

VIỆN HÀN LÂM KH&CN VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

PHẠM THỊ MAI HƯƠNG

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ KHẢO
SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CÂY BÀN CHUA
(*SONNERATIA CASEOLARIS* (L.) ENGL.)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

**Hướng dẫn khoa học.
TS. NGUYỄN VĂN THANH**

Hà Nội – 2014

VIỆN HÀN LÂM KH&CN VIỆT NAM
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ KHẢO
SÁT HOẠT TÍNH SINH HỌC CÂY BÀN CHUA
(*SONNERATIA CASEOLARIS* (L.) ENGL.)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Học viên. **Phạm Thị Mai Hương**
Cao học. **Khóa 16**
Chuyên ngành. **Sinh học thực nghiệm**
Mã số. **60420114**
Hướng dẫn khoa học. **TS. Nguyễn Văn Thanh**

Hà Nội – 2014

Lời cảm ơn

Luận văn được hoàn thành tại Viện Hoá Sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Tôi xin chân thành cảm ơn TS Nguyễn Văn Thanh, người thầy đã tận tình hướng dẫn, hết lòng chỉ bảo và tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi trong thời gian làm luận văn.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn GS. VS Châu Văn Minh, TS Nguyễn Hoài Nam, TS Nguyễn Xuân Cường và tập thể cán bộ phòng Dược liệu biển, Viện Hóa Sinh biển đã tạo điều kiện, giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện luận văn.

Tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới các anh chị phòng Hoạt chất sinh học, Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên; và các anh chị phòng Hóa Sinh ứng dụng, Viện Hóa học đã giúp đỡ và tạo điều kiện cho tôi hoàn thành các nghiên cứu về hoạt tính sinh học và thử nghiệm dược lý.

Tôi xin chân thành cảm ơn tới Lãnh đạo Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, trường Đại học Thái Nguyên đã tạo điều kiện cho tôi được học tập và nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn gia đình và bạn bè đã động viên tôi trong suốt quá trình học tập nghiên cứu.

Luận văn này được hỗ trợ kinh phí và thực hiện trong khuôn khổ của Dự án điều tra cơ bản: “Điều tra các chất có hoạt tính sinh học từ nguồn thực vật rừng ngập mặn tại khu vực vườn Quốc gia Xuân Thủy tỉnh Nam Định”, mã số: VAST.ĐTCB 02/13-14 do TS Nguyễn Văn Thanh làm chủ nhiệm.

Tác giả luận văn

Phạm Thị Mai Hương

Lời cam đoan

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi được thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Văn Thanh. Các số liệu, kết quả nêu trong Luận văn là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tôi xin cam đoan rằng mọi sự giúp đỡ cho việc thực hiện Luận văn này đã được cảm ơn và các thông tin trích dẫn trong Luận văn đã được chỉ rõ nguồn gốc.

Học viên thực hiện Luận văn

Phạm Thị Mai Hương

Danh sách các chữ viết tắt

CC	Sắc kí cột (column chromatography)
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (Nuclear Magnetic Resonance)
RNM	Rừng ngập mặn
<i>S.caseolaris</i>	<i>Sooneratia caseolaris</i>
TLC	Sắc kí lớp mỏng (thin layer chromatography)
VSVKD	Vi sinh vật kiểm định

Mục lục

Danh sách các chữ viết tắt.....	i
Mục lục.....	ii
Danh mục các hình.....	v
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	3
1.1. ĐẶC ĐIỂM PHÂN LOẠI <i>SONNERATIA CASEOLARIS</i> (L.) ENGL.....	3
1.1.1. Khái quát chung về họ Bần – Sonneratiaceae	3
1.1.2. Một số đặc điểm của các loài thuộc họ Bần tại Việt Nam.....	3
1.1.2.a Chi Phay <i>Duabanga</i>	4
1.1.2.b Chi Bần <i>Sonneratia</i>	4
1.1.3. Khái quát về loài <i>Sonneratia caseolaris</i> (L.) Engl.	5
1.2. THÀNH PHẦN HÓA HỌC	9
1.2.1. Các công trình nghiên cứu trên thế giới.	9
1.2.2. Các công trình nghiên cứu trong nước.	15
1.3. Hoạt tính sinh học.....	16
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	25
2.1. MẪU THỰC VẬT.....	25
2.2. PHƯƠNG PHÁP PHÂN LẬP CÁC HỢP CHẤT.....	25
2.2.1. Sắc ký lớp mỏng (TLC).....	25
2.2.2. Sắc ký lớp mỏng điều chế	26
2.2.3. Sắc ký cột (CC)	26
2.3. PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH CẤU TRÚC HOÁ HỌC CÁC HỢP CHẤT .	26
2.3.1. Điểm nóng chảy (Mp)	26
2.3.2. Phổ cộng hưởng từ nhân (NMR).....	26
2.4. PHƯƠNG PHÁP THỬ HOẠT TÍNH SINH HỌC	26
2.4.1. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định	26

2.4.1.a. Vật liệu	26
2.4.1.b. Phương pháp	27
2.4.2. Hoạt tính gây độc tế bào.....	28
2.4.2.a. Thiết bị nghiên cứu.....	28
2.4.2.b. Các dòng tế bào.....	28
2.4.2.c. Phương pháp	28
CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ.....	30
3.1. THU MẪU THỰC VẬT VÀ XỬ LÝ MẪU.....	30
.....	30
3.2. PHÂN LẬP CÁC HỢP CHẤT.....	31
3.3. CẤU TRÚC CÁC HỢP CHẤT PHÂN LẬP.....	33
3.3.1. Hợp chất BCW1	33
3.3.2. Hợp chất BCW2	37
3.3.3. Hợp chất BCW3	41
3.3.4. Hợp chất BCW4	47
3.3.5. Hợp chất BCW7	52
3.3.6. Hợp chất BCW5	56
3.3.7. Hợp chất BCW6	60
3.3.8. Hợp chất BCW9	64
3.4. KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH KHÁNG VI SINH VẬT VÀ GÂY ĐỘC TẾ BÀO CỦA.....	71
3.4.1. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của một số hợp chất cây Bần chua.....	71
3.4.2. Kết quả thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào của một số hợp chất phân lập từ cây Bần chua	72
KẾT LUẬN.....	73
Tài liệu tham khảo.....	74
Phụ lục.....	I

Danh lục các bảng

Bảng 1. kiểm tra thành phần hoá học định tính của các dịch chiết khác nhau trong cây Bần chua.....	14
Bảng 2. kết quả thử nghiệm hóa học khác nhau trên chiết xuất ethanol của lá <i>S. caseolaris</i>	15
Bảng 3. ảnh hưởng của dịch chiết <i>S.caseolaris</i> trên acid acetic gây ra đau đớn ở chuột	17
Bảng 4. ức chế phần trăm và ức chế IC50 của dịch chiết thô của Bần chua và acid ascorbic trong DPPH triệt để.....	18
Bảng 5. hoạt động giảm đau của phần khác nhau của thân và lá <i>S.caseolaris</i> đối với acid acetic gây ra đau đớn ở chuột.	19
Bảng 6. đánh giá thống kê.....	19
Bảng 7. ảnh hưởng dịch chiết ethyl acetate gốc <i>S.caseolaris</i> và dịch chiết chloroform lá <i>S.caseolaris</i> trên thời gian tiềm ẩn của dầu thầu dầu gây ra tiêu chảy chuột.....	20
Bảng 8. ảnh hưởng của dịch chiết ethyl acetate từ gốc <i>S.caseolaris</i> và dịch chiết chloroform phần nhỏ của lá <i>S.caseolaris</i> trên cơ sở trung bình số lượng phân của chuột do thầu dầu gây ra tiêu chảy.	20
Bảng 9. kết quả đánh giá hoạt tính của các loài thực vật kiểm định.....	22
Bảng 10. dữ liệu phổ NMR của hợp chất BCW1	35
Bảng 11. dữ liệu phổ NMR của hợp chất BCW2	40
Bảng 12. dữ liệu phổ NMR của hợp chất BCW3	45
Bảng 13. dữ liệu phổ NMR của hợp chất BCW4	50
Bảng 14. dữ liệu phổ NMR của hợp chất BCW7	54
Bảng 15. dữ liệu phổ NMR của hợp chất BCW5	58
Bảng 16. dữ liệu phổ NMR của hợp chất BCW6	63
Bảng 17. dữ liệu phổ NMR của hợp chất BCW9	67
Bảng 19. kết quả thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào của các chất	72

Danh mục các hình

Hình 1. biểu đồ hoạt tính chống oxy hóa của Bần chua và ascorbic acid.....	18
Hình 2. biểu đồ cặn chiết và các chất phân lập được từ Bần chua (50mg/ml nồng độ) đối với ức chế hoạt động α -glucosidase của chuột. Dữ liệu đại diện cho có nghĩa là \pm SD của mẫu ba lần.	23
Hình 3. <i>Sonneratia caseolaris</i> (L.) Engl. - Bần chua.....	25
Hình 4. sơ đồ chiết phân đoạn dịch chiết methanol của cây Bần chua	30
Hình 5. sơ đồ phân lập các hợp chất từ phân đoạn BCW3	31
Hình 6. phổ $^1\text{H-NMR}$ của BCW1	33
Hình 7. phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của BCW1	34
Hình 8. phổ HSQC của BCW1	35
Hình 9. cấu trúc của BCW1	35
Hình 10. một số tương tác HMBC quan trọng của BCW1	36
Hình 11. phổ HMBC của BCW1	37
Hình 12. phổ $^1\text{H-NMR}$ của BCW2	38
Hình 13. phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của BCW2	38
Hình 14. phổ HSQC của BCW2	39
Hình 15. cấu trúc của BCW2	39
Hình 16. một số tương tác HMBC quan trọng của BCW2	41
Hình 17. phổ HMBC của BCW2	41
Hình 18. cấu trúc của BCW3	42
Hình 19. phổ $^1\text{H-NMR}$ của BCW3	42
Hình 20. phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của BCW3	43
Hình 21. phổ HSQC của BCW3	44
Hình 22. phổ HMBC của BCW3	44
Hình 23. một số tương tác HMBC quan trọng của BCW3	45
Hình 24. phổ $^1\text{H-NMR}$ của BCW4	47
Hình 25. cấu trúc của BCW4	48
Hình 26. phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của BCW4	48

Hình 27. phổ HSQC của BCW4	49
Hình 28. một số tương tác HMBC quan trọng của BCW4	50
Hình 29. phổ HMBC của BCW4	51
Hình 30. phổ ¹ H-NMR của BCW7	52
Hình 32. cấu trúc của BCW7	53
Hình 33. phổ ¹³ C-NMR của BCW7	53
Hình 34. phổ HSQC của BCW7	54
Hình 35. phổ HMBC của BCW7	55
Hình 36. một số tương tác HMBC quan trọng của BCW7	56
Hình 37. cấu trúc của BCW5	56
Hình 38. phổ ¹³ C-NMR của BCW5	56
Hình 39. phổ ¹ H-NMR của BCW5	57
Hình 40. phổ HSQC của BCW5	58
Hình 41. một số tương tác HMBC quan trọng của BCW5	59
Hình 42. phổ HMBC của BCW5	60
Hình 43. cấu trúc của BCW6	60
Hình 44. phổ ¹ H-NMR của BCW6	61
Hình 44. phổ ¹³ C-NMR của BCW6	62
Hình 45. phổ HSQC của BCW6	62
Hình 46. phổ HMBC của BCW6	63
Hình 47. một số tương tác HMBC quan trọng của BCW6	64
Hình 48. cấu trúc của BCW9	64
Hình 49. phổ ¹ H-NMR của BCW9	65
Hình 50. phổ ¹³ C-NMR của BCW9	66
Hình 51. phổ HSQC của BCW9	67
Hình 52. phổ HMBC của BCW9	68
Hình 53. một số tương tác HMBC quan trọng của BCW9	69