

Nghiên cứu tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm của một số loài *Alpinia* và *Zingiber* (Zingiberaceae) của Việt Nam

Lê Huyền Trâm, Phan Minh Giang, Phan Tống Sơn
Phòng Thí nghiệm Hoá học các hợp chất thiên nhiên,
Khoa Hoá học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên,
Đại học Quốc gia Hà Nội

Đặt vấn đề

Các loài cây thuộc họ Gừng (Zingiberaceae), bao gồm các chi như *Alpinia*, *Amomum*, *Curcuma*, *Hedychium*, *Kaempferia*, và *Zingiber* ... [1], được sử dụng phổ biến để làm thuốc và gia vị. Trong Y học dân gian Việt Nam các loài Riềng (*Alpinia*) như *A. bracteata* Roxb., *A. breviligulata* Gagnep., *A. chinensis* (Retz.) Roscoe, *A. conchigera* Griff., *A. galanga* (L.) Willd., *A. globosa* (Lour.) Horan., *A. malaccensis* (Burm. f.) Roscoe, *A. officinarum* Hance, *A. zerumbet* (Pers.) Burt et Sm. [1], được dùng trong điều trị các bệnh đau dạ dày, sốt rét, tiêu hoá kém, trị ho do viêm đường hô hấp, còn các loài Gừng (*Zingiber*) như *Z. cassumunar* Roxb., *Z. gramineum* Blume, *Z. officinale* Roscoe, *Z. purpureum* Roscoe, và *Z. zerumbet* (L.) Sm. là các vị thuốc dân gian dùng để chữa đau bụng, viêm tấy, thấp khớp, và ăn uống không tiêu. Do đó việc nghiên cứu nhằm mục đích phát hiện và phát triển các chế phẩm và các hợp chất kháng khuẩn và kháng nấm từ các loài Zingiberaceae là một việc làm có ý nghĩa thực tiễn. Trong các nghiên cứu gần đây của chúng tôi sự đa dạng về thành phần hoá học, từ các monoterpenoid, các sesquiterpenoid, các labdan diterpenoid, các phytosterol và β -sitosterol glucosid, các flavonoid, các diarylheptanoid, các diarylheptanoid chứa chalcon, α -pyron đến các carbohydrat đã được phát hiện trong các loài *A. tonkinensis* Gagnep. [2], *A. globosa* (Lour.) Horan. [3], *A. conchigera* Griff. [4, 7], *A. gagnepainii* K. Schum. [5], *A. pinnanensis* T. L. Wu et Senjen [6], *Z. purpureum* Roscoe [7] và *Z. rufopilosum* Gagnep. [7]. Bài báo này đặt vấn đề đánh giá tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm của một số loài *Alpinia* và *Zingiber* trong mối tương quan với các thành phần hoá học chính được phân lập từ các loài này.

Điều kiện và phương pháp

Nguyên liệu

Thân rễ riềng Gagnepain (*Alpinia gagnepainii* K. Schum.), riềng Malacca (*A. malaccensis* (Burm. f.) Roscoe) và gừng đỏ (*Zingiber rubens* Roxb.) được thu thập và giám định bởi nhà thực vật học Nguyễn Quốc Bình, Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Thân rễ riềng rừng (*A. conchigera* Griff.) và mè tré (*A. globosa* (Lour.) Horan.) được thu thập và giám định bởi TS Nguyễn Hoàn Côi, Viện Kiểm nghiệm và Nghiên cứu Dược quân đội (Bảng 1).

Chiết, phân tách và phân lập các hợp chất

Thân rễ tươi được sấy khô ở 40-50°C, sau đó được nghiền thành bột mịn và ngâm chiết với MeOH ở nhiệt độ phòng. Phần chiết MeOH toàn phần thu được được phân bố giữa H₂O và các dung môi hữu cơ có độ phân cực tăng dần *n*-hexan, CH₂Cl₂, EtOAc và *n*-BuOH để cho các phần chiết tương ứng. Các phần chiết *n*-hexan và EtOAc được phân tách bằng sắc ký cột trên silica gel. Các hợp chất dễ bay hơi được nhận biết bằng phương pháp GC-MS, và cấu trúc của các hợp chất được phân lập được xác định bằng các phương pháp vật lý IR, EIMS, ¹H- và ¹³C-NMR (Bảng 1).

Thử hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm

Chủng vi sinh vật

Các chủng vi sinh vật kiểm định bao gồm hai chủng vi khuẩn Gram (+) *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, hai chủng vi khuẩn Gram (-) *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, hai chủng nấm mốc *Aspergillus niger* và *Fusarium oxysporum*, và hai chủng nấm men *Candida albicans* và *Saccharomyces cerevisiae*.

Thử sơ bộ hoạt tính kháng vi sinh vật và xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm được sơ bộ khảo sát trên phiến vi lượng 96 giếng theo phương pháp của Vanden Berghe D. A. và Vlietinck A. J. [8]. Các mẫu thử có hoạt tính trong phép thử sơ

● Nghiên cứu - Kỹ thuật

bộ được tiến hành thử để tìm giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) theo phương pháp vi pha loãng trong môi trường canh dinh dưỡng (*broth microdilution method*) [8].

Kết quả và thảo luận

Chiết, phân tách và phân lập các hợp chất

Phần thân rễ của riềng *Gagnepainii* (*A. gagnepainii*), riềng Malaca (*A. malaccensis*), riềng rừng (*A. conchigera*), mè tré (*A. globosa*) và gừng đỏ (*Z. rubens*) được thu thập tại các vùng khác nhau được ngâm chiết với MeOH ở nhiệt độ phòng. Phần chiết MeOH được phân bố giữa H₂O và các dung môi

hữu cơ có độ phân cực tăng dần để cho các phần chiết *n*-hexan, CH₂Cl₂, EtOAc, và *n*-BuOH (Bảng 1). Các phần chiết có tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm được phân tách bằng sắc ký cột để cho các hợp chất được liệt kê trong Bảng 1. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học của các phần chiết và các thành phần chính được phân lập từ các phần chiết này cũng như thiết lập mối tương quan giữa hoạt tính sinh học của các phần chiết và các hợp chất thành phần được nêu ở các tài liệu [9, 10] đã được sử dụng trong nghiên cứu này.

Bảng 2 cho thấy các mẫu *A. gagnepainii* được thu thập ở các vùng khác nhau Quảng Nam, Quảng

Bảng 1. Nguyên liệu, chiết tách, và các hợp chất được phân lập

STT	Mẫu thực vật (thân rễ)	Địa điểm Thu thập	Thời gian thu thập	Phần chiết ^{a)} (Hiệu suất ^{b)} , %)	Các hợp chất được phân lập
1	<i>A. gagnepainii</i> (AG)	Tam Kỳ, Quảng Nam	7/2003	AGH1 (0,95%) AGD1 (0,90%) AGE1 (0,84%) AGB1 (0,77%)	
		Tuyên Hoá, Quảng Bình	5/2004	AGH2 (0,78%) AGE2 (2,67%) AGB2 (1,08%)	β -Sitosterol, stigmasterol, (-)-pinocembrin (1), cardamomin (2), (-)-epicatechin, β -sitosterol β -D-glucopyranosid
		Điện Biên, Lai Châu	7/2005	AGH3 (1,19%) AGE3 (1,80%)	β -Sitosterol, stigmasterol, cardamomin (2), alpininone (3), 5,6-dehydrokawain (4), naringenin 5-O-methyl ether
2	<i>A. malaccensis</i> (AM)	Mai Châu, Hoà Bình	8/2003	AMH (1,05%) AMD (0,78%) AME (0,28%) AMB (0,33%)	β -Sitosterol, stigmasterol, β -sitosterol β -D-glucopyranosid, các monoterenoid, các sesquiterpenoid, các labdan diterpenoid, các methyl este của acid béo, acid linoleic
3	<i>A. globosa</i> (AL)	Đại Từ, Thái Nguyên	10/2003	ALH (1,20%) ALE (2,98%) ALB (0,31%)	β -Sitosterol, stigmasterol, 5,6-dehydrokawain (4)
4	<i>A. conchigera</i> (AC)	Đại Từ, Thái Nguyên	10/2003	ACH (1,63%) ACE (2,21%) ACB (0,75%)	β -Sitosterol, stigmasterol, cardamomin (2), alpinetin (5), chalconaringenin 2'-O-methyl ether (6), naringenin 5-O-methyl ether (7)
5	<i>Z. rubens</i> (ZR)	Mai Châu, Hòa Bình	7/2003	ZRH (0,33%) ZRD (0,33%) ZRE (0,10%) ZRB (0,10%)	β -Sitosterol, stigmasterol, các monoterenoid, các sesquiterpenoid, các labdan diterpenoid, các methyl este của acid béo, palmitic, acid stearic, glycerol monoeste của acid béo

^{a)} Ký hiệu các phần chiết, H: *n*-hexan, D: dichloromethan, E: ethyl acetat, B: *n*-BuOH

^{b)} Hiệu suất so với khối lượng nguyên liệu khô

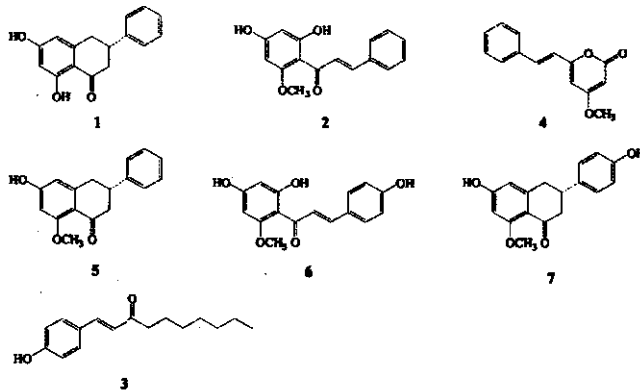
Bình và Lai Châu có sự biến đổi về hoạt tính (và thành phần hoá học) theo vùng địa lý. Điểm khác biệt này có thể thấy rõ ở các hoạt tính kháng *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* và các vi nấm. Cả ba mẫu *A. gagnepainii* này đều có hoạt tính đối với *S. aureus*, và (-)-pinocembrin (1) được phân lập từ

AGE2 và alpininone (3) từ AGE3 đều cho các hoạt tính kháng *S. aureus* mạnh hơn so với của các phần chiết ban đầu. Trong các phần chiết của *A. malaccensis* chỉ có phần chiết AMH thể hiện hoạt tính kháng *S. aureus* và hoạt tính này có thể được quyết định bởi các monoterenoid, sesquiterpenoid

● Nghiên cứu - Kỹ thuật

và labdan diterpenoid dễ bay hơi của phần chiết này [11]. Các thành phần chính 5,6-dehydrokawain (4) của *A. globosa* và cardamomin (2) của *A. conchigera* và các thành phần khác của *A. conchigera* là alpinetin (5), chalconaringenin 2'-O-methyl ether (6) và naringenin 5-O-methyl ether (7) lại nằm trong một mối tương quan lý thú với các phần chiết

tương ứng về các hoạt tính kháng *E. coli*, *B. subtilis* và *S. aureus*. *S. aureus* là vi khuẩn Gram (+) có khả năng kháng tất cả các chất kháng sinh được sử dụng đã chứng tỏ là bị ức chế bởi tất cả các phần chiết từ *Z. rubens*. Tác dụng kháng *S. aureus* của ZRH có thể do các thành phần terpenoid dễ bay hơi quyết định [11].



Bảng 2. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của các phần chiết và các hợp chất được phân lập

STT	Mẫu thử	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC, µg/ml)								
		Vi khuẩn Gram (-)			Vi khuẩn Gram (+)		Nấm mốc		Nấm men	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
1	AGH1	200	n.a. ^{a)}	50	100	n.a. ^{a)}	100	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
2	AGD1	50	50	n.a. ^{a)}	50	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
3	AGE1	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
4	AGB1	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	100	50	
5	AGH2	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	200	100	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
6	AGE2	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	50	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	100	50	
7	AGB2	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	200	50	50	
8	1	25	n.a. ^{a)}	50	25	n.a. ^{a)}	50	50	50	
9	AGH3	50	n.a. ^{a)}	200	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
10	AGE3	50	50	100	100	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	200	200	
11	3	12,5	n.a. ^{a)}	12,5	12,5	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	50	
12	AMH	100	200	n.a. ^{a)}	200	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
13	AMD	200	50	200	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	100	n.a. ^{a)}	50	
14	AME	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
15	AMB	200	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
16	ALH	100	n.a. ^{a)}	100	200	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
17	ALE	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	50	50	
18	4	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	50	50	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
19	ACH	200	100	100	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
20	ACE	100	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	50	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	50	100	
21	ACB	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	100	n.a. ^{a)}	100	50	100	
22	2	25	n.a. ^{a)}	50	25	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
23	5	50	n.a. ^{a)}	50	50	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
24	6	50	n.a. ^{a)}	25	25	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
25	7	50	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	50	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
26	ZRH	100	50	n.a. ^{a)}	100	n.a. ^{a)}	200	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
27	ZRD	n.a. ^{a)}	50	n.a. ^{a)}	100	n.a. ^{a)}	50	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
28	ZRE	100	n.a. ^{a)}	50	200	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	
29	ZRB	50	50	100	50	n.a. ^{a)}	50	n.a. ^{a)}	n.a. ^{a)}	

^{a)} n. a.: mẫu không thể hiện hoạt tính trong phép thử sơ bộ

Kết luận

Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của các phần chiết từ thân rễ các loài riềng *Gagnepain* (*Alpinia gagnepainii*), riềng Malacca (*A. malaccensis*), riềng rừng (*A. conchigera*), mè tré (*A. globosa*) và gừng đỏ (*Zingiber rubens*) thuộc họ Zingiberaceae đã được đánh giá trong mối tương quan với hoạt tính của các thành phần chính được phân lập từ các phần chiết này. Kết quả là các thành phần chính đều tỏ ra có ảnh hưởng quyết định đến hoạt tính chung của các phần chiết. Tác dụng kháng *Staphylococcus aureus* của tất cả các loài *Alpinia* và *Zingiber* được khảo sát cho thấy triển vọng mở rộng nghiên cứu hoạt tính của chúng với các chủng *S. aureus* kháng methicillin (MRSA).

Công trình này được sự hỗ trợ của IFS (Stockholm, Sweden) và Chương trình nghiên cứu cơ bản trong lĩnh vực Khoa học tự nhiên.

Summary

Antibacterial and antifungal activities of extracts from the rhizomes of Zingiberaceae plants *Alpinia gagnepainii* K. Schum., *Alpinia malaccensis* (Burm. f.) Roscoe, *Alpinia conchigera* Griff., *A. globosa* (Lour.) Horan., and *Zingiber rubens* Roxb. were evaluated in correlation with the activities of their main active constituents. This, in turn, means that these were evident constitutive antibacterial and antifungal components of the extracts. Anti-staphy-

lococcal activities of the extracts of *Alpinia* and *Zingiber* species investigated were noticeable.

Tài liệu tham khảo

1. Võ Văn Chí, *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Thành phố Hồ Chí Minh (1997).
2. Phan Minh Giang, Phan Tống Sơn, H. Otsuka, *Nat. Med.*, (2004) 58, 230-233.
3. Phan Minh Giang, Phan Tống Sơn, *Tạp chí Hoá học*, (2004) 42, 376-378.
4. Phan Minh Giang, Đặng Bách Tài, Phan Tống Sơn, *Tạp chí Hoá học*, (2005) 43, 105-108.
5. Phan Minh Giang, Lê Huyền Trâm, Phan Tống Sơn, *Tạp chí Hoá học*, (2005) 43, 524-528.
6. Phan Minh Giang, Phan Tống Sơn, K. Matsunami, H. Otsuka, *Chem. Pharm. Bull.*, (2005) 53, 1335-1337.
7. Kết quả chưa công bố.
8. D. A. Vanden Berghe, A. J. Vlietinck trong "Methods in plant biochemistry", ed. K. Hostettmann, *Academic Press*, London, (1991) Vol. 6, 47-69.
9. L. Bohlin trong "Phytochemistry of plants used in traditional medicine", eds. K. Hostettmann, A. Marston, M. Maillard, and M. Hamburger, *Clarendon Press*, Oxford (1995).
10. Phan Minh Giang, Phan Tống Sơn, K. Matsunami, H. Otsuka, *J. Nat. Med.*, (2006) 60, 93-95.
11. S. Gibbons, *Nat. Prod. Rep.*, (2004) 21, 263-277.

Phân lập và xác định cấu trúc rotenon trong rễ cây *Milletia pachyloba* Drake var. *pachyloba*

Phạm Thanh Kỳ¹, Nguyễn Trọng Đường²,
Nguyễn Hoàn Côi², Chu Đình Kinh³

¹Trường đại học Dược Hà Nội;

²Trung tâm KNNC Dược Quân đội,

³Viện hóa học - Viện khoa học và công nghệ Việt Nam

Đặt vấn đề

Rotenon là hoạt chất chính trong rễ cây dây mật (*Derris elliptica* Benth.). Rotenon có độ độc mang tính chọn lọc cao, rất độc đối với cá, sâu bọ, côn trùng, ít độc với động vật có vú. Nhân dân các nước Đông Nam Á thường dùng cây dây mật để duốc cá và làm thuốc trừ sâu trong nông nghiệp [1,2,3,4]. Gần đây chúng tôi mới thu hái được mẫu cây mọc tại Hà Giang, nhân dân địa phương cũng gọi là cây dây mật nhưng tên khoa học đã được xác định là *Milletia*

pachyloba Drake var. *pachyloba*. Để có cơ sở khoa học sử dụng cây này chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu về thành phần hóa học, độc tính và một số tác dụng sinh học. Sau đây xin thông báo kết quả phân lập và xác định cấu trúc rotenon trong rễ cây *Milletia pachyloba* Drake var. *pachyloba*.

Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu

- Chúng tôi đã thu hái mẫu cây tại Hà Giang vào tháng 5/2007 có đủ hoa, quả và đã được GS. TSKH