



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) 
2-0002092

(51)⁷ **C07C 45/81, 7/14, A61K 36/9068**

(13) **Y**

(21) 2-2018-00367

(22) 27.07.2015

(67) 1-2015-02730

(45) 25.09.2019 378

(43) 26.10.2015 331

(73) **CÔNG TY TNHH PHẠM VĂN H.D (VN)**

17 B15/51 Cẩm Hội, phường Đồng Mác, quận Hai Bà Trưng, thành phố Hà Nội

(72) **Văn Ngọc Hương (VN), Văn Thị Ngọc Hải (VN)**

(74) **Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK CO., LTD.)**

(54) **PHƯƠNG PHÁP CHIẾT TÁCH VÀ TINH CHẾ ZERUMBON TINH KHIẾT TỪ
CÂY GỪNG (ZINGIBER)**

(57) Giải pháp hữu ích đề xuất phương pháp chiết tách và tinh chế zerumbon từ cây gừng bao gồm các bước sau:

- nghiền cây gừng tươi sau khi đã được làm sạch thành bột có cỡ hạt ≤ 3 mm;
- ép thủy lực bột cây gừng nêu trên đến trọng lượng không đổi để thu được phần bã ép;
- nghiền tiếp phần bã ép này thành bột có cỡ hạt ≤ 2 mm;
- chiết xuất bột gừng này bằng dung môi không phân cực hoặc phân cực kém để thu được dịch chiết chứa tinh dầu và zerumbon hòa tan trong dung môi;
- loại bỏ hết dung môi và thu được hỗn hợp của tinh dầu và zerumbon dạng thô từ dịch chiết này;
- kết tinh phân đoạn zerumbon từ hỗn hợp của tinh dầu và zerumbon này và tách zerumbon dạng thô ra khỏi tinh dầu bằng cách làm lạnh tinh dầu và zerumbon để thu được phần kết tinh zerumbon dạng thô;
- tinh chế zerumbon dạng thô bằng cách kết tinh lại trong hỗn hợp dung môi không phân cực và phân cực kém để thu được tinh thể zerumbon tinh khiết.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp chiết tách và tinh chế zerumbon từ cây gừng (*Zingiber*) với hiệu suất cao và có độ tinh khiết cao.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích:

Zerumbon là chất rắn, dạng tinh thể hình kim màu trắng, có nhiệt độ nóng chảy là 65-67⁰C. Zerumbon được Dev S. phân tách lần đầu tiên từ cây gừng gió (*zingiber zermbet* Smith) vào năm 1960 và được Hall R. xác định công thức cấu tạo phân tử bằng phương pháp quang phổ vào năm 1981. Zerumbon là sesquiterpen xeton vòng lớn (11 cạnh), có công thức phân tử là C₁₅H₂₂O, phân tử lượng là 218,32, khung cacbon cơ sở là humulan; tên hóa học là 2,6,9,9-tetrametyl-2E,6E,9E-xycloundecatrien-1-on. Zerumbon tan tốt trong MeOH, EtOH, EtOAc, dietyl ete, hexan...

Nguyên liệu để sản xuất zerumbon là các cây thuộc chi Gừng (*Zingiber*) thuộc họ Gừng (*Zingiberaceae*) như cây Gừng gió (*zingiber zerumbet* Smith); cây Gừng tía (*zigiber purpurium* Roscol); cây Gừng đại (*zingiber cassumura* Roxb), cây Gừng thơm (*zingiber aromaticum* L.), cây Gừng Mỹ (*zingiber armarican* L. Trong đó, cây Gừng gió là chủ đạo vì hàm lượng tinh dầu và zerumbon trong tinh dầu cây gừng gió là cao nhất, nằm trong khoảng từ 2,6 đến 5,1% tùy vùng miền mà cây gừng sinh trưởng (Baby S. et al. *Flavour and Fragrance Journal* 6, 301-308, **2009**). Cây gừng gió mọc phổ biến ở các nước Đông Nam Á như Malaysia, Indônêsi. Thái lan, Ấn Độ. Nam Trung Quốc.... Ở Việt Nam, cây Gừng gió (*zingiber zerumbet* Smith) còn có tên khác là cây gừng đại, ngải mặt trời... Cây Gừng gió vùng Nghệ Tĩnh và Bình Trị Thiên được Nguyễn Xuân Dũng và cộng sự nghiên cứu chi

tiết về thành phần tinh dầu và hàm lượng zerumbon trong tinh dầu trong các bộ phận khác nhau của cây như củ, thân lá, hoa và quả. Tác giả đã khẳng định hàm lượng tinh dầu trong phần củ gừng là cao nhất và hàm lượng zerumbon trong tinh dầu củ cũng cao nhất nên bộ phận sử dụng chủ yếu để điều chế tinh dầu và zerumbon là củ gừng gió (Dung N.X. et al. *Jour. Essent. Oil. Res.(USA)*, 7, 153-157, **1995**).

Trong lĩnh vực nghiên cứu thuốc mới để phòng và điều trị bệnh ung thư, hoạt chất sinh học zerumbon được chiết tách từ cây gừng gió (*zingiber zerumbet* Smith), có độ tinh khiết cao là ứng cử viên hàng đầu (Sidding Ibrahim Abdelwahab et al. *Internaetional Immunopharmacology*, 12, 594-602, **2012**). Vì trong 25 năm trở lại đây, các kết quả nghiên cứu hoạt tính chống ung thư *in vitro* và *in vivo* cho thấy rằng zerumbon là chất chống ung thư mạnh, ức chế sự phát triển của 17 loại bệnh ung thư khác nhau (Heshu Sulaiman Rahman et al. *Biomed. Research International*, 10, 920712-920720, **2014**), đặc biệt là bệnh ung thư máu (leukemia) (Sidding Tbrhim Abdelwahab et al. *Leukemia Research*, 35, 268-271, **2010**), bệnh ung thư gan (Sharifal Sukinal S.A. et al. *Cancer cell International* 7/4, 118, **2007**), bệnh ung thư vú (Bokgung Sung et al. *Cancer Research* 4, 69, **2009**), bệnh ung thư cổ tử cung và bệnh ung thư buồng trứng (Abdul A.B. et al. *United States Patent Application publication* N^o US 2009/0239953A, 24.9.2009) v.v..

Zerumbon có tác dụng loại trừ NF-kB và I-kB kenaza hoạt động, chúng là chất gây ung thư nên zerumbon vừa có tác dụng kiểm chế sự phát triển của bệnh ung thư và vừa có tác dụng phòng ngừa sự hình thành bệnh ung thư. Zerumbon thúc đẩy quá trình chết theo chương trình (apoptosis) của tế bào ung thư mà không ảnh hưởng đến các tế bào bình thường khác nên zerumbon có tác dụng kìm chế bệnh ung thư phát triển. Zerumbon có tác dụng nâng cao thể oxy hóa khử của tế bào ung thư làm cho bệnh ung thư không phát triển được, với nhiều tác dụng như vậy nên zerumbon kìm chế được sự phát triển của nhiều loại bệnh ung thư khác nhau.

Các tác giả giải pháp hữu ích đã nghiên cứu xác định cấu trúc phân tử và hoạt tính chống ung thư *in vitro* và *in vivo* của zerumbon phân lập được từ cây gừng gió Tam Đảo. Kết quả cho thấy với thử nghiệm *in vitro*, zerumbon phân lập được có hoạt tính chống ung thư mạnh đối với 3 dòng ung thư: bệnh ung thư gan (Hep.G2), bệnh ung thư màng tim (RD) và bệnh ung thư biểu bì (KB) (Văn Ngọc Hường và cộng sự, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 44, 65-69, **2006**) với thử nghiệm *in vivo*, với liều dùng 0,2mg/kg thể trọng, ở lô chuột bạch dòng Swiss bị gây ung thư bằng Sarcoma 180 có sử dụng zerumbon thì tỷ lệ còn sống là 45% sau 2 tháng nuôi, còn lô chuột đối chứng không dùng zerumbon chết 100%; cũng với liều dùng này, ở lô chuột có gây ung thư, có phẫu thuật không sử dụng zerumbon sau 2 tháng nuôi tỷ lệ sống sót là 35% trong khi đó ở lô chuột có gây ung thư, có phẫu thuật và có sử dụng zerumbon thì 100% chuột còn sống sau 2 tháng nuôi. Rõ ràng zerumbon phân lập từ cây gừng gió vùng Tam Đảo không những có tác dụng chống ung thư mạnh *in vitro* mà còn có tác dụng chống ung thư và chống tái phát ung thư *in vivo* (Văn Ngọc Hường và cộng sự, *Đặc san ung thư học quý III*, 305-309, **2005**).

Qua các phương pháp phân lập zerumbon từ cây gừng đã công bố, đã thấy có hai hướng chính: hướng thứ nhất là điều chế tinh dầu từ cây gừng, sau đó phân lập zerumbon trong tinh dầu thu được bằng sắc ký cột hay cất phân đoạn dưới áp suất thấp. Hướng thứ hai là chiết tổng các chất trong cây gừng bằng MeOH hay EtOH, sau đó phân tán cạn chiết trong nước rồi chiết phần không phân cực (trong đó có chứa tinh dầu và zerumbon) bằng dung môi không phân cực, sau đó sắc ký cột cạn chiết được để thu zerumbon tinh khiết.

Kitayama A. và các đồng tác giả đã phân lập zerumbon từ cây gừng theo hướng thứ nhất và hiệu suất chỉ đạt được là từ 0,03% đến 0,04% tính theo nguyên liệu tươi (Kitayama A. et al. *J. Org.chem.* 64, 2667-2672, **1999**). Cũng theo hướng này, tác giả giải pháp hữu ích phân lập zerumbon từ cây

gừng gió vùng Tam Đảo Việt Nam đạt hiệu suất 0,054% tính theo nguyên liệu tươi (Vimala S. et al. *British Journal of Cancer*, 80, 110-116, 1999).

Trong công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US2009/0239953A1 ngày 24.9.2009, Abdul A. và các đồng tác giả đã phân lập zerumbon từ cây gừng gió của Mỹ theo hướng thứ 2 và chỉ đạt hiệu suất 0,062% tính theo nguyên liệu tươi.

Tài liệu D1 đề cập đến báo cáo tổng hợp kết quả nghiên cứu khoa học công nghệ đề tài “Nghiên cứu công nghệ chiết tách Zerumbon từ cây gừng gió (*Zingiber zerumbet* Sm) làm thuốc chống ung thư”. D1 bộc lộ quy trình chiết tách zerumbon từ cây gừng gió này.

Tài liệu D2 (đơn sáng chế Việt nam số 1-2011-01081) đề cập đến lĩnh vực các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính phòng, chống ung thư và chống viêm. Cụ thể là đề xuất quy trình sản xuất Zerumbon có độ tinh khiết 99,9% để dùng làm thực phẩm chức năng phòng ngừa ung thư và làm thuốc điều trị ung thư.

Như vậy, rõ ràng là tất cả các phương pháp phân lập zerumbon từ cây gừng đã công bố đều cho hiệu suất không cao, việc thực hiện khá phức tạp và rất khó để sản xuất với quy mô công nghiệp.

Với những tác dụng tuyệt vời của zerumbon chiết xuất từ cây gừng, tác giả giải pháp hữu ích đã đề xuất quy trình chiết xuất zerumbon từ cây gừng đơn giản, cho hiệu quả chiết xuất cao và dễ dàng áp dụng trên quy mô công nghiệp, thiết bị thực hiện cũng đơn giản, dễ chế tạo hoặc có sẵn trên thị trường. Sản phẩm thu được có chất lượng cao, đạt tiêu chuẩn để làm dược phẩm và có giá thành cạnh tranh.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề cập đến phương pháp chiết tách và tinh chế zerumbon từ cây gừng (*zingiber*) có độ tinh khiết cao để dùng làm dược liệu.

Cụ thể, phương pháp này bao gồm các bước như sau:

- nghiền cây gừng tươi sau khi đã được làm sạch thành bột có cỡ hạt ≤ 3 mm;
- ép thủy lực bột cây gừng thu được nêu trên bằng máy ép thủy lực đến trọng lượng không đổi để thu được phần bã ép;
- nghiền tiếp phần bã trên thành bột có cỡ hạt ≤ 2 mm;
- chiết bằng cách ngâm bột cây gừng này với dung môi không phân cực hoặc phân cực kém để thu được dịch chiết chứa tinh dầu và zerumbon hòa tan trong dung môi;
- loại bỏ hết dung môi để thu được hỗn hợp tinh dầu và zerumbon;
- kết tinh phân đoạn zerumbon từ hỗn hợp tinh dầu và zerumbon này và tách zerumbon ra khỏi tinh dầu bằng cách làm lạnh hỗn hợp tinh dầu và zerumbon, thu được phần kết tinh là zerumbon thô;
- tinh chế zerumbon thô này bằng cách kết tinh trong hỗn hợp dung môi không phân cực hay phân cực kém để thu được zerumbon tinh khiết với độ tinh khiết là 99,5%.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig. 1 là sơ đồ khối thể hiện quy trình chiết tách để phân lập zerumbon và tinh chế nó từ cây gừng theo giải pháp hữu ích.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Trong giải pháp hữu ích này, cây gừng để chỉ tất cả các cây thuộc chi Gừng (Zingiber).

Các dung môi hữu cơ bao gồm các dung môi không phân cực và phân cực kém như pentan, xyclopentan, hexan, xyclohexan, benzen, toluen, 1,4-

dioxan, clorofom, dietyl ete, etanol, metanol, etyl axetat, diclometan, axit formic, n- butanol, isopropanol, n-propanol v.v..

Giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp chiết tách để phân lập và tinh chế zerumbon từ cây gừng (*zingiber*) để làm được liệu bao gồm các bước sau:

- Bước 1: nghiền cây gừng tươi trên 10 tháng tuổi (có đường kính củ trên 2cm) sau khi đã được làm sạch thành bột có cỡ hạt ≤ 3 mm;
- Bước 2: ép thủy lực bột cây gừng thu được ở bước 1 bằng cách đưa bột cây gừng này vào máy ép thủy lực để ép loại bỏ nước và tinh bột và ép đến trọng lượng không đổi thu được phần bã ép;
- Bước 3: nghiền tiếp phần bã thu được ở bước 2 thành bột có cỡ hạt ≤ 2 mm;

Bước 4: chiết như sau: cho bột gừng này vào thiết bị chiết và đổ dung môi không phân cực hoặc phân cực kém đến ngập nguyên liệu chiết, thu được dịch chiết chứa tinh dầu và zerumbon hòa tan trong dung môi;

Bước 5: loại bỏ dung môi để thu được hỗn hợp tinh dầu và zerumbon;

Bước 6: kết tinh phân đoạn và tách zerumbon ra khỏi tinh dầu: làm lạnh tinh dầu và zerumbon để kết tinh phân đoạn zerumbon từ hỗn hợp tinh dầu và zerumbon rồi tách zerumbon ra khỏi tinh dầu ở dạng tinh thể;

Bước 7: Tinh chế zerumbon: kết tinh lại zerumbon thô thu được ở bước 6 trong hỗn hợp dung môi không phân cực hoặc phân cực kém, thu được zerumbon tinh khiết.

Kết quả khảo sát tinh dầu trong cây gừng gió vùng Tam đảo bằng phương pháp vi phẫu soi dưới kính hiển vi cho thấy tinh dầu tồn tại trong cây gừng ở dạng phân tán trong cơ chất, không phải ở dạng túi tinh dầu nên đây là trở ngại thứ nhất cho việc chiết xuất tinh dầu trong cây gừng. Cơ chất mà tinh

dầu gừng và zerumbon tồn tại là xenluloza và tinh bột là các chất phân cực nên gây cản trở lớn cho quá trình thâm nhập của dung môi không phân cực, phân cực kém vào cơ chất phân cực này và vì thế hiệu quả chiết xuất kém, đây là trở ngại lớn thứ hai cho quá trình chiết zerumbon và tinh dầu trong cây gừng gió bằng dung môi không phân cực hay phân cực kém. Hơn nữa, kết quả phân tích của tác giả giải pháp hữu ích cho thấy lượng nước trong cây gừng gió tươi là rất lớn, chiếm đến 72,80% trọng lượng cây tươi. Nước là chất phân cực mạnh phân tán trong cơ chất gây khó khăn lớn cho dung môi không phân cực, dung môi phân cực kém xâm nhập vào cơ chất, do đó sẽ làm giảm hiệu quả chiết. Đó là trở ngại lớn thứ ba cho quá trình chiết tinh dầu và zerumbon trong cây gừng bằng dung môi không phân cực, dung môi phân cực kém.

Cả ba trở ngại trên được khắc phục bằng cách nghiền nhỏ cây gừng tươi thành bột có cỡ hạt nhỏ hơn 3 mm và ép loại hết nước và tinh bột bằng bơm thủy lực có công suất lớn. Kỹ thuật ép thủy lực bột cây gừng tươi để loại bỏ hết nước và tinh bột mang lại hiệu quả trong việc nâng cao hiệu quả chiết chọn lọc zerumbon và tinh dầu trong bột cây gừng (*zingiber*).

Sau khi ép thủy lực thu được bã ép. Nghiền lại bã ép này thành bột đến cỡ hạt có đường kính nhỏ hơn 2 mm. Tiến hành chiết xuất zerumbon và tinh dầu từ bột này bằng dung môi không phân cực hoặc phân cực kém. Kết quả là thu được tinh dầu và zerumbon hòa tan trong dung môi

Bước tiếp theo là tách loại bỏ dung môi để thu lấy tinh dầu và zerumbon. Tách loại bỏ hết dung môi bằng phương pháp cất quay thu được hỗn hợp của tinh dầu và zerumbon.

Sau khi khảo sát tính tan của zerumbon trong tinh dầu gừng gió theo thang nhiệt độ cho thấy độ hòa tan của zerumbon vào tinh dầu gừng gió giảm rất nhanh theo thang nhiệt độ giảm dần. Do đó, bằng cách kết tinh phân đoạn hỗn hợp tinh dầu và zerumbon của cây gừng thu được theo thang nhiệt độ giảm dần, đã tách được zerumbon khỏi tinh dầu và thu được zerumbon dạng

thô. Bằng cách làm lạnh từ từ hỗn hợp của tinh dầu và zerumbon để kết tinh zerumbon, và lọc, thu được zerumbon dạng thô.

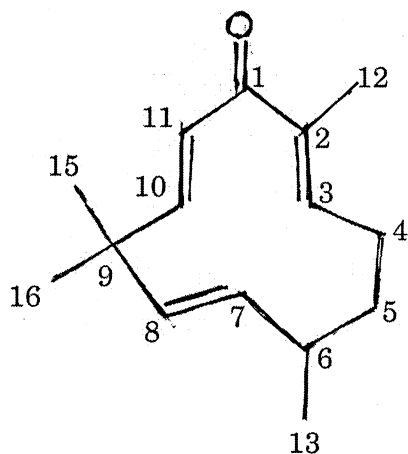
Cuối cùng, kết tinh lại zerumbon dạng thô để thu được zerumbon tinh khiết. Như vậy, bằng cách ép để loại bỏ hết nước và tinh bột ra khỏi cây gừng trước khi chiết bằng dung môi không phân cực hoặc dung môi kém phân cực, và kết tinh phân đoạn theo thang nhiệt độ giảm dần để thu zerumbon dạng thô, kết tinh lại zerumbon dạng thô này sẽ thu được zerumbon tinh khiết.

Phân tích chất lượng sản phẩm

Độ tinh khiết của sản phẩm được phân tích và đánh giá theo phương pháp GC-MS, thực hiện trên máy GC6890KP. Thiết bị phát hiện khối phổ MSD5973N, cột HP5-MS30x2,5mmx2,5 μ m, chạy theo chương trình nhiệt độ: nhiệt độ bắt đầu 60⁰C, nhiệt độ cuối 240⁰C; tốc độ gia nhiệt 4⁰C/phút; khí mang Heli. Nhận dạng các chất bằng thư viện phổ EI-MS và khóa thời gian lưu HPCH1607 kết hợp với kết quả dùng phần mềm Massfinder V4. Kết quả cho thấy zerumbon thu được có độ tinh khiết lên tới trên 99,5%.

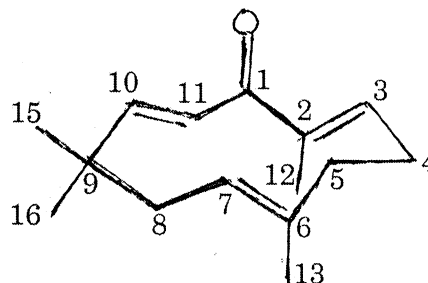
Cấu trúc phân tử zerumbon thu được được xác định bằng phương pháp phổ: Phổ MS có phân tử lượng 218dv. Phổ IR có $\gamma = 1653\text{ cm}^{-1}$ đặc trưng cho nhóm cacbonyl, $\delta = 96\text{ cm}^{-1}$ đặc trưng cho liên kết CH của liên kết đôi 2 nhóm thế dạng trans; $\delta = 83\text{ cm}^{-1}$ đặc trưng cho liên kết CH của liên kết đôi 3 nhóm thế dạng trans. Phổ ¹H&¹³C-NMR 1D và 2D cho thấy zerumbon thu được có công thức cấu tạo phân tử thể hiện trên hình 1 và số liệu được chỉ ra trên bảng 1.

Cấu tạo phân tử
Zerumbone



Hình 1

Cấu hình phân tử
Zerumbone



Hình 2

Hình 1. Công thức cấu tạo phân tử của zerumbone

Bảng 1: Số liệu NMQ ^1H ^{13}C của G1

^{13}C -NMR				^1H -NMR			
Tài liệu 1	Số C	$\delta\text{C}_{\text{ppm}}$	$\delta\text{H}_{\text{ppm}}$	Tài liệu 1	Số H	Độ bội	H_2
205,538	C ₁	204,245					
137,747	C ₂	137,923					
149,971	C ₃	148,737	6,02; 6,00	6,10; 6,08	1H	bd	12,34; 11,38
24,261	C ₄	24,361	2,45		2H	m	
39,210	C ₅	39,419	2,22		2H	m	
136,457	C ₆	136,231					
124,905	C ₇	124,964	5,26; 5,34		1H	bd	4,45; 4,46
42,142	C ₈	42,384	1,94		2H	d	12,66
37,682	C ₉	37,819					
161,942	C ₁₀	160,651	5,87		1H	d	16,39
126,932	C ₁₁	127,134	5,97		1H	d	16,37
10,724	C ₁₂	11,713	1,54	1,57	3H	s	
16,228	C ₁₃	15,172	1,75	1,73	3H	s	
28,659	C ₁₄	29,392	1,07	1,28	3H	s	
23,260	C ₁₅	24,156	1,20	1,23	3H	s	

Tài liệu: patent US 2009/0239953A1 Sep 24, 2009

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Lấy 10 kg cây gừng gió tươi vùng Tam Đảo trên 10 tháng tuổi, có đường kính củ trên 2 cm, và loại bỏ phần thối nát. Rửa sạch đất cát, nghiền thành bột có cỡ hạt với đường kính ≤ 3 mm. Cho bột nghiền thu được này vào máy ép thủy lực công suất lớn (trên 16T) và ép đến trọng lượng không đổi để loại bỏ hoàn toàn nước và tinh bột để thu được bã ép có khối lượng là 2,7 kg.

Nghiền bã ép thu được ở bước nêu trên thành bột có cỡ hạt ≤ 2 mm. Cho bột gừng thu được này vào thiết bị chiết và cho dung môi không phân cực hoặc dung môi phân cực kém đến ngập nguyên liệu. Tiến hành chiết nhiều lần để chiết một cách triệt để.

Sau bước chiết này, thu gom dịch chiết và loại bỏ dung môi bằng phương pháp cất quay để làm bay hơi dung môi và thu được hỗn hợp có khối lượng là 370 g.

Cho phần hỗn hợp này làm lạnh dần dần để thu gom zerumbon thô ở các phân đoạn và kết tinh lại zerumbon dạng thô để thu được 9 g zerumbon tinh khiết.

Hiệu suất lên đến 0,09% tính theo nguyên liệu tươi.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp chiết tách và tinh chế zerumbon tinh khiết từ cây gừng bao gồm các bước sau:

- nghiền cây gừng tươi sau khi đã được làm sạch thành bột có cỡ hạt ≤ 3 mm;
- ép thủy lực bột cây gừng nêu trên đến trọng lượng không đổi để thu được phần bã ép;
- nghiền tiếp phần bã ép này thành bột có cỡ hạt ≤ 2 mm;
- chiết bằng cách ngâm bột gừng này với dung môi không phân cực hoặc phân cực kém để thu được dịch chiết chứa tinh dầu và zerumbon hòa tan trong dung môi;
- loại bỏ hết dung môi và thu được hỗn hợp tinh dầu và zerumbon từ dịch chiết này;
- kết tinh phân đoạn hỗn hợp của tinh dầu và zerumbon bằng cách làm lạnh hỗn hợp này để thu được zerumbon dạng thô;
- kết tinh lại zerumbon dạng thô trong hỗn hợp dung môi không phân cực hoặc phân cực kém để thu được tinh thể zerumbon tinh khiết.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó cây gừng bao gồm các bộ phận củ, thân, lá, hoa.

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó ở bước chiết, dung môi không phân cực hoặc phân cực kém được chọn từ nhóm bao gồm pentan, xyclopentan, hexan, xyclohexan, benzen, toluen, 1,4-dioxan, clorofom, dietyl ete, etanol, metanol, etyl axetat, diclometan, axit formic, n-butanol, isopropanol, n-propanol.

Fig. 1: Sơ đồ quy trình tách chiết zerumbon từ cây gừng