

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN VĂN TOÀN

**PHÂN TÍCH ĐỊNH LƯỢNG CÁC HOẠT CHẤT CHÍNH
TỪ LOÀI DÂY THÌA CANH**

(Gymnema sylvestre (Retz.) R.Br. ex Schult)

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

THÁI NGUYÊN - 2017

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

NGUYỄN VĂN TOÀN

**PHÂN TÍCH ĐỊNH LƯỢNG CÁC HOẠT CHẤT CHÍNH
TỪ LOÀI DÂY THÌA CANH**

(Gymnema sylvestre (Retz.) R.Br. ex Schult)

Chuyên ngành: Hóa phân tích

Mã số: 60.44.01.18

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

Người hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

THÁI NGUYÊN - 2017

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc và chân thành nhất đến với **TS. Nguyễn Xuân Nhiệm**. Thầy 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 Văn Toàn

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
DANH MỤC PHỤ LỤC	g
MỞ ĐẦU	1
Chương 1: TỔNG QUAN	3
1.1. Tổng quan về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học các loài thuộc chi <i>Gymnema</i>	3
1.1.1. Các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học chi <i>Gymnema</i> trên thế giới.....	3
1.1.2. Hoạt tính sinh học	10
1.1.3. Hoạt tính trị bệnh tiểu đường	10
1.1.4. Hoạt tính chống béo phì	12
1.1.5. Hoạt tính kháng viêm khớp.....	12
1.2. Các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học chi <i>Gymnema</i> ở Việt Nam.....	12
Chương 2 . THỰC NGHIỆM	15
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	15
2.2. Thiết bị nghiên cứu	15
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	16
2.3.1. Phương pháp chiết xuất và phương pháp phân lập các hợp chất.....	16
2.3.2. Các phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất.....	16
2.3.3. Phương pháp phân tích hoạt chất trong dược liệu	17
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	20
3.1. Phân lập và xác định cấu trúc các hoạt chất chính của loài <i>Gymnema</i> <i>sylvestre</i>	20

3.1.1. Phân lập các hợp chất.....	20
3.1.2. Chiết xuất và phân lập.....	21
3.1.3. Hằng số vật lý của các hợp chất.....	22
3.1.4. Cấu trúc hóa học các hợp chất phân lập được	22
3.2 Xác định hàm lượng GS1 và GS2 trong mẫu Dây thìa canh bằng phương pháp HPLC	42
3.2.1. Các điều kiện tối ưu cho hệ thống HPLC.	42
3.2.2. Xây dựng đường chuẩn định lượng.	43
3.2.3. Xác định hàm lượng của hợp chất GS1 và GS2 trong mẫu <i>Gymnema sylvestre</i> bằng phương pháp HPLC	47
KẾT LUẬN	51
TÀI LIỆU THAM KHẢO	52
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
¹³ C-NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13
¹ H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
A	Aceton	axeton
br s	Broad singlet	
CC	Column chromatography	Sắc ký cột
COSY	¹ H- ¹ H-Correlation Spectroscopy	Phổ COSY
d	Doublet	
dd	Doublet of doublet	
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation Transfer	Phổ DEPT
DMSO	Dimethylsulfoxide	
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid	
EtOAc	Ethyl acetat	Ethyl acetat
HMBC	Heteronuclear mutiple Bond Connectivity	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence	Phổ tương tác dị hạt nhân qua 1 liên kết
IC ₅₀	Inhibitory concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50% đối tượng thử nghiệm
MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromid	
s	Singlet	
t	triplet	
TLC	Thin layer chromatography	Sắc kí lớp mỏng
TMS	Tetramethylsilane	

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3.1. Dữ kiện phổ NMR của GS1 và các hợp chất tham khảo	24
Bảng 3.2. Dữ kiện phổ NMR của GS2 và các hợp chất tham khảo	31
Bảng 3.3. Dữ kiện phổ NMR của GS3 và các hợp chất tham khảo	37
Bảng 3.4. Dữ liệu chạy HPLC của hợp chất GS1 ở các nồng độ khác nhau	46
Bảng 3.5. Dữ liệu chạy HPLC hợp chất GS2 ở các nồng độ khác nhau	46
Bảng 3.6. Kết quả chạy HPLC định lượng hợp chất GS1	49
Bảng 3.7. Kết quả chạy HPLC định lượng hợp chất GS2	49
Bảng 3.8. Kết quả tạo dịch chiết và hàm lượng GS1 và GS2 từ mẫu Dây thìa canh và thu ở các địa điểm khác nhau.	50

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 2.1. Sơ đồ tạo cặn chiết <i>G. sylvestre</i> phân tích	18
Hình 2.2. Tiến trình chạy mẫu phân tích định lượng bằng HPLC.....	19
Hình 3.1. Sơ đồ phân lập các chất từ loài Dây thìa canh <i>G. sylvestre</i>	21
Hình 3.2. Cấu trúc hóa học của hợp chất GS1	22
Hình 3.3. Các tương tác HMBC chính của hợp chất GS1	26
Hình 3.4. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất GS1	26
Hình 3.5. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất GS1	27
Hình 3.6. Phổ DEPT của hợp chất GS1	27
Hình 3.7. Phổ HSQC của hợp chất GS1	28
Hình 3.8. Phổ HMBC của hợp chất GS1	28
Hình 3.9. Cấu trúc hóa học của hợp chất GS2	29
Hình 3.10. Các tương tác HMBC của hợp chất GS2	31
Hình 3.11. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất GS2	33
Hình 3.12. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất GS2	33
Hình 3.13. Phổ DEPT của hợp chất GS2	34
Hình 3.14. Phổ HSQC của hợp chất GS2	34
Hình 3.15. Phổ HMBC của hợp chất GS2	35
Hình 3.16. Cấu trúc của hợp chất GS3	35
Hình 3.17. Các tương tác HMBC của hợp chất GS3	39
Hình 3.18. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất GS3	39
Hình 3.19. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất GS3	40
Hình 3.20. Phổ DEPT của hợp chất GS3	40
Hình 3.21. Phổ HSQC của hợp chất GS3	41
Hình 3.22. Phổ HMBC của hợp chất GS3	41
Hình 3.23. Sắc kí đồ của GS1 và GS2	43
Hình 3.24. Sắc kí đồ của GS1 và GS2 ở các nồng độ khác nhau.....	45
Hình 3.25. Đường chuẩn của hợp chất GS1	46
Hình 3.26. Đường chuẩn của hợp chất GS2	47
Hình 3.27. Sắc kí đồ của cặn chiết methanol dây thìa canh Tam Đảo	47

Hình 3.28. Sắc kí đồ của cặn chiết methanol dây thìa canh Hải Hậu 48
Hình 3.29. Sắc kí đồ của cặn chiết methanol dây thìa canh Hòa Bình 48
Hình 3.30. Sắc kí đồ của cặn chiết methanol dây thìa canh Thái Nguyên 48

DANH MỤC PHỤ LỤC

Phụ lục 1.	Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất GS1.....	1- PL
Phụ lục 2.	Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất GS1.....	1- PL
Phụ lục 3.	Phổ DEPT của hợp chất GS1.....	2- PL
Phụ lục 4.	Phổ HSQC của hợp chất GS1.....	2- PL
Phụ lục 5.	Phổ HMBC của hợp chất GS1.....	3- PL
Phụ lục 6.	Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất GS2.....	3- PL
Phụ lục 7.	Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất GS2.....	4- PL
Phụ lục 8.	Phổ DEPT của hợp chất GS2.....	4- PL
Phụ lục 9.	Phổ HSQC của hợp chất GS2.....	5- PL
Phụ lục 10.	Phổ HMBC của hợp chất GS2.....	5- PL
Phụ lục 11.	Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất GS3.....	6- PL
Phụ lục 12.	Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất GS3.....	6- PL
Phụ lục 13.	Phổ DEPT của hợp chất GS3.....	7- PL
Phụ lục 14.	Phổ HSQC của hợp chất GS3.....	7- PL
Phụ lục 15.	Phổ HMBC của hợp chất GS2.....	8- PL