

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC VINH

BÙI THỊ MINH NGUYỆT

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ
HOẠT TÍNH SINH HỌC CÂY NA (*ANNONA
SQUAMOSA* L.) VÀ CÂY DỪ DỄ TRÂU
(*MELODORUM FRUTICOSUM* LOUR.)
THUỘC HỌ NA (ANNONACEAE)
Ở VIỆT NAM**

CHUYÊN NGÀNH: HÓA HỮU CƠ
MÃ SỐ CHUYÊN NGÀNH: 62. 44. 01. 14

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

NGHỆ AN - 2014

Công trình được hoàn thành tại: Phòng thí nghiệm Chuyên đề
Hữu cơ, khoa Hóa học, Trường Đại học Vinh

Người hướng dẫn khoa học: 1. PGS. TS. Trần Đình Thắng
2. PGS. TS. Ping Chung Kuo

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án được bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án cấp Trường
họp tại:

vào hồi giờ phút, ngày tháng năm 20

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

1. Thư viện Quốc gia Việt Nam
2. Trung tâm Thông tin & Thư viện Nguyễn Thúc Hào –
Trường Đại học Vinh

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Thực vật ở nước ta rất đa dạng và phong phú, số liệu thống kê gần đây về thực vật bậc cao ở nước ta cho biết có hơn 13.000 loài, đến năm 2002 đã biết được có 2.270 chi và 305 họ trong đó có khoảng 4.000 loài cây được sử dụng làm thuốc [9], và 600 loài cây cho tinh dầu [6]. Đây là nguồn tài nguyên thiên nhiên rất quý báu của đất nước.

Hiện nay, có nhiều nghiên cứu về thực vật mà chủ yếu là nghiên cứu về hóa thực vật. Theo thống kê cho thấy, có khoảng 80% dân số thế giới tin vào y học cổ truyền để chăm sóc sức khỏe. Trong thập kỉ qua, có gần 121 sản phẩm thuốc được tạo nên dựa trên kiến thức về y học truyền thống từ các nguồn khác nhau [106]. Có nhiều sản phẩm thuốc được tạo ra trực tiếp hoặc dẫn xuất hoặc tổng hợp bất chước theo bộ khung từ sản phẩm thiên nhiên [9]. Nhiều bệnh nhân mắc bệnh nan y đặc biệt là ung thư đã được chữa khỏi nhờ sử dụng các sản phẩm thuốc có nguồn gốc từ thiên nhiên [41]. Đặc biệt trong 20 năm trở lại đây, các hợp chất thiên nhiên còn được sử dụng rộng rãi và có hiệu quả trong sản xuất các thực phẩm chức năng, bổ sung dinh dưỡng hay thực phẩm thuốc là các sản phẩm nâng cao sinh lực, phòng và hỗ trợ điều trị bệnh tật, nâng cao tuổi thọ [8].

Chính vì thế, việc nghiên cứu các hợp chất thiên nhiên để làm thuốc chữa bệnh vô cùng quan trọng bởi vì khi sử dụng các loại thuốc có nguồn gốc từ hoá tổng hợp gây tác dụng phụ và làm cho môi trường ngày càng ô nhiễm hơn, các loại thuốc có nguồn gốc từ thiên nhiên hạn chế được những nhược điểm đó. Trong đó việc xác định cấu trúc của chúng là khâu then chốt trong việc giải mã cơ chế tương tác giữa thuốc với tác nhân gây bệnh.

Ở Việt Nam, các cây thuốc được sử dụng chủ yếu theo kinh nghiệm, chỉ có khoảng 20-30% số loài được xác minh khoa học về giá

trị, cơ chế chữa bệnh và chỉ dùng để chữa các bệnh thông thường: cảm sốt, cảm lạnh, cảm máu, làm lành vết thương, ăn uống khó tiêu, bong gân..., hoặc một số bệnh nan y như: tim mạch, gan, thận, thần kinh, dị ứng,... Trong một số công bố gần đây về 920 loài cây thuốc có khả năng điều trị 64 loại bệnh chứng theo cách cổ truyền [4].

Các cây họ Na nói chung và các cây thuộc chi Na và chi Dẻ nói riêng, có giá trị kinh tế cao, không chỉ dùng để làm cảnh, quả một số loài ăn rất ngon mà nó còn được sử dụng nhiều trong thuốc y học dân tộc bởi những hoạt tính sinh học đáng quý của chúng. Ngoài ra, một số cây có mùi thơm đặc biệt nên được dùng trong các ngành hương liệu.

Trên thế giới đã có nhiều công trình nghiên cứu về cây na, nhưng ở Việt Nam vẫn chưa được nghiên cứu nhiều. Còn đối với dẻ trâu, các báo cáo về nó vẫn còn khiêm tốn, ở Việt Nam chưa tìm thấy một công trình nghiên cứu nào về loài cây này. Vì vậy, việc nghiên cứu thành phần hóa học của loài cây này giúp đánh giá được giá trị của nguồn tài nguyên thiên nhiên của nước ta. Kết quả nghiên cứu về loài cây này sẽ mang lại ý nghĩa to lớn đối với ngành dược liệu. Chính bởi những ưu điểm như thế, chúng tôi nhận thấy sự cần thiết để nghiên cứu về thành phần hóa học của các cây này. Với những lí do quan trọng nêu trên chúng tôi thực hiện luận án với tên “**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học cây na (*Annona squamosa* L.) và cây dẻ trâu (*Melodorum fruticosum* Lour.) thuộc họ Na (Annonaceae) ở Việt Nam**”.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Với những lí do nêu trên, chúng tôi xác định mục tiêu nghiên cứu của luận án gồm những nội dung như sau:

- Xác định được thành phần hóa học và cấu trúc các hợp chất được phân lập từ cây na và cây dẻ trâu.

- Thử hoạt tính sinh học của một số hợp chất phân lập được

3. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu của luận án là lá cây na (*Annona squamosa* L.) thuộc chi Na (*Annona*) và lá cây dứa dẻ trâu (*Melodrum fruticosum* Lour.) thuộc chi Dứa dẻ (*Melodorum*), hai loài này cùng thuộc họ Na (Annonaceae).

4. Nhiệm vụ nghiên cứu

Với mục tiêu nghiên cứu đã đặt ra, chúng tôi xác định các nhiệm vụ cần thực hiện gồm:

- Lựa chọn các dung môi thích hợp để chiết được hỗn hợp các hợp chất từ lá của cây na và lá cây dứa dẻ trâu.
- Phân lập và xác định cấu trúc một số hợp chất từ các cao thu được từ lá cây na và lá cây dứa dẻ trâu
- Thử hoạt tính sinh học của một số hợp chất phân lập được.

5. Những đóng góp mới của luận án

Đây là công trình khoa học báo cáo về thành phần hóa học và cả về hoạt tính sinh học của các chất phân lập từ lá cây na (*Annona squamosa* L.) và lá cây dứa dẻ trâu (*Melodrum fruticosum* Lour.) lần đầu tiên ở Việt Nam.

- Đã phân lập và xác định cấu trúc của 05 hợp chất *ent*-kauran và 02 hợp chất steroid. Trong đó, có một hợp chất *ent*-kauran ditecpenoit lần đầu tiên được phân lập từ loài na.

- Từ dịch chiết của lá cây dứa dẻ trâu (*Melodrum fruticosum* Lour.) đã phân lập và xác định được 01 hợp chất amit thơm mới, 08 hợp chất flavonoid, 01 hợp chất ancaloit, 01 hợp chất tannin, 02 hợp chất steroid. Ngoại trừ 02 hợp chất steroid, các hợp chất còn lại đều là các hợp chất lần đầu tiên phân lập từ loài dứa dẻ.

- Xác định được các thông số cấu trúc tinh thể của hợp chất amit thơm mới. Các số liệu về tinh thể học của hợp chất này (CCDC 872 187) hiện được lưu trữ tại Trung tâm dữ liệu Cambridge.

- Trong số các hợp chất *ent*-kauran ditecpenoit phân lập từ lá na có một hợp chất lần đầu tiên báo cáo về hoạt tính gây độc dòng tế

bào ung thư vú (MCF-7). Có ba hợp chất phân lập từ lá dù dẻ trâu lần đầu tiên được nghiên cứu hoạt tính kháng viêm dựa trên khả năng ức chế sự tạo thành $O_2^{\bullet-}$ khi cho bạch cầu trung tính phản ứng với formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanin/cytochalasin B (FMLP/CB).

6. Bố cục của luận án

Luận án gồm 124 trang với 24 bảng số liệu, 23 hình và 6 sơ đồ với 144 tài liệu tham khảo. Kết cấu của luận án gồm: mở đầu (4 trang), tổng quan (27 trang), phương pháp và thực nghiệm (14 trang), kết quả và thảo luận (60 trang), kết luận (2 trang), danh mục công trình công bố (1 trang) và tài liệu tham khảo (16 trang). Ngoài ra còn có phần phụ lục gồm 114 phổ của các hợp chất (62 trang) và các dữ liệu tinh thể học của melodamit A (6 trang)

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

Tổng quan về cây na (*Annona squamosa* L.) và cây dù dẻ trâu (*Melodorum fruticosum* Lour.) được trình bày với các mục gồm:

- Đặc điểm thực vật
- Thành phần hoá học
- Sử dụng và hoạt tính

CHƯƠNG 2: PHƯƠNG PHÁP VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết tách

Sử dụng các dung môi thích hợp để chiết hỗn hợp các chất từ cao metanol trích từ lá na và lá dù dẻ trâu

2.2.2. Sắc kí lớp mỏng

Thực hiện trên bản mỏng đã được tráng sẵn silica gel Merck 60 F₂₅₄, độ dày 0,2 mm. Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm và hiện màu với hơi iot

2.2.3. Sắc kí cột

Sử dụng phương pháp sắc kí trên cột thông thường với pha tĩnh là silica gel 70-230/mesh và sắc kí cột pha đảo RP-18.

2.2.4. Kết tinh phân đoạn

Phương pháp kết tinh phân đoạn dùng để làm sạch các hợp chất thu được ở các phân đoạn sắc kí

2.2.5. Phương pháp xác định cấu trúc

Sử dụng các phương pháp phổ hiện đại để chứng minh cấu trúc gồm phổ tử ngoại (UV), hồng ngoại (IR), phổ khối (ESI-MS, HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT) và hai chiều (HSQC, HMBC, $^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$), X-ray và đo độ quay cực riêng

2.2.6. Phương pháp thử hoạt tính sinh học

- Hoạt tính gây độc tế bào được tiến hành tại phòng Công nghệ Sinh học, Viện hóa học các Hợp chất Thiên nhiên, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

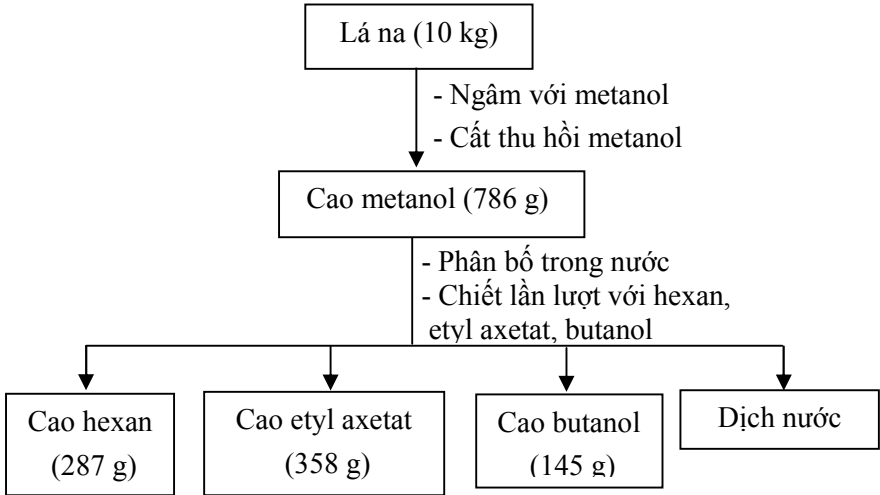
- Hoạt tính kháng viêm được tiến hành tại trường Đại học Cheng Kung, Đài Loan.

2.3. Thu hái mẫu thực vật

Mẫu lá cây na (*Annona squamosa* L.) được thu hái ở Đồng Tháp vào tháng 8/2010 và lá cây dù dẻ trâu (*Melodorum fruticosum* Lour.) thu hái ở Huế vào tháng 5/2009, cả hai mẫu thực vật đều được PGS. TS Trần Huy Thái (Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) xác định tên khoa học và các tiêu bản được lưu giữ tại khoa Sinh-Trường Đại học Vinh.

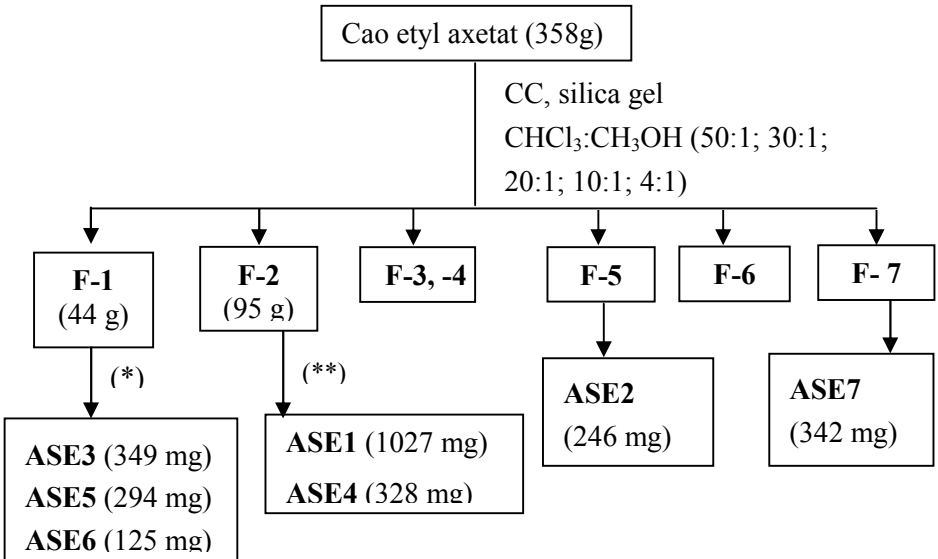
2.4. Kết quả nghiên cứu chiết tách và xác định cấu trúc các thành phần hóa học trong lá na

2.4.1. Chiết tách cao



Sơ đồ 1: Quy trình chiết tách cao từ lá na

2.4.2. Phân lập các chất



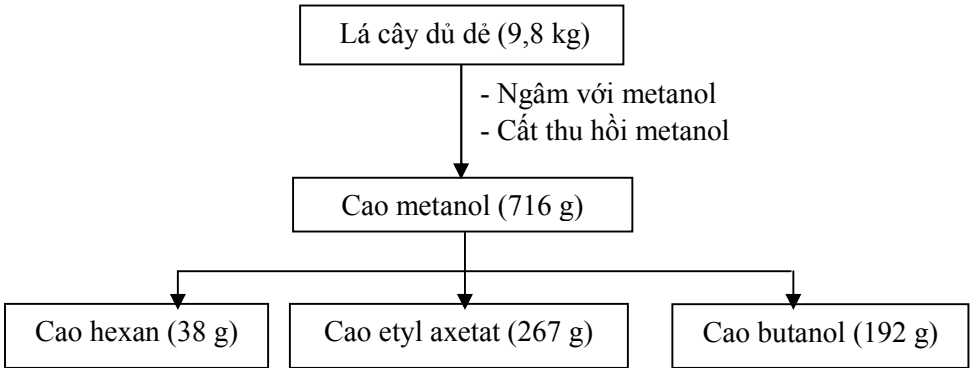
(*): CC, silica gel; CHCl_3 : CH_3OH (30:1; 20:1; 10:1; 4:1; 2:1)

(**): CC, silica gel; CHCl_3 : CH_3OH (25:1; 15:1; 10:1; 4:1; 2:1)

Sơ đồ 2: Quy trình phân lập các chất từ cao etyl axetat của lá na

2.5. Kết quả nghiên cứu chiết tách và xác định cấu trúc các thành phần hóa học trong lá dứa dẻ trâu

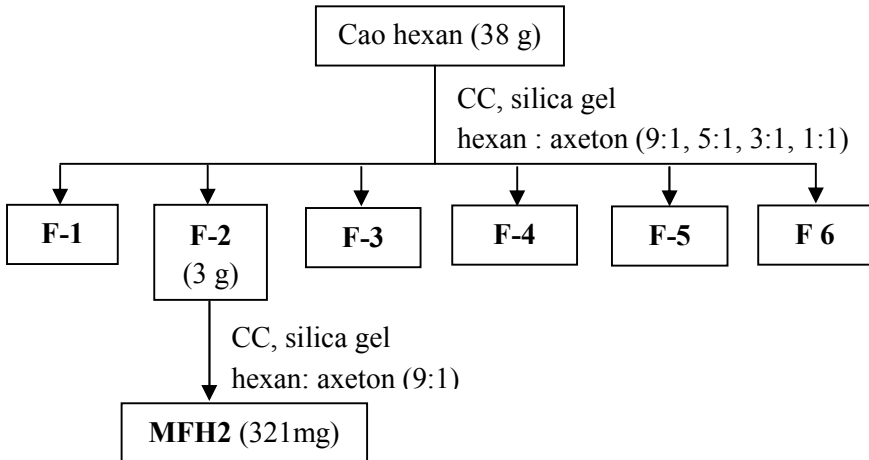
2.5.1. Chiết tách cao



Sơ đồ 3: Quy trình chiết tách cao từ lá dứa dẻ trâu

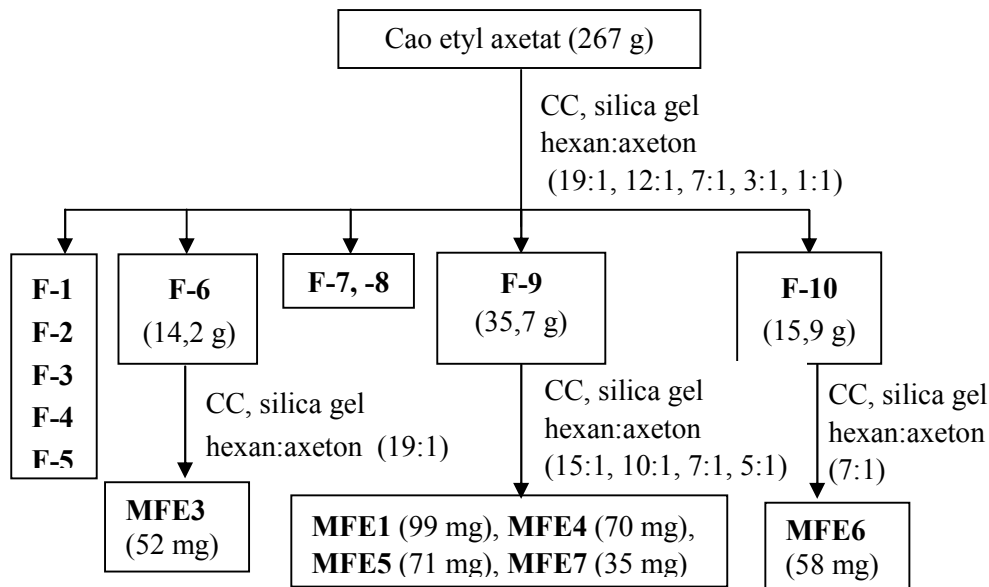
2.5.2. Phân lập các chất

2.5.2.1. Cao hexan

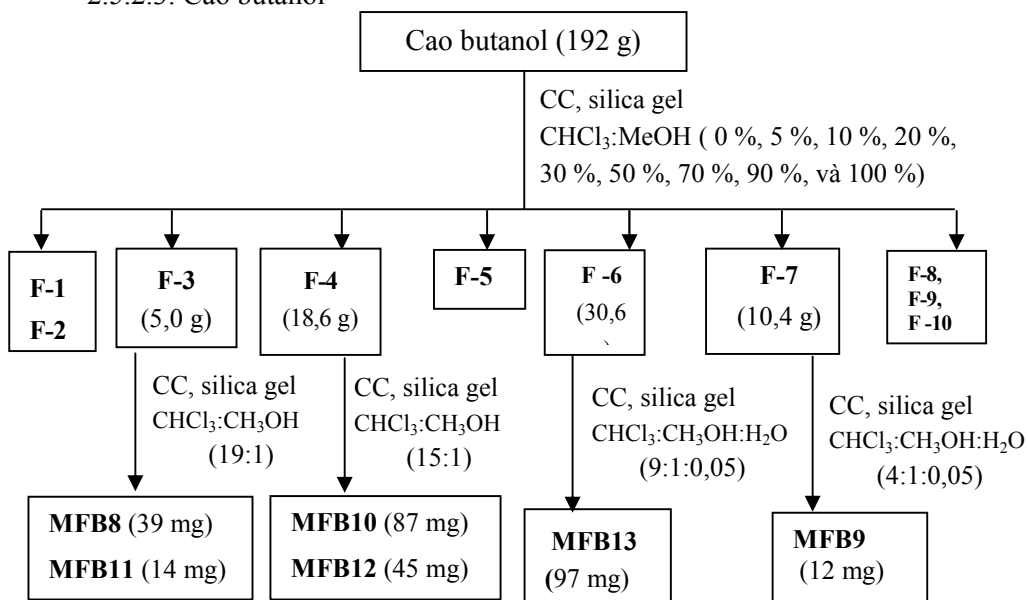


Sơ đồ 4: Quy trình phân lập các chất từ cao hexan của lá dứa dẻ trâu

2.5.2.2. Cao etyl axetat



Sơ đồ 5: Quy trình phân lập các chất từ cao etyl axetat của lá dứa dẻ trâu
2.5.2.3. Cao butanol



Sơ đồ 6: Quy trình phân lập các chất từ cao butanol của lá dứa dẻ trâu