

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN DUY HẢI

NGHIÊN CỨU TÁCH, CHIẾT VÀ XÁC ĐỊNH HÀM
LƯỢNG MỘT SỐ HỢP CHẤT DITERPENOID TỪ
LOÀI KIM GIAO
(*NAGEIA FLEURYI* (HICK.) DE LAUBENF)

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

THÁI NGUYÊN - 2017

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN DUY HẢI

NGHIÊN CỨU TÁCH, CHIẾT VÀ XÁC ĐỊNH
HÀM LƯỢNG MỘT SỐ HỢP CHẤT DITERPENOID
TỪ LOÀI KIM GIAO
(*NAGEIA FLEURYI* (HICK.) DE LAUBENF)

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

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc và chân thành nhất đến với **TS. Phạm Hải Yến**. Cô đã giao đề tài, nhiệt tình hướng dẫn và tạo mọi điều kiện thuận lợi nhất giúp tôi thực hiện luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn Phòng Nghiên cứu cấu trúc – Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã hỗ trợ trang thiết bị cho nghiên cứu này.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy, cô trong bộ môn Hóa Phân tích nói riêng và trong khoa Hóa học nói chung đã dạy dỗ, chỉ bảo và động viên tôi trong thời gian tôi học tập tại trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại Học Thái Nguyên.

Qua đây, tôi xin cảm ơn gia đình, các bạn học viên và sinh viên của Bộ môn Hóa phân tích đã luôn động viên, tận tình giúp đỡ tôi trong thời gian học tập và thực hiện luận văn này.

Thái Nguyên, ngày 18 tháng 05 năm 2017

Học viên

Nguyễn Duy Hải

MỤC LỤC

Mở đầu	1
Nội dung nghiên cứu	2
1.1. Tổng quan về cây Kim Giao	3
1.1.1. Vài nét về thực vật	3
1.1.2. Phân bố và sinh thái.....	4
1.1.3. Ứng dụng	4
1.1.4. Các nghiên cứu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học	4
2.1. Mẫu thực vật.....	11
2.2. Phương pháp phân lập các hợp chất.....	11
2.2.1. Sắc ký lớp mỏng (TLC)	11
2.2.2. Sắc ký lớp mỏng điều chế.....	11
2.2.3. Sắc ký cột (CC)	11
2.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất hữu cơ	11
2.3.1. Phổ hồng ngoại (Infraed Spectroscopy-IR)	12
2.3.2. Phổ khối lượng (Mass spectroscopy - MS)	12
2.3.3. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR).....	13
2.4. Phương pháp định lượng và đánh giá chất sạch bằng LC/MS	15
2.5. Thực nghiệm	17
2.5.1. Phân lập các hợp chất.....	17
2.5.2. Hằng số vật lý và các dữ kiện phổ của các hợp chất đã phân lập.....	18
2.5.3. Định lượng các hợp chất.....	19
3.1. Xác định cấu trúc hoá học của các hợp chất phân lập được.....	21
3.1.1. Hợp chất D1:	21
3.1.2. Hợp chất D2:	25
3.1.3. Hợp chất D3:	29
3.1.4. Hợp chất D4:	32
3.1.5. Hợp chất D5:	36
3.2. Xác định hàm lượng các hợp chất phân lập được bằng phương pháp LC/MS	40
3.2.1. Xác định hàm lượng chất D1 (kí hiệu PE1)	40
3.2.2. Xác định hàm lượng chất D2 (kí hiệu PE2):	42
KẾT LUẬN:	45

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

CC	Column Chromatography	Sắc ký cột
TLC	Thin Layer Chromatography	Sắc ký lớp mỏng
MeOH		Methanol
EtOAc		Ethyl acetate
$^1\text{H-NMR}$	Proton Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
$^{13}\text{C-NMR}$	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân cacbon 13
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer	Phổ DEPT
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Connectivity	Phổ tương tác dị hạt nhân qua 1 liên kết
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy	Phổ học hạt nhân Overhauser có hiệu lực

DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ

<i>Sơ đồ 2.1. Sơ đồ chiết các phân đoạn từ lá kim giao.....</i>	<i>17</i>
<i>Sơ đồ 2.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ cặn diclometan của lá kim giao</i>	<i>18</i>

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Cây kim giao - <i>Nageia fleuryi</i>	3
Hình 3.1. Cấu trúc hợp chất D1.....	21
Hình 3.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của D1.....	22
Hình 3.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của D1.....	22
Hình 3.4. Phổ HSQC của D1.....	24
Hình 3.5. Phổ HMBC của D1.....	24
Hình 3.6. Phổ NOESY của D1.....	25
Hình 3.7. Cấu trúc của D2.....	25
Hình 3.8. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của D2.....	26
Hình 3.9. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của D2.....	26
Hình 3.10. Phổ HSQC của D2.....	28
Hình 3.11. Phổ HMBC của D2.....	28
Hình 3.12. Cấu trúc hợp chất D3.....	29
Hình 3.13. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của D3.....	29
Hình 3.14. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của D3.....	30
Hình 3.15. Phổ HSQC của D3.....	31
Hình 3.16. Phổ HMBC của D3.....	32
Hình 3.17. Cấu trúc hợp chất D4.....	32
Hình 3.18. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của D4.....	33
Hình 3.19. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của D4.....	33
Hình 3.20. Phổ HSQC của D4.....	35
Hình 3.21. Phổ HMBC của D4.....	35
Hình 3.22. Phổ NOESY của D4.....	36
Hình 3.23. Cấu trúc hợp chất D5.....	36
Hình 3.24. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của D5.....	37
Hình 3.25. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của D5.....	37
Hình 3.26. Phổ HSQC của D5.....	39
Hình 3.27. Phổ HMBC của D5.....	40
Hình 3.28. Diện tích pic chất D1 (PE1) trên mẫu tổng.....	42
Hình 3.29. Diện tích pic chất D2 (PE2) trên mẫu tổng.....	44

DANH MỤC BẢNG BIỂU

<i>Bảng 3.1.1. Số liệu phổ hợp chất D1 và chất tham khảo</i>	23
<i>Bảng 3.1.2. Số liệu phổ hợp chất D2 và chất tham khảo</i>	27
<i>Bảng 3.1.3. Số liệu phổ hợp chất D3 và chất tham khảo</i>	30
<i>Bảng 3.1.4. Số liệu phổ hợp chất D4 và chất tham khảo</i>	34
<i>Bảng 3.1.5. Số liệu phổ hợp chất D5 và chất tham khảo</i>	38
<i>Bảng 3.2.1. Kết quả đo phổ LC/MS của mẫu PE1</i>	40
<i>Bảng 3.2.2: Kết quả phân tích phương sai</i>	41
<i>Bảng 3.2.3. Kết quả định lượng của mẫu 1</i>	42
<i>Bảng 3.2.4. Kết quả đo phổ LCMS của mẫu PE2</i>	42
<i>Bảng 3.2.5. Kết quả phân tích phương sai</i>	43
<i>Bảng 3.2.6. Kết quả định lượng của mẫu D2</i>	44

DANH MỤC PHỤ LỤC

<i>Phụ lục 1. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của D1</i>	<i>1 - PL</i>
<i>Phụ lục 2. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của D1</i>	<i>1 - PL</i>
<i>Phụ lục 3. Phổ HSQC của D1</i>	<i>2 - PL</i>
<i>Phụ lục 4. Phổ HMBC của D1</i>	<i>2 - PL</i>
<i>Phụ lục 5. Phổ NOESY của D1</i>	<i>3 - PL</i>
<i>Phụ lục 6. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của D2</i>	<i>3 - PL</i>
<i>Phụ lục 7. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của D2</i>	<i>4 - PL</i>
<i>Phụ lục 8. Phổ HSQC của D2</i>	<i>4 - PL</i>
<i>Phụ lục 9. Phổ HMBC của D2</i>	<i>5 - PL</i>
<i>Phụ lục 10. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của D3</i>	<i>5 - PL</i>
<i>Phụ lục 11. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của D3</i>	<i>6 - PL</i>
<i>Phụ lục 12. Phổ HSQC của D3</i>	<i>6 - PL</i>
<i>Phụ lục 13. Phổ HMBC của D3</i>	<i>7 - PL</i>
<i>Phụ lục 14. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của D4</i>	<i>7 - PL</i>
<i>Phụ lục 15. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của D4</i>	<i>8 - PL</i>
<i>Phụ lục 16. Phổ HSQC của D4</i>	<i>8 - PL</i>
<i>Phụ lục 17. Phổ HMBC của D4</i>	<i>9 - PL</i>
<i>Phụ lục 18. Phổ NOESY của D4</i>	<i>9 - PL</i>
<i>Phụ lục 19. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của D5</i>	<i>10 - PL</i>
<i>Phụ lục 20. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của D5</i>	<i>10 - PL</i>
<i>Phụ lục 21. Phổ HSQC của D5</i>	<i>11 - PL</i>
<i>Phụ lục 22. Phổ HMBC của D5</i>	<i>11 - PL</i>

Mở đầu

Hiện nay, các loại thuốc có nguồn gốc từ thiên nhiên đang ngày càng được ưa chuộng do những đặc tính nổi bật của chúng như: ít độc, ít gây phản ứng phụ, dễ hấp thu. Từ ngàn xưa ông cha ta đã sử dụng nhiều phương thuốc dân gian từ cây cỏ để chữa bệnh, bồi bổ cơ thể, hay tạo mùi thơm... Do đó ngày nay các hợp chất có hoạt tính sinh học trong thực vật và động vật đang nhận được sự quan tâm rất lớn từ giới khoa học. Trong tương lai, các hợp chất có hoạt tính sinh học sẽ đóng vai trò rất quan trọng, là các yếu tố khởi đầu cho việc tổng hợp nên các loại dược phẩm mới có tác dụng tốt hơn.

Việt Nam nằm trong khu vực nhiệt đới, có khí hậu nóng, độ ẩm cao, lượng mưa lớn, là những điều kiện rất thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của các loài thực vật. Với hệ thực vật phong phú và đa dạng khoảng 12.000 loài thực vật bậc cao có mạch, trong đó có tới 4.000 loài được nhân dân ta dùng làm thảo dược, điều này là một tiền đề lớn cho sự phát triển ngành hóa học các hợp chất thiên nhiên ở nước ta. Việc nghiên cứu, khảo sát về thành phần hoá học và tác dụng dược lý của các loài cây thuốc có giá trị cao của Việt Nam nhằm đặt cơ sở khoa học cho việc sử dụng chúng một cách hợp lý và có hiệu quả có ý nghĩa đặc biệt quan trọng. Kim giao hay còn gọi Kim giao núi đá (danh pháp khoa học *Nageia fleuryi* hay *Podocarpus fleuryi*) là một loài thực vật trong họ Podocarpaceae. Lá loài này được dân gian dùng sắc uống chữa ho ra máu, sưng cuống phổi và dùng làm thuốc giải độc...

Ở Việt Nam, chưa thấy có công bố nào về thành phần hóa học của loài này. Trên thế giới, năm 1990 và 1991 nhóm tác giả Xu Ya-ming và cộng sự đã công bố cấu trúc của 16 hợp chất được phân lập từ loài *Podocarpus fleuryi*. Năm 2013, Lan-Chun Zhang và cộng sự đã phân lập được 3 hợp chất diterpenoid mới. Kết quả thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào trên năm dòng tế bào ung thư HL-60, SMMC-772, A-549, MCF-7 và SW480 cho thấy hợp chất fleuryinol B và 19-hydroxyferruginol có hoạt tính ở mức độ trung bình với giá trị IC_{50} nằm trong khoảng 14-38 μ M.

Luận văn này tập trung nghiên cứu phân tích cấu trúc và xác định hàm lượng một số hợp chất diterpenoid được phân lập từ cây Kim giao (*Nageia fleuryi*), có ý