

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Phạm Thanh Bình

**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ ĐÁNH GIÁ
HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ CỦA MỘT SỐ
LOÀI SÊN BIỂN THUỘC CHI *Aplysia* Ở VÙNG BIỂN VIỆT
NAM**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

Hà Nội – 2025

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người Hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn: **TS. Nguyễn Văn Thanh**

Cơ quan công tác: Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

2. Người hướng dẫn: **TS. Nguyễn Hoài Nam**

Cơ quan công tác: Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi giờ, ngày tháng 11 năm 2025

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ

2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

Ngày nay sự xuất hiện của bệnh ung thư đang gia tăng theo thời gian. Ung thư là thuật ngữ chung chỉ nhóm các bệnh có thể ảnh hưởng bất kỳ bộ phận nào trên cơ thể. Các thuật ngữ khác hay dùng là khối u ác tính và khối u tân sinh. Ung thư là sự hình thành nhanh chóng các tế bào bất thường, phát triển vượt ngoài ranh giới bình thường của chúng, sau đó xâm lấn đến các bộ phận khác cũng như các cơ quan khác của cơ thể (quá trình di căn). Di căn cũng là nguyên nhân gây tử vong chính do bệnh ung thư.

Theo tổ chức y tế thế giới (WHO) công bố về bệnh ung thư cho thấy có khoảng 9,7 triệu người tử vong và khoảng 20 triệu người mắc mới trong năm 2020 [1]. Ung thư là khối u ác tính được đặc trưng bởi sự xâm lấn mô tại chỗ và/hoặc các quá trình di căn xa. Ở giai đoạn đầu của quá trình phát triển ung thư, phẫu thuật hoặc phẫu thuật kết hợp với xạ trị hỗ trợ có thể chữa khỏi trong hầu hết các trường hợp. Khi ung thư đã phát triển hơn và xâm lấn các mô khác, hóa trị toàn thân (uống hoặc tiêm tĩnh mạch) được bổ sung vào phẫu thuật và xạ trị để loại bỏ các tế bào ung thư bị cô lập và/hoặc các phân nhóm tế bào ung thư chưa được loại bỏ hoặc tiêu diệt. Theo nguyên tắc chung (luôn có ngoại lệ), ung thư càng tiến triển tại thời điểm chẩn đoán thì hóa trị hỗ trợ hoặc đa hóa trị sẽ được áp dụng càng mạnh. Bởi vậy việc tìm kiếm thuốc đặc trị cũng như thuốc hỗ trợ điều trị ung thư và các tác nhân dự phòng hóa học là hết sức cần thiết và cấp bách.

Nhân loại đang gấp rút nghiên cứu, tìm kiếm để phát hiện ra những hợp chất từ thiên nhiên cũng như tổng hợp có hoạt tính tốt và điều trị thuốc phòng cũng như điều trị ung thư. Trong số 39.500 hợp chất thiên nhiên biển đã được xác định và công bố (tính đến 2023) [2] chỉ có 15 sản phẩm thuốc có nguồn gốc từ các loài hải miên, hải tiêu,

vi sinh vật, cá và động vật thân mềm được FDA chấp thuận [3]. Các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên chiếm tỷ lệ lớn trong dược điển hiện tại, với khoảng 70% thuốc kháng sinh và thuốc chống ung thư hiện đang sử dụng có nguồn gốc từ các nguồn tự nhiên, chẳng hạn như thực vật và vi khuẩn [4]. Trong khi các loại thuốc có nguồn gốc từ thực vật có lịch sử ghi chép hơn 5.000 năm và các loại thuốc có nguồn gốc từ vi khuẩn đã được sử dụng trong gần một thế kỷ, thì các hoạt chất từ nguồn sinh vật biển gần đây mới được nghiên cứu như các loại thuốc mới [4]. Đến nay đã có 15 loại dược phẩm có nguồn gốc từ biển được FDA (Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ) phê duyệt lâm sàng, chủ yếu để điều trị ung thư và do NCI (Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ) tài trợ từ những năm 1960 [3].

Khoảng 39.560 hợp chất có hoạt tính sinh học được bắt nguồn từ động vật biển như Bọt biển, San hô mềm, động vật Da gai, Sên biển và các sinh vật biển khác đã được công bố [5]. Trong đó, ngành thân mềm có nhiều chủng loại rất đa dạng, phong phú và là nhóm động vật biển lớn nhất chiếm khoảng 23% tổng số các sinh vật biển đã được đặt tên. Trong các khu vực nhiệt đới, bao gồm Việt Nam, ngành này có hơn 90 nghìn loài hiện hữu, trong đó có các loài như trai, sò, ốc, hến, ngao, mực, bạch tuộc... Cùng với giá trị kinh tế, sự đa dạng phong phú đã cho thấy tiềm năng khai thác rất lớn của các loài động vật Thân mềm, đặc biệt là những loài sên biển (thỏ biển). Từ một số loài sên biển được nghiên cứu đã tìm thấy nhiều hoạt chất đáng quý, trong đó có một số hoạt chất đã được ứng dụng trong thử nghiệm lâm sàng và làm thuốc điều trị bệnh. Như hợp chất dolastatin để sản xuất thuốc Brentuximab vedotin (Adcetris®) điều trị ung thư gan, hợp chất Jorumycin tổng hợp thành thuốc (Zalypsis®) thử nghiệm lâm sàng pha II điều trị ung thư biểu mô, đa u tủy, tử cung, hợp chất kahalalide F

được tổng hợp thành elisidepsin (PM02734), hợp chất này được thử nghiệm lâm sàng pha II điều trị ung thư vú và ung thư máu.

Đất nước Việt Nam có đường bờ biển dài trên 3000 km, hơn 3.000 đảo lớn nhỏ, trong đó có hai quần đảo Hoàng Sa, Trường Sa, với vùng đặc quyền kinh tế rộng khoảng 1 triệu km², gấp 3 lần diện tích đất liền theo Công ước của Liên hợp quốc về Luật Biển năm 1982 (UNCLOS). Đây là tiền đề quan trọng để Việt Nam phát triển kinh tế đa ngành, đa mục tiêu, đẩy mạnh giao thương hàng hải trong nước và quốc tế. Trong quá trình nghiên cứu, nghiên cứu sinh đã khảo sát về động vật thân mềm, cụ thể là loài sên biển *Aplysia dactylomela* và cho thấy một số chất có hoạt tính mạnh gây độc lên tế bào ung thư. Tuy nhiên, ở nước ta chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học, mới chỉ có một số nghiên cứu trong vài năm gần đây. Vì vậy để tiếp tục nghiên cứu về động vật thân mềm, cụ thể là loài sên biển nhằm phát hiện ra những hợp chất có hoạt tính sinh học cũng như có thể ứng dụng trong điều trị bệnh ung thư thì tôi đã lựa chọn đề tài **“Nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư của hai loài sên biển *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera* ở vùng biển Việt Nam**”. Luận án gồm các mục tiêu cũng như các nội dung như sau:

- Mục tiêu của luận án:

1. Phân lập và xác định được cấu trúc hóa học các hợp chất từ hai loài sên biển *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera*.

2. Đánh giá được tác dụng gây độc tế bào trên một số dòng tế bào ung thư ở người của các hợp chất phân lập được nhằm tìm kiếm các chất có hoạt tính sinh học, làm cơ sở khoa học cho những nghiên cứu y - sinh - dược học tiếp theo.

- Nội dung của luận án:

1. Phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài sên biển *Aplysia dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng.

2. Phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài sên biển *Aplysia dactylomela* thu ở đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi.

3. Phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài sên biển *Aplysia oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế.

4. Đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư người từ [Ba dòng tế bào ung thư là: ung thư gan (Hep-G2), ung thư phổi (A549) và ung thư vú (MCF-7)] với các hợp chất đã phân lập được từ hai mẫu sên biển *Aplysia dactylomela*.

5. Đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư người từ [Ba dòng tế bào ung thư là: ung thư gan (Hep-G2), ung thư cổ tử cung (Hela) và ung thư vú (MCF-7) với các hợp chất đã phân lập được từ loài *Aplysia oculifera*.

Chương 1. TỔNG QUAN

1.1. Giới thiệu về giống sên biển *Aplysia*

Sên biển thuộc giống *Aplysia* trên thế giới có khoảng 40 loài, thuộc họ Aplysiidae, bộ Anaspidea, lớp chân bụng Gastropoda, ngành động vật thân mềm Molluses. Sên biển thuộc giống *Aplysia* (Gastropoda: Opisthobranchia) có tuổi thọ ngắn, tốc độ tăng trưởng nhanh và sản lượng trứng cao [4].

Bảng 1.1. Danh sách các loài sên biển thuộc giống *Aplysia*

STT	Loài	STT	Loài	STT	Loài
1	<i>A. angasi</i>	15	<i>A. gigantea</i>	28	<i>A. perfata</i>
2	<i>A. brasiliiana</i>	16	<i>A. gracilis</i>	29	<i>A. rehderi</i>
3	<i>A. californica</i>	17	<i>A. inca</i>	30	<i>A. reticulata</i>
4	<i>A. cedrosensis</i>	18	<i>A. juliana</i>	31	<i>A. reticulopoda</i>
5	<i>A. cervina</i>	19	<i>A. keraudreni</i>	32	<i>A. robertsi</i>
6	<i>A. corrigera</i>	20	<i>A. kurodai</i>	33	<i>A. rudmani</i>
7	<i>A. cronullae</i>	21	<i>A. maculata</i>	34	<i>A. sagamiana</i>
8	<i>A. dactylomela</i>	22	<i>A. morio</i>	35	<i>A. sowerbyi</i>
9	<i>A. denisoni</i>	23	<i>A. nigra</i>	36	<i>A. sydneyensis</i>
10	<i>A. depilans</i>	24	<i>A. oculifera</i>	37	<i>A. tanzannensis</i>
11	<i>A. dura</i>	25	<i>A. parvula</i>	38	<i>A. vaccaria</i>
12	<i>A. euchlora</i>	26	<i>A. pulmonica</i>	39	<i>A. willcoxi</i>
13	<i>A. extraordinaria</i>	27	<i>A. punctata</i>	40	<i>A. winneba</i>
14	<i>A. fasciata</i>				

Những con non sinh trưởng nhanh có thể phát triển tới 13.000% trong khoảng thời gian hai tuần và từng con sên biển có thể đẻ nhiều hơn 10^8 trứng trong suốt vòng đời của chúng [4]. Sên biển

cũng cho thấy sự biến đổi lớn về tốc độ tăng trưởng và kích thước cơ thể tối đa ở các quần thể cùng loài khác nhau sống ở các địa điểm hoặc thời gian khác nhau hoặc trong các điều kiện môi trường khác nhau [5, 6]. Những dữ liệu này cho thấy *Aplysia* sp. có năng suất tiềm năng cao và sống trong các điều kiện môi trường khác nhau.

Sên biển phân bố rộng khắp các châu lục, ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới [7]. Ở Việt Nam, sên biển phân bố ở các vùng biển Thanh Hóa, Quảng Bình, Quảng Ngãi, Nha Trang... Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về sinh thái cũng như thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Một số hợp chất từ sên biển đã có những hoạt tính tốt và được làm thuốc chống ung thư. Lớp chất chính của chúng là terpenoid, ngoài ra còn một số lớp chất như alkaloid, sterol, macrolid...

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Loài sên biển *Aplysia dactylomela* – Phú Quý, Lâm Đồng

Sên biển *Aplysia dactylomela* Rang, 1828 được thu thập vào tháng 5 năm 2021 tại đảo Phú Quý, Lâm Đồng với khối lượng tươi là 600 g do GS. Đỗ Công Thung, Viện Tài nguyên và Môi trường biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam giám định bằng đặc điểm hình thái. Mẫu tiêu bản được ngâm trong cồn và lưu giữ tại Phòng Hoạt chất sinh học, Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.1. Sên biển *A. dactylomela*

2.1.2. Loài sên biển *Aplysia oculifera* – Lý Sơn, Quảng Ngãi

Sên biển *Aplysia dactylomela* Rang, 1828 được thu thập tại Lý Sơn, Quảng Ngãi vào tháng 6 năm 2023 với khối lượng mẫu tươi 1,25 Kg do ThS. Nguyễn Chi Mai, Phòng Tài nguyên sinh vật giám định bằng phương pháp sinh học phân tử. Mẫu tiêu bản được ngâm trong cồn và lưu giữ tại Phòng Hoạt chất sinh học, Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.2. Sên biển *A. dactylomela*

2.1.3. Loài sên biển *Aplysia oculifera* – Lăng Cô, Huế

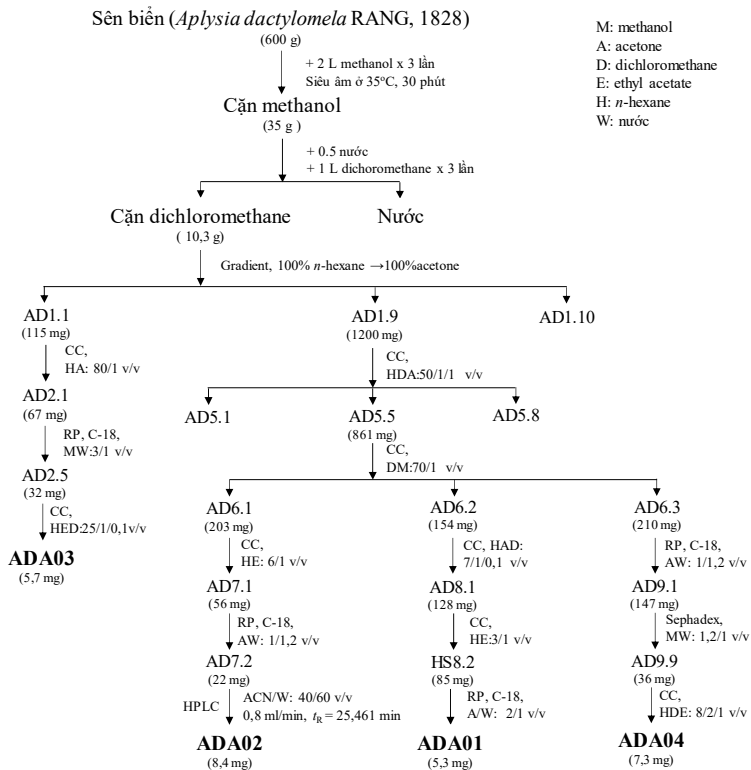
Sên biển *Aplysia oculifera*, được thu thập vào tháng 06 năm 2023 tại vùng biển Lăng Cô, Huế với khối lượng tươi là 9,0 Kg do ThS. Nguyễn Chi Mai, Phòng Tài nguyên sinh vật, Viện Hóa sinh biển giám định bằng phương pháp sinh học phân tử. Mẫu tiêu bản được ngâm trong cồn và lưu giữ tại Phòng Hoạt chất sinh học, Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2. 3. Sên biển *A. oculifera*

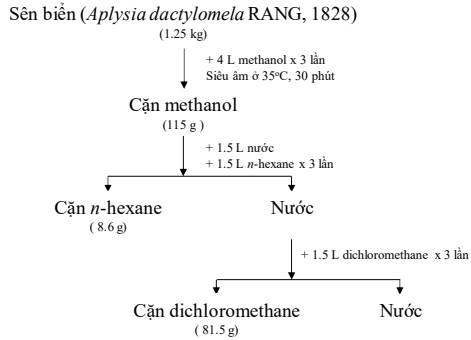
2.3. Phân lập các hợp chất

2.3.1. Phân lập các hợp chất từ loài sên biển *A. dactylomela* thu từ đảo Phú Quý, Lâm Đồng

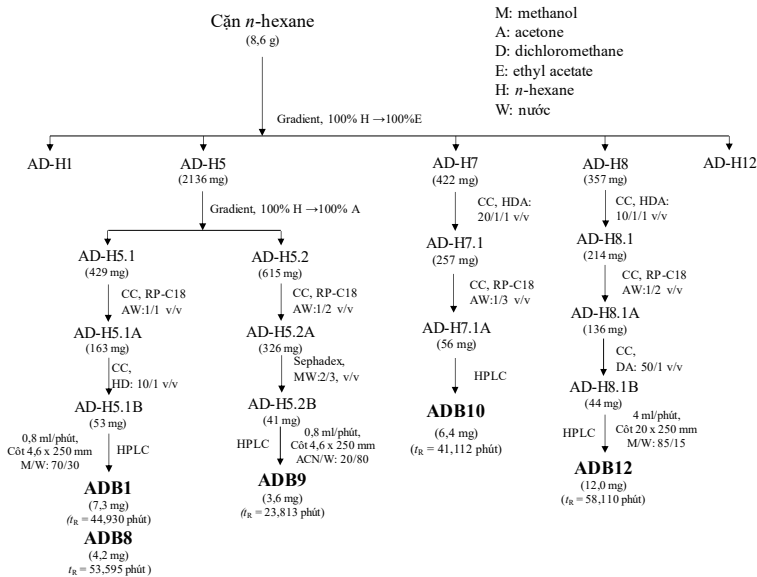


Hình 2.4. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ sên biển *A. dactylomela*

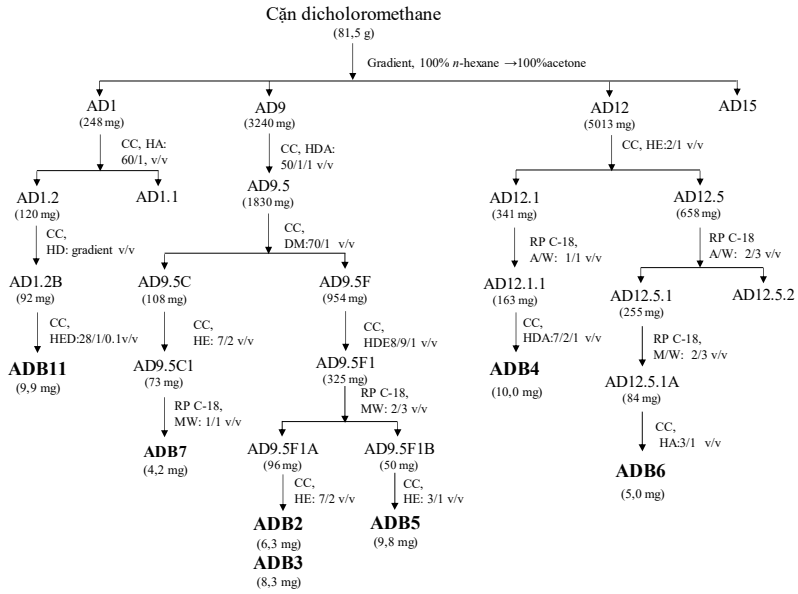
2.3.2. Phân lập các hợp chất từ loài sên biển *A. dactylomela* thu từ Quảng Ngãi



Hình 2.5. Sơ đồ chiết phân đoạn sên biển *A. dactylomela* thu từ Quảng Ngãi

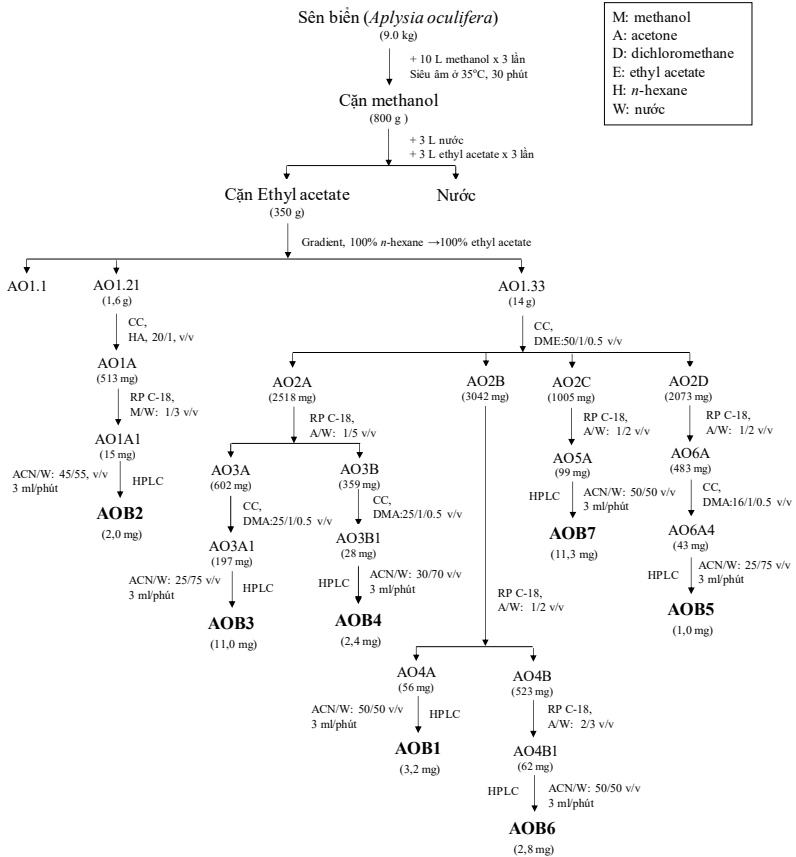


Hình 2.6. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ phân đoạn chiết *n*-hexane của sên biển *A. dactylomela*



Hình 2. 7. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ phân đoạn dichloromethane của sên biển *A. dactylomela*

2.3.3. Phân lập các hợp chất từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế



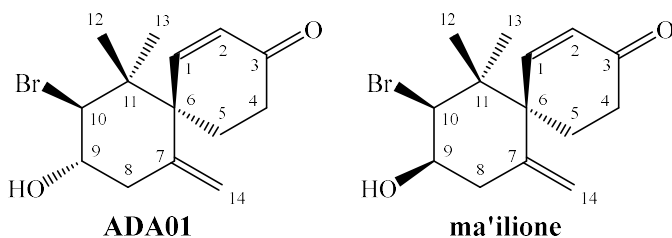
Hình 2.8. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ sên biển *A. oculifera*

Chương 3. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được

3.1.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng

3.1.1.1. Hợp chất **ADA1**: Dactylomelanin C (chất mới)



Hình 3.1. Cấu trúc hợp chất **ADA1**

Dactylomelanin C (**ADA1**) thu được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ HR-ESI-MS của nó cho thấy các đỉnh ion đồng vị ở m/z 299,0657 và 301,0624 $[M + H]^+$ với tỷ lệ 1:1, gợi ý công thức phân tử là $C_{14}H_{19}BrO_2$ (tính toán cho $C_{14}H_{20}BrO_2^+$, 299,0641 và 301,0621). Phổ ^{13}C NMR của **ADA1** cho thấy tín hiệu của 14 nguyên tử cacbon, được phân loại bằng phương pháp HSQC thành bốn nguyên tử cacbon không proton hóa, bốn methin, bốn metylen và hai metyl. Trong số này, một nhóm xeton (δ_C 198,8), bốn cacbon olefin (δ_C 152,3, 142,9, 131,4 và 117,0) và hai methine có oxy hoặc halogen (δ_C 73,2 và 71,2) đã được phát hiện. Hơn nữa, số lượng cacbon sp^2 chiếm ba trong tổng số năm độ không bão hòa suy ra từ công thức phân tử, chỉ ra sự tồn tại của hệ hai vòng trong **ADA1**. Phổ 1H -NMR cho thấy sự hiện diện của liên kết đôi thế 1,2 [δ_H 6,87 (dd, $J = 10,2, 1,8$ Hz) và 6,14 (d, $J = 10,2$ Hz)], liên kết đôi thế 1,1 [δ_H 5,18 (br s) và 4,81 (t, J

= 1,8 Hz)] và hai methyl đơn [δ_{H} 1,20 và 1,13]. Ngoài ra, hai proton methine không được che chắn cộng hưởng ở δ_{H} 4,38 (d, $J = 10,5$ Hz) và δ_{H} 3,90 (ddd, $J = 10,5, 10,5, 6,0$ Hz) có thể được gán cho nhóm methine brom hóa và nhóm oxymethine (Davyt và cộng sự, 2001). Phân tích dữ liệu COSY và HMBC cho thấy cấu trúc 2D của **ADA1** giống với cấu trúc của ma'ilione, một nor-chamigrane được phân lập từ tảo đỏ *Laurencia cartilaginea* (Francisco và cộng sự, 1998; Juagdan và cộng sự, 1997). Cụ thể, các đỉnh chéo COSY của H-1/H-2 và H-2-4/H-2-5, kết hợp với các tương quan HMBC từ H-2-5 đến C-1, C-3 và C-6, và từ H-2 đến C-4, đã xác nhận cấu trúc của vòng cyclohexenone. Cấu trúc của vòng cyclohexane cũng như bộ khung spiro[5.5] chamigrane được xác lập bằng các tương quan COSY giữa H-2-8/H-9/H-10 và các tương quan HMBC từ H-3-12 đến C-10, C-11 và C-6, từ H-2-14 đến C-8 và C-6, từ H-2-8 đến C-7, và từ H-2-5 đến C-7. Các hằng số ghép nối ^1H - ^1H và phổ NOESY đã được sử dụng để xác định cấu hình tương đối của **ADA1**. Các hằng số ghép nối lớn 10,5 Hz giữa H-10 và H-9, và giữa H-9 và H-8b chỉ ra hướng trục của các proton này. Điều này được xác nhận thêm bởi các tương quan NOESY quan sát được giữa H-10/H-2-5, H-2-5/H-8b và H-9/H-3-12. Các tương quan NOESY rõ ràng giữa H-3-12/H-1, H-1/H-14b và H-2-5/H-3-13 đã xác minh cấu trúc chamigrane spiro[5.5] với cấu hình 6S*. Trong số các sesquiterpen bromochamigrane được phân lập từ giống *Aplysia* và tảo đỏ biển thuộc chi *Laurencia*, hầu hết đều chứa một nguyên tử brom ở C-10, nhưng một số được báo cáo là 9-bromochamigrane bất thường (Gonzalez et al., 1983; Hu et al., 2020; Li et al., 2013; Wessels et al., 2000). Theo đó, để làm sáng tỏ vị trí của nguyên tử brom trong phổ **ADA1**, phép tính độ dịch chuyển hóa học trên phổ ^1H và ^{13}C NMR cho hai đồng phân có thể có **ADA1-a**-(6S*,9S*-OH,10S*-Br) và

ADA1-b-(6*S**,9*S**-Br,10*S**-OH) đã được thực hiện bằng phương pháp orbital nguyên tử không phụ thuộc chuẩn (GIAO) ở mức PCM-CHCl₃/mPW1PW91/6–31+G(d,p). Sau đó, dữ liệu NMR thực nghiệm và tính toán được so sánh bằng cách phân tích hệ số tương quan tuyến tính (R²), sai số tuyệt đối trung bình đã hiệu chỉnh (CMAE), độ lệch căn bậc hai trung bình (RMSD) và xác suất DP4+ (Zanardi và Sarotti, 2021). Kết quả cho thấy độ dịch chuyển hóa học trên phổ ¹H và ¹³C NMR tính toán được của C-9 và C-10 của đồng phân **ADA1-a** khớp với các giá trị thực nghiệm tốt hơn nhiều so với giá trị của **ADA1-b**. Hơn nữa, khi so sánh R², CMAE và RMSD của hai đồng phân, ta thấy rằng cả dữ liệu NMR ¹H và ¹³C của 1a đều chính xác hơn dữ liệu NMR **ADA1-b**. Cuối cùng, phép tính DP4+ dự đoán rằng **ADA1-a** là đồng phân đúng với xác suất 100%. Để xác định cấu hình tuyệt đối của **ADA1**, đồng phân **ADA1**-(6*S*,9*S*,10*S*) và đồng phân đối quang của nó, **ADA1'**-(6*R*,9*R*,10*R*), đã được đưa vào tính toán ECD bằng lý thuyết hàm mật độ phụ thuộc thời gian (TDDFT) ở mức PCM-MeOH/CAM-B3LYP/cc-PVTZ. Kết quả cho thấy đường cong ECD tính toán của **ADA1**-(6*S*,9*S*,10*S*) phù hợp tốt với dữ liệu thực nghiệm. Do đó, cấu hình tuyệt đối của dactylomelanin C (**ADA1**) được chỉ định là 6*S*,9*S*,10*S*.

Bảng 3.1. Số liệu phổ ¹H, ¹³C-NMR của hợp chất **ADA1**

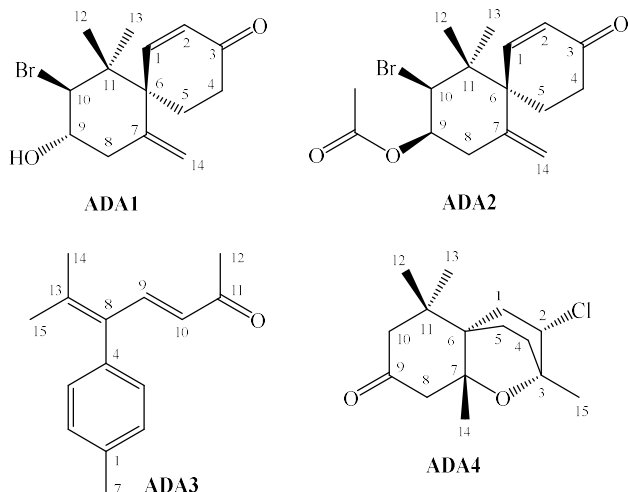
Vị trí C	* $\delta_C^{a,d}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	152,9	152,3	6,87 (1H, dd, 10,2, 1,8)
2	131,1	131,4	6,14 (1H, d, 10,2)
3	198,7	198,8	-
4	34,2	34,0	2,35 (2H, m)

5	26,3	26,3	2,21 (2H, m)
6	51,8	51,5	-
7	141,7	142,9	-
8	38,4	39,2	2,80 (1H, dd, 13,8, 6,0) 2,44 (1H, dddd, 13,8, 10,5, 2,4, 1,8)
9	71,7	71,2	3,90 (1H, ddd, 10,5, 10,5, 6,0)
10	68,8	73,2	4,38 (1H, d, 10,5)
11	42,7	42,5	-
12	21,4	19,2	1,20 (3H, s)
13	26,9	26,3	1,13 (3H, s)
14	117,9	117,0	5,18 (1H, br s) 4,81 (1H, br t, 1,8)

** Tài liệu tham khảo chất ma'ilione [120]. ^a đo trong CDCl₃, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, ^d 50 MHz.*

3.1.2. Tổng hợp các hợp chất phân lập từ mẫu sên *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng

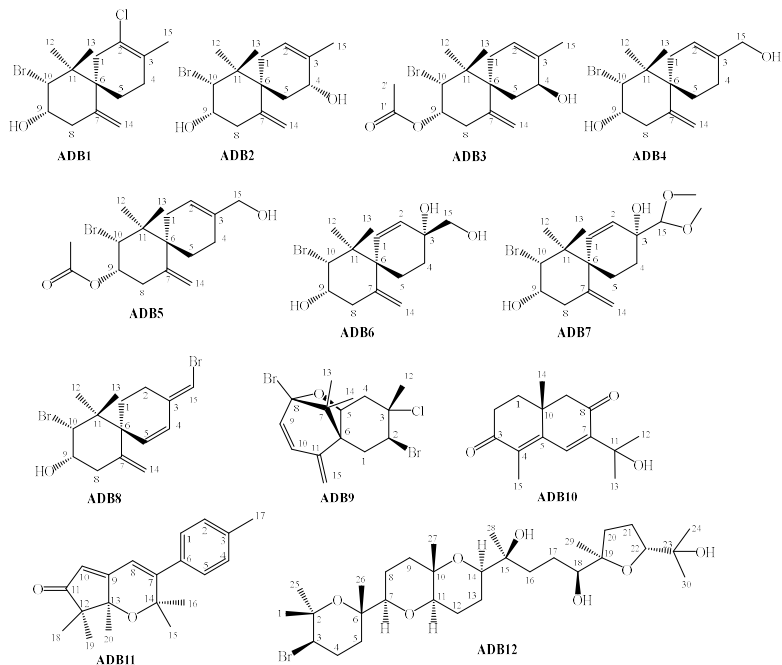
Từ mẫu sên *A. dactylomela* - Phú Quý, Lâm Đồng đã phân lập và xác định cấu trúc 4 hợp chất tinh khiết, bao gồm: dactylomelanin C (**ADA1**), dactylomelanin D (**ADA2**), dactylomelanin E (**ADA3**), (2*S*,3*R*,7*S*,7*R*)-2-chloro-3,7-epoxyhamigrane-9-one (**ADA4**),



Hình 3. 2. Cấu trúc các hợp chất từ mẫu sên *A. dactylomela* - Phú Quý, Lâm Đồng

3.1.3. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở Lý Sơn, Quảng Ngãi

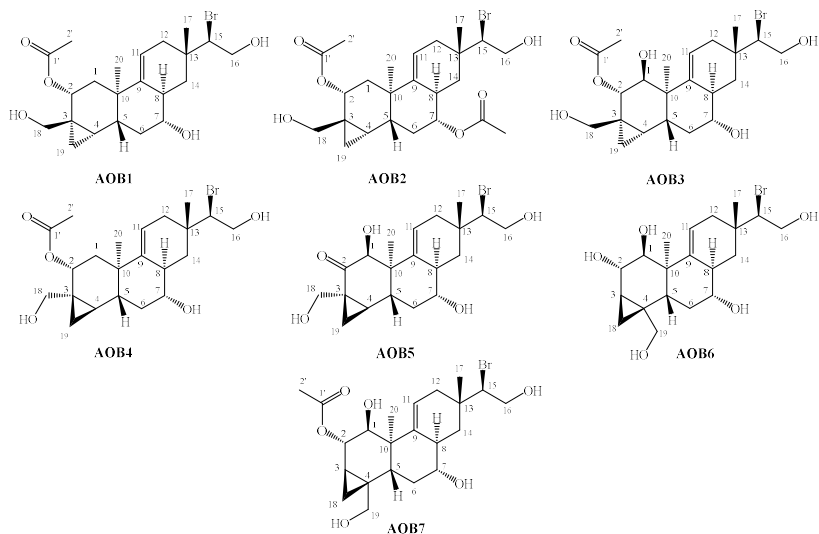
Từ mẫu sên *A. dactylomela* – Lý Sơn, Quảng Ngãi đã phân lập và xác định cấu trúc 12 hợp chất, bao gồm: elatol (**ADB1**), aplydactylonin I (**ADB2**), aplydactylonin K (**ADB3**), aplydactylonin G (**ADB4**), aplydactylonin H (**ADB5**), aplydactylonin F (**ADB6**), aplydactylonin E (**ADB7**), [3(15)*E*,4*Z*,6*S*,9*S*,10*R*]-10,15-dibromochamigra-3(15),4,7(14)-trien-9-ol (**ADB8**), pacifidiene (**ADB9**), 11-hydroxy-8-oxo- β -cyperon (**ADB10**), aplydactylonin D (**ADB11**), thysiferol (**ADB12**).



Hình 3.3. Cấu trúc các hợp chất từ loài sên biển *A. dactylomela* – Lý Sơn, Quảng Ngãi

3.1.3. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế

Từ loài sên biển *A. oculifera* đã phân lập và xác định cấu trúc 07 hợp chất sạch: oculiferanin A (**AOB1**), oculiferanin B (**AOB2**), oculiferanin C (**AOB3**), oculiferanin D (**AOB4**), oculiferanin E (**AOB5**), oculiferanin F (**AOB6**), oculiferanin G (**AOB7**). Các hợp chất trên đều là các diterpene mới và cũng là lớp chất lần đầu tiên được phân lập từ loài sên *A. oculifera*.



Hình 3.4. Cấu trúc hóa học các hợp chất AOB1 - AOB7

3.2. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được

3.2.1. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ mẫu sên biển *A. dactylomela* – Phú Quý, Lâm Đồng

Bốn hợp chất sạch từ **ADA1** - **ADA4** phân lập được từ loài sên biển *A. dactylomela* – Phú Quý, Lâm Đồng được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* trên ba dòng tế bào ung thư ở người: ung thư phổi (A549), ung thư vú (MCF-7) và ung thư gan (HepG2) bằng phương pháp MTT. Kết quả thể hiện ở **Bảng 3.26**.

Hợp chất dactylomelanin E (**ADA3**) thể hiện hoạt tính tốt trên cả ba dòng tế bào HepG2, A549 và MCF-7 với giá trị IC_{50} lần lượt là 27,54, 17,78 và 18,62 μM . Hợp chất dactylomelanin C (**ADA1**) thể hiện hoạt tính tốt trên hai dòng tế bào ung thư HepG2 và ung thư A549 với giá trị IC_{50} tương ứng là 27,35 và 19,91 μM , còn với dòng tế bào

MCF-7 thể hiện hoạt tính yếu hơn với giá trị IC_{50} tương ứng là 42,661 μM . Hợp chất dactylomelanin D (**ADA2**) chỉ thể hiện hoạt tính tốt trên dòng tế bào A549 với giá trị IC_{50} là 27,86 μM , còn lại thể hiện hoạt tính yếu trên hai dòng tế bào còn lại. Hợp chất (2*S*,3*R*,7*S*,7*R*)-2-chloro-3,7-epoxyhamigrane-9-one (**ADA4**) còn lại không thể hiện hoạt tính ở nồng độ nghiên cứu.

3.2.2. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ mẫu sên biển *A. dactylomela* – Lý Sơn, Quảng Ngãi

Mười hai hợp chất sạch từ **ADB1** – **ADB12** phân lập được từ loài sên biển *A. dactylomela* – Phú Quý, Lâm Đồng được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* trên ba dòng tế bào ung thư ở người: ung thư phổi (A549), ung thư vú (MCF-7) và ung thư gan (HepG2) bằng phương pháp MTT. Kết quả thể hiện ở **Bảng 3.27**.

Trong số 12 hợp chất thử nghiệm hoạt tính trên thì có 6 hợp chất elatol (**ADB1**), aplydactylonin K (**ADB3**), aplydactylonin G (**ADB4**), aplydactylonin H (**ADB5**), [3(15)*E*,4*Z*,6*S*,9*S*,10*R*]-10,15-dibromochamigra-3(15),4,7(14)-trien-9-ol (**ADB8**) và aplydactylonin D (**ADB11**) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư. Trong đó hợp chất elatol (**ADB1**) thể hiện hoạt tính gây độc mạnh nhất với giá trị IC_{50} là 6,22, 5,07 và 6,55 μM tương ứng với 3 dòng tế bào HepG2, A549 và MCF-7. Hợp chất elatol (**ADB1**) có hoạt tính mạnh với các dòng tế bào thử nghiệm, trong khi đó 11 hợp chất còn lại có hoạt tính yếu hoặc không có hoạt tính. Dự đoán **ADB1** có hoạt tính mạnh do trên hợp chất có thể dị tố Clo - đặc điểm này khác so với 11 hợp chất còn lại (các hợp chất chỉ thể halogen là Brom hoặc không thể halogen).

Hợp chất aplydactylonin G (**ADB4**) thể hiện hoạt tính mạnh trên một dòng tế bào ung thư A549 với giá trị IC_{50} là 8,15 μM , gần

mạnh bằng hợp chất **ADB1**. Trong khi đó hợp chất aplydactylonin H (**ADB5**) có cấu trúc gần giống với hợp chất (**ADB4**), chỉ khác **ADB5** có thêm nhóm thế acetyl (xem **Hình 3.84**) lại thể hiện hoạt tính gây độc tế bào A549 yếu (IC₅₀ là 34,51 μ M).

Hợp chất **ADB3** thể hiện hoạt tính tốt trên cả ba dòng tế bào ung thư HepG2, A549 và MCF-7 với giá trị IC₅₀ tương ứng là 29,65, 25,23 và 31,19 μ M. Hợp chất novel **ADB11** thể hiện hoạt tính tốt trên dòng tế bào A549 với giá trị IC₅₀ là 30,83 μ M, thể hiện yếu trên hai dòng còn lại và hai hợp chất **ADB5** và **ADB8** cũng thể hiện hoạt tính yếu trên các dòng tế bào ung thư với giá trị IC₅₀ trong khoảng từ 34,51 đến 49,89 μ M. Còn lại các hợp chất **ADB2**, **ADB6**, **ADB7**, **ADB9**, **ADB10** và **ADB12** không thể hiện hoạt tính.

3.2.3. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của một số hợp chất phân lập được từ loài sên biển *A. oculifera*

Các hợp chất sạch từ **AOB1** đến **AOB7** phân lập được từ loài sên biển *A. oculifera* được thử hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* trên ba dòng tế bào ung thư ở người: ung thư gan HepG2, ung thư cổ tử cung (Hela) và ung thư vú (MCF-7) bằng phương pháp MTT. Kết quả thể hiện ở **bảng 3.28**.

Với bảng kết quả thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào của bốn hợp chất cho thấy: Hợp chất oculiferanin A (**AOB1**) thể hiện tác dụng trên hai dòng tế bào ung thư HepG2 và Hela với giá trị IC₅₀ tương ứng là 21,38 và 23,44 μ M. Hợp oculiferanin C (**AOB3**) cũng thể hiện ức chế trên hai dòng tế bào ung thư với giá trị IC₅₀ lần lượt là 34,67 và 36,73 μ M như chất **AOB1** nhưng yếu hơn. Hợp chất oculiferanin B (**AOB2**) thể hiện ức chế trên cả ba dòng tế bào ung thư HepG2, Hela và MCF-7 với giá trị IC₅₀ lần lượt 34,94, 41,91 và 35,89 μ M. Hợp chất oculiferanin D (**AOB4**) và oculiferanin G (**AOB7**) với giá trị IC₅₀ lần

lượt là 54,95 và 31,99 μM trên cùng dòng tế bào ung thư HepG2. Hợp chất oculiferanin E (**AOB5**) và oculiferanin F (**AOB6**) không thể hiện hoạt tính trên cả ba dòng tế bào ung thư thử nghiệm.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

❖ KẾT LUẬN

Bằng các phương pháp sắc ký kết hợp và các phương pháp phổ hiện đại đồng thời so sánh với dữ liệu phổ của các hợp chất đã công bố trong tài liệu tham khảo đã phân lập và xác định được cấu trúc của 23 hợp chất từ hai loài sên biển *A. dactylomela* và *A. oculifera*. Các hợp chất phân lập đã được tiến hành thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư, cụ thể như sau:

- Về thành phần hóa học:

1. Từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng đã phân lập và xác định cấu trúc bốn hợp chất. Trong đó có ba hợp chất mới là: dactylomelanin C (**ADA1**), dactylomelanin D (**ADA2**) và dactylomelanin E (**ADA3**). Một hợp chất đã biết là: (2*S*,3*R*,7*S*,7*R*)-2-chloro-3,7-epoxychamigrane-9-one (**ADA4**). Các hợp chất trên thuộc lớp chất sesquiterpene.

2. Từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở Lý Sơn, Quảng Ngãi đã phân lập và xác định cấu trúc 12 hợp chất. Trong đó có bảy hợp chất mới là: aplydactylonin I (**ADB2**), aplydactylonin K (**ADB3**), aplydactylonin G (**ADB4**), aplydactylonin H (**ADB5**), aplydactylonin F (**ADB6**), aplydactylonin E (**ADB7**) và aplydactylonin D (**ADB11**). Năm hợp chất đã biết là: elatol (**ADB1**), [3(15)*E*,4*Z*,6*S*,9*S*,10*R*]-10,15-dibromochamigra-3(15),4,7(14)-trien-9-ol (**ADB8**), pacifidiene

(ADB9), 11-hydroxy-8-oxo- β -cyperon (ADB10) và thyriferol (ADB12).

Các hợp chất trên thuộc lớp chất terpenoid, trong đó có mười một hợp chất sesquiterpene, một hợp chất diterpene và một hợp chất triterpene. Đặc biệt hợp chất aplydactylonin D (ADB11) có khung mới, chưa được công bố trước đây.

3. Từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập và xác định cấu trúc bảy hợp chất là: oculiferanin A (AOB1), oculiferanin B (AOB2), oculiferanin C (AOB3), oculiferanin D (AOB4), oculiferanin E (AOB5), oculiferanin F (AOB6), oculiferanin G (AOB7). Các hợp chất trên đều thuộc lớp chất diterpene và là những hợp chất mới, trong đó có năm hợp chất có khung được sắp xếp lại từ khung parguerane và hai hợp chất có khung parguerane.

- Về hoạt tính sinh học:

Đã tiến hành thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư của 23 hợp chất sạch từ hai mẫu sên biển *A. dactylomela* - Phú Quý, Lâm Đồng và *A. dactylomela* - Lý Sơn, Quảng Ngãi và mẫu sên biển *A. oculifera* - Lăng Cô, Huế.

Bốn hợp chất từ sên biển *A. dactylomela* - Phú Quý, Lâm Đồng được thử nghiệm gây độc tế bào trên ba dòng ung thư HepG2, A549 và MCF-7 cho thấy có ba hợp chất thể hiện hoạt tính là: dactylomelanin C (ADA1), dactylomelanin D (ADA2) và dactylomelanin E (ADA3). Trong đó hợp chất (ADA3) thể hiện hoạt tính mạnh trên cả ba dòng tế bào với giá trị IC_{50} lần lượt là 27,54, 17,78 và 18,62 μ M.

Mười hai hợp chất từ mẫu sên *A. dactylomela* - Lý Sơn, Quảng Ngãi được thử nghiệm gây độc tế bào trên ba dòng ung thư HepG2,

A549 và MCF-7 cho thấy có sáu hợp chất thể hiện hoạt tính là: elatol (**ADB1**), aplydactylonin K (**ADB3**), aplydactylonin G (**ADB4**), aplydactylonin H (**ADB5**), [3(15)*E*,4*Z*,6*S*,9*S*,10*R*]-10,15-dibromochamigra-3(15),4,7(14)-trien-9-ol (**ADB8**), aplydactylonin D (**ADB11**). Trong đó hợp chất elatol (**ADB1**) thể hiện hoạt tính gây độc mạnh nhất với giá trị IC_{50} 6,22, 5,07 và 6,55 μ M tương ứng với các dòng tế bào trên. Hợp chất mới aplydactylonin G (**ADB4**) thể hiện hoạt tính mạnh trên một dòng tế bào ung thư A549 với giá trị IC_{50} là 8,15 μ M. Các hợp chất còn lại thể hiện hoạt tính yếu hơn.

Bảy hợp chất từ sên biển *A. oculifera* - Lăng Cô, Huế thử nghiệm hoạt tính gây độc trên các dòng tế bào ung thư HepG2, Hela và MCF-7 thì cho thấy có năm hợp chất có thể hiện hoạt tính là oculiferanin A (**AOB1**), oculiferanin B (**AOB2**), oculiferanin C (**AOB3**), oculiferanin D (**AOB4**), oculiferanin G (**AOB7**). Trong đó hợp chất **AOB1** thể hiện hoạt tính tốt nhất với cả hai dòng tế bào ung thư HepG2 và Hela với giá trị IC_{50} nằm trong khoảng 21,38 và 23,44 μ M.

❖ KIẾN NGHỊ

Hợp chất aplydactylonin G (**ADB4**) phân lập từ loài sên biển *A. dactylomela* - Lý Sơn, Quảng Ngãi thể hiện hoạt tính mạnh trên dòng tế bào ung thư A540 với giá trị IC_{50} là 8,15 μ M. Cần nghiên cứu sâu hơn về hợp chất có tiềm năng này.

Những hợp chất mới được phân lập từ hai loài *A. dactylomela* và *A. oculifera* cần thử nghiệm thêm một số hoạt tính khác, ví dụ như hoạt tính kháng viêm, hoạt tính kháng khuẩn, ức chế enzym... để phát hiện được những hoạt tính tốt hơn, phục vụ cho những nghiên cứu sâu hơn sau này.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Bình Thuận và Sơn Tịnh, Quảng Ngãi đã phân lập được 18 chất sạch, trong đó có tới 10 hợp chất mới: dactylomelanin C (**ADA1**), dactylomelanin D (**ADA2**), dactylomelanin E (**ADA3**), aplydactylonin I (**ADB2**), aplydactylonin K (**ADB3**), aplydactylonin G (**ADB4**), aplydactylonin H (**ADB5**), aplydactylonin F (**ADB6**), aplydactylonin E (**ADB7**), [aplydactylonin D (**ADB11**)].
2. Từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập và xác định cấu trúc 07 hợp chất sạch: oculiferanin A (**AOB1**), oculiferanin B (**AOB2**), oculiferanin C (**AOB3**), oculiferanin D (**AOB4**), oculiferanin E (**AOB5**), oculiferanin F (**AOB6**), oculiferanin G (**AOB7**). Các hợp chất trên đều thuộc lớp chất diterpene và là những hợp chất mới, trong đó có năm hợp chất có khung được sắp xếp lại từ khung parguerane và hai hợp chất có khung parguerane.
3. Các hợp chất mới (17 chất) phân lập được từ hai loài sên biển *A. dactylomela* và *A. oculifera* đã được tiến hành thử nghiệm hoạt tính sinh học với bốn dòng tế bào ung thư (HepG2, A549, MCF-7 và Hela) cho thấy ba hợp chất dactylomelanin C (**ADA1**), dactylomelanin E (**ADA3**), aplydactylonin M (**ADB3**) thể hiện hoạt tính với giá trị IC_{50} nằm trong khoảng 19,91 - 42,66 μ M. Hợp chất oculiferanin A (**AOB1**) thể hiện tác dụng trên hai dòng tế bào ung thư HepG2 và Hela với giá trị IC_{50} tương ứng là 21,38 và 23,44 μ M

**DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN
LUẬN ÁN**

1. **Pham Thanh Binh**, Duong Thu Trang, Vu Thanh Trung, Kieu Thi Phuong Linh, Nguyen Viet Phong, Nguyen Phuong Thao, Nguyen Xuan Cuong, Do Cong Thung, Nguyen Hoai Nam, Nguyen Van Thanh, 2023, New nor-chamigrane and bisabolane sesquiterpenoids from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *Phytochemistry Letters*, 53, pp. 92-97.
2. **Pham Thanh Binh**, Duong Thu Trang, Kieu Thi Phuong Linh, Nguyen Phuong Thao, Nguyen Chi Mai, Tran My Linh, Dang Vu Luong, Nguyen Hoai Nam, Nguyen Van Thanh, 2025, A novel diterpene and six new sesquiterpene from the sea hare *Aplysia dactylomela*. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 23, pp. 8040-8052.
3. **Pham Thanh Binh**, Duong Thu Trang, Vu Thanh Trung, Kieu Thi Phuong Linh, Nguyen Phuong Thao, Nguyen Chi Mai, Tran My Linh, Nguyen Van Thanh, 2024, Cytotoxic constituents from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *Vietnam Journal of Marine Science and Technology*. (Đang phản biện).