VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences

Journal homepage: https://js.vnu.edu.vn/MPS

Original Article

Extraction of Ethyl-*p*-methoxycinnamate from *Kaempferia galanga* L.

Tran Trong Bien[1,*], Ngo Quang Trung[1,2], Nguyen Van Han[1]

[1]*Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam*

[2]*National Institute of Pharmaceutical Technology, 13-15 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam*

Received 24 February 2020
Revised 20 March 2020; Accepted 27 July 2020

Abstract: In this study, ethyl-*p*-methoxycinnamate (EPMC) was extracted from *Kaempferia galanga* L. by different methods. The study results show that vacuum drying process led to a significant decrease in EPMC content in the herb (about 7%); EPMC obtained by water distillation not only had a high purity and yield but could also be applied for both fresh and dried herb; whereas, Soxhlet extraction with *n*-hexane solvent brought the highest extraction yield (1.99% on dried herb weight) despite lower purity when compared to that by water distillation method.

Keywords: Ethyl-*p*-methoxycinnamate, EPMC, *Kaempferia galanga* L., extraction.

* Corresponding author.
E-mail address: trantrongbien@gmail.com

https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4215

Nghiên cứu chiết xuất ethyl-*p*-methoxycinnamat từ địa liền (*Kaempferia galanga* L.)

Trần Trọng Biên[1,*], Ngô Quang Trung[1,2], Nguyễn Văn Hân[1]

[1]*Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam*

[2]*Viện Công nghệ Dược phẩm Quốc gia, 13-15 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 24 tháng 02 năm 2020
Chỉnh sửa ngày 20 tháng 3 năm 2020; Chấp nhận đăng ngày 27 tháng 7 năm 2020

Tóm tắt: Ethyl-*p*-methoxycinnamat (EPMC) được chiết xuất từ địa liền (*Kaempferia galanga* L.) bằng các phương pháp khác nhau. Cấu trúc và độ tinh khiết của sản phẩm được sơ bộ đánh giá bằng sắc ký lớp mỏng, nhiệt độ nóng chảy, phổ khối, phổ hồng ngoại và phổ cộng hưởng từ hạt nhân. Quá trình sấy làm giảm hàm lượng EPMC trong dược liệu tươi (giảm khoảng 7%). Phương pháp cất kéo hơi nước cho sản phẩm có độ tinh khiết cao, hiệu suất chiết tương đối tốt (1,74% với dược liệu tươi) và có thể áp dụng cho mẫu dược liệu tươi và khô. Trong khi đó, phương pháp chiết Soxhlet với dung môi *n*-hexan cho hiệu suất chiết cao nhất (1,99%), mặc dù sản phẩm có độ tinh khiết thấp hơn so với phương pháp cất kéo hơi nước.

Từ khóa: Ethyl-*p*-methoxycinnamat, EPMC, chiết xuất, địa liền, *Kaempferia galanga* L.

1. Mở đầu

Địa liền (*Kaempferia galanga* L.) là dược liệu đã được sử dụng từ lâu trong điều trị ngực bụng lạnh đau, tiêu chảy, ăn uống khó tiêu, đau dạ dày, cảm, ho, nôn mửa, hen suyễn và một số tác dụng khác [1]. Thân rễ địa liền khô chứa 2,4-3,9% tinh dầu với các thành phần chính là acid *p*-methoxycinamic, ethyl cinamat và ethyl-*p*-methoxycinnamat (EPMC) [2]. Trong đó, EPMC chiếm chủ yếu và có nhiều tác dụng quan trọng, nổi bật là tác dụng chống viêm tương tự các thuốc chống viêm không steroid do ức chế cyclooxygendase, làm trắng da, chống nắng do ức chế enzyme tổng hợp sắc tố da melamin - tyrosinase và có khả năng hấp thụ UV-VIS [3-5]. Ngoài ra, EPMC còn có tác dụng ức chế enzyme monoaminoxidase, có thể dùng làm thuốc chữa trầm cảm, gây giãn khí phế quả và có phổ kháng khuẩn, kháng nấm khá rộng [6]. Do đó, EPMC có nhiều ứng dụng trong dược phẩm và mỹ phẩm.

Một số nghiên cứu chiết xuất, phân lập EPMC từ địa liền đã được công bố như chiết bằng ethanol tuyệt đối và phân lập bằng chloroform [3], chiết bằng dichloromethan và phân lập bằng sắc ký cột silicagel [7], chiết bằng CO_2 siêu tới hạn và phân lập bằng sắc ký ngược dòng tốc độ cao [8], chiết bằng ether dầu hỏa và phân lập bằng phương pháp kết tinh trong hỗn hợp *n*-hexan-chloroform (1:3, tt/tt) [5]. Tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu trong nước về chủ đề này. Do đó, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu chiết xuất, tinh chế và nhận dạng cấu trúc EPMC từ địa liền đồng thời so sánh các phương pháp chiết EPMC từ địa liền bằng cất kéo hơi nước và Soxhlet.

* Tác giả liên hệ.
Địa chỉ email: trantrongbien@gmail.com

https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4215

2. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu

Mẫu nghiên cứu: thân rễ địa liền thu hái ở Hiệp Hòa, Bắc Giang tháng 12/2014 và được giám định tên khoa học là *Kaempferia galanga* L. bởi Bộ môn Thực vật, Trường Đại học Dược Hà Nội.

Hóa chất, thiết bị:

EPMC đối chiếu là sản phẩm được chiết xuất, tinh chế trong phòng thí nghiệm của nhóm nghiên cứu và sơ bộ kiểm tra độ tinh khiết bằng sắc ký lớp mỏng, nhiệt độ nóng chảy và các công cụ phổ.

Máy đo mật độ vết densitometry CAMAG TLC SCANNER 3 với phần mềm WinCATS (Thụy Sỹ), bộ phận chấm mẫu tự động Limonat 5, phần mềm chụp ảnh VideoStore 2, phần mềm phân tích VideoScan 1.01. Nhiệt độ nóng chảy đo trên máy Ez-Melt (Mỹ). Phổ khối (MS) đo trên máy LC-MS/MS AGILENT 1290/6460 với chế độ đo ESI tại Viện Công nghệ Dược phẩm Quốc gia – Đại học Dược Hà Nội. Phổ hồng ngoại (IR) đo trên máy Shimadzu với kỹ thuật viên nén KBr trong vùng 4000-400 cm^{-1} và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR) đo trên máy Bruker Avance tại Khoa Hóa học, Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết xuất EPMC

Dựa trên tài liệu tham khảo [9,10] và các khảo sát sơ bộ, 2 phương pháp chiết xuất EPMC từ địa liền được nghiên cứu so sánh gồm:

- Phương pháp cất kéo hơi nước: cân dược liệu tươi (300 g) hoặc khô (70 g tương ứng với 300 g dược liệu tươi) đã được xay nhỏ cho vào bình cầu dung tích 2 L, lắp vào bộ cất tinh dầu có gắn ống sinh hàn, thêm nước ngập dược liệu, để nhiệt độ 120-150°C và cất trong 10 giờ kể từ khi nước sôi. Sau thời gian cất, đổ dịch hứng vào bình gạn, thêm 15 mL *n*-hexan và lắc kỹ 5 phút, để yên 10 phút cho tách lớp hoàn toàn. Chiết lấy lớp trên và để kết tinh qua đêm ở 2-8°C. Lọc thu tủa và kết tinh lại 1 lần trong *n*-hexan thu được tinh thể màu trắng. Đối với dược liệu khô, mẫu được ngâm trong nước 3 giờ trước khi tiến hành cất để tăng hiệu suất chiết.

- Phương pháp Soxhlet: cân bột dược liệu khô (300 g) cho vào bình cầu của bộ chiết Soxhlet, thêm 200 mL dung môi (*n*-hexan hoặc ethyl acetat), cài đặt nhiệt độ bếp ôm 75 ± 2°C và chiết trong 6 giờ. Dịch chiết được cô thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được dịch màu vàng nâu (khoảng 15 mL). Để kết tinh qua đêm ở 2-8°C, lọc thu tủa và kết tinh lại 1 lần trong dung môi tương ứng thu được tinh thể.

2.2.2. Phương pháp định lượng EPMC

Định lượng EPMC trong các mẫu thử bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng kết hợp đo mật độ quang (TLC-scanning) với các điều kiện: bản mỏng silicagel 60 F_{254}, pha động aceton : *n*-hexan (20:80, tt/tt), thể tích tiêm mẫu 10 µL, thuốc thử hiện màu Ceri sulfat (pha theo Dược điển Việt Nam V, phụ lục 2 [11]).

Mẫu thử dược liệu: cân 2,000 g bột nhão dược liệu tươi hoặc 0,456 g bột dược liệu khô (tương đương với 2,000 g dược liệu tươi) vào ống nghiệm thủy tinh 20 mL có nắp, chiết siêu âm (60 kHz, 340 W, 30°C, Ultrasonic Cleaner Set, WUC-A06H, DAIHAN Scientific Co., Ltd., Hàn Quốc) 3 lần × 5 mL ethanol 96% trong 15 phút, gộp các dịch chiết vào bình định mức 20 mL, thêm ethanol 96% đến vạch, lắc kỹ, lọc qua màng 0,45 µm. Các mẫu thử khác: Hòa tan chính xác khoảng 5 mg tinh thể trong bình định mức 10 mL bằng ethanol 96%, lắc kỹ và lọc qua màng 0,45 µm.

Mẫu đối chiếu: cân chính xác khoảng 20 mg EPMC, hòa tan và định mức vừa đủ trong bình định mức 10 mL bằng ethanol 96% thu được dung dịch đối chiếu gốc. Pha loãng dung dịch trên để được các dung dịch đối chiếu có nồng độ trong khoảng 0,2-1,2 mg/mL.

Khai triển sắc ký: bản mỏng (10 × 10 cm) được hoạt hóa ở 110°C trong 2 giờ, mẫu được đưa lên bản mỏng thành băng dài 6 mm. Khai triển sắc ký đến khi dung môi chạy được 9 cm, sấy nhẹ bản mỏng trong tủ sấy để bay dung môi. Phun thuốc thử hiện màu đều cả bản mỏng, sấy trong tủ sấy tĩnh ở nhiệt độ 90°C trong 20 phút. Đưa bản mỏng đã hiện màu đo TLC-scanning ở

bước sóng 366 nm, ghi lại sắc ký đồ. So sánh diện tích pic EPMC trên sắc ký đồ của mẫu thử, mẫu đối chiếu để tính toán hàm lượng EPMC trong mẫu thử.

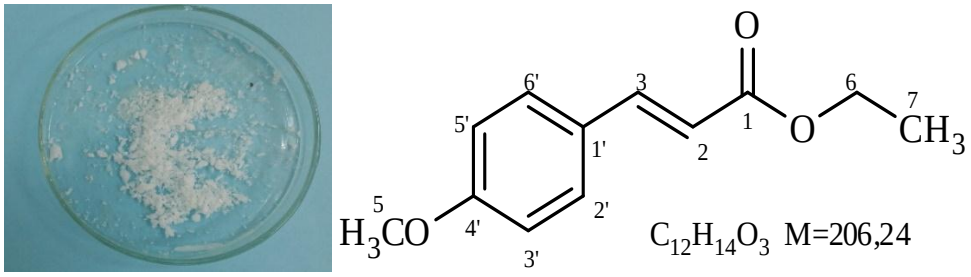
Thẩm định phương pháp: thực hiện theo hướng dẫn của AOAC [12] với các chỉ tiêu độ đặc hiệu, độ thích hợp hệ thống, khoảng tuyến tính, độ lặp lại và độ đúng.

Hình 1. Mẫu địa liền thu hái ở Hiệp Hòa, Bắc Giang dùng trong nghiên cứu.

3. Kết quả nghiên cứu và bàn luận

3.1. Chiết xuất EPMC bằng phương pháp cất kéo hơi nước

EPMC chiết bằng phương pháp cất kéo hơi nước từ dược liệu tươi có các tính chất: tinh thể màu trắng, nhiệt độ nóng chảy 48,6°C (tài liệu [13]: 49,35°C), R_f = 0,56 (pha động *n*-hexan : aceton = 80 : 20). Phổ UV cho cực đại hấp thụ tại bước sóng 277 và 309 nm (dung môi ethanol 96%, tài liệu [14] λ_{max}: 277, 310 nm). Phổ IR (KBr), υ_{max} (cm^{-1}): 2983,95, 2883,77 (CH_2, CH_3), 1705,74 (C=O), 1509,29 (C=C vòng thơm). Phổ ESI-MS (m/z) positive: 206,0 (M^+, ion phân tử), 178,0, 161,0, 133,1. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (^{1}H-NMR, 500 MHz, MeOD): δ_H (ppm) δ_H 7,59 (H-2, d, *J* = 16 Hz), 6,39 (H-3, d, *J* = 15,5Hz), 3,79 (4'-OCH_3, s), 4,20 (H-6, dd, *J* = 7,5 Hz), 1,30 (H-7, t, *J* = 7,0 Hz), 6,90 (H-2', dd, *J* = 2,5 Hz), 7,47 (H-3', dd, *J* = 2,5 Hz), 7,47 (H-5', dd, *J* = 2,5 Hz), 6,90 (H-6', dd, *J* = 2,5 Hz). Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (^{13}C-NMR, 500 MHz, MeOD): δ_C (ppm) δ_C 168,89 (C-1), 116,27 (C-2), 145,75 (C-3), 55,80 (C-5), 61,38 (C-6), 14,63 (C-7), 128,23 (C-1'), 130,86 (C-2'), 115,34 (C-3'), 162,97 (C-4'), 115,34 (C-5'), 130,86 (C-6'). Các dữ liệu phổ phù hợp với tài liệu tham khảo [13]. Các dữ liệu thực nghiệm và phổ đã chứng tỏ EPMC chiết xuất bằng phương pháp cất kéo hơi nước có độ tinh khiết cao và được dùng làm chất đối chiếu trong các thí nghiệm tiếp theo.

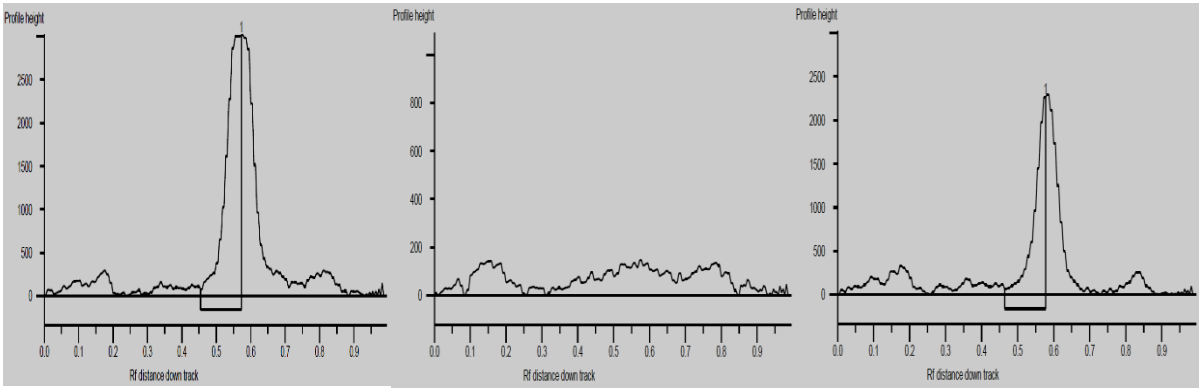


Hình 2. Cảm quan và công thức cấu tạo của EPMC chiết bằng phương pháp cất kéo hơi nước.

3.2. Thẩm định phương pháp TLC-scanning định lượng EPMC

3.2.1. Độ đặc hiệu

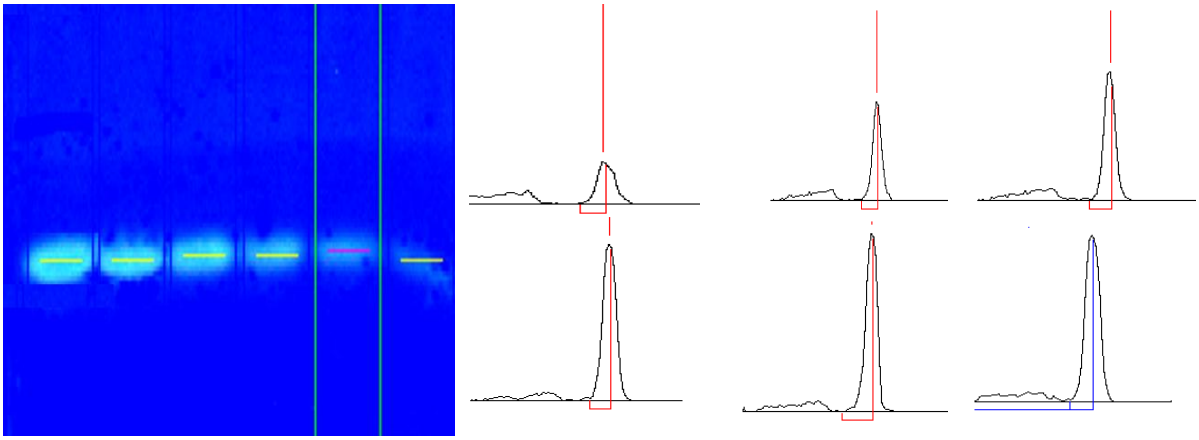
Tiến hành sắc ký các mẫu: mẫu trắng là ethanol 96%, mẫu đối chiếu là dung dịch EPMC nồng độ 1 mg/mL, mẫu thử là dịch chiết thân rễ địa liền. Kết quả cho thấy trên sắc ký đồ TLC-scanning của mẫu thử có 1 píc chính ở vị trí R_f R_f=0,57) tương ứng với píc EPMC trong sắc ký đồ của mẫu đối chiếu. Sắc ký đồ của mẫu trắng không xuất hiện píc tương ứng với píc EPMC trong sắc ký đồ của dung dịch mẫu đối chiếu (Hình 3). Như vậy, phương pháp đạt yêu cầu về độ đặc hiệu.



Hình 3. Sắc ký đồ TLC-scanning thẩm định độ đặc hiệu (trái: mẫu thử, giữa: mẫu trắng, phải: mẫu đối chiếu).

Bảng 1. Kết quả xây dựng đường chuẩn định lượng EPMC bằng TLC-scanning

Nồng độ mẫu (mg/mL)	0,199	0,398	0,597	0,796	0,995	1,194
Lượng EPMC/vết (µg)	1,99	3,98	5,97	7,96	9,95	11,94
Diện tích pic	6217,282	13256,09	19089,3	25432,6	28195,22	33249,07
Phương trình đường chuẩn		y = 2675x + 2274				
R^2		0,9840				



Hình 4. Sắc ký đồ TLC-scanning của EPMC đối chiếu.

3.2.2. Khoảng tuyến tính

Kết quả xây dựng đường chuẩn cho thấy trị số $R^2 > 0,98$ chứng tỏ có sự tương quan cao giữa diện tích píc và lượng EPMC đưa lên bảng mỏng (Bảng 1, Hình 4).

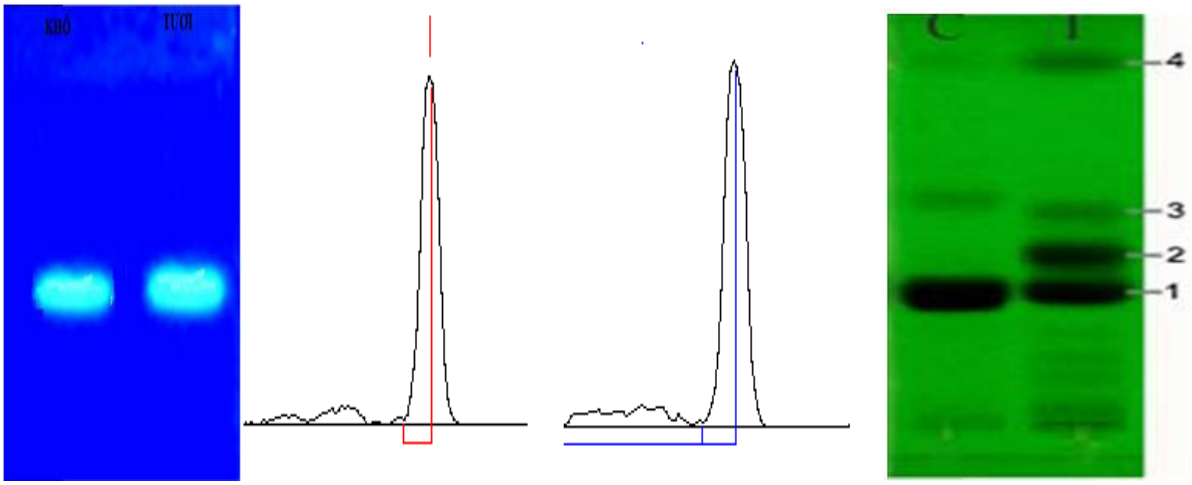
3.2.3. Độ thích hợp hệ thống, độ lặp lại và độ đúng

Kết quả thẩm định các chỉ tiêu độ thích hợp hệ thống, độ lặp lại và độ đúng được trình bày ở Bảng 2 cho thấy, phương pháp TLC-scanning đạt các yêu cầu theo quy định về độ thích hợp hệ thống (RSD <5%), độ lặp lại (RSD < 5%) và độ đúng (tỷ lệ thu hồi chung từ 80-110%) [12].

Như vậy, phương pháp TLC-scanning được thẩm định và đạt các yêu cầu theo quy định của AOAC [12] và được sử dụng để định lượng EPMC trong các mẫu thử trong những thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 2. Kết quả thẩm định độ thích hợp hệ thống, độ lặp lại và độ đúng của phương pháp định lượng

Chỉ tiêu	Kết quả thẩm định
Độ thích hợp hệ thống (n=6)	Diện tích píc EPMC có RSD (%) = 3,55% Hệ số lưu giữ tương đối R_f có RSD (%) = 2,34%
Độ lặp lại (n=6)	Diện tích píc EPMC có RSD (%) = 3,81% Hệ số lưu giữ tương đối R_f có RSD (%) = 2,16%
Độ đúng (n=3)	Tỷ lệ thu hồi chung: 95,10-101,63% Khoảng tìm lại ở từng mức thêm chuẩn: + Thêm 20% (1,2 µg/vết): 96,15-101,63% + Thêm 50% (3,0 µg/vết): 97,10-100,05%



A. B. C. D.

Hình 5. Hình ảnh bản mỏng quan sát ở các bước sóng khác nhau (A. 366 nm (trái: dược liệu khô, phải: dược liệu tươi) và D. 254 nm (trái: EPMC đối chiếu, phải: dịch chiết n-hexan)) và sắc ký đồ TLC-scanning của các mẫu dược liệu (B. dược liệu khô và C. dược liệu tươi).

3.3. Ảnh hưởng của quá trình sấy đến hàm lượng EPMC trong dược liệu

EPMC là một tinh dầu có nhiệt độ nóng chảy khá thấp (47-50°C), do đó quá trình sấy dược liệu tươi có thể ảnh hưởng đến độ ổn định của nó. Sấy 1000 g dược liệu tươi ở nhiệt độ 45°C trong tủ sấy chân không trong 24 giờ thu được 228 g dược liệu khô (tỷ lệ 1:4,38, kl/kl), hàm ẩm dưới 5%. Hàm lượng EPMC trong dược liệu tươi và khô, xác định bằng phương pháp TLC-scanning, lần lượt là 2,44 và 2,27% (tính theo khối lượng dược liệu khô kiệt). Như vậy, hàm lượng EPMC trong dược liệu khô bằng 93,03%

so với trong dược liệu tươi, điều này chứng tỏ quá trình sấy đã làm giảm đáng kể hàm lượng EPMC trong dược liệu. Cần nghiên cứu các biện pháp làm khô dược liệu thích hợp để giảm sự hao hụt này hoặc nghiên cứu quy trình chiết xuất EPMC trực tiếp từ dược liệu tươi.

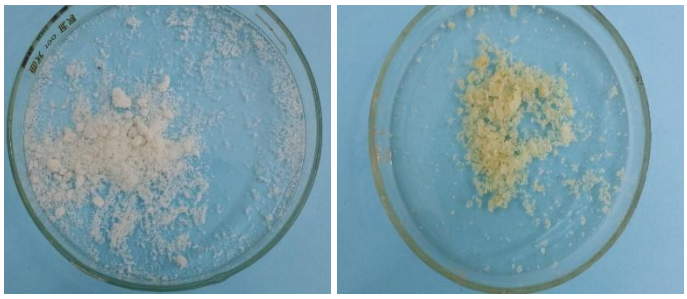
3.4. So sánh các phương pháp chiết EPMC

Tiến hành chiết xuất EPMC từ địa liền theo các phương pháp mô tả ở mục 2.2, kết quả đánh giá các quy trình chiết xuất được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả chiết xuất EPMC từ địa liền bằng các phương pháp khác nhau (TB, n=3)

Phương pháp	Cất kéo hơi nước (Dược liệu tươi)	Cất kéo hơi nước (Dược liệu khô)	Chiết Soxhlet (Dược liệu khô)	
Dung môi	Nước	Nước	*n*-hexan	Ethyl acetat
Khối lượng dược liệu (g)	300	70	70	70
Cảm quan	Tinh thể không màu hoặc màu trắng	Tinh thể không màu hoặc màu trắng	Tinh thể màu vàng nhạt	Tinh thể màu vàng
Nhiệt độ nóng chảy (°C)	48,6	48,7	46,3	44,6
Khối lượng EPMC (g)	1,22	1,05	1,47	1,06
Hàm lượng (%)	100	100	95**	74**
Hiệu suất chiết* (%)	1,74	1,50	1,99	1,12
Ưu điểm	Sản phẩm tinh khiết hơn Dung môi an toàn Áp dụng với cả dược liệu tươi và khô		Hiệu suất chiết cao khi dùng *n*-hexan Nhiệt độ chiết thấp hơn Thời gian chiết ngắn hơn	
Nhược điểm	Hiệu suất chiết thấp hơn phương pháp chiết Soxhlet với *n*-hexan Nhiệt độ chiết cao Thời gian chiết lâu hơn		Độ tinh khiết thấp hơn Dung môi độc hại hơn Thiết bị chuyên dụng	

*Hiệu suất chiết tính theo khối lượng dược liệu khô.
** Hàm lượng tương đối tính so với EPMC chiết được theo phương pháp cất kéo hơi nước



Hình 6. EPMC chiết xuất bằng phương pháp Soxhlet với dung môi *n*-hexan (trái) và ethyl acetat (phải).

So sánh 2 phương pháp cất kéo hơi nước và Soxhlet cho thấy: về cơ chế chiết xuất, phương pháp cất kéo hơi nước dựa trên khả năng bay hơi của EPMC còn phương pháp Soxhlet dựa vào khả năng hòa tan, khuếch tán của EPMC trong dung môi, do đó dịch chiết thu được bằng phương pháp cất kéo hơi nước ít tạp chất hơn, dẫn đến sản phẩm kết tinh tinh khiết hơn. Tuy nhiên, nhiệt độ cất kéo hơi nước cao (120-150°C) có thể là nguyên nhân làm phân hủy một phần EPMC trong quá trình chiết xuất, dẫn đến hiệu suất chiết thấp hơn so với phương pháp Soxhlet khi sử dụng dung môi *n*-hexan với nhiệt độ chiết thấp hơn (75 ± 2°C).

Với phương pháp chiết Soxhlet, hiệu suất chiết EPMC của dung môi *n*-hexan (1,99%) cao hơn hiệu suất chiết EPMC của dung môi ethyl acetat (1,12%). Ngoài ra, dung môi *n*-hexan cho sản phẩm có độ tinh khiết cao hơn so với khi dùng dung môi ethyl acetat (độ tinh khiết lần lượt là 95 và 74%). Điều này có thể được giải thích do độ tan của EPMC trong *n*-hexan cao hơn độ tan của EPMC trong ethyl acetat. Nhận xét tương tự được ghi nhận bởi các tác giả khác [10]. Đồng thời, tính chọn lọc hòa tan EPMC của *n*-hexan tốt hơn ethyl acetat, do đó dịch chiết *n*-hexan ít tạp chất hơn, sẽ tạo điều kiện cho EPMC kết tinh với hiệu suất và độ tinh khiết cao hơn.

So sánh với một số nghiên cứu khác, Muhammad Ihtisham Umar et al. (2012) nghiên cứu chiết xuất EPMC từ *Kaempferia galanga* bằng phương pháp Soxhlet lần lượt với các dung môi ether dầu hỏa, chloroform, methanol. Cắn chiết chloroform lần lượt được rửa với *n*-hexan, hỗn hợp *n*-hexan - chloroform (1:1, tt/tt) và chloroform thu được các cắn chiết tương ứng là F1, F2 và F3. Cắn chiết F3 tiếp tục được rửa với hỗn hợp *n*-hexan - chloroform (1:3, tt/tt) và chloroform thu được các cắn chiết tương ứng là F31 và F32. Cuối cùng EPMC được kết tinh từ phân đoạn F32 trong chloroform với hiệu suất rất thấp (0,026%) [15]. Để cải thiện hiệu suất chiết EPMC từ *Kaempferia galanga*, trong một nghiên cứu khác, Muhammad Ihtisham Umar et al. (2014) nghiên cứu chiết xuất EPMC bằng phương pháp Soxhlet với dung môi ether dầu hỏa, cắn chiết được rửa bằng *n*-hexan để loại tạp màu và kết tinh trong *n*-hexan thu được tinh thể, hòa tan và kết tinh lại trong hỗn hợp *n*-hexan - chloroform (1:3, tt/tt) thu được EPMC tinh khiết với hiệu suất 1,04% [5]. Như vậy, các nghiên cứu trên đều thu được EPMC với hiệu suất thấp, đồng thời quy trình khá phức tạp với nhiều bước. Trong nghiên cứu của chúng tôi, hiệu suất chiết EPMC đã được cải thiện đáng kể lên 1,74 và 1,99% lần lượt với phương pháp cất kéo hơi nước từ dược liệu tươi và chiết Soxhlet với dung môi *n*-hexan. Đồng thời, quy trình tinh chế khá đơn giản bằng cách kết tinh trực tiếp từ dịch chiết.

4. Kết luận

Bằng các công cụ phổ hiện đại đã chứng minh sản phẩm chiết xuất là EPMC. Phương pháp định lượng EPMC bằng TLC-scanning được thẩm định các chỉ tiêu theo hướng dẫn của AOAC cho thấy tính đặc hiệu cao, độ lặp lại và độ đúng tốt. Nghiên cứu ảnh hưởng của quá trình sấy khô dược liệu chỉ ra rằng, quá trình sấy làm giảm hàm lượng EPMC trong dược liệu thân rễ địa liền (giảm khoảng 7%). Phương pháp cất kéo hơi nước cho sản phẩm có độ tinh khiết cao, hiệu suất chiết tương đối tốt (1,74% với dược liệu tươi) và có thể áp dụng cho mẫu dược liệu tươi và khô. Trong khi đó, phương pháp chiết Soxhlet với dung môi *n*-hexan cho hiệu suất chiết cao nhất (1,99%), mặc dù sản phẩm có độ tinh khiết thấp hơn so với phương pháp cất kéo hơi nước.

Tài liệu tham khảo

[1] Botany Department, Botany, Hanoi University of Pharmacy, 2005 (In Vietnamese).

[2] A. Kumar, Phytochemistry, pharmacological activities and uses of Indian traditional medicinal plant *Kaempferia galanga* L. – An overview, Journal of Ethnopharmacology (2020) 112667. https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112667.

[3] H.J. Ko, H.J. Kim, S.Y. Kim, H.Y. Yun, K.J. Baek, N.S. Kwon, W.K. Whang, H.R. Choi, K.C. Park, D.S. Kim, Hypopigmentary Effects of Ethyl P-Methoxycinnamate Isolated from *Kaempferia*

galanga, Phytotherapy research 28(2) (2014) 274-279. https://doi.org/10.1002/ptr.4995.

[4] M. Bonesi, J. Xiao, R. Tundis, F. Aiello, V. Sicari, M. R. Loizzo, Advances in the Tyrosinase Inhibitors from Plant Source, Current Medicinal Chemistry 26(18) (2019) 3279-3299. https://doi.org/10.2174/0929867325666180522091311.

[5] M.I. Umar, M.Z. Asmawi, A. Sadikun, A.M. Majid, F.S. Al-Suede, L.E. Hassan, R. Altaf, M.B. Ahamed, Ethyl-p-methoxycinnamate isolated from *Kaempferia galanga* inhibits inflammation by suppressing interleukin-1, tumor necrosis factor-α, and angiogenesis by blocking endothelial functions, Clinics 69(2) (2014) 134-144. https://doi.org/10.6061/clinics/2014(02)10.

[6] D. Lakshmanan, J. Werngren, L. Jose, K.P. Suja, M.S. Nair, R.L. Varma, S. Mundayoor, S. Hoffner, R.A. Kumar, Ethyl p-methoxycinnamate isolated from a traditional anti-tuberculosis medicinal herb inhibits drug resistant strains of Mycobacterium tuberculosis *in vitro*, Fitoterapia 82(5) (2011) 756-761. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.03.006.

[7] W. Sirisangtragul, B. Sripanidkulchai, Effects of *Kaempferia galanga* L. and ethyl-p-methoxycinnamate (EPMC) on hepatic microsomal cytochrome P450s enzyme activities in mice, J. Sci. Technol. 33(4) (2011) 411-417.

[8] J. Wu, F. Ge, D. Wang, X. Xu, Combination of supercritical fluid extraction with high-speed countercurrent chromatography for extraction and isolation of ethyl p -methoxycinnamate and ethyl cinnamate from *Kaempferia galanga* L., Separation Science and Technology 51(10) (2016) 1757-1764. https://doi.org/10.1080/01496395.2016.1176046.

[9] N. Srivastava, Ranjana, S. Singh, A.C. Gupta, K. Shanker, D.U. Bawankule, S. Luqman, Aromatic ginger (*Kaempferia galanga* L.) extracts with ameliorative and protective potential as a functional food, beyond its flavor and nutritional benefits, Toxicol Rep 6 (2019) 521-528. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.05.014.

[10] I. Komalaa, Supandia, Nurhasnib, O.S. Bethaa, Yardia, S. Mufidaha, M. Rezaa, M.S. Alia, N.S. Auliaa, Sutara, Microwave Assisted Synthesis of p-Methoxycinnamamides and p-Methoxy-β-nitrostyrenes from Ethyl p-methoxycinnamate and Screening their Anti-inflammatory Activity, Natural Product Communications 12(8) (2017) 1265-1268.

[11] Vietnamese Pharmacopoeia, the 5th edition, Appendix 2, (2017) (In Vietnamese)

[12] AOAC International, AOAC official methods of analysis, Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals, 2013.

[13] P. Lunger, M. Weber, N. X. Dung, N. T. B. Tuyet, Ethyl p-Methoxycinnamate from *Kaempferia galanga* L. in Vietnam, Acta Cryst C52 (1996) 1255-1257. https://doi.org/10.1107/S0108270195016027.

[14] S.K. Gupta, A.B. Banerjee, Achari B., Isolation of Ethyl p-methoxycinnamate, the major antifungal principle of *Curcumba zedoaria*, Curcumba zedoaria. Lloydia 39(4) (1976) 218-222.

[15] M.I. Umar, M.Z. Asmawi, A. Sadikun, I.J. Atangwho, M.F. Yam, R. Altaf, A. Ahmed, Bioactivity-guided isolation of ethyl-p-methoxycinnamate, an anti-inflammatory constituent, from *Kaempferia galanga* L. extracts, Molecules 17(7) (2012) 8720-34. https://doi.org/10.3390/molecules17078720.