ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

BÙI THỊ LAN PHƯƠNG

NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH VÀ XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CÁC TRITERPENE GLYCOSIDE TỪ QUẢ LOÀI MƯỚP ĐẮNG (*MOMORDICA CHARANTIA* L.)

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

Thái Nguyên - 2017

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

BÙI THỊ LAN PHƯƠNG

NGHIÊN CỨU CHIẾT TÁCH VÀ XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CÁC TRITERPENE GLYCOSIDE TỪ QUẢ LOÀI MƯỚP ĐẮNG (*MOMORDICA CHARANTIA* L.)

Chuyên ngành: Hóa phân tích
Mã số: 60.44.01.18

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

Người hướng dẫn khoa học: TS. PHẠM HẢI YẾN

Thái Nguyên - 2017

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, em xin bày tỏ sự biết ơn sâu sắc đến TS. Phạm Hải Yến người đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo, giúp đỡ em trong suốt quá trình làm luận văn.

Em xin chân thành cảm ơn các cán bộ phòng Nghiên cứu cấu trúc, Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã giúp đỡ em rất nhiều trong quá trình thực nghiệm và hoàn thành luận văn.

Em xin cảm ơn các thầy cô khoa Hóa Học - Trường Đại Học Khoa Học Thái Nguyên đã trang bị cho em kiến thức để tiếp cận với các vấn đề nghiên cứu khoa học, và các anh chị, các bạn học viên lớp K9B - lớp Cao học Hóa đã trao đổi và giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực hiện đề tài.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn tới các đồng nghiệp, gia đình và bạn bè những người đã ủng hộ, động viên tạo mọi điều kiện giúp đỡ để tôi có được kết quả như ngày hôm nay.

Hải Phòng, tháng 06 năm 2017

Học viên

Bùi Thị Lan Phương

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN .....a
MỤC LỤC..... b
DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT ..... d
DANH MỤC CÁC BẢNG.....e
DANH MỤC CÁC HÌNH.....f
MỞ ĐẦU 1
Chương 1: TỔNG QUAN 3
1.1. Những nghiên cứu tổng quan về cây Mướp đắng..... 3
1.1.1. Thực vật học..... 3
1.1.2. Mô tả cây..... 3
1.1.3. Phân bố và sinh thái 4
1.1.4. Công dụng của cây mướp đắng trong y học dân gian..... 4
1.1.5. Tác dụng dược lí của M.charantia..... 6
1.1.6. Thành phần hóa học 11
Chương 2: THỰC NGHIỆM..... 15
2.1. Mẫu thực vật..... 15
2.2. Phương pháp phân lập các hợp chất..... 15
2.2.1. Sắc ký lớp mỏng (TLC) 15
2.2.2. Sắc ký lớp mỏng điều chế 15
2.2.3. Sắc ký cột (CC) 15
2.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất hữu cơ 16
2.3.1. Phổ hồng ngoại (Infraed Spectroscopy-IR) 16
2.3.2. Phổ khối lượng (Mass spectroscopy - MS)..... 16
2.3.3. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)..... 17
2.4. Phương pháp định lượng và đánh giá chất sạch bằng LC/MS/MS..... 19
2.5. Thực nghiệm 21

2.5.1. Phân lập các hợp chất 21
2.5.2 Thông số vật lý và các dữ kiện phổ của các hợp chất đã phân lập 23
2.5.3. Định lượng các hợp chất 24
Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN 27
3.1. Thu mẫu và phân lập các hợp chất 27
3.2. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được 27
3.2.1. Hợp chất 1 27
3.2.2. Hợp chất 2 31
3.2.3. Hợp chất 3 36
3.2.4. Hợp chất 4 41
3.3. Xác định hàm lượng của các hợp chất phân lập được bằng phương pháp LC/MS/MS 45
3.3.1. Xác định hàm lượng chất 2 (kí hiệu MC30) 45
3.3.2. Xác định hàm lượng chất 4 (kí hiệu MC12): 48
KẾT LUẬN 51
TÀI LIỆU THAM KHẢO 52

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

^{13}C NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân Cacbon 13 Carbon 13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
^{1}H NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton Proton Magnetic Resonance Spectroscopy
2D-NMR	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều Two-Dimensional NMR Spectroscopy
CC	Sắc ký cột Column Chromatography
DEPT	Phổ DEPT Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer
GC	Sắc ký khí Gas Chromatography
HMBC	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HSQC	Phổ tương tác dị hạt nhân qua một liên kết Heteronuclear Single Quantum Coherence
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao High-performance liquid chromatography
MeOH	Methanol
MS	Phổ khối lượng Mass spectroscopy
TLC	Sắc ký lớp mỏng Thin layer chromatography

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Các loại cucurbitane đã được xác định từ tất cả các bộ phận của M.charantia 12
Bảng 3.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất 1 và chất tham khảo 30
Bảng 3.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất 2 và chất tham khảo 34
Bảng 3.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất 3 40
Bảng 3.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất 4 và chất tham khảo 44
Bảng 3.5. Kết quả đo phổ LCMS của mẫu 2 (MC30) 46
Bảng 3.6. Kết quả phân tích phương sai 46
Bảng 3.7. Kết quả định lượng của mẫu 2 48
Bảng 3.8. Kết quả đo phổ LCMS của mẫu 4 (MC12) 48
Bảng 3.9. Kết quả phân tích phương sai 49
Bảng 3.10. Kết quả định lượng của mẫu 4 50

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Hoa, quả và hạt của cây mướp đắng M.charantia 4
Sơ đồ 2.1. Sơ đồ chiết phân lớp quả mướp đắng 22
Sơ đồ 2.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ cặn chiết MeOH 22
Hình 3.1. Cấu trúc hợp chất 1 27
Hình 3.2. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất 1 28
Hình 3.3. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất 1 29
Hình 3.4. Phổ DEPT của hợp chất 1 29
Hình 3.5. Cấu trúc và một số tương tác HMBC chính của hợp chất 2 31
Hình 3.6. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất 2 31
Hình 3.7. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất 2 32
Hình 3.8. Phổ DEPT của hợp chất 2 32
Hình 3.9. Phổ HSQC của hợp chất 2 33
Hình 3.10. Phổ HMBC của hợp chất 2 33
Hình 3.11. Cấu trúc và một số tương tác HMBC chính của hợp chất 3 36
Hình 3.12. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất 3 37
Hình 3.13. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất 3 37
Hình 3.14. Phổ DEPT của hợp chất 3 38
Hình 3.15. Phổ HSQC của hợp chất 3 39
Hình 3.16. Phổ HMBC của hợp chất 3 39
Hình 3.17. Cấu trúc của hợp chất 4 41
Hình 3.18. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất 4 42
Hình 3.19. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất 4 43
Hình 3.20. Phổ DEPT của hợp chất 4 44
Hình 3.21. Diện tích pic chất 2 (MC30) trên mẫu tổng 47
Hình 3.22. Diện tích pic chất 4 (MC12) trên mẫu tổng 50

MỞ ĐẦU

Thuốc thực vật đã được áp dụng để điều trị các bệnh khác nhau của con người với hàng ngàn năm lịch sử trên toàn thế giới. Ở một số nước châu Á và châu Phi, 80% dân số phụ thuộc vào y học cổ truyền trong việc chăm sóc sức khỏe cơ bản. Thêm vào đó, ở nhiều nước phát triển, 70% đến 80% dân số đã sử dụng các cây thuốc hoặc chế phẩm của nó. Các loài thảo mộc đã được sử dụng trong dân gian và được bổ sung bởi các nghiên cứu dược lý đã tạo ra nhiều loại thuốc Tây có nguồn gốc từ thực vật. Trong vài thập kỉ qua, y học cổ truyền đã cung cấp cho thuốc Tây với hơn 40% tổng các loại thuốc. Do đó, các nghiên cứu đã tập trung vào việc đánh giá khoa học của các loại thuốc truyền thống có nguồn gốc thực vật.

Việt Nam là quốc gia nằm trong khu vực khí hậu nhiệt đới gió mùa, nóng ẩm, lượng mưa nhiều, tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của các loài sinh vật. Do đó, nước ta có nguồn tài nguyên sinh vật rất đa dạng và phong phú, đặc biệt là tài nguyên rừng. Rừng Việt Nam có thảm thực vật phong phú với khoảng 12.000 loài trong đó 4.000 loài được nhân dân sử dụng làm thảo dược cùng các mục đích khác phục vụ đời sống con người. Cùng với sự đa dạng do thiên nhiên mang lại, Việt Nam còn là một trong những quốc gia có nhiều kinh nghiệm trong việc sử dụng các thực vật và sinh vật trong các bài thuốc y học cổ truyền. So với Tây dược, các bài thuốc y học cổ truyền có rất nhiều ưu điểm trong chữa bệnh như ít độc tính, ít có tác dụng phụ, dễ tìm nguyên liệu. Chính vì vậy nhiều công ty dược phẩm trong và ngoài nước đã và đang tập trung hướng nghiên cứu và kinh doanh vào các sản phẩm thuốc có nguồn gốc từ thiên nhiên. Việc nghiên cứu tập trung đã thúc đẩy các hướng nghiên cứu tìm kiếm dược liệu từ thiên nhiên, qua nghiên cứu các nhà khoa học đã tìm ra nhiều loài thực vật có ứng dụng cao trong y dược như nhân sâm - *Panax ginseng,* thanh hao hoa vàng - *Artemisia annua* … Những kết

quả nghiên cứu này đã giúp cho việc cung cấp các hoạt chất quý cho nghiên cứu tạo các sản phẩm phục vụ chăm sóc sức khỏe cộng đồng.

Mướp đắng (*Momordica charantia*) là một trong những cây trồng được sử dụng phổ biến để làm thực phẩm và trong y học. Nó được sử dụng rộng rãi ở hầu hết các quốc gia để điều trị bệnh tiểu đường. Ngoài ra, mướp đắng được sử dụng để điều trị các vết thương, diệt giun và kí sinh trùng. Nó cũng được sử dụng như thuốc tránh thai, kháng virus cho bệnh sởi và viêm gan.

Gần đây, các nhà khoa học đã chứng minh nhiều ứng dụng truyền thống của cây mướp đắng và tiếp tục là một phương thuốc tự nhiên quan trọng trong các hệ thống thảo dược. Viên nang mướp đắng và cồn chứa thuốc đang ngày càng trở nên phổ biến rộng rãi trên thế giới và được sử dụng như là thực phẩm chức năng cho bệnh tiểu đường, virus, cảm lạnh và cúm, ung thư, các khối u, cholesterol cao và bệnh vẩy nến. Dịch chiết cô đặc của quả và hạt được tìm thấy trong các viên nang và viên nén. Tuy nhiên, trong hầu hết các trường hợp, có rất ít bằng chứng khoa học để chứng minh tính hiệu quả và cơ chế hoạt động của chúng vẫn chưa được biết đến. Việc nghiên cứu khảo sát về thành phần hóa học và tác dụng dược lý của cây mướp đắng ở Việt Nam đặt cơ sở khoa học cho việc sử dụng chúng một cách hợp lý và có hiệu quả. Đó là điều thiết yếu để phát hiện các thành phần hoặc các hoạt chất có hoạt tính sinh học. Vì vậy, tôi tiến hành nghiên cứu đề tài **"Nghiên cứu chiết tách và xác định hàm lượng các triterpene glycoside từ quả loài mướp đắng (*Momordica charantia* L.)".**

Nhiệm vụ của luận văn:

- Nghiên cứu chiết tách các triterpene glycoside từ quả mướp đắng *M. charantia*.

- Phân tích cấu trúc và xác định hàm lượng các triterpene glycoside phân lập được.