

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC
CỦA LÁ CÂY KHÉ (*Averrhoa carambola* L.)

Bùi Thị Thu Trang¹, Nguyễn Khắc Tiệp², Nguyễn Việt Thắng²
Trương Thị Hương², Bùi Thị Thúy Luyện^{2*}

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học một số hợp chất từ lá cây khế (*Averrhoa carambola* L.) ở Việt Nam. **Phương pháp nghiên cứu:** Phương pháp chiết xuất là ngâm lạnh trong ethanol 96%. Phân lập và tinh chế chất sạch bằng phương pháp sắc ký cột với các dung môi hữu cơ thích hợp. Cấu trúc hóa học được xác định bằng phương pháp đo phổ 1D và 2D-NMR. **Kết quả:** Ba hợp chất sạch đã được xác định từ lá khế bao gồm: 1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O- β -D-galactopyranosyl-rac-glycerol (1), 6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)- β -D-glucosyl- β -sitosterol (2), Carambolaside Q (3). Trong đó, hợp chất 1, 2 lần đầu tiên được phân lập từ cây khế và hợp chất 3 lần đầu tiên được phân lập từ lá khế. **Kết luận:** Kết quả nghiên cứu đã góp phần xây dựng dữ liệu về thành phần hóa học của lá khế; từ đó, giúp định hướng cho các nghiên cứu về tác dụng dược lý của lá loài cây này.

Từ khóa: *Averrhoa carambola* L.; Lá cây khế; Carambolaside Q; β -galactosyl diglycerid; Acylglucosyl sterol.

STUDY ON CHEMICAL COMPOSITIONS OF STAR FRUIT LEAVES
(*Averrhoa carambola* L.)

Abstract

Objectives: To extract, isolate, and determine the chemical structure of some components from star fruit leaves (*Averrhoa carambola* L.) in Vietnam. **Methods:** Star fruit leaves were extracted using the cold percolation method in ethanol 96%. Pure compounds were isolated using the column chromatography

¹Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

²Bộ môn Kỹ thuật Hóa dược và Chiết xuất, Khoa Công nghệ Hóa dược, Trường Đại học Dược Hà Nội

Tác giả liên hệ: Bùi Thị Thúy Luyện (luyenbtt@hup.edu.vn)

Ngày nhận bài: 07/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 16/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.496>

method with suitable organic solvents. The chemical structure was determined by 1D and 2D-NMR spectra. **Results:** Three known compounds were identified from star fruit leaves including 1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O-β-D-galactopyranosyl-rac-glycerol (1), 6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)-β-D-glucosyl-β-sitosterol (2), Carambolaside Q (3). In which, compounds 1 and 2 were isolated for the first time from the star fruit species and compound 3 was isolated for the first time from star fruit leaves. **Conclusion:** The results of this study have contributed to data on the chemical compositions of star fruit leaves; thereby, guiding studies on the pharmacological effects of leaves of this species.

Keywords: *Averrhoa carambola* L.; Star fruit leaves; Carambolasid Q; β-galactosyl diglycerid; Acylglucosyl sterol.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây khế (*Averrhoa carambola* L.) thuộc họ Chua me đất (Oxalidaceae) là loại cây thích nghi với vùng khí hậu nóng và ẩm của vùng nhiệt đới hoặc cận nhiệt đới, được trồng chủ yếu ở Ấn Độ và Đông Nam Á. Ở Việt Nam, có 2 loài thuộc họ này là *Averrhoa carambola* L. và *Averrhoa bilimbi* L. phân bố ở mọi vùng miền đặc biệt ở vùng nông thôn. Cây khế không chỉ là một loại cây ăn quả mà còn được biết là cây có giá trị dược liệu cao. Trong dân gian, lá của loại cây này thường được sử dụng trong các bài thuốc dân gian chữa bệnh như: Mề đay, mẩn ngứa, mụn nhọt, cảm nắng... [1]. Các nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy lá khế có chứa các nhóm chất như: flavonoid [3], phenolic, sterol [2]... Tác dụng sinh học của cao chiết và các hợp chất tinh khiết từ lá cây khế bao gồm: Hạ đường huyết [3], chống viêm

[2], hạ huyết áp, chống tăng lipid máu [4], chống oxy hóa [6], chống nấm *Candida albicans* [7]... Tuy nhiên, các nghiên cứu trong nước về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của loài này còn hạn chế. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của một số thành phần hóa học từ lá cây khế*. Kết quả nghiên cứu góp phần xây dựng dữ liệu về thành phần hóa học; từ đó, giúp định hướng cho các nghiên cứu về tác dụng sinh học của lá của loài này ở Việt Nam.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Đối tượng nghiên cứu:*

Mẫu nghiên cứu là lá cây khế (*Averrhoa carambola* L.) được thu hái vào tháng 7 năm 2021 tại xã Hoàng Đồng, huyện Hoàng Hóa, tỉnh Thanh Hóa.

Dược liệu sau khi thu hái rửa sạch phơi khô và bảo quản trong túi nilon để nơi khô ráo. Mẫu nghiên cứu (AC-01) được lưu tại Bộ môn Kỹ thuật Hóa dược và Chiết xuất, Khoa Công nghệ Hóa dược, Trường Đại học Dược Hà Nội.

** Dung môi và thiết bị thí nghiệm:*

Các dung môi dùng trong chiết xuất và phân lập bao gồm: n-hexan, diclometan, ethyl acetat, methanol, acetone, ethanol, đạt tiêu chuẩn nhà sản xuất (ghi chính xác, đạt tiêu chuẩn AR hay dung môi công nghiệp, nước sản xuất). Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng Silica gel 60 F254 (Merck). Các chất hấp phụ sử dụng trong sắc ký cột: Silica gel (0,063 - 0,200mm (Merck) (kiểm tra lại cỡ hạt sử dụng, cỡ trình bày là loại to), Whitehouse Station (NJ), sephadex LH - 20 (Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden). Thiết bị chiết ngấm kiệt dược liệu. Máy cất quay chân không BUCHI Toledo AB204S (Thụy Sĩ). Phổ khối lượng phun mù điện tử (ESI-MS) đo trên máy MicroQ-TOF III mass spectrometer (Bruker Daltonics, 255748 Germany). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân đo trên máy Bruker Avance NEO 600 MHz (Bruker, Germany).

** Địa điểm và thời gian nghiên cứu:*

Nghiên cứu tiến hành tại Bộ môn Kỹ thuật Hóa dược và Chiết xuất; từ tháng 01 - 5/2022.

2. Phương pháp nghiên cứu

** Phương pháp chiết xuất:*

Sử dụng phương pháp ngâm lạnh 3 lần với dung môi EtOH 96% cất thu hồi dung môi thu lấy cặn chiết. Sau đó, phân tán cặn chiết vào nước rồi chiết lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần: n-hexan, CH₂Cl₂, EtOAc các phân đoạn dịch chiết thu được đem cô lấy cặn

** Phân lập cấu trúc phân tử của hợp chất hóa học:*

Sử dụng phương pháp sắc ký cột với pha tĩnh là silica gel và sephadex LH-20 để phân lập các hợp chất sạch. Trước khi tiến hành phân lập, khảo sát phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng với các hệ dung môi khác nhau để lựa chọn pha động.

** Xác định cấu trúc phân tử của hợp chất được phân lập:*

Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được dựa trên kết quả phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (NMR), phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều (HMBC, HSQC) và so sánh với các dữ liệu phổ đã được công bố trước đó.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Chiết xuất và phân lập

Lá cây khế sau khi thu hoạch được rửa sạch, sấy khô, nghiền nhỏ. Lấy 1kg bột dược liệu chiết với ethanol 96%

bằng phương pháp ngâm lạnh với tỷ lệ DL/DM = 1/6. Cách 24 giờ thu dịch chiết 1 lần, chiết 3 lần, sau đó lọc dịch bằng bông, thu dịch chiết. Tiến hành cô dịch chiết dưới áp suất giảm cho đến khi thu được cặn (130g). Phân tán cặn chiết ethanol trong nước theo tỷ lệ cặn:nước là 1:10 (g/mL), sau đó chiết lỏng - lỏng với các dung môi hữu cơ có độ phân cực tăng dần là n-hexan, CH₂Cl₂, EtOAc với tỷ lệ dung môi hữu cơ/nước là 1:1. Mỗi dung môi chiết nhiều lần cho đến khi lớp dung môi không màu, gộp các dịch chiết và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thu được 50g cặn chiết n-hexan, 35g cặn chiết CH₂Cl₂, 15g cặn chiết EtOAc và pha nước.

Từ cặn chiết n-hexan (50g), thực hiện sắc ký cột với chất hấp phụ silica gel, dung môi rửa giải là n-hexan:ethyl acetat (100% n-hexan, 20:1, 15:1, 10:1, 5:1, 3:1, 100% ethyl acetat) thu được 7 phân đoạn nhỏ (H1 - H7). Từ phân đoạn H6, tiếp tục phân lập qua cột sắc ký silica gel, dung môi rửa giải là n-hexan:acetone (2:1) thu được 6 phân đoạn (H6.1 - H6.6). Kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng, phân đoạn H6.2 và H6.3 được gộp chung (0,63g) và tiến hành tinh chế qua cột sắc ký silica gel, rửa giải với hệ dung môi n-hexan:ethyl acetat:methanol (1:1:0,1) thu được hợp chất 1 (20mg). Phân đoạn H6.4 (0,8g) tinh chế qua cột sắc ký silica gel, rửa

giải với hệ dung môi n-hexan:ethyl acetat:methanol (2:1:0,1) thu được hợp chất 2 (40mg).

Từ cặn chiết EtOAc (15g) được phân lập bằng phương pháp sắc ký cột với chất hấp phụ là Sephadex LH-20, rửa giải với hệ dung môi EtOH-H₂O (1:1) thu được 4 phân đoạn AC1 - AC4 (Nên dùng ký hiệu E để tương ứng với H ở trên). Phân đoạn AC1 (900mg) được tiếp tục phân lập bằng sắc ký cột silica gel pha thường với dung môi rửa giải là CH₂Cl₂:MeOH:H₂O (5:1:0,1) thu được 6 phân đoạn nhỏ từ AC1.1 - AC1.6. Phân đoạn AC3 (1,5g) được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, dung môi rửa giải là CH₂Cl₂:MeOH:H₂O (3:1:0,1) thu được 5 phân đoạn nhỏ AC3.1 - AC3.5. Từ phân đoạn AC3.3 (400mg) tinh chế tiếp bằng chất hấp phụ silica gel, dung môi rửa giải EtOAc:acetone (1:1,5) thu được hợp chất 3 (40mg).

2. Xác định cấu trúc hóa học các hợp chất

Từ cao chiết ethanol của lá khế, sử dụng phương pháp sắc ký cột và sắc ký lớp mỏng, 2 hợp chất đã được phân lập từ phân đoạn n-hexan và 1 hợp chất đã được phân lập từ phân đoạn etyl acetat. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được đã được xác định dựa trên các phân tích dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1 chiều và 2 chiều và được thể hiện trên hình 1.

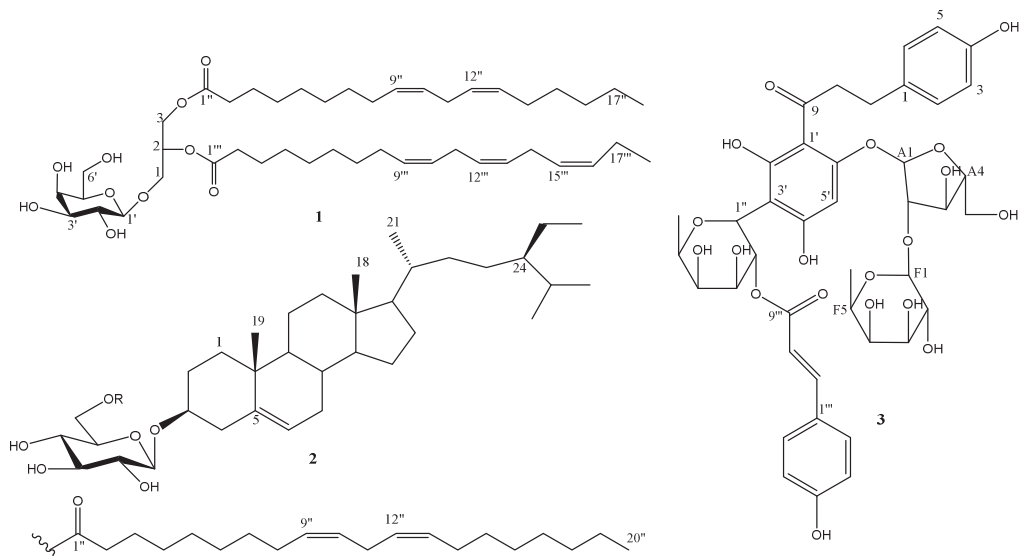
1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O-β-D-galactopyranosyl-rac-glycerol (1): dạng dầu màu vàng nhạt; ¹H-NMR (CDCl₃, 600MHz) δ_H: Glycerol: [4,10 (H-1a), 4,38 (H-1b), 5,30 (H-2), 3,68 (H-3a), 3,97 (H-3b)], Galc: [4,22 (d, *J* = 7,8 Hz, H-1'), 3,62 (H-2'), 3,61 (H-3'), 3,98 (H-4'), 3,51 (H-5'), 3,99 (H-6')], acid mạch dài: 2,31 (H-2'', H-2'''), 1,61 (H-3'', H-3'''), 1,29 (H-4'', H-4''' - H-7'', H-7''', H-15'', H-16'' - H-17''), 2,04 (H-8'', H-8''', H-14'', H-14''', H-17'''), 2,80 (H-11'', H-11''', H-14'''), 5,31-5,40 (H-9'', H-9''', H-10'', H-10''', H-12'', H-12''', H-13'', H-13''', H-15''', H-16'''), 0,88 (3H, t, *J* = 7,8 Hz, H-18''), 0,98 (3H, t, *J* = 7,8 Hz, H-18'''); ¹³C-NMR (CDCl₃, 150MHz) δ_C: 62,26 (C-1), 70,06 (C-2), 67,91 (C-3), 103,61(C-1'), 71,66 (C-2'), 73,12 (C-3'), 68,37 (C-4'), 76,81 (C-5'), 62,20 (C-6'), 173,51(C-1'', C-1'''), 34,30 (C-2'', C-2'''), 25,54 (C-3'', C-3'''), 22,70 - 31,94 (C-4'', C-4''' - C-7'', C-7''', C-15'', C-16'' - C-17'''), 27,22 (C-8'', C-8''', C-14'', C-14''', C-17'''), 25,54, 25,63 (C-11'', C-11''', C-14'''), 127,13, 127,78, 128,25, 128,32, 130,23, 131,98 (C-9'', C-9''', C-10'', C-10''', C-12'', C-12''', C-13'', C-13''', C-15''', C-16'''), 14, 12, 14, 28 (C-18'', C-18''').

Hợp chất 1 thu được dạng dầu màu vàng nhạt, tan trong cloroform. Trên sắc ký lớp mỏng, sau khi nhúng dung

dịch H₂SO₄ và hơi nóng thấy hợp chất này có màu đỏ nâu. Trên phổ ESI-MS cho pick ion phân tử [M+H]⁺ tại *m/z* = 777,4337 (theo tính toán cho công thức C₄₅H₇₇O₁₀ là 777,5517) xác định công thức phân tử của 1 là C₄₅H₇₆O₁₀. Phổ ¹H-NMR cho thấy 2 tín hiệu nhóm methyl ở δ_H: 0,88 (3H, t, *J* = 7,8 Hz), 0,98 (3H, t, *J* = 7,8 Hz), 1 nhóm oxymethin của glycerol ở δ_H 3,97, 6 tín hiệu proton của 3 cặp olefin ở δ_H từ 5,31 đến 5,40, tín hiệu cộng hưởng của các nhóm methylen trong vùng trường cao ở δ_H từ 1,29 đến 2,80, tín hiệu proton gắn với carbon allylic ở δ_H 2,04. Ngoài ra, trên phổ ¹H-NMR còn có tín hiệu proton anomeric của 1 gốc đường ở δ_H 4,22 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-1'), với giá trị hằng số tương tác *J* = 7,8 Hz xác định cấu hình β của đường ở C-1'.

Phổ ¹³C-NMR cho thấy tín hiệu của 27 nguyên tử C trong đó: 3 nối đôi ở δ_C 127,13; 127,78; 128,25; 128,32; 130,23; 131,98; nhóm carbonyl este ở δ_C 173,51; 2 nhóm methyl ở δ_C 14,12, 14,28, 1 nhóm α-methylen ở δ_C 34,30, 1 nhóm β-methylen ở δ_C 25,54. 6 tín hiệu carbon đơn vị đường xuất hiện ở δ_C 103,61 (C-1'), 71,66 (C-2'), 73,12 (C-3'), 68,38 (C-4'), 76,81 (C-5'), 62,20 (C-6'). Độ chuyển dịch hóa học tương đối thấp của các tín hiệu này gợi ý sự có mặt của đơn vị đường galactose. Độ dịch chuyển hóa học tương đối thấp của tín hiệu carbon C-1

(62,26) cho phép dự đoán đơn vị cùng với sự phù hợp về số liệu phổ tại đường gắn vào ở vị trí C-1. Ngoài ra, các vị trí tương ứng so với tài liệu phổ ^{13}C -NMR còn cho thấy cho thấy tham khảo [8] có thể kết luận hợp chất có mặt 2 liên kết este với acid tại δ_{C} 1 là 1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O- β -D-galactopyranosyl-rac-glycerol. 70,06, 67,91. Từ việc phân tích trên



Hình 1. Cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được từ lá khế.

6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)- β -D-glucosyl- β -sitosterol (2): dạng dầu màu vàng nhạt; ^1H -NMR (CDCl_3 , 600MHz) δ_{H} : 1,06 (H-1a), 1,86 (H-1b), 1,43 (H-2a), 1,21 (H-2b), 3,53 (1H, d, H-3), 1,18 (H-4a), 2,00 (H-4b), 5,35 (1H, d, H-6), 1,96 (H-7), 1,99 (H-8), 0,92 (H-9), 1,46 (H-11a), 1,48 (H-11b), 1,17 (H-12a), 2,00 (H-12b), 0,98 (H-14), 1,06 (H-15a), 1,57 (H-15b), 1,27 (H-16a), 1,85 (H-16b), 1,07 (H-17), 0,68 (3H, d, H-18), 0,93 (3H, d, H-19), 0,93 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-21),

0,99 (H-22a), 1,30 (H-22b), 1,16 (H-23), 0,92 (H-24), 1,66 (H-25), 0,99 (3H, H-26), 0,84 (3H, H-27), 1,21 (H-28), 0,85 (3H, H-29), 4,37 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1'), 3,47 (1H, d, $J = 3,6$ Hz, H-2'), 3,54 (1H, H-3'), 3,37 (1H, H-4'), 3,36 (1H, H-5'), 4,33 (2H, H-6'), 2,33 (H-2''), 1,60 (H-3''), 1,26 (H-4'' -H-7'', H-15'' -H-18''), 1,85 (4H, H-8'', H-14''), 5,36 (4H, H-9'', 10'', 12'', 13''), 2,04 (H-11''), 1,26 (H-19''), 0,92 (H-20''); ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 150MHz) δ_{C} : 37,31 (C-1), 31,89 (C-2), 79,73 (C-3), 39,80 (C-

4), 140,36 (C-5), 122,10 (C-6), 31,95 (C-7), 31,95 (C-8), 50,19 (C-9), 36,19 (C-10), 21,10 (C-11), 38,93 (C-12), 42,35 (C-13), 56,79 (C-14), 24,32 (C-15), 28,26 (C-16), 56,18 (C-17), 11,87 (C-18), 19,04 (C-19), 36,72 (C-20), 18,80 (C-21), 33,97 (C-22), 26,19 (C-23), 45,84 (C-24), 29,17 (C-25), 19,38 (C-26), 19,82 (C-27), 23,08 (C-28), 11,98 (C-29), 101,26 (C-1'), 73,79 (C-2'), 76,19 (C-3'), 70,37 (C-4'), 73,46 (C-5'), 63,53 (C-6'), 174,39 (C-1''), 34,30 (C-2''), 25,00 (C-3''), 29,40-34,00 (C-4'' -C-7'', C-15'' -C-18''), 28,26, 28,26 (C-8'', C-14''), 128,25, 128,32, 130,24, 131,29 (C-9'', 10'', 12'', 13''), 27,25 (C-11''), 22,71 (C-19''), 14,13 (C-20'').

Hợp chất 2 thu được dạng vô định hình màu vàng nhạt, tan trong cloroform. Trên sắc ký lớp mỏng, sau khi nhúng dung dịch H_2SO_4 và hơi nóng thấy hợp chất này có màu hồng tím. Trên phổ 1H -NMR thu nhận tín hiệu proton của 7 nhóm methyl tại δ_H 0,68 (3H, H-18), 0,93 (3H, H-19), 0,93 (3H, d, $J = 6,0$ Hz, H-21), 0,99 (3H, H-26), 0,84 (3H, H-27), 0,85 (3H, H-29), 0,92 (3H, H-20''); 3 nhóm olefin tại δ_H 5,35 (1H, H-6), 5,36 (4H, H-9'', 10'', 12'', 13''). Tín hiệu nhóm oxymethin tại δ_H 3,53 (1H, H-3); 6 tín hiệu đơn vị đường glucose xuất hiện tại δ_H 4,37 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1'), 3,47 (1H, d, $J = 3,6$ Hz, H-2'), 3,54 (1H, H-3'), 3,37

(1H, H-4'), 3,36 (1H, H-5'), 4,33 (2H, H-6') trong đó có tín hiệu proton của anomer ở δ_H 4,37 (1H, d, $J = 7,8$ Hz, H-1'), với giá trị $J = 7,8$ Hz xác định cấu hình β của đường.

Từ dữ liệu ^{13}C -NMR, cho thấy hợp chất trên là một glucosid steroid 29C có tín hiệu đặc trưng của liên kết olefinic có độ dịch chuyển tại δ_C 140,36 (C-5), 122,10 (C-6) với một đơn vị hexose [δ_C 101,26 (C-1'), 73,79 (C-2'), 76,19 (C-3'), 70,37 (C-4'), 73,46 (C-5'), 63,53 (C-6')] và một chuỗi béo dài không bão hòa. ^{13}C -NMR còn chỉ ra sự hiện diện của một carbonyl este ở δ_C 174,39, một chuỗi béo dài với hai liên kết đôi $C=C$ ở δ_C 128,25, 128,32, 130,24, 131,29, một nhóm oxymethin ở δ_C 79,73 (C-3); 7 nhóm methyl ở δ_C 11,87 (C-18), 19,04 (C-19), 18,80 (C-21), 19,38 (C-26), 19,82 (C-27), 11,98 (C-29), 14,13 (C-20''). Ngoài ra, sự dịch chuyển về phía trường thấp của C-6' và sự dịch chuyển về phía trường cao của C-5' của glucose dự đoán chuỗi béo được gắn với C-6'' thông qua liên kết este.

Nhận diện trên được khẳng định thông qua phân tích phổ 2 chiều HSQC và HMBC. HMBC thể hiện các tương tác của proton với carbon kế bên. Để xác định chính xác độ dịch chuyển hoá học tương ứng của carbon và proton chúng tôi đã đo phổ HSQC. Vị trí của đường ở C-3 xác định thông qua tương

tác HMBC của H-1' → C-3; liên kết este giữa C-6' và C-1'' được xác định vào tương tác HMBC của H-6' → C-1''. Ngoài ra phổ HMBC còn chỉ ra vị trí liên kết đôi ở mạch béo không bão hòa dựa vào tương tác của H-9'', H-10'' → C-7'', C-8'', C-11'', C-12'' và của H-12''; H-13'' → C-10'', C-11'', C-14'', C-15''. Từ việc phân tích phổ và dựa vào tài liệu [10] đã công bố có thể khẳng định 2 là 6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)-β-D-glucosyl-β-sitosterol.

Carambolosid Q (3): Chất rắn vô định hình màu vàng nhạt; ¹H-NMR (CD₃OD, 600MHz) δ_H: 6,92 (2H; br s; H-2; H-6), 6,65 (2H; d; J = 7,2Hz; H-3; H-5), 2,77 (H-7a), 1,34 (H-7b), 3,38 (H-8a), 3,10 (H-8b), 6,19 (s, H-5'), 5,09 (H-1'), 5,53 (H-2''), 3,85 (H-3'', H-5''), 3,80 (H-4''), 1,35 (3H; br s; H-6''), 7,40 (2H; d; J = 8,4Hz; H-2'''; H-6'''), 6,84 (2H; d; J = 8,4Hz; H-3'''; H-5'''), 7,48 (1H; d; J = 16,2Hz; H-7'''); 6,1 (1H; d; J = 16,2Hz; H-8'''), 5,76 (1H; s; H-A₁), 4,19 (H-A₂); 4,12 (H-A₃), 3,97 (H-A₄), 3,80 (H-A_{6a}), 3,65 (H-A_{6b}), 3,97 (H-F₁), 3,4 (H-F_{2, 4}), 3,25 (H-F₃), 2,91 (H-F₅), 0,85 (3H; br s; H-F₆). ¹³C-NMR (CD₃OD, 150MHz) δ_C: 134,0 (C-1), 130,4 (C-2), 116,3 (C-3), 156,6 (C-4), 30,3 (C-7), 47,5 (C-8), 206,2 (C-9), 105,7 (C-1'), 165,0 (C-2'), 105,7 (C-3'), 165,0 (C-4'), 96,0 (C-5'), 161,5 (C-6'), 73,9 (C-1''), 73,0 (C-2''), 74,5 (C-3''), 73,3 (C-4''), 76,8 (C-5''), 17,2 (C-6''), 127,2 (C-1'''), 131,2 (C-2''', 6'''), 116,9

(C-3''', 5'''), 161,2 (C-4'''), 146,3 (C-7'''), 115,3 (C-8'''), 167,5 (C-9'''), 107,1 (C-A₁), 92,8 (C-A₂), 76,3, (C-A₃) 84,5 (C-A₄), 62,0 (C-A₅), 105,5 (C-F₁), 72,2 (C-F₂), 74,8 (C-F₃), 72,8 (C-F₄), 71,8 (C-F₅), 16,9 (C-F₆).

Hợp chất 3 là chất rắn vô định hình màu vàng. Trên phổ ¹H-NMR xuất hiện tín hiệu của 2 hệ tương tác spin A₂B₂ của vòng benzen tại δ_H [6,92 (2H; br s; H-2; H-6), 6,65 (2H; d; J = 7,2Hz; H-3; H-5)]; [7,40 (2H; d; J = 8,4Hz; H-2'''; H-6''')' 6,84 (2H; d; J = 8,4Hz; H-3'''; H-5''')] gợi ý cho sự có mặt của 2 vòng benzen thế ở vị trí *para*; một tín hiệu singlet của proton thơm tại δ_H 6,19 (1H; s; H-5'). Ngoài ra, phát hiện 2 proton olefine tại δ_H 7,48 (1H; d; J = 16,2 Hz; H-7'''); 6,1 (1H; d; J = 16,2 Hz; H-8''') với giá trị J = 16,2 Hz chứng tỏ liên kết đôi có cấu hình *trans*. Sự xuất hiện của 3 proton anomer tại δ_H 3,97 (H-F₁); 5,09 (H-1'); 5,76 (1H; s; H-A₁) và các tín hiệu của proton carbinol tại δ_H nằm trong khoảng 2,91-5,53 ppm và 2 tín hiệu của 2 nhóm CH₃ tại δ_H 1,35 (3H; br s; H-6''); 0,85 (3H; br s; H-F₆) từ đó gợi ý cho sự tồn tại của 3 phân tử đường bao gồm 1 gốc α-arabinofuranosyl và 2 gốc β-fucosyl trong cấu trúc của phân tử.

Trên phổ ¹³C-NMR phát hiện các tín hiệu C tại δ_C: 206,2; 167,5; 165,0; 161,2; 156,6; 146,3; 133,97; 131,2; 130,4; 127,2; 116,9; 116,3; 115,3; 107,1; 105,7; 105,5; 96,0; 93,0; 92,8;

84,48; 76,8; 76,3; 74,8; 73,5; 72,98; 72,76; 72,2; 71,8; 62,0; 47,5; 30,3; 17,2; 16,9. Kết hợp với phân tích phổ 2 chiều HSQC, HMBC cho thấy sự có mặt của aglycon phloretin thông qua các tương tác được thể hiện trên phổ HMBC như của proton H-8 (2H, δ_H 3,38; 3,10) với carbon C-1 (δ_C 134,0); carbon C-9 (δ_C 206,2) và C-1' (δ_C 105,7); proton H-7 (2H, δ_H 2,77; 1,34) với carbon C-9 (δ_C 206,2), C-8 (δ_C 47,5), C-1 (δ_C 134,0), C-2 (δ_C 130,4), C-6 (δ_C 130,4); proton H-2 (δ_H 6,92) và proton H-6 (δ_H 6,92) với carbon C-4 (δ_C 156,6); proton H-3 (δ_H 6,65) và proton H-5 (δ_H 6,65) với carbon C-1 (δ_C 134,0).

Trên phổ tương tác hai chiều HMBC phát hiện được sự có mặt của mạch p-coumaroyl thông qua các tương tác như của proton H-7''' (δ_H 7,48) và proton H-8''' (δ_H 6,1) với carbon C-9''' (δ_C 167,5); proton H-8''' (δ_H 6,1) với carbon C-1''' (δ_C 127,2); proton H7''' (δ_H 7,48) với carbon C-2''' (δ_C 131,2) và carbon C-6''' (δ_C 131,2); tương tác đặc trưng của vòng benzen như của carbon có δ_C 6,84 (C-3''', C-5''') với carbon có δ_C 127,2 (C-1'''); tương tác của carbon có δ_C 131,2 (C-2''', C-6''') với carbon C-4''' (δ_C 161,2). Vị trí của 3 gốc đường cũng được thể hiện rõ ràng thông qua phân tích tín hiệu từ phổ 2 chiều HMBC. Một gốc đường β -fucosyl (A) liên kết với phần aglycon phloretin qua liên kết C-glycosid tại vị

trí C-3' thể hiện qua tương tác của H-1'' (δ_H 5,09) với carbon C-3' (δ_C 105,7), carbon C-2' (δ_C 165,0), carbon C-4' (δ_C 165,0). Đồng thời mạch p-coumaryl được phát hiện là liên kết với phân tử đường A tại vị trí C-2'' dựa vào tương tác trên phổ HMBC của H-2'' (δ_H 5,53, br s) với carbon C-9''' (δ_C 167,5). Gốc đường α -arabinofuranosyl cũng liên kết với aglycon phloretin thông qua liên kết ether tại vị trí C-6' với tương tác của H-A₁ (δ_H 5,76 s) với C-6' (δ_C 161,7). Gốc đường β -fucosyl (B) còn lại được xác định liên kết với phân tử đường α -arabinofuranosyl tại vị trí C-A₂ thông qua tương tác trên phổ HMBC của H-A₂ (δ_H 4,19 br s) với C-F₁ (δ_C 105,5) và tương tác của H-F₁ (δ_H 3,97 d) với C-A₂ (δ_C 92,8). Từ các phân tích dữ liệu phổ thu được và so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất 3 có tên là carambolasid Q [9].

BÀN LUẬN

Hợp chất 1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O- β -D-galactopyranosyl-glycerol (1) là một hợp chất β -galactosyl diglycerid và đã phân lập được từ một số loài như: *Clinacanthus nutans*, *Panax ginseng* [5] và là lần đầu tiên được phân lập từ cây khê. Hợp chất 1 đã được nghiên cứu về một số tác dụng sinh học thú vị như: Tác dụng ức chế vi rút Herpes týp HSV-1 và HSV-2 với % ức chế tương đối cao lần lượt là 100 ± 0 (%) và 90 ± 2 (%)

(ở nồng độ thử nghiệm bao nhiêu?) [8], tác dụng kháng viêm thông qua hoạt động ức chế sản xuất NO trong tế bào RAW264.7 được kích thích bằng LPS với $IC_{50} = 8,0 \pm 0,9mM$, tác dụng chống ung thư bằng cách giảm biểu hiện ARN thông tin (mARN) của interleukin - 1β (IL - 1β), IL - 6 và yếu tố hoại tử khối u - α trong tế bào đại thực bào do LPS gây ra với sự ức chế mạnh mẽ hoạt động của mARN [5].

6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)- β -D-glucosyl- β -sitosterol (2) là 1 hợp chất acylglucosyl sterol đã từng được phân lập từ một số loài khác như *Livistona chinensis* [10], *Horseradish*,... Nhưng nghiên cứu này là lần đầu tiên phân lập được hợp chất này từ lá khế nói riêng và các bộ phận khác nhau của cây khế nói chung. Tác dụng sinh học chính của hợp chất 2 đã được nghiên cứu trên thế giới là hoạt động chống tăng sinh mạnh tế bào khối u ở người (K562, HepG2, HL - 60, CNE - 1) với IC_{50} lần lượt $12,77 \pm 0,93$; $24,76 \pm 1,63$; $17,14 \pm 1,13$ và $17,65 \pm 1,05$ [10].

Carambolasid Q (3) tên theo danh pháp là phloretin 3'-C-[(2-O-trans-p-coumaroyl)- β -D-fucopyranosyl]-6'-O- β -D-fucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α Larabifuranoside, là một hợp chất thuộc nhóm dihydrochalcon C-glycosid. Trước đây carambolasid Q đã từng được chiết xuất từ quả khế, tuy nhiên đây là lần đầu tiên phân lập được hợp chất

này trong lá khế. Trên thế giới, các nghiên cứu về tác dụng sinh học của hợp chất 3 rất hạn chế. Cho đến nay, hợp chất này mới chỉ được nghiên cứu về tác dụng chống oxy hóa thông qua tác dụng bắt giữ gốc tự do DPPH, ABTS và tác dụng khử sắt (FRAP) với giá trị nồng độ ức chế IC_{50} tương ứng là: $> 100\mu M$; $2,7\mu M$ và $0,2 mmol/g$, khi so sánh với chất tham khảo là L-ascorbic acid với giá trị IC_{50} tương ứng là: $39,5 \pm 0,5\mu M$; $10,5 \pm 0,1\mu M$ và $11,3 \pm 0,1 mmol/g$. Kết quả này cho thấy hợp chất 3 có tác dụng bắt giữ gốc tự do ABTS và khử sắt (FRAP) rất mạnh, tương tự như các hợp chất cùng cấu trúc phloretin C-glycosid khác như carambolasid M, N, O, P [9]. Bên cạnh đó tác dụng ức chế enzym lipase của tuyến tụy của hợp chất này cũng đã được công bố. Ở hai mức liều thử nghiệm là 50 và 100 μM cho kết quả ức chế tương ứng đạt $27,3 \pm 0,2\mu M$ và $51,7 \pm 0,0\mu M$ và giá trị IC_{50} là $99,6 \pm 6,1\mu M$, cao hơn rất nhiều do với chất tham khảo orlistat, một thuốc phòng ngừa béo phì, với giá trị IC_{50} là $1,6 \pm 0,1\mu M$. Nghiên cứu này cho thấy hợp chất 3 cho tác dụng ức chế enzym lipase yếu.

Nhận thấy các hợp chất được phân lập từ lá khế chưa được nghiên cứu nhiều về hoạt tính sinh học, do đó, cần có thêm các nghiên cứu theo hướng này trong tương lai. Kết quả này cũng đóng góp cho việc làm phong phú

thêm tri thức về hóa thực vật của cây *Averrhoa carambola* L. nói chung và chi *Averrhoa* nói riêng.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu về thành phần hóa học từ lá cây khế, 3 hợp chất đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học bao gồm: 1-O-linolenoyl-2-O-linoleoyl-3-O-β-D-galactopyranosyl-rac-glycerol (1), 6''-O-(icosa-9'',12''-dienoyl)-β-D-glucosyl-β-sitosterol (2), Carambolosid-Q (3). Trong đó hợp chất 1 và 2 lần đầu tiên được phân lập từ cây khế. Hợp chất 3 lần đầu tiên được phân lập từ lá cây khế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Huy Bích. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*. Tập 1. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội. 2006.
2. Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2006.
3. Nguyễn Thị Thanh Ngân và CS. Xác định cấu trúc của Quercetin 3 - Quercetin 3 - Oβ - D - Glucopyranoside và Myricitrin tinh sạch từ phân đoạn dịch chiết lá Khế (*Averrhoa carambola* L.) có tác dụng hạ Glucose huyết trên chuột gây đái tháo đường thực nghiệm. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*. 2010; 26:242-247.

4. Aladaileh SH, et al. Antihyperlipidemic and antioxidant effects of *Averrhoa Carambola* extract in high-fat diet-fed rats. *Biomedicines*. 2019; 7(3).

5. Cha BJ, et al. Glycosyl glycerides from hydroponic *Panax ginseng* inhibited NO production in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells. *J Ginseng Res*. 2015; 39(2):162-168.

6. Henrique H Moresco, et al. Chemical constituents and evaluation of the toxic and antioxidant activities of *Averrhoa carambola* leaves. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2012; 22(2): 319-324.

7. Irianti MI, et al. *Averrhoa carambola* leaf from Depok, West Java, Indonesia: Phytochemistry characterization and prospective anti-candidiasis activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2022; 12(1):199-207.

8. Janwitayanuchit W, et al. Synthesis and anti-herpes simplex viral activity of monoglycosyl diglycerides. *Phytochemistry*. 2003; 64(7):1253-1264.

9. Xuchao Jia, Haihui Xie, Yueming Jiang, Xiaoyi Wei. Flavonoids isolated from the fresh sweet fruit of *Averrhoa carambola*, commonly known as star fruit. *Phytochemistry*. 2018; 153:156-162.

10. Zeng, Xiaobin, et al. Unusual lipids and acylglucosylsterols from the roots of *Livistona chinensis*. *Phytochemistry Letters*. 2013; 6:36-40.