ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

NGUYỄN TIẾN THÀNH

XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT HÓA HỌC TỪ LOÀI CỎ BÁCH LINH (*MARSDENIA LONGIPES*)

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

THÁI NGUYÊN- 2020

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

NGUYỄN TIẾN THÀNH

XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT HÓA HỌC TỪ LOÀI CỎ BÁCH LINH (*MARSDENIA LONGIPES*)

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 kết quả nghiên cứu trong luận văn tốt nghiệp là trung thực, chưa từng được công bố trong bất kỳ báo cáo nghiên cứu khoa học nào khác..*

Học viên

Nguyễn Tiến Thành

Xác nhận của khoa chuyên môn	**Xác nhận của giáo viên hướng dẫn**
PGS. TS. Nguyễn Thị Hiền Lan	**PGS.TS. Phạm Văn Khang**

LỜI CẢM ƠN

Với những thành công đã đạt được trong quá trình nghiên cứu. Tôi xin được gửi lời cảm ơn chân thành của mình tới PGS. TS. Phạm Văn Khang người thầy đã luôn tận tình hướng dẫn, chỉ bảo tôi trong suốt quá trình học tập và tham gia nghiên cứu, hoàn thành luận văn. Cảm ơn đề tài Nafosted Mã số 104.01-2018.348 đã hỗ trợ tài chính cho luận văn.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn tới toàn thể các thầy giáo, cô giáo và các học viên cao học K25, K26 trong phòng thí nghiệm Hóa hữu cơ đã tạo điều kiện nghiên cứu khoa học thuận lợi giúp đỡ tôi hoàn thành các kế hoạch nghiên cứu.

Tôi xin được cảm ơn các em sinh viên, các bạn học viên nghiên cứu đề tài khoa học hợp chất thiên nhiên đã cùng cộng tác với tôi trong suốt quá trình nghiên cứu, thí nghiệm hoàn thành đề tài luận văn.

Tôi xin gửi lời cảm ơn sâu sắc tới tập thể Ban giám hiệu nhà trường, Ban chủ nhiệm khoa Hóa, các thầy cô trong khoa Hóa Học và phòng Đào tạo 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,16 tháng 05 năm 2020

Học viên

Nguyễn Tiến Thành

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN ..... **i**

LỜI CẢM ƠN ..... **ii**

MỤC LỤC ..... **iii**

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT DÙNG TRONG LUẬN VĂN ..... **iv**

DANH MỤC CÁC BẢNG ..... **v**

MỞ ĐẦU **1**

1. Tính cấp thiết của đề tài 1

2. Mục tiêu của đề tài 1

Chương 1 TỔNG QUAN **2**

1.1. Khái quát về loài Cỏ Bách Linh (*Marsdenia longipes*). 2

1.1.1. Đặc điểm thực vật học. 2

1.1.2. Phân bố. 3

1.2. Tổng quan về chi Marsdenia. 3

1.3. Khái quát chung về họ Asclepiadaceae R.Br. (Thiên Lý). 4

1.4. Tình hình nghiên cứu thành phần hóa học của các loài trong chi *Marsdenia* 5

1.5. Những nghiên cứu về hoạt tính sinh học của các loài trong chi Marsdenia 16

1.6. Hoạt động sinh học của steroids trong M. tenacissima 26

CHƯƠNG 2 THỰC NGHIỆM **29**

2.1. Hóa chất và thiết bị phân lập. 29

2.1.1. Hóa chất. 29

2.1.2. Hóa chất và tế bào dùng để thử hoạt tính sinh học. 29

2.2. Phương pháp xử lý mẫu thực vật, chiết tách và xác định cấu trúc các chất phân lập được. 30

2.2.1. Mẫu nghiên cứu và xử lý mẫu thực vật. 30

2.2.2. Chiết xuất 30
2.2.3. Phương pháp định tính các nhóm hợp chất. [3] 30
2.2.4. Xác định cấu trúc các chất[3]. 32
2.3. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư. 32
2.3.1. Vật liệu và hóa chất. 32
2.3.2. Phương pháp nuôi cấy tế bào in vitro. 33
2.3.3. Phương pháp xác định tính độc tế bào ung thư (cytotoxic assay)[41]. 33
2.4. Phân lập, tinh chế các hợp chất. 34
CHƯƠNG 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU 37
3.1. Kết quả định tính nhóm hợp chất và kết quả phân lập các hợp chất 37
3.2. Kết quả xác định cấu trúc của hợp chất 37
3.2.1. Phân tích cấu trúc hợp chất 1 37
3.2.2. Phân tích cấu trúc hợp chất 2 43
3.3. Kết quả nghiên cứu hoạt tính độc tế bào trên dòng tế bào ung thư *HeLa* (cổ tử cung) và *A549* (tế bào ung thư gan). 47
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ 49
1. Kết luận 49
2. Kiến nghị 49
TÀI LIỆU THAM KHẢO 50

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT DÙNG TRONG LUẬN VĂN

^{13}C-NMR	: ^{13}C-Nucler Magnetic Resonance
	: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{13}C
^{1}H-NMR	: ^{1}H-Nucler Magnetic Resonance
	: Phổ cộng hưởng từ hạt nhân ^{1}H
COSY	: Corelated Spectroscopy
	: Phổ tương quan hai chiều H-H
DEPT	: Distortionless Enhancement by Polarisation Tranfer
	: Phổ DEPT
ESI-Ms	: Electron Impact Mass Spectroscopy
	: Phổ khối lượng
HMBC	: Heternuclear multiple - Bond Corelation
	: Phổ tương quan hai chiều H-C
HSQC	: Heternuclear Spectroscopy- Quantum Coherence
	: Phổ tương tác C-H
RP	: Reversed - Phase Chromatography
NP	: Normal - Phase Chromatography
SEM	:Scanning Electro Microscope
LC	: Liquid chromatography
	: Sắc ký lỏng
MS	: Mass spectrometry
	: Phổ khối lượng
TLTK	: Tài liệu tham khảo

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1: Danh mục các loài có giá trị trong họ Thiên lý, chi Hàm Liên 4
ở Việt Nam[1] 4
Bảng 1.2. Hợp chất nhóm Triterpene 5
Bảng 1.3: Những hợp chất Glucoside 6
Bảng 1.4: Những hợp chất Polyoxyregnanes steroid 10
Bảng 1.5: Những hợp chất Trisaccharides 14
Bảng 1.6: Hợp chất Ketopolyhydroxypregnene 15
Bảng 1.7: Hợp chất Pregnane Ester 15
Bảng 1.8 Hoạt tính ức chế tế bào ung thư của dịch chiết tổng 16
M. tenacissima 16
Bảng 1.9 Hoạt động của các chất steroid glycosides 26
chiết xuất từ *M. tenacissima* 26
Bảng 3.1. Kết quả định tính một số nhóm chất hữu cơ có trong cao chiết ethanol ... 37
Bảng 3.2: Giá trị độ chuyển dịch hóa học của chất1 (δ ppm, *J Hz*) 39
Bảng 3.3: Tác động gây độc tế bào ung thư của chất 1 48

DANH MỤC CÁC HÌNH, SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2.1. Sắc kí cột silicagel từ cao chiết EA 36
Hình 1.1 Hình vẽ tiêu bản mô tả loài Marsdenia longipes 3
Hình 1.2: Hình ảnh loài *Marsdenia longipes* 3
Hình 3.1. Phổ 1H-NMR của chất 1 38
Hình 3.2. Phổ ^{13}C-NMR của chất 1 40
Hình 3.3. Sự tương quan giữa H→C của chất 1 (HMBC) 42
Hình 3.4. Phổ MS của chất 1 42
Hình 3.5. Công thức cấu tạo của chất 1 43
Hình 3.6. Phổ ^{1}H-NMR của chất 2 43
Hình 3.7. Phổ ^{13}C-NMR của chất 2 44
Hình 3.9. Phổ HSQC của chất 2 46
..... 46
Hình 3.10. Sự tương quan giữa H→C của chất 2 (HMBC) 46
Hình 3.11. Phổ MS của chất 2 47

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Hóa học các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học là một trong những lĩnh vực nghiên cứu đã và đang được nhiều nhà khoa học quan tâm. Từ xưa con người đã khám phá và biết sử dụng nhiều loài động thực vật nhằm mục đích chữa bệnh. Từ thực tế nhận thấy các hợp chất thiên nhiên thường có nhiều hoạt tính sinh học tốt, độ ổn định cao và có độc tính thấp.

Các loài thuộc chi Hàm Liên (*Marsdenia*) đã được sử dụng từ lâu để chữa một số bênh như: viêm nhiễm, đau bụng. Gần đây, nhiều nghiên cứu đã chứng minh dịch chiết cao tổng số và hợp chất hóa học được phân lập từ loài thực vật này có khả năng ức chế nhiều dòng tế bào ung thư, kháng viêm, chống oxi hóa,....

Ở Việt Nam, loài Cỏ Bách Linh (*Marsdenia longipes*), chi Hàm Liên (*Marsdenia*) thuộc họ Thiên lý được phát hiện tại một số tỉnh thuộc khu vực miền núi phía bắc. Đến nay chưa có công bố nào về thành phần hóa học của loài thực vật này. Dó đó chúng tôi đề xuất đề tài: **Xác định thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính của một số hợp chất hóa học từ loài Cỏ Bách Linh (*Marsdenia longipes*).**

Đề tài này khi hoàn thành sẽ cung cấp các thông tin khoa học giá trị làm cơ sở khoa học quan trọng để sử dụng loài thực vật này làm thuốc chữa bệnh và sàng lọc các hợp chất có hoạt tính tốt để tiến hành nghiên cứu tiếp theo. Đồng thời góp phần mở ra một hướng nghiên cứu khả quan trong việc ứng dụng các sản phẩm được chiết xuất từ hợp chất hữu cơ trong quá trình điều trị và hỗ trợ điều trị các bệnh nam y trong y học.

2. Mục tiêu của đề tài

1. Đánh giá thành phần hóa học bằng phản ứng định tính.

2. Phân lập và xác định cấu trúc ít nhất 2 hợp chất từ lá loài Cỏ Bách Linh

3. Tiến hành thử hoạt tính sinh học của các hợp chất đã phân lập được.