

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

Ngô Văn Huy

PHÂN TÍCH CẤU TRÚC MỘT SỐ HỢP CHẤT PHÂN LẬP
TỪ CÂY MUÔNG LÁ HẸP (*CASSIA ANGUSTIFOLIA*)
BẰNG CÁC PHƯƠNG PHÁP PHỔ HIỆN ĐẠI

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

Thái Nguyên – 5/2018

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**

Ngô Văn Huy

**PHÂN TÍCH CẤU TRÚC MỘT SỐ HỢP CHẤT PHÂN LẬP
TỪ CÂY MUỒNG LÁ HẸP (*CASSIA ANGUSTIFOLIA*)
BẰNG CÁC PHƯƠNG PHÁP PHỔ HIỆN ĐẠI**

Chuyên ngành : Hóa phân tích

Mã số: 8440118

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: TS. Lê Đăng Quang

Thái Nguyên – 2018

LỜI CẢM ƠN

Luận văn được hoàn thành tại Phòng thí nghiệm hóa học – Viện Hóa học Công nghiệp Việt Nam. Để hoàn thành luận văn này, tôi xin được chân thành cảm ơn sâu sắc nhất đến:

TS. Lê Đăng Quang – Giám đốc trung tâm nghiên cứu Triển khai các Hoạt chất sinh học – Viện Hóa học Công nghiệp Việt Nam đã tận tình chu đáo tạo điều kiện cơ sở vật chất thuận lợi, truyền đạt kiến thức và kỹ năng trong suốt quá trình nghiên cứu và hoàn thiện luận văn.

TS. Nguyễn Hữu Tùng – giảng viên bộ môn Hóa dược và Kiểm nghiệm thuốc - Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, thầy đã trực tiếp hướng dẫn, tận tình giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình thực hiện luận văn này.

Các cán bộ, nhân viên trung tâm Nghiên cứu Triển khai các Hoạt chất Sinh học, Viện Hóa học Công nghiệp Việt Nam, đặc biệt là CN. Nguyễn Thị Duyên đã giúp đỡ tôi trong suốt quá trình tiến hành thực nghiệm và hoàn thiện luận văn.

Mặc dù đã rất cố gắng thực hiện luận văn khoa học một cách hoàn chỉnh nhất, song do mới làm quen với công tác nghiên cứu khoa học cũng như hạn chế về kiến thức và kinh nghiệm nên luận văn khoa học của tôi không tránh khỏi những thiếu sót. Tôi rất mong nhận được sự góp ý của quý thầy, cô giáo góp ý để luận văn của tôi được hoàn chỉnh hơn.

Tôi xin chân thành cảm ơn

Hà Nội, ngày 20 tháng 5 năm 2018

Tác giả luận văn

Ngô Văn Huy

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CÁC CHỮ VIẾT TẮT.....	a
DANH MỤC HÌNH.....	b
DANH MỤC CÁC BẢNG, SƠ ĐỒ.....	c
DANH MỤC PHỤ LỤC.....	d
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG I: TỔNG QUAN.....	4
1.1. Tổng quan về cây Muồng	4
1.2. Tổng quan về cây Muồng lá hẹp	4
1.2.1. Đặc điểm cây Muồng lá hẹp.....	4
1.2.2. Thu hái, chế biến.....	5
1.2.3. Công năng và dược tính	6
1.2.4. Các thành phần đã được tìm thấy trong cây Muồng lá hẹp.....	6
1.3. Các phương pháp hiện đại nghiên cứu cấu trúc:	9
1.3.1. Phổ khối lượng phun mù điện tử (ESI-MS).....	9
1.3.2. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR).....	12
1.3.3. Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC):.....	13
CHƯƠNG II: THỰC NGHIỆM	17
2.1. Đối tượng nghiên cứu:	17
2.2. Phương pháp phân lập chất:.....	17
2.1.1. Phương pháp chiết:.....	17
2.1.2. Sắc kí cột (CC):.....	17
2.1.3. Sắc kí lớp mỏng (TLC)	19
2.1.4. Thuốc thử hiện bản mỏng.....	20
2.3. Thực nghiệm:	21
2.3.1. Hóa chất và thiết bị:	21
2.3.2. Xử lý và phân lập chất:	22
2.3.3. Tách chiết và phân lập chất.....	24
2.3.4. Tiến hành chiết phân bố dung môi.....	25

2.3.5. Tiến hành phân lập chất:	26
CHƯƠNG III: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	29
3.1. Phân lập các chất:.....	29
3.1.1. Phân lập CA1, CA3 từ EA	29
3.1.2. Phân lập CA2 từ cặn chiết phân đoạn BuOH.....	29
3.1.3. Phân lập CA4 từ phân đoạn B5.....	29
3.2. Xác định cấu trúc phân tử của các hợp chất.....	30
3.2.1. Hợp chất CA1:	30
3.2.2. Hợp chất CA2:	37
3.2.3. Hợp chất CA3:	43
3.2.4. Hợp chất CA4:	49
3.3. Xác định độ tinh khiết các chất bằng HPLC	55
3.3.1. Đo điểm chảy:	55
3.3.2. Sắc ký lớp mỏng (TLC)	56
3.3.3. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)	56
3.4. Thảo luận.....	58
3.4.1. Về chiết tách và phân lập các chất:	58
3.4.2. Về xác định cấu trúc của các hợp chất.....	59
3.4.3. Về phân tích HPLC.....	60
KẾT LUẬN	62
TÀI LIỆU THAM KHẢO	63
PHỤ LỤC	1-PL

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CÁC CHỮ VIẾT TẮT

^{13}C -NMR:	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân cacbon-13
^1H -NMR:	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
MS:	Phổ khối lượng
ESI-MS:	Phổ khối lượng phun mù điện tử
HPLC:	Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao
BuOH:	Butanol
CC:	Cột sắc kí
D:	Đường kính
Dc:	Dịch chiết
Dm:	Dung môi
DMSO:	Dimethyl sulphoxide
W:	Nước
EtOH:	Etanol
EA:	Etyl axetat
H:	chiều cao cột
Hex:	Hexan
g:	gam
MeOH:	Metanol
TMS:	Tetrametyl silan
TLC:	Sắc kí lớp mỏng
Pđ:	phân đoạn

DANH MỤC HÌNH

Hình 1: Cấu trúc của các 1,8-dihydroxylantraquinone và naphthone.....	2
Hình 1.1: Lá cây Muồng lá hẹp đã được phơi khô.....	5
Hình 2.1: Sắc ký đồ của 2 chất và các thông số đặc trưng.....	13
Hình 3.1: Phổ $^1\text{H-NMR}$ của CA1.....	31
Hình 3.2: Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của CA1.....	32
Hình 3.3: Phổ HMBC của CA1.....	33
Hình 3.4: Phổ ESI – MS của hợp chất CA1.....	36
Hình 3.5: Công thức cấu tạo của rhein.....	37
Hình 3.6: Phổ (-) ESI-MS của CA2.....	38
Hình 3.7: Phổ $^1\text{H-NMR}$ của CA2.....	39
Hình 3.8: Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của CA2.....	40
Hình 3.9: Công thức cấu tạo của aloe – emodin.....	43
Hình 3.10: Phổ $^1\text{H} - \text{NMR}$ của CA3.....	44
Hình 3.11: Phổ $^{13}\text{C} - \text{NMR}$ của CA3.....	45
Hình 3.12: Phổ ESI – MS của CA3.....	47
Hình 3.13: Công thức cấu tạo của emodin.....	49
Hình 3.14: Phổ $^1\text{H} - \text{NMR}$ của CA4.....	50
Hình 3.15: Phổ $^{13}\text{C} - \text{NMR}$ của CA4.....	51
Hình 3.16: Phổ ESI – MS của CA4.....	52
Hình 3.17: Cấu tạo của aloe emodin glucoside.....	55
Hình 3.18: Sắc kí đồ của hợp chất CA1.....	56
Hình 3.19: Sắc kí đồ của hợp chất CA2.....	56
Hình 3.20: Sắc kí đồ của hợp chất CA3.....	57
Hình 3.21: Sắc kí đồ của hợp chất CA4.....	57

DANH MỤC CÁC BẢNG, SƠ ĐỒ

Bảng 1.1: Vị trí và phân loại khoa học của Muồng lá hẹp.....	5
Sơ đồ 2.1: Xử lý và phân lập chất.....	23
Sơ đồ 2.2: Sơ đồ ngâm và chiết phân bố trong các hệ dung môi.....	25
Sơ đồ 2.3: Phân lập các chất trong cặn chiết phân đoạn EA.....	26
Sơ đồ 2.4: Phân lập các chất trong cặn chiết phân đoạn BuOH.....	27
Sơ đồ 2.5: Phân lập từ dịch chiết phân đoạn B5.....	28
Bảng 3.1: So sánh số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và tương tác HMBC của CA1 với rhein.....	34
Bảng 3.2: So sánh số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của CA2 với aloe emodin.....	42
Bảng 3.3: So sánh số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của CA3 với emodin.....	48
Bảng 3.4: So sánh số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của CA4 với aloe emodin glucoside.....	54
Bảng 3.5: Kết quả đo nhiệt độ nóng chảy của cryptotanshinon tinh chế được.....	55
Bảng 3.6: Kết quả phân tích độ tinh khiết của các chất tinh chế được.....	57

DANH MỤC PHỤ LỤC

<i>Phụ lục 1: Phổ $^1\text{H-NMR}$ của CA1.....</i>	<i>1-PL</i>
<i>Phụ lục 2: Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của CA1.....</i>	<i>2-PL</i>
<i>Phụ lục 3: Phổ HMBC của CA1.....</i>	<i>3-PL</i>
<i>Phụ lục 4: Phổ ESI – MS của hợp chất CA1.....</i>	<i>4-PL</i>
<i>Phụ lục 5: Phổ $^1\text{H-NMR}$ của CA2.....</i>	<i>5-PL</i>
<i>Phụ lục 6: Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của CA2.....</i>	<i>6-PL</i>
<i>Phụ lục 7: Phổ (-) ESI-MS của CA2.....</i>	<i>7-PL</i>
<i>Phụ lục 8: Phổ $^1\text{H} - \text{NMR}$ của CA3.....</i>	<i>8-PL</i>
<i>Phụ lục 9: Phổ $^{13}\text{C} - \text{NMR}$ của CA3.....</i>	<i>9-PL</i>
<i>Phụ lục 10: Phổ (-) ESI - MS của hợp chất CA3.....</i>	<i>10-PL</i>
<i>Phụ lục 11: Phổ $^1\text{H} - \text{NMR}$ của CA4.....</i>	<i>11-PL</i>
<i>Phụ lục 12: Phổ $^{13}\text{C} - \text{NMR}$ của CA4.....</i>	<i>12-PL</i>
<i>Phụ lục 13: Phổ ESI – MS của CA4.....</i>	<i>13-PL</i>
<i>Phụ lục 14: Sắc kí đồ của hợp chất CA1.....</i>	<i>14-PL</i>
<i>Phụ lục 15: Sắc kí đồ của hợp chất CA2.....</i>	<i>14-PL</i>
<i>Phụ lục 16: Sắc kí đồ của hợp chất CA3.....</i>	<i>14-PL</i>
<i>Phụ lục 17: Sắc kí đồ của hợp chất CA4.....</i>	<i>14-PL</i>
<i>Phụ lục 18: Độ dịch chuyển hóa học của rhein theo ChemOffice.....</i>	<i>15-PL</i>
<i>Phụ lục 19: Độ dịch chuyển hóa học của aloe-emodin theo ChemOffice.....</i>	<i>16-PL</i>
<i>Phụ lục 20: Độ dịch chuyển hóa học của emodin theo ChemOffice.....</i>	<i>17-PL</i>

MỞ ĐẦU

Việt Nam là một nước nông nghiệp nên nhu cầu sử dụng thuốc bảo vệ thực vật rất cao. Tuy nhiên trên thị trường hiện nay thuốc bảo vệ thực vật chủ yếu có nguồn gốc hóa học ít thân thiện với môi trường, làm mất cân bằng hệ sinh thái, ảnh hưởng xấu đến sức khỏe của con người. Chính vì vậy mà việc tạo ra các loại thuốc kháng nấm và vi khuẩn hại cây trồng với quy trình công nghệ đơn giản, thân thiện với môi trường, không độc hại, có nguồn gốc từ các nguyên liệu thảo mộc hoặc sàng lọc hoạt tính trong điều kiện nghiên cứu hóa học, sinh học hiện tại là hết sức cần thiết.

Cây Muồng lá hẹp (*Cassia angustifolia*) thuộc phân họ Vang (*Caesalpinioideae*) được biết đến là một loại dược liệu có giá trị trong y học cổ truyền vùng Đông Nam Á và trong y học hiện đại có tác dụng trị chứng táo bón, giảm kích ứng da, giảm sưng, điều trị chứng chảy nước mũi do cảm lạnh. Tra cứu tiếp từ nguồn tài liệu về cây cỏ làm thuốc, nguyên liệu lá Muồng còn được biết có hiệu quả ức chế khối u, kháng viêm và đặc biệt có nhiều hoạt tính ức chế vi sinh vật gây bệnh đường ruột đối với người. Các thành phần hoạt chất sinh học từ họ Muồng được nghiên cứu trước đây cho thấy sự xuất hiện của các lớp chất flavonoid và anthraquinone. Trong lá, quả và rễ của cây Muồng lá hẹp đều có chứa các dẫn chất anthraquinone. Trong lá có các chất anthraquinone như chrysophanol, aloe emodin, rhein, emodin. Một số dẫn chất anthranoid dimer do 2 phân tử ở dạng anthron bị oxy hoá rồi trùng hợp với nhau tạo thành dianthron [1,2]. Nghiên cứu về hoạt tính kháng nấm và vi khuẩn của các anthraquinone đã được tiến hành bởi các nghiên cứu trước đây [1-4]. Các hoạt chất được tách ra từ cây *Cassia tora* (*Senna tora*) thuộc họ Muồng gồm có emodin, physcion và chrysophanol bằng phương pháp phân lập định hướng sinh học có hoạt tính kháng nấm *in vivo* đối với các nấm *Magnaporthe grisea*, *Corticium sasaki*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *Puccinia recondita* và *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* [1,3].