

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

NGÔ TUẤN VINH

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CÂY GIẢO CỔ LAM
(*GYNOSTEMMA PENTAPHYLLUM* THUNB).
HỌ CUCURBITACEAE Ở BẮC KẠN**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HOÁ HỌC

Thái Nguyên – 2010

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

NGÔ TUẤN VINH

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CÂY GIẢO CỔ LAM
(*GYNOSTEMMA PENTAPHYLLUM* THUNB).
HỌ CUCURBITACEAE Ở BẮC KẠN**

**Chuyên ngành : Hoá hữu cơ
Mã số : 60.44.27**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HOÁ HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: TS NGUYỄN QUYẾT TIẾN

Thái Nguyên – 2010

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT DÙNG TRONG LUẬN VĂN

- **Các phương pháp sắc ký**

CC : Column Chromatography

SKLM : Sắc ký lớp mỏng

- **Các phương pháp phổ**

MS : Mass Spectroscopy

EI-MS : Electron Impact Mass Spectroscopy

ESI-MS : Electron Spray Ionization Mass Spectroscopy

FT-IR : Fourier Transform Infrared Spectroscopy

NMR : Nuclear Magnetic Resonance

^1H -NMR : ^1H -Nuclear Magnetic Resonance

^{13}C -NMR : ^{13}C - Nuclear Magnetic Resonance

DEPT : Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer

COSY : Correlated Spectroscopy

HMQC : Heteronuclear Multiple - Quantum Coherence

HMBC : Heteronuclear multiple - Bond Correlation

- **Các lĩnh vực khác**

HIV : Human Immunodeficiency Virus

đvC : Đơn vị Cacbon

v/v : Thể tích/thể tích

MỤC LỤC

	Trang
Lời cam đoan	
Lời cảm ơn	
Danh mục chữ viết tắt dùng trong luận văn	
Mở đầu	1
Chương 1 Tổng quan	3
1.1. Cây Giảo cổ lam và sử dụng trong Y học cổ truyền	3
1.1.1. Mô tả thực vật	3
1.1.2. Một số bài thuốc chữa bệnh đái tháo đường trong Y học cổ truyền.	6
1.2. Chi <i>Gynostemma</i> và thành phần hoá học của chúng	9
1.2.1. Giới thiệu về chi <i>Gynostemma</i>	9
1.2.2. Về thành phần hoá học.	11
1.2.2.1. <i>Tecpenoit</i>	11
1.2.2.1. <i>Tecpenoit-glycosit</i>	13
1.2.2.1. <i>Flavonoit - Glycosit</i>	26
Chương 2. Phần thực nghiệm	28
2.1. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu	28
2.1.1. Thu mẫu cây, xác định tên khoa học và phương pháp xử lý mẫu	28
2.1.2. Phương pháp ngâm chiết	29
2.1.3. Phương pháp phân lập các hợp chất từ dịch chiết	29
2.1.4. Phương pháp nhận dạng cấu trúc hoá học các chất	29
2.2. DỤNG CỤ, HOÁ CHẤT VÀ THIẾT BỊ NGHIÊN CỨU	30
2.2.1. Dụng cụ, hoá chất	30
2.2.2. Thiết bị nghiên cứu	30

2.3. THU NHẬN CÁC DỊCH CHIẾT TỪ CÂY GIẢO CỔ LAM	31
2.3.1. Thu nhận các dịch chiết	31
2.3.2. Khảo sát định tính các dịch chiết	33
2.3.2.1. Phát hiện các hợp chất sterol	33
2.3.2.2. Phát hiện các ancaloit	33
2.3.2.3. Phát hiện các flavonoid	34
2.3.2.4. Phát hiện các cumarin	34
2.3.2.5. Định tính các glucosit tim	35
2.3.2.6. Định tính các saponin	35
2.4. PHÂN LẬP VÀ TINH CHẾ CÁC CHẤT	37
2.4.1 Cạn dịch chiết n-hexan (GyH)	37
2.4.1.1. Stigmasterol	37
2.4.1.2. β -sitosterol .	38
2.4.2. Cạn dịch chiết etylaxetat.(GyE)	38
2.4.2.1. 3,3',5-Trihydroxy-4',7-dimethoxyflavon	39
2.4.2.2. Stigmasta-5,22-dien-3 β -yl- β -D-glucopyranosit	39
2.4.3. Cạn dịch chiết metanol.(GyM)	40
Chương 3. Thảo luận kết quả nghiên cứu	42
3.1. Nguyên tắc chung	42
3.2. Phân lập và nhận dạng các hợp chất có trong các dịch chiết khác nhau của cây Giảo cổ lam (<i>Gynostemma pentaphyllum</i>)	42
3.2.1. Stigmasterol	43
3.2.2. β -sitosterol	44
3.2.3. 3,3',5-Trihydroxy-4',7-dimethoxyflavon	45
3.2.4. Stigmasta-5,22-dien-3 β -yl- β -D-glucopyranosit	53
3.2.5. 3, 5-Dihydroxy-4',7-dimethoxyflavon-3'-O-	53
[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)]-[β -D-glycopyranosit]	53
Kết luận	64
Danh mục các công trình đã công bố liên quan đến luận văn	65
Tài liệu tham khảo	66
Phụ lục	69

Mở đầu

Nước ta có diện tích khoảng 330.000 km². Đồi núi chiếm 3/4 diện tích trong đó núi cao trên 500 m chiếm 1/3 diện tích lãnh thổ. Khí hậu nhiệt đới gió mùa, có 2 mùa rõ rệt thay đổi theo địa hình. Nhiệt độ trung bình hàng năm trên 22 °C, lượng mưa vào khoảng 1200 – 2800 mm, độ ẩm tương đối cao (trên 80%).

Những đặc thù về điều kiện tự nhiên như vậy rất thuận lợi cho hệ sinh thái phát triển. Vì thế nước ta có hệ thực vật vô cùng phong phú và đa dạng. Theo số liệu thống kê mới nhất có trên 12000 loài, trong đó có trên 3200 loài thực vật được sử dụng làm thuốc trong y học dân gian [4].

Từ xưa đến nay, những cây thuốc dân gian vẫn đóng vai trò hết sức quan trọng trong đời sống của con người. Ngày nay, những hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học được phân lập từ cây cỏ đã được ứng dụng trong rất nhiều ngành công nghiệp cũng như ngành nông nghiệp, chúng được sản xuất thuốc chữa bệnh, thuốc bảo vệ thực vật, làm nguyên liệu cho ngành công nghiệp thực phẩm và mỹ phẩm...

Ngày nay, ngành công nghệ tổng hợp hoá dược phát triển mạnh mẽ đã tạo ra các biệt dược khác nhau được sử dụng trong công tác phòng, chữa bệnh nhờ đó giảm tỉ lệ tử vong, nâng cao tuổi thọ. Tuy nhiên, vai trò của những thảo dược không vì thế mất đi chỗ đứng trong Y học. Nó vẫn tiếp tục được dùng làm nguyên liệu trực tiếp, gián tiếp hoặc cung cấp những chất dẫn đường (lead-compounds) cho công nghệ bán tổng hợp nhằm tìm kiếm những dược phẩm mới đáp ứng cho việc điều trị các chứng bệnh thông thường cũng như các bệnh nan y (Ung thư, HIV, ...).

Trên cơ sở trên cho thấy, nguồn cây thuốc dân gian cũng như các bài thuốc của đồng bào dân tộc vẫn là kho tàng vô cùng quý giá để khám phá, tìm

kiểm các loại thuốc mới có hiệu lực cao cho công tác phòng và chữa bệnh. Việc nghiên cứu cây thuốc đã giúp cho chúng ta hiểu rõ về thành phần và cấu trúc hoá học, hoạt tính sinh học, tác dụng dược lí của cây thuốc. Từ đó, người ta có thể tạo ra các chất mới có hoạt tính sinh học cao hơn để làm thuốc chữa bệnh.

Giảo cổ lam (tiếng Trung: 絞股藍) hay còn gọi là dây Lỗ hùm, Trường sinh thảo, Thất diệp đảm (七葉膽), Ngũ diệp sâm (五葉蔘), Cổ yếm, Dân toòng, Thư tràng 5 lá, Cam trà vạn hoặc Nhân sâm phương nam với danh pháp khoa học là *Gynostemma pentaphyllum* thuộc họ Bầu bí (Cucurbitaceae) [2][3].

Người Trung Quốc từ lâu xem Thất diệp đảm này như thuốc trường sinh, bởi lẽ người dân ở tỉnh Quý Châu uống trà thất diệp đảm thường xuyên thì sống rất thọ. Cây này còn được gọi là nhân sâm phương Nam hay nhân sâm 5 lá, mặc dù thực tế loài này không có họ hàng gì với nhân sâm đích thực. Cây này cũng được dùng ở Nhật Bản với tên amachazuru, ở Hàn Quốc với tên gọi dungkulcha và nhiều nước khác.

Ở Việt Nam, vào năm 1997 giáo sư Phạm Thanh Kỳ đã phát hiện cây Thất diệp đảm trên núi Phan Xi Păng và được giáo sư Vũ Văn Chuyên xác định đúng là loại *Gynostemma pentaphyllum*. Thời gian gần đây, ở Việt Nam được chế biến thành trà túi lọc và dạng viên dùng điều trị tiểu đường rất tốt. Tuy nhiên, thành phần hóa học của cây này còn ít được nghiên cứu về cả trong và ngoài nước, mặc dù nó được sử dụng khá phổ biến trong Y học dân tộc. Do vậy, chúng tôi chọn cây này làm đối tượng nghiên cứu với tên đề tài: **“Nghiên cứu thành phần hoá học cây Giảo cổ lam (*Gynostemma pentaphyllum* Thunb.), họ Cucurbitaceae ở Bắc Kạn”**

Chương I TỔNG QUAN

1.1 Cây Giảo cổ lam và sử dụng trong Y học cổ truyền.

1.1.1 Mô tả thực vật.

Giảo Cổ Lam có tên khoa học là *Gynostemma pentaphyllum*, thuộc chi *Gynostemma*, họ Cucurbitaceae, bộ: Cucurbitales, lớp Magloniopsida, ngành Magloniophyta, giới Plantae.

Phân bố địa lý:

Cây Giảo Cổ Lam mọc ở rải rác dọc khe suối, trên đá vôi, sa thạch, đất núi lửa, thường dưới tán rừng thưa hay trảng cây bụi. Trên độ cao từ 200 – 2.000m tại Trung Quốc, Nhật Bản, Ấn Độ, Indonesia, Triều Tiên, Philippin Việt Nam và một số nước châu Á khác [3].

Thuộc họ bầu bí, loại thảo dược có khả năng chống lão hóa và nhiều công dụng khác này còn được coi là "*nhân sâm phương nam*", vì loại thảo dược này được trồng tại miền núi vùng trung nam Trung Quốc.

Đặc điểm sinh trưởng và phát triển:

Cây hàng năm, thân thảo mảnh, leo nhờ tua cuốn đơn ở nách lá. Có cây đực và cây cái riêng biệt, với lá kép hình chân vịt, mép răng cưa với lông trắng. Lá có cuống chung dài 3-4 cm, phiến do 5-7 lá chét có răng, dài 3-9 cm, rộng 1,5-3 cm. Cụm hoa hình chùy mang nhiều hoa nhỏ màu trắng, các cánh hoa xòe hình sao, ống bao hoa rất ngắn, cánh hoa rời nhau cao 2,5mm, nhị 5, bao phấn dính thành đĩa, bầu có 3 vòi nhụy. Quả khô hình cầu đường kính 5 – 9mm, có 2-3 hạt, khi chín có màu đen. Ra hoa tháng 7-8, quả tháng 9-10 [2],[3],[17].



Hình 2.1: Cây Giảo Cổ Lam (*Gynostemma pentaphyllum*)

Một số tác dụng sinh học: [15][25]-[28]

Năm 1976 cây Giảo cổ lam bắt đầu được nghiên cứu ở Nhật Bản. Việc phát hiện ra cây này là do tình cờ nghiên cứu một bộ lạc sống trên núi cao có tuổi thọ bình quân là 98 tuổi mà nguyên nhân do người dân sinh sống ở đây thường xuyên dùng cây này để uống. Các nghiên cứu về Giảo cổ lam vẫn đang được thực hiện tại nhiều nước như Trung Quốc, Hoa Kỳ, Đức, Italia... Có thể liệt kê một số nghiên cứu điển hình như:

- GS. Tan H., Liu Z.L., Liu MJ. Chứng minh GCL có tác dụng kích thích sự tích tụ tiểu cầu, làm tan cục máu đông, chống huyết khối, tăng cường lưu thông máu lên não.

- Lin, J.M., và cộng sự chứng minh GCL có tác dụng chống viêm gan, chứng cao huyết áp và chống ung thư. Có tác dụng chống viêm mạnh hơn Indomethacin.

- Wang C. Và cộng sự chứng minh GCL kìm hãm sự phát triển của khối u mạnh.

Trong một nghiên cứu mới nhất gần đây phối hợp giữa các nhà khoa học Việt Nam và Hàn Quốc, các nhà khoa học đã tách chiết được một hoạt chất mới trong cây Giảo cổ lam Việt Nam có tác dụng kháng tế bào ung thư. Thử nghiệm bước đầu trên sáu dòng tế bào ung thư cho kết quả khả quan. Nhất là ung thư vú, tử cung, tuyến tiền liệt, phổi.

Ở nước ta, nghiên cứu của GS.TS Phạm Thanh Kỳ cho thấy Giảo cổ lam chứa saponin cấu trúc triterpen kiểu khung dammaran mà trong đó có nhiều cấu trúc giống như saponin của nhân sâm và tam thất. Ngoài ra, nó còn chứa flavonoid là các chất có tác dụng sinh học như kháng viêm, chống ôxi hóa. Hơn nữa, nó cũng còn chứa nhiều amino axit tan trong nước, các loại vitamin và các nguyên tố vi lượng như Fe, Zn, Se.

Các thử nghiệm cho thấy Giảo cổ lam giúp hạ mỡ máu và huyết áp, hạ đường huyết, rất tốt cho tim mạch, giúp dễ ngủ và ngủ sâu giấc, giảm béo. Giảo cổ lam giúp kìm hãm sự phát triển của khối u, điều trị chứng xơ vữa động mạch, chữa hen phế quản, viêm gan. Trong bối cảnh môi trường ô nhiễm, thực phẩm mất an toàn và công việc căng thẳng, con người có xu hướng sử dụng các sản phẩm từ thiên nhiên để giải độc cơ thể, nâng cao sức đề kháng, chống lại sự lão hóa, ngăn ngừa và hỗ trợ điều trị bệnh. Giảo cổ lam là một lựa chọn tuyệt vời cho mục đích trên, nhất là đối với các bệnh mỡ máu, cao huyết áp, tiểu đường, tim mạch.

Một điều đáng lưu ý là việc các nhà khoa học Việt Nam và Thụy Điển cũng tìm thấy một hoạt chất mới trong cây giảo cổ lam Việt Nam có tác dụng