

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

DƯƠNG HỒNG NHUNG

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT
TÍNH SINH HỌC CỦA LOÀI BỒ BỒ (*ADENOSMA
INDIANA* (LOUR.) MERR.) PHÂN BỐ Ở ĐỊA BÀN
HUYỆN ĐẠI TỪ- TỈNH THÁI NGUYÊN

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

THÁI NGUYÊN - 2015

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

DƯƠNG HỒNG NHUNG

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT
TÍNH SINH HỌC CỦA LOÀI BỒ BỒ (*ADENOSMA
INDIANA* (LOUR.) MERR.) PHÂN BỐ Ở ĐỊA BÀN
HUYỆN ĐẠI TỪ- TỈNH THÁI NGUYÊN

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 60 44 01 14

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Người hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Thị Thanh Hương

THÁI NGUYÊN - 2015

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các số liệu, kết quả trong luận văn là hoàn toàn trung thực chưa từng được công bố trong một công trình khoa học nào khác.

Thái Nguyên, tháng 4 năm 2015

Tác giả luận văn

Dương Hồng Nhung

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới cô giáo TS. Nguyễn Thị Thanh Hương đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ tôi hoàn thành khóa luận tốt nghiệp Thạc sỹ.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám hiệu, khoa Sau Đại học, khoa Hóa học trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên và đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập và thực hiện luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy cô giáo, cán bộ phòng thí nghiệm Khoa Hóa học trường ĐHSP Thái Nguyên, phòng tổng hợp hữu cơ - Viện Hóa học, Phòng nghiên cứu hoạt tính Sinh học - Viện Công nghệ Sinh học- Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam và các bạn bè đồng nghiệp đã giúp đỡ, tạo điều kiện cho tôi trong suốt quá trình học tập và thực hiện luận văn.

Học viên

Dương Hồng Nhung

MỤC LỤC

TRANG BÌA PHỤ

LỜI CAM ĐOAN.....	i
LỜI CẢM ƠN	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT.....	iv
DANH MỤC CÁC BẢNG, SƠ ĐỒ.....	iv
DANH MỤC CÁC ẢNH, HÌNH	v
MỞ ĐẦU	1
1. Lý do chọn đề tài.....	1
2. Mục tiêu của đề tài	3
3. Nội dung nghiên cứu.....	3
4. Phương pháp nghiên cứu.....	3
5. Dự kiến kết quả đạt được	4
6. Dự kiến cấu trúc luận văn	4
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN	5
1.1. Tổng quan về chi <i>Adenosma</i> và loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.	6
1.1.1. Tổng quan về chi <i>Adenosma</i> (Họ Scrophulariaceae).	6
1.1.2. Đặc điểm thực vật loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.....	7
1.1.2.1. Tên khoa học	7
1.1.2.2. Đặc điểm thực vật và phân bố trong tự nhiên	8
1.1.3. Đặc điểm thực vật loài <i>Adenosma caeruleum</i> R. Br.....	9
1.1.3.1. Tên khoa học	10
1.1.3.2. Đặc điểm thực vật và phân bố trong tự nhiên	10
1.2. Tình hình nghiên cứu về thành phần hóa học của một số loài thuộc chi <i>Adenosma</i>	11
1.2.1. Nghiên cứu về loài <i>Adenosma caeruleum</i> R.Br.....	12
1.2.2. Nghiên cứu về loài <i>Adenosma bracteosa</i> Bonati.	12
1.2.3. Nghiên cứu về loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.....	12
1.3. Axit betulinic và một số dẫn xuất của axit betulinic.....	22
1.3.1. Axit betulinic.....	22
1.3. 2. Một số dẫn xuất của axit betulinic	23
1.4. Hoạt tính sinh học của một số loài thuộc chi <i>Adenosma</i>	25

1.5. Tác dụng dược lý của một số loài thuộc chi <i>Adenosma</i> ở Việt Nam	25
1.5.1. Tác dụng dược lý của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.	25
1.5.2. Tác dụng dược lý của loài <i>Adenosma caeruleum</i> R. Br.	27
1.5.3. Tác dụng dược lý của loài <i>Adenosma bracteosum</i> Bonati.....	27
CHƯƠNG 2 : THỰC NGHIỆM	28
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	28
2.2. Hóa chất, thiết bị	28
2.2.1. Hóa chất.....	28
2.2.1.1. Hóa chất dùng để phân lập các chất từ phần thân của loài <i>Adenosma</i> <i>indiana</i> (Lour.) Merr	28
2.2.1.2. Hóa chất dùng để thử hoạt tính sinh học từ phần thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.....	28
2.2.2. Thiết bị	29
2.3. Phương pháp nghiên cứu xác định sự phân bố các loài của chi <i>Adenosma</i> trên địa bàn huyện Đại Từ- tỉnh Thái Nguyên	29
2.4. Phương pháp xử lý mẫu thực vật, chiết tách và xác định cấu trúc các chất phân lập được	29
2.4.2. Chiết tách các chất	30
2.4.3. Xác định cấu trúc các chất	30
2.5. Phương pháp xác định hoạt tính sinh học từ dịch chiết nước phần thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr. dạng tươi và dạng khô.	30
2.5.1. Xác định khả năng ức chế peroxy hoá lipid (thử nghiệm MDA)	30
2.5.2. Xác định khả năng ức chế α -glucoside	30
2.6 . Thử nghiệm	31
2.6.1. Quá trình phân lập các chất từ phần thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.	31
2.6.1.1. Chiết, tách mẫu phần thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.....	31
2.6.1.2. Phân lập các chất từ cặn chiết etyl axetat.....	31
2.6.2.1. Chất AC4: 2-(4'-hydroxyphenyl)ethyl triacontanoat.....	33
2.6.2.2. Chất AC1: Axit betulinic	33
2.6.2.3. Chất AC9: β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranosid (β -sitosterol glucosid)	33
2.6.3. Xác định khả năng ức chế peroxy hoá lipid (thử nghiệm MDA)	34
2.6.4. Xác định khả năng ức chế α -glucoside	35
2.7. Phương pháp xử lí số liệu.....	35

CHƯƠNG 3 : KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	37
3.1. Xác định sự phân bố các loài thuộc chi <i>Adenosma</i> ở huyện Đại Từ- tỉnh Thái nguyên	37
3.2. Phân lập các chất từ cặn chiết etyl axetat phần thân của loài <i>Adenosma</i> <i>indiana</i> (Lour.) Merr.	37
3.3. Xác định cấu trúc chất tách được	38
3.3.1. Chất AC4 : 2-(4'-hydroxyphenyl)etyl triacontanoat.....	38
3.3.1.1. Phân tích phổ khối HR-ESI-MS.....	38
3.3.1.2. Phân tích phổ ¹ H-NMR (CDCl ₃ , δ _H ppm).....	39
3.3.1.3. Phân tích phổ ¹³ C-NMR và DEPT (CDCl ₃ , δ _C ppm)	40
3.3.2. Chất AC1: Axit betulinic (axit (3β)-3-Hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic)...42	
3.3.2.1. Phân tích phổ ¹ H-NMR (CDCl ₃ , δ _H ppm).....	42
3.3.2.2. Phổ ¹³ C-NMR và DEPT (CDCl ₃ , δ _C ppm)	43
3.3.3. Chất AC9: β-sitosterol-3-O-β-D-glucopyranosid (β-sitosterol glucosid)	47
3.3.3.1. Phân tích phổ ¹ H-NMR (DMSO-d ₆ , δ _H ppm) của chất AC9.....	47
3.3.3.2. Phân tích phổ ¹³ C-NMR và DEPT (DMSO-d ₆ , δ _C ppm).....	48
3.4. Kết quả thử hoạt tính sinh học từ dịch chiết nước thân loài <i>Adenosma</i> <i>indiana</i> (Lour.) Merr.	51
3.4.1. Kết quả xác định khả năng ức chế peroxy hoá lipid (thử nghiệm MDA)..51	
3.4.1.1. Chuẩn bị mẫu thử và cách xác định giá trị IC ₅₀	51
3.4.1.2. Khả năng ức chế peroxy hoá lipid (thử nghiệm MDA) của dịch chiết nước phần thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr. dạng tươi và dạng khô.....	52
3.4.2. Kết quả nghiên cứu hoạt tính ức chế enzyme α- glucosidase của dịch chiết nước phần thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr. dạng khô	55
3.4.2.1. Chuẩn bị mẫu thử và cách xác định giá trị IC ₅₀	55
3.4.2.2. Khả năng ức chế enzyme α-glucosidase của dịch chiết nước phần thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr. dạng khô	56
3.4.3. Kết luận về hoạt tính sinh học của dịch chiết nước phần thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.	57
KẾT LUẬN	58
KIẾN NGHỊ	60
TÀI LIỆU THAM KHẢO	61

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT

AC1	Axit betulinic
AC4	2-(4'-hydroxyphenyl)ethyl triacontanoat
AC9	β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranosid (β -sitosterol glucosid)
^{13}C -NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của nguyên tử ^{13}C
DEPT	Phổ DEPT
DMSO	Dimetylsulfoside
GC-MS	Sắc ký khí khối phổ
^1H -NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân của nguyên tử ^1H
HR-ESI-MS	Phổ khối phân giải cao
HTCO	Hoạt tính chống oxi hoá
IC ₅₀	Nồng độ gây ra tác động sinh học cho 50% mẫu thử nghiệm
MDA	Malonyl diandehit
MT-4	Tế bào HIV
OD _C	Mật độ quang học của dung môi
OD _T	Mật độ quang học của mẫu thử
pNPG	p-nitrophenyl- α -D-glucopyranozit
SKC	Sắc ký cột
SK-MEL-2	Tế bào ung thư hắc tố
TCA	Axit tricloaxetic
TBA	Axit thiobarbituric

DANH MỤC CÁC BẢNG, SƠ ĐỒ

Bảng 1.1. Các thành phần hóa học của tinh dầu từ các bộ phận trên mặt đất của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.....	15
Bảng 1.2. Các thành phần hóa học của các thành phần dễ bay hơi từ loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr	18
Bảng 1.3. Các thành phần dễ bay hơi chiếm tỉ lệ lớn của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.....	20
Bảng 1.4. Khả năng gây độc tế bào một số loại ung thư ở người của axit betulinic.....	23
Bảng 3.1. Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của chất AC4 và 2-(4'-hydroxyphenyl) ethyl triacontanoat.....	39
Bảng 3.2. Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của chất AC4 và 2-(4'-hydroxyphenyl)ethyl triacontanoat	40
Bảng 3.3. Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của chất AC1 và axit betulinic	42
Bảng 3.4. Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của chất AC1 và axit betulinic	43
Bảng 3.5. Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ của chất AC9	47
Bảng 3.6. Số liệu phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của chất AC9	48
Bảng 3.7. Kết quả xác định khả năng ức chế peroxy hoá lipid của dịch chiết nước phân thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr. dạng tươi và dạng khô	53
Bảng 3.8. Kết quả xác định khả năng ức chế enzyme α -glucoside của dịch chiết nước phân thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr. dạng khô	56
Sơ đồ 2.1: Sơ đồ chiết, tách các chất từ phần thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.....	28

DANH MỤC CÁC ẢNH, HÌNH

Hình 1.1. Lá của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.	8
Hình 1.2. Bụi cây của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.	8
Hình 1.3. Hình vẽ mô tả của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.	8
Hình 1.4. Hoa của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.	8
Hình 1.5. Thân, lá, hoa của loài <i>Adenosma caeruleum</i> R. Br mọc tự nhiên tại huyện Đại Từ.....	10
Hình 1.6. Bụi cây của loài <i>Adenosma caeruleum</i> R. Br mọc tự nhiên tại huyện Đại Từ.....	10
Hình 1.7. Các chất phân lập được từ dịch chiết clorofom của loài <i>Adenosma caeruleum</i> R.Br.	14
Hình 1.8. Các chất phân lập được từ dịch chiết n-hexan và etyl axetat từ phần trên mặt đất của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr.	15
Hình 1.9: Công thức cấu tạo của axit betulinic	22
Hình 1.10. Một số dẫn xuất của axit betulinic có hoạt tính độc tế bào ung thư và ức chế tế bào HIV	24
Hình 3.1. Phổ HR-ESI-MS của chất AC4	38
Hình 3.2. Phổ ¹ H-NMR của chất AC4	39
Hình 3.3. Phổ ¹³ C-NMR của chất AC4	41
Hình 3.4. Phổ ¹³ C-NMR và DEPT của chất AC4	41
Hình 3.5. Công thức cấu tạo của chất AC4	42
Hình 3.6. Phổ ¹ H-NMR của chất AC1	43
Hình 3.7. Phổ ¹³ C-NMR của chất AC1	45
Hình 3.8. Phổ ¹³ C-NMR và DEPT của chất AC1	46
Hình 3.9. Công thức cấu tạo của chất AC1 : (3β)-3-hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic.....	46
Hình 3.10. Phổ ¹ H-NMR của chất AC9	48
Hình 3.11. Phổ ¹³ C-NMR của chất AC9	49
Hình 3.12. Phổ ¹³ C-NMR và DEPT của chất AC9	50
Hình 3.13. Công thức cấu tạo của chất AC9	51
Hình 3.14. MDA của dịch chiết nước phần thân của loài <i>Adenosma indiana</i> (Lour.) Merr. (Bồ bồ) dạng tươi và dạng khô	54