ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGÔ THỊ HUỆ

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ LOÀI TRUNG QUÂN *Ancistrocladus cochinchinensis* Ở VIỆT NAM

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

THÁI NGUYÊN - 2016

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN http://www.lrc.tnu.edu.vn

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGÔ THỊ HUỆ

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ LOÀI TRUNG QUÂN *Ancistrocladus cochinchinensis* Ở VIỆT NAM

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học
Mã số: 60.42.02.01

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

Người hướng dẫn khoa học: TS. Lê Quỳnh Liên

THÁI NGUYÊN - 2016

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – ĐHTN http://www.lrc.tnu.edu.vn

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan: Luận văn tốt nghiệp với đề tài "**Đánh giá hoạt tính sinh học của một số hợp chất phân lập từ loài Trung quân *Ancistrocladus cochinchinensis* ở Việt Nam**" là công trình nghiên cứu của cá nhân tôi dưới sự hướng dẫn của TS. Lê Quỳnh Liên và sự hỗ trợ của đề tài nghiên cứu cơ bản *"Nghiên cứu đa dạng các loài thuộc chi Trung quân (Ancistrocladus) ở Việt Nam dựa vào phân tích hóa sinh và di truyền",* mã số: 104.01-2013.53, do tiến sĩ Lê Quỳnh Liên là chủ nhiệm đề tài, không sao chép của bất cứ ai.

Tôi xin chịu trách nhiệm về công trình nghiên cứu của mình.

Thái Nguyên, ngày tháng năm 2016

Người cam đoan

Ngô Thị Huệ

LỜI CẢM ƠN

Với lòng biết ơn sâu sắc của mình, tôi xin cảm ơn TS. Lê Quỳnh Liên - Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và các anh/chị làm việc tại Phòng Tài Nguyên sinh vật đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn.

Tôi xin cảm ơn đề tài Nghiên cứu cơ bản: *"Nghiên cứu đa dạng các loài thuộc chi Trung quân (Ancistrocladus) ở Việt Nam dựa vào phân tích hóa sinh và di truyền"*, mã số: 104.01-2013.53, do TS. Lê Quỳnh Liên chủ nhiệm đề tài đã hỗ trợ tôi trong quá trình thực hiện luận văn.

Tôi xin cảm ơn các thầy cô trong khoa Khoa học sự sống, các thầy cô giảng dạy tại trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên và các thầy cô công tác tại Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã truyền đạt kiến thức cho tôi trong 2 năm học tập tại trường.

Trong suốt quá trình học tập và thực hiện luận văn tôi luôn nhận được sự động viên của bạn bè, đồng nghiệp và người thân trong gia đình.

Thái Nguyên, ngày tháng năm 2016

Người cam đoan

Ngô Thị Huệ

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN i
LỜI CẢM ƠN ii
MỤC LỤC iii
DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT v
DANH MỤC BẢNG vi
DANH MỤC HÌNH, BIỂU ĐỒ vii
MỞ ĐẦU 1
1. Lý do chọn đề tài 1
2. Mục tiêu của đề tài 2
3. Nội dung nghiên cứu 2
Chương 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU 3
1.1. Hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học từ thực vật 3
1.1.1. Khái niệm 3
1.1.2. Phân loại 3
1.1.3. Những nghiên cứu về hợp chất thiên nhiên từ thực vật trên thế giới 5
1.1.4. Tình hình nghiên cứu các hợp chất thiên nhiên từ thực vật tại Việt Nam 7
1.2. Một số hoạt tính sinh học cơ bản của thực vật 8
1.2.1. Hoạt tính kháng vi sinh vật 8
1.2.2. Hoạt tính chống oxy hóa 10
1.2.3. Hoạt tính gây độc tế bào 11
1.3. Tổng quan tình hình nghiên cứu về Chi Trung quân (*Ancistrocladus*) 13
1.3.1. Đặc điểm, phân bố 13
1.3.2. Tình hình nghiên cứu trên thế giới 14
1.3.2. Tình hình nghiên cứu trong nước 16
Chương 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 19
2.1. Vật liệu nghiên cứu 19
2.2. Phạm vi nghiên cứu 21

2.2.1. Phạm vi 21
2.2.2. Địa điểm nghiên cứu 21
2.2.3. Thời gian: Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 09/2015-09/2016 22
2.3. Đối tượng, thiết bị nghiên cứu 22
2.3.1. Các hóa chất, thiết bị chuyên dùng 22
2.4. Phương pháp nghiên cứu 24
2.4.1 Phương pháp thử hoạt tính kháng sinh: 24
2.4.2. Phương pháp thử hoạt tính chống oxy hóa thu dọn gốc tự do DPPH ... 25
2.4.3. Phương pháp thử độc tính tế bào 26
2.5. Phương pháp xử lý số liệu 28
Chương 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN 29
3.1. Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học của cây Trung quân (*Ancistrocladus cochinchinensis*) 29
3.1.1. Đánh giá hoạt tính kháng sinh của các hợp chất phân lập từ loài Trung quân *Ancistrocladus cochinchinensis* 29
3.1.2. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất phân lập từ loài Trung quân *Ancistrocladus cochinchinensis* 37
3.1.3. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất phân lập từ loài Trung quân *Ancistrocladus cochinchinensis* 38
KẾT LUẬN, KIẾN NGHỊ 45
1. Kết luận 45
2. Kiến nghị 46
TÀI LIỆU THAM KHẢO 47

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

Ký hiệu	Thuật ngữ	
ADN	Axit Deoxyribo Nucleotit	
DMSO	Dimethylsulfoxide	
DPPH	1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl	
LU	Human lung carcinoma	Ung thư phổi
IC50	Inhibitory concentration 50%	Nồng độ ức chế 50% cá thể
SRB	Sulforhodamine B	
OD	Optical Density	Mật độ quang học
SA	Scavenging Activities	Khả năng trung hòa gốc oxy hóa tự do
SC	Scavenging Concentration at 50%	Nồng độ trung hòa được 50% gốc tự do
HL-60	Human promyelocytic leukima	Tế bào ung thư bạch cầu
SK-MEL-2	Human skin caner	Tế bào ung thư da
TCA	Trichloroacetic acid	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Một số loài thực vật có hoạt tính kháng vi sinh vật..... 9
Bảng 1.2. Một số hợp chất chống oxy hóa từ thực vật 11
Bảng 1.3. Một số hợp chất có khả gây độc tế bào từ thực vật 13
Bảng 2.1. Tên gọi, ký hiệu các hợp chất nghiên cứu 20
Bảng 2.2. Danh sách và đặc điểm chính của các loài vi sinh vật thử nghiệm 23
Bảng 3.1. Khả năng ức chế vi khuẩn *E.coli* của 6 hợp chất phân lập..... 30
Bảng 3.2. Khả năng ức chế vi khuẩn *Staphylococcus aureus* 31
Bảng 3.3. Khả năng ức chế vi khuẩn *Salmonella tiphymurium*..... 32
Bảng 3.4. Khả năng ức chế nấm *Candida albicans*..... 35
Bảng 3.5. Khả năng ức chế nấm *A. fumigatus* 36
Bảng 3.6. Khả năng chống oxy hóa của hợp chất thử nghiệm 37
Bảng 3.7. Hoạt tính ức chế dòng tế bào ung thư LU-1..... 39
Bảng 3.8. Hoạt tính ức chế dòng tế bào ung thư HL-60..... 40
Bảng 3.9. Hoạt tính ức chế dòng tế bào ung thư SK-MEL-2 41

DANH MỤC HÌNH, BIỂU ĐỒ

HÌNH

Hình 1.1. Cây trung quân (*Ancistrocladus cochinchinensis*) 14
Hình 1.2. Cấu trúc hóa học của một số naphthylisoquinonline alkaloids tách từ *Ancistrocladus* 15
Hình 1.3. Các Napthylisoquinoline alkaloid tách chiết từ Cây Trung quân *Ancistrocladus cochinchinensis* 18
Hình 2.1. Mẫu lá dùng để phân lập hợp chất nghiên cứu 19
Hình 2.2. Mô hình cấu trúc hóa học của các hợp chất nghiên cứu 21
Hình 3.1. Hoạt tính ức chế của hợp chất AC1 (M1), AC4 (M4) đối với 3 loài vi khuẩn 33

BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1. Giá trị SC50 của 6 hợp chất thử nghiệm và đối chứng 38
Biểu đồ 3.2: Phần trăm tế bào khối u bị ức chế ở nồng độ: 20µg/ml đối với chất thử và 10µg/ml đối với đối chứng dương Ellipticine 41

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Từ xa xưa con người đã biết sử dụng một số loại thực vật để làm thực phẩm và làm thuốc chữa trị bệnh tật, vết thương. Ngày nay, cùng với sự phát triển của các kỹ thuật tách chiết các hợp chất thiên nhiên, con người càng có xu hướng sử dụng những sản phẩm từ thiên nhiên trong lĩnh vực chăm sóc sức khỏe.

Việt Nam là nước có hệ thực vật rất phong phú và đa dạng. Tổng số loài thực vật đã ghi nhận ở Việt Nam khoảng 10.500 loài trong tổng số 12.000 loài theo ước tính. Trong số đó, nguồn tài nguyên cây làm thuốc chiếm khoảng 30%. Kết quả điều tra nguồn tài nguyên cây thuốc của Viện Dược liệu (2006) cho biết ở Việt Nam có 3.948 loài thực vật bậc cao, bậc thấp và nấm lớn được dùng làm thuốc. Trong thời gian qua, nước ta đã có hơn 3.000 loại thuốc có nguồn gốc từ thảo dược được cấp số đăng ký, chiếm gần 1/3 trong tổng số thuốc mới được cấp số đăng ký lưu hành hàng năm. Như vậy, nhu cầu sử dụng cây dược liệu chế xuất thuốc trong nước là rất lớn. Không những vậy, việc sử dụng dược phẩm có nguồn gốc thiên nhiên cũng đang được các nước trên thế giới hết sức quan tâm. Trong đó có các loài thuộc chi Trung quân (*Ancistrocladus*) hiện được nhiều nhà nghiên cứu trên thế giới quan tâm bởi thành phần hóa học đặc trưng và các tác dụng sinh học của chúng. Chi Trung quân phân bố phổ biến ở vùng nhiệt đới châu Á và Tây Phi, người ta đã tìm thấy ở loài thực vật này một số hợp chất có alkaloid giá trị và naphthoquinon có độc tính tế bào, tác dụng trên một số tế bào ung thư, kháng vi khuẩn và kháng nấm. Theo y học cổ truyền, cây Trung quân có vị đắng, chát, tính bình, không độc, có công năng hành huyết, hóa ứ, trừ phong thấp, mạnh gân xương, giải nhiệt, trục ứ huyết, trừ đờm, giải độc. Thường được dùng trị đau lưng, đau xương khớp, phong thấp, chân tay tê mỏi; nhất là trường hợp phụ nữ sau đẻ, người mệt mỏi, đau nhức toàn thân, yếu sức [1]. Ngoài ra, lá Trung quân