

Tài liệu tham khảo

- 1 BP (2009), volume II, 3292-3297.
- 2 Marcus E. Brewster, Thorsteinn Loftsson, Comparative interaction of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and sulfobutylether- β -cyclodextrin with itraconazole. Phase solubility behavior and stabilization of supersaturated drug solutions, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* (2008), 34, 94-103.
- 3 Sang-Yun Lee, In-Il Jung, Jong-Hoon Ryu, Preparation of ITZ/HP- β -CD inclusion complexes using supercritical aerosol solvent extraction system and their dissolution characteristics, *J. of Supercritical Fluids* (2008), 44, 400-408.
4. Ibrahim A. Alsaarra, Fars K. Alanazi, Sayed M. Ahmed, Ahmed A. Bosela, Sulman S. Alhamed, Hammam A. Mowafy and Steven H. Neau, Comparative study of itraconazole-cyclodextrin inclusion complex and its commercial product, *Arch Pharm Res* (2010), 33(7), 1009-1017.
5. Kamlesh Kumari, Vijay Sharma, Betty Philip, Kamla Pathak, Preparation and evaluation of binary and ternary inclusion complex of Itraconazole, *Scholars Research Library* (2010), 2(4), 144-155.

✓ Khảo sát thành phần hoá học cao ethyl acetat cây gừng gió (*Zingiber zerumbet* (L.) Sm.)

Ngô Trọng Nghĩa¹, Nguyễn Tấn Phát¹,
Phùng Văn Trung², Nguyễn Ngọc Hạnh²

¹Dai học Cần Thơ

²Viện Công nghệ Hoà học

Đặt vấn đề

Gừng gió còn gọi là gừng giố, ngải xanh, mai gan (theo đồng bào dân tộc miền núi), ngải mặt trời, gừng dai, gừng dai, gừng giềng, phong khương, khinh keng (Tày), khuhet phlu, brateal, vong atic (Campuchia), ginembrefou (Pháp), Phong Khương (Trung Quốc), phân bố ở vùng nhiệt đới. Ở Việt Nam cây mọc rải ở vùng trung du, vùng núi thấp. Gừng gió có vị đắng, cay, tính ấm, với công năng tán phong hàn, giảm đau, trị ứ huyết, nên trị được chứng trướng gió, chóng mặt, nôn nao, ngất xỉu, đặc biệt có khả năng tẩy độc, bồi dưỡng sau sinh, kích thích tiêu hoá, ăn ngon, ngủ tốt, khiến da dẻ trở nên hồng hào^[1-3]. Trong những năm gần đây, đã có nhiều nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học cây gừng gió ở Việt Nam cũng như trên thế giới^[4-6]. Trong bài báo này chúng tôi trình bày việc cô lập và nhận danh cấu trúc các hợp chất flavonoid từ dịch chiết ethyl acetat của thân rễ cây gừng gió mọc tại huyện Trừ Tôn, tỉnh An Giang.

Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu

Thân rễ cây gừng gió được thu hái tại An Giang vào tháng 6/2011, cây trồng được 08 tháng

Phương pháp xác định cấu trúc và chiết xuất

Điểm nóng chảy được đo trên máy ELECTROTHERMAL 9100 (UK), mao quản không hiệu chỉnh. Các phổ cộng hưởng từ hạt nhân ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, HSQC, HMBC được ghi trên máy Bruker Avance (500 MHz) và VARIAN (600 MHz) độ dịch chuyển hoá học tính theo δ (ppm), hằng số tương tác (J) tính bằng Hz. Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên bản nhôm silica gel Merck-GF60F₂₅₄ tráng sẵn, kích thước 20 × 20 cm, độ dày lớp hấp phụ 0,2 mm của hãng Merck, Germany. Sắc ký cột trung áp dùng silica gel 60, MERCK, đường kính hạt 0,040-0,063 mm.

Thân rễ gừng gió còn tươi (3,4 kg) được trích kiệt bằng phương pháp đun hoàn lưu nóng với ethanol 96%. Sau khi thu hồi dung môi, được cao ethanol (120 g), cao này được chiết lỏng-lỏng lần lượt với n-hexan, ethyl acetat và butanol thu được các cao tương ứng là ZZH (7 g), ZZE (11 g) và ZZB (70 g). Từ cao ZZE (11 g) tiến hành sắc ký cột trung áp với hệ dung môi có độ phân cực tăng dần n-hexan, ethyl acetat và methanol, tại phần đoạn 2, thu được hợp

chất (1) (22 mg) và hợp chất (2) (13mg); gồm phân đoạn 3 và 4, tiếp tục sắc ký cột trung áp, thu được hợp chất (3) (12 mg).

Kết quả và thảo luận

Xác định hợp chất (1)

Hợp chất (1) thu được dưới dạng bột vô định hình, màu vàng; điểm nóng chảy: 249-250 °C; sắc ký lớp mỏng (TLC) triển khai bằng hỗn hợp dung môi n-hexan-EtOAc (7 : 3) hiện màu bằng dung dịch H₂SO₄ 10% trong EtOH, cho vết tròn màu vàng có R_f = 0,14

Phổ ¹H-NMR (500 MHz, DMSO, δ ppm) (Bảng 1) cho các tín hiệu cộng hưởng của 2 proton vòng thơm ghép cặp *meta* ở δ_H 6,20 (1H, d, J = 2, H₆) và δ_H 6,44 (1H, d, J = 2, H₈); và 4 proton vòng thơm ghép cặp *ortho* ở δ_H 6,94 (2H, d, J = 9, H₅, H₃) và δ_H 7,56 (1H, m, H₆, H₂) cho thấy hợp chất (1) có hai vòng thơm, một vòng mang 4 nhóm thế và một vòng thơm mang 2 nhóm thế đối xứng. Ngoài ra, phổ ¹H-NMR của (1) còn cho tín hiệu của nhóm hydroxyl kiềm nổi ở vùng trường thấp δ_H 12,68 (1H, s, 5-OH) và 1 nhóm methoxyl ở δ_H 3,78 (3H, s). **Phổ ¹³C-NMR (125 MHz, δ ppm)** cho các tín hiệu cộng hưởng của 16 carbon; trong đó có 8 carbon bậc 4 của vòng thơm tại δ_C 164,1, 161,2, 160,1, 156,3, 155,6, 120,5 và 104,2, một carbon carbonyl ở δ_C 177,9; 6 carbon methin vòng thơm ở δ_C 130,1, 115,6, 98,5 và 93,6; một carbon methoxy ở δ_C 59,6, cho thấy hợp chất (1) là flavonoid có vòng A bị thế ở vị trí 5 và 7 và vòng B bị thế ở 4'. Trên phổ ¹H-NMR, proton ở δ_H 6,20 (1H, d, J = 2, H₆) và δ_H 6,40 (1H, d, J = 2, H₈) ghép cặp *meta* với nhau và đều cho tương tác với carbon vòng thơm từ cấp gần gắn oxygen ở δ_C 164,1 và với carbon từ cấp vòng thơm không gắn oxygen ở δ_C 104,2 nên hai carbon này lần lượt là C₇ và C₁₀. Hai proton này cũng lần lượt cho tương tác với hai carbon vòng thơm oxygen hoá ở δ_C 156,3 và δ_C 161,2 nên hai carbon này lần lượt là C₉ và C₅. Proton ở δ_H 7,93 (2H, m, H₂, H₆) đều cho tương tác với carbon từ cấp vòng thơm không mang oxygen ở δ_C 120,5 và 2 carbon từ cấp vòng thơm mang oxygen ở δ_C 160,1 và δ_C 155,6, đồng thời proton ở δ_H 6,94 (2H, m, J = 2, H₅, H₃) cho tương tác với carbon từ cấp vòng thơm không mang oxygen ở δ_C 120,5 và 1 carbon bậc 4 ở δ_C 160,1; vậy 2 carbon từ cấp vòng thơm mang oxygen này lần lượt là C₂, C₄, còn carbon bậc 4 còn lại là C₁. Ngoài ra, proton của nhóm methoxyl ở δ_H 3,78

(1H, s, H₁₁) tương tác với carbon bậc 4 vòng thơm mang oxygen ở δ_C 137,6 (C₃), nên nhóm methoxyl gắn vào flavonoid ở vị trí C₃.

Tóm lại từ phổ ¹H-NMR, phổ ¹³C-NMR, kết hợp với phổ DEPT, HSQC, HMBC; các đặc trưng vật lý và so sánh với các tài liệu đã công bố^[5,6], chúng tôi nhận danh hợp chất (1) là kaempferol-3-O-methylether.

Xác định hợp chất (2)

Hợp chất (2) thu được dưới dạng bột vô định hình, màu vàng, điểm nóng chảy: 210-211 °C; sắc ký lớp mỏng (TLC) triển khai bằng hệ CHCl₃-MeOH (95 : 5) hiện màu bằng dung dịch H₂SO₄ 10% trong EtOH, cho vết tròn màu vàng có R_f = 0,45.

Phổ ¹H-NMR (500 MHz, DMSO, δ ppm) (Bảng 1) cho tín hiệu cũng tương tự các tín hiệu của hợp chất (1) nhưng có thêm 1 nhóm methoxyl. Phổ ¹H-NMR cho thấy nhóm methoxyl này có tín hiệu ở δ_H 3,85 (1H, s, H₁₂) cho tương tác với carbon từ cấp vòng thơm mang oxygen ở δ_C 161,3 (C₄); do đó chúng tôi nhận danh hợp chất (2) là kaempferol-3,4'-O-dimethylether

Xác định hợp chất (3)

Hợp chất (3) thu được dưới dạng bột vô định hình, màu vàng, sắc ký lớp mỏng (TLC) triển khai bằng hệ CHCl₃-MeOH (9 : 1) hiện màu bằng dung dịch H₂SO₄ 10% trong EtOH, cho vết tròn màu vàng có R_f = 0,43

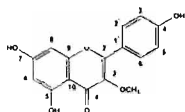
Phổ ¹H-NMR (500 MHz, DMSO, δ ppm) (Bảng 1) cho các tín hiệu tương tự như của chất (1) nhưng hợp chất (3) lại có thêm một đơn vị đường gắn vào khung flavonoid do có các tín hiệu của proton anomer ở δ_H 5,27 (1H, d, J = 1) cho thấy đây là đường α. Các tín hiệu proton methin mang oxygen của phần đường ở δ_H 3,22 - 4,01, một nhóm methyl ở δ_H 0,69 (3H, d, J = 6) cho thấy đây là đường α-rhamnose; ngoài ra còn 1 nhóm methyl acetoxyl ở δ_H 1,99 (3H, s). **Phổ ¹³C-NMR (125 MHz, δ ppm)** cho các tín hiệu cộng hưởng của 1 carbon acetal ở δ_C 101,3 (C₁), 5 carbon methin vòng thơm, 4 carbon methin kề oxygen và 1 nhóm methyl ở δ_C 17,0 và 1 nhóm methyl acetoxyl ở δ_C 20,8; 1 carbon carbonyl của khung flavonoid ở δ_C 177,5 (C-4) và 1 carbon carbonyl còn lại ở δ_C 169,8. Phổ HSQC cho thấy carbon acetal ở tương quan với proton anomer tại δ_H 5,27 (1H, d, J = 1, H₁'), cho biết đây là đường α-L-rhamnose. Phổ HMBC cho thấy proton anomer

● Nghiên cứu – Kỹ thuật

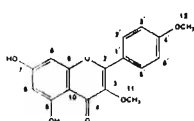
của đơn vị đường ở 5,27 (1H, d, J = 1, H_{1'}) cho tương quan với δ_C 133,89 (C₃). Vậy, đơn vị đường α-L-rhamnose gắn tại vị trí C₃ của khung flavonoid. Phổ HMBC cũng cho thấy proton methin của phần đường có tín hiệu tại δ₁, 4,69 (1H, t, J = 10, H₄) và proton methyl acetoxo có tín hiệu tại δ_H 1,99 (3H, s, H₉) đều cho tương tác với carbon carbonyl ở δ_C

169,8; chứng tỏ phần đường đã bị acetyl hóa tại vị trí C₄.

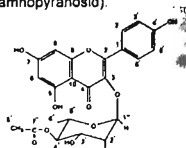
Từ dữ liệu phổ ¹H, ¹³C-NMR, kết hợp với phổ DEPT, HSQC, HMBC, các đặc trưng vật lý và so sánh với các tài liệu đã công bố^[5,8], chúng tôi nhận danh hợp chất (3) là kaempferol-3-O-(4-O-acetyl-α-L-rhamnopyranosid).



kaempferol-3-O-methylether
(1)



kaempferol-3,4'-O-dimethylether
(2)



kaempferol-3-O-(4-O-acetyl-α-L-rhamnopyranosid) (3)

Bảng 1: Dữ liệu phổ ¹H, ¹³C-NMR và HMBC của chất (1), (2) và (3)

Vị trí	¹³ C-NMR δ ppm			¹ H-NMR δ ppm, J=Hz			HMBC ¹ H→ ¹³ C		
	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)
2	155,6	155,1	157,3						
3	137,6	137,8	133,9						
4	177,9	177,9	177,5						
5	161,2	161,3	161,1						
6	98,5	98,6	98,8	6,20 (1H, d, J=2)	6,18 (1H, d, J=2)	6,20 (1H, d, J=1,5)	H ₆ →C ₅ , C ₇ ,C ₈ ,C ₁₀	H ₆ →C ₅ , C ₇ ,C ₈ ,C ₁₀	H ₆ →C ₅ , C ₇ ,C ₈ ,C ₁₀
7	164,1	164,4	164,6						
8	93,7	93,7	93,8	6,44 (1H, d, J=2)	6,38 (1H, d, J=2)	6,44 (1H, d, J=1,5)	H ₈ →C ₆ , C ₇ ,C ₉ ,C ₁₀	H ₈ →C ₆ , C ₇ ,C ₉ ,C ₁₀	H ₈ →C ₆ , C ₇ ,C ₉ ,C ₁₀
9	156,3	56,4	156,5						
10	104,2	104,2	103,9						
11	59,6	59,7		3,78 (3H, s)	3,78 (3H, s)		H ₁₁ →C ₃	H ₁₁ →C ₃	
12		55,38			3,85 (3H, s)			H ₁₂ →C ₄	
1'	120,5	122,2	120,3						
2'	130,1	129,9	130,5	7,93 (1H, d, J=9)	8,02 (1H, d, J=9)	7,73 (2H, d, J=8,5)	H _{2'} →C ₂ , C ₃ ,C ₄ ,C ₆	H _{2'} →C ₂ , C ₃ ,C ₄ ,C ₆	H _{2'} →C ₂ , C ₃ ,C ₄ ,C ₆
3'	115,6	114,2	115,3	6,94 (1H, d, J=9)	7,12 (1H, d, J=9)	6,93 (2H, d, J=9)	H _{3'} → C ₅ ,C ₁ ,C ₄	H _{3'} → C ₅ ,C ₁ ,C ₄	H _{3'} → C ₅ ,C ₁ ,C ₄
4'	160,1	161,3	160,1						
5'	115,6	114,2	115,3	6,94 (1H, d, J=9)	7,12 (1H, d, J=9)	6,93 (2H, d, J=9)	H _{5'} → C ₃ ,C ₁ ,C ₄	H _{5'} → C ₃ ,C ₁ ,C ₄	H _{5'} → C ₃ ,C ₁ ,C ₄
6'	130,1	129,9	130,5	7,93 (1H, d, J=9)	8,02 (1H, d, J=9)	7,73 (2H, d, J=8,5)	H _{6'} →C ₂ , C ₃ ,C ₄ ,C ₂	H _{6'} →C ₂ , C ₃ ,C ₄ ,C ₂	H _{6'} →C ₂ , C ₃ ,C ₄ ,C ₂
1"			101,3			5,27 (1H, d, J=1)			H _{1"} →C ₃ , C ₂ ,C ₃
2"			69,9			4,01 (1H, lrs)			H _{2"} →C ₃ , C ₄
3"(5")			67,8			3,22 (2H, m)			H _{3"} →C ₄
4			73,1			4,69 (1H, t, J=10)			H _{4"} →C ₅ , C ₆ ,C ₆
3"(5")			67,8			3,68			H _{5"} →C ₄

Vị trí	¹³ C-NMR δ ppm			¹ H-NMR δ ppm, J=Hz			HMBC ¹ H→ ¹³ C		
	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)
						(1H, dd, J=2,5 và J=9,5) 0,69 (3H, d, J=6)			H ₆ → C ₄ , C ₅ *
6*		16,9							
7*		169,8							
8*		20,8				1,99 (3H, s)			H ₈ → C ₇ *

Kết luận

Từ thân rễ cây gừng gió 08 tháng tuổi trồng tại An Giang, chúng tôi đã phân lập và nhận danh cấu trúc ba hợp chất là: kaempferol-3-O-methylether (1), kaempferol-3,4'-O-dimethylether (2) và kaempferol-3-O-(4-O-acetyl-α-L-rhamno pyranosid) (3)

Summary

From ethylacetate extracts of the rhizomes of *Zingiber zerumbet* (L.) Sm.) cultivated in An Giang province, kaempferol-3-O-methylether (1), kaempferol-3,4'-O-dimethylether (2) and kaempferol-3-O-(4-O-acetyl-α-L-rhamnopyranoside) (3) were isolated. Their structures were elucidated by NMR (1D and 2D – NMR) with reference to the literature data.

Keywords: *Zingiber zerumbet*, kaempferol-3-O-methylether (1), kaempferol-3,4'-O-dimethylether (2) and kaempferol-3-O-(4-O-acetyl-α-L-rhamnopyranoside) (3)

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học Cần Thơ đã hỗ trợ kinh phí và cảm ơn tập thể phòng Nghiên cứu cấu trúc – Viện Hoá học đã giúp đo phổ NMR

Tài liệu tham khảo

1. Viện Dược Liệu, Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ Thuật, (2004), tập I, trang 882
2. Phạm Hoàng Hộ, Cây cỏ Việt Nam III, Nhà xuất bản Trẻ, Tp Hồ Chí Minh, (2000), trang 447.
3. Đỗ Tất Lợi, Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa Học Kỹ Thuật, (1995), trang 477.
4. Văn Ngọc Hường, Đỗ Thị Thanh Thủy, Mai Thị Hiền, Cường độ gây độc in vitro đối với tế bào ung thư và hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của zerumbon phân lập từ thân rễ gừng *Zingiber zerumbet* Sm vùng Tam Đảo, Tạp chí Dược học, (2004), số 340, trang 15.
5. Dae Sik Jang, Ah-Reum Han, Gowooni Park, Gil-Ja Jhon, Eun-Kyoung Seo, Flavonoids and Aromatic Compounds from the Rhizomes of *Zingiber zerumbet*, Arch Pharm Res, (2004), Vol 27, No 4, pp 386-389.
6. Nobuji NaKaTaNi, Akiko Jrroe, Toshiya Masuda, Shigetomo Yonemori, Flavonoid Constituents of *Zingiber zerumbet* Smith, Agric Biol Chem, (1991), 55 (2), 455 – 460.

Nghiên cứu... (Tiếp theo trang 47)

Như vậy, trên cơ sở các kết quả đã đạt được có thể tin tưởng vào khả năng tự sản xuất thành công loại thuốc có ý nghĩa quan trọng cả với quân sự và dân sinh này trong điều kiện Việt Nam

Summary

As fentanyl injection is popular for analgesic and anesthetic use, in this study, fentanyl injection was prepared from the domestic materials and evaluated for analgesic, anesthetic, muscle-relaxative effects on mice, rats, rabbits and dogs. Also, the findings showed several minute differences from the imported fentanyl injection from Poland.

Tài liệu tham khảo

1. Phạm Duy Nam và cộng sự, Nghiên cứu quy trình công nghệ tổng hợp fentanyl citrat dùng làm thuốc gây mê, giảm đau trong và sau phẫu thuật. Trung tâm Nhiệt đới Việt-Nga / Báo cáo tổng kết đề tài cấp Bộ quốc phòng, Hà Nội, tháng 9 năm 2007
2. Turner A., Screening methods in pharmacology, Academic Press, NewYork, (1965), p 60-68
3. Charles C. Thomas, Techniques and procedures of Anesthesia, 3 rd Ed Springfield, Ill, Publisher, 1964
4. Raymond M. Burgison, Animal techniques for evaluation anesthetic drugs in book: Animal and Clinical techniques for evaluating drugs, (1967)
5. Gardocki J.F and John Yelnosky, Toxicology and applied pharmacology, (1964), Vol 6, 48-62