

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TRÁI KHỔ QUA (*MOMORDICA CHARANTIA* L.)

Ngô Hải Đăng¹, Phùng Văn Trung² và Nguyễn Ngọc Hạnh²

ABSTRACT

From fruits of *Momordica charantia* L., two compounds: uracil (I, Figure 1) and momordicoside K (II, Figure 2) was isolated from ethyl acetate extract. Their structures were elucidated by modern spectrometric methods and compared with published data.

Keywords: *Momordica charantia* L., uracil, momordicoside K.

Title: Research on chemical composition of the fruits of *Momordica charantia* L.

TÓM TẮT

Từ trái Khổ qua, hai chất: uracil (chất I, Hình 1) và momordicoside K (chất II, Hình 2) đã được cô lập từ cao ethyl acetate. Hai chất này được xác định bằng các phương pháp phổ hiện đại và so sánh với tài liệu đã công bố.

Từ khóa: Mướp đắng, khổ qua, uracil, momordicoside K.

1 GIỚI THIỆU

Khổ qua có tên khoa học là *Momordica charantia* L. thuộc họ Bầu bí (*Cucurbitaceae*), do có vị đắng nên còn được gọi là Mướp đắng, Lương qua, là loại dây leo (Đỗ Tất Lợi, 1995). Trái Khổ qua 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, sáng mắt, giảm đau,... và một số bệnh khác (Đỗ Huy Bích và các tác giả, 2003). Trong những năm gần đây, có 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 Khổ qua. Ở Việt nam, các tác giả Phạm Văn Thanh, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu,... đã chứng minh tác dụng hạ đường huyết của nhóm glycoside trên thỏ gây đái tháo đường thực nghiệm bằng Alloxan (Phạm Văn Thanh *et al.*, 2001). Năm 2007, các tác giả Nguyễn Ngọc Hạnh, Phùng Văn Trung, Phan Nhật Minh,... đã phân lập charantin từ trái Khổ qua và thử hoạt tính ức chế α -glucosidase. Với mục đích góp phần khảo sát thành phần hóa học của Khổ qua trồng tại Phú Yên, trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả cô lập và nhận danh cấu trúc hai chất từ dịch chiết ethyl acetate của trái Khổ qua.

2 NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Nguyên liệu

Nguyên liệu được trồng tại huyện Đông Hòa tỉnh Phú Yên do Trung tâm Nghiên cứu và Sản xuất Dược liệu miền Trung cung cấp, là những trái Khổ qua đã già thuộc loại trái nhỏ, màu xanh đậm, rất đắng. Trái được loại hạt, cắt thành lát nhỏ,

¹ Cao đẳng cộng đồng Vĩnh Long

² Viện Công Nghệ Hóa Học, Viện KH & CN Việt Nam

sấy khô ở nhiệt độ dưới 60°C trên hệ thống sấy nguyên liệu đến khối lượng không đổi.

2.2 Phương pháp trích ly và cô lập

2.2.1 Phương pháp trích ly

Trái Khô qua khô (4.5 kg), được chiết với ethanol 95°. Cô loại dung môi thu được cao TT (537 g). Sau khi loại béo bằng petroleum ether (PE) và trích với ethyl acetate (EtOAc) thu được cao TE (219 g).

2.2.2 Cô lập hợp chất

Cao TE được tiến hành sắc ký cột với silica gel pha thường, với hệ giải ly là hỗn hợp petroleum ether (PE) và chloroform (CHCl_3), CHCl_3 và methanol (MeOH) với độ phân cực tăng dần.

Bảng 1: Kết quả sắc ký cột thường cao TE

Phân đoạn	Hệ dung môi	Kết quả thử TLC
1	PE: CHCl_3 = 5:5	Vết kéo dài
2	PE: CHCl_3 = 4:6	Có nhiều vết
3	PE: CHCl_3 = 3:7	Có 2 vết đậm
4	PE: CHCl_3 = 2:8	Vết kéo dài
5	PE: CHCl_3 = 1:9	Vết kéo dài
6	CHCl_3 = 100%	Có 2 vết đậm (Cao TE6)
7	CHCl_3 :MeOH = 95:5	Có 2 vết đậm
8	CHCl_3 :MeOH = 9:1	Có nhiều vết
9	CHCl_3 :MeOH = 85:15	Có nhiều vết
10	CHCl_3 :MeOH = 8:2	Có nhiều vết

Ở Phân đoạn 7, kết tinh nhiều lần thu được chất I.

Ở phân đoạn 6, thu được cao TE6, tiến hành sắc ký cột với silica gel pha thường, với hệ giải ly là hỗn hợp CHCl_3 và MeOH với độ phân cực tăng dần.

Bảng 2: Kết quả sắc ký cột thường cao TE6

Phân đoạn	Hệ dung môi	Kết quả thử TLC
1	CHCl_3 :MeOH = 95:5	Nhiều vết
2	CHCl_3 :MeOH = 95:5	Có 1 vết đậm
3	CHCl_3 :MeOH = 93:7	Có 2 vết chính
4	CHCl_3 :MeOH = 9:1	Có 2 vết chính
5	CHCl_3 :MeOH = 88:12	Nhiều vết
6	CHCl_3 :MeOH = 85:15	Nhiều vết

Ở phân đoạn 2, kết tinh nhiều lần thu được **chất II**.

2.3 Phương pháp nhận danh cấu trúc

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân: ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, COSY, DEPT, HSQC, HMBC được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz và Varian 600 MHz độ dịch chuyển hóa học (δ) được tính theo ppm, hằng số tương tác (J) tính bằng Hz.
- Phổ hồng ngoại được đo trên máy VECTOR 22, dùng viên nén KBr.

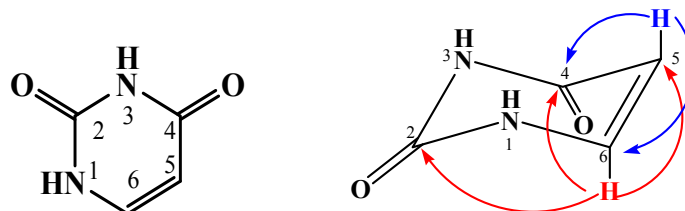
- Phổ khối lượng được đo trên máy 1100 series LC/MS Trap Agilent.
- Điểm nóng chảy được đo trên máy Electrothermal 9100 (UK) dùng mao quản không hiệu chỉnh.
- Sắc ký lớp mỏng sử dụng bản nhôm silica gel Merck 60F254 trắng sẵn dày 0,2mm.
- Sắc ký cột dùng silica gel 60, cỡ hạt 0.04-0.06 mm, Scharlau GE 0048.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Nhận danh cấu trúc chất I

- **Chất I** có dạng bột màu trắng, nóng chảy ở 250°C.
- Sắc ký lớp mỏng (TLC) hiện màu xám dưới đèn tử ngoại, màu vàng trong hơi Iod, không hiện màu với dung dịch H₂SO₄ 10% trong EtOH. $R_f = 0.32$ (CHCl₃:MeOH = 85:15)
- Phổ hồng ngoại IR (KBr, $\nu_{\max}$, cm⁻¹): 3112 (N-H), 2986-2821 (C-H), 1717 (C=O), 1669 (C=C).
- Phổ ¹³C-NMR (DMSO, δ ppm) kết hợp với phổ DEPT cho thấy 2 nhóm -CH= ở 100.2 và 142.1 ppm, 2 nhóm >C=O ở 151.4 và 164.3 ppm.
- Phổ ¹H-NMR (DMSO, δ ppm) cho thấy 2 proton metin kề nối đôi (-CH=) với tương tác ortho ở 5.44 (d, $J = 7.5$, H5) và ở 7.37 (d, $J = 7.5$, H6), 2 proton ở 10.89 (2H, brs) của nhóm NH.
- Phổ HMBC cho thấy sự tương tác giữa: H5 với C6 và C4; H6 với C5, C2 và C4.

Như vậy, dựa vào các kết quả phổ IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HMBC (Bảng 3) và so sánh với tài liệu đã công bố [Võ Thị Nga và các tác giả, 2007], chúng tôi nhận danh chất I là Pyrimidine-2,4-(1*H*, 3*H*)-dione (hay uracil) có công thức cấu tạo như Hình 1.



Hình 1: Công thức cấu tạo của chất I và tương tác HMBC

Bảng 3: Dữ liệu phổ ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, DEPT và HMBC của chất I

Vị trí C/H	^{13}C -NMR (δ ppm)	DEPT 90	DEPT 135	Nhóm C	^1H -NMR (δ ppm, J = Hz)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1				>N-H	10.89 (1H, brs)	
2	151.4	Biến mất	Biến mất	>C=O		
3				>N-H	10.89 (1H, brs)	
4	162.3	Biến mất	Biến mất	>C=O		
5	100.2	+	+	-CH=	5.43–5.45 (1H, d, J = 7.5)	H5 $\rightarrow$ C6, C4
6	142.1	+	+	-CH=	7.36–7.38 (1H, d, J = 7.5)	H6 $\rightarrow$ C5, C2, C4

3.2 Nhận danh cấu trúc chất II

- Chất II có dạng bột màu trắng, nóng chảy ở 236-237°C.

- Sắc ký lớp mỏng (TLC) không hiện màu dưới đèn tử ngoại, hiện màu hồng với dung dịch H_2SO_4 10% trong EtOH. R_f = 0.437 (CHCl_3 :MeOH = 85:15).

- Phổ ^{13}C -NMR (DMSO, δ ppm) cho thấy trong phân tử có 37 cacbon, kết hợp với HSQCAQ cho thấy có 6 cacbon tứ cấp và 8 nhóm CH_2 . Từ khoảng 14.7–28.6 có tổng cộng 12 mũi cacbon (14.7, 17.7, 18.6, 20.9, 21.8, 25.5, 25.6, 26.1, 26.8, 26.9, 28.6, 28.6), kết hợp với HSQCAD ta thấy có 5 nhóm CH_2 , do đó khẳng định 7 cacbon còn lại là CH_3 . Từ đó có thể dự đoán phân tử có khung triterpene. Ngoài ra, mũi cacbon ở 99,9 là mũi đặc trưng của cacbon acetal ($\text{O}-\text{CH}-\text{O}$) và 4 cacbon loại $>\text{CH}-\text{O}$ của phân tử đường cộng hưởng trong vùng từ 70.4 đến 77.1 chứng tỏ đây là một triterpene có gắn một đơn vị đường.

- Bên cạnh đó phổ ^{13}C -NMR cho thấy bốn mũi ở 120.8, 127.6, 136.9 và 146.6 cho thấy phân tử có 2 nối đôi, kết hợp với HSQC cho thấy một mũi đôi tại H6 (d, J = 4.3 Hz, 1H) tương tác với C-6 ở 120.8 ppm, đồng thời kết hợp HMBC cho thấy H6 tương tác với C4, C7 và C10 chứng tỏ nối đôi nằm trên C5 và C6. Đồng thời với HMBC cho thấy tương tác giữa C24 với H26 và H27 chứng tỏ liên kết đôi tại C23 và C24; ngoài ra, H24 ở 5.35 (d, J = 13.5 Hz, 1H) có hằng số J lớn chứng tỏ H23 và H24 ở vị trí *trans*.

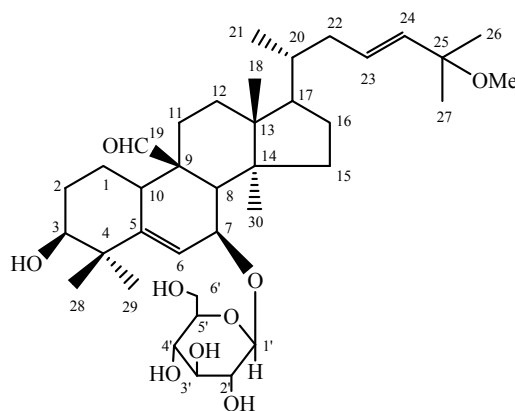
- Phổ ^{13}C -NMR cho tín hiệu C19 ở 206.4 đặc trưng cho nhóm aldehyde, HMBC cho tín hiệu tương tác giữa H8 và C19 chứng tỏ nhóm aldehyde gắn vào vị trí 9.

- Phổ ^1H -NMR (DMSO, δ ppm) và HSQC cho thấy một mũi đôi H6 ở 5.71 (d, J = 4.3 Hz, 1H) chứng tỏ ở vị trí 7 có gắn nhóm thế. Phổ ^{13}C -NMR cho thấy tín hiệu mũi C7 ở 70.3 (C-O), đồng thời, HMBC cho thấy tương tác giữa H1' với C7 chứng tỏ phần đường gắn ở vị trí 7.

- Phổ ^{13}C -NMR cho tín hiệu ở 49.2 đặc trưng cho nhóm $-\text{OCH}_3$, kết hợp HMBC cho thấy tương tác giữa proton metoxy với C25 chứng tỏ nhóm $-\text{OCH}_3$ gắn vào vị trí 25.

- Phổ ^{13}C -NMR cho mũi C3 (C-O) ở 74.4 tương ứng với proton H3 (3.39) có tương tác HMBC với C1 và C5 chứng tỏ có 1 nhóm -OH gắn ở vị trí 3.

Như vậy, dựa vào những dữ liệu phổ ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, COSY, HSQC và HMBC (Bảng 4) và so sánh với tài liệu đã công bố [Hikaru Okabe, Yumi Miyahara and Tasuo Yamauchi, 1982] chúng tôi nhận danh chất II là 3-O- β -D-glucopyranoside của 3 β ,7 β -dihydroxy-25-methoxycucurbita-5,23-dien-19-al (hay momordicoside K) có công thức cấu tạo như hình 2.



Hình 2: Công thức cấu tạo chất II

Bảng 4: Dữ liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR, COSY và HMBC của chất II

Vị trí C/H	^1H -NMR (δ ppm; J = Hz)	^{13}C -NMR δ ppm	Loại carbon	COSY $^1\text{H} \rightarrow ^1\text{H}$	HMBC $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$
1	1.40 (1Ha, d, J = 9.2) 1.32 (1Hb, m)	20.9	-CH ₂ -	H1, H2, H10	
2	1.85 (1Ha, m); 1.5 (1Hb, m)	28.6	-CH ₂ -	H1, H3	
3	3.39 (1H, m)	74.4	>CH-O	H2	C5, C1
4		41.0	>C<		
5		146.6	=C<		
6	5.71 (1H, d, J = 4.3)	120.8	=CH-	H7	C4, C7, C10
7	4.09 (1H, d, J = 5.1)	70.3	-CH-OH	H6	C5, C6, C9, C1'
8	1.94 (1H, s)	43.6	-CH<		C6, C7, C19, C10, C30
9		49.4	>C<		
10	2.45 (1H, d, J = 12.6)	35.5	-CH<	H1	C1, C5, C9, C19
11	1.32 (1Ha, m); 2.18(1Hb, m)	21.8	-CH ₂ -	H12	C9, C10, C12, C19
12	1.54 (1Ha, m); 1.61(1Hb, m)	28.6	-CH ₂ -	H11	C13, C14
13		44.9	>C<		
14		47.3	>C<		
15	1.32 (1Ha, m); 1.22 (1Hb, m)	33.9	-CH ₂ -	H16	
16	1.3 (1Ha, m); 1.85(1Hb, m)	26.9	-CH ₂ -	H15	
17	1.45 (1H, dd, J = 17.9,	49.2	-CH<	20	C20

	8.9)				
18	0.81 (3H, s)	14.7	–CH ₃		C12, C13
19	9.69 (1H, s)	206.4	–CH=O		C9, C11
20	1.55 (1H, m)	35.5	–CH<	H21, H22	
21	0.88 (3H, d, J = 6.2)	18.6	–CH ₃	H20	C17, C20, C22
22	1.77 (1H _a , m) 2.13 (1H _b , d, J = 13.3)	38.8	–CH ₂ –	H20, H23	C20, C23
23	5.48 (1H, m)	127.6	–CH<	H22, H24	C22, C24, C25
24	5.35 (1H, d, J = 13.5)	136.9	–CH<	H23	C22, C23, C25, C26, C27
25		74.2	>C<		
26	1.16 (3H, s)	26.1	–CH ₃		C24, C25, C27
27	1.16 (3H, s)	25.6	–CH ₃		C24, C25, C26
28	0.97 (3H, s)	26.8	–CH ₃		C3, C4, C5, C29
29	1.12 (3H, s)	25.5	–CH ₃		C3, C4, C5, C28
30	0.71 (3H, s)	17.7	–CH ₃		C13, C14, C15
-OMe	3.0 (3H, s)	49.2	–CH ₃		C25
1'	4.07 (1H, d, J = 7.8)	99.9	–CH<	C2'	C7, C3'
2'	2.90 (1H, t, J = 8.2)	73.2	–CH<	C1', C3'	C1', C6'
3'	3.10 (1H, dd, J = 16.9, 8.5)	77.1	–CH<	C2', C4'	C2', C4'
4'	3.03 (1H, m)	70.4	–CH<	C3'	C3', C5'
5'	3.03 (1H, m)	76.9	–CH<		
6'	3.43 (1H, d, J = 11.0) 3.65 (1H, d, J = 11.5)	61.1	–CH ₂ –	C5'	C5'

4 KẾT LUẬN

Từ trái Khô qua già thu hái tại Phú Yên, chúng tôi đã cô lập và nhận danh được hai hợp chất là uracil (chất I) và momordicoside K (chất II). Cấu trúc hóa học của chúng được xác định bằng các phương pháp phổ nghiệm và so sánh với các tài liệu đã công bố.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Tất Lợi, 1995, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, trang 916.
- 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, 2003, Viện Dược Liệu, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập II, Nhà xuất bản Khoa Học và Kỹ Thuật, tập II, trang 335-341.
- Nguyễn Ngọc Hạnh, Phùng Văn Trung, Phan Nhật Minh, Nguyễn Đông Trú, Phạm Thị Thùy Dương, Lê Thị Kim Hà, Lê Thị Tuyết Anh, 2007, *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, trang 376-381.
- Phạm Văn Thanh, Phạm Xuân Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Thượng Dong, 2001, *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, tập 6, số 2+3, trang 48-54.

- Phùng Văn Trung, Nguyễn Ngọc Hạnh, Võ Hồng Thái, 2004, *Phân lập và nhận dạng cấu trúc các hợp chất cucurbitacin glycoside từ hạt Mướp đắng (Momordica charantia L.)*, Tạp chí Dược học, số 12, trang 6-9.
- Võ Thị Nga, Gerhard Maas, Nguyễn Kim Phi Phụng, Nguyễn Ngọc Sương, 2007, *Khảo sát hóa học cây xuân hoa đỏ Pseuderanthemum palatiferum (Nees) radlk. Họ ô rô (acanthaceae)*, Tuyển tập các công trình hội nghị Khoa học và Công nghệ Hoá học hữu cơ toàn quốc lần thứ tư, trang 465 – 469.
- Hikaru Okabe, Yumi Miyahara, Tasuo Yamauchi, Kazumoto Miyahara and Toshio Kawasaki, 1980, *Studies on the Constituents of Momordica charantia L. I. Isolation and Characterization of Momordicosides A and B, Glycosides of a Pentahydroxy-cucurbitane Triterpene*, Chem. Pharm. Bull. Vol 28(9), pp. 2753-2762.
- Hikaru Okabe, Yumi Miyahara and Tasuo Yamauchi, 1982, *Studies on the Constituents of Momordica charantia L. IV. Characterization of New Cucurbitacin Glycosides of the Immature Fruits. Structures of the Bitter Glycosides, Momordicosides K and L*, Chem. Pharm. Bull. ,Vol 30(12), pp. 4334-4340.
- Majekodunmi. O. Fatope, Yoshio Takeda, Hyroyasu Yamashita, 1990, *New Cucurbitane Triterpenoids from Momordica charantia*. Journal of Natural Products, Vol 53(6), pp. 1491-1497.
- Phương Mai Mai, Ngọc Hạnh Nguyen, Thi Hạnh Nguyen, 2003, *Hypoglycemic activity of Momordica charantia L. fruit extracts in streptozotocin – induced diabetic mice*. Proceedings of the thirth Indochina Conference on Pharmaceutical Sciences, pp. 20-23.