ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

ĐINH XUÂN CHUNG

TÁCH, XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC MỘT SỐ HỢP CHẤT THỨ CẤP TỪ VI NẤM BIỂN *Paraconiothyrium* sp. VK-13 BẰNG PHƯƠNG PHÁP HÓA LÝ HIỆN ĐẠI

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

THÁI NGUYÊN-2019

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

ĐINH XUÂN CHUNG

TÁCH, XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC MỘT SỐ HỢP CHẤT THỨ CẤP TỪ VI NẤM BIỂN *Paraconiothyrium* sp. VK-13 BẰNG PHƯƠNG PHÁP HÓA LÝ HIỆN ĐẠI

Chuyên ngành: Hóa phân tích

Mã số: 844.01.18

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

TS. TRẦN HỒNG QUANG

THÁI NGUYÊN-2019

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình học tập và thực hiện đề tài luận văn thạc sĩ, chuyên ngành Hóa phân tích, Khoa Hóa Học – Trường Đại học Khoa Học – Đại học Thái Nguyên, tôi đã luôn nhận được sự ủng hộ, giúp đỡ của các thầy cô giáo, các đồng nghiệp, bạn bè và gia đình.

Lời đầu tiên với lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc nhất, tôi xin gửi lời cảm ơn tới TS Trần Hồng Quang (Viện Hóa Sinh Biển – Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam) - người đã truyền cho tôi tri thức cũng như tâm huyết nghiên cứu khoa học, người đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ và tạo điều kiện tốt nhất để tôi hoàn thành bản luận văn này.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến các thầy giáo, cô giáo Khoa Hóa Học, các thầy cô trong Ban Giám hiệu trường Đại học Khoa Học - Đại học Thái Nguyên đã giảng dạy, tạo điều kiện thuận lợi về cơ sở vật chất và thời gian ,đã giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu để hoàn thành luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới toàn thể gia đình, bạn bè đồng nghiệp đã luôn cổ vũ, động viên tôi trong suốt thời gian qua.

Luận văn được sự đồng ý sử dụng một phần nội dung của Nhiệm vụ hợp tác quốc tế cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (mã số Nhiệm vụ: VAST.HTQT.HANQUOC.03/17-18)

Trong quá trình thực hiện luận văn do còn hạn chế về mặt thời gian cũng như trình độ chuyên môn của bản thân nên không tránh khỏi những thiếu sót. Rất mong nhận được những ý kiến đóng góp quý báu của các thầy cô, bạn bè và đồng nghiệp.

Tôi xin chân thành cảm ơn!

Tác giả luận văn

Đinh Xuân Chung

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

MỤC LỤC

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT ..... a
DANH MỤC HÌNH ..... B
DANH MỤC BẢNG BIỂU C
MỞ ĐẦU 1
Chương 1: TỔNG QUAN 3
1. Sơ lược về phương pháp sắc ký : 3
1.1. Định nghĩa 3
1.2. Nguyên tắc của sắc ký 3
1.3 Các giai đoạn của quá trình sắc ký 3
1.4. Sơ lược về phương pháp sắc ký lỏng 4
2.Sơ lược về phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) 11
2.1. Phương pháp phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1H 15
2.1.1. Cường độ vạch phổ 15
2.1.2. Phân loại phổ 16
2.2. Phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân 13C 21
2.2.1. Phổ 13C tương tác 1H 22
2.2.2. Phương pháp phổ 13C xóa tương tác 1H 23
3. Tình hình nghiên cứu vi nấm biển trên thế giới 24
Chương 2: THỰC NGHIỆM 29
2.1. Thực nghiệm: 29
2.1.1. Mẫu nghiên cứu: 29
2.1.2 Phương pháp nghiên cứu 29
2.2. Dụng cụ và hóa chất 31
2.2.1. Dụng cụ và thiết bị tách chiết và phân tích sắc ký 31
2.2.2. Thiết bị phân tích xác định cấu trúc 31
2.2.3. Hóa chất sử dụng phân tích sắc ký và cấu trúc 31
2.3. Thực nghiệm phân tích sắc ký các hợp chất 32

2.4. Hằng số vật lí và dữ kiện phổ các hợp chất 33
2.4.1. Hợp chất VK-13-1 (modiolide D): 33
2.4.2. Hợp chất VK-13-2 (modiolide E): 34
2.4.3. Phân tích dữ kiện phổ 1H NMR 34
Chương 3: KẾT QUẢ THẢO LUẬN 36
3.1. Phân tích cấu trúc hợp chất VK-13-1 36
3.2 Phân tích cấu trúc của hợp chất VK-13-2 39
KẾT LUẬN 42
TÀI LIỆU THAM KHẢO 43
PHỤ LỤC 46

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

^{13}C NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân Cacbon 13 Carbon 13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
^{1}H NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton Proton Magnetic Resonance Spectroscopy
2D-NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều Two-Dimensional NMR Spectroscopy
CC	Sắc ký cột Column Chromatography
DAD	Bộ phát hiện mảng điot Diode array detector
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
EtOAc	Ethylacetate
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
HRESITOFMS	Phổ khối lượng phân giải cao phun mù điện tử thời gian bay High Resolution Electronspray Ionization Time-Of-Flight Mass Spectroscopy
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao High-performance liquid chromatography
MeOH	Methanol
PDA	Potato Dextrose Agar
TLC	Sắc ký lớp mỏng Thin layer chromatography

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1: Sơ đồ hệ thống HPLC 4
Hình 1.2: Phổ 1H NMR của 1-xiclopentylbut-1-en-3-on 14
Hình 1.3. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton của etylbenzen. Chiều cao bậc thang đường cong tích phân tỷ lệ với số proton ở mỗi nhóm 15
Hình 1.4. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton của một số hợp chất 17
Hình 1.5. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton của 3-brom-2-tert-butoxithiophen 18
Hình 1.6. Phổ lý thuyết A2B 18
Hình 1.7. Phổ 1H-NMR của 1,3,4-tribrombut-1-in 19
Hình 1.8. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton của stirenoxit 19
Hình 1.9 Phổ lí thuyết hệ ABX với JAX và JBX a) ngược dấu, b) cùng dấu.. 20
Hình 1.10. Phổ lý thuyết A2B2 21
Hình 1.11. Phổ CHTN–13C có tương tác C–H (a) và xóa tương tác C–H (b)... 23
Hình 1.12 Một số hình ảnh về bốn loài vi nấm mới 25
Hình 2.1 Sơ đồ phân lập các hợp chất từ Paraconiothyrium sp. VK-13 32
Hình 2.2. Sắc ký đồ HPLC phân tách hợp chất VK-13-2 33
Hình 3.1. Cấu trúc hóa học của hợp chất VK-13-1 36
Hình 3.2. Các tương tác HMBC và COSY chính của hợp chất VK-13-1 37
Hình 3.3. Các tương tác NOESY chính của hợp chất VK-13-1 37
Hình 3.4. Hiệu số δH của VK-13-1a và VK-13-1b 38
Hình 3.5. Cấu trúc hóa học của hợp chất VK-13-2 39
Hình 3.6. Các tương tác HMBC và COSY chính của hợp chất VK-13-2 40
Hình 3.7. Hiệu số δH của VK-13-2a và VK-13-2b 41

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 3.1 . Số liệu phổ NMR của hợp chất VK-13-1 37
Bảng 3.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất VK-13-2 40

MỞ ĐẦU

Đã từ lâu các loài nấm trên cạn được biết đến như nguồn cung cấp các hợp chất có hoạt tính sinh học cao. Kể từ khi penicillin được phát hiện bởi Alexander Fleming vào năm 1928 tạo ra bước đột phá trong điều trị các bệnh nhiễm khuẩn, vi nấm đã trở thành một nguồn phát triển thuốc quan trọng cho y học. Bên cạnh các hoạt chất kháng khuẩn phổ biến có nguồn gốc từ vi nấm như fusidic acid và griseofulvin, một số loại thuốc kháng nấm mới như Eraxis, Cancidas, và Altabax được bán tổng hợp từ các hợp chất phân lập từ vi nấm. Các hoạt chất hạ mỡ máu statin sử dụng trong điều trị bệnh mạch vành từ mevastitin và lovastatin . Tuy nhiên việc phát hiện lặp lại với tần suất cao các hợp chất đã biết đã cản trở việc nghiên cứu phát triển thuốc từ nguồn nấm trên cạn truyền thống. Do đó hiện nay việc nghiên cứu nấm trên thế giới đã chuyển hướng sang khu vực có hệ sinh thái và môi trường còn ít được biết đến, đó là các đại dương. Các đại dương bao phủ ba phần tư diện tích bề mặt trái đất và là nơi trú ngụ của tất cả các loài vi sinh vật thiết yếu. Các ổ sinh thái như trầm tích, rừng ngập mặn, tảo, và các sinh vật biển cung cấp các điều kiện sống riêng biệt cho các vi sinh vật[1].

Hiện nay, việc nghiên cứu tìm ra các hợp chất có hoạt tính sinh học từ vi khuẩn, vi nấm, vi tảo-các đối tượng có khả năng nhân sinh khối lượng lớn, phục vụ cho phát triển thuốc đang được các nhà khoa học trên thế giới rất quan tâm. Trong đó, các hợp chất thứ cấp sản sinh từ vi nấm có sự đa dạng cao về cấu trúc và hoạt tính sinh học và tiềm năng khai thác còn rất lớn. Với nguồn thực vật và động vật biển dồi dào và phong phú, cùng với sự đa dạng về hệ sinh thái và môi trường sống, sự đa dạng về sinh học của các chủng vi nấm ở biển Việt Nam được đánh giá rất cao và tiềm năng khai thác các hợp chất có hoạt tính sinh học có giá trị là rất khả quan. Tuy nhiên, cho đến nay hướng nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các chủng vi nấm từ biển hầu như chưa được tiến hành ở Việt Nam. Do đó việc nghiên

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn

cứu một cách hệ thống nhằm xây dựng cơ sở dữ liệu về hóa học và hoạt tính sinh học của các loài vi nấm phân lập từ biển ở Việt Nam, qua đó tìm ra các hoạt chất sinh học phục vụ cho các nghiên cứu ứng dụng tiếp theo là cần thiết.

Các nghiên cứu về thành phần hóa học trên thế giới cho thấy chi vi nấm *Paraconiothyrium* là nguồn cung cấp dồi dào các hợp chất thứ cấp có nhiều hoạt tính sinh học. Tuy nhiên, ở nước ta việc nghiên cứu về thành phần hóa học, tác dụng dược lý của các loài vi nấm biển nói chung và vi nấm *Paraconiothyrium* còn rất mới mẻ và giàu tiềm năng. Vì vậy, em đã lựa chọn đề tài: "Tách, xác định cấu trúc một số hợp chất thứ cấp từ vi nấm biển *Paraconiothyrium* sp. VK-13 bằng phương pháp hóa lý hiện đại"

Mục tiêu của đề tài :

Phân tích cấu trúc hóa học của một số hợp chất thứ cấp phân tách từ chủng vi nấm biển *Paraconiothyrium* sp. VK-13 bằng các phương pháp phổ như: phổ khối lượng phun mù điện tử phân giải cao (HRESIMS), phổ cộng hưởng từ nhân 1 chiều (1D NMR) và 2 chiều (2D NMR).

Các bước thực hiện của đề tài:

1. Nghiên vứu phân tách một số hợp chất bằng các phương pháp phân tích sắc ký như: sắc ký lớp mỏng (TLC), sắc ký cột (CC), và sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) từ sinh khối của chủng vi nấm *Paraconiothyrium* sp. VK-13.
2. Nghiên cứu phân tích xác định cấu trúc hóa học một số hợp chất thứ cấp bằng các phương pháp phổ như: phổ khối lượng phun mù điện tử phân giải cao (HRESIMS), phổ cộng hưởng từ nhân 1 chiều (1D NMR) và 2 chiều (2D NMR).

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu và Công nghệ thông tin – ĐHTN http://lrc.tnu.edu.vn