

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN THỊ THU THỦY

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG VI
SINH VẬT KIỂM ĐỊNH CỦA HAI CHỦNG VI TẢO BIỂN *Thraustochytrium*
pachydermum TSL10 VÀ *Aurantiochytrium* sp. SC145 Ở QUẦN ĐẢO
TRƯỜNG SA, VIỆT NAM

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Hà Nội – 2026

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC

VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

NGUYỄN THỊ THU THỦY

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG VI
SINH VẬT KIỂM ĐỊNH CỦA HAI CHỦNG VI TẢO BIỂN *Thraustochytrium*
pachydermum TSL10 VÀ *Aurantiochytrium* sp. SC145 Ở QUẦN ĐẢO
TRƯỜNG SA, VIỆT NAM

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

Xác nhận của Học viện
Khoa học và Công nghệ

Người hướng dẫn 1
(Ký, ghi rõ họ tên)

Người hướng dẫn 2
(Ký, ghi rõ họ tên)

PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt

Hà Nội – 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: “**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của hai chủng vi tảo biển *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 và *Aurantiochytrium* sp. SC145 ở quần đảo Trường Sa, Việt Nam**” là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm và PGS.TS. Nguyễn Tiến Đạt. 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 15 tháng 2 năm 2026

Tác giả luận án

Nguyễn Thị Thu Thủy

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 Bộ Quốc phòng chương trình KCB-TS “Nghiên cứu thành phần hóa học, dinh dưỡng, hoạt tính sinh học một số loài sinh vật biển tại quần đảo Trường Sa phục vụ y - dược” do TS. Nguyễn Trọng Dân là chủ nhiệm đề tài. 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 trân trọng cảm ơn Ban Lãnh đạo, 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 gửi lời cảm ơn đến Đảng ủy, Ban Tổng Giám đốc Trung tâm Nhiệt đới Việt-Nga, Viện Y sinh Nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt-Nga, cùng các đồng nghiệp và bạn bè đã nhiệt tình giúp đỡ, hỗ trợ tôi trong quá trình hoàn thành luận án này

Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn chân thành và sâu sắc, sự cảm phục và kính trọng tới PGS. TS. Nguyễn Xuân Nhiệm và PGS. TS. Nguyễn Tiến Đạt, 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 Viện Hóa học và Trung tâm Đổi mới sáng tạo công nghệ cao. Xin cảm ơn PGS. TS. Phan Văn Kiệm, PGS.TS. Bùi Hữu Tài, TS. Nguyễn Thị Minh Hằng, ThS. Đan Thị Thúy Hằng, ThS. Vũ Mai Thảo, CN Hà Thị Thoa, TS. Đỗ Hoàng Giang, TS. Trần Hữu Giáp cùng tập thể cán bộ - các nhà khoa học của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam 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 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 luận án

Nguyễn Thị Thu Thủy

MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT.....	VI
DANH MỤC BẢNG.....	VIII
DANH MỤC HÌNH.....	X
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....	3
1.1. Giới thiệu về chi <i>Thraustochytrium</i>	3
1.1.1. Đặc điểm hình thái và phân loại các chủng thuộc chi <i>Thraustochytrium</i> ...	3
1.1.2. Thành phần hóa học của các chủng vi tảo thuộc chi <i>Thraustochytrium</i>	5
1.1.2.1. Các hợp chất steroid.....	5
1.1.2.2. Các hợp chất chứa nitơ	6
1.1.2.3. Các acid béo	7
1.1.2.4. Các dẫn xuất carotenoid và phosphatidyl	10
1.1.2.5. Một số hợp chất khác	13
1.1.3. Hoạt tính sinh học của các chủng vi tảo thuộc chi <i>Thraustochytrium</i>	13
1.1.3.1. Hoạt tính chống oxy hóa	13
1.1.3.2. Hoạt tính kháng viêm.....	14
1.1.3.3. Hoạt tính kháng khuẩn.....	15
1.1.3.4. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư	15
1.1.3.5. Một số tác dụng sinh học khác.....	17
1.2. Giới thiệu về chi <i>Aurantiochytrium</i>.....	18
1.2.1. Đặc điểm hình thái và phân loại các chủng thuộc chi <i>Aurantiochytrium</i> .	18
1.2.2. Thành phần hóa học của chi <i>Aurantiochytrium</i>	18
1.2.2.1. Các hợp chất steroid.....	18
1.2.2.2. Các hợp chất chứa nitơ	20
1.2.2.3. Các dẫn xuất của acid béo và carotenoid	21
1.2.2.4. Một số hợp chất khác	22
1.2.3. Hoạt tính sinh học của chi <i>Aurantiochytrium</i>	23
1.2.3.1. Hoạt tính kháng khuẩn	23
1.2.3.2. Hoạt tính chống oxy hóa	23
1.2.3.3. Hoạt tính kháng viêm.....	24
1.2.3.4. Hoạt tính chống ung thư	24
1.2.3.5. Hoạt tính tăng cường miễn dịch.....	25
1.2.3.6. Một số tác dụng sinh học khác.....	25
1.3. Các nghiên cứu trong nước liên quan đến hai chủng vi tảo biển	
<i>Thraustochytrium pachydermum</i> TSL10 và <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145.....	27

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	29
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	29
2.1.1. Chủng vi tảo <i>Thraustochytrium pachydermum</i> TSL10	29
2.1.2. Chủng vi tảo <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	30
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	33
2.3.1. Phương pháp nuôi sinh khối.....	33
2.3.1.1. Phương pháp nuôi sinh khối chủng vi tảo biển <i>Thraustochytrium pachydermum</i> TSL10.....	33
2.3.1.2. Phương pháp nuôi sinh khối chủng vi tảo biển <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	33
2.3.2. Phương pháp phân lập các hợp chất.....	34
2.3.2.1. Sắc ký bản mỏng (Thin layer chromatography - TLC)	34
2.3.2.2. Sắc ký cột (Column chromatography - CC)	34
2.3.2.3. Sắc ký lỏng hiệu năng cao (High Performance Liquid Chromatography- HPLC)	34
2.3.3. Phương pháp xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được.....	34
2.3.3.1. Phổ lưỡng sắc tròn (ECD).....	34
2.3.3.2. Phổ khối phân giải cao (HR-ESI-MS)	35
2.3.3.3. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)	35
2.3.4. Phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định.....	35
2.4. Phân lập các hợp chất.....	36
2.4.1. Phân lập các hợp chất từ chủng vi tảo <i>Thraustochytrium pachydermum</i> TSL10	36
2.4.2. Phân lập các hợp chất từ chủng vi tảo <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	39
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	42
3.1. Thông số vật lý và dữ liệu phổ các hợp chất phân lập được.....	42
3.1.1. Thông số vật lý và dữ liệu phổ các hợp chất phân lập từ chủng vi tảo <i>T. pachydermum</i> TSL10	42
3.1.1.1. Hợp chất TP1 : ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α ,9 α -triol (chất mới)	42
3.1.1.2. Hợp chất TP2 : ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α -diol	42
3.1.1.3. Hợp chất TP3 : cerevisterol	42
3.1.1.4. Hợp chất TP4 : 5 α ,6 α -epoxy-(22 <i>E</i>)-ergosta-8,22-diene-3 β ,7 α -diol	42
3.1.1.5. Hợp chất TP5 : ergosterol.....	43
3.1.1.6. Hợp chất TP6 : (22 <i>E</i> ,24 <i>R</i>)-5 α ,8 α -epi-dioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol.....	43
3.1.1.7. Hợp chất TP7 : linoleic acid.....	43
3.1.1.8. Hợp chất TP8 : 4-((9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i>)-octadeca-9,12-dienoyloxy)butanoic acid	43

3.1.1.9. Hợp chất TP9 : 1-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine.....	44
3.1.1.10. Hợp chất TP10 : cibotiglycerol	44
3.1.1.11. Hợp chất TP11 : gingerglycolipid B	44
3.1.1.12. Hợp chất TP12 : 6'-O-linoleylsucrose	44
3.1.2. Thông số vật lý và dữ liệu phổ các hợp chất phân lập từ chủng vi tảo <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	45
3.1.2.1. Hợp chất AS1 : N-methoxymethyltryptophol (chất mới).....	45
3.1.2.2. Hợp chất AS2 : (2R)-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl 2-hydroxy-3-phenylpropionate (chất mới)	45
3.1.2.3. Hợp chất AS3 : 3-hydroxy-4-(4-hydrophenyl)-2-butanone.....	45
3.1.2.4. Hợp chất AS4 : 3-indoleacetic acid	46
3.1.2.5. Hợp chất AS5 : tryptophol.....	46
3.1.2.6. Hợp chất AS6 : indole-3-carbaldehyde.....	46
3.1.2.7. Hợp chất AS7 : methyl indole-3-acetate.....	46
3.1.2.8. Hợp chất AS8 : (erythro)-2-hydroxy-3-methylpentanoic acid	46
3.1.2.9. Hợp chất AS9 : 2-hydroxy-3-phenylpropanoic acid.....	47
3.1.2.10. Hợp chất AS10 : methyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate	47
3.1.2.11. Hợp chất AS11 : tyrosol	47
3.1.2.12. Hợp chất AS12 : (22E,24R)-5 α ,8 α -epi-dioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol.....	47
3.1.2.13. Hợp chất AS13 : (22E,24R)-5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol	48
3.1.2.14. Hợp chất AS14 : chaxine C	48
3.1.2.15. Hợp chất AS15 : cerevisterol.....	48
3.1.2.16. Hợp chất AS16 : ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol	48
3.1.2.17. Hợp chất AS17 : fungisterol	48
3.1.2.18. Hợp chất AS18 : cyclo-(L-Pro-L-Leu)	49
3.1.2.19. Hợp chất AS19 : adenosine.....	49
3.1.2.20. Hợp chất AS20 : octadeca-(9Z,12Z)-dienoic acid	49
3.1.2.21. Hợp chất AS21 : (S)-2,3-dihydroxypropyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate.....	49
3.1.2.22. Hợp chất AS22 : cibotiglycerol	50
3.1.2.23. Hợp chất AS23 : tyrosyl linoleate.....	50
3.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được.....	50
3.2.1. Xác định cấu trúc các hợp chất từ chủng vi tảo <i>T. pachydermum</i> TSL10	50
3.2.1.1. Hợp chất TP1 : ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α ,9 α -triol (chất mới)	50
3.2.1.2. Hợp chất TP2 : ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α -diol	57
3.2.1.3. Hợp chất TP3 : cerevisterol.....	58
3.2.1.4. Hợp chất TP4 : 5 α ,6 α -epoxy-(22E)-ergosta-8,22-diene-3 β ,7 α -diol	60
3.2.1.5. Hợp chất TP5 : ergosterol.....	62

3.2.1.6. Hợp chất TP6 : (22 <i>E</i> ,24 <i>R</i>)-5 α ,8 α -epi-dioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol	63
3.2.1.7. Hợp chất TP7 : linoleic acid	65
3.2.1.8. Hợp chất TP8 : 4-(-octadeca-9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> -dienoyloxy)butanoic acid.....	66
3.2.1.9. Hợp chất TP9 : 1-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine.....	67
3.2.1.10. Hợp chất TP10 : cibotiglycerol	69
3.2.1.11. Hợp chất TP11 : gingerglycolipid B	70
3.2.1.12. Hợp chất TP12 : 6'- <i>O</i> -linoleylsucrose	72
3.2.2. Các hợp chất phân lập được từ chủng vi tảo <i>T. pachydermum</i> TSL10	74
3.2.3. Xác định cấu trúc của các hợp chất từ chủng vi tảo <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	75
3.2.3.1. Hợp chất AS1 : <i>N</i> -methoxymethyltryptophol (Mới)	75
3.2.3.2. Hợp chất AS2 : (2 <i>R</i>)-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl 2-hydroxy-3-phenylpropionate (Mới)	80
3.2.3.3. Hợp chất AS3 : 3-hydroxy-4-(4-hydrophenyl)-2-butanone.....	85
3.2.3.4. Hợp chất AS4 : indole-3-acetic acid	86
3.2.3.5. Hợp chất AS5 : Tryptophol.....	87
3.2.3.6. Hợp chất AS6 : indole-3-carbaldehyde.....	88
3.2.3.7. Hợp chất AS7 : methyl indole-3-acetate.....	89
3.2.3.8. Hợp chất AS8 : (<i>erythro</i>)-2-hydroxy-3-methylpentanoic acid	90
3.2.3.9. Hợp chất AS9 : 2-hydroxy-3-phenylpropanoic acid.....	91
3.2.3.10. Hợp chất AS10 : methyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate	92
3.2.3.11. Hợp chất AS11 : Tyrosol	93
3.2.3.12. Hợp chất AS12 : (22 <i>E</i> ,24 <i>R</i>)-5 α ,8 α -epi-dioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (trùng với hợp chất TP6)	94
3.2.3.13. Hợp chất AS13 : (22 <i>E</i> ,24 <i>R</i>)-5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol	94
3.2.3.14. Hợp chất AS14 : chaxine C	96
3.2.3.15. Hợp chất AS15 : cerevisterol (trùng với hợp chất TP3).....	98
3.2.3.16. Hợp chất AS16 : ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol	98
3.2.3.17. Hợp chất AS17 : Fungisterol:	100
3.2.3.18. Hợp chất AS18 : Cyclo-(L-Pro-L-Leu)	101
3.2.3.19. Hợp chất AS19 : adenosine.....	103
3.2.3.20. Hợp chất AS20 : Octadeca-9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> -dienoic acid	104
3.2.3.21. Hợp chất AS21 : (<i>S</i>)-2,3-dihydroxypropyl (9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i>)-octadeca-9,12-dienoate ..	105
3.2.3.22. Hợp chất AS22 : cibotiglycerol	107
3.2.3.23. Hợp chất AS23 : tyrosyl linoleate.....	109
3.2.4. Các hợp chất phân lập từ chủng <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	111
3.3. Hoạt tính sinh học.....	112

3.3.1. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất từ chủng <i>T. pachydermum</i> TSL10	112
3.3.2. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất từ chủng vi tảo biển <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	115
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	118
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN.....	120
DANH MỤC CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	122

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
^{13}C -NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon-13
^1H -NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
A549	Human lung carcinoma cell line	Dòng tế bào ung thư phổi người A549
CC	Column chromatography	Sắc ký cột
COSY	Correlation Spectroscopy (^1H - ^1H COSY)	Phổ COSY
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer	Phổ DEPT
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium	Môi trường nuôi cấy tế bào DMEM
DMSO	Dimethyl sulfoxide	Dimethyl sulfoxide
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl	Chất thử đánh giá khả năng chống oxy hóa
EC ₅₀	Half maximal effective concentration	Nồng độ gây hiệu quả 50%
ESI-MS	Electrospray Ionization Mass Spectrometry	Phổ khối phun mù điện tử
EPS	Exopolysaccharides	Polysaccharide ngoại bào
EtOAc	Ethyl acetate	Ethyl acetate
EtOH	Ethanol	Ethanol
FAME	Fatty acid methyl ester	Este methyl của acid béo
GC-MS	Gas Chromatography–Mass Spectrometry	Sắc ký khí ghép nối khối phổ
HeLa	Human cervical cancer cell line	Dòng tế bào ung thư cổ tử cung người
HepG2	Human hepatocellular carcinoma cell line	Dòng tế bào ung thư gan người
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation	Phổ tương quan dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HR-ESI-MS	High Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry	Phổ khối phân giải cao phun mù điện tử
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation	Phổ tương quan dị hạt nhân qua một liên kết
IC ₅₀	Inhibitory concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50%
IL-1 β	Interleukin-1 beta	Interleukin-1 β
IL-6	Interleukin-6	Interleukin-6

IR	Infrared spectroscopy	Phổ hồng ngoại
KB	Human epidermoid carcinoma cell line	Dòng tế bào ung thư biểu mô người
LPS	Lipopolysaccharide	Lipopolysaccharide
MCF-7	Human breast cancer cell line	Dòng tế bào ung thư vú người
Me	Methyl group	Nhóm methyl
MeOH	Methanol	Methanol
MIC	Minimum inhibitory concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide	Thuốc thử đánh giá khả năng sống của tế bào
NF- κ B	Nuclear factor kappa B	Yếu tố phiên mã NF- κ B
NO	Nitric oxide	Nitric oxide
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy	Phổ NOESY
OD	Optical density	Mật độ quang
OMe	Methoxy group	Nhóm methoxy
PC3	Human prostate cancer cell line	Dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt
ppm	Parts per million	Phần triệu
PTLC	Preparative Thin Layer Chromatography	Sắc ký lớp mỏng điều chế
PUFA	Polyunsaturated fatty acids	Acid béo không no đa nối đôi
RAW264.7	Mouse macrophage cell line RAW264.7	Dòng tế bào đại thực bào chuột
RP-18	Reversed-phase C18	Pha đảo C18
SK-LU-1	Human lung carcinoma cell line	Dòng tế bào ung thư phổi người
TLC	Thin Layer Chromatography	Sắc ký lớp mỏng
TMS	Tetramethylsilane	Chất chuẩn nội Tetramethylsilane cho phổ NMR
TNF- α	Tumor necrosis factor alpha	Yếu tố hoại tử khối u α
UV	Ultraviolet spectroscopy	Phổ hấp thụ tử ngoại
δ_H , δ_C	Chemical shift	Độ chuyển dịch hóa học của proton và carbon
DHA	Docosahexaenoic acid	Acid docosahexaenoic
EPA	Eicosapentaenoic acid	Acid eicosapentaenoic
rDNA	Ribosomal DNA	DNA ribosome

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Các chủng vi tảo thuộc chi <i>Thraustochytrium</i>	4
Bảng 1.2. Các hợp chất steroid từ chi <i>Thraustochytrium</i>	5
Bảng 1.3. Các hợp chất chứa nito từ chi <i>Thraustochytrium</i>	7
Bảng 1.4. Các hợp chất béo từ chi <i>Thraustochytrium</i>	20
Bảng 1.5. Các hợp chất carotenoid từ chi <i>Thraustochytrium</i>	10
Bảng 1.6. Các hợp chất phosphatidyl từ chi <i>Thraustochytrium</i>	12
Bảng 1.7. Các chủng vi tảo thuộc chi <i>Aurantiochytrium</i>	18
Bảng 1.8. Các hợp chất steroid từ chi <i>Aurantiochytrium</i>	19
Bảng 1.9. Các hợp chất chứa nito từ chi <i>Aurantiochytrium</i>	20
Bảng 1.10. Các acid béo từ chi <i>Aurantiochytrium</i>	21
Bảng 3.1. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP1 và hợp chất tham khảo	52
Bảng 3.2. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP2	57
Bảng 3.3. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP3 và hợp chất tham khảo	59
Bảng 3.4. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP4 và hợp chất tham khảo	61
Bảng 3.5. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP5 và hợp chất tham khảo	62
Bảng 3.6. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP6 và hợp chất tham khảo	64
Bảng 3.7. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP7 và hợp chất tham khảo	65
Bảng 3.8. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP8 và hợp chất tham khảo	67
Bảng 3.9. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP9 và hợp chất tham khảo	68
Bảng 3.10. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP10 và hợp chất tham khảo.....	69
Bảng 3.11. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP11 và hợp chất tham khảo.....	71
Bảng 3.12. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất TP12 và hợp chất tham khảo.....	73
Bảng 3.13. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS1 và hợp chất tham khảo	76
Bảng 3.14. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS2 và hợp chất tham khảo	81
Bảng 3.15. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS3	86
Bảng 3.16. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS4 và hợp chất tham khảo	87
Bảng 3.17. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS5 và hợp chất tham khảo	88
Bảng 3.18. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS6 và hợp chất tham khảo	89
Bảng 3.19. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS7 và hợp chất tham khảo	90
Bảng 3.20. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS8 và hợp chất tham khảo	91
Bảng 3.21. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS9 và hợp chất tham khảo	92
Bảng 3.22. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS10 và hợp chất tham khảo.....	93
Bảng 3.23. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS11 và hợp chất tham khảo.....	93

Bảng 3.24. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS13 và hợp chất tham khảo.....	95
Bảng 3.25. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS14 và hợp chất tham khảo.....	97
Bảng 3.26. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS16 và hợp chất tham khảo.....	99
Bảng 3.27. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS17 và hợp chất tham khảo.....	100
Bảng 3.28. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS18 và hợp chất tham khảo.....	102
Bảng 3.29. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS19 và hợp chất tham khảo.....	103
Bảng 3.30. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS20 và hợp chất tham khảo.....	105
Bảng 3.31. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS21 và hợp chất tham khảo.....	106
Bảng 3.32. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS22 và hợp chất tham khảo.....	108
Bảng 3.33. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS23 và hợp chất tham khảo.....	109
Bảng 3.34. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiềm định của các hợp chất từ chủng vi tảo biển <i>T. pachydermum</i> TSL10.....	114
Bảng 3.35. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiềm định của các hợp chất từ chủng vi tảo biển <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145.....	116

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Cấu trúc hoá học các hợp chất steroid từ chi <i>Thraustochytrium</i>	6
Hình 1.2. Cấu trúc hoá học các hợp chất chứa nitơ từ chi <i>Thraustochytrium</i>	7
Hình 1.3. Cấu trúc hoá học các acid béo từ chi <i>Thraustochytrium</i>	9
Hình 1.4. Cấu trúc hoá học các hợp chất carotenoid từ các chủng thuộc chi <i>Thraustochytrium</i>	11
Hình 1.5. Cấu trúc hoá học các hợp chất phosphatidyl từ chi <i>Thraustochytrium</i>	12
Hình 1.6. Cấu trúc hoá học các hợp chất khác từ chi <i>Thraustochytrium</i>	13
Hình 1.7. Cấu trúc hoá học các hợp chất steroid từ chi <i>Aurantiochytrium</i>	20
Hình 1.8. Cấu trúc hoá học các hợp chất chứa nitơ từ chi <i>Aurantiochytrium</i>	21
Hình 1.9. Cấu trúc hoá học các acid béo và ester từ chi <i>Aurantiochytrium</i>	22
Hình 1.10. Cấu trúc hoá học một số hợp chất khác từ chi <i>Aurantiochytrium</i>	23
Hình 2.1. Hình ảnh vi tảo biển <i>Thraustochytrium</i> sp. TSL10.....	29
Hình 2.2. Hình thái tế bào và cây phân loại chủng của <i>Thraustochytrium</i> sp. TSL10.....	30
Hình 2.3. Hình ảnh vi tảo biển <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	31
Hình 2.4. Hình thái tế bào và cây phân loại chủng của <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	32
Hình 2.5. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ sinh khối khô chủng vi tảo <i>T. pachydermum</i> TSL10	38
Hình 2.6. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ sinh khối khô chủng vi tảo biển <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	40
Hình 3.1. Cấu trúc hóa học của hợp chất TP1 và chất tham khảo.	50
Hình 3.2. Tương tác HMBC và COSY của hợp chất TP1	51
Hình 3.3. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất TP1	53
Hình 3.4. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất TP1	54
Hình 3.5. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất TP1	54
Hình 3.6. Phổ HSQC của hợp chất TP1	55
Hình 3.7. Phổ HMBC của hợp chất TP1	55
Hình 3.8. Phổ COSY của hợp chất TP1	56
Hình 3.9. Phổ NOESY của hợp chất TP1	56
Hình 3.10. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất TP2	57
Hình 3.11. Cấu trúc hoá học của hợp chất TP3	58
Hình 3.12. Cấu trúc hóa học của hợp chất TP4	60
Hình 3.13. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của hợp chất TP5	62

Hình 3.14. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS12	63
Hình 3.15. Cấu trúc hóa học của hợp chất TP7	65
Hình 3.16. Cấu trúc hóa học của hợp chất TP8	66
Hình 3.17. Tương tác HMBC chính và COSY của hợp chất TP8	66
Hình 3.18. Cấu trúc hóa học của hợp chất TP9	67
Hình 3.19. Tương tác COSY và HMBC chính của hợp chất TP9	68
Hình 3.20. Cấu trúc hóa học của hợp chất TP10	69
Hình 3.21. Cấu trúc hóa học của hợp chất TP11	70
Hình 3.22. Cấu trúc hóa học của hợp chất TP12	72
Hình 3.23. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ vi tảo <i>T. pachydermum</i> TSL10	74
Hình 3.24. Cấu trúc hoá học hợp chất AS1 và hợp chất tham khảo	75
Hình 3.25. Tương tác HMBC và COSY của hợp chất AS1	76
Hình 3.26. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất AS1	77
Hình 3.27. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất AS1	77
Hình 3.28. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất AS1	78
Hình 3.29. Phổ HSQC của hợp chất AS1	78
Hình 3.30. Phổ HMBC của hợp chất AS1	79
Hình 3.31. Phổ COSY của hợp chất AS1	79
Hình 3.32. Cấu trúc hoá học hợp chất AS2 và hợp chất tham khảo	80
Hình 3.33. Tương tác HMBC và COSY của hợp chất AS2	80
Hình 3.34. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất AS2	82
Hình 3.35. Phổ ¹ H-NMR của hợp chất AS2	82
Hình 3.36. Phổ ¹³ C-NMR của hợp chất AS2	83
Hình 3.37. Phổ HSQC của hợp chất AS2	83
Hình 3.38. Phổ HMBC của hợp chất AS2	84
Hình 3.39. Phổ COSY của hợp chất AS2	84
Hình 3.40. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất AS2	85
Hình 3.41. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC chính của hợp chất AS3	85
Hình 3.42. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC chính của hợp chất AS4	86
Hình 3.43. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS5	87
Hình 3.44. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS6	88
Hình 3.45. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS7	89
Hình 3.46. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS8	90
Hình 3.47. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS9	91

Hình 3.48. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS10	92
Hình 3.49. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS11	93
Hình 3.50. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC chính của hợp chất AS13	94
Hình 3.51. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC chính của hợp chất AS14	96
Hình 3.52. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS16	98
Hình 3.53. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS17	100
Hình 3.54. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC của hợp chất AS18	101
Hình 3.55. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS19	103
Hình 3.56. Cấu trúc hoá học hợp chất AS20	104
Hình 3.57. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS21	105
Hình 3.58. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC chính của hợp chất AS22	107
Hình 3.59. Cấu trúc hoá học của hợp chất AS23	109
Hình 3.60. Cấu trúc hoá học các hợp chất phân lập từ chủng vi tảo <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	111

MỞ ĐẦU

Trong những thập niên gần đây, việc tìm kiếm và khai thác các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học từ sinh vật biển đã trở thành một trong những hướng nghiên cứu trọng tâm của khoa học sự sống. Môi trường biển, với điều kiện sinh thái đặc thù như độ mặn cao, áp suất lớn, điều kiện chiếu sáng hạn chế và sự cạnh tranh sinh tồn, đã thúc đẩy các sinh vật biển tạo ra nhiều hợp chất thứ cấp có cấu trúc mới và hoạt tính sinh học đa dạng. Trong số đó, vi tảo biển được xem là nguồn tài nguyên sinh học đầy tiềm năng nhờ tốc độ sinh trưởng nhanh, dễ nuôi cấy và có khả năng tích lũy các hợp chất sinh học có giá trị. Nhóm vi tảo biển thuộc họ *Thraustochytriaceae*, đặc biệt là các chi *Thraustochytrium* và *Aurantiochytrium*, đã thu hút sự quan tâm ngày càng lớn của các nhà khoa học trên thế giới. Các chủng thuộc hai chi này được biết đến như những “nhà máy sinh học” tự nhiên, có khả năng tổng hợp hàm lượng cao acid béo mạch dài thuộc lớp hợp chất omega-3, đặc biệt là docosahexaenoic acid (DHA) và eicosapentaenoic acid (EPA), cùng với các hợp chất sinh học khác có tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực dược phẩm, thực phẩm chức năng, mỹ phẩm và nuôi trồng thủy sản. Nhiều nghiên cứu gần đây còn cho thấy các cao chiết và hợp chất phân lập từ các chủng vi tảo biển thuộc nhóm này thể hiện các hoạt tính sinh học có ý nghĩa như chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, ức chế enzyme và gây độc một số dòng tế bào ung thư.

Quần đảo Trường Sa là khu vực có mức độ đa dạng sinh học biển cao của Việt Nam, sở hữu hệ sinh thái rạn san hô phong phú và các điều kiện môi trường đặc thù thuận lợi cho sự phát triển của nhiều nhóm vi sinh vật biển, trong đó có vi tảo dị dưỡng. Trong khuôn khổ Đề tài cấp Bộ Quốc phòng thuộc Chương trình KCB-TS “Nghiên cứu thành phần hóa học, dinh dưỡng và hoạt tính sinh học của một số loài sinh vật biển tại quần đảo Trường Sa phục vụ y - dược” nhiều mẫu sinh vật biển đã được thu thập, phân lập và đánh giá tiềm năng ứng dụng. Từ các mẫu nước biển thu tại đảo Trường Sa và đảo Sơn Ca, đề tài đã phân lập, định danh và nuôi cấy sinh khối thành công hai chủng vi tảo biển *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 và *Aurantiochytrium* sp. SC145. Nghiên cứu của Hoàng Thị Minh Hiền và cộng sự chủ yếu tập trung xác định đặc điểm sinh trưởng, điều kiện nuôi cấy thích hợp, khả năng tích lũy lipid và thành phần dinh dưỡng của hai chủng vi tảo này. Tuy nhiên, chưa có công bố nào nghiên cứu về phân lập, xác định cấu trúc của các hợp chất thứ cấp cũng

như đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật của các hợp chất được phân lập từ hai chủng *T. pachydermum* TSL10 và *Aurantiochytrium* sp. SC145. Ngoài ra, kết quả sàng lọc sơ bộ cho thấy dịch chiết methanol của cả hai chủng đều thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định trên một số chủng vi khuẩn Gram dương (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) và nấm men *Candida albicans* với giá trị MIC từ 64 - 256 µg/mL. Những kết quả này gợi mở khả năng tồn tại các hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng vi sinh vật, tạo cơ sở cho việc phân lập, xác định cấu trúc và đánh giá hoạt tính của các hợp chất tinh sạch nhằm tìm kiếm các hoạt chất tự nhiên mới trong bối cảnh tình trạng kháng kháng sinh đang gia tăng trên toàn cầu.

Việc nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật của các hợp chất phân lập từ hai chủng vi tảo này không chỉ góp phần làm sáng tỏ cơ sở hóa học và hoạt tính sinh học đã được ghi nhận mà còn bổ sung dữ liệu về đa dạng hóa học của các vi sinh vật biển Việt Nam. Đồng thời, kết quả nghiên cứu sẽ cung cấp những luận cứ khoa học cho việc khai thác và phát triển các nguồn hoạt chất tự nhiên có giá trị từ vi tảo biển, góp phần nâng cao hiệu quả sử dụng bền vững nguồn tài nguyên sinh vật biển tại quần đảo Trường Sa. Xuất phát từ những cơ sở khoa học và thực tiễn đó, đề tài "**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của hai chủng vi tảo biển *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 và *Aurantiochytrium* sp. SC145 ở quần đảo Trường Sa, Việt Nam**" được thực hiện nhằm góp phần tìm kiếm các hợp chất tự nhiên có tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực dược phẩm và chăm sóc sức khỏe.

Mục tiêu của nghiên cứu:

- Xác định được thành phần hóa học của hai chủng vi tảo biển *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 và *Aurantiochytrium* sp. SC145 phân lập được ở quần đảo Trường Sa, Việt Nam.

- Đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất được phân lập.

Nội dung nghiên cứu:

- Phân lập và xác định cấu trúc các hợp chất từ hai chủng vi tảo biển *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 và *Aurantiochytrium* sp. SC145 phân lập được từ mẫu nước tại khu vực quần đảo Trường Sa, Việt Nam.

- Đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất được phân lập từ hai chủng vi tảo biển trên.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Giới thiệu về chi *Thraustochytrium*

1.1.1. Đặc điểm hình thái và phân loại các chủng thuộc chi *Thraustochytrium*

Thraustochytrium là chi vi sinh vật nhân chuẩn đơn bào thuộc nhóm Thraustochytrids trong lớp *Labyrinthulomycetes*, phân bố chủ yếu trong các hệ sinh thái biển. Các chủng thuộc chi này có thể tồn tại dưới dạng đơn bào hoặc dạng sợi. Chúng được biết đến là các sinh vật dị dưỡng, có khả năng hấp thu chất hữu cơ từ xác thực vật hoặc sinh vật biển đang phân hủy thông qua cơ chế tiết các enzyme ngoại bào [1]. Lịch sử phân loại của nhóm cho thấy sự thay đổi đáng kể theo thời gian. Ban đầu, *Thraustochytrium proliferum* được mô tả lần đầu tiên năm 1934 từ tảo biển *Bryopsis plumosa* tại vùng biển ven bờ Massachusetts (Hoa Kỳ) và được xếp vào nhóm *Phycomycetes* do khả năng tạo zoospore hai roi và hình thành mạng ngoại chất. Sau đó, nhóm này từng được xếp vào *Oomycetes*, trước khi các phân tích dựa trên trình tự 5S và 18S rDNA chứng minh rằng chúng không thật sự thuộc về nấm và cũng không thuộc *Oomycetes* [2]. Ở nhóm Thraustochytrids, zoospore thường có kích thước khoảng $2,5-3,0 \times 4,5-8,0 \mu\text{m}$, trong khi túi bào tử (zoosporangium) có thể đạt kích thước $15-35 \mu\text{m}$ khi quan sát trong nước biển hoặc trong môi trường nuôi cấy có bổ sung hạt phấn thông. [2]. Sự phân loại trong chi *Thraustochytrium* chủ yếu dựa vào đặc điểm hình thái và cơ chế sinh sản, đặc biệt là sự có mặt hoặc vắng mặt của các thể sinh sản và cách thức giải phóng các động bào tử. Cụ thể, ba dạng sinh sản chính đã được ghi nhận: không tăng sinh (non-proliferative), đơn tăng sinh (monoproliferative) và đa tăng sinh (multiproliferative) [2]. Ở những chủng *Thraustochytrium* không tăng sinh, toàn bộ túi bào tử (sporangium) được giải phóng như một thể thống nhất, thường gặp ở các chủng như *Thraustochytrium roseum*, *T. rudimentale*, *T. pachydermum*, *T. striatum* và *T. aggregatum* [2, 3]. Dạng đơn tăng sinh, chỉ một thể sinh sản duy nhất tồn tại dưới dạng một khối nguyên sinh chất lớn có thể tiếp tục tạo ra các zoospore thứ cấp sau khi bào tử sơ cấp được giải phóng, điển hình ở các chủng như *Thraustochytrium aureum*, *T. motivum*, *T. gaertnerium*, *T. kinnei*, *T. antarcticum*, *T. benthicola* và *T. proliferum* [2]. Dạng đa tăng sinh là hiện tượng xuất hiện đồng thời nhiều thể sinh sản trong một tế bào mẹ, mỗi thể tạo ra bào tử riêng biệt, được ghi nhận ở

Thraustochytrium kerguelense và *T. rossii* [2]. Ngoài ra, một số chủng như *Thraustochytrium striatum* và *T. gaertnerium* có thể sinh ra dạng tế bào giống amip dưới điều kiện nuôi đồng thời với vi khuẩn, tạo nên một pha phát triển riêng biệt trước giai đoạn tạo bào tử. Ở cấp phân loại, các nghiên cứu gần đây sử dụng trình tự gen 18S rDNA đã chỉ ra rằng chi *Thraustochytrium* không phải là một nhóm đơn ngành. Thực tế, nhiều chủng thuộc chi này đã được phân loại vào các chi khác như *Schizochytrium*, *Aurantiochytrium* hay *Oblongichytrium* [2]. Thêm vào đó, sự khác biệt rõ rệt về thành phần acid béo không bão hòa đa nối đôi (PUFAs) và sắc tố carotenoid giữa các chủng càng nhấn mạnh tính không đồng nhất của chi này [2]. Danh sách các chủng vi tảo thuộc chi *Thraustochytrium* được trình bày trong bảng dưới đây [2].

Bảng 1.1. Các chủng vi tảo thuộc chi *Thraustochytrium*

STT	Tên khoa học	Tác giả, năm phân lập
1	<i>Thraustochytrium aureum</i>	Goldstein (1963)
2	<i>Thraustochytrium motivum</i>	Goldstein (1963)
3	<i>Thraustochytrium rossii</i>	Bahnweg và Sparrow (1974)
4	<i>Thraustochytrium kerguelense</i>	Bahnweg và Sparrow (1974)
5	<i>Thraustochytrium antarcticum</i>	Bahnweg và Sparrow (1974)
6	<i>Thraustochytrium kinnei</i>	Gaertner (1967)
7	<i>Thraustochytrium benthicola</i>	Raghu Kumar (1980)
8	<i>Thraustochytrium proliferum</i>	Sparrow (1943)
9	<i>Thraustochytrium pachydermum</i>	Scholz (1958)
10	<i>Thraustochytrium arudimentale</i>	Artemchuk (1972)
11	<i>Thraustochytrium striatum</i>	Schneider (1967)
12	<i>Thraustochytrium roseum</i>	Goldstein (1963)
13	<i>Thraustochytrium aggregatum</i>	Ulken (1965)
14	<i>Thraustochytrium gaertnerium</i>	Bongiorni (2005)
15	<i>Thraustochytrium caudivorum</i>	Schärer (2007)

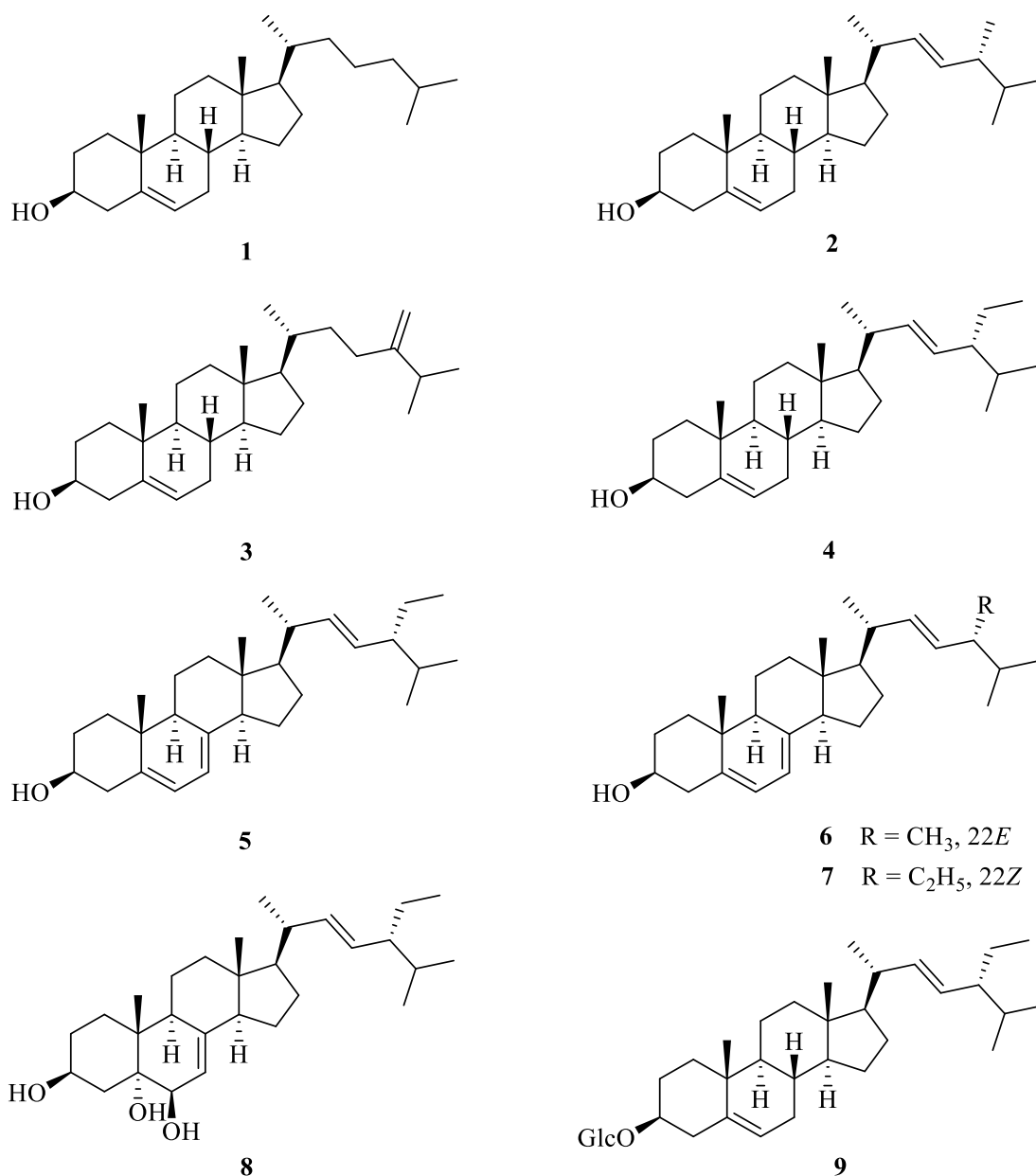
1.1.2. Thành phần hóa học của các chủng vi tảo thuộc chi *Thraustochytrium*

1.1.2.1. Các hợp chất steroid

Các hợp chất steroid đã được tìm thấy từ một số chủng vi tảo *Thraustochytrium*. Trong nghiên cứu vào năm 1999, Weete và cộng sự đã phát hiện từ chủng *Thraustochytrium* sp. ATCC 26185 năm hợp chất gồm cholesterol (1), 24-methyl-cholesta-5,22-dienol (2), 24-methylene cholesterol (3), 24-ethyl-cholesta-5,22-dienol (4), 24-ethyl-cholesta-5,7,22-trienol (5) [4]. Các chất 3, 5 cũng được phát hiện từ chủng *Thraustochytrium* sp. CHN-1 vào năm 2005 bởi Yamaoka và cộng sự [5]. Từ chủng *T. aureum*, Nguyễn Thị Minh Hằng và cộng sự đã phát hiện bốn hợp chất gồm ergosterol (6), 7-dehydroporiferasterol (7), (22*E*,24*R*)-ethylcholesta-7,22-dien-3 β ,5 α ,6 β -triol (8) và poriferasterol glucoside (9) [6].

Bảng 1.2. Các hợp chất steroid từ chi *Thraustochytrium*

TT	Tên hợp chất	Chủng	TLTK
1	cholesterol	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185/CHN-1	[4, 7]
2	24-methyl-cholesta-5,22-dienol	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
3	24-methylene cholesterol	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185 / CHN-1	[4, 7]
4	24-ethyl-cholesta-5,22-dienol	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
5	24-ethyl-cholesta-5,7,22-trienol	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185 / CHN-1	[4, 7]
6	ergosterol	<i>T. aureum</i>	[6]
7	7-dehydroporiferasterol	<i>T. aureum</i>	[6]
8	(22 <i>E</i> ,24 <i>R</i>)-ethylcholesta-7,22-dien-3 β ,5 α ,6 β -triol	<i>T. aureum</i>	[6]
9	poriferasterol glucoside	<i>T. aureum</i>	[6]



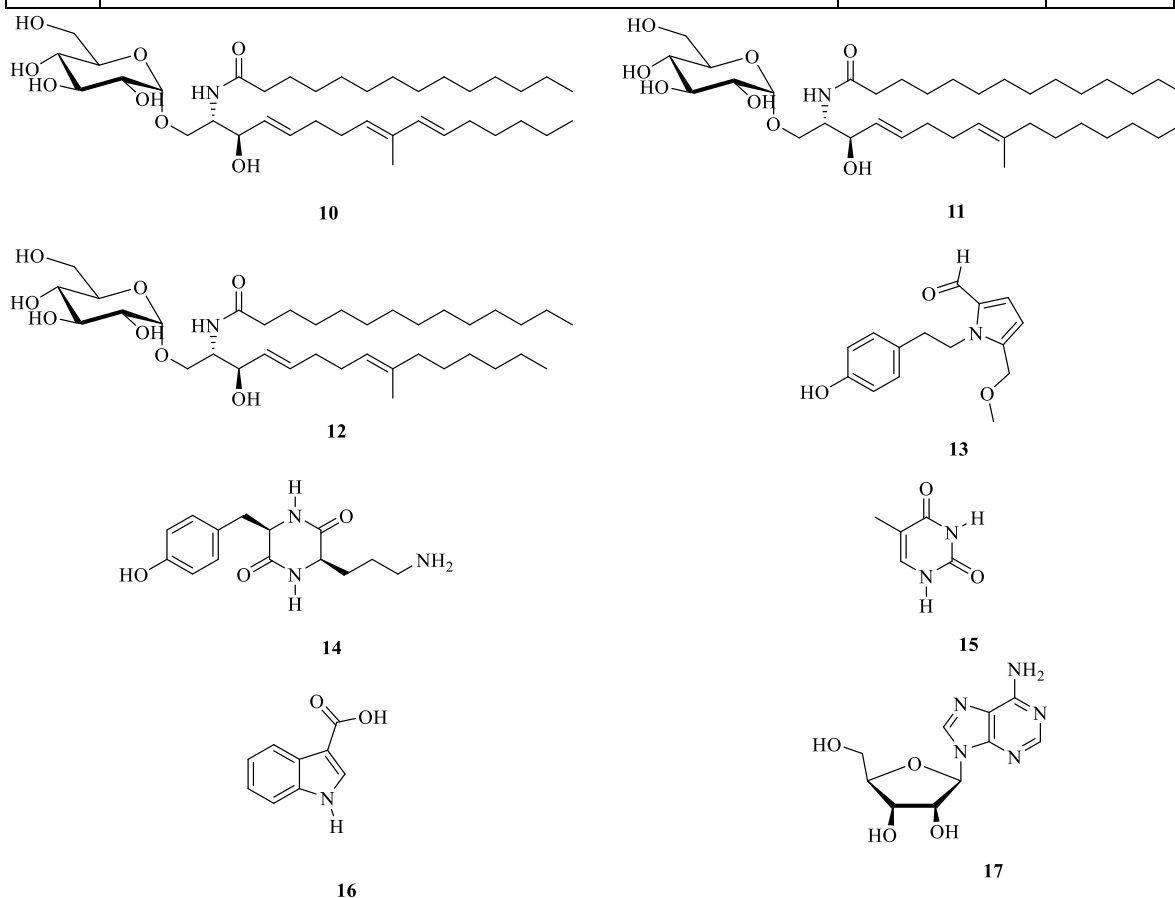
Hình 1.1. Cấu trúc hoá học các hợp chất steroid từ chi *Thraustochytrium*

1.1.2.2. Các hợp chất chứa nitơ

Bên cạnh các hợp chất steroid, các hợp chất chứa nitơ cũng được phân lập từ các chủng vi tảo thuộc chi *Thraustochytrium*. Từ chủng *T. globosum*, 3 hợp chất thraustochtroside A (**10**), thraustochtroside B (**11**), và thraustochtroside C (**12**) đã được phân lập [8]. Trong khi đó, từ chủng *T. aureum*, Nguyễn Thị Minh Hằng và cộng sự đã phát hiện các hợp chất hữu cơ chứa nitơ bao gồm pyrrolezanthine-6-methyl ether (**13**), 3-(3-aminopropyl)-6-((4-hydroxyphenyl)methyl)-2,5-piperazinedione (**14**), 5-methyluracil (**15**), indole-3-carboxylic acid (**16**) và adenosine (**17**) [6].

Bảng 1.3. Các hợp chất chứa nitơ từ chi *Thraustochytrium*

TT	Tên hợp chất	Chủng	TLTK
10	thraustochtroside A	<i>T. globosum</i>	[8]
11	thraustochtroside B	<i>T. globosum</i>	[8]
12	thraustochtroside C	<i>T. globosum</i>	[8]
13	pyrrolezanthine-6-methyl ether	<i>T. aureum</i>	[6]
14	3-(3- aminopropyl)-6-((4-hydroxyphenyl)methyl)-2,5-piperazinedione	<i>T. aureum</i>	[6]
15	5-methyluracil	<i>T. aureum</i>	[6]
16	indole-3-carboxylic acid	<i>T. aureum</i>	[6]
17	adenosine	<i>T. aureum</i>	[6]

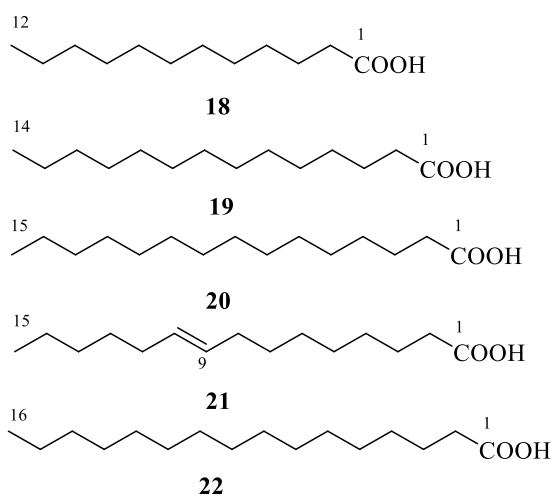
Hình 1.2. Cấu trúc hoá học các hợp chất chứa nitơ từ chi *Thraustochytrium*

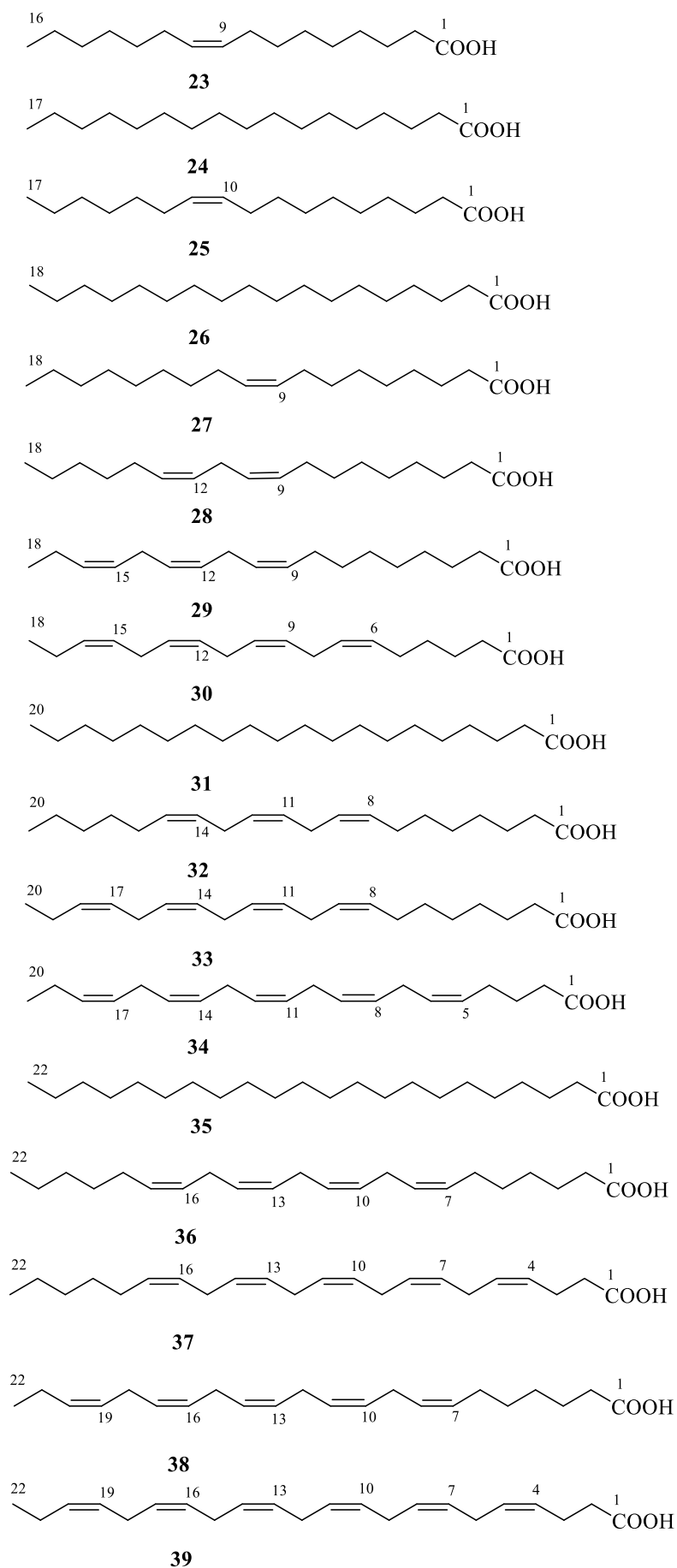
1.1.2.3. Các acid béo

Khá nhiều acid béo đã được phát hiện từ vi tảo thuộc chi *Thraustochytrium*. Các nghiên cứu của Weete và cộng sự [4] và Yukiho và cộng sự [9] đã phát hiện được 24 hợp chất béo lipid (18–39) từ các chủng khác nhau của chi *Thraustochytrium*. Công bố của Weete và cộng sự cũng cho thấy, các acid béo no với mạch C₁₄ – C₁₆ chiếm phần lớn trong thành phần chất béo của vi tảo *Thraustochytrium* sp. ATCC 26185, trong khi các acid béo không no chủ yếu có mạch từ C₁₈ đến C₂₂ [4].

Bảng 1.4. Các hợp chất béo từ chi *Thraustochytrium*

TT	Tên hợp chất	Chủng	TLTK
18	lauric acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
19	myristic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185, CHN-1	[4, 9]
20	pentadecanoic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
21	9-pentadecenoic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
22	palmitic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185, CHN-1	[4, 9]
23	palmitoleic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185, CHN-1	[4, 9]
24	heptadecanoic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
25	stearic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185, CHN-1	[4, 9]
26	oleic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185, CHN-1	[4, 9]
27	linoleic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
28	linolenic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
29	stearidonic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
30	arachidic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
31	dihomo- γ -linolenic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
32	arachidonic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185, CHN-1	[4, 9]
33	omega-3 arachidonic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
34	eicosapentaenoic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185, CHN-1	[4, 9]
35	behenic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
36	adrenic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
37	osbond acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185, CHN-1	[4, 9]
38	docosapentaenoic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
39	docosahexaenoic acid	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185, CHN-1	[9]





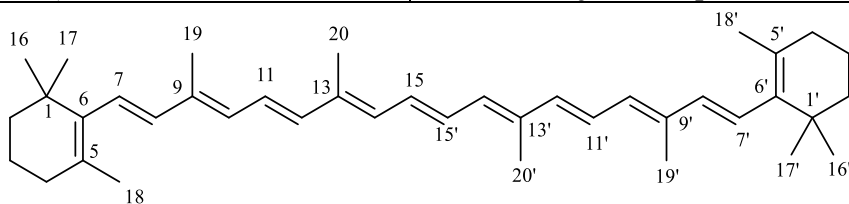
Hình 1.3. Cấu trúc hoá học các acid béo từ chi *Thraustochytrium*

1.1.2.4. Các dẫn xuất carotenoid và phosphatidyl

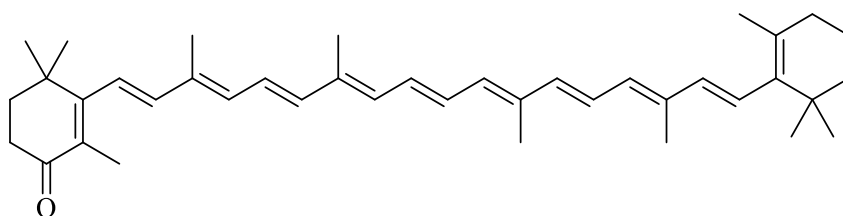
Bên cạnh các acid béo, các dẫn xuất carotenoid cũng được tìm thấy trong các chủng vi tảo thuộc chi *Thraustochytrium*. Các nghiên cứu của Marvelisa [10] và Yukiho [5] đã phát hiện 10 hợp chất carotenoid (**40–49**) từ chủng *Thraustochytrium* sp. CHN-1.

Bảng 1.5. Các hợp chất carotenoid từ chi *Thraustochytrium*

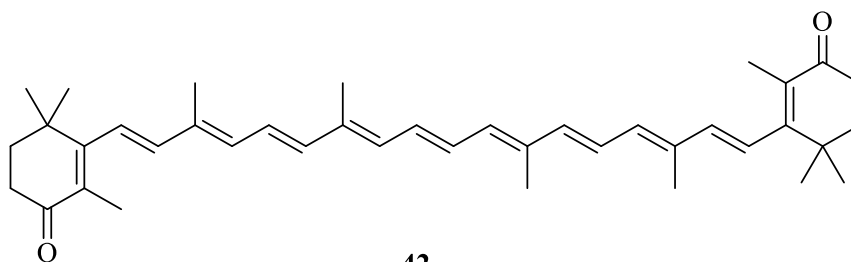
TT	Tên hợp chất	Chủng	TLTK
40	β -carotene	<i>Thraustochytrium</i> sp. CHN-1	[10]
41	echinenone	<i>Thraustochytrium</i> sp. CHN-1	[10]
42	canthaxanthin	<i>Thraustochytrium</i> sp. CHN-1	[10]
43	phoenicoxanthin	<i>Thraustochytrium</i> sp. CHN-1	[10]
44	astaxanthin	<i>Thraustochytrium</i> sp. CHN-1	[10]
45	(3 <i>S</i> ,3' <i>R</i>)- <i>trans</i> astaxanthin	<i>Thraustochytrium</i> sp. CHN-1	[5]
46	(3 <i>R</i> ,3' <i>R</i>)- <i>trans</i> astaxanthin	<i>Thraustochytrium</i> sp. CHN-1	[5]
47	(3 <i>R</i> ,3' <i>R</i>)- <i>cis</i> astaxanthin	<i>Thraustochytrium</i> sp. CHN-1	[5]
48	(3 <i>S</i> ,3' <i>R</i>)- <i>cis</i> astaxanthin	<i>Thraustochytrium</i> sp. CHN-1	[5]
49	(3 <i>R</i> ,3' <i>R</i>)- <i>cis</i> astaxanthin	<i>Thraustochytrium</i> sp. CHN-1	[5]



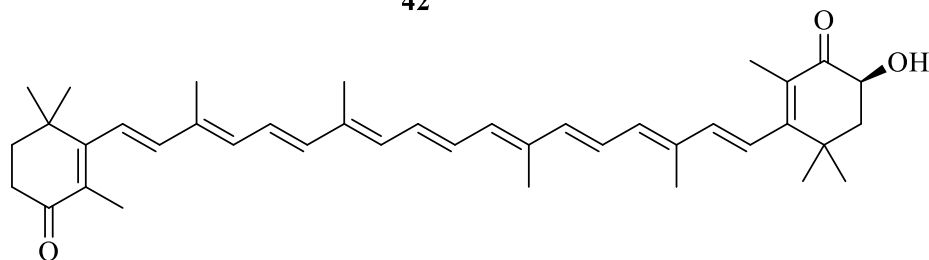
40



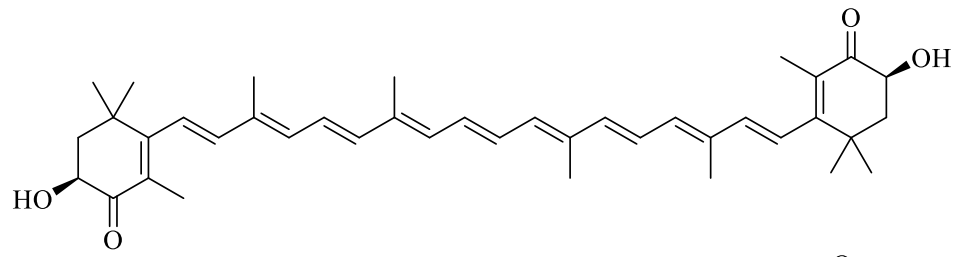
41



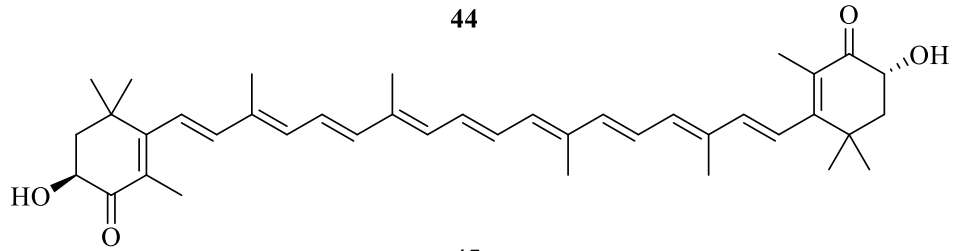
42



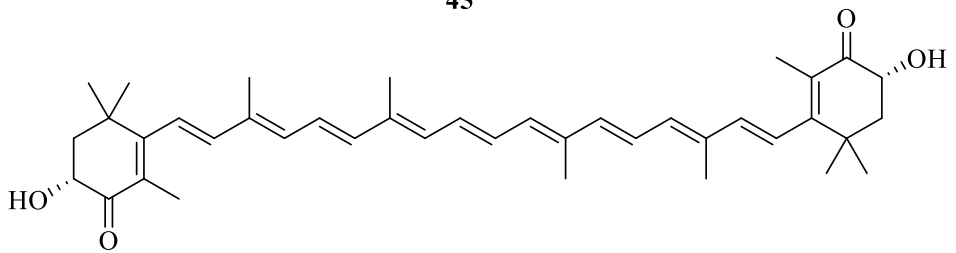
43



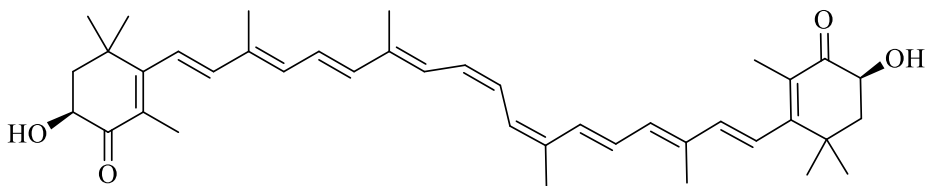
44



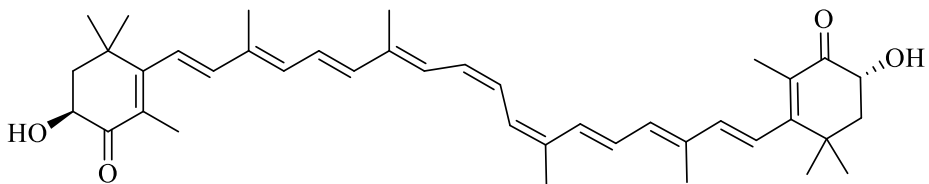
45



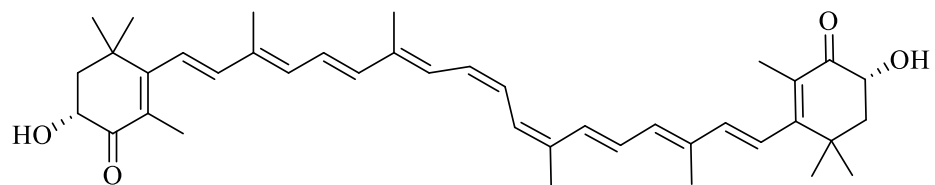
46



47



48



49

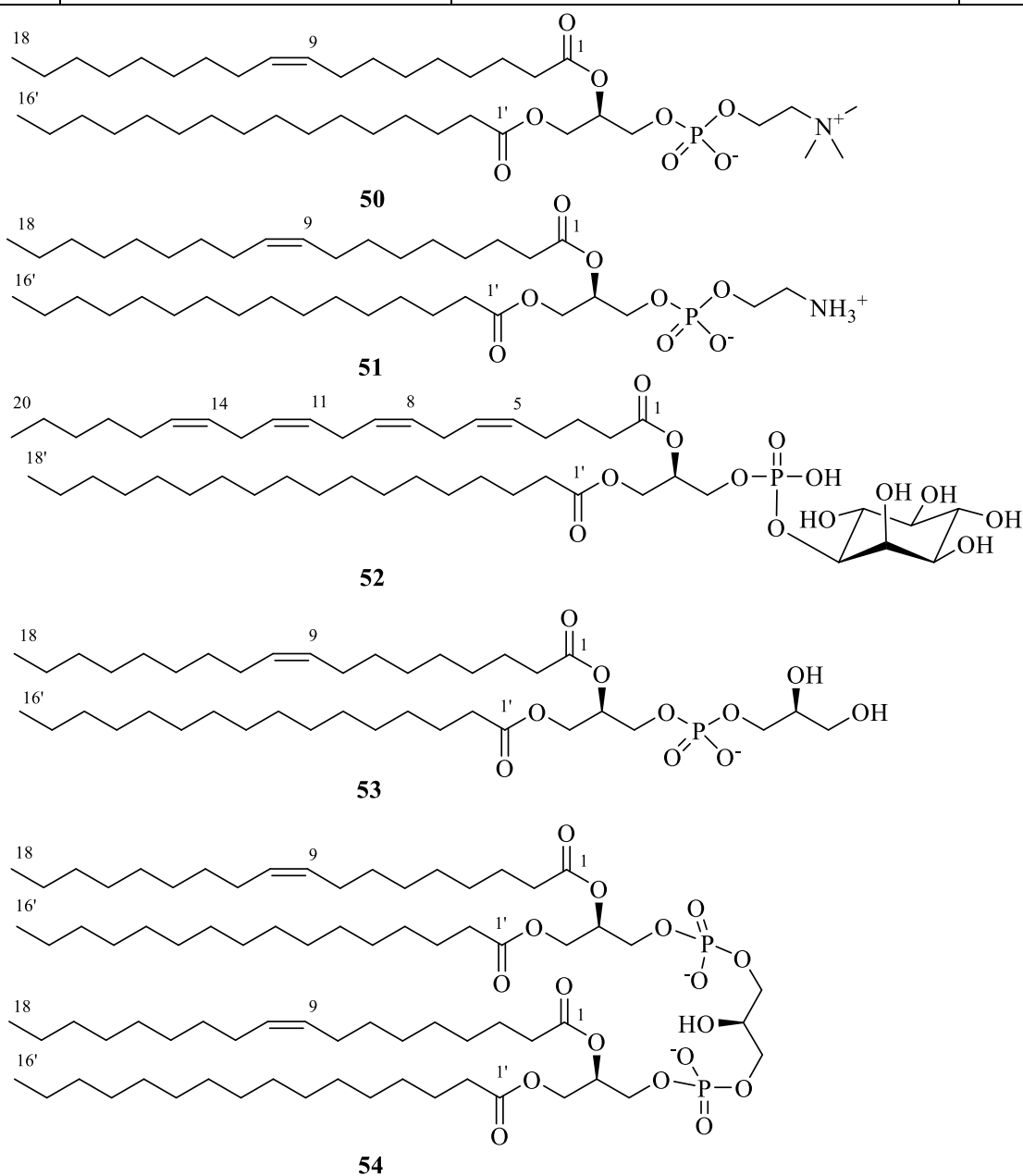
Hình 1.4. Cấu trúc hoá học các hợp chất carotenoid từ các chủng thuộc chi

Thraustochytrium

Bên cạnh các hợp chất carotenoid, các hợp chất phosphatidyl cũng được phát hiện từ chủng *Thraustochytrium* sp. ATCC 26185 [4].

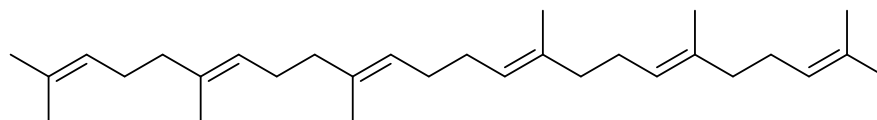
Bảng 1.6. Các hợp chất phosphatidyl từ chi *Thraustochytrium*

TT	Tên hợp chất	Chủng	TLTK
50	1-oleoyl-2-palmitoyl-phosphatidylcholine	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
51	phosphatidylethanolamine	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
52	phosphatidylinositol	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
53	phosphatidylglycerol	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]
54	diphosphatidylglycerol	<i>Thraustochytrium</i> sp. ATCC 26185	[4]

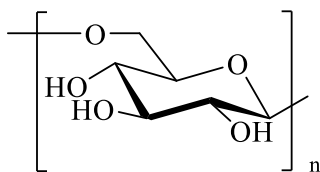
Hình 1.5. Cấu trúc hoá học các hợp chất phosphatidyl từ chi *Thraustochytrium*

1.1.2.5. Một số hợp chất khác

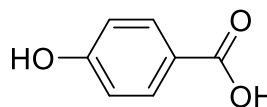
Bên cạnh các nhóm hợp chất kể trên, các nghiên cứu từ các chủng vi tảo thuộc chi *Thraustochytrium* còn phát hiện được một số hợp chất khác như squalene, 1→6- β -D-glucan và *p*-hydroxybenzoic acid [4, 6, 11, 12].



55



56



57

Hình 1.6. Cấu trúc hoá học các hợp chất khác từ chi *Thraustochytrium*

1.1.3. Hoạt tính sinh học của các chủng vi tảo thuộc chi *Thraustochytrium*

1.1.3.1. Hoạt tính chống oxy hóa

Các chủng thuộc chi *Thraustochytrium* được biết đến là nguồn giàu các hợp chất sinh học có giá trị, đặc biệt là các chất có hoạt tính chống oxy hóa. Trong số đó, carotenoid và squalene được phân lập từ nhiều chủng thuộc chi này đã được chứng minh có khả năng trung hòa các gốc tự do, góp phần bảo vệ tế bào khỏi các tổn thương do quá trình oxy hóa gây ra [13]. Các hợp chất carotenoid và squalene có nguồn gốc từ các chủng *Thraustochytrium* ngày càng thu hút sự quan tâm và được ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp mỹ phẩm cũng như trong sản xuất thực phẩm chức năng [14]. Nghiên cứu về hoạt tính chống oxy hóa cho thấy cao chiết từ vi tảo *Thraustochytrium* có khả năng quét gốc tự do DPPH đạt khoảng 79 - 87% trong khoảng nồng độ khảo sát từ 100 đến 500 $\mu\text{g/mL}$ [15]. Năm 2018, nghiên cứu về các chất đa bào ngoại bào (exopolysaccharides-EPS) của *T. striatum* đã được công bố, trong đó thành phần, cấu trúc và hoạt tính sinh học của EPS được phân tích chi tiết. Kết quả cho thấy EPS thu nhận từ hai chủng *T. striatum*, bao gồm chủng gốc và chủng có sinh khối cao được tạo ra dưới điều kiện stress nitơ, đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa một cách có ý nghĩa [12]. Trong một nghiên cứu khác, Kalidasan và cộng sự

(2021) thông báo *Thraustochytrium* sp. phân lập từ hệ sinh thái rừng ngập mặn thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh, với khả năng quét gốc tự do DPPH đạt khoảng 87% [15]. Hoạt tính này được cho là liên quan đến sự có mặt của các dẫn xuất của acid béo không no đa nối đôi (PUFA) [15]. Ngoài ra, một nghiên cứu khác cũng cho thấy cao chiết methanol từ *Thraustochytrium* thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh mạnh hơn với khả năng quét gốc tự do đạt $83,79 \pm 1,10\%$, cao so với chất đối chứng acid L-ascorbic [16].

1.1.3.2. Hoạt tính kháng viêm

Hoạt tính kháng viêm của các chủng thuộc chi *Thraustochytrium* đã nhiều nhà khoa học nghiên cứu. Kalidasan và cộng sự (2021) đã thông báo *T. striatum* thể hiện hoạt tính kháng viêm có ý nghĩa thông qua khả năng ức chế sự sản sinh nitric oxide (NO) trên dòng tế bào đại thực bào RAW 264.7 được kích thích bởi lipopolysaccharide (LPS), đồng thời không gây ảnh hưởng đến khả năng sống của tế bào [15]. Ngoài ra, một nghiên cứu khác cho thấy cặn chiết methanol của *Thraustochytrium* sp. ở nồng độ 500 $\mu\text{g/mL}$ có khả năng ức chế sự hình thành NO đạt $75,22 \pm 2,09\%$ [16]. Hoạt tính kháng viêm của các chủng thuộc chi *Thraustochytrium* không chỉ xuất phát từ dịch chiết tổng mà còn liên quan đến nhiều nhóm hợp chất sinh học đặc trưng được sinh tổng hợp trong tế bào, đặc biệt là các polysaccharide ngoại bào (EPS) và các acid béo không no đa nối đôi (PUFA). Nghiên cứu về EPS của *Thraustochytrium striatum* cho thấy các EPS này có cấu trúc polysaccharide phức tạp, bao gồm các đơn vị glucose, galactose và arabinose liên kết theo dạng β -glucan và α -galactan, được cho là đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa các đáp ứng sinh học, bao gồm cả quá trình viêm [12]. Bên cạnh polysaccharide ngoại bào, các hợp chất lipid, đặc biệt là các acid béo không no đa nối đôi chuỗi dài (PUFA) như DHA và EPA là những thành phần kháng viêm quan trọng [17]. Các chủng *Thraustochytrium* được ghi nhận là nguồn sinh tổng hợp của DHA và EPA, có khả năng điều hòa nhiều quá trình sinh lý và sinh hóa trong cơ thể, đồng thời đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát các phản ứng viêm thông qua việc điều chỉnh các con đường tín hiệu tế bào và cân bằng các chất trung gian gây viêm [17]. Đặc biệt, DHA có thể được chuyển hóa thành các chất trung gian lipid chuyên biệt tham gia vào quá trình kết thúc phản ứng viêm (specialized pro-resolving mediators, SPMs), bao gồm resolvin, protectin và maresin [18]. Các hợp chất này thể hiện hoạt

tính kháng viêm mạnh và tham gia trực tiếp vào quá trình điều hòa đáp ứng miễn dịch bằng cách ức chế sự xâm nhập của bạch cầu trung tính, giảm sản sinh các cytokine gây viêm, đồng thời thúc đẩy quá trình thực bào và loại bỏ các tế bào chết tại vị trí viêm. Nhờ cơ chế tác động này, các SPM có khả năng thúc đẩy quá trình kết thúc phản ứng viêm và phục hồi cân bằng sinh lý của mô mà không gây ức chế miễn dịch toàn diện [18].

1.1.3.3. Hoạt tính kháng khuẩn

Thraustochytrium được ghi nhận có phổ hoạt tính kháng khuẩn rộng đối với nhiều chủng vi khuẩn gây bệnh khác nhau. Kalidasan và cộng sự (2015) cho thấy phân đoạn chiết *n*-butanol từ *Thraustochytrid* thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh, với đường kính vòng vô khuẩn đối với *Staphylococcus aureus* đạt $21,66 \pm 1,52$ mm ở nồng độ 60 µg/mL [19]. Trong một nghiên cứu khác, Kalidasan và cộng sự (2021) thông báo rằng cặn chiết dầu ete từ *T. kinnei* thể hiện hoạt tính ức chế có ý nghĩa đối với nhiều chủng vi khuẩn gây bệnh, bao gồm *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella typhi* và *Salmonella paratyphi* [15]. Ngoài ra, các polymer ngoại bào (EPS) của *T. striatum* cũng được phát hiện có hoạt tính kháng khuẩn đối với cả vi khuẩn Gram (+) và Gram (-), với đường kính vòng vô khuẩn tối đa đạt 30 mm đối với *Pseudomonas aeruginosa* [12]. Một nghiên cứu khác cho thấy dịch chiết từ *Thraustochytrium* sp. thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh nhất đối với *Staphylococcus aureus* với mức độ ức chế đạt 78,77%, trong khi hoạt tính yếu nhất được ghi nhận đối với *Klebsiella pneumoniae* (20,95%). Đồng thời, chủng *Thraustochytrium* sp. cũng cho thấy nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) đạt 40 µg/L đối với *S. aureus* [16]. Cơ chế kháng khuẩn của các hợp chất từ *Thraustochytrium* được cho là liên quan đến khả năng phá hủy cấu trúc thành tế bào vi khuẩn thông qua hoạt động của các enzyme thủy phân được sinh tổng hợp bởi các loại vi tảo này [20].

1.1.3.4. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các hợp chất sinh học có nguồn gốc từ *Thraustochytrium* đã được nhiều nghiên cứu ghi nhận. Xiao và cộng sự (2018) thông báo các polysaccharide ngoại bào (EPS) từ *T. striatum* thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của một số dòng tế bào ung thư [21]. Kết quả cho thấy EPS gây ức chế dòng tế bào

B16 ở nồng độ $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ và đạt hiệu quả tối đa khoảng 70–75% tại nồng độ $100 \mu\text{g/mL}$. Đối với dòng tế bào DU-145, ở nồng độ $100 \mu\text{g/mL}$, EPS có mức độ ức chế đạt khoảng 80% [21]. Bên cạnh đó, các hợp chất carotenoid và terpenoid từ *Thraustochytrium* cũng được ghi nhận có tiềm năng gây độc tế bào ung thư. Trong đó, squalene được cho là có khả năng bảo vệ các tế bào thường đồng thời làm tăng độ nhạy của tế bào ung thư đối với các tác nhân hóa trị. Các carotenoid như astaxanthin và β -carotene có thể ức chế sự phát triển của nhiều dòng tế bào ung thư thông qua cơ chế chống oxy hóa, góp phần làm giảm stress oxy hóa trong vi môi trường khối u [22]. Ngoài các polysaccharide ngoại bào và carotenoid, nhiều hợp chất sinh học khác từ nhóm Thraustochytrid, bao gồm các acid béo không no đa nối đôi (PUFAs), cũng được ghi nhận có tiềm năng chống ung thư. Các vi tảo thuộc họ Thraustochytriidae có khả năng sinh tổng hợp hàm lượng cao các acid béo omega-3 như DHA và EPA [16]. Các nghiên cứu gần đây cũng chỉ ra rằng cao chiết từ thraustochytrid có thể biểu hiện hoạt tính chống ung thư trên một số dòng tế bào. Cao chiết methanol từ *Schizochytrium* sp. phân lập từ môi trường rừng ngập mặn đã thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư đại tràng HT-29. Phân tích GC-MS cho thấy trong dịch chiết này chứa nhiều acid béo sinh học quan trọng như arachidonic acid, α -linolenic acid, γ -linolenic acid, eicosapentaenoic acid và docosahexaenoic acid. Các hợp chất này được chứng minh có khả năng tương tác với protein IGF-1, một yếu tố quan trọng liên quan đến sự phát triển của ung thư đại trực tràng [23]. Bên cạnh đó, các polysaccharide ngoại bào từ vi tảo thraustochytrid còn thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của nhiều dòng tế bào ung thư khác nhau, bao gồm các dòng tế bào ung thư buồng trứng (BG-1), ung thư vú (MCF-7) và ung thư đại tràng (SW-620). Các nghiên cứu cho thấy EPS có thể làm giảm biểu hiện của các protein điều hòa chu kỳ tế bào như cyclin D1 và cyclin E, từ đó làm chậm quá trình tiến triển của chu kỳ tế bào và hạn chế sự phát triển của tế bào ung thư. Đồng thời, các hợp chất này còn thể hiện tác dụng điều hòa miễn dịch thông qua việc ảnh hưởng đến sự phát triển của tế bào lympho B và điều chỉnh sự tiết cytokine của tế bào T [24].

Những kết quả này cho thấy các hợp chất sinh học từ chủng *Thraustochytrium* có tiềm năng trong việc nghiên cứu và phát triển các hợp chất có khả năng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư.

1.1.3.5. Một số tác dụng sinh học khác

Nhiều nghiên cứu cho thấy một số chủng như *Thraustochytrium aureum* và *Thraustochytrium roseum* có khả năng tích lũy hàm lượng lớn DHA, một acid béo không no đa nối đôi thuộc nhóm omega-3. DHA được biết đến là hợp chất thiết yếu đối với nhiều chức năng sinh lý quan trọng của cơ thể người, đặc biệt trong việc duy trì hoạt động của hệ tim mạch, hệ thần kinh trung ương và thị giác. Nhờ tốc độ sinh trưởng nhanh cùng khả năng tích lũy lipid giàu DHA trong điều kiện nuôi cấy dị dưỡng, *Thraustochytrium*, đặc biệt là *T. aureum*, được xem là nguồn cung cấp DHA tiềm năng và bền vững, có thể thay thế một phần các nguồn truyền thống như dầu cá [25, 26]. Bên cạnh đó, các nghiên cứu gần đây cũng tập trung làm rõ ảnh hưởng của các yếu tố môi trường đến khả năng sinh tổng hợp và tích lũy các hợp chất có giá trị ở *Thraustochytrium*, trong đó có squalene. Nghiên cứu của Zhang và cộng sự (2022) cho thấy nồng độ NaCl trong môi trường nuôi cấy có vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy quá trình tích lũy squalene ở *Thraustochytrium* sp. ATCC 26185, đồng thời ảnh hưởng đáng kể đến các con đường sinh tổng hợp liên quan. Kết quả này cung cấp cơ sở khoa học quan trọng cho việc thiết lập và tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy nhằm nâng cao hiệu suất sản xuất squalene từ vi sinh vật biển này [27].

Bên cạnh các ứng dụng trong công nghệ sinh học, *Thraustochytrium* còn được xem là nhóm vi sinh vật có tiềm năng trong lĩnh vực xử lý môi trường. Một số nghiên cứu cho thấy các chủng thuộc chi này có khả năng tham gia vào quá trình làm sạch môi trường biển thông qua cơ chế chuyển hóa sinh học các hợp chất ô nhiễm [28]. Cụ thể, *T. striatum* đã được nghiên cứu có khả năng phân hủy và chuyển hóa hiệu quả dịch đen – một phụ phẩm giàu lignin phát sinh từ ngành công nghiệp giấy và bột giấy. Quá trình chuyển hóa sinh học này không chỉ giúp gia tăng sinh khối vi sinh vật (đạt khoảng 5,2 g/L) mà còn dẫn đến sự tích lũy các hợp chất có giá trị sinh học như acid béo chuỗi dài (chiếm khoảng 13% sinh khối khô) và carotenoid. Những kết quả này cho thấy tiềm năng của *T. striatum* trong việc tái sử dụng các nguồn chất thải công nghiệp, đồng thời góp phần giảm thiểu tác động môi trường của các dòng thải giàu lignin [12].

Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của các chủng thuộc chi *Thraustochytrium* đã cho thấy tiềm năng ứng dụng rộng rãi của nhóm vi sinh vật này trong nhiều lĩnh vực như y dược, công nghệ sinh học, thực phẩm chức năng và nuôi trồng thủy sản.

Vì vậy, việc tiếp tục nghiên cứu và khai thác tiềm năng sinh học của *Thraustochytrium* không chỉ góp phần mở rộng nguồn nguyên liệu sinh học bền vững mà còn tạo nền tảng cho sự phát triển của các ngành công nghiệp chiến lược dựa trên công nghệ sinh học biển.

1.2. Giới thiệu về chi *Aurantiochytrium*

1.2.1. Đặc điểm hình thái và phân loại các chủng thuộc chi *Aurantiochytrium*

Trước đây, chi *Aurantiochytrium* được xếp chung với các chi *Oblongichytrium* và *Schizochytrium* [29]. Các tế bào thuộc chi này sinh trưởng thông qua quá trình phân chia nhị phân liên tiếp và đặc trưng bởi tản có dạng hình cầu với thành tế bào mỏng. Bào tử động được giải phóng có hình thái tương tự như ở *Schizochytrium*, trong khi các tế bào sinh dưỡng thường tồn tại dưới dạng các tế bào đơn lẻ. Hiện nay, *Schizochytrium limacinum* và *S. mangrovei* đã được đổi tên lần lượt thành *Aurantiochytrium limacinum* và *A. mangrovei*. Ở các chủng này, trong một số điều kiện nhất định, hiện tượng phóng điện của tế bào amip đã được quan sát thấy trước khi các bào tử động phân chia [30, 31]. Chi *Aurantiochytrium* đã phát hiện được khoảng 11 chủng.

Bảng 1.7. Các chủng vi tảo thuộc chi *Aurantiochytrium*

STT	Tên khoa học	Tác giả (năm phân lập)
1	<i>Aurantiochytrium limacinum</i> (<i>Schizochytrium limacinum</i>)	Honda (1998)
2	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i> (<i>Schizochytrium mangrovei</i>)	Raghukumar (1988)
3	<i>Aurantiochytrium acetophilum</i>	Ganuza (2019)
4	<i>Aurantiochytrium minutum</i>	Ganuza (2019)
5	<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	Ryu (2013)
6	<i>Aurantiochytrium</i> sp. KH105	Arafiles (2014)
7	<i>Aurantiochytrium</i> sp. TC20	Lee Chang (2013a)
8	<i>Aurantiochytrium</i> sp. t66	Jakobsen (2008)
9	<i>Aurantiochytrium</i> sp. TC22	Lee Chang (2014)
10	<i>Aurantiochytrium</i> sp. 6-2	Chi-Hei Ip (2024)
11	<i>Aurantiochytrium</i> sp. ICTFD5	V.P. Bagul (2021)

1.2.2. Thành phần hóa học của chi *Aurantiochytrium*

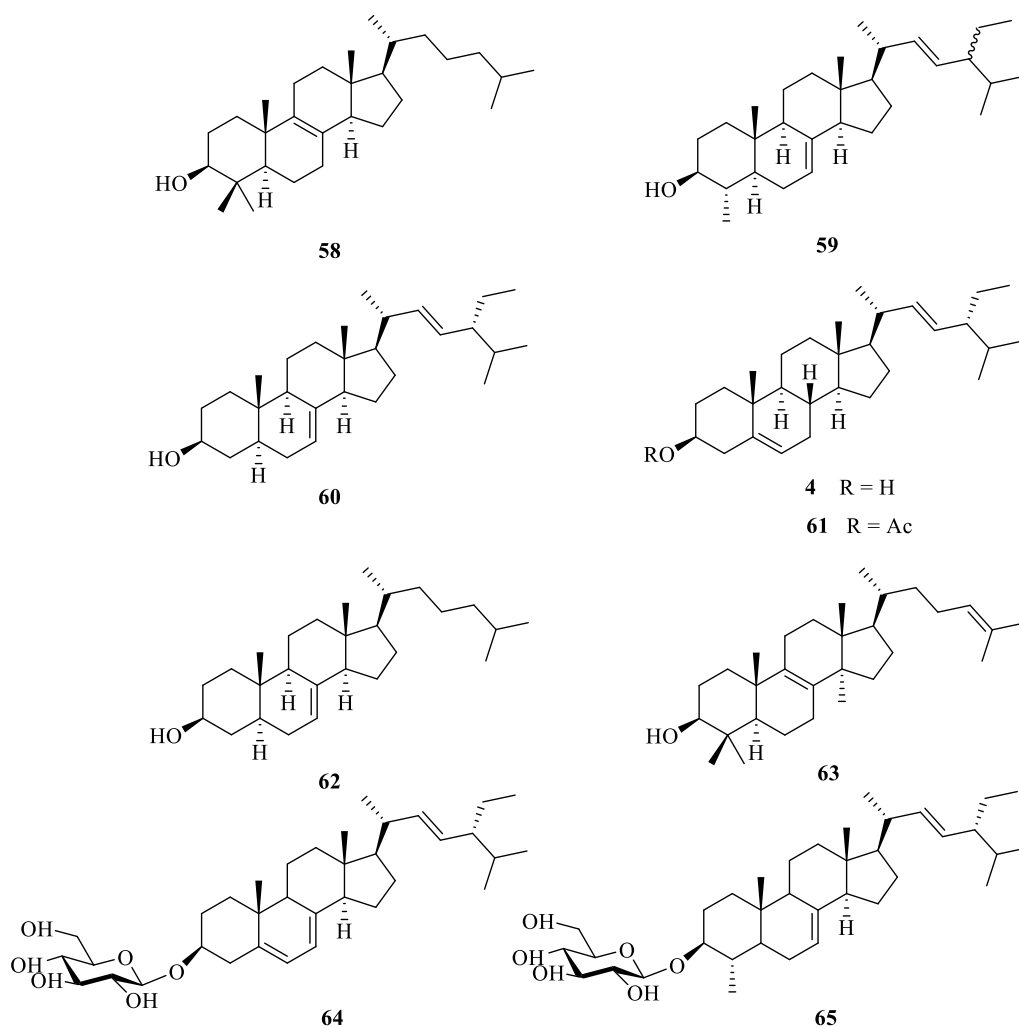
1.2.2.1. Các hợp chất steroid

Tương tự với các vi tảo thuộc chi *Thraustochytrium*, steroid là một trong những nhóm thành phần hoá học chính của các chủng vi tảo thuộc chi *Aurantiochytrium*. Năm

2020, Yoshida và cộng sự đã phân lập tám hợp chất steroid gồm cholesterol (**1**), 4,4-dimethyl-5 α -cholest-8-en-3 β -ol (**58**), 4-methylchondrillasterol (**59**), chondrillasterol (**60**), poriferasterol (**61**), poriferasterol acetate (**62**), lathosterol (**63**) và lanosterol (**4**) từ vi tảo *Aurantiochytrium* spp [32]. Hợp chất 4-methylchondrillasterol (**59**) cũng được phát hiện từ chủng *A. mangrovei* BT3 [33]. Bên cạnh đó, hai hợp chất sterol glycoside là 3-O- β -D-glucopyranosyl-stigmasta-5,7,22-triene (**64**), và 3-O- β -D-glucopyranosyl-4 α -methylstigmasta-7,22-diene (**65**) cũng đã được phân lập từ chủng *A. limacinum* mh0186 bởi Endo và cộng sự [34].

Bảng 1.8. Các hợp chất steroid từ chi Aurantiochytrium

KH	Tên hợp chất	Chủng	TLTK
1	cholesterol	<i>Aurantiochytrium</i> spp.	[32]
4	lanosterol	<i>Aurantiochytrium</i> spp.	[32]
58	4,4-dimethyl-5 α -cholest-8-en-3 β -ol (4,4-dimethylzymosterol)	<i>Aurantiochytrium</i> spp.	[32]
59	4-methylchondrillasterol	<i>Aurantiochytrium</i> spp. <i>A. mangrovei</i> BT3	[32] [33]
60	chondrillasterol	<i>Aurantiochytrium</i> spp.	[32]
61	poriferasterol	<i>Aurantiochytrium</i> spp.	[32]
62	poriferasterol acetate	<i>Aurantiochytrium</i> spp.	[32]
63	lathosterol	<i>Aurantiochytrium</i> spp.	[32]
64	3-O- β -D-glucopyranosyl-stigmasta-5,7,22-triene	<i>A. limacinum</i> mh0186	[34]
65	3-O- β -D-glucopyranosyl-4 α -methylstigmasta-7,22-diene	<i>A. limacinum</i> mh0186	[34]



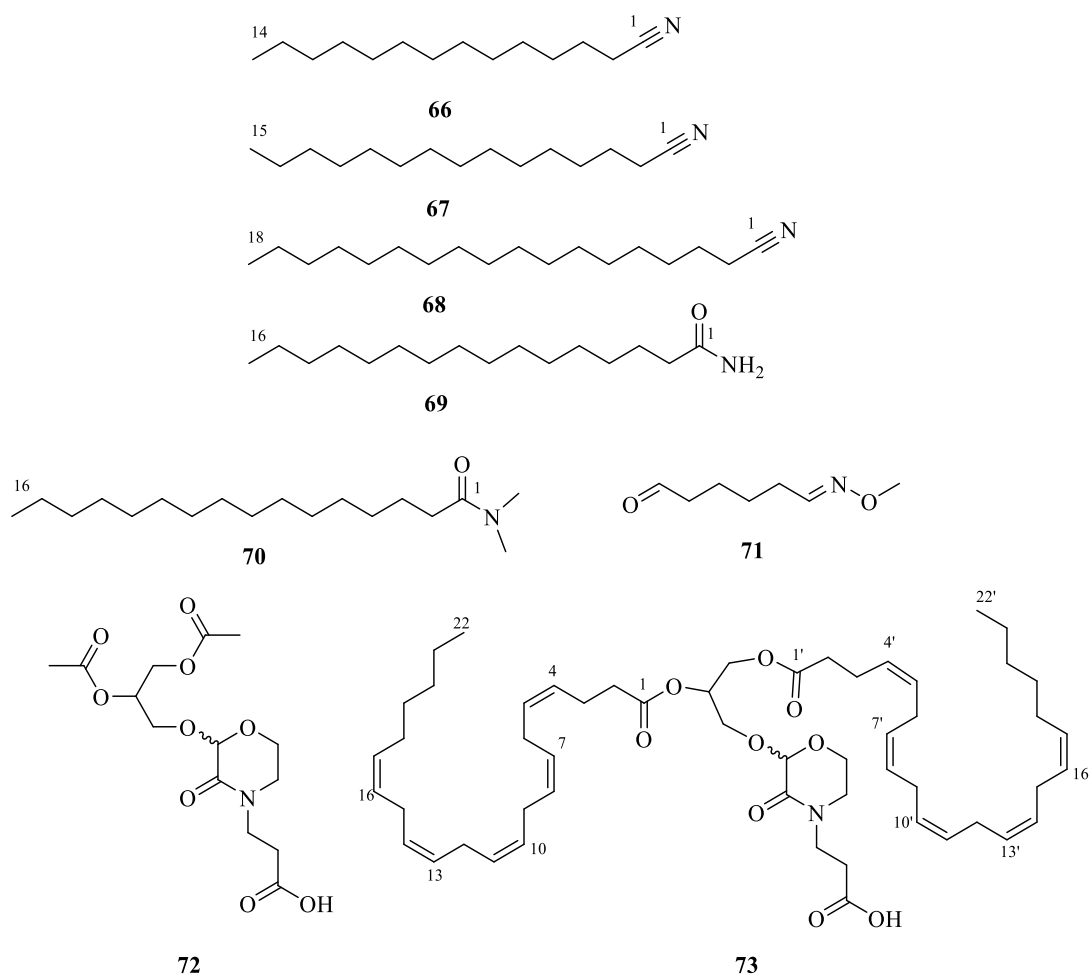
Hình 1.7. Cấu trúc hoá học các hợp chất steroid từ chi *Aurantiochytrium*

1.2.2.2. Các hợp chất chứa nitơ

Bên cạnh steroid, các hợp chất chứa nitơ cũng đã được phân lập từ một số chủng vi tảo thuộc chi *Aurantiochytrium* như *Aurantiochytrium* sp. KRS101 [35] và *Aurantiochytrium* sp. SYLR6#3 [36]. Tên và cấu trúc của các hợp chất được trình bày chi tiết trong bảng và hình dưới đây.

Bảng 1.9. Các hợp chất chứa nitơ từ chi *Aurantiochytrium*

TT	Tên hợp chất	Chủng	TLTK
66	tetradecanenitrile	<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	[35]
67	pentadecanenitrile	<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	[35]
68	octadecanenitrile	<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	[35]
69	hexadecanamide	<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	[35]
70	<i>N,N</i> -dimethylpalmitamide	<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	[35]
71	<i>O</i> -methyloxime hexanal	<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	[35]
72	acetylate m-glyceride	<i>Aurantiochytrium</i> sp. SYLR6#3	[36]
73	acetylate m-glyceride-hydrate	<i>Aurantiochytrium</i> sp. SYLR6#3	[36]



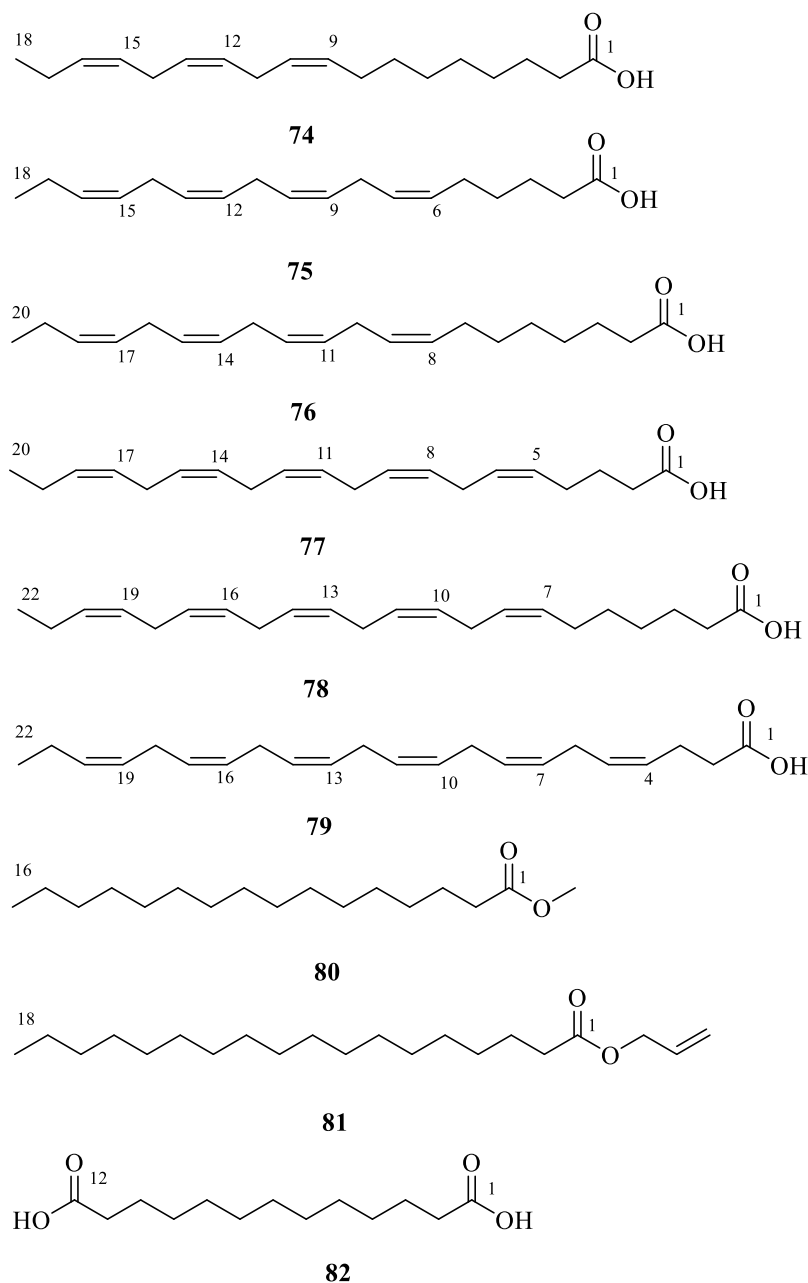
Hình 1.8. Cấu trúc hoá học các hợp chất chứa nito từ chi *Aurantiochytrium*

1.2.2.3. Các dẫn xuất của acid béo và carotenoid

Từ chủng *Aurantiochytrium* sp. T7, sáu acid béo không no, với mạch từ C₁₈ đến C₂₂ đã được phát hiện, bao gồm α -linolenic acid (74), stearidonic acid (75), omega-3 arachidonic acid (76), eicosapentaenoic acid (77), docosapentaenoic acid (78) và docosahexaenoic acid (79) [37]. Trong khi đó, ba ester và một acid béo no đã được phát hiện được từ chủng *Aurantiochytrium* sp. KRS101 [35].

Bảng 1.10. Các acid béo từ chi *Aurantiochytrium*

TT	Tên hợp chất	Chủng	TLTK
74	α -linolenic acid	<i>Aurantiochytrium</i> sp. T7	[37]
75	stearidonic acid	<i>Aurantiochytrium</i> sp. T7	[37]
76	omega-3 arachidonic acid	<i>Aurantiochytrium</i> sp. T7	[37]
77	eicosapentaenoic acid	<i>Aurantiochytrium</i> sp. T7	[37]
78	docosapentaenoic acid	<i>Aurantiochytrium</i> sp. T7	[37]
79	docosahexaenoic acid	<i>Aurantiochytrium</i> sp. T7	[37]
80	methyl palmitate	<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	[35]
81	2-propenyl octadecanoate	<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	[35]
82	tridecanedioic acid	<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	[35]

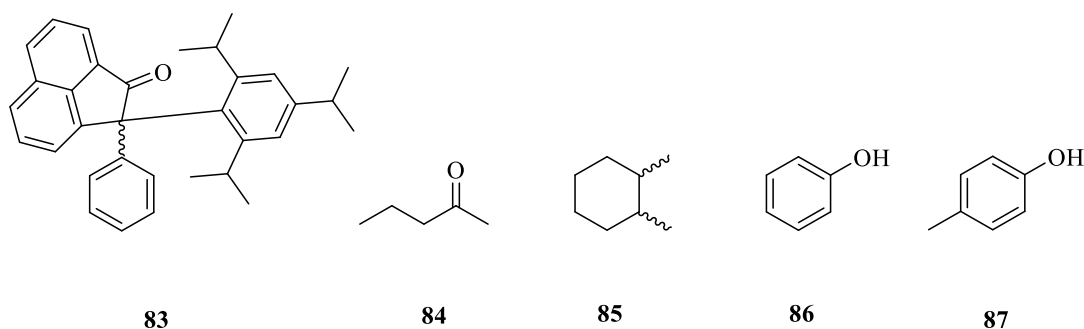


Hình 1.9. Cấu trúc hoá học các acid béo và ester từ chi *Aurantiochytrium*

Bên cạnh các acid béo, một số hợp chất carotenoid như β -carotene (**40**), echinenone (**41**), canthaxanthin (**42**) và astaxanthin (**44**) đã được phân lập chủng *Aurantiochytrium* Ch25 thuộc chi *Aurantiochytrium*.

1.2.2.4. Một số hợp chất khác

Ngoài các nhóm hợp chất kể trên, các nghiên cứu đã phân lập được một số hợp chất khác như 2-phenyl-2-tipyl-acenapthenone (**83**), 2-pentanone (**84**), 1,2-dimethyl-cyclohexane (**85**), phenol (**86**) và 4-methyl-phenol (**87**) từ các chủng vi tảo thuộc chi *Aurantiochytrium* [35].



Hình 1.10. Cấu trúc hoá học một số hợp chất khác từ chi *Aurantiochytrium*

1.2.3. Hoạt tính sinh học của chi *Aurantiochytrium*

1.2.3.1. Hoạt tính kháng khuẩn

Cao chiết thu được từ sinh khối vi tảo của chủng *Aurantiochytrium* đã được ghi nhận có khả năng kháng khuẩn. Kalidasan và cộng sự đã đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết từ *A. mangrovei* trên các vi khuẩn gây bệnh, bao gồm *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* và *Bacillus subtilis*. Kết quả cho thấy tất cả các cao chiết đều biểu hiện hoạt tính kháng khuẩn với mức độ khác nhau phụ thuộc dung môi chiết. Cạn chiết methanol tạo vòng ức chế trong khoảng $5,78 \pm 2,00$ mm đến $9,25 \pm 1,52$ mm. Hoạt tính kháng khuẩn của cạn chiết dầu ete cao hơn, với đường kính vòng ức chế đạt $6,34 \pm 1,12$ mm đến $13,00 \pm 2,00$ mm. Cạn chiết chloroform cho vòng ức chế từ $6,76 \pm 1,52$ đến $14,05 \pm 2,00$ mm, trong khi cạn chiết *n*-butanol thể hiện hoạt tính mạnh đối với một số chủng vi khuẩn, đặc biệt là *S. typhi* và *B. subtilis*, với vòng ức chế lần lượt đạt $14,75 \pm 2,08$ mm và $12,66 \pm 2,00$ mm [16].

1.2.3.2. Hoạt tính chống oxy hóa

Hoạt tính chống oxy hóa của các chủng thuộc chi *Aurantiochytrium* cũng đã được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm. Mokhtar và cộng sự đã đánh giá khả năng chống oxy hóa của cao chiết từ chủng *Aurantiochytrium* sp. SW1 thông qua các phép thử quét gốc tự do DPPH và FRAP. Kết quả cho thấy dầu chiết từ vi tảo có giá trị IC_{50} đối với hoạt tính quét gốc tự do DPPH và FRAP lần lượt đạt $0,89 \pm 0,01$ mg/mL và $26,77 \pm 1,52$ mg/mL ($p \leq 0,05$) [38]. Junwei và cộng sự đã nghiên cứu rằng khả năng chống oxy hóa của dầu vi tảo chủ yếu liên quan đến sự có mặt của các hợp chất như acid béo, phenolic, flavonoid, tocopherol, carotenoid, fucoxanthin và sterol [39]. Các nghiên cứu của Manikan và cộng sự (2015) cũng như Park và cộng sự cho thấy

Aurantiochytrium sp. chứa nhiều hợp chất chống oxy hóa quan trọng như phenolic, carotenoid và các sắc tố sinh học khác [40, 41]. Ngoài ra, Reboleira và cộng sự (2021) thông báo cao chiết *n*-hexane từ *Aurantiochytrium* có hoạt tính chống oxy hóa có ý nghĩa, thể hiện qua khả năng quét gốc tự do DPPH, khử sắt và khả năng ức chế quá trình peroxit hóa lipid (LPIP), với các giá trị IC₅₀ tương ứng là 0,025 (mg/L), 152,5 (mg/L) và 162,1(mg/L) [42]. Một nghiên cứu khác cho thấy cao chiết methanol của *A. mangrovei* biểu hiện tổng hoạt tính chống oxy hóa cao, đạt $80,92 \pm 2,10\%$. Ở nồng độ 500 µg/mL, khả năng loại bỏ gốc NO đạt $72,88 \pm 1,63\%$, trong khi ở nồng độ 25 µg/mL chỉ đạt $31,04 \pm 1,70\%$. Hoạt tính quét gốc hydro peroxide đạt $79,24 \pm 1,58\%$ ở nồng độ cao. Đáng chú ý, khả năng quét gốc tự do DPPH của chủng này cao hơn so với *Thraustochytrium* sp., đạt $88,24 \pm 1,64\%$. Hàm lượng phenol tổng số ở nồng độ 500 µg/mL đạt $84,79 \pm 1,65\%$ và giảm xuống $37,11 \pm 1,76\%$ ở nồng độ 25 µg/mL. Hoạt tính khử đạt $75,16 \pm 1,32\%$ ở 500 µg/mL nhưng giảm dần khi nồng độ giảm [16].

1.2.3.3. Hoạt tính kháng viêm

Các chủng thuộc chi *Aurantiochytrium* cũng được phát hiện có khả năng kháng viêm. Takahashi và cộng sự (2019) đã đánh giá hoạt tính kháng viêm của chủng *A. limacinum* 4W-1b (AL4W-1b). Kết quả cho thấy cao chiết AL4W-1b có tác dụng ức chế sự sản sinh oxit nitric (NO) trên dòng tế bào RAW264.7, đồng thời ức chế biểu hiện của các gen cytokine tiền viêm như yếu tố hoại tử khối u α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) và interleukin-6 (IL-6). Bên cạnh đó, cặn chiết AL4W-1b cũng làm giảm đáng kể mức sản sinh IL-1 β và IL-6. Đáng chú ý, chất ức chế NF- κ B BAY 11-7082 thể hiện tác dụng hiệp đồng khi kết hợp với tiền xử lý AL4W-1b trong việc ức chế sự sản sinh NO kích thích bởi LPS gây ra. Kết quả này cho thấy cặn chiết AL4W-1b có thể tác động không chỉ lên con đường tín hiệu NF- κ B mà còn ảnh hưởng đến các con đường viêm khác. Đây cũng là nghiên cứu đầu tiên mô tả hoạt tính kháng viêm và cơ chế tác động của cặn chiết AL4W-1b trên các tế bào đại thực bào RAW264.7 kích thích bởi LPS [43].

1.2.3.4. Hoạt tính chống ung thư

DHA - thành phần chủ yếu trong dầu của *Aurantiochytrium*, từ lâu đã được ghi nhận có khả năng ức chế sự phát triển của một số loại khối u ác tính [44]. Shakeri và cộng sự (2017) đã tiến hành sàng lọc 45 chủng *thraustochytrid* nhằm tìm kiếm nguồn dầu vi sinh vật có khả năng ức chế tế bào ung thư dạ dày. Trong số các chủng khảo sát,

một chủng có mã qe-4 (được định danh thuộc chi *Aurantiochytrium*) cho thấy hoạt tính gây độc tế bào đáng kể, với khoảng 45% tế bào ung thư dạ dày AGS bị ức chế bởi dầu chiết xuất từ sinh khối [44]. Sau khi tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy theo phương pháp Taguchi, chủng này đạt sinh khối 10,32 g/L và hàm lượng dầu 3,86 g/L, trong đó DHA đạt 1390 mg/L. Dầu giàu DHA khi được thử nghiệm trên dòng tế bào AGS thể hiện hiệu quả ức chế rõ rệt với giá trị $IC_{50} = 1,26$ mg/mL, tương đương với DHA tinh khiết được sử dụng làm đối chứng.

1.2.3.5. Hoạt tính tăng cường miễn dịch

Các chủng thuộc chi *Aurantiochytrium* còn được ghi nhận có khả năng điều hòa và tăng cường hệ miễn dịch, đặc biệt trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản. Khi bổ sung sinh khối *Aurantiochytrium* vào khẩu phần ăn, các đối tượng nuôi cho thấy sự cải thiện đáng kể về các chỉ số miễn dịch và sức đề kháng. Ví dụ, tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) nuôi ở điều kiện nhiệt độ thấp khi được bổ sung 1% bột *Aurantiochytrium* trong khẩu phần ăn đã biểu hiện các chỉ số miễn dịch cao hơn so với nhóm đối chứng [45]. Đáng chú ý, khi các nhóm tôm này được thử thách bằng virus đốm trắng (WSSV), nhóm được bổ sung *Aurantiochytrium* với tỷ lệ 3–4% trong khẩu phần ăn cho thấy tỷ lệ sống sót cao hơn đáng kể so với nhóm không bổ sung. Tương tự, trên cá rô phi sông Nile, việc bổ sung bột *Aurantiochytrium* vào thức ăn giúp cải thiện tăng trưởng trong điều kiện nhiệt độ thấp và làm tăng hàm lượng acid béo omega-3 trong cơ thịt, qua đó góp phần nâng cao sức khỏe và khả năng miễn dịch của cá [45]. Ngoài ra, việc bổ sung khoảng 2% *Aurantiochytrium* trong khẩu phần ăn của cá chẽm và tôm càng xanh cũng được báo cáo là làm tăng tỷ lệ sống, khả năng chống chịu stress và giá trị dinh dưỡng của sản phẩm [44, 46]. Các tác động tích cực này được cho là liên quan đến các acid béo omega-3 như DHA và EPA trong *Aurantiochytrium*, có khả năng điều hòa miễn dịch thông qua việc cạnh tranh với acid arachidonic trong màng tế bào, từ đó làm giảm phản ứng viêm quá mức và cải thiện chức năng miễn dịch [37].

1.2.3.6. Một số tác dụng sinh học khác

Aurantiochytrium là nhóm vi sinh vật giàu lipid, nổi bật nhờ khả năng tích lũy hàm lượng cao DHA trong các lipid trung tính và phospholipid. Trong công nghiệp, dầu DHA từ *Aurantiochytrium*, đặc biệt từ *A. limacinum* SR21, được khai thác như nguồn thay thế bền vững cho dầu cá trong các sản phẩm thực phẩm, thực phẩm bổ

sung và ứng dụng y sinh [47]. Bên cạnh DHA, nhiều chủng *Aurantiochytrium* còn là nguồn squalene tự nhiên có giá trị cao cho dược mỹ phẩm và thực phẩm chức năng. Các quy trình tối ưu hóa dinh dưỡng có thể đồng thời nâng squalene và duy trì DHA [14]. Một số ví dụ điển hình gồm *Aurantiochytrium* sp. T66 (ATCC PRA-276) với định hướng đồng sản xuất DHA và squalene [48]; *Aurantiochytrium* sp. TWZ-97 đạt hàm lượng squalene cao lên tới 188.6 mg/L [49]; và *A. mangrovei* cho thấy squalene tăng đáng kể khi điều chỉnh nguồn nitơ và điều kiện nuôi [50]. Ngoài ra, nhiều chủng trong chi này còn sinh tổng hợp carotenoid thiên nhiên (như β -carotene, canthaxanthin và trong một số trường hợp/điều kiện là astaxanthin). Các nghiên cứu gần đây cho thấy có thể tăng carotenoid thông qua điều chỉnh môi trường hoặc can thiệp chuyển hóa mà không làm giảm tích lũy DHA, tạo cơ sở cho sản phẩm kép vừa giàu omega-3 vừa giàu chất chống oxy hóa dùng trong thực phẩm, thức ăn chăn nuôi hoặc phụ gia tạo màu tự nhiên [51-53].

Trong nuôi trồng thủy sản, sinh khối hoặc dầu *Aurantiochytrium* thường được sử dụng để làm giàu DHA cho thức ăn sống hoặc bổ sung trực tiếp vào khẩu phần nhằm cải thiện tăng trưởng, tỷ lệ sống và đáp ứng miễn dịch của ấu trùng và hậu ấu trùng thủy sản. Các nghiên cứu trên *A. limacinum* (ví dụ chủng BCC52274) cho tôm thẻ chân trắng cho thấy hiệu quả tích cực, trong khi *A. mangrovei* (FIKU008) được sử dụng để làm giàu *Artemia* phục vụ nuôi tôm xanh *Penaeus semisulcatus* [54-56]. Ngoài ra, nghiên cứu của Trần Thị Nhật Anh và cộng sự (2025) cho thấy *Aurantiochytrium* sp. chủng L3W có thể được nuôi cấy bằng nguồn nước thải thực phẩm dạng lỏng, với sinh khối thu được có thể sử dụng làm nguồn DHA và EPA cho nuôi trồng thủy sản [57].

Trong lĩnh vực năng lượng sinh học, *Aurantiochytrium* cũng được xem là nguồn nguyên liệu tiềm năng để sản xuất biodiesel nhờ hàm lượng lipid cao và thành phần acid béo phù hợp. Một số chủng như *Aurantiochytrium* sp. KRS101 đã được tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy (muối khoáng, pH và nguồn dinh dưỡng) nhằm tăng sinh khối và hàm lượng dầu. Các este methyl acid béo (FAME) thu được từ các chủng này đáp ứng các tiêu chuẩn kỹ thuật của biodiesel [58, 59]. Quá trình lên men *Aurantiochytrium* cũng có thể tận dụng các phụ phẩm nông nghiệp như thủy phân rong biển *Enteromorpha* để sản xuất dầu sinh học, vừa xử lý chất thải vừa tạo ra sản phẩm có giá trị [60]. Một số chủng đã được biến đổi gene nhằm tăng hiệu suất DHA, hướng đến sản

xuất công nghiệp quy mô lớn [61]. Ngoài ra, do chứa nhiều polysaccharide sunfat (từ môi trường nuôi cấy), sinh khối *Aurantiochytrium* có thể dùng để chiết xuất các chất có hoạt tính kháng đông, tăng miễn dịch phục vụ y sinh [60]. Trong tương lai, công nghệ nuôi cấy *Aurantiochytrium* hứa hẹn cung cấp giải pháp bền vững để sản xuất hàng loạt các hợp chất sinh học (omega-3, chất chống oxy hóa, vitamin) phục vụ cho nhiều ngành công nghiệp.

1.3. Các nghiên cứu trong nước liên quan đến hai chủng vi tảo biển *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 và *Aurantiochytrium* sp. SC145

Trong những năm gần đây, các nghiên cứu về vi tảo dị dưỡng biển thuộc chi *Thraustochytrium* và *Aurantiochytrium* tại Việt Nam, đặc biệt ở khu vực quần đảo Trường Sa, đã bắt đầu thu hút sự quan tâm của các nhà khoa học. Các công trình nghiên cứu chủ yếu tập trung vào việc phân lập, định danh chủng vi tảo, khảo sát đặc điểm sinh trưởng, khả năng tích lũy lipid cũng như phân tích thành phần một số hợp chất tự nhiên. Những kết quả ban đầu cho thấy các vi tảo thuộc hai chi này là nguồn tài nguyên sinh học có giá trị, có khả năng cung cấp các acid béo không no đa nối đôi (PUFAs), carotenoid và nhiều hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học quan trọng. Tuy nhiên, các nghiên cứu liên quan đến hai chủng vi tảo biển *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 và *Aurantiochytrium* sp. SC145 mới chỉ được triển khai trong những năm gần đây và vẫn còn hạn chế về phạm vi cũng như nội dung nghiên cứu.

Hoàng Thị Minh Hiền và cộng sự (2022) đã công bố kết quả phân lập, định danh và xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp cho chủng *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 được phân lập từ vùng biển đảo Trường Sa, Việt Nam vào năm 2021. Kết quả cho thấy điều kiện nuôi cấy tối ưu cho sự phát triển của chủng này trong bình nuôi cấy là môi trường M1 bổ sung 3% glucose và 1% cao nấm men, ở nhiệt độ từ 25–28°C [62]. Tuy nhiên, nghiên cứu này chủ yếu tập trung vào đặc điểm sinh trưởng và tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy, trong khi các nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của chủng *T. pachydermum* TSL10 vẫn chưa được thực hiện. Trong khi đó, Hoàng Thị Minh Hiền và cộng sự (2022) đã phân lập một chủng *Aurantiochytrium* từ khu vực đảo Sơn Ca, Việt Nam, đồng thời tiến hành tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy và xác định thành phần dinh dưỡng của chủng này. Nghiên cứu cũng thực hiện chiết xuất các acid béo không no đa nối đôi (PUFA) ở dạng acid béo tự do (FFA) và dạng alkyl este (FAAE), cũng như đánh giá hoạt tính

chống oxy hóa và khả năng bảo vệ thần kinh của các hợp chất này. Kết quả cho thấy các PUFA thu được từ *Aurantiochytrium* sp. SC145 có tiềm năng ứng dụng trong nghiên cứu và phát triển các tác nhân điều trị đối với các rối loạn thoái hóa thần kinh [62].

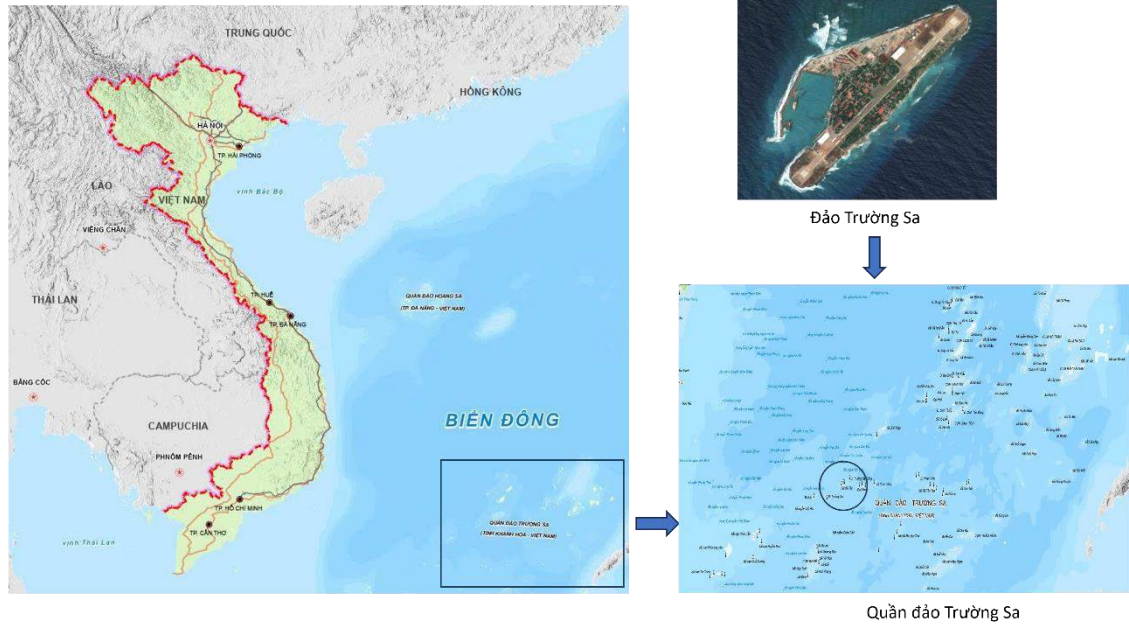
Mặc dù các nghiên cứu trong nước đã bước đầu cung cấp những thông tin về đặc điểm sinh trưởng, khả năng tích lũy lipid và tiềm năng ứng dụng của hai chủng vi tảo biển *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 và *Aurantiochytrium* sp. SC145, các dữ liệu hiện có vẫn chủ yếu tập trung vào tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy và phân tích thành phần dinh dưỡng. Cho đến nay, các nghiên cứu chuyên sâu về thành phần hóa học, phân lập và định danh các hợp chất thứ cấp cũng như đánh giá toàn diện các hoạt tính sinh học của hai chủng này vẫn còn hạn chế. Điều này cho thấy sự cần thiết của các nghiên cứu tiếp theo nhằm làm rõ tiềm năng sinh học cũng như giá trị ứng dụng của các chủng vi tảo biển này trong các lĩnh vực công nghệ sinh học, dược phẩm và thực phẩm chức năng.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

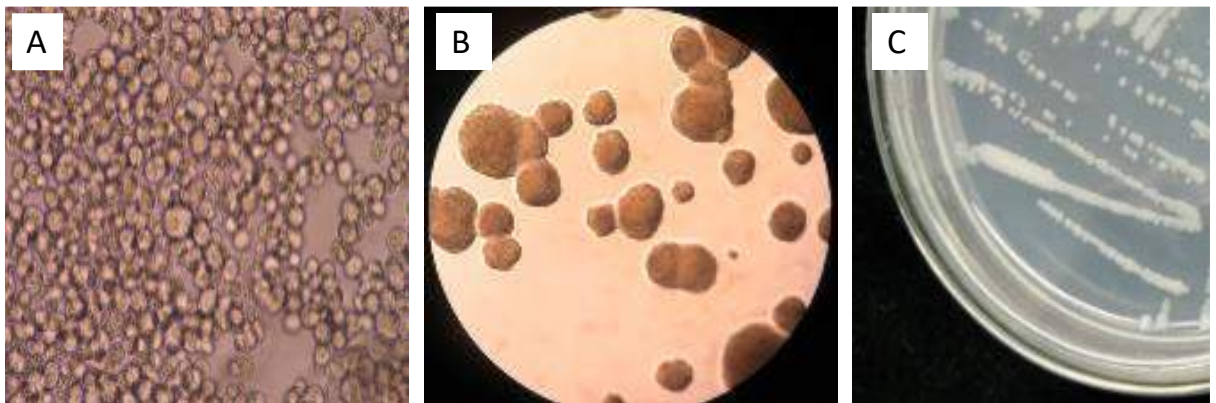
2.1.1. Chủng vi tảo *Thraustochytrium pachydermum* TSL10

Chủng vi tảo biển *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 được phân lập từ mẫu nước biển thu tại đảo Trường Sa (quần đảo Trường Sa, tỉnh Khánh Hòa) vào ngày 26/05/2021 tại tọa độ 08°38'30"N, 111°55'55"E.



62

(Nguồn: dữ liệu của Trung tâm Hạ tầng dữ liệu không gian địa lý, Cục Đo đạc, Bản đồ và Thông tin địa lý Việt Nam (bandovn.vn) và ảnh vệ tinh Google Earth.)

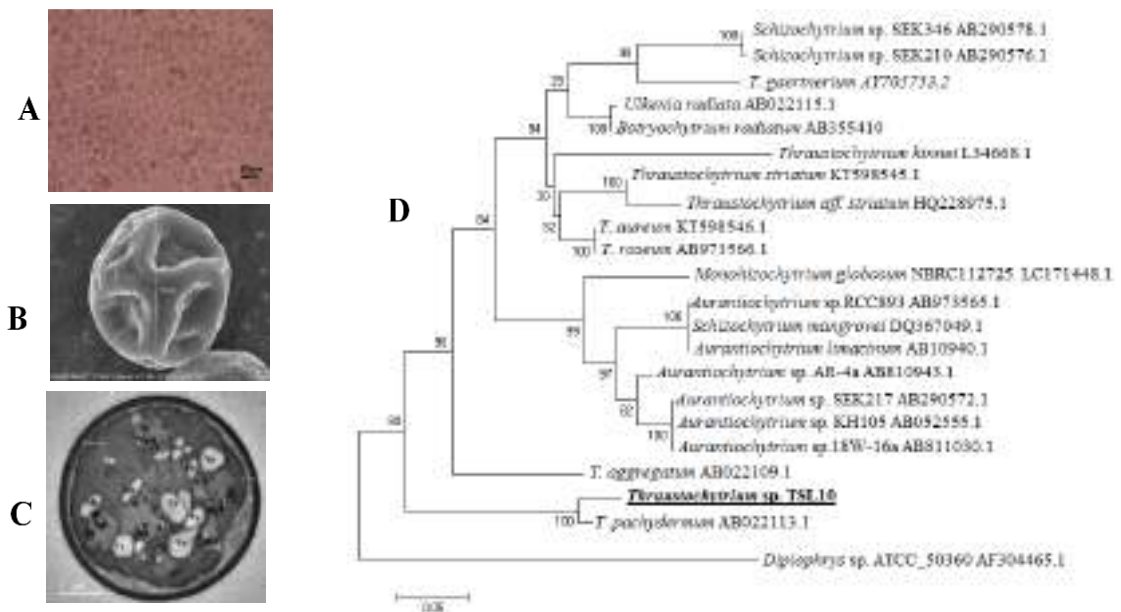


Hình 2.1. Hình ảnh vi tảo biển *Thraustochytrium* sp. TSL10

(A): Ảnh tế bào dưới kính hiển vi (độ phóng đại 1200 X), (B): Ảnh khuẩn lạc dưới kính hiển vi (độ phóng đại 100 X), (C): Hình ảnh đĩa khuẩn lạc

Chủng *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 được phân lập, định danh và nuôi cấy bởi GS. Đặng Diễm Hồng, Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và

Công nghệ Việt Nam [6]. Về hình thái, chủng có màu vàng đỏ đặc trưng, không trơn bóng, các tế bào đơn lẻ, không liên kết với nhau, chứa mạng lưới nội chất và sinh sản bằng bào tử [63]. Khi so sánh trình tự gen 18S rRNA, mẫu TSL10 có độ tương đồng đạt 99,1% với loài *Thraustochytrium pachydermum* (Hình 2.2). Trình tự đoạn gen 18S rRNA của chủng TSL10 đã được cấp mã số trên Genbank tương ứng là OL721615.

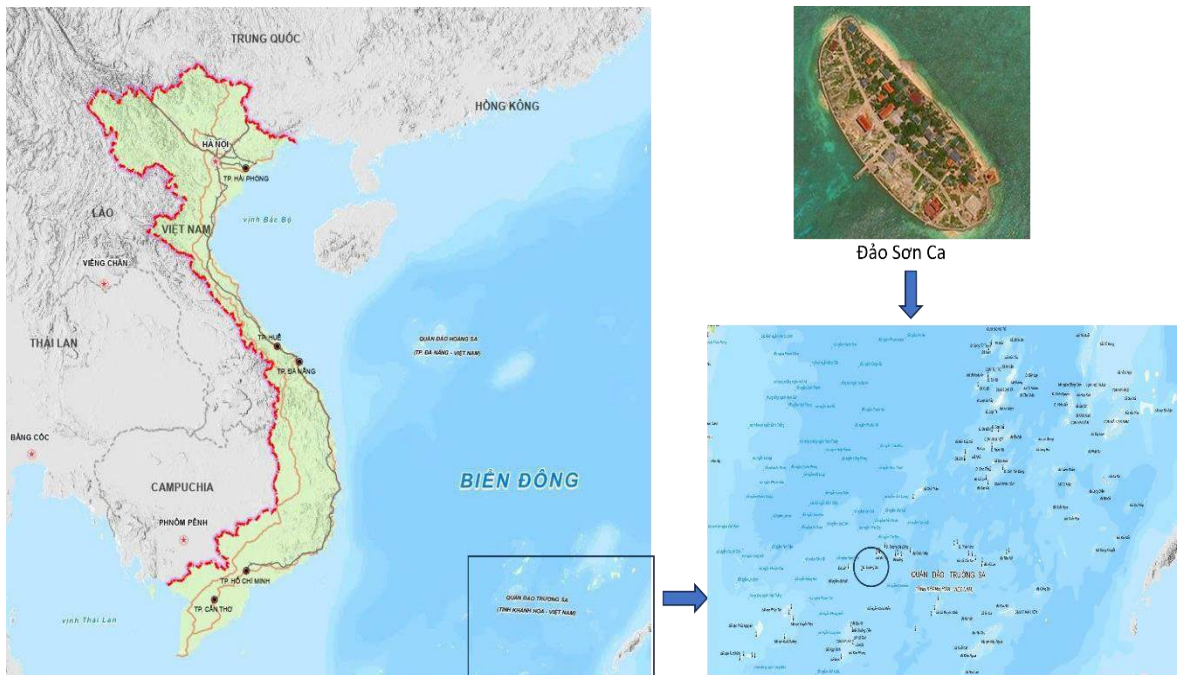


Hình 2.2. Hình thái tế bào và cây phân loại chủng của *Thraustochytrium* sp. TSL10 (A), kính hiển vi điện tử quét (SEM) (B), kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) với độ phóng đại 20.000X (C), cây phát sinh chủng loại của mẫu TSL10 với chi *Thraustochytrium* dựa trên trình tự gen 18S rRNA (D). Nu: Nucleus, Va: Vacuole, L: Lipid, Mi: Mitochondria.

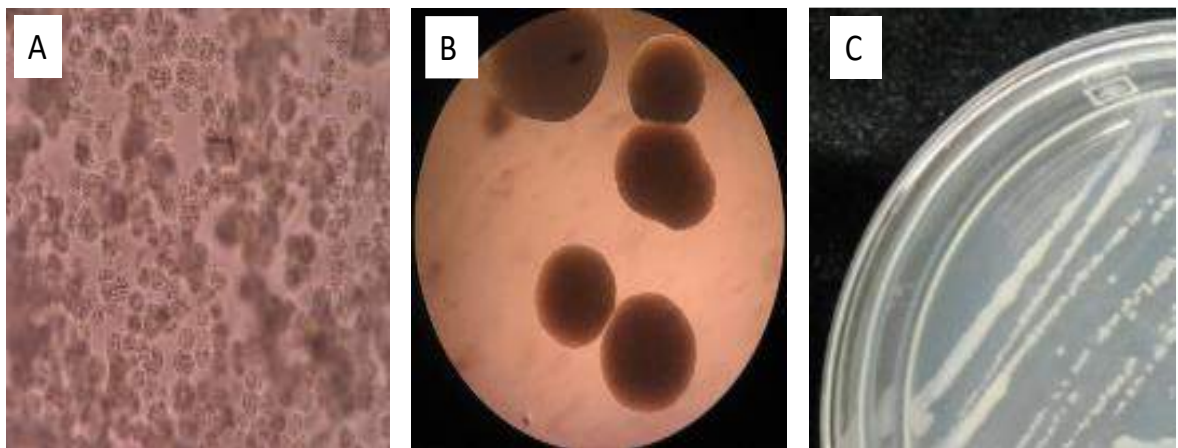
2.1.2. Chủng vi tảo *Aurantiochytrium* sp. SC145

Chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145 được phân lập từ mẫu nước biển thu tại đảo Sơn Ca (quần đảo Trường Sa, tỉnh Khánh Hòa) trong thời gian ngày 05 tháng 6 năm 2021 tại tọa độ 10°22'42"N, 114°28'33"E. Chủng SC145 được định danh thuộc về loài *Aurantiochytrium* sp. SC145 bởi GS. Đặng Diễm Hồng, Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam [62]. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của chủng SC145 có màu vàng đỏ đặc trưng, không trơn bóng. So sánh trình tự gen 18S rRNA, mẫu SC145 thuộc về chủng *Aurantiochytrium* sp. KH105 với độ tương đồng đạt 99,4% so với chủng *Aurantiochytrium* sp. 18W-16a (AB811030.1)

(Hình 2.4) [62]. Trình tự đoạn gen 18S rRNA của chủng SC145 đã được cấp mã số trên Genbank tương ứng là ON597428.

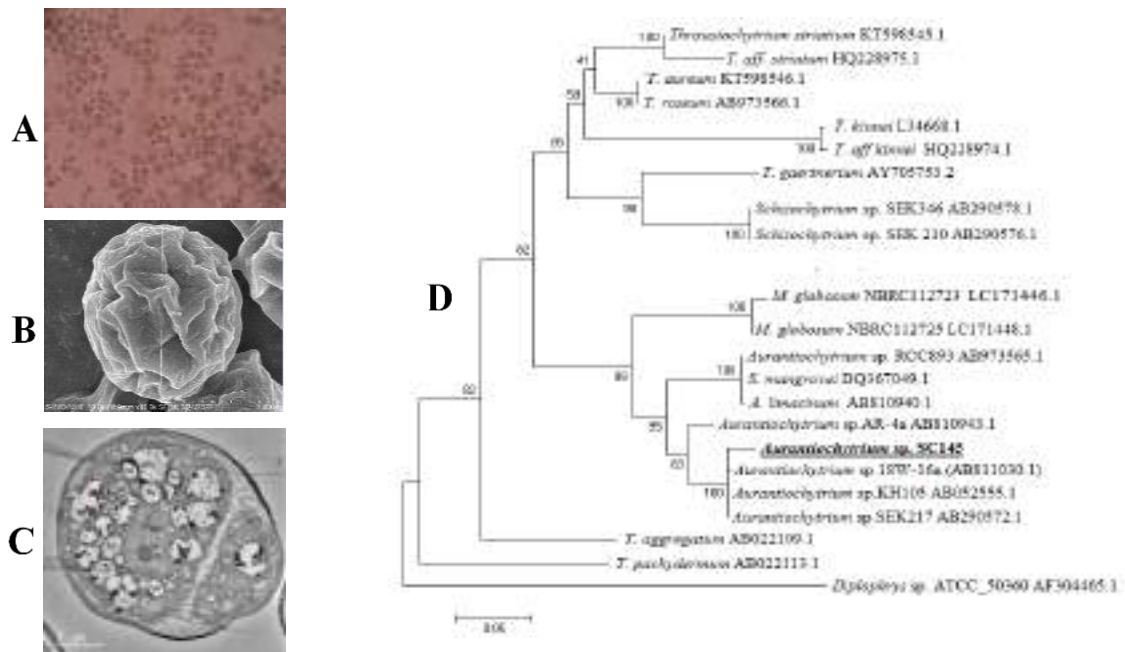


(Nguồn: dữ liệu của Trung tâm Hạ tầng dữ liệu không gian địa lý, Cục Đo đạc, Bản đồ và Thông tin địa lý Việt Nam (bandovn.vn) và ảnh vệ tinh Google Earth.)



Hình 2.3. Hình ảnh vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145

(A): Ảnh tế bào dưới kính hiển vi (độ phóng đại 1200 X), (B): Ảnh khuẩn lạc dưới kính hiển vi (độ phóng đại 100 X), (C): Hình ảnh đĩa khuẩn lạc



Hình 2.4. Hình thái tế bào và cây phân loại chủng của *Aurantiochytrium* sp. SC145 (A) Chụp dưới kính hiển vi quang học kính hiển vi điện tử quét (SEM) (B), kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) với độ phóng đại 20.000X (C), cây phát sinh chủng loại của mẫu SC145 của chi *Aurantiochytrium*, dựa trên trình tự gen 18S rRNA (D). Nu: Nucleus, Va: Vacuole, L: Lipid, Mi: Mitochondria

2.2. Vật liệu và thiết bị nghiên cứu

2.2.1. Vật liệu và hóa chất nghiên cứu

- Các hóa chất cơ bản khác: streptomycin, cycloheximide, các chủng vi khuẩn Gram (+): *Enterococcus faecalis* ATCC299212, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC14579; chủng vi khuẩn Gram (-): *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella enterica* ATCC13076 và chủng nấm men: *Candida albicans* ATCC10231.

- 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 (Mitsubishi 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

2.3.1. Phương pháp nuôi sinh khối

2.3.1.1. Phương pháp nuôi sinh khối chủng vi tảo biển *Thraustochytrium pachydermum* TSL10

Chủng vi tảo biển *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 được nuôi cấy trong thiết bị lên men dung tích 30 L với môi trường chứa 9% glucose và 1% cao nấm men công nghiệp và độ mặn 3%. Trong suốt quá trình lên men, hàm lượng oxy hòa tan được duy trì trên 10% bằng cách điều chỉnh tốc độ khuấy trong khoảng 300-400 vòng/phút, ở nhiệt độ 32-37°C. Sau 120 giờ nuôi cấy, sinh khối được thu hồi bằng phương pháp lọc, sấy khô và bảo quản để sử dụng cho nghiên cứu phân lập hợp chất và đánh giá hoạt tính sinh học [64].

2.3.1.2. Phương pháp nuôi sinh khối chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145

Chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145 được nuôi cấy trong thiết bị lên men dung tích 30 L với môi trường chứa 9% glucose, 1% cao nấm men công nghiệp và độ mặn 3%. Quá trình nuôi cấy được thực hiện ở nhiệt độ 32-37°C trong

120 giờ. Sau khi kết thúc lên men, sinh khối được thu hồi bằng ly tâm ở 4.000 vòng/phút trong 10 phút, rửa ba lần bằng nước cất vô trùng, sấy ở 50°C đến khối lượng không đổi và bảo quản trong bình hút ẩm để phục vụ các nghiên cứu tiếp theo [64].

2.3.2. 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 vi tảo biển như sau:

2.3.2.1. 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.

2.3.2.2. 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. Pha tĩnh là silica gel pha thường 0,040-0,063 mm (240-430 mesh), pha đảo RP C-18 (12 nm, YMC S – 150 μ m, Karasuma-Gojo) và Sephadex LH-20. Nhựa trao đổi ion Diaion HP-20 (Misubishi Chem. Ind. Co., Ltd.). Pha động là các dung môi hữu cơ như *n*-hexane, methanol, dichloromethane...[65, 66]

2.3.2.3. 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) tại phòng Nghiên cứu cấu trúc, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

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

2.3.3.1. 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.

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

Dựa trên phổ khối phân giải cao xác định được các píc 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.

2.3.3.3. 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;

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: CDCl_3 , CD_3OD ,... . 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 NMR xác định được cấu trúc phẳng của hợp chất cũng như xác định được cấu trúc lập thể tương đối/tuyệt đối của hợp chất cần xác định cấu trúc.

2.3.4. Phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được đánh giá theo phương pháp pha loãng đa nồng độ trong môi trường lỏng (microdilution assay) theo Hadacek và Greger (2000) [67]. Hoạt tính kháng vi sinh vật được biểu thị thông qua giá trị MIC (Minimum Inhibitory Concentration - nồng độ ức chế tối thiểu) là nồng độ thấp nhất của chất thử có khả năng ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi sinh vật. Các mẫu thử được hòa tan trong DMSO và pha loãng thành dãy nồng độ giảm dần gồm 256; 128; 64; 32; 16; 8; 4 và 2 $\mu\text{g/mL}$. Mỗi thí nghiệm được thực hiện với số thí nghiệm lặp lại $N=3$. Dung dịch vi khuẩn hoặc nấm được chuẩn bị với mật độ 2×10^4 CFU/mL. Lấy 5,12 μL dung dịch mẫu thử có nồng độ 10mg/ml vào hàng đầu tiên có chứa 100 μL môi trường LB rồi pha loãng nối tiếp giảm $\frac{1}{2}$ nồng độ vào các hàng có chứa 50 μL cho đến khi đạt được nồng độ là 2 $\mu\text{g/mL}$, thêm 50 μL dung dịch vi khuẩn và nấm ở nồng độ 2×10^4 CFU/mL, ủ ở 37°C . Sau 24h, sự phát triển của vi sinh vật được đánh giá thông qua quan sát trực quan và đo mật độ quang. Giá trị MIC được xác định chính xác dựa trên số liệu đo độ đục tế bào bằng máy quang phổ Bioteck và phần mềm Raw data. Chất đối chứng là kháng sinh Streptomycin cho các chủng vi khuẩn, cyclohexamide cho nấm.

Các vi khuẩn Gram (+): *Enterococcus faecalis* ATCC299212, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 và *Bacillus cereus* ATCC14579.

Các vi khuẩn Gram (-): *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 và *Salmonella enterica* ATCC13076.

Nấm men: *Candida albicans* ATCC10231.

2.4. Phân lập các hợp chất

2.4.1. Phân lập các hợp chất từ chủng vi tảo *Thraustochytrium pachydermum* TSL10

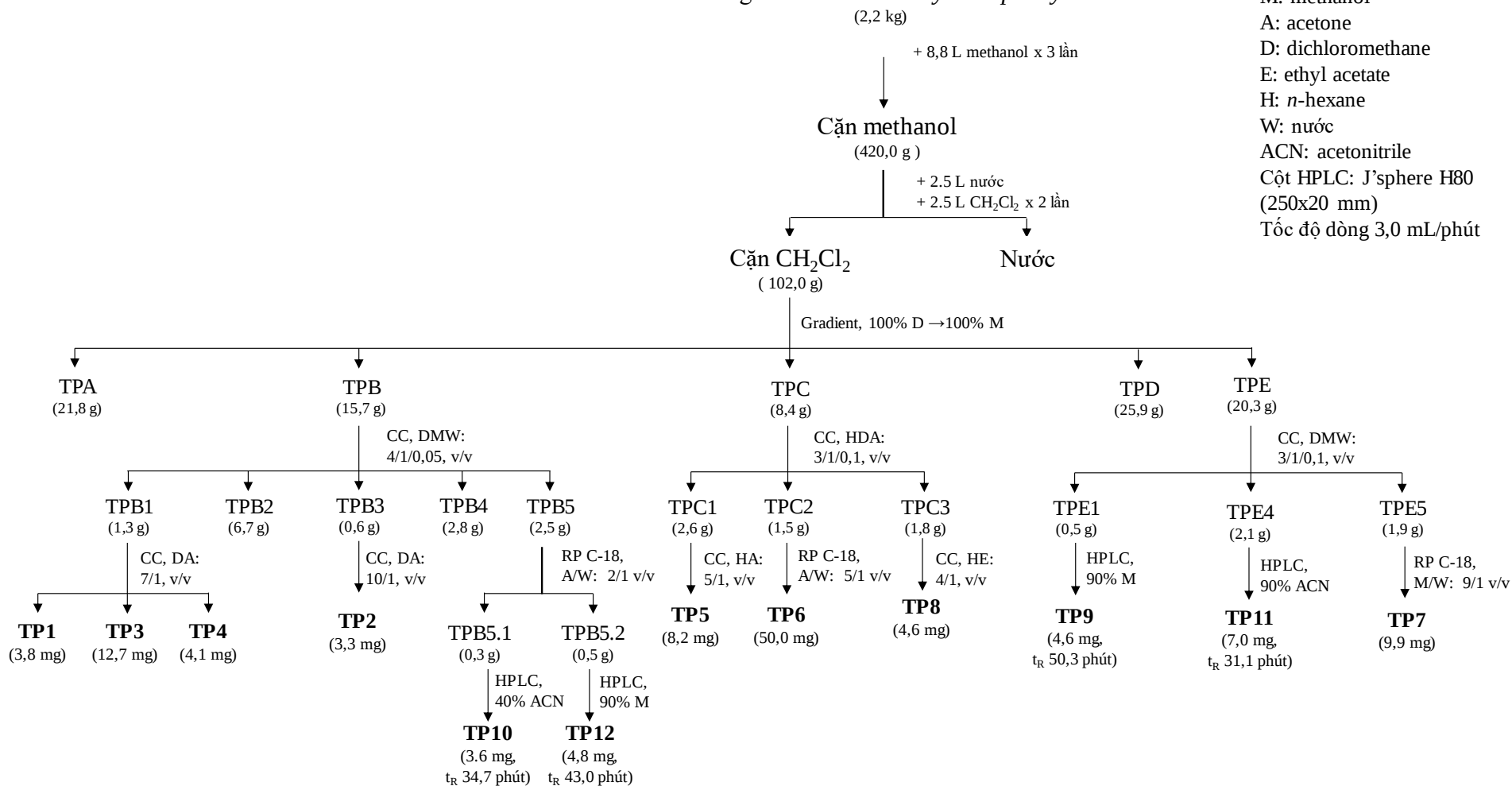
Mẫu sinh khối vi tảo khô - *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 (2,2 kg) ngâm chiết siêu âm methanol (3 lần $\times$ 8,8 L). Cát loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 420,0 g cặn chiết methanol. Cặn chiết này sau đó được phân bố đều trong H₂O (2,5 L) và chiết phân lớp với CH₂Cl₂ (2,5 L $\times$ 2 lần), cát loại dung môi được cặn CH₂Cl₂ (TPD, 102,0 g).

Cặn CH₂Cl₂ được sắc ký trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải CH₂Cl₂:MeOH (gradient 100% CH₂Cl₂ $\Rightarrow$ 100% MeOH, v/v) thu được 5 phân đoạn TPA - TPE. Phân đoạn TPB (15,7 g) được phân tách trên cột silica gel và rửa giải với hệ dung môi CH₂Cl₂:MeOH:H₂O (4:1:0,05, v/v/v) thu được năm phân đoạn TPB1 - TPB5. Phân đoạn TPB1 (1,3 g) phân tách tiếp trên cột silica gel sử dụng hệ dung môi CH₂Cl₂:acetone (7:1, v/v), thu được ba hợp chất **TP1** (3,8 mg), **TP3** (12,7 mg) và **TP4** (4,1 mg). Phân đoạn TPB3 được phân tách trên cột silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi CH₂Cl₂:acetone (10:1, v/v), thu được hợp chất **TP2** (3,3 mg). Phân đoạn TPB5 được phân tách trên cột RP-18 bằng hệ dung môi acetone:H₂O (2:1, v/v), thu được hai phân đoạn TPB5.1 (0,3 g) và TPB5.2 (0,5 g). Phân đoạn TPB5.1 được phân tách trên hệ thống HPLC và rửa giải bằng hệ dung môi 40% acetonitril trong nước, thu được hợp chất **TP10** (3,6 mg, t_R 34,7 phút). Hợp chất **TP12** (4,8 mg, t_R 43,0 phút) cũng thu được khi tinh chế lại phân đoạn TPB5.2 trên HPLC với hệ dung môi 90% methanol trong nước.

Phân đoạn TPC được phân tách trên cột silica gel và sử dụng hệ dung môi *n*-hexane:CH₂Cl₂:acetone (3:1:0,1, v/v/v), thu được ba phân đoạn TPC1 (2,6 g), TPC2 (1,5 g) và TPC3 (1,8 g). Phân đoạn TPC1 được phân tách trên cột silica gel rửa giải bằng hệ dung môi *n*-hexane:acetone (5:1, v/v), thu được hợp chất **TP5** (8,2 mg). Phân đoạn TPC2 được phân tách bằng cột RP-18 với hệ dung môi acetone:H₂O (5:1, v/v) thu được hợp chất là **TP6** (50,0 mg). Phân đoạn TPC3 được phân tách bằng cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane:EtOAc (4:1, v/v) thu được hợp chất là **TP8** (4,6 mg).

Phân đoạn TPE được phân tách trên cột silica gel cùng với hệ dung môi $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (3:1:0,1, v/v/v) rửa giải, thu được năm phân đoạn TPE1 (0,5 g), TPE2 (1,8g), TPE3 (2,0 g), TPE4 (2,1 g) và TPE5 (1,9 g). Phân đoạn TPE1 tiếp tục được phân tách trên hệ thống HPLC, pha động 90% MeOH trong nước thu được hợp chất **TP9** (4,6 mg, t_R 50,3 phút). Phân đoạn TPE4 được phân tách trên hệ thống HPLC rửa giải bằng hệ dung môi 90% acetonitril trong nước, thu được hợp chất **TP11** (7,0 mg, t_R 31,1 phút). Phân đoạn TPE5 được phân tách trên cột RP-18 bằng hệ dung môi MeOH:H₂O (9:1, v/v), thu được hợp chất là **TP7** (9,9 mg).

Sinh khối khô chủng vi tảo *Thraustochytrium pachydermum* TSL10



Hình 2.5. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ sinh khối khô chủng vi tảo *T. pachydermum* TSL10

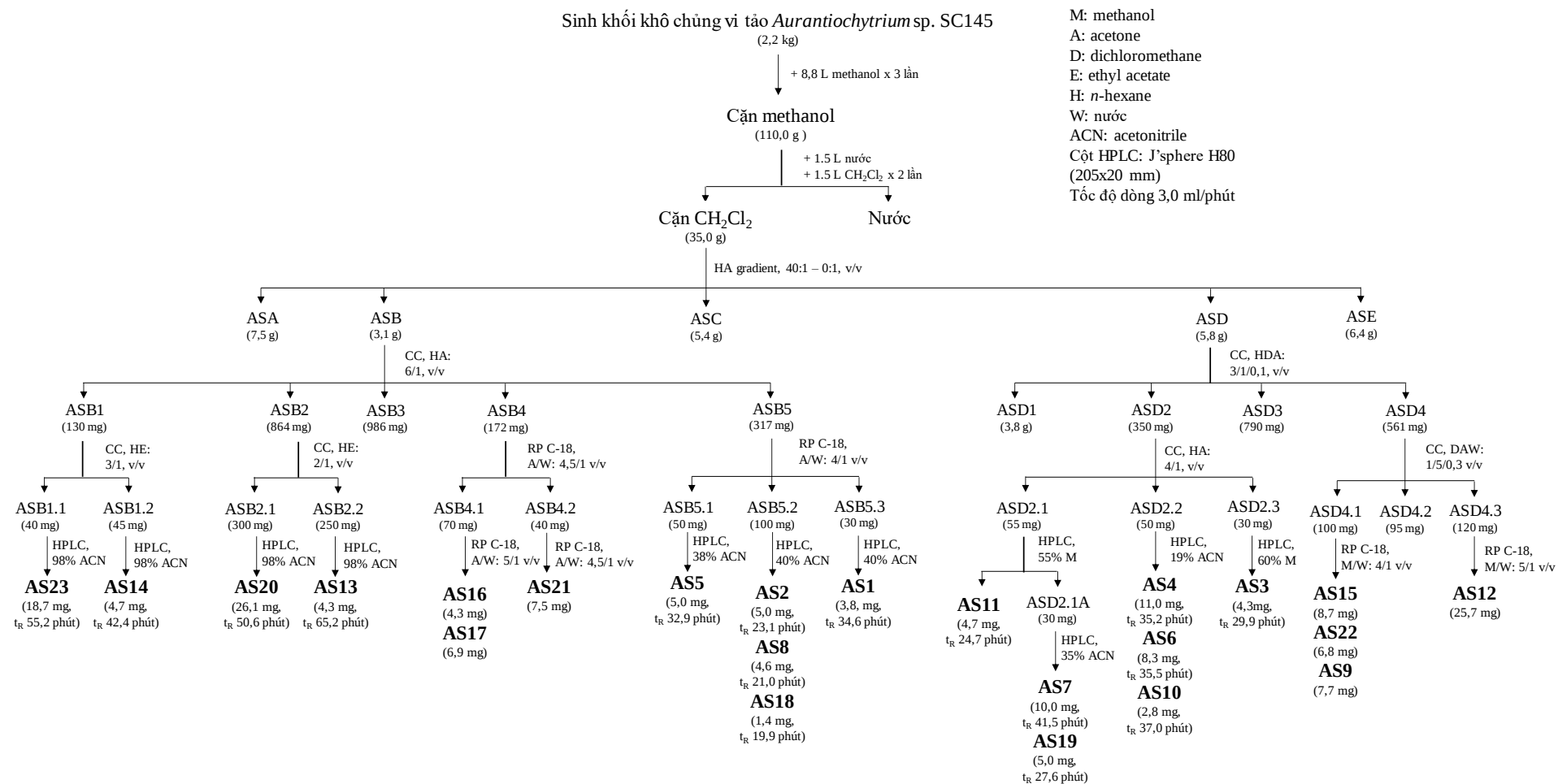
2.4.2. Phân lập các hợp chất từ chủng vi tảo *Aurantiochytrium* sp. SC145

Sinh khối chủng vi tảo biển khô *Aurantiochytrium* sp. SC145 (2,2 kg) được chiết siêu âm bằng methanol (3 lần $\times$ 8,8 L). Cát loại dung môi dưới áp suất giảm thu được 110,0 g cặn methanol. Cặn này sau đó được phân bố đều trong H₂O (1,5 L) và chiết phân lớp với dichloromethane (1,5 L $\times$ 2 lần), cát loại dung môi được cặn dichloromethane (AS, 35,0 g).

Cặn chiết AS được phân tách trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexane:acetone theo các tỉ lệ (40:1, 20:1, 10:1, 5:1, 2,5:1, 1:1, v/v) thu được 5 phân đoạn ASA (7,5 g), ASB (3,1 g), ASC (5,4 g), ASD (5,8 g) và ASE (6,4 g).

Phân đoạn ASB được phân tách trên cột silica gel và rửa giải với hệ dung môi *n*-hexane:acetone (6:1, v/v) thu được 5 phân đoạn ASB1 (130 mg), ASB2 (864 mg), ASB3 (986 mg), ASB4 (172 mg) và ASB5 (317 mg). Phân đoạn ASB1 tiếp tục phân tách trên cột silica gel sử dụng hệ dung môi *n*-hexane:EtOAc (3:1, v/v) thu được hai phân đoạn ASB1.1 (40 mg) và ASB1.2 (45 mg). Phân đoạn ASB1.1 phân tách trên hệ thống HPLC, sử dụng pha động 98% acetonitril trong nước, thu được hợp chất **AS23** (18,7 mg, t_R 55,2 phút). Phân đoạn ASB1.2 được phân tách trên hệ thống HPLC, sử dụng pha động 98% acetonitril trong nước, thu được hợp chất **AS14** (4,7 mg, t_R 42,4 phút). Phân đoạn ASB2 được phân tách trên cột silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi *n*-hexane:EtOAc (2:1, v/v) thu được hai phân đoạn ASB2.1 (300 mg) và ASB2.2 (250 mg). Phân đoạn ASB2.1 phân tách trên hệ thống HPLC, sử dụng pha động 98% acetonitril trong nước, thu được hợp chất **AS20** (26,1 mg, t_R 50,6 phút). Phân đoạn ASB2.2 được phân tách trên hệ thống HPLC, sử dụng pha động 98% acetonitril trong nước, thu được hợp chất **AS13** (4,3 mg, t_R 65,2 phút).

Phân đoạn ASB4 được phân tách trên cột RP-18, sử dụng hệ dung môi acetone:H₂O (4,5:1, v/v), thu được hai phân đoạn ASB4.1 (70 mg) và ASB4.2 (40 mg). Phân đoạn ASB4.1 được phân tách bằng cột RP-18, sử dụng hệ dung môi acetone:H₂O (5:1, v/v) thu được hai hợp chất **AS16** (4,3 mg) và **AS17** (6,9 mg). Phân đoạn ASB4.2 tiếp tục được phân tách bằng cột RP-18 sử dụng hệ dung môi rửa giải acetone:H₂O (4,5:1, v/v) thu được hợp chất **AS21** (7,5 mg).



Hình 2.6. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ sinh khối khô chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145

Phân đoạn ASB5 được phân tách trên cột RP-18 cùng với hệ dung môi MeOH:H₂O (4:1, v/v), thu được ba phân đoạn ASB5.1 (50 mg), ASB5.2 (100 mg) và ASB5.3 (30 mg). Phân đoạn ASB5.1 được phân tách trên hệ thống HPLC, sử dụng pha động 38% acetonitril trong nước thu được hợp chất **AS5** (5,0 mg, *t_R* 32,9 phút). Phân đoạn ASB5.2 được phân tách trên hệ thống HPLC, sử dụng pha động 40% acetonitril trong nước, thu được ba hợp chất **AS18** (1,4 mg, *t_R* 19,9 phút), **AS8** (4,6 mg, *t_R* 21,0 phút) và **AS2** (5,0 mg, *t_R* 23,1 phút). Phân đoạn ASB5.3 được phân tách trên hệ thống HPLC rửa giải bằng hệ dung môi 40% acetonitril trong nước, thu được hợp chất **AS1** (3,8 mg, *t_R* 34,6 phút).

Phân đoạn ASD được phân tách trên cột RP-18 với hệ dung môi rửa giải acetone:H₂O (1:1, v/v) thu được bốn phân đoạn ASD1 (3,8 g), ASD2 (350 mg), ASD3 (790 mg) và ASD4 (561 mg). Phân đoạn ASD2 được phân tách trên cột silica gel và sử dụng hệ dung môi *n*-hexane:acetone (4:1, v/v), thu được ba phân đoạn ASD2.1 (35 mg), ASD2.2 (50 mg) và ASD2.3 (30 mg). Phân đoạn ASD2.1 tiếp tục được phân tách trên hệ thống HPLC, pha động 55% MeOH trong nước thu được hợp chất **AS11** (4,7 mg, *t_R* 24,7 phút) và 1 phân đoạn ASD2.1A (30 mg). Phân đoạn ASD2.1A được phân tách trên hệ thống HPLC, sử dụng pha động 35% acetonitril trong nước, thu được hợp chất **AS19** (5,0 mg, *t_R* 27,6 phút) và **AS7** (10,0 mg, *t_R* 41,5 phút). Phân đoạn ASD2.2 được phân tách trên hệ thống HPLC và rửa giải bằng hệ dung môi 19% acetonitril trong nước thu được ba hợp chất **AS4** (11,0 mg, *t_R* 35,2 phút), **AS6** (8,3 mg, *t_R* 35,5 phút) và **AS10** (2,8 mg, *t_R* 37,0 phút). Phân đoạn ASD2.3 được phân tách trên hệ thống HPLC, sử dụng pha động 60% MeOH thu được hợp chất **AS3** (4,3 mg, *t_R* 29,9 phút). Phân đoạn ASD4 được phân tách trên cột silica gel sử dụng hệ dung môi dichloromethane:acetone:H₂O (1:5:0.3, v/v/v) thu được ba phân đoạn ASD4.1 (100 mg), ASD4.2 (95 mg) và ASD4.3 (120 mg). Phân đoạn ASD4.1 được phân tách trên cột RP-18 sử dụng hệ dung môi MeOH:H₂O (4:1, v/v) thu được ba hợp chất **AS15** (8,7 mg), **AS22** (6,8 mg) và **AS9** (7,7 mg). Phân đoạn ASD4.3 được phân tách trên cột RP-18 với hệ dung môi rửa giải MeOH:H₂O (5:1, v/v) thu được hợp chất **AS12** (25,7 mg).

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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

3.1.1. Thông số vật lý và dữ liệu phổ các hợp chất phân lập từ chủng vi tảo *T. pachydermum* TSL10

3.1.1.1. Hợp chất **TP1**: ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α ,9 α -triol (chất mới)

Chất bột màu trắng;

Công thức phân tử: C₂₈H₄₆O₃. Khối lượng phân tử: M = 430,7;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: +35,7 (c = 0,1, CHCl₃);

HR-ESI-MS m/z 431,3525 [M+H]⁺, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử ion [C₂₈H₄₇O₃]⁺, 431,3520;

Số liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR: xem bảng 3.1.

3.1.1.2. Hợp chất **TP2**: ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α -diol

Chất bột màu trắng;

Công thức phân tử: C₂₈H₄₆O₂, Khối lượng phân tử: M = 414,7;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: +56,0 (c = 0,1, CHCl₃);

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 225, 280 nm;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3445, 2917, 1731, 1677, 1463 cm⁻¹;

Số liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR: xem bảng 3.2.

3.1.1.3. Hợp chất **TP3**: cerevisterol

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: C₂₈H₄₆O₃. Khối lượng phân tử: M = 430,7;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -80,0 (c = 0,1, CHCl₃);

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3351, 2955, 1458, 1030 cm⁻¹;

HR-ESI-MS m/z 465,3132 [M+Cl]⁻, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử ion [C₂₈H₄₆O₃Cl]⁻, 465,3135;

Số liệu phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR: xem bảng 3.3

3.1.1.4. Hợp chất **TP4**: 5 α ,6 α -epoxy-(22E)-ergosta-8,22-diene-3 β ,7 α -diol

Chất bột màu trắng;

Công thức phân tử: C₂₈H₄₄O₃, Khối lượng phân tử: M = 428,7;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: +32,7 (c = 0,1, CHCl₃);

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 225, 280 nm;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3401, 2957, 1460, 1371, 1069, 968 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 429,3368 $[\text{M} + \text{H}]^+$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{O}_3]^+$, 429,3369;

Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.4.

3.1.1.5. Hợp chất **TP5**: *ergosterol*

Chất bột màu trắng;

Công thức phân tử: $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}$. Khối lượng phân tử: $M = 396,7$;

Độ quay cực $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: $+18,0$ ($c = 0,1$, CHCl_3);

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3672, 2985, 1393, 1066 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 397,3467 $[\text{M}+\text{H}]^+$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{O}]^+$, 397,3465;

Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.5.

3.1.1.6. Hợp chất **TP6**: *(22E,24R)-5 α ,8 α -epi-dioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol*

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$. Khối lượng phân tử: 428,7;

Độ quay cực $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: $+30,0$ ($c = 0,1$, CHCl_3);

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 220 nm;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3302, 2954, 1657, 1458, 1046 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 463,2974 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3\text{Cl}]^-$, 463,2984;

Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem **bảng 3.6**

3.1.1.7. Hợp chất **TP7**: *linoleic acid*

Chất dầu, không màu;

Công thức phân tử: $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$. Khối lượng phân tử: $M = 280,5$;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 34243, 2917, 1730, 1468 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 279.2330 $[\text{M}-\text{H}]^-$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_2]^-$, 279,2330;

Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem **bảng 3.7**.

3.1.1.8. Hợp chất **TP8**: *4-((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoyloxy)butanoic acid*

Chất dầu, không màu;

Công thức phân tử: $\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{O}_4$. Khối lượng phân tử: $M = 366,5$;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3442, 2932, 1731, 1463 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 389,2668 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{O}_4\text{Na}]^+$, 389,2662);

Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.8.

3.1.1.9. Hợp chất **TP9**: 1-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine

Chất dầu, không màu;

Công thức phân tử: $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{NO}_7\text{P}$. Khối lượng phân tử: $M = 477,6$;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3406, 2919, 1733, 1465, 1178 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 478,2935 $[\text{M}+\text{H}]^+$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{23}\text{H}_{45}\text{NO}_7\text{P}]^+$, 478,2928;

Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.9.

3.1.1.10. Hợp chất **TP10**: cibotiglycerol

Chất bột màu trắng;

Công thức phân tử: $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{O}_{11}\text{S}$. Khối lượng phân tử: $M = 580,7$;

Độ quay cực $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: +45,0 ($c = 0,1$, CHCl_3);

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3406, 2919, 1733, 1465, 1178 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 579.2844 $[\text{M}-\text{H}]^-$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{27}\text{H}_{47}\text{O}_{11}\text{S}]^-$, 579,2845;

Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.10.

3.1.1.11. Hợp chất **TP11**: gingerglycolipid B

Chất bột màu trắng;

Công thức phân tử: $\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{O}_{14}$. Khối lượng phân tử: $M = 678,8$;

Độ quay cực $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: +23,8 ($c = 0,1$, CHCl_3);

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 230, 295 nm;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3388, 2918, 1731, 1465, 748 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 701,3726 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{O}_{14}\text{Na}]^+$, 701,3719;

Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.11.

3.1.1.12. Hợp chất **TP12**: 6'-O-linoleylsucrose

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_{12}$. Khối lượng phân tử: $M = 604,7$;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: +38,7 ($c = 0,1$, CHCl_3);

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3428, 2919, 1733, 1465, 1265, 741 cm^{-1} ;

Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.12.

3.1.2. Thông số vật lý và dữ liệu phổ các hợp chất phân lập từ chủng vi tảo *Aurantiochytrium* sp. SC145

3.1.2.1. Hợp chất AS1: *N*-methoxymethyltryptophol (chất mới)

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_2$. Khối lượng phân tử: $M = 205,3$;

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 225, 280 nm;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3406, 2919, 2851, 1733, 1465, 1178 cm^{-1} ;

Phổ HR-ESI-MS m/z 228,0993 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_2\text{Na}]^+$, 228,0995;

Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.13.

3.1.2.2. Hợp chất AS2: (2R)-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl 2-hydroxy-3-phenylpropionate (chất mới)

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_4$. Khối lượng phân tử: $M = 286,3$;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: +30,5 ($c = 0,1$, CHCl_3)

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 210, 278 nm;

ECD (ACN) $\lambda_{\max}$ ($\Delta\epsilon$) 220 nm;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3440, 2917, 1731, 1633, 1515 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 285,1133 $[\text{M}-\text{H}]^-$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{O}_4]^-$, 285,1132;

Số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.14.

3.1.2.3. Hợp chất AS3: 3-hydroxy-4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$. Khối lượng phân tử: $M = 180,2$;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: +34,0 ($c = 0,1$, CHCl_3);

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 210, 278 nm;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3441, 2918, 1733, 1642, 1466 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 179,0713 $[\text{M}-\text{H}]^-$;

Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_3]^-$, 179,0714;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$: xem bảng 3.15.

3.1.2.4. Hợp chất **AS4**: 3-indoleacetic acid

Chất bột màu nâu nhạt;

Công thức phân tử: $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_2$. Khối lượng phân tử: $M = 175,2$;

UV (MeOH) λ_{max} 221, 276 nm;

IR (KBr) ν_{max} 3387, 2918, 2850, 1734, 1566, 1466 cm^{-1} ;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$: xem bảng 3.16

3.1.2.5. Hợp chất **AS5**: tryptophol

Chất bột màu nâu nhạt;

Công thức phân tử: $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}$. Khối lượng phân tử: $M = 161,2$;

UV (MeOH) λ_{max} 222, 281 nm;

IR (KBr) ν_{max} 3409, 2918, 1729, 1619, 1456, 1042 cm^{-1} ;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$: xem bảng 3.17.

3.1.2.6. Hợp chất **AS6**: indole-3-carbaldehyde

Chất bột màu nâu nhạt;

Công thức phân tử: $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$. Khối lượng phân tử: $M = 145,2$;

IR (KBr) ν_{max} 3168, 2916, 1729, 1632, 1444, 1243 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 146,0603 $[\text{M} + \text{H}]^+$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_9\text{H}_8\text{NO}]^+$, 146.0600;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$: xem bảng 3.18.

3.1.2.7. Hợp chất **AS7**: methyl indole-3-acetate

Chất bột màu nâu nhạt;

Công thức phân tử: $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}_2$. Khối lượng phân tử: $M = 189,2$;

UV (MeOH) λ_{max} 225, 280 nm;

IR (KBr) ν_{max} 3418, 2919, 1730, 1644, 1457, 741 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 190,0862 $[\text{M} + \text{H}]^+$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_2]^+$, 190.0863;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$: xem bảng 3.19.

3.1.2.8. Hợp chất **AS8**: (erythro)-2-hydroxy-3-methylpentanoic acid

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $C_6H_{12}O_3$. Khối lượng phân tử: $M = 132,2$;

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 220 nm;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3417, 2965, 2931, 1723, 1461, 1139 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 131,0715 $[M-H]^-$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[C_6H_{11}O_3]^-$, 131,0714;

Số liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.20.

3.1.2.9. Hợp chất **AS9**: 2-hydroxy-3-phenylpropanoic acid

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $C_9H_{10}O_3$. Khối lượng phân tử: $M = 166,2$;

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 220 nm;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -15,0 ($c = 0,1$, $CHCl_3$);

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3413, 2918, 1733, 1467, 736 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 165,0561 $[M-H]^-$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[C_9H_9O_3]^-$, 165,0557;

Số liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.21.

3.1.2.10. Hợp chất **AS10**: methyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $C_{10}H_{12}O_3$. Khối lượng phân tử: $M = 180,2$;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -6,0 ($c = 0,1$, $CHCl_3$);

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 212, 258 nm;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3409, 2918, 2850, 1732, 1467, 1178 cm^{-1} ;

Số liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.22.

3.1.2.11. Hợp chất **AS11**: tyrosol

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $C_8H_{10}O_2$. Khối lượng phân tử: $M = 138,2$;

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 220, 278 nm;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3388, 2915, 1512, 1234, 816 cm^{-1} ;

Số liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.23.

3.1.2.12. Hợp chất **AS12**: (22E,24R)-5 α ,8 α -epi-dioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol

Trùng với hợp chất **TP6**, xem hợp chất **TP6**.

3.1.2.13. *Hợp chất AS13: (22E,24R)-5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol*

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $C_{28}H_{42}O_3$. Khối lượng phân tử: $M = 426,6$;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: $+38,7$ ($c = 0,1$, $CHCl_3$);

IR (KBr) ν_{max} 3440, 2920, 1633, 1462, 1376 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 427,3209 $[M+H]^+$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[C_{28}H_{43}O_3]^+$, 427,3207;

Số liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.24.

3.1.2.14. *Hợp chất AS14: chaxine C*

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $C_{28}H_{40}O_4$. Khối lượng phân tử: $M = 440,6$;

UV (MeOH) λ_{max} 232 nm;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: $-48,0$ ($c = 0,1$, $CHCl_3$);

IR (KBr) ν_{max} 3424, 2919, 1734, 1463, 1196 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 441,3015 $[M+H]^+$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[C_{28}H_{41}O_4]^+$, 441,2999;

Số liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.25.

3.1.2.15. *Hợp chất AS15: cerevisterol*

- Trùng với hợp chất **TP3**, xem hợp chất **TP3**.

3.1.2.16. *Hợp chất AS16: ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol*

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $C_{28}H_{44}O$. Khối lượng phân tử: $M = 396,7$;

UV (MeOH) λ_{max} 220 nm;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -135 ($c = 0,5$, $CHCl_3$);

IR (KBr) ν_{max} 3427, 2920, 1275, 749 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 397,3464 $[M+H]^+$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[C_{28}H_{45}O]^+$, 397,3465;

Số liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.26.

3.1.2.17. *Hợp chất AS17: fungisterol*

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $C_{28}H_{48}O$. Khối lượng phân tử: $M = 400,7$;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: - 35 ($c = 0,2$, CHCl_3);

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3425, 2955, 1463, 1378, 1039 cm^{-1} ;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$: xem bảng 3.27.

3.1.2.18. Hợp chất AS18: cyclo-(L-Pro-L-Leu)

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{N}_2$. Khối lượng phân tử: $M = 210,3$;

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 220, 280 nm;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -133 ($c = 0,3$, $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$);

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3259, 2921, 1668, 1633, 1433 cm^{-1} ;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$: xem bảng 3.28.

3.1.2.19. Hợp chất AS19: adenosine

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$. Khối lượng phân tử: $M = 267,2$;

UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 258 nm;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: - 60,0 ($c = 0,1$, H_2O);

HR-ESI-MS m/z 268,1042 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_4]^+$, 268,1040;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$: xem bảng 3.29.

3.1.2.20. Hợp chất AS20: octadeca-(9Z,12Z)-dienoic acid

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$. Khối lượng phân tử: $M = 280,5$;

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3418, 2927, 1712, 1462, 1184 cm^{-1} ;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$: xem bảng 3.30.

3.1.2.21. Hợp chất AS21: (S)-2,3-dihydroxypropyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_4$. Khối lượng phân tử: $M = 354,5$;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -15,0 ($c = 0,1$, CHCl_3);

IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3440, 2920, 1730, 1462, 735 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 355,2830 $[\text{M}+\text{H}]^+$, Tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{O}_4]^+$, 355,2843;

Số liệu phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$: xem bảng 3.31.

3.1.2.22. Hợp chất **AS22**: cibotiglycerol

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $C_{27}H_{48}O_{11}S$. Khối lượng phân tử: 580,7;

Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -120,1 ($c = 0,1$, $CHCl_3$);

IR (KBr) ν_{max} 3432, 2921, 1732, 1170, 749 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 603,2755 $[M+Na]^+$;

Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{27}H_{48}O_{11}SNa]^+$, 603,2810;

Số liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.32.

3.1.2.23. Hợp chất **AS23**: tyrosyl linoleate

Chất bột màu trắng, vô định hình;

Công thức phân tử: $C_{26}H_{40}O_3$. Khối lượng phân tử: 400,6;

UV (MeOH) λ_{max} 228, 278 nm;

IR (KBr) ν_{max} 3426, 2923, 1732, 1515, 1168 cm^{-1} ;

HR-ESI-MS m/z 399,2902 $[M-H]^-$;

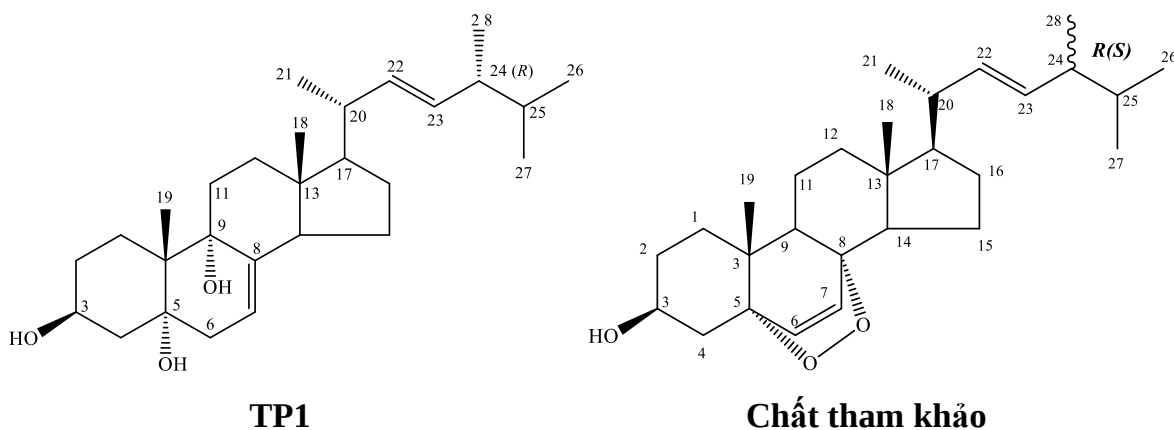
Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{26}H_{39}O_3]^-$, 399,2905;

Số liệu phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR: xem bảng 3.33.

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

3.2.1. Xác định cấu trúc các hợp chất từ chủng vi tảo *T. pachydermum* TSL10

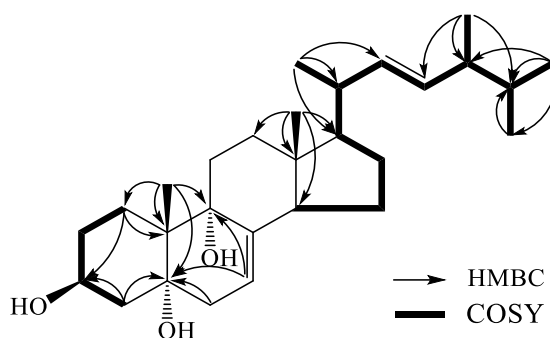
3.2.1.1. Hợp chất **TP1**: ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α ,9 α -triol (chất mới)



Hình 3.1. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP1** và chất tham khảo.

Hợp chất **TP1** thu được ở dạng chất bột màu trắng. Công thức phân tử là $C_{28}H_{46}O_3$, được xác định dựa trên pic ion tại m/z 431,3525 $[M + H]^+$ (tính toán lý thuyết cho ion giả phân tử $[C_{28}H_{47}O_3]^+$, 431,3520) trên phổ HR-ESI-MS (Hình 3.3). Phổ 1H -NMR của **TP1** xuất hiện tín hiệu của sáu nhóm methyl tại δ_H 0,62 (3H, s),

1,01 (3H, s), 1,03 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,82 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,84 (3H, d, $J = 6,6$ Hz) và 0,92 (3H, d, $J = 6,6$ Hz); ba proton olefin tại δ_H 5,65 (1H, br d, $J = 1,8$ Hz), 5,17 (1H, dd, $J = 8,4, 15,6$ Hz) và 5,24 (1H, dd, $J = 7,8, 15,6$ Hz) và một proton oxymethine tại δ_H 4,06 (1H, m) (Hình 3.4). Phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **TP1** xuất hiện tín hiệu của 28 carbon bao gồm: Ba carbon olefin tại δ_C 119,9, 135,1, 132,5, ba carbon liên kết trực tiếp với oxy tại δ_C 67,2, 74,7 và 79,7; hai carbon bậc 4 tại δ_C 41,8 và 45,3, năm carbon methine tại δ_C 51,8, 56,0, 40,3, 42,8 và 33,1; tám carbon methylene tại δ_C 25,5, 30,1, 37,1, 28,8, 29,1, 34,9, 22,4 và 27,9, sáu carbon methyl tại δ_C 12,3, 20,5, 21,1, 19,7, 20,0 và 17,6 (Hình 3.5 và 3.6).



Hình 3.2. Tương tác HMBC và COSY của hợp chất **TP1**

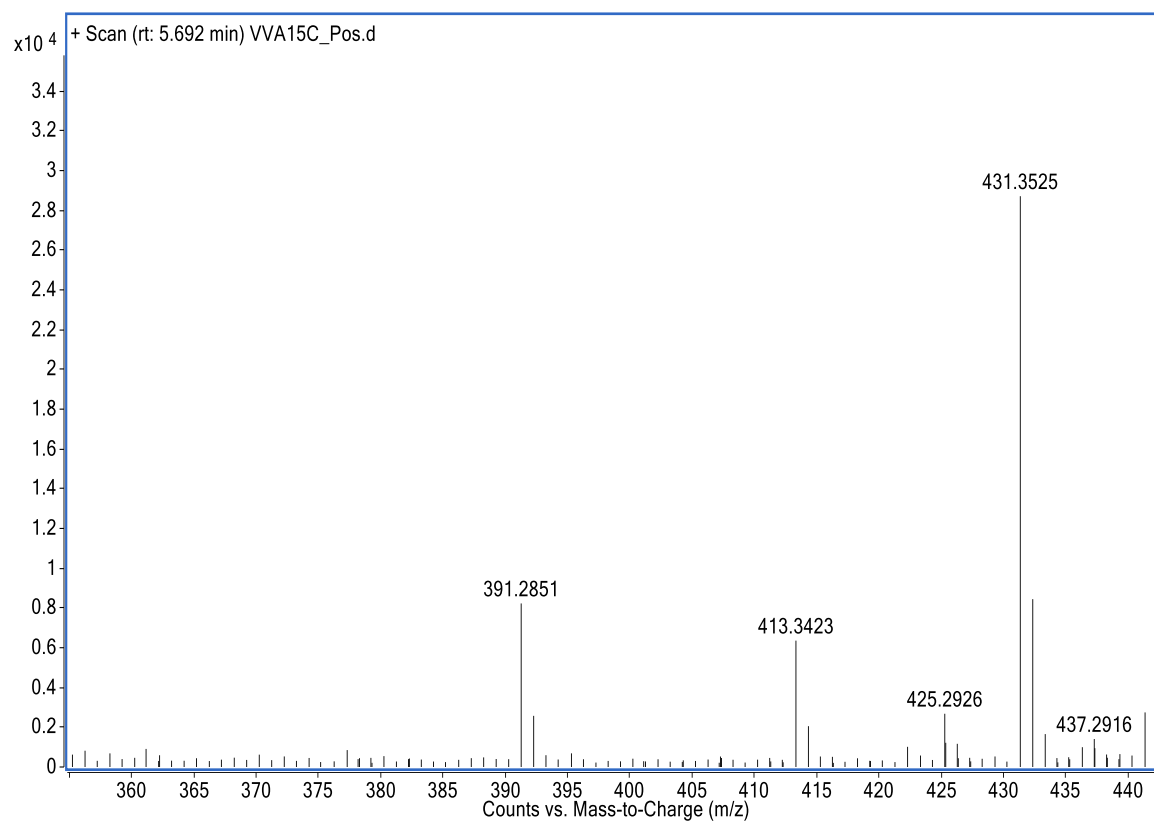
Tương tác HMBC giữa H-19 (δ_H 1,01) và C-1 (δ_C 25,5)/C-5 (δ_C 74,7)/C-9 (δ_C 79,7)/C-10 (δ_C 41,8), H-4 (δ_H 1,76) và 2,09) và C-2 (δ_C 30,1)/C-3 (δ_C 67,2)/C-5 (δ_C 74,7)/C-6 (δ_C 28,8)/C-10 (δ_C 41,8), H-7 (δ_H 5,73) và C-5 (δ_C 74,7)/C-9 (δ_C 79,7)/C-14 (δ_C 51,8) cho phép xác định vị trí của các nhóm hydroxyl tại C-3, C-5 và C-9, và liên kết đôi tại C-7/C-8. Tương tác HMBC giữa H-21 (δ_H 1,03) và C-17 (δ_C 56,0)/C-20 (δ_C 40,3)/C-22 (δ_C 135,1); H-28 (δ_H 0,92) và C-23 (δ_C 132,5)/C-24 (δ_C 42,8)/C-25 (δ_C 33,1) và tín hiệu trên phổ COSY của H-21 (δ_H 1,03)/H-20 (δ_H 2,03)/H-22 (δ_H 5,17)/H-23 (δ_H 5,24)/H-24 (δ_H 1,86) gợi ý vị trí của liên kết đôi tại C-22/C-23 (Hình 3.2). Phổ COSY xuất hiện tương tác giữa H_{β} -2 (δ_H 1,48) với H_{α} -1 (δ_H 2,33) và H-3 (δ_H 4,06), tương tác giữa H-3 với H_{β} -4 (δ_H 1,76). Từ đó xác định được mảnh phân tử trong vòng A của khung sterol C-1→C-4. Phân tích tương tự các tương tác khác xác định thêm được mảnh phân tử khác từ C-14→C-17 và C20→C-28 (Hình 3.2). Tương tác NOESY giữa H-19 (δ_H 1,01) và H_{β} -1 (δ_H 1,51)/ H_{β} -2 (δ_H 1,48)/ H_{β} -4 (δ_H 1,76); giữa H-18 (δ_H 1,01) và H_{β} -12 (δ_H 1,88)/H-20 (δ_H 2,02) gợi ý cấu hình của nhóm hydroxyl ở C-3 là β và nhóm hydroxyl ở C-5 và C-9 là α . Hằng số tương tác lớn giữa H-22 và H-23 ($J = 15,6$ Hz) gợi ý liên kết đôi tại C-22/C-23 có cấu hình *E* (Hình 3.9). Cấu hình tại C-24 của **TP1**

được xác định là (*R*) bằng cách so sánh độ chuyển dịch hóa học của C-24 (δ_C 42,8) và C-28 (δ_C 17,6) của **TP1** với cấu hình của hợp chất 5 α ,8 α -epidioxy-24*S*-methylcholesta-6,22*E*-diene-3 β -ol (δ_C 43,0 và 18,0) [68] và 5 α ,8 α -epidioxy-24*R*-methylcholesta-6,22*E*-dien-3 β -ol (δ_C 42,8 và 17,6) [69]. Do đó, hợp chất **TP1** mới được xác định là (22*E*,24*R*) ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α ,9 α -triol.

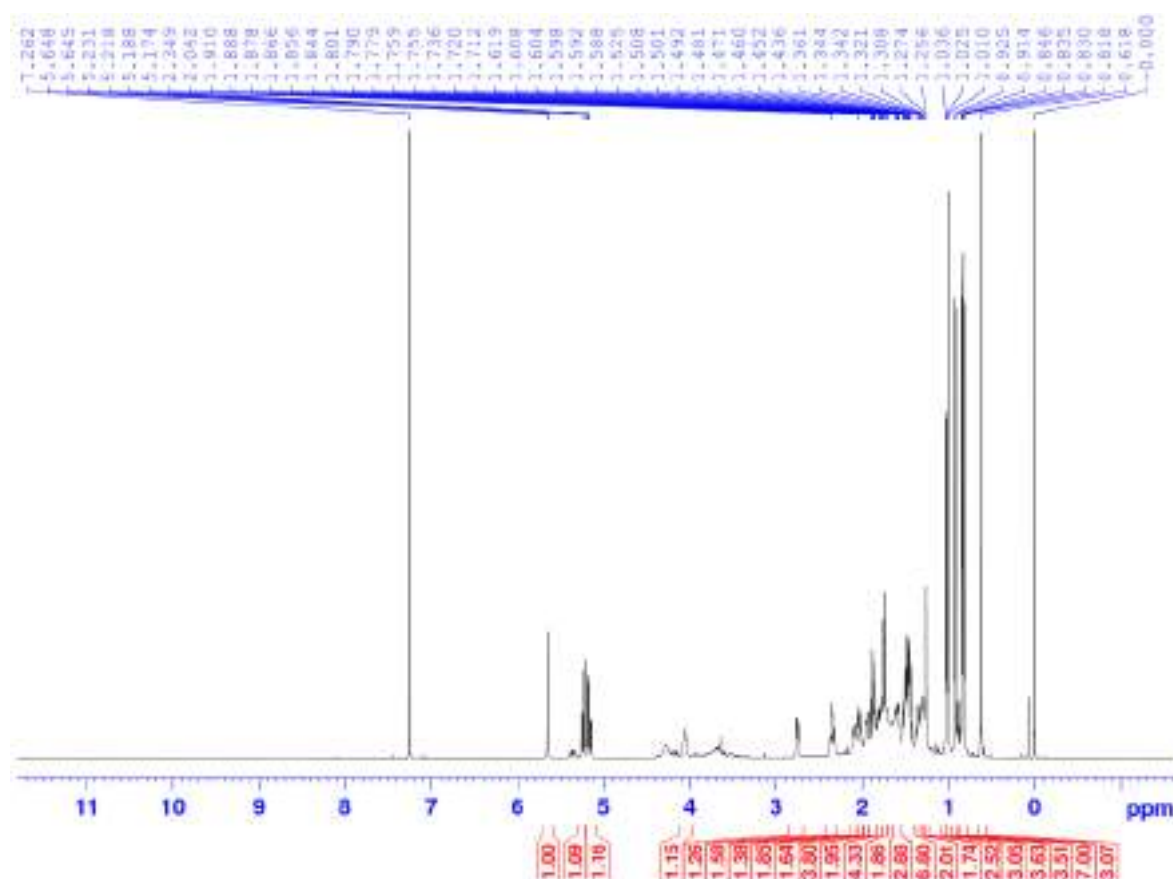
Bảng 3.1. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP1** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	29,0	25,5	1,51 (1H, m, β)/2,33 (1H, m, α)
2	32,4	30,1	1,48 (1H, m, β)/1,85 (1H, m, α)
3	67,3	67,2	4,06 (1H, m)
4	42,0	37,1	1,76 (1H, m, β)/2,09 (1H, br d, 13,8, α)
5	75,0	74,7	-
6	73,7	28,8	1,73(1H, m, α)/1,91 (1H, m, β)
7	121,3	119,9	5,65 (1H, br d, 1,8)
8	142,9	Nd	-
9	78,7	79,7	-
10	41,2	41,8	-
11	29,0	29,1	1,31 (2H, m)
12	35,9	34,9	1,73 (1H, m, α)/1,88 (1H, m, β)
13	44,1	45,3	-
14	51,3	51,8	2,75 (1H, m)
15	23,5	22,4	1,48 (1H, m, β)/1,59 (1H, m, α)
16	28,2	27,9	1,33 (1H, m, β)/1,80 (1H, m, α)
17	56,1	56,0	1,44 (1H, m)
18	12,0	12,3	0,62 (3H, s)
19	22,5	20,5	1,01 (3H, s)
20	40,9	40,3	2,03 (1H, m)
21	21,4	21,1	1,03 (3H, d, 6,6)
22	136,4	135,1	5,17 (1H, dd, 8,4, 15,6)
23	132,2	132,5	5,24 (1H, dd, 7,8, 15,6)
24	43,3	42,8	1,86 (1H, m)
25	33,5	33,1	1,48 (1H, m)
26	18,9	19,7	0,82 (3H, d, 6,6)
27	20,3	20,0	0,84 (3H, d, 6,6)
28	18,3	17,6	0,92 (3H, d, 6,6)

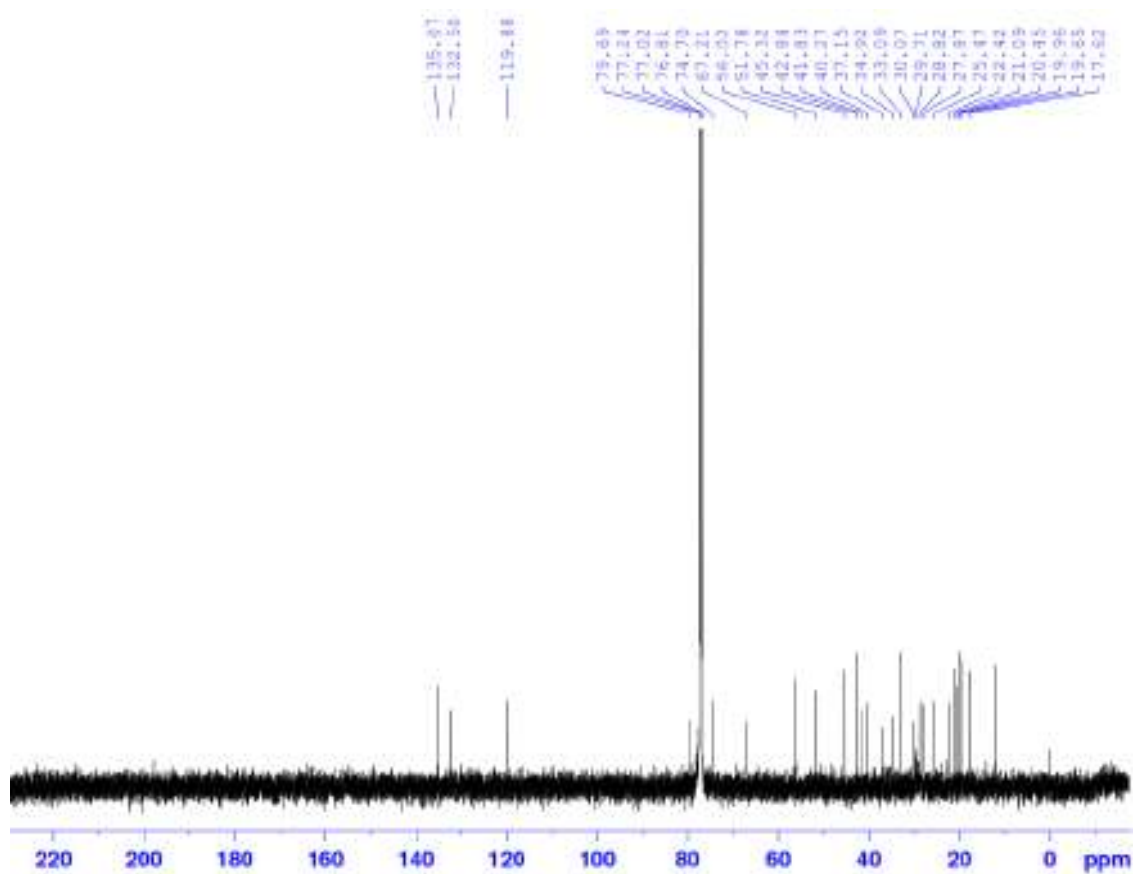
^a Đo trong $CDCl_3$, ^b 150MHz, ^c 600MHz, $\delta_C^{\#}$ của 22E,24S-5 α -cholesta-7,22-diene-3 β ,5,6 β ,9 α -tetraol (**1a**) (đo trong CD_3OD) [70]



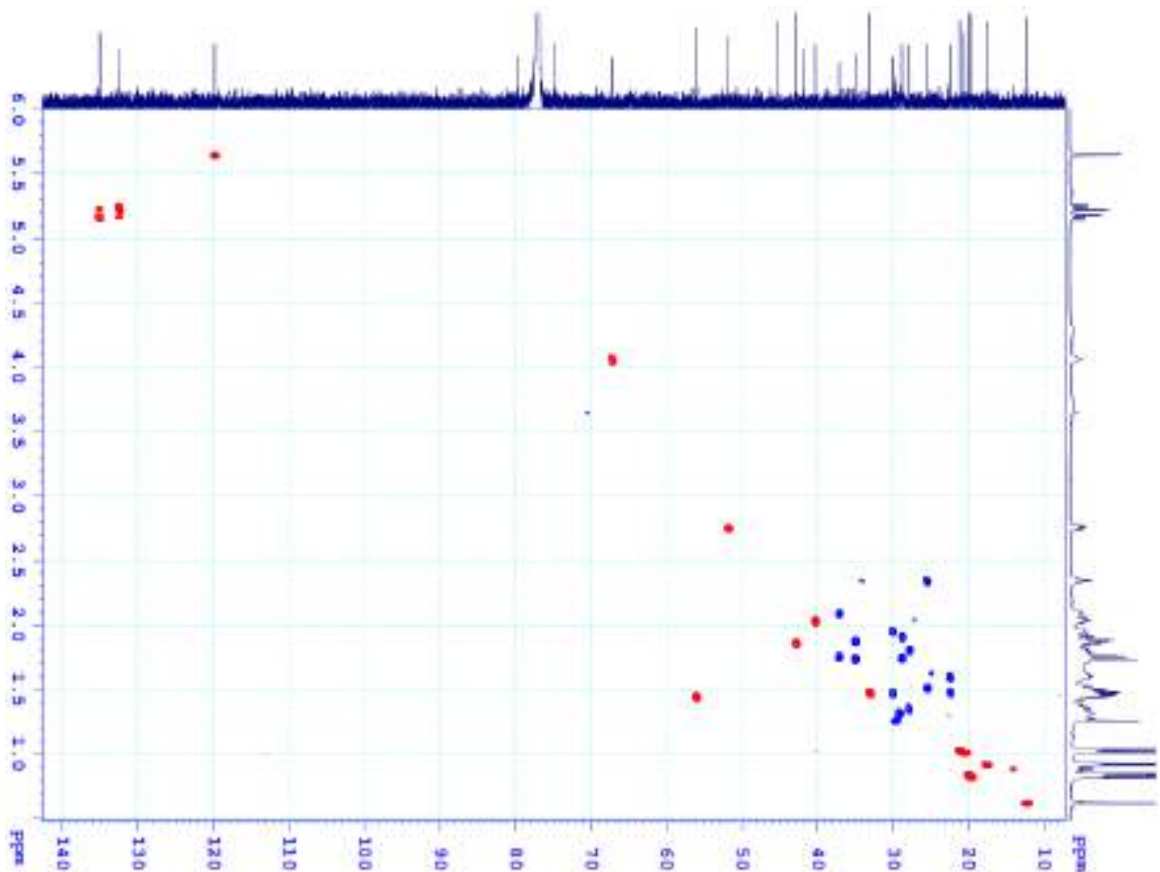
Hình 3.3. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất **TP1**



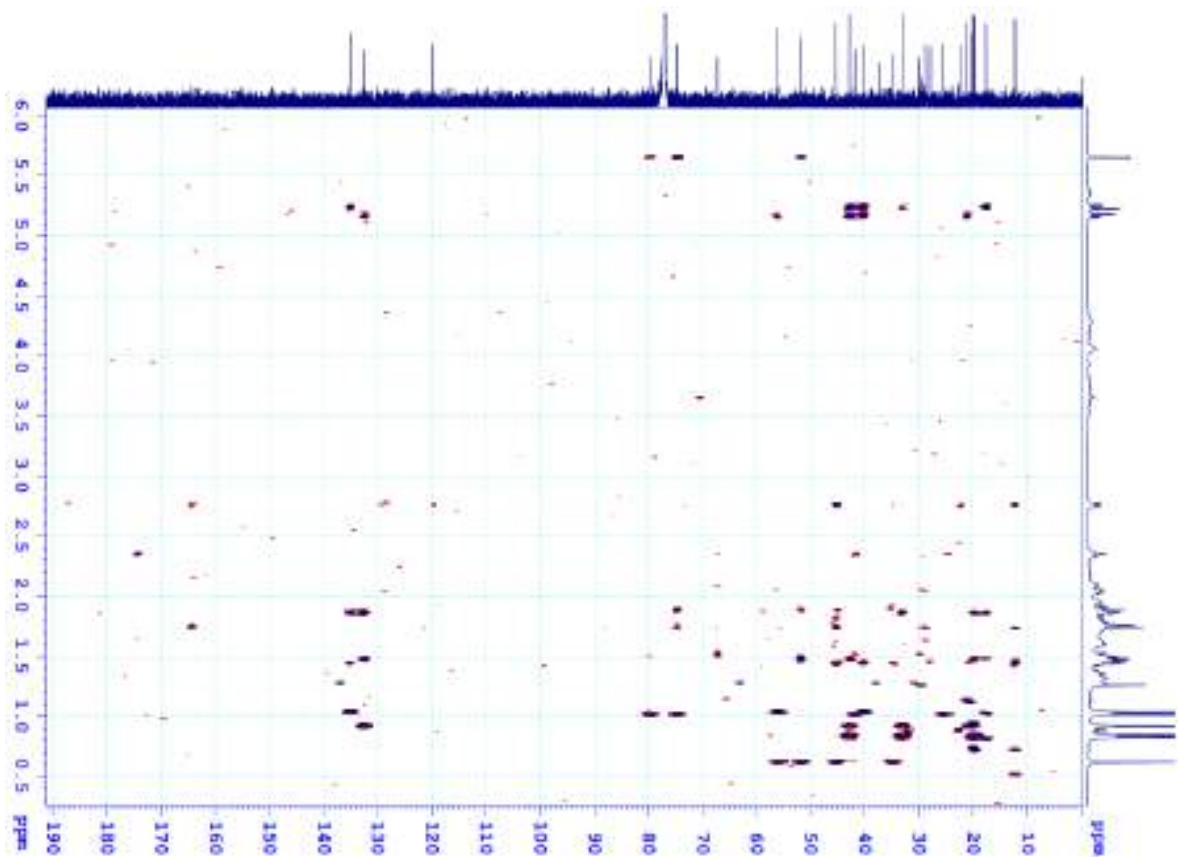
Hình 3.4. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **TP1**



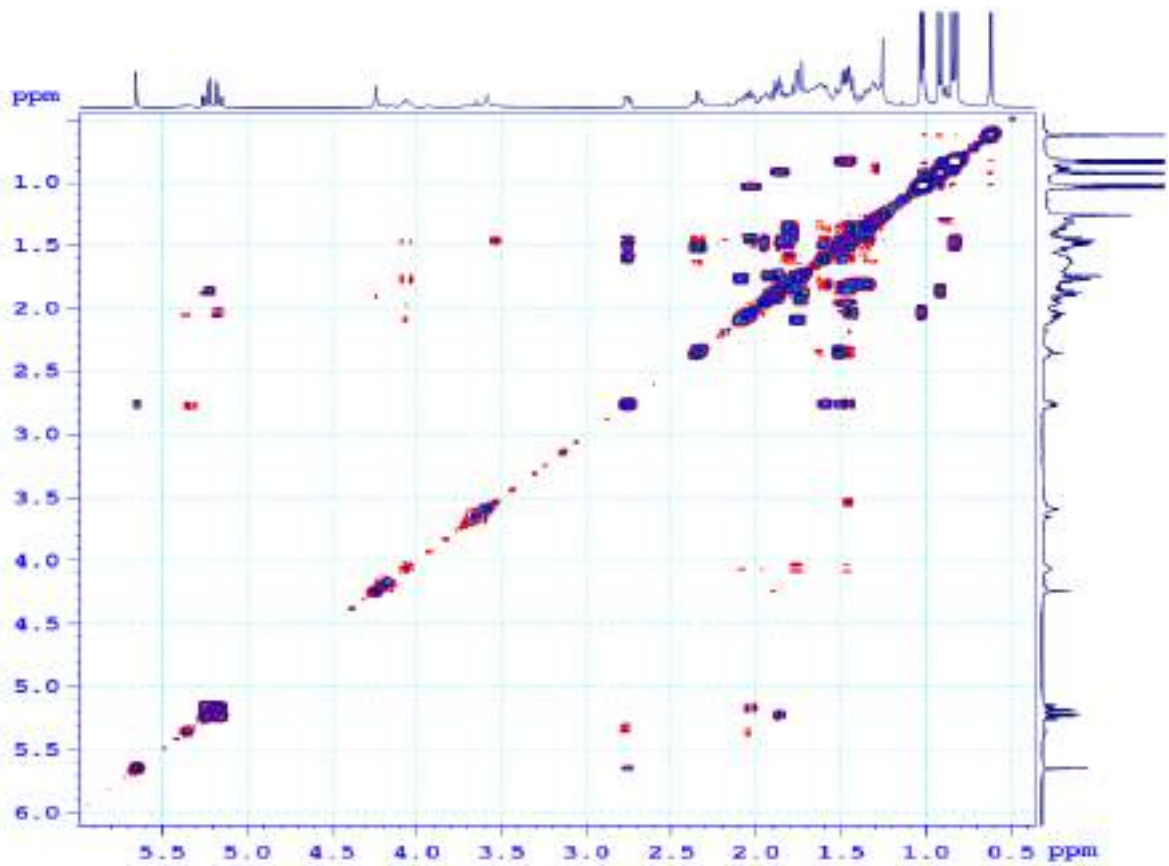
Hình 3.5. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **TP1**



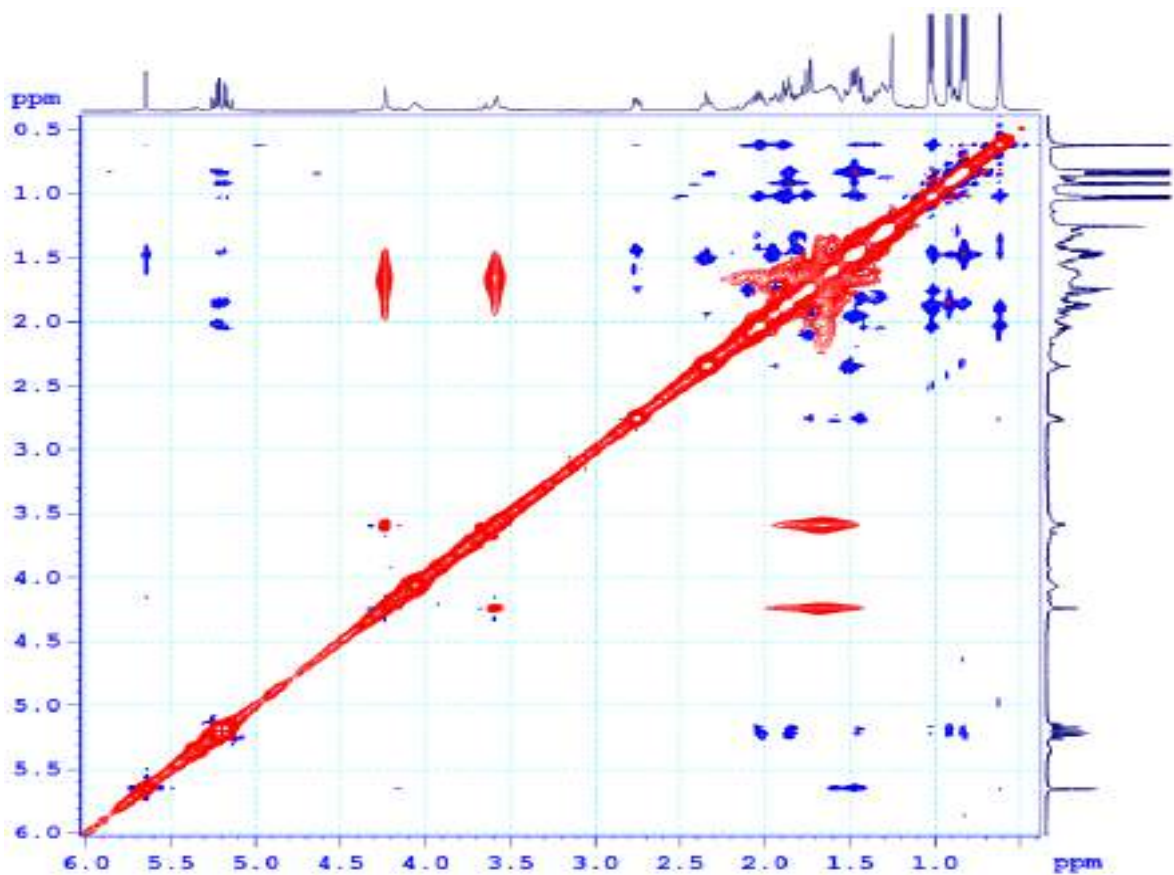
Hình 3.6. Phổ HSQC của hợp chất **TP1**



Hình 3.7. Phổ HMBC của hợp chất **TP1**

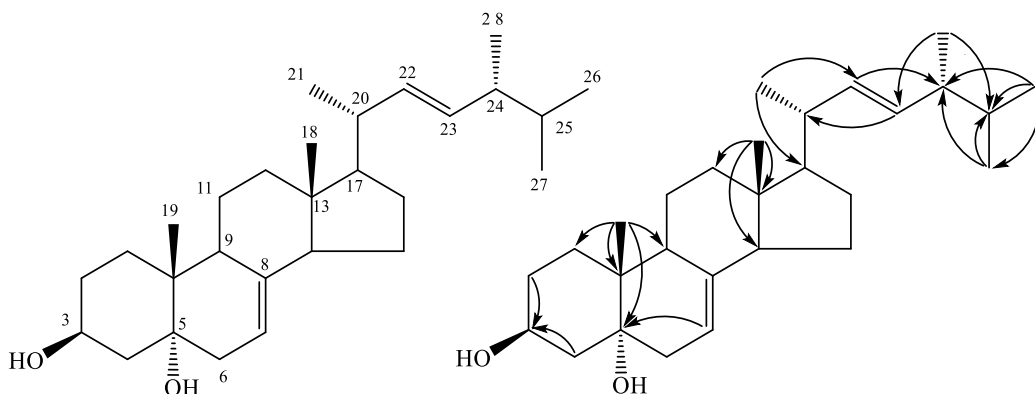


Hình 3.8. Phổ COSY của hợp chất TP1



Hình 3.9. Phổ NOESY của hợp chất TP1

3.2.1.2. Hợp chất **TP2**: ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α -diol



Hình 3.10. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC chính của hợp chất **TP2**

Hợp chất **TP2** thu được dưới dạng bột màu trắng. Phổ ^1H -NMR cho sáu tín hiệu methyl tại δ_{H} 0,60 (3H, s), 0,95 (3H, s), 1,03 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,82 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,84 (3H, d, $J = 6,6$ Hz) và 0,92 (3H, d, $J = 6,6$ Hz). Tín hiệu một proton hydroxymethine tại δ_{H} 4,03 (1H, m) và ba tín hiệu proton olefin tại δ_{H} 5,65 (1H, br s), 5,16 (1H, dd, $J = 6,6, 16,0$ Hz) và 5,25 (1H, dd, $J = 6,6, 16,0$ Hz). Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của 28 carbon trong đó có bốn carbon olefin tại δ_{C} 119,7, 135,0, 132,5 (Trong đó có một carbon không xuất hiện trên phổ ^{13}C -NMR); hai tín hiệu carbon liên kết trực tiếp với oxy tại δ_{C} 67,5 và 77,8. Dữ liệu phổ của hợp chất **TP2** tương tự **TP1**, chỉ có sự khác biệt là độ chuyển dịch hóa học của C-9 (**TP1**: δ_{C} 79,7, **TP2**: δ_{C} 43,9) do hợp chất **TP2** mất đi một nhóm hydroxy ở vị trí C-9. Vị trí của nhóm hydroxyl được xác định tại C-3 và C-5 dựa trên các tương tác HMBC giữa H-19 (δ_{H} 0,95) và C-1 (δ_{C} 30,4)/C-5 (δ_{C} 77,8)/C-9 (δ_{C} 43,9)/C-10 (δ_{C} 40,5), H-2 (δ_{H} 1,74)/H-4 (δ_{H} 2,11) và C-3 (δ_{C} 67,5). Vị trí liên kết đôi được xác định tại C-22/C-23 dựa trên tương tác HMBC giữa H-22 (δ_{H} 5,16) và C-24 (δ_{C} 42,8), H-23 (δ_{H} 5,25) và C-20 (δ_{C} 40,3), H-28 (δ_{H} 0,92) và C-23 (δ_{C} 132,5) (Hình 3.10). Qua phân tích các dữ liệu phổ 1D, 2D NMR cho phép xác định **TP2** là ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α -diol [71].

Bảng 3.2. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP2**

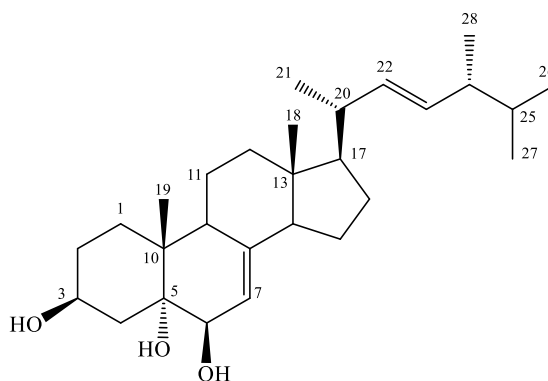
C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	30,4	1,61 (1H, m)/1,80 (1H, m)
2	22,0	1,62 (1H, m)/1,74 (1H, m)
3	67,5	4,03 (1H, m)
4	36,5	1,71 (1H, m)/2,11 (1H, m)

C	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
5	77,8	-
6	30,2	1,42 (1H, m)/1,88 (1H, m)
7	119,7	5,65 (1H, br s)
8	ND	-
9	43,9	2,52 (1H, m)
10	40,5	-
11	22,0	1,60 (1H, m)/1,73 (1H, m)
12	38,9	1,43 (1H, m)/2,11(1H, m)
13	44,8	-
14	55,8	2,04 (1H, m)
15	22,5	1,30 (1H, m)/1,60 (1H, m)
16	27,9	1,35 (1H, m)/1,78 (1H, m)
17	56,1	1,37 (1H, m)
18	12,7	0,60 (3H, s)
19	16,4	0,95 (3H, s)
20	40,3	2,03 (1H, m)
21	21,1	1,03 (3H, d, 6,6)
22	135,0	5,16 (1H, dd, 6,6, 16,0)
23	132,5	5,25 (1H, dd, 6,6, 16,0)
24	42,8	1,85 (1H, m)
25	33,1	1,48 (1H, m)
26	19,6	0,82 (3H, d, 6,6)
27	20,0	0,84 (3H, d, 6,6)
28	17,6	0,92 (3H, d, 6,6)

^aĐo trong CDCl_3 , ^b150MHz, ^c600MHz

ND (Not determined, không xác định được trên phổ ^{13}C -NMR)

3.2.1.3. Hợp chất **TP3**: cerevisterol



Hình 3.11. Cấu trúc hoá học của hợp chất **TP3**

Hợp chất **TP3** thu được dưới dạng chất rắn màu trắng. Công thức phân tử là $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_3$, được xác định dựa trên pic ion tại m/z 465,3132 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ (tính toán lý

thuyết cho ion giả phân tử $[\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_3\text{Cl}]^-$, 465,3135) trên phổ HR-ESI-MS (Hình P1.18). Phổ ^1H -NMR xuất hiện 6 tín hiệu của các nhóm methyl tại: δ_{H} 0,60 (3H, s), 1,09 (3H, s), 0,83 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,84 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 1,03 (3H, d, $J = 6,6$ Hz) và δ_{H} 0,92 (3H, d, $J = 6,6$ Hz); ba tín hiệu proton olefin tại δ_{H} 5,35 (1H, $J = 4,8$ Hz), 5,24 (1H, dd, $J = 6,6, 16,0$ Hz) và 5,16 (1H, dd, $J = 6,6, 16,0$ Hz). Hằng số tương tác giữa H-22 và H-23 lớn ($J = 16,0$ Hz) cho thấy liên kết đôi dạng *trans*; hai tín hiệu nhóm oxymethine tại δ_{H} 4,08 (1H, m) và 3,62 (1H, $J = 4,8$ Hz). Phổ ^{13}C -NMR và phổ HSQC cho biết hợp chất **TP3** chứa 28 carbon thuộc khung ergosterol, trong đó bốn carbon của hai liên kết đôi tại δ_{C} 117,6, 144,0, 132,2 và 135,4; hai carbon oxymethine tại δ_{C} 67,8 và 73,7; một carbon liên kết với nhóm hydroxy tại δ_{C} 76,0; sáu carbon methyl tại δ_{C} 12,4, 18,8, 19,7, 20,0, 21,1 và 17,6. Từ những dữ kiện phổ phân tích trên kết hợp so sánh với dữ liệu phổ của **TP3** với hợp chất cerevisterol cho thấy giống nhau hoàn toàn [72]. Vậy hợp chất **TP3** được xác định là cerevisterol.

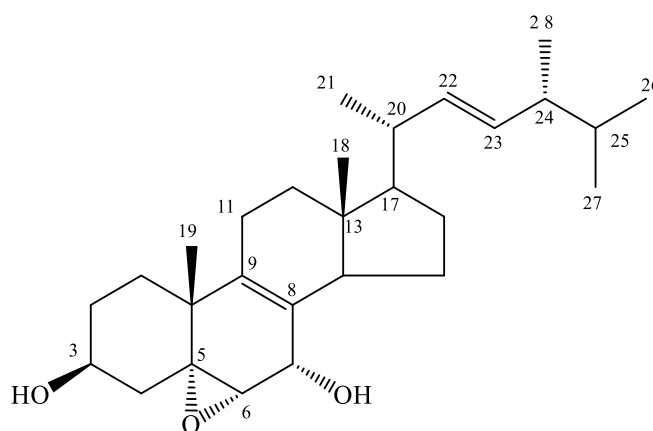
Bảng 3.3. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP3** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	30,4	30,9	1,44 (1H, m)/1,87 (1H, m)
2	32,8	33,0	1,55 (1H, m)/1,62 (1H, m)
3	67,2	67,8	4,08 (1H, m)
4	39,3	39,3	1,32 (1H, m)/2,08 (1H, m)
5	75,9	76,0	-
6	73,1	73,7	3,62 (1H, 4,8)
7	117,3	117,6	5,35 (1H, 4,8)
8	143,2	144,0	-
9	43,2	43,5	1,56 (1H, m)
10	37,0	37,2	-
11	22,0	21,9	1,55 (1H, m)/1,54 (1H, m)
12	38,9	39,3	1,78 (1H, m)/2,15 (1H, m)
13	43,6	43,8	-
14	54,7	54,8	1,91 (1H, m)
15	22,9	22,9	1,45 (1H, m)/1,56 (1H, m)
16	27,9	27,9	1,30 (1H, m)/1,75 (1H, m)

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
17	55,9	56,0	1,30 (1H, m)
18	12,3	12,4	0,60 (3H, s)
19	18,4	18,8	1,09 (3H, s)
20	40,4	40,4	2,03 (1H, m)
21	19,6	19,7	0,83 (3H, d, 6,6)
22	131,9	132,2	5,24 (1H, dd, 6,6, 16,0)
23	135,3	135,4	5,16 (1H, dd, 6,6, 16,0)
24	42,8	42,8	1,85 (1H, m)
25	33,1	33,1	1,47 (1H, m)
26	19,9	20,0	0,84 (3H, d, 6,6)
27	21,1	21,1	1,03 (3H, d, 6,6)
28	17,6	17,6	0,92 (3H, d, 6,6)

^ađo trong CDCl_3 , ^b150 MHz, ^c600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của cerevisterol (đo trong CDCl_3) [72].

3.2.1.4. Hợp chất **TP4**: 5 α ,6 α -epoxy-(22E)-ergosta-8,22-diene-3 β ,7 α -diol



Hình 3.12. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP4**

Hợp chất **TP4** thu được dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **TP4** xuất hiện sáu nhóm methyl tại δ_H 0,59 (3H, s), 1,14 (3H, s), 1,03 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,82 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,84 (3H, d, $J = 6,6$ Hz) và 0,92 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), ba nhóm oxymethine tại δ_H 3,31 (1H, d, $J = 2,4$ Hz), 3,94 (1H, m) và 4,22 (1H, brs), hai proton olefin tại δ_H 5,17 (1H, dd, $J = 6,6, 16,0$ Hz) và 5,22 (1H, dd, $J = 6,6, 16,0$ Hz). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC xuất hiện tín hiệu của 28 nguyên tử carbon, bao gồm sáu carbon methyl, bảy carbon methylen, mười carbon methine và năm nguyên tử không liên kết với hydro. Bốn carbon olefin tại δ_C 126,9, 135,6, 134,5 và 132,2. Sự xuất hiện của

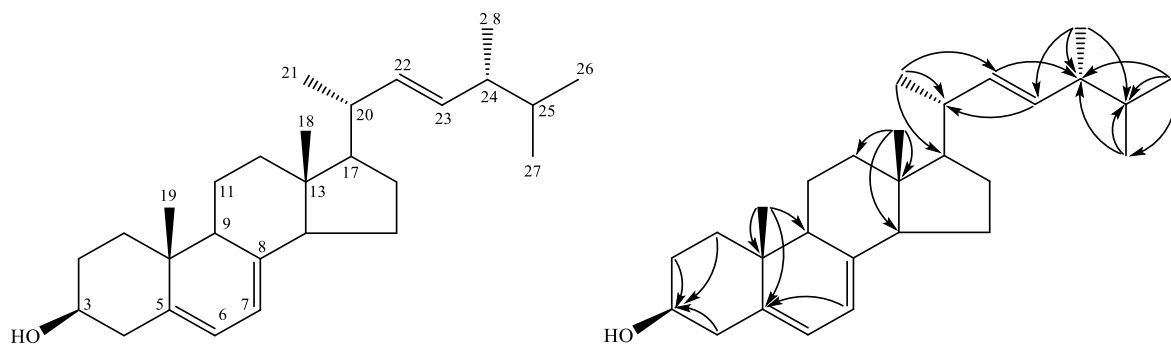
cầu 5,6-epoxy cũng phù hợp với sự xuất hiện tín hiệu hai carbon tại δ_C 65,7 và 62,6 trên phổ ^{13}C -NMR của **TP4**. Qua phân tích dữ liệu phổ kết hợp tài liệu tham khảo cho phép xác định **TP4** là 5 α ,6 α -epoxy-(22 E)-ergosta-8,22-diene-3 β ,7 α -diol [69].

*Bảng 3.4. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP4** và hợp chất tham khảo*

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	32,0	30,8	1,61 (1H, m)/1,98 (1H, m)
2	31,0	30,2	1,60 (1H, m)/1,70 (1H, m)
3	68,2	68,5	3,94 (1H, m)
4	40,4	39,2	1,45 (1H, m)/2,16 (1H, m)
5	64,8	65,7	-
6	63,7	62,6	3,31 (1H, d, 2,4)
7	67,0	67,0	4,22 (1H, br s)
8	133,8	126,9	-
9	128,3	135,6	-
10	38,8	38,0	-
11	22,7	23,9	2,06 (1H, m)
12	24,2	35,7	1,40 (1H, m)/1,95 (1H, m)
13	36,3	42,1	-
14	42,5	49,6	2,17 (1H, m)
15	50,7	23,4	1,30 (1H, m)/2,20 (1H, m)
16	24,2	29,0	1,32 (1H, m)/1,80 (1H, m)
17	54,1	53,7	1,20 (1H, m)
18	11,7	11,3	0,59 (3H, s)
19	22,7	22,8	1,14 (3H, s)
20	40,8	40,4	2,03 (1H, m)
21	21,3	21,0	1,03 (3H, d, 6,6)
22	136,2	134,5	5,17 (1H, dd, 6,6, 16,0)
23	132,2	132,0	5,22 (1H, dd, 6,6, 16,0)
24	43,1	42,8	1,85 (1H, m)
25	33,3	33,1	1,48 (1H, m)
26	19,8	19,7	0,82 (3H, d, 6,6)
27	20,1	20,0	0,84 (3H, d, 6,6)
28	17,8	17,7	0,92 (3H, d, 6,6)

^a Đo trong CDCl_3 , ^b 150MHz, ^c 600MHz, $\delta_C^{\#}$ của 22 E ,24 R -5 α ,6 α -epoxyergosta-8,22-diene-3 β ,7 α -diol (đo trong pyridine- d_5) [69].

3.2.1.5. Hợp chất **TP5**: ergosterol



Hình 3.13. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC của hợp chất **TP5**

Hợp chất **TP5** thu được dưới dạng chất rắn màu trắng. Công thức phân tử của **TP5** được xác định là $C_{28}H_{44}O$ dựa trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với sự xuất hiện pic ion tại m/z 397,3467 $[M+H]^+$ trên phổ HR-ESI-MS (tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{28}H_{45}O]^+$, 379,3470). Phổ 1H -NMR xuất hiện tín hiệu của sáu nhóm methyl tại δ_H 0,63 (3H, s), 0,95 (3H, s), 1,04 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,84 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,85 (3H, d, $J = 6,6$ Hz) và 0,92 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), một nhóm oxymethine tại δ_H 3,63 (1H, m), bốn proton olefin tại δ_H 5,38 (1H, d, $J = 6,6$ Hz), 5,67 (1H, d, $J = 6,6$ Hz), 5,17 (1H, m) và 5,24 (1H, m). Phổ ^{13}C -NMR và phổ HSQC cho thấy hợp chất **TP5** chứa 28 carbon, trong đó có sáu carbon olefin tại δ_C 139,8, 119,6, 116,3, 141,4, 135,6 và 132,0, một carbon oxymethine tại δ_C 70,5, sáu carbon methyl tại δ_C 12,1, 16,2, 17,6, 19,6, 20,0 và 21,1, bảy carbon methylene tại δ_C 38,4, 32,0, 40,8, 21,1, 39,1, 23,0 và 28,3, sáu carbon methine tại δ_C 46,2, 54,6, 55,7, 40,4, 42,9 và 33,1 và hai carbon bậc 4 tại δ_C 37,1 và 43,9. Vị trí nhóm thế hydroxy được xác định tại C-3 của khung sterol dựa trên tương tác HMBC giữa H-1 (δ_H 1,90)/H-2 (δ_H 1,89) và C-3 (δ_C 70,5). Tương tác HMBC giữa H-28 (δ_H 0,92) và C-23 (δ_C 132,0)/C-24 (δ_C 42,9)/C-25 (δ_C 33,1) cho biết trên khung sterol chứa liên kết đôi tại C-22/C-23 và tại C-24 có nhóm thế methyl. Tương tác HMBC giữa H-7 (δ_H 5,38)/H-19 (δ_H 0,95) và C-5 (δ_C 139,8) cho biết vị trí 2 liên kết đôi tại C-5/C-6 và C-7/C-8 (Hình 3.12). Thông qua phân tích dữ liệu phổ NMR kết hợp so sánh tài liệu tham khảo [73], hợp chất **TP5** được xác định là ergosterol.

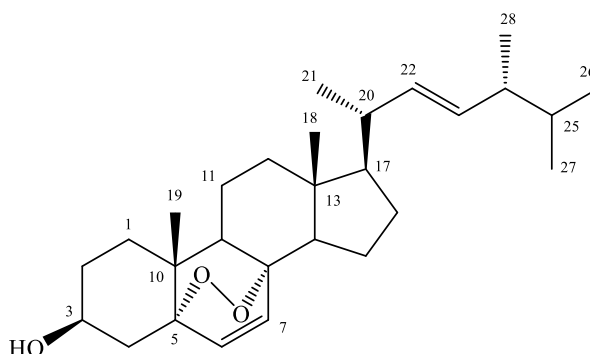
Bảng 3.5. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP5** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	38,4	38,4	1,30 (1H, m)/ 1,90 (1H, m)
2	32,0	32,0	1,50 (1H, m)/ 1,89 (1H, m)

3	70,4	70,5	3,63 (1H, m)
4	40,8	40,8	2,29 (1H, dd, 11,6, 11,6) 2,47 (1H, d, 11,6)
5	139,8	139,8	-
6	119,6	119,6	5,67 (1H, d, 6,6)
7	116,3	116,3	5,38 (1H, d, 6,6)
8	141,3	141,4	-
9	46,2	46,2	1,98 (1H, m)
10	37,0	37,1	-
11	21,1	21,1	1,60 (1H, m)/ 1,70 (1H, m)
12	39,1	39,1	1,25 (1H, m)/ 2,06 (1H, m)
13	42,8	43,9	-
14	54,6	54,6	1,90 (1H, m)
15	23,0	23,0	1,36 (1H, m)/ 1,67 (1H, m)
16	28,3	28,3	1,30 (1H, m)/ 1,76 (1H, m)
17	55,7	55,7	1,28 (1H, m)
18	12,0	12,1	0,63 (3H, s)
19	17,6	16,2	0,95 (3H, s)
20	40,4	40,4	2,04 (1H, m)
21	21,1	21,1	1,04 (3H, d, 6,6)
22	135,6	135,6	5,17 (1H, m)
23	132,0	132,0	5,24 (1H, m)
24	42,8	42,9	1,86 (1H, m)
25	33,1	33,1	1,48 (1H, m)
26	19,6	19,6	0,84 (3H, d, 6,6)
27	19,9	20,0	0,85 (3H, d, 6,6)
28	16,2	17,6	0,92 (3H, d, 6,6)

^a Đo trong CDCl₃, ^b125 MHz, ^c500 MHz, $\delta_C^{\#}$ của ergosterol (đo trong CDCl₃) [73].

3.2.1.6. Hợp chất **TP6**: (22E,24R)-5 α ,8 α -epi-dioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol



Hình 3.14. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS12**

Hợp chất **TP6** thu được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Công thức phân tử là C₂₈H₄₄O₃, được xác định dựa trên pic ion giả phân tử tại m/z 463,2974 [M + Cl]⁻ (theo tính toán lý thuyết [C₂₈H₄₄O₃Cl]⁻, m/z 463,2979 trên phổ HR-ESI-MS) (Hình P1.34). Trên phổ ¹H-NMR xuất hiện các tín hiệu của sáu nhóm methyl tại δ_H 0,83

(3H, s), 0,88 (3H, s), δ_{H} 0,84 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz), 0,82 (3H, *d*, $J = 6,6$ Hz), 0,91 (3H, *d*, $J = 7,0$ Hz) và 1,00 (3H, *d*, $J = 6,5$ Hz). Bốn proton của hai liên kết đôi cũng được xác định tại δ_{H} 6,24 (1H, *d*, $J = 8,4$ Hz), 6,50 (1H, *d*, $J = 8,4$ Hz), 5,22 (1H, *dd*, 6,6, 16,0 Hz) và 5,14 (1H, *dd*, 6,6, 16,0 Hz) và một proton nhóm oxymethine tại δ_{H} 3,96 (1H, *m*). Trên phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của hai mươi tám carbon, trong đó bốn carbon olefin tại δ_{C} 135,4, 130,7, 132,3 và 135,2, hai carbon liên kết với nguyên tử oxy tại δ_{C} 82,2 và 79,4, một carbon oxymethine tại δ_{C} 66,4 và sáu carbon methyl tại δ_{C} 12,9, 17,6, 18,2, 19,9, 19,6 và 20,6. Phân tích số liệu phổ cho phép xác định cấu trúc của **TP6** là (22*E*,24*R*)-5 α ,8 α -epi-dioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol [74].

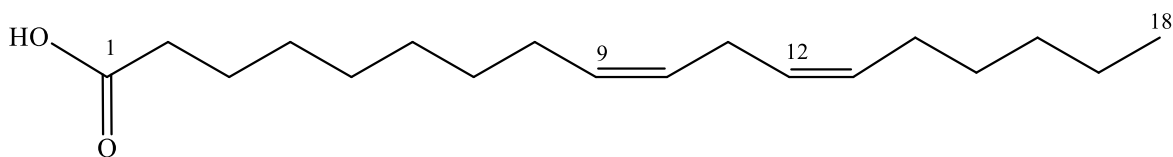
Bảng 3.6. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP6** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	34,7	34,7	1,67 (1H, ddd, 3,0, 3,0, 13,2) 1,96 (1H, m)
2	30,2	30,1	1,93 (1H, dd, 12,0, 13,2) 1,56 (1H, m)
3	66,5	66,4	3,96 (1H, m)
4	37,0	36,9	1,95 (1H, dd, 13,2, 13,2) 2,11 (1H, ddd, 2,4, 5,4, 13,2)
5	82,2	82,2	-
6	135,5	135,4	6,24 (1H, d, 8,4)
7	130,8	130,7	6,50 (1H, d, 8,4)
8	79,5	79,4	-
9	51,7	51,7	3,85 1H, t, 6,6)
10	37,0	37,0	-
11	20,7	20,9	1,22 (1H, m)/1,53 (1H, m)
12	39,4	39,4	1,25 (1H, m)/1,95 (1H, m)
13	44,6	44,6	-
14	51,1	51,1	1,57 (1H, m)
15	23,4	23,4	1,39 (1H, m)/1,68 (1H, m)
16	28,7	28,6	1,37 (1H, m)/1,83 (1H, m)
17	56,2	56,2	1,24 (1H, m)
18	12,9	12,9	0,83 (3H, s)
19	18,2	18,2	0,88 (3H, s)
20	39,9	39,7	2,01 (1H, m)
21	20,9	20,6	1,00 (3H, d, 6,5)
22	132,3	132,3	5,22 (1H, dd, 6,6, 16,0)

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
23	135,2	135,2	5,14 (1H, dd, 6,6, 16,0)
24	42,8	42,8	1,85 (1H, m)
25	33,1	33,1	1,50 (1H, m)
26	19,7	19,9	0,84 (3H, d, 6,6)
27	20,0	19,6	0,82 (3H, d, 6,6)
28	17,6	17,6	0,91 (3H, d, 6,6)

^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của (22E,24R)-5 α ,8 α -epi-dioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (đo trong CDCl_3) [74]

3.2.1.7. Hợp chất **TP7**: linoleic acid



Hình 3.15. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP7**

Phổ HR-ESI-MS của **TP7** xuất hiện pic ion tại m/z 279,2330 $[\text{M}-\text{H}]^-$ cho phép xác định công thức phân tử của **TP7** là $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_2]^-$, 279,2330) (Hình P1.39). Phổ ^1H -NMR của **TP7** xuất hiện tín hiệu của 4 proton olefin tại δ_H 5,33 (4H, m) và proton của nhóm methyl cuối mạch tại δ_H 0,88 (3H, t, $J = 6,6$ Hz), sự xuất hiện của các proton của các nhóm methylene tại δ_H 2,77 (2H, t, $J = 7,2$ Hz), 2,31 (2H, t, $J = 7,8$ Hz), 2,04 (4H, m), 1,59 (2H, m) và 1,30 (16H, m). Phổ ^{13}C -NMR của **TP7** xuất hiện của một carbon carbonyl tại δ_C 173,9, bốn carbon olefin tại δ_C 130,2, 130,0, 128,1 và 127,9, mười hai carbon methylene tại δ_C 34,1, 31,5, 29,7, 29,4 $\times 2$, 29,3 $\times 2$, 27,2 $\times 2$, 25,6, 24,9, và 22,6 và một carbon methyl tại δ_C 14,1. Phân tích số liệu phổ NMR cho phép xác định đây là linoleic acid.

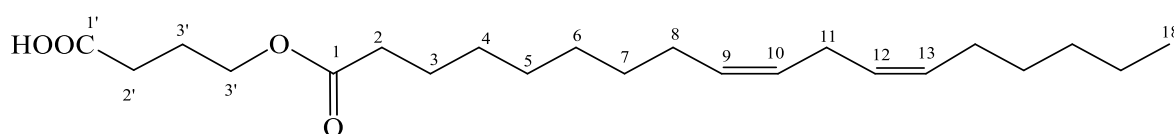
Bảng 3.7. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP7** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	180,6	180,0	-
2	34,2	34,1	2,31 (2H, t, 7,8)
3	24,8	24,9	1,59 (2H, m)
4-7	29,2-29,7	29,3-29,7	1,25-1,38
8	27,3	27,2	2,04 (2H, m)
9	130,0	130,0	5,33 (1H, m)
10	128,2	128,1	5,33 (1H, m)
11	25,8	25,6	2,77 (2H, t, 7,2)

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
12	128,0	128,0	5,33 (1H, m)
13	130,2	130,2	5,33 (1H, m)
14	27,3	27,2	2,04 (2H, m)
15	29,5	29,5	1,30 (2H, m)
16	31,6	31,5	1,29 (2H, m)
17	22,7	22,7	1,30 (2H, m)
18	14,1	14,1	0,88 (3H, t, 6,6)

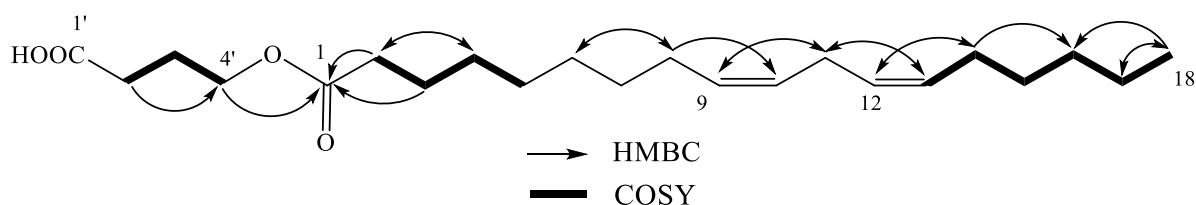
^aCDCl₃, ^b150MHz, ^c600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của linoleic acid (đo trong CDCl₃) [75].

3.2.1.8. Hợp chất **TP8**: 4-(-octadeca-9Z,12Z-dienoyloxy)butanoic acid.



Hình 3.16. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP8**

Hợp chất **TP8** thu được dưới dạng chất dầu không màu. Công thức phân tử của **TP8** được xác định là C₂₂H₃₈O₄ dựa trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với sự xuất hiện của píc ion giả phân tử tại m/z 389,2668 [M+Na]⁺ (Tính toán lý thuyết cho công thức [C₂₂H₃₈O₄Na]⁺, 389,2662) (Hình P1.44). Phổ ¹H-NMR của của **TP8** xuất hiện bốn proton olefin tại δ_H 5,30 (4H, m), một nhóm methyl tại δ_H 0,89 (3H, t, $J = 6,6$ Hz) và các proton của mạch dài trong khoảng δ_H 1,26~1,37 đã gợi ý sự có mặt của một axit chứa hai liên kết đôi. Phổ ¹³C-NMR của **TP8** cho biết sự có mặt của một carbon carboxyl tại δ_C 173,9, bốn carbon olefin tại δ_C 130,0, 127,9, 128,0 và 130,2, mười năm methylene và một carbon methyl tại δ_C 14,0. Phân tích số liệu của **TP8** cho thấy số liệu của hợp chất này hoàn toàn giống với của 4-(octadeca-9Z,12Z-dienoyloxy)butanoic acid [76].



Hình 3.17. Tương tác HMBC chính và COSY của hợp chất **TP8**

Liên kết ester giữa octadeca-9Z,12Z-dienoic acid và C-4 của 4-hydroxy butanoic acid được xác định dựa trên tương tác HMBC giữa H-4' (δ_H 4.11) và C-1 (δ_H 173.9) (Hình

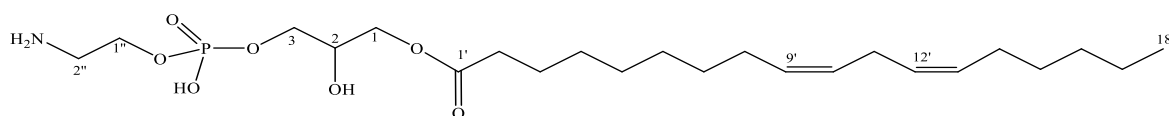
3.15). Từ các dữ liệu phổ trên và so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất **TP8** được xác định là 4-(octadeca-9Z,12Z-dienoyloxy)butanoic acid.

Bảng 3.8. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP8** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	173,8	173,9	-
2	34,2	34,2	2,29 (2H, t, 6,6)
3	24,9	24,9	1,60 (2H, m)
4-7	29,1-29,6	29,1-29,6	1,25-1,35
8	27,2	27,2	2,04 (2H, m)
9	130,0	130,0	5,33 (1H, m)
10	127,9	127,9	5,33 (1H, m)
11	25,6	25,6	2,77 (2H, t, 7,2)
12	128,0	128,1	5,33 (1H, m)
13	130,2	130,2	5,33 (1H, m)
14	27,2	27,2	2,04 (2H, m)
15	29,3	29,3	1,30 (2H, m)
16	31,5	31,5	1,29 (2H, m)
17	22,5	22,5	1,30 (2H, m)
18	14,1	14,0	0,89 (3H, t, 6,6)
1'	Nd	Nd	-
2'	30,4	30,8	2,42 (2H, t, 6,6)
3'	23,7	24,0	1,96 (2H, m)
4'	63,0	63,2	4,11 (2H, t, 6,6)

^a CDCl_3 , ^b150MHz, ^c600 MHz, Nd: không xác định, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của 4-(octadeca-9Z,12Z-dienoyloxy)butanoic acid (đo trong CDCl_3) [76].

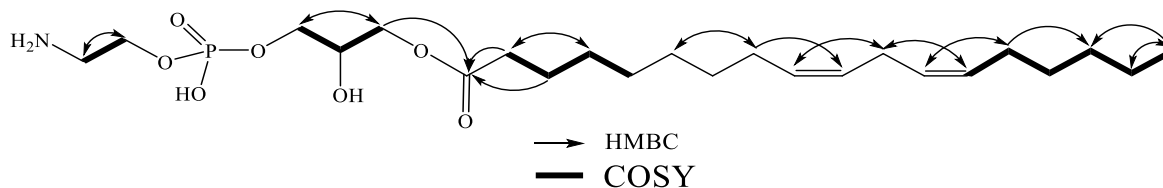
3.2.1.9. Hợp chất **TP9**: 1-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine



Hình 3.18. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP9**

Hợp chất **TP9** thu được dưới dạng chất dầu không màu. Công thức phân tử của **TP9** được xác định là $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{NO}_7\text{P}$ dựa trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với sự xuất hiện của píc ion tại m/z 478,2935 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{23}\text{H}_{45}\text{NO}_7\text{P}]^+$, 478,2928 (Hình P1.53). Phổ ^1H -NMR của của **TP9** xuất hiện sự có mặt của bốn proton olefin tại δ_{H} 5,34 (4H, m), một nhóm methyl tại δ_{H} 0,93

(3H, t, $J = 6,6$ Hz) và tín hiệu của các proton mạch dài trong khoảng δ_H 1,26~1,37 đã gợi ý sự có mặt của một axit chứa 2 liên kết đôi. Phổ ^{13}C -NMR của **TP9** cho biết sự có mặt của 23 carbon trong đó có một carbon carboxyl, bốn carbon olefin, mười sáu methylene và một carbon methyl. Phân tích số liệu của **TP9** cho thấy số liệu của hợp chất này hoàn toàn giống với của 1-linoleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine [77]. Các tín hiệu carbon tại δ_C 69,9, 67,8, 63,2 và 41,8 đã gợi ý có sự liên kết với phosphate.



Hình 3.19. Tương tác COSY và HMBC chính của hợp chất **TP9**

Các tín hiệu phổ NMR tại δ_H 4,08 (H-1'')/ δ_C 63,1 (C-1'') và δ_H 3,18 (H-2'')/ δ_C 41,7 (C-2'') và tương tác HMBC giữa H-1'' (δ_H 4,08) và C-2'' (δ_C 41,7) đã gợi ý sự có mặt của nhóm phosphocholine. Ngoài ra, liên kết ester giữa octadeca-9Z,12Z-dienoic acid và C-1 của glycerol được xác định dựa trên tương tác HMBC giữa H-1' (δ_H 4,10 và 4,22) và C-1 (δ_C 175,6) (Hình 3.17). Từ các bằng chứng trên, hợp chất **TP9** được xác định là 1-linoleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine.

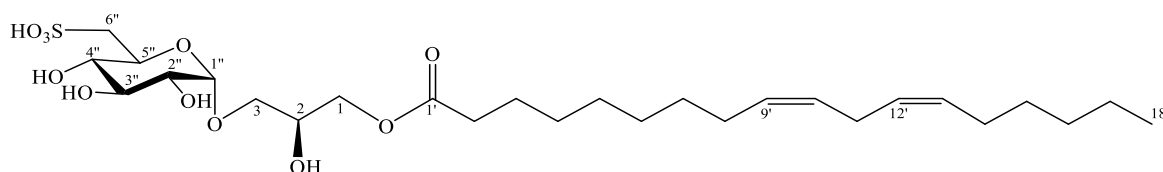
Bảng 3.9. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP9** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	66,2	66,2	4,13 (2H, 4,2, 12,0)
2	69,9	69,9	4,00 (1H, m)
3	67,8	67,8	3,92 (2H, m)
1'	175,4	175,4	-
2'	34,9	34,9	2,38 (2H, t, 7,2)
3'	26,0	26,0	1,64 (2H, m)
4'-7'	30,2-30,7	30,2-30,7	1,30-1,40
8'	28,2	28,2	2,08 (2H, m)
9'	130,9	130,9	5,34 (1H, m)
10'	129,1	129,1	5,34 (1H, m)
11'	26,6	26,6	2,80 (2H, t, 7,2)
12'	129,0	129,0	5,34 (1H, m)
13'	130,9	130,9	5,34 (1H, m)
14'	28,2	28,2	2,08 (2H, m)
15'	30,7	30,2	1,34 (2H,m)

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
16'	32,6	32,7	1,34 (2H, m)
17'	23,6	23,6	1,34 (2H, m)
18'	14,5	14,4	0,93 (3H, t, 6,6)
1''	63,2	63,1	4,08 (2H, m)
2''	41,8	41,7	3,18 (2H, t, 4,8)

^a đo trong CD_3OD , ^b 150MHz, ^c 600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của 1-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (đo trong CD_3OD) [77].

3.2.1.10. Hợp chất **TP10**: cibotiglycerol



Hình 3.20. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP10**

Hợp chất **TP10** thu được dưới dạng chất bột màu trắng. Công thức phân tử được xác định là $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{O}_{11}\text{S}$ dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 579,2844 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{27}\text{H}_{47}\text{O}_{11}\text{S}]^-$, 579,2845) (Hình P1.61).

Phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR chỉ ra sự có mặt của một đơn vị đường và một acid béo, điều này gợi ý sự có mặt của glycoglycerolipid. Phổ ^1H -NMR xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của các proton olefin và nhóm methyl tại δ_H 0,93 (3H, t, $J = 6,6$ Hz). Bốn tín hiệu của 2 liên kết đôi trên phổ ^{13}C -NMR tại δ_C $129,1 \times 2$ và $130,1 \times 2$. Tương tác HMBC giữa H-1 (δ_H 4,86) và C-1' (δ_C 175,6) gợi ý vị trí của acid linoleic acid với glycerol. Các tín hiệu trên phổ ^{13}C -NMR tại δ_C 100,2, 73,7, 75,1, 75,0, 69,8 và 54,3 và tín hiệu của proton anome tại δ_H 4,86 ($J = 3,6$ Hz) đã gợi ý sự có mặt của phân tử đường sulfo- α -D-quinovose. Vị trí của đường này tại C-3 của glycerol được xác định dựa trên tương tác HMBC giữa H-1'' (δ_H 4,86) và C-3 (δ_C 70,6). Từ các bằng chứng trên, hợp chất **TP10** được xác định là cibotiglycerol [78].

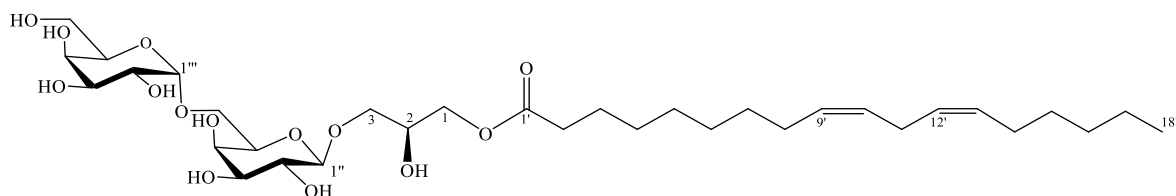
Bảng 3.10. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP10** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	66,6	66,5	4,10 (1H, m) 4,22 (1H, dd, 6,6, 13,8)
2	70,2	69,8	4,11 (1H, m)
3	72,1	70,6	4,08 (1H, m)

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
			3,41 (1H, m)
1''	100,5	100,2	4,86 (1H, d, 3,6)
2''	69,7	73,7	3,42 (1H, m)
3''	71,5	75,1	3,67 (1H, t, 9,0)
4''	71,1	75,0	3,10 (1H, t, 9,0)
5''	72,5	69,8	4,11 (1H, m)
6''	62,7	54,3	2,93 (1H, dd, 9,0, 15,0) 3,37 (1H, dd, 1,8, 15,0)
1'	175,5	175,6	-
2'	34,9	34,9	2,39 (2H, t, 7,2)
3'	26,0	26,0	1,62 (2H, dd, 7,2, 7,2)
4'	30,3	30,3	1,36 (2H, m)
5'-7'	30,1~30,3	30,0~30,7	1,30~1,37 (6H, m)
8'	28,1	28,1	2,10 (2H, m)
9'	130,9	130,9	5,35 (1H, m)
10'	129,1	129,1	5,34 (1H, m)
11'	26,5	26,5	1,62 (dd, 7,2, 7,2)
12'	129,1	129,1	5,34 (1H, m)
13'	130,9	130,9	5,35 (1H, m)
14'	28,1	28,1	2,10 (2H, m)
15'	30,4	30,2	1,34 (2H, m)
16'	32,6	32,6	1,32 (2H, m)
17'	23,6	23,6	1,32 (2H, m)
18'	14,4	14,4	0,93 (3H, t, 6,6)

^ađo trong CD_3OD , ^b150MHz, ^c600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của cibotiglycerol (đo trong CD_3OD) [78].

3.2.1.11. Hợp chất **TP11**: gingerglycolipid B



Hình 3.21. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP11**

Hợp chất **TP11** thu được dưới dạng bột trắng. Phổ HR-ESI-MS của **TP11** xuất hiện pic ion giả phân tử tại m/z 701,3726 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{O}_{14}\text{Na}]^+$, 701,3719) cho phép xác định công thức phân tử của **TP11** là $\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{O}_{14}$ (Hình P1.70). Phổ ^1H -NMR của **TP11** xuất hiện các tín hiệu của bốn proton

olefin tại δ_H 5,35 (4H, m), hai proton anome tại δ_H 4,27 (d, $J = 7,2$ Hz) và 4,89 (d, $J = 3,6$ Hz) và proton của một nhóm methyl tại δ_H 0,93 (3H, t, $J = 7,2$ Hz). Phổ ^{13}C -NMR của **TP11** xuất hiện tín hiệu của 33 carbon, bao gồm: một carbon carboxyl (δ_C 175,5), bốn carbon olefin (δ_C $129,0 \times 2$ và $130,9 \times 2$), hai carbon anome (δ_C 105,3 và 100,5), mười một carbon oxymethine tại δ_C 69,7, 105,3, 72,6, 74,6, 70,1, 74,7, 100,5, 71,1, 71,5, 70,3 và 72,5, bốn carbon oxymethylen tại δ_C 66,6, 72,1, 67,8 và 62,7 và một carbon methyl tại δ_C 14,4. Phân tích số liệu phổ NMR cho biết **TP11** là một monoacyldigalactosylglycerol. Cấu hình β tại vị trí 1'' và α tại vị trí 1''' được xác định dựa vào hằng số J của H-1''' ($J = 7,2$ Hz) và H-1'''' ($J = 3,6$ Hz). Kết hợp phân tích các số liệu phổ và so sánh với gingerglycolipid B cho thấy hoàn toàn giống nhau. Vì thế cấu trúc của **TP11** được xác định là gingerglycolipid B [79].

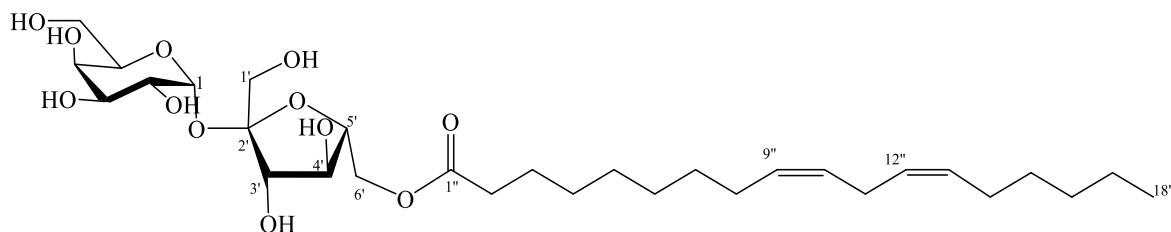
*Bảng 3.11. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP11** và hợp chất tham khảo*

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	67,4	66,6	4,17 (2H, t, 6,6)
2	70,4	69,7	4,00 (1H, m)
3	72,9	72,1	3,68 (1H, m)/3,86 (1H, m)
1'	176,2	175,5	-
2'	35,7	34,9	2,39 (2H, t, 7,2)
3'	26,8	26,0	1,64 (2H, m)
4'-7'	31,0-31,5	30,2-30,7	1,30-1,37 (8H, m)
8'	29,0	28,1	2,09 (2H, m)
9'	131,7	130,9	5,35 (1H, m)
10'	129,9	129,0	5,35 (1H, m)
11'	27,3	26,5	2,80 (1H, d, 7,2)
12'	129,9	129,0	5,35 (1H, m)
13'	131,7	130,9	5,35 (1H, m)
14'	29,0	28,1	2,09 (2H, m)
15'	31,0	30,2	1,35 (2H, m)
16'	33,5	32,6	1,35 (2H, m)
17'	24,4	23,6	1,35 (2H, m)
18'	15,3	14,4	0,93 (3H, t, 7,2)

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1''	106,1	105,3	4,27 (1H, d, 7,2)
2''	73,3	72,6	3,88 (1H, m)
3''	75,3	74,6	3,52 (1H, m)
4''	70,8	70,1	3,88 (1H, m)
5''	75,3	74,7	3,77 (1H, m)
6''	68,5	67,8	3,69 (1H, m)
			3,92 (1H, m)
1'''	101,3	100,5	4,89 (1H, d, 3,6)
2'''	71,0	71,1	3,91 (1H, m)
3'''	72,2	71,5	3,76 (1H, m)
4'''	71,8	70,3	3,88 (1H, m)
5'''	73,3	72,5	3,55 (1H, m)
6'''	63,5	62,7	3,72 (2H, m)

^ađo trong CD_3OD , ^b150MHz, ^c600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của gingerglycolipid B (đo trong CD_3OD)[79].

3.2.1.12. Hợp chất **TP12**: 6'-O-linoleylsucrose



Hình 3.22. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP12**

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của **TP12** xuất hiện bốn proton olefin tại δ_H 5,35 (4H, m), một nhóm methyl tại δ_H 0,93 (3H, t, $J = 6,6$ Hz). Trên phổ $^{13}\text{C-NMR}$ và HSQC của **TP12** xuất hiện tín hiệu của 30 carbon trong đó có một carbon carbonyl tại δ_C 175,4, một carbon không liên kết với hydro tại δ_C 105,5, bốn carbon olefin của hai liên kết đôi tại δ_C $129,1 \times 2$, 130,9 và 130,0, tám carbon oxymethine tại δ_C 93,5, 73,3, 74,2, 71,6, 74,8, 79,0, 76,9 và 80,7, ba carbon oxymethylene tại δ_C 62,6, 63,8 và 66,6, mười bốn carbon methylene của mạch dài trong khoảng δ_C 23,7 – 34,9. Phân tích dữ kiện phổ $^1\text{H-}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất **TP12** thấy đây là một hợp chất tạo bởi sucrose và linoleic acid. Liên kết ester giữa acid linoleic acid với C-6' của đường sucrose được xác định dựa trên tương tác HMBC giữa H-6' (δ_H 4,33 và 4,40) và C-1'' (δ_C 175,4).

Từ sự phân tích phổ NMR và tài liệu tham khảo, **TP12** được xác định là 6'-O-linoleylsucrose [80].

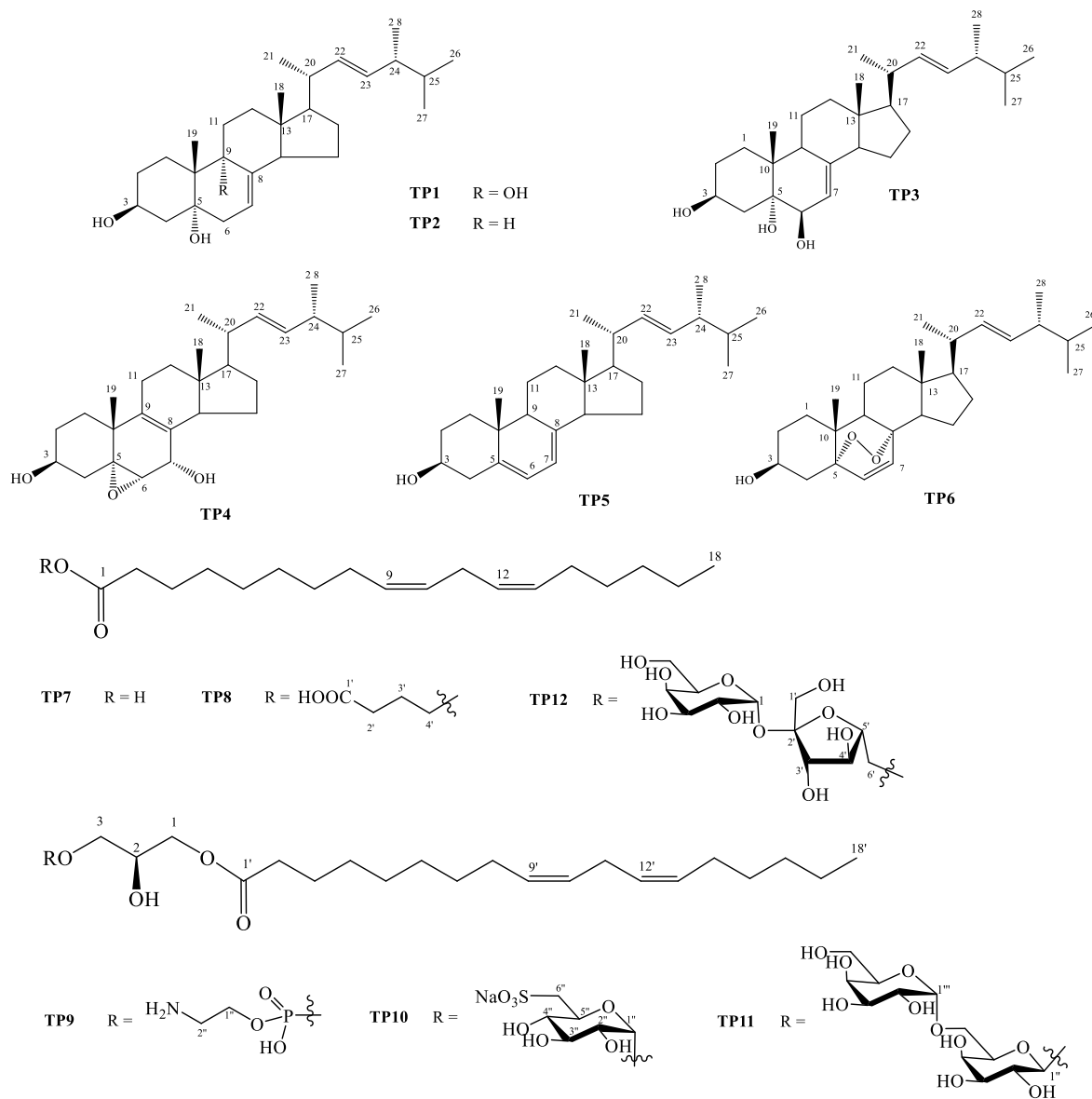
*Bảng 3.12. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **TP12** và hợp chất tham khảo*

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	93,1	93,5	5,35 (1H, m)
2	73,3	73,3	3,42 (1H, m)
3	74,5	74,2	3,83 (1H, m)
4	71,9	71,6	3,33 (1H, m)
5	74,9	74,8	3,71 (1H, m)
6	62,5	62,6	3,72 (1H, m)/3,84 (1H, m)
1'	64,2	63,8	3,63 (2H, d, 5,4)
2'	105,8	105,5	-
3'	79,2	79,0	4,11 (1H, d, 8,4)
4'	76,5	76,9	4,02 (1H, t, 7,8)
5'	80,6	80,7	3,83 (m)
6'	66,5	66,6	4,33 (1H, dd, 3,0, 12,0) 4,40 (1H, dd, 7,8, 12,0)
1''	173,4	175,4	-
2''	34,0	34,9	2,38 (2H, t, 7,2)
3''	25,0	26,0	1,64 (2H, m)
4''-7''	29,1-29,4	30,2-30,9	1,30-1,40
8''	27,3	28,2	2,08 (2H, m)
9''	128,2	130,9	5,35 (1H, m)
10''	128,2	129,1	5,35 (1H, m)
11''	25,8	26,5	2,80 (2H, t, 7,2)
12''	130,2	129,1	5,35 (1H, m)
13''	130,3	131,0	5,35 (1H, m)
14''	27,2	28,2	2,08 (2H, m)
15''	29,7	30,2	1,34 (2H, m)
16''	31,5	32,7	1,34 (2H, m)
17''	22,6	23,7	1,34 (2H, m)

18"	14,0	14,4	0,93 (3H, t, 6,6)
-----	------	------	-------------------

^a đo trong CD₃OD, ^b600 MHz, ^c150 MHz, $\delta_C^{\#}$ của 6'-O-linoleylsucrose (đo trong pyridine-d₅) [80].

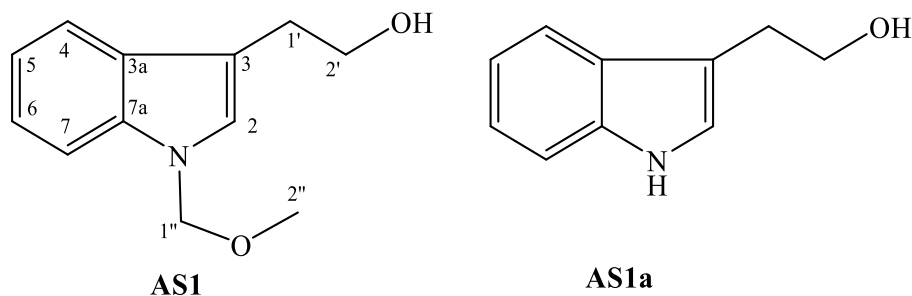
3.2.2. Các hợp chất phân lập được từ chủng vi tảo *T. pachydermum* TSL10



Hình 3.23. Cấu trúc các hợp chất phân lập từ vi tảo *T. pachydermum* TSL10

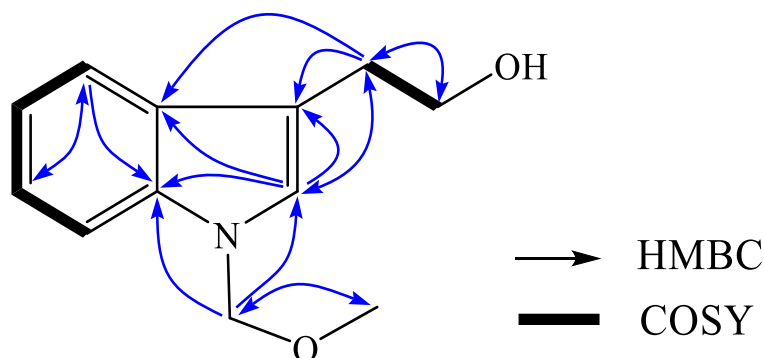
3.2.3. Xác định cấu trúc của các hợp chất từ chủng vi tảo *Aurantiochytrium sp. SC145*

3.2.3.1. Hợp chất **AS1**: *N*-methoxymethyltryptophol (Mới)



Hình 3.24. Cấu trúc hoá học hợp chất **AS1** và hợp chất tham khảo

Hợp chất **AS1** thu được dưới dạng bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử của **AS1** được xác định là C₁₂H₁₅NO₂ dựa trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS với píc ion dương giả phân tử tại m/z 228,0993 [M+Na]⁺ (tính toán lý thuyết C₁₂H₁₅NO₂Na⁺, m/z 228,1000) (Hình 3.24). Phổ ¹H-NMR của **AS1** xuất hiện tín hiệu của năm proton thơm tại δ_H 7,61 (1H, dd, J = 0,6, 7,8 Hz), 7,16 (1H, dt, J = 0,6, 7,2 Hz), 7,26 (1H, dt, J = 0,6, 7,8 Hz), 7,47 (1H, br d, J = 7,8 Hz) và 7,08 (1H, br s), ba nhóm methylene tại δ_H 3,03 (2H, t, J = 6,6 Hz), 3,92 (2H, t, J = 6,6 Hz) và 5,42 (2H, s), và một nhóm methoxy tại δ_H 3,26 (3H, s) (Hình 3.25). Phổ ¹³C-NMR và HSQC của **AS1** xuất hiện tín hiệu của mười carbon, bao gồm ba carbon thơm không liên kết với hydro tại δ_C 137,0, 128,7 và 112,5; năm methine thơm tại δ_C 126,4, 122,5, 120,0, 119,1 và 110,0; ba methylene tại δ_C 77,6, 62,6 và 28,7 và một nhóm methyl tại δ_C 56,0 (Hình 3.26 và 3.27). Phân tích dữ liệu phổ ¹H- và ¹³C-NMR của **AS1** chỉ ra cấu trúc của **AS1** là dẫn xuất indole, tương tự như **AS1a**, ngoại trừ sự thêm vào nhóm methoxymethyl tại N [81]. Điều này được xác nhận bởi các tương tác HMBC giữa H-1'' (δ_H 5,42) và C-2 (δ_C 126,4)/C-7a (δ_C 137,0)/C-2'' (δ_C 56,0) (Hình 3.23). Các tương tác COSY của H-4 (δ_H 7,61)/H-5 (δ_H 7,16)/H-6 (δ_H 7,26)/H-7 (δ_H 7,47) chỉ ra vị trí *ortho* được thay thế tại vòng benzen (Hình 3.23).



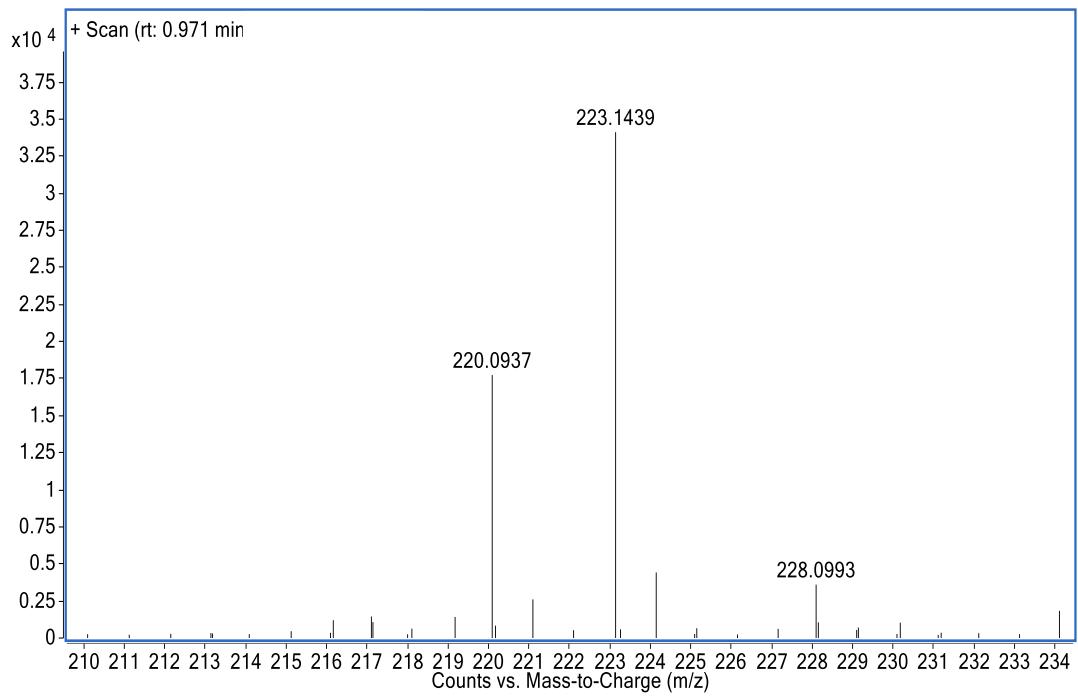
Hình 3.25. Tương tác HMBC và COSY của hợp chất **AS1**

Tương tác HMBC giữa H-2 (δ_{H} 7,08) và C-3 (δ_{C} 112,5)/C-3a (δ_{C} 128,7)/C-7a (δ_{C} 137,0)/C-1' (δ_{C} 28,7) và giữa H₂-1' (δ_{H} 3,03) và C-2 (δ_{C} 126,4)/C-3 (δ_{C} 112,5)/C-3a (δ_{C} 128,7) gợi ý vị trí của nhóm 2-hydroxyethyl tại C-3. Do đó, cấu trúc của hợp chất mới **AS1** được xác định là *N*-methoxymethyltryptophol (Hình 3.22).

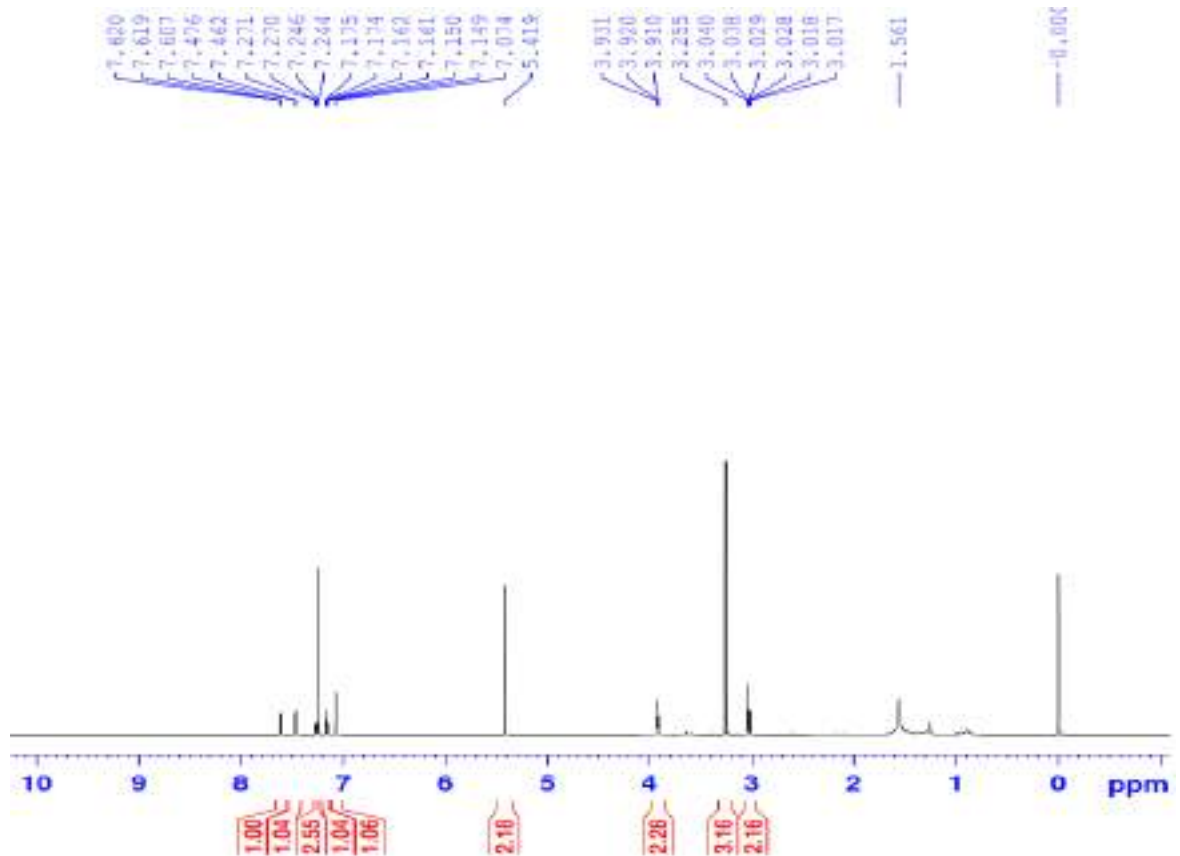
Bảng 3.13. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS1** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	122,4	126,4	7,07 (1H, br s)
3	112,1	112,5	-
3a	127,3	128,7	-
4	118,7	119,1	7,61 (1H, dd, 0,6, 7,8)
5	119,4	120,0	7,16 (1H, dt, 0,6, 7,8)
6	122,1	122,5	7,26 (1H, dt, 0,6, 7,8)
7	111,1	110,0	7,47 (1H, br d, 7,8)
7a	136,3	136,6	-
1'	28,8	28,7	3,03 (2H, t, 6,6)
2'	62,6	62,6	3,92 (2H, t, 6,6)
1''		77,6	5,42 (2H, s)
2''		56,0	3,26 (3H, s)

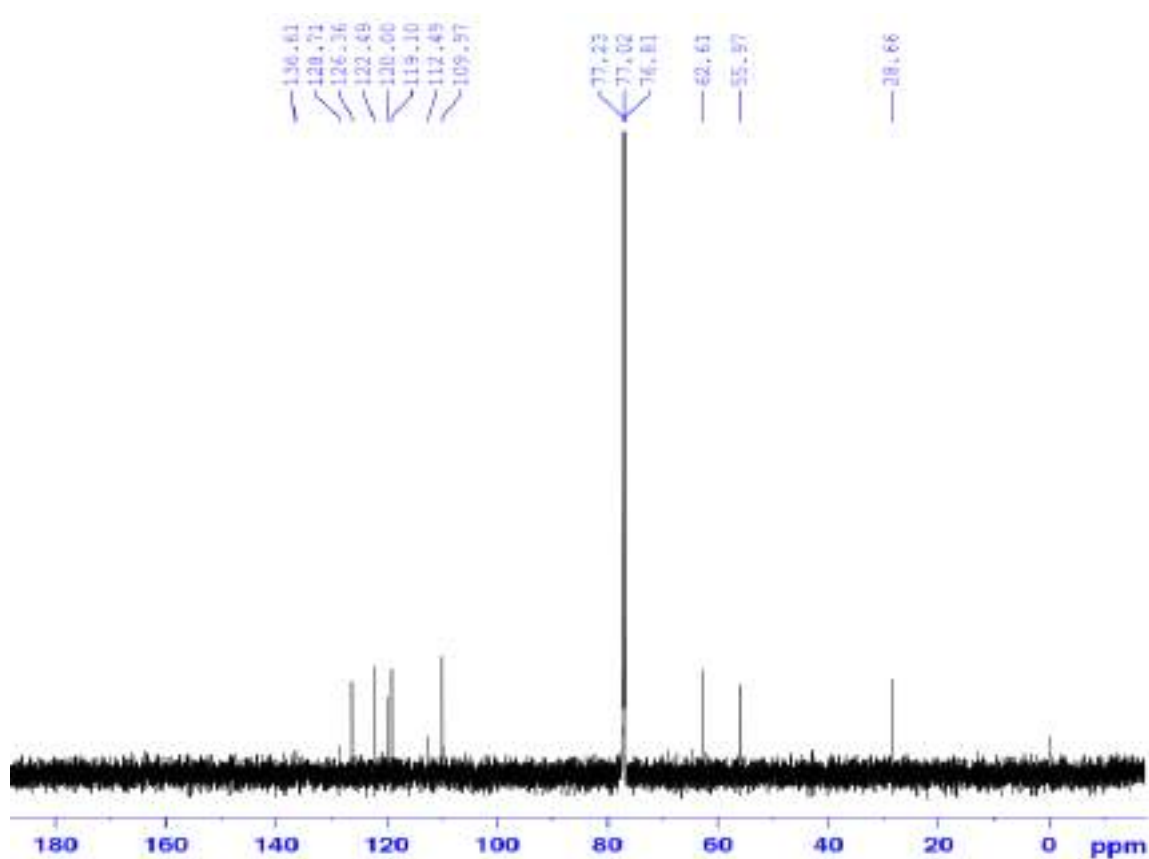
^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của tryptophol (đo trong CDCl_3) [82]



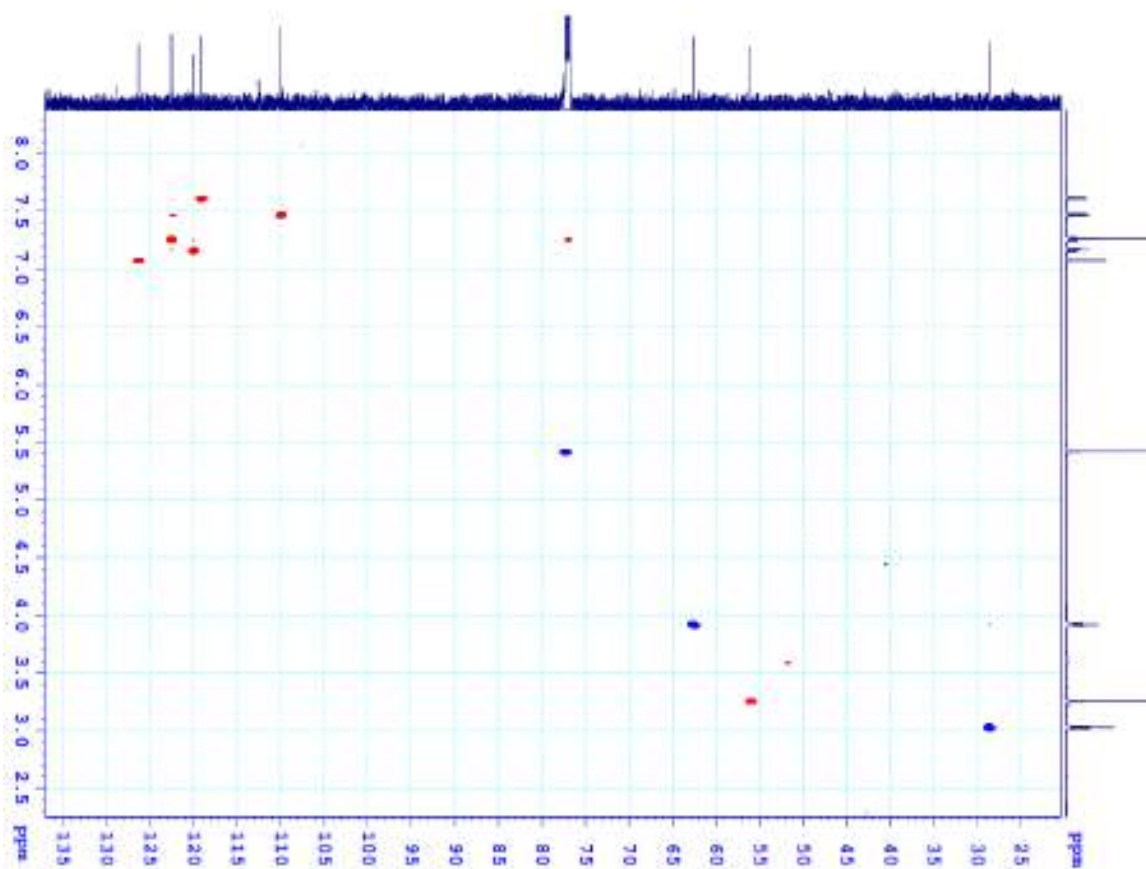
Hình 3.26. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất AS1



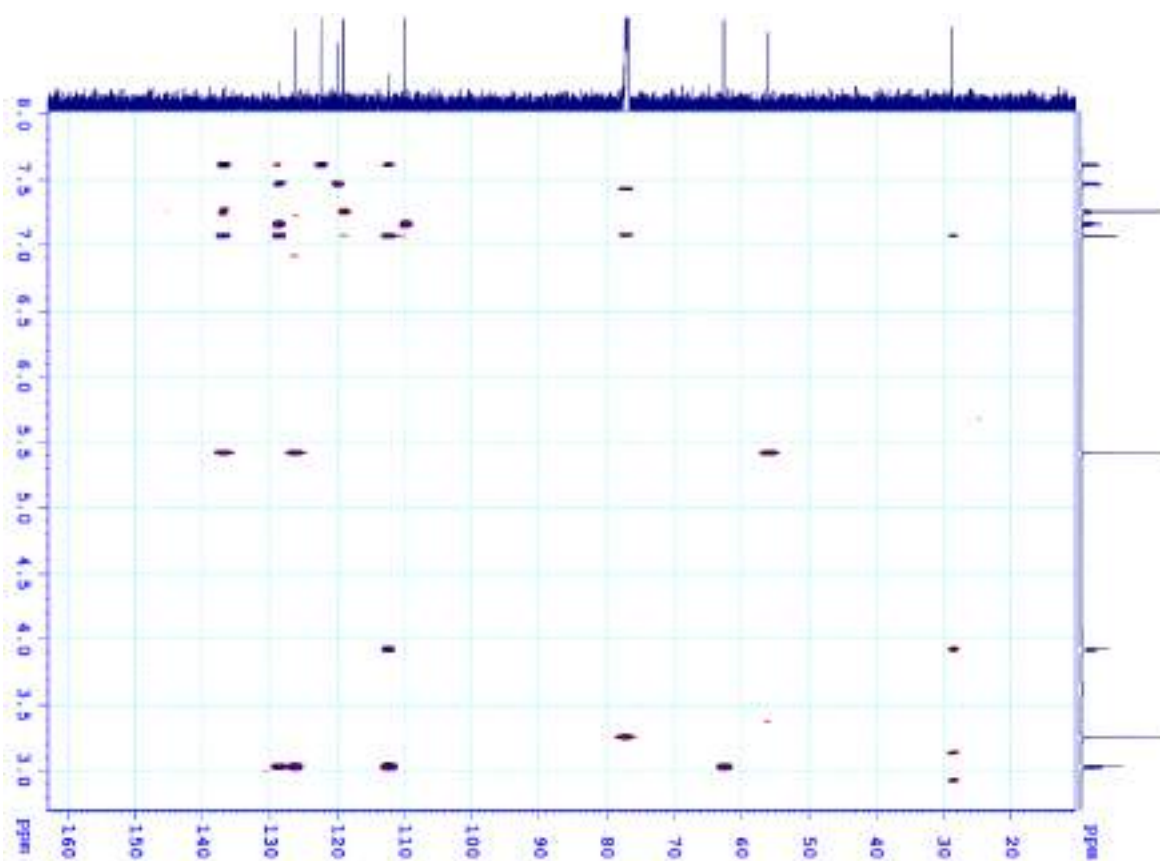
Hình 3.27. Phổ ^1H -NMR của hợp chất AS1



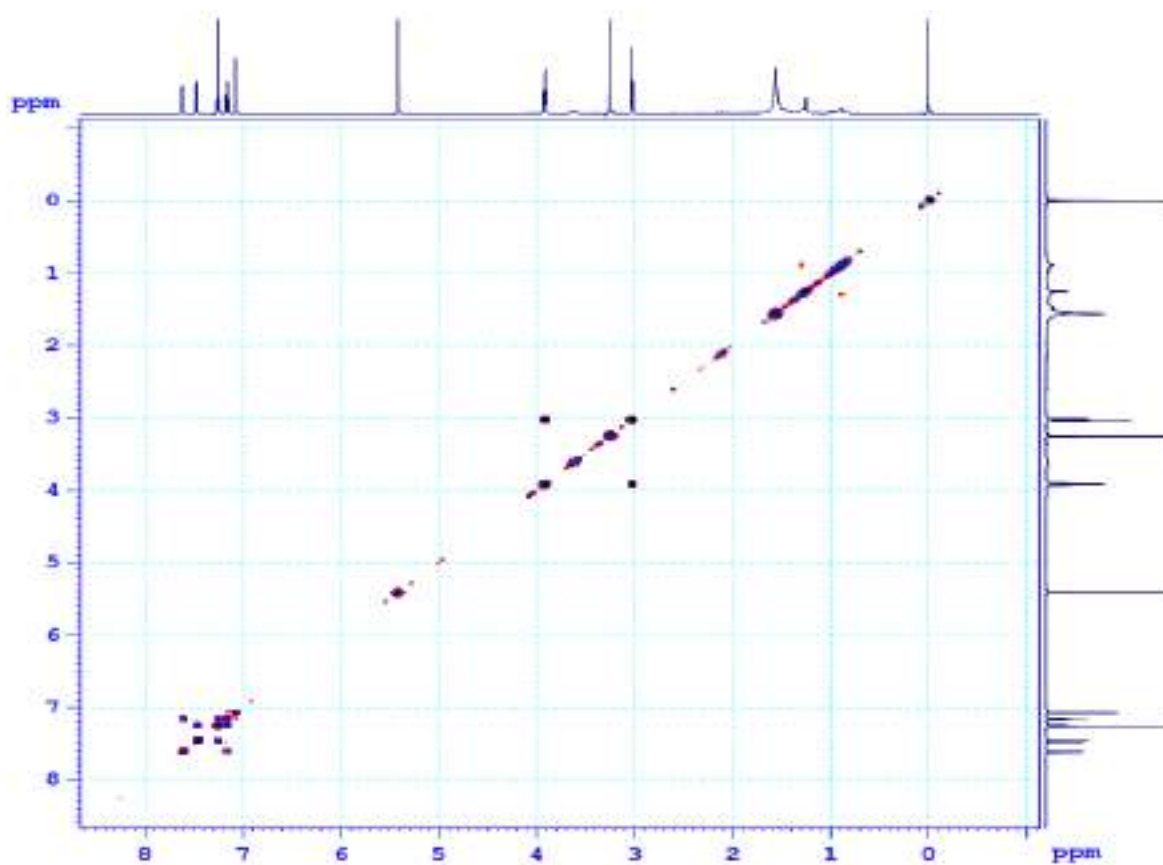
Hình 3.28. Phổ ¹³C-NMR của hợp chất AS1



Hình 3.29. Phổ HSQC của hợp chất AS1

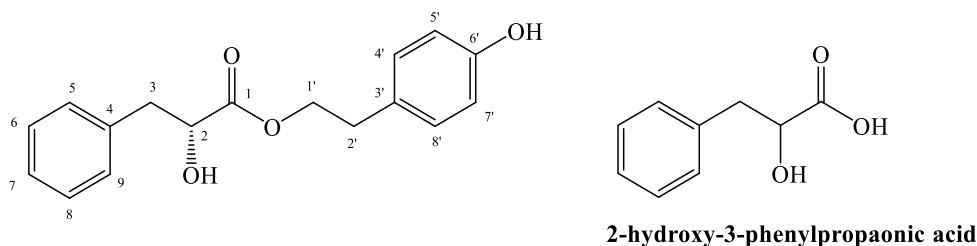


Hình 3.30. Phổ HMBC của hợp chất AS1

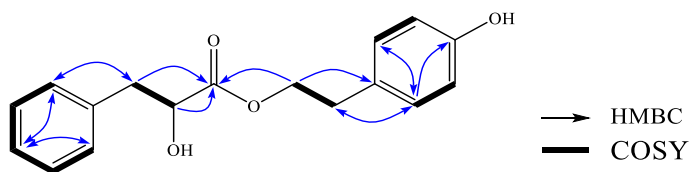


Hình 3.31. Phổ COSY của hợp chất AS1

3.2.3.2. Hợp chất **AS2**: (2*R*)-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl 2-hydroxy-3-phenylpropionate (Mới)



Hình 3.32. Cấu trúc hoá học hợp chất **AS2** và hợp chất tham khảo



Hình 3.33. Tương tác HMBC và COSY của hợp chất **AS2**

Hợp chất **AS2** thu được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện tín hiệu pic ion giả phân tử tại m/z 285,1133 $[M-H]^-$ (Hình 3.32) (tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{17}H_{17}O_4]^-$, m/z 285,1132) dự đoán công thức phân tử của hợp chất là $C_{17}H_{18}O_4$. Phổ 1H -NMR của **AS2** xuất hiện tín hiệu năm proton thơm đặc trưng cho nhóm phenyl tại δ_H 7,13 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), 7,26 (2H, m) và 7,22 (1H, $J = 8,4$ Hz), bốn proton của vòng thơm thế *para* tại δ_H 7,07 (2H, d, $J = 8,4$ Hz) và 6,78 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), và một nhóm hydroxymethine tại δ_H 4,42 (1H, dd, $J = 4,4, 6,6$ Hz) (Hình 3.33 và bảng 3.12). Phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **AS2** xuất hiện tín hiệu của mười bảy carbon, bao gồm một carbon carboxyl tại δ_C 174,1; 12 carbon thơm tại δ_C 136,3, 129,5 $\times 2$, 128,4 $\times 2$, 126,9, 129,5, 130,2 $\times 2$, 115,5 $\times 2$ và 154,5; ba methylene tại δ_C 66,3, 40,5 và 34,1; một carbon hydroxymethine tại δ_C 71,2 (Hình 3.34 và 3.35). Phân tích dữ liệu phổ 1H và ^{13}C -NMR cho thấy cấu trúc của **AS2** giống với 2-hydroxy-3-phenylpropionic acid, ngoại trừ sự có mặt thêm của nhóm 4-hydroxyphenylethoxy tại C-1 [83]. Tương tác HMBC giữa H-3 (δ_H 2,91 và 3,07) và C-1 (δ_C 174,1)/C-2 (δ_C 71,2)/C-4 (δ_C 136,3)/C-5 (C-9) (δ_C 129,5) và tương tác COSY của H-2 (δ_C 4,42)/H-3 (δ_H 2,91 và 3,07) và H-5 (H-9) (δ_H 7,13)/H-6 (H-8) (δ_H 7,26) chỉ ra sự hiện diện của nhóm hydroxy tại C-2 của 3-phenylpropionate (Hình 3.31 và 3.36). Sự xuất hiện của nhóm 4-hydroxyphenylethyl được chứng minh bằng tương tác HMBC giữa H-1' (δ_H 4,31) và C-2' (δ_C 34,1)/C-3' (δ_C 129,5); H-2' (δ_H 2,88) và C-4'/C-8' (δ_C 130,2) và H-4' (H-

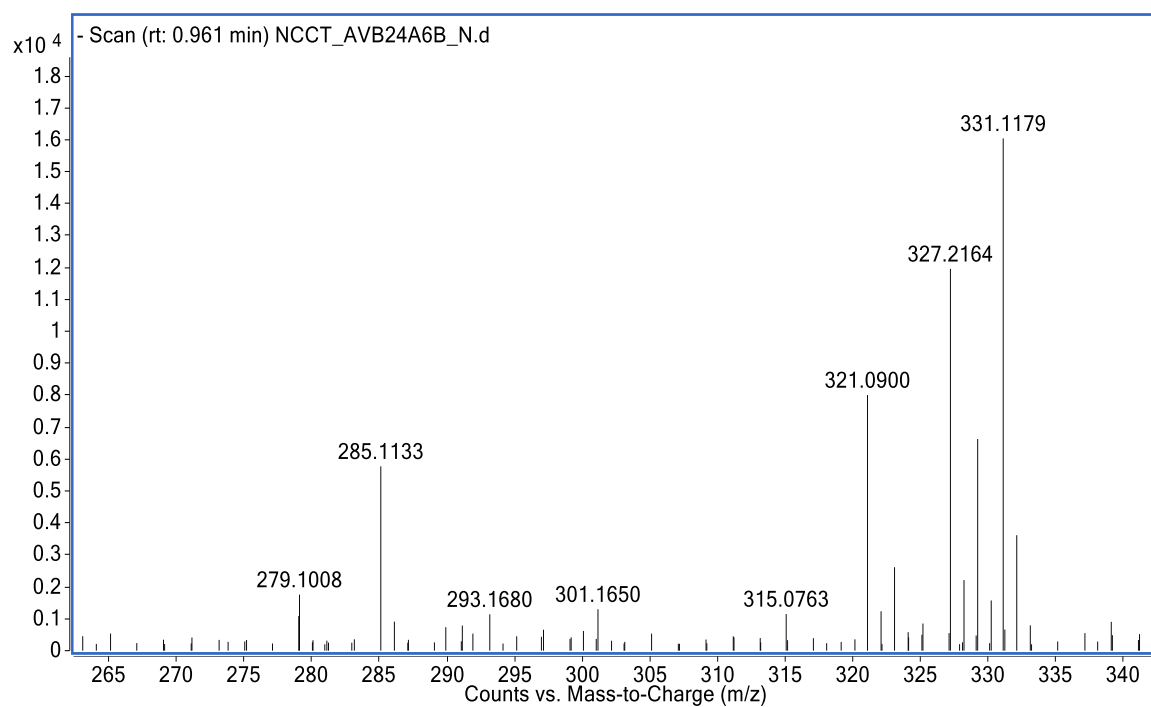
8') (δ_{H} 7,07) và C-2' (δ_{C} 34,1)/C-6' (δ_{C} 154,5). Vị trí este hóa của 2-(4-hydroxyphenyl)ethoxy tại C-1 được xác định bằng tương tác HMBC giữa H-1' (δ_{H} 4,31) và C-1 (δ_{C} 174,1). Độ quay cực của AS2 là $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +30,5$ (c 0,1, CHCl_3) và hiệu ứng Cotton (-) của AS2 tại 220 nm, cho phép kết luận AS2 là một chất quang hoạt.

Để xác định chính xác được cấu trúc tuyệt đối của AS2 tính toán phổ ECD của hai đồng phân quang học (2R/2S) được thể hiện trong hình 3.38 (Phổ tính toán được dịch chuyển -3 nm). So sánh giữa phổ ECD thực nghiệm của AS2 với phổ ECD tính toán lý thuyết, chỉ ra cấu hình tuyệt đối của nhóm hydroxy tại C-2 là R. Điều này cũng được xác nhận bởi sự tương đồng giữa hiệu ứng Cotton của AS2 và hiệu ứng của (+)-(R)-methyl 2-hydroxy-3-phenylpropionate [84]. Từ các bằng chứng trên, cấu trúc của hợp chất mới AS2 được xác định là (2R)-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl 2-hydroxy-3-phenylpropionate. Đây là một hợp chất mới được phân lập từ thiên nhiên.

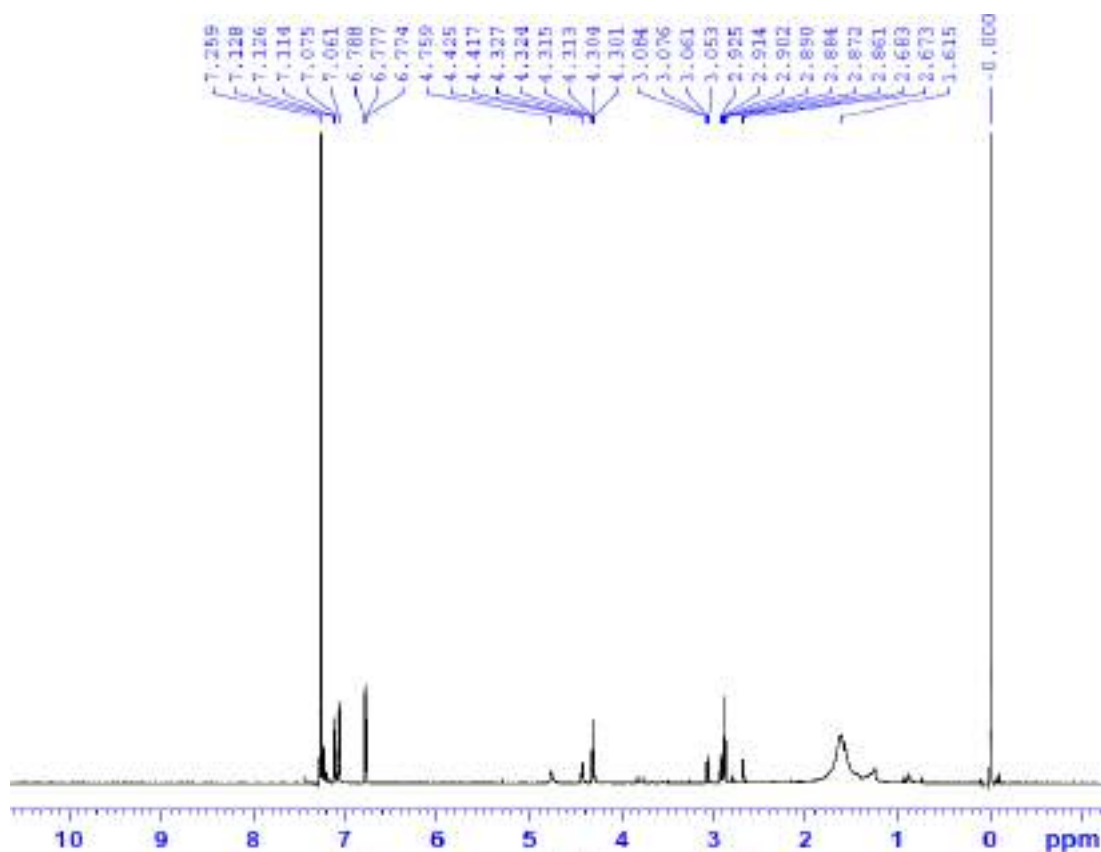
Bảng 3.14. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất AS2 và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	175,6	174,1	-
2	72,3	71,2	4,42 (1H, dd, 4,4, 6,6)
3	41,5	40,5	2,91 (1H, dd, 6,6, 13,8) 3,07 (1H, dd, 4,8, 13,8)
4	138,9	136,3	-
5, 9	130,7	129,5	7,13 (2H, d, 8,4)
6, 8	129,1	128,4	7,26 (2H, m)
7	127,4	126,9	7,22 (1H, t, 8,4)
1'	-	66,3	4,31 (2H, t, 6,6)
2'	-	34,1	2,88 (2H, t, 6,6)
3'	-	129,5	-
4', 8'	-	130,2	7,07 (2H, d, 8,4)
5', 7'	-	115,5	6,78 (2H, d, 8,4)
6'	-	154,5	-

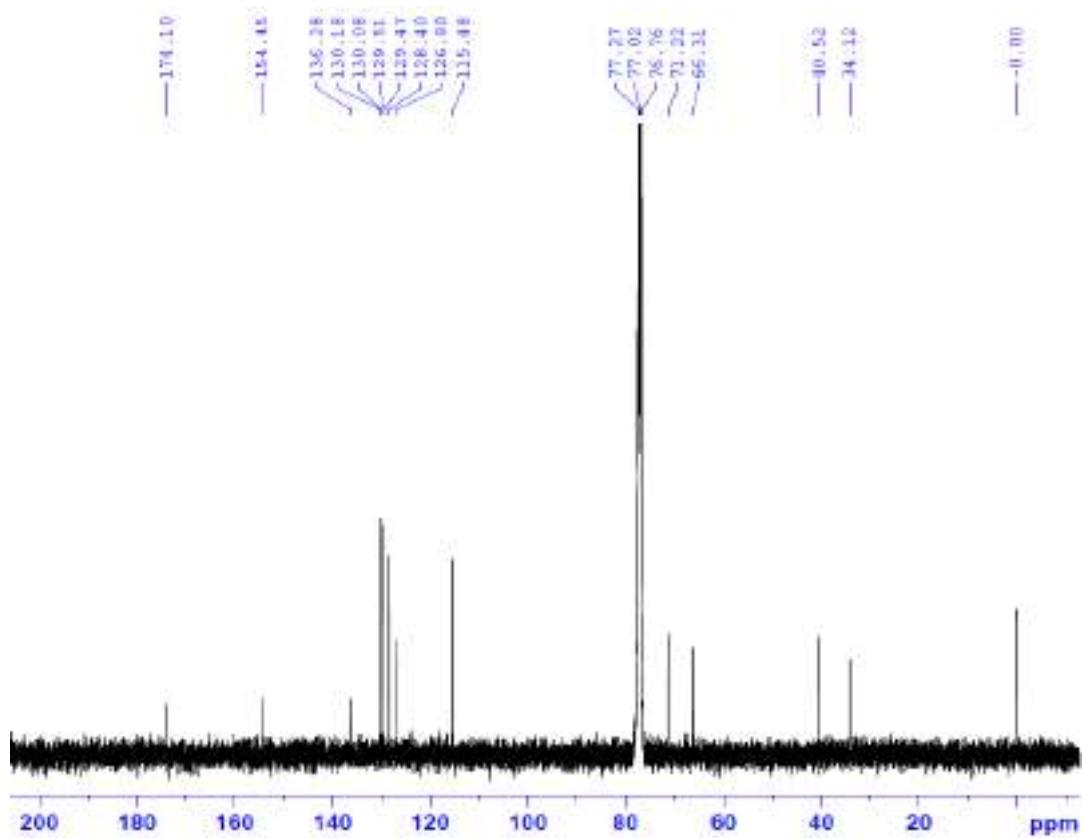
^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của 2-hydroxy-3-phenylpropinoic (đo trong CDCl_3) [83]



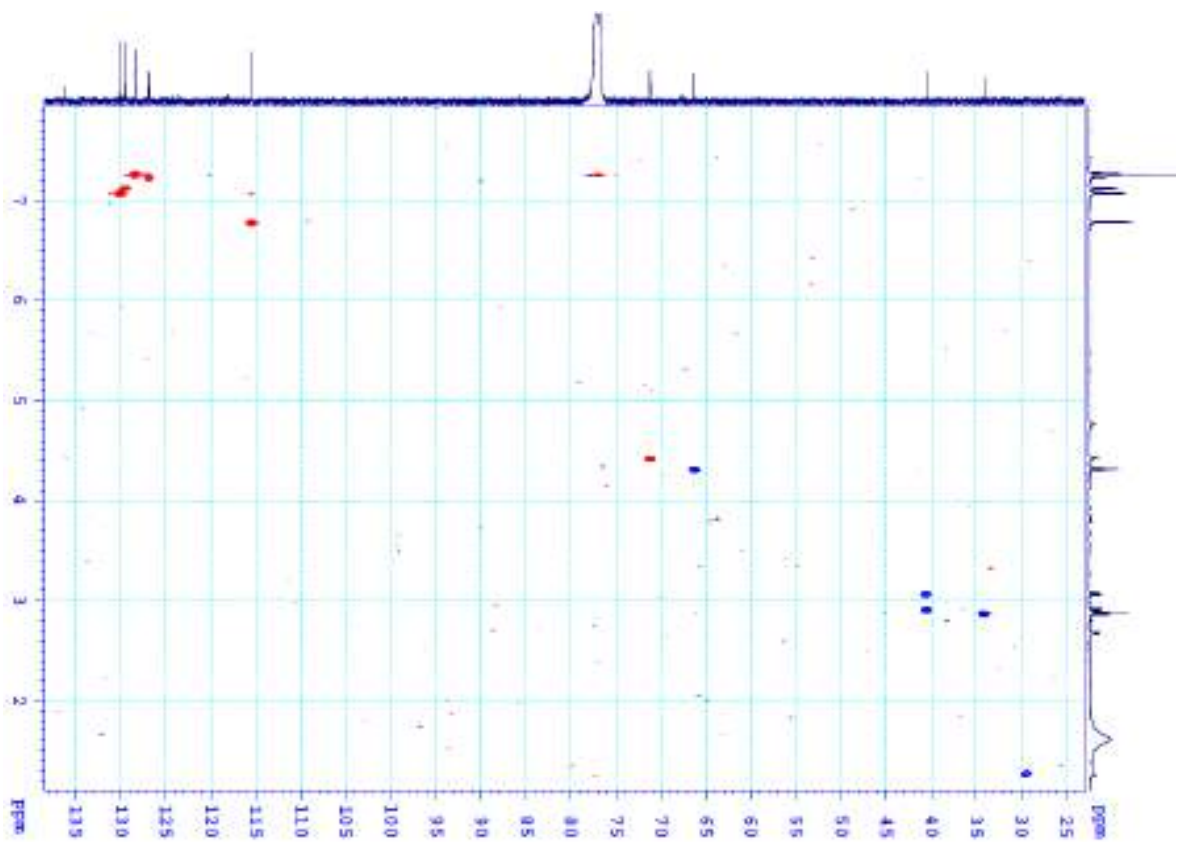
Hình 3.34. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS của hợp chất AS2



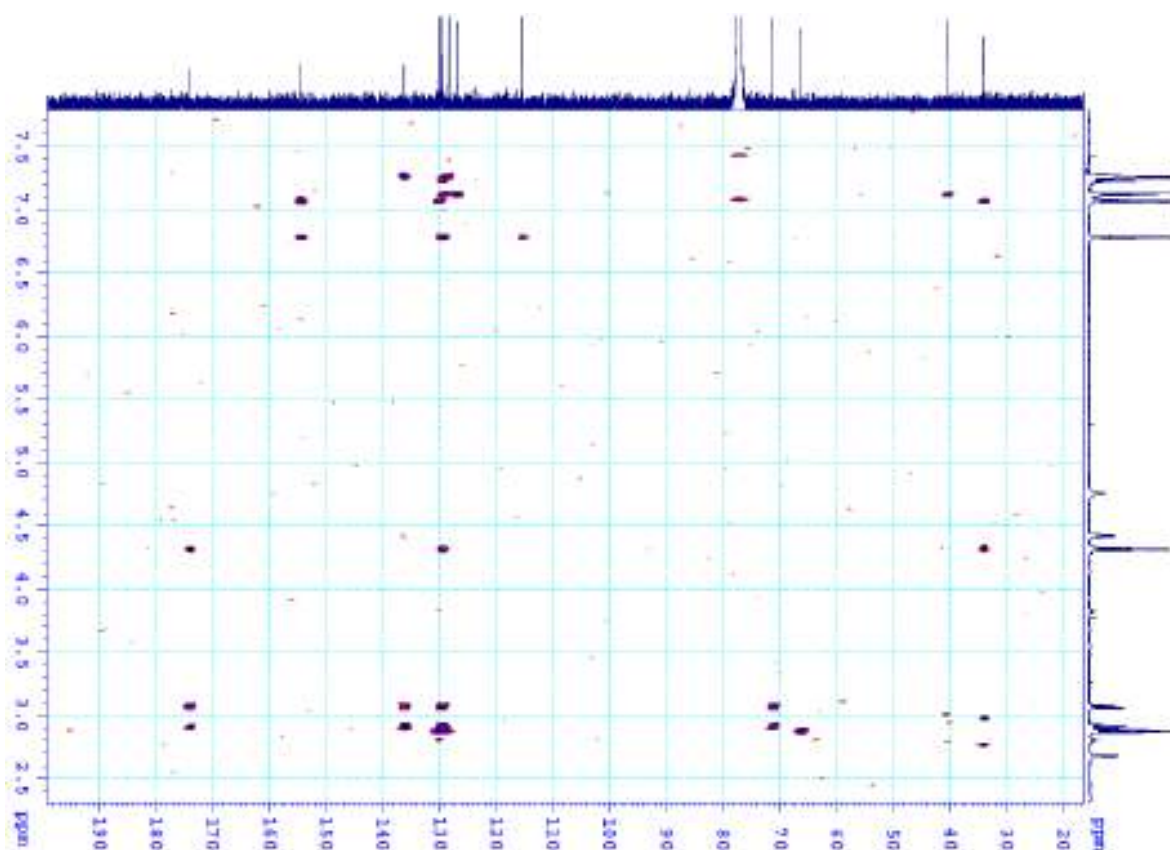
Hình 3.35. Phổ ^1H -NMR của hợp chất AS2



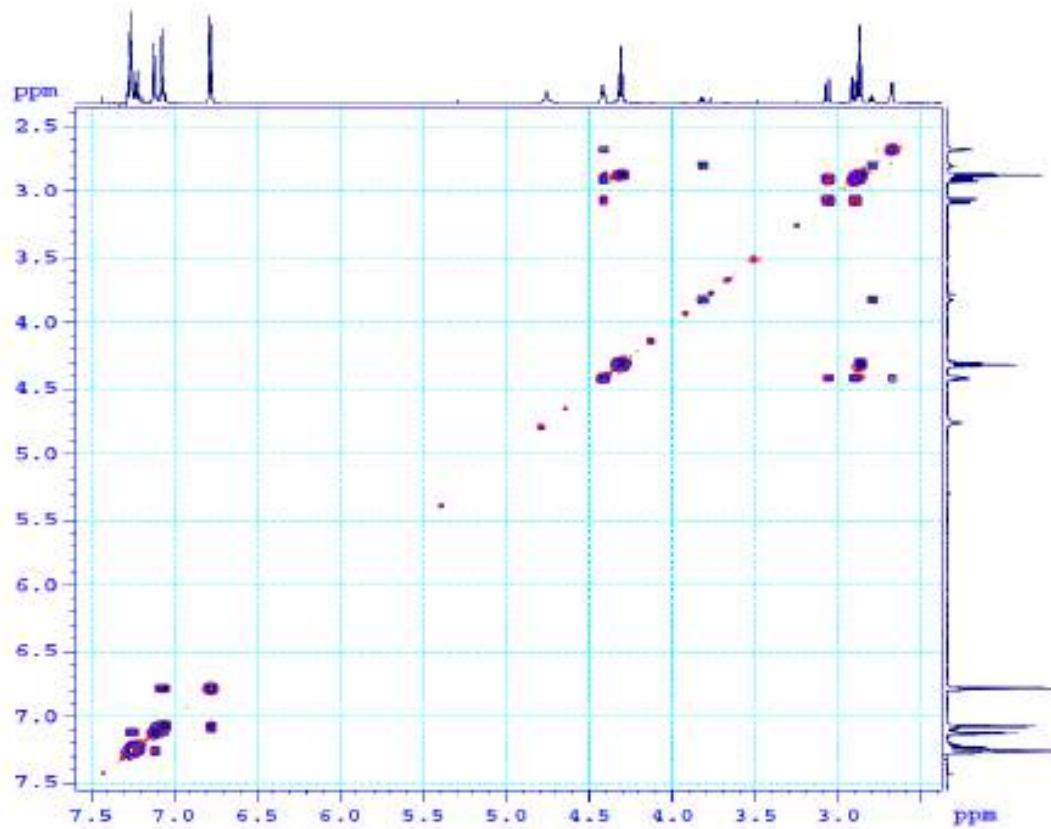
Hình 3.36. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AS2



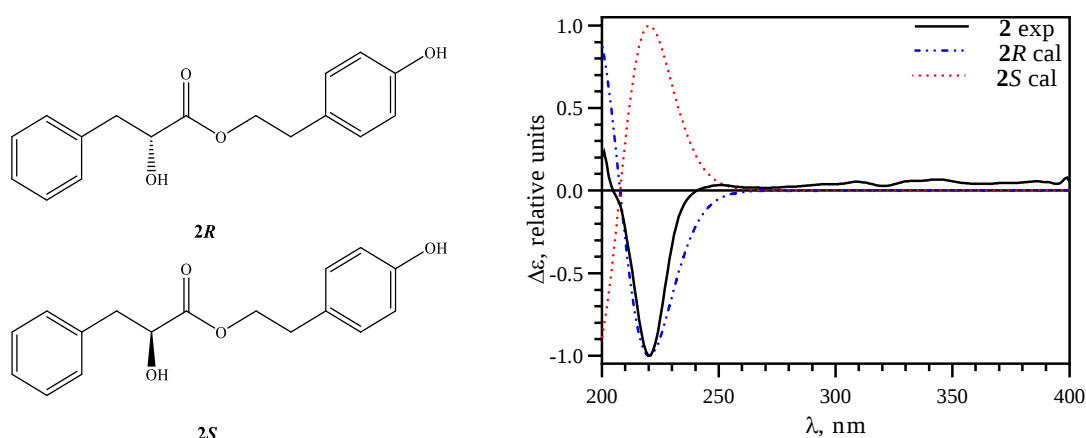
Hình 3.37. Phổ HSQC của hợp chất AS2



Hình 3.38. Phổ HMBC của hợp chất AS2

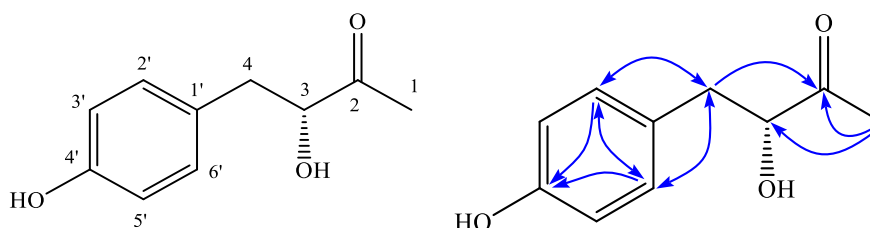


Hình 3.39. Phổ COSY của hợp chất AS2



Hình 3.40. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất **AS2**

3.2.3.3. Hợp chất **AS3**: 3-hydroxy-4-(4-hydrophenyl)-2-butanone



Hình 3.41. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC chính của hợp chất **AS3**

Hợp chất **AS3** thu được dưới dạng bột màu trắng. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS thấy xuất hiện pic ion tại m/z 179,0713 $[M-H]^-$ (theo tính toán lý thuyết với công thức $C_{10}H_{11}O_3^-$, m/z 179,0714) cho dự đoán hợp chất **AS3** có công thức phân tử $C_{10}H_{12}O_3$ (Hình P2.22). Phổ 1H -NMR của **AS3** cho biết tín hiệu của bốn proton thơm thế *para* đặc trưng cho hệ vòng thơm A_2B_2 cộng hưởng tại δ_H 7,11 (2H, d, $J = 8,4$ Hz) và 6,77 (2H, d, $J = 8,4$ Hz), proton của nhóm acetyl tại δ_H 2,20 (3H, s). Phổ ^{13}C -NMR của **AS3** xuất hiện tín hiệu của mười carbon, trong đó có một carbon carboxyl tại δ_C 209,2; sáu carbon thơm tại δ_C 128,5, 130,5 $\times 2$, 115,5 $\times 2$ và 154,6; một carbon methyl tại δ_C 25,9; một oxymethine tại δ_C 77,8 và một carbon methylene tại δ_C 39,1 (Hình P2.24). Tương tác HMBC giữa H-1 (δ_H 2,20) và C-2 (δ_C 209,2)/C-3 (δ_C 77,8) đã gợi ý sự có mặt của nhóm ketone tại C-2 và nhóm hydroxy tại C-3. Tương tác HMBC giữa H-2'/H-6' (δ_H 7,11) và C-4' (δ_C 154,6)/C-4 (δ_C 43,7) đã gợi ý sự có mặt của nhóm 4-hydroxyphenyl tại C-4 (Hình 3.44). Hợp chất **AS3** chứa carbon bất đối tại C-3, vị trí này tương đồng với hợp chất **AS2** đã phân tích. Khi so sánh độ quay cực thì chúng có giá trị gần nhau, hợp chất **AS3** ($[\alpha]_D : +34,0$ ($c = 0,1$, $CHCl_3$)) trong khi hợp chất **AS2**

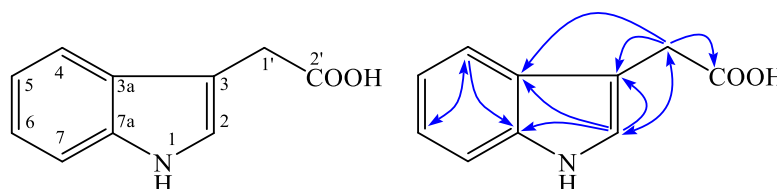
($[\alpha]_D : +30,5$ (c 0,1, CHCl_3)). Từ đặc điểm này cho biết tại vị trí C-3 trên hợp chất **AS3** có cấu hình 3*R*. Từ các bằng chứng trên, cấu trúc của hợp chất **AS3** được xác định là 3*R*-hydroxy-4-(4-hydrophenyl)-2-butanone. Hợp chất đã biết được phân lập từ chủng *Aeonium lindleyi* vào năm 2012 [85].

Bảng 3.15. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS3**

C	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	25,9	2,20 (3H, s)
2	209,2	-
3	77,8	4,38 (1H, dd, 4,8, 7,2)
4	39,1	2,83 (1H, dd, 7,2, 14,4) 3,08 (1H, dd, 4,8, 14,4)
1'	128,5	-
2', 6'	130,5	7,11 (2H, d, 8,4)
3', 5'	115,5	6,77 (2H, d, 8,4)
4'	154,6	-

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

3.2.3.4. Hợp chất **AS4**: indole-3-acetic acid



Hình 3.42. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC chính của hợp chất **AS4**

Hợp chất **AS4** phân lập được dưới dạng bột màu nâu nhạt. Phổ ^1H -NMR của **AS4** nhận thấy bốn tín hiệu proton thơm tại δ_{H} 7,60 (1H, dd, $J = 0,6, 7,8$ Hz), 6,96 (1H, ddd, $J = 0,6, 7,8, 7,8$ Hz), 6,96 (1H, ddd, $J = 0,6, 7,8, 7,8$ Hz), và 7,29 (1H, dd, $J = 0,6, 7,8$ Hz) đặc trưng cho một vòng benzene thế *ortho*. Ngoài ra, trên phổ ^1H -NMR còn có sự xuất hiện một tín hiệu proton thơm khác tại δ_{H} 7,12 (1H, s), tín hiệu của một nhóm methylene tại δ_{H} 3,59 (2H, s) (Hình P2.30). Phổ ^{13}C -NMR của **AS4** cho thấy sự xuất hiện tín hiệu của mười một carbon trong đó có tám carbon thơm cộng hưởng trong vùng trường δ_{C} 124,0, 112,3, 129,2, 119,8, 119,3, 122,0, 111,9 và 138,0, một carbon methylene tại δ_{C} 35,8; một carbon carboxyl tại δ_{C} 181,2 (Tín hiệu này không xuất hiện trên phổ ^{13}C -NMR nhưng xuất hiện trên phổ HMBC nhờ tương

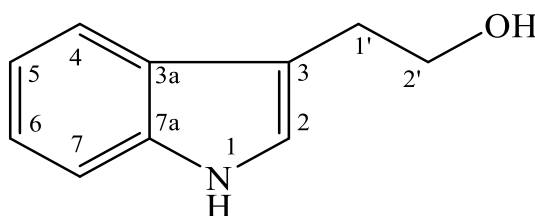
tác giữa H-1' (δ_{H} 3,59) lên C-2' (δ_{C} 181,2) (Hình 3.40). Phân tích số liệu phổ NMR và phổ HMBC cho thấy số liệu phổ của hợp chất này hoàn toàn phù hợp với indole-3-acetic acid. Vì vậy hợp chất **AS4** được xác định là indole-3-acetic acid [86].

Bảng 3.16. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS4** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	119,4	124,0	7,12 (1H, s)
3	128,3	112,3	-
3a	108,9	129,2	-
4	121,1	119,8	7,60 (1H, dd, 0,6, 7,8)
5	122,6	119,3	6,96 (1H, ddd, 0,6, 7,8, 7,8)
6	124,7	122,0	6,96 (1H, ddd, 0,6, 7,8, 7,8)
7	112,3	111,9	7,29 (1H, dd, 0,6, 7,8)
7a	138,1	138,0	-
1'	33,9	35,8	3,59 (2H, s)
2'	177,7	181,2	-

^a đo trong CD_3OD , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của indole-3-acetic acid (đo trong CD_3OD) [86].

3.2.3.5. Hợp chất **AS5**: Tryptophol



Hình 3.43. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS5**

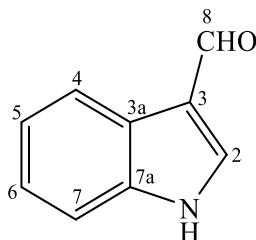
Hợp chất **AS5** phân lập được dưới dạng bột màu nâu nhạt. Phổ ^1H -NMR của **AS5** cho biết tín hiệu của năm proton thơm tại δ_{H} 7,62 (1H, dd, $J = 0,6, 7,8 \text{ Hz}$), 7,13 (1H, ddd, $J = 0,6, 7,2, 7,8 \text{ Hz}$), 7,21 (1H, br dd, $J = 7,2, 7,8 \text{ Hz}$), 7,37 (1H, br d, $J = 7,5 \text{ Hz}$), và 7,08 (1H, br s), proton của hai nhóm methylene tại δ_{H} 3,04 (2H, t, $J = 6,6 \text{ Hz}$) và 3,91 (2H, br s). Trên phổ ^{13}C -NMR của **AS5** xuất hiện tín hiệu của mười carbon với tám carbon thơm có độ chuyển dịch hóa học δ_{C} 136,5, 127,5, 122,5, 122,2, 119,5, 118,9, 112,4, 111,2; một carbon methylene tại δ_{C} 28,8 và một carbon methylene liên kết trực tiếp với oxy tại δ_{C} 62,6. Từ các phân tích trên cho thấy hợp chất **AS5** là một dẫn xuất của indole. So sánh số liệu phổ ^{13}C -NMR của **AS5** với tryptophol nhận thấy hoàn toàn phù hợp [82]. Qua đó cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **AS5** là tryptophol.

Bảng 3.17. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS5** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	122,4	122,5	7,08 (1H, br s)
3	112,1	112,4	-
3a	127,3	127,5	-
4	118,7	118,9	7,62 (1H, dd, 0,6, 7,8)
5	119,4	119,5	7,13 (1H, ddd, 0,6, 7,2, 7,8)
6	122,1	122,2	7,21 (1H, br dd, 7,2, 7,8)
7	111,1	111,2	7,37 (1H, br d, 7,8)
7a	136,3	136,5	-
1'	28,8	28,8	3,04 (2H, t, 6,6)
2'	62,6	62,6	3,91 (2H, br s)
NH	-	-	8,05 (1H, br s)

^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của tryptophol (đo trong CDCl_3) [82]

3.2.3.6. Hợp chất **AS6**: indole-3-carbaldehyde

Hình 3.44. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS6**

Hợp chất **AS6** thu được là chất bột màu nâu nhạt. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện pic ion dương tại m/z 146,0603 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (tính toán lý thuyết ứng với công thức ion $\text{C}_9\text{H}_8\text{NO}^+$, m/z 146,0606), gợi ý công thức phân tử $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$ cho hợp chất **AS6** (Hình P2.41). Phổ ^1H -NMR của xuất hiện những tín hiệu đặc trưng cho một vòng benzene thế *ortho* tại δ_{H} 7,32 (1H, t, $J = 7,8$ Hz), 7,34 (1H, t, $J = 7,8$ Hz), 7,44 (1H, d, $J = 7,8$ Hz), và 8,32 (1H, d, $J = 7,8$ Hz); một proton thơm tại δ_{H} 7,85 (1H, s); và một nhóm aldehyde tại δ_{H} 10,08 (1H, s). Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của một carbon carbonyl tại δ_{C} 185,1, ba carbon không liên kết trực tiếp với hydro tại δ_{C} 118,5, 125,7 và 135,0 và năm carbon methine tại δ_{C} 136,6, 124,5, 123,1, 122,1 và 112,4. Phân tích số liệu phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR của **AS6** giống

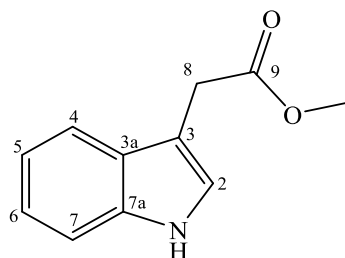
của hợp chất indole-3-carbaldehyde [87]. Vì vậy, cấu trúc của hợp chất **AS6** được xác định là indole-3-carbaldehyde.

Bảng 3.18. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS6** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	138,5	136,6	7,85 (1H, d, 3,0)
3	118,1	118,5	-
3a	124,1	125,7	-
4	120,8	122,1	8,32 (1H, d, 7,8)
5	122,1	123,1	7,32 (1H, t, 7,8)
6	123,4	124,5	7,34 (1H, t, 7,8)
7	112,4	112,4	7,44 (1H, d, 7,8)
7a	137,1	135,0	-
8	185,0	185,1	10,08 (1H, s)

^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của indole-3-carbaldehyde (đo trong CD_3OD) [87]

3.2.3.7. Hợp chất **AS7**: methyl indole-3-acetate



Hình 3.45. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS7**

Hợp chất **AS7** thu được dưới dạng chất bột màu nâu nhạt. Trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện pic ion dương tại m/z 190,0862 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (tính toán theo lý thuyết ứng với công thức ion $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_2^+$, m/z 190,0863) (Hình P2.47), gợi ý công thức phân tử của hợp chất **AS7** là $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{NO}_2$. Phổ ^1H -NMR cho thấy sự xuất hiện bốn tín hiệu proton vòng thơm tại δ_{H} 7,18 (1H, s), 7,62 (1H, dd, $J = 0,6, 7,8 \text{ Hz}$), 7,14 (1H, m), 7,20 (1H, m) và 7,37 (1H, dt, $J = 0,6, 7,8 \text{ Hz}$); một tín hiệu proton của nhóm amin tại δ_{H} 8,07 (1H, s); một nhóm methyl carbonyl tại δ_{H} 3,70 (3H, s) và một nhóm methylene tại δ_{H} 3,79 (2H, d, $J = 1,2 \text{ Hz}$). Trên phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của mười một nguyên tử carbon trong đó có hai carbon nhóm thế acetate [δ_{C} 31,2, 172,5], tám carbon đặc trưng trong vòng indole [δ_{C} 123,0, 108,6, 127,3, 118,9, 199,8, 122,3, 111,2 và 136,1], một tín hiệu của carbon methyl este tại δ_{C} 52,0. Các dữ kiện phổ ^1H -NMR và ^{13}C -NMR của **AS7**

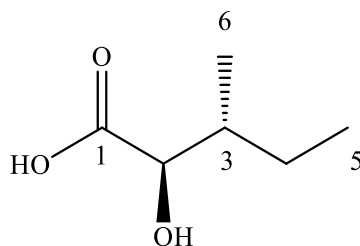
tương đồng với methyl indole-3-acetate [88]. Từ tất cả các phân tích trên, cấu trúc của hợp chất **AS7** được xác định là methyl indole-3-acetate.

Bảng 3.19. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS7** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	123,2	123,0	7,18 (1H, s)
3	108,6	108,6	-
3a	127,4	127,3	-
4	119,0	118,9	7,62 (1H, dd, 0,6, 7,8)
5	119,9	119,8	7,14 (1H, m)
6	122,4	122,3	7,20 (1H, m)
7	111,3	111,2	7,37 (1H, dd, 0,6, 7,8)
7a	136,2	136,1	-
8	31,3	31,2	3,79 (2H, d, 1,2)
9	172,7	172,5	
9-OMe	52,1	52,0	3,70 (3H, s)
NH	-	-	8,07 (1H, br s)

^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của methyl indole-3-acetate (đo trong CDCl_3) [13]

3.2.3.8. Hợp chất **AS8**: (erythro)-2-hydroxy-3-methylpentanoic acid



Hình 3.46. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS8**

Hợp chất **AS8** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, vô định hình. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện píc ion tại m/z 131,0715 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_3]^-$, m/z 131,0715), gợi ý hợp chất **AS8** có công thức phân tử $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_3$ (Hình P2.52). Phổ ^1H -NMR của **AS8** xuất hiện tín hiệu của 2 nhóm methyl tại δ_{H} 0,90 (3H, $J = 7,8$ Hz) và 0,97 (3H, t, $J = 7,2$ Hz), một proton nhóm oxymethine tại δ_{H} 4,12 (1H, d, $J = 3,0$ Hz), một nhóm methine tại δ_{H} 1,82 (1H, m), và hai proton nhóm methylene tại δ_{H} 1,54 (1H, m) và 1,32 (1H, m). Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của sáu carbon trong đó hai carbon methyl tại δ_{C} 12,5 và 10,7, một carbon carboxyl tại δ_{C} 176,6, một carbon methylene tại δ_{C} 25,7 (C-4), một carbon methine tại δ_{C} 38,4 và một carbon methine liên kết trực tiếp với oxy tại δ_{C} 72,6. Hằng số tương tác $J_{\text{H-2/H-3}} = 3,0$ Hz cho thấy H-2 và H-3 cùng một phía trên mặt phẳng

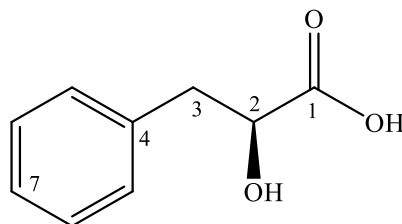
chiều fischer, do đó **AS8** có cấu trúc *erythro*. Số liệu phổ của **AS8** tương đồng với phổ của (*erythro*)-2-hydroxy-3-methylpentanoic acid, vì thế cấu trúc của hợp chất **AS8** được xác định là (*erythro*)-2-hydroxy-3-methylpentanoic acid [89].

Bảng 3.20. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS8** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	179,5	176,6	-
2	74,6	72,6	4,12 (1H, d, 3,0)
3	38,8	38,4	1,82 (1H, m)
4	23,6	25,7	1,54 (1H, m)
			1,32 (1H, m)
5	11,7	10,7	0,97 (3H, t, 7,8)
6	15,3	12,5	0,90 (3H, d, 7,2)

^a đo trong CD_3OD , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của (*erythro*)-2-hydroxy-3-methylpentanoic acid (đo trong CDCl_3). [89]

3.2.3.9. Hợp chất **AS9**: 2-hydroxy-3-phenylpropanoic acid



Hình 3.47. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS9**

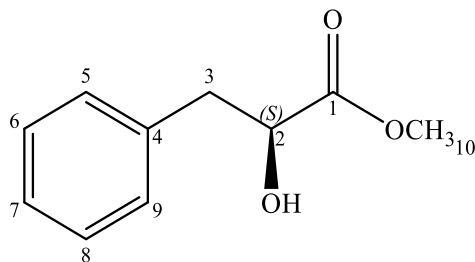
Hợp chất **AS9** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử của **AS9** được xác định là $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 165,0561 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_3]^-$, 165,0557) (Hình P2.57). Phổ ^1H -NMR xuất hiện tín hiệu của một proton oxymethine tại δ_{H} 4,35 (1H, dd, $J = 8,4, 4,8$ Hz), hai proton của methylene tại δ_{H} 3,12 (1H, dd, $J = 4,8, 13,8$ Hz), 2,91 (1H, dd, $J = 8,4, 13,8$ Hz), tín hiệu của năm proton thơm tại δ_{H} 7,28 (1H, d, $J = 8,4$ Hz) và δ_{H} 7,21 (1H, m). Phổ ^{13}C -NMR cho tín hiệu của chín carbon trong đó chứa sáu carbon của một vòng thơm tại δ_{C} 139,0, $130,5 \times 2$, $129,2 \times 2$ và 127,5, ba tín hiệu của nhóm thế 2-hydroxy propanoic tại δ_{C} 177,3, 72,9 và 41,7. Phân tích số liệu NMR và so sánh với tài liệu đã công bố cho thấy cấu trúc của **AS9** được xác định là 2-hydroxy-3-phenylpropanoic acid [83].

Bảng 3.21. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS9** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	175,6	177,3	-
2	72,3	72,9	4,35 (1H, dd, 4,8, 8,4)
3	41,5	41,7	3,12 (1H, dd, 4,8, 13,8) 2,91 (1H, dd, 8,4, 13,8)
4	138,9	139,0	-
5	130,7	130,5	7,28 (1H, d, 8,4)
6	129,1	129,2	7,28 (1H, t, 8,4)
7	127,4	127,5	7,21 (1H, m)
8	129,2	129,2	7,28 (1H, t, 8,4)
9	130,7	130,6	7,28 (1H, d, 8,4)

^a đo trong CD_3OD , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của 2-hydroxy-3-phenylpropanoic acid (đo trong CDCl_3) [83]

3.2.3.10. Hợp chất **AS10**: methyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate

Hình 3.48. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS10**

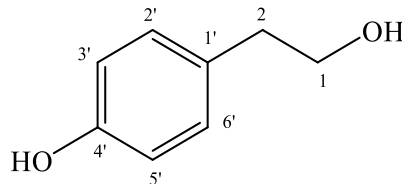
Hợp chất **AS10** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, vô định hình. Phổ ^1H -NMR xuất hiện một tín hiệu của proton oxymethine tại δ_{H} 4,46 (1H, br s Hz), một proton methylene tại δ_{H} 3,12 (1H, dd, $J = 4,8, 7,8$ Hz) và 2,98 (1H, dd, $J = 6,6, 7,8$ Hz), năm tín hiệu của proton thơm tại δ_{H} $7,30 \times 2$, $7,22 \times 2$ và 7,25. Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của mười carbon trong đó một carbon carboxyl tại δ_{C} 174,6, một carbon methylene tại δ_{C} 40,6 và sáu carbon của vòng thơm tại δ_{C} 136,3, $129,5 \times 2$, $128,5 \times 2$, và 126,9, một tín hiệu carbon methyl este tại δ_{C} 52,5. So sánh với hợp chất **AS9** thấy hợp chất **AS10** có thêm nhóm methyl este. Độ quay cực $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: -6,0 ($c = 0,1$, CHCl_3). Do đó, cấu trúc hóa học của **AS10** được xác định là methyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate [90].

Bảng 3.22. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS10** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	174,6	174,6	-
2	71,3	71,3	4,46 (1H, br s)
3	40,6	40,6	3,12 (1H, dd, 4,8, 7,8) 2,98 (1H, dd, 6,6, 7,8)
4	136,3	136,3	-
5	129,5	129,5	7,30 (1H, dt)
6	128,5	128,5	7,22 (1H, dt)
7	126,9	126,9	7,25 (1H, m)
8	128,5	128,5	7,22 (1H, dt)
9	129,5	129,5	7,30 (1H, dt)
10	52,5	52,5	3,77(3H, s)

^a đo trong CD_3OD , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của methyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate (đo trong CDCl_3)[90]

3.2.3.11. Hợp chất **AS11**: Tyrosol

Hình 3.49. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS11**

Hợp chất **AS11** thu được dưới dạng tinh thể màu trắng, vô định hình. Phổ ^1H -NMR xuất hiện tín hiệu của nhóm oxymethylene ($-\text{CH}_2\text{-OH}$) tại δ_{H} 3,85 (1H, t, $J = 6,6$ Hz), một nhóm methylene tương ứng với tín hiệu tại δ_{H} 2,82 (1H, t, $J = 6,6$ Hz), bốn proton đặc trưng của hệ vòng thơm đối xứng A_2B_2 tại δ_{H} 6,80 (2H, d, $J = 8,4$ Hz) và 7,12 (2H, d, $J = 8,4$ Hz). Phổ ^{13}C -NMR cho tín hiệu của tám carbon với sáu carbon vòng thơm tại δ_{H} 130,4, 130,2 $\times 2$, 115,5 $\times 2$ và 154,4. Phân tích phổ NMR và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác cấu trúc của hợp chất **AS11** là tyrosol [91].

Bảng 3.23. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS11** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	62,6	63,8	3,85 (1H, t, 6,6)

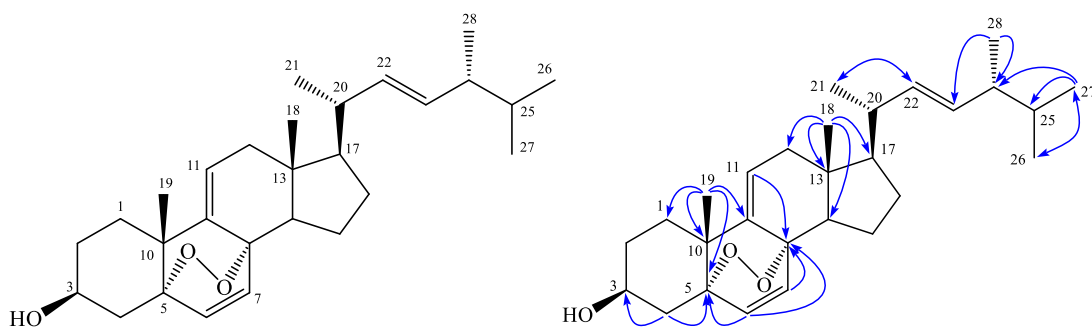
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	38,3	38,2	2,82 (1H, t, 6,6)
1'	129,5	130,4	-
2'	129,7	130,2	7,12 (1H, d, 8,4)
3'	114,9	115,5	6,80 (1H, d, 8,4)
4'	155,5	154,4	-
5'	114,9	115,5	6,80 (1H, d, 8,4)
6'	129,7	130,2	7,12 (1H, d, 8,4)

^ađo trong CDCl_3 , ^b150 MHz, ^c600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của tyrosol (đo trong DMSO-d_6) [91].

3.2.3.12. Hợp chất **AS12**: (22E,24R)-5 α ,8 α -epi-dioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (trùng với hợp chất **TP6**)

- Được phân lập từ chủng vi tảo *T. pachydermum* TSL10 (xem mục 3.2.1.6)

3.2.3.13. Hợp chất **AS13**: (22E,24R)-5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol



Hình 3.50. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC chính của hợp chất **AS13**

Hợp chất **AS13** thu được dưới dạng bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử là $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_3$, được xác định dựa trên píc ion tại m/z 427,3209 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (tính toán lý thuyết $[\text{C}_{28}\text{H}_{43}\text{O}_3]^+ = 427,3207$ trên phổ HR-ESI-MS (Hình P2.78).

Trên phổ $^1\text{H-NMR}$, xuất hiện sáu nhóm methyl tại δ_H 0,74 (3H, s) và 1,09 (3H, s), 0,82 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,83 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,92 (3H, d, $J = 6,6$ Hz) và 1,00 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), năm proton trên ba nối đôi cũng được xác định tại δ_H 6,28 (1H, d, $J = 8,4$ Hz), 6,59 (1H, d, $J = 8,4$ Hz), 5,43 (1H, dd, $J = 1,8, 6,0$ Hz), 5,16 (1H, dd, $J = 7,2, 15,6$ Hz) và 5,24 (1H, dd, $J = 7,2, 15,6$ Hz) và một proton nhóm oxymethine tại δ_H 4,01 (1H, m). Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ kết hợp phổ HSQC xuất hiện tín hiệu của 28 nguyên tử carbon, trong đó sáu carbon của ba liên kết đôi được xác định tại δ_C 135,5, 130,8, 142,6, 119,7, 132,3 và 135,2, hai tín hiệu carbon đặc trưng liên kết với cầu

peroxyd tại δ_C 82,2 và 79,4, một carbon oxymethine tại δ_C 66,4 và sáu carbon methyl tại δ_C 13,0, 17,6, 25,6, 19,6, 19,9 và 20,7.

Nhóm hydroxyl được xác định tại vị trí C-3 qua tương tác trên phổ HMBC: H_b-4 (δ_H 2,12) tương tác với C-2 (δ_C 30,6)/C-3 (δ_C 66,4)/C-5 (δ_C 82,7). Liên kết peroxide được xác định tại vị trí C-5 và C-6 do xuất hiện tương tác giữa H-6 (δ_H 6,28), H-7 (δ_H 6,59) với C-5 (δ_C 82,7) và C-8 (δ_C 78,4) trên phổ HMBC. Bên cạnh đó dựa vào tương tác HMBC cũng xác định được vị trí của các nhóm methyl (Hình 3.49). Từ các bằng chứng phổ nêu trên và so sánh với tài liệu tham khảo, cấu trúc của **AS13** được xác định là (22*E*,24*R*)-5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol [92].

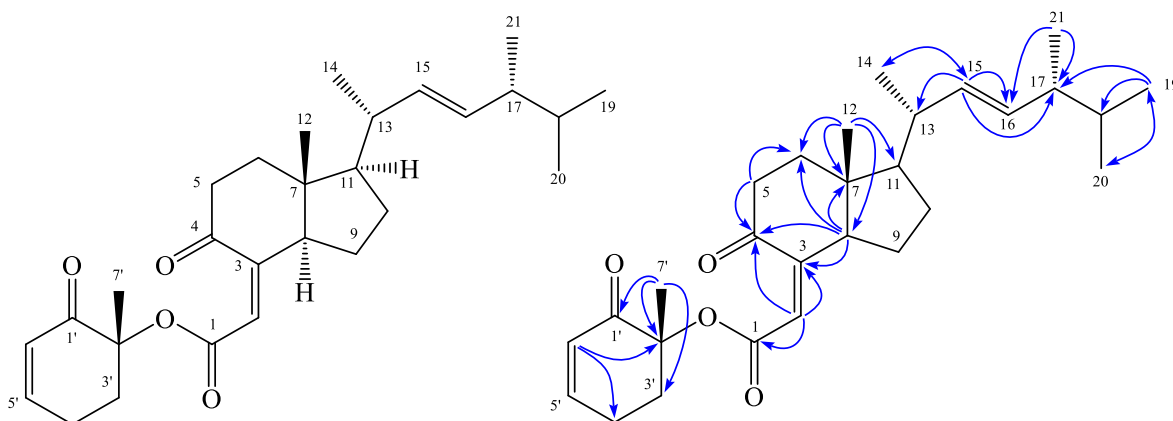
*Bảng 3.24. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS13** và hợp chất tham khảo*

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	32,5	32,6	1,68 (1H, m)/2,07 ((1H, m)
2	30,5	30,6	1,57 (1H, m)/1,92 (1H, m)
3	66,3	66,4	4,01 (1H, m)
4	36,0	36,1	1,93 (1H, m)/2,12 (1H, m)
5	82,7	82,7	-
6	135,4	135,5	6,28 (1H, d, 8,4)
7	130,7	130,8	6,59 (1H, d, 8,4)
8	78,3	78,4	-
9	142,4	142,6	-
10	37,9	38,0	-
11	119,7	119,7	5,43 (1H, dd, 1,8, 6,0)
12	41,1	41,2	2,08 (1H, m) 2,25 (1H, dd, 6,0, 16,8)
13	43,6	43,6	-
14	48,1	48,2	1,83 (1H, m)
15	20,8	20,9	1,58 (1H, m)/1,69 (1H, m)
16	28,6	28,6	1,37 (1H, m)/1,80 (1H, m)
17	55,8	55,9	1,35 (1H, m)
18	12,9	13,0	0,74 (3H, s)
19	25,5	25,6	1,09 (3H, s)

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
20	39,9	39,9	2,03 (1H, m)
21	20,7	20,7	1,00 (3H, d, 6,6)
22	135,1	135,5	5,16 (1H, dd, 7,2, 15,6)
23	132,4	132,5	5,24 (1H, dd, 7,2, 15,6)
24	42,7	42,8	1,85 (1H, m)
25	33,0	33,1	1,48 (1H, m)
26	19,6	19,6	0,82 (3H, d, 6,6)
27	19,9	19,9	0,83 (3H, d, 6,6)
28	17,5	17,6	0,92 (3H, d, 6,6)

^a đo trong CDCl_3 , ^b150 MHz, ^c600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của (22*E*,24*R*)-5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol (đo trong CDCl_3) [92].

3.2.3.14. Hợp chất **AS14**: chaxine C



Hình 3.51. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC chính của hợp chất **AS14**

Hợp chất **AS14** thu được dưới dạng bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử là $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{O}_4$, được xác định dựa trên pic ion tại m/z 441,3015 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (tính toán lý thuyết $[\text{C}_{28}\text{H}_{41}\text{O}_4]^+ = 441,3005$ trên phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS (Hình P2.86).

Phổ ^1H -NMR xuất hiện tín hiệu của năm proton olefin tại δ_H 6,89 (1H, d, $J = 9,6$ Hz), 6,04 (1H, d, $J = 9,6$ Hz), 5,63 (1H, d, $J = 2,4$ Hz), 5,14 (1H, d, $J = 6,6, 15,6$ Hz) và 5,28 (1H, d, $J = 6,6, 15,6$ Hz). Phổ ^{13}C -NMR chỉ ra sự xuất hiện tín hiệu của hai mươi tám carbon trong đó có sáu methyl, sáu methylene, mười methine và sáu carbon không chứa hydro. Trong đó có hai carbon ketone tại δ_C 204,5 và 195,7, một tín hiệu carbon carboxyl tại δ_C 164,3, sáu tín hiệu carbon olefin của ba liên kết đôi tại δ_C 117,5,

156,1, 134,6, 132,9, 148,1 và 128,1, một tín hiệu carbon liên kết trực tiếp với oxy tại δ_C 81,2, sáu carbon methyl tại δ_C 12,1, 21,0, 19,9, 19,9, 17,6 và 21,9.

Một nhóm ketone tại vị trí C-1' liên hợp với liên kết đôi C-5' (δ_C 148,8)/ C-6' (δ_C 128,1) được xác định dựa vào tương tác HMBC giữa H-7' (δ_H 1,48) và C-1' (δ_C 195,7), C-2' (δ_C 81,2) và C-3' (δ_C 32,1), H-6' (δ_H 6,04) và C-2' (δ_C 81,2) và C-4' (δ_C 24,8), một nhóm ketone được xác định tại C-4 dựa trên tương tác HMBC giữa H-2 (δ_H 5,63) và C-3 (δ_C 156,1) và C-4 (δ_C 204,5), H-5 (δ_H 2,47) và C-3 (δ_C 156,1), C-4 (δ_C 204,5) và C-6 (δ_C 38,0), H-8 (δ_H 2,50) và C-3 (δ_C 156,1), C-4 (δ_C 204,5) và C-6 (δ_C 38,0), C-7 (δ_C 46,5). Nhóm carboxyl được xác định tại C-1 và liên hợp với liên kết đôi C-2 (δ_C 117,5)/C-3 (δ_C 156,1) bởi tương tác tương tác HMBC giữa H-2 (δ_H 5,63) và C-1 (δ_C 164,3) và C-3 (δ_C 156,1). Một liên kết đôi còn lại được xác định tại C-15/C-16 dựa trên tương tác HMBC giữa H-14 (δ_H 1,02) và C-15 (δ_C 134,6), H-21 (δ_H 0,92) và C-16 (δ_C 132,9), H-15 (δ_H 5,14) và C-13 (δ_C 40,1), C-14 (δ_C 21,0), C-16 (δ_C 132,9) và C-17 (δ_C 42,8) (Hình 3.50). Từ các phân tích phổ NMR nêu trên và so sánh với tài liệu tham khảo, hợp chất **AS14** được xác định là chaxine C [93].

*Bảng 3.25. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS14** và hợp chất tham khảo*

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	164,2	164,3	-
2	117,5	117,5	5,63 (1H, d, 2,4)
3	156,2	156,1	-
4	204,6	204,5	-
5	39,0	39,0	2,22 (1H, m)/ 2,47 (1H, m)
6	38,0	38,0	1,68 (1H, m)/2,20 (1H, m)
7	46,5	46,5	-
8	57,8	57,8	2,50 (1H, m)
9	21,8	21,9	1,52 (1H, m)/1,58 (1H, m)
10	29,0	29,0	1,49 (1H, m)/1,88 (1H, m)
11	55,3	55,4	1,40 (1H, m)
12	12,1	12,1	0,87 (3H, s)
13	40,1	40,1	2,01 (1H, m)
14	21,0	21,0	1,02 (3H, d, 6,6)
15	134,6	134,6	5,14 (1H, dd, 6,6, 15,6)
16	132,9	132,9	5,28 (1H, dd, 6,6, 15,6)
17	42,8	42,8	1,86 (1H, m)

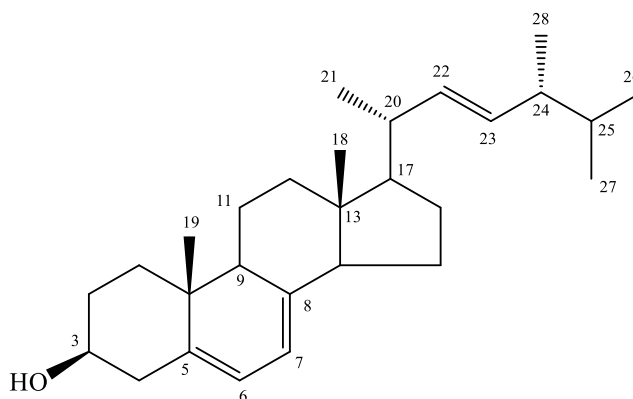
C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
18	33,0	33,0	1,48 (1H, m)
19	19,6	19,6	0,82 (3H, d, 7,2)
20	19,9	19,9	0,84 (3H, d, 7,2)
21	17,6	17,6	0,92 (3H, d, 6,6)
1'	196,7	195,7	-
2'	81,2	81,2	-
3'	32,1	32,1	2,02 (1H, m)/2,92 (1H, m)
4'	24,7	24,8	2,42 (1H, m)/2,52 (1H, m)
5'	148,1	148,8	6,89 (1H, d, 9,6)
6'	128,1	128,1	6,04 (1H, d, 9,6)
7'	21,9	21,9	1,48 (3H, s)

^ađo trong CDCl_3 , ^b150 MHz, ^c600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của chaxine C (đo trong CDCl_3) [93]

3.2.3.15. Hợp chất **AS15**: cerevisterol (trùng với hợp chất **TP3**)

- Được phân lập từ chủng vi tảo *T. pachydermum* TSL10 (xem mục 3.2.1.3)

3.2.3.16. Hợp chất **AS16**: ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol



Hình 3.52. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS16**

Hợp chất **AS16** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử là $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}$, được xác định dựa trên píc ion tại m/z 397,3464 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (theo tính toán lý thuyết $[\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{O}]^+$, m/z 397,3470) dựa trên Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS (Hình P2.98). Phổ ^1H -NMR cho thấy tín hiệu proton của sáu nhóm methyl δ_H 0,63 (3H, s), 0,95 (3H, s), 1,04 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,84 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,82 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), và 0,92 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), một nhóm oxymethine tại δ_H 3,63 (1H, m), bốn proton olefin tại δ_H 5,38 (1H, dd, $J = 5,6, 2,8$ Hz), 5,59 (1H, dd, $J = 5,6, 2,8$ Hz), 5,17 (1H, dd, $J = 16,0, 6,0$ Hz) và 5,23 (1H, dd, $J = 16,0, 6,0$ Hz).

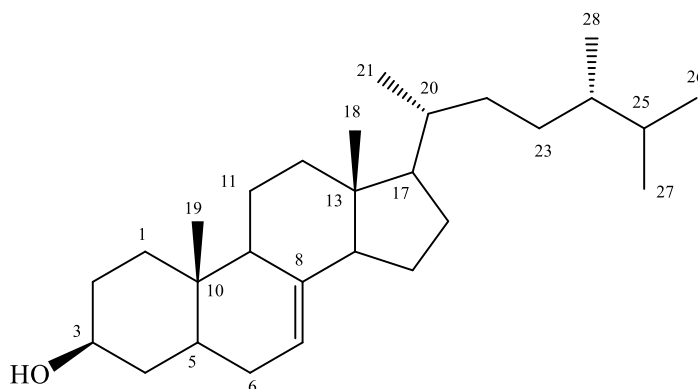
Hz). Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS16** cho thấy tín hiệu của 28 nguyên tử carbon thuộc khung ergosterol, trong đó sáu carbon của ba liên kết đôi tại δ_{C} 139,8, 119,6, 116,3, 141,4, 135,6 và 132,0; một carbon oxymethine tại δ_{C} 70,5; sáu carbon methyl tại δ_{C} 12,1, 16,3, 17,6, 19,7, 20,0 và 21,1. Cấu trúc của hợp chất **AS16** được xác định thông qua phân tích dữ liệu phổ NMR kết hợp so sánh tài liệu tham khảo [94]. Hợp chất **AS16** được xác định là ergosterol.

Bảng 3.26. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS16** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	38,3	38,4	1,30 (1H, m)/1,89 (1H, m)
2	31,7	32,0	1,50 (1H, m)/1,89 (1H, m)
3	70,0	70,5	3,63 (1H, m)
4	40,5	40,8	2,28 (1H, dd, 12,0, 12,0) 2,47 (1H, ddd, 2,4, 4,8, 12,0)
5	139,3	139,8	-
6	119,1	119,6	5,59 (1H, dd, 2,8, 5,6)
7	115,9	116,3	5,38 (1H, dd, 5,6, 2,8)
8	140,7	141,4	-
9	46,2	46,3	1,90 (1H, m)
10	37,0	37,1	-
11	21,1	21,1	1,60 (1H, m)/1,72 (1H, m)
12	39,1	39,1	1,27 (1H, m)/2,06 (1H, m)
13	42,7	42,9	-
14	54,4	54,6	1,88 (1H, m)
15	23,0	23,0	1,35 (1H, m)/1,65 (1H, m)
16	28,2	28,3	1,32 (1H, m)/1,97 (1H, m)
17	55,6	53,8	1,32 (1H, m)
18	12,1	12,1	0,63 (3H, s)
19	16,3	16,3	0,95 (3H, s)
20	40,2	40,4	1,90 (1H, m)
21	21,1	21,1	1,04 (3H, d, 6,6)
22	135,0	135,6	5,17 (1H, dd, 6,0, 16,0)
23	131,5	132,0	5,23 (1H, dd, 6,0, 16,0)
24	42,7	42,9	1,86 (1H, m)
25	33,0	33,1	1,48 (1H, m)
26	19,9	20,0	0,84 (3H, d, 6,6)
27	19,6	19,7	0,82 (3H, d, 6,6)
28	17,6	17,6	0,92 (3H, d, 6,6)

^a đo trong CDCl_3 , ^b150 MHz, ^c600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của ergosterol (đo trong CDCl_3) [94].

3.2.3.17. Hợp chất **AS17**: Fungisterol:



Hình 3.53. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS17**

Hợp chất **AS17** thu được dưới dạng chất màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử là $C_{28}H_{48}O$, được xác định dựa trên khối lượng phân tử 400. Phổ 1H -NMR cho thấy tín hiệu proton của sáu nhóm methyl tại δ_H 0,53 (3H, s), 0,80 (3H, s), 0,92 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,85 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 0,78 (3H, d, $J = 6,6$ Hz) và 0,77 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), một tín hiệu của nhóm oxymethine tại δ_H 3,59 (1H, m) và một proton olefin tại δ_H 5,16 (1H, brs). Phổ ^{13}C -NMR cho thấy tín hiệu của 28 nguyên tử carbon, trong đó hai carbon tại δ_C 117,4 và 139,6 của một liên kết đôi; một carbon oxymethine tại δ_C 71,1, sáu carbon methyl tại δ_C 11,8, 13,0, 15,5, 17,6, 19,0 và 20,5. Với những phân tích dữ liệu phổ NMR của hợp chất với chất fungisterol cho thấy chúng giống nhau. Như vậy kết luận được hợp chất **AS17** là fungisterol [95].

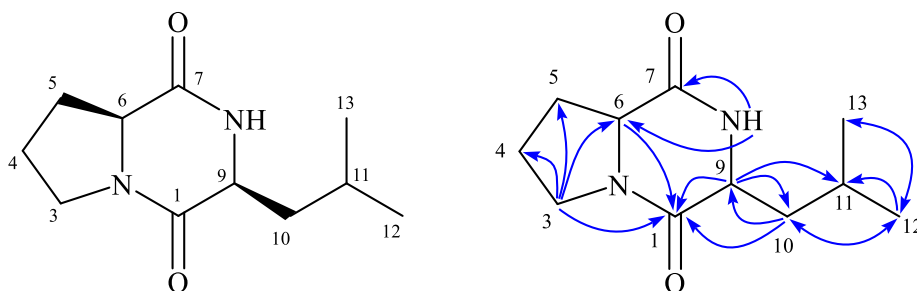
Bảng 3.27. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS17** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	36,9	37,2	2,09-1,20 (1H, m)
2	27,5	31,5	2,09-1,20 (1H, m)
3	73,5	71,1	3,59 (1H, m)
4	33,8	38,0	2,09-1,20 (1H, m)
5	40,1	40,3	2,09-1,20 (1H, m)
6	29,6	29,7	2,09-1,20 (1H, m)
7	117,3	117,4	5,16 (1H, br s)
8	139,5	139,6	-
9	49,3	49,5	2,09-1,20 (1H, m)
10	34,2	34,2	-

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
11	21,5	21,6	2,09-1,20 (1H, m)
12	39,5	39,6	2,09-1,20 (1H, m)
13	43,4	43,4	-
14	55,0	53,1	2,09-1,20 (1H, m)
15	23,0	23,0	2,09-1,20 (1H, m)
16	27,9	27,9	2,09-1,20 (1H, m)
17	56,1	56,1	2,09-1,20 (1H, m)
18	11,8	11,8	0,53 (3H, s)
19	12,9	13,0	0,80 (3H, s)
20	36,6	36,6	2,09-1,20 (1H, m)
21	19,0	19,0	0,92 (3H, d, 6,6)
22	33,7	33,7	2,09-1,20 (1H, m)
23	30,7	30,7	2,09-1,20 (1H, m)
24	39,1	39,1	2,09-1,20 (1H, m)
25	31,5	31,5	2,83 (1H, m)
26	17,6	17,6	0,85 (3H, d, 6,6)
27	20,5	20,5	0,78 (3H, d, 6,6)
28	15,5	15,5	0,77 (3H, d, 6,6)

^a đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_C^{\#}$ của fungisterol (đo trong CDCl_3) [95].

3.2.3.18. Hợp chất **AS18**: Cyclo-(L-Pro-L-Leu)



Hình 3.54. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC của hợp chất **AS18**

Hợp chất **AS18** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, vô định hình. Cấu trúc của hợp chất **AS18** được xác định dựa trên các phổ $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HMQC, HMBC.

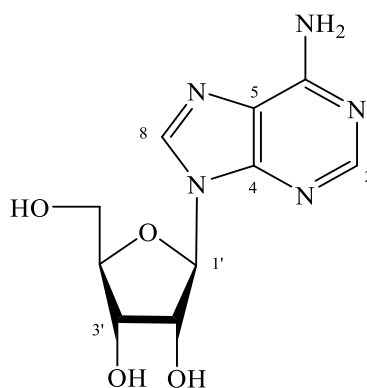
Phổ ^1H -NMR của hợp chất **AS18** xuất hiện tín hiệu proton của hai nhóm methyl tại δ_{H} 0,96 (3H, d, $J = 6,6$ Hz), 1,00 (3H, d, $J = 6,6$ Hz); hai nhóm methylene liên kết với nitơ tại δ_{H} 3,55 (1H, m) và 3,60 (1H, m); hai nhóm methine liên kết với nitơ tại δ_{H} 4,12 (1H, dd, $J = 7,8, 7,8$ Hz) và 4,02 (1H, dd, $J = 3,6, 9,6$ Hz). Phổ ^{13}C -NMR và HSQC của **AS18** xuất hiện tín hiệu của mười một nguyên tử carbon, trong đó xuất hiện hai nhóm carbonyl amide tại δ_{C} 166,1 và δ_{C} 170,2; bốn carbon methylene tại δ_{C} 45,5, 22,7, 28,1 và 38,7; ba carbon methine tại δ_{C} 59,0, 53,4 và 24,7; hai carbon methyl tại δ_{C} 21,2 và 23,3. Cấu trúc dạng vòng diketopiperadine được xác định dựa trên phổ HMBC, chỉ ra các tương tác giữa H-3 và C-1, giữa H-N và C-6, C-7, giữa H-6 và C-1 (Hình 3.54). Phân tích số liệu phổ NMR cho biết cấu trúc của **AS18** được xác định là cyclo-(L-Pro-L-Leu) [96].

Bảng 3.28. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS18** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	170,7	166,1	-
3	45,9	45,5	3,55 (1H, m)/3,60 (1H, m)
4	23,1	22,7	2,07 (1H, m)/1,90 (1H, m)
5	28,5	28,1	2,36 (1H, m)/2,14 (1H, m)
6	59,4	59,0	4,12 (1H, dd, 7,8, 7,8)
7	166,6	170,2	-
9	53,8	53,4	4,02 (1H, dd, 3,6, 9,6)
10	39,0	38,7	1,52 (1H, m)/2,07 (1H, m)
11	25,1	24,7	1,74 (1H, m)
12	21,6	21,2	0,96 (3H, d, 6,6)
13	23,7	23,3	1,00 (3H, d, 6,6)

^a Đo trong CDCl_3 , ^b 150 MHz, ^c 600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của Cyclo-(L-Pro-L-Leu) (đo trong CDCl_3) [96].

3.2.3.19. Hợp chất **AS19**: adenosine



Hình 3.55. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS19**

Hợp chất **AS19** thu được dưới dạng chất bột màu trắng, vô định hình. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS xuất hiện pic ion dương tại m/z 268,1042 $[M + H]^+$ (tính toán theo lý thuyết ứng với công thức ion $C_{10}H_{14}N_5O_4^+$, m/z 268,1046) cho gợi ý hợp chất có công thức phân tử $C_{10}H_{13}N_5O_4$ (Hình P2.114). Trên phổ 1H -NMR của hợp chất **AS19** xuất hiện hai proton thuộc dị vòng thơm tại δ_H 8,13 và 8,34, đặc trưng cho sự có mặt của adenine, sáu proton của phần đường ribofuranosyl tại δ_H 5,91 (1H, d, $J = 6,6$ Hz), 4,63 (1H, t, $J = 6,0$ Hz), 4,16 (1H, dd, $J = 3,0, 5,0$ Hz), 3,98 (1H, dd, $J = 3,6, 6,0$ Hz), 3,68 (1H, br d, $J = 12,0$ Hz) và 3,57 (1H, br d, $J = 12,0$ Hz), còn lại là 3 proton trong các nhóm hydroxy tại δ_H 5,46 (1H, m) $\times 2$ và 5,20 (1H, d, $J = 4,5$ Hz). Số liệu phổ 1H -NMR của **AS19** hoàn toàn giống với số liệu phổ của adenosine [97]. Dựa vào các kết quả phân tích phổ 1H -NMR, Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS kết hợp với tài liệu tham khảo cho phép xác định hợp chất **AS19** là adenosine. Hợp chất này đã được Cục Quản lý thực phẩm và dược phẩm Hoa kỳ chứng nhận, chuyên dùng để chống loạn nhịp tim.

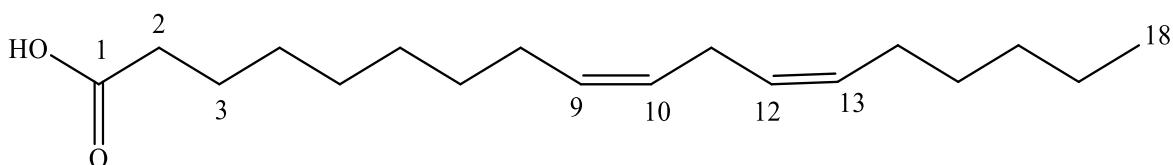
Bảng 3.29. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS19** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\# \delta_H^{a,d}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)	$\delta_H^{a,b}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
2	152,4	8,13 (1H, s)	8,16 (1H, s)
4	149,0	-	-
5	119,3	-	-
6	156,2	-	-
8	139,9	8,34 (1H, s)	8,34 (1H, s)
1'	87,9	5,87 (1H, d, 6,2)	5,91 (d, 6,6)

2'	73,4	4,61 (1H, ddd, 5,1, 6,2, 6,3)	4,63 (1H, t, 6,0)
3'	70,6	4,14 (1H, dd, 3,0, 4,6, 5,1)	4,16 (1H, dd, 3,0, 5,0)
4'	85,9	3,96 (1H, ddd, 3,0, 3,6, 3,7)	3,98 (1H, dd, 3,6, 6,0)
5'	61,6	3,67 (1H, ddd, 3,6, 4,4, 12,1)	3,68 (1H, br d, 12,0)
		3,55 (1H, ddd, 3,7, 7,2, 12,1)	3,57 (1H, br d, 12,0)
2'-OH	-	5,43 (1H, d, 6,3)	5,46 (1H, m)
3'-OH	-	5,17 (1H, d, 4,6)	5,20 (1H, dd, 4,5)
5'-OH	-	5,41 (1H, dd, 4,4, 7,2)	5,46 (1H, m)

^ađo trong DMSO-d₆, ^b600 MHz, ^c125 MHz, ^d500 MHz, $\delta_C^{\#}$ của adenosine (đo trong DMSO-d₆) [97].

3.2.3.20. Hợp chất **AS20**: Octadeca-9Z,12Z-dienoic acid



Hình 3.56. Cấu trúc hoá học hợp chất **AS20**

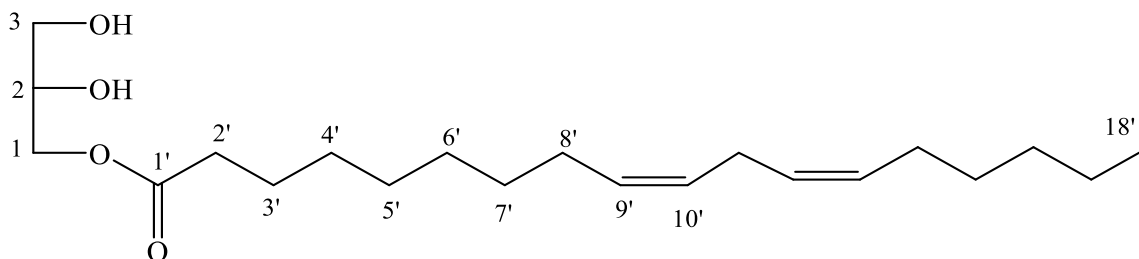
Hợp chất **AS20** thu được dưới dạng bột màu trắng, vô định hình. Phổ ¹H-NMR của **AS20** có các tín hiệu đặc trưng cho một hợp chất acid béo không no chứa hai liên kết đôi gồm một nhóm methyl đầu mạch tại δ_H 0,89 (3H, t, $J = 6,6$ Hz), hai nhóm methylene tại δ_H 2,05 (4H, q, $J = 6,6$ Hz), hai nhóm methylene tại δ_H 2,77 (2H, $J = 6,6$ Hz), 2,34 (2H, $J = 6,6$ Hz). Tín hiệu của bốn proton olefin tại δ_H 5,33, 5,37 (4H, m). Ngoài ra còn có tín hiệu của các nhóm methylene tại δ_H 1,25-1,32. Phổ ¹³C-NMR xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 18 nguyên tử carbon, trong đó một carbon carboxylic tại δ_C 180,0, bốn carbon olefin tại δ_C 130,2, 128,1, 127,9 và 130,0, mười hai carbon methylene tại δ_C 34,1, 24,7, 29,0, 29,1 $\times$ 2, 29,3, 27,2 $\times$ 2, 25,6, 29,6, 31,5 và 22,6, một carbon methyl tại δ_C 14,0. Khi so sánh với hợp chất 1'-(octadeca-(Z,Z)-dienoic acid)-2,3-dihydroxypropylester thì thấy chúng chỉ khác nhau phần glyxeryl và giá trị carbon tại vị trí C-1. Trong hợp chất **AS20** [δ_C 180,0 (C-1)] còn hợp chất 1'-(octadeca-9Z,12Z-dienoic acid)-2,3-dihydroxypropylester [δ_C 174,32 (C-1)], những vị trí khác tương đồng nhau. Với những dữ liệu phổ này và so sánh với tài liệu tham khảo xác định được **AS20** là octadeca-9Z,12Z-dienoic acid [98]. Hợp chất **AS20** là một chất cũ nhưng chưa có công bố nào về phổ NMR.

Bảng 3.30. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS20** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_{\text{C}}^{\#}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{a,b}}$	$\delta_{\text{H}}^{\text{a,c}}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	174,3	180,0	-
2	34,1	34,1	2,34 (2H, t, 6,6)
3	24,8	24,7	1,63 (2H, m)
4	29,6	29,0	
5	29,4	29,1	1,28 (1H, m)
6	29,1	29,1	1,34 (1H, m)
7	29,1	29,3	
8	27,2	27,2	2,05 (2H, q, 6,6)
9	130,2	130,2	5,33 (1H, m)
10	128,1	128,1	5,37 (1H, m)
11	25,6	25,6	2,77 (2H, t, 6,6)
12	127,9	127,9	5,33 (1H, m)
13	130,0	130,0	5,37 (1H, m)
14	27,2	27,2	2,05 (2H, q, 6,6)
15	29,1	29,6	1,28 (1H, m)/1,34 (1H, m)
16	31,5	31,5	1,28 (2H, m)
17	22,6	22,6	1,30 (1H, m)
18	14,0	14,0	0,89 (3H, t, 6,6)
1'	70,3		
2'	65,2		
3'	63,4		

^ađo trong CDCl_3 , ^b150 MHz, ^c600 MHz, $\delta_{\text{C}}^{\#}$ của 1'-(octadeca-9Z,12Z-dienoic acid)-2,3-dihydroxypropylester (đo trong CDCl_3) [98].

3.2.3.21. Hợp chất **AS21**: (S)-2,3-dihydroxypropyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate

Hình 3.57. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS21**

Hợp chất **AS21** thu được dưới dạng bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử là $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_4$, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 372,3111 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ (Tính toán

lý thuyết cho công thức $[C_{21}H_{42}O_4N]^+$, 372,3114) (Hình P2.126). Phổ 1H -NMR của **AS21** có các tín hiệu đặc trưng cho một hợp chất este béo không no chứa hai liên kết đôi gồm một nhóm methyl đầu mạch tại δ_H 0,89 (3H, t, $J = 6,6$ Hz), bốn nhóm methylene tại δ_H 2,05 (2H, t, $J = 6,6$ Hz) $\times$ 2, 2,77 (2H, t, $J = 6,6$ Hz) và 2,35 (2H, t, $J = 7,2$ Hz), hai nhóm oxymethylene tại δ_H 4,15 (1H, dd, $J = 6,6, 12,0$ Hz), 4,20 (1H, dd, $J = 4,8, 12,0$ Hz), 3,70 (1H, dd, $J = 4,8, 11,4$ Hz) và 3,60 (1H, dd, $J = 6,0, 11,4$ Hz), một nhóm oxymethine tại δ_H 3,95 (1H, m), bốn proton olefin tại δ_H 5,37 (4H, m). Ngoài ra còn có tín hiệu của các nhóm methylene tại δ_H 1,25-1,32. Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu cộng hưởng của 21 nguyên tử cacbon trong đó có một carbon carboxylic tại δ_C 174,3; bốn carbon olefin tại δ_C 130,2, 128,1, 127,9 và 130,0; hai carbon oxymethylen tại δ_C 70,3 và 63,3; một tín hiệu oxymethine tại δ_C 65,2; mười hai tín hiệu methylene tại δ_C 34,1, 25,0, 29,6, 29,3, 29,1 $\times$ 3, 27,2 $\times$ 2, 25,6, 31,5 và 22,6; một carbon methyl tại δ_C 14,1. Qua các phân tích trên, cấu trúc hóa học của **AS21** được xác định là (S)-2,3-dihydroxypropyl-octadeca-9Z,12Z-dienoate [98].

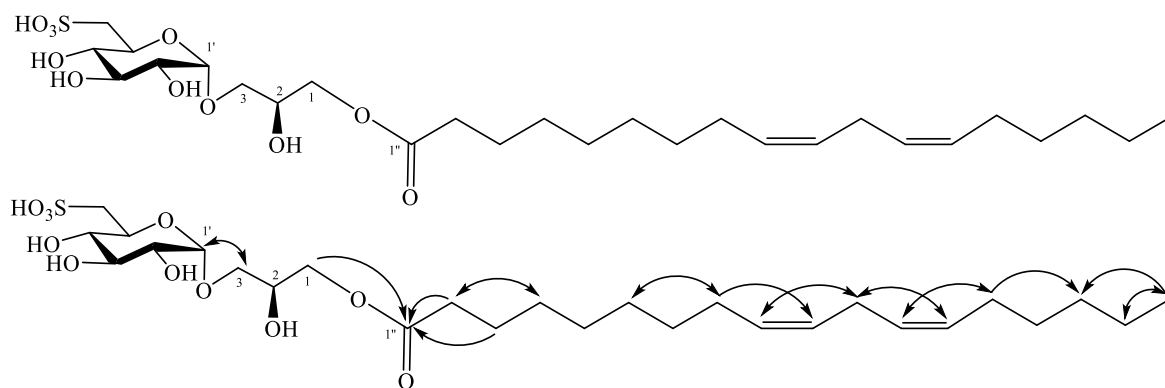
Bảng 3.31. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS21** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	70,3	70,3	4,15 (1H, dd, 6,6, 12,0) 4,20 (1H, dd, 4,8, 12,0)
2	65,2	65,2	3,95 (1H, m)
3	63,4	63,4	3,70 (1H, dd, 4,8, 11,4) 3,60 (1H, dd, 6,0, 11,4)
1'	174,3	174,3	-
2'	34,1	34,1	2,35 (2H, t, 7,2)
3'	25,0	25,0	1,63 (2H, m)
4'	29,6	29,6	
5'	29,4	29,3	1,25 (m)
6'	29,1	29,1	1,35 (m)
7'	29,1	29,1	
8'	27,2	27,2	2,05 (2H, q, 6,6)
9'	130,2	130,2	5,37 (1H, m)
10'	128,1	128,1	5,37 (1H, m)
11'	25,6	25,6	2,77 (2H, t, 6,6)

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
12'	127,9	127,9	5,37 (1H, m)
13'	130,0	130,0	5,37 (1H, m)
14'	27,2	27,2	2,0,5 (2H, t, 6,6)
15'	29,1	29,1	1,25 (m)
16'	31,5	31,5	1,35 (m)
17'	22,6	22,6	
18'	14,0	14,1	0,89 (3H, t, 6,6)

^ađo trong CDCl₃, ^b600 MHz, ^c125 MHz, $\delta_C^{\#}$ của 1'-(octadeca-9Z,12Z-dienoic acid)-2,3-dihydroxypropylester (đo trong CDCl₃) [98]

3.2.3.22. Hợp chất **AS22**: cibotiglycerol



Hình 3.58. Cấu trúc hoá học và tương tác HMBC chính của hợp chất **AS22**

Hợp chất **AS22** thu được dưới dạng bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử là C₂₇H₄₈O₁₁S, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 598,3260 [M+NH₄]⁺ (Tính toán lý thuyết cho công thức [C₂₇H₅₂O₁₁SN]⁺, m/z 598,3261) (Hình P1.132). Phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR khẳng định sự xuất hiện của một nhóm đường và gốc ester của 1 acid béo không no (glycoglycerolipid). Phổ ¹H -NMR cho biết tín hiệu của một nhóm methyl đầu mạch tại δ_H 0,92 (3H, t, $J = 6,6$ Hz); bốn tín hiệu proton của hai nhóm oxymethylene tại δ_H 4,08 (1H, dd, $J = 3,0, 10,2$ Hz), 3,42 (1H, dd, $J = 6,0, 10,2$ Hz), 4,22 (1H, dd, $J = 6,0, 12,0$ Hz) và 4,12 (1H, dd, $J = 3,0, 12,0$ Hz); một tín hiệu nhóm oxymethine tại δ_H 4,10 (1H, m); bảy tín hiệu proton của gốc đường glucose tại δ_H 4,08 (1H, d, $J = 3,6$ Hz), 3,42 (1H, m), 3,67 (1H, dd, $J = 9,6, 9,6$ Hz), 3,11 (1H, dd, $J = 9,6, 9,6$ Hz), 4,10 (1H, m), 2,94 (1H, dd, $J = 9,0, 14,4$ Hz) và 3,37 (1H, dd, $J = 1,8, 14,4$ Hz). Phổ ¹³C-NMR và HSQC cho biết hợp chất **AS22** chứa 27 nguyên tử carbon. So sánh phổ ¹³C-NMR với hợp chất **AS21** cho thấy **AS22** hơn sáu nguyên tử carbon,

đây cũng chính là sáu carbon của gốc đường glucose tại δ_C 100,2, 73,7, 75,1, 74,9, 69,8 và 54,3. Cấu hình tại C-1' của gốc đường được xác định là α dựa trên hằng số tương tác nhỏ ($J = 3,6$ Hz) cho biết đây là gốc đường α -D-glucose. Vị trí của gốc được xác định thế tại C-1 dựa trên tương tác HMBC giữa proton anomer H-1' (δ_H 4,80) và C-1 (δ_C 70,6). Vị trí este hóa của acid béo tại C-1'' được xác định bởi tương tác HMBC giữa H-3 (δ_H 4,22) và carbonyl carbon C-1'' (δ_C 175,6) (Hình 3.58). Phân tích số liệu phổ của **AS22** cho phép xác định cấu trúc của hợp chất này là cibotiglycerol [78].

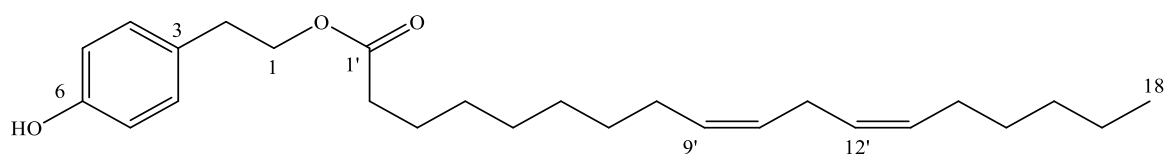
Bảng 3.32. Số liệu phổ 1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS22** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	70,6	70,6	4,08 (1H, dd, 3,0, 10,2) 3,42 (1H, dd, 6,0, 10,2)
2	69,8	69,8	4,10 (1H, m)
3	66,5	66,5	4,22 (1H, dd, 6,6, 12,0) 4,12 (1H, dd, 3,0, 12,0)
1'	100,2	100,2	4,80 (1H, d, 3,6)
2'	73,7	73,7	3,42 (1H, m)
3'	75,1	75,1	3,67 (1H, dd, 9,6, 9,6)
4'	74,9	74,9	3,11 (1H, dd, 9,6, 9,6)
5'	69,8	69,8	4,10 (1H, m)
6'	54,2	54,3	2,94 (1H, dd, 9,0, 14,4) 3,37 (1H, dd, 1,8, 14,4)
1''	175,6	175,6	-
2''	34,9	34,9	2,39 (2H, t, 7,0)
3''	26,0	26,0	1,64 (2H, m)
4''	30,3	30,3	1,36 (2H, m)
5''	30,4	30,5	1,35 (2H, m)
6''	30,7	30,7	1,35 (2H, m)
7''	30,22	30,2	1,35 (2H, m)
8''	28,1	28,1	2,09 (2H, q, 7,0)
9''	130,93	130,9	5,30 (1H, m)
10''	129,06	129,1	5,40 (1H, m)
11''	26,5	26,5	2,77 (2H, t, 7,0)
12''	129,07	129,1	5,30 (1H, m)

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
13''	130,89	130,9	5,40 (1H, m)
14''	28,1	28,2	2,09 (2H, t, 7,0)
15''	30,19	30,2	1,35 (2H, m)
16''	32,6	32,6	1,32 (2H, m)
17''	23,6	23,6	1,35 (2H, m)
18''	14,4	14,4	0,92 (3H, t, 6,6)

^{a)}đo trong CDCl_3 , ^{b)}150 MHz, ^{c)}600 MHz, ^{d)}125 MHz, $\delta_C^{\#}$ của cibotiglycerol (đo trong CDCl_3) [78].

3.2.3.23. Hợp chất **AS23**: tyrosyl linoleate



Hình 3.59. Cấu trúc hoá học của hợp chất **AS23**

Hợp chất **AS23** thu được dưới dạng bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử được xác định là $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_3$, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 399.2902 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{O}_3]^-$, 399.2905) (Hình P2.140). Phổ ^1H -NMR của **AS23** xuất hiện các tín hiệu một hợp chất este giữa axit béo không no chứa hai liên kết đôi với phần glycol là tyrosol, trong đó gồm một nhóm methyl đầu mạch acid tại δ_H 0,89 (3H, t, $J = 6,6$ Hz), bốn proton olefin trên mạch axit béo tại δ_H 5,31 (1H, m) $\times 2$ và 5,41 (1H, m) $\times 2$, bốn proton của vòng thơm thể *para* (hệ vòng thơm A2B2) tại δ_H 7,07 (1H, d, $J = 8,4$ Hz) $\times 2$ và 6,88 (1H, d, $J = 8,4$ Hz) $\times 2$. Trên phổ ^{13}C -NMR của **AS23** xuất hiện tín hiệu của 26 carbon, trong đó có 1 carbon carboxyl tại δ_C 173,9, bốn carbon olefin tại δ_C 1130,2, 128,1, 127,9 và 130,1, sáu carbon vòng thơm tại δ_C 127,8, 130,0 $\times 2$, 115,4 $\times 2$, 154,4, 14 carbon methylene, 1 carbon methyl tại δ_C 14,1. Phân tích số liệu phổ và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định cấu trúc của hợp chất **AS23** là tyrosyl linoleate [99].

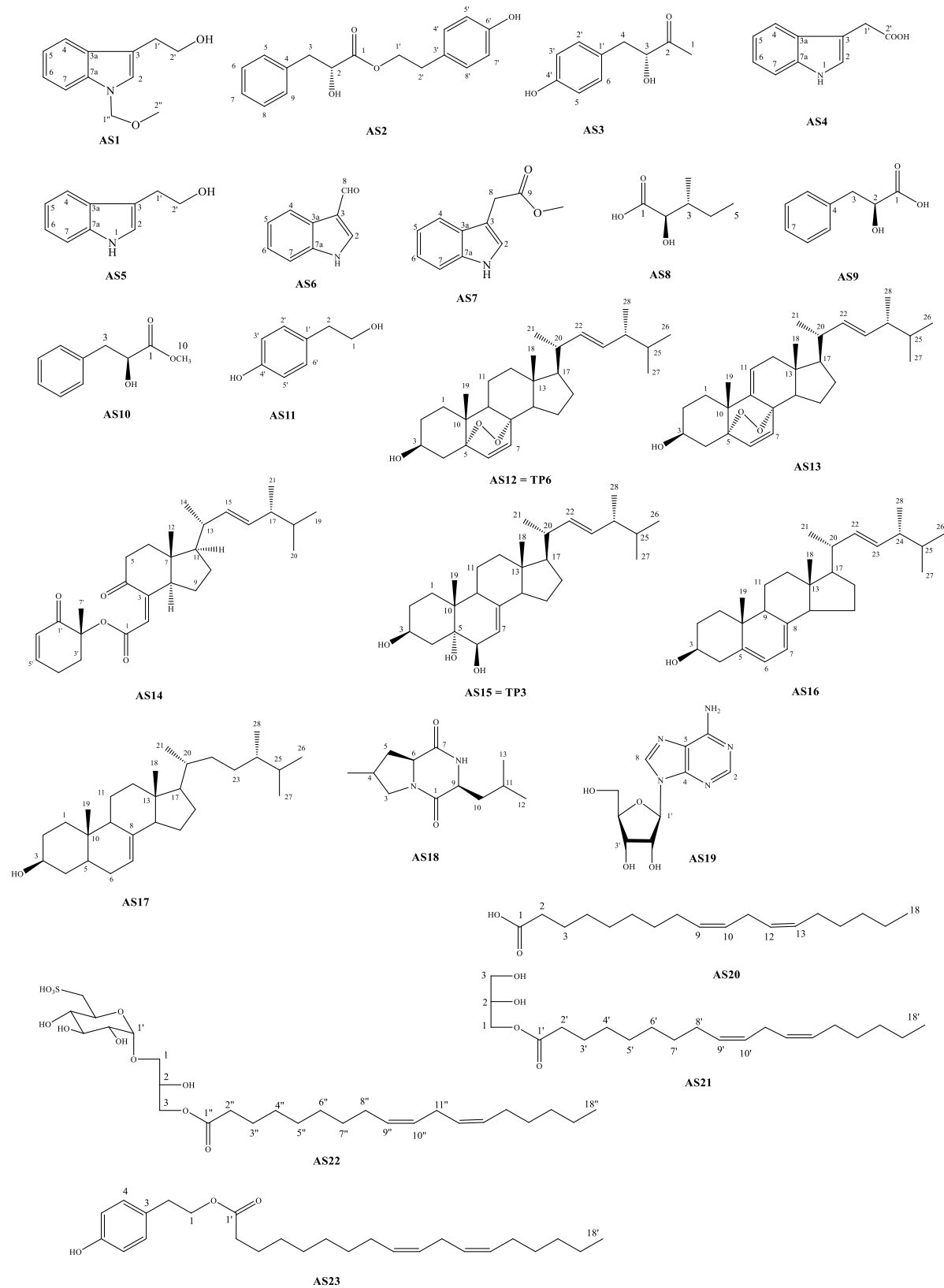
Bảng 3.33. Số liệu phổ ^1H , ^{13}C -NMR của hợp chất **AS23** và hợp chất tham khảo

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J = \text{Hz}$)
1	64,4	65,0	4,24 (2H, t, 7,2)
2	33,5	34,3	2,85 (2H, t, 7,2)

3	127,8	127,8	-
4	129,6	130,0	7,07 (1H, d, 8,4)
5	115,0	115,4	6,77 (1H, d, 8,4)
6	155,8	154,4	-
7	115,0	115,4	6,77 (1H, d, 8,4)
8	129,6	130,0	7,07 (1H, d, 8,4)
1'	172,7	173,9	-
2'	33,5	34,4	2,29 (2H, t, 7,2)
3'	24,3	24,9	1,64 (2H, m)
4'			
5'			
6'	28,6-28,3	29,1-29,3	1,29 - 1,32 (8H, m)
7'			
8'	26,5	27,2	2,05 (2H, q, 7,2)
9'	129,6	130,2	5,31 (1H, m)
10'	127,7	128,1	5,41 (1H, m)
11'	25,1	25,6	2,77 (2H, t, 7,2)
12'	129,6	127,9	5,31 (1H, m)
13'	129,6	130,1	5,41 (1H, m)
14'	26,5	27,2	2,05 (2H, q, 7,2)
15'	28,6-28,3	29,1-29,3	1,29 - 1,32 (2H, m)
16'	30,8	31,5	1,30 (2H, m)
17'	21,8	22,6	1,32 (2H, m)
18'	13,8	14,1	0,89 (3H, t, 6,6)

^ađo trong CDCl₃, ^b150 MHz, ^c600 MHz, ^dđo của tyrosyl linoleate (đo trong CDCl₃)

3.2.4. Các hợp chất phân lập từ chủng *Aurantiochytrium sp. SC145*



Hình 3.60. Cấu trúc hoá học các hợp chất phân lập từ chủng vi tảo *Aurantiochytrium sp. SC145*

3.3. Hoạt tính sinh học

Từ sinh khối khô chủng vi tảo biển *T. pachydermum* TSL10 đã phân lập được 12 hợp chất (**TP1-TP12**) và 23 hợp chất (**AS1-AS23**) được phân lập từ sinh khối khô chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145. Các hợp chất này được đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định trên các chủng vi khuẩn Gram (+): *Enterococcus faecalis* ATCC299212, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC14579; chủng vi khuẩn Gram (-): *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella enterica* ATCC13076 và chủng nấm men: *Candida albicans* ATCC10231.

Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được trình bày ở Bảng 3.34 đối với các hợp chất phân lập được từ chủng vi tảo biển *T. pachydermum* TSL10 và Bảng 3.35 là kết quả thử nghiệm của các hợp chất phân lập từ chủng *Aurantiochytrium* sp. SC145.

3.3.1. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất từ chủng *T. pachydermum* TSL10

Streptomycin và cycloheximide được sử dụng làm chất đối chứng dương. Streptomycin ức chế các chủng vi khuẩn Gram (+) (*E. faecalis*, *S. aureus*, *B. cereus*) và Gram (-) (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. enterica*) với giá trị MIC lần lượt là 256, 256, 128, 32, 256 và 128 µg/mL. Cycloheximide ức chế nấm men *Candida albicans* với giá trị MIC là 32 µg/mL.

Đối với nhóm hợp chất chủ yếu tác dụng trên Gram (+), có 6 hợp chất sterol **TP1-TP6** thể hiện hoạt tính trên cả 3 chủng Gram (+) với MIC trong khoảng 64 - 256 µg/mL. Trong đó, **TP3** có hoạt tính tốt nhất trên *S. aureus* (32 µg/mL), **TP6** thể hiện hoạt tính đồng đều trên cả 3 chủng Gram (+) (MIC 64 - 128 µg/mL), mạnh hơn streptomycin (MIC 256 µg/mL trên *E. faecalis* và *S. aureus*). Ngược lại, **TP1**, **TP2**, **TP4** và **TP5** có hoạt tính yếu hơn (MIC ≥ 64 µg/mL) và không thể hiện tác dụng trên Gram (-).

Về hoạt tính kháng nấm, có 6 hợp chất (**TP1-TP6**) ức chế *Candida albicans* với MIC có giá trị là 64 và 256 µg/mL. Tuy nhiên, phần lớn các hợp chất có hoạt tính yếu hơn đối chứng cycloheximide (MIC 32 µg/mL).

Các hợp chất lipid **TP7-TP12** không thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật, tuy nhiên lớp chất này lại có một số hoạt tính khác như hoạt tính kháng viêm [100, 101], hoạt tính chống oxy hóa [102], hoạt tính chống ung thư [103] và hoạt tính bảo vệ tim mạch [104].

Từ các kết quả trên cho thấy các hợp chất phân lập được có xu hướng ưu tiên tác dụng trên vi khuẩn Gram (+) hơn Gram (-), cụ thể như sau: Các hợp chất **TP1-TP6** chủ yếu có hoạt tính trên Gram (+), phù hợp định hướng phát triển các tác nhân kháng khuẩn chọn lọc. Các hợp chất sterol thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định tốt hơn các hợp chất lipid có trong chủng *T. pachydermum* TSL10.

Bảng 3.34. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất từ chủng vi tảo biển *T. pachydermum* TSL10

STT	Hợp chất	MIC(μ g/ml)						
		Gram (+)			Gram (-)			Nấm men
		<i>E. faecalis</i> ATCC299212	<i>S. aureus</i> ATCC25923	<i>B. cereus</i> ATCC14579	<i>E. coli</i> ATCC25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	<i>S. enterica</i> ATCC13076	<i>C. albicans</i> ATCC10231
1	TP1	256	64	256	-	-	-	256
2	TP2	256	128	256	-	-	-	256
3	TP3	128	32	128	-	-	-	256
4	TP4	256	64	128	-	-	-	64
5	TP5	128	128	256	-	-	-	256
6	TP6	128	64	64	-	-	-	64
7	TP7	-	-	-	-	-	-	-
8	TP8	-	-	-	-	-	-	-
9	TP9	128	-	256	-	-	-	-
10	TP10	256	-	-	-	-	-	-
11	TP11	-	-	-	-	-	-	-
12	TP12	-	-	-	-	-	-	-
	Streptomycin	256	256	128	32	256	128	
	Cycloheximide							32

(-): không thể hiện hoạt tính

3.3.2. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất từ chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất đã phân lập được thử nghiệm trên các chủng vi khuẩn Gram (+): *Enterococcus faecalis* ATCC299212, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC14579; chủng vi khuẩn Gram (-): *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella enterica* ATCC13076 và chủng nấm men: *Candida albicans* ATCC10231. Streptomycin được sử dụng làm chất đối chứng dương trong thử nghiệm ức chế các chủng vi khuẩn Gram (+) (*E. faecalis*, *S. aureus* và *B. cereus*) và Gram (-) (*E. coli*, *P. aeruginosa* và *S. enterica*) với giá trị MIC lần lượt là 256, 256, 128, 32, 256 và 128 µg/mL, trong khi cycloheximide được sử dụng làm chất đối chứng dương trong thử nghiệm ức chế nấm men *Candida albicans* với giá trị MIC là 32 µg/mL.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, 4 hợp chất (**AS2**, **AS3**, **AS11** và **AS23**) thể hiện hoạt tính trên cả vi khuẩn Gram (+) và Gram (-) với MIC trong khoảng 64 - 256 µg/mL. Trong đó, **AS2** cho thấy hoạt tính ức chế mạnh trên 3 chủng Gram (+) với giá trị MIC đều là 64 µg/mL nhưng thể hiện hoạt tính ức chế yếu trên 2 chủng Gram (-) (*E. coli*, *P. aeruginosa*) với giá trị MIC 128 µg/mL và nấm men *S. enterica* (MIC 256 µg/mL). **AS3** thể hiện hoạt tính ức chế mạnh trên chủng Gram (+) *E. faecalis* ATCC299212 với giá trị MIC từ 64 µg/mL và thể hiện hoạt tính ức chế yếu với các chủng vi sinh vật còn lại. **AS11** thể hiện hoạt tính tương đối đồng đều trên cả hai nhóm vi khuẩn với MIC trong khoảng 64 - 128 µg/mL. Trong khi đó, **AS23** có hoạt tính yếu hơn với MIC dao động từ 128 - 256 µg/mL, cho thấy khả năng ức chế còn hạn chế so với các hợp chất có MIC thấp hơn. Tuy nhiên, hợp chất này vẫn thể hiện hiệu quả đáng chú ý khi ức chế *E. faecalis* với MIC 128 µg/mL, mạnh hơn so với streptomycin (256 µg/mL).

Bảng 3.35. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất từ chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145

STT	Hợp chất	MIC(μ g/ml)						
		Gram (+)			Gram (-)			Nấm men
		<i>E. faecalis</i> ATCC299212	<i>S. aureus</i> ATCC25923	<i>B. cereus</i> ATCC14579	<i>E. coli</i> ATCC25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	<i>S. enterica</i> ATCC13076	<i>C. albicans</i> ATCC10231
1	AS1	-	-	-	-	-	-	-
2	AS2	64	64	64	128	128	256	32
3	AS3	64	128	128	256	128	128	32
4	AS4	-	-	-	-	-	-	-
5	AS5	-	-	-	-	-	-	-
6	AS6	-	-	-	-	-	-	-
7	AS7	-	-	-	-	-	-	-
8	AS8	-	-	-	-	-	-	-
9	AS9	-	-	-	-	-	-	-
10	AS10	-	-	-	-	-	-	-
11	AS11	64	128	64	128	128	128	32
12	AS12	128	64	64	-	-	-	64
13	AS13	128	128	64	-	-	-	128
14	AS14	128	-	-	-	-	-	256
15	AS15	128	32	128	-	-	-	256
16	AS16	-	-	128	-	-	-	128
17	AS17	32	-	32	-	-	-	128
18	AS18	-	-	-	-	-	-	-
19	AS19	-	-	-	-	-	-	-
20	AS20	-	-	-	-	-	-	-
21	AS21	-	-	-	-	-	-	-
22	AS22	-	-	-	-	-	-	-
23	AS23	128	256	128	128	256	256	256
	Streptomycin	256	256	128	32	256	128	
	Cycloheximide							32

(-): không thể hiện hoạt tính

Đối với nhóm hợp chất chủ yếu tác dụng trên Gram (+), hợp chất **AS13** thể hiện hoạt tính trên cả 3 chủng Gram (+) với MIC trong khoảng 64 - 256 µg/mL. Trong đó, **AS13** thể hiện hoạt tính đồng đều trên cả 3 chủng Gram (+) (MIC 64 - 128 µg/mL), mạnh hơn streptomycin (MIC 256 µg/mL trên *E. faecalis* và *S. aureus*). Đáng chú ý, hai hợp chất streol **AS15** và **AS17** là hợp chất có hoạt tính mạnh nhất trên vi khuẩn Gram (+) với cùng giá trị MIC thấp nhất đạt 32 µg/mL. Cụ thể **AS15** có hoạt tính với *S. aureus* và **AS17** có hoạt tính trên *E. faecalis* và *B. cereus*, thấp hơn đáng kể so với đối chứng streptomycin, cho thấy tiềm năng phát triển theo hướng kháng khuẩn chọn lọc Gram (+).

Về hoạt tính kháng nấm, có 8 hợp chất (**AS2**, **AS3**, **AS11**, **AS13**, **AS14**, **AS16**, **AS17** và **AS23**) ức chế *Candida albicans* với MIC từ 32 - 256 µg/mL. Tuy nhiên, phần lớn các hợp chất có hoạt tính yếu hơn đối chứng cycloheximide (MIC 32 µg/mL), ngoại trừ **AS2**, **AS3** và **AS11** có MIC bằng 32 µg/mL, tương đương đối chứng, cho thấy tiềm năng kháng nấm rõ rệt.

Từ các kết quả trên cho thấy các hợp chất phân lập được có xu hướng ưu tiên tác dụng trên vi khuẩn Gram (+) hơn Gram (-), cụ thể như sau:

Các hợp chất **AS2**, **AS3** và **AS11** thể hiện phổ hoạt tính rộng, có khả năng ức chế cả vi khuẩn Gram (+), Gram (-) và nấm men. Đáng chú ý, **AS2** và **AS11** cho hiệu lực kháng vi sinh vật nổi bật hơn, thể hiện qua giá trị MIC thấp hơn so với **AS3**. **AS23** thể hiện phổ hoạt tính rộng trên vi khuẩn nhưng khả năng kháng vi sinh vật còn hạn chế. Hợp chất **AS17** thể hiện hoạt tính mạnh trên các chủng Gram (+). Hợp chất **AS13** chủ yếu có hoạt tính trên Gram (+), phù hợp định hướng phát triển các tác nhân kháng khuẩn chọn lọc.

Các hợp chất chứa khung idol như **AS1**, **AS4** - **AS7** không thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật.

Như vậy, các hợp chất phân lập được từ chủng vi tảo *Aurantochytrium* sp. SC145, đặc biệt là **AS15** và **AS17** là những hợp chất tiềm năng cho các nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính kháng vi sinh vật.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

1. Từ sinh khối khô chủng vi tảo biển *T. pachydermum* TSL10 và sinh khối khô chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145 phân lập từ mẫu nước biển thu được ở quần đảo Trường Sa sau khi xử lý ngâm, chiết và phân lập bằng các phương pháp sắc ký và các phương pháp phổ hiện đại, kết hợp so sánh số liệu phổ với các hợp chất tương tự, chúng tôi đã:

- Phân lập và xác định cấu trúc hóa học 12 hợp chất từ chủng vi tảo biển *T. pachydermum*. Trong đó 1 hợp chất mới là ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α ,9 α -triol (**TP1**) và 16 hợp chất đã biết là ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α -diol (**TP2**), cerevisterol (**TP3**), 5 α ,6 α -epoxy-(22*E*)-ergosta-8,22-diene-3 β ,7 α -diol (**TP4**), ergosterol (**TP5**), (22*E*,24*R*)-5 α ,8 α -*epi*-dioxysterosta-6,22-dien-3 β -ol (**TP6**), linoleic acid (**TP7**), 4-((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dienoyloxy)butanoic acid (**TP8**), 1-linoleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (**TP9**), cibotiglycerol (**TP10**), gingerglycolipid B (**TP11**), 6'-*O*-linoleylsucrose (**TP12**).

- Phân lập và xác định cấu trúc hóa học 23 hợp chất từ chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp.. Trong đó hai hợp chất mới là *N*-methoxymethyltryptophol (**AS1**) và 4-hydroxyphenylethyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate (**AS2**), và 21 hợp chất đã biết là 3-hydroxy-4-(4-hydrophenyl)-2-butanone (**AS3**), 3-indoleacetic acid (**AS4**), tryptophol (**AS5**), indole-3-carbaldehyde (**AS6**), methyl indole-3-acetate (**AS7**), (*erythro*)-2-hydroxy-3-methylpentanoic acid (**AS8**), 2-hydroxy-3-phenylpropanoic acid (**AS9**), methyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate (**AS10**), tyrosol (**AS11**), (22*E*,24*R*)-5 α ,8 α -*epi*-dioxysterosta-6,22-dien-3 β -ol (**AS12=TP6**), 5 α ,8 α -*epi*-dioxysterosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol (**AS13**), chaxine C (**AS14**), cerevisterol (**AS15=TP3**), ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol (**AS16**), fungisterol (**AS17**), cyclo-(L-Pro-L-Leu) (**AS18**), adenosine (**AS19**), (9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dienoic acid (**AS20**), (s)-2,3-dihydroxypropyl (9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dienoate (**AS21**), cibotiglycerol (**AS22**) và tyrosyl linoleate (**AS23**).

2. Đã đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất phân lập từ sinh khối khô hai chủng vi tảo biển *T. pachydermum* TSL10 và *Aurantiochytrium* sp. SC145. Kết quả cho thấy:

- Đối với chủng *T. pachydermum* TSL10, tám hợp chất **TP1 – TP6, TP9** và **TP10** thể hiện hoạt tính trên một số vi khuẩn kiểm định và nấm men. Trong đó hợp chất **TP3** thể hiện hoạt tính mạnh nhất (với chủng *S. aureus*, MIC 32 µg/ml). Các hợp chất **TP1, TP4** và **TP6** thể hiện hoạt tính mạnh trên hai chủng vi khuẩn Gram (+) (*S. aureus* và *B. cereus*) với giá trị MIC là 64 µg/ml.

- Đối với chủng *Aurantiochytrium* sp. SC145, mười hợp chất **AS2, AS3, AS11-AS17** và **AS23** thể hiện hoạt tính ức chế trên một số vi khuẩn kiểm định và nấm men. Trong đó hai hợp chất thể hiện hoạt tính mạnh nhất là **AS15** (với chủng *S. aureus*, MIC 32 µg/mL) **AS17** (với chủng *E. faecalis* và *B. cereus*, MIC 32 µg/mL). Các hợp chất **AS2, AS3** và **AS11** và **AS12** thể hiện hoạt tính mạnh trên ba chủng vi khuẩn Gram (+) với giá trị MIC 64 µg/mL và mạnh hơn với chất đối chứng dương streptomycin (MIC 256 và 128 µg/mL). Các hợp chất của chủng chủng *Aurantiochytrium* sp. SC145 thể hiện hoạt tính chọn lọc cao, chủ yếu với chủng vi khuẩn Gram (+). Đối với chủng nấm men *C. albicans* (MIC 32 µg/mL) có ba hợp chất **AS2, AS3** và **AS11** thể hiện hoạt tính tốt với giá trị MIC 64 µg/mL tương đương với chất đối chứng dương cyclohexamide.

KIẾN NGHỊ

Các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của hai chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145 và *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 đã góp phần bổ sung các hợp chất mới vào danh mục thành phần hóa học của chúng. Đặc biệt, thử nghiệm hoạt tính sinh học của các hợp chất **AS2, AS3, AS11, AS12, AS13, AS15, AS17, TP1** và **TP4** cho thấy tác dụng kháng vi sinh vật kiểm định tương đương chất đối chứng dương. Do đó, có thể tiến hành các thử nghiệm thêm các hoạt tính khác để đánh giá sâu hơn, từ đó định hướng tiềm năng ứng dụng của các hợp chất này.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Từ sinh khối khô chủng vi tảo biển *T. pachydermum* TSL10 phân lập và xác định được một hợp chất mới là ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α ,9 α -triol (**TP1**) cùng 11 hợp chất đã biết. Trong 11 hợp chất đã biết từ chủng *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 có 09 hợp chất lần đầu được phân lập từ vi tảo biển thuộc chi *Thraustochytrium* bao gồm: ergosta-7(8),22(23)-diene-3 β ,5 α -diol (**TP2**), cerevisterol (**TP3**), 5,6-epoxy-(22*E*)-ergosta-8,22-diene-3,7-diol (**TP4**), (22*E*,24*R*)-5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (**TP6**), 4-((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dienoyloxy)butanoic acid (**TP8**), 1-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (**TP9**), cibotiglycerol (**TP10**), gingerglycolipid B (**TP11**), 6'-*O*-linoleylsucrose (**TP12**).

Đặc biệt, hợp chất mới **TP1** thể hiện hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định mạnh đối với chủng vi khuẩn Gram (+) *S. aureus* với giá trị MIC = 64 μ g/mL, cao hơn chất đối chứng dương streptomycin (MIC = 256 μ g/mL). Bên cạnh đó, 10 hợp chất **TP3** - **TP12** lần đầu tiên được đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định, góp phần bổ sung dữ liệu về mối liên hệ giữa cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học của các hợp chất từ chi *Thraustochytrium*.

2. Từ sinh khối khô chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145 phân lập được hai hợp chất mới: *N*-methoxymethyltryptophol (**AS1**) và 4-hydroxyphenylethyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate (**AS2**) cùng với hai mươi một hợp chất đã biết. Trong hai mươi một hợp chất đã biết, 16 hợp chất lần đầu được phân lập từ vi tảo biển thuộc chi *Aurantiochytrium* bao gồm: 3-hydroxy-4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone (**AS3**), 3-indoleacetic acid (**AS4**), tryptophol (**AS5**), indole-3-carbaldehyde (**AS6**), methyl indole-3-acetate (**AS7**), (*erythro*)-2-hydroxy-3-methylpentanoic acid (**AS8**), 2-hydroxy-3-phenylpropanoic acid (**AS9**), methyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate (**AS10**), tyrosol (**AS11**), 5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,9(11),22*E*-trien-3 β -ol (**AS13**), chaxine C (**AS14**), fungisterol (**AS17**), cyclo-(L-Pro-L-Leu) (**AS18**), (*S*)-2,3-dihydroxypropyl (9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dienoate (**AS21**), cibotiglycerol (**AS22**) và tyrosyl linoleate (**AS23**).

Hợp chất **AS2** thể hiện khả năng ức chế mạnh trên cả ba chủng vi khuẩn Gram + (*E. faecalis*, *S. aureus* và *B. cereus* cùng với giá trị MIC là 64 μ g/mL), và ba chủng vi khuẩn Gram - (*E. coli*, *P.aeruginosa* và *S. enterica* với giá trị MIC tương ứng là 128,

128, và 256 $\mu\text{g/mL}$), cũng như khả năng ức chế nấm men *C. albicans* với giá trị MIC là 32 $\mu\text{g/mL}$, mạnh tương đương với chất đối chứng dương cycloheximide (giá trị MIC là 32 $\mu\text{g/mL}$). Kết quả này cho thấy hợp chất **AS2** có tiềm năng và cần nghiên cứu sâu hơn để ứng dụng thử nghiệm thuốc cũng như ứng dụng vào thực tiễn. Bên cạnh đó, mười hợp chất **AS3**, **AS7**, **AS8**, **AS10**, **AS13**, **AS16**, **AS17** và **AS21** – **AS23** lần đầu được được đánh giá hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định tạo cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về mối liên hệ cấu trúc - hoạt tính và định hướng ứng dụng trong phát triển các tác nhân kháng vi sinh vật có nguồn gốc tự nhiên.

DANH MỤC CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Nguyen Thi Thu Thuy**, Hoang Thi Minh Hien, Nguyen Cam Ha, Le Thi Thom, Dang Diem Hong, Nguyen Van Thinh, Nguyen Trong Dan, Nguyen Dang Hoi, Vu Thi Loan, Hoang Duc Quang, Dan Thi Thuy Hang, Phan Van Kiem, Bui Huu Tai, Nguyen Thi Minh Hang, Nguyen Tien Dat and Nguyen Xuan Nhiem. *Chemical constituents from the heterotrophic marine microalgae Aurantiochytrium sp. SC145 and their antimicrobial activities*. Natural Product Research, 2023 , 38(5), 789-795, <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2201882>.
2. **Nguyen Thi Thu Thuy**, Hoang Thi Minh Hien, Nguyen Cam Ha, Le Thi Thom, Dang Diem Hong, Nguyen Van Thinh, Nguyen Trong Dan, Nguyen Dang Hoi, Vu Thi Loan, Hoang Duc Quang, Dan Thi Thuy Hang, Phan Van Kiem, Nguyen Tien Dat and Nguyen Xuan Nhiem. *Chemical Constituents from the Marine Microalgae Thraustochytrium pachydermum*. Natural Product Communications, 2023,18(3),art.ID.1934578X231157145, <https://doi.org/10.1177/1934578X231157145>
3. **Nguyễn Thị Thu Thủy**, Nguyễn Xuân Nhiệm, Lê Thị Giang, Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Trọng Dân, *Một số hợp chất phân lập từ vi tảo biển Aurantiochytrium sp. SC145*, Tạp chí KH và CN Nhiệt đới, 2024, 36, 47–54.

TÀI LIỆU THAM KHẢO[1]

Uncategorized References

1. Cavalier-Smith, T., M.T.E.P. Allsopp, and E.E. Chao, *Thraustochytrids are chromists, not Fungi: 18s rRNA signatures of Heterokonta*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 1994. **346**(1318): p. 387-397.
2. Fossier Marchan, L., et al., *Taxonomy, ecology and biotechnological applications of thraustochytrids: A review*. Biotechnology Advances, 2018. **36**(1): p. 26-46.
3. Bongiorno, L., et al., *Thraustochytrium gaertnerium* sp. nov.: a new thraustochytrid stramenopilan protist from mangroves of Goa, India. Protist, 2005. **156**(3): p. 303-315.
4. Weete, J.D., et al., *Lipids and ultrastructure of Thraustochytrium* sp. ATCC 26185. Lipids, 1997. **32**(8): p. 839-45.
5. Yamaoka, Y., M.L. Carmona, and S. Oota, *Growth and Carotenoid Production of Thraustochytrium* sp. CHN-1 Cultured under Superbright Red and Blue Light-emitting Diodes. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2004. **68**(7): p. 1594-1597.
6. Nguyen, T.M.H., et al., *Secondary Metabolites from Thraustochytrium aureum and their Biological Activity*. Records of Natural Products, 2022(5): p. 493-498.
7. Yamaoka, Y. and M.L. Carmona, *Growth Characterization and Resources of Thraustochytrium CHN-1 Isolated from the Seto Inland Sea*. Bulletin of the Society of Sea Water Science, Japan, 2005. **59**(1): p. 23-31.
8. Jenkins, K.M., P.R. Jensen, and W. Fenical, *Thraustochytriosides A-C: new glycosphingolipids from a unique marine protist, Thraustochytrium globosum*. Tetrahedron Letters, 1999. **40**(43): p. 7637-7640.
9. Yamaoka, Y. and M.L. Carmona, *Production of Useful Substances by the Protist Thraustochytrium labyrinthulids Isolated from the Seto Inland Sea*. Bulletin of the Society of Sea Water Science, Japan, 2005. **59**(1): p. 32-39.

10. Carmona, M.L., T. Naganuma, and Y. Yamaoka, *Identification by HPLC-MS of Carotenoids of the Thraustochytrium CHN-1 Strain Isolated from the Seto Inland Sea*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2003. **67**(4): p. 884-888.
11. Lu, H.-T., Y. Jiang, and F. Chen, *Preparative separation and purification of squalene from the microalga Thraustochytrium ATCC 26185 by high-speed counter-current chromatography*. Journal of Chromatography A, 2003. **994**(1-2): p. 37-43.
12. Xiao, R., et al., *Investigation of composition, structure and bioactivity of extracellular polymeric substances from original and stress-induced strains of Thraustochytrium striatum*. Carbohydrate Polymers, 2018. **195**: p. 515-524.
13. Song, Y., et al., *Thraustochytrids as a promising source of fatty acids, carotenoids, and sterols: bioactive compound biosynthesis, and modern biotechnology*. Critical Reviews in Biotechnology, 2024. **44**(4): p. 618-640.
14. Furlan, J.M., et al., *Thraustochytrium sp. and Aurantiochytrium sp.: Sustainable Alternatives for Squalene Production*. Marine Drugs, 2025. **23**(3): p. art.ID. 132.
15. Kalidasan, K., et al., *Isolation and optimization of culture conditions of Thraustochytrium kinnei for biomass production, nanoparticle synthesis, antioxidant and antimicrobial activities*. Journal of Marine Science and Engineering, 2021. **9**(6): p. art.ID. 678.
16. Kaliyamoorthy, K., et al., *PUFA and carotenoid producing thraustochytrids and their anti-microbial and antioxidant activities*. Frontiers in Marine Science, 2023. **10**: p. art.ID. 1126452.
17. Sharma, T., et al., *Microalgae as an emerging alternative raw material of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid – a review*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2025. **65**(31): p. 7883-7902.
18. Ferreira, I., et al., *Resolvins, Protectins, and Maresins: DHA-Derived Specialized Pro-Resolving Mediators, Biosynthetic Pathways, Synthetic Approaches, and Their Role in Inflammation*. Molecules, 2022. **27**: p. art.ID. 1677.

19. Kalidasan, K., et al., *Antioxidant activity of mangrove-derived marine thraustochytrids*. Mycosphere, 2015. **6**(5): p. 602-611.
20. Kathiresan, K., et al., *Microbial enzyme activity in decomposing leaves of mangroves*. Int J Adv Biotechnol Res, 2011. **2**(3): p. 382-389.
21. Xiao, R., *Characterization and Cultivation of Marine Protist, Thraustochytrium striatum for High-Value Bioproducts*, in All Dissertations. 2018, Clemson University.
22. Wang, Q., et al., *Marine thraustochytrid: exploration from taxonomic challenges to biotechnological applications*. Frontiers in Marine Science, 2024. **11**: p. art.ID.1371713.
23. Kalidasan, K., et al., *Antioxidant and Anti-Colorectal Cancer Properties in Methanolic Extract of Mangrove-Derived Schizochytrium sp.* Journal of Marine Science and Engineering, 2022. **10**(3): p. art.ID. 431.
24. Park, G.-T., et al., *Potential Anti-proliferative and Immunomodulatory Effects of Marine Microalgal Exopolysaccharide on Various Human Cancer Cells and Lymphocytes In Vitro*. Marine Biotechnology, 2017. **19**(2): p. 136-146.
25. Huang, H. and S. Bao, *Studies on production of docosahexaenoic acid by Thraustochytrium aureum*. Wei Sheng Wu Xue Bao, 2002. **42**(4): p. 498-501.
26. Thom, L.T., et al., *Optimization of cultivation conditions of the heterotrophic marine microalga Thraustochytrium aureum BT6 oriented to exploit bioactive compounds*. Academia Journal of Biology, 2021. **43**(2): p. 83-94.
27. Zhang, A., et al., *Optimal NaCl Medium Enhances Squalene Accumulation in Thraustochytrium sp. ATCC 26185 and Influences the Expression Levels of Key Metabolic Genes*. Frontiers in Microbiology, 2022. **13**: p. art.ID. 900252.
28. Contreras, P. and C. Oviedo, *Potential and future perspectives of thraustochytrids in bioremediation*. International Journal of Environmental Science and Technology, 2023. **20**(4): p. 4483-4498.
29. Yokoyama, R. and D. Honda, *Taxonomic rearrangement of the genus Schizochytrium sensu lato based on morphology, chemotaxonomic characteristics, and 18S rRNA gene phylogeny (Thraustochytriaceae, Labyrinthulomycetes): emendation for Schizochytrium and erection of*

- Aurantiochytrium* and *Oblongichytrium* gen. nov. Mycoscience, 2007. **48**(4): p. 199-211.
30. Raghu-Kumar, S., *Schizochytrium mangrovei* sp. nov., a *thraustochytrid* from mangroves in India. Transactions of the British Mycological Society, 1988. **90**(4): p. 627-631.
 31. Honda, D., et al., *Schizochytrium limacinum* sp. nov., a new *thraustochytrid* from a mangrove area in the west Pacific Ocean. Mycological Research, 1998. **102**(4): p. 439-448.
 32. Yoshida, M., et al., *Diverse steroidogenic pathways in the marine alga Aurantiochytrium*. Journal of Applied Phycology, 2020. **32**(3): p. 1631-1642.
 33. Hoang, T.M.H., et al., *Hypolipidaemic Effects of (24R)-4 α -methyl-5 α -stigmasta-7,22-dien-3 β -ol Derived from Aurantiochytrium mangrovei BT3 in the HEPG2 Cell Line*. Applied Biochemistry and Microbiology, 2022. **58**(3): p. 286-293.
 34. Endo, I., et al., *C4-monomethylsterol β -glucoside and its synthase in Aurantiochytrium limacinum mh0186*. Glycobiology, 2021. **31**(10): p. 1350-1363.
 35. Vo, T.K., et al., *Pyrolysis characteristics and kinetics of microalgal Aurantiochytrium sp. KRS101*. Energy, 2017. **118**: p. 369-376.
 36. Kaya, K., et al., *An acidic morpholine derivative containing glyceride from thraustochytrid, Aurantiochytrium*. Scientific Reports, 2021. **11**(1): p. art.ID. 6868.
 37. Wu, C.-Y., et al., *Isolation and characterization of the ω 3-docosapentaenoic acid-producing microorganism Aurantiochytrium sp. T7*. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2022. **133**(3): p. 229-234.
 38. Mokhtar, N., et al., *Harvesting Aurantiochytrium sp. SW1 using organic flocculants and characteristics of the extracted oil*. Algal Research, 2021. **54**: p. art.ID. 102211.
 39. Lv, J., et al., *The oxidative stability of microalgae oil (Schizochytrium aggregatum) and its antioxidant activity after simulated gastrointestinal*

- digestion: Relationship with constituents*. European Journal of Lipid Science and Technology, 2015. **117**(12): p. 1928-1939.
40. Manikan, V., et al., *A new strain of docosahexaenoic acid producing microalga from Malaysian coastal waters*. Algal Research, 2015. **9**: p. 40-47.
 41. Park, H., et al., *Enhanced production of carotenoids using a Thraustochytrid microalgal strain containing high levels of docosahexaenoic acid-rich oil*. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2018. **41**(9): p. 1355-1370.
 42. Reboleira, J., et al., *Evaluating the Potential of the Defatted By-Product of Aurantiochytrium sp. Industrial Cultivation as a Functional Food*. Foods, 2021. **10**(12): p. art.ID. 3058.
 43. Takahashi, S., et al., *Anti-inflammatory effects of Aurantiochytrium limacinum 4W-1b ethanol extract on murine macrophage RAW264 cells*. BioMed Research International, 2019. **2019**: p. art.ID. 3104057.
 44. Shakeri, S., et al., *Antigastric Cancer Bioactive Aurantiochytrium Oil Rich in Docosahexaenoic Acid: From Media Optimization to Cancer Cells Cytotoxicity Assessment*. Journal of Food Science, 2017. **82**(11): p. 2706-2718.
 45. Hoffling, F.B., et al., *Aurantiochytrium sp. Meal as Feed Additive for Pacific White Shrimp Reared under Low Temperature and Challenged by WSSV in Association with Thermal Stress*. Fishes, 2024. **9**(3): p. art.ID. 108.
 46. K.V, J., et al., *Dietary supplementation of microalgae, Aurantiochytrium sp. and co-feeding with Artemia enhances the growth, stress tolerance and survival in Penaeus monodon (Fabricius, 1798) post larvae*. Aquaculture, 2021. **533**: p. art.ID. 736176.
 47. Aini, U.N., et al., *Docosahexaenoic acid (DHA) production by Aurantiochytrium limacinum using cassava pulp hydrolysate as an alternative low-cost carbon source*. Frontiers in Marine Science, 2022. **9**: p. art.ID. 985119.
 48. Patel, A., et al., *Simultaneous production of DHA and squalene from Aurantiochytrium sp. grown on forest biomass hydrolysates*. Biotechnology for Biofuels, 2019. **12**(1): p. art.ID. 255.

49. Zhang, A., et al., *Bio-based squalene production by Aurantiochytrium sp. through optimization of culture conditions, and elucidation of the putative biosynthetic pathway genes*. Bioresource Technology, 2019. **287**: p. art.ID. 121415.
50. Fan, K.W., et al., *Enhanced production of squalene in the thraustochytrid Aurantiochytrium mangrovei by medium optimization and treatment with terbinafine*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010. **26**(7): p. 1303-1309.
51. Shao, Y., et al., *Effect of Heterologous Expression of Key Enzymes Involved in Astaxanthin and Lipid Synthesis on Lipid and Carotenoid Production in Aurantiochytrium sp.* Marine Drugs, 2025. **23**(4): p. art.ID.164.
52. Song, Y., et al., *Overexpression of the KAS III-like gene YxwZ3 increases carotenoids production in Aurantiochytrium sp. SZU445*. Industrial Crops and Products, 2022. **187**: p. art.ID. 115435.
53. Kubo, Y., et al., *Enhanced Production of Astaxanthin without Decrease of DHA Content in Aurantiochytrium limacinum by Overexpressing Multifunctional Carotenoid Synthase Gene*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2021. **193**(1): p. 52-64.
54. Visudtiphole, V., et al., *Effects of microbial-derived long-chain polyunsaturated fatty acids from Aurantiochytrium limacinum BCC52274 and Mortierella sp. on growth and immunity in Litopenaeus vannamei post-larvae*. PLOS One, 2025. **20**(7): p. art.ID. e0329358.
55. Yilmaz, H.A., et al., *Effects of the Alga Aurantiochytrium mangrovei FIKU008-Enriched Artemia on Early Stages of the Green Tiger Shrimp, Penaeus semisulcatus*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2023. **23**: p. art.ID.23912.
56. Visudtiphole, V., et al., *Aurantiochytrium limacinum BCC52274 improves growth, hypo-salinity tolerance and swimming strength of Penaeus vannamei post larvae*. Aquaculture, 2018. **495**: p. 849-857.

57. Tran, A.T.N., et al., *Cultivation of Aurantiochytrium sp. Using Pickle Seasoning Liquid Waste and Application of the Raw Biomass for Fish Aquaculture*. Waste and Biomass Valorization, 2025. **16**(4): p. 1855-1865.
58. Kim, K., et al., *A novel fed-batch process based on the biology of Aurantiochytrium sp. KRS101 for the production of biodiesel and docosahexaenoic acid*. Bioresource Technology, 2013. **135**: p. 269-274.
59. Hong, W.-K., et al., *Growth of the oleaginous microalga Aurantiochytrium sp. KRS101 on cellulosic biomass and the production of lipids containing high levels of docosahexaenoic acid*. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2012. **35**(1-2): p. 129-133.
60. He, Y., et al., *Saturated and Polyunsaturated Fatty Acids Production by Aurantiochytrium limacinum PKUMn4 on Enteromorpha Hydrolysate*. Marine Drugs, 2023. **21**(4): p. art.ID. 198.
61. Liang, S., et al., *Metabolic Engineering to Improve Docosahexaenoic Acid Production in Marine Protist Aurantiochytrium sp. by Disrupting 2,4-Dienoyl-CoA Reductase*. Frontiers in Marine Science, 2022. **9**: p. art.ID. 939716.
62. Hien, H.T.M., et al., *Characterization and Optimization of Culture Conditions for Aurantiochytrium sp. SC145 Isolated from Sand Cay (Son Ca) Island, Vietnam, and Antioxidative and Neuroprotective Activities of Its Polyunsaturated Fatty Acid Mixture*. Marine Drugs, 2022. **20**(12): p. art.ID. 780.
63. Teodoresco, E.C., *Organisation et développement du Dunaliella, nouveau genre de Volvocacée-Polyblépharidée*. Beihefte Bot. Centralbl., 18', 215-232, 1905. *Observations morphologiques et biologiques sur le genre Dunaliella*. Revue gén. de Bot, 1906. **18**: p. 353.
64. Hồng, Đ.D., N.T.H. Thu, and L.T. Tâm, *Nuôi trồng vi tảo giàu dinh dưỡng làm thực phẩm chức năng cho người và động vật nuôi ở Việt Nam*. Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, 2019: p. 10-45.
65. Vinh, Đ.H., et al., *Các phương pháp sắc ký*. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, 1985: p. 230-245.

66. Châu, P.Đ. and V.B. Dương, *Kỹ thuật tách chiết và tinh chế trong hóa học*. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, 2018: p. 155-262.
67. Hadacek, F., H.J.P.A.A.I.J.o.P.C. Greger, and B. Techniques, *Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice*. 2000. **11**(3): p. 137-147.
68. Ioannou, E., et al., *5 α ,8 α -epidioxysterols from the gorgonian Eunicella cavolini and the ascidian Trididemnum inarmatum: Isolation and evaluation of their antiproliferative activity*. Steroids, 2009. **74**(1): p. 73-80.
69. Yue, J.-M., et al., *Sterols from the fungus Lactarium volemus*. Phytochemistry, 2001. **56**(8): p. 801-806.
70. Migliuolo, A., et al., *New Tetrahydroxylated Sterols from the Marine Sponge Spongia officinalis*. Journal of Natural Products, 1990. **53**(6): p. 1414-1424.
71. Kwon, H.C., et al., *Cytotoxic ergosterols from Paecilomyces sp. J300*. Arch Pharm Res, 2002. **25**(6): p. 851-5.
72. Kawagishi, H., et al., *Cytotoxic steroids from the mushroom Agaricus blazei*. Phytochemistry, 1988. **27**(9): p. 2777-2779.
73. Martínez, M.S., et al., *Ergosterol from the mushroom Laetiporus sp. Isolation and structural characterization*. Revista Boliviana de Quimica, 2015. **32**: p. 90-94.
74. Kim, D.S., et al., *Anticomplementary activity of ergosterol peroxide from Naematoloma fasciculare and reassignment of NMR data*. Archives of Pharmacal Research, 1997. **20**(3): p. 201-205.
75. Marwah, R.G., et al., *Musanahol: a new aureonitol-related metabolite from a Chaetomium sp.* Tetrahedron, 2007. **63**(34): p. 8174-8180.
76. Luis, B., et al., *Lipids and lipid compositions for the delivery of active agents*, WIPO, Editor. 2013. p. 1-137.
77. Wei, J., et al., *Metabolites and novel compounds with anti-microbial or antiaging activities from Cordyceps fumosorosea*. AMB Express, 2022. **12**(1): p. 40.
78. Cuong, N.X., et al., *Inhibitors of osteoclast formation from rhizomes of Cibotium barometz*. Journal of Natural Products, 2009. **72**(9): p. 1673-1677.

79. Yoshikawa, M., et al., *Stomachic principles in ginger. III. An anti-ulcer principle, 6-gingesulfonic acid, and three monoacyldigalactosylglycerols, gingerglycolipids a, b, and c, from Zingiberis rhizoma originating in Taiwan.* Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1994. **42**(6): p. 1226-1230.
80. Li, W., et al., *NF- κ B inhibitory activity of sucrose fatty acid esters and related constituents from Astragalus membranaceus.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013. **61**(29): p. 7081-7088.
81. Köhling, P., A.M. Schmidt, and P. Eilbracht, *Tandem hydroformylation/Fischer indole synthesis: a novel and convenient approach to indoles from olefins.* Organic Letters, 2003. **5**(18): p. 3213-3216.
82. Guzmán-López, O., et al., *Tyrosol and tryptophol produced by Ceratocystis adiposa.* World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2007. **23**: p. 1473-1477.
83. Kuroboshi, M., et al., *Electroorganic synthesis in oil-in-water (O/W) nanoemulsion: TEMPO-mediated electrooxidation of amphiphilic alcohols in water.* Tetrahedron, 2009. **65**(34): p. 7177-7185.
84. Cimmino, A., et al., *Phytotoxic metabolites produced by Diaportheella cryptica, the causal agent of hazelnut branch canker.* Journal of agricultural and food chemistry, 2018. **66**(13): p. 3435-3442.
85. Jung, H.A., et al., *In vitro antioxidant activity of some selected Prunus species in Korea.* Archives of pharmacal research, 2002. **25**: p. 865-872.
86. Sun, D.-D., et al., *Indole alkaloids from the roots of Isatis ingigotica and their antiherpes simplex virus type 2 (HSV-2) activity in vitro.* Chemistry of Natural Compounds, 2010. **46**(5): p. 763-766.
87. Ashour, M.A., et al., *Indole alkaloid from the red sea sponge Hyrtios erectus.* Arkivoc, 2007(15): p. 225-231.
88. Yang, Q.-Q., et al., *Visible-light-induced direct photocatalytic carboxylation of indoles with CBr₄/MeOH.* Chemistry – A European Journal, 2015. **21**(50): p. 18052–18056.

89. Paik, S., et al., *Isolation and synthesis of tryptamine derivatives from a symbiotic bacterium Xenorhabdus nematophilus PC*. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2003. **24**(5): p. 623-626.
90. Fanning, K.N., A.G. Jamieson, and A. Sutherland, *Stereoselective β -hydroxy- α -amino acid synthesis via an ether-directed, palladium-catalysed aza-Claisen rearrangement*. Organic & Biomolecular Chemistry, 2005. **3**(20): p. 3749-3756.
91. Kwak, J.H., et al., *Cytotoxic phenolic compounds from Chionanthus retusus*. Archives of Pharmacal Research, 2009. **32**(12): p. 1681-1687.
92. Du, Z.Z. and Y.M. Shen, *A rare new cleistanthane diterpene from the pericarp of Trewia nudiflora*. Helvetica chimica acta, 2006. **89**(11): p. 2841-2845.
93. Choi, J.-H., et al., *Chaxines B, C, D, and E from the edible mushroom Agrocybe chaxingu*. Tetrahedron, 2009. **65**(47): p. 9850-9853.
94. Seo, S., et al., *Biosynthesis of sitosterol, cycloartenol, and 24-methylenecycloartanol in tissue cultures of higher plants and of ergosterol in yeast from [1,2- $^{13}\text{C}_2$]- and [2- $^{13}\text{C}_2\text{H}_3$]-acetate and [5- $^{13}\text{C}_2\text{H}_2$]MVA*. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1, 1988(8): p. 2407-2414.
95. Wright, J.L.C., *Minor and trace sterols of Dunaliella tertiolecta*. Phytochemistry, 1981. **20**(10): p. 2403-2405.
96. Pedras, M.S.C., et al., *Metabolites produced by the phytopathogenic fungus Rhizoctonia solani: Isolation, chemical structure determination, syntheses and bioactivity*. 2005. **60**(9-10): p. 717-722.
97. Ciuffreda, P., S. Casati, and A. Manzocchi, *Complete ^1H and ^{13}C NMR spectral assignment of α - and β -adenosine, 2'-deoxyadenosine and their acetate derivatives*. Magnetic Resonance in Chemistry, 2007. **45**(9): p. 781-784.
98. Kim, C., et al., *Induction of growth hormone by the roots of Astragalus membranaceus in pituitary cell culture*. Archives of Pharmacal Research, 2003. **26**(1): p. 34-39.

99. Mateos, R., et al., *New lipophilic tyrosyl esters. Comparative antioxidant evaluation with hydroxytyrosyl esters.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008. **56**(22): p. 10960-10966.
100. Calder, P.C., *Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance.* Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 2015. **1851**(4): p. 469-484.
101. Serhan, C.N., *Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology.* Nature, 2014. **510**(7503): p. 92-101.
102. Brigelius-Flohé, R. and M.G. Traber, *Vitamin E: function and metabolism.* The FASEB journal, 1999. **13**(10): p. 1145-1155.
103. Ogretmen, B., *Sphingolipid metabolism in cancer signalling and therapy.* Nature Reviews Cancer, 2018. **18**(1): p. 33-50.
104. Mozaffarian, D. and J.H.Y. Wu, *Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events.* Journal of the American College of Cardiology, 2011. **58**(20): p. 2047-2067.

PHỤ LỤC

PHỤ LỤC

- 1. Phụ lục minh chứng kết quả giám định 02
chủng vi tảo biển**
- 2. Phụ lục phổ các hợp chất phân lập từ 02
chủng vi tảo biển**

1. Phụ lục minh chứng kết quả giám định 02 chủng vi tảo biển

Hà Nội, ngày 28 tháng 3 năm 2023

GIẤY XÁC NHẬN GIÁM ĐỊNH 27 CHỦNG GIỐNG VI TẢO BIỂN QUANG TỰ DƯỠNG VÀ DỊ DƯỠNG

1. Đơn vị gửi mẫu: GS.TS. Đặng Diễm Hồng, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Địa chỉ: số 18 đường Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội.

2. Yêu cầu giám định: Xác định hình thái, tên khoa học của danh mục 27 chủng giống vi tảo biển quang tự dưỡng và dị dưỡng

Các mẫu trên là sản phẩm của đề tài nhánh theo Hợp đồng NCKH số 01/TS-07/HĐNCKH ký ngày 22/2/2021 do GS.TS. Đặng Diễm Hồng làm chủ trì thực hiện thuộc Đề tài “Nghiên cứu thành phần hóa học, dinh dưỡng, hoạt tính sinh học một số loài sinh vật biển tại quần đảo Trường Sa phục vụ y - dược”, mã số: KCB-TS-07, do TS. Nguyễn Trọng Dân, Trung tâm Nhiệt đới Việt-Nga làm chủ nhiệm năm 2020-2022.

Thuộc Chương trình: Khoa học và Công nghệ cấp Bộ Quốc phòng “Nghiên cứu tổng hợp sinh thái, tài nguyên sinh vật quần đảo Trường Sa, phục vụ tăng cường quản lý tài nguyên, bảo vệ môi trường gắn với quốc phòng quân sự” mã số: KCB-TS.

3. Thời gian thực hiện: 3 tháng (từ tháng 1-3/2023)

4. Phương pháp giám định: hình thái tế bào, đặc điểm sinh lý, sinh hóa, đọc và so sánh trình tự gen 18S rRNA, đoạn ITS1-5.8S-ITS2 rRNA

5. Kết quả

Kết quả về giám định 27 chủng vi tảo biển quang tự dưỡng và dị dưỡng có tên khoa học như sau:

Số TT	Ký hiệu chủng	Tên khoa học	Mã số trên Genbank
I	Các chủng vi tảo biển quang tự dưỡng		
1	TS1	<i>Chlorella</i> sp.	
2	TS2	<i>Diadlesmis confervaceae</i>	
3	TS9	<i>Chlorella</i> sp.	
4	STT2	<i>Pseudabanaena</i> sp.	
5	ĐL1	<i>Fragilariaopsis cylindrus</i>	



6	DL3	<i>Nannochloropsis</i> sp.	
7	NY2	<i>Stigeoclonium</i> sp.	
8	NY3	<i>Chloromonas reticulata</i>	
9	NY7	<i>Halamphora coffeaeformis</i>	
10	NY9	<i>Asterarcys quadricellulare</i>	
11	NY11	<i>Fragilaria</i> sp.	
12	NY13	<i>Dunaliella tertiolecta</i> NY	OM101011
13	TSD2	<i>Halamphora coffeaeformis</i>	
14	TSD3	<i>Staurosis</i> sp.	
15	PV	<i>Amphiprora alata</i>	
II	Các chủng vi tảo biển dị dưỡng		
16	SC35	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	
17	SC36	<i>Thraustochytrium</i> sp.	
18	SC47	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	
19	TSL10	<i>Thraustochytrium pachydermum</i> TSL10	OL721615
20	SC51	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	
21	SC65	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	
22	SC66	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	
23	SC67	<i>Thraustochytrium</i> sp.	
24	SC69	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	
25	SC145	<i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	ON597428
26	NY3	<i>Thraustochytrium</i> sp.	
27	NY19	<i>Thraustochytrium</i> sp.	

Ghi chú: TS: Trường Sa; SIT: Song Tử Tây; TSD: Trường Sa Đông; DL: Đá Lớn; NY: Nam Yết; PV: Phan Vinh.

Người giám định
(Họ, tên và chữ ký)

PGS.TS. Dương Thị Thủy

Xác nhận của Viện Công nghệ môi trường
(Họ, tên, chữ ký và đóng dấu)



Nguyễn Thành Đồng



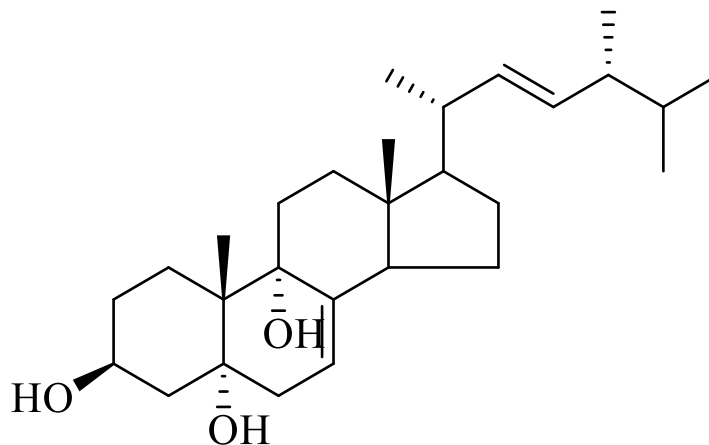
2. Phụ lục phổ các hợp chất phân lập từ 02 chủng vi tảo biển

1. Phụ lục phổ của các hợp chất từ chủng vi tảo biển <i>Thraustochytrium Pchydermum</i> TSL10	8
1.1. Hợp chất TP1.....	8
1.2. Hợp chất TP2.....	13
1.3. Hợp chất TP3.....	16
1.4. Hợp chất TP4.....	20
1.5. Hợp chất TP5.....	23
1.6. Hợp chất TP6.....	26
1.7. Hợp chất TP7.....	28
1.8. Hợp chất TP8.....	30
1.9. Hợp chất TP9.....	34
1.10. Hợp chất TP10.....	38
1.11. Hợp chất TP11.....	42
1.12. Hợp chất TP12.....	45
2. Phụ lục phổ của các hợp chất từ chủng vi tảo biển <i>Aurantiochytrium</i> sp. SC145	49
2.1. Hợp chất AS1.....	49
2.2. Hợp chất AS2.....	53
2.3. Hợp chất AS3:	57
2.4. Hợp chất AS4:	61
2.5. Hợp chất AS5:	64
2.6. Hợp chất AS6.....	66
2.7. Hợp chất AS7.....	68
2.8. Hợp chất AS8.....	70
2.9. Hợp chất AS9.....	73
2.10. Hợp chất AS10.....	75
2.11. Hợp chất AS11.....	77
2.12. Hợp chất AS12.....	79
2.13. Hợp chất AS13.....	82
2.14. Hợp chất AS14.....	86
2.15. Hợp chất AS15.....	89
2.16. Hợp chất AS16.....	92

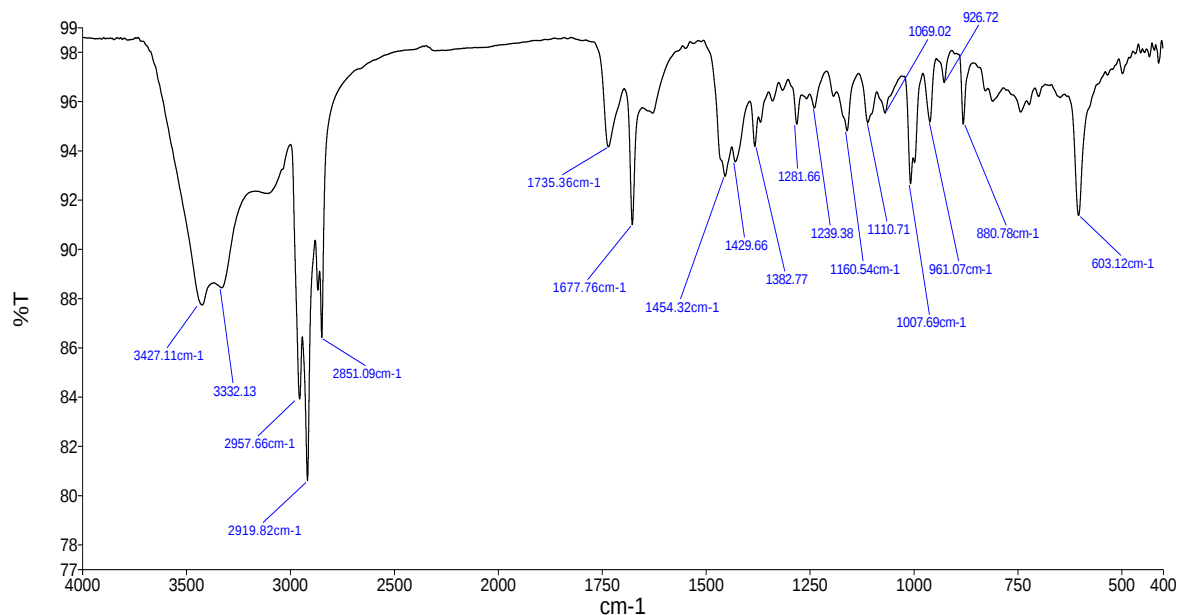
2.17. Hợp chất AS17.....	94
2.18. Hợp chất AS18.....	96
2.19. Hợp chất AS19.....	99
2.20. Hợp chất AS20.....	100
2.21. Hợp chất AS21.....	103
2.22. Hợp chất AS22.....	106
2.23. Hợp chất AS23.....	109

1. Phụ lục phổ của các hợp chất từ chủng vi tảo biển *Thraustochytrium Pchydermum* TSL10

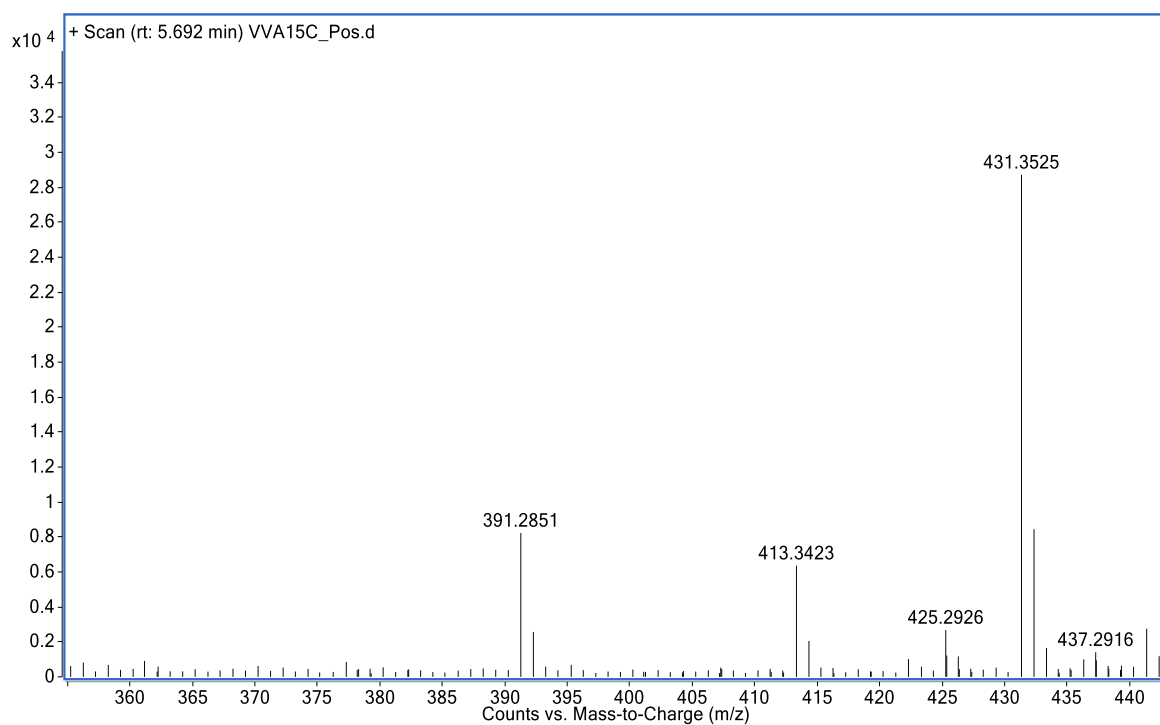
1.1. Hợp chất TP1



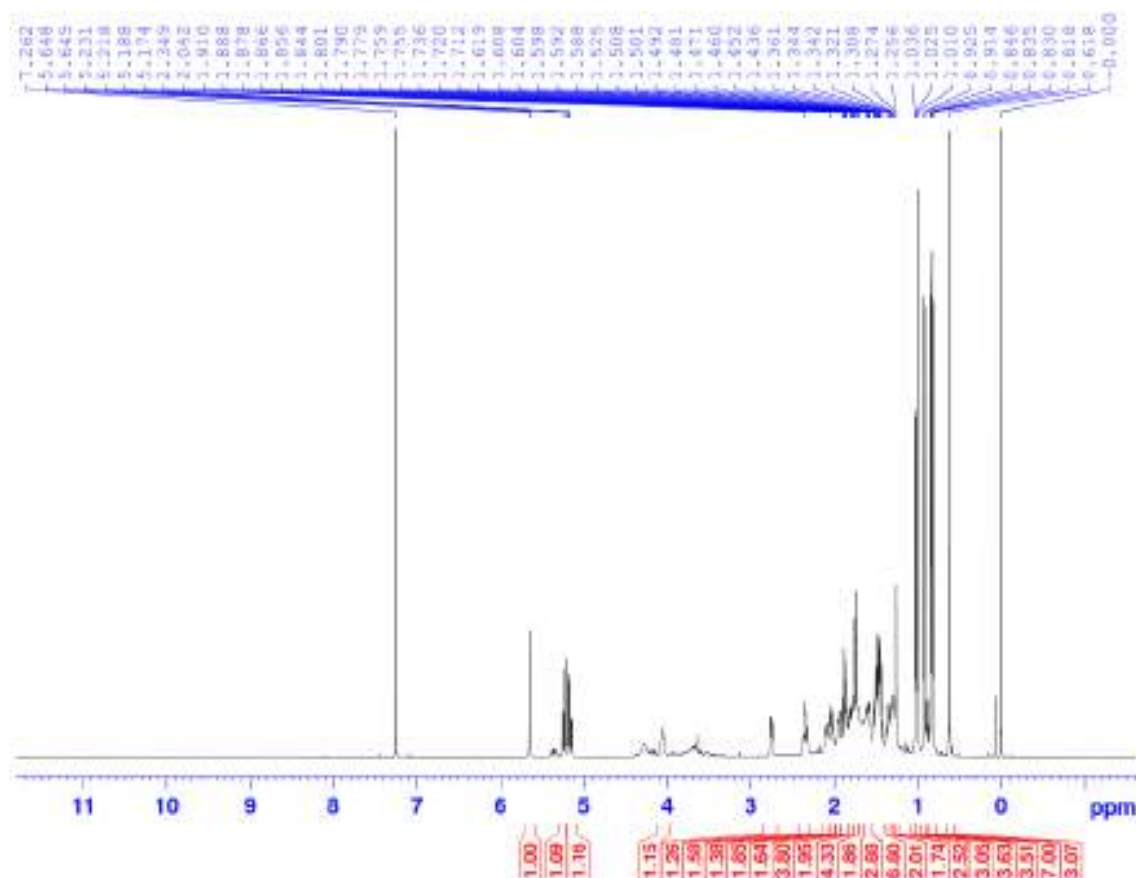
Hình P1.1. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP1**



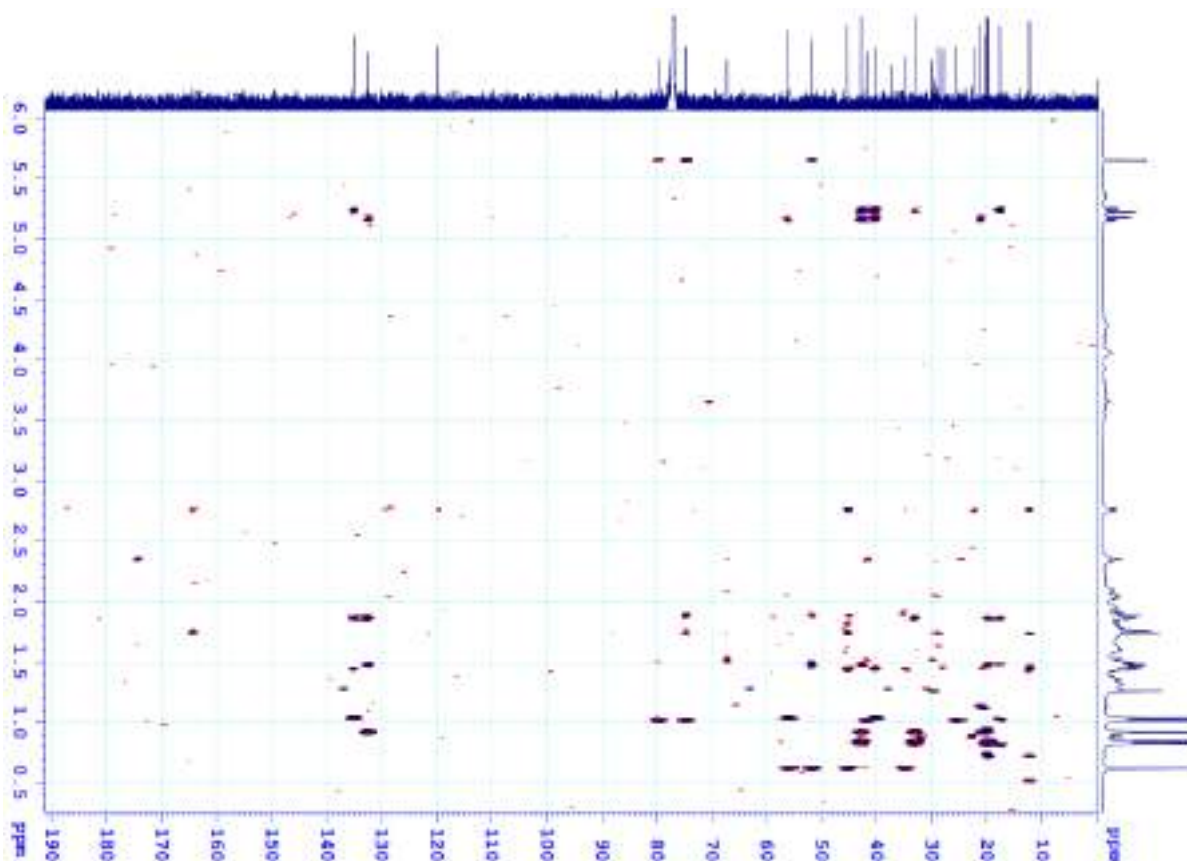
Hình P1.2. Phổ IR của hợp chất **TP1**



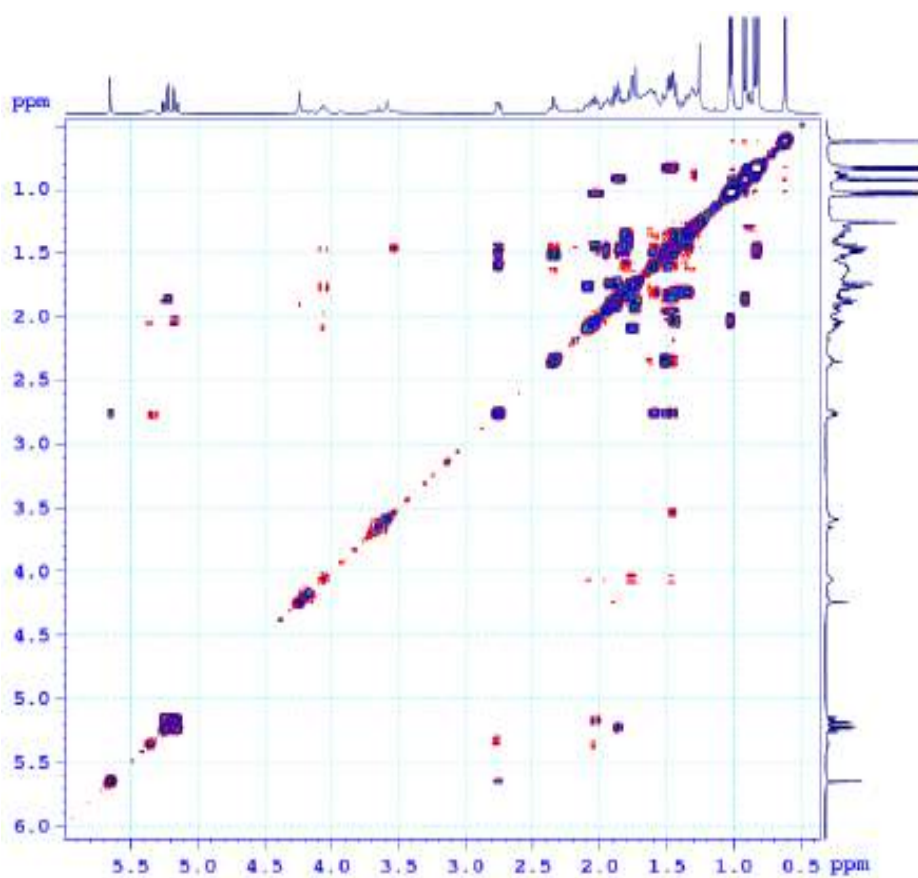
Hình P1.3. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **TP1**



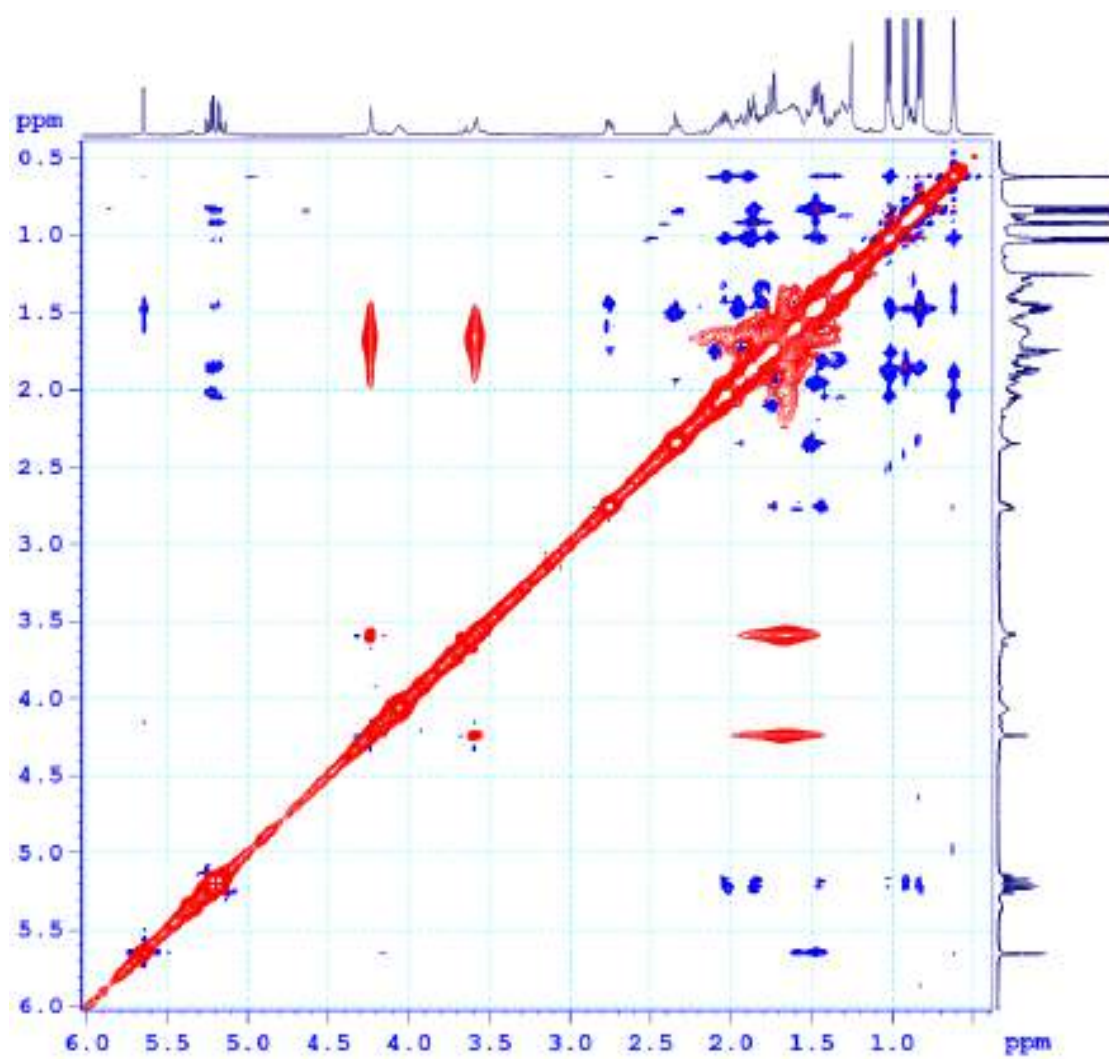
Hình P1.4. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **TP1**



Hình P1.7. Phổ HMBC của hợp chất **TP1**

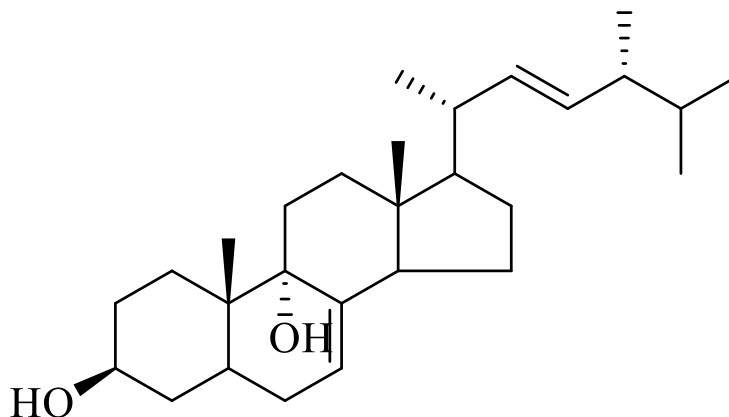


Hình P1.8. Phổ COSY của hợp chất **TP1**

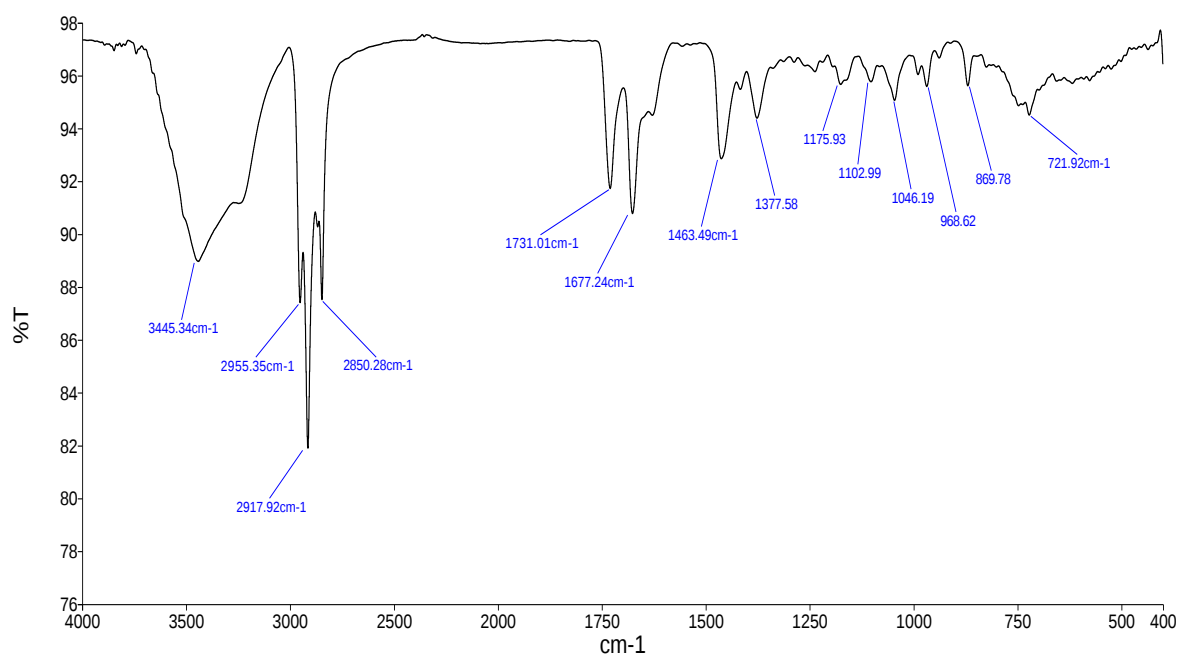


Hình P1.9. Phổ NOESY của hợp chất **TP1**

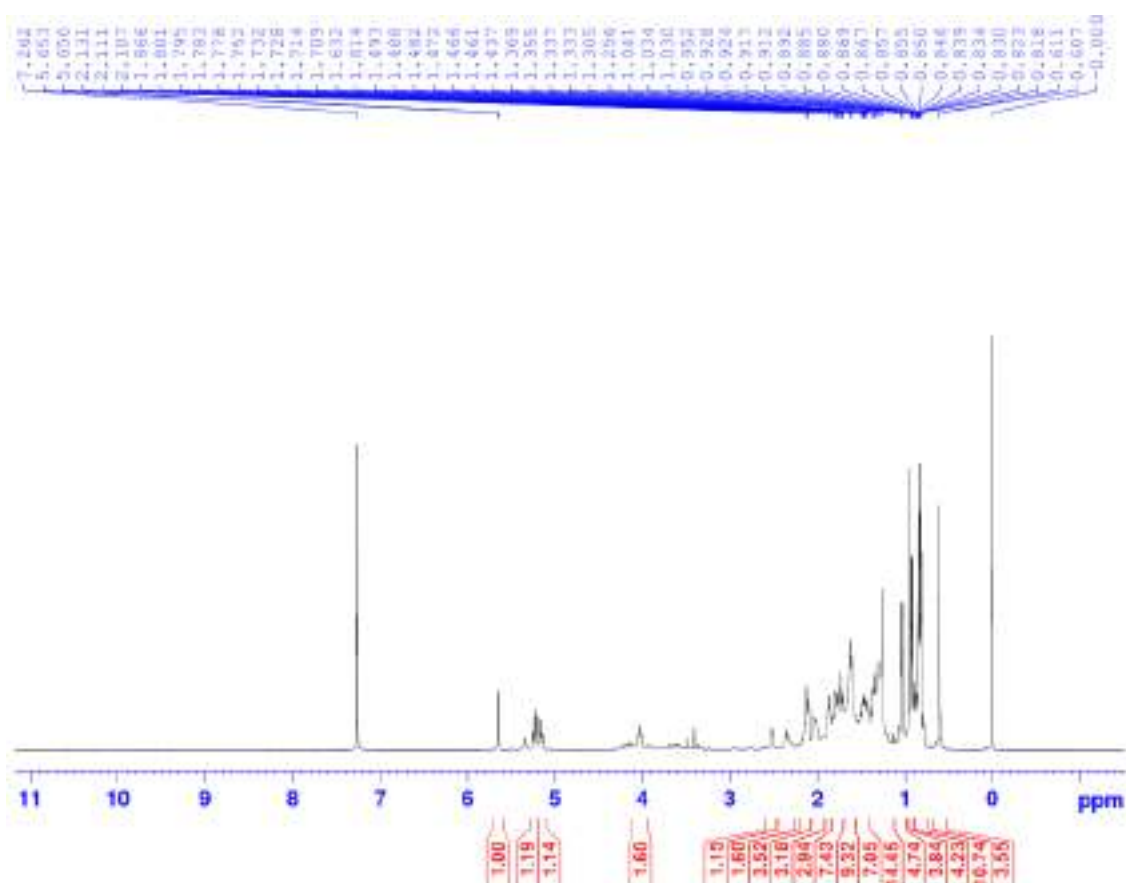
1.2. Hợp chất TP2



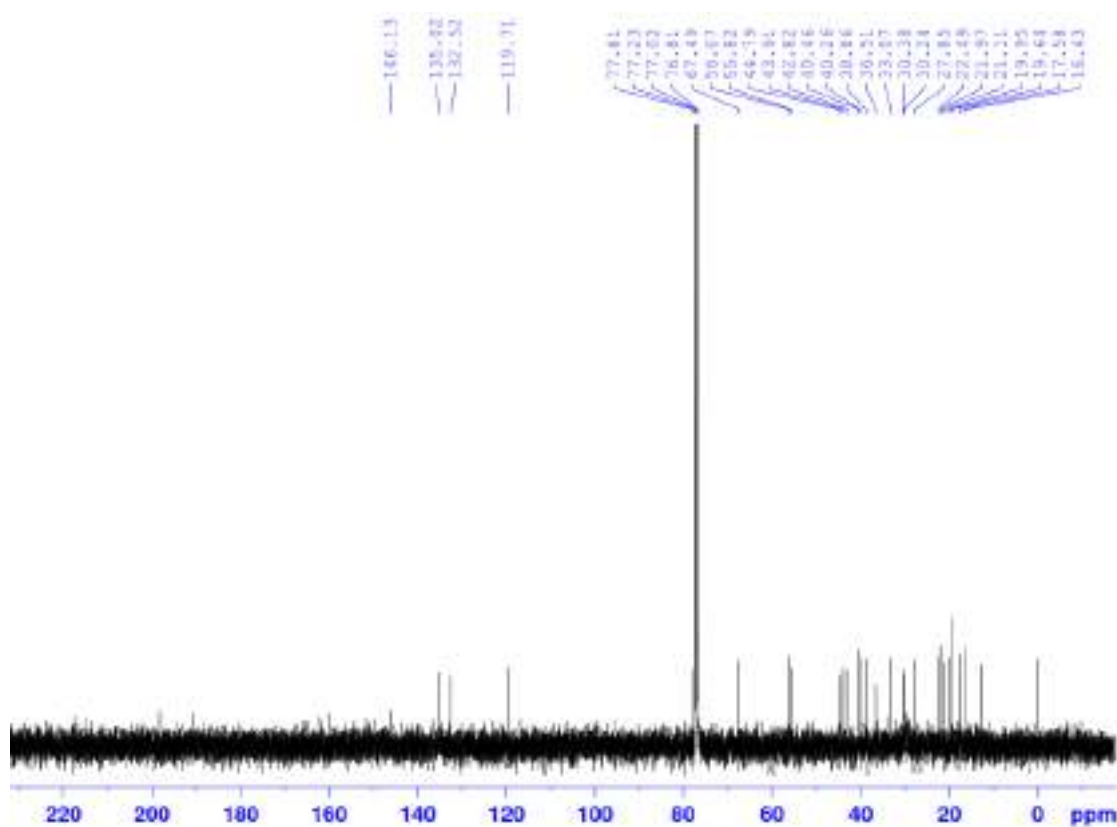
Hình P1.10. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP2**



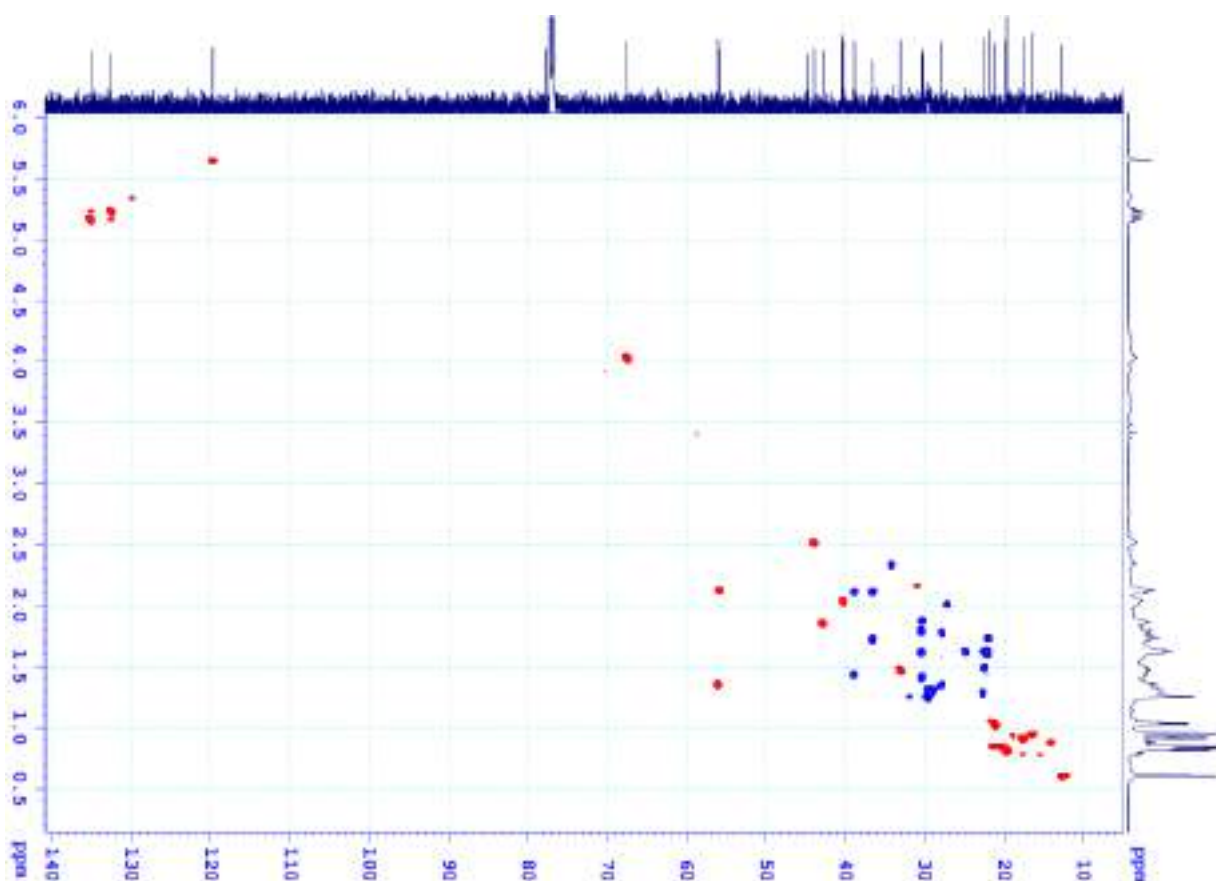
Hình P1.11. Phổ IR của hợp chất **TP2**



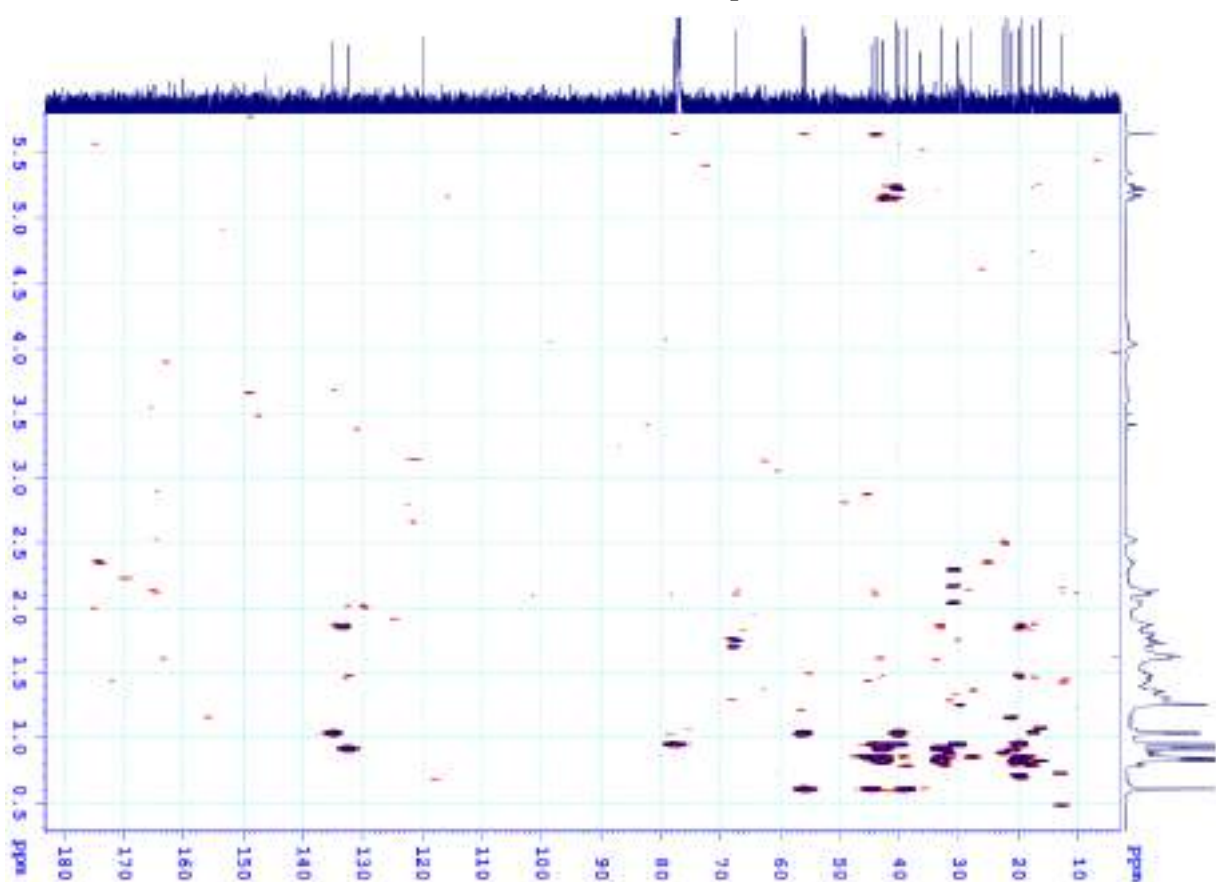
Hình P1.12. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **TP2**



Hình P1.13. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **TP2**

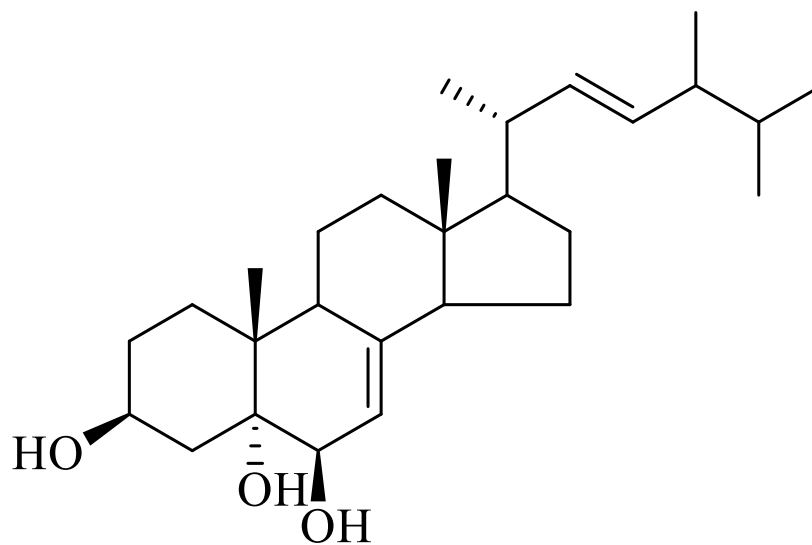


Hình P1.14. Phổ HSQC của hợp chất **TP2**

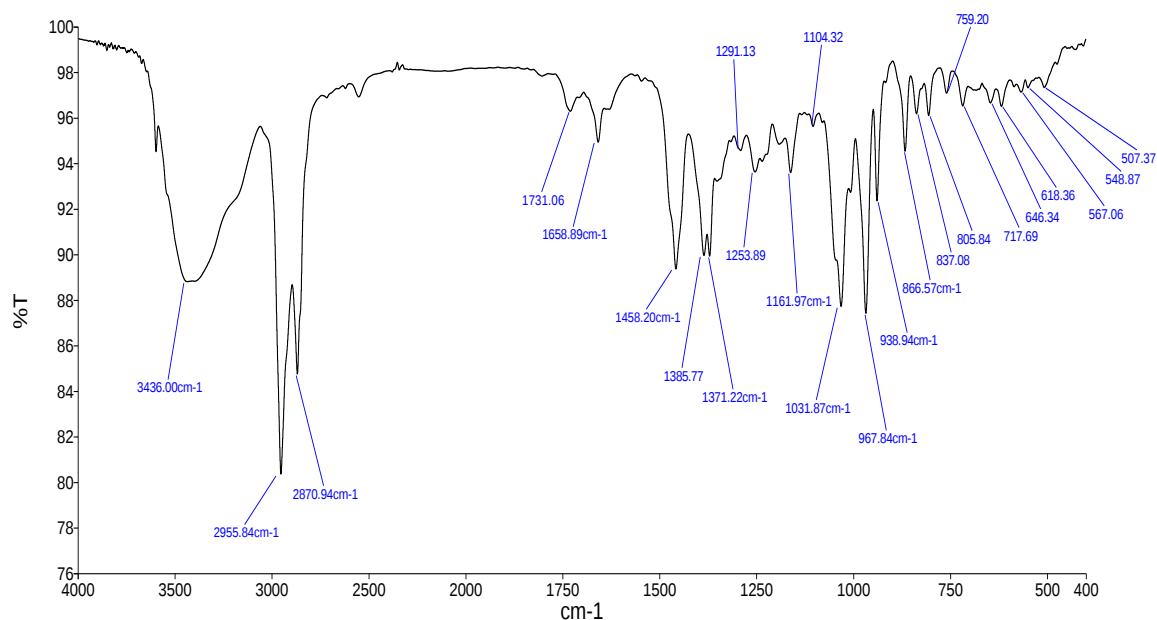


Hình P1.15. Phổ HMBC của hợp chất **TP2**

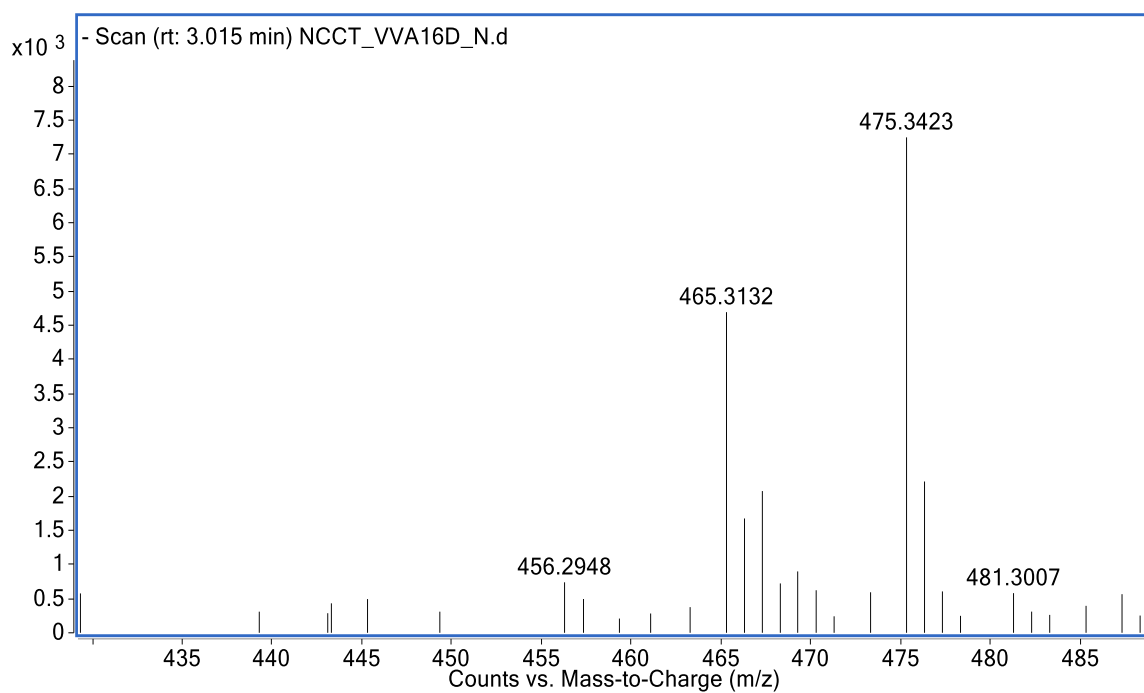
1.3. Hợp chất TP3



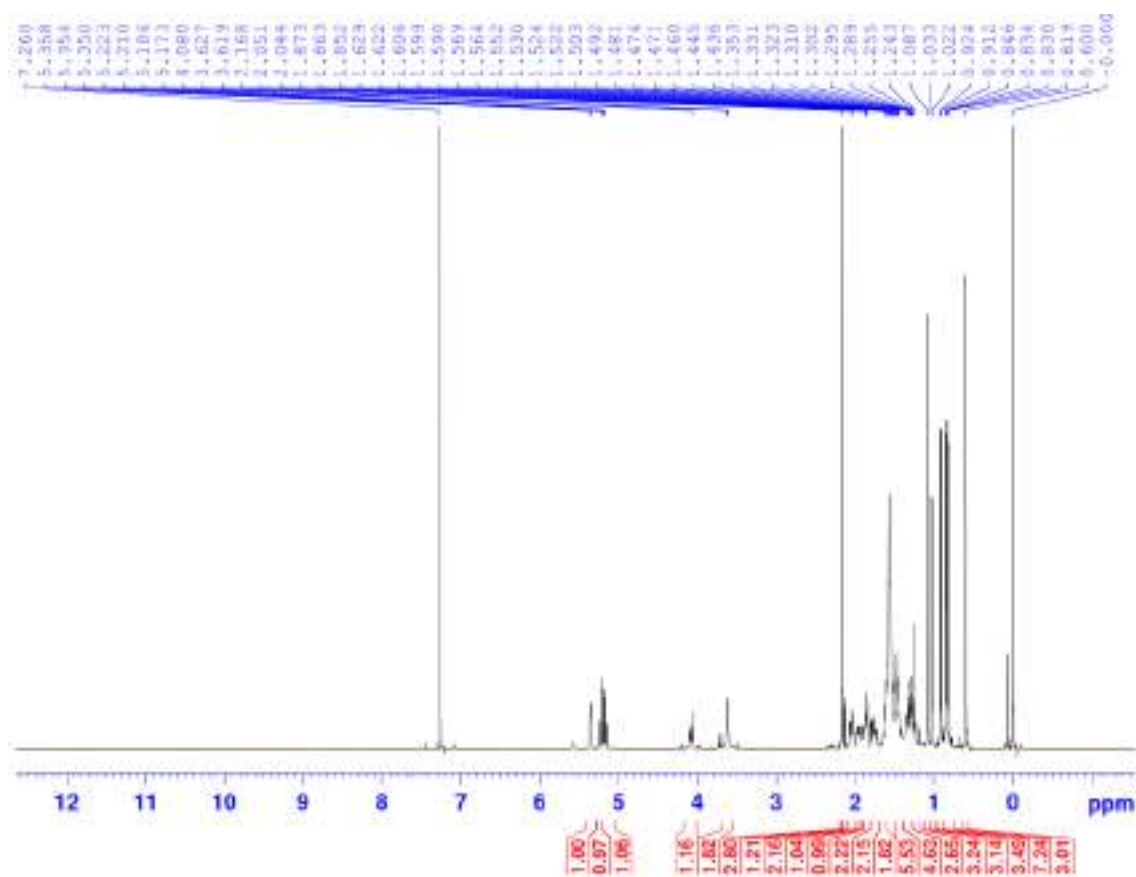
Hình P1.16. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP3**



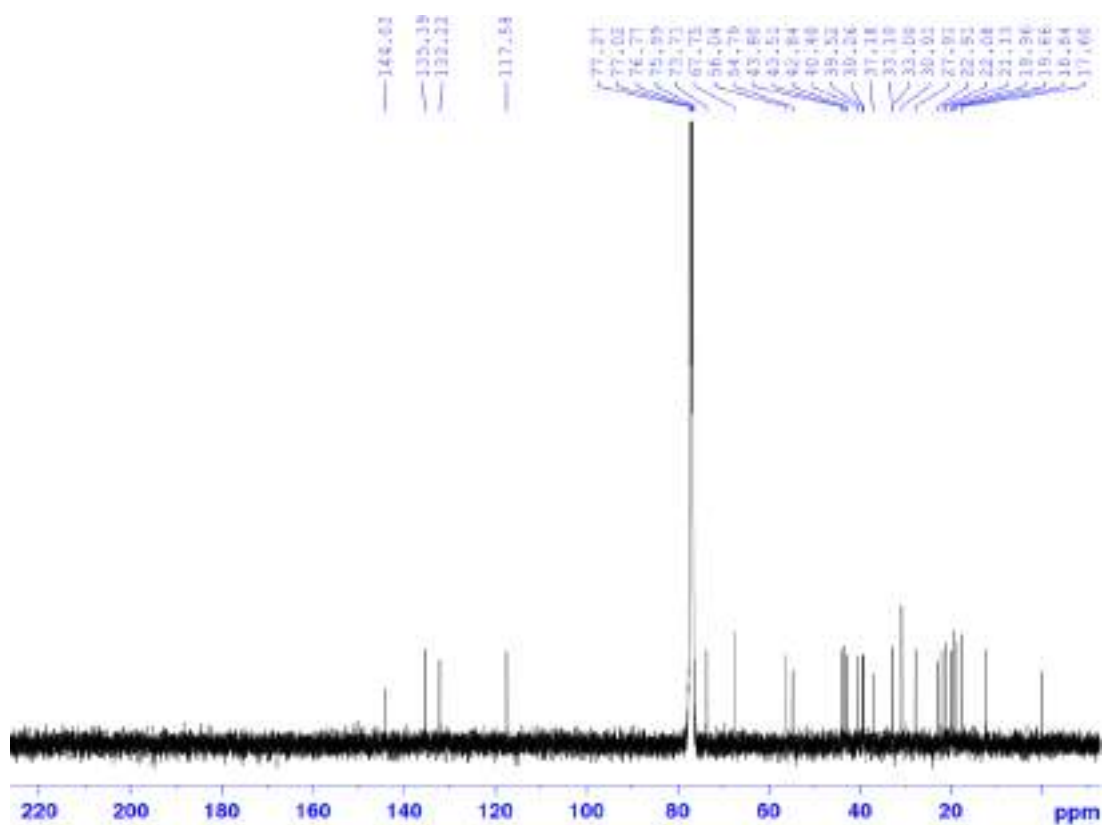
Hình P1.17. Phổ IR của hợp chất **TP3**



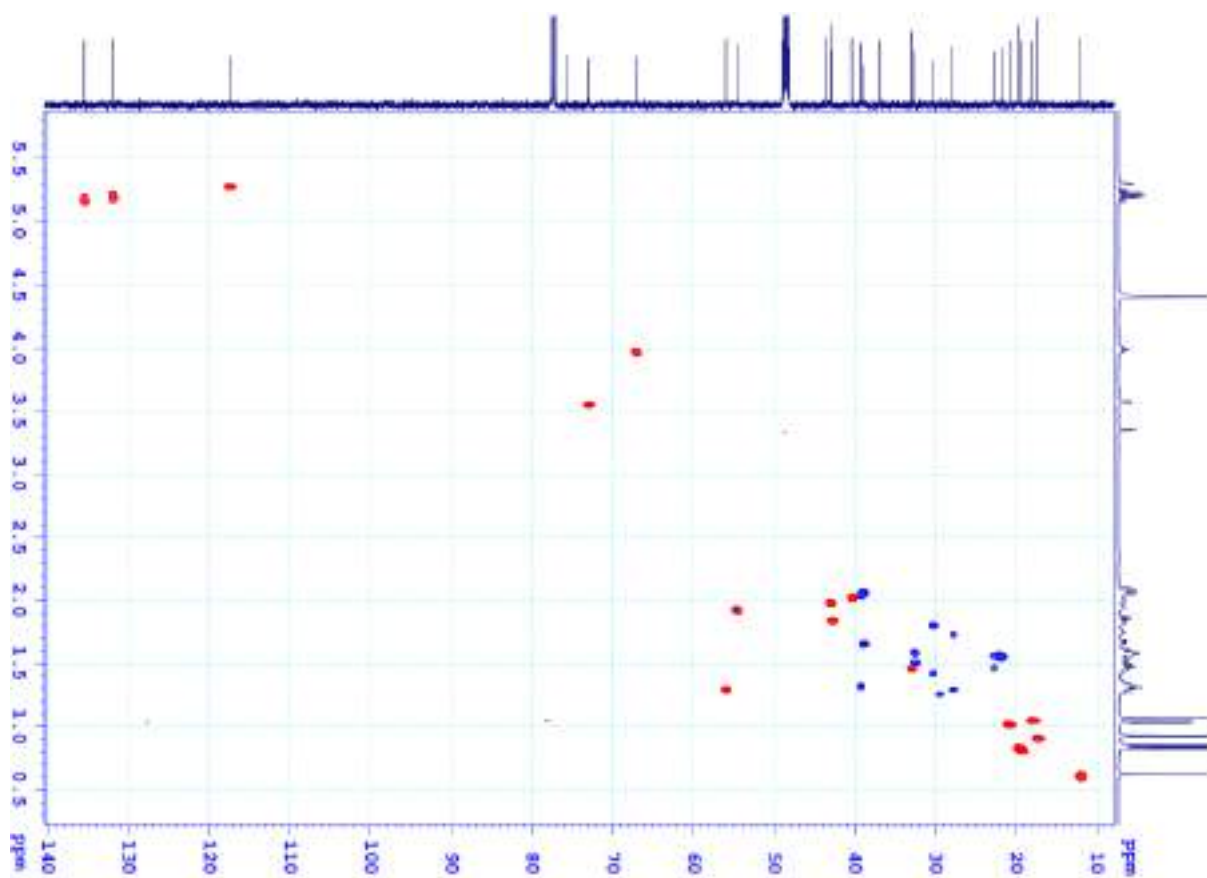
Hình P1.18. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **TP3**



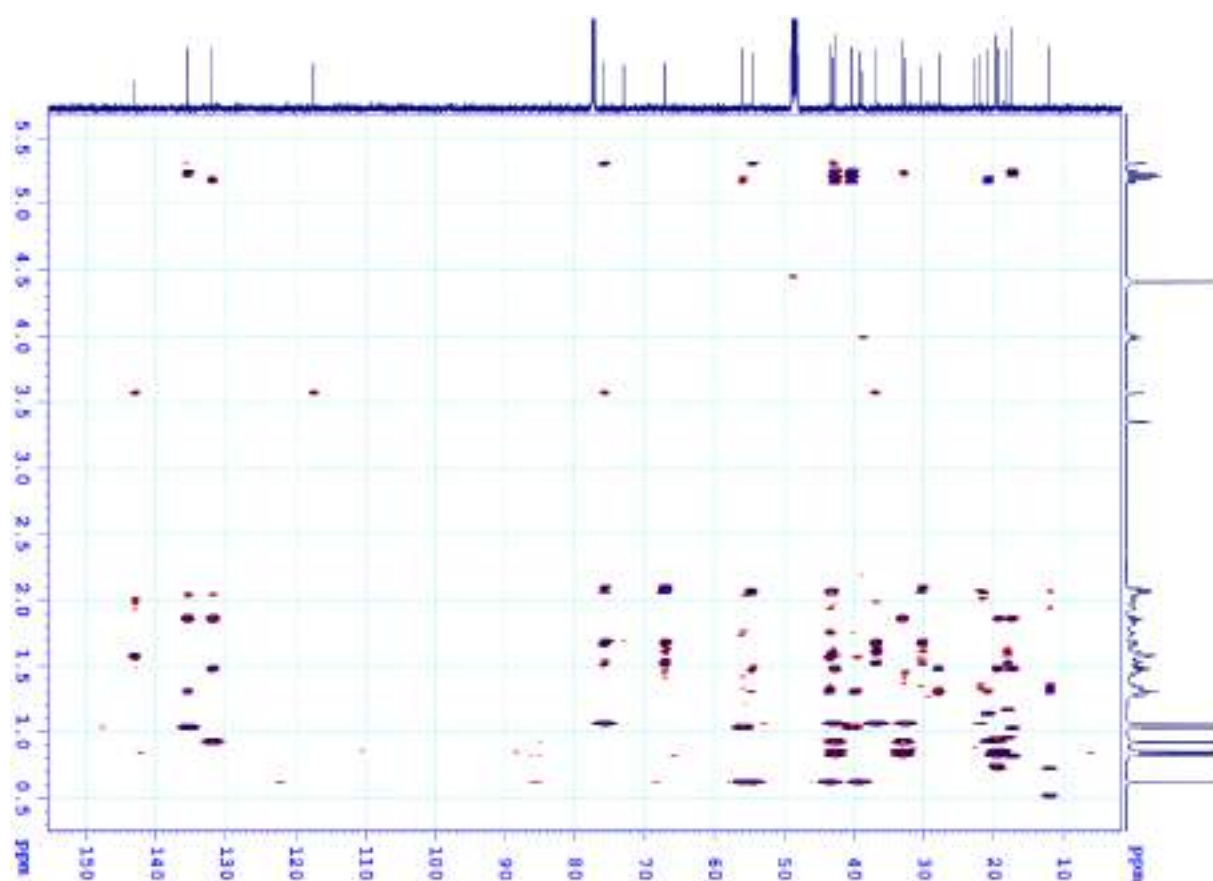
Hình P1.16. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **TP3**



Hình P1.17. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **TP3**

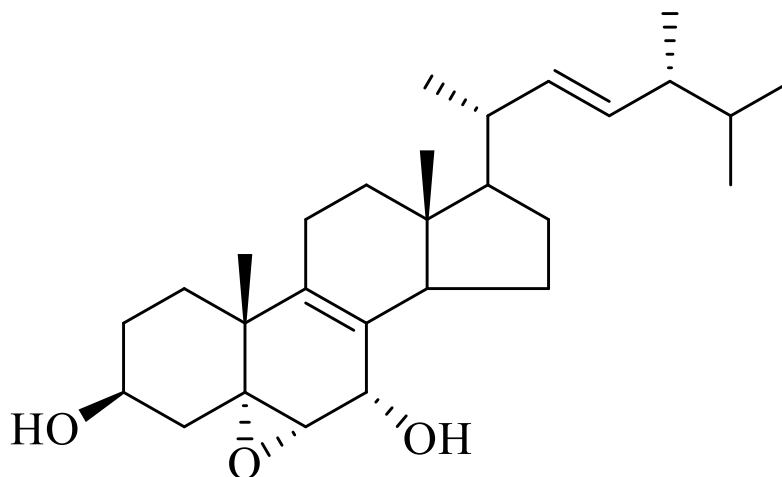


Hình P1.18. Phổ HSQC của hợp chất **TP3**

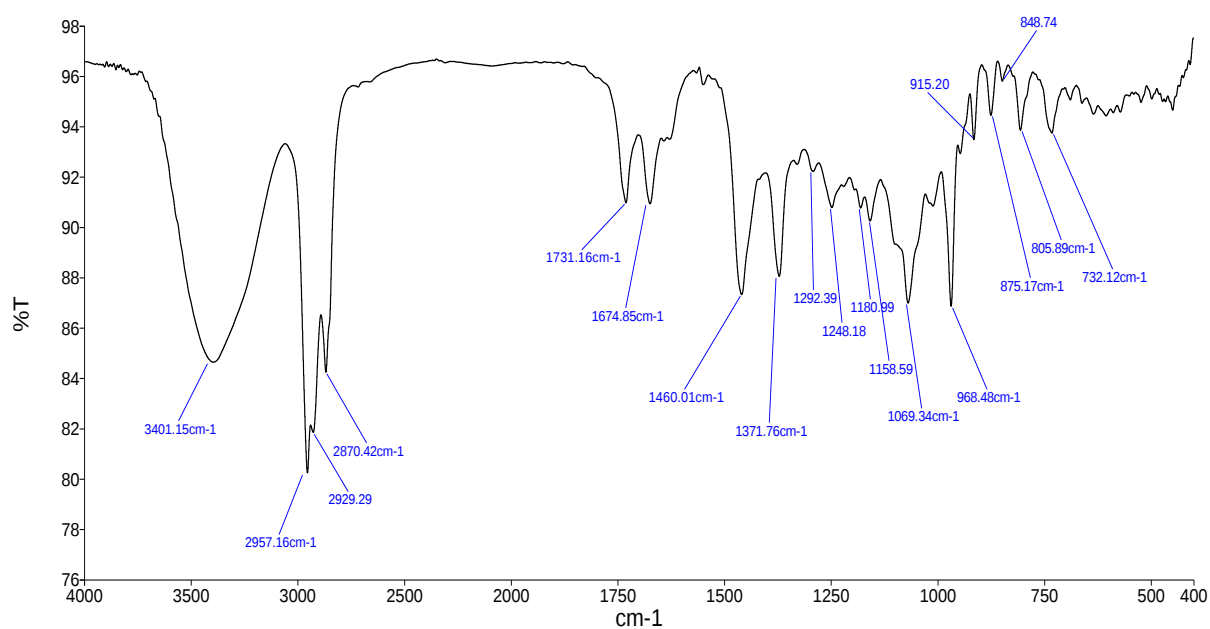


Hình P1.19. Phổ HMBC của hợp chất **TP3**

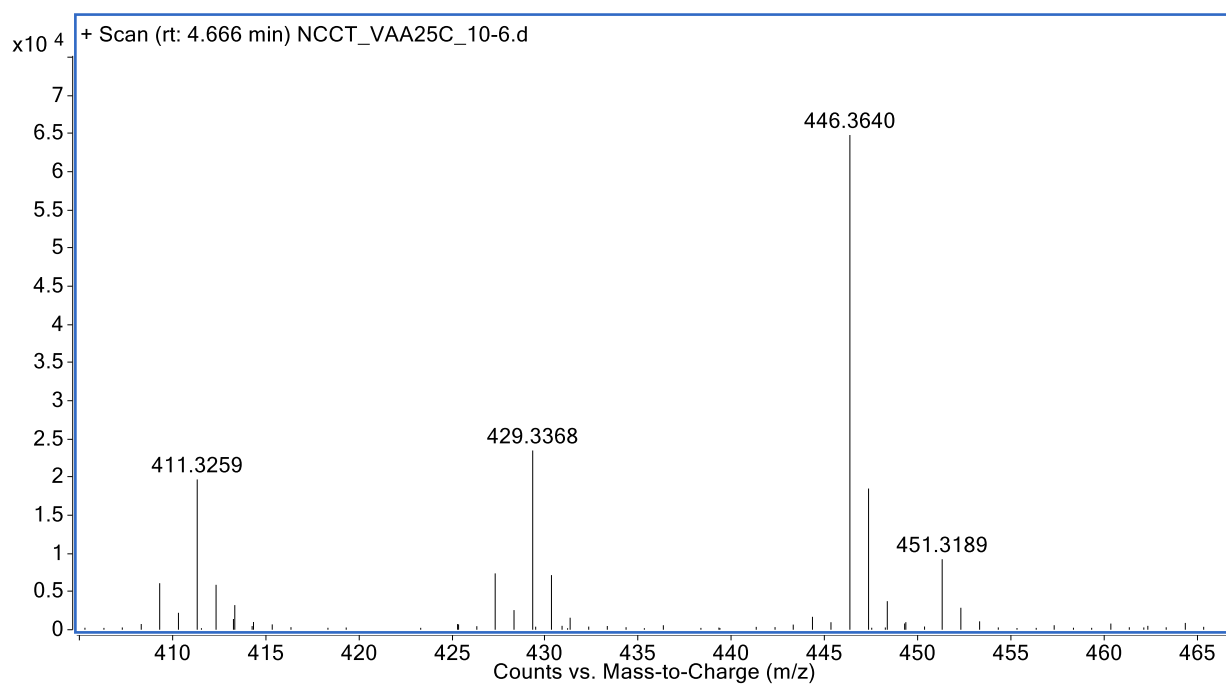
1.4. Hợp chất TP4



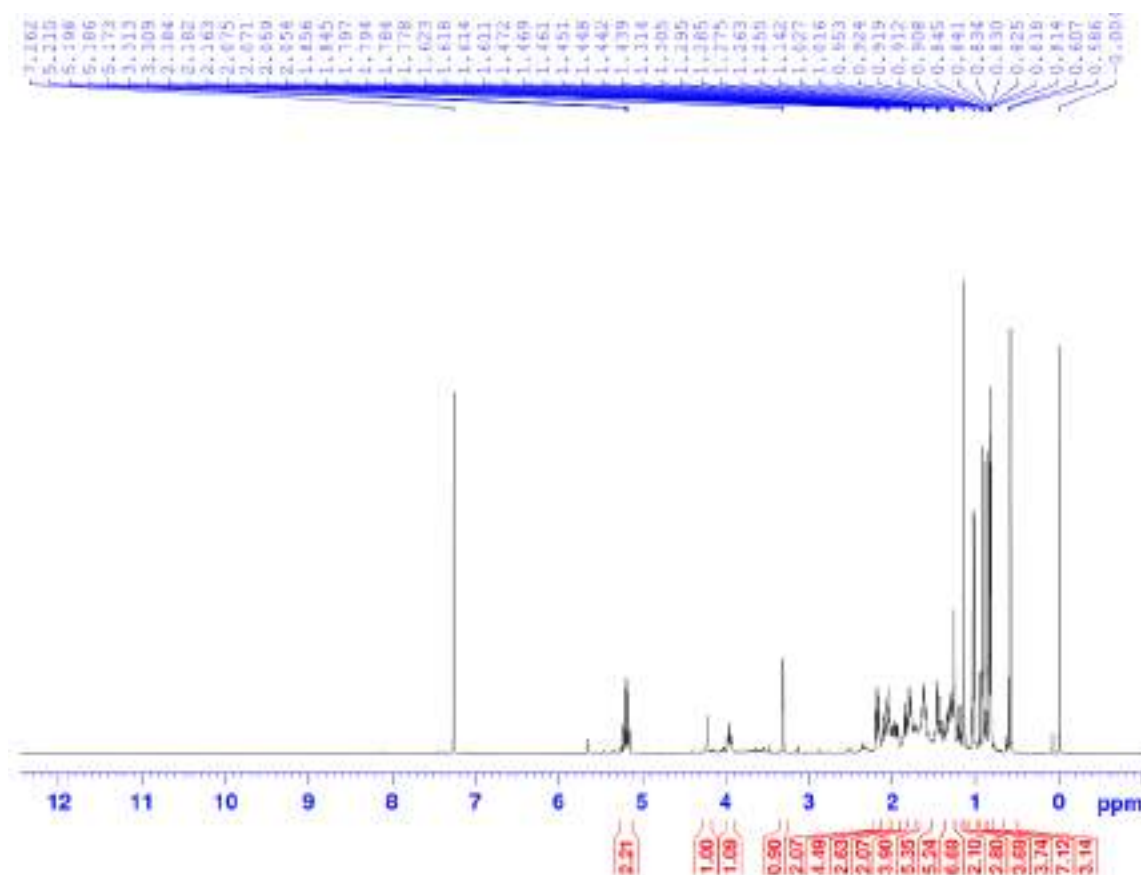
Hình P1.20. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP4**



Hình P1.21. Phổ IR của hợp chất **TP4**

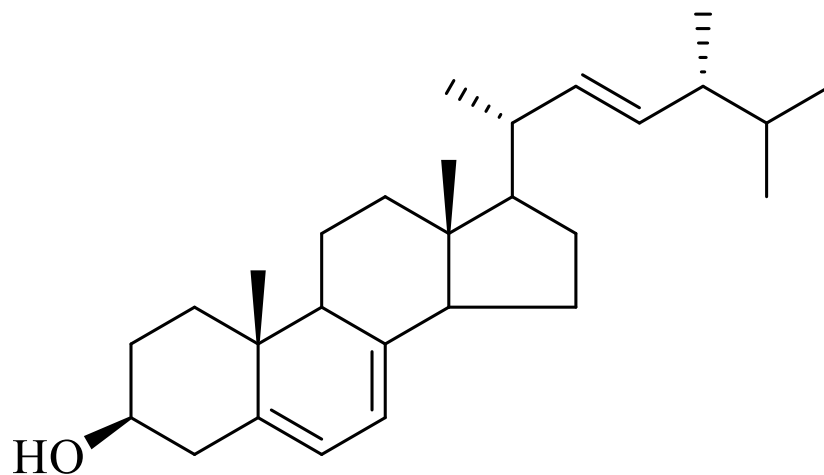


Hình P1.22. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **TP4**

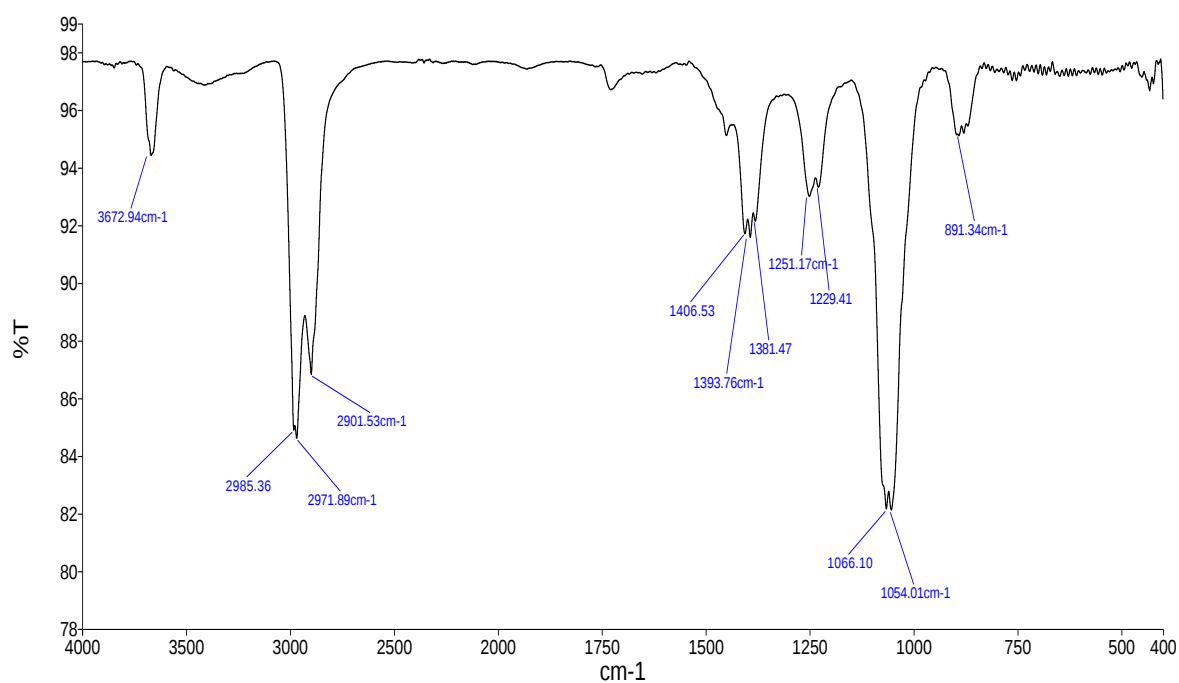


Hình P1.23. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **TP4**

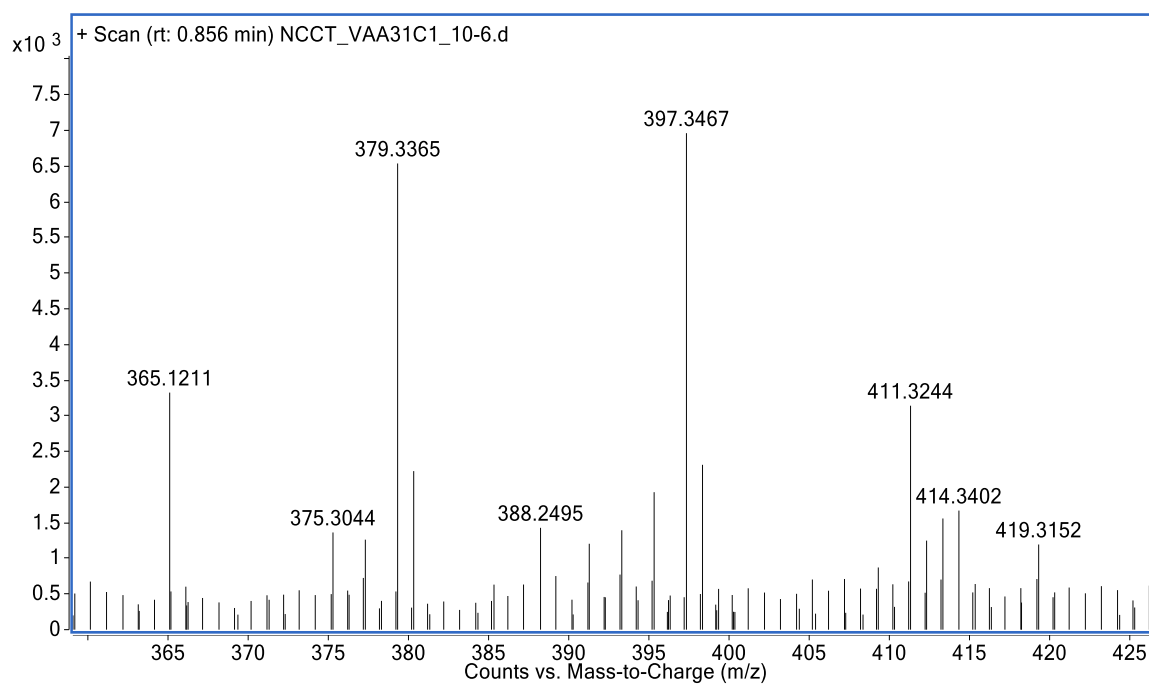
1.5. Hợp chất TP5



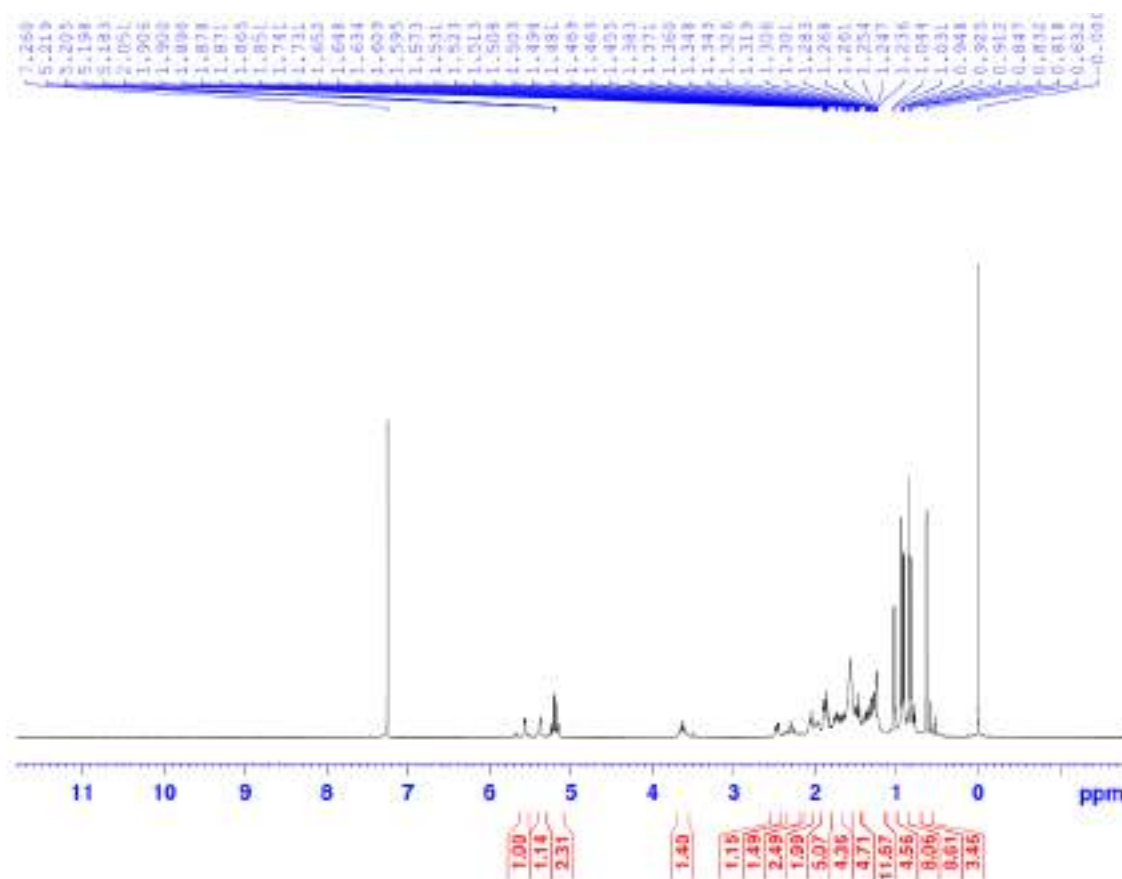
Hình P1.26. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP5**



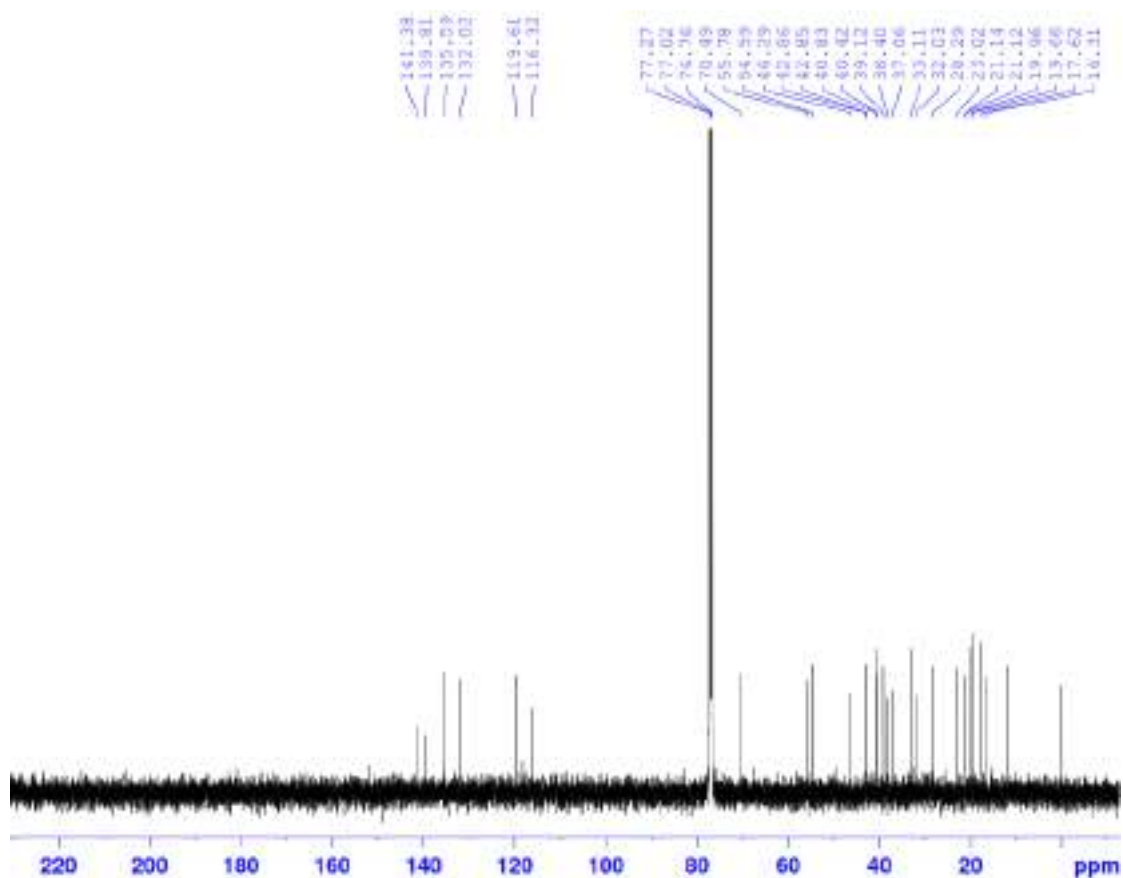
Hình P1.27. Phổ IR của hợp chất **TP5**



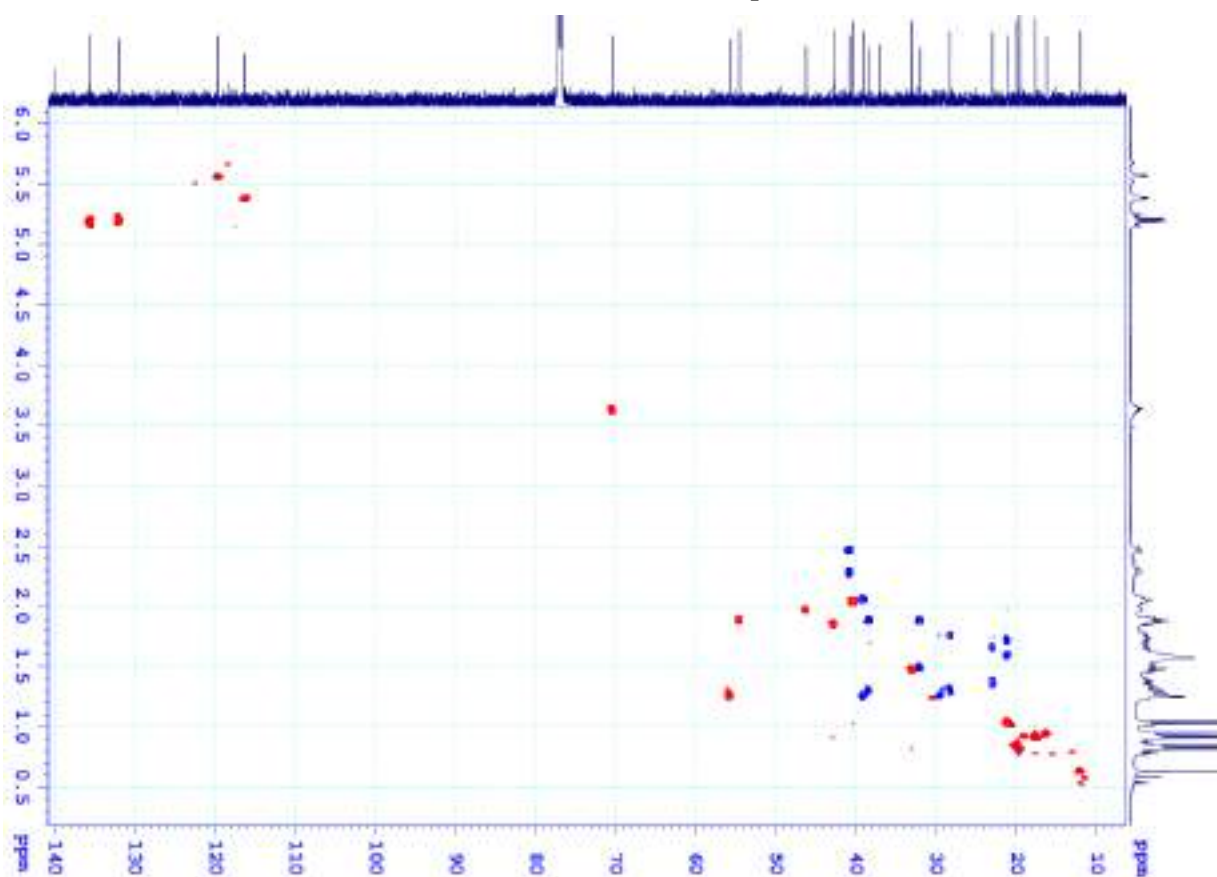
Hình P1.28. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **TP5**



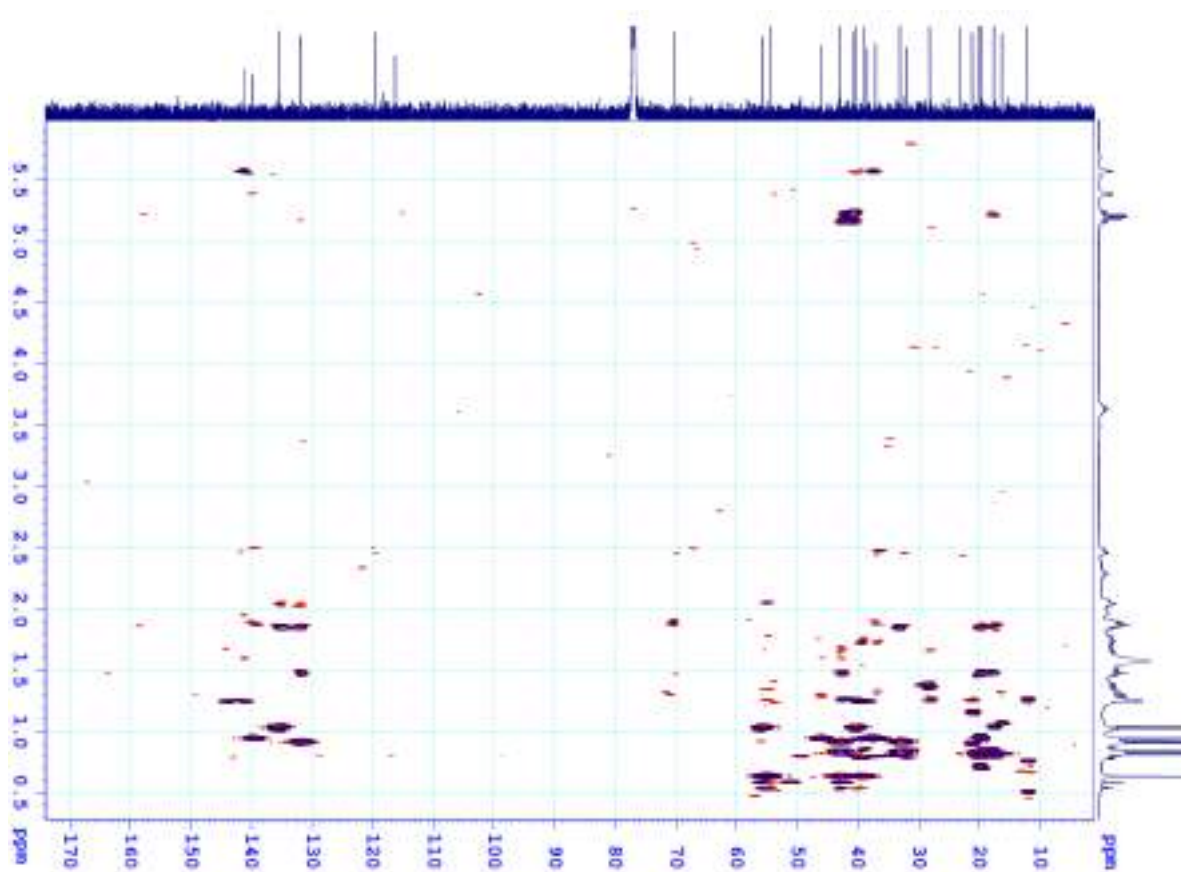
Hình P1.29. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **TP5**



Hình P1.30. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **TP5**

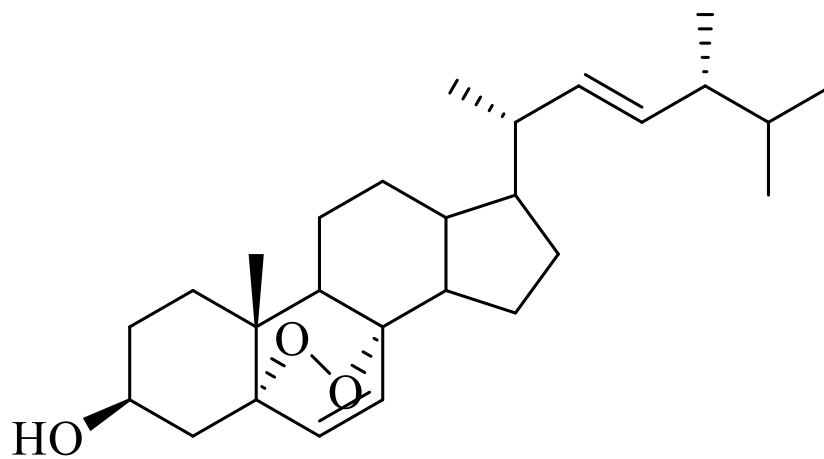


Hình P1.31. Phổ HSQC của hợp chất **TP5**

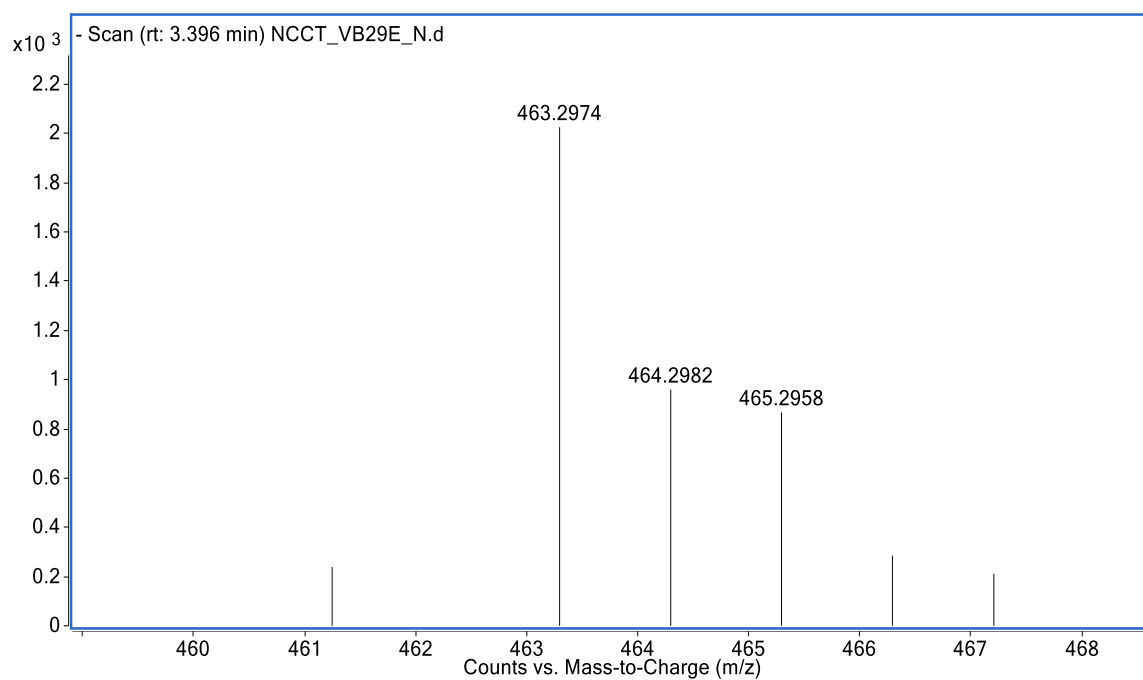


Hình P1.32. Phổ HMBC của hợp chất **TP5**

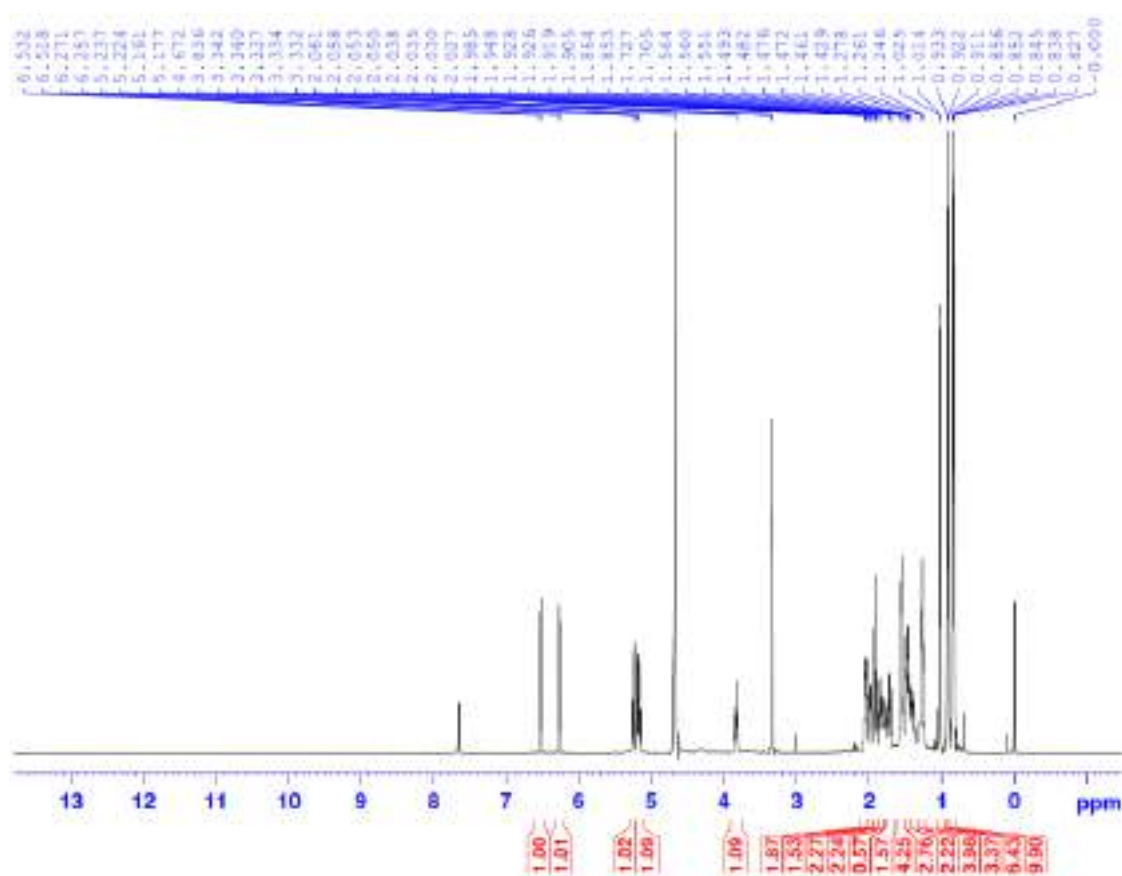
1.6. Hợp chất TP6



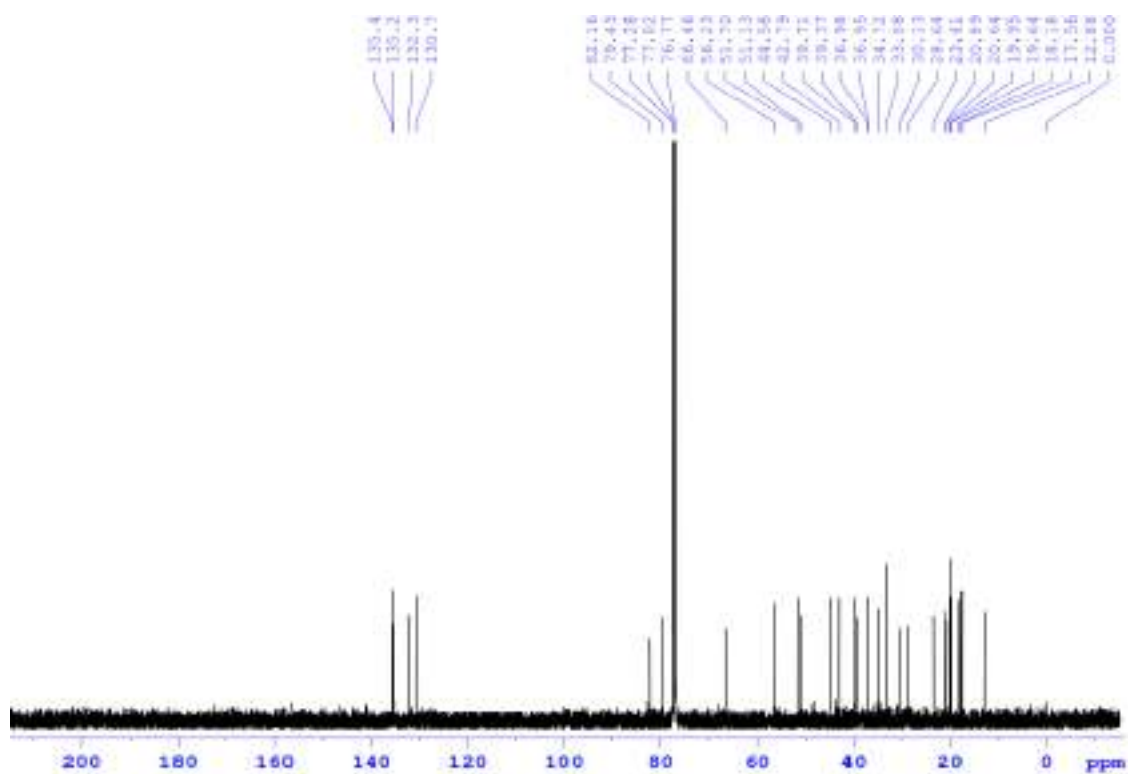
Hình P1.33. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP6**



Hình P1.34. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **TP6**

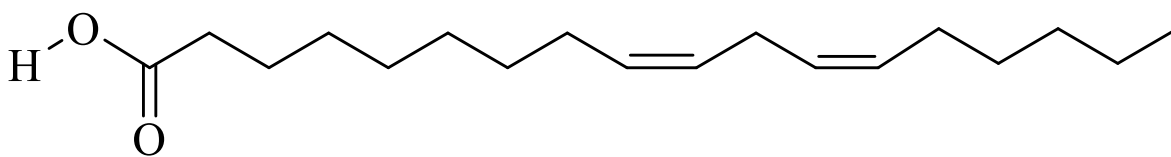


Hình P1.35. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **TP6**

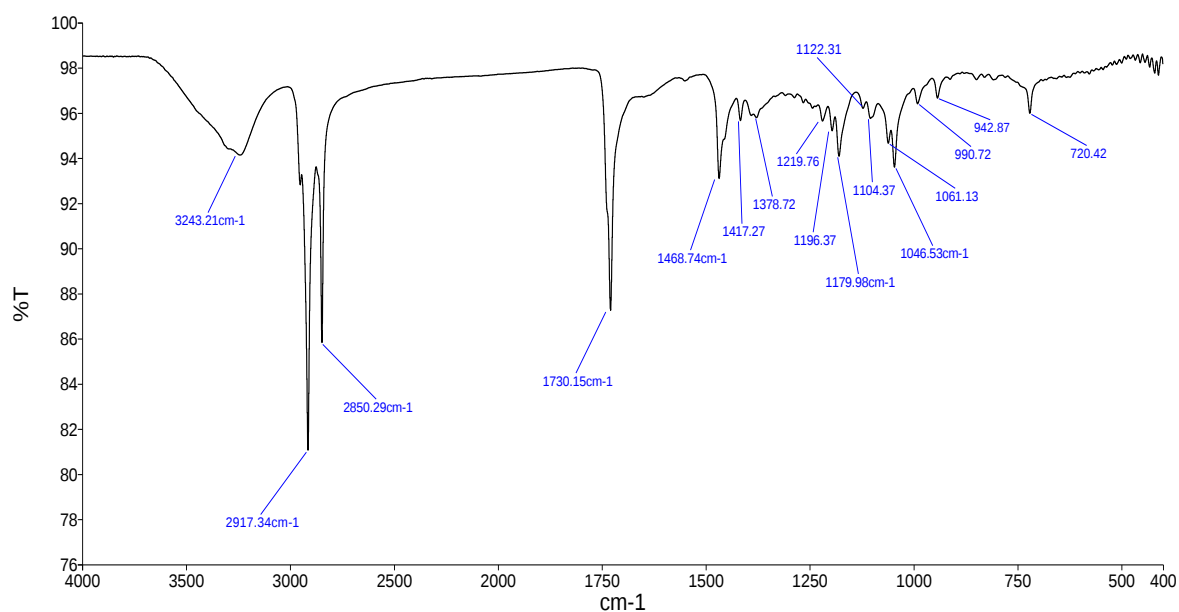


Hình P1.36. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **TP6**

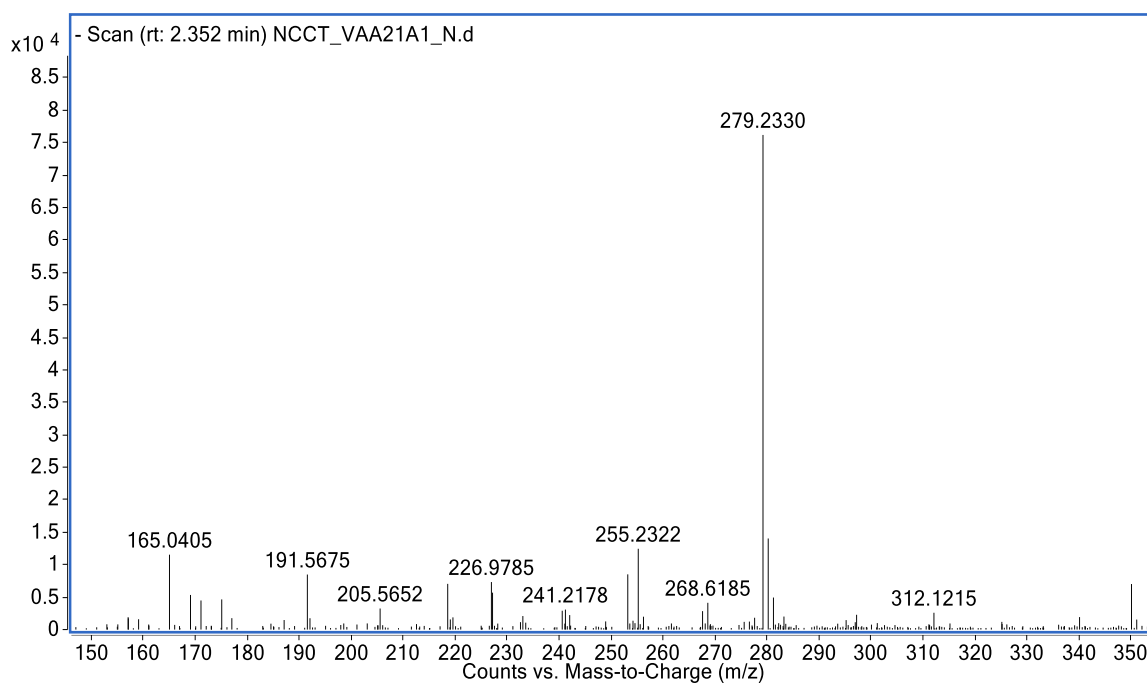
1.7. Hợp chất TP7



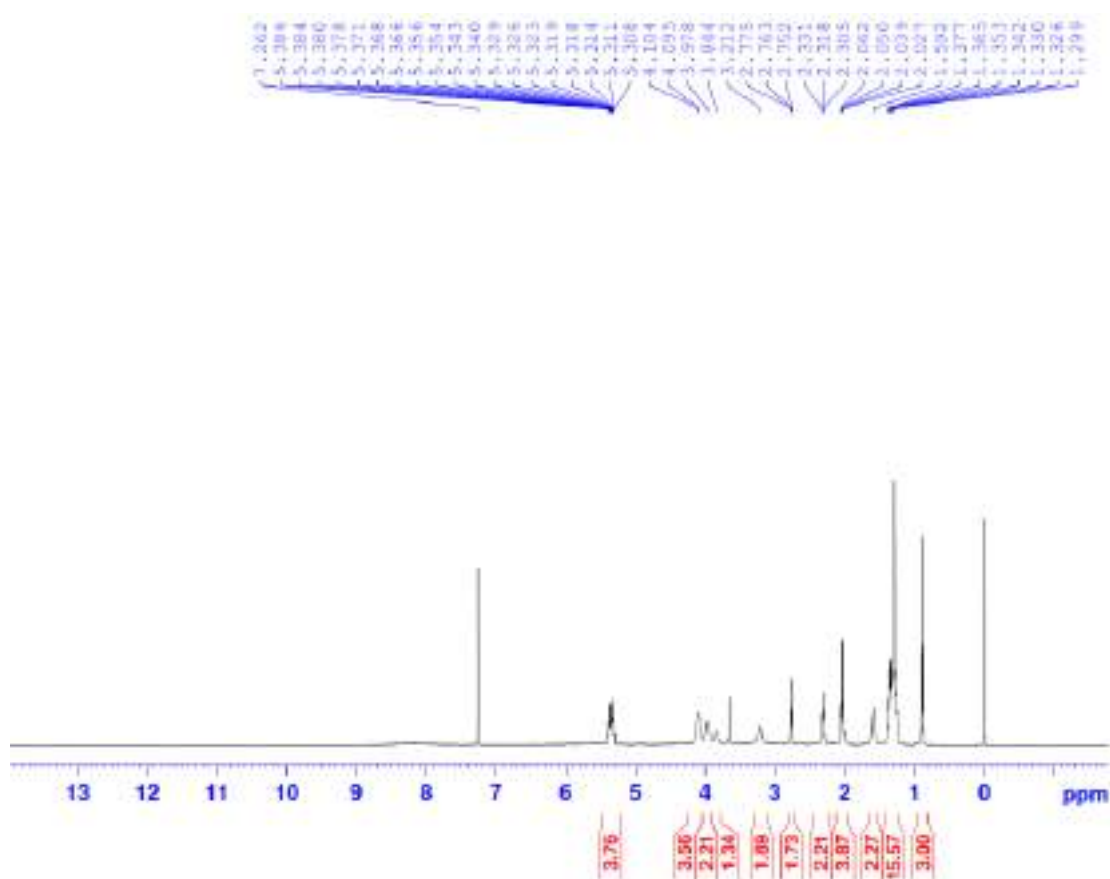
Hình P1.37. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP7**



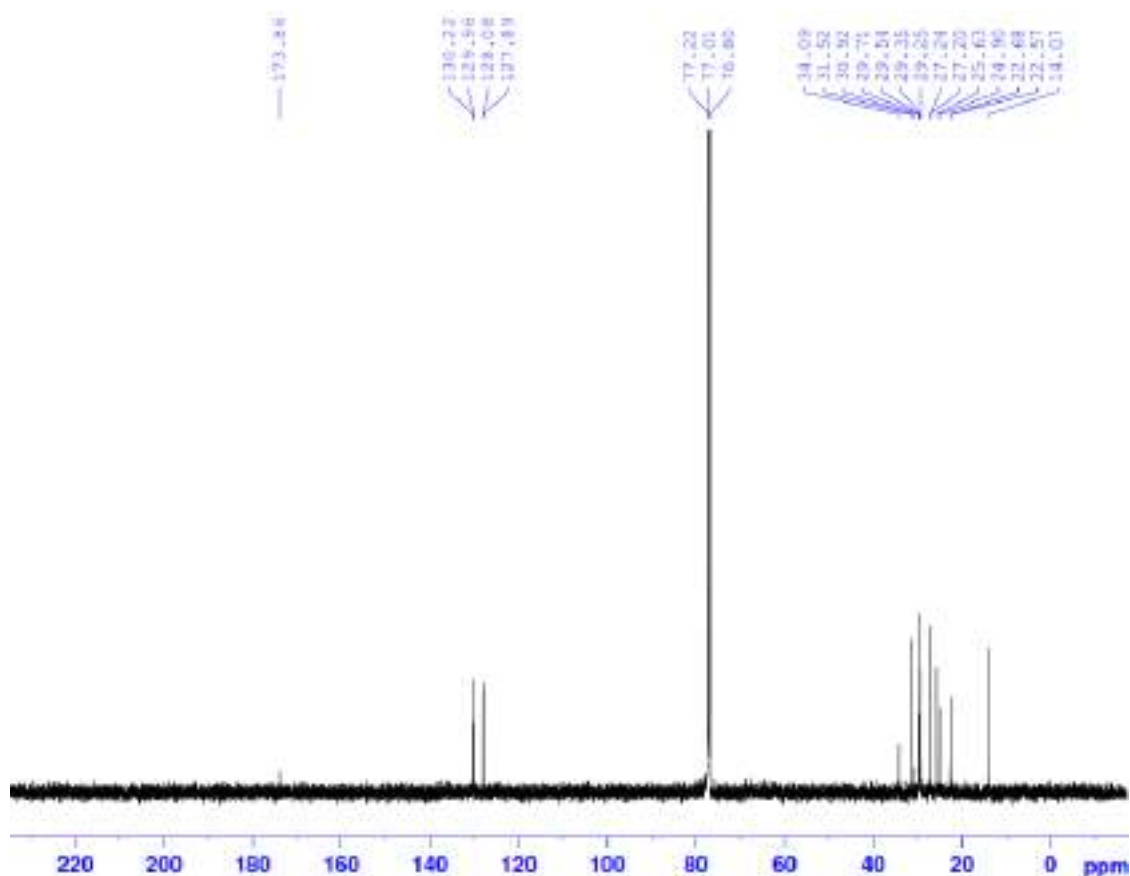
Hình P1.38. Phổ IR của hợp chất **TP7**



Hình P1.39. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **TP7**

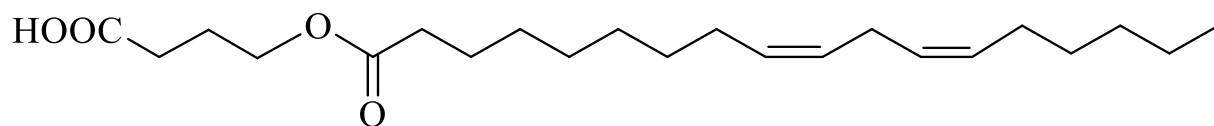


Hình P1.40. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **TP7**

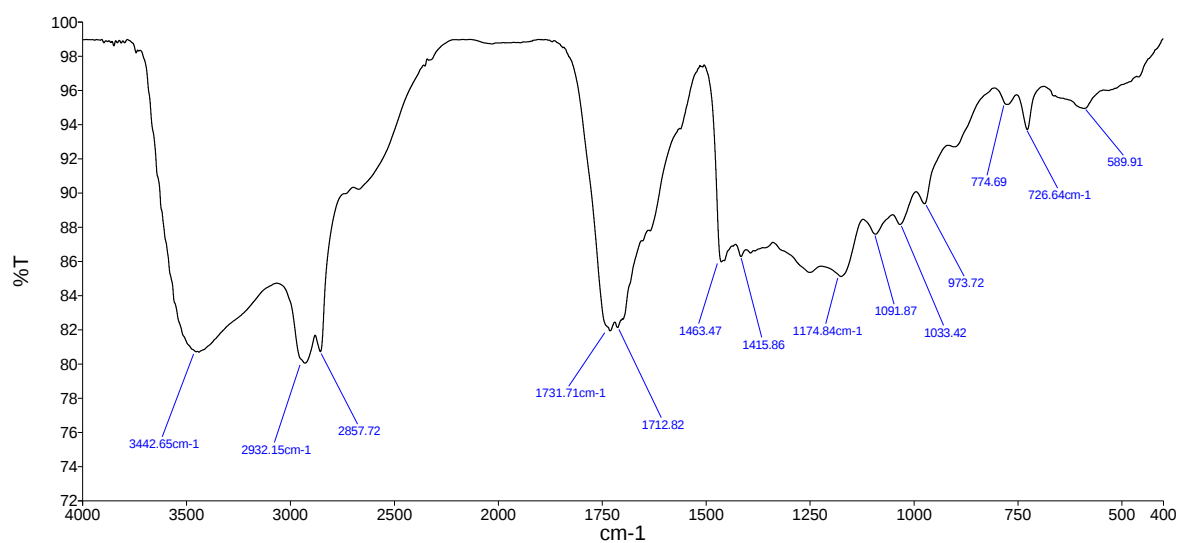


Hình P1.41. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **TP7**

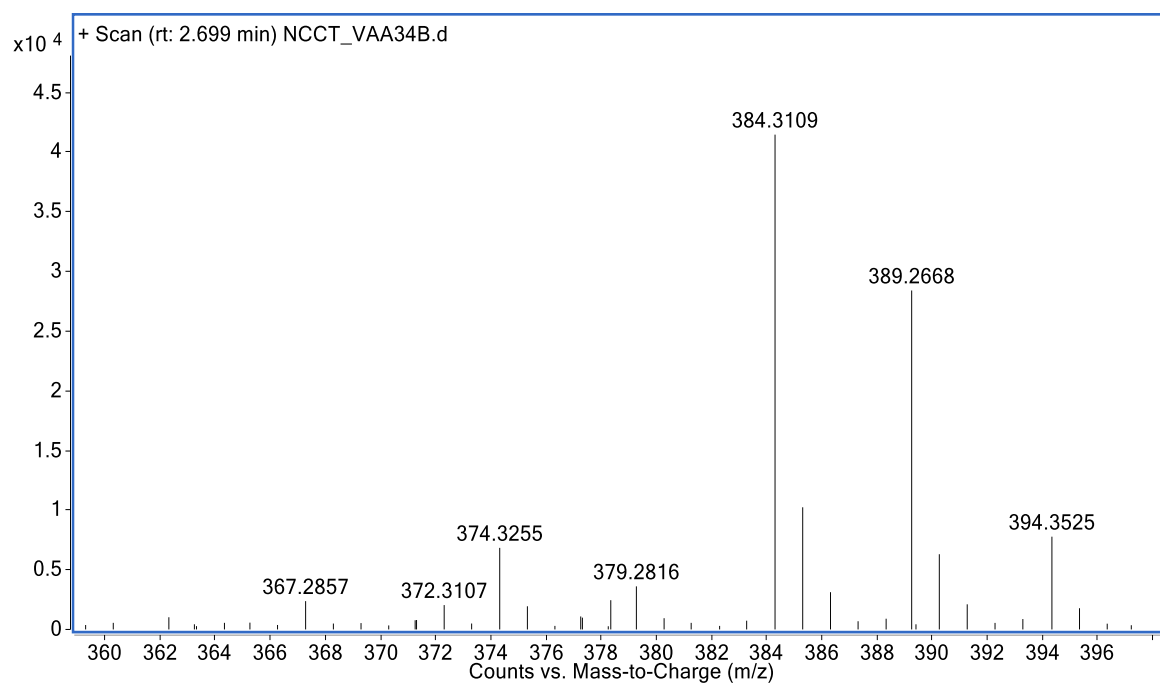
1.8. Hợp chất TP8



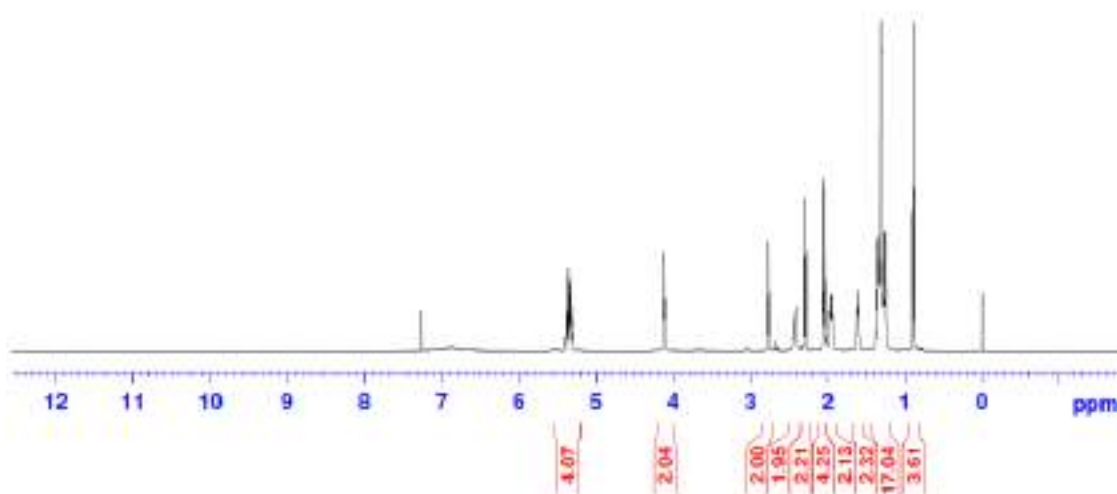
Hình P1.42. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP8**



Hình P243.. Phổ IR của hợp chất **TP8**

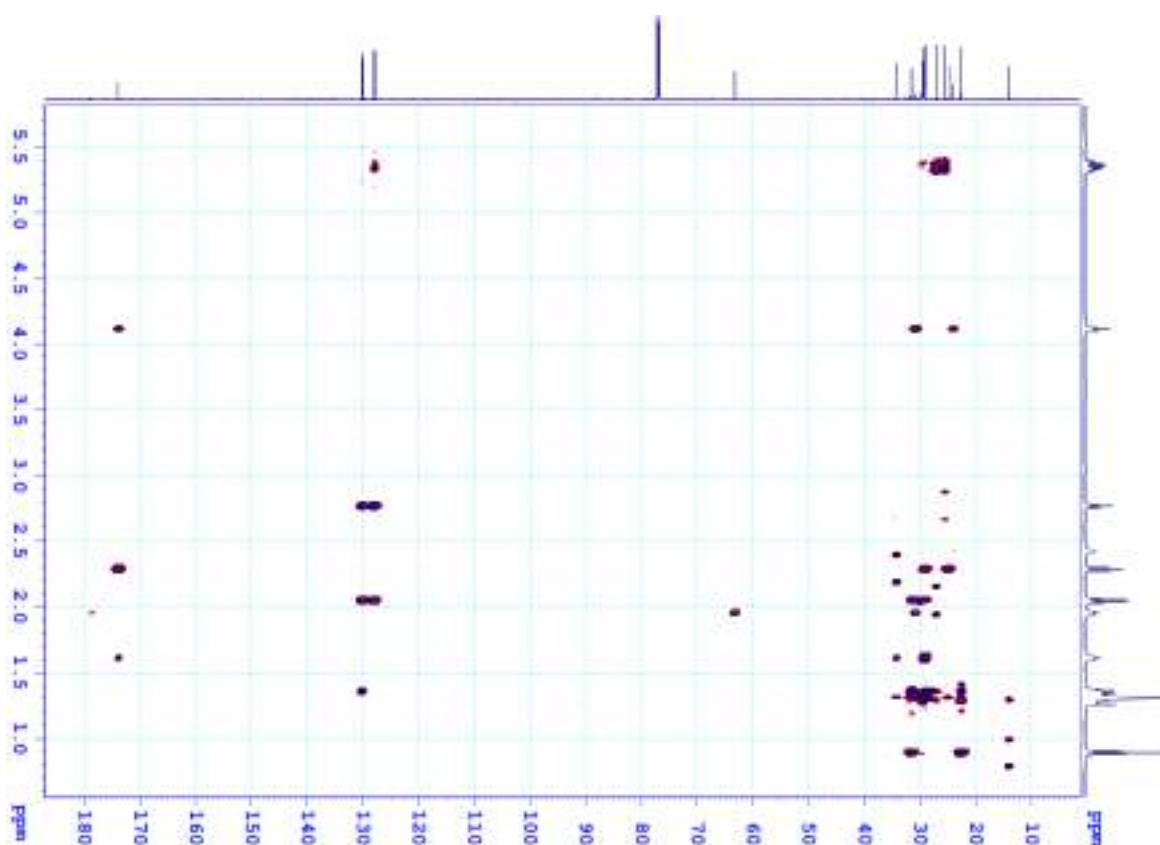


Hình P1.44. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **TP8**

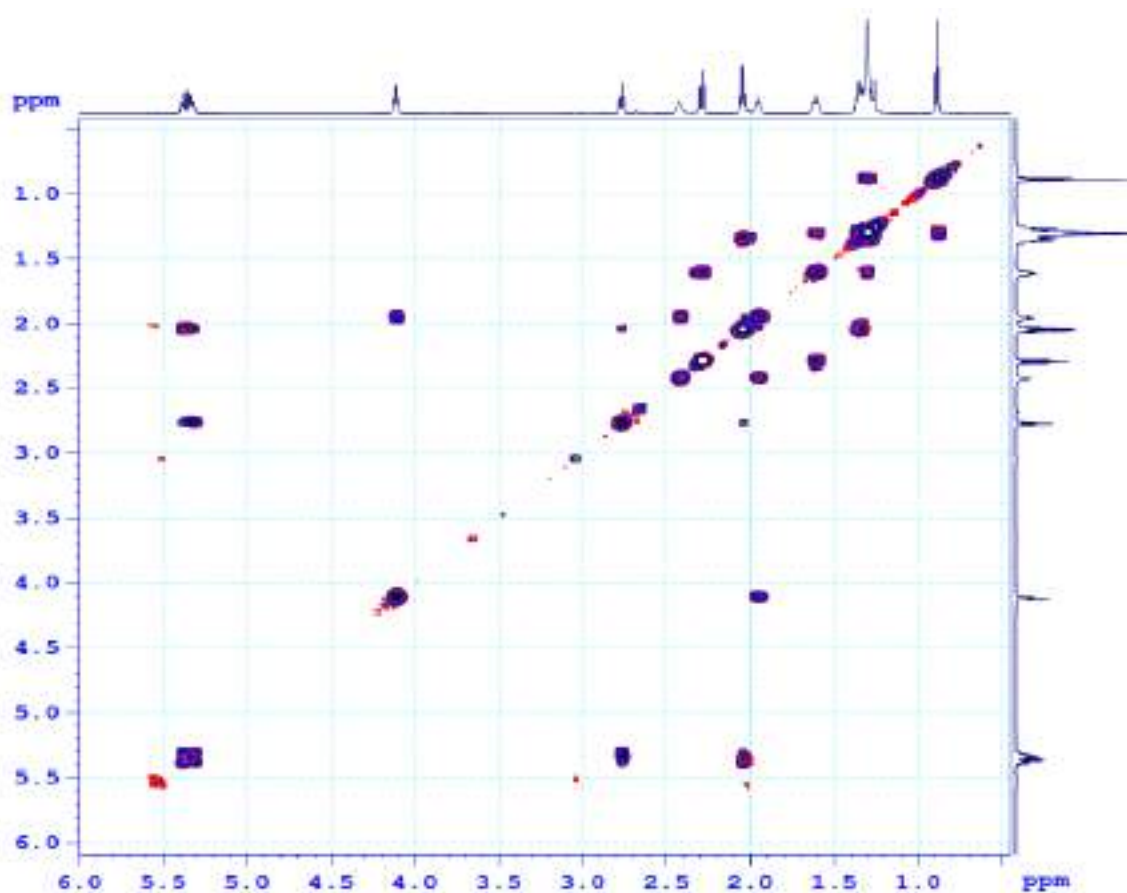


Hình P1.45. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **TP8**



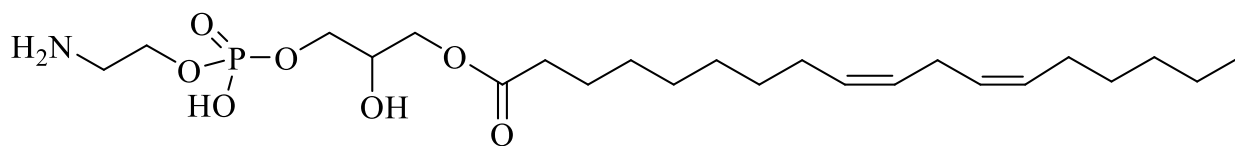


Hình P1.48. Phổ HMBC của hợp chất **TP8**

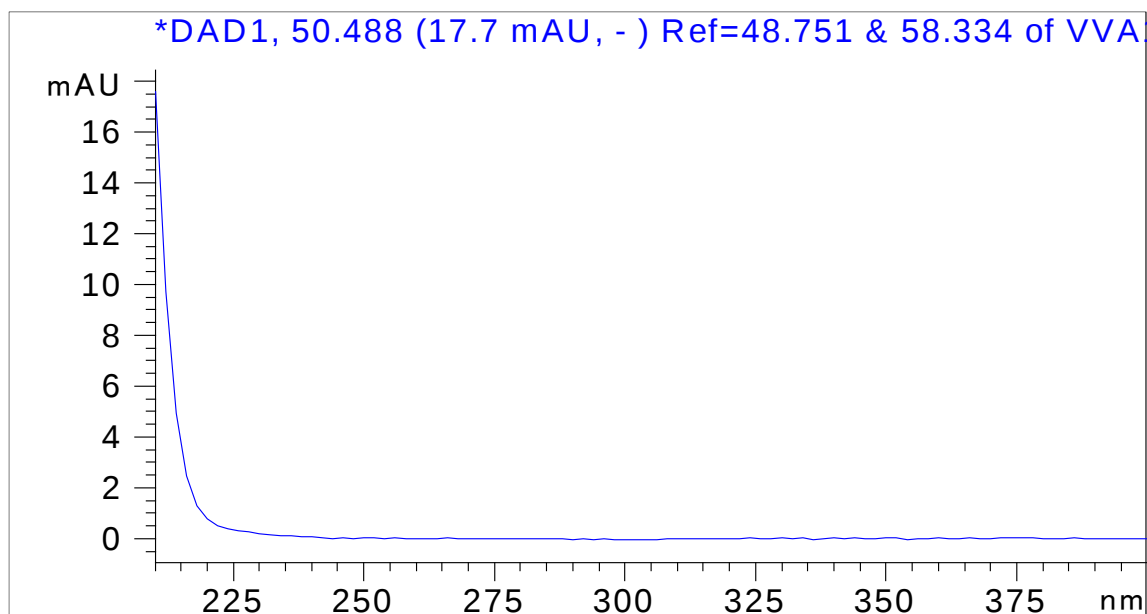


Hình P1.49. Phổ COSY của hợp chất **TP8**

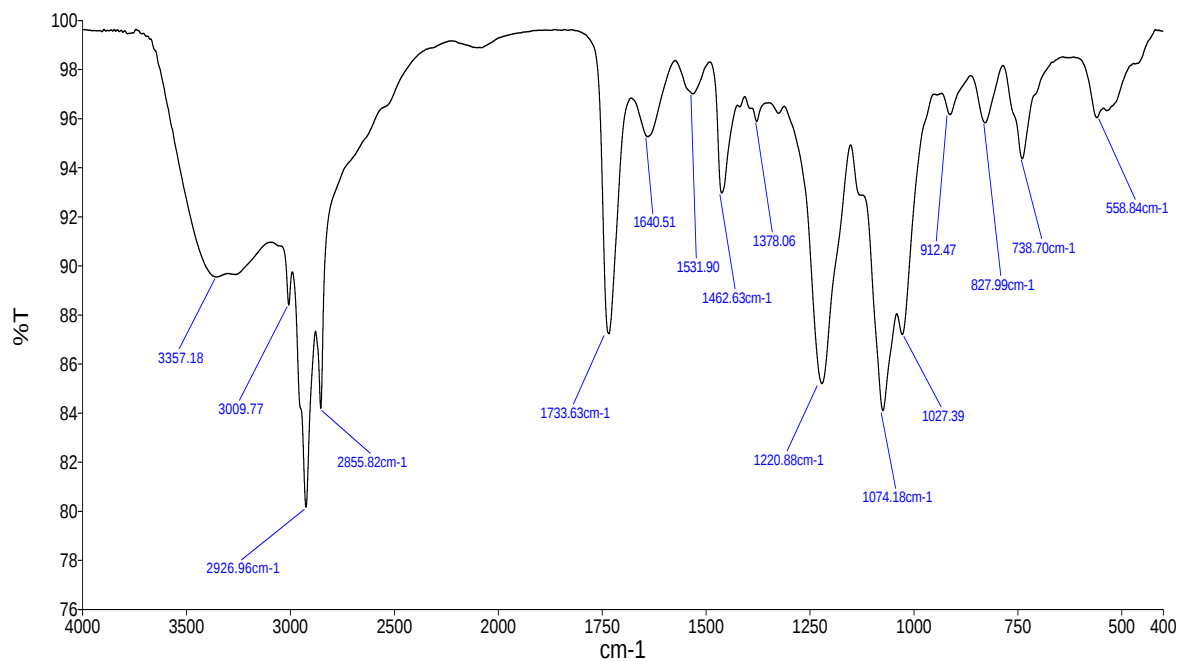
1.9. Hợp chất TP9



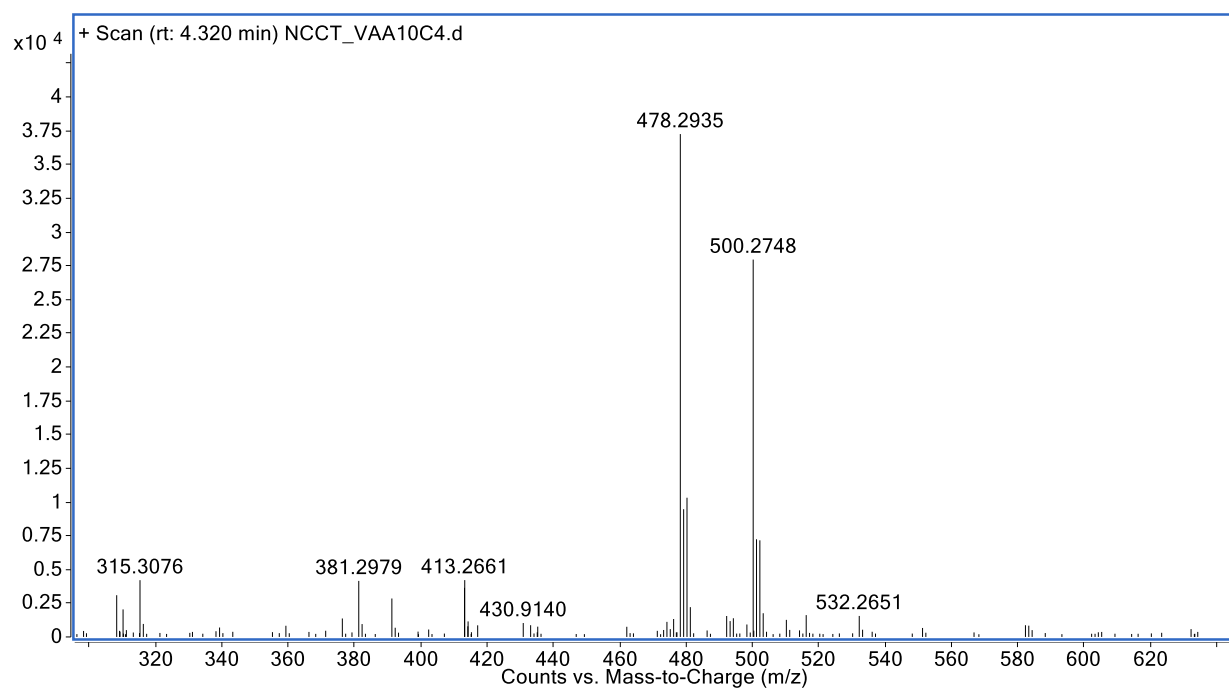
Hình P1.50. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP9**



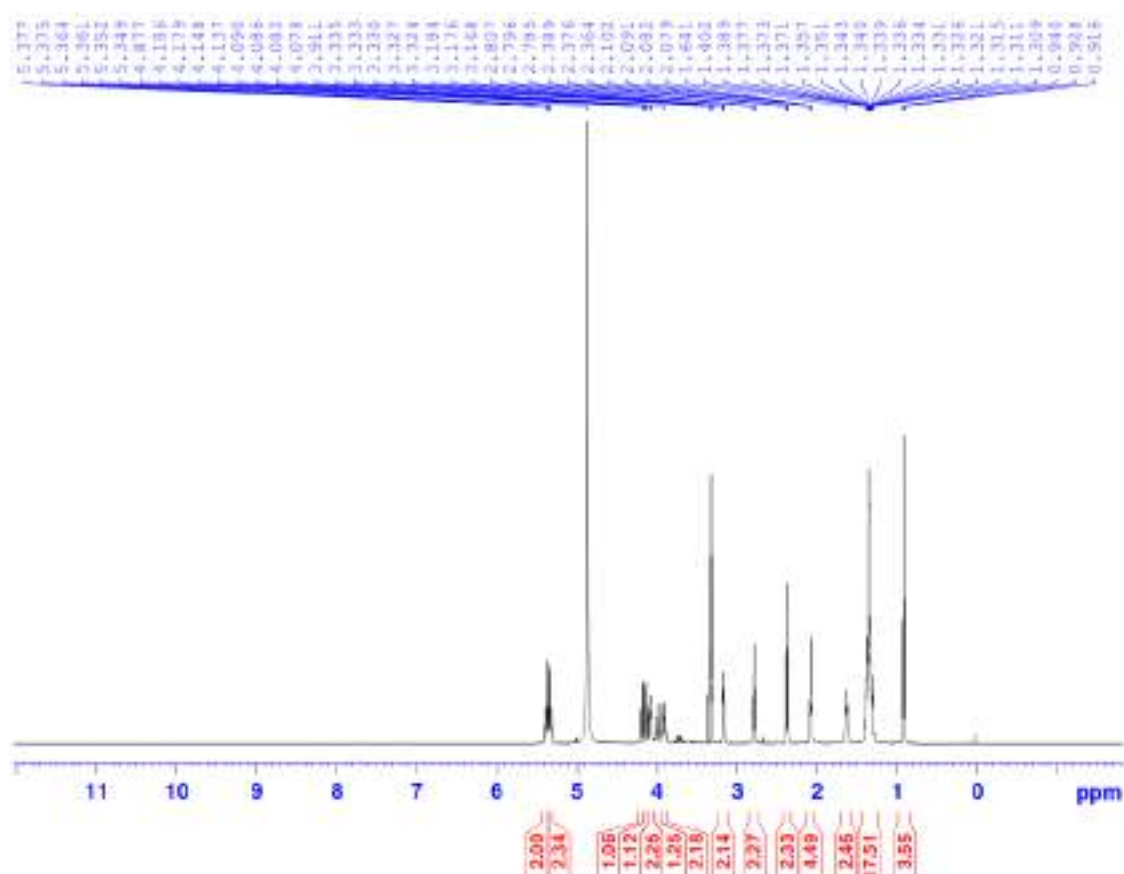
Hình P1.51. Phổ UV của hợp chất **TP9**



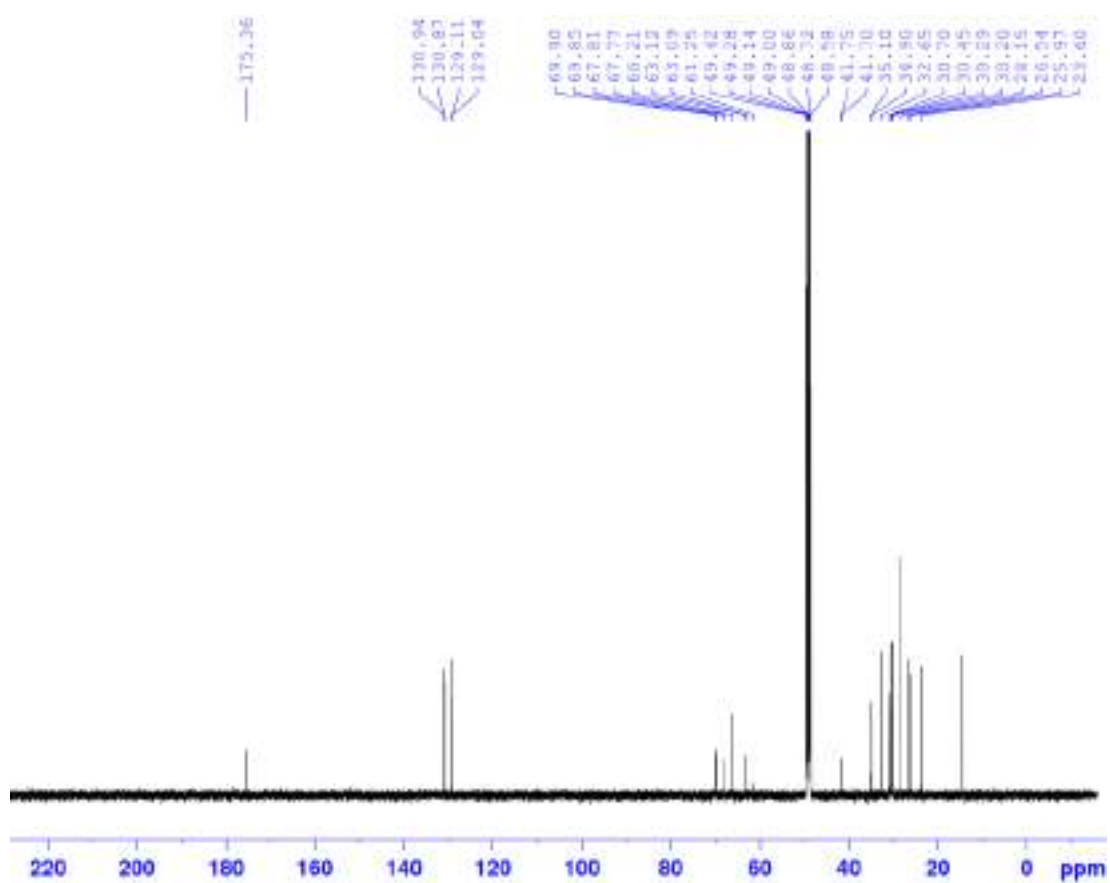
Hình P1.52. Phổ IR của hợp chất **TP9**



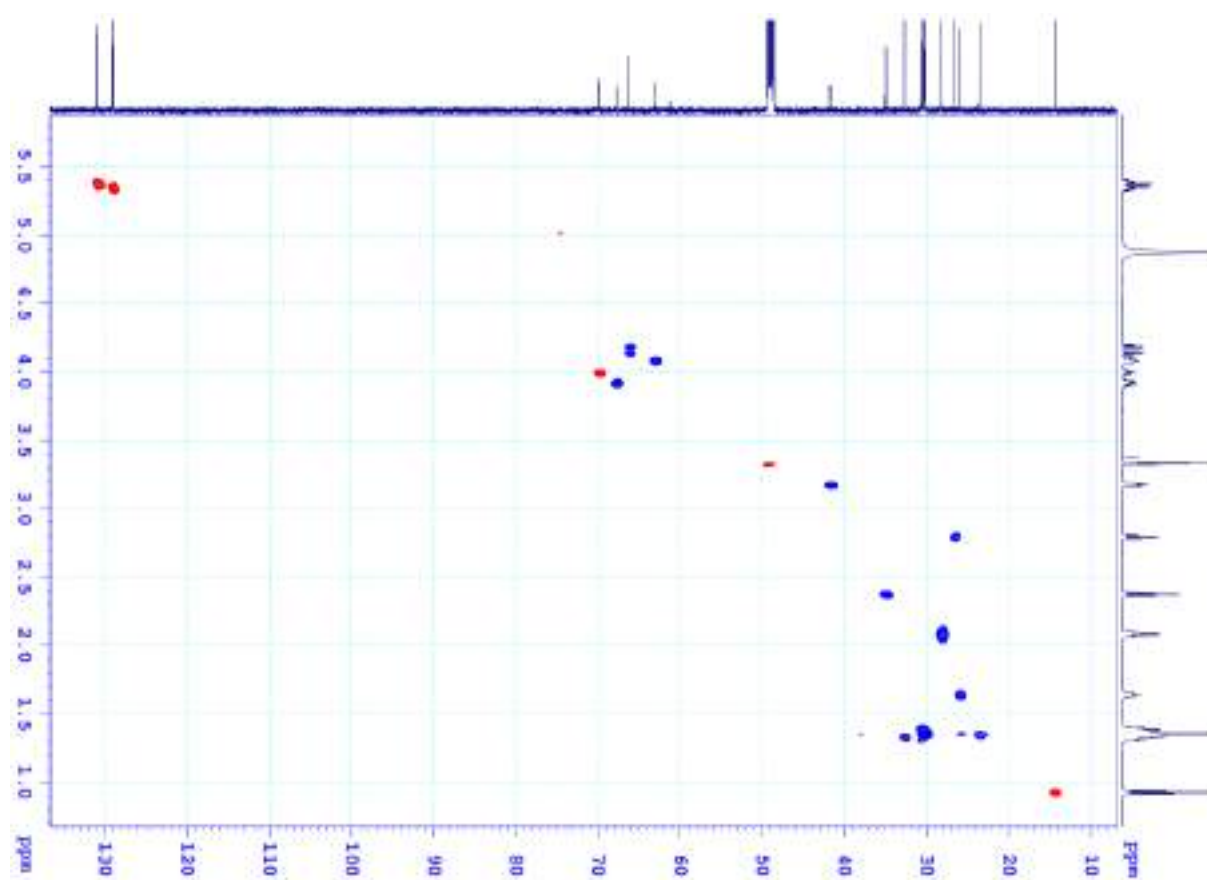
Hình P1.53. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **TP9**



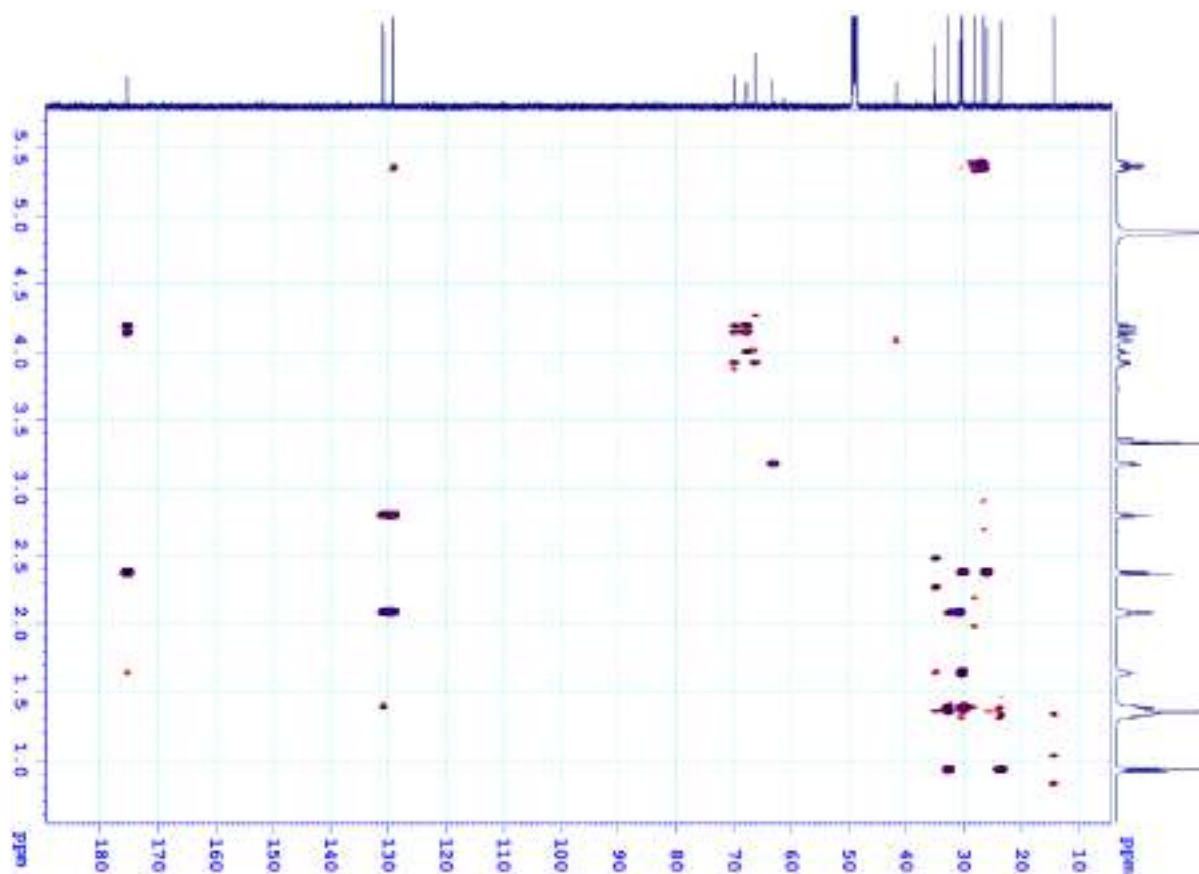
Hình P1.54. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **TP9**



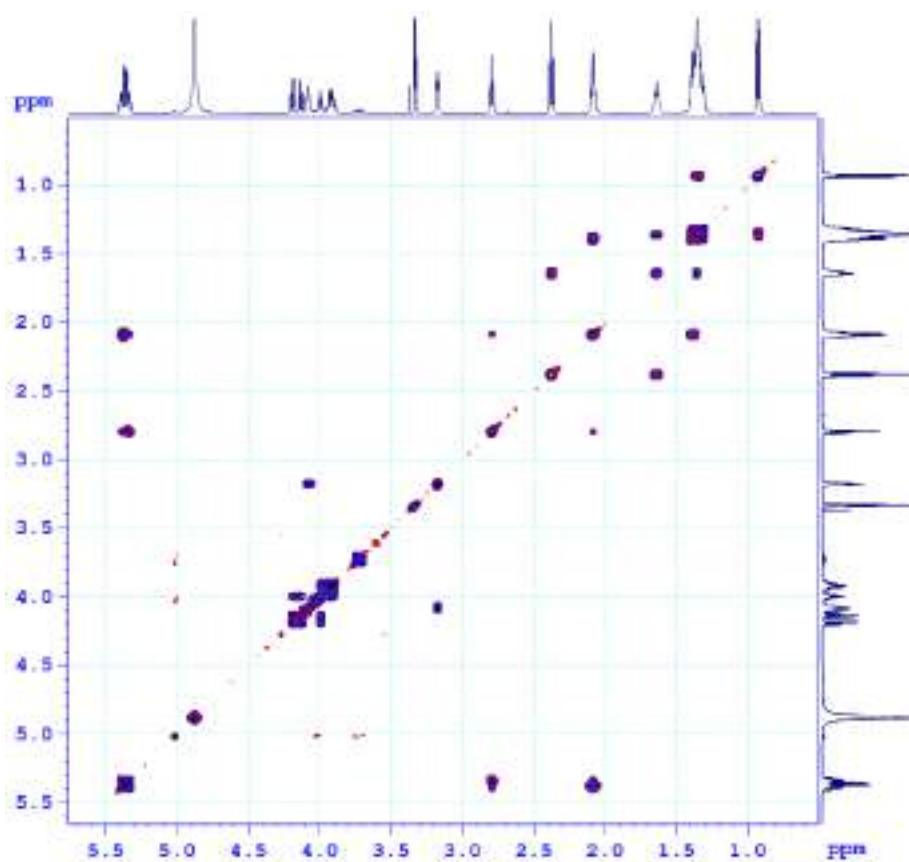
Hình P1.55. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **TP9**



Hình P1.56. Phổ HSQC của hợp chất **TP9**

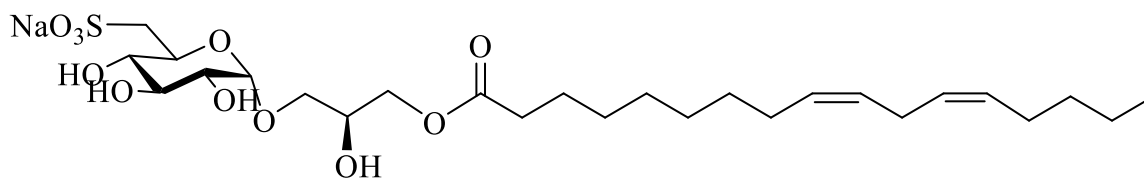


Hình P1.57. Phổ HMBC của hợp chất **TP9**

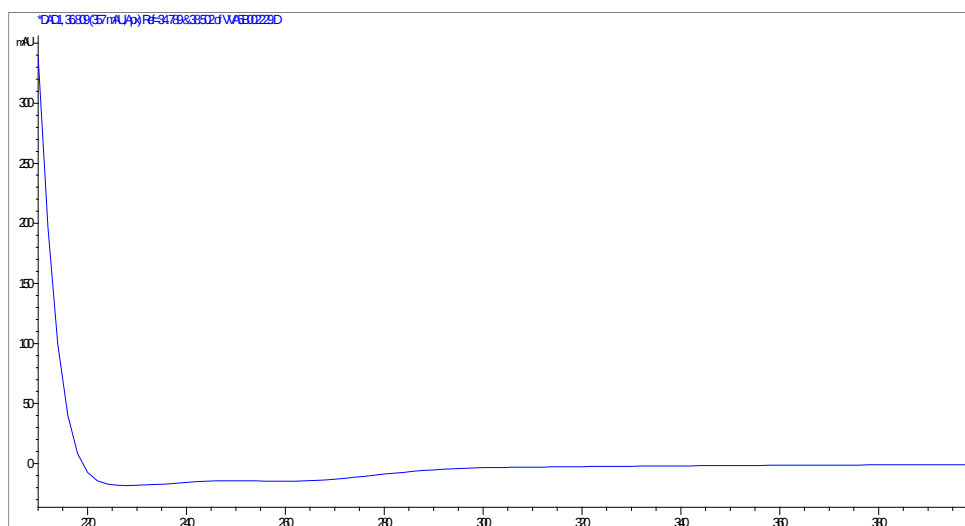


Hình P1.58. Phổ COSY của hợp chất **TP9**

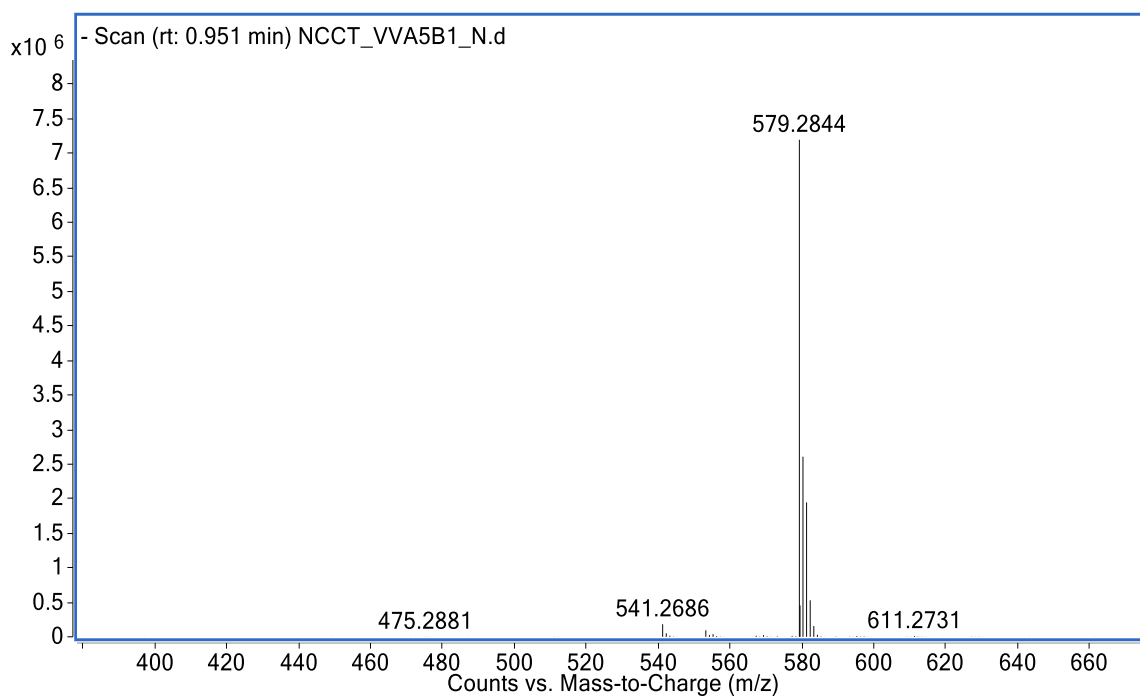
1.10. Hợp chất TP10



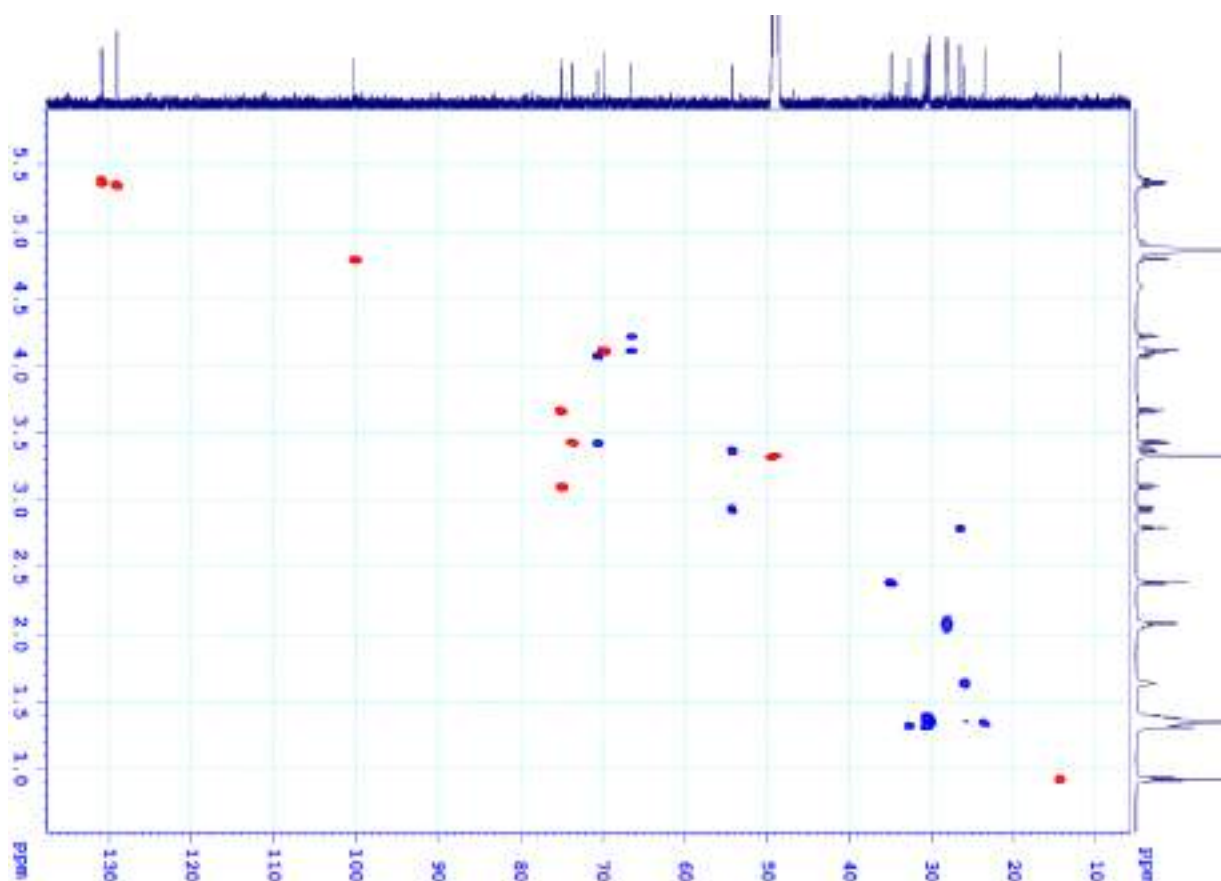
Hình P1.59. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP10**



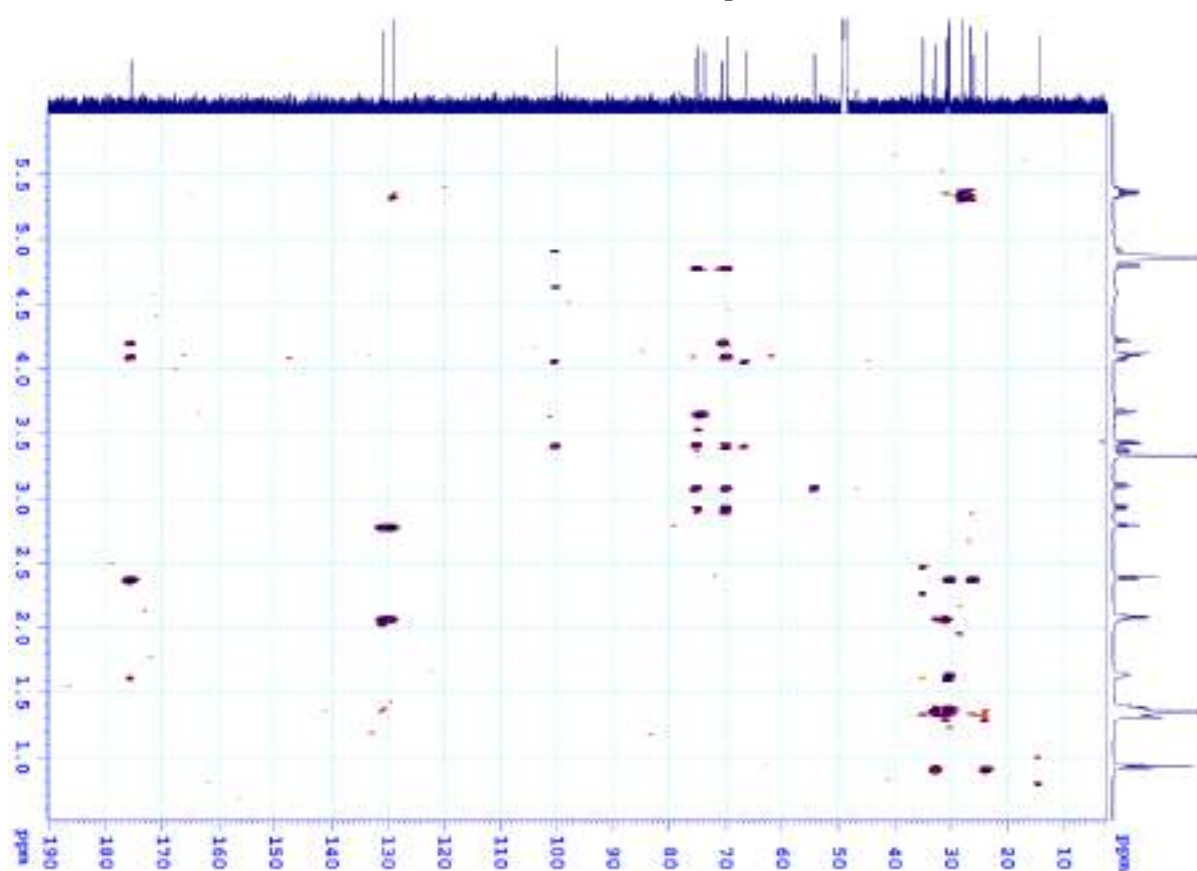
Hình P1.60. Phổ IR của hợp chất **TP10**



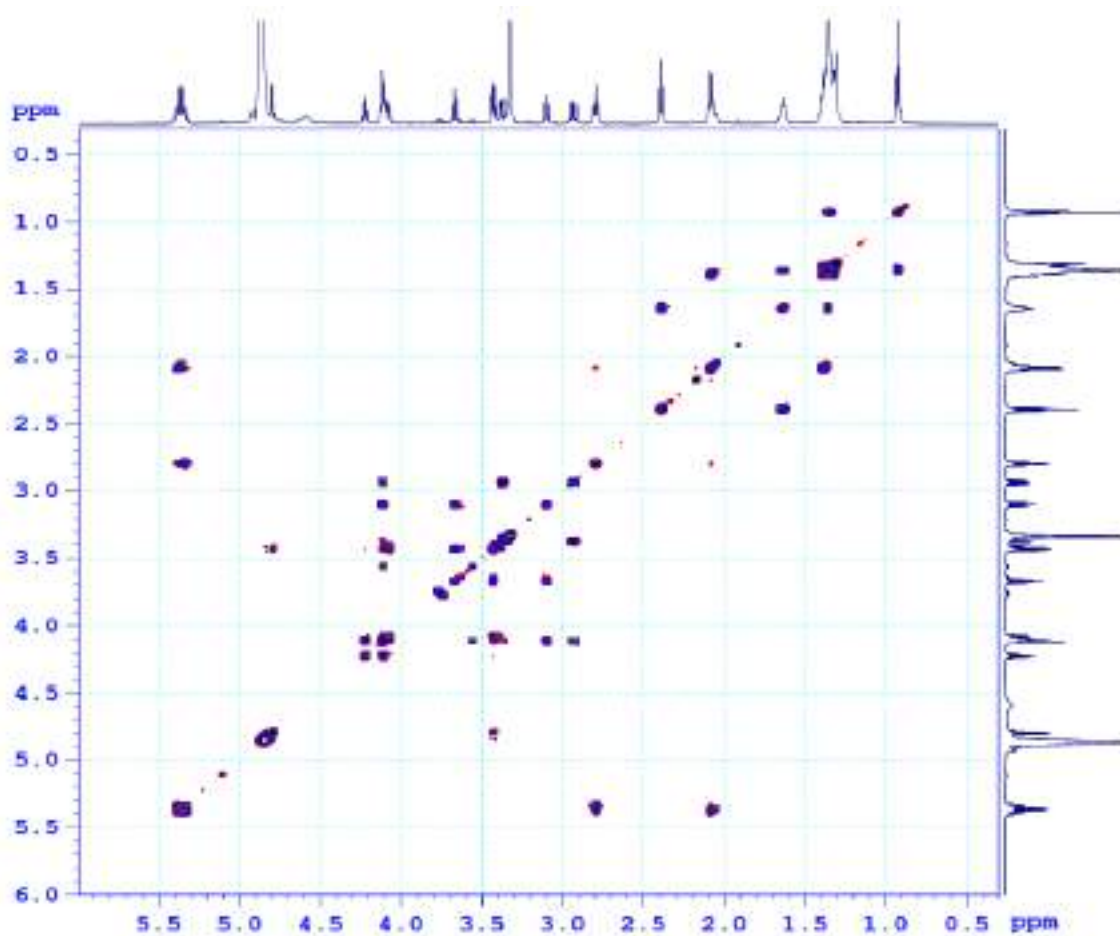
Hình P1.61. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **TP10**



Hình P1.64. Phổ HSQC của hợp chất **TP10**

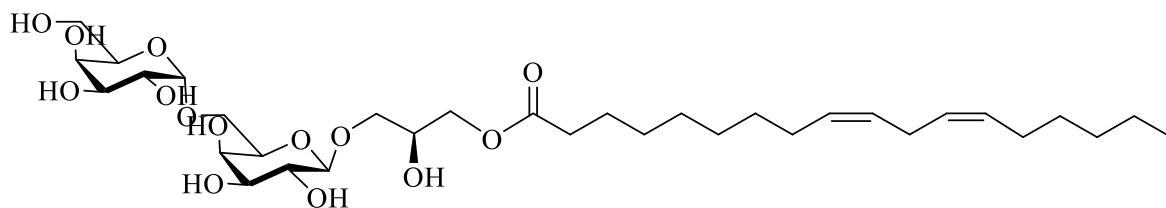


Hình P1.65. Phổ HMBC của hợp chất **TP10**

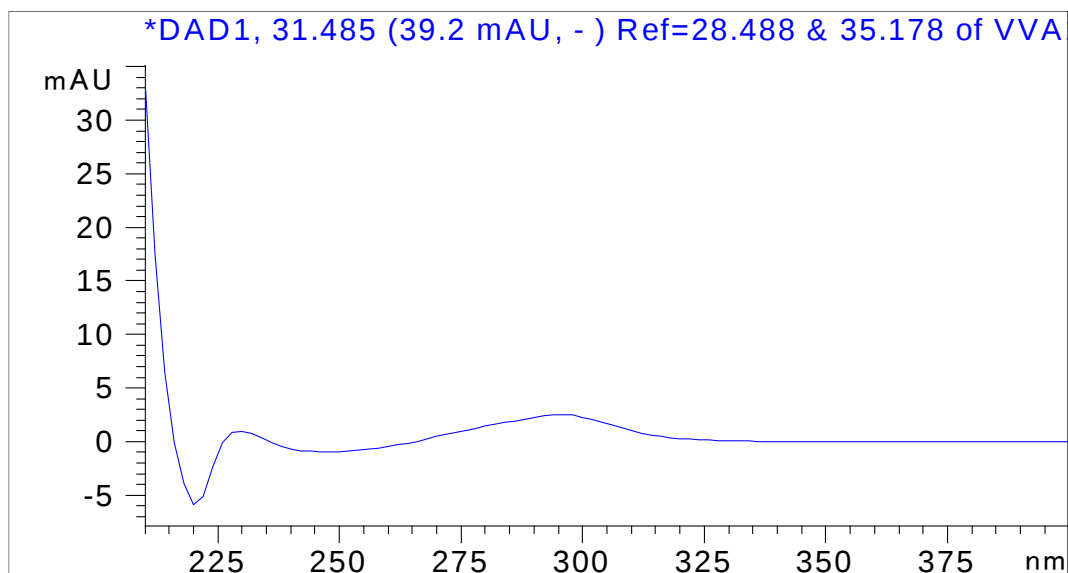


Hình P1.66. Phổ COSY của hợp chất **TP10**

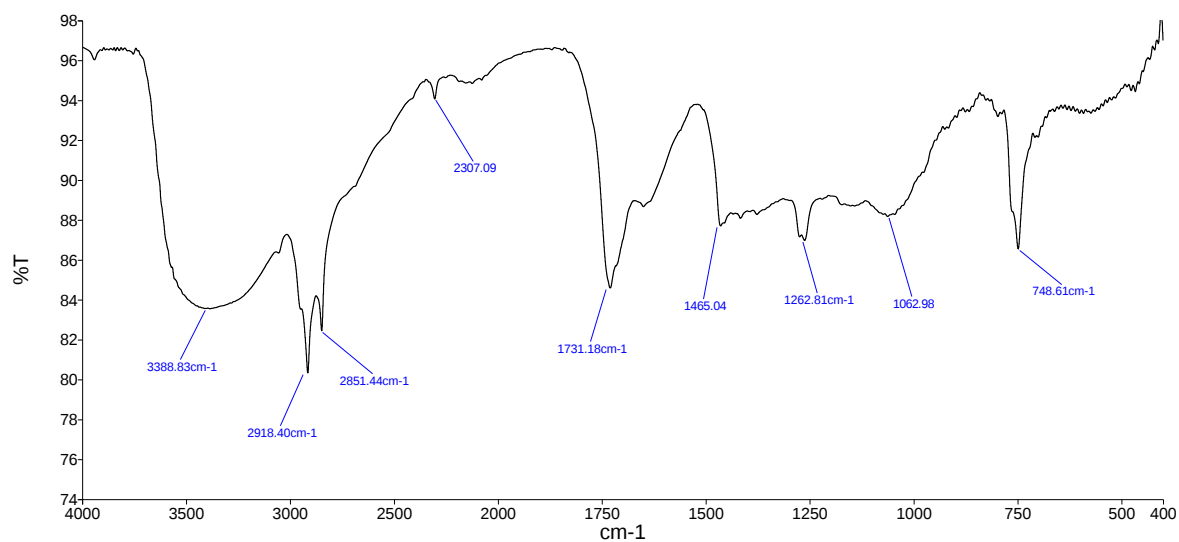
1.11. Hợp chất TP11



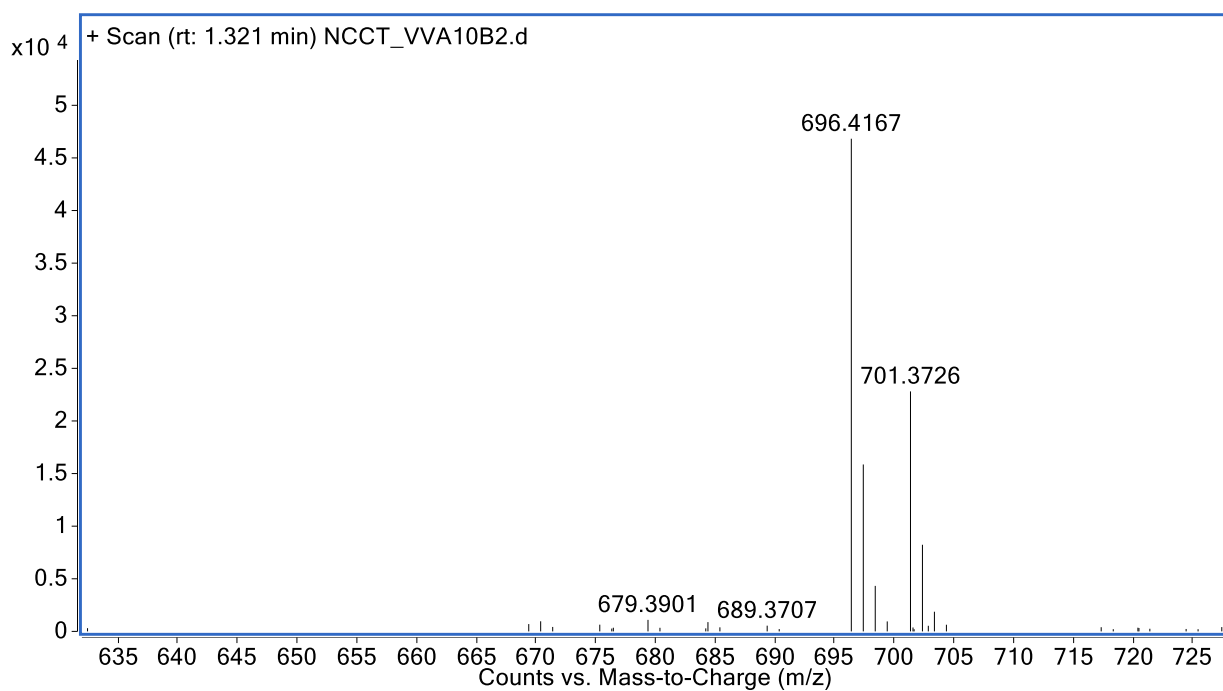
Hình P1.67. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP11**



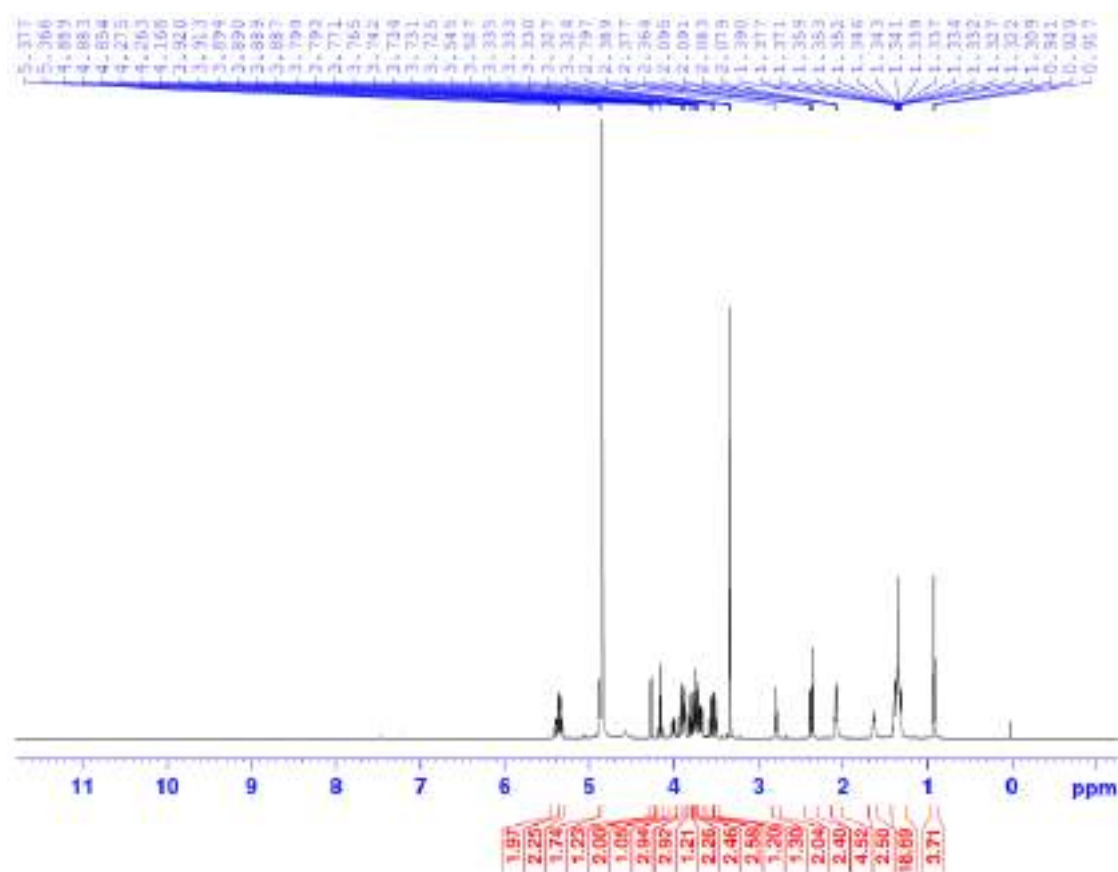
Hình P1.68. Phổ UV của hợp chất **TP11**



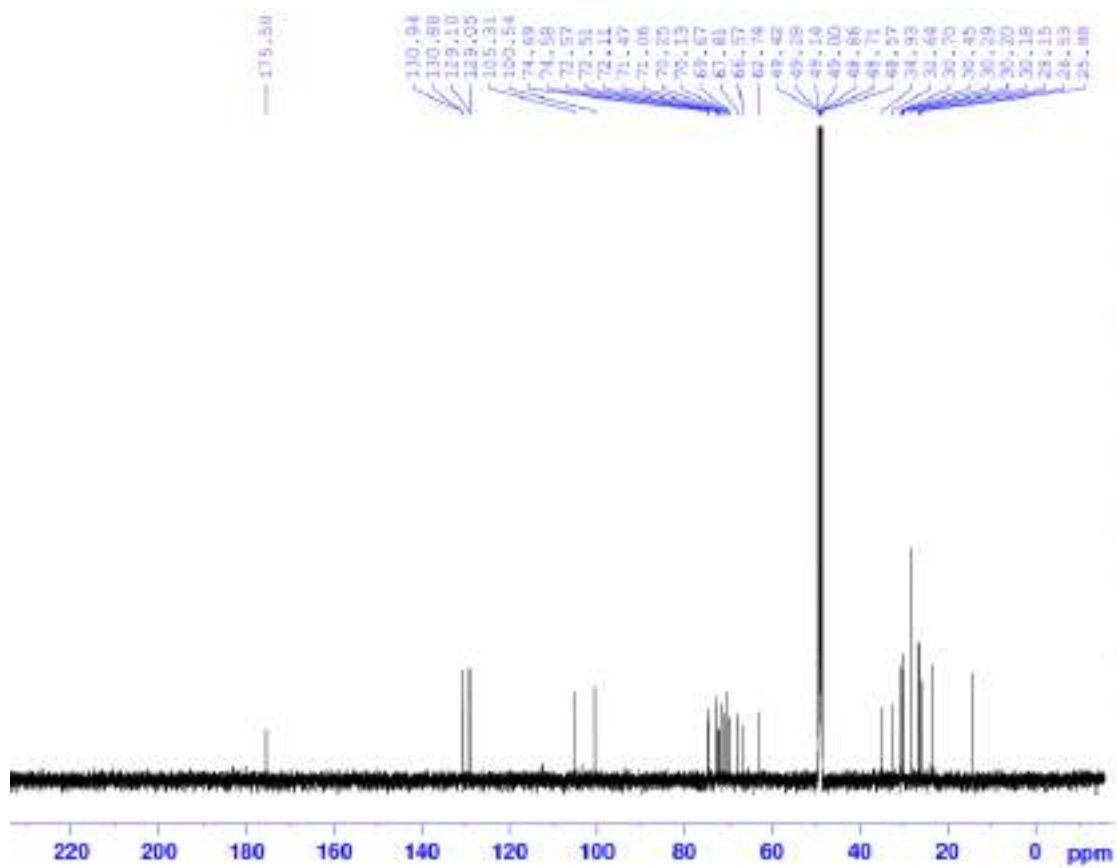
Hình P1.69. Phổ IR của hợp chất **TP11**



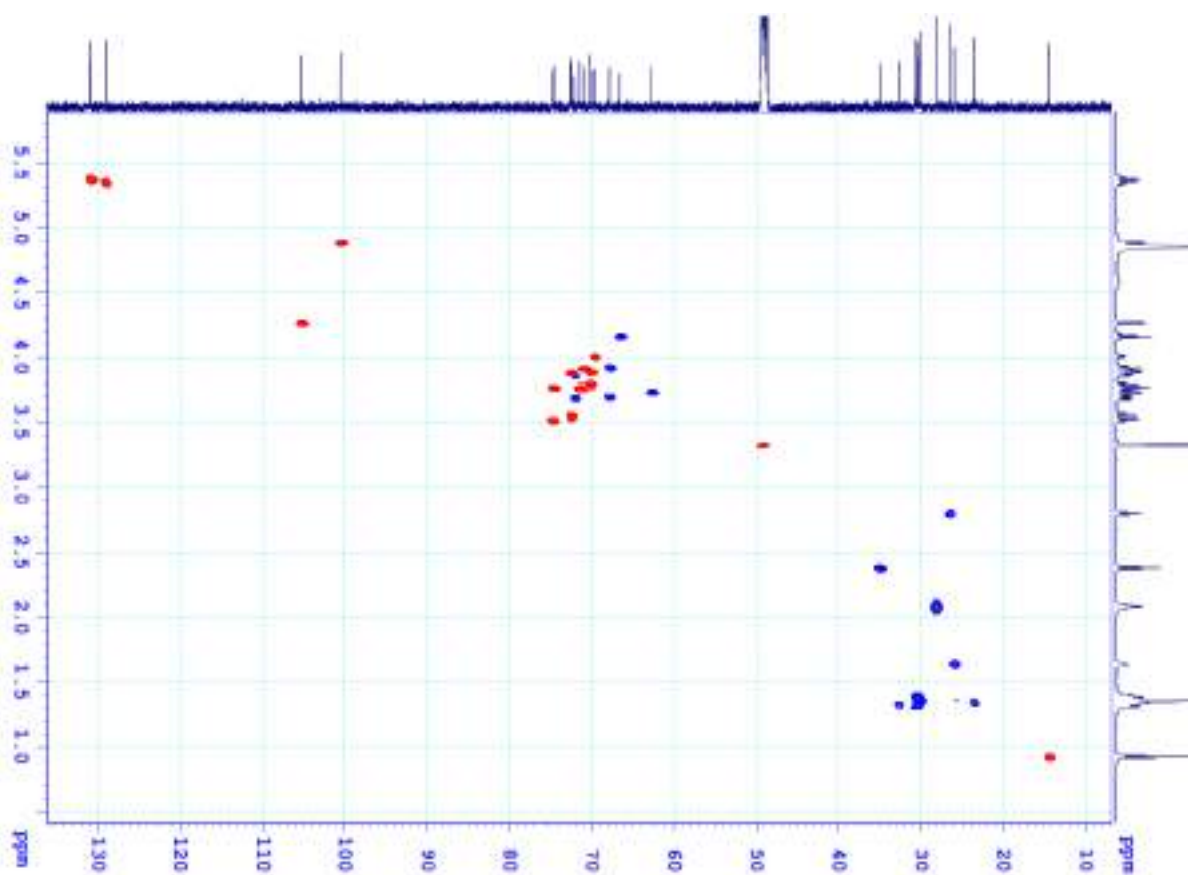
Hình P1.70. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **TP11**



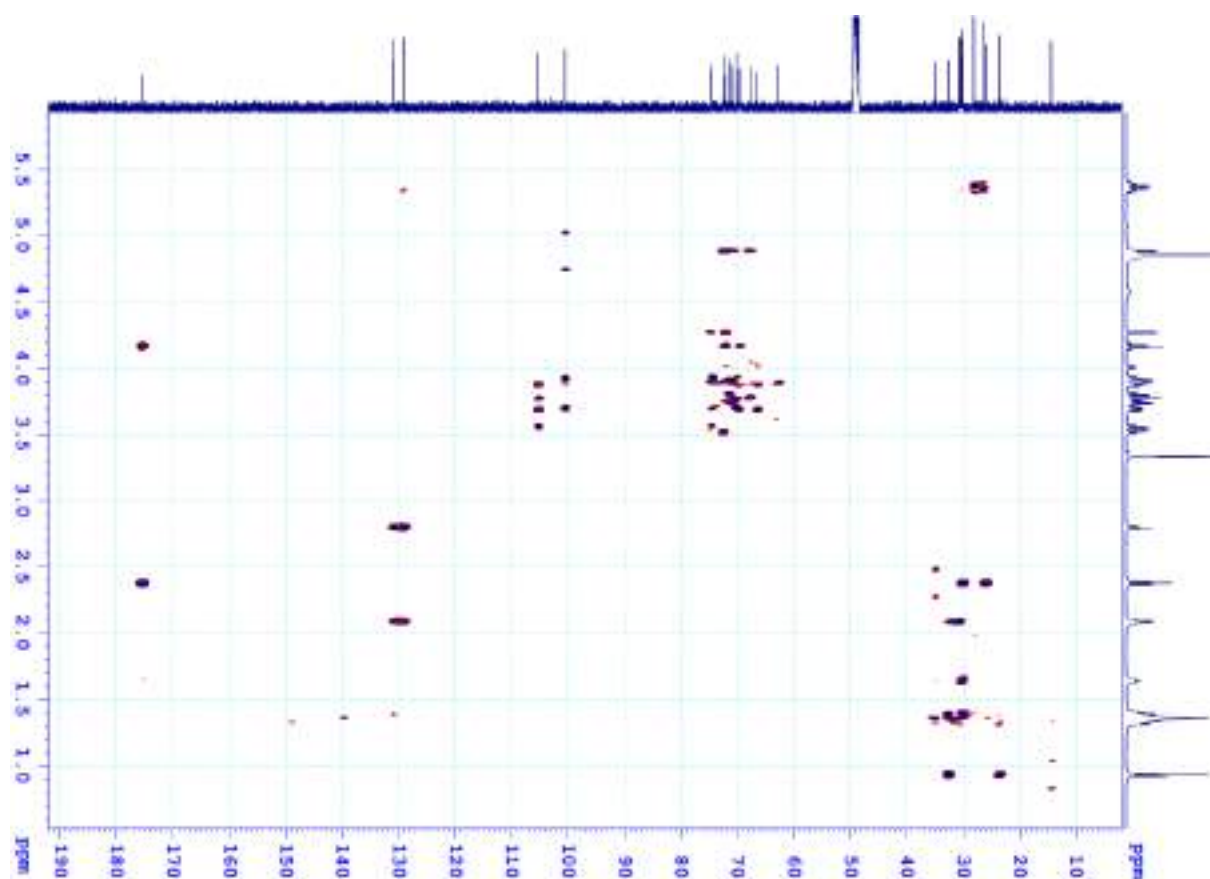
Hình P1.71. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **TP11**



Hình P1.72. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **TP11**

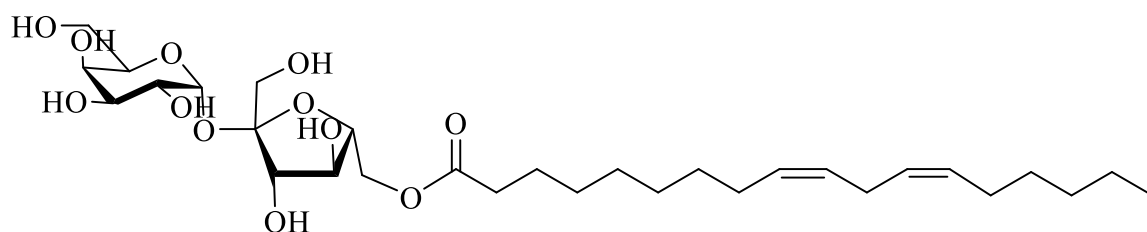


Hình P1.73. Phổ HSQC của hợp chất **TP11**

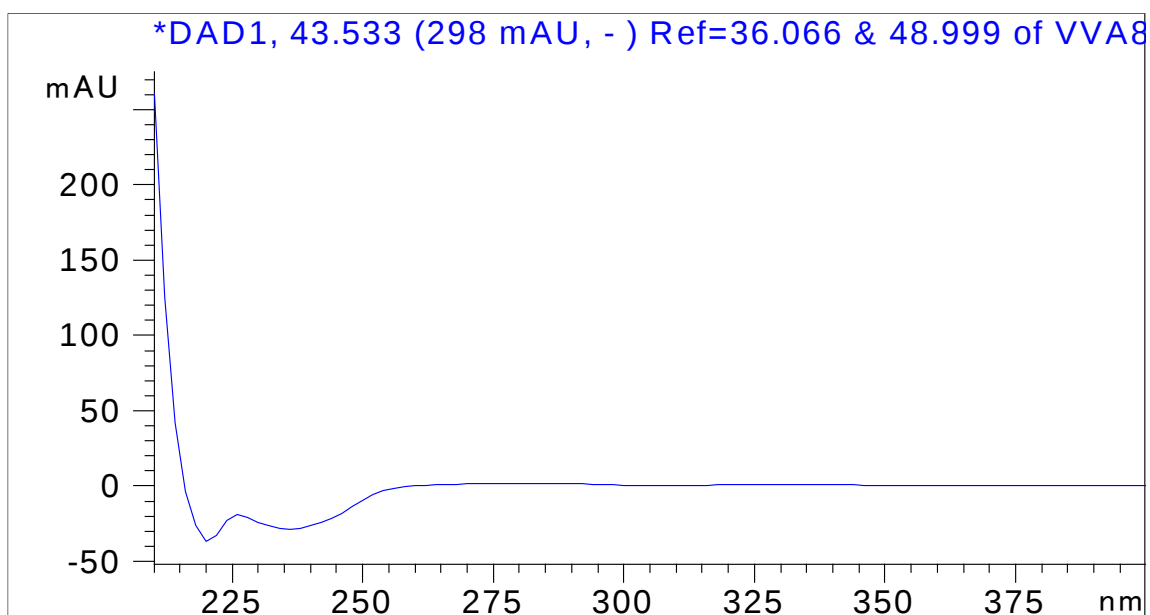


Hình P1.74. Phổ HMBC của hợp chất **TP11**

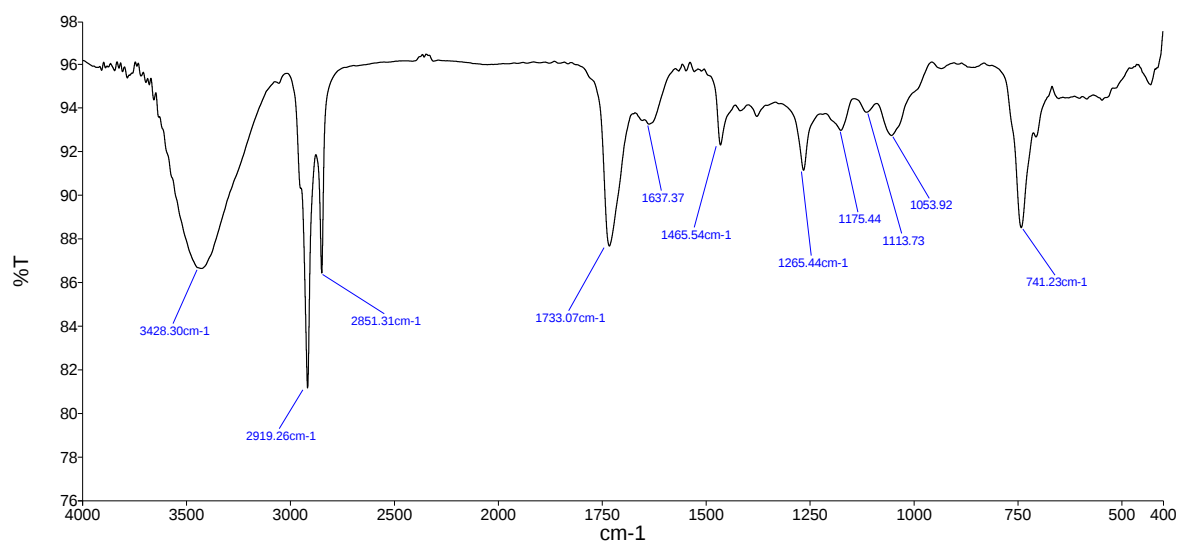
1.12. Hợp chất TP12



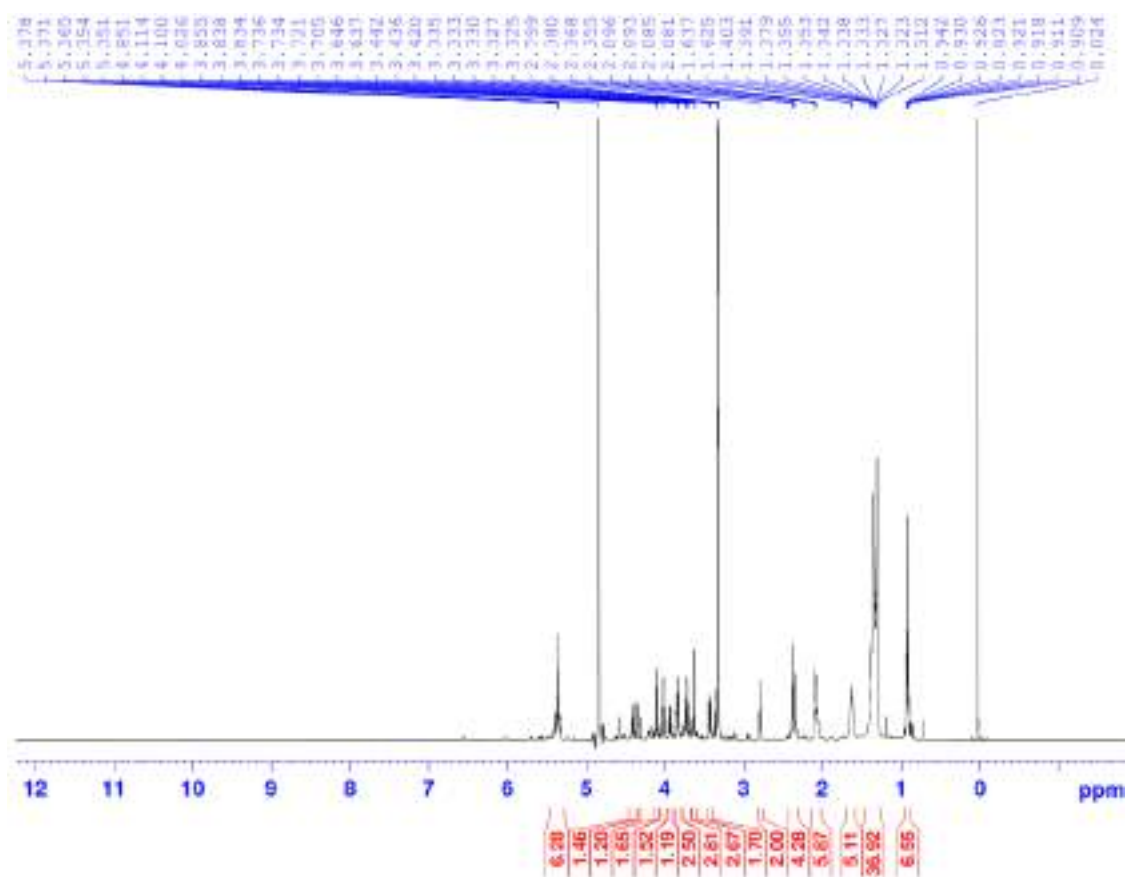
Hình P1.95. Cấu trúc hóa học của hợp chất **TP12**



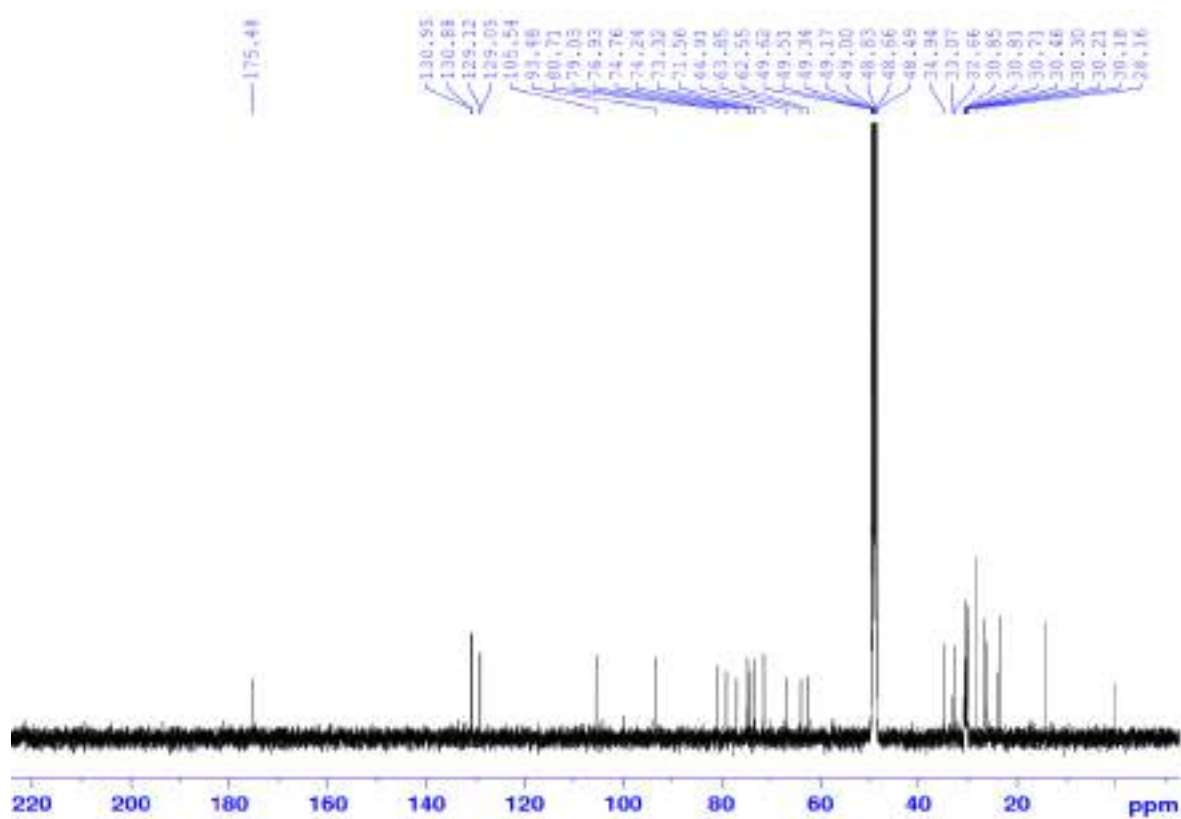
Hình P1.96. Phổ UV của hợp chất **TP12**



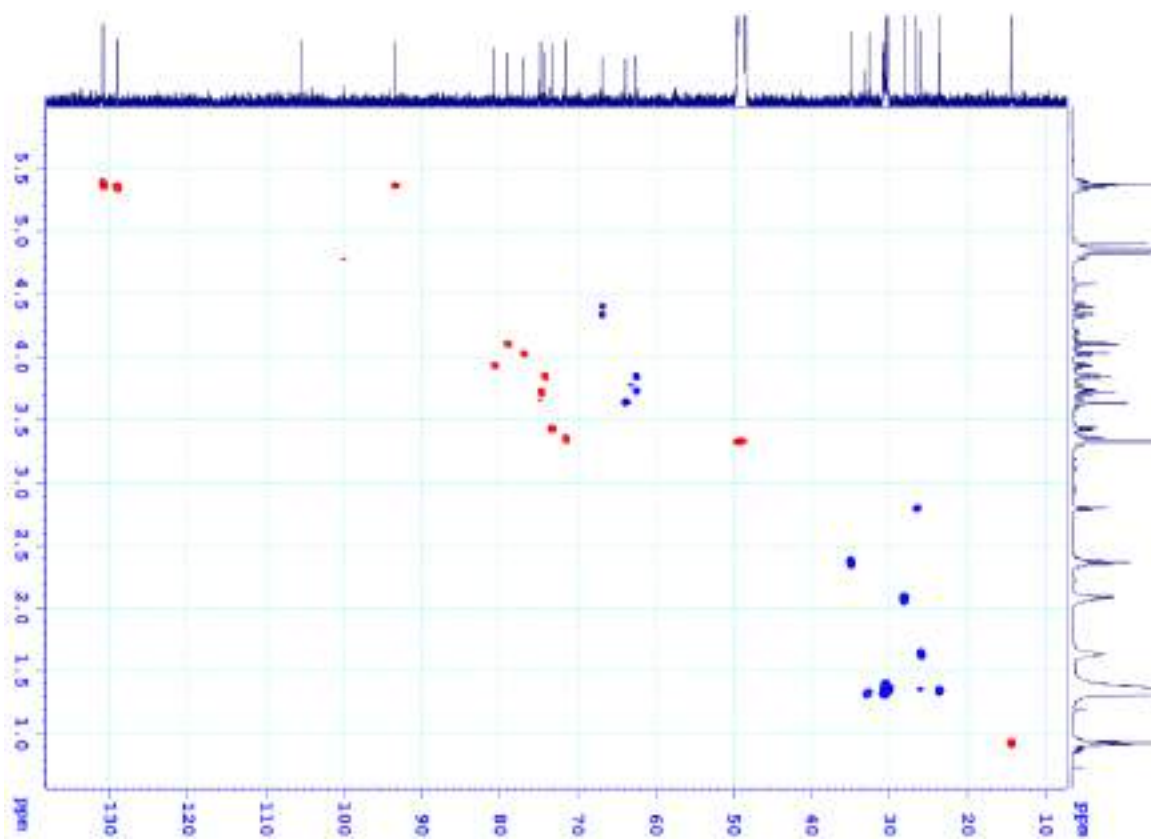
Hình P1.97. Phổ IR của hợp chất **TP12**



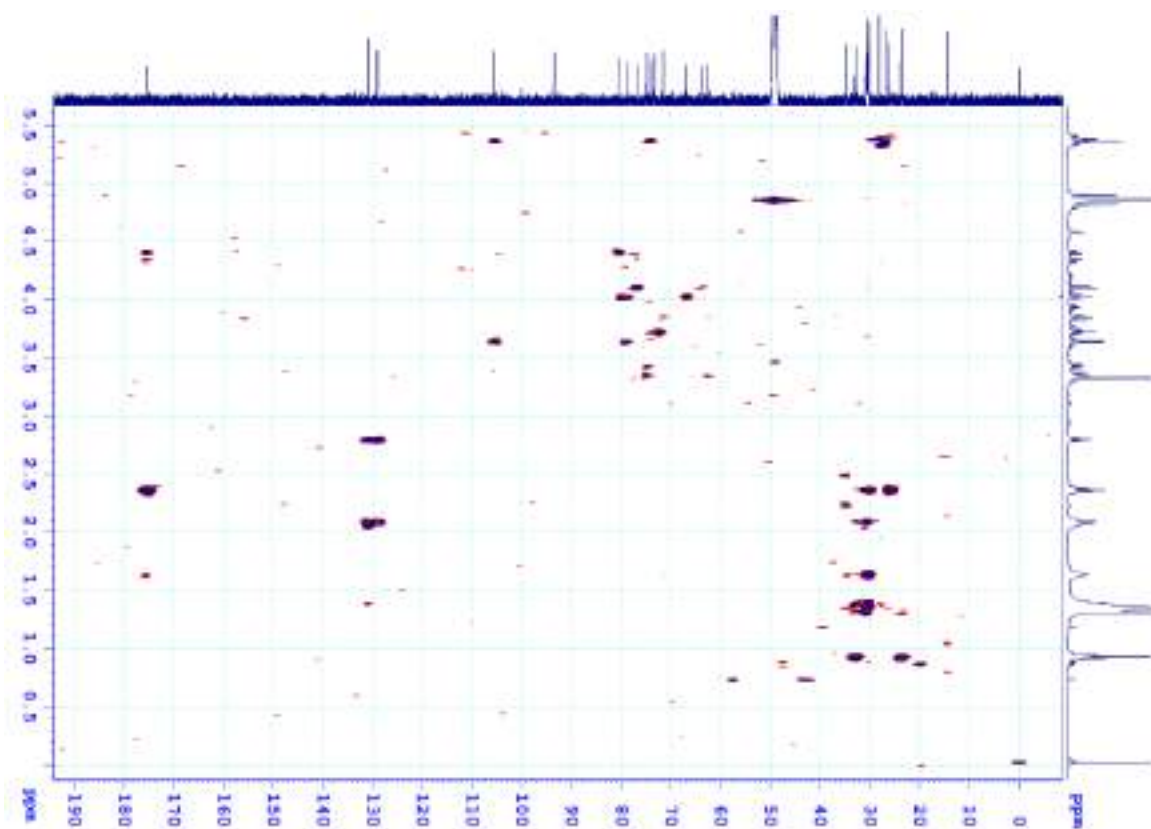
Hình P1.98. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **TP12**



Hình P1.99. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **TP12**



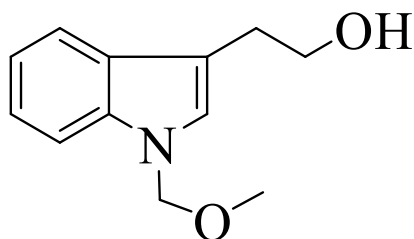
Hình P1.100. Phổ HSQC của hợp chất **TP12**



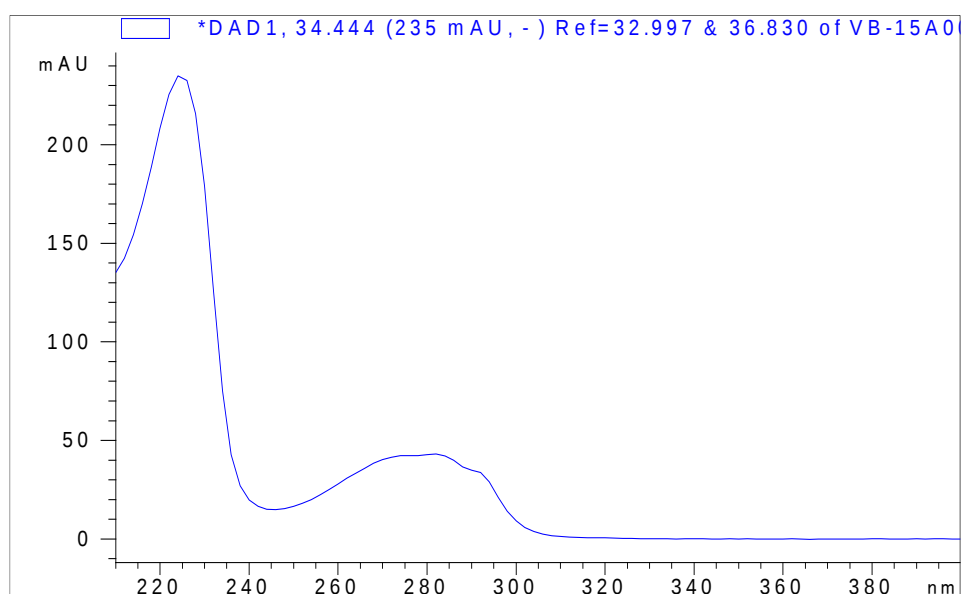
Hình P1.101. Phổ HMBC của hợp chất **TP12**

2. Phụ lục phổ của các hợp chất từ chủng vi tảo biển *Aurantiochytrium* sp. SC145

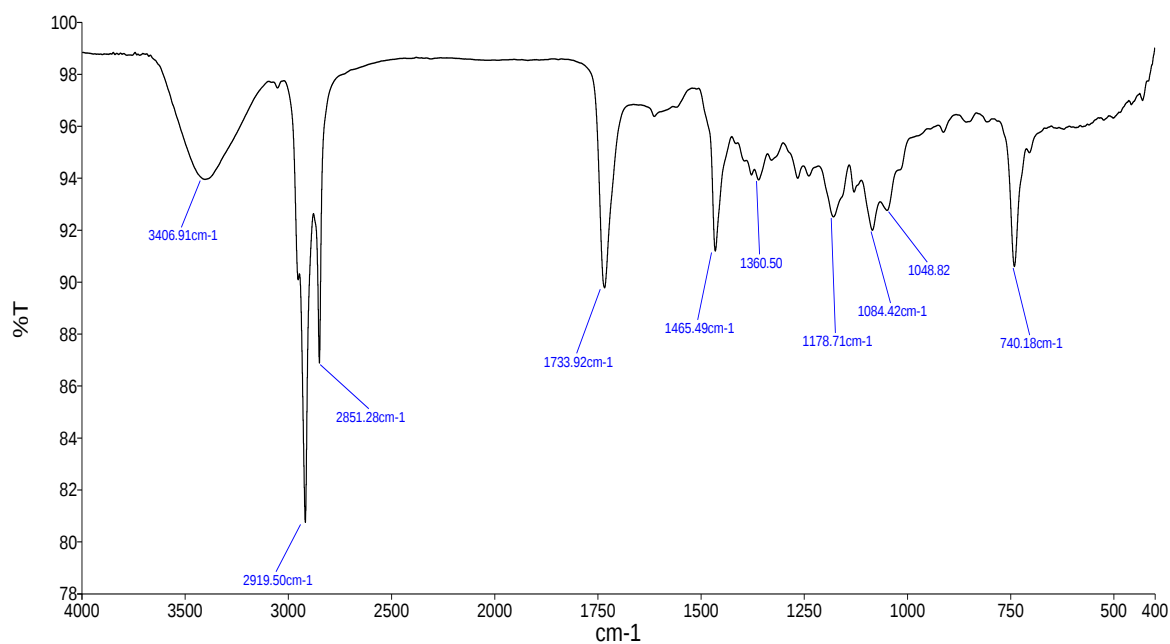
2.1. Hợp chất AS1



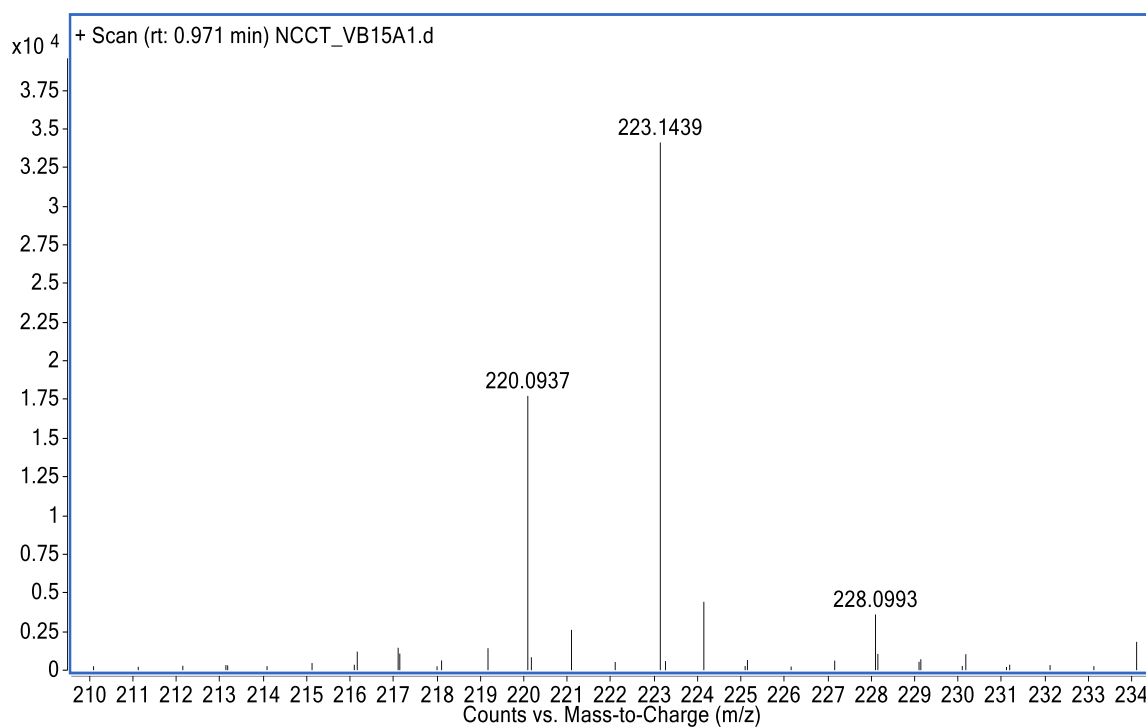
Hình P2.1. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS1**



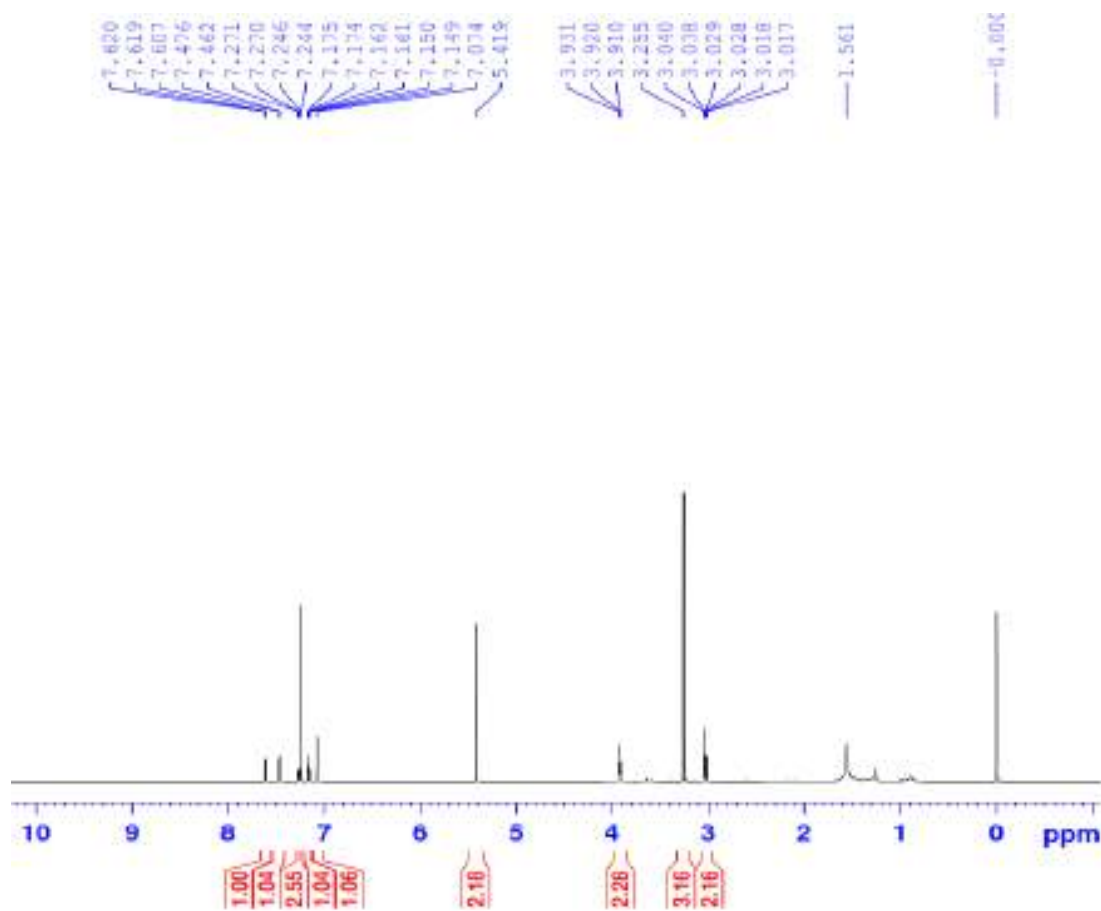
Hình P2.2. Phổ UV của hợp chất **AS1**



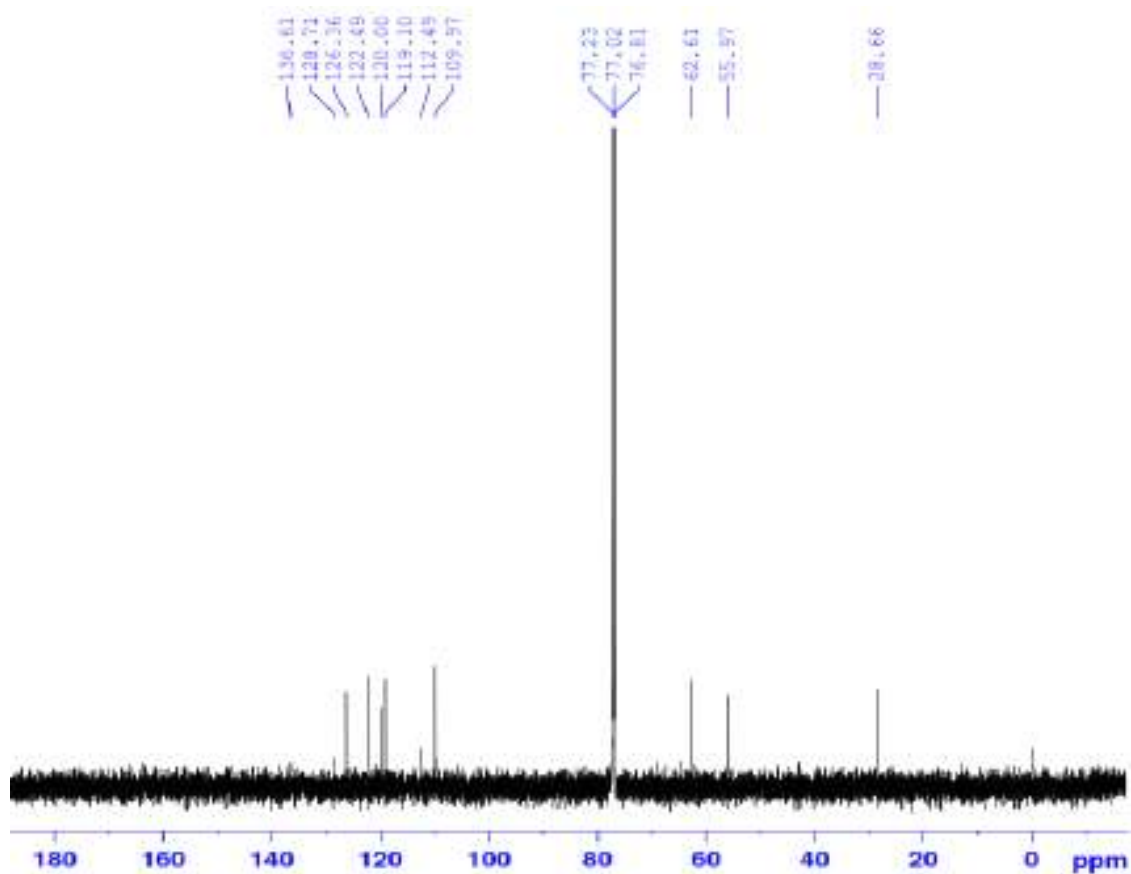
Hình P2.3. Phổ IR của hợp chất **AS1**



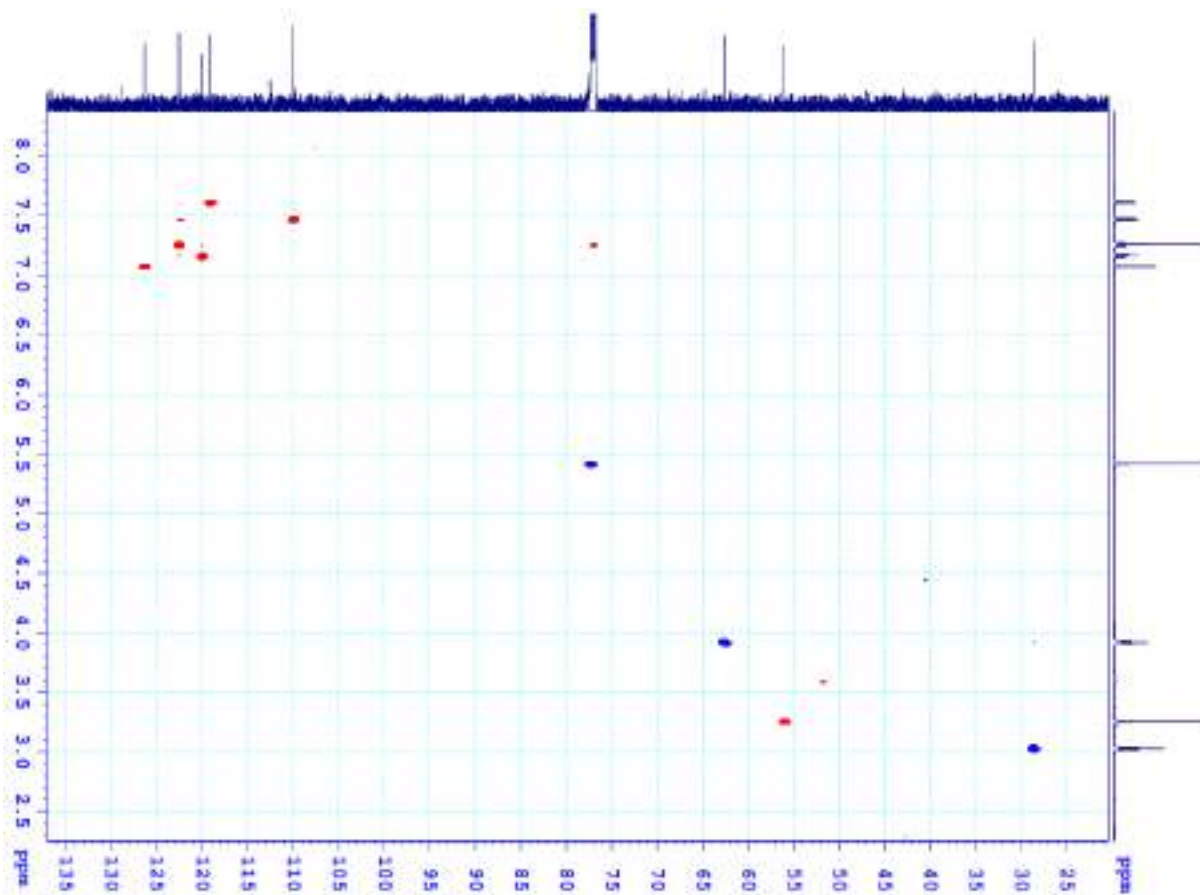
Hình P2.4. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS1**



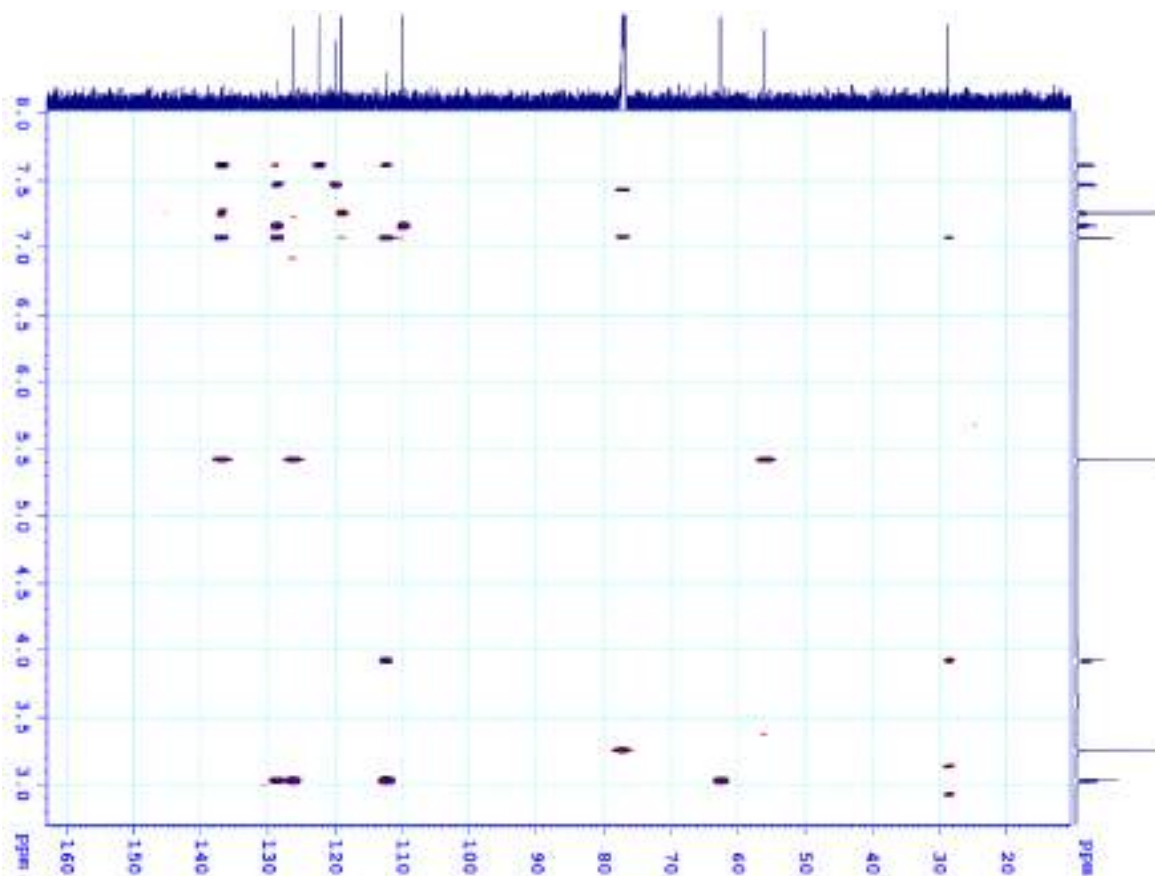
Hình P2.5. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **AS1**



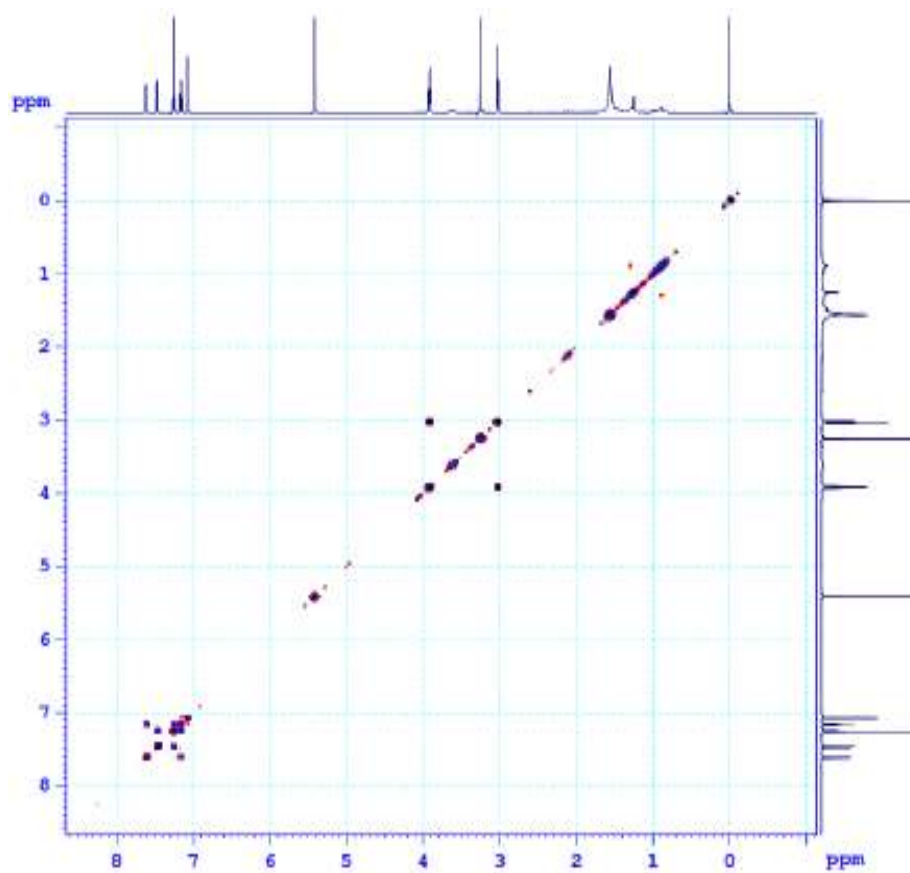
Hình P2.6. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AS1



Hình P2.7. Phổ HSQC của hợp chất **AS1**

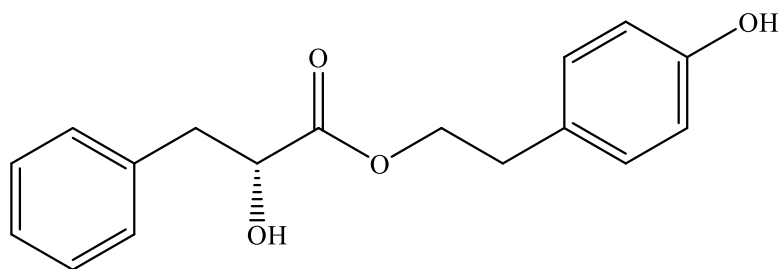


Hình P2.8. Phổ HMBC của hợp chất **AS1**

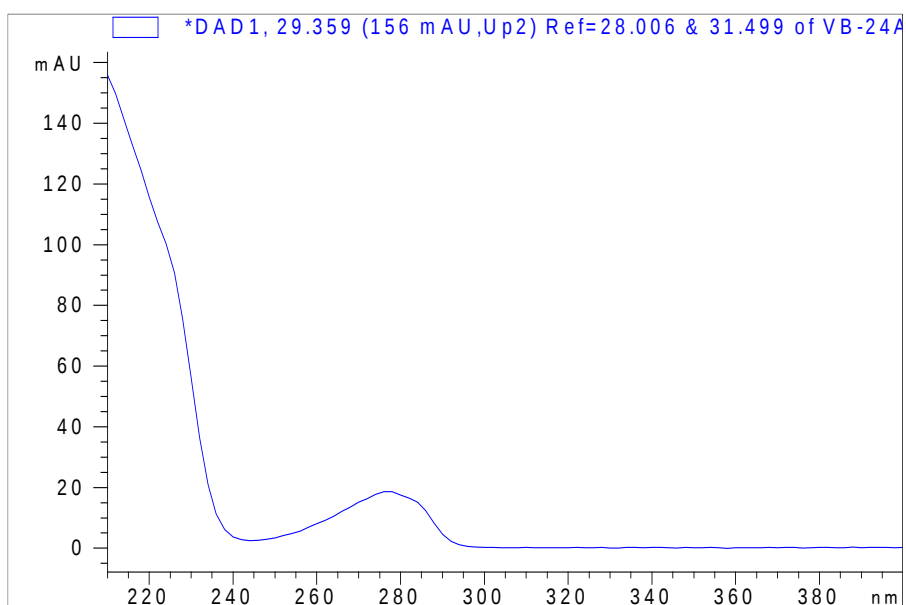


Hình P2.9. Phổ COSY của hợp chất **AS1**

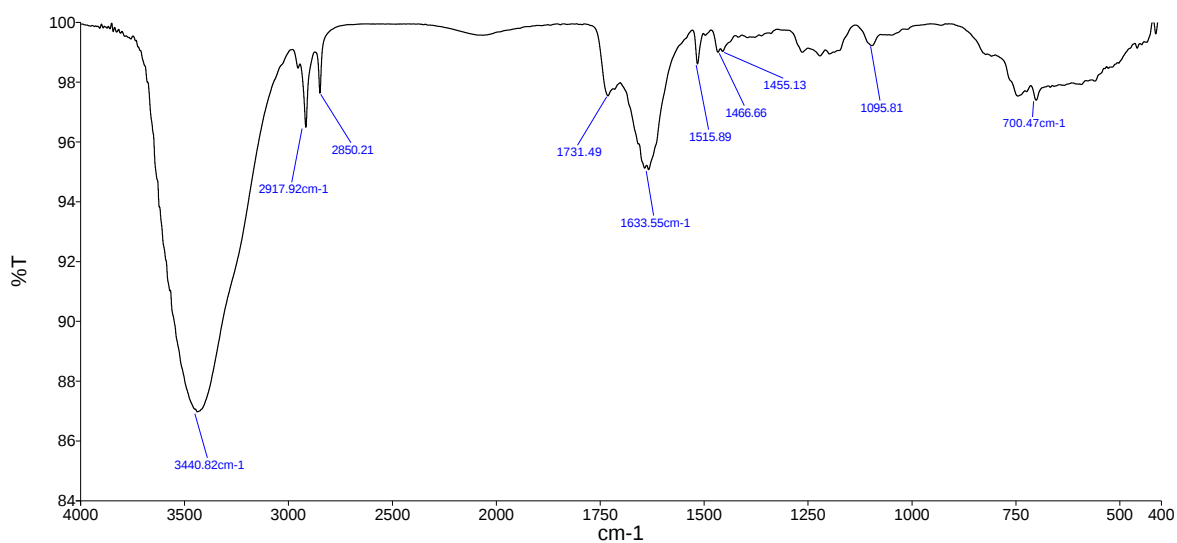
2.2. Hợp chất **AS2**



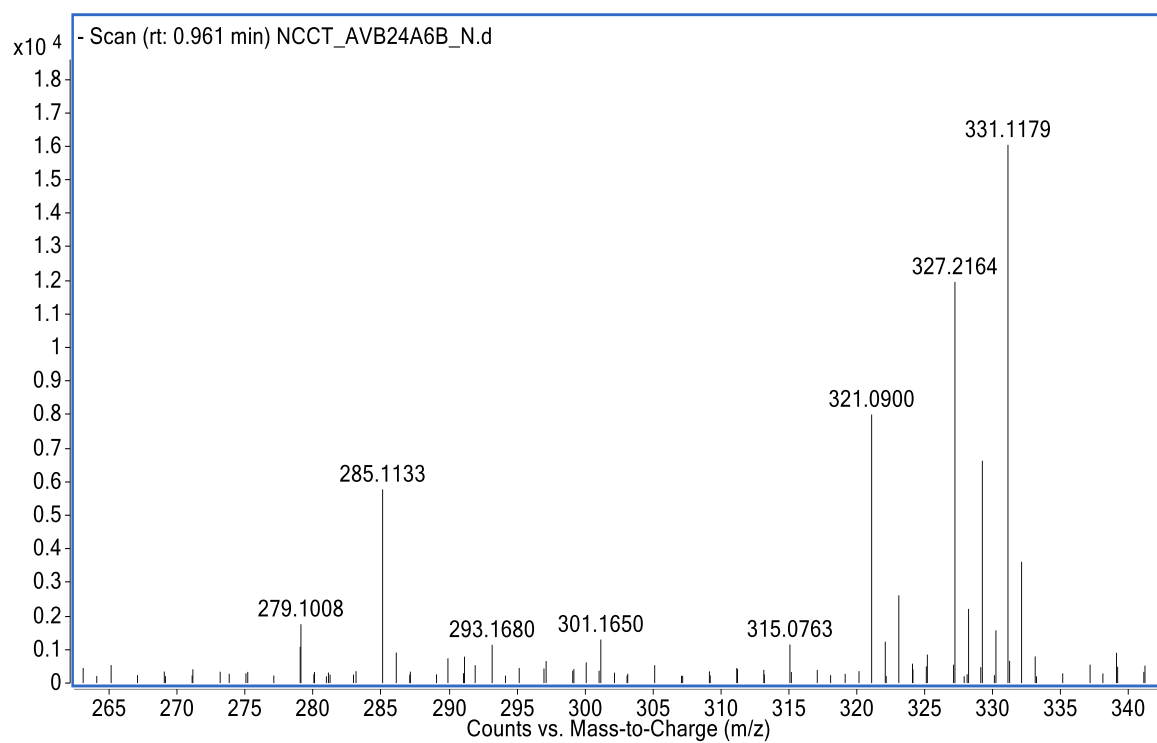
Hình P2.10. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS2**



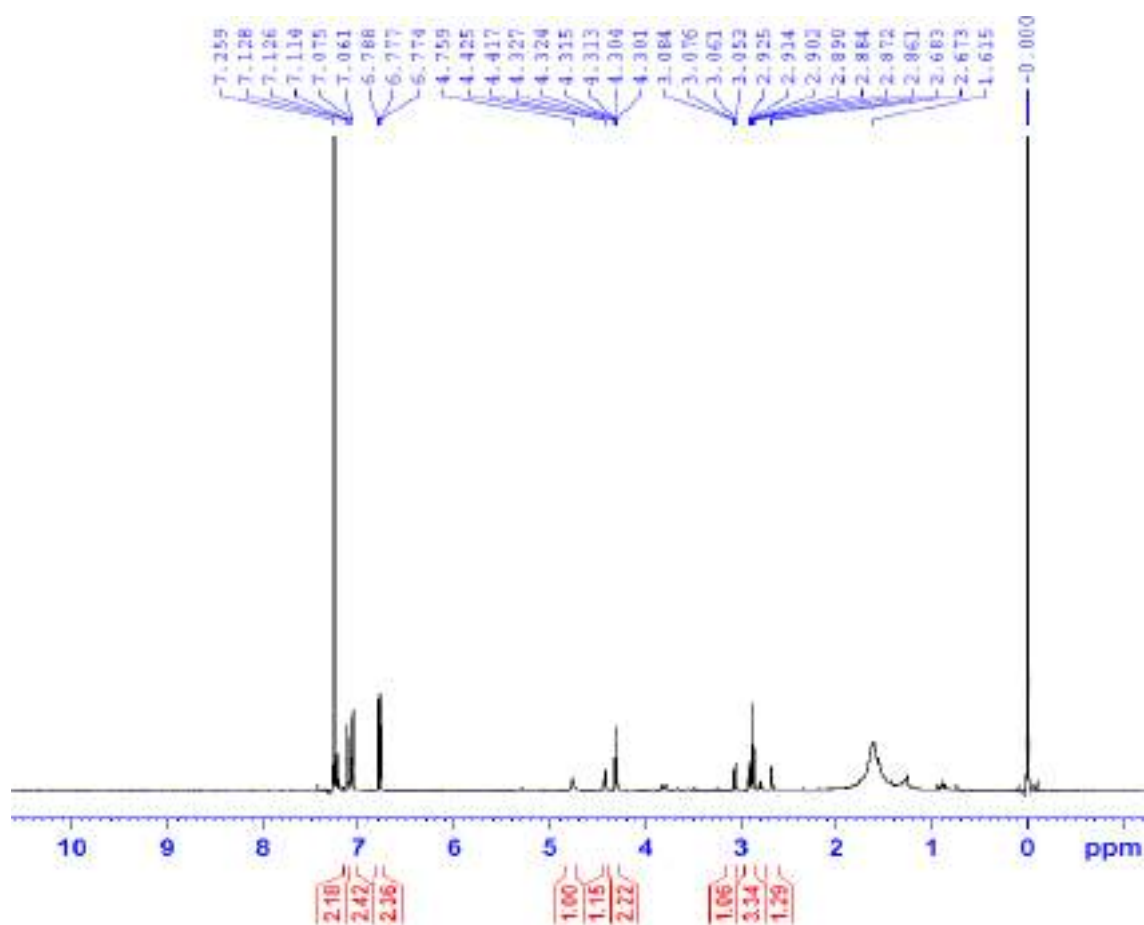
Hình P2.11. Phổ UV của hợp chất **AS2**



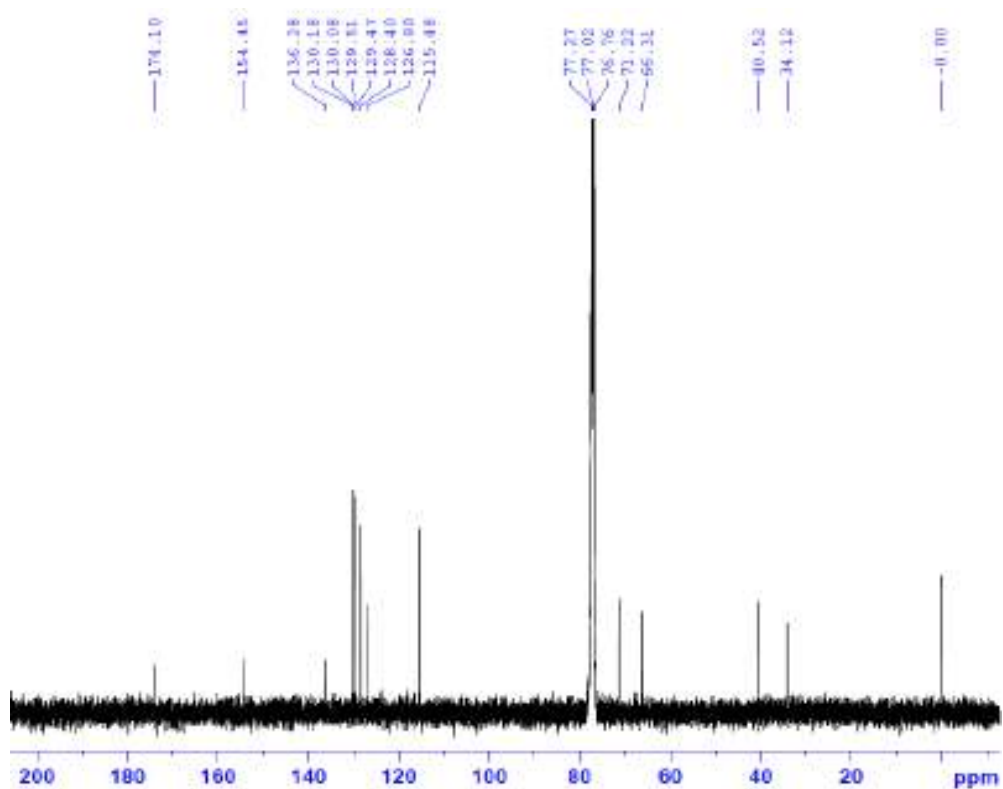
Hình P2.12. Phổ IR của hợp chất **AS2**



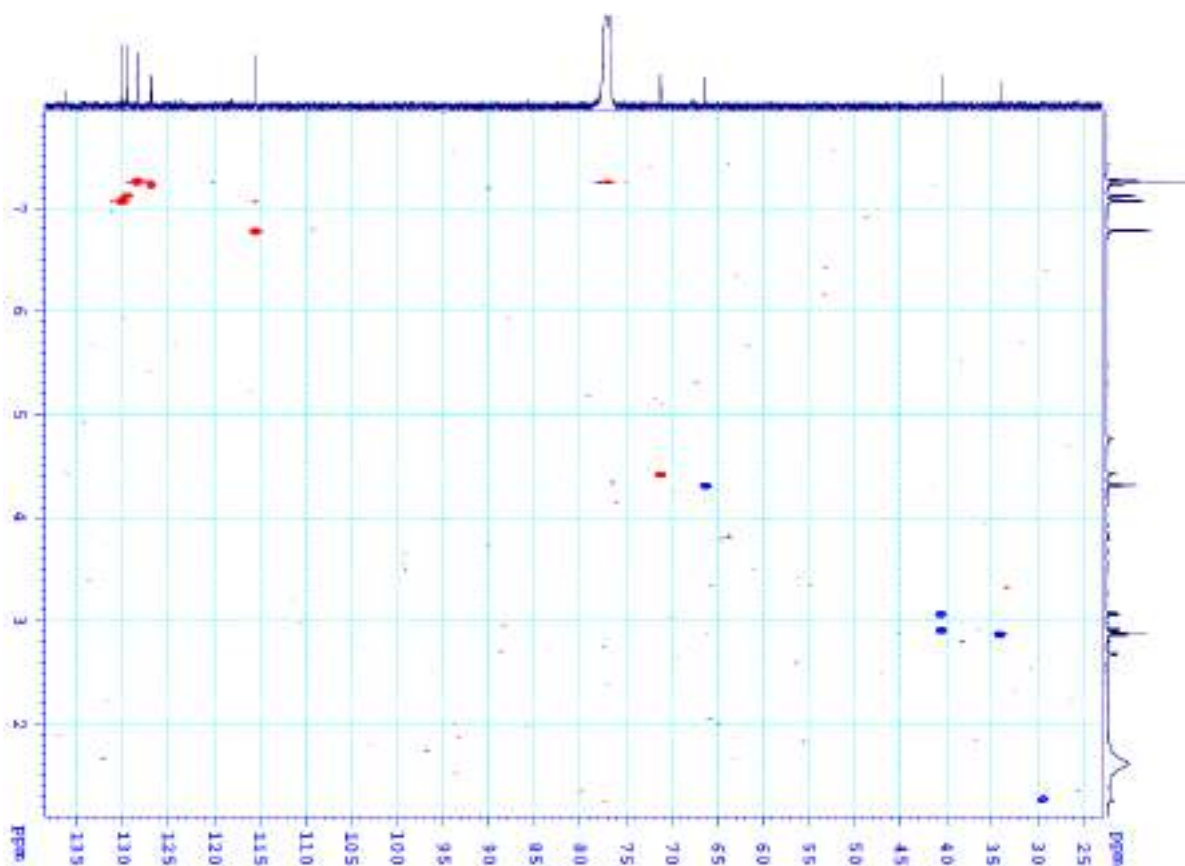
Hình P2.13. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS2**



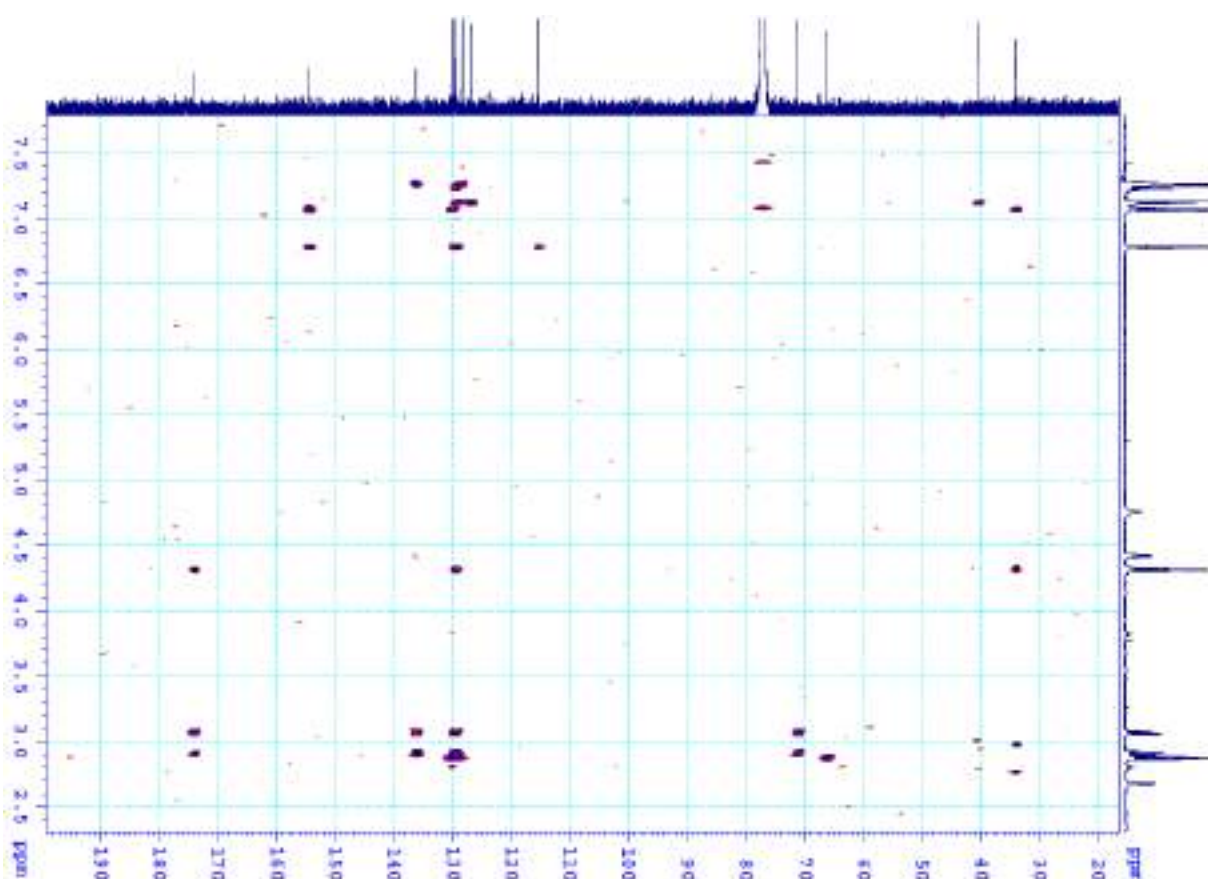
Hình P2.14. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **AS2**



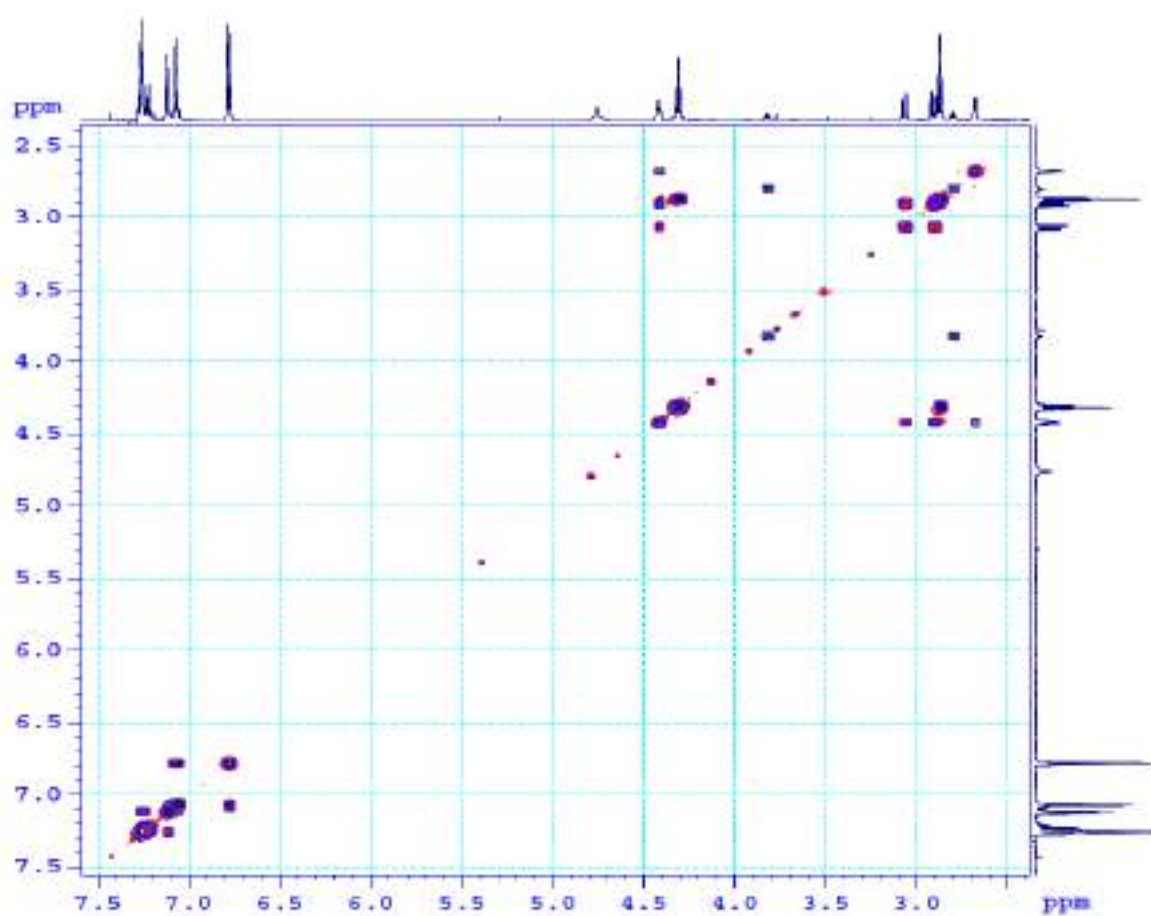
Hình P2.15. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AS2



Hình P2.16. Phổ HSQC của hợp chất AS2

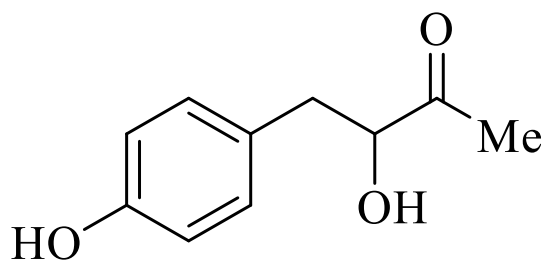


Hình P2.17. Phổ HMBC của hợp chất AS2

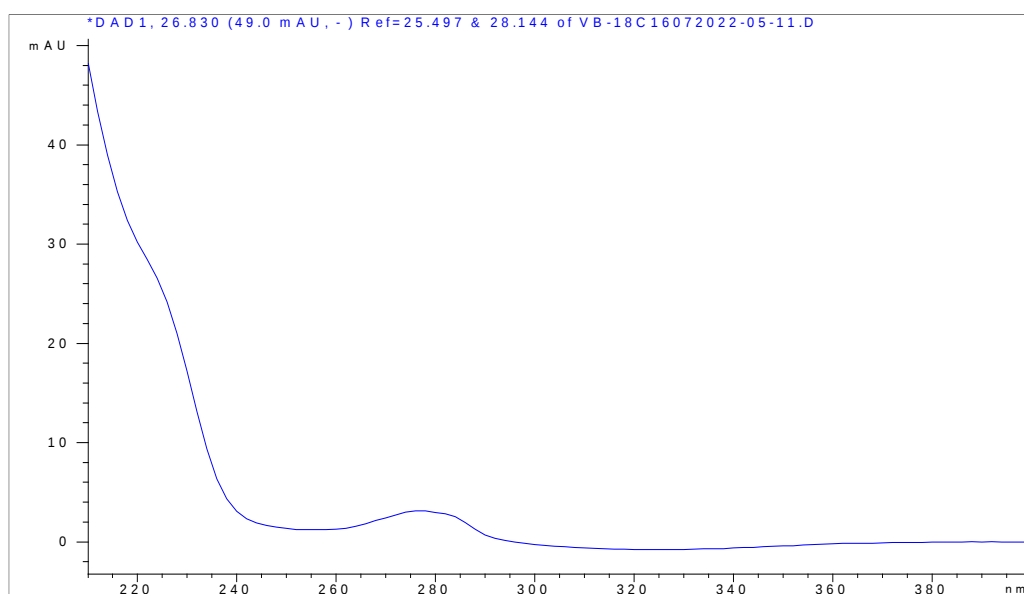


Hình P2.18. Phổ COSY của hợp chất AS2

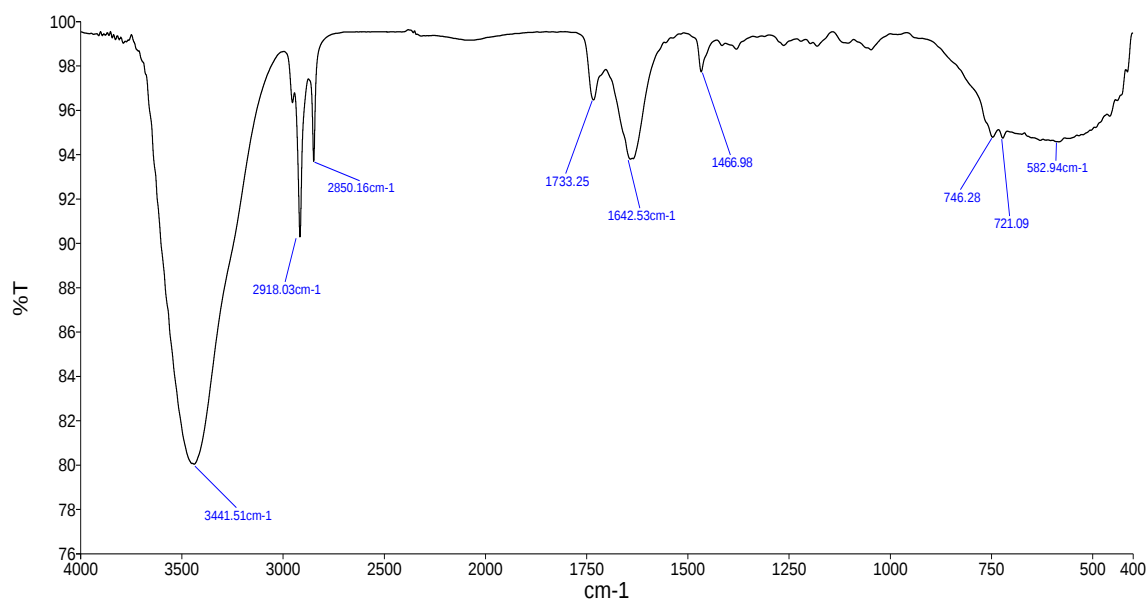
2.3. Hợp chất AS3:



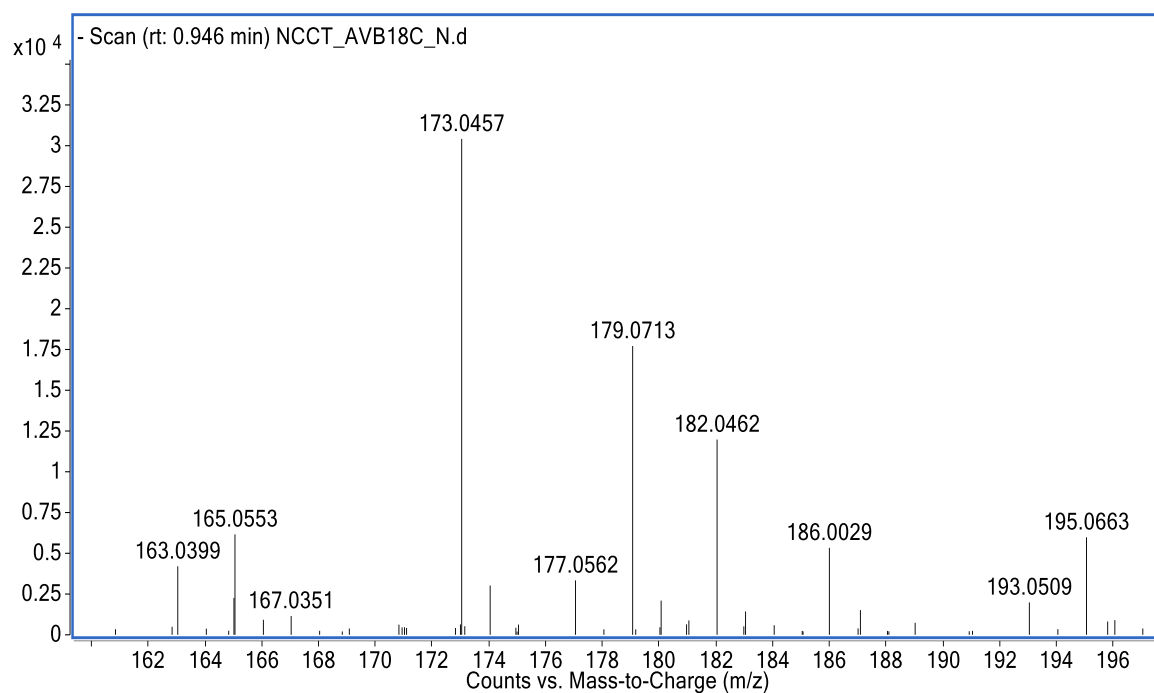
Hình P2.19. Cấu trúc hóa học của hợp chất AS3



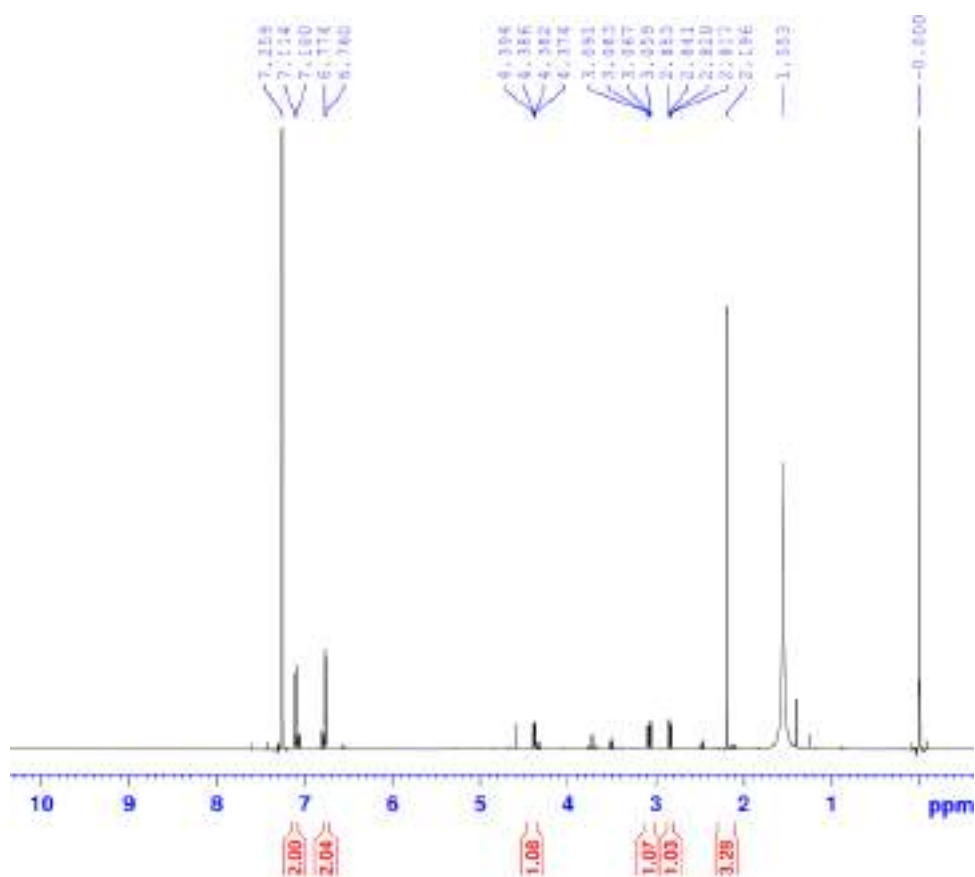
Hình P2.20. Phổ UV của hợp chất AS3



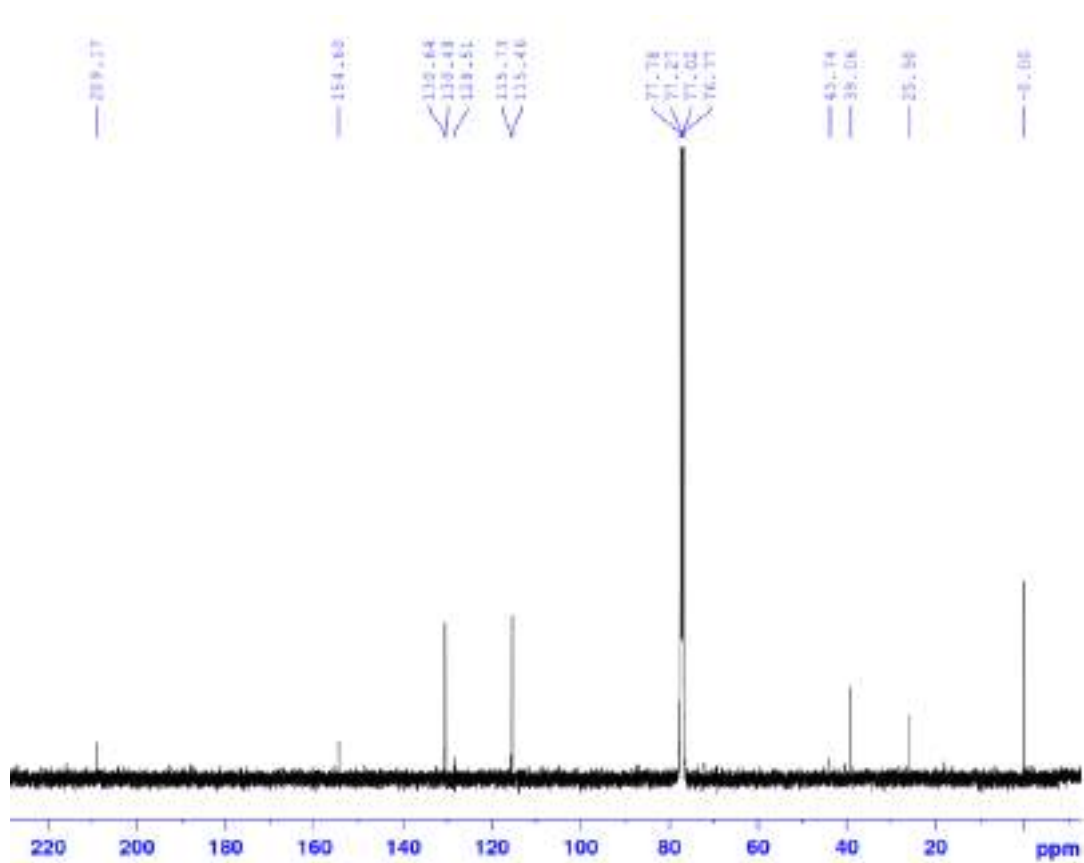
Hình P2.21. Phổ IR của hợp chất AS3



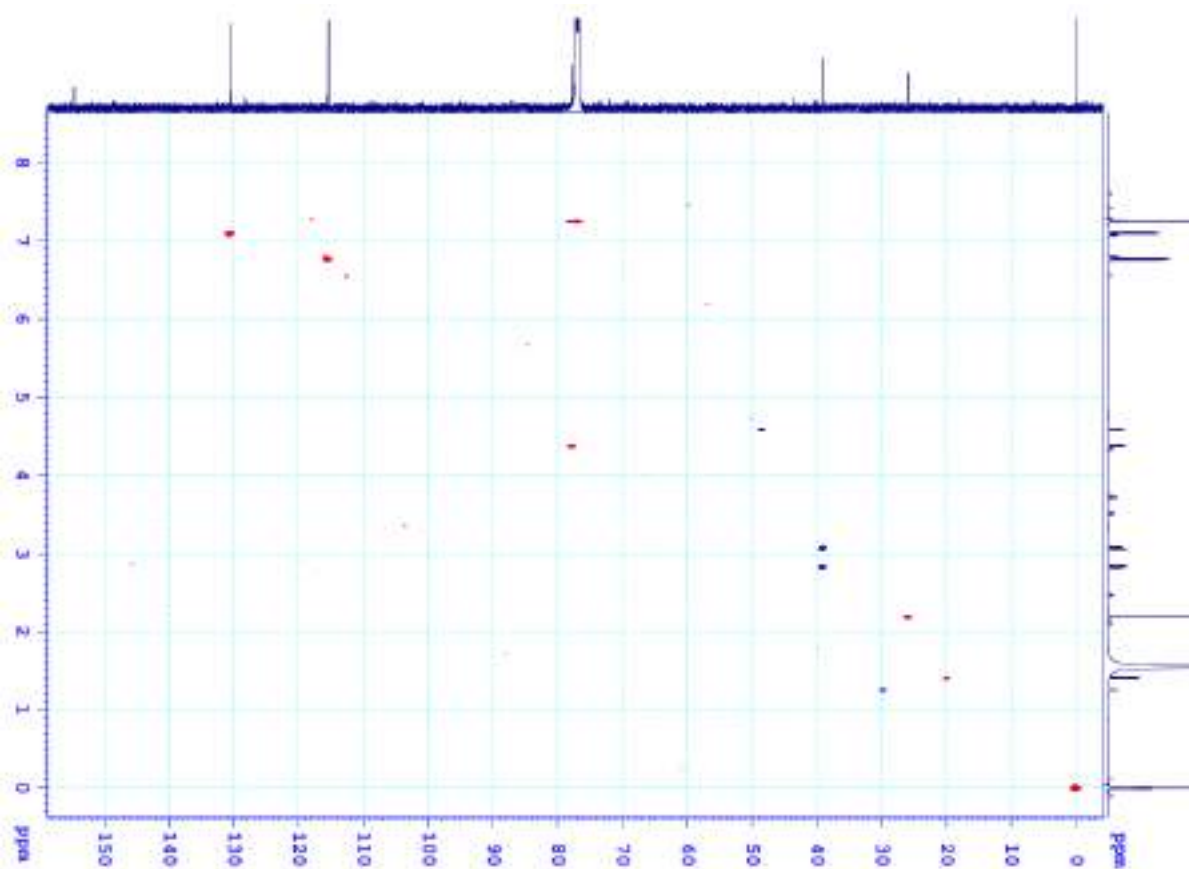
Hình P2.22. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS3**



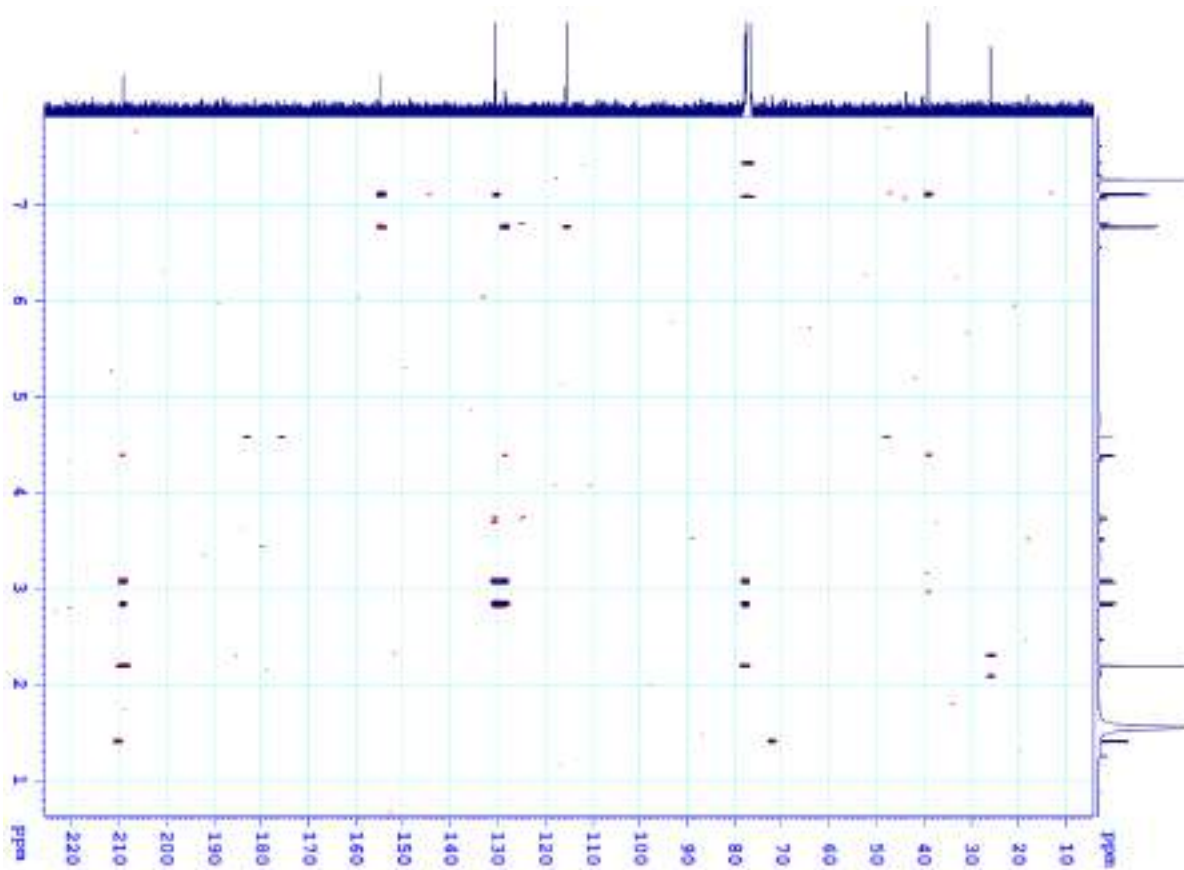
Hình P2.23. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **AS3**



Hình P2.24. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS3**

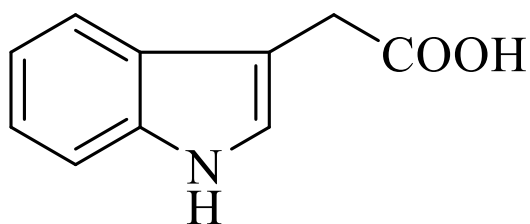


Hình P2.25. Phổ HSQC của hợp chất **AS3**

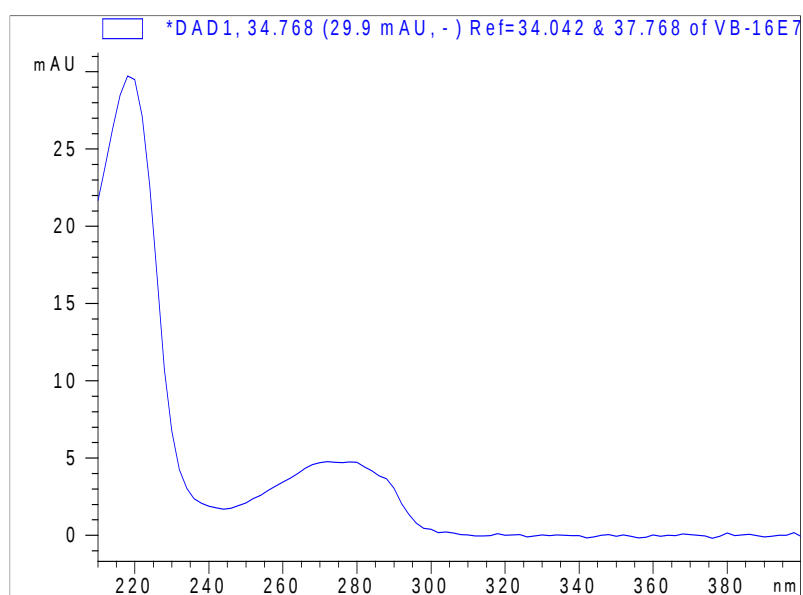


Hình P2.26. Phổ HMBC của hợp chất **AS3**

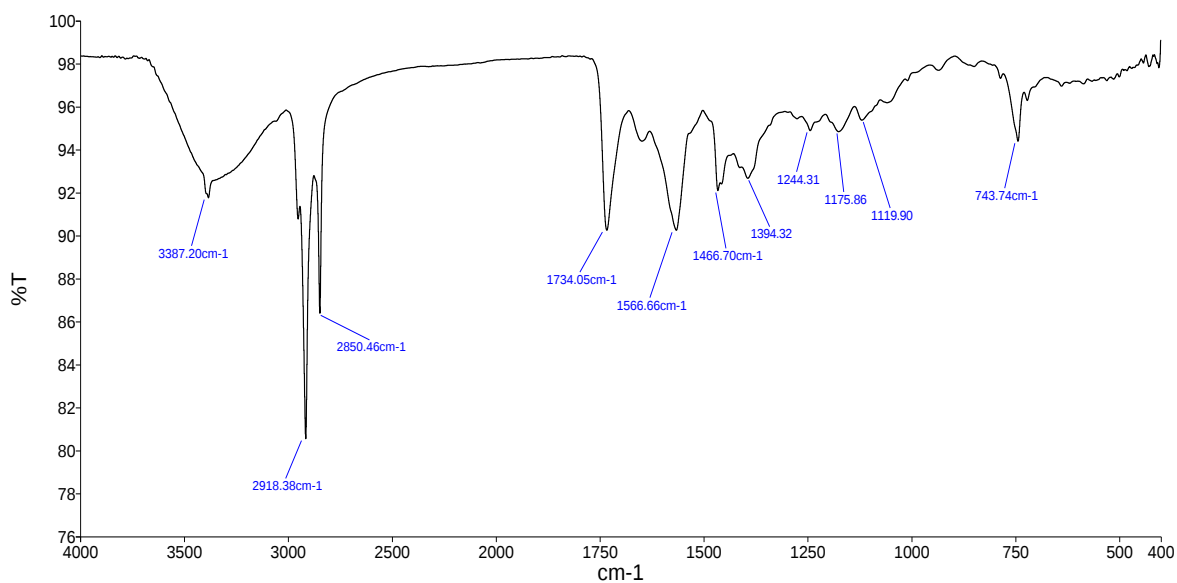
2.4. Hợp chất AS4:



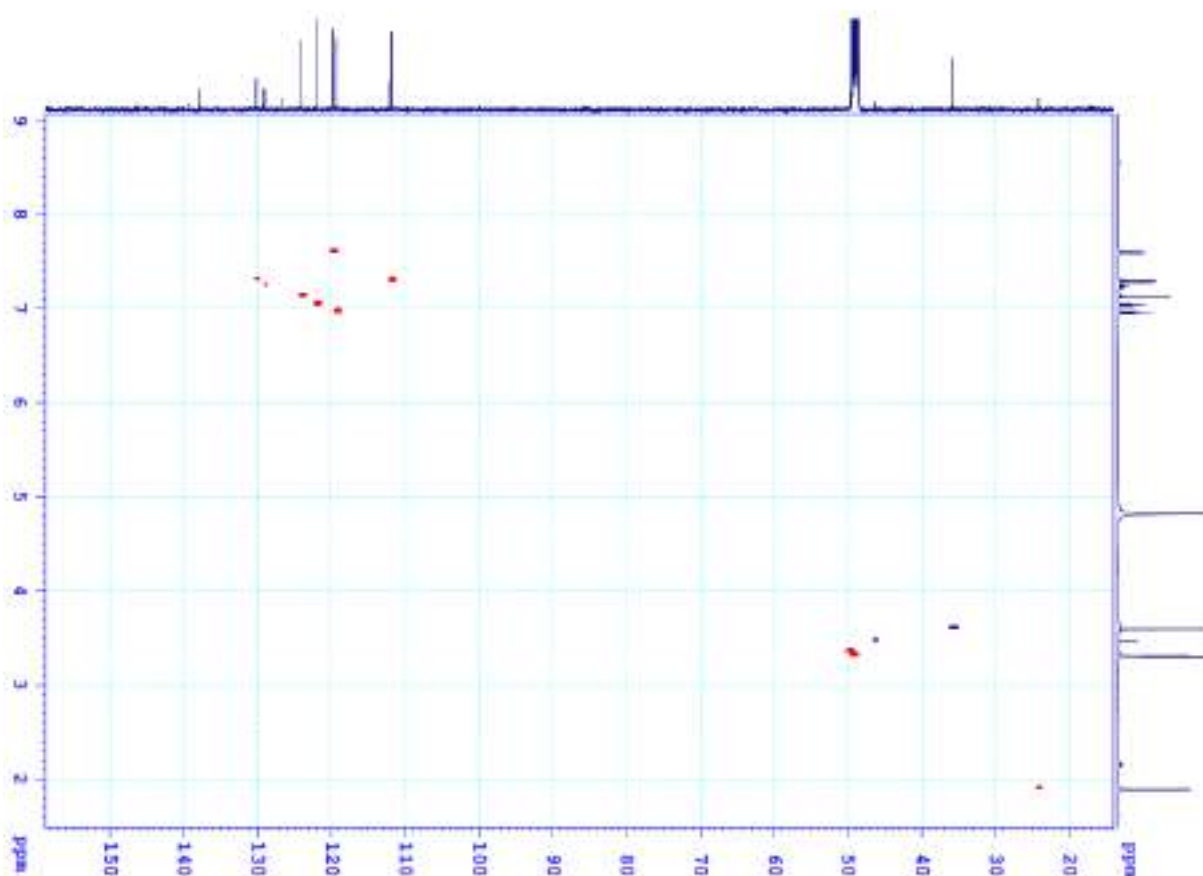
Hình P2.27. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS4**



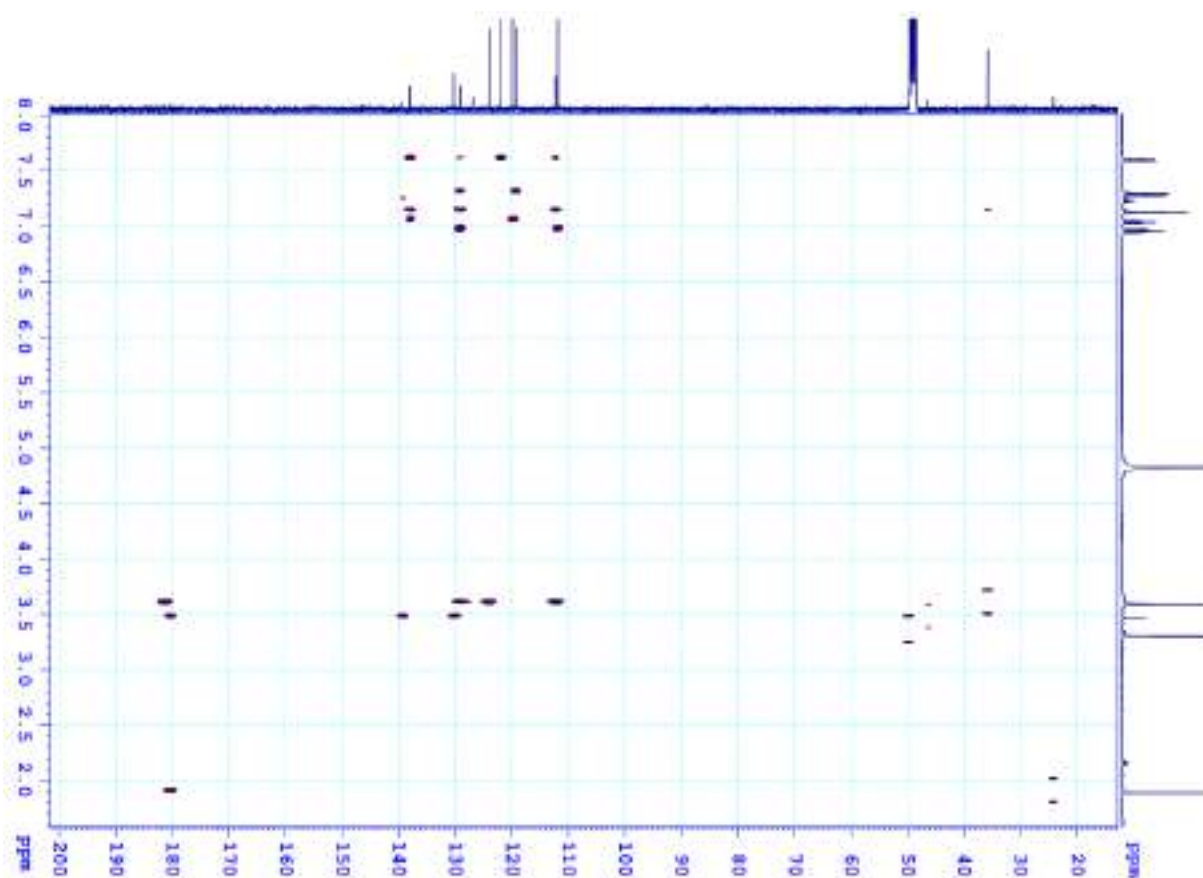
Hình P2.28. Phổ UV của hợp chất **AS4**



Hình P2.29. Phổ IR của hợp chất **AS4**

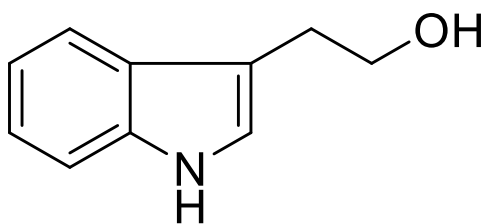


Hình P2.32. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS4**

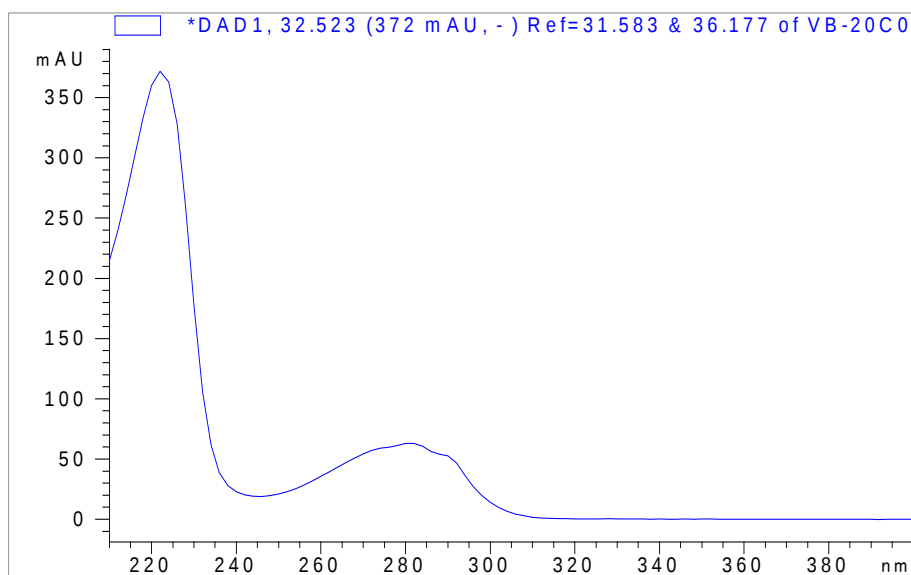


Hình P2.33. Phổ HMBC của hợp chất **AS4**

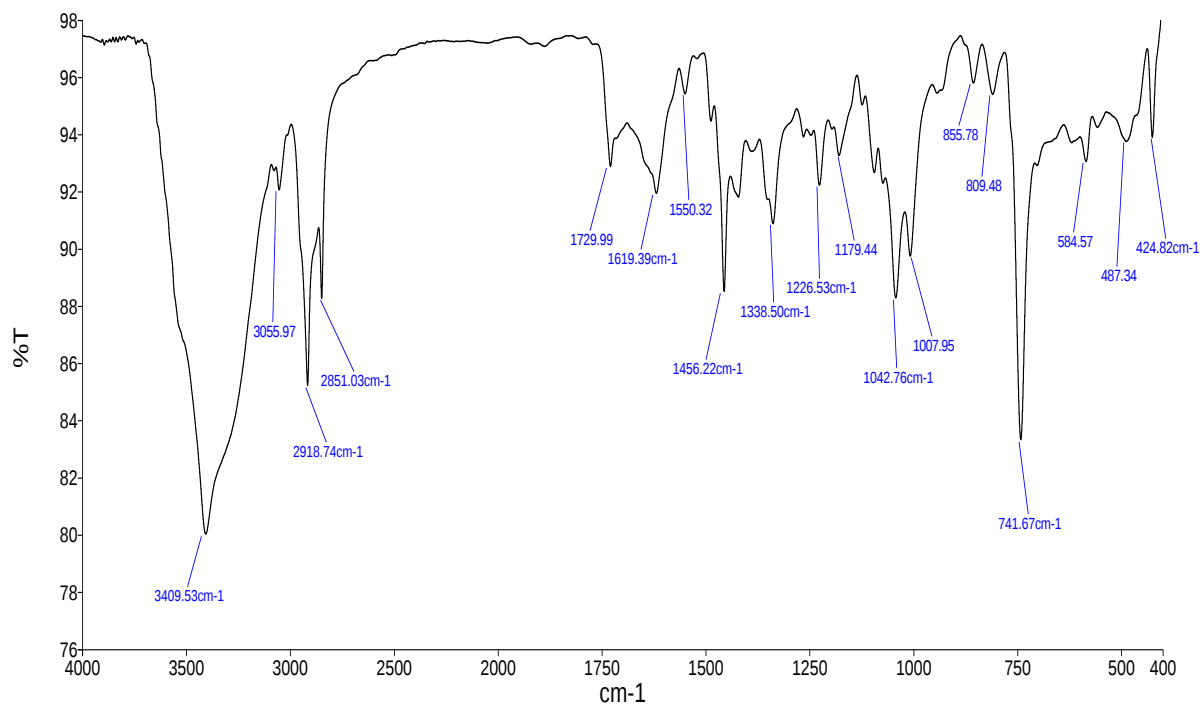
2.5. Hợp chất AS5:



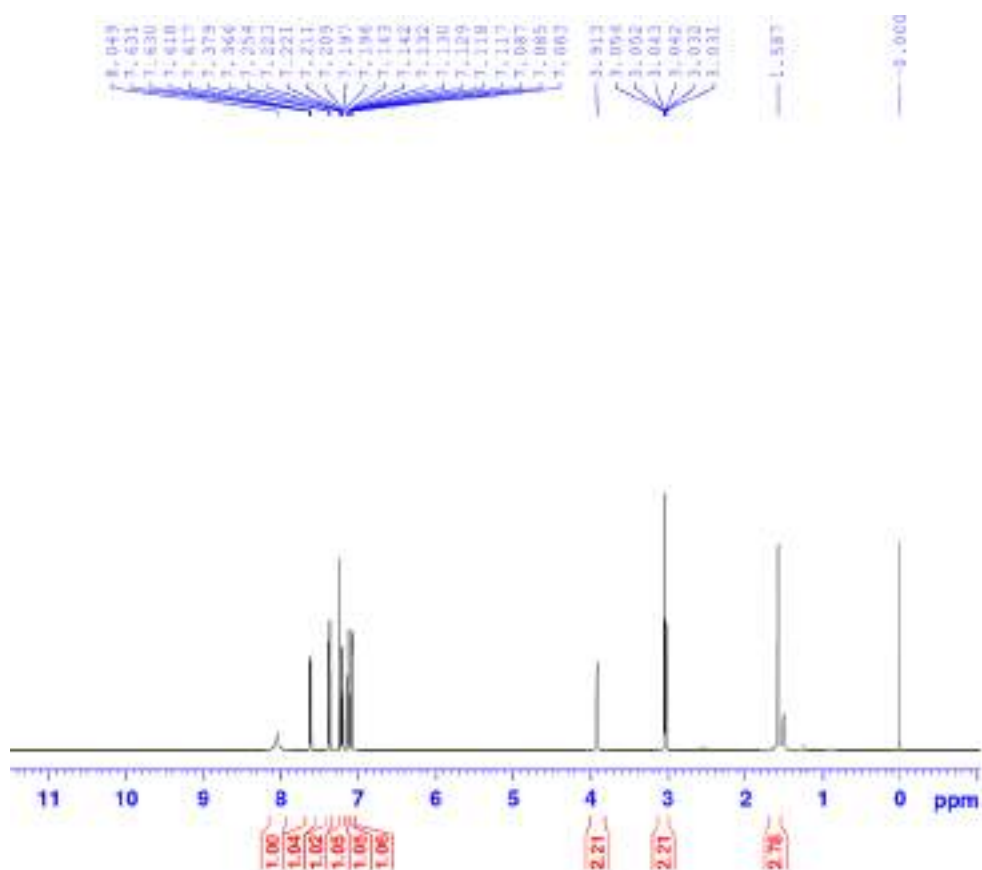
Hình P2.34. Cấu trúc hóa học của hợp chất AS5



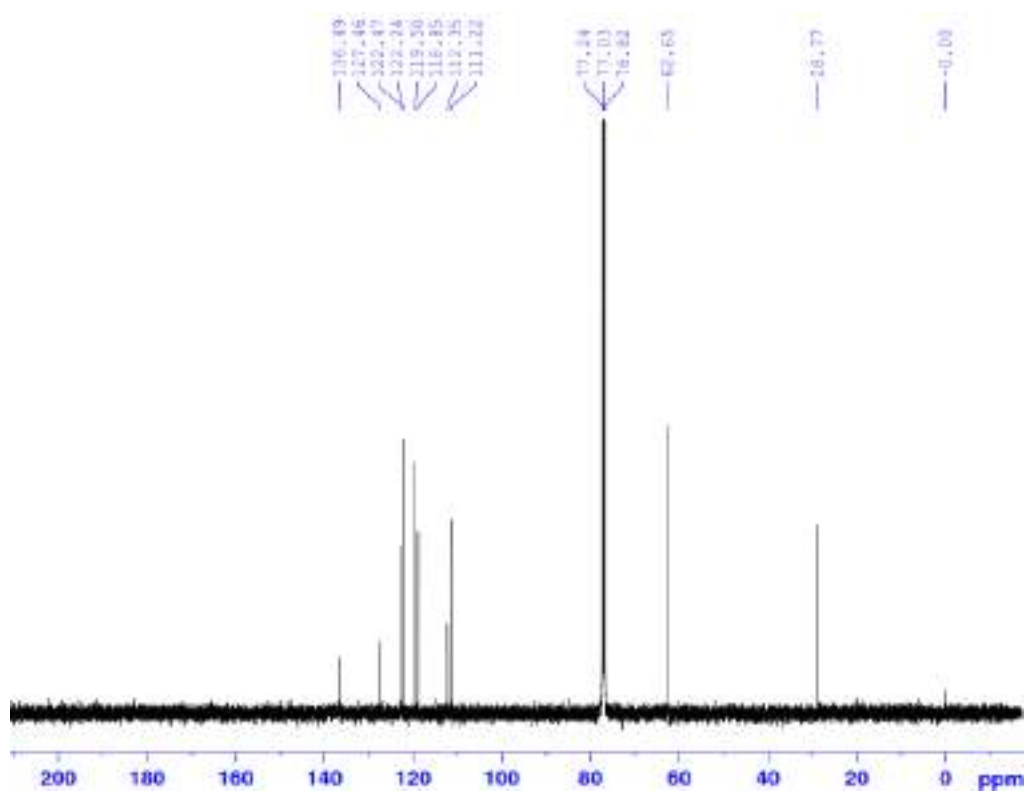
Hình P2.35. Phổ UV của hợp chất AS5



Hình P2.36. Phổ IR của hợp chất AS5

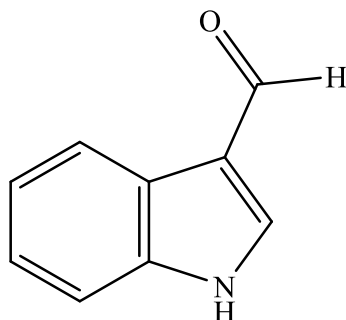


Hình P2.37. Phổ ^1H -NMR của hợp chất AS5

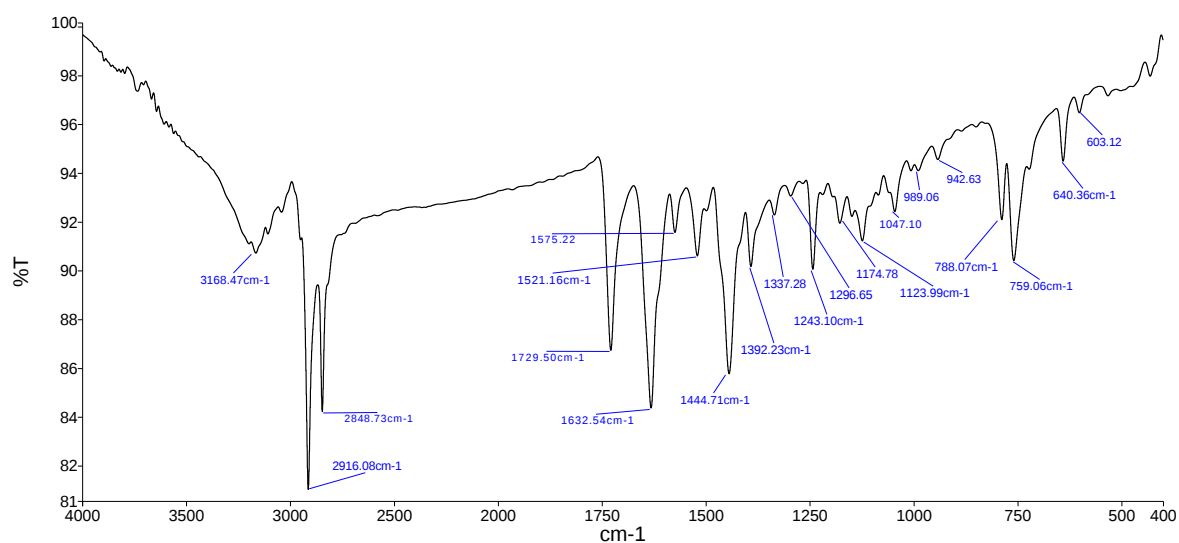


Hình P2.38. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AS5

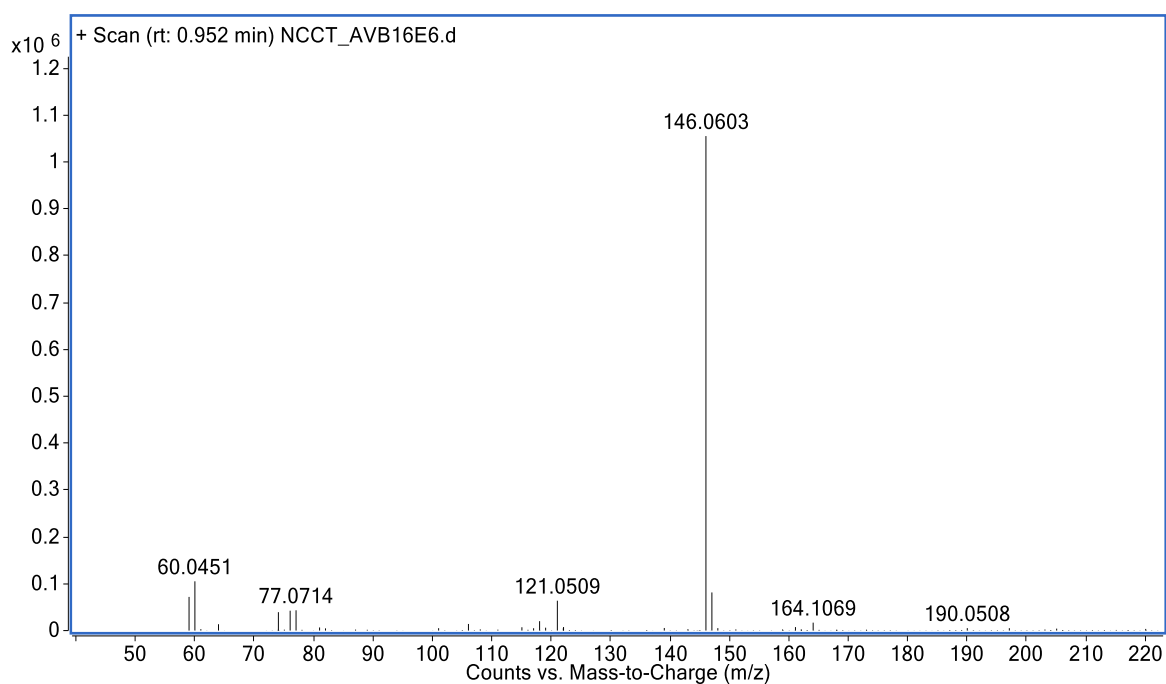
2.6. Hợp chất AS6



Hình P2.39. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS6**



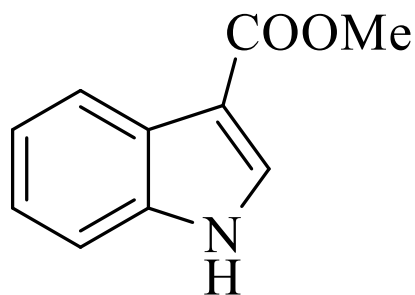
Hình P2.40. Phổ IR của hợp chất **AS6**



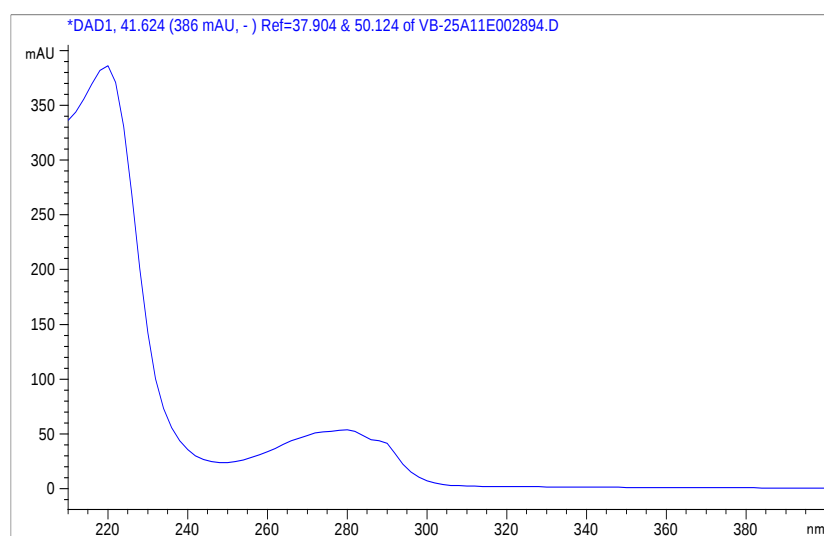
Hình P2.41. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS6**

Hình P2.43. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS6**

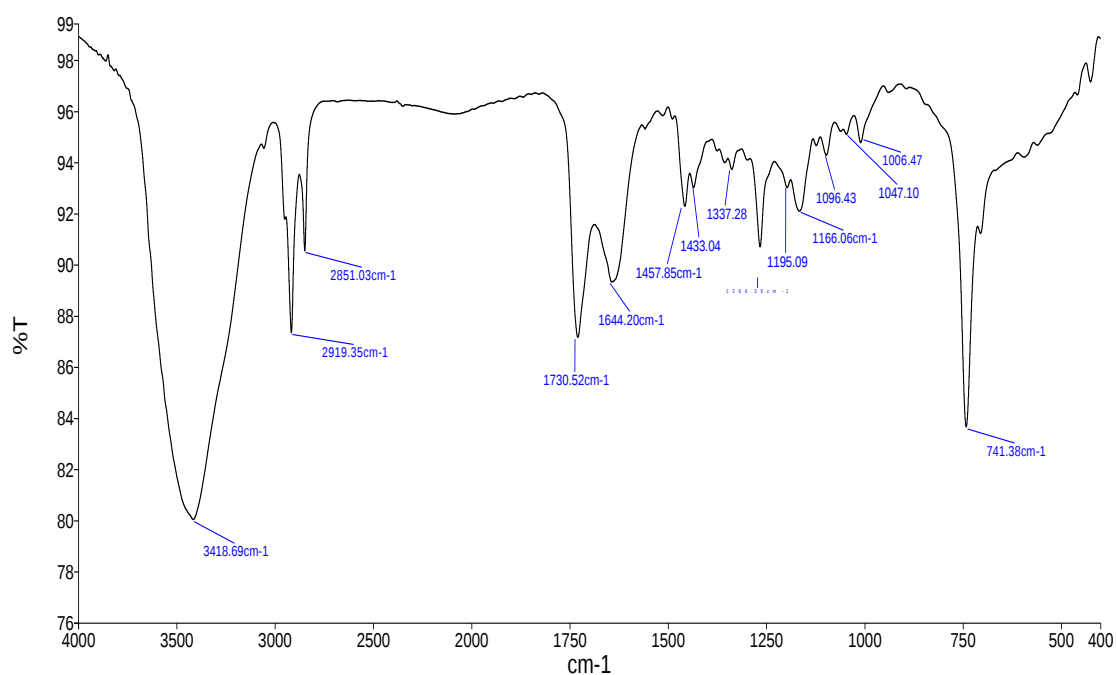
2.7. Hợp chất **AS7**



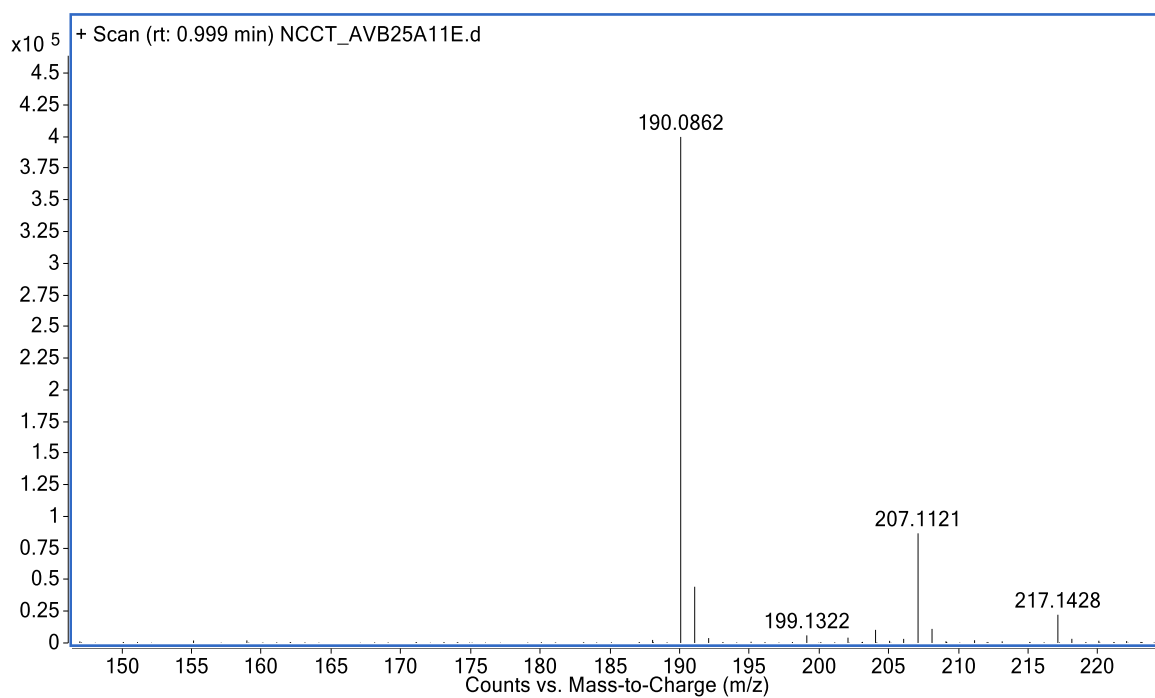
Hình P2.44. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS7**



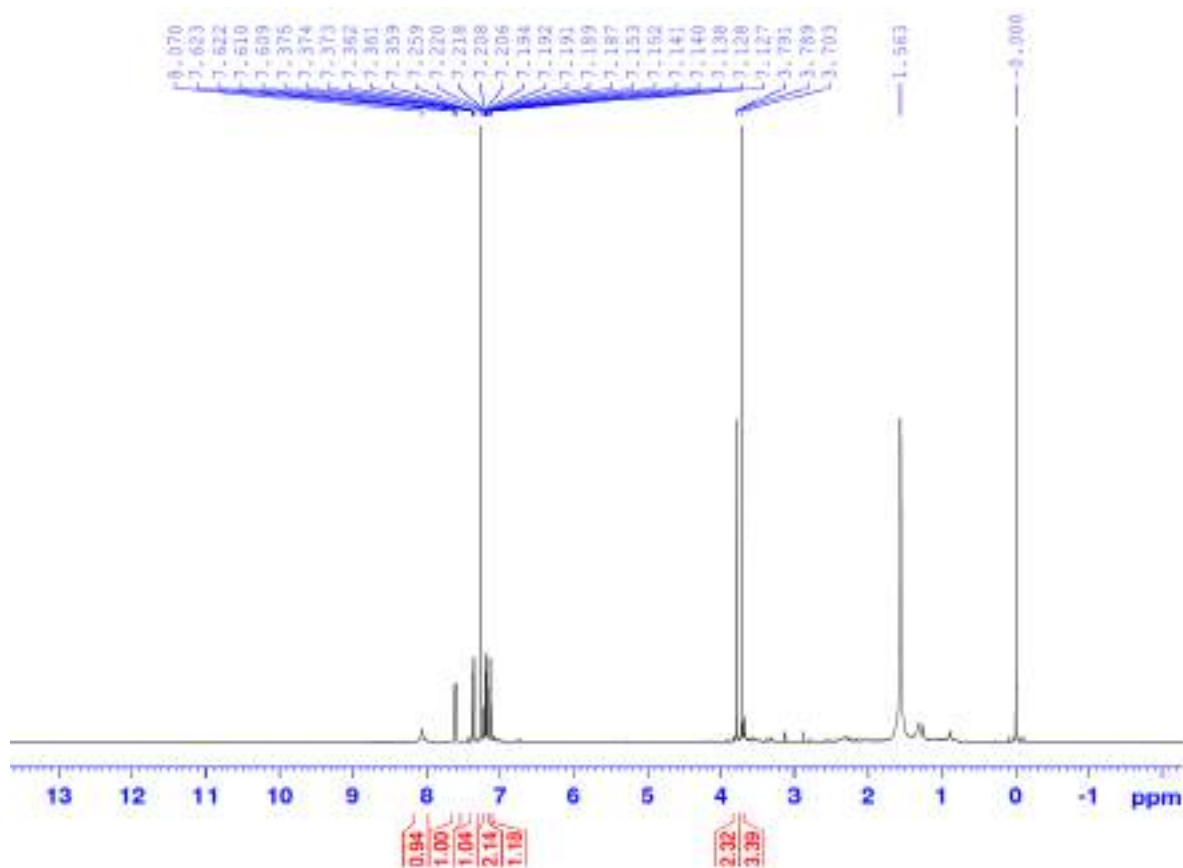
Hình P2.45. Phổ UV của hợp chất **AS7**



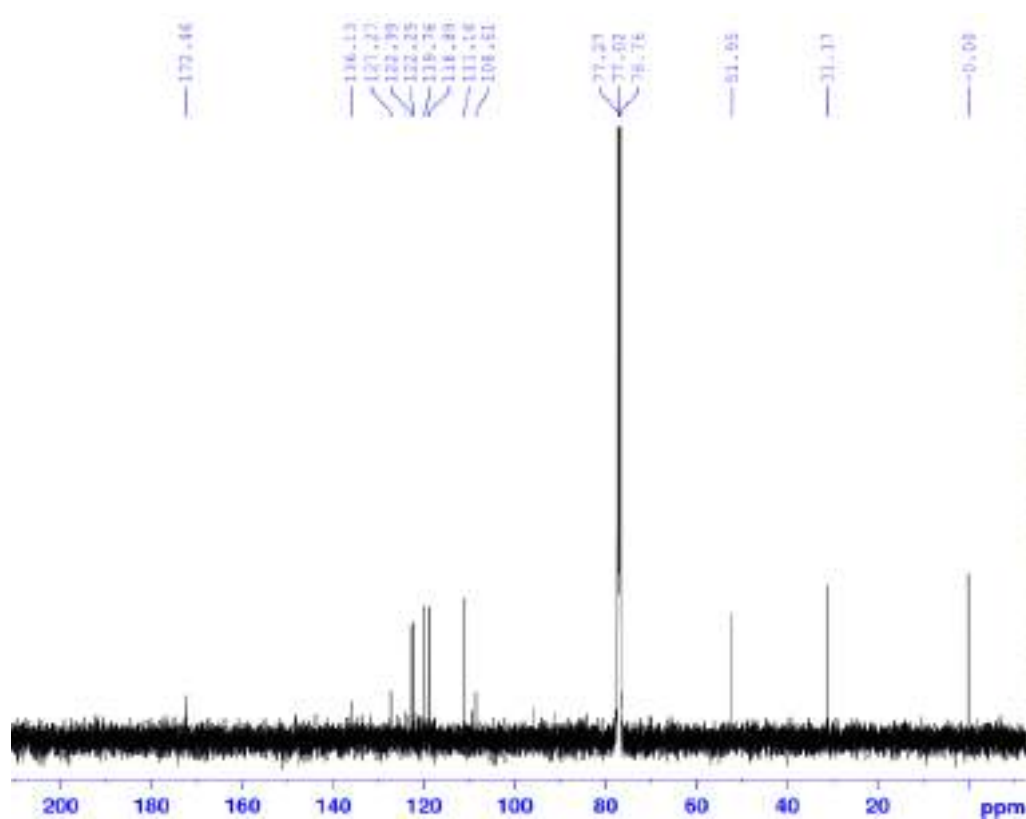
Hình P2.46. Phổ IR của hợp chất **AS7**



Hình P2.47. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS7**

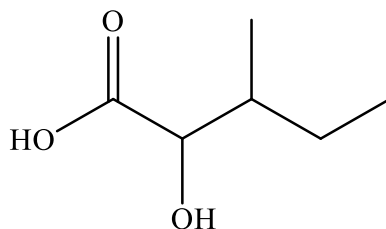


Hình P2.48. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **AS7**

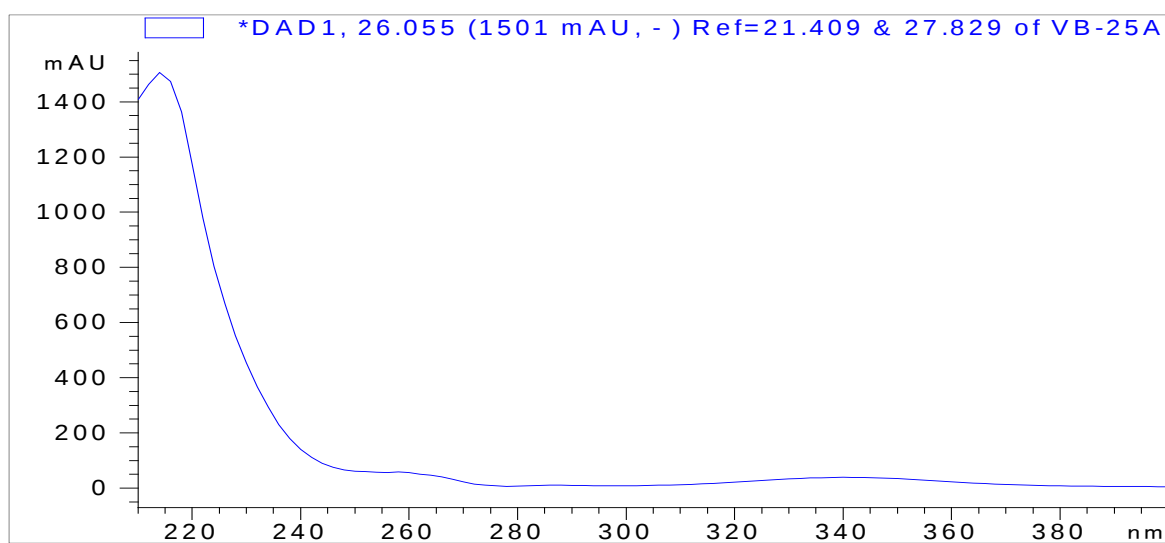


Hình P2.49. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS7**

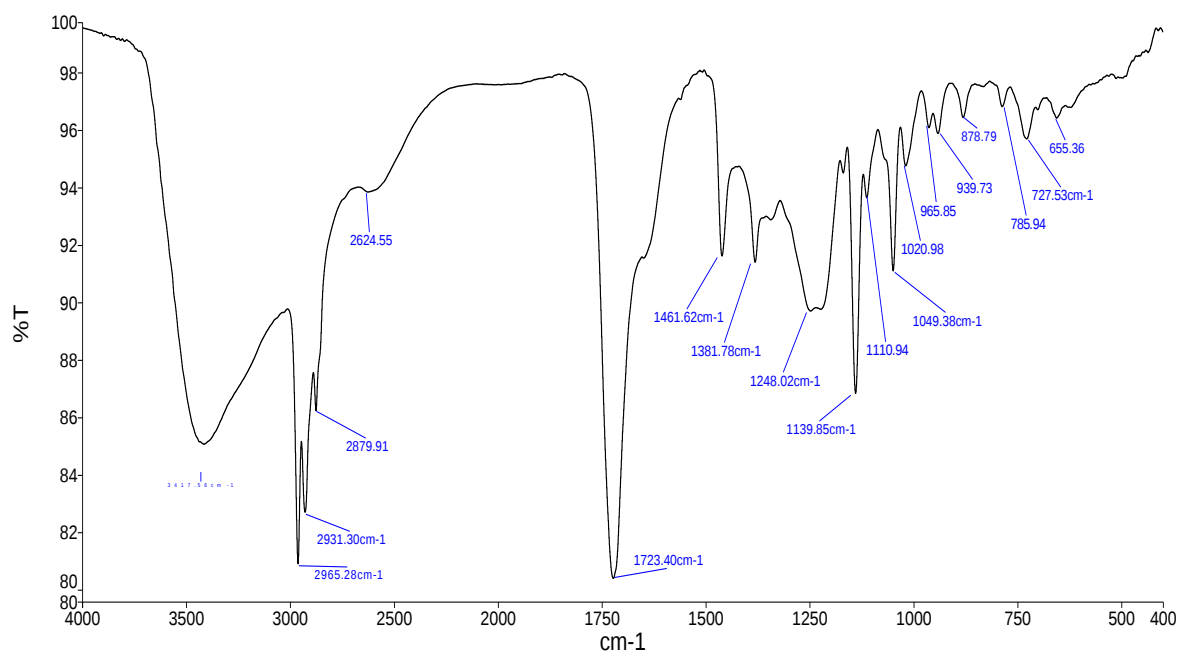
2.8. Hợp chất AS8



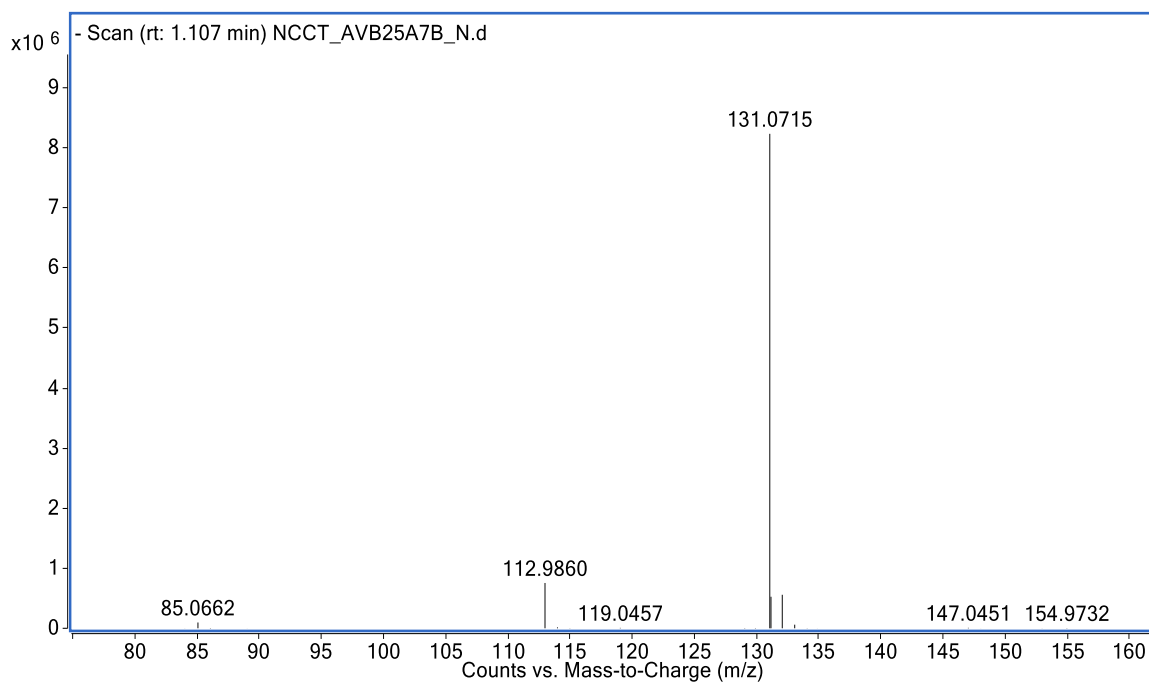
Hình P2.49. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS8**



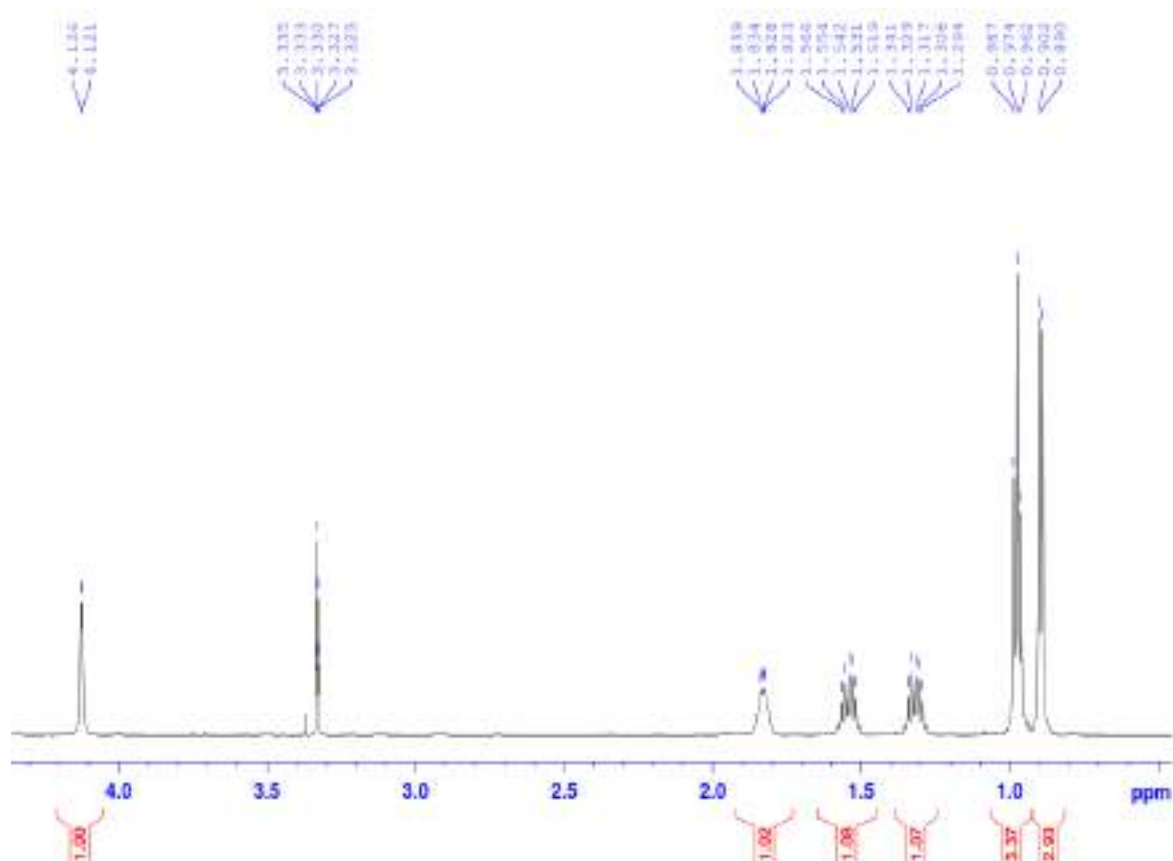
Hình P2.50. Phổ UV của hợp chất **AS8**



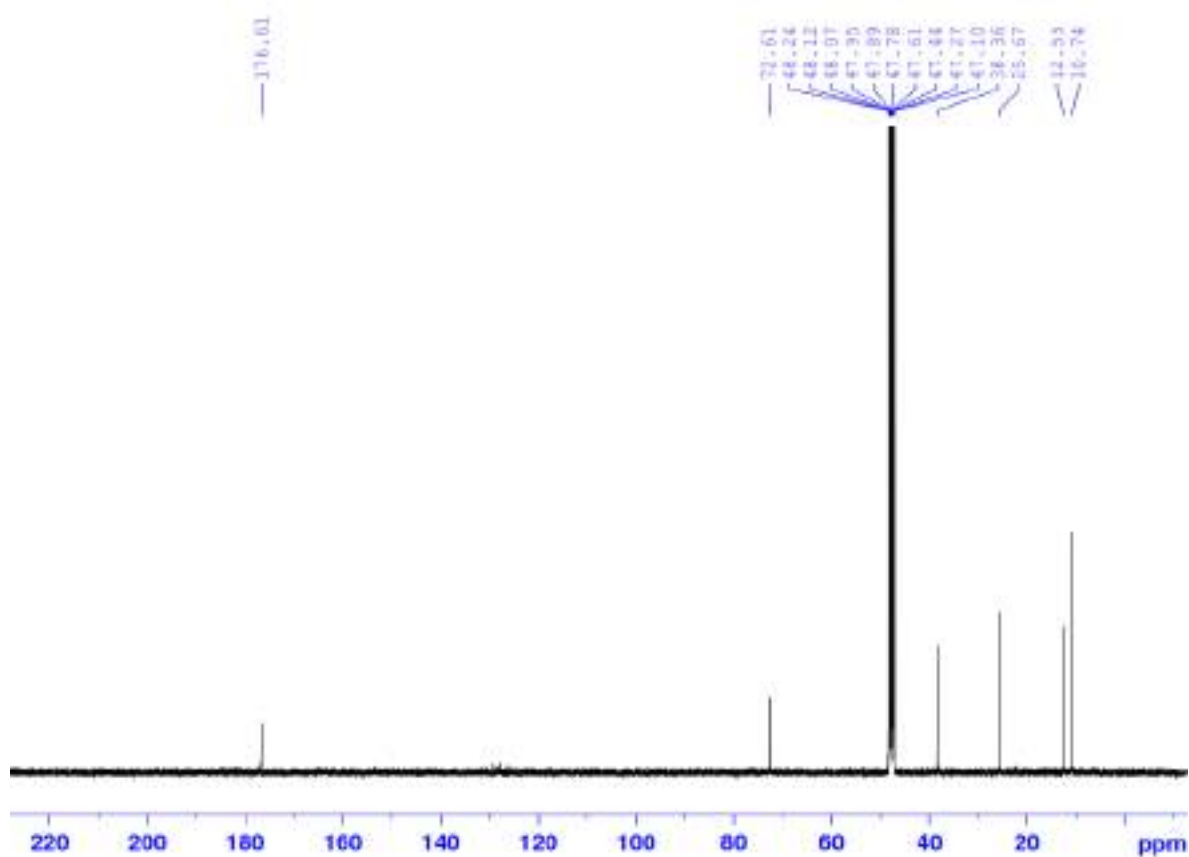
Hình P2.51. Phổ IR của hợp chất **AS8**



Hình P2.52. Phổ UV của hợp chất **AS8**

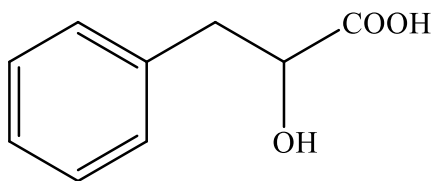


Hình P2.53. Phổ ¹H-NMR của hợp chất AS8

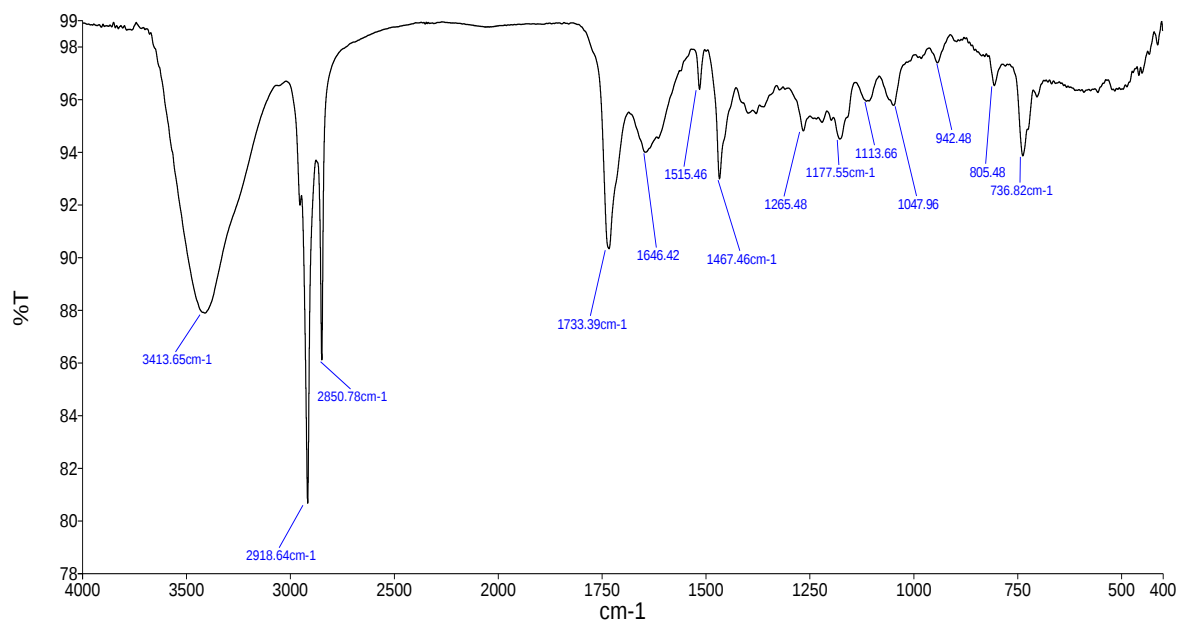


Hình P2.54. Phổ ¹³C-NMR của hợp chất AS8

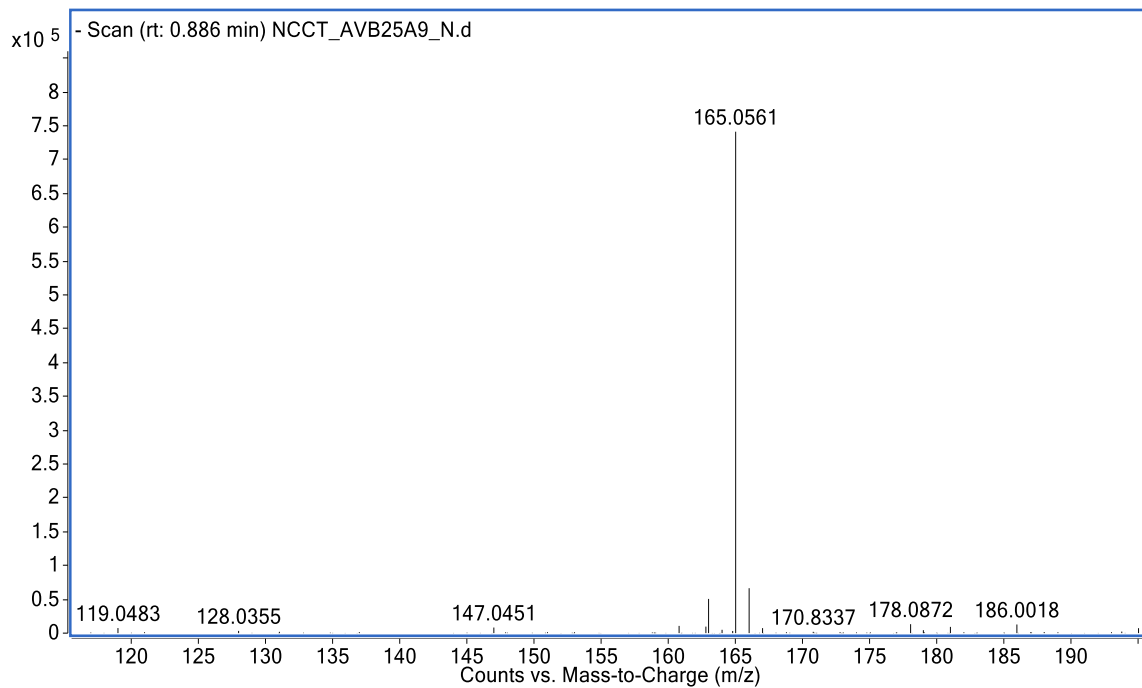
2.9. Hợp chất AS9



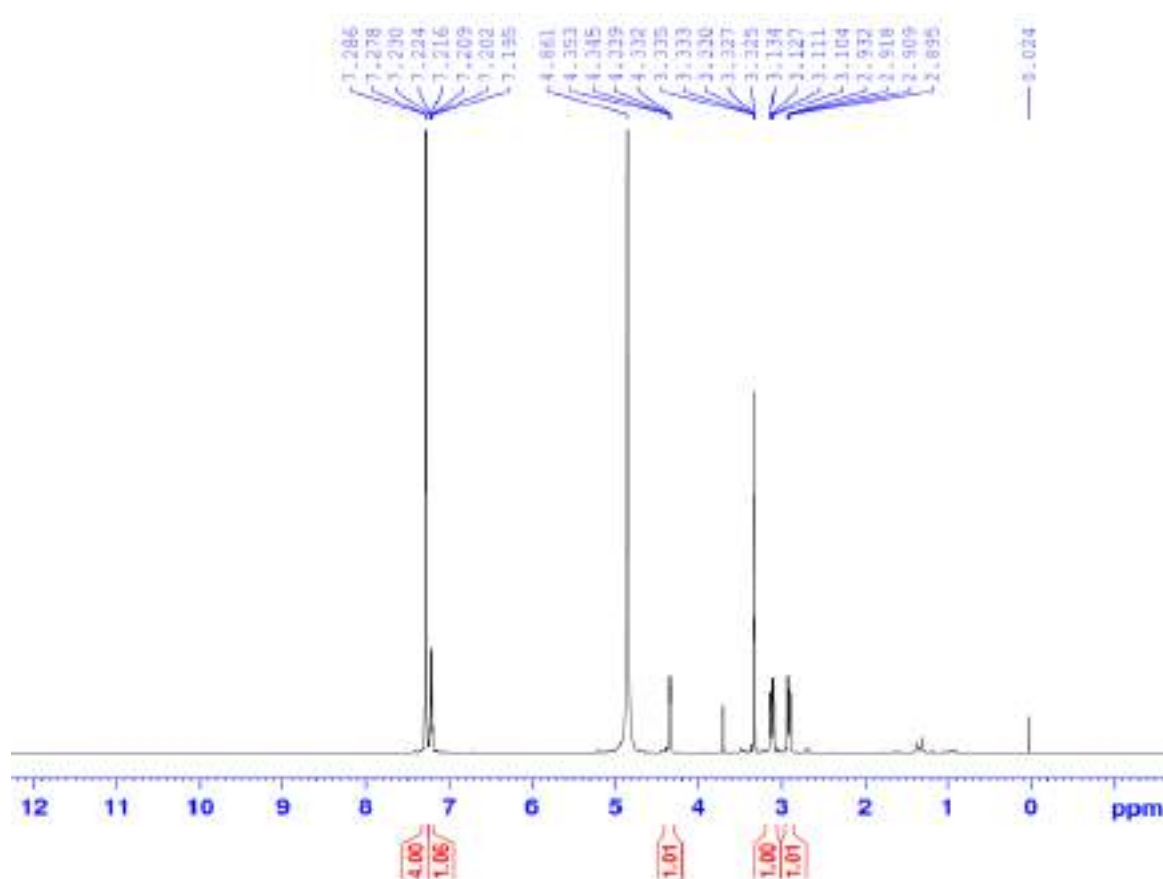
Hình P2.55. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS9**



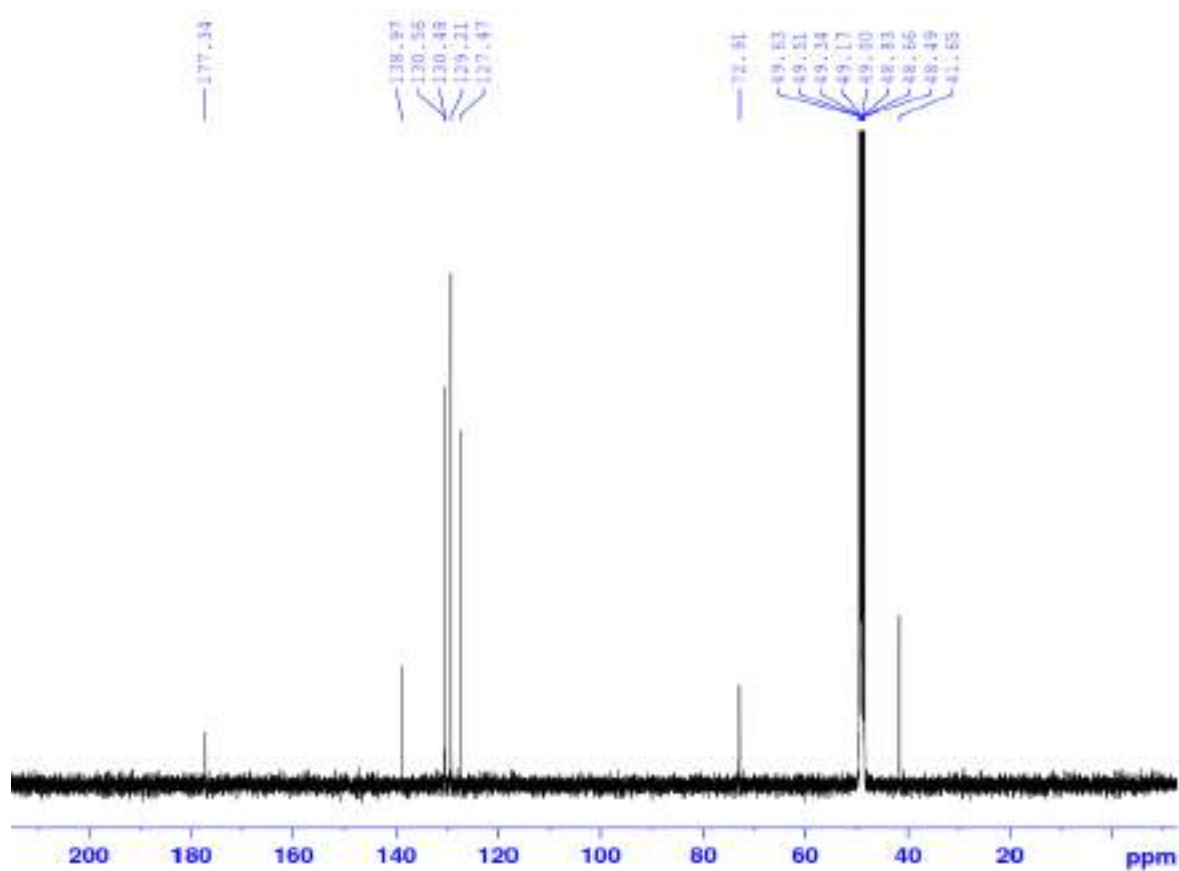
Hình P2.56. Phổ IR của hợp chất **AS9**



Hình P2.57. Phổ UV của hợp chất **AS9**

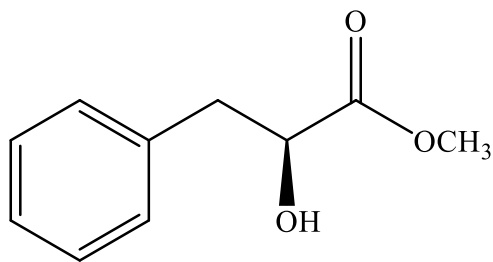


Hình P2.58. Phổ ^1H -NMR của hợp chất AS9

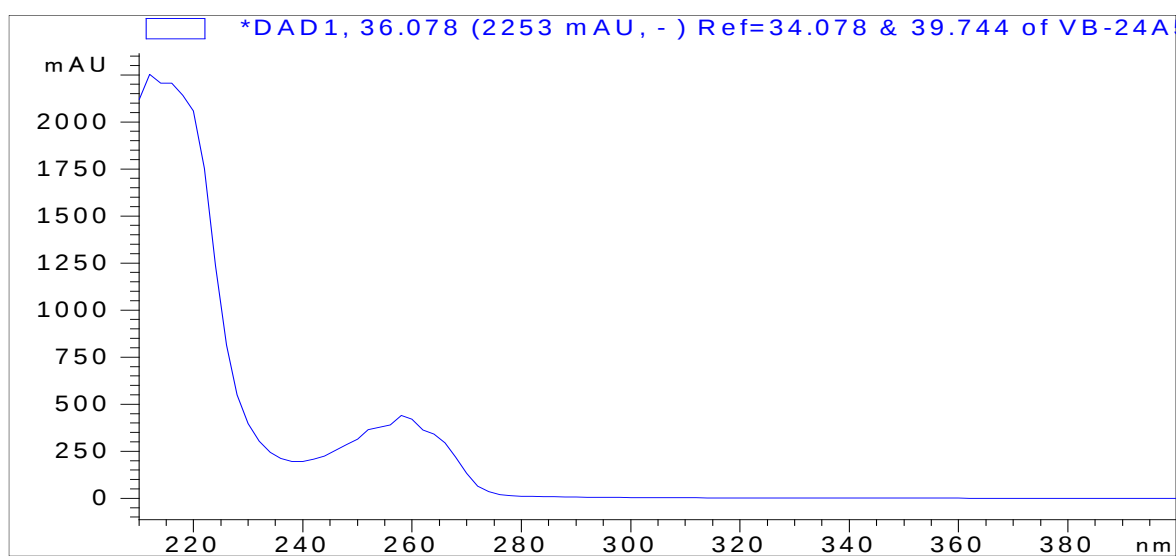


Hình P2.59. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất AS9

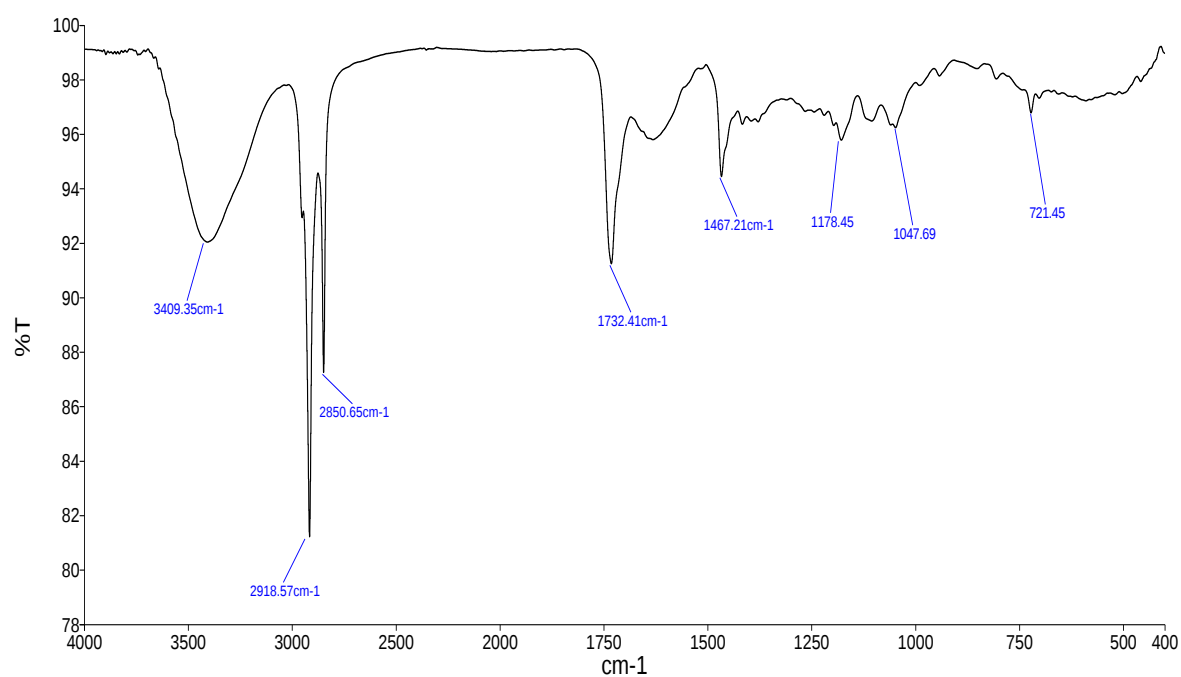
2.10. Hợp chất AS10



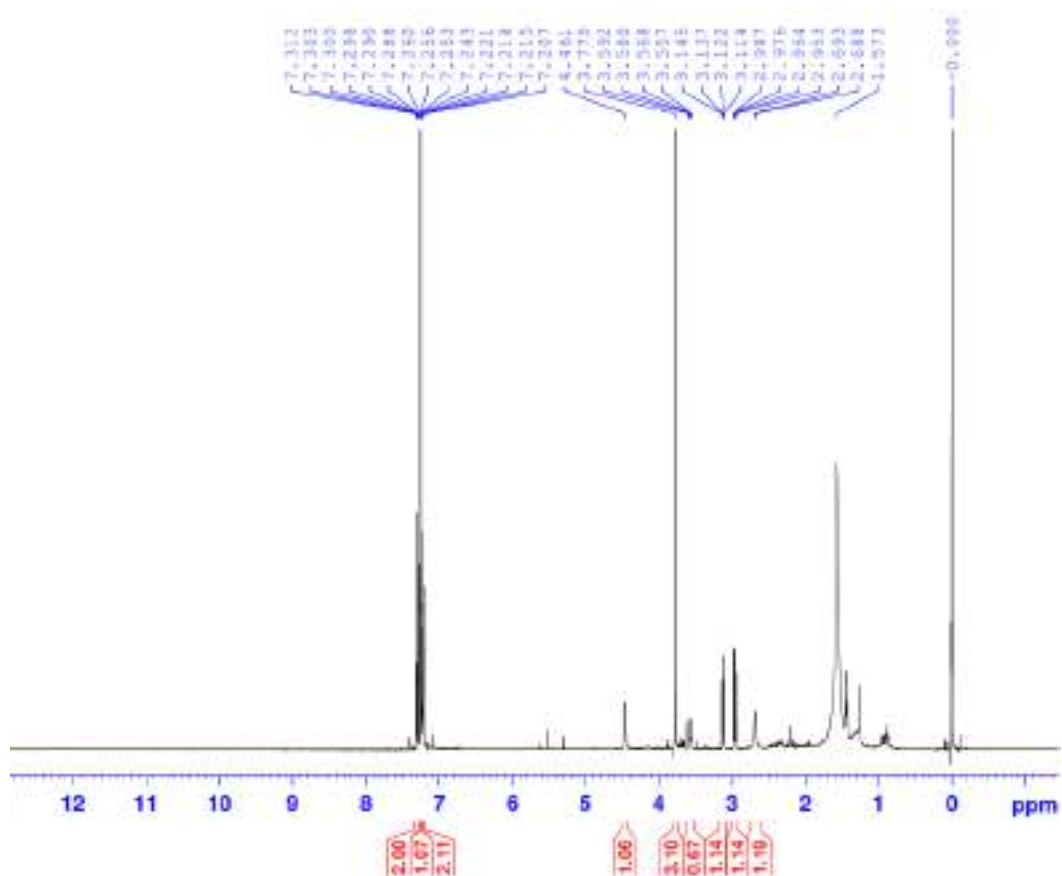
Hình P2.60. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS10**



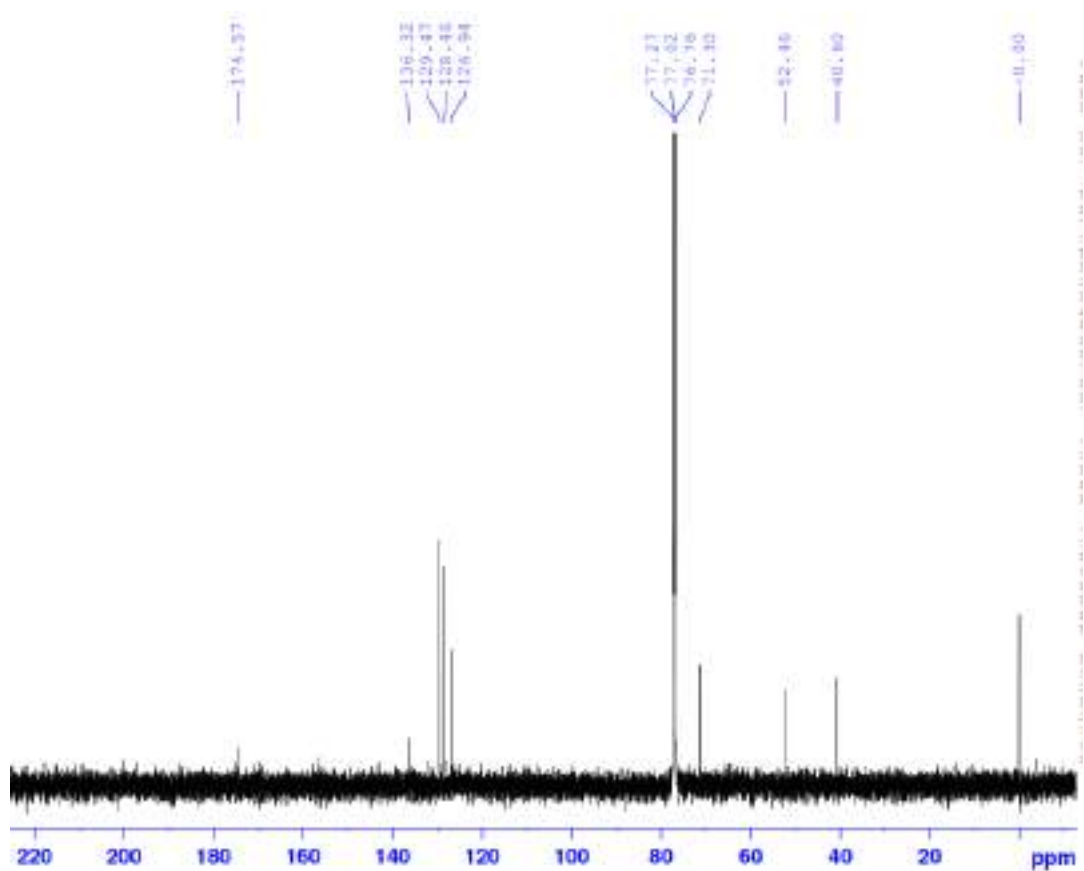
Hình P2.61. Phổ UV của hợp chất **AS10**



Hình P2.62. Phổ IR của hợp chất **AS10**

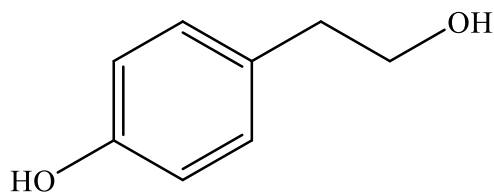


Hình P2.63. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **AS10**

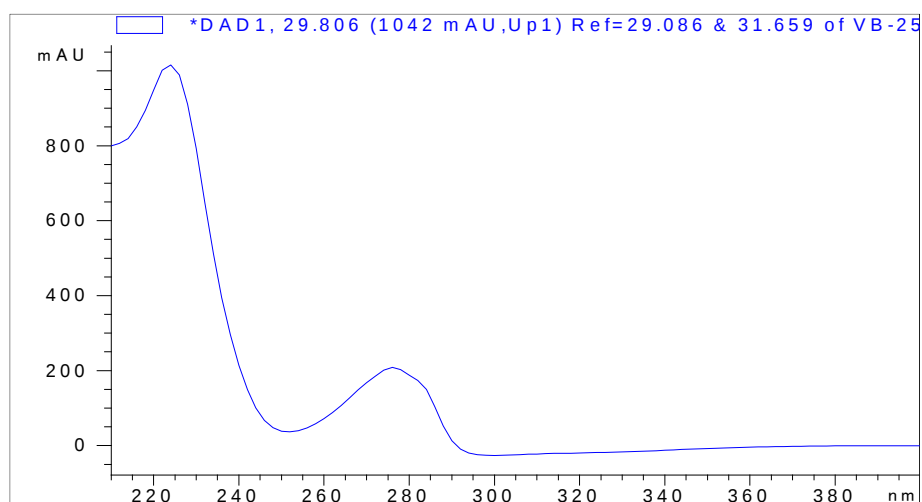


Hình P2.64. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS10**

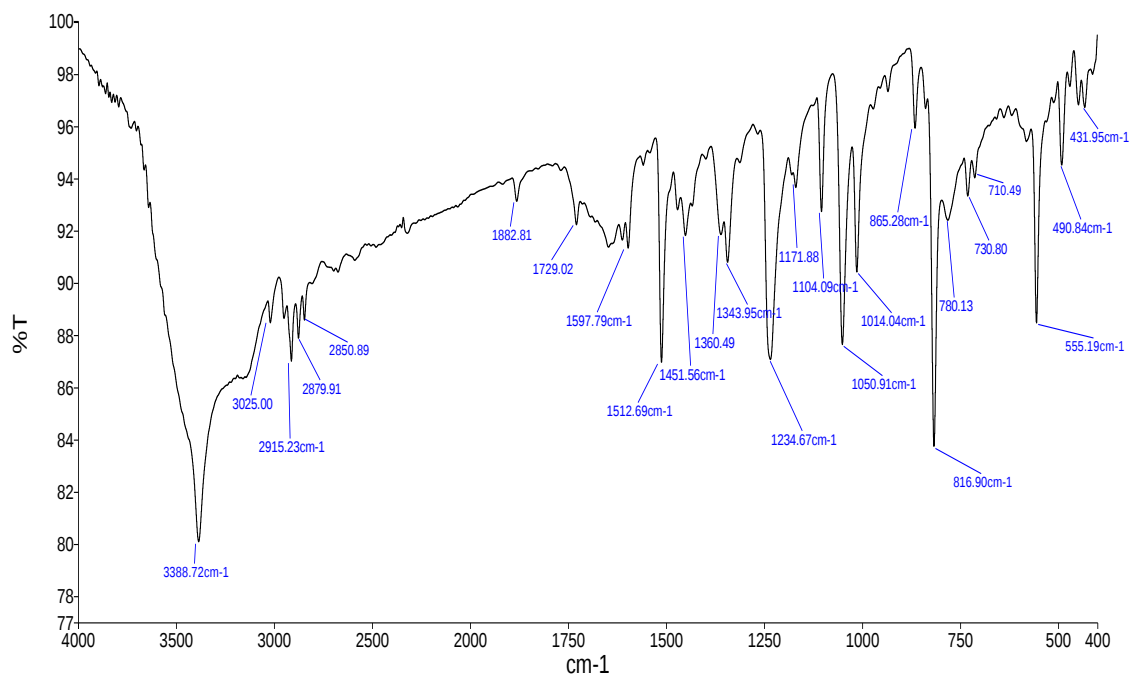
2.11. Hợp chất AS11



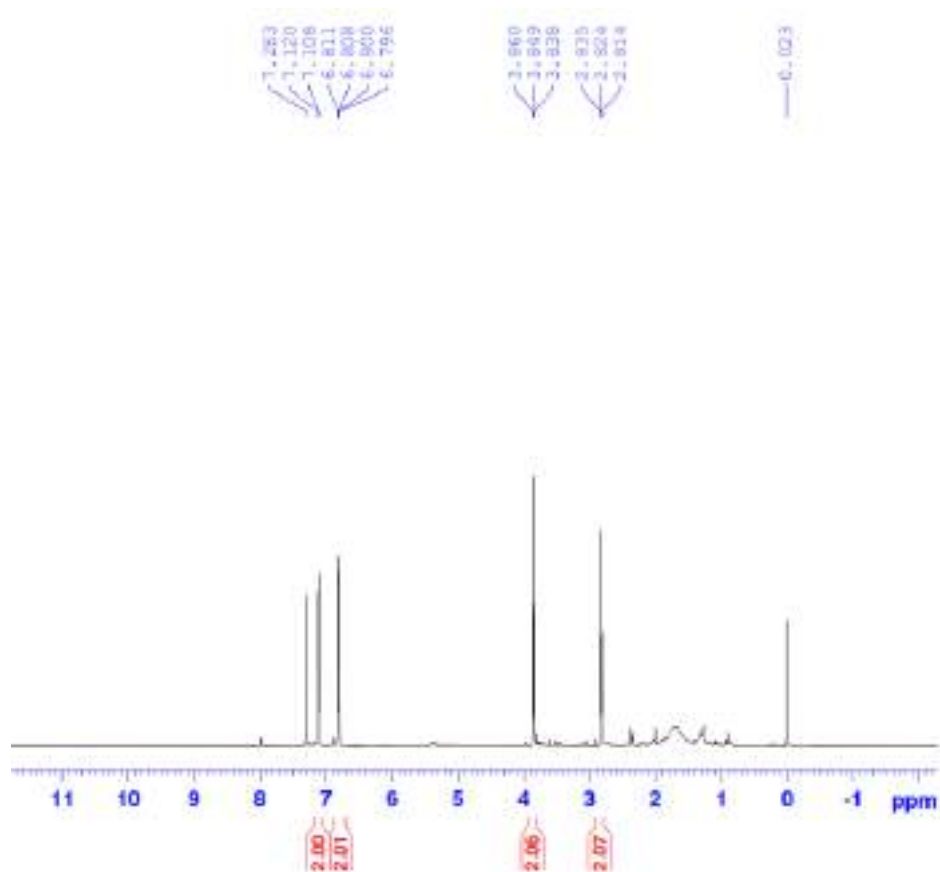
Hình 12.65. Cấu trúc hóa học của hợp chất AS11



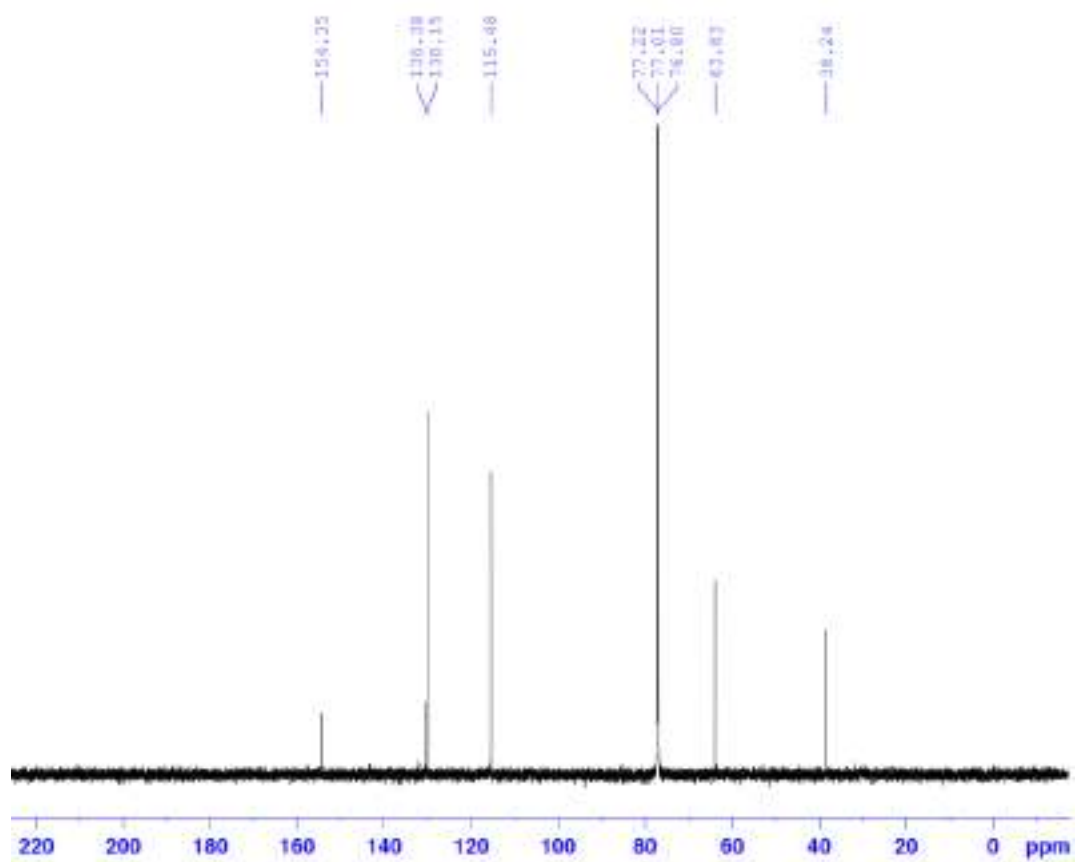
Hình P2.66. Phổ UV của hợp chất AS11



Hình P2.67. Phổ IR của hợp chất AS11

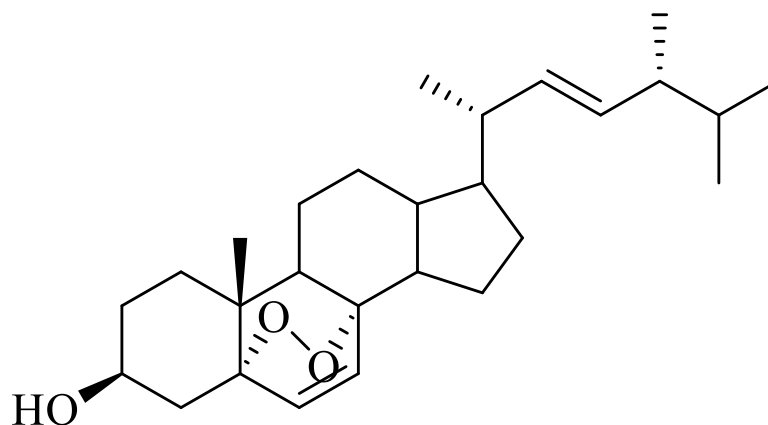


Hình P2.68. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **AS11**

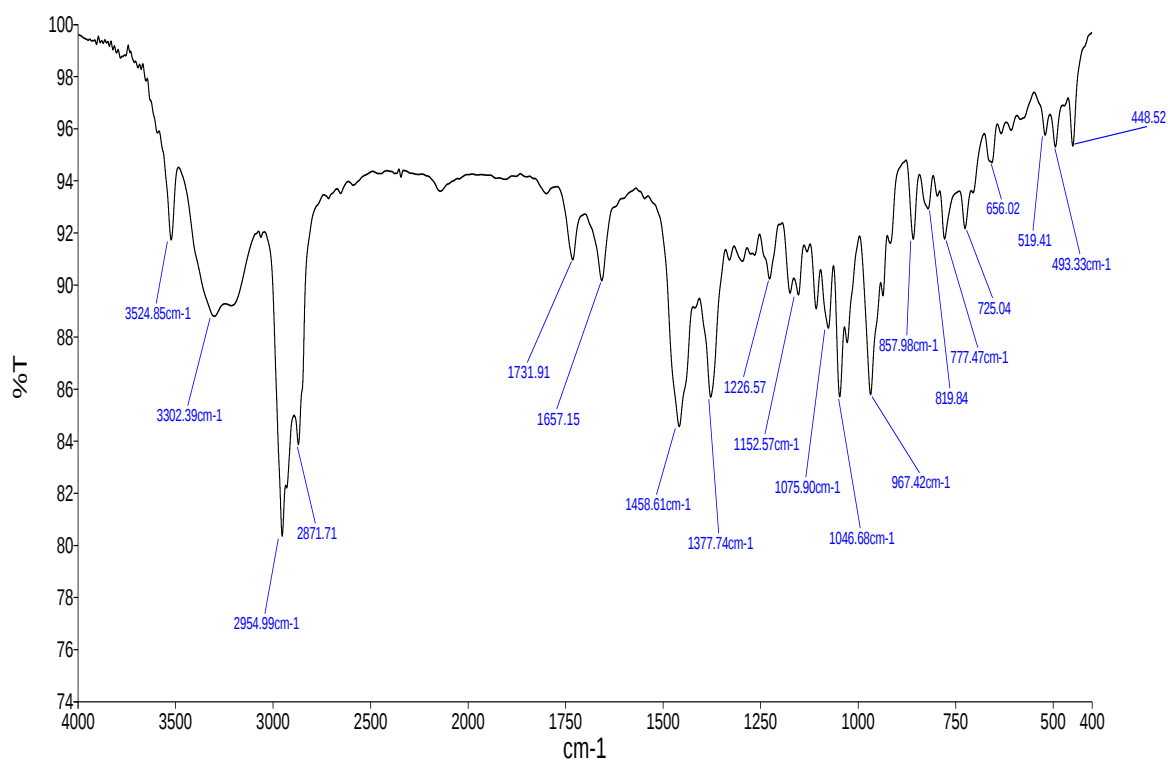


Hình P2.69. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS11**

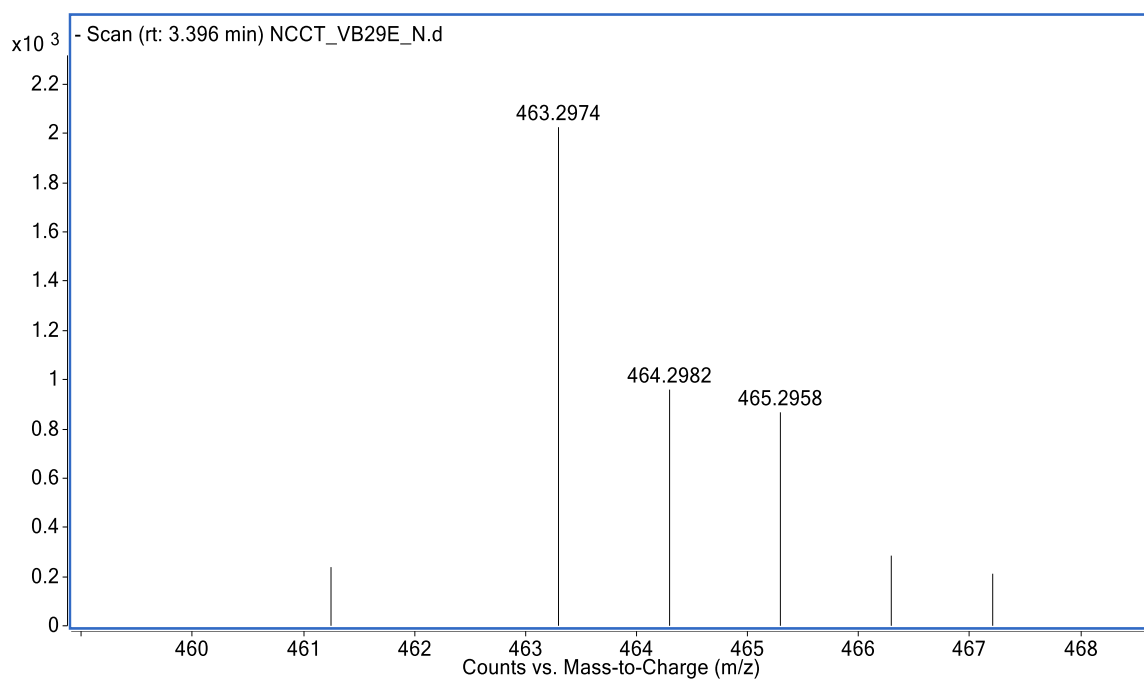
2.12. Hợp chất AS12



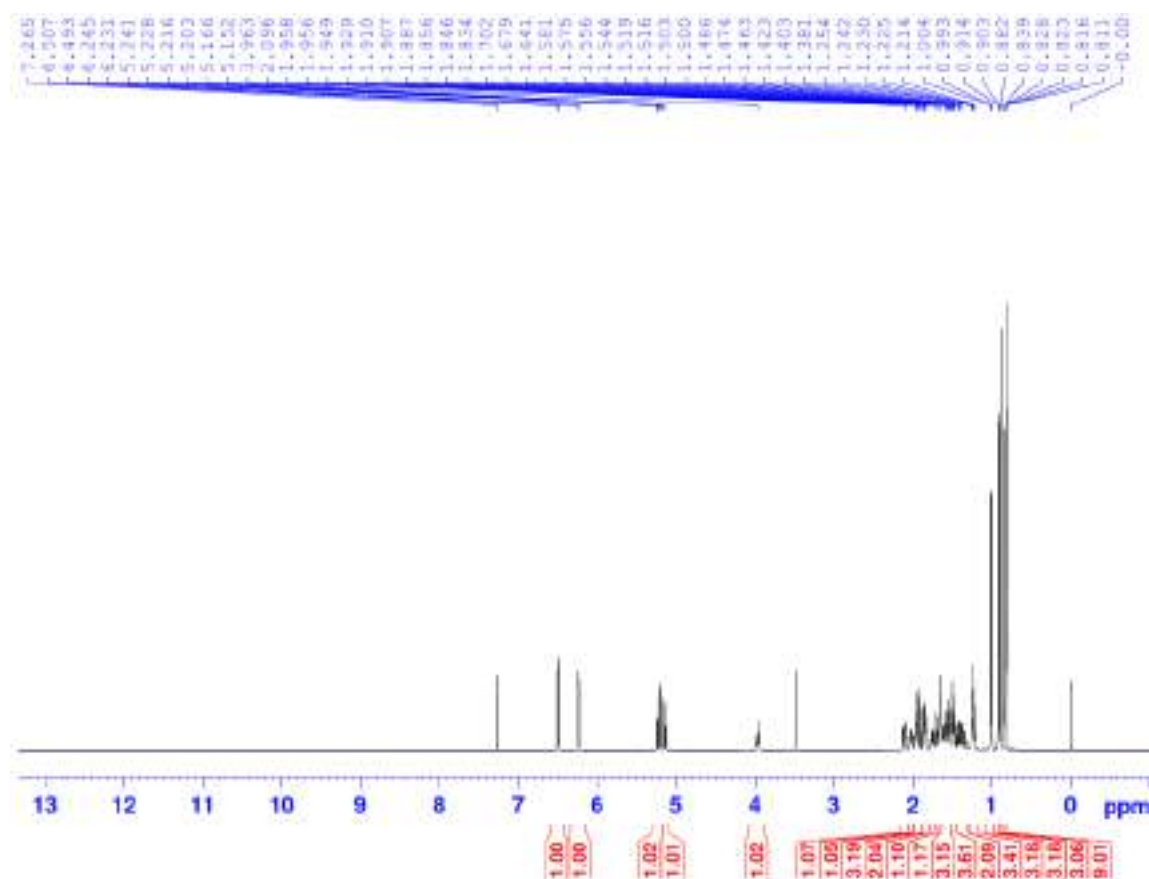
Hình 12.70. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS12**



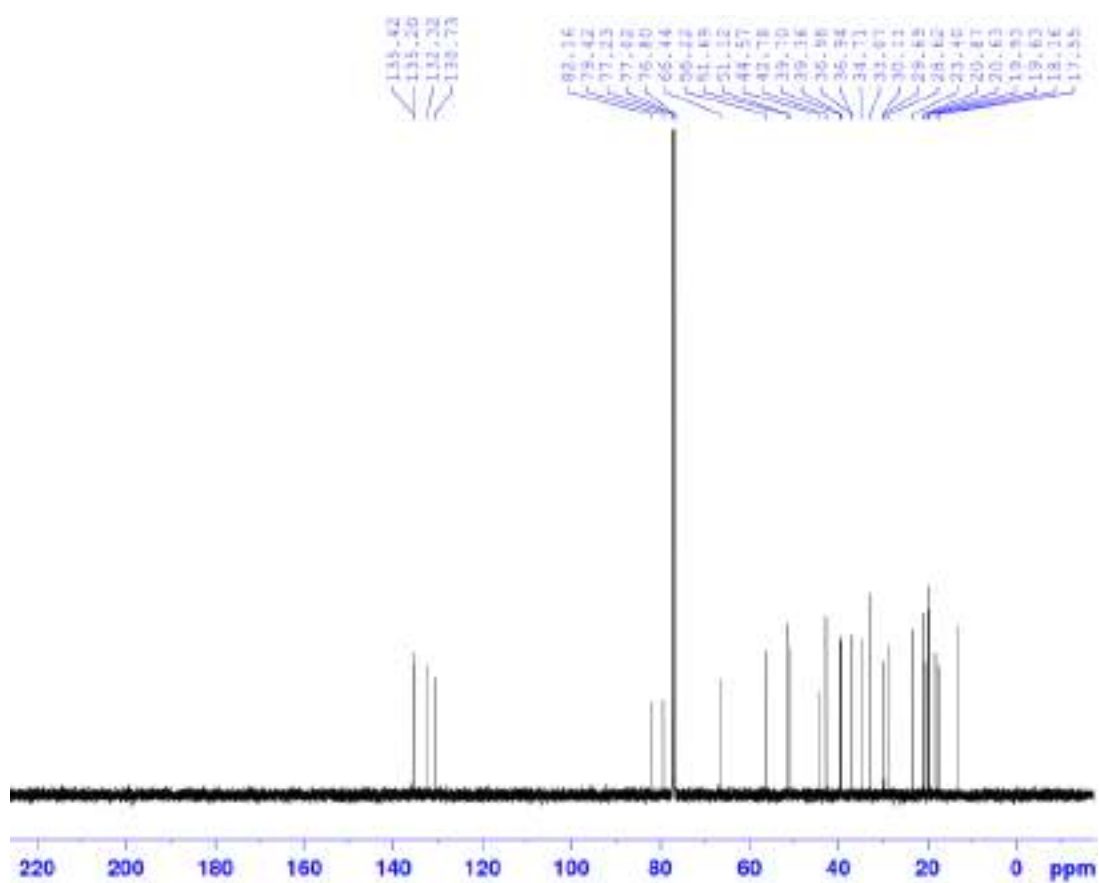
Hình P2.71. Phổ IR của hợp chất **AS12**



Hình P2.72. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS12**

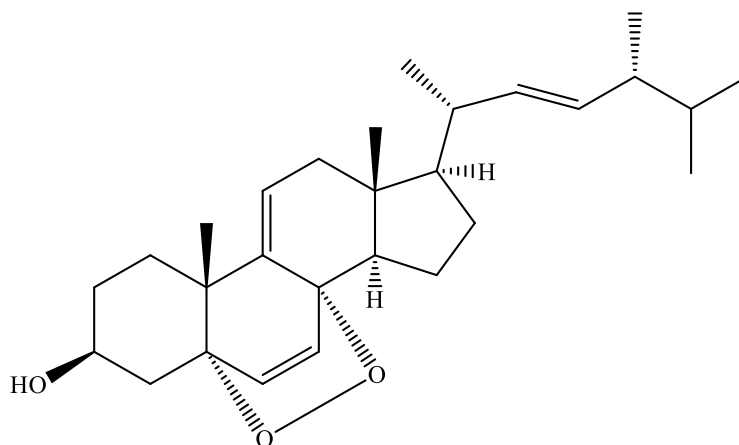


Hình P2.73. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **AS12**

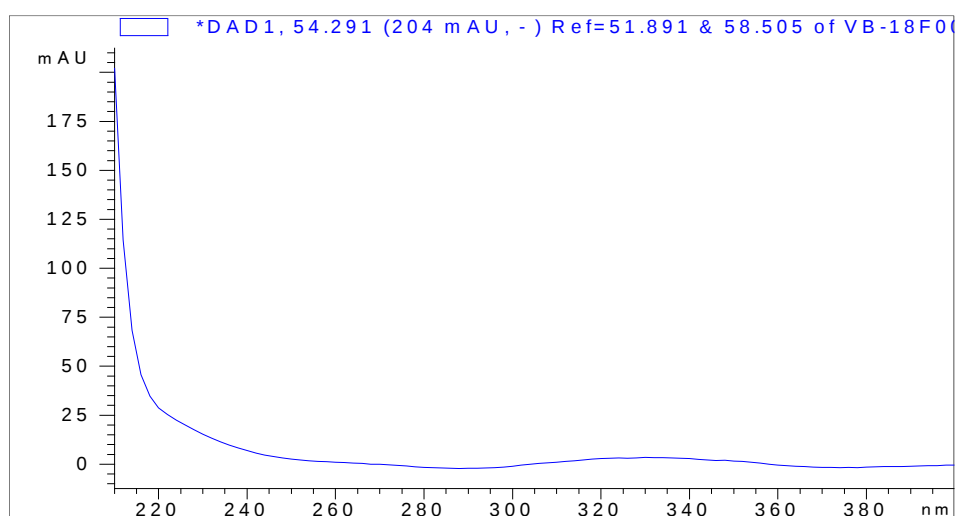


Hình P2.74. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS12**

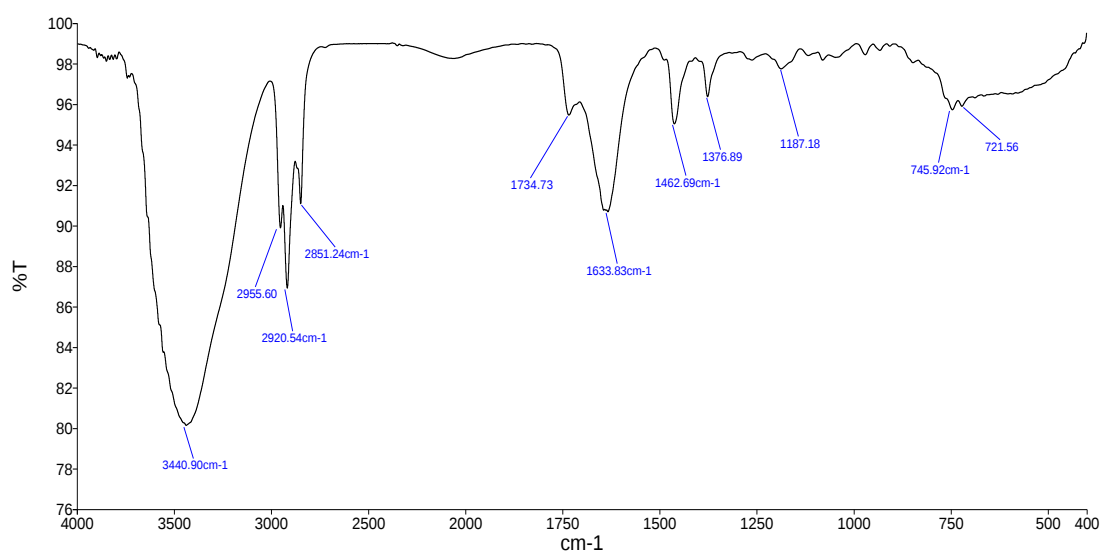
2.13. Hợp chất AS13



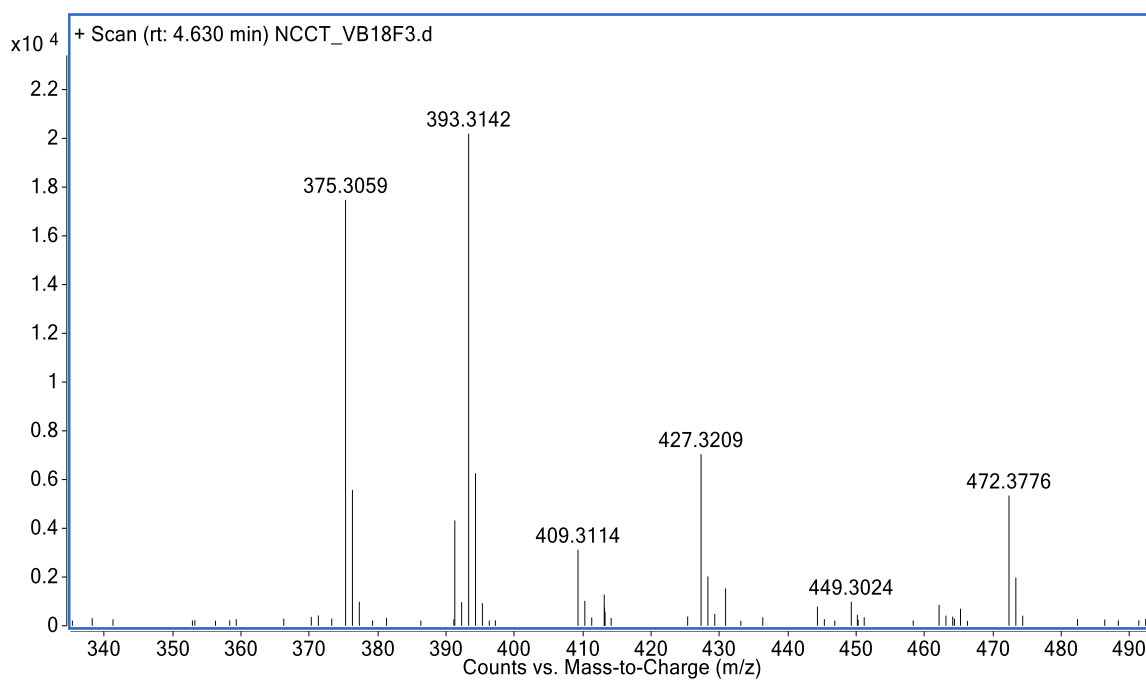
Hình P2.75. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS13**



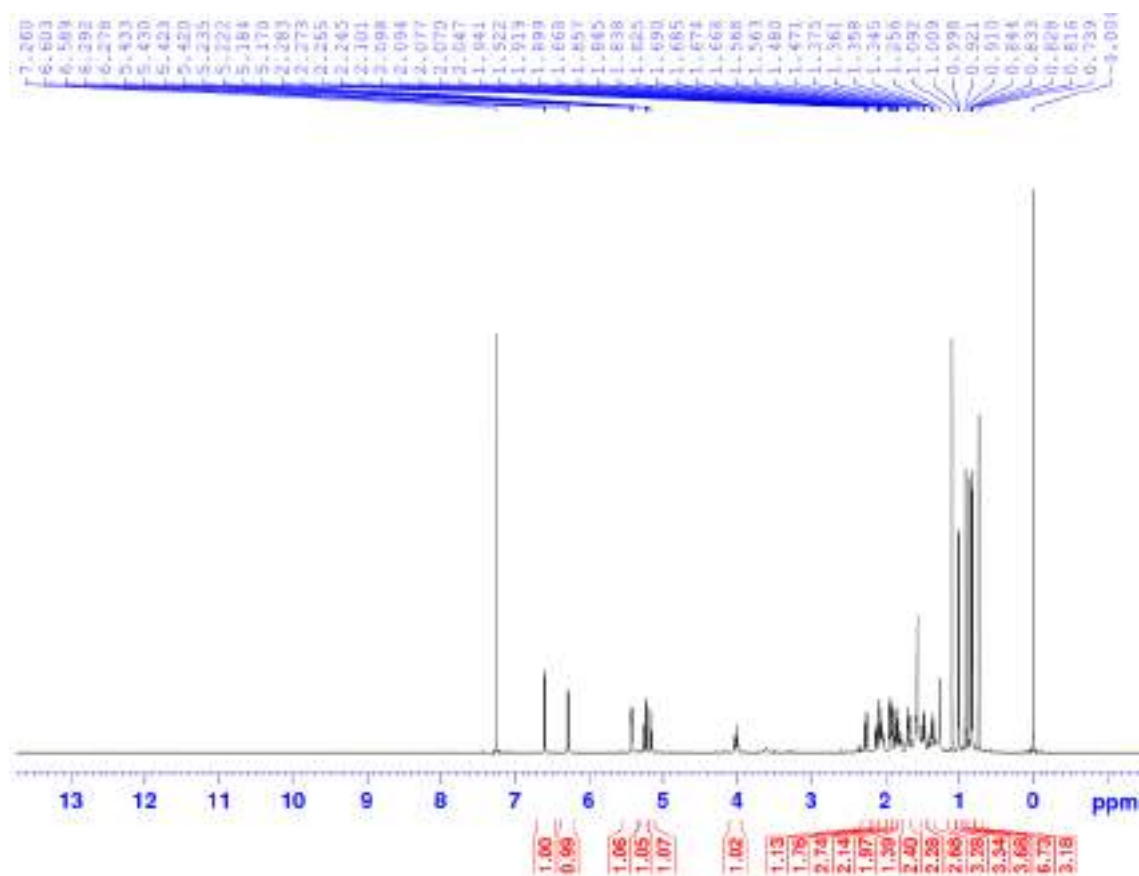
Hình P2.76. Phổ UV của hợp chất **AS13**



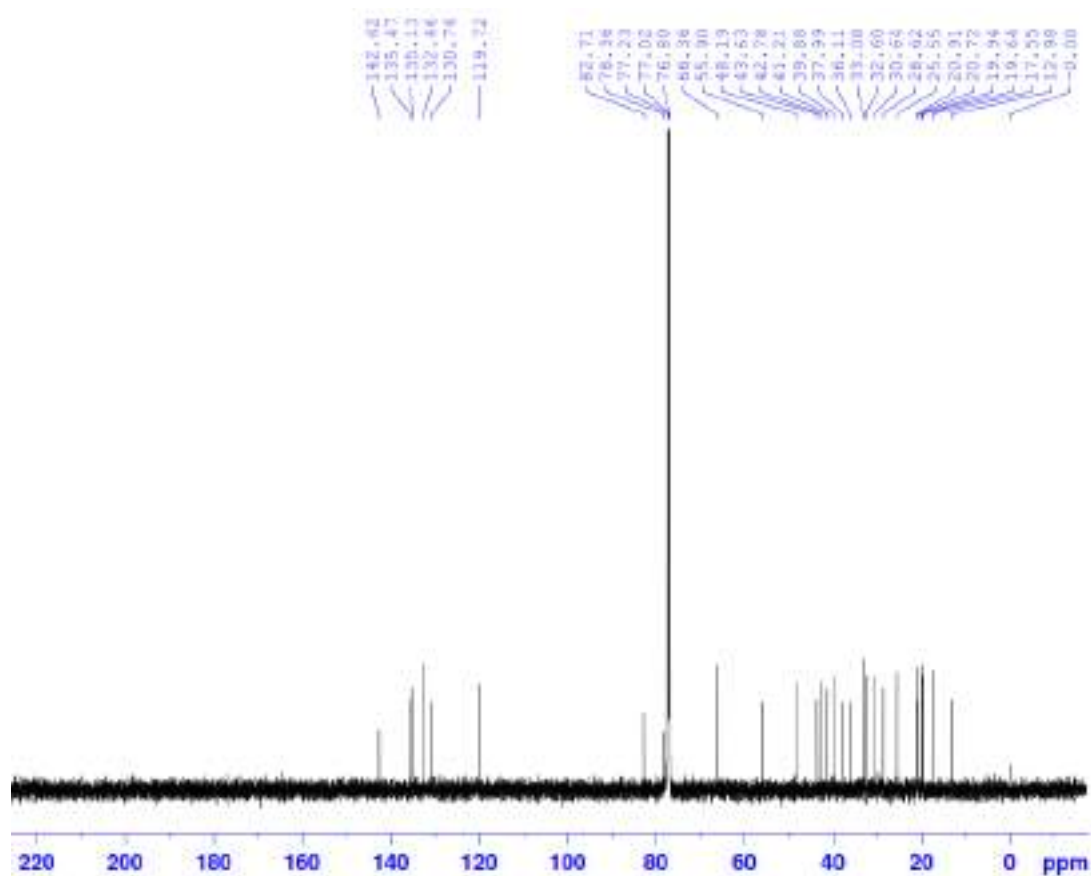
Hình P2.77. Phổ IR của hợp chất **AS13**



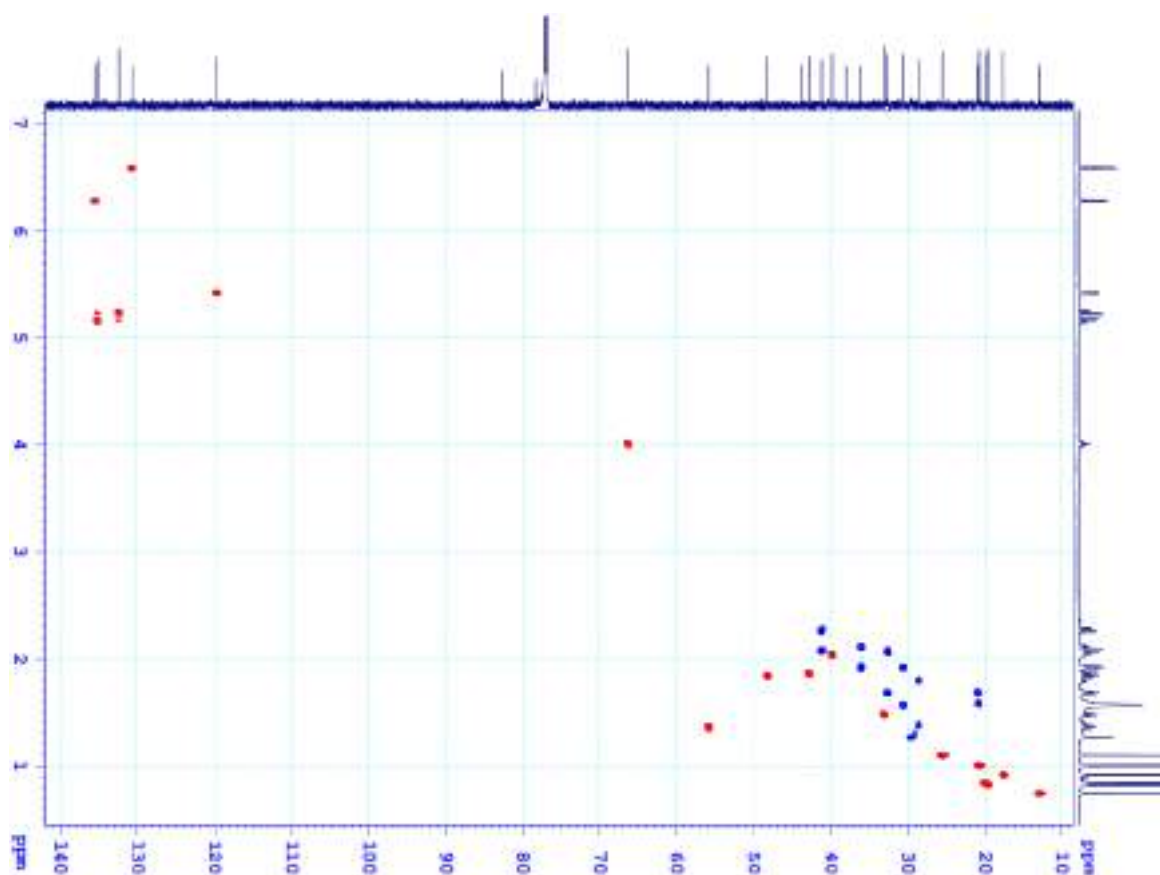
Hình P2.78. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS13**



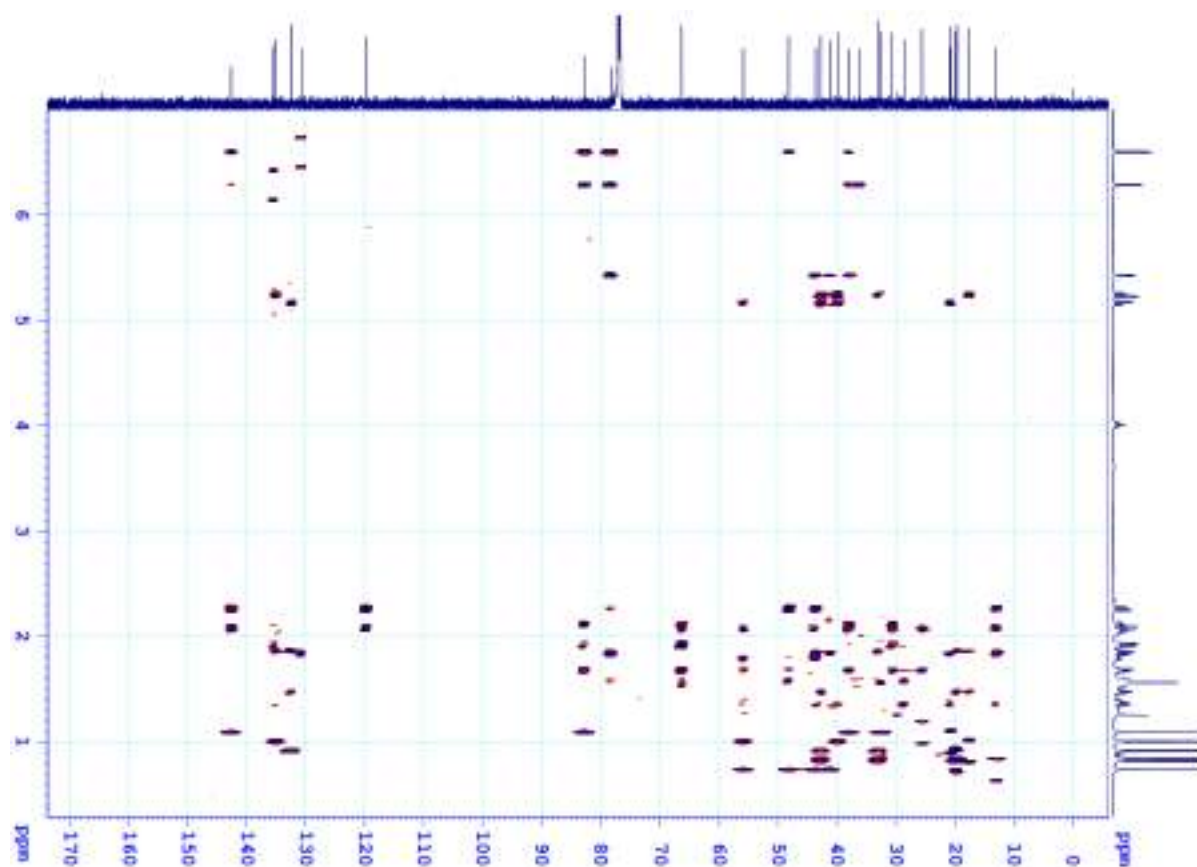
Hình P2.79. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **AS13**



Hình P2.80. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS13**

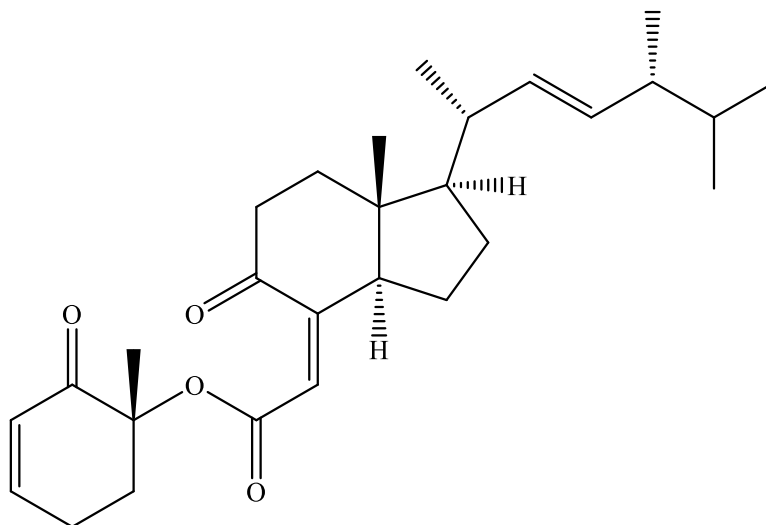


Hình P2.81. Phổ HSQC của hợp chất **AS13**

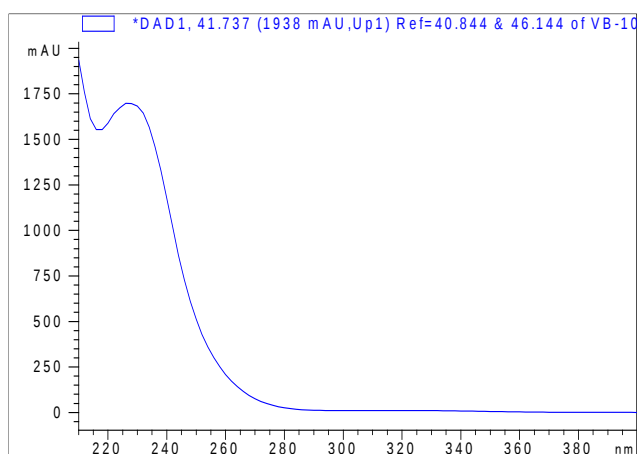


Hình P2.82. Phổ HMBC của hợp chất **AS13**

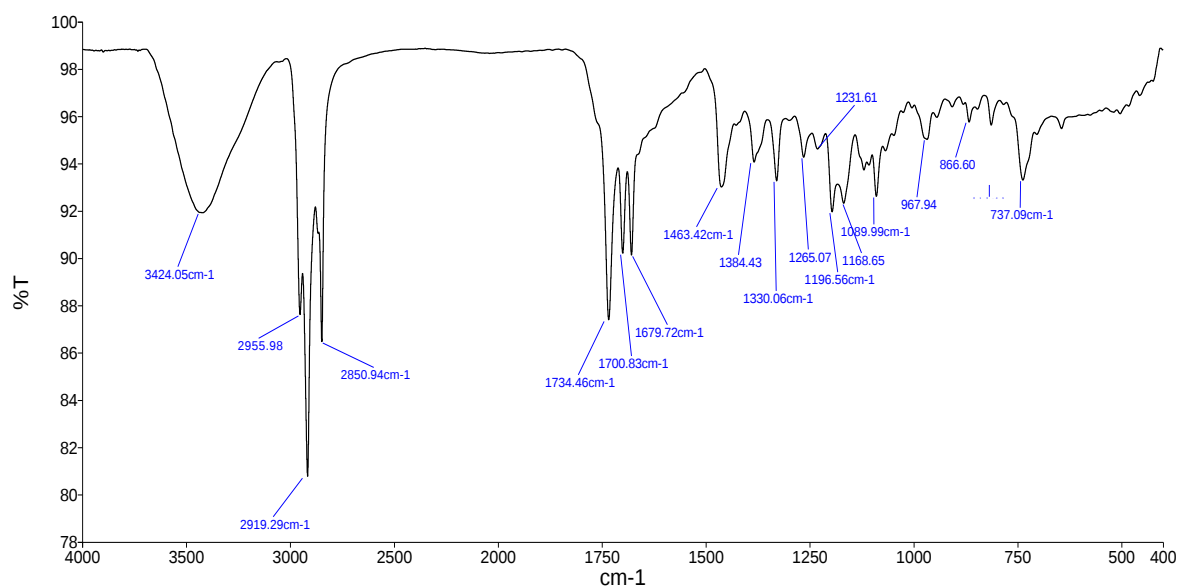
2.14. Hợp chất AS14



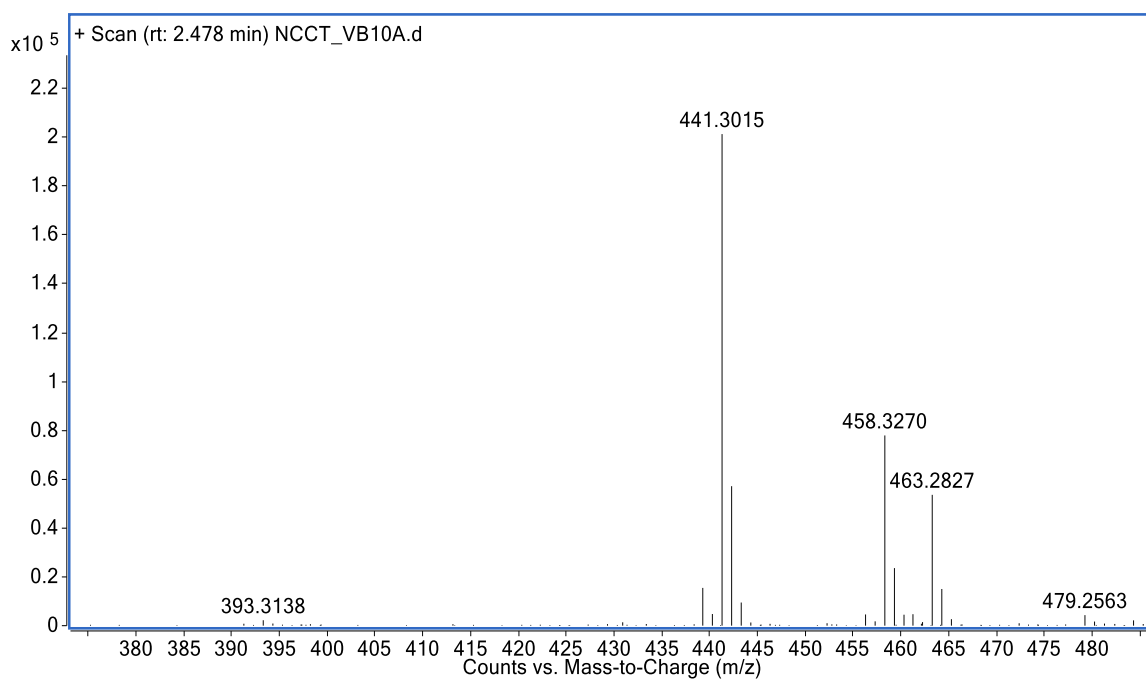
Hình P2.83. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS14**



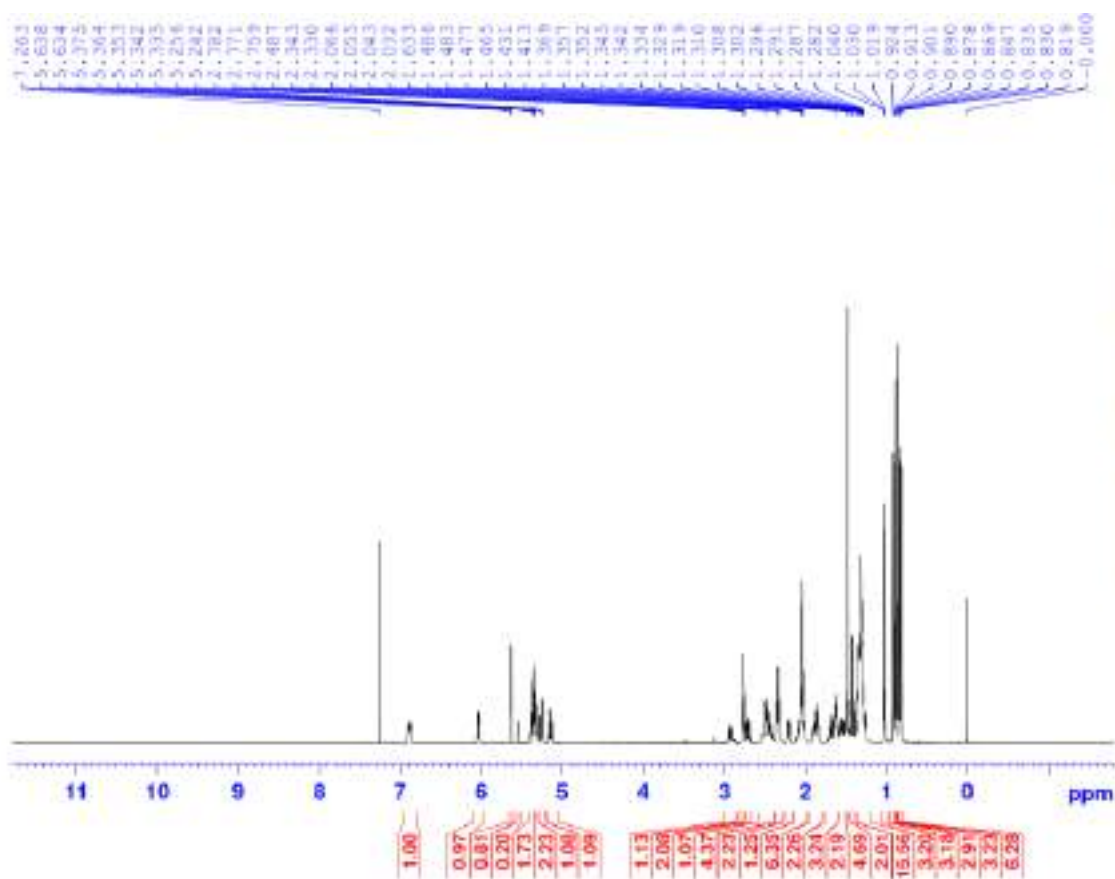
Hình P2.84. Phổ UV của hợp chất **AS14**



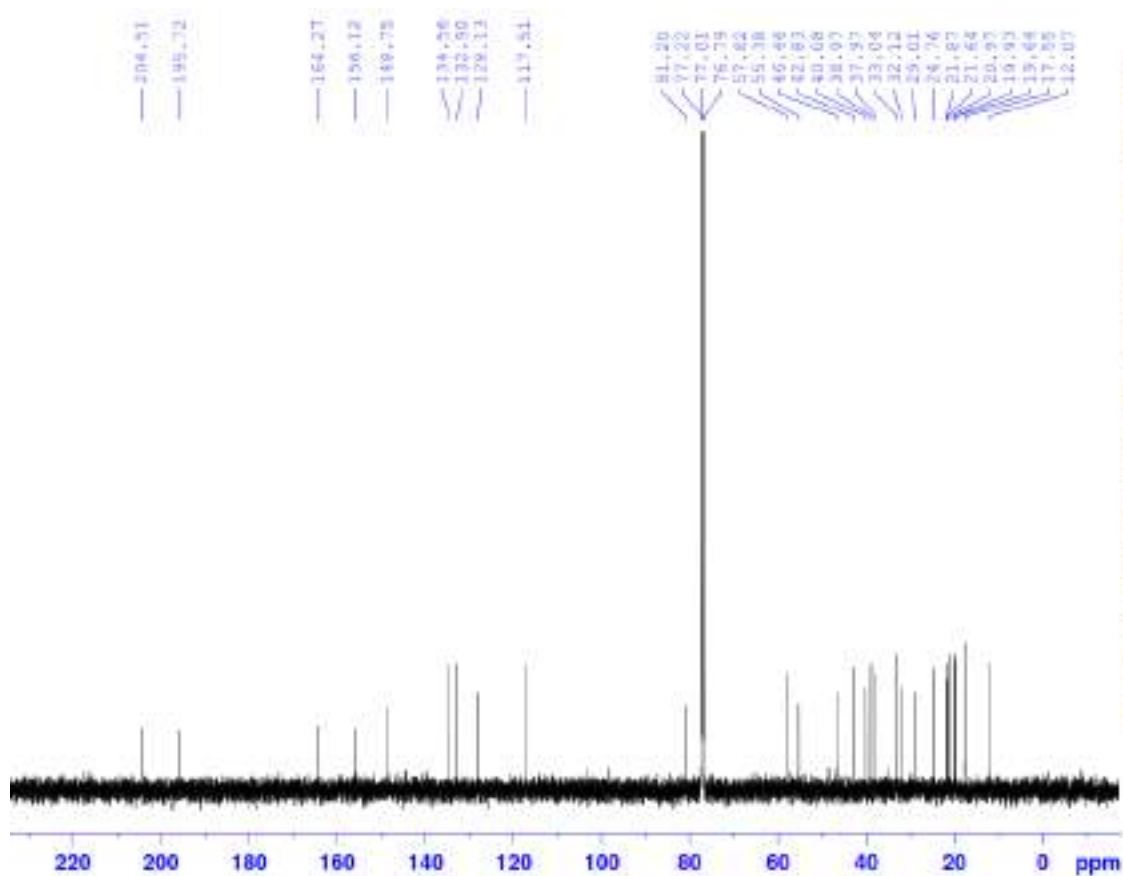
Hình P2.85. Phổ IR của hợp chất **AS14**



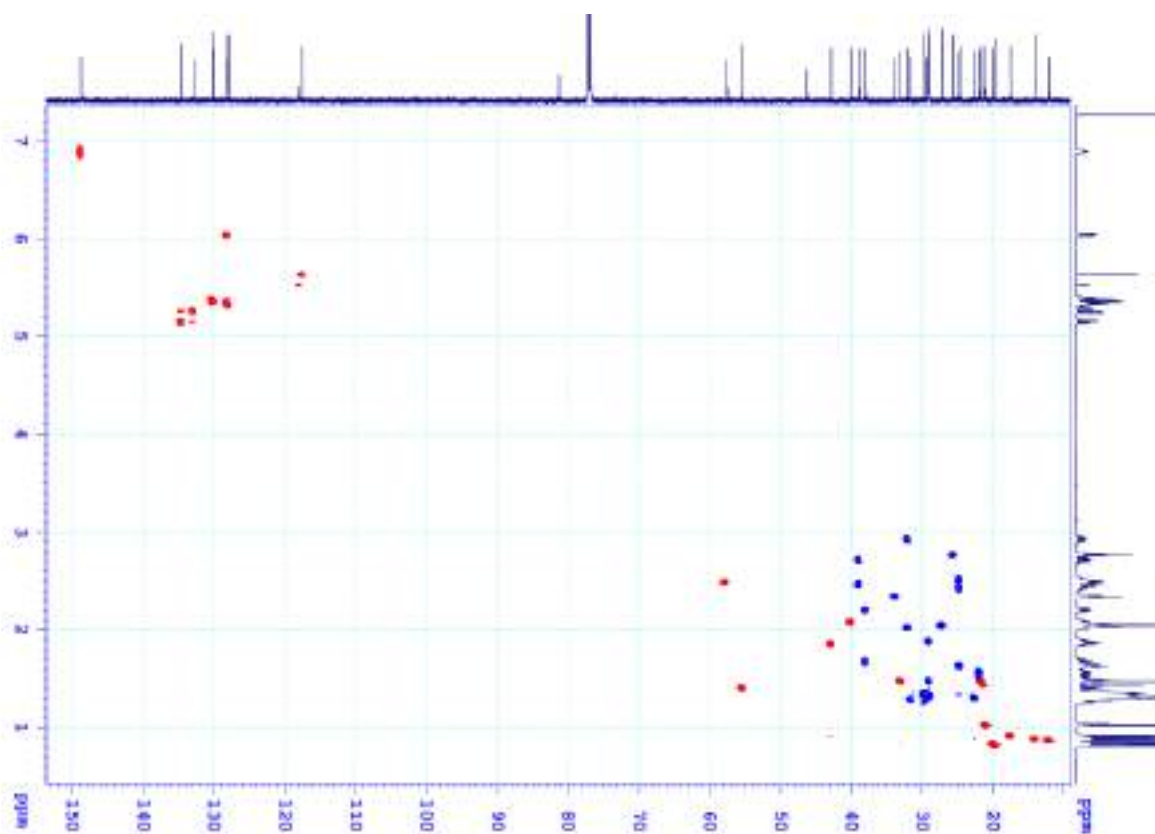
Hình P2.86. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS14**



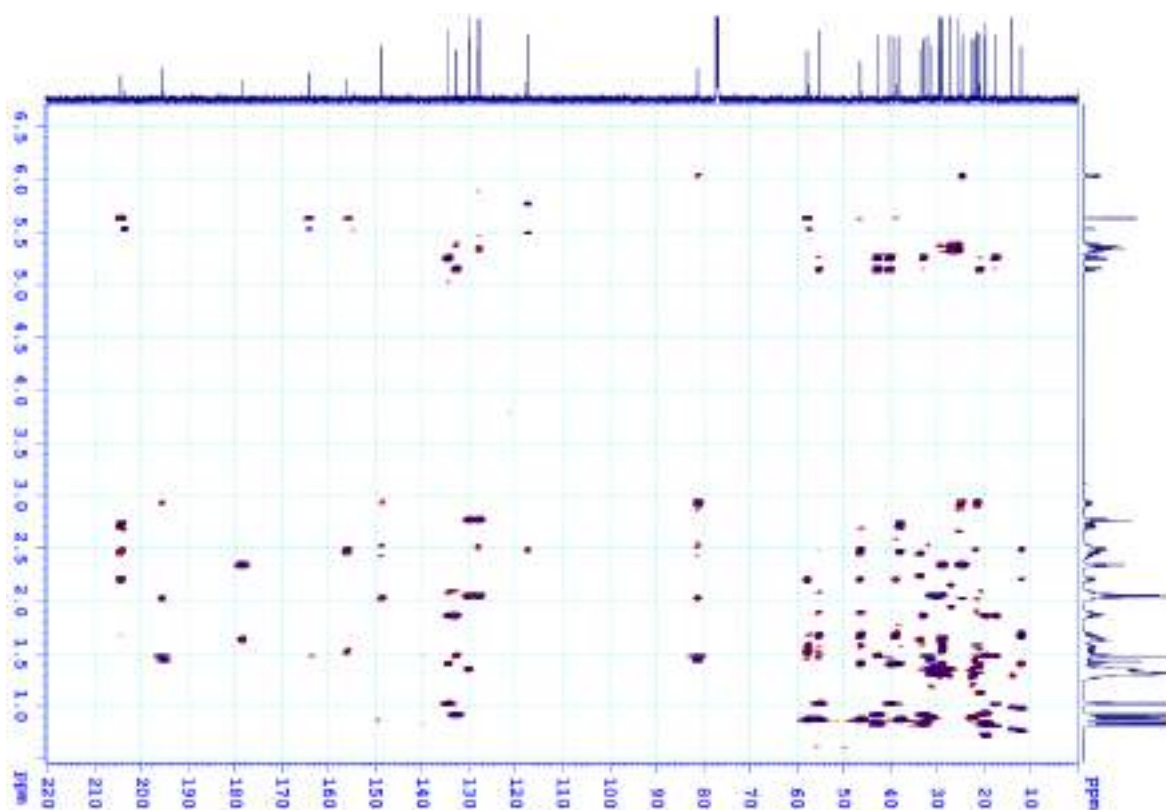
Hình P2.87. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **AS14**



Hình P2.88. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS14**

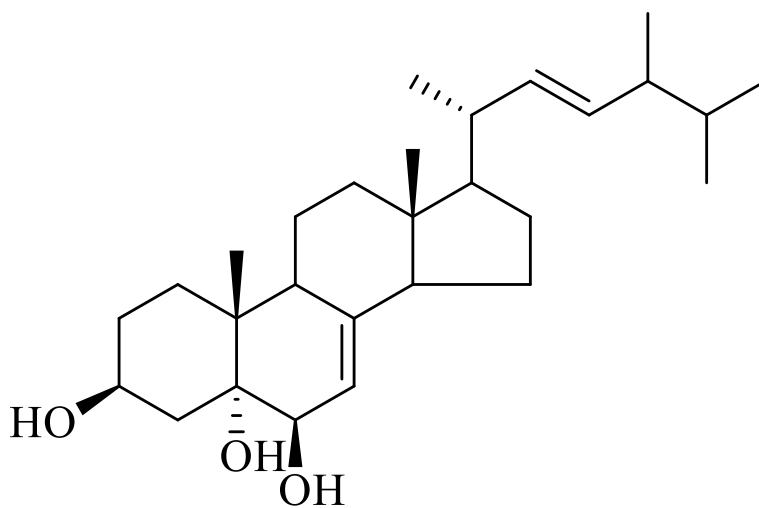


Hình P2.89. Phổ HSQC của hợp chất **AS14**

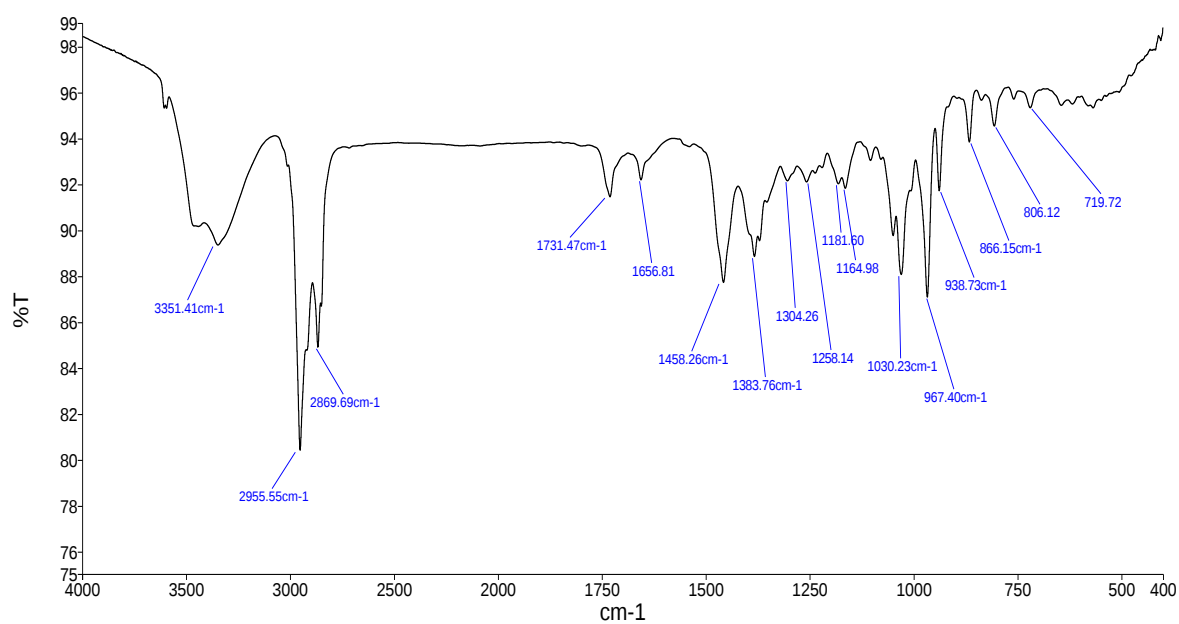


Hình P2.90. Phổ HMBC của hợp chất **AS142**.

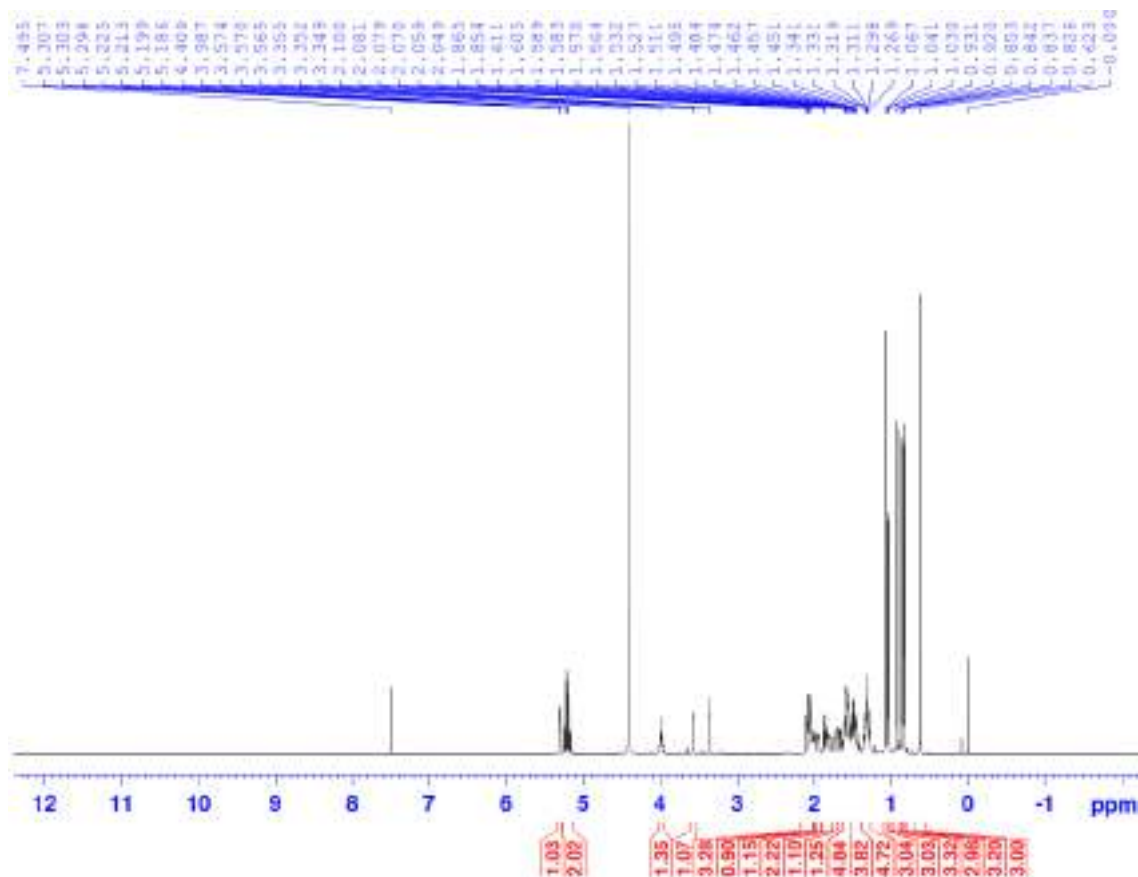
2.15. Hợp chất AS15



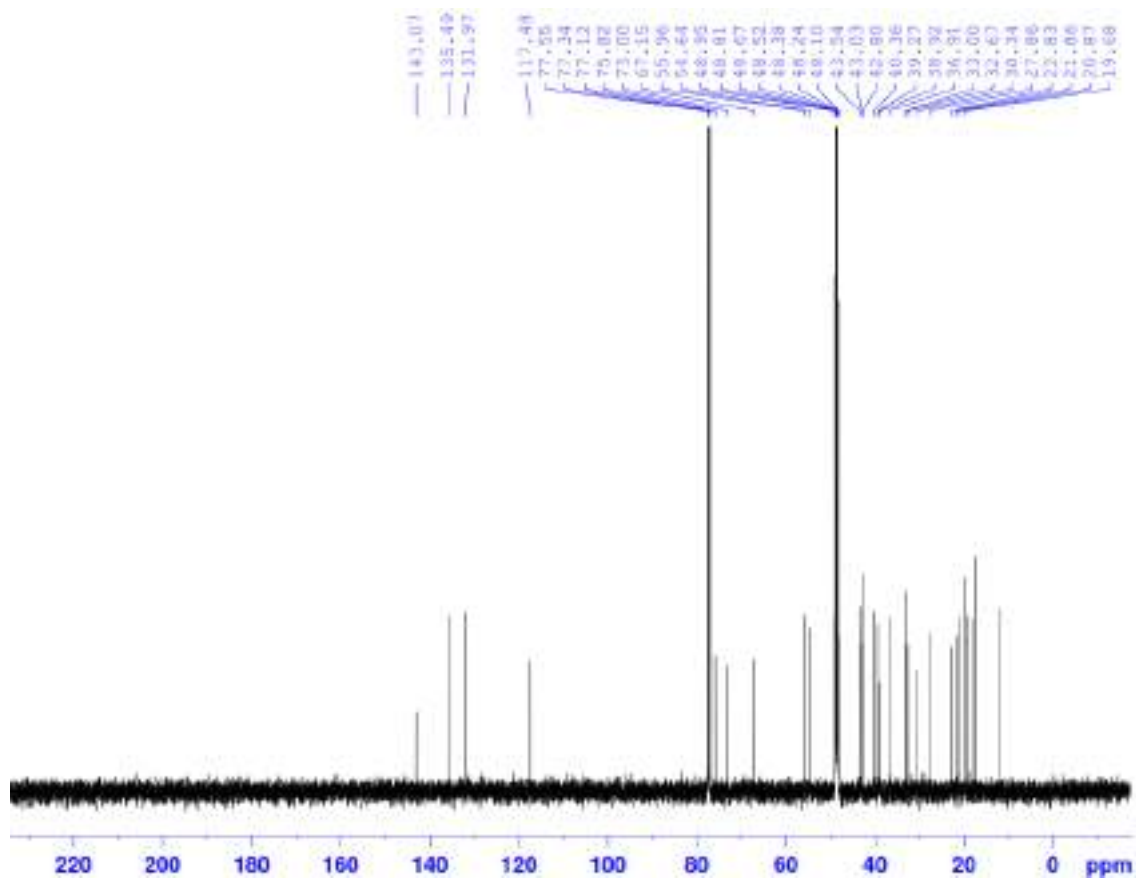
Hình P2.91. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS15**



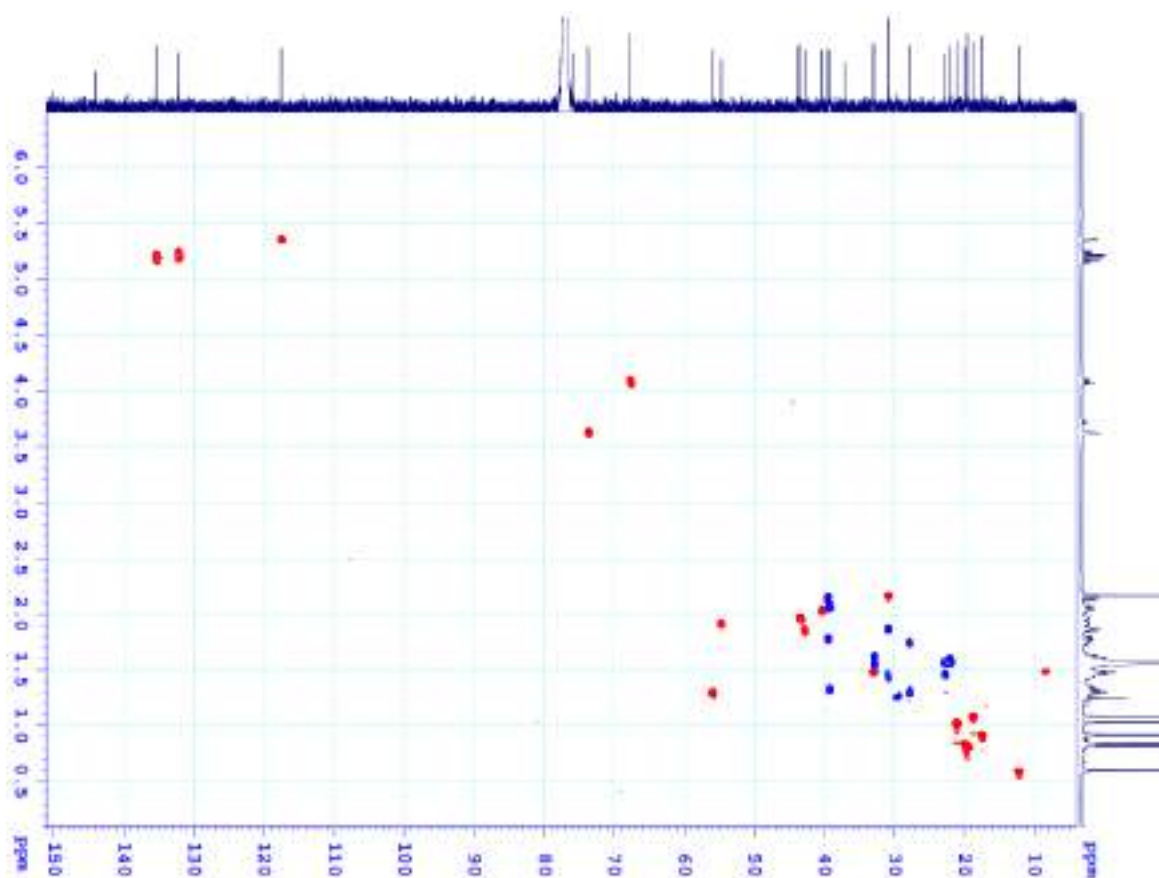
Hình P2.92. Phổ IR của hợp chất AS15



Hình P2.93. Phổ ¹H-NMR của hợp chất AS15

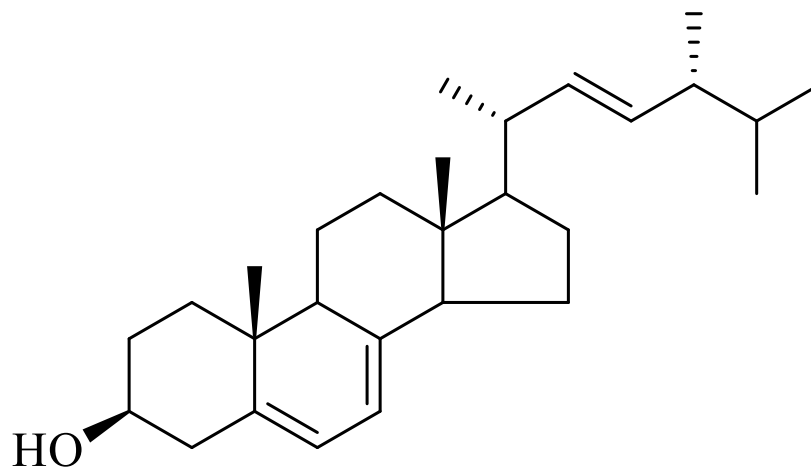


Hình P2.94. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS15**

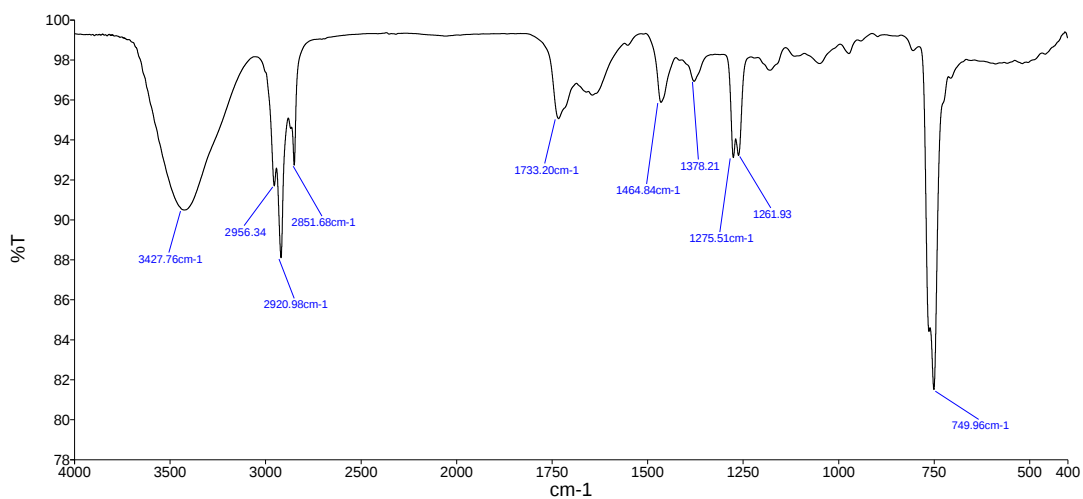


Hình P2.95. Phổ HSQC của hợp chất **AS15**

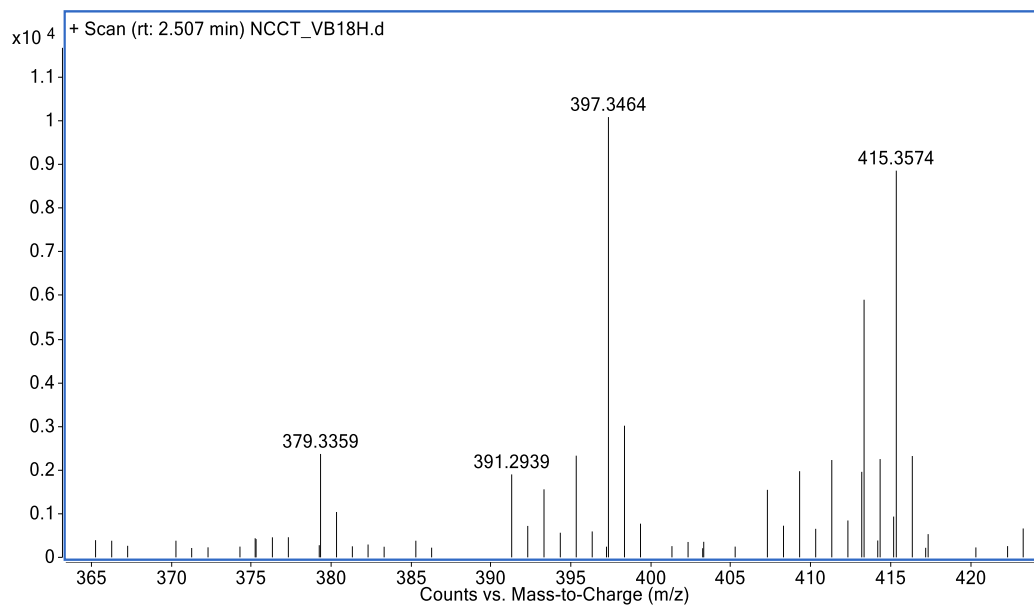
2.16. Hợp chất AS16



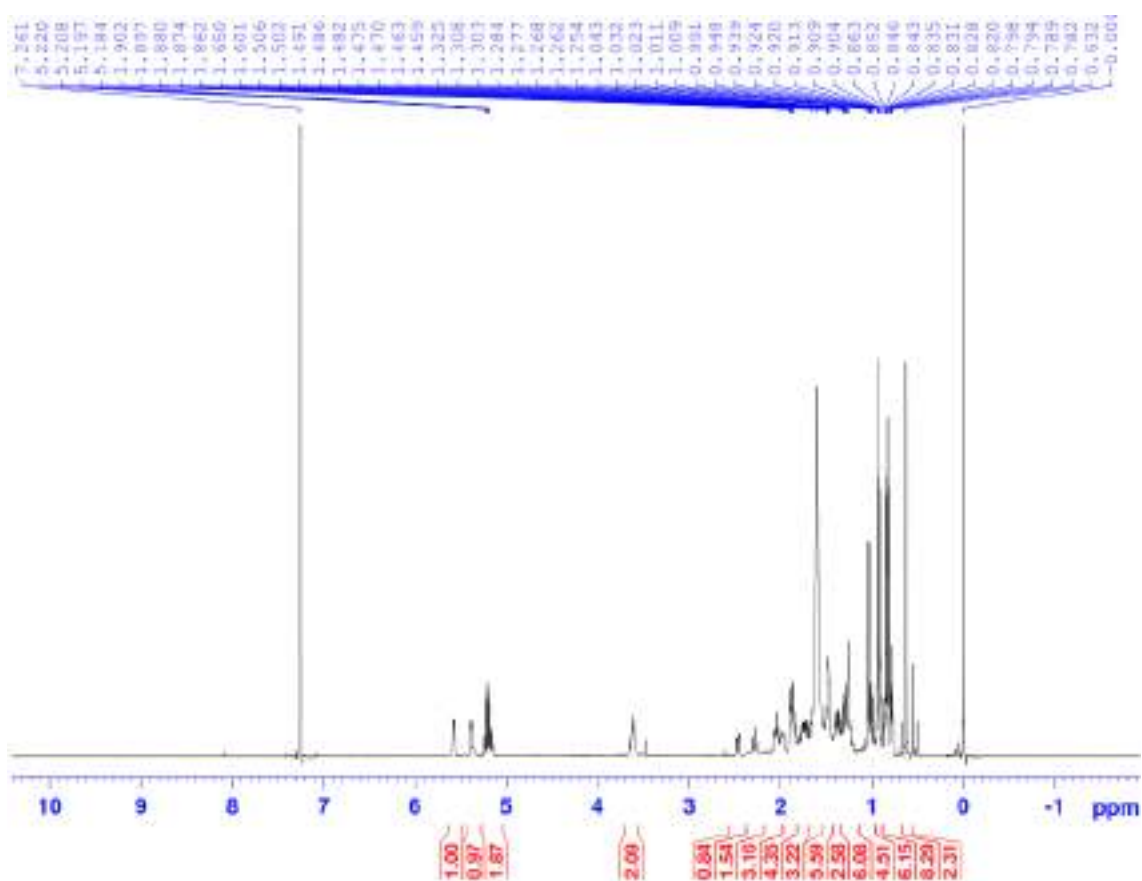
Hình P2.96. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS16**



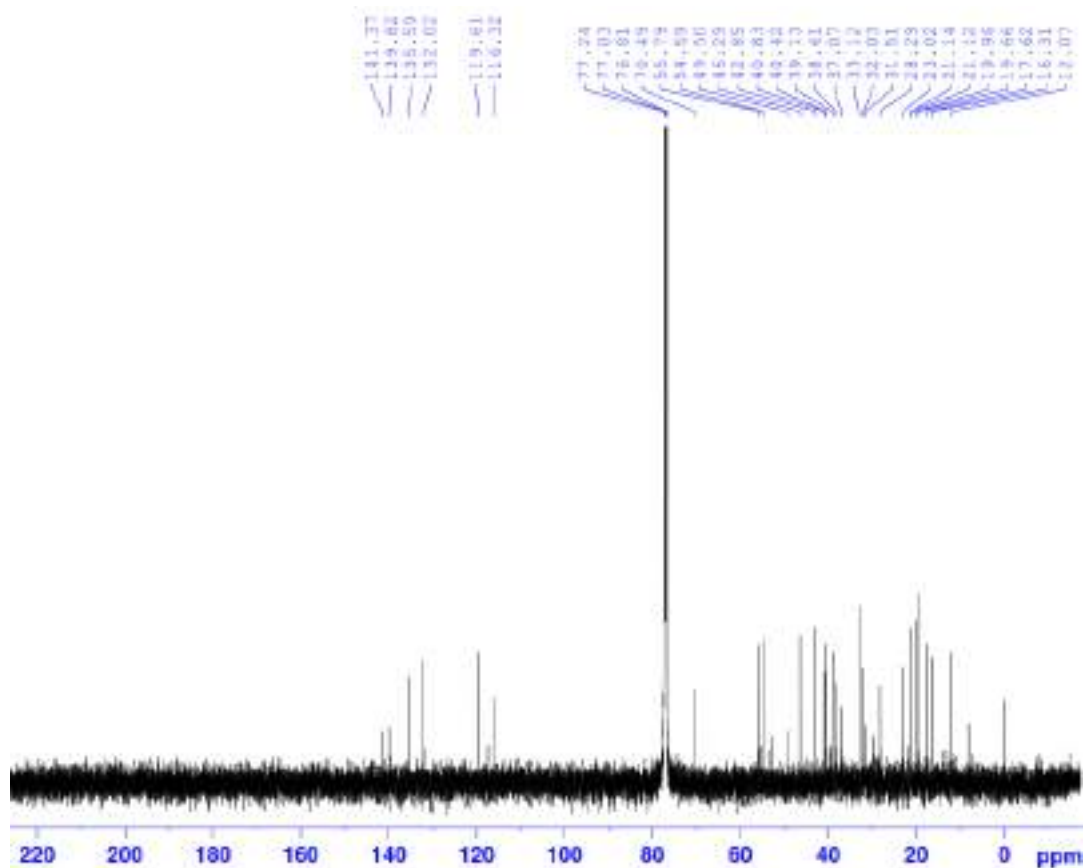
Hình P2.97. Phổ IR của hợp chất **AS16**



Hình P2.98. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS16**

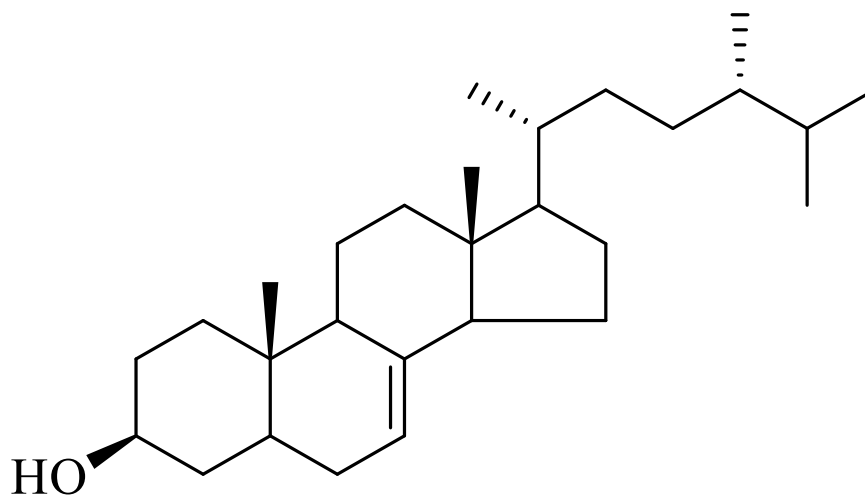


Hình P2.99. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **AS16**

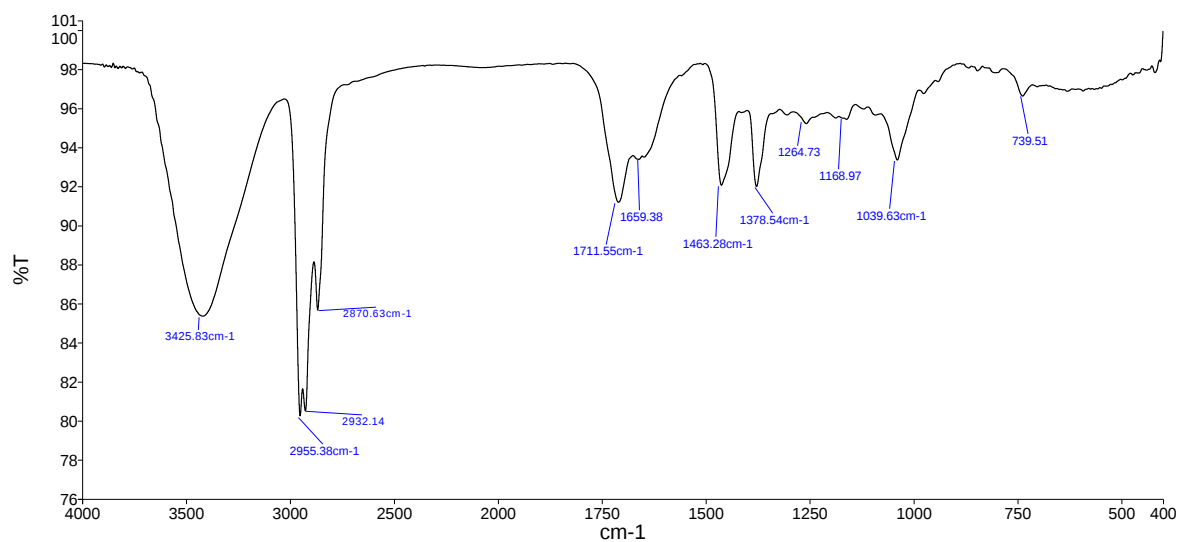


Hình P2.100. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS16**

2.17. Hợp chất AS17

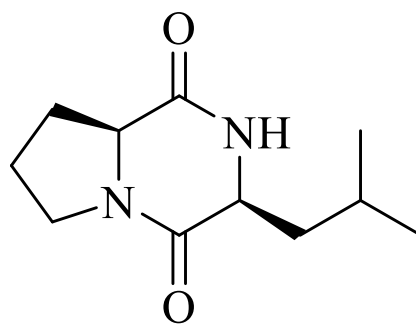


Hình P2.101. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS17**

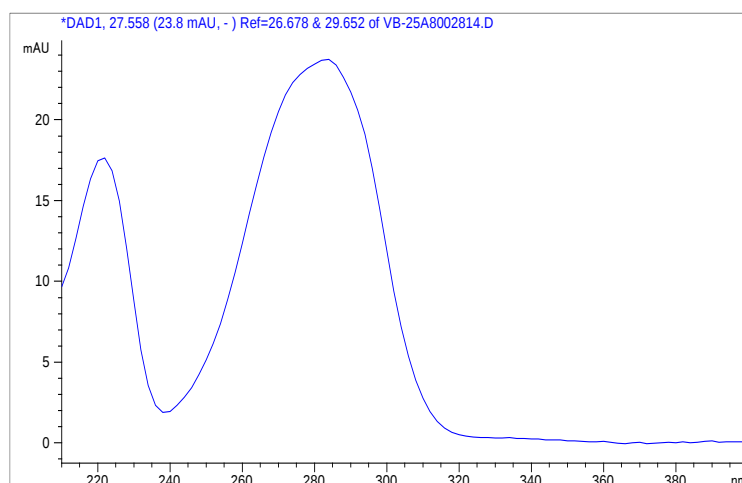


Hình P2.102. Phổ IR của hợp chất **AS17**

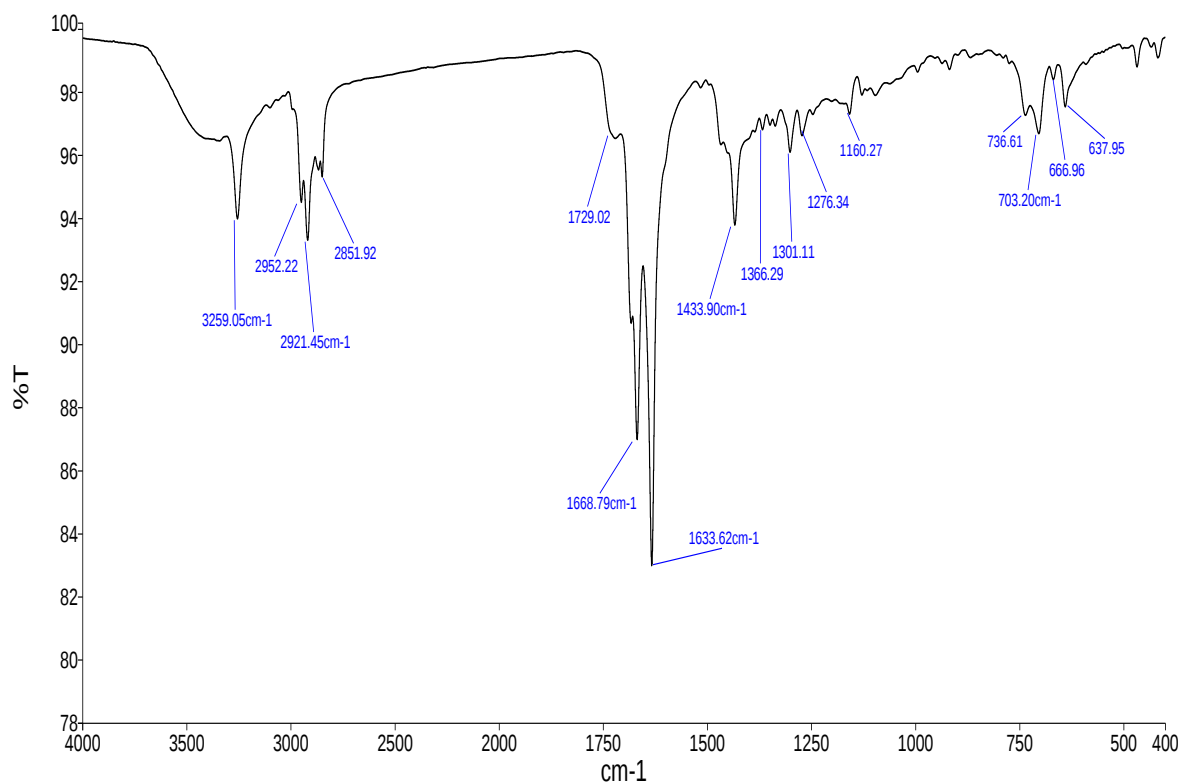
2.18. Hợp chất AS18



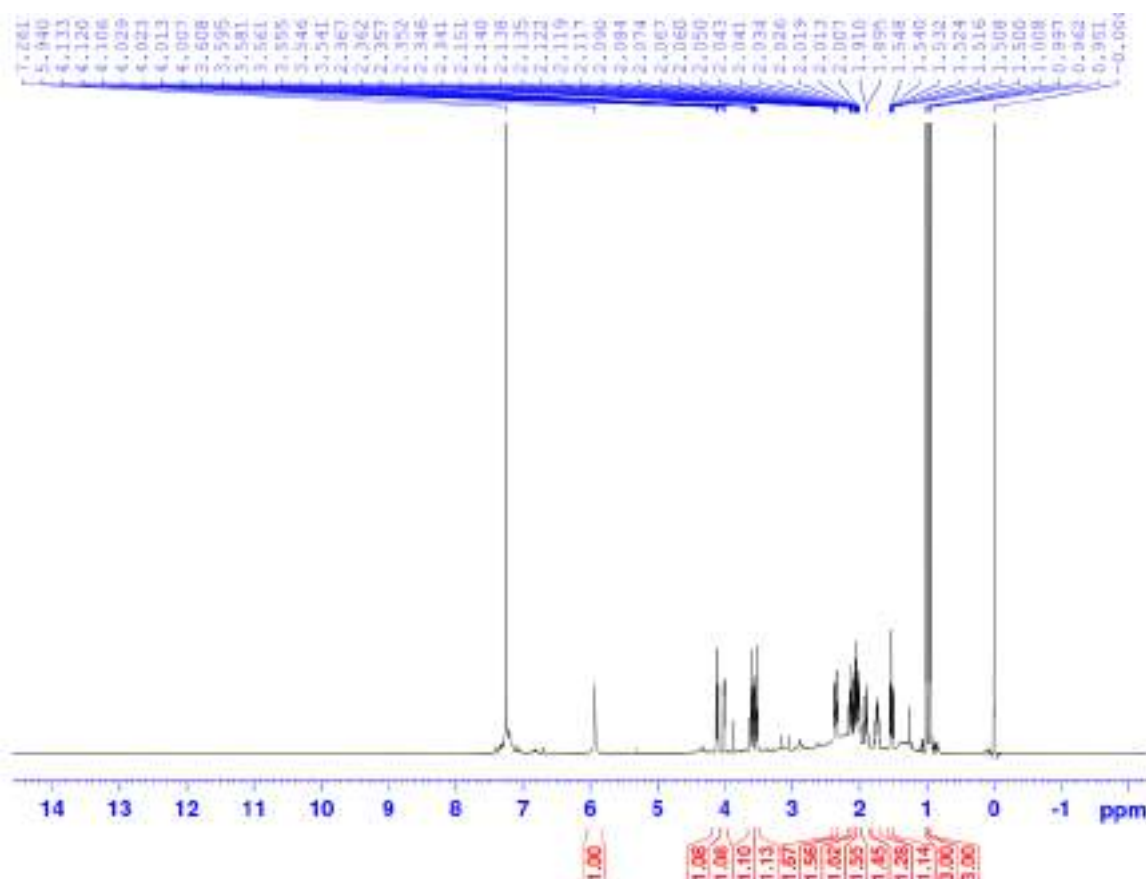
Hình P2.105. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS18**



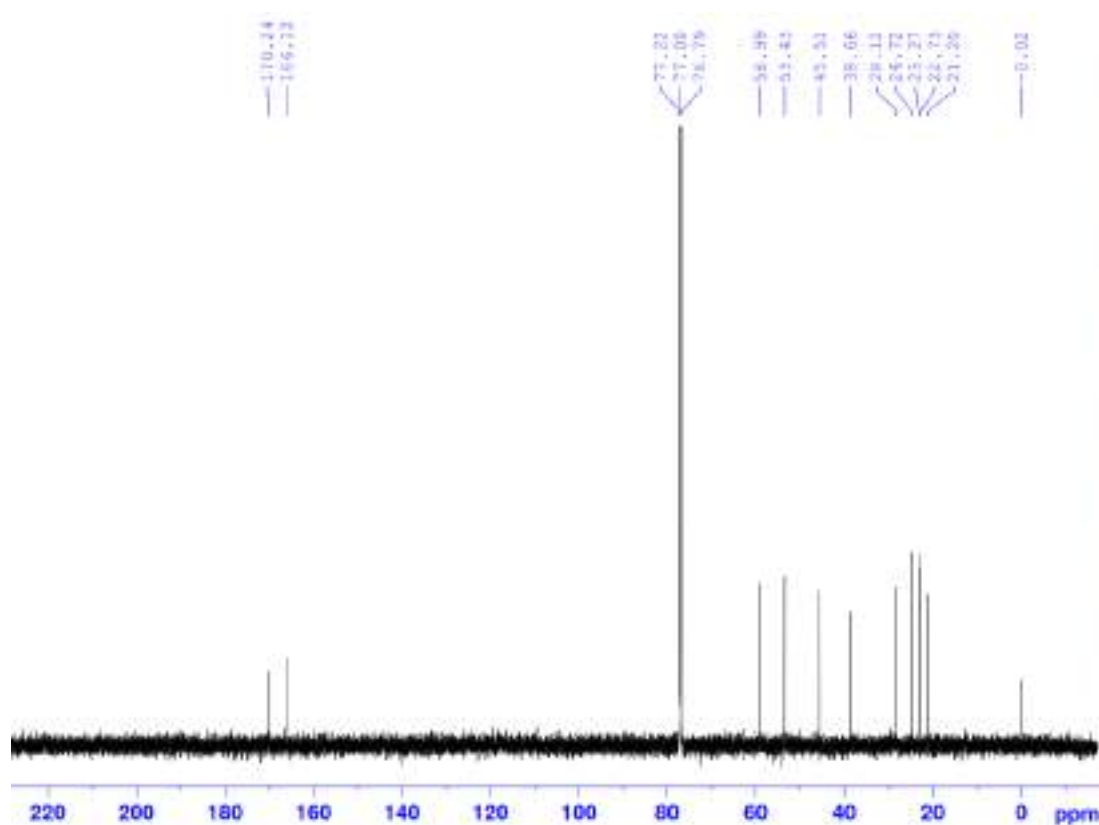
Hình P2.106. Phổ UV của hợp chất **AS18**



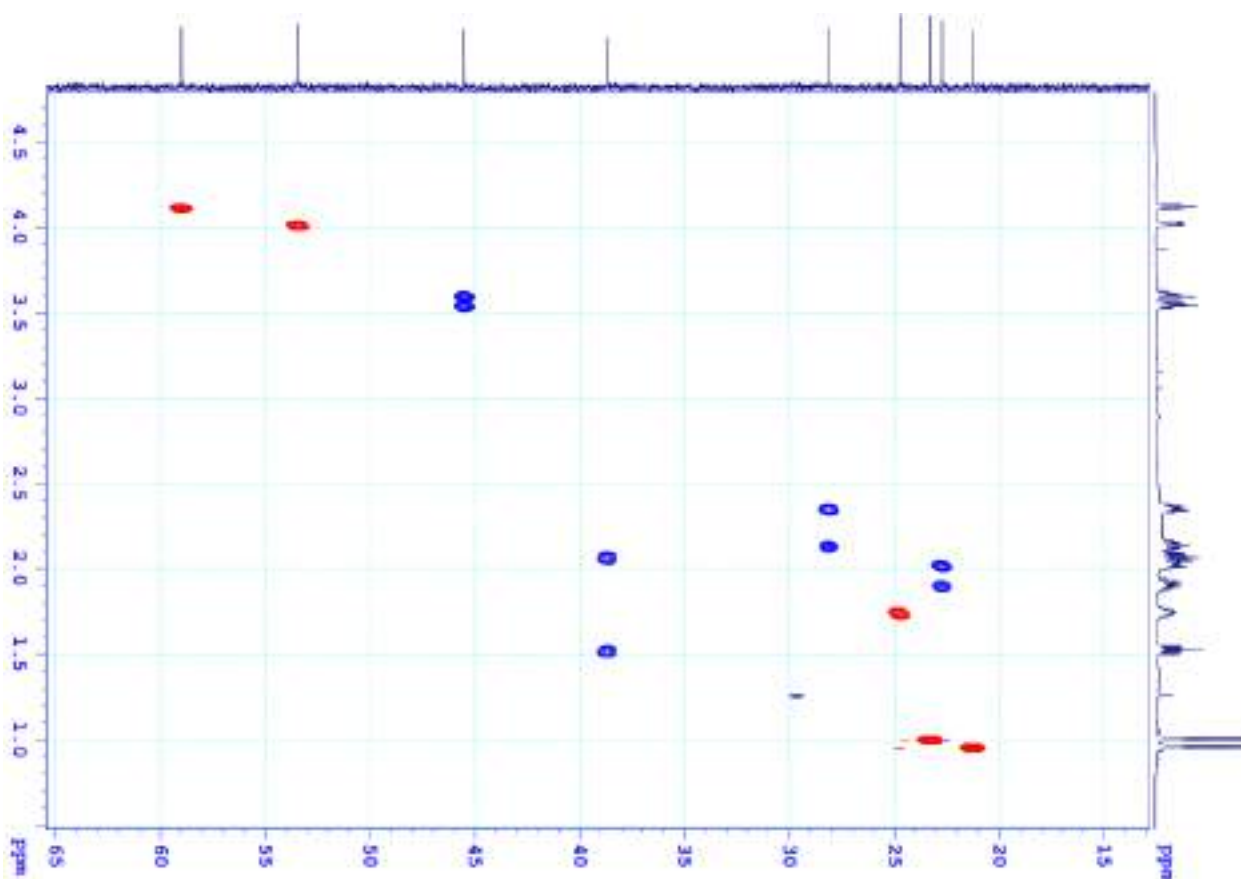
Hình P2.107. Phổ IR của hợp chất **AS18**



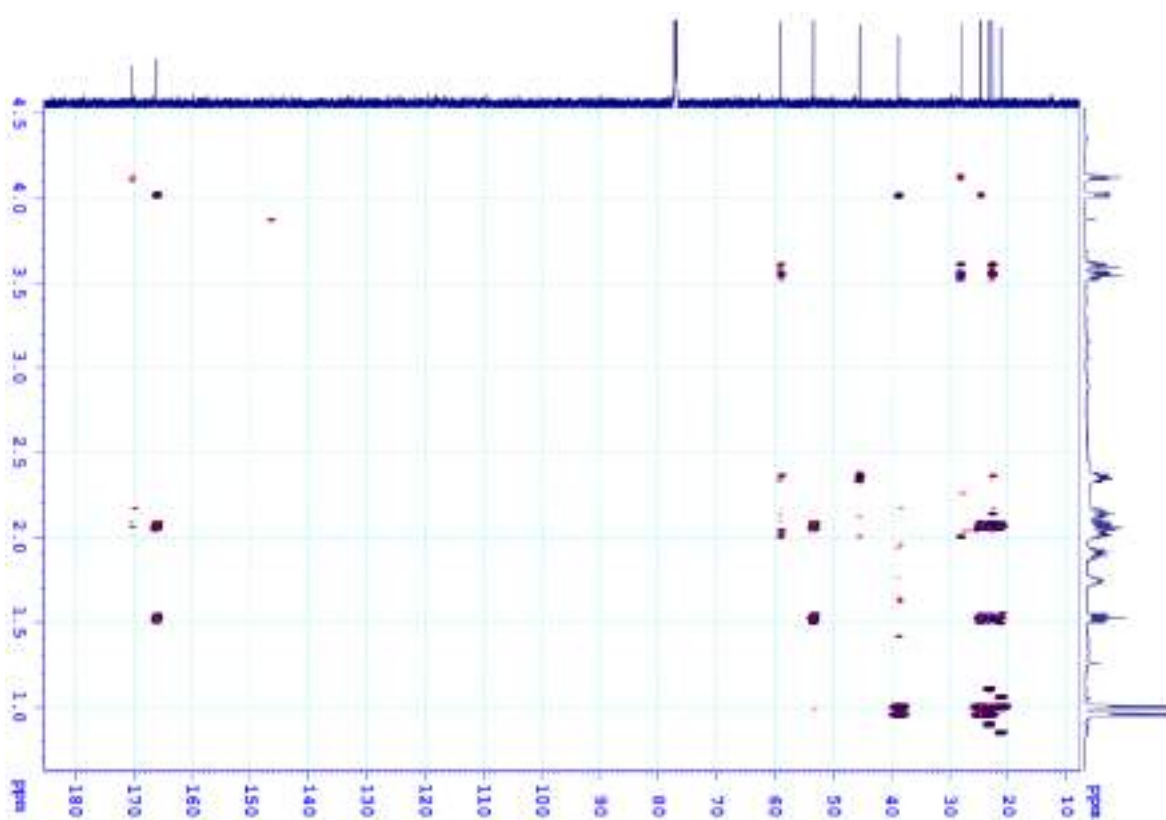
Hình P2.108. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **AS18**



Hình P2.109. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS18**

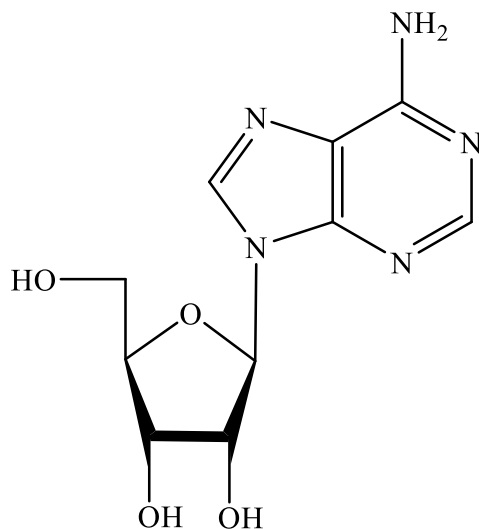


Hình P2.110. Phổ HSQC của hợp chất **AS18**

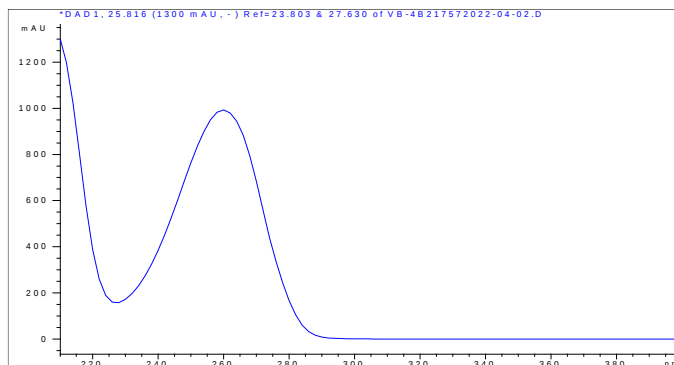


Hình P2.111. Phổ HMBC của hợp chất **AS18**

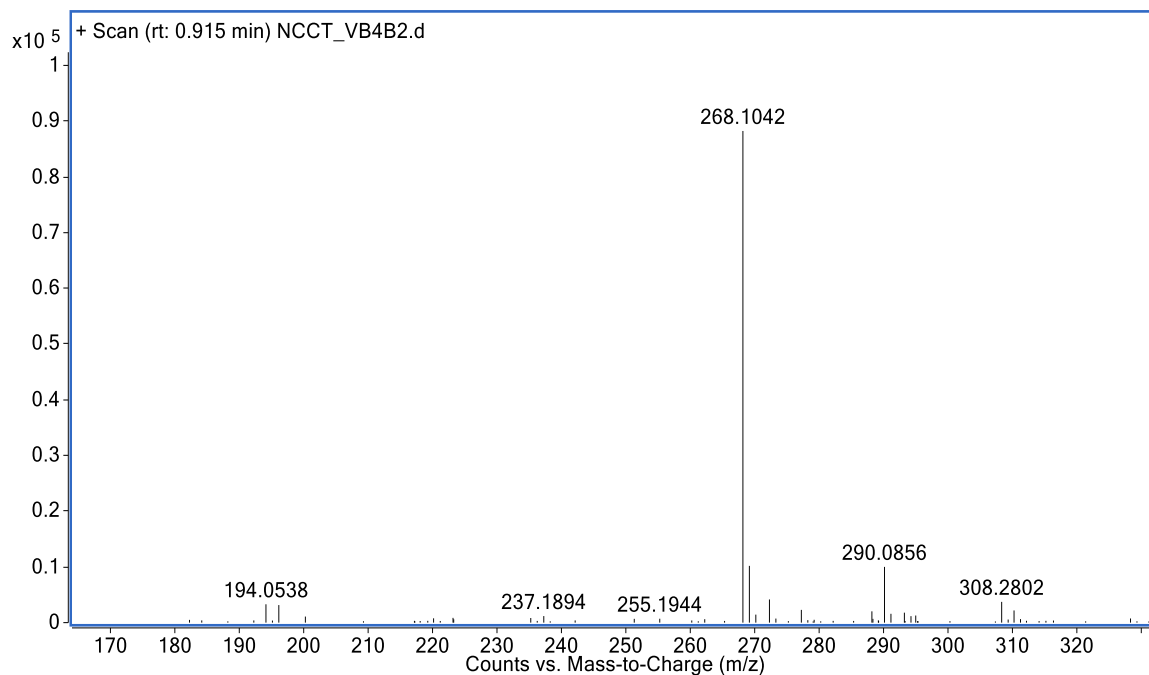
2.19. Hợp chất AS19



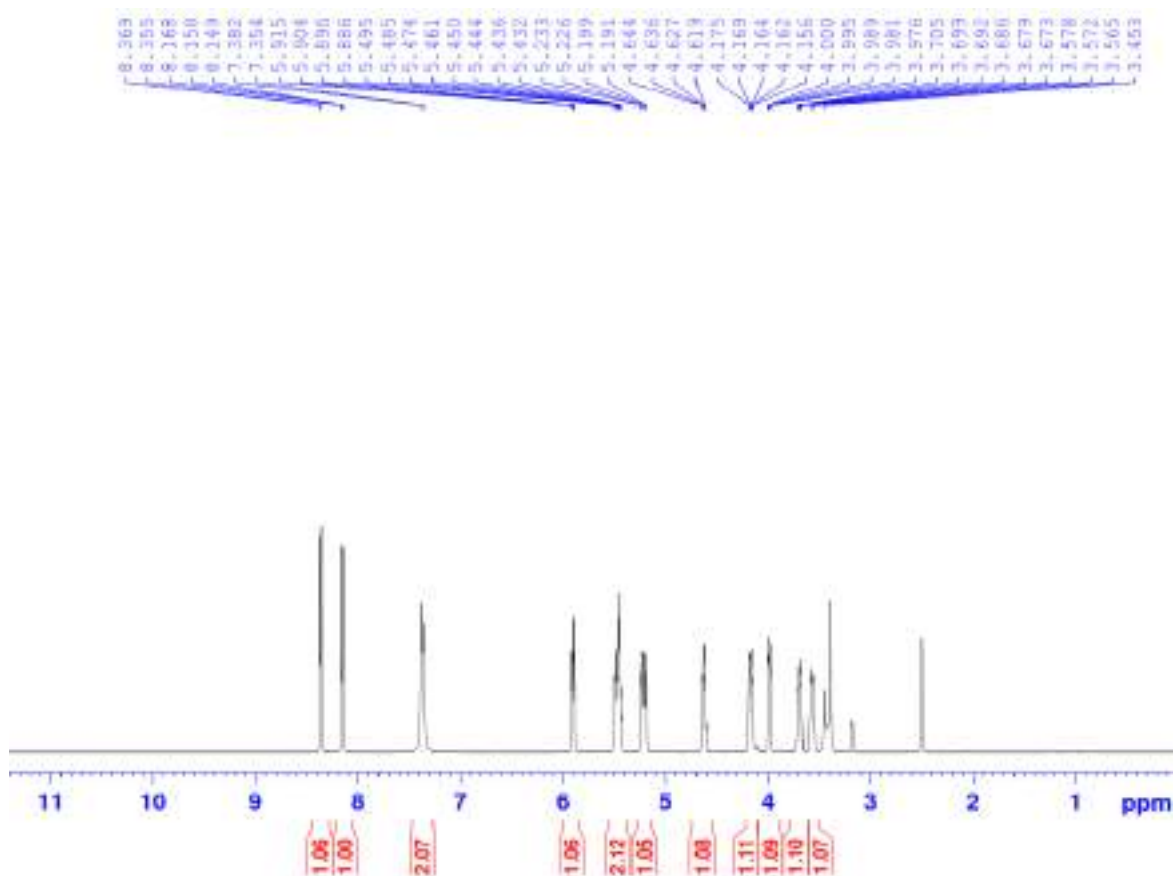
Hình P2.112. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS19**



Hình P2.113. Phổ UV của hợp chất **AS19**

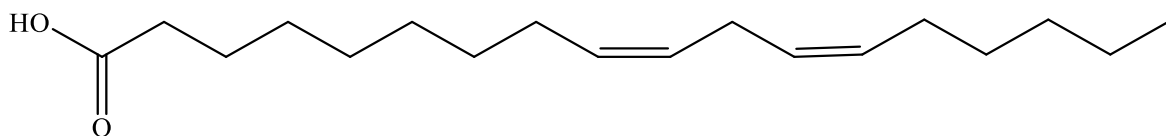


Hình P2.114. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS19**

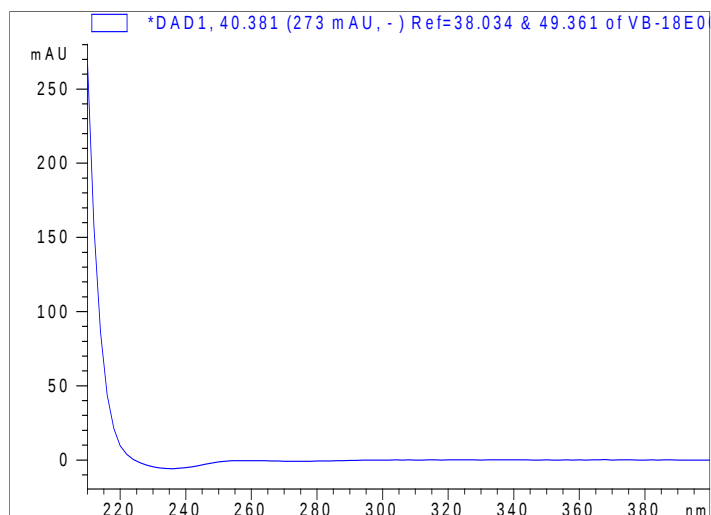


Hình P2.115. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **AS19**

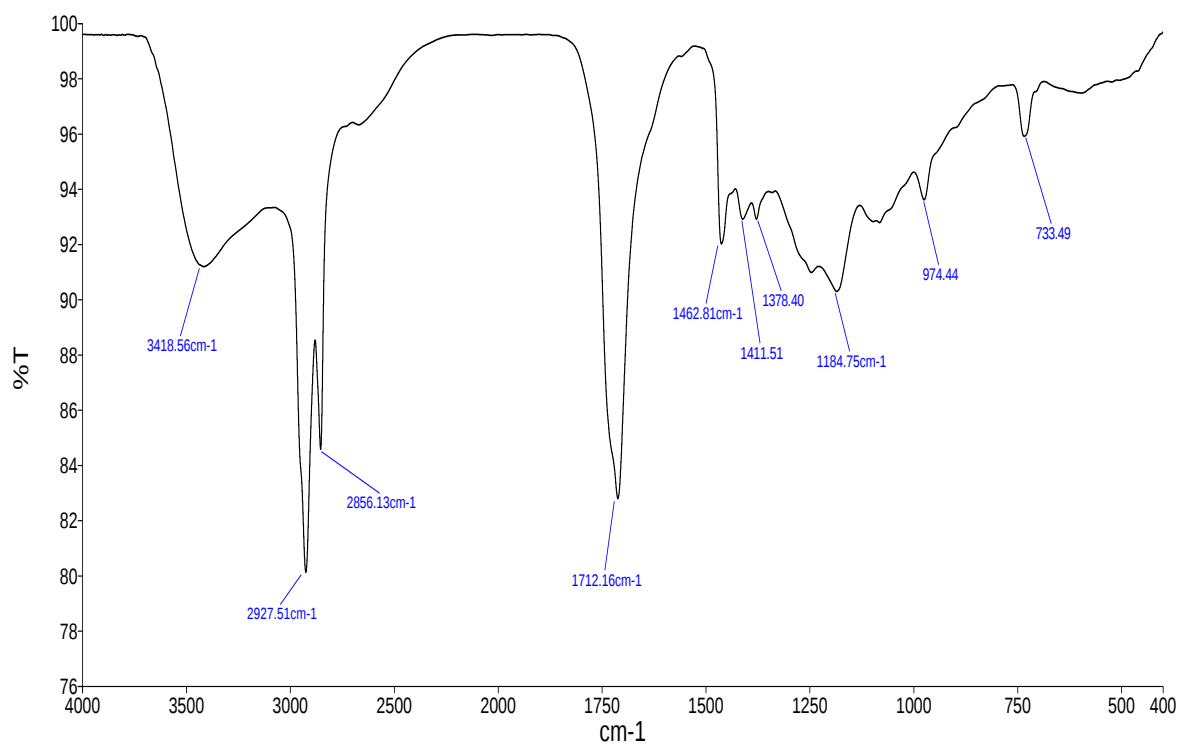
2.20. Hợp chất AS20



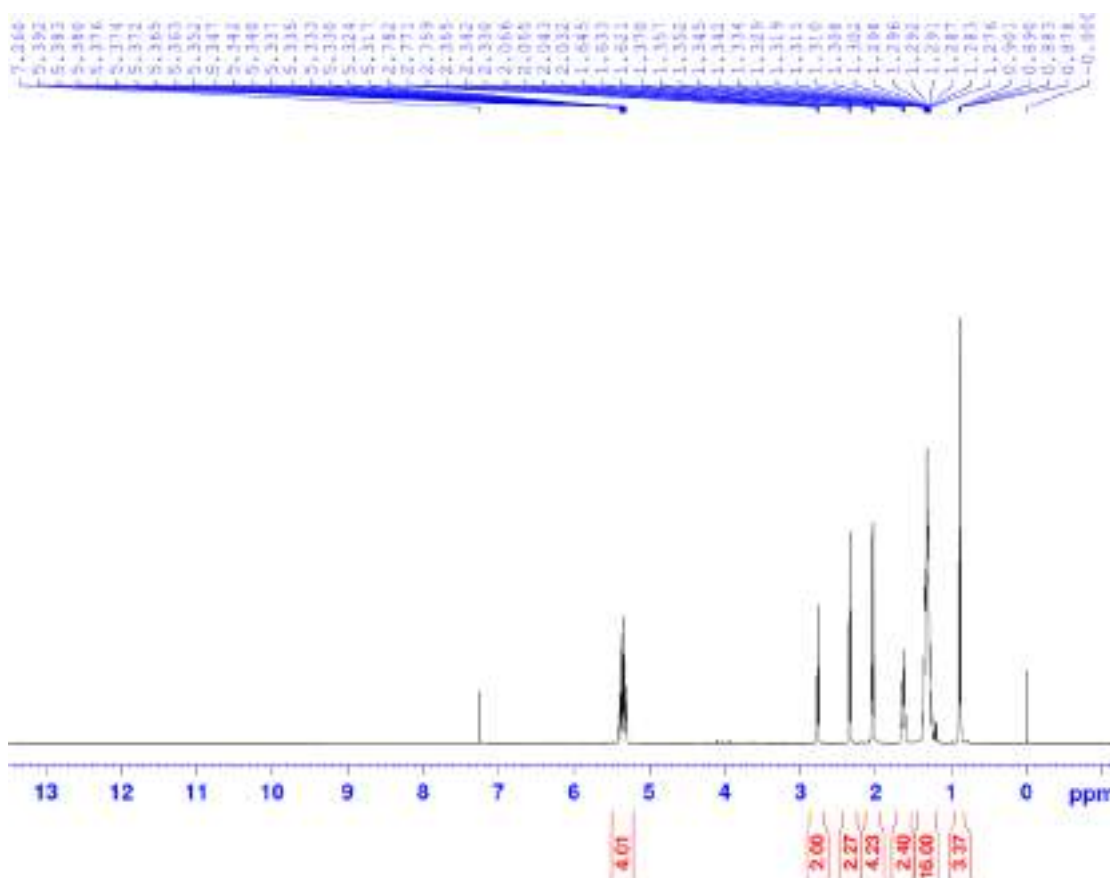
Hình P2.116. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS20**



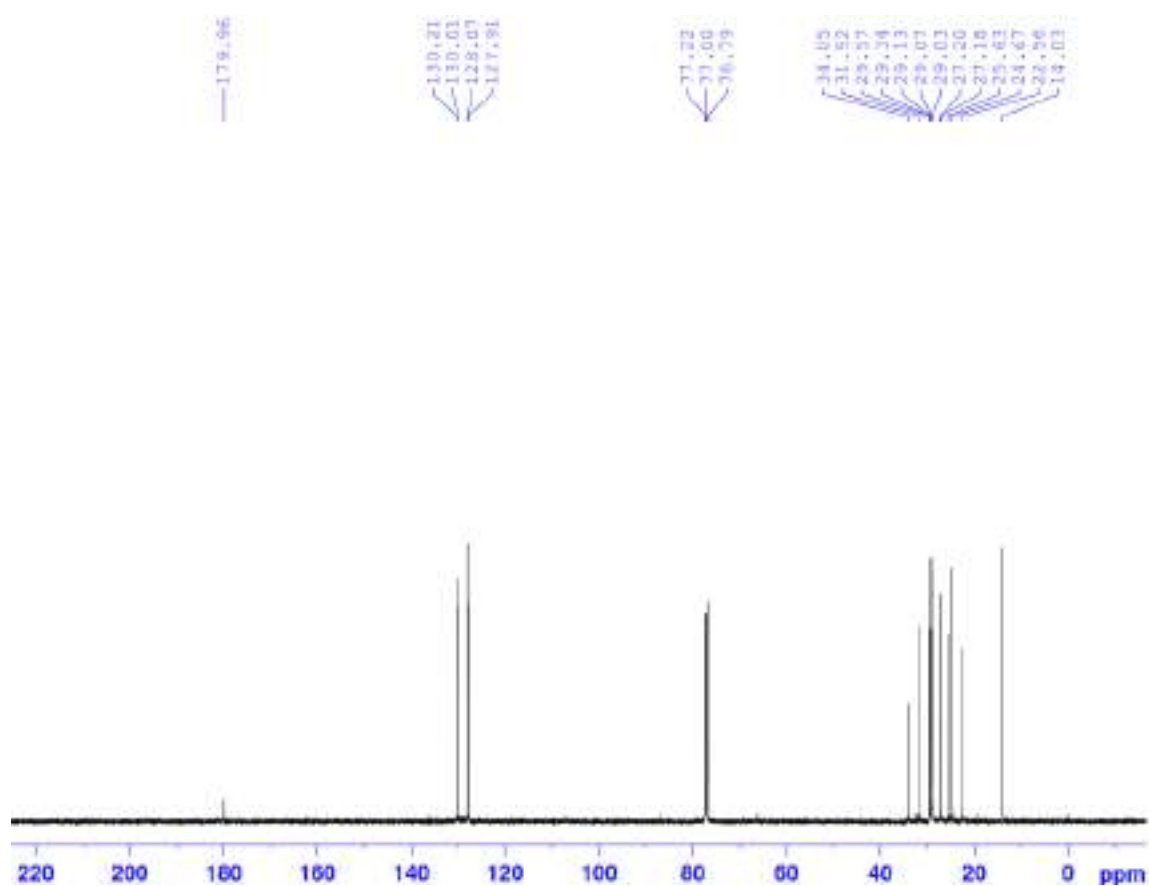
Hình P2.117. Phổ UV của hợp chất **AS20**



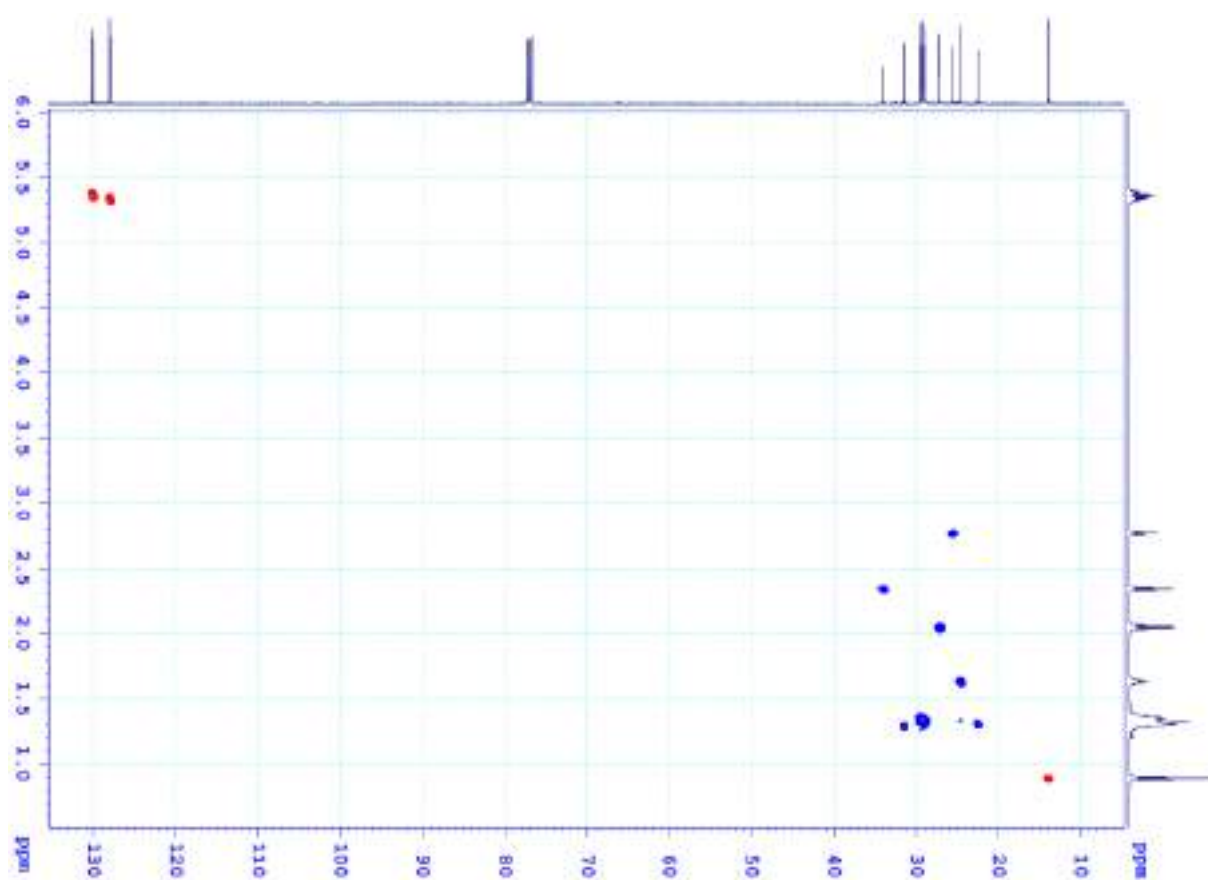
Hình P2.118. Phổ IR của hợp chất **AS20**



Hình P2.119. Phổ ¹H-NMR của hợp chất **AS20**

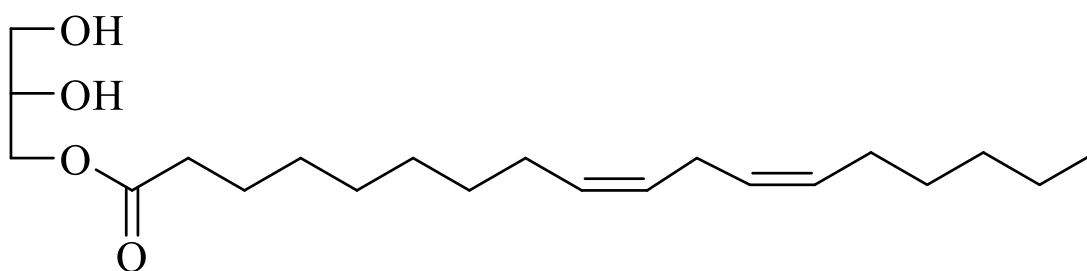


Hình P2.120. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **AS20**

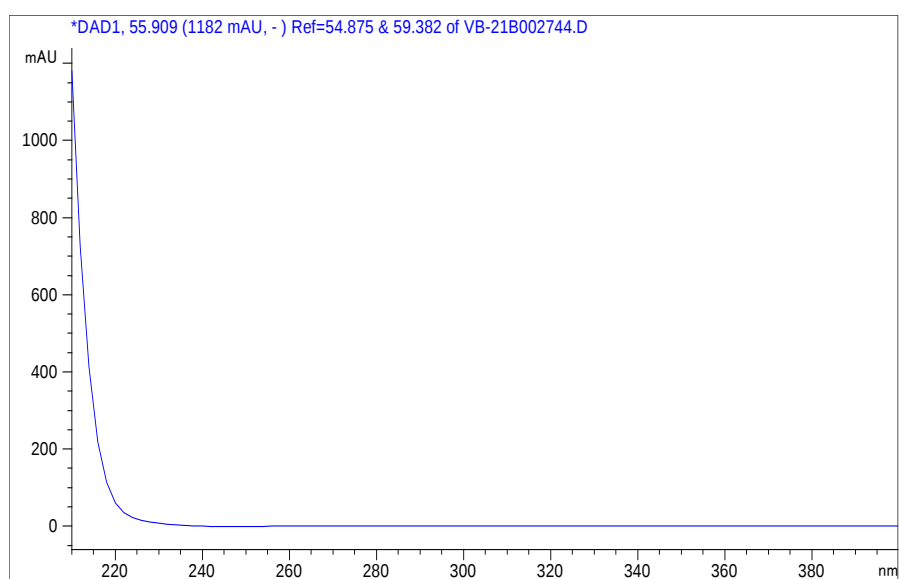


Hình P2.121. Phổ HSQC của hợp chất **AS20**

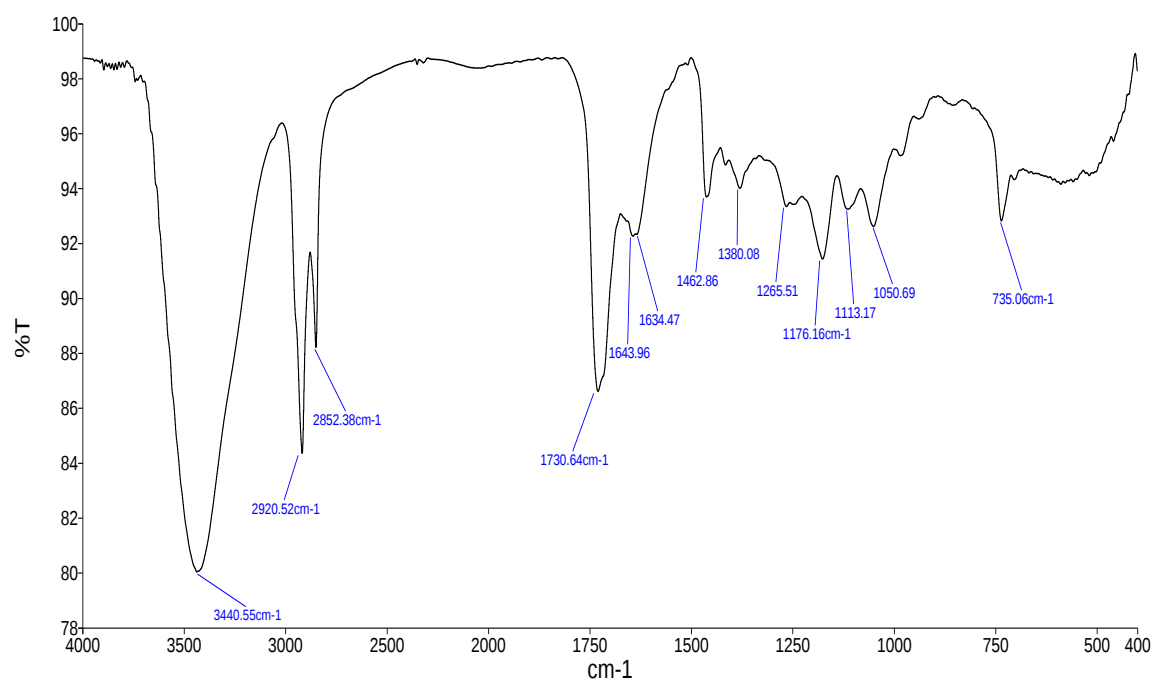
2.21. Hợp chất AS21



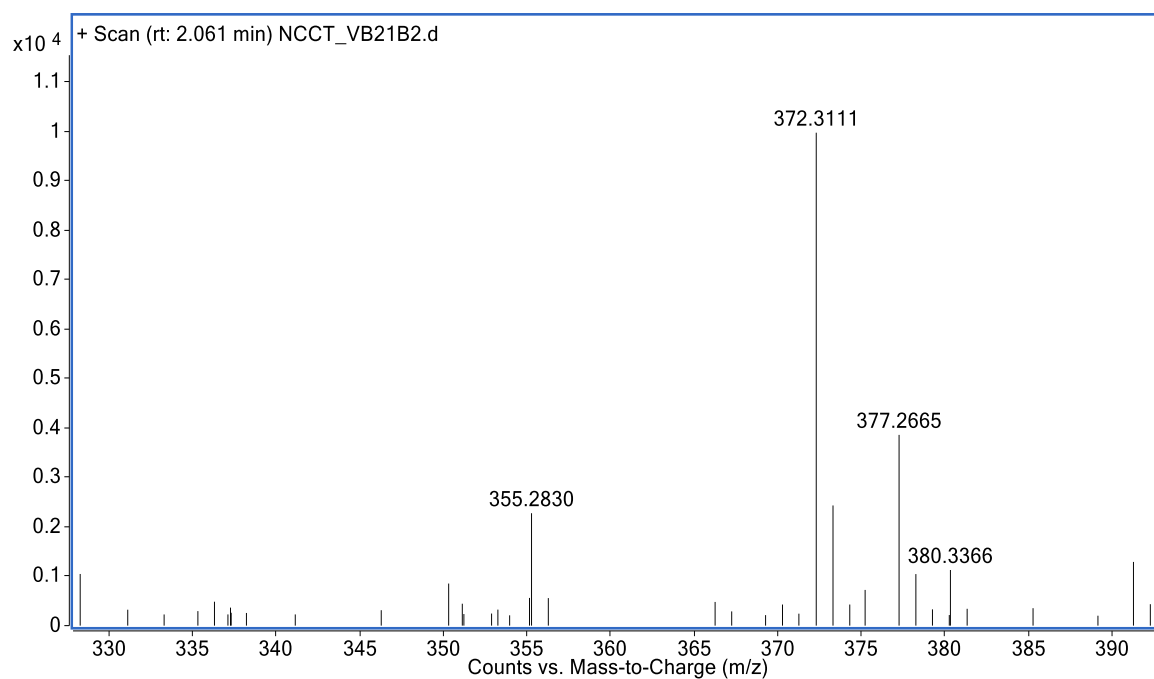
Hình P2.122. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS21**



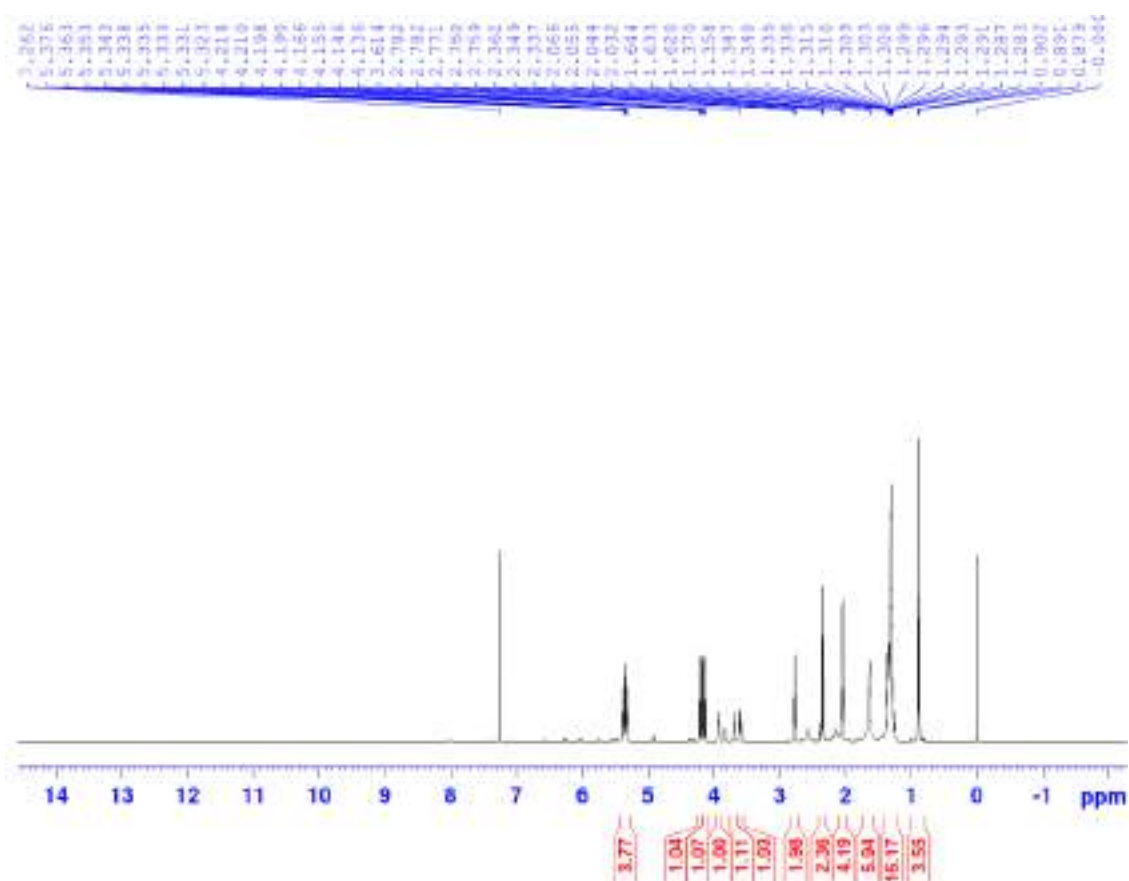
Hình P2.123. Phổ UV của hợp chất **AS21**



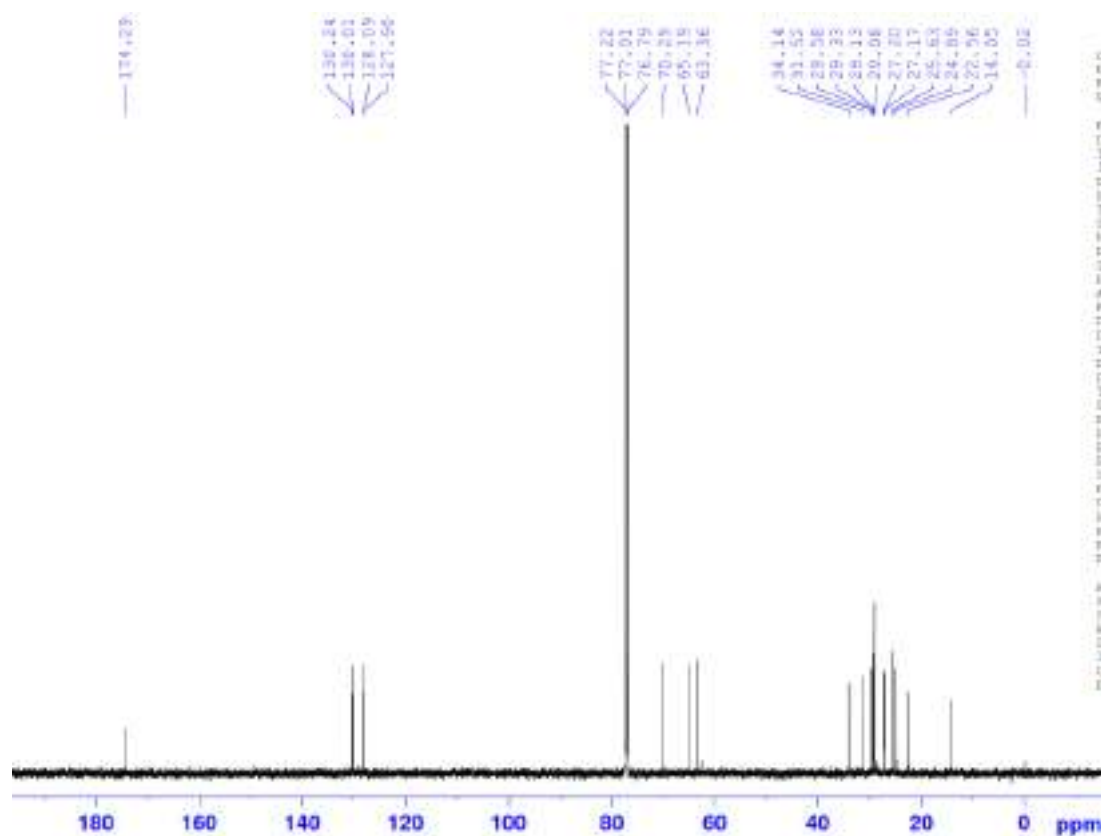
Hình P2.124. Phổ IR của hợp chất **AS21**



Hình P2.125. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS21**

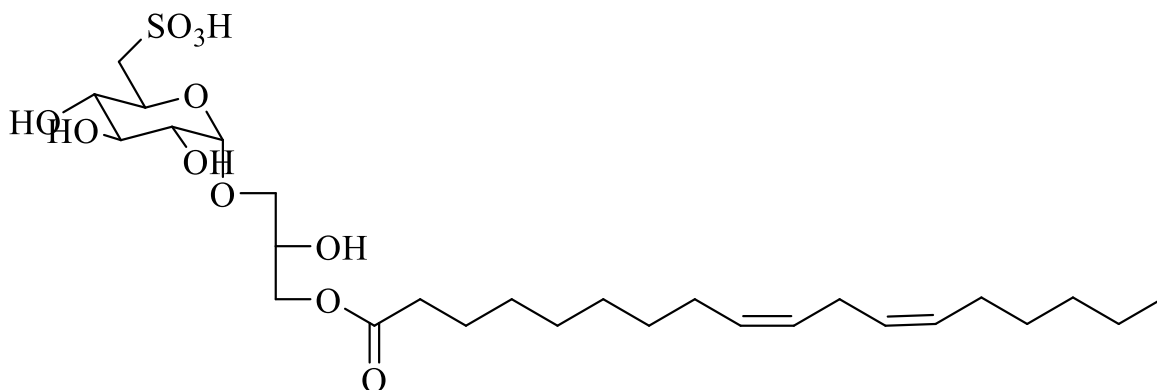


Hình P2.126. Phổ ¹H-NMR của hợp chất AS21

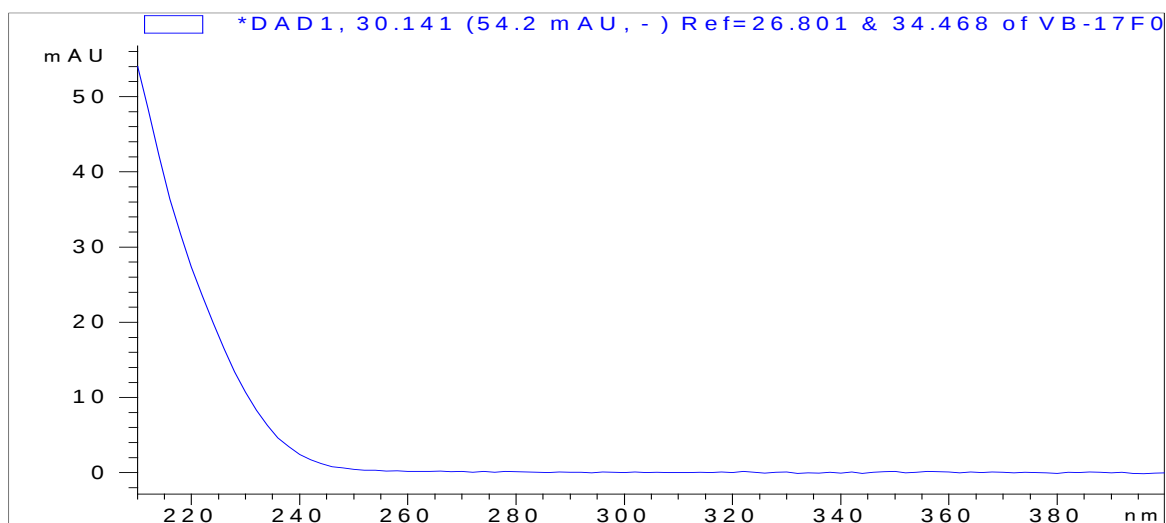


Hình P2.127. Phổ ¹³C-NMR của hợp chất AS21

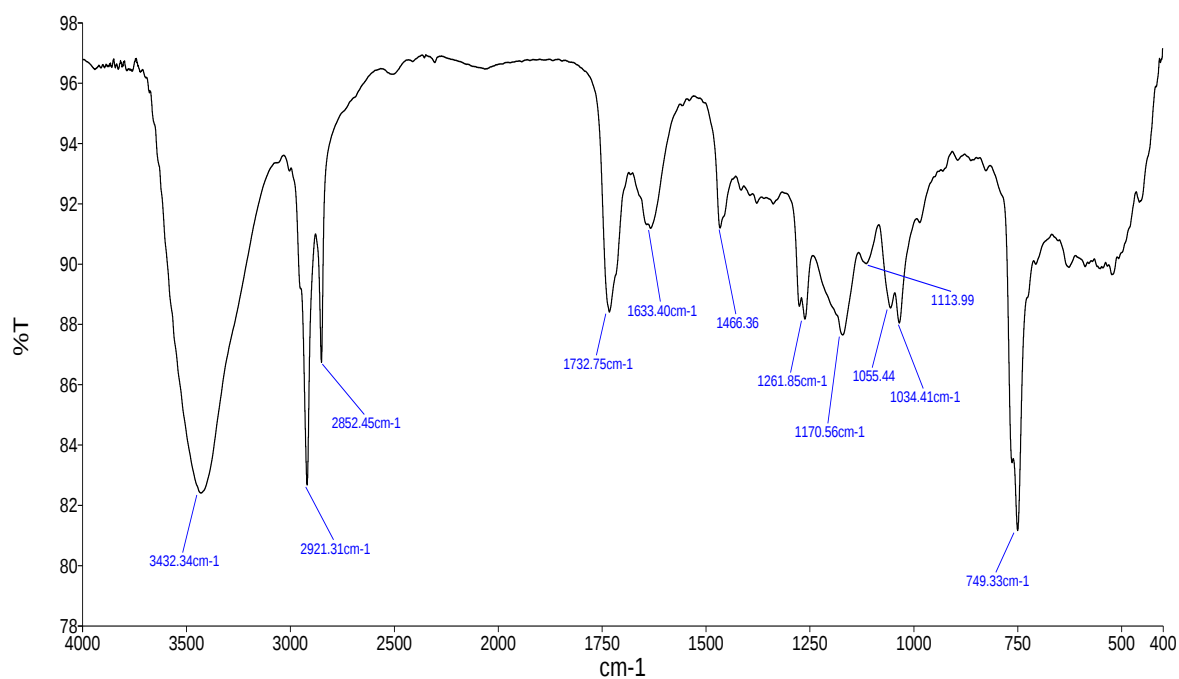
2.22. Hợp chất AS22



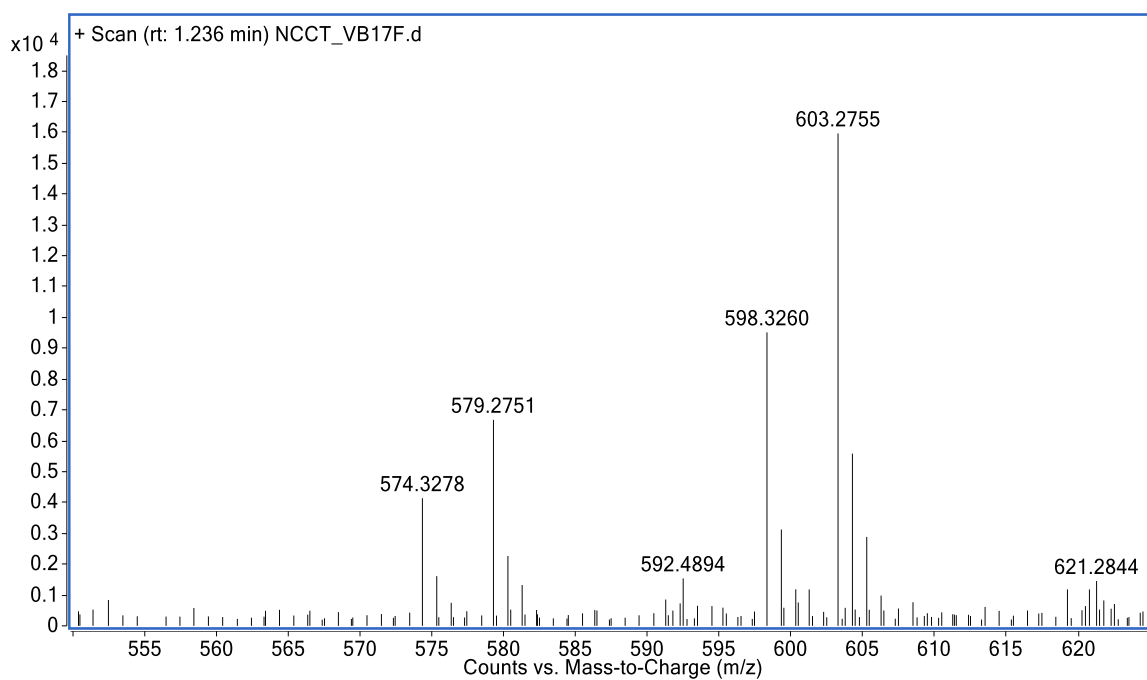
Hình P2.128. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS22**



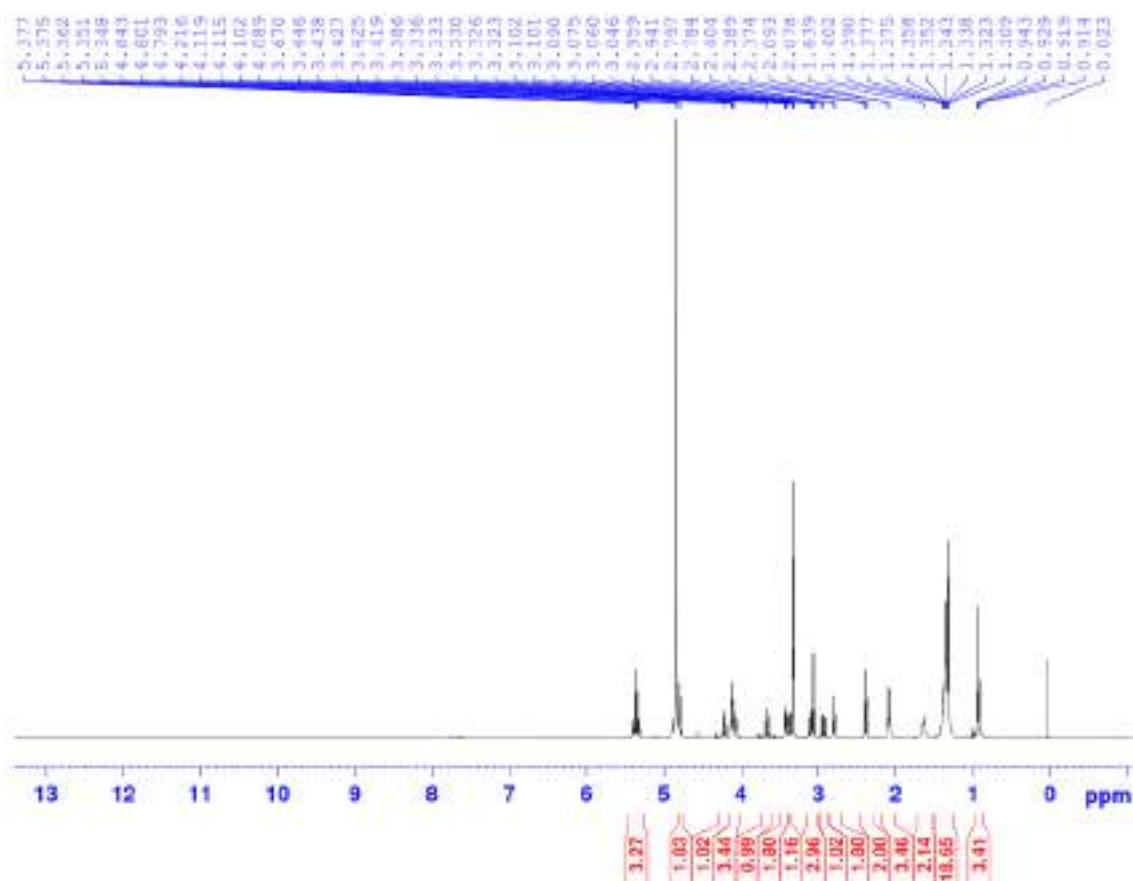
Hình P2.129. Phổ UV của hợp chất **AS22**



Hình P2.130. Phổ IR của hợp chất **AS22**

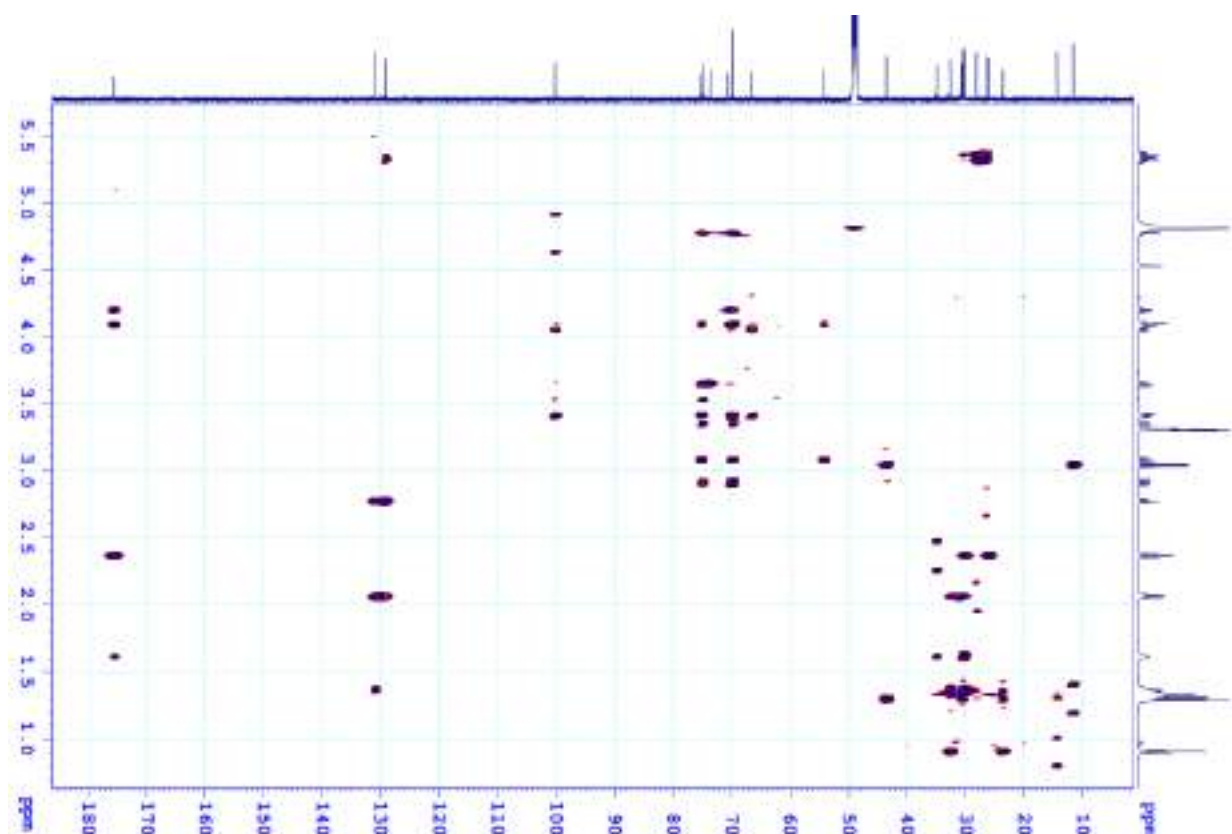


Hình P2.131. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS22**



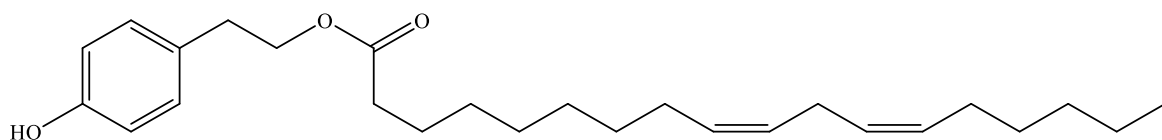
Hình P2.132. Phổ ^1H -NMR của hợp chất **AS22**



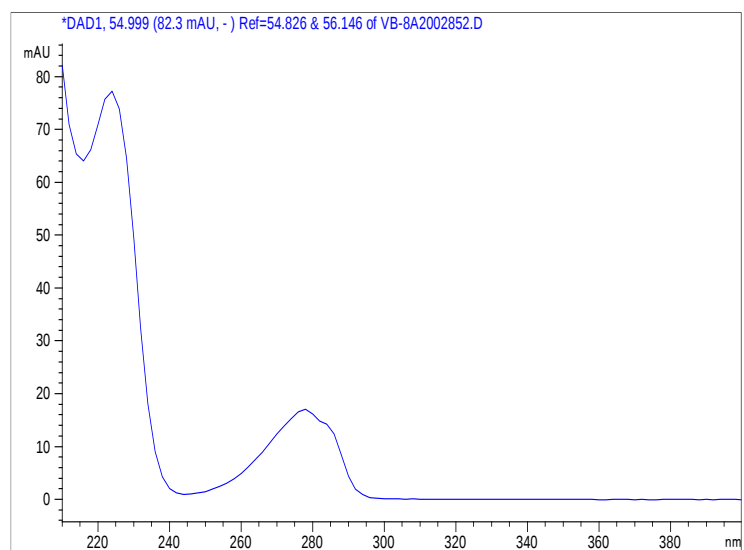


Hình P2.135. Phổ HMBC của hợp chất **AS22**

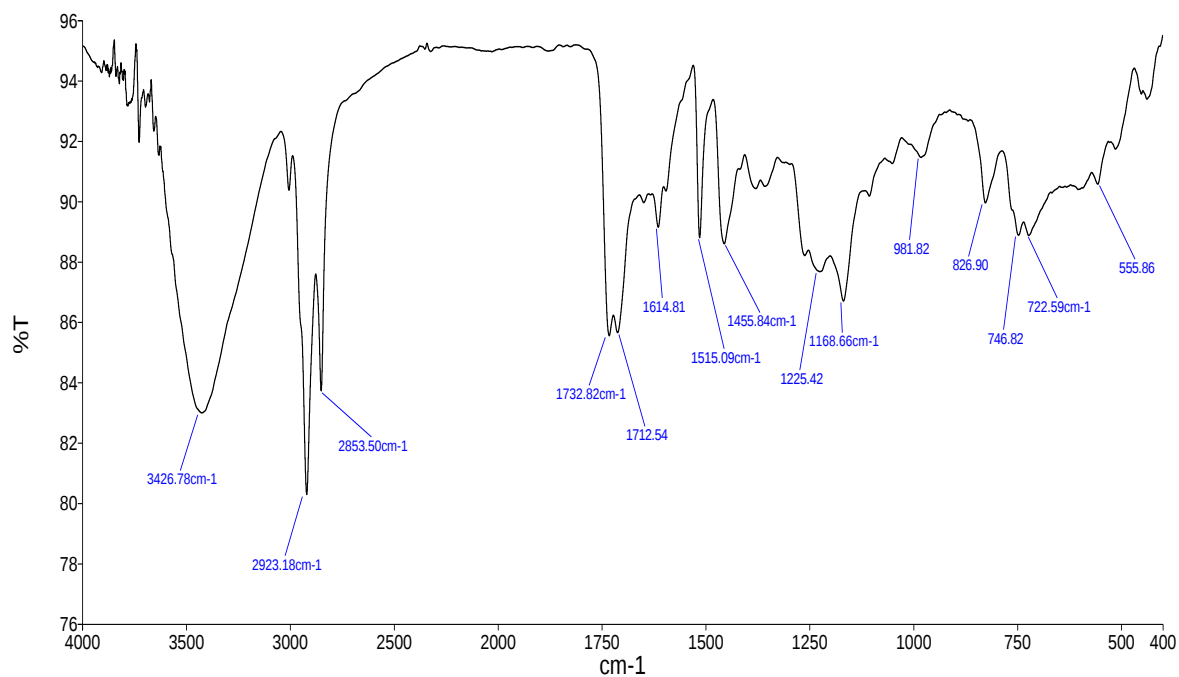
2.23. Hợp chất **AS23**



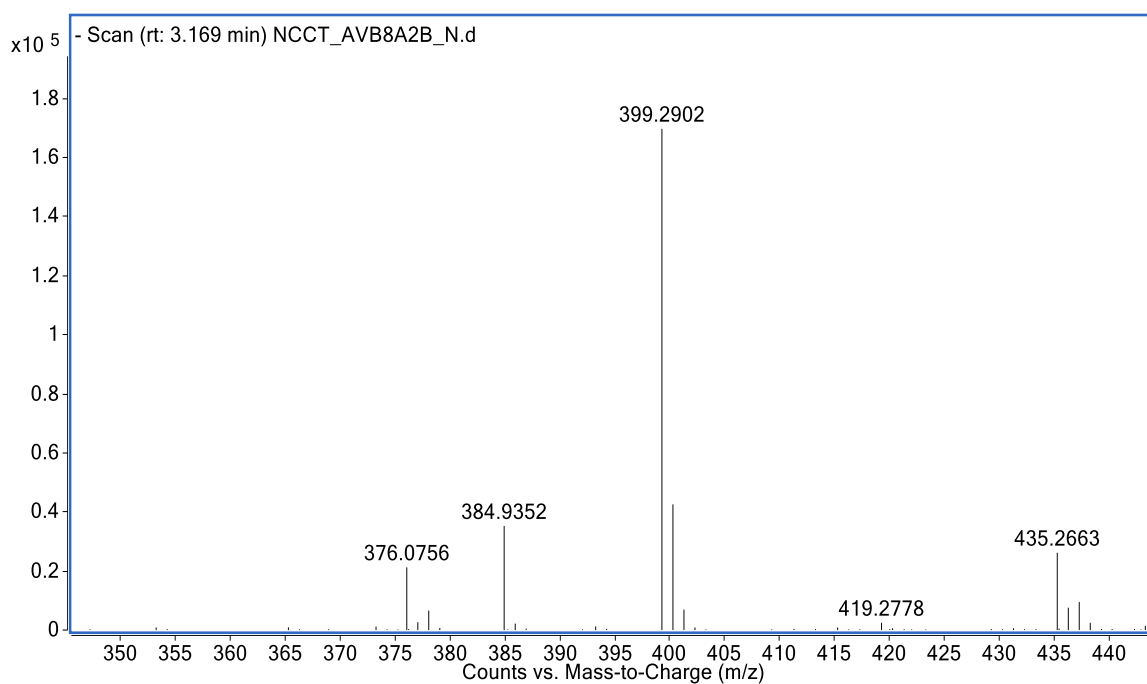
Hình P2.136. Cấu trúc hóa học của hợp chất **AS23**



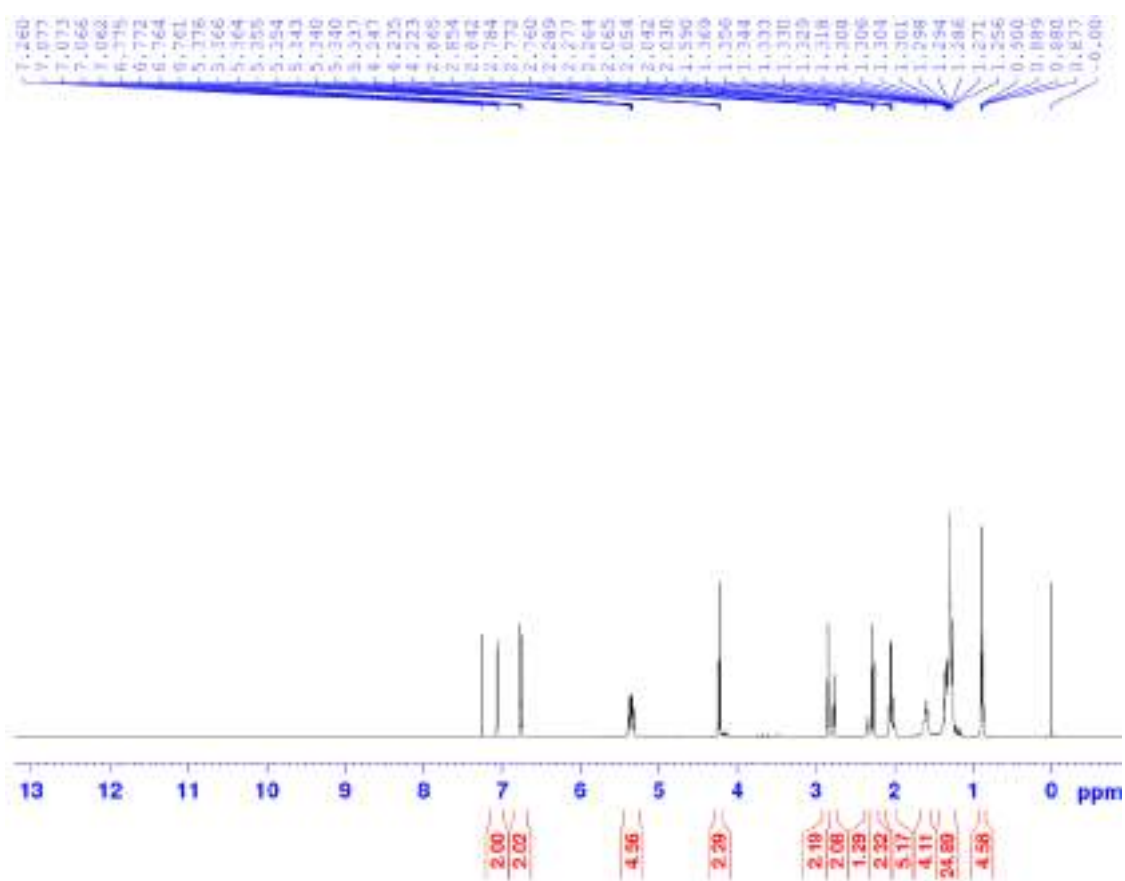
Hình P2.137. Phổ UV của hợp chất **AS23**



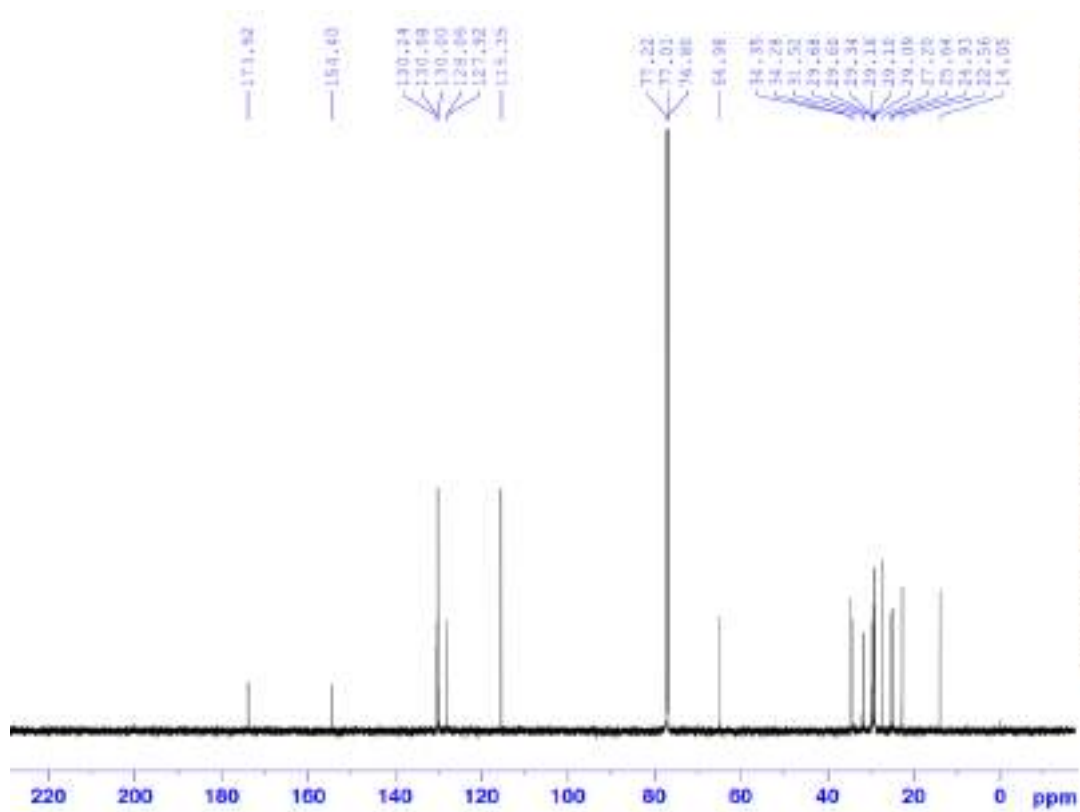
Hình P2.138. Phổ IR của hợp chất **AS23**



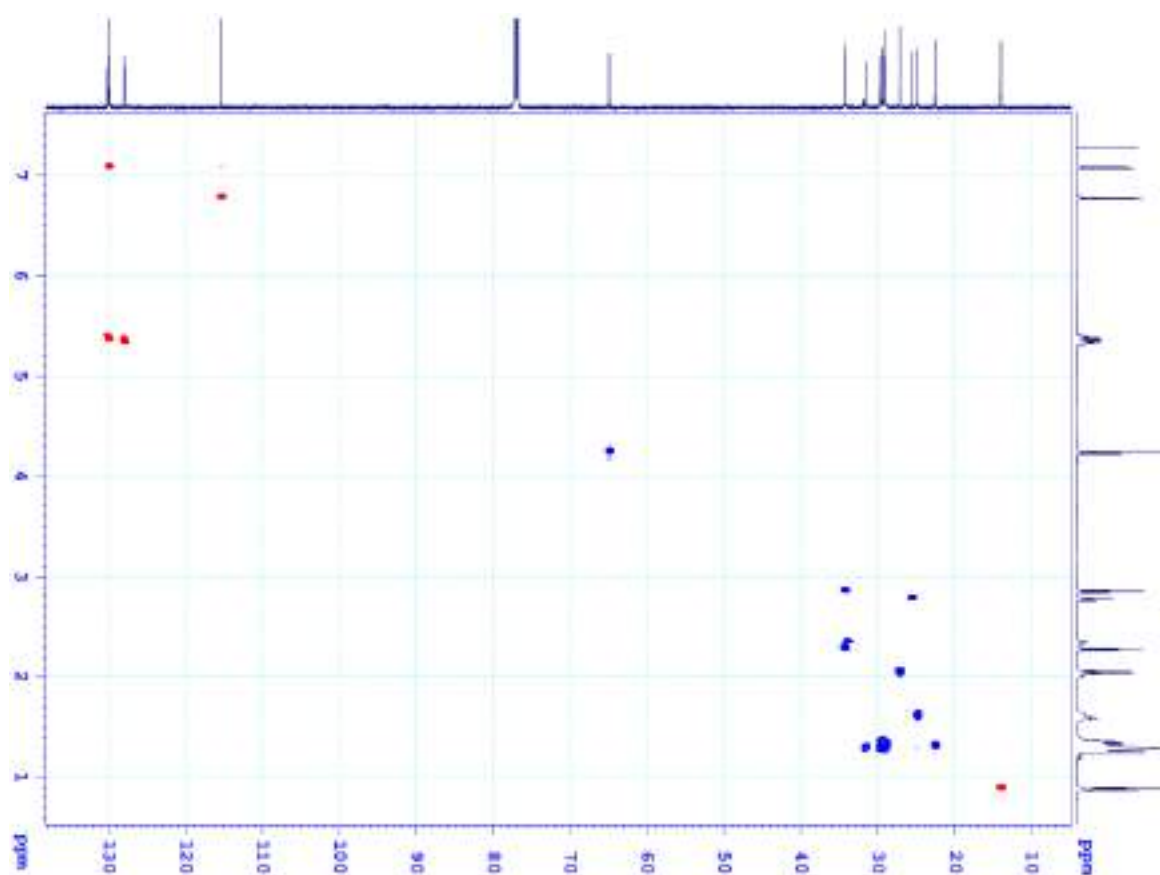
Hình P2.139. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **AS23**



Hình P2.140. Phổ ¹H-NMR của hợp chất AS23



Hình P2.141. Phổ ¹³C-NMR của hợp chất AS23



Hình P2.142. Phổ HSQC của hợp chất **AS23**

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

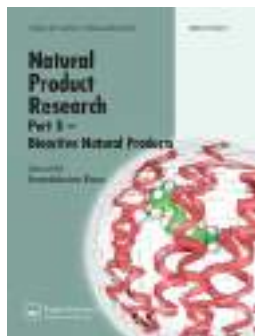


**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG VI
SINH VẬT KIỂM ĐỊNH CỦA HAI CHỦNG VI TẢO BIỂN *Thraustochytrium*
pachydermum TSL10 VÀ *Aurantiochytrium* sp. SC145 Ở QUẦN ĐẢO
TRƯỜNG SA, VIỆT NAM**

DANH MỤC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ ĐƯỢC CÔNG BỐ

Hà Nội – 2026

CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ



Chemical constituents from the heterotrophic marine microalgae *Aurantiochytrium* sp. SC145 and their antimicrobial activities



View supplementary material



Published online: 22 Apr 2023.



Submit your article to this journal



Article views: 445



View related articles



View Crossmark data



Citing articles: 6 View citing articles



Chemical constituents from the heterotrophic marine microalgae *Aurantiochytrium* sp. SC145 and their antimicrobial activities

ABSTRACT

One new indol, *N*-methoxymethyltryptophol (1), one new phenolic, (2*R*)-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate (2) and fifteen known compounds (3–17) were isolated from the methanol extract of the fermentation of marine microalgae *Aurantiochytrium* sp. SC145. Their structures were elucidated by 1D-, 2D-NMR spectroscopic analysis, HR-ESI-MS, quantum chemical calculation methods and by comparing their NMR data with those reported in the literature. All compounds were evaluated for their antimicrobial activities against microorganisms. Compounds 2, 3 and 11 significantly exhibited antimicrobial activities on all tested Gram-(+), Gram-(−) bacteria and the yeast *C. albicans* with MIC values ranging from 32 to 256 µg/mL.



ARTICLE HISTORY

Received 7 December 2022

Accepted 4 April 2023

KEYWORDS

Aurantiochytrium;
Thraustochytriaceae;
N-methoxymethyltryptophol; (2*R*)-4-hydroxyphenylethyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate; antimicrobial activities

1. Introduction

Microalgae are potential sources for the production of bioactive compounds of n-3 fatty acids, especially eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid, carotenoids,

CONTACT

 Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2201882>.

© 2023 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

chlorophylls, phycobiliproteins and vitamins. Microalgae species have been shown to accumulate carbohydrates as well as lipids when cultivated under nitrogen limitation (Yang et al. 2013). In addition, compounds from microalgae have exhibited antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, antitumor and antiviral effects (Dai et al. 2022).

Aurantiochytrium genus, a heterotrophic marine microalga, belongs to the Thraustochytridae family. The genus *Aurantiochytrium* play important role in the industrial fermentation of biomass (Scott et al. 2011). Previous studies indicated chemical constituents of *Aurantiochytrium* sp. to be ω -3 polyunsaturated fatty acids (Russo et al. 2021), squalenes (Hoang et al. 2014) and sterols (Chen et al. 2014). This article mainly deals with the isolation, structural elucidation and antimicrobial effect evaluation of two new and fifteen known compounds from the fermentation of heterotrophic marine microalgae *Aurantiochytrium* sp. SC145.

2. Results and discussion

Compound **1** was obtained as a pale brown amorphous powder. The molecular formula of **1** was deduced to be $C_{12}H_{15}NO_2$ by the appearance of a pseudo ion peak on the HR-ESI-MS at m/z 228.0993 $[M+Na]^+$ (Figure S3). The 1H -NMR spectrum of **1** showed proton signals for 5 aromatic protons at δ_H 7.61 (1H, dd, $J=0.6, 7.8$ Hz), 7.16 (1H, dt, $J=0.6, 7.2$ Hz), 7.26 (1H, dt, $J=0.6, 7.8$ Hz), 7.47 (1H, br d, $J=7.8$ Hz) and 7.08 (1H, br s), 3 methylene groups at δ_H 3.03 (2H, t, $J=6.6$ Hz), 3.92 (2H, t, $J=6.6$ Hz) and 5.42 (2H, s) and one methoxy group at δ_H 3.26 (3H, s) (Figure S5). The ^{13}C -NMR and HSQC spectra of **1** showed signals for 12 carbons, including three quaternary aromatic carbons at δ_C 136.6, 128.7 and 112.5, five aromatic methines at δ_C 126.4, 122.5, 120.0, 119.1 and 110.0, three methylenes at δ_C 77.6, 62.6 and 28.7, and one methyl carbon at δ_C 56.0 (Figures S6 and S7). Analysis of the 1H - and ^{13}C -NMR data of **1** indicated its structure to be an indole derivative, similar to that of tryptophol (**5**) except for an addition of methoxymethyl group at *N*-atom (Kohling et al. 2003). This was confirmed by HMBC correlations between $H_{2-1''}$ (δ_H 5.42) and C-2 (δ_C 126.4)/C-7a (δ_C 136.6)/C-2'' (δ_C 56.0) (Figure S8). COSY correlations of H-4 (δ_H 7.61)/H-5 (δ_H 7.16)/H-6 (δ_H 7.26)/H-7 (δ_H 7.47) indicated *ortho*-substituted at benzene ring (Figure S8). HMBC correlations between H-2 (δ_H 7.08) and C-3 (δ_C 112.5)/C-3a (δ_C 128.7)/C-7a (δ_C 136.6)/C-1' (δ_C 28.7) and between $H_{2-1'}$ (δ_H 3.03) and C-2 (δ_C 126.4)/C-3 (δ_C 112.5)/C-3a (δ_C 128.7) suggested the position of the 2-hydroxyethyl group at C-3. Thus, the new structure of **1** was determined to be *N*-methoxymethyl tryptophol (Figure 1).

Compound **2** was obtained as a white amorphous powder and its molecular formula was indicated to be $C_{17}H_{18}O_4$ by HR-ESI-MS ion at m/z 285.1133 $[M-H]^-$ (Figure

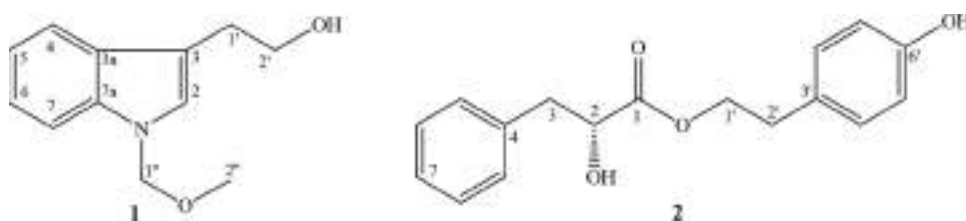


Figure 1. Chemical structures of compounds **1** and **2**.

S12). The ^1H -NMR spectrum of **2** exhibited proton signals for five aromatic protons of one phenyl group at δ_{H} 7.13 (2H, d, $J=8.4\text{ Hz}$), 7.26 (overlapped signal) and 7.22 (1H, $J=8.4\text{ Hz}$), four aromatic protons of *para* disubstituted-benzene at δ_{H} 7.07 (2H, d, $J=8.4\text{ Hz}$) and 6.78 (2H, d, $J=8.4\text{ Hz}$), one hydroxymethine proton at δ_{H} 4.42 (1H, dd, $J=4.4, 6.6\text{ Hz}$) and protons of one oxymethylene group at δ_{H} 4.31 (2H, t, $J=6.6\text{ Hz}$), two methylene groups at δ_{H} 2.91 (1H, dd, $J=6.6, 13.8\text{ Hz}$), 3.07 (1H, dd, $J=4.8, 13.8\text{ Hz}$) and 4.31 (2H, t, $J=6.6\text{ Hz}$) (**Figure S13**). The ^{13}C -NMR and HSQC spectra of **2** exhibited signals for 17 carbons, including one carboxyl carbon at δ_{C} 174.1, 12 aromatic carbons at δ_{C} 136.3, 129.5 $\times$ 2, 128.4 $\times$ 2, 126.9, 129.5, 130.2 $\times$ 2, 115.5 $\times$ 2 and 154.5, three methylenes at δ_{C} 66.3, 40.5 and 34.1, one hydroxymethine carbon at δ_{C} 71.2 (**Figures S15** and **S16**). Analysis of ^1H - and ^{13}C -NMR data of **2** indicated its structure was similar to that of hydroxy-3-phenylpropinoic acid (**9**) except for an addition of the 4-hydroxyphenylethoxy group at C-1 (Kuroboshi et al. 2009). HMBC correlations between $\text{H}_2\text{-3}$ (δ_{H} 2.91 and 3.07) and C-1 (δ_{C} 174.1)/C-2 (δ_{C} 71.2)/C-4 (δ_{C} 136.3)/C-5 (C-9) (δ_{C} 129.5) and COSY correlations of H-2 (δ_{C} 4.42)/H-3 (δ_{H} 2.91 and 3.07) and H-5 (H-9) (δ_{H} 7.13)/H-6 (H-8) (δ_{H} 7.26) indicated the presence of the hydroxy group at C-2 of 3-phenylpropionate (**Figure S2**). The appearance of 4-hydroxyphenylethyl group was also proved by HMBC correlations (**Figure S17**) between H-2' (δ_{H} 2.88) and C-1' (δ_{C} 66.3)/C-3' (δ_{C} 129.5)/C-4'/C-8' (δ_{C} 130.2) and H-4' (H-8') (δ_{H} 7.07) and C-2' (δ_{C} 34.1)/C-6' (δ_{C} 154.5). The esterification position of 2-(4-hydroxyphenyl)ethoxy at C-9 was confirmed by the HMBC correlation between H-1' (δ_{H} 4.31) and C-1 (δ_{C} 174.1). The optical rotation $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +30.5$ (c 0.1, CHCl_3) and the negative Cotton effect of **2** at 220 nm were observed, indicating **2** to be an active rotation compound. The TDDFT calculated ECD spectra of two enantiomers (**2R**, **2S**) are shown in **Figure S3** (calculated spectra are shifted by -3 nm). The CD spectrum of **2** (recorded at a concentration of 10^{-3} M) was found to be like that of **2R**, indicating the absolute configuration of the hydroxy group at C-2 to be *R*. This was also confirmed by the similarity between the Cotton effect of **2** and that of (+)-(*R*)-methyl 2-hydroxy-3-phenylpropionate (Cimmino et al. 2018). Based on the above evidence, the structure of new compound **2** was determined to be (2*R*)-2-(4-hydroxyphenyl) ethyl 2-hydroxy-3-phenylpropionate.

The known compounds were identified by comparing their NMR data with those reported in the literature as follows: 3-hydroxy-4-(4-hydrophenyl)-2-butanone (**3**) (Kennedy 2012), indole-3-acetic acid (**4**) (Sun et al. 2010), tryptophol (**5**) (Kohling et al. 2003), indole-3-carbaldehyde (**6**) (Ashour et al. 2007), methyl indole-3-acetate (**7**) (Yang et al. 2015), (erythro)-2-hydroxy-3-methylpentanoic acid (**8**) (Paik et al. 2003), (2*R*)-2-hydroxy-3-phenylpropanoic acid (**9**) (Kuroboshi et al. 2009), (2*R*)-methyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate (**10**) (Cimmino et al. 2018), tyrosol (**11**) (Kwak et al. 2009), (22*E*,24*R*)-5 α ,8 α -epi-dioxystergerosta-6,22-dien-3 β -ol (**12**) (Kim et al. 1997), (22*E*,24*R*)-5 α ,8 α -epidioxystergerosta-6,9(11),22-trien-3 β -ol (**13**) (Du and Shen 2006), chaxine C (**14**) (Choi et al. 2009), cerevisterol (**15**) (Kawagishi et al. 1988), ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol (**16**) (Seo et al. 1988) and fungisterol (**17**) (Wright 1981) (**Figure S1**, **Tables S2–S8**).

All isolated compounds were evaluated for their antimicrobial activities against microorganisms, Gram-(+): (*Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Staphylococcus aureus*

Table 1. Antimicrobial activities of compounds **1–17**.

Compounds	MIC (µg/mL)						
	Gram (+)			Gram (-)			Yeast
	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. enterica</i>	
1	–	–	–	–	–	–	–
2	64	64	64	128	128	256	32
3	64	128	128	256	128	128	32
4	–	–	–	–	–	–	–
5	–	–	–	–	–	–	–
6	–	–	–	–	–	–	–
7	–	–	–	–	–	–	–
8	–	–	–	–	–	–	–
9	–	–	–	–	–	–	–
10	–	–	–	–	–	–	–
11	64	128	64	128	128	128	32
12	128	64	64	–	–	–	64
13	128	128	64	–	–	–	128
14	128	–	–	–	–	–	256
15	128	32	128	–	–	–	256
16	–	–	128	–	–	–	128
17	32	–	32	–	–	–	128
Streptomycin	256	256	128	32	256	128	
Cyclohexamide							32

(–) compound did not exhibit antimicrobial activity (MIC >256 µg/mL).

ATCC25923 and *Bacillus cereus* ATCC14579), Gram(-): (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 and *Salmonella enterica* ATCC13076) and the yeast (*Candida albicans* ATCC10231) using standard protocols published by the Clinical and Laboratory Standard Institute (Table 1). Cyclohexamide and streptomycin were used as positive controls. Streptomycin inhibited Gram-(+) bacteria (*E. faecalis*, *S. aureus* and *B. cereus*), Gram(-) bacteria (*E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. enterica*) with MIC values ranging from 32 to 256 µg/mL, respectively. Cyclohexamide inhibited the yeast *C. albicans* with MIC value of 32 µg/mL. Compounds **2**, **3** and **11** significantly exhibited antimicrobial activities on all tested Gram-(+), Gram(-) bacteria and yeast *C. albicans* with MIC values ranging from 32 to 256 µg/mL (Table 1). Compounds **12**, **13** and **15** significantly inhibited Gram-(+) bacteria with MIC values ranging from 64 and 128 µg/mL. The results suggested **2**, **3** and **11** have broad antimicrobial properties and could be a source of antimicrobial agents.

3. Experimental

3.1. General

See the Supporting information.

3.2. Microalgae samples

The microalga *Aurantiochytrium* sp. SC145 was isolated at Son Ca Island, Khanh Hoa, Vietnam (10°22'42"N–114°28'33"E) from May to June 2021 and deposited at the Institute of Biotechnology, VAST (Hien et al. 2022).

3.3. Biomass cultivation

Aurantiochytrium sp. SC145 strain biomass was harvested after 120 h of fermentation. Under adverse culture conditions in terms of nutrient medium (9% glucose, 1% industrial yeast extract and 3% salinity) and room temperature (from 32 to 37°C) in a 30 L fermenter (handmade). Algal biomass was harvested by centrifugation at 4,000 rpm for 10 min. The algal paste was washed three times with sterile distilled water and then dried to a constant weight in a drying oven at 50°C and stored in desiccators.

3.4. Extraction and isolation

Aurantiochytrium sp. SC145 (2.2 kg) was ultrasonically extracted with methanol (MeOH) at 40°C three times (each 8.8 L, 3 h). The MeOH layer was evaporated *in vacuo* to give a dark solid residue (ASM, 110 g). This crude extract was suspended with water (1.5 L) and partitioned with CH₂Cl₂ to obtain CH₂Cl₂ soluble fraction (AS, 35.0 g) and water layer. Fraction AS was roughly separated on a silica gel column chromatography (CC), eluting with *n*-hexane:acetone (40:1, 20:1, 10:1, 5:1, 2.5:1, 1:1, v/v) to give five fractions, AS1A (7.5 g), AS1B (3.1 g), AS1C (5.4 g), AS1D (5.8 g) and AS1E (6.4 g).

The AS1B fraction (3.1 g) was chromatographed on a silica gel CC using *n*-hexane:acetone (6:1, v/v) as eluent to give five fractions, AS1B1 (130 mg), AS1B2 (864 mg), AS1B3 (986 mg), AS1B4 (172 mg) and AS1B5 (317 mg). AS1B1 was chromatographed on a silica gel CC eluting with *n*-hexane:ethyl acetate (3:1, v/v) to give AS1B1A (40 mg) and AS1B1B (45 mg). AS1B1B was further chromatographed on a preparative HPLC system using a solvent condition of 98% ACN in H₂O to yield compound **14** (4.7 mg, *t_R* 42.4 min). AS1B2 was chromatographed on a silica gel CC eluting with *n*-hexane:ethyl acetate (2:1, v/v) to give AS1B2A (300 mg) and AS1B2B (250 mg). AS1B2B was chromatographed on a preparative HPLC system using a solvent condition of 98% ACN in H₂O to yield compound **13** (4.3 mg, *t_R* 65.2 min). AS1B4 was chromatographed on an RP-18 column eluting with acetone:water (4.5:1, v/v) to give fractions, AS1B4A (70 mg) and AS1B4B (40 mg). AS1B4A was chromatographed on an RP-18 column eluting with acetone:water (5:1, v/v) to yield compounds **16** (4.3 mg) and **17** (6.9 mg). AS1B5 was chromatographed on an RP-18 column eluting with MeOH:water (4:1, v/v) to give fractions, AS1B5A (50 mg), AS1B5B (100 mg) and AS1B5C (30 mg). AS1B5A was chromatographed on a preparative HPLC system using a solvent condition of 38% ACN in H₂O to yield compound **5** (5.0 mg, *t_R* 32.9 min). AS1B5B was chromatographed on a preparative HPLC system using a solvent condition of 40% ACN in H₂O to yield compounds **2** (5.0 mg, *t_R* 23.1 min) and **8** (4.6 mg, *t_R* 21.0 min). With the same HPLC condition, compound **1** (3.8 mg, *t_R* 34.6 min) was obtained from AS1B5C.

Fraction AS1D (5.8 g) was chromatographed on a silica gel CC using *n*-hexane:acetone (6:1, v/v) as eluent to give four fractions, AS1D1 (3.8 g), AS1D2 (350 mg), AS1D3 (790 mg) and AS1D4 (561 mg). AS1D2 was chromatographed on a silica gel CC eluting with *n*-hexane:acetone (4:1, v/v) to give AS1D2A (55 mg), AS1D2B (50 mg) and AS1D2C (30 mg). AS1D2A was further chromatographed on a preparative HPLC system using a solvent condition of 55% MeOH in H₂O to yield compound **11** (4.7 mg, *t_R* 24.7 min) and fraction AS1D2A2. AS1D2A2 was chromatographed on a preparative HPLC system

using a solvent condition of 35% ACN in H₂O to yield compound **7** (10.0 mg, t_R 41.5 min). AS1D2B was chromatographed on a preparative HPLC system using solvent condition of 19% ACN in H₂O to yield compounds **4** (11.0 mg, t_R 35.2 min), **6** (8.3 mg, t_R 35.5 min) and **10** (2.8 mg, t_R 37.0 min). AS1D2C was chromatographed on a preparative HPLC system using a solvent condition of 60% MeOH in H₂O to yield compound **3** (4.3 mg, t_R 29.9 min). AS1D4 was chromatographed on a silica gel CC eluting with CH₂Cl₂:acetone:water (1:5:0.3, v/v/v) to give AS1D4A (100 mg), AS1D4B (95 mg) and AS1D4C (120 mg). AS1D4A was further chromatographed on an RP-18 column eluting with MeOH:water (4:1, v/v) to yield compounds **9** (7.7 mg) and **15** (8.7 mg). Finally, AS1D4C was chromatographed on an RP-18 column eluting with MeOH:water (5:1, v/v) to yield compound **12** (25.7 mg).

3.4.1. *N*-methoxymethyltryptophol (1)

Pale brown amorphous powder; UV (MeOH) λ_{max} 225 and 280 nm (Figure S3); IR (KBr) ν_{max} 3406, 2919, 2851, 1733, 1465 and 1178 cm⁻¹ (Figure S4); ¹H (CDCl₃, 600 MHz) and ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) spectral data; see Table S1; C₁₂H₁₅NO₂; HR-ESI-MS m/z 228.0993 [M + Na]⁺ (calcd. for [C₁₂H₁₅NO₂Na]⁺, 228.0995).

3.4.2. (2*R*)-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl 2-hydroxy-3-phenylpropanoate (2)

White amorphous powder; $[\alpha]_D^{25} = +30.5$ (c 0.1, CHCl₃); UV (MeOH) λ_{max} 210 and 278 nm (Figure S10); IR (KBr) ν_{max} 3440, 2917, 1731, 1633 and 1515 cm⁻¹ (Figure S11); CD rel (10⁻³ M, MeOH): $\Delta\epsilon$ (nm) -1.0 (220) (see Figure S3). ¹H (CDCl₃, 600 MHz) and ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) spectral data; see Table S1; C₁₇H₁₈O₄; HR-ESI-MS m/z 285.1133 [M-H]⁻ (calcd. for [C₁₇H₁₇O₄]⁻, 285.1132).

3.5. Antimicrobial assays

See the Supporting information.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

This work was supported by the Project KCB-TS-07.

ORCID

References

- Chen J, Jiao R, Jiang Y, Bi Y, Chen ZY. 2014. Algal sterols are as effective as β -sitosterol in reducing plasma cholesterol concentration. *J Agric Food Chem.* 62(3):675–681.
- Choi JH, Ogawa A, Abe N, Masuda K, Koyama T, Yazawa K, Kawagishi H. 2009. Chaxines B, C, D, and E from the edible mushroom *Agrocybe chaxingu*. *Tetrahedron.* 65(47):9850–9853.
- Cimmino A, Nocera P, Linaldeddu BT, Masi M, Gorecki M, Pescitelli G, Montecchio L, Maddau L, Evidente A. 2018. Phytotoxic metabolites produced by *Diaporthea cryptica*, the causal agent of hazelnut branch canker. *J Agric Food Chem.* 66(13):3435–3442.
- Dai N, Wang Q, Xu B, Chen H. 2022. Remarkable natural biological resource of algae for medical applications. *Front Mar Sci.* 9:912924.
- Du ZZ, Shen YM. 2006. A rare new cleistanthane diterpene from the pericarp of *Trewia nudiflora*. *HCA.* 89(11):2841–2845.
- Hien HTM, Thom LT, Ha NC, Tam LT, Thu NTH, Nguyen TV, Loan VT, Dan NT, Hong DD. 2022. Characterization and optimization of culture conditions for *Aurantiochytrium* sp. SC145 isolated from Sand Cay (Son Ca) island, Vietnam, and antioxidative and neuroprotective activities of its polyunsaturated fatty acid mixture. *Mar Drugs.* 20(12):780.
- Hoang MH, Ha NC, Thom LT, Tam LT, Anh HTL, Thu NTH, Hong DD. 2014. Extraction of squalene as value-added product from the residual biomass of *Schizochytrium mangrovei* PQ6 during biodiesel producing process. *J Biosci Bioeng.* 118(6):632–639.
- Kawagishi H, Katsumi R, Sazawa T, Mizuno T, Hagiwara T, Nakamura T. 1988. Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei*. *Phytochemistry.* 27(9):2777–2779.
- Kennedy ML. 2012. Phytochemical profile of the stems of *Aeonium lindleyi*. *Rev Bras Farmacogn.* 22(3):676–679.
- Kim DS, Baek N-I, Oh SR, Jung KY, Lee IS, Kim JH, Lee H-K. 1997. Anticomplementary activity of ergosterol peroxide from *Naematoloma fasciculare* and reassignment of NMR data. *Arch Pharm Res.* 20(3):201–205.
- Kohling P, Schmidt AM, Eilbracht P. 2003. Tandem hydroformylation/Fischer indole synthesis: a novel and convenient approach to indoles from olefins. *Org Lett.* 5(18):3213–3216.
- Kuroboshi M, Yoshida T, Oshitani J, Goto K, Tanaka H. 2009. Electroorganic synthesis in oil-in-water (O/W) nanoemulsion: TEMPO-mediated electrooxidation of amphiphilic alcohols in water. *Tetrahedron.* 65(34):7177–7185.
- Kwak JH, Kang MW, Roh JH, Choi SU, Zee OP. 2009. Cytotoxic phenolic compounds from *Chionanthus retusus*. *Arch Pharm Res.* 32(12):1681–1687.
- Paik S, Park MK, Jhun SH, Park HK, Lee CS, Cho BR, Byun HS, Choe SB, Suh SI. 2003. Isolation and synthesis of tryptamine derivatives from a symbiotic bacterium *Xenorhabdus nematophilus* PC. *Bull Korean Chem Soc.* 24(5):623–626.
- Russo GL, Langellotti AL, Blasco T, Oliviero M, Sacchi R, Masi P. 2021. Production of omega-3 oil by *Aurantiochytrium mangrovei* using spent osmotic solution from candied fruit industry as sole organic carbon source. *Processes.* 9(10):1834.
- Scott SD, Armenta RE, Berryman KT, Norman AW. 2011. Use of raw glycerol to produce oil rich in polyunsaturated fatty acids by a thraustochytrid. *Enzyme Microb Technol.* 48(3):267–272.
- Seo S, Uomori A, Yoshimura Y, Takeda K, Seto H, Ebizuka Y, Noguchi H, Sankawa U. 1988. Biosynthesis of sitosterol, cycloartenol, and 24-methylenecycloartenol in tissue cultures of higher plants and of ergosterol in yeast from [1,2- $^{13}\text{C}_2$]- and [2- $^{13}\text{C}_2\text{H}_3$]-acetate and [5- $^{13}\text{C}_2\text{H}_2$] MVA. *J Chem Soc, Perkin Trans.* 1(8):2407–2414, https://pubs.rsc.org/en/journals/journalissues/p1#lissueid=p11988_0_8&type=archive&issnprint=0300-922x
- Sun D-D, Dong W-w, Li X, Zhang H-Q. 2010. Indole alkaloids from the roots of *Isatis ingigotica* and their antiherpes simplex virus type 2 (HSV-2) activity *in vitro*. *Chem Nat Compd.* 46(5):763–766.
- Wright JLC. 1981. Minor and trace sterols of *Dunaliella tertiolecta*. *Phytochemistry.* 20(10):2403–2405.
- Yang QQ, Marchini M, Xiao WJ, Ceroni P, Bandini M. 2015. Visible-light-induced direct photocatalytic carboxylation of indoles with CBr_4/MeOH . *Chemistry.* 21(50):18052–18056.
- Yang ZK, Niu YF, Ma Y-H, Xue J, Zhang MH, Yang WD, Liu JS, Lu SH, Guan Y, Li HY. 2013. Molecular and cellular mechanisms of neutral lipid accumulation in diatom following nitrogen deprivation. *Biotechnol Biofuels.* 6(1):67.

Chemical Constituents From the Marine Microalgae *Thraustochytrium pachydermum*

Natural Product Communications
Volume 18(3): 1–5
© The Author(s) 2023
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/1934578X231157145
journals.sagepub.com/home/npx



Abstract

Objectives: Isolation, structure determination, and antimicrobial activities evaluation of compounds from the methanol extract of the marine microalga *Thraustochytrium pachydermum* TSL10. **Methods:** Using chromatographic methods to isolate compounds from the methanol extract of the *T. pachydermum*. The chemical structures were elucidated by analyses of HR-ESI-MS and NMR spectral data. The antimicrobial activities of compounds were evaluated using the dilution turbidimetric broth method as the standard protocol published by the Clinical and Laboratory Standard Institute. **Results:** One new sterol, (24R)-ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α ,9 α -triol (**1**), and 16 known compounds, ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α -diol (**2**), cerevisterol (**3**), (22E,24S)-5 α ,6 α -epoxy-ergosta-8(9),22-diene-3 β ,7 α -diol (**4**), ergosterol (**5**), 5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-diene-3 β -ol (**6**), linoleic acid (**7**), 4-((9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienyloxy)butanoic acid (**8**), 1-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (**9**), cibotiglycerol (**10**), ginglyglycolipid B (**11**), oleic acid (**12**), 4-((9Z)-octadec-9-enyloxy)butanoic acid (**13**), (2S)-1-O-(9Z)-octadec-9-enoyl)-3-O-(6-sulfo-D-quinovopyranosyl)glycerol (**14**), 6'-O-linoleylsucrose (**15**), ginglyglycolipid C (**16**), and (S)-3-stearoyl-sn-glycerol (**17**) were identified from the marine microalga *Thraustochytrium pachydermum* TSL10. Sterols **1–6** were found to exhibit significant antimicrobial activities on Gram-(+) bacteria (*Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, and *Bacillus cereus* ATCC14579) and the yeast (*Candida albicans* ATCC10231) with MIC values ranging from 32 to 256 μ g/mL. **Conclusions:** The results suggested sterols **1–6** could be potential antimicrobial agents against Gram-(+) bacteria.

Keywords

Thraustochytrium pachydermum, Thraustochytriaceae, (24R)-ergosta-7, 22-diene-3 β , 5 α , 9 α -triol, marine microalgae, antimicrobial

Received: November 25th, 2022; Accepted: January 24th, 2023.

Introduction

Microalgae have been known as one of the largest and most diverse photosynthetic organisms. They are potential sources of bioactive compounds such as fatty acids, carotenoids, chlorophylls, phycobiliproteins, and vitamins. The compounds from microalgae have exhibited antibacterial, antifungal, antiviral, antitumor, and anti-inflammatory effects.¹

Thraustochytrium species (Thraustochytriaceae family) are suitable for fermentation technology and produce fatty acids and other value-added biocomponents.^{2,3} The marine microalga *Thraustochytrium pachydermum* was isolated from Truong Sa Island, Truong Sa Archipelago, Vietnam in 2021 and is available in GenBank (accession number OL721615).⁴ The chemical constituents and biological activities of *T. pachydermum* have not been studied so far. Herein, we report one new sterol and

¹Joint Vietnam-Russia Tropical Science and Technology Research Center, Hanoi, Vietnam

²Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST), Hanoi, Vietnam

³Institute of Biotechnology, VAST, Hanoi, Vietnam

⁴Institute of Marine Biochemistry, VAST, Hanoi, Vietnam

⁵Center for Research and Technology Transfer VAST, Hanoi, Vietnam

Corresponding Authors:



17 known metabolites from the marine microalgae *T. pachydermum* TSL10 and their antibacterial activities.

Results and Discussion

Compound **1** was obtained as a white powder. Its molecular formula, $C_{28}H_{46}O_3$, was defined by a pseudo-molecular ion peak at m/z 429.3376 $[M + H]^+$ (calcd for $[C_{28}H_{47}O_3]^+$, 429.3374) on the HR-ESI-MS. The 1H -NMR spectrum of **1** revealed proton signals of 6 methyl groups [2 singlets at δ_H 0.62 (s, H-18) and 1.01 (s, H-19)] and 4 doublets at δ_H 1.03 (H-21), 0.82 (H-26), 0.84 (H-27), and 0.92 (H-28), (each, 3H, d, $J = 6.6$ Hz)], 3 olefinic protons at δ_H 5.65 (1H, br d, $J = 1.8$ Hz, H-7), 5.17 (1H, dd, $J = 15.6, 8.4$ Hz, H-22), and 5.24 (1H, dd, $J = 15.6, 7.8$ Hz, H-23), and one carbinol proton at δ_H 4.06 (1H, m, H-3). The ^{13}C -NMR and HSQC spectra of **1** showed signals of 30 carbons, including 6 methyl carbons at δ_C 12.3 (C-18), 20.5 (C-19), 21.1 (C-21), 19.7 (C-26), 20.0 (C-27), and 17.6 (C-28), 7 methylenes at δ_C 25.5 (C-1), 30.1 (C-2), 37.1 (C-4), 28.8 (C-6), 29.1 (C-11), 34.9 (C-12), 22.4 (C-15), and 27.9 (C-16), 9 methines at δ_C 67.2 (C-3), 119.9 (C-7), 51.8 (C-14), 56.0 (C-17), 40.3 (C-20),

135.1 (C-22), 132.5 (C-23), 42.8 (C-24), and 33.1 (C-25), and 5 non-protonated carbons at δ_C 74.7 (C-5), 79.7 (C-9), 41.8 (C-10), and 45.3 (C-13), and 1 carbon (C-8, did not show in the ^{13}C -NMR spectrum). Analysis of the 1H - and ^{13}C -NMR spectra of **1** (Table 1) indicated its structure was similar to that of ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α -diol (**2**),⁵ except for an addition of one hydroxyl group at C-9. The HMBC correlations between H-19 (δ_H 1.01) and C-1 (δ_C 25.5)/C-5 (δ_C 74.7)/C-9 (δ_C 79.7)/C-10 (δ_C 41.8), H-4 (δ_H 1.76 and 2.09) and C-2 (δ_C 30.1)/C-3 (δ_C 67.2)/C-5 (δ_C 74.7)/C-6 (δ_C 28.8)/C-10 (δ_C 41.8), H-7 (δ_H 5.73) and C-5 (δ_C 74.7)/C-9 (δ_C 79.7)/C-14 (δ_C 51.8) confirmed positions of the hydroxyl groups at C-3, C-5, and C-9, and the double bond at C-7/C-8 (Figure 1). The HMBC correlations between H-21 (δ_H 1.03) and C-17 (δ_C 56.0)/C-20 (δ_C 40.3)/C-22 (δ_C 135.1) and between H-28 (δ_H 0.92) and C-23 (δ_C 132.5)/C-24 (δ_C 42.8)/C-25 (δ_C 33.1) and COSY cross-peaks of H-21 (δ_H 1.03)/H-20 (δ_H 2.03)/H-22 (δ_H 5.17)/H-23 (δ_H 5.24)/H-24 (δ_H 1.86) indicated the double bond at C-22/C-23. The large coupling constant of H-22 and H-23 ($J = 15.6$ Hz) indicated the *E* configuration of the double bond at C-22/C-23. The NOESY correlations between H-19 (δ_H 1.01) and H β -1 (δ_H 1.51)/H β -2 (δ_H 1.48)/H β -4 (δ_H 1.76), between H β -4 (δ_H 1.76) and H β -6 (δ_H 1.91) suggested the orientation of the hydroxyl group at C-5 to be α . The NOESY correlation between H-18 (δ_H 0.62) and H-19 (δ_H 1.01) proved the orientation of the hydroxyl group at C-9 to be α . The configuration of C-24 in **1** was deduced to be *R* by comparing the chemical shifts of C-24 (δ_C 42.8) and C-28 (δ_C 17.6) of **1** with those of 5 α ,8 α -epidioxy-24*S*-methylcholesta-6,22*E*-diene-3 β -ol (δ_C 43.0 and 18.0)⁶ and 5 α ,8 α -epidioxy-24*R*-methylcholesta-6,22*E*-dien-3 β -ol (δ_C 42.8 and 17.6).⁷ Thus, new compound **1** was elucidated to be (24*R*)-ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α ,9 α -triol.

The known compounds were determined to be ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α -diol (**2**),⁵ cerevisterol (**3**),⁸ (22*E*,24*S*)-5 α ,6 α -epoxy-ergosta-8(9),22-diene-3 β ,7 α -diol (**4**), ergosterol (**5**),⁹ 5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-diene-3 β -ol (**6**),⁷ linoleic acid (**7**),¹⁰ 4-((9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dienyloxy)butanoic acid (**8**),¹¹ 1-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (**9**),¹² cibotiglycerol (**10**),¹³ gingerglycolipid B (**11**),¹⁴ oleic acid (**12**),¹⁵ 4-((9*Z*)-octadec-9-enyloxy)butanoic acid (**13**),¹⁶ (2*S*)-1-*O*-(9*Z*)-octadec-9-enoyl)-3-*O*-(6-sulfo-D-quinovopyranosyl)glycerol (**14**),¹⁷ 6'-*O*-linoleylsucrose (**15**),¹⁸ gingerglycolipid C (**16**),¹⁴ and (3*S*)-3-stearoyl-*sn*-glycerol (**17**)¹⁹ by comparing their NMR data with those reported in the literature (Figure 2).

All isolated compounds were evaluated for their antimicrobial activities against microorganisms, Gram-(+) bacteria (*Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, and *Bacillus cereus* ATCC14579), Gram-(-) bacteria (*Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, and *Salmonella enterica* ATCC13076), and yeast (*Candida albicans* ATCC10231) using dilution turbidimetric broth method as the standard protocols published by the Clinical and Laboratory Standard Institute (Table 2). Streptomycin and cycloheximide were used as positive controls. Streptomycin inhibited Gram-(+) bacteria (*E. faecalis*, *S. aureus*, and *B. cereus*), Gram-(-) bacteria (*E. coli*, *P. aeruginosa*, and *S. enterica*) with MIC values ranging from 32 to 256 μ g/mL, respectively. Cycloheximide inhibited the yeast *C. albicans* with MIC value of 32

Table 1. 1H - and ^{13}C -NMR Spectral Data for **1** in $CDCl_3$.

C	δ_C	δ_H (mult., J in Hz)
1	25.5	1.51 (m, β)/2.33 (m, α)
2	30.1	1.48 (m, β)/1.85 (m, α)
3	67.2	4.06 (m)
4	37.1	1.76* (β) 2.09 (br d, 13.8, α)
5	74.7	-
6	28.8	1.73* (α)/1.91* (β)
7	119.9	5.65 (br d, 1.8)
8	ND	-
9	79.7	-
10	41.8	-
11	29.1	1.31 (m)
12	34.9	1.73 (m, α) 1.88 (m, β)
13	45.3	-
14	51.8	2.75 (m)
15	22.4	1.48 (m, β) 1.59 (m, α)
16	27.9	1.33 (m, β) 1.80 (m, α)
17	56.0	1.44 (m)
18	12.3	0.62 (s)
19	20.5	1.01 (s)
20	40.3	2.03 (m)
21	21.1	1.03 (d, 6.6)
22	135.1	5.17 (dd, 15.6, 8.4)
23	132.5	5.24 (dd, 15.6, 7.8)
24	42.8	1.86 (m)
25	33.1	1.48 (m)
26	19.7	0.82 (d, 6.6)
27	20.0	0.84 (d, 6.6)
28	17.6	0.92 (d, 6.6)

Abbreviation: ND, not determined.

*Overlapped signals.

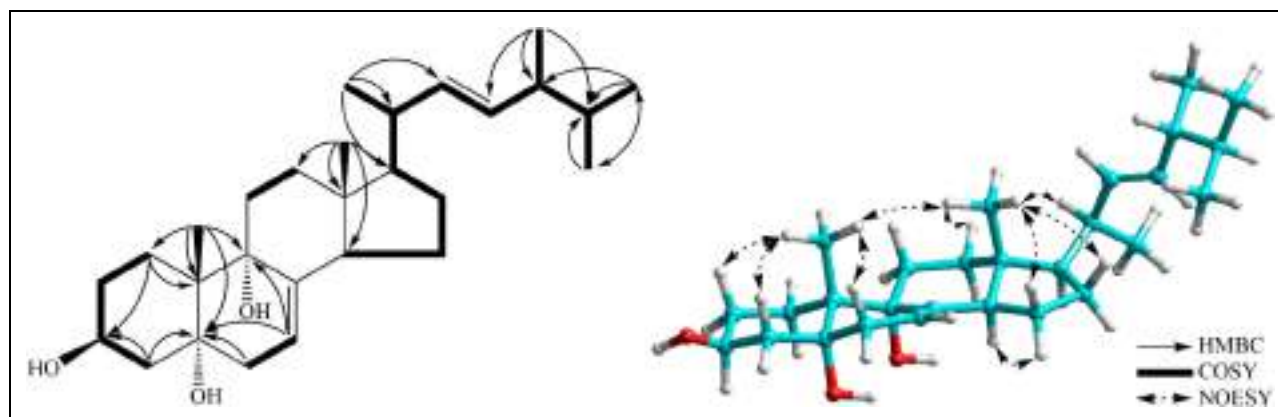


Figure 1. The key HMBC, COSY, and NOESY correlations of compound 1.

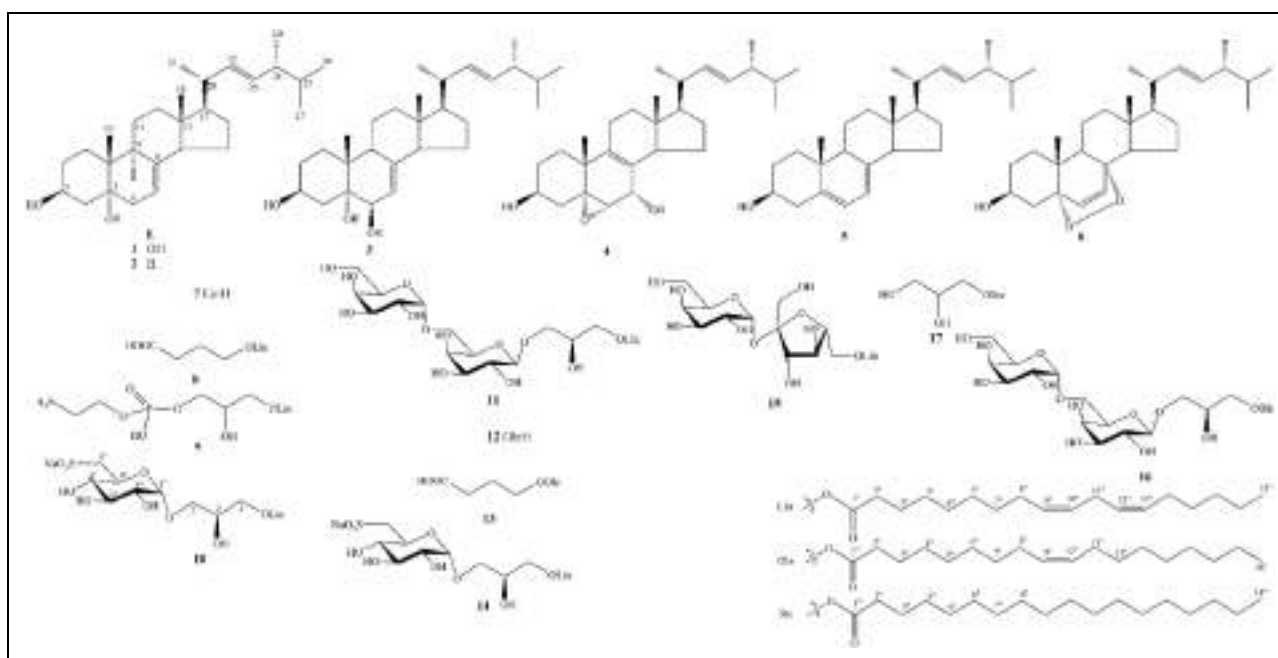


Figure 2. Chemical structures of compounds 1-17.

$\mu\text{g/mL}$. All isolated sterols **1-6** showed significant antimicrobial activities on Gram-(+) bacteria (*E. faecalis*, *S. aureus*, and *B. cereus*) and yeast *C. albicans* with MIC values ranging from 32 to 256 $\mu\text{g/mL}$ (Table 2). The remaining compounds (fatty acid derivatives) exhibited weak or no antimicrobial activities. However, most compounds did not inhibit the growth of Gram-(-) bacteria (*E. coli*, *P. aeruginosa*, and *S. enterica*) (MIC values $> 256 \mu\text{g/mL}$). The results suggested sterols **1-6** could be potential antimicrobial agents against Gram-(+) bacteria.

Material and Methods

General

See Supplemental Material.

Microalgae Samples

See Supplemental Material.

Biomass Cultivation

An aeration rate when growing biomass was always maintained at 0.5 L air/L/min after the air was filtered through a 0.2 μm filter (Advantec, JP020AN). Biomass cultivation has changed on a large scale of 30 L fermentor: while the dissolved oxygen was maintained above 10% with the manual stirring speed from 300 to a maximum of 400 rpm, at $32 \pm 37^\circ\text{C}$. Glucose concentrations of 9%, and 1% industrial yeast extract were used to grow the strain *T. pachydermum* TSL10. After 120 h of cultivation, biomass was filtered and dried.

Extraction and Purification of Compounds

Thraustochytrium pachydermum (2.2 kg) was ultrasonically extracted with methanol (MeOH) at 40°C 3 times (each 8.8 L, 3 h). The

Table 2. Antimicrobial Activities of Compounds 1-17.

Compounds	MIC ($\mu\text{g/mL}$)						
	Gram (+)			Gram (-)			Yeast
	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Candida albicans</i>
1	256	64	256	-	-	-	256
2	256	128	256	-	-	-	256
3	128	32	128	-	-	-	256
4	256	64	128	-	-	-	64
5	128	128	256	-	-	-	256
6	128	64	64	-	-	-	64
7	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-
9	128	-	256	-	-	-	-
10	256	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	256	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-
17	128	-	256	-	-	128	256
Streptomycin	256	256	128	32	256	128	
Cyclohexamide							32

(-) compound did not exhibit antimicrobial activities (MIC >256 $\mu\text{g/mL}$).

MeOH layer was evaporated in vacuo to give a dark solid residue (420 g). This crude extract was suspended with water (2.0 L) and partitioned with CH_2Cl_2 to obtain CH_2Cl_2 soluble fraction (TPD, 102 g) and water layer. The TPD fraction was roughly separated on a silica gel column chromatography (CC), eluting with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (100:0, 40:1, 20:1, 10:1, 5:1, vol/vol) to give 5 fractions, TP1A (21.8 g), TP1B (15.7 g), TP1C (8.4 g), TP1D (25.9 g), and TP1E (20.3 g). The TP1B fraction (15.7 g) was chromatographed on a silica gel CC using $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{water}$ (4/1/0.05, vol/vol/vol) as eluent to give 5 fractions, TP2A (1.3 g), TP2B (6.7 g), TP2C (0.6 g), TP2D (2.8 g), and TP2E (2.5 g).

TP2A (1.3 g) fraction was chromatographed on a silica gel CC and an eluent of $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{acetone}$ (7/1, vol/vol) to yield compounds **1** (3.8 mg), **3** (12.7 mg), and **4** (4.1 mg). The TP2C fraction (0.6 g) was also loaded on a silica gel column and eluted with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{acetone}$ (10/1, vol/vol) to obtain compounds **2** (3.3 mg) and **17** (4.0 mg). The TP2E fraction (2.5 g) was first fractionated on an RP-18 CC eluting with acetone/water (2/1, vol/vol) to give 2 fractions, TP2E1 (300 mg) and TP2E2 (500 mg). TP2E1 (300 mg) fraction was chromatographed on an HPLC (solvent eluent of 40% acetonitrile in water) to yield compound **10** (3.6 mg, t_R 34.7 min). TP2E2 fraction (0.5 g) was chromatographed on an HPLC (solvent eluent of 90% MeOH in water) to yield compound **15** (4.8 mg, t_R 43.0 min).

The TP1C fraction (8.4g) was repeatedly chromatographed on a silica gel CC, eluting with *n*-hexane/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{acetone}$ (3/1/0.1, vol/vol/vol) to obtain 3 fractions TP3A (2.6 g), TP3B (1.5 g), and TP3C (1.8 g). Compound **5** (8.2 mg) was purified from the TP3A fraction using a silica gel CC and solvent eluent of *n*-hexane/acetone (5/1, vol/vol). The TP3B fraction

was chromatographed on an RP-18 column eluting with acetone/water (5/1, vol/vol) to yield compound **6** (50.0 mg). Compounds **8** (4.6 mg) and **13** (36.0 mg) were isolated from the TP3C fraction on a silica gel CC and solvent eluent of *n*-hexane/ethyl acetate (4/1, vol/vol). The TP1E fraction (20.3 g) was first fractionated on a silica gel CC eluting with $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{water}$ (3/1/0.1, vol/vol/vol) to give 5 fractions, TP4A (0.5 g), TP4B (1.8 g), TP4C (2.0 g), TP4D (2.1 g), and TP4E (1.9 g). TP4A fraction (0.5 g) was chromatographed on an HPLC with a solvent eluent of 90% MeOH in water to yield compound **9** (4.6 mg, t_R 50.3 min). Compound **14** (6.1 mg, t_R 36.1 min) was isolated from the TP4B fraction on an HPLC (solvent eluent of 40% acetonitrile in water). The TP4D (2.1 g) fraction was chromatographed on an HPLC (solvent eluent of 90% acetonitrile in water) to yield compounds **11** (7.0 mg, t_R 31.1 min) and **16** (33.9 mg, t_R 43.5 min). Finally, compounds **7** (9.9 mg) and **12** (14.5 mg) were isolated from the TP4E fraction (1.9 g) on an RP-18 column eluting with MeOH/water (9/1, vol/vol).

Ergosta-7,22-diene-3 β ,5 α ,9 α -triol (**1**). White amorphous powder; $[\alpha]_D^{25}$: + 35.7 (c 0.1, CHCl_3); HR-ESI-MS: m/z 431.3525 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (calcd. for $[\text{C}_{28}\text{H}_{47}\text{O}_3]^+$, 431.3520), IR (KBr) ν_{max} 3427, 2957, 2919, 1677, 1454, 1160, 1007 cm^{-1} ; ^1H - and ^{13}C -NMR (CDCl_3): see Table 1.

Antimicrobial Assays

See Supplemental Material.

Acknowledgments

This work was supported by the Project KCB-TS-07.

Declaration of Conflicting Interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding

The author(s) disclosed receipt of the following financial support for the research, authorship, and/or publication of this article: This work was supported by the KCB-TS-07.

ORCID iDs

Supplemental Material

Supplemental material for this article is available online.

References

1. Dai N, Wang Q, Xu B, Chen H. Remarkable natural biological resource of algae for medical applications. *Front Mar Sci*. 2022;9:912924. doi:10.3389/fmars.2022.912924
2. Jenkins KM, Jensen PR, Fenical W. Thraustochytrids A-C: new glycosphingolipids from a unique marine protist, *Thraustochytrium globosum*. *Tetrahedron Lett*. 1999;40:7637-7640. doi:10.1016/S0040-4039(99)01562-2
3. Li X, Li M, Pu Y, et al. Degradation of aromatic compounds and lignin by marine protist *Thraustochytrium striatum*. *Process Biochem*. 2021;107:13-17. doi:10.1016/j.procbio.2021.05.006
4. Thom LT, Ha NC, Hien HTM, et al. Biological characteristics of the heterotrophic marine microalgae *Thraustochytrium pachydermum* TSL10 isolated from the sea area of Truong Sa Archipelago, Vietnam. *Vietnam J Biotech*. 2022;20:545-563. doi:10.15625/1811-4989/16835
5. Kwon HC, Zee SD, Cho SY, Choi SU, Lee KR. Cytotoxic ergosterols from *Paecilomyces* sp. J300. *Arch Pharm Res*. 2002;25:851-855. doi:10.1007/BF02977003
6. Ioannou E, Abdel-Razik AF, Zervou M, et al. 5 α ,8 α -epidioxysterols from the gorgonian *Eunicella cavolini* and the ascidian *Trididemnum inarmatum*: isolation and evaluation of their antiproliferative activity. *Steroids*. 2009;74:73-80. doi:10.1016/j.steroids.2008.09.007
7. Yue JM, Chen SN, Lin ZW, Sun HD. Sterols from the fungus *Lactarium volens*. *Phytochemistry*. 2001;56:801-806. doi:10.1016/S0031-9422(00)00490-8
8. Kawagishi H, Katsumi R, Sazawa T, Mizuno T, Hagiwara T, Nakamura T. Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei*. *Phytochemistry*. 1988;27:2777-2779. doi:10.1016/0031-9422(88)80662-9
9. Martínez MS, Alvarez ST, Campi MG, Bravo JA, Vila JL. Ergosterol from the mushroom *Laetiporus* sp. Isolation and structural characterization. *Rev Boliv Quim*. 2015;32:90-94.
10. Marwah RG, Fatope MO, Deadman ML, Al-Maqbali YM, Husband J. Musanahol: a new aureonitol-related metabolite from a *Chaetomium* sp. *Tetrahedron*. 2007;63:8174-8180. doi:10.1016/j.tet.2007.05.119
11. Beckwith REJ, Brito L, Dechristopher BA, Gamber GG, Geall A, Zabawa T. Lipids and lipid compositions for the delivery of active agents. *WO2016037053*, 2016.
12. Wei J, Zhou X, Dong M, et al. Metabolites and novel compounds with anti-microbial or antiaging activities from *Cordyceps fumosorosea*. *AMB Express*. 2022;12:1-14. doi:10.1186/s13568-022-01379-w
13. Cuong NX, Minh CV, Kiem PV, et al. Inhibitors of osteoclast formation from rhizomes of *Cibotium barometz*. *J Nat Prod*. 2009;72:1673-1677. doi:10.1021/np9004097
14. Yoshikawa M, Yamaguchi S, Kunimi K, et al. Stomachic principles in ginger. III. An anti-ulcer principle, 6-gingesulfonic acid, and three monoacyldigalactosylglycerols, gingerglycolipids a, b, and c, from *Zingiberis* rhizoma originating in Taiwan. *Chem Pharm Bull*. 1994;42:1226-1230. doi:10.1248/cpb.42.1226
15. Akita C, Kawaguchi T, Kaneko F, Yamamoto H, Suzuki M. Solid-state ¹³C NMR study on order $\rightarrow$ disorder phase transition in oleic acid. *J Phys Chem B*. 2004;108:4862-4868. doi:10.1021/jp037326p
16. Caulfield CE, Rinker JM. Hydroxy(oxoalkyl)furanones (tetronic acid derivatives) and hydroxy(oxoalkyl)thiophenones (thiotetronic acid derivatives), methods for their preparation and their use as inflammation inhibitors. *EP508690*, 1992.
17. Hanashima S, Mizushima Y, Sakaguchi K, et al. Synthesis on eukaryotic DNA polymerases inhibitors. *Tennen Yuki Kagobutsu Toronkai Koen Yoshishu*. 1999;41:325-330.
18. Li W, Sun YN, Yan XT, et al. NF- κ B inhibitory activity of sucrose fatty acid esters and related constituents from *Astragalus membranaceus*. *J Agric Food Chem*. 2013;61:7081-7088. doi:10.1021/jf4017509
19. Heo H, Jung J-S, Lee J, et al. Synthesis of lysophosphatidylcholine analogues using D-mannitol as a chiral template and their biological activity for sepsis. *Bull Korean Chem Soc*. 2006;27:1149-1153. doi:10.5012/bkcs.2006.27.8.1149

MỘT SỐ HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ VI TẢO BIỂN *AURANTIOCHYTRIUM* SP. SC145

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi tảo là nguồn nguyên liệu tiềm năng để tìm kiếm các hoạt chất có tác dụng sinh học. *Aurantiochytrium* là một chi gồm các loài vi tảo biển dị dưỡng, thuộc họ Thraustochytridae. Chi *Aurantiochytrium* đóng vai trò quan trọng trong quá trình lên men sinh khối công nghiệp [1]. Các nghiên cứu trước đây chỉ ra thành phần hóa học của *Aurantiochytrium* sp. bao gồm nhiều loại acid béo không no như Omega-3,6,9 [2], các squalene như myristic acid, palmitic acid, palmitoleic acid... [3] và một số sterol khác [4]. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học cũng cho thấy cao chiết từ sinh khối của vi tảo *Aurantiochytrium* có hoạt tính kháng viêm, chống gốc tự do và ức chế enzyme Acetylcholinesterase [3]. Nghiên cứu này công bố kết quả phân lập và xác định cấu trúc của sáu hợp chất từ sinh khối của vi tảo biển dị dưỡng *Aurantiochytrium* sp. SC145.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Mẫu nghiên cứu

Vi tảo *Aurantiochytrium* sp. SC145 được thu thập tại đảo Sơn Ca, quần đảo Trường Sa, tỉnh Khánh Hoà vào tháng 5 năm 2021 và được định danh bằng phương pháp giải trình tự gen 18S rRNA và so sánh với dữ liệu trên GenBank [3]. Mẫu được lưu trữ tại Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (Viện HL KH&CN VN).

2.2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) được đo trên thiết bị Bruker Avance 600 MHz (chất chuẩn nội tetramethyl silane - TMS) tại Viện Hóa học, Viện HL KH&CN VN. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS được đo trên máy AGILENT 6530 Accurate Mass của Viện Hóa sinh biển, Viện HL KH&CN VN.

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufoilen 60 F₂₅₄ (Merck) hoặc RP18 F_{254S} (Merck). Vết chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ nóng từ từ đến khi hiện màu.

Sắc ký cột: Được tiến hành với các chất hấp phụ là silica gel, pha đảo RP-18, và diaion HP-20. Silica gel có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh) và pha đảo RP-18 (120 µm, YMC Co. Ltd.).

2.3. Phương pháp nuôi sinh khối

Vi tảo *Aurantiochytrium* sp. SC145 được nuôi cấy trong máy lên men có dung tích 30L bằng môi trường dinh dưỡng gồm glucose 9%, chiết xuất nấm men công nghiệp 1% và độ mặn 3%. Sinh khối tảo được thu hoạch sau 120 giờ lên men ở nhiệt độ 32-37 °C bằng cách ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút. Bã tảo được rửa sạch bằng nước cất vô trùng, sau đó sấy khô đến khối lượng không đổi ở 50 °C, nghiền thành bột và bảo quản trong bình hút ẩm.

2.4. Phân lập các chất

Bột tảo sấy khô (2,2 kg) được chiết trong bể siêu âm với methanol (20 L x 3 lần) ở nhiệt độ phòng trong 24h. Dịch chiết được gom lại và cất loại dung môi ở áp suất giảm thu được 110 g cặn chiết methanol. Cặn chiết này sau đó được phân bố trong 1,5 L nước cất và chiết phân lớp với diclomethan (1,5 L x 3 lần). Pha hữu cơ được thu lại và cất loại dung môi để thu được cặn chiết diclomethan (AS, 35 g). Cặn chiết AS được phân tách trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexan:acetone (gradient 40:1, 20:1, 10:1, 5:1, 2,5:1, 1:1, v/v) thu được 5 phân đoạn AS1A (7,5 g), AS1B (3,1 g), AS1C (5,4 g), AS1D (5,8 g) và AS1E (6,4 g).

Phân đoạn AS1B được phân tách trên cột silica gel và rửa giải với hệ dung môi *n*-hexan:acetone (6:1, v/v) thu được 5 phân đoạn AS1B2A (130 mg), AS1B2B (864 mg), AS1B2C (986 mg), AS1B2D (172 mg) và AS1B2E (317 mg). Phân đoạn AS1B2E được phân tách trên cột RP-18 cùng với hệ dung môi MeOH:H₂O (4:1, v/v) rửa giải, thu được 3 phân đoạn AS1B2E1 (50 mg), AS1B2E2 (100 mg) và AS1B2E3 (30 mg). Phân đoạn AS1B2E2 được phân tách trên hệ thống HPLC sử dụng pha động 40% acetonitril trong nước, thu được hợp chất là **1** (1,4 mg, *t_R* 19,9 min). Phân đoạn AS1B2B được phân tách trên cột silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi *n*-hexan:EtOAc (2:1, v/v) thu được 2 phân đoạn AS1B2B1 (300 mg) và AS1B2B2 (250 mg). Phân đoạn AS1B2B1 tiếp tục phân tách trên hệ thống HPLC, pha động 98% acetonitril trong nước, thu được 1 hợp chất **2** (26,1 mg, *t_R* 50,6 min). Phân đoạn AS1B2A tiếp tục phân tách tiếp trên cột silica gel sử dụng hệ dung môi *n*-hexan:EtOAc (3:1, v/v) thu được 2 phân đoạn AS1B2A1 (40 mg) và AS1B2A2 (45 mg). Phân đoạn AS1B2A1 tiếp tục phân tách trên hệ thống HPLC, pha động 98% acetonitril trong nước, thu được hợp chất **3** (18,7 mg, *t_R* 55,2 min). Phân đoạn AS1B2D được phân tách trên cột RP-18 và sử dụng hệ dung môi acetone:H₂O (4,5:1, v/v) để rửa giải, thu được 2 phân đoạn AS1B2D1 (70 mg) và AS1B2D2 (40 mg). Phân đoạn AS1B2D2 tiếp tục được phân tách bằng cột RP-18 với hệ dung môi rửa giải acetone:H₂O (4,5:1, v/v) thu được 1 hợp chất **4** (7,5 mg). Phân đoạn AS1D được phân tách trên cột RP-18 với hệ dung môi rửa giải acetone:H₂O (1:1, v/v) thu được 4 phân đoạn AS1D1 (3,8 g), AS1D2 (350 mg), AS1D3 (790 mg) và AS1D4 (561 mg). Phân đoạn AS1D4 được phân tách trên cột silica gel sử dụng hệ dung môi rửa giải dichloromethane:acetone: H₂O (1:5:0,3, v/v/v) thu được 3 phân đoạn AS1D4A (100 mg), AS1D4B (95 mg) và AS1D4C (120 mg). Phân đoạn AS1D4A tiếp tục được phân tách trên cột RP-18 sử dụng hệ dung môi rửa giải MeOH:H₂O (4:1, v/v) thu được hợp chất là **5** (6,8 mg). Phân đoạn AS1D2 tiếp tục được phân tách trên cột silica gel và sử dụng hệ dung môi *n*-hexan:acetone (4:1, v/v) rửa giải, thu được 3 phân đoạn AS1D2A (35 mg), AS1D2B (50 mg) và AS1D2C (30 mg). Phân đoạn AS1D2A tiếp tục được phân tách trên hệ thống HPLC, pha động 35-55% MeOH trong nước thu được hợp chất **6** (5 mg, *t_R* 27,6 phút).

Cyclo-(L-Pro-L-Leu) (1): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: C₁₁H₁₈O₃N₂. Khối lượng phân tử: 210,3. ESI-MS *m/z* 211 [M+H]⁺. UV (MeOH) λ_{max} 220, 280 nm. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -57,6 (*c*=0,1, CHCl₃). $[\alpha]_D^{25}$: -133 (*c*=0,3; ethanol). IR (KBr) ν_{max} 3259, 2921, 1668, 1633, 1433 cm⁻¹. Số liệu phổ ¹H-NMR

(CDCl₃): δ_H (ppm) 3,55 (1H; m; H-3a); 3,60 (1H; m; H-3b); 2,07 (1H; m; H-4); 1,90 (1H; m; H-4); 2,36 (2H; m; H-5); 4,12 (1H; dd; $J = 7,8$; 7,8 Hz; H-6); 4,02 (1H; dd; $J = 3,6$; 9,6 Hz; H-9); 1,52 (1H; m; H-10); 2,07 (1H; m; H-10); 1,74 (1H; m; H-11); 0,96 (3H; d; $J = 6,6$ Hz; H-12); 1,00 (3H; d; $J = 6,6$ Hz; H-13). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C (ppm) 166,1 (C-1); 45,5 (C-3); 22,7 (C-4); 28,1 (C-5); 59,0 (C-6); 170,2 (C-7); 53,4 (C-9); 38,7 (C-10); 24,7 (C-11); 21,2 (C-12); 23,3 (C-13).

(9Z,12Z)-Octadeca-9,12-dienoic acid (2): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: C₁₈H₃₂O₂. Khối lượng phân tử: 280,5. ESI-MS m/z 279 [M-H]⁻; IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3418, 2927, 1712, 1462, 1184 cm⁻¹. Số liệu phổ ¹H-NMR (CDCl₃): δ_H (ppm) 2,34 (2H; t; $J = 6,6$ Hz; H-2); 1,63 (2H; m; H-3); 1,26 (2H; m; H-4); 1,28 (2H; m; H-5); 1,34 (2H; m; H-6); 1,30 (2H; m; H-7); 2,05 (4H; q; $J = 6,6$ Hz; H-8, H-14); 5,32 (2H; m; H-9, H-13); 5,38 (1H; m; H-10, H-12); 2,77 (2H; t; $J = 6,6$ Hz; H-11); 1,28 (2H; m; H-15); 1,28 (2H; m; H-16); 1,30 (2H; m; H-17); 0,89 (3H; t; $J = 6,6$ Hz; H-18). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C (ppm) 180,0 (C-1); 34,1 (C-2); 29,7 (C-3); 29,0 (C-4); 29,1 (C-5); 29,1 (C-6); 29,3 (C-7); 27,2 (C-8); 130,2 (C-9); 128,1 (C-10); 25,6 (C-11); 127,9 (C-12); 130 (C-13); 27,2 (C-14); 29,6 (C-15); 31,5 (C-16); 22,6 (C-17); 14,0 (C-18).

Tyrosyl linoleat (3): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: C₂₆H₄₀O₃. Khối lượng phân tử: 400,6. UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 228, 278 nm. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -92,0 ($c=0,1$, CHCl₃). IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3426, 2923, 1732, 1515, 1168 cm⁻¹. HR-ESI-MS m/z 399,2902 [M-H]⁻. Tính toán lý thuyết cho công thức [C₂₆H₃₉O₃]⁻, 399,2905. Số liệu phổ ¹H-NMR (CDCl₃): δ_H (ppm) 2,29 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-2); 1,64 (2H; m; H-3); 1,34 (2H; m; H-4); 1,29 (2H; m; H-5); 1,32 (2H; m; H-6); 1,35 (2H; m; H-7); 2,05 (4H; q; $J = 7,2$ Hz; H-8, H-14); 5,31 (1H; m; H-9, H-13); 5,41 (1H; m; H-10, H-12); 2,77 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-11); 1,30 (2H; m; H-15); 1,30 (2H; m; H-16); 1,32 (2H; m; H-17); 0,89 (3H; t; $J = 6,6$ Hz; H-18); 4,24 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-1'); 2,85 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-2'); 7,07 (2H; d; $J = 8,4$ Hz; H-4', H-8'); 6,77 (2H; d; $J = 8,4$ Hz; H-5', H-7'). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C (ppm) 173,9 (C-1); 34,4 (C-2); 24,9 (C-3); 29,1 (C-4); 29,3 (C-5); 29,2 (C-6); 29,1 (C-7); 27,2 (C-8); 130,2 (C-9); 128,1 (C-10); 25,6 (C-11); 127,9 (C-12); 130,0 (C-13); 27,2 (C-14); 29,1 (C-15); 31,5 (C-16); 22,6 (C-17); 14,1 (C-18); 65,0 (C-1'); 34,3 (C-2'); 127,8 (C-3'); 130,1 (C-4'); 115,4 (C-5'); 154,4 (C-6'); 115,4 (C-7'); 130,1 (C-8').

(S)-2,3-dihydroxypropyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoat (4): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: C₂₁H₃₈O₄. Khối lượng phân tử: 354,5. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -15,0 ($c=0,1$, CHCl₃). IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3440, 2920, 1730, 1462, 735 cm⁻¹. HR-ESI-MS m/z 355,2830 [M+Na]⁺ (Tính toán lý thuyết cho công thức [C₂₁H₃₉O₄]⁺, 355,2843). Số liệu phổ ¹H-NMR (CDCl₃): δ_H (ppm) 2,35 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-2); 1,63 (2H; m; H-3); 1,25 (2H; m; H-4); 1,35 (2H; m; H-5); 1,30 (2H; m; H-6); 1,30 (2H; m; H-7); 2,05 (4H; q; $J = 6,6$ Hz; H-8, H-14); 5,37 (4H; m; H-9, H-10, H-12, H-13); 1,25 (2H; m; H-15); 1,35 (2H; m; H-16); 1,30 (2H; m; H-17); 0,89 (3H; t; $J = 6,6$ Hz; H-18); 4,15 (2H; dd; $J = 6,6$; 12,0 Hz; H-1'); 4,20 (1H; dd; $J = 4,8$; 12,0; H-1'); 3,95 (1H; m; H-2'); 3,70 (1H; dd; $J = 4,8$; 11,4 Hz; H-3'); 3,60 (1H; dd; $J = 6,0$; 11,4 Hz; H-3'). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C (ppm) 174,3 (C-1); 34,1 (C-

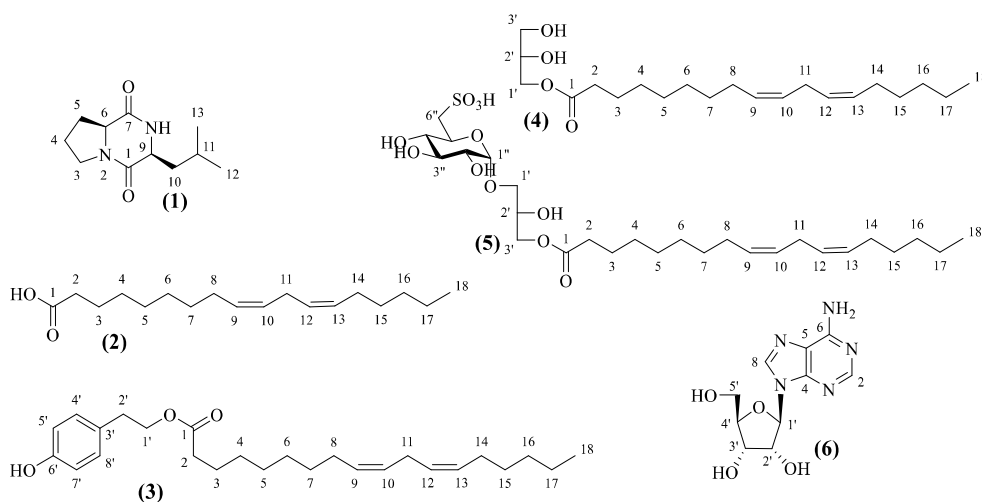
2); 25,0 (C-3); 29,6 (C-4); 29,3 (C-5); 29,1 (C-6); 29,1 (C-7); 27,2 (C-8); 130,2 (C-9); 128,1 (C-10); 25,6 (C-11); 128,1 (C-12); 130,0 (C-13); 27,2 (C-14); 29,1 (C-15); 31,5 (C-16); 22,6 (C-17); 14,1 (C-18); 70,3 (C-1'); 65,2 (C-2'); 63,4 (C-3').

Cibotiglycerol (5): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: $C_{27}H_{48}O_{11}$ S. Khối lượng phân tử: 580,7. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -15,0 ($c=0,1$, $CHCl_3$). Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -120,1 ($c=0,1$, $CHCl_3$). IR (KBr) ν_{max} 3432, 2921, 1732, 1170, 749 cm^{-1} . HR-ESI-MS m/z 603,2755 $[M+Na]^+$. Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{27}H_{48}O_{11}SNa]^+$, 603,2810. 1H -NMR ($CDCl_3$): δ_H (ppm) 2,39 (2H; t; $J = 7,0$ Hz; H-2); 1,64 (2H; m; H-3); 1,36 (2H; m; H-4); 1,35 (2H; m; H-5); 1,35 (2H; m; H-6); 1,35 (2H; m; H-7); 2,09 (2H; q; $J = 7,0$ Hz; H-8); 5,30 (2H; m; H-9; H-13); 5,40 (2H; m; H-10; H-12); 2,77 (2H; t; $J = 7,0$ Hz; H-11); 2,09 (2H; t; $J = 7,0$ Hz; H-14); 1,35 (2H; m; H-15); 1,32 (2H; m; H-16); 1,35 (2H; m; H-17); 0,92 (3H; t; $J = 6,6$ Hz; H-18); 4,08 (1H; dd; $J = 3,0$; 10,2 Hz; H-1'); 3,42 (1H; dd; $J = 6,0$; 10,2 Hz; H-1'); 4,10 (1H; m; H-2'); 4,22 (1H; dd; $J = 6,6$; 12,0 Hz; H-3'); 4,12 (1H; dd; $J = 3,0$; 12,0 Hz; H-3'); 4,80 (1H; dd; $J = 3,6$ Hz; H-1''); 3,42 (1H; m; H-2''); 3,67 (1H; dd; $J = 9,6$; 9,6 Hz; H-3''); 3,11 (1H; dd; $J = 9,6$; 9,6 Hz; H-4''); 4,1 (1H; m; H-5''); 2,94 (1H; dd; $J = 9,0$; 14,4 Hz; H-6''); 3,37 (1H; dd; $J = 1,8$; 14,4 Hz; H-6''). ^{13}C -NMR (CD_3OD): δ_C (ppm) 175,6 (C-1); 34,9 (C-2); 26,0 (C-3); 30,3 (C-4); 30,5 (C-5); 30,7 (C-6); 30,2 (C-7); 28,1 (C-8); 130,9 (C-9, C-13); 129,1 (C-10, C-12); 26,5 (C-11); 28,2 (C-14); 30,2 (C-15); 32,6 (C-16); 23,6 (C-17); 14,4 (C-18); 70,6 (C-1'); 69,8 (C-2'); 66,5 (C-3'); 100,2 (C-1''); 73,7 (C-2''); 75,1 (C-3''); 74,9 (C-4''); 69,8 (C-5''); 54,3 (C-6'').

Adenosin (6): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: $C_{10}H_{13}N_5O_4$. Khối lượng phân tử: 267,2. UV (MeOH) λ_{max} 258 nm. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -60,0 ($c=0,1$, H_2O). HR-ESI-MS m/z 268,1042 $[M+H]^+$. Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{10}H_{14}N_5O_4]^+$, 268,1040. 1H -NMR ($DMSO-d_6$): δ_H (ppm) 8,16 (1H; s; H-2); 8,35 (1H; s; H-8); 5,91 (1H; d; $J = 6,5$ Hz; H-1'); 4,63 (1H; t; $J = 6,0$ Hz; H-2'); 4,16 (1H; dd; $J = 3,0$; 5,0 Hz; H-3'); 3,98 (1H; dd; $J = 3,6$; 6,0 Hz; H-4'); 3,68 (1H; br d; $J = 12,0$ Hz; H-5'a); 3,57 (1H; br d; $J = 12,0$ Hz; H-5'b); 7,38 (2H; br s; 6-NH₂); 5,48 (1H; br d; $J = 7,2$ Hz; 2'-OH); 5,20 (1H; br d; $J = 7,2$ Hz; 3'-OH); 5,43 (1H, br t, $J = 4,8$ Hz; 5'-OH). ^{13}C -NMR ($DMSO-d_6$): δ_C (ppm) 152,0 (C-2); 149,1 (C-4); 119,9 (C-5); 156,0 (C-6); 139,9 (C-8); 87,9 (C-1'); 73,4 (C-2'); 70,6 (C-3'); 85,8 (C-4'); 61,6 (C-5').

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** được dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ ESI-MS xuất hiện tín hiệu m/z 211 $[M+H]^+$ cho phép xác định khối lượng phân tử của **1** là 210 Da, tương ứng với công thức phân tử $C_{11}H_{18}O_3N_2$. Phổ 1H -NMR của hợp chất **1** xuất hiện hai tín hiệu methyl ở δ_H 0,96 (3H; d; $J = 6,6$ Hz; H-12); 1,00 (3H; d; $J = 6,6$ Hz; H-13), hai nhóm methin sp^3 gần với nitơ ở δ_H 4,12 (1H; dd; $J = 7,8$; 7,8 Hz; H-6); 4,02 (1H; dd; $J = 3,6$; 9,6 Hz; H-9), một nhóm methylene gần với nitơ ở δ_H 3,55 (1H; m; H-3a). Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của 13 carbon, trong đó, cấu trúc dipeptide được xác định bởi tín hiệu của 2 nhóm amid carbonyl CONH (δ_C 166,1 C-1 và δ_C 170,2 C-7). So sánh số liệu phổ NMR với tài liệu tham khảo cho phép xác định cấu trúc của **1** là cyclo-(L-Pro-L-Leu) [5].



Hình 1. Cấu trúc hoá học của các hợp chất 1-6

Hợp chất **2** thu được dưới dạng dầu. Phổ ESI-MS của hợp chất **2** xuất hiện tín hiệu m/z 279 $[M-H]^-$ cho phép xác định khối lượng phân tử 278 Da của **2**. Phổ 1H -NMR của **2** có các tín hiệu đặc trưng cho một hợp chất acid béo không no chứa hai liên kết đôi gồm một nhóm methyl đầu mạch xuất hiện dưới dạng triplet tại δ_H 0,89 (3H; t; $J = 6,6$ Hz; H-18), hai nhóm methylen xuất hiện dưới dạng quintet tại δ_H 2,05 (4H; q; $J = 6,6$ Hz; H-8, H-14), hai nhóm methylen xuất hiện dưới dạng triplet tại δ_H 2,77 (2H; t; $J = 6,6$ Hz; H-11), 2,34 (2H; t; $J = 6,6$ Hz; H-2) trong đó 1 nhóm methylen gắn với nhóm carboxyl (-COOH) cộng hưởng. Tín hiệu của bốn proton dạng olefin xuất hiện dưới dạng multiplet tại δ_H 5,32, 5,38 (4H, m). Ngoài ra còn có tín hiệu của các nhóm methylen chồng chéo lên nhau tại vùng trường cao δ_H 1,25-1,32. Phổ ^{13}C -NMR có tín hiệu cộng hưởng của 18 nguyên tử cacbon trong đó có một nhóm methyl (δ_C 14,0, C-18), 4 nhóm methin dạng olefin (δ_C 130,2 (C-9) và 128,1 (C-10), 127,9 (C-12) và 130,0 (C-13)), một nhóm carboxyl (δ_C 180,00 (C-1)), và 12 nhóm methylen. Hai nối đôi của chất **2** được xác định cấu hình Z dựa trên độ dịch chuyển của các carbon kế tiếp C-11 (δ_C 25,6) và C-14 (δ_C 27,2). Qua các phân tích trên, kết hợp với các dữ liệu đã được công bố, cấu trúc hóa học của **2** được xác định là (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoic acid [6]

Hợp chất **3** thu được dưới dạng bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử là $C_{26}H_{40}O_3$, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 399,2902 $[M-H]^-$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{26}H_{39}O_3]^-$, 399,2905). Phổ 1H -NMR của **3** có các tín hiệu đặc trưng của tiểu phân tyrosyl bao gồm δ_H 4,24 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-1'), 2,85 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-2'), 7,07 (2H; d; $J = 8,4$ Hz; H-4', H-8'), 6,77 (2H; d; $J = 8,4$ Hz; H-5', H-7'), cùng với các tín hiệu đặc trưng cho một acid béo không no chứa hai liên kết đôi tương tự như hợp chất **2**. Phổ ^{13}C -NMR cũng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng cho tiểu phân tyrosyl tại δ_C 65,0 (C-1'), 34,3 (C-2'), 127,8 (C-3'), 130,1 (C-4'), 115,4

(C-5'), 154,4 (C-6'), 115,4 (C-7'), 130,1 (C-8') cũng như các tín hiệu của một đơn vị octadeca-9,12-dienoic acid tương tự hợp chất **2**. So sánh số liệu phổ NMR của hợp chất **3** và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định cấu trúc của hợp chất này là tyrosyl linoleat [7].

Hợp chất **4** thu được dưới dạng dầu. Công thức phân tử là $C_{21}H_{38}O_4$, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 355,2830 $[M+H]^+$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{21}H_{38}O_4Na]^+$, 355,2843). Phổ 1H -NMR của **4** có các tín hiệu đặc trưng cho một hợp chất triglycerid este tại δ_H 4,15 (2H; dd; $J = 6,6; 12,0$ Hz; H-1'), 4,20 (1H; dd; $J = 4,8; 12,0$; H-1'), 3,95 (1H; m; H-2'), 3,70 (1H; dd; $J = 4,8; 11,4$ Hz; H-3'), 3,60 (1H; dd; $J = 6,0; 11,4$ Hz; H-3') cùng với các tín hiệu đặc trưng của đơn vị octadeca-9,12-dienoic acid tương tự hợp chất **2**. Phổ ^{13}C -NMR có tín hiệu cộng hưởng của 18 nguyên tử carbon đặc trưng cho dẫn xuất của hợp chất octadeca-9,12-dienoic acid tương tự như hợp chất **2** cùng với 3 tín hiệu carbon có chứa oxy thuộc nhóm rượu glycerol tại δ_C 70,3 (C-1'), 65,2 (C-2'), 63,4 (C-3'). Qua các phân tích trên, so sánh với dữ liệu đã được công bố, cấu trúc hóa học của **4** được xác định là (*S*)-2,3-dihydroxypropyl (9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dienoat [8].

Hợp chất **5** thu được dưới dạng bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử là $C_{27}H_{48}O_{11}S$, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 603,2755 $[M+Na]^+$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{27}H_{48}O_{11}SNa]^+$, 603,2810). Phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR khẳng định sự xuất hiện của 1 nhóm đường và gốc este của 1 acid béo không no (glycoglycerolipid), trong đó, các tín hiệu phổ tương tự với hợp chất **2** cho phép xác định đây là este của octadeca-9,12-dienoic acid. Phổ HMBC của hợp chất **5** cho ra tín hiệu của proton anome tại δ_H 4,80 (H-1'') tương tác với carbon của nhóm glycerol (δ_C 70,6, C-1') chỉ ra vị trí liên kết giữa tiểu phân đường với nhóm glycerol. Phối tử sulphoquinovos được đính tại vị trí C-6'' được xác định qua độ chuyển dịch hoá học của C-6'' (δ_C 54,3) cũng như tương tác HMBC giữa H-6'' (δ_H 2,94 và 3,37) với C-5'' (δ_C 69,8) và C-4'' (δ_C 74,9). Vị trí este hóa của acid béo tại C-1 được xác định bởi tương tác HMBC giữa H-3' (δ_H 4,12; 4,22) và carbonyl carbon C-1 (δ_C 175,6). Phân tích số liệu phổ của **5** và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định cấu trúc của hợp chất này là cibotiglycerol [9].

Hợp chất **6** thu được dưới dạng bột màu trắng. Công thức phân tử là $C_{10}H_{13}N_5O_4$, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 268,1042 $[M+H]^+$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{10}H_{13}N_5O_4]^+$, 268,1046). Trên phổ 1H -NMR của hợp chất **6** cho biết sự có mặt của hai proton thuộc dị vòng thơm tại δ_H 8,13 và 8,34, đặc trưng cho sự có mặt của adenin, một proton anome tại δ_H 5,87 (d, $J = 6,5$ Hz, H-1'), gợi ý sự có mặt của phần đường ribofuranosyl. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **6** xuất hiện 6 tín hiệu của tiểu phân adenin tại δ_C 152,0 (C-2), 149,1 (C-4), 119,9 (C-5), 156,0 (C-6), 139,9 (C-8) và các tín hiệu của đường ribofuranosyl tại δ_C 87,9 (C-1'), 73,4 (C-2'), 70,6 (C-3'), 85,8 (C-4'), 61,6 (C-5'). Số liệu phổ HR-MS và NMR của **6** hoàn toàn giống với số liệu phổ của adenosin [10] cho phép kết luận **6** chính là adenosin.

4. KẾT LUẬN

Từ sinh khối của vi tảo *Aurantiochytrium* sp. SC145 được thu thập tại đảo Sơn Ca, quần đảo Trường Sa, sáu hợp chất đã được phân lập, bao gồm một hợp chất dipeptid Cyclo-(L-Pro-L-Leu), một acid béo là (9Z,12Z)-Octadeca-9,12-dienoic acid, ba dẫn xuất este của acid béo gồm tyrosyl linoleat, (S)-2,3-dihydroxypropyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoat, cibotiglycerol và một hợp chất alkaloid là adenosin. Kết quả nghiên cứu này góp phần làm sáng tỏ thành phần hoá học của loài vi tảo. Những nghiên cứu sâu hơn cần được tiến hành để đánh giá tác dụng sinh học của các hợp chất và cao chiết từ loài *Aurantiochytrium* sp. SC145.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Scott S. D., Armenta R. E., Berryman K. T., Norman A. W., *Use of raw glycerol to produce oil rich in polyunsaturated fatty acids by a thraustochytrid*, Enzyme and Microbial Technology, 2011, **48**(3):267-272. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2010.11.008
2. Russo G. L., Langellotti A. L., Blasco T., Oliviero M., Sacchi R., Masi P., *Production of omega-3 oil by Aurantiochytrium mangrovei using spent osmotic solution from candied fruit industry as sole organic carbon source*, 2021, **9**(10):1834. DOI: 10.3390/pr9101834
3. Hien H. T. M., Thom L. T., Ha N. C., Tam L. T., Thu N. T. H., Nguyen T. V., Loan V. T., Dan N. T., Hong D. D., *Characterization and optimization of culture conditions for Aurantiochytrium sp. SC145 Isolated from Sand Cay (Sơn Ca) Island, Vietnam, and antioxidant and neuroprotective activities of its polyunsaturated fatty acid mixture*, 2022, **20**(12):780. DOI: 10.3390/md20120780
4. Chen J., Jiao R., Jiang Y., Bi Y., Chen Z.-Y., *Algal sterols are as effective as β -sitosterol in reducing plasma cholesterol concentration*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, **62**(3):675-681. DOI: 10.1021/jf404955n
5. Pedras M. S. C., Yu Y., Liu J., Tandron-Moya Y. A., *Metabolites produced by the phytopathogenic fungus Rhizoctonia solani: Isolation, chemical structure determination, syntheses and bioactivity*, 2005, **60**(9-10):717-722. DOI: 10.1515/znc-2005-9-1010
6. Iheanacho E. K., Igwe O. U., Onyemachi P. E. N., *Isolation and characterization of linoleic acid from the leaves of Cnidoscolus aconitifolius (Miller) I. M. Johnston*, Journal of Chemical Society of Nigeria, 2023, **48**(2):245-256. DOI: 10.46602/jcsn.v48i2.870
7. Mateos R., Trujillo M., Pereira-Caro G., Madrona A., Cert A., Espartero J. L., *New lipophilic tyrosyl esters. Comparative antioxidant evaluation with hydroxytyrosyl esters*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, **56**(22):10960-10966. DOI: 10.1021/jf8020267

8. Kim C., Ha H., Kim J. S., Kim Y. T., Kwon S.-C., Park S. W., *Induction of growth hormone by the roots of Astragalus membranaceus in pituitary cell culture*, Archives of Pharmacal Research, 2003, **26**(1):34-39. DOI: 10.1007/BF03179928
9. Cuong N. X., Minh C. V., Kiem P. V., Huong H. T., Ban N. K., Nhiem N. X., Tung N. H., Jung J.-W., Kim H.-J., Kim S.-Y., Kim J. A., Kim Y. H., *Inhibitors of osteoclast formation from rhizomes of Cibotium barometz*, Journal of Natural Products, 2009, **72**(9):1673-1677. DOI: 10.1021/np9004097
10. Ciuffreda P., Casati S., Manzocchi A., *Complete ¹H and ¹³C NMR spectral assignment of α - and β -adenosine, 2'-deoxyadenosine and their acetate derivatives*, Magnetic Resonance in Chemistry, 2007, **45**(9):781-784. DOI: 10.1002/mrc.2036

SUMMARY

ISOLATED COMPOUNDS FROM MARINE MICROALGAE *AURANTIOCHYTRIUM* SP. SC145

Phytochemical investigation of the marine microalgae *Aurantiochytrium* sp. SC145 led to the isolation of six known compounds including cyclo-(L-Pro-L-Leu) (**1**), tyrosyl linoleate (**2**), (9Z,12Z)-Octadeca-9,12-dienoic acid (**3**), (S)-2,3-dihydroxypropyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate (**4**), cibotiglycerol (**5**), adenosine (**6**). Structures of the isolated compounds were elucidated by HRMS and NMR data.

Keywords: *Aurantiochytrium*, cyclo-(L-Pro-L-Leu), tyrosyl linoleate, octadeca-9,12-dienoic acid, cibotiglycerol, adenosine.

⁽¹⁾ Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

⁽²⁾ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

⁽³⁾ Viện Hoá sinh biển, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

⁽⁴⁾ Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ cao, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

⁽⁵⁾ Đại học Thái Nguyên

Nhận bài ngày 02 tháng 7 năm 2024

Phản biện xong ngày 09 tháng 9 năm 2024

Hoàn thiện ngày 15 tháng 9 năm 2024