

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC PHÂN ĐOẠN *N*-HEXANE CỦA LOÀI *Conamomum rubidum* Lamxay & N.S.Lý TẠI LÂM ĐỒNG, VIỆT NAM

Hoàng Thị Như Hạnh*, Lê Thu Hà, Đinh Thị Thu Thanh

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

*Tác giả liên hệ: hoangthinhuhanh@huaf.edu.vn

Nhận bài: 20/02/2023 Hoàn thành phản biện: 11/04/2023 Chấp nhận bài: 13/04/2023

TÓM TẮT

Conamomum rubidum là một loài thực vật thuộc chi *Conamomum*, họ Gừng. Do tính mới mẻ, đặc thù và vùng phân bố hẹp nên các nghiên cứu về hóa thực vật của chi *Conamomum* nói chung cũng như của loài *Conamomum rubidum* nói riêng vẫn còn rất sơ khai. Nhằm tiên phong trong nghiên cứu, xây dựng cơ sở dữ liệu hóa thực vật của chi *Conamomum*, bài báo này công bố quá trình chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc của năm hợp chất gồm ba steroid, (22*E*, 24*R*)-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one, *beta*-sitosterol, stigmast-4-ene-3-one cùng hai hợp chất khác là 1-tetratriacontanol và palmitic acid từ dịch chiết *n*-hexane của loài *Conamomum rubidum* thu hái tại Lâm Đồng, Việt Nam. Các hợp chất được phân lập bằng cách kết hợp giữa sắc ký cột và sắc ký bản mỏng trên các loại pha tĩnh khác nhau. Cấu trúc hóa học của các hợp chất được thiết lập bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều, hai chiều, chuyển hóa hóa học, sắc ký khí ghép nối khối phổ và so sánh với các tài liệu tham khảo. Những kết quả của bài báo sẽ là tiền đề tốt cho các nghiên cứu tiếp theo về hóa thực vật của loài *Conamomum rubidum*, từ đó góp phần làm phong phú thêm kho tàng dữ liệu về cây thuốc của nước ta.
Từ khóa: *Conamomum rubidum*, *Beta*-sitosterol, (22*E*, 24*R*)-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one, Stigmast-4-ene-3-one, Steroid

INITIAL STUDY ON CHEMICAL CONSTITUENTS OF *Conamomum rubidum* COLLECTED FROM LAM DONG PROVINCE, VIET NAM

Hoang Thi Nhu Hanh*, Le Thu Ha, Dinh Thi Thu Thanh

University of Agriculture and Forestry, Hue University

ABSTRACT

Conamomum rubidum is a species of *Conamomum* genus, Zingiberaceae family. Due to the novelty, specificity and narrow distribution area, the knowledge about phytochemistry of *Conamomum* genus and *Conamomum rubidum* are rather poor. Thus, the efficient investigation process required. In this study, five compounds including three steroids, (22*E*, 24*R*)-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one, *beta*-sitosterol, stigmast-4-ene-3-one together with 1-tetratriacontanol and palmitic acid were isolated from *n*-hexane extract of the whole plant of *Conamomum rubidum* collected from Lam Dong Province, Viet Nam. The compounds were isolated and purified by column chromatography and thin layer chromatography. Their structures were determined by a combination of spectroscopic analyses, including 1D- and 2D-NMR, chemical transformation, GC-MS and by comparison with the reported data in the literature. This result will be a good premise for further studies on the phytochemistry of *Conamomum rubidum*, thereby contributing to enrich the data on medicinal plants of our country.

Keywords: *Conamomum rubidum*, *Beta*-sitosterol, (22*E*, 24*R*)-ergosta-4,6,8(14), 22-tetraen-3-one, Stigmast-4-ene-3-one, Steroid

1. MỞ ĐẦU

Chi *Conamomum* là một chi nhỏ thuộc họ Gừng (Zingiberaceae), phân bố từ Đông Dương đến bán đảo Mã Lai, Singapore, Borneo, Sumatra. Về mặt thực vật học, chi này có quan hệ rất gần gũi với chi Sa nhân (*Amomum*). Thực tế, một số loài thuộc chi *Conamomum* như *C. rubidum*, *C. utriculosum* được xếp vào chi *Amomum* trong thời gian dài. Tính đến nay có 12 loài *Conamomum* được phát hiện trên thế giới. Trong số đó, 4 loài *Conamomum* gồm *C. rubidum*, *C. odorum*, *C. pierreanum*, *C. vietnamense* đã được ghi nhận ở nước ta (De Boer và cs., 2018, Lamxay và cs., 2012, Ngọc Anh và cs., 2021, Truong và cs., 2019, Ly và cs., 2022). Do tính mới mẻ, đặc thù và vùng phân bố hẹp của chi *Conamomum* nên các nghiên cứu về hóa thực vật và hoạt tính sinh học của chi này còn rất sơ khai. Hiện nay, chỉ một số ít nghiên cứu về hoạt tính sinh học của dịch chiết và thành phần hóa học của tinh dầu *Conamomum* được ghi nhận trên thế giới. Cụ thể, trong thử nghiệm bẫy gốc superoxide (O_2^-) sử dụng mô hình xanthine (XA)-xanthine oxidase (XOD), *C. utriculosum* thể hiện tác dụng ức chế yếu (<30%) ở nồng độ 500 mg/ml (Jiwajinda và cs., 2002). Một nghiên cứu khác được tiến hành năm 2017 cho thấy dịch chiết ethanol của *C. xanthophlebium* (syn: *A. xanthophlebium*) có tác dụng kháng viêm *in vivo* trên mô hình gây phù bàn chân chuột bằng carrageenan (Paramita và cs., 2017). Gần đây, thành phần hóa học tinh dầu thân rễ *C. cylindrostachys* và *C. xanthophlebium* đã được nghiên cứu bởi các nhà khoa học Malaysia. Cả hai loại tinh dầu đều chứa thành phần chính là monoterpene hydrocarbon (42,19% đối với *C. cylindrostachys* và 35,71% đối với *C. xanthophlebium*) (Salasiah và cs., 2022).

Nhằm tiên phong trong việc nghiên cứu, xây dựng cơ sở dữ liệu hóa thực vật của chi *Conamomum*, bài báo này thông báo các kết quả lần đầu tiên về chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 5 hợp chất bao gồm (22*E*, 24*R*)-ergosta-4,6,8(14),22-

tetraen-3-one (1), *beta*-sitosterol (2), stigmast-4-ene-3-one (3), 1-triacontanol (4) và tetracosanoic acid (5) từ dịch chiết *n*-hexane của loài *C. rubidum*.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Phần trên mặt đất của loài *C. rubidum* Lamxay & N.S.Lý được thu hái tại tỉnh Lâm Đồng vào tháng 8 năm 2022. Tên khoa học được giám định bởi TS. Lê Tuấn Anh, Viện Khoa học và Công nghệ miền Trung, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tách chiết

Chiết xuất cao toàn phần được thực hiện theo phương pháp ngâm chiết ở nhiệt độ phòng với methanol công nghiệp. Chiết xuất phân đoạn bằng các phương pháp chiết phân bố lỏng - lỏng, rắn - lỏng, sử dụng các dung môi hữu cơ có độ phân cực tăng dần: *n*-hexane, ethyl acetate, nước.

Phân lập các chất tinh khiết bằng cách kết hợp giữa sắc ký cột và sắc ký bản mỏng. Sắc ký bản mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F₂₅₄ và RP₁₈ F₂₅₄ (Merck). Các chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại có bước sóng 254 nm hoặc dùng thuốc thử H₂SO₄ 10% phun đều lên bản mỏng rồi sấy ở nhiệt độ cao trong vài phút cho đến khi hiện màu. Sắc ký cột được thực hiện trên chất hấp phụ pha thường (silica gel 240-430 mesh, Merck) hoặc pha đảo (ODS-60-14/63, Fujisilisa). Sắc ký trao đổi ion được thực hiện trên diaion HP-20 (Mitsubishi Chem. Co.). Sắc ký lọc gel được tiến hành trên sephadex LH-20 (Dowex[®] 50WX2-100, Sigma-Aldrich).

Phương pháp phổ

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (¹H, ¹³C, HSQC) được ghi trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer (Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) với TMS là chất chuẩn nội.

Phân lập các hợp chất

Bột dược liệu khô (2,0 kg) được ngâm chiết bằng MeOH (10 lít x 3 lần), ở nhiệt độ phòng, cất loại dung môi dưới áp suất thấp thu được cao chiết MeOH (130 g). Cao chiết này được hòa vào nước rồi lần lượt chiết với *n*-hexane, ethyl acetate (EtOAc). Cất loại dung môi dưới áp suất thấp thu được các cao chiết tương ứng là *n*-hexane (CRH, 24,7 g), EtOAc (CRE, 71,0 g) và nước (CRW, 22,5 g).

Cao chiết CRH được tách thô thành 6 phân đoạn CRH1–CRH6, bằng cột silica gel, rửa giải gradient bằng hệ dung môi *n*-hexane–ethyl acetate (100:0→0:100, v/v) và sau cùng bằng MeOH. Trong đó, các phân đoạn CRH3, CRH4 và CRH5 lần lượt xuất hiện kết tủa. Kết tủa từ phân đoạn CRH3 được rửa và kết tinh lại trong acetone thu được hợp chất 4 (9 mg). Phân đoạn CRH3 (1,1 g) sau đó được tách tiếp bằng cột pha thường với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane–acetone 30/1 thu được 4 phân đoạn, CRH3A–CRH3D. Phân đoạn CRH3B (193,5 mg) được tách thành 5 phân đoạn nhỏ, CRH3A1–CRH3A5 bằng cột RP-18 với hệ dung môi acetone–methanol–nước 1,5:1:0,1 (v/v/v). Phân đoạn CRH3A3 (9,3 mg) tiếp tục được tinh chế bằng cột sephadex rửa giải bằng 100% MeOH thu được hợp chất 1 (5,6 mg).

Phân đoạn CRH3A (448,6 mg) được đưa lên cột sephadex, rửa giải bằng 100% MeOH thu được 4 phân đoạn ký hiệu là CRH3A1–CRH3A4. Phân đoạn CRH3A2 (95,4 mg) được tách trên cột pha đảo với hệ dung môi rửa giải acetone – nước 10:1 (v/v) thu được 3 phân đoạn nhỏ hơn CRH3A2.1 – CRH3A2.3. Phân đoạn CRH3A2.2 (32,2 mg) sau đó được tinh chế tiếp bằng cột sephadex 100% MeOH thu được kết tủa dạng bột màu trắng. Kết tủa này được tinh

chế bằng cách kết tinh lại trong MeOH thu được hợp chất 3 (10 mg).

Kết tủa từ phân đoạn CRH4 được rửa và kết tinh lại trong MeOH thu được hợp chất 2 (70 mg).

Kết tủa từ phân đoạn CRH5 được rửa và kết tinh lại trong acetone thu được hợp chất 5 (8,2 mg).

Phương pháp tạo dẫn xuất bay hơi

Các hợp chất 4, 5 (1 mg/mỗi chất) được hòa tan trong 0,2 mL CH₂Cl₂. Sau đó bổ sung thêm lần lượt 1,5 mL MeOH, 0,3 mL HCl 8% (pha trong MeOH). Hỗn hợp được ủ qua đêm ở 45°C. Sau khi làm lạnh đến nhiệt độ phòng, thêm 1 mL *n*-hexane và 1 mL nước để chiết lấy dẫn xuất bay hơi tạo thành. Dẫn xuất bay hơi sau đó được phân tích bằng phương pháp GC-MS.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất 1 được tách ở dạng bột màu vàng, tan tốt trong chloroform. Phổ ¹H-NMR (Hình 1, 2) của 1 chỉ ra tín hiệu của 5 proton olefin tại δ_H 6,61, 6,03, 5,73, 5,21, 5,25. Trong đó, tín hiệu tại δ_H 5,21, 5,25 thuộc về 2 proton của liên kết đôi có cấu hình (*E*) dựa vào giá trị hằng số tương tác *J* = 15,0 Hz. Ở vùng trường cao, tín hiệu của 6 nhóm methyl xuất hiện tại δ_H 0,83, 0,85, 0,93, 0,96, 1,00, 1,06. Tín hiệu của các proton còn lại chồng chập nhau trong khoảng δ_H 1,2–2,6. Phổ ¹³C-NMR (Hình 3, 4) chỉ ra tín hiệu của 28 nguyên tử carbon trong đó có một số tín hiệu đặc trưng như tín hiệu của nhóm carbonyl tại δ_C 199,5 (C-3); tín hiệu của 8 carbon olefin tại δ_C 123,0 (C-4), 124,5 (C-6, C-8), 132,6 (C-23), 134,0 (C-7), 135,0 (C-22), 156,1 (C-14) và 164,4 (C-5). Ngoài ra, ở vùng trường cao tín hiệu của 19 C_{sp3} cũng được ghi nhận trong khoảng δ_C 16,7–55,8. Các dữ kiện phổ ¹H-, ¹³C-NMR gợi ý hợp chất 1 là một steroid khung ergostane.

Bảng 1. Số liệu phổ NMR của các hợp chất 1-3 và chất tham khảo

Vị trí	1			2			3		
	δ_C^s	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)	δ_C^z	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)	δ_C^*	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (J, Hz)
1	34,1	34,1	1,80 m 2,02 ddd (2,3, 5,5, 13,3)	37,39	37,3		35,92	35,7	2,04 (m); 1,70 (m)
2	34,1	34,2	2,48 m 2,53 m	32,05	31,9		34,19	34,0	2,40 (m); 2,32 (m)
3	199,5	199,5	-	71,93	71,8	3,52 (m)	199,80	199,6	-
4	123,0	123,0	5,73 s	42,42	42,4	2,28 (dd, 1,8; 4,8) 2,30 (dd, 2,4; 4,8)	123,96	123,8	5,72 (s)
5	164,5	164,4	-	140,87	140,8	-	171,84	171,6	-
6	124,5	124,5	6,03 d (9,6)	121,85	121,7	5,35 (t, 2,4)	32,63	32,1	1,84 (m); 1,02 (m)
7	134,0	134,0	6,61 d (9,6)	31,78	31,7		29,90	29,2	1,69 (2H, m)
8	124,4	124,5	-	32,05	31,9		35,86	35,7	1,51 (m)
9	44,3	44,4	2,13 m	50,28	50,2		54,05	53,8	0,91 (m)
10	36,7	36,8	-	36,64	36,5	-	39,05	38,6	-
11	19,0	19,0	1,61 m 1,71 m	21,22	21,1		21,25	21,1	1,51 (m); 1,42 (m)
12	35,6	35,6	1,30 m 2,08 ddd (3,5, 3,5, 12,5)	39,91	39,8		39,86	39,6	2,02 (m); 1,17 (m)
13	44,0	44,0	-	42,46	42,4	-	42,62	42,4	-
14	156,1	156,1	-	56,90	56,8		56,11	55,9	1,01 (m)
15	25,3	25,4	2,38 m 2,48 m	24,51	24,3		24,40	24,2	1,61 (m); 1,11 (m)
16	27,7	27,7	1,50 m 1,82 m	28,39	28,2		33,16	33,0	2,37 (m); 2,26 (m)
17	55,7	55,8	1,25 m	56,18	56,1		56,25	56,0	1,15 (m)
18	18,9	19,0	0,96 s	12,00	12,0	0,68 (s)	12,16	12,0	0,71 (s)
19	16,6	16,7	1,00 s	19,18	19,4	1,02 (s)	17,60	17,4	1,18 (s)
20	39,3	39,3	2,15 m	36,30	36,2		36,33	36,1	1,36 (m)
21			1,06 d (7,0)	18,92	18,8	0,92 (d, 6,6)	18,91	19,0	0,92 (d, 6,6)
22	21,2 135,0 132,5	21,2 135,0 132,6	5,21 dd (7,8, 15,6)	34,07	34,0		34,12	33,9	1,33(m); 1,01 (m)
23			5,26 dd (7,8, 15,6)	26,20	26,2		26,35	26,1	1,18 (2H, m)
24	42,9	42,9	1,87 m	45,96	45,9		46,08	45,9	0,92 (m)
25	33,1	33,1	1,49 m	29,27	29,2		28,40	28,2	1,86 (m); 1,27 (m)
26	20,0	20,0	0,83 d (7,0)	21,36	21,1	0,84 (d, 6,6)	20,01	19,8	0,83 (d, 6,6)
27	19,6	19,7	0,85 d (6,5)	19,13	19,1	0,83 (d, 6,6)	19,25	18,8	0,81 (d, 6,6)
28	17,6	17,7	0,93 d (7,0)	23,20	23,1		23,30	23,1	1,55 (m); 1,42 (m)
29	-	-	-	12,19	11,9	0,85 (t, 7,0)	12,18	12,0	0,83 (d, 6,6)

^aĐo trong $CDCl_3$, ^b150MHz, ^c600MHz, δ_C^S của ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one, δ_C^Z của β -sitosterol và δ_C^* của stigmast-4-ene-3-one từ các nghiên cứu đã công bố trước đó (Quang và Bach, 2008, Erwin và cs., 2020, Barla và cs., 2006)

Các dữ kiện phổ của **1** (Bảng 1) hoàn toàn phù hợp các giá trị tương ứng của hợp chất ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one được phân lập từ loài *Xylaria sp.* trước đó (Quang và Bach, 2008). Cấu hình tuyệt đối

tại C-24 (δ_C 42,9) được xác định bằng cách phân tích sự khác biệt tín hiệu methyl của mạch nhánh (H-21, 26, 27, 28) của hai cấu hình 24R, 24S (Bảng 2) (Masaru và cs., 1992).

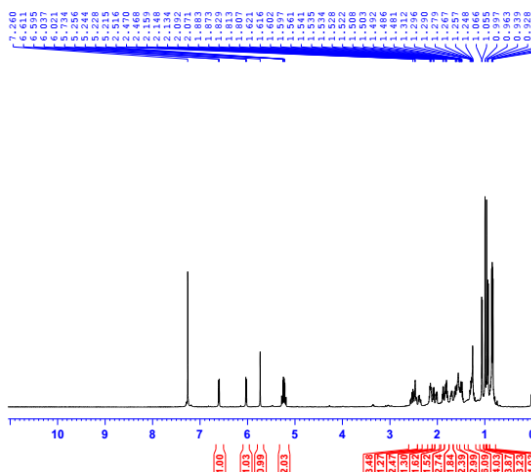
Bảng 2. Độ chuyển dịch hoá học của các tín hiệu methyl của mạch nhánh

δ_H	24S [#]	24R [*]	(4)	$\Delta\delta^{S-R}$	$\Delta\delta^{S-(4)}$	$\Delta\delta^{R-(4)}$
21	1,051	1,060	1,061	-0,009	-0,010	-0,001
26	0,838	0,833	0,834	+0,005	+0,004	-0,001
27	0,852	0,849	0,851	+0,003	+0,001	-0,002
28	0,927	0,935	0,934	-0,008	-0,007	+0,001

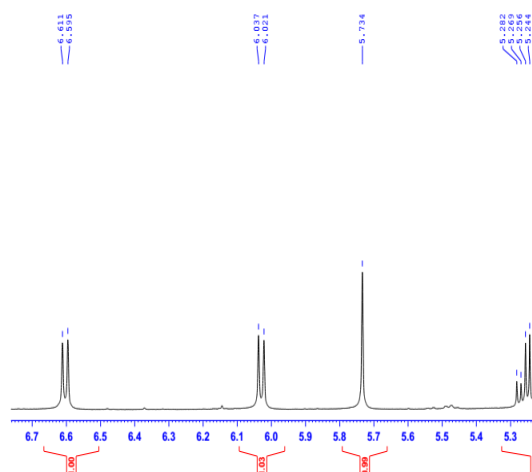
[#], ^{*} δ_H của 24S và 24R-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one (Masaru và cs., 1992)

Ta thấy, $\Delta\delta^{S-R} \approx \Delta\delta^{S-(4)}$ trong khi $\Delta\delta^{R-(4)} \approx 0,000$ chứng tỏ hợp chất (1) có cấu hình 24(R). Vậy hợp chất (1) được xác định là (22E, 24R)-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one (Hình 5). Hợp chất này được phân lập lần đầu tiên từ loài bọt biển *Dysidea herbacea* bởi các nhà khoa học Nhật Bản (Kjobayashi và cs., 1992). Đây là thông báo

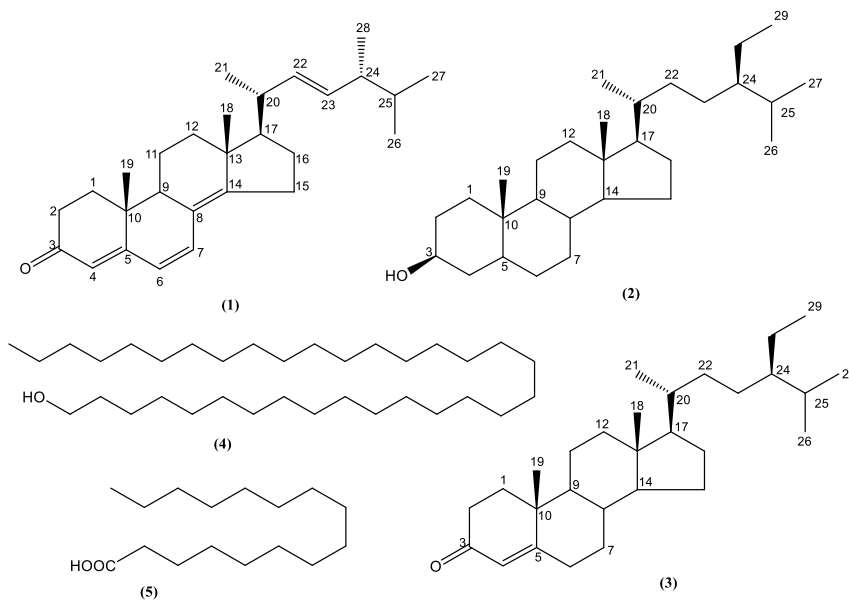
đầu tiên về việc phân lập và xác định cấu trúc hóa học của nó từ một loài thuộc chi *Conamomum*. Các nghiên cứu trước đây cho thấy (22E,24R)-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one có khả năng ức chế mạnh đối với sự tạo thành NO trong tế bào RAW 264.7 (Quang và Bach, 2008) và sự giải phóng anion superoxide (O_2^-) (Thang và cs., 2013).



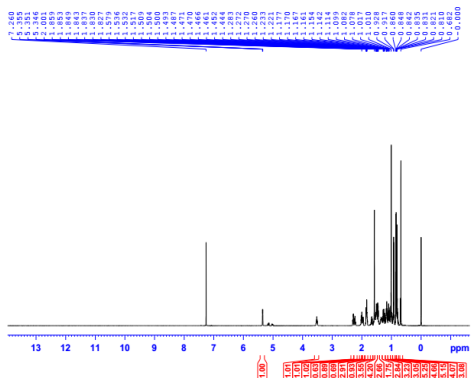
Hình 1. Phổ 1H -NMR của **1** trong $CDCl_3$



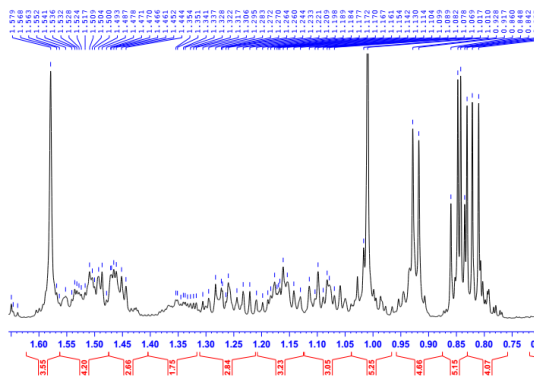
Hình 2. Phổ 1H -NMR giãn của **1** trong $CDCl_3$



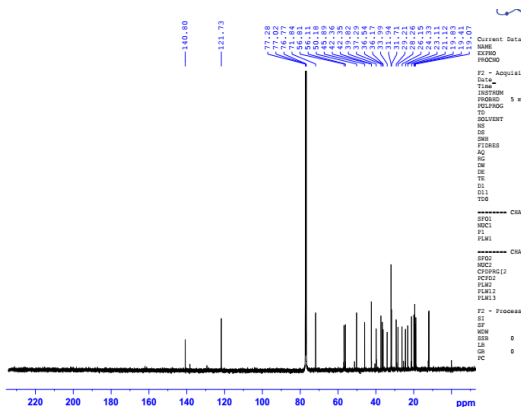
Hình 5. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ phân đoạn *n*-hexane của loài *C. rubidum*



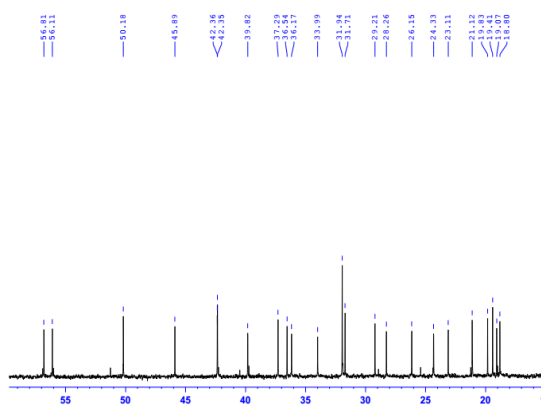
Hình 6. Phổ ¹H-NMR của (2) trong CDCl₃



Hình 7. Phổ ¹H-NMR giãn của (2) trong CDCl₃



Hình 8. Phổ ¹³C-NMR của (2) trong CDCl₃

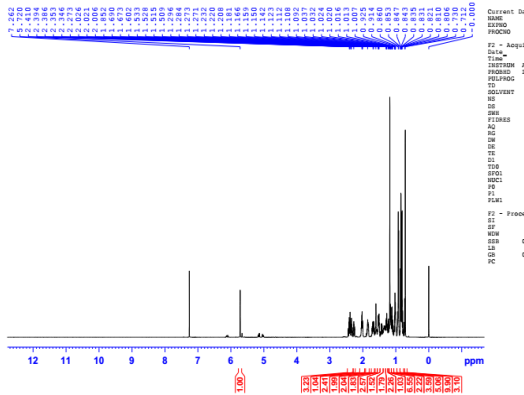


Hình 9. Phổ ¹³C-NMR giãn của (2) trong CDCl₃

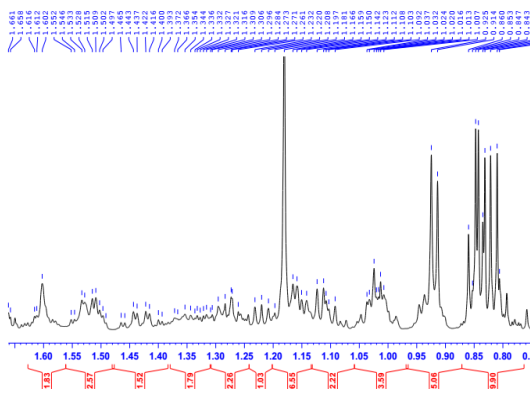
Hợp chất 3 được phân lập dưới dạng bột màu trắng, tan tốt trong CHCl₃. Phổ ¹H-NMR (Hình 10, 11) của 3 chỉ ra tín hiệu đặc trưng của 1 proton olefin tại δ_H 5,72 (s, H-4), 2 nhóm methyl bậc bốn [δ_H 0,71 (s), 1,18 (s)], 2 nhóm methyl bậc ba [0,92 (d, *J* = 6,6 Hz), 0,81 (d, *J* = 6,6 Hz)] và các nhóm methyl chông chập (δ_H 0,80-0,85) cũng được ghi nhận. Phổ ¹³C-NMR (Hình 12, 13) và HSQC (Hình 14, 15) chỉ ra tín hiệu của 29 nguyên tử carbon gồm 6 nhóm methyl (δ_C 19,8, 18,8, 19,0, 17,4, 12,0, 12,0), 11

nhóm methylene (δ_C 39,6, 35,7, 34,0, 33,9, 32,1, 33,0, 29,2, 26,1, 24,2, 23,1, 21,1), 8 nhóm methine (δ_{Csp²} 123,8; δ_{Csp³} 35,7, 53,8, 55,9, 56,0, 36,1, 45,9, 28,2) và 4 carbon không liên kết với hydrogen (δ_{Csp²} 171,6, 199,6 (C=O); δ_{Csp³} 42,2, 38,6).

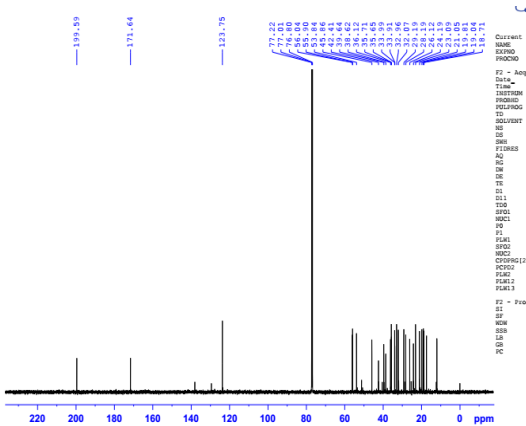
Các dữ kiện phổ trên gợi ý, hợp chất 3 là stigmast-4-ene-3-one (Hình 5). Các dữ kiện phổ NMR của 3 (Bảng 1) phù hợp với hợp chất tương ứng trong tài liệu (Barla và cs., 2006).



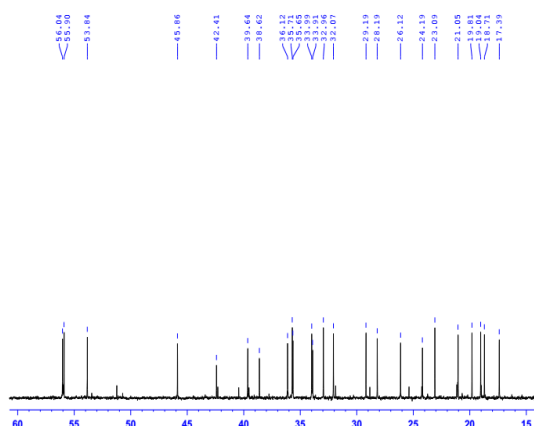
Hình 10. Phổ ¹H-NMR của (3) trong CDCl₃



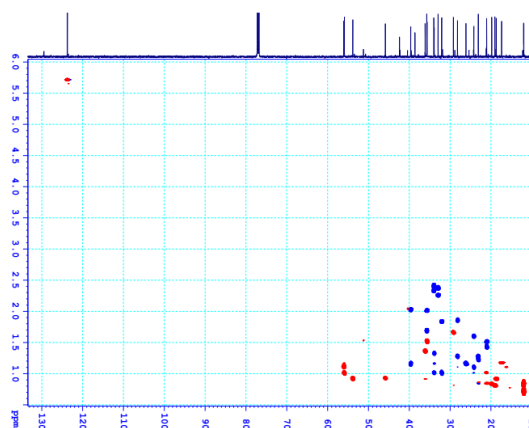
Hình 11. Phổ ¹H-NMR giãn của (3) trong CDCl₃



Hình 12. Phổ ¹³C-NMR của (3) trong CDCl₃



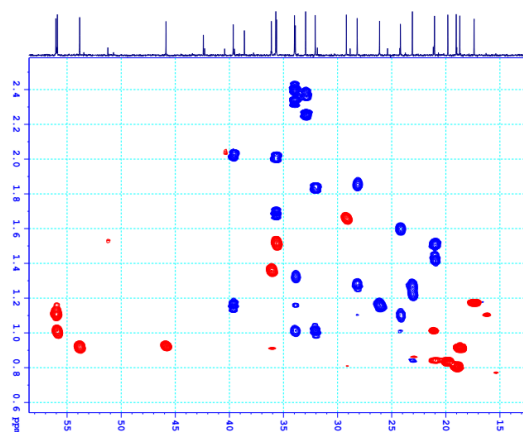
Hình 13. Phổ ¹³C-NMR giãn của (3) trong CDCl₃



Hình 14. Phổ HSQC của (3) trong CDCl_3

Stigmast-4-ene-3-one trước đây cũng đã được chứng minh sở hữu nhiều hoạt tính tốt như kháng khuẩn, khả năng hạ đường huyết hay chống ký sinh trùng. Cụ thể, stigmast-4-ene-3-one cùng một hợp chất khác phân lập từ loài *Nauclea latifolia* có khả năng kháng 2 chủng vi khuẩn gây nên các bệnh về răng miệng là *Streptococcus gordonii* và *Streptococcus sanguinis* (Udobre và cs., 2015). Ngoài ra, với liều dùng 100 mg/kg thể trọng stigmast-4-ene-3-one có khả năng hạ mức glucose trong máu của chuột thử nghiệm xuống 78%, so với mức 111% của đối chứng dương glibenclamide ở liều dùng 5 mg/kg thể trọng (Fathaiya và cs., 1995). Gần đây, theo một nghiên cứu khác được thực hiện bởi Indriani và cs., hợp chất này còn có khả năng chống ký sinh trùng *Plasmodium falciparum 3D7* (một loại ký sinh trùng đơn bào gây bệnh sốt rét) với giá trị $\text{IC}_{50} = 43,54 \mu\text{g/mL}$ (Indriani và cs., 2020).

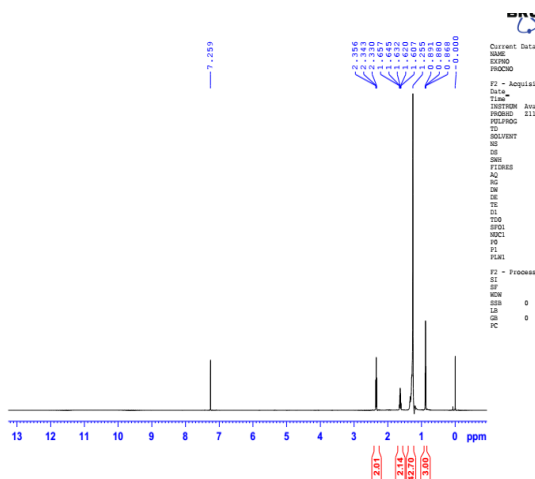
Hợp chất 4 được tách ra dưới dạng tinh thể trắng, tan tốt trong CHCl_3 . Phổ ^1H -



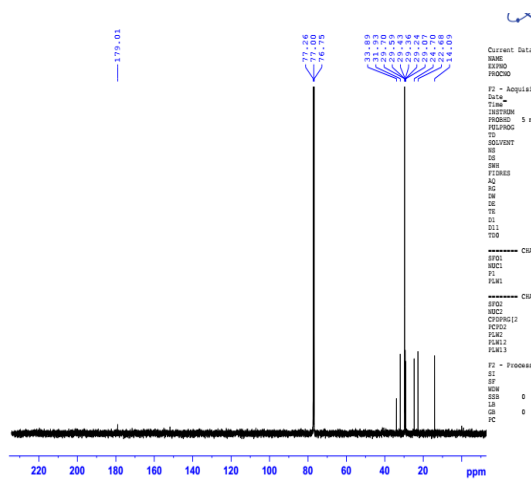
Hình 15. Phổ HSQC giản của (3) trong CDCl_3

NMR (Hình 16) chỉ ra tín hiệu đặc trưng của 1 nhóm hydroxymethylene tại $\delta_{\text{H}} 3,64$ (2H, t, $J = 6,0$, H_2-1), 1 nhóm methylene ở vị trí C-2 tại $\delta_{\text{H}} 1,56$ (2H, m, H_2-2), 1 nhóm methyl cuối mạch tại $\delta_{\text{H}} 0,88$ (3H, t, $J = 7,2$ Hz). Ngoài ra, tín hiệu chồng chập của nhiều nhóm methylene tại $\delta_{\text{H}} 1,25$ (m) gợi ý sự hiện diện của mạch hydrocarbon no. Phổ ^{13}C -NMR (Hình 17) cho thấy tín hiệu của 1 carbon oxymethylene ($\delta_{\text{C}} 63,1$) và nhiều carbon sp^3 của mạch hydrocarbon ($\delta_{\text{C}} 32,9-14,1$). Các số liệu phổ trên cho thấy hợp chất này là một alcohol mạch dài, không phân nhánh.

Kết quả phân tích GC-MS đối với dẫn xuất methyl ether của hợp chất 4 cho thời gian lưu tại 54,5 phút (Hình 18) và pic ion phân tử trên phổ EI-MS là $508 [\text{ROCH}_3]^+$ (Hình 19), kết hợp với các dữ kiện NMR công thức phân tử của 4 được đề nghị là $\text{C}_{34}\text{H}_{70}\text{O}$. Hợp chất này do đó được kết luận là 1-tetatriacontanol (Hình 5).

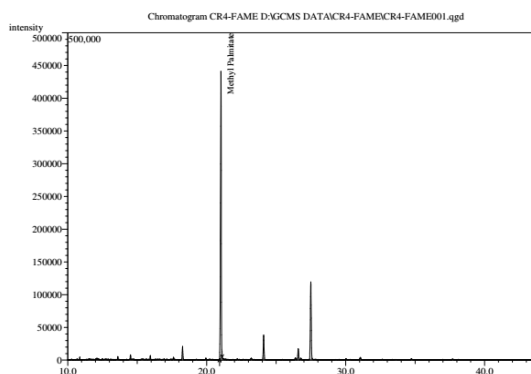


Hình 20. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của (5) trong CDCl_3



Hình 21. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của (5) trong CDCl_3

Sample name: CR4-FAME001.gcd
Data file: D:\GCMS DATA\CR4-FAME\CR4-FAME001.gcd
Date: 02/Apr/2023



Hình 22. Sắc ký đồ GC-MS của dẫn xuất methyl ester của hợp chất 5

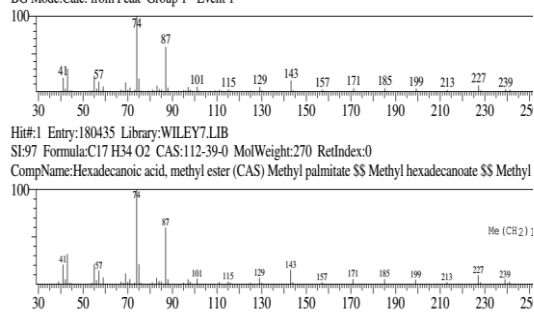
Similarity Search Result

<< Target >>

Line#1 R.Time:21.025(Scan#:1924) MassPeaks:121

RawMode:Averaged 21.017-21.033(1923-1925) BasePeak:74.05(100301)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hình 23. Phổ EI-MS của dẫn xuất methyl ester của hợp chất 5 và phổ so sánh

4. KẾT LUẬN

Năm hợp chất bao gồm 3 steroid, (22*E*, 24*R*)-ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one, *beta*-sitosterol, stigmast-4-ene-3-one và hai hợp chất khác là 1-tetratriacontanol, palmitic acid lần đầu tiên đã được phân lập từ dịch chiết *n*-hexane của loài *Conamomum rubidum* thu hái tại tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam. Cấu trúc hóa học của chúng được thiết lập bằng cách kết hợp phương pháp phổ NMR, chuyển hóa hóa học và phân tích GC-MS đồng thời so sánh với các tài liệu tham khảo. Những kết quả của bài báo sẽ là tiền đề tốt cho các nghiên cứu tiếp theo về hóa thực vật của loài *Conamomum rubidum* nói riêng cũng như

của chi *Conamomum* của Việt Nam nói chung, từ đó góp phần làm phong phú thêm kho tàng dữ liệu về cây thuốc của nước ta.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài được thực hiện dưới sự hỗ trợ kinh phí của Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế (Mã số: DHL2023-CKCN-01).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Barla, A., Birman, H., Kültür, Ş., & Oksuz, Ü. (2006). Secondary metabolites from *Euphorbia helioscopia* and their vasoepressor activity. *Turkish Journal of Chemistry*, 30(3), 325 - 332.
- De Boer, H., Newman, M. F., Poulsen, A. D., Droop, A. J., Fér, T., Le, T. T. H., Hlavatá, K., Lamxay, V., Richardson, J. E., Steffen,

- K., & Leong-Škorničková, J. (2018). Convergent morphology in *Alpinieae* (Zingiberaceae): Recircumscribing *Amomum* as a monophyletic genus. *Taxon*, 67(1), 6 - 36.
- Erwin, W.R., Pusparohmana, R.D., Safitry, E., Marlina, U. & Kusuma, I.W. (2020). Isolation and Characterization of Stigmasterol and β -Sitosterol from Wood Bark Extract of *Baccaurea macrocarpa* Miq. Mull. Arg. *Rasayan Journal of Chemistry*, 13(4), 2552 - 2558.
- Fathaiya, J., Suhaila, M., & Nordin L.M. (1995). Hypoglycaemic Effect of Stigmast-4-en-3-one, from *Parkia speciosa* empty pods. *Food chemistry*, 54(1), 9-13.
- Indriani, I., Nanik, S.A. & Puspaningsih, N.N.T. (2020). Antiplasmodial Activity of Stigmastane Steroids from *Dryobalanops oblongifolia* Stem Bark. *Open chemistry*, 18(1), 259-264.
- Jiwajinda, S., Santisopasri, V., Murakami, A., Kim, O. K., Kim, H. W., & Ohigashi, H. (2002). Suppressive Effects of Edible Thai Plants on Superoxide and Nitric Oxide Generation. *Asian Pacific journal of cancer prevention*, 3(3), 215 - 223.
- Kjobayashi, M., Krishna, M., Ishida, K., & Anjaneyalu, V. (1992), Marine Sterols. XXII. Occurrence of 3-oxo-4,6,8(14)-triunsaturated steroids in the sponge *Dysidea herbacea*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 40(1), 72 - 74.
- Lamxay, V., & Newman, M.F. (2012). A revision of *Amomum* (Zingiberaceae) in Cambodia, Laos and Vietnam. *Edinburgh Journal of Botany*, 69(1), 99 - 206.
- Luu, D. N. A., Bui, V. H., Do, V. T., Luu, D. C., Do, V. H., Nguyen, Q. H., Trinh, X. T., & Nguyen, T. T. (2021). *Conamomum Pierreanum* (Gagnep.) Skornick. & A. D. Poulsen (Zingiberaceae), a New Record for the Flora of Vietnam. *VNU Journal Of Science: Natural Sciences And Technology*, 37(2), 41 - 45.
- Luu, H. T., Tran, H. D., Nguyen, Q. D., Nguyen, T. Q. T., & Tran, G. (2019). *Conamomum odorum*, a new species of Zingiberaceae from central Vietnam. *Academia Journal of Biology*, 41(3), 55 - 59.
- Ly, N. S., Hoang, T. S., Oudomphone, I., Thomas, H., & Newman, M. F. (2022). *Conamomum vietnamense* (Zingiberaceae), a new species from Tay Nguyen, Vietnam. *Phytotaxa*, 531(2), 129 - 135.
- Masaru, K., Madala, M. K., Keisuke, I., & Vallurupalli, A. (1992). Marine Sterols. XXII. Occurrence of 3-Oxo-4, 6, 8(14)-triunsaturated steroids in the sponge *Dysidea herbacea*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 40(1), 72 -74.
- Muhammad, A. Z., Saadat, U. K., Taj, U. R., Muhammad, S., & Shah, S. (2017). Isolation and biological activity of β -sitosterol and stigmasterol from the roots of *Indigofera heterantha*. *Pharmacy & Pharmacology International Journal*, 5(5), 204 - 207.
- Paramita, S., Kosala K., Dzulkifli D., Saputri D. I., & Wijayanti, E. (2017). Anti-inflammatory activities of ethnomedicinal plants from Dayak Abai in North Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*, 18(4), 1556 - 1561.
- Quang, D. N., & Bach, D. D. (2008). Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-one from Vietnamese *Xylaria* sp. possessing inhibitory activity of nitric oxide production. *Natural Product Research*, 22(10), 901 - 906.
- Salasiah, M., C. Alona, & K. Meekiong (2022). Essential oil components in selected species of alpinieae (Zingiberaceae) from Sarawak and its taxonomic correlation. *Journal of Tropical Forest Science*, 34(2), 221 - 235.
- Thang, T. D., Kuo, P. C., Hwang, T. L., Yang, M. L., Ngoc, N. T. B., Han, T. T. N, Lin, C. W., & Wu, T. S. (2013). Triterpenoids and steroids from *Ganoderma mastoporum* and their inhibitory effects on superoxide anion generation and elastase release. *Molecules*, 18(11), 14285 - 14292.
- Udobre, A.S., Etim, E.I., Udobang, J.A., & Udoh, A.E. (2015). Antimicrobial activity of stigmast-4-en-3-one and 2,4-dimethylhexane isolated from *Nauclea latifolia*. *International Journal of Phytopharmacy Research*, 6(2), 65-68.
- Villaseñor, I. M., Angelada, J., Canlas, A. P., & Echegoyen, D. (2002). Bioactivity studies on beta-sitosterol and its glucoside. *Phytotherapy research: PTR*, 16(5), 417-421.