Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Phần A: Khoa học tự nhiên, Công nghệ và Môi trường
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2025.110

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC CÁC HỢP CHẤT BÉO MẠCH DÀI TỪ CÂY NẮP ẤM HOA ĐÔI (*Nepenthes mirabilis*) SINH TRƯỞNG TẠI ĐẢO PHÚ QUỐC

Tạ Thanh Hồng[1,2], Võ Thành Khang[1,2], Nguyễn Quốc Châu Thanh[1] và Nguyễn Trọng Tuân[1*]
[1]*Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ, Việt Nam*
[2]*Phòng thí nghiệm Hóa dược, Tòa nhà Công nghệ cao, Đại học Cần Thơ, Việt Nam*
**Tác giả liên hệ (Corresponding author): trongtuan@ctu.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 28/11/2024
Sửa bài (Revised): 11/12/2024
Duyệt đăng (Accepted): 12/04/2025

Title: *Isolation and identification of long-chain aliphatic compounds from Nepenthes mirabilis in Phu Quoc island*

Author: *Ta Thanh Hong[1,2], Vo Thanh Khang[1,2], Nguyen Quoc Chau Thanh[1] and Nguyen Trong Tuan[1*]*

Affiliation(s): *[1]College of Natural Science, Can Tho University, Viet Nam; [2]Medicinal Chemistry Laboratory, CTU Hi-tech Building, Can Tho University, Viet Nam*

TÓM TẮT

Nắp ấm hoa đôi (Nepenthes mirabilis) hay còn gọi là bình nước kỳ quan, thuộc họ Nắp ấm (Nepenthaceae), là một loài thực vật ít phổ biến, vùng phân bố hẹp và thành phần hóa học chịu ảnh hưởng bởi nguồn dinh dưỡng từ động vật mà chúng tiêu thụ được. Trong nghiên cứu này, việc phân lập thành công các hợp chất đã được thực hiện bằng kỹ thuật sắc ký cột cổ điển từ loài Nắp ấm hoa đôi sinh trưởng ở đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang, Việt Nam. Các phương pháp phân tích dữ liệu phổ nghiệm hiện đại được áp dụng như phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), phổ khối lượng (ESI-MS và HR-ESI-MS) và phổ hồng ngoại (FT-IR). Bên cạnh đó, cấu trúc của các hợp chất béo mạch dài lần đầu tiên được phân lập từ họ cây Nepenthaceae (họ Nắp ấm) cũng đã được xác định trong nghiên cứu gồm: phytyl hexadecanoate (1), glyceryl-1-tetracosanoate (2) và behenyl alcohol (3). Ngoài ra, việc phân lập đã được tiến hành và xác định được cấu trúc một hợp chất thuộc nhóm triterpenoids là lupenone (4).

Từ khóa: *Chất béo, mạch dài, Nắp ấm, phân lập, Phú Quốc*

ABSTRACT

Nepenthes mirabilis (Nepenthaceae family) is a rare plant species with an endemic distribution and chemical composition altered by nutritional sources from the small animals they digest. This study successfully isolated compounds using column-chromatography techniques from the Nepenthes mirabilis species growing on Phu Quoc Island, Kien Giang province, Vietnam. According to modern spectroscopy analysis methods, including nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR), electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS and HR-ESI-MS), and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), this study has elucidated the long-chain aliphatic compounds structures isolated for the first time from the Nepenthaceae family: phytyl hexadecanoate (1), glyceryl-1-tetracosanoate (2), and behenyl alcohol (3). Besides, Lupenone (4), a triterpenoid group, was also isolated from Nepenthes mirabilis.

Keywords: *Aliphatic, isolation, long-chain, nepenthaceae, Phu Quoc island*

1. GIỚI THIỆU

Trong giới thực vật, quá trình tổng hợp các hợp chất hữu cơ diễn ra liên tục theo những chu trình đã được thiết lập sẵn. Những hợp chất này không chỉ là thành phần cấu tạo nên các mô, mà còn là các chất chuyển hóa trung gian thứ cấp, đóng vai trò cấp thiết trong việc duy trì sự sống. Chính sự đa dạng về cấu trúc của các hợp chất thiên nhiên đã tạo nên sự khác biệt về hoạt tính sinh học ở mỗi loài dược liệu (Nguyen et al., 2015a).

Theo các nghiên cứu trước đây, thổ nhưỡng và khí hậu là hai yếu tố chính tác động đến thành phần hóa học ở các loài thực vật (Singh et al., 2015; Taub et al., 2010). Tuy nhiên, thiên nhiên vẫn có một số ngoại lệ, các loài thực vật thuộc họ *Droseraceae* (họ Gọng vó), *Nepenthaceae* (họ Nắp ấm), *Sarraceniaceae* (họ Nắp ấm Tân thế giới), *Lentibulariaceae* (họ Nhĩ cán), *Drosophyllaceae* (họ Gọng vó Iberia) và *Cephalotaceae* (họ Nắp ấm Úc) là những loài cây có khả năng bắt và tiêu hóa côn trùng hoặc các động vật nhỏ thành chất dinh dưỡng cho bản thân chúng (Gianandrea et al., 2024). Vì vậy, thành phần hóa học của những loài cây này bị ảnh hưởng bởi các loại động vật mà chúng tiêu thụ. Điều này minh chứng cho việc nghiên cứu ở các họ cây kể trên, dù cùng một loài, nhưng nguồn cung cấp dinh dưỡng khác biệt thì lại có thành phần hóa học đặc trưng khác nhau (Luna-Samano et al., 2024). Trong nghiên cứu này, thành phần hóa học của loài Nắp ấm hoa đôi (*Nepenthes mirabilis*) hay còn gọi là bình nước kỳ quan hoặc trư lung thảo, thuộc họ *Nepenthaceae* (họ Nắp ấm) sinh trưởng ở đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang, Việt Nam được tập trung xác định. Nắp ấm hoa đôi không chỉ là một loài thực vật độc đáo với cơ chế bắt mồi đặc biệt, mà còn là một đối tượng nghiên cứu quan trọng trong lĩnh vực hóa học thực vật. Với vị trí địa lý đặc trưng, kết hợp cùng thổ nhưỡng bazan màu mỡ và khí hậu nhiệt đới nóng ẩm, đảo Phú Quốc sở hữu đa dạng những quần thể côn trùng tương đối phát triển tách biệt với đất liền (Nguyen, 2022). Chính vì những điều kiện đặc biệt đó, loài Nắp ấm hoa đôi được hướng đến trong nghiên cứu này vốn đã ít các báo cáo về thành phần hóa học, nay càng đặc biệt hơn bởi các yếu tố tự nhiên mà đảo Phú Quốc mang lại.

Hình 1. Ảnh mẫu vật thực tế của Nắp ấm hoa đôi tại đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang, Việt Nam

Ở các nghiên cứu trước đây khi được thực hiện về thành phần hóa học của loài Nắp ấm hoa đôi, một số hợp chất có độ phân cực trung bình đến cao thuộc nhóm flavonoids, phenolic, naphthoquinone và naphthoquinone glucoside như: nepenthone F, nepenthone G, nepenthoside A, nepenthoside B, cis-isoshinanolone, droserone, plumbagin, 3-methoxy-7-methyljuglone, 2-methoxy-7-methyljuglone, nepenthone C, β-D-glucopyranoside (19), icariside D1, phenethyl rutinoside, quercetin (22), quercitrin, kaempferol-3-O-α-L-rhamnoside (24), quercetin 3-O-β-D-glucuronide,... đã được xác định. Ngoài ra, một số hợp chất cũng được ghi nhận hiệu quả kháng oxy hóa, chống viêm và ức chế thụ thể nuclear factor kB ligand (RANkL) gây hủy xương (Nguyen et al., 2015a; Nguyen et al., 2015b; Phan et al., 2015). Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào được thực hiện về các hợp chất thuộc nhóm phân cực yếu ở loài này, đặc biệt là các chất béo mạch dài, vốn khó phân lập được bởi cấu tạo và các tương tác qua lại của chúng với nhau hoặc với các nhóm chất khác (Rodríguez-González et al., 2022; Damien et al., 2016). Hơn nữa, chúng cũng dễ bị phân hủy bởi các yếu tố tác động bên ngoài, đặc biệt là nhiệt độ (Rutger et al., 2000). Do đó, nhằm tìm hiểu rõ hơn về cơ chế sinh học, đồng thời khai phá tiềm năng ứng dụng trong y học, việc phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất béo mạch dài từ loài Nắp ấm hoa đôi sinh trưởng ở đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang, Việt Nam đã được thực hiện trong nghiên cứu bằng cách sử dụng kỹ thuật sắc ký cột cổ điển kết hợp với các phương pháp phổ nghiệm hiện đại như phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), phổ khối lượng (MS), phổ hồng ngoại (FT–IR). Kết quả nghiên cứu này không chỉ đóng góp vào việc bảo tồn và hiểu biết về loài thực vật quý hiếm của Việt Nam, cụ thể là ở đảo Phú Quốc, mà còn mở ra những hướng đi mới trong việc khai thác và ứng dụng các hợp chất tự nhiên từ thực vật.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất và thiết bị

Hóa chất: silicagel 60H (Merck, Đức), TLC silicagel 60-F_{254} (Merck, Đức). Các dung môi hữu cơ: *n*-hexane, ethyl acetate, methanol, chloroform (Chemsol, Việt Nam), Phosphomolydic acid (Shanghai Zhanyun, Trung Quốc), Vanillin (Shanghai Zhanyun, Trung Quốc), Sulfuric acid (Xilong, Trung Quốc).

Thiết bị: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và phổ khối lượng (ESI–MS) được đo tại Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, phổ khối lượng (HR–ESI–MS) được đo tại Viện Khoa học Ứng dụng - Viện Công nghệ Hóa học, phổ hồng ngoại (FT–IR) được đo tại Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ.

2.2. Nguyên liệu

Nắp ấm hoa đôi (phần trên mặt đất) được thu hái tại đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang, Việt Nam. Mẫu được định danh tại Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Cần Thơ và lưu giữ tại phòng thí nghiệm Hóa dược (Tòa nhà Công nghệ cao, Đại học Cần Thơ). Nguyên liệu tươi được xử lý và sấy khô ở nhiệt độ 55°C. Sau khi sấy khô, nguyên liệu được nghiền nhuyễn và bảo quản ở nhiệt độ 4°C. Độ ẩm dược liệu được xác định với kết quả là 8,66 ± 0,42% theo hướng dẫn của Dược điển Việt Nam V (Ministry of Health., 2017).

Bột nguyên liệu (7 kg) được tiến hành ngâm dầm trong dung môi methanol trong 24 giờ. Dịch chiết được cô quay dưới áp suất kém thu được 1700 g cao chiết methanol Nắp ấm hoa đôi (hiệu suất chiết cao tổng là 24,29%) (Do et al., 2011).

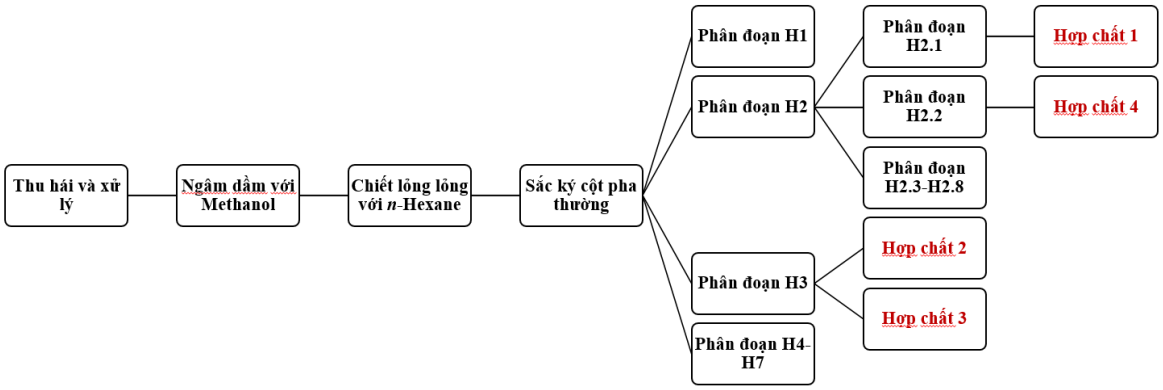
Việc chiết lỏng-lỏng cao methanol Nắp ấm hoa đôi với *n*-hexane được thực hiện. Dịch chiết được cô quay dưới áp suất kém thu được 101 g cao phân đoạn *n*-hexane (hiệu suất chiết cao phân đoạn *n*-hexane là 5,94%) (Nguyen et al., 2017).

2.3. Phân lập các hợp chất từ cao phân đoạn *n*-hexane của cây Nắp ấm hoa đôi

Trong nghiên cứu này, các kỹ thuật sắc ký cột cổ điển với silicagel và sắc ký lớp mỏng pha thường đã được áp dụng (Huynh et al., 2023; Tran & Phan, 2024). Cao phân đoạn *n*-hexane (101 g) được tách bằng sắc ký cột đường kính Φ = 7 cm, rửa giải bằng *n*-hexane: ethyl acetate: methanol 100:0:0 đến 0:0:100 để thu được 7 phân đoạn (H1-H7).

Phân đoạn H2 (3,7 g) được tiến hành khảo sát sắc ký cột đường kính Φ = 3 cm với dung môi rửa giải có độ phân cực tăng dần *n*-hexane: ethyl acetate 100:0 đến 0:100, thu được 8 phân đoạn tương ứng với H2.1 – H2.8.

Phân đoạn H2.1 (151 mg) (cho nhiều vết tách rời nhau trên sắc ký lớp mỏng) được chọn để tiến hành sắc ký cột đường kính Φ = 0,5 cm với dung môi rửa giải lần lượt là *n*-hexane và ethyl acetate thu được 4 phân đoạn tương ứng với H2.1.1 – H2.1.4. Sắc ký lớp mỏng thấy phân đoạn H2.1.3 có xuất hiện vết màu xanh dương (thuốc hiện hình vanillin/H_2SO_4 10% trong ethanol), hệ dung môi *n*-hexane: chloroform 97:3 với giá trị R_f = 0,83 thu được hợp chất **1** (22 mg, rửa giải bằng *n*-hexane) dạng sáp, màu trắng.



Hình 2. Sơ đồ điều chế cao chiết và phân lập các hợp chất béo mạch dài từ cây Nắp ấm hoa đôi

Ở phân đoạn H2.2 (2,24 g) thấy có xuất hiện kết tinh, thu lấy kết tinh và tinh sạch nhiều lần bằng các dung môi có độ phân cực khác nhau. Sắc ký lớp mỏng của chất kết tinh thấy xuất hiện vết tròn, rõ có lẫn một tạp nhỏ kém phân cực hơn. Thực hiện sắc ký cột với đường kính Φ = 1 cm, ở hệ dung môi *n*-hexane:chloroform 99:1 thu được hợp chất duy nhất, có dạng kết tinh hình kim, không màu, ký hiệu là

hợp chất **4**. Sắc ký lớp mỏng với thuốc hiện hình vanillin/H_2SO_4 10% trong ethanol, giải ly trong dung môi n-hexane: ethyl acetate 95:5 khi gia nhiệt lên cho vết màu vàng sau đó nhanh chóng chuyển thành màu xanh dương, giá trị R*f* = 0,67.

Phân đoạn H3 (7,2 g) sau khi được lưu trữ trong điều kiện lạnh ở 4°C thấy có xuất hiện kết tinh màu trắng. Kết tinh được thu lấy, làm sạch và kết tinh lại nhiều lần trong dung môi dichloromethane và chloroform. Cuối cùng tiến hành sắc ký cột hở Φ = 1 cm, hệ dung môi giải ly cột là chloroform thu được hợp chất **2** (35 mg) có màu trắng, dạng bột mịn. Kết quả sắc ký lớp mỏng có R_f= 0,54 khi giải ly trong hệ dung môi *n*-hexane: ethyl acetate 50:50 cho một vết màu xanh dương với thuốc hiện hình phosphomolydic acid/ethanol 70°.

Phần dịch sau khi thu lấy kết tinh ở phân đoạn H3 được tiến hành khảo sát sắc ký cột với đường kính cột Φ = 3,5 cm, dung môi rửa giải là *n*-hexane: ethyl acetate có độ phân cực tăng dần từ 100: 0 đến 0:100, thu được 5 phân đoạn tương ứng với H3.1-H3.5. Trong đó phân đoạn H3.2 (576 mg) được tiến hành sắc ký lớp mỏng thấy xuất hiện vết tròn xanh tím, rõ có lẫn một tạp nhỏ. Việc phân đoạn này được tiến hành sắc ký cột với đường kính cột Φ = 2 cm, hệ dung môi *n*-hexane: ethyl acetate với độ phân cực tăng dần từ 100:0 đến 0:100, thu được 4 phân đoạn. Ở đoạn H3.2.2 được rửa giải với hệ dung môi *n*-hexane: ethyl acetate 90:10, khối lượng 117 mg, cho kết quả sắc kí lớp mỏng cho một vết duy nhất, tròn, không còn lẫn tạp chất, màu xanh dương (R_f= 0,43 khi giải ly trong hệ dung môi *n*-hexane: ethyl acetate 80:20, thuốc hiện hình phosphomolydic acid/ethanol 70°) được ký hiệu là hợp chất **3** (dạng bột màu trắng).

Hợp chất **1** có dạng sáp, màu trắng đục. **ESI–MS(+)**: m/z = 535,3 $[M+H]^+$ ($C_{36}H_{70}O_2$). **FT–IR** (v_{max}, KBr, cm^{-1}): 2923 (–CH_3, –CH_2); 2855 (–CH); 1737 (>C=O); 1275 (–C–O). **^{1}H–NMR** (600 MHz, $CDCl_3$, *δ*, ppm, *J*/Hz): 5,33 (1H, *td*, *J* = 1,2 Hz; *J* = 7,2 Hz, H-2'); 4,59 (2H, *d*, *J* = 7,2 Hz, H-1'); 2,29 (2H, *t*, *J* = 7,8 Hz, H-2); 2,01–1,99 (2H, *m*, H-4'); 1,69 (3H, *s*, H-20'); 1,63–1,51 (2H, *m*, H-3); 1,40–1,04 (*m*, H-4 đến H-15, H-5' đến H-15'); 0,89–0,84 (15H, *m*, H-16, H-16', H-17', H-18', H-19'). **^{13}C–NMR** (150 MHz, $CDCl_3$, *δ*, ppm): 173,9 (C-1); 142,6 (C-3'); 118,2 (C-2'); 61,2 (C-1'); 39,9 (C-4'); 39,4 (C-14'); 37,4 (C-10'); 37,4 (C-8'); 37,3 (C-12'); 36,6 (C-6'); 34,4 (C-2); 32,8 (C-11'); 32,7 (C-7'); 31,9 (C-3); 29,5 (C-4); 29,2-29,7 (C-5 đến C-15); 28,0 (C-15'); 25,0 (C-5'); 24,8 (C-13'); 24,5 (C-9'); 22,7 (C-16'); 22,7 (C-20'); 19,8 (C-18'); 19,7 (C-19'); 16,4 (C-17'); 14,1 (C-16).

Hợp chất **2** có dạng bột, vô định hình, màu trắng. **ESI–MS(+)**: m/z= 443,4 $[M+H]^+$ ($C_{27}H_{54}O_4$). **FT–IR** (v_{max}, KBr, cm^{-1}): 3305 (–OH); 2917 (–CH_3, –CH_2); 2849 (–CH); 1730 (>C=O); 1201 (–C–O). **^{1}H–NMR** (600 MHz, $CDCl_3$, *δ*, ppm, *J*/Hz): 4,21 (1H, *dd*, *J* = 4,8 Hz, *J* = 12 Hz, H-1a), 4,15 (1H, *dd*, *J* = 6,0 Hz, *J* = 11,4 Hz, H-1b); 3,93 (1H, *brd*, *J* = 4,2 Hz, H-2); 3,71 (1H, *m*, H-3a); 3,60 (1H, *m*, H-3b); 2,35 (2H, *t*, *J* = 7,2 Hz, H-2'); 1,63 (2H, *brs*, H-3'); 1,30–1,25 (*m*, H-4' đến H-23'); 0,88 (3H, *t*, *J* = 6,6 Hz, H-24'). **^{13}C–NMR** (150 MHz, $CDCl_3$, *δ*, ppm): 174,4 (C-1'); 70,3 (C-2); 65,2 (C-1); 63,4 (C-3); 34,2 (C-2'); 31,9–29,1 (C-4' đến C-22'); 24,9 (C-3'); 22,7 (C-23'); 14,1 (C-24').

Hợp chất **3** có dạng bột, vô định hình, màu trắng. **HR–ESI–MS(-)**: m/z= 326,3615 M^-, m/z= 325,3151 $[M–H]^–$ ($C_{22}H_{46}O$). **FT–IR** (v_{max}, KBr, cm^{-1}): 3436 (–OH); 2919 (–CH_3, –CH_2); 2848 (–CH). **^{1}H–NMR** (600 MHz, $CDCl_3$, *δ*, ppm, *J*/Hz): 3,64 (2H, *t*, *J* = 6,6 Hz, H-1); 1,56 (*m*, H-2); 1,36–1,26 (*m*, H-3 đến H-21); 0,88 (3H, *t*, *J* = 7,2 Hz, H-22). **^{13}C–NMR** (150 MHz, $CDCl_3$, *δ*, ppm): 63,1 (C-1); 32,8 (C-3); 31,9–29,4 (từ C-4 đến C-21); 14,1 (C-22).

Hợp chất **4** có dạng tinh thể hình kim, không màu. **FT–IR** (v_{max}, KBr, cm^{-1}): 2939 (–CH_3, –CH_2); 1704 (>C=O); 1456 và 1380 (dao động biến dạng –CH_3, –CH_2). **^{1}H–NMR** (600 MHz, $CDCl_3$, *δ*, ppm, *J*/Hz): 4,70 (1H, *d*, *J* = 2,4 Hz, H-29b); 4,57 (1H, *m*, H-29a); 1,68 (3H, *s*, H-30); 1,07 (3H, *s*, H-24); 1,07 (3H, *s*, H-26); 1,02 (3H, *s*, H-23); 0,96 (3H, *s*, H-27); 0,93 (3H, *s*, H-25); 0,80 (3H, *s*, H-28). **^{13}C–NMR** (150 MHz, $CDCl_3$, *δ*, ppm): 218,1 (C-3); 150,8 (C-20); 109,4 (C-29); 54,9 (C-5); 49,8 (C-9); 48,2 (C-18); 48,0 (C-19); 47,3 (C-4); 43,0 (C-17, C-14); 40,8 (C-8); 40,0 (C-22); 39,6 (C-2); 38,1 (C-13); 36,9 (C-10); 35,5 (C-16); 34,1 (C-1); 33,6 (C-7); 29,8 (C-21); 27,4 (C-15); 26,7 (C-23); 25,2 (C-12); 21,5 (C-11); 21,0 (C-24); 19,7 (C-6); 19,3 (C-30); 18,0 (C-28); 16,0 (C-26); 15,8 (C-25); 14,5 (C-27).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các hợp chất được phân lập từ cao *n*-hexane của cây Nắp ấm hoa đôi bao gồm hai ester của acid béo (**1**), (**2**) và một hợp chất alcohol béo (**3**). Cấu trúc của các hợp chất này, được trình bày ở Hình 3, đã được làm sáng tỏ thông qua phương pháp phân tích

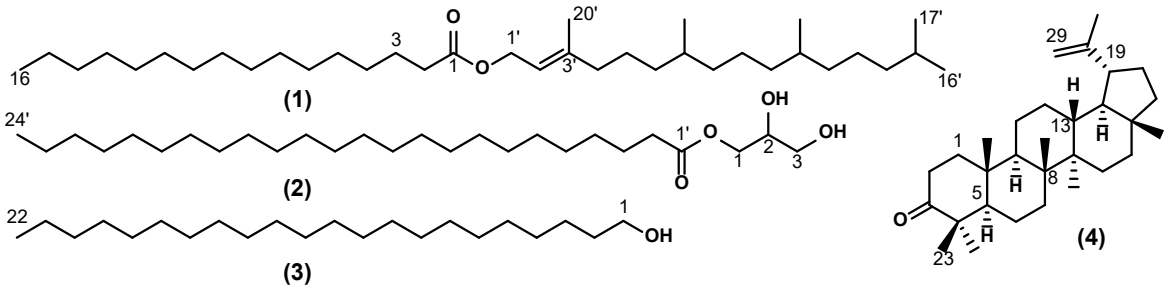
dữ liệu phổ 1D-NMR, IR, MS, kết hợp với việc so sánh dữ liệu phổ đã được báo cáo trước đó.

Phổ FT–IR (ν_{max}, KBr, cm^{-1}) của hợp chất **1** cho thấy vân dao động tại 2923 cm^{-1} và 2855 cm^{-1} là dao động hóa trị của nhóm $-CH_3$, $-CH_2$ và –CH. Vân dao động của nhóm carbonyl (>C=O) tại 1737 cm^{-1} và nhóm –C–O tại 1275 cm^{-1}. Bước đầu dự đoán được đây là phổ nghiệm của một ester. Dựa trên phổ khối lượng ESI–MS dự đoán công thức phân tử của hợp chất **1** là $C_{36}H_{70}O_2$ dựa trên đỉnh ion phân tử tại m/z 535,3 $[M+H]^+$. Phổ ^{1}H–NMR (600 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm, *J*/Hz) của hợp chất **1** cho thấy các tín hiệu đặc trưng của một terpenoid alcohol mạch hở. Các mũi tín hiệu *doublet* chồng chéo nhau tại vị trí δ_H 0,89 – 0,84 ppm (*m*) là tín hiệu của các nhóm methyl. Có một mũi *tripplet-doublet* tại δ_H 5,33 ppm (1H, *td*, *J* = 1,2 Hz; *J* = 7,2 Hz). Đây là tín hiệu của proton olefinic đang ghép cặp với một nhóm methylene và có ghép allylic (allylic coupling) với nhóm methyl kế cận, tương ứng với δ_C 118,2 ppm. Trong phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR, các tín hiệu chịu ảnh hưởng bởi liên kết allylic rất phổ biến, nhưng thường rất yếu và bị nhiễu trên phổ đồ do tạp chất (Ravichandiran et al., 2023; William & Timo, 2009). Tuy nhiên, tín hiệu mũi *tripplet–doublet* này rất rõ ràng ở hợp chất **1**. Mũi tín hiệu *doublet* tại vị trí ở δ_H 4,59 ppm (2H) tương ứng với δ_C 61,2 ppm là tín hiệu của proton methylene có liên kết trực tiếp với oxygen, đang ghép cặp với một proton olefinic có hằng số ghép cặp *J* = 7,2 Hz, đây nhóm methylene của allylic alcohol bậc một được ester hóa. Các tín hiệu trên hoàn toàn tương đồng với một nghiên cứu trước đây, cho thấy đây là các tín hiệu đặc trưng của hợp chất phytol bị ester hóa (Gianluca et al., 2011). Phổ ^{13}C–NMR của hợp chất **1** cho thấy, tại vị trí δ_C 173,9 ppm là tín hiệu của carbon nhóm carbonyl. Tại vị trí δ_C 142,6 ppm là tín hiệu của carbon olefinic bậc 4. Mũi tín hiệu *singlet* tại vị trí δ_H 1,69 ppm (3H) là tín hiệu đặc trưng của nhóm methyl có liên kết với nhóm vinyl. Các tín hiệu tại vị trí δ_H 1,39 – 1,04 ppm tương ứng với δ_C 29,7 – 29,2 ppm, có cường độ rất mạnh của các proton methylene chồng chéo lên nhau, đây là các tín hiệu đặc trưng của chuỗi alkyl mạch dài. Có thể thấy hợp chất **1** là một ester của chất béo mạch dài. Từ các dữ liệu phổ như FT-IR, NMR và ESI-MS và so sánh với dữ liệu phổ đã được công bố trước đó (Nguyen et al., 2019), dự đoán cấu trúc của hợp chất **1** là phytyl hexadecanoate. Đây là hợp chất lần đầu tiên được phân lập trên họ Nepenthaceae (họ Nắp ấm). Trong một nghiên cứu trước đây, phytyl hexadecanoate có khả năng ức chế dòng tế bào HCT-116 (tế bào ung thư đại trực tràng ở người) và dòng tế bào SF-295 (tế bào ung thư u nguyên bào thần kinh đệm ở người) (Damasceno et al., 2019).

Kết quả phân tích dữ liệu phổ FT–IR (ν_{max}, KBr, cm^{-1}) của hợp chất **2** nhận thấy vân dao động bầu của nhóm –OH tại vị trí 3305 cm^{-1}. Các tín hiệu còn lại tương tự như hợp chất **1**, tại vị trí 2917 cm^{-1} và 2849 cm^{-1} là dao động hóa trị của nhóm $-CH_3$, $-CH_2$ và –CH, vân dao động của nhóm carbonyl (>C=O) tại 1730 cm^{-1} và nhóm –C–O tại 1201 cm^{-1}. Bước đầu dự đoán được hợp chất **2** có nhóm chức ester và hydroxyl. Dựa trên đỉnh ion phân tử tại m/z 443,4 $[M+H]^+$ ở phổ khối lượng ESI–MS có thể dự đoán được công thức phân tử của hợp chất **2** là $C_{27}H_{50}O_4$. Phổ ^{1}H–NMR (600 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm, *J*/Hz) của hợp chất **2** cho thấy có một hệ thống ghép tương đối phức tạp bởi các proton oxymethylene của glycerol. Cụ thể, proton tại vị trí δ_H 4,21 (1H, *dd*, H-1a) với hằng số ghép là *J* = 4,8 Hz và *J* = 12 Hz đang ghép cặp với một proton nằm trên cùng một carbon tại vị trí δ_H 4,15 (1H, *dd*, *J* = 6,0 Hz, *J* = 11,4 Hz, H-1b) và ghép cặp với proton khác trên carbon kế cận. Proton tại vị trí δ_H 3,93 (1H, *brd*, *J* = 4,2 Hz, H-2) có dạng mũi *broaddoublet*, sự chẻ mũi tín hiệu không thực sự rõ ràng do xung quanh có nhiều proton không tương đương về từ. Proton tại vị trí δ_H 3,71 (1H, *m*, H-3a) và 3,60 (1H, *m*, H-3b) là hai proton nằm trên cùng một carbon, tương tự như trên, các tín hiệu cũng không chẻ mũi rõ. Năm proton này tương ứng với các carbon tại vị trí δ_C 65,18 ppm, 63,35 ppm và 70,3 ppm. Ngoài ra, còn có mũi tín hiệu proton tại δ_H 2,35 ppm (2H, *t*, *J* = 7,2 Hz) là của proton methylene kế cận nhóm carbonyl tương ứng với carbon tại vị trí δ_C 34,2 ppm. Tín hiệu proton methyl đầu mạnh tại δ_H 0,88 ppm (3H, *t*, *J* = 6,6 Hz) tương ứng với carbon tại vị trí δ_C 14,1 ppm. Tương tự hợp chất **1**, các tín hiệu proton tại δ_H 1,35 ppm đến δ_H 1,30 ppm bị chồng chéo lên nhau là tín hiệu thường thấy của của chuỗi alkyl mạch dài, các tín hiệu này tương ứng với carbon tại vị trí δ_C 31,9 ppm đến δ_C 29,1ppm. Nhận thấy hợp chất **2** là một ester của chất béo mạch dài với glycerol. Sau khi phân tích các dữ liệu phổ như FT-IR, NMR và ESI-MS và so sánh với dữ liệu phổ đã được công bố trước đó (Nasim et al., 1999), dự đoán cấu trúc của hợp chất **2** là glyceryl-1-tetracosanoate, hợp chất này lần đầu tiên được phân lập trên họ Nepenthaceae (họ Nắp ấm). Kết quả ở một nghiên cứu về hoạt tính sinh học của glyceryl-1-tetracosanoate cho thấy hợp chất này có khả năng kháng tế bào ung thư biểu mô gan, khả năng kháng viêm được biểu thị bằng sự ức chế NO và khả năng kháng oxy hóa chống lại các gốc tự do DPPH (Gamal-Eldeen et al., 2007).

Dữ liệu phổ FT–IR (ν_{max}, KBr, cm^{-1}) của hợp chất **3** nhận thấy các tín hiệu tương tự như hợp chất **1** và **2** nhưng thiếu đi một vài vân tín hiệu. Cụ thể, vân dao động bầu của nhóm –OH tại vị trí 3436 cm^{-1}, tại vị trí 2919 cm^{-1} và 2848 cm^{-1} là dao động hóa trị của nhóm $–CH_3$, $–CH_2$ và –CH. Bước đầu dự đoán được hợp chất **2** có nhóm alcohol. Dựa trên đỉnh ion phân tử tại m/z= 325,3151 $[M–H]^–$ và m/z= 326,3615 $[M]^–$ ở phổ khối lượng ESI–MS có thể dự đoán được công thức phân tử của hợp chất **2** là $C_{22}H_{46}O$. Phổ ^{1}H–NMR (600 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm, *J*/Hz) của hợp chất **3** cho thấy có mũi tín hiệu proton tại δ_H 3,64 ppm (2H, *t*, *J* = 6,6 Hz) là của proton methylene kế cận nhóm hydroxyl tương ứng với carbon tại vị trí δ_C 63,1 ppm. Giống với hợp chất **2**, tín hiệu proton methyl đầu mạnh tại δ_H 0,88 ppm (3H, *t*, *J* = 6,6 Hz) tương ứng với carbon tại vị trí δ_C 14,1 ppm. Các tín hiệu proton tại δ_H 1,36 ppm đến δ_H 1,26 ppm bị chồng chéo lên nhau, tương ứng với carbon tại vị trí δ_C 31,9 ppm đến δ_C 29,4 ppm, đây là tín hiệu thường thấy của của chuỗi alkyl mạch dài. Hợp chất **3** được nhận thấy là một alcohol béo mạch. Dựa trên kết quả phân tích các dữ liệu phổ như FT-IR, NMR và ESI-MS và so sánh với dữ liệu phổ đã được công bố trước đó (Sushama et al., 2008), cấu trúc của hợp chất **3** có thể được dự đoán là behenyl alcohol. Đáng chú ý, hợp chất này cũng là lần đầu tiên được phân lập trên họ *Nepenthaceae* (họ Nắp ấm). Kết quả được đưa ra từ một nghiên cứu đã chứng minh hoạt tính kháng virus của behenyl alcohol, cụ thể, các tế bào được xử lý bằng hợp chất này chống lại sự lây nhiễm của nhiều loại virus có vỏ lipid bao gồm cả virus herpes (Pope et al., 1998). Bên cạnh đó, kết quả một nghiên cứu khác cũng giúp chứng minh behenyl alcohol có khả năng giảm tăng sinh dòng tế bào CHO-K1 (tế bào buồng trứng của chuột đồng cái Trung Quốc trưởng thành) và CRL-1974™ (tế bào u hắc tố ở người) (Mauricio et al., 2015).

Phổ FT–IR (ν_{max}, KBr, cm^{-1}) của hợp chất **4** có dao động tại vị trí 2939 cm^{-1} là dao động hóa trị của $–CH_3$, $–CH_2–$, đồng thời, giao động biến dạng của nhóm này cũng xuất hiện tại vị trí 1456 cm^{-1}; 1380 cm^{-1}. Vân nhọn tại vị trí 1704 cm^{-1} là dao động của nhóm >C=O. Ở vùng từ trường cao phổ ^{1}H–NMR (600 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm, *J*/Hz) của hợp chất **4** có sự xuất hiện các tín hiệu phức tạp, chồng chéo nhau của nhóm hợp chất steroids hoặc triterpenoids. Ngoài ra, ở vùng này cũng hiện diện các tín hiệu *singlet* của các nhóm methyl tại vị trí δ_H 0,80 ppm (3H, *s*), δ_H 0,96 ppm (3H, *s*), δ_H 0,93 ppm (3H, *s*), δ_H 1,02 ppm (3H, *s*), 1,68 (3H, *s*), riêng vị trí δ_H 1,07 ppm (6H, *s*) có cường độ tín hiệu mạnh của hai nhóm methyl chồng chéo nhau. Các proton methyl này tương ứng với δ_C 26,7; δ_C 21,0; δ_C 15,8; δ_C 16,0; δ_C 14,5; δ_C 18,0 và δ_C 19,3 ppm. Tồn tại hai tín hiệu của proton olefinic đầu mạch tại vị trí δ_H 4,57 ppm (1H, *m*) và δ_H = 4,70 ppm (1H, *d*, J = 2,4 Hz) tương ứng với δ_C 150,8 ppm và δ_C 109,4 ppm. Tương tự hợp chất **1**, có hiện tượng ghép cặp allylic với nhóm methyl lân cận, tuy nhiên, mũi tín hiệu này thể hiện không rõ (mũi multiplet) giống như các nghiên cứu khác (Ravichandiran et al., 2023; William et al., 2009). Phổ ^{13}C–NMR (150 MHz, $CDCl_3$, δ, ppm) của hợp chất **4** còn thể hiện tín hiệu đặc trưng của một nhóm chức ketone tại vị trí δ_C 218,1 ppm. Từ dữ liệu phổ FT-IR và NMR cho thấy hợp chất **4** là một triterpene và cho kết quả trùng khớp khi được so sánh với dữ liệu phổ của lupenone trong nghiên cứu trước đó (Rao et al., 2011). Cấu trúc hợp chất **4** được dự đoán là lupenone. Hợp chất này có khả năng làm giảm các cytokine tiền viêm chẳng hạn như IL-6, TNF-α, đồng thời ức chế hoạt hóa NF-κB, TGF-β1/Smad/CTGF liên quan đến yếu tố tăng trưởng xơ hóa trong tế bào mô thận (Hongmei et al., 2023).



Hình 3. Cấu trúc các hợp chất phân lập được từ cây Nắp ấm hoa đôi

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này được thực hiện tập trung vào việc xác định thành phần hóa học của loài Nắp ấm hoa đôi (*Nepenthes mirabilis*) thuộc họ *Nepenthaceae* (họ Nắp ấm) sinh trưởng ở đảo Phú Quốc, tỉnh Kiên Giang, Việt Nam. Đây là một loài thực vật ít phổ biến, vùng phân bố hẹp và thành phần hóa học chịu tác động bởi nguồn dinh dưỡng từ động vật. Dựa vào các dữ liệu phổ nghiệm hiện đại như phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), phổ khối lượng (ESI–MS và HR–ESI–MS), phổ hồng ngoại (FT–IR) đã dự đoán được cấu các hợp chất hợp chất lần đầu tiên được phân lập trên họ *Nepenthaceae* (họ Nắp ấm) lần lượt là phytyl hexadecanoate (**1**), glyceryl-1-tetracosanoate (**2**), behenyl alcohol (**3**). Ngoài ra, việc phân lập và xác định được cấu trúc một hợp chất thuộc nhóm triterpenoids là lupenone (**4**) cũng đã được thực hiện. Kết quả nghiên cứu này không chỉ giúp bổ sung các nghiên cứu về các loài thực vật quý ở Việt Nam, đặc biệt là tại đảo Phú Quốc, mà còn là tiền đề trong việc khai thác và ứng dụng các hợp chất tự nhiên từ thực vật.

LỜI CẢM TẠ

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Cần Thơ, mã số: CTCS2024-01-01.

TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

Damasceno, L. M. O., Silva, A. L. N., Santos, R. F., Feitosa, T. A., Viana, L. G. F., Oliveira-Júnior, R. G., Silva, M. G., Rolim, L. A., Araújo, C. S., Araújo, E. C. C., Delange, D. M., Pessoa, C. Ó., Silva, M. F. S., Almeida, J. R. G. S., & Oliveira, A. P. (2019). Cytotoxic Activity of Chemical Constituents and Essential Oil from the Leaves of *Leonotis nepetifolia* (Lamiaceae). *Revista Virtual de Química*, *11*(2), 517-528. http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20190039

Damien, S., Bertrand, L., Stéphan, C., Pablo, M., Boris, M., Geneviève, G., Yonghua, L. B., Reinhard, J., Gilles, P., & Fred, B. (2016). Microalgae Synthesize Hydrocarbons from Long-Chain Fatty Acids via a Light-Dependent Pathway. *Plant Physiolog*y, *171*(4), 2393–2405. https://doi.org/10.1104/pp.16.00462

Do, X. T., Nguyen, H. N., Phung, T. V., & Tran, Q. V. (2011). Isolation of two purified compounds from mangosteen fruit peel (*Garcinia Mangostana L.)* and bioactivity evaluation. *Can Tho University Journal of Science*, 18a, 153-160 *(in Vietnamese).*

Gamal-Eldeen, A. M., Djemgou, P. C., Tchuendem, M., Ngadjui, B. T., Tane, P., & Toshifumi, H. (2007). Anti-cancer and immunostimulatory activity of chromones and other constituents from *Cassia petersiana*. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C, Journal of Biosciences*, *62*(5-6), 331-8. https://doi.org/10.1515/znc-2007-5-622

Gianandrea, S., Manuela, R., Elena, G., & Stanislav, G. (2024). Mechanoecology: biomechanical aspects of insect-plant interactions. *Journal of Comparative Physiology A*, *210*, 249–265. https://doi.org/10.1007/s00359-024-01698-2

Gianluca, G., Solveig, T., Giorgio, M., Maria, E. M., Ximena, C. & Giovanni, V. (2011). Lipophilic Components from the Ecuadorian Plant *Schistocarpha eupatorioides*. *Natural Product Communications*, *6*(6)*,* 767-772. https://doi.org/10.1177/1934578x1100600606

Hongmei, W., Feng, X., Xulong, H., Xiaofen, Li., Piao, Y., Lingling, Z., Xiaosong, Y., Juan, K., Cheng, Z., & Xiangpei, W. (2023). Lupenone improves type 2 diabetic nephropathy by regulating NF-κB pathway-mediated inflammation and TGF-β1/Smad/CTGF-associated fibrosis. *Phytomedicine*, *118*, 1-10. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154959.

Huynh, Y. K., Nguyen, T. T., Nguyen, T. Q. C., & Tran, M. T. (2023). Chemical composition of *Syzygium jambos (L.)*, (Myrtaceae). *Can Tho University Journal of Science*, *59*(5), 88-92 *(in Vietnamese).* https://doi.org/10.22144/ctujos.2023.192

Luna-Samano, M. R., Martínez-Peralta, C., Trejo-Loyo, A. G., & Alcalá, E. R. (2024). Ecological interactions of carnivorous plants: beyond the relationship with their prey. *Arthropod-Plant Interactions*, *18*, 193–204. https://doi.org/10.1007/s11829-024-10039-8

Mauricio, V., Araceli, O., & Claudia, A. (2015). Antiproliferative evaluation of tall-oil docosanol and tetracosanol over CHO-K1 and human melanoma cells. *Electronic Journal of Biotechnology*, *18*(4), 291-294. https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2015.05.004

Ministry of Health. (2017). *Vietnamese Pharmacopoeia V* (Number 3453/QĐ-BYT) (*in Vietnamese*).

Nasim, S., James, A. A., & Peter, G. W. (1999). Benzopyran derivatives from the aerial parts of *Eriostemon rhomboideus*. *Phytochemistry*, *52*, 895-900. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00338-6

Nguyen, T. V., Nguyen, T. P., Tran, H. P. T. T., Lee, S. H., Jang, H. D., Nguyen, C. X., Nguyen, N. H., Phan, K. V., Kim, Y. H., & Chau, M. V. (2015a). Naphthoquinone and flavonoid

constituents from the carnivorous plant *Nepenthes mirabilis* and their anti-osteoporotic and antioxidant activities. *Phytochemistry Letters, 11*, 254-259. https://doi.org/10.1016/j.phytol.2015.01.009

Nguyen, T. V., Nguyen, T. P., Le, D. D., Phan, H. T., Lee, S. H., Jang, H. D., Nguyen, C. X., Nguyen, N. H., Phan, K. V., Chau, M. V., & Kim, Y. H. (2015b). Two new naphthalene glucosides and other bioactive compounds from the carnivorous plant *Nepenthes mirabilis*. *Arch Pharm Res*, *38*(10),1774-82. https://doi.org/10.1007/s12272-015-0576-9

Nguyen, T. T., Mai, H. V., Nguyen, V. A., Doan, C. T. N., Nguyen, L. T., Le, B. T., & Nguyen, T. Q. C. (2017). Chemical composition and antioxidant activity of *Vernonia cinerea* (L.) less, (Asteaceae). *Can Tho University Journal of Science*, (49), 104-109 *(in Vietnamese).* https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2017.014

Nguyen, H. T. M., Tran, G. H., Le, Thanh. N., Dang, H. D., Ngo, T. T. H., & Chau, M. V. (2019). Chemical constituents of microalgae *Tetraselmis convolutae*. *Chemistry of Natural Compounds*, *55*(5)*,* 797-801. http://dx.doi.org/10.1007/s10600-019-02817-1

Nguyen, D. T. (2022). Exploring the diversity of leaf beetles (coleoptera: chrysomelidae) on the islands of Vietnam: a survey of Phu Quoc Island, South of Vietnam. *International Journal of Tropical Insect Science*, *42*, 3525–3539. http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-1668461/v1

Phan, T. N., Tran, L. T. T., Jung, E. K., Sohyun, K., Young, S. K., Nguyen, T. V., Nguyen, C. X., Nguyen, N. H., Phan, K. V., Chau, M. V., & Kim, Y. H. (2015). *In vitro* anti-inflammatory components isolated from the carnivorous plant *Nepenthes mirabilis* (Lour.) *Rafarin*. *Pharmaceutical Biology*, *54*(4), 588-594. https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1067234

Pope, L. E., Marcelletti, J. F., Katz, L. R., Lin, J. Y., Katz, D. H., Parish, M. L., & Spear, P. G. (1998). The anti-herpes simplex virus activity of n-docosanol includes inhibition of the viral entry process. *Antiviral Research*, *40*(1-2), 85-94. https://doi.org/10.1016/S0166-3542(98)00048-5

Rao, G. V., Annamalai, T., & Mukhopadhyay, T. (2011). Chemical examination and biological studies on the bark of *Crataeva nurvala* Buch.-Ham. *Pharmacognosy Journal*, *3*(20)*,* 1-4. http://dx.doi.org/10.5530/pj.2011.20.1

Ravichandiran, V., & Anupam, J. (2023). Recent development of allyl–allyl cross-coupling and its application in natural product synthesis. *Organic Chemistry Frontiers*, *10*, 267-281. https://doi.org/10.1039/D2QO01078J

Rodríguez-González, I., Díaz-Reinoso, B., & Domínguez, H. (2022). Intensification strategies for the extraction of Polyunsaturated fatty acids and other Lipophilic fractions from Seaweeds. *Food and Bioprocess Technology*, *15*, 978–997. http://dx.doi.org/10.1007/s11947-021-02757-1

Rutger, S. H., & John, C. S. (2000). Biosynthesis and Elongation of Short- and Medium-Chain-Length Fatty Acids. *Plant Physiology*, *122*(1)*,* 275–282. https://doi.org/10.1104/pp.122.1.275

Singh, B., & Schulze, D. G. (2015). Soil Minerals and Plant Nutrition. *Nature Education Knowledge*, *6*(1), 1-10.

Sushama, K., Madhavi, D., Usha, P., Sujata, B., & Nirmala, D. (2008). Isolation of Straight Chain Alcohol and Ester from *Sterculia guttata*. *Asian Journal of Chemistry*, *20*(1)*,* 308-312.

Taub, D. (2010). Effects of Rising Atmospheric Concentrations of Carbon Dioxide on Plants. *Nature Education Knowledge, 3*(10), 21.

Tran, L. P., & Phan, V. T. (2024). Investigate the chemical composition of coconut roots (*Cocos Nucifera L.*). *Can Tho University Journal of Science, 60*(1), 71-77. *(in Vietnamese).* https://doi.org/10.22144/ctujos.2023.229

William, F. B., & Timo, V. O. (2009). Allylic Proton-Proton Coupling in Stereodefined Alkylidenecyclobutanes and Alkylidenecycopentanes. *Journal of the Mexican Chemical Society*, *53*(3). https://doi.org/10.29356/jmcs.v53i3.996