

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG**

MAI XUÂN VIÊN

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC DỊCH CHIẾT
TRONG DUNG MÔI CLOROFOM, METHANOL VÀ
ETE DẦU HỎA CỦA THÂN RỄ CÂY GỪNG GIÓ ĐÀ NẴNG**

**Chuyên ngành: Hóa Hữu Cơ
Mã số: 60 44 27**

TÓM TẮT LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

Đà Nẵng - Năm 2011

Công trình được hoàn thành tại
ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG

Người hướng dẫn khoa học : TS. TRỊNH ĐÌNH CHÍNH

Phản biện 1 : PGS.TS. LÊ TỰ HẢI

Phản biện 2 : GS.TSKH. TRẦN VĂN HOÀNG

Luận văn được bảo vệ tại Hội đồng chấm Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ khoa học họp tại Đại học Đà Nẵng vào ngày 29 tháng 10 năm 2011.

**** Có thể tìm hiểu luận văn tại:***

- Trung tâm Thông tin - Học liệu, Đại học Đà Nẵng
- Trung tâm Học Liệu, Đại học Đà Nẵng.

MỞ ĐẦU

1. Lí do chọn đề tài

Trong cuộc sống hiện đại hiện nay, dược phẩm công nghiệp chứng tỏ nhiều hiệu quả như tính phong phú, đa dạng, tác dụng nhanh, thời gian điều trị thường ngắn ... nhưng có một nhược điểm hay gặp là giá thành cao, gây nhiều tác dụng phụ ảnh hưởng đến sức khỏe về sau của người bệnh. Do đó việc tìm đến vị thuốc thiên nhiên ngày càng được ưu chuộng trong cộng đồng bởi nó ít gây tác dụng phụ, giá thành thường rẻ và có những tác dụng rất tốt đối với một số bệnh nan y mà y học hiện đại chưa tìm ra phương pháp điều trị hiệu quả.

Ở xã Hòa Bắc, huyện Hòa Vang, thành phố Đà Nẵng có loài gừng gió mọc hoang, người dân thường dùng lá non cây gừng gió để ăn như một món rau, dùng chữa cảm... Tuy nhiên đến nay chưa có công trình nghiên cứu về cây gừng gió Đà Nẵng mà người dân sử dụng chúng chỉ mang tính kinh nghiệm.

Vì vậy tác giả luận văn chọn đề tài “*Nghiên cứu thành phần hoá học dịch chiết trong dung môi clorofom, methanol và ete dầu hỏa của thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng*”, cũng là một phần nhỏ để khảo sát các tính chất sinh hóa của các chất trong cây gừng gió và là cơ sở cho việc tìm hướng phát triển nguồn nguyên liệu gừng gió tại địa phương làm cây thuốc và chế biến tinh dầu tạo điều kiện phát triển kinh tế cho vùng này.

2. Đối tượng và mục tiêu nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Tinh dầu thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng.

- Dịch chiết từ thân rễ cây gừng gió bằng các phương pháp chiết tách với các dung môi khác nhau.

2.2. Mục tiêu nghiên cứu

- Xác định thành phần hoá học trong tinh dầu thân rễ cây gừng gió.

- Xây dựng quy trình chiết tách thân rễ cây gừng gió trong các dung môi clorofom, methanol và ete dầu hỏa.

- Khảo sát thành phần hoá học cây gừng gió trong các dung môi clorofom, methanol và ete dầu hỏa.

- Xác định hoạt tính sinh học của chất chính trong dung môi ete dầu hỏa.

- Xác định thành phần hoá học và cấu trúc 1 chất chính trong dịch chiết thân rễ cây gừng gió.

3. Nội dung nghiên cứu

- Lý thuyết

+ Tổng quan về các phương pháp phân tích.

+ Khái quát về cây gừng gió.

- Thực nghiệm

- Chung cất tinh dầu thân rễ cây gừng gió và xác định thành phần hoá học của chúng.

- Xác định các chỉ số chỉ số hoá học của tinh dầu thân rễ của cây gừng gió như: chỉ số axit, chỉ số este.

- Xác định thành phần hóa học của thân rễ cây gừng gió trong các dung môi clorofom, methanol và ete dầu hỏa.

- Tách và xác định cấu trúc chất chính (có hàm lượng lớn) từ dịch chiết thân rễ cây gừng gió.

- Xác định hoạt tính sinh học của chất chính của cây gừng gió.

4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài.

Cung cấp thông tin có ý nghĩa khoa học về cây gừng gió Đà Nẵng: một số chỉ tiêu hóa lý, thành phần hóa học, cấu tạo và ứng dụng của một số hợp chất chính của cây gừng gió.

5. Bố cục luận văn

Ngoài phần mở đầu, kết luận, tài liệu tham khảo và phụ lục trong luận văn gồm có 3 chương như sau:

Chương 1. Tổng quan

Chương 2. Những nghiên cứu thực nghiệm

Chương 3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận.

CHƯƠNG 1- TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về các phương pháp phân tích

1.1.1 Các phương pháp chiết, chung cất

1.1.2. Các phương pháp sắc ký

1.2. Khái quát về cây gừng gió

1.2.1. Sơ lược về họ Gừng (*Zingiberaceae*).

Họ Gừng là một họ của thảo mộc sống lâu năm với các thân rễ bò ngang hay tạo củ. Chúng được phân bố trên khắp châu Á, châu Phi, Mỹ và đặc biệt là khu vực Đông Nam Á. [9]

Theo tài liệu gần đây của giáo sư W. John Kress và cộng sự, họ Gừng có khoảng 53 chi và trên 1300 loài, được chia làm 4 phân họ và 6 tông [23]

1.2.2. Tình hình nghiên cứu về chi Gừng nói chung và cây gừng gió nói riêng.

- Chi Gừng

+ Gừng – *Zingiber officinale* Roscoe

+ Gừng gió – *Zingiber zerumbet* Smith

+ Gừng tía – *Zingiber accuminatum* Valetton

+ Gừng Nam Bộ - *Zingiber cochinchinensis* Gagnep

+ Gừng Eberhardt – *Zingiber eberhardii* Gagnep

+ Gừng lúa – *Zingiber gramieum* Bl

+ Gừng đại – *Zingiber cassumunar* (*Zingiber purpureum* Rosc.)

+ Gừng đỏ - *Zingiber rubens* Roxb.

+ Gừng một lá – *Zingiber monophyllum* Gagnep

- + Gừng bọc da – *Zingiber pellitum* Gagnep
- + Gừng lông hung – *Zingiber rufopilosum* Gagnep
- Cây gừng gió
- + Ở Việt Nam.
- + Trên thế giới

CHƯƠNG 2 - THỰC NGHIỆM

2.1. Xác định tên khoa học của cây gừng gió

2.2. Tìm hiểu về cây gừng gió ở Đà Nẵng

2.2.1. Hình thái thực vật cây gừng gió Đà Nẵng

Cây thảo sống nhiều năm nhờ thân rễ dạng củ phân nhánh, vỏ trắng, thịt vàng nhạt, có mùi thơm, vị hơi cay. Thân khí sinh mọc thẳng, cao 1-1,5 m, khi mọc ở vùng đất màu mỡ, toi xốp hoặc dưới tán rừng, thiếu sáng thì có thể cao đến 2 m; gốc tròn với nhiều bẹ bao bọc nối tiếp nhau, ngọn đẹp dần, các lá xếp sát vào nhau.

Lá không cuống; có phiến thuôn hình ngọn giáo, mũi nhọn, gốc thon, rộng khoảng 5-7 cm; mép nguyên, cao 1-2 cm.

Phát hoa (cụm hoa) hình bầu dục, trên một cán dài 30-60 cm, mọc đứng riêng lẻ từ thân rễ, được bao bọc bởi nhiều lá hoa hình tròn xếp lợp, màu xanh vàng, bìa đỏ. Hoa có đài màu trắng, cao 10-12 mm; tràng trắng, hình sóng dài 3 cm, môi vàng tái, có 3 thùy.

Quả dạng nang hình bầu dục; hạt đen, ít, có áo hạt trắng.

2.2.2. Sự phân bố của cây gừng gió Đà Nẵng

Cây mọc hoang ở vùng đất trống, hoặc dưới các tán cây làm hàng rào, thích mọc ở nơi ẩm thấp ở huyện Hòa Vang như Hòa Châu, Hòa Khương, Hòa Phú, Hòa Bắc. Đặc biệt ở vùng núi cao Tà Lang thuộc xã Hòa Bắc, cây mọc ven các bờ suối với kích thước thân lớn hơn so với mọc hoang ở vùng đất trống.

Cây ra hoa khoảng từ tháng 10 đến tháng 2 âm lịch; nếu năm nào xuất hiện lũ (tháng 8 âm lịch) thì cây ra hoa sớm hơn.

2.2.3. Tính vị và công dụng của cây gừng gió Đà Nẵng

Củ cây gừng gió có vị hơi đắng, mùi cay nồng, nếu bẻ củ cây gừng gió ra làm đôi thì mùi tỏa ra khắp phòng, củ gừng gió có tính ấm.

Hoa cây gừng gió cũng có mùi nồng nhưng nhẹ hơn so với củ.

Theo kinh nghiệm của người dân địa phương củ cây gừng gió không thể thay thế gừng nhà làm thức ăn vì có tính đắng, tuy nhiên củ của nó được người dân địa phương dùng thuốc chữa đau bụng, đầy hơi, khó tiêu, kích thích tiêu hóa. Lá non của cây gừng gió được dùng như một loại rau có thể luộc ăn và dùng để nướng cá, nhất là loại cá đồng.

2.3. Thu và xử lí mẫu

Cây gừng gió được hái vào tháng 10/2009 tại thôn Phà Nam, xã Hòa Bắc, huyện Hòa Vang, thành phố Đà Nẵng.

Thân rễ cây gừng gió này được rửa sạch, thái mỏng với kích thước cỡ 1-2 mm; sau đó chia thành 2 phần.

+ Phần 1: tiến hành chưng cất tinh dầu bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước.

+ Phần 2: đem hong khô nơi thoáng mát (tránh ánh nắng trực tiếp) rồi sấy khô bằng máy sấy chuyên dụng ở nhiệt độ dưới 40⁰C, sau đó xay mẫu khô thành dạng bột mịn, tiến hành ngâm chiết trong Methanol trong 2 tuần rồi cô đuổi dung môi thu được cao tổng.

2.4. Tách và định lượng tinh dầu

2.4.1. Tách tinh dầu

Tinh dầu được thu bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước.

2.4.2. Định lượng tinh dầu

$$\% \text{ tinh dầu} = \frac{a.100}{b} \%$$

Trong đó: a: trong đó số mL tinh dầu thu được khi chưng cất.

b: số gam nguyên liệu tươi đã dùng.

2.4.3. Xác định các chỉ số hóa học của tinh dầu

- Chỉ số axit.

- Chỉ số este.

2.5. Xác định thành phần hóa học của tinh dầu

Thành phần hóa học của tinh dầu thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng được xác định bằng phương pháp GC/MS tại Viện Hóa Học – Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Thiết bị GC model HP 6890 (America), thiết bị MS model Agilent 5973 (America). Các chất trong tinh dầu được định danh nhờ vào việc so sánh theo dữ liệu phổ khối của Wiley-1998 và Nist-1998.

2.6. Chiết xuất và xác định thành phần hóa học của dịch chiết

2.6.1. Ngâm chiết thu cao tổng

Thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng được rửa sạch, thái mỏng rồi để khô trong mát (tránh ánh sáng trực tiếp vì có thể phân hủy các chất dễ phân hủy dưới ánh sáng), sau đó sấy khô mẫu trong máy sấy chuyên dụng ở nhiệt độ dưới 40⁰C để rút nước. Toàn bộ 3,1 kg mẫu khô thu được ngâm chiết với methanol trong một chậu thủy tinh có đáy nắp. Dùng giấy lọc để lọc lấy dịch chiết sau đó cô đuổi dung môi dưới áp suất thấp thu được cao chiết.

2.6.2. Chiết lỏng-lỏng và rắn-lỏng trong các dung môi

Cao MeOH hoà với H_2O cất, chiết lỏng-lỏng với 2 lít ete dầu hoả.

Phần tan trong ete dầu hỏa đuổi dung môi thu được cao ete dầu. Cao ete dầu được chưng cất lôi cuốn hơi nước thu được phần bay hơi để đo GC/MS, phần còn lại không bay hơi được chiết lại bằng ete dầu hoả rồi cô loại dung môi được cao ete dầu lần 2 để đo LC/MS.

Phần không tan trong ete dầu hỏa chiết tiếp trong 2,5 lít $CHCl_3$ thu được dịch clorofom màu vàng. Cô loại dung môi thu được cao $CHCl_3$.

Dịch nước còn lại sau khi chiết với $CHCl_3$ được cô kiệt nước rồi chiết bằng BuOH thu được dịch BuOH. Phần tan trong BuOH đuổi dung môi thu được dịch cô BuOH. Phần không tan trong BuOH cho chiết tiếp với EtOH và MeOH theo các bước như trên.

2.6.3. Xác định thành phần hóa học của dịch chiết

Đối với phần tan trong ete dầu, thêm nước sau đó tiến hành chưng cất lôi cuốn hơi nước, lấy phần bay hơi đem đo GC-MS ; phần không bay hơi đem đo trong LG-MS.

Phần không tan trong ete dầu, chiết lỏng lỏng lần lượt với các dung môi $CHCl_3$, BuOH, EtOH, MeOH như sơ đồ . Các dịch chiết được cô loại dung môi dưới áp suất giảm, thu được các cao tương ứng. Hòa tan cao vào các dung môi tương ứng rồi tiến hành đo LG-MS.

Xác định thành phần hóa học bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ liên hợp GC/MS tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên-Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các chất trong tinh dầu được định danh nhờ vào việc so sánh theo dữ liệu phổ khối của

Wiley275.L và Nist98.1. Còn xác định thành phần hóa học bằng phương pháp sắc lỏng LC/MS. ESI - MS được đo trên máy Agilent 6310 Ion Trap, tác nhân bắn phá là muối natri tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.7. Thử hoạt tính sinh học của tinh thể kết tinh.

* *Chuẩn bị mẫu để thử hoạt tính sinh học:*

Chất kết tinh trong dịch chiết ete dầu hỏa phần bay hơi theo hơi nước được tiến hành thử hoạt tính sinh học:

- Hoạt tính chống oxi hóa và chống oxi hóa DPPH
- Hoạt tính kháng sinh với các chủng vi sinh : *Lactobacillus fermentum*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* và nấm *Candida albican*.
- Hoạt tính gây độc đối với dòng tế bào ung thư người: KB (ung thư mô biểu bì).

2.8. Phân lập và xác định cấu trúc chất trong dịch chiết

2.8.1. Phân lập chất tinh khiết

- *Sắc ký bản mỏng:* qua khảo sát tác giả luận văn nhận thấy hệ Hexan/Etyl axetat với tỉ lệ thích hợp 100/0 đến 80/20 có thể được áp dụng để phân lập một số chất từ phần kết tinh của dịch ete dầu hỏa phần bay hơi theo hơi nước.

- *Sắc ký cột:*

Bảng 2.1. Các hệ dung môi dùng cho sắc ký cột

STT	Dung môi giải li
1	Hexan (0,5 lít)
2	Hexan-Etyl axetat = 99 : 1 (0,3 lít)
3	Hexan-Etyl axetat = 98: 2 (0,3 lít)

4	Hexan-Etyl axetat = 97 : 3 (0,3 lít)
5	Hexan-Etyl axetat = 95 : 5 (0,5 lít)
6	Hexan-Etyl axetat = 90 : 10(0,5 lít)
7	Hexan-Etyl axetat = 88 : 12(0,5 lít)
8	Hexan-Etyl axetat = 85 : 15(0,5 lít)
9	Hexan-Etyl axetat = 80 : 20(0,7 lít)
10	Rửa cột bằng 100% methanol

Tổng kết quá trình CC : Tổng kết quá trình CC : thu được 2 phân đoạn (ký hiệu F1→F2), trong đó có phân đoạn F1 chủ yếu là chất keo, phân đoạn F2 ứng với sự rửa giải bằng Hexan/Etyl axetat = 90/10. Phân đoạn ứng với sự rửa giải bằng Hexan/Etyl axetat = 90/10 được kết tinh lần lượt trong hexan (2 lần), heptan (1 lần). Tinh thể được làm khô dưới áp suất giảm trong khoảng 30 phút, ở 30⁰C. Cuối cùng thu được 7 mg tinh thể hình kim, det, không màu, được kí hiệu là **ZER**.

2.8.2. Xác định cấu trúc

Cấu trúc của chất rắn **ZER** được xác định bằng các phổ UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT kết hợp so sánh với các số liệu trong các tài liệu tham khảo.

Phổ NMR được đo Bruker AVANCE 500(500 MHz, CDCl₃+MeOD, TMS), tại Viện Hóa học-Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

CHƯƠNG 3 - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định tên khoa học cho cây

Tên khoa học: *Zingiber zerumbet* (L.) J.E.Sm.

3.2. Tính chất cảm quan và hàm lượng tinh dầu

Tinh dầu có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước, làm khan bằng Na_2SO_4 khan.

$$\% \text{ tinh dầu} = \frac{1,8.100}{200} = 0,9\%$$

Nhận xét: như vậy hàm lượng tinh dầu thân rễ gừng gió Đà Nẵng khá cao, cao hơn hàm lượng tinh dầu thân rễ gừng gió ở Tam Đảo [11].

3.3. Kết quả thành phần hóa học của tinh dầu thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng và các chỉ số hóa học của tinh dầu

3.3.1. Thành phần hóa học của tinh dầu thân rễ.

Các chất tinh dầu được xác định thành phần phần trăm và nhận diện bằng phương pháp GC-MS. Phổ được ghi trên máy GC-MS lắp đặt tại Phòng phân tích hữu cơ- viện KH và CN Việt Nam tại Hà Nội.

Bảng 3.1. Thành phần hóa học của tinh dầu thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng.

STT	Thời gian lưu (Phút)	Hợp chất hóa học	Hàm lượng (%)
1	5.59	Alpha-pinene	0.78
2	5.95	Camphene	3.31
3	7.54	(+)-3-carene	0.16
4	7.96	p-cimene	0.16

5	8.07	Limonene	0.27
6	8.16	1,8-cineol	0.87
7	10.27	Alpha-terpinolene	0.26
8	11.71	Camphor	1.10
9	13.26	Alpha-terpineol	0.12
10	20.63	β -caryophyllene	0.23
11	21.70	α-humilene	5.20
12	24.26	12-Nor-caryophyll-5-en-2-on	0.16
13	25.57	(-)-caryophyllene oxide	1.38
14	26.34	12-Oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene	4.10
15	27.50	1H-indene	0.19
16	29.93	Zerumbone	77.2
		Tổng hợp chất đã định danh	95,49
		Hợp chất chưa định danh	4,51

Nhận xét: Thành phần hóa học của tinh dầu thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng tương đồng với hóa học thân rễ cây gừng gió ở Tam Đảo. Thành phần chính trong tinh dầu cây gừng gió Đà Nẵng là Zerumbone cao hơn trong dầu gừng gió Tam Đảo-VN (so với các tài liệu tham khảo thì tinh dầu gừng gió Tam Đảo-VN có hàm lượng Zerumbon cao nhất so với các nơi khác trên TG) [24]. Điều này có ý nghĩa rất lớn vì Zerumbon có tác dụng ức chế HIV và độc tế bào trên thực nghiệm.[24]. Kết quả thực nghiệm thu được cũng phù hợp với các công trình nghiên cứu về thành phần hóa học tinh dầu, đặc biệt là hàm lượng zerumbone của tinh dầu thân rễ gừng gió ở một số địa phương như Gia Lai (zerumbone 65,45%); Bình Định (zerumbone

50,24%) [10], ở Đắk Lắk (49,8%), Quảng Bình (70,2%) và Thừa Thiên Huế (zerumbone 76,3%) [9].

3.3.2. Xác định các chỉ số hóa học của tinh dầu

- Chỉ số axit:

Mẫu	V_{KOH} (ml)
1	1,8 ml
2	1,9 ml
3	1,7 ml

$$\bar{V}_{\text{KOH}} = 1,8\text{ml} \Rightarrow \text{Chỉ số axit là: } A_x = \frac{5,61 \times 1,8}{0,7521} = 13,426$$

- Chỉ số este:

Mẫu	$V_{\text{H}_2\text{O}}$	V_{HCl} (ml)
1	21,6	20,7 ml
2	22,1	20,8 ml
3	21,8	20,5 ml

$$\Rightarrow \text{Chỉ số este là: } A_E = \frac{1,163 \times 28,05}{0,7521} = 43,37$$

Nhận xét: Do tinh dầu cất lại sau một thời gian dài không xác định chỉ số axit ngay nên có thể tinh dầu đã bị oxi hóa một phần thành axit tự do làm cho chỉ số axit cao.

3.4. Kết quả xác định thành phần hóa học của dịch chiết thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng trong dung môi hữu cơ

Kết quả xác định thành phần hóa học của dịch chiết thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng trong dung môi ete dầu hỏa phần bay hơi theo hơi nước

Dựa vào sắc ký khí ghép khối phổ GC-MS, TPHH của dịch chiết thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng trong dung môi *trong dung môi ete dầu hỏa phân bay hơi theo hơi nước* cho thấy thành phần chính của dịch chiết là zerumbone và camphen phù hợp với thành phần tinh dầu thân rễ đã chung cất.

3.5. Kết quả xác định hàm lượng các chất có trong các dịch chiết

Hàm lượng các chất có trong các dịch chiết được được tiến hành đo sắc ký lỏng khối phổ liên hợp (LC-MS) .

3.5.1. Kết quả xác định hàm lượng các chất có trong dịch chiết ete dầu hỏa phân không bay hơi theo hơi nước

Kết quả phân tích LC-MS và giản đồ TIC của phổ khối cho thấy thành phần hóa học của dịch chiết thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng phần không bay hơi theo hơi nước có 3 chất có hàm lượng tương đối lớn ứng với các thời gian lưu là 4.579; 4.872 và 10.478. Tuy nhiên không có chất nào chiếm tỉ lệ cao hơn hẳn so với các chất còn lại mà hàm lượng giữa các chất không chênh lệch nhau lớn.

3.5.2. Kết quả xác định hàm lượng các chất trong dung môi clorofom

Kết quả phân tích LC-MS và giản đồ TIC của phổ khối cho thấy thành phần hóa học của dịch chiết thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng trong dung môi clorofom có 9 chất trong đó có một chất có hàm lượng khá cao (52.7187%) ứng với thời gian lưu là 3.735 phút. Thời gian lưu này khá gần với thời gian lưu chất thứ 3 là 3.422 phút và xa thời gian lưu chất thứ 5 là 7.680 phút.

3.5.3. Kết quả xác định hàm lượng các chất dung môi buthanol

Kết quả phân tích LC-MS và giản đồ TIC của phổ khối cho thấy thành phần hóa học của dịch chiết thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng trong dung môi buthanol có số lượng chất khá lớn, hàm lượng các chất có tỉ lệ phần trăm lớn không cao. Như vậy khó tách chất trong dung môi buthanol, nên cần tiến hành xử lí các bước tiếp theo.

3.5.4. Kết quả xác định hàm lượng các chất có trong dịch chiết ethanol

Kết quả phân tích LC-MS và giản đồ TIC của phổ khối cho thấy thành phần hóa học của dịch chiết thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng trong dung môi EtOH có khoảng 18 chất. So sánh số lượng chất trong hai dung môi buthanol và ethanol ta thấy không có sự chênh lệch nhiều (19 so với 18), tuy nhiên hàm lượng phần trăm các chất có sự biến đổi lớn. Nhìn vào hàm lượng phần trăm các chất trong hai dung môi ta thấy trong dịch chiết ethanol có một chất có hàm lượng rất cao là 58.831% ứng với thời gian lưu là 1.702. Điều này chứng tỏ trong thân rễ cây gừng gió có chất tan tốt trong dung môi ethanol và khả năng phân lập chất có thể được.

3.5.5. Kết quả xác định hàm lượng các chất có trong dịch chiết methanol

Kết quả phân tích LC-MS và giản đồ TIC của phổ khối cho thấy thành phần hóa học của dịch chiết thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng trong dung môi methanol có khoảng 8 chất, trong đó chất chiếm tỉ lệ cao nhất (57.775%) ứng với các thời gian lưu là 12.317 phút. Ngoài ra cũng có các chất khác chiếm tỉ lệ khá cao ứng với thời gian lưu là 17.695 phút với hàm lượng 13.081%; thời gian lưu là 6.370 phút với hàm lượng 11.765%.

***Kết luận:** từ kết quả kết phân tích LC-MS cho thấy thành phần hóa học dịch chiết thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng trong các

dung môi clorofom, ethanol, methanol đều có chứa một số chất có hàm lượng cao. Có có hướng xử lý tiếp theo để tách các chất có hàm lượng lớn ra khỏi hỗn hợp, xác định cấu trúc và nghiên cứu hoạt tính sinh học của các chất này.

3.6. Thử hoạt tính sinh học của chất kết tinh.

Kết quả thử hoạt tính sinh học cho thấy chất kết tinh ZER không có tính kháng các chủng vi khuẩn thuộc chủng Gram (+) và (-), không có tính kháng nấm *candida albicans*, không có hoạt tính chống oxi hóa, không có hoạt tính chống oxi hóa DPPT và có hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư ở người: KB (mô biểu bì).

3.7. Kết quả xác định cấu trúc hóa học của các chất phân lập từ dịch chiết thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng trong dung môi ete dầu hỏa phân bay hơi theo hơi nước.

Từ các phổ ^{13}C , DEPT 90, 135 cho thấy phân tử ZER có: Bốn nhóm methyl ở $\delta_{\text{C}} = 29,4; 24,2; 15,2; 11,8$ ppm tương ứng với 4 tín hiệu singulet trong phổ ^1H -NMR ở $\delta_{\text{H}} = 1,80; 1,54; 1,20; 1,07$ ppm. Một tín hiệu của nhóm cacbonyl ở $\delta_{\text{C}} = 204,3$ ppm. Ba nhóm metilen ở $\delta_{\text{C}} = 42,4; 39,5; 24,4$ ppm ứng với 6H trong khoảng 1,89-2,46 ppm. Một cacbon bậc IV ở $\delta_{\text{C}} = 37,9$ ppm. Ngoài ra, trong phổ còn có sự hiện diện của 3 liên kết đôi C=C: 4 nhóm metin ở $\delta_{\text{C}} = 160,7; 148,8; 127,2; 125,0$ ppm tương ứng với 4 proton olefin trong khoảng 5-6 ppm và 2 cacbon bậc IV ở $\delta_{\text{C}} = 138,0; 136,3$ ppm. Cấu hình của nối đôi $\text{C}_9=\text{C}_{10}$ được xác định là *trans* dựa vào hằng số tương tác $J_{\text{H9/10}} = 16,5$ Hz. Kết hợp với tài liệu tham khảo [22], ta có các bảng so sánh các số liệu phổ ^{13}C -NMR, ^1H -NMR của ZER và zerumbone đã xác định trước đó như sau:

Bảng 3.12. Số liệu phổ ^{13}C -NMR của ZER và zerumbone

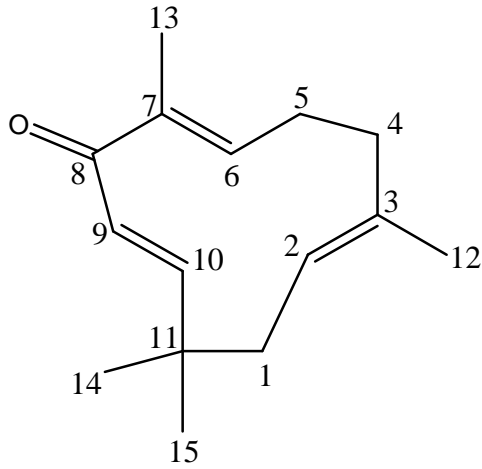
Cacbon	ZER δ_{C} (ppm) (125 MHz, CDCl_3, TMS) (ppm)	Zerumbone[22] δ_{C} (ppm) (125 MHz, CDCl_3, TMS) (ppm)
C-1	42.4 (t)	42.4
C-2	125.0 (d)	125.0
C-3	136.3 (s)	136.3
C-4	39.5(t)	39.5
C-5	24.4(t)	24.4
C-6	144.8(d)	148.8
C-7	138.0 (s)	137.9
C-8	204.3(s)	204.4
C-9	127.2(d)	127.2
C-10	160.7(d)	160.8
C-11	37.9 (s)	37.9
C-12	15.2(q)	15.2
C-13	11.8(q)	11.8
C-14[*]	24.2(t)	24.2 [*]
C-15[*]	29.4(q)	29.4 [*]

Bảng 3.16. Số liệu phổ ^1H -NMR, của ZER và zerumbone

Hidro	ZER δ_{H} (ppm) (500 MHz, CDCl_3, TMS) (ppm)	Zerumbone[22] δ_{H} (ppm) (500 MHz, CDCl_3, TMS) (ppm)
H-1	1H, d, J = 13Hz, 1,90	d, J = 13,2Hz, 1,90
H-1; H-4; H-5	5H, m, 2.22-2.47	H-1, d, J = 13.2Hz, 2.35 H-4, m, 2.19-2.26 H-5, m, 2.26
H-2	1H, br.d, 5,25	dd, J = 16,4Hz, 5,25
H-9*	1H, d, J = 16,5Hz, 5.86	d, J = 16.4Hz, 5.97
H-10*	1H, d, J = 16,5Hz, 5.97	d, J = 16.4Hz, 5.86
H-6	1H, br.d, 6.00	t, J = 16.4Hz, 6.02
H-12	3H, s, 1.54	s, 1.54
H-13	3H, s, 1.80	s, 1.80
H-14*	3H, s, 1.20	s, 1.20
H-15*	3H, s, 1.07	s, 1.07

* Các giá trị có thể thay đổi cho nhau trong cùng cột

Từ các nhận định ban đầu về cấu trúc của chất ZER và so sánh số liệu phổ ^{13}C -NMR; ^1H -NMR với chất zerumbone đã xác định được cấu trúc trước đó, tác giả luận văn khẳng định ZER là zerumbone – một secquitecpen đơn vòng đã được phân lập trước đó từ cây gừng gió (*Zingiber zerumbet* Smith) với cấu trúc như sau:



Hình 3.16 Cấu trúc của chất **ZER**

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Trong quá trình nghiên cứu tác giả luận văn đã đạt được một số kết quả sau:

1. Xác định được tên khoa học của cây gừng gió Đà Nẵng là *Zingiber zerumbet* (L.) J.E.Sm.

2. Bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước đã tách được tinh dầu thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng. Xác định được hàm lượng phần trăm tinh dầu thân rễ của cây gừng gió Đà Nẵng là 0,9% và sử dụng tinh dầu đó xác định các chỉ số hóa học: chỉ số axit là 13.424 và chỉ số este là 43.37.

3. Bằng phép phân tích GC/MS, đã xác định được TPHH, hàm lượng phần trăm và cấu tử chính trong tinh dầu thân rễ tươi cây gừng gió Đà Nẵng. Kết quả thu được cho thấy thành phần tinh dầu thân rễ tươi cây gừng gió Đà Nẵng gồm 24 hợp chất và có 16 chất đã được định danh. Trong tinh dầu có hàm lượng zerumbone cao là 77.2%, phù hợp với các công trình nghiên cứu trước đây về cây gừng gió ở các địa phương ở Việt Nam và trên thế giới.

4. Bằng việc phân tích kết hợp LC/MS tác giả luận văn đã sơ bộ xác định được TPHH của dịch chiết thân rễ trong ete dầu hỏa, CHCl_3 , BuOH, EtOH, MeOH với kết quả cụ thể như sau:

* Dịch chiết trong dung môi ete dầu hỏa phần bay hơi theo hơi nước thấy có chứa zerumbone và camphene là chủ yếu.

* Dịch chiết trong dung môi ete dầu hỏa phần không bay theo hơi nước có khoảng 8 chất trong đó có 3 chất có hàm lượng tương đối lớn ứng với các thời gian lưu là 4.579; 4.872 và 10.478.

* Dịch chiết trong dung môi CHCl_3 có 9 chất trong đó có một chất có hàm lượng khá cao (52.7187%) ứng với thời gian lưu là 3.735 phút.

* Dịch chiết trong dung môi BuOH có 19 chất trong đó hàm lượng các chất có tỉ lệ phần trăm lớn không cao. Chất cao nhất có tỉ lệ phần trăm 17.378% ứng với thời gian lưu là 10.549 phút.

* Dịch chiết trong dung môi EtOH có 18 chất trong đó có một chất có hàm lượng rất cao là 58.831% ứng với thời gian lưu là 1.702.

* Dịch chiết trong dung môi MeOH có 8 chất trong đó có một chất có hàm lượng rất cao là 57.775% ứng với thời gian lưu là 12.317.

5. Bước đầu thăm dò hoạt tính sinh học của chất rắn kết tinh trong dịch chiết ete dầu hỏa phần bay theo hơi nước. Kết quả thu được cho thấy chất kết tinh có hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư ở người *KB* (mô biểu bì) nhưng không có tính kháng các chủng vi khuẩn thuộc chủng Gram (+) và (-), không có tính kháng nấm *candida albicans*, không có hoạt tính chống oxi hóa DPPH.

6. Đã phân lập được tinh thể không màu (kí hiệu **ZER**) từ dịch chiết ete dầu thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng phần bay hơi theo hơi nước. Kết hợp các phương pháp phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT với các tài liệu công bố trước đây đã xác định được cấu trúc chất rắn **ZER** là zerumbone ($\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$)

Qua quá trình nghiên cứu đề tài, tác giả luận văn cũng xin đề nghị:

1. Tiếp tục nghiên cứu rộng về tinh dầu: tinh dầu lá, tinh dầu hoa cũng như hoạt tính sinh học của các loại tinh dầu này.

2. Trong tinh dầu thân rễ cây gừng gió Đà Nẵng có hàm lượng zerumbone cao, do đó cần tìm phương pháp chiết tách zerumbone từ

tinh dầu (tinh dầu kết tinh khi để trong tủ lạnh, có khả năng chất kết tinh là zerumbone như một số tài liệu đã nghiên cứu).

3. Cần nghiên cứu sâu rộng hơn nữa về hoạt tính chống ung thư và kháng HIV của zerumbone, thành phần chính trong thân rễ cây gừng gió để từ đó tìm ra các phương thuốc chữa bệnh tối ưu.

4. Trong zerumbone có nhóm $C=O$ dễ chuyển hóa thành nhóm chức khác do đó cần nghiên cứu thêm về các chất chuyển hóa từ zerumbone và hoạt tính sinh học của các chất đó.

5. Cây gừng gió là một cây thuốc quý nên cần có các biện pháp khai thác, sử dụng cũng như bảo tồn thích hợp.