

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 HAI LOÀI
SÊN BIỂN *Aplysia dactylomela* VÀ *Aplysia oculifera* Ở VÙNG
BIỂN VIỆT NAM**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Hà Nội - 2025

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 HAI LOÀI
SÊN BIỂN *Aplysia dactylomela* VÀ *Aplysia oculifera* Ở VÙNG
BIỂN VIỆT NAM

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

Xác nhận của Học viện
Khoa học và Công nghệ

KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung

Người hướng dẫn 1

TS. Nguyễn Văn Thanh

Người hướng dẫn 2

TS. Nguyễn Hoài Nam

Hà Nội - 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: “**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**” là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của tập thể hướng dẫn. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày 25 tháng 11 năm 2025

Tác giả luận án

(Ký và ghi rõ họ tên)



Phạm Thanh Bình

LỜI CẢM ƠN

Luận án này được hoàn thành tại Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số TDDL0.05/20-22, KHCBBI.01/23-25 và ĐLTE00.01/23-24. Trong quá trình nghiên cứu, tác giả đã nhận được nhiều sự giúp đỡ quý báu của các thầy cô giáo, các nhà khoa học, các đồng nghiệp, bạn bè và gia đình.

Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn chân thành và sâu sắc và kính trọng tới thầy TS. Nguyễn Văn Thanh và TS. Nguyễn Hoài Nam, những người thầy đã tận tình hướng dẫn, hết lòng chỉ bảo và tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi trong thời gian làm luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban Lãnh đạo Học viện, Phòng Đào tạo Học viện Khoa học và Công nghệ đã giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và thực hiện luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo Viện Hóa học cùng tập thể cán bộ - các nhà khoa học của Viện đã quan tâm giúp đỡ và đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu thực hiện luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn Phòng Nghiên cứu sinh vật biển - Viện Hóa học và các cộng sự đã tạo điều kiện giúp đỡ và có những lời khuyên bổ ích, những góp ý quý báu trong việc thực hiện và hoàn thiện luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới toàn thể gia đình, bạn bè và những người thân đã luôn luôn quan tâm, khích lệ, động viên tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Xin trân trọng cảm ơn!

Tác giả



Phạm Thanh Bình

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT.....	vii
DANH MỤC BẢNG.....	ix
DANH MỤC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ	xi
MỞ ĐẦU.....	1
Chương 1. TỔNG QUAN	4
1.1. Giới thiệu về giống sên biển <i>Aplysia</i>	4
1.2. Những nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài sên thuộc giống <i>Aplysia</i>	5
1.2.1. Thành phần hóa học	5
1.2.1.1. Terpenoid	5
1.2.1.2. C-15 Acetogenin	15
1.2.1.3. Sterol	17
1.2.1.4. Alkaloid.....	18
1.2.1.5. Macrolide	19
1.2.2. Nghiên cứu về hoạt tính sinh học	21
1.2.2.1. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư	21
1.2.2.2. Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm	24
1.2.2.3. Một số hoạt tính sinh học khác	26
1.2.3. Một số nghiên cứu trong nước về loài sên biển thuộc giống <i>Aplysia</i>	27
1.3. Đặc điểm hai loài sên biển thuộc giống <i>Aplysia</i>	28
1.3.1. Đặc điểm loài sên biển <i>Aplysia dactylomela</i>	28
1.3.2. Đặc điểm loài sên biển <i>Aplysia oculifera</i>	29
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	31
2.1. Đối tượng nghiên cứu	31
2.1.1. Mẫu sên biển <i>Aplysia dactylomela</i> - đảo Phú Quý, Lâm Đồng	31
2.1.2. Mẫu sên biển <i>Aplysia dactylomela</i> - đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi	31
2.1.3. Mẫu sên biển <i>Aplysia oculifera</i> - vịnh Lăng Cô, Huế.....	32
2.2. Vật liệu và thiết bị nghiên cứu.....	32
2.2.1. Vật liệu và hóa chất nghiên cứu	32
2.2.2. Thiết bị nghiên cứu.....	33
2.3. Phương pháp nghiên cứu các hợp chất từ mẫu nghiên cứu	33
2.3.1. Phương pháp phân lập các hợp chất.....	33
2.3.1.1. Sắc ký bản mỏng (Thin layer chromatography - TLC)	33
2.3.1.2. Sắc ký cột (Column chromatography - CC)	34

2.3.1.3. Sắc ký lỏng hiệu năng cao (High Performance Liquid Chromatography- HPLC).....	34
2.3.2. Phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được	34
2.3.2.1. Độ quay cực ($[\alpha]_D$)	34
2.3.2.2. Phổ lưỡng sắc tròn (ECD).....	34
2.3.2.3. Phổ khối phân giải cao (HR-ESI-MS)	34
2.3.2.4. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)	34
2.3.2.5. Phương pháp tính toán NMR và ECD	35
2.3.3. Phương pháp thử gây độc tế bào ung thư (Phương pháp MTT)	36
2.4. Thực nghiệm	38
2.4.1. Phân lập các hợp chất từ loài sên biển <i>A. dactylomela</i> thu từ đảo Phú Quý, Lâm Đồng	38
2.4.2. Phân lập các hợp chất từ loài sên biển <i>A. dactylomela</i> thu từ đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi.....	39
2.4.3. Phân lập các hợp chất từ loài sên biển <i>A. oculifera</i> thu ở Lăng Cô, Huế.....	43
2.5. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập được	45
2.5.1. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập từ loài sên biển <i>A. dactylomela</i> thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng.....	45
2.5.1.1. Hợp chất ADA1 : Dactylomelanin C (chất mới)	45
2.5.1.2. Hợp chất ADA2 : Dactylomelanin D (chất mới)	46
2.5.1.3. Hợp chất ADA3 : Dactylomelanin E (chất mới)	46
2.5.1.4. Hợp chất ADA4 : (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,7 <i>S</i> ,7 <i>R</i>)-2-chloro-3,7-epoxydamigrane-9-one	46
2.5.2. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập từ loài sên biển <i>A. dactylomela</i> thu ở đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi.....	47
2.5.2.1. Hợp chất ADB1 : Elatol.....	47
2.5.2.2. Hợp chất ADB2 : Aplydactylonin I (chất mới)	47
2.5.2.3. Hợp chất ADB3 : Aplydactylonin K (chất mới).....	47
2.5.2.4. Hợp chất ADB4 : Aplydactylonin G (chất mới).....	48
2.5.2.5. Hợp chất ADB5 : Aplydactylonin H (chất mới).....	48
2.5.2.6. Hợp chất ADB6 : Aplydactylonin F (chất mới)	48
2.5.2.7. Hợp chất ADB7 : Aplydactylonin E (chất mới)	49
2.5.2.8. Hợp chất ADB8 : [3(15) <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i>]-10,15-dibromochamigra-3(15),4,7(14)-trien-9-ol.....	49
2.5.2.9. Hợp chất ADB9 : Pacifidiene	49

2.5.2.10. Hợp chất ADB10 : 11-hydroxy-8-oxo- β -cyperon	49
2.5.2.11. Hợp chất ADB11 : Aplydactylonin D (chất mới)	50
2.5.2.12. Hợp chất ADB12 : Thyrsiferol	50
2.5.3. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập từ loài sên biển <i>A. oculifera</i> thu ở Lăng Cô, Huế	50
2.5.3.1. Hợp chất AOB1 : Oculiferanin A (chất mới)	50
2.5.3.2. Hợp chất AOB2 : Oculiferanin B (chất mới)	51
2.5.3.3. Hợp chất AOB3 : Oculiferanin C (chất mới)	51
2.5.3.4. Hợp chất AOB4 : Oculiferanin D (chất mới)	51
2.5.3.5. Hợp chất AOB5 : Oculiferanin E (chất mới)	52
2.5.3.6. Hợp chất AOB6 : Oculiferanin F (chất mới)	52
2.5.3.7. Hợp chất AOB7 : Oculiferanin G (chất mới)	52
2.6. Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được	53
2.6.1. Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ loài sên biển <i>A. dactylomela</i>	53
2.6.2. Thử nghiệm thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ loài sên biển <i>A. oculifera</i>	53
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	54
3.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được	54
3.1.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài sên biển <i>A. dactylomela</i> thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng	54
3.1.1.1. Hợp chất ADA1 : Dactylomelanin C (chất mới)	54
3.1.1.2. Hợp chất ADA2 : Dactylomelanin D (chất mới)	61
3.1.1.3. Hợp chất ADA3 : Dactylomelanin E (chất mới)	63
3.1.1.4. Hợp chất ADA4 : (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i>)-2-chloro-3,7-epoxyhamigrane-9-one	64
3.1.2. Tổng hợp các hợp chất phân lập từ mẫu sên <i>A. dactylomela</i> thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng	66
3.1.3. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài sên biển <i>A. dactylomela</i> thu ở đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi	67
3.1.3.1. Hợp chất ADB1 : Elatol	67
3.1.3.2. Hợp chất ADB2 : Aplydactylonin I (chất mới)	68
3.1.3.3. Hợp chất ADB3 : Aplydactylonin K (chất mới)	71
3.1.3.4. Hợp chất ADB4 : Aplydactylonin G (chất mới)	73
3.1.3.5. Hợp chất ADB5 : Aplydactylonin H (chất mới)	75

3.1.3.6. Hợp chất ADB6 : Aplydactylonin F (chất mới)	78
3.1.3.7. Hợp chất ADB7 : Aplydactylonin E (chất mới)	80
3.1.3.8. Hợp chất ADB8 : [3(15) <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i>]-10,15-dibromochamigra-3(15),4,7(14)-trien-9-ol.....	83
3.1.3.9. Hợp chất ADB9 : pacifidiene.....	85
3.1.3.10. Hợp chất ADB10 : 11-hydroxy-8-oxo- β -cyperon	86
3.1.3.11. Hợp chất ADB11 : aplydactylonin D (chất mới).....	88
3.1.3.12. Hợp chất ADB12 : Thyriferol	91
3.1.4. Tổng hợp các hợp chất phân lập từ mẫu sên <i>A. dactylomela</i> thu ở đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi	93
3.1.5. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài sên biển <i>A. oculifera</i> thu ở vịnh Lăng Cô, Huế	95
3.1.5.1. Hợp chất AOB1 : oculiferanin A (chất mới)	95
3.1.5.2. Hợp chất AOB2 : oculiferanin B (chất mới)	102
3.1.5.3. Hợp chất AOB3 : oculiferanin C (chất mới)	105
3.1.5.4. Hợp chất AOB4 : oculiferanin D (chất mới)	109
3.1.5.5. Hợp chất AOB5 : oculiferanin E (chất mới).....	112
3.1.5.6. Hợp chất AOB6 : oculiferanin F (chất mới).....	114
3.1.5.7. Hợp chất AOB7 : oculiferanin G (chất mới)	118
3.1.6. Tổng hợp các hợp chất phân lập từ loài sên biển <i>A. oculifera</i> thu ở vịnh Lăng Cô, Huế	121
3.2. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được	121
3.2.1. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ mẫu sên biển <i>A. dactylomela</i> - đảo Phú Quý, Lâm Đồng	121
3.2.2. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ mẫu sên biển <i>A. dactylomela</i> - đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi	122
3.2.3. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của một số hợp chất phân lập được từ loài sên biển <i>A. oculifera</i> - vịnh Lăng Cô, Huế.....	125
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	126
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN	128
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN.....	129
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	130
PHỤ LỤC.....	144

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
^1H NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
^{13}C NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13
A-549	Human lung cancer cell line	Dòng tế bào ung thư phổi ở người
C.C	Chromatography column	Sắc ký cột
COSY	Correlation spectroscopy	Phổ tương tác 2 chiều đồng hạt nhân ^1H - ^1H
CTPT		Công thức phân tử
CH_2Cl_2	Dichloromethane	Dung môi dichloromethane
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium	Môi trường nuôi cấy tế bào DMEM
DMSO	Dimethylsulfoxide	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$
EC_{50}	Effective concentration of 50%	Nồng độ hiệu quả tối đa 50% đối tượng thử nghiệm
EtOAc	Ethyl acetate	Dung môi ethyl acetate
EtOH	Ethanol	Dung môi ethanol
Hela	Cervical cancer	Dòng tế bào ung thư cổ tử cung
HepG-2	Human liver cell line	Dòng tế bào ung thư gan người
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HR-ESI-MS	High resolution electrospray Ionization mass spectrometry	Phổ khối lượng phân giải cao phun mù điện tử
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence Spectroscopy	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
IR	Infrared Spectroscopy	Phổ hồng ngoại
KB	Human epidemic carcinoma	Dòng tế bào ung thư biểu mô miệng người
MCF-7	Human breast cancer cell line	Dòng tế bào ung thư vú ở người
Me		Nhóm methyl
MeOH	Methanol	Dung môi methanol

MIC	Minimal Inhibitory Concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)- 2,5- diphenyltetrazolium bromide	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5- diphenyltetrazolium bromide
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Specctroscopy	Phổ hiệu ứng hạt nhân Overhauser
OD	Optical density	Mật độ quang
Ome		Nhóm methoxy
PC3	Human prostate carcinoma cell	Dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt
Ppm	Part per million	Phần triệu
TMS	Tetramethylsilane	(CH ₃) ₄ Si
UV	Ultraviolet	Phổ tử ngoại
δ_H , δ_C		Độ chuyển dịch hóa học của proton, carbon

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Danh sách một số loài sên biển thuộc giống <i>Aplysia</i>	4
Bảng 1.2. Một số hợp chất monoterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	5
Bảng 1.3. Một số hợp chất sesquiterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	7
Bảng 1.4. Một số hợp chất diterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	13
Bảng 1.5. Một số hợp chất triterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	15
Bảng 1.6. Các hợp chất C-15 Acetogenin phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	16
Bảng 1.7. Một số hợp chất steroid phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	18
Bảng 1.8. Một số hợp chất alkaloid phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	19
Bảng 1.9. Một số hợp chất macrolide phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	20
.....	
Bảng 2.1. Cấp độ tính toán lý thuyết của các hợp chất	36
.....	
Bảng 3.1. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADA1	56
Bảng 3.2. Phổ ^1H , ^{13}C -NMR thực nghiệm và phổ tính toán cho hợp chất ADA1 ..	60
Bảng 3.3. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADA2	61
Bảng 3.4. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADA3	63
Bảng 3.5. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADA4	65
Bảng 3.6. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB1	67
Bảng 3.7. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB2	69
Bảng 3.8. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB3	71
Bảng 3.9. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB4	74
Bảng 3.10. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB5	76
Bảng 3.11. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB6	79
Bảng 3.12. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB7	81
Bảng 3.13. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB8	84
Bảng 3.14. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB9	86
Bảng 3.15. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB10	87
Bảng 3.16. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB11	89
Bảng 3.17. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất ADB12	92
Bảng 3.18. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AOB1	98
Bảng 3.19. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AOB1 (đo trong CD_3OD)	101
Bảng 3.20. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AOB2	103
Bảng 3.21. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AOB3	107
Bảng 3.22. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AOB4	110
Bảng 3.23. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AOB5	114
Bảng 3.24. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AOB6	116

Bảng 3.25. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AOB7	120
Bảng 3.26. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư của một số hợp chất phân lập được từ loài <i>A. dactylomela</i> - Phú Quý, Lâm Đồng.....	122
Bảng 3.27. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư của một số hợp chất phân lập được từ loài <i>A. dactylomela</i> - Lý Sơn, Quảng Ngãi.....	124
Bảng 3.28. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư của một số hợp chất phân lập được từ loài <i>A. oculifera</i> - Lăng Cô, Huế.....	125

DANH MỤC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình 1.1. Cấu trúc một số hợp chất monoterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	7
Hình 1.2. Cấu trúc một số hợp chất chamigrane sesquiterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	11
Hình 1.3. Cấu trúc một số hợp chất chamigrane sesquiterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i> (tiếp)	12
Hình 1.4. Cấu trúc một số hợp chất bisabolane sesquiterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	12
Hình 1.5. Cấu trúc một số hợp chất laurencia sesquiterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	12
Hình 1.6. Cấu trúc một số hợp chất brasilane và omphalane sesquiterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	13
Hình 1.7. Cấu trúc một số hợp chất eudesmane và snyderane sesquiterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	13
Hình 1.8. Cấu trúc một số hợp chất diterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	14
Hình 1.9. Cấu trúc một số hợp chất triterpene phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	15
Hình 1.10. Cấu trúc một số hợp chất C-15 acetogenin phân lập từ giống <i>Aplysia</i> ...	17
Hình 1.11. Cấu trúc một số hợp chất sterol phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	18
Hình 1.12. Cấu trúc một số hợp chất alkaloid phân lập từ giống <i>Aplysia</i>	19
Hình 1.13. Cấu trúc một số hợp chất macrolide từ giống <i>Aplysia</i>	20
Hình 1.14. Các hợp chất phân lập từ sên biển <i>A. dactylomela</i> - Hòn Mê, Thanh Hóa	27
Hình 1.15. Các hợp chất phân lập từ sên biển <i>A. dactylomela</i> - Nhật Lệ, Quảng Trị	27
.....	
Hình 2.1. Sên biển <i>A. dactylomela</i> - Phú Quý, Lâm Đồng	31
Hình 2.2. Sên biển <i>A. dactylomela</i> - Lý Sơn, Quảng Ngãi	31
Hình 2.3. Sên biển <i>A. oculifera</i> - Lăng Cô, Huế	32
Hình 2.4. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ sên biển <i>A. dactylomela</i>	39
Hình 2.5. Sơ đồ chiết phân đoạn sên biển <i>A. dactylomela</i> thu từ Quảng Ngãi	40
Hình 2.6. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ phân đoạn chiết <i>n</i> -hexane của sên biển <i>A. dactylomela</i>	40
Hình 2.7. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ phân đoạn dichloromethane của sên biển <i>A. dactylomela</i>	42
Hình 2.8. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ sên biển <i>A. oculifera</i>	44
.....	
Hình 3.1. Cấu trúc hợp chất ADA1 và chất tham khảo	54
Hình 3.2. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất ADA1	54
Hình 3.3. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất ADA1	55
Hình 3.4. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất ADA1	55
Hình 3.5. Phổ HSQC của hợp chất ADA1	56
Hình 3.6. Tương tác phổ HMBC (→) và phổ COSY (—) của hợp chất ADA1	57
Hình 3.7. Phổ HMBC của hợp chất ADA1	57
Hình 3.8. Phổ COSY của hợp chất ADA1	57

Hình 3.9. Phổ NOESY của hợp chất ADA1	58
Hình 3.10. Tương tác phổ NOESY của hợp chất ADA1	59
Hình 3.11. Phân tích hồi quy tuyến tính của độ dịch chuyển hóa học thực nghiệm so với tính toán của 1a và 1b	59
Hình 3.12. Tính toán ECD của hợp chất ADA1	61
Hình 3.13. Cấu trúc hợp chất ADA2 và hợp chất so sánh	61
Hình 3.14. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$) và phổ COSY (—) và NOESY ($\longleftrightarrow$) của hợp chất ADA2	62
Hình 3.15. Tính toán ECD của hợp chất ADA2	63
Hình 3.16. Cấu trúc hợp chất ADA3 và hợp chất so sánh	63
Hình 3.17. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$), COSY (—) và phổ NOESY của hợp chất ADA3	64
Hình 3.18. Cấu trúc hợp chất ADA4	64
Hình 3.19. Tính toán ECD của hợp chất ADA4	66
Hình 3.20. Cấu trúc các hợp chất từ mẫu sên <i>A. dactylomela</i> - Phú Quý, Lâm Đồng	66
Hình 3.21. Cấu trúc của hợp chất ADB1	67
Hình 3.22. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$) của hợp chất ADB1	68
Hình 3.23. Cấu trúc của hợp chất ADB2 và chất tham khảo	68
Hình 3.24. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$) và COSY (—) của hợp chất ADB2	70
Hình 3.25. Tương tác phổ NOESY ($\longleftrightarrow$), phổ ECD của hợp chất ADB2	70
Hình 3.26. Cấu trúc của hợp chất ADB3 và chất tham khảo	71
Hình 3.27. Tương tác phổ HMBC chính ($\rightarrow$) và COSY (—) của hợp chất ADB3 ..	72
Hình 3.28. Tương tác phổ NOESY ($\longleftrightarrow$) và phổ ECD của hợp chất ADB3	73
Hình 3.29. Cấu trúc của hợp chất ADB4 và chất tham khảo	73
Hình 3.30. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$) và COSY (—) của hợp chất ADB4	75
Hình 3.31. Tương tác phổ NOESY ($\longleftrightarrow$) và phổ ECD của hợp chất ADB4	75
Hình 3.32. Cấu trúc của hợp chất ADB5 và chất tham khảo	75
Hình 3.33. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$) và COSY (—) của hợp chất ADB5	77
Hình 3.34. Tương tác phổ NOESY ($\longleftrightarrow$), phổ ECD của hợp chất ADB5	77
Hình 3.35. Cấu trúc hợp chất ADB6 và hợp chất so sánh	78
Hình 3.36. Tương tác chính HMBC ($\rightarrow$) và COSY (—) của ADB6	80
Hình 3.37. Tương tác phổ NOESY ($\longleftrightarrow$), phổ ECD của hợp chất ADB6	80
Hình 3.38. Cấu trúc của hợp chất ADB7 và chất tham khảo	80
Hình 3.39. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (—) của hợp chất ADB7	82
Hình 3.40. Tương tác phổ NOESY ($\longleftrightarrow$), phổ ECD của hợp chất ADB7	82
Hình 3.41. Quá trình acetal một hợp chất hữu cơ có nhóm aldehyde (-CHO)	83
Hình 3.42. Cấu trúc của hợp chất ADB8	83
Hình 3.43. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) của hợp chất ADB8	83
Hình 3.44. Cấu trúc của hợp chất ADB9	85
Hình 3.45. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) chính và COSY (—) của hợp chất ADB9	85
Hình 3.46. Cấu trúc của hợp chất ADB10	86
Hình 3.47. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) của hợp chất ADB10	88
Hình 3.48. Cấu trúc của hợp chất ADB11	88

Hình 3.49. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (---) và phổ ECD của hợp chất ADB11	90
Hình 3.50. Tương tác phổ NOESY (---) của hợp chất ADB11	91
Hình 3.51. Cấu trúc của hợp chất ADB12	91
Hình 3.52. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (---) của hợp chất ADB12	91
Hình 3.53. Cấu trúc các hợp chất từ loài sên biển <i>A. dactylomela</i> - đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi	93
Hình 3.54. So sánh sự giống và khác nhau các lớp chất phân lập được từ hai mẫu sên biển <i>A. dactylomela</i> thu ở hai địa điểm Lâm Đồng và Quảng Ngãi.	94
Hình 3.55. Cấu trúc hợp chất AOB1 và chất so sánh	95
Hình 3.56. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất AOB1	95
Hình 3.57. Phổ ^1H -NMR của hợp chất AOB1	96
Hình 3.58. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AOB1	96
Hình 3.59. Phổ HSQC của hợp chất AOB1	97
Hình 3.60. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (---) trên hợp chất AOB1	97
Hình 3.61. Phổ HMBC của hợp chất AOB1	99
Hình 3.62. Tương tác NOESY (---) trên hợp chất AOB1	100
Hình 3.63. Phổ NOESY của hợp chất AOB1 (dung môi CD_3OD)	100
Hình 3.64. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán theo lý thuyết của hợp chất AOB1	102
Hình 3.65. Cấu trúc hợp chất AOB2	102
Hình 3.66. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (---) trên hợp chất AOB2	104
Hình 3.67. Tương tác NOESY (---) và phổ ECD của hợp chất AOB2	105
Hình 3.68. Cấu trúc hợp chất AOB3	105
Hình 3.69. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất AOB3	106
Hình 3.70. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (---) trên hợp chất AOB3	108
Hình 3.71. Tương tác NOESY (---) và phổ ECD của hợp chất AOB3	108
Hình 3.72. Tương tác HMBC($\rightarrow$) và COSY (---) trên hợp chất AOB4	109
Hình 3.73. Tương tác NOESY (---) và phổ ECD của hợp chất AOB4	111
Hình 3.74. Cấu trúc hợp chất AOB5	112
Hình 3.75. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (---) trên hợp chất AOB5	113
Hình 3.76. Tương tác NOESY (---) và phổ ECD của hợp chất AOB5	113
Hình 3.77. Cấu trúc của hợp chất AOB6 và chất so sánh	115
Hình 3.78. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (---) trên hợp chất AOB6	115
Hình 3.79. Tương tác NOESY (---) và phổ ECD của hợp chất AOB6	117
Hình 3.80. Cấu trúc hợp chất AOB7	118
Hình 3.81. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (---) trên hợp chất AOB7	119
Hình 3.82. Tương tác NOESY (---) và phổ ECD của hợp chất AOB7	119
Hình 3.83. Cấu trúc hóa học các hợp chất AOB1 - AOB7	121
Hình 3.84. So sánh cấu trúc hai hợp chất ADB4 và ADB5	124

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. 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 từ thực vật và vi khuẩn [2]. 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 [2]. 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 [4]. 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, 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 Mollusc. Sên biển thuộc giống *Aplysia* có tuổi thọ ngắn, tốc độ tăng trưởng nhanh và sản lượng trứng cao [5]. Những con non sinh trưởng nhanh trong khoảng thời gian hai tuần đầu và từng con sên biển có thể đẻ nhiều hơn 10^8 trứng trong suốt vòng đời của chúng [5]. 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 [6, 7]. Những dữ liệu này cho thấy *Aplysia* sp. có trữ lượng dồi dào 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 [5]. 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...

Bảng 1.1. Danh sách một số 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. brasiliana</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>				

1.2. Những nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài sên thuộc giống *Aplysia*

Những kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học từ loài sên biển *Aplysia* cho thấy chúng rất đa dạng và phong phú. Sên biển *Aplysia* là động vật thân mềm ăn rong, tảo... đã được chứng minh là nguồn cung cấp chất chuyển hóa thứ cấp phong phú, có nguồn gốc chủ yếu từ chế độ ăn uống. Phần lớn các chất chuyển hóa thứ cấp được phân lập từ loài sên *Aplysia* là các terpene được halogen hóa, bên cạnh đó những động vật này còn chứa các lớp chất khác như macrolide, sterol, alkaloid... Gắn liền với những hợp chất trên thường thể hiện các hoạt tính gây độc tế bào, kháng khuẩn, kháng nấm, kháng vi sinh vật và kháng vi rút... Một số hợp chất tiêu biểu cho các lớp chất được phân lập từ sên *Aplysia* được thống kê sau đây.

1.2.1. Thành phần hóa học

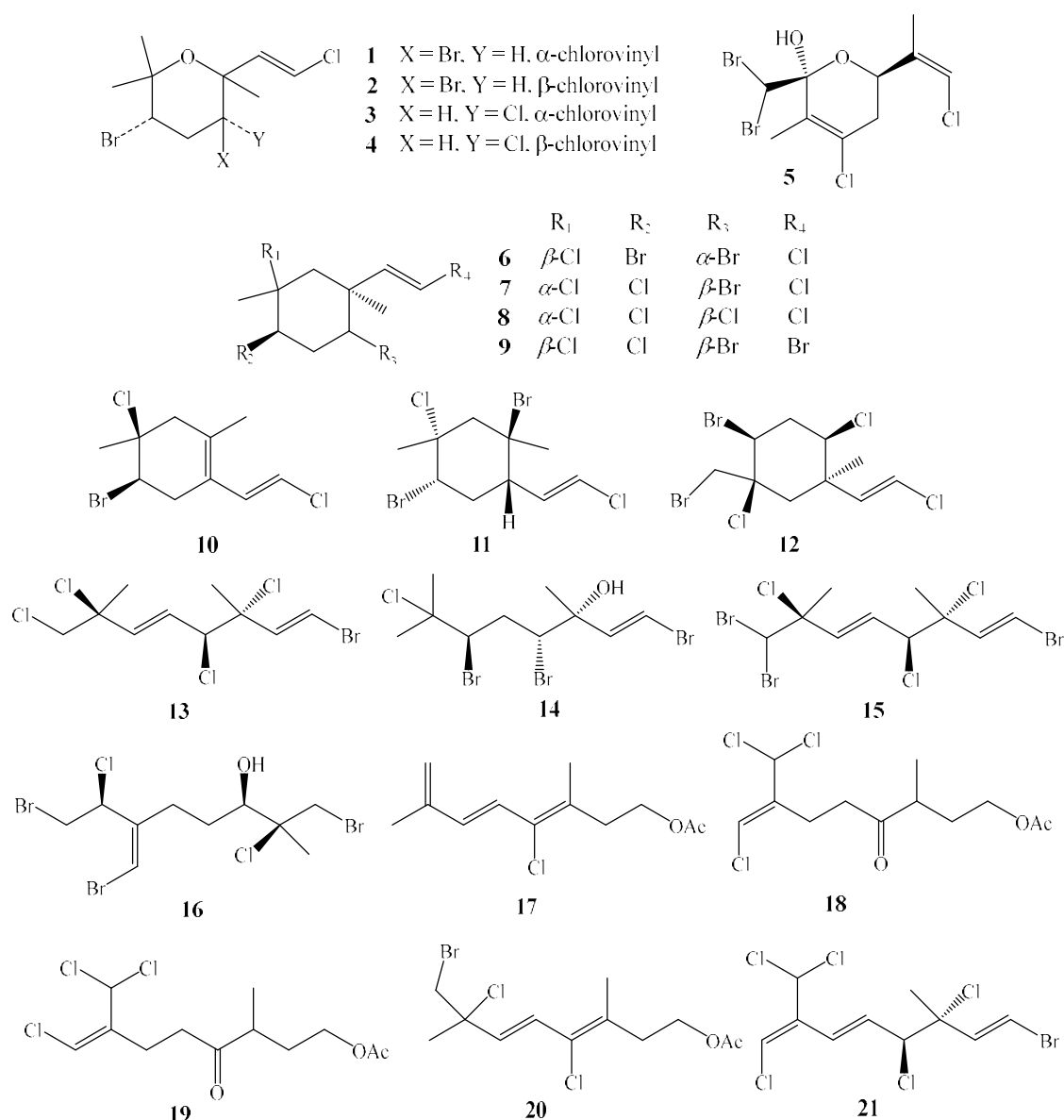
1.2.1.1. Terpenoid

Thành phần hóa học chính của giống *Aplysia* là hợp chất terpenoid, trong đó lớp chất halogen monoterpene có thể là mạch thẳng hoặc mạch vòng. Các loài *Aplysia* được biết đến có rất nhiều monoterpene được thế nhiều halogen, nguồn gốc của chúng cơ bản là ở tảo đỏ thuộc các chi *Laurencia* và *Plocamium* mà sên biển ăn [8].

Bảng 1.2. Một số hợp chất monoterpene phân lập từ giống *Aplysia*

STT	Hợp chất	Loài	Tác giả chính	Năm	TLTK
1	aplysiapyranoid A	<i>A. kurodai</i>	Kusumi T.	1987	[9]
2	aplysiapyranoid B				
3	aplysiapyranoid C				
4	aplysiapyranoid D				
5	costatone	<i>A. parvula</i>	Grkovic T.	2005	[10]
		<i>Plocamium costatum</i>	Kazlauskas R.	1976	[11]
6	2,4-dibromo-5-chloro-1-[(1 <i>E</i>)-2-chloroethyl]-1,5-dimethylcyclohexane	<i>A. punctata</i>	Quiñoa E.	1989	[12]
7	2-bromo-4,5-dichloro-1-[(1 <i>E</i>)-2-chloroethyl]-1,5-dimethylcyclohexane				
8	aplysiaterpenoid A	<i>A. kurodai</i>	Miyamoto T.	1988	[13]

9	2-bromo-4,5-dichloro-1-[(1 <i>E</i>)-2-bromoethyl]-1,5-dimethylcyclohexane	<i>A. punctata</i>	Quiñoa E.	1989	[14]
10	4-bromo-5-chloro-2-[(1 <i>E</i>)-2-chloroethyl]-1,5-dimethylcyclohex-1-en				
11	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-1,4-dibromo-5-chloro-2-[(1 <i>E</i>)-2-chloroethyl]-1,5-dimethylcyclohexane	<i>A. kurodai</i>	Miyamoto T.	1988	[13]
12	4-bromo-5-bromomethyl-2,5-dichloro-1-(<i>E</i>)chloroethyl-1-methylcyclohexane				
13	aplysiaterpenoid B				
14	7-chloro-3,7-dimethyl-1,4,6-tribromo-1-octen-3-ol	<i>A. californica</i>	Faulkner D.J.	1973	[15]
15	3,7-dimethyl-1,8,8-tribromo-3,4,7-trichloro-1,5-octadiene	<i>A. californica</i>	Faulkner D.J.	1974	[16, 17]
16	kurodainol	<i>A. kurodai</i>	Katayama A.	1982	[18]
17	(3 <i>Z</i> ,5 <i>E</i>)-1-acetoxy-4-chloro-3,7-dimethylocta-3,5,7-trien	<i>A. punctata</i>	Ortega M.J.	1997	[19]
18	(7 <i>E</i>)-1-acetoxy-8-chloro-7-(dichloromethyl)-3-methyloct-7-en-4-one				
19	(7 <i>Z</i>)-1-acetoxy-8-chloro-7-(dichloromethyl)-3-methyloct-7-en-4-one				
20	(3 <i>Z</i> ,5 <i>E</i>)-1-acetoxy-8-bromo-4,7-dichloro-3,7-dimethylocta-3,5-dien				
21	(1 <i>E</i> ,5 <i>E</i> ,7 <i>E</i>)-1-bromo-7-dichloromethyl-3,4,8-trichloro-octa-1,5,7-trien	<i>A. dactylomela</i>	Wessels M.	200	[8]



Hình 1.1. Cấu trúc một số hợp chất monoterpene phân lập từ giống *Aplysia*

Các chất có khung sesquiterpene thông thường có 15 carbon. Trong khi đó khung này lại chia thành nhiều loại khung như: chamigrane sesquiterpene, bisabolane sesquiterpene, laurane sesquiterpene, brasilane và omphalane sesquiterpene, eudesmane và snyderane sesquiterpene. Các khung chất liên quan đến môi trường biển, các chất chuyển hóa thứ cấp sở hữu dạng khung này là đặc điểm của tảo đỏ thuộc chi *Laurencia* mà sên biển ăn [20].

Bảng 1.3. Một số hợp chất sesquiterpene phân lập từ giống *Aplysia*

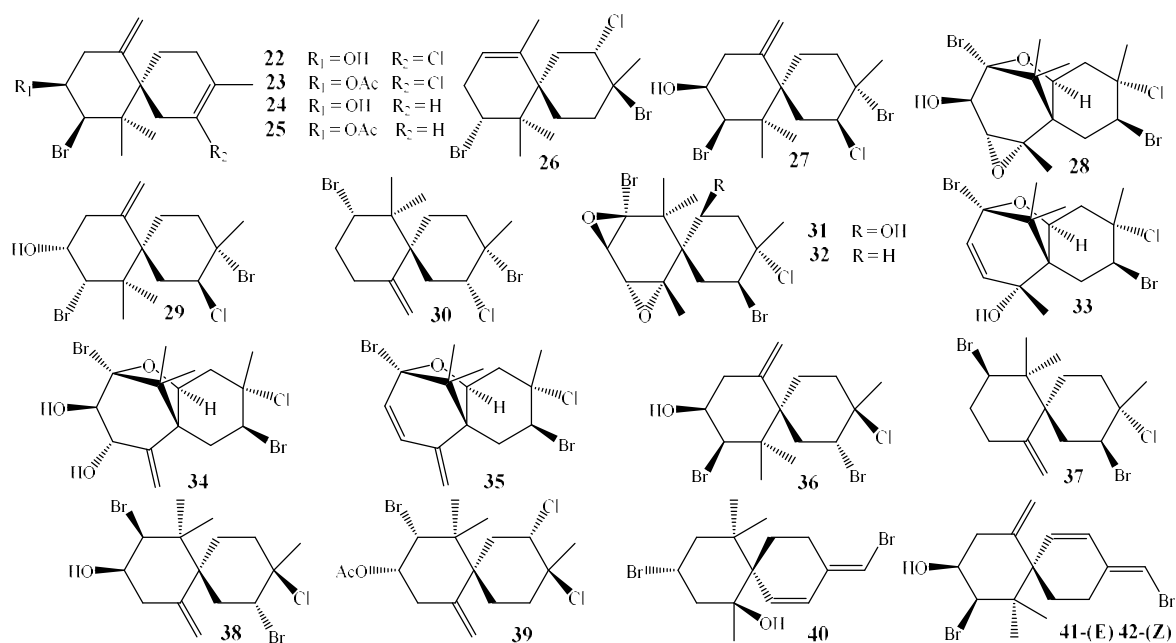
STT	Hợp chất	Loài	Tác giả chính	Năm	TLTK
<i>Chamigrane sesquiterpene</i>					
22	elatol (22)		Dias T.	2005	[21]

23	acetylatol	<i>A.</i>			
24	deschlorelatol	<i>dactylomela</i>			
25	acetyl-deschlorelatol				
26	(4 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i>)-4,9-dibromo-8-chloro-1,5,5,9-tetramethylspiro[5.5]undec-1-ene				
27	<i>iso</i> -obtusol	<i>A. dactylomela</i>	Díaz-Marrero A.-R.	2012	[22]
28	johnstonol	<i>A. dactylomela</i>	Pitombo L.F.	1996	[23]
29	obtusol	<i>A. dactylomela</i>	Díaz-Marrero A.-R.	2012	[22]
30	<i>epi</i> -obtusane	<i>A. oculifera</i>	Hegazy M.-E.F.	2014	[24]
31	prepaciferol epoxide	<i>A.</i>	Kaiser C.R.	1997	[25]
32	dehydroxyprepaciferol epoxide	<i>dactylomela</i>			
33	paciferol	<i>A.</i>	Kaiser C.R.	2001	[26]
34	pacifenediol	<i>dactylomela</i>			
35	pacifidiene				
36	rogiolo	<i>A. dactylomela</i>	Palaniveloo K.	2014	[20]
		<i>Laurencia</i>	Pietra F.	2002	[27]
37	nidificene	<i>A. dactylomela</i>	McPhail K.L.	1999	[28]
38	cartilagineol	<i>A.</i>	Wessels M.	2000	[8]
39	9-acetylisooobtusol	<i>dactylomela</i>			
40	9,15-dibromo-1,3(15)-chamigra-diene-11-ol				
41	(<i>E</i>)-dibromotrienol	<i>A.</i>	Schmitz	1981	[29]
42	(<i>Z</i>)-dibromotrienol	<i>dactylomela</i>	F.J.		

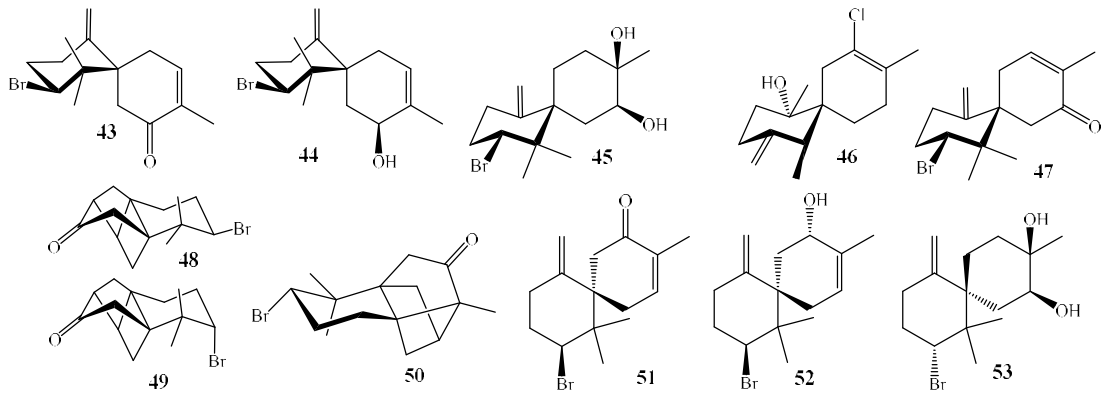
43	(6 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-10-bromo-3,11,11-trimethyl-7-methylidenespiro [5.5] undec-2-ene-4-one	<i>A. dactylomela</i>	Shubina L.K.	2007	[30]
44	(4 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-10-bromo-3,11,11-trimethyl-7-methylidenespiro [5.5] undec-2-ene-4-ol (44)				
45	(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,10 <i>R</i>)-10-bromo-3,11,11-trimethyl-7-methylidenespiro [5.5] undecane-3,4-diol (45)				
46	(6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,11 <i>S</i>)-2-chloro-3,7,11-trimethyl-10-methylidenespiro [5.5] undec-2-ene-7-ol				
47	dactylone	<i>A. dactylomela</i>	Fedorov S.N.	2000	[31]
48	aplydactone	<i>A. dactylomela</i>	Matsuura B.S.	2017	[32]
49	10- <i>epi</i> -datylone	<i>A. dactylomela</i>	Fedorov S.N.	2000	[31]
50	8- <i>epi</i> -isoapydactone	<i>A. dactylomela</i>	Matsuura B.S.	2017	[32]
51	8- <i>epi</i> -apydactone				
52	10-bromo- β -chamingren-2-ol				
53	10-bromo- β -chamingren-2,3-diol				
<i>Bisabolane sesquiterpene</i>					
54	isodeodactol	<i>A. dactylomela</i>	Gopichand Y.	1981	[33]
55	8-deoxyisocaespitol				
56	caespitane	<i>A. dactylomela</i>	Wessels M.	2000	[8]
57	caespitol				
58	8-acetylcaespitol				
59	laucapyranoid A				
60	furocaespitane				
61	furocaespitanelactol				

62	caespitenone	<i>A. dactylomela</i>	Wessels M.	2000	[8]
63	caespitenone	<i>A. dactylomela</i>	Brito I.	2006	[34]
64	deschlorobromo caespitol	<i>A. dactylomela</i>			
65	deodactol	<i>A. dactylomela</i>	Hollenbeak K.H.	1979	[35]
66	aplysiadactydiol	<i>A. dactylomela</i>	Brito I.	2006	[34]
67	puertitol- β -acetate	<i>A. dactylomela</i>	Wessels M.	2000	[8]
68	algoane	<i>A. dactylomela</i>	McPhail K.L.	1999	[28]
69	1-deacetoxyalgoane	<i>A. dactylomela</i>			
70	1-deacetoxy-8-algoane	<i>A. dactylomela</i>			
71	cupalaurenol	<i>Laurencia</i>	Vairappan C.S.	2010	[36]
		<i>A. dactylomela</i>	Ichiba T.	2010	[37]
72	cupalaurenol acetate	<i>A. dactylomela</i>			
73	oculiferane	<i>A. oculifera</i>	Hegazy M.-E.F.	2014	[24]
<i>Laurane sesquiterpene</i>					
74	cyclolaurane	<i>A. dactylomela</i>	Ichiba T.	2010	[37]
75	cyclolaurenol	<i>A. dactylomela</i>			
76	cyclolaurenol acetate	<i>A. dactylomela</i>			
77	laurinterol	<i>A. kurodai</i>	Tsukamoto S.	2005	[38]
78	laurinterol acetate	<i>A. kurodai</i>			
79	debromolaurinterol	<i>A. kurodai</i>			
80	debromolaurinterol acetate	<i>A. kurodai</i>			
81	aplysin	<i>A. kurodai</i>	Yamamura S.	1963	[39]
82	debromoaplysin	<i>A. kurodai</i>			
83	aplysinol	<i>A. kurodai</i>			
84	ibhayinol	<i>A. dactylomela</i>	McPhail K.L.	1999	[28]
85	allolaurinterol	<i>A. dactylomela</i>	Appleton D.R.	2001	[40]
86	allolaurinterol acetate	<i>A. dactylomela</i>			
87	isolaurenisol	<i>A. dactylomela</i>			

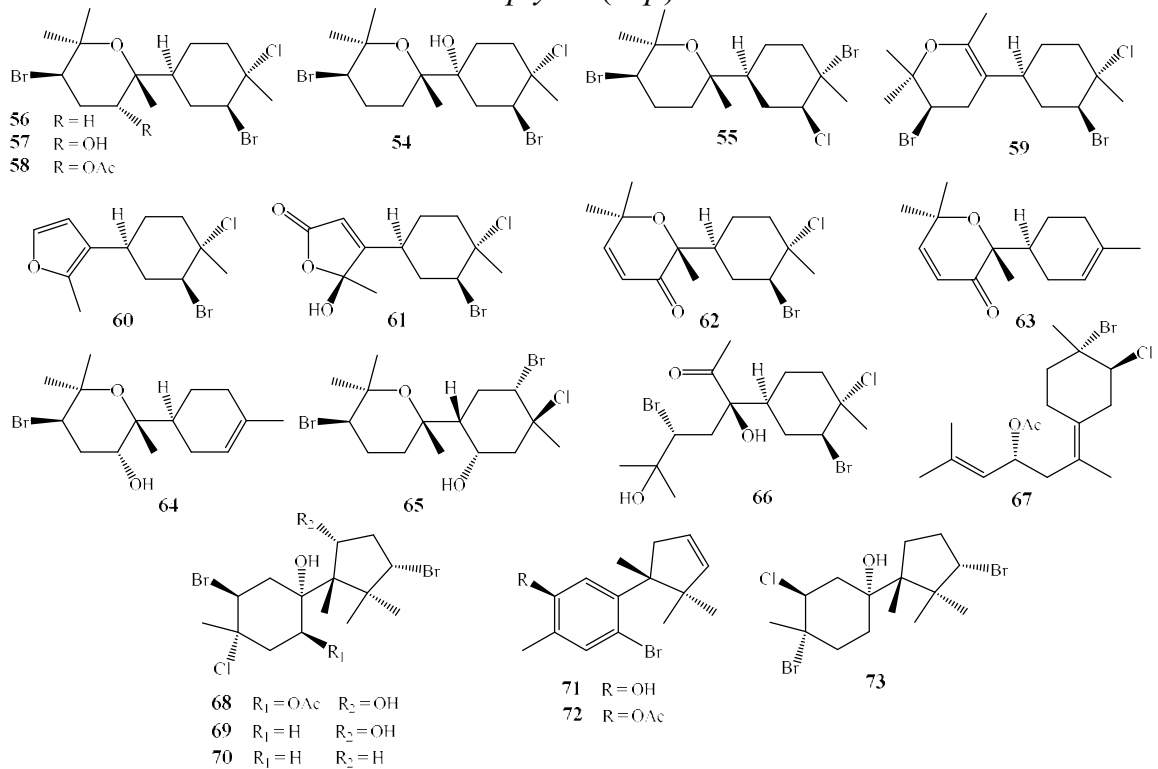
88	isolaurenisol acetate				
<i>Brasilane và omphalane sesquiterpene</i>					
89	brasilenol	<i>A.</i>	Stallard	1978	[41]
90	brasilenol acetate	<i>brasiliana</i>	M.O.		
91	<i>epi</i> -brasilenol				
92	<i>epi</i> -brasilenol acetate	<i>A. fasciata</i>	Ioannou E.	2009	[42]
93	6-hydroxy-1-brasilene				
94	dactylomelatriol	<i>A.</i> <i>dactylomela</i>	Díaz-Marrero A.-R.	2012	[22]
<i>Eudesmane và Snyderane sesquiterpene</i>					
95	brasudol	<i>A.</i>	Dieter R.K.	1979	[43]
96	isobrasudo	<i>brasiliana</i>			
97	lankalapoul A	<i>A.</i>	Baker B.	1988	[44]
98	lankalapoul B	<i>dactylomela</i>			
99	aplysistatin	<i>A.</i> <i>dactylomela</i>	Vairappan C.S.	2007	[45]
100	palisadin A				
101	palisadin B				
102	5-acetoxypalisadin				
103	12-hydroxypalisadin				



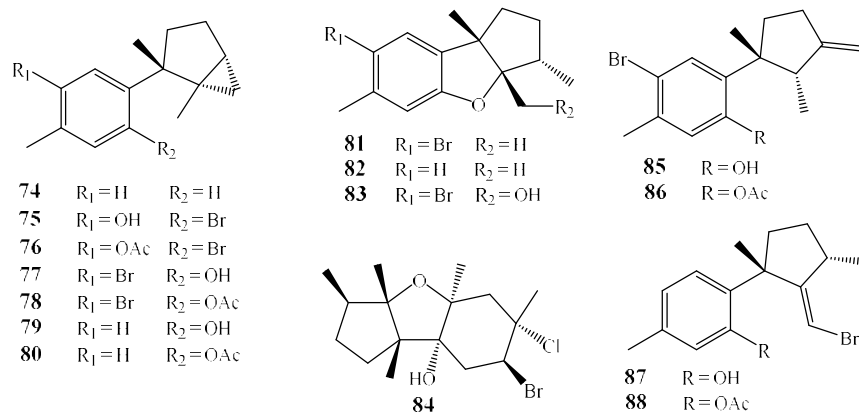
Hình 1.2. Cấu trúc một số hợp chất chamigrane sesquiterpene phân lập từ giống *Aplysia*



Hình 1.3. Cấu trúc một số hợp chất chamigrane sesquiterpene phân lập từ giống *Aplysia* (tiếp)



Hình 1.4. Cấu trúc một số hợp chất bisabolane sesquiterpene phân lập từ giống *Aplysia*



Hình 1.5. Cấu trúc một số hợp chất laurencia sesquiterpene phân lập từ giống *Aplysia*

95

96

97

98

99

100

101 $R_1 = H$ $R_2 = H$

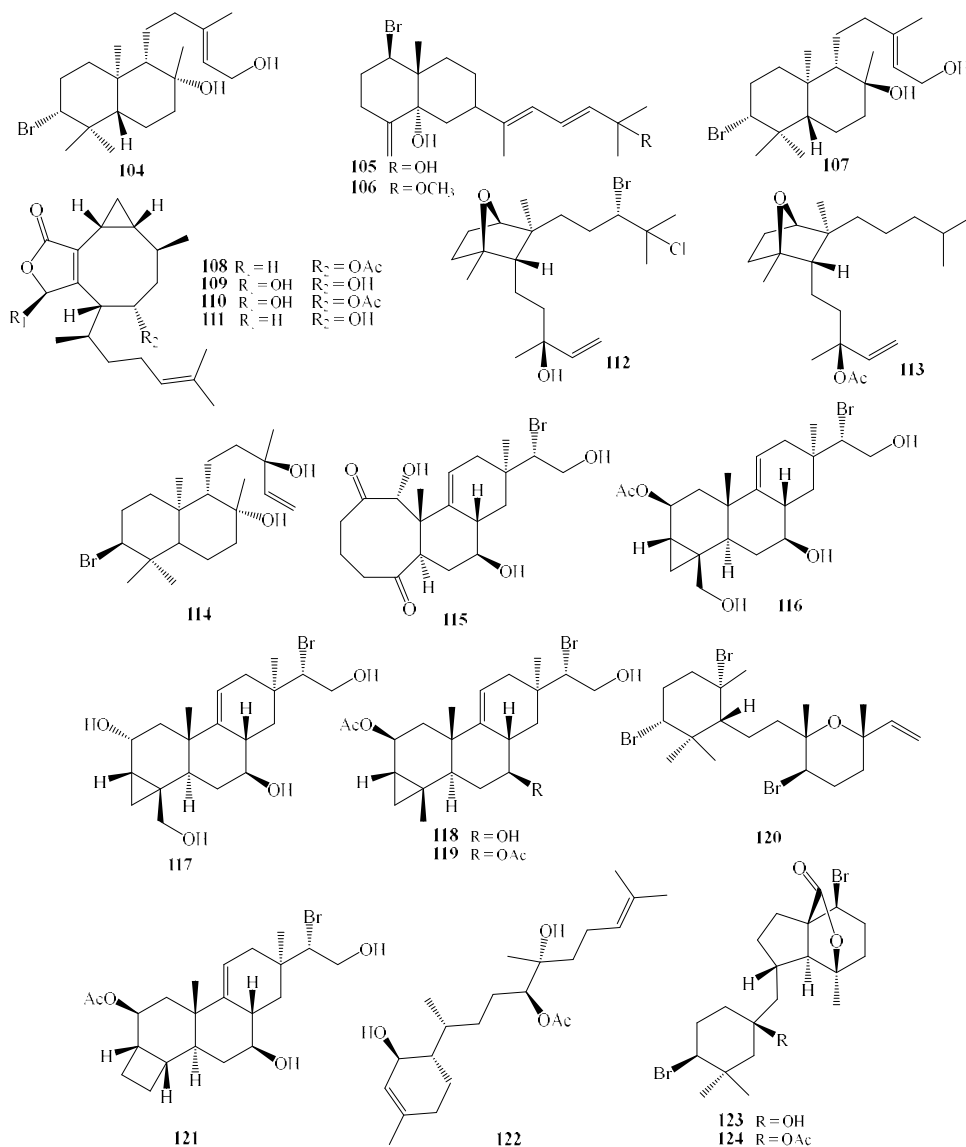
102 $R_1 = H$ $R_2 = OAc$

103 $R_1 = OH$ $R_2 = H$

Diterpene có trong cả động vật và thực vật dưới biển. Mặc dù tảo đỏ thuộc chi *Laurencia* chủ yếu là các chất chuyển hóa có chứa brom với khung sesquiterpene, nhưng cũng có một số công bố về diterpene có chứa brom.

STT	Hợp chất	Loài	Tác giả chính	Năm	TLTK
104	aplysin-20	<i>A. kurodai</i>	Matsuda H.	1967	[46]
105	aplysiadiol	<i>A. kurodai</i>	Ojika M.	1990	[47]
106	aplysiadiol methyl ether				
107	<i>epi</i> -aplysin-20	<i>A. kurodai</i>	Ojika M.	1992	[48]
108	acetoxycrenulide	<i>A. vaccaria</i>	Midland S.L.	1983	[49]
109	1,9-dihydroxycrenulide				
110	1-hydroxy-9-acetoxycrenulide				
111	9-hydroxycrenulide				
112	dactylomelol	<i>A. dactylomela</i>	Estrada D.M.	1989	[50]

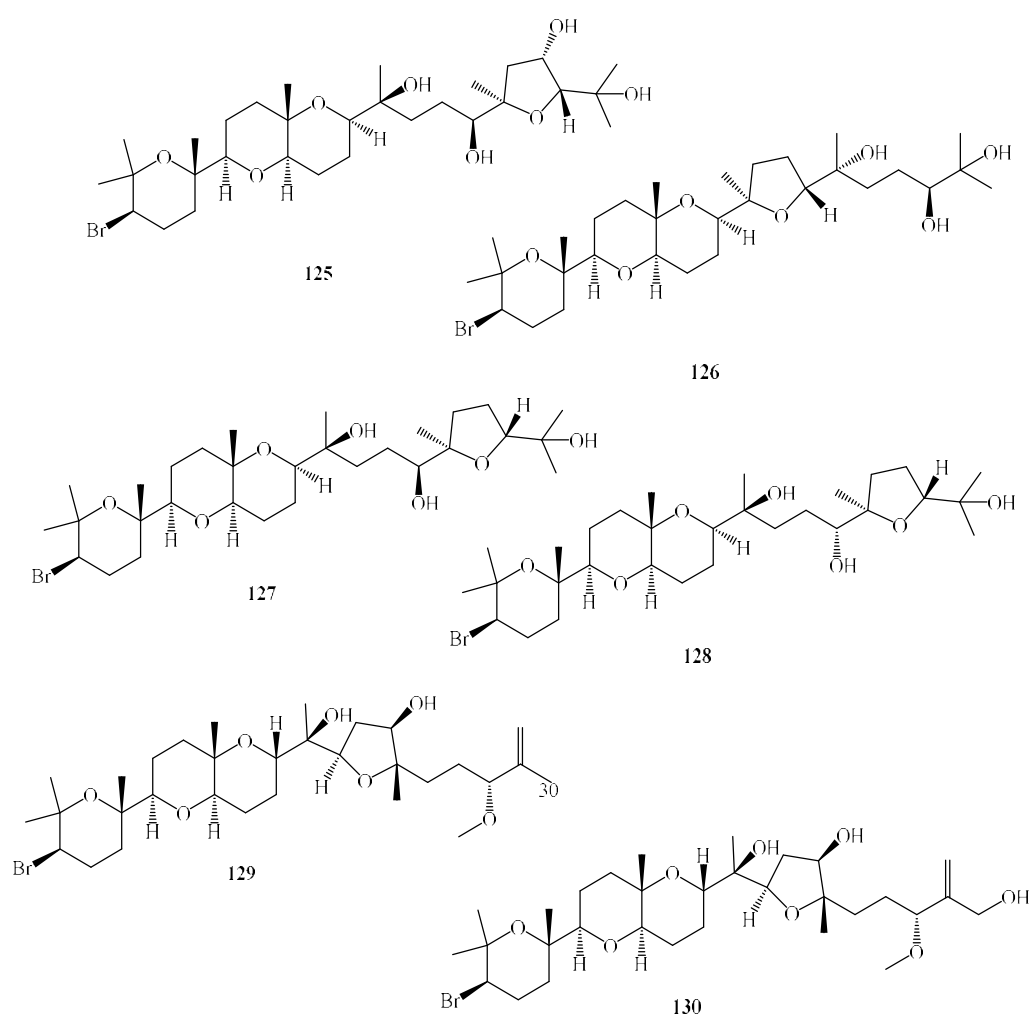
113	punctatene acetate	<i>A. perfata</i>	Findlay J.A.	2002	[51]
114	isoconcinndiol				
115	neopargueroldione				
116	parguerol				
117	deacetylparguerol				
118	deoxyparguerol	<i>A. dactylomela</i>	Schmitz F.J.	1982	[52]
119	deoxyparguerol acetate	<i>A. kurodai</i>	Tsukamoto S.	2004	[53]
120	punctatol	<i>A. perfata</i>	Findlay J.A.	2002	[51]
121	isoparguerol	<i>A. dactylomela</i>	Schmitz F.J.	1982	[52]
122	dactyloditerpenol acetate	<i>A. dactylomela</i>	Jiménez-Romero C.	2014	[54]
123	angasiol	<i>A. angasi</i>	Pettit G.R.	1978	[55]
124	angasiol acetate	<i>A. juliana</i>	Atta ur R.	1991	[56]



Hình 1.8. Cấu trúc một số hợp chất diterpene phân lập từ giống *Aplysia*

Bảng 1.5. Một số hợp chất triterpene phân lập từ giống *Aplysia*

STT	Hợp chất	Loài	Tác giả chính	Năm	TLTK
125	aplysiol A	<i>A. dactylomela</i>	Manzo E.	2007	[57]
126	aplysiol B				
127	thyransferol				
128	venustatriol				
129	aplysqualenol A	<i>A. dactylomela</i>	Vera B.	2009	[58]
130	aplysqualenol B				

Hình 1.9. Cấu trúc một số hợp chất triterpene phân lập từ giống *Aplysia*

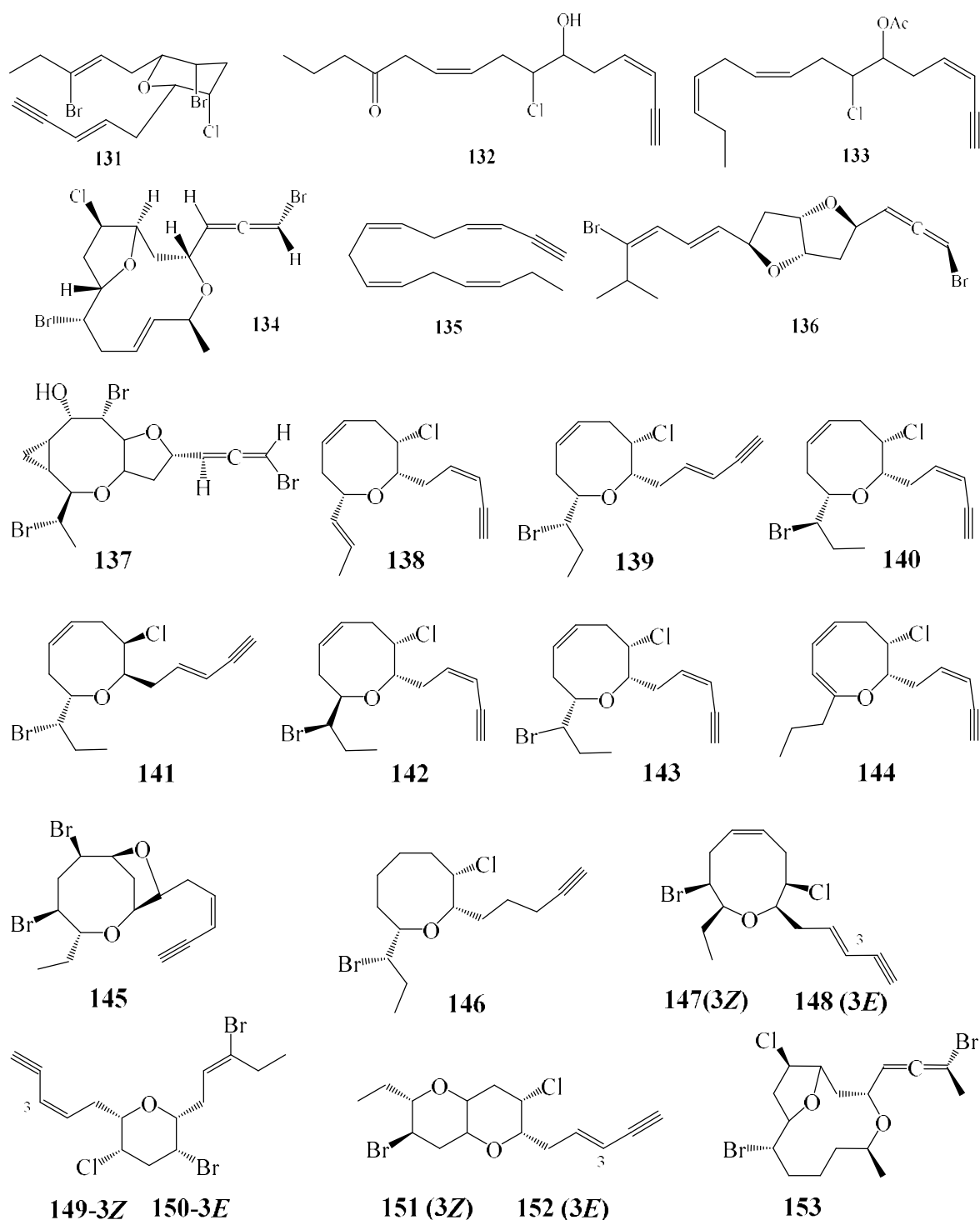
1.2.1.2. C-15 Acetogenin

Có rất nhiều acetogenin, cụ thể là mạch vòng halogen hóa C-15 đã được tìm thấy trong các loài *Aplysia* khác nhau. Hầu hết các hợp chất này đều có nguồn gốc từ tảo, đặc biệt là những loài thuộc chi *Laurencia* và *Polocamium* mà những loài sên đã ăn [16, 20].

Bảng 1.6. Các hợp chất C-15 Acetogenin phân lập từ giống *Aplysia*

STT	Hợp chất	Loài	Tác giả chính	Năm	TLTK
131	dactyllyne	<i>A. dactylomela</i>	McDonald F.J.	1975	[59]
132	(3Z,9Z)-7-chloro-6-hydroxy-12-oxo-pentadeca-3,9-dien-1-yne	<i>A. fasciata</i>	Gao L.-x.	1992	[60]
133	(3Z,9Z,12Z)-6-acetoxy-7-chloro-pentadeca-3,9,12-trien-1-yne				
134	dactylallene	<i>A. dactylomela</i>	Letizia Ciavatta M.	1997	[61]
135	laurencenune	<i>A. punctata</i>	Findlay J.A.	2002	[51]
136	apysiallene	<i>A. kurodai</i>	Okamoto Y.	2001	[62]
137	aplyparvunin	<i>A. parvula</i>	Miyamoto T.	1995	[63]
138	(+)-laurenyne	<i>A. dactylomela</i>	Manzo E.	2005	[64]
139	(+)-3 <i>E</i> -pinnatifidenyne				
140	(3Z)-13- <i>epi</i> -pinnatifidenyne	<i>A. fasciata</i>	Ioannou E.	2009	[42]
141	(-)-3 <i>E</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> -pinnatifidenyne	<i>A. dactylomela</i>	Manzo E.	2005	[64]
142	<i>cis</i> -dihydrorhodophytin	<i>A. brasiliiana</i>	Kinnel R.B.	1979	[65]
143	<i>cis</i> -isohydrorhodophytin				
144	(3Z)-venustinene	<i>A. fasciata</i>	Ioannou E.	2009	[42]
145	(3Z)-bromofucin	<i>A. parvula</i>	McPhail K.L.	2005	[66]
146	(+)- <i>E</i> -pinnatifidenyne	<i>A. dactylomela</i>	Manzo E.	2005	[64]
147	(+)-3 <i>E</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> -obtusenyne				
148	(+)-3 <i>Z</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> -obtusenyne				
149	dactyllyne	<i>A. dactylomela</i>	Vanderah D.J.	1976	[67]
150	isodactyllyne				
151	(<i>Z</i>)-dactomelyne	<i>A. dactylomela</i>	Gopichand Y.	1981	[33]
152	(<i>E</i>)-dactomelyne				

153	dactylallene	<i>A. dactylomela</i>	Manzo E.	2005	[64]
------------	--------------	---------------------------	----------	------	------



Hình 1.10. Cấu trúc một số hợp chất C-15 acetogenin phân lập từ giống *Aplysia*

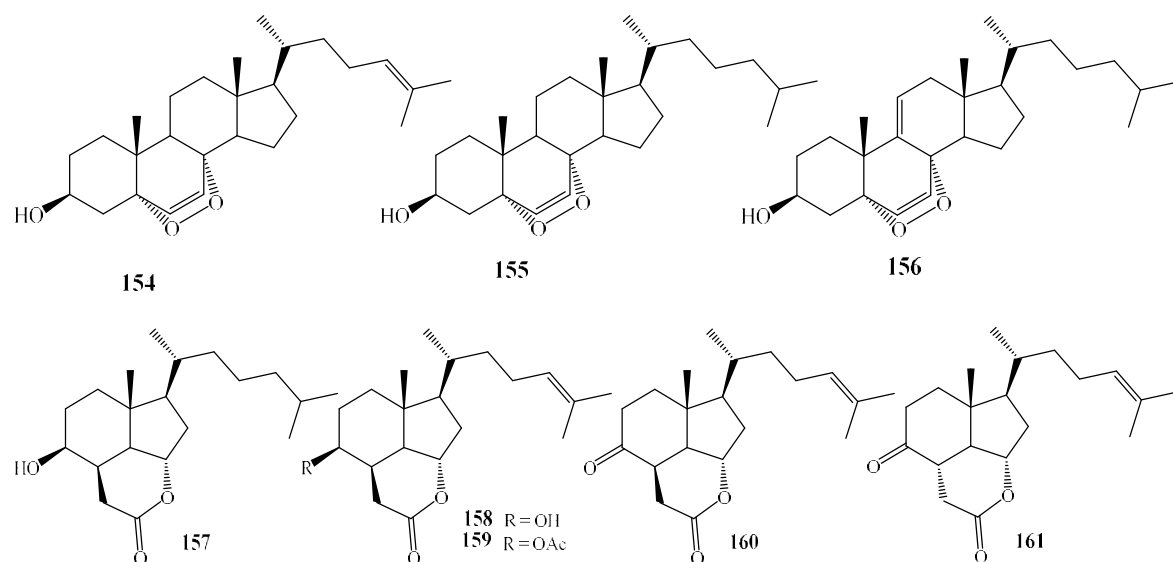
1.2.1.3. Sterol

Trong những thập kỷ gần đây, những sterol được công bố từ các sinh vật biển như nấm, tảo lớn, bọt biển, san hô và các động vật thân mềm đã cho thấy các chất có

nhieu hoạt tính sinh học. Sau đây là một số sterol được phân lập từ các loài sên biển thuộc giống *Aplysia*.

Bảng 1.7. Một số hợp chất steroid phân lập từ giống *Aplysia*

STT	Hợp chất	Loài	Tác giả chính	Năm	TLTK
154	(3 β ,5 α ,8 α)-5,8-epidioxycholesta-6,24-dien-3-ol	<i>A. depilans</i> <i>A. punctata</i>	Jiménez C.	1986	[68]
155	(3 β ,5 α ,8 α)-5,8-epidioxycholest-6-en-3-ol				
156	(3 β ,5 α ,8 α)-5,8-epidioxycholesta-6,9(11)-dien-3-ol				
157	aplykurodin A	<i>A. kurodai</i>	Miyamoto T.	1986	[69]
158	aplykurodin B				
159	4-acetylaplykurodin B	<i>A. fasciata</i>	Spinella A.	1992	[70]
160	aplykurodinone B				
161	3- <i>epi</i> -aplykurodinone B	<i>A. fasciata</i>	Ortega M.J.	1997	[71]



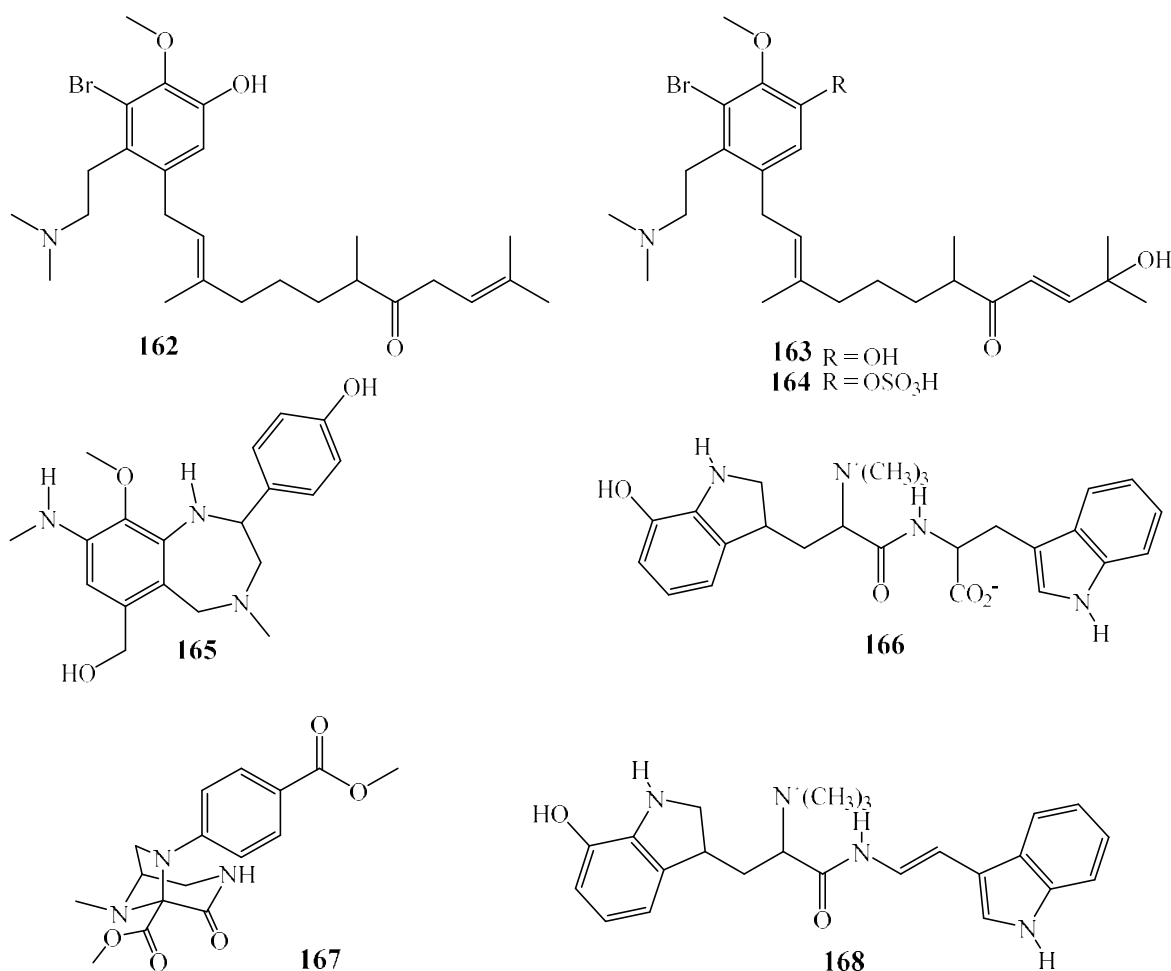
Hình 1.11. Cấu trúc một số hợp chất sterol phân lập từ giống *Aplysia*

1.2.1.4. Alkaloid

Sự đa dạng và phong phú về thành phần hóa học của giống sên *Aplysia* cũng được làm nổi bật nhờ sự hiện diện của các alkaloid. Sau đây là một số alkaloid đã được công bố.

Bảng 1.8. Một số hợp chất alkaloid phân lập từ giống *Aplysia*

STT	Hợp chất	Loài	Tác giả chính	Năm	TLTK
162	aplaminone	<i>A. kurodai</i>	Kigoshi H.	1990	[72]
163	neoaplaminone				
164	neoaplaminone sulfate				
165	aplysepine	<i>A. kurodai</i>	Ojika M.	1993	[73]
166	dactylamides A	<i>A. dactylomela</i>	Appleton D.R.	2001	[40]
167	aplaminol	<i>A. kurodai</i>	Kuroda T.	2008	[74]
168	dactylamides B	<i>A. dactylomela</i>	Appleton D.R.	2001	[40]

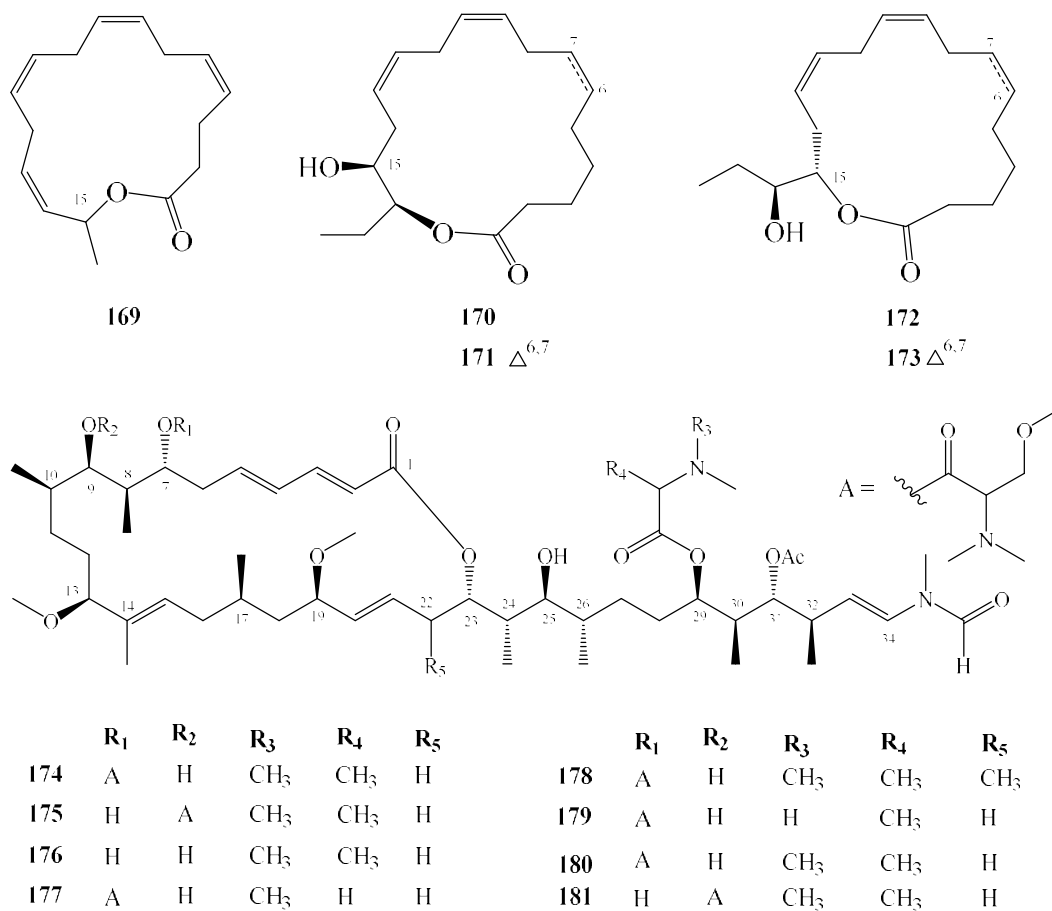
Hình 1.12. Cấu trúc một số hợp chất alkaloid phân lập từ giống *Aplysia*

1.2.1.5. Macrolide

Hầu hết macrolide biết đến như là nhóm kháng sinh được sử dụng trong điều trị các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn và nấm thông thường gây ra. Một số chúng, đặc biệt là có nguồn gốc từ biển có hợp chất chống ung thư tốt [75].

Bảng 1.9. Một số hợp chất macrolide phân lập từ giống *Aplysia*

STT	Hợp chất	Loài	Tác giả chính	Năm	TLTK
169	aplyolide A	<i>A. depilans</i>		1997	[76]
170	aplyolide B				
171	aplyolide C				
172	aplyolide D				
173	aplyolide E				
174	aplyronine A	<i>A. kurodai</i>	Yamada K.	1993	[77]
175	aplyronine B				
176	aplyronine C				
177	aplyronine D	<i>A. kurodai</i>	Ojika M.	2012	[78]
178	aplyronine E				
179	aplyronine F				
180	aplyronine G				
181	aplyronine H				

Hình 1.13. Cấu trúc một số hợp chất macrolide từ giống *Aplysia*

1.2.2. Nghiên cứu về hoạt tính sinh học

1.2.2.1. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Phần lớn các hợp chất được phân lập từ giống sên biển *Aplysia*, (hợp chất đơn giản - monoterpene đến những hợp chất phức tạp - aplyronine) có hoạt tính gây độc tế bào ung thư với nhiều dòng tế bào ung thư khác nhau. Đặc biệt lớp chất aplyronine có hoạt tính gây độc tế bào ung thư rất mạnh.

Năm 1987, bốn hợp chất aplysiapyranoid A – D (**1-4**) được phân lập từ loài *A. parvula* thể hiện độc tính tế bào vừa phải đối với các dòng tế bào biểu mô thận khỉ Vero và các dòng tế bào thận chó Madin-Darby (MDCK) và ung thư tế bào hắc tố chuột (B16) với giá trị IC_{50} trong khoảng 19-96 $\mu\text{g/mL}$. Bên cạnh đó hợp chất **4** cho thấy hoạt tính thú vị gây độc dòng tế bào ung thư biểu mô đại trực tràng ở người (Moser) ($IC_{50} = 14 \mu\text{g/mL}$) [9]. Từ loài *A. parvula* (1997) bốn hợp chất monoterpene mới cũng được biết đến, bao gồm: (3*Z*,5*E*)-1-acetoxy-4-chloro-3,7-dimethylocta-3,5,7-trien (**17**), (7*E*)-1-acetoxy-8-chloro-7-(dichloromethyl)-3-methyloct-7-en-4-one (**18**), (7*Z*)-1-acetoxy-8-chloro-7-(dichloromethyl)-3-methyloct-7-en-4-one (**19**), (3*Z*,5*E*)-1-acetoxy-8-bromo-4,7-dichloro-3,7-dimethylocta-3,5-dien (**20**). Bốn hợp chất (**18-20**) thể hiện đặc tính gây độc tế bào tương đương nhau trên các dòng ung thư hạch ở chuột (P-388) ($ED_{50} = 2,5 \mu\text{g/mL}$), ung thư biểu mô phổi ở người (A549) ($ED_{50} = 1,5 \mu\text{g/mL}$), ung thư biểu mô ruột kết ở người (HT-29) ($ED_{50} = 2,5 \mu\text{g/mL}$) khối u ác tính ở người (MEL-28) ($ED_{50} = 1,5 \mu\text{g/mL}$) [19]. Một monoterpene mạch hở khác (1*E*,5*E*,7*E*)-1-bromo-7-dichloromethyl-3,4,8-trichloro-octa-1,5,7-trien (**21**) được phân lập từ loài *A. dactylomela*. Hợp chất này gây độc tính tế bào mạnh lên cả ba dòng tế bào (HM02, Hep G2, MCF7) với các giá trị IC_{50} tương ứng 1,1, 1,0 và 1,5 $\mu\text{g/mL}$ [8].

Hợp chất aplysiaterpenoid A (**8**) từ loài *A. kurodai* có hoạt tính gây độc tế bào nhẹ đối với các dòng tế bào khối u khác nhau, thể hiện giá trị IC_{50} là 10,0 $\mu\text{g/mL}$ đối với ung thư hạch ở chuột (L1210), 15,3 $\mu\text{g/mL}$ đối với ung thư biểu mô phổi ở người (QD-90), và 30,2 $\mu\text{g/mL}$ với ung thư vú ở người (MCF-7) [13]. Hợp chất 4-bromo-5-bromomethyl-2,5-dichloro-1-(*E*)-chloroethyl-1-methylcyclohexane (**12**) từ loài *A. dactylomela* (năm 2000) gây độc tế bào đối với ung thư phổi ở người (Lu1), ung thư biểu mô biểu bì ở miệng người (KB), và tế bào ung thư vú ở người (ZR-75-1) với các giá trị IC_{50} tương ứng là 12,9, 13,3 và 7,8 $\mu\text{g/mL}$.

Các hợp chất sesquiterpene được phân lập từ các loài sên biển giống *Aplysia*. Bốn hợp chất elatol (**22**), acetyelatol (**23**), deschlorelatol (**24**), acetyl-deschlorelatol (**25**) phân lập từ loài sên *A. dactylomela*. Tác dụng gây độc tế bào của elatol là do nó

có khả năng bắt giữ tế bào ở pha G_1 và pha sau G_1 , dẫn đến tế bào tự chết theo chương trình (apoptosis) [79]. Cả hai hợp chất **22** và **23** đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên dòng Vero, với giá trị IC_{50} tương ứng là 25,0 và 44,6 $\mu\text{g/mL}$, trong khi hợp chất **24** và dẫn xuất acetyl của nó **25** không gây độc tính [21]. Kết quả này cho thấy mức độ liên quan của nguyên tử clo và nhóm hydroxyl tự do tại vị trí C-3 của vòng A với độc tính tế bào đối với tế bào Vero. Năm 2012, hợp chất *iso*-obtusol (**27**) được công bố từ loài sên *A. dactylomela* [22] thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh đối với ba dòng tế bào ung thư [ung thư biểu mô dạ dày (HM02), ung thư gan (Hep G2) và ung thư vú (MCF7)] với giá trị IC_{50} tương ứng là 7,0, 1,0 và 1,5 $\mu\text{g/mL}$ [8]. Hợp chất *epi*-obtusane (**30**) được phân lập từ loài *A. oculifera* có hoạt tính gây độc tế bào đáng kể trên nhiều dòng tế bào ung thư người [ung thư tiền liệt tuyến (PC-3), ung thư phổi (A549), MCF-7 và ung thư đại trực tràng (HCT 116)] với các giá trị IC_{50} tương ứng là 3,1, 0,96, 5,9, 2,4, và 4,1 $\mu\text{g/mL}$ [24]. Hai hợp chất cartilagineol (**38**) và 9,15-dibromo-1,3(15)-chamigra-diene-11-ol (**40**) từ loài *A. dactylomela* [8]. Hợp chất **38** có hoạt tính gây độc tế bào ở người với các dòng A-549, HT-29, MEL-28 và dòng P-388 (chuột) với các giá trị IC_{50} tương ứng 1,0, 0,25, 1,0 và 5,0 $\mu\text{g/mL}$. Hợp chất **40** thể hiện độc tính tế bào mạnh với các dòng HEP-G2, MCF-7 với giá trị IC_{50} tương ứng 1,0 và 1,0 $\mu\text{g/mL}$ [8]. Hai hợp chất (4*S*,6*S*,10*S*)-10-bromo-3,11,11-trimethyl-7-methylidenespiro [5.5] undec-2-ene-4-ol (**44**), dactylone (**47**) cũng được tìm thấy từ loài *A. dactylomela* [30, 80]. Các hợp chất **44** và **47** đã được thử nghiệm độc tính tế bào đối với tế bào bạch cầu LH-60 và THP-1. Hợp chất **47** không thể hiện độc tính, còn hợp chất **44** có hoạt tính với giá trị IC_{50} lần lượt là 102,0 và 152,0 μM . Tuy nhiên hợp chất **47** gây ra apoptosis ở cả hai dòng tế bào ở nồng độ IC_{50} là 80,0 và 40,0 μM [30]. Nghiên cứu khác cho thấy hợp chất **47** gây ức chế 50% đối với hai dòng tế bào biểu bì H460+C141 và tế bào ung thư phổi H460 ở người ở nồng độ 45,4 μM và 92,4 μM [81]. Hợp chất deodactol (**65**) được phân lập từ loài sên thuộc giống *Aplysia*, hợp chất sesquiterpen này có hoạt tính gây độc đối với dòng tế bào ung thư bạch cầu lymphocytic ở chuột (L-1210) với giá trị ED_{50} là 12,0 $\mu\text{g/mL}$ [35]. Những thay đổi nhỏ trong cấu trúc hóa học có thể ảnh hưởng rõ rệt đến hoạt tính sinh học, ví dụ như nghiên cứu của Wessels và các cộng sự [8], họ thấy rằng 8-acetylcaespitol (**58**) chỉ khác caespitol (**57**) trong nhóm acetyl, hoàn toàn mất hoạt tính. Hợp chất caespitenone (**62**) là sản phẩm oxy hóa chuyển hóa từ caespitol (**57**). Hợp chất **62** có tác dụng chống lại các dòng tế bào HT-29, MCF-7 và ung thư biểu bì ở người (A-431), với giá trị IC_{50} lần lượt là 18,9, 19,7 và 21,6 $\mu\text{g/mL}$ [82].

Năm 2010, một hợp chất oculiferane (**73**) được phân lập từ loài sên *A. oculifera* [24], hợp chất này cho thấy độc tính tế bào *in vitro* tương tự so với hợp chất *epi*-

obtusane (**30**), hoạt tính mạnh hơn đáng kể đối với dòng tế bào A549 (IC_{50} là 3,1 $\mu\text{g/mL}$) [24]. Hợp chất (**80**) đã được xác định trước đây bởi Stallard và Faulkner (năm 1974) từ loài sên *A. californica* [16, 17] và Findlay và Li (năm 2002) từ sên *A. punctata* [51] và nó được coi là chất có triển vọng để ngăn ngừa và ức chế các khối u ác tính bằng cách gây ra tế bào tự chết theo chương trình (apoptosis) với giá trị IC_{50} là 10,0 $\mu\text{g/mL}$ [83]. Các hợp chất **77** và **79** và acetate của nó (**78**) cho thấy độc tính tế bào vừa phải đối với dòng tế bào Hela với các giá trị IC_{50} tương ứng là 18,0, 32,0 và 20,0 $\mu\text{g/mL}$ [38]. Hợp chất aplysin (**81**) phân lập từ loài *A. kurodai* [39]. Nghiên cứu của Gong và các cộng sự công bố năm 2014 cho thấy hợp chất **81** có thể tăng cường tác dụng của temozolomide (một loại thuốc hóa trị) trên tế bào ung thư thần kinh đệm bằng cách tăng mức độ biểu hiện bước đầu miR-181 (tiền thân của microRNA) [84]. Nghiên cứu gần đây cũng đã chỉ ra rằng aplysin thực sự có thể gây ra quá trình apoptosis trong tế bào u thần kinh đệm bằng cách can thiệp vào con đường HSP90/AKT [85]. Năm 2001, Applenton và các cộng sự đã phân lập được bốn sesquiterpene allolaurinterol (**85**), allolaurinterol acetate (**86**), isolaurenisol (**87**), isolaurenisol acetate (**88**) từ loài *A. dactylomela* [40]. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của các hợp chất này cho thấy sesquiterpene **85** và **87** chứa các nhóm phenol tự do, thể hiện độc tính gây độc tế bào bạch cầu ở chuột (P388) vừa phải với giá trị IC_{50} tương ứng 23,4 và 17,3 μM . Mặt khác, các dẫn xuất acetate tương ứng (**86** và **88**) cho thấy độc tính trên tế bào P388 thấp hơn với cùng giá trị $IC_{50} > 74 \mu\text{M}$ [40].

Năm 1983, nhà khoa học Midland và các cộng sự đã phân lập được diterpene không halogen hóa trong tuyến tiêu hóa của loài *A. vaccaria* là acetoxycrenulide (**108**) [49]. Hợp chất **108** thể hiện hoạt tính chống lại ung thư biểu mô vòm họng ở người (KB), ung thư biểu mô phổi ở người (NSCLC-N6), (P388) và bệnh bạch cầu ở chuột biểu hiện gen đa kháng thuốc (P-388/DOX) có cùng giá trị $ED_{50} > 10 \mu\text{g/mL}$ và chất đối chứng dương mercaptopurine với ED_{50} là 5,4, 0,76, 0,7, 0,25 $\mu\text{g/mL}$ tương ứng với các dòng tế bào trên [86].

Năm 2007, hợp chất triterpene thyrseferol (**127**) phân lập từ loài *A. dactylomela* [57]. Hợp chất **127** hoạt tính mạnh với dòng tế bào P-388, thể hiện giá trị IC_{50} là 0,01 $\mu\text{g/mL}$, hợp chất cũng cho thấy độc tính tế bào trên các dòng tế bào A549 và HT29 với giá trị IC_{50} là 10,0 $\mu\text{g/mL}$ cho cả hai dòng tế bào [87]. Năm 2009, hợp chất aplysqualenol A (**129**) cũng được tìm thấy từ sên biển *A. dactylomela* [88]. Một nghiên cứu khác của Viện Ung thư Quốc gia (NCI's) cho thấy hợp chất **129** thể hiện hoạt tính mạnh ức chế chống lại tế bào ung thư vú T-47D với giá trị IC_{50} là 0,3 $\mu\text{g/mL}$ [88].

Năm 1986, hai hợp chất sterol ($3\beta,5\alpha,8\alpha$)-5,8-epidioxycholesta-6,24-dien-3-ol (**154**), ($3\beta,5\alpha,8\alpha$)-5,8-epidioxycholest-6-en-3-ol (**155**), ($3\beta,5\alpha,8\alpha$)-5,8-epidioxycholesta-6,9(11)-dien-3-ol (**156**) [68] từ các loài thuộc giống *Aplysia*. Sau đó Mun và cộng sự (2015) đã đánh giá độc tính tế bào của hợp chất **154** với tế bào ung thư đại trực tràng ở người (HTC-116) với giá trị IC_{50} là 2,5 μ M [89], hợp chất **155** thể hiện hoạt tính với dòng tế bào ung thư vú MCF-7 [90].

Hợp chất sterol thoái biến 3-*epi*-aplykurodinone B (**161**) phân lập bởi Ortega và các cộng sự từ loài *A. fasciata* thu ở Río San Pedro, Cadiz (Tây Ban Nha) [71]. Hợp chất **161** đã được thử nghiệm hoạt tính chống lại ung thư bạch huyết ở chuột (P-388), ung thư biểu mô phổi ở người (A-549), ung thư biểu mô ruột kết ở người (HT-29) và các dòng tế bào khối u melanoma ở người (MEL-28) thể hiện độc tính nhẹ *in vitro* (ED_{50} là 2,5 μ g/mL trong mọi tế bào trên) [71].

Một số alkaloid được công bố từ sên biển giống *Aplysia*. Ba hợp chất aplaminone (**162**), neoaplaminone (**163**), neoaplaminone sulfate (**164**) được tìm thấy từ loài *A. kurodai* [72]. Các hợp chất này thử nghiệm *in vitro* có hoạt tính mạnh gây độc tế bào đối với dòng Hela S3 với giá trị IC_{50} lần lượt là 0,28, $1,6 \times 10^{-7}$ và 0,51 mg/mL [72, 91]. Một hợp chất aplaminal (**167**) cũng được biết đến từ loài *A. kurodai* [74]. Hợp chất **167** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào chống lại dòng Hela S3 với giá trị IC_{50} 0,51 μ g/mL [74].

Các hợp chất aplyronine cũng được phát hiện từ sên biển và có hoạt tính gây độc tế bào. Năm 1993, ba hợp chất aplyronine A (**174**), aplyronine B (**175**) và aplyronine C (**176**) thu được từ loài sên *A. kurodai*. Cả ba hợp chất aplyronine A-C thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh, với các giá trị IC_{50} là 0,45, 2,9 và 22,0 nM với dòng ung thư biểu mô cổ tử cung ở người (Hela S3) [78]. Sau đó đến năm 2012, năm hợp chất aplyronine D-H (**177-181**) cũng được tìm thấy từ loài sên *A. kurodai*. Cả năm hợp chất này cũng có hoạt tính rất mạnh với dòng tế bào Hela S3 với giá trị IC_{50} tương ứng lần lượt là 0,075, 0,18, 0,19, 0,12 và 9,8 nM [78].

1.2.2.2. Hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

Hai hợp chất elatol (**22**) và deschlorelatol (**24**) từ loài sên biển *A. dactylomela* (năm 2005) thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với tất cả 13 chủng vi khuẩn được thử nghiệm. Nó cho thấy nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là 5,5 và 10,0 mg/đĩa đối với *Clostridium cellobioparum*, *Proteus mirabilis* và *Flavobacterium helmiphilum* và 15–30 mg/đĩa đối với các loài vi khuẩn *Chromobacterium violaceum*, *Clostridium fallax*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Shigella flexneri*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, và *Vibrio*

vulnificus. [92]. Hơn nữa hai hợp chất **22** và **24** đều thể hiện hoạt tính kháng nấm chống lại *Mycotypha microspore* và *Eurotium repens* với đường kính vòng vi khuẩn lần lượt là 2,5 cm và 2,5 cm của hợp chất **22** và hợp chất **24** thể hiện hoạt tính yếu hơn với đường kính vòng vi khuẩn tương ứng 2,0 cm và 1,8 cm [93].

Năm 2012, một hợp chất khác là *iso-obtusol* (**27**) cũng được tìm thấy từ loài sên biển *A. dactylomela* [22]. Hợp chất **27** thể hiện hoạt tính kháng khuẩn chống lại chủng *Klebsiella pneumonia* và *Salmonella* sp.. Nó cho thấy giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là 1,5 và 1,0 mg/ml đối với *K. pneumonia* và *Salmonella* sp. và với cùng kết quả thu được 19-24 mm. Mức độ kháng khuẩn tương đương với các kháng sinh thương mại chống lại hai loại vi khuẩn này, bao gồm: augmentin, latamoxef, cefaclor, ceftriaxone và kanamycin [94]. Hợp chất paciferol (**33**) được phân lập từ loài *A. dactylomela* [26]. Những nghiên cứu hoạt tính sinh học cho thấy hợp chất **33** có hoạt tính chống lại vi khuẩn Gram âm *Pseudomonas aeruginosa* [95].

Năm 2010, hợp chất sesquiterpene là cupalaurenol (**71**), được phân lập từ sên *A. dactylomela* [37]. Hợp chất **71** thể hiện ức chế mạnh đối với các chủng vi khuẩn *Staphylococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, và *Salmonella* sp., với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là 125 µg/mL đối với tất cả các chủng [96]. Năm 2005, từ loài sên biển *A. kurodai* phát hiện được các hợp chất laurinterol (**77**), laurinterol acetate (**78**), debromolaurinterol (**79**), và debromolaurinterol acetate (**80**) [38]. Các hợp chất **77** và **79** (đường kính vòng vi khuẩn lần lượt 16 mm và 10 mm) có hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn các hợp chất acetate tương ứng **78** và **80** (có đường kính vòng vi khuẩn 7 mm và 6 mm) tại MIC là 50 µg/mL trên chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus*. Điều này cũng giải thích được các hợp chất được hấp thụ vào sên biển và được sinh tổng hợp chuyển hóa thành các hợp chất acetate để giảm tính độc của các hợp chất ban đầu và giúp sên biển thích nghi và không ảnh hưởng đến cơ thể của sên biển. Một nghiên cứu khác cũng cho thấy hai hợp chất sesquiterpene allolaurinterol (**85**), isolaurenisol (**87**) chứa các nhóm phenol tự do, có hoạt tính kháng khuẩn đáng kể chống lại *Bacillus subtilis* và hoạt tính vừa phải đối với nấm *Trichophyton mentagrophytes*. Mặt khác, các dẫn xuất acetate tương ứng allolaurinterol acetate (**86**) và isolaurenisol acetate (**88**) có hoạt tính kháng khuẩn kém hiệu quả với *B. subtilis* [40]. Hợp chất **105** thể hiện tác dụng mạnh đối với các chủng vi khuẩn *Staphylococcus* sp., *S. aureus* và *Salmonella* sp. [96].

Năm 1983, hợp chất diterpene acetoxycrenulide (**108**) phát hiện từ loài *A. vaccaria* [49]. Hợp chất **108** có hoạt tính kháng khuẩn trên hai chủng vi khuẩn biển *Paracoccus* sp. và *Pseudoalteromonas* sp. với các giá trị EC₅₀ lần lượt là 69,0 µM và 82,0 µM [97].

Năm 1986, hợp chất sterol ($3\beta,5\alpha,8\alpha$)-5,8-epidioxycholest-6-en-3-ol (**155**) được tìm thấy trong loài *A. depilans* [68]. Hợp chất **155** thể hiện hoạt tính kháng khuẩn với giá trị IC_{50} là 4,9 μ M đối với loài *Leishmania donovani*, nhưng không có tác dụng với loài vi khuẩn *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma cruzi* [98].

1.2.2.3. Một số hoạt tính sinh học khác

Một hợp chất có khung chamigrane sesquiterpene là elatol (**22**), được phân lập từ loài sên *A. dactylomela* thể hiện hoạt tính sinh học đa dạng, ví dụ hoạt tính diệt ký sinh trùng chống lại bộ xít hút máu như *Trypanosoma cruzi* và *Leishmania amazonensis* [99], và diệt ấu trùng chống lại muỗi sốt xuất huyết *Aedes aegypti* [100].

Một nghiên cứu khác vào năm 1999, hợp chất nidificene (**37**) được tìm thấy từ loài sên biển *A. dactylomela* [28]. Hợp chất này được phát hiện có hoạt tính kháng vi rút chống lại vi rút herpes (HSV-1), nhóm exomethylene là nhân tố chính cho hoạt tính kháng vi rút [101].

Năm 1981, Gopichand và các cộng sự phân lập được hợp chất 8-deoxyisocaespitol (**55**) từ loài sên biển *A. dactylomela* [33]. Hợp chất **55** cho thấy tác dụng diệt ấu trùng và giun trong đối với *Caenorhabditis elegans* [8].

Năm 1963, Yamamura và Hirata đã phân lập từ loài sên *A. kurodai* thu được hợp chất aplysin (**81**) [39]. Một nghiên cứu khác cho thấy chất **81** có tác dụng bảo vệ đáng kể đối với tổn thương gan ở chuột được điều trị bằng ethanol bằng cách điều chỉnh con đường chuyển hóa ethanol, giảm căng thẳng, cải thiện chức năng ty thể và ức chế quá trình mao quản qua trung gian tổn thương ty thể, cuối cùng là ngăn ngừa chữa tổn thương gan do bia rượu [102].

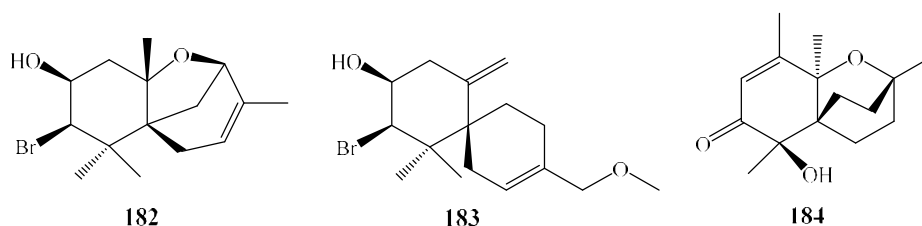
Hai hợp chất deoxyparguerol (**118**) và isoparguerol (**121**) đã được biết trước đây từ mẫu sên *A. dactylomela* [52]. Hai hợp chất **118** và **121** gây ra sự phát triển dinh dưỡng thần kinh đáng kể với tế bào tuyến thượng thận PC-12 ở các nồng độ lần lượt là 25,0 và 50,0 μ M [53]. Dòng tế bào này có khả năng biệt hóa thành tế bào thần kinh khi được kích thích bởi yếu tố tăng trưởng thần kinh (NGF). PC-12 được sử dụng để nghiên cứu các quá trình như biệt hóa tế bào thần kinh, chức năng tế bào hạt, và phản ứng của tế bào đối với các yếu tố môi trường như điện từ trường (EMF), cho thấy chúng có thể được sử dụng trong điều trị các chứng rối loạn thoái hóa tế bào thần kinh khác nhau.

Năm 2009, Vera và các cộng sự nghiên cứu về loài sên *A. dactylomela* đã phân lập được aplysqualenol A (**129**), aplysqualenol B (**130**) [88]. Một nghiên cứu của Viện Ung thư Quốc gia (NCI) cho thấy hợp chất **129** thể hiện hoạt tính ức chế chống

lại hệ thần kinh trung ương SNB-19 (CNS) với giá trị IC_{50} lần lượt là 0,4 $\mu\text{g/mL}$ [88]. Hơn nữa hợp chất **129** có khả năng kháng vi rút chống lại vi rút *Herpes simplex* loại 1 (HSV-1) và loại 2 (HSV-2), vi rút *Varicella zoster* (VZV) và *Cytomegalovirus* ở người (HCMV) [88]. Về hoạt tính chống co thắt, hai hợp chất **129** và **130** cho thấy tác dụng vừa phải với *Plasmodium falciparum* với giá trị IC_{50} là 11,0 và 18,0 $\mu\text{g/mL}$ tương ứng [88].

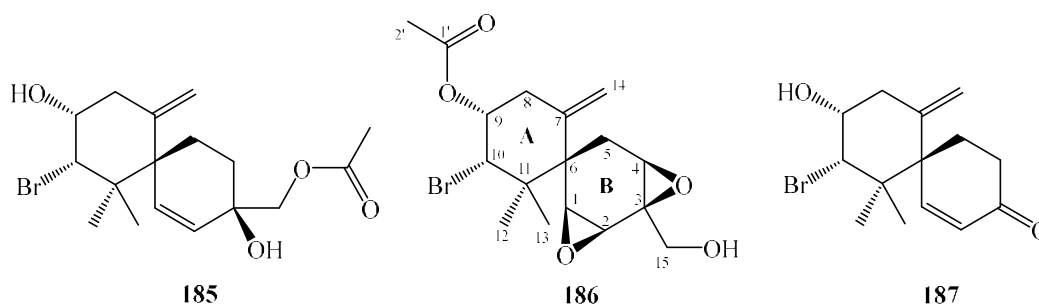
1.2.3. Một số nghiên cứu trong nước về loài sên biển thuộc giống *Aplysia*

Trong nước mới chỉ có hai nhóm nghiên cứu về sên biển. Nhóm nghiên cứu Phạm Thị Mai Hương và các cộng sự (2021) đã nghiên cứu về loài sên *A. dactylomela* (Hòn Mê, Thanh Hóa) được ba hợp chất mới aplydactylonin A (**182**), aplydactylonin B (**183**), aplydactylonin C (**184**). Cấu trúc của 3 hợp chất trên được xác định bằng các phương pháp phổ NMR, Xray và ECD kết hợp với các phương pháp tính toán lý thuyết hóa lượng tử. Hợp chất **183** thể hiện hoạt tính độc tế bào với ba dòng tế bào HepG2, DU145 và A549 với giá trị IC_{50} tương ứng là 4,08, 38,64 và 12,33 μM . Ngoài ra, hợp chất **183** còn được chứng minh có khả năng gây chết tế bào theo chương trình (apoptosis) đối với dòng tế bào ung thư gan người HepG2 [103].



Hình 1.14. Các hợp chất phân lập từ sên biển *A. dactylomela* - Hòn Mê, Thanh Hóa

Năm 2022, nghiên cứu của chính nghiên cứu sinh và các cộng sự cũng nghiên cứu về loài sên *A. dactylomela* (thu tại Nhật Lệ, Quảng Trị). Kết quả phân lập được bốn hợp chất là dactylomelanin A (**185**), dactylomelanin B (**186**) và hai hợp chất đã biết ma'ilone (**187**) và (3 β ,5 α ,8 α)-5,8-epidioxycholest-6-en-3-ol (**155**). Hai hợp chất **185** và **186** được xác định cấu trúc bằng phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân, kết hợp với các phương pháp tính toán lý thuyết NMR và ECD [104].



Hình 1.15. Các hợp chất phân lập từ sên biển *A. dactylomela* - Nhật Lệ, Quảng Trị

Kết quả nghiên cứu khảo sát cho thấy từ loài sên biển *A. dactylomela* phân được lớp chất sesquiterpene và có nhiều chất mới. Điển hình chất mới aplydactylonin B (**183**) thể hiện hoạt tính độc tế bào mạnh với hai dòng tế bào HepG2 và A549 với giá trị IC₅₀ tương ứng là 4,08 và 12,33 μ M. Đây là tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo về các loài sên biển. Do vậy, nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học từ các loài sên ở Việt Nam là cần thiết, cần nhiều nghiên cứu hơn để tìm kiếm nhiều chất mới cũng như hoạt tính sinh học của chúng.

1.3. Đặc điểm hai loài sên biển thuộc giống *Aplysia*

1.3.1. Đặc điểm loài sên biển *Aplysia dactylomela*

Sên biển *Aplysia dactylomela* thường có màu vàng nhạt đến xanh lục, điều này thay đổi rất nhiều tùy theo thức ăn mà chúng tiêu thụ, chúng có thể có nhiều màu cam hơn nếu chế độ ăn của chúng chủ yếu là tảo đỏ. Một đặc điểm giúp phân biệt *A. dactylomela* với các loài khác trong giống của nó là các vòng đen không đều bao phủ cơ thể. Bề mặt lưng của lớp áo và parapodia được đánh dấu bằng các đốm đen không đều tạo thành các vòng không hoàn chỉnh, trong khi phần còn lại của cơ thể được đánh dấu bằng các vòng hoàn chỉnh hơn. Bàn chân rộng và phát triển tốt, đầu trước tròn, đầu sau nhọn hơn. Bàn chân có kết cấu thô ráp, trái ngược với bề mặt mềm mịn của phần còn lại của cơ thể. Parapodia là phần mở rộng của bàn chân, ở *A. dactylomela* chúng cao và mỏng, cho phép động vật bơi trong nước. Lớp vỏ thu nhỏ được bao phủ bởi lớp áo và mang nằm ở phía bên phải của lớp áo, giữa lớp vỏ và cơ parapodia bên phải [105].

Trứng của *A. dactylomela* thường được nhìn thấy ở các thảm cỏ, ở độ sâu bãi triều khoảng 3 mét, chúng xuất hiện dưới dạng một chuỗi dài có màu xanh lục hoặc nâu có nhiều màu sắc khác nhau. Số lượng lớn trứng được sản sinh ở trong sinh vật phù du trong thời gian dài một tháng. Sau giai đoạn này, ấu trùng định cư trên tảo nơi chúng phát triển. Chúng tiếp tục kiếm ăn và phát triển đến tuổi trưởng thành về mặt sinh dục. Tảo đỏ *Laurencia* đã được chứng minh là có tác dụng kích thích tới màu sắc của sên biển, và thành phần hóa học của chúng cũng có sự tương đồng với nhau [106].

Giống như tất cả các loài *Aplysia*, *A. dactylomela* là loài lưỡng tính. Cơ quan sinh dục nam nằm ngay dưới gốc xúc tua trước bên phải, nằm giữa mắt phải và miệng phải. Một rãnh có lông chuyển rõ rệt kéo dài về phía sau từ cơ quan sinh dục đực giữa cơ quan chân đến lỗ lưỡng tính, được đánh dấu bằng một vết lõm tối. Rãnh được đánh dấu bằng một đường hẹp màu đen kéo dài từ lỗ sinh dục đến ống lưỡng tính. Khi giao phối, một con *A. dactylomela*, đóng vai con đực sẽ leo một phần lên con *A.*

dactylomela thứ hai, đóng vai con cái, đưa bộ gen đực và giải phóng tinh trùng vào ống lưỡng tính của con thứ hai. Theo cách này, chúng tạo thành chuỗi gồm tối đa 12 sinh vật, mỗi sinh vật đóng vai trò đồng thời là đực và cái, sinh vật đầu tiên trong chuỗi chỉ đóng vai trò là con cái và sinh vật cuối cùng chỉ đóng vai trò là con đực [107]. *A. dactylomela* có khả năng bơi và bò. Nó tiến tới phía trước bằng cách tạo ra một cái phễu bằng cách sử dụng parapodia (phần màng, tua nhô ra khỏi cơ thể) gấp về phía trước và hướng xuống dưới, hành động này kéo nước vào. Sau đó, nó đẩy nước ra khỏi phía sau con vật bằng cách ấn các phần trước của parapodia lại với nhau, do đó đạt được chuyển động về phía trước. Phương thức di chuyển thông thường của sên biển là bò; nó bò bằng cách nhấc đầu trước của bàn chân lên, duỗi về phía trước rồi đặt xuống đất phía trước, tạo thành hình vòng cung, phần còn lại của cơ thể tuân theo kiểu uốn cong này cho đến khi chạm tới đuôi [108].

1.3.2. Đặc điểm loài sên biển *Aplysia oculifera*

Sên biển Ấn Độ-Thái Bình Dương *Aplysia oculifera* (Adams & Reeve, 1850), là loài động vật ăn cỏ quan trọng theo mùa, chủ yếu sống về đêm, ở các vùng bãi triều và cận triều của các bờ biển nhiều đá ở phía bắc Vịnh Eilat (Aqaba), Biển Đỏ. Sên biển *A. oculifera* có thể được tìm thấy ở vùng nước nông, thường sâu từ 1-10 mét, tại Đại Tây Dương. Những sinh vật này ưa thích các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, nơi nhiệt độ nước dao động từ 15-25°C, cho phép chúng phát triển mạnh trong môi trường biển. Nó xuất hiện từ tháng 12 đến tháng 5 và ăn các loài tảo xanh (*Enteromorpha intestinals* và *Ulwa* sp.). Các quan sát được thực hiện từ năm 1988 đến năm 1992 tại sáu địa điểm có khoảng cách gần nhau cho thấy sự khác biệt lớn về cả kích thước cơ thể và tốc độ sinh sản giữa các quần thể khác nhau trong cùng một mùa và giữa các năm [109]. Để sinh sống thành công trong môi trường sống không thể đoán trước, sên biển phải có khả năng sử dụng tài nguyên một cách hiệu quả bằng cách đạt năng suất cao vào những thời điểm tảo dồi dào, nhưng cũng phải có khả năng tồn tại và sinh sản khi tảo khan hiếm. Sên biển sinh con với số lượng tương quan với kích thước cơ thể, từ đó liên quan đến nguồn thức ăn sẵn có [109]. Khi thức ăn khan hiếm, chúng có thể phân bổ nguồn lực để sinh sản ở giai đoạn đầu khi có kích thước cơ thể nhỏ. Điều này sẽ dẫn đến số lượng con thấp, nhưng sẽ đảm bảo sự liên tục của quần thể trong năm tiếp theo.

Sên biển *A. oculifera* này là động vật ăn cỏ, nghĩa là chúng chủ yếu ăn các loại thực phẩm có nguồn gốc thực vật như tảo và rong biển, có thể ăn tới 50% trọng lượng cơ thể của chúng là tảo mỗi ngày. Chúng sử dụng radula, một cấu trúc giống như lưỡi với những chiếc răng nhỏ, để cạo và nghiền thức ăn, cho phép chúng tiêu thụ một

lượng lớn tảo và giúp cân bằng hệ sinh thái biển, điều này rất quan trọng đối với sự duy trì hệ sinh thái của đại dương.

Thức ăn của sên biển chủ yếu là các loại tảo như *Laurenica* sp. và *Plocamium* sp.. Do đó thành phần hóa học giữa sên biển và các loại tảo này có cấu trúc gần giống nhau. Theo chiến lược phòng vệ bằng hóa chất, sên biển dự trữ và tập trung thức ăn trong các tuyến tiêu hóa [5], và do đó, các tuyến này là nguồn cung cấp dồi dào các chất chuyển hóa độc hại bao gồm polyketide, alkaloid, peptide và terpene [110]. Ngoài các chất tiêu hóa này các tuyến là một nguồn sản phẩm tự nhiên đa dạng, các nghiên cứu trước đây đã xác định rằng các chất chuyển hóa như vậy cũng là một nguồn phong phú các thành phần có hoạt tính sinh học, từ các chất gây độc tế bào nói chung đến các chất chống ung thư nhắm vào các bệnh ung thư cụ thể. Hoạt tính sinh học như vậy đã làm cho sên biển trở thành nguồn cung cấp các sản phẩm tự nhiên mới đầy hứa hẹn có tiềm năng cao [8, 111].

Tổng quát lại cho thấy giống sên biển *Aplysia* là một nhóm động vật thân mềm sống ở vùng biển nhiệt đới và cận nhiệt đới, có khả năng hấp thu, biến đổi và tích lũy nhiều hợp chất tự nhiên có nguồn gốc từ tảo và vi sinh vật biển. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy, nhiều loài *Aplysia* đã được phát hiện chứa các hợp chất thứ cấp đa dạng như alkaloid, terpenoid, polyketide, peptide, cùng nhiều dẫn xuất đã được chứng minh có hoạt tính sinh học đáng chú ý, đặc biệt là kháng khuẩn, kháng ung thư, chống oxy hóa và kháng viêm. Khả năng tự acetyl hóa hoặc biến đổi hóa học một số chất độc từ nguồn thức ăn để giảm độc tính và tạo ra các cấu trúc mới cũng là đặc điểm sinh học nổi bật, góp phần làm giàu thêm kho tàng hợp chất thiên nhiên có tiềm năng được học.

Do vậy, việc tiến hành nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học của giống sên biển *Aplysia* không chỉ góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu về đa dạng sinh học và hóa học tự nhiên ở biển Việt Nam, mà còn mở ra những định hướng mới trong khai thác, sàng lọc nguồn nguyên liệu biển phục vụ phát triển thuốc và sản phẩm sinh học. Đây cũng chính là cơ sở khoa học - thực tiễn quan trọng cho định hướng nghiên cứu tiếp theo.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Mẫu sên biển *Aplysia dactylomela* - đảo 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 Khoa học Công nghệ Năng Lượng và Môi trường, 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 Nghiên cứu sinh vật biển, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.1. Sên biển *A. dactylomela* - Phú Quý, Lâm Đồng

2.1.2. Mẫu sên biển *Aplysia dactylomela* - đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi

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



Hình 2.2. Sên biển *A. dactylomela* - Lý Sơn, Quảng Ngãi

2.1.3. Mẫu sên biển *Aplysia oculifera* - vịnh 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 và TS. Trần Mỹ Linh, Phòng Nghiên cứu sinh vật biển, Viện Hóa học giám định bằng phương pháp sinh học phân tử. Mẫu tiêu bản được ngâm trong cồn và lưu giữ tại Phòng Nghiên cứu sinh vật biển, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.3. Sên biển *A. oculifera* - Lăng Cô, Huế

2.2. Vật liệu và thiết bị nghiên cứu

2.2.1. Vật liệu và hóa chất nghiên cứu

- Các dòng tế bào ung thư phổi (A549), ung thư vú (MCF-7) và ung thư gan (HepG2) và ung thư cổ tử cung (Hela) do ATCC cung cấp.

- Môi trường nuôi cấy tế bào: DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) hoặc MEME (Minimum Essential Medium with Eagle salt) (Invitrogen), có bổ sung thêm L-glutamine (Invitrogen), sodium pyruvate (Invitrogen), NaHCO_3 , penicillin/streptomycin (Invitrogen), 10% FBS (Fetal Bovine Serum) (Invitrogen), Trypsin-EDTA (0,05%) của Invitrogen (Hoa Kỳ).

- Đĩa 96 giếng nhựa và đĩa nuôi cấy tế bào sáu giếng nhựa (Corning, USA), pipette (eppendorf), máy đọc ELISA 96 giếng (BioRad).

- Kính hiển vi soi ngược (Axiovert 40 CFL); buồng đếm tế bào (Fisher); tủ ấm CO_2 (Sanyo), tủ lạnh sâu -80°C (Biobase), bình nitơ lỏng (Trung Quốc), cân phân tích (Ohaus), máy đo pH và các dụng cụ thí nghiệm thông thường

- Chất tham khảo: camptothecin (AK Scientific).

- Các hóa chất cơ bản khác: DMSO (Dimethyl sulfoxide) (Fisher), PBS (phosphate buffered saline) (Gibco), camptothecin, MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), axit axetic (Trung Quốc) v.v.

- Các hóa chất cho sắc ký và phân lập hợp chất: silica gel pha thường 0,040-0,063 mm (240-430 mesh), pha đảo RP C-18, YMC (12 nm, S – 150 μ m, Karasuma-Gojo) và sephadex LH-20. Nhựa trao đổi ion Diaion HP-20 (Misubishi Chem. Ind. Co., Ltd.). Các hóa chất này xuất xứ từ Đức do hãng Merck cung cấp. Các dung môi hữu cơ như *n*-hexane (95%), methanol (95%), dicloromethane (95%), acetone (95%), nước, ethyl acetate (95%) và có xuất xứ từ Trung Quốc, Malaysia.

- Dung môi sắc ký lỏng như methanol (99%), acetonitril (99%), hãng Fisher cung cấp và có xuất xứ Hàn Quốc.

- Các dung môi đo phổ như: CD_3OD , CD_3Cl , Acetone- d_6 được cung cấp bởi công ty hóa chất thương mại như Scharlau.

2.2.2. Thiết bị nghiên cứu

- Máy đo độ quay cực JASCO P-2000 Polarimeter của Viện Hoá học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1260 (Agilent Technologies, Mỹ) tại phòng Nghiên cứu sinh vật biển, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Máy đo ECD ChirscanTMECDspectrometer (Applied Photophysics Ltd., Surrey, UK) tại Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Máy đo phổ khối phân giải cao đo trên máy Agilent 6530 iFunnel Q-TOF LC/MS của Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Máy đo phổ NMR được ghi bằng máy BRUKER AVANCE 500 MHz và máy BRUKER ASCEND 600 MHz của Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Ngoài ra còn một số máy khác như máy sấy bản mỏng, máy hứng phân đoạn Fraction collecto 1200, máy cô quay chân không Eyela-N-1110...

2.3. Phương pháp nghiên cứu các hợp chất từ mẫu nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp phân lập các hợp chất

Một số phương pháp sắc ký được sử dụng để phân lập các hợp chất thứ cấp từ sên biển như sau:

2.3.1.1. Sắc ký bản mỏng (Thin layer chromatography - TLC)

Sắc ký bản mỏng - TLC là phương pháp nghiên cứu hiệu quả để phân tích và xác định số lượng các nhóm chất khác nhau có trong thành phần dịch chiết sinh vật biển hoặc các phân đoạn tách ra từ đó.

2.3.1.2. Sắc ký cột (Column chromatography - CC)

Sắc ký cột là phương pháp thường quy được sử dụng để tách phân đoạn các nhóm chất khác nhau từ dịch chiết hỗn hợp ban đầu như các dịch chiết mẫu biển. Các chất có trọng lượng và kích cỡ phân tử khác nhau cũng như có cấu trúc hóa học khác nhau sẽ được phân tách thành các phân đoạn hóa học khác nhau.

2.3.1.3. Sắc ký lỏng hiệu năng cao (High Performance Liquid Chromatography-HPLC)

Sắc ký lỏng điều chế hiệu năng cao được tiến hành trên hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1260 (Agilent Technologies, Mỹ). Dựa trên thời gian lưu của các chất trên đường nền UV để xác định được tín hiệu của các chất và tinh chế được hợp chất tinh khiết.

2.3.2. Phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được

2.3.2.1. Độ quay cực ($[\alpha]_D$)

Dựa trên độ quay cực cho gợi ý cấu trúc lập thể tương đối của một hợp chất khi có một chất có khung chất tương tự và cấu hình đã được công bố.

2.3.2.2. Phổ lưỡng sắc tròn (ECD)

Dựa trên phổ ECD thực nghiệm và sau đó dùng phương pháp tính toán ECD thì xác định được cấu hình tuyệt đối của các vị trí bất đối trong một số hợp chất cần xác định cấu hình lập thể.

2.3.2.3. Phổ khối phân giải cao (HR-ESI-MS)

Dựa trên phổ khối phân giải cao xác định được các peak ion giả phân tử của hợp chất cần xác định, từ đó xác định được công thức ion giả phân tử, xác định được công thức phân tử và khối lượng phân tử của hợp chất.

2.3.2.4. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

Các kỹ thuật phổ cộng hưởng từ hạt nhân được sử dụng bao gồm:

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều (1D NMR): ^1H NMR, ^{13}C NMR và DEPT;

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều (2D NMR): HSQC, HMBC, COSY và NOESY/ROESY.

Dung môi được sử dụng bao gồm các dung môi: acetone- d_6 , CDCl_3 , CD_3OD , DMSO- d_6 ... Việc lựa chọn dung môi đo phụ thuộc vào bản chất của từng mẫu, theo nguyên tắc dung môi phải hòa tan hoàn toàn mẫu thử.

Dựa vào phổ 1D, 2D xác định được cấu trúc phẳng của hợp chất cũng như xác định được cấu trúc lập thể tương đối của hợp chất cần xác định cấu trúc.

2.3.2.5. Phương pháp tính toán NMR và ECD

Tất cả các phép tính bằng lý thuyết hàm mật độ (Density Functional Theory - DFT) đều được thực hiện bằng phần mềm Gaussian 16 [112].

Cấu dạng của các hợp chất được phân tích bằng phần mềm Spartan'14, sử dụng trường lực Cơ học Phân tử MMFF cho tất cả các hợp chất ngoại trừ hợp chất **ADB11** được phân tích bằng phương pháp bán kinh nghiệm PM3. Các đồng dạng thu được có năng lượng tương đối trong khoảng 5 kcal/mol (so với cấu dạng có năng lượng thấp nhất) tiếp tục được tính toán tối ưu hóa hình học bằng phương pháp lý thuyết hàm mật độ (DFT) ở các mức lý thuyết khác nhau trong chân không hoặc sử dụng mô hình mô phỏng dung môi liên tục phân cực (IEFPCM), chi tiết được trình bày trong bảng 2.1. Các đồng dạng đã tối ưu hình học có phân bố Boltzman lớn hơn 1% sẽ tiếp tục được lựa chọn để tính toán độ chuyển dịch hóa học NMR và phổ ECD.

Các tính toán NMR của các hợp chất **ADA1** và **ADB11** được thực hiện ở mức lý thuyết mPW1PW91/6-31+G(d,p)/IEFPCM-CHCl₃ bằng phương pháp orbital nguyên tử độc lập chuẩn đo (Gauge Independent Atomic Orbitals - GIAO) [113]. Các giá trị che chắn được tính trung bình theo lý thuyết phân bố Boltzmann. Dữ liệu NMR của methanol và benzen được tính toán ở cùng một mức lý thuyết và được sử dụng làm chất chuẩn để tính toán độ chuyển dịch hóa học (δ_u) cho các loại carbon lai hóa khác nhau [114]. Độ dịch chuyển hóa học hiệu chỉnh (δ_{calc}) được tính bằng công thức $\delta_{calc} = (\delta_u - b)/m$, trong đó m và b lần lượt là độ dốc và tung độ gốc thu được từ đồ thị hồi quy tuyến tính của độ dịch chuyển hóa học lý thuyết so với thực nghiệm (δ_{exp}). Độ dịch chuyển hóa học NMR thực nghiệm và tính toán được so sánh dựa trên các thông số thống kê như: sai số tuyệt đối trung bình đã hiệu chỉnh (Corrected Mean Absolute Error - CMAE), độ lệch bình phương trung bình trong căn (Root Mean Square Deviation - RMSD), hệ số tương quan tuyến tính (R^2) và phương pháp sắc xuất DP4+ [113], trong đó:

$$CMAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |\delta_{exp} - \delta_{calc}|$$

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\delta_{exp} - \delta_{calc})^2}$$

Phổ ECD của các hợp chất được tính toán bằng phương pháp lý thuyết hàm mật độ phụ thuộc thời gian (Time-Dependent Density Functional Theory - TD-DFT) ở các cấp độ lý thuyết khác nhau (bảng ...). Phổ ECD của mỗi hợp chất được thu được bằng phần mềm SpecDis 1.71 trên cơ sở tính trung bình theo trọng số Boltzmann của các đồng dạng ở 298 K.

Bảng 2.1. Cấp độ tính toán lý thuyết của các hợp chất

STT	Hợp chất	Tính toán tối ưu hóa	Tính toán ECD
1	ADA1	B3LYP/6-31G(d)	CAM-B3LYP/cc-PVTZ/IEFPCM-MeOH
2	ADA2		
3	ADA4		
4	ADB2	B3LYP/6-31G(d)/IEFPCM-ACN	CAM-B3LYP/LanL2DZ/IEFPCM-ACN
5	ADB3		
6	ADB4		
7	ADB6	ω B97X-D/6-311+G(d,p)/IEFPCM-ACN	B3LYP/631+G(d,p)/IEFPCM-ACN
8	ADB7	B3LYP/6-31G(d,p)/IEFPCM-ACN	B3LYP/6311+G(d,p)/IEFPCM-ACN
9	ADB11	B3LYP/6-31G(d) (sử dụng để tính NMR) B3LYP/6-311+G(2d,p)/IEFPCM-MeOH (sử dụng để tính ECD)	B3LYP/cc-PVDZ/IEFPCM-MeOH
10	AOB1	B3LYP-D3BJ/6-31G(d)/IEFPCM-ACN	B3LYP/cc-PVDZ/IEFPCM-ACN
11	AOB2		B3LYP/cc-PVDZ/IEFPCM-ACN
12	AOB3		B3LYP/LanL2DZ/IEFPCM-ACN
13	AOB4		PBE0/cc-PVDZ/IEFPCM-ACN
14	AOB5		CAM-B3LYP/LanL2DZ/IEFPCM-ACN
15	AOB6		M062X/631G(d,p)/IEFPCM-ACN
16	AOB7		PBE0/cc-PVDZ/IEFPCM-ACN

2.3.3. Phương pháp thử gây độc tế bào ung thư (Phương pháp MTT)

Phương pháp thử độ độc tế bào *in vitro* được Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (National Cancer Institute - NCI) xác nhận là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện các chất có khả năng gây độc tế bào ở điều kiện *in vitro*. Phương pháp này lần đầu tiên được miêu tả bởi Tim Mosmann trên tạp chí *Immunological Methods* năm 1983. Tác giả sử dụng muối tetrazolium (MTT-(3-(4,5-

dimethylthiazol-2-yl)- 2,5-diphenyltetrazolium)) làm thuốc thử trong phép so màu, qua đó đánh giá về sự sống sót và khả năng phát triển của tế bào. Vòng tetrazolium của thuốc thử bám chặt vào ti thể của tế bào hoạt động. Dưới tác dụng của enzym dehydrogenase trong tế bào, màu vàng của MTT biến đổi thành màu tím formazan [115]. Phép thử được thực hiện trong điều kiện cụ thể như sau:

- Chất thử (20 μ l) được đưa vào các giếng của khay 96 giếng để có nồng độ 100 μ g/ml; 20 μ g/ml; 4 μ g/ml; 0,8 μ g/ml.

- Sau khi điều chỉnh để có mật độ tế bào phù hợp, hút 180 μ l tế bào vào các giếng của khay 96 giếng đã có chất thử. Trên cùng một đĩa thử, bố trí một số giếng để làm đối chứng không có mẫu thử, chỉ có dung môi pha mẫu là DMSO 10%.

- Để đĩa nuôi cấy vào trong tủ ẩm CO₂ ở điều kiện 37°C, 5% CO₂, nuôi trong thời gian 72 giờ.

- Sau 72 giờ, 10 μ l MTT (5mg/ml) được cho vào mỗi giếng.

- Sau 4h, loại bỏ môi trường, tinh thể formazan được hòa tan bằng 50 μ l DMSO 100%.

- Giá trị OD đo ở bước sóng 540nm bằng máy quang phổ.

- Lượng tế bào sống sót sẽ được tính theo công thức:

$$\% \text{ sống sót} = \frac{\text{OD(chất thử)} - \text{OD(đối chứng trắng)}}{\text{OD(DMSO)} - \text{OD(đối chứng trắng)}}$$

$$\% \text{ ức chế} = 100\% - \% \text{ sống sót}$$

- Các phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Camptothecin (Sigma) luôn được sử dụng như là chất đối chứng dương và được thử nghiệm ở các nồng độ 10 μ g/ml; 2 μ g/ml; 0,4 μ g/ml; 0,08 μ g/ml.

- DMSO 10% luôn được sử dụng như đối chứng âm. Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% sự phát triển của tế bào) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

Theo tiêu chuẩn của Viện ung thư quốc gia Hoa Kỳ (NCI), căn chiết được coi có hoạt tính tốt với IC₅₀ $\leq$ 20 μ g/ml, trong khi chất tinh khiết được coi có hoạt tính tốt (hit compound) khi IC₅₀ $\leq$ 10 μ M, IC₅₀ > 50 μ M được coi là không có hoạt tính [116].

2.4. Thực nghiệm

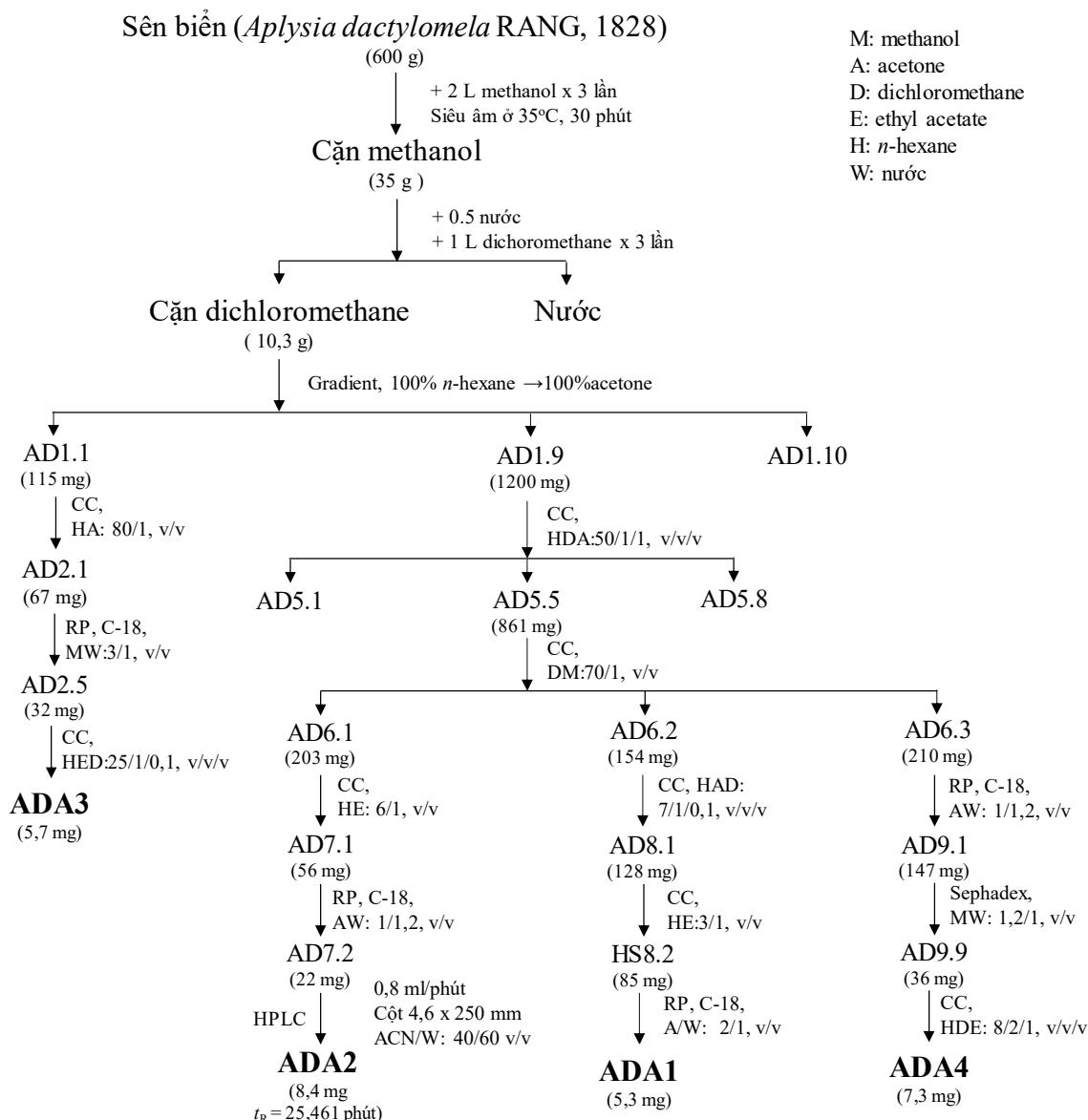
2.4.1. Phân lập các hợp chất từ loài sên biển *A. dactylomela* thu từ đảo Phú Quý, Lâm Đồng

Sên biển *A. dactylomela* (600 g) thu được ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng, sau đó xay nhuyễn và ngâm chiết với methanol (2 lít), siêu âm ở 35°C trong 30 phút, lọc dịch chiết và cô cạn trên máy cất quay dưới áp suất thấp. Lặp lại thêm hai lần chiết như trên thì thu được cặn chiết methanol (35 g). Sau đó hòa tan cặn này với 0,5 lít nước và chiết phân lớp với dung môi hữu cơ dichloromethane (1 lít), lắc đều, để lắng, chiết lớp dịch dichloromethane bên dưới, cô cạn dịch này trên máy cất quay. Lặp lại chiết thêm 2 lần thu được cặn chiết phân đoạn dichloromethane (10,3 g). Tiến hành sắc ký cặn dichloromethane trên cột silica gel với hệ dung môi gradient (100% *n*-hexane → 100% acetone) thu được 10 phân đoạn AD1.1 → AD1.10. Từ phân đoạn AD1.1 (115 mg) tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane/acetone (80/1, v/v) thu được phân đoạn AD2.1 (67 mg), từ phân đoạn này tiếp tục sắc ký trên cột pha đảo RP-C18 cùng với hệ dung môi rửa giải methanol/nước (3/1, v/v) thu được phân đoạn AD2.5 (32 mg). Từ phân đoạn AD2.5 sắc ký trên một cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane/ethyl acetate/dichloromethane (25/10/0,1, v/v/v) thu được hợp chất sạch **ADA3** (5,7 mg).

Từ phân đoạn AD1.9 (1200 mg) tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane/dichloromethane/acetone (50/1/1, v/v/v) thu được 8 phân đoạn nhỏ AD5.1 → AD5.8. Từ phân đoạn AD5.5 (861 mg) tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane/methanol (70/1, v/v) thu được 3 phân đoạn nhỏ AD6.1 → AD6.3. Từ phân đoạn nhỏ AD6.1 (203 mg) tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane/ethyl acetate (6/1, v/v) thu được phân đoạn AD7.1 (56 mg), từ phân đoạn này tiếp tục sắc ký trên cột pha đảo RP-C18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (1/1,2, v/v) thu được phân đoạn AD7.2 (22 mg). Từ phân đoạn AD7.2 sắc ký trên máy HPLC trên cột ZORBAX 300SB-C18, 4,6x250 mm, tốc độ dòng 0,8 ml/phút và hệ dung môi ACN/nước (40/60, v/v) thu được hợp chất sạch **ADA2** (8,4 mg, $t_R = 25,461$ phút).

Từ phân đoạn AD6.2 (154 mg) tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane/acetone/dichloromethane (7/1/0,1, v/v/v) thu được phân đoạn AD8.1 (128 mg). Từ phân đoạn AD8.1 sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane/ethyl acetate (3/1, v/v) thu được phân đoạn AD8.2 (85 mg). Từ phân đoạn AD8.2 tiếp tục sắc ký trên cột pha đảo RP-C18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (2/1, v/v) thu được hợp chất sạch **ADA1** (5,3 mg). Hợp chất **ADA4** (7,3 mg) cũng

thu được khi sắc ký phân đoạn AD6.3 (210 mg) trên 3 cột sắc ký cùng các hệ dung môi rửa giải thích hợp.



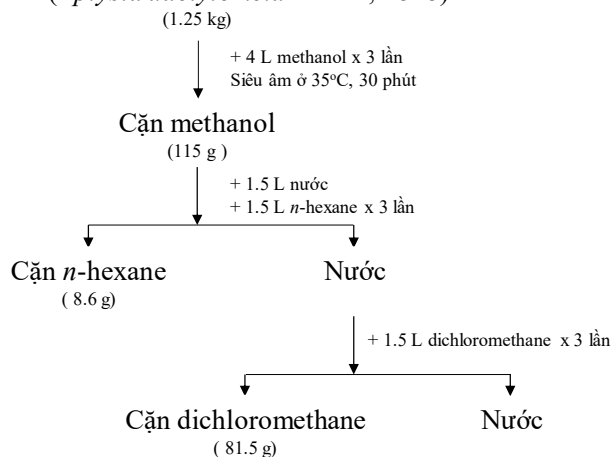
Hình 2.4. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ sên biển *A. dactylomela*

2.4.2. Phân lập các hợp chất từ loài sên biển *A. dactylomela* thu từ đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi

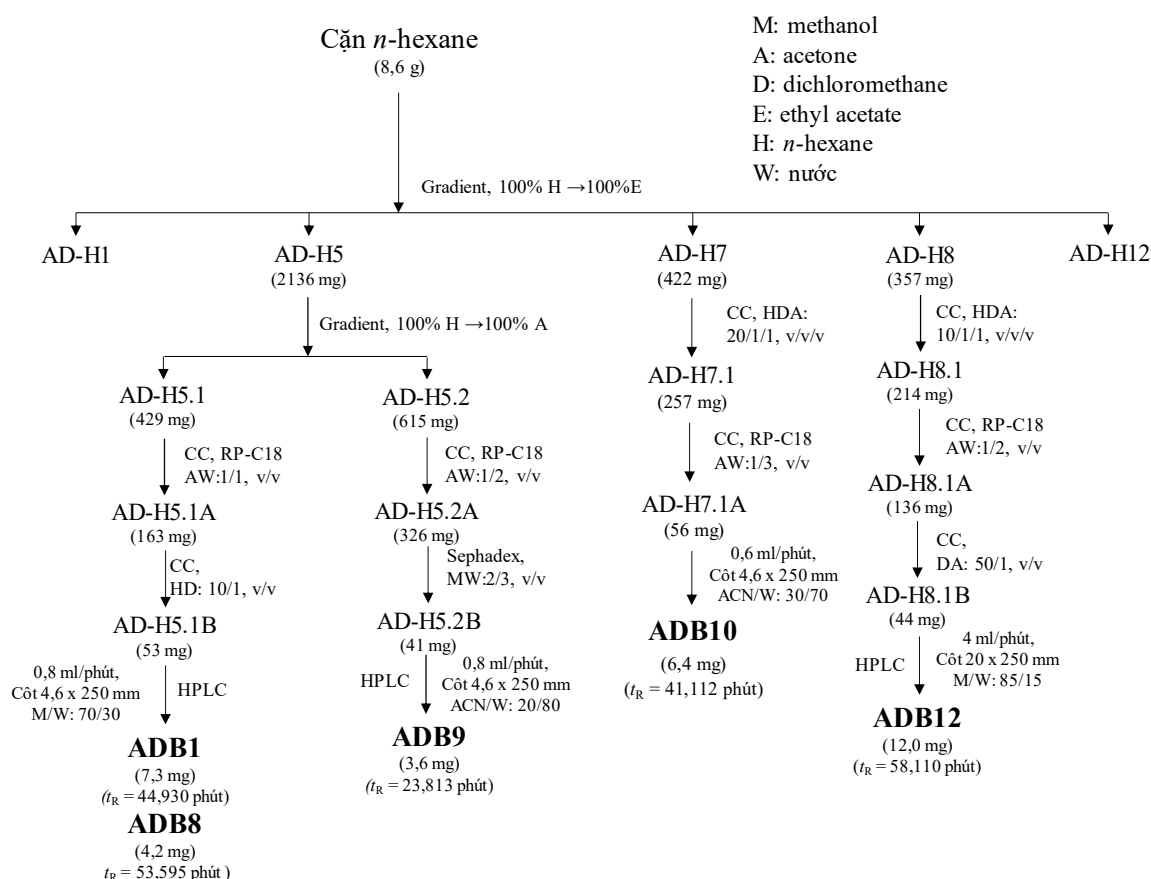
Sên biển *A. dactylomale* (1,25 kg) thu được ở Quảng Ngãi, sau đó xay nhuyễn và ngâm chiết với methanol (4 lít), siêu âm ở 35°C trong 30 phút, lọc dịch chiết và cô cạn trên máy cất quay dưới áp suất thấp ở nhiệt độ 50°C. Lặp lại thêm hai lần chiết như trên thì thu được cặn chiết methanol (115 g). Sau đó hòa tan cặn này với 1,5 lít nước và chiết phân lớp với dung môi hữu cơ *n*-hexane (1,5 lít), lắc đều, để lắng, chiết lớp dịch *n*-hexane bên trên, cô cạn dịch này trên máy cất quay áp suất giảm và ở nhiệt độ 50°C. Lặp lại chiết thêm 2 lần thu được cặn chiết *n*-hexane (8,6 g). Phần dịch nước còn lại tiếp tục tiến hành chiết với dung môi có độ phân cực hơn dichloromethane

(1,5 lít), lắc đều hỗn hợp, để lắng phân lớp thành hai lớp, chiết lấy lớp dịch dichloromethane phía bên dưới, cô quay dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 50°C. Lặp lại chiết thêm hai lần thu được cặn chiết dichloromethane (81,5 g).

Sên biển (*Aplysia dactylomela* RANG, 1828)



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*

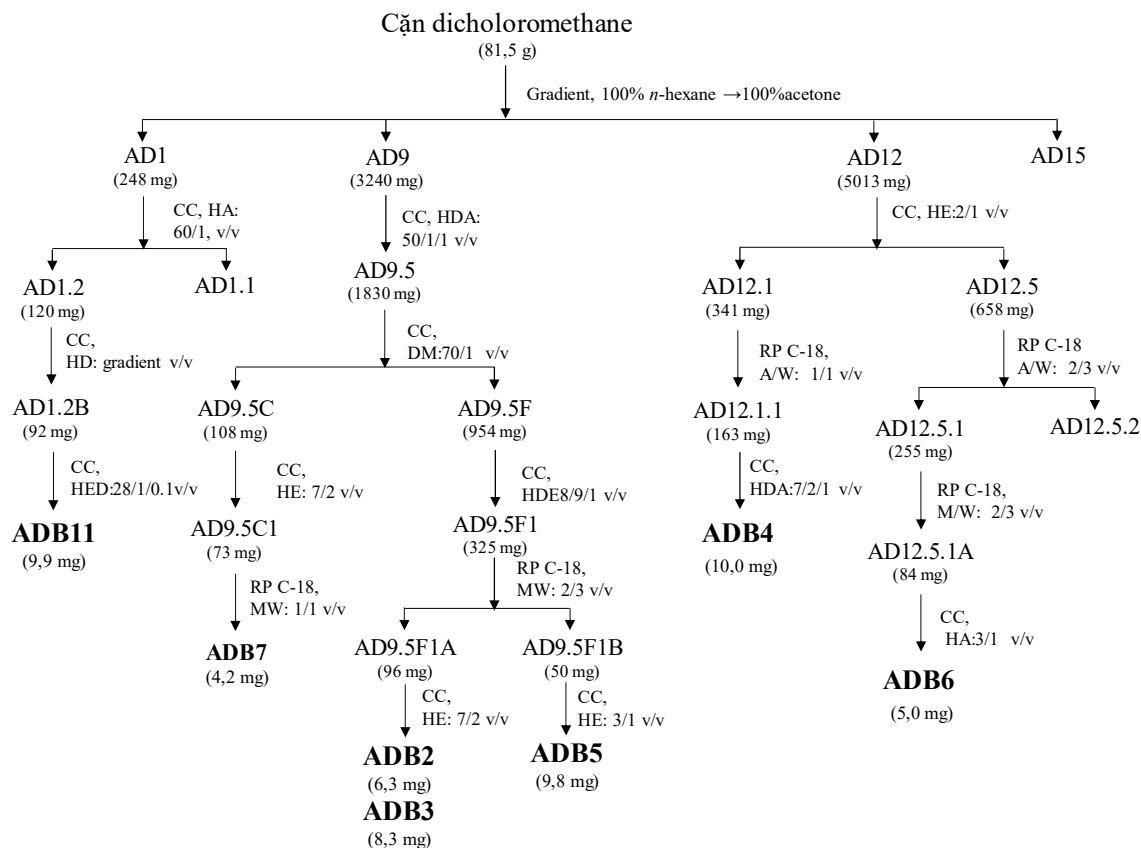
Tiến hành sắc ký cặn *n*-hexane trên cột silica gel với hệ dung môi gradient (100% *n*-hexane → 100% ethyl acetate) thu được 12 phân đoạn AD-H1 → AD-H12.

Từ phân đoạn AD-H5 (2136 mg) sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane/acetone (50/1, v/v) thu được hai phân đoạn AD-H5.1 (429 mg) và AD-H5.2 (615 mg). Phân đoạn AD-H5.1 được sắc ký trên cột silica gel pha đảo RP-C18 với hệ dung môi acetone/nước (1/1, v/v) thu được phân đoạn AD-H5.1A (163 mg), sau đó tiếp tục sắc ký phân đoạn này trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane/dichloromethane (10/1, v/v) thu được phân đoạn AD-H5.1B (53 mg). Tinh chế phân đoạn AD-H5.1B trên máy điều chế HPLC Agilent cùng với cột sắc ký (4,6 mm x 250 mm), tốc độ dòng 0,8 ml/phút, hệ dung môi methanol/nước (70/30, v/v) thu được hai hợp chất sạch **ADB1** (7,3 mg, $t_R = 44,930$ phút) và **ADB8** (4,2 mg, $t_R = 53,595$ phút). Phân đoạn AD-H5.2 sắc ký trên cột silica gel pha đảo RP-C18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (1/2, v/v) thu được phân đoạn AD-H5.2A (326 mg), phân đoạn AD-H5.2A tiếp tục được sắc ký trên cột sephadex LH-20 cùng với hệ dung môi methanol/nước (2/3, v/v) thu được phân đoạn AD-H5.2B (41 mg). Phân đoạn AD-H5.2B được tinh chế trên máy HPLC cùng với cột sắc ký (4,6 mm x 250 mm), tốc độ dòng 0,8 ml/phút, hệ dung môi acetonitrile/nước (20/80, v/v) thu được hợp chất sạch **ADB9** (3,6 mg, $t_R = 23,813$ phút).

Sắc ký phân đoạn AD-H7 (422 mg) trên cột silica gel với pha động bằng hệ dung môi *n*-hexane/dichloromethane/acetone (20/1/1, v/v/v) thu được phân đoạn AD-H7.1 (257 mg), tiếp tục sắc ký phân đoạn vừa thu được trên cột pha đảo RP-C18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (1/3, v/v) thu được phân đoạn AD-H7.1A (56 mg). Sau đó tinh sạch phân đoạn AD-H7.1A trên máy sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC với cột sắc ký (4,6 mm x 250 mm), tốc độ dòng 0,6 ml/phút, hệ dung môi acetonitril/nước (30/70, v/v) thì thu được hợp chất sạch **ADB10** (6,4 mg, $t_R = 41,112$ phút). Phân đoạn AD-H8 (357 mg) sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane/dichloromethane/acetone (10/1/1, v/v/v) thu được phân đoạn AD-H8.1 (214 mg), sau đó phân đoạn AD-H8.1 được sắc ký trên cột silica pha đảo RP-C18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (1/2, v/v) thu được phân đoạn AD-H8.1A (136 mg). Phân đoạn AD-H8.1A tiếp tục sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane/acetone (50/1, v/v) thu được phân đoạn AD-H8.1B (44 mg). Sau đó phân đoạn AD-H8.1B cũng được tinh chế trên máy HPLC cùng với cột sắc ký (20 mm x 250 mm), tốc độ dòng 4 ml/phút, hệ dung môi methanol/nước (85/15, v/v) thì thu được hợp chất sạch **ADB12** (12,0 mg, $t_R = 58,110$ phút).

Cặn dichloromethane (81,5 g) tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi gradient (100% *n*-hexane $\rightarrow$ 100 % acetone) thu được 15 phân đoạn AD1 $\rightarrow$ ADB15. Tiến hành sắc ký phân đoạn AD1 (248 mg) trên cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane/acetone (60/1, v/v) thu được hai phân đoạn AD1.1 và AD1.2 (120 mg).

Phân đoạn AD1.2 được sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi gradient (100% *n*-hexane → 100% dichloromethane) thu được phân đoạn AD1.2B (92 mg). Hợp chất sạch **ADB11** (9,9 mg) thu được khi tinh chế lại phân đoạn AD1.2B trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane/ethyl acetate/dichloromethane (28/1/0,1, v/v/v).



Hình 2.7. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ phân đoạn dichloromethane của sên biển *A. dactylosmela*

Tiến hành sắc ký phân đoạn AD9 (3240 mg) trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane /dichloromethane/acetone (50/1/1, v/v) thu được phân đoạn AD9.5 (1830 mg), phân đoạn này tiếp tục được sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane/methanol (70/1, v/v) thu được hai phân đoạn AD9.5C (108 mg) và AD9.5F (954 mg). Phân đoạn AD9.5C sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane/ethyl acetate (7/2, v/v) thu được phân đoạn AD9.5C1 (73 mg), phân đoạn này tiếp tục được sắc ký trên cột silica gel pha đảo RP-C18 với hệ dung môi rửa giải methanol/nước (1/1, v/v) thu được hợp chất sạch **ADB7** (4,2 mg).

Từ phân đoạn AD9.5F tiến hành sắc ký trên cột silica gel cùng với hệ dung môi pha động *n*-hexane/dichloromethane/ethyl acetate (8/9/1, v/v/v) thu được phân đoạn AD9.5F1 (325 mg). Từ phân đoạn AD9.5F1 sắc ký trên cột pha đảo RP C-18 với hệ dung môi rửa giải methanol/nước (2/3, v/v) thu được hai phân đoạn nhỏ AD9.5F1A (96 mg) và AD9.5F1B (50 mg). Tiếp tục sắc ký phân đoạn AD9.5F1A

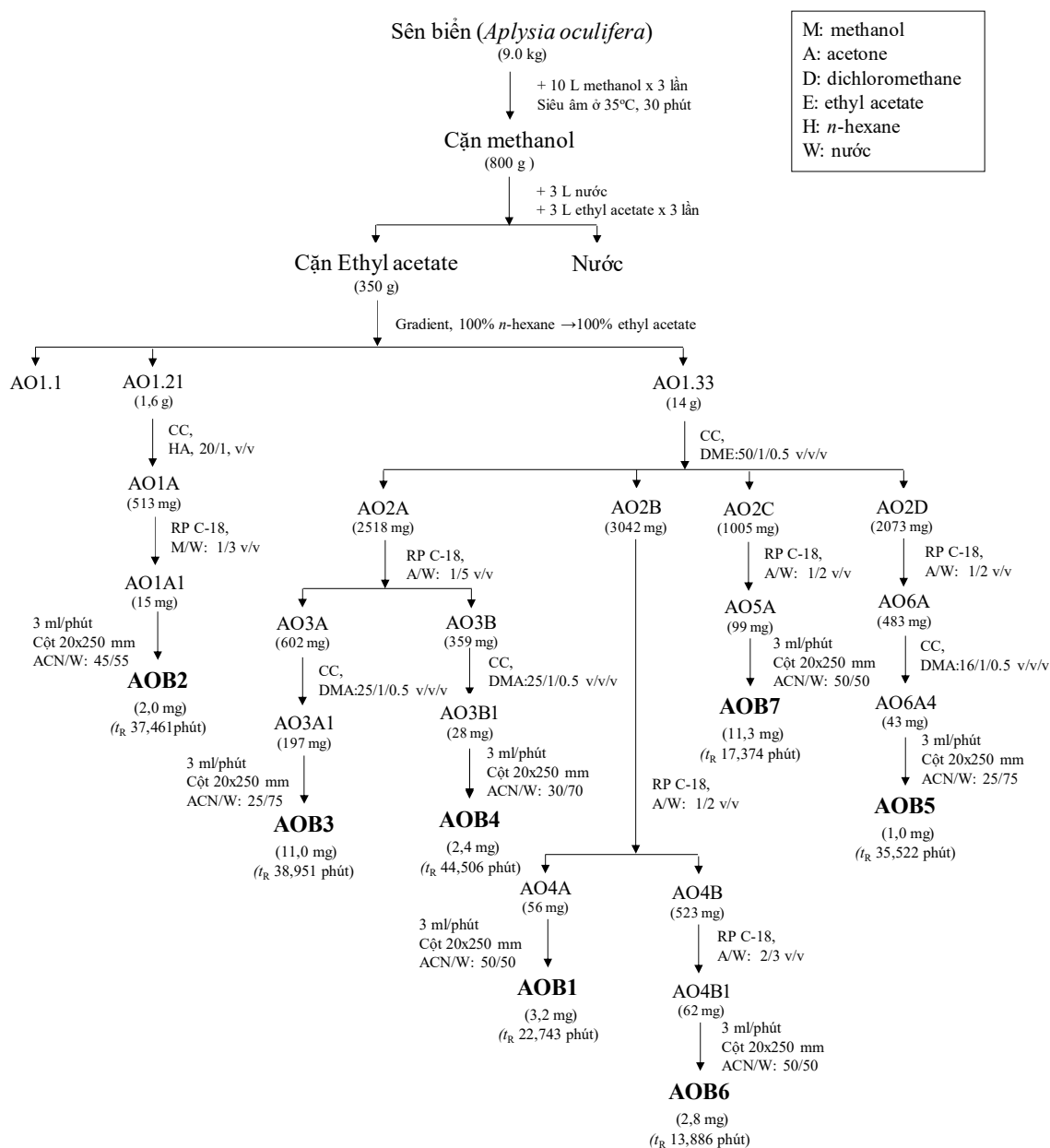
trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane /ethyl acetate (7/2, v/v) thu được hai hợp chất sạch **ADB2** (6,3 mg) và **ADB3** (8,3 mg). Hợp chất sạch **ADB5** (9,8 mg) cũng được tinh chế khi sắc ký phân đoạn AD9.5F1B trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane/ethyl acetate (3/1, v/v).

Từ phân đoạn AD12 (5013 mg) tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane/ethyl acetate (2/1, v/v) thu được hai phân đoạn AD12.1 (341 mg) và ADB12.5 (658 mg). Từ phân đoạn AD12.1 tiến hành sắc ký trên cột pha đảo RP C-18 cùng với hệ dung môi acetone/nước (1/1, v/v) thu được phân đoạn AD12.1.1 (163 mg), và cũng từ phân đoạn này tiến hành sắc lý trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane /dichloromethane/acetone (50/1/1, v/v) thu được hợp chất sạch **ADB4** (10,0 mg). Từ phân đoạn AD12.5 tiến hành sắc ký trên cột pha đảo RP C-18 cùng với hệ dung môi acetone/nước (2/3, v/v) thu được phân đoạn AD12.5.1 (255 mg) và AD12.5.2. Từ phân đoạn AD12.5.1 sắc ký trên cột pha đảo pha đảo RP C-18 cùng với hệ dung môi methanol/nước (2/3, v/v) thu được phân đoạn AD12.5.1A (84 mg) và hợp chất **ADB6** (5,0 mg) cũng thu được khi tinh chế lại phân đoạn AD12.5.1A trên bằng cột pha thường silica gel cùng với hệ dung môi *n*-hexane/acetone (3/1, v/v).

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

Sên biển *A. oculifera* (9,0 kg) xay nhuyễn và ngâm với 10 lít methanol, ngâm trong bể siêu âm ở 35°C trong 30 phút, để lắng, chiết dịch chiết và cô cạn trên máy cô quay ở 50°C, áp suất giảm thu được cặn chiết methanol. Lặp lại thêm hai lần thì thu được cặn methanol (800 g). Cặn methanol hòa tan với nước ấm (3 lít) và chiết phân lớp với ethyl acetate (3 lít), lắc đều, để lắng trên phễu chiết, chiết phần dịch chiết ethyl acetate ở phía trên và cô cạn trên máy cất quay ở 50°C dưới áp suất giảm. Tiến hành lặp lại thêm 2 lần thì thu được cặn ethyl acetate (350 g).

Cặn ethyl acetate sau khi chiết phân lớp được tiến hành sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi gradient (100% *n*-hexane → 100% ethyl acetate) thì thu được 33 phân đoạn AO1.1 → AO1.33. Tiến hành sắc ký phân đoạn AO1.21 (1,6 g) trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane/acetone (20/1, v/v) thu được phân đoạn AO1A (513 mg). Phân đoạn AO1A sắc ký trên cột pha đảo RP C-18 với hệ dung môi rửa giải methanol/nước (1/3, v/v) thu được phân đoạn AO1A1 (15 mg), và tiếp tục tinh chế phân đoạn này trên hệ thống máy điều chế lỏng cao áp Agilent 1260 [cột sắc ký JH08S04-2520WT (250 x 20 mm; S-4μm, 8 nm), tốc độ dòng 3 ml/phút, hệ dung môi acetonitrile/nước (45/55, v/v), thời gian lưu $t_R = 37,461$ phút] thu được hợp chất sạch **AOB2** (2,0 mg).



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

Tiến hành sắc ký phân đoạn AO1.33 (14 g) trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải dichloromethane/methanol/ethyl acetate (50/1/0,5, v/v/v) thu được 4 phân đoạn AO2A→AO2D. Phân đoạn AO2A (2518 mg) được sắc ký trên cột pha đảo RP C-18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (1/5, v/v) thu được hai phân đoạn AO3A (602 mg) và AO3B (359 mg). Sắc ký phân đoạn AO3A trên cột silica gel cùng với hệ dung môi dichloromethane/methanol/acetone (25/1/0,5, v/v/v) thu được phân đoạn AO3A1 (197 mg), phân đoạn này tiếp tục được tinh chế trên máy HPLC [hệ dung môi acetonitrile/nước (25/75, v/v), tốc độ dòng 3 ml/phút và thời gian lưu t_R = 38,951 phút] thu được hợp chất sạch **AOB3** (11,0 mg). Phân đoạn AO3B được sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải dichloromethane/methanol/acetone (25/1/0,5, v/v/v) thu được phân đoạn AO3B1 (28 mg). Hợp chất **AOB4** (2,4 mg) cũng thu được

khi tinh chế lại phân đoạn AO3B1 trên máy HPLC [hệ dung môi acetonitrile/nước (30/70, v/v), tốc độ dòng 3 ml/phút và thời gian lưu $t_R = 44,506$ phút]. Tiến hành sắc ký phân đoạn AO2B (3042 mg) trên cột pha đảo RP C-18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (1/2, v/v) thu được hai phân đoạn AO4A (56 mg) và AO4B (523 mg). Tinh chế phân đoạn AO4A trên máy HPLC [hệ dung môi acetonitrile/nước (50/50, v/v), tốc độ dòng 3 ml/phút và thời gian lưu $t_R = 22,743$ phút] thu được hợp chất sạch **AOB1** (3,2 mg). Phân đoạn AO4B được sắc ký trên cột pha đảo RP C-18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (2/3, v/v) thu được phân đoạn AO4B1 (62 mg), tinh chế lại phân đoạn này trên máy HPLC [hệ dung môi acetonitrile/nước (50/50, v/v), tốc độ dòng 3 ml/phút và thời gian lưu $t_R = 13,886$ phút] thu được hợp chất **AOB6** (2,8 mg). Sắc ký phân đoạn AO2C (1005 mg) trên cột pha đảo RP C-18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (1/2, v/v) thu được phân đoạn AO5A (99 mg). Tinh chế phân đoạn AO5A trên máy HPLC [hệ dung môi acetonitrile/nước (50/50, v/v), tốc độ dòng 3 ml/phút và thời gian lưu $t_R = 17,374$ phút] thu được phân hợp chất sạch **AOB7** (11,3 mg). Sắc ký phân đoạn AO2D (2073 mg) trên cột pha đảo RP C-18 với hệ dung môi rửa giải acetone/nước (1/2, v/v) thu được phân đoạn AO6A (483 mg), phân đoạn này tiếp tục được sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi dichloromethane/methanol/acetone (16/1/0,5, v/v/v) thì thu được phân đoạn AO6A4 (43 mg). Tinh chế lại phân đoạn AO6A4 trên máy HPLC [hệ dung môi acetonitrile/nước (25/75, v/v), tốc độ dòng 3 ml/phút và thời gian lưu $t_R = 35,522$ phút] thì thu được hợp chất sạch **AOB5** (1,0 mg).

2.5. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập được

2.5.1. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng

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

Chất bột vô định hình màu trắng;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25} = +107,3$ (c 0,87, MeOH);

Công thức phân tử: $C_{14}H_{19}BrO_2$;

Khối lượng phân tử: 298;

Phổ UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$): 235 (3,60) nm;

Phổ ECD (c 3,36 mM. MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 207 (+3,10), 233 (-1,19) nm;

Phổ HR-ESI-MS m/z 299,0657 $[M + H]^+$ và 301,0624 $[M + 2 + H]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{14}H_{20}BrO_2^+$, m/z 299,0641 và 301,0621);

Số liệu phổ 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) xem Bảng 3.1;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) xem Bảng 3.2.

2.5.1.2. Hợp chất ADA2: Dactylomelanin D (chất mới)

Chất bột vô định hình màu trắng;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25} = -25,3$ (c 1,0, MeOH);

Công thức phân tử: $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{BrO}_3$;

Khối lượng phân tử: 340;

Phổ UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$): 235 (3,79) nm;

Phổ ECD (c 2,94 mM. MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 207 (+2,38), 233 (-0,77) nm;

Phổ HR-ESI-MS m/z 341,0747 $[\text{M} + \text{H}]^+$ và 343,0728 $[\text{M} + 2 + \text{H}]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{BrO}_3^+$, m/z 341,0747 và 343,0726);

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) xem Bảng 3.3.

2.5.1.3. Hợp chất ADA3: Dactylomelanin E (chất mới)

Chất dầu màu vàng;

Công thức phân tử: $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}$;

Khối lượng phân tử: 214;

Phổ UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$): 220 (3,59), 290 (3,01) nm;

Phổ HR-ESI-MS m/z 215,1433 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{O}^+$, m/z 215,1430);

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) xem Bảng 3.4.

2.5.1.4. Hợp chất ADA4: (2S,3R,7S,7R)-2-chloro-3,7-epoxyhamigrane-9-one

Chất bột vô định hình màu trắng;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25} = +40,8$ (c 0,4, MeOH);

Công thức phân tử: $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{ClO}_2$;

Khối lượng phân tử: 270;

Phổ UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$): 239 (3,09) nm;

Phổ ECD (c 1,85 mM. MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 293 (-4,40) nm;

Phổ HR-ESI-MS m/z 271,1459 $[\text{M} + \text{H}]^+$ và 273,1430 $[\text{M} + 2 + \text{H}]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{ClO}_2^+$, m/z 271,1459 và 273,1430); 288,1720 $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ và 290,1699 $[\text{M} + 2 + \text{NH}_4]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{ClNO}_2^+$, m/z 288,1725 và 290,1695); 293,1285 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ và 295,1244 $[\text{M} + 2 + \text{Na}]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{ClNaO}_2^+$, m/z 293,1279 và 295,1249);

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) xem Bảng 3.5.

2.5.2. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi

2.5.2.1. Hợp chất *ADB1*: Elatol

Chất dầu không màu;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{24} = +75,3$ (c 0,3, MeOH);

Công thức phân tử: $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{BrClO}$;

Khối lượng phân tử: 322;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) xem Bảng 3.6.

2.5.2.2. Hợp chất *ADB2*: Aplydactylonin I (chất mới)

Chất dầu màu vàng;

Phổ hồng ngoại IR (KBr) ν_{max} 3364, 2968, 1637, 1391 cm^{-1} ;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25} = +70,4$ (c 0,1, MeOH);

Công thức phân tử: $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{BrO}_2$;

Khối lượng phân tử: 314;

Phổ UV (ACN) λ_{max} ($\log \epsilon$): 217 (2,24) nm;

Phổ ECD (c 1,27 mM. ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 203 (13,00) nm;

Phổ HR-ESI-MS m/z 349,0576 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ và 351,0554 $[\text{M} + 2 + \text{Cl}]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{BrO}_2\text{Cl}^-$, m/z 349,0575 và 351,0554);

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) xem Bảng 3.7.

2.5.2.3. Hợp chất *ADB3*: Aplydactylonin K (chất mới)

Chất dầu màu vàng;

Phổ hồng ngoại IR (KBr) ν_{max} 3443, 2950, 1741, 1641, 1376 cm^{-1} ;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25} = +24,4$ (c 0,1, MeOH);

Công thức phân tử: $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{BrO}_2$;

Khối lượng phân tử: 356;

Phổ UV (ACN) λ_{max} ($\log \epsilon$): 217 (1,95) nm;

Phổ ECD (c 2,23 mM. ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 205 (10,82) nm;

Phổ HR-ESI-MS m/z 391,0669 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ và 393,0648 $[\text{M} + 2 + \text{Cl}]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{BrO}_3\text{Cl}^-$, m/z 391,0681 và 393,0661);

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) xem Bảng 3.8.

2.5.2.4. Hợp chất *ADB4*: Aplydactylonin G (chất mới)

Chất dầu màu vàng;

Phổ hồng ngoại IR (KBr) ν_{max} 3385, 2925, 1678, 1371 cm^{-1} ;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25} = +21,0$ (c 0,1, MeOH);

Công thức phân tử: $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{BrO}_2$;

Khối lượng phân tử: 314;

Phổ UV (ACN) λ_{max} ($\log \epsilon$): 217 (2,46) nm;

Phổ ECD (c 0,7 mM. ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 203 (8,98) nm;

Phổ HR-ESI-MS m/z 332,1208 $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ và 334,1182 $[\text{M} + 2 + \text{NH}_4]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{BrO}_2\text{N}^+$, m/z 332,1220 và 334,1200);

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) xem Bảng 3.9.

2.5.2.5. Hợp chất *ADB5*: Aplydactylonin H (chất mới)

Chất dầu màu vàng;

Phổ hồng ngoại IR (KBr) ν_{max} 3450, 2926, 1740, 1679, 1376 cm^{-1} ;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25} = +69,1$ (c 0,1, MeOH);

Công thức phân tử: $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{BrO}_3$;

Khối lượng phân tử: 356;

Phổ UV (ACN) λ_{max} ($\log \epsilon$): 217 (2,15) nm;

Phổ ECD (c 1,68 mM. ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 201 (11,54) nm;

Phổ HR-ESI-MS m/z 379,0871 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ và 381,0836 $[\text{M} + 2 + \text{Na}]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{BrO}_3\text{Na}^+$, m/z 379,0880 và 381,0859);

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) và $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) xem Bảng 3.10.

2.5.2.6. Hợp chất *ADB6*: Aplydactylonin F (chất mới)

Chất dầu màu vàng;

Phổ hồng ngoại IR (KBr) ν_{max} 3401, 2924, 1681, 1399 cm^{-1} ;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25} = -16,7$ (c 0,1, MeOH);

Công thức phân tử: $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{BrO}_3$;

Khối lượng phân tử: 330;

Phổ UV (ACN) λ_{max} ($\log \epsilon$): 220 (3,06) nm;

Phổ ECD (c 0,73 mM. ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 192 (-6,92) nm;

Phổ HR-ESI-MS m/z 365,0517 $[M + Cl]^-$ và 367,0491 $[M + 2 + Cl]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{15}H_{23}BrO_3Cl$, m/z 365,0525 và 367,0504);

Số liệu phổ 1H -NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) và ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 125 MHz) xem Bảng 3.11.

2.5.2.7. Hợp chất **ADB7**: *Aplydactylonin E* (chất mới)

Chất dầu màu vàng;

Phổ hồng ngoại IR (KBr) ν_{max} 3442, 2924, 1681, 1399 cm^{-1} ;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25} = -7,3$ (c 0,1, MeOH);

Công thức phân tử: $C_{17}H_{27}BrO_4$;

Khối lượng phân tử: 374;

Phổ UV (ACN) λ_{max} ($\log \epsilon$): 217 (2,27) nm;

Phổ ECD (c 1,07 mM. ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 193 (- 4,51) nm;

Phổ HR-ESI-MS m/z 397,0996 $[M + Na]^+$ và 399,0975 $[M + 2 + Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{17}H_{27}BrO_4Na^+$, m/z 397,0985 và 399,0965);

Số liệu phổ 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) xem Bảng 3.13.

2.5.2.8. Hợp chất **ADB8**: *[3(15)E,4Z,6S,9S,10R]-10,15-dibromochamigra-3(15),4,7(14)-trien-9-ol*

Chất dầu không màu;

Công thức phân tử: $C_{15}H_{20}Br_2O$;

Khối lượng phân tử: 374;

Số liệu phổ 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) xem

Bảng 3.14.

2.5.2.9. Hợp chất **ADB9**: *Pacifidiene*

Chất dầu không màu;

Công thức phân tử: $C_{15}H_{19}Br_2ClO$;

Khối lượng phân tử: 408;

Số liệu phổ 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) xem

Bảng 3.15.

2.5.2.10. Hợp chất **ADB10**: *11-hydroxy-8-oxo- β -cyperon*

Chất dầu không màu;

Phổ hồng ngoại IR: 3620 (OH): 1670, 1600 ($C=C-CO$) cm^{-1} ;

Công thức phân tử: $C_{15}H_{20}O_3$;

Khối lượng phân tử: 248;

Phổ HR-ESI-MS m/z 271,1302 $[M + Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{15}H_{20}O_3Na^+$, m/z 271,1310);

Số liệu phổ 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) xem Bảng 3.16.

2.5.2.11. Hợp chất **ADB11**: *Aplydactylonin D* (chất mới)

Chất dầu màu vàng;

Phổ hồng ngoại IR (KBr) ν_{max} 2928, 1728, 1600, 1462, 1379 cm^{-1} ;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25} = -3,4$ (c 0,1, MeOH);

Công thức phân tử: $C_{20}H_{24}O_2$;

Khối lượng phân tử: 296;

Phổ UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$): 210 (3,68), 290 (3,93) nm;

Phổ ECD (c 0,17 mM, MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 203 (- 6,02), 226 (0,84), 246 (0,97), 300 (2,40), 332 (0,41) nm;

Phổ HR-ESI-MS m/z 297,1855 $[M + H]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{20}H_{25}O_2^+$, m/z 297,1849); 319,1679 $[M + Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{20}H_{25}O_2Na^+$, m/z 319,1669);

Số liệu phổ 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) xem Bảng 3.17.

2.5.2.12. Hợp chất **ADB12**: *Thyrsiferol*

Chất dầu không màu;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{20} = +28$ (c 0,6, $CHCl_3$);

Công thức phân tử: $C_{30}H_{53}BrO_7$;

Khối lượng phân tử: 604;

Phổ HR-ESI-MS m/z 627,2872 $[M + Na]^+$ và 629,2870 $[M + 2 + Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{30}H_{53}BrO_7Na^+$, m/z 627,28767 và 629,2846);

Số liệu phổ 1H -NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C -NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) xem Bảng 3.18.

2.5.3. Thông số vật lý và dữ liệu phổ của các hợp chất phân lập từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế

2.5.3.1. Hợp chất **AOB1**: *Oculiferanin A* (chất mới)

Chất rắn vô định hình không màu;

Công thức phân tử: $C_{22}H_{33}BrO_5$;

Khối lượng phân tử: 456;

Phổ ECD (c 0,88 mM, ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) nm: 199 (-4,12), 217 (1,24);

Phổ HR-ESI-MS m/z 479,1401 $[M + Na]^+$ và 481,1412 $[M + 2 + Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{22}H_{33}BrO_5Na^+$, m/z 479,1404 và 481,1383); 491,1204 và 493,1183 $[M + Cl]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{22}H_{33}BrO_5Cl^-$, m/z 491,1200 và 493,1179);

Số liệu phổ 1H -NMR (acetone- d_6 , 600 MHz) và ^{13}C -NMR (acetone- d_6 , 150 MHz) xem Bảng 3.19.

Số liệu phổ 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz) và ^{13}C -NMR (CD_3OD , 150 MHz) xem Bảng 3.20.

2.5.3.2. Hợp chất **AOB2**: Oculiferanin B (chất mới)

Chất rắn vô định hình không màu;

Công thức phân tử: $C_{24}H_{35}BrO_6$;

Khối lượng phân tử: 498;

Phổ ECD (c 0,76 mM, ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) nm: 204 (0,67), 213 (1,07);

Phổ HR-ESI-MS m/z 533,1326 $[M + Cl]^-$ và 535,1305 $[M + 2 + Cl]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{24}H_{35}BrO_6Cl^-$, m/z 533,1306 và 535,1285);

Số liệu phổ 1H -NMR (acetone- d_6 , 600 MHz) và ^{13}C -NMR (acetone- d_6 , 150 MHz) xem Bảng 3.21.

2.5.3.3. Hợp chất **AOB3**: Oculiferanin C (chất mới)

Chất rắn vô định hình không màu;

Công thức phân tử: $C_{22}H_{33}BrO_6$;

Khối lượng phân tử: 472;

Phổ ECD (c 0,64 mM, ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) nm: 201 (-3,57), 218 (1,44);

Phổ HR-ESI-MS m/z 490,1792 $[M + NH_4]^+$ và 492,1775 $[M + 2 + NH_4]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{22}H_{37}BrO_6N^+$, m/z 490,1799 và 492,1778); m/z 507,1153 và 509,1136 $[M + Cl]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{22}H_{33}BrO_6Cl^-$, m/z 507,1149 và 509,1129);

Số liệu phổ 1H -NMR (acetone- d_6 , 600 MHz) và ^{13}C -NMR (acetone- d_6 , 150 MHz) xem Bảng 3.22.

2.5.3.4. Hợp chất **AOB4**: Oculiferanin D (chất mới)

Chất rắn vô định hình không màu;

Công thức phân tử: $C_{22}H_{33}BrO_5$;

Khối lượng phân tử: 456;

Phổ ECD (c 0,66 mM, ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) nm: 196 (-9,21), 218 (1,44);

Phổ HR-ESI-MS m/z 474,1834 $[M + NH_4]^+$ và 476,1835 $[M + 2 + NH_4]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{22}H_{37}BrO_5N^+$, m/z 474,1850 và 476,1829); m/z 491,1201 và 493,1181 $[M + Cl]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{22}H_{33}BrO_5Cl^-$, m/z 491,1200 và 493,1179);

Số liệu phổ 1H -NMR (acetone- d_6 , 600 MHz) và ^{13}C -NMR (acetone- d_6 , 150 MHz) xem Bảng 3.23.

2.5.3.5. Hợp chất **AOB5**: Oculiferanin E (chất mới)

Chất rắn vô định hình không màu;

Công thức phân tử: $C_{20}H_{29}BrO_5$;

Khối lượng phân tử: 428;

Phổ ECD (c 0,47 mM, ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) nm: 216 (11,48), 306 (-7,83);

Phổ HR-ESI-MS m/z 446,1541 $[M + NH_4]^+$ và 448,1514 $[M + 2 + NH_4]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{20}H_{33}BrO_5N^+$, m/z 446,1537 và 448,1516); m/z 463,0889 và 465,0888 $[M + Cl]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{20}H_{29}BrO_6Cl^-$, m/z 463,0887 và 465,0866);

Số liệu phổ 1H -NMR (acetone- d_6 , 600 MHz) và ^{13}C -NMR (acetone- d_6 , 150 MHz) xem Bảng 3.24.

2.5.3.6. Hợp chất **AOB6**: Oculiferanin F (chất mới)

Chất rắn vô định hình không màu;

Công thức phân tử: $C_{20}H_{31}BrO_5$;

Khối lượng phân tử: 430;

Phổ ECD (c 1,39 mM, ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) nm: 198 (-3,81), 219 (0,50);

Phổ HR-ESI-MS m/z 448,1687 $[M + NH_4]^+$ và 450,1653 $[M + 2 + NH_4]^+$ (tính toán theo lý thuyết $C_{20}H_{35}BrO_5N^+$, 448,1693 và 450,1673); tại m/z 465,1038 và 467,1016 $[M+Cl]^-$ (tính toán theo lý thuyết $C_{20}H_{31}BrO_5Cl^-$, 465,1043 và 467,1023);

Số liệu phổ 1H -NMR (acetone- d_6 , 600 MHz) và ^{13}C -NMR (acetone- d_6 , 150 MHz) xem Bảng 3.25.

2.5.3.7. Hợp chất **AOB7**: Oculiferanin G (chất mới)

Chất rắn vô định hình không màu;

Công thức phân tử: $C_{22}H_{33}BrO_6$;

Khối lượng phân tử: 472;

Phổ ECD (c 1,02 mM, ACN) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) nm: 201 (-3,59), 219 (0,60);

Phổ HR-ESI-MS m/z 490,1792 $[M + NH_4]^+$ và 492,1783 $[M + 2 + NH_4]^+$ (tính toán theo lý thuyết $C_{22}H_{37}BrO_6N^+$, 490,1799 và 492,1798); tại m/z 507,1140 và 509,1123 $[M+Cl]^-$ (tính toán theo lý thuyết $C_{22}H_{33}BrO_6Cl^-$, 507,1153 và 509,1136);

Số liệu phổ ^1H -NMR (acetone- d_6 , 600 MHz) và ^{13}C -NMR (acetone- d_6 , 150 MHz) xem Bảng 3.26.

2.6. Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được

2.6.1. Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ loài sên biển *A. dactylomela*

Phép thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư được thực hiện theo phương pháp được mô tả trong mục 2.2.3. Mười sáu hợp chất sạch, trong đó 4 chất (**ADA1** đến **ADA4**) từ loài *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng và 12 hợp chất sạch (**ADB1** đến **ADB12**) từ loài *A. dactylomela* thu ở đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi được thử 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).

2.6.2. Thử nghiệm thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ loài sên biển *A. oculifera*

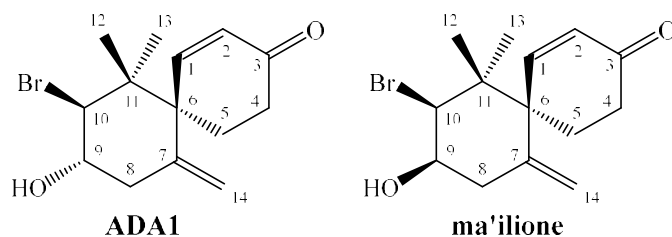
Phép thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư được thực hiện theo phương pháp được mô tả trong mục 2.2.3. Các hợp chất sạch từ **AOB1** đến **AOB7** phân lập được từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế được thử hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* trên ba dòng tế bào ung thư ở người: ung thư gan HepG2, ung thư cổ tử cung (Hela) và ung thư vú (MCF-7).

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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

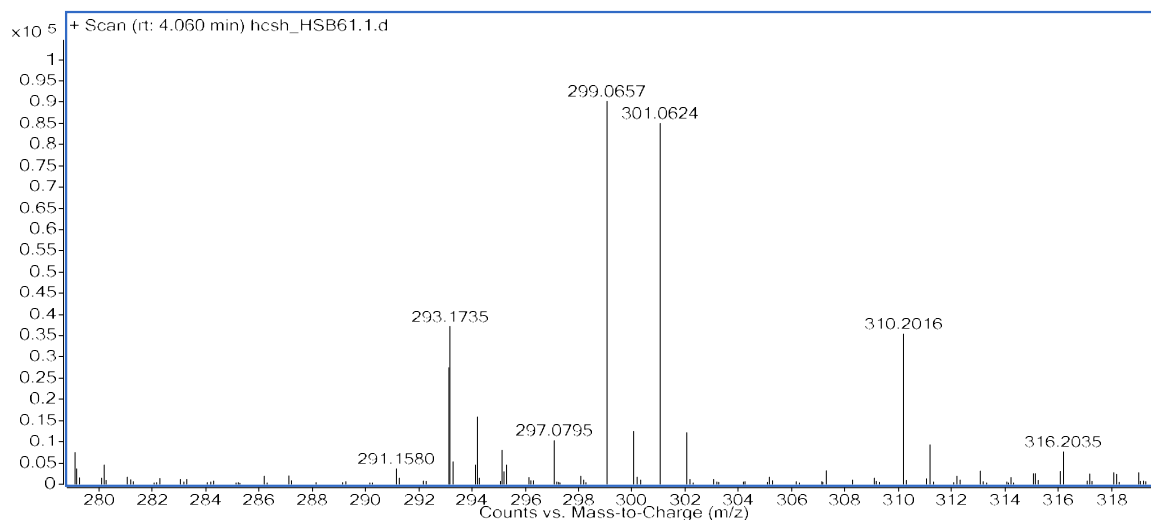
3.1.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng

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



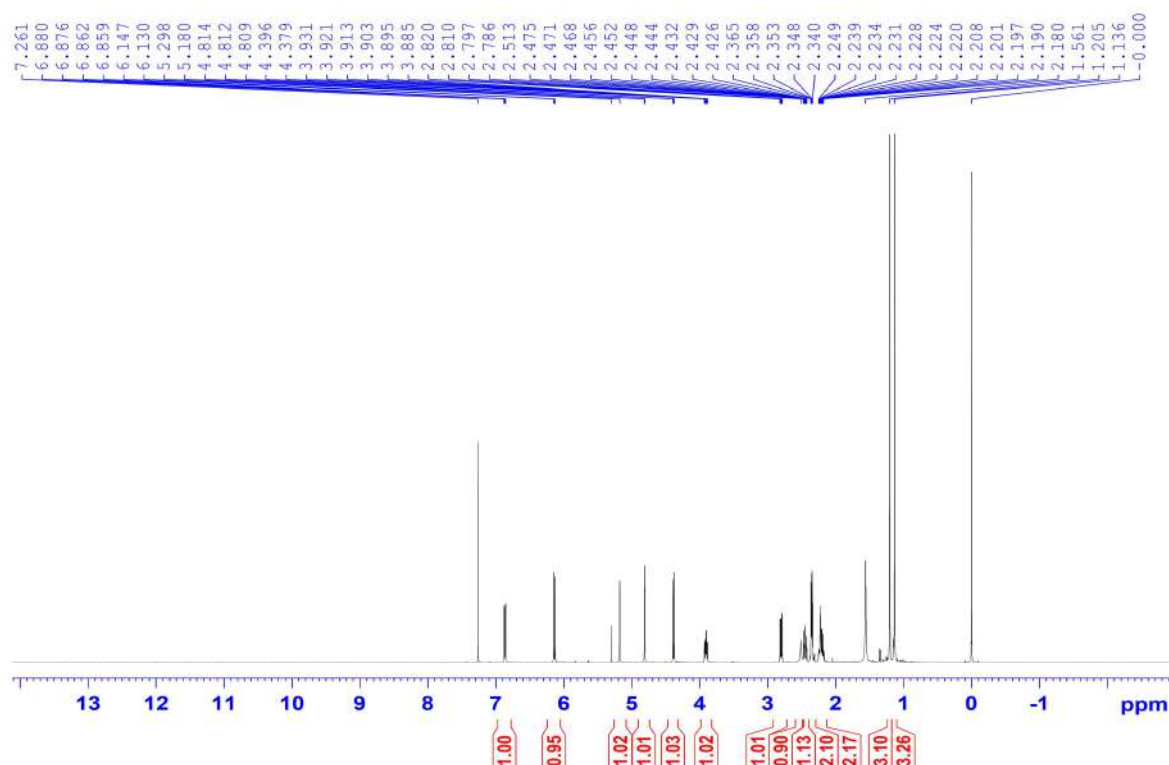
Hình 3.1. Cấu trúc hợp chất **ADA1** và chất tham khảo

Hợp chất **ADA1** thu được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ HR-ESI-MS xuất hiện hai peak ion giả phân tử tại m/z 299,0657 $[M + H]^+$ và 301,0624 $[M + 2 + H]^+$ với tỷ lệ 1:1, gợi ý công thức phân tử của hợp chất là $C_{14}H_{19}BrO_2$ (tính toán theo lý thuyết $C_{14}H_{20}BrO_2^+$, 299,0641 và 301,0621). Hợp chất **ADA1** có độ bất bão hòa là năm (xem hình 3.2).



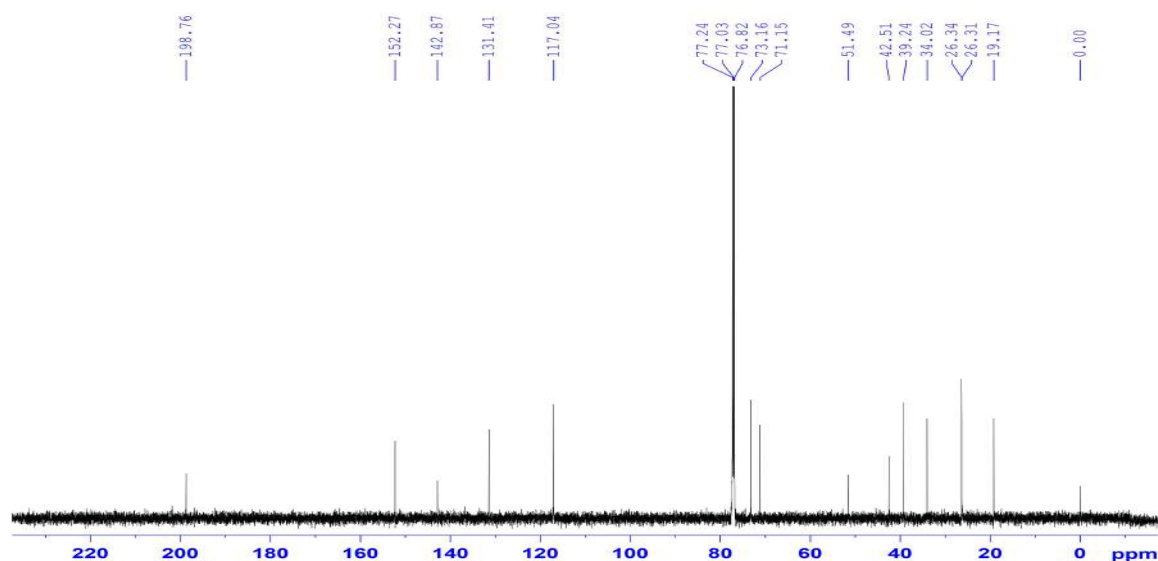
Hình 3.2. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **ADA1**

Phổ ^{13}C NMR kết hợp phổ HSQC của **ADA1** (Bảng 3.1 và hình 3.4) cho thấy tín hiệu của 14 nguyên tử carbon trong hợp chất, bao gồm bốn nguyên tử carbon không chứa proton, bốn nhóm methine, bốn nhóm methylene và hai nhóm methyl. Trong số này, một tín hiệu đặc trưng cho nhóm ketone (δ_C 198,8), bốn nguyên tử carbon olefinic (δ_C 152,3, 142,9, 131,4 và 117,0), và hai methine oxy hóa hoặc halogen hóa (δ_C 73,2 và 71,2) đã được phát hiện. Hơn nữa, số lượng carbon sp^2 chiếm ba trong tổng số năm độ bất bão hòa được suy ra từ công thức phân tử, cho thấy sự tồn tại của hệ hai vòng trong **ADA1**. Hợp chất là một nor-sesquiterpene (14 carbon).

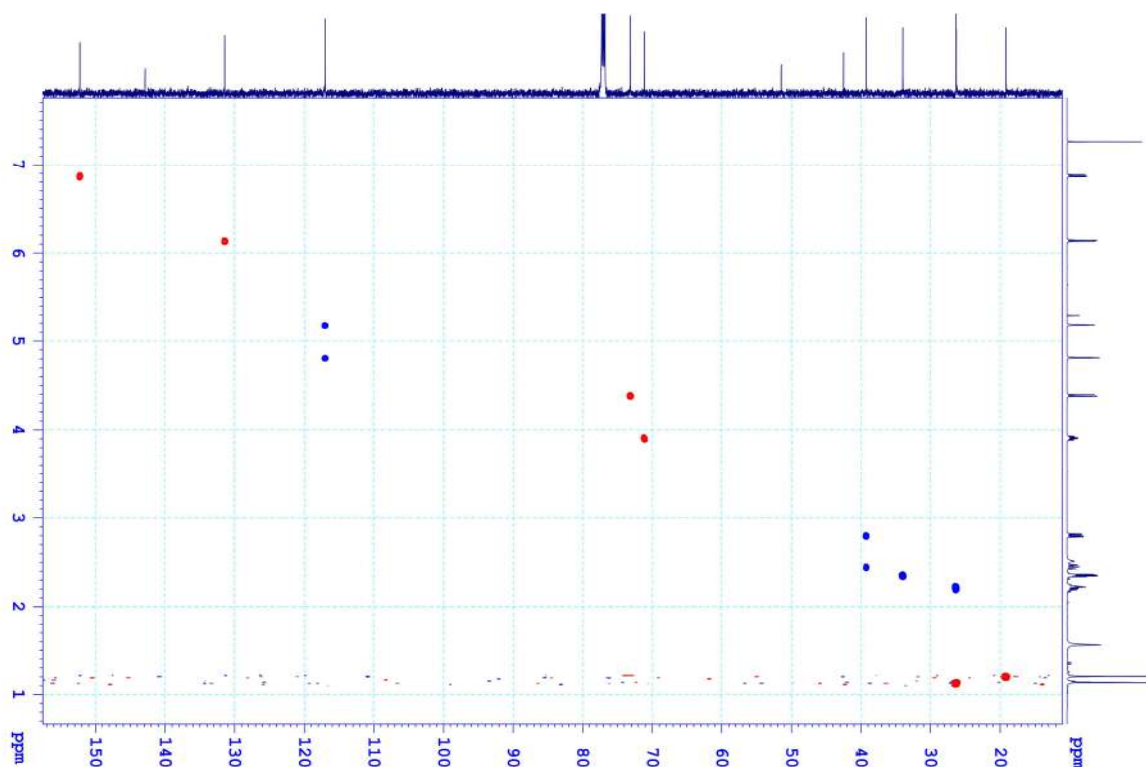


Hình 3.3. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **ADA1**

Phổ ^1H NMR cho thấy sự xuất hiện của liên kết đôi dạng $>\text{C}=\text{CH}_2$ [δ_{H} 5,18 (br s) và 4,81 (t, $J = 1,8$ Hz)]; một liên kết đôi dạng $-\text{CH}=\text{CH}-$ [δ_{H} 6,87 (dd, $J = 10,2, 1,8$ Hz) và 6,14 (d, $J = 10,2$ Hz)] và liên kết đôi có đồng phân hình học dạng (Z) do có hằng số tương tác $J_{1,2} = 10,2$ Hz; hai tín hiệu singlet đặc trưng của hai nhóm methyl [δ_{H} 1,20 và 1,13 ppm]. Ngoài ra, hai proton methine 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) tương ứng của nhóm methine brom và nhóm oxymethine tương ứng [117].



Hình 3.4. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **ADA1**

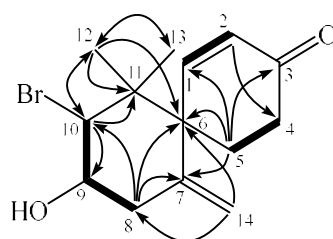


Hình 3.5. Phổ HSQC của hợp chất **ADA1**

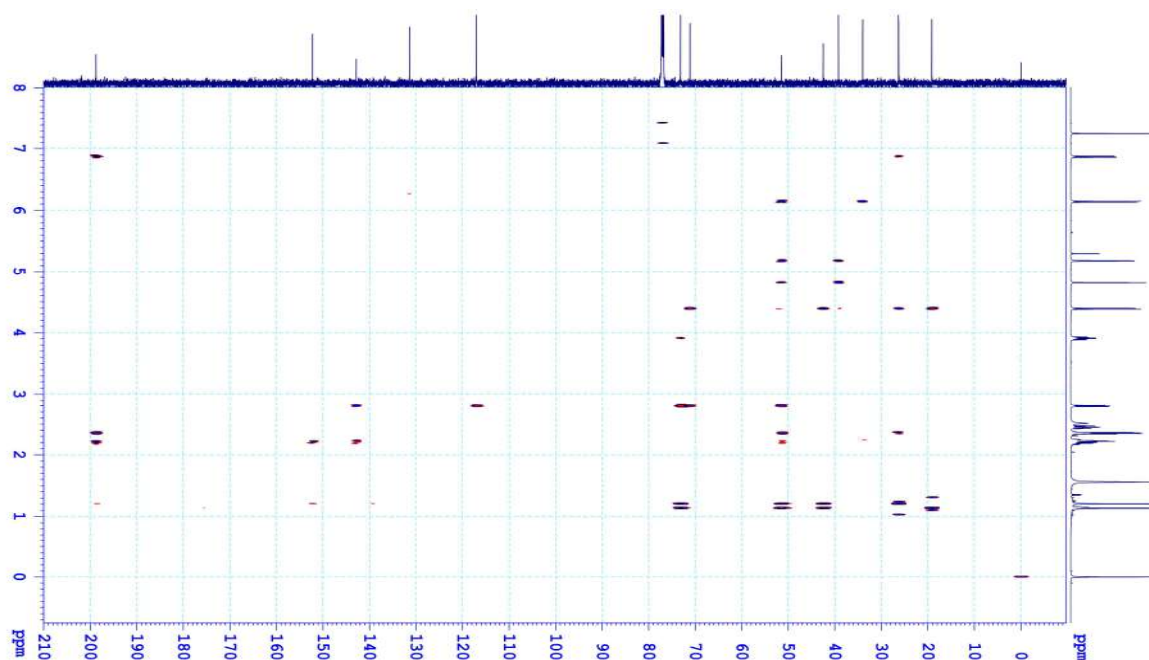
Bảng 3.1. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADA1**

Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	152,9	152,3	6,87 (1H, dd, 10,2, 1,8)	5
2	131,1	131,4	6,14 (1H, d, 10,2)	4, 6
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			2,80 (1H, dd, 13,8, 6,0)	6, 7, 10
	38,4	39,2	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)	9, 11, 12, 13
11	42,7	42,5	-	-
12	21,4	19,2	1,20 (3H, s)	6, 10, 11, 13
13	26,9	26,3	1,13 (3H, s)	6, 10, 11, 12
14			5,18 (1H, br s)	6, 8
	117,9	117,0	4,81 (1H, br t, 1,8)	6, 8

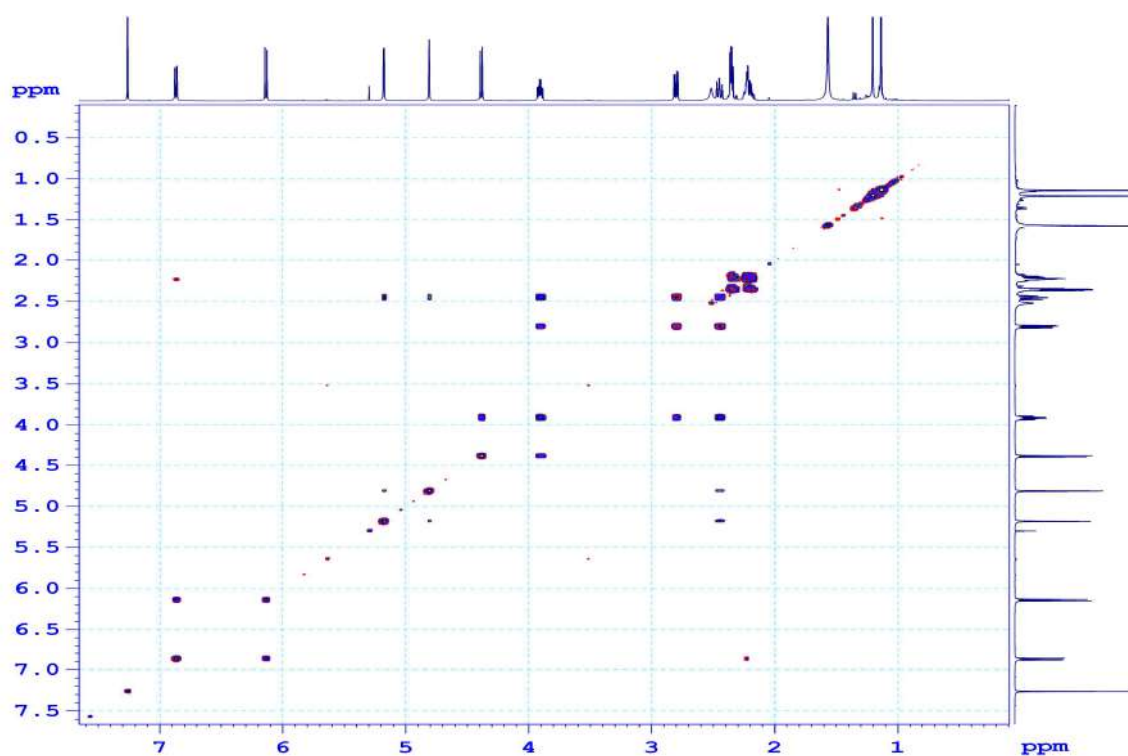
* Tài liệu tham khảo chất ma'ilione [118], ^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, ^d 50 MHz.



Hình 3.6. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$) và phổ COSY (—) của hợp chất ADA1

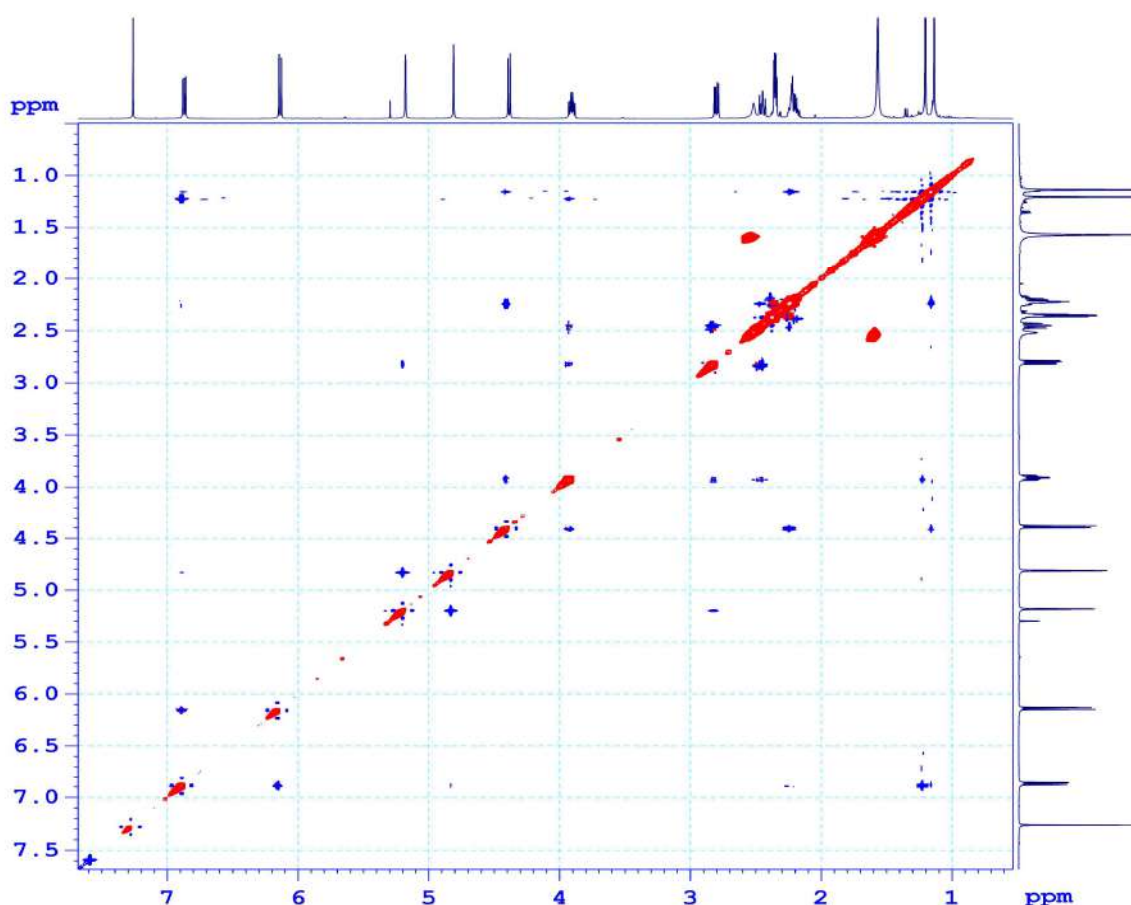


Hình 3.7. Phổ HMBC của hợp chất ADA1

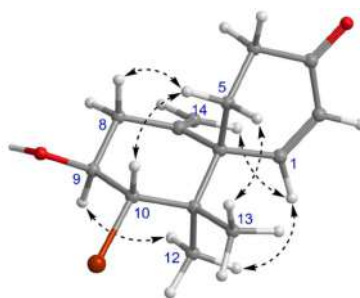


Hình 3.8. Phổ COSY của hợp chất ADA1

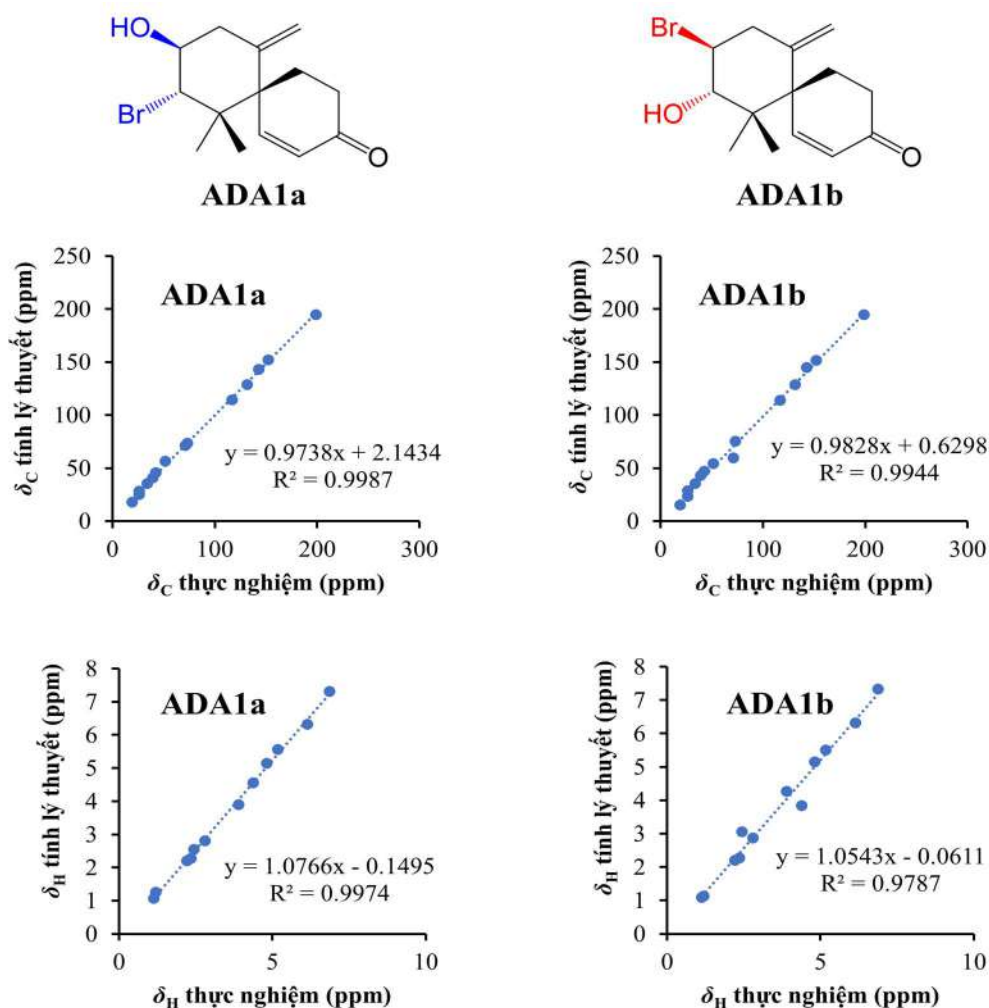
Phân tích dữ liệu trên phổ COSY và HMBC cho thấy cấu trúc phẳng của **ADA1** (Hình 3.6, hình 3.7 và hình 3.8) giống hệt với cấu trúc của ma'ilione, một hợp chất nor-chamigrane được phân lập từ tảo đỏ *Laurencia cartilaginea* [118, 119]. Cụ thể là các tương tác trên phổ COSY của H-1/H-2 và H₂-4/H₂-5, kết hợp với các tương tác HMBC từ H₂-5 (δ_{H} 2,21) đến C-1 (δ_{C} 152,3), C-3 (δ_{C} 198,8) và C-6 (δ_{C} 51,5), và từ H-2 (δ_{H} 6,14) đến C-4 (δ_{C} 34,0) đã xác nhận cấu trúc của vòng cyclohexenone. Cấu trúc của vòng cyclohexane cũng như bộ khung chamigrane spiro[5,5] được thiết lập bởi tương tác trên phổ COSY giữa tương tác H₂-8 (δ_{H} 2,44/2,80)/H-9 (δ_{H} 3,90)/H-10 (δ_{H} 4,38) và phổ HMBC từ H₃-12 (δ_{H} 1,20) đến C-10 (δ_{C} 73,2), C-11 (δ_{C} 42,5), và C-6 (δ_{C} 51,5), từ H₂-14 (δ_{H} 4,81/5,18) đến C-8 (δ_{C} 39,2) và C-6 (δ_{C} 51,5), từ H₂-8 (δ_{H} 2,44/2,80) đến C-7 (δ_{C} 142,9) và từ H₂-5 (δ_{H} 2,21) đến C-7 (δ_{C} 142,9). Các tương tác ¹H-¹H và phổ NOESY được sử dụng để xác định cấu hình tương đối của **ADA1**. Các hằng số ghép lớn 10,5 Hz giữa H-10 và H-9, và giữa H-9 và H_b-8 thể hiện định hướng *axial* cho những proton này. Điều này còn được xác nhận thêm bởi các tương tác NOESY giữa H-10/H₂-5, H₂-5/H_b-8 và H-9/H₃-12 (Hình 3.9 và hình 3.10). Những tương tác NOESY giữa H₃-12/H-1, H-1/H_b-14 và H₂-5/H₃-13 đã xác minh cấu trúc chamigrane spiro[5.5] với cấu hình 6S*.



Hình 3.9. Phổ NOESY của hợp chất **ADA1**



Hình 3.10. Tương tác phổ NOESY của hợp chất **ADA1**



Hình 3.11. Phân tích hồi quy tuyến tính của độ dịch chuyển hóa học thực nghiệm so với tính toán của **1a** và **1b**.

Trong số các sesquiterpen bromochamigrane được phân lập từ các loài *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-bromochamigranes bất thường [120-122]. Theo đó, để xác định vị trí của nguyên tử brom trong cấu trúc của **ADA1**, các tính toán độ dịch chuyển hóa học ^1H và ^{13}C NMR đối với hai đồng phân có thể có **1a**-(6*S**,9*S**-OH,10*S**-Br) và **1b**-(6*S** ,9*S**-Br, 10*S**-OH) đã được thực hiện bằng phương pháp quỹ đạo nguyên tử độc lập (GIAO) ở mức lý thuyết PCM-CHCl₃/mPW1PW91/6–

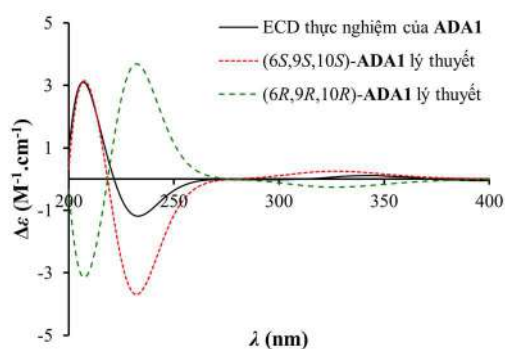
31+G(d,p). Sau đó, dữ liệu NMR thực nghiệm và tính toán được so sánh bằng các phân tích về hệ số tương quan tuyến tính (R^2), sai số tuyệt đối trung bình đã hiệu chỉnh (CMAE), độ lệch bình phương trung bình trong căn (RMSD) và xác suất DP4+ [123]. Kết quả cho thấy độ dịch chuyển hóa học ^1H và ^{13}C NMR được tính toán của C-9 và C-10 của đồng phân **1a** phù hợp với các giá trị thực nghiệm tốt hơn nhiều so với giá trị của **1b**. Hơn nữa, việc so sánh R^2 , CMAE và RMSD của hai đồng phân cho thấy rằng cả dữ liệu ^1H và ^{13}C NMR của **1a** cũng chính xác hơn dữ liệu của **1b** (Bảng 3.2 và Hình 3.11). Cuối cùng, phép tính DP4+ dự đoán rằng **1a** là đồng phân chính xác với xác suất 100%.

Để xác định cấu hình tuyệt đối của **ADA1**, đồng phân **1**-(6*S*,9*S*,10*S*) và đồng phân đối quang của nó, **1'**-(6*R*,9*R*,10*R*), được tính toán ECD bằng lý thuyết hàm mật độ phụ thuộc thời gian (TD-DFT) ở mức PCM-MeOH/CAM-B3LYP/cc-PVTZ. Kết quả chỉ ra rằng hiệu ứng cotton ECD được tính toán của **1**-(6*S*,9*S*,10*S*) phù hợp tốt với dữ liệu thực nghiệm (Hình 3.12). Vì vậy, cấu hình tuyệt đối của dactylomelanin C (**ADA1**) được xác định là 6*S*,9*S*,10*S*. Hợp chất **ADA1** được đặt tên là dactylomelanin C. Là một hợp chất nor-sesquiterpene mới, lần đầu tiên được công bố.

Bảng 3.2. Phổ ^1H , ^{13}C -NMR thực nghiệm và phổ tính toán cho hợp chất **ADA1**

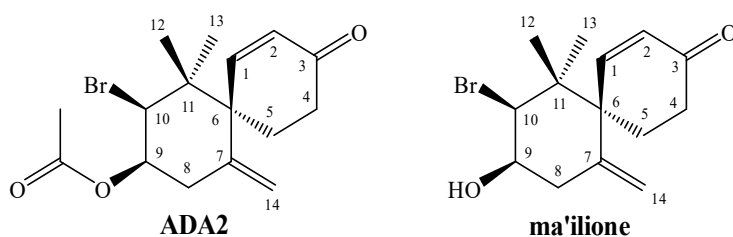
Vị trí C	Phổ thực nghiệm của 1		Tính toán của 1a		Tính toán của 1b	
	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ (mult., J in Hz)	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$
1	152,3	6,87 (1H, dd, 10,2, 1,8)	153,9	6,93	153,6	7,01
2	131,4	6,14 (1H, d, 10,2)	129,8	6,01	130,3	6,05
3	198,8	-	197,6	-	197,6	-
4	34,0	2,35 (2H, m)	34,2	2,25	35,5	2,21
5	26,3	2,21 (2H, m)	26,8	2,18	28,4	2,15
6	51,5	-	56,0	-	54,7	-
7	142,9	-	144,5	-	146,5	-
8	39,2	2,80 (1H, dd, 13,8, 6,0) 2,44 (1H, dddd, 13,8, 10,5, 2,4, 1,8)	39,6	2,75 2,51	43,2	2,78 2,96
9	71,2	3,90 (1H, ddd, 10,5, 10,5, 6,0)	70,9	3,75	60,0	4,11
10	73,2	4,38 (1H, d, 10,5)	73,2	4,37	76,1	3,71
11	42,5	-	44,6	-	47,2	-
12	19,2	1,20 (3H, s)	16,2	1,30	14,7	1,13
13	26,3	1,13 (3H, s)	23,5	1,13	22,9	1,09
14	117,0	5,18 (1H, br s) 4,81 (1H, t, 1,8)	115,1	5,30 4,92	115,4	5,28 4,94
CMAE			1,54	0,0793	3,32	0,1817
RMSD			1,98	0,0917	4,15	0,2664
DP4+			100%		0%	

^a đo trong CDCl_3



Hình 3.12. Tính toán ECD của hợp chất **ADA1**

3.1.1.2. Hợp chất **ADA2**: *Dactylomelanin D* (chất mới)



Hình 3.13. Cấu trúc hợp chất **ADA2** và hợp chất so sánh

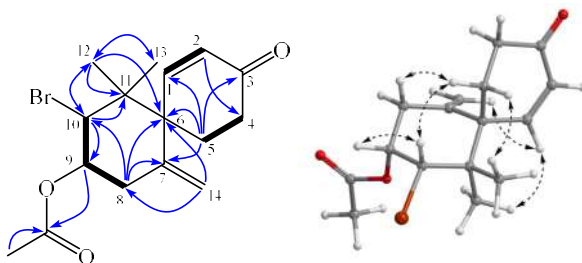
Bảng 3.3. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADA2**

Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	152,9	152,5	7,01 dd (10,5, 2,0)	-
2	131,1	131,3	6,12 dd (10,5, 0,5)	4
3	198,7	198,6	-	-
4	34,2	34,2	2,39 – 2,29 (2H, m)	-
5	26,3	26,4	2,26 – 2,14 (2H, m)	1, 3, 6, 7
6	51,8	51,8	-	-
7	141,7	141,4	-	-
8	38,4	37,4	2,74 (1H, m) 2,56 (1H, dd, 15,5, 2,5)	- -
9	71,7	72,8	5,32 (1H, dd, 6,25, 3,75)	1'
10	68,8	61,0	4,50 (1H, d, 3,5)	-
11	42,7	43,0	-	-
12	21,4	21,0	1,30 (3H, s)	6, 10, 11, 13
13	26,9	27,0	1,08 (3H, s)	6, 10, 11, 12
14	117,9	118,0	5,10 (1H, br s) 4,85 (1H, br s)	6, 7, 8 6, 7, 8
9-OAc				
1'		169,9	-	-
2'		21,0	2,10 (3H, s)	1'

* tài liệu tham khảo chất ma'ilione [118], ^a đo trong CDCl_3 , ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, ^d 50 MHz

Hợp chất **ADA2** được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Công thức phân tử $C_{16}H_{21}BrO_3$ của nó được suy ra từ các pic ion trên phổ phân giải cao HR-ESI-MS ở m/z 341,0747 $[M + H]^+$ và 343,0728 $[M + 2 + H]^+$ (tính toán theo lý thuyết $C_{16}H_{22}BrO_3^+$, m/z 341,0747 và 343,0726) (Hình D2.1). Phổ 1H -NMR vùng trường mạnh xuất hiện hai tín hiệu singlet đặc trưng của nhóm gem-dimethyl [δ_H 1,30 và 1,08 ppm]; một tín hiệu singlet đặc trưng của methyl trong nhóm acetyl tại δ_H 2,10 ppm, hai tín hiệu proton olefin trong liên kết đôi dạng $-CH=CH-$ tại δ_H 7,01 (1H, dd, 10,5, 2,0) và 6,12 (1H, dd, 10,5, 2,0); hai tín hiệu proton olefin khác dạng $-C=CH_2$ tại δ_H 5,10 và 4,85 ppm; một tín hiệu nhóm oxymethine tại δ_H 5,32 ppm; một tín hiệu nhóm brommethine tại δ_H 4,50 ppm. Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện 16 tín hiệu carbon, trong đó có hai tín hiệu đặc trưng của nhóm acetyl tại δ_C 169,9 và 21,0 ppm. Còn lại 14 tín hiệu carbon của khung chất.

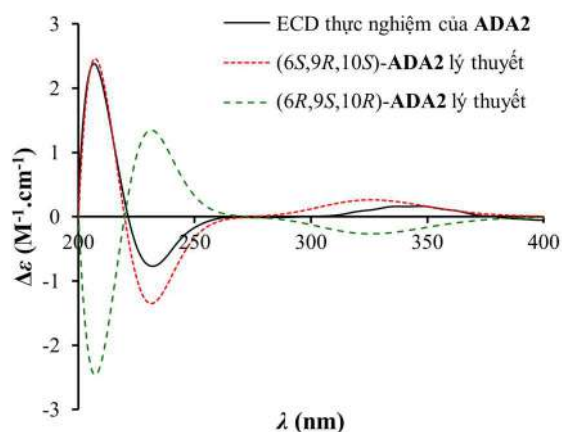
Dữ liệu phổ 1H và ^{13}C -NMR của **ADA2** (Bảng 3.3) gần như giống hệt với dữ liệu của hợp chất **ADA1** và ma'ilione [118, 119]. Phân tích phổ 2D NMR của **ADA2** cho thấy sự khác biệt duy nhất giữa cấu trúc phẳng của **ADA1** và **ADA2** là sự hiện diện của nhóm thế acetyl ở vị trí C-9 của **ADA2**. Điều này được xác định dựa trên phổ COSY với các tương tác của H-10/H-9/H₂-8 và tương tác trên phổ HMBC từ H-9 đến C-1' và từ H-2' đến C-1' (Hình 3.14).



Hình 3.14. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$) và phổ COSY (—) và NOESY (<----->) của hợp chất **ADA2**

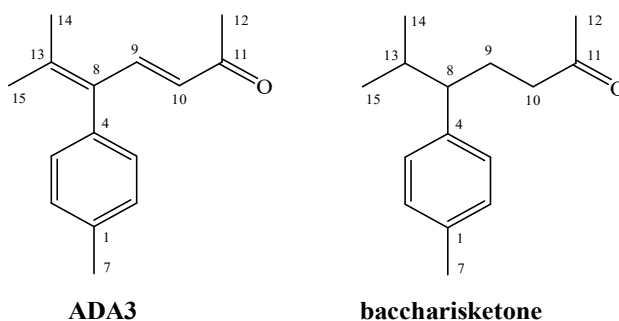
Trên phổ NOESY, tương tác 1,3-diaxial giữa H-10/H_b-5 và H_b-5/H-8a gợi ý cấu hình S^* cho C-10. Các giá trị nhỏ của hằng số ghép giữa H-10 và H-9 ($J_{9,10} = 3,5$ Hz) cũng như tương tác NOESY của H-9/H-10 đã khẳng định cấu hình R^* của H-9. Tương tự trường hợp hợp chất **ADA1**, cấu hình $6S^*$ của hợp chất **ADA2** cũng được xác định dựa trên phân tích thông tin từ phổ NOESY (Hình 3.14).

Cuối cùng, so sánh phổ ECD thực nghiệm của **ADA2** (Hình 3.15) với phổ tính toán lý thuyết cho phép khẳng định cấu hình tuyệt đối ($6S,9R,10S$) cho **ADA2**. Từ đó hợp chất mới **ADA2** được đặt tên là dactylomelanin D và lần đầu tiên được công bố.



Hình 3.15. Tính toán ECD của hợp chất **ADA2**

3.1.1.3. Hợp chất **ADA3**: Dactylomelanin E (chất mới)



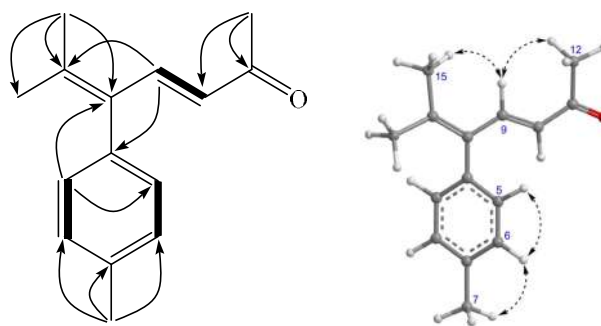
Hình 3.16. Cấu trúc hợp chất **ADA3** và hợp chất so sánh

Bảng 3.4. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADA3**

Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H→C)
1	135,5	136,5	-	-
2	128,9	129,1	7,17 (1H, d, 7,8)	-
3	128,3	129,5	6,90 (1H, d, 7,8)	5, 8
4	140,5	136,2	-	-
5	128,3	129,5	6,90 (1H, d, 7,8)	3, 8
6	128,9	129,1	7,17 (1H, d, 7,8)	-
7	21,0	21,2	2,37 (3H, s)	1, 2, 6
8	52,0	134,7	-	-
9	26,8	141,8	7,85 (1H, d, 15,6)	4, 13
10	42,2	128,0	5,54 (1H, d, 15,6)	-
11	209,3	199,0	-	-
12	30,0	28,0	2,20 (3H, s)	10, 11
13	33,6	144,2	-	-
14	20,8	24,0	1,67 (3H, d, 1,0)	8, 13, 15
15	20,9	20,6	2,01 (3H, s)	-

^a tham khảo hợp chất baccharisketone [124], ^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, ^d 100 MHz

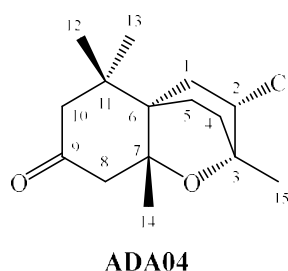
ADA3 là chất dầu màu vàng, có công thức phân tử $C_{15}H_{18}O$ được xác định bởi peak ion trên phổ khối lượng phân giải cao HRESIMS tại m/z 215,1433 $[M+H]^+$ (tính toán theo lý thuyết $C_{15}H_{19}O^+$, m/z 215,1430) (Phụ lục hình D3.1). Phổ ^{13}C NMR và HSQC của **ADA3** (Bảng 3.4) cho tín hiệu của 15 nguyên tử cacbon tương ứng với một nhóm ketone (δ_C 199,0), bốn nguyên tử carbon sp^2 không liên kết với hydro, sáu sp^2 methine và bốn nhóm methyl. Phổ 1H NMR cho thấy sự có mặt của một liên kết đôi *trans* [δ_H 7,85 (d, $J = 15,6$ Hz) và 5,54 (d, $J = 15,6$ Hz)], một vòng benzen thế ở vị trí 1,4 [δ_H 7,17 (2H, d, $J = 7,8$ Hz) và 6,90 (2H, d, $J = 7,8$ Hz)] và bốn nhóm methyl singlet [δ_H 2,37, 2,20, 2,10 và 1,67].



Hình 3.17. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$), COSY ($\dashrightarrow$) và phổ NOESY của hợp chất **ADA3**

Phân tích chi tiết phổ COSY và HMBC cho thấy cấu trúc của **ADA3** (Hình 3.177) tương tự như cấu trúc của baccharisketone, một dẫn xuất bisabolane mới được phân lập từ lá của cây *Baccharis dracunculifolia* [124, 125]. Sự khác biệt chính giữa hai hợp chất này là sự thay thế hai liên kết đơn ở C-8/C-13 và C-9/C-10 trong baccharisketone bằng hai liên kết đôi liên hợp trong cấu trúc của **ADA3**. Điều này được khẳng định bằng tương tác trên phổ COSY của H-9/H-10, cùng với các tương tác HMBC từ H-9 đến C-4 và C-13, và từ H₃-15 đến C-8, C-13 và C-14. Ngoài ra, các tương tác NOESY giữa H-5/H-6, H-6/H₃-7, H₃-12/H-9 và H-9/H₃-15 còn cho thấy các proton này gần nhau trong không gian (Hình 3.17). Như vậy, hợp chất **ADA3** được xác định là một bisabolane sesquiterpene mới [125] và được đặt tên là dactylomelanin E.

3.1.1.4. Hợp chất **ADA4**: (2*S*,3*R*,6*S*,7*R*)-2-chloro-3,7-epoxyhamigrane-9-one



Hình 3.18. Cấu trúc hợp chất **ADA4**

Hợp chất **ADA4** thu được dưới dạng chất bột vô định hình màu trắng. Trên phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện peak tín hiệu tại m/z 271,1459 $[M + H]^+$ và 273,1430 $[M + 2 + H]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{15}H_{24}ClO_2^+$, m/z 271,1459 và 273,1430); 288,1720 và 290,1699 $[M + NH_4]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{15}H_{27}ClNO_2^+$, m/z 288,1725 và 290,1695); 293,1285 và 295,1244 $[M + Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{15}H_{23}ClNaO_2^+$, m/z 293,1279 và 295,1249). Phổ 1H -NMR xuất hiện bốn tín hiệu của các nhóm methyl singlet tại $[\delta_H$ 0,99 (6H, s), 1,21 (3H, s) và 1,36 (3H, d, 1,0)], về phía vùng trường yếu hơn xuất hiện một tín hiệu của nhóm methine liên kết với halogen tại δ_H 4,12 (1H, dd, $J = 10,5, 4,5$ Hz). Phổ ^{13}C -NMR kết hợp phổ HSQC cho thấy hợp chất chứa 15 nguyên tử carbon. Trong đó xuất hiện một tín hiệu đặc trưng của nhóm ketone cộng hưởng tại δ_C 208,1 ppm, một nhóm methine halogen tại δ_C 63,3 ppm, hai carbon liên kết trực tiếp với nguyên tử oxy tại δ_C 70,9 và 79,6 (Hình D4.3 và D4.4).

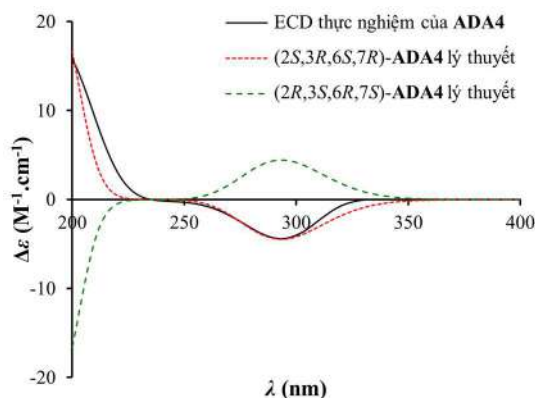
Bảng 3.5. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADA4**

Vị trí C	$^*\delta_C^{a,d}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H→C)
1a	39,13	39,1	2,62 (1H, dd, 15,0, 10,5)	2, 3, 6, 7, 11
1b			2,42 (1H, dt, 15,0, 4,5)	5, 6, 7
2	63,24	63,3	4,12 (1H, dd, 10,5, 4,5)	-
3	70,92	70,9	-	-
4a	31,64	31,6	2,05 – 1,99 (1H, #)	-
4b			1,69 (1H, m)	5, 11
5a	21,63	21,6	1,95 (1H, m)	4
5b			1,52 (1H, ddd, 12,25, 12,25, 6,5)	6, 7, 11
6	40,80	40,8	-	-
7	79,57	79,6	-	-
8a	53,80	53,8	3,08 (1H, d, 13,5)	7, 9, 14
8b			2,49 (1H, dd, 13,5, 2,0)	6, 7, 9, 10, 14
9	208,05	208,1	-	-
10a	53,02	53,0	2,54 (1H, d, 14,0)	9, 11, 12, 13
10b			2,05 – 1,99 (1H, #)	-
11	38,31	38,3	-	-
12	26,05	26,0	0,99 (3H, s)	6, 10, 11, 13
13	27,33	27,3	0,99 (3H, s)	6, 10, 11, 12
14	29,16	29,1	1,36 (3H, d, 1,0)	6, 7, 8
15	24,45	24,4	1,21 (3H, s)	2, 3, 4

* tham khảo chất 2-chloro-3,7-epoxyhamigrane-9-one [126]

^a đo trong $CDCl_3$, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, [#] tín hiệu chập, ^d 100 MHz

So sánh với tài liệu tham khảo về phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR và phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS thì hợp chất **ADA4** được xác định là 2-chloro-3,7-epoxychamigran-9-one [126]. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa có báo cáo nào về cấu hình tuyệt đối của hợp chất này. Do đó, hợp chất **ADA4** được đo phổ ECD và cho thấy hiệu ứng cotton âm ở bước sóng 293 nm. Phổ ECD được tính toán cho đồng phân 4-(2*S*,3*R*,6*S*,7*R*) rất phù hợp với phổ ECD thực nghiệm (Hình 3.19), cho phép gán cấu hình tuyệt đối của hợp chất **ADA4** là (2*S*,3*R*,6*S*,7*R*).

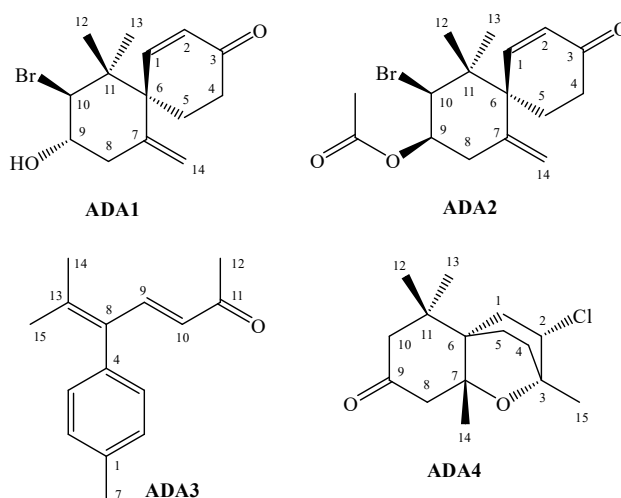


Hình 3.19. Tính toán ECD của hợp chất **ADA4**

Kết hợp những phân tích dữ liệu trên xác định được hợp chất **ADA4** là (2*S*,3*R*,7*S*,7*R*)-2-chloro-3,7-epoxychamigrane-9-one.

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

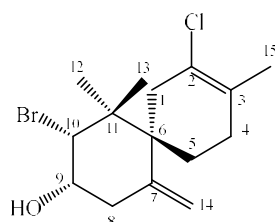
Từ mẫu sên *A. dactylomela* - Phú Quý, Lâm Đồng đã phân lập và xác định cấu trúc 4 hợp chất tinh khiết, bao gồm ba hợp chất mới dactylomelanin C (**ADA1**), dactylomelanin D (**ADA2**), dactylomelanin E (**ADA3**), và một hợp chất đã biết (2*S*,3*R*,7*S*,7*R*)-2-chloro-3,7-epoxychamigrane-9-one (**ADA4**),



Hình 3.20. 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 đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi

3.1.3.1. Hợp chất **ADB1**: Elatol



Hình 3.21. Cấu trúc của hợp chất **ADB1**

Bảng 3.6. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB1**

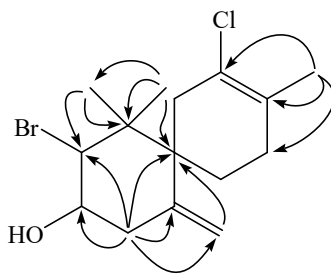
Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1a	38,6	38,6	2,58 (1H, ddd, 1,8, 3,6, 17,4)	-
1b			2,36 (1H, dd, 1,2, 17,4)	3
2	128,0	128,1	-	-
3	124,1	124,2	-	-
4a	29,3	29,4	1,96 (1H, m)	2, 3, 6
4b			1,81 (1H, #)	2
5a	25,6	25,6	1,83 (1H, #)	-
5b			1,62 (1H, ddd, 3,0, 12,0, 12,0)	1, 4, 6, 7
6	49,1	49,2	-	-
7	140,7	140,8	-	-
8a	38,0	38,0	2,63 (1H, dt, 1,8, 14,4)	-
8b			2,50 (1H, dd, 3,0, 14,4)	6, 9, 10, 14
9	72,1	72,2	4,14 (1H, br s)	-
10	70,8	70,9	4,60 (1H, d, 3,0)	11, 12, 13
11	43,1	43,1	-	-
12	20,7	20,7	1,07 (3H, s)	6, 10, 11, 13
13	24,2	24,2	1,08 (3H, s)	6, 10, 11, 12
14a	115,8	115,9	5,13 (1H, br s)	6, 7
14b			4,80 (1H, br s)	6, 8, 8
15	19,4	19,4	1,70 (3H, s)	2, 3, 4

* Tài liệu tham khảo chất elatol [127].

^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, ^d 100 MHz. # tín hiệu chồng chéo

Hợp chất **ADB1** được phân lập dưới dạng dầu không màu. Phổ ^1H -NMR xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của ba nhóm methyl singlet tại δ_{H} 1,07 (H-12), 1,08 (H-13) và 1,70 (H-15), và hai proton của liên kết đôi thể đôi dạng $>\text{CH}=\text{CH}_2$ [δ_{H} 4,80 (1H, br s) và 5,13 (1H, br s)]. Ngoài ra, hai tín hiệu cộng hưởng tại δ_{H} 4,60 (1H, d, J

= 3,0 Hz) và 4,14 (1H, br s) có thể gán cho nhóm methine brom và nhóm oxymethine tương ứng (Bảng 3.6).

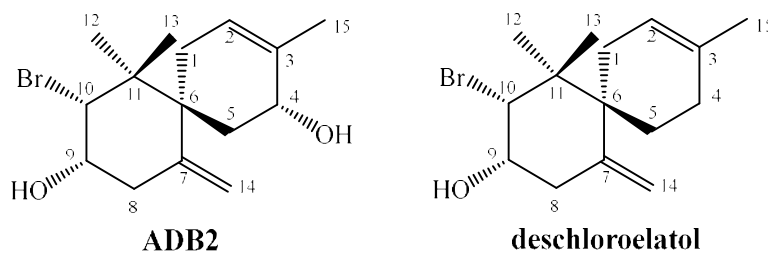


Hình 3.22. Tương tác phổ HMBC (→) của hợp chất **ADB1**

Phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **ADB1** cho thấy tín hiệu của 15 nguyên tử carbon, bao gồm năm carbon không chứa hydro, năm nhóm methylene, hai nhóm methine và ba nhóm methyl (Phụ lục hình D5.2 và D5.3). Trong đó, có bốn carbon olefin [δ_{C} 128,1 (C-2), 124,2 (C-3), 140,8 (C-7) và 115,9 (C-14)] và hai nhóm oxymethine hoặc halogen methine [δ_{C} 72,2 (C-9) và 70,9 (C-10)]; hai tín hiệu carbon bậc bốn tại δ_{C} 49,2 và 43,1 ppm; còn lại là các tín hiệu methylene tại δ_{C} 38,6, 29,4, 25,6 và 38,0 ppm.

Các tương tác HMBC chính từ proton H-12 (δ_{H} 1,07) và H-13 (δ_{H} 1,08) đến C-6 (δ_{C} 49,2), C-10 (δ_{C} 70,9) và C-11 (δ_{C} 43,1) (Hình D5.4 và Hình 3.22), chỉ ra rằng hợp chất **ADB1** chứa nhóm gem-dimethyl. Cấu trúc của vòng A được xác nhận bằng các tương tác HMBC từ H-8 đến C-6, C-7, C-9, C-10 và C-14. Ngoài ra, một nhóm tín hiệu methyl được gán cho vị trí C-3 của hợp chất **ADB1** dựa trên cơ sở các tương tác HMBC từ H-15 đến C-2, C-3 và C-4. Cấu trúc của vòng B cũng như liên kết spiro giữa các vòng A và B cũng dựa trên các tương tác HMBC từ H-5 đến C-1, C-4, C-6 và C-7. Cuối cùng, hợp chất **ADB1** được xác định là elatol bằng cách so sánh dữ liệu phổ cộng hưởng từ hạt nhân NMR của **ADB1** với dữ liệu được công bố trong tạp chí trước đây [127]. Hợp chất này trước đây đã được phân lập từ sên biển *A. dactylomela* [8, 21] và tảo đỏ *Laurencia chondrioides* [128] và *Laurencia dendroidea* [127].

3.1.3.2. Hợp chất **ADB2**: Aplydactylonin I (chất mới)



Hình 3.23. Cấu trúc của hợp chất **ADB2** và chất tham khảo

Hợp chất **ADB2** được phân lập dưới dạng chất dầu màu vàng. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện peak tín hiệu tại m/z 349,0576 $[M + Cl]^-$ và 351,0554 $[M + 2 + Cl]^-$ (tính toán theo lý thuyết được công thức phân tử giả ion $C_{15}H_{23}BrO_2Cl^-$, 349,0575 và 351,0554), gợi ý công thức phân tử $C_{15}H_{23}BrO_2$ cho hợp chất **ADB2** (Hình D6.1). Dữ liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR và phổ HSQC của **ADB2** (Bảng 3.7) cho thấy hợp chất chứa 15 carbon. Trong đó chứa ba nhóm methyl singlet [δ_H 1,03 (H-12)/ δ_C 20,2 (C-12), 1,06 (H-13)/ 24,9 (C-13) và 1,75 (H-15)/ 20,4 (C-15)]; bốn nhóm methylene, trong đó có một nhóm methylene trong liên kết đôi [δ_H 5,15 (H_a-14) và 4,92 (H_b-14)/ δ_C 116,6 (C-14)]; hai nhóm oxymethine [δ_H 3,87 (H-4)/ δ_C 69,3 (C-4) và 4,20 (H-9)/ 72,5 (C-9)]; một nhóm brommethine [δ_H 4,69 (H-10)/ δ_C 71,1 (C-10)]; một nhóm methine trong liên kết đôi [δ_H 5,53 (H-2)/ δ_C 123,3 (C-2)]; và bốn carbon không chứa hydro. Với những phân tích dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất **ADB2** là một chamigrane sesquiterpene.

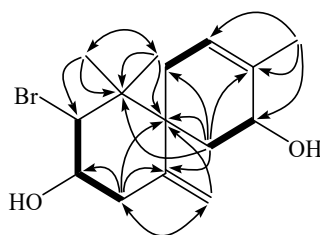
Bảng 3.7. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB2**

Vị trí C	* $\delta_C^{a,d}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H→C)
1	30,1	30,6	2,32 (1H, m) 2,24 (1H, br d, 18,0)	5, 2, 3 2, 5, 6, 7
2	119,4	123,3	5,53 (1H, m)	-
3	132,5	133,4	-	-
4	27,6	69,3	3,87 (1H, br s)	-
5	25,8	34,5	2,41 (1H, dt, 2,0, 14,0) 1,84 (1H, dd, 4,5, 14,0)	1, 3, 4 1, 6, 7
6	47,0	45,4	-	-
7	141,1	145,9	-	-
8	37,9	39,5	3,08 (1H, dt, 2,0, 14,5) 2,58 (1H, dd, 2,5, 14,5)	- 6, 7, 9, 14
9	70,3	72,5	4,20 q (3,0)	-
10	71,8	71,1	4,69 d (3,0)	11, 12, 13
11	43,1	43,7	-	-
12	20,7	20,2	1,03 (3H, s)	6, 10, 11, 13
13	24,2	24,9	1,06 (3H, s)	6, 10, 11, 12
14	115,7	116,6	5,15 (1H, br s) 4,92 (1H, br s)	6, 8 -
15	23,0	20,4	1,75 (3H, br s)	2, 3, 4

* Tài liệu tham khảo chất deschloroelatol [93],

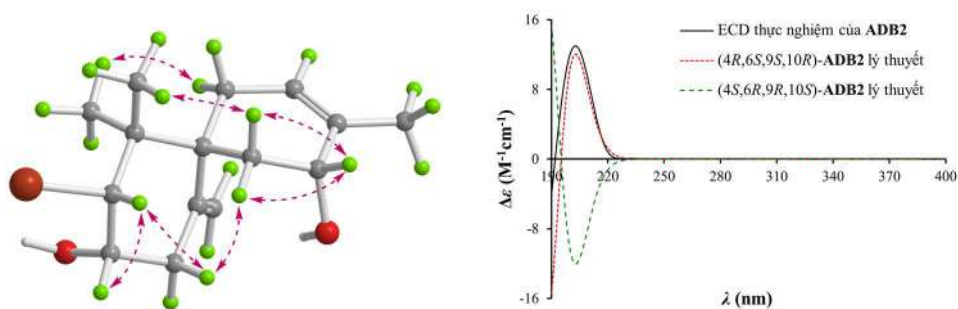
^a đo trong $CDCl_3$, ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, ^d 75.5 MHz

Phân tích trên phổ HMBC xuất hiện một số tương tác chính: H-12 và H-13 tương tác lên C-6, C-10 và C-11; H-15 lên C-2, C-3 và C-4; H_a-14 lên C-6 và C-8; H_b-8 lên C-6, C-7, C-9 và C-14 (Hình 3.24). Những tương tác này cho biết **ADB2** chứa một nhóm gem-dimethyl tại vị trí C-11, một nhóm methyl tại C-3, hai nhóm thế -OH tại vị trí C-4 và C-9, vị trí C-10 được thế nguyên tử brom. Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H-9 (δ_H 4,20) tương tác với H_a-8 (δ_H 3,08) và H-10 (δ_H 4,69); H_a-1 và H_b-1 đều tương tác với H-2; H-4 tương tác với cả H_a-5 và H_b-5 (Hình 3.24). Đồng thời so sánh dữ liệu phổ NMR với hợp chất deschloroelatol cho thấy hợp chất **ADB2** chỉ khác ở vị trí C-4 có thêm nhóm thế -OH [93] và cấu trúc phẳng của hợp chất cũng được xác định.



Hình 3.24. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$) và COSY (—) của hợp chất **ADB2**

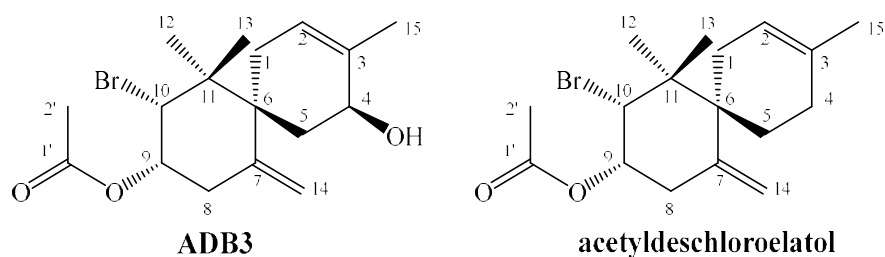
Phổ NOESY của **ADB2** xuất hiện tương tác giữa H-10 với H-8a cho thấy định hướng axial của 2 proton này (Hình 3.25). Giá trị hằng số ghép nhỏ giữa H-10 và H-9 ($J_{9,10} = 3,0$ Hz) cùng với tương tác NOE quan sát được giữa 2 proton này cho phép khẳng định H-9 được định hướng equatorial. Cấu hình pseudo-equatorial của H-4 được xác nhận dựa trên hằng số ghép nhỏ của H-4 (br s) cũng như tương tác NOESY giữa H-4 với H-5a và H-5b. Cấu hình của carbon C-6 được xác định là S^* từ các tương tác NOE giữa H-5a với H-8, giữa H-5b với H₃-13, và giữa H-1a với H₃-12.



Hình 3.25. Tương tác phổ NOESY ($\longleftrightarrow$), phổ ECD của hợp chất **ADB2**

Phân tích tiếp theo cho thấy hiệu ứng cotton dương tại 203 nm trên phổ ECD thực nghiệm của **ADB2** hoàn toàn phù hợp với phổ ECD tính toán lý thuyết cho đồng phân **ADB2**-(4*R*,6*S*,9*S*,10*R*) (Hình 3.25). Trên cơ sở đó, cấu hình tuyệt đối của các vị trí lập thể trong phân tử **ADB2** được xác định là 4*R*, 6*S*, 9*S*, 10*R*. Đây là một chất mới và được đặt tên là aplydactylonin I.

3.1.3.3. Hợp chất **ADB3**: *Aplydactylonin K* (chất mới)



Hình 3.26. Cấu trúc của hợp chất **ADB3** và chất tham khảo

Bảng 3.8. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB3**

Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$)
1	30,2	30,4	2,28 (1H, dddd, 2,5, 2,5, 2,5, 18,0) 2,12 (1H, br d, 18,0)	- -
2	119,4	122,5	5,41 (1H, m)	-
3	132,7	134,9	-	-
4	27,8	69,2	3,73 (1H, m)	
5	26,0	36,1	2,22 (1H, dddd, 2,5, 2,5, 2,5, 12,5) 1,61 (1H, dd, 11,0, 12,5)	1, 3, 4 1, 4, 6, 7
6	46,9	48,6	-	-
7	141,0	140,7	-	-
8	36,7	36,7	2,74 (1H, dd, 1,5, 15,0) 2,42 (1H, dd, 3,0, 15,0)	- 6, 7, 9, 10
9	74,0	73,8	5,27 (1H, q, 3,0)	-
10	64,0	63,2	4,57 (1H, d, 3,0)	9, 11, 12
11	43,5	43,5	-	-
12	20,1	19,6	1,01 (3H, s)	6, 10, 11, 13
13	24,3	24,4	1,10 (3H, s)	6, 10, 11, 12
14	115,7	115,6	4,92 (1H, br s) 4,72 (1H, br s)	6, 8 -
15	23,1	18,4	1,69 (1H, d, 1,5)	2, 3, 4
1'	170,2	170,1	-	-
2'	21,0	21,0	2,06 (3H, s)	1'

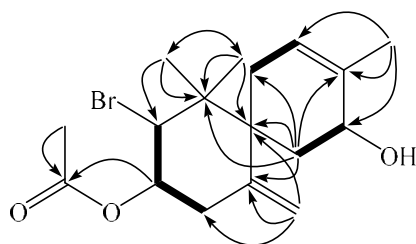
* Tài liệu tham khảo acetyldeschloroelatol [21]

^a đo trong CDCl_3 , ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, ^d 125.7 MHz

Hợp chất **ADB3** được phân lập dưới dạng chất dầu màu vàng. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện peak tín hiệu tại m/z 391,0669 và 393,0648 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ (tính toán theo lý thuyết được công thức ion giả phân tử $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{BrO}_3\text{Cl}^-$, 391,0681 và 393,0661), gợi ý công thức phân tử $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{BrO}_3$ cho hợp chất **ADB3**

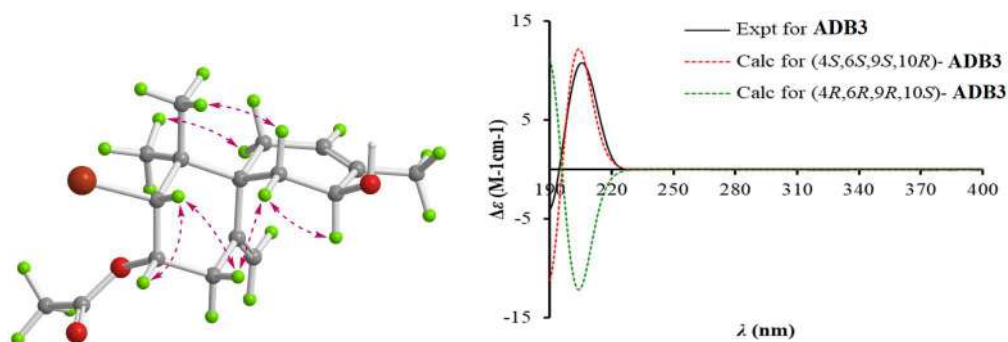
(Hình D7.1). Dữ liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR và phổ HSQC của **ADB3** (Bảng 3.8) cho thấy hợp chất chứa 17 carbon. Trong đó chứa ba nhóm methyl singlet [δ_{H} 1,01 (H-12)/ δ_{C} 19,6 (C-12), 1,10 (H-13)/ δ_{C} 24,4 (C-13) và 1,69 (H-15)/ δ_{C} 18,4 (C-15)]; bốn nhóm methylene, trong đó có một nhóm methylene trong liên kết đôi [δ_{H} 4,92 (H_a -14) và 4,72 (H_b -14)/ δ_{C} 115,6 (C-14)]; hai nhóm oxymethine [δ_{H} 3,73 (H-4)/ δ_{C} 69,2 (C-4) và 5,27 (H-9)/ δ_{C} 73,8 (C-9)]; một nhóm brommethine [δ_{H} 4,57 (H-10)/ δ_{C} 63,2 (C-10)]; một nhóm methine trong liên kết đôi [δ_{H} 5,41 (H-2)/ δ_{C} 122,5 (C-2)]; và bốn carbon không chứa hydro. Bên cạnh đó còn xuất hiện các tín hiệu của một nhóm acetyl [δ_{C} 170,1 (C-1') và δ_{H} 2,06 (H_3 -2')/ δ_{C} 21,0 (C-2')]. Với những phân tích dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất **ADB3** là một sesquiterpene chamigrane.

Phân tích trên phổ HMBC xuất hiện một số tương tác chính: H-12 và H-13 tương tác lên C-6, C-10 và C-11; H-15 lên C-2, C-3 và C-4; H_a -14 lên C-6 và C-8; H_b -14 lên C-6, C-7, C-9 và C-14 (Hình 3.27). Những tương tác này cho biết **ADB3** chứa một nhóm gem-dimethyl tại vị trí C-11, một nhóm methyl tại C-3, hai nhóm thế -OH tại vị trí C-4 và C-9, vị trí C-10 được thế nguyên tử brom. Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H-9 (δ_{H} 5,27) tương tác với H_a -8 (δ_{H} 2,74) và H-10 (δ_{H} 4,57); H_a -1 và H_b -1 đều tương tác với H-2; H-4 tương tác với cả H_a -5 và H_b -5 (Hình 3.27). Đồng thời so sánh dữ liệu phổ NMR với hợp chất acetyldeschloroelatol đã công bố trước đây cho thấy hợp chất **ADB3** chỉ khác ở vị trí C-4 có thêm nhóm thế -OH [21]. Ngoài ra, cấu trúc phẳng của **ADB3** cũng gần giống với hợp chất **ADB2**, những **ADB3** có thêm nhóm thế acetyl tại vị trí C-9 (dựa trên tương tác phổ HMBC).



Hình 3.27. Tương tác phổ HMBC chính ($\rightarrow$) và COSY ($\dashrightarrow$) của hợp chất **ADB3**

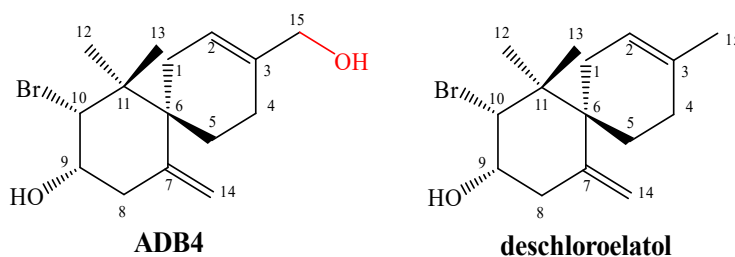
Cấu hình tương đối của C-9 và C-10 cũng được xác định tương tự hợp chất **ADB2**, dựa trên các tương tác NOESY giữa H-10 với H-8a cũng như giá trị nhỏ của hằng số ghép giữa H-10 và H-9 ($J_{9,10} = 3,0$ Hz). Hằng số ghép lớn giữa H-4 và H-5b ($J_{4,5b} = 11,0$ Hz) cùng với tương tác NOE giữa H-4 với H-5a (Hình 3.28) cho thấy cả H-4 và H-5b đều được định hướng pseudo-axial. Cấu hình S^* của carbon spiro C-6 được xác định dựa trên các tương tác NOE giữa H-5a với H-8, giữa H-5b với H_3 -13, và giữa H-1b với H_3 -12.



Hình 3.28. Tương tác phổ NOESY (←-----→) và phổ ECD của hợp chất **ADB3**

Tương tự trường hợp **ADB2**, phổ ECD thực nghiệm của **ADB3** cũng cho hiệu ứng cotton dương tại 205 nm (Hình 3.28). Cấu hình tuyệt đối của **ADB3** cũng được xác định là (4*S*,6*S*,9*S*,10*R*) dựa trên kết quả tính toán ECD lý thuyết cho các đồng phân **ADB3**-(4*S*,6*S*,9*S*,10*R*) và **ADB3**-(4*R*,6*R*,9*R*,10*S*). Từ đó, **ADB3** được xác định là một chất mới và được đặt tên là aplydactylonin K.

3.1.3.4. Hợp chất **ADB4**: Aplydactylonin G (chất mới)



Hình 3.29. Cấu trúc của hợp chất **ADB4** và chất tham khảo

Hợp chất **ADB4** được phân lập dưới dạng chất dầu màu vàng. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện peak tín hiệu tại m/z 332,1208 và 334,1182 $[M + NH_4]^+$ (tính toán theo lý thuyết cho công thức ion giả phân tử $C_{15}H_{27}BrO_2N^+$, 332,1220 and 334,1200), gợi ý công thức phân tử $C_{15}H_{23}BrO_2$ cho hợp chất **ADB4** (Hình D8.1). Dữ liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR và phổ HSQC của **ADB4** (Bảng 3.9) cho thấy hợp chất chứa 15 carbon. Trong đó chứa hai nhóm methyl singlet [δ_H 1,07 (H-12)/ δ_C 20,8 (C-12), 1,07 (H-13)/ 24,3 (C-13)]; sáu nhóm methylene, trong đó có một nhóm oxymethylene [δ_H 3,96 (H_a-15) và 3,92 (H_b-15)/ δ_C 66,9 (C-15)], một nhóm methylene trong liên kết đôi [δ_H 5,09 (H_a-14) và 4,78 (H_b-14)/ δ_C 115,9 (C-14)] và bốn nhóm methylene thông thường tại δ_C 29,9, 23,4, 25,7, và 38,0 ppm; một nhóm oxymethine [δ_H 4,16 (H-9)/ δ_C 72,4 (C-9)]; một nhóm brommethine [δ_H 4,69 (H-10)/ δ_C 71,5 (C-10)]; một nhóm methine trong liên kết đôi [δ_H 5,61 (H-2)/ δ_C 121,6 (C-2)]; hai carbon không chứa hydro tại δ_C 136,3 và 141,4 ppm; hai tín hiệu carbon bậc 4 tại δ_C 47,4 và 43,2 ppm. Với những phân tích dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất **ADB4** là một sesquiterpene chamigrane.

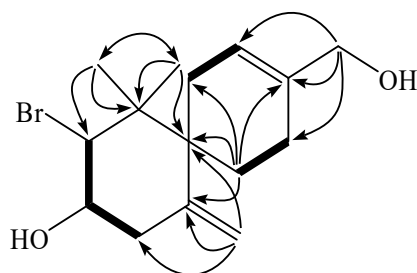
Bảng 3.9. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB4**

Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	30,1	29,9	2,27 (1H, m) 2,21 (1H, br d, 18,0)	- -
2	119,4	121,6	5,61 (1H, dd, 1,5, 2,5)	-
3	132,5	136,3	-	-
4	27,6	23,4	2,00 (1H, m) 1,73 (1H, #)	- -
5	25,8	25,7	1,91 (1H, m) 1,61 (1H, ddd, 4,0, 12,5, 12,5)	3 1, 4, 6, 7
6	47,0	47,4	-	-
7	141,1	141,1	-	-
8	37,9	38,0	2,70 (1H, ddd, 2,0, 2,0, 14,5) 2,49 (1H, dd, 2,5, 14,5)	7, 14 6, 7, 9, 10, 14
9	70,3	72,4	4,16 (1H, q, 3,0)	7
10	71,8	71,5	4,69 (1H, d, 3,0)	11, 12, 13
11	43,1	43,2	-	-
12	20,7	20,8	1,07 (3H, s)	6, 10, 11, 13
13	24,2	24,3	1,07 (3H, s)	6, 10, 11, 12
14	115,7	115,9	5,09 (1H, br s) 4,78 (1H, br s)	6, 8 6, 8
15	23,0	66,9	3,96 (1H, d, 12,5) 3,92 (1H, d, 12,5)	2, 3, 4 2, 3, 4

* Tài liệu tham khảo chất deschloroelatol [93]

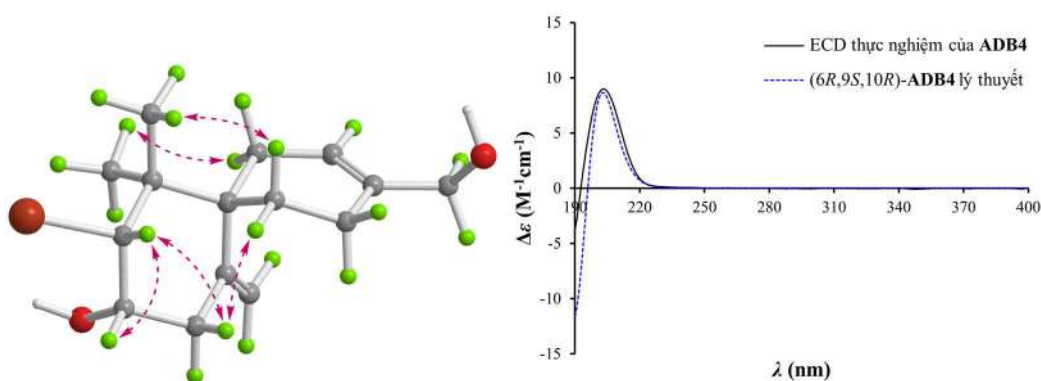
^a đo trong CDCl_3 , ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, ^d 75,5 MHz, # tín hiệu chồng chéo.

Phân tích trên phổ HMBC xuất hiện một số tương tác chính: H-12 và H-13 tương tác lên C-6, C-10 và C-11; H-15 lên C-2, C-3 và C-4; H_a-14 lên C-6 và C-8; (Hình 3.30). Những tương tác này cho biết **ADB4** chứa một nhóm gem-dimethyl tại vị trí C-11, hai nhóm thế -OH tại vị trí C-9 và C-15, vị trí C-10 được thế nguyên tử brom. Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H-9 (δ_{H} 4,16) tương tác với H_a-8 (δ_{H} 2,70) và H-10 (δ_{H} 4,69); H_a-1 (δ_{H} 2,27) và H_b-1 (δ_{H} 2,21) đều tương tác với H-2 (δ_{H} 5,61); H_a-4 (δ_{H} 2,00) tương tác với cả H_b-5 (δ_{H} 1,61) (Hình 3.30). Đồng thời so sánh dữ liệu phổ NMR với hợp chất deschloroelatol đã công bố trước đây cho thấy hợp chất **ADB4** chỉ khác ở vị trí C-15 có thêm nhóm thế -OH [93]. Từ đó cấu trúc phẳng của hợp chất **ADB4** cũng được xác định.



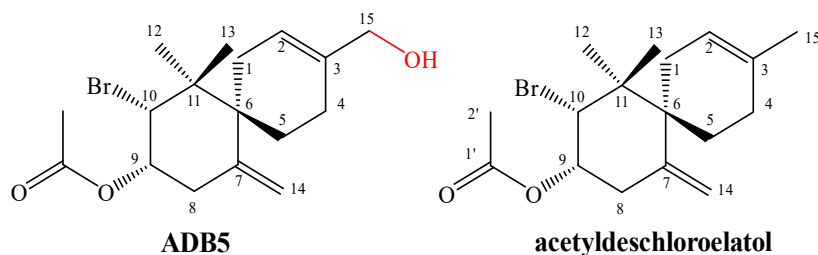
Hình 3.30. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$) và COSY ($\longrightarrow$) của hợp chất **ADB4**

Tương tự trường hợp các hợp chất **ADB2** và **ADB3**, cấu hình tương đối của **ADB4** được xác định là $(6S^*,9S^*,10R^*)$ dựa trên các tương tác NOESY quan sát được giữa H-10 với H-9 và H_a-8, giữa H_a-8 với H_a-5, giữa H_b-5 với H₃-13, và giữa H_a-1 với H₃-12 (Hình 3.31). Cuối cùng, kết quả tính toán phổ ECD lý thuyết cho đồng phân **ADB4**-(6*R*,9*S*,10*R*) cũng phù hợp tốt với phổ ECD thực nghiệm (Hình 3.31), cho phép kết luận cấu hình tuyệt đối của **ADB4** là (6*R*,9*S*,10*R*). **ADB4** được xác định là một chất mới và được đặt tên là aplydactylonin G.



Hình 3.31. Tương tác phổ NOESY ($\longleftrightarrow$) và phổ ECD của hợp chất **ADB4**

3.1.3.5. Hợp chất **ADB5**: Aplydactylonin H (chất mới)



Hình 3.32. Cấu trúc của hợp chất **ADB5** và chất tham khảo

Hợp chất **ADB5** thu được dưới dạng chất dầu màu vàng. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện peak tín hiệu tại m/z 379,0871 và 381,0836 [$M + Na$]⁺ (tính toán theo lý thuyết cho công thức ion giả phân tử $C_{17}H_{25}BrO_3Na^+$, m/z 379,0880 và 381,0859), gợi ý công thức phân tử $C_{17}H_{25}BrO_3$ cho hợp chất **ADB5** (Hình D9.1).

Bảng 3.10. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB5**

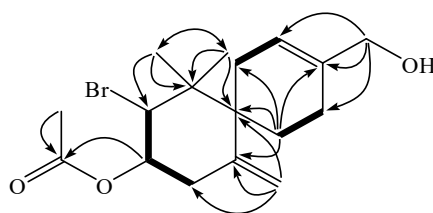
Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	30,2	29,9	2,29 (1H, m) 2,19 (1H, m)	- -
2	119,4	121,4	5,60 (1H, m)	-
3	132,7	136,3	-	-
4	27,8	23,4	2,00 (1H, m) 1,67 (1H, m)	6y
5	26,0	25,7	1,89 (1H, m) 1,61 (1H, m)	- 4, 6, 7
6	46,9	47,2	-	-
7	141,0	140,9	-	-
8	36,7	36,7	2,66 (1H, ddd, 2,0, 3,5, 15,5) 2,40 (1H, dd, 3,0, 15,5)	- 7, 14
9	74,0	73,9	5,27 (1H, q, 3,5)	1'
10	64,0	63,7	4,57 (1H, d, 3,5)	9, 11, 12, 13
11	43,5	43,5	-	-
12	20,1	20,2	1,05 (3H, s)	6, 10, 11, 13
13	24,3	24,3	1,08 (3H, s)	6, 10, 11, 12
14	115,7	115,7	4,95 (1H, br s) 4,74 (1H, br s)	6, 8 -
15	23,1	66,9	3,95 (1H, br d, 12,5) 3,91 (1H, br d, 12,5)	2, 3, 4 -
9-Acetyl				
1'	170,2	170,2	-	-
2'	21,0	21,1	2,06 s	1'

* Tài liệu tham khảo chất *acetyldeschloroelatol* [21],
^a đo trong CDCl_3 , ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, ^d 125,7 MHz.

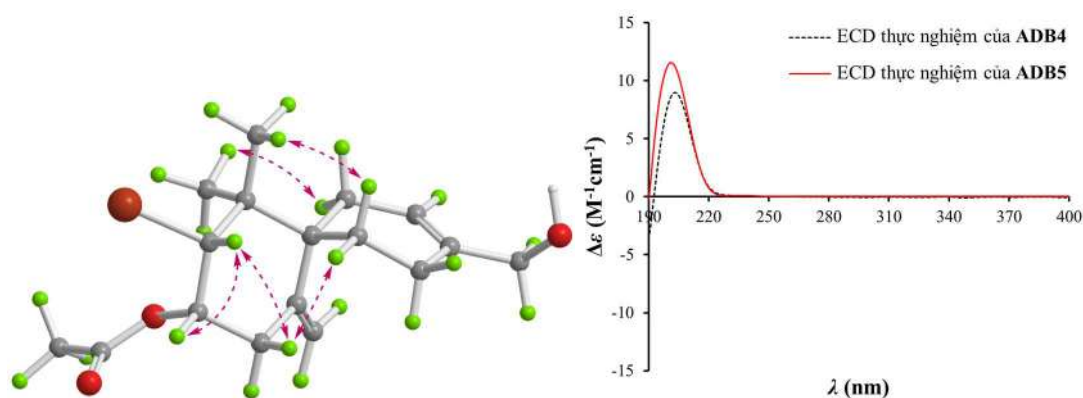
Dữ liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR và phổ HSQC của **ADB5** (Bảng 3.10) cho thấy hợp chất chứa 17 carbon. Trong đó chứa hai nhóm methyl singlet [δ_{H} 1,05 (H-12)/ δ_{C} 20,5 (C-12), 1,08 (H-13)/ 24,3 (C-13)]; sáu nhóm methylene, trong đó có một nhóm oxymethylene [δ_{H} 3,95 (H_a-15) và 3,91 (H_b-15)/ δ_{C} 66,9 (C-15)] và một nhóm methylene trong liên kết đôi [δ_{H} 4,95 (H_a-14) và 4,74 (H_b-14)/ δ_{C} 115,7 (C-14)]; một nhóm oxymethine [δ_{H} 5,27 (H-9)/ δ_{C} 73,9 (C-9)]; một nhóm brommethine [δ_{H} 4,57 (H-10)/ δ_{C} 63,7 (C-10)]; một nhóm methine trong liên kết đôi [δ_{H} 5,60 (H-2)/ δ_{C} 121,4 (C-2)]; và bốn carbon không chứa hydro. Bên cạnh đó còn xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của một nhóm acetyl [δ_{C} 170,2 (C-1') và δ_{H} 2,06 (H-2')/ δ_{C} 21,1 (C-2')]. Với những phân tích dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất **ADB5** là một sesquiterpene

chamigrane và hợp chất này gần giống với hợp chất acetyldeschloroelatol, chỉ khác là hợp chất này được thế nhóm -OH tại vị trí C-15. Hợp chất **ADB5** cũng gần giống với hợp chất **ADB4** như đã phân tích bên trên, chỉ khác là hợp chất này có thêm nhóm thế acetyl ở vị trí C-9.

Phân tích trên phổ HMBC xuất hiện một số tương tác chính: H-12 (δ_H 1,05) và H-13 (δ_H 1,08) tương tác lên C-6 (δ_C 47,2), C-10 (δ_C 63,7) và C-11 (δ_C 43,5); H-15 (δ_H 3,95/3,91) lên C-2 (δ_C 121,4), C-3 (δ_C 136,3) và C-4 (δ_C 23,4); H_a-14 (δ_H 4,95) lên C-6 (δ_C 47,2) và C-8 (δ_C 36,7); (Hình 3.33). Những tương tác này cho biết **ADB5** chứa một nhóm gem-dimethyl tại vị trí C-11, một nhóm thế -OH tại C-15, vị trí C-10 được thế bởi nguyên tử brom. Một nhóm acetyl được thế vào vị trí C-9 trên phân tử dựa vào sự tương tác HMBC giữa H-9 (δ_H 5,27) với C-1' (δ_C 170,2). Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H-9 (δ_H 5,27) tương tác với H_a-8 (δ_H 2,66) và H-10 (δ_H 4,57); H_a-1 (δ_H 2,29) và H_b-1 (δ_H 2,19) đều tương tác với H-2 (δ_H 5,60); H_a-4 (δ_H 2,00) tương tác với cả H_b-5 (δ_H 1,61) (Hình 3.33). Với những dữ liệu phổ này xác định được cấu trúc phẳng của hợp chất **ADB5**.



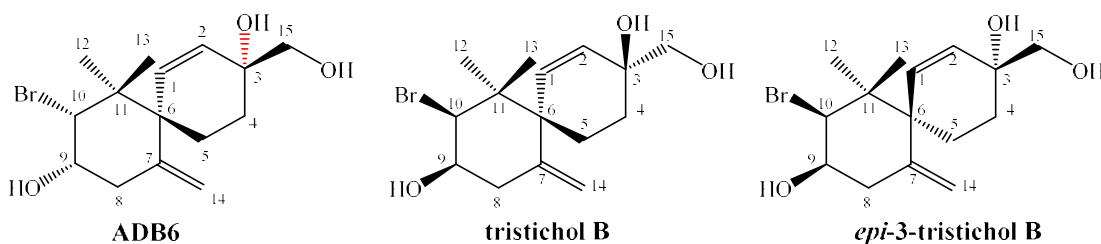
Hình 3.33. Tương tác phổ HMBC ($\rightarrow$) và COSY (—) của hợp chất **ADB5**



Hình 3.34. Tương tác phổ NOESY (-----), phổ ECD của hợp chất **ADB5**

Các tương tác NOESY của **ADB5** được biểu diễn trên Hình 3.34 cũng hoàn toàn giống với các tương tác của hợp chất **ADB4**, chứng tỏ hai hợp chất có cùng cấu hình tương đối là ($6S^*, 9S^*, 10R^*$). Ngoài ra sự tương đồng giữa phổ ECD thực nghiệm của hai hợp chất này (Hình 3.34) cho phép kết luận cấu hình tuyệt đối của **ADB5** là ($6R, 9S, 10R$). **ADB5** cũng là một chất mới và được đặt tên là aplydactylonin H.

3.1.3.6. Hợp chất **ADB6**: *Aplydactylonin F* (chất mới)



Hình 3.35. Cấu trúc hợp chất **ADB6** và hợp chất so sánh

Hợp chất **ADB6** được phân lập dưới dạng chất dầu màu vàng. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện peak tín hiệu tại m/z 365,0517 và 367,0491 $[M + Cl]^-$ (tính toán theo lý thuyết cho công thức ion giả phân tử $C_{15}H_{23}BrO_3Cl^-$, 365,0525 và 367,0504), gợi ý công thức phân tử $C_{15}H_{23}BrO_2$ cho hợp chất **ADB6** (Hình D10.1). Dữ liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR và phổ HSQC của **ADB6** (Bảng 3.11) cho thấy hợp chất chứa 15 carbon. Trong đó chứa hai nhóm methyl singlet [δ_H 1,19 (H-12)/ δ_C 21,6 (C-12), 0,99 (H-13)/ 26,6 (C-13)]; năm nhóm methylene, trong đó có một nhóm oxymethylene [δ_H 3,50 (H_a-15) và 3,50 (H_b-15)/ δ_C 67,0 (C-15)] và một nhóm methylene trong liên kết đôi [δ_H 5,13 (H_a-14) và 4,90 (H_b-14)/ δ_C 117,1 (C-14)]; một nhóm oxymethine [δ_H 4,15 (H-9)/ δ_C 71,9 (C-9)]; một nhóm brommethine [δ_H 4,57 (H-10)/ δ_C 70,1 (C-10)]; hai nhóm methine trong một liên kết đôi [δ_H 5,88 (H-1)/ δ_C 134,0 (C-1) và δ_H 5,75 (H-2)/ δ_C 132,8 (C-2)]; và bốn carbon không chứa hydro trong đó có một carbon ($>C-OH$) tại δ_C 71,6 (C-3). Đây cũng là điểm mới của hợp chất này. Với những phân tích dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất **ADB6** là một sesquiterpene chamigrane.

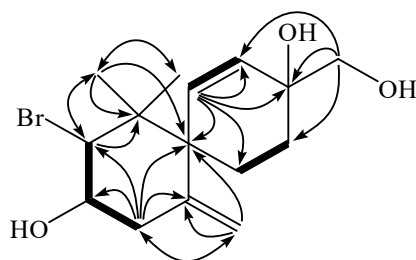
Phân tích phổ HMBC cho thấy sự xuất hiện một số tương tác chính: H-12 và H-13 tương tác với C-6, C-10 và C-11; H-15 lên C-2, C-3 và C-4; H_a-14 lên C-6 và C-8; (Hình 3.36). Những tương tác này cho biết **ADB6** chứa một nhóm gem-dimethyl tại vị trí C-11, hai nhóm thế -OH tại vị trí C-9 và C-15, vị trí C-10 được thế nguyên tử brom. Bên cạnh đó hợp chất chứa liên kết đôi dạng -CH=CH- ở vị trí C-1/C-2 và tại C-3 (δ_C 71,6) dựa trên tương tác HMBC giữa H-1 (δ_H 5,88) tương tác lên C-2, C-3, C-5 và C-6. Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H-9 (δ_H 4,15) tương tác với H_a-8 (δ_H 2,74) và H-10 (δ_H 4,57); H-1 (δ_H 5,88) tương tác với H-2 (δ_H 5,75); H_b-4 (δ_H 1,48) tương tác với cả H-5 (δ_H 1,80) (Hình 3.36). Đồng thời so sánh dữ liệu phổ NMR và cấu trúc phẳng của **ADB6** giống với hợp chất tristichol B đã công bố trước đây [129] cũng như cấu trúc được gán lại của nó là *epi*-3-tristichol B [130].

Bảng 3.11. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB6**

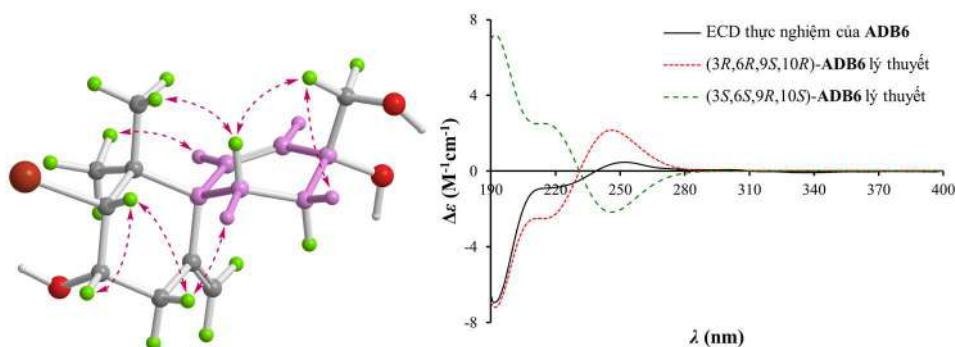
Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$, (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	135,3	134,0	5,88 (1H, brd, 10,5)	2, 3, 5, 6, 11
2	130,6	132,8	5,75 (1H, dd, 1,5, 10,5)	1, 4, 6
3	69,3	71,6	-	-
4	29,1	29,0	1,97 (1H, br d, 13,0) 1,48 (1H, ddd, 6,5, 10,5, 13,0)	- 3, 5, 6, 15
5	22,0	24,6	1,80 (2H, m)	1, 4, 6, 7
6	51,7	51,2	-	-
7	143,5	144,3	-	-
8	37,9	38,1	2,74 (1H, ddd, 2,0, 2,0, 15,0) 2,60 (1H, dd, 2,5, 15,0)	7, 14 6, 7, 9, 10, 14
9	72,0	71,9	4,15 (1H, q, 2,5)	-
10	70,3	70,1	4,57 (1H, d, 3,0)	11, 12, 13
11	42,7	42,7	-	-
12	21,5	21,6	1,19 (3H, s)	6, 10, 11, 13
13	26,7	26,6	0,99 (3H, s)	6, 10, 11, 12
14	116,7	117,1	5,13 (1H, t, 1,5) 4,90 (1H, t, 1,5)	6, 8 6, 7, 8
15	70,0	67,0	3,51 (1H, d, 10,0) 3,49 (1H, d, 10,0)	2, 3, 4

^aTài liệu tham khảo chất tristichol B [131], ^a đo trong CDCl_3 , ^b 125 MHz, ^c 500 MHz, ^d 100 MHz

Giá trị hằng số ghép lớn của H-4b với proton lân cận ($J = 10,5 \text{ Hz}$) cho thấy H-4b được định hướng pseudo axial và do đó H-4a sẽ có định hướng pseudo equatorial (Hình 3.37). Mặc dù tín hiệu của hai proton ở C-5 bị chồng lấp với nhau, nhưng các tương tác NOESY quan sát được giữa H₂-15 với H-4a và H-5 cho phép khẳng định cấu hình tương đối R^* của C-3, khác với cấu hình $3S^*$ của hợp chất *epi*-3-tristichol B. Nhận định này cũng được xác nhận dựa trên sự khác biệt giữa độ chuyển dịch hóa học của các vị trí C-3 và C-15 của hai hợp chất (Bảng 3.11). Cấu hình tương đối của các vị trí C-6, C-9 và C-10 của **ADB6** cũng được xác định tương tự như hợp chất **ADB2** dựa trên giá trị hằng số ghép ($J_{9,10} = 3,0 \text{ Hz}$) cũng như các tương tác NOE được chỉ ra trên Hình 3.37. Cuối cùng, sự phù hợp tốt giữa phổ ECD thực nghiệm (Hình 3.37) và phổ ECD tính toán lý thuyết cho đồng phân **ADB6**-(3*R*,6*R*,9*S*,10*R*) cho phép kết luận cấu hình tuyệt đối của hợp chất này là (3*R*,6*R*,9*S*,10*R*). Đây cũng là một chất mới và được đặt tên là aplydactylonin F.

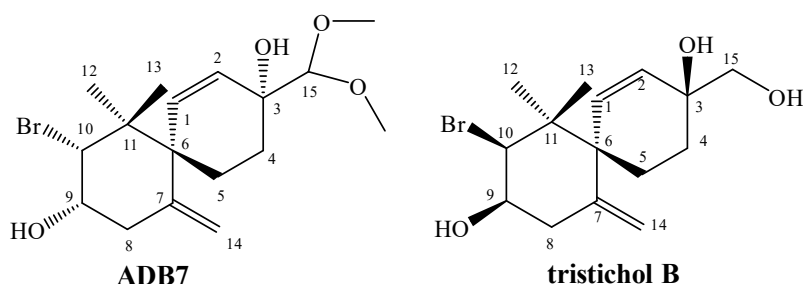


Hình 3.36. Tương tác chính HMBC ($\rightarrow$) và COSY (—) của **ADB6**



Hình 3.37. Tương tác phổ NOESY (---), phổ ECD của hợp chất **ADB6**

3.1.3.7. Hợp chất **ADB7**: *Aplydactylonin E* (chất mới)



Hình 3.38. Cấu trúc của hợp chất **ADB7** và chất tham khảo

Hợp chất **ADB7** được phân lập dưới dạng chất dầu màu vàng. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện peak tín hiệu tại m/z 397,0996 và 399,0975 $[M + Na]^+$ (tính toán theo lý thuyết tương ứng với công thức ion giả phân tử $C_{17}H_{27}BrO_4Na^+$, 397,0985 và 399,0965), gợi ý công thức phân tử $C_{17}H_{27}BrO_4$ cho hợp chất **ADB7** (Hình D11.1). Dữ liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR và phổ HSQC của **ADB7** (Bảng 3.12) cho thấy hợp chất chứa 17 carbon. Trong đó chứa hai nhóm methyl singlet [δ_H 1,19 (H-12)/ δ_C 21,7 (C-12) và 1,02 (H-13)/26,7 (C-13)]; bốn nhóm methylene, trong đó có một nhóm methylene trong liên kết đôi [δ_H 5,09 (H_a-14) và 4,92 (H_b-14)/ δ_C 116,8 (C-14)]; một nhóm oxymethine [δ_H 4,15 (H-9)/ δ_C 72,1 (C-9)]; một nhóm brommethine [δ_H 4,60 (H-10)/ δ_C 70,6 (C-10)]; hai nhóm methine trong một liên kết đôi [δ_H 5,93 (H-1)/ δ_C 134,0 (C-1) và δ_H 5,77 (H-2)/ δ_C 131,7 (C-2)]; và bốn carbon không chứa hydro trong đó có một carbon ($>C-OH$) tại δ_C 72,1 (C-3). Với những phân tích dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất **ADB7** là một sesquiterpene chamigrane.

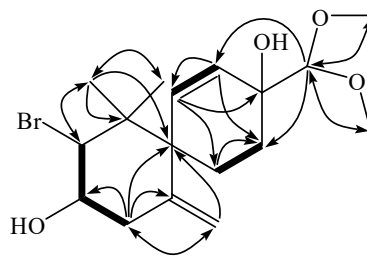
Bảng 3.12. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB7**

Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	135,3	134,0	5,93 (1H, dd, 10,5, 0,6)	3, 5
2	130,6	131,7	5,77 (1H, dd, 10,5, 0,6)	1, 4, 6
3	69,3	72,1	-	-
4a	29,1	28,6	1,93 (1H, br d, 13,2)	-
4b			1,54 (1H, ddd, 13,2, 13,2, 3,6)	6
5a	22,0	24,3	2,03 (1H, ddd, 13,2, 13,2, 3,0)	4
5b			1,75 (1H, dddd, 13,2, 3,6, 3,6, 1,8)	-
6	51,7	50,7	-	-
7	143,5	144,3	-	-
8a	37,9	38,2	2,73 (1H, ddd, 15,0, 2,4, 1,8)	6, 7, 9, 14
8b			2,59 (1H, dd, 15,0, 2,4)	
9	72,0	72,1	4,15 (1H, m)	-
10	70,3	70,6	4,60 (1H, d, 3,0)	12
11	42,7	42,9	-	6, 10, 11, 13
12	21,5	21,7	1,19 (3H, s)	
13	26,7	26,7	1,02 (3H, s)	
14a	116,7	116,8	5,09 (1H, br s)	6, 8
14b			4,92 (1H, br s)	6, 8
15	70,0	109,3	4,13 (1H, s)	2, 4, OCH ₃
15-OCH ₃		57,8	3,53 (3H, s)	15
15-OCH ₃		57,6	3,54 (3H, s)	15

**Tài liệu tham khảo chất tristichol B [131], ^a đo trong CDCl₃, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, ^d 100 MHz*

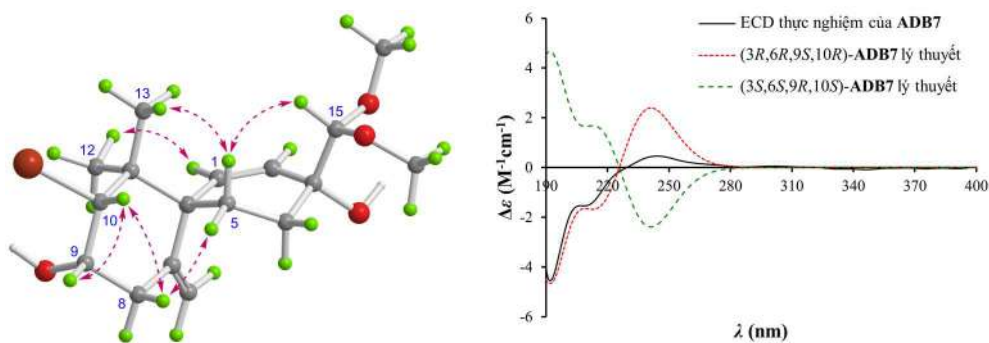
Phân tích trên phổ HMBC xuất hiện một số tương tác chính: H-12 (δ_{H} 1,19) và H-13 (δ_{H} 1,02) tương tác với C-6 (δ_{C} 50,7), C-10 (δ_{C} 70,6) và C-11 (δ_{C} 42,9); H-15 (δ_{H} 4,13) lên C-2 (δ_{C} 131,7), C-3 (δ_{C} 72,1) và C-4 (δ_{C} 28,6); H_a-14 (δ_{H} 5,09) tương tác lên C-6 (δ_{C} 50,7) và C-8 (δ_{C} 38,2); (Hình 3.39). Những tương tác này cho biết **ADB7** chứa một nhóm gem-dimethyl tại vị trí C-11, hai nhóm thế -OH tại vị trí C-3 và C-9, một vị trí C-10 được thế bởi nguyên tử brom. Bên cạnh đó hợp chất chứa liên kết đôi dạng -CH=CH- ở vị trí C-1/C-2 và tại C-3 (δ_{C} 72,1) chứa nhóm thế -OH dựa trên tương tác HMBC giữa H-1 (δ_{H} 5,89) tương tác lên C-2, C-3, C-5 và C-6. So sánh với hợp chất tristichol B thì hợp chất **ADB7** khác ở vị trí có thể hai nhóm oxymethyl tại C-15. Điều này cũng được xác định dựa trên phổ HMBC do xuất hiện tương tác giữa proton (δ_{H} 3,53 và δ_{H} 3,54) của hai nhóm OCH₃ tương tác lên C-15 (δ_{C} 109,3). Đây cũng chính là tính mới của hợp chất này. Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H-9 (δ_{H} 4,15) tương tác với H_a-8 (δ_{H} 2,73) và H-10 (δ_{H} 4,60); H-1 (δ_{H} 5,93)

tương tác với H-2 (δ_H 5,77); H_b-4 (δ_H 1,54) tương tác với cả H_a-5 (δ_H 2,03) (Hình 3.39).



Hình 3.39. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (—) của hợp chất **ADB7**

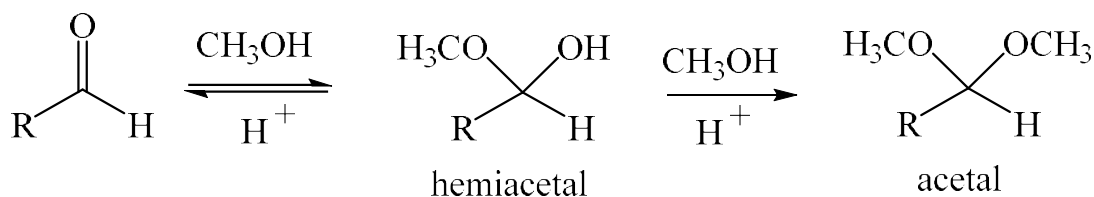
Tương tác 1,3-diaxial quan sát được trên phổ NOESY giữa H-10 với H_a-8 kết hợp với hằng số ghép nhỏ giữa H-9 với H-10 ($J = 3,0$ Hz) cho thấy H-10 và H-9 có định hướng lần lượt là axial và equatorial (Hình 3.40). Tương tự trường hợp **ADB6**, hằng số ghép lớn giữa H_a-5 và H_b-4 ($J_{5a,4b} = 13,2$ Hz) khẳng định sự định hướng pseudo-axial của hai proton này. Trên cơ sở đó, tương tác 1,3-pseudo-diaxial giữa H_a-5 với H-15 xác nhận cấu hình của C-3 là R^* . Cấu hình tương đối của carbon spiro được xác định là $6R^*$ từ các tương tác NOE giữa H_b-5 với H_a-8, giữa H_a-5 với H₃-13, và giữa H-1 với H₃-12. Cuối cùng, các hiệu ứng Cotton âm tại 292 nm và hiệu ứng Cotton dương tại 244 nm trên phổ ECD thực nghiệm của **ADB7** cũng hoàn toàn tương đồng với phổ ECD của **ADB6**, chứng tỏ hai hợp chất này có cùng cấu hình tuyệt đối ($3R,6R,9S,10R$). Nhận định này đã được xác nhận dựa trên kết quả tính toán phổ ECD lý thuyết của **ADB7** cho đồng phân **ADB7**-($3R,6R,9S,10R$) và đồng phân đối quang của nó (Hình 3.40).



Hình 3.40. Tương tác phổ NOESY (---), phổ ECD của hợp chất **ADB7**

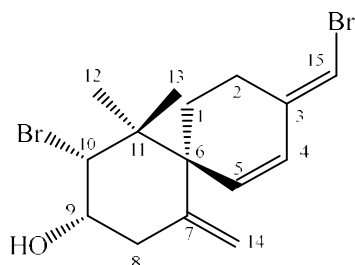
Một hợp chất có hai nhóm methoxy thế vào cùng một carbon là tương đối hiếm trong tự nhiên. Trước đây Kita M. và cộng sự (2010) đã có một nghiên cứu về cây thuộc chi kim ngân *Lonicera korolkovii* và công bố hợp chất korolkoside có chứa hai nhóm dimethyl acetal. Nghiên cứu cho rằng hợp chất có chứa hai nhóm methoxy thế cùng vào một nguyên tử carbon là do nhân tạo (artifacts), trong quá trình ngâm chiết và sắc ký với methanol xảy ra phản ứng giữa nhóm aldehyde ($-\text{CHO}$) với

methanol tạo thành nhóm dimethyl acetal. Quá trình acetal được biểu diễn như hình 3.41. Vì vậy, **ADB7** có thể đã vô tình được tạo thành từ hợp chất aldehyde tương ứng trong quá trình chiết và sắc ký có sử dụng MeOH.



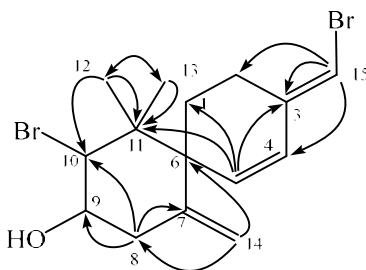
Hình 3.41. Quá trình acetal một hợp chất hữu cơ có nhóm aldehyde (-CHO)

3.1.3.8. *Hợp chất **ADB8**: [3(15)E,4Z,6S,9S,10R]-10,15-dibromochamigra-3(15),4,7(14)-trien-9-ol*



Hình 3.42. Cấu trúc của hợp chất **ADB8**

Hợp chất **ADB8** được phân lập dưới dạng dầu không màu. Phổ ^1H -NMR và HSQC hiển thị các tín hiệu đặc trưng cho một liên kết đôi nội vòng tại δ_{H} 6,21 (1H, d, $J = 10,8$ Hz) và 5,89 (1H, d, $J = 10,8$ Hz), một liên kết đôi ngoại vòng tại δ_{H} 5,10 (1H, t, $J = 1,8$ Hz) và 4,82 (1H, dd, $J = 1,8, 1,2$ Hz), hai tín hiệu methyl singlet tại δ_{H} 1,01 (3H, s) và 1,24 (3H, s), một tín hiệu của nhóm methine brom tại δ_{H} 4,64 (1H, d, $J = 3,0$ Hz) và một tín hiệu nhóm oxymethine tại δ_{H} 4,17 (1H, m). Phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **ADB8** cho thấy tín hiệu cộng hưởng của 15 nguyên tử carbon, bao gồm bốn nguyên tử carbon không chứa hydro, năm nhóm methine, bốn nhóm methylene và hai nhóm methyl. Trong số các nguyên tử cacbon này, có sáu nguyên tử là carbon olefin (δ_{C} 143,0, 139,5, 132,8, 129,3, 117,5 và 105,6) và hai nguyên tử liên kết với nguyên tử brom hoặc oxy (δ_{C} 72,0 và 70,3).



Hình 3.43. Tương tác HMBC (→) của hợp chất **ADB8**

Bảng 3.13. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB8**

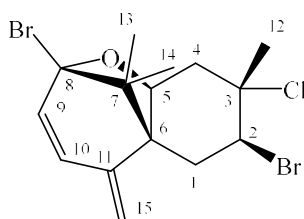
Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1a	24,5	25,7	1,99 (1H, $^{\#}$)	2, 3, 5, 6, 7, 11
1b			1,75 (1H, m)	-
2a	25,7	24,5	2,65 (1H, m)	1, 3, 4, 6, 15
2b			2,00 (1H, $^{\#}$)	-
3	139,5	139,5	-	-
4	132,8	129,3	6,21 (1H, d, 10,8)	2, 3, 6, 10
5	129,3	132,8	5,89 (1H, d, 10,8)	1, 3, 11
6	51,8	51,8	-	-
7	143,0	143,0	-	-
8a	38,0	38,0	2,71 (1H, ddd, 1,8, 4,2, 15,0)	-
8b			2,59 (1H, dd, 2,4, 15,0)	6, 7, 9, 10, 14
9	72,0	72,0	4,17 (1H, m)	7
10	70,3	70,3	4,64 (1H, d, 3,0)	11, 12, 13
11	42,7	42,7	-	-
12	26,6	26,6	1,01 (3H, s)	6, 10, 11, 13
13	21,5	21,5	1,24 (3H, s)	6, 10, 11, 12
14a	117,5	117,5	5,10 (1H, t, 1,8)	6, 8
14b			4,82 (1H, dd, 1,2, 1,8)	6, 8
15	105,6	105,6	6,10 (1H, d, 2,4)	2, 3, 4

^{*}Tài liệu tham khảo chất (2R,3S,6S,10Z)-9-[(E)-bromomethylidene]-1,1,9-trimethyl-5-methylidenespiro[5.5]undec-8-en-3-ol [128].

^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, ^d 100 MHz, [#] tín hiệu chồng chéo.

Cấu trúc của vòng A của **ADB8** giống với cấu trúc của **ADB7**, điều này được chứng minh bằng các tương tác HMBC từ H-12 (δ_{H} 1,01) đến C-6 (δ_{C} 51,8), C-10 (δ_{C} 70,3), C-11 (δ_{C} 42,7) và C-13 (δ_{C} 21,5), và từ H_a-8 (δ_{H} 2,71) đến C-6 (δ_{C} 51,8), C-7 (δ_{C} 143,0), C-9 (δ_{C} 72,0), C-10 (δ_{C} 70,3) và C-14 (δ_{C} 117,5) (Hình 3.43). Ngoài ra, các tương tác HMBC khác từ H-5 (δ_{H} 5,89) đến C-1 (δ_{C} 25,7), C-3 (δ_{C} 139,5) và C-11 (δ_{C} 42,7), từ H-14b (δ_{H} 4,82) và H-14a (δ_{H} 5,10) đến C-6 (δ_{C} 51,8) và C-8 (δ_{C} 38,0), và từ H-15 (δ_{H} 6,10) đến C-2 (δ_{C} 24,5), C-3 (δ_{C} 139,5) và C-4 (δ_{C} 129,3), đã xác nhận rõ ràng vị trí của ba liên kết đôi tại C-4/C-5, C-7/C-14 và C-3/C-15. Với các bằng chứng trên, cấu trúc của **ADB8** được xác định là [3(15)*E*,4*Z*,6*S*,9*S*,10*R*]-10,15-dibromochamigra-3(15),4,7(14)-trien-9-ol [128]. Sesquiterpene này trước đây đã được báo cáo từ cỏ biển *A. dactylomela* ở Puerto Rico [132], cũng như từ tảo đỏ *Laurencia dendroidea* [133], *L. chondrioides* [128] và *L. majuscula* [134].

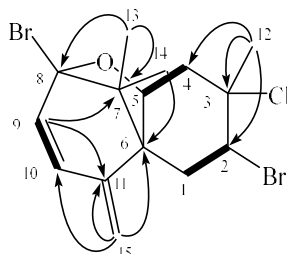
3.1.3.9. Hợp chất **ADB9**: *pacifidiene*



ADB9

Hình 3.44. Cấu trúc của hợp chất **ADB9**

Hợp chất **ADB9** thu được dưới dạng dầu không màu. Phổ $^1\text{H-NMR}$ cho thấy hợp chất chứa ba nhóm methyl tại δ_{H} 1,81 (3H, s), 0,95 (3H, s) và 1,30 (3H, s), bốn proton olefin tại δ_{H} 6,07 (1H, dd, $J = 0,6, 8,4$ Hz), 6,24 (1H, d, $J = 8,4$ Hz), 5,25 (1H, s) và 4,97 (1H, d, $J = 1,2$ Hz), một proton nhóm oxymethine tại δ_{H} 3,94 (1H, dd, $J = 4,8, 13,2$ Hz), một proton nhóm methine halogen tại δ_{H} 4,46 (1H, dd, $J = 3,0, 13,2$ Hz). Dữ liệu $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC cho thấy **ADB9** chứa ba nhóm methyl [δ_{C} 31,8 (C-12), 20,1 (C-13) và 23,4 (C-14)], bốn carbon olefin [δ_{C} 133,6 (C-9), 131,8 (C-10), 148,8 (C-11) và 112,3 (C-15)], một nhóm methine brom [δ_{C} 60,4 (C-2)], một carbon clo hóa [δ_{C} 69,3 (C-3)], một nhóm oxymethine [δ_{C} 79,5 (C-5)] và một carbon brom hóa-oxy hóa [δ_{C} 101,3 (C-8)].



Hình 3.45. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) chính và COSY (---) của hợp chất **ADB9**

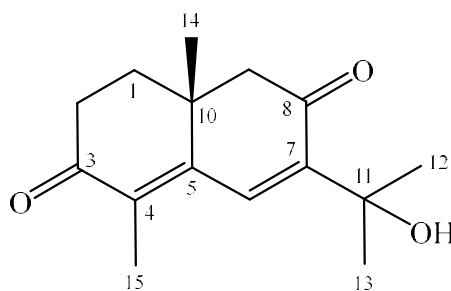
Trong phổ COSY, cho thấy một số tương tác giữa $\text{H}_{\text{a}}\text{-1}/\text{H-2}$, $\text{H}_{\text{b}}\text{-4}/\text{H-5}$ và $\text{H-9}/\text{H-10}$ (Hình 3.45). Vị trí của nhóm methine brom hóa và carbon clo hóa của **ADB9** lần lượt nằm ở C-2 và C-3, được xác nhận bởi tương tác HMBC từ $\text{H}_{\text{b}}\text{-1}$ (δ_{H} 2,28) đến C-2 (δ_{C} 60,4) và C-3 (δ_{C} 69,3), từ $\text{H}_3\text{-12}$ (δ_{H} 1,81) đến C-2 (δ_{C} 60,4), C-3 (δ_{C} 69,3) và C-4 (δ_{C} 46,1). Ngoài ra, các tương quan HMBC khác từ H-13 (δ_{H} 0,95) và H-14 (δ_{H} 0,95) đến C-6 (δ_{C} 54,9), C-7 (δ_{C} 50,8), C-8 (δ_{C} 101,3); từ H-4a (δ_{H} 2,58) đến C-5 (δ_{C} 79,5), C-6 (δ_{C} 54,9); từ $\text{H}_{\text{b}}\text{-15}$ (δ_{H} 4,97) đến C-6 (δ_{C} 54,9), C-10 (δ_{C} 131,8) và C-11 (δ_{C} 148,8). Với những tương tác HMBC này xác định được vị trí của nhóm oxymethin tại C-5, carbon brom hóa-oxy hóa tại C-8 và hai liên kết đôi tại C-9/C-10 và C-11/C-15. Từ các bằng chứng trên, hợp chất **ADB9** được làm sáng tỏ là *pacifidiene* [26]. Là một halogenated sesquiterpene trước đây đã được phân lập từ cỏ biển *A. dactylomela* ở Brazil [26].

Bảng 3.14. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB9**

Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$)
1a	32,7	33,2	2,33 (1H, dd, 13,2, 14,4)	2, 3, 5, 6, 11
1b			2,28 (1H, dd, 3,0, 14,4)	2, 3, 6, 7, 11
2	58,9	60,4	4,46 (1H, dd, 3,0, 13,2)	1, 3, 6
3	67,3	69,3	-	-
4a	45,5	46,1	2,58 (1H, dd, 4,8, 15,0)	2, 3, 5, 6
4b			2,40 (1H, dd, 13,2, 15,0)	5, 12
5	78,4	79,5	3,94 (1H, dd, 4,8, 13,2)	1, 3, 6
6	53,7	54,9	-	-
7	50,0	50,8	-	-
8	99,7	101,3	-	-
9	130,7	133,6	6,07 (1H, dd, 0,6, 8,4)	7, 11
10	132,7	131,8	6,24 (1H, d, 8,4)	6, 8, 9, 11, 15
11	147,2	148,8	-	-
12	31,5	31,8	1,81 (3H, s)	2, 3, 4
13	19,7	20,1	0,95 (3H, s)	6, 7, 8, 14
14	23,0	23,4	1,30 (3H, s)	6, 7, 8, 13
15a	111,7	112,3	5,25 (1H, s)	6, 10, 11
15b			4,97 (1H, d, 1,2)	6, 10, 11

* Tài liệu tham khảo chất pacifidiene, ^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, ^d 100 MHz.

3.1.3.10. Hợp chất **ADB10**: 11-hydroxy-8-oxo- β -cyperon

Hình 3.46. Cấu trúc của hợp chất **ADB10**

Hợp chất **ADB10** được phân lập dưới dạng dầu không màu. Xét trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS cho thấy **ADB10** xuất hiện peak ion tại m/z 271,1302 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (Hình D14.1), dẫn đến công thức phân tử tính toán theo lý thuyết $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{Na}^+$, tại m/z 271,1310 và phù hợp công thức phân tử của hợp chất là $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$ với độ bất bão hòa là sáu. Phân tích dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C -NMR chỉ ra rằng **ADB10** là một sesquiterpene, một thành phần chính của sên biển *A. dactylomela*. Phổ ^{13}C -NMR và HSQC cho thấy **ADB10** chứa 15 tín hiệu carbon, bao gồm bốn nhóm

methyl [δ_C 30,0 (C-12), 29,1 (C-13), 23,5 (C-14) và 11,0 (C-13)], ba nhóm methylene [δ_C 36,2 (C-1), 34,0 (C-2) và 54,5 (C-9)], một carbon bậc bốn [δ_C 38,2 (C-10)], một carbon oxygenated [δ_C 71,7 (C-11)], bốn carbon sp^2 [δ_C 134,5 (C-4), 152,1 (C-5), 135,2 (C-6) và 148,7 (C-7)] và hai nhóm ketone [δ_C 197,9 (C-3) và 198,7 (C-7)]. Phổ 1H -NMR xuất hiện tín hiệu cho bốn nhóm methyl singlet [δ_H 1,49 (H-12), 1,42 (H-13), 1,27 (H-14) và 1,92 (H-13)], một tín hiệu singlet của nhóm hydroxy [δ_H 4,22 (11-OH)] và một proton olefin [δ_H 7,77 (H-6)]. Còn lại là sáu tín hiệu của ba nhóm methylene [δ_H 2,05 (H_a-1)/1,86 (H_b-1), 2,65 (H_a-2)/2,43 (H_b-2), 2,61 (H_a-9)/2,33 (H_b-9)]. Bốn nhóm methyl singlet tại δ_H 1,49, 1,42, 1,27 và 1,92 được gán cho H-12, H-13, H-14 và H-15 của hợp chất **ADB10** dựa trên cơ sở một số tương tác HMBC (Hình 3.47).

Bảng 3.15. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB10**

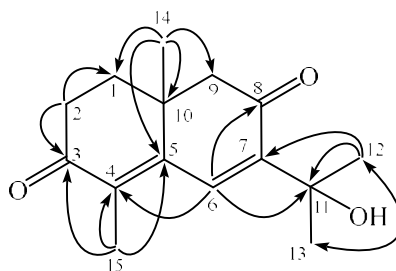
Vị trí C	* $\delta_H^{d,e}$ ($J = \text{Hz}$)	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H→C)
1a	1,85 (2H, ddd)	36,2	2,05 (1H, overlapped)	-
1b			1,86 (1H, ddd, 13,2, 5,4, 2,4)	-
2a	2,60 (2H, m)	34,0	2,65 (1H, ddd, 18,0, 13,8, 4,2)	-
2b			2,43 (1H, ddd, 18,0, 4,8, 2,4)	-
3	-	197,9	-	-
4	-	134,5	-	-
5	-	152,1	-	-
6	7,43 (1H, br s)	135,2	7,77 (1H, s)	4, 7, 8, 11
7	-	148,7	-	-
8	-	198,7	-	-
9a	2,57 (1H, br d)	54,5	2,61 (1H, dd, 15,0, 0,9)	-
9b	2,44 (1H, d)		2,33 (1H, d, 15,0)	5, 7, 8, 10, 14
10	-	38,2	-	-
11	-	71,7	-	-
12	1,52 (3H, s)	30,0	1,49 (3H, s)	7, 11, 13
13	1,52 (3H, s)	29,1	1,42 (3H, s)	7, 11, 12
14	1,98 (3H, s)	23,5	1,27 (3H, s)	1, 5, 9, 10
15	1,27 (3H, s)	11,0	1,92 (3H, s)	3, 4, 5
11-OH		-	4,22 (1H, s)	7, 11, 12, 13

* Tài liệu tham khảo chất 11-hydroxy-8-oxo- β -cyperon [135]

^a đo trong acetone- d_6 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, ^d đo trong $CDCl_3$, ^e 270 MHz.

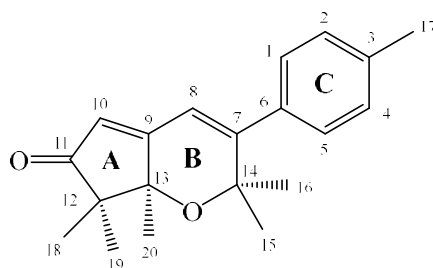
Các tương tác HMBC từ proton của nhóm hydroxy (δ_H 4,22) đến C-7 (δ_C 148,7) và C-11 (δ_C 71,7), cũng như sự dịch chuyển xuống vùng trường thấp của C-11 (δ_C 71,7) chỉ ra rằng nhóm hydroxy liên kết với C-11. Cuối cùng, các tương tác

HMBC từ H-2 đến C-1 và C-3, và từ H-6 đến C-4, C-8 và C-11 đã xác nhận cấu trúc của **ADB10** như thể hiện trong hình 3.46. Do đó, hợp chất **ADB10** được xác định là 11-hydroxy-8-oxo- β -cyperon [135]. Là một dẫn xuất eudesmane được báo cáo trước đây từ loài thực vật *Isocoma wrightii* cùng với duy nhất dữ liệu phổ ^1H NMR [135]. Trong luận án này, dữ liệu phổ NMR đầy đủ của 11-hydroxy-8-oxo- β -cyperone được báo cáo lần đầu tiên và hợp chất này cũng được ghi nhận lần đầu tiên từ loài sên biển *A. dactylomela*.



Hình 3.47. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) của hợp chất **ADB10**

3.1.3.11. Hợp chất **ADB11**: *aplydactylonin D* (chất mới)



Hình 3.48. Cấu trúc của hợp chất **ADB11**

Hợp chất **ADB11** được phân lập dưới dạng chất dầu màu vàng. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện peak ion tại m/z 297,1855 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (tính toán theo lý thuyết ứng với công thức ion giả phân tử $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{O}_2^+$, m/z 297,1849), 319,1679 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (tính toán theo lý thuyết ứng với công thức ion giả phân tử $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Na}^+$, 319,1669) gợi ý công thức phân tử $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_2$ cho hợp chất **ADB11** (Hình D15.1). Dữ liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR và phổ HSQC của **ADB11** (Bảng 3.16) cho thấy hợp chất chứa 20 carbon. Trong đó chứa một vòng thơm thế *para* [δ_{H} 7,17 (2H, d, 9,0) và 7,16 (2H, d, 9,0)]; sáu nhóm methyl singlet [δ_{H} 1,37 (H-15)/ δ_{C} 31,2 (C-15) 1,47 (H-16)/27,8 (C-16), 2,38 (H-17)/21,2 (C-17), 1,12 (H-18)/25,1 (C-18), 1,16 (H-19)/16,8 (C-19), và 1,43 (H-20)/27,9 (C-20)]; một nguyên tử carbon bậc 4 tại δ_{C} 55,4 (C-12); hai nhóm carbon liên kết với oxy tại δ_{C} 79,9 (C-13) và δ_{C} 76,2 (C-14); mười nguyên tử carbon olefin cộng hưởng trong vùng trường từ 167,3 - 118,8 ppm và còn lại là tín hiệu đặc trưng của một nhóm ketone tại δ_{C} 210,5 (C-11). Với những phân tích dữ liệu phổ trên cho thấy hợp chất **ADB11** là một diterpenenoid.

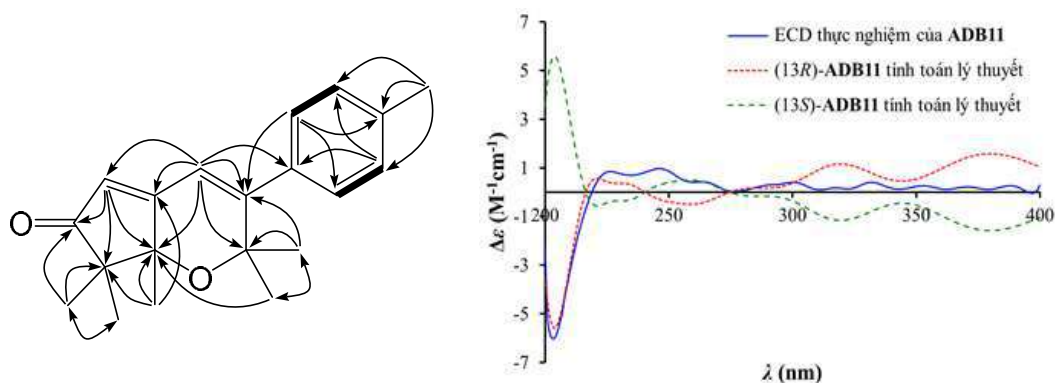
Bảng 3.16. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB11**

Vị trí C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	128,1	7,16 (1H, d, 9,0)	3, 5, 7
2	128,8	7,17 (1H, d, 9,0)	4, 6, 17
3	137,9	-	-
4	128,8	7,17 (1H, d, 9,0)	2, 6, 17
5	128,1	7,16 (1H, d, 9,0)	1, 3, 7
6	137,2	-	-
7	156,4	-	-
8	118,8	6,44 (1H, s)	6, 7, 9, 10, 13, 14
9	167,3	-	-
10	119,7	5,73 (1H, s)	11, 12, 13
11	210,5	-	-
12	55,4	-	-
13	79,9	-	-
14	76,2	-	-
15	31,2	1,37 (3H, s)	7, 14, 16
16	27,8	1,47 (3H, s)	7, 14, 15
17	21,2	2,38 (3H, s)	2, 3, 4
18	25,1	1,12 (3H, s)	11, 12, 13, 19
19	16,8	1,16 (3H, s)	11, 12, 13, 18
20	27,9	1,43 (3H, s)	9, 12, 13

^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, ^d 100 MHz.

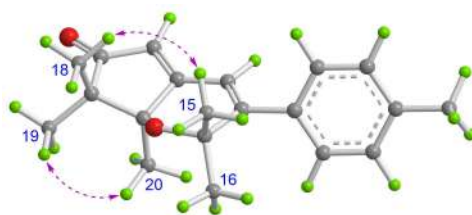
Phân tích trên phổ HMBC xuất hiện một số tương tác chính: H-18 (δ_{H} 1,12) và H-19 (δ_{H} 1,16) cùng tương tác lên C-11 (δ_{C} 210,5), C-12 (δ_{C} 55,4), C-13 (δ_{C} 79,9); H-20 (δ_{H} 1,43) lên C-7 (δ_{C} 156,4), C-12 (δ_{C} 55,4) và C-13 (δ_{C} 79,9); H-10 (δ_{H} 5,73) tương tác lên C-11 (δ_{C} 210,5), C-12 (δ_{C} 55,4) và C-13 (δ_{C} 79,9), H-18 (δ_{H} 1,12) lên C-19 (δ_{C} 16,8) và ngược lại H-19 (δ_{H} 1,16) lên C-18 (δ_{C} 25,1) (Hình 3.49). Điều này cho biết hợp chất có chứa vòng 5 cạnh 5,5-dimethyl-4-methyl-2-cyclopenten-1-one (vòng A), trong vòng có chứa một liên kết đôi, một nhóm thế ketone và một nhóm gem-dimethyl. Vòng năm cạnh này hợp nhất với vòng 6,6-dimethyl-3,6-dihydro-2H-pyran (vòng B) tại C-9 và C-13, điều này được chứng minh bằng tương tác HMBC giữa H-8 (δ_{H} 6,44) lên C-6 (δ_{C} 137,2), C-7 (δ_{C} 156,4), C-9, C-10 (δ_{C} 119,7), C-13, C-14 (δ_{C} 76,2); H-15 (δ_{H} 1,37) và H-16 (δ_{H} 1,47) lên C-7 và C-14; H-1 (δ_{H} 7,16) tương tác với C-7. Đồng thời những tương tác này còn cho biết vòng pyran liên kết với vòng thơm thế *para* (hệ vòng thơm A2B2) thông qua liên kết giữa C-6 và C-7. Phổ COSY

cũng cho biết hợp chất chứa vòng thơm hệ A2B2 dựa trên tương tác H-1 (δ_H 7,16) tương tác với H-2 (δ_H 7,17) (Hình 3.49). Các tương tác HMBC giữa H₃-17 với C-2, C-3 và C-4 xác nhận nhóm Me-17 thế vào vị trí C-3 của vòng thơm. Do đó, cấu trúc phẳng của **ADB11** đã được xác định và bộ khung carbon mới được đặt tên là aplydactylonane.



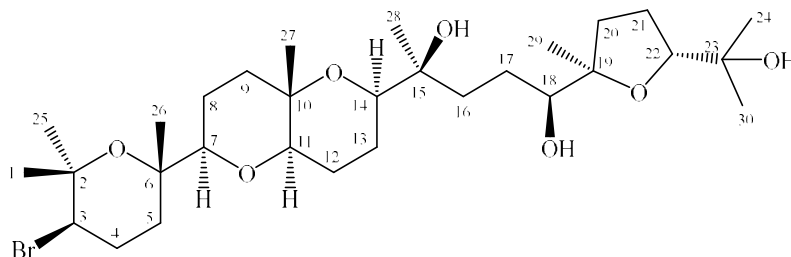
Hình 3.49. Tương tác HMBC (→) và COSY (—) và phổ ECD của hợp chất **ADB11**

Trên phổ NOESY, tương tác giữa H₃-20 với H₃-19 và giữa H₃-15 với H₃-18 cho thấy các nhóm Me-20 và Me-19 ở cùng một phía của mặt phẳng phân tử trên vòng A, trong khi nhóm Me-15 và Me-18 ở phía đối diện. Ngoài ra để khẳng định cấu trúc của **ADB11** cũng như bộ khung carbon mới của nó thì các tính toán NMR lý thuyết đã được thực hiện. Độ dịch chuyển hóa học ¹H và ¹³C-NMR của đồng phân 13R*-**ADB11** được tính toán tại cấp độ mPW1PW91/6–31+G(d,p)/IEFPCM-CHCl₃ [123]. Kết quả (Bảng S8, hình S3 và S4) cho thấy hệ số tương quan (R^2) thu được từ phân tích hồi quy tuyến tính, sai số tuyệt đối trung bình đã hiệu chỉnh (CMAE) và độ lệch căn bậc hai bình phương trung bình (RMSD) đối với dữ liệu ¹³C-NMR lần lượt là 0,9990, 1,28 và 1,79 ppm còn các giá trị R^2 , CMAE và RMSD của độ dịch chuyển hóa học ¹H NMR tương ứng là 0,996, 0,037 và 0,052 ppm. Những kết quả này chỉ ra rằng độ dịch chuyển hóa học được tính toán phù hợp tốt với các giá trị thực nghiệm và cung cấp thêm bằng chứng hỗ trợ xác định cấu trúc của **ADB11** [136]. Cuối cùng, để xác định cấu hình tuyệt đối của **ADB11**, các tính toán ECD bằng phương pháp TD-DFT ở mức B3LYP/cc-PVDZ/IEFPCM-MeOH đã được áp dụng với hai đồng phân quang học có thể (13R)-**ADB11** và (13S)-**ADB11**. Như được chỉ ra trên hình 3.49, phổ ECD tính toán của đồng phân (13R)-**ADB11** phù hợp với dữ liệu thực nghiệm, xác nhận cấu hình tuyệt đối của **ADB11** là 13R. Đây là một hợp chất có khung carbon mới, lần đầu tiên được công bố và được đặt tên là aplydactylonin D.



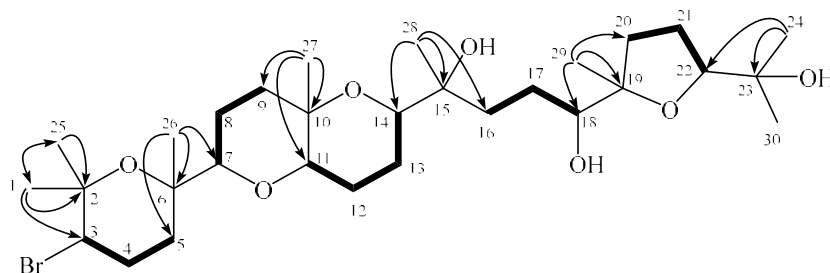
Hình 3.50. Tương tác phổ NOESY ($\longleftrightarrow$) của hợp chất **ADB11**

3.1.3.12. Hợp chất **ADB12**: *Thyrsiferol*



Hình 3.51. Cấu trúc của hợp chất **ADB12**

Hợp chất **ADB12** được phân lập dưới dạng dầu không màu. Công thức phân tử của nó được xác định là $C_{30}H_{53}BrO_7$ dựa trên dữ liệu phổ một chiều NMR và các peak ion giả phân tử trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS tại m/z 627,2872 và 629,2870 $[M + Na]^+$ (tính toán theo lý thuyết ứng với công thức ion giả phân tử $C_{30}H_{53}BrO_7Na^+$, m/z 627,2867 và 629,2846) (Xem hình D16.1). Phổ 1H -NMR của **ADB12** cho thấy sự có mặt của tám nhóm methyl singlet [δ_H 1,39 (3H, s, H-1), 1,12 (3H, s, H-24), 1,36 (3H, s, H-25), 1,19 (6H, s, H-26 và H-30), 1,17 (3H, s, H-27), 1,08 (3H, s, H-28), và 1,14 (3H, s, H-29)], một nhóm brommethine [δ_H 3,88 (1H, dd, $J = 3,9, 13,2$ Hz, H-3)], năm nhóm oxymethine [δ_H 3,03 (1H, dd, $J = 2,0, 12,0$ Hz, H-7), 3,56 (1H, dd, $J = 7,2, 10,8$ Hz, H-11), 3,69 (1H, dd, $J = 3,0, 12,6$ Hz, H-14), 3,44 (1H, dd, $J = 1,5, 9,9$ Hz, H-18) và 3,76 (1H, t, $J = 7,8$ Hz, H-22)] (Hình D16.2). Phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **ADB12** cho thấy sự có mặt của 30 carbon sp^3 , bao gồm tám nhóm methyl, mười nhóm methylene, năm nhóm oxymethine, sáu carbon bậc bốn chứa oxy và một nhóm brommethine [δ_C 58,9 (C-3)]. Hợp chất không có bất kỳ carbon sp^2 nào, kết hợp với công thức phân tử ở trên với độ bất bão hòa là 4, hợp chất **ADB12** được dự đoán là một triterpenoid bốn vòng.



Hình 3.52. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (—) của hợp chất **ADB12**

Bảng 3.17. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **ADB12**

Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,d}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	23,6	23,7	1,39 (3H, s)	2, 3, 25
2	74,9	74,9	-	-
3	59,0	58,9	3,88 (1H, dd, 3,9, 13,2)	1, 2, 25
4a	28,2	28,2	2,23 (1H, ddd, 3,6, 13,2, 13,2)	3, 5
4b			2,10 (1H, #)	-
5a	37,0	37,0	1,79 (1H, m)	-
5b			1,52 (1H, m)	-
6	74,3	74,3	-	-
7	86,5	86,5	3,03 (1H, dd, 2,4, 12,0)	6
8a	23,0	22,9	1,72 (1H, m)	-
8b			1,41 (1H, m)	-
9a	38,5	38,5	1,74 (1H, m)	-
9b			1,54 (1H, m)	-
10	71,9	71,8	-	-
11	76,3	76,3	3,56 (1H, dd, 7,2, 10,8)	7, 9, 10, 27
12a	21,1	21,1	1,88 (1H, m)	-
12b			1,49 (1H, m)	-
13a	25,5	25,4	1,57 (1H, m)	-
13b			1,45 (1H, m)	-
14	76,1	76,0	3,69 (1H, dd, 3,0, 12,6)	15
15	73,2	73,2	-	-
16a	33,5	33,7	1,81 (1H, m)	-
16b			1,38 (1H, m)	-
17a	20,7	20,6	1,82 (1H, m)	-
17b			1,72 (1H, m)	-
18	77,6	77,5	3,44 (1H, dd, 1,5, 9,9)	16, 19
19	86,0	86,0	-	-
20a	32,3	32,4	2,10 (1H, #)	-
20b			1,59 (1H, m)	-
21	26,6	26,7	1,82 (2H, m)	-
22	87,4	87,3	3,76 (1H, t, 7,8)	-
23	70,5	70,6	-	-
24	23,9	23,8	1,12 (3H, s)	22, 23, 30
25	31,0	31,0	1,36 (3H, s)	1, 2, 3
26	20,1	20,3	1,19 (3H, s)	5, 6, 7
27	21,4	21,4	1,17 (3H, s)	9, 10, 11
28	22,9	22,6	1,08 (3H, s)	14, 15, 16
29	23,4	23,4	1,14 (3H, s)	18, 19, 20
30	27,6	27,5	1,19 (3H, s)	22, 23, 24

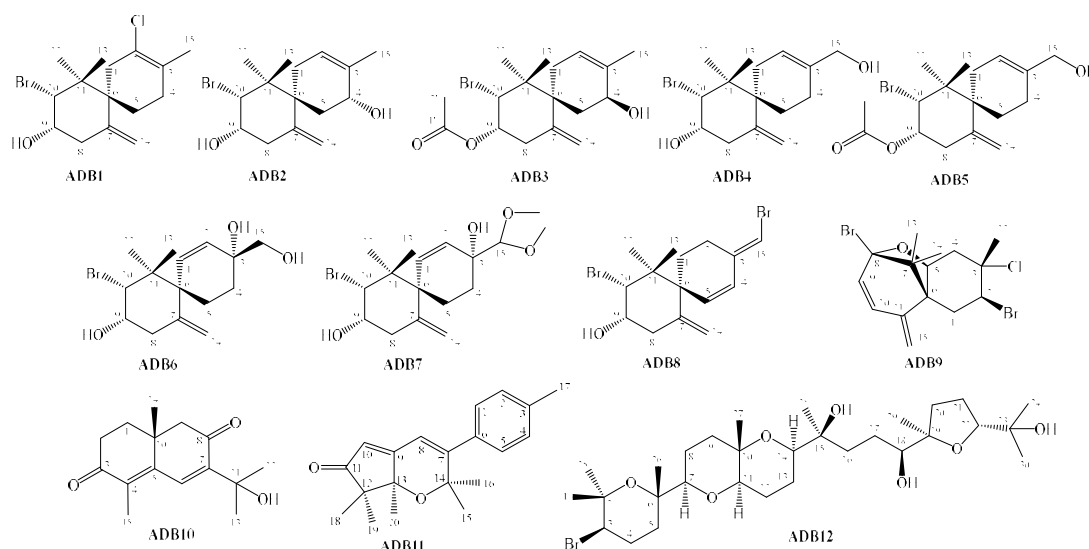
* Tài liệu tham khảo chất thyrsiferol [57]

^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, [#] tín hiệu chập

Phân tích cho tiết trên phổ COSY cho thấy sự hiện diện của năm hệ spin giữa H-3/H-4/H-5, H-7/H-8/H-9, H-11/H-12/H-13/H-14, H-16/H-17/H-18 và H-20/H-21/H-22 (Hình D16.6). Những kết quả này cùng với các tương tác quan sát được trong phổ HMBC cho phép thiết lập cấu trúc phẳng của **ADB12**. Thật vậy, cấu trúc của vòng A, B và C được xác định bằng các tương tác HMBC từ H₃-1 (δ_H 1,39) đến C-2 (δ_H 74,9), C-3 (δ_H 58,9) và C-25 (δ_H 31,0), từ H₃-26 (δ_H 1,19) đến C-5 (δ_H 37,0), C-6 (δ_H 74,3) và C-7 (δ_H 86,5), và từ H₃-27 (δ_H 1,17) đến C-9 (δ_H 38,5), C-10 (δ_H 71,8) và C-11 (δ_H 76,3). Các tương tác HMBC từ H₃-28 (δ_H 1,08) đến C-14 (δ_H 76,0), C-15 (δ_H 73,2) và C-16 (δ_H 33,7), từ H₃-29 (δ_H 1,14) đến C-18 (δ_H 77,5), C-19 (δ_H 86,0) và C-20 (δ_H 32,4), và từ H₃-24 (δ_H 1,12) đến C-22 (δ_H 87,3), C-23 (δ_H 70,6) và C-30 (δ_H 27,5) đã xác nhận mảnh cấu trúc từ C-15 đến C-30. Cuối cùng, hợp chất **ADB12** được xác định là thyrseferol dựa trên sự tương đồng của dữ liệu phổ NMR với hợp chất này, là một triterpene được báo cáo trước đây từ loài cỏ biển *Aplysia dactylomela* và tảo đỏ *Laurencia thyrsefera* cũng như *L. viridis* [57, 137, 138].

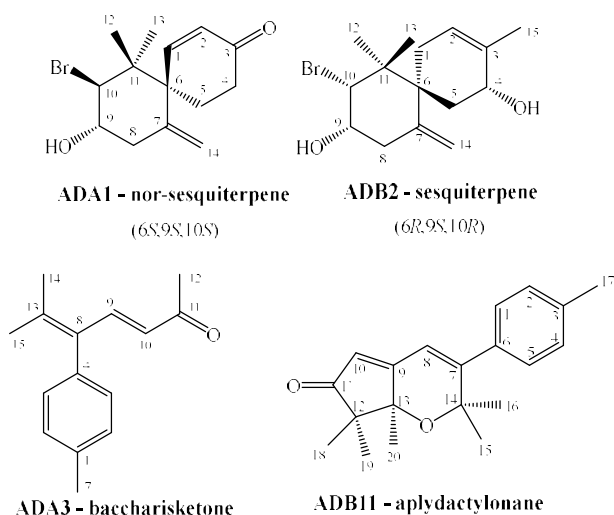
3.1.4. Tổng hợp các hợp chất phân lập từ mẫu sên *A. dactylomela* thu ở đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi

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**), thyrseferol (**ADB12**).



Hình 3.53. Cấu trúc các hợp chất từ loài sên biển *A. dactylomela* - đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi

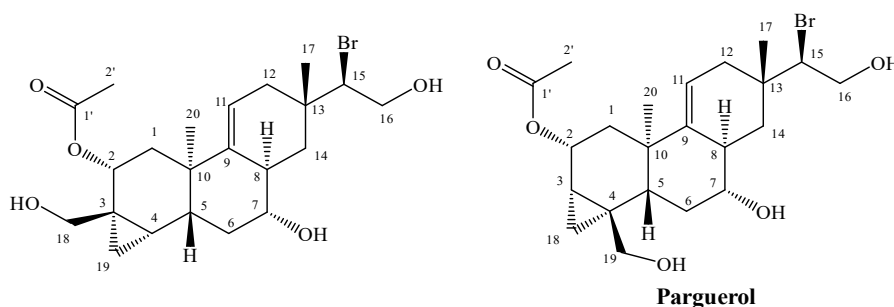
Từ kết quả phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất từ hai mẫu sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng và đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi cho thấy các hợp chất thuộc lớp chất chính là chamigrane sesquiterpene, diterpene và triterpene. Những hợp chất này thể hiện sự tương đồng cao về thành phần hóa học đã được các nhà nghiên cứu công bố về loài sên biển *A. dactylomela*. Tuy nhiên hai lớp chất ở hai mẫu có sự khác nhau khi thu ở hai vị trí khác nhau. Cấu hình có sự khác nhau ở nhóm chất sesquiterpene và khung chất hai diterpene ở hai mẫu cũng khác nhau. Cụ thể mẫu sên *A. dactylomela* – Lâm Đồng có nhóm chất nor-sesquiterpene và có cấu hình tuyệt đối ở vị trí bất đối là 6*S*,9*S*,10*S*, còn mẫu sên thu ở Quảng Ngãi có nhóm chất sesquiterpene và có cấu hình tuyệt đối là 6*R*,9*S*,10*R* (Hình 3.53). Sự khác nhau lớp chất diterpene là mẫu sên *A. dactylomela* – Lâm Đồng có khung diterpene đã biết là baccharisketone còn mẫu sên thu ở Quảng Ngãi có khung mới và được đặt tên là aplydactylonane (Hình 3.53). Ngoài ra mẫu sên thu ở Quảng Ngãi có thêm một chất triterpene trong khi đó mẫu sên ở Lâm Đồng chưa phân lập được lớp chất này.



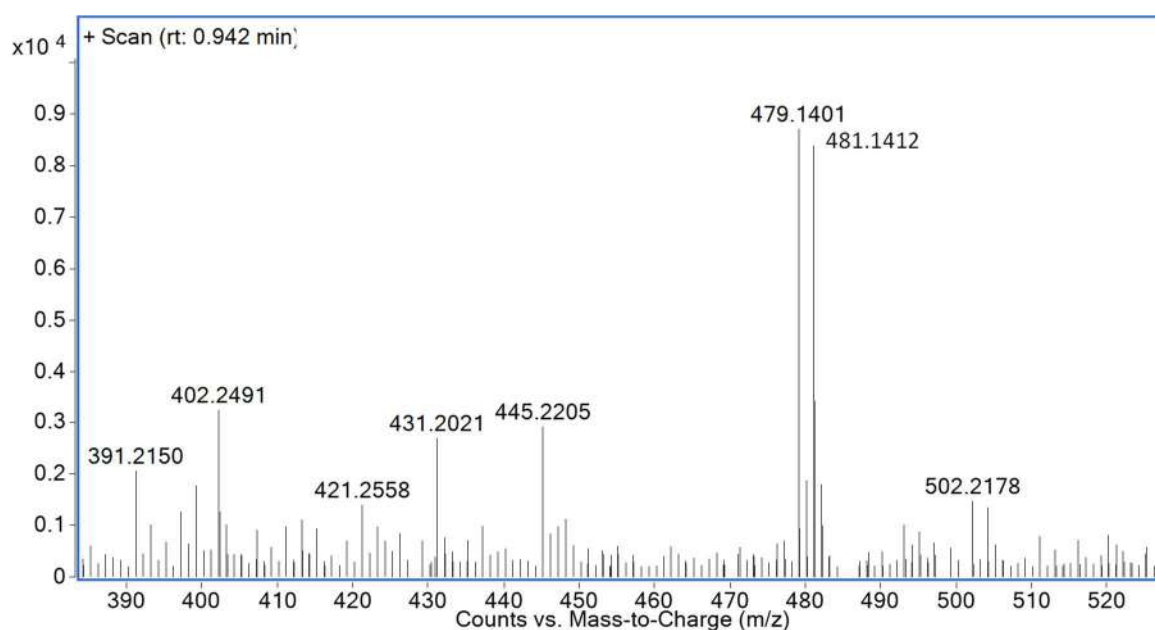
Hình 3.54. So sánh sự giống và khác nhau các lớp chất phân lập được từ hai mẫu sên biển *A. dactylomela* thu ở hai địa điểm Lâm Đồng và Quảng Ngãi.

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

3.1.5.1. Hợp chất **AOB1**: oculiferanin A (chất mới)



Hình 3.55. Cấu trúc hợp chất **AOB1** và chất so sánh

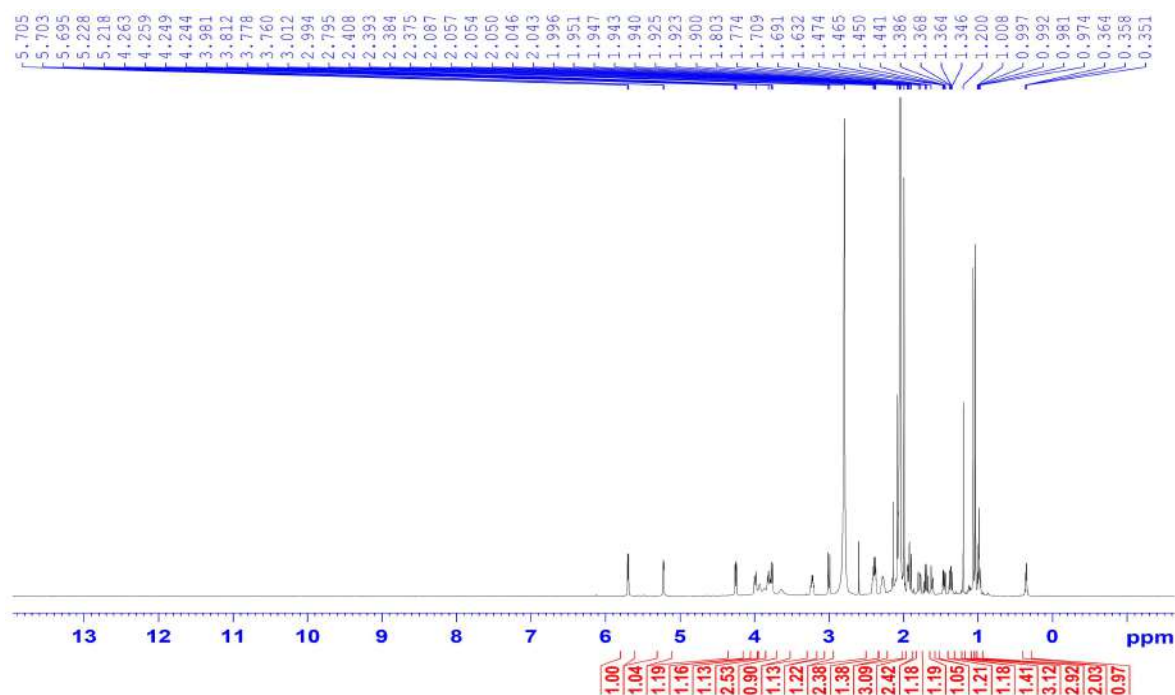


Hình 3.56. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AOB1**

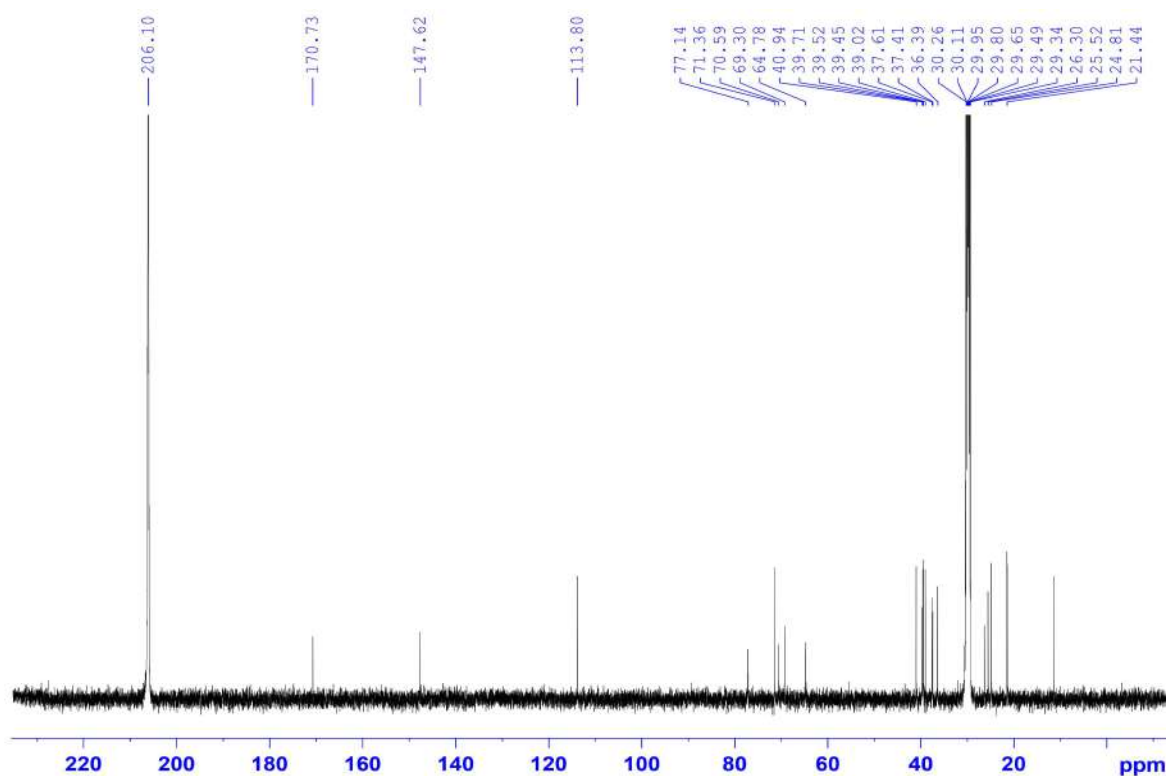
Hợp chất **AOB1** thu được dưới dạng chất rắn vô định hình không màu. Phổ khối lượng phân giải cao xuất hiện tín hiệu peak ion dương tại m/z 479,1401 $[M + Na]^+$ và 481,1412 $[M + 2 + Na]^+$ (tính toán theo lý thuyết ứng với công thức ion giả phân tử $C_{22}H_{33}BrO_5Na^+$, m/z 479,1404 và 481,1383) (Hình 3.56), từ đó gợi ý hợp chất **AOB1** có công thức phân tử tương ứng $C_{22}H_{33}BrO_5$.

Phân tích trên phổ 1H -NMR trên vùng trường mạnh thấy xuất hiện 2 tín hiệu singlet đặc trưng của hai nhóm methyl [δ_H 1,04 (3H, s, H-17) và 1,06 (3H, s, H-20)], bên cạnh đó còn xuất hiện một tín hiệu singlet đặc trưng của một nhóm acetyl [δ_H 1,99 (3H, s, $-OCOCH_3$)]. Đặc biệt hai tín hiệu proton của nhóm methylene đặc trưng trong vòng xyclopropane cộng hưởng trên vùng trường mạnh hơn tại δ_H 0,99 và 0,35 ppm. Dịch về phía vùng trường trung bình xuất hiện hai tín hiệu nhóm oxy methine [δ_H 5,70 (1H, dd, $J = 6,0, 1,2$ Hz, H-2), 3,22 (1H, m, H-7)], hai nhóm oxy methylene

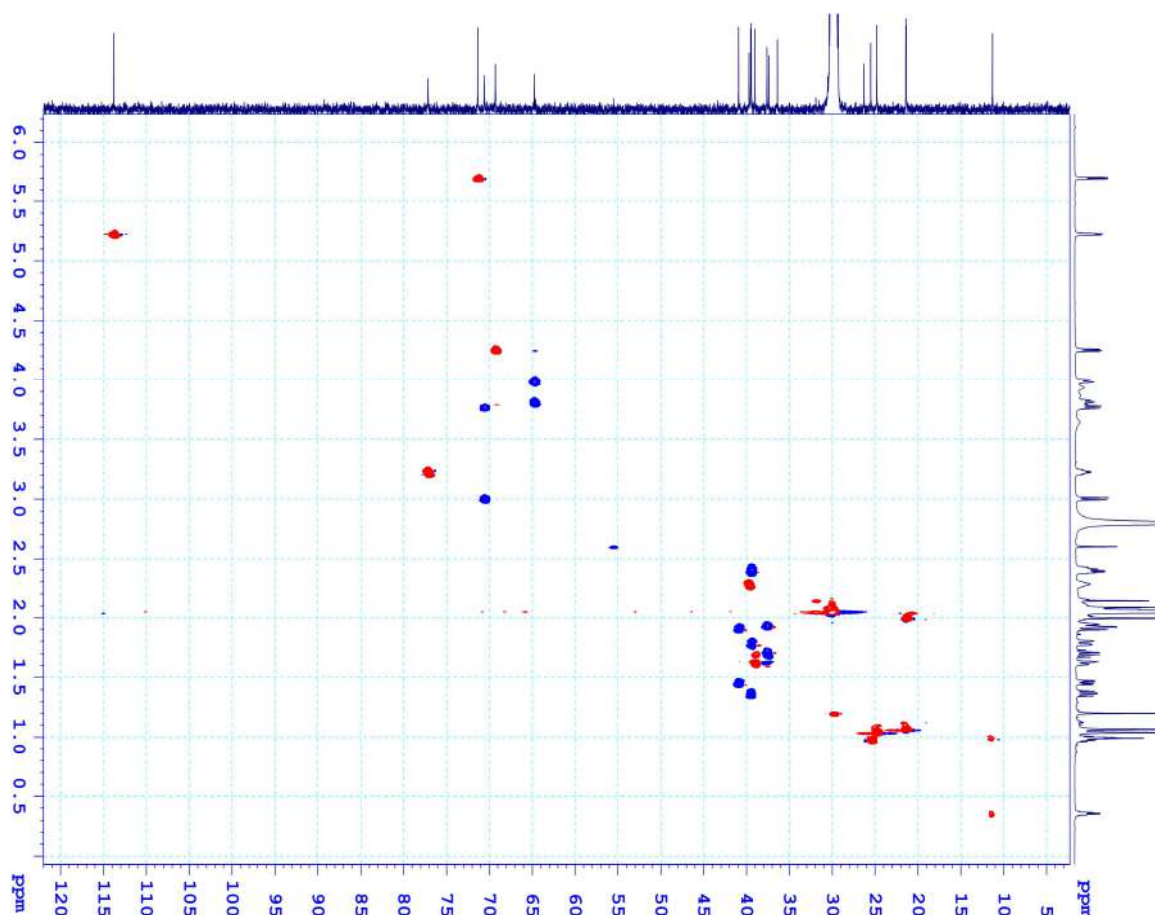
[δ_H 3,99 (1H, br d, $J = 12,6$ Hz, H_a -16), δ_H 3,80 (1H, dd, $J = 12,6, 9,6$ Hz, H_b -16)] và [δ_H 3,77 (1H, br d, $J = 10,8$ Hz, H_a -18), δ_H 3,00 (1H, d, $J = 10,8$ Hz, H_b -18)] và một nhóm methine liên kết với brom tại δ_H 4,24 (1H, dd, $J = 8,7, 2,7$ Hz, H-15), một tín hiệu proton trong liên kết đôi tại δ_H 5,22 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-11) (Hình 3.57). Những tín hiệu proton còn lại của các nhóm methine, methylene thông thường khác.



Hình 3.57. Phổ 1H -NMR của hợp chất **AOB1**

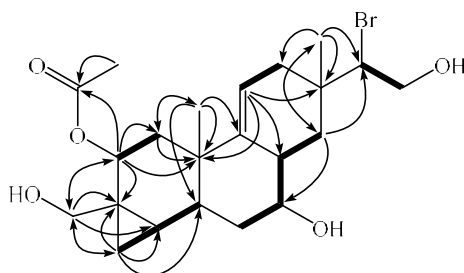


Hình 3.58. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AOB1**



Hình 3.59. Phổ HSQC của hợp chất **AOB1**

Phân tích tiếp các phổ ^{13}C -NMR và HSQC cho thấy hợp chất **AOB1** chứa 22 nguyên tử carbon, trong đó có một nhóm acetyl [δ_{C} 170,7 (C-1') và 21,4 (C-2')]. Còn lại là 20 tín hiệu của khung chất chính, trong đó có một số tín hiệu đặc trưng như: Hai nhóm methyl [δ_{C} 24,8 (C-17) và 21,4 (C-20)], hai nhóm oxy methine [δ_{C} 71,4 (C-2) và 77,1 (C-7)], hai nhóm oxy methylene tại δ_{C} 64,8 (C-16) và δ_{C} 70,6 (C-18), một nhóm methine liên kết trực tiếp với halogen brom tại δ_{C} 69,3 (C-15), và cuối cùng là hai tín hiệu trong liên kết đôi dạng $>\text{C}=\text{CH}-$ [δ_{C} 147,6 (C-9)/113,8 (C-11)] (Hình 3.58 và 3.59). Còn lại là những tín hiệu của các nhóm methylene, methine thông thường. Với những phân tích dữ liệu bên trên cho gợi ý hợp chất là một diterpene.



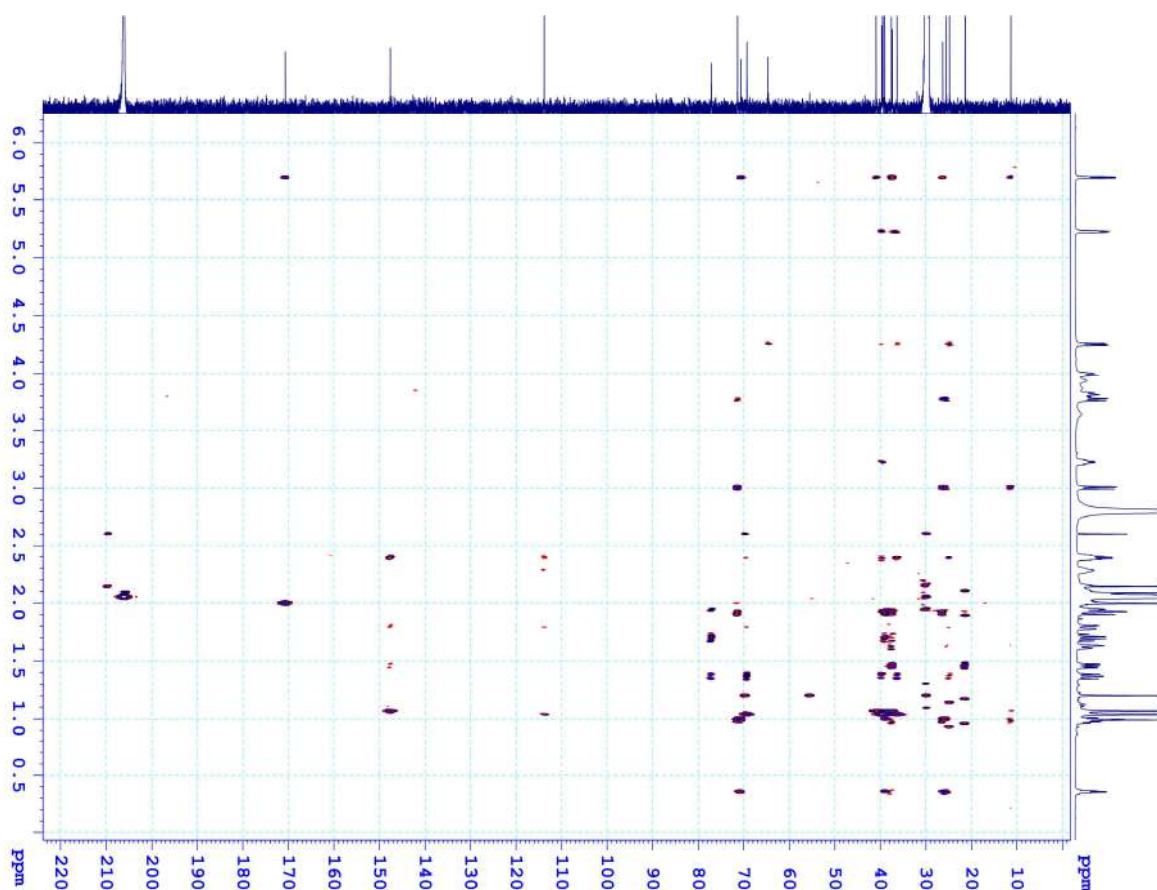
Hình 3.60. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (**—**) trên hợp chất **AOB1**

Bảng 3.18. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AOB1**

Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{d,e}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1a	38,2	40,9	1,90 (1H, dd, 14,4, 1,2)	-
1b			1,45 (1H, dd, 14,4, 5,4)	10, 20
2	68,8	71,4	5,70 (1H, dd, 6,0, 1,2)	1, 1', 3, 10, 18, 19
3	21,6	26,3	-	-
4	24,6	25,5	0,99 (1H, #)	-
5	45,8	39,0	1,62 (1H, br d, 13,2)	-
6a	35,3	37,6	1,92 (1H, #)	-
6b			1,70 (1H, ddd, 13,2, 12,0, 10,2)	7, 8
7	76,8	77,1	3,22 (1H, ddd, 5,4, 9,6, 10,2)	-
8	39,0	39,7	2,28 (1H, m)	-
9	142,9	147,6	-	-
10	36,6	37,4	-	-
11	117,4	113,8	5,22 (1H, d, 6,0)	8, 10, 13
12a	39,0	39,4	2,40 (1H, #)	-
12b			1,78 (1H, dt, 17,4, 2,7)	-
13	36,6	36,4	-	-
14a	39,0	39,5	2,40 (1H, #)	-
14b			1,36 (1H, dd, 13,2, 10,8)	7, 12, 15, 17
15	68,6	69,3	4,24 (1H, dd, 8,7, 2,7)	16, 17
16a	64,4	64,8	3,99 (1H, br d, 12,6)	-
16b			3,80 (1H, dd, 12,6, 9,6)	-
17	24,6	24,8	1,04 (3H, s)	12, 13, 14, 15
18a	18,3	70,6	3,77 (1H, d, 10,8)	3, 4
18b			3,00 (1H, d, 10,8)	2, 3, 4, 19
19a	68,2	11,3	0,99 (1H, #)	-
19b			0,35 (1H, dd, 7,8, 3,6)	3, 4, 5, 18
20	20,3	21,4	1,06 (3H, s)	1, 5, 9, 10
OAc				
1'	170,5	170,7	-	-
2'	21,8	21,4	1,99 (3H, s)	1'

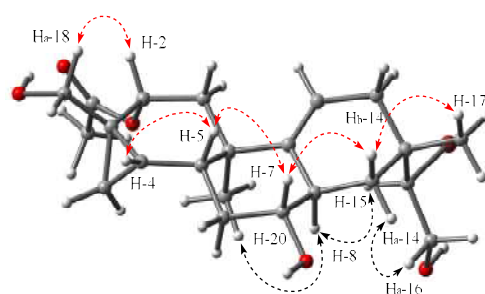
* Tài liệu tham khảo chất parguerol [52]

^a đo trong acetone- d_6 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, # tín hiệu chồng chéo^d đo trong CDCl_3 , ^e 67,5 MHz



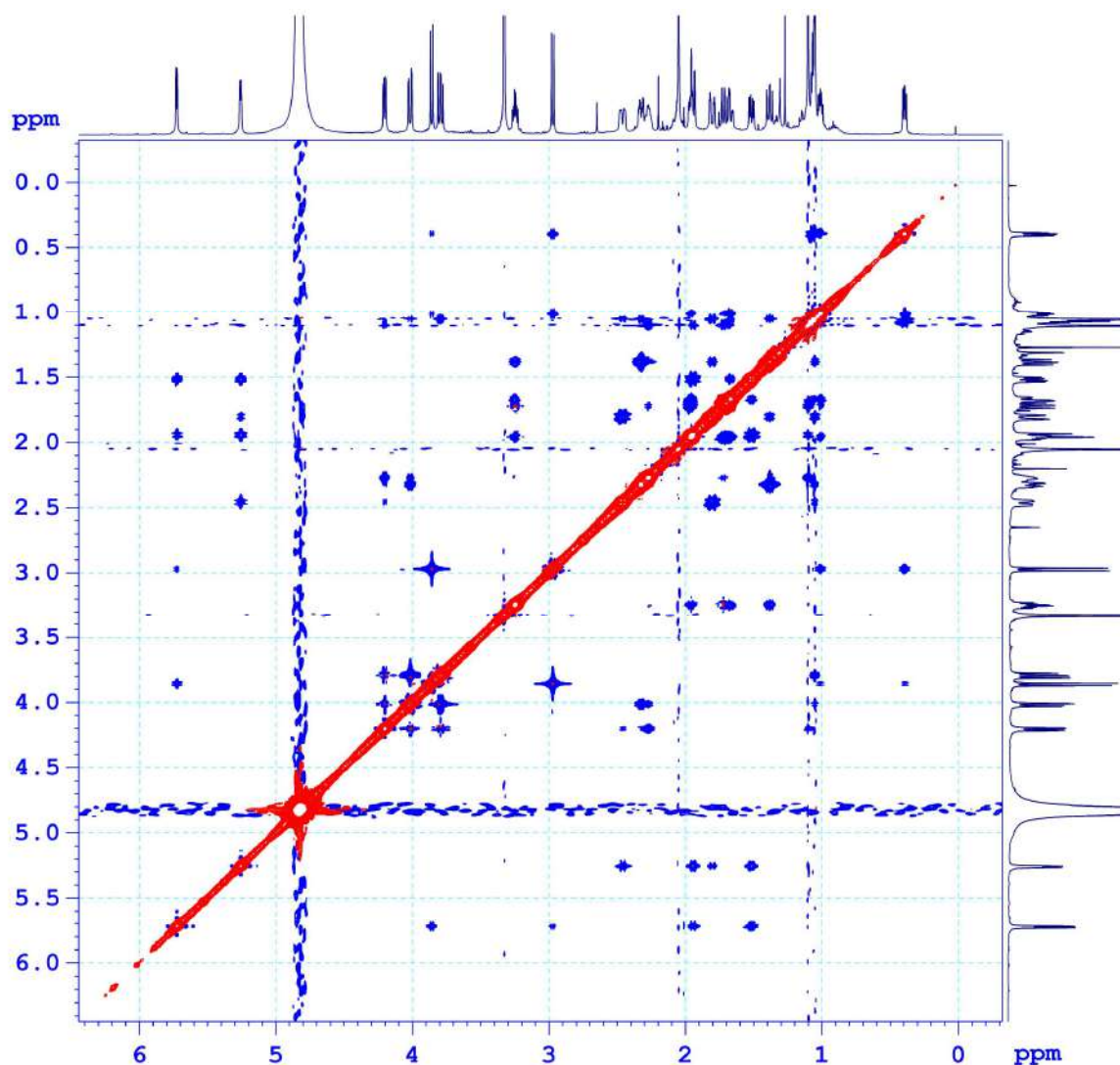
Hình 3.61. Phổ HMBC của hợp chất **AOB1**

Phổ HMBC xuất hiện một số tương tác chính: H-2 (δ_H 5,70) tương tác lên C-1 (δ_C 40,9), C-1' (δ_C 170,7), C-3 (δ_C 26,3), C-10 (δ_C 37,4), C-18 (δ_C 70,6), C-19 (δ_C 11,3), từ đó xác định được trên vị trí thứ 2 của khung chất diterpene có nhóm thế acetyl (-OCOCH₃). Tương tác giữa H_b-19 (δ_H 0,35) lên C-3 (δ_C 26,3), C-4 (δ_C 25,5), C-5 (δ_C 39,0), C-18 (δ_C 70,6) đồng thời độ chuyển dịch của nhóm methylene này ở vùng trường khá mạnh cả trên phổ ¹H và ¹³C-NMR [δ_H 0,99 (H_a-19) và 0,35 (H_b-19)/ δ_C 11,3] cho thấy được nhóm methylene này tạo vòng ba với hai vị trí C-3 và C-4 trên khung chất. Tương tác giữa H_b-18 (δ_H 3,00) lên C-2 (δ_C 71,4), C-3 (δ_C 26,3), C-4 (δ_C 25,5) cho biết nhóm methylene hydroxy được thế tại vị trí C-3 trên khung diterpene chứ không thế tại vị trí C-4 như khung chất diterpen parguerane (một khung chất được sắp xếp lại từ khung diterpene pimarane) [52]. Tương tác giữa H-11 (δ_H 5,22) lên C-8 (δ_C 39,7), C-10 (δ_C 37,4), C-13 (δ_C 36,4) cho biết liên kết đôi tại vị trí C-9/C-11 (Theo hình 3.60 và 3.61). Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H_b-1 (δ_H 1,45) với H-2 (δ_H 5,70), H-4 (δ_H 0,99) với H-5 (δ_H 1,62), H-4 với H_b-19, H_b-14 (δ_H 1,45) với H-8 (δ_H 2,28) với H-7 (δ_H 3,22) với H_b-6 (δ_H 1,70), H-11 (δ_H 5,22) với H_b-12 (δ_H 1,78) và H-15 (δ_H 4,24) với H_b-16 (δ_H 3,80). Từ những tương tác này xác định được một số mảnh trên phân tử của **AOB1** (Hình 3.60).



Hình 3.62. Tương tác NOESY(↔) trên hợp chất **AOB1**

Giá trị hằng số ghép lớn ($J_{H7/H6b} = 10,2$ Hz) giữa H-7 và H_b-6 cho thấy H-7 có dạng *axial* và được gán tương đối với cấu hình β như trên hình 3.62. Trên phổ NOESY xuất hiện tương tác giữa H-5 với H-7, giữa H-7 (δ_H 3,22) với H_b-14 (δ_H 1,36), H_b-14 với H₃-17 cho thấy các proton này cùng có cấu hình β . Tương tác giữa H-20 với H-8, giữa H-8 với H-15, và giữa H_a-16 với H_a-14 cho thấy H-8 và nhóm Me-20 có cấu hình α và C-15 có cấu hình R^* .



Hình 3.63. Phổ NOESY của hợp chất **AOB1** (dung môi CD₃OD)

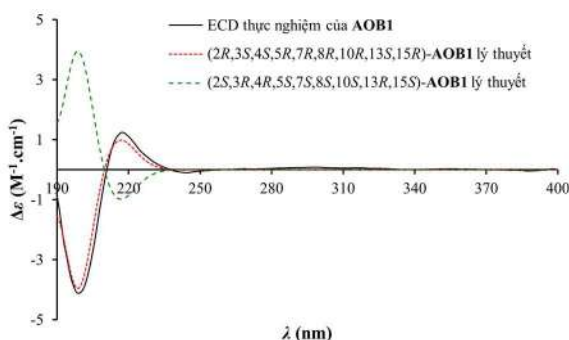
Bảng 3.19. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AOB1** (đo trong CD_3OD)

Vị trí C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1a	41,22	1,95 (1H, $^{\#}$)	-
1b		1,51 (1H, dd, 14,7, 5,7)	10, 20
2	72,38	5,72 (1H, dd, 5,4, 1,2)	1, 1', 3, 4, 10, 19, 18
3	26,34	-	-
4	26,09	1,01 (1H, m)	18
5	39,42	1,68 (1H, m)	-
6a	37,34	1,95 (1H, $^{\#}$)	-
6b		1,72 (1H, $^{\#}$)	7, 8
7	77,65	3,24 (1H, m)	-
8	39,91	2,26 (1H, m)	-
9	147,46	-	-
10	37,72	-	-
11	114,70	5,26 (1H, d, 6,6)	8, 13
12a	39,66	2,46 (1H, dd, 17,1, 5,1)	-
12b		1,80 (1H, ddd, 17,1, 3,6, 2,1)	-
13	36,63	-	-
14a	39,66	2,32 (1H, ddd, 13,8, 6,0, 3,0)	-
14b		1,38 (1H, dd, 13,8, 10,8)	8, 12, 13
15	67,92	4,20 (1H, dd, 9,3, 2,7)	16, 17
16a	65,00	4,02 (1H, dd, 12,6, 3,0)	15
16b		3,79 (1H, dd, 12,6, 9,3)	15
17	24,72	1,05 (3H, s)	12, 13, 14, 15
18a	71,23	3,86 (1H, d, 10,8)	3, 4, 19
18b		2,97 (1H, d, 10,8)	-
19a	11,75	1,08 (1H, $^{\#}$)	-
19b		0,39 (1H, dd, 9,0, 5,4)	3, 4, 5, 18
20	21,51	1,10 (3H, s)	1, 5, 9, 10
OAc			
1'	172,64	-	-
2'	21,39	2,05 (3H, s)	1'

^a đo trong CD_3OD , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, [#] tín hiệu chồng chéo

Để xác định cấu hình các vị trí bất đối trên vòng A, phổ NMR của **AOB1** tiếp tục được đo trong MeOD (Bảng 3.19). Kết quả cho thấy trong dung môi này đã quan sát được tương tác NOESY giữa H-5 (δ_{H} 1,68) và H-4 (δ_{H} 1,01) chứng tỏ vòng cyclopropane có định hướng α . Tiếp theo, H-2 được xác định là cấu hình β dựa trên

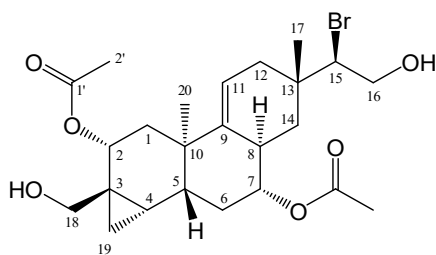
tương tác giữa H-2 (δ_H 5,72) với H_a-18 (δ_H 3,86). Cuối cùng, kết hợp phổ ECD thực nghiệm và tính toán lý thuyết đã xác định được cấu hình tuyệt đối của các trung tâm bất đối trên phân tử **AOB1** là *2R,3S,4S,5R,7R,8R,10R,13S,15R* (Hình 3.64).



Hình 3.64. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán theo lý thuyết của hợp chất **AOB1**

Hợp chất **AOB1** là hợp chất mới, lần đầu tiên được phân lập từ thiên nhiên, là hợp chất có khung carbon mới, do sự sắp xếp lại các liên kết của khung diterpen parguerane. Hợp chất được đặt tên là oculiferanin A (Hình 3.55).

3.1.5.2. Hợp chất **AOB2**: oculiferanin B (chất mới)



Hình 3.65. Cấu trúc hợp chất **AOB2**

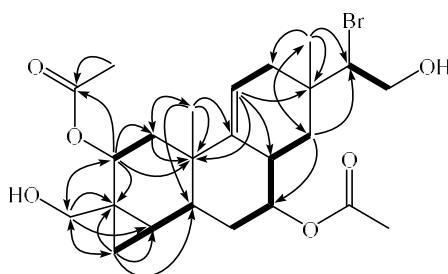
Hợp chất **AOB2** thu được dưới dạng chất rắn vô định hình không màu. Phổ khối lượng phân giải cao xuất hiện tín hiệu tại m/z 533,1326 và 535,1305 $[M + Cl]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $C_{24}H_{35}BrO_6Cl^-$, m/z 533,1306 và 535,1285) từ đó xác định được hợp chất **AOB2** có công thức phân tử tương ứng $C_{24}H_{35}BrO_6$ (xem hình O2.1). Phân tích trên phổ 1H -NMR trên vùng trường mạnh thấy xuất hiện 2 tín hiệu singlet đặc trưng của hai nhóm methyl [δ_H 1,02 (3H, s, H-17) và 1,10 (3H, s, H-20)], bên cạnh đó còn xuất hiện hai tín hiệu singlet đặc trưng của hai nhóm acetyl [δ_H 2,00 (3H, s, 2-OCOCH₃) và δ_H 2,04 (3H, s, 7-OCOCH₃)]. Dịch về phía vùng trường trung bình xuất hiện hai tín hiệu nhóm oxymethine [δ_H 5,71 (1H, dd, $J = 5,7, 1,5$ Hz, H-2), 4,50 (1H, m, H-7)], hai nhóm oxymethylene [δ_H 3,97 (1H, dd, $J = 12,0, 3,0$ Hz, H_a-16), δ_H 3,81 (1H, dd, $J = 12,0, 8,4$ Hz, H_b-16)] và [δ_H 3,78 (1H, dd, $J = 10,8, 7,8$ Hz, H_a-18), δ_H 3,00 (1H, dd, $J = 12,0, 4,2$ Hz, H_b-18)] và một nhóm methine liên kết với brom tại δ_H 4,22 (1H, dd, $J = 8,4, 3,6$ Hz, H-15), một tín hiệu proton trong liên kết đôi tại δ_H 5,32 (1H, br d, $J = 6,0$ Hz, H-11). Những tín hiệu proton còn lại của các nhóm methine, methylene thông thường khác (Bảng 3.20).

Bảng 3.20. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AOB2**

Vị trí C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC ($\text{H} \rightarrow \text{C}$)
1a	40,8	1,93 (1H, br d, 13,8)	1, 2, 10
1b		1,50 (1H, dd, 14,4, 6,0)	5, 20
2	71,2	5,71 (1H, dd, 5,7, 1,5)	2, 10, 18, 1'
3	26,4	-	-
4	25,2	1,00 (1H, #)	-
5	38,9	1,69 (1H, #)	-
6a	33,4	1,69 (1H, #)	-
6b		2,00 (1H, #)	-
7	78,7	4,50 (1H, m)	-
8	36,6	2,56 (1H, m)	-
9	146,2	-	-
10	37,4	-	-
11	115,2	5,32 (1H, br d, 6,0)	-
12a	39,2	2,41 (1H, m)	-
12b		1,83 (1H, ddd, 17,4, 2,4, 2,1)	-
13	36,3	-	-
14a	38,6	2,15 (1H, ddd, 13,8, 6,0, 3,0)	-
14b		1,33 (1H, dd, 13,8, 10,5)	-
15	68,4	4,22 (1H, dd, 8,4, 3,6)	-
16a	64,8	3,97 (1H, dd, 12,0, 3,0)	-
16b		3,81 (1H, dd, 12,0, 8,4)	-
17	24,5	1,02 (3H, s)	12, 13, 14, 15
18a	70,5	3,78 (1H, dd, 10,8, 7,8)	-
18b		3,00 (1H, dd, 10,8, 4,2)	-
19a	11,3	1,00 (1H, #)	-
19b		0,36 (1H, q, 12,0, 7,8)	-
20	21,2	1,10 (3H, s)	1, 5, 9, 10
2-OAc			
1'	170,7	-	
2'	21,4	2,00 (3H, s)	1'
7-OAc			
1''	170,7	-	-
2''	21,1	2,04 (3H, s)	1''
16-OH	-	4,05 (1H, t, 6,0)	16
19-OH	-	3,66 (1H, dd, 7,8, 4,2)	3

^a đo trong acetone- d_6 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz,

Phân tích tiếp phổ ^{13}C -NMR và HSQC cho thấy hợp chất **AOB2** chứa 24 nguyên tử carbon, trong đó có bốn tín hiệu đặc trưng của hai nhóm acetyl [δ_{C} 170,7 (C-1'), 21,4 (C-2') và 170,7 (C-1''), 21,1 (C-2'')] (Hình O2.4 và O2.5). Còn lại là 20 tín hiệu của khung chất chính, trong đó có một số tín hiệu đặc trưng như: Hai nhóm methyl [δ_{C} 24,5 (C-17) và 21,2 (C-20)], hai nhóm oxymethine [δ_{C} 71,2 (C-2) và 78,7 (C-7)], hai nhóm oxymethylene [δ_{C} 64,8 (C-16) và δ_{C} 70,5 (C-18)], một nhóm methine liên kết trực tiếp với halogen brom tại δ_{C} 68,4 (C-15), hai tín hiệu trong liên kết đôi dạng $>\text{C}=\text{CH}-$ [δ_{C} 146,2 (C-9)/115,2 (C-11)]. Còn lại là những tín hiệu của các nhóm methylene, methine thông thường (Bảng 3.20). Với những phân tích nêu trên, **AOB2** được xác định là một diterpene. So sánh hợp chất này với hợp chất **AOB1** cho thấy chúng chỉ khác nhau ở một vị trí tại C-7, hợp chất **AOB2** được thế bằng nhóm thế acetyl tại C-7 dựa trên phổ ^1H và ^{13}C -NMR.

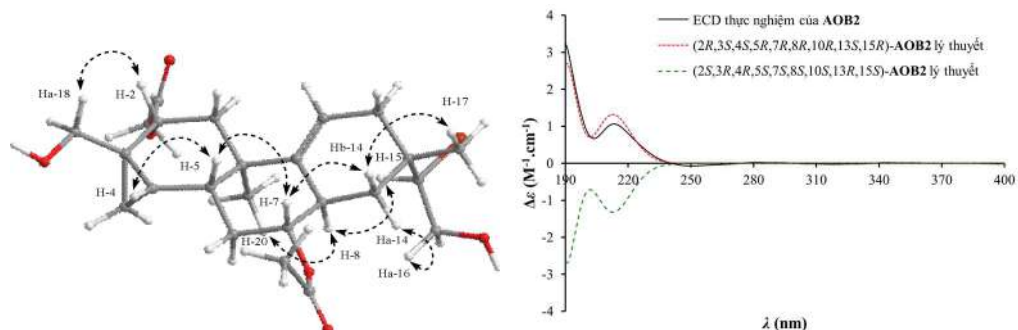


Hình 3.66. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY ($\longrightarrow$) trên hợp chất **AOB2**

Quan sát trên phổ HMBC thấy xuất hiện tương tác: H-2 tương tác lên C-1, C-1', C-3, C-10, và C-18, từ đó xác định được trên vị trí thứ 2 của khung chất diterpene có nhóm thế $-\text{OCOCH}_3$ và cho biết nhóm methylene hydroxy được thế tại vị trí C-3 trên khung diterpene chứ không thế tại vị trí C-4 như khung chất diterpen parguerol (một khung chất được sắp xếp lại từ khung diterpene pimarane) [52]. Tương tác giữa H_b-19 lên C-3, C-4, C-5, C-18 đồng thời độ chuyển dịch của nhóm methylene này ở vùng trường khá mạnh cả trên phổ ^1H và ^{13}C [δ_{H} 1,00 (H_a-19) và 0,36 (H_b-19)/ δ_{C} 11,3] cho thấy được nhóm methylene này tạo vòng ba với hai vị trí C-3 và C-4 trên khung chất. Tương tác HMBC giữa H-11 lên C-8, C-10, C-13 cho biết liên kết đôi tại vị trí C-9/C-11 (Hình 3.66). Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H_b-1 (δ_{H} 1,50) với H-2 (δ_{H} 5,71), H_b-19 (δ_{H} 0,36) với H-4 (δ_{H} 1,00), H-4 với H-5 (δ_{H} 1,69), H-7 (δ_{H} 4,50) với H_a-6 (δ_{H} 1,69) và H-8 (δ_{H} 2,56), H-8 với H_b-14 (δ_{H} 1,33), H-11 (δ_{H} 5,32) với H_b-12 (δ_{H} 1,83), và H-15 (δ_{H} 4,22) với H_a-16 (δ_{H} 3,97) và H_b-16 (δ_{H} 3,81). Từ những tương tác này xác định được một số mảnh trên phân tử của **AOB2** (như hình 3.66).

Hằng số ghép lớn ($J = 10,5$ Hz) giữa H_b-14 và H-8 cho thấy H_b-14 có dạng pseudo-axial và được gán tương đối cho cấu hình β (Hình 3.67). Trên phổ NOESY

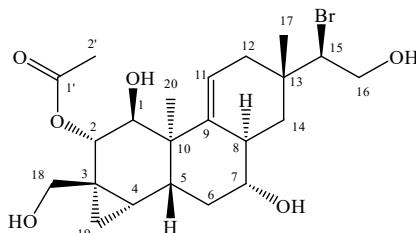
xuất hiện tương tác giữa H-5 với H-7, giữa H-7 (δ_H 4,50) với H_b-14 (δ_H 1,33), H_b-14 với H₃-17 (δ_H 1,02) cho thấy các proton này cùng có cấu hình β . Tương tác giữa H-20 với H-8, giữa H-8 với H-15, và giữa H_a-16 với H_a-14 cho thấy H-8 và nhóm Me-20 có cấu hình α và C-15 có cấu hình R^* .



Hình 3.67. Tương tác NOESY ($\longleftrightarrow$) và phổ ECD của hợp chất **AOB2**

So sánh phổ ECD thực nghiệm với các phổ ECD tính toán lý thuyết cho phép xác định cấu hình tuyệt đối của các trung tâm bất đối trên phân tử **AOB2** là 2*R*,3*S*,4*S*,5*R*,7*R*,8*R*,10*R*,13*S*,15*R* (Hình 3.65). Đây cũng là hợp chất có khung mới, giống với khung của hợp chất **AOB1** và được đặt tên là oculiferanin B.

3.1.5.3. Hợp chất **AOB3**: oculiferanin C (chất mới)

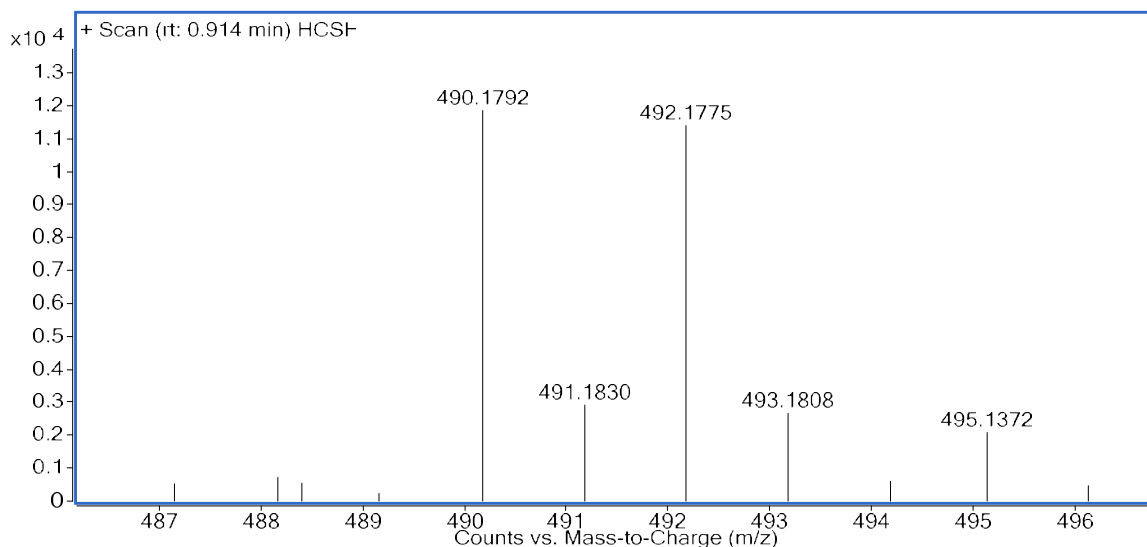


Hình 3.68. Cấu trúc hợp chất **AOB3**

Hợp chất **AOB3** thu được dưới dạng chất rắn vô định hình không màu. Phổ khối phân giải cao xuất hiện tín hiệu tại m/z 490,1792 và 492,1775 $[M + NH_4]^+$ (tính toán theo lý thuyết $C_{22}H_{37}BrO_6N^+$, m/z 490,1799 và 492,1799); m/z 507,1153 và 509,1136 $[M + Cl]^-$ (tính toán theo lý thuyết $C_{22}H_{33}BrO_6Cl^-$, m/z 507,1149 và 509,1129) từ đó xác định được hợp chất **AOB3** có công thức phân tử tương ứng $C_{22}H_{33}BrO_6$ và có độ bất bão hòa là 6 (Hình 3.69).

Phân tích trên phổ 1H -NMR trên vùng trường mạnh thấy xuất hiện 2 tín hiệu singlet đặc trưng của hai nhóm methyl [δ_H 1,04 (3H, s, H-17) và 1,00 (3H, s, H-20), bên cạnh đó còn xuất hiện một tín hiệu singlet đặc trưng của một nhóm acetyl [δ_H 2,03 (3H, s, $-OCOCH_3$). Dịch về phía vùng trường trung bình xuất hiện ba tín hiệu nhóm oxymethine [δ_H 3,81 (1H, #, H-1), 5,39 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-2), 3,29 (1H, m, H-7)], hai nhóm oxymethylene [δ_H 3,97 (1H, #, H_a-16), δ_H 3,81 (1H, #, H_b-16)] và [δ_H

3,62 (1H, #, H_a-18), δ_{H} 3,18 (1H, #, H_b-18)] và một nhóm methine liên kết với brom tại δ_{H} 4,26 (1H, dd, $J = 8,7, 2,7$ Hz, H-15), một tín hiệu proton trong liên kết đôi tại δ_{H} 5,47 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-11). Những tín hiệu proton còn lại của các nhóm methine, methylene thông thường khác.



Hình 3.69. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AOB3**

Trên phổ ^{13}C -NMR và HSQC cho thấy hợp chất **AOB3** chứa 22 nguyên tử carbon, trong đó có hai tín hiệu đặc trưng của một nhóm acetyl [δ_{C} 170,5 (C-1') và 21,2 (C-2')] (Hình O3.3 và hình O3.4). Còn lại là 20 tín hiệu của khung chất chính, trong đó có một số tín hiệu đặc trưng như: Hai nhóm methyl [δ_{C} 25,1 (C-17) và 19,8 (C-20)], ba nhóm oxymethine [δ_{C} 71,3 (C-1), 75,5 (C-2) và 76,3 (C-7)], hai nhóm oxymethylene [δ_{C} 64,7 (C-16) và δ_{C} 70,6 (C-18)], một nhóm methine liên kết trực tiếp với halogen brom tại δ_{C} 69,6 (C-15), và cuối cùng là hai tín hiệu trong liên kết đôi dạng $>\text{C}=\text{CH}-$ [δ_{C} 143,0 (C-9)/116,3 (C-11)]. Còn lại là những tín hiệu của các nhóm methylene, methine thông thường (Bảng 3.21). Với những phân tích bên trên xác định được hợp chất là một diterpene. So sánh hợp chất này với hợp chất **AOB1** cho thấy chúng chỉ khác nhau ở một vị trí tại C-1, hợp chất **AOB3** có thêm nhóm thế -OH tại C-1 dựa trên phổ ^1H và ^{13}C -NMR [δ_{H} 3,81 (H-1)/ δ_{C} 71,3 (C-1)].

Phổ HMBC xuất hiện tương tác: H-2 tương tác lên C-1, C-1', C-3, C-4, C-10, 18, và C-19. Nhờ đặc điểm này xác định được trên vị trí thứ 2 của khung chất diterpene có nhóm thế $-\text{OCOCH}_3$ và cho biết nhóm methylene hydroxy được thế tại vị trí C-3 trên khung diterpene chứ không thế tại vị trí C-4 như khung chất diterpen parguerol (một khung chất được sắp xếp lại từ khung diterpene pimarane) [52]. Tương tác giữa proton của nhóm 1-OH lên C-1, C-2, C-10 cho biết tại vị trí C-1 có nhóm thế hydroxy. Tương tác giữa H_b-19 lên C-2, C-3, C-4, C-5, C-18 đồng thời độ chuyển dịch của nhóm methylene này ở vùng trường khá mạnh cả trên phổ ^1H và ^{13}C

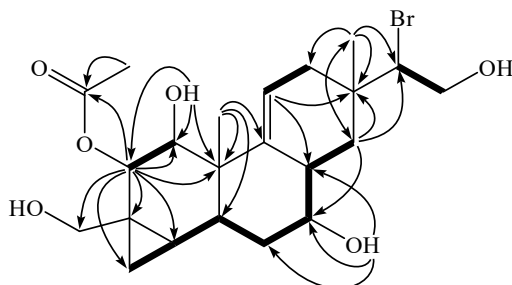
[δ_H 0,93 (H_a-19) và 0,42 (H_b-19)/ δ_C 11,1] cho thấy được nhóm methylene này tạo vòng ba với hai vị trí C-3 và C-4 trên khung chất. Tương tác giữa H-11 lên C-8, C-10, C-13 cho biết liên kết đôi tại vị trí C-9/C-11 (Hình 3.69 và hình O3.5).

Bảng 3.21. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AOB3**

Vị trí C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	71,3	3,81 (1H, #)	-
2	75,7	5,39 (1H, d, 2,4)	1, 1', 3, 4, 10, 18
3	24,5	-	-
4	24,5	0,98 (1H, m)	-
5	30,8	2,26 (1H, #)	-
6a	36,8	1,92 (1H, ddd, 12,6, 4,8, 2,4)	-
6b		1,68 (1H, m)	-
7	76,3	3,20 (1H, m)	-
8	39,7	2,26 (1H, #)	-
9	143,0	-	-
10	43,1	-	-
11	116,3	5,47 (1H, d, 6,0)	8, 13
12a	39,5	2,41 (1H, ddd, 17,4, 6,0, 1,8)	-
12b		1,84 (1H, ddd, 17,4, 3,6, 1,8)	-
13	36,2	-	-
14a	39,2	2,38 (1H, ddd, 13,8, 5,4, 3,6)	7, 12, 13
14b		1,34 (1H, dd, 13,8, 11,4)	7, 12, 13, 15, 17
15	69,6	4,26 (1H, dd, 8,7, 2,7)	-
16a	64,7	3,97 (1H, #)	-
16b		3,81 (1H, #)	-
17	25,1	1,04 (3H, s)	12, 13, 14, 15
18a	70,6	3,62 (1H, #)	-
18b		3,18 (1H, #)	-
19a	11,1	0,93 (1H, t, 6,0)	2, 3, 5, 18
19b		0,42 (1H, dd, 9,0, 5,4)	2, 3, 5, 18
20	19,8	1,00 (3H, s)	1, 5, 9, 10
2-OAc			
1'	170,5	-	-
2'	21,2	2,03 (3H, s)	1'
1-OH	-	3,51 (1H, d, 4,8)	1, 2, 10
7-OH	-	3,89 (1H, d, 6,0)	6, 7, 8

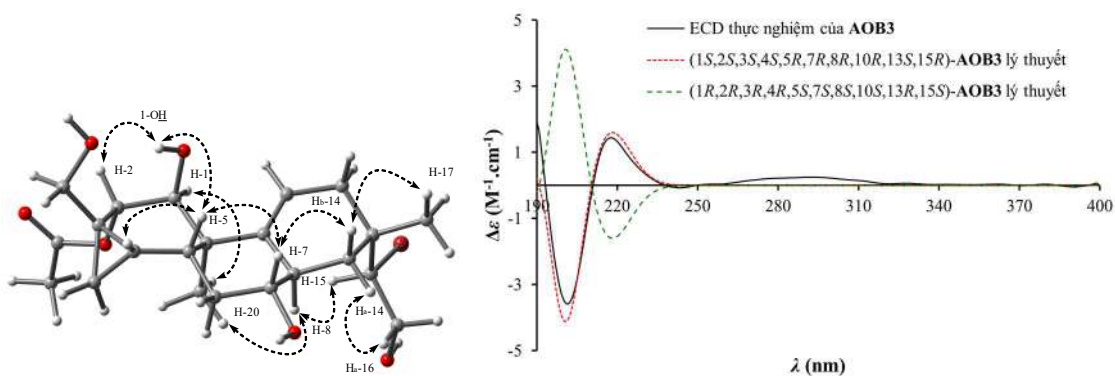
^a đo trong acetone- d_6 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, # tín hiệu chồng chéo

Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H-1 (δ_H 3,81) với H-2 (δ_H 5,39), H_b-14 (δ_H 1,34) với H-8 (δ_H 2,26) với H-7 (δ_H 3,20) với H_b-6 (δ_H 1,68) với H-5 (δ_H 2,26) với H_b-19 (δ_H 0,42), H-11 (δ_H 5,47) với H_b-12 (δ_H 1,84) và H-15 (δ_H 4,24) với H_b-16 (δ_H 3,80). Từ những tương tác này xác định được một số mảnh trên phân tử của **AOB3** (Hình 3.70 và hình O3.6).



Hình 3.70. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY (—) trên hợp chất **AOB3**

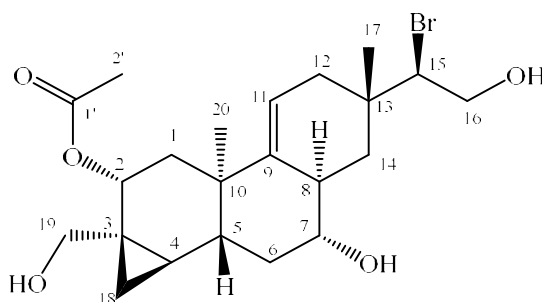
Hằng số ghép lớn ($J = 11,4$ Hz) giữa H_b-14 và H-8 cho thấy H_b-14 có dạng pseudo-axial và được gán tương đối cho cấu hình β (Hình 3.71). Phổ NOESY cho các tương tác giữa H₃-17/H_b-14, H_b-14/H-7, H-7/H-5, H-5/H-4, H-5/OH-1, OH-1/H-2 chứng tỏ H₃-17, H-7, H-5, H-4, OH-1 và H-2 có cấu hình β . Ngược lại, các tương tác NOESY giữa H-1/H₃-20, H₃-20/H-8, H-8/H-15, H_a-14/H_a-16 xác nhận cấu hình α của H₃-20, H-8 và cấu hình R^* của C-15.



Hình 3.71. Tương tác NOESY ($\text{---}\rightarrow$) và phổ ECD của hợp chất **AOB3**

Phổ ECD thực nghiệm của **AOB3** (Hình 3.71) có hiệu ứng cotton tương đồng với phổ ECD tính toán trong trường hợp các vị trí có cấu hình bất đối của **AOB3** là $2S,3S,4S,5R,7R,8R,10R,13S,15R$. Đồng thời cho thấy hợp chất có cùng khung parguerane sắp xếp lại. Đây cũng là hợp chất có khung mới, giống với khung của hợp chất **AOB2**. Bên cạnh đó hợp chất này có điểm mới so với hai hợp chất **AOB1** và **AOB2** cũng như các hợp chất có khung diterpen parguerol là có thêm nhóm thế hydroxy tại vị trí C-1 [δ_H 3,81, H-1)/ δ_C 71,3 (C-1)]. Hợp chất **AOB3** được đặt tên là oculiferanin C.

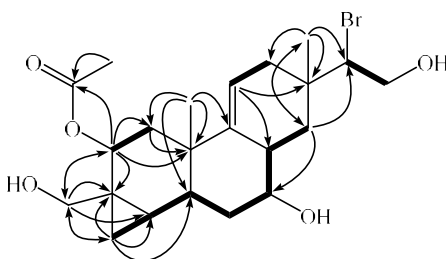
3.1.5.4. Hợp chất **AOB4**: oculiferanin D (chất mới)



Hình 3.70. Cấu trúc hợp chất **AOB4**

Hợp chất **AOB4** thu được dưới dạng chất rắn vô định hình không màu. Phổ khối phân giải cao xuất hiện tín hiệu tại m/z 474,1834 và 476,1835 $[M+NH_4]^+$, gợi ý cho công thức ion giả phân tử ($C_{22}H_{37}BrNO_5^+$, m/z 474,1850 và 476,1829), m/z 491,1201 và 493,1181 $[M+Cl]^-$, gợi ý cho công thức ion giả phân tử ($C_{22}H_{33}BrO_5Cl^-$, m/z 491,1200 và 493,1179) (Xem hình O4.1a và O4.1b) từ đó cho gợi ý hợp chất **AOB4** có công thức phân tử tương ứng $C_{22}H_{33}BrO_5$.

Phổ 1H -NMR trên vùng trường mạnh thấy xuất hiện 2 tín hiệu singlet đặc trưng của hai nhóm methyl [δ_H 1,04 (3H, s, H-17) và 1,09 (3H, s, H-20)], bên cạnh đó còn xuất hiện một tín hiệu singlet đặc trưng của một nhóm acetyl [δ_H 2,03 (3H, s, -OCOCH₃)]. Dịch về phía vùng trường trung bình xuất hiện hai tín hiệu nhóm oxymethine [δ_H 5,48 (1H, d, $J = 4,2$ Hz, H-2), 3,13 (1H, m, H-7)], hai nhóm oxymethylene [δ_H 4,00 (1H, m, H_a-16), δ_H 3,82 (1H, m, H_b-16)] và [δ_H 3,90 (1H, m, H_a-18), δ_H 3,06 (1H, m, H_b-18)] và một nhóm methine liên kết với brom tại δ_H 4,26 (1H, dd, $J = 8,7, 2,7$ Hz, H-15), một tín hiệu proton trong liên kết đôi tại δ_H 5,27 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-11).



Hình 3.72. Tương tác HMBC(→) và COSY (—) trên hợp chất **AOB4**

Phân tích tiếp trên phổ ^{13}C -NMR và HSQC cho thấy hợp chất **AOB4** chứa 22 nguyên tử carbon (Bảng 3.22), trong đó có một nhóm acetyl [δ_C 170,5 (C-1') và 21,3 (C-2')]. Còn lại là 20 tín hiệu của khung chất chính, trong đó có một số tín hiệu đặc trưng như: Hai nhóm methyl [δ_C 24,9 (C-17) và 20,0 (C-20)], hai nhóm oxymethine [δ_C 69,6 (C-2) và 76,7 (C-7)], hai nhóm oxymethylene [δ_C 64,8 (C-16) và δ_C 66,9 (C-18)], một nhóm methine liên kết trực tiếp với halogen brom tại δ_C 69,3 (C-15), và

cuối cùng là hai tín hiệu trong liên kết đôi dạng $>C=CH-$ [δ_C 144,8 (C-9)/116,9 (C-11)]. Với những phân tích bên trên xác định được hợp chất là một diterpene.

Bảng 3.22. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AOB4**

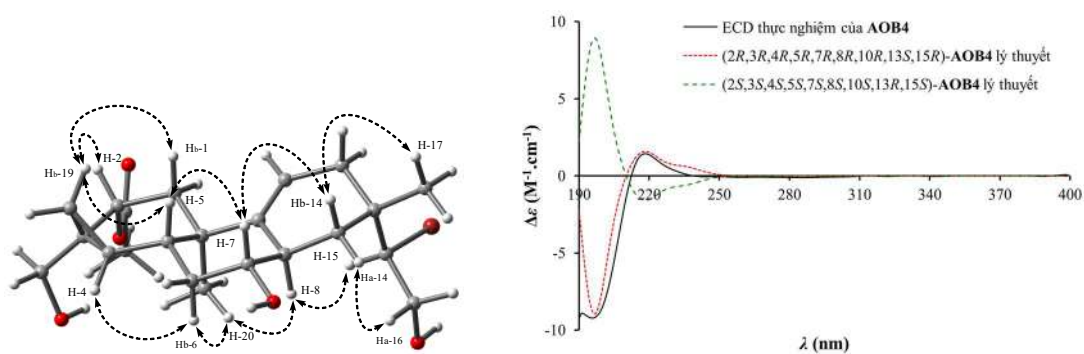
Vị trí C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1a	38,8	1,85 (1H, dd, 15,0, 1,2)	2, 3, 5, 10
1b		1,30 (1H, #)	-
2	69,6	5,48 (1H, d, 4,2)	1', 3, 4, 10, 19
3	24,4	-	-
4	20,7	0,62 (1H, m)	3, 18, 18
5	44,7	1,05 (1H, #)	-
6a	39,0	1,94 (1H, m)	4, 5, 8, 10
6b		1,67 (1H, ddd, 13,2, 13,2, 11,4)	5, 7
7	76,7	3,13 (1H, m)	6
8	39,3	2,32 (1H, m)	-
9	144,8	-	-
10	37,6	-	-
11	116,9	5,27 (1H, d, 6,0)	8, 13
12a	39,8	2,40 (1H, #)	-
12b		1,79 (1H, ddd, 17,4, 3,6, 2,4)	11
13	36,2	-	-
14a	39,4	2,40 (1H, #)	-
14b		1,33 (1H, #)	-
15	69,3	4,26 (1H, dd, 8,7, 2,7)	13, 16, 17
16a	64,8	4,00 (1H, m)	-
16b		3,82 (1H, m)	15
17	24,9	1,04 (3H, s)	12, 13, 14, 15
18a	66,9	3,90 (1H, m)	3, 18
18b		3,06 (1H, m)	2, 4, 18
19a	18,8	0,92 (1H, dd, 8,7, 4,5)	2, 3, 4, 5, 18
19b		0,12 (1H, br t, 4,5)	2, 3, 4, 5, 18
20	20,0	1,09 (3H, s)	1, 5, 9, 10
2-OAc			
1'	170,5	-	-
2'	21,3	2,03 (3H, s)	1'

^a đo trong acetone- d_6 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, # tín hiệu chồng chéo

Phổ HMBC xuất hiện một số tương tác chính: H-2 tương tác lên C-1, C-1', C-3, C-10, C-18, và C-19, từ đó xác định được trên vị trí thứ 2 của khung chất diterpene

có nhóm thế $-\text{OCOCH}_3$. Tương tác giữa H_b -19 lên C-3, C-4, C-5, C-18 đồng thời độ chuyển dịch của nhóm methylene này ở vùng trường khá mạnh cả trên phổ ^1H và ^{13}C -NMR [δ_H 0,92 (H_a -19) và 0,12 (H_b -19)/ δ_C 18,8] cho thấy được nhóm methylene này tạo vòng ba với hai vị trí C-3 và C-4 trên khung chất. Tương tác giữa H_b -18 lên C-2, C-3, C-4 cho biết nhóm methylene hydroxy được thế tại vị trí C-3 trên khung diterpene chứ không thế tại vị trí C-4 như khung chất diterpen parguerane (một khung chất được sắp xếp lại từ khung diterpene pimarane) [52]. Tương tác giữa H-11 lên C-8, C-10, C-13 cho biết liên kết đôi tại vị trí C-9/C-11 (Hình 04.5). Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H_a -1 (δ_H 1,85) với H-2 (δ_H 5,48), H-4 (δ_H 0,62) với H-5 (δ_H 1,05), H-4 với H_a -19 (δ_H 0,92), H-5 với H_b -6 (δ_H 1,67), H_b -6 với H-7 (δ_H 3,12), H-7 với H-8 (δ_H 2,32), H-8 với H_b -14 (δ_H 1,33), H-11 (δ_H 5,27) với H_b -12 (δ_H 1,79) và H-15 (δ_H 4,24) với H_b -16 (δ_H 3,82). Từ những tương tác này xác định được một số mảnh trên phân tử của **AOB4** như (Hình 04.6)

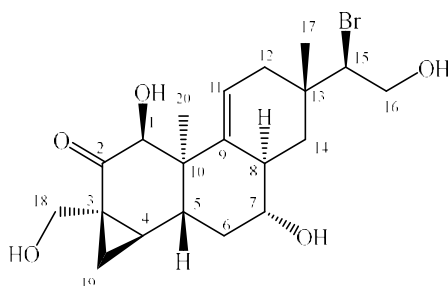
Giá trị hằng số ghép cặp lớn của H_b -6 với các proton lân cận cho thấy H_b -6 có định hướng axial và được gán tương đối với cấu hình α như trong hình 3.74. Các tương tác NOESY giữa H_b -6/ H_3 -20, H_3 -20/H-8, H_3 -20/H-1a, H-8/H-15, H_a -14/ H_a -16 cho thấy H_3 -20, H-8, H_a -1 có cấu hình α và C-15 có cấu hình R^* . Các tương tác NOESY giữa H_b -6/H-4 và giữa H-5/ H_b -19, H_b -19/H-1b, H_b -19/H-2, H-5/H-7, H-7/ H_b -14, H_b -14/ H_3 -17 chứng tỏ H-2, H-5, H-7, H_b -14, H_3 -17 và vòng cyclopropane có cấu hình β . Cuối cùng, cấu hình tuyệt đối của chất mới **AOB4** được xác định là $2R,3R,4R,5R,7R,8R,10R,13S,15R$ bằng phương pháp phổ ECD thực nghiệm kết hợp với tính toán lý thuyết (Hình 3.73).



Hình 3.73. Tương tác NOESY ($\longleftrightarrow$) và phổ ECD của hợp chất **AOB4**

Hợp chất **AOB4** là hợp chất mới, lần đầu tiên được phân lập từ thiên nhiên, là hợp chất có khung mới, sắp xếp lại của khung diterpen parguerane. Hợp chất được đặt tên là oculiferanin D.

3.1.5.5. Hợp chất **AOB5**: oculiferanin E (chất mới)



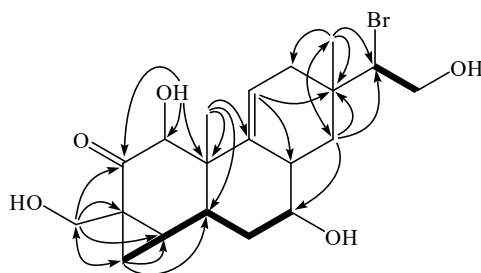
Hình 3.74. Cấu trúc hợp chất **AOB5**

Hợp chất **AOB5** thu được dưới dạng chất rắn vô định hình không màu. Phổ khối phân giải cao xuất hiện tín hiệu tại m/z 446,1541 và 448,1514 $[M+NH_4]^+$, gợi ý cho công thức giả phân tử ($C_{20}H_{33}BrNO_5^+$, m/z 446,1537 và 448,1516), từ đó xác định được hợp chất **AOB5** có công thức phân tử tương ứng $C_{20}H_{29}BrO_5$ (Hình O5.1). Phân tích trên phổ 1H -NMR trên vùng trường mạnh thấy xuất hiện 2 tín hiệu singlet đặc trưng của hai nhóm methyl [δ_H 1,04 (3H, s, H-17) và 0,92 (3H, s, H-20)]. Dịch về phía vùng trường trung bình xuất hiện hai tín hiệu nhóm oxymethine [δ_H 3,89 (1H, d, $J = 4,2$ Hz, H-1), 3,20 (1H, m, H-7)], hai oxymethylene [δ_H 3,98 (1H, #, H_a-16), δ_H 3,91 (1H, m, H_b-16)] và [δ_H 3,98 (1H, #, H_a-18), δ_H 3,26 (1H, dd, $J = 11,7, 5,7$ Hz, H_b-18)] và một nhóm methine liên kết với brom tại δ_H 4,27 (1H, dd, $J = 9,0, 2,4$ Hz, H-15), một tín hiệu proton trong liên kết đôi tại δ_H 5,45 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-11).

Phân tích tiếp trên phổ ^{13}C -NMR và HSQC cho thấy hợp chất **AOB5** chứa 20 nguyên tử carbon, trong đó có một nhóm ketone δ_C 170,5 (C-2), hai nhóm methyl [δ_C 25,1 (C-17) và 17,6 (C-20)], hai nhóm oxy methine [δ_C 79,3 (C-1) và 76,0 (C-7)], hai nhóm oxy methylene [δ_C 64,7 (C-16), δ_C 65,0 (C-18)], một nhóm methine liên kết trực tiếp với halogen brom tại δ_C 69,3 (C-15), hai tín hiệu trong liên kết đôi dạng $>C=CH-$ [δ_C 140,0(C-9)/118,4 (C-11)]. Ngoài ra xuất hiện ba tín hiệu của vòng xiclopropane [δ_C 34,1 (C-3), 27,4 (C-4) và 23,4 (C-19)]; các tín hiệu của các nhóm methylene tại δ_C 37,8 (C-6), 39,7 (C-12), và 38,9 (C-14); hai tín hiệu nhóm methine tại δ_C 35,2 (C-5), 39,0 (C-8) và hai tín hiệu carbon bậc 4 tại δ_C 47,7 (C-10), 36,2 (C-8) (Bảng 3.23). Với những phân tích bên trên xác định được hợp chất là một diterpene.

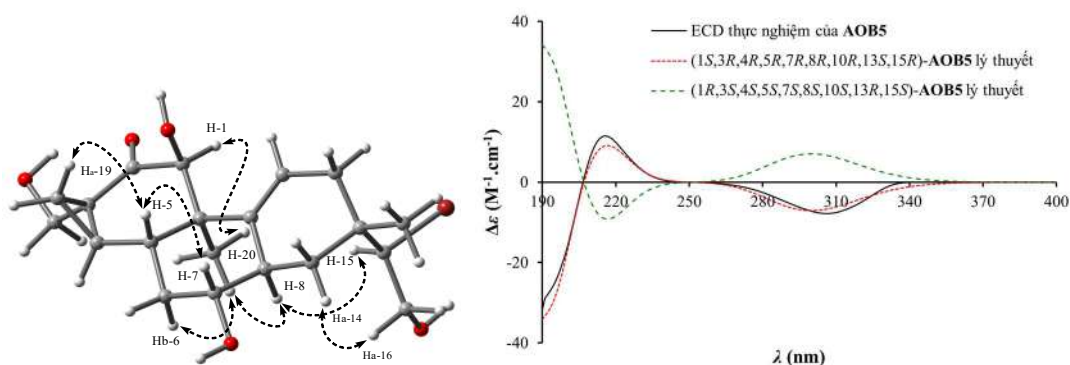
Xét trên phổ HMBC cho thấy xuất hiện một số tương tác chính: Proton 1-OH tương tác lên C-1, C-2, từ đó xác định được trên vị trí thứ 1 của khung chất diterpene có nhóm thế -OH và vị trí C-2 là một nhóm ketone. Tương tác giữa proton H_a-19 lên C-4, C-5, C-18 đồng thời độ chuyển dịch của nhóm methylene này ở vùng trường khá mạnh cả trên phổ 1H và ^{13}C [δ_H 1,63 (H_a-19) và 1,19 (H_b-19)/ δ_C 23,8] cho thấy được nhóm methylene này tạo vòng ba với hai vị trí C-3 và C-4 trên khung chất. Tương tác giữa H_b-18 lên C-2, C-3, C-4 cho biết nhóm methylene hydroxy được thế tại vị trí C-

3 trên khung diterpene chứ không thể tại vị trí C-4 như khung chất diterpen parguerane (một khung chất được sắp xếp lại từ khung diterpene pimarane) [52]. Tương tác giữa H-11 lên C-8, C-10, C-13 cho biết liên kết đôi tại vị trí C-9/C-11 (Hình O5.5). Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: proton H-4 (δ_H 1,19) tương tác với H-5 (δ_H 2,16), H-4 với H_a-19 (δ_H 1,63), H-5 với H_b-6 (δ_H 1,73), H_b-6 với H-7 (δ_H 3,20), và H-15 (δ_H 4,27) với H_b-16 (δ_H 3,81). Từ những tương tác này xác định được một số mảnh trên phân tử của **AOB5** như hình O5.6).



Hình 3.75. Tương tác HMBC (→) và COSY (—) trên hợp chất **AOB5**

Với giá trị hằng số ghép cặp lớn, H_b-6 có định hướng axial và được gán tương đối với cấu hình α như trên hình 3.76. Phổ NOESY cho các tương tác giữa H_b-6/H₃-20, H₃-20/H-8, H₃-20/H-1, H-8/H-15 và H_a-14/H_a-16 chứng tỏ H-1, H₃-20, H-8 có cấu hình α , C-13 và C-15 có cấu hình tương ứng là R^* và S^* . Tương tác giữa H-5/H_a-18, H-5/H-7 cho phép khẳng định cấu hình β của H-5, H-7 và vòng cyclopropane. Cuối cùng, kết hợp phổ ECD và tính toán lý thuyết xác định được cấu hình tuyệt đối của các trung tâm bất đối trên phân tử là 1*S*,3*R*,4*R*,5*R*,7*R*,8*R*,10*R*,13*S*,15*R* (Hình 3.76).



Hình 3.76. Tương tác NOESY (←----→) và phổ ECD của hợp chất **AOB5**

Hợp chất **AOB5** là hợp chất mới, lần đầu tiên được phân lập từ thiên nhiên, là hợp chất có khung mới, sắp xếp lại của khung diterpene parguerane. Hợp chất được đặt tên là oculiferanin E. Cả năm hợp chất **AOB** phân tích trên đều là các hợp chất có khung được sắp xếp lại và cũng lần đầu lớp chất diterpene phân lập được từ sên biển *A. oculifera*.

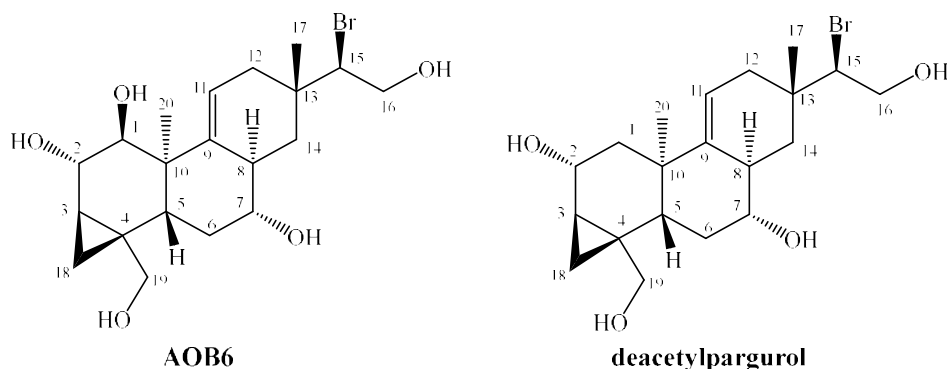
Bảng 3.23. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AOB5**

Vị trí C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	79,3	3,89 (1H, d, 4,2)	2, 3, 5, 10
2	207,9	-	-
3	34,1	-	-
4	27,4	1,19 (1H, $^{\#}$)	-
5	35,2	2,16 (1H, $^{\#}$)	-
6a	37,8	2,11 (1H, m)	-
6b		1,73 (1H, ddd, 12,6, 12,6, 12,0)	5, 7
7	76,0	3,20 (1H, m)	14
8	39,0	2,22 (1H, m)	-
9	140,0	-	-
10	47,4	-	-
11	118,4	5,45 (1H, d, 6,0)	8, 10, 13
12a	39,7	2,42 (1H, $^{\#}$)	-
12b		1,84 (1H, ddd, 18,0, 3,6, 2,4)	15
13	36,2	-	-
14a	38,9	2,42 (1H, $^{\#}$)	-
14b		1,36 1H, dd, 13,8, 11,4)	7, 8, 12, 13, 15, 17
15	69,3	4,27 (1H, dd, 9,0, 2,4)	13, 15, 17
16a	64,7	3,98 (1H, $^{\#}$)	-
16b		3,81 (1H, m)	-
17	25,1	1,05 (3H, s)	12, 13, 14, 15
18a	65,0	3,98 (1H, $^{\#}$)	-
18b		3,26 (1H, dd, 11,7, 5,7)	2, 3, 4
19a	23,4	1,63 (1H, dd, 5,1, 3,3)	4, 5, 18
19b		1,19 (1H, $^{\#}$)	-
20	17,6	0,92 (3H, s)	1, 5, 9, 10
1-OH	-	4,61 (1H, d, 4,2)	1, 2, 10

^a đo trong acetone- d_6 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, [#] tín hiệu chồng chéo

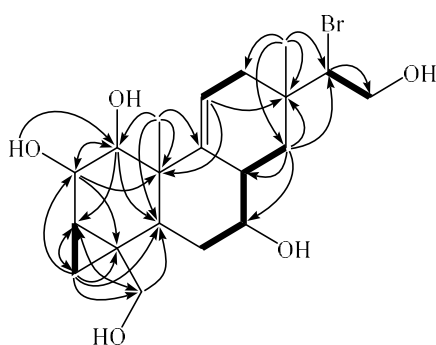
3.1.5.6. Hợp chất **AOB6**: oculiferanin F (chất mới)

Hợp chất **AOB6** thu được dưới dạng chất rắn vô định hình không màu. Phổ khối lượng phân giải cao xuất hiện tín hiệu tại m/z 448,1687 và 450,1653 $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ (tính toán theo lý thuyết $\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{BrO}_5\text{N}^+$, 448,1693 và 450,1673); tại m/z 465,1038 và 467,1016 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ (tính toán theo lý thuyết $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{BrO}_5\text{Cl}^-$, 465,1043 và 467,1023) từ đó xác định được hợp chất **AOB6** có công thức phân tử tương ứng $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{BrO}_5$.



Hình 3.77. Cấu trúc của hợp chất **AOB6** và chất so sánh

Phân tích trên phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ và phổ HSQC trên vùng trường mạnh thấy xuất hiện nhóm methyl [δ_{H} 1,04 (3H, s, H-17)/ δ_{H} 25,1 (C-17) và 1,15 (3H, s, H-20)/20,1 (C-20)]. Dịch về phía vùng trường trung bình xuất hiện ba tín hiệu nhóm oxymethine [δ_{H} 3,81 (1H, d, $J = 4,8$ Hz, H-1)/ δ_{C} 75,7 (C-1); 4,13 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, H-2)/71,1 (C-2); 3,08 (1H, m, H-7)/76,2 (C-7)], hai nhóm oxymethylene [δ_{H} 4,01 (1H, #, H_a-16), δ_{H} 3,80 (1H, #, H_b-16)/ δ_{C} 64,7 (C-16)] và [δ_{H} 3,48 (1H, dd, $J = 10,8, 5,4$ Hz, H_a-19), δ_{H} 3,37 (1H, dd, $J = 10,8, 4,8$ Hz, H_b-19)/ δ_{C} 68,3 (C-19)] và một nhóm methine liên kết với brom [δ_{H} 4,31 (1H, dd, $J = 10,8, 3,0$ Hz, H-15)/ δ_{C} 69,6 (C-15)], một nhóm methine trong liên kết đôi [δ_{H} 5,49 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-11)/ δ_{C} 118,3 (C-11)]. Còn lại là những tín hiệu của các nhóm methylene, methine thông thường (Bảng 3.24). Với những phân tích bên trên xác định được hợp chất là một diterpene. So sánh hợp chất này với hợp chất deacetylpargurol cho thấy chúng chỉ khác nhau ở một vị trí tại C-1, hợp chất **AOB6** có thêm nhóm thế -OH tại C-1 dựa trên phổ ^1H và $^{13}\text{C-NMR}$ [δ_{H} 3,81 (H-1)/ δ_{C} 75,7 (C-1)].



Hình 3.78. Tương tác HMBC (→) và COSY (—) trên hợp chất **AOB6**

Phổ HMBC xuất hiện tương tác: H-17 (δ_{H} 1,04) tương tác lên C-12, C-13, C-14, C-15; H-20 (δ_{H} 1,15) tương tác lên C-1, C-5, C-9, và C-10, dựa vào tương tác này mà xác định được vị trí hai nhóm methyl tại C-10 và C-13 trong cấu trúc phân tử và cũng xác định được có nhóm -OH thế tại vị trí C-1 và vị trí C-15 có thể nguyên tử brom. Hai proton H_a-19 (δ_{H} 3,48) và H_b-19 (δ_{H} 3,37) cùng tương tác lên C-3 và C-5, điều này cho biết có nhóm oxymethylene thế tại vị trí C-4 như khung chất diterpen

parguerol. Tương tác giữa proton của nhóm 2-OH lên C-1 cho biết tại vị trí C-2 có chứa nhóm thế hydroxy. Tương tác giữa H_b-18 lên C-2, C-3, C-4, C-5, và C-19 đồng thời độ chuyển dịch của nhóm methylene này ở vùng trường khá mạnh cả trên phổ ¹H và ¹³C [δ_H 0,69 (H_a-18) và 0,34 (H_b-18)/ δ_C 17,7] cho thấy được nhóm methylene này tạo vòng ba với hai vị trí C-3 và C-4 trên khung chất. Tương tác giữa H-11 lên C-10 và C-13 cho biết liên kết đôi tại vị trí C-9/C-11 (Hình 3.78).

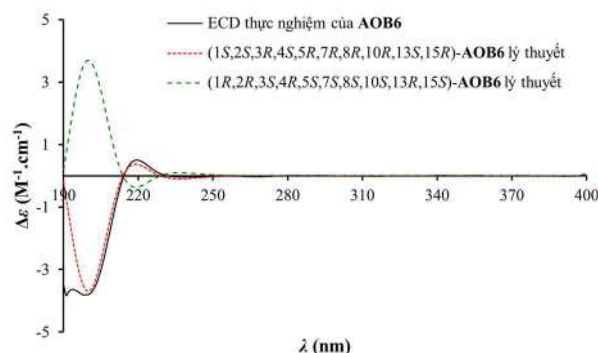
Bảng 3.24. Số liệu phổ ¹H, ¹³C-NMR của hợp chất AOB6

Vị trí C	[*] $\delta_C^{d,b}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	HMBC (H→C)
1	40,5	75,7	3,81 (1H, d, 4,8)	2, 3, 5
2	64,0	71,1	4,13 (1H, d, 2,4)	1, 4, 10
3	23,3	23,4	0,98 (1H, dd, 10,2, 6,3)	1, 18, 19
4	23,2	24,8	-	-
5	45,9	37,9	1,94 (1H, #)	-
6a	33,1	33,8	2,34 (1H, #)	-
6b			1,92 (1H, #)	-
7	75,4	76,2	3,08 (1H, m)	-
8	37,7	39,5	2,23 (1H, m)	-
9	145,0	142,5	-	-
10	36,5	43,9	-	-
11	115,2	118,3	5,49 (1H, d, 6,0)	10, 13
12a	38,9	40,0	2,44 (1H, ddd, 16,8, 6,0, 1,8)	-
12b			1,86 (1H, ddd, 16,8, 3,9, 2,1)	9, 11
13	34,9	36,0	-	-
14a	37,9	38,6	2,38 (1H, #)	-
14b			1,32 (1H, dd, 13,8, 11,4)	7, 8, 13, 15
15	69,0	69,6	4,31 (1H, dd, 10,8, 3,0)	13, 16, 17
16a	62,9	64,7	4,01 (1H, #)	-
16b			3,80 (1H, #)	-
17	24,2	25,1	1,04 (3H, s)	12, 13, 14, 15
18a	17,4	17,7	0,69 (1H, dd, 10,2, 3,6)	2, 3, 4, 5, 19
18b			0,34 (1H, dd, 6,3, 3,6)	2, 3, 4, 5, 19
19a	65,9	68,3	3,48 (1H, dd, 10,8, 5,4)	3, 5
19b			3,37 (1H, dd, 10,8, 4,8)	4, 5
20	20,6	20,1	1,15 (3H, s)	1, 5, 9, 10
2-OH			3,90 (1H, d, 3,0)	1

^{*} tài liệu tham khảo chất deacetylpargurol [139]

^a đo trong acetone-*d*₆, ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, [#] tín hiệu chồng chéo, ^d đo trong DMSO-*d*₆

Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H-3 (δ_H 0,98) tương tác với H_a-18 (δ_H 0,69) và H_b-18 (δ_H 0,34); H-7 (δ_H 3,08) với H_b-6 (δ_H 1,98) với H-8 (δ_H 2,23); H-8 với H_b-14 (δ_H 1,32); H-11 (δ_H 5,49) với H_a-12 (δ_H 2,44) và H-15 (δ_H 4,31) với H_b-16 (δ_H 3,80). Từ những tương tác này gợi ý xác định được một số mảnh phân tử trên cấu trúc của hợp chất **AOB6** (Hình 3.78).

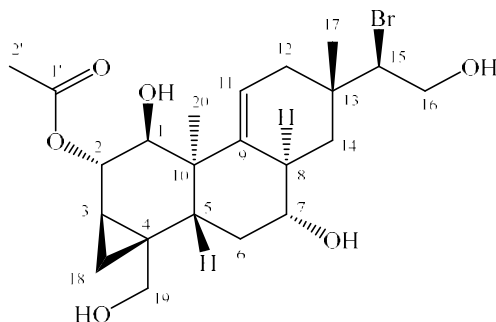


Hình 3.79. Tương tác NOESY ($\longleftrightarrow$) và phổ ECD của hợp chất **AOB6**

Hằng số ghép lớn ($J = 11,4$ Hz) giữa H_b-14 và H-8 cho thấy H_b-14 có dạng pseudo-axial và được gán tương đối cho cấu hình β (Hình 3.80). Phổ NOESY cho các tương tác giữa H₃-17 (δ_H 1,04)/H_b-14 (δ_H 1,32), H_b-14/H-7 (δ_H 3,08), H-7/H₅ (δ_H 1,94), H-5/H_b-18 (δ_H 0,34), H_b-18/H-2 (δ_H 4,13) chứng tỏ H₃-17, H_b-14, H-7, H-5, và H-2 có cấu hình β . Ngược lại, các tương tác NOESY giữa H-1 (δ_H 3,81)/H₃-20 (δ_H 1,15), H₃-20/H-8 (δ_H 2,23), H-8/H-15 (δ_H 4,31) và H_a-14/H_a-16 khẳng định cấu hình α của H₃-20, H-8, H-1 và cấu hình R^* của C-15. Bên cạnh đó khi so sánh phổ ECD giữa thực nghiệm so với tính toán lý thuyết cho thấy hợp chất **AOB6** được xác định cấu hình tuyệt đối của các trung tâm bất đối là 2R,3S,4S,5R,7R,8R,10R,13S,15R do có hiệu ứng cotton tương đồng nhau (Hình 3.79).

Với những phân tích dữ liệu phổ như trên cho thấy hợp chất **AOB6** có khung parguerane và cấu trúc gần giống với hợp chất deacetylpargurol, chỉ khác ở vị trí C-1 có thêm nhóm thế -OH. Đây cũng là đặc điểm mới của hợp chất và cũng là lần đầu tiên phân lập được hợp chất có nhóm thế -OH tại vị trí C-1. Hợp chất **AOB6** được đặt tên là oculiferanin F.

3.1.5.7. Hợp chất **AOB7**: oculiferanin G (chất mới)



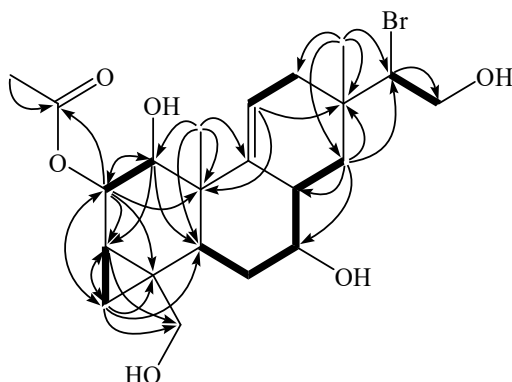
Hình 3.80. Cấu trúc hợp chất **AOB7**

Hợp chất **AOB7** thu được dưới dạng chất rắn vô định hình không màu. Phổ khối phân giải cao xuất hiện tín hiệu tại m/z 490,1792 và 492,1783 $[M+NH_4]^+$ (tính toán theo lý thuyết $C_{22}H_{37}BrO_6N^+$, 490,1799 và 492,1798); tại m/z 507,1140 và 509,1123 $[M+Cl]^-$ (tính toán theo lý thuyết $C_{22}H_{33}BrO_6Cl^-$, 507,1153 và 509,1136) từ đó xác định được hợp chất **AOB7** có công thức phân tử tương ứng $C_{22}H_{33}BrO_6$.

Phân tích trên phổ 1H -NMR, ^{13}C -NMR và phổ HSQC trên vùng trường mạnh thấy xuất hiện hai nhóm methyl [δ_H 1,04 (3H, s, H-17)/ δ_C 25,1 (C-17) và 1,12 (3H, s, H-20)/21,4 (C-20)]. Dịch về phía vùng trường trung bình xuất hiện ba tín hiệu nhóm oxymethine [δ_H 3,81 (1H, br s, H-1)/ δ_C 72,9 (C-1); 5,15 (1H, d, $J = 1,2$ Hz, H-2)/73,1 (C-2); 3,10 (1H, m, H-7)/76,1 (C-7)], hai nhóm oxymethylene [δ_H 4,03 (1H, #, H_a -16), δ_H 3,82 (1H, #, H_b -16)/ δ_C 64,7 (C-16)] và [δ_H 3,55 (1H, #, H_a -19), δ_H 3,34 (1H, dd, $J = 12,6, 7,2$ Hz, H_b -19)/ δ_C 67,4 (C-19)] và một nhóm methine liên kết với brom [δ_H 4,29 (1H, dd, $J = 8,7, 2,7$ Hz, H-15)/ δ_C 69,5 (C-15)], một nhóm methine trong liên kết đôi [δ_H 5,46 (1H, d, $J = 6,0$ Hz, H-11)/ δ_C 118,9 (C-11)]. Còn lại là những tín hiệu của các nhóm methylene, methine thông thường (Bảng 3.25). Với những phân tích bên trên xác định được hợp chất là một diterpene. So sánh hợp chất này với hợp chất deacetypargurol cho thấy chúng chỉ khác nhau ở một vị trí tại C-1, hợp chất **AOB7** có thêm nhóm thế -OH tại C-1 dựa trên phổ 1H và ^{13}C -NMR [δ_H 3,81 (H-1)/ δ_C 75,7 (C-1)] [139]; so sánh với hợp chất **AOB6** thì hợp chất này chỉ khác ở chỗ là có thêm nhóm thế acetyl tại vị trí C-2 [δ_H 2,02 (1H, s, H-2')/ δ_C 21,4 (C-2') và δ_C 170,2 (C-1')]. Điều này cũng dựa trên tương tác phổ HMBC giữa H-2 (δ_H 5,15) với C-1' (δ_C 170,2).

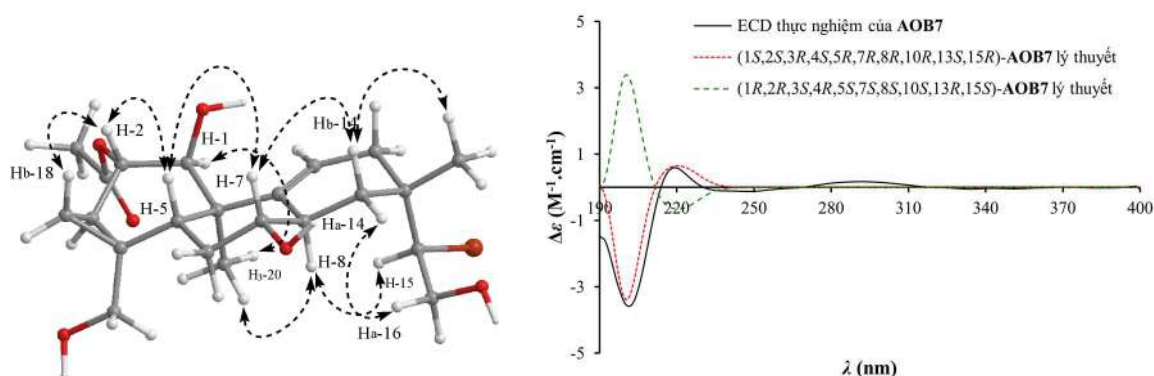
Phổ HMBC xuất hiện tương tác như hình 3.82 cho thấy hợp chất này có khung chất giống như khung chất hợp chất **AOB6** là một diterpen parguerol. Phổ COSY xuất hiện một số tương tác chính: H-1 (δ_H 3,80) tương tác với H-2 (δ_H 5,15); H-3 (δ_H 0,96) tương tác với H_a -18 (δ_H 0,76) và H_b -18 (δ_H 0,45); H-5 (δ_H 2,01) với H_b -6 (δ_H 1,92); H-7 (δ_H 3,10) với H_a -6 (δ_H 2,36) với H-8 (δ_H 2,24); H-8 với H_b -14 (δ_H 1,33);

H-11 (δ_H 5,46) với H_a-12 (δ_H 2,43) và H-15 (δ_H 4,29) với H_b-16 (δ_H 3,82). Từ những tương tác này gợi ý xác định được một số mảnh phân tử trên cấu trúc của hợp chất **AOB7** (Hình 3.81).



Hình 3.81. Tương tác HMBC ($\rightarrow$) và COSY ($\longrightarrow$) trên hợp chất **AOB7**

Hằng số ghép lớn ($J = 11,4$ Hz) giữa H_b-14 và H-8 cho thấy H_b-14 có dạng pseudo-axial và được gán tương đối cho cấu hình β (Hình 3.82). Phổ NOESY cho các tương tác giữa H₃-17 (δ_H 1,04)/H_b-14 (δ_H 1,33), H_b-14/H-7 (δ_H 3,10), H-7/H-5 (δ_H 2,01), H-5/H_b-18 (δ_H 0,45), H_b-18/H-2 (δ_H 5,15) chứng tỏ H₃-17, H_b-14, H-7, H-5, và H-2 có cấu hình β . Ngược lại, các tương tác NOESY giữa H-1 (δ_H 3,80)/H₃-20 (δ_H 1,12), H₃-20/H-8 (δ_H 2,24), H-8/H-15 (δ_H 4,29) và H_a-14/H_a-16 xác nhận cấu hình α của H₃-20, H-8, H-1 và cấu hình R^* của C-15.



Hình 3.82. Tương tác NOESY ($\longleftrightarrow$) và phổ ECD của hợp chất **AOB7**

Với những phân tích dữ liệu phổ như trên cho thấy hợp chất **AOB7** có khung parguerane và cấu trúc gần giống với hợp chất pargurol, chỉ khác ở vị trí C-1 có thêm nhóm thế -OH. Đây cũng là tính mới của hợp chất và cũng là lần đầu tiên phân lập được hợp chất có nhóm thế -OH tại vị trí C-1. Bên cạnh đó khi so sánh với hợp chất **AOB6** cho thấy chúng khá giống nhau, chỉ khác nhau là hợp chất **AOB7** tại vị trí C-2 được thay nhóm thế hydroxy bằng nhóm acetyl. Hợp chất **AOB7** được đặt tên là oculiferanin G.

Bảng 3.25. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AOB7**

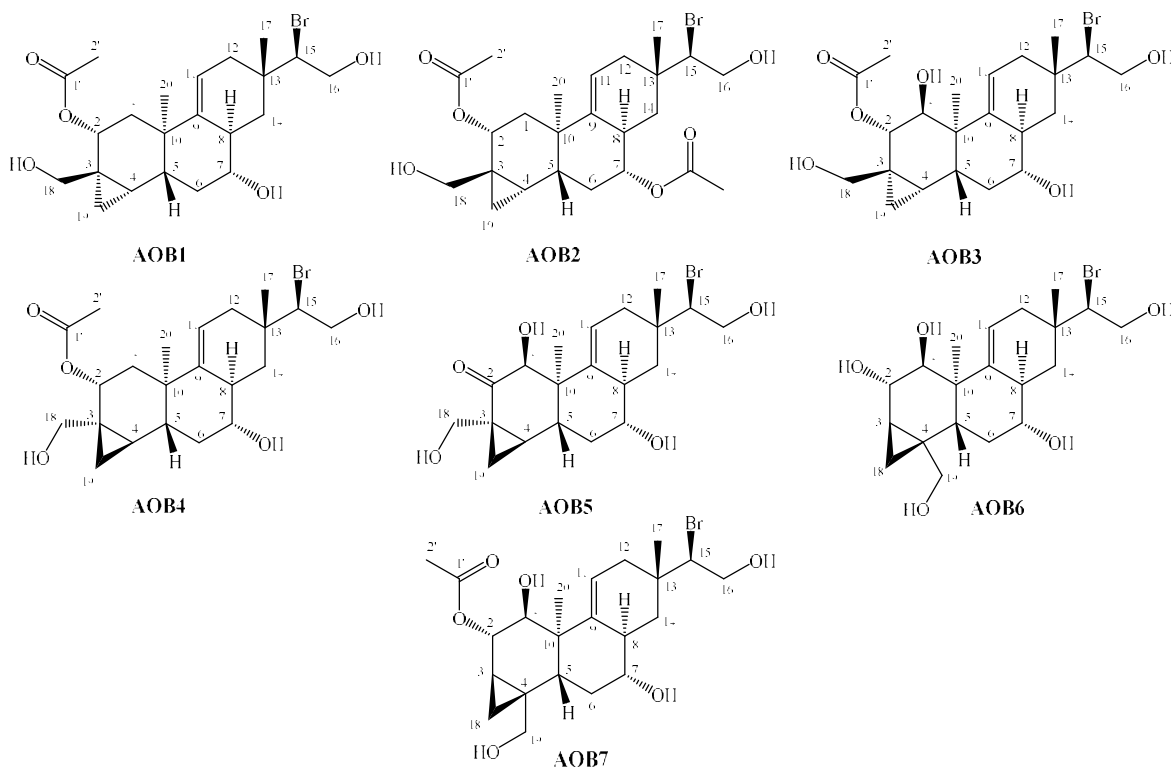
Vị trí C	$^*\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ mult ($J = \text{Hz}$)	HMBC (H $\rightarrow$ C)
1	40,5	72,9	3,80 (1H, br s)	2, 3, 5
2	64,0	73,1	5,15 (1H, d, 1,2)	1, 3, 4, 10, 1'
3	23,3	20,2	0,96 (1H, ddd, 10,2, 6,0, 0,6)	1, 18, 19
4	23,2	24,5	-	-
5	45,9	37,5	2,01 (1H, m)	3
6a	33,1	33,6	2,36 (1H, br ddd, 12,6, 12,0, 12, 0)	-
6b			1,92 (1H, m)	6
7	75,4	76,1	3,10 (1H, m)	14
8	37,7	39,5	2,24 (1H, m)	-
9	145,0	141,5	-	-
10	36,5	43,5	-	-
11	115,2	118,9	5,46 (1H, m)	10, 13
12a	38,9	39,8	2,43 (1H, ddd, 17,4, 6,0, 3,6)	9, 11, 15
12b			1,85 (1H, ddd, 17,4, 3,9, 2,1)	
13	34,9	35,9	-	-
14a	37,9	38,6	2,39 (1H, m)	13, 14y, 16, 17
14b			1,33 (1H, dd, 13,8, 11,4)	
15	69,0	69,5	4,29 (1H, dd, 8,7, 2,7)	12,13,14,15
16a	62,9	64,7	4,03 (1H, #)	
16b			3,82 (1H, #)	
17	24,2	25,1	1,04 (3H, s)	2, 3, 4, 5, 19
18a	17,4	17,5	0,76 (1H, dd, 10,2, 3,6)	
18b			0,45 (1H, dd, 6,0, 3,6)	3, 4, 5
19a	65,9	67,4	3,55 (1H, #)	
19b			3,34 (1H, dd, 12,6, 7,2)	1, 5, 9, 10
20	20,6	19,8	1,12 (3H, s)	
OAc				
1'	-	170,2	-	-
2'	-	21,4	2,02 (3H, s)	1'
1-OH	-	-	3,42 (1H, d, 3,0)	1, 2, 10
7-OH	-	-	3,83 (1H, d, 5,4)	6y, 7, 8
16-OH	-	-	4,00 (1H, #)	16
19-OH	-	-	3,55 (1H, #)	19

* tài liệu tham khảo chất deacetylpargurol [139],

^a đo trong acetone- d_6 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, # tín hiệu chồng chéo, ^d đo trong DMSO- d_6 .

3.1.6. Tổng hợp các hợp chất phân lập từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở vịnh 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 3.83. Cấu trúc hóa học các hợp chất AOB1 - AOB7

Khi so sánh thành phần hóa học hai loài sên cùng giống *Aplysia* cho thấy từ loài *A. dactylomela* thì thu được nhiều lớp chất khác nhau như sesquiterpene, diterpene, triterpene. Còn loài sên *A. oculifera* chỉ thu được lớp chất diterpene. Cho thấy hai loài thuộc giống sên *Aplysia* chứa thành phần hóa học có sự giống và khác nhau.

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* - đảo 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 trung bình 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 μ M. Hợp chất dactylomelanin C (**ADA1**) thể hiện hoạt tính trung bình 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 μ M, còn với dòng tế bào MCF-7 thể hiện hoạt tính yếu hơn với giá trị IC_{50} tương ứng là 42,661 μ M. Hợp chất dactylomelanin D (**ADA2**) chỉ thể hiện hoạt tính trung bình trên dòng tế bào A549 với giá trị IC_{50} là 27,86 μ M. Hợp chất (2*S*,3*R*,7*S*,7*R*)-2-chloro-3,7-epoxychamigrane-9-one (**ADA4**) còn lại không thể hiện hoạt tính ở nồng độ nghiên cứu.

Bảng 3.26. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư của một số hợp chất phân lập được từ loài *A. dactylomela* - Phú Quý, Lâm Đồng

STT	Hợp chất	IC_{50} (μ M)		
		HepG2	A549	MCF-7
1	ADA1	27,35 $\pm$ 1,21	19,91 $\pm$ 1,78	42,66 $\pm$ 1,73
2	ADA2	-	27,86 $\pm$ 1,09	-
3	ADA3	27,54 $\pm$ 1,03	17,78 $\pm$ 1,17	18,62 $\pm$ 0,92
4	ADA4	-	-	-
	Camptothecin	2,24 $\pm$ 0,15	1,58 $\pm$ 0,12	1,09 $\pm$ 0,12

Chất đối chứng dương: camptothecin

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

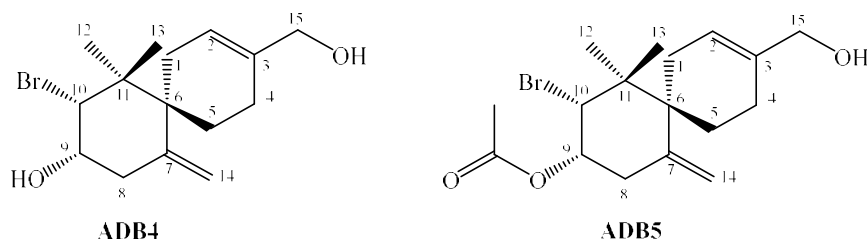
Mười hai hợp chất sạch từ **ADB1** – **ADB12** phân lập được từ loài sên biển *A. dactylomela* – Phú Quý, Lâm Đồng được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* trên ba dòng tế bào ung thư ở người: ung thư phổi (A549), ung thư vú (MCF-7) và ung thư gan (HepG2) bằng phương pháp MTT. Kết quả thể hiện 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 μ M tương ứng với 3 dòng tế bào HepG2, A549 và MCF-7. Kết quả này cũng phù hợp với những nghiên cứu trước đây. Hợp chất elatol (**ADB1**) có tác dụng gây độc tế bào là do nó có khả năng bắt giữ tế bào ở pha G1 và pha sau G1, dẫn đến tế bào tự chết theo chương trình (apoptosis) [79]. Hợp chất **ADB1** còn thể hiện hoạt tính gây độc tế bào với dòng tế bào Vero, thể hiện giá trị IC_{50} là 25,0 μ g/mL. Ngoài hoạt tính gây độc tế bào hợp chất **ADB1** còn có một số hoạt tính khác

đã công bố. Ví dụ được sử dụng làm thuốc diệt ký sinh trùng chống lại bọ xít hút máu như *Trypanosoma cruzi* và *Leishmania amazonensis* [140], chống khối u [140], và diệt ấu trùng chống lại muỗi sốt xuất huyết *Aedes aegypti* [141]. Hợp chất **ADB1** thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với tất cả 13 dòng vi khuẩn được thử nghiệm. Nó cho thấy giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là 5,5 mg/đĩa đối với *Clostridium cellobioparum*, *Proteus mirabilis* và *Flavobacterium helmiphilum* và 15–30 mg/đĩa đối với các loài vi khuẩn *Chromobacterium violaceum*, *Clostridium fallax*, *Clostridium novyi*, *Clostridium sordellii*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Shigella flexneri*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, và *Vibrio vulnificus*. [92].

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**. Kết quả này cho thấy hợp chất thể hiện hoạt tính có tính chọn lọc cao (chỉ thể hiện hoạt tính trên một dòng tế bào trong khi thử nghiệm trên ba dòng). 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 (IC_{50} là 34,51 μM). Điều này cũng giải thích cho việc đề thích nghi với nguồn thức ăn phong phú từ tảo, có cả tảo độc thì sên biển vẫn hấp thụ và không ảnh hưởng tới cơ thể chúng. Bằng cách trong cơ thể sên biển diễn ra quá trình acetyl hóa các nhóm hydroxy (-OH) hoặc nhóm amino (-NH₂) trên các phân tử phân cực, có tính độc thành các nhóm acetyl (-COCH₃) làm phân tử kém phân cực, kém hoạt động hơn, ít độc tính hơn. Nhờ vậy mà các chất độc không còn tương tác mạnh với các protein/enzym trong cơ thể sên, giảm tính độc và cơ thể thích nghi được. Quá trình acetyl hóa nhờ vào enzym chính thường là acetyltransferase (acetyl-CoA). Khi đó sên biển biến chất độc từ thức ăn thành dạng chất dự trữ an toàn, tái sử dụng khi phòng thủ (một số dẫn xuất acetyl vẫn giữ hoạt tính đủ mạnh để khi sên phóng ra chất phòng thủ vẫn chống lại kẻ thù ăn thịt [142]).



Hình 3.84. So sánh cấu trúc hai hợp chất **ADB4** và **ADB5**

Hợp chất **ADB3** thể hiện hoạt tính trung bình trên cả ba dòng tế bào ung thư HepG2, A549 và MCF-7 với giá trị IC_{50} tương ứng là 29,65, 25,23 và 31,19 μM . Hợp chất novel **ADB11** thể hiện hoạt tính yếu trên dòng tế bào A549 và HepG2 với giá trị IC_{50} tương ứng là 30,83 và 44,87 μM , và hai hợp chất **ADB5** và **ADB8** cũng thể hiện hoạt tính yếu trên các dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 34,51 đến 49,89 μM . Còn lại các hợp chất **ADB2**, **ADB6**, **ADB7**, **ADB9**, **ADB10** và **ADB12** không thể hiện hoạt tính.

Bảng 3.27. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư của một số hợp chất phân lập được từ loài *A. dactylomela* - Lý Sơn, Quảng Ngãi

STT	Hợp chất	IC_{50} (μM)		
		HepG2	A549	MCF-7
1	ADB1	6,22 $\pm$ 0,65	5,07 $\pm$ 0,96	6,55 $\pm$ 0,44
2	ADB2	-	-	-
3	ADB3	29,65 $\pm$ 1,06	25,23 $\pm$ 0,97	31,19 $\pm$ 1,33
4	ADB4	-	8,15 $\pm$ 0,96	-
5	ADB5	45,39 $\pm$ 1,72	34,51 $\pm$ 1,45	49,20 $\pm$ 1,61
6	ADB6	-	-	-
7	ADB7	-	-	-
8	ADB8	-	49,89 $\pm$ 1,78	-
9	ADB9	-	-	-
10	ADB10	-	-	-
11	ADB11	44,87 $\pm$ 1,44	30,83 $\pm$ 1,52	-
12	ADB12	-	-	-
	Camptothecin	2,24 $\pm$ 0,15	1,58 $\pm$ 0,12	1,09 $\pm$ 0,12

Chất đối chứng dương: camptothecin

Một số hợp chất đã biết trước đây từ mẫu sên gồm [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**) và thysiferol (**ADB12**) đã được nghiên cứu về hoạt tính sinh học. Cụ thể hợp chất **ADB8** đã tiến hành thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn trên các dòng vi khuẩn (*Vibrio anguillarum*, *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophilia*,

Pseudomonas anguilliseptica, *Photobacterium damsela* ssp. *Piscicida*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus flavus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Candida maltosa*) nhưng kết quả không thể hoạt hoạt tính kháng khuẩn [128]. Hợp chất **ADB9** thử nghiệm trên tám loại nấm (*Microsporium gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, và *Aspergillus fumigatus*) và hai vi khuẩn (vi khuẩn Gram dương *Staphylococcus aureus* và vi khuẩn Gram âm *Pseudomonas aeruginosa* kết quả cho thấy hợp chất cũng không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm [121]. Hợp chất **ADB12** thể hiện hoạt tính mạnh lên dòng tế bào P388 với giá trị IC_{50} là 0,01 $\mu\text{g/mL}$ [143].

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* - vịnh Lăng Cô, Huế

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.

Bảng 3.28. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư của một số hợp chất phân lập được từ loài *A. oculifera* - Lăng Cô, Huế

STT	Hợp chất	IC_{50} (μM)		
		HepG2	Hela	MCF-7
1	AOB1	21,38 $\pm$ 0,67	23,44 $\pm$ 0,96	-
2	AOB2	34,94 $\pm$ 2,05	41,91 $\pm$ 2,53	35,89 $\pm$ 2,33
3	AOB3	34,67 $\pm$ 1,19	36,73 $\pm$ 1,73	-
4	AOB4	-	-	-
5	AOB5	-	-	-
6	AOB6	-	-	-
7	AOB7	31,99 $\pm$ 1,42	-	-
	Camptothecin	2,24 $\pm$ 0,15	3,2 $\pm$ 0,74	1,09 $\pm$ 0,12

Chất đối chứng dương: camptothecin

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 hoạt tính trung bình trên hai dòng tế bào ung thư HepG2 và Hela với giá trị IC_{50} tương ứng là 21,38 và 23,44 μM . Hợp chất oculiferanin G (**AOB7**) thể hiện hoạt tính với giá trị IC_{50} là 31,99 μM trên dòng tế bào ung thư HepG2 nhưng yếu hơn so với hợp chất **AOB1**. Hợp oculiferanin C (**AOB3**) cũng thể hoạt tính yếu trên hai dòng tế bào ung thư với giá trị IC_{50} lần lượt là 34,67 và 36,73 μM và hợp chất oculiferanin B (**AOB2**) thể hiện hoạt tính yếu trên

cả ba dòng tế bào ung thư HepG2, Hela và MCF-7 với giá trị IC_{50} lần lượt 34,94, 41,91 và 35,89 μ M. Hợp chất oculiferanin D (**AOB4**), 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, đề tài 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-epoxyhamigrane-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 thyrseferol (**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**) là một diterpene có khung carbon 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 trên cả ba dòng tế bào với giá trị IC_{50} lần lượt là 27,54, 17,78 và 18,62 μM .

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 μM 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 μM .

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} lần lượt là 21,38 và 23,44 μM .

❖ 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 μM . 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, Lâm Đồng đã phân lập được ba hợp chất mới, bao gồm: dactylomelanin C (**ADA1**), dactylomelanin D (**ADA2**) và dactylomelanin E (**ADA3**).

2. Từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi đã phân lập được được bảy hợp chất mới là: aplydactylonin I (**ADB2**), aplydactylonin K (**ADB3**), aplydactylonin G (**ADB4**), aplydactylonin H (**ADB5**), aplydactylonin F (**ADB6**), aplydactylonin E (**ADB7**), aplydactylonin D (**ADB11**). Đặc biệt hợp chất aplydactylonin D (**ADB11**) sở hữu bộ khung carbon mới và được đặt tên là aplydactylonane.

3. Từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập và xác định cấu trúc 07 hợp chất: 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 dạng khung carbon mới được sắp xếp lại từ khung parguerane và hai hợp chất có khung parguerane.

4. 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 hợp chất aplydactylonin G (**ADB4**) thể hiện hoạt tính mạnh trên dòng tế bào ung thư A540 với giá trị IC_{50} là 8,15 μ M. Các hợp chất mới thể hoạt tính ở mức trung bình là dactylomelanin C (**ADA1**) (IC_{50} là 19,91 μ M với dòng tế bào A549), dactylomelanin E (**ADA3**) (IC_{50} là 17,78 và 18,62 μ M tương ứng với hai dòng tế bào A549 và MCF-7).

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. 8044-8052.
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*. (Đã chấp nhận đăng).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Torre L.A., Bray F., Siegel R.L., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A., 2015, Global cancer statistics, 2012, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65(2), pp. 87-108.
- [2]. Newman D.J., Cragg G.M., 2020, Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019, *J Nat Prod*, 83(3), pp. 770-803.
- [3]. Marine Pharmacology. <https://www.marinepharmacology.org/>. Time: 10h20m, date: 25/10/2025.
- [4]. Montuori E., Hyde C.A.C., Crea F., Golding J., Lauritano C., Marine Natural Products with Activities against Prostate Cancer: Recent Discoveries. In *International Journal of Molecular Sciences*, 2023; Vol. 24.
- [5]. Carefoot T.H., 1987, *Aplysia*: its biology and ecology, *Oceanography and Marine Biology*, 25, pp. 167.
- [6]. Audesirk T.E., 1979, A field study of growth and reproduction in *Aplysia californica*, *The Biological Bulletin*, 157(3), pp. 407-421.
- [7]. Gev S., Achituv Y., Susswein A.J., 1984, Seasonal determinants of the life cycle in two species of *Aplysia* found in shallow waters along the Mediterranean coast of Israel, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 74(1), pp. 67-83.
- [8]. Wessels M., König G.M., Wright A.D., 2000, New Natural Product Isolation and Comparison of the Secondary Metabolite Content of Three Distinct Samples of the Sea Hare *Aplysia dactylomela* from Tenerife, *Journal of Natural Products*, 63(7), pp. 920-928.
- [9]. Kusumi T., Uchida H., Inouye Y., Ishitsuka M., Yamamoto H., Kakisawa H., 1987, Novel cytotoxic monoterpenes having a halogenated tetrahydropyran from *Aplysia kurodai*, *The Journal of Organic Chemistry*, 52(20), pp. 4597-4600.
- [10]. Grkovic T., Appleton D.R., Copp B.R., 2005, Chemistry and Chemical Ecology of some of the Common Opisthobranch Molluscs Found on the Shores of NE New Zealand, *Chemistry in New Zealand*, 69, pp. 4.
- [11]. Kazlauskas R., Murphy P.T., Quinn R.J., Wells R.J., Schönhlzer P., F-Konzern J.S., Hoffmann-La Roche F., 1976, Two polyhalogenated monoterpenes from the red alga *Plocamium costatum*, *Tetrahedron Letters*, 17(49), pp. 4451-4454.

- [12]. Castedo L., Riguera R., 1989, The halogenated monoterpenes of *Aplysia punctata*. A comparative study, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 92(1), pp. 99-101.
- [13]. Miyamoto T., Higuchi R., Marubayashi N., Komori T., 1988, Studies on the constituents of marine opisthobranchia, IV. Two new polyhalogenated monoterpenes from the sea hare *Aplysia kurodai*, *Liebigs Annalen der Chemie*, 1988(12), pp. 1191-1193.
- [14]. Quiñoa E., Castedo L., Riguera R., 1989, The halogenated monoterpenes of *Aplysia punctata*. A comparative study, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 92(1), pp. 99-101.
- [15]. Faulkner D.J., Stallard M.O., 1973, 7-chloro-3, 7-dimethyl-1, 4, 6-tribromo-1-octen-3-ol, a novel monoterpene alcohol from *Aplysia californica*, *Tetrahedron Letters*, 14(14), pp. 1171-1174.
- [16]. Stallard M.O., John Faulkner D., 1974, Chemical constituents of the digestive gland of the sea hare *Aplysia californica*—I. Importance of diet, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 49(1), pp. 25-35.
- [17]. Stallard M.O., Faulkner D.J., 1974, Chemical constituents of the digestive gland of the sea hare *Aplysia californica*. II. Chemical transformations, *Comp Biochem Physiol B*, 49(1b), pp. 37-41.
- [18]. Katayama A., Ina K., Nozaki H., Nakayama M., 1982, Structural elucidation of kurodainol, a novel halogenated monoterpene from sea hare (*Aplysia kurodai*), *Agricultural and Biological Chemistry*, 46(3), pp. 859-860.
- [19]. Ortega M.J., Zubía E., Salvá J., 1997, New polyhalogenated monoterpenes from the sea hare *Aplysia punctata*, *Journal of Natural Products*, 60(5), pp. 482-484.
- [20]. Palaniveloo K., Vairappan C.S., 2014, Chemical relationship between red algae genus *Laurencia* and sea hare (*Aplysia dactylomela* Rang) in the North Borneo Island, *Journal of Applied Phycology*, 26(2), pp. 1199-1205.
- [21]. Dias T., Brito I., Moujir L., Paiz N., Darias J., Cueto M., 2005, Cytotoxic Sesquiterpenes from *Aplysia dactylomela*, *Journal of Natural Products*, 68(11), pp. 1677-1679.
- [22]. Díaz-Marrero A.-R., de la Rosa J.M., Brito I., Darias J., Cueto M., 2012, Dactylomelatriol, a Biogenetically Intriguing Omphalane-Derived Marine Sesquiterpene, *Journal of Natural Products*, 75(1), pp. 115-118.

- [23]. Pitombo L.F., Kaiser C.R., Pinto A.C., 1996, Occurrence of chamigrenes in *Aplysia dactylomela* from Brazilian waters, *Boletin de la sociedad chickena de quimica* 41(4), pp. 433-436.
- [24]. Hegazy M.-E.F., Moustfa A.Y., Mohamed A.E.-H.H., Alhammady M.A., Elbehairi S.E.I., Ohta S., Paré P.W., 2014, New cytotoxic halogenated sesquiterpenes from the Egyptian sea hare, *Aplysia oculifera*, *Tetrahedron Letters*, 55(10), pp. 1711-1714.
- [25]. Kaiser C.R., Pitombo L.F., Pinto A.C., 1998, C-13 and H-1 NMR Assignments of the Chamigrenes Prepacifenol and Dehydroxyprepacifenol Epoxies, *Spectroscopy Letters*, 31(3), pp. 573-585.
- [26]. Kaiser C.R., Pitombo L.F., Pinto A.C., 2001, Complete ¹H and ¹³C NMR assignments of chamigrenes from *Aplysia dactylomela*, *Magnetic resonance in chemistry*, 39(3), pp. 147-149.
- [27]. Pietra F., 2002, Evolution of the secondary metabolite versus evolution of the species, *Pure and Applied Chemistry*, 74(11), pp. 2207-2221.
- [28]. McPhail K.L., Davies-Coleman M.T., Copley R.C.B., Eggleston D.S., 1999, New Halogenated Sesquiterpenes from South African Specimens of the Circumtropical Sea Hare *Aplysia dactylomela*, *Journal of Natural Products*, 62(12), pp. 1618-1623.
- [29]. Schmitz F.J., Gopichand Y., Michaud D.P., Prasad R.S., Remaley S., Hossain M.B., Rahman A., Sengupta P.K., Van Der Helm D., 1981, Recent developments in research on metabolites from Caribbean marine invertebrates, *Pure and Applied Chemistry*, 53(4), pp. 853-865.
- [30]. Shubina L.K., Fedorov S.N., Kalinovskiy A.I., Dmitrenok A.S., Jin J.O., Song M.G., Kwak J.Y., Stonika V.A., 2007, Four new chamigrane sesquiterpenoids from the opisthobranch mollusk *Aplysia dactylomela*, *Russian Chemical Bulletin*, 56(10), pp. 2109-2114.
- [31]. Fedorov S.N., Shubina L.K., Kalinovskiy A.I., Lyakhova E.G., Stonik V.A., 2000, Structure and absolute configuration of a new rearranged chamigrane-type sesquiterpenoid from the sea hare *Aplysia* sp., *Tetrahedron Letters*, 41(12), pp. 1979-1982.
- [32]. Matsuura B.S., Kölle P., Trauner D., de Vivie-Riedle R., Meier R., 2017, Unravelling photochemical relationships among natural products from *Aplysia dactylomela*, *ACS Central Science*, 3(1), pp. 39-46.
- [33]. Gopichand Y., Schmitz F.J., Shelley J., Rahman A., Van der Helm D., 1981, Marine natural products: halogenated acetylenic ethers from the sea hare

- Aplysia dactylomela*, *The Journal of Organic Chemistry*, 46(25), pp. 5192-5197.
- [34]. Brito I., Dias T., Díaz-Marrero A.R., Darias J., Cueto M., 2006, Aplysiadiol from *Aplysia dactylomela* suggested a key intermediate for a unified biogenesis of regular and irregular marine algal bisabolene-type metabolites, *Tetrahedron*, 62(41), pp. 9655-9660.
- [35]. Hollenbeak K.H., Schmitz F.J., Hossain M.B., van Der Helm D., 1979, Marine natural products: Deodactol, antineoplastic sesquiterpenoid from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *Tetrahedron*, 35(4), pp. 541-545.
- [36]. Vairappan C.S., Ishii T., Lee T.K., Suzuki M., Zhaoqi Z., 2010, Antibacterial activities of a new brominated diterpene from Borneon *Laurencia* spp., *Marine Drugs*, 8(6), pp. 1743-1749.
- [37]. Ichiba T., Higa T., 1986, New cuparene-derived sesquiterpenes with unprecedented oxygenation pattern from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *The Journal of Organic Chemistry*, 51(17), pp. 3364-3366.
- [38]. Tsukamoto S., Yamashita Y., Ohta T., 2005, New cytotoxic and antibacterial compounds isolated from the sea hare, *Aplysia kurodai*, *Marine Drugs*, 3(2), pp. 22-28.
- [39]. Yamamura S., Hirata Y., 1963, Structures of aplysin and aplysinol, naturally occurring bromo-compounds, *Tetrahedron*, 19(10), pp. 1485-1496.
- [40]. Appleton D.R., Babcock R.C., Copp B.R., 2001, Novel tryptophan-derived dipeptides and bioactive metabolites from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *Tetrahedron*, 57(51), pp. 10181-10189.
- [41]. Stallard M.O., Fenical W., Kittredge J.S., 1978, The brasilenols, rearranged sesquiterpene alcohols isolated from the marine opisthobranch *Aplysia brasiliensis*, *Tetrahedron*, 34(14), pp. 2077-2081.
- [42]. Ioannou E., Nappo M., Avila C., Vagias C., Roussis V., 2009, Metabolites from the sea hare *Aplysia fasciata*, *Journal of Natural Products*, 72(9), pp. 1716-1719.
- [43]. Dieter R.K., Kinnel R., Meinwald J., Eisner T., 1979, Bradudol and isobrasudol: two bromos sesquiterpenes from a sea hare (*Aplysia brasiliensis*), *Tetrahedron Letters*, 20(19), pp. 1645-1648.
- [44]. Baker B., Ratnapala L., Mahindaratne M.P.D., de Silva E.D., Tillekeratne L.M.V., Jeong J.H., Scheuer P.J., Seff K., 1988, Lankalapuol a and b: two cis-eudesmanes from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *Tetrahedron*, 44(15), pp. 4695-4701.

- [45]. Vairappan C.S., Anangdan S.P., Tan K.L., 2007, Additional halogenated secondary metabolites from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *Malaysian Journal of Science*, 26(1), pp. 57-64.
- [46]. Matsuda H., Tomiie Y., Yamamura S., Hirata Y., 1967, The structure of aplysin-20, *Chemical Communications (London)*, (17), pp. 898b-899.
- [47]. Ojika M., Yoshida Y., Okumura M., Ieda S., Yamada K., 1990, Aplysiadiol, a new brominated diterpene from the marine mollusc *Aplysia kurodai*, *Journal of Natural Products*, 53(6), pp. 1619-1622.
- [48]. Ojika M., Kigoshi H., Yoshikawa K., Nakayama Y., Yamada K., 1992, A New Bromo Diterpene, epi-Aplysin-20, and ent-Isoconcinndiol from the Marine Mollusc *Aplysia kurodai*, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 65(8), pp. 2300-2302.
- [49]. Midland S.L., Wing R.M., Sims J.J., 1983, New crenulides from the sea hare, *Aplysia vaccaria*, *The Journal of Organic Chemistry*, 48(11), pp. 1906-1909.
- [50]. Estrada D.M., Ravelo J.L., Ruiz-Pérez C., Martín J.D., Solans X., 1989, Dactylomelol, a new class of diterpene from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *Tetrahedron Letters*, 30(45), pp. 6219-6220.
- [51]. Findlay J.A., Li G., 2002, Novel terpenoids from the sea hare *Aplysia punctata*, *Canadian journal of chemistry*, 80(12), pp. 1697-1707.
- [52]. Schmitz F.J., Michaud D.P., Schmidt P.G., 1982, Marine natural products: Parguerol, deoxyparguerol, and isoparguerol. New brominated diterpenes with modified pimarane skeletons from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *Journal of the American Chemical Society*, 104(23), pp. 6415-6423.
- [53]. Tsukamoto S., Yamashita Y., Yoshida T., Ohta T., 2004, Parguerol and isoparguerol isolated from the sea hare, *Aplysia kurodai*, induce neurite outgrowth in PC-12 Cells, *Marine Drugs*, 2(4), pp. 170-175.
- [54]. Jiménez-Romero C., Mayer A.M.S., Rodríguez A.D., 2014, Dactyloditerpenol acetate, a new prenylbisabolane-type diterpene from *Aplysia dactylomela* with significant in vitro anti-neuroinflammatory activity, *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 24(1), pp. 344-348.
- [55]. Pettit G.R., Herald C.L., Einck J.J., Vanell L.D., Brown P., Gust D., 1978, Isolation and structure of angasiol, *The Journal of Organic Chemistry*, 43(24), pp. 4685-4686.
- [56]. Alvi K.A., Abbas S.A., Sultana T., Shameel M., Choudhary M.I., Clardy J.C., 1991, A diterpenoid lactone from *Aplysia juliana*, *Journal of Natural Products*, 54(3), pp. 886-888.

- [57]. Manzo E., Gavagnin M., Bifulco G., Cimino P., Di Micco S., Ciavatta M.L., Guo Y.W., Cimino G., 2007, Aplysiols A and B, squalene-derived polyethers from the mantle of the sea hare *Aplysia dactylomela*, *Tetrahedron*, 63(40), pp. 9970-9978.
- [58]. Vera B., Rodríguez A.D., Avilés E., Ishikawa Y., Aplysqualenols A and B: Squalene-derived polyethers with antitumoral and antiviral activity from the caribbean sea slug *Aplysia dactylomela*. In Wiley Online Library: 2009.
- [59]. McDonald F.J., Campbell D.C., Vanderah D.J., Schmitz F.J., Washecheck D.M., Burks J.E., Van der Helm D., 1975, Marine natural products. Dactylyne, an acetylenic dibromochloro ether from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *The Journal of Organic Chemistry*, 40(5), pp. 665-666.
- [60]. Gao L.-x., Murai A., 1992, Total synthesis of (-)-dactylyne and (-)-isodactylyne, *Tetrahedron Letters*, 33(30), pp. 4349-4352.
- [61]. Ciavatta M.L., Gavagnin M., Puliti R., Cimino G., Martínez E., Ortea J., Mattia C.A., 1997, Dactylallene: A novel dietary C15 bromoallene from the atlantic anaspidean mollusc *Aplysia dactylomela*, *Tetrahedron*, 53(51), pp. 17343-17350.
- [62]. Okamoto Y., Nitanda N., Ojika M., Sakagami Y., 2001, Aplysiallene, a new bromoallene as an Na, K-ATPase inhibitor from the sea hare, *Aplysia kurodai*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65(2), pp. 474-476.
- [63]. Miyamoto T., Ebisawa Y., Higuchi R., 1995, Aplyparvunin, a bioactive acetogenin from the sea hare *Aplysia parvula*, *Tetrahedron Letters*, 36(34), pp. 6073-6074.
- [64]. Manzo E., Ciavatta M.L., Gavagnin M., Puliti R., Mollo E., Guo Y.-W., Mattia C.A., Mazzarella L., Cimino G., 2005, Structure and absolute stereochemistry of novel C15-halogenated acetogenins from the anaspidean mollusc *Aplysia dactylomela*, *Tetrahedron*, 61(31), pp. 7456-7460.
- [65]. Kinnel R.B., Dieter R.K., Meinwald J., Van Engen D., Clardy J., Eisner T., Stallard M.O., Fenical W., 1979, Brasilenyne and cis-dihydrorhodophytin: antifeedant medium-ring haloethers from a sea hare (*Aplysia brasiliiana*), *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(8), pp. 3576-3579.
- [66]. McPhail K.L., Davies-Coleman M.T., 2005, (3Z)-Bromofucin from a South African sea hare, *Natural Product Research*, 19(5), pp. 449-452.
- [67]. Vanderah D.J., Schmitz F.J., 1976, Marine natural products: Isodactylyne, a halogenated acetylenic ether from the sea hare *Aplysia dactylomela*, *The Journal of Organic Chemistry*, 41(21), pp. 3480-3481.

- [68]. Jiménez C., Quiñoá E., Castedo L., Riguera R., 1986, Epidioxy sterols from the tunicates *Dendrodoa grossularia* and *Ascidiella aspersa* and the gastropoda *Aplysia depilans* and *Aplysia punctata*, *Journal of Natural Products*, 49(5), pp. 905-909.
- [69]. Miyamoto T., Higuchi R., Komori T., Fujioka T., Mihashi K., 1986, Isolation and structures of aplykurodins a and b, two new isoprenoids from the marine mollusk, *Tetrahedron Letters*, 27(10), pp. 1153-1156.
- [70]. Spinella A., Gavagnin M., Crispino A., Cimino G., Martinez E., Ortea J., Sodano G., 1992, 4-acetylapykurodin B and aplykurodinone B, two ichthyotoxic degraded sterols from the Mediterranean mollusk *Aplysia fasciata*, *Journal of Natural Products*, 55(7), pp. 989-993.
- [71]. Ortega M.J., Zubía E., Salvá J., 1997, 3-epi-aplykurodinone B, a new degraded sterol from *Aplysia fasciata*, *Journal of Natural Products*, 60(5), pp. 488-489.
- [72]. Kigoshi H., Imamura Y., Yoshikawa K., Yamada K., 1990, Three new cytotoxic alkaloids, aplaminone, neoaplaminone and neoaplaminone sulfate from the marine mollusc *Aplysia kurodai*, *Tetrahedron Letters*, 31(34), pp. 4911-4914.
- [73]. Ojika M., Yoshida T., Yamada K., 1993, Aplysepine, a novel 1, 4-benzodiazepine alkaloid from the sea hare *Aplysia kurodai*, *Tetrahedron Letters*, 34(33), pp. 5307-5308.
- [74]. Kuroda T., Kigoshi H., 2008, Aplaminal: A Novel Cytotoxic Aminoal isolated from the Sea Hare *Aplysia kurodai*, *Organic Letters*, 10(3), pp. 489-491.
- [75]. Napolitano J.G., Daranas A.H., Norte M., Fernández J.J., 2009, Marine macrolides, a promising source of antitumor compounds, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 9(2), pp. 122-137.
- [76]. Spinella A., Zubía E., Martínez E., Ortea J., Cimino G., 1997, Structure and Stereochemistry of Aplyolides A–E, Lactonized Dihydroxy Fatty Acids from the Skin of the Marine Mollusk *Aplysia depilans*, *The Journal of Organic Chemistry*, 62(16), pp. 5471-5475.
- [77]. Yamada K., Ojika M., Ishigaki T., Yoshida Y., Ekimoto H., Arakawa M., 1993, Aplyronine A, a potent antitumor substance and the congeners aplyronines B and C isolated from the sea hare *Aplysia kurodai*, *Journal of the American Chemical Society*, 115(23), pp. 11020-11021.
- [78]. Ojika M., Kigoshi H., Suenaga K., Imamura Y., Yoshikawa K., Ishigaki T., Sakakura A., Mutou T., Yamada K., 2012, Aplyronines D–H from the sea hare

- Aplysia kurodai*: isolation, structures, and cytotoxicity, *Tetrahedron*, 68(4), pp. 982-987.
- [79]. Campos A., Souza C.B., Lhullier C., Falkenberg M., Schenkel E.P., Ribeiro-do-Valle R.M., Siqueira J.M., 2012, Anti-tumour effects of elatol, a marine derivative compound obtained from red algae *Laurencia microcladia*, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64(8), pp. 1146-1154.
- [80]. Fedorov S.N., Shubina L.K., Kalinovskiy A.I., Lyakhova E.G., Stonik V.A., 2000, Structure and absolute configuration of a new rearranged chamigrane-type sesquiterpenoid from the sea hare *Aplysia* sp, *Tetrahedron Letters*, 41(12), pp. 1979-1982.
- [81]. Fedorov S.N., Shubina L.K., Bode A.M., Stonik V.A., Dong Z., 2007, Dactylone Inhibits Epidermal Growth Factor-Induced Transformation and Phenotype Expression of Human Cancer Cells and Induces G1-S Arrest and Apoptosis, *Cancer Research*, 67(12), pp. 5914-5920.
- [82]. Lhullier C., Falkenberg M., Ioannou E., Quesada A., Papazafiri P., Horta P.A., Schenkel E.P., Vagias C., Roussis V., 2010, Cytotoxic halogenated metabolites from the Brazilian red alga *Laurencia catarinensis*, *Journal of Natural Products*, 73(1), pp. 27-32.
- [83]. Kim M.-M., Mendis E., Kim S.-K., 2008, Laurencia okamurai Extract Containing Laurinterol Induces Apoptosis in Melanoma Cells, *Journal of Medicinal Food*, 11(2), pp. 260-266.
- [84]. Gong A., Ge N., Yao W., Lu L., Liang H., 2014, RETRACTED ARTICLE: Aplysin enhances temozolomide sensitivity in glioma cells by increasing miR-181 level, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 74(3), pp. 531-538.
- [85]. Gong A.-j., Gong L.-l., Yao W.-c., Ge N., Lu L.-x., Liang H., 2014, Aplysin induces apoptosis in glioma cells through HSP90/AKT pathway, *Experimental Biology and Medicine*, 240(5), pp. 639-644.
- [86]. Bouaicha N., Pesando D., Puel D., Tringali C., 1993, Cytotoxic diterpenoids from the brown alga *Dilophus ligulatus*, *Journal of Natural Products*, 56(10), pp. 1747-1752.
- [87]. Fernández J., Souto M.L., Norte M., 1998, Evaluation of the cytotoxic activity of polyethers isolated from *Laurencia*, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 6(12), pp. 2237-2243.
- [88]. Vera B., Rodríguez A.D., Avilés E., Ishikawa Y., 2009, Aplysqualenols A and B: Squalene-Derived Polyethers with Antitumoral and Antiviral Activity from

- the Caribbean Sea Slug *Aplysia dactylomela*, *European Journal of Organic Chemistry*, 2009(31), pp. 5327-5336.
- [89]. Mun B., Wang W., Kim H., Hahn D., Yang I., Won D.H., Kim E.-h., Lee J., Han C., Kim H., Ekins M., Nam S.-J., Choi H., Kang H., 2015, Cytotoxic 5 α ,8 α -epidioxy sterols from the marine sponge *Monanchora* sp, *Archives of pharmacal research*, 38(1), pp. 18-25.
- [90]. Clark K.E., Capper A., Togna G.D., Paul V.J., Romero L.I., Johns T., Cubilla-Rios L., Capson T.L., 2013, Ecology-and bioassay-guided drug discovery for treatments of tropical parasitic disease: 5 α , 8 α -epidioxycholest-6-en-3 β -ol isolated from the mollusk *Dolabrifera dolabrifera* shows significant activity against *Leishmania donovani*, *Natural Product Communications*, 8(11), pp. 1934578X1300801109.
- [91]. Yamada K., Ojika M., Kigoshi H., Suenaga K., 2010, Cytotoxic substances from two species of Japanese sea hares: chemistry and bioactivity, *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 86(3), pp. 176-189.
- [92]. Vairappan C.S., Daitoh M., Suzuki M., Abe T., Masuda M., 2001, Antibacterial halogenated metabolites from the Malaysian *Laurencia* species, *Phytochemistry*, 58(2), pp. 291-297.
- [93]. König G.M., Wright A.D., 1997, *Laurencia rigida*: Chemical Investigations of Its Antifouling Dichloromethane Extract, *Journal of Natural Products*, 60(10), pp. 967-970.
- [94]. Vairappan C.S., 2003, Potent antibacterial activity of halogenated metabolites from Malaysian red algae, *Laurencia majuscula* (Rhodomelaceae, Ceramiales), *Biomolecular engineering*, 20(4-6), pp. 255-259.
- [95]. Jongaramruong J., Blackman A.J., Skelton B.W., White A.H., 2002, Chemical relationships between the sea hare *Aplysia parvula* and the red seaweed *Laurencia filiformis* from Tasmania, *Australian journal of chemistry*, 55(4), pp. 275-280.
- [96]. Vairappan C.S., Ishii T., Lee T.K., Suzuki M., Zhaoqi Z., 2010, Antibacterial Activities of a New Brominated Diterpene from Borneon *Laurencia* spp, *Marine Drugs*, 8(6), pp. 1743-1749.
- [97]. Othmani A., Bouzidi N., Viano Y., Alliche Z., Seridi H., Blache Y., El Hattab M., Briand J.-F., Culioli G., 2014, Anti-microfouling properties of compounds isolated from several Mediterranean *Dictyota* spp, *Journal of Applied Phycology*, 26(3), pp. 1573-1584.

- [98]. Clark K.E., Capper A., Della Togna G., Paul V.J., Romero L.I., Johns T., Cubilla-Rios L., Capson T.L., 2013, Ecology- and bioassay-guided drug discovery for treatments of tropical parasitic disease: 5 α ,8 α -epidioxycholest-6-en-3 β -ol isolated from the mollusk *Dolabrifera dolabrifera* shows significant activity against *Leishmania donovani*, *Nat Prod Commun*, 8(11), pp. 1537-1540.
- [99]. Dos Santos A.O., Veiga-Santos P., Ueda-Nakamura T., Filho B.P.D., Sudatti D.B., Bianco É.M., Pereira R.C., Nakamura C.V., 2010, Effect of elatol, isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*, on *Leishmania amazonensis*, *Marine Drugs*, 8(11), pp. 2733-2743.
- [100]. Bianco E.M., Pires L., Santos G.K.N., Dutra K.A., Reis T.N.V., Vasconcelos E.R., Cocentino A.L.M., Navarro D.M.A.F., 2013, Larvicidal activity of seaweeds from northeastern Brazil and of a halogenated sesquiterpene against the dengue mosquito (*Aedes aegypti*), *Industrial crops and products*, 43, pp. 270-275.
- [101]. Kimura J., Kamada N., Tsujimoto Y., 1999, Fourteen chamigrane derivatives from a red alga, *Laurencia nidifica*, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 72(2), pp. 289-292.
- [102]. Ge N., Liang H., Liu Y., Ma A.-g., Han L., 2013, Protective effect of Aplysin on hepatic injury in ethanol-treated rats, *Food and Chemical Toxicology*, 62, pp. 361-372.
- [103]. Huong P.T.M., Phong N.V., Huong N.T., Trang D.T., Thao D.T., Cuong N.X., Nam N.H., Van Thanh N., 2022, Aplydactylonins A-C, three new sesquiterpenes from the Vietnamese sea hare *Aplysia dactylomela* and their cytotoxicity, *Journal of natural medicines*, 76(1), pp. 210-219.
- [104]. Binh P.T., Trang D.T., Thao N.P., Mai N.C., Cuong N.X., Nam N.H., Van Thanh N., 2022, Structure elucidation of new brominated sesquiterpenes from the sea hare *Aplysia dactylomela* by experimental and DFT computational methods, *Journal of Molecular Structure*, 1259, pp. 132744.
- [105]. Borradaile, Potts L.F., 1932, The Invertebrata, *A Manual for the Use of Students*. London: Cambridge University Press, pp. 22-35.
- [106]. E. T.T., Brown G.H., 1984, Biology of Opisthobranch Molluscs *British Museum of Natural History, London*, 2, pp. 42.
- [107]. MacFarland F., 1909, The Opisthobranchiate Mollusca of the Branner-Agassiz expedition to Brazil, *Stanford University, California*, pp. 36.

- [108]. Farmer W., 1970, Swimming gastropods (opisthobranchia and prosobranchia), *The Veliger*, 13(1), pp. 73-89.
- [109]. Plaut I., 1993, Ecology and ecophysiology of the sea hare *Aplysia oculifera* (Adams and Reeve, 1850) in the Gulf of Eilat (Aqaba), *Ph. D, thesis, Hebrew University, Jerusalem (in Hebrew with English abstract)*, pp. 122.
- [110]. Faulkner D.J., 1984, Marine natural products: metabolites of marine algae and herbivorous marine molluscs, *Natural Product Reports*, 1(3), pp. 251-280.
- [111]. Ortega M.J., Zubía E., Salvá J., 1997, A new cladiellane diterpenoid from *Eunicella labiata*, *Journal of Natural Products*, 60(5), pp. 485-487.
- [112]. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Scalmani G., Barone V., Petersson G.A., Nakatsuji H., Li X., Caricato M., Marenich A.V., Bloino J., Janesko B.G., Gomperts R., Mennucci B., Hratchian H.P., Ortiz J.V., Izmaylov A.F., Sonnenberg J.L., Williams, Ding F., Lipparini F., Egidi F., Goings J., Peng B., Petrone A., Henderson T., Ranasinghe D., Zakrzewski V.G., Gao J., Rega N., Zheng G., Liang W., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Throssell K., Montgomery Jr. J.A., Peralta J.E., Ogliaro F., Bearpark M.J., Heyd J.J., Brothers E.N., Kudin K.N., Staroverov V.N., Keith T.A., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A.P., Burant J.C., Iyengar S.S., Tomasi J., Cossi M., Millam J.M., Klene M., Adamo C., Cammi R., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Farkas O., Foresman J.B., Fox D.J. *Gaussian 16 Rev. C.01*, 2016, Wallingford, CT.
- [113]. Zanardi M.M., Sarotti A.M., 2021, Sensitivity Analysis of DP4+ with the Probability Distribution Terms: Development of a Universal and Customizable Method, *J. Org. Chem.*, 86(12), pp. 8544-8548.
- [114]. Sarotti A.M., Pellegrinet S.C., 2009, A Multi-standard Approach for GIAO ¹³C NMR Calculations, *J. Org. Chem.*, 74(19), pp. 7254-7260.
- [115]. Scudiero D., Shoemaker R., Paull K., Monks A., Tierney S., Nofziger T.H., Currens M., Seniff D., Boyd M., 1988, Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines, *Cancer research*, 48 17, pp. 4827-4833.
- [116]. Mbaveng A.T., Damen F., Simo Mpetga J.D., Awouafack M.D., Tane P., Kuete V., Efferth T., 2019, Cytotoxicity of Crude Extract and Isolated Constituents of the *Dichrostachys cinerea* Bark towards Multifactorial Drug-

- Resistant Cancer Cells, *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, pp. 8450158.
- [117]. Davyt D., Fernandez R., Suescun L., Mombrú A.W., Saldaña J., Domínguez L., Coll J., Fujii M.T., Manta E., 2001, New sesquiterpene derivatives from the red alga *Laurencia scoparia*. Isolation, structure determination, and anthelmintic activity, *Journal of Natural Products*, 64(12), pp. 1552-1555.
- [118]. Francisco M.E.Y., Turnbull M.M., Erickson K.L., 1998, Cartilagineol, the fourth lineage of *Laurencia*-derived polyhalogenated chamigrene, *Tetrahedron Letters*, 39(30), pp. 5289-5292.
- [119]. Juagdan E.G., Kalidindi R., Scheuer P., 1997, Two new chamigranes from an Hawaiian red alga, *Laurencia cartilaginea*, *Tetrahedron*, 53(2), pp. 521-528.
- [120]. González A.G., Martín J.D., Norte M., Pérez R., Weiler V., Perales Á., Fayos J., 1983, New halogenated constituents of the digestive gland of the sea hare *Aplysia dactylomela*, *Tetrahedron Letters*, 24, pp. 847-848.
- [121]. Hu Z.-B., Yu X.-Q., Wang B., Liu A.-H., Zhao T.-S., Guo Y.-W., Huang H.-L., Mao S.-C., 2020, Structurally diverse halosesquiterpenoids from the red alga *Laurencia composita* Yamada, *Fitoterapia*, 146, pp. 104716.
- [122]. Li X.-D., Miao F.-P., Liang X.-R., Wang B.-G., Ji N.-Y., 2013, Two halosesquiterpenes from *Laurencia composita*, *RSC Advances*, 3(6), pp. 1953-1956.
- [123]. Zanardi M.M., Sarotti A.M., 2021, Sensitivity analysis of DP4+ with the probability distribution terms: Development of a universal and customizable method, *The Journal of Organic Chemistry*, 86(12), pp. 8544-8548.
- [124]. Fukuda M., Ohkoshi E., Makino M., Fujimoto Y., 2006, Studies on the constituents of the leaves of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) and their cytotoxic activity, *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 54(10), pp. 1465-1468.
- [125]. Fraga B.M., 2007, Natural sesquiterpenoids, *Natural Product Reports*, 24(6), pp. 1350-1381.
- [126]. Brennan M.R., Erickson K.L., Minott D.A., Pascoe K.O., 1987, Chamigrane metabolites from a Jamaican variety of *Laurencia obtusa*, *Phytochemistry*, 26(4), pp. 1053-1057.
- [127]. Veiga-Santos P., Pelizzaro-Rocha K.J., Santos A.O., Ueda-Nakamura T., Filho B.P.D., Silva S.O., Sudatti D.B., Bianco E.M., Pereira R.C., Nakamura C.V., 2010, In vitro anti-trypanosomal activity of elatol isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*, *Parasitology*, 137(11), pp. 1661-1670.

- [128]. Bansemir A., Just N., Michalik M., Lindequist U., Lalk M., 2004, Extracts and sesquiterpene derivatives from the red alga *Laurencia chondrioides* with antibacterial activity against fish and human pathogenic bacteria, *Chemistry & biodiversity*, 1(3), pp. 463-467.
- [129]. Chen J.-Y., Huang C.-Y., Lin Y.-S., Hwang T.-L., Wang W.-L., Chiou S.-F., Sheu J.-H., 2016, Halogenated sesquiterpenoids from the red alga *Laurencia tristicha* collected in Taiwan, *Journal of Natural Products*, 79(9), pp. 2315-2323.
- [130]. Kutateladze A.G., Reddy D.S., 2017, High-Throughput in Silico Structure Validation and Revision of Halogenated Natural Products Is Enabled by Parametric Corrections to DFT-Computed ¹³C NMR Chemical Shifts and Spin-Spin Coupling Constants, *The Journal of Organic Chemistry*, 82(7), pp. 3368-3381.
- [131]. Chen J.Y., Huang C.Y., Lin Y.S., Hwang T.L., Wang W.L., Chiou S.F., Sheu J.H., 2016, Halogenated Sesquiterpenoids from the Red Alga *Laurencia tristicha* Collected in Taiwan, *J Nat Prod*, 79(9), pp. 2315-2323.
- [132]. Schmitz F.J., Gopichand Y., Michaud D.P., Prasad R.S., Remaley S., Hossain M.B., Rahman A., Sengupta P.K., Helm D.v.d., 1981, Recent developments in research on metabolites from Caribbean marine invertebrates, *Pure and Applied Chemistry*, 53(4), pp. 853-865.
- [133]. Nocchi N., Soares A.R., Souto M.L., Fernández J.J., Martin M.N., Pereira R.C., 2017, Detection of a chemical cue from the host seaweed *Laurencia dendroidea* by the associated mollusc *Aplysia brasiliana*, *PLoS One*, 12(11), pp. e0187126.
- [134]. Coll J., Wright A., 1989, Tropical Marine Algae. III. New Sesquiterpenes From *Laurencia majuscula* (Rhodophyta, Rhodophyceae, Ceramiales, Rhodomelaceae), *Australian Journal of Chemistry*, 42(9), pp. 1591-1603.
- [135]. Bohlmann F., Zdero C., 1976, Neue eudesman-derivate aus *Isocoma wrightii*, *Phytochemistry*, 15(6), pp. 1075-1076.
- [136]. Lodewyk M.W., Siebert M.R., Tantillo D.J., 2012, Computational prediction of ¹H and ¹³C chemical shifts: a useful tool for natural product, mechanistic, and synthetic organic chemistry, *Chemical Reviews*, 112(3), pp. 1839-1862.
- [137]. Blunt J.W., Hartshorn M.P., McLennan T.J., Munro M.H.G., Robinson W.T., Yorke S.C., 1978, Thyrsiferol: a squalene-derived metabolite of *laurencia thyrsifera*, *Tetrahedron Lett*, 19(1), pp. 69-72.

- [138]. Cen-Pacheco F., Mollinedo F., Villa-Pulgarín J.A., Norte M., Fernández J.J., Hernández Daranas A., 2012, Saiyacenols A and B: the key to solve the controversy about the configuration of aplysiols, *Tetrahedron*, 68(36), pp. 7275-7279.
- [139]. Bian W.-T., You Z.-J., Wang C.-Y., Shao C.-L., 2014, Brominated pimarane diterpenoids from the sea hare *Aplysia pulmonica* from the South China Sea, *Chemistry of Natural Compounds*, 50(3), pp. 557-559.
- [140]. Santos A.O.d., Veiga-Santos P., Ueda-Nakamura T., Filho B.P.D., Sudatti D.B., Bianco É.M., Pereira R.C., Nakamura C.V., 2010, Effect of Elatol, Isolated from Red Seaweed *Laurencia dendroidea*, on *Leishmania amazonensis*, *Marine Drugs*, 8(11), pp. 2733-2743.
- [141]. Bianco E.M., Pires L., Santos G.K.N., Dutra K.A., Reis T.N.V., Vasconcelos E.R.T.P.P., Cocentino A.L.M., Navarro D.M.A.F., 2013, Larvicidal activity of seaweeds from northeastern Brazil and of a halogenated sesquiterpene against the dengue mosquito (*Aedes aegypti*), *Industrial Crops and Products*, 43, pp. 270-275.
- [142]. Dias T., Brito I., Moujir L., Paiz N., Darias J., Cueto M., 2005, Cytotoxic sesquiterpenes from *Aplysia dactylomela*, *J Nat Prod*, 68(11), pp. 1677-1679.
- [143]. Little R.D., Nishiguchi G.A., 2008, Synthetic efforts toward, and biological activity of, thysiferol and structurally-related analogues, *Studies in natural products chemistry*, 35, pp. 3-56.

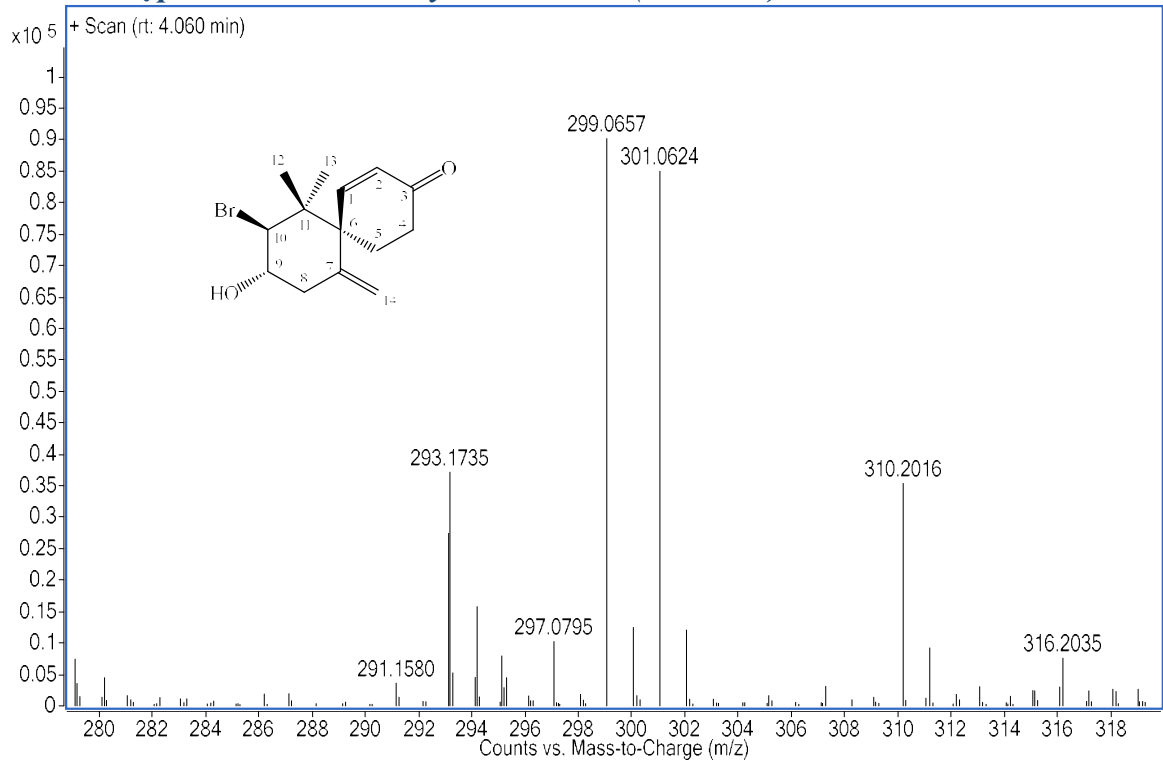
PHỤ LỤC

PHỤ LỤC

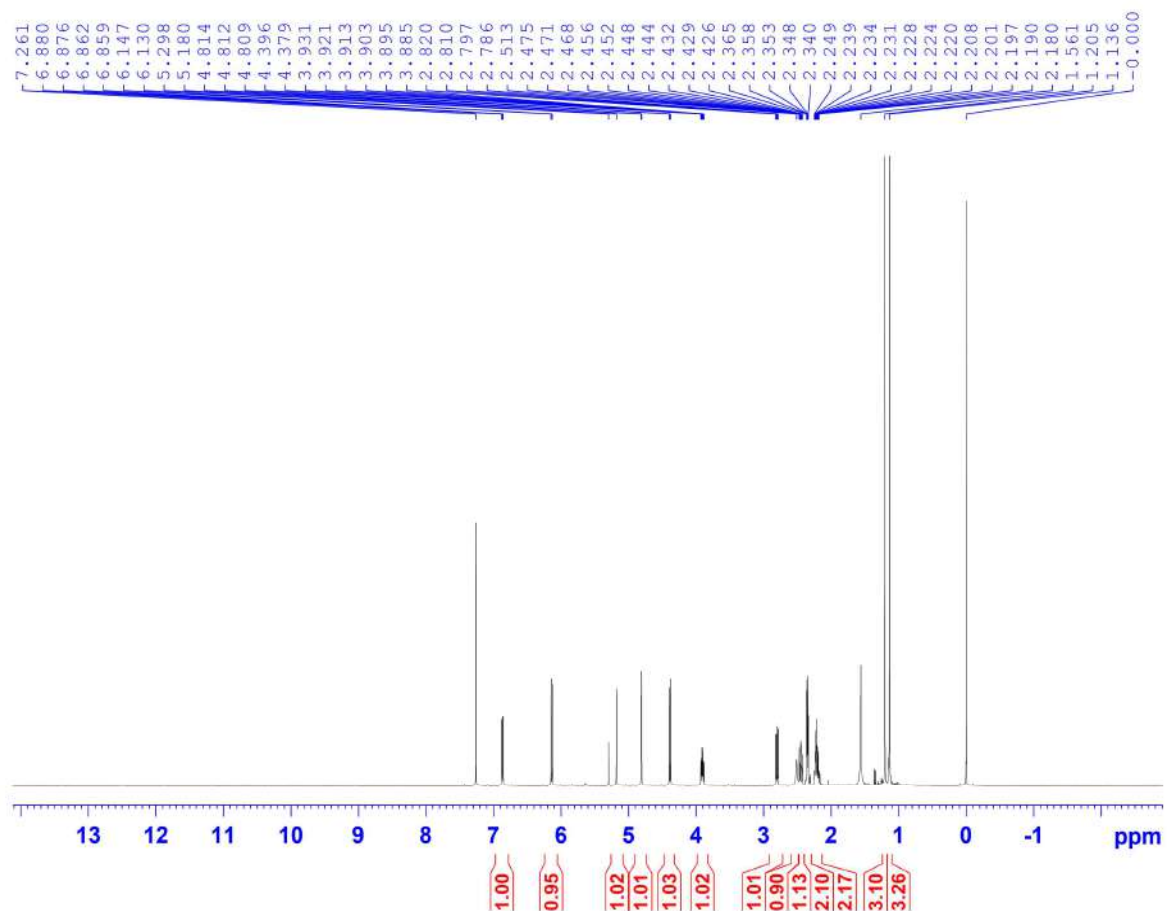
1. Bộ phổ của 16 chất phân lập từ mẫu sên <i>A. dactylomela</i>	2
1.1. Phổ hợp chất ADA01: Dactylomelanin C (chất mới)	2
1.2. Phổ hợp chất ADA02: Dactylomelanin D (chất mới)	5
1.3. Phổ hợp chất ADA03: Dactylomelanin E (chất mới)	9
1.4. Phổ hợp chất ADA04: (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,7 <i>S</i> ,7 <i>R</i>)-2-chloro-3,7-epoxyhamigrane-9-one	12
1.5. Phổ hợp chất ADB01: Elatol	14
1.6. Phổ hợp chất ADB02: Aplydactylonin I (chất mới)	16
1.7. Phổ hợp chất ADB04: Aplydactylonin K (chất mới)	20
1.8. Phổ hợp chất ADB04: Aplydactylonin G (chất mới)	23
1.9. Phổ hợp chất ADB05: Aplydactylonin H (chất mới)	27
1.10. Phổ hợp chất ADB06: Aplydactylonin F (chất mới)	30
1.11. Phổ hợp chất ADB07: Aplydactylonin E (chất mới)	34
1.12. Phổ hợp chất ADB08: [3(15) <i>E</i> ,4 <i>Z</i> ,6 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i>]-10,15-dibromochamigra- 3(15),4,7(14)-trien-9-ol	37
1.13. Phổ hợp chất ADB09: Pacifidiene	39
1.14. Phổ hợp chất ADB10: 11-hydroxy-8-oxo- β -cyperon	42
1.15. Phổ hợp chất ADB11: Aplydactylonin D (chất mới)	46
1.16. Phổ hợp chất ADB12: Thyrsiferol	49
2. Bộ phổ các chất phân lập từ mẫu sên <i>A. oculifera</i>	52
2.1. Phổ hợp chất AOB01: Oculiferanin A (chất mới)	52
2.2. Phổ hợp chất AOB02: Oculiferanin B (chất mới)	59
2.3. Phổ hợp chất AOB03: Oculiferanin C (chất mới)	63
2.4. Phổ hợp chất AOB04: Oculiferanin D (chất mới)	67
2.5. Phổ hợp chất AOB05: Oculiferanin E (chất mới)	71
2.6. Phổ hợp chất AOB06: Oculiferanin F (chất mới)	74
2.7. Phổ hợp chất AOB07: Oculiferanin G (chất mới)	78
3. Kết quả tính toán NMR và ECD của hợp chất ADB11	82

1. Bộ phổ của 16 chất phân lập từ mẫu sên *A. dactylomela*

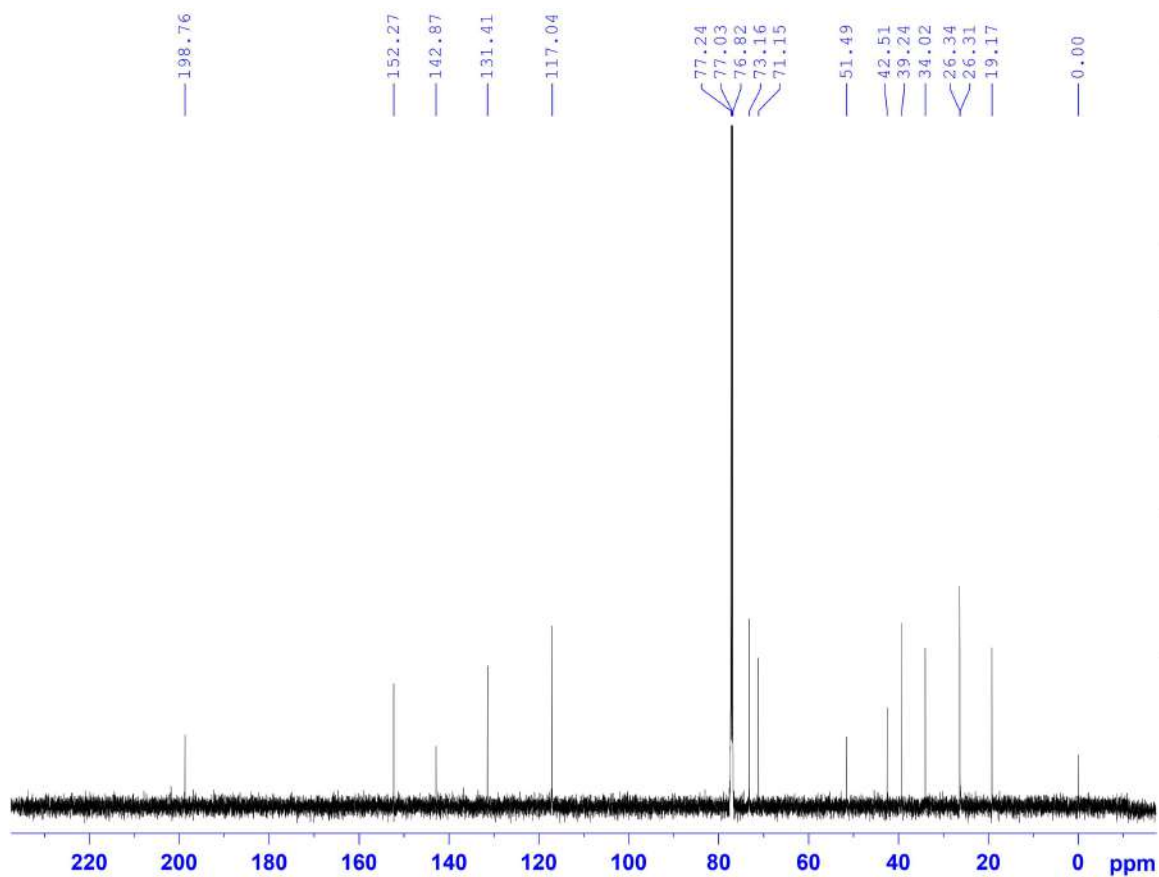
1.1. Phổ hợp chất ADA1: Dactylomelanin C (chất mới)



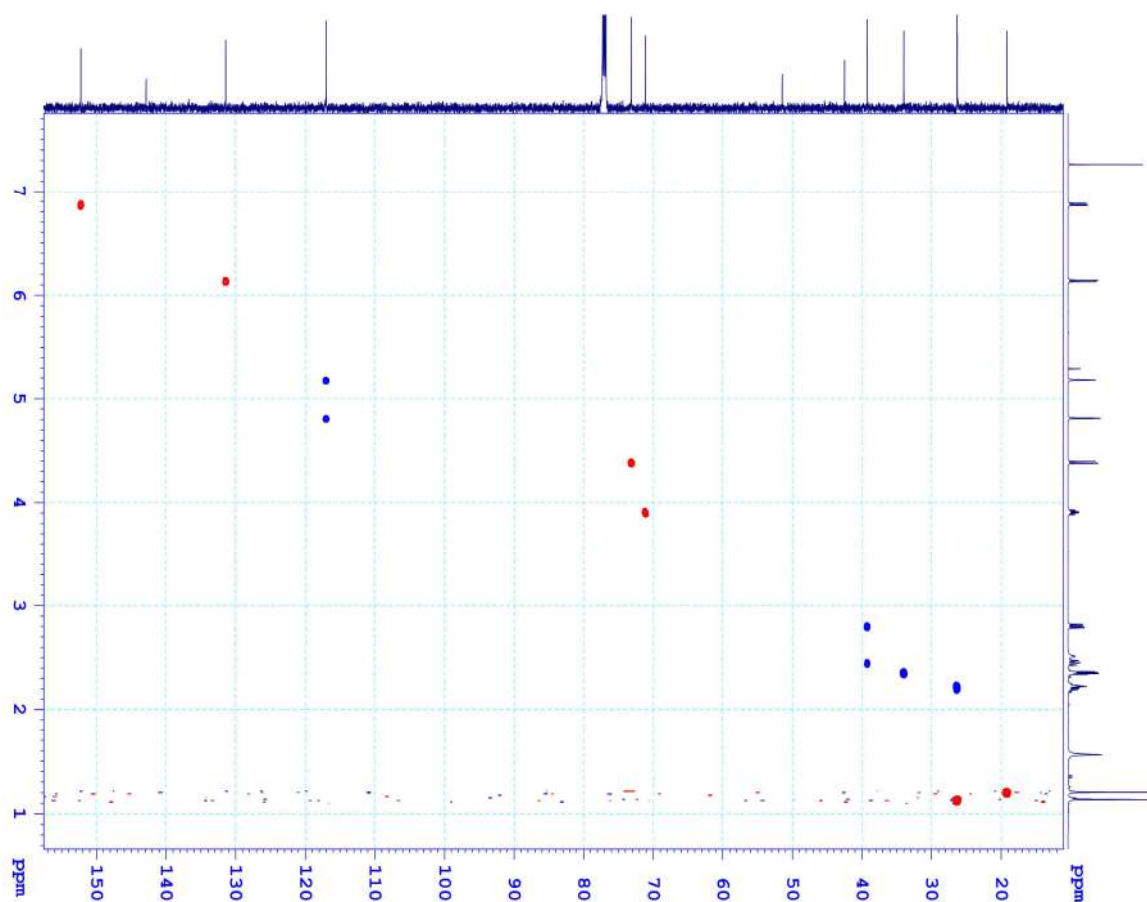
Hình D1.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



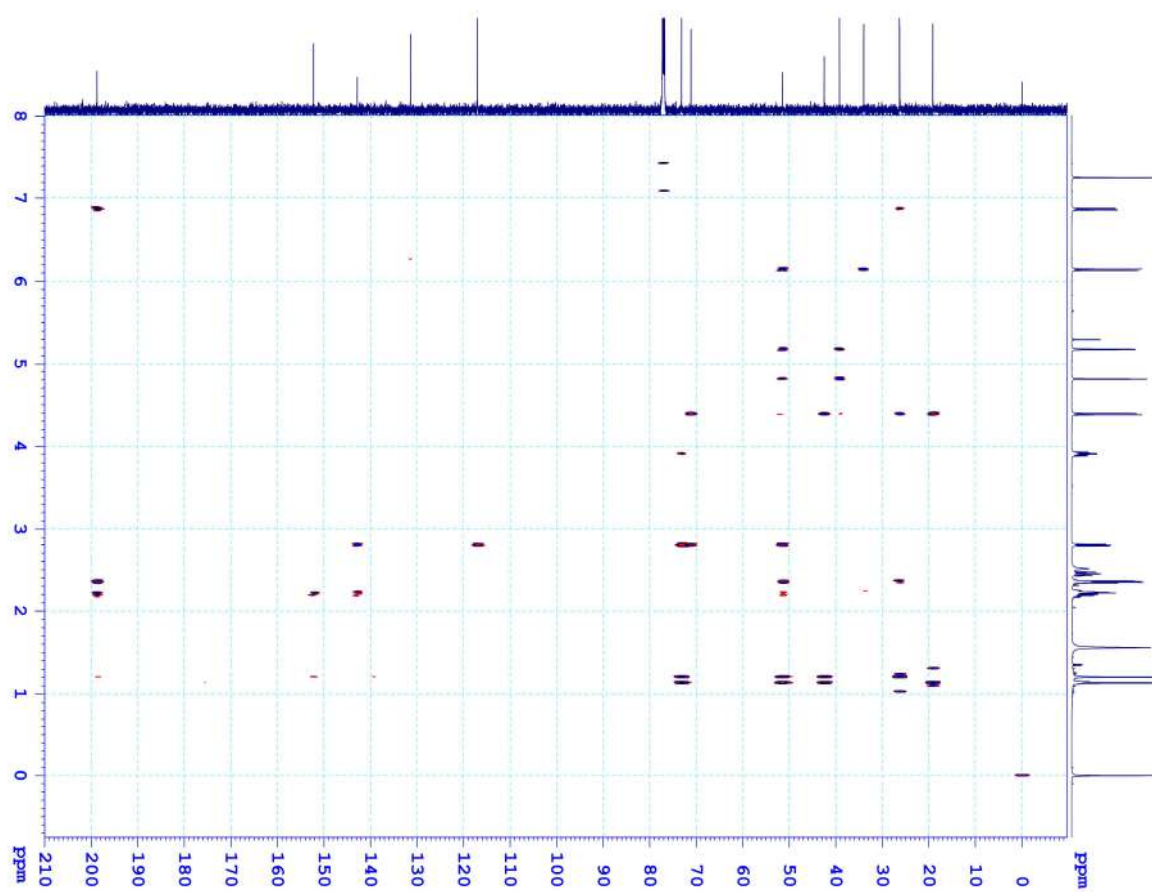
Hình D1.2. Phổ ^1H -NMR



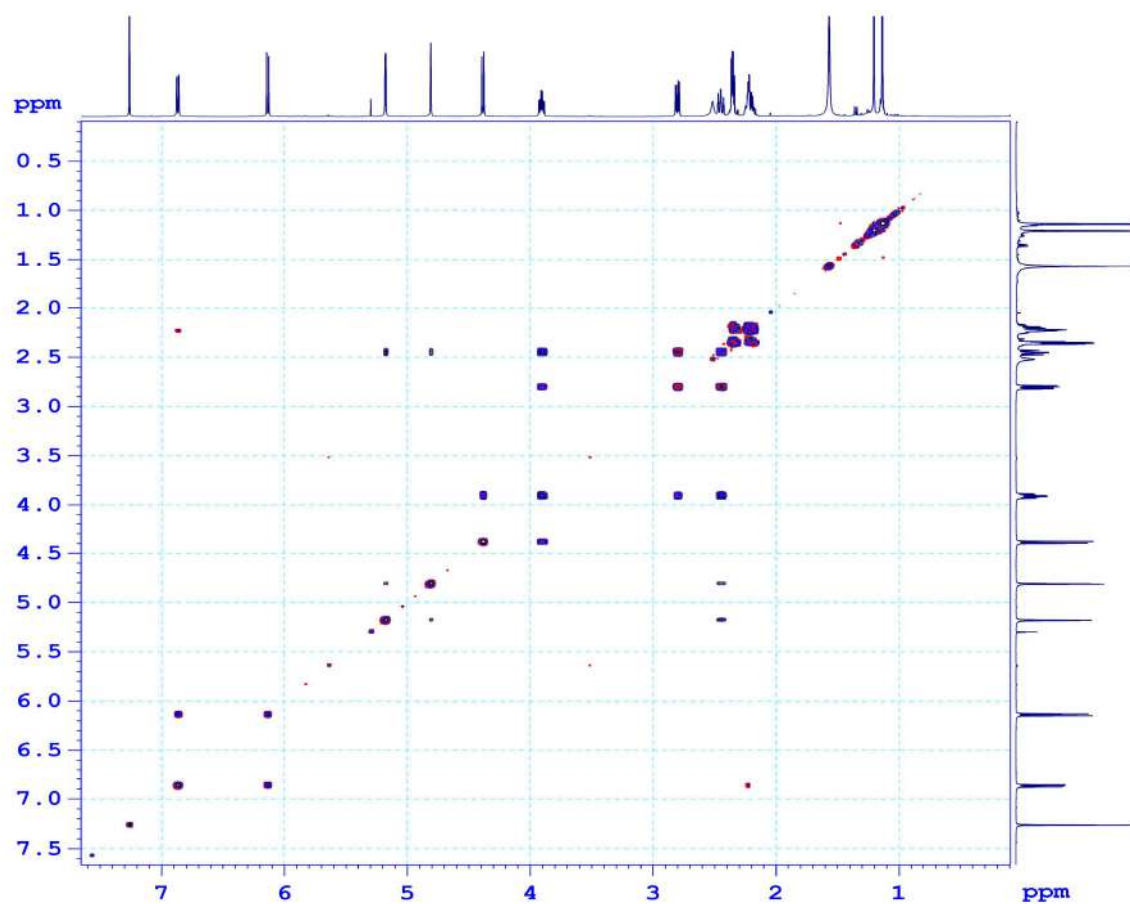
Hình D1.3. Phổ ^{13}C -NMR



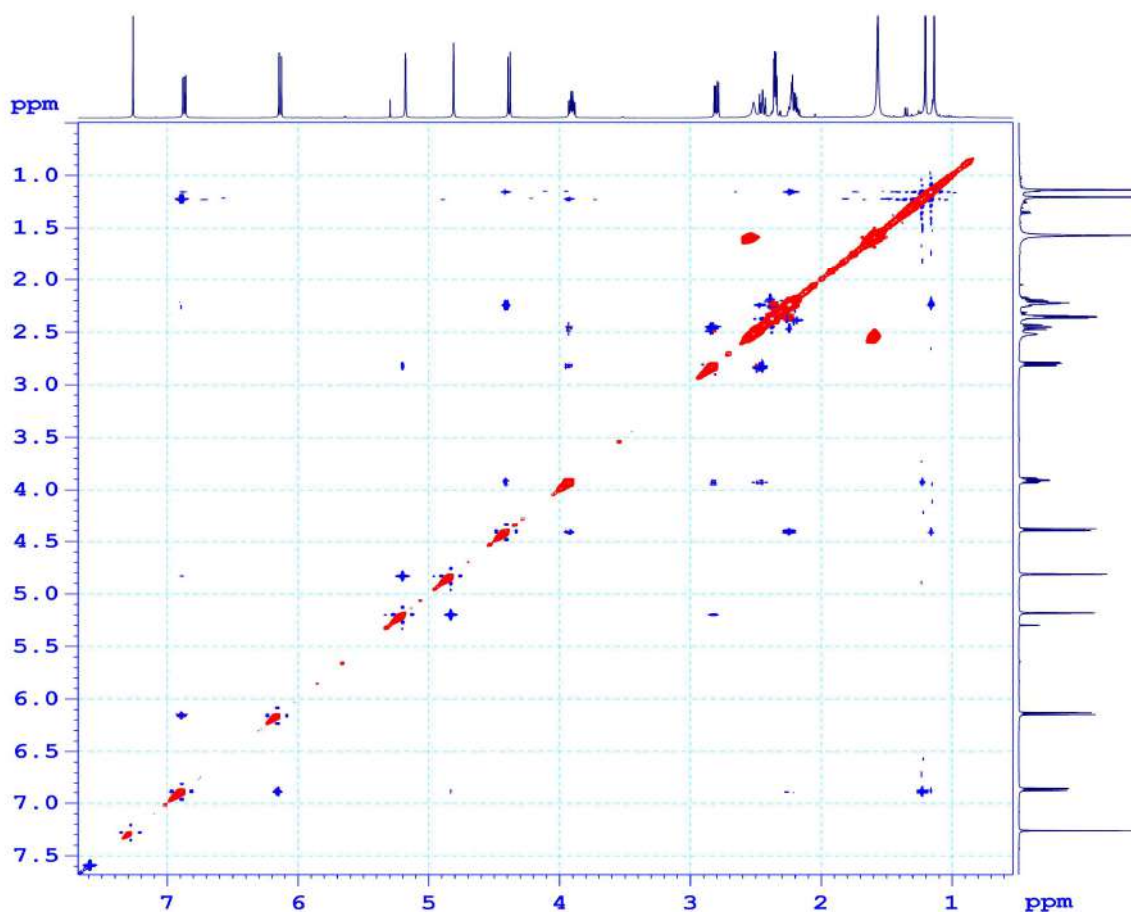
Hình D1.4. Phổ HSQC



Hình D1.5. Phổ HMBC

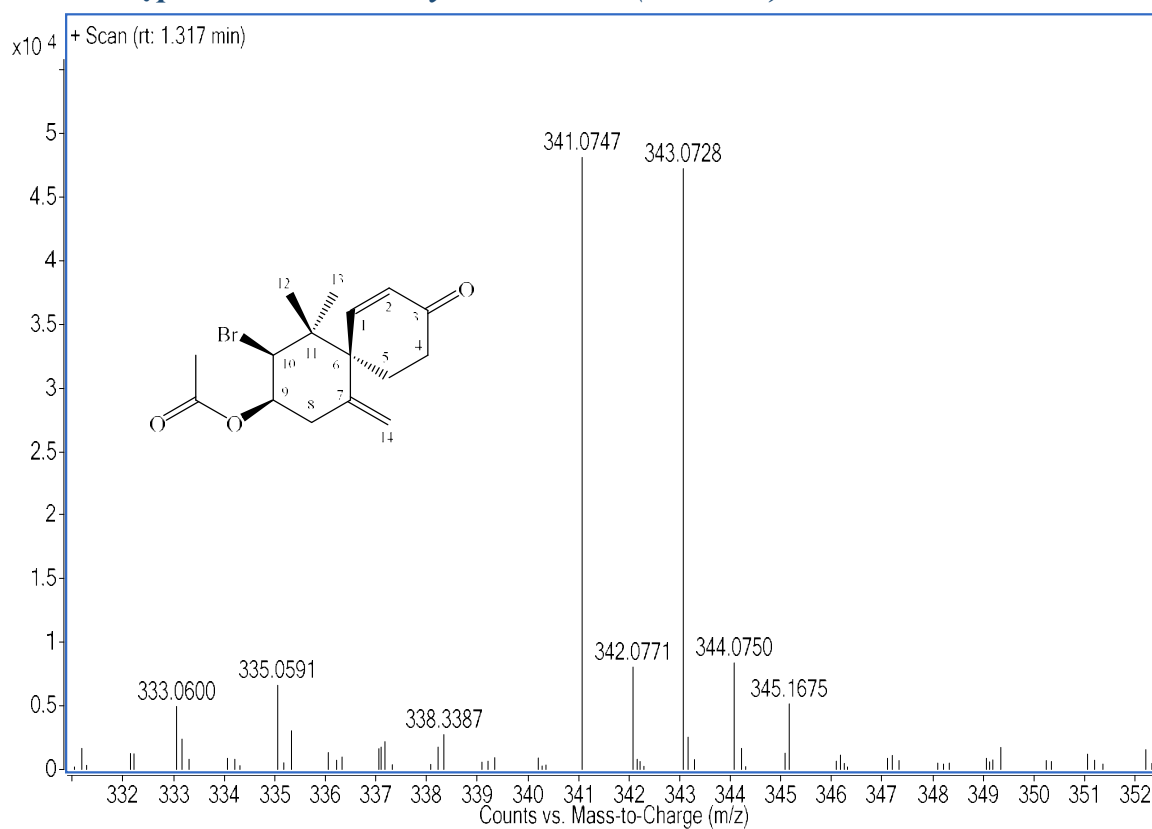


Hình D1.6. Phổ COSY

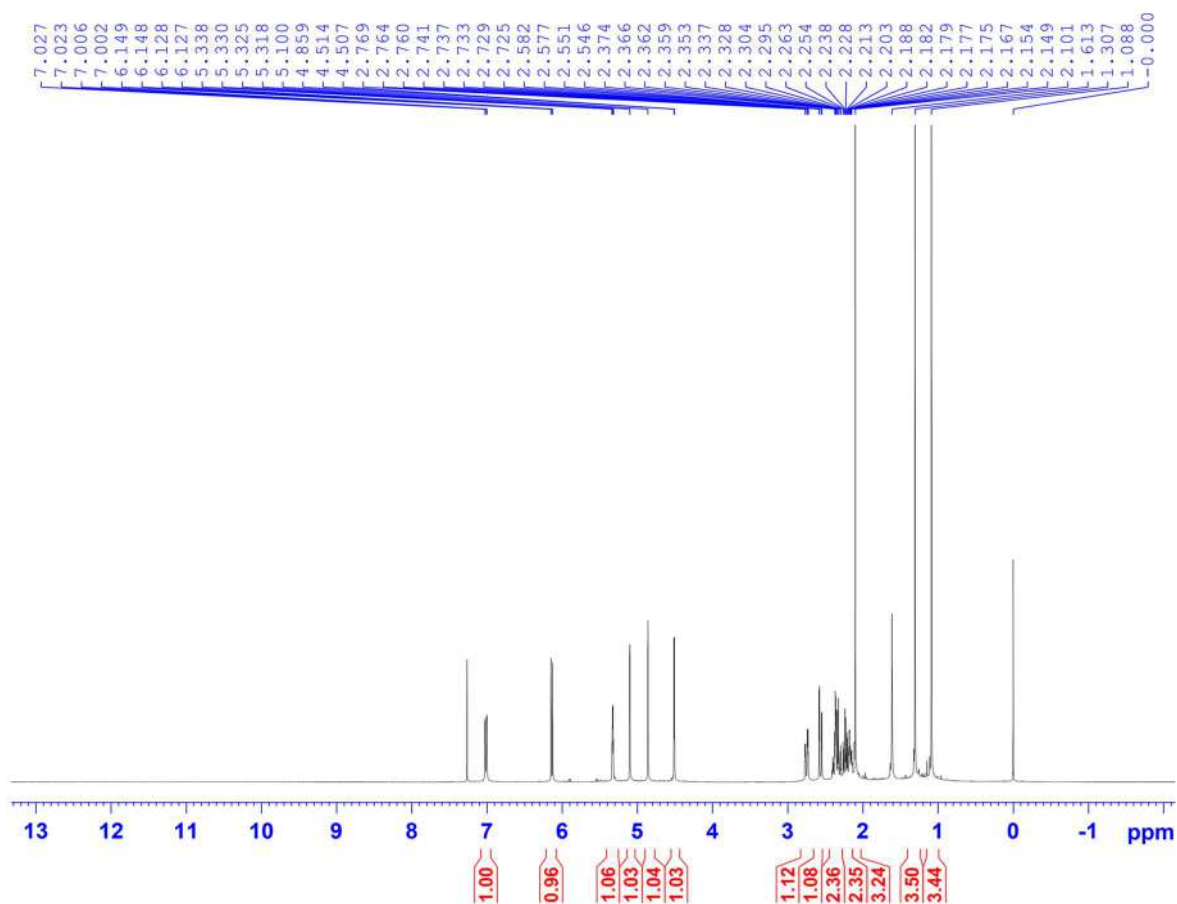
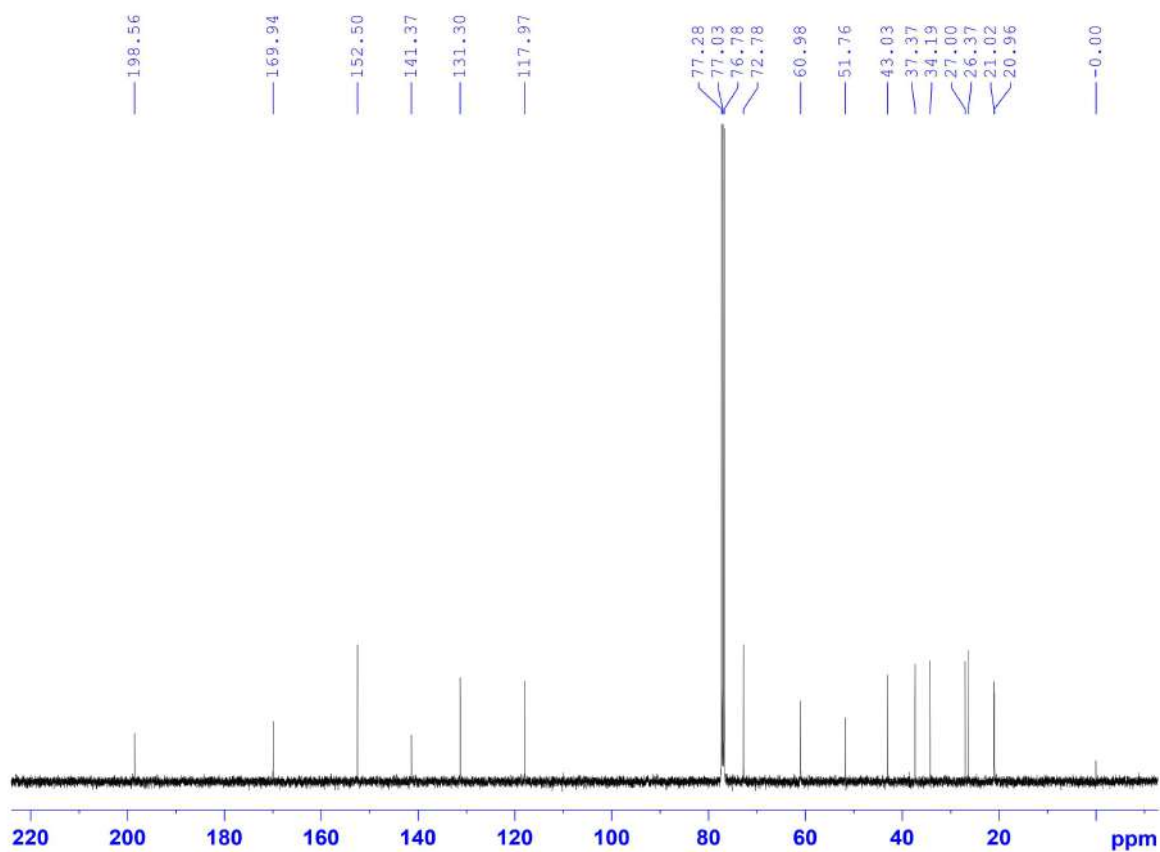


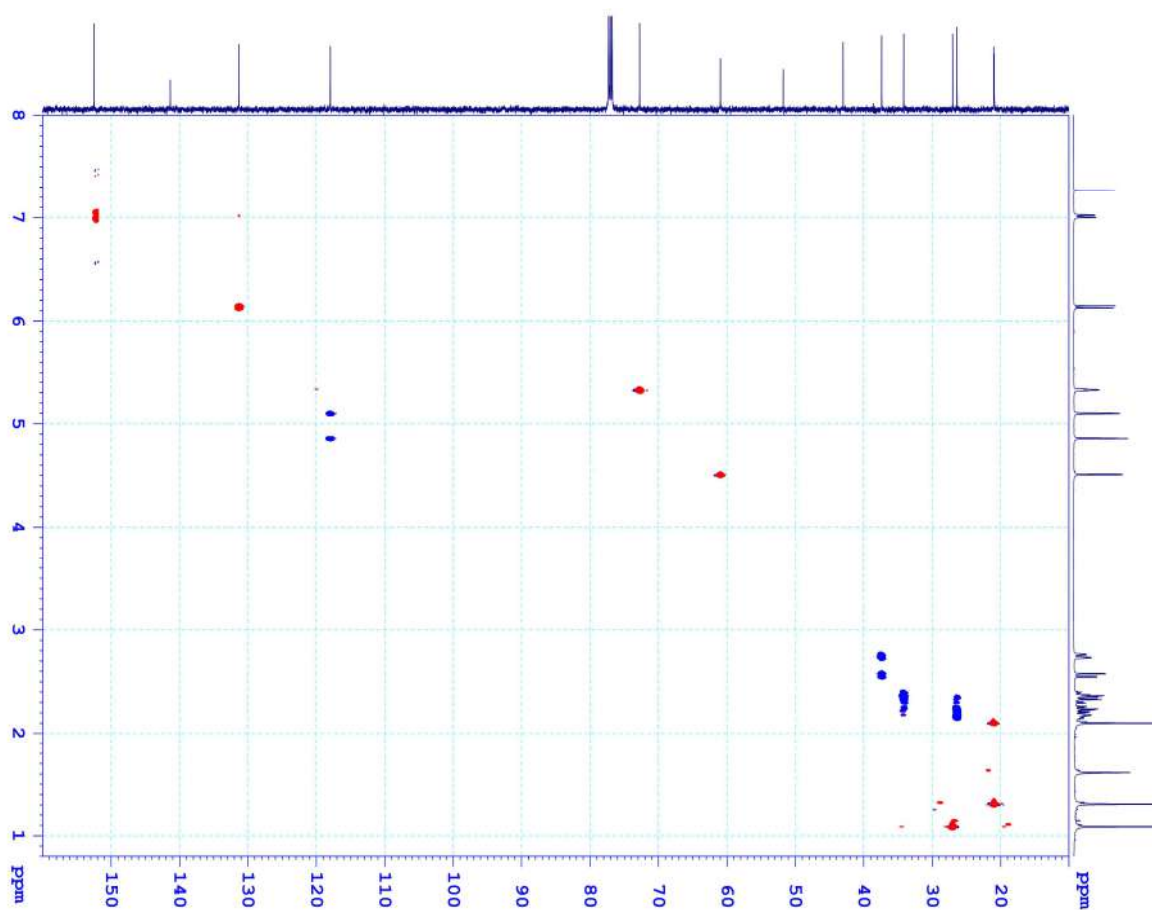
Hình D1.7. Phổ NOESY

1.2. Phổ hợp chất ADA2: Dactylomelanin D (chất mới)

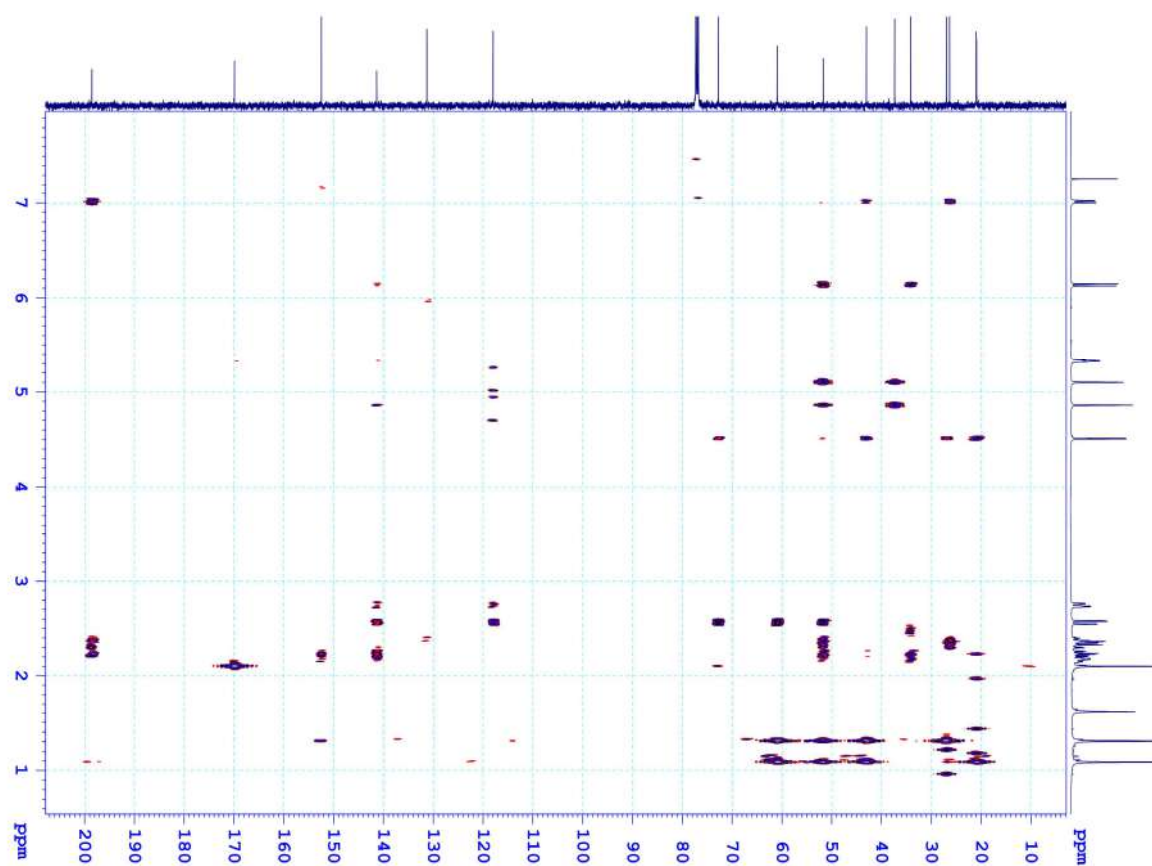


Hình D2.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

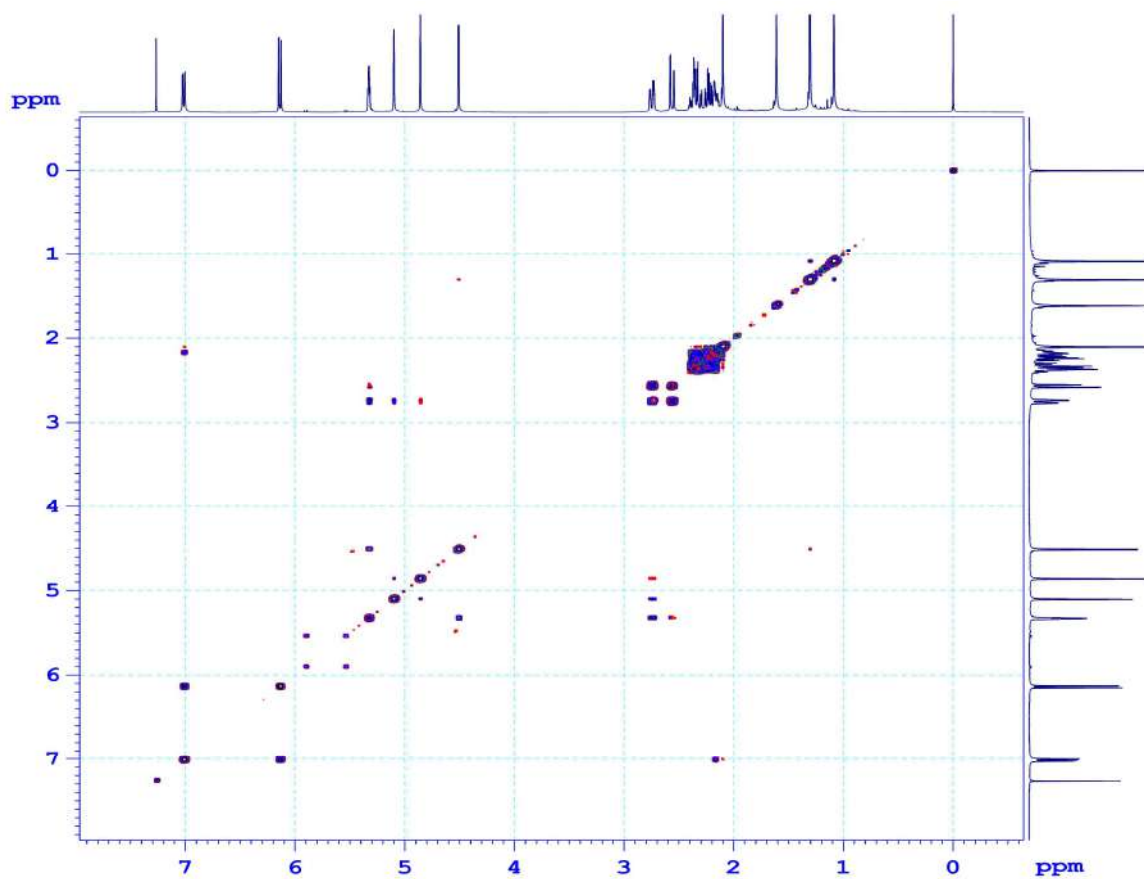
Hình D2.2. Phổ ^1H -NMRHình D2.3. Phổ ^{13}C -NMR



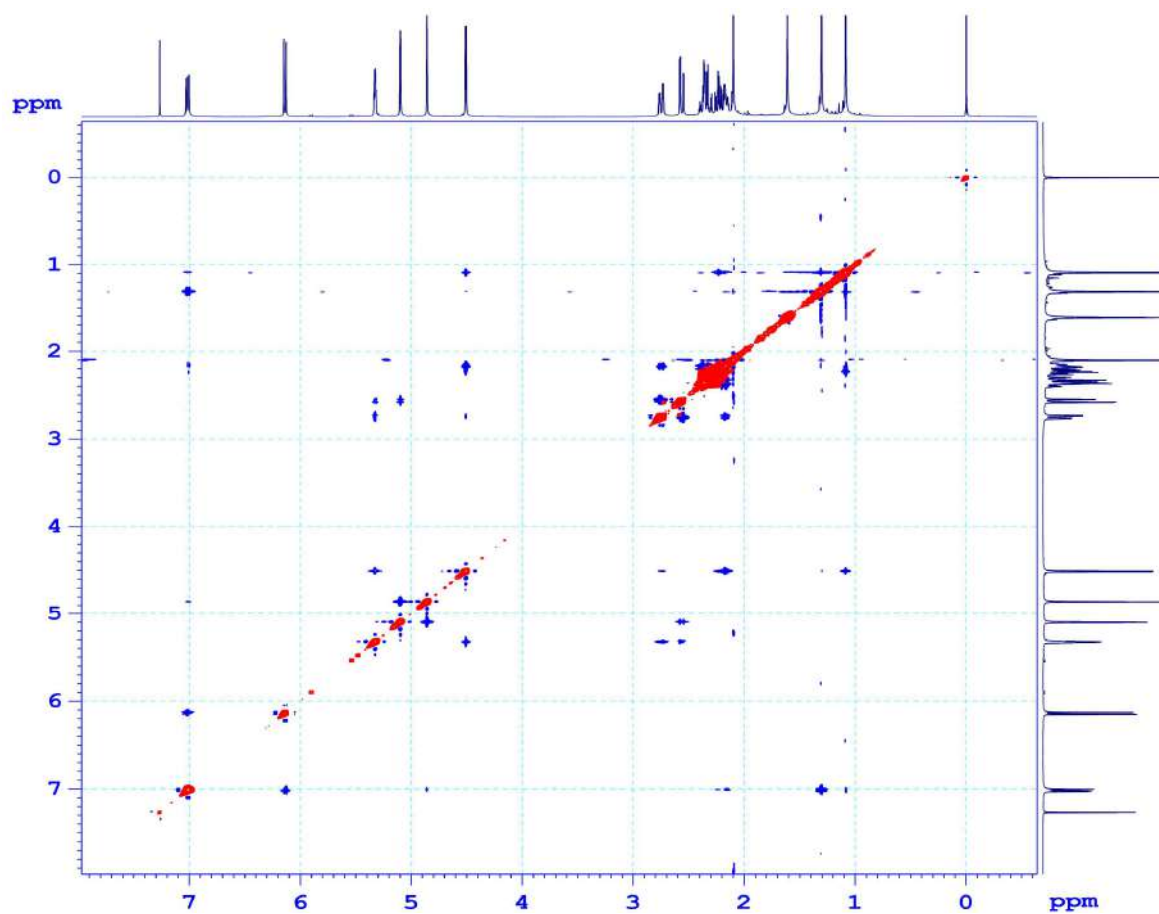
Hình D2.4. Phổ HSQC



Hình D2.5. Phổ HMBC

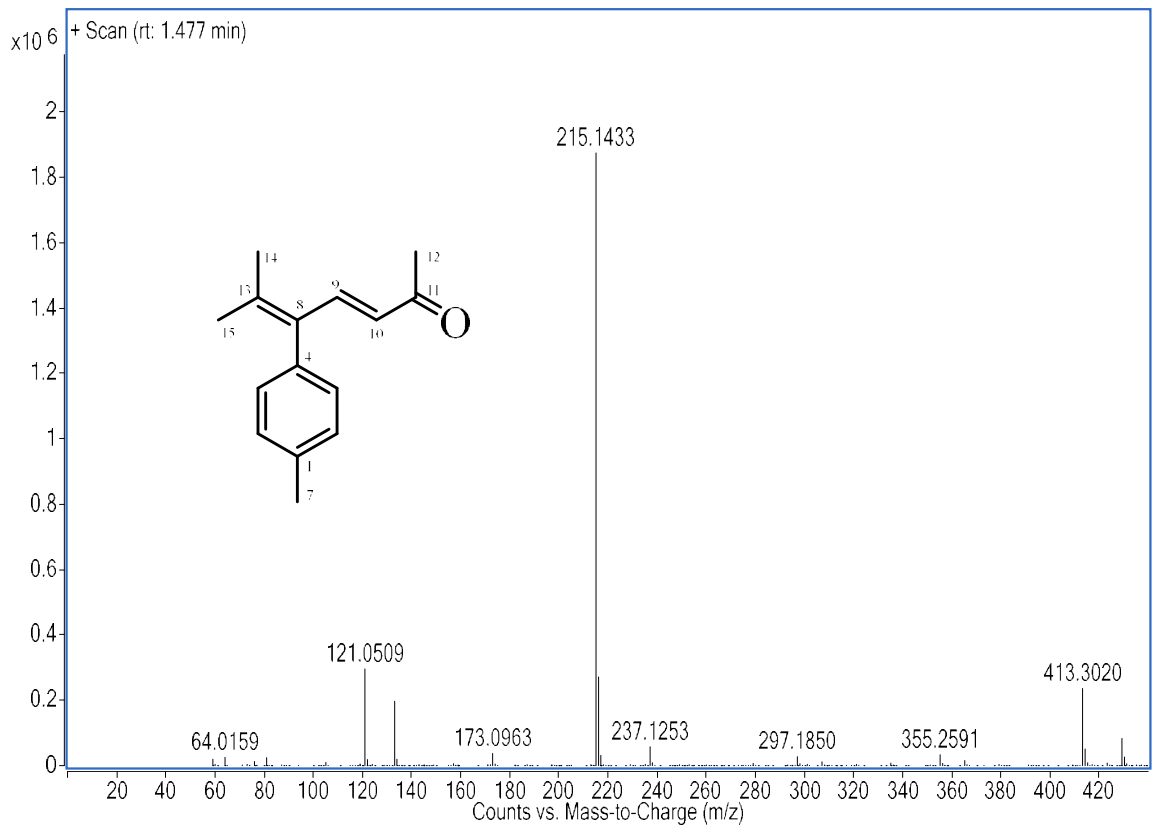


Hình D2.6. Phổ COSY

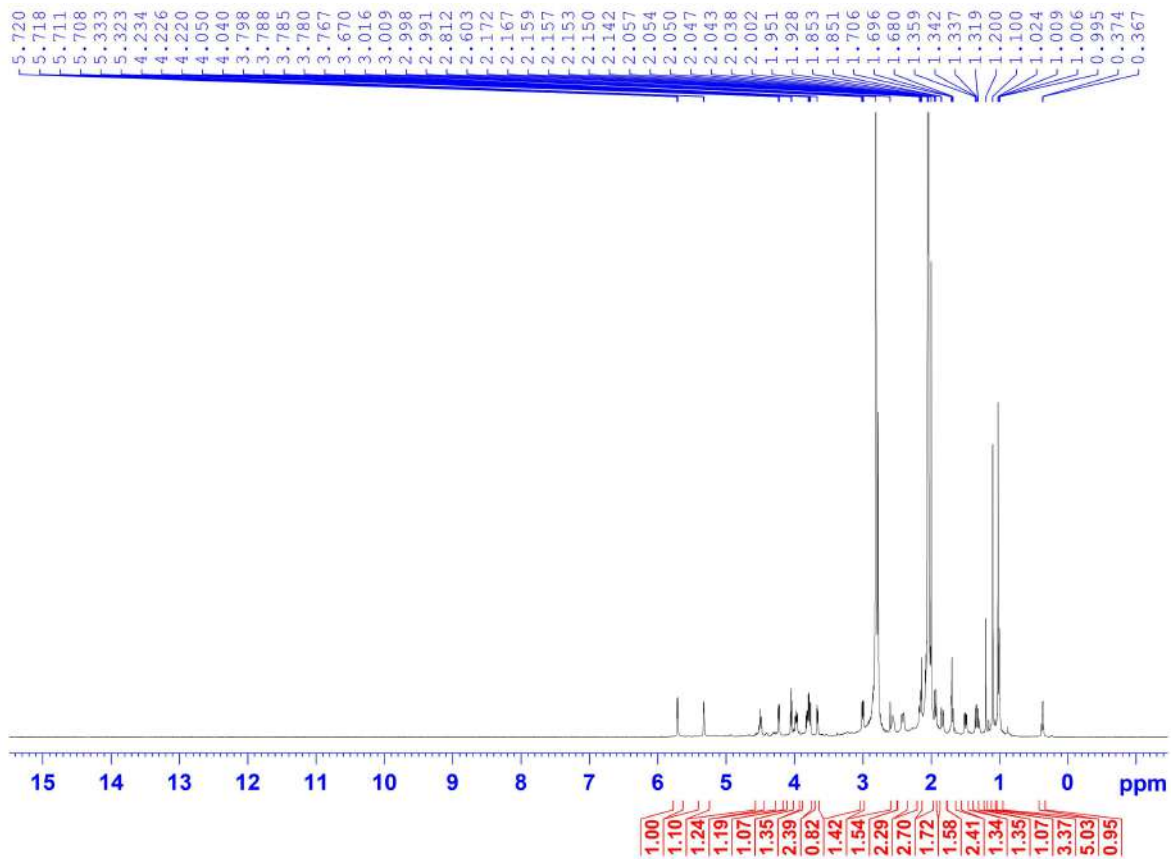


Hình D2.7. Phổ NOESY

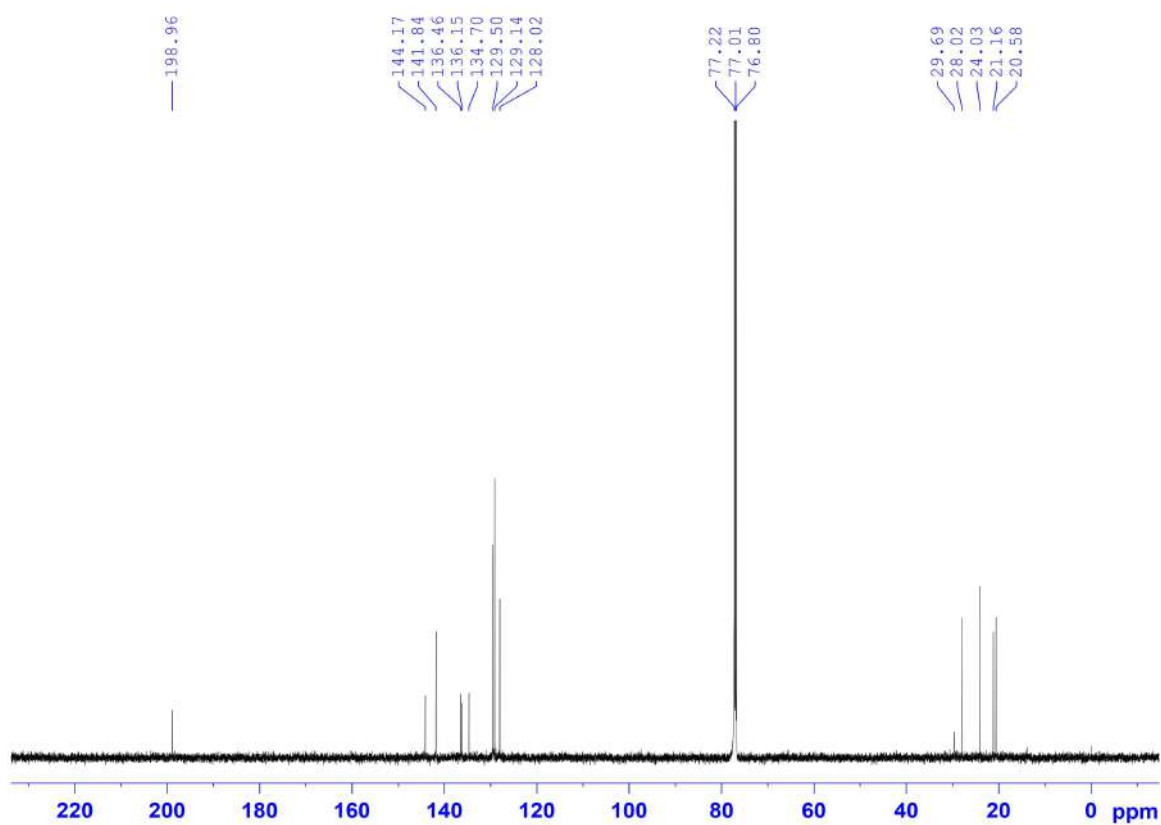
1.3. Phổ hợp chất ADA3: Dactylomelanin E (chất mới)



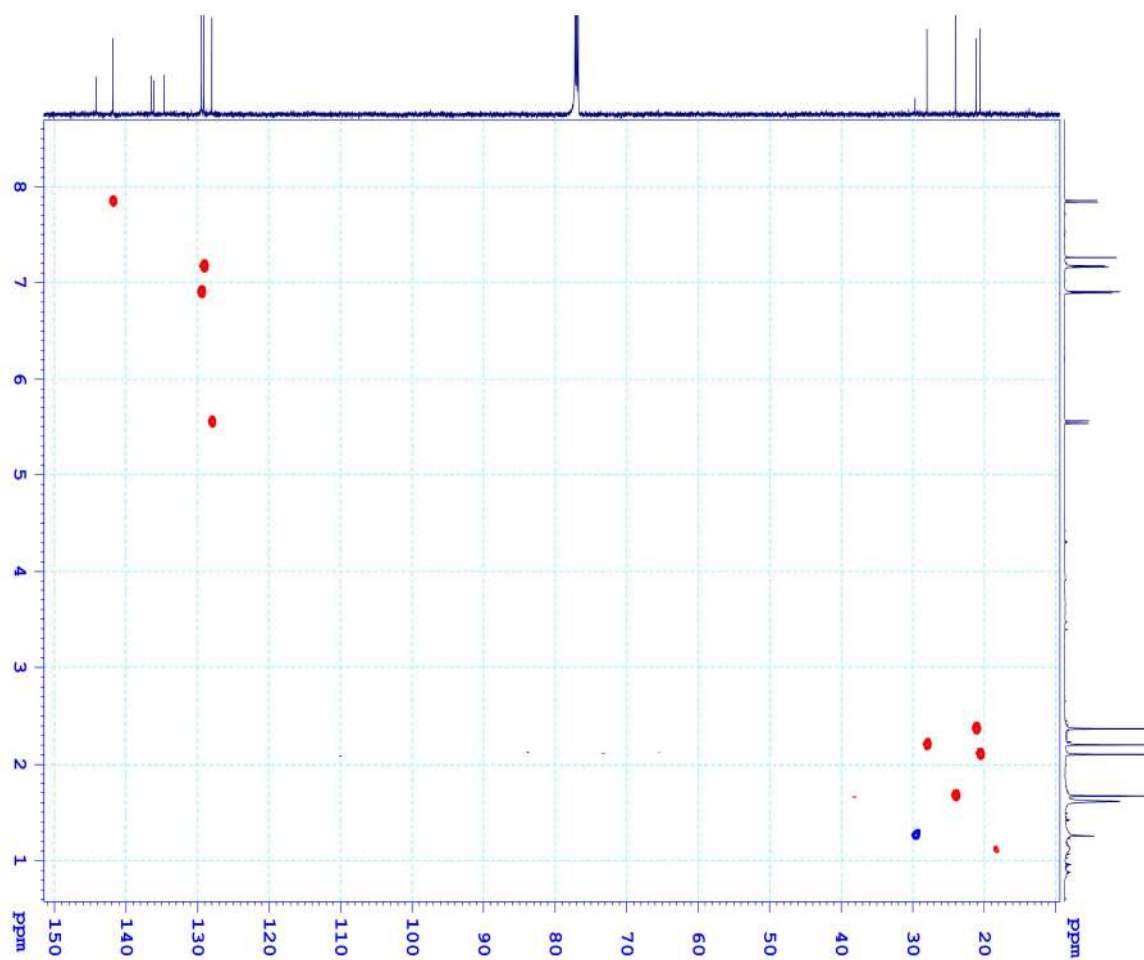
Hình D3.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



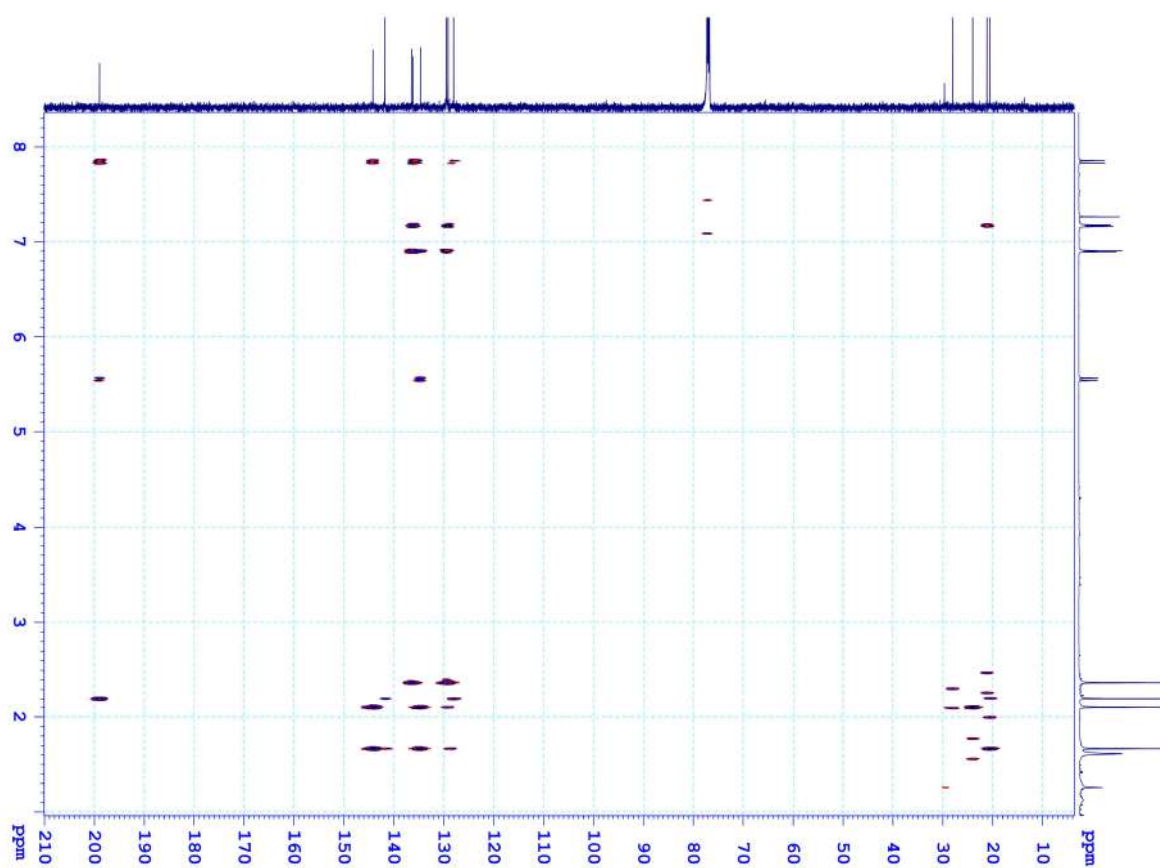
Hình D3.2. Phổ ¹H-NMR



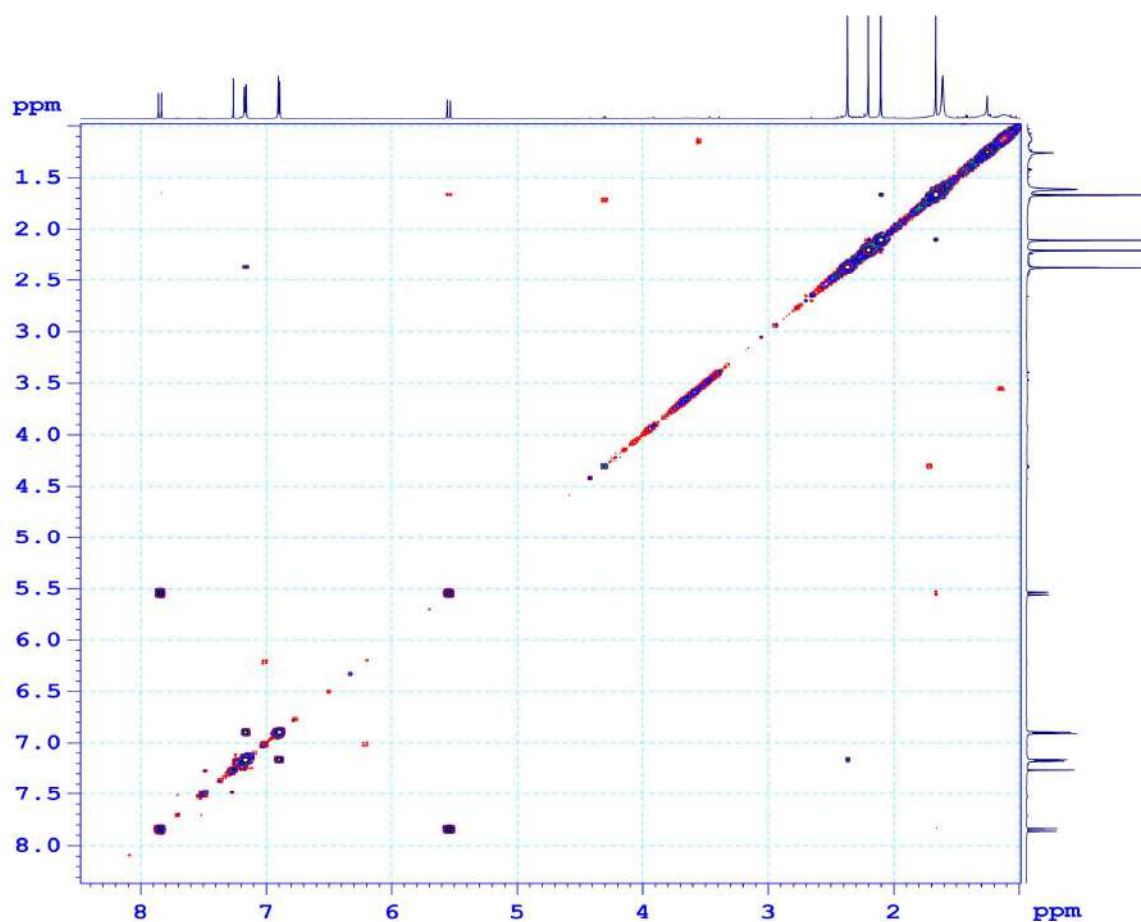
Hình D3.3. Phổ ^{13}C -NMR



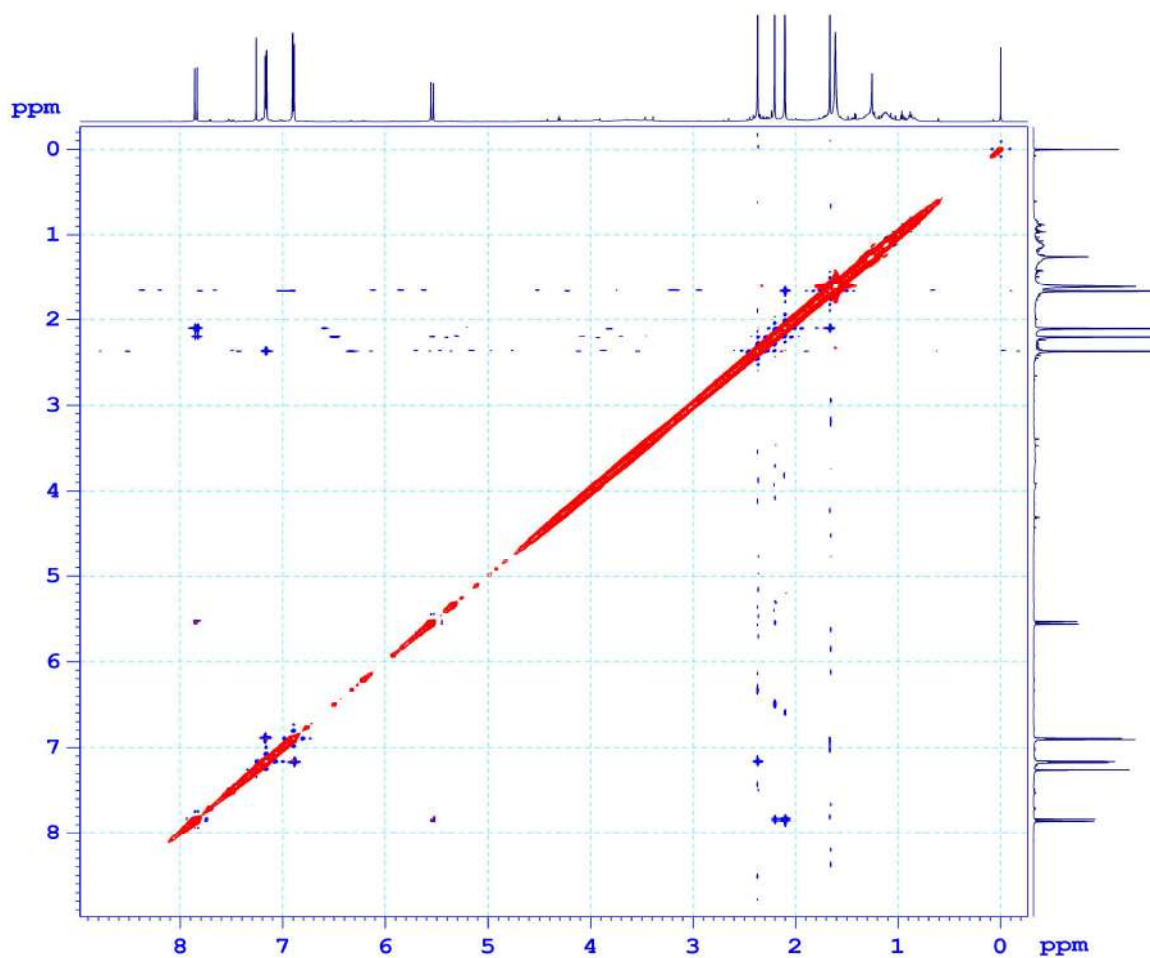
Hình D3.4. Phổ HSQC



Hình D3.5. Phổ HMBC

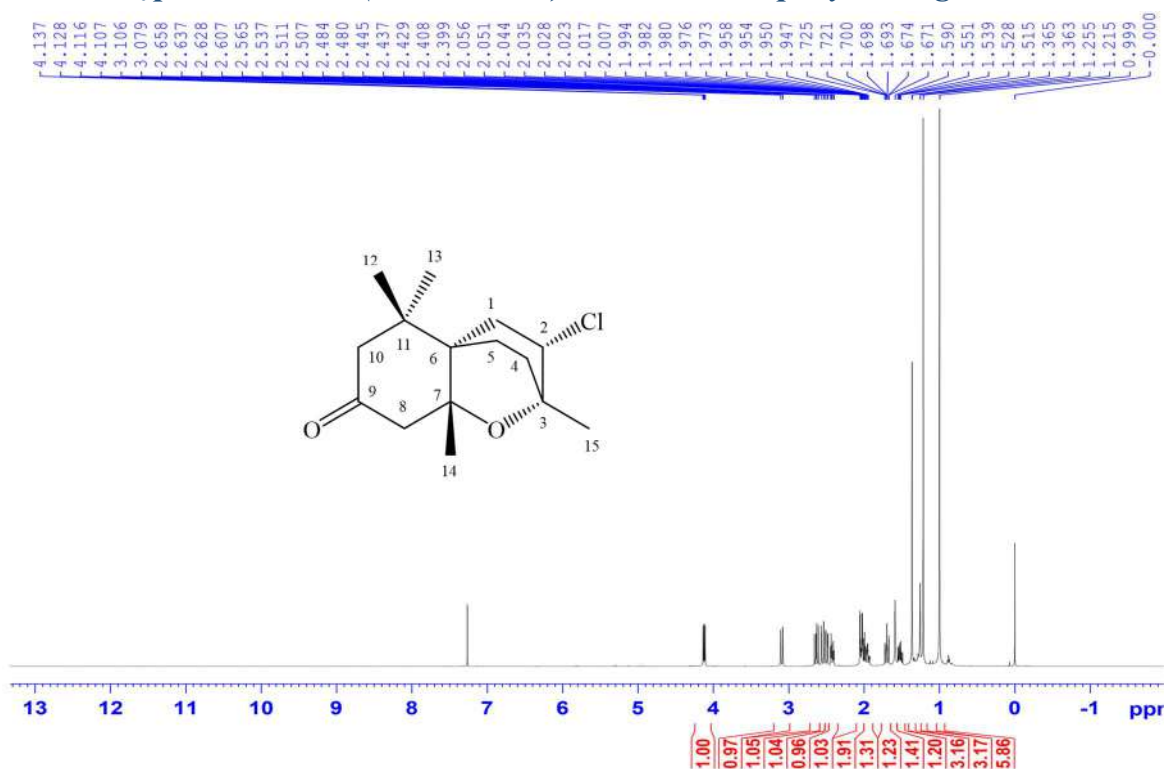


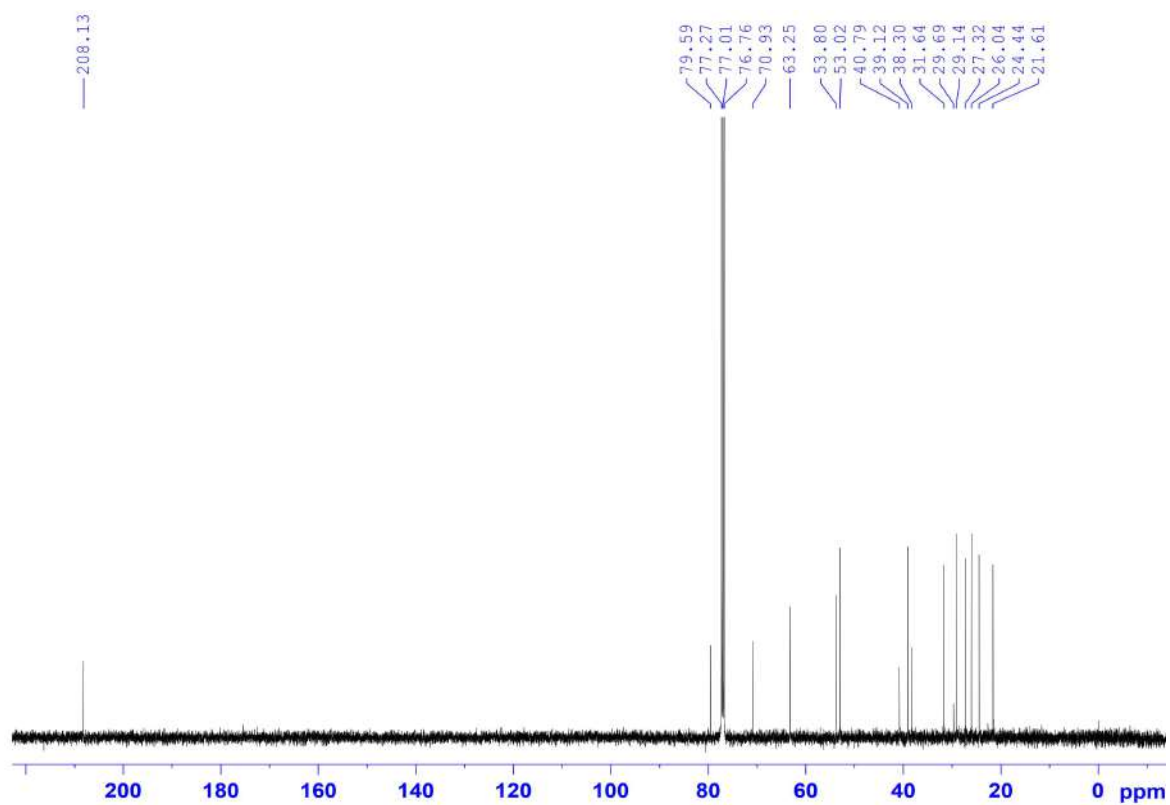
Hình D3.6. Phổ COSY



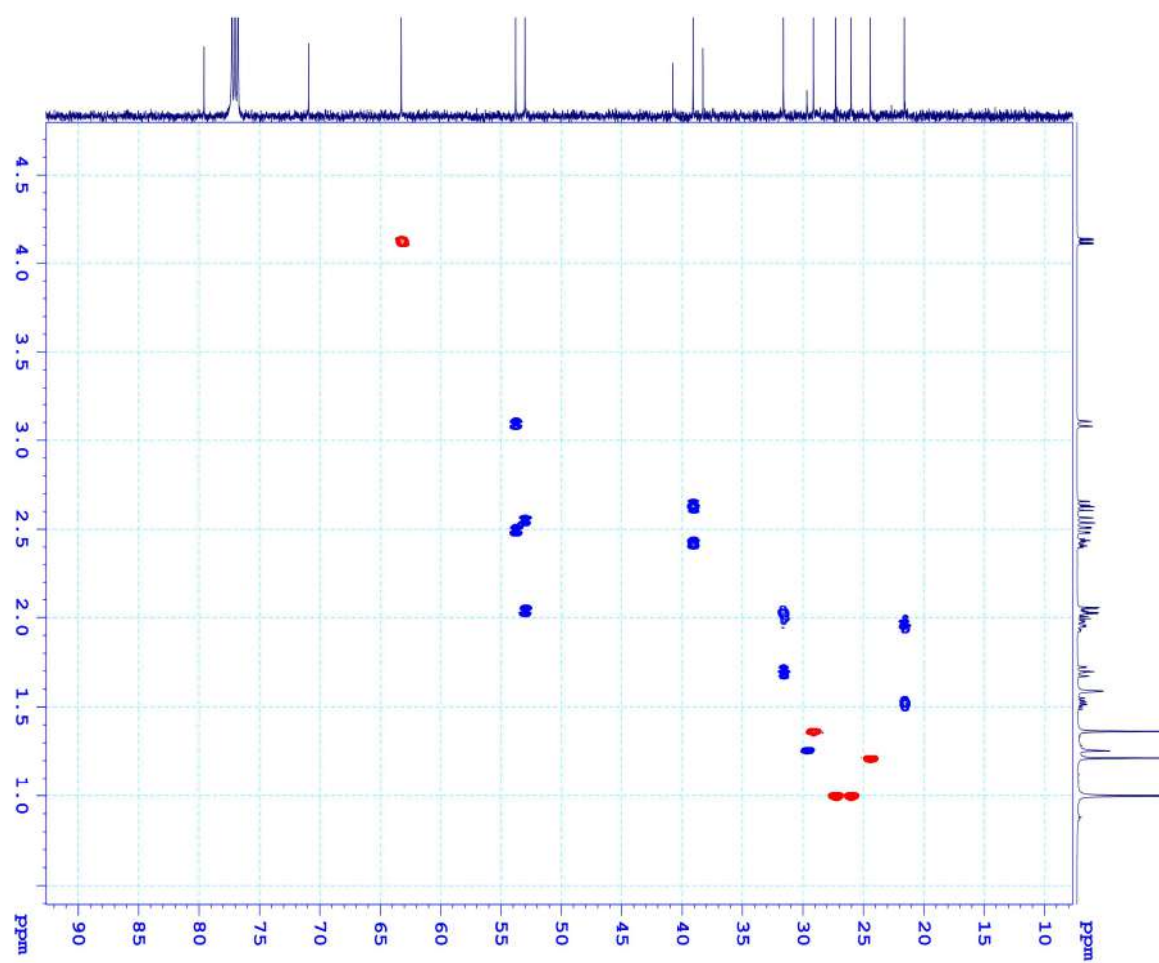
Hình D3.7. Phổ NOESY

1.4. Phổ hợp chất ADA4: (2S,3R,7S,7R)-2-chloro-3,7-epoxychamigrane-9-one

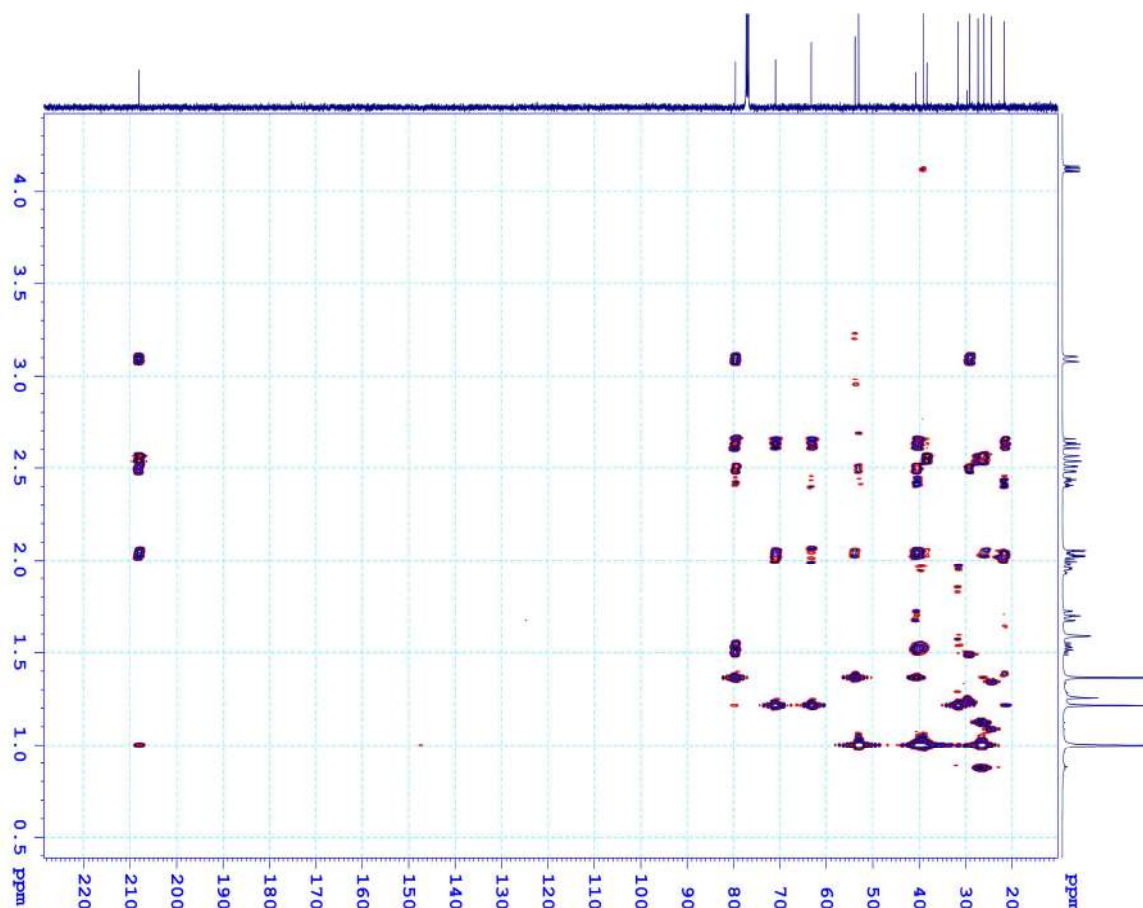
Hình D4.1. Phổ ^1H -NMR



Hình D4.2. Phổ ^{13}C -NMR

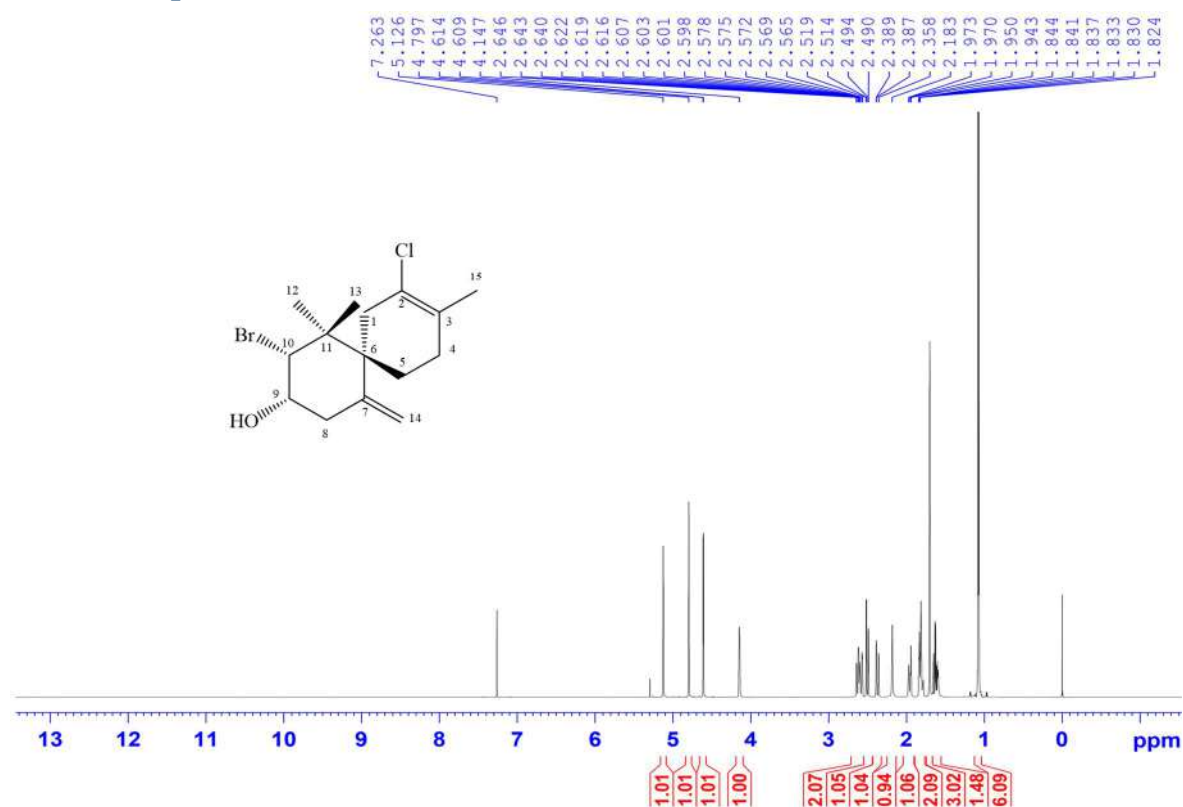


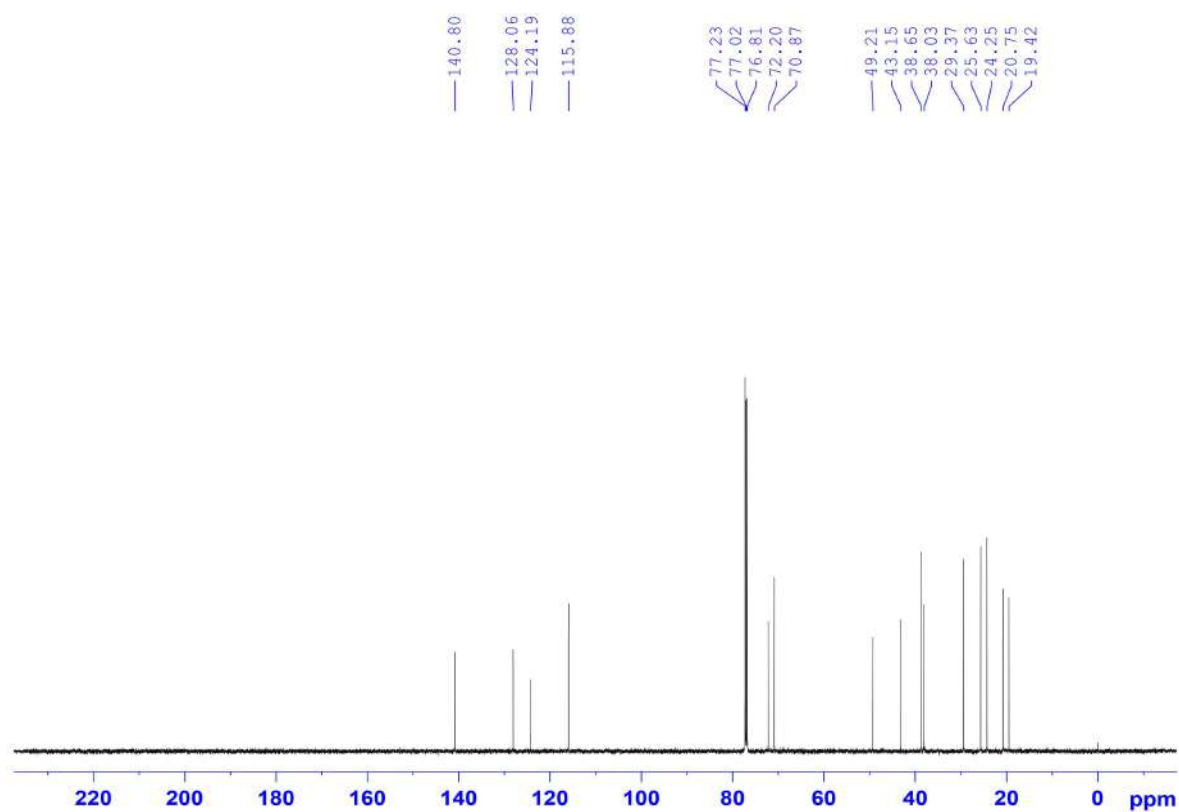
Hình D4.3. Phổ HSQC



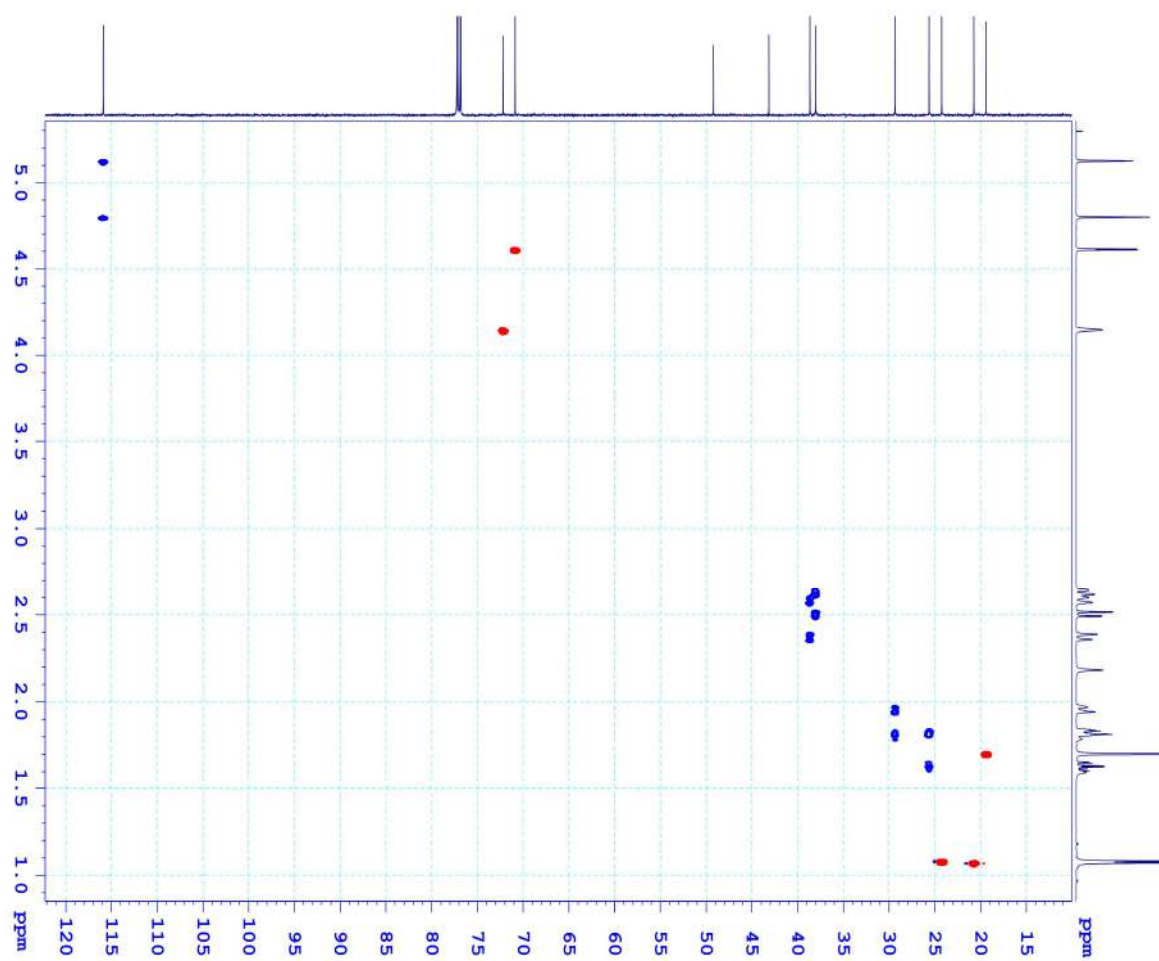
Hình D4.4. Phổ HMBC

1.5. Phổ hợp chất ADB1: Elatol

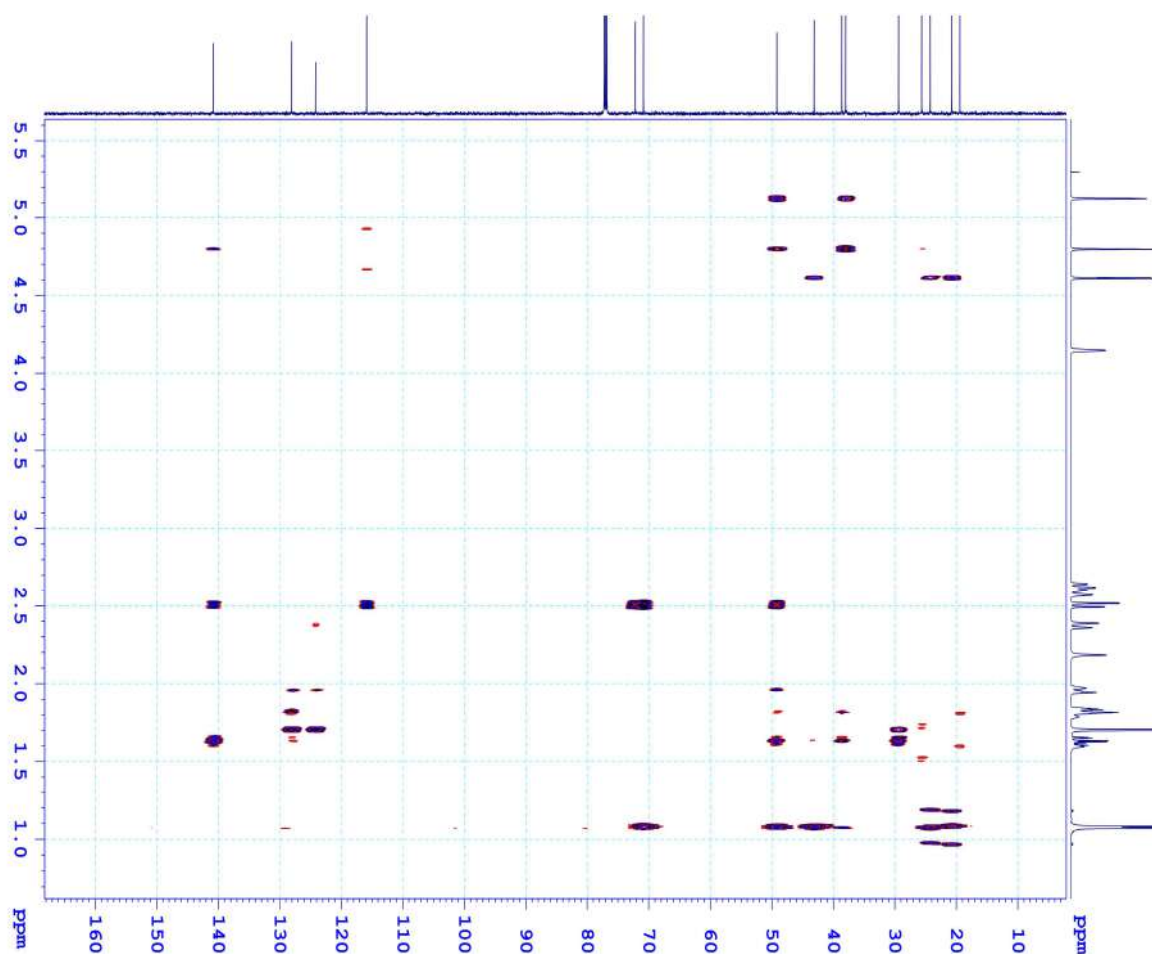
Hình D5.1. Phổ ^1H -NMR



Hình D5.2. Phổ ^{13}C -NMR

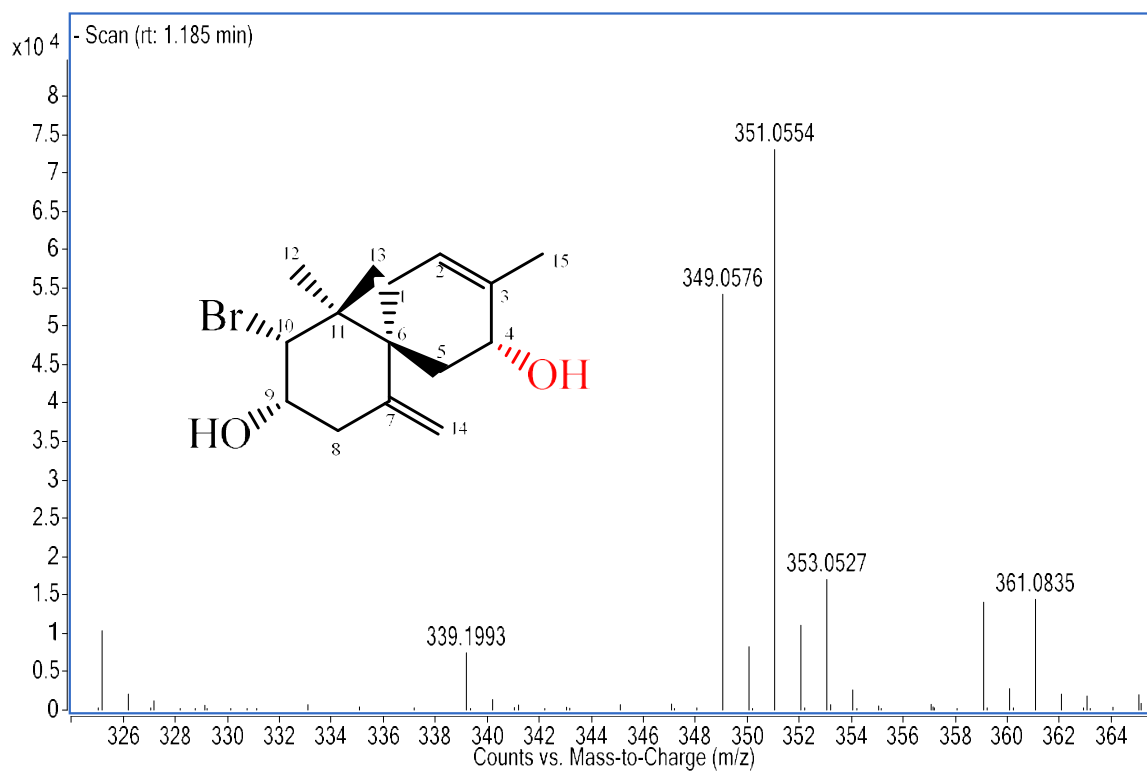


Hình D5.3. Phổ HSQC

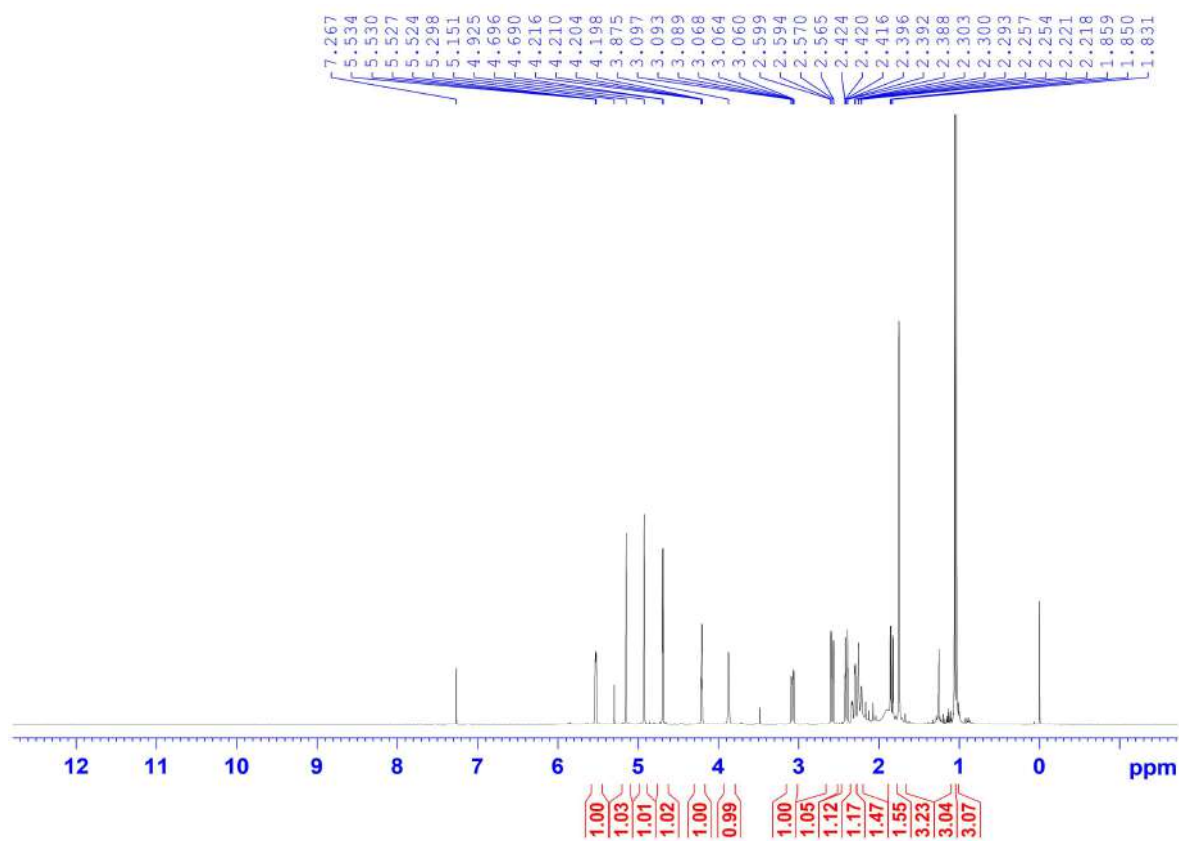
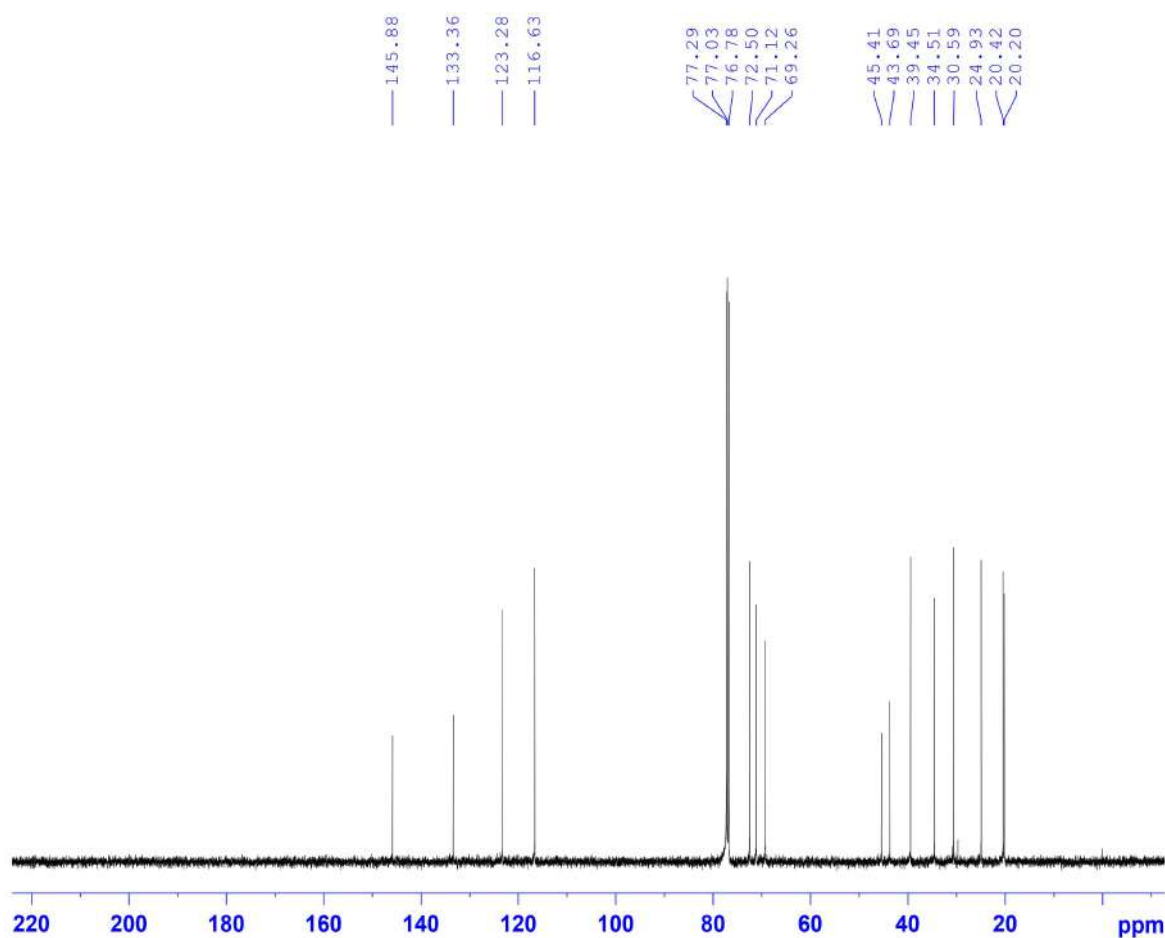


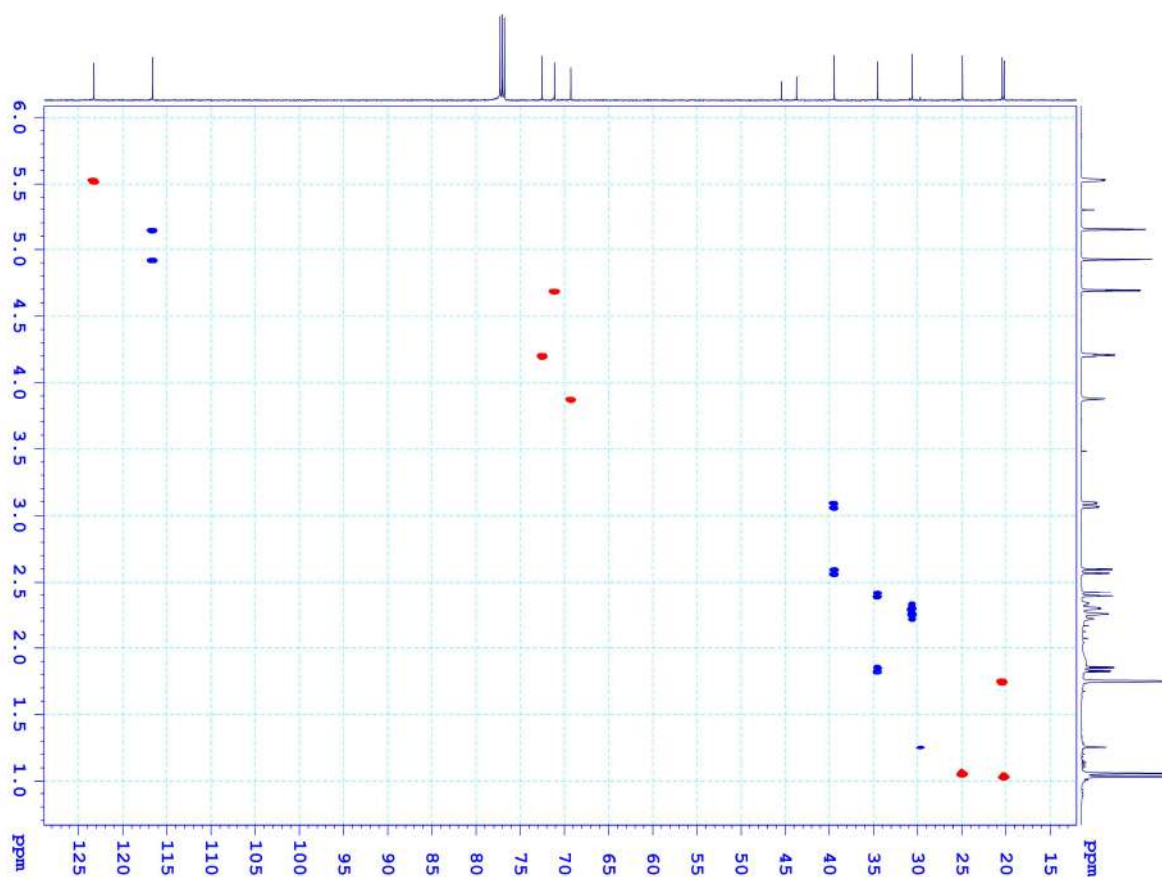
Hình D5.4. Phổ HMBC

1.6. Phổ hợp chất ADB2: *Aplydactylonin I* (chất mới)

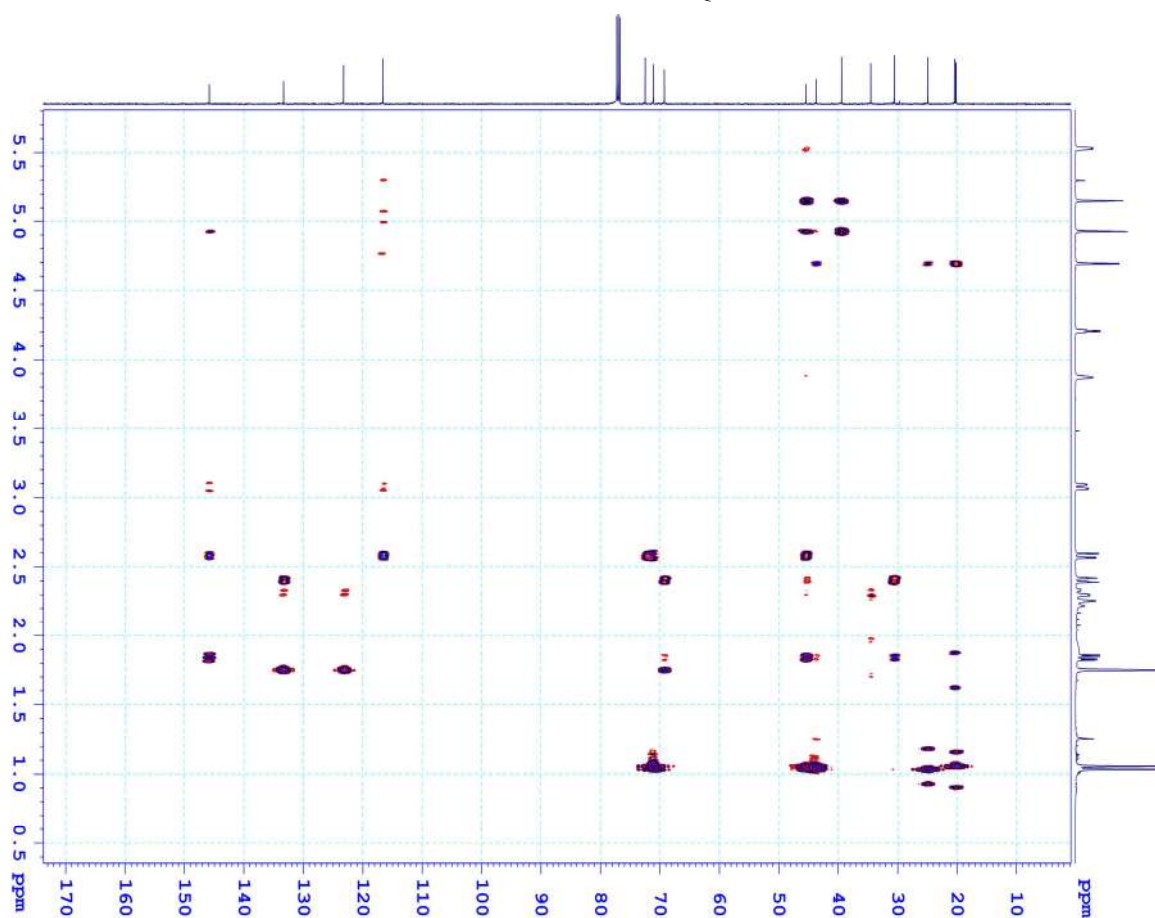


Hình P6.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

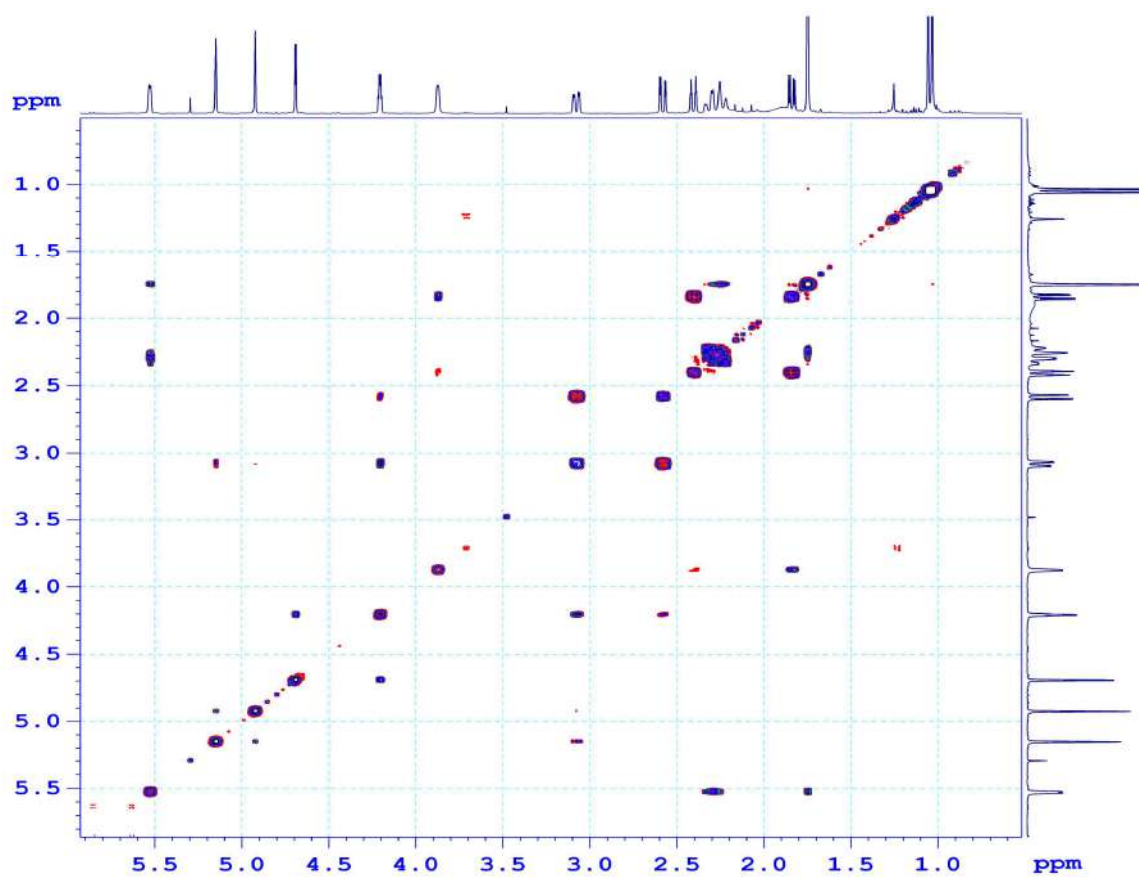
Hình D6.2. Phổ ^1H -NMRHình D6.3. Phổ ^{13}C -NMR



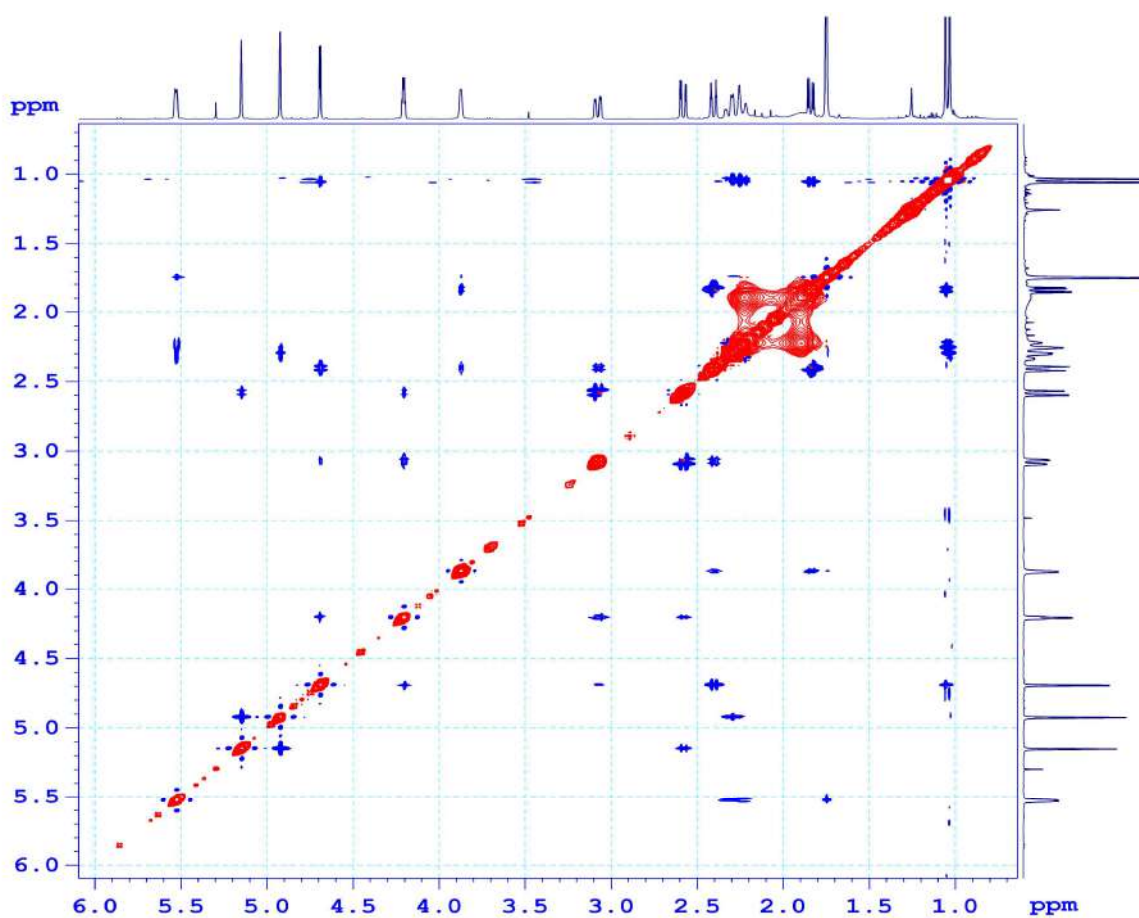
Hình D6.4. Phổ HSQC



Hình D6.5. Phổ HMBC

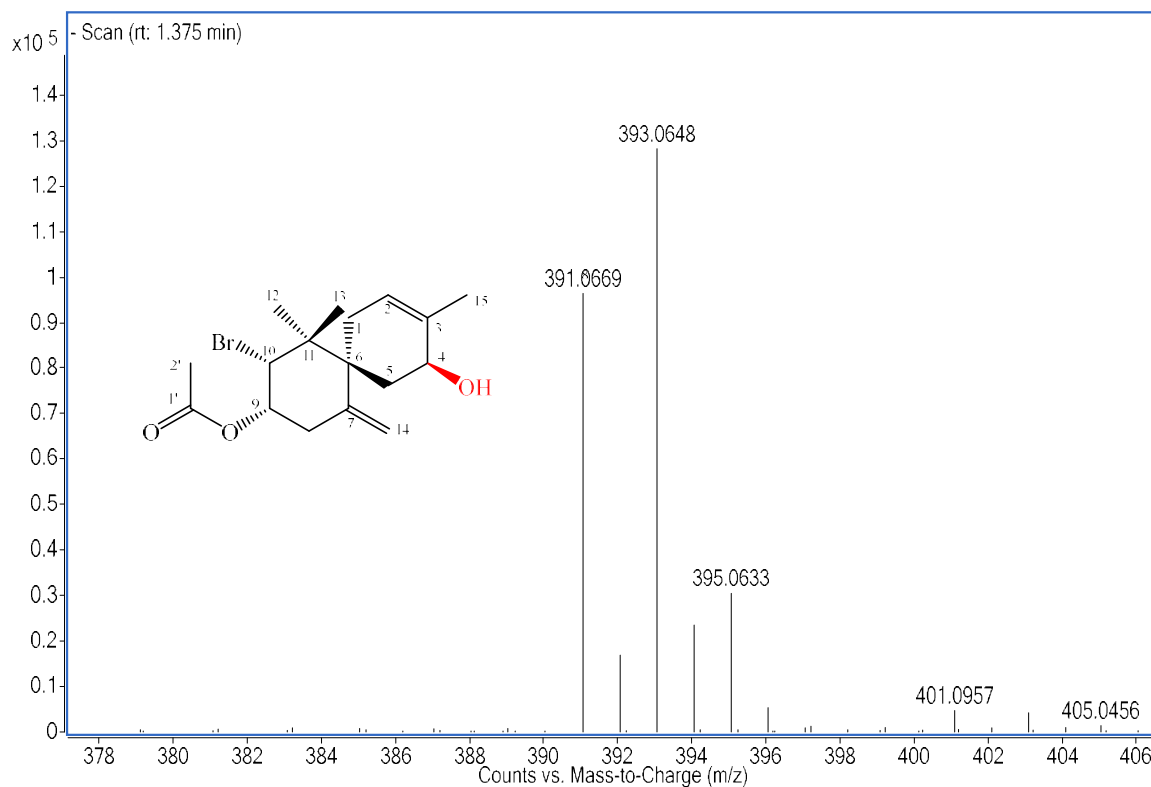


Hình D6.6. Phổ COSY

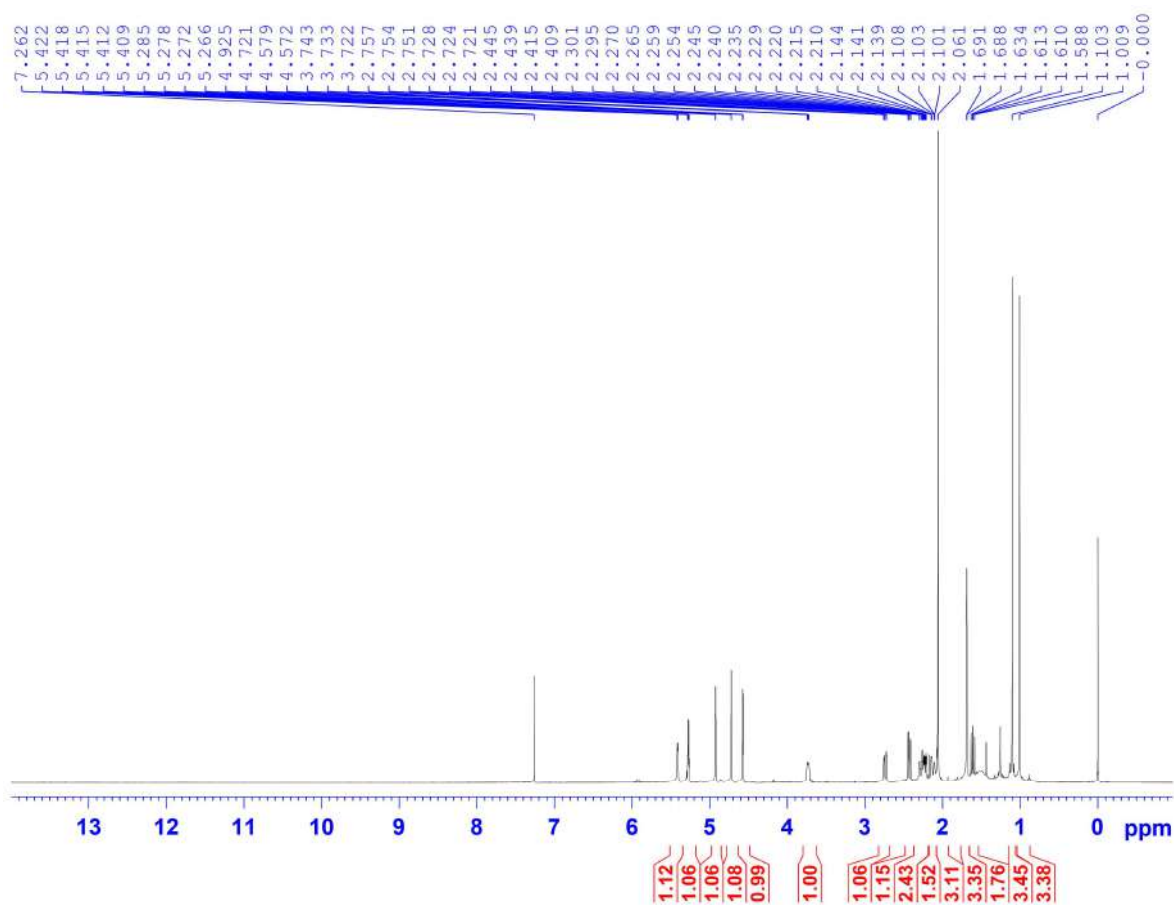


Hình D6.7. Phổ NOESY

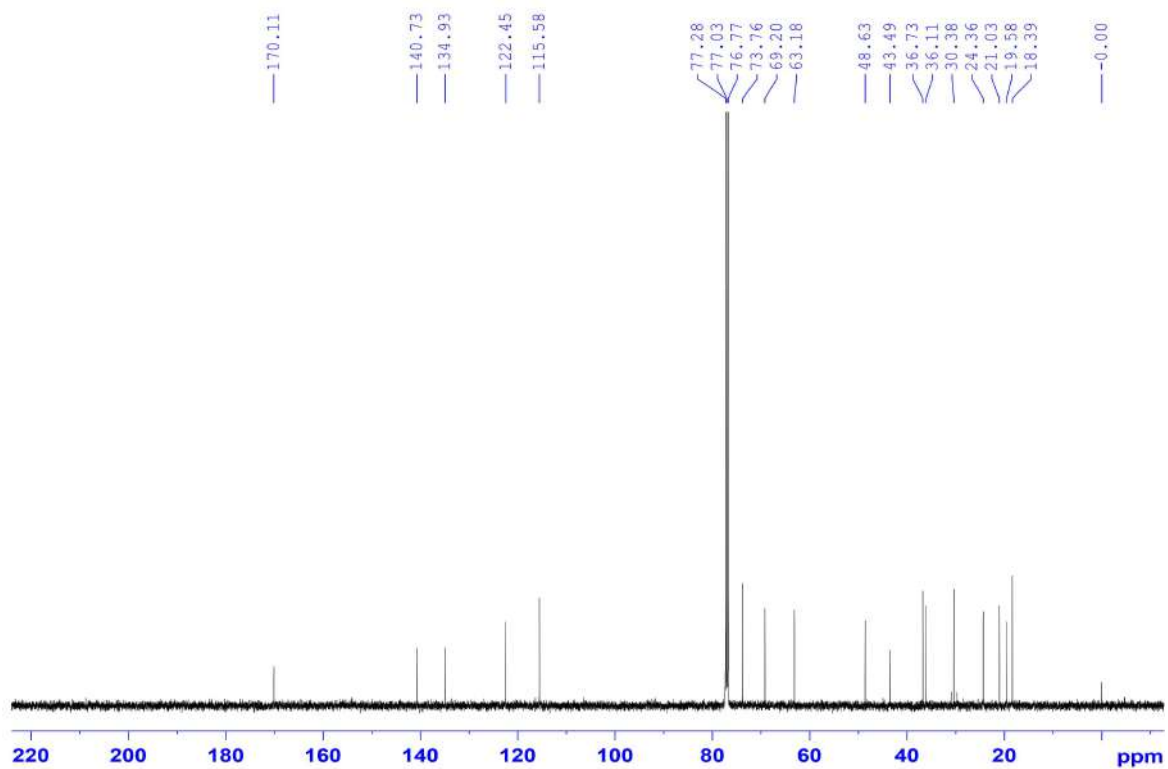
1.7. Phổ hợp chất ADB4: Aplydactylonin K (chất mới)



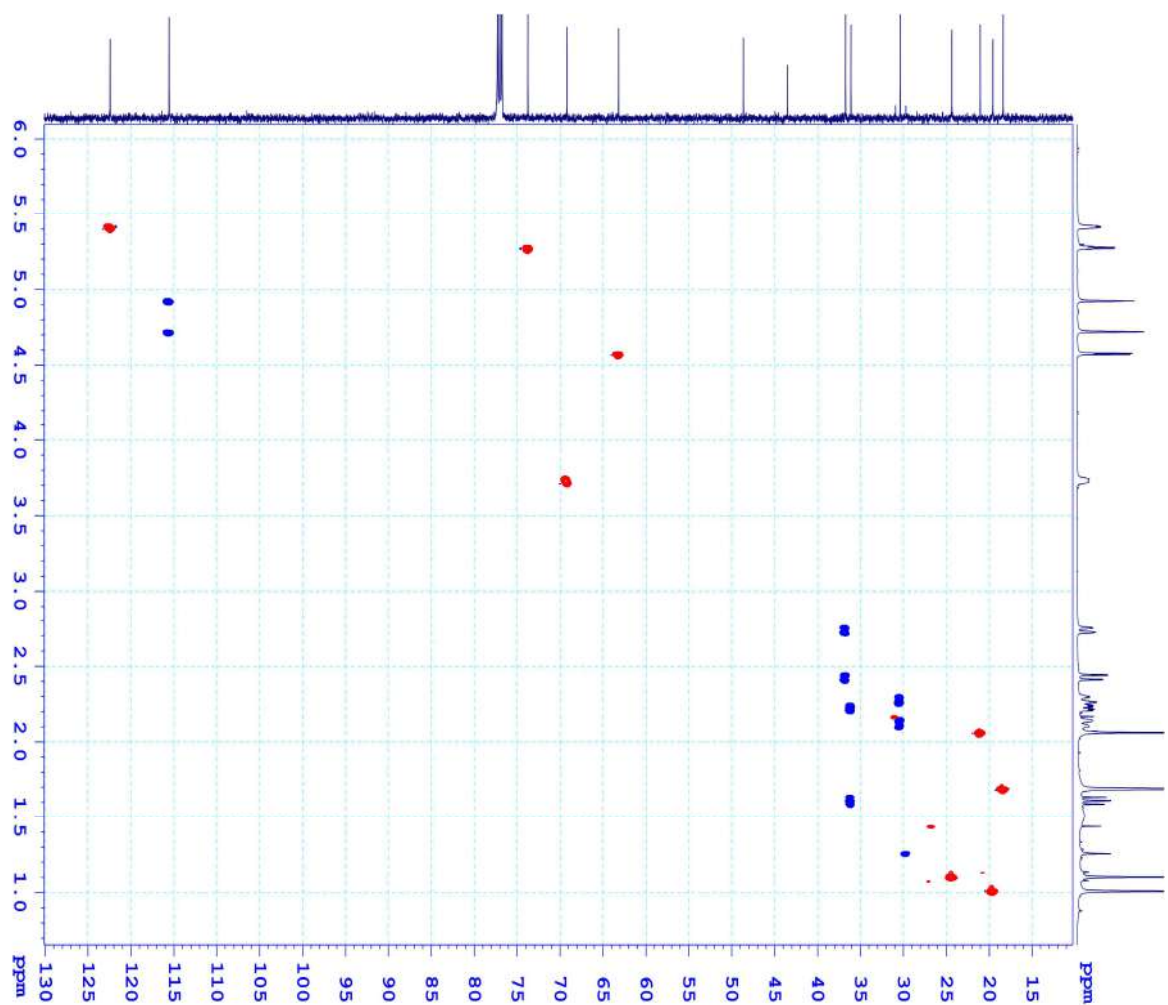
Hình D7.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



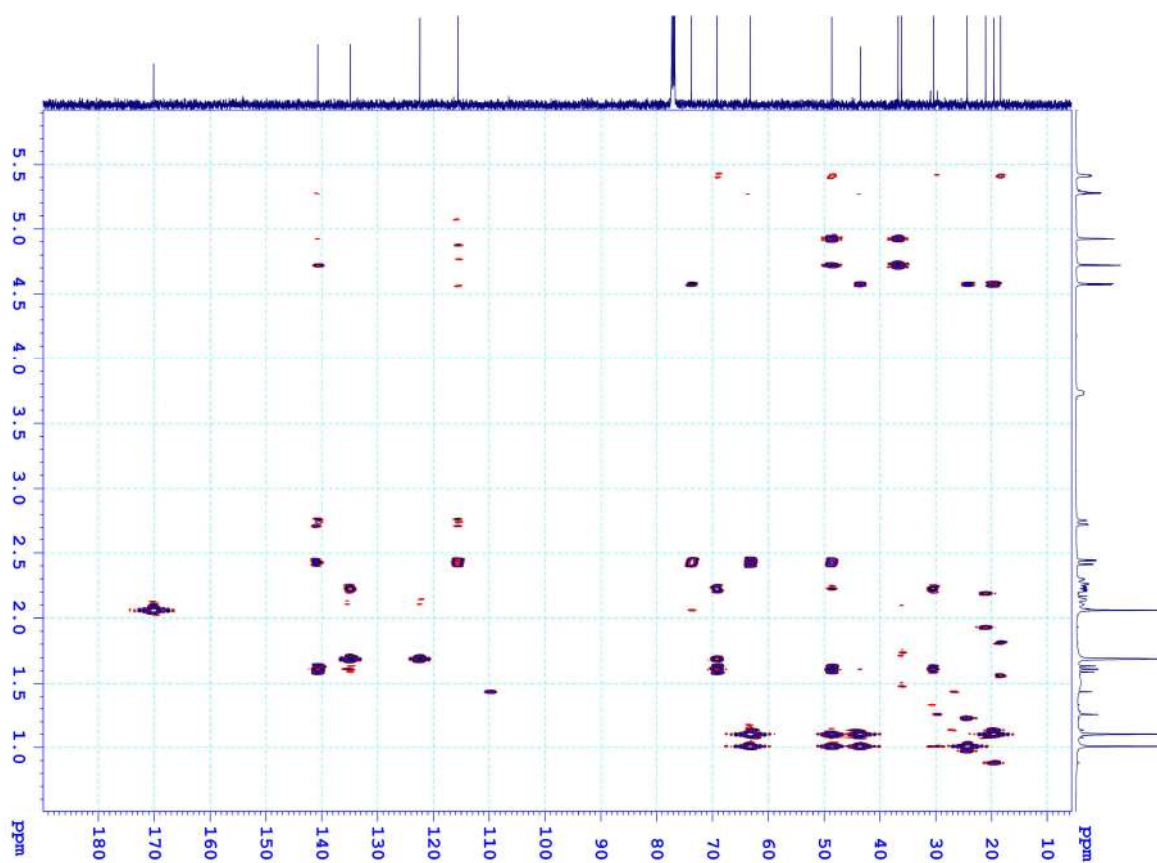
Hình D7.2. Phổ ¹H-NMR



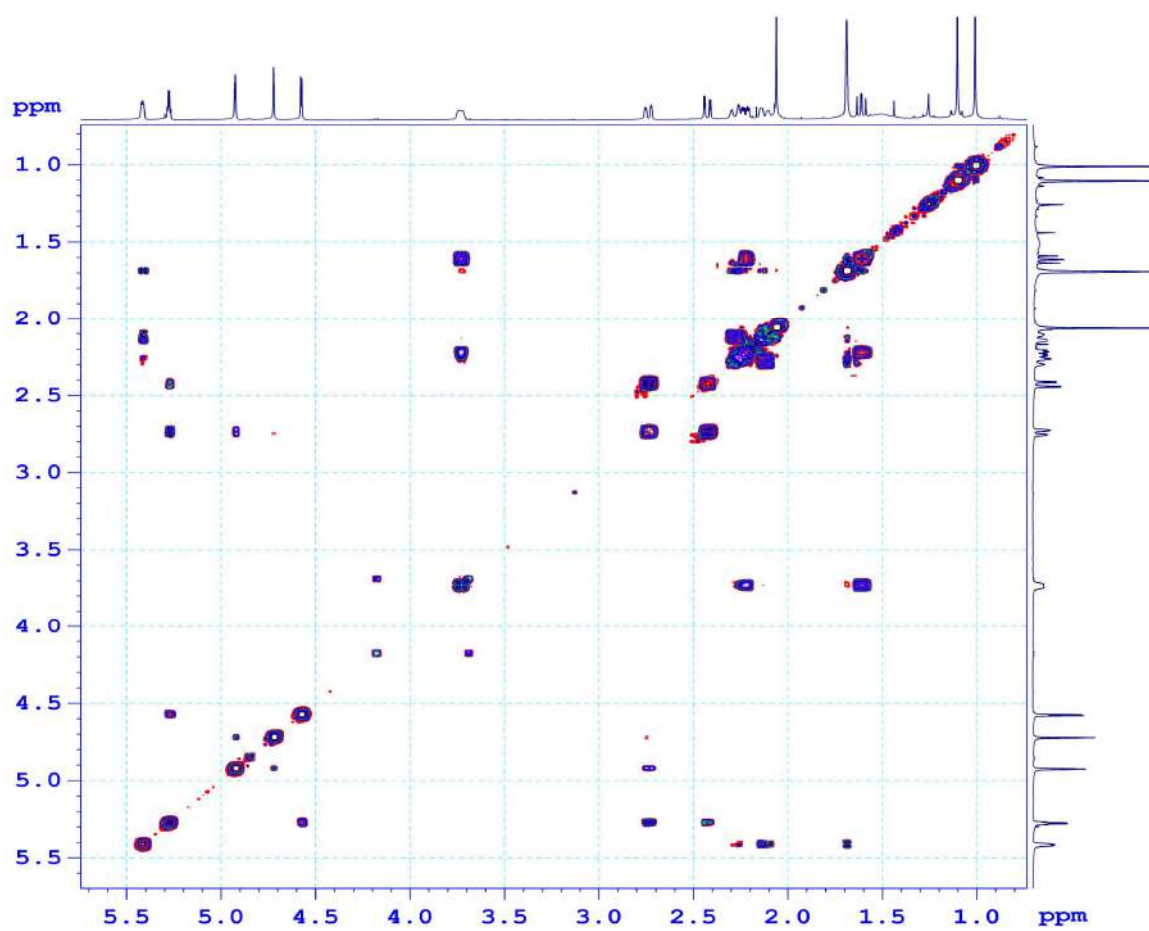
Hình D7.3. Phổ ^{13}C -NMR



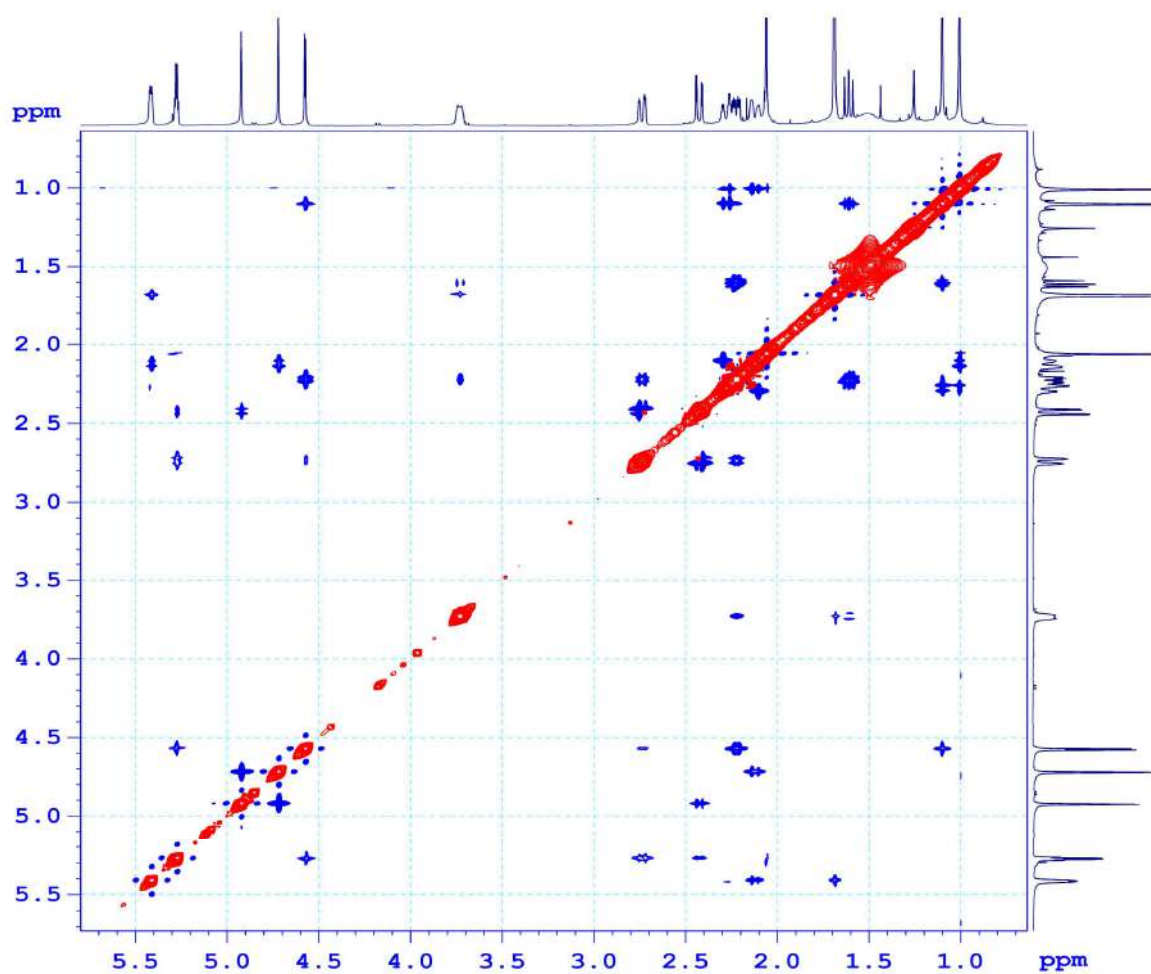
Hình D7.4. Phô HSQC



Hình D7.5. Phổ HMBC

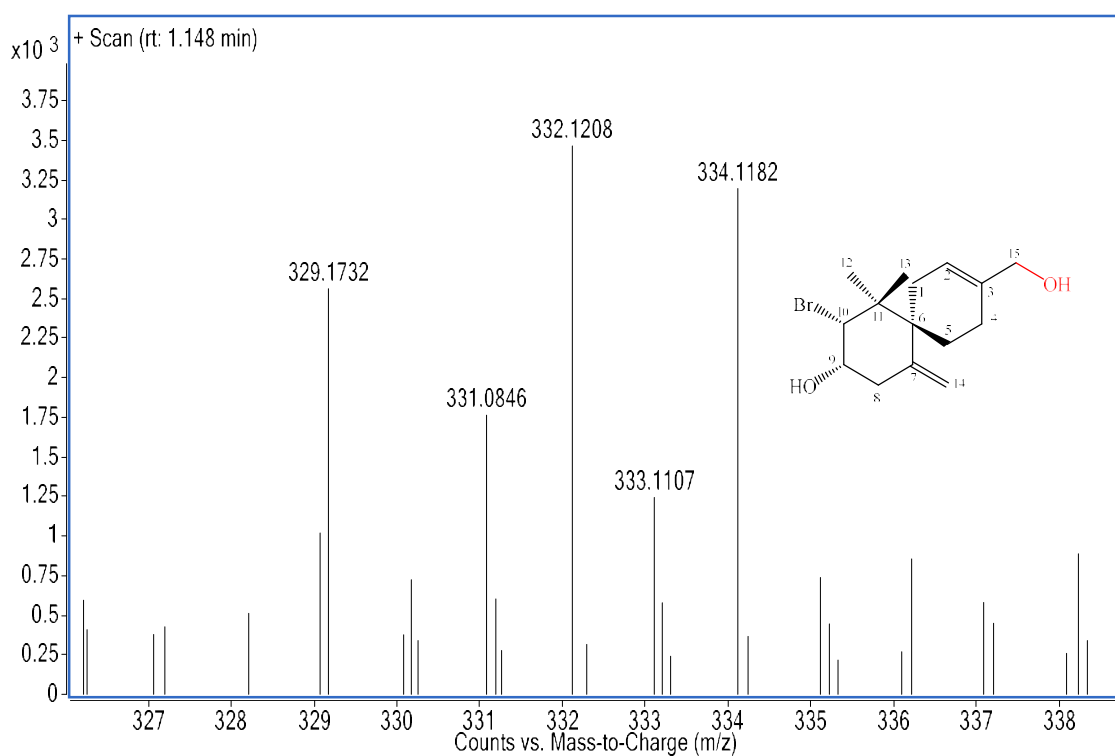


Hình D7.6. Phổ COSY

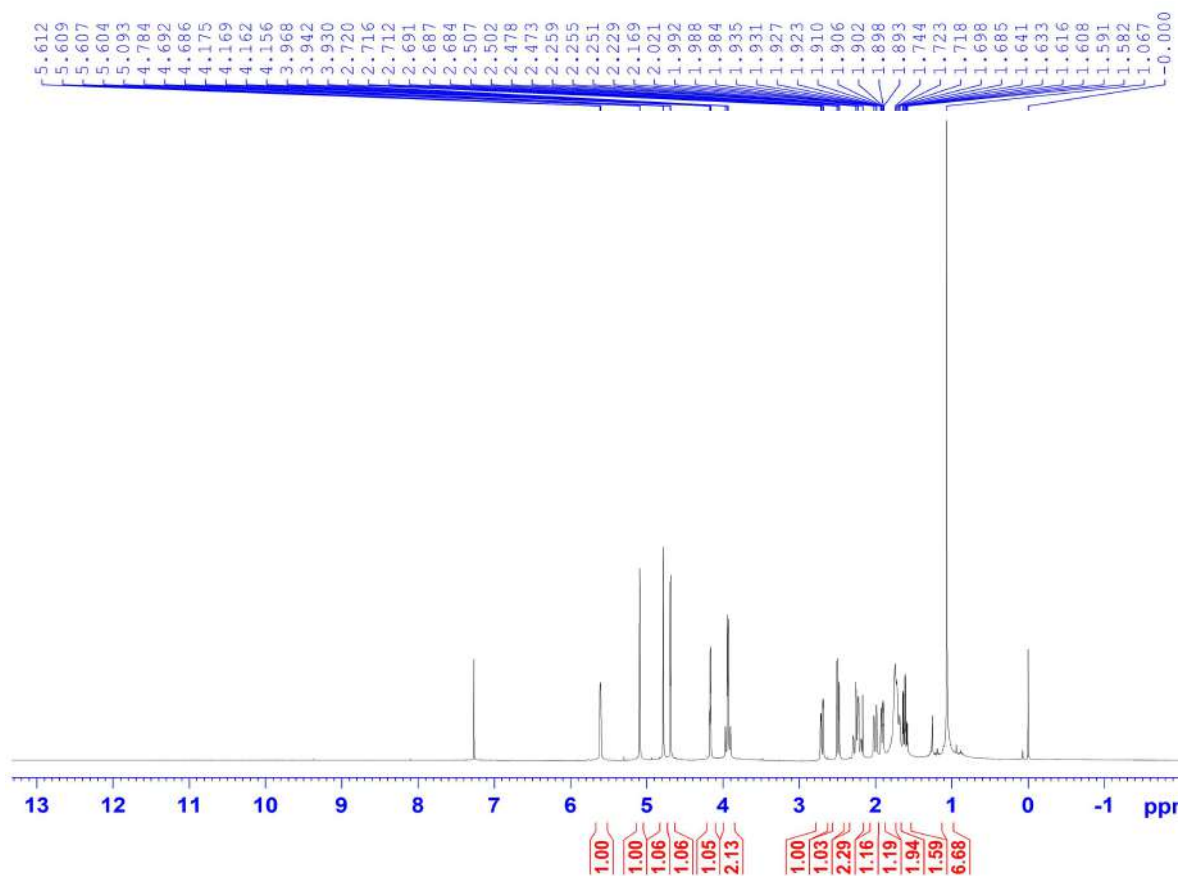
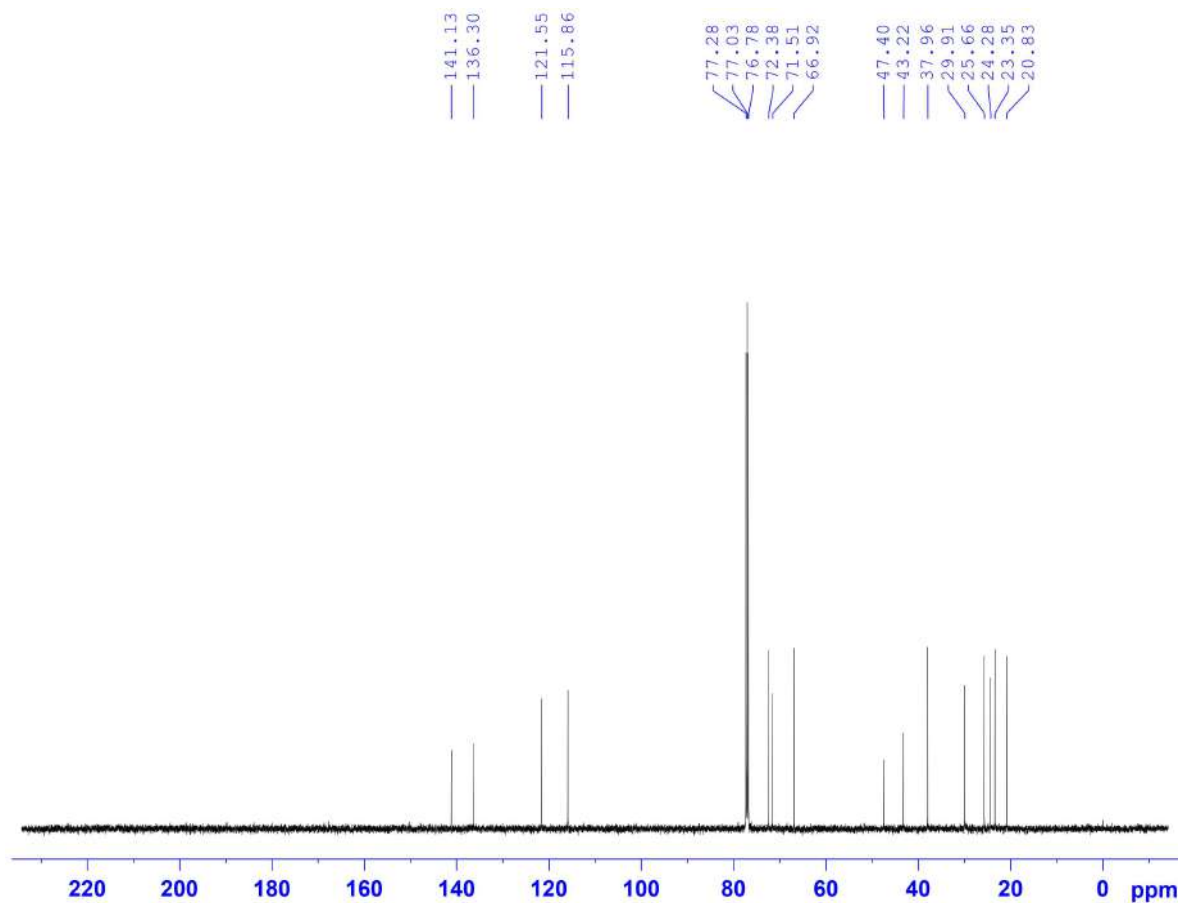


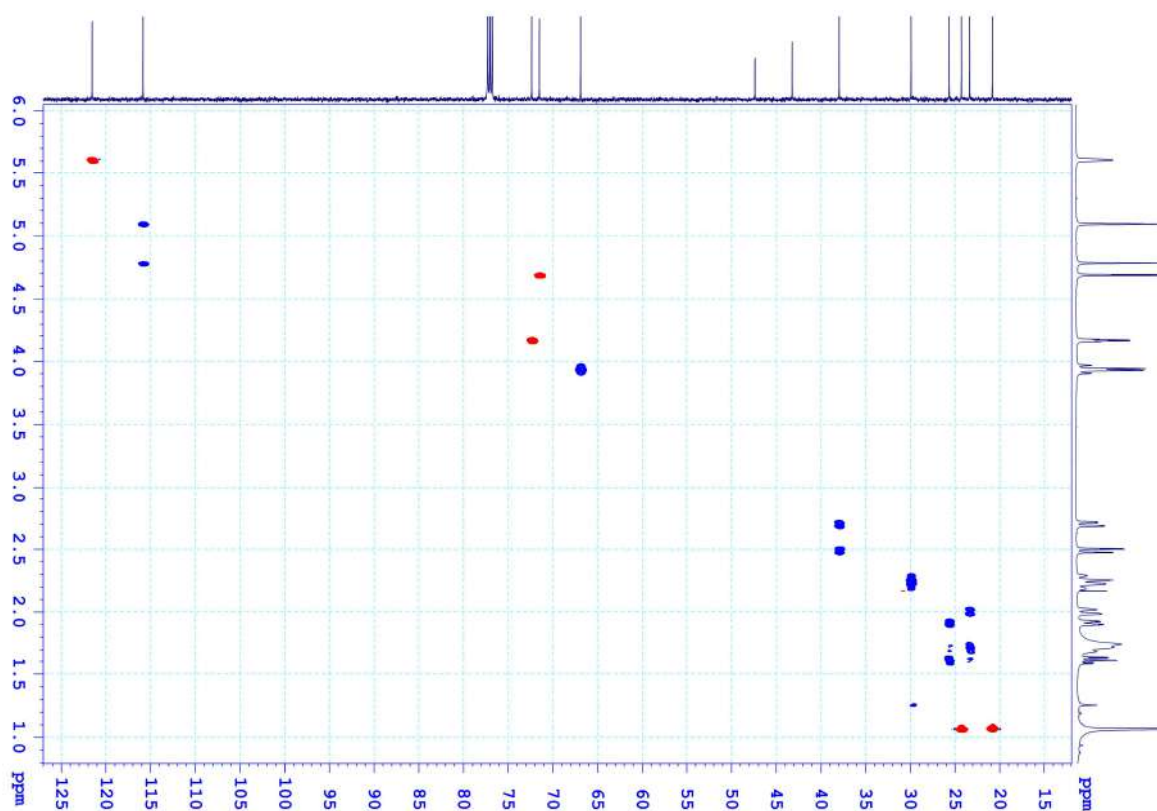
Hình D7.7. Phổ NOESY

1.8. Phổ hợp chất ADB4: Aplydactylonin G (chất mới)

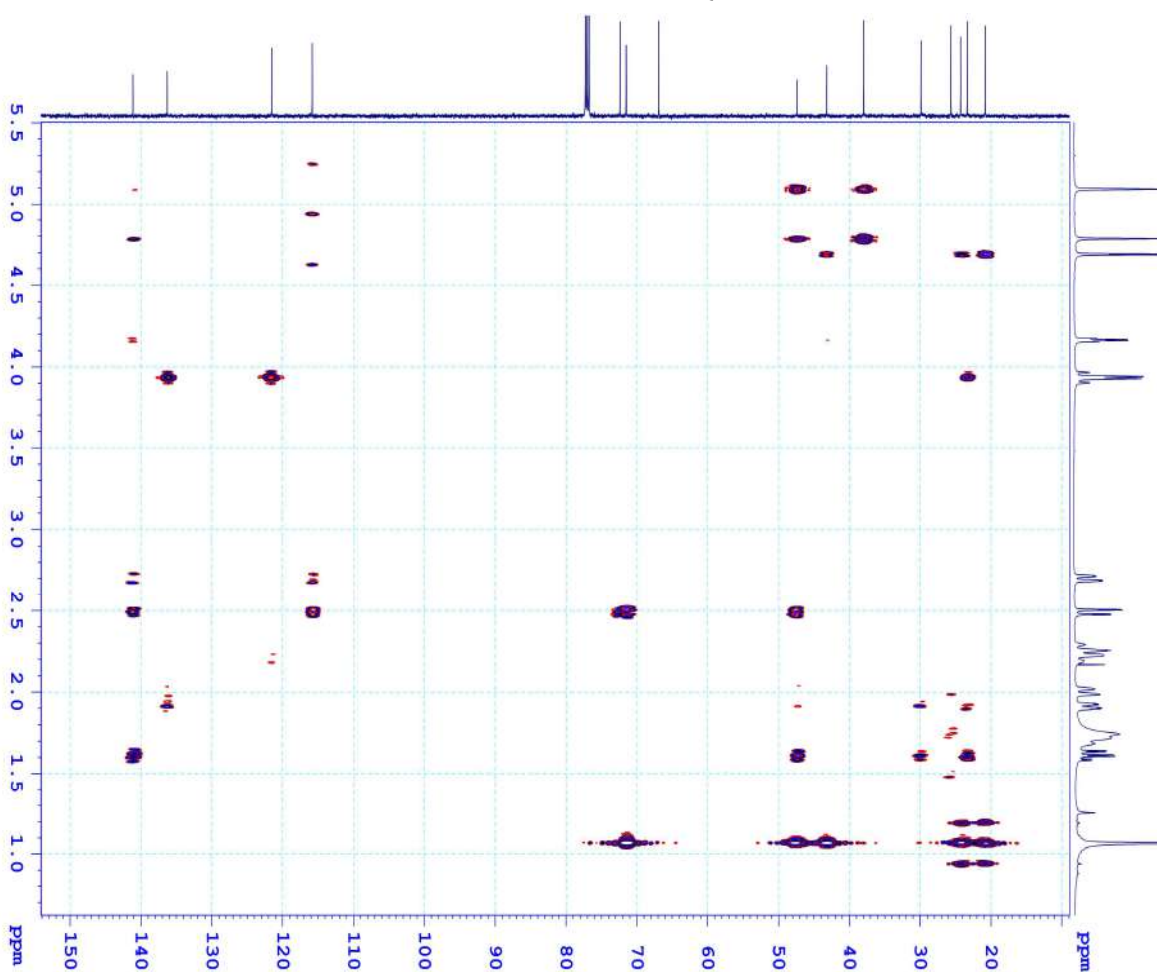


Hình D8.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

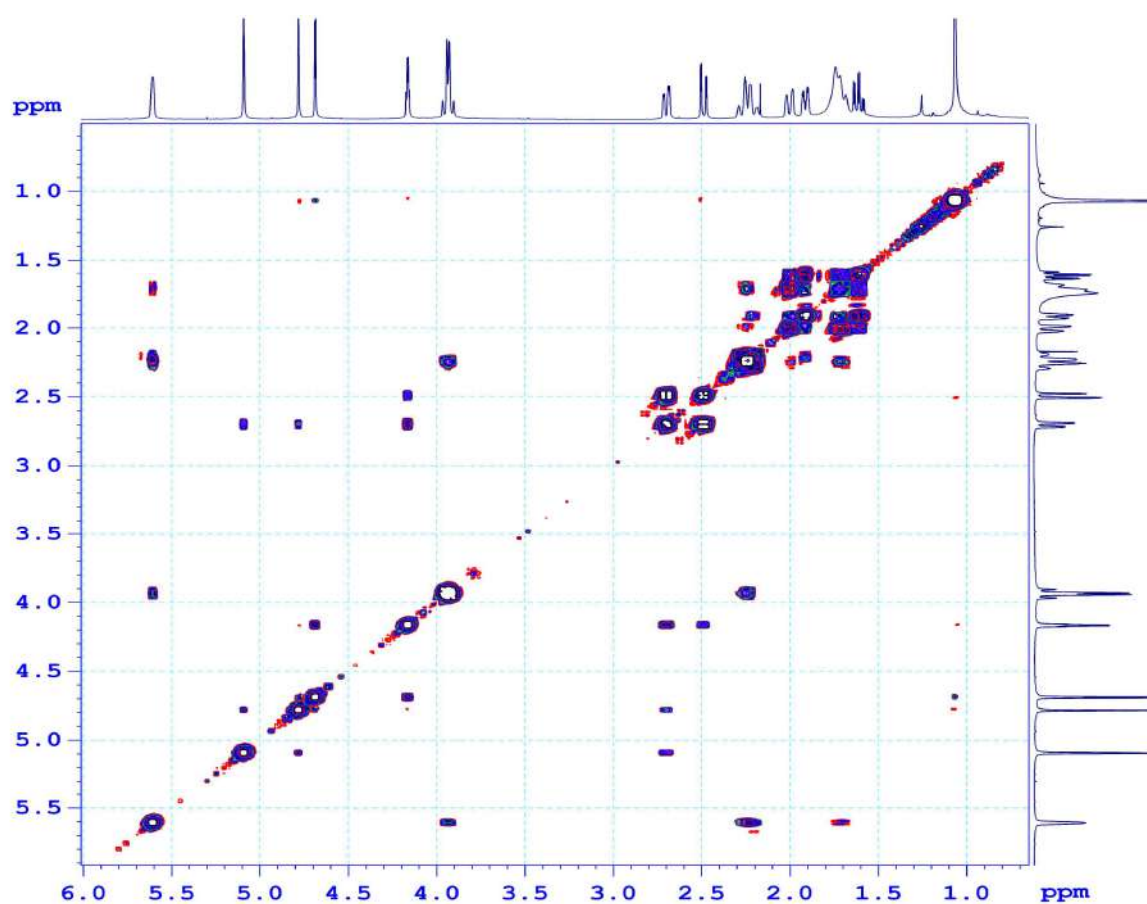
Hình D8.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ Hình D8.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$



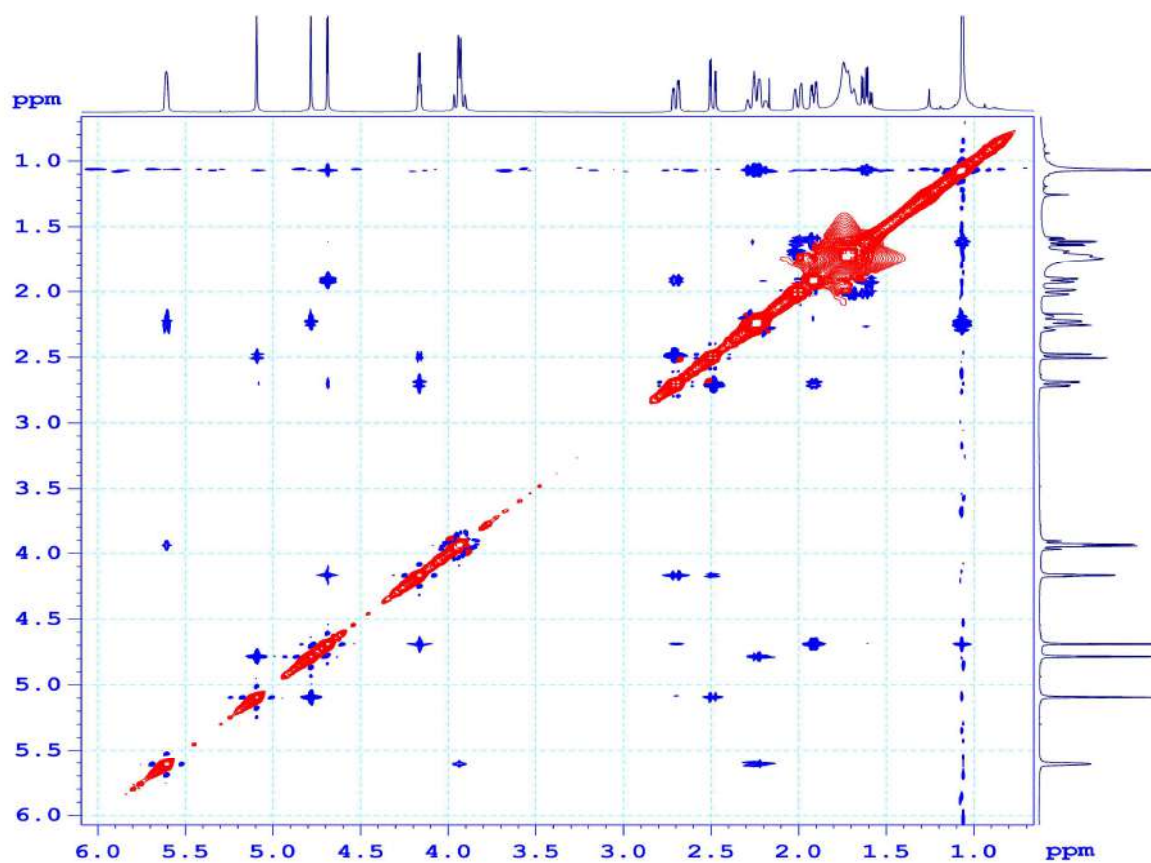
Hình D8.4. Phổ HSQC



Hình D8.5. Phổ HMBC

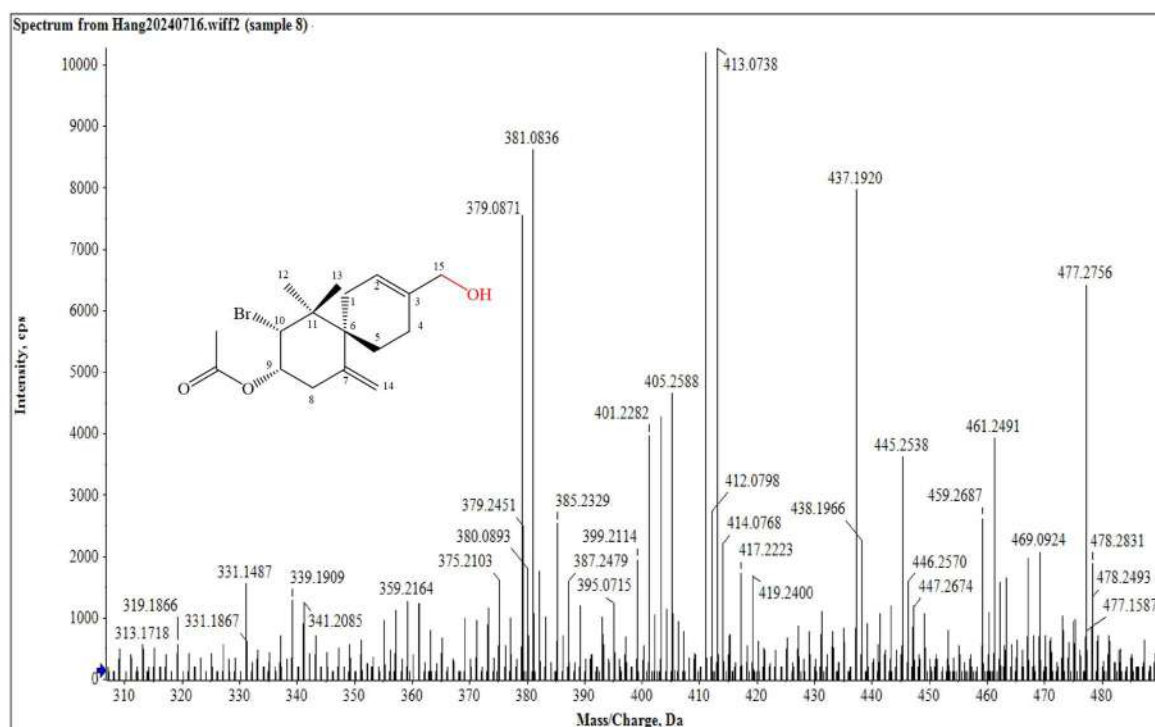


Hình D8.6. Phổ COSY

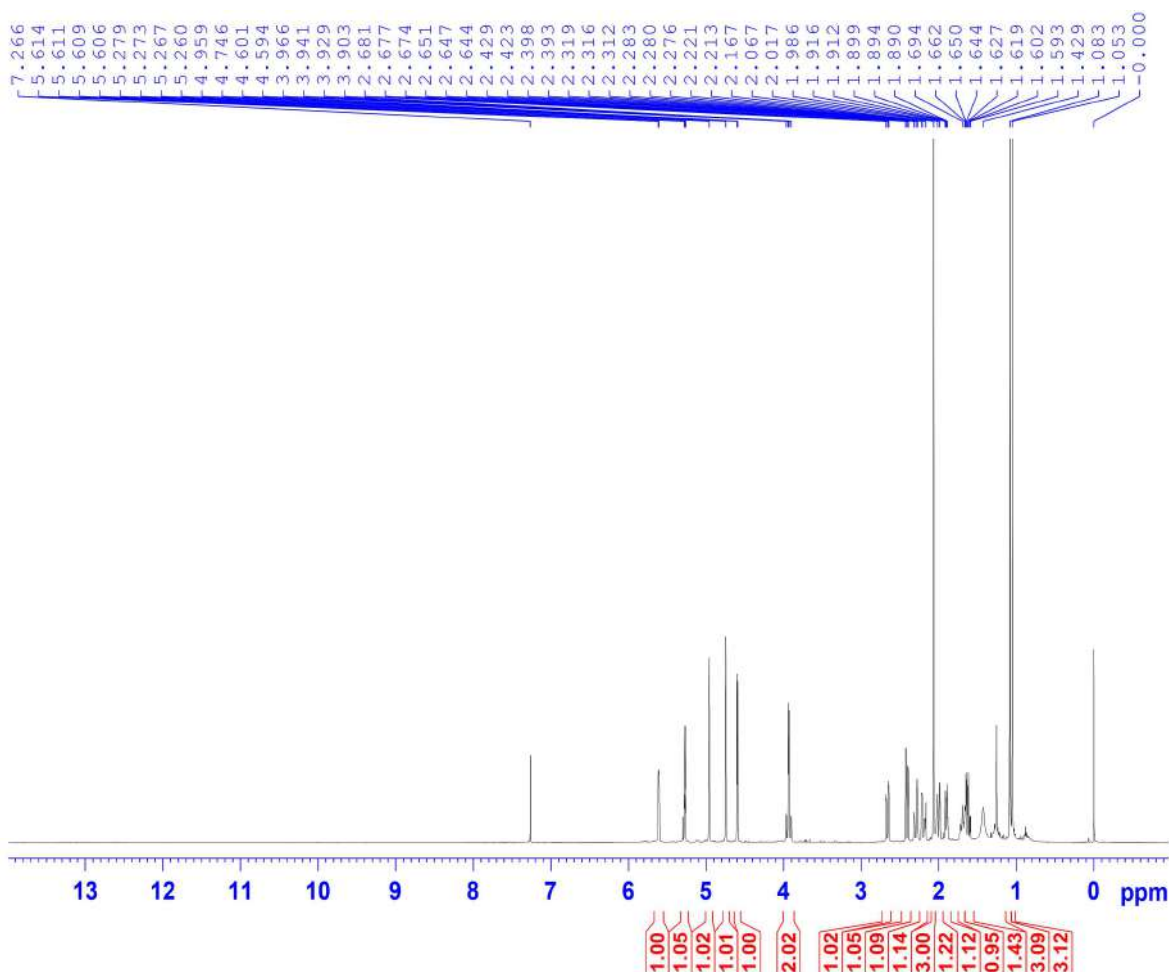


Hình D8.7. Phổ NOESY

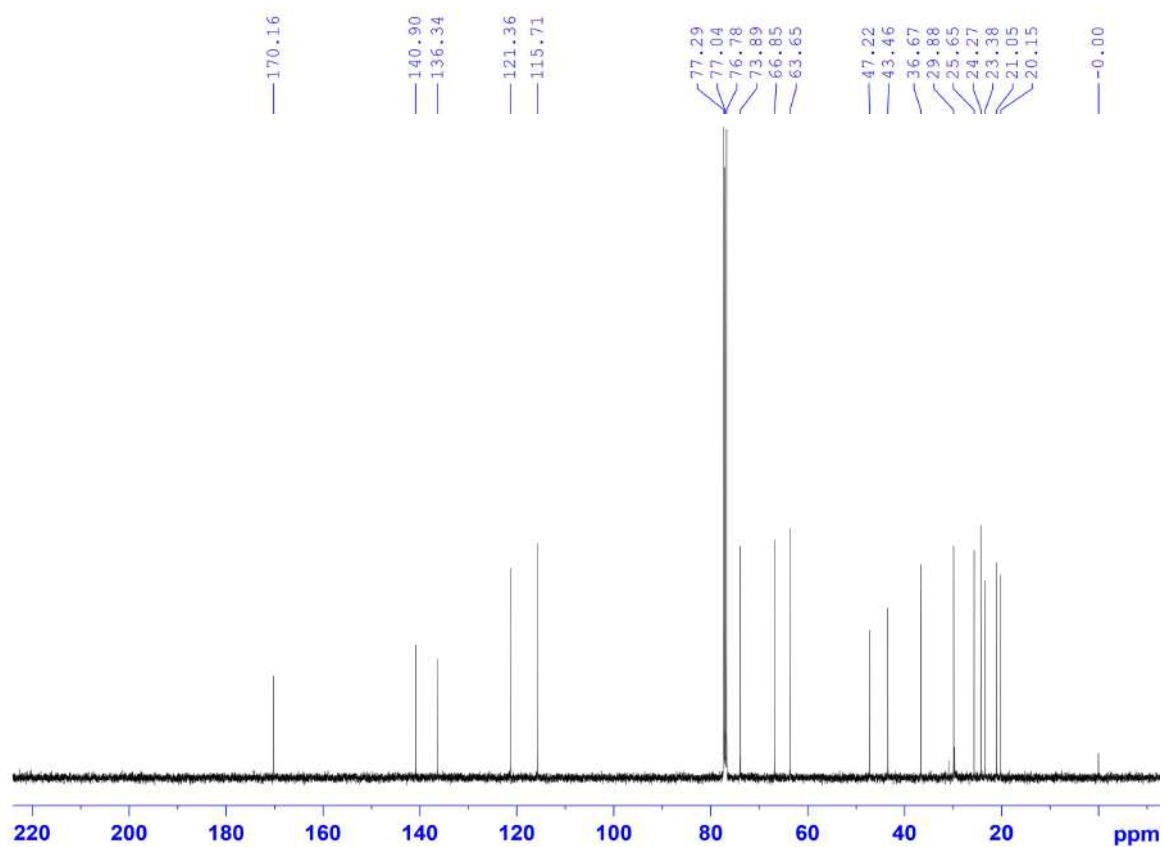
1.9. Phổ hợp chất ADB5: Aplydactylonin H (chất mới)



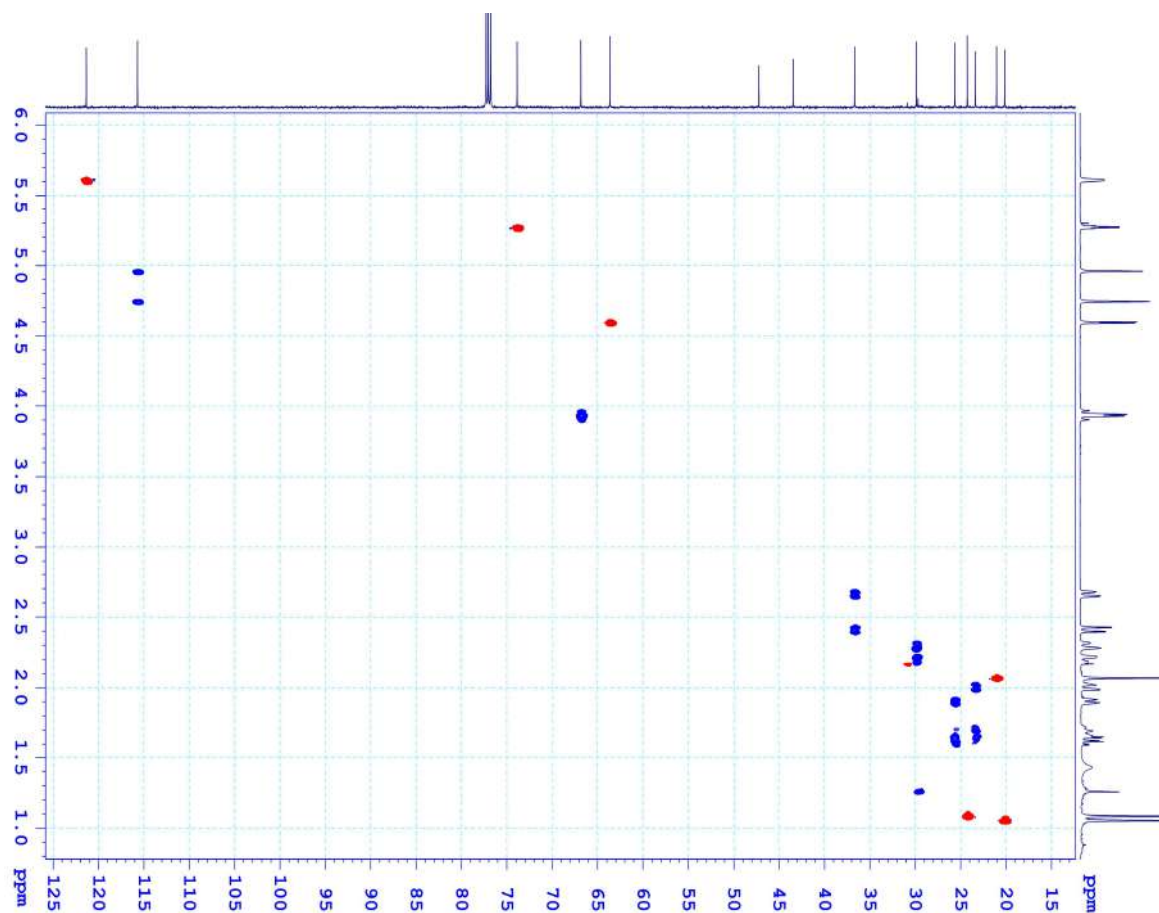
Hình D9.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



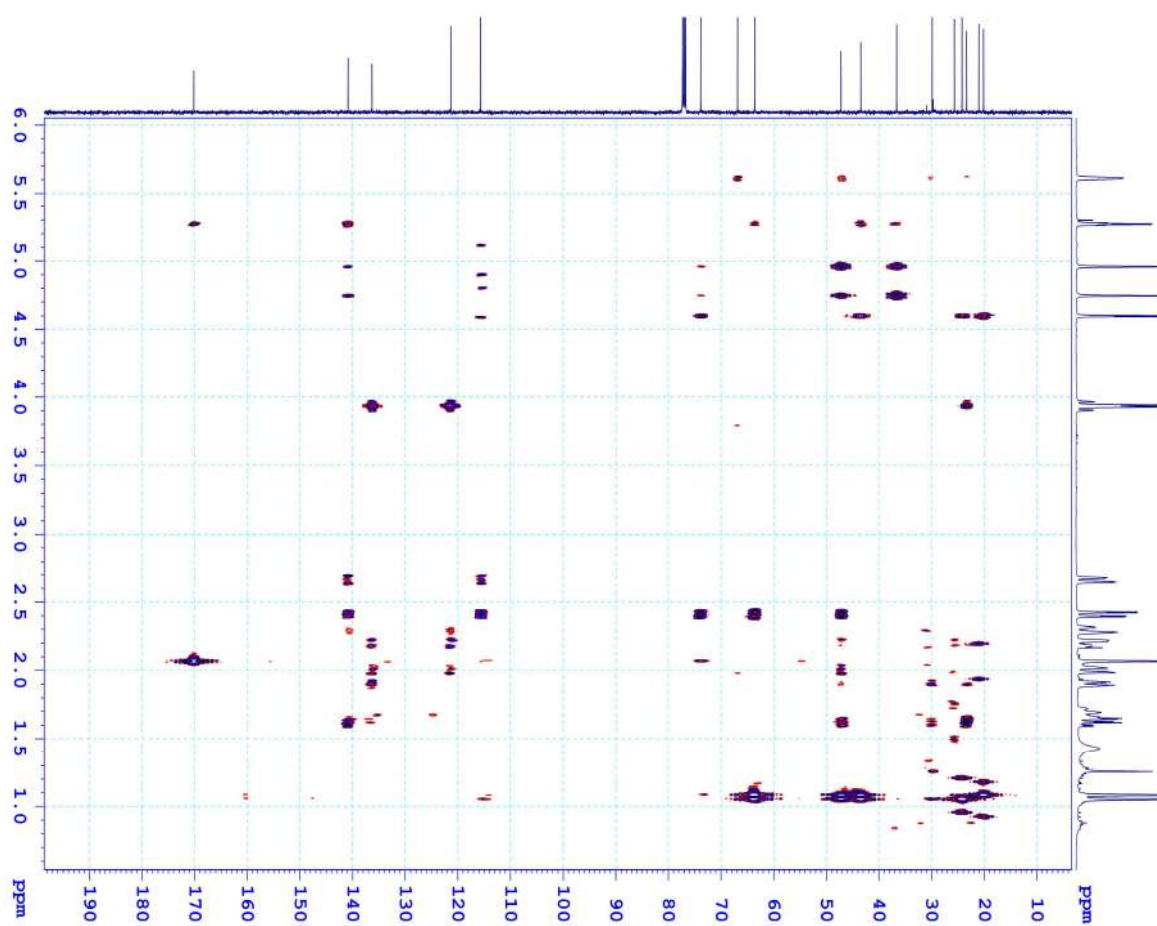
Hình D9.2. Phổ ¹H-NMR



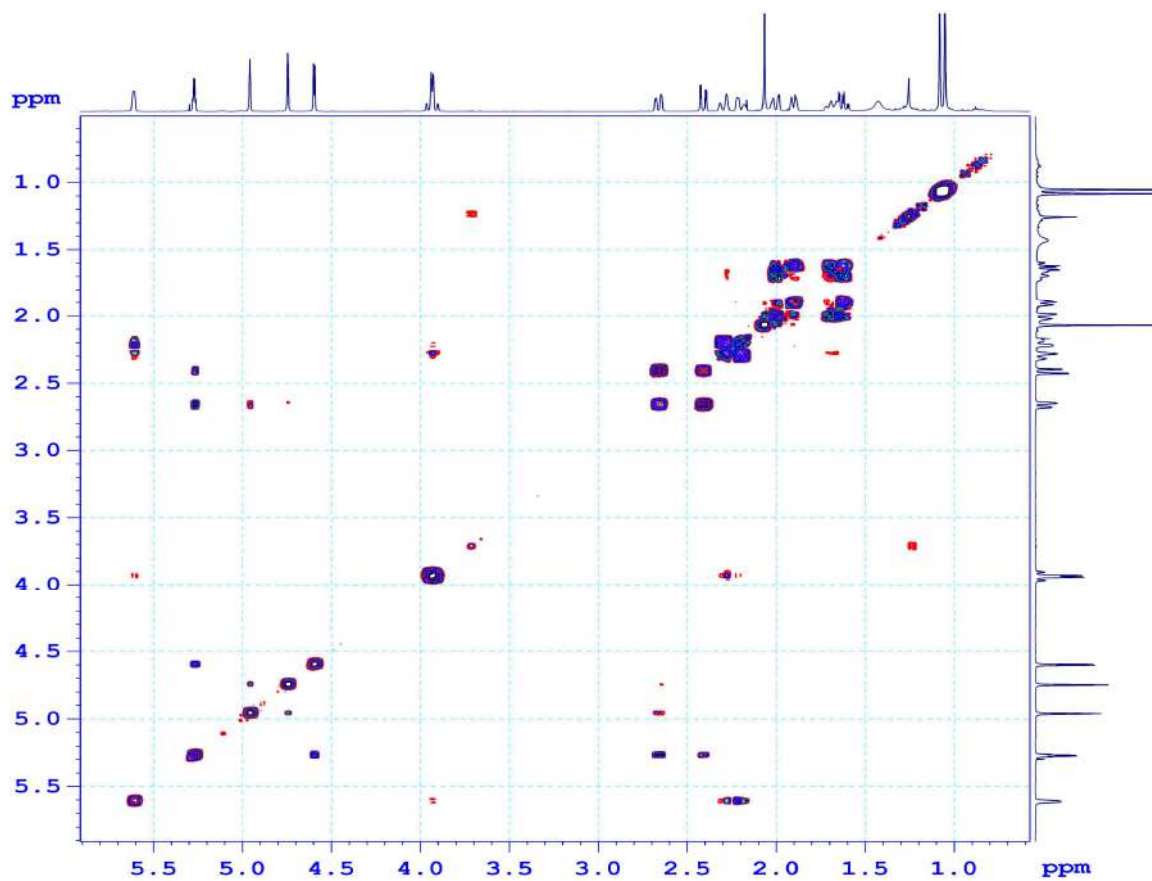
Hình D9.3. Phổ ^{13}C -NMR



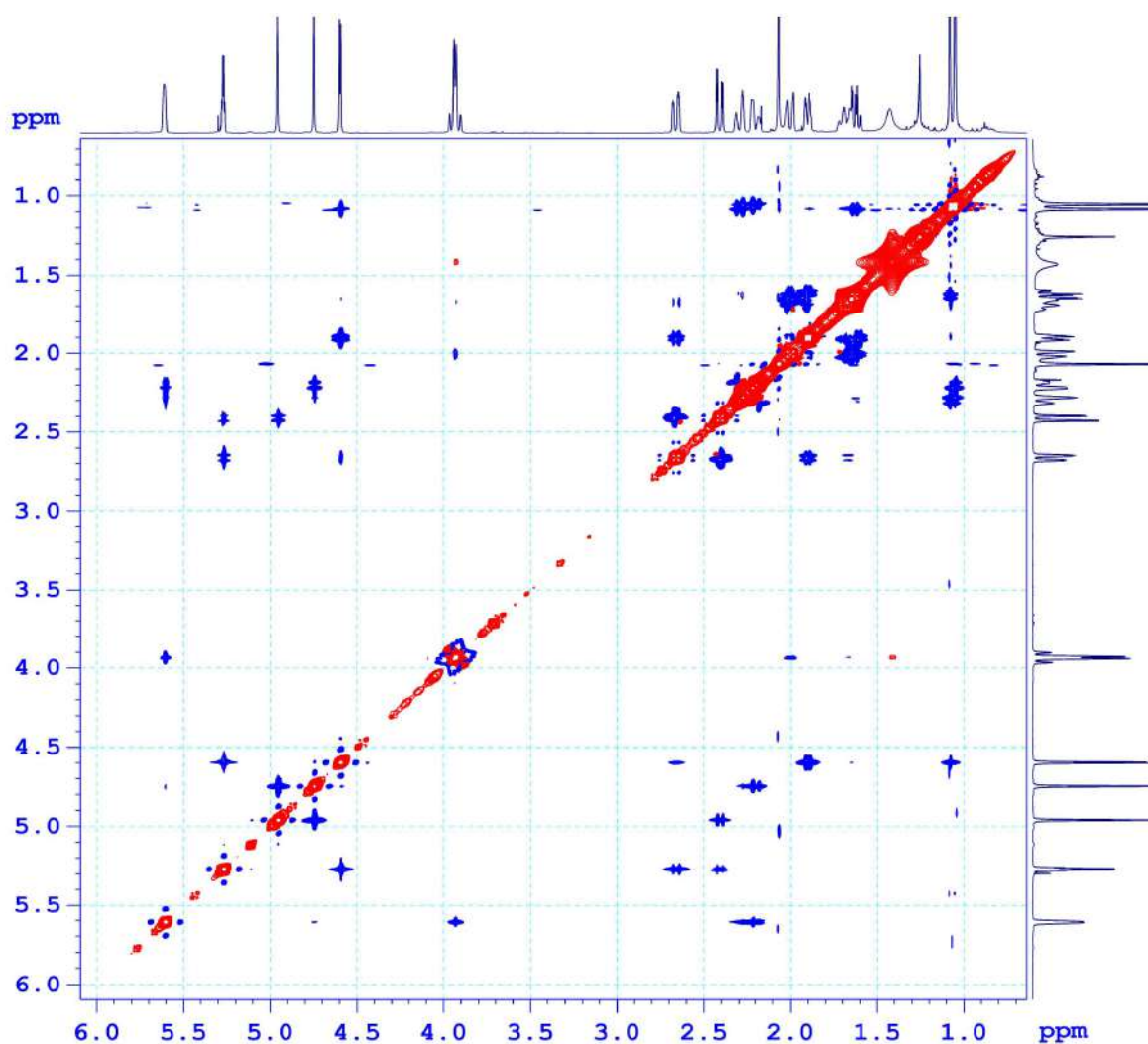
Hình D9.4. Phổ HSQC



Hình D9.5. Phổ HMBC

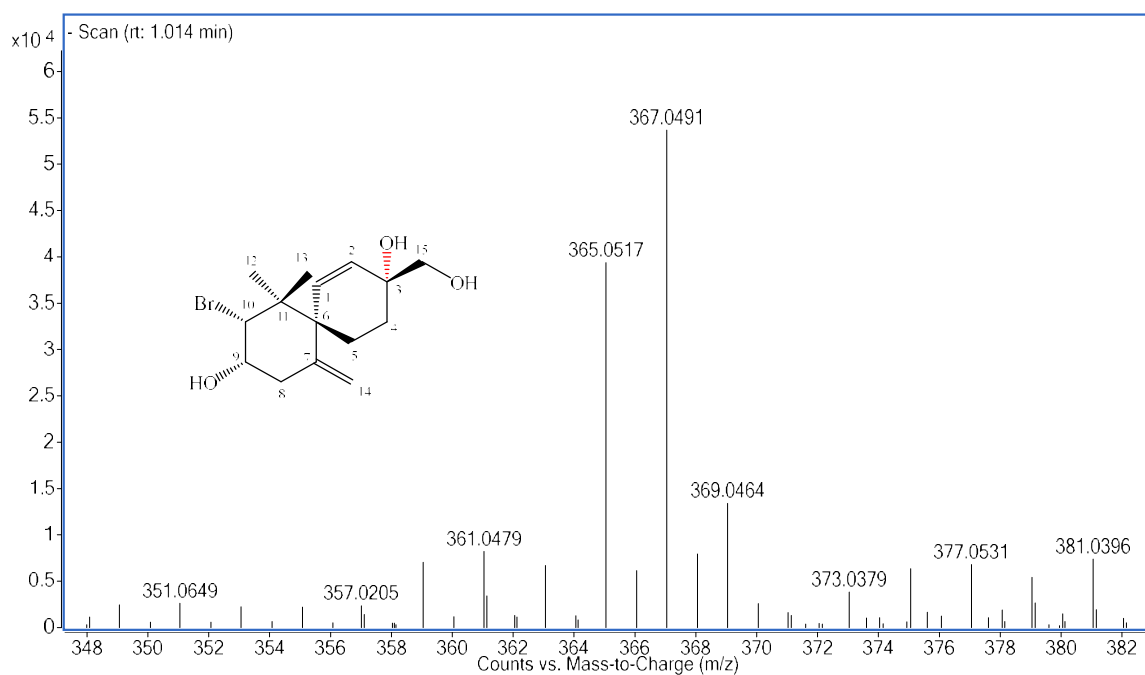


Hình D9.6. Phổ COSY

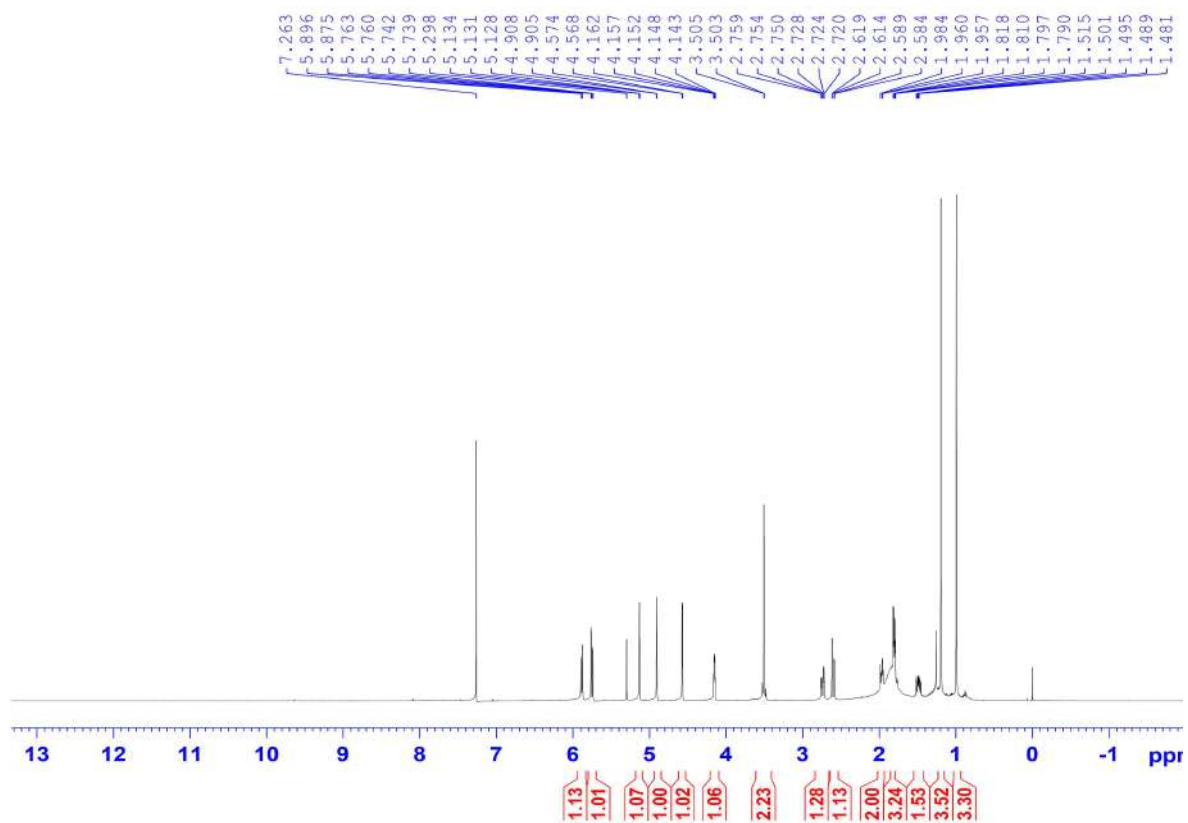
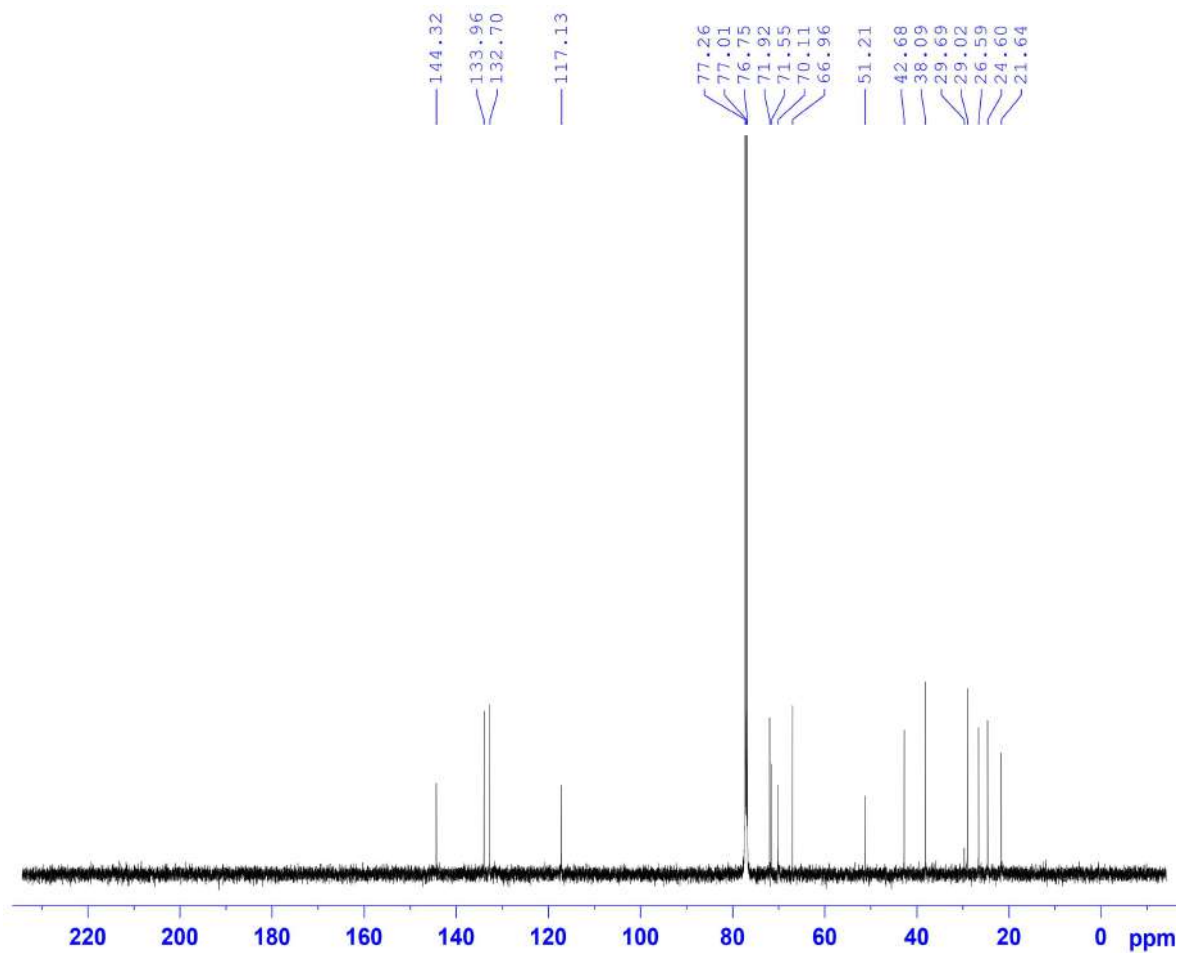


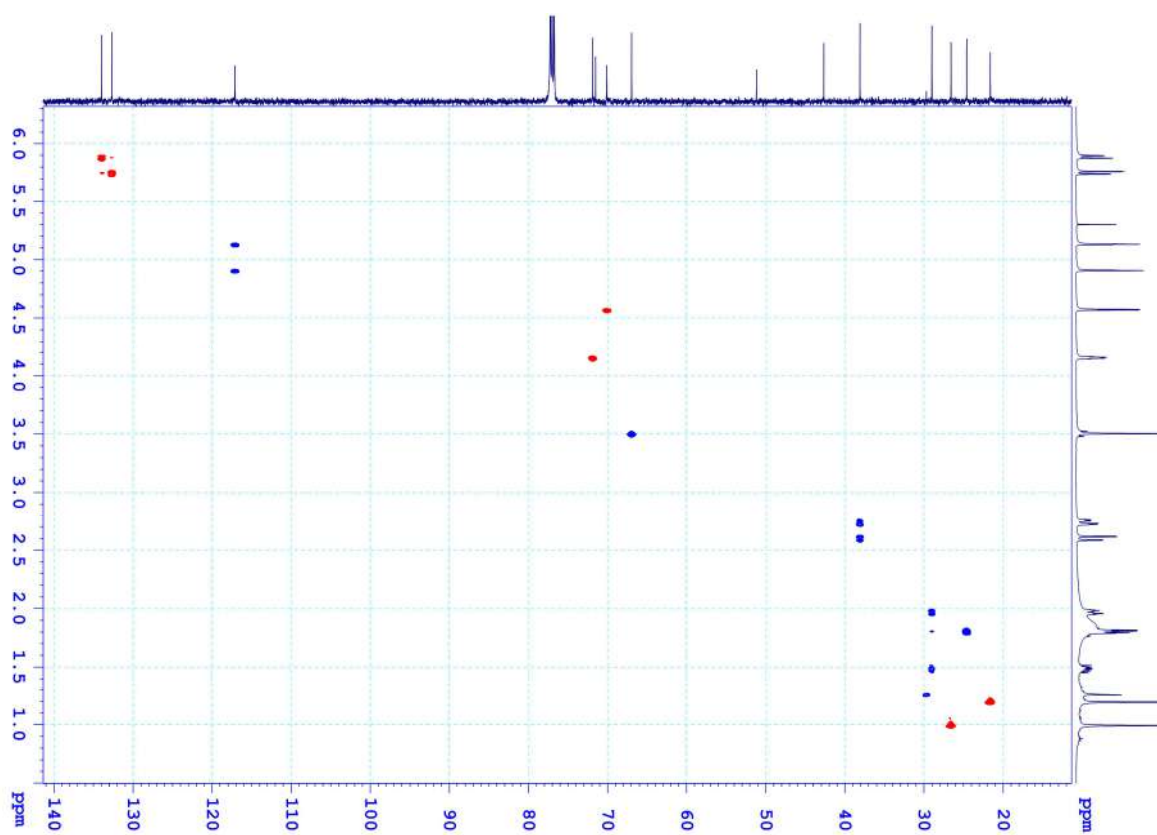
Hình D9.7. Phổ NOESY

1.10. Phổ hợp chất ADB6: Aplydactylonin F (chất mới)

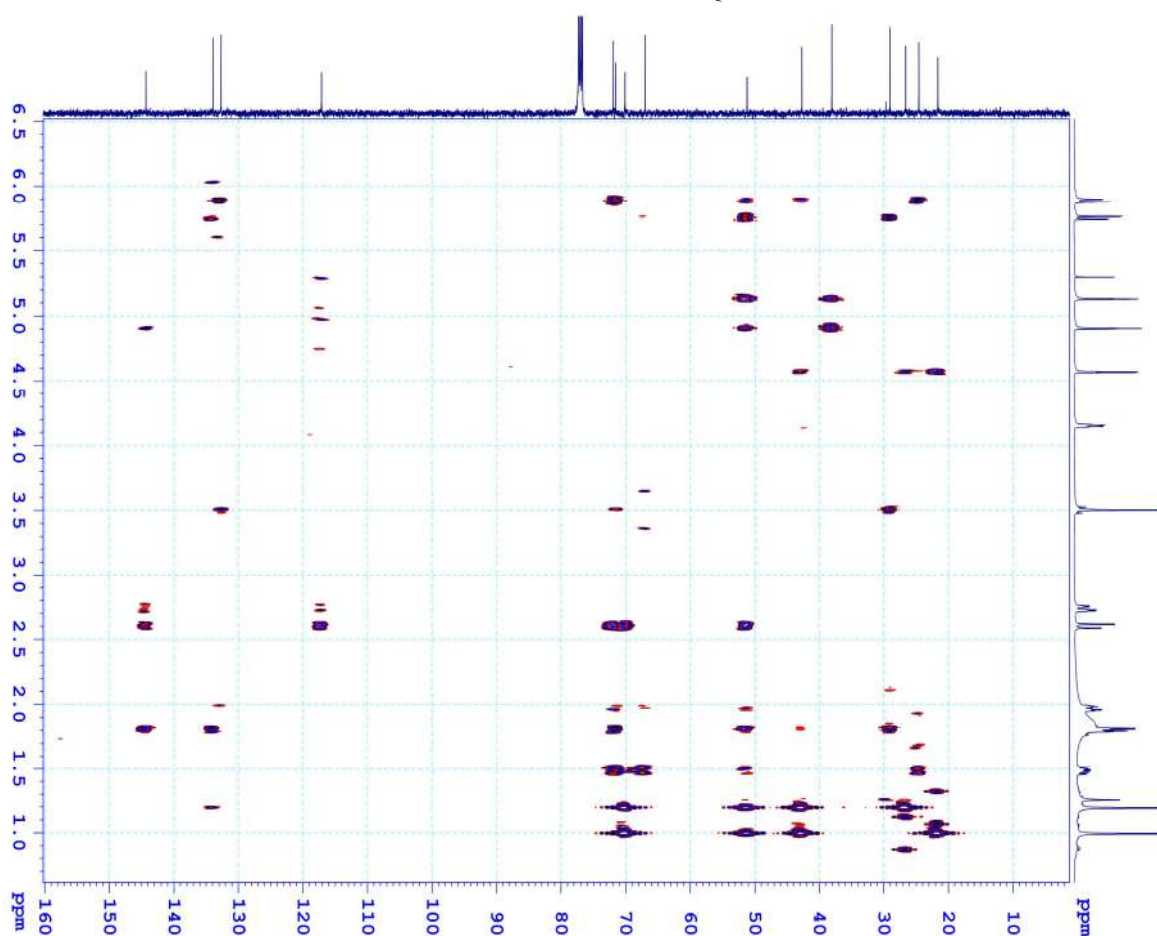


Hình D10.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

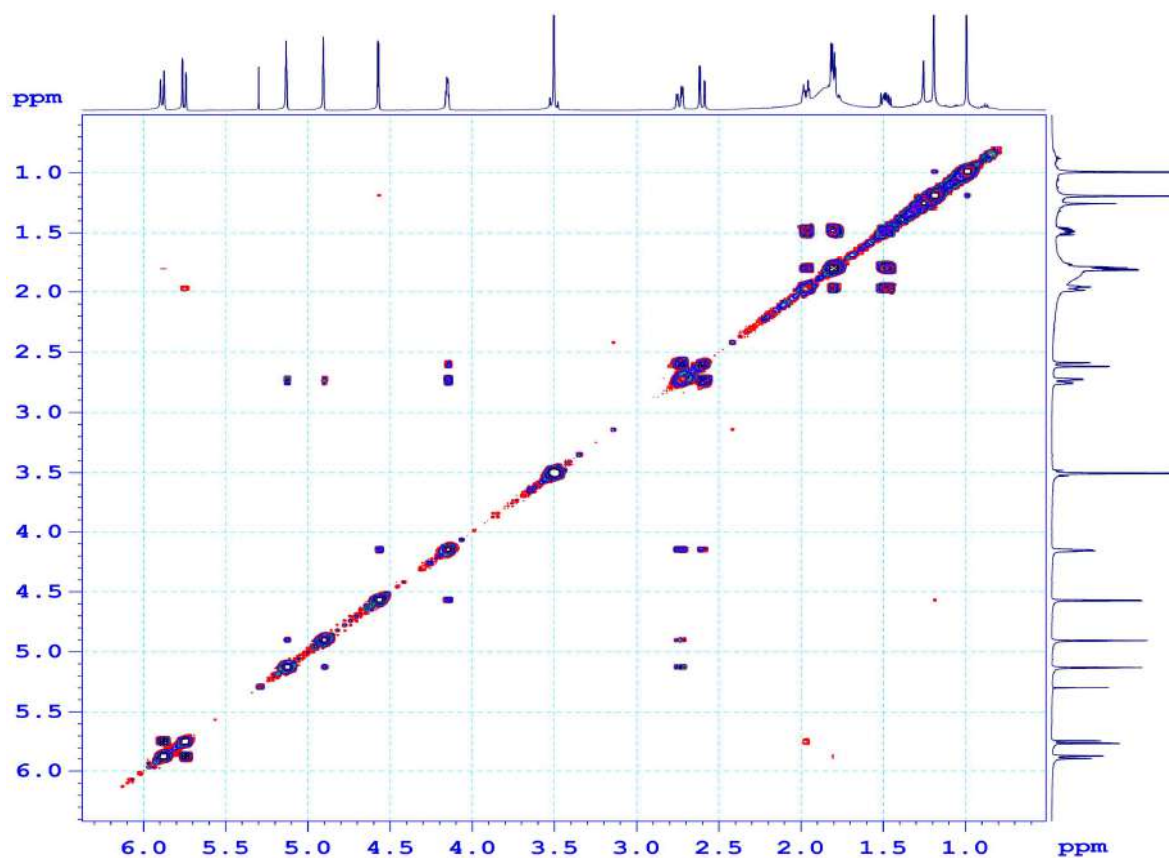
Hình D10.2. Phổ ¹H-NMRHình D10.3. Phổ ¹³C-NMR



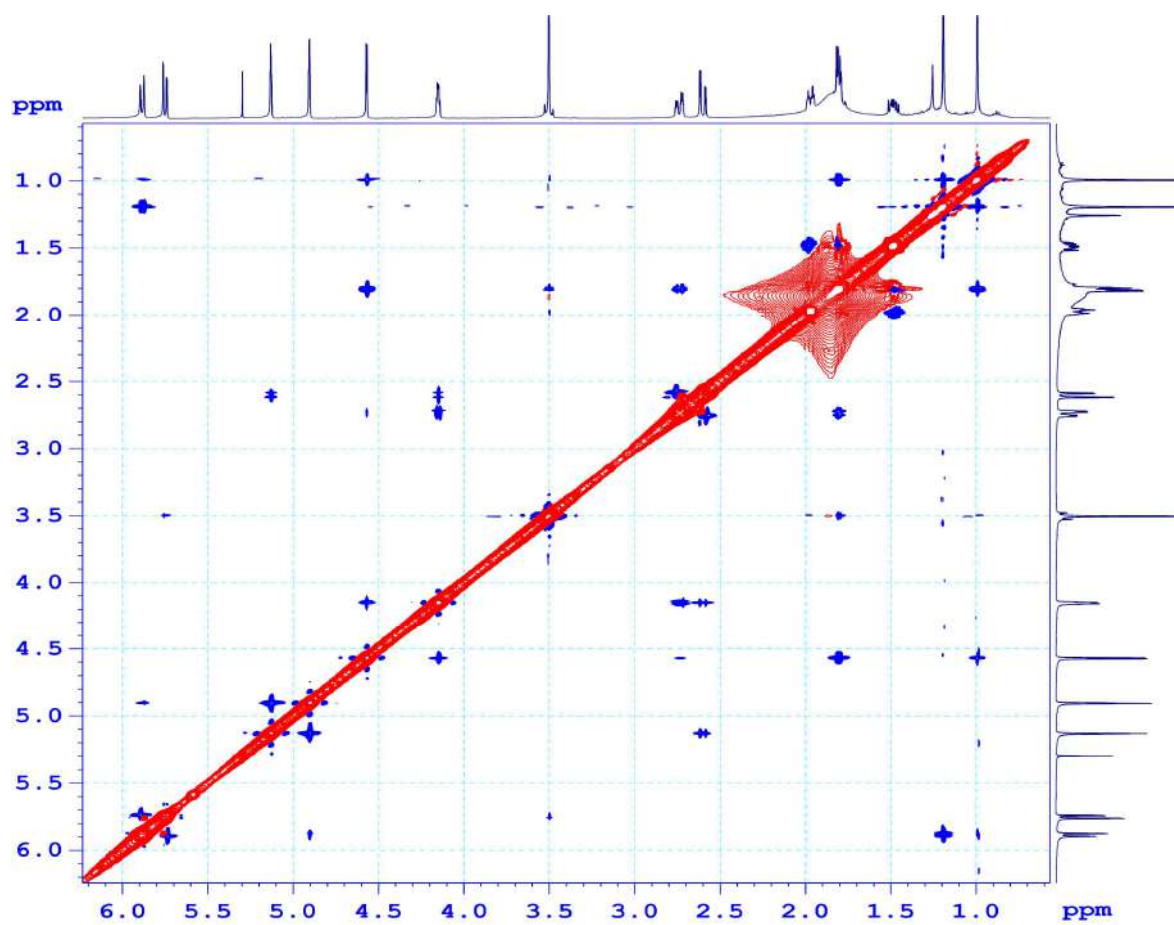
Hình D10.4. Phổ HSQC



Hình D10.5. Phổ HMBC

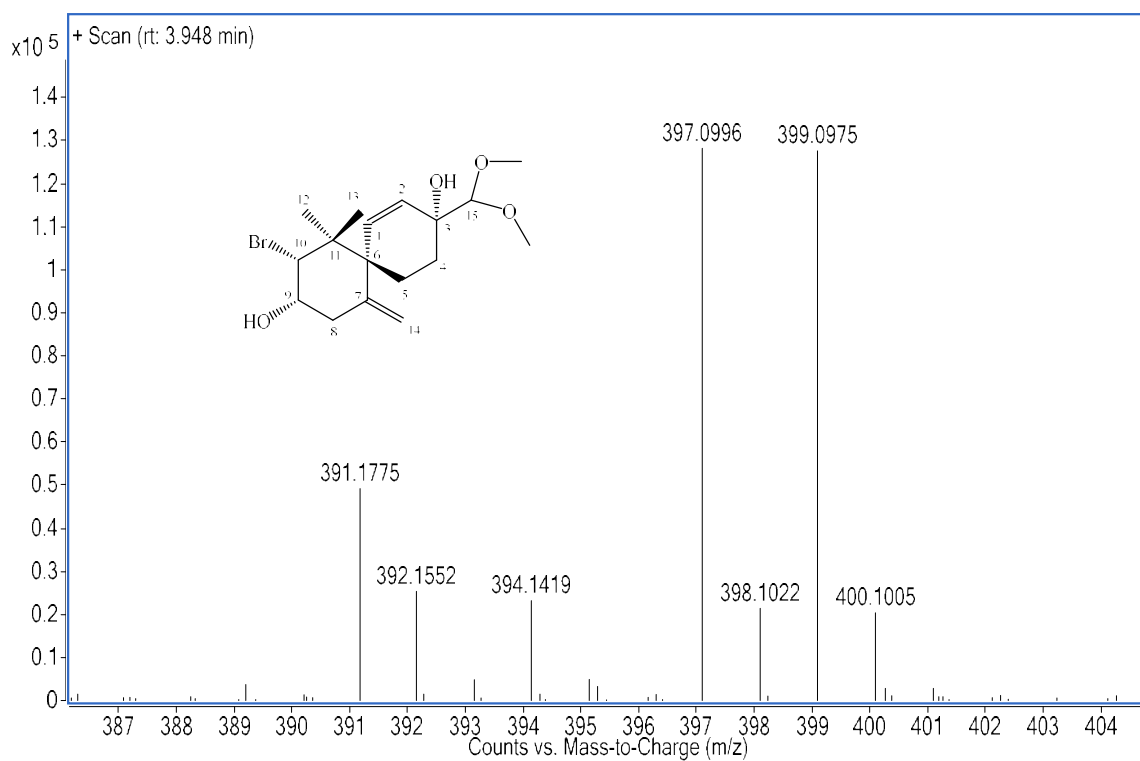


Hình D10.6. Phổ COSY

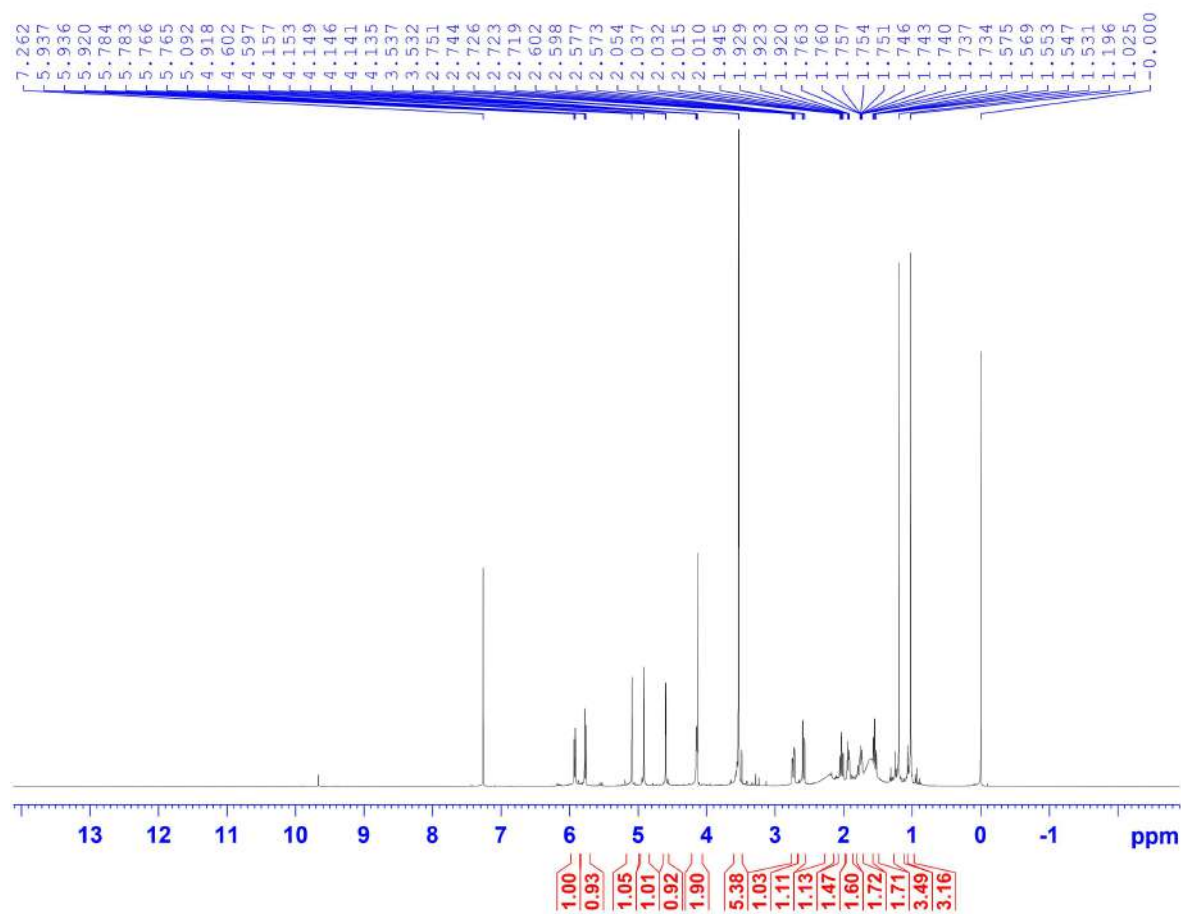


Hình D10.7. Phổ NOESY

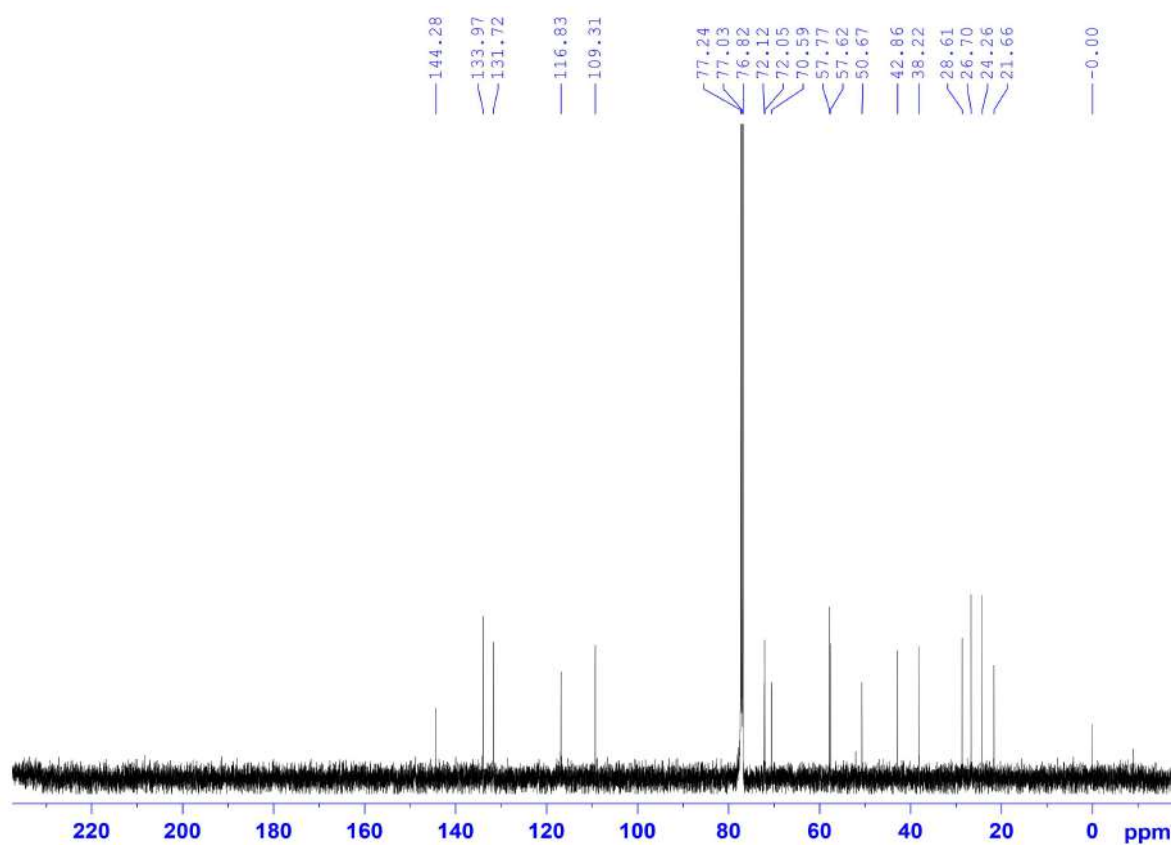
1.11. Phổ hợp chất ADB7: Aplydactylonin E (chất mới)



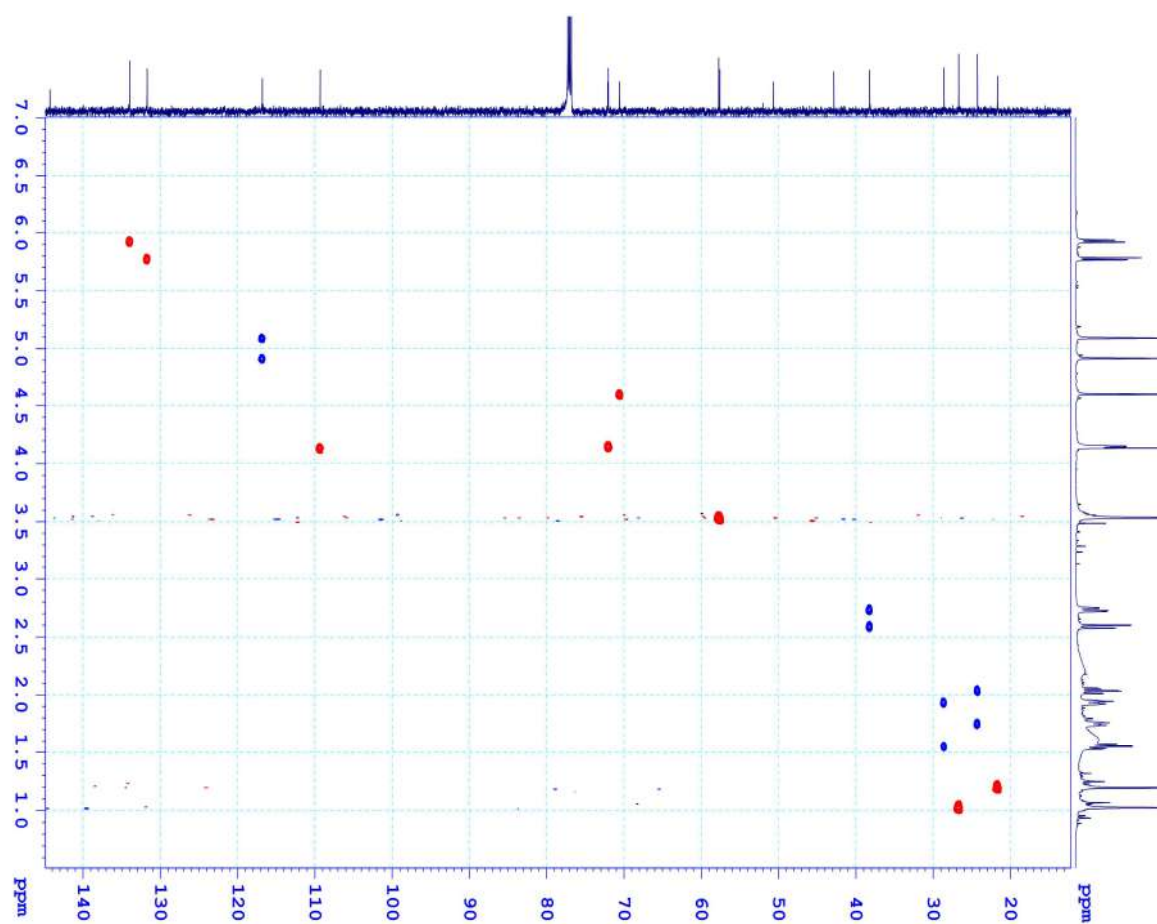
Hình D11.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



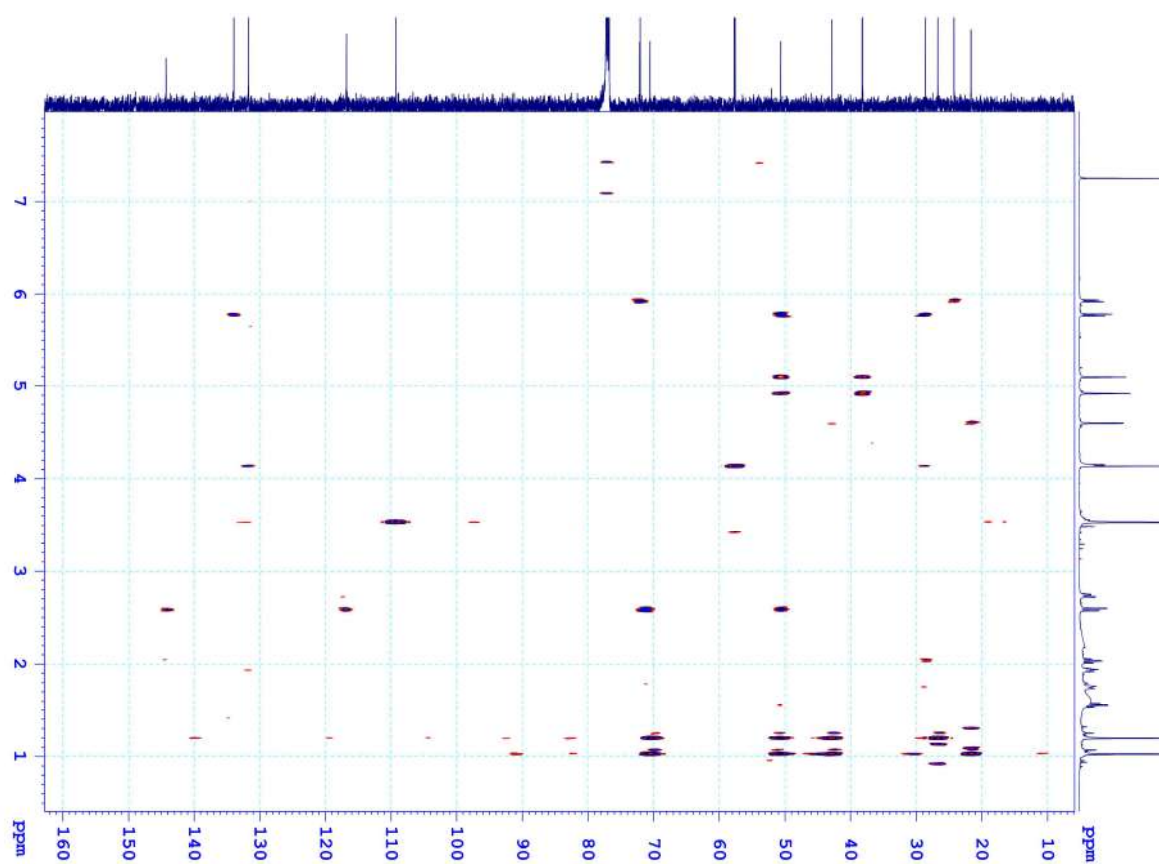
Hình D11.2. Phổ ¹H-NMR



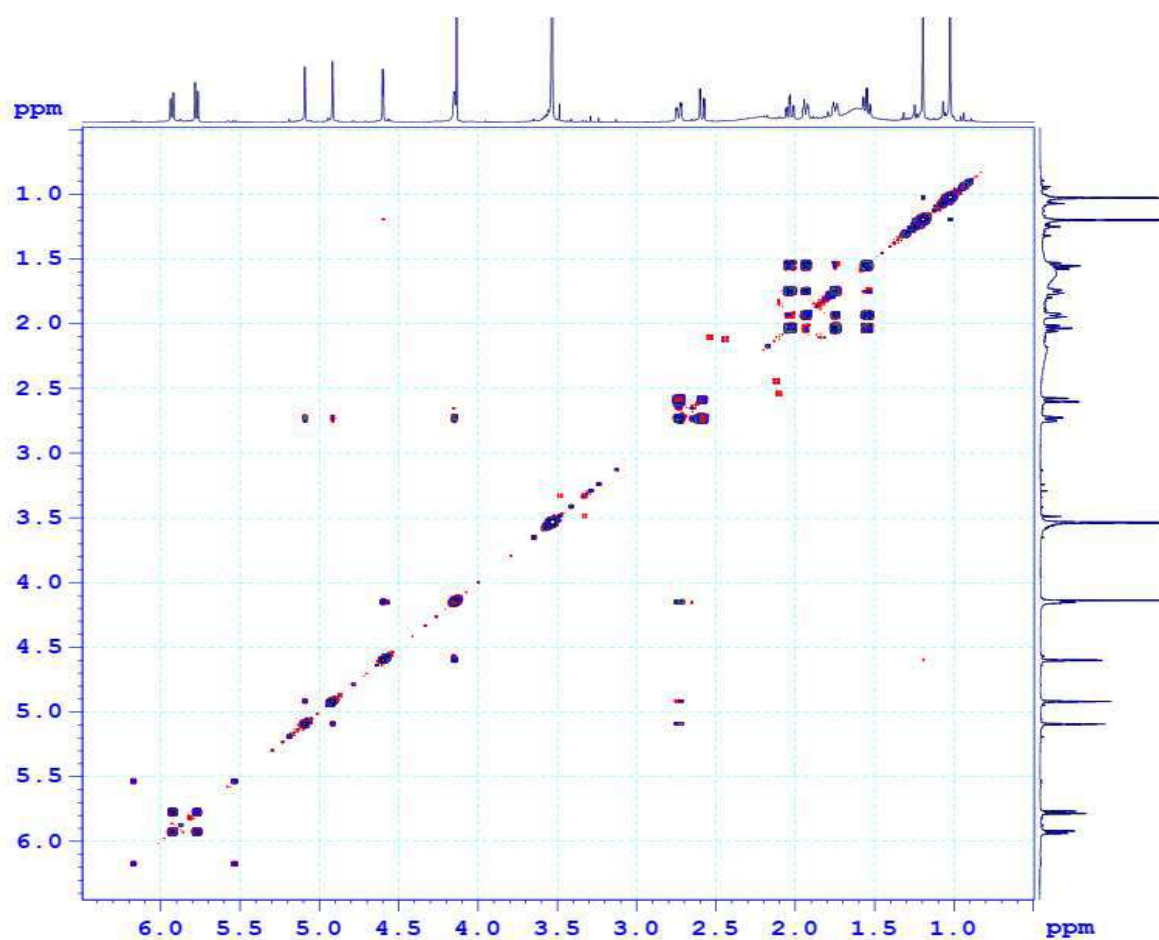
Hình D11.3. Phổ ^{13}C -NMR



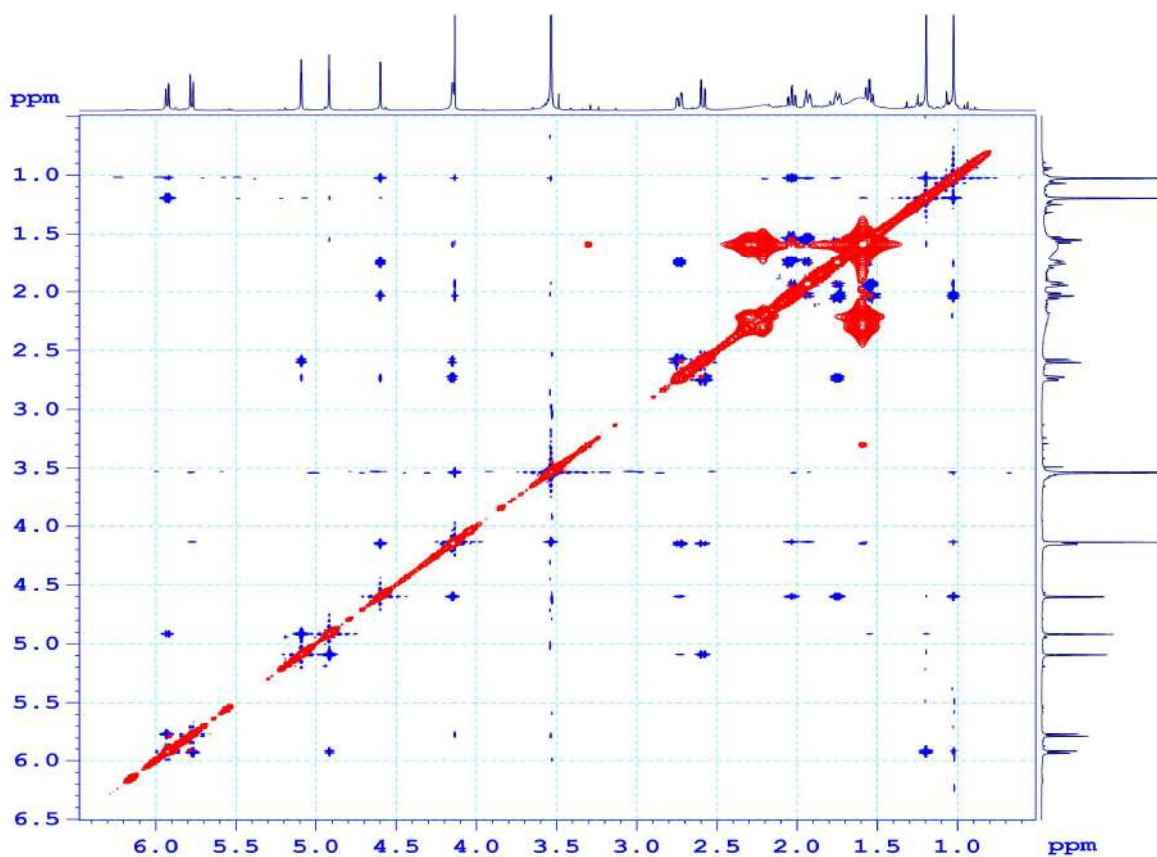
Hình D11.4. Phổ HSQC



Hình D11.5. Phổ HMBC

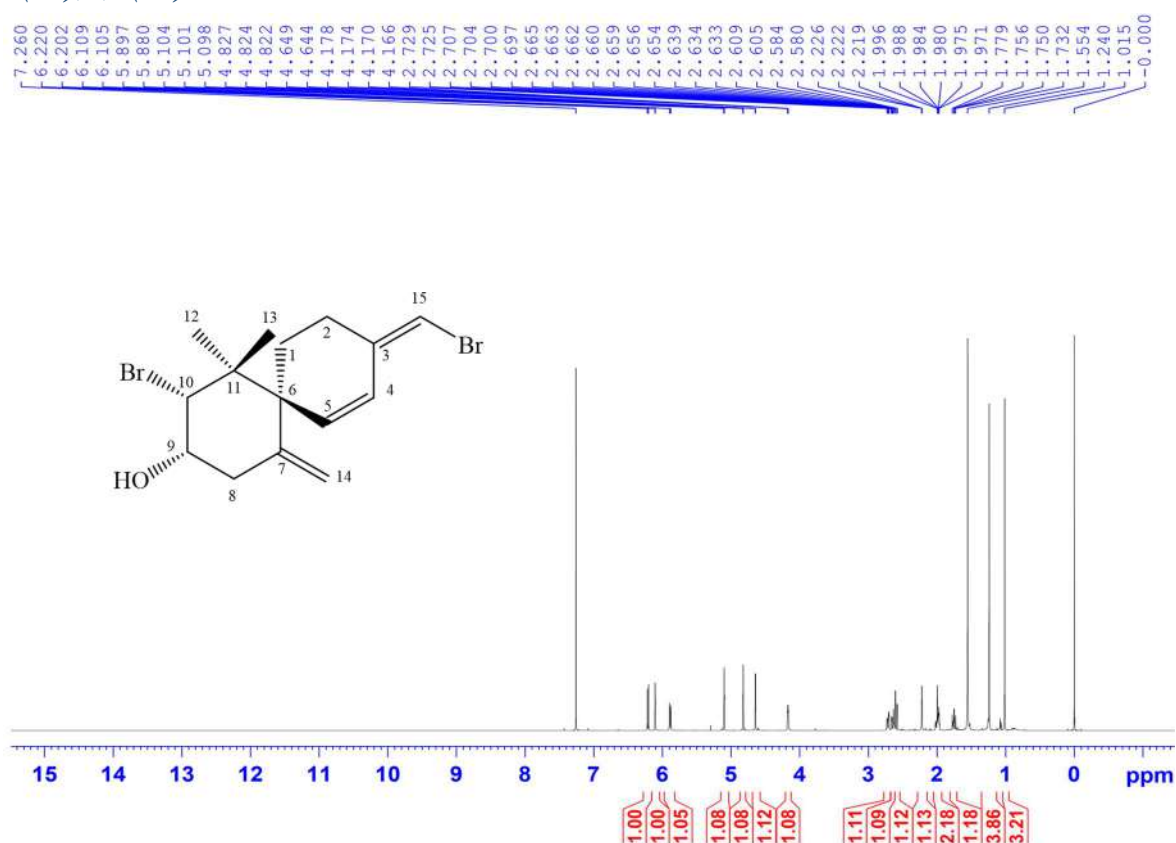


Hình D11.6. Phổ COSY

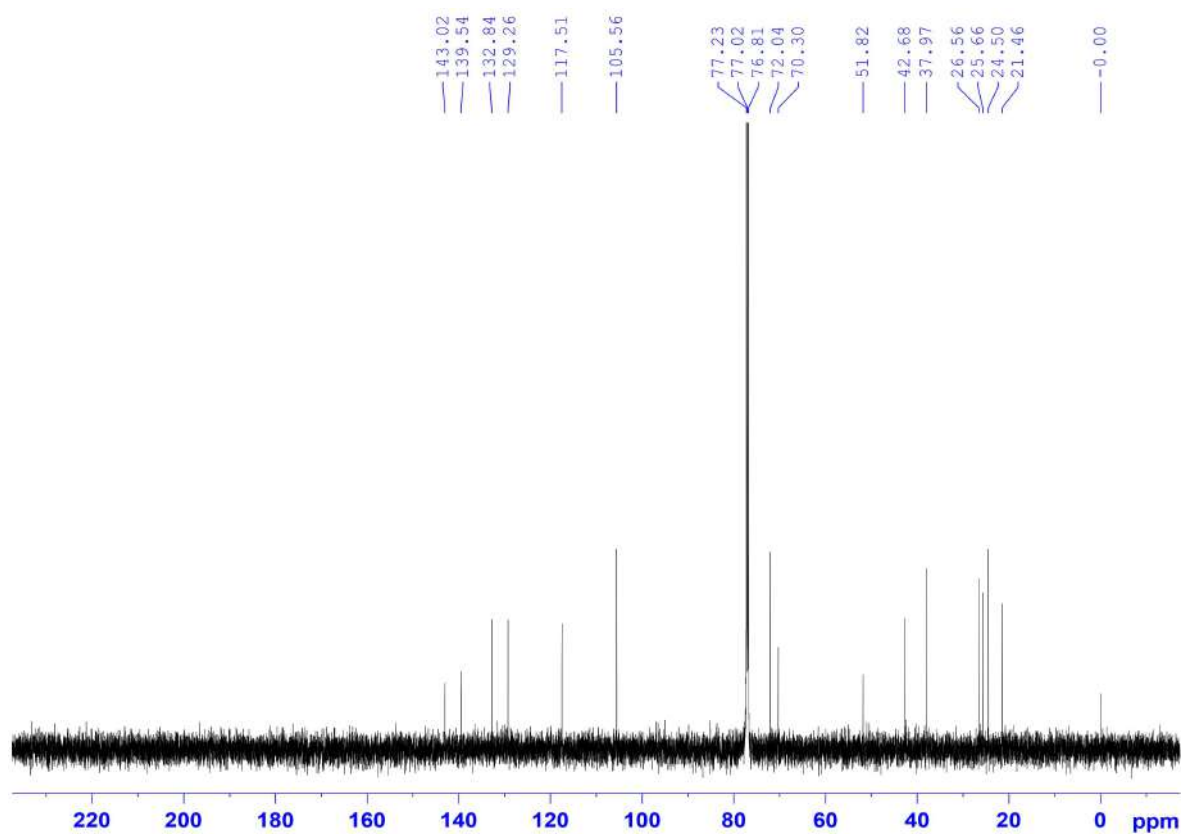


Hình D11.7. Phổ NOESY

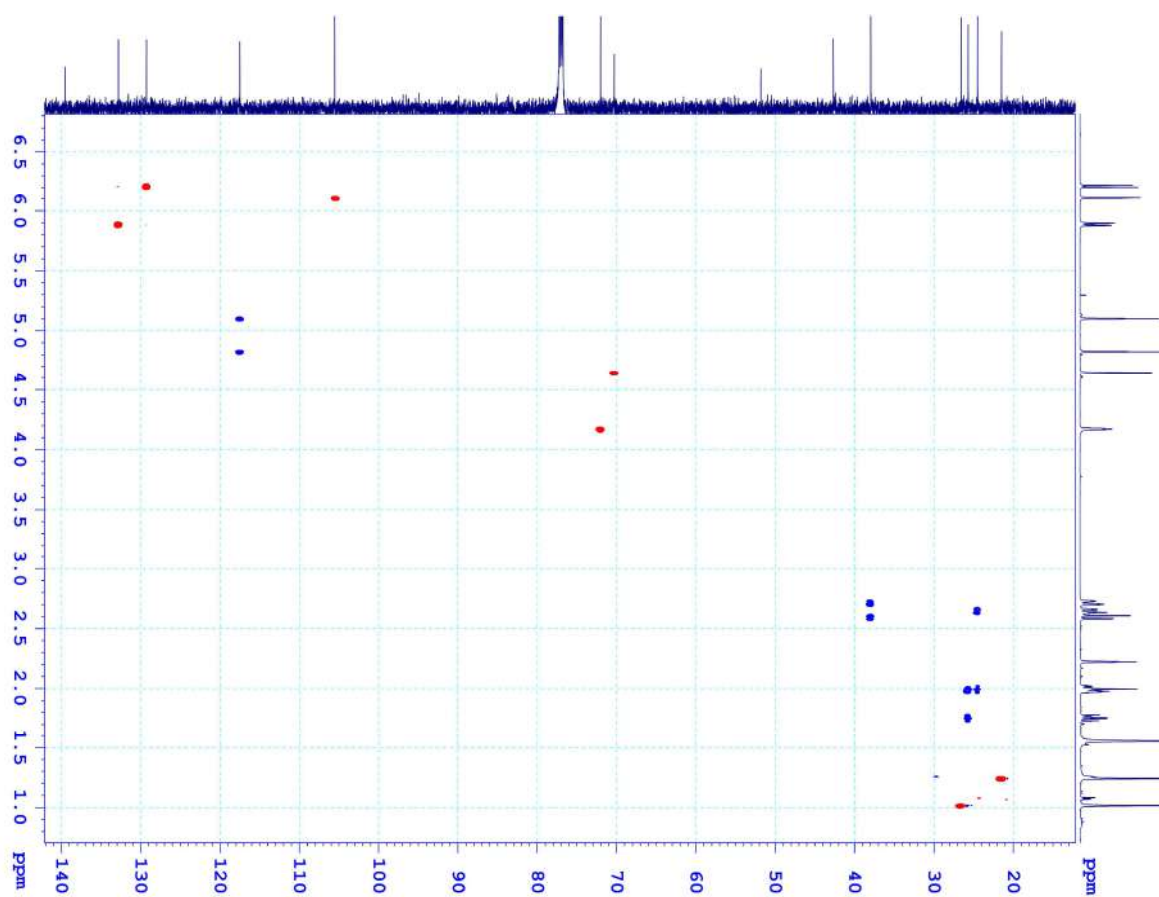
1.12. Phổ hợp chất ADB8: [3(15)E,4Z,6S,9S,10R]-10,15-dibromochamigra-3(15),4,7(14)-trien-9-ol



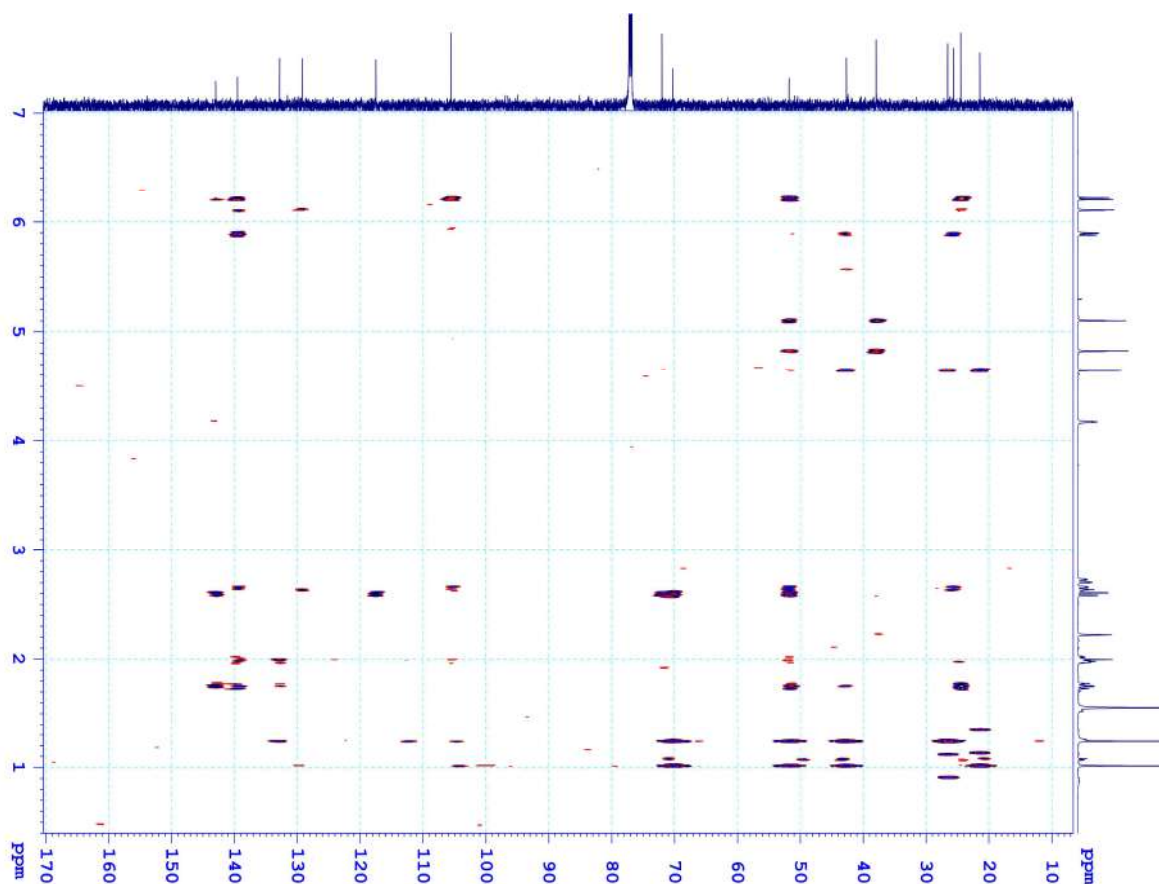
Hình D12.1. Phổ ^1H -NMR



Hình D12.2. Phổ ^{13}C -NMR

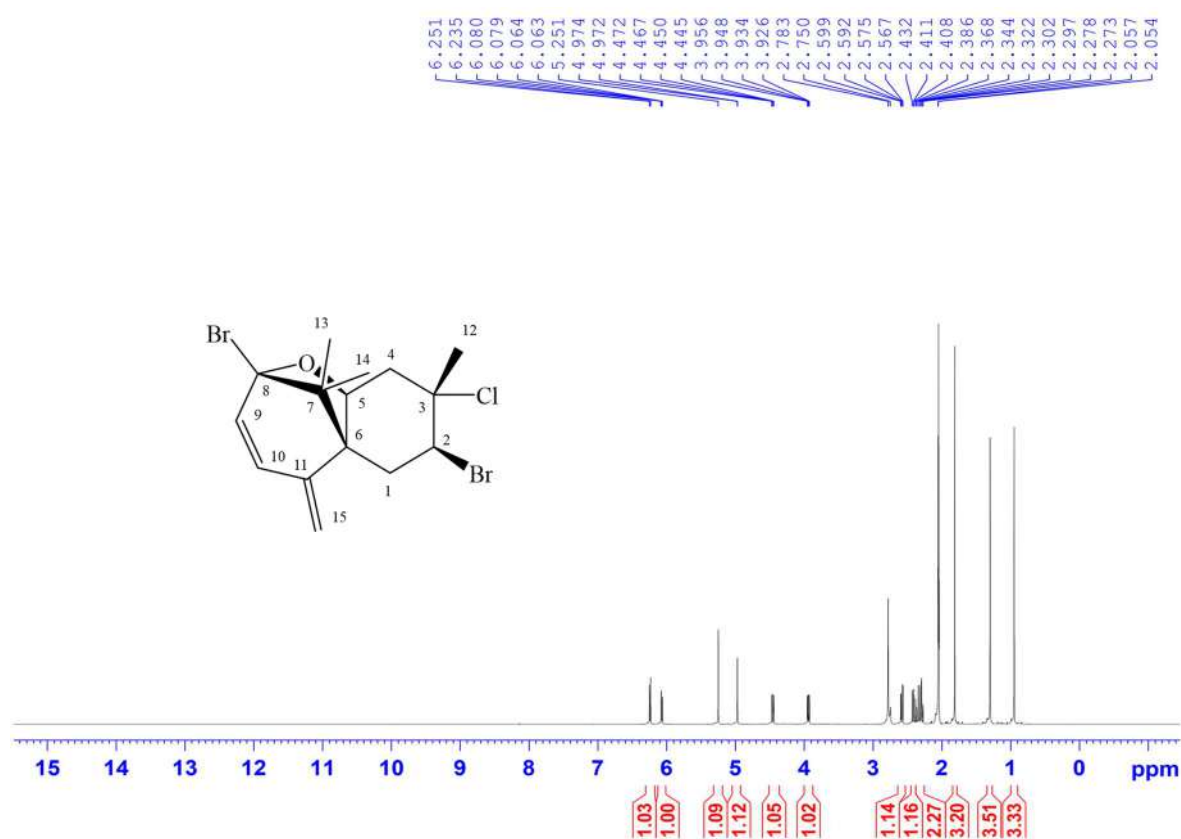


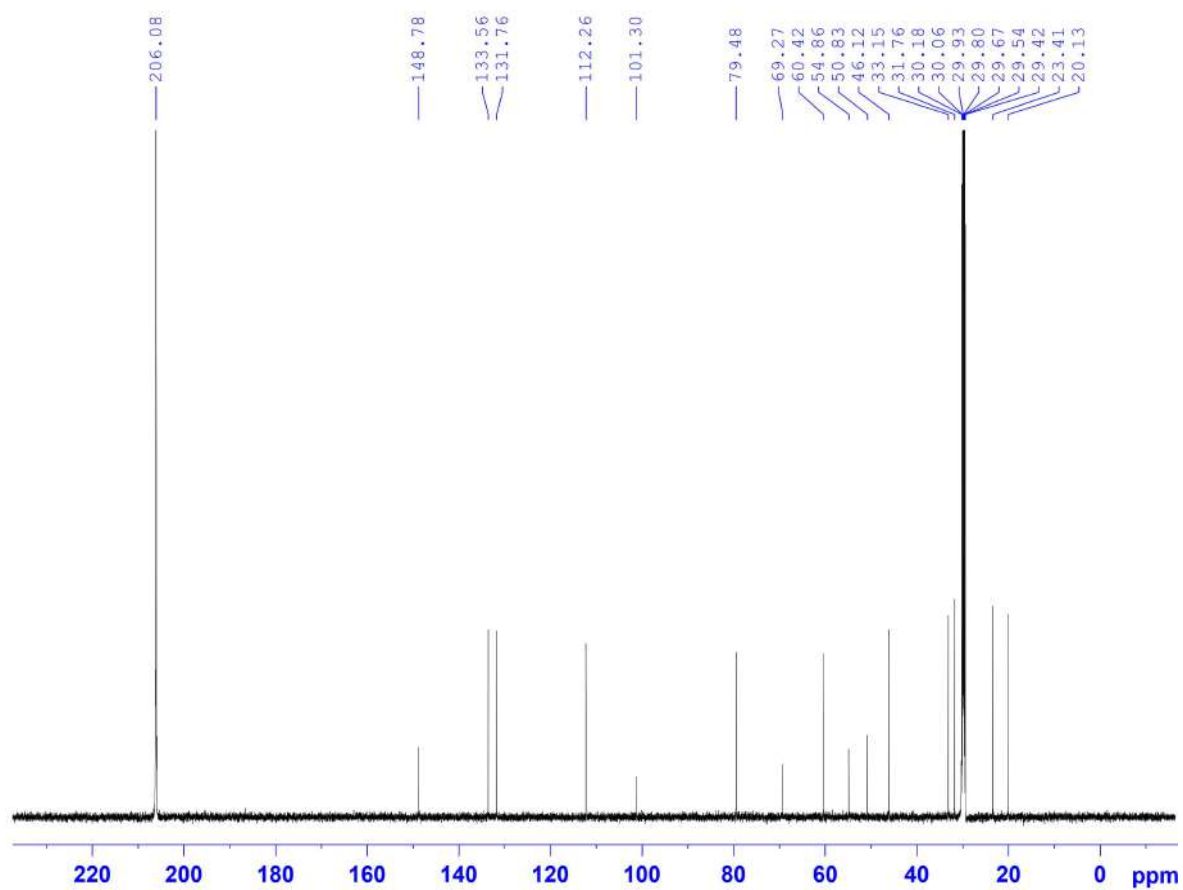
Hình D12.3. Phổ HSQC



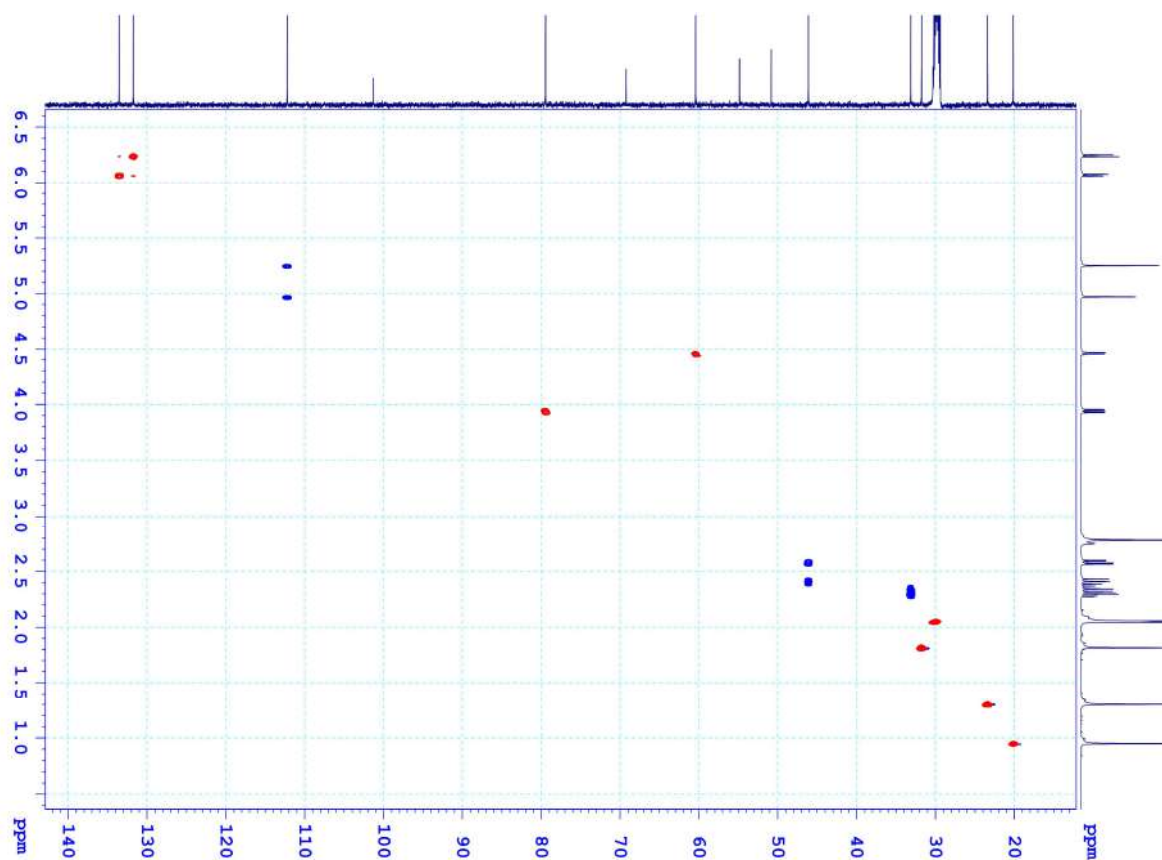
Hình D12.4. Phổ HMBC

1.13. Phổ hợp chất ADB9: Pacifidiene

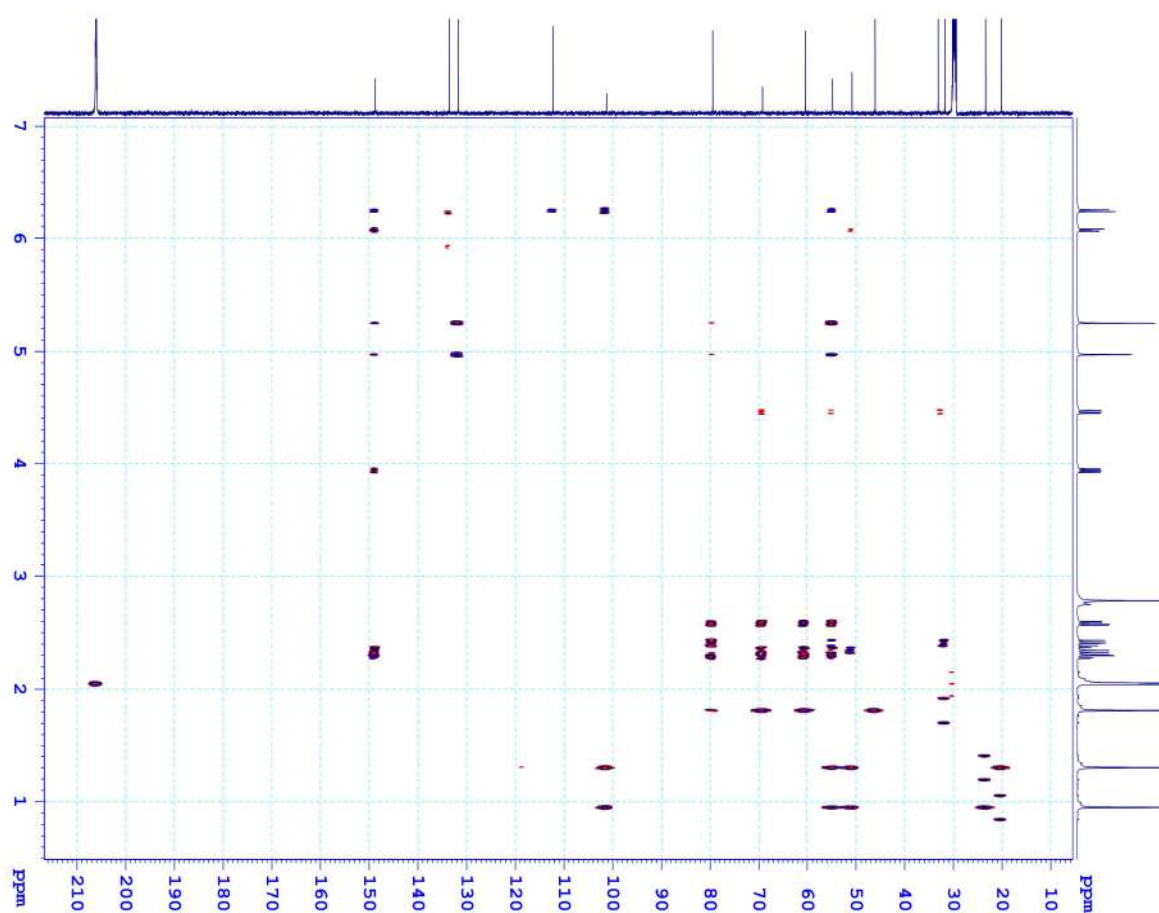
Hình D13.1. Phổ $^1\text{H-NMR}$



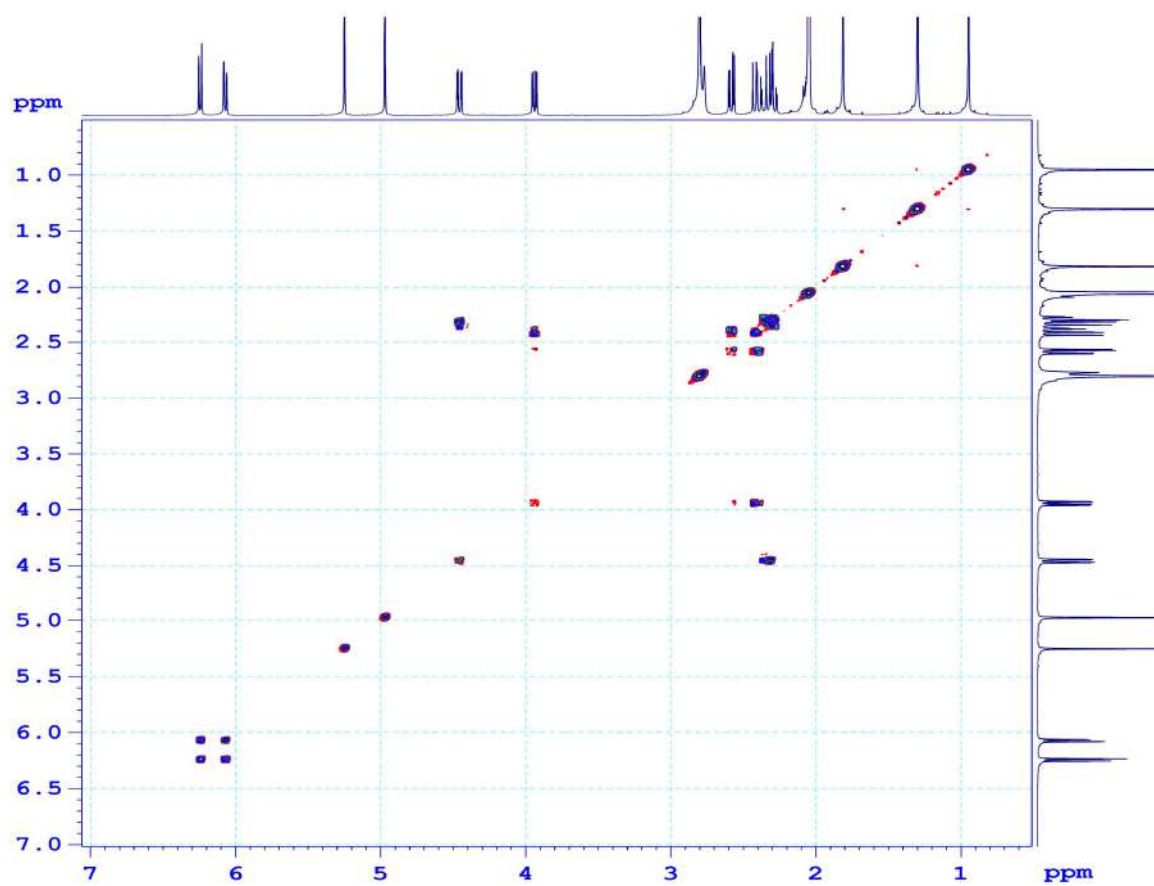
Hình D13.2. Phổ ^{13}C -NMR



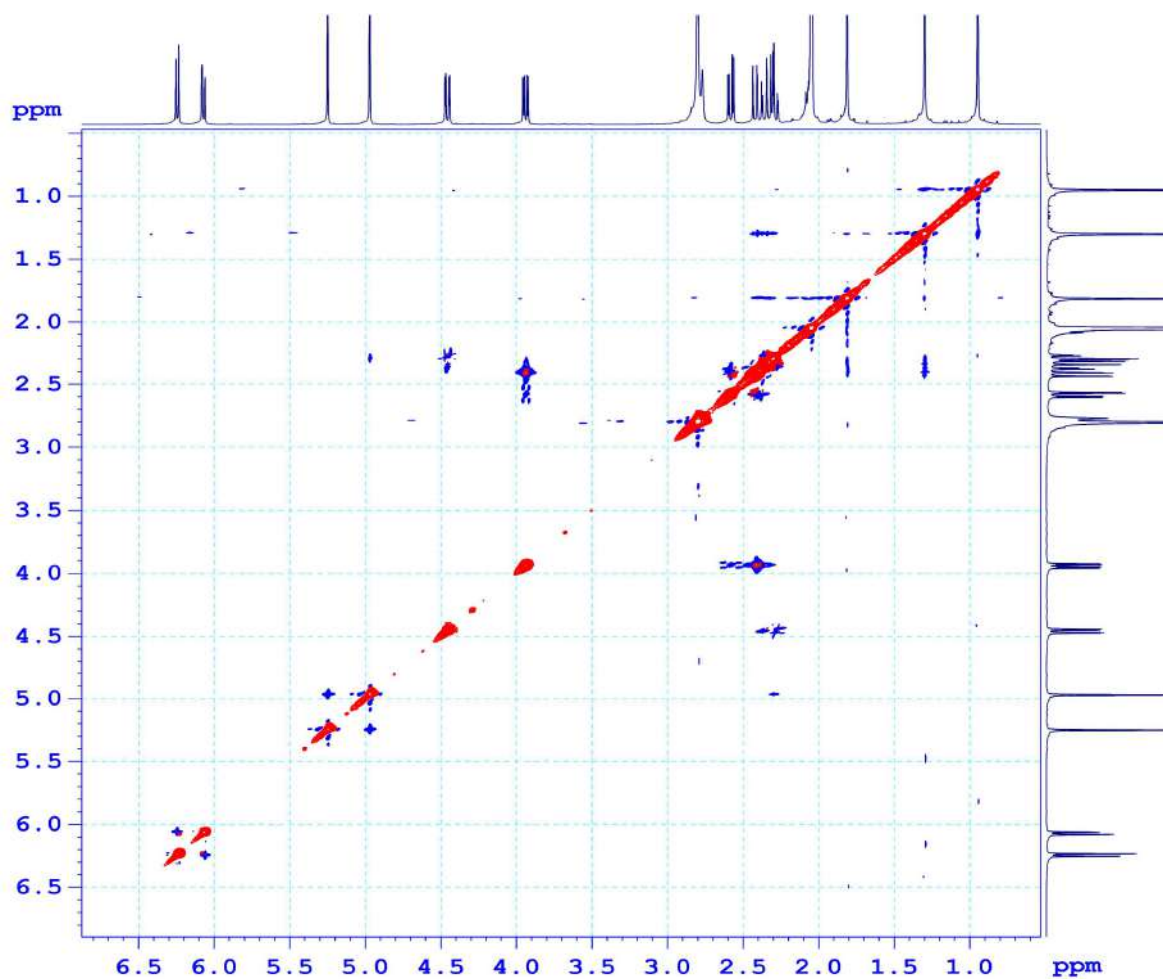
Hình D13.3. Phổ HSQC



Hình D13.4. Phổ HMBC

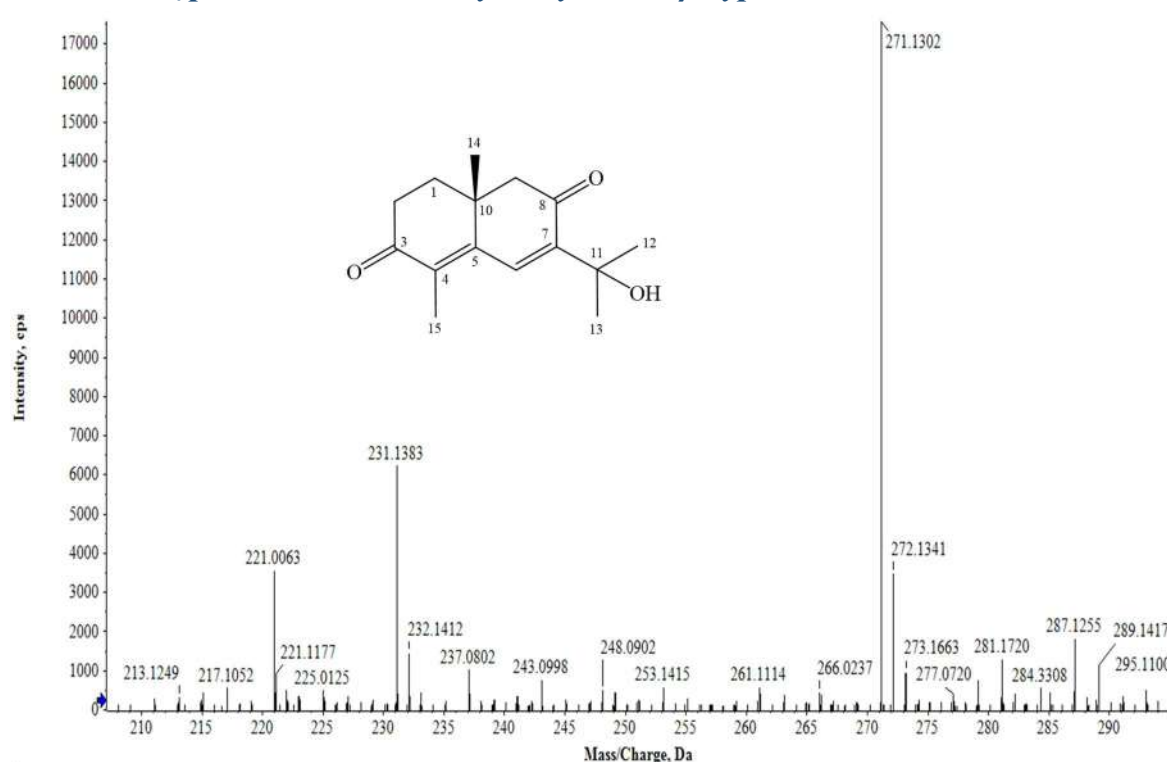


Hình D13.5. Phổ COSY

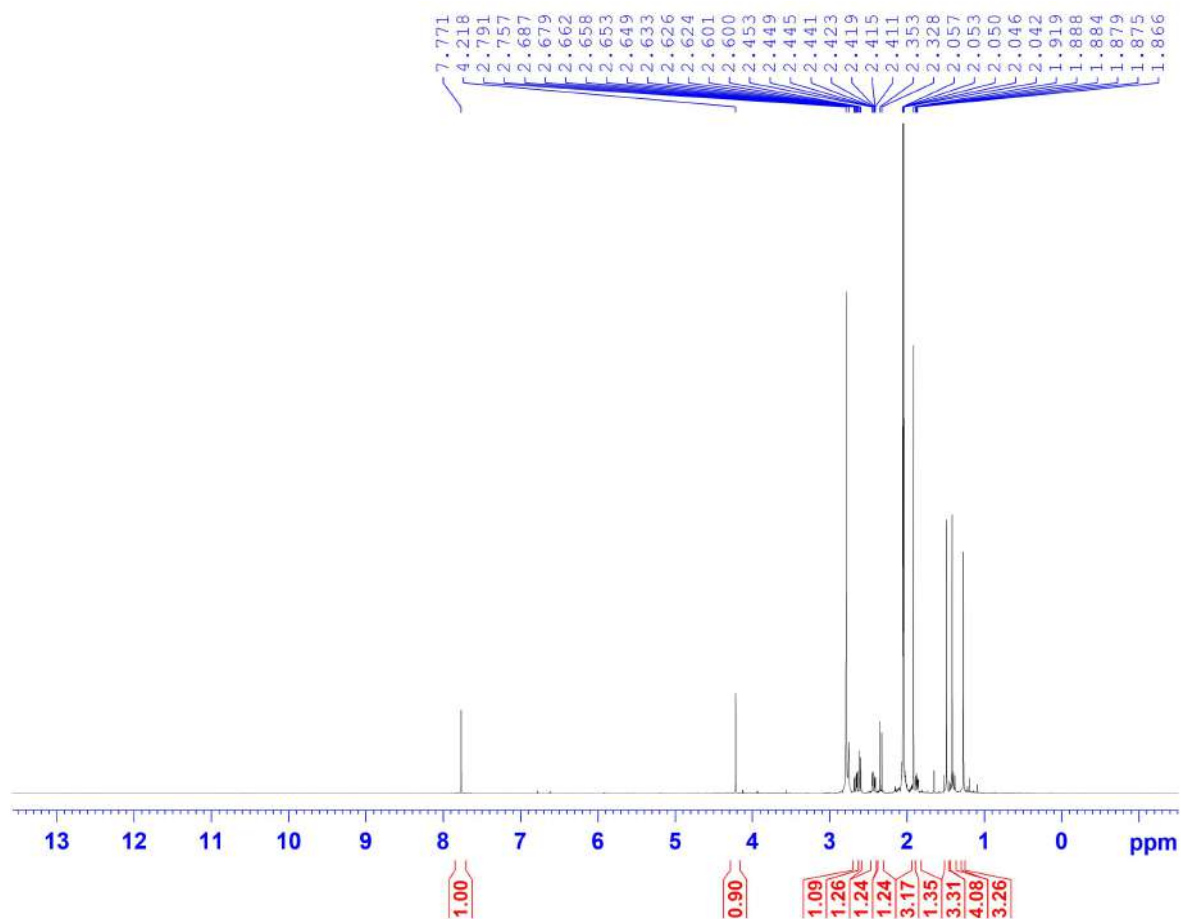


Hình D13.6. Phổ NOESY

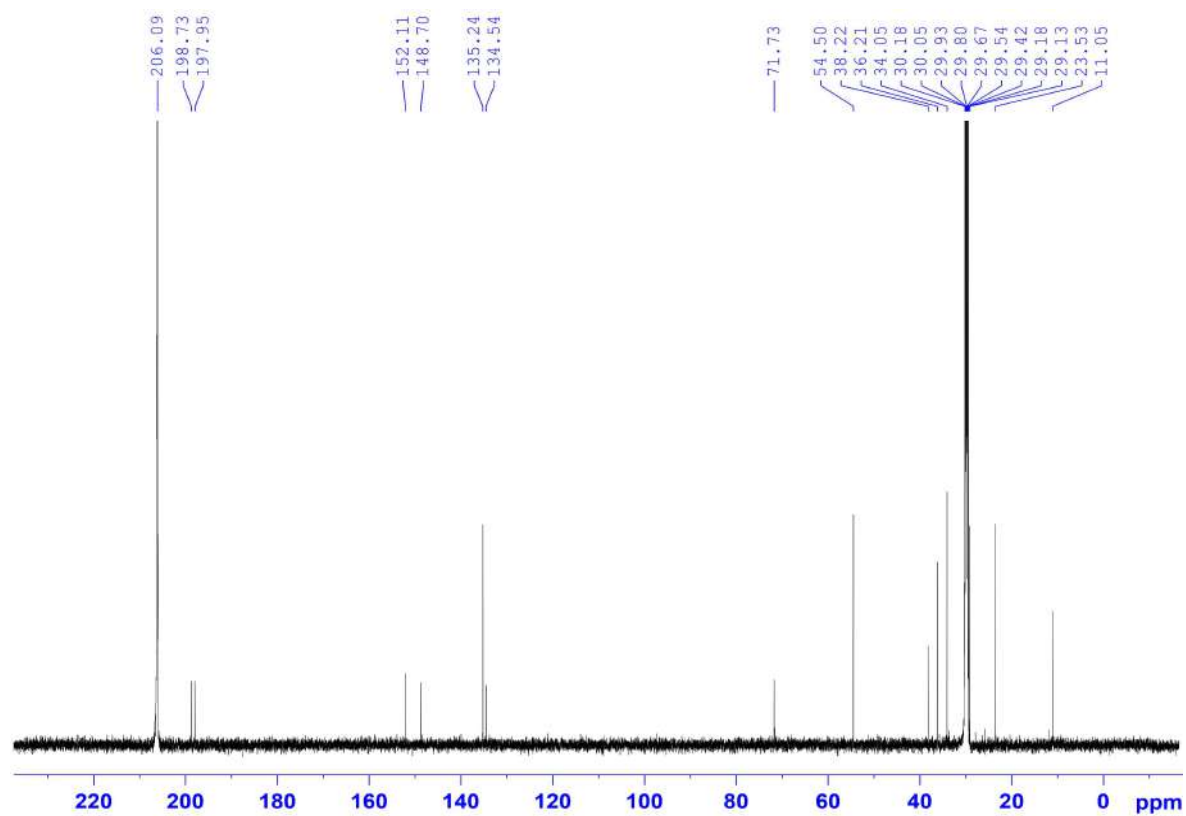
1.14. Phổ hợp chất ADB10: 11-hydroxy-8-oxo- β -cyperon



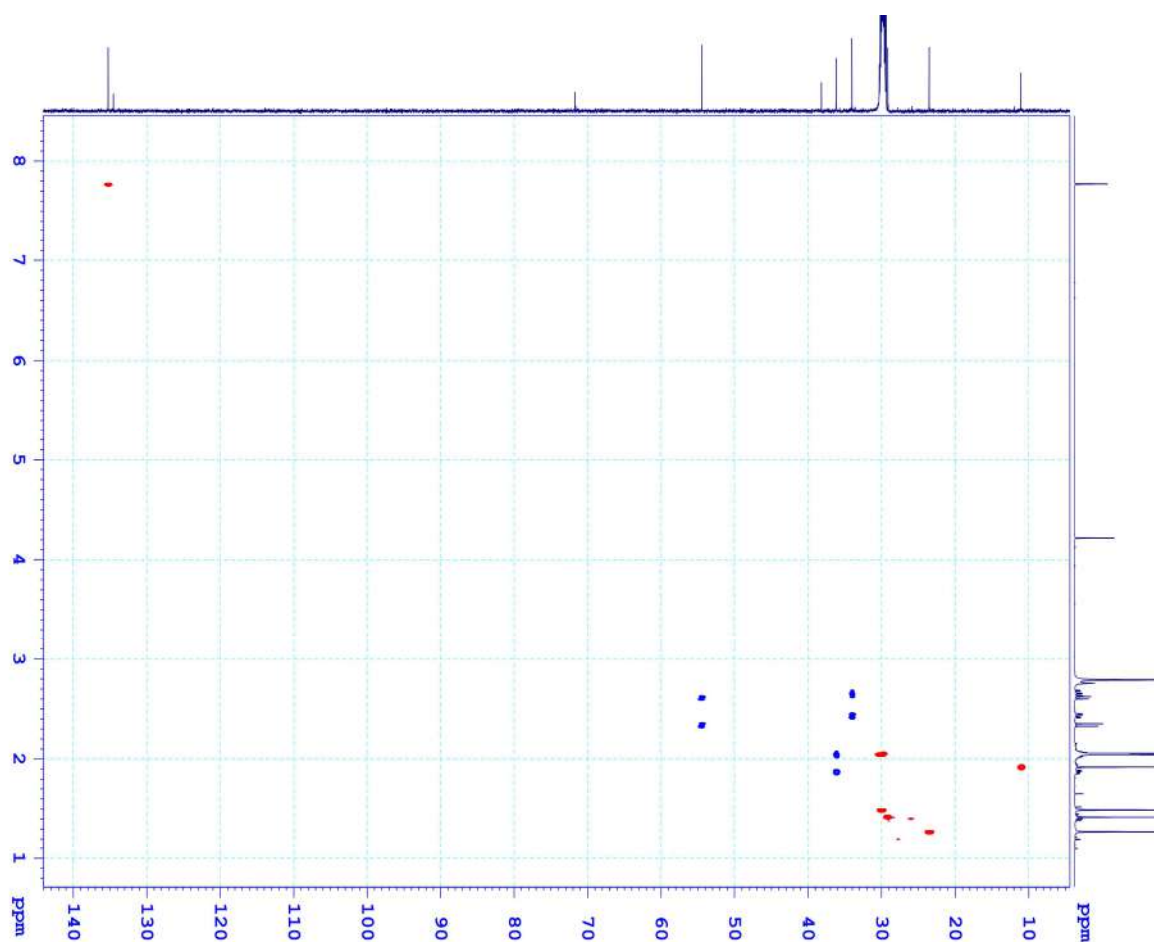
Hình D14.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



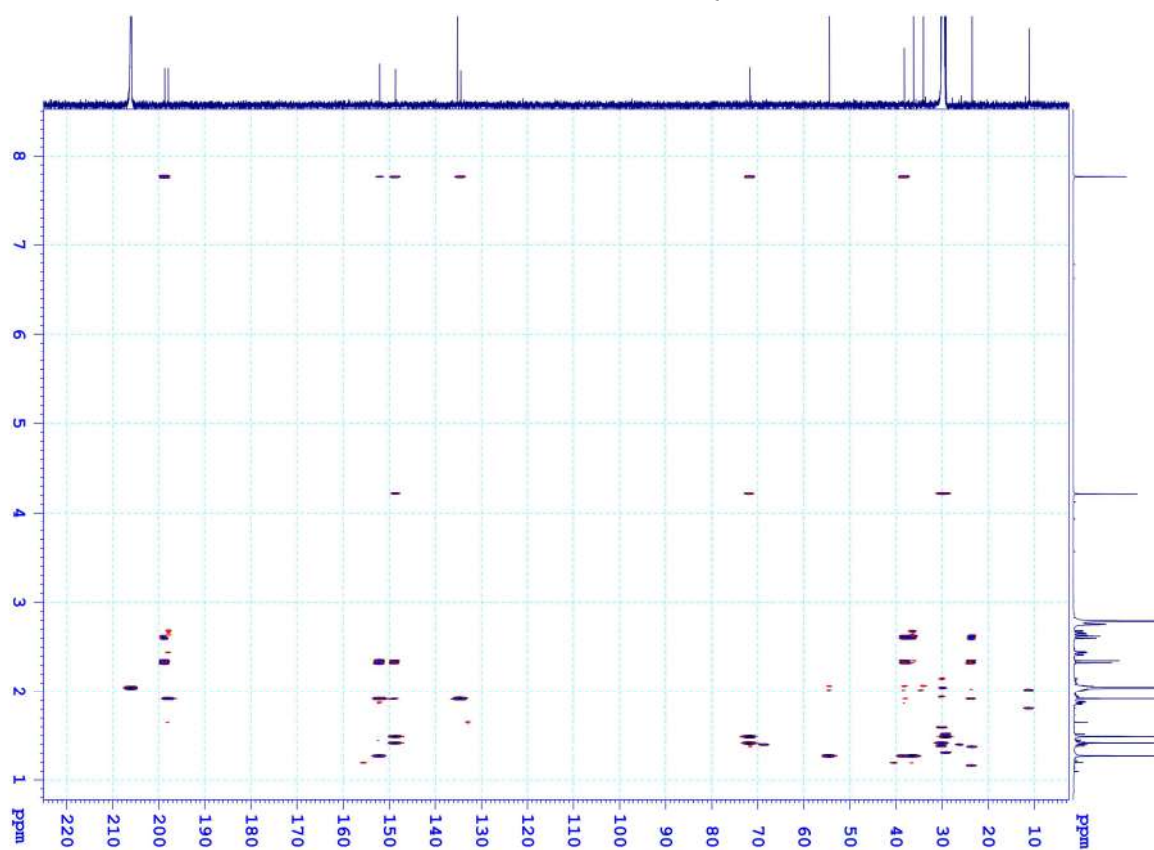
Hình D14.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$



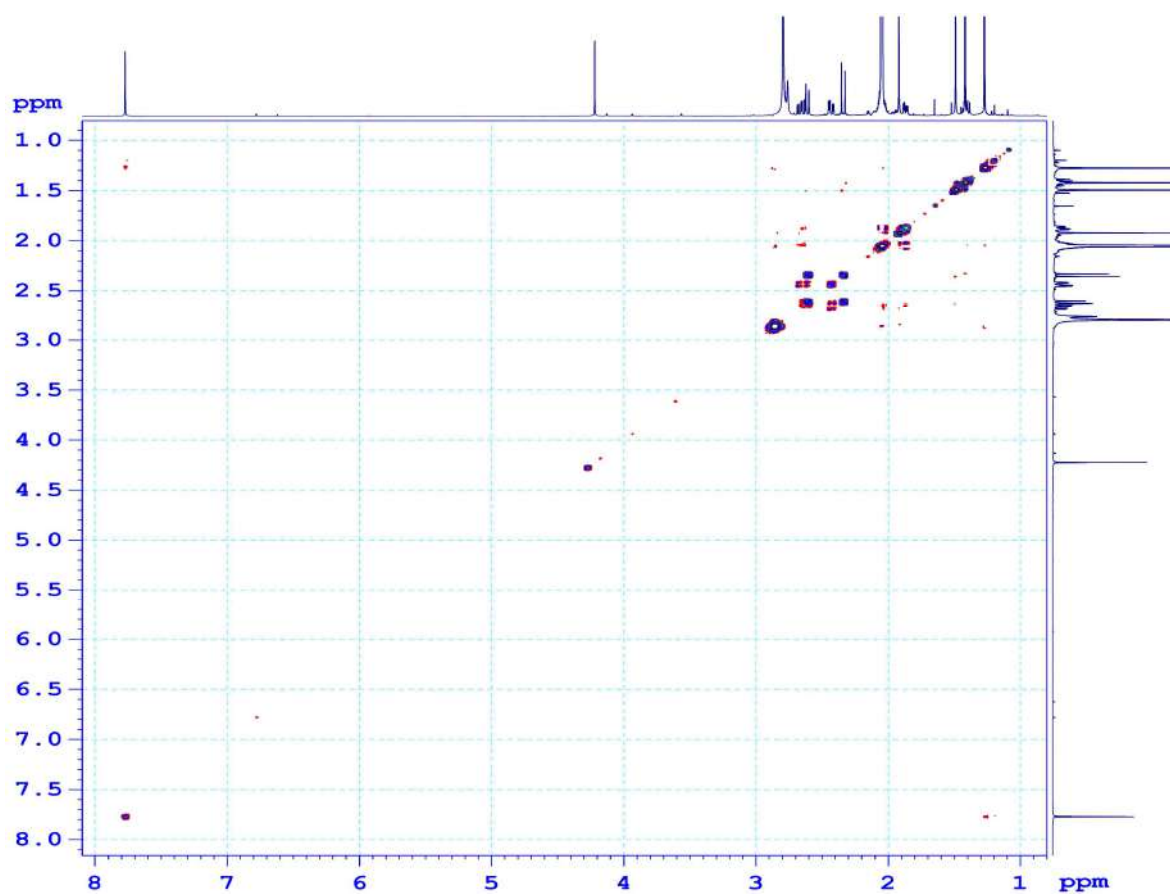
Hình D14.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$



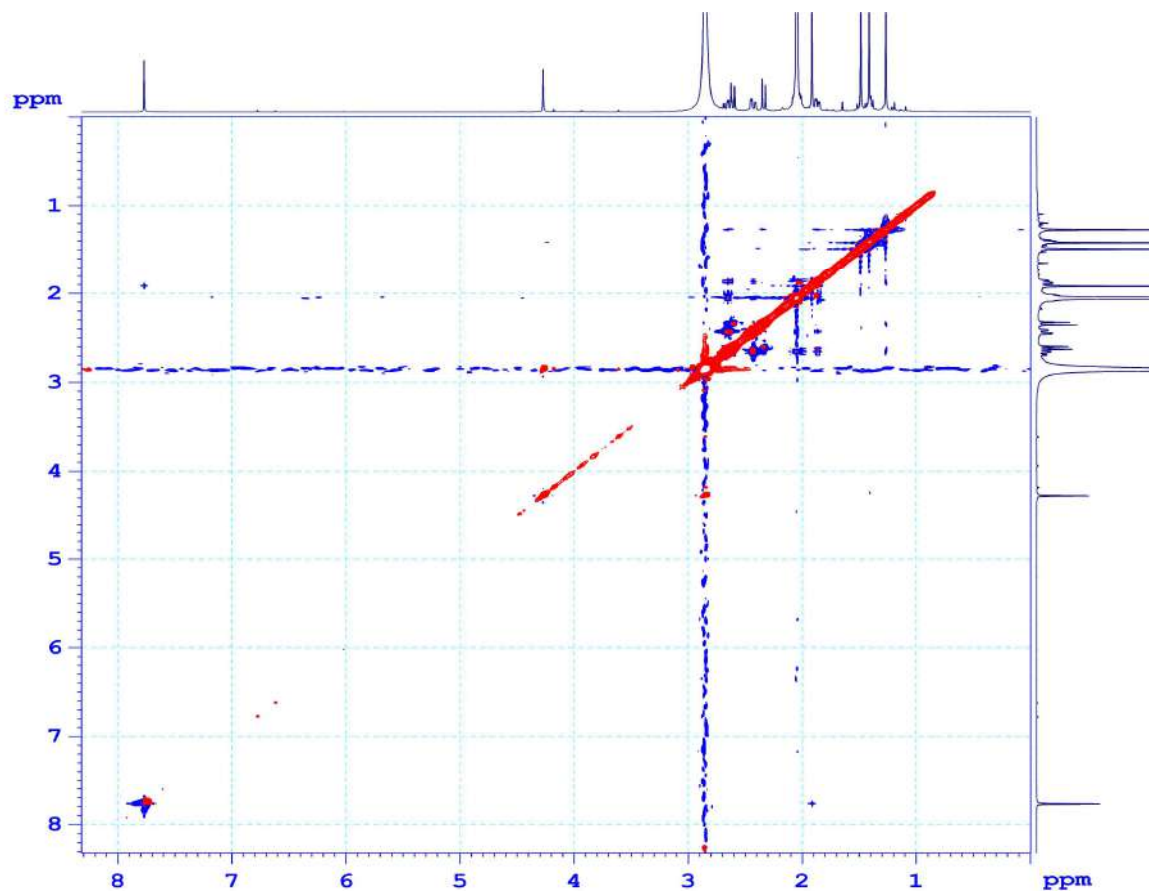
Hình D14.4. Phổ HSQC



Hình D14.5. Phổ HMBC

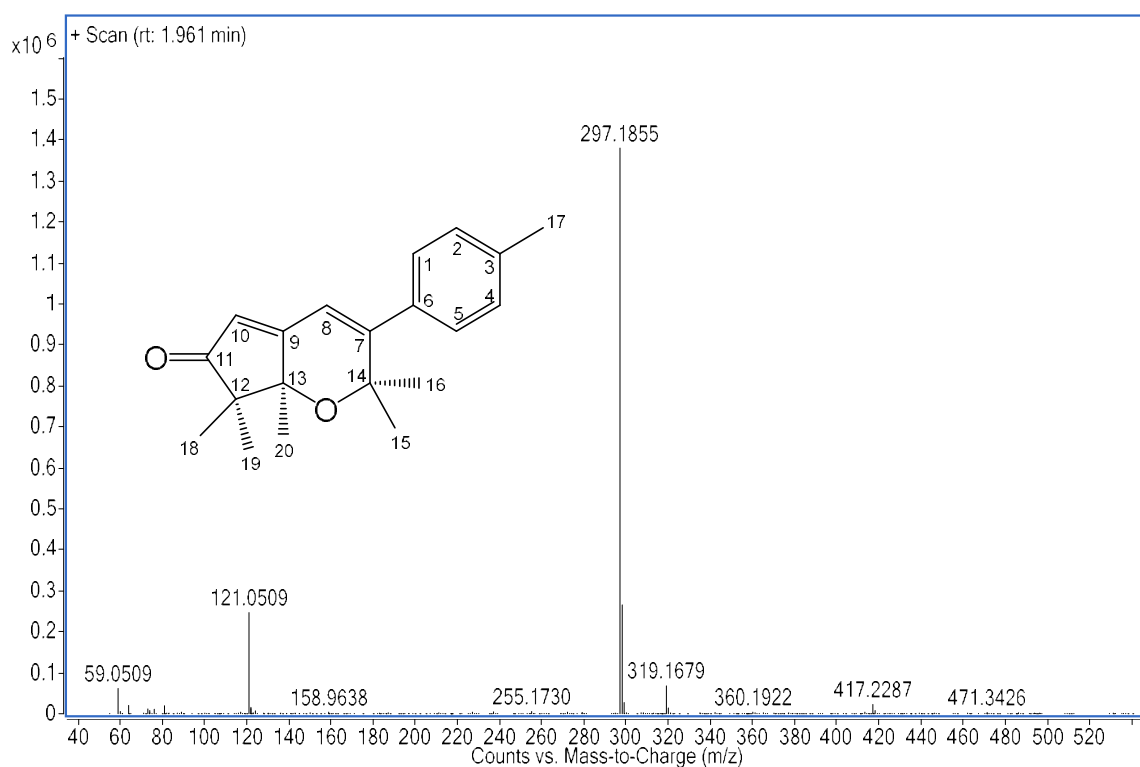


Hình D14.6. Phổ COSY

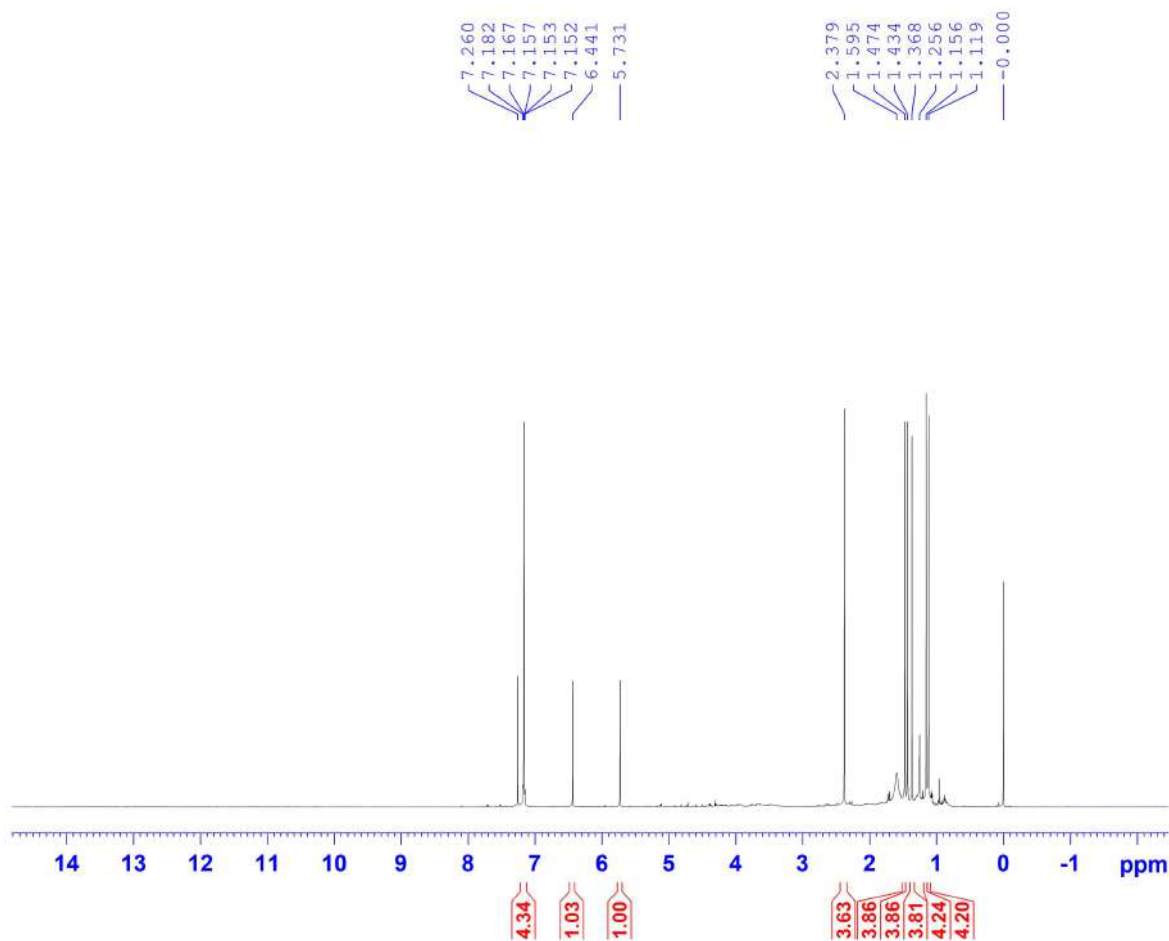


Hình D14.7. Phổ NOESY

1.15. Phổ hợp chất ADB11: Aplydactylonin D (chất mới)

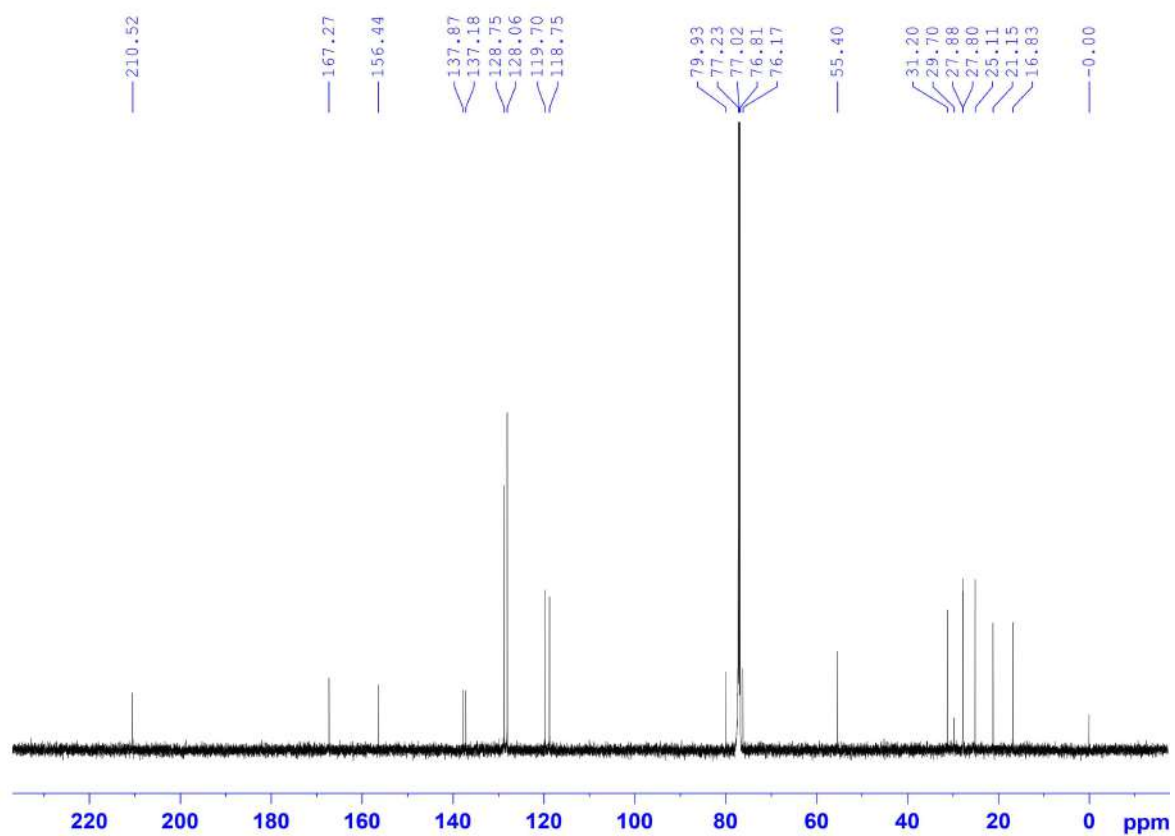
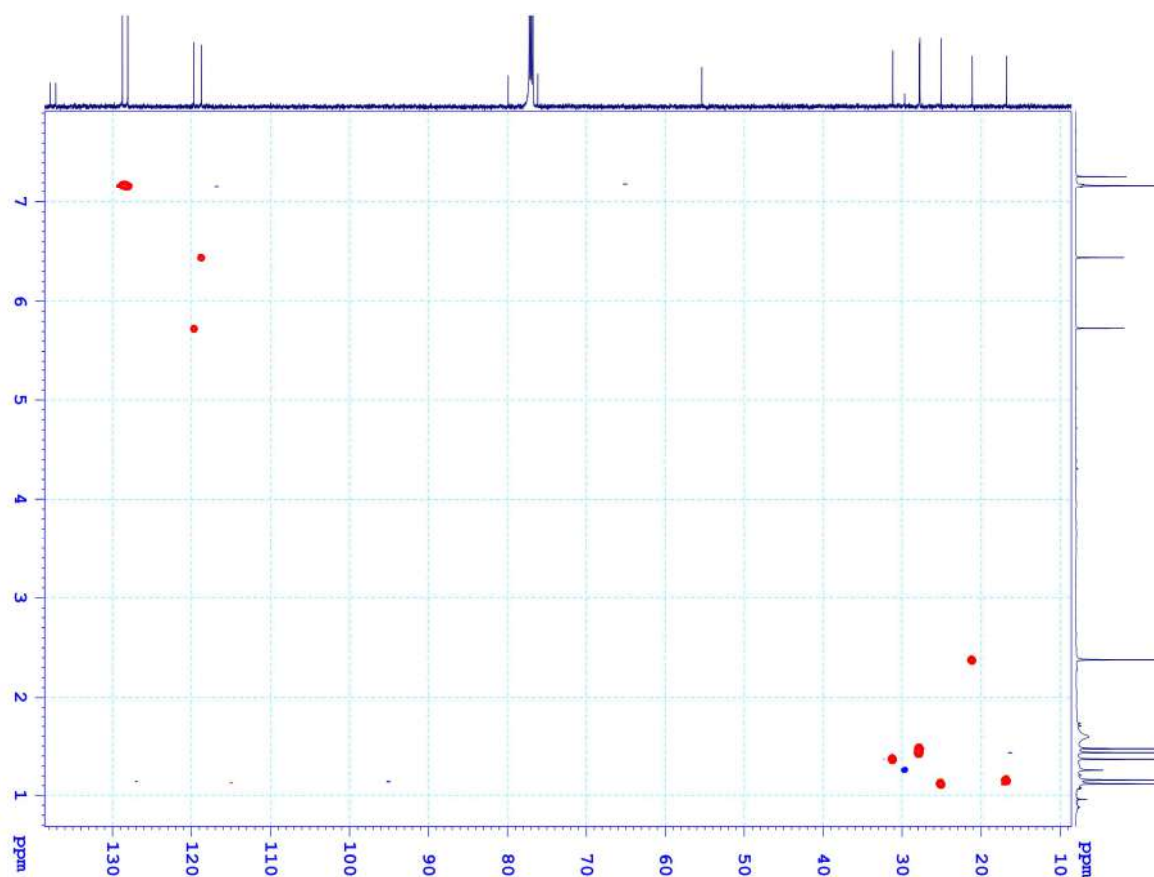


Hình D15.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

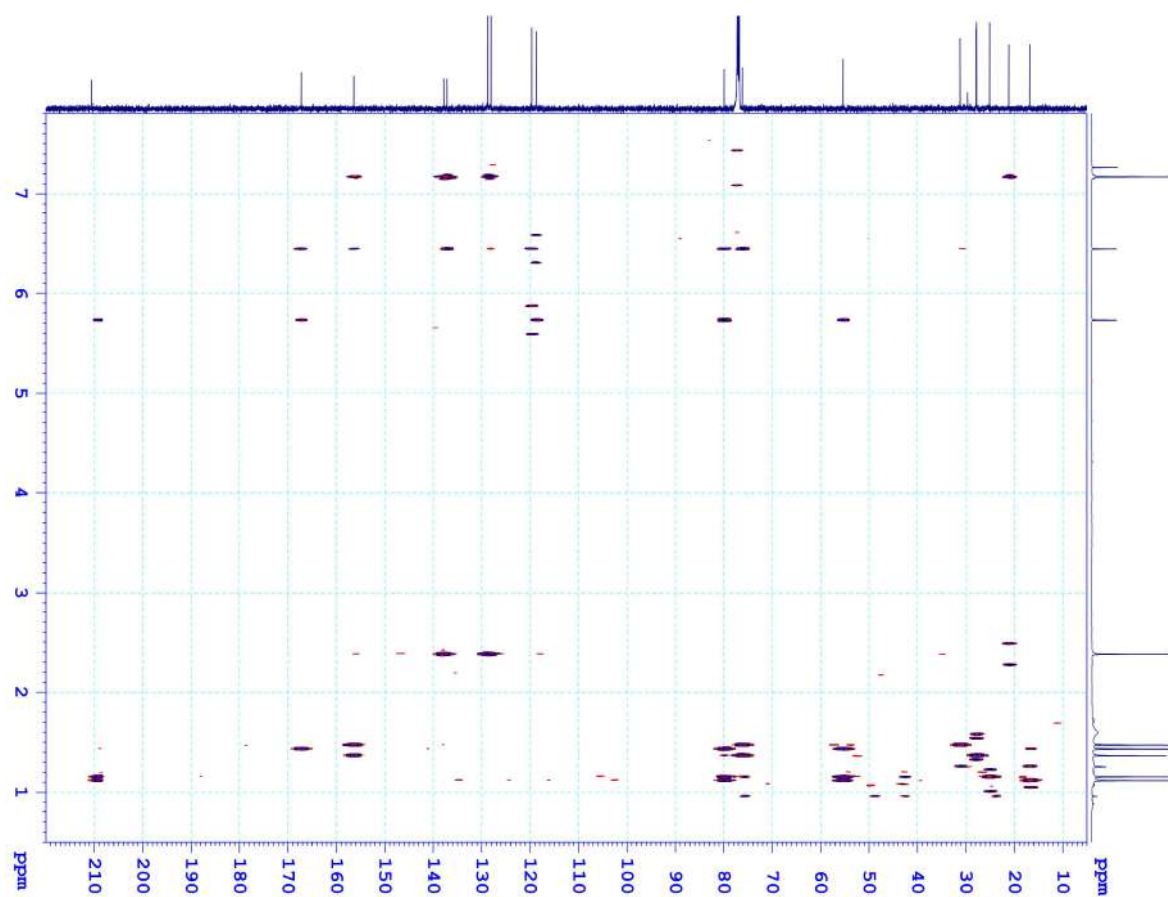


Hình D15.2. Phổ ¹H-NMR

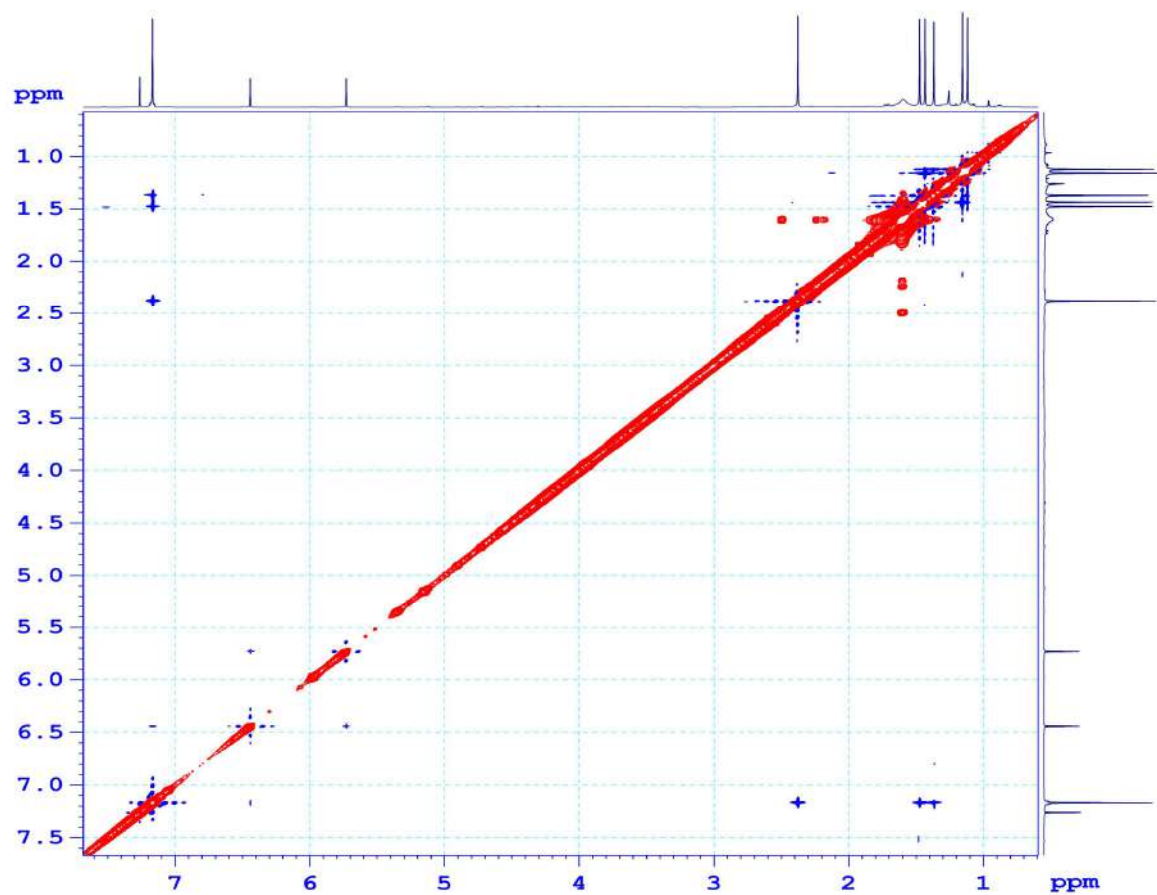
HSB81.1-CDC13-C13CPD

Hình D15.3. Phổ ^{13}C -NMR

Hình D15.4. Phổ HSQC

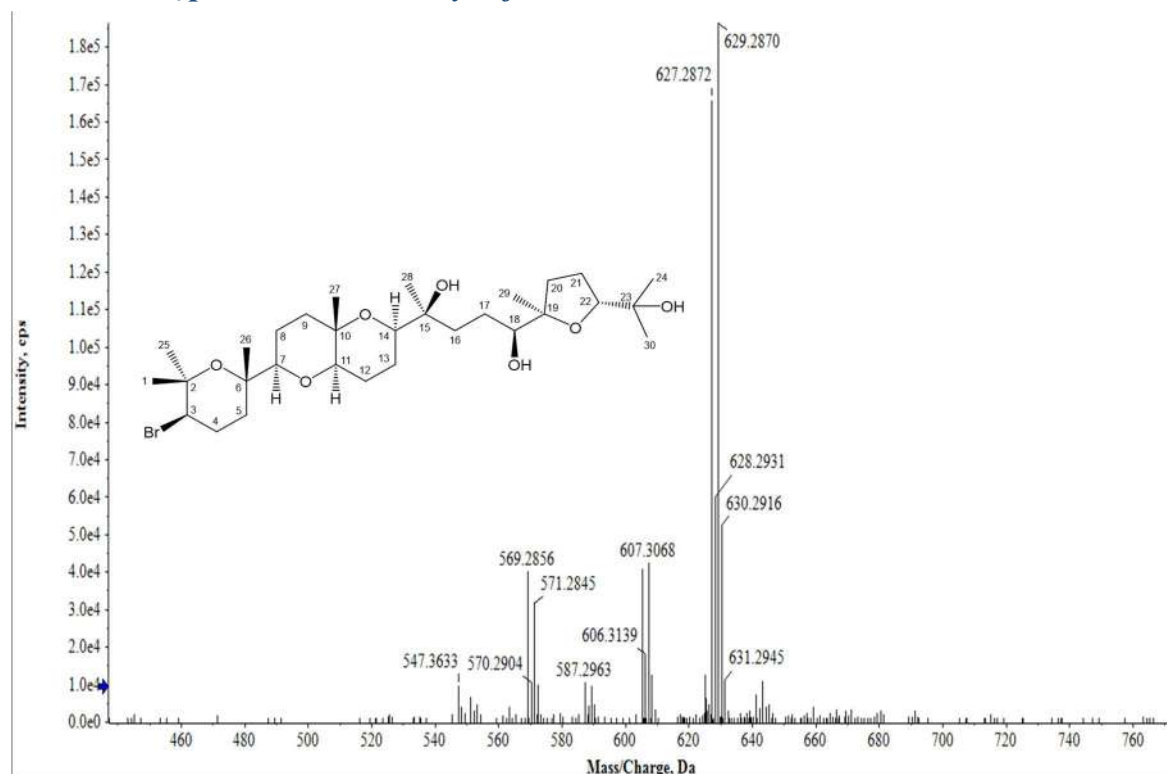


Hình D15.5. Phổ HMBC

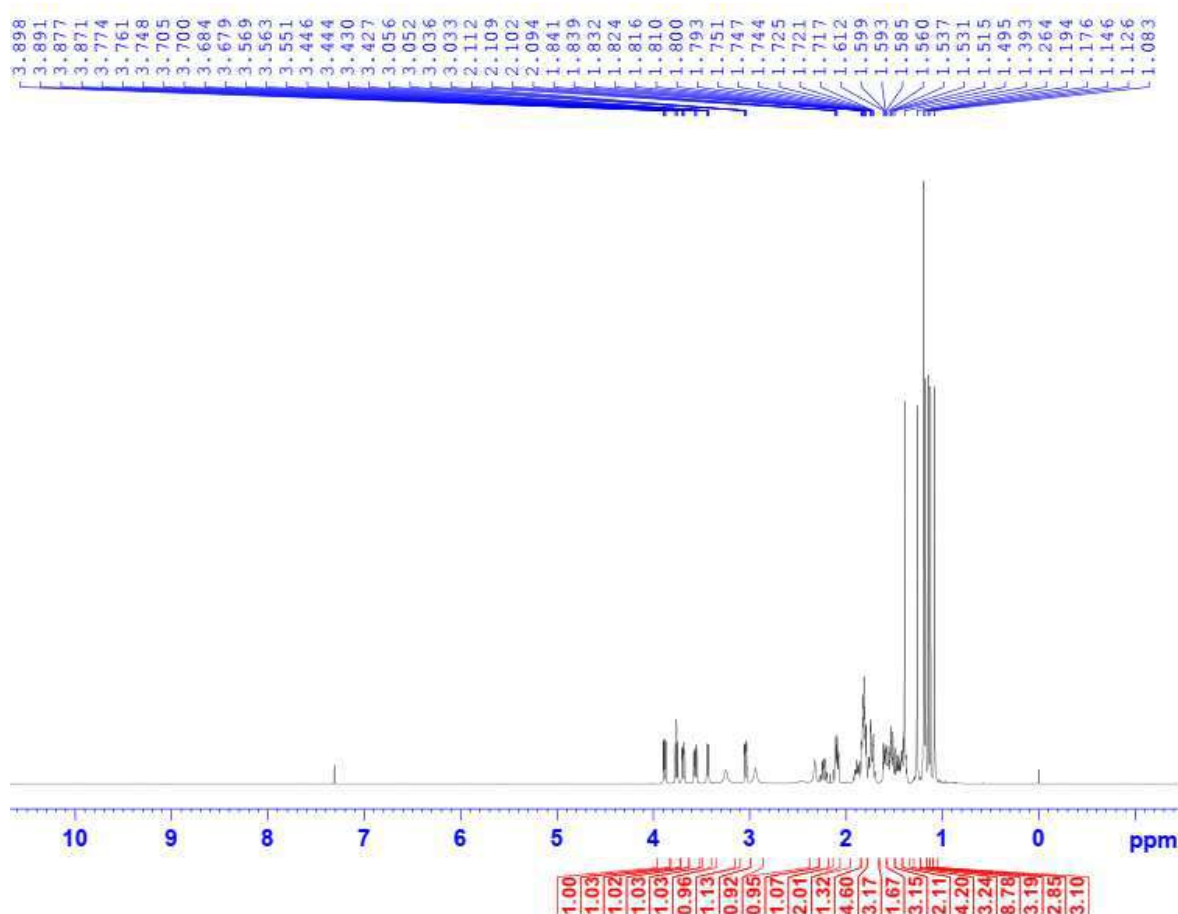


Hình D15.7. Phổ NOESY

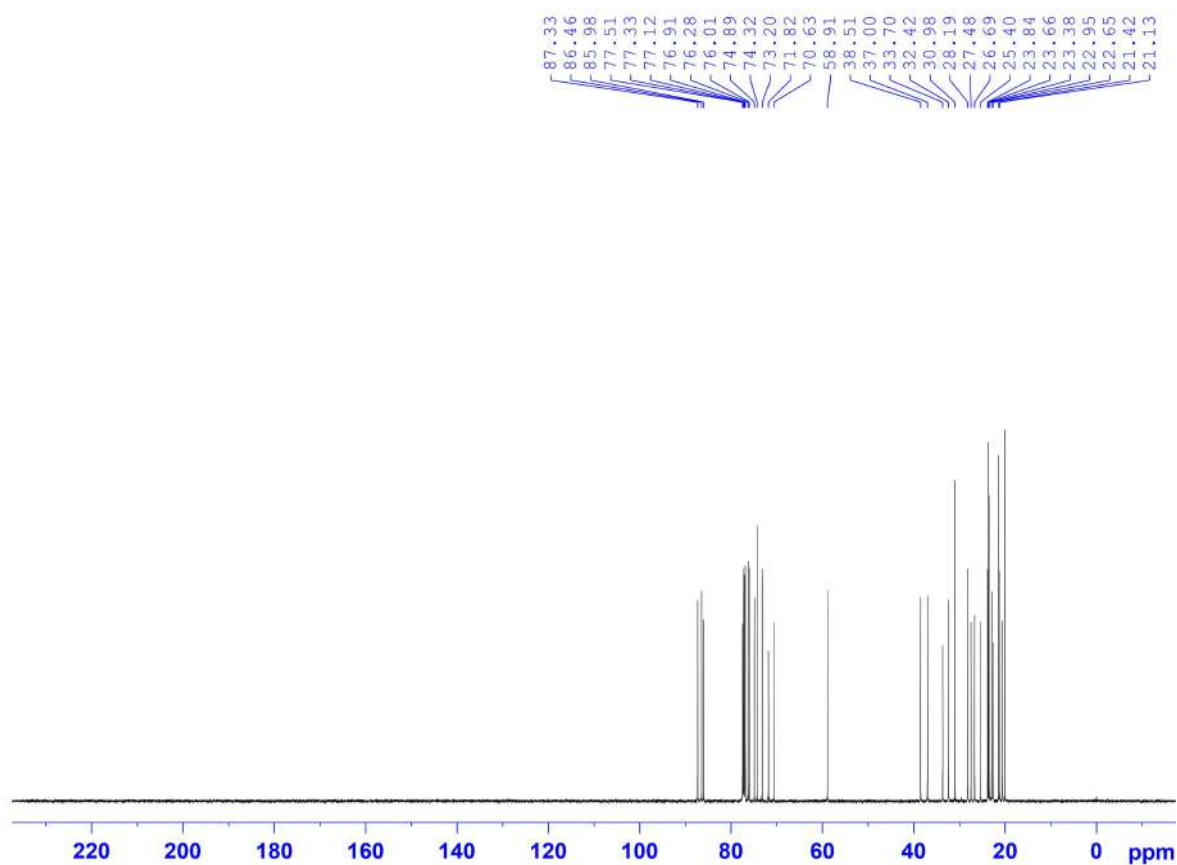
1.16. Phổ hợp chất ADB12: *Thyrsiferol*



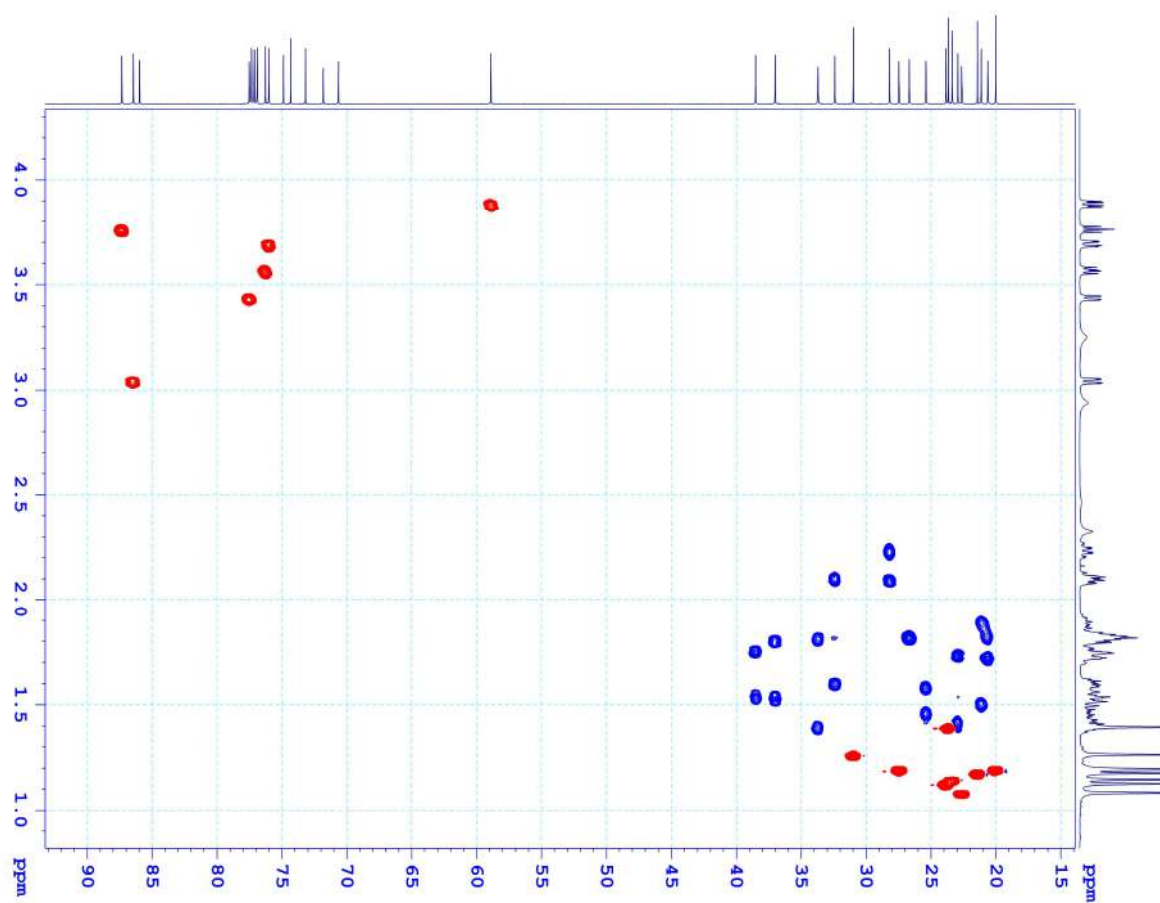
Hình D16.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



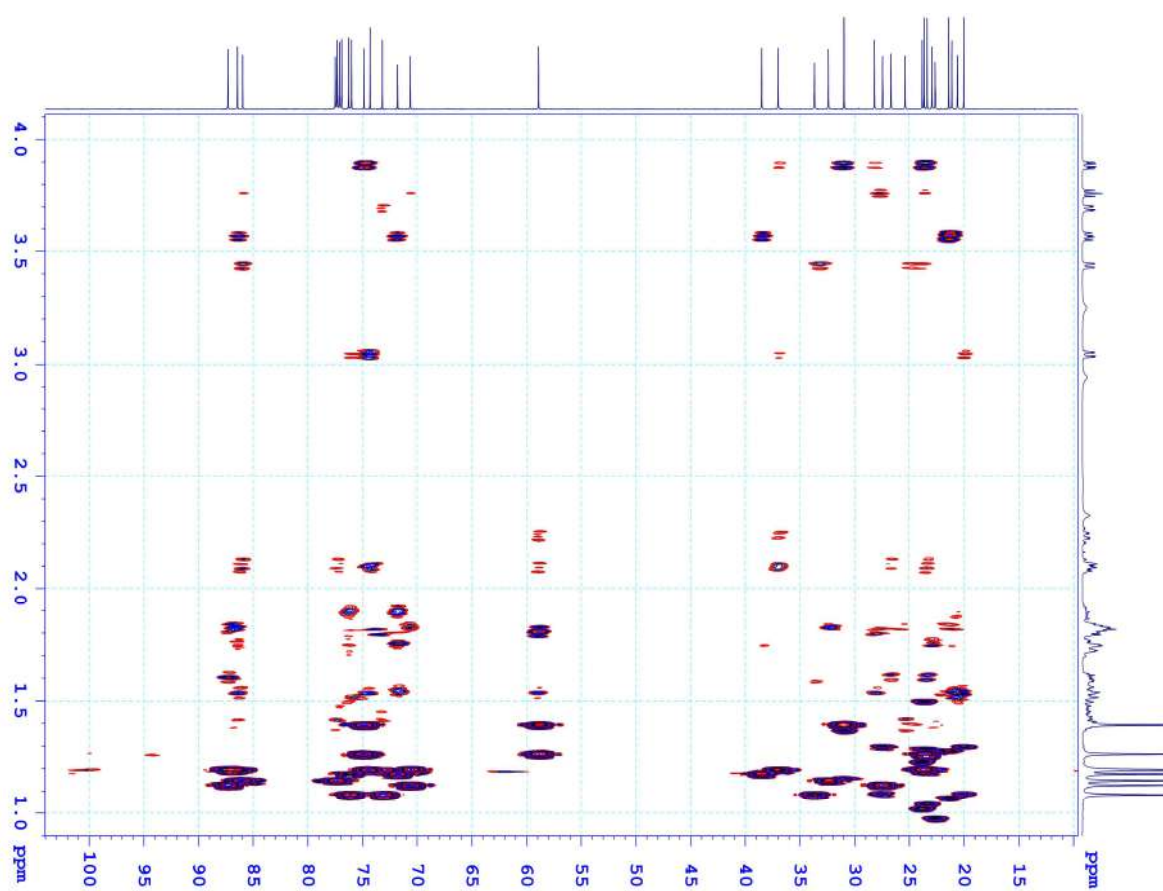
Hình D16.2. Phổ ^1H -NMR



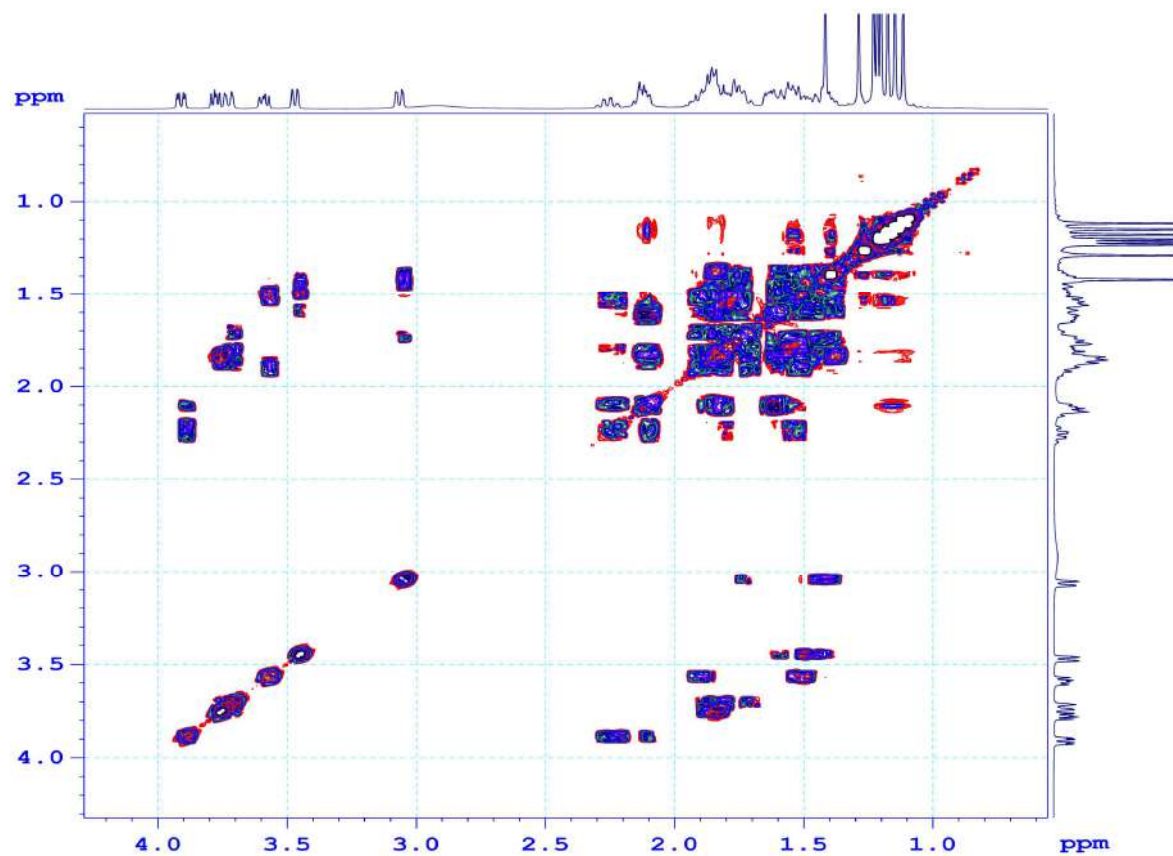
Hình D16.3. Phổ ^{13}C -NMR



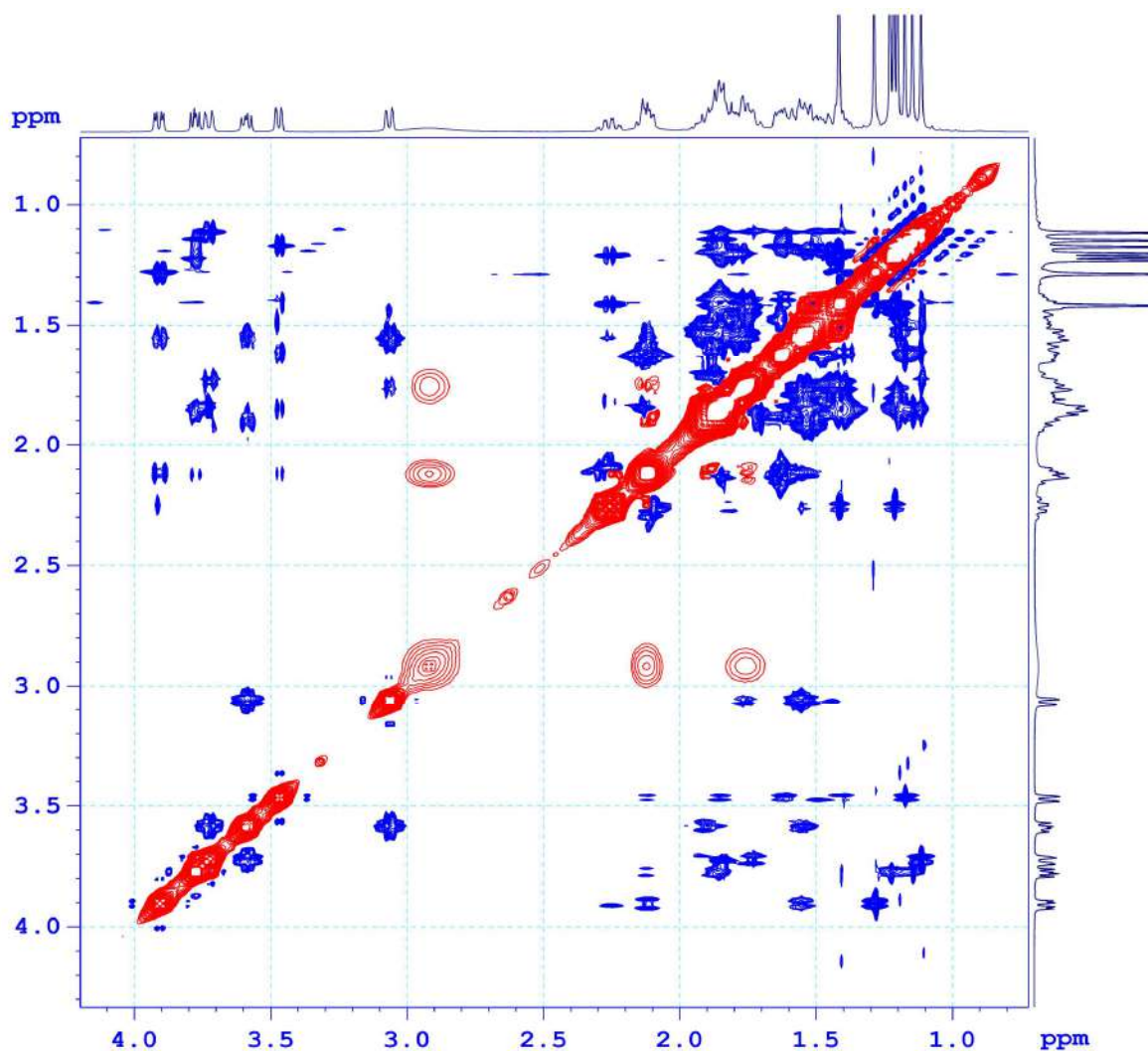
Hình D16.4. Phổ HSQC



Hình D16.5. Phổ HMBC



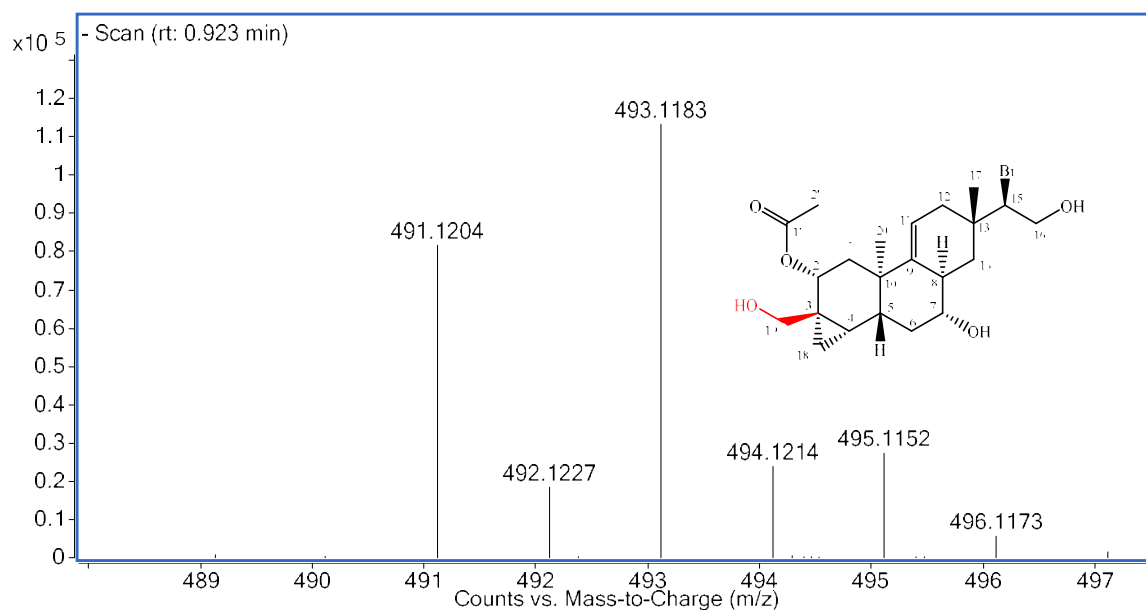
Hình D16.6. Phổ COSY



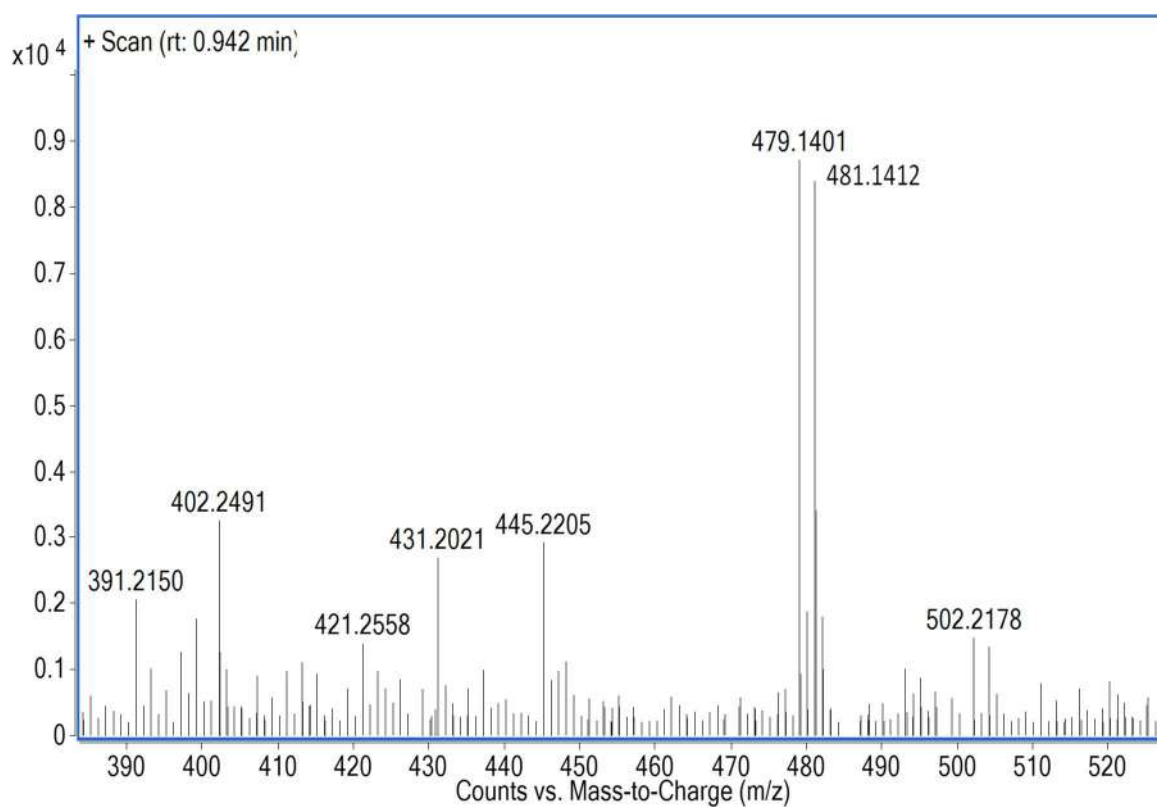
Hình D16.7. Phổ NOESY

2. Bộ phổ các chất phân lập từ mẫu sên *A. oculifera*

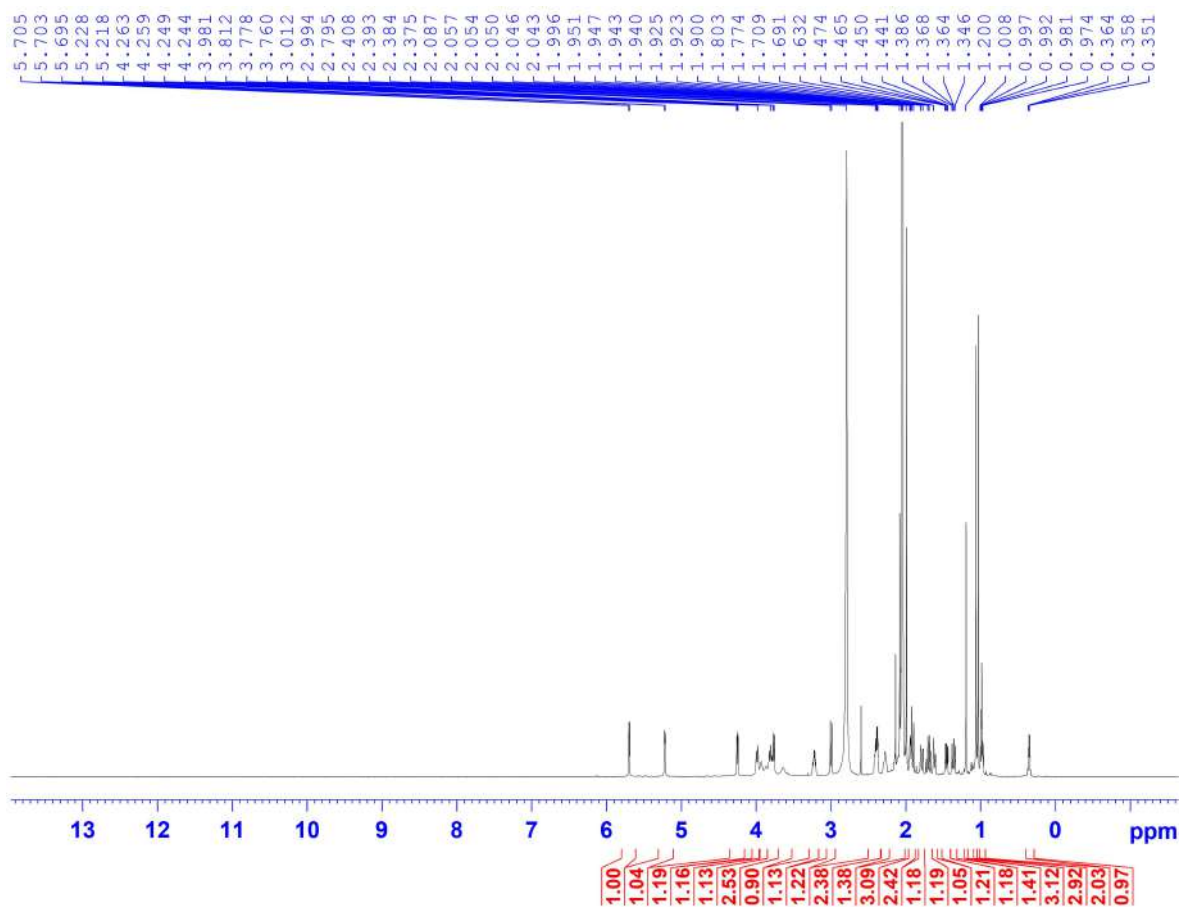
2.1. Phổ hợp chất AOB1: *Oculiferanin A* (chất mới)



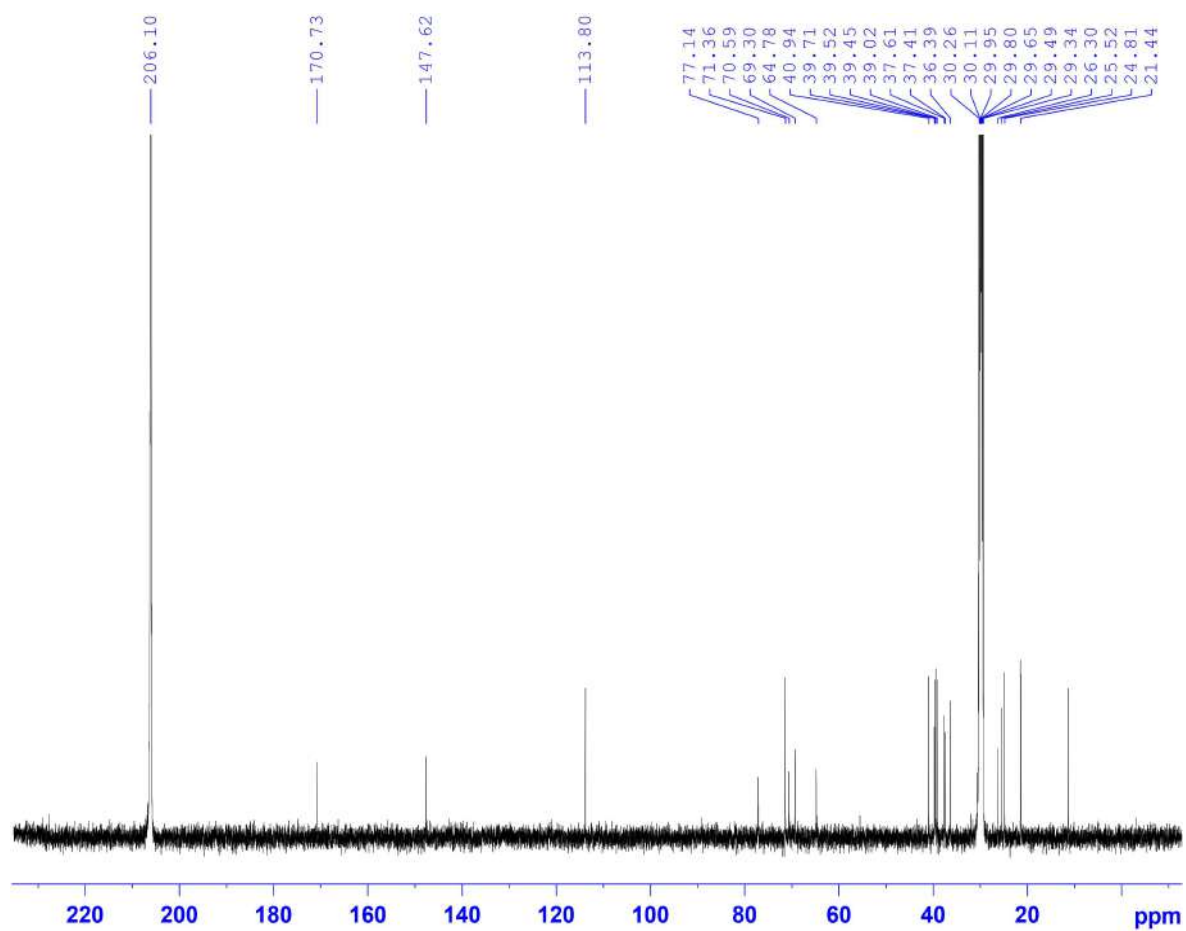
Hình O1.1a. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



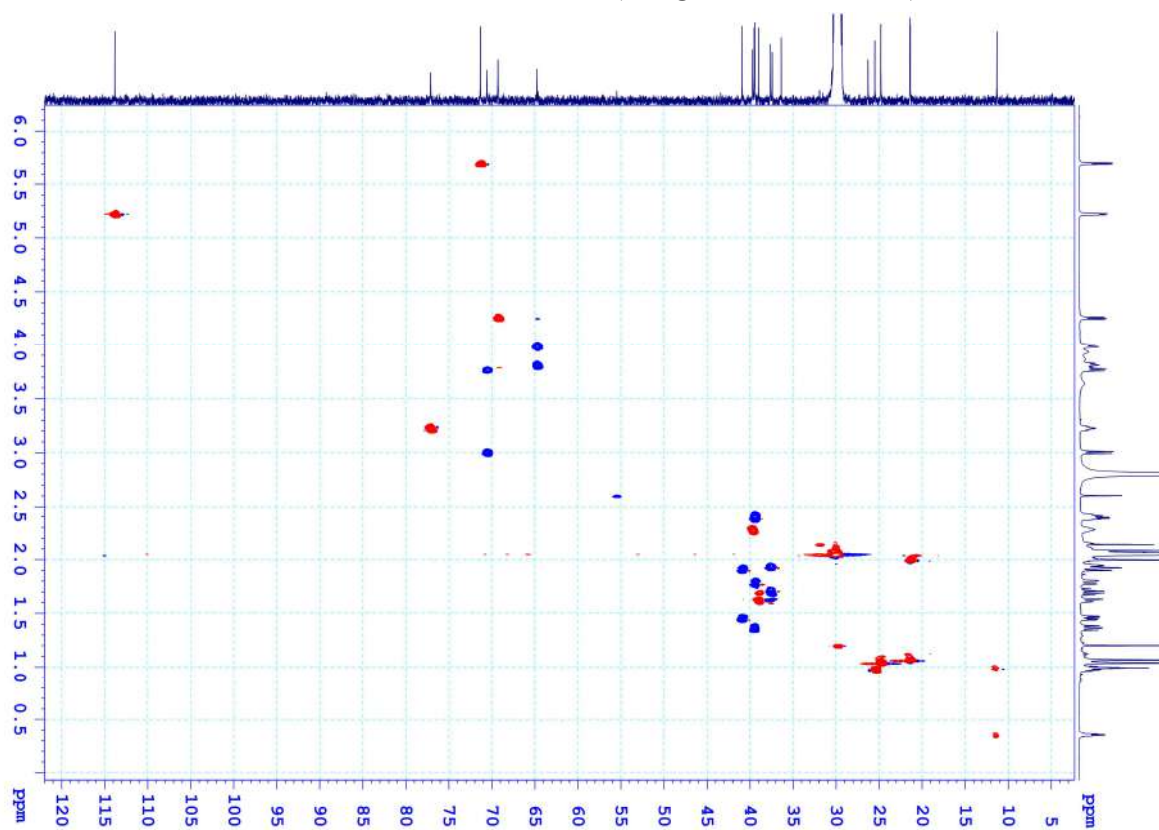
Hình O1.1b. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



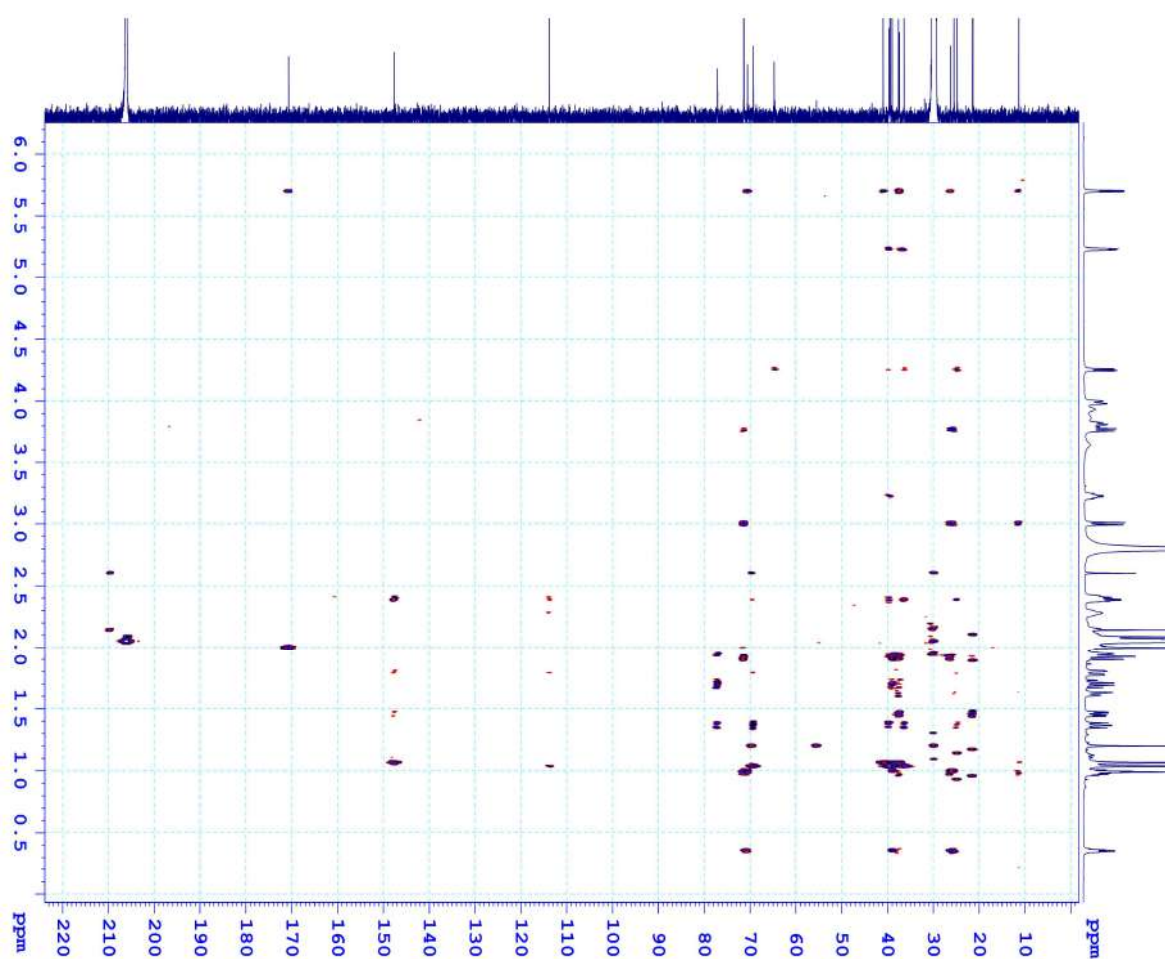
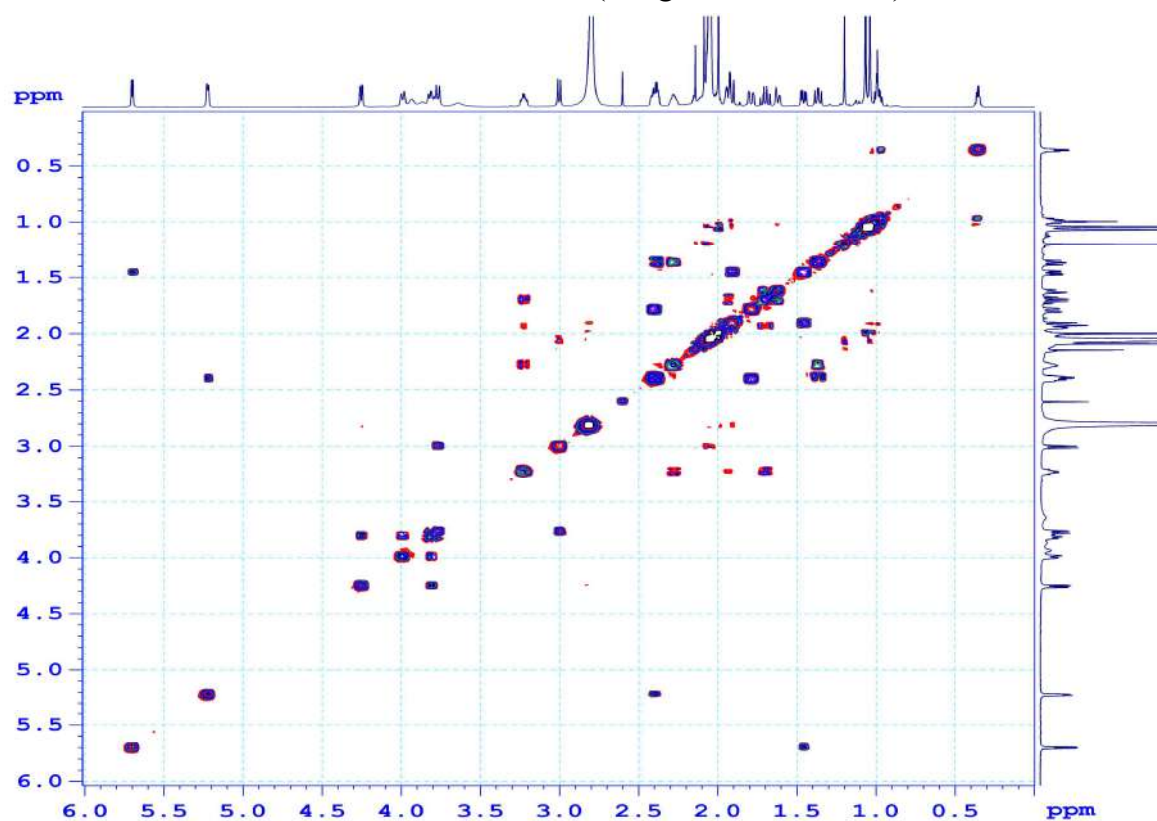
Hình O1.2. Phổ ¹H-NMR (dung môi acetone-*d*₆)

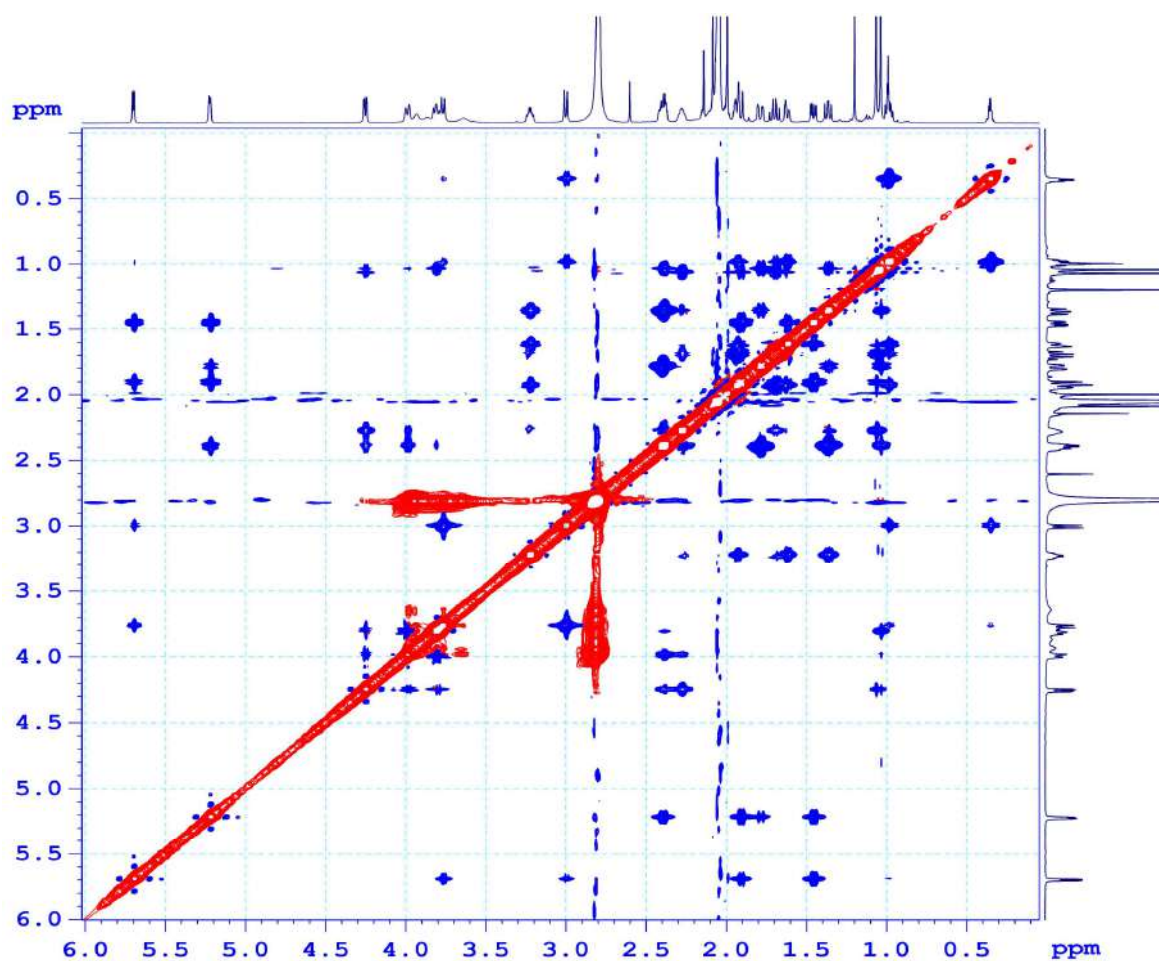


Hình O1.3. Phổ ^{13}C -NMR (dung môi acetone- d_6)

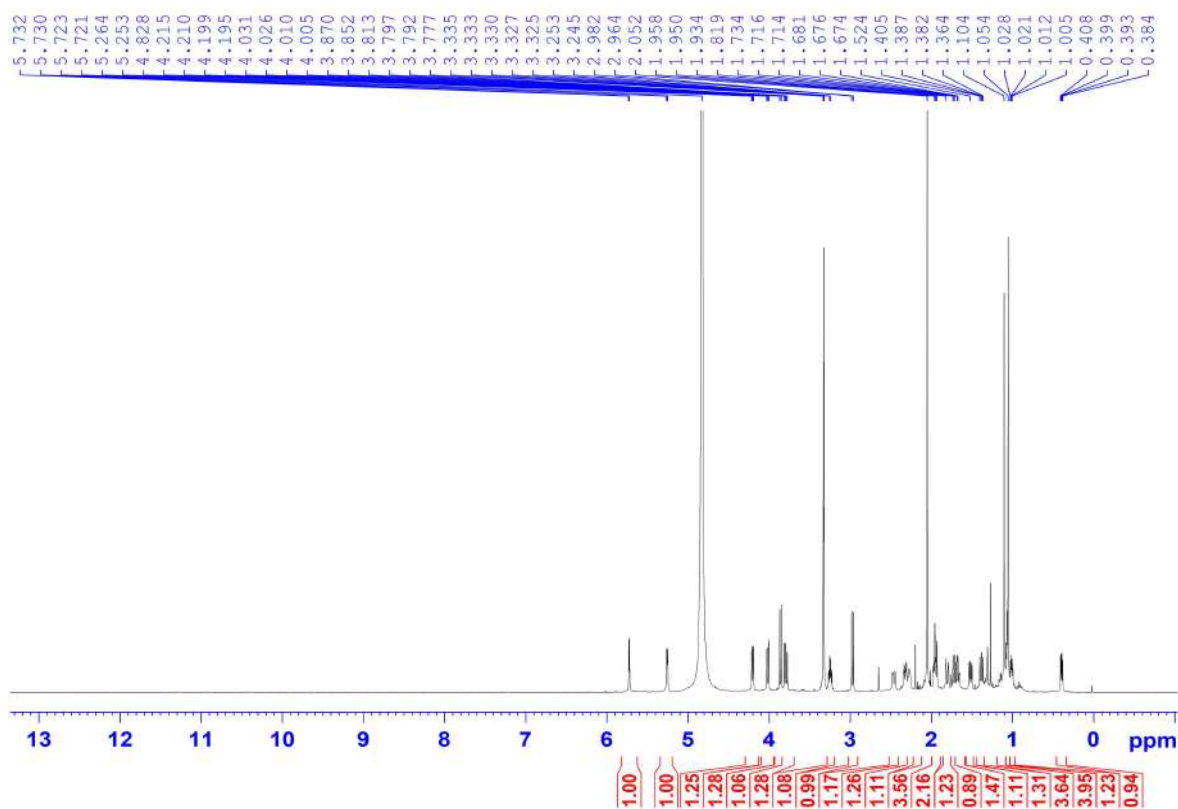


Hình O1.4. Phổ HSQC (dung môi acetone- d_6)

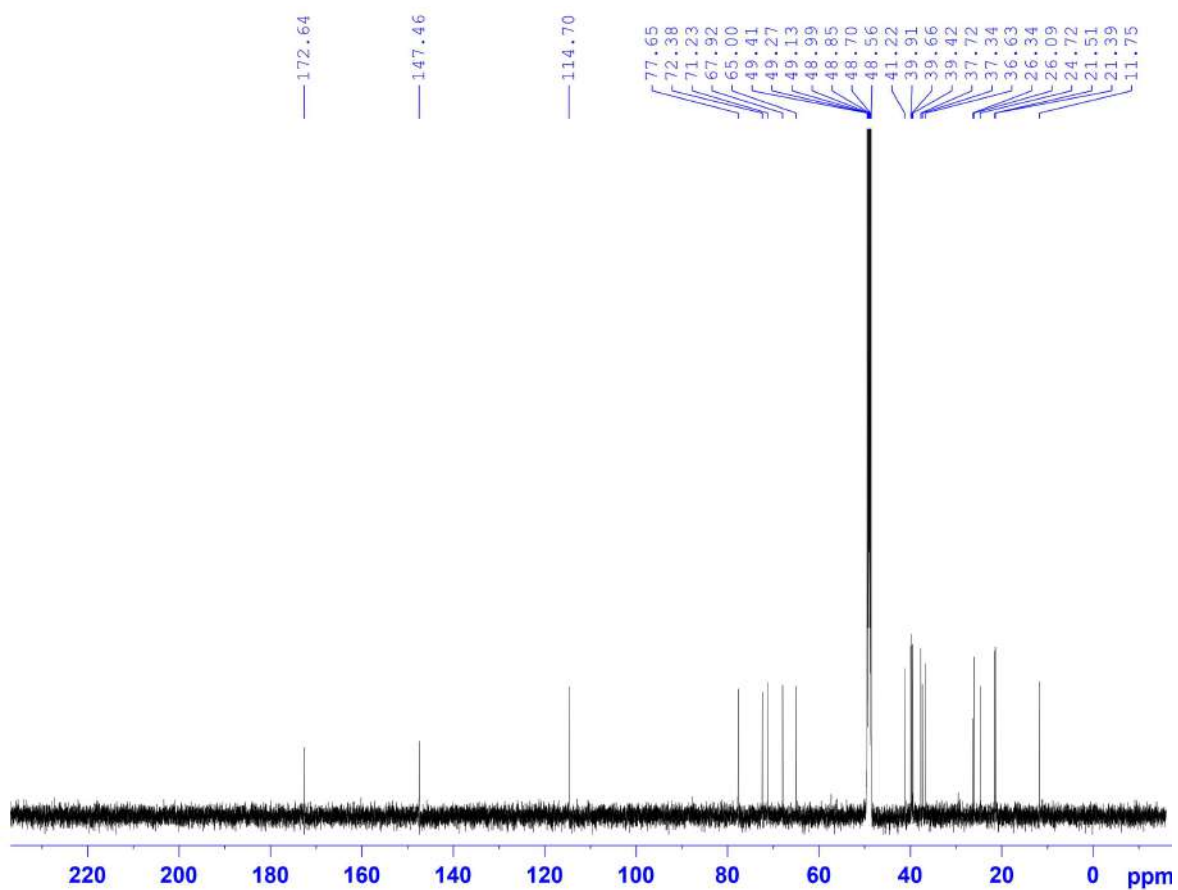
Hình O1.5. Phổ HMBC (dung môi acetone- d_6)Hình O1.6. Phổ COSY (dung môi acetone- d_6)



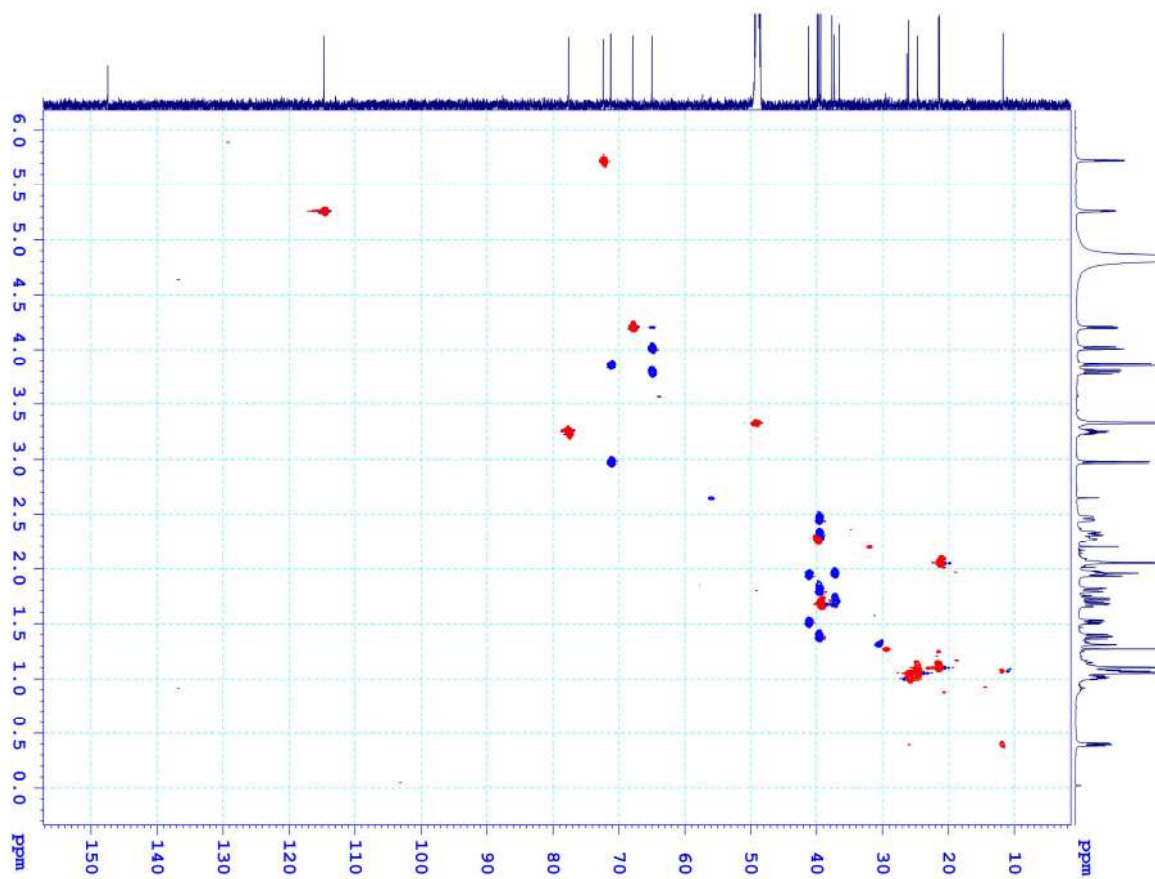
Hình O1.7. Phổ NOESY (dung môi acetone- d_6)



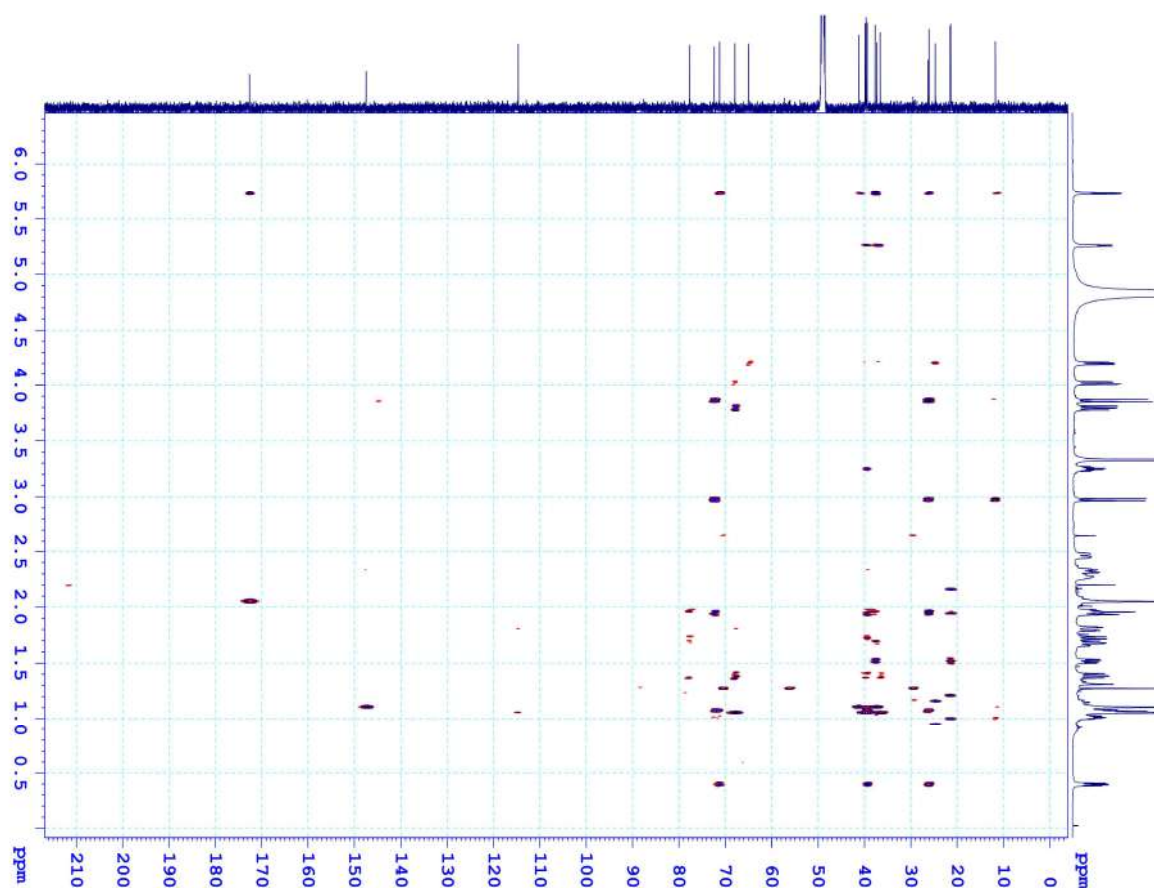
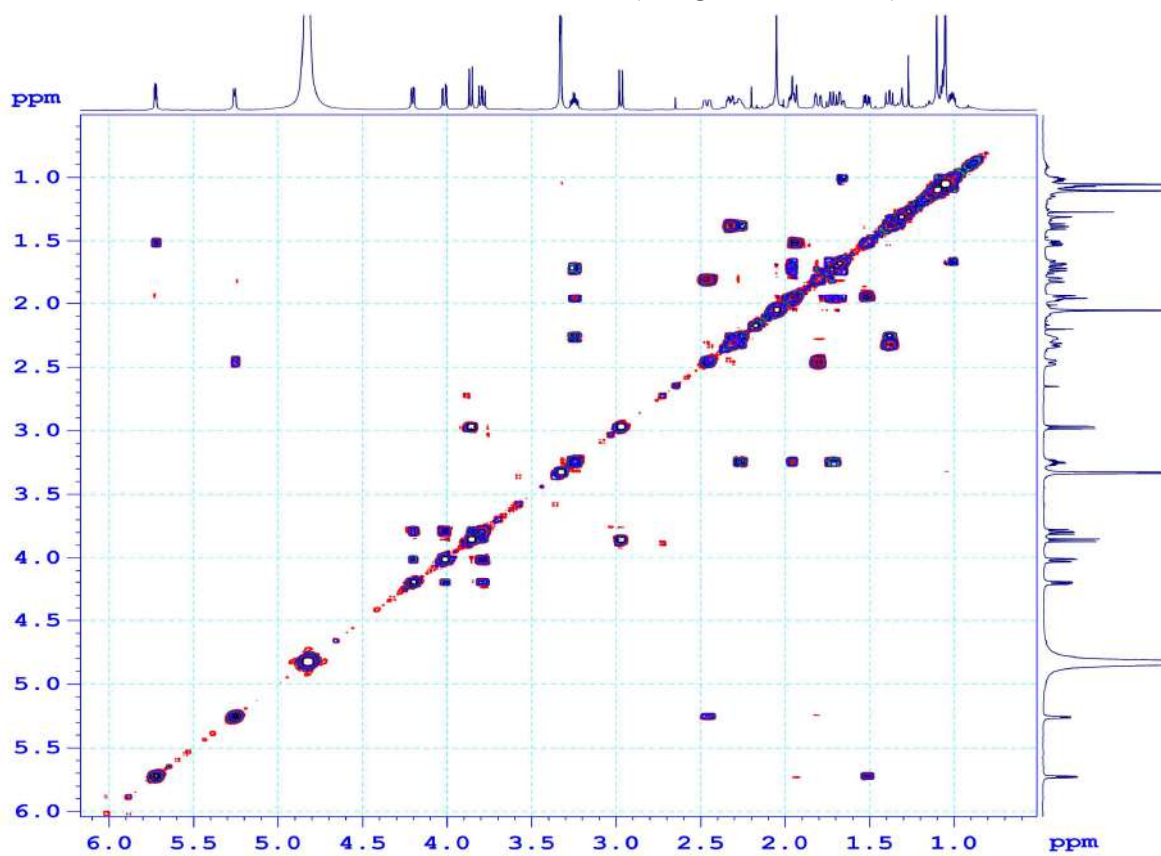
Hình O1.1A. Phổ ^1H -NMR (dung môi CD_3OD)

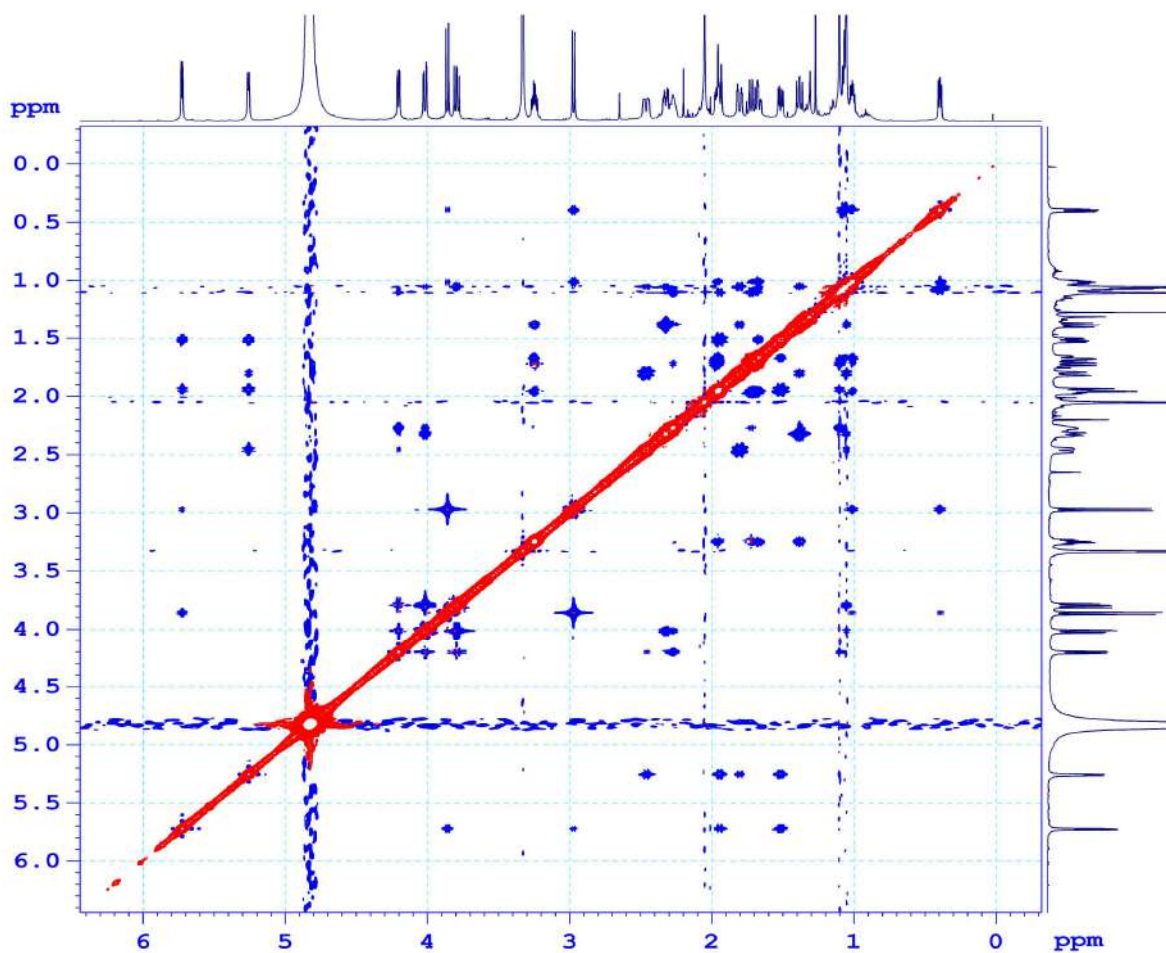


Hình O1.2A. Phổ ^{13}C -NMR (dung môi CD_3OD)



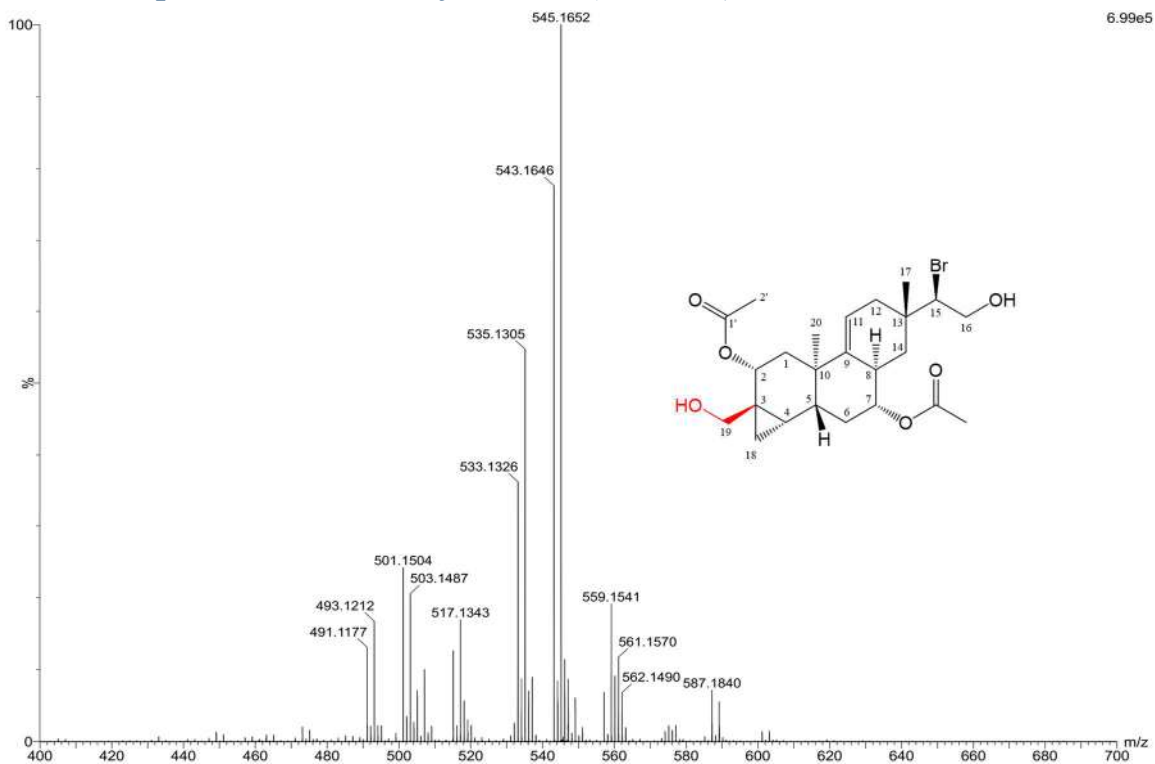
Hình O1.3A. Phổ HSQC (dung môi CD_3OD)

Hình O1.4A. Phổ HMBC (dung môi CD_3OD)Hình O1.5A. Phổ COSY (dung môi CD_3OD)

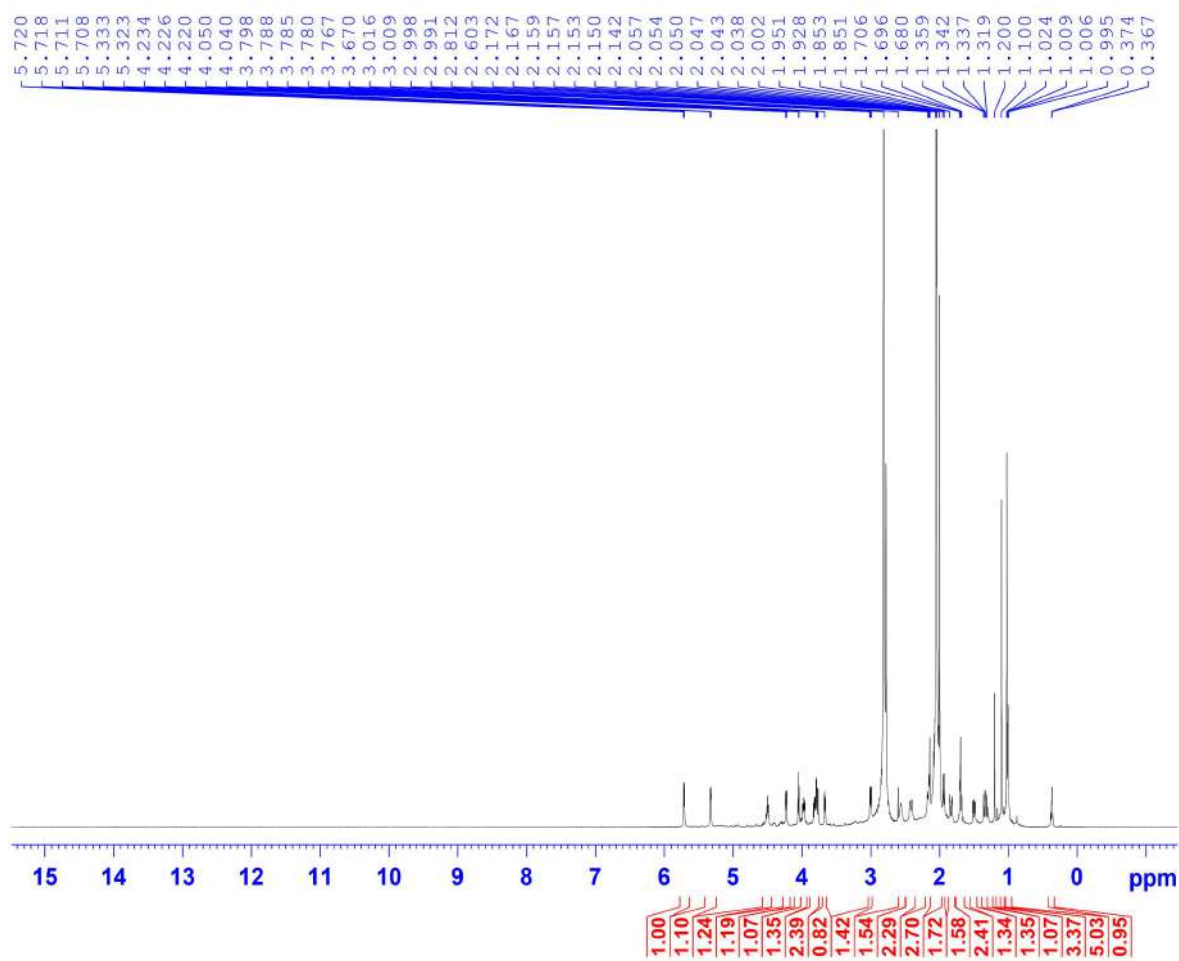
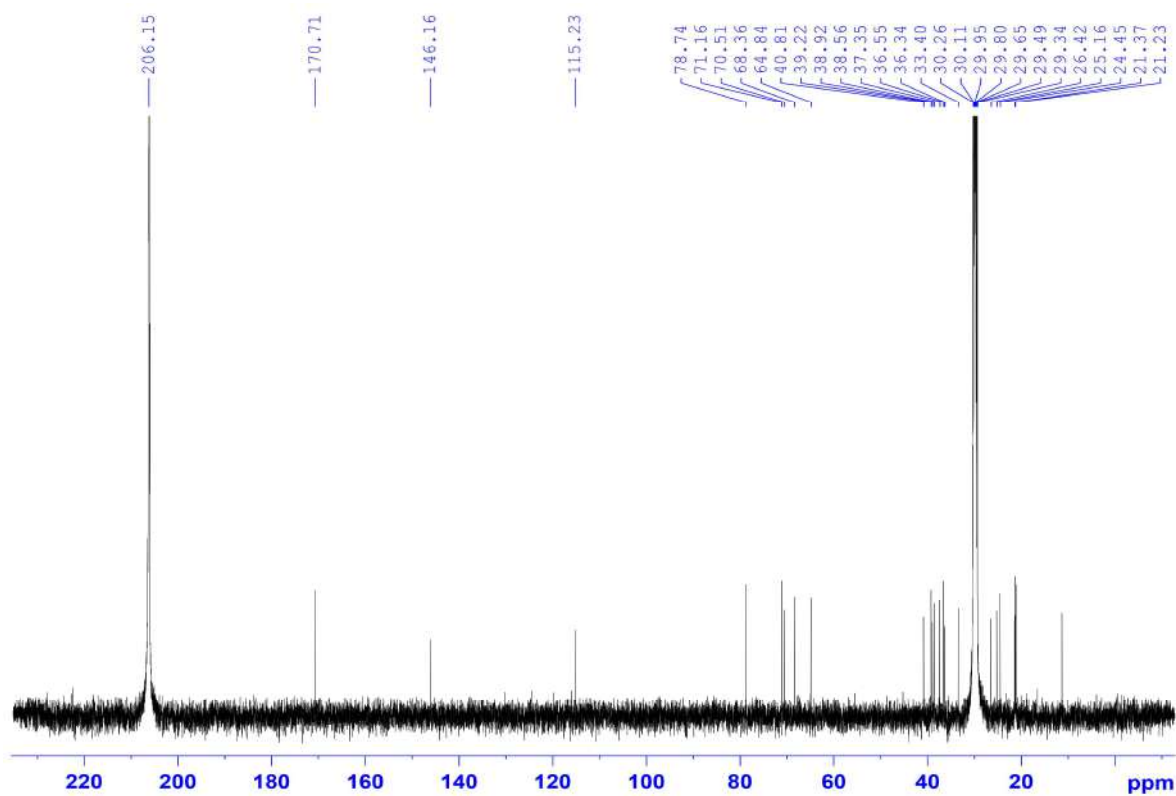


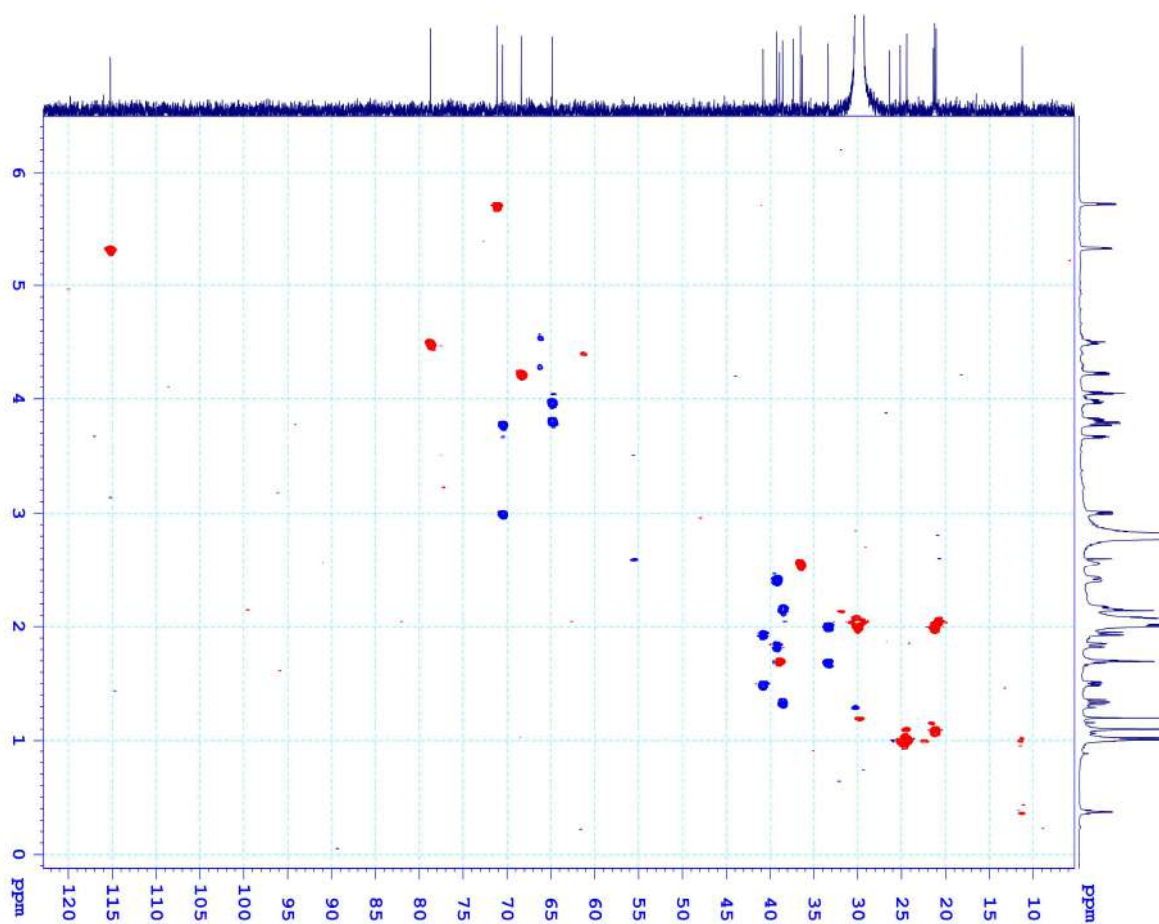
Hình O1.6A. Phổ NOESY (dung môi CD_3OD)

2.2. Phổ hợp chất AOB2: Oculiferanin B (chất mới)

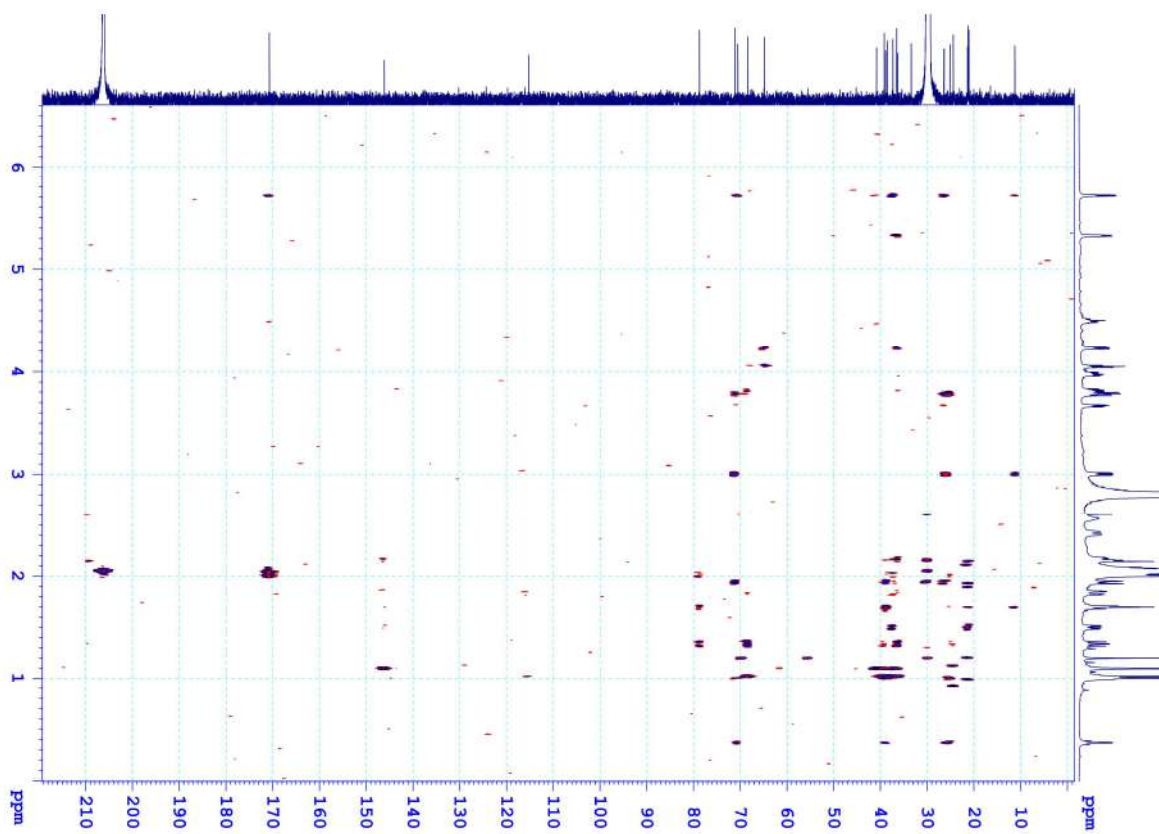


Hình O2.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

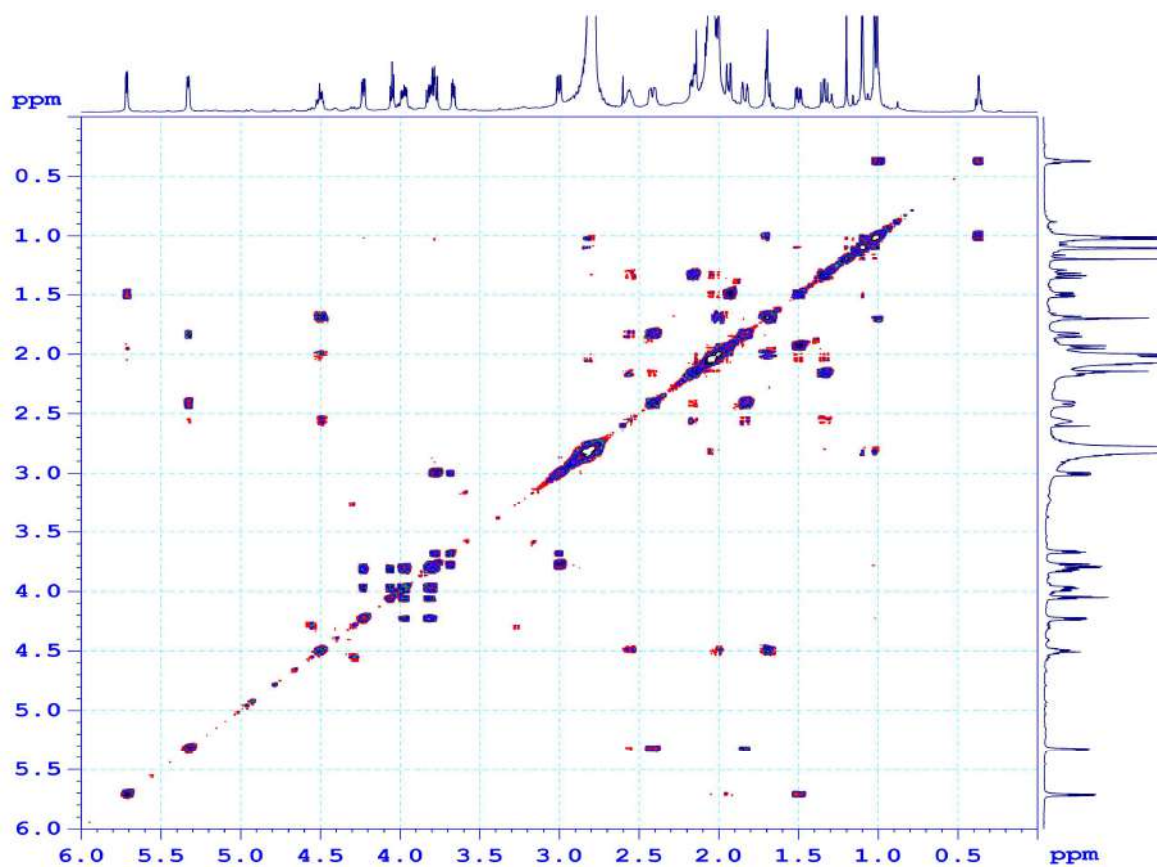
Hình O2.2. Phổ $^1\text{H-NMR}$ Hình O2.3. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$



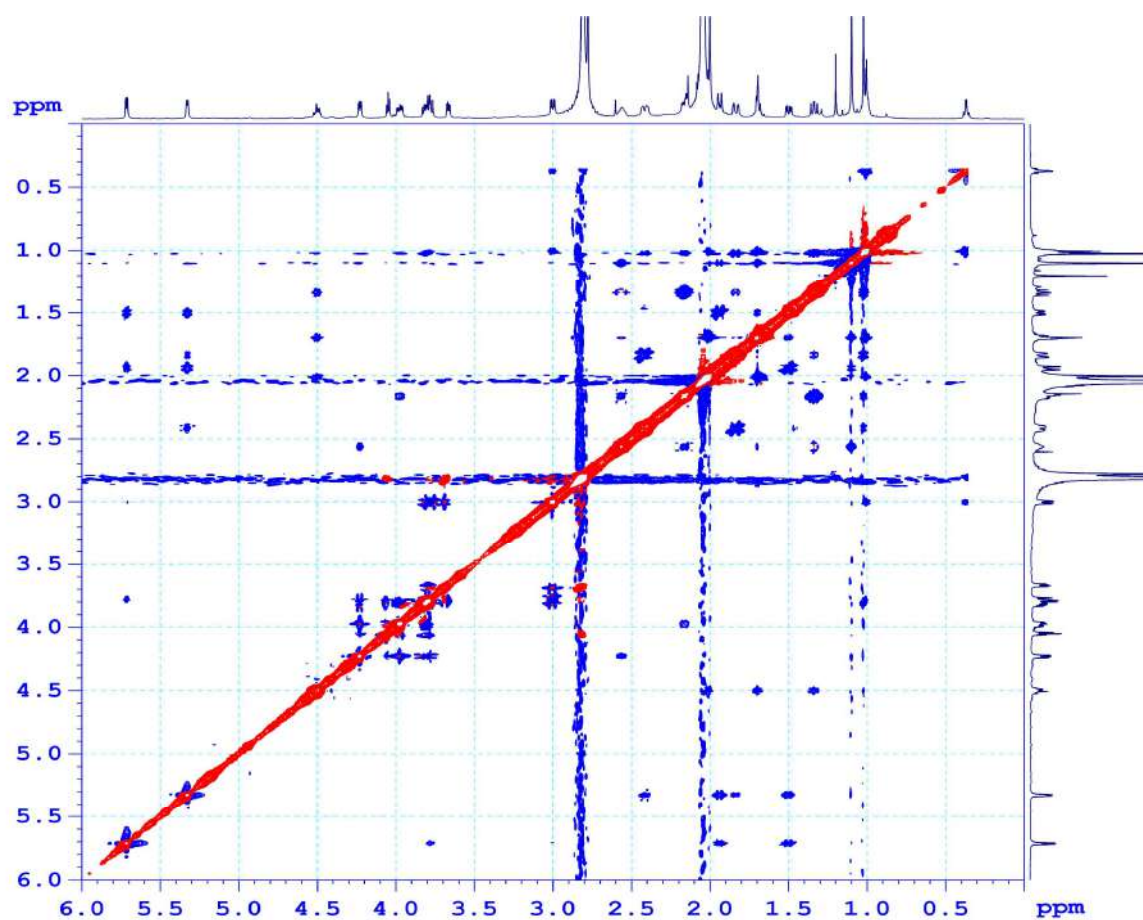
Hình O2.4. Phổ HSQC



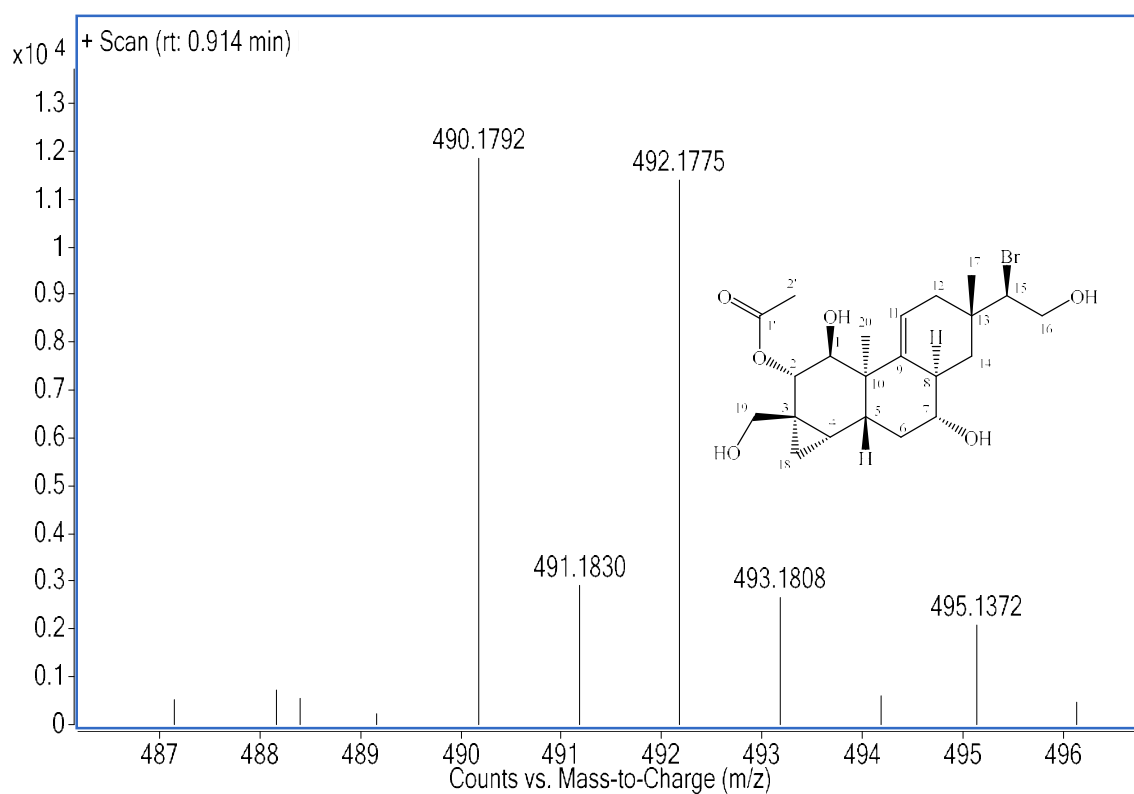
Hình O2.5. Phổ HMBC



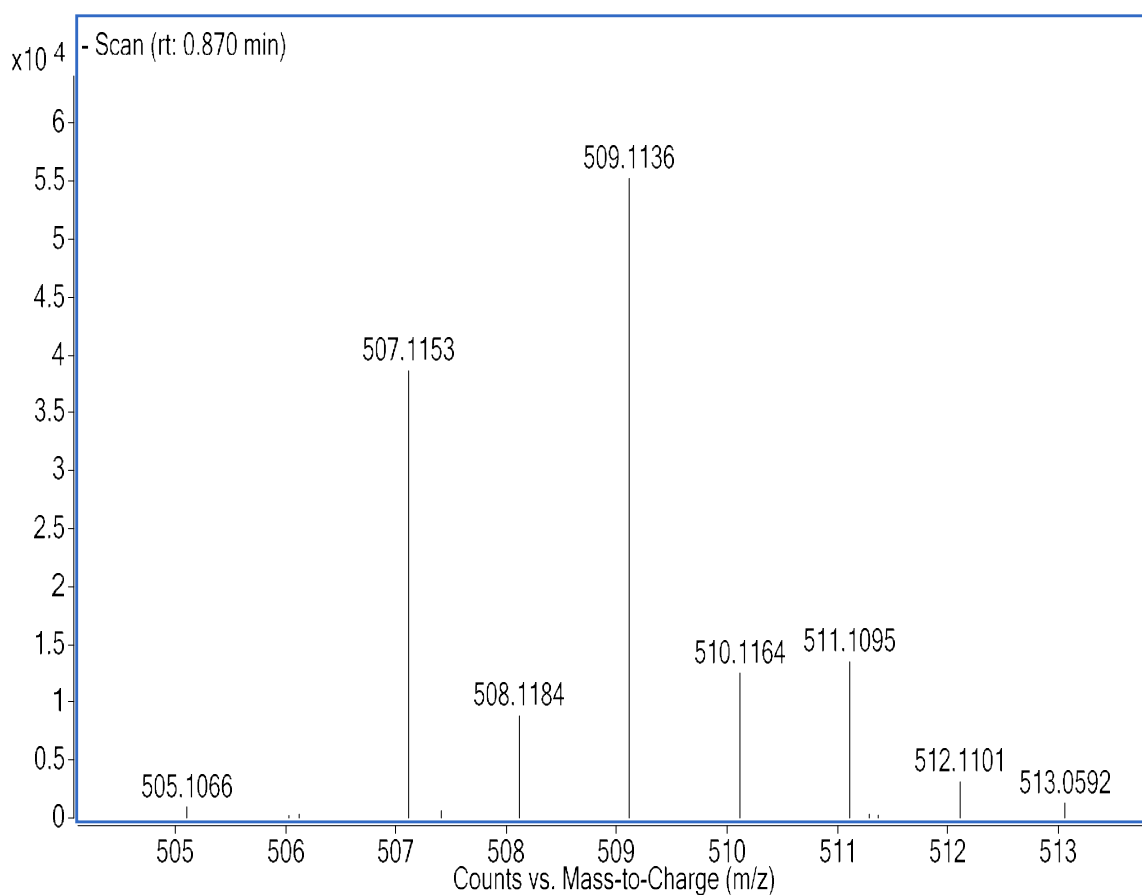
Hình O2.6. Phổ COSY



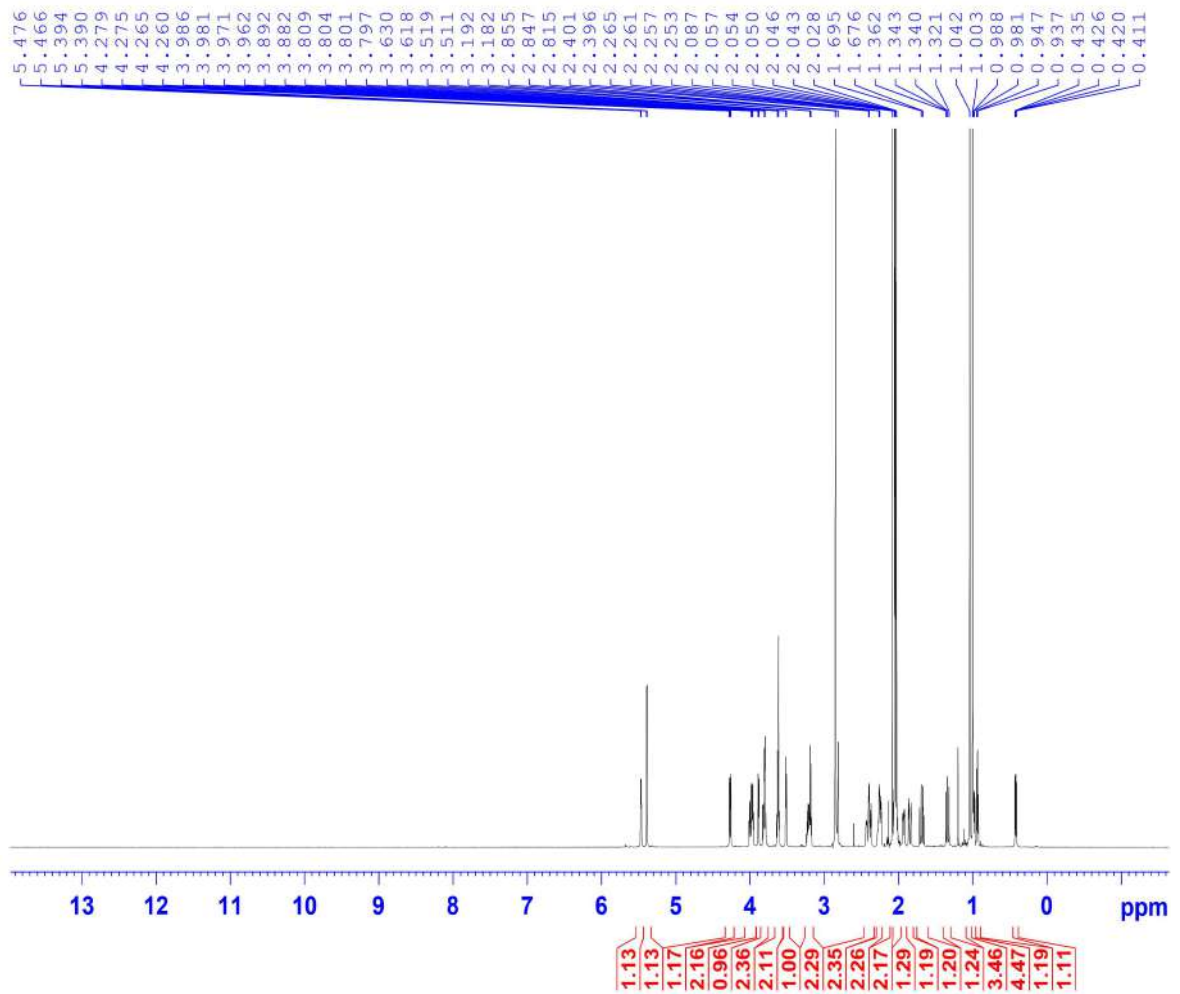
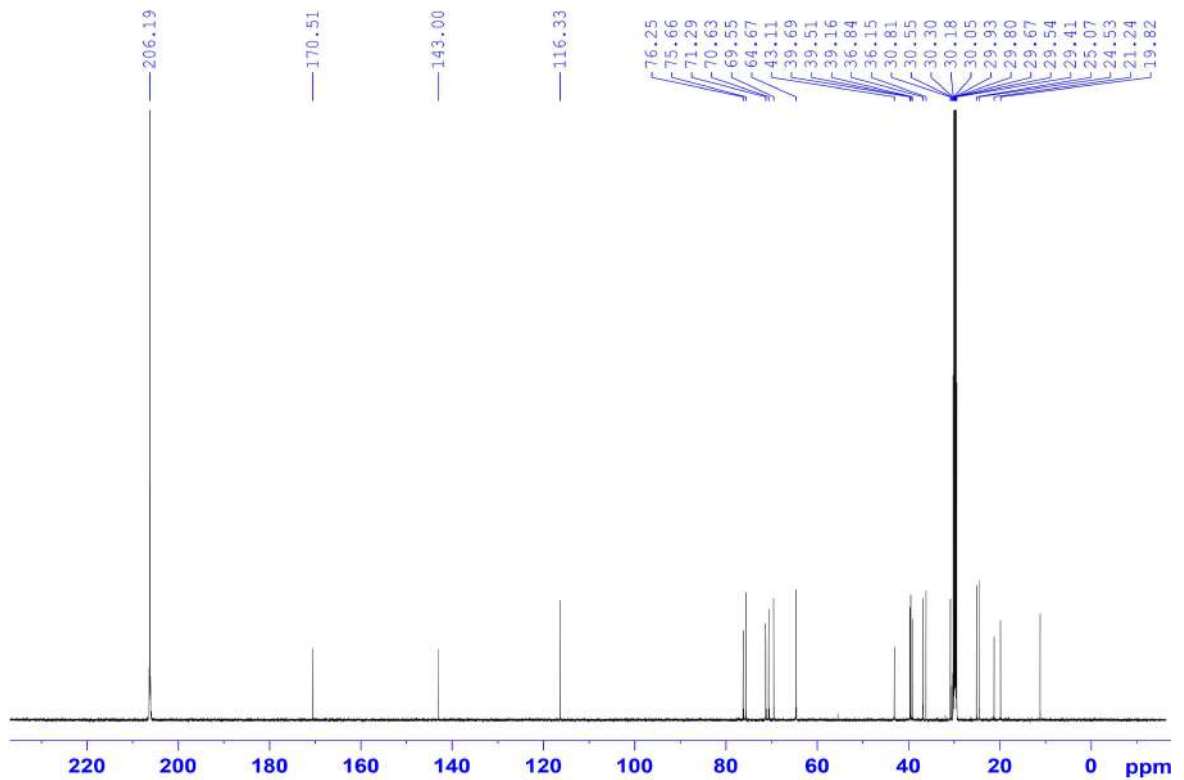
Hình O2.7. Phổ NOESY

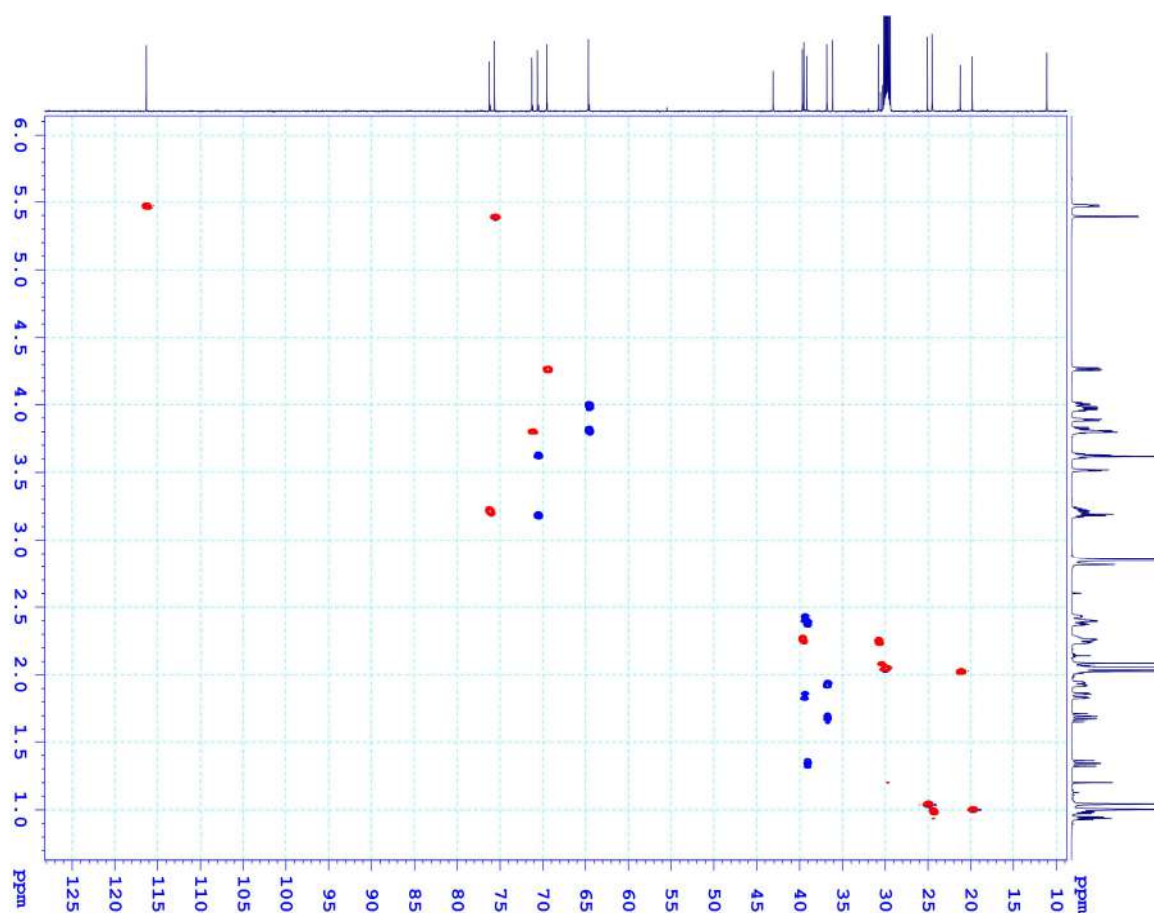
2.3. Phổ hợp chất AOB3: Oculiferanin C (chất mới)

Hình O3.1a. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

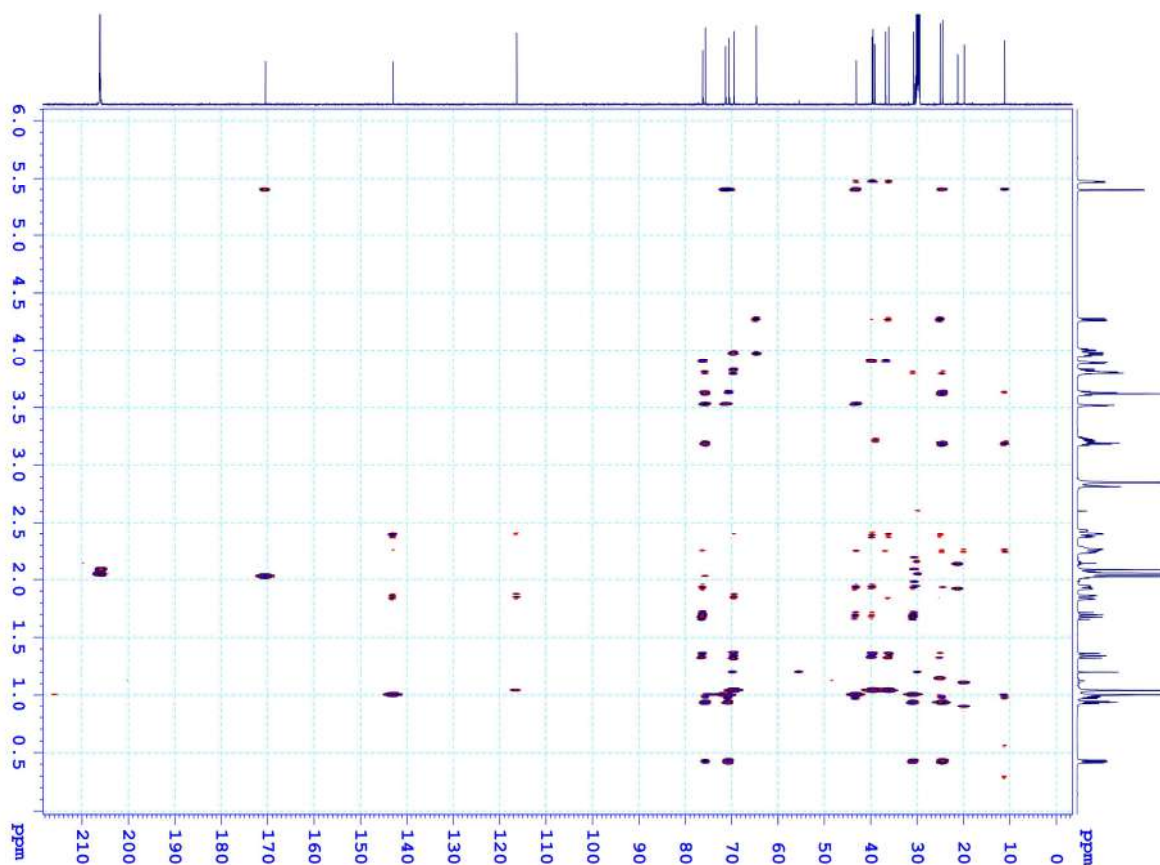


Hình O3.1b. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

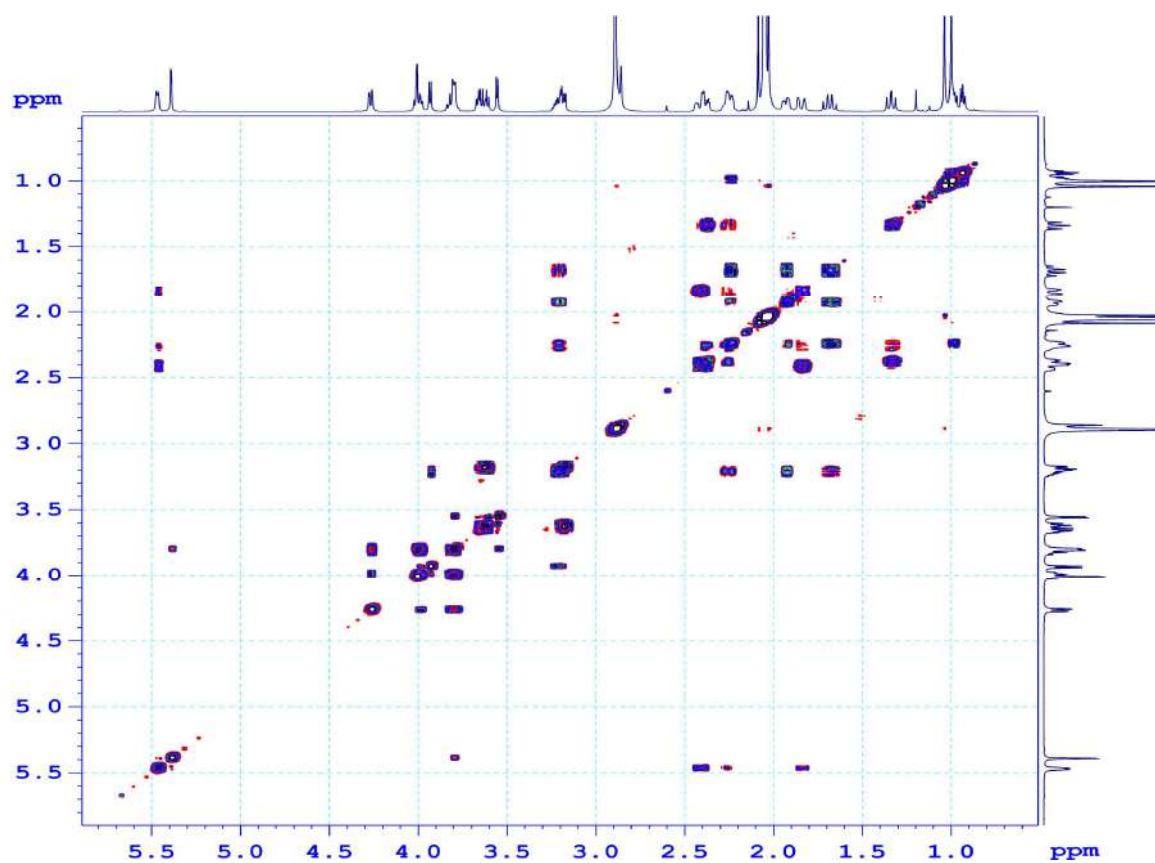
Hình O3.2. Phổ ^1H -NMRHình O3.3. Phổ ^{13}C -NMR



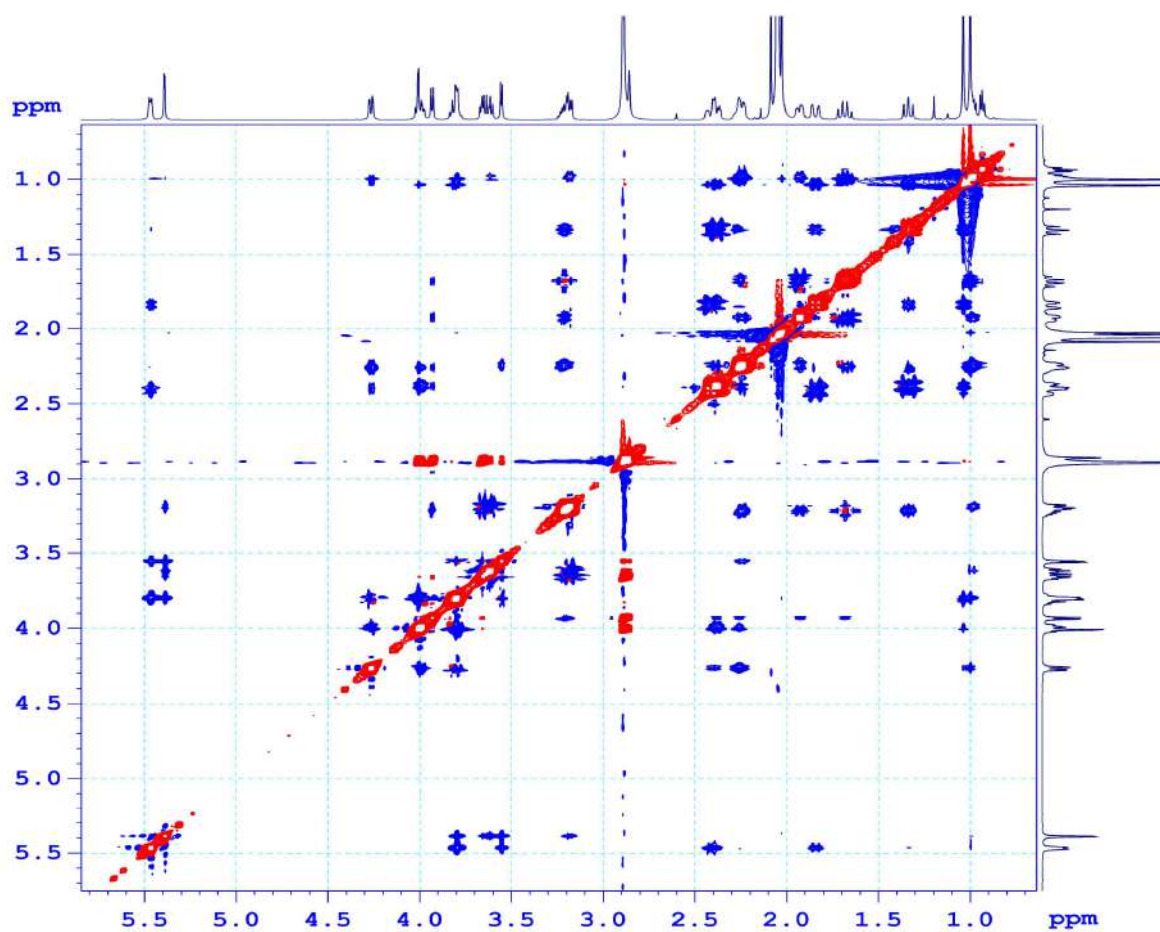
Hình O3.4. Phổ HSQC



Hình O3.5. Phổ HMBC

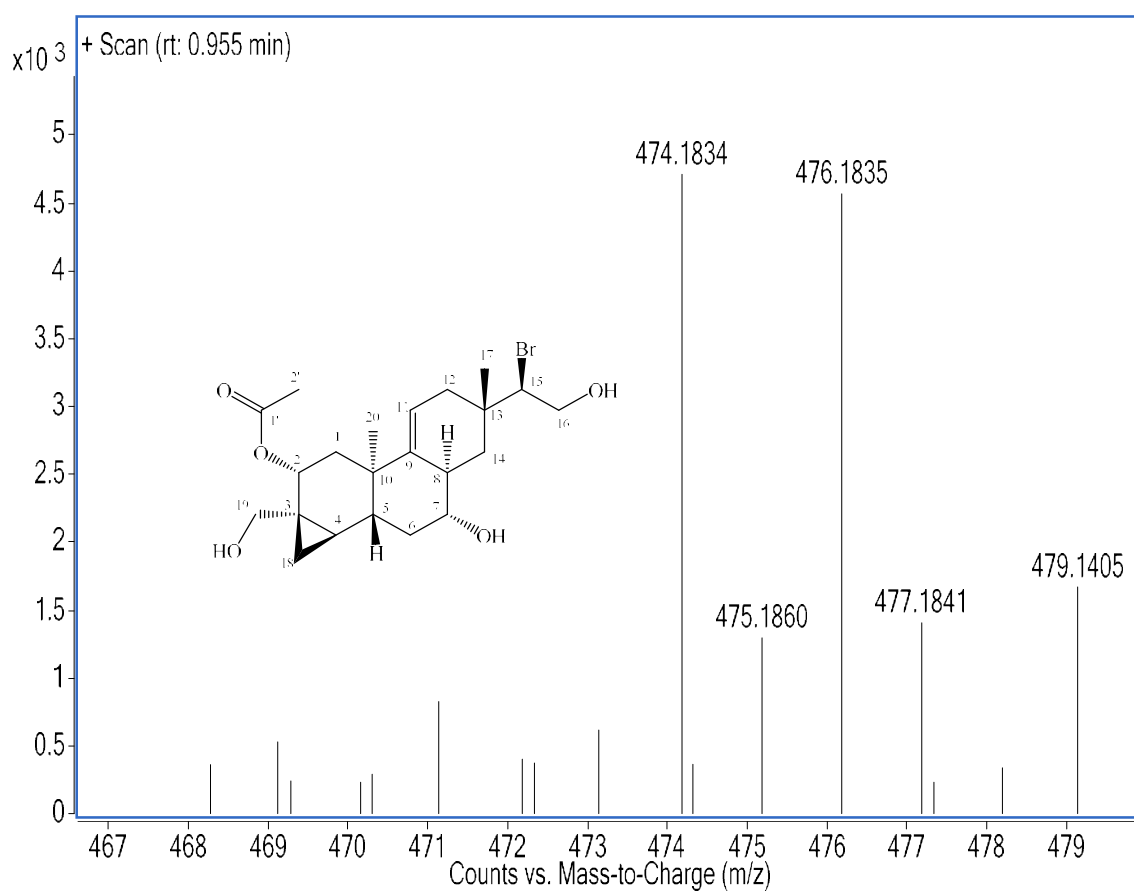


Hình O3.6. Phổ COSY

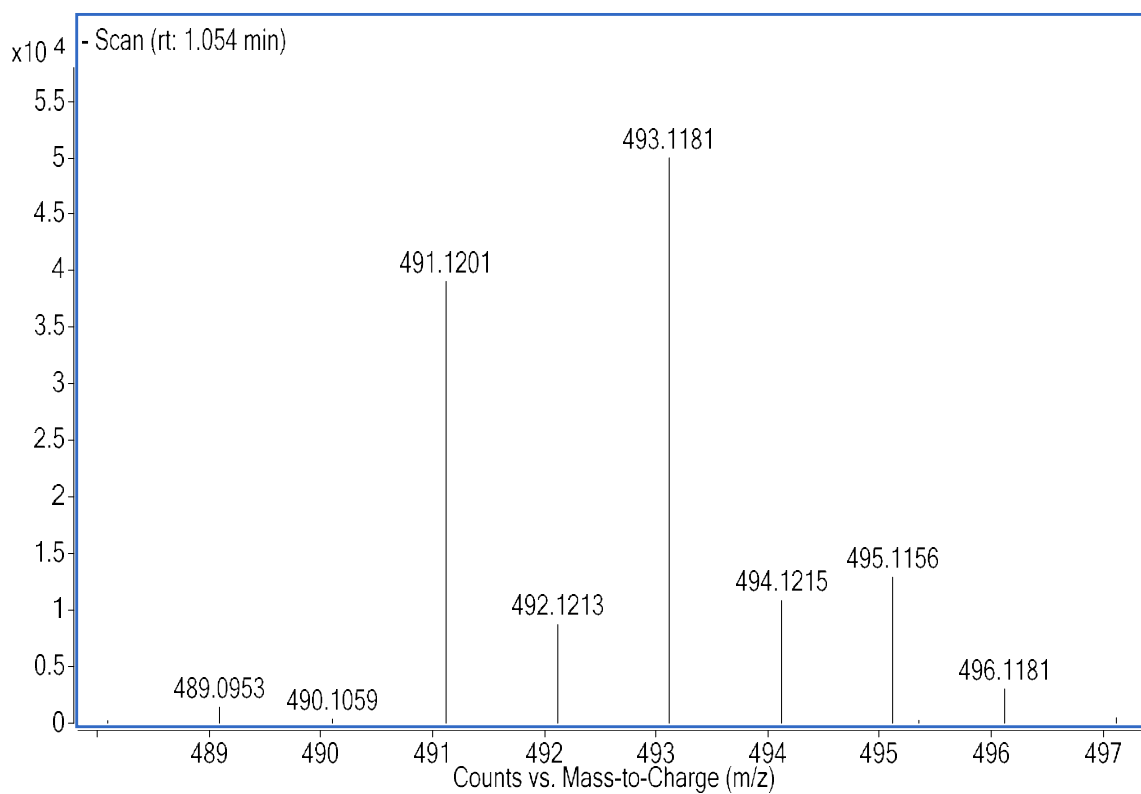


Hình O3.7. Phổ NOESY

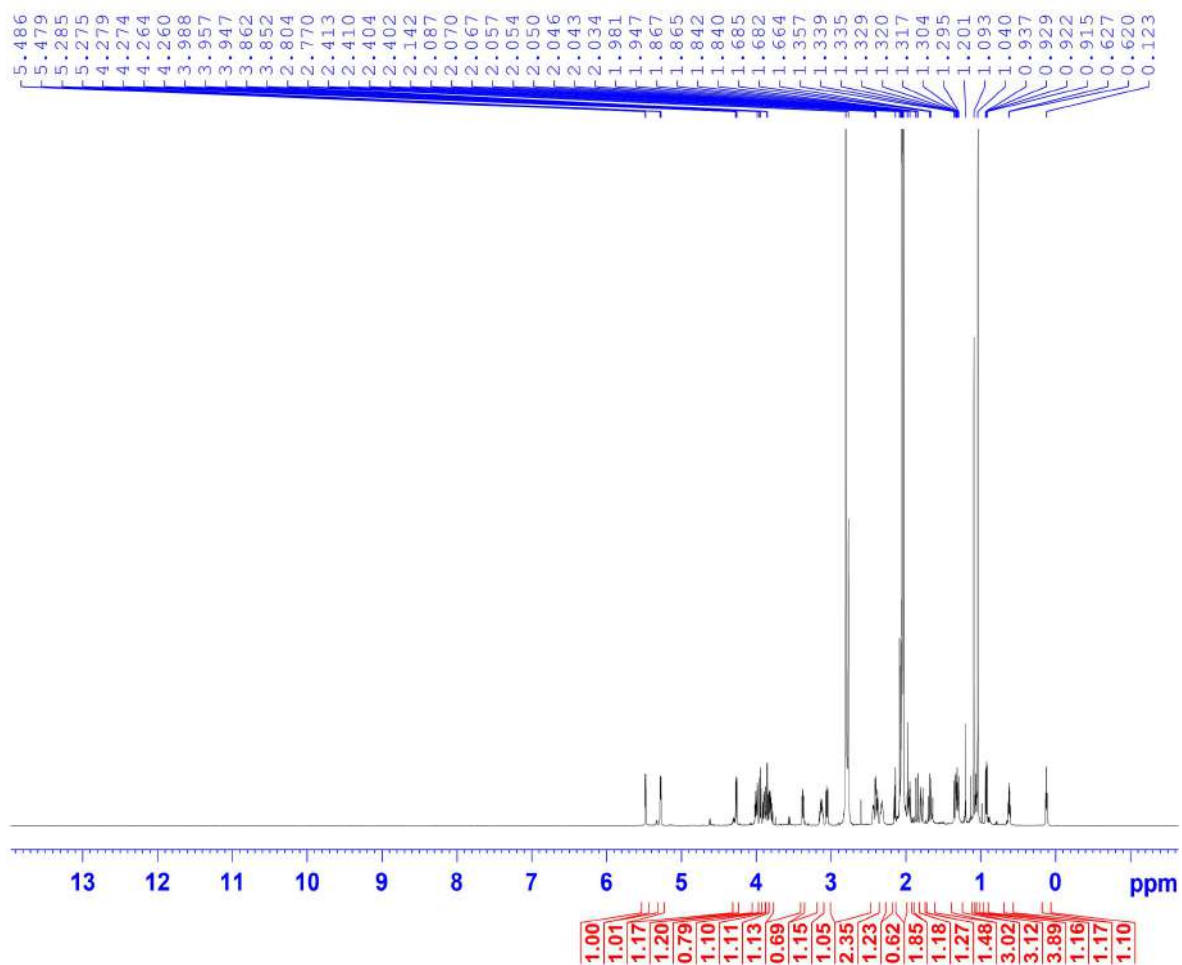
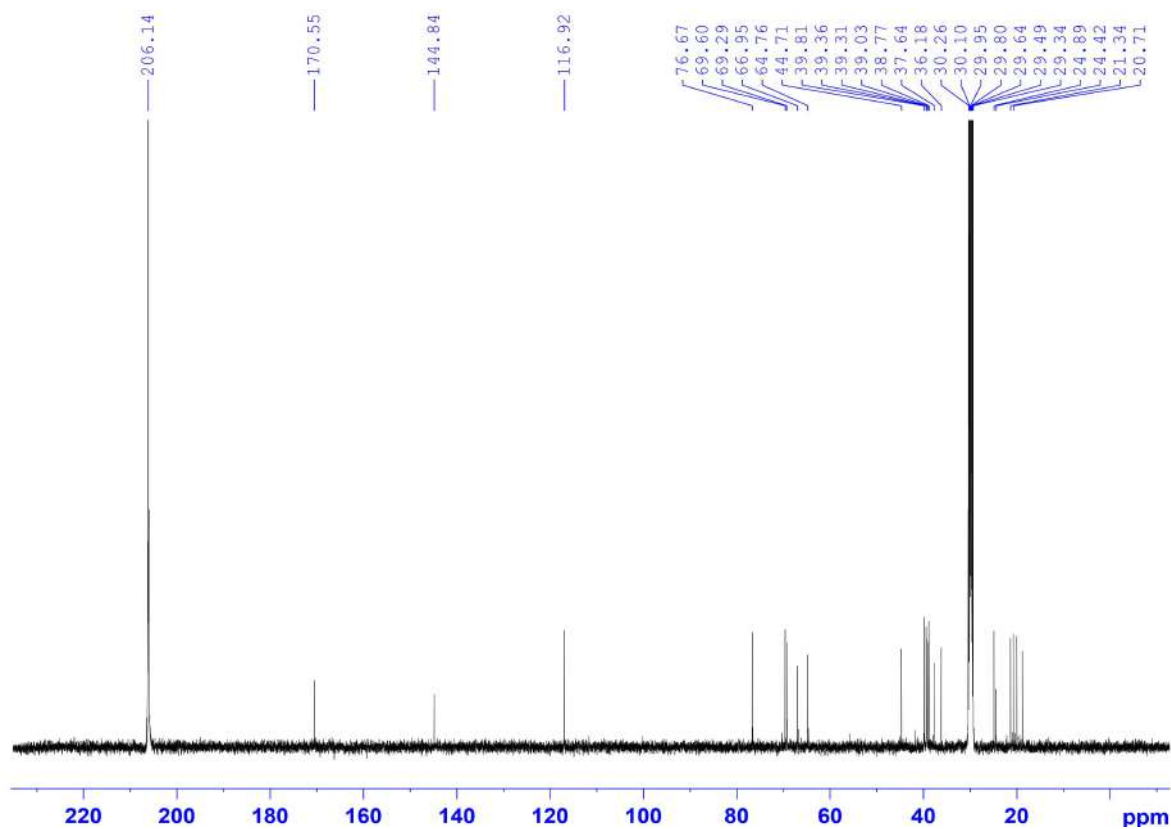
2.4. Phổ hợp chất AOB4: Oculiferanin D (chất mới)

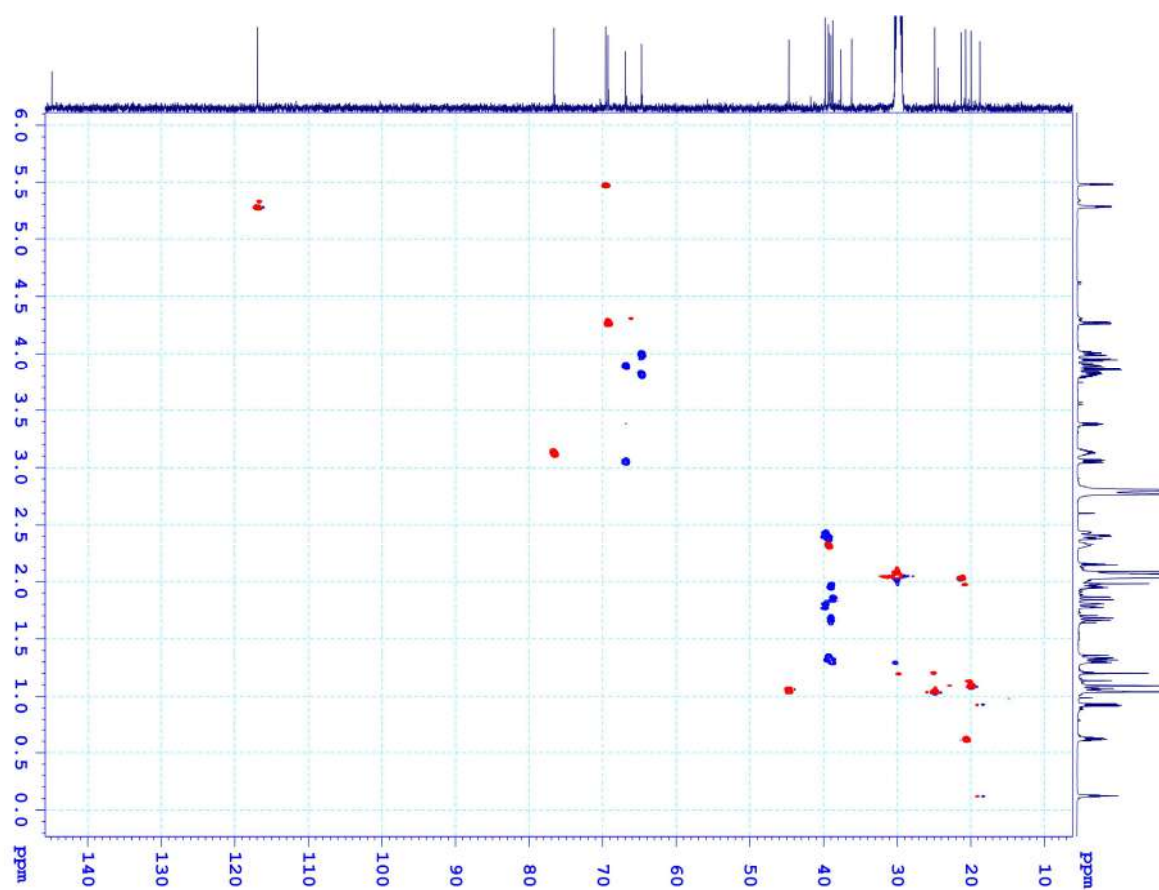


Hình O4.1a. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

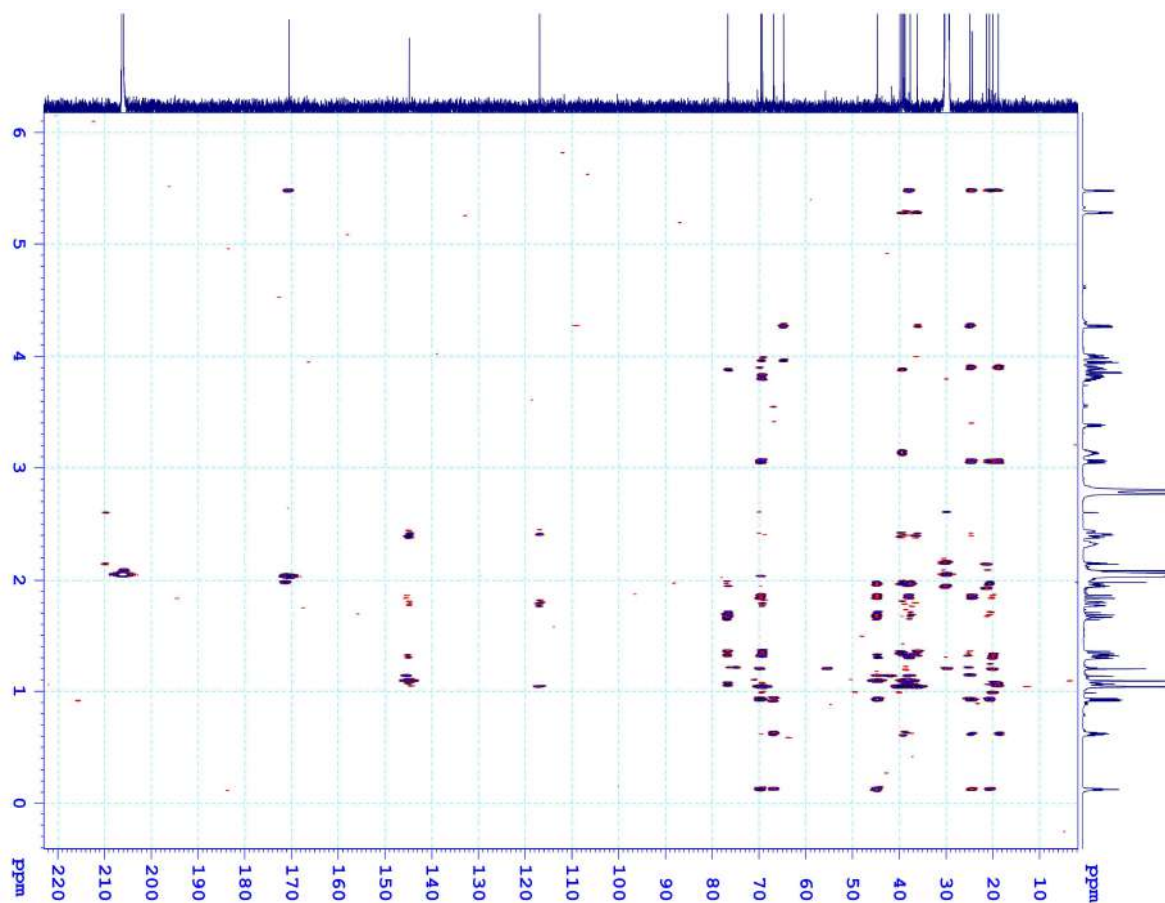


Hình O4.1b. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

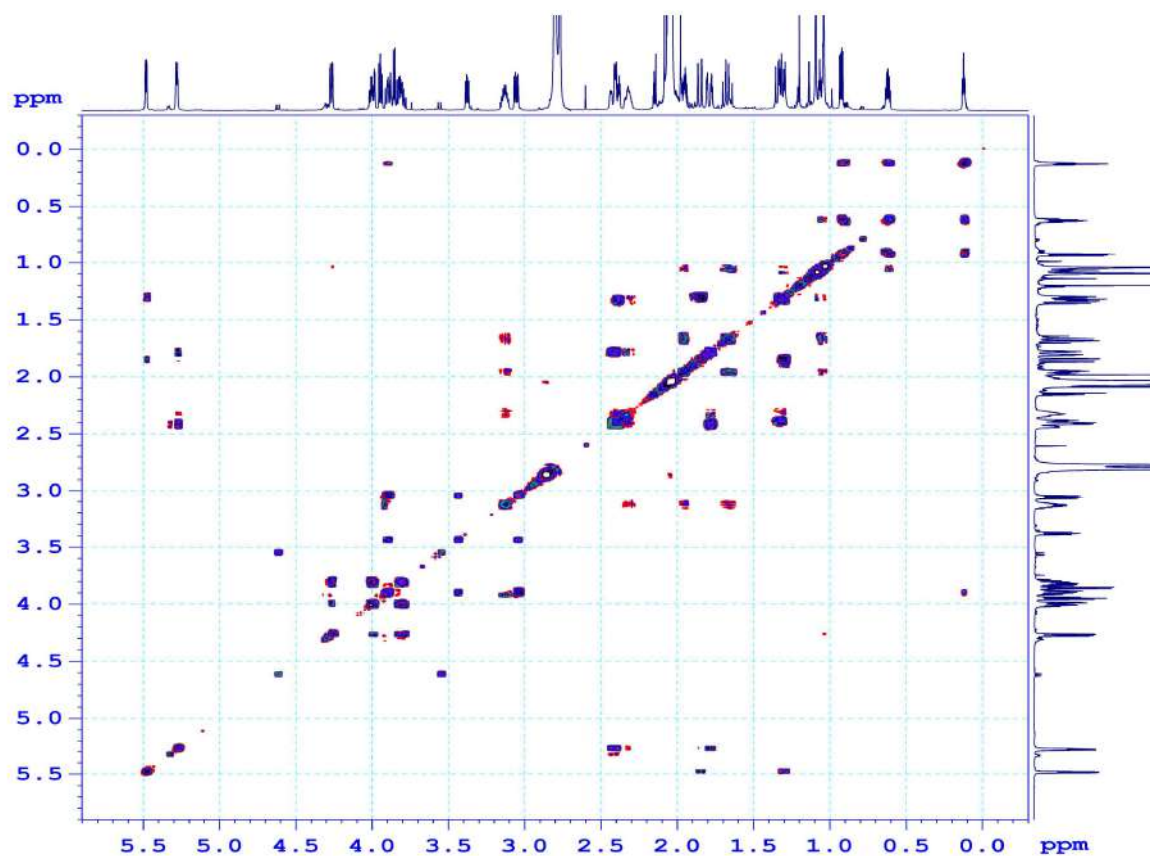
Hình O4.2. Phổ ¹H-NMRHình O4.3. Phổ ¹³C-NMR



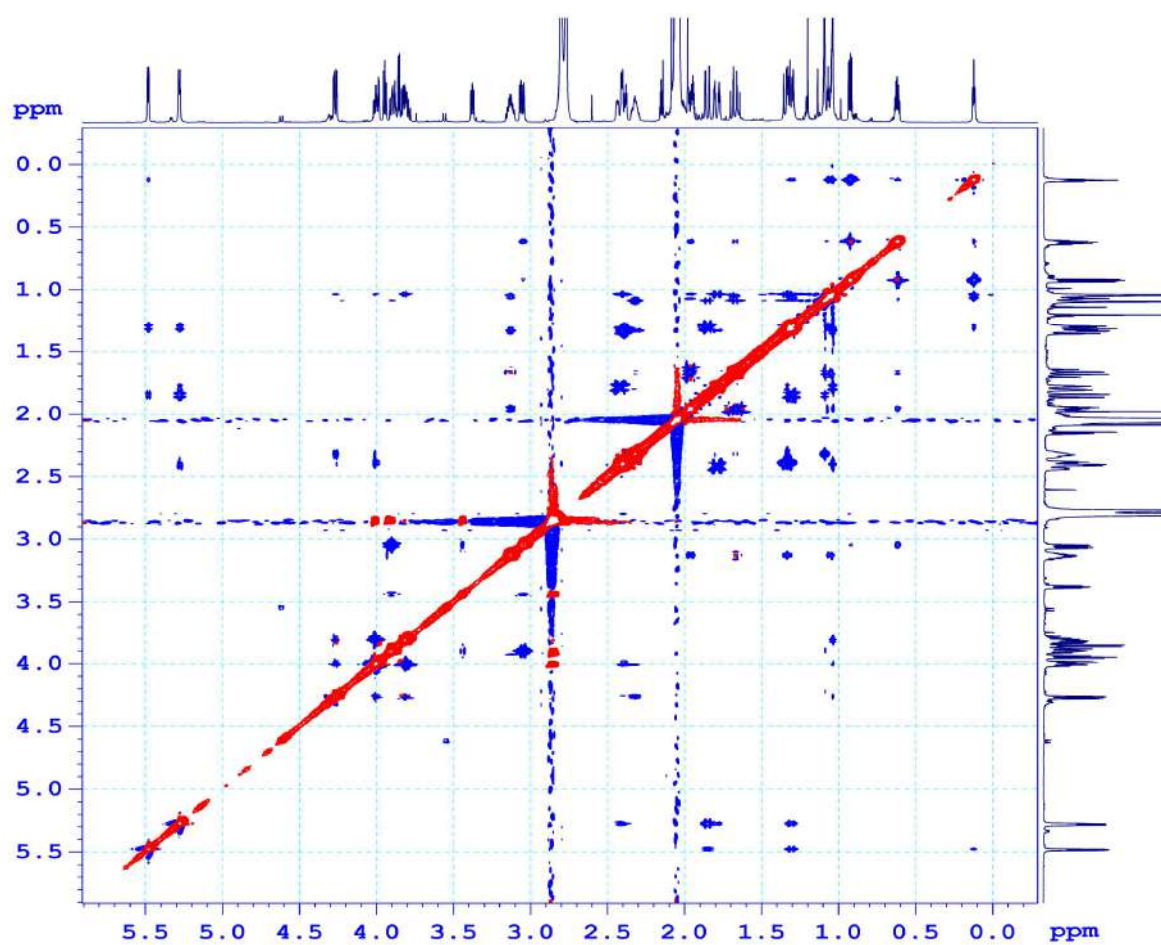
Hình O4.4. Phổ HSQC



Hình O4.5. Phổ HMBC

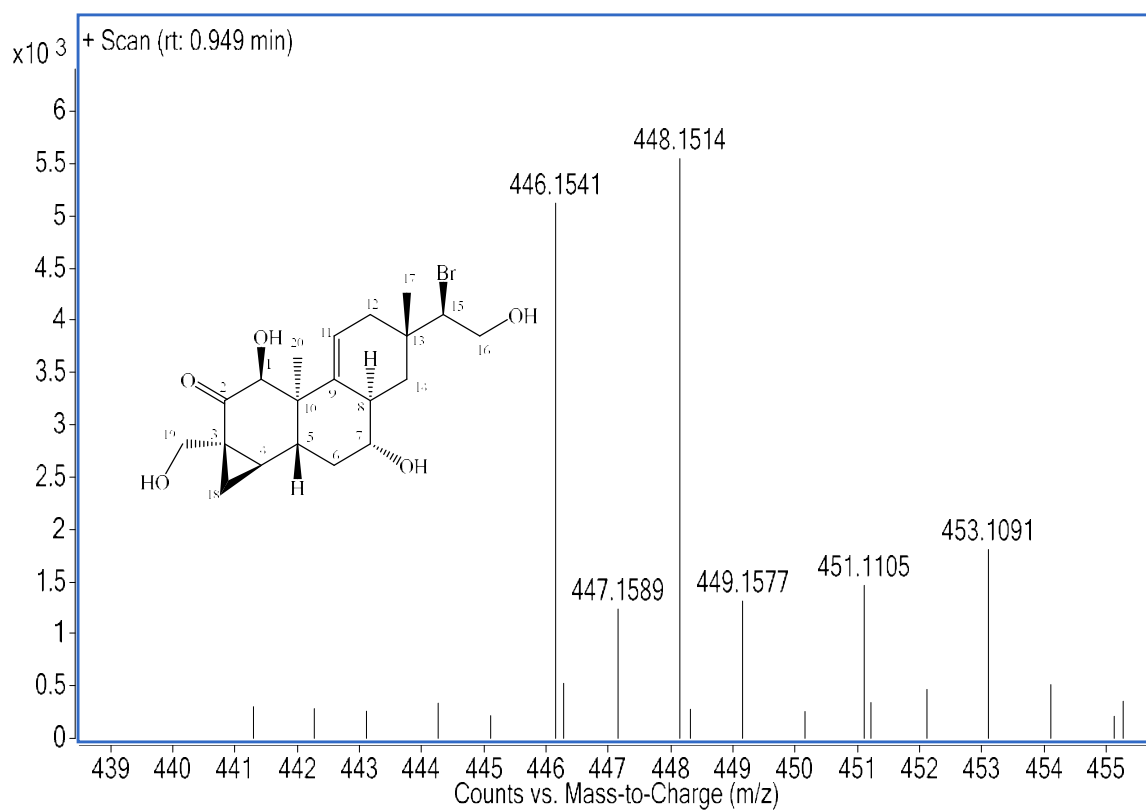


Hình O4.6. Phổ COSY

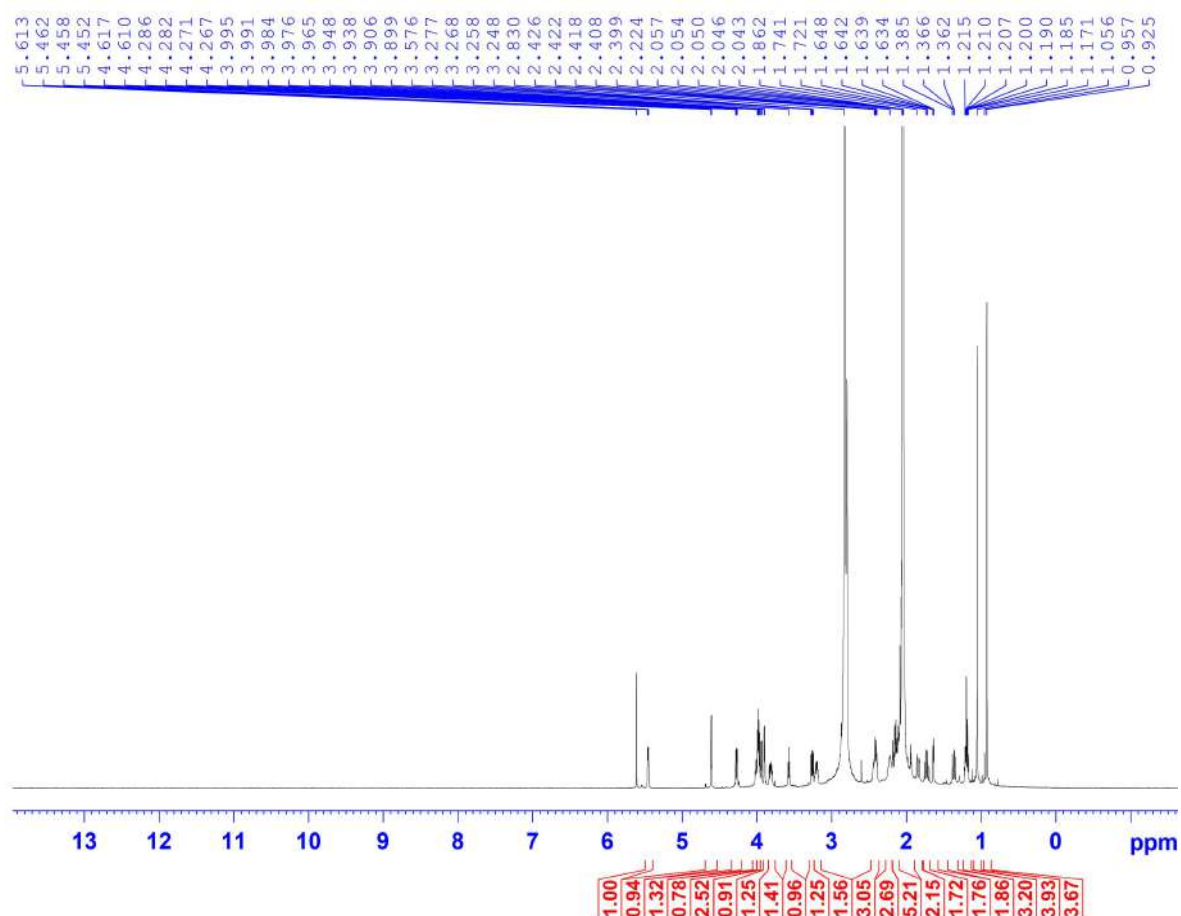


Hình O4.7. Phổ NOESY

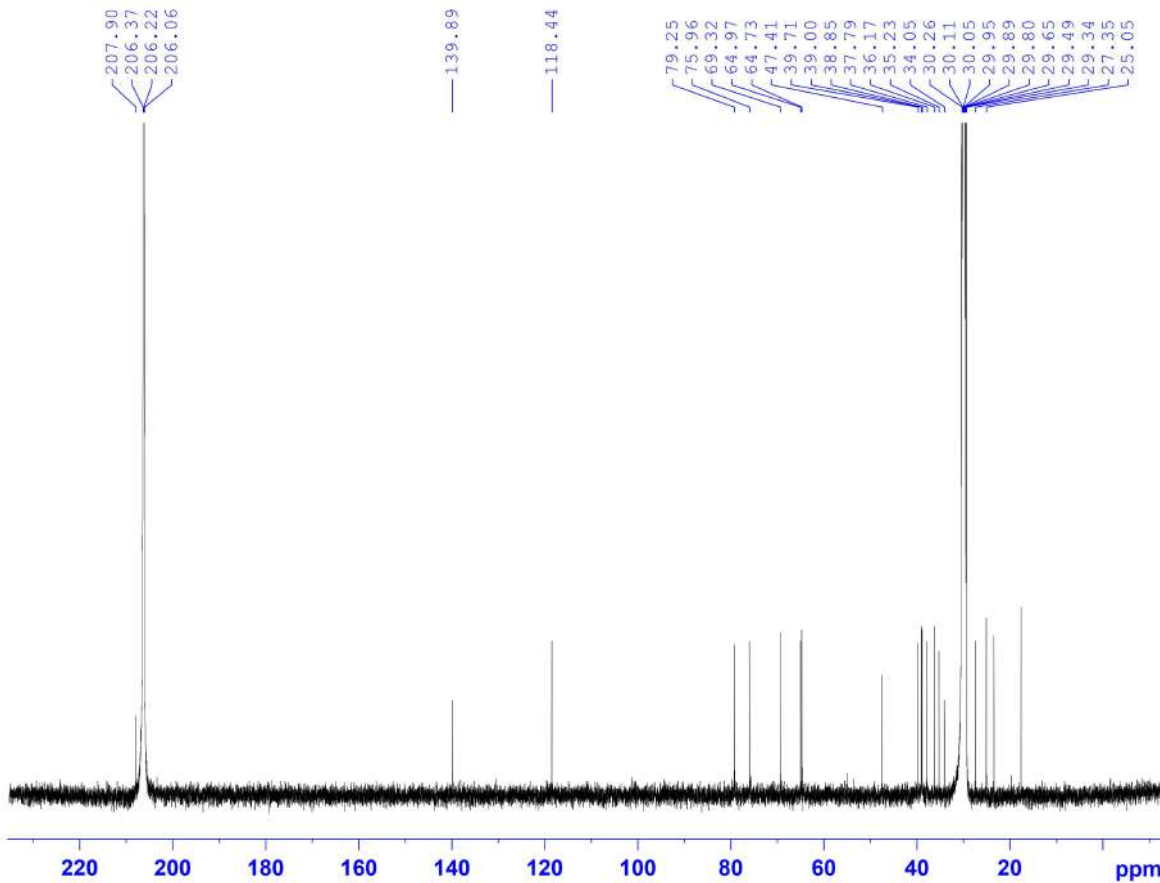
2.5. Phổ hợp chất AOB5: Oculiferanin E (chất mới)



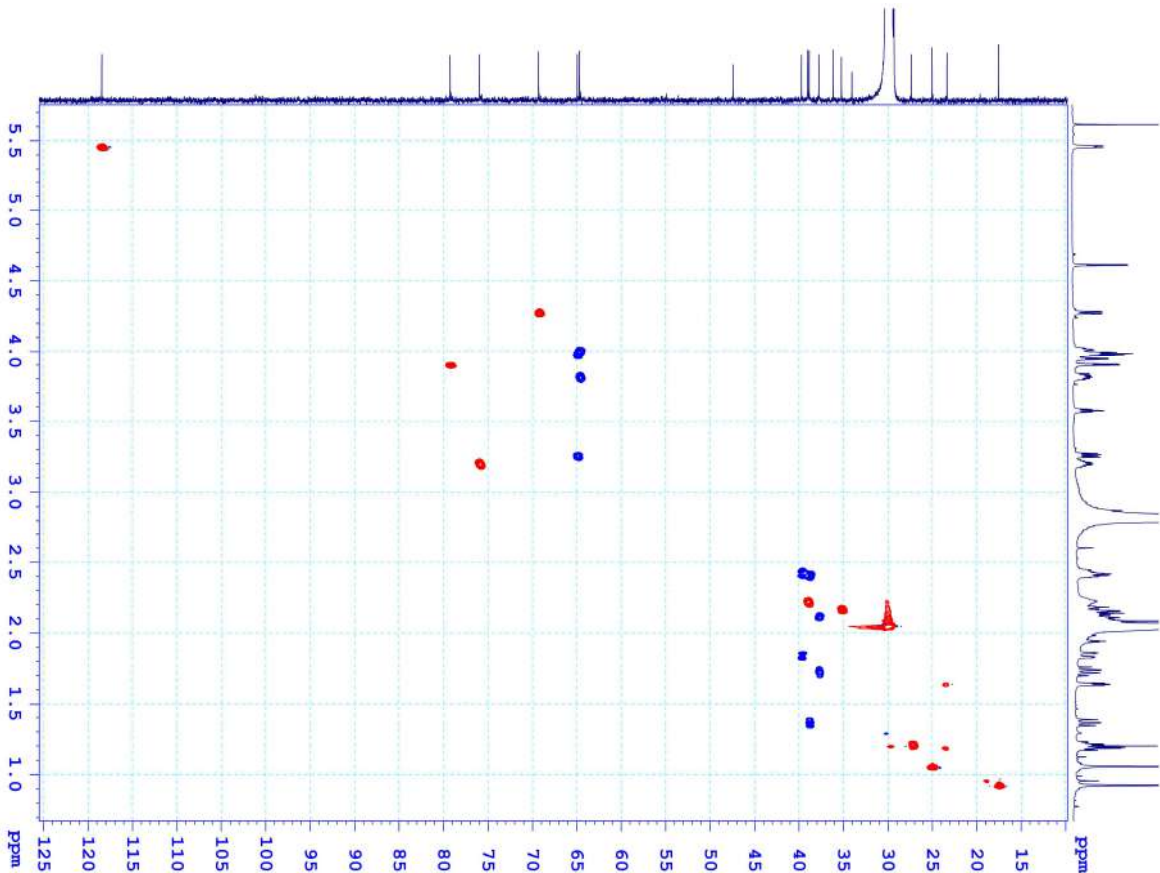
Hình O5.1. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



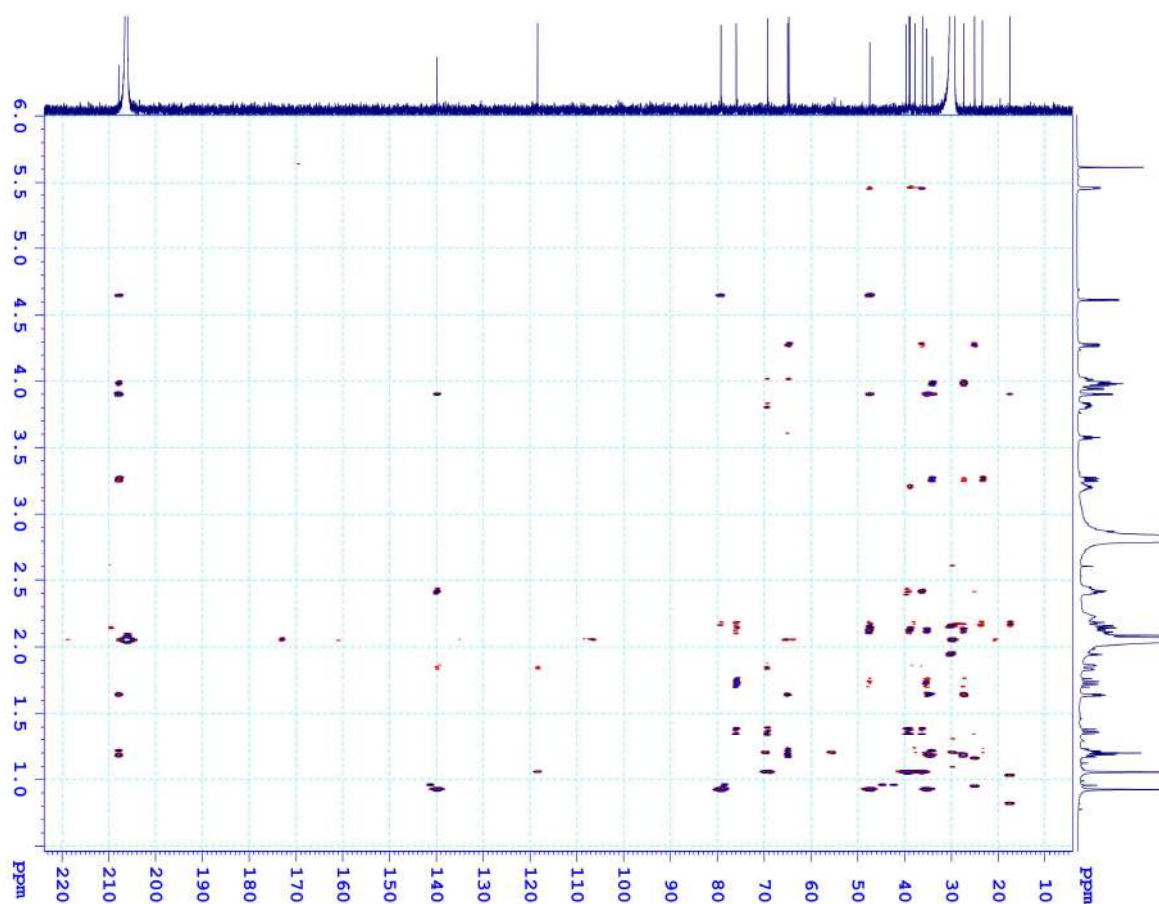
Hình O5.2. Phổ ¹H-NMR



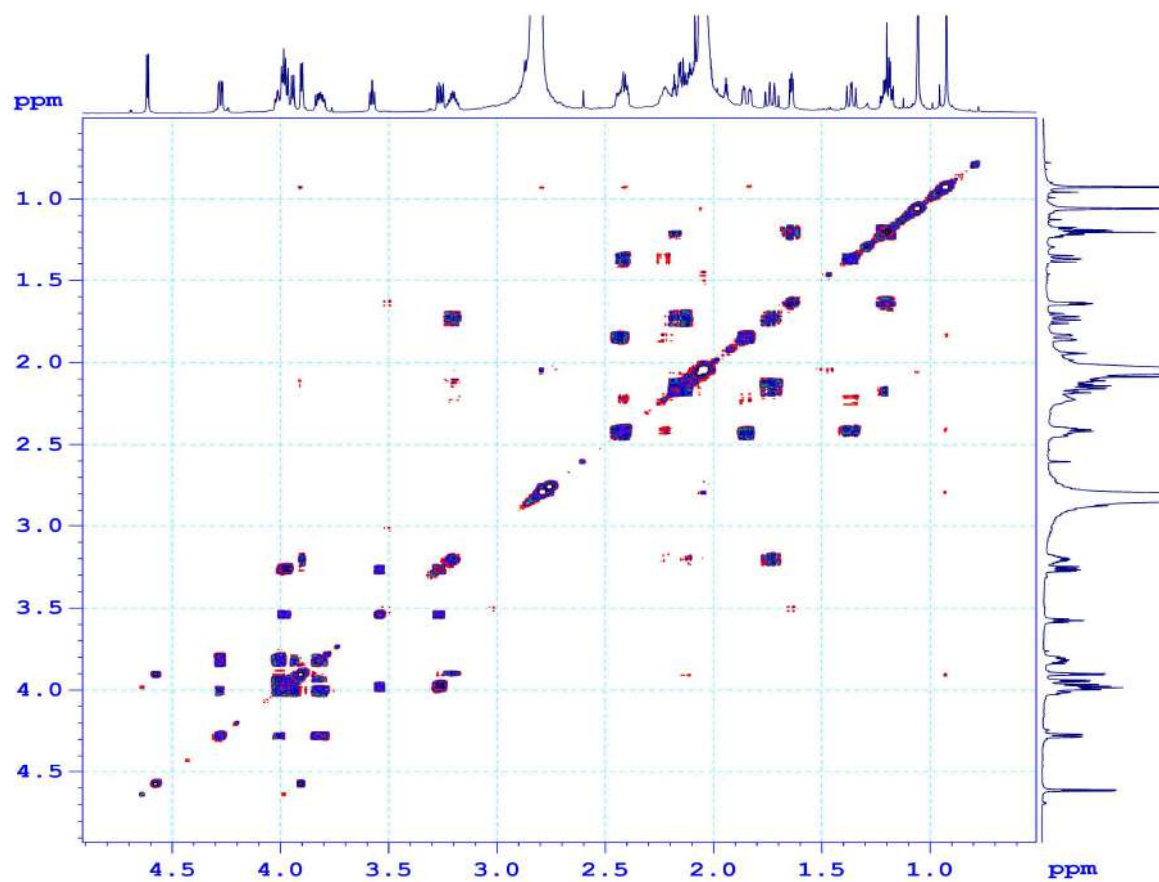
Hình O5.3. Phổ ^{13}C -NMR



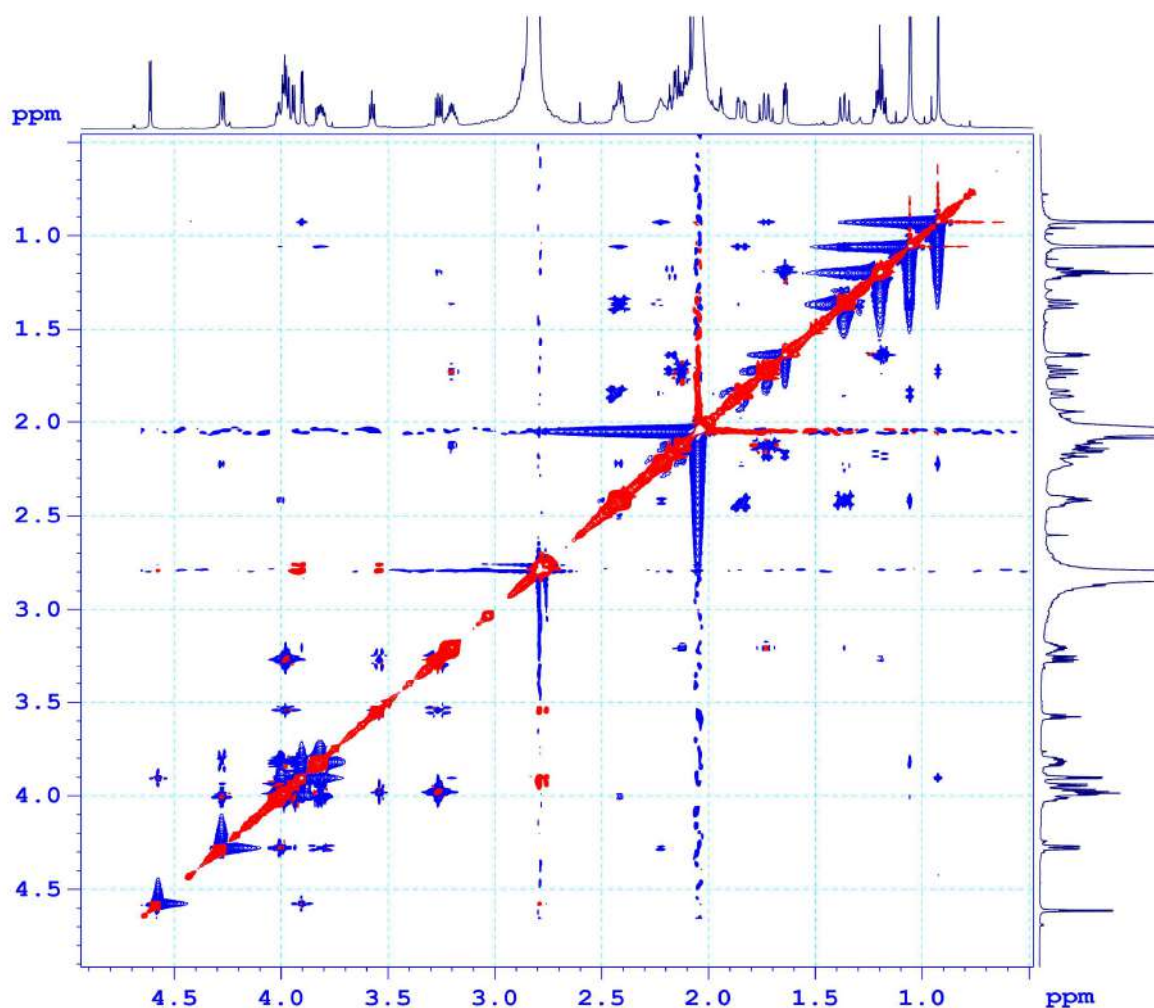
Hình O5.4. Phô HSQC



Hình O5.5. Phổ HMBC

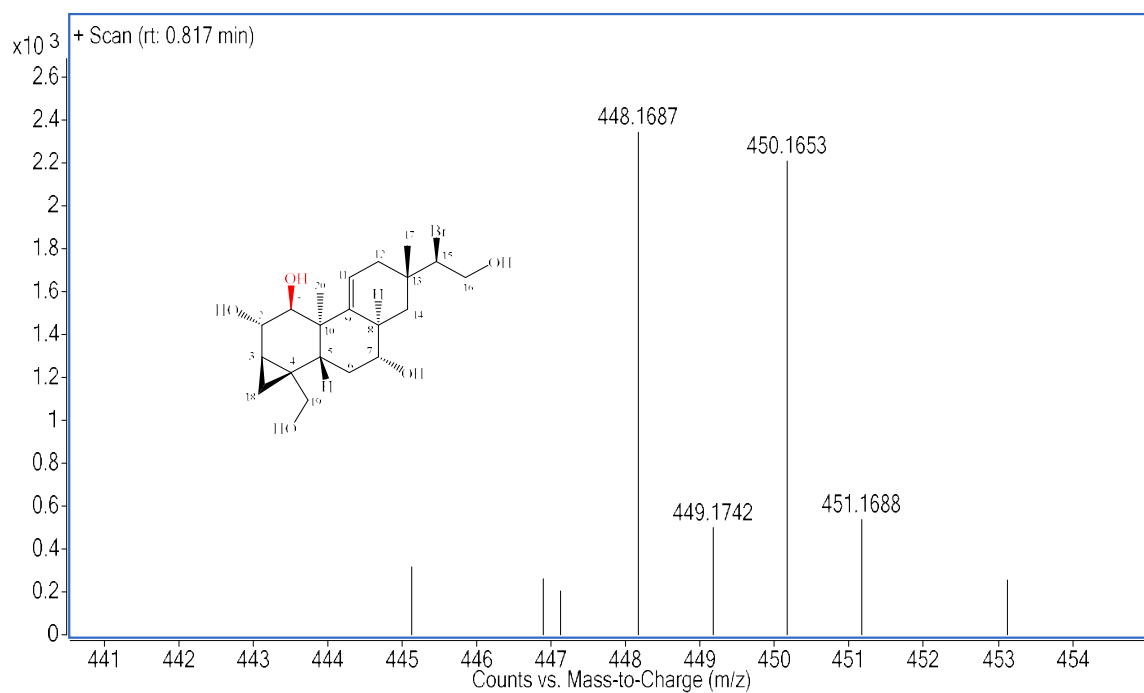


Hình O5.6. Phổ COSY

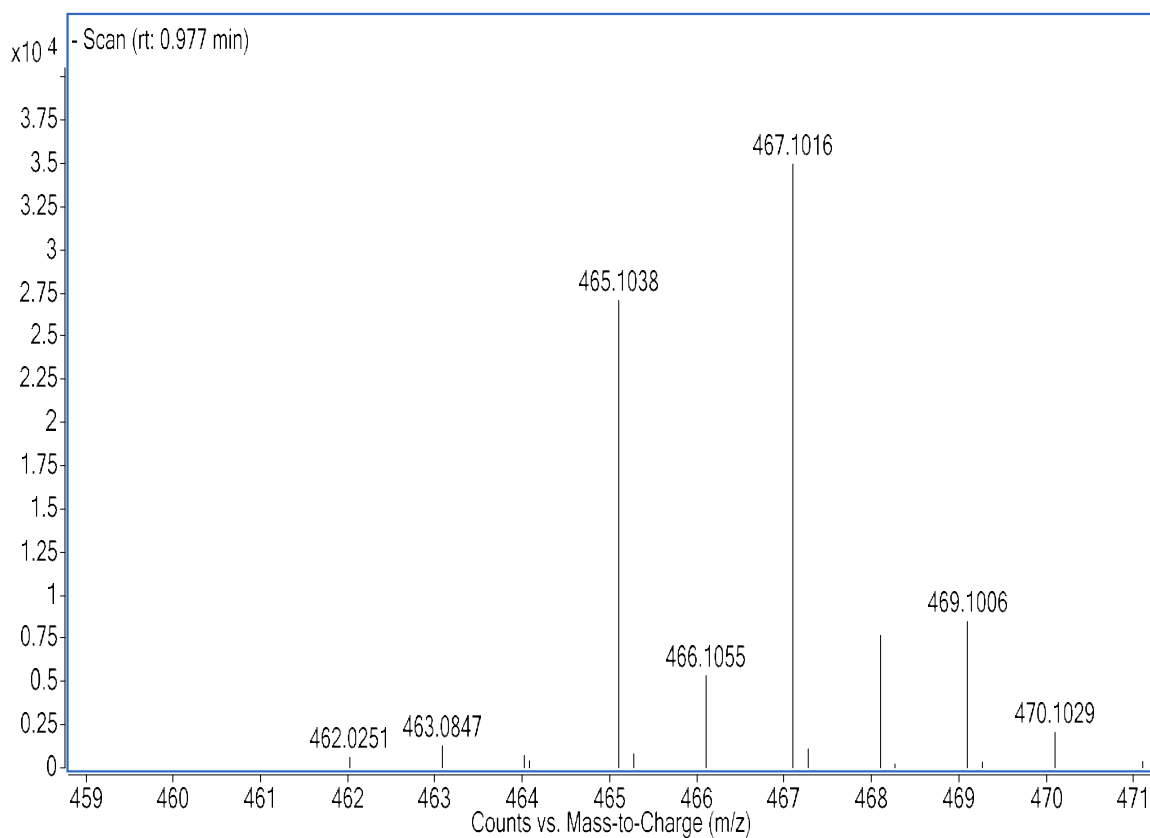


Hình O5.7. Phổ NOESY

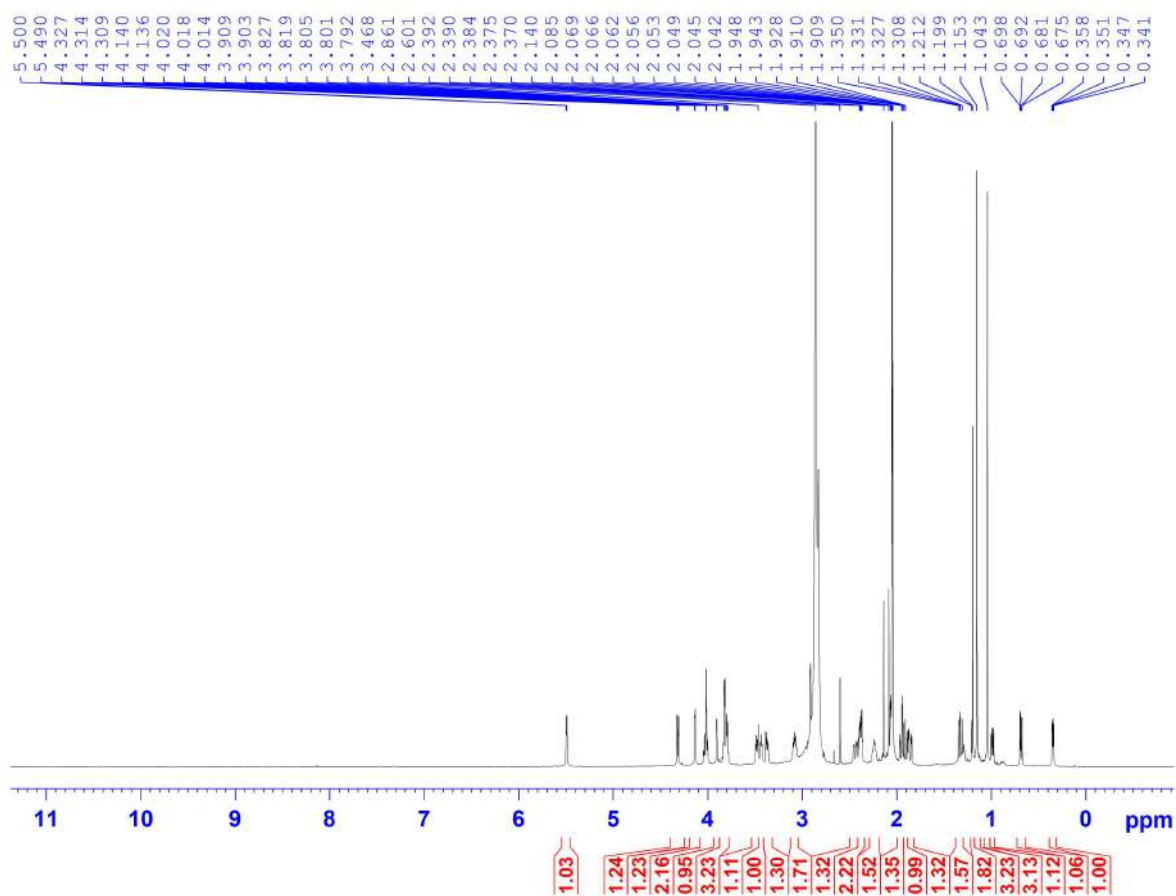
2.6. Phổ hợp chất AOB6: Oculiferanin F (chất mới)



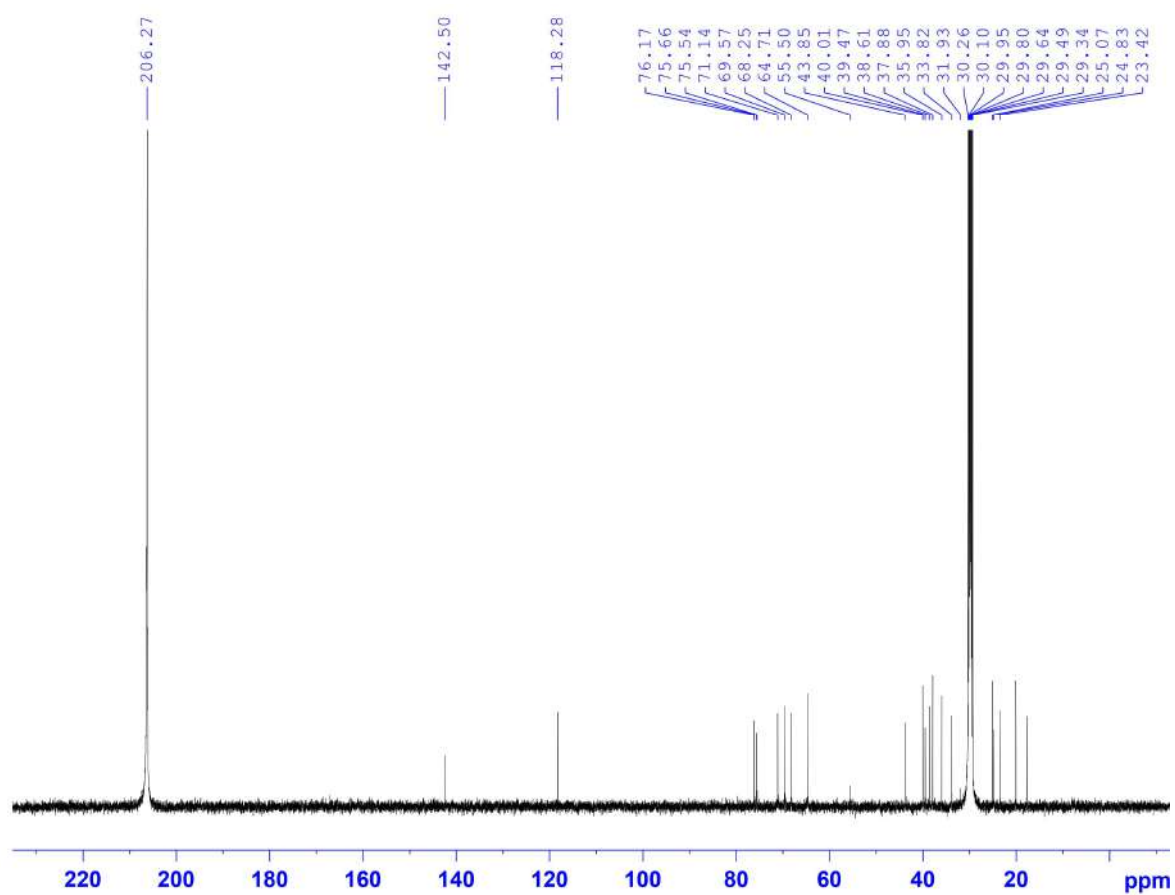
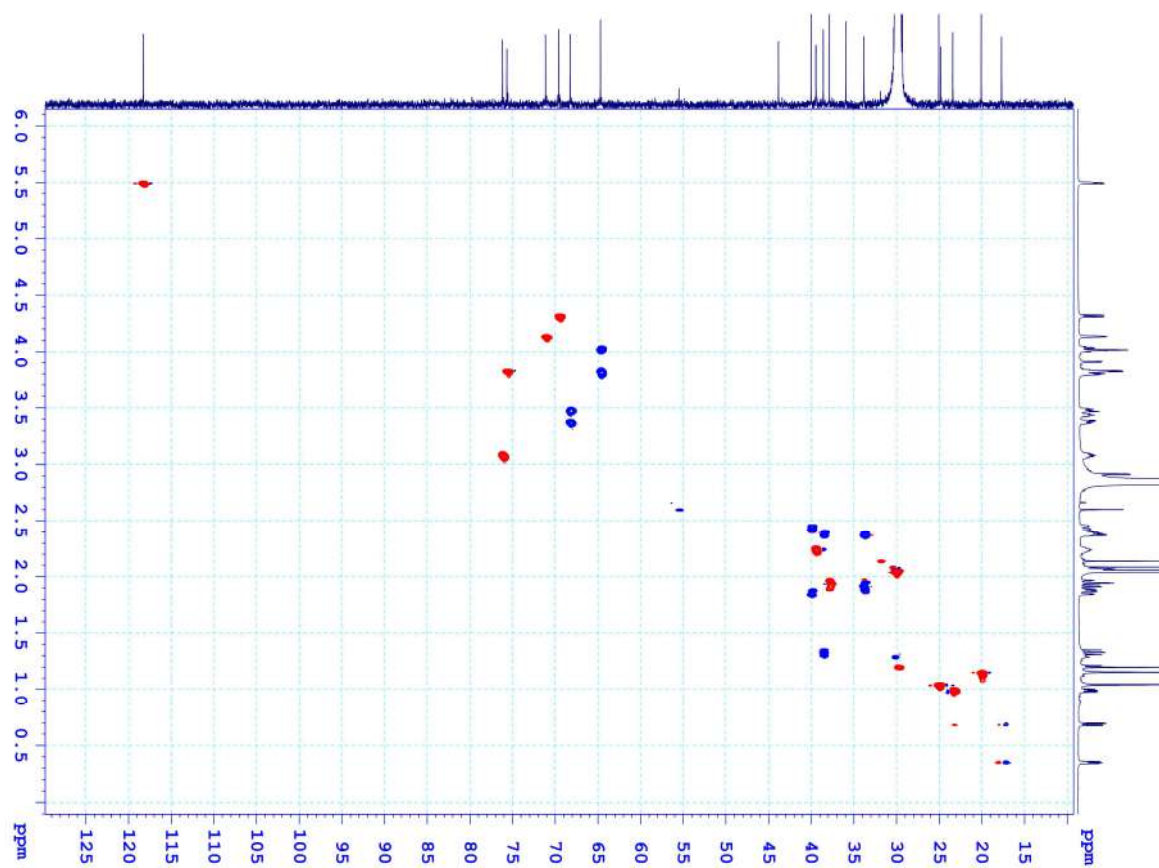
Hình O6.1a. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



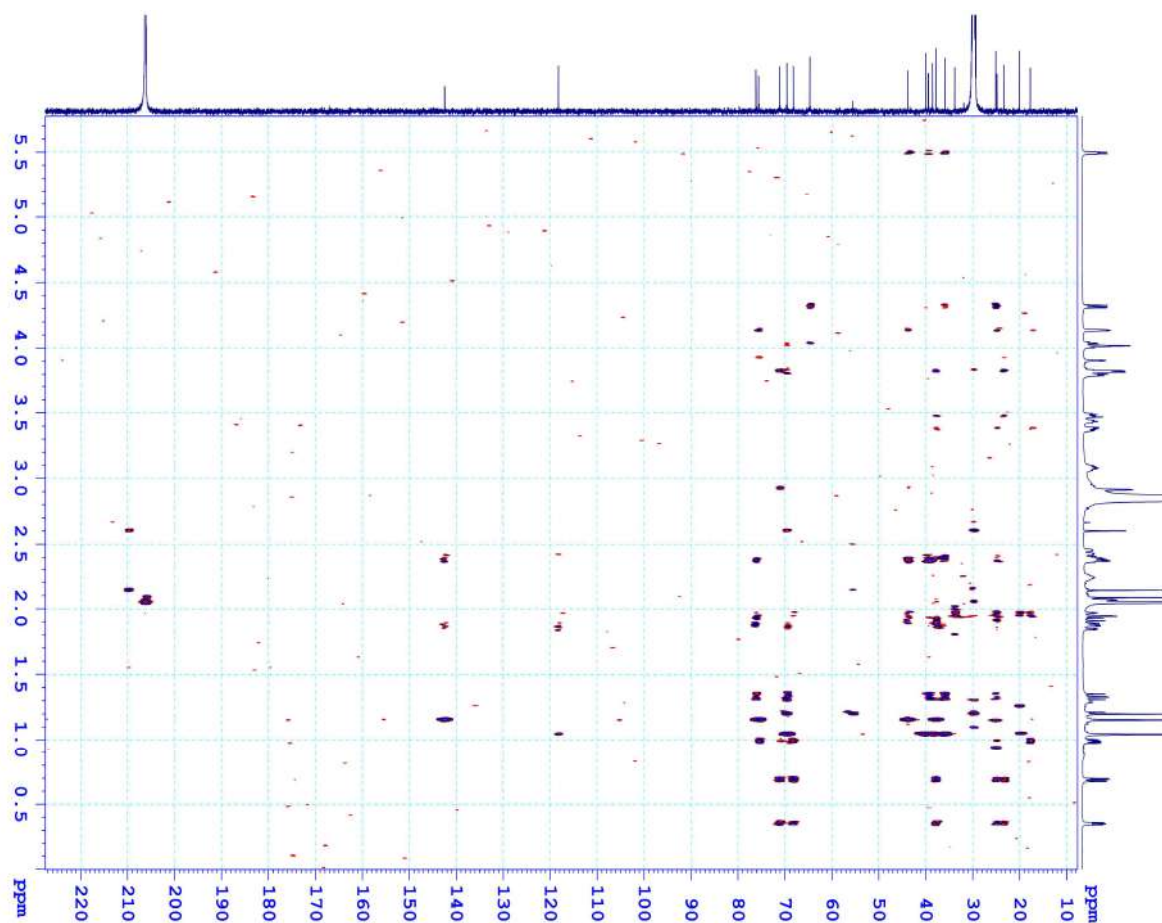
Hình O6.1b. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS



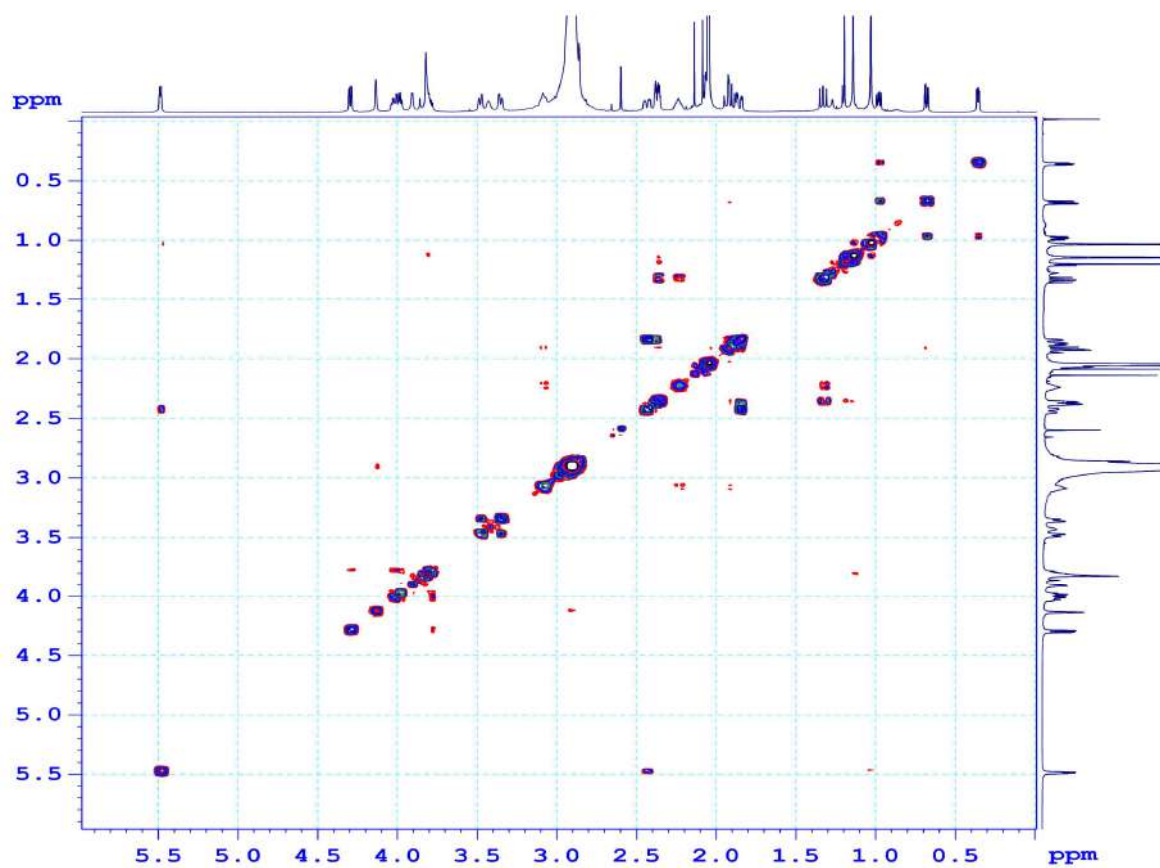
Hình O6.2. Phổ ¹H-NMR

Hình O6.3. Phổ ^{13}C -NMR

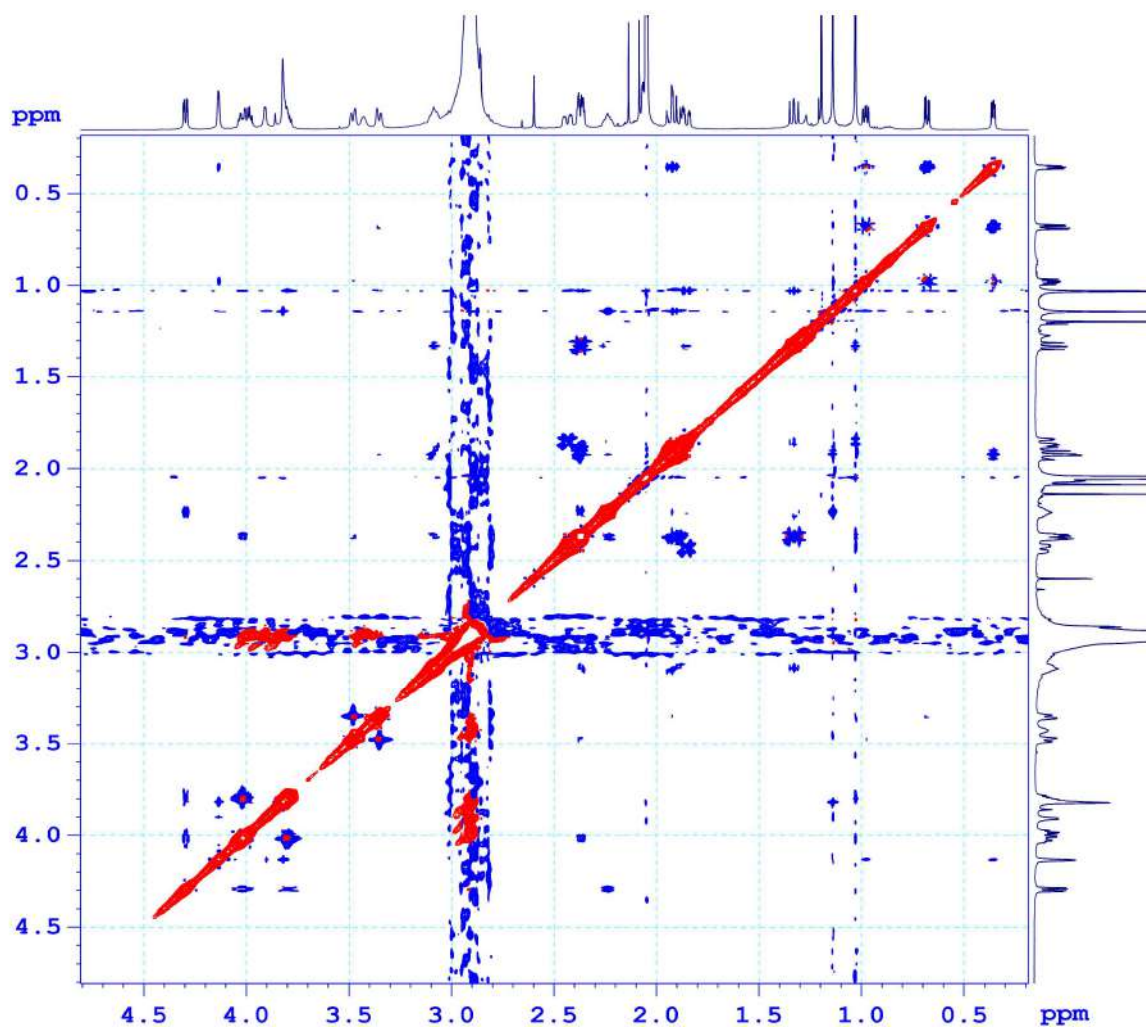
Hình O6.4. Phổ HSQC



Hình O6.5. Phổ HMBC

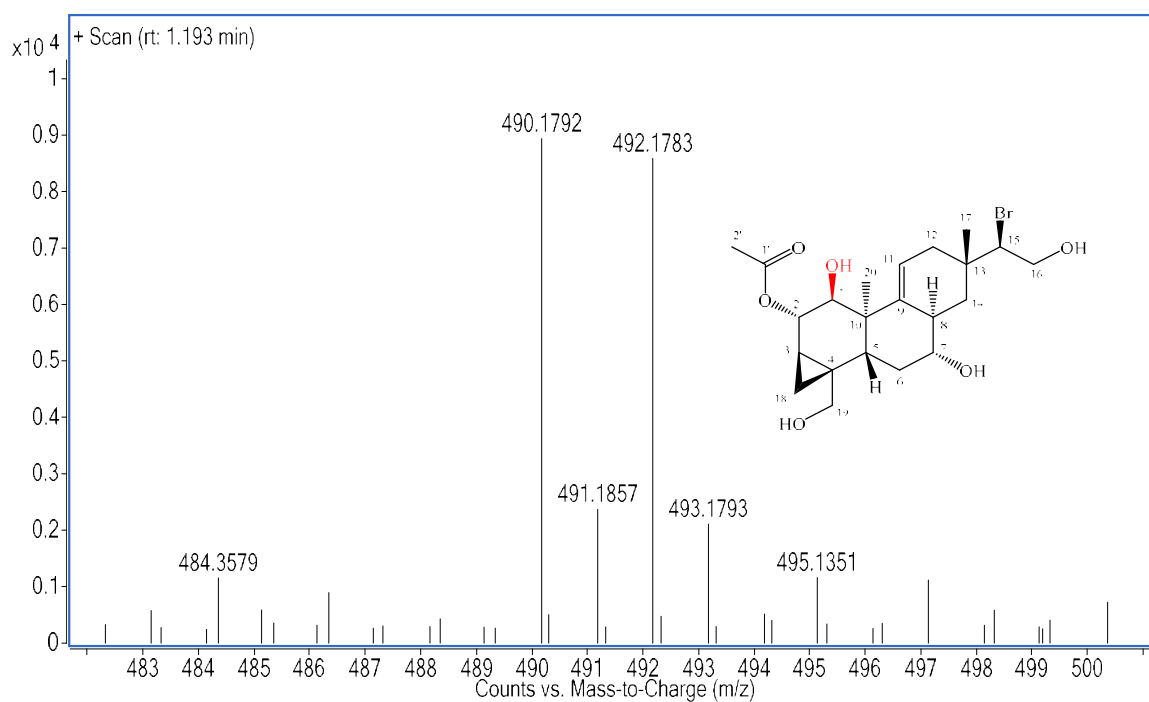


Hình O6.6. Phổ COSY

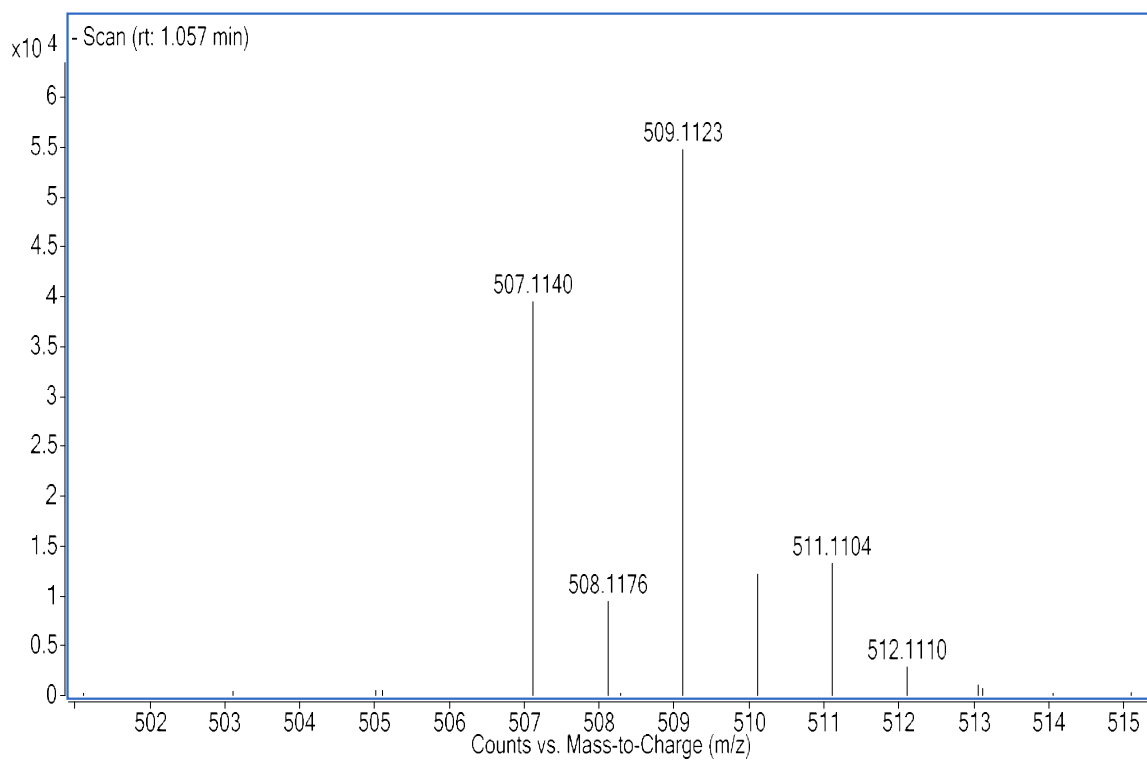


Hình O6.7. Phổ NOESY

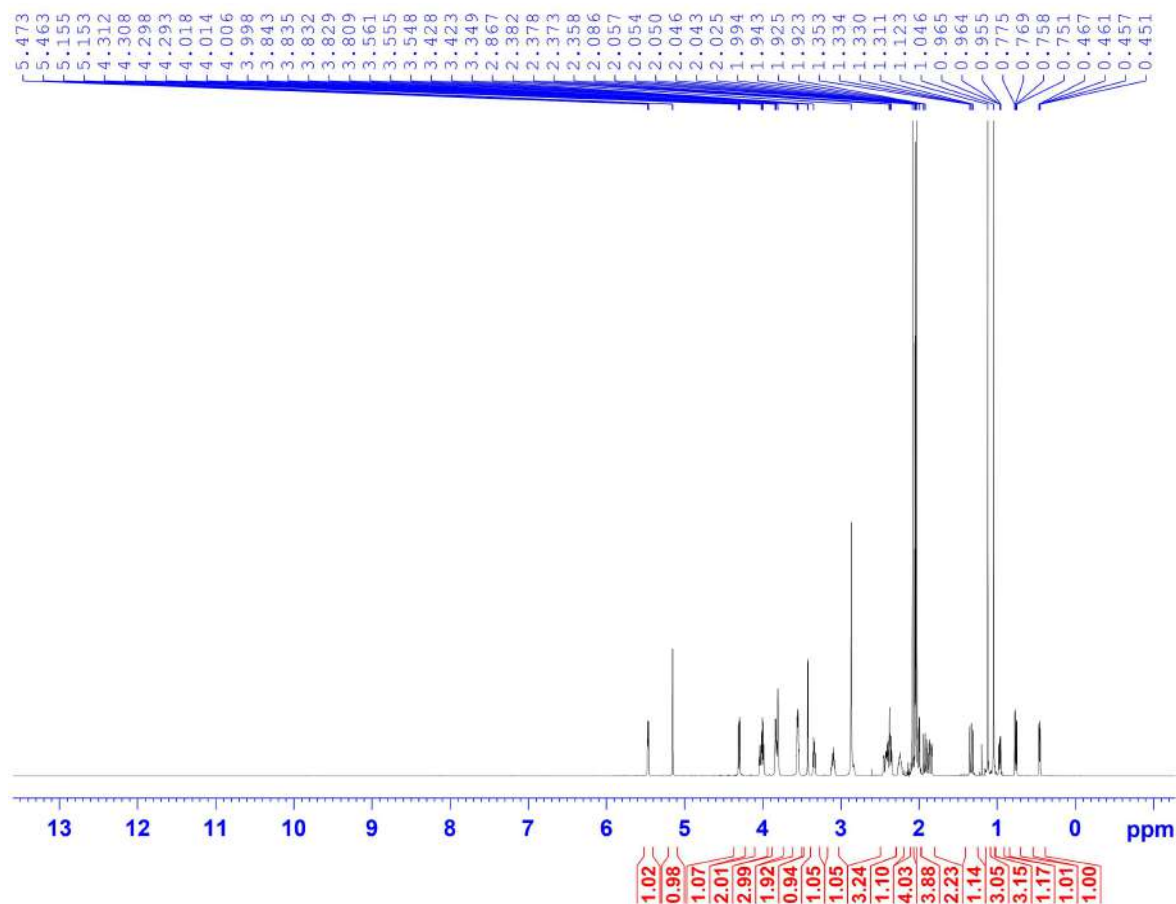
2.7. Phổ hợp chất AOB7: Oculiferanin G (chất mới)

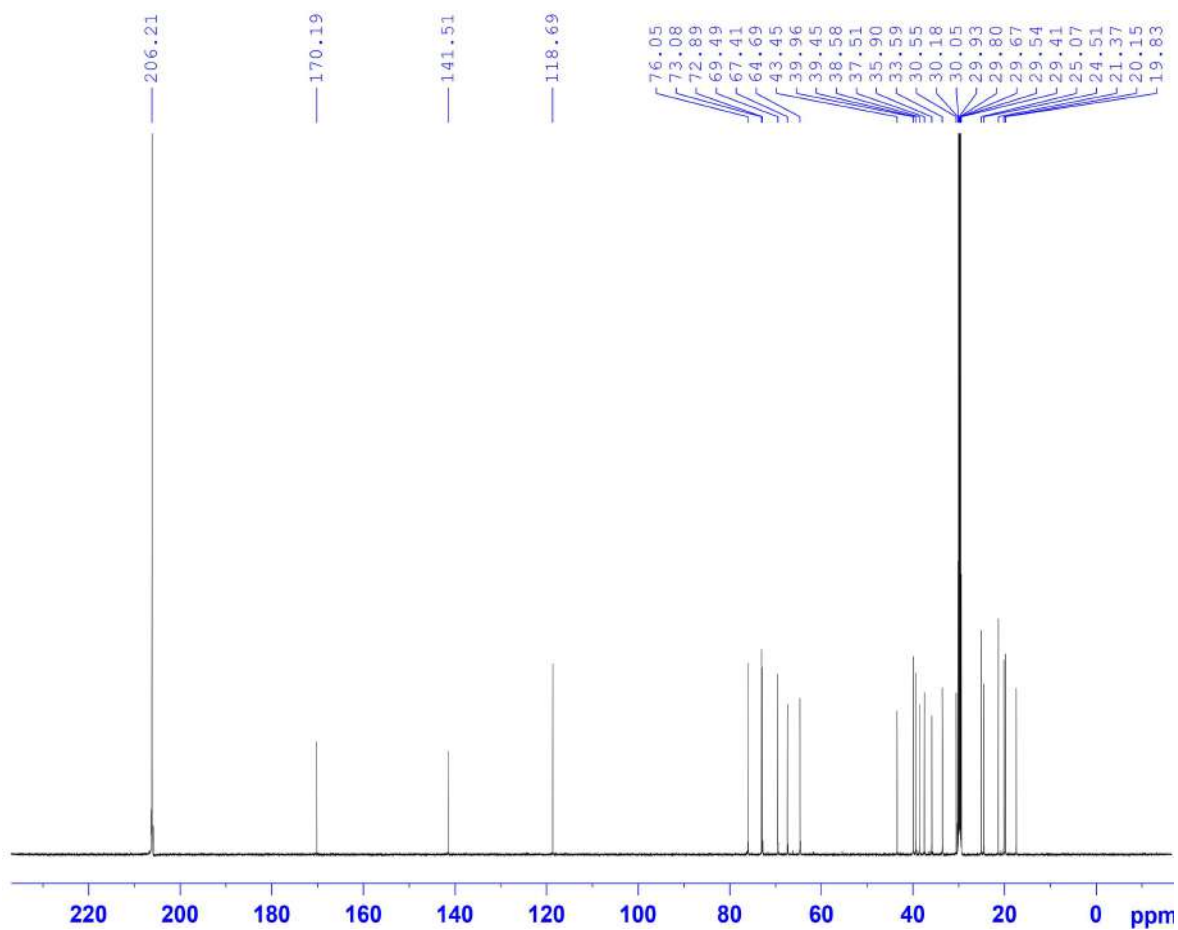


Hình O7.1a. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

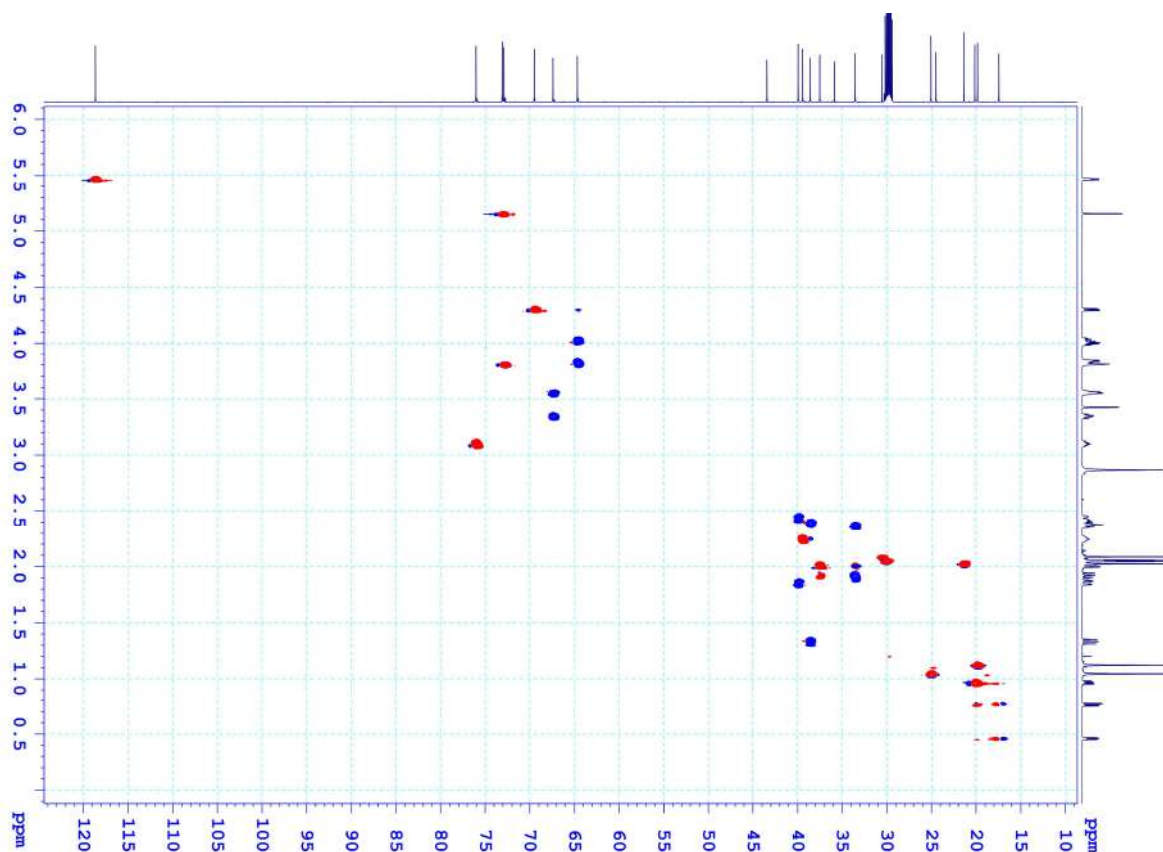


Hình O7.1b. Phổ khối phân giải cao HR-ESI-MS

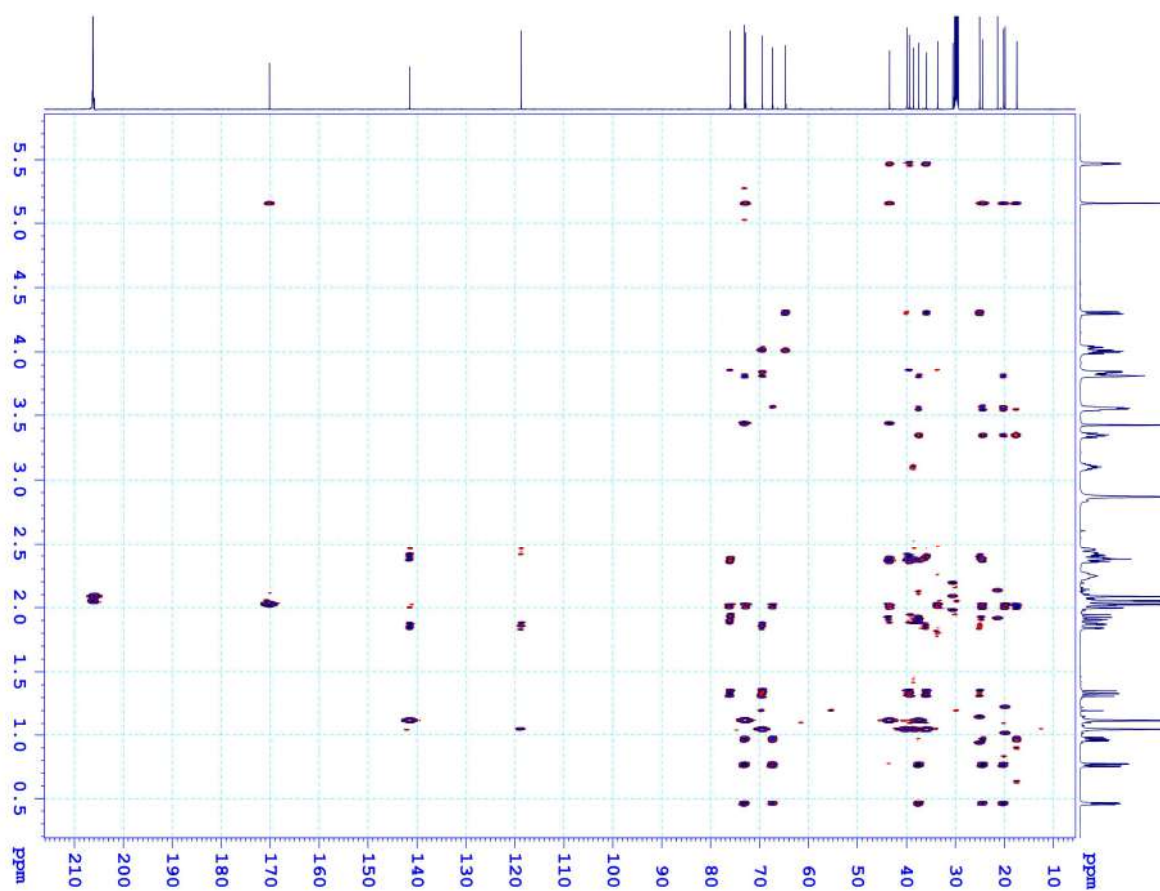
Hình O7.2. Phổ ^1H -NMR



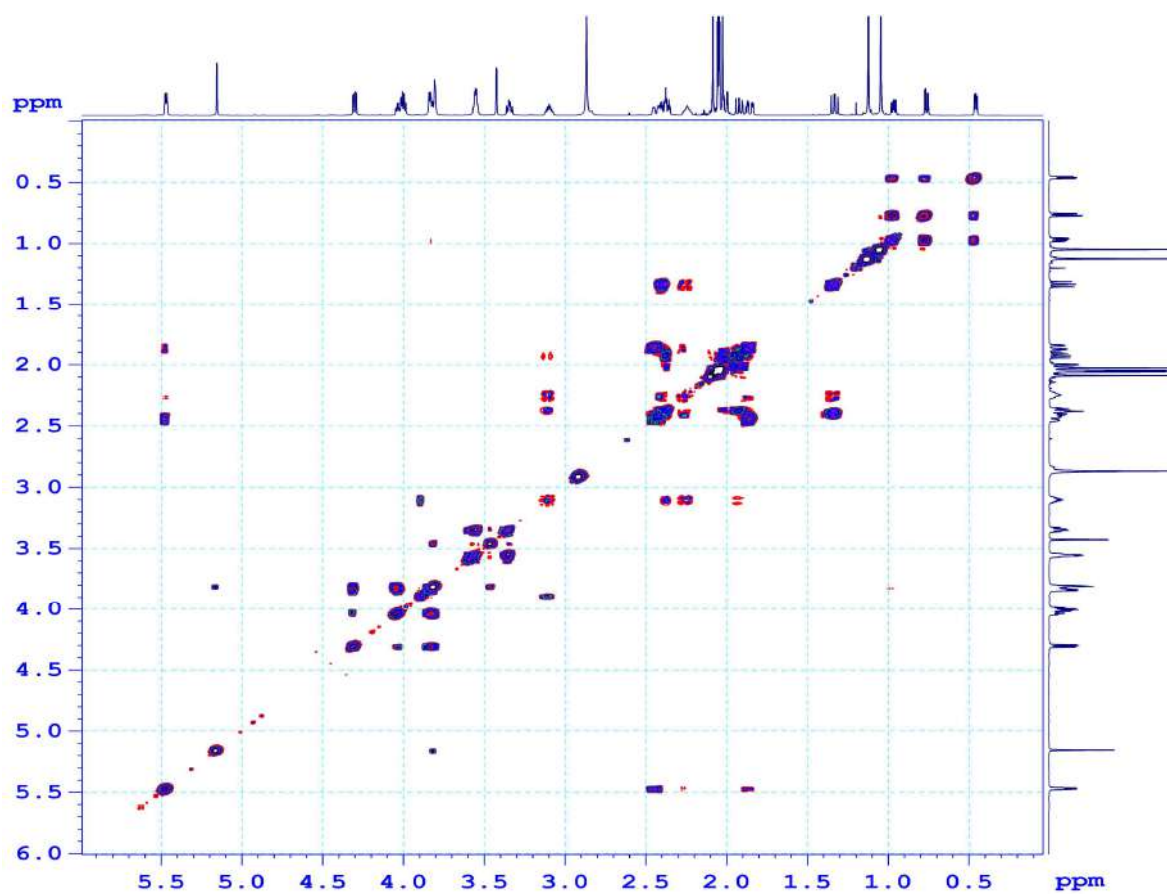
Hình O7.3. Phổ ^{13}C -NMR



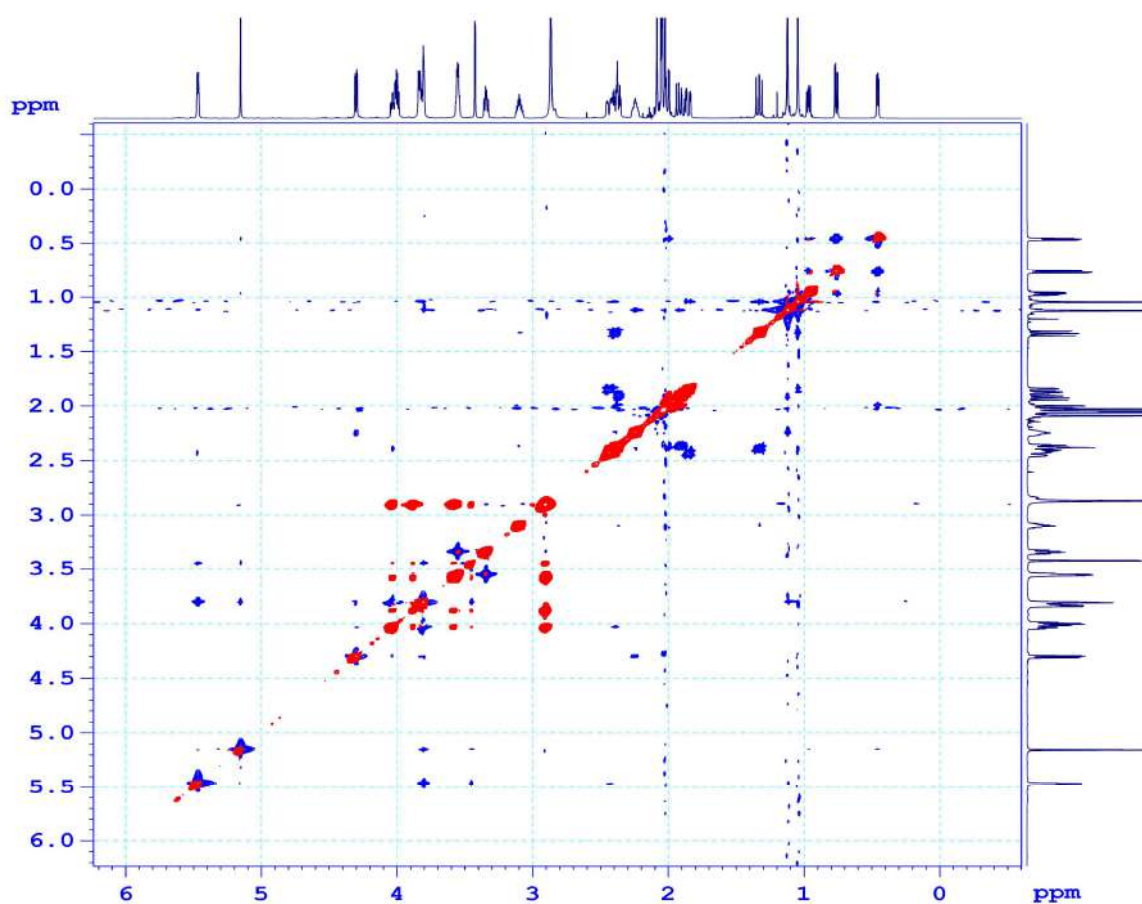
Hình O7.4. Phổ HSQC



Hình O7.5. Phổ HMBC



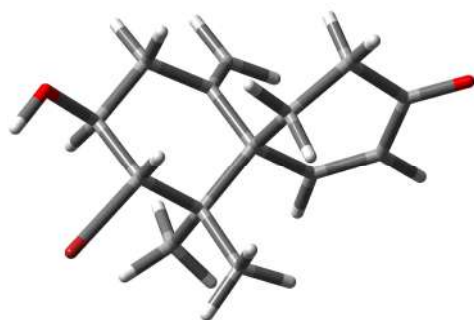
Hình O7.6. Phổ COSY



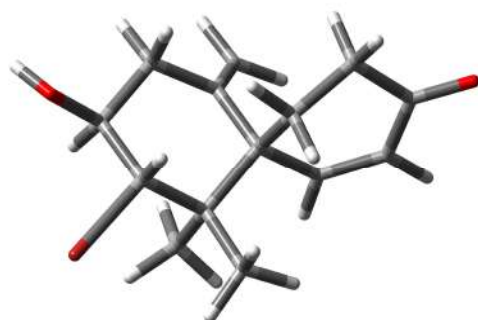
Hình O7.7. Phổ NOESY

3. Kết quả tính toán NMR và ECD của hợp chất ADB11

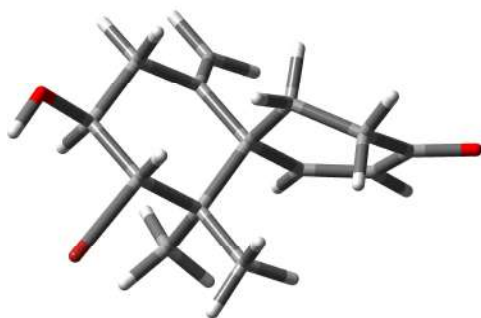
Hình S1. Các đồng phân ổn định nhất của **ADB11-a** được tính toán ở mức B3LYP/6-31G(d)



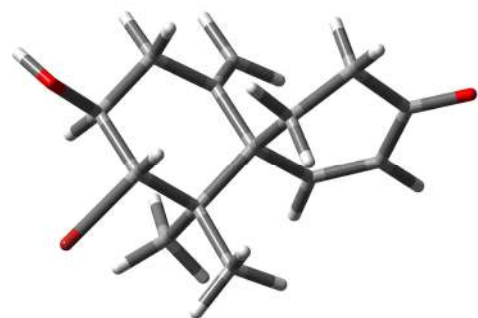
11a-1



11a-2



11a-3



11a-4

Bảng S1. Năng lượng điện tử và mật độ Boltzmann của các đồng phân bền nhất của **ADB11-a** ở mức TD-DFT/PCM-MeOH/CAM-B3LYP/cc-PVTZ

Conformers	<i>E</i> (Hartree)	Boltz. Pop.
1a-1	-3269.417951	0.841719204
1a-2	-3269.415651	0.073662461
1a-3	-3269.414666	0.025973606
1a-4	-3269.415435	0.058644729

Bảng S2. Năng lượng điện tử và mật độ Boltzmann của các đồng phân bền nhất của **ADB11-a** ở mức PCM-CHCl₃/MPW1PW91/6-31+G(d,p)

Conformers	<i>E</i> (Hartree)	Boltz. Pop.
1a-1	-3267.138382	0.960213784
1a-2	-3267.134551	0.016599104
1a-3	-3267.134187	0.01130003
1a-4	-3267.134235	0.011887082

Bảng S3. Dữ liệu ^{13}C -NMR tính toán cho đồng phân **ADB11-a** ở mức PCM-CHCl₃/MPW1PW91/6-31+G(d,p)

[illegible]

Bảng S4. Dữ liệu ^1H -NMR tính toán cho đồng phân **ADB11-a** ở mức PCM- $\text{CHCl}_3/\text{MPW1PW91}/6\text{-}31+\text{G(d,p)}$

H	Shielding values					δ_{exp}	δ_{calc}^*	$ \Delta\delta $
	1a-1	1a-2	1a-3	1a-4	Average			
1	24.22	24.19	24.09	24.22	24.21	6.87	6.93	0.06
2	25.21	25.23	25.15	25.21	25.21	6.14	6.01	0.13
4	29.25	29.26	29.12	29.27	29.25	2.35	2.25	0.10
5	29.33	29.31	29.29	29.38	29.33	2.21	2.18	0.03
8a	28.71	28.89	28.79	28.67	28.72	2.80	2.75	0.05
8b	28.97	28.89	29.10	29.21	28.98	2.44	2.51	0.07
9	27.63	27.59	27.67	27.80	27.64	3.90	3.75	0.15
10	26.64	26.85	26.51	27.09	26.65	4.38	4.37	0.01
12	30.27	30.27	30.38	30.27	30.27	1.20	1.30	0.10
13	30.46	30.42	30.32	30.43	30.45	1.13	1.13	0.00
14a	25.96	26.05	26.20	25.99	25.96	5.18	5.30	0.12
14b	26.37	26.45	26.45	26.40	26.37	4.81	4.92	0.11
CMAE (ppm)								0.0793
RMSD (ppm)								0.0917

Hình S2. Các đồng phân ổn định nhất của **ADB11-b** được tính toán ở mức B3LYP/6-31G(d)**Bảng S5.** Năng lượng điện tử và mật độ Boltzmann của các đồng phân bền nhất của **ADB11-b** ở mức PCM- $\text{CHCl}_3/\text{MPW1PW91}/6\text{-}31+\text{G(d,p)}$

Conformers	E (Hartree)	Boltz. Pop.
1b-1	-3267.136839	0.962055112
1b-2	-3267.133786	0.037944888

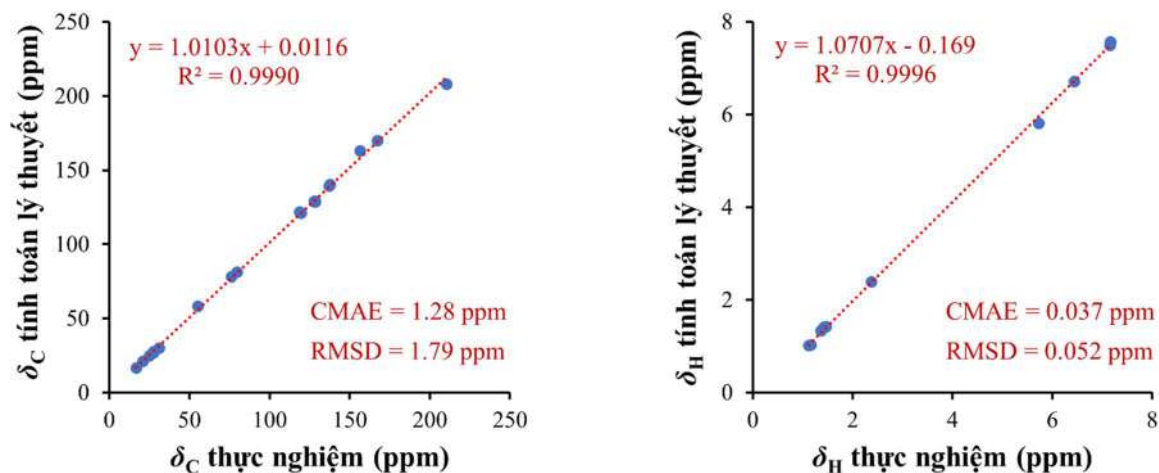
Bảng S6. Dữ liệu ^{13}C -NMR tính toán cho đồng phân **ADB11-b** ở mức PCM- $\text{CHCl}_3/\text{MPW1PW91}/6\text{-}31\text{+G(d,p)}$

C	Shielding values			δ_{exp}	δ_{calc}^*	$ \Delta\delta $
	1b-1	1b-2	Average			
1	43.07	43.88	43.10	152.27	153.62	1.35
2	66.02	67.14	66.07	131.41	130.26	1.15
3	-0.10	0.25	-0.08	198.76	197.56	1.20
4	159.30	157.79	159.24	34.02	35.45	1.43
5	166.28	163.39	166.17	26.31	28.40	2.09
6	140.25	143.43	140.37	51.49	54.66	3.17
7	50.35	43.13	50.08	142.87	146.53	3.66
8	151.67	151.84	151.68	39.24	43.15	3.91
9	120.11	120.14	120.11	71.15	59.97	11.18
10	119.31	117.96	119.26	73.16	76.14	2.98
11	147.81	145.43	147.72	42.51	47.17	4.66
12	179.72	179.00	179.69	19.17	14.65	4.52
13	171.64	170.81	171.61	26.34	22.87	3.47
14	80.52	85.72	80.71	117.04	115.35	1.69
CMAE (ppm)						3.32
RMSD (ppm)						4.15

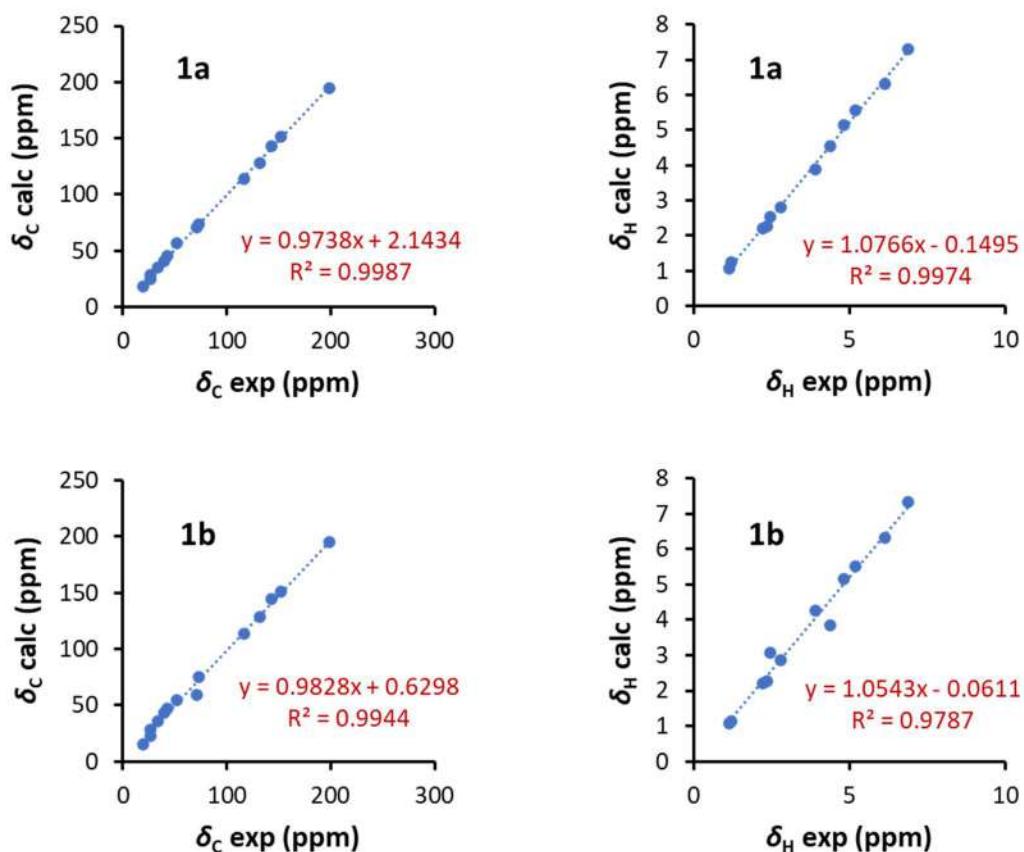
Bảng S7. Dữ liệu ^1H -NMR tính toán cho đồng phân **ADB11-b** ở mức PCM- $\text{CHCl}_3/\text{MPW1PW91}/6\text{-}31\text{+G(d,p)}$

H	Shielding values			δ_{exp}	δ_{calc}^*	$ \Delta\delta $
	1b-1	1b-2	Average			
1	24.20	24.17	24.20	6.87	7.01	0.14
2	25.21	25.15	25.21	6.14	6.05	0.09
4	29.26	29.12	29.26	2.35	2.21	0.14
5	29.32	29.26	29.32	2.21	2.15	0.06
8a	28.65	28.73	28.65	2.80	2.78	0.02
8b	28.46	28.58	28.46	2.44	2.96	0.52
9	26.93	26.95	26.93	3.90	4.11	0.21
10	27.69	27.54	27.68	4.38	3.71	0.67
12	30.39	30.52	30.40	1.20	1.13	0.07
13	30.44	30.30	30.43	1.13	1.09	0.04
14a	26.01	26.25	26.02	5.18	5.28	0.10
14b	26.38	26.45	26.38	4.81	4.94	0.13
CMAE (ppm)						0.1817
RMSD (ppm)						0.2664

Hình S3. Phân tích hồi quy tuyến tính độ dịch chuyển hóa học thực nghiệm so với tính toán của **ADB11**



Hình S4. Phân tích hồi quy tuyến tính độ dịch chuyển hóa học thực nghiệm so với tính toán của **ADB11-a** và **ADB11-b** ở mức PCM-CHCl₃/MPW1PW91/6-31+G(d,p)



Bảng S8. Độ dịch chuyển hóa học tỷ lệ của kết quả **ADB11-a** và **ADB11-b** và DP4+

Settings			Type of data (shifts)		
Default			Scaled shifts		
Functional		Solvent?		Basis Set	
mPW1PW91		PCM		6-31+G(d,p)	
Isomer Nº			1	2	3
DP4+ (%)		H data	99.99%	0.01%	-
		C data	100.00%	0.00%	-
		All data	100.00%	0.00%	-
Type	sp2?	Exp	1	2	3
C	x	152.27	153.88	153.62	
C	x	131.41	129.78	130.26	
C	x	198.76	197.57	197.56	
C		34.02	34.18	35.45	
C		26.31	26.78	28.4	
C		51.49	55.96	54.66	
C	x	142.87	144.48	146.53	
C		39.24	39.58	43.15	
C		71.15	70.93	59.97	
C		73.16	73.19	76.14	
C		42.51	44.61	47.17	
C		19.17	16.19	14.65	
C		26.34	23.54	22.87	
C	x	117.04	115.07	115.35	
H	x	6.87	6.93	7.01	
H	x	6.14	6.01	6.05	
H		2.35	2.25	2.21	
H		2.21	2.18	2.15	
H		2.8	2.75	2.78	
H		2.44	2.51	2.96	
H		3.9	3.75	4.11	
H		4.38	4.37	3.71	
H		1.2	1.3	1.13	
H		1.13	1.13	1.09	
H	x	5.18	5.3	5.28	
H	x	4.81	4.92	4.94	

Số: 1036/QĐ-HVKHCN

Hà Nội, ngày 02 tháng 10 năm 2025

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện

GIÁM ĐỐC
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 364/QĐ-VHL ngày 01/03/2025 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 18/2021/TT-BGDĐT ngày 28/6/2021 của Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế tuyển sinh và đào tạo trình độ tiến sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1968/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy chế tuyển sinh và đào tạo trình độ tiến sĩ;

Căn cứ Quyết định số 934/QĐ-HVKHCN ngày 25/5/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận nghiên cứu sinh chương trình chất lượng quốc tế đợt 1 năm 2022;

Căn cứ Quyết định số 52/QĐ-HVKHCN ngày 12/02/2025 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc gia hạn thời gian học tập lần 1: 06 tháng (Từ ngày 25/5/2025 đến ngày 25/11/2025) cho NCS. Phạm Thanh Bình;

Xét đề nghị của Trưởng phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Phạm Thanh Bình với 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”

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận án kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận án tiến sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định có hiệu lực tối đa 90 ngày kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện Khoa học và Công nghệ. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức - Hành chính, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và nghiên cứu sinh có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ NCS;
- Lưu: VT, ĐT. TN14.

GIÁM ĐỐC

Vũ Đình Lãm



**DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ
CẤP HỌC VIỆN**

(Kèm theo Quyết định số 1036/QĐ-HVKHCN ngày 02/10/2025
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận án của nghiên cứu sinh: Phạm Thanh Bình

Về 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”

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Người hướng dẫn chính: TS. Nguyễn Văn Thanh – Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn phụ: TS. Nguyễn Hoài Nam - Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1	GS.TS. Ngô Quốc Anh	Hóa hữu cơ	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2	PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 1
3	PGS.TS. Nguyễn Thị Mai	Hóa hữu cơ	Trường Đại học giao thông vận tải, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 2
4	PGS.TS. Đoàn Thị Mai Hương	Hóa hữu cơ	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
5	PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt	Hóa hữu cơ	Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
6	PGS.TS. Lê Nguyễn Thành	Hóa hữu cơ	Viện Dược liệu, Bộ Y tế	Ủy viên
7	PGS.TS. Bùi Thị Thu Trang	Hóa hữu cơ	Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội, Bộ Công thương	Ủy viên

Hội đồng gồm 07 thành viên./ *gpc*

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: Ngô Quốc Anh

Học hàm, học vị: GS.TS

Cơ quan công tác: Viện Hóa học, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ VN

Họ và tên nghiên cứu sinh: Phạm Thanh Bình

Thầy hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Thanh

TS. Nguyễn Hoài Nam

Tên đề tài luận án: “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”

Ngành: Hóa hữu cơ;

Mã số: 9.44.01.14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

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. Điển hình, từ loài sên biển *Aplysia dactylomela* cho thấy một số chất có hoạt tính mạnh gây độc lên tế bào ung thư. Tuy nhiên cho đến nay, những nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của chúng còn rất ít ở Việt Nam và mới được nghiên cứu trong những năm gần đây. Do vậy, việc tiếp tục nghiên cứu về các loài sên biển là cần thiết với mục tiêu đặt ra của luận án là: phân lập, xác định cấu trúc hóa học và đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các chất phân lập từ 2 loài sên biển gồm *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera*. Đề tài luận án có tính mới, có ý nghĩa khoa học và thực tế. Cách đặt vấn đề và giải quyết vấn đề hợp lý.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Đề tài nghiên cứu không trùng lặp với các đề tài mà các tác giả khác đã nghiên cứu trong cùng lĩnh vực ở trong nước và trên thế giới; tài liệu tham khảo được trích dẫn trung thực, rõ ràng và đầy đủ.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu; nội dung của luận án phù hợp với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu:

Kết hợp các phương pháp sắc ký bản mỏng (TLC), sắc ký cột (CC) và sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) để phân lập chất sạch. Cấu trúc của các chất được xác định bằng việc kết hợp các phương pháp phổ như: lưỡng sắc tròn (ECD), phổ khối phân giải cao (HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$) và hai chiều (2D-NMR, COSY, NOESY, HSQC, HMBC), và độ quay cực ($[\alpha]_D$). Ngoài ra, việc xác định cấu hình tuyệt đối của chất còn được hỗ trợ bằng phương pháp tính toán NMR và ECD mô phỏng. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư được đánh giá dựa trên phương pháp MTT. Đây là các phương pháp thông dụng, hiện đại, cho kết quả có độ tin cậy cao, đáp ứng được yêu cầu về tính hiện đại trong và ngoài nước và có chất lượng khoa học cao.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó:

NCS đã hoàn thành một khối lượng nghiên cứu lớn, có nhiều đóng góp mới cho lĩnh vực hóa sinh biển của Việt Nam và quốc tế.

Những đóng góp mới của luận án:

Về hóa học:

+ Từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng và đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi đã phân lập được 16 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). Đặc biệt hợp chất aplydactylonin D (ADB11) sở hữu bộ khung carbon mới và được đặt tên là aplydactylonane.

+ Từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập và xác định cấu trúc 07 hợp chất: 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 dạng khung carbon mới được sắp xếp lại từ khung parguerane và hai hợp chất có khung parguerane.

Về hoạt tính sinh học: 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 hợp chất aplydactylonin G (**ADB4**) thể hiện hoạt tính mạnh trên dòng tế bào ung thư A540 với giá trị IC_{50} là 8,15 μM . Các hợp chất mới thể hoạt tính ở mức trung bình là dactylomelanin C (**ADA1**) (IC_{50} là 19,91 μM với dòng tế bào A549), dactylomelanin E (**ADA3**) (IC_{50} là 17,78 và 18,62 μM tương ứng với hai dòng tế bào A549 và MCF-7).

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án

- *Ưu điểm:* Luận án được thực hiện với khối lượng công việc lớn, số liệu thực nghiệm có độ tin cậy cao. Phần biện luận kết quả được trình bày một cách logic, chặt chẽ và có nhiều đóng góp mới về mặt khoa học. Các kết quả nghiên cứu đã được khai thác hiệu quả và công bố trên các tạp chí chuyên ngành.

- Luận án có bố cục hợp lý, bao gồm 143 trang (mở đầu 3 trang, chương I: Tổng quan 27 trang; chương II: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 16 trang; chương III: Thực nghiệm 23 trang, chương IV: Kết quả và Thảo luận 61 trang; Kết luận, kiến nghị, điểm mới và danh mục công trình công bố 3 trang; và 143 tài liệu tham khảo (cập nhật đến 2023) và phụ lục: bộ phổ các chất phân lập được và kết quả tính toán NMR và ECD.

Luận án được trình bày đẹp, rất ít lỗi, bảng biểu, hình vẽ sắp xếp khoa học.

- *Một vài điểm trao đổi và góp ý chỉnh sửa:*

+ Phụ lục cần bổ sung giấy giám định tên loài nghiên cứu.

+ Trong phần Thực nghiệm có thể hiện giá trị phổ UV và phổ IR của chất, cần bổ sung trong phần Phương pháp nghiên cứu các phương pháp phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến UV-Vis (Ultraviolet-visible spectroscopy) và phương pháp phổ hồng ngoại IR (Infrared spectroscopy).

+ Trong luận án chỉ sử dụng phổ 2 chiều NOESY, không dùng phổ ROESY nên cần bỏ phổ ROESY trong phần Phương pháp; Tương tự bỏ phổ DEPT trong phần Phương pháp vì không được dùng đến trong việc xác định cấu trúc chất.

+ Trang 47, hợp chất **ADB1** (Elatol) được phân lập ở dạng dầu thì không thể đo được nhiệt độ nóng chảy.

+ Cần chú ý một số lỗi dùng từ diễn đạt, như trang 127 (phần Kết luận), nên thay cụm từ «nằm trong khoảng» thành «lần lượt là» trong câu «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 μM ».

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI...), scopus quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước...và xếp hạng SCIMAGO):

Liên quan đến luận án có 2 công trình đã được công bố và 1 công trình được chấp nhận đăng. Trong đó 2 công trình được công bố thuộc Tạp chí quốc tế SCIE (Phytochemistry Letters, Q3, IF 1.3 (2023) và (Organic & Biomolecular Chemistry, Q2, IF 2.7 (2025)). 1 công trình được chấp nhận đăng ở Tạp chí Khoa học và Công nghệ biển (Vietnam Journal of Marine Science and Technology) thuộc tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước. Các bài báo đều phản ánh trực tiếp nội dung chính của luận án và có hàm lượng khoa học cao.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

Luận án này là một công trình đáp ứng đầy đủ các yêu cầu về nội dung, chất lượng khoa học và hình thức của một luận án tiến sĩ Khoa học vật chất, chuyên ngành: Hóa hữu cơ.

Tôi đồng ý đề NCS. Phạm Thanh Bình được bảo vệ luận án trước hội đồng cấp Viện và xứng đáng nhận học vị Tiến sĩ Khoa học vật chất, chuyên ngành: Hóa hữu cơ.

Hà Nội, Ngày 22 tháng 10 năm 2025

NGƯỜI NHẬN XÉT

(Ký và ghi rõ họ tên)



GS. TS. Ngô Quốc Anh

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

Học hàm, học vị: PGS.TS.

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

Họ và tên nghiên cứu sinh: Phạm Thanh Bình

Thầy hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Thanh

TS. Nguyễn Hoài Nam

Tên đề tài luận án: **“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”**

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

NỘI DUNG NHẬN XÉT:

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Ung thư là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây tử vong trên toàn thế giới cũng như tại Việt Nam. Mặc dù nhiều thuốc điều trị ung thư đã được sử dụng trên lâm sàng, hiệu quả điều trị vẫn còn hạn chế do độc tính cao, khả năng kháng thuốc và tái phát bệnh. Vì vậy, việc tìm kiếm và phát triển các hợp chất tự nhiên mới có hoạt tính gây độc tế bào ung thư, đặc biệt từ các nguồn dược liệu mới, là hết sức cần thiết.

Biển Việt Nam nằm trong vùng biển nhiệt đới giàu đa dạng sinh học, là nguồn tài nguyên to lớn về sinh vật biển có tiềm năng cung cấp các hợp chất thứ cấp với cấu trúc độc đáo và hoạt tính sinh học mạnh. Trong đó, các loài sên biển (*Aplysia* spp.) được biết đến là nhóm sinh vật có khả năng tích lũy và/hoặc sinh tổng hợp nhiều hợp chất đặc trưng, thường có cấu trúc lạ, phức tạp và thể hiện nhiều hoạt tính sinh học, trong đó, đặc biệt chú ý là hoạt tính gây độc tế bào ung thư. Tuy nhiên, ở Việt Nam, các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài sên biển nói chung, và hai loài *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera* nói riêng còn rất hạn chế, chủ yếu bởi các nghiên cứu sơ bộ ban đầu của chính nhóm nghiên cứu.

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” có tính cần thiết và thời sự vì: (i) góp phần khai thác, đánh giá tiềm năng nguồn tài nguyên sinh vật biển trong nước cho mục tiêu tìm kiếm các chất có hoạt tính chống ung thư; (ii) phù hợp với định hướng phát triển khoa học công nghệ biển, đặc biệt là các sản phẩm có

nguồn gốc tự nhiên, nhất là từ biển, phục vụ chăm sóc sức khỏe cộng đồng; (iii) bắt kịp xu thế nghiên cứu quốc tế về hóa học các chất tự nhiên từ sinh vật biển.

Về ý nghĩa khoa học, luận án cung cấp những dữ liệu mới về thành phần hóa học của hai loài sên biển *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera* ở vùng biển Việt Nam; phân lập, xác định cấu trúc các hợp chất; bước đầu làm rõ mối liên quan giữa cấu trúc hóa học và hoạt tính. Các kết quả này bổ sung vào ngân hàng dữ liệu về hóa học sinh vật biển, đóng góp cho lĩnh vực hóa học các chất tự nhiên và hóa sinh học biển.

Về ý nghĩa thực tiễn, các hợp chất và phân đoạn có hoạt tính gây độc tế bào ung thư tốt có tiềm năng phục vụ nghiên cứu sâu hơn phát triển thuốc chống ung thư mới hoặc chế phẩm hỗ trợ điều trị. Đồng thời, kết quả luận án góp phần nâng cao giá trị và tiềm năng khai thác nguồn tài nguyên sinh vật biển Việt Nam cho mục tiêu y dược, tạo cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo về sàng lọc, bán tổng hợp, tối ưu hóa cấu trúc và đánh giá đa dạng hoạt tính sinh học của các hợp chất từ sên biển.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Đề tài luận án, các kết quả trong luận án, các số liệu, nhận xét, kết luận không trùng lặp với các kết quả nghiên cứu trong nước và nước ngoài.

NCS đã sử dụng 143 tài liệu tham khảo, cập nhật. Các tài liệu được trích dẫn đầy đủ, phù hợp với tổng quan nghiên cứu, phương pháp nghiên cứu và nội dung trình bày. Các trích dẫn rõ ràng.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Đề tài luận án nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng gây độc tế bào ung thư của các hợp chất hữu cơ trong hai loài sên biển *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera* bằng các phương pháp chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc hóa học thích hợp.

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu và giữa nội dung nghiên cứu với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu:

Các hợp chất được phân lập bằng các phương pháp sắc ký (sắc ký cột, sắc ký bản mỏng, sắc ký lỏng hiệu năng cao). Cấu trúc của các hợp chất được xác định bằng kết hợp các phương pháp vật lý hiện đại: phổ khối phân giải cao (HR-ESI-MS), phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều và hai chiều (1D-, 2D-NMR), phổ lưỡng sắc tròn (CD), phương pháp tính phổ CD, NMR lý thuyết, độ quay cực ($[\alpha]_D$). Phương pháp thử hoạt tính sinh học MTT. Đây đều là những phương pháp hiện đại, có tính chính xác. Do đó, các kết quả của luận án có độ tin cậy cao.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó:

Kết quả nghiên cứu của luận án đã có những đóng góp mới về cấu trúc hóa học, tác dụng sinh học cho lĩnh vực khoa học chuyên ngành Hóa hữu cơ. Từ hai loài sên biển *A. dactylomela* và *A. oculifera* đã phân lập và xác định cấu trúc của 23 hợp chất, cụ thể là loài *A. dactylomela* thu ở Phú Quý, Lâm Đồng (3 hợp chất mới 1 hợp chất đã biết), loài *A. dactylomela* thu ở Lý Sơn, Quảng Ngãi (7 hợp chất mới 5 hợp chất đã biết), loài *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế (7 hợp chất mới). Các hợp chất phân lập được đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư HepG2, Hela, A549, MCF7 và bước đầu cho kết quả tốt đối với một số hợp chất. 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 trên cả ba dòng tế bào với giá trị IC_{50} lần lượt là 27,54; 17,78 và 18,62 μM .

Hợp chất elatol (ADB1) thể hiện hoạt tính gây độc mạnh nhất với giá trị IC_{50} 6,22; 5,07 và 6,55 μM 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 μM .

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} trong khoảng 21,38 và 23,44 μM .

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án:

Luận án được trình bày đẹp, rõ ràng

Một số lỗi còn tồn tại

Thuật ngữ ... “dòng tế bào ung thư ... ở người” nên sửa lại thành dòng tế bào ung thư ...người

Danh mục viết tắt: Cần sửa phổ NOESY thành Phổ tương tác không gian NOESY

Thống nhất sử dụng từ “loài sên biển”

Sửa tương tác phổ HMBC, phổ COSY thành tương tác HMBC, tương tác COSY

Sửa cấu trúc hợp chất → cấu trúc hóa học hợp chất

Tên loài viết nghiêng (trang 4)

Cột tác giả chính ở các bảng 1.2,... nên bỏ

Sửa cấu trúc một số hợp chất → một số hợp chất

Cấu trúc chất 149 và 150 cần chỉ rõ Z hay E ở đâu?

Một số thuật ngữ liên quan đến hoạt tính trang 21: Hoạt động thú vị gây độc dòng tế bào ung thư, thể hiện đặc tính gây độc tế bào, gây độc tính tế bào mạnh, gây độc tế bào nhẹ với các dòng tế bào khối u khác nhau, tế bào KB biểu mô biểu bì ở miệng người,...

Thuật ngữ R, S in nghiêng,

Mục 1.3. Đặc điểm 2 loài sên biển: Nói đặc điểm chung nhất, Phân tích đặc điểm hình thái, phân bố, sinh sản của 2 loài sau.

Thông số vật lý, hóa ký mục 2.5.2.1 Chất dầu không màu nhưng có nhiệt độ nóng chảy.

Hàng số tương tác trang 61: Hai số sau dấu phẩy,

Kết luận: Phân thử hoạt tính, nên đề cập luôn đến các hợp chất, không nên nhắc lại tên loài đã nghiên cứu ở đâu

Câu hỏi:

1) Từ 2 loài sên biển, có quy trình chiết tách khác nhau. Nghiên cứu sinh có biện giải gì về quy trình này.

2) Biện luận cấu trúc hợp chất 1. Tác giả chỉ đề cập đến cấu hình tương đối tại C-6 là S*. Đề nghị giải thích thêm

3) Tác giả có đề cập là thành phần hóa học có tương đồng với môi trường do sên ăn. Theo ý kiến dự đoán của NCS thì hợp chất nào do Sên ăn từ bên ngoài? Hợp chất nào là tạo bởi Sên

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO):

Kết quả Luận án đã được công bố trên 02 bài báo quốc tế thuộc danh mục SCIE: Phytochemistry Letters (SCIE, IF 1.4, Q3) và Organic & Biomolecular Chemistry (ISI, IF 2.7, Q2).

Một bài báo trên tạp chí quốc gia Vietnam Journal of Marine Science and Technology (Đã chấp nhận đăng).

Các nội dung đăng trên các bài báo hoàn toàn phù hợp với nội dung kết quả luận án.

8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành. Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án hay không; luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị tiến sĩ được hay không.

Luận án có mục tiêu nghiên cứu rõ ràng, nội dung nghiên cứu có ý nghĩa, kết quả thu được có độ tin cậy khoa học cao và có nhiều đóng góp vào nghiên cứu cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học.

Luận án đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành.

Tóm tắt luận án phản ánh trung thực các kết quả chính của luận án.

Tôi hoàn toàn đồng ý đề NCS Phạm Thanh Bình được bảo vệ tại hội đồng cấp Học viện và nhận học vị Tiến sĩ hóa học.

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

Người nhận xét



Nguyễn Xuân Nhiệm

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: PGS.TS. Nguyễn Thị Mai

Học hàm, học vị: PGS.TS

Cơ quan công tác: Trường Đại học Giao thông vận tải

Họ và tên nghiên cứu sinh: Phạm Thanh Bình

Thầy hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Thanh

TS. Nguyễn Hoài Nam

Tên đề tài luận án: **“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”**

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Nội dung nhận xét:

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Luận án nghiên cứu về sinh vật biển, thuộc nghiên cứu cơ bản về các hợp chất có hoạt tính sinh học, tạo tiền đề cơ sở cho những nghiên cứu sâu hơn để ứng dụng vào trong thực tiễn đời sống, Luận án mang tính cấp thiết, có tính thời sự và có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Đề tài luận án, các kết quả trong luận án, các số liệu, nhận xét, kết luận không trùng lặp với các luận án đã bảo vệ trong nước và nước ngoài.

Việc trích dẫn tài liệu rõ ràng, trung thực với đầy đủ thông tin tác giả, tên nghiên cứu, tạp chí, nhà xuất bản, năm xuất bản và số trang. Tài liệu được trích dẫn đầy đủ, cập nhập các nghiên cứu từ những năm 1909 đến nay.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành:

Đề tài luận án nghiên cứu về thành phần hóa học của các hợp chất hữu cơ trong hai loài sên biển *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera* bằng các phương pháp chiết xuất,

phân lập và xác định cấu trúc hóa học thích hợp. Kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với chuyên ngành hóa hữu cơ của chương trình đào tạo.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu:

Các phương pháp nghiên cứu trong luận án có độ tin cậy cao, phương pháp nghiên cứu hiện đại như: Phương pháp tách chiết và phân lập bằng cột silica gel pha thường, pha đảo, máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC); Phương pháp xác định cấu trúc bằng phổ khối phân giải cao, phổ NMR và phương pháp tính toán ECD, NMR hiện đại; Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào (Phương pháp MTT).

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó:

Kết quả nghiên cứu của luận án đã có những đóng góp mới về cấu trúc hóa học, tác dụng sinh học cho lĩnh vực khoa học chuyên ngành Hóa hữu cơ. Từ hai loài sên biển *A. dactylomela* và *A. oculifera* đã phân lập và xác định cấu trúc của 23 hợp chất sạch, đóng góp vào cơ sở dữ liệu thành phần hóa học phong phú của loài nói riêng và các hợp chất từ thiên nhiên nói chung. Các hợp chất phân lập được đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư HepG2, Hela, A549, MCF7 và bước đầu cho kết quả tốt đối với một số hợp chất. Các kết quả này cũng là tiền đề cho những nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học và các tác dụng dược lý khác của loài cũng như của các hợp chất tự nhiên từ 2 loài này, góp phần tìm kiếm ra các cấu trúc mới và hoạt chất mới cho các nghiên cứu phát triển. Các kết quả nghiên cứu của luận án do đó đã thể hiện được tính khoa học và giá trị thực tiễn cũng như độ tin cậy của các kết quả thu được.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án:

Luận án với khối lượng công việc lớn và hàm lượng khoa học cao, bố cục hợp lý và viết biện luận cấu trúc các chất rất chặt chẽ. Tài liệu tham khảo cập nhật, tuy nhiên NCS cần rà soát một số lỗi in ấn, danh pháp khoa học (tên loài đôi chỗ còn chưa in nghiêng).

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (*cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO*):

Luận án công bố 02 bài báo quốc tế lần lượt trên các tạp chí chuyên ngành uy tín có chỉ số ảnh hưởng tốt, thuộc danh mục SCIE: *Phytochemistry Letters* (SCIE, IF 1.4, Q3) và *Organic & Biomolecular Chemistry* (ISI, IF 2.7, Q2).

Một bài báo trên tạp chí quốc gia Vietnam Journal of Marine Science and Technology (Đã chấp nhận đăng)

8. Kết luận chung cần khẳng định:

- Luận án đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành.
- Bản tóm tắt luận án có phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.
- Tôi đồng ý Luận án được bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ được.

Hà Nội, Ngày 27.. tháng 10 năm 2025

Người nhận xét



PGS.TS. Nguyễn Thị Mai

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét: Đoàn Thị Mai Hương

Học hàm, học vị: PGS.TS.

Cơ quan công tác của người nhận xét: Viện Hoá học, Viện Hàn lâm KH&CNVN

Họ và tên nghiên cứu sinh: Phạm Thanh Bình

Thầy hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Thanh

TS. Nguyễn Hoài Nam

Tên đề tài luận án: **“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”**

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

Với bờ biển dài trên 3.000 km, Việt Nam có nguồn tài nguyên sinh vật biển đa dạng, phong phú trong đó có ngành thân mềm là nhóm động vật biển lớn nhất chiếm khoảng 23% tổng số các sinh vật biển đã được đặt tên. Trên thế giới, đã có nhiều công trình công bố về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài sên biển thuộc ngành thân mềm. Kết quả cho thấy chúng có cấu trúc đa dạng và hoạt tính sinh học phong phú, có một số hoạt chất đã được ứng dụng trong thử nghiệm lâm sàng và làm thuốc điều trị bệnh ung thư.

Trong quá trình nghiên cứu, nghiên cứu sinh đã khảo sát về động vật thân mềm, cụ thể là loài sên biển *Aplysia dactylomela*, kết quả cho thấy một số chất có hoạt tính gây độc lên tế bào ung thư tốt. Ở Việt Nam, các nghiên cứu về hóa học và các hợp chất có hoạt tính sinh học từ các loài sên biển còn nhiều hạn chế, mới chỉ có một số công bố trong vài năm gần đây, chính vì vậy nghiên cứu sinh 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”** với mục tiêu làm rõ được thành phần hóa học nhằm tìm kiếm các hoạt chất có hoạt tính gây độc tế bào ung thư, làm cơ sở khoa học cho những nghiên cứu y - sinh - dược học tiếp theo từ hai loài sên biển *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera*. Với cách tiếp cận như vậy trong việc lựa chọn đề tài nghiên cứu, nghiên

cứu sinh đã có đóng góp có giá trị trong việc phát triển các hợp chất có hoạt tính sinh học, góp phần vào việc khai thác và sử dụng hiệu quả nguồn tài nguyên của đất nước.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Đây là một đề tài mới, không trùng lặp với các công trình nghiên cứu trong và ngoài nước trước đây. Tài liệu tham khảo được trích dẫn đầy đủ, rõ ràng và cập nhật.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành:

Kết quả nghiên cứu của đề tài đã phản ánh đúng tên của đề tài. Tên đề tài hoàn toàn phù hợp giữa nội dung với chuyên ngành và mã số của chuyên ngành. Các kết luận của luận án phù hợp với cách đặt vấn đề và mục tiêu nghiên cứu đề ra.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu:

Phương pháp nghiên cứu khoa học, hiện đại, phù hợp với nội dung và mục tiêu nghiên cứu. Việc phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất được thực hiện với một kỹ năng tốt, kết quả đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 23 hợp chất sạch trong đó có 17 chất mới. Các chất phân lập được đều được xác định cấu trúc bằng các bằng các phương pháp vật lý trên các thiết bị hiện đại như phổ khối lượng và phổ cộng hưởng từ hạt nhân một và 2 chiều, phổ CD, phối hợp với phương pháp tính toán phổ CD, tính toán khoảng các giữa hai proton và tính toán lý thuyết NMR để xác định cấu hình tuyệt đối. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư MTT là phương pháp chuẩn tại các phòng thí nghiệm trên thế giới.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó:

Đây là một công trình nghiên cứu có ý nghĩa khoa học cao, luận án đã có đóng góp mới như sau:

- 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 (ADA01), dactylomelanin D (ADA02), dactylomelanin E (ADA03), aplydactylonin

I (ADB02), aplydactylonin K (ADB03), aplydactylonin G (ADB04), aplydactylonin H (ADB05), aplydactylonin F (ADB06), aplydactylonin E (ADB07), [aplydactylonin D (ADB11).

- Từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập và xác định cấu trúc 07 hợp chất sạch và cả 7 hợp chất đều là chất mới oculiferanin A (AOB01), oculiferanin B (AOB02), oculiferanin C (AOB03), oculiferanin D (AOB04), oculiferanin E (AOB05), oculiferanin F (AOB06), oculiferanin G (AOB07). Các hợp chất trên đều thuộc lớp chất diterpene, trong đó có năm hợp chất có khung được sắp xếp lại từ khung parguerane và hai hợp chất có khung parguerane.
- 17 hợp chất mới phân lập 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), kết quả cho thấy ba hợp chất dactylomelanin C (ADA01), dactylomelanin E (ADA03), aplydactylonin M (ADB03) thể hiện hoạt tính với giá trị IC_{50} nằm trong khoảng 19,91 - 42,66 μ M. Hợp chất oculiferanin A (AOB01) 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.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án:

Bản luận án được trình bày một cách khoa học, các hình minh họa, phụ lục được bố trí hợp lý, đầy đủ và rõ ràng phù hợp với hình thức của một luận án tiến sĩ, tuy nhiên còn một số sai sót nhỏ cần phải chỉnh sửa như sau:

- Sơ đồ phân lập các hợp chất từ 2 loài sên biển (Hình 2.4, 2.5, 2.8) nên bổ sung từ chiết vào phần chiết phân lớp với các dung môi hữu cơ, ví dụ “chiết với 1.5 L n-hexan x 3 lần” thay vì “+ 1.5 L n-hexan x 3 lần”.
- Cần lưu ý cách diễn đạt thuật ngữ về hoạt tính sinh học trong phần tổng quan, ví dụ trang 26 “Hai hợp chất 118 và 121 gây ra sự phát triển dinh dưỡng thần kinh đáng kể đối với tế bào tuyến thượng thận PC-12” là chưa đúng nghĩa về mặt khoa học.
- Thống nhất cách ký hiệu hợp chất trong luận án và phần phụ lục phổ (ADA1 hay ADA01, ADB1 hay ADB01)

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO):

Tác giả đã có 2 công trình nghiên cứu được công bố trên các tạp chí khoa học quốc

tế SCIE là Phytochemistry Letters và Organic & Biomolecular Chemistry. 01 bài báo được chấp nhận đăng ở Tạp chí khoa học trong nước (Vietnam Journal of Marine Science and Technology). Đây đều là các tạp chí uy tín, có quy trình phản biện nghiêm ngặt, điều đó khẳng định tính nghiêm túc của các công trình khoa học của luận án. Nội dung của bài báo hoàn toàn phù hợp với nội dung của luận án.

8. Kết luận chung:

Các kết quả nghiên cứu phong phú và có độ tin cậy cao. Bản luận án đáp ứng đầy đủ nội dung, hình thức của một luận án tiến sĩ chuyên ngành hóa hữu cơ.

Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án. Tôi đồng ý cho NCS được bảo vệ tại Hội đồng cấp Học viện sau khi sửa đổi theo sự góp ý nêu trên.

Hà Nội, ngày 20 tháng 10 năm 2025

NGƯỜI NHẬN XÉT



Đoàn Thị Mai Hương

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: Nguyễn Tiến Đạt

Học hàm, học vị: PGS.TS.

Cơ quan công tác: Trung tâm Nghiên cứu và phát triển công nghệ cao

Họ và tên nghiên cứu sinh: Phạm Thanh Bình

Thầy hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Thanh

TS. Nguyễn Hoài Nam

Tên đề tài luận án: **“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”**

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Nội dung nhận xét:

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Sên biển phân bố rộng khắp các châu lục, ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, trong đó tại Việt Nam, sên biển phân bố ở các vùng biển Thanh Hóa, Quảng Bình, Quảng Ngãi, Nha Trang... Sên biển thuộc giống *Aplysia* có khoảng 40 loài, thuộc họ Aplysiidae, bộ Anaspidea, lớp chân bụng Gastropoda, ngành động vật thân mềm Molluses. Đặc điểm của *Aplysia* có tuổi thọ ngắn, tốc độ tăng trưởng nhanh và sản lượng trứng cao. Những kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học từ loài sên biển *Aplysia* cho thấy chúng rất đa dạng và phong phú. Sên biển *Aplysia* là động vật thân mềm ăn rong, tảo... đã được chứng minh là nguồn cung cấp chất chuyển hóa thứ cấp phong phú, có nguồn gốc chủ yếu từ chế độ ăn uống. Phần lớn các chất chuyển hóa thứ cấp được phân lập từ loài sên *Aplysia* là các terpene được halogen hóa, bên cạnh đó những động vật này còn chứa các lớp chất khác như macrolide, sterol, alkaloid... Gắn liền với những hợp chất trên thường thể hiện các hoạt tính gây độc tế bào, kháng khuẩn, kháng nấm, kháng vi sinh vật và kháng vi rút...

Tại Việt Nam, các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của sên biển nói chung và giống *Aplysia* nói riêng còn rất hạn chế. Luận án này tập trung vào việc xác định các thành phần hóa học và đánh giá khả năng gây độc tế bào ung thư của hai loài

sên biển *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera* tại vùng biển Việt Nam. Kết quả luận án đã làm rõ được thành phần hóa học chính của 2 loài này, phát hiện được nhiều cấu trúc hóa học mới. Trong đó đáng chú ý có những hợp chất thể hiện tác dụng gây độc tế bào ung thư có giá trị khoa học cao.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Luận án không trùng lặp với các công trình nghiên cứu đã công bố ở trong và ngoài nước trước đây.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành:

Tên đề tài luận án phù hợp với nội dung nghiên cứu và với chuyên ngành và mã số đào tạo.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu:

Phương pháp nghiên cứu sử dụng trong luận án bao gồm phương pháp về hóa học và phương pháp đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư. Các phương pháp hóa học sử dụng là các kỹ thuật chiết xuất, phân lập và tinh chế hoạt chất bằng sắc ký; các kỹ thuật phổ kết hợp để xác định cấu trúc hóa học. Đặc biệt luận án sử dụng các công cụ tính toán lý thuyết về NMR và CD kết hợp thực nghiệm để phân tích sâu làm rõ cấu trúc hóa học của các hợp chất mới.

Nội dung đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư sử dụng phương pháp MTT là thường quy trong phòng thí nghiệm, có sử dụng các trang thiết bị hiện đại và đánh giá thống kê nên kết quả có độ tin cậy cao.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó:

NCS đã phân lập và xác định được cấu trúc của 23 hợp chất từ hai loài sên biển *A. dactylomela* và *A. oculifera*, trong đó có 17 hợp chất mới lần đầu tiên công bố. Cụ thể:

- Từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng đã phân lập và xác định cấu trúc 04 hợp chất. Trong đó có 03 hợp chất mới là: dactylomelanin C (ADA1), dactylomelanin D (ADA2) và dactylomelanin E (ADA3).

- 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 07 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,4Z,6S,9S,10R]-10,15-dibromochamigra-3(15),4,7(14)-trien-9-ol (ADB8), pacifidiene (ADB9), 11-hydroxy-8-oxo- β -cyperon (ADB10) và thysiferol (ADB12).

Đặc biệt hợp chất aplydactylonin D (ADB11) là một diterpene có khung carbon mới, chưa được công bố trước đây.

- Từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập và xác định cấu trúc 07 hợp chất: 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 dạng khung carbon mới được sắp xếp lại từ khung parguerane và hai hợp chất có khung parguerane.

17 hợp chất mới 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 aplydactylonin G (ADB4) thể hiện hoạt tính mạnh trên dòng tế bào ung thư A540 với giá trị IC₅₀ là 8,15 μ M. Các hợp chất mới thể hiện hoạt tính ở mức trung bình là dactylomelanin C (ADA1) (IC₅₀ là 19,91 μ M với dòng tế bào A549), dactylomelanin E (ADA3) (IC₅₀ là 17,78 và 18,62 μ M tương ứng với hai dòng tế bào A549 và MCF-7).

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án:

- Luận án toàn văn trình bày khoa học, rõ ràng. Phụ lục minh chứng các kết quả trung gian đầy đủ, hợp lý.

- Tóm tắt luận án phản ánh đúng nội dung chính của luận án toàn văn.

- Luận án sử dụng 143 tài liệu tham khảo được trích dẫn đầy đủ, chính xác. Cách thức trình bày tài liệu tham khảo khoa học, đầy đủ thông tin để đảm bảo tra cứu.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (*cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO*):

NCS công bố 03 bài báo liên quan đến kết quả của luận án. Các công bố đều trên tạp chí quốc tế SCIE có uy tín và đúng chuyên ngành.

Nội dung các công trình công bố phù hợp với kết quả thu được của luận án. NCS là tác giả đầu của tất cả các công trình công bố trên.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

- Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một luận án Tiến sĩ về nội dung và hình thức.
- Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thực nội dung của luận án toàn văn.
- Đồng ý cho NCS đưa luận án ra bảo vệ tại Hội đồng cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

Hà Nội, ngày 28 tháng 10 năm 2025

Người nhận xét



Nguyễn Tiến Đạt

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét luận án: Lê Nguyễn Thành

Học hàm, học vị: PGS.TS

Cơ quan công tác: Viện Dược liệu- Bộ Y tế

Họ và tên nghiên cứu sinh: Phạm Thanh Bình

Thầy hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Thanh

TS. Nguyễn Hoài Nam

Tên đề tài luận án: “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”

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Nội dung nhận xét:

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Ung thư hiện là một trong những vấn đề sức khỏe cộng đồng nghiêm trọng nhất toàn cầu. Tại Việt Nam, tỷ lệ mắc bệnh ung thư đang gia tăng nhanh chóng, đòi hỏi những nỗ lực tìm kiếm các hợp chất chống ung thư mới. Bởi vậy việc tìm kiếm thuốc hỗ trợ điều trị ung thư và các tác nhân dự phòng hóa học là hết sức cần thiết và cấp bách.

Các hoạt chất từ nguồn sinh vật biển gần đây mới được nghiên cứu như các loại thuốc mới, chủ yếu để điều trị ung thư. Khoảng 40.000 hợp chất có hoạt tính sinh học được bắt nguồn từ sinh vật biển như Bọt biển, San hô mềm, động vật Da gai, Sên biển và các sinh vật biển khác đã được công bố. Từ một số loài sên biển được nghiên cứu đã tìm thấy nhiều hoạt chất dolastatin, Jorumycin đã được ứng dụng trong thử nghiệm lâm sàng và làm thuốc điều trị ung thư. Việt Nam có đường bờ biển dài và nguồn nguyên liệu sinh vật biển phong phú. Qua khảo sát ban đầu, loài sên biển *Aplysia dactylomela* và cho thấy một số chất có hoạt tính mạnh gây độc lên tế bào ung thư.

NCS Phạm Thanh Bình đã thực hiện 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” nhằm phát hiện ra những hợp chất có hoạt tính sinh học cũng như có thể ứng dụng trong điều trị bệnh ung thư. Như vậy nghiên cứu mang ý nghĩa quan trọng cả về mặt khoa học lẫn thực tiễn

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Trong lĩnh vực nghiên cứu về dược liệu biển đã có một số các nghiên cứu về thành phần hóa học của 2 loài sên biển *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera* trên thế giới và một số khu vực khác ở Việt Nam. Tuy nhiên, luận án này là công trình công bố kết quả **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***, không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào đã được công bố trước đây. Toàn bộ tài liệu tham khảo bao gồm 182 tài liệu đều được trích dẫn một cách chính xác, phù hợp và đảm bảo tính trung thực học thuật.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành:

Nội dung nghiên cứu của luận án phù hợp với tên đề tài luận án và chuyên ngành Hóa hữu cơ, mã số: 9440114.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu:

Cấu trúc các hợp chất được khẳng định bằng các phương pháp phổ hiện đại như IR, NMR, MS nên cho kết quả chính xác. Các phương pháp nghiên cứu sinh học được sử dụng trong luận án đều là các phương pháp hiện đại, thông dụng và đảm bảo độ tin cậy nên các kết quả nghiên cứu đảm bảo tính chính xác, trung thực.

Thử hoạt tính gây độc tế bào bằng phương pháp MTT là phương pháp thường quy

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó:

NCS đã phân lập và xác định được cấu trúc của 23 hợp chất từ hai loài sên biển *A. dactylomela* và *A. oculifera*, trong đó có 17 chất mới. Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học là rất xuất sắc.

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

+ Từ mẫu sên biển *A. dactylomela* thu ở Lý Sơn, Quảng Ngãi đã phân lập và xác định cấu trúc 12 hợp chất gồm 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). và 5 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). Đặc biệt hợp chất aplydactylonin D (ADB11) là một diterpene có khung carbon mới, chưa được công bố trước đây.

+ Từ mẫu sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập và xác định cấu trúc bảy hợp chất diterpene mới là oculiferanin A (AOB1), oculiferanin B (AOB2), oculiferanin C (AOB3), oculiferanin D (AOB4), oculiferanin E (AOB5), oculiferanin F (AOB6), oculiferanin G (AOB7).

Về hoạt tính sinh học:

Đã tiến hành thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư của 23 hợp chất phân lập được. Ba hợp chất dactylomelanin C (ADA1), dactylomelanin D (ADA2) và dactylomelanin E (ADA3) từ sên biển *A. dactylomela* - Phú Quý, Lâm Đồng thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên ba dòng ung thư HepG2, A549 và MCF-7, trong đó ADA3 thể hiện hoạt tính trên cả ba dòng tế bào với giá trị IC_{50} lần lượt là 27,54, 17,78 và 18,62 μM .

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. 06 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 μM 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 μM .

05 hợp chất oculiferanin A (AOB1), oculiferanin B (AOB2), oculiferanin C (AOB3), oculiferanin D (AOB4), oculiferanin G (AOB7) từ sên biển *A. oculifera* - Lăng Cô, Huế có thể hiện hoạt tính gây độc trên các dòng tế bào ung thư HepG2, Hela và MCF-7. 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 μM .

Kết quả nghiên cứu hoạt tính đã phát hiện được một số hợp chất có hoạt tính tốt.

Luận án đã đóng góp những hiểu biết mới trong lĩnh vực nghiên cứu hợp chất tự nhiên từ được liệu biển, góp phần tìm kiếm các hợp chất tiềm năng trong điều trị ung thư.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án:

Ưu điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án

- Về Nội dung của Luận án: Nội dung nghiên cứu của đề tài luận án phù hợp với mã chuyên ngành đã đăng ký của nghiên cứu sinh. Các kết quả nghiên cứu có hàm lượng khoa học cao, có khối lượng công việc thực hiện lớn, phong phú, đặc biệt là phần xác định cấu hình tuyệt đối bằng phổ ECD và tính toán lý thuyết. Luận án thu được nhiều kết quả có ý nghĩa trong cứu khoa học. đáp ứng yêu cầu về tính mới, hàm lượng khoa học cũng như khối lượng của một luận án tiến sĩ chuyên ngành Hóa hữu cơ. Với các kết quả nói trên, điều này cho thấy nghiên cứu sinh đã đầu tư thời gian, công sức, tâm huyết thực hiện các nghiên cứu một cách khoa học, nghiêm túc, công phu.

- Về bố cục: Bố cục của luận án Luận án 127 trang, 38 bảng, 109 hình và sơ đồ. Bố cục gồm các phần: gồm các phần chính: Đặt vấn đề (3 trang), tổng quan (27 trang), Đối tượng và phương pháp nghiên cứu (23 trang), kết quả và bàn luận (72 trang), kết luận và kiến nghị (2 trang), danh mục các bài báo đã công bố liên quan đến luận án (1 trang). Luận án có 143 tài liệu tham khảo và phụ lục phổ các dãy chất.

Luận án được cấu trúc khoa học, chặt chẽ trình bày rõ ràng, công phu và đúng theo hướng dẫn.

- Phần tổng quan đã giới thiệu được về các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài sên biển trong và ngoài nước. NCS đã đưa ra đầy đủ các nghiên cứu trước đây

- Chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

NCS đã nêu rất đầy đủ, chi tiết các nguyên liệu, trang thiết bị và các phương pháp nghiên cứu. Các phương pháp nghiên cứu là hiện đại.

Chương 3: Kết quả nghiên cứu

Các kết quả nghiên cứu được trình bày cẩn thận, rõ ràng, hợp lý.

Phần biện luận xác định cấu trúc các hợp chất được trình bày rõ ràng, chính xác. Về bản luận kết quả, của Luận án đã thể hiện NCS có nền tảng kiến thức vững vàng về phân tích, xác định cấu trúc hóa học bằng các phương pháp phân tích phổ cũng như các kiến thức, kỹ năng và phương pháp luận biện giải, biện luận các kết quả nghiên cứu.

Các kết quả về hoạt tính cũng được bàn luận chi tiết.

- Luận án và tóm tắt luận án đã được soạn thảo và in ấn cẩn thận, công phu, đẹp, rõ ràng, công thức được soạn thảo thống nhất trên một format, dễ theo dõi.

6.2 Nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án

- Còn một số lỗi trình bày (không nhiều)

- Tài liệu tham khảo nên được viết theo mẫu thống nhất

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO):

Một phần kết quả của đề tài luận án đã được đăng tải và trình bày trong 02 bài báo trên tạp chí quốc tế SCIE là *Phytochemistry Letters* IF 1.4 và *Organic & Biomolecular Chemistry* IF 2.7. Đây là các tạp chí quốc tế có chất lượng tốt trong chuyên ngành Hóa hữu cơ, Hóa HCTN. Ngoài ra NCS còn có 1 bài báo trên tạp chí trong nước là *Vietnam Journal of Marine Science and Technology* thuộc danh mục của HDDGGSNN đã chấp nhận đăng. Các bài báo trên các tạp chí chuyên ngành khẳng định tính mới của luận án. Các kết quả được công bố có ý nghĩa khoa học và thực tiễn. Số lượng và chất lượng của

các công trình công bố khẳng định luận án tiến sĩ của NCS đáp ứng các yêu cầu của luận án tiến sĩ Hóa hữu cơ.

8. Kết luận chung

Luận án tiến sĩ của NCS Phạm Thanh Bình là một công trình nghiên cứu có chất lượng xuất sắc, có nội dung khoa học phong phú. NCS đã thực hiện khối lượng công việc lớn, đã phân lập được 23 hợp chất từ 3 mẫu sên biển trong đó có 17 hợp chất mới, đã đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư và đã phát hiện ra một số hoạt chất có hoạt tính khá cao.

Các kết quả nghiên cứu có độ tin cậy cao, sử dụng các phương pháp nghiên cứu hiện đại. Các kết quả đã được công bố trên 02 bài báo ở các tạp chí quốc tế SCIE, và 01 bài báo trên tạp chí trong nước thuộc danh mục của HGDSTN. Các kết quả của đề tài hoàn toàn đáp ứng yêu cầu luận văn tiến sĩ theo quy định.

Bản tóm tắt luận án là đạt, được trình bày theo đúng yêu cầu, đã tóm lược đầy đủ về nội dung đề tài, luận án.

NCS Phạm Thanh Bình có đầy đủ điều kiện để bảo vệ luận án Tiến sĩ trước Hội đồng cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ. NCS Phạm Thanh Bình xứng đáng được nhận học vị Tiến sĩ.

Hà Nội, Ngày 24. tháng 10 năm 2025

Người nhận xét



Lê Nguyễn Thành

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét luận án: Bùi Thị Thu Trang

Học hàm, học vị: PGS.TS

Cơ quan công tác: Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

Họ và tên nghiên cứu sinh: Phạm Thanh Bình

Thầy hướng dẫn: TS. Nguyễn Văn Thanh

TS. Nguyễn Hoài Nam

Tên đề tài luận án: **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.**

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

Nội dung nhận xét:

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Việt Nam là quốc gia nằm trong khu vực nhiệt đới gió mùa, có đường bờ biển dài, với nhiều quần đảo và đảo lớn nhỏ. Điều kiện tự nhiên này đã đem đến nguồn tài nguyên sinh vật biển phong phú, có giá trị kinh tế và khai thác làm nguyên liệu thiên nhiên cho lĩnh vực nghiên cứu tìm kiếm các hợp chất có hoạt tính sinh học tốt. Sên biển *Aplysia* là một nhóm động vật thân mềm có mặt ở vùng biển Việt Nam, có khả năng sinh trưởng nhanh và hấp thu, biến đổi, tích lũy nhiều hợp chất tự nhiên có nguồn gốc từ tảo và vi sinh vật biển. Nhiều nghiên cứu trên thế giới chỉ ra sự xuất hiện của đa dạng các nhóm hợp chất thứ cấp có khả năng cho hoạt tính tốt khi nghiên cứu về thành phần hóa học của giống sên này. Do đó, đề tài nghiên cứu về 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, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn; làm phong phú cơ sở dữ liệu về các hợp chất thiên nhiên và hoạt tính sinh học được khai thác từ vùng biển của nước ta, đồng thời là cơ sở cho những nghiên cứu ứng dụng tiếp theo.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Luận án có tên đề tài, các kết quả nghiên cứu, nhận xét và kết luận không trùng lặp với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; các tài liệu tham khảo được trích dẫn trung thực, rõ ràng và đầy đủ các thông tin cần thiết như tên tác giả, tên nghiên cứu, tên tạp chí, thời gian xuất bản.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Nội dung luận án phù hợp với tên đề tài, phù hợp với chuyên ngành và mã số chuyên ngành của chương trình đào tạo.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Luận án sử dụng các phương pháp nghiên cứu phù hợp với mục tiêu cần thực hiện của đề tài: phân lập bằng các phương pháp sắc ký lớp mỏng, sắc ký cột và sắc ký lỏng hiệu năng cao; xác định cấu trúc bằng các phương pháp hóa lý gồm khối lượng phân giải cao, phổ cộng hưởng từ hạt nhân, phổ lưỡng sắc tròn, xác định độ quay cực; thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được trên các dòng tế bào ung thư HepG2, A549, MCF-7 và Hela theo phương pháp MTT. Đây là các phương pháp nghiên cứu hiện đại, có độ tin cậy và chính xác cao.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Các kết quả nghiên cứu mới của luận án:

- Đã phân lập được 16 hợp chất, trong đó có 10 hợp chất mới từ loài sên biển *A. dactylomela*. Cấu trúc hóa học của các hợp chất mới đã được khẳng định bằng các phương pháp phân tích phổ hiện đại.

- Đã phân lập được 07 hợp chất, đặc biệt tất cả đều là các hợp chất mới và hợp chất mang khung carbon mới từ loài sên biển *A. oculifera*. Cấu trúc hóa học của các hợp chất mới đã được khẳng định bằng các phương pháp phân tích phổ hiện đại.

- Đã đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư của 17 hợp chất mới được phân lập từ hai loài sên biển. Kết quả cho thấy ba hợp chất phân lập từ loài sên biển *A. Dactylomela* (ADA01, ADA03, ADB03) thể hiện tác dụng gây độc tế bào ung thư HepG2, A549, MCF-7 và Hela với giá trị IC_{50} từ 19,91-42,66 μM . Hợp chất AOB01 phân lập từ loài sên biển *A. oculifera* cho 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 μM .

Các kết quả nghiên cứu thu được từ các phương pháp nghiên cứu phù hợp, hiện đại, đảm bảo độ chính xác và tin cậy của kết quả. Như vậy, kết quả nghiên cứu của luận án đã góp phần vào cơ sở dữ liệu thành phần hóa học và tác dụng gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ hai loài, *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera*. Đây cũng là

cơ sở khoa học cho những nghiên cứu phát triển ứng dụng hay nghiên cứu sâu hơn về tác dụng dược lý của loài, của các hợp chất tự nhiên từ 2 loài này. Các kết quả nghiên cứu của luận án do đó có tính khoa học và giá trị thực tiễn.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Luận án có chất lượng tốt, trình bày cẩn thận, logic, rõ ràng, cung cấp đầy đủ các thông tin cần thiết. Tổng quan các vấn đề liên quan đến đề tài được trình bày đầy đủ, khoa học, có trích dẫn tài liệu tham khảo có độ tin cậy và được cập nhật các tài liệu mới với các nội dung về các kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của giống sên biển *Aplysia*. Qua đó xây dựng được cơ sở lý thuyết cho luận án. Luận án đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu phù hợp, hiện đại, đảm bảo được độ tin cậy của các kết quả thu được. Các kết quả xác định cấu trúc và hoạt tính sinh học được biện luận rõ ràng, chi tiết cho kết quả thu được. Luận án đảm bảo văn phong khoa học, kết cấu chặt chẽ và rõ ràng.

Một số nội dung tác giả nên xem xét sửa chữa, bổ sung:

- Rà soát lại phần tổng quan còn một số đoạn văn bản có các câu chưa đủ thành phần (ví dụ trang 21, 24, 26, 27, ..), lỗi trích dẫn tài liệu (trang 29)
- Rà soát lại các đơn vị đo và thống nhất cách trình bày, nên thống nhất dùng tiếng anh trong các thuật ngữ (ví dụ peak thay cho píc ở trang 34, ..)
- Phần 2.4. gồm cả phần chiết xuất và phân lập, do đó nên xem xét lại tên mục. Nội dung chiết xuất nên sắp xếp lại và xem lại cách dùng từ ngữ để đảm bảo đúng thao tác thực hiện.

Hình 2.8 tác giả xem xét bổ sung thời gian lưu với các phần dùng HPLC để thống nhất với các hình trước đó, đồng thời xem lại thời gian lưu của các hợp chất phân lập để không bị sai lệch với phần văn bản.

- Bản tóm tắt luận án (tiếng việt) có một số nội dung cần rà soát lại (ví dụ trang 19, 20 có đề cập Bảng 3.27, Bảng 3.28 và Hình 3.84 nhưng những Bảng và Hình này không có trong tóm tắt)
- Rà soát sửa chữa lỗi chính tả, lỗi văn bản.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (*cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO*).

Luận án đã công bố được 02 bài báo trên các tạp chí quốc tế có uy tín và 01 bản thảo đã được chấp nhận đăng trên tạp chí chuyên ngành trong nước.

- 02 bài báo quốc tế được công bố lần lượt trên các tạp chí chuyên ngành uy tín có chỉ số ảnh hưởng tốt, thuộc danh mục SCIE: Phytochemistry Letters (SCIE, IF 1.4, Q3) và Organic & Biomolecular Chemistry (ISI, IF 2.7, Q2).

- 01 bài báo trong nước trên tạp chí chuyên ngành Vietnam Journal of Marine Science and Technology.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

- Mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành: Luận án đã đáp ứng tốt các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành Hóa hữu cơ.
- Bản tóm tắt luận án có phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án không: Bản tóm tắt luận án đã phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.
- Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ được hay không: Đồng ý để luận án được đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ sau khi chỉnh sửa theo các góp ý trong hội đồng.

Hà Nội, Ngày 28 tháng 10 năm 2025

Người nhận xét



Bùi Thị Thu Trang

Hà Nội, ngày 17 tháng 11 năm 2024

**BIÊN BẢN CỦA
HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN**

Tên nghiên cứu sinh: Phạm Thanh Bình

Tên đề tài luận án: “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”.

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Người hướng dẫn: 1. TS. Nguyễn Văn Thanh – Viện Hóa học

2. TS. Nguyễn Hoài Nam – Viện Hóa học

Thời gian bảo vệ: Bắt đầu từ 9 giờ 00 ngày 17 tháng 11 năm 2025.

Địa điểm bảo vệ: Phòng họp 1705, Học Viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Nhà A28, số 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội.

Thành phần tham dự:

- Hội đồng có mặt đủ 7/7 thành viên. Danh sách Hội đồng có mặt như sau:

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1	GS.TS. Ngô Quốc Anh	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2	PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 1
3	PGS.TS. Nguyễn Thị Mai	Trường Đại học giao thông vận tải, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 2
4	PGS.TS. Đoàn Thị Mai Hương	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
5	PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt	Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
6	PGS.TS. Lê Nguyễn Thành	Viện Dược liệu, Bộ Y tế	Ủy viên
7	PGS.TS. Bùi Thị Thu Trang	Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội, Bộ Công thương	Ủy viên

- Đại biểu tham dự:

+ TS. Nguyễn Thị Trung - Phó Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

+ TS. Nguyễn Văn Thanh - Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hướng dẫn khoa học.

+ TS. Nguyễn Hoài Nam - Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hướng dẫn khoa học.

+ Bà Nguyễn Thị Thanh Ngân - Chuyên viên phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

+ Các cán bộ và đồng nghiệp tại Viện Hoá học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, cùng với gia đình và bạn bè của nghiên cứu sinh.

Phần I:

1. Bà Nguyễn Thị Thanh Ngân - Chuyên viên phòng đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, tuyên bố lý do, đọc Quyết định của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án Tiến sĩ cấp Học viện và mời GS.TS. Ngô Quốc Anh - Chủ tịch Hội đồng, điều khiển buổi bảo vệ.

2. GS.TS. Ngô Quốc Anh - Chủ tịch Hội đồng, điều khiển buổi bảo vệ.

- Chủ tịch Hội đồng công bố thành phần Hội đồng có mặt đầy đủ 7/7 thành viên, Do đó, buổi họp đảm bảo điều kiện theo quy chế để Hội đồng làm việc.

- Chủ tịch Hội đồng thông qua chương trình làm việc và đề nghị Thư ký Hội đồng đọc lý lịch khoa học, quá trình học tập của Nghiên cứu sinh (NCS) cũng như các điều kiện để NCS được bảo vệ luận án Tiến sĩ cấp Học viện.

3. PGS.TS. Đoàn Thị Mai Hương - Ủy viên Thư ký, trình bày thông tin về điều kiện bảo vệ cấp Học viện của NCS. Phạm Thanh Bình, bao gồm:

- Đã tập hợp đầy đủ 07 nhận xét luận án của 07 thành viên trong Hội đồng.
- Đã có giấy xác nhận của các đồng tác giả cho phép NCS được sử dụng bài báo.
- Luận án, thông tin tóm tắt về những đóng góp mới của luận án tiến sĩ được đăng trên trang web của Bộ Giáo dục & Đào tạo ngày 22/10/2025.

- Tin về ngày bảo vệ đã được đăng trên trang web của Học viện KH-CN ngày 31/10/2025

- Đọc lý lịch khoa học và Bảng điểm của NCS.

Như vậy, theo quy định NCS. Phạm Thanh Bình đã có đầy đủ điều kiện theo quy chế để bảo vệ luận án tiến sĩ cấp Học viện.

4. GS.TS. Ngô Quốc Anh - Chủ tịch Hội đồng hỏi ý kiến Hội đồng (HĐ) và các khách tham dự: Ai có ý kiến gì về lý lịch khoa học cũng như các điều kiện để bảo vệ luận án của NCS? Không ai có ý kiến gì, Chủ tịch Hội đồng đề nghị NCS trình bày kết quả luận án trong thời gian 30 phút.

5. NCS. Phạm Thanh Bình trình bày luận án, bắt đầu 9 giờ 15 phút và kết thúc 9 giờ 45 phút.

Nội dung trình bày gồm 4 phần chính:

Phần 1. Đặt vấn đề, giới thiệu về đối tượng nghiên cứu, tính cấp thiết và mục tiêu nghiên cứu và nêu tổng quan nghiên cứu

Phần 2. Thực nghiệm và kết quả

Phần 3. Thảo luận kết quả

Phần 4. Kết luận và Kiến nghị.

6. Chủ tịch Hội đồng mời các ủy viên phản biện nhận xét luận án.

6.1. PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm – Phản biện 1, nhận xét (*có Bản nhận xét kèm theo*):

** Nhận xét:*

Luận án có ý nghĩa khoa học cao, góp phần phát triển các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguồn sinh vật biển, giúp khai thác và sử dụng hiệu quả nguồn tài nguyên của đất nước. Luận án đã thu được kết quả rất xuất sắc, phân lập và xác định được cấu trúc của 23 hợp chất từ 2 loài sên biển *Aplysia dactylomela* và *Aplysia oculifera*, trong đó có tới 17 hợp chất mới và đã đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất phân lập được.

Nội dung của luận án không trùng lặp với các công trình, luận văn, luận án đã được công bố ở trong và ngoài nước. Các kết luận của luận án phù hợp với cách đặt vấn đề và mục tiêu nghiên cứu đề ra. Từ 2 loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng và Lý Sơn, Quảng Ngãi và *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập được 23 hợp chất, trong đó có 17 hợp chất mới là dactylomelanin C (ADA01), dactylomelanin D (ADA02), dactylomelanin E (ADA03), aplydactylonin I (ADB02), aplydactylonin K (ADB03), aplydactylonin G (ADB04), aplydactylonin H (ADB05), aplydactylonin F (ADB06), aplydactylonin E (ADB07), aplydactylonin D (ADB11), oculiferanin A (AOB01), oculiferanin B (AOB02), oculiferanin C (AOB03), oculiferanin D (AOB04), oculiferanin E (AOB05), oculiferanin F (AOB06), oculiferanin G (AOB07).

17 hợp chất mới phân lập từ hai loài sên biển *A. dactylomela* và *A. oculifera* đã được tiến hành thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư đối với bốn dòng tế bào ung thư (HepG2, A549, MCF-7 và Hela), kết quả cho thấy ba hợp chất dactylomelanin C (ADA01), dactylomelanin E (ADA03), aplydactylonin M (ADB03) thể hiện hoạt tính với giá trị IC_{50} nằm trong khoảng 19,91 - 42,66 μM . Hợp chất oculiferanin A (AOB01) 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 μM .

** Đánh giá chung:* Luận án đáp ứng đầy đủ các yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành hóa học. Bản tóm tắt luận án đã phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án. Đồng ý đề NCS. Phạm Thanh Bình đưa luận án ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

** Góp ý:*

- Cần chỉnh sửa một số lỗi về thuật ngữ. Danh mục viết tắt cần sửa “Phổ NOESY” thành “Phổ tương tác không gian NOESY”, sửa “tương tác phổ HMBC, COSY” thành “tương tác HMBC, COSY”
- Cấu trúc của chất 149 và 150 cần chỉ rõ *E* hay *Z* ở đâu?
- Lưu ý thuật ngữ *R*, *S* in nghiêng.
- Thông số vật lý ở mục 2.5.2.1. Chất dầu không màu nhưng có nhiệt độ nóng chảy, cần chỉnh sửa lại
- Phần thử hoạt tính nên đề cập luôn đến các hợp chất, không nên nhắc lại tên loài đã nghiên cứu ở đâu.

*** Câu hỏi:**

Câu hỏi 1: Từ 2 loài sên biển, có quy trình chiết tách khác nhau, NCS có biện giải gì về quy trình này?

Câu hỏi 2: Biện luận cấu trúc hợp chất 1 (**ADA1**), tác giả chỉ đề cập đến cấu hình tương đối tại C-6 là *S*, đề nghị giải thích thêm?

Câu hỏi 3: Tác giả có đề cập là thành phần hóa học tương đồng với môi trường do sên ăn. Theo ý kiến của NCS thì hợp chất nào do Sên ăn từ bên ngoài, hợp chất nào là tạo bởi Sên?

6.2. PGS.TS. Nguyễn Thị Mai - Phản biện 2, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

*** Nhận xét:**

Luận án có khối lượng kiến thức lớn và hàm lượng khoa học cao, bố cục hợp lý và viết biện luận cấu trúc các chất rất chặt chẽ.

Các kết quả của luận án đã được công bố trong 02 bài báo quốc tế thuộc danh mục SCIE và 01 công trình trên tạp chí khoa học trong nước được chấp nhận đăng. Các công trình công bố có chất lượng cao và nội dung hoàn toàn phù hợp với nội dung của luận án.

Phương pháp nghiên cứu khoa học, hiện đại, phù hợp với nội dung và mục tiêu nghiên cứu, đặc biệt là NCS đã sử dụng các phương pháp tính toán phổ NMR, phổ ECD trong việc xác định cấu hình tuyệt đối của các hợp chất

*** Đánh giá chung:** Luận án đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành hóa học. Bản tóm tắt luận án đã phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án. Đồng ý đề NCS. Phạm Thanh Bình đưa luận án ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ.

*** Góp ý:**

Tài liệu tham khảo cập nhật, tuy nhiên NCS cần rà soát một số lỗi chính tả, in ấn, danh pháp khoa học (tên loài đôi chỗ còn chưa in nghiêng).

*** Câu hỏi:**

- Nghiên cứu sinh có nhận xét gì về thành phần hóa học của 2 mẫu sên biển cùng loài *A. dactylomela* nhưng thu mẫu ở 2 nơi khác nhau?

7. Nghiên cứu sinh trả lời các câu hỏi của phản biện

NCS xin chân thành cảm ơn và xin tiếp thu tất cả các ý kiến góp ý của hai phản biện và sẽ chỉnh sửa các lỗi sai sót về in ấn, thuật ngữ, thông số vật lý. Sau đây là phần trả lời các câu hỏi của NCS:

Đối với câu hỏi của PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm:

Câu hỏi 1: Từ 2 loài sên biển, có quy trình chiết tách khác nhau, NCS có biện giải gì về quy trình này?

NCS trả lời: Đối với mẫu sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng (mẫu 1) thì thu được lượng mẫu ít hơn mẫu thu ở Lý Sơn, Quảng Ngãi (mẫu 2), cho nên khi chiết mẫu số 1, NCS không chiết phân đoạn với n-hexan và chiết trực tiếp với dichloromethane để nghiên cứu 1 cận chiết. Còn đối với mẫu 2, thu được khối lượng lớn hơn gấp 2 lần, NCS đã chiết phân đoạn bằng n-hexan trước, sau đó mới chiết với dichloromethane và nghiên cứu phân lập cả 2 cận chiết.

Câu hỏi 2: Biện luận cấu trúc hợp chất 1 (ADA1), tác giả chỉ đề cập đến cấu hình tương đối tại C-6 là S, đề nghị giải thích thêm?

NCS trả lời: Đối với cấu trúc hợp chất 1 (ADA1), cấu hình tương đối tại C-6 là S được xác định dựa vào tương tác trên phổ NOESY, sau đó dựa theo việc tính toán lý thuyết phổ NMR và phổ ECD để xác định cấu hình tuyệt đối của C-6, C-9 và C-10 là 6S,9S,10S.

Câu hỏi 3: Tác giả có đề cập là thành phần hóa học tương đồng với môi trường do sên ăn. Theo ý kiến của NCS thì hợp chất nào do Sên ăn từ bên ngoài, hợp chất nào là tạo bởi Sên?

NCS trả lời: Hợp chất ADB12 là 1 triterpen đã được phân lập từ loài *A. dactylomela* và từ loài tảo đỏ *Laurencia thyrsifera*, *Laurencia viridis* nên có thể dự đoán hợp chất này đến từ thức ăn của loài sên, tuy nhiên các hợp chất khác, đặc biệt là các hợp chất mới thì chưa có cơ sở khoa học nào có thể chứng minh là do môi trường, thức ăn hay là tự tạo ra bởi loài sên.

Đối với câu hỏi của PGS.TS. Nguyễn Thị Mai

Câu hỏi: Nghiên cứu sinh có nhận xét gì về thành phần hóa học của 2 mẫu sên biển cùng loài nhưng thu mẫu ở 2 nơi khác nhau?

NCS trả lời: Đối với mẫu sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng (mẫu 1) có nhóm chất nor-sesquiterpene và có cấu hình bất đối là 6S,9S,10S, còn mẫu sên thu ở Lý Sơn, Quảng Ngãi (mẫu 2) có nhóm chất sesquiterpene, có cấu hình bất đối là 6R,9S,10R. Ngoài ra mẫu 1 có khung diterpen đã biết là baccharisketone, còn mẫu 2 có khung mới aplydactylonane.

8. Các thành viên khác trong Hội đồng đưa ra ý kiến nhận xét và đặt câu hỏi

8.1. PGS. TS. Nguyễn Tiến Đạt - Ủy viên Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

* Nhận xét:

Luận án toàn văn trình bày khoa học, rõ ràng. Phụ lục minh chứng các kết quả trung gian đầy đủ, hợp lý. Luận án đã thu được các kết quả xuất sắc, có một số đóng góp mới có giá trị cao.

Tóm tắt luận án phản ánh đúng nội dung chính của luận án toàn văn.

Luận án sử dụng 143 tài liệu tham khảo, cách thức trình bày tài liệu tham khảo khoa học, đầy đủ thông tin để đảm bảo tra cứu.

** Đánh giá chung:*

- Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một luận án tiến sĩ về nội dung và hình thức
- Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thực nội dung của luận án toàn văn.
- Đồng ý cho NCS đưa luận án bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ.

** Góp ý:*

- Tính bản luận về mối quan hệ giữa hoạt tính cấu trúc còn yếu, nên bổ sung thêm phần bản luận hoạt tính sinh học
- Có một số lỗi trong phần tài liệu tham khảo, bổ sung thông tin cho TLTK số 3 và 4.
- Xem lại giá trị $IC_{50} < 5 \mu M$ đối với chất sạch ở phần phương pháp thử hoạt tính, nên đưa giá trị này lên $IC_{50} < 10 \mu M$.
- Chính sửa lại tại các bảng thử hoạt tính, giá trị $IC_{50} > 50 \mu M$ được coi là không có hoạt tính.

8.2. PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Ủy viên Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

** Nhận xét:*

Nội dung nghiên cứu của đề tài phù hợp với mã số chuyên ngành đã đăng ký của nghiên cứu sinh. Các kết quả nghiên cứu có hàm lượng khoa học cao, có khối lượng công việc thực hiện lớn, phong phú, đặc biệt là phần xác định cấu hình tuyệt đối bằng phổ ECD và tính toán lý thuyết. Luận án thu được nhiều kết quả có ý nghĩa trong khoa học đáp ứng yêu cầu về tính mới, hàm lượng khoa học cũng như khối lượng của một luận án tiến sĩ chuyên ngành hóa hữu cơ.

** Đánh giá chung:* NCS Phạm Thanh Bình có đầy đủ điều kiện để bảo vệ luận án Tiến sĩ trước hội đồng cấp Học viện để nhận bằng tiến sĩ. Luận án đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành hóa học

** Góp ý:*

- Rà soát lại các TLTK số 96, 98, 105 thiếu số trang
- Hợp chất ADA4 trang 64 lưu ý cấu hình ở vị trí C-6, C-7

** Câu hỏi:*

Đối với hợp chất **ADB7**, trang 82, NCS có biện luận rằng hợp chất này có thể vô tình được tạo thành từ hợp chất aldehyde tương ứng trong quá trình chiết và sắc ký có sử dụng MeOH, vậy hợp chất aldehyde đã có chưa?

8.3. PGS.TS. Bùi Thị Thu Trang - Ủy viên Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

** Nhận xét:*

Luận án có chất lượng tốt, trình bày cẩn thận, logic, rõ ràng, cung cấp đầy đủ các thông tin cần thiết, đã đáp ứng tốt các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành hoá hữu cơ. Bản tóm tắt phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.

** Đánh giá chung:*

Luận án đã đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức của một luận án Tiến sĩ hóa học. Đồng ý để luận án được đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng tiến sĩ sau khi chỉnh sửa theo các góp ý của Hội đồng.

** Góp ý:*

- Rà soát lại phần tổng quan còn một số đoạn có câu chưa đủ thành phần (ví dụ trang 21, 24, 26, 27,..., lỗi trích dẫn tài liệu (trang 29).
- Rà soát lại các đơn vị đo và thống nhất cách trình bày, nên thống nhất dùng tiếng anh trong các thuật ngữ (ví dụ peak thay cho pic ở trang 34, ...).
- Phần 2.4 gồm các phần chiết xuất và phân lập, do đó nên xem lại tên mục. Nội dung chiết xuất nên sắp xếp lại và xem lại cách dùng từ ngữ để đảm bảo đúng thao tác thực hiện.
- Phần 2.8 tác giả xem xét bổ sung thời gian lưu với các thành phần dùng HPLC để thống nhất với các hình trước đó, đồng thời xem lại thời gian lưu của các chất phân lập để không bị sai lệch với phần văn bản.
- Bản tóm tắt luận án (tiếng việt) có một số nội dung cần rà soát lại (ví dụ trang 19, 20 có đề cập bảng 3.27 =, bảng 3.28 và hình 3.84 nhưng những bảng, hình này không có trong tóm tắt.
- Rà soát sửa chữa lỗi chính tả, lỗi văn bản.

8.4. PGS.TS. Đoàn Thị Mai Hương - Ủy viên Thư ký, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

** Nhận xét:*

Nhất trí với ý kiến nhận xét của hai phản biện và các thầy cô trong Hội đồng và đánh giá cao kết quả của luận án. Đề tài luận án có ý nghĩa khoa học và thực tiễn. Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu, nội dung luận án phù hợp với chuyên ngành và mã số chuyên ngành. Phương pháp nghiên cứu khoa học, hiện đại, phù hợp với nội dung và mục tiêu nghiên cứu. Việc phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất được thực hiện với một kỹ năng tốt, kết quả đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 23 hợp chất sạch trong đó có 17 chất mới. Các chất phân lập được đều được xác định cấu trúc bằng các bằng các phương pháp vật lý trên các thiết bị hiện đại như phổ khối lượng và phổ cộng hưởng từ hạt nhân một và 2 chiều, phổ CD, phối hợp với phương pháp tính toán phổ CD, tính toán khoảng cách giữa hai proton và tính toán lý thuyết NMR để xác định cấu hình tuyệt đối. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư MTT là phương pháp chuẩn tại các phòng thí nghiệm trên thế giới.

** Đánh giá chung:* Luận án đã thực hiện rất tốt các nội dung khoa học và đạt kết quả xuất sắc theo mục tiêu ban đầu đề ra. Luận án đã đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức của một luận án Tiến sĩ hóa học.

** Góp ý:*

- Sơ đồ phân lập các hợp chất từ 2 loài sên biển (Hình 2.4, 2.5, 2.8) nên bổ sung từ chiết vào phần chiết phân lớp với các dung môi hữu cơ, ví dụ “chiết với 1,5 L n-hexan x 3 lần” thay vì “+ 1,5 L n-hexan x 3 lần”.
- Cần lưu ý cách diễn đạt thuật ngữ về hoạt tính sinh học trong phần tổng quan, ví dụ trang 26 “Hai hợp chất **118** và **121** gây ra sự phát triển dinh dưỡng thần kinh đáng kể đối với tế bào tuyến thượng thận PC-12” là chưa đúng nghĩa về mặt khoa học.
- Thống nhất cách ký hiệu hợp chất trong luận án và phần phụ lục phổ (**ADA1** hay **ADA01**, **ADB1** hay **ADB01**)

8.5. GS.TS. Ngô Quốc Anh - Chủ tịch Hội đồng, nhận xét (có Bản nhận xét kèm theo):

* Nhận xét:

Luận án được thực hiện với khối lượng công việc lớn, số liệu thực nghiệm có độ tin cậy cao. Phần biện luận kết quả được trình bày một cách logic, chặt chẽ, và có nhiều đóng góp mới về mặt khoa học. Các kết quả nghiên cứu đã được khai thác hiệu quả và công bố trên các tạp chí chuyên ngành.

* Đánh giá chung: Luận án có mục tiêu rõ ràng, các nội dung được trình bày hợp lý, kết quả phong phú, đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ theo Quy định của đơn vị đào tạo và Quy định hiện hành. Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thực nội dung cơ bản của luận án.

* Góp ý:

- Phụ lục cần bổ sung giấy giám định tên loài nghiên cứu.
- Cần bổ sung phương pháp nghiên cứu các phương pháp phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến UV-Vis và phương pháp hồng ngoại IR.
- Trong luận án chỉ dùng phổ hai chiều là NOESY chứ không dùng phổ ROESY và không dùng phổ DEPT.
- Trang 47, hợp chất ADB1 (elatol) được phân lập dưới dạng dầu thì không đo được nhiệt độ nóng chảy.
- Cần chú ý từ ngữ diễn đạt trang 127.

9. Nghiên cứu sinh trả lời các câu hỏi nêu ra

NCS xin chân thành cảm ơn và xin tiếp thu tất cả các ý kiến góp ý của các thành viên trong Hội đồng và sẽ chỉnh sửa các lỗi mà các thầy cô trong hội đồng nêu ra:

- NCS sẽ thống nhất chỉnh sửa giá trị $IC_{50} > 50 \mu M$ trong các bảng kết quả thử hoạt tính. Đồng thời sẽ biện luận kỹ hơn phần hoạt tính sinh học.
- NCS sẽ chỉnh sửa và bổ sung thông tin trong các sơ đồ chiết và phân lập các hợp chất, cũng như phần mô tả chiết và phân lập các hợp chất.
- Sẽ chỉnh sửa lại một số thuật ngữ đặc biệt là thuật ngữ về hoạt tính sinh học.
- Sẽ bổ sung thời gian lưu với các thành phần dùng HPLC để thống nhất với các hình trước đó, đồng thời xem lại thời gian lưu của các chất phân lập để không bị sai lệch với phần văn bản.

- Hợp chất được phân lập dưới dạng dầu thì không đo được nhiệt độ nóng chảy nên sẽ xóa bỏ nhiệt độ nóng chảy của hợp chất này đi.
- Chỉnh sửa các lỗi in ấn, danh pháp, TLTK...

Trả lời Câu hỏi: Đối với hợp chất **ADB7**, trang 82, NCS có biện luận rằng hợp chất này có thể vô tình được tạo thành từ hợp chất aldehyde tương ứng trong quá trình chiết và sắc ký có sử dụng MeOH, vậy hợp chất aldehyde đã có chưa?

NCS trả lời: Theo tra cứu trên SciFinder, thì hợp chất aldehyde chưa từng có trong tự nhiên.

10. Chủ tịch Hội đồng hỏi các đại biểu tham dự và khách mời có ai có ý kiến gì không? Không ai có ý kiến gì, chủ tịch HĐ mời đại diện tập thể hướng dẫn nhận xét về quá trình nghiên cứu, học tập của NCS. Phạm Thanh Bình.

11. Đại diện tập thể hướng dẫn, TS. Nguyễn Văn Thanh, nhận xét về quá trình học tập của nghiên cứu sinh (*có văn bản kèm theo*).

II. PHẦN II: Hội đồng họp riêng để bầu ban kiểm phiếu, bỏ phiếu kín và thảo luận thông qua quyết nghị của Hội đồng.

1. Hội đồng bầu Ban kiểm phiếu gồm:

- PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt, Trưởng ban.
- PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm, Ủy viên.
- PGS.TS. Đoàn Thị Mai Hương, Ủy viên.

2. Kết quả đánh giá (*có Biên bản kiểm phiếu kèm theo*):

- 7/7 phiếu đánh giá đều nhất trí đồng ý đánh giá **“Tán thành”**.
- Trong đó, có 7/7 phiếu đánh giá luận án đạt mức **“Xuất sắc”**.

3. Chủ tịch Hội đồng công bố quyết nghị của Hội đồng

- **Kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án:**

+ 7/7 phiếu đánh giá đều nhất trí đồng ý đánh giá **“Tán thành”** cho NCS. Phạm Thanh Bình được nhận học vị Tiến sĩ Hóa học.

+ 7/7 phiếu đánh giá luận án đạt mức **“Xuất sắc”**.

- **Những kết luận khoa học cơ bản: Luận án thu được những kết quả như sau:**

+ Từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng đã phân lập và xác định cấu trúc bốn hợp chất sesquiterpene **ADA1- ADA4**, trong đó có ba hợp chất mới.

+ Từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở Lý Sơn, Quảng Ngãi đã phân lập và xác định cấu trúc 12 hợp chất **ADB1- ADB12**, trong đó có bảy hợp chất mới.

+ Từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập và xác định cấu trúc 7 hợp chất là **AOB1- 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.

+ Bốn hợp chất từ sên biển *A. dactylomela* - Phú Quý, Lâm Đồng được thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào trên ba dòng tế bào ung thư HepG2, A549 và MCF-7, kết quả 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 trên cả ba dòng tế bào với giá trị IC_{50} lần lượt là 27,54, 17,78 và 18,62 μM .

+ Mười hai hợp chất từ mẫu sên *A. dactylomela* - Lý Sơn, Quảng Ngãi được thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào trên ba dòng tế bào ung thư HepG2, A549 và MCF-7, kết quả 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 μM 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 μM .

+ 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 μM .

- Những đóng góp mới của luận án:

+ Từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng và đảo Lý Sơn, Quảng Ngãi đã phân lập được 10 hợp chất mới: **ADA1**-(**ADA3**), (**ADB2**)-(**ADB7**), và (**ADB11**). Đặc biệt hợp chất aplydactylonin D (**ADB11**) sở hữu bộ khung carbon mới và được đặt tên là aplydactylonane.

+ Từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập và xác định cấu trúc 07 hợp chất là (**AOB1**) - (**AOB7**). Các hợp chất trên đều thuộc lớp chất diterpene và là những hợp chất mới, trong đó có năm hợp chất có dạng khung carbon mới được sắp xếp lại từ khung parguerane và hai hợp chất có khung parguerane.

+ 17 hợp chất mới được tiến hành thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào đối với bốn dòng tế bào ung thư (HepG2, A549, MCF-7 và Hela), kết quả cho thấy hợp chất aplydactylonin G (**ADB4**) thể hiện hoạt tính tốt trên dòng tế bào ung thư A549 với giá trị IC_{50} là 8,15 μM . Các hợp chất mới thể hoạt tính ở mức trung bình là dactylomelanin C (**ADA1**) (IC_{50} là 19,91 μM với dòng tế bào A549), dactylomelanin E (**ADA3**) (IC_{50} là 17,78 và 18,62 μM tương ứng với hai dòng tế bào A549 và MCF-7).

- Cơ sở khoa học, độ tin cậy của những luận điểm và những kết luận nêu trong luận án:

NCS đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu khoa học, hiện đại, phù hợp với nội

dung và mục tiêu nghiên cứu. Các kết quả thu được của luận án là hoàn toàn trung thực và tin cậy. Việc phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất được thực hiện với một kỹ năng tốt, kết quả đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 23 hợp chất sạch trong đó có 17 chất mới. Các chất phân lập được đều được xác định cấu trúc bằng các bằng các phương pháp vật lý trên các thiết bị hiện đại như phổ khối lượng và phổ cộng hưởng từ hạt nhân một và 2 chiều, phổ CD. Đặc biệt là đã sử dụng phương pháp tính toán phổ CD, tính toán khoảng cách giữa hai proton và tính toán lý thuyết NMR để xác định cấu hình tuyệt đối của các hợp chất, đây là các phương pháp làm tăng giá trị của luận án cũng như của công trình công bố quốc tế.

- Ý nghĩa về lý luận, thực tiễn và những đề nghị sử dụng các kết quả nghiên cứu của luận án:

Các kết quả nghiên cứu của luận án đã góp phần làm sáng tỏ về thành phần hoá học và hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được từ hai loài sên biển *A. dactylomela* và *A. oculifera*, tạo tiền đề cho việc ứng dụng các hoạt chất thiên nhiên nhằm phát triển thành các sản phẩm ứng dụng trong Y Dược.

- Những thiếu sót về nội dung và hình thức của luận án:

- Luận án còn một số lỗi về thuật ngữ, danh pháp cần chỉnh sửa.
- Bản tóm tắt luận án (tiếng việt) có một số nội dung cần rà soát lại
- NCS sẽ chỉnh sửa và bổ sung thông tin trong các sơ đồ chiết và phân lập các hợp chất, cũng như phần mô tả chiết và phân lập các hợp chất.
- Cần bổ sung phương pháp nghiên cứu các phương pháp phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến UV-Vis và phương pháp hồng ngoại IR.
- Trong luận án chỉ dùng phổ hai chiều là NOESY chứ không dùng phổ ROESY và không dùng phổ DEPT.
- Cấu trúc của chất 149 và 150 cần chỉ rõ *E* hay *Z* ở đâu?
- Thông số vật lý ở mục 2.5.2.1. Chất dầu không màu nhưng có nhiệt độ nóng chảy, cần chỉnh sửa lại.
- Phụ lục cần bổ sung giấy giám định tên loài nghiên cứu hoặc bổ sung phụ lục kết quả định danh loài nghiên cứu.

- Kiến nghị của Hội đồng:

+ Luận án có ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn, có đóng góp mới có giá trị, được trình bày đẹp với bố cục hợp lý, khoa học, đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một luận án Tiến sĩ.

+ Đề nghị NCS chỉnh sửa 1 số lỗi theo ý kiến góp ý của các thầy cô trong Hội đồng.

+ Hội đồng nhất trí đề nghị cho NCS. **Phạm Thanh Bình** được nhận học vị Tiến sĩ.

- Nghị quyết của Hội đồng đã được tất cả các thành viên Hội đồng nhất trí thông qua bằng biểu quyết công khai.

III. Phần III

1. PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt - Trưởng ban kiểm phiếu, công bố kết quả đánh giá luận án:
 - 7/7 phiếu đánh giá đều nhất trí đồng ý đánh giá “**Tán thành**”.
 - Trong đó, có 7/7 phiếu đánh giá luận án đạt mức “**Xuất sắc**”.
2. GS.TS. Ngô Quốc Anh - Chủ tịch Hội đồng, phân công PGS.TS. Đoàn Thị Mai Hương, Thư ký Hội đồng, đọc quyết nghị của Hội đồng (*có bản quyết nghị kèm theo*).
3. Chủ tịch Hội đồng kết luận, tuyên bố Hội đồng đã hoàn thành nhiệm vụ và trao lại quyền điều khiển cho Cơ sở đào tạo.

Buổi bảo vệ luận án Tiến sĩ cấp Học viện của NCS. Phạm Thanh Bình kết thúc vào hồi 11 giờ 30 phút ngày 17 tháng 11 năm 2025.

THƯ KÝ



PGS.TS. Đoàn Thị Mai Hương

CHỦ TỊCH



GS.TS. Ngô Quốc Anh

XÁC NHẬN CỦA
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Thị Trung



Hà Nội, ngày 17 tháng 11 năm 2024

QUYẾT NGHỊ CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

I. THÔNG TIN CHUNG

Tên nghiên cứu sinh: Phạm Thanh Bình

Tên đề tài luận án: “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”.

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9 44 01 14

Người hướng dẫn 1. TS. Nguyễn Văn Thanh - Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Người hướng dẫn 2. TS. Nguyễn Hoài Nam - Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

II. QUYẾT NGHỊ CỦA HỘI ĐỒNG CHẤM LUẬN ÁN

Sau khi thảo luận, Hội đồng đã nhất trí các nội dung của quyết nghị liên quan tới luận án của NCS. Phạm Thanh Bình như sau:

1. Kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án

- 7/7 phiếu đánh giá đều nhất trí, đồng ý đánh giá “Tán thành” NCS. Phạm Thanh Bình được nhận học vị Tiến sĩ.

- 7/7 phiếu đánh giá luận án đạt mức “Xuất sắc”.

2. Những kết luận khoa học cơ bản, những đóng góp mới của luận án

Luận án thu được những kết quả như sau:

- Từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở đảo Phú Quý, Lâm Đồng đã phân lập và xác định cấu trúc bốn hợp chất sesquiterpene **ADA1- ADA4**, trong đó có ba hợp chất mới.

- Từ loài sên biển *A. dactylomela* thu ở Lý Sơn, Quảng Ngãi đã phân lập và xác định cấu trúc 12 hợp chất **ADB1- ADB12**, trong đó có bảy hợp chất mới.

- Từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập và xác định cấu trúc 7 hợp chất là **AOB1- 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.



- Bốn hợp chất từ sên biển *A. dactylomela* - Phú Quý, Lâm Đồng được thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào trên ba dòng tế bào ung thư HepG2, A549 và MCF-7, kết quả 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 trên cả ba dòng tế bào với giá trị IC_{50} lần lượt là 27,54, 17,78 và 18,62 μM .

- Mười hai hợp chất từ mẫu sên *A. dactylomela* - Lý Sơn, Quảng Ngãi được thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào trên ba dòng tế bào ung thư HepG2, A549 và MCF-7, kết quả 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 μM 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 μM .

- Bảy hợp chất từ sên biển *A. oculifera* - Lăng Cô, Huế thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào 3 các dòng tế bào ung thư HepG2, Hela và MCF-7, kết quả 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 μM .

Một số đóng góp mới của luận án:

- 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 (**ADA01**), dactylomelanin D (**ADA02**), dactylomelanin E (**ADA03**), aplydactylonin I (**ADB02**), aplydactylonin K (**ADB03**), aplydactylonin G (**ADB04**), aplydactylonin H (**ADB05**), aplydactylonin F (**ADB06**), aplydactylonin E (**ADB07**), [aplydactylonin D (**ADB11**)].
- Từ loài sên biển *A. oculifera* thu ở Lăng Cô, Huế đã phân lập và xác định cấu trúc 07 hợp chất sạch và cả 7 hợp chất đều là chất mới oculiferanin A (**AOB01**), oculiferanin B (**AOB02**), oculiferanin C (**AOB03**), oculiferanin D (**AOB04**), oculiferanin E (**AOB05**), oculiferanin F (**AOB06**), oculiferanin G (**AOB07**). Các hợp chất trên đều thuộc lớp chất diterpene, trong đó có năm hợp chất có khung được sắp xếp lại từ khung parguerane và hai hợp chất có khung parguerane.
- 17 hợp chất mới phân lập 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), kết quả cho thấy ba hợp chất dactylomelanin C (**ADA01**), dactylomelanin E (**ADA03**), aplydactylonin M (**ADB03**) thể hiện hoạt tính với giá trị IC_{50} nằm trong khoảng 19,91 - 42,66 μM . Hợp chất oculiferanin A (**AOB01**) 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 μM .

3. Cơ sở khoa học, độ tin cậy của những luận điểm và những kết luận nêu trong luận án

Phương pháp nghiên cứu khoa học, hiện đại, phù hợp với nội dung và mục tiêu nghiên cứu. Các kết quả thu được của luận án là hoàn toàn trung thực và tin cậy. Việc phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất được thực hiện với một kỹ năng tốt, kết quả đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 23 hợp chất sạch trong đó có 17 chất mới. Các chất phân lập được đều được xác định cấu trúc bằng các bằng các phương pháp vật lý trên các thiết bị hiện đại như phổ khối lượng và phổ cộng hưởng từ hạt nhân một và 2 chiều, phổ CD, phối hợp với phương pháp tính toán phổ CD, tính toán khoảng các giữa hai proton và tính toán lý thuyết NMR để xác định cấu hình tuyệt đối. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư MTT là phương pháp chuẩn tại các phòng thí nghiệm trên thế giới.

4. Ý nghĩa về lý luận, thực tiễn và những đề nghị sử dụng các kết quả nghiên cứu của luận án

Các kết quả nghiên cứu của luận án: Các kết quả nghiên cứu của luận án đã góp phần làm sáng tỏ về thành phần hoá học và hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các chất phân lập được từ hai loài sên biển *A. dactylomela* và *A. oculifera* tạo tiền đề cho việc ứng dụng các hoạt chất thiên nhiên để phát triển thành các sản phẩm ứng dụng trong Y Dược.

5. Những thiếu sót về nội dung và hình thức của luận án

- Luận án còn một số lỗi về thuật ngữ, danh pháp cần chỉnh sửa.
- Bản tóm tắt luận án (tiếng việt) có một số nội dung cần rà soát lại
- NCS sẽ chỉnh sửa và bổ sung thông tin trong các sơ đồ chiết và phân lập các hợp chất, cũng như phân mô tả chiết và phân lập các hợp chất.
- Cần bổ sung phương pháp nghiên cứu các phương pháp phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến UV-Vis và phương pháp hồng ngoại IR.
- Trong luận án chỉ dùng phổ hai chiều là NOESY chứ không dùng phổ ROESY và không dùng phổ DEPT.
- Cấu trúc của chất 149 và 150 cần chỉ rõ *E* hay *Z* ở đâu?
- Thông số vật lý ở mục 2.5.2.1. Chất dầu không màu nhưng có nhiệt độ nóng chảy, cần chỉnh sửa lại.
- Phụ lục cần bổ sung giấy giám định tên loài nghiên cứu hoặc bổ sung phụ lục kết quả định danh loài nghiên cứu.
- NCS cần phải sửa chữa luận án theo một số góp ý của Hội đồng chấm luận án cấp Học viện trước khi nộp quyền cho Thư viện.

6. Mức độ đáp ứng các yêu cầu của luận án

Luận án đã đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức của Luận án Tiến sĩ Khoa học vật chất, chuyên ngành Hoá hữu cơ.

7. Kiến nghị của Hội đồng

Hội đồng nhất trí đề nghị cho NCS. **Phạm Thanh Bình** được nhận học vị Tiến sĩ.

THƯ KÝ

PGS.TS. Đoàn Thị Mai Hương

CHỦ TỊCH

GS.TS. Ngô Quốc Anh

**XÁC NHẬN CỦA
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

KT. GIÁM ĐỐC

PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA, BỔ SUNG LUẬN ÁN TIẾN SĨ
CẤP HỌC VIỆN**

Ngày 17 tháng 11 năm 2025, Học viện Khoa học và Công nghệ đã tổ chức đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Phạm Thanh Bình theo Quyết định số 1036/QĐ-HVKHCN ngày 02 tháng 10 năm 2025 của Giám đốc Học viện.

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”.

Ngành: Hóa hữu cơ,

Mã số: 9 44 01 14

Người hướng dẫn khoa học: 1. TS. Nguyễn Văn Thanh - Viện Hóa học

2. TS. Nguyễn Hoài Nam - Viện Hóa học

Theo Biên bản của Hội đồng, NCS phải bổ sung và chỉnh sửa luận án các điểm sau đây:

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
1	Cần chỉnh sửa một số lỗi về thuật ngữ. Danh mục viết tắt cần sửa “Phổ NOESY” thành “Phổ tương tác không gian NOESY”, sửa “tương tác phổ HMBC, COSY” thành “tương tác HMBC, COSY”	NCS đã sửa lại theo góp ý của hội đồng, sửa thành “Phổ tương tác không gian NOESY”, “tương tác HMBC, COSY” tại chương 3.
2	Cấu trúc của chất 149 và 150 cần chỉ rõ E hay Z ở đâu?	NCS đã đánh số vị trí của của liên kết đôi trong các hợp chất 149 và 150 (Trang 17, chương I)
3	Lưu ý thuật ngữ R, S in nghiêng.	NCS đã sửa lại các cấu hình R, S thành in nghiêng “R, S” tại các vị trí có cấu hình này.
4	Thông số vật lý ở mục 2.5.2.1. Chất dầu không màu nhưng có nhiệt độ nóng chảy.	NCS đã bỏ thông tin nóng chảy của hợp chất elatol (Trang 47).

Lưu ý: Các chữ ký xác nhận cần gắn với nội dung trên cùng một trang giấy. Học viện sẽ không xác nhận nếu phần chữ ký tách rời với nội dung

5	Phần thử hoạt tính nên đề cập luôn đến các hợp chất, không nên nhắc lại tên loài đã nghiên cứu ở đâu.	NCS đã sửa theo yêu cầu trong phần hoạt tính sinh học các chất phân lập được.
6	NCS cần rà soát một số lỗi chính tả, in ấn, danh pháp khoa học (tên loài đôi chỗ còn chưa in nghiêng).	NCS đã đọc và sửa lại lỗi chính tả, danh pháp khoa học đã được in nghiêng hết theo yêu cầu phản biện.
7	Tính bản luận về mối quan hệ giữa hoạt tính cấu trúc còn yếu, nên bổ sung thêm phần bản luận hoạt tính sinh học	NCS đã bổ, bản luận thêm về hoạt tính sinh học trong phần thảo luận hoạt tính sinh học (3.2. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập được, Trang 121)
8	Có một số lỗi trong phần tài liệu tham khảo, bổ sung thông tin cho TLTK số 3 và 4.	NCS đã bổ sung thông tin của tài liệu số 3 và 4 (Trang 130)
9	Xem lại giá trị $IC_{50} < 5 \mu M$ đối với chất sạch ở phần phương pháp thử hoạt tính, nên đưa giá trị này lên $IC_{50} < 10 \mu M$.	NCS đã sửa lại thành những chất có hoạt tính sinh học mạnh với $IC_{50} \leq 10 \mu M$ (Trang 38).
10	Chỉnh sửa lại tại các bảng thử hoạt tính, giá trị $IC_{50} > 50 \mu M$ được coi là không có hoạt tính.	NCS đã chỉnh lại các bảng với giá trị $IC_{50} > 50 \mu M$ được coi là không có hoạt tính.
11	Rà soát lại các TLTK số 96, 98, 105 thiếu số trang	NCS đã sửa theo góp ý thêm số trang vào các tài liệu tham khảo 96, 98, và 105 (Trang 138, 139 phần Tài liệu tham khảo)
12	Hợp chất ADA4 trang 64 lưu ý cấu hình ở vị trí C-6, C-7	Đã sửa thành (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i>) (Trang 64).
13	Rà soát lại phần tổng quan còn một số đoạn có câu chưa đủ thành phần (ví dụ trang 21, 24, 26, 27,..., lỗi trích dẫn tài liệu (trang 29)	NCS đã sửa lại các lỗi câu ở một số trang 21, 24, 26, 27... Chuyển lỗi trích dẫn tài liệu đầu trang 29 của tài liệu [107].
14	Rà soát lại các đơn vị đo và thống nhất cách trình bày, nên thống nhất dùng tiếng anh trong các thuật ngữ (ví dụ peak thay cho pic ở trang 34, ...).	NCS đã thống nhất dùng các thuật ngữ chuyên ngành bằng tiếng anh, ví dụ như peak thay cho pic tại trang 34 và toàn bộ từ trong luận án.
15	Phần 2.4 gồm các phần chiết xuất và phân lập, do đó nên xem lại tên mục. Nội dung chiết xuất nên sắp xếp lại và xem lại cách dùng từ ngữ để đảm bảo đúng thao tác thực hiện.	NCS đã sửa lại tên mục phân lập và chiết xuất phù hợp với từ ngữ và đảm bảo thao tác chuyên ngành (Phân phân lập từ Trang 38 đến trang 45)

16	Phần 2.8 tác giả xem xét bổ sung thời gian lưu với các thành phần dùng HPLC để thống nhất với các hình trước đó, đồng thời xem lại thời gian lưu của các chất phân lập để không bị sai lệch với phần văn bản	NCS đã bổ sung thời gian lưu vào hình 2.8 trang 44 cho đồng nhất với các hình trước đó.
17	Bản tóm tắt luận án (tiếng việt) có một số nội dung cần rà soát lại (ví dụ trang 19, 20 có đề cập bảng 3.27 =, bảng 3.28 và hình 3.84 nhưng những bảng, hình này không có trong tóm tắt	NCS đã sửa lại quyền tóm tắt theo yêu cầu của thành viên trong hội đồng.
18	Rà soát sửa chữa lỗi chính tả, lỗi văn bản.	NCS đã rà soát lại và chỉnh sửa lỗi chính tả trong toàn luận án.
19	Trong luận án chỉ dùng phổ hai chiều là NOESY chứ không dùng phổ ROESY và không dùng phổ DEPT.	NCS đã bỏ phần phổ ROESY và phổ DEPT

Nghiên cứu sinh chân thành cảm ơn Quý thầy, cô trong Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện đã góp ý và tạo cơ hội cho NCS hoàn thiện luận án của mình.

Xin trân trọng cảm ơn./.

Hà Nội, ngày 21 tháng 11 năm 2025

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

NGHIÊN CỨU SINH



Nguyễn Văn Thanh

Nguyễn Hoài Nam



Phạm Thanh Bình

XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG



Nguyễn Thị Trung



Ngô Quốc Anh