

# PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC MỘT SỐ THÀNH PHẦN TỪ CỦ GỪNG GIÓ (*ZINGIBER ZERUMBET* SM.) VÙNG TAM ĐẢO

ISOLATION AND STRUCTURAL DETERMINATION OF SOME SUBSTANCES IN ROOT  
OF *ZINGIBER ZERUMBET* SM. AT TAMDAO

Văn Ngọc Hương, Đỗ Thị Thanh Thuý, Phạm Thế Chinh

Khoa Hoá học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

**Abstract.** The compounds in the rhizomes of *Zingiber zerumbet* Sm. were fractionating extracted by n-hexan, toluene, diethyl ether. From extract of toluene, two compounds zerumbone and zerumbone oxide were isolated; from extract of diethyl ether, two compounds vanillic acide and kaemferyl-3-O- $\alpha$ -L-5-deoxyarabinofuranoside were isolated. Structures of these compounds were confirmed by modern spectrometry.

## 1. Mở đầu

Đối với dân tộc Sán Diu vùng Tam Đảo - Vĩnh Phúc, Gừng gió là cây trong gia đình, nhà nào cũng có một khóm gừng gió (*Zingiber zerumbet* Sm.) trồng trong vườn để phòng lúc trái gió trở trời, đau gân nhức xương có củ gừng gió giã nhỏ ngâm rượu mà xoa bóp hay khi ăn uống không tiêu, đầy hơi chướng bụng, có củ gừng gió nướng lên mà ăn là khỏi [1]. Nhưng đối với các nhà khoa học hiện đại của thế giới thì người ta chú ý nhiều vào các hợp chất phòng ngừa và chống ung thư trong củ gừng gió. Trong công trình điều tra sàng lọc các cây thuốc dân tộc có hoạt tính chống ung thư thuộc họ gừng (*Zingiberaceae*) của Malaisia Vimala S và cộng sự đã chỉ ra rằng Gừng gió là cây có hoạt tính mạnh nhất [2]. Trong những năm gần đây các nhà khoa học Nhật Bản khẳng định zerumbon phân lập từ củ gừng gió không những có hoạt tính chống viêm, chống oxy hoá mà còn có tác dụng phòng ngừa và chống ung thư in vitro nhất là các loại ung thư dòng P388D1 và ung thư máu dòng HL [3,4].

Trong các công trình trước chúng tôi đã khẳng định zerumbon chiếm trên 80% trong tinh dầu củ Gừng gió vùng Tam Đảo. Nó không những có tác dụng chống các dòng ung thư gan người Hep-2 (IC50 = 1,00  $\mu$ g/ml), ung thư biểu mô người KB (IC50 = 0,31  $\mu$ g/ml) và ung thư màng tim người RD (IC50 = 0,30  $\mu$ g/ml) [5] in vitro, mà còn có tác dụng chống ung thư bằng *Sarcoma 180* trên chuột bạch dòng Swiss và chống tái phát ung thư này trên chuột bạch sau khi phẫu thuật [6]. Rõ ràng zerumbon là thành phần chính và là thành phần rất có giá trị trong củ Gừng gió. Vậy các thành phần khác trong củ Gừng gió như thế nào? Công trình này chúng tôi đề cập đến câu hỏi đã nêu.

## 2. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

Các nghiên cứu trước đây đều cho thấy, dù cải tiến gì đi chăng nữa thì phương pháp cất cuốn hơi nước cũng chỉ nâng hiệu suất zerumbon trong tinh dầu củ gừng gió lên 70 - 85% là tối đa [6,7]. Điều này dễ hiểu vì zerumbon là một sesquiterpen vòng 7 có nhóm chức carbonyl  $\alpha$ -,  $\beta$ - không nên phân tử của nó phân cực, chính sự phân cực này cùng với phân tử lượng cao của nó làm cho nhiệt độ sôi của nó cao nên các phương pháp cất cuốn hơi nước không cho phép thu zerumbon một cách triệt để. Chúng tôi dùng phương pháp chiết chọn lọc đặc biệt theo độ phân cực song song tăng dần của dung dịch bị chiết và dung môi chiết để chiết zerumbon trong củ Gừng gió lúc đầu bằng EtOH, sau đó pha loãng bằng nước đến 80% EtOH; 40% EtOH và 35% EtOH rồi chiết với các dung môi với độ phân cực tăng dần tương ứng n-hexan, toluen, và dietyl ete. Bằng cách này chúng tôi chiết phân lớp các chất trong củ Gừng gió thành 3 lớp. Lớp chất không phân cực trong cạn chiết bằng n-hexan (H), lớp các chất kém phân cực trong cạn chiết bằng toluen (T) và các chất phân cực

cao hơn trong cặn chiết bằng dietyl ete (E).

Khảo sát các phân chiết H, T và E bằng sắc ký lớp mỏng cùng với các chất zerumbon, curcumin, demetoxycurcumin và didemetoxycurcumin và thuốc hiện vanillin 0,2%/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và FeCl<sub>3</sub> 1M, cho thấy trong cặn H có 5 chất nhưng không có chất nào hiện với FeCl<sub>3</sub> thuốc hiện cho các curcumin và cũng không có chất nào trùng với zerumbon; có 4 vết chất trong cặn T và vết có R<sub>f</sub> và màu sắc phổ trùng với zerumbon có hàm lượng lớn nhất (đường kính vết lớn màu sắc phổ đậm), ba vết còn lại cũng âm tính với thuốc hiện FeCl<sub>3</sub>. Cặn E cũng có 4 vết chất, nhưng có 2 vết hiện màu xanh đen với FeCl<sub>3</sub>, những chúng không phải là các loại curcumin vì không có vết nào có R<sub>f</sub> trùng với R<sub>f</sub> của các curcumin chuẩn; kết quả trên cho thấy phương pháp chiết này có tính chọn lọc cao.

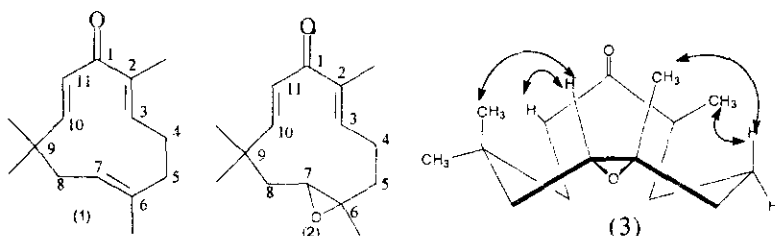
Sắc ký cột cặn T trên silicagel cỡ hạt 40 – 63 μm dung môi rửa cột n-hexan/EtOAc 19/1 và 7/3 (v/v) chúng tôi thu được zerumbon [1] và tinh thể X. Xác định cấu tạo của zerumbon được bằng cách so sánh điểm chảy R<sub>f</sub>, sắc phổ với 2 thuốc hiện UV và Vanillin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> của nó với điểm chảy R<sub>f</sub>, sắc phổ của zerumbon chuẩn trong cùng một điều kiện sắc ký.

Tinh thể X có điểm chảy 96,50C R<sub>f</sub> = 0,73 (n-hexan/EtOAc 7/3 v/v) phổ IR cho pic ν = 1261 cm<sup>-1</sup> và δ = 846 cm<sup>-1</sup> đặc trưng cho vòng epoxit, nhóm cacbonyl α-, β- không no có ν = 1704 cm<sup>-1</sup>, liên kết đôi ba nhóm thế ν<sub>C=C</sub> = 1654 cm<sup>-1</sup> δ<sub>C-H</sub> = 835 cm<sup>-1</sup> và liên kết đôi hai nhóm thế *trans* ν<sub>C=C</sub> = 1658 cm<sup>-1</sup> và δ<sub>C-H</sub> = 976 cm<sup>-1</sup>. Khối phổ của X cho M<sup>+</sup> = 234, phổ <sup>13</sup>C-NMR và DEPT cho thấy phân tử X có 15 nguyên tử cacbon trong đó có 4 nhóm metin; 4 nhóm metyl, 3 nhóm metylen và 4 cacbon không liên kết với hidro. Số liệu phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C-NMR được chỉ ra ở bảng 1.

Bảng 1. Số liệu phổ <sup>1</sup>H và <sup>13</sup>C-NMR của X

Số C	δ <sub>c</sub> (ppm)	δ <sub>H</sub> (ppm, J(Hz))	Số C	δ <sub>c</sub> ppm	δ <sub>H</sub> (ppm, J(Hz))
1	202,82		9	35,96	
2	130,43		10	159,38	6,14 1H, 16,4
3	147,67	6,09 d, 1H, 1,4	11	128,29	6,14 d 1H 16,4
4	24,68	2,47 m; 24	12	12,08	
5	38,21	2,37 t; 2H 2,6	13	15,62	
6	61,36		14	24,04	
7	62,80	2,75; 2,73 dd 1H 11,2; 1,5	15	29,78	
8	42,67	2,29 d 2H; 1,5			

Tất cả số liệu trên cho phép xây dựng công thức phân tử của X là zerumbon oxit (2) phổ NOESY của X cho thấy có sự tương tác của nhóm metyl ở C<sub>6</sub> với H ở C<sub>4</sub> và metyl ở C<sub>2</sub> với H ở C<sub>4</sub>. Tương tác hidro ở C<sub>7</sub> với hidro ở C<sub>11</sub> và CH<sub>3</sub> ở C<sub>9</sub> (hình 3) điều này có nghĩa là hidro ở C<sub>7</sub> và metyl ở C<sub>6</sub> là cis với nhau so với mặt phẳng efoxit C<sub>6</sub>-C<sub>7</sub>.



Từ cặn chiết E qua sắc ký cột trên silicagel 40 – 63 μm dung môi rửa cột CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10 : 1 v/v chúng tôi phân lập được 2 chất ký hiệu là E<sub>1</sub> và E<sub>2</sub>.

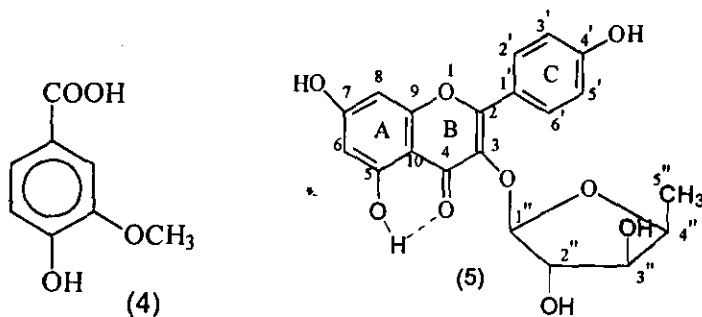
$E_1$  là tinh thể màu trắng, hình kim chảy  $210^\circ\text{C}$ . Phổ IR cho pic  $1697,10\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho  $\text{C}=\text{O}$  của axit dạng dime,  $3310\text{ cm}^{-1}$  đặc cho OH dạng dime của axit  $1605, 15, 1509,20; 1460,12\text{ cm}^{-1}$  và  $3020,20\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho dao động hoá trị của các liên kết đôi của nhân benzen và O-H của nó. Dao động hoá trị  $\nu = 122,29\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng có C-O-Ar phổ  $^1\text{H-NMR}$  của  $E_2$  cho  $\delta_4 = 7,54\text{ ppm}$  dd  $1\text{H} J = 8,5\text{ Hz}$  và  $2,5\text{ Hz}$ ;  $\delta_n = 6,85\text{ ppm}$ , d,  $1\text{H} J = 8,5\text{ Hz}$  và  $\delta_H = 7,65\text{ ppm}$ ,  $1\text{H}$   $2,5\text{ Hz}$  và  $\delta_4 = 3,80\text{ ppm}$  3H của nhóm metoxy. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và DEPT cho thấy phân tử  $E_1$  có 8 cacbon trong đó có C = O ở  $169,50\text{ ppm}$  và cacbon của nhóm metoxy ở  $56,15\text{ ppm}$  còn lại 6 cacbon có độ dung dịch hoá học từ  $116,80\text{ ppm}$  đến  $153,85\text{ ppm}$  là của nhân benzen. EI-MS của  $E_1$  cho  $M^+ = 168$  và các phân mảnh  $153; 124; 97, \dots$  Các số liệu phổ trên cho phép chúng ta khẳng định  $E_1$  là axit vanillic [4].

$E_2$  kết tinh vô định hình chảy  $217^\circ\text{C}$ ,  $R_f = 0,73$  ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  10 : 1 v/v). Phổ IR cho các pic  $3388,53; 1724,71; 1653,62; 1607,61; 1508,08$  và  $1426,20\text{ cm}^{-1}$ ; khối phổ cho pic phân tử lượng 402. Phổ UV cho các cực đại  $203,266$  và  $369\text{ nm}$ , đây là cực đại hấp thụ của nhân Kdemferol. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và DEPT cho thấy phân tử  $E_2$  có 20 cacbon trong đó có 10 nhóm CH; 1 nhóm  $\text{CH}_3$  và 9 cacbon không liên kết với hidro. Các số liệu phổ  $^1\text{H}, ^{13}\text{C-NMR}$  của  $E_2$  được chi trong bảng 2.

Bảng 2. Phổ  $^1\text{H}, ^{13}\text{C-NMR}$  của  $E_2$

Số trên khung C	$^{13}\text{C-NMR}$		$^1\text{H-NMR}$			
	$\delta_C$ (ppm)	C có H	$\delta_H$ (ppm)	Số H	Độ bội	$J(\text{H}_2)$
2	157,43					
3	156,53					
4	177,56					
5	164,34					
6	101,35	CH	6,62	1	d	2,00
7	169,85					
8	98,78	CH	6,22	1	d	2,00
9	161,26					
10	120,35					
1'	133,16					
2'	130,56	CH	7,73	1	d	8,80
3'	115,38	CH	6,96	1	d	8,70
4'	160,14					
5'	115,38	CH	6,94	1	d	8,70
6'	130,56	CH	7,73	1	d	8,80
1''	104,08	CH	5,29	1	d	16,20
2''	69,12	CH	4,49	1	d	12,70
3''	73,08	CH	4,00	1	t	
4''	93,79	CH	6,70	1	m	
5''	7,03	$\text{CH}_3$		3	d	6,3

Kết hợp các số liệu phổ của E<sub>2</sub> chúng ta xây dựng được công thức phân tử E<sub>2</sub> (hình 5): đó là kaemferyl-3-O- $\alpha$ -L-5-deoxyarabinofranosit.



### 3. Phần thực nghiệm

#### 3.1. Mẫu thực vật

Củ gừng gió (Zingiber zerumbet Sm.) thu mua tại Tam Đảo - Vĩnh Phúc vào tháng 10 năm 2005. Mẫu do phòng thực vật Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật thuộc Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam giám định và cung cấp.

#### 3.2. Các thiết bị dùng cho nghiên cứu

Điểm chảy xác định trên máy Boetius. Phổ IR ghi trên máy Impae 410 Nicolet FI.IR

Phổ UV ghi trên máy GBCY55.

Khối phổ EI-MS 1D và 2D ghi trên máy HP5890 Bruker advance - 500MHz với chuẩn nội TMS, độ chuyển dịch  $\delta$  theo ppm và J theo Hz.

#### 3.3. Chiết phân lớp các chất trong củ gừng gió

Mẫu củ gừng gió sau khi giám định, được rửa sạch vớt bỏ phần hư hỏng, thái lát ngang, phơi sấy dưới 40°C và nghiền thành bột. 800g bột ngâm với 2,5 l EtOH trong 3 ngày lọc và ngâm thêm 2 lần nữa. Gộp dịch chiết, cô ở áp suất giảm còn 1/3 thể tích thêm H<sub>2</sub>O đến 85% EtOH, chiết bằng n-Hexan đến trong dịch chiết, thêm nước tiếp đến 45% EtOH rồi chiết bằng Toluen đến trong dịch chiết, pha nước tiếp 30% rồi chiết bằng dietylete. Làm khô các dịch bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> khan, loại dung môi thu được các cặn chiết tương ứng. Cặn H (n-hexan) 7,7g (0,96%), cặn T (Toluen) 45,6g (5,70%) và cặn E (dietylete) 5,5g (0,69%).

#### 3.4. Khảo sát các cặn chiết H, T và E bằng sắc ký lớp mỏng

Cặn H được tiến hành sắc ký lớp mỏng với chất chuẩn zerumbon trong hệ dung môi n-hexan EtOAc 19 : 1 v/v với thuốc hiện UV vanillin. Kết quả được chỉ ra trong bảng 3

Bảng 3. Kết quả SKLM khảo sát cặn H

Số	R <sub>f</sub>	UV	Vanillin H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	FeCl <sub>3</sub>
1	0,91	(-)	Tím	-
2	0,56	Sáng	Tím xám	-
3	0,53	Sáng mờ	Tím nhạt	-
4	0,43	Sáng trắng	-	-
5	0,19	-	Tím hồng	-

Với hệ dung môi này zerumbon chuẩn có R<sub>f</sub> = 0,73 hiện màu hồng đậm với UV và vàng chanh với vanillin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, cả 5 chất đều không hiện được bằng FeCl<sub>3</sub>.

Khảo sát cận T bằng sắc ký lớp mỏng với hệ dung môi n-hexan/EtOAc 10/1 v/v cùng với chất chuẩn zerumbon, curcumin (I) demetroxycurcumin (II) và didemetroxycurcumin (II) và thuốc thử UV, vanillin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và FeCl<sub>3</sub> 1M. Kết quả được chỉ ra trên bảng 4.

**Bảng 4. Kết quả khảo sát cận T bằng SKLM**

Số	R <sub>f</sub>	UV	FeCl <sub>3</sub>	Vanillin
1	0,80	Sáng	-	Tím
2	0,76	Hồng	-	Vàng chanh
3	0,67	-	-	Tím đậm
4	0,63	-	-	Tím nhạt
5	0,07	-	-	Vàng

(-) không hiện vết thử 3 R<sub>f</sub> = 0,67 có đường kính vết lớn nhất, màu sắc phớt đậm nhất. Nó hoàn toàn trùng với vết zerumbon chuẩn. Tất cả 4 vết còn lại không có vết nào trùng với các vết của các curumin I, II, III không hiện được bằng FeCl<sub>3</sub>.

Sắc ký lớp mỏng khảo sát cận E cùng với các chất chuẩn zerumbon và curcumin I, II và III và hệ dung môi CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10/1 v/v; chất hiện FeCl<sub>3</sub> UV và vanillin/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Kết quả được chỉ ra trên bảng 5.

**Bảng 5. Kết quả khảo sát cận E bằng SKLM**

Số	R <sub>f</sub>	UV	FeCl <sub>3</sub>	Vanillin
1	0,81	Vàng nhạt	Vàng nhạt	
2	0,73	Vàng nâu	Vàng	Xanh đen
3	0,60	Vàng nhạt	Vàng đậm	Xanh đen
4	0,18	Vàng	Vàng	

Có 2 vết chất hiện màu xanh đen với FeCl<sub>3</sub> nhưng không trùng với các vết curcumin chuẩn I, II và III và cũng không có vết nào trùng với zerumbon chuẩn.

### 3.5. Phân lập các chất trong các cận chiết từ của gừng gió

#### 3.5.1. Phân lập các chất trong cận chiết bằng toluen (T)

Dùng cột dài 80 cm, đường kính 3 cm, dùng 120g silicagel cỡ hạt 40 – 63 μm theo phương pháp nhồi ướt với dung môi n-hexan. Cho lên cột 4 gam cận T và rửa cột bằng dung môi n-hexan/EtOAc 10/1 v/v với tốc độ 25 giọt/phút và hứng thành các phân đoạn, mỗi phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng và gộp các phân đoạn có sắc phớt giống nhau. Từ phân đoạn 20 đến 50 chúng tôi thu được zerumbon với hiệu suất 3,6g (30% so với lượng cho lên cột) chảy 70 – 71°C, R<sub>f</sub> = 0,73 (n-hexan)/EtOAc 19 : 1).

Từ phân đoạn 60 đến 67 chúng tôi thu được 0,04g hợp chất X (hiệu suất 1%) kết tinh hình kim chảy 96-96,5°C R<sub>f</sub> = 0,73 n-hexan/EtOAc 7/3 v/v. Các số liệu phổ IR, MS; <sup>1</sup>H-NMR; <sup>13</sup>C-NMR 1D, 2D xem phần 2 bảng 1.

#### 3.5.2. Phân lập các chất trong (E)

Tiến hành sắc ký cột tương tự như 3.5.1 nhưng với dung môi rửa cột là CHCl<sub>3</sub>/MeOH 10/1 v/v từ cận E, chúng tôi phân lập được hai chất E<sub>1</sub> và E<sub>2</sub>. E<sub>1</sub> là tinh thể hình kim không màu, nóng chảy 210-211°C, hiệu suất 0,4g (10%) R<sub>f</sub> = 0,70 (dung môi CHCl<sub>3</sub>/ MeOH 8/2 v/v).

Các số liệu quang phổ của E<sub>1</sub> đã nêu ở trên (bảng 1).

E<sub>2</sub> là tinh thể vô định hình nóng chảy ở 217-218°C

R<sub>r</sub> = 0,73

E<sub>2</sub> đã nêu ở trên (bảng 2)

Tài liệu tham khảo

1. Võ Văn Chi, Từ điển cây thuốc Việt Nam NXB Y học trang 536 [1997].
2. Vimala S. et. al. British Journal of comcer 80, 110 - 116 [1999].
3. Huang G.C. et al. Phosphorus 74, 719-726 (2005).
4. Morikami A. et. al. Corrosion 55, 795-802 (2002).
5. Văn Ngọc Hương và cộng sự. Tạp chí Khoa học và Công nghệ 14, 15-16 (2004).
6. Trần Công Yên, Văn Ngọc Hương và cộng sự. Đặc san ung thư học III, 305-309 [2005].

Từ tháng năm 40 của thế kỷ trước, người ta đã tạo ra được gang có độ bền cao thay cho thép. Thành phần kim loại sử dụng gang kim loại đất hiếm (KLĐH) và magie (Mg) do đó đã làm giảm các giai đoạn gia công trong quá trình chế tạo nguyên tố biến dạng như Ni, Mo, ... Ở các nước khoa học phát triển sự kết hợp giữa các Viện nghiên cứu luyện kim với các nhà máy để tạo ra hiện quả kinh tế cao trong công nghệ sản xuất gang cầu như gang KLĐH và Mg (gang xám có cấu trúc gang) được coi là gang cầu.

Ở Việt Nam việc nghiên cứu chế tạo gang cầu được thực hiện trong thời kỳ chống Mỹ cứu nước nhằm tạo ra vật liệu gang cầu có độ bền cao dùng trong quân khí phục vụ chiến tranh. Sau chiến tranh được áp dụng sản xuất quy mô công nghiệp. Các loại gang nước làm các nắp công trình gang cầu của hệ thống thoát nước thành phố, hệ thống công cụ gang cầu như trục dẫn các loại máy móc, gang cầu có nhân cầu và chất cầu hóa (hợp kim trung gian Fe-Si-RE-Mg) rất lớn. Nước ta hàng năm sản xuất từ 30 - 50 ngàn tấn gang cầu cần từ 600 đến 1000 tấn đất hiếm. Đất hiếm là một thành phần không thể thiếu của nước ta.

Trong đó ở Việt Nam có nguồn đất hiếm kim loại đất hiếm rất lớn, từ lượng trên 10 triệu tấn. Hiện nay các nguyên tố đất hiếm trong gang cầu đang được nghiên cứu sản xuất quy mô công nghiệp. Viện nghiên cứu MIO và Viện nghiên cứu sắt thép đất hiếm là những đơn vị tiên phong nghiên cứu sản xuất gang cầu có chứa magie và đất hiếm. Năm 1978, Nhóm việc nghiên cứu sản xuất chất cầu hóa có chứa magie và đất hiếm được triển khai được trình bày ở bài báo khoa học K.02 là một công trình nghiên cứu về đất hiếm.

Việc nghiên cứu hoàn thiện công nghệ sản xuất gang Fe-KLĐH-Mg có hàm lượng Mg trung bình và hợp kim Fe-Si-Mg trung bình có chứa Yttrium để triển khai nghiên cứu các công nghệ đã thành công trong việc thay thế các chất hợp nguyên đất hiếm như nhôm bằng các nguyên tố khác và tạo ra gang cầu có độ bền cao. Công nghệ sản xuất gang Fe-KLĐH-Mg có hàm lượng Mg kim loại sạch đã sản xuất ra HKTG KLĐHMG có hàm lượng KLĐH 2-3%. Tương đương với các HKTG nhập ngoại nhưng có giá thành rẻ hơn - 20%. Công ty có phân phối các gang này và các gang này đã được khảo sát.

Các thông số công nghệ sản xuất gang kim loại đất hiếm đã được khảo sát.