

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

SANGKHY KEOSAVANH

**PHÂN LẬP, XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC VÀ ĐÁNH GIÁ
HOẠT TÍNH SINH HỌC HỢP CHẤT TỪ LÁ LOÀI CÁP
ĐỒNG VĂN (*CAPPARIS DONGVANENSIS*)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

THÁI NGUYÊN - 2020

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

SANGKHY KEOSAVANH

**PHÂN LẬP, XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC VÀ ĐÁNH GIÁ
HOẠT TÍNH SINH HỌC HỢP CHẤT TỪ LÁ LOÀI CÁP
ĐỒNG VĂN (*CAPPARIS DONGVANENSIS*)**

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã ngành: 8440114

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

Người hướng dẫn khoa học: PGS. TS. PHẠM VĂN KHANG

THÁI NGUYÊN- 2020

LỜI CAM ĐOAN

Trải qua quá trình nghiên cứu các tài liệu cộng với nỗ lực của bản thân trong suốt quá trình tiến hành thực nghiệm, công trình nghiên cứu của tôi đến nay đã hoàn thành. Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi, các số liệu, kết quả nêu trong luận văn này là trung thực chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nghiên cứu nào khác.

Thái Nguyên, tháng 11 năm 2020

Học viên

Sangkhy KEOSAVANH

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin chân thành bày tỏ lòng kính trọng và lời cảm ơn sâu sắc của mình tới **PGS. TS. Phạm Văn Khang** - Người thầy đã tin tưởng giao đề tài, tận tình hướng dẫn, động viên và tạo điều kiện thuận lợi giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và thực hiện luận văn. Đồng thời tôi xin gửi lời cảm ơn tới các thầy cô giáo và các học viên cao học K26 trong phòng thí nghiệm Hóa hữu cơ đã tạo môi trường nghiên cứu khoa học thuận lợi giúp đỡ tôi hoàn thành các kế hoạch nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn các em sinh viên nghiên cứu đề tài khoa học hợp chất thiên nhiên đã cùng cộng tác với tôi trong việc tiến hành các thí nghiệm thuộc đề tài luận văn.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn Ban giám hiệu nhà trường, Ban lãnh đạo khoa Hóa học và phòng Đào tạo (bộ phận sau đại học) - Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành luận văn này.

Thái Nguyên, tháng 11 năm 2020

Học viên

Sangkhy KEOSAVANH

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN.....	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT DÙNG TRONG LUẬN VĂN.....	v
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	vii
DANH MỤC CÁC HÌNH	viii
MỞ ĐẦU	1
1. Tính cấp thiết của đề tài.....	1
2. Mục tiêu của đề tài.....	2
Chương 1: TỔNG QUAN	3
1.1. Khái quát về loài Cáp Đồng văn.....	3
1.1.1. Tên khoa học	3
1.1.2. Đặc điểm thực vật học	3
1.1.3. Phân bố	5
1.1.4. Một số công dụng của loài Cáp Đồng văn	5
1.2. Tình hình nghiên cứu hoạt tính sinh học của các loài chi <i>Capparis</i>	5
1.2.1. Hoạt tính sinh học chống oxi hóa.....	5
1.2.2. Hoạt tính ức chế tế bào ung thư.....	8
1.2.3. Hoạt tính sinh học kháng viêm.....	10
1.2.4. Hoạt tính sinh học điều trị và chống khô miệng.....	13
1.2.5. Hoạt tính sinh học chống nhiễm trùng và nhiễm ký sinh.....	14
1.3. Tình hình nghiên cứu thành phần hóa học của các loài trong chi <i>Capparis</i>	16
1.3.1. Acid béo (Fatty acids).....	16
1.3.2. Glucosinolates và Isothiocyanates.....	18
1.3.3. Proteins và Amino acids	22
1.3.4. Dầu bay hơi (Volatile Oils)	23
1.3.5. Vitamins.....	25
1.3.6. Alkaloid	28

1.3.7. Flavonoid	31
1.3.8. Sterols	34
1.3.9. Các hợp chất khác.....	37
Chương 2: THỰC NHIỆM	39
2.1. Hóa chất và thiết bị phân lập	39
2.1.1. Hóa chất.....	39
2.1.2. Hóa chất và tế bào dùng để thử hoạt tính sinh học.....	39
2.1.3. Thiết bị.....	40
2.2. Phương pháp xử lý mẫu thực vật, chiết tách và xác định cấu trúc các chất phân lập được.....	41
2.2.1. Mẫu nghiên cứu và xử lý mẫu thực vật	41
2.2.2. Sơ đồ chiết xuất	41
2.2.3. Xác định cấu trúc các chất.....	41
2.3. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư.....	42
2.3.1. Vật liệu và hóa chất	42
2.3.2. Phương pháp nuôi cấy tế bào trong ống nghiệm.....	42
2.3.3. Phương pháp xác định tính độc tế bào ung thư (<i>cytotoxic assay</i>).....	42
2.4. Phân lập, tinh chế các hợp chất 1, 2	44
Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	47
3.1. Kết quả phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất	47
3.1.1. Phân tích cấu trúc hợp chất 1.....	47
3.1.2. Phân tích cấu trúc hợp chất 2.....	52
3.2. Kết quả nghiên cứu hoạt tính độc tế bào trên dòng tế bào ung thư <i>HeLa</i> (cổ tử cung) và <i>A549</i> (tế bào ung thư gan).....	56
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	58
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	59
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT DÙNG TRONG LUẬN VĂN

SEM	: Scanning electron microscope : Kính hiển vi điện tử quét
UV	: Ultraviolet : Tia tử ngoại
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, hay 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid
FRAP	: Ferric reducing ability of plasma : Khả năng khử sắt của huyết tương
SGOT	: Serum glutamic oxaloacetic transaminase : Glutamic oxaloacetic transaminase trong huyết thanh
SGPT	: Serum glutamic pyruvate transaminase : Glutamic pyruvate transaminase trong huyết thanh
ALP	: Alkaline phosphatase
TB	: Total bilirubin : Tổng cộng sắc tố màu da cam
MTT	: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
SGC-7901	: Stomach (Gastric) Cancer-7901 : Ung thư dạ dày
HepG-2 cell	: Hepatoma G2 cell : Tế bào ung thư tế bào gan G2
HT29 cell	: Colon cancer cell line : Tế bào ung thư ruột già
MCF-7	: Michigan Cancer Foundation-7 : Tổ chức Ung thư Michigan-7
HSV-2	: Herpes simplex virus-2 : Bệnh Herpes mụn rộp

TLC 254F	: Thin Layer Chromatographic : Sắc ký lớp mỏng 254F
FBS	: Foetal bovine serum
TCA	: Trichloroacetic acid
sRB	: Sulforhodamine B
LC-MS	: Liquid Chromatograph-Mass Spectrometer : Sắc ký lỏng hiệu năng cao-Khối phổ kế
KHCN	: Khoa học công nghệ
OD	: Optical Density : Mật độ quang
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium : Môi trường DMEM
HEPES	: 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
TBUT	: Tear Breakup Time
^{13}C -NMR	: ^{13}C -Nuclear Magnetic Resonance : Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{13}C
^1H -NMR	: ^1H -Nuclear Magnetic Resonance : Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^1H
HMBC	: Heteronuclear multiple - Bond Corelation : Phổ tương quan hai chiều H-C
HSQC	: Heteronuclear Spectroscopy- Quantum Coherence : Phổ tương tác C-H
MS	: Mass spectrometry : Phổ khối lượng
NOESY	: Nuclear Overhauser effect Spectroscopy : Phổ cộng hưởng từ hạt nhân

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Hoạt tính sinh học chống oxi hóa của chi <i>Capparis</i>	6
Bảng 1.2. Hoạt tính sinh học ức chế tế bào ung thư ở chi <i>Capparis</i>	8
Bảng 1.3. Hoạt tính sinh học kháng viêm ở chi <i>Capparis</i>	12
Bảng 1.4. Hoạt tính sinh học điều trị và chống khô miệng	14
Bảng 1.5. Hoạt tính sinh học chống nhiễm trùng và nhiễm ký sinh	15
Bảng 1.6. Một số phân hóa học của nhóm Fatty acids từ các loại chi <i>Capparis</i>	17
Bảng 1.7. Một số phân hóa học của nhóm Glucosinolates và Isothiocyanates từ các loại chi <i>Capparis</i>	20
Bảng 1.8. Một số phân hóa học của nhóm Proteins từ các loại chi <i>Capparis</i> ...	22
Bảng 1.9. Một số phân hóa học của nhóm dầu bay hơi (Volatile Oils) từ các loại chi <i>Capparis</i>	24
Bảng 1.10. Một số phân hóa học của nhóm Vitamin từ các loại chi <i>Capparis</i>	27
Bảng 1.11. Một số phân hóa học của nhóm Alkaloids từ các loại chi <i>Capparis</i>	30
Bảng 1.12. Một số phân hóa học của nhóm Flavonoid từ các loại chi <i>Capparis</i> ...	33
Bảng 1.13. Một số phân hóa học của nhóm Steroid từ các loại chi <i>Capparis</i> ..	35
Bảng 1.14. Một số phân hóa học của nhóm các hợp chất khác từ các loại chi <i>Capparis</i>	37
Bảng 2.1. Các hóa chất được sử dụng trong quá trình phân lập các chất	39
Bảng 2.2. Hóa chất và tế bào dùng để thử hoạt tính sinh học	39
Bảng 2.3. Các thiết bị sử dụng.....	40
Bảng 3.1. Độ chuyển dịch hóa học ^1H , ^{13}C -NMR của 1	48
Bảng 3.2. Tác động gây độc tế bào ung thư của 1	57

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Hình ảnh của loài <i>Capparis dongvanensis</i>	3
Hình 1.2. Hình vẽ mô tả loài Cáp Đồng văn	4
Hình 1.3. Quả, lá của <i>Capparis spinosa</i>	6
Hình 1.4. Vỏ cây và vỏ rễ cây <i>Capparis spinosa</i> trunk	11
Hình 1.5. Hình ảnh cây <i>Capparis jamaicensis</i>	13
Hình 1.6. Rễ và vỏ cây <i>Capparis spinosa</i>	14
Hình 1.7. Quả <i>Capparis sola</i>	16
Hình 1.8. Cấu trúc hóa học trong nhóm Fatty acids.....	18
Hình 1.9. quả cây <i>Capparis drypetes</i> sp.....	19
Hình 1.10. Cấu trúc hóa học trong nhóm Glucosinolates and Isothiocyanates.....	21
Hình 1.11. Cấu trúc hóa học trong nhóm Proteins	23
Hình 1.12. Chồi cây ngâm	23
Hình 1.13. Cấu trúc hóa học trong nhóm Volatile Oils.....	25
Hình 1.14. Hoa và quả cây <i>Capparis decidua</i>	26
Hình 1.15. Cấu trúc hóa học trong nhóm Vitamin	28
Hình 1.16. Vỏ và rễ cây <i>Capparis spinosa</i>	29
Hình 1.17. Cấu trúc hóa học trong nhóm Alkaloids.....	31
Hình 1.18. Hoa cây <i>Capparis spinosa</i>	32
Hình 1.19. Quả cây <i>Capparis spinosa</i>	32
Hình 1.20. Cấu trúc hóa học trong nhóm Flavonoid	34
Hình 1.21. Cấu trúc hóa học trong nhóm Steroid.....	36
Hình 1.22. Cấu trúc hóa học trong nhóm các hợp chất khác	38
Hình 2.1. Sơ đồ chiết xuất	41
Hình 2.2. Sơ đồ phân lập chất 1, 2 từ cao chiết <i>Ethyl acetate</i>	45
Hình 3.1. Phổ ¹ H-NMR của chất 1	47
Hình 3.2. Phổ ¹³ C-NMR của chất 1	49