29,5	0,98 s
20	37,4	1,53		35,7	2,45 dd (13,0, 4,5)		37,5	
21	19,2	0,99 d (6,0)	17, 20, 22	18,3	0,84 d (6,0)	17, 20, 22	19,3	0,96 d (6,5)
22	40,4	1,88* 2,25 dd (8,5, 2,0)		39,0	1,80* 2,13 dd (8,5, 2,0)		40,5	
23	129,9	5,63 ddd (16,0, 8,5, 5,5)	22, 25	128,5	5,46 ddd (15,5, 8,5, 5,5)	22, 24, 25	130,1	5,62 ddd (15,5, 8,5, 5,5)
24	137,7	5,41 d (16,0)	22, 23, 25, 26	136,0	5,29 d (15,5)	22, 23, 25, 26	137,6	5,40 d (15,5)
25	76,5	-		75,1	-		76,5	-
26	26,2	1,26 s	24, 25, 27	25,2	1,18 s	24, 25, 27	26,2	1,27 s
27	26,4	1,27 s	24, 25, 26	25,4	1,17 s	24, 25, 26	26,5	1,27 s
28	27,6	1,11 s	3, 4, 5, 29	26,7	0,99 s	3, 4, 5, 29	28,7	1,06 s
29	25,9	1,34 s	3, 4, 5, 28	24,7	1,18 s	3, 4, 5, 28	26,0	1,31 s
30	18,7	0,84 s	8, 13, 14, 15	17,7	0,84 s	8, 13, 14	18,7	0,77 s
7-OMe	56,4	3,29 s	7				56,6	3,37 s
25-OMe	50,5	3,16 s	25	49,7	3,08 s	25	50,5	3,16 s
	3-Glucose			7-Glucose			3-Allose	
1'	106,5	4,31 d (7,5)	3	101,0	4,16 d (8,0)	7	104,0	4,66 d (8,0)
2'	75,6	3,18 dd (7,5, 9,0)		72,8	3,97 dd (8,0, 9,0)		72,8	3,67 dd (8,0, 3,0)
3'	78,0	3,37 dd (9,0, 9,0)	1', 2'	75,8	3,18 dd (9,0, 9,0)	1', 2'	73,1	4,05 dd (3,0, 3,0)
4'	71,8	3,29 dd (9,0, 9,0)	6'	69,6	3,29 dd (9,0, 9,0)	6'	69,1	3,48 dd (3,0, 9,0)
5'	77,7	3,25 m		76,0	3,25 m		75,1	3,65 m
6'	62,9	3,85 dd (12,0, 5,5) 3,66 dd (12,0, 2,5)		61,2	3,84 dd (12,0, 5,5) 3,63 dd (12,0, 2,5)		63,4	3,84 dd (12,0, 5,5) 3,67 dd (12,0, 2,5)

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



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



Hình 2: Cấu trúc và các tương tác HMBC chính của chất 1, 3-5

phổ NMR. Phổ ¹H-NMR của 3 xuất hiện tín hiệu của 7 nhóm methyl bậc ba tại δ 1,00 (3H, s, H-18), 0,98 (3H, s, H-19), 1,27 (6H, s, H-26 và H-27), 1,06 (3H, s, H-28), 1,31 (3H, s, H-29) và 0,77 (3H, s, H-30); 1 nhóm methyl bậc 2 tại δ 0,96 (3H, d, J = 6,5 Hz, H-21); hai nhóm thế metoxi tại δ 3,37 (3H, s, 7-O-Me) và 3,16 (3H, s, 25-O-Me). Phổ ¹H-NMR của 3 không thấy xuất hiện tín hiệu của proton axetonil tại δ 9,75 (1H, s) mà thay vào đó là tín hiệu của nhóm methyl δ 0,98 (3H, s). Hai liên kết đôi được xác định tại δ 5,75 (1H, d, J = 5,0 Hz); 5,62 (1H, ddd, J = 15,5 Hz, 8,5 Hz và 6,5 Hz), 5,40 (1H, d, J = 15,5 Hz) trong đó có một nối đôi có cấu hình *trans* (J = 15,5 Hz) và một proton oximetin vị trí C-3 tại δ 3,49 (1H, br s) với cấu hình H-3_α. Ngoài ra, còn xuất hiện tín hiệu của một đơn vị đường tại δ 4,66 (1H, d, J = 8,0 Hz, H-1'), 3,67 (1H, dd, J = 8,0, 3,0 Hz H-2'), 4,05 (1H, dd, J = 3,0, 3,0 Hz, H-3'), 3,48 (1H, dd, J = 3,0, 3,0 Hz, H-4'), 3,65 (1H, m, H-5'), 3,84 (1H, dd, J = 12,0, 5,5 Hz, H_b-6'), 3,67 (1H, dd, J = 12,0, 2,5 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 ¹³C-NMR và các phổ DEPT của 3 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 56,6 (7-O-Me) và 50,5 (25-O-Me) và 6 nguyên

tử cacbon đặc trưng cho đường allopyranoside tại δ 104,0 (C-1'), 72,8 (C-2'), 73,1 (C-3'), 69,1 (C-4'), 75,1 (C-5') và 63,4 (C-6'). Ngoài ra, phân tích chi tiết tương tác spin-spin của các proton của phân tử đường trên phổ ¹H-NMR cho thấy H-3' chiếm vị trí *equatorial* (J_{H-2'3'} = J_{H-3'4'} = 3,0 Hz). So sánh giá trị δ_C tại vị trí C-3 của 3 với 1 thấy hoàn toàn tương đồng chứng tỏ đường allozo của 3 liên kết tại vị trí C-3. 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 [18], hợp chất 3 được xác định là karaviloside II.

Hợp chất 4 thu được dưới dạng chất bột màu trắng. Phổ khối lượng xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 835 [M+Na]⁺, 813 [M+Na]⁺ và 811 [M-H]⁻; kết hợp với phổ NMR dự đoán công thức phân tử là C₄₃H₇₂O₁₄. Phổ ¹H-NMR của chất 4 tương tự như chất 3 đều xuất hiện tín hiệu của 7 nhóm methyl bậc ba dưới dạng singlet tại δ 0,97 (6H, H-18 và H-19), 1,74 (3H, H-26), 1,80 (3H, H-27), 1,05 (3H, H-28), 1,27 (3H, H-29) và 0,71 (3H, H-30), 1 nhóm methyl bậc 2 tại δ 0,99 (3H, d, J = 6,0 Hz, H-21), đặc trưng cho khung Cucurbitane. Hai liên kết đôi bị thế 3 lần xác định tại δ 5,75 (1H, br d, J = 5,0 Hz) và 5,23 (1H, br d, J = 10,0 Hz). Tín hiệu một nhóm metoxi tại δ 3,36 (3H, s), nhóm hydroxy tại C-3

chiếm vị trí equatorial bởi tín hiệu H-3 tại δ 3,41 có dạng singlet từ. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và các phổ DEPT của chất 4 xuất hiện tín hiệu của 43 nguyên tử cacbon trong đó có 30 nguyên tử cacbon khung Cucurbitane; 12 nguyên tử cacbon của hai đơn vị đường allopuranoside [19]. Hai phân tử đường allopuranoside còn được khẳng định thêm bằng phân tích giá trị tương tác spin-spin giữa các proton trên phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy H-3' và H-3'' đều chiếm vị trí equatorial ($J_{H,2'3'} = J_{H,3'4'} = 3,0$ Hz và $J_{H,2'3''} = J_{H,3''4''} = 3,0$ Hz). Phân tích các tương tác trên phổ HSQC và HMBC (hình 2) cho thấy chất 4 có cấu trúc khung Cucurbita-5,24-dien. Các tương tác thu nhận được trên phổ HMBC giữa proton H-6 (δ 5,75) với C-7 và giữa H-7 (δ 3,49) với C-5/C-6 chứng tỏ có một liên kết đôi nội vòng tại C-5/C-6; liên kết đôi thứ hai được xác định tại vị trí C-24/C-25 dựa vào tương tác giữa proton H-26 (δ 1,74) với C-24/C-25/C-27 và giữa H-27 (δ 1,80) với C-24/C-25/C-26. Tương tác giữa proton H-3 (δ 3,49) với C-5/C-1' và giữa H-1' (δ 4,66) với C-3 khẳng định vị trí nối giữa khung với một đường allose tại C-3; phân tử đường allose thứ hai được xác định liên kết với khung tại C-23 thông qua các tương tác giữa proton H-1'' (δ 4,74) với C-23 và giữa proton H-23 (4,31) với C-22/C-24/C-25/C-1''. Từ những phân tích nêu trên cùng với việc so sánh các dữ kiện phổ đã công bố [18], hợp chất 4 được xác định là karaviloside V.

Hợp chất 5 thu được dưới dạng tinh thể màu trắng. Phổ khối lượng xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 839 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 817 $[\text{M}+\text{H}]^+$ và 815 $[\text{M}-\text{H}]^-$ kết hợp với phổ NMR có thể dự đoán công thức phân tử là $\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_{15}$. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của 5 tương tự như 4 đều xuất hiện tín hiệu của 7 nhóm methyl bậc ba dưới dạng singlet tại δ 0,83 (3H, H-18), 0,94 (3H, H-19), 1,15 (3H, H-26), 1,14 (3H, H-27), 1,12 (3H, H-28), 0,81 (3H, H-29) và 0,77 (3H, H-30), 1 nhóm methyl bậc 2 dưới dạng tín hiệu doublet tại δ 0,91 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-21) đặc trưng cho khung Cucurbitane. Một liên kết đôi nội vòng thể 3 lần được xác định tại δ 5,44 (1H, d, $J = 5,5$ Hz) đặc trưng cho nối đôi trong vòng tại C-5/C-6. Tín hiệu nhóm oximetin vị trí C-3 xuất hiện tại δ 3,42 (1H, br s) với cấu hình H-3 α . Ngoài ra, tín hiệu proton anomeric của hai phân tử đường xuất hiện tại δ 4,21 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-1') và 4,34 (1H, d, $J = 8,3$ Hz, H-1''). Hai proton anomeric này cùng có hằng số tương tác spin $J = 8,3$ Hz chứng tỏ 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 chất 5 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 đặc trưng cho đường glucopyranoside. Để xác định chính xác cấu trúc của khung và vị trí liên kết của hai phân tử đường phổ HSQC và HMBC được đo. Phân tích chi tiết các tương tác trên phổ HSQC và HMBC (hình 2) một lần nữa khẳng định 5 có cấu trúc khung Cucurbita-5-en. Các tương tác HMBC giữa H-6 (δ 5,44) với C-4/C-8/C-10 chứng tỏ có một liên kết đôi nội vòng tại C-5/C-6; tương tác giữa H-3 (δ 3,38) với C-1/C-5/C-1' và giữa H-1' (δ 4,21) với C-3 khẳng định đường glucose nối tại C-3 và một phân tử đường glucose thứ hai liên kết với phân tử đường thứ nhất tại C-6' nhờ tương tác HMBC giữa H-1'' (δ 4,34) với C-6'. Từ những phân tích nêu trên cùng với việc so sánh với các dữ liệu phổ tương ứng đã công bố [19], hợp chất 5 được xác định là momordicoside A.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự tài trợ kinh phí của đề tài 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 Hiền, 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, tập II, 335-341 (2003).
3. H. Okabe, Y. Miyahara, T. Yamauchi. *Chem. Pharm. Bull.* 30, 3977-3986 (1982).
4. H. Okabe, Y. Miyahara, T. Yamauchi. *Chem. Pharm. Bull.* 30, 4334-4340 (1982).
5. M. O. Fatope, Y. Takeda, H. Yamashita, H. Okabe, T. Yamauchi. *J. Nat. Prod.*, 53, 1491-1497 (1990).
6. S. El-Gengaihi, M. S. Karawya, M. A. Selim, H. M. Motawe, N. Ibrahim, L. M. Faddah. *Pharmazie*, 50, 361-362 (1995).
7. S. Begum, M. Ahmed, B. S. Siddiqui, A. Khan, Z. S. Saify, M. Arif. *Phytochemistry*, 44, 1313-1320 (1997).
8. T. Murakami, A. Emoto, H. Matsuda, M. Yoshikawa. *Chem. Pharm. Bull.*, 49, 54-63 (2001).
9. S. Nakamura, T. Murakami, J. Nakamura, H. Kobayashi, H. Matsuda, M. Yoshikawa. *Chem. Pharm. Bull.*, 54, 1545-1550 (2006).
10. L. Harinantenaina, M. Tanaka, S. Takaoka, M. Oda, O. Mogami, M. Uchida, Y. Asakawa. *Chem. Pharm. Bull.*, 54, 1017-1021 (2006).
11. H. Okabe, Y. Miyahara, T. Yamauchi, K. Miyahara, T. Kawasaki. *Chem. Pharm. Bull.*, 28, 2753-2762 (1980)

12. Y. Miyahara, H. Okabe, T. Yamauchi. Chem. Pharm. Bull., **29**, 1561-1566 (1981).
13. P. K. Dutta, A. K. Chakravarty, U. S. Chowdhury, S. C. Pakrashi. Indian J. Chem., Sect. B, **20**, 669-671 (1981).
14. M. Yasuda, M. Iwamoto, H. Okabe, T. Yamauchi. Chem. Pharm. Bull., **32**, 2044-2047 (1984).
15. C. -J. Chang, C. -R. Chen, Y. -W. Liao, H. -L. Cheng, Y. -C. Chen, C. -H. Chou. J. Nat. Prod., **69**, 1168-1171 (2006).
16. A. Toshihiro, H. Naoki, T. Harukuni, U. Motohiko, A. Hiroyuki, T. Yuichi, Y. Yumiko, S. Takashi, and N. Hoyoku. J. Nat. Prod., **70**, 1233-1239 (2007).
17. N. Seikou, M. Toshiyuki, N. Junko, K. Hisanori, M. Hisashi, and Y. Masayuki. Chem. Pharm. Bull. **54(11)**, 1545-1550 (2006).
18. H. Okabe, Y. Miyahara, T. Yamauchi, K. Miyahara, T. Kawasaki. Chem. Pharm. Bull., **28(9)**, 2753-62 (1980).

Liên hệ: Phan Văn Kiệm

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

E-mail: phankiem@vast.ac.vn

Điện thoại: 0983555031.