BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Đặng Việt Anh

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC, HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA SINH KHỐI BA CHỦNG VI NẤM *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 VÀ *Aspergillus* sp. BCXT-22.1

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

Đặng Việt Anh

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC, HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA SINH KHỐI BA CHỦNG VI NẤM *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 VÀ *Aspergillus* sp. BCXT-22.1

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

Xác nhận của Học viện Khoa học và Công nghệ

KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

Nguyễn Thị Trung

Người hướng dẫn 1

PGS.TS. Trần Hồng Quang

Người hướng dẫn 2

PGS.TS. Nguyễn Ngọc Tùng

Hà Nội – 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: **"Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1"** là công trình nghiên cứu do chính tôi thực hiện dưới sự hướng dẫn khoa học của PGS.TS. Trần Hồng Quang và PGS. TS. Nguyễn Ngọc Tùng. Mọi nội dung trong luận án đều được trích dẫn nguồn rõ ràng. Các kết quả nghiên cứu được trình bày là hoàn toàn trung thực, chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nào khác ngoài những bài báo khoa học do tác giả đã đăng. 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 29 tháng 10 năm 2026

Tác giả luận án

(Ký và ghi rõ họ tên)



Đặng Việt Anh

LỜI CẢM ƠN

Luận án này được hoàn thành tại Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Trong quá trình nghiên cứu, tác giả đã nhận được sự giúp đỡ quý báu của các thầy cô, các nhà khoa học, các đồng nghiệp, bạn bè và gia đình.

Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc, sự cảm phục và kính trọng nhất tới PGS.TS. Trần Hồng Quang và PGS.TS. Nguyễn Ngọc Tùng - những người Thầy đã tận tâm hướng dẫn khoa học, động viên, khích lệ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt thời gian thực hiện luận án.

Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ, đồng cảm ơn Ban lãnh đạo Viện Hóa học cùng tập thể cán bộ của Viện đã quan tâm, giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Tôi xin chân thành cảm ơn Phòng Dược liệu biển, Phòng Hóa sinh phân tử, Viện Hóa học và các đồng nghiệp về sự quan tâm giúp đỡ, với những lời khuyên bổ ích và những góp ý quý báu trong việc thực hiện và hoàn thiện luận án.

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

Luận án được giúp đỡ về mặt kinh phí và thực hiện trong khuôn khổ Đề tài Khoa học Cơ bản cấp Viện Hàn lâm KHCNVN, mã số: KHCBBI.02/22-24.

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày 29 tháng 10 năm 2026

Tác giả luận án

Đặng Việt Anh

MỤC LỤC

DANH MỤC BẢNG xi
DANH MỤC CÁC HÌNH xiii
MỞ ĐẦU 1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU 3
1.1. Giới thiệu về vi nấm nội sinh ở thực vật ngập mặn 3
1.2. Đa dạng về cấu trúc hóa học của các hợp chất thứ cấp từ vi nấm rừng ngập mặn 4
1.2.1. Nhóm hợp chất polyketide 5
1.2.2. Nhóm hợp chất terpenoid 6
1.2.3. Nhóm hợp chất alkaloid và các hợp chất chứa nitơ khác 7
1.2.4. Nhóm hợp chất peptide 8
1.3. Giới thiệu Vườn Quốc gia Xuân Thủy 9
1.4. Tổng quan tình hình nghiên cứu ở nước ngoài 9
1.5. Tổng quan tình hình nghiên cứu ở trong nước 23
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 26
2.1. Đối tượng nghiên cứu 26
2.2. Phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng 28
2.2.1. Phương pháp nghiên cứu tạo sinh khối các chủng vi nấm: 28
2.2.2. Phương pháp phân lập các hợp chất: 30
2.2.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất: 30
2.2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư 31
2.2.5. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO 32
2.2.5.1. Phương pháp nuôi cấy tế bào 32
2.2.5.2. Phương pháp đánh giá ảnh hưởng đến khả năng sống sót của tế bào 32
2.2.5.3. Phương pháp đánh giá khả năng ức chế sản sinh NO 33
2.2.5.4. Phương pháp docking phân tử: 34
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU 35
3.1. Kết quả lên men sinh khối, tạo cao chiết tổng các chủng vi nấm 35
3.2. Kết quả phân lập các hợp chất 36
3.2.1. Kết quả phân lập các hợp chất từ chủng vi nấm Aspergillus sp. DVXT-221 36

3.2.2. Kết quả phân lập các hợp chất từ chủng Trichoderma sp. GXT-22.1 37
3.2.3. Kết quả phân lập các hợp chất từ chủng Aspergillus sp. BCXT-22.1 39
3.3. Thông số vật lý của các hợp chất phân lập được 40
3.3.1. Thông số vật lý của các hợp chất phân lập được từ chủng Aspergillus sp. DVXT-221 40
3.3.1.1. Hợp chất XT37.1: Fumigaclavine K (chất mới) 40
3.3.1.2. Hợp chất XT37.2: Fumigaclavine L (chất mới).....40
3.3.1.3. Hợp chất XT37.3: Fumigaclavine I 41
3.3.1.4. Hợp chất XT37.4: Fumigaclavine M (chất mới) 41
3.3.1.5. Hợp chất XT37.5: Fumigaclavine C 41
3.3.1.6. Hợp chất XT37.6: Fumigaclavine E 41
3.3.1.7. Hợp chất XT37.7: Monomethylsulochrin 41
3.3.1.8. Hợp chất XT37.8: 8′-O-Methylasterric acid 42
3.3.1.9. Hợp chất XT37.9: 2,3′-Dimethylosoate 42
3.3.1.10. Hợp chất XT37.10: Chaetominine 42
3.3.2. Thông số vật lý của các hợp chất phân lập được từ chủng Trichoderma sp. GXT-22.1 42
3.3.2.1. Hợp chất XT47.1: 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole (chất mới) 42
3.3.2.2. Hợp chất XT47.2: (E)-6,10-Dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol (hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên) 42
3.3.2.3. Hợp chất XT47.3: Tricholumin A.....43
3.3.2.4. Hợp chất XT47.4: Harzianol J 43
3.3.2.5. Hợp chất XT47.5: Cyclonerodiol.....43
3.3.2.6. Hợp chất XT47.6: 10,11-Dihydro-11-hydroxycyclonerodiol.....43
3.3.2.7. Hợp chất XT47.7: Cyclonerodiol B 43
3.3.2.8. Hợp chất XT47.8: Epicyclonerodiol oxide 43
3.3.2.9. Hợp chất XT47.9: cyclo(Val-Pro) 43
3.3.2.10. Hợp chất XT47.10: cyclo-(4-Hydroxyprolinyl-leucine) 44
3.3.3. Thông số vật lý của các hợp chất phân lập được từ chủng Aspergillus sp. BCXT-22.1 44
3.3.3.1. Hợp chất XT49.1: Polyporusterone H (chất mới).....44

3.3.3.2. Hợp chất XT49.2: Panuosterone 44
3.3.3.3. Hợp chất XT49.3: Makisterone A.....44
3.3.3.4. Hợp chất XT49.4: Stellatinol A (chất mới) 44
3.3.3.5. Hợp chất XT49.5: Stellatin 45
3.3.3.6. Hợp chất XT49.6: Embeurekol C 45
3.3.3.7. Hợp chất XT49.7: Oxepinamide D 45
3.3.3.8. Hợp chất XT49.8: Oxepinamide F.....45
3.3.3.9. Hợp chất XT49.9: Oxepinamide J 45
3.3.3.10. Hợp chất XT49.10: Protubonine B 45
3.4. Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất 45
3.4.1. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Aspergillus sp. DVXT-221 45
3.4.2. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Trichoderma sp. BCXT-22.1.....47
3.4.3. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Aspergillus sp. GXT-22.1 48
CHƯƠNG 4. THẢO LUẬN KẾT QUẢ.....49
4.1. Xác định cấu trúc các hợp chất 49
4.1.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ chủng Aspergillus sp. DVXT-221.....49
4.1.1.1. Hợp chất XT37.1: Fumigaclavine K (chất mới) 50
4.1.1.2. Hợp chất XT37.2: Fumigaclavine L (chất mới).....56
4.1.1.3. Hợp chất XT37.3: Fumigaclavine I: 66
4.1.1.4. Hợp chất XT37.4: Fumigaclavine M (chất mới): 68
4.1.1.5. Hợp chất XT37.5: Fumigaclavine C 77
4.1.1.6. Hợp chất XT37.6: Fumigaclavine E 78
4.1.1.7. Hợp chất XT37.7: Monomethylsulochrin.....80
4.1.1.8. Hợp chất XT37.8: 8′-O-Methylasterric acid.....81
4.1.1.9. Hợp chất XT37.9: 2,3'-Dimethylosoate 82
4.1.1.10. Hợp chất XT37.10: Chaetominine.....83
4.1.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ chủng Trichoderma sp. GXT-22.1 85

4.1.2.1. Hợp chất XT47.1: 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole (chất mới) 86
4.1.2.2. Hợp chất XT47.2: (E)-6,10-Dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol (hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên).....90
4.1.2.3. Hợp chất XT47.3: Tricholumin A.....95
4.1.2.4. Hợp chất XT47.4: Harzianol J 97
4.1.2.5. Hợp chất XT47.5: Cyclonerodiol.....98
4.1.2.6. Hợp chất XT47.6: 10,11-dihydro-11-hydroxycyclonerodiol.....100
4.1.2.7. Hợp chất XT47.7: Cyclonerodiol B 101
4.1.2.8. Hợp chất XT47.8: Epicyclonerodiol oxide 102
4.1.2.9. Hợp chất XT47.9: cyclo(Val-Pro) 103
4.1.2.10. Hợp chất XT47.10: cyclo-(4-Hydroxyprolinyl-leucine) 104
4.1.3. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ chủng Aspergillus sp. BCXT-22.1 104
4.1.3.1. Hợp chất XT49.1: Polyporusterone H (chất mới).....105
4.1.3.2. Hợp chất XT49.4: Stellatinol A (chất mới) 115
4.1.3.3. Hợp chất XT49.2: Panuosterone 120
4.1.3.4. Hợp chất XT49.3: Makisterone A.....121
4.1.3.5. Hợp chất XT49.5: Stellatin 123
4.1.3.6. Hợp chất XT49.6: Embeurekol C 123
4.1.3.7. Hợp chất XT49.7: Oxepinamide D 125
4.1.3.8. Hợp chất XT49.8: Oxepinamide F.....126
4.1.3.9. Hợp chất XT49.9: Oxepinamide J 128
4.1.3.10. Hợp chất XT49.10: Protubonine B 129
4.2. Hoạt tính sinh học của các hợp chất 130
4.2.1. Hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Aspergillus sp. DVXT-221 130
4.2.2. Hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Trichoderma sp. GXT-22.1.....132
4.2.3. Hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Aspergillus sp. BCXT-22.1.....134
KẾT LUẬN 137
ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN 138

KIẾN NGHỊ 139
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN.....140
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....141

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ KÝ VIẾT TẮT

Kí hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
^{13}C NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13
^{1}H NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
A2780	Human ovarian cancer cell	Tế bào ung thư buồng trứng người
A-549	Human lung cancer cell line	Dòng tế bào ung thư phổi ở người
BEL-7402	Human liver carcinoma cell	Tế bào ung thư gan người
BV2	Murine microglial cell line	Tế bào vi thần kinh đệm từ chuột
CC	Chromatography column	Sắc ký cột
COSY	Correlation spectroscopy	Phổ tương tác 2 chiều đồng hạt nhân ^{1}H - ^{1}H
CTPT	-	Công thức phân tử
CH_2Cl_2	Dichloromethane	Dung môi dichloromethane
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium	Môi trường nuôi cấy tế bào DMEM
DMSO	Dimethylsulfoxide	$(CH_3)_2SO$
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
ECD	Electronic Circular Dichroism	Phổ lưỡng sắc tròn điện tử
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	Phương pháp xét nghiệm sinh hóa
EtOAc	Ethyl acetate	Dung môi ethyl acetate
EtOH	Ethanol	Dung môi ethanol
FBS	Fetal bovine serum	Huyết thanh bào thai bò
G3K	Drug-resistant pancreatic cancer cells	Tế bào ung thư tuyến tụy kháng thuốc
H19875	Human non-small cell lung cancer	Tế bào ung thư phổ không nhỏ ở người
HCT-116	Human colorectal carcinoma cell	Tế bào biểu mô đại trực tràng ở người
Hela	Cervical cancer	Dòng tế bào ung thư cổ tử cung
HepG2	Human liver cell line	Dòng tế bào ung thư gan người
HL-60	Human promyelocytic leukemia cell	Tế bào bệnh bạch cầu tiền tủy ở người

HMBC	Heteronuclear mutiple bond correlation	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HO-8910	Human ovarian cancer cell line	Dòng tế bào ung thư buồng trứng người
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HR-ESI-MS	High resolution electrospray Ionization mass spectrometry	Phổ khối lượng phân giải cao phun mù điện tử
HSQC	Heteronuclear Single-Quantum Coherence Spectroscopy	Phổ tương tác dị hạt nhân qua 1 liên kết
IC_{50}	Inhibitory concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50% đối tượng thử nghiệm
iNOS	Inducible nitric oxide synthase	Enzym tổng hợp nitric oxide cảm ứng
IR	Infrared Spectroscopy	Phổ hồng ngoại
K562	Human erythroleukemic cell	Tế bào bạch cầu hồng cầu ở người
L-02	Human epithelial-like liver cell	Tế bào giống biểu mô gan ở người
L5178Y	Mouse lymphoma cell line	Tế bào u lympho chuột
LPS	Lipopolysaccharide	Lipopolysaccharide
MCF7	Human breast cancer cell line	Dòng tế bào ung thư vú ở người
MCF-7/Adr	Human breast cancer cell line/Adriamycin-resistant	Dòng tế bào ung thư vú kháng thuốc doxorubicin (adriamycin)
MD-MBA-231	Human epithelial breast cancer cell	Tế bào ung thư vú biểu mô ở người
MeOH	Methanol	Dung môi methanol
MGC-803	Human gastric cancer cell	Tế bào ung thư dạ dày người
MIC	Minimal Inhibitory Concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5- diphenyltetrazolium bromide	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
NO	Nitric oxide	Nitơ (II) oxít

NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Specctroscopy	Phổ hiệu ứng hạt nhân Overhauser
OD	Optical density	Mật độ quang
OMe	Oxymethyl	Nhóm methoxy
P-388	Murine lymphoid neoplasm cell	Tế bào ung thư bạch cầu ở chuột
PDA	Potato dextrose agar	Môi trường nuôi cấy
PDB	Potato dextrose broth	Môi trường nuôi cấy
ppm	Part per million	Phần triệu
RAW264.7	Mouse macrophage cell line	Tế bào đại thực bào chuột
RMSD	Root-Mean-Square Deviation	Độ lệch bình phương trung bình gốc
RP-18	Reversed-phase C18	Hạt sắc ký pha đảo C18
SH-SY5Y	Human neuroblastoma cell	Tế bào u nguyên bào thần kinh ở người
SRB	Sulforhodamine B	Sulforhodamine B
TBUT	-	Tế bào ung thư
TCA	Trichloracetic acid	Axít trichloracetic
TMS	Tetramethylsilane	$(CH_3)_4Si$
U87	Human glioma cell	Tế bào u nguyên bào thần kinh đệm ở người
UV	Ultraviolet	Phổ tử ngoại
VQG	-	Vườn quốc gia
δ_H, δ_C		Độ chuyển dịch hóa học của proton, carbon
s: singlet; d: doublet; dd: doublet doublet; ddd: doublet doublet doublet; t: triplet; dt: doublet triplet; q: quartet; qui: quintet; m: multiplet; br: broad		
Tên của các hợp chất hóa học sử dụng nguyên gốc tiếng Anh		

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng *Aspergillus* sp. DVXT-221 46
Bảng 3.2. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 ... 47
Bảng 3.3. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng *Aspergillus* sp. GXT-22.1 48
Bảng 4.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT37.1 51
Bảng 4.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT37.2 58
Bảng 4.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT37.3 67
Bảng 4.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT37.4 70
Bảng 4.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT37.5 78
Bảng 4.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT37.6 79
Bảng 4.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT37.7 80
Bảng 4.8. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT37.8 82
Bảng 4.9. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT37.9 83
Bảng 4.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT37.10 84
Bảng 4.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT47.1 87
Bảng 4.12. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT47.2 91
Bảng 4.13. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT47.3 96
Bảng 4.14. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT47.4 98
Bảng 4.15. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT47.5 99
Bảng 4.16. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT47.6 100
Bảng 4.17. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT47.7 101
Bảng 4.18. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT47.8 102
Bảng 4.19. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT47.9 103
Bảng 4.20. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT47.10 104
Bảng 4.21. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT49.1 107
Bảng 4.22. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT49.4 116

Bảng 4.23. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT49.2 120
Bảng 4.24. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT49.3 122
Bảng 4.25. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT49.5 123
Bảng 4.26. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT49.6 124
Bảng 4.27. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT49.7 126
Bảng 4.28. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT49.8 127
Bảng 4.29. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT49.9 128
Bảng 4.30. Số liệu phổ NMR của hợp chất XT49.10 130

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Một số hợp chất polyketide từ vi nấm ngập mặn 6
Hình 1.2. Một số hợp chất terpenoid từ vi nấm ngập mặn 7
Hình 1.3. Một số hợp chất alkaloid từ vi nấm ngập mặn 8
Hình 1.4. Một số hợp chất peptide từ vi nấm ngập mặn 9
Hình 1.5. Một số hợp chất mới từ vi nấm ở cây *S. caseolaris* 20
Hình 1.6. Một số hợp chất mới từ vi nấm ở cây *S. caseolaris* 21
Hình 1.7. Một số hợp chất chứa nitơ từ vi nấm ở cây *R. stylosa* 22
Hình 1.8. Một số hợp chất mới từ vi nấm ở cây *E. agallocha* 23
Hình 2.1. Chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221 26
Hình 2.2. Chủng vi nấm *Trichoderma* sp. GXT-22.1 27
Hình 2.3. Chủng vi nấm *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 27
Hình 3.1. Sơ đồ các bước lên men nhân sinh khối, tạo cao chiết tổng các chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22 35
Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221 37
Hình 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ chủng vi nấm *Trichoderma* sp. GXT-22.1 38
Hình 3.4. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ chủng vi nấm *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 40
Hình 4.1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập từ chủng *Aspergillus* sp. DVXT-221 49
Hình 4.2. Cấu trúc hóa học của hợp chất XT37.1 50
Hình 4.3. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của XT37.1 52
Hình 4.4. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất XT37.1 52
Hình 4.5. HRESIMS của hợp chất XT37.1 53
Hình 4.6. Phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.1 53

Hình 4.7. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz) của hợp chất XT37.1 54
Hình 4.8. Phổ HSQC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.1 54
Hình 4.9. Phổ HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.1 55
Hình 4.10. Phổ COSY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.1 55
Hình 4.11. Phổ NOESY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.1 56
Hình 4.12. Cấu trúc hóa học của hợp chất XT37.2 56
Hình 4.13. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của XT37.2 58
Hình 4.14. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất XT37.2 59
Hình 4.15. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất XT37.2 59
Hình 4.16. Phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.2 60
Hình 4.17. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz) của hợp chất XT37.2 60
Hình 4.18. Phổ HSQC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.2 61
Hình 4.19. Phổ HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.2 61
Hình 4.20. Phổ dãn HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.2 62
Hình 4.21. Phổ COSY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.2 62
Hình 4.22. Phổ NOESY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.2 63
Hình 4.23. Phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất XT37.2 63
Hình 4.24. Phổ ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) của hợp chất XT37.2 64
Hình 4.25. Phổ HSQC ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất XT37.2 64
Hình 4.26. Phổ HMBC ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất XT37.2 65
Hình 4.27. Phổ dãn HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.2 65
Hình 4.28. Phổ NOESY ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất XT37.2 66
Hình 4.29. Cấu trúc hóa học hợp chất XT37.3 66
Hình 4.30. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của XT37.3 68
Hình 4.31. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất XT37.3 68
Hình 4.32. Cấu trúc hóa học của hợp chất XT37.4 68

Hình 4.33. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của XT37.4 70
Hình 4.34. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất XT37.4 71
Hình 4.35. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất XT37.4 71
Hình 4.36. Phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.4 72
Hình 4.37. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz) của hợp chất XT37.4 72
Hình 4.38. Phổ HSQC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.4 73
Hình 4.39. Phổ HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.4 73
Hình 4.40. Phổ COSY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.4 74
Hình 4.41. Phổ NOESY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT37.4 74
Hình 4.42. Phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất XT37.4 75
Hình 4.43. Phổ ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) của hợp chất XT37.4 75
Hình 4.44. Phổ HSQC ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất XT37.4 76
Hình 4.45. Phổ HMBC ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất XT37.4 76
Hình 4.46. Phổ NOESY ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất XT37.4 77
Hình 4.47. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT37.5 77
Hình 4.48. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT37.6 78
Hình 4.49. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT37.7 80
Hình 4.50. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT37.8 81
Hình 4.51. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT37.9 82
Hình 4.52. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT37.10 83
Hình 4.53. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập từ chủng *Trichoderma* sp. GXT-22.1 85

Hình 4.54. Cấu trúc hóa học của hợp chất XT47.1 86
Hình 4.55. Các tương tác HMBC (H→C) và NOESY (◄···►) của XT47.1 87
Hình 4.56. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất XT47.1 87
Hình 4.57. Phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT47.1 88
Hình 4.58. Phổ ^{13}C (CD_3OD, 150 MHz) của hợp chất XT47.1 88
Hình 4.59. Phổ HSQC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT47.1 89
Hình 4.60. Phổ HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT47.1 89
Hình 4.61. Phổ NOESY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT47.1 90
Hình 4.62. Cấu trúc hóa học của hợp chất XT47.2 90
Hình 4.63. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của XT47.2 92
Hình 4.64. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất XT47.2 92
Hình 4.65. Phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT47.2 92
Hình 4.66. Phổ ^{13}C (CD_3OD, 150 MHz) của hợp chất XT47.2 93
Hình 4.67. Phổ HSQC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT47.2 93
Hình 4.68. Phổ HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT47.2 94
Hình 4.69. Phổ COSY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT47.2 94
Hình 4.70. Phổ NOESY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất XT47.2 95
Hình 4.71. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT47.3 95
Hình 4.72. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT47.4 97
Hình 4.73. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT47.5 98
Hình 4.74. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT47.6 100
Hình 4.75. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT47.7 101

Hình 4.76. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT47.8 102
Hình 4.77. Cấu trúc hóa học hợp chất XT47.9 103
Hình 4.78. Cấu trúc hóa học hợp chất XT47.10 104
Hình 4.79. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập từ chủng *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 105
Hình 4.80. Cấu trúc hóa học của hợp chất XT49.1 105
Hình 4.81. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của XT49.1 108
Hình 4.82. Phổ HR-ESI-MSMS của hợp chất XT49.1 108
Hình 4.83. Phổ ^{1}H (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất XT49.1 109
Hình 4.84. Phổ ^{13}C (CD_3OD, 125 MHz) của hợp chất XT49.1 109
Hình 4.85. Phổ HSQC (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất XT49.1 110
Hình 4.86. Phổ HMBC (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất XT49.1 110
Hình 4.87. Phổ COSY (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất XT49.1 111
Hình 4.88. Phổ ROESY (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất XT49.1 111
Hình 4.89. Phổ ^{1}H (C_5D_5N, 500 MHz) của hợp chất XT49.1 112
Hình 4.90. Phổ ^{13}C (C_5D_5N, 125 MHz) của hợp chất XT49.1 112
Hình 4.91. Phổ HSQC (C_5D_5N, 500 MHz) của hợp chất XT49.1 113
Hình 4.92. Phổ HMBC (C_5D_5N, 500 MHz) của hợp chất XT49.1 113
Hình 4.93. Phổ COSY (C_5D_5N, 500 MHz) của hợp chất XT49.1 114
Hình 4.94. Phổ NOESY (C_5D_5N, 500 MHz) của hợp chất XT49.1 114
Hình 4.95. Cấu trúc hóa học của hợp chất XT49.4 115
Hình 4.96. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) của XT49.4 116
Hình 4.97. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất XT49.4 116
Hình 4.98. Phổ HR-ESI-MSMS của hợp chất XT49.4 117
Hình 4.99. Phổ ^{1}H (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất XT49.4 117
Hình 4.100. Phổ ^{13}C (CD_3OD, 125 MHz) của hợp chất XT49.4 118
Hình 4.101. Phổ HSQC (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất XT49.4 118

Hình 4.102. Phổ HMBC (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất XT49.4 119
Hình 4.103. Phổ COSY (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất XT49.4 119
Hình 4.104. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT49.2..... 120
Hình 4.105. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT49.3 121
Hình 4.106. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT49.5 123
Hình 4.107. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT49.6 123
Hình 4.108. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT49.7 125
Hình 4.109. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT49.8 126
Hình 4.110. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT49.9 128
Hình 4.111. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất XT49.10..... 129
Hình 4.112. Mô hình docking phân tử 3D (a) và tương tác 2D với protein iNOS của hợp chất XT37.1 (b) và XT37.9 (c)..... 132
Hình 4.113. Mô hình docking phân tử 3D (a) và tương tác 2D (b) với protein iNOS của hợp chất XT47.1 134
Hình 4.114. Mô hình docking phân tử 3D và tương tác 2D với protein iNOS của hợp chất XT49.4 (a, b) và XT49.8 (c, d) 136

MỞ ĐẦU

Trong những thập niên gần đây, việc tìm kiếm các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học từ nguồn tài nguyên sinh học đang trở thành một hướng nghiên cứu trọng tâm của khoa học sự sống, đặc biệt trong bối cảnh gia tăng tình trạng kháng thuốc và nhu cầu phát triển các dược chất mới có nguồn gốc tự nhiên. Trong số các sinh vật được quan tâm nghiên cứu, vi nấm được xem là một trong những nguồn cung cấp hợp chất thứ cấp phong phú và đa dạng nhất, với nhiều cấu trúc hóa học mới lạ và hoạt tính sinh học có giá trị.

Hệ sinh thái rừng ngập mặn là môi trường đặc thù, chịu tác động đồng thời của điều kiện mặn, ngập nước, biến động thủy triều và áp lực sinh học cao. Chính những điều kiện khắc nghiệt này đã thúc đẩy các vi sinh vật, đặc biệt là vi nấm nội sinh ở thực vật ngập mặn, hình thành các cơ chế thích nghi đặc biệt, dẫn đến khả năng sinh tổng hợp nhiều hợp chất thứ cấp độc đáo. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh rằng vi nấm từ thực vật ngập mặn là nguồn tiềm năng của các hợp chất có hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, kháng virus, chống oxy hóa và chống ung thư.

Vườn Quốc gia Xuân Thủy là khu Ramsar đầu tiên của Việt Nam, đại diện tiêu biểu cho hệ sinh thái đất ngập nước ven biển, với tính đa dạng sinh học cao và hệ thực vật ngập mặn phong phú. Tuy nhiên, cho đến nay, các nghiên cứu tại khu vực này chủ yếu tập trung vào đa dạng loài động, thực vật bậc cao và bảo tồn sinh thái, trong khi nguồn tài nguyên vi sinh vật, đặc biệt là vi nấm liên quan đến thực vật ngập mặn, vẫn chưa được nghiên cứu một cách đầy đủ và có hệ thống, nhất là về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các hợp chất do chúng tạo ra.

Xuất phát từ thực tiễn đó, việc nghiên cứu phân lập vi nấm từ thực vật ngập mặn tại Vườn Quốc gia Xuân Thủy, kết hợp phân tích thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất thu được, không chỉ góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu khoa học về đa dạng hóa học của vi nấm mà còn mở ra triển vọng ứng dụng trong lĩnh vực y dược và công nghệ sinh học. Trên cơ sở đó, đề tài ***"Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1"** được thực hiện với mục tiêu tìm kiếm các hợp chất mới, các hợp chất có hoạt tính sinh học từ một số chủng vi nấm thực vật ngập mặn thu thập tại VQG Xuân Thủy.

Mục tiêu của luận án:

+ Phân lập và xác định được cấu trúc các hợp chất thứ cấp từ 03 chủng vi nấm ở một số thực vật rừng ngập mặn thu thập ở vườn Quốc gia Xuân Thủy.

+ Đánh giá được hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên 02 dòng tế bào [ung thư gan (Hep-G2) và ung thư vú (MCF-7)] và ức chế sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW264.7/BV2 của các hợp chất sạch phân lập được.

Các nội dung của luận án:

+ Nghiên cứu phân lập các hợp chất sạch từ 03 chủng vi nấm phân lập từ thực vật ngập mặn.

+ Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất sạch phân lập được.

+ Nghiên cứu đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên 02 dòng tế bào [ung thư gan (Hep-G2) và ung thư vú (MCF-7)] và ức chế sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW264.7/BV2 của các hợp chất phân lập được.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Giới thiệu về vi nấm nội sinh ở thực vật ngập mặn

Vi nấm là một trong những nhóm vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp hợp chất thứ cấp có sự đa dạng cao về hóa học. Các hợp chất có nguồn gốc từ vi nấm được ứng dụng rộng rãi trong y học, với nhiều hoạt chất quan trọng như kháng sinh, thuốc chống ung thư, thuốc hạ cholesterol và các chất điều hòa miễn dịch [1]. Trong hệ sinh thái rừng ngập mặn, vi nấm tồn tại dưới nhiều dạng khác nhau, bao gồm vi nấm đất và vi nấm nội sinh. Đặc biệt, vi nấm nội sinh ở thực vật ngập mặn có mối quan hệ đặc thù với cây chủ, có khả năng tạo ra các hợp chất có hoạt tính sinh học có vai trò bảo vệ thực vật chủ trước các tác nhân gây bệnh và stress môi trường [2]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng vi nấm nội sinh từ thực vật ngập mặn là nguồn phong phú của các hợp chất tự nhiên mới, bao gồm polyketide, alkaloid, terpenoid, peptide và các hợp chất dị vòng. Các hợp chất này thể hiện sự đa dạng cao về hoạt tính sinh học như kháng khuẩn, kháng virus, kháng viêm, gây độc tế bào ung thư và ức chế enzyme [3]. So với vi nấm từ môi trường cao cạn, vi nấm ngập mặn có xu hướng tạo ra các hợp chất mang đặc điểm cấu trúc khác biệt, phản ánh sự thích nghi với điều kiện sống khá khắc nghiệt ở khu vực ngập mặn. Nhiều hợp chất mới có cấu trúc chưa từng có tiền lệ, có hoạt tính sinh học mạnh được phát hiện từ vi nấm ngập mặn cho thấy tiềm năng to lớn của nhóm vi sinh vật này trong nghiên cứu hóa học các hợp chất tự nhiên [4, 5].

Trong số các nhóm vi nấm rừng ngập mặn, vi nấm nội sinh ở thực vật ngập mặn được đánh giá là nguồn tài nguyên hoạt chất sinh học giàu tiềm năng. Vi nấm nội sinh sống bên trong mô thực vật mà không gây bệnh, hình thành mối quan hệ tương hỗ với cây chủ. Thực vật cung cấp môi trường sống và dinh dưỡng, trong khi vi nấm góp phần tăng cường khả năng chống chịu stress sinh học và phi sinh học cho cây thông qua việc sinh tổng hợp các hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học có tác dụng kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hóa hoặc điều hòa sinh trưởng... Chính mối quan hệ cộng sinh này thúc đẩy vi nấm nội sinh phát triển các con đường sinh tổng hợp các nhóm hợp chất thứ cấp phong phú, tạo ra nhiều hợp chất độc đáo, có hoạt tính sinh học giá trị. Theo đó, các nghiên cứu trên thế giới cho thấy đối tượng này là nguồn cung cấp dồi dào các hợp chất thứ cấp thuộc nhiều nhóm cấu trúc khác

nhau, trong đó nổi bật nhất là polyketide, terpenoid, alkaloid và peptide [5, 6]. Trong đó, có hơn 60% hợp chất thuộc nhóm polyketide, bao gồm các phân nhóm như azaphilone, chromone, xanthone, quinone và lactone. Nhiều hợp chất trong số này thể hiện hoạt tính sinh học đáng chú ý như kháng khuẩn, kháng nấm, gây độc tế bào đối với dòng tế bào ung thư, ức chế enzyme và điều hòa miễn dịch. Các hợp chất terpenoid cũng được xem như thành phần chính của vi nấm rừng ngập mặn, trong đó nhóm meroterpenoid có nguồn gốc sinh tổng hợp lai giữa polyketide và terpenoid được xem là đặc trưng nổi bật của vi nấm ngập mặn. Bên cạnh đó, nhiều hợp chất alkaloid chứa khung indole, quinoline, isoquinoline, cùng các peptide vòng và diketopiperazine cũng được phân lập và xác định, cho thấy sự đang dạng về cấu trúc hóa học của các hợp chất từ nguồn vi nấm này [5, 7, 8]. Không chỉ đa dạng về cấu trúc hóa học, nhiều hợp chất phân lập từ vi nấm ngập mặn có nhiều tiềm năng ứng dụng trong y sinh học. Trong đó, nhiều hợp chất thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh đối với các chủng vi khuẩn kháng thuốc, ức chế sự phát triển của tế bào ung thư thông qua các cơ chế tác động khác nhau đã được xác định từ nguồn vi nấm ngập mặn [5, 8, 9].

1.2. Đa dạng về cấu trúc hóa học của các hợp chất thứ cấp từ vi nấm rừng ngập mặn

Vi nấm ở vùng rừng ngập mặn cho thấy sự đa dạng về thành phần loài, với nhiều chi nấm khác nhau, bao gồm *Acremonium, Alternaria, Aspergillus, Botryosphaeria, Cephalosporium, Cladosporium, Diaporthe, Eurotium, Fusarium, Guignardia, Hypocrea, Lasiodiplodia, Mycosphaerella, Nigrospora, Paraconiothyrium, Penicillium, Phoma, Phomopsis, Rhinocladiella, Sarocladium, Talaromyces, Trichoderma, Verruculina, Xylaria*... Trong đó, vi nấm sản sinh các hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học đã được nghiên cứu cho đến nay chủ yếu được phân lập từ một số loài thực vật ngập mặn như *Acanthus ilicifolius*, *Avicennia marina*, *Bruguiera gymnorrhyza*, *Ceriops tagal*, *Excoecaria agallocha*, *Kandelia candel*, *Kandelia obovata*, *Rhizophora stylosa*, *Xylocarpus granatum*, *X. moluccensis* và một số loài khác [5, 10].

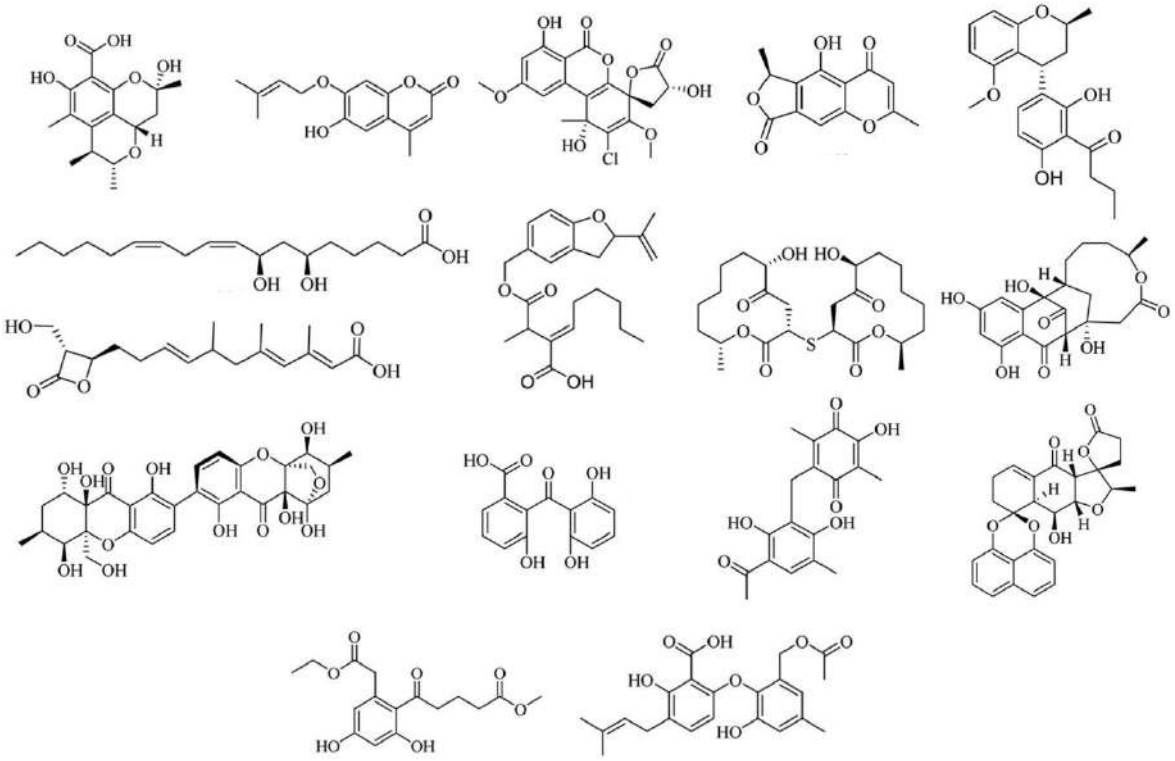
Vi nấm ngập mặn là nguồn cung cấp dồi dào các hợp chất thứ cấp, được phân thành bốn nhóm dựa trên cấu trúc hóa học và con đường sinh tổng hợp: polyketide,

terpenoid, alkaloid và các hợp chất chứa nitơ khác, peptide (bao gồm cả nhóm hợp chất diketopiperazine). Bốn nhóm cấu trúc chính này được phân loại thành 29 phân nhóm, gồm 10 phân nhóm polyketide, 7 phân nhóm terpenoid, 8 phân nhóm alkaloid, và 4 phân nhóm peptide [5, 10].

1.2.1. Nhóm hợp chất polyketide

Polyketide là một trong những nhóm hợp chất tự nhiên lớn và đa dạng nhất, được sinh tổng hợp thông qua quá trình ngưng tụ lặp lại các đơn vị acetyl-CoA và malonyl-CoA dưới xúc tác của enzyme polyketide synthase. Nhờ các quá trình biến đổi sau sinh tổng hợp như đóng vòng, oxy hóa, methyl hóa và halogen hóa, polyketide tạo ra nhiều nhóm cấu trúc phức tạp, với hoạt tính sinh học phong phú. Nhóm hợp chất này có nguồn gốc từ vi khuẩn, vi nấm, thực vật và sinh vật biển, và có nhiều tác dụng sinh học đáng chú ý như kháng sinh, hạ cholesterol, chống ung thư và ức chế miễn dịch [11].

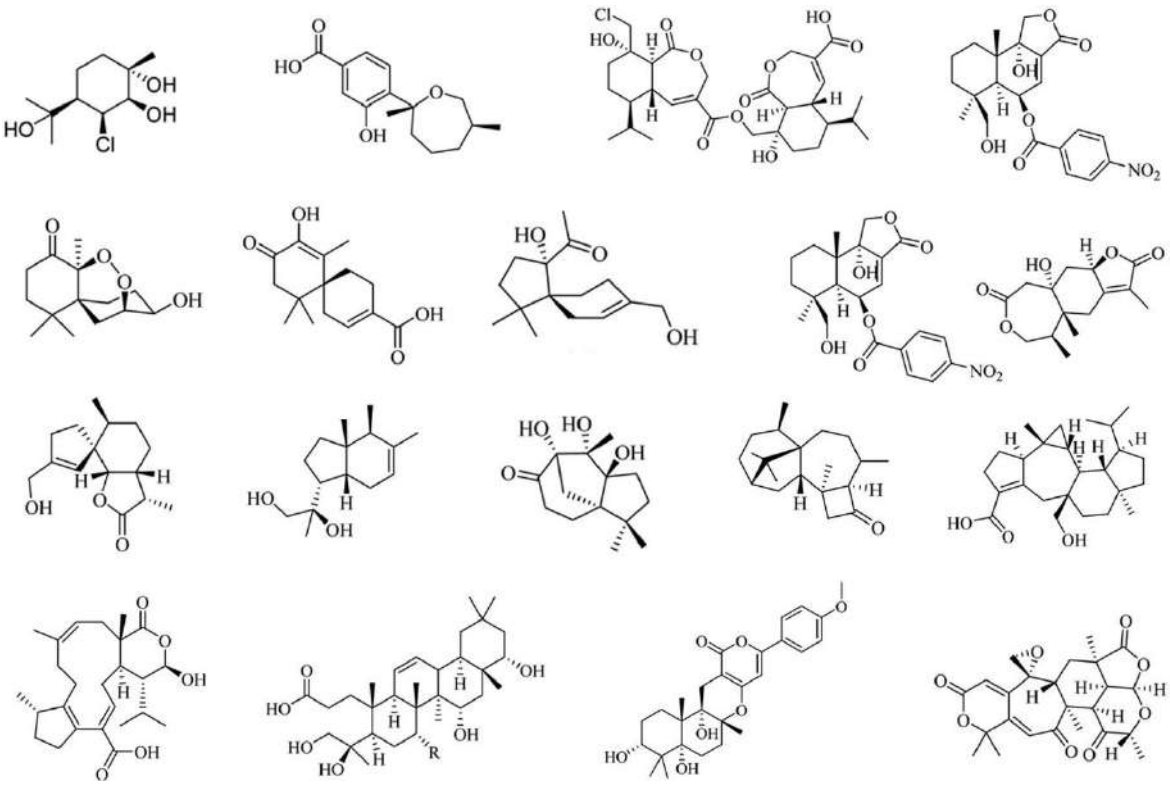
Ở vi nấm, đặc biệt là vi nấm rừng ngập mặn, polyketide chiếm tỷ lệ lớn trong tổng số các hợp chất thứ cấp được phát hiện. Dựa trên mức độ khử của bộ khung polyketide, các polyketide ở vi nấm thường được phân thành ba nhóm: polyketide synthase không khử, polyketide synthase khử một phần, và polyketide synthase khử hoàn toàn. Sự đa dạng của hệ enzyme synthase trong vi nấm tạo nên sự đa dạng cao về cấu trúc hóa học của nhóm hợp chất này. Dựa trên cấu trúc khung polyketide, chúng có thể được phân loại thành nhiều nhóm, bao gồm azaphilone, coumarin và isocoumarin, chromone, acid béo và các ester của chúng, furan, lactone, naphthalene, phenol, acid phenolic và các ether, quinone, xanthone và benzophenone, và các hợp chất polyketide khác (Hình 1) [5, 10].



Hình 1.1. Một số hợp chất polyketide từ vi nấm ngập mặn

1.2.2. Nhóm hợp chất terpenoid

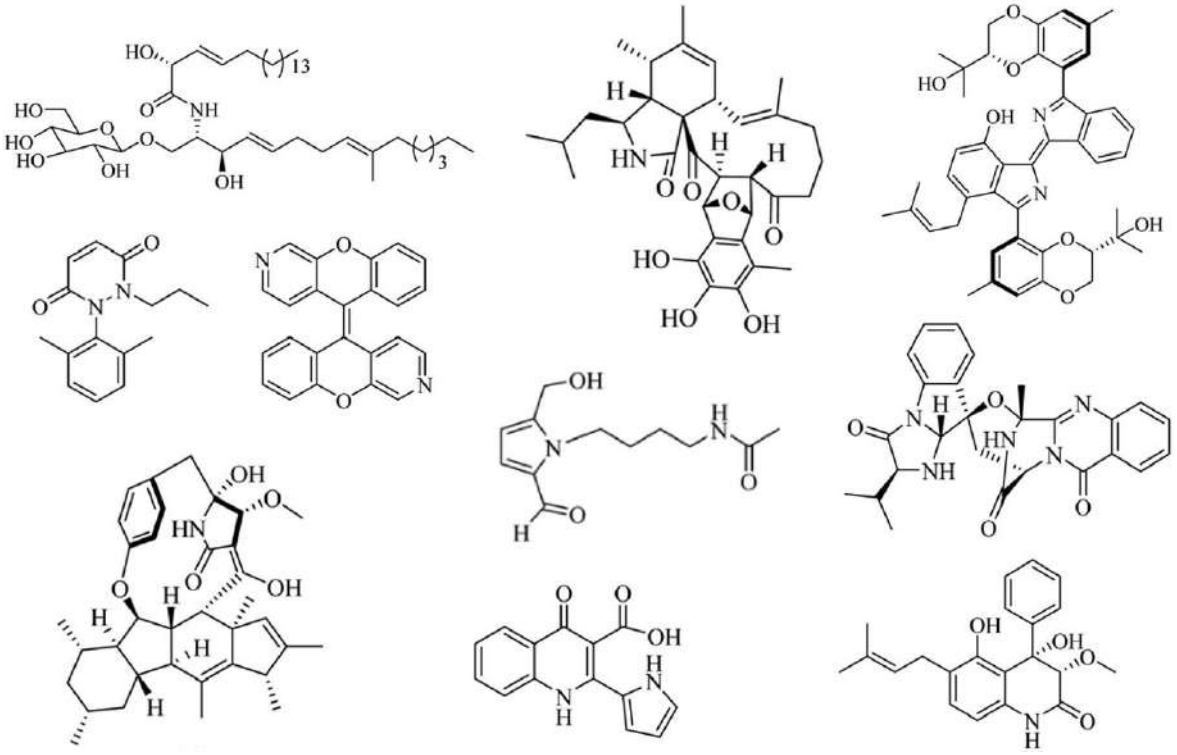
Terpenoid (hay còn gọi là isoprenoid) là một trong những nhóm hợp chất tự nhiên lớn và đa dạng nhất, được hình thành từ các đơn vị isoprene thông qua nhiều con đường sinh tổng hợp khác nhau. Nhờ sự đa dạng trong số lượng đơn vị isoprene, cách sắp xếp khung carbon và các biến đổi oxy hóa trong quá trình sinh tổng hợp, terpenoid có sự đang dạng cao về cấu trúc hóa học, từ mạch thẳng đến các hệ vòng đa nhân phức tạp. Nhóm hợp chất này phân bố rộng rãi trong tự nhiên, đặc biệt ở thực vật, vi nấm và sinh vật biển, nơi chúng đóng vai trò quan trọng trong các cơ chế bảo vệ, cạnh tranh sinh học và dẫn truyền tín hiệu... cho vật chủ [12, 13]. Vi nấm rừng ngập mặn được xem là nguồn cung cấp phong phú các hợp chất terpenoid, bao gồm nhiều hợp chất có cấu trúc hóa học hiếm gặp và có hoạt tính sinh học đáng chú ý. Các terpenoid từ vi nấm ngập mặn chủ yếu thuộc các nhóm sesquiterpene, sesterterpene, meroterpene và steroid, trong khi các nhóm monoterpene, diterpene và triterpene được phát hiện với tần suất thấp hơn (Hình 2) [5, 10]. Sự phân bố này phản ánh đặc điểm thích nghi sinh hóa của vi nấm trong môi trường ngập mặn chịu nhiều áp lực sinh thái như thủy triều, độ mặn cao, khan hiếm dinh dưỡng... [14, 15].



Hình 1.2. Một số hợp chất terpenoid từ vi nấm ngập mặn

1.2.3. Nhóm hợp chất alkaloid và các hợp chất chứa nitơ khác

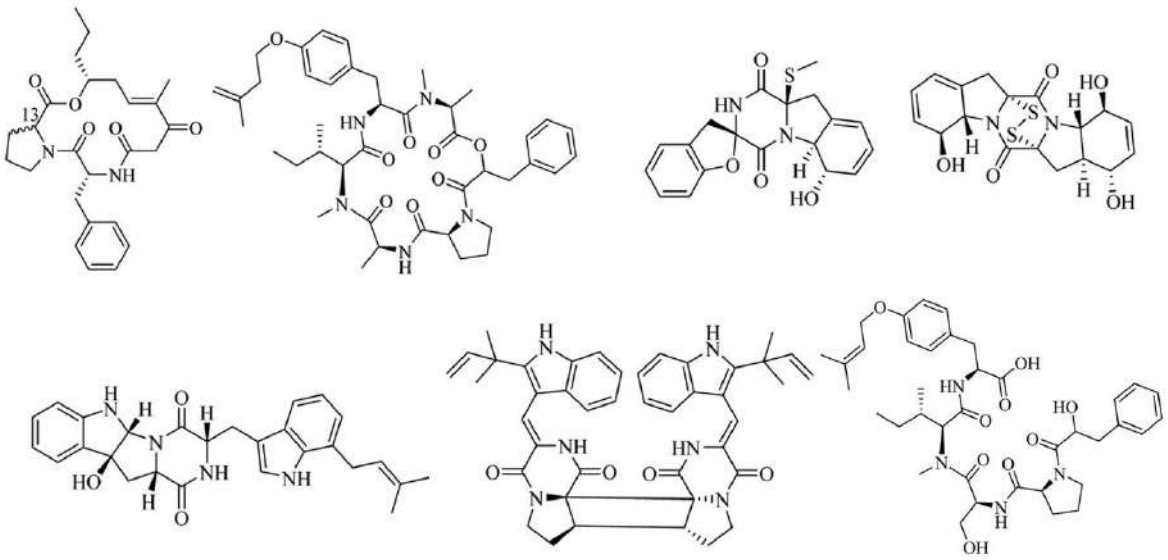
Vi nấm rừng ngập mặn cũng được xem là nguồn cung cấp dồi dào nhóm hợp chất alkaloid và hợp chất chứa nitơ, với sự đa dạng cao về cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học. Các hợp chất này thuộc nhiều phân nhóm khác nhau, bao gồm: nhóm amine và amide (chứa nhóm amino và carbonyl-nitơ), nhóm cytochalasin (polyketide-amino acid lai ghép), indole và isoindole (cấu trúc biến đổi thông qua gắn các nhóm thế, prenyl hoặc dimer hóa), pyridine (bao gồm các dẫn xuất pyridine, pyridone và chromenopyridin), pyrrole và pyrrolidine, quinazoline và quinazolinone, quinoline và isoquinoline (Hình 2) [5, 10]. Sự đa dạng về thành phần các hợp chất alkaloid này phản ánh khả năng thích nghi sinh hóa cao của vi nấm trong điều kiện môi trường ngập mặn nhiều biến động.



Hình 1.3. Một số hợp chất alkaloid từ vi nấm ngập mặn

1.2.4. Nhóm hợp chất peptide

Các hợp chất peptide phân lập từ vi nấm ngập mặn thể hiện sự đa dạng cao về cấu trúc hóa học, kích thước cũng như mức độ phức tạp. Nhóm hợp chất này bao gồm chủ yếu là các peptide mạch thẳng, peptide vòng, và các dẫn xuất diketopiperazine [5, 10] (Hình 3). Trong đó, peptide vòng và depsipeptide là nhóm được ghi nhận nhiều nhất, với nhiều hợp chất có những đặc điểm cấu trúc thú vị như gắn nhiều nhóm phenylalanine, các cầu ether nội phân tử hoặc nhóm allenic ether [16]. Peptide mạch thẳng xuất hiện với số lượng hạn chế hơn, bao gồm các tripeptide hoặc các peptide chứa phần cấu trúc dị vòng [17]. Bên cạnh đó, diketopiperazine là nhóm dipeptide vòng nhỏ và khá phổ biến, trong đó một số hợp chất có cấu trúc phức tạp như hệ vòng spiro, cầu disulfide hoặc dạng dimer hiếm gặp đã được phát hiện [18].



Hình 1.4. Một số hợp chất peptide từ vi nấm ngập mặn

1.3. Giới thiệu Vườn Quốc gia Xuân Thủy

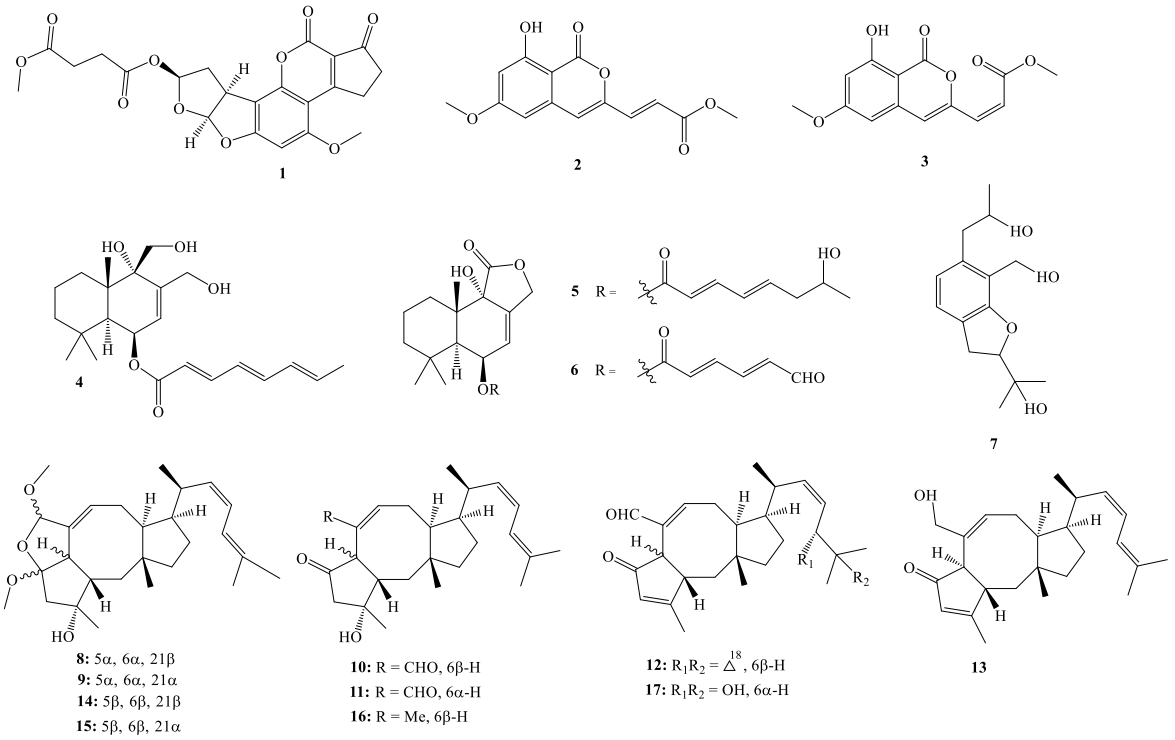
Vườn Quốc gia Xuân Thủy là khu Ramsar đầu tiên của Việt Nam và khu dự trữ sinh quyển ven biển có giá trị quốc tế, đại diện tiêu biểu cho hệ sinh thái đất ngập nước vùng cửa sông ven biển đồng bằng sông Hồng. Vườn có diện tích vùng lõi khoảng 7.100 ha, bao gồm 3.100 ha diện tích đất nổi có rừng và 4.000 ha đất rừng ngập mặn. Đây là khu vực được bồi đắp bởi phù sa màu mỡ của sông Hồng và vùng ven biển và được xem là một khu dự trữ thiên nhiên với nhiều sinh cảnh độc đáo của hệ sinh thái đất ngập nước với nhiều động thực vật hoang dã và các loài chim di cư quý hiếm. Theo Báo cáo "Quy hoạch quản lý bảo vệ và phát triển Vườn quốc gia Xuân Thuỷ, giai đoạn 2004-2020". Theo Phan Nguyên Hồng hệ thực vật bậc cao có mạch tại VQG Xuân Thủy và vùng phụ cận bao gồm 192 loài thuộc 145 chi, 60 họ thực vật phân bố tại 8 kiểu quần xã thực vật đặt thù cho các điều kiện sống khác nhau [19, 20]. Tại Vườn Quốc gia Xuân Thủy, các nghiên cứu trước đây chủ yếu tập trung vào đa dạng sinh học và bảo tồn hệ sinh thái, trong khi các nghiên cứu chuyên sâu về vi nấm liên quan đến thực vật ngập mặn và thành phần hóa học các hợp chất thứ cấp còn hạn chế. Với đặc điểm giao thoa nước ngọt, nước mặn và biến động môi trường mạnh, khu vực này được xem là đối tượng tiềm năng cho việc phát hiện các chủng vi nấm sinh tổng hợp hợp chất mới có giá trị sinh học và ứng dụng.

1.4. Tổng quan tình hình nghiên cứu ở nước ngoài

1.4.1. Các hợp chất có hoạt tính sinh học từ vi nấm ngập mặn *Aspergillus*

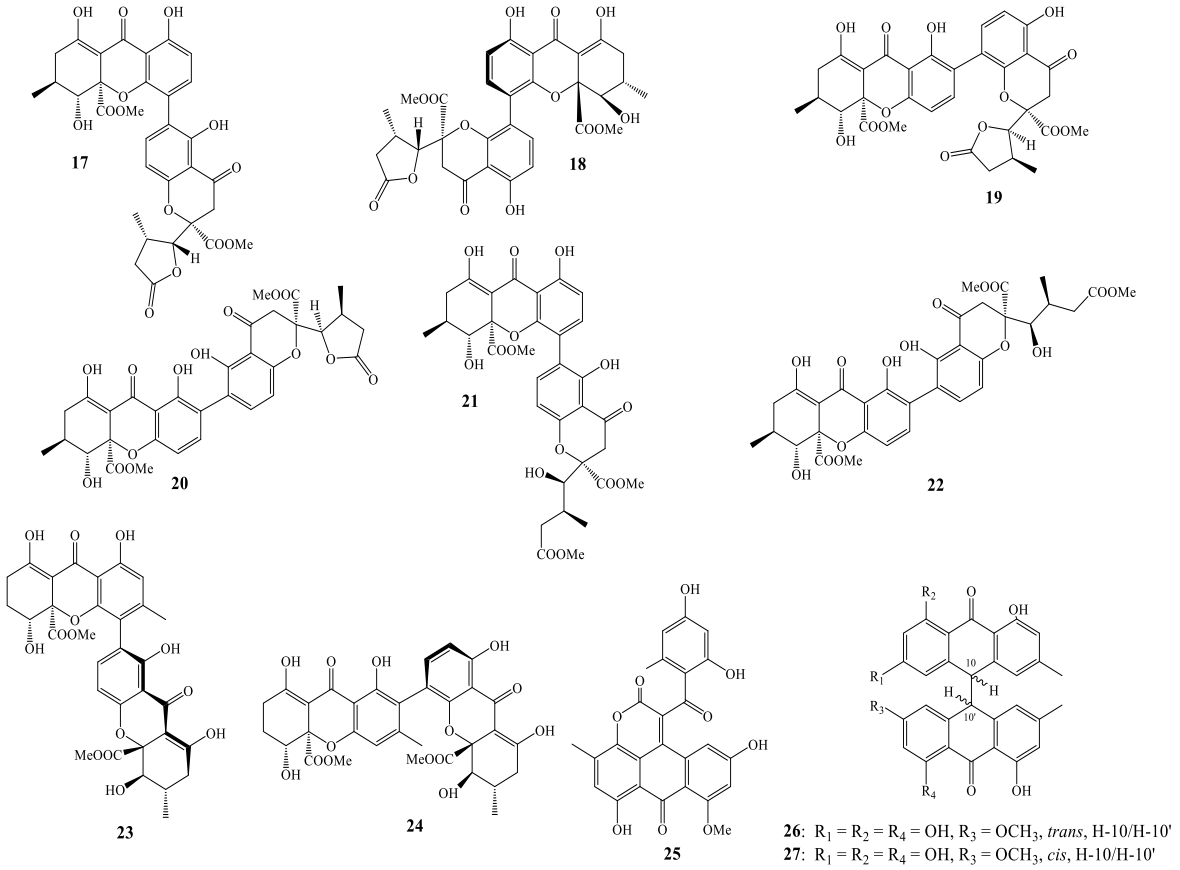
a. Các hợp chất có hoạt tính gây độc tế bào từ vi nấm ngập mặn *Aspergillus* spp.

Vi nấm ngập mặn thuộc chi *Aspergillus* là nguồn cung cấp dồi dào các hợp chất mới, có hoạt tính sinh học, trong đó, nhiều hợp chất thể hiện hoạt tính gây độc tế bào. Theo Wang và cs 2012, một aflatoxin mới, aflatoxin B2b (**1**), cùng với sáu hợp chất đã biết được phân lập từ chủng vi nấm *Aspergillus flavus* 092008 phân lập từ cây đước Hibiscus tiliaceus. Hợp chất **1** cho thấy độc tính tế bào yếu đối với các dòng tế bào A549, K562 và L-02, với giá trị IC_{50} lần lượt là 8.1, 2.0 và 4.2 M [21]. Wu và cs 2019 đã phân lập và xác định ba isocoumarin mới là aspergisocoumarin A–C, được từ dịch lên men chủng vi nấm *Aspergillus* sp. HN15-5D có nguồn gốc từ lá cây *Acanthus ilicifolius*. Hợp chất aspergisocoumrin A **(2)** và B (**3)** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào MDA-MB-435, với giá trị IC_{50} lần lượt là 5.08 ± 0.88 và 4.98 ± 0.74 μM [22]. Theo Lu và cs 2009, tám hợp chất sesquiterpene drimane, sáu dẫn xuất isochromane và ba hợp chất đã biết được phân lập từ cao chiết EtOAc của chủng vi nấm ngập mặn *Aspergillus ustus* 094102 từ đất vùng rễ của cây ngập mặn *Bruguiera gymnorrhiza*. Trong đó, hợp chất phân lập ustusolate A (**4**) thể hiện hoạt tính gây độc tính bào thấp hơn cả trên 2 dòng tế bào HL-60 và A549, với giá trị IC_{50} lần lượt là 20.6 và 30.0 μM. Các hợp chất ustusolate C (**5**) và E (**6**) thể hiện hoạt tính gây độc tính bào ở mức thấp hơn đối với dòng tế bào A549 và HL-60, với giá trị IC_{50} lần lượt là 10.5 và 9.0 μM. Hợp chất ustusorane E (**7**) thể hiện hoạt tính gây độc tính bào mạnh đối với dòng tế bào HL-60, với giá trị IC_{50} là 0.13 μM [23]. Cũng từ dịch lên men của chủng vi nấm này, bảy ophiobolin mới cùng với 11 chất tương tự đã biết đã được phân lập và xác định. Các hợp chất ophiobolin Z (**8**), 21-*epi*-ophiobolin Z (**9**), ophiobolin K (**10**), 6-*epi*-ophiobolin K (**11**), ophiobolin G (**12**), 21,21-*O*-dihydro-6-*epi*-ophiobolin G (**13**), 21-*epi*-ophiobolin O (**14**), ophiobolin O (**15**), 21- deoxyophiobolin K (**16**), ophiobolins Q (**17**) cho thấy độc tính tế bào đối với các dòng tế bào ung thư người G3K, MCF-7, MD-MBA-231, MCF/Adr, A549 và HL-60 với giá trị IC_{50} dao động từ 0.6 đến 9.5 μM. Kết quả cho thấy phần cấu trúc 2,5-dimethoxyl-2*H*,3*H*,5*H*-furan (**8** và **9**) hoặc H-6β và HO-3 (**10**) là cần thiết cho hoạt tính gây độc tế bào đối với các dòng tế bào MCF-7 và MCF-7/Adr, trong khi HO-3 và phần aldehyde *α,β*-không bão hòa (**10** và **11**) là cần thiết cho hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào MD-MBA-231, và phần 2,5-dimethoxyl-2*H*,3*H*,5*H*-furan (**14** và **15**) là cần thiết cho hoạt tính gây độc tế bào đối với các dòng tế bào A549 và HL-60 [24].



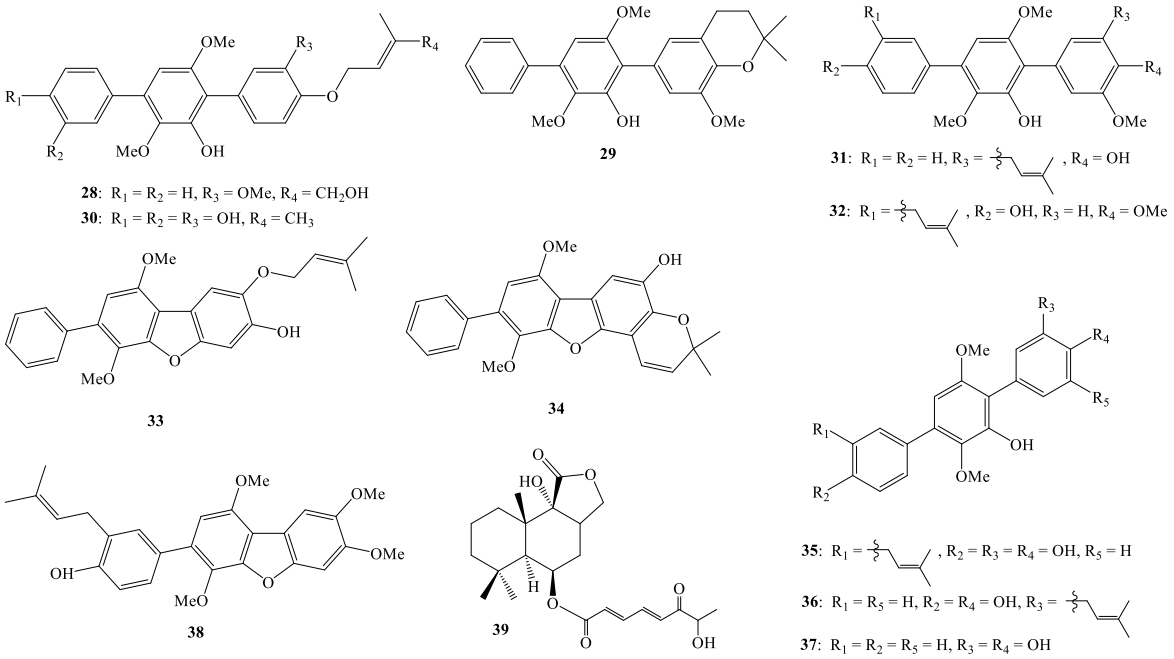
Wu và cs (2015) đã phân lập và xác định được sáu hợp chất dimer xanthone–chromanone có cấu trúc khác thường là versixanthone A–F (**17-22**) từ dịch lên men của chủng vi nấm ngập mặn *Aspergillus versicolor* HDN1009. Các hợp chất có đặc điểm chung là các cầu liên kết hình thành khác nhau của các tiểu phân tetrahydroxanthone và 2,2-disubstituted chroman-4-one, đã được phân lập. Trong đó, cấu hình tuyệt đối của các hợp chất được xác định bằng sự kết hợp giữa phân tích nhiễu xạ tia X, phản ứng hóa học và tính toán lý thuyết phổ ECD. Các hợp chất này thể hiện độc tính tế bào đối với bảy dòng tế bào ung thư được thử nghiệm, bao gồm HL-60, K562, A549, H1975, 803, HO-8910 và HCT-116. Các hợp chất **17-19** thể hiện độc tính tế bào mạnh và có tính chọn lọc cao đối với HL-60 và K562, với giá trị IC_{50} thấp ở mức μM, trong khi các hợp chất **20-22** thể hiện độc tính tế bào rộng đối với cả bảy dòng tế bào ung thư, với giá trị IC_{50} dao động từ 0.7 đến 14.0 μM. Ngoài ra, hợp chất **21** cho thấy hoạt tính ức chế mạnh hơn đối với enzyme topoisomerase I [25]. Theo Yu và cs (2018), ba hợp chất dimer tetrahydroxanthone mới, 5-*epi*-asperdichrome, versixanthone N (**23**) và O (**24**), đã được phân lập từ chủng vi nấm ngập mặn *Aspergillus versicolor* HDN1009. Trong đó, hợp chất 5-*epi*-asperdichrome là trường hợp thứ hai công bố về dạng dimer tetrahydroxanthone được tạo thành bằng liên kết diaryl ether hiếm gặp. Các hợp chất **23** và **24** thể hiện độc tính tế bào mạnh trên năm dòng tế bào ung thư (HL-60, K562, H1975, MGC803 và HO-8910), với giá

trị IC_{50} dao động từ 1.7 µM đến 16.1 µM [26]. Du và cs (2008) đã phân lập và xác định tám hợp chất polyketide mới cùng với tám hợp chất tương tự đã biết từ chủng vi nấm ngập mặn *Aspergillus glaucus*, Phúc Kiến, Trung Quốc. Aspergiolide B (**25**) cho thấy độc tính tế bào mạnh đối với các dòng tế bào HL-60 và A-549, với giá trị IC_{50} lần lượt là 0.51 và 0.24 µM, cho thấy rằng quá trình methyl hóa vị trí OH-8 không ảnh hưởng tiêu cực đến hoạt tính. Hợp chất (*trans*)-emodin-physcion bianthrone (**26**) cho thấy độc tính tế bào vừa phải đối với các dòng tế bào HL-60 và A-549, với giá trị IC_{50} lần lượt là 7.8 và 9.2 µM. Đồng phân *cis* của nó, hợp chất **27**, cho thấy độc tính tế bào tương đương, và giá trị IC_{50} lần lượt là 44.0 và 14.2 µM. Nghiên cứu chỉ ra rằng dường như sự đồng phân hóa của trục C-10/C-10′ không ảnh hưởng đến hoạt tính của các bianthrone emodinphyscion. Các hợp chất mới khác không thể hiện thấy độc tính tế bào ở nồng độ 100 µM đối với cả hai dòng tế bào, cho thấy rằng khung naphtho[1,2,3-de]chromene-2,7-dione có thể đóng vai trò quan trọng đối với độc tính tế bào [27].



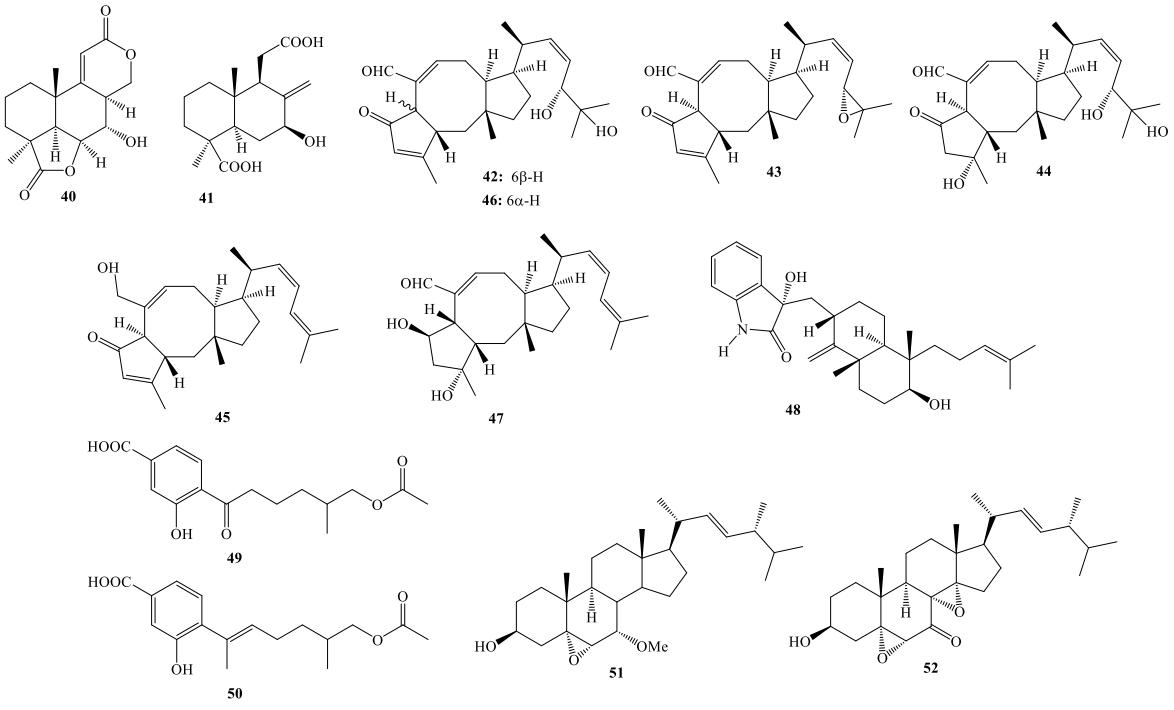
Theo Zhou và cs (2020), chín dẫn xuất p-terphenyl prenyl hóa mới là prenylterphenyllin F–J và prenylcandidusin D–G được phân lập từ chủng vi nấm nội

sinh *Aspergillus candidus* LDJ-5 phân lập từ rễ cây *Rhizophora apiculata* Blume thu thập ở Hải Nam, Trung Quốc. Các hợp chất prenylterphenyllin F (**28**), **G** (**29**), prenylterphenyllin H-J (**30-32**), và prenylcandidusin E (**33**) có hoạt tính gây độc tế bào đối với một số dòng trong 10 dòng tế bào ung thư thử nghiệm, bao gồm L-02, MGC-803, HCT-116, BEL-7402, A549, SH-SY5Y, HeLa, U87, K562, và HL-60, với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 0.9 đến 29.7 μM [28]. Ngoài ra, khác với các dẫn xuất *p*-terphenyl đã được báo cáo trước đây, hợp chất prenylcandidusin D (**34**) đại diện cho một hệ vòng hợp nhất 6,5,6,6 hiếm gặp. Theo Cai và cs (2011), sáu hợp chất polyhydroxy-p-terphenyl prenyl hóa mới là prenylterphenyllin A−C và prenylcandidusin A−C, và một polyhydroxy-*p*-terphenyl mới với khung C18 ba vòng 4″-dehydro-3-hydroxyterphenyllin, đã được phân lập cùng với tám chất tương tự đã biết từ *Aspergillus taichungensis* ZHN-7-07 từ cây *Acrostichum aureum*. Hoạt tính gây độc tế bào của chúng được đánh giá trên các dòng tế bào HL-60, A-549 và P-388. Các hợp chất prenylterphenyllin A (**35**) và một hợp chất đã biết (**36**) thể hiện hoạt tính mạnh trên cả ba dòng tế bào, với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 1.53−10.90 μM, trong khi hợp chất 4″-dehydro-3-hydroxyterphenyllin (**37**) và prenylcandidusin B **(38)** thể hiện hoạt tính mạnh trên dòng tế bào P-388, với IC_{50} lần lượt là 2.70 và 1.57 μM [29]. Theo Zhou và cs(2011), năm sesquiterpene drimane mới cùng với 14 chất tương tự đã biết được phân lập từ dịch lên men của chủng vi nấm *Aspergillus ustus* được phân lập từ đất vùng rễ của cây ngập mặn *Acrostichum aureurm*, Quảng Tây, Trung Quốc. Trong đó, chỉ có hợp chất 6-strobilactone-B ester của (*E*,*E*)-6-carbonyl-7-hydroxy-2,4-octadienoic acid (**39**) thể hiện độc tính tế bào đối với dòng tế bào P-388 với giá trị IC_{50} là 8.7 mM [30].



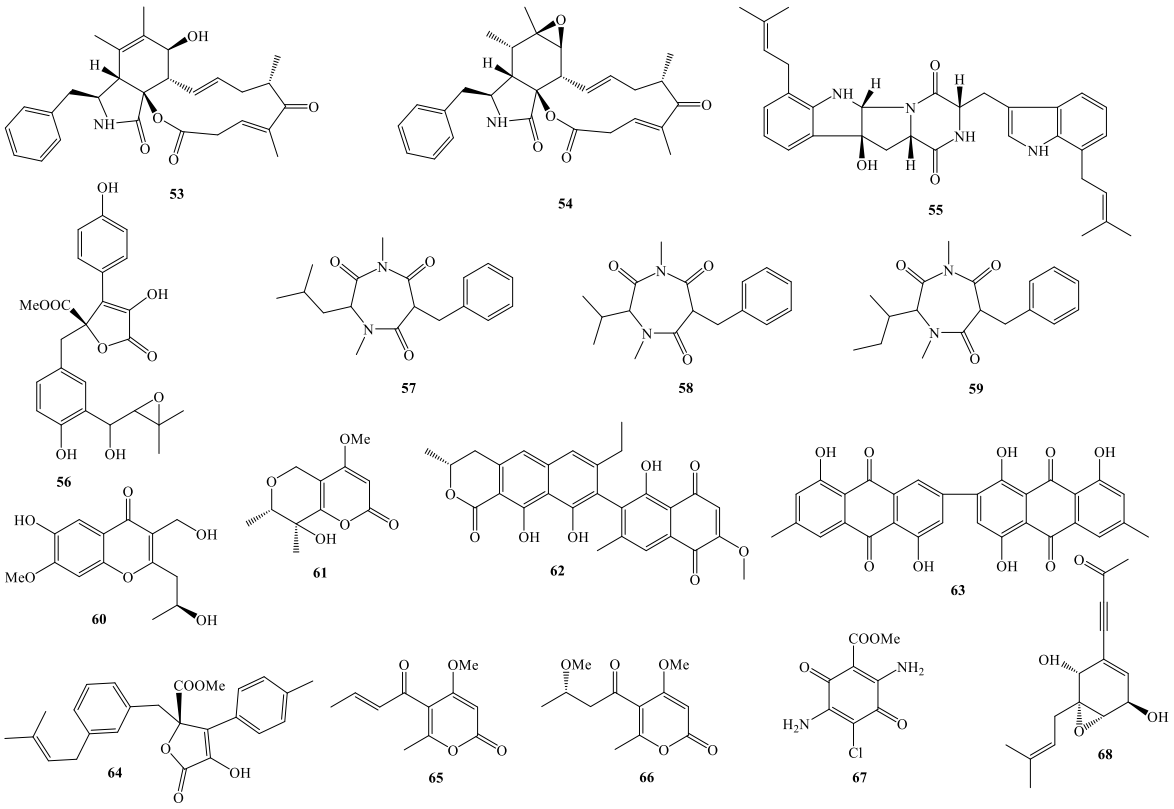
Theo Deng và cs (2013), một hợp chất mới botryosphaerin F (**40**), cùng với ba hợp chất đã biết 13,14,15,16-tetranorlabd-7-ene-19,6b:12,17-diolide, botryosphaerin B và LL-Z1271β (**41**) được phân lập từ chủng vi nấm rừng ngập mặn *Aspergillus terreus* GX7-3B từ cành cây *Brugnieria gymnoihiza*, mọc ở vùng đầm lầy ven biển Quảng Tây, Trung Quốc. Hợp chất **40** cho thấy hoạt tính ức chế mạnh đối với 2 dòng tế bào ung thư MCF-7 và HL-60, với giá trị IC_{50} lần lượt là 4.49 và 3.43 μM, trong khi hợp chất **41** thể hiện hoạt tính mạnh trên một dòng tế bào HL-60, với giá trị IC_{50} là 0.6 μM [31]. Theo Cai và cs (2019), mười một ophiobolin sesterterpenoid mới, asperophiobolin A–K, cùng với 12 chất tương tự đã biết đã được phân lập từ dịch lên men của chủng vi nấm *Aspergillus* sp. ZJ-68 được phân lập từ lá của cây ngập mặn *Kandelia candel*, Quảng Đông, Trung Quốc. Đáng chú ý, asperophiobolin A–D là những trường hợp ophiobolin sesterterpenoid đầu tiên sở hữu vòng lactam năm cạnh giữa C-5 và C-21. Các hợp chất asperophiobolin H-J (**42-44**) và 21-deoxo-21-hydroxy-6-epi-ophiobolin G (**45**), ophiobolin Q (**46**), ophiobolin U (**47**) thể hiện tác dụng ức chế sản sinh NO do lipopolysaccharide gây ra ở đại thực bào RAW 264.7, với giá trị IC_{50} dao động từ 9.6 đến 25 μM [32]. Theo Elsbaey và cs (2019), hai đồng phân oxoindolo diterpene mới là anthcolorin G và anthcolorin H, chín meroterpene mới, (7*R*,8*R*)-8-hydroxysydowic acid, (7*S*,10*S*)-10-hydroxy-sydowic acid, (7*S*,11*R*)-12-hydroxy-sydowic acid, (7*S*,11*R*)-12-acetoxy-sydowic acid, (7*R*,8*R*)-1,8-epoxy-11-hydroxy-sydonic acid, 7-deoxy-7,14-didehydro-11-hydroxy-sydonic acid, 7-

deoxy-7,14-didehydro-12-acetoxy-sydonic acid, và (*E*)-7-deoxy-7,8-didehydro-12-acetoxy-sydonic acid, (7*R*)-11-hydroxy-sydonic acid methyl ester, và một dẫn xuất của axit benzoic, được phân lập lần đầu tiên từ nguồn tự nhiên, 3-hydroxy-4-(1-oxo-ethane) benzoic acid, cùng với mười hai hợp chất đã biết khác, được phân lập từ cao chiết lên men của chủng vi nấm *Aspergillus versicolor* phân lập từ quả của cây Avicennia marina, biển Đỏ, Ai Cập. Các hợp chất anthcolorin H **(48),** 7-deoxy-7,14-didehydro-12-acetoxy-sydonic acid (**49),** (*E*)-7-deoxy-7,8-didehydro-12-acetoxy-sydonic acid (**50)** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào Hela (IC50 = 43.7 – 83.8 μM) [33]. Theo Gao và cs (2010), hai sterol mới là 22*E*-7α-methoxy-5α,6α-epoxyergosta-8(14),22-dien-3β-ol (**51**) và 22*E*-3β-hydroxy-5α,6α,8α,14α-diepoxyergosta-22-en-7-one (**52**) được phân lập từ vi nấm rừng ngập mặn *Aspergillus awamori* từ đất rễ cây ngập mặn *Acrostichum speciosum*. Cả 2 hợp chất đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào A549, với giá trị IC_{50} lần lượt là 70 μM 64 μM [34].



Theo Lin và cs. (2009), năm cytochalasin mới là Z16–Z20 và ba cytochalasin đã biết được phân lập từ vi nấm nội sinh *Aspergillus flavipes* phân lập từ vỏ cây *Acanthus ilicifolius* thu thập ở Đông Chương, Trung Quốc. Cytochalasin Z17 (**53**) và rosellichalasin (**54**) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào A-549 với giá trị IC_{50} lần lượt là 5.6 và 7.9 μM [35]. Theo Cai và cs. (2015), ba indole

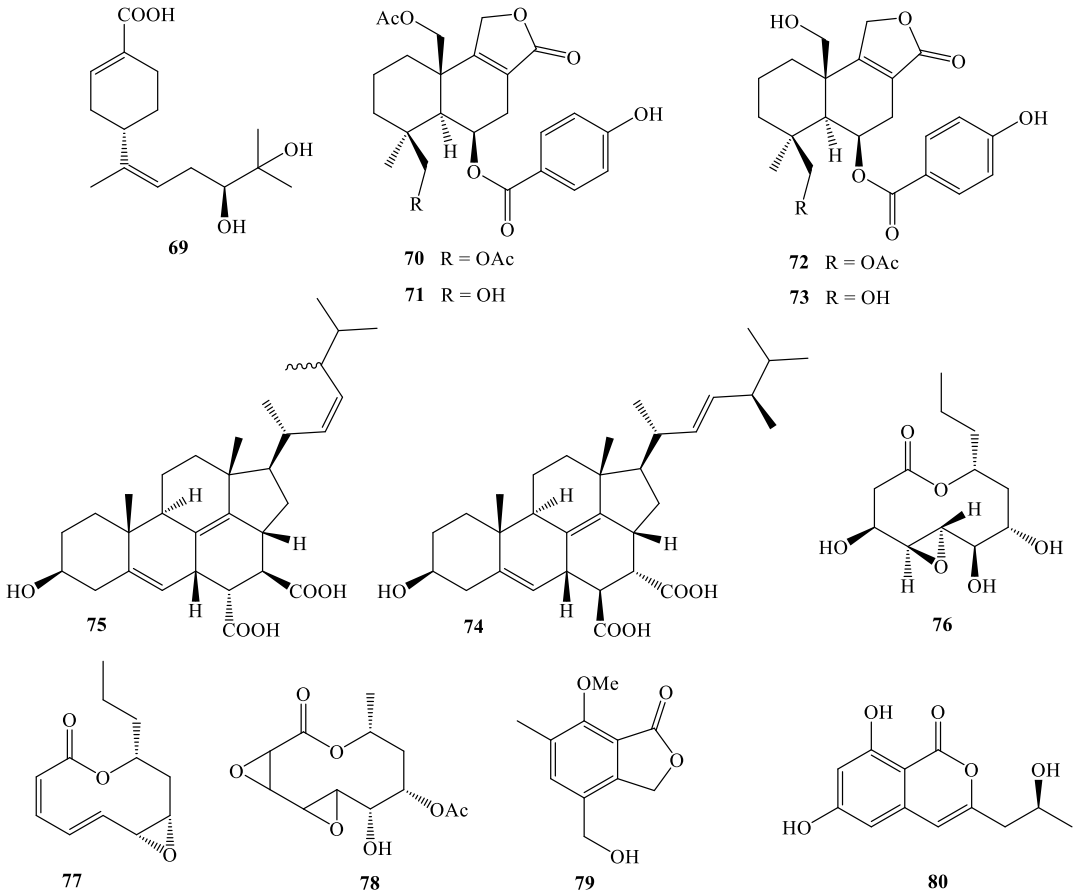
diketopiperazine alkaloid mới là okaramine S–U được phân lập từ dịch lên men của chủng vi nấm *Aspergillus taichungensis* ZHN-7-07 phân lập từ đất vùng rễ của cây ngập mặn *Acrostichum aureum*. Okaramine S (**55**) cho thấy hoạt tính gây độc tế bào mạnh đối với dòng tế bào HL-60 (IC_{50} = 0.78 μM) và hoạt tính yếu đối với dòng tế bào K-562 (IC50 = 22.4 μM) [36]. Theo Shen và cs. 2012, một butyrolactone mới là 7″-hydroxybutyrolactone III (**56**) và ba cycloheptanetrione mới là terretrione A–C (**57-59**), cùng với năm hợp chất đã biết, butyrolactone I, cyclo(Leu-Pro), cyclo(Val-Pro), cyclo(Ile-Pro), cyclo(Phe-Pro) đã được phân lập từ dịch lên men của vi nấm ngập mặn *Aspergillus terreus*. Các hợp chất này thể hiện hoạt tính gây độc tế bào yếu đối với các dòng tế bào HCT-8, Bel-7402, BGC-823, A2780 [37]. Theo Wang và cs. 2022, hai dẫn xuất pyrone mới, 2-(12*S*-hydroxypropyl)-3-hydroxy-methyl-6-hydroxy-7-methoxychromone (**60**) và (±)-pyrenocine S (**61**), cùng với năm hợp chất đã biết là xanthoradone A (**62**), (+)-3,3′,7,7′,8,8′-hexahydroxy-5,5′-dimethyl-bianthra-quinone (**63**), butyrolactone-I (**64**), pyrenocine A (**65**) và (±)-pyrenocine E (**66**) được phân lập từ chủng vi nấm nội sinh *Aspergillus* sydowii #2B từ lá của cây ngập mặn *Aricennia marina*. Các hợp chất **61-66** thể hiện độc tính tế bào đối với tế bào ung thư tuyến tiền liệt VCaP, với giá trị IC50 lần lượt là 4.19 ± 1.02, 33.36 ± 1.42, 1.92 ± 0.82, 20.06 ± 2.01, 7.92 ± 0.86 và 10.13 ± 0.88 μM. Các hợp chất **60**, **63**, **65** và **66** thể hiện tác dụng ức chế đối với quá trình sản sinh NO ở tế bào RAW 246.7 được kích thích bởi LPS, với giá trị IC_{50} lần lượt là 40.15, 28.69, 25.25 và 43.08 μM [38]. Theo Bo và cs. 2025, một benzoquinone mới, guxiumasperone A (**67**), và một diisoprenyl-cyclohexene meroterpenoid mới, biscognienyne M (**68**), cùng với bốn chất tương tự diisoprenyl-cyclohexene đã biết được phân lập từ chủng vi nấm ngập mặn *Aspergillus* QG1a. Cấu hình tuyệt đối của hợp chất **67** được xác định bằng phân tích nhiễu xạ tia X. Các hợp chất **67** và **68** cho thấy hoạt tính gây độc tế bào đáng kể chống lại một số dòng tế bào ung thư; đặc biệt, hợp chất **68** thể hiện hoạt tính mạnh đối với dòng tế bào A2780, với giá trị IC_{50} là 6.8 μM [39].



b. Các hợp chất có hoạt tính kháng viêm từ vi nấm ngập mặn *Aspergillus* spp.

Mặc dù nhiều hợp chất có hoạt tính gây độc tế bào và kháng khuẩn đã được phát hiện từ vi nấm ngập mặn thuộc chi *Aspergillus*, tuy nhiên, hoạt tính kháng viêm của các hợp chất từ vi nấm ngập mặn vẫn còn chưa được nghiên cứu nhiều. Theo tra cứu, cho đến nay, mới chỉ một số hợp chất có hoạt tính kháng viêm thông qua mô hình ức chế sản sinh NO được phát hiện. Theo Zhou và cs. 2022, một sesquiterpene mới, gxsespene A (**69**), và bốn dẫn xuất sesquiterpene đã biết là astellolide B (**70**), 14-deacetyl parasiticolide B (**71**), astellolide G (**72**), và dideacetyl parasiticolide A (**73**) đã được phân lập từ vi nấm nội sinh *Aspergillus* sp. GXNU-MA1 ở cây Acanthus ilicifolius, Beihai, Trung Quốc. Cấu hình tuyệt đối của hợp chất **69** được xác định bằng phân tích nhiễu xạ tia X. Các hợp chất **69-73** thể hiện hoạt tính ức chế sự sản sinh NO, với giá trị IC50 dao động từ 16.15 đến 27.08 μM [40]. Theo Liu và cs. 2018, hai steroid cộng hợp Diels-Alder tự nhiên bất thường, ergosterdiacid A và B (**74** và **75**), tạo thành hệ thống steroid năm vòng 6/6/6/6/5 cùng với ba hợp chất đã biết đã được phân lập từ chủng vi nấm ngập mặn *Aspergillus* sp. Hợp chất **74** và **75** thể hiện tác dụng kháng viêm thông qua ức chế sản sinh NO, với giá trị IC_{50} lần lượt là 4.5 và 3.6 μM [41]. Theo Zhang và cs. 2023, một lactone mới, asperlactone A (**76**), và bốn

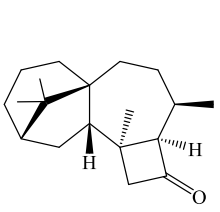
dẫn xuất lactone đã biết (6*Z*,8*E*)-3-propyl-4,11-dioxa-bicyclo[8.1.0]undeca-6.8-dien-5-one (**77**), 8-*O*-acetyl-5,6-dihydro-5,6-epoxymultiplolide A (**78**), convolvulol (**79**), de-*O*-methyldiaporthin (**80**) đã được phân lập từ nấm nội sinh *Aspergillus* sp. GXNU-A9 từ lá cây ngập mặn *Acanthus ilicifolius*, Qinzhou, Trung Quốc. Các hợp chất **76-80** thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO, với giá trị IC_{50} dao động từ 15.87 đến 30.48 µM [42].



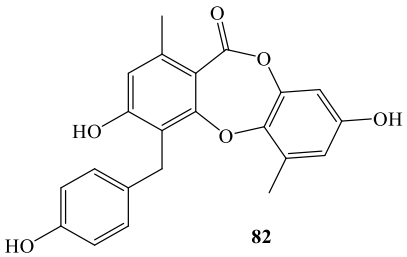
1.4.2. Các hợp chất có hoạt tính gây độc tế bào và kháng viêm từ vi nấm ngập mặn *Trichoderma* spp.

Khác với với vi nấm ngập mặn *Aspergillus* spp đã được xem là nguồn cung cấp dồi dào các hợp chất có hoạt tính sinh học, các hợp chất thứ cấp sản sinh bởi vi nấm ngập mặn thuộc chi *Trichoderma* vẫn còn chưa được biến đến nhiều. Theo Zhang và cs. 2016, một diterpenoid harziane mới là (9*R*,10*R*)-dihydro-harzianone (**81**) đã được phân lập từ chủng vi nấm nội sinh *Trichoderma* sp. Xy24 ở lá, thân và vỏ của cây *Xylocarpus granatum*, Hải Nam, Trung Quốc. Hợp chất này thể hiện hoạt tính gây độc 2 dòng tế bào HeLa và MCF-7, với giá trị IC_{50} lần lượt là 30.1 µM và 30.7

μM [43]. Theo Zhang và cs. (2017), một hợp chất depsidone mới là botryorhodine H (**82**) đã được phân lập và xác định từ dịch lên men của vi nấm nội sinh cây ngập mặn *Trichoderma* sp. 307 và *Acinetobacter johnsonii* B2. Hợp chất này thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh đối với các dòng tế bào MMQ và GH3, với giá trị IC_{50} lần lượt là 3.09 và 3.64 μM [44].



81



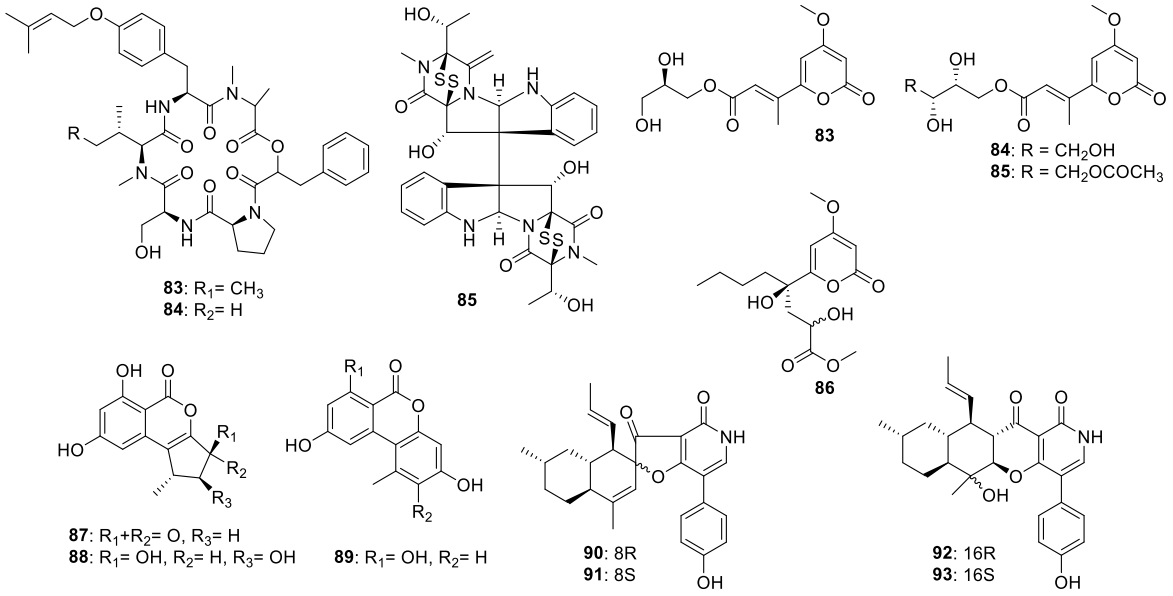
82

1.4.3. Các hợp chất thứ cấp từ vi nấm ở thực vật ngập mặn phân bố ở VQG Xuân Thủy

Các nghiên cứu về vi nấm ngập mặn trên thế giới cho thấy sự đa dạng về thành phần loài của vi nấm ở thực vật ngập mặn và đây là nguồn tài nguyên phong phú các hợp chất mới, có hoạt tính sinh học. Trong số đó, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của vi nấm ở một số loài chiếm ưu thế ở vườn Quốc gia Xuân Thủy như Bần chua (*Sonneratia caseolaris*), Đước vòi (*Rhizophora stylosa*), Giá (*Excoecaria agallocha*) cho thấy nhiều kết quả thú vị và giàu tiềm năng khai thác làm dược liệu [20, 45].

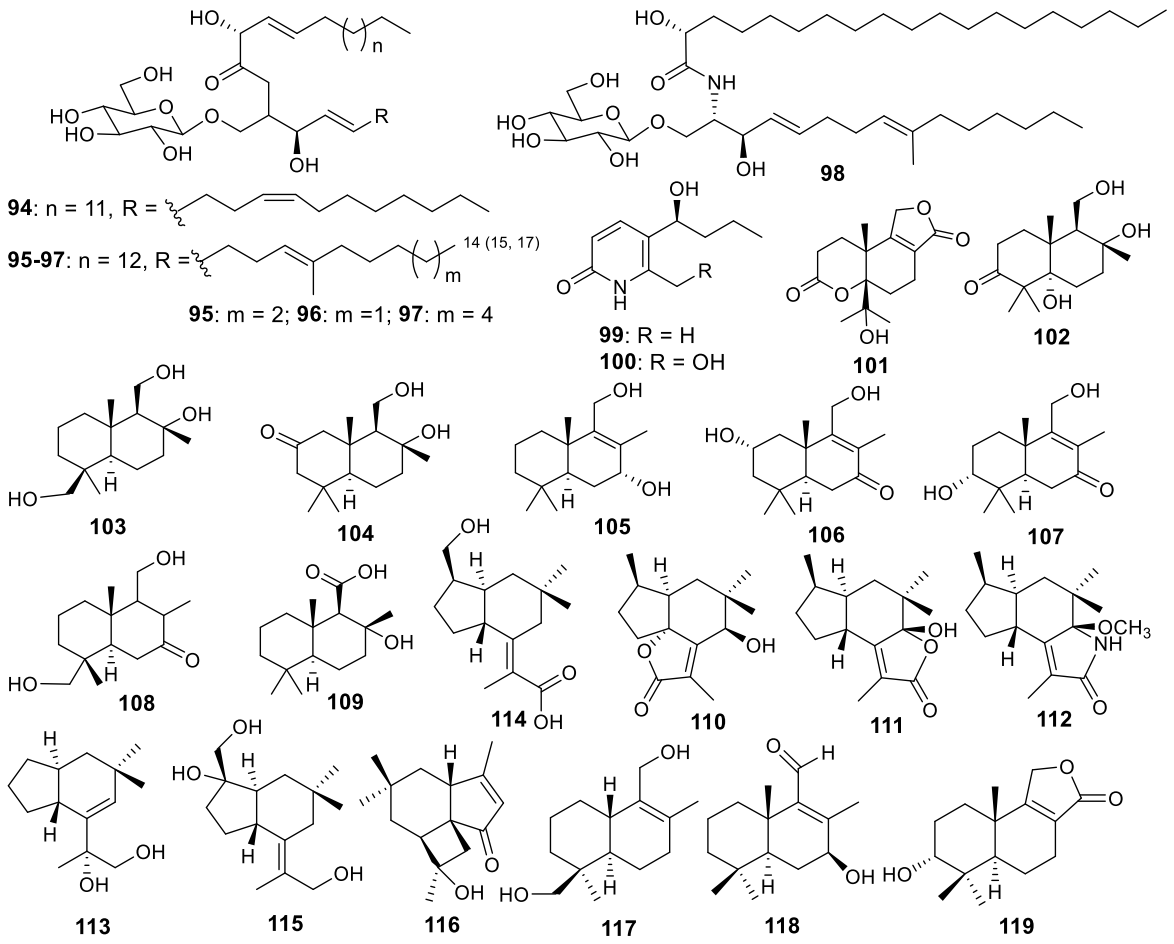
Các nghiên cứu trên đối tượng vi nấm nội sinh ở cây *S. caseolaris* cho thấy một số hợp chất mới, có hoạt tính sinh học đã được phân lập. Theo Ebrahim và cs (2012), một số hợp chất peptide pullularin A (**83**) và C (**84**), và verticilin (**85**) từ vi nấm *Bionectria ochroleuca* thể hiện hoạt tính gây độc mạnh đối với dòng tế bào L5178Y (IC_{50} = 0.1-6.7 μg/mL) [17]. Nghiên cứu của Rönsberg và cs (2013) đã phân lập và xác định được một số hợp chất mới α-pyrone mới là pestalotiopyrone I–L (**83-86**) từ vi nấm *Pestalotiopsis virgatula* nội sinh ở *S. caseolaris* [46], tuy nhiên các hợp chất đều không thể hiện hoạt tính gây độc đối với tế bào L5178Y ở nồng độ 10 μg/mL cũng như kháng khuẩn (MIC > 125 μg/mL). Theo Liu và cs (2016), 5 hợp chất altenusin mới và một số hợp chất đã biết đã được phân lập từ chủng vi nấm *Alternaria* sp. SK6YW3L phân lập từ quả *S. caseolaris*, trong đó hợp chất **87-89** thể hiện hoạt tính ức chế hoạt động của enzym α-glucosidase, với giá trị IC_{50} lần lượt là 78.2, 78.1,

và 64.7 μM [47]. Theo Zhu và cs (2016), 2 cặp đồng phân mới là campyridone A (**90**) và B (**91**) và campyridone C (**92**) và D (**93**) đã được phân lập từ chủng vi nấm *Campylocarpon* sp. HDN13-307, trong đó hợp chất **93** có hoạt tính gây độc đối với dòng tế bào HeLa (IC50 = 8.8 μM) [48].



Hình 1.5. Một số hợp chất mới từ vi nấm ở cây *S. caseolaris*

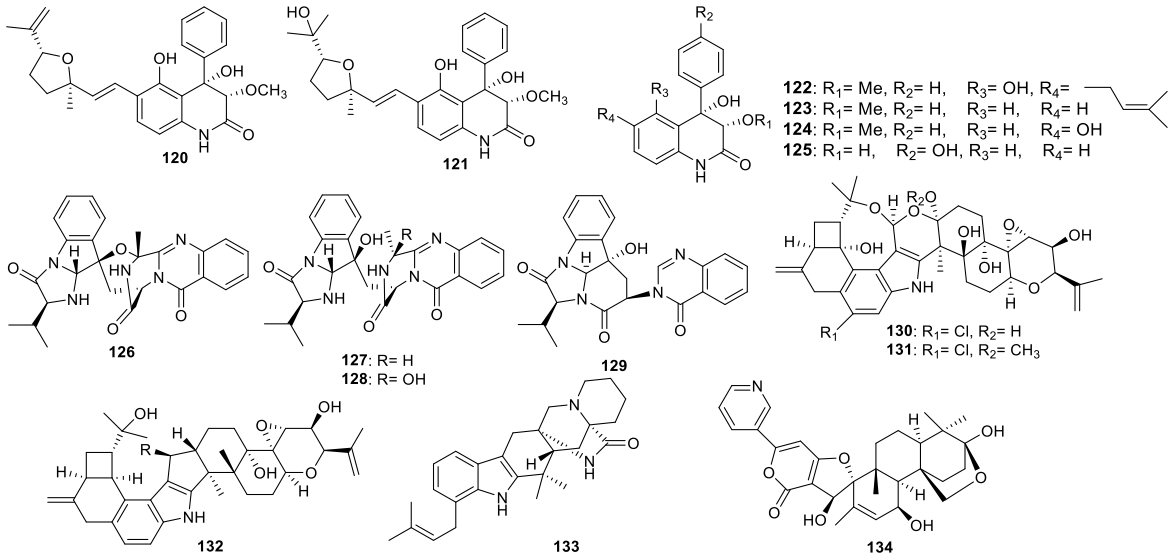
Các nghiên cứu về vi nấm nội sinh ở cây *R. stylosa* cũng cho thấy nhiều kết quả rất thú vị về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học. Theo Peng và cs (2011), 5 hợp chất cerebroside mới, chrysogeside A-E (**94-98**) và 2 hợp chất 2-pyridone alkaloid mới, chrysogedone A và B (**99** và **100**) đã được phân lập từ chủng *Penicillium chrysogenum* PXP-55 phân lập từ rễ cây *R. stylosa* ở Trung Quốc, trong đó hợp chất **95** thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với *Enterobacter aerogenes* (MIC = 1.72 μM) [49]. Theo Zang và cs (2012), 9 hợp chất sesquiterpenoid mới là diaporol A−I (**101-109**) đã được phân lập từ chủng vi nấm *Diaporthe* sp. ở lá cây cây *R. stylosa* ở Trung Quốc, tuy nhiên các hợp chất không thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ở nồng độ 20 μM [50]. C ũng từ chủng vi nấm này, 10 hợp chất brasilane sesquiterpnoid mới là diaporol J-S (**110-119**) cũng đã được phân lập, tuy nhiên hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất không thể hiện ở nồng độ 30 μM, ngoại trừ hợp chất **118** thể hiện hoạt tính trung bình đối với tế bào SW480 (IC_{50} = 8.72 ± 1.32 μM) [51]. Từ chủng vi nấm *Cytospora heveae* NSHSJ-2 phân lập từ thân cây *S. caseolaris*, một số hợp polyketide đã được phân lập và thể hiện hoạt tính thu dọn gốc tự do DPPH [52].



Hình 1.6. Một số hợp chất mới từ vi nấm ở cây *S. caseolaris*

Từ vi nấm *Aspergillus nidulans* MA-143 phân lập từ lá cây *R. stylosa,* 6 hợp chất 4-phenyl-3,4-dihydroquinolone mới là aniduquinolones A−C (**120-122**), 6-deoxyaflaquinolone E (**123**), isoaflaquinolone E (**124**), và 14-hydroxyaflaquinolone F (**125**) đã được phân lập, trong đó hợp chất **121** và **122** thể hiện độc tính đối với ấu trùng *Artemia saline*, với giá trị IC_{50} lần lượt là 7.1 và 4.5 μM [53]. Cũng từ chủng vi nấm này, An và cs (2013) đã phân lập được 4 hợp chất quinazolinone alkaloid là aniquinazolines A–D (**126-129**) và các hợp chất này đều thể hiện độc tính đối với *Artemia saline* (IC_{50} = 1.27-4.95 μM) [54]. Từ vi nấm *Mucor irregularis* QEN-189 phân lập từ rễ cây *R. stylosa* ở đảo Hainan, Trung Quốc, 6 hợp chất indole-diterpenoid mới là rhizovarins A-F đã được phân lập, trong đó hợp chất rhizovarin A (**130**), B (**131**), và E (**132**) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào HL-60 và A-549 (IC_{50} = 6.3-11.5 μM) [55]. Theo Zhang et al (2015), từ chủng *Penicillium oxalicum* EN-201 phân lập từ lá cây *R. stylosa*, 2 hợp chất alkaloid mới là penioxamide A (**133**) và 18-hydroxydecaturin B (**134**) đã được phân lập, và cả 2 hợp chất đều thể hiện độc tính

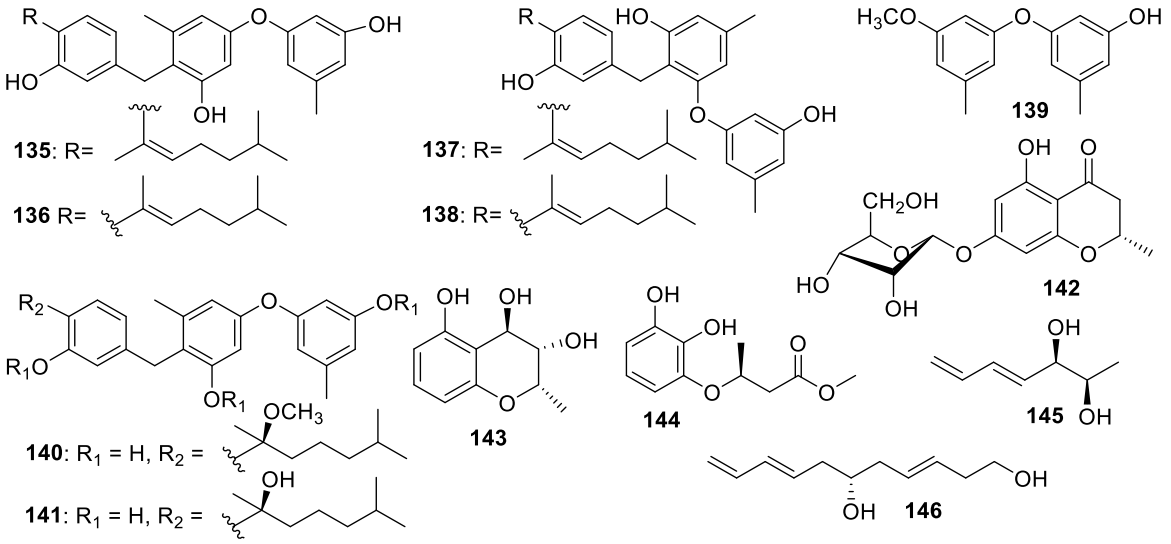
đối với *Artemia saline* (LD_{50} = 5.6 và 2.3 μM) [56]. Một số chủng vi nấm phân lập từ *R. stylosa* thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với vi khuẩn *Pseudomonas adaceae*, *Enterococcus faecalis*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) và nấm gây bệnh *Monilia albicans* và hoạt tính gây độc tế bào đối với một số dòng tế bào ung thư như A549, HeLa, và HepG2 [57].



Hình 1.7. Một số hợp chất chứa nitơ từ vi nấm ở cây *R. stylosa*

Các nghiên cứu về vi nấm nội sinh ở cây *E. agallocha* cho nhiều hợp chất mới, có hoạt tính sinh học tiềm năng. Theo Wang và cs (2012), từ chủng *Penicillium expansum* 091006, 4 hợp chất polyphenol mới expansol C–F (**135-138**) và một hợp chất diphenyl ethyer 3-*O*-methyldiorcinol (**139**) và một số hợp chất đã biết đã được phân lập, trong đó hợp chất expansol C (**135**) và E (**137**) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào HL-60, với IC_{50} lần lượt là 18.2 và 20.8 μM [58]. Cũng từ chủng vi nấm này, 2 hợp chất polyphenol chứa nhân phenolic bisabolane sesquiterpene mới là expansol A (**140**) và B (**141**) được phân lập, trong đó **140** có hoạt tính gây độc tế bào HL-60 (IC_{50} = 15.7 μM) trong khi **141** thể hiện hoạt tính ức chế tăng sinh dòng tế bào A549 và HL-60, với IC_{50} = 1.9 và 5.4 μM [59]. Theo nghiên cứu của Wang và cs (2018), 5 hợp chất polyketide mới (**142-146**) và một số hợp chất đã biết đã được phân lập từ chủng vi nấm *Cladosporium* sp. OUCMDZ-302, trong đó hợp chất methyl (3*S*)-3-(2,3-dihydroxyphenyloxy)butanoate (**144**), 3-(2,3-dihydroxy phenoxy)butanoic acid, (2*S*,4*S*)-4-methoxy-2-methylchroman-5- ol, (2*S*,4*S*)-2-methylchroman-4,5-diol thể hiện hoạt tính thu dọn gốc tự do DPPH (IC_{50} = 0.24 – 6.67 μM) và hợp chất

(3*E*,8*E*,6*S*)-undeca-3,8,10-trien-1,6-diol (**146**) thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào H1975 (IC_{50} = 10.0 μM) [60].



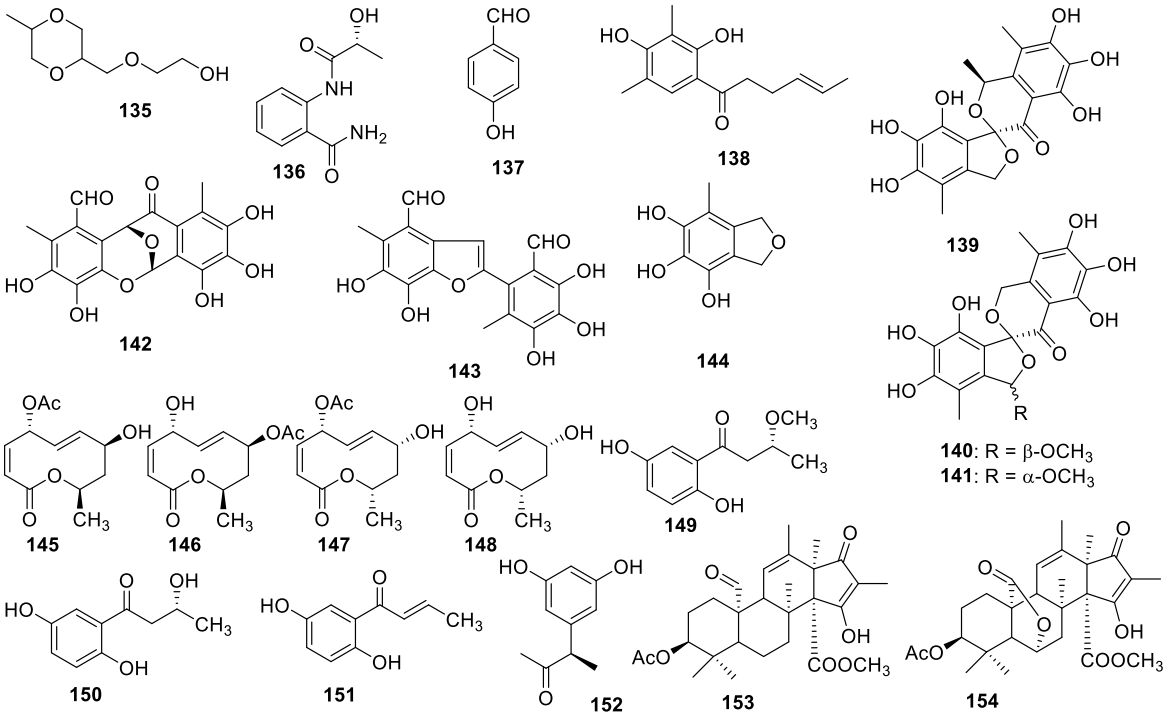
Hình 1.8. Một số hợp chất mới từ vi nấm ở cây *E. agallocha*

1.5. Tổng quan tình hình nghiên cứu ở trong nước

Ở Việt Nam, cho đến nay, nhiều nghiên cứu đã thực hiện trên các đối tượng thực vật ngập mặn. Theo các kết quả đề tài điều tra cơ bản về thực vật ngập mặn ở VQG Xuân Thủy, các cao chiết của các loài thực vật ngập mặn như Sú, Bần chua, Trang, Đước vòi, Giá, Cóc trắng thể hiện hoạt tính gây độc tiềm năng trên 2 dòng tế bào ung thư là KB và LU. Trên cơ sở đó, từ cây Bần chua, Đước vòi, và Giá thu thập ở VQG Xuân Thủy, đã có 30 hợp chất, chủ yếu thuộc lớp chất phenolic đã được phân lập và xác định cấu trúc và đánh giá hoạt tính gây độc tế bào [20].

Thời gian qua, hướng nghiên cứu về vi nấm biển ở trong nước đã được các nhà khoa học quan tâm, với các nghiên cứu chủ yếu tập trung ở một số đơn vị thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam như: Viện Hóa học, Viện Hải Dương học, với sự kết hợp với các đối tác nước ngoài như Hàn Quốc, Nga, với một số nghiên cứu cụ thể như sau. Nghiên cứu được thực hiện ở chủng vi nấm *Penicillium* sp. phân lập từ trầm tích ở đảo Cô Tô, 10 hợp chất đã được phân lập từ cao chiết EtOAc sinh khối chủng vi nấm này [61]. Trong đó hợp chất 2-[(5-methyl-1,4-dioxan-2-yl)methoxy]ethanol (**135**) thể hiện hoạt tính kháng khuẩn *Enterococcus faecalis* mạnh, với giá trị MIC = 32 μg/mL, 2-[(2*R*-hydroxypropanoyl)amino]benzamide (**136**) và 4-hydroxybenzandehyde (**137**) ức chế chọn lọc vi khuẩn *E. coli* với MIC =

16 và 8 μg/mL, và hợp chất 2',3'-dihydrosorbicillin (**138**) ức chế 66.3% hoạt động enzyme α-glucosidase ở nồng độ 2.0 mM. Từ cao chiết EtOAc của chủng vi nấm *Aspergillus micronesiensis* phân lập từ rong đỏ *Kappaphycus alvarezii*, 3 hợp chất dibenzospiroketals mới là aspermicrone A-C (**139-141**) được phân lập và xác định. Trong đó, hợp chất aspermicrone B thể hiện hoạt tính gây độc tế bào chọn lọc ở dòng tế bào HepG2 (IC_{50} = 9.9 μM), 2 hợp chất aspermicrone B và C thể hiện hoạt tính kháng *Staphylococcus aureus*, với MIC = 123.2 μM [62]. Cũng từ chủng vi nấm này, một số hợp chất dạng polyoxygenated polyketide đã được phân lập, trong đó hợp chất epicoccolide A (**142**), epicoccolide B (**143**), và NC3B (**144**) thể hiện khả năng ức chế các dòng tế bào ung thư Hep-G2, LU-1 và Vero, với IC_{50} từ 3.97–4.71 μg/mL [63]. Từ chủng vi nấm *Paraconiothyrium* sp. VK-13 phân lập từ hải sâm ở Quảng Nam, đã phân lập và xác định cấu trúc của 5 hợp chất mới, bao gồm modiolide D-G (**145-148**) và 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-3-methoxy-butan-1-one (**149)**, một hợp chất lần đầu phân lập từ thiên nhiên [1-(2,5-dihydroxyphenyl)-3-hydroxybutan-1-one] (**150**). Trong số các hợp chất phân lập được, 2 hợp chất thể hiện hoạt tính kháng viêm in vitro tiềm năng là **150** và 1-(2,5-dihydroxyphenyl)-2-buten-1-one (**151**)] [64, 65]. Từ chủng vi nấm *Ascomycota* sp. VK12 từ hải miên, một hợp chất mới (3*R*)-(3′,5′-dihydroxyphenyl)butan-2-one (**152**) và một số hợp chất đã biết và đánh giá hoạt tính kháng viêm của của các hợp chất [66]. Bên cạnh đó, một số hợp chất đã biết cũng đã được phân lập từ vi nấm biển *Xenomyrothecium* sp. IMBC-FP2.11 và *Aspergillus* sp. IMBC-FP2.05 từ hải miên thu thập ở vùng biển Quảng Nam [67, 68]. Ngoài ra, nghiên cứu của nhóm nghiên cứu thuộc Viện Nghiên cứu và ứng dụng công nghệ Nha Trang được công bố vào năm 2017, với 2 hợp chất là andrastin A (**153**) và citreohybridonol (**154**) được phân lập từ chủng vi nấm *Penicillium chrysogenum* 045-357-2 thu được từ san hô mềm ở Vịnh Ca Na, Ninh Thuận, Việt Nam [69].



Tuy nhiên, ở Việt Nam, cho đến nay, hướng nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của vi nấm ở thực vật ngập mặn vẫn còn chưa được thực hiện. Theo tra cứu, mới chỉ có một số nghiên cứu về vi nấm ở thực vật ngập mặn được thực hiện ở trong nước, tuy nhiên các nghiên cứu này chủ yếu tập trung vào tuyển chọn các chủng vi nấm sợi sản sinh enzyme α-amylase và glucoamylase [70] và chitinase từ rừng ngập mặn Cần Giờ [71].

Trên cơ sở đó thông tin tổng quan, đề tài tập trung triển khai các nội dung phân lập, xác định cấu trúc hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học các hợp chất từ một số chủng vi nấm phân lập từ một số thực vật ngập mặn thu thập ở VQG Xuân Thủy.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

a. Đối tượng nghiên cứu:

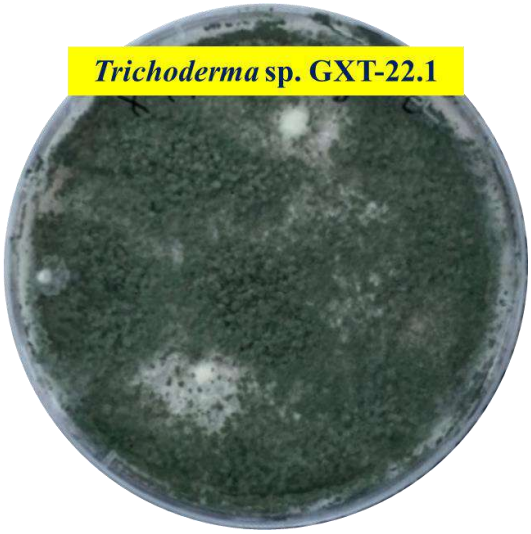
Ba chủng vi nấm phân lập từ thực vật ngập mặn thu thập ở Vườn Quốc Gia Xuân Thủy, Nam Định, bao gồm:

➢ Chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221 được phân lập từ lá cây Đước vòi (*Rhizophora stylosa*) thu thập ở VQG Xuân Thủy. Tên khoa học của chủng vi nấm này được xác định bằng phương pháp sinh học phân tử, bao gồm PCR và giải trình tự gen ITS rDNA. Trình tự gen ITS rDNA của chủng vi nấm này đã được đăng ký trên Genbank, với mã số: PQ119563. Chủng vi nấm này hiện đang được bảo quản tại phòng Hóa sinh phân tử, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.1. Chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221

➢ Chủng vi nấm *Trichoderma* sp. GXT-22.1 được phân lập từ rễ cây Giá (*Excoecaria agallocha*) thu thập ở VQG Xuân Thủy. Tên khoa học của chủng vi nấm này được xác định bằng phương pháp PCR và giải trình tự gen ITS rDNA (mã số đăng ký Genbank: PQ559788). Chủng vi nấm này hiện đang được bảo quản tại phòng Hóa sinh phân tử, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.2. Chủng vi nấm *Trichoderma* sp. GXT-22.1

➢ Chủng vi nấm *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 được phân lập từ rễ cây Bần chua (*Sonneratia caseolaris*) thu thập ở VQG Xuân Thủy. Tên khoa học của chủng vi nấm này được xác định bằng phương pháp PCR và giải trình tự gen ITS rDNA (mã số đăng ký Genbank: PV425981). Chủng vi nấm này hiện đang được bảo quản tại phòng Hóa sinh phân tử, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 2.3. Chủng vi nấm *Aspergillus* sp. BCXT-22.1

b. Hóa chất: Các hóa chất và môi trường sử dụng trong nghiên cứu bao gồm môi trường nuôi cấy PDB (Himedia, Ấn Độ), agar (Himedia, Ấn Độ), muối NaCl (Trung Quốc), các dung môi hữu cơ như MeOH và acetonitrile dùng cho HPLC (Fisher – Hàn Quốc, Scharlau – Tây Ban Nha), n-Hexane, EtOAc, CH_2Cl_2, Acetone, MeOH... (độ tính khiết ≥ 99%, Ghtech, Trung Quốc), silica gel pha thường (Merck, Đức) và pha đảo (YMC, Nhật Bản), Sephadex LH-20 (Supelco, Mỹ). Ngoài ra, các hóa chất

và thuốc thử phục vụ đánh giá hoạt tính sinh học gồm LPS (Sigma Aldrich, Mỹ), FBS (Sigma Aldrich, Mỹ), DMEM (Gibco, Mỹ), MTT (Thermo, Mỹ) và các hóa chất phân tích khác, tất cả đều đạt tiêu chuẩn sử dụng trong nghiên cứu hóa học và sinh học.

2.2. Phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu tạo sinh khối các chủng vi nấm:

- Môi trường nuôi cấy, nhân sinh khối các chủng vi nấm là PDA (Potato dextrose agar), với thành phần như sau:

+ Potato dextrose broth (PDB): 25 g

+ Agar: 20 g

+ Nước cất: 1000 mL

- Chủng vi nấm sau khi được hoạt hóa, nhân giống, được tiến hành nuôi cấy nhân sinh khối trên môi trường PDA trong các bình tam giác 2 L (100 bình, 150 mL môi trường/bình) ở nhiệt độ phòng trong 20 ngày.

Sinh khối của các chủng vi nấm được ngâm chiết trong dung môi EtOAc trong điều kiện siêu âm (30 phút x 3 lần) ở nhiệt độ phòng. Các bước của quy trình được thực hiện chi tiết như sau [72]:

Các bước tiến hành

Bước 1: Hoạt hóa giống cấp 1

Từ ống lưu giữ chủng trong glycerol được bảo quản ở (-80 ^{o}C), lấy một vòng que cấy cấy vạch trên đĩa môi trường thạch PDA, nuôi ở 25^{o}C trong 5 ngày để thu khuẩn lạc riêng rẽ.

Bước 2: Hoạt hóa giống cấp 2

Khuẩn lạc riêng rẽ với màu đặc trưng của chủng phân lập sẽ phát triển theo ngày và theo vòng khuẩn lạc. Sau 5 ngày nuôi cấy chủng phát triển tốt thì tiến hành cấy chuyển sang đĩa tiếp theo để hoạt hóa giống cấp 2. Vi nấm hoạt hóa cấp 2 này sẽ được dùng để hoạt hóa giống cấp 3.

Bước 3: Hoạt hóa giống cấp 3

Giống sau khi đã được hoạt hóa ở trên (bước chuyển tiếp sang đĩa ở nhiệt độ 25^{o}C trong 7 ngày. Kiểm tra độ thuần giống bằng cách soi trên kính hiển vi có độ phóng đại 400 lần. Bào tử đa bào hình elip gắn với các bào tử đơn bào ngắn (không

phân nhánh). Giống đạt chất lượng làm nguyên liệu cho nhân giống cấp 1 khi vi nấm bắt đầu chuyển sang giai đoạn bào tử.

Bước 4: Nhân giống cấp 1

Giống cấp 1 là sử dụng giống từ hoạt hóa giống cấp 3. Sau bước 3 thì tiếp tục lựa chọn khuẩn lạc đạt chất lượng của chủng vi nấm cấy chuyển theo phương pháp cấy ria ra trên 20 đĩa Petri có chứa môi trường nuôi cấy để chuẩn bị số lượng đĩa và giống tốt nhất đủ nhất cho bước cấy nhân chủng lên số lượng lớn tiếp theo. Ở bước này cũng áp dụng các phương pháp cấy chuyển trên môi trường như các bước 2 và 3. Quan sát chủng nấm phát triển trong 5 ngày ở điều kiện chuẩn đã định là nhiệt độ phòng (25^{o}C). Kiểm tra mức độ tạp nhiễm trên kính hiển vi có độ phóng đại 400 lần. Chủng vi nấm bắt đầu chuyển sang giai đoạn bào tử được sử dụng làm nguyên liệu cho nuôi sinh khối lấy lượng lớn.

Bước 5: Lên men sinh khối

Quá trình lên men sinh khối lượng lớn được thực hiện trong các bình tam giác 2 L có chứa môi trường nuôi cấy thể rắn PDA đã được khử trùng. Áp dụng phương pháp nuôi cấy vi sinh thông thường, khử trùng bề mặt tiếp xúc và khử trùng sâu trên ngọn lửa đèn cồn 5 lần đối với các dụng cụ thí nghiệm tiếp xúc trực tiếp với các chủng vi nấm. Dùng que cấy dài khử trùng trên ngọn lửa đèn cồn sau đó dùng que cấy thu các sợi vi nấm ở các đĩa hoạt hóa F2 của chủng được lựa chọn. Que cấy được áp dụng phương pháp bật tank để chuyển miếng thạch PDA có chứa các sợi vi nấm vào các bình nuôi cấy. Sau khi khử trùng trên ngọn lửa đèn cồn với cổ bình và nắp bình, tiến hành lắc nhẹ bình để giá thạch chứa nấm trải đều trên toàn bộ mặt thạch của bình nuôi cấy. Các bình được nuôi cấy ở nhiệt độ phòng và quan sát sự phát triển của các khuẩn lạc, sợi vi nấm hàng ngày bằng mắt thường.

Bước 6: Thu sinh khối và tạo cao chiết tổng

Sau 20 ngày nuôi cấy chủng vi nấm, tiến hành ngâm chiết các bình tam giác chứa giá thể nuôi chủng với dung môi chiết hữu cơ là EtOAc kết hợp với siêu âm 60 phút ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết được lọc qua giấy lọc để loại bỏ phần thạch nuôi cấy. Phần dung môi có chứa cao chiết được cất quay loại dung môi dưới áp suất giảm để thu được cao chiết tổng phục vụ các nghiên cứu thành phần hóa học tiếp theo.

2.2.2. Phương pháp phân lập các hợp chất:

Quá trình phân lập và tinh sạch các hợp chất từ cao chiết các chủng vi nấm được thực hiện với sự kết hợp nhiều kỹ thuật sắc ký khác nhau, bao gồm:

- Sắc ký lớp mỏng (TLC): Thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufolien 60 F254 (Merck 1,05715), RP18 F254s (Merck); phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H_2SO_4 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ nóng từ từ đến khi hiện màu. Sắc ký lớp mỏng được sử dụng như phương pháp theo dõi, đánh giá sơ bộ thành phần hóa học và định hướng quá trình tách chiết.
- Sắc ký lớp mỏng điều chế (PTLC): thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn Silica gel 60G F_{254} (Merck, 105875) để thu nhận các phân đoạn tinh khiết hơn với lượng mẫu nhỏ.
- Sắc ký cột (CC): được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel pha thường, silica gel pha đảo ODS (30 - 50 μm), Diaion HP-20, và Sephadex LH-20. Sắc kí cột được sử dụng làm phương pháp chủ đạo cho quá trình phân đoạn và tinh chế.
- Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC): thực hiện trên hệ thống máy HPLC Agilent 1260 Infinity II, được trang bị bơm: G7112B Binary Pump, bộ ghi tín hiệu: G7115A diode array detector, bộ lấy mẫu: G7129A auto-sampler, và cột điều chế: YMC J'sphere ODS-H18 column (250 × 20 mm, S-04 μm, 8 nm), tốc độ dòng: 3 mL/phút, các chất được phát hiện ở 4 bước sóng 205, 230, 254, và 280 nm.

2.2.3. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất:

Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định dựa trên sự kết hợp của nhiều phương pháp phổ hiện đại như sau:

- ***Phổ khối lượng (MS):*** Phổ khối lượng phun mù điện tử phân giải cao được đo trên máy Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS systems (Agilent Technologies, USA) và SCIEX X500 QTOF mass spectrometer (SCIEX, USA), Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN.
- ***Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR):*** được đo trên máy Bruker AM500 FT-NMR Spectrometer và Bruker AVANCE III 600 MHz spectrometer, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN.
- ***Phổ lưỡng sắc tròn (CD):*** được đo trên máy Chirascan CD spectrometer, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN.

- ***Góc quay cực $[\alpha]_D$:*** đo trên máy Jasco P-2000 digital polarimeter, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN.

- ***Phương pháp tính toán lý thuyết phổ ECD:*** Cấu dạng của mỗi đồng phân cần tính toán được phân tích và xác định bằng phần mềm Spartan 18 (Wavefunction Inc., Irvine, CA, USA) sử dụng phương pháp cơ học lượng tử MMFF (Merck Molecular Force Field). Các cấu dạng có hệ số phân bố Boltzmann trên 1% sau đó được tối ưu hóa và tính toán phổ ECD theo hàm mật độ phụ thuộc thời gian TDDFT (Time Dependent Density Functional Theory) bằng phần mềm Gaussian 16 (Gaussian Inc., Wallingford, CT, USA), với mức tính toán B3LYP/6-311G(d,p). Ảnh hưởng của dung môi methanol được tính toán theo mô hình CPCM (Conductor-like Polarizable Continuum Model) [73, 74]. Phổ ECD tính toán lý thuyết cho các cấu dạng sẽ được tổng hợp lại bằng phần mềm SpecDis 1.71 (Đại học Wuerzburg, Wuerzburg, Đức) dựa trên hệ số phân bố Boltzmann và được mô hình hóa thu được phổ ECD tính toán lý thuyết cho mỗi đồng phân [75, 76].

2.2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Phương pháp gây độc tế bào ung thư được Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (National Cancer Institute) xác nhận là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện các chất có khả năng kìm hãm sự phát triển hoặc diệt tế bào ung thư ở điều kiện *in vitro*. Phép thử này được thực hiện theo phương pháp của Monks (1991) [77] được thực hiện tại Phòng Công nghệ tế bào và Thử nghiệm sinh học, Viện Sinh học. Phép thử tiến hành xác định hàm lượng protein tế bào tổng số dựa vào mật độ quang học (OD - Optical Density) đo được khi thành phần protein của tế bào được nhuộm bằng Sulforhodamine B (SRB). Giá trị OD máy đo được tỉ lệ thuận với lượng SRB gắn với phân tử protein, do đó lượng tế bào càng nhiều (lượng protein càng nhiều) thì giá trị OD càng lớn. Phép thử được thực hiện trong điều kiện cụ thể như sau:

Pha các mẫu thử thành các dải nồng độ thích hợp. Trypsin hóa tế bào thí nghiệm để làm rời tế bào và đếm trong buồng đếm để điều chỉnh mật độ cho phù hợp với thí nghiệm. Chất thử (10 µL) đã pha ở các nồng độ vào các giếng của đĩa 96 giếng, thêm 190 µl tế bào đã điều chỉnh nồng độ phù hợp ở trên vào các giếng này sao cho nồng độ mẫu thử trong giếng là 100, 20, 4, và 0.8 µM đối với chất sạch. Ủ trong tủ ấm 48 giờ. Giếng không có chất thử nhưng có TBUT (190µl) sẽ được sử

dụng làm đối chứng ngày 0. Sau 1 giờ, giếng đối chứng ngày 0 tế bào sẽ được cố định bằng Trichloracetic acid (TCA). Sau 48 giờ, tế bào được cố định bằng TCA trong 1 giờ, được nhuộm bằng SRB trong 30 phút ở 37 ºC, rửa 3 lần bằng acetic acid rồi để khô ở nhiệt độ phòng.

10 mM unbuffered Tris base để hòa tan lượng SRB, lắc nhẹ trong 10 phút. Đọc kết quả OD ở bước sóng 515–540 nm trên máy ELISA Plate Reader (Bio-Rad). Phần trăm gây độc tế bào khi có mặt chất thử sẽ được xác định thông qua công thức sau:

$$\% \text{ Gây độc tế bào} = 100\% - \frac{[OD\ (\text{chất thử}) - OD\ (\text{ngày } 0)] \times 100}{OD\ (\text{đối chứng âm}) - OD\ (\text{ngày } 0)}$$

Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Ellipticine ở các nồng độ được sử dụng như là chất đối chứng dương; DMSO 1% được sử dụng như đối chứng âm. Giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50% sự phát triển) được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

2.2.5. Phương pháp đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO

2.2.5.1. Phương pháp nuôi cấy tế bào

Dòng tế bào RAW264.7 hoặc BV2 được nuôi cấy trong môi trường DMEM với thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES, và 1,0 mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum (FBS, GIBCO). Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày với tỉ lệ 1/3 tổng số tế bào và nuôi trong tủ ấm CO_2 ở điều kiện 37ºC, 5% CO_2.

2.2.5.2. Phương pháp đánh giá ảnh hưởng đến khả năng sống sót của tế bào

Ảnh hưởng của các mẫu thử lên khả năng sống sót của các tế bào được đánh giá bằng phương pháp MTT, được thực hiện tại Phòng Công nghệ tế bào và Thử nghiệm sinh học, Viện Sinh học. Phương pháp này xác định sự sống sót của tế bào thông qua sự hình thành sản phẩm formazan mầu khi đưa MTT vào giếng tế bào dưới tác động của enzyme trong tế bào sống [78]. Cụ thể như sau:

Đĩa nuôi cấy tế bào để thử nghiệm sự biểu hiện NO ở trên, sau khi thu dịch nổi để xác định hàm lượng NO sẽ được thêm vào mỗi giếng là 90 µL môi trường nuôi

cấy tế bào và 10 µL MTT (nồng độ cuối cùng là 5 mg/mL). Sau 4h, loại bỏ môi trường, tinh thể formazan được hòa tan bằng 50 µL DMSO 100%.

Giá trị OD đo ở bước sóng 540 nm bằng máy quang phổ BioTek Elx800. Khả năng sống sót của tế bào khi có mặt chất thử sẽ được xác định thông qua công thức sau:

$$\%\ \text{sống sót} = \frac{OD(\text{mẫu}) - OD(blank)}{OD(DMSO) - OD(blank)}\ x\ 100$$

2.2.5.3. Phương pháp đánh giá khả năng ức chế sản sinh NO

Phương pháp này được thực hiện tại Phòng Thử nghiệm sinh học, Viện Sinh học. Tế bào RAW264.7 hoặc BV2 được đưa vào đĩa 96 giếng ở nồng độ 2 x 10^5 tb/giếng và nuôi trong tủ ấm ở 37°C và 5% CO_2 trong 24h.

Tiếp theo, môi trường nuôi cấy được loại bỏ, thay bằng môi trường DMEM không có FBS trong 3h.

Tế bào sau đó được ủ mẫu nghiên cứu ở các nồng độ khác nhau trong 2h trước khi được kích thích sản sinh yếu tố NO bằng LPS (10 µg/mL) trong 24h.

Một số giếng không được ủ mẫu mà chỉ sử dụng dung dịch pha mẫu được coi là đối chứng âm. Trong khi đối chứng dương được sử dụng là Dexamethasone (Sigma) ở các nồng độ 100; 20; 4 và 0.8 µM.

Nitrite (NO_2^-), được xem là chỉ thị cho việc tạo NO, sẽ được xác định nhờ bộ Griess Reagent System (Promega Cooperation, WI, USA) [79]. Cụ thể là, 100 µL môi trường nuôi tế bào (ủ mẫu) được chuyển sang đĩa 96 mới và được thêm vào 100 µL Griess reagent: 50 µL of 1% (w/v) sulfanilamide trong 5% (v/v) phosphoric acid và 50 µL 0.1% (w/v) N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride pha trong nước.

Hỗn hợp này được ủ tiếp ở nhiệt độ phòng trong 10 phút và hàm lượng nitrite sẽ được đo bằng máy microplate reader ở bước sóng 540 nm. Môi trường DMEM không FBS được sử dụng như giếng trắng (blank).

Hàm lượng nitrite của từng mẫu thí nghiệm được xác định nhờ vào đường cong hàm lượng chuẩn $NaNO_2$ và được so sánh % với mẫu chứng âm (LPS).

Khả năng ức chế sản sinh NO tương ứng của mẫu được xác định nhờ công thức:

% Ức chế = 100% – [hàm lượng NO_{sample}/hàm lượng NO_{LPS}] x 100

Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50% sự sản sinh NO) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm TableCurve 2Dv4.

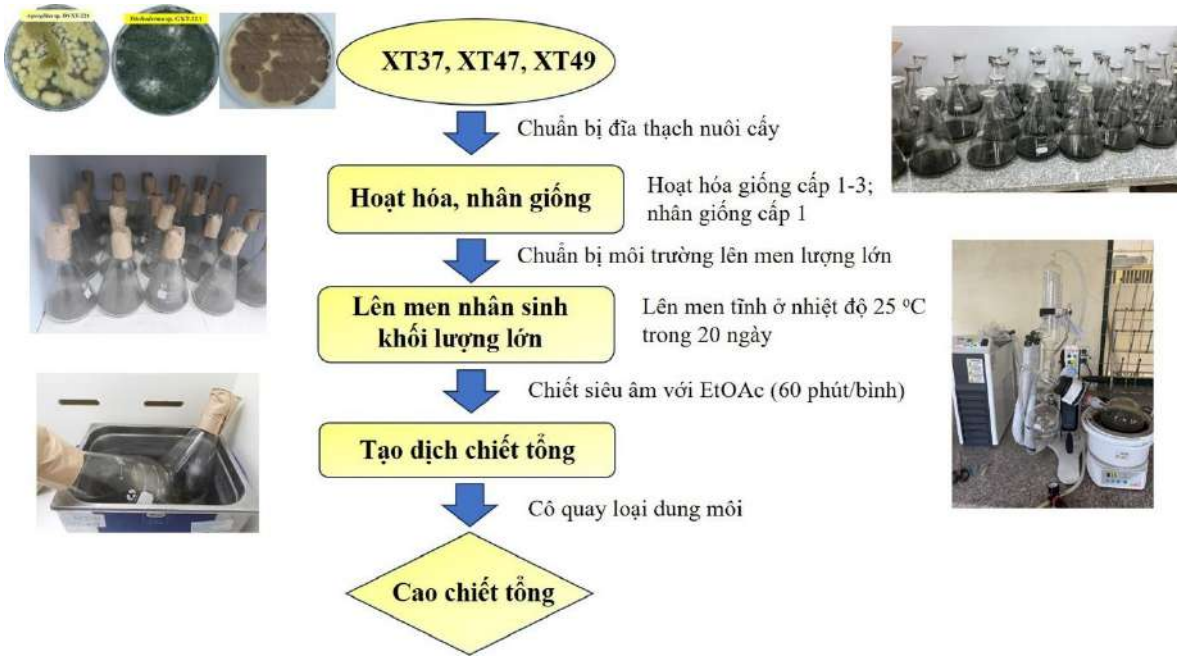
2.2.5.4. Phương pháp docking phân tử:

Nghiên cứu mô phỏng ghép nối phân tử được thực hiện bằng phần mềm AutoDock 4.2.6 và AutoDockTool 1.5.7 [80]. Cấu trúc tinh thể của iNOS (PDB id. 3E6T) được lấy từ Ngân hàng dữ liệu Protein RCSB [81]. Trước tiên, chất ức chế AR-C118901 được chiết xuất từ vị trí hoạt động của thụ thể để xây dựng mô hình ghép nối. Cấu trúc phân tử của các hợp chất được thông qua mô hình cơ học phân tử MMFF bằng phần mềm Spartan' 18. Các tham số hộp lưới trung tâm được đặt là: x = 128.46, y = 112.78 và z = 90.09, với khoảng cách là 0.375 Å. Quy trình docking phân tử của các hợp chất được khẳng định thông qua docking lại phối tử vào vị trí hoạt động của iNOS, với giá trị RMSD = 0.073 Å. Sau đó, quy trình này được áp dụng cho mô phỏng ghép nối các hợp chất với protein iNOS. Kết quả được phân tích bằng phần mềm Discovery Studio 2021. Liên kết hydro và các tương tác kỵ nước giữa các nhóm thế của các hợp chất và các gốc amino acid ở trung tâm hoạt động của protein được mô hình hóa thông qua công cụ LigPlot^{+} [82].

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả lên men sinh khối, tạo cao chiết tổng các chủng vi nấm

Các chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 sau khi được hoạt hóa theo các bước mô tả ở Phương pháp nghiên cứu, tiến hành nhân giống các chủng trên 20 đĩa Petri có chứa môi trường nuôi cấy PDA trong 5 ngày ở nhiệt độ phòng, trong bóng tối. Sau đó, các chủng vi nấm được cấy chuyển sang các bình tam giác có chứa môi trường nuôi cấy PDA (100 bình, 150 mL môi trường/ bình) và quá trình lên men được diễn ra trong bóng tối, trong 20 ngày ở nhiệt độ khoảng 25 ºC. Sinh khối lên men và môi trường thạch nuôi cấy của các chủng vi nấm (~ 15 kg/ chủng) được ngâm chiết với EtOAc trong điều kiện sóng siêu âm (500 mL EtOAc/bình x 3 lần) trong 60 phút ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết sinh khối các chủng vi nấm được lọc qua giấy lọc, sau đó được cất loại dung môi dưới áp suất giảm thu được cao chiết tổng của các chủng vi nấm (Hình 3.1). Kết quả của quá trình lên men nhân sinh khối, tạo cao chiết là đã thu được cao chiết tổng EtOAc của 3 chủng vi nấm, bao gồm: *Aspergillus* sp. DVXT-221 (ký hiệu XT37, 6.8 g), *Trichoderma* sp. GXT-22.1 (ký hiệu XT47, 20 g) và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 (ký hiệu XT49, 7.0 g). Cao chiết tổng của các chủng vi nấm này được bảo quản ở 0-4 ºC cho đến khi thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

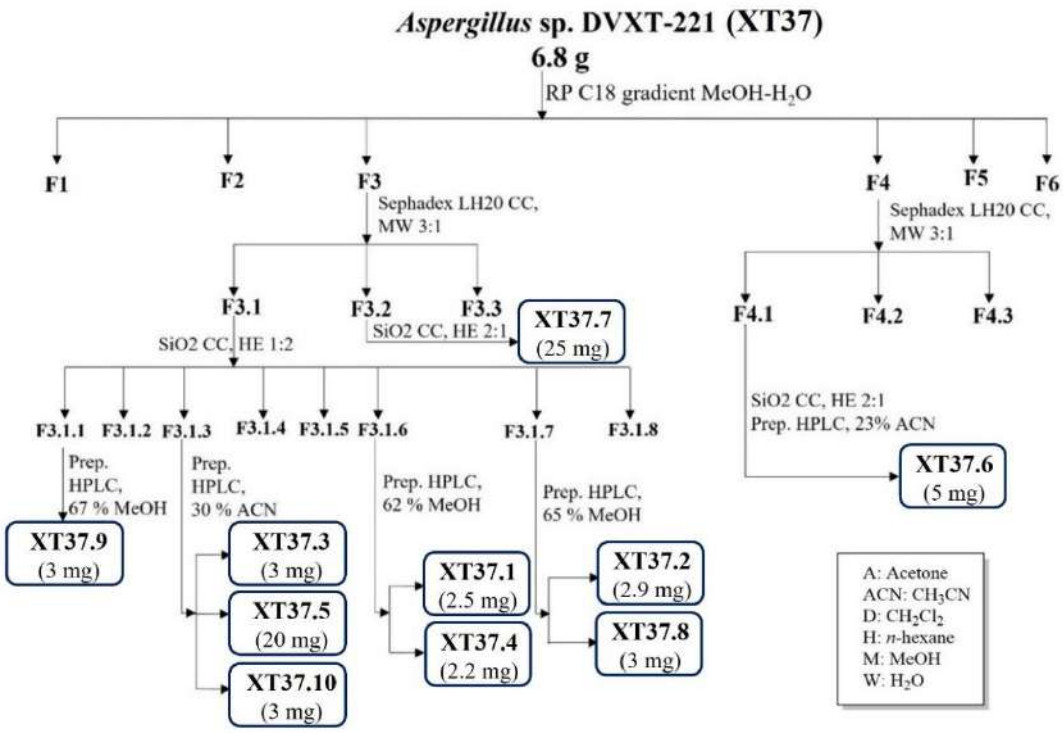


Hình 3.1. Sơ đồ các bước lên men nhân sinh khối, tạo cao chiết tổng các chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22

3.2. Kết quả phân lập các hợp chất

3.2.1. Kết quả phân lập các hợp chất từ chủng vi nấm Aspergillus sp. DVXT-221

Cao chiết chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221 (6.8 g) được phân tách tạo phân đoạn bằng phương pháp sắc ký cột pha đảo RP C_{18}, với hệ dung môi rửa giải gradient MeOH-H_2O (từ 20% đến 100% MeOH) thu được 6 phân đoạn (F1–F6). Phân đoạn F3 tiếp tục được phân tách thành ba phân đoạn (F3.1–F3.3) thông qua sắc ký cột Sephadex LH-20, với hệ dung môi rửa giải MeOH–H_2O (3:1, v/v). Phân đoạn F3.1 được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, sử dụng hệ dung môi rửa giải n-hexane–EtOAc (1:2, v/v), thu được 8 phân đoạn (F3.1.1–F3.1.8). Phân đoạn F3.1.1 được tinh sạch bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), với hệ dung môi rửa giải 67% MeOH trong H_2O, thu được hợp chất **XT37.9** (t_R = 25.3 phút, 3 mg). Phân đoạn F3.1.3 được tinh chế bằng HPLC, với hệ dung môi rửa giải 30% CH_3CN trong H_2O, thu được các hợp chất **XT37.5** (t_R = 26.8 phút, 20 mg), **XT37.3** (t_R = 32.1 phút, 3 mg), và **XT37.10** (t_R = 36.4 phút, 3 mg). Tương tự, phân đoạn F3.1.6 được tinh sạch bằng HPLC, sử dụng hệ dung môi rửa giải 62% MeOH trong H_2O, thu được các hợp chất **XT37.4** (t_R = 28.5 phút, 2.2 mg) và **XT37.1** (t_R = 34.7 phút, 2.5 mg). Tương tự, các hợp chất **XT37.2** (t_R = 28.2 phút, 2.9 mg) và **XT37.8** (t_R = 32.6 phút, 3 mg) được phân lập từ phân đoạn F3.1.7 bằng HPLC, với hệ dung môi rửa giải 65% MeOH trong H_2O. Từ phân đoạn F3.2, hợp chất **XT37.7** (25 mg) được phân lập bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải n-hexane–EtOAc (2:1, v/v). Phân đoạn F4 được phân tách thành ba phân đoạn F4.1–F4.3 bằng sắc ký cột Sephadex LH-20, sử dụng hệ dung môi pha động MeOH–H_2O (3:1, v/v). Phân đoạn F4.1 được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải n-hexane–EtOAc (2:1, v/v), sau đó tinh sạch bằng HPLC, với hệ dung môi pha động 23% CH_3CN trong H_2O, thu được hợp chất **XT37.6** (t_R = 27.2 phút, 5 mg). Như vậy, từ cao chiết tổng của chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221 đã phân lập được 10 hợp chất sạch (Hình 3.2).

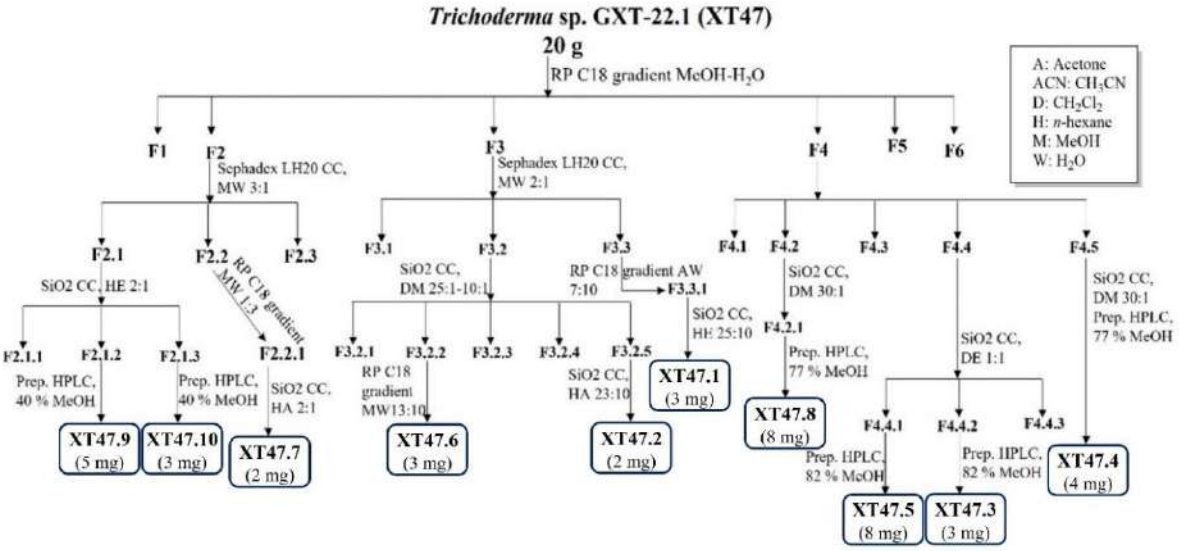


Hình 3.2. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221

3.2.2. Kết quả phân lập các hợp chất từ chủng Trichoderma sp. GXT-22.1

Cao chiết sinh khối của chủng vi nấm *Trichoderma* sp. GXT-22.1 (20 g) được tiến hành tạo các phân đoạn bằng sắc ký cột pha đảo RP C_{18}, sử dụng dung môi rửa giải gradient MeOH-H_2O (từ 20% đến 100% MeOH) thu được sáu phân đoạn (F1–F6). Phân đoạn F2 được phân tách tiếp bằng sắc ký cột Sephadex LH-20, sử dụng hệ dung môi rửa giải MeOH-H_2O (3:1, v/v), thu được ba phân đoạn F2.1–F2.3. Phân đoạn F2.1 tiếp tục được phân tách thành ba phân đoạn (F2.1.1–F2.1.3) bằng sắc ký cột silica gel, rửa giải với n-hexane-EtOAc (2:1, v/v). Phân đoạn F2.1.2 được tinh chế bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), với hệ dung môi pha động 40% MeOH trong H_2O, thu được hợp chất **XT47.9** (t_R = 26.3 phút, 5 mg). Tương tự, hợp chất **XT47.10** (t_R = 30.1, 3 mg) được phân lập từ phân đoạn F2.1.3 bằng HPLC, sử dụng hệ dung môi pha động 42% MeOH trong H_2O. Phân đoạn F2.2 được phân tách bằng sắc ký cột RP C_{18}, với hệ dung môi pha động MeOH-H_2O (1:3, v/v), thu được phân đoạn F2.2.1 và phân đoạn này tiếp tục được tinh sạch bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi pha động n-hexane-acetone (2:1, v/v) thu được hợp chất **XT47.7** (2 mg). Phân đoạn F3 được phân tách thành ba phân đoạn (F3.1–F3.3) bằng sắc ký cột Sephadex LH-20, sử dụng hệ dung môi rửa giải MeOH-H_2O (2:1, v/v). Phân đoạn

F3.2 được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, với hệ rửa giải gradient CH_2Cl_2-MeOH (25:1 đến 10:1, v/v) thu được năm phân đoạn (F3.2.1–F3.2.5). Từ phân đoạn F3.2.2, hợp chất **XT47.6** (3 mg) được phân lập bằng sắc ký cột RP C_{18} với pha động MeOH-H_2O (13:10, v/v). Hợp chất **XT47.2** (2 mg) được phân lập từ phân đoạn F3.2.5 bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải n-hexane–acetone (23:10, v/v). Phân đoạn F3.3 được tách tiếp bằng sắc ký cột RP C_{18}, với hệ pha động acetone-H_2O (7:10, v/v) cho ra phân đoạn F3.3.1, sau đó được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel, với pha động n-hexane-EtOAc (25:10, v/v), thu được hợp chất **XT47.1** (3 mg). Phân đoạn F4 được phân tách thành năm phân đoạn (F4.1–F4.5) bằng sắc ký cột RP C_{18}, sử dụng hệ dung môi pha động acetone–H_2O (13:10, v/v). Phân đoạn F4.2 được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải CH_2Cl_2–MeOH (30:1, v/v), thu được phân đoạn F4.2.1, và tiếp tục tinh chế bằng HPLC, rửa giải với hệ dung môi 77% MeOH trong H_2O thu được hợp chất **XT47.8** (t_R = 26.5 phút, 8 mg). Phân đoạn F4.4 được phân tách thành ba phân đoạn (F4.4.1–F4.4.3) bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải CH_2Cl_2–EtOAc (1:1, v/v). Hai phân đoạn F4.4.1 và F4.4.2 được tinh sạch bằng HPLC, rửa giải với hệ dung môi 82% MeOH trong H_2O, thu được lần lượt hợp chất **XT47.5** (t_R = 28.4 phút, 8 mg) và **XT47.3** (t_R = 32.7 phút, 3 mg). Cuối cùng, hợp chất **XT47.4** (4 mg) được phân lập từ phân đoạn F4.5 thông qua sắc ký cột silica gel [hệ dung môi pha động: CH_2Cl_2–MeOH (30:1, v/v)] và HPLC (hệ dung môi pha động: 77% MeOH trong H_2O) (Hình 3.3).

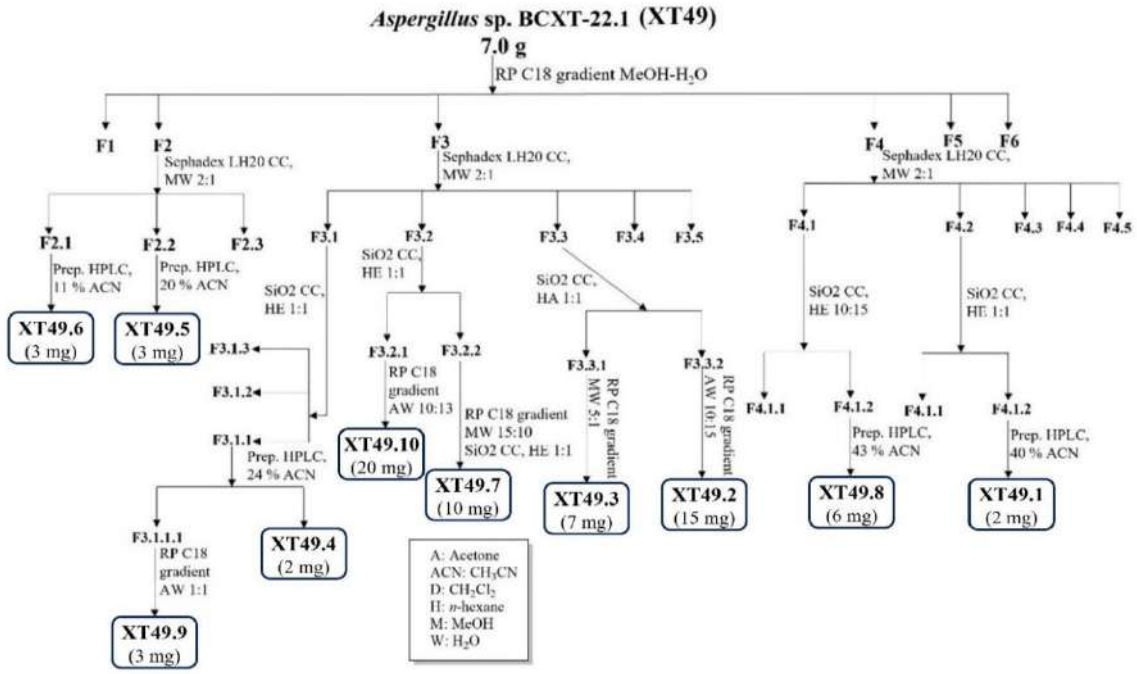


Hình 3.3. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ chủng vi nấm *Trichoderma* sp. GXT-22.1

3.2.3. Kết quả phân lập các hợp chất từ chủng Aspergillus sp. BCXT-22.1

Cao chiết sinh khối của chủng vi nấm *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 (7.0 g) được phân tách bằng sắc ký cột pha đảo C_{18}, rửa giải gradient MeOH-H_2O (từ 20% đến 100% MeOH), thu được 6 phân đoạn (F1–F6). Phân đoạn F2 được tiếp tục phân tách bằng sắc ký cột Sephadex LH-20, sử dụng dung môi rửa giải MeOH-H_2O (2:1, v/v), thu được ba phân đoạn (F2.1–F2.3). Phân đoạn F2.1 được tinh sạch HPLC, rửa giải với 11% CH_3CN trong H_2O thu được hợp chất **XT49.6** (t_R = 27.7 phút, 3 mg). Tương tự, hợp chất **XT49.5** (t_R = 28.3 phút, 3 mg) được phân lập từ phân đoạn F2.2 bằng HPLC, rửa giải với 20% CH_3CN trong H_2O. Phân đoạn F3 được phân tách bằng sắc ký cột Sephadex LH-20 (MeOH-H_2O, 2:1, v/v), thu được 5 phân đoạn (F3.1–F3.5). F3.1 tiếp tục được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải n-hexane-EtOAc (1:1, v/v), thu được ba phân đoạn (F3.1.1–F3.1.3). Hợp chất **XT49.4** (t_R = 29.6 phút, 2 mg) được phân lập từ phân đoạn F3.1.1 bằng HPLC, rửa giải với hệ dung môi 24% CH_3CN trong H_2O, và phần còn lại là F3.1.1.1 được tinh sạch thêm bằng sắc ký cột pha đảo C_{18} (acetone–H_2O, 1:1, v/v), thu được hợp chất **XT49.9** (3 mg). F3.2 được chia thành hai phân đoạn (F3.2.1 và F3.2.2) bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi n-hexane–EtOAc (1:1, v/v). F3.2.1 tiếp tục được tinh sạch bằng sắc ký cột RP C_{18} (acetone–H_2O, 10:13, v/v), thu được hợp chất **XT49.10** (20 mg). Phân đoạn F3.2.2 được phân tách tiếp bằng RP C_{18} (MeOH-H_2O, 15:10, v/v) và sau đó tinh sạch bằng sắc ký silica gel sử dụng hệ dung môi n-hexane-EtOAc (1:1, v/v), thu được hợp chất **XT49.7** (10 mg). F3.3 được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải n-hexane–acetone (1:1, v/v), thu được hai phân đoạn F3.3.1 và F3.3.2. Hợp chất **XT49.3** (7 mg) được phân lập từ F3.3.1 bằng sắc ký pha đảo C_{18} (MeOH-H_2O, 1:1, v/v), trong khi hợp chất **XT49.2** (15 mg) được phân lập từ F3.3.2 bằng sắc ký cột RP C_{18}, với hệ dung môi rửa giải acetone-H_2O (10:15, v/v). Phân đoạn F4 được phân tách thành năm phân đoạn (F4.1–F4.5) bằng sắc ký cột Sephadex LH-20, với hệ dung môi MeOH–H_2O (2:1, v/v). F4.1 được phân tách bằng sắc ký cột silica gel, rửa giải với hệ hệ dung môi n-hexane–EtOAc (10:15, v/v), thu được hai phân đoạn F4.1.1 và F4.1.2. Phân đoạn F4.1.2 tiếp tục được tinh sạch bằng HPLC, với hệ dung môi pha động 43% CH_3CN trong H_2O thu được hợp chất **XT49.8** (t_R = 28.6 phút, 6 mg). Phân đoạn F4.2 được phân tách thành hai phân đoạn F4.2.1 và F4.2.2 bằng sắc ký cột silica gel, với hệ dung môi rửa giải n-hexane-EtOAc (1:1, v/v).

Phân đoạn F4.2.2 được tinh sạch bằng HPLC, với hệ dung môi pha động 40% CH_3CN trong H_2O, thu được hợp chất **XT49.1** (t_R = 33.8 phút, 2 mg) (Hình 3.4).



Hình 3.4. Sơ đồ phân lập các hợp chất từ chủng vi nấm *Aspergillus* sp. BCXT-22.1

3.3. Thông số vật lý của các hợp chất phân lập được

3.3.1. Thông số vật lý của các hợp chất phân lập được từ chủng Aspergillus sp. DVXT-221

*3.3.1.1. Hợp chất **XT37.1**: Fumigaclavine K (chất mới)*

Chất có dạng bột màu trắng. $[\alpha]_D^{25}$ = +88.2 (c = 0.1, CH_2Cl_2). UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 281 (2.99), 226 (3.59) nm. HRESIMS: *m/z* 353.2226 $[M+H]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{22}H_{29}N_2O_2$, 353.2229); công thức phân tử: $C_{22}H_{28}N_2O_2$; khối lượng phân tử: 352.48. ECD (MeOH) λ_{max} (Δε): 260 (+3.25), 238 (–6.76) nm. Phổ ^1H (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): Bảng 4.1.

*3.3.1.2. Hợp chất **XT37.2**: Fumigaclavine L (chất mới)*

Chất có dạng bột màu trắng. $[\alpha]_D^{25}$ = +56.1 (c = 0.1, CH_2Cl_2). UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 282 (3.24), 228 (3.82) nm. HRESIMS: *m/z* 383.2329 $[M+H]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{23}H_{31}N_2O_3$, 383.2335); công thức phân tử: $C_{23}H_{30}N_2O_3$; khối lượng phân tử: 382.50. ECD (MeOH) λ_{max} (Δε): 281 (–1.76), 232

(+6.30) nm. Phổ ^{1}H (CD_3OD và $CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD và $CDCl_3$, 150 MHz): Bảng 4.2.

*3.3.1.3. Hợp chất **XT37.3**: Fumigaclavine I*

Chất có dạng bột màu trắng; công thức phân tử: $C_{23}H_{30}N_2O_3$; khối lượng phân tử: 382.50. ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.4.

*3.3.1.4. Hợp chất **XT37.4**: Fumigaclavine M (chất mới)*

Chất có dạng bột màu trắng. $[\alpha]_D^{25}$ = +64.7 (c = 0.1, CH_2Cl_2). UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 262 (2.95), 218 (3.68) nm. HRESIMS: *m/z* 383.2334 $[M+H]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{23}H_{31}N_2O_3$, 383.2335); công thức phân tử: $C_{23}H_{30}N_2O_3$; khối lượng phân tử: 382.50. ECD (MeOH) λ_{max} (Δε): 264 (−16.2), 236 (+28.1), 218 (−11.9) nm. Phổ ^{1}H (CD_3OD và $CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD và $CDCl_3$, 150 MHz): Bảng 4.3.

*3.3.1.5. Hợp chất **XT37.5**: Fumigaclavine C*

Chất có dạng bột màu trắng; công thức phân tử: $C_{23}H_{30}N_2O_2$; khối lượng phân tử: 366.51. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.5.

*3.3.1.6. Hợp chất **XT37.6**: Fumigaclavine E*

Chất có dạng bột màu trắng, công thức phân tử: $C_{21}H_{28}N_2O$. khối lượng phân tử: 324.47. ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.6.

*3.3.1.7. Hợp chất **XT37.7**: Monomethylsulochrin*

Chất có dạng bột vô định hình màu trắng; công thức phân tử: $C_{18}H_{18}O_7$; khối lượng phân tử: 346.34. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.7.

*3.3.1.8. Hợp chất **XT37.8**: 8′-O-Methylasterric acid*

Chất có dạng bột không màu; công thức phân tử: $C_{18}H_{18}O_8$; khối lượng phân tử: 362.33. ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.8.

*3.3.1.9. Hợp chất **XT37.9**: 2,3′-Dimethylosoate*

Chất có dạng bột không màu; công thức phân tử: $C_{19}H_{20}O_8$; khối lượng phân tử: 376.36. ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.9.

*3.3.1.10. Hợp chất **XT37.10**: Chaetominine*

Chất có dạng bột màu trắng. HRESIMS: *m/z* 403.1405 $[M+H]^+$; công thức phân tử: $C_{22}H_{18}N_4O_4$; khối lượng phân tử: 402.41. ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 600 MHz) và ^{13}C NMR (DMSO-d_6, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.10.

3.3.2. Thông số vật lý của các hợp chất phân lập được từ chủng Trichoderma sp. GXT-22.1

*3.3.2.1. Hợp chất **XT47.1**: 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole (chất mới)*

Chất có dạng bột màu trắng. UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 300 (4.00), 264 (4.18), 224 (4.10) nm. HRESIMS: *m/z* 192.0651 $[M+H]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{10}H_{10}NO_3$, 192.0661); công thức phân tử: $C_{10}H_9NO_3$; khối lượng phân tử: 191.19. Phổ ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): Bảng 4.11.

*3.3.2.2. Hợp chất **XT47.2**: (E)-6,10-Dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol (hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên)*

Chất có dạng dầu không màu. $[\alpha]_D^{25}$ = +19.5 (c = 0.04, MeOH). UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 217 (2.50) nm. HRESIMS: *m/z* 253.1764 $[M+Na]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{13}H_{26}O_3Na$, 253.1780); công thức phân tử: $C_{13}H_{26}O_3$; khối lượng phân tử: 230.35. Phổ ^{1}H (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): Bảng 4.12.

*3.3.2.3. Hợp chất **XT47.3**: Tricholumin A*

Chất có dạng bột màu trắng; ESIMS: *m/z* 499 $[M+Na]^+$, *m/z* 511 $[M+Cl]^-$; công thức phân tử: $C_{28}H_{44}O_6$; khối lượng phân tử: 476.65. ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.13.

*3.3.2.4. Hợp chất **XT47.4**: Harzianol J*

Chất có dạng dầu không màu; công thức phân tử: $C_{20}H_{30}O_2$; khối lượng phân tử: 302.46. ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.14.

*3.3.2.5. Hợp chất **XT47.5**: Cyclonerodiol*

Chất có dạng dầu không màu; công thức phân tử: $C_{15}H_{28}O_2$; khối lượng phân tử: 240.39. ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.15.

*3.3.2.6. Hợp chất **XT47.6**: 10,11-Dihydro-11-hydroxycyclonerodiol*

Chất có dạng dầu không màu; công thức phân tử: $C_{15}H_{30}O_3$; khối lượng phân tử: 258.40. ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.16.

*3.3.2.7. Hợp chất **XT47.7**: Cyclonerodiol B*

Chất có dạng dầu không màu; ESIMS: *m/z* 297 $[M+Na]^+$, 273 $[M–H]^-$; công thức phân tử: $C_{15}H_{30}O_4$; khối lượng phân tử: 274.40. ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.17.

*3.3.2.8. Hợp chất **XT47.8**: Epicyclonerodiol oxide*

Chất có dạng dầu không màu; công thức phân tử: $C_{15}H_{28}O_3$; khối lượng phân tử: 256.39. ^1H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.18.

*3.3.2.9. Hợp chất **XT47.9**: cyclo(Val-Pro)*

Chất có dạng bột màu trắng; công thức phân tử: $C_{10}H_{16}N_2O_2$; khối lượng phân tử: 196.25. ^1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) và ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.19.

*3.3.2.10. Hợp chất **XT47.10**: cyclo-(4-Hydroxyprolinyl-leucine)*

Chất có dạng dầu không màu; công thức phân tử: $C_{11}H_{18}N_2O_3$; khối lượng phân tử: 226.28. ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.20.

3.3.3. Thông số vật lý của các hợp chất phân lập được từ chủng Aspergillus sp. BCXT-22.1

*3.3.3.1. Hợp chất **XT49.1**: Polyporusterone H (chất mới)*

Chất có dạng bột màu trắng. $[\alpha]_D^{26}$ = +65 (c = 0.2, MeOH). UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 241 (3.96) nm. HRESIMS: *m/z* 555.3080 $[M+Cl]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{30}H_{48}ClO_7$ là 555.3089), *m/z* 521.3479 $[M+H]^+$ (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{30}H_{49}O_7$ là 521.3478); công thức phân tử: $C_{30}H_{48}O_7$; khối lượng phân tử: 520.71. Phổ ^{1}H (C_5D_5N và CD_3OD, 500 MHz) và ^{13}C NMR (C_5D_5N và CD_3OD, 125 MHz): Bảng 4.21.

*3.3.3.2. Hợp chất **XT49.2**: Panuosterone*

Chất có dạng bột màu trắng; công thức phân tử: $C_{28}H_{46}O_7$; khối lượng phân tử: 494.67. ^{1}H NMR (CD_3OD, 500 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 125 MHz): trình bày ở Bảng 4.22.

*3.3.3.3. Hợp chất **XT49.3**: Makisterone A*

Chất có dạng bột màu trắng; công thức phân tử: $C_{28}H_{46}O_7$; khối lượng phân tử: 494.67. ^{1}H NMR (DMSO-*d*$_6$, 500 MHz) và ^{13}C NMR (DMSO-*d*$_6$, 125 MHz): trình bày ở Bảng 4.23.

*3.3.3.4. Hợp chất **XT49.4**: Stellatinol A (chất mới)*

Chất có dạng bột màu trắng; $[\alpha]_D^{26}$ = –27.5 (c = 0.08, MeOH). UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 227 (3.30), 208 (3.87) nm. HRESIMS: *m/z* 239.0916 $[M–H]^-$ (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{12}H_{15}O_5$ là 239.0919); công thức phân tử: $C_{12}H_{16}O_5$; khối lượng phân tử: 240.26. ECD (MeOH) λ_{max} (relative $\Delta\varepsilon$): 212 (+0.69), 219 (–0.95) nm. Phổ ^{1}H (CD_3OD, 500 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 125 MHz): Bảng 4.24.

*3.3.3.5. Hợp chất **XT49.5**: Stellatin*

Chất có dạng bột màu trắng; công thức phân tử: $C_{11}H_{12}O_5$. khối lượng phân tử: 224.21. ^{1}H NMR (CD_3OD, 500 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.25.

*3.3.3.6. Hợp chất **XT49.6**: Embeurekol C*

Chất có dạng bột màu trắng; công thức phân tử: $C_{11}H_{12}O_6$; khối lượng phân tử: 240.21. ^{1}H NMR (CD_3OD, 500 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 125 MHz): trình bày ở Bảng 4.26.

*3.3.3.7. Hợp chất **XT49.7**: Oxepinamide D*

Chất có dạng bột màu trắng; công thức phân tử: $C_{19}H_{17}N_3O_4$; khối lượng phân tử: 351.36. ^{1}H NMR (CD_3OD, 500 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 125 MHz): trình bày ở Bảng 4.27.

*3.3.3.8. Hợp chất **XT49.8**: Oxepinamide F*

Chất có dạng dạng bột màu trắng; công thức phân tử: $C_{23}H_{25}N_3O_4$; khối lượng phân tử: 407.47. ^{1}H NMR (CD_3OD, 500 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 125 MHz): trình bày ở Bảng 4.28.

*3.3.3.9. Hợp chất **XT49.9**: Oxepinamide J*

Chất có dạng bột màu trắng; công thức phân tử: $C_{19}H_{17}N_3O_4$; khối lượng phân tử: 351.36. ^{1}H NMR (CD_3OD, 500 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz): trình bày ở Bảng 4.29.

*3.3.3.10. Hợp chất **XT49.10**: Protubonine B*

Chất có dạng bột màu trắng; công thức phân tử: $C_{21}H_{25}N_3O_5$; khối lượng phân tử: 399.45. ^{1}H NMR (CD_3OD, 500 MHz) và ^{13}C NMR (CD_3OD, 125 MHz): trình bày ở Bảng 4.30.

3.4. Kết quả đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất

3.4.1. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Aspergillus sp. DVXT-221

Hoạt tính ức chế sản sinh quá mức NO của các hợp chất được thử nghiệm ở dòng tế bào đại thực bào RAW264.7 kích thích bằng LPS, ngoại trừ 2 hợp chất

XT37.5 và **XT37.7** do hoạt tính của ức chế NO của các hợp chất này đã được công bố trước đây [83, 84]. Kết quả cho thấy, trong số các hợp chất thử nghiệm, 2 hợp chất **XT37.1** và **XT37.9** ức chế mạnh nhất đối với sự sản sinh NO, với giá trị IC_{50} lần lượt là 5.3 ± 0.2 và 8.7 ± 0.4 µM (Bảng 3.1). Đáng chú ý, hoạt tính ức chế NO của 2 hợp chất này còn mạnh hơn đối chứng dương dexamethasone (IC_{50} = 16.5 ± 1.4 µM). Các hợp chất khác như **XT37.2–XT37.4, XT37.8** và **XT37.10** thể hiện hoạt tính ức chế NO ở mức thấp hơn, với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 20.5 ± 0.8 đến 36.1 ± 2.3 µM. Tuy nhiên hoạt tính ức chế NO của hợp chất **XT37.6** chưa được xác định do thể hiện độc tính cao đối với tế bào RAW264.7.

Trên cơ sở kết quả hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất **XT37.5, XT37.7, XT37.8**, và **XT37.10** đã được nghiên cứu và công bố [85-87], hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất của **XT37.1-XT37.4, XT37.6** và **XT37.9** đối với 2 dòng tế bào ung thư biểu mô HepG2 và MCF7 được đánh giá bằng phương pháp SRB [77, 88]. Kết quả cho thấy, 2 hợp chất **XT37.1** và **XT37.3** thể hiện độc tính tế bào yếu đối với cả 2 dòng tế bào HepG2 và MCF7, với giá trị IC_{50} dao động từ 61.1 ± 3.1 đến 77.2 ± 1.5 µM (Bảng 3.1), trong khi các hợp chất **XT37.2**, **XT37.4**, **XT37.6** và **XT37.9** không thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên cả hai dòng tế bào (IC_{50} > 100 µM).

Bảng 3.1. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng *Aspergillus* sp. DVXT-221

Hợp chất	**Ức chế sản sinh NO (RAW264.7)**		**Gây độc tế bào IC_{50} (µM)[a]**	
	IC_{50} (µM)[a]	**% tế bào sống[d]**	**MCF7**	**HepG2**
XT37.1	5.3 ± 0.2	88.9 ± 0.6	66.8 ± 3.0	61.1 ± 3.1
XT37.2	20.5 ± 0.8	88.9 ± 1.0	> 100[b]	> 100[b]
XT37.3	26.7 ± 0.6	90.3 ± 0.7	77.2 ± 1.5	76.6 ± 2.8
XT37.4	36.1 ± 2.3	93.3 ± 5.4	> 100[b]	> 100[b]
XT37.6	n.d.	61.2± 0.4	> 100[b]	> 100[b]
XT37.8	22.5 ± 1.2	91.1 ± 1.0	-	-
XT37.9	8.7 ± 0.4	92.4 ± 1.0	> 100[b]	> 100[b]
XT37.10	27.2 ± 1.2	90.5 ± 1.2	-	-
Ellipticine[c]	-		1.4 ± 0.1	1.6 ± 0.1
Dexamethasone[c]	16.5 ± 1.4		-	-

[a]Mean ± SD (n = 3); [b] không có hoạt tính; [c] đối chứng dương; [d] thử nghiệm ở 100 µM; n.d.: không xác định do độc tính mạnh với tế bào; (-): không thử

3.4.2. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Trichoderma sp. BCXT-22.1

Hoạt tính ức chế sản sinh NO của các hợp chất từ chủng *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 (XT47) được thử nghiệm trên mô hình dòng tế bào RAW264.7 với tác nhân kích thích LPS. Kết quả cho thấy, trong số các hợp chất thử nghiệm, hợp chất **XT47.1** thể hiện khả năng ức chế sản sinh NO tốt nhất, với giá trị IC_{50} là 37.5 ± 2.6 µM. Các hợp chất **XT47.2–XT47.5**, **XT47.8** và **XT47.10** thể hiện hoạt tính ức chế NO ở mức từ trung bình đến yếu, với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 58.8 ± 1.5 đến 86.5 ± 5.1 µM. Tuy nhiên, hợp chất **XT47.6** và **XT47.7** không thể hiện hoạt tính ở nồng độ thử nghiệm (IC_{50} > 100 µM).

Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư MCF7 và HepG2 cho thấy các hợp chất phân lập từ chủng vi nấm XT47 chỉ thể hiện hoạt tính ở mức yếu. Trong số các hợp chất thử nghiệm ở nồng độ cao nhất 100 µM, chỉ có hợp chất **XT47.1** gây chết 41.5 ± 3.0 % tế bào HepG2, trong khi hợp chất **XT47.4** gây chết 39.3 ± 2.3 % tế bào MCF7 (Bảng 3.2). Đối chứng dương ellipticine hoạt động ổn định ở điều kiện thực nghiệm, với giá trị gây chết 2 dòng tế bào MCF7 và HepG2 lần lượt là 80.7 ± 1.5 và 84.6 ± 1.3 % ở nồng độ 2 µg/mL.

Bảng 3.2. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng *Trichoderma* sp. BCXT-22.1

Hợp chất	**Ức chế sản sinh NO (RAW264.7)**		**Gây chết tế bào ở nồng độ 100 µM (%)[a]**	
	IC_{50} (µM)[a]	**% tế bào sống[e]**	**MCF7**	**HepG2**
XT47.1	37.5 ± 2.6	95.0 ± 1.9	32.9 ± 1.9	41.5 ± 3.0
XT47.2	60.2 ± 4.2	100.6 ± 3.2	10.4 ± 1.1	12.1 ± 1.1
XT47.3	86.5 ± 5.1	97.8 ± 1.0	25.4 ± 1.9	23.2 ± 2.1
XT47.4	58.8 ± 1.5	87.8 ± 2.5	39.3 ± 2.3	23.3 ± 1.9
XT47.5	79.0 ± 3.4	99.4 ± 0.6	17.2 ± 1.6	12.5 ± 1.2
XT47.6	> 100[b]	100.6 ± 1.3	16.8 ± 1.4	19.3 ± 1.0
XT47.7	> 100[b]	99.6 ± 1.2	22.4 ± 1.8	21.5 ± 1.1
XT47.8	80.6 ± 8.1	100.3 ± 1.4	15.7 ± 1.3	13.0 ± 1.1
XT47.10	77.4 ± 4.9	97.1 ± 1.2	-	-
Dexamethasone[c]	14.2 ± 1.1		-	-
Ellipticine[d]	-		80.7 ± 1.5	84.6 ± 1.3

[a]Mean ± SD (n = 3); [b] không có hoạt tính; [c] Đối chứng dương ức chế sản sinh NO; [d] Đối chứng dương gây độc tế bào (2 µg/mL); [e] thử nghiệm ở 100 µM; (-): không thử

3.4.3. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Aspergillus sp. GXT-22.1

Hoạt tính ức chế sản sinh NO của các hợp chất từ chủng *Aspergillus* sp. GXT-22.1 được thử nghiệm trên mô hình dòng tế bào BV2 với tác nhân kích thích LPS. Kết quả cho thấy, ở nồng độ thử nghiệm cao nhất 40 µM, các hợp chất **XT49.4** và **XT49.8** thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO cao nhất trong số các hợp chất thử nghiệm, với giá trị ức chế lần lượt là 36.6 ± 1.3 và 31.7 ± 2.9%. Các hợp chất còn lại chỉ ức chế sản sinh NO trong khoảng từ 10.4 ± 0.9 đến 26.7 ± 2.4%. Đối chứng dương sulfuretin hoạt động ổn định, với giá trị ức chế NO là 49.0 ± 0.1% ở nồng độ thử nghiệm 10 µM.

Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư MCF7 và HepG2 cho thấy, ngoại trừ hợp chất **XT49.8**, các hợp chất còn lại đều thể hiện hoạt tính gây độc đối với dòng tế bào MCF7, tuy nhiên hoạt tính ở mức khá yếu, với giá trị IC_{50} từ 76.56 ± 4.70 đến 94.20 ± 3.41 µM. Ngược lại, đối với thử nghiệm khả năng gây độc dòng tế bào HepG2 thì hầu hết các hợp chất không thể hiện hoạt tính, ngoại trừ hợp chất **XT49.1**, tuy nhiên hợp chất này cũng chỉ thể hiện hoạt tính ức mức yếu (IC_{50} = 87.65 ± 3.49 µM) (Bảng 3.3).

Bảng 3.3. Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng *Aspergillus* sp. GXT-22.1

Hợp chất	**Ức chế sản sinh NO[a,b] (BV2)**		**Gây độc tế bào IC_{50} (µM)[a]**	
	% ức chế	**% tế bào sống**	**MCF7**	**HepG2**
XT49.1	16.7 ± 1.3	97.2 ± 1.2	76.56 ± 4.70	87.65 ± 3.49
XT49.2	25.8 ± 1.5	96.5 ± 1.1	78.05 ± 2.24	>100[c]
XT49.3	26.7 ± 1.6	96.9 ± 1.1	88.05 ± 3.18	>100[c]
XT49.4	36.6 ± 1.3	98.0 ± 0.7	94.20 ± 3.41	>100[c]
XT49.5	15.9 ± 0.7	96.8 ± 0.7	79.53 ± 5.83	>100[c]
XT49.6	22.2 ± 0.1	97.5 ± 2.3	78.02 ± 3.40	>100[c]
XT49.7	14.0 ± 2.6	98.3 ± 2.6	80.58 ± 4.06	>100[c]
XT49.8	31.7 ± 2.9	97.6 ± 1.8	>100[c]	>100[c]
XT49.9	26.7 ± 2.4	96.9 ± 1.6	93.23 ± 2.16	>100[c]
XT49.10	10.4 ± 0.9	97.5 ± 1.7	90.74 ± 2.68	>100[c]
Ellipticine[d]	-		1.46 ± 0.16	1.75 ± 0.20
Sulfuretin[e]	49.0 ± 0.1	96.6 ± 1.2	-	-

[a] Mean ± SD (n = 3); [b] Nồng độ thử nghiệm ở 40 µM; [c] Không có hoạt tính; [d] Đối chứng dương gây độc tế bào; [e] Đối chứng dương ức chế sản sinh NO (10 µM); (-): không thử

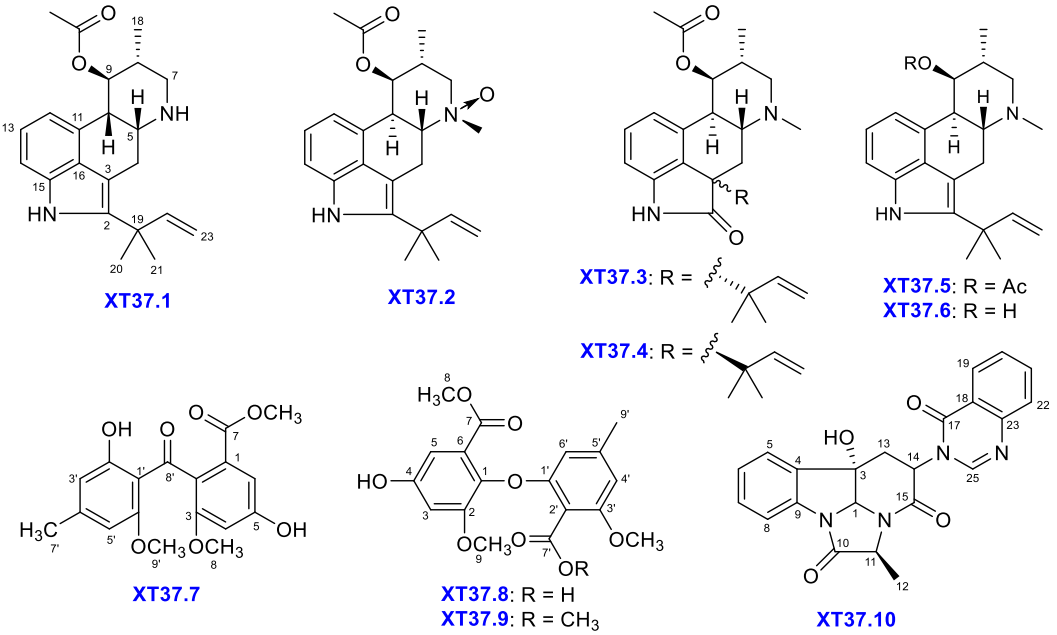
CHƯƠNG 4. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

4.1. Xác định cấu trúc các hợp chất

4.1.1. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ chủng Aspergillus sp. DVXT-221

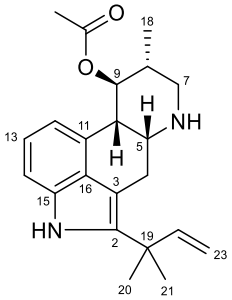
Thông qua phân tích chi tiết dữ liệu phổ NMR (^{1}H, ^{13}C, HSQC, HMBC, COSY, NOESY), phổ khối HRESIMS, phổ ECD và góc quay cực, kết hợp với so sánh với các số liệu đã công bố, cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ chủng *Aspergillus* sp. DVXT-221 đã được xác định, bao gồm 3 hợp chất mới fumigaclavine K (**XT37.1**), fumigaclavine L (**XT37.2**), và fumigaclavine M (**XT37.4**) và 7 hợp chất đã biết là: fumigaclavine I (**XT37.3**) [89], fumigaclavine C (**XT37.5**) [90], và fumigaclavine E (**XT37.6**) [90], monomethylsulochrin (**XT37.7**) [91], 8′-*O*-methylasterric acid (**XT37.8**) [86], 2,3′-dimethylosoate (**XT37.9**) [92] và chaetominine (**XT37.10**) [86] (Hình 4.1).

Các nghiên cứu hóa học cho thấy loài thực vật ngập mặn *R. stylosa* chứa nhiều nhóm hợp chất thứ cấp đa dạng như alkaloid, flavonoid, acid phenolic, tanin, terpenoid, saponin và steroid [93]. Như trình bày ở phần tổng quan, vi nấm liên kết với cây *R. stylosa* có thể sản sinh thành phần hóa học khá đa dạng, với nhiều hợp chất thuộc các nhóm cerebroside, alkaloid, sesquiterpenoid, polyketide, quinolone, indole-diterpenoid đã được phát hiện [49-56]. Từ sinh khối chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, 7 hợp chất alkaloid (**1-6** và **10**) và 3 hợp chất phenolic (**7-9**) đã được xác định; tuy nhiên, đây là lần đầu tiên các hợp chất này được phát hiện từ vi nấm ở *R. stylosa* cũng như từ thực vật chủ.



Hình 4.1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập từ chủng *Aspergillus* sp. DVXT-221

4.1.1.1. Hợp chất XT37.1: Fumigaclavine K (chất mới)



Hình 4.2. Cấu trúc hóa học của hợp chất **XT37.1**

Hợp chất **XT37.1** được thu nhận dưới dạng bột trắng. Công thức phân tử được xác định là $C_{22}H_{28}N_2O_5$ thông qua tín hiệu phân tử proton hóa $[M+H]^+$ tại *m/z* 353.2226 (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{22}H_{29}N_2O_2$ là 353.2229) trên phổ HRESIMS (Hình 4.5). Trên phổ ^{1}H NMR xuất hiện các tín hiệu proton vòng thơm đặc trưng với hệ spin ABC tại δ_H 6.71 (dd, *J* = 7.2 Hz, H-12), 7.03 (t, *J* = 7.8 Hz, H-13), và 7.18 (d, J = 7.8 Hz, H-14), cùng một liên kết đôi tại δ_H 6.18 (dd, *J* = 10.8, 17.4 Hz, H-22), 5.12 (dd, *J* = 2.4, 17.4 Hz, Ha-23) và 5.10 (dd, *J* = 1.8, 10.8 Hz, Hb-23), cùng với bốn nhóm methyl tại δ_H 1.39 (d, *J* = 7.8 Hz, H-18), 1.56 (s, H-20), 1.55 (s, H-21) và 1.89 (s, 9-OAc) (Bảng 4.1). Phổ ^{13}C NMR ghi nhận 22 tín hiệu carbon, bao gồm một nhóm carbonyl tại δ_C 172.0 (9-OAc), 10 carbon sp^2 và 11 carbon sp^3. Trong số các carbon sp^2, ngoài các tín hiệu của liên kết đôi và ba carbon methine, còn ghi nhận năm carbon không liên kết proton, bao gồm hai carbon mang nitrogen tại δ_C 139.5 (C-2) và 134.8 (C-15), gợi ý hợp chất **XT37.1** có vòng indole trong phân tử (Bảng 4.1) [89, 90]. Phân tích phổ HSQC cho thấy sự có mặt của các carbon sp^3, bao gồm hai carbon methylene [bao gồm một carbon mang nitơ tại δ_C 46.4 (C-7)], bốn carbon methine [trong đó có một carbon mang nitơ tại δ_C 55.1 (C-5) và một carbon mang oxy tại δ_C 70.5 (C-9), bốn nhóm methyl và một carbon không liên kết proton tại δ_C 40.3 (C-19). Thông qua các phân tích chi tiết phổ COSY và HSQC, các mảnh liên kết từ vị trí C-4/C-5 và từ vị trí C-7 đến C-10 được xác định. Trên cơ sở những phân tích này, kết hợp với các tương tác HMBC ghi nhận được từ H-18 đến C-7, C-8 và C-9 giúp xác định được vị trí nhóm methyl tại C-8. Tín hiệu HMBC từ nhóm methyl tại δ_H 1.89 (s) đến carbonyl tại δ_C 172.0 cho thấy có sự hiện diện của một nhóm acetyl. Nhóm acetyl này được xác định ở vị trí C-9 thông qua độ dịch chuyển hóa học dịch chuyển xa về phía trường thấp của vị trí C-9 (δ_C 70.5 / δ_H 5.77). Ngoài ra, các tương tác HMBC từ H-23 đến C-19 và C-22, từ H-22 đến C-19 và C-2, và từ H-20 đến C-2, C-19 và C-21, cho thấy sự có mặt của một nhóm thế 2-methylbut-3-en-2-yl gắn tại vị trí C-2 (Hình 4.3). Trên cơ sở các kết quả phân tích phổ trên, tiến hành so sánh số liệu NMR của hợp chất **XT37.1** với một hợp chất ergot alkaloid đã biết là fumigaclavine D cho thấy sự tương đồng cao, ngoại trừ khác biệt đáng kể ở độ dịch chuyển hóa học của phần cấu trúc 3-methyldecahydroquinolin-4-yl acetate, gợi

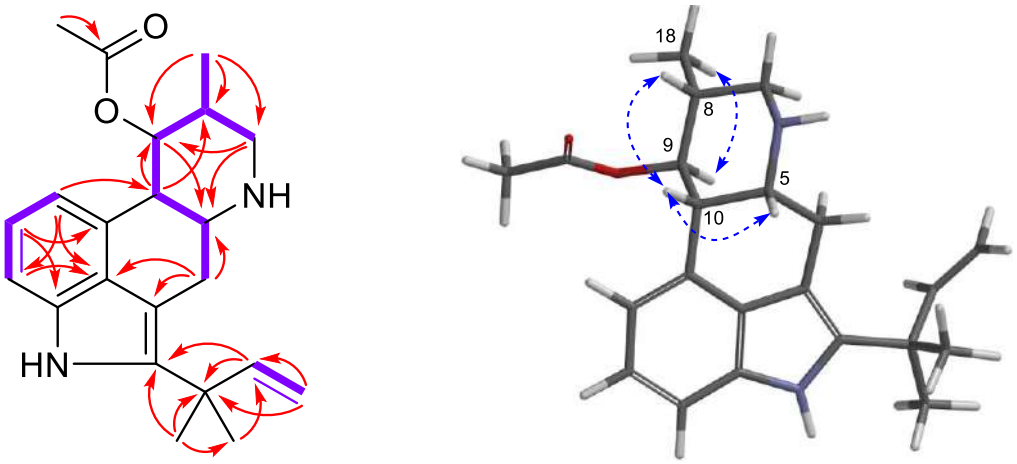
ý **XT37.1** là một diastereoisomer của hợp chất fumigaclavine D đã biết [90]. Điều này phù hợp với các phân tích phổ NOESY (Hình 4.3). Cụ thể, H-9 thể hiện tương tác NOE với H-18 nhưng không có tương tác với H-5, cho thấy H-18 và H-9 cùng hướng về phía mặt phẳng α, trong khi H-5 và H-8 hướng về phía mặt phẳng β. Phân tích này cho thấy hợp chất **XT37.1** và fumigaclavine D có cấu hình tương đối tương đồng tại các vị trí C-5, C-8 và C-9 [90]. Tuy nhiên, H-8 thể hiện tương tác NOE với H-10, cho thấy hai proton này có cùng hướng trong không gian. Từ các kết quả phân tích phổ NOESY này, kết hợp với sự khác biệt về độ dịch chuyển hóa học của phần cấu trúc methyldecahydroquinolin-4-yl acetate cho thấy hợp chất **XT37.1** là 10-epimer của hợp chất fumigaclavine D. Dựa trên cấu hình tương đối này, phổ ECD lý thuyết được tính toán bằng phương pháp TD-DFT với phần mềm Gaussian 16 W. Kết quả cho thấy phổ ECD tính toán lý thuyết cho cấu hình 5*R*8*R*9*S*10*S* phù hợp hoàn toàn với phổ ECD thực nghiệm, qua đó cấu hình tuyệt đối của hợp chất **XT37.1** được xác định (Hình 4.4). Trên cơ sở các kết quả phân tích phổ nêu trên, cấu trúc hóa học của hợp chất **XT37.1** được xác định, với tên gọi là fumigaclavine K (Hình 4.2).

Bảng 4.1. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT37.1**

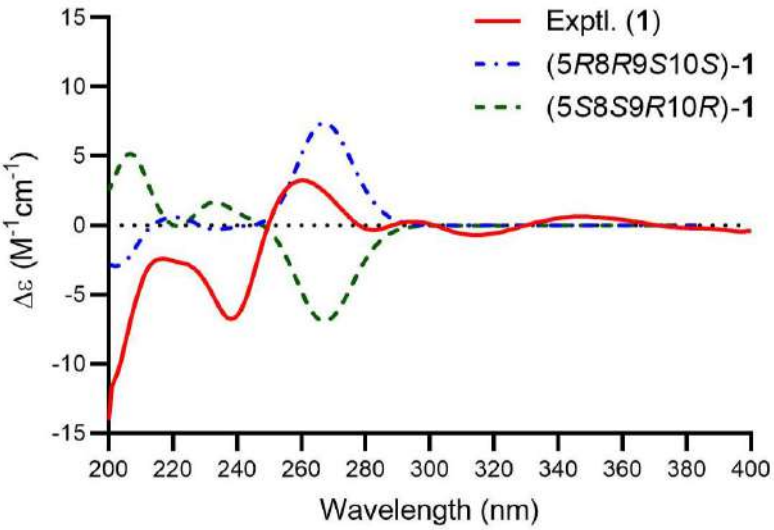
Vị trí	δ_C[#]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (***J*** **= Hz)**
2	138.3	139.5	-
3	106.5	103.6	-
4	31.6	29.1	3.51 (m); 3.03 (m)
5	55.2	55.1	3.67 (m)
7	47.3	46.4	3.52 (m); 3.27 (br d, 7.2)
8	34.3	32.8	2.41 (m)
9	73.2	70.5	5.77 (br s)
10	41.2	38.8	3.52 (m)
11	129.5	126.6	-
12	112.4	113.3	6.71 (d, 7.2)
13	122.4	122.8	7.03 (t, 7.8)
14	109.2	110.1	7.18 (d, 7.8)
15	132.6	134.8	-
16	128.4	128.7	-
18	15.7	15.3	1.39 (d, 7.8)
19	40.1	40.3	-
20	28.0	28.1	1.56 (s)
21	28.1	28.0	1.55 (s)
22	147.6	147.2	6.18 (dd, 10.8, 17.4)
23	111.6	112.0	5.12 (dd, 2.4, 17.4) 5.10 (dd, 1.8, 10.8)
9-OAc	172.7	172.0	
	21.0	20.7	1.89 (s)

[a] Đo trong CD_3OD; [b] 150 MHz, [c] 600 MHz

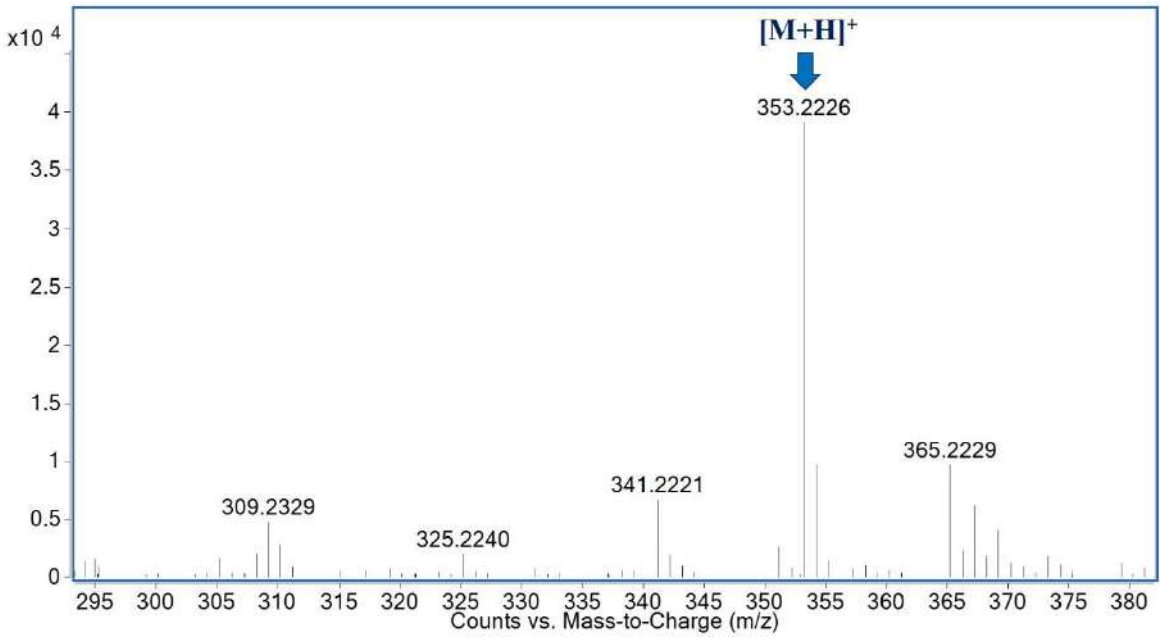
[#] δ_C của hợp chất tham khảo (fumigaclavine D) đo trong CD_3OD [90]



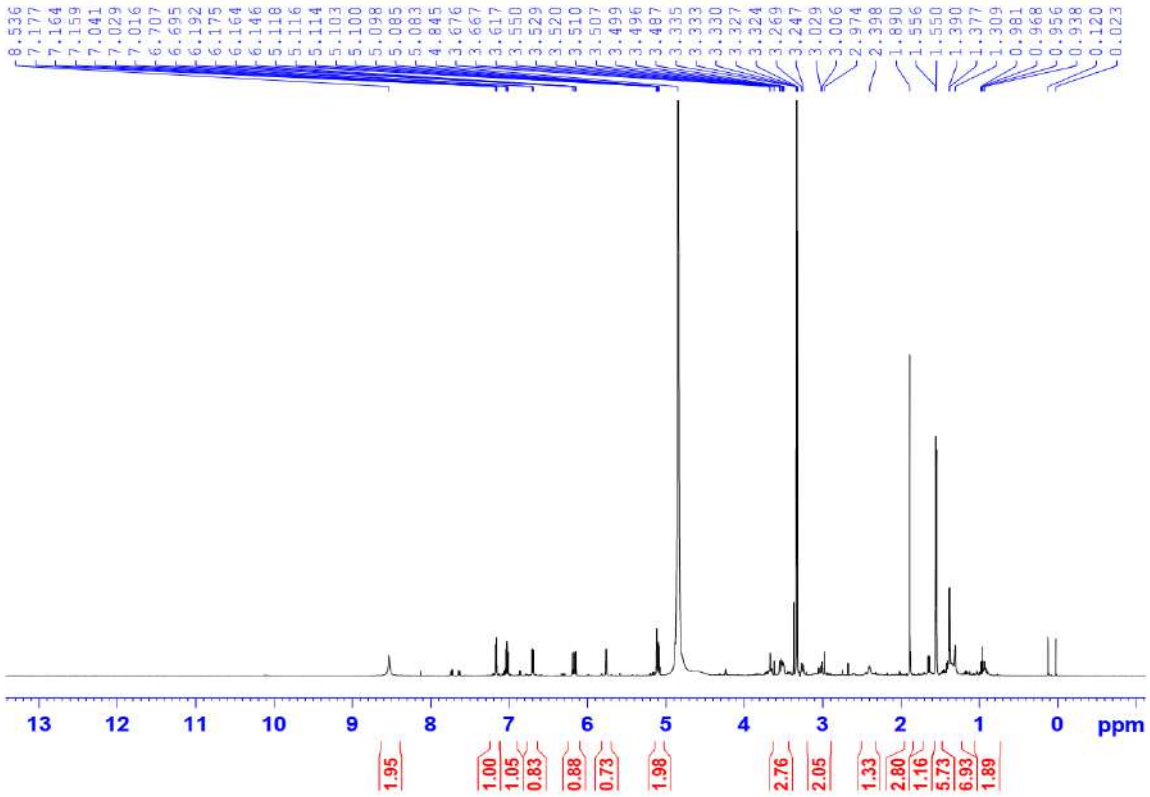
Hình 4.3. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của **XT37.1**



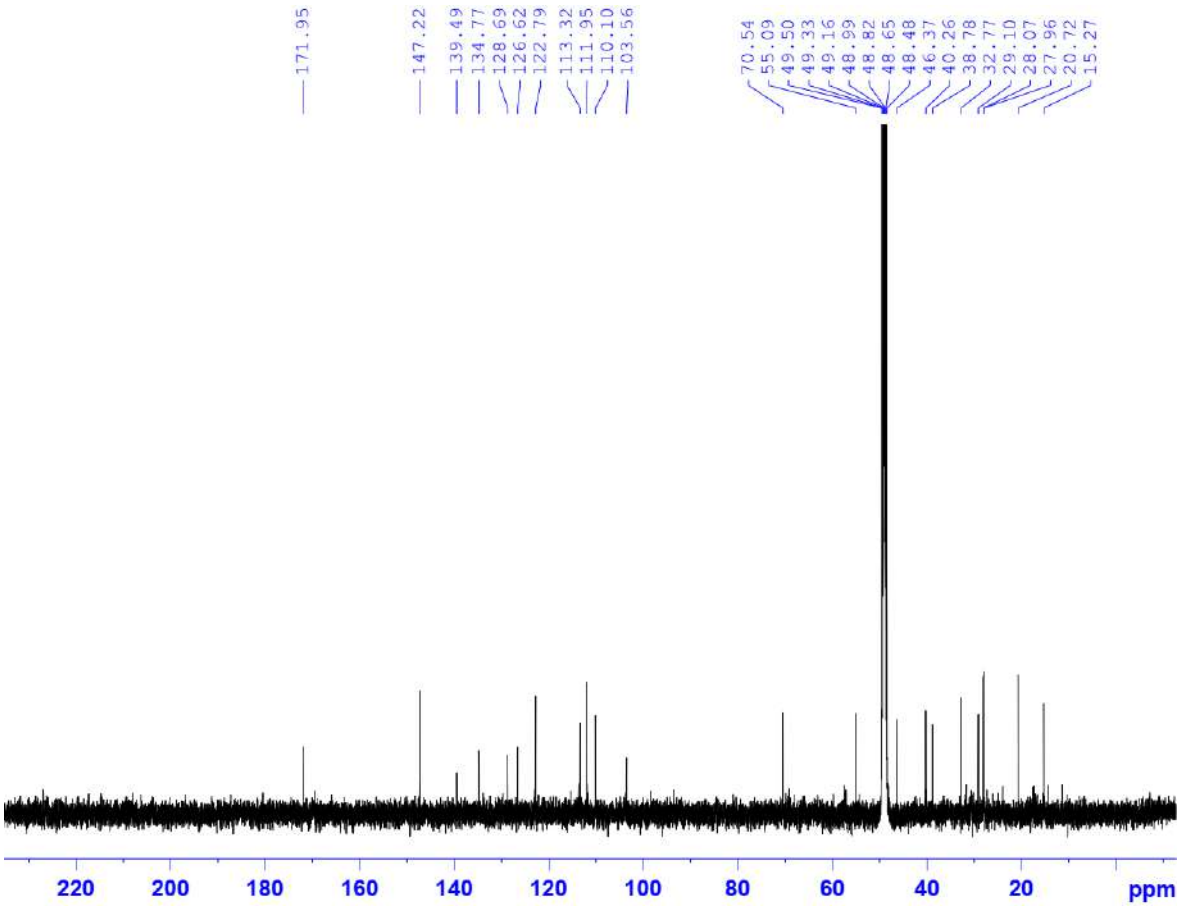
Hình 4.4. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất **XT37.1**



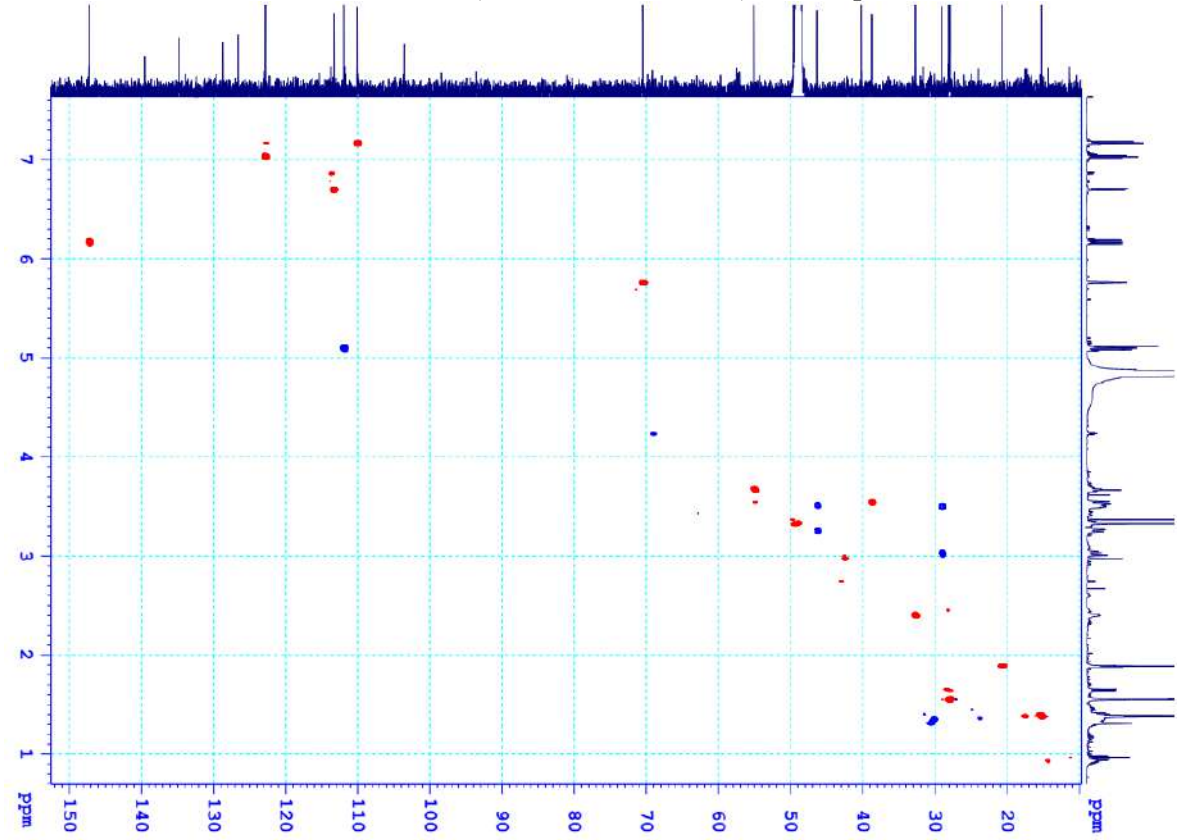
Hình 4.5. HRESIMS của hợp chất **XT37.1**



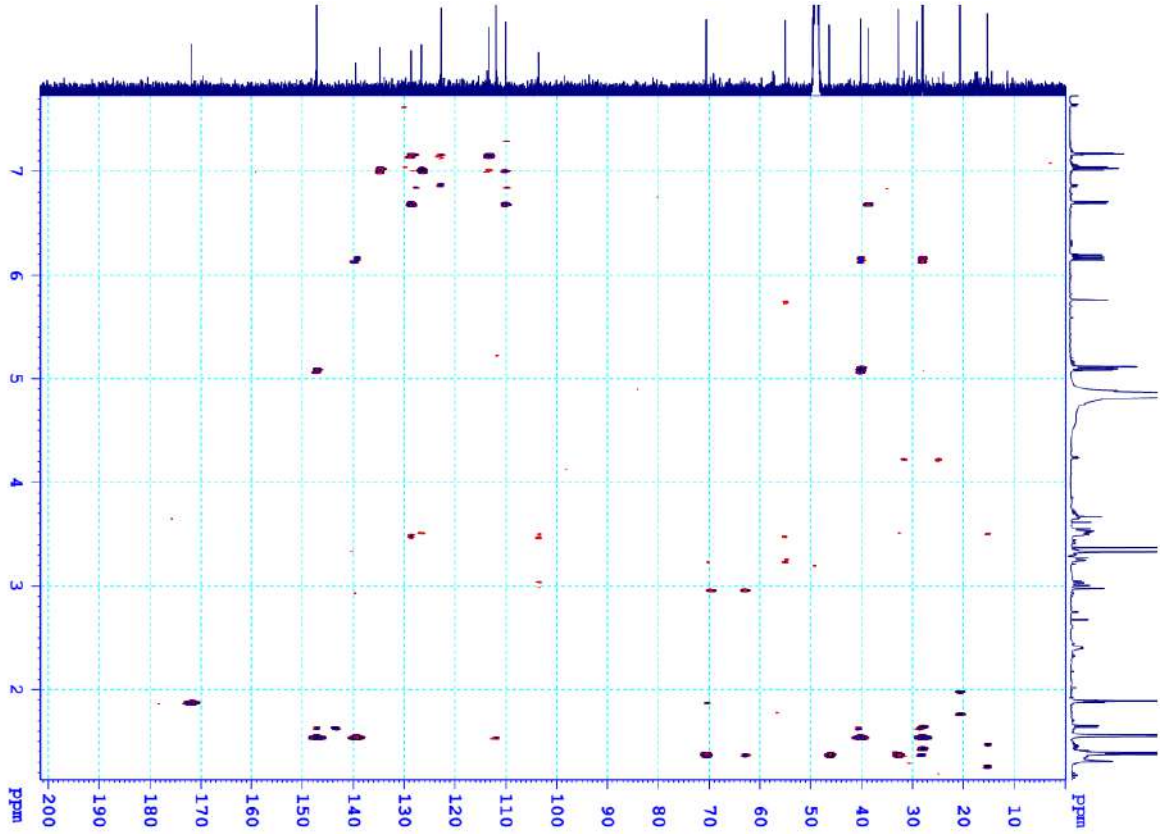
Hình 4.6. Phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.1**



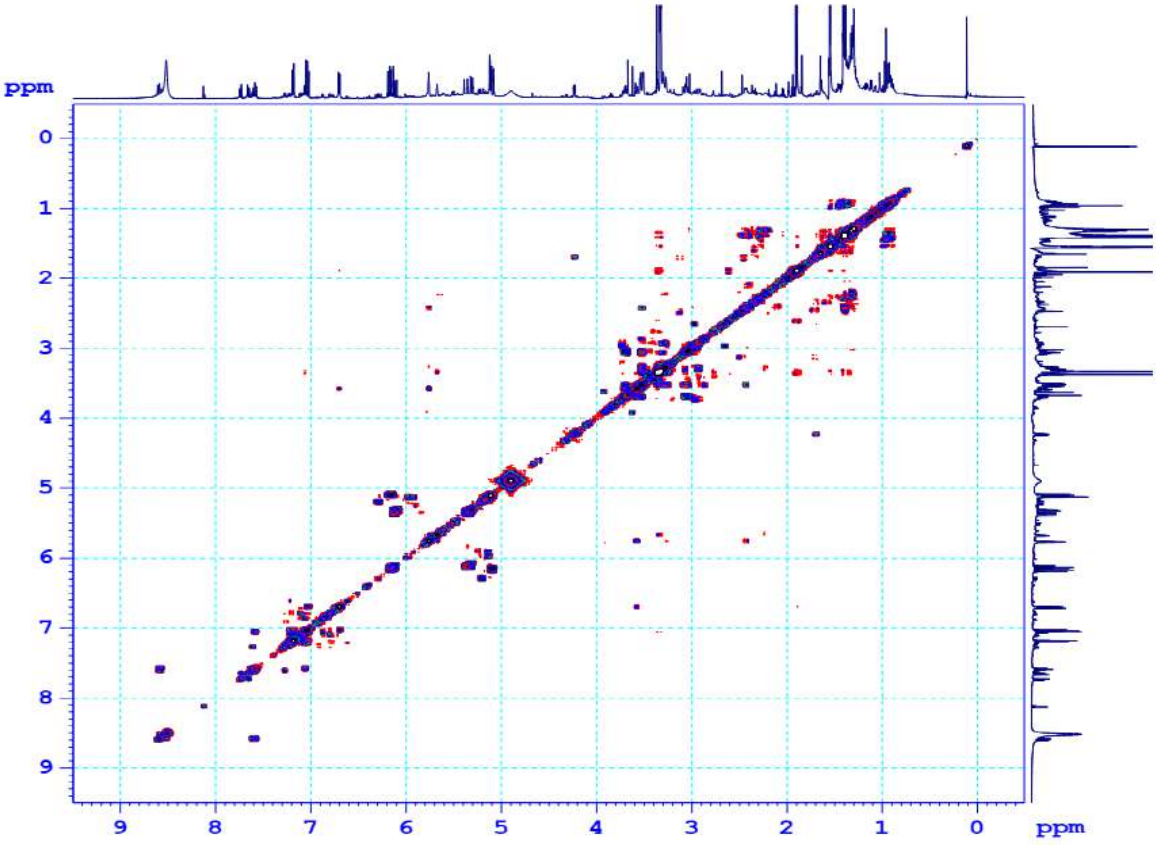
Hình 4.7. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz) của hợp chất **XT37.1**



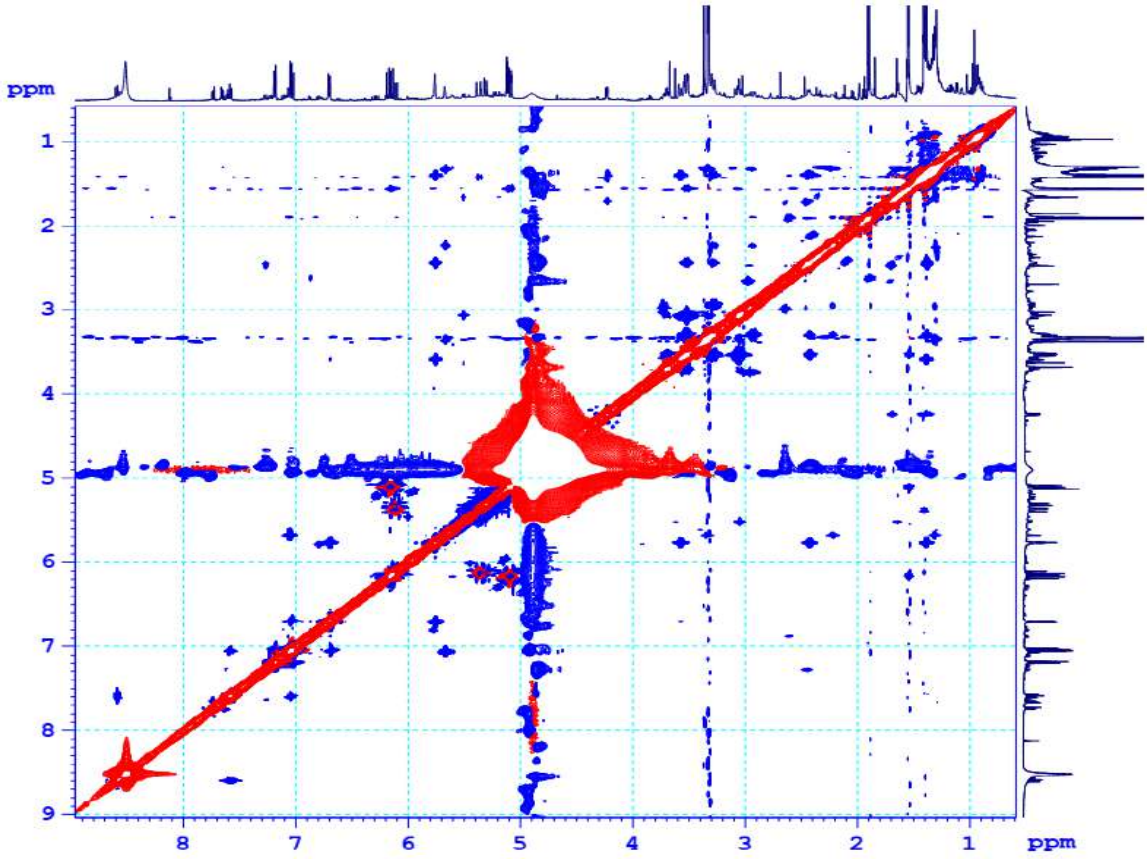
Hình 4.8. Phổ HSQC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.1**



Hình 4.9. Phổ HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.1**

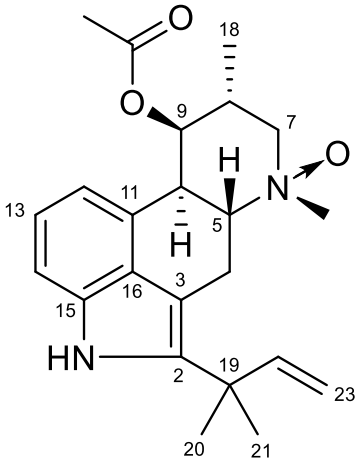


Hình 4.10. Phổ COSY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.1**



Hình 4.11. Phổ NOESY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.1**

4.1.1.2. Hợp chất XT37.2: Fumigaclavine L (chất mới)



Hình 4.12. Cấu trúc hóa học của hợp chất **XT37.2**

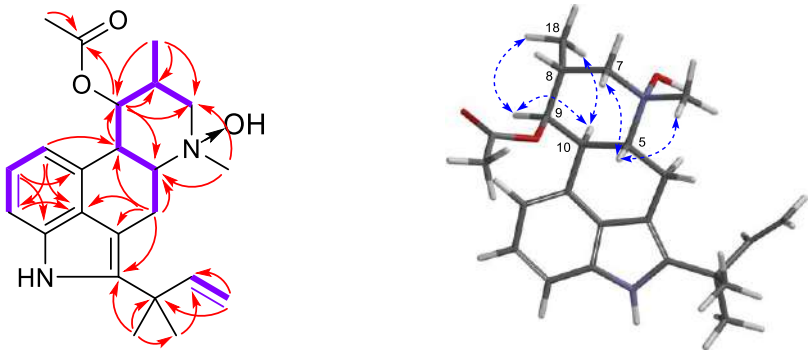
Hợp chất **XT37.2** có dạng bột màu trắng. Công thức phân tử của hợp chất này được xác định là $C_{23}H_{30}N_2O_3$ thông qua tín hiệu $[M+H]^+$ tại *m/z* 383.2329 trên phổ HRESIMS, tương ứng với 10 độ bất bão hòa (Hình 4.15). Dựa trên kết quả phân tích phổ ^{13}C NMR và HSQC thu được trong $CDCl_3$ và trong CD_3OD, 10 tín hiệu carbon sp^2 được xác định, bao gồm một vòng benzene thế 1,2,3, một nối đôi thế đơn ngoại

vòng và một nối đôi nội vòng thế hoàn toàn. Ngoài ra, mười carbon sp^3, bao gồm hai nhóm methylene, bốn nhóm methine, ba nhóm methyl và một carbon không liên kết proton, được xác định thuộc về phần cấu trúc 3-methyldecahydroquinolin-4-ol. Những dữ liệu này cho thấy hợp chất **XT37.2** có khung ergot alkaloid tương tự như hợp chất **XT37.1**. Trên phổ ^{1}H và ^{13}C NMR đo trong $CDCl_3$, sự hiện diện của một nhóm methyl có độ dịch chuyển hóa học δ_H 3.66 (s) / δ_C 56.9 (*N*-CH_3) được ghi nhận, gợi ý có hai khả năng: nhóm *N*-methoxy hoặc *N*-methyl oxide. Tiến hành so sánh phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất **XT37.2** với hợp chất *N*-methoxy ergot alkaloid vừa mới được công bố là fumigaclavine J cho thấy có sự tương đồng cao, ngoại trừ điểm khác biệt là sự xuất hiện rõ ràng của các tương tác HMBC từ proton *N*-methyl tại δ_H 3.66 đến 2 vị trí C-5 và C-7 ở **XT37.2**, vốn không xuất hiện trong phổ HMBC của fumigaclavine J (Hình 4.13) [89]. Điều này cho thấy sự hiện diện của nhóm *N*-methyl oxide trong hợp chất **XT37.2** thay vì nhóm *N*-methoxy như trong hợp chất fumigaclavine J [89]. Kết quả này được khẳng định thông qua so sánh độ dịch chuyển hóa học và các tương tác HMBC của hợp chất **XT37.2** với các dẫn xuất *N*-methyl oxide tự nhiên đã công bố trước đây [94, 95]. Cấu hình tương đối của hợp chất **XT37.2** được xác định thông qua phân tích phổ NOESY (Hình 4.13). Theo đó, H-18 thể hiện tương tác NOE với H-9 và H-10 nhưng không tương tác với H-5, đồng thời không ghi nhận tương tác NOE giữa H-9 và H-5, cho thấy H-18, H-9 và H-10 nằm cùng phía, còn H-5 quay theo hướng ngược lại trong không gian. Ngoài ra, tương tác NOE giữa H-5 và proton *N*-methyl tại δ_H 3.66 cho thấy các proton này có cùng hướng trong không gian. Từ những kết quả phân tích trên, kết hợp với tính toán phổ lý thuyết phổ ECD và so sánh với phổ ECD thực nghiệm, cấu hình tuyệt đối của hợp chất **XT37.2** được xác định là 5*R*6*S*8*R*9*S*10*R* (Hình 4.14). Trên cơ sở các phân tích phổ nêu trên, cấu trúc hóa học của hợp chất **XT37.2** được xác định, với tên là fumigaclavine L. Đáng chú ý, đây là trường hợp đầu tiên một hợp chất ergot alkaloid có chứa nhóm *N*-methyl oxide trong phân tử được ghi nhận.

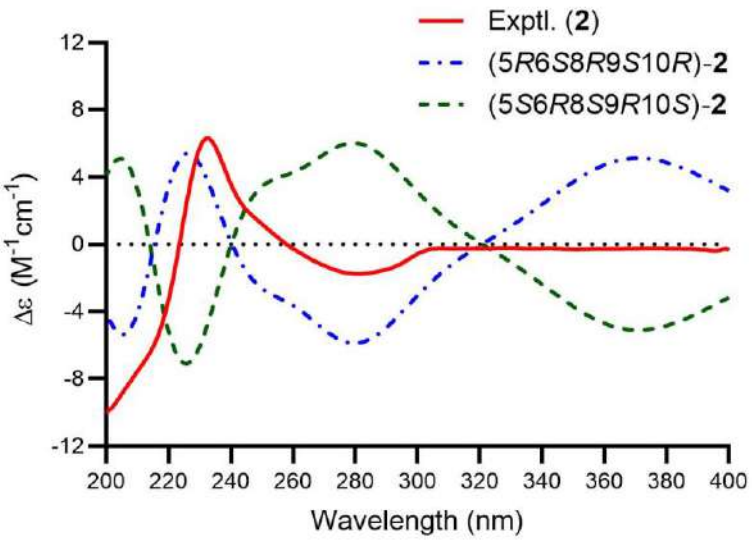
Bảng 4.2. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT37.2**

Vị trí	δ_C[#]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (*J* = Hz)	δ_C[d,b]	δ_H[d,c] (*J* = Hz)
2	137.9	139.8		137.9	
3	103.2	103.3		102.9	
4	22.2	23.4	3.70 (m) 3.34 (dd, 10.2, 14.4)	22.1	3.58 (m)
5	69.7	72.1	4.10 (m)	71.3	3.81 (m)
7	66.9	68.7	3.94 (dd, 4.8, 13.2) 3.63 (m)	66.4	4.38 (br d, 13.2) 3.63 (dd, 4.8, 13.2)
8	33.6	34.6	2.37 (m)	33.5	2.33 (m)
9	71.1	71.1	5.75 (br s)	69.4	5.79 (s)
10	34.7	35.9	4.08 (m)	34.6	4.17 (br d, 10.2)
11	126.4	127.0		126.0	
12	113.6	113.8	6.74 (d, 7.2)	113.5	6.82 (d, 7.8)
13	122.8	123.1	7.01 (t, 7.8)	122.7	7.10 (t, 7.8)
14	108.6	109.9	7.14 (d, 7.8)	108.6	7.15 (d, 7.8)
15	132.2	134.5		132.2	
16	127.1	128.2		127.0	
17	57.6	58.1	3.52 (s)	56.9	3.66 (s)
18	18.1	18.4	1.57 (d, 7.2)	17.7	1.64 (d, 7.2)
19	39.2	40.4		39.1	
20	27.6	28.1	1.54 (s)	27.3	1.54 (s)
21	27.4	28.2	1.53 (s)	27.4	1.54 (s)
22	145.4	147.3	6.16 (dd, 10.2, 17.4)	145.3	6.10 (dd, 10.2, 17.4)
23	112.5	112.0	5.10 (br d, 17.4) 5.09 (dd, 1.2, 10.8)	112.4	5.18 (d, 10.2) 5.17 (d, 18.0)
9-OAc	171.4	172.2		170.1	
	21.2	20.9	1.83 (s)	21.0	1.87 (s)

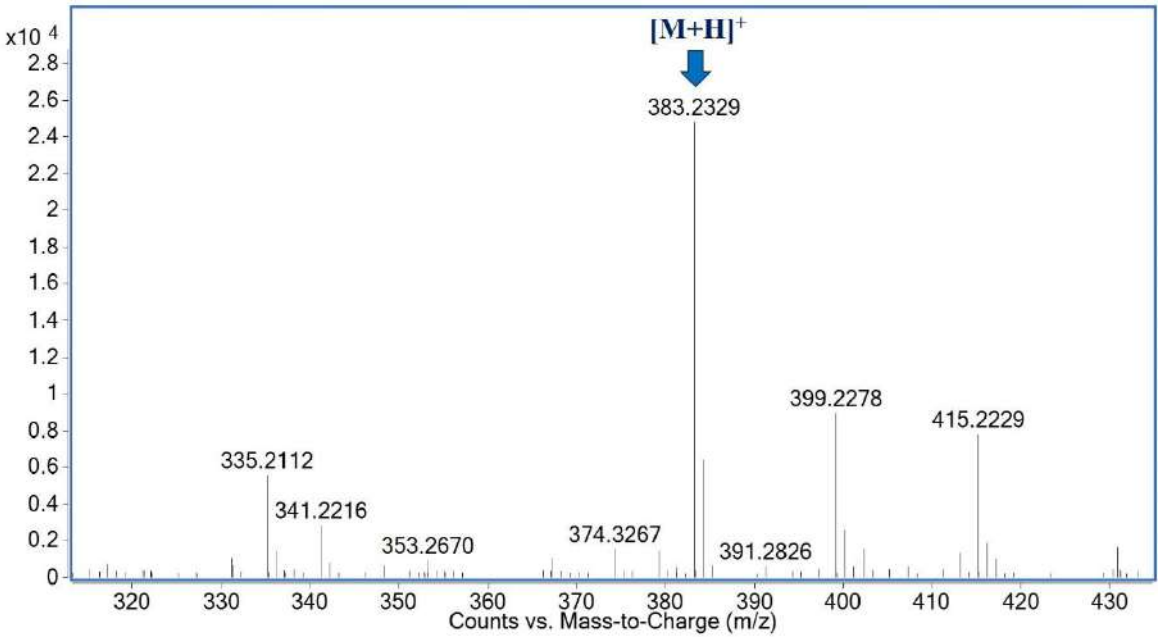
[a] Đo trong CD_3OD; [b] 150 MHz; [c] 600 MHz; [d] $CDCl_3$
[#] δ_C của hợp chất tham khảo (fumigaclavine J) đo trong $CDCl_3$ [89]



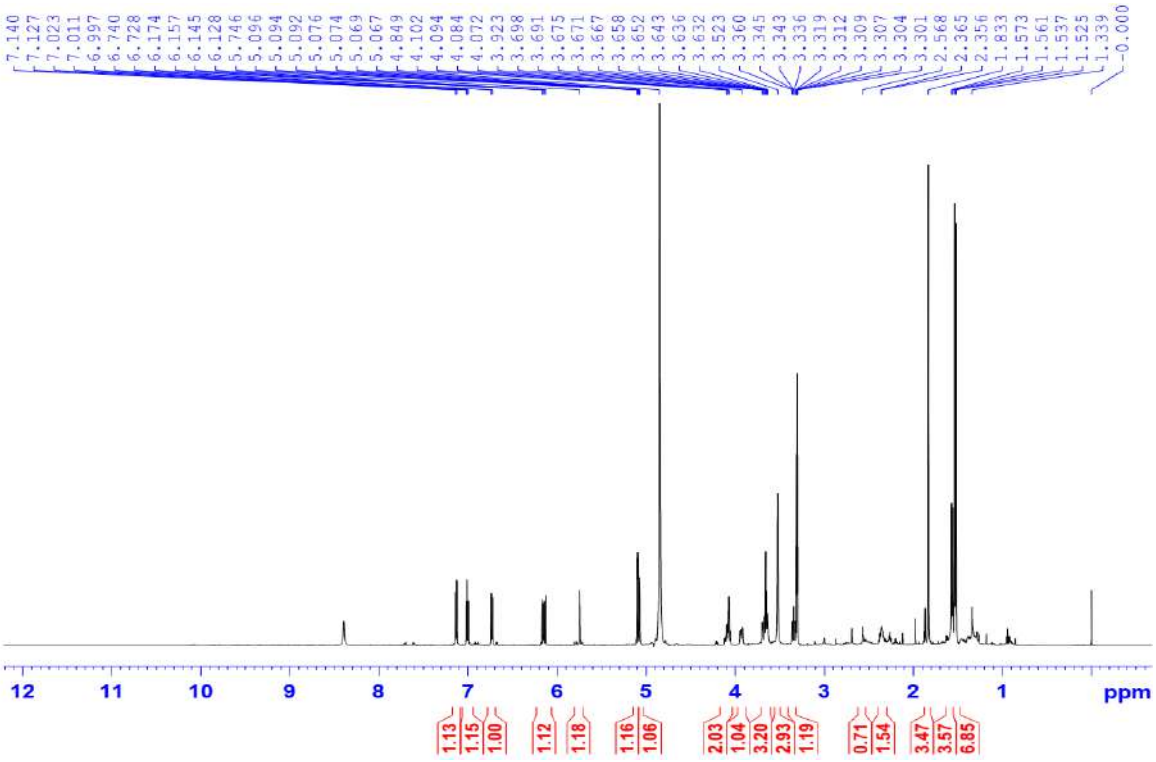
Hình 4.13. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của **XT37.2**



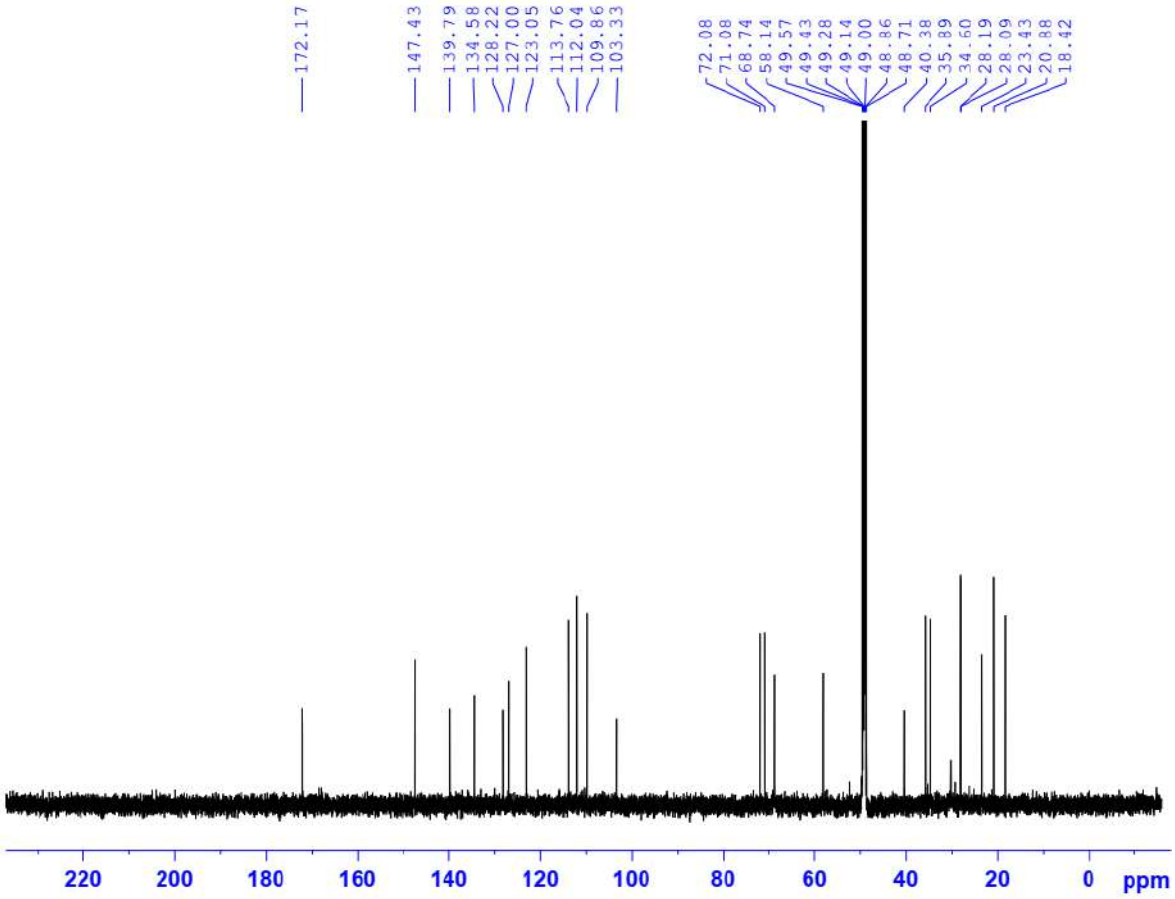
Hình 4.14. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất **XT37.2**



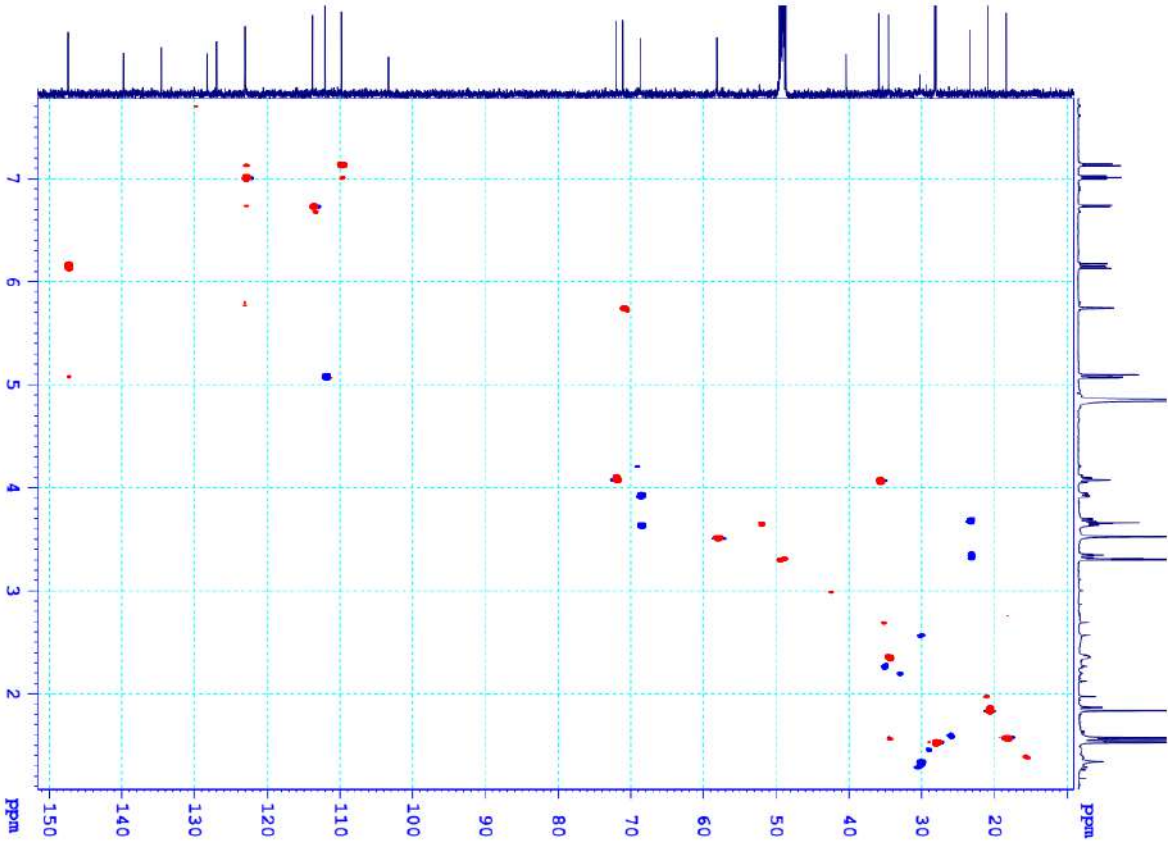
Hình 4.15. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **XT37.2**



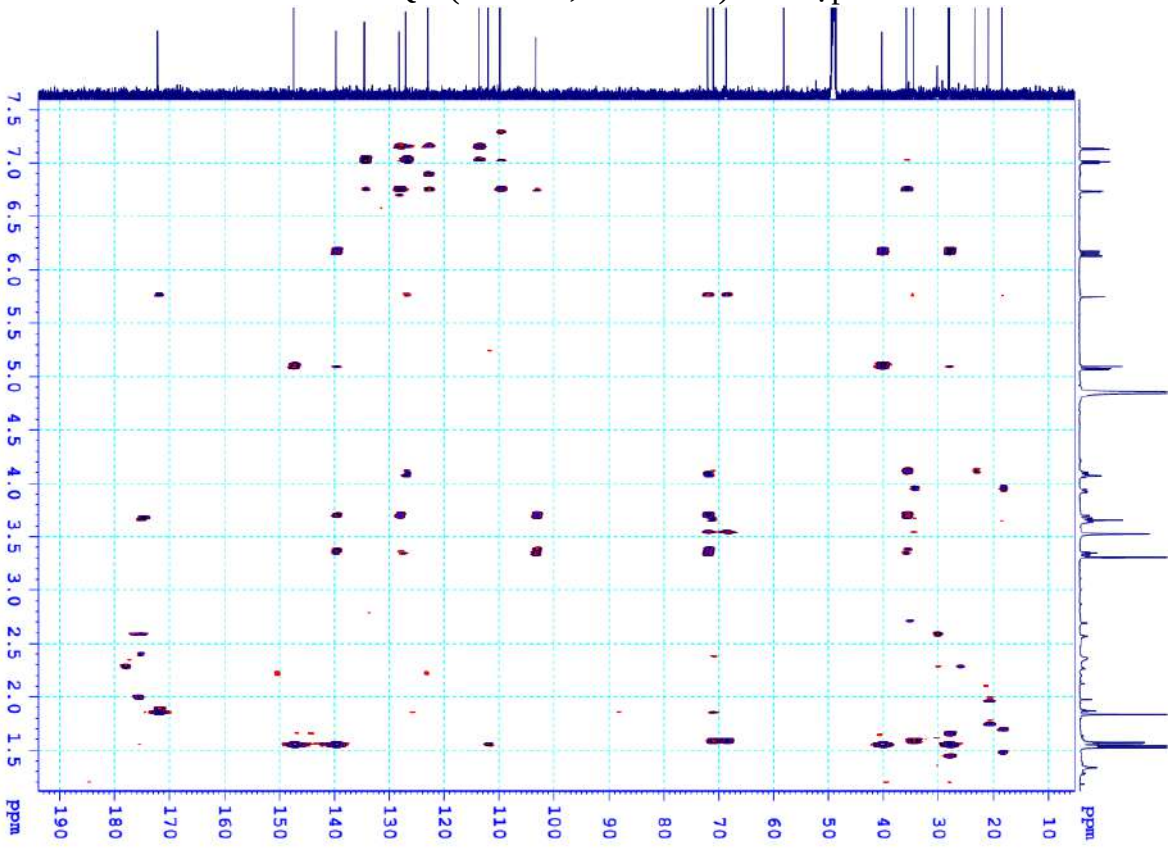
Hình 4.16. Phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.2**



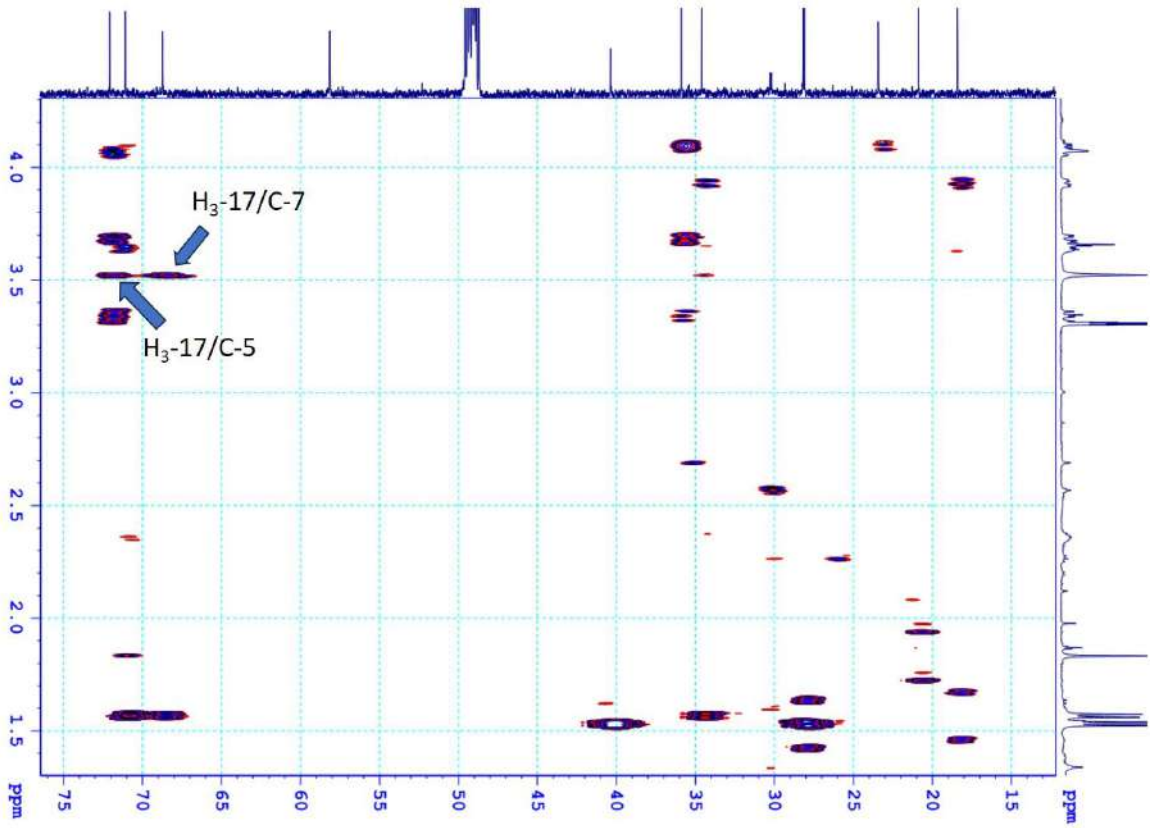
Hình 4.17. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz) của hợp chất **XT37.2**



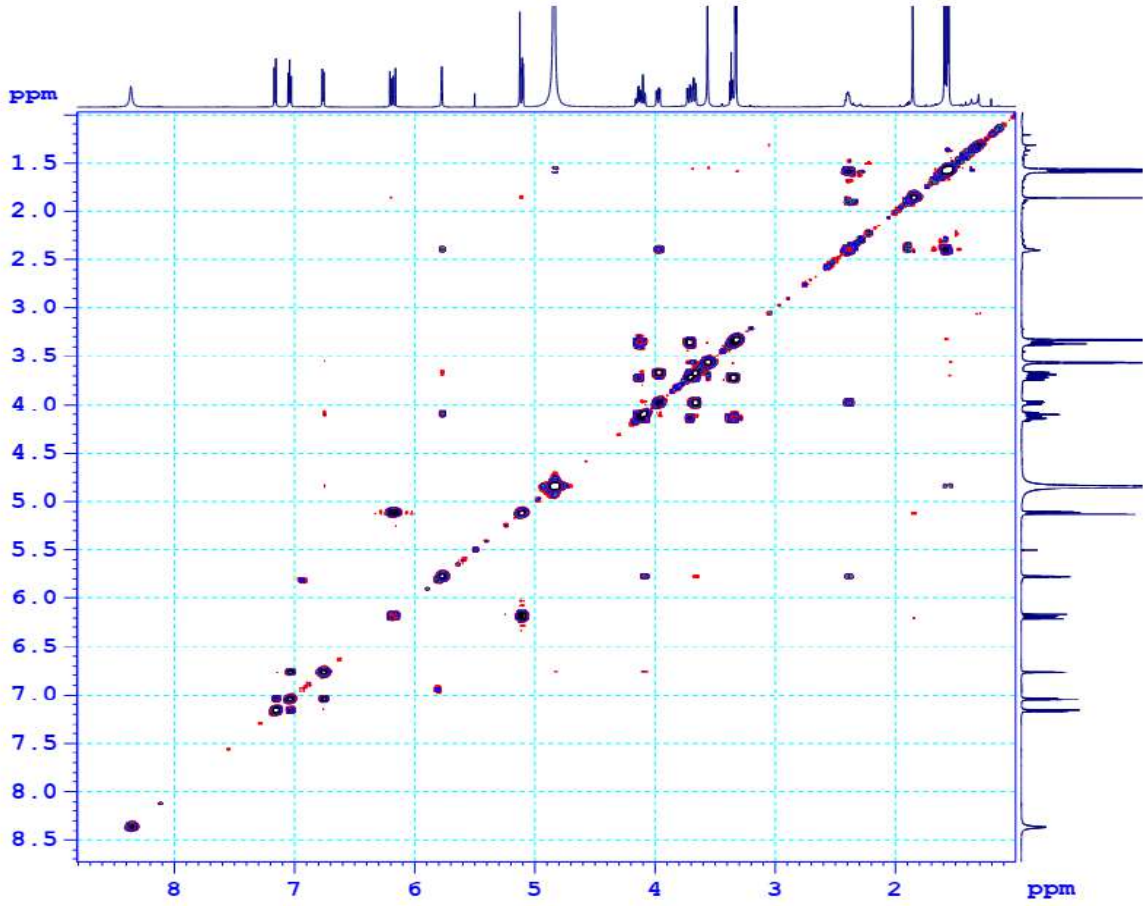
Hình 4.18. Phổ HSQC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.2**



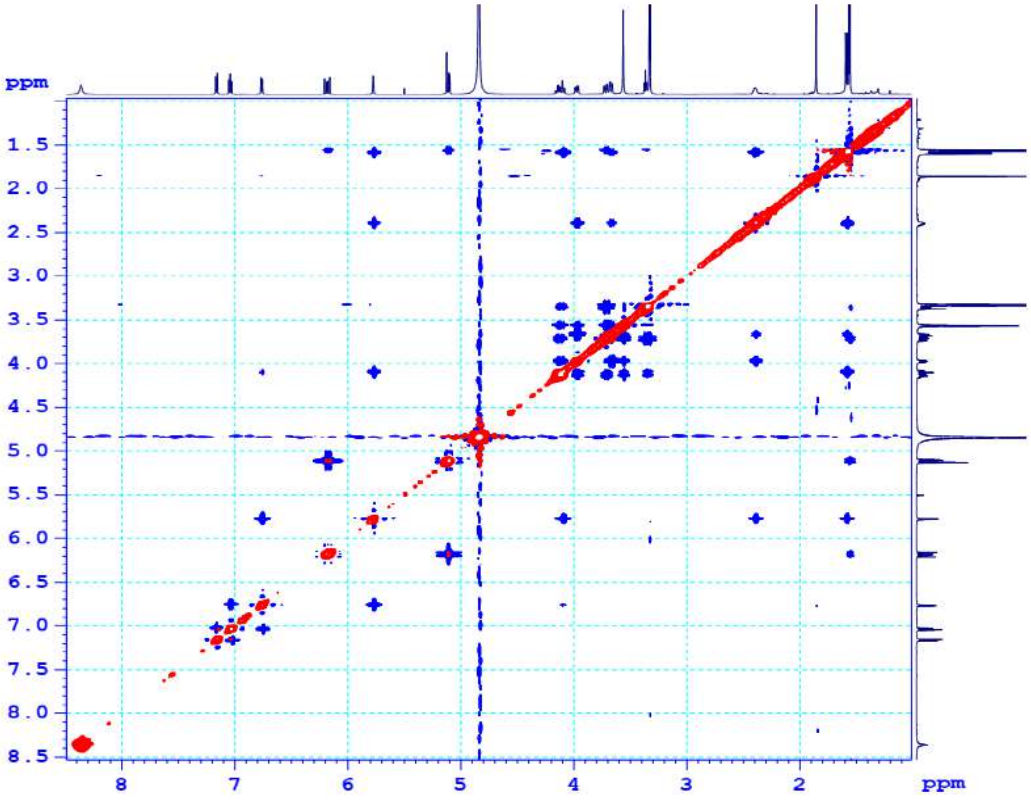
Hình 4.19. Phổ HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.2**



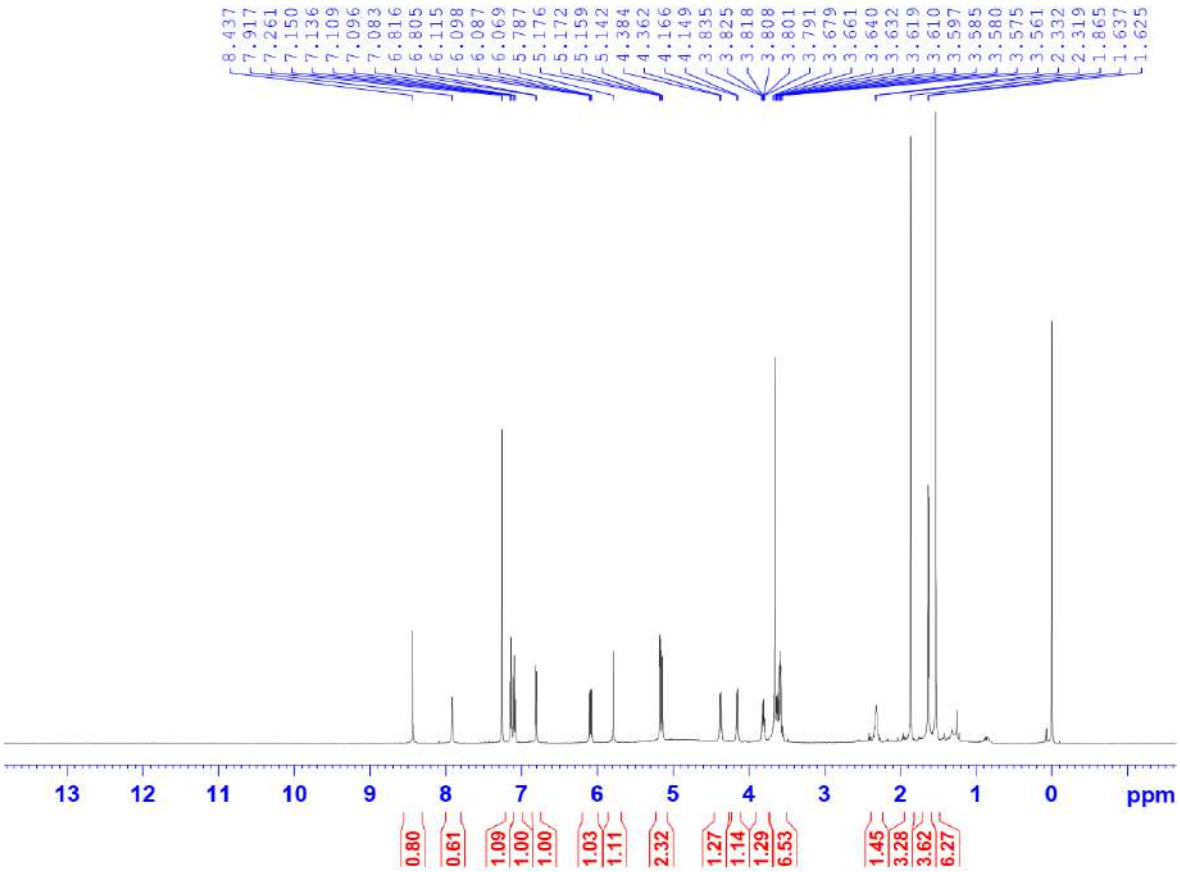
Hình 4.20. Phổ dãn HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.2**



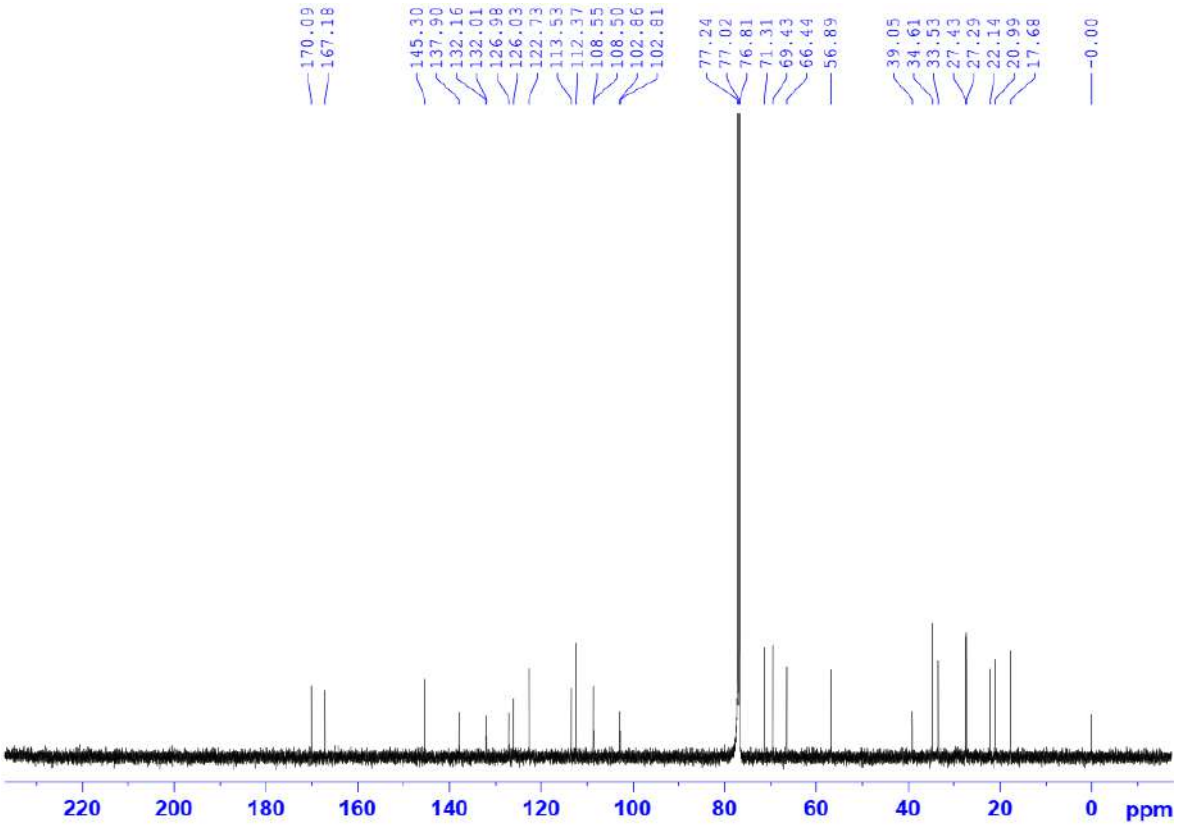
Hình 4.21. Phổ COSY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.2**



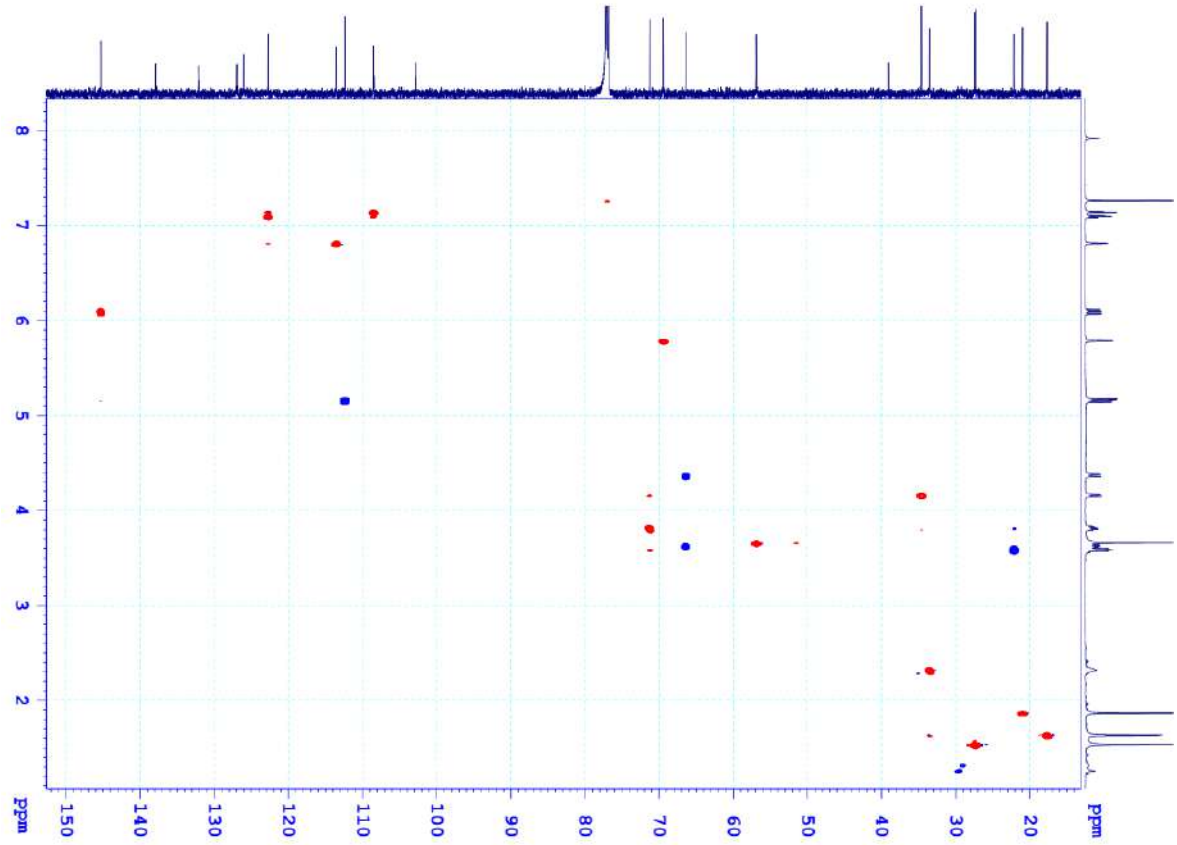
Hình 4.22. Phổ NOESY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.2**



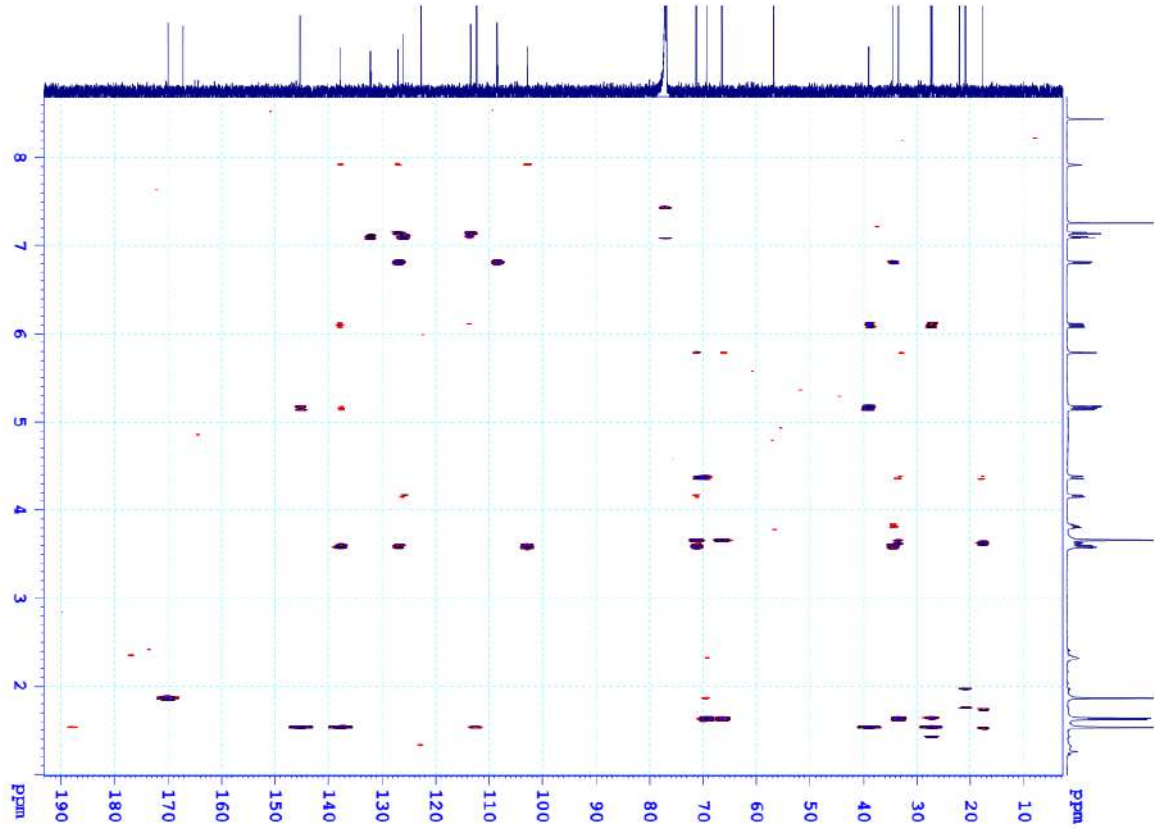
Hình 4.23. Phổ ^1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất **XT37.2**



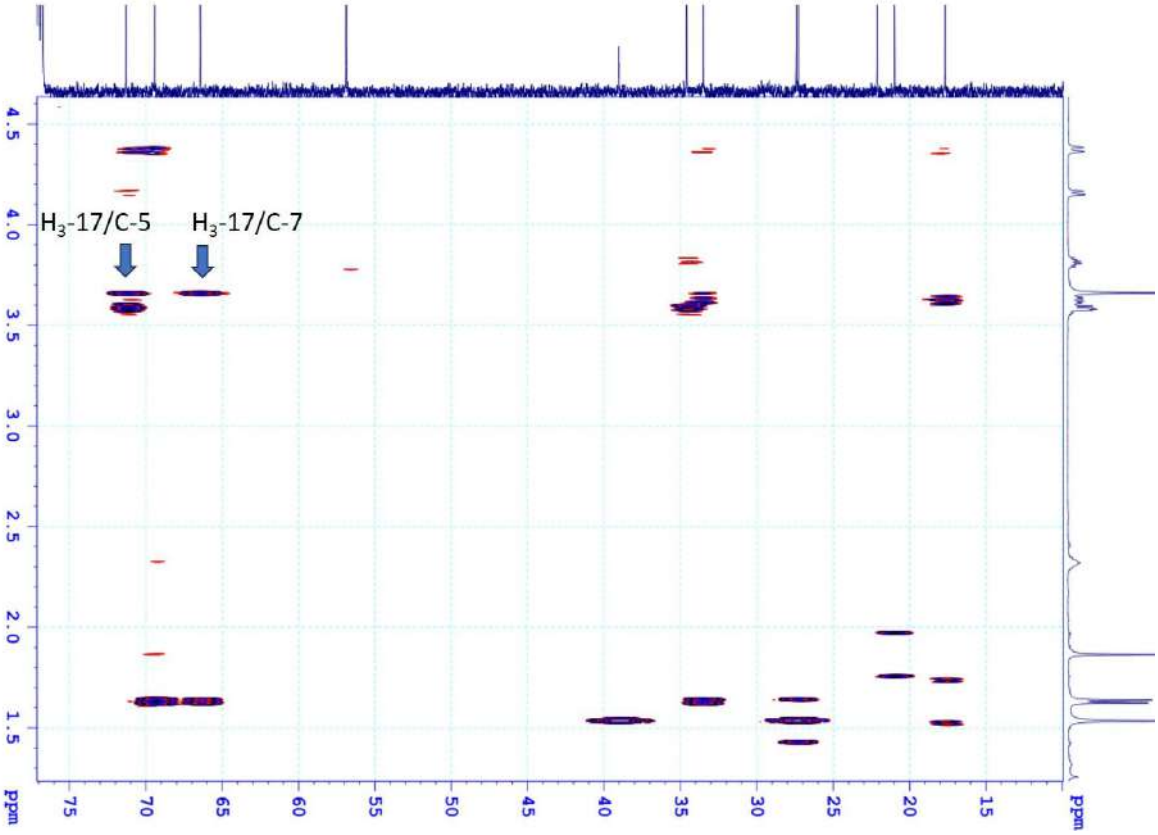
Hình 4.24. Phổ ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) của hợp chất **XT37.2**



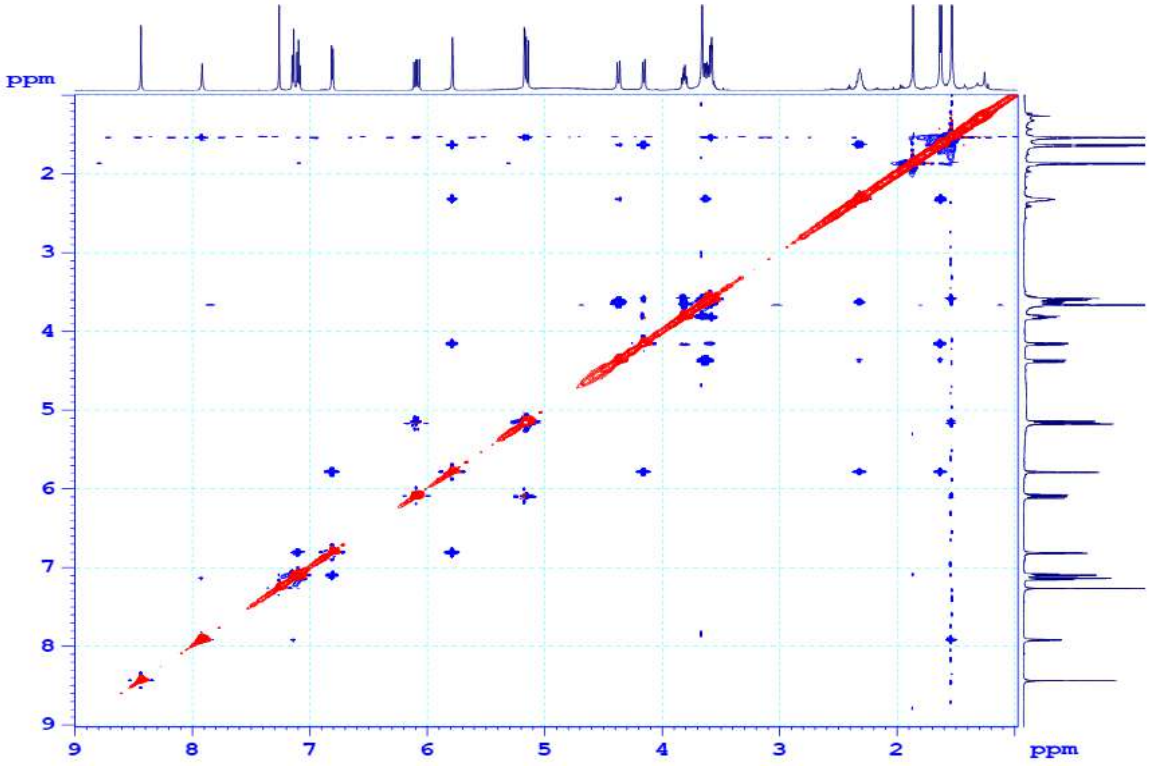
Hình 4.25. Phổ HSQC ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất **XT37.2**



Hình 4.26. Phổ HMBC ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất **XT37.2**

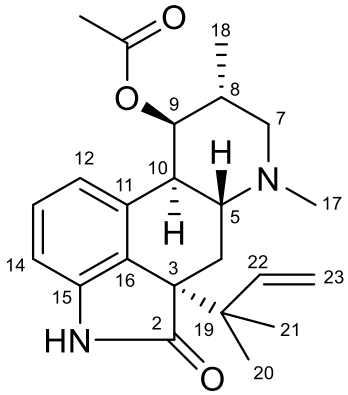


Hình 4.27. Phổ dãn HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.2**



Hình 4.28. Phổ NOESY ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất **XT37.2**

4.1.1.3. Hợp chất XT37.3: Fumigaclavine I:



Hình 4.29. Cấu trúc hóa học hợp chất **XT37.3**

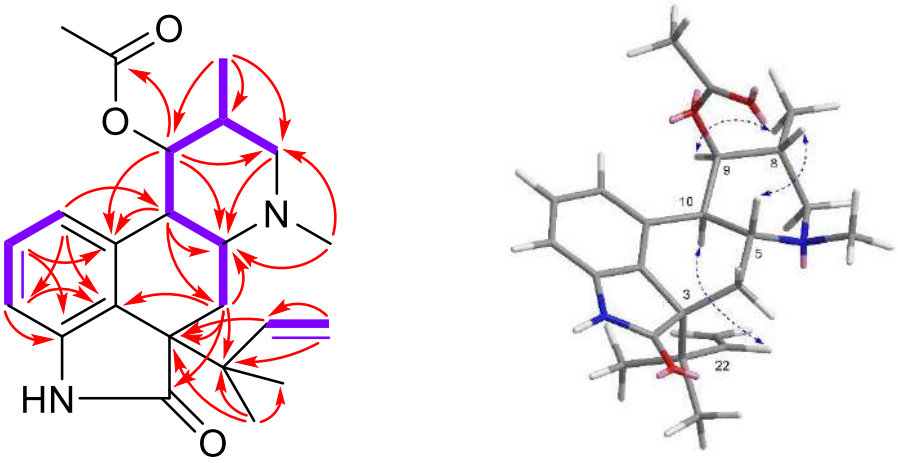
Hợp chất **XT37.3** có dạng bột màu trắng. Dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất **XT37.3** thể hiện sự tương đồng tương đối với dữ liệu của các hợp chất **XT37.1** và **XT37.2**, cho thấy hợp chất **XT37.3** là một dẫn xuất ergot alkaloid (Bảng 4.4). Tuy nhiên, nối đôi nội vòng tại vị trí C-2 và nhóm *N*-methyl oxide có mặt trong hợp chất **XT37.2** được thay thế lần lượt bởi một carbonyl tại δ_C 185.2 (C-2), một carbon bậc bốn tại δ_C 53.9 (C-3), và một nhóm N-methyl tại δ_C 43.8 (C-17) ở hợp chất **XT37.3**. Điều này được khẳng định khi so sánh dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất **XT37.3** với hợp chất ergot mới được công bố là fumigaclavine I [89]. Vị trí của các

nhóm thế được xác định nhờ phân tích chi tiết các tương tác trên phổ HMBC và COSY (Hình 4.30). Phân tích phổ NOESY của hợp chất **XT37.3** cho kết quả khá tương đồng với phổ của các hợp chất **XT37.2**, thể hiện qua các tương tác NOE giữa H-18 và H-9 và H-10, sự không xuất hiện của tương tác NOE giữa H-9/H-5, cho thấy các hợp chất này có cùng cấu hình tương đối là 5*R**8*R**9*S**10*R** (Hình 4.30). Cấu hình tuyệt đối của hợp chất **XT37.3** được xác định là 3*S*5*R*8*R*9*S*10*R* thông qua tính toán lý thuyết phổ ECD và so sánh với thực nghiệm (Hình 4.31). Với các phân tích phổ nêu trên, và so sánh với hợp chất tham khảo, hợp chất **XT37.3** được xác định là fumigaclavine I (Hình 4.29),

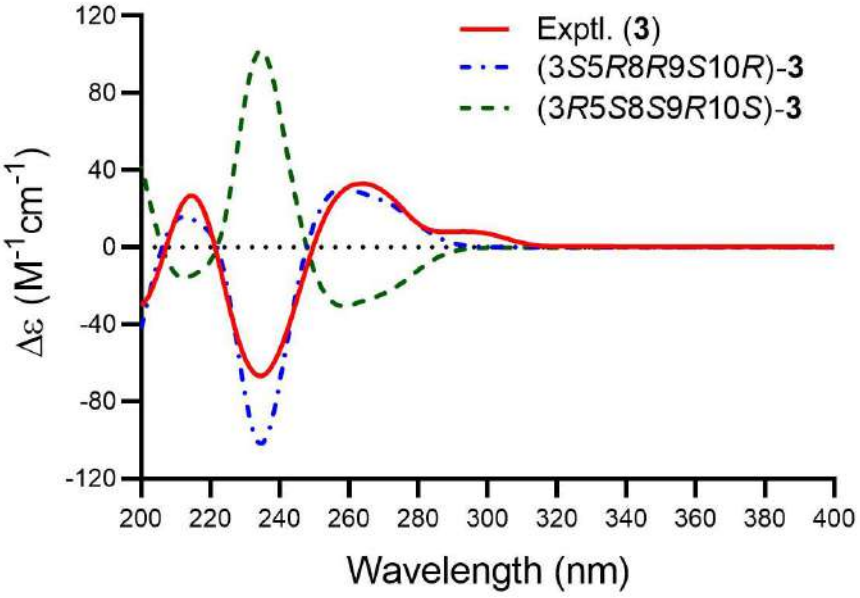
Bảng 4.3. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT37.3**

Vị trí	δ_C[a,[89]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (*J* = Hz)
2	182.7	185.2	
3	52.0	53.9	
4	30.4	29.1	2.42 (dd, 7.8, 13.8) 2.10 (dd, 9.6, 13.8)
5	61.9	63.4	2.37 (m)
7	56.4	57.6	2.87 (m)
8	33.0	33.8	2.16 (m)
9	71.5	71.9	5.52 (br t, 2.4)
10	37.3	38.1	3.41 (br d, 8.4)
11	136.4	136.1	
12	116.9	118.4	6.60 (d, 7.8)
13	127.3	129.0	7.15 (t, 7.8)
14	105.9	107.9	6.72 (d, 7.2)
15	142.4	143.5	
16	129.5	130.7	
17	43.0	43.8	2.55 (br s)
18	15.3	15.8	1.32 (d, 7.2)
19	44.9	46.3	
20	22.0	22.8	1.03 (s)
21	21.2	22.2	1.12 (s)
22	144.2	144.6	5.98 (dd, 10.8, 17.4)
23	112.9	115.0	5.14 (d, 10.8) 5.12 (dd, 17.4)
9-OAc	169.8	172.1	
	20.2	21.0	1.90 (s)

[a] Đo trong acetone-d_6; [b] CD_3OD; [c] 150 MHz; [d] 600 MHz

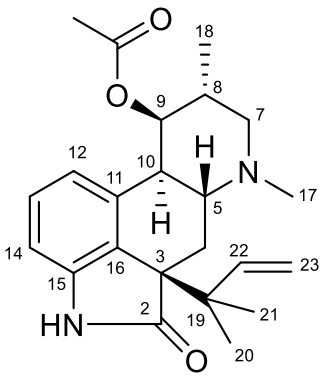


Hình 4.30. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của **XT37.3**



Hình 4.31. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất **XT37.3**

4.1.1.4. Hợp chất XT37.4: Fumigaclavine M (chất mới):



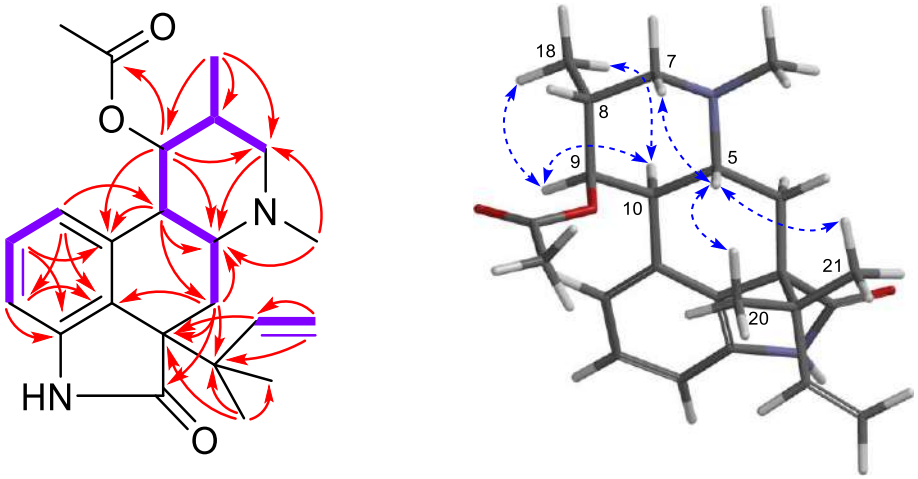
Hình 4.32. Cấu trúc hóa học của hợp chất **XT37.4**

Hợp chất **XT37.4** được thu nhận dưới dạng bột màu trắng. Phổ HRESIMS ghi nhận tín hiệu $[M+H]^+$ tại *m/z* 383.2334 (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử là $C_{23}H_{31}N_2O_3$, 383.2329) (Hình 4.32). Bộ dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất **XT37.4** thu được trong dung môi $CDCl_3$ và CD_3OD thể hiện sự tương đồng tương đối với dữ liệu của các hợp chất **XT37.1**–**XT37.3**, cho thấy hợp chất **XT37.4** là một dẫn xuất của ergot alkaloid (Bảng 4.4). Tiến hành so sánh dữ liệu phổ ^1H và ^{13}C NMR của hợp chất **XT37.4** với hợp chất ergot mới được công bố là fumigaclavine I (cũng là hợp chất **XT37.3** được phân lập trong cùng nghiên cứu này), cho kết quả khá tương đồng cho thấy sự phù hợp về cấu trúc phẳng của 2 hợp chất này [89]. Vị trí của nhóm thế 2-methylbut-3-en-2-yl tại C-3 được xác định nhờ các tương tác HMBC từ H-20, H-21 và H-22 đến C-3 (Hình 4.33). Tín hiệu tương tác HMBC từ H-4 đến carbon carbonyl tại δ_C 182.4 xác nhận vị trí của nhóm carbonyl tại C-2. Ngoài ra, vị trí của một nhóm methyl gắn vào nguyên tử nitơ N-6 được chứng minh thông qua tương quan HMBC từ tín hiệu δ_H 2.41 (s) đến các vị trí carbon C-5 và C-7. Phân tích phổ NOESY của hợp chất **XT37.4** cho kết quả khá tương đồng với phổ của các hợp chất **XT37.2** và **XT37.3**, thể hiện qua các tương tác NOE giữa H-18 với H-9 và H-10, và sự thiếu hụt của tương tác NOE giữa H-9 và H-5, cho thấy các hợp chất này có cùng cấu hình tương đối là *5R*8R*9S*10R** (Hình 4.33). Phổ NOESY của hợp chất **XT37.4** còn ghi nhận các tương tác NOE giữa H-5 với cả 2 proton H-21 và H-22, cho thấy H-5 và nhóm thế 2-methylbut-3-en-2-yl có cùng hướng không gian, và điều này chỉ ra rằng 2 hợp chất **XT37.3** và **XT37.4** là 2 đồng phân diastereoisomer tại vị trí C-3. Nhận định này được củng cố bởi sự khác biệt đáng kể trong độ dịch chuyển hóa học của C-20 ở hợp chất **XT37.4** [δ_C 27.6 (CD_3OD) và 27.1 ($CDCl_3$)] so với hợp chất **XT37.3** [δ_C 22.8 (CD_3OD)] (Bảng 4.4), và sự ghi nhận của các tương tác NOE giữa H-10 với H-20, H-21 và H-22 trên phổ NOESY của hợp chất **XT37.3**. Cuối cùng, cấu hình tuyệt đối của hợp chất **XT37.4** được xác định là 3*R*5*R*8*R*9*S*10*R* thông qua tính toán lý thuyết phổ ECD và so sánh với phổ ECD thực nghiệm (Hình 4.33). Trên cơ sở các phân tích trên, cấu trúc của hợp chất **XT37.4** được xác lập và được đặt tên là fumigaclavine M.

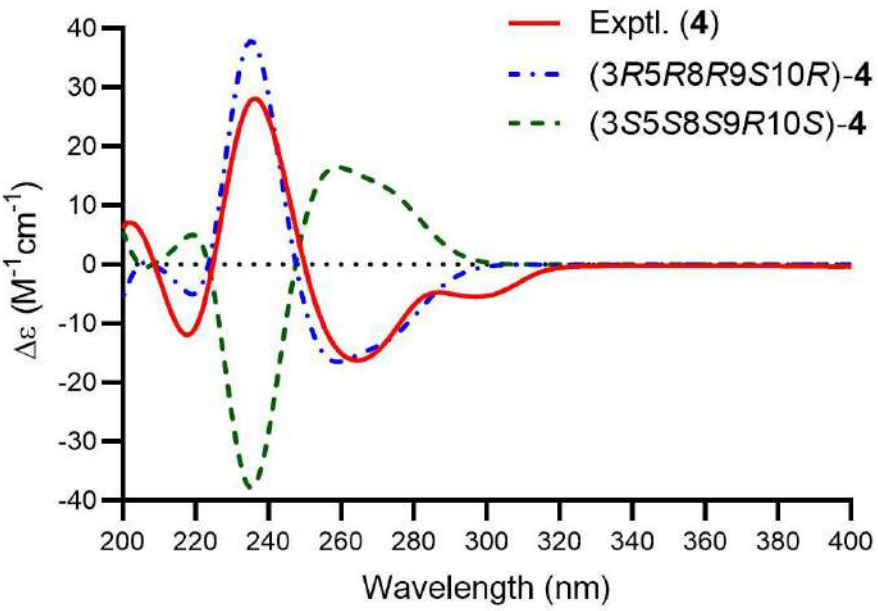
Bảng 4.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT37.4**

Vị trí	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (*J* = Hz)	$\delta_C^{d,b}$	$\delta_H^{d,c}$ (*J* = Hz)
2	182.7	184.7		182.4	
3	52.0	53.9		52.5	
4	30.4	29.3	2.84 (dd, 3.0, 12.6) 1.37 (m)	28.5	2.78 (dd, 3.0, 13.2) 1.43 (m)
5	61.9	59.4	3.85 (br t, 13.2)	57.6	3.62 (m)
7	56.4	60.1	2.89 (m)	59.0	2.70 (m)
8	33.0	34.3	2.18 (m)	33.3	2.05 (m)
9	71.5	72.0	5.60 (br s)	71.1	5.55 (br s)
10	37.3	43.1	2.87 (m)	42.2	2.90 (br d, 9.6)
11	136.4	136.5		135.5	
12	116.9	118.5	6.89 (d, 7.8)	117.8	6.87 (d, 8.4)
13	127.3	130.8	7.21 (t, 7.8)	129.0	7.15 (t, 8.4)
14	105.9	108.2	6.71 (d, 7.8)	106.5	6.63 (d, 7.8)
15	142.4	144.0		141.3	
16	129.5	130.5		129.7	
17	43.0	42.9	2.53 (s)	42.7	2.41 (s)
18	15.3	17.4	1.24 (d, 7.2)	17.5	1.24 (d, 7.8)
19	44.9	43.4		42.6	
20	22.0	27.6	1.06 (s)	27.1	1.06 (s)
21	21.2	22.2	1.41 (s)	21.8	1.40 (s)
22	144.2	148.9	6.03 (dd, 10.8, 17.4)	147.6	6.01 (dd, 10.8, 17.4)
23	112.9	111.9	5.19 (dd, 1.2, 17.4) 5.10 (dd, 1.2, 10.8)	110.8	5.10 (d, 18.0) 5.00 (d, 10.2)
9-OAc	169.8	172.0		170.3	
	20.2	21.0	2.07 (s)	21.1	2.05 (s)

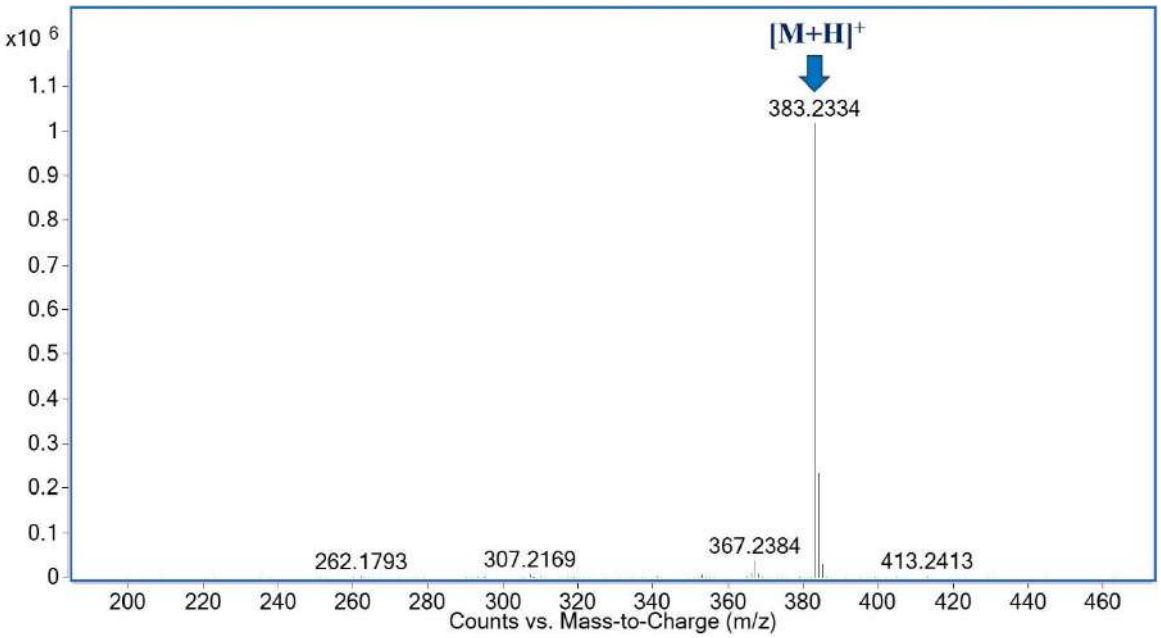
[a] Đo trong CD_3OD; [b] 150 MHz; [c] 600 MHz; [d] $CDCl_3$
[#] δ_C của chất tham khảo đo trong acetone-d_6 [89]



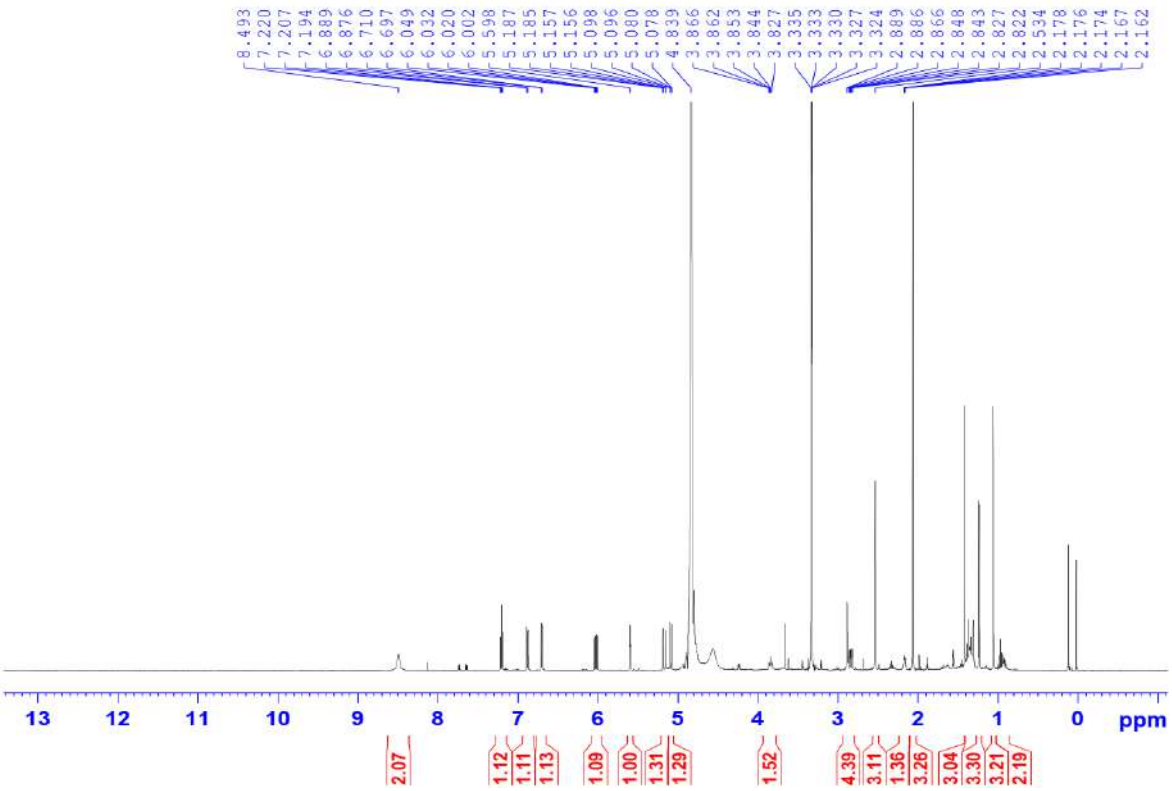
Hình 4.33. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của **XT37.4**



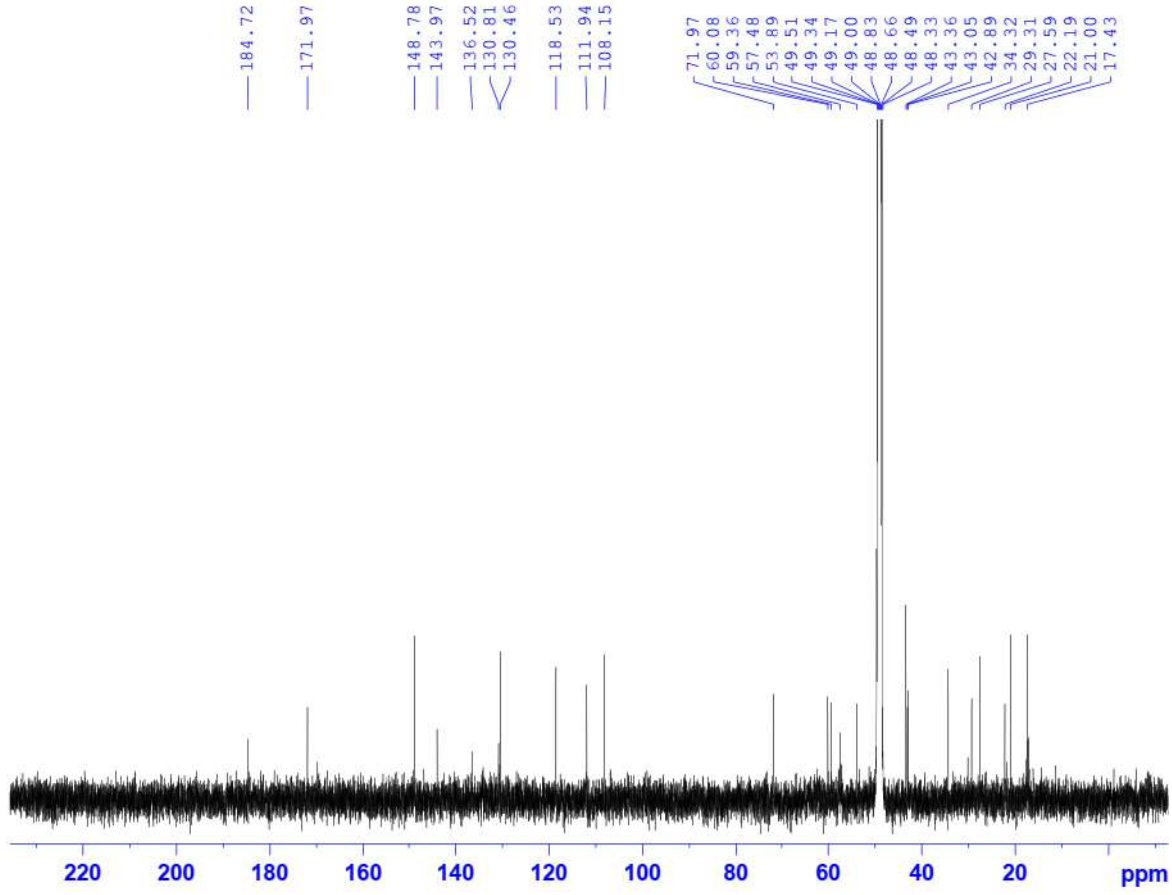
Hình 4.34. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất **XT37.4**



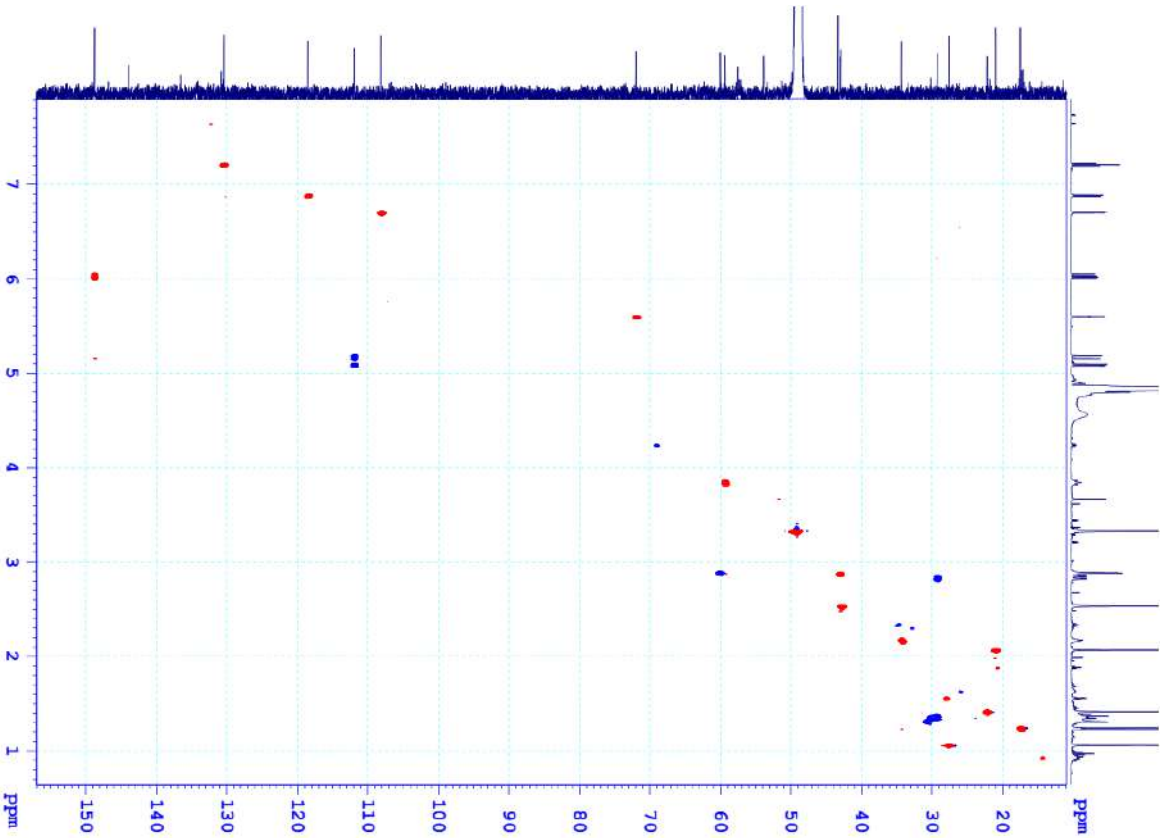
Hình 4.35. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **XT37.4**



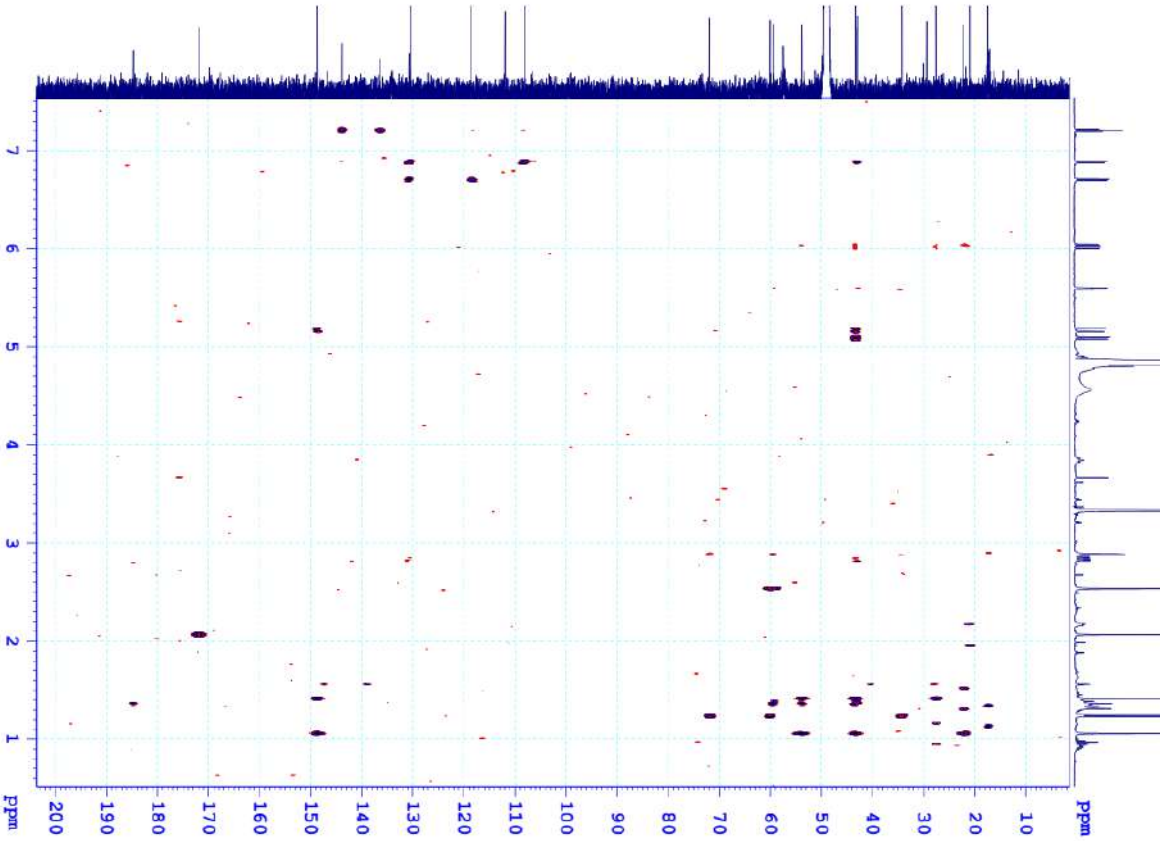
Hình 4.36. Phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.4**



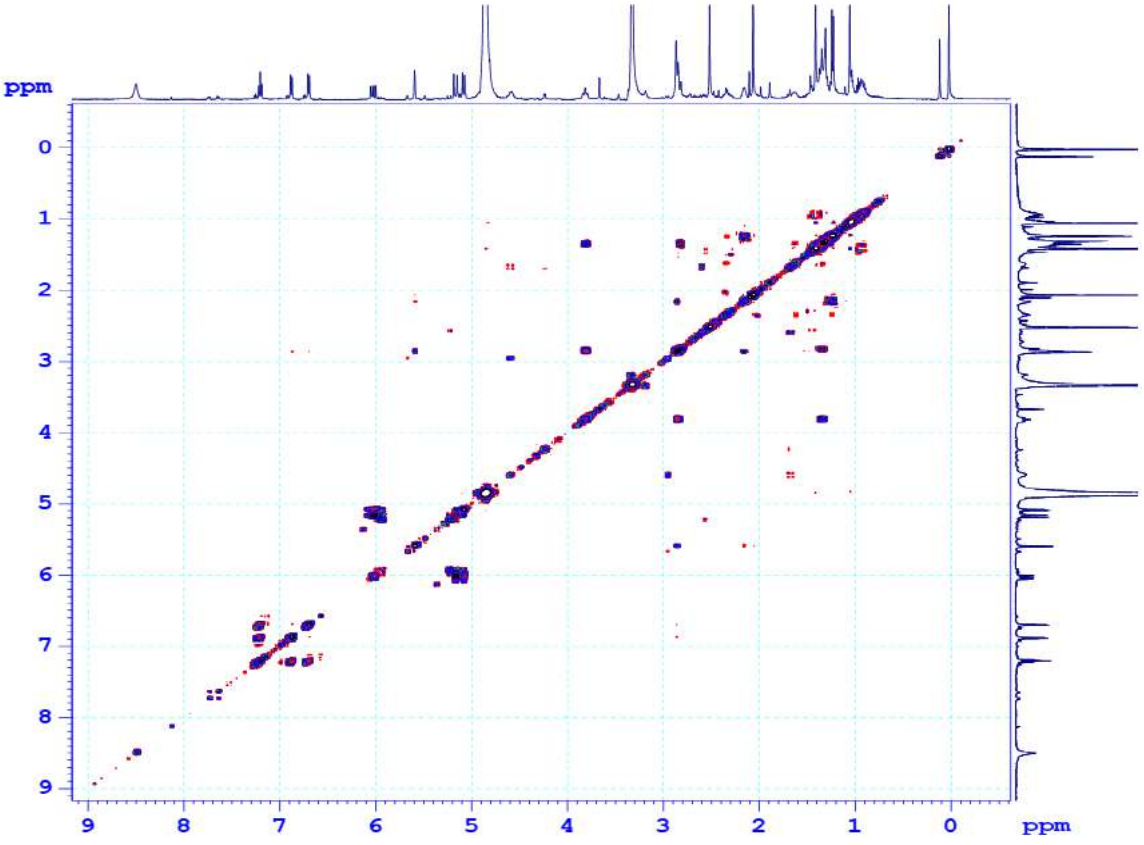
Hình 4.37. Phổ ^{13}C NMR (CD_3OD, 150 MHz) của hợp chất **XT37.4**



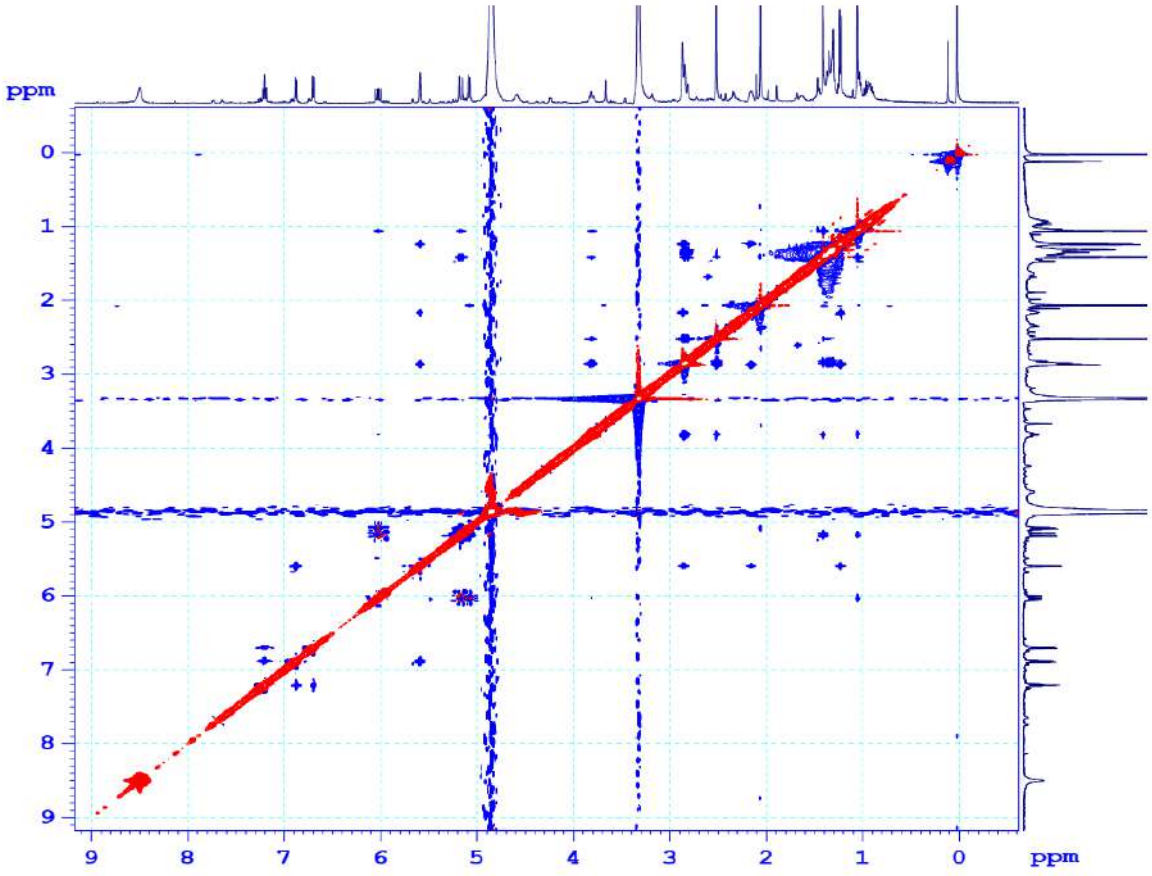
Hình 4.38. Phổ HSQC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.4**



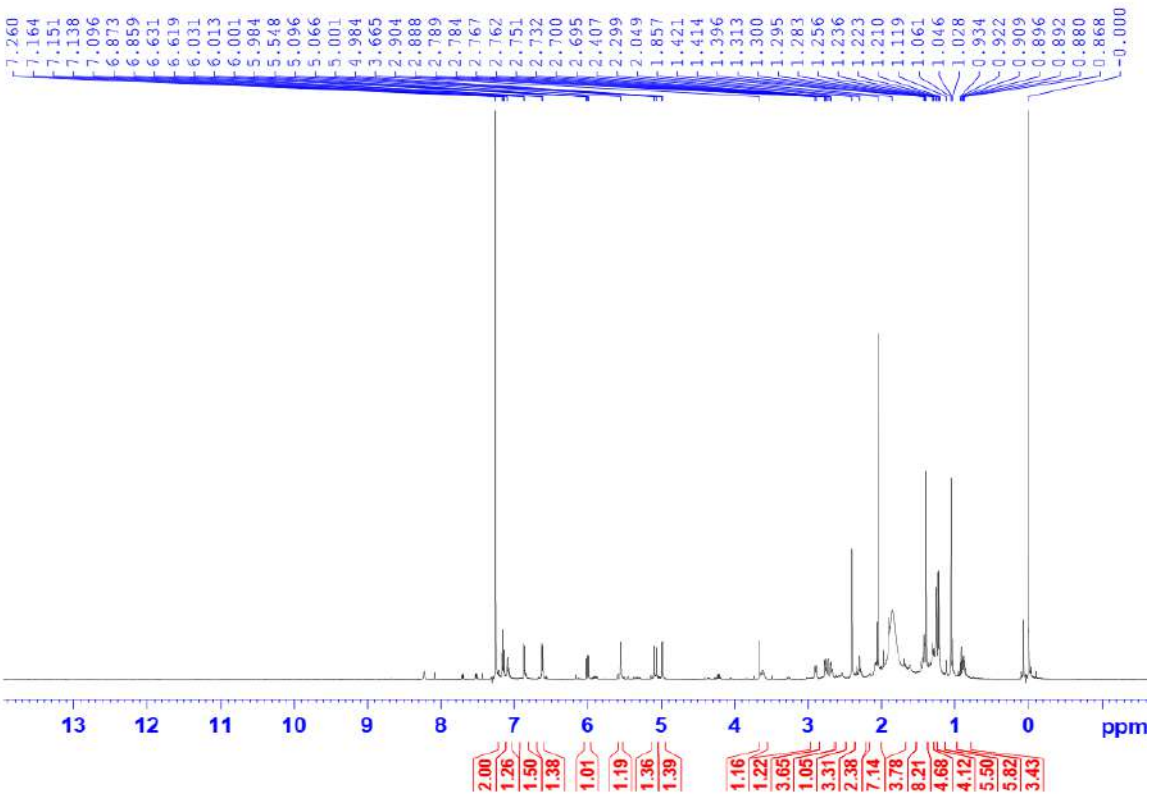
Hình 4.39. Phổ HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.4**



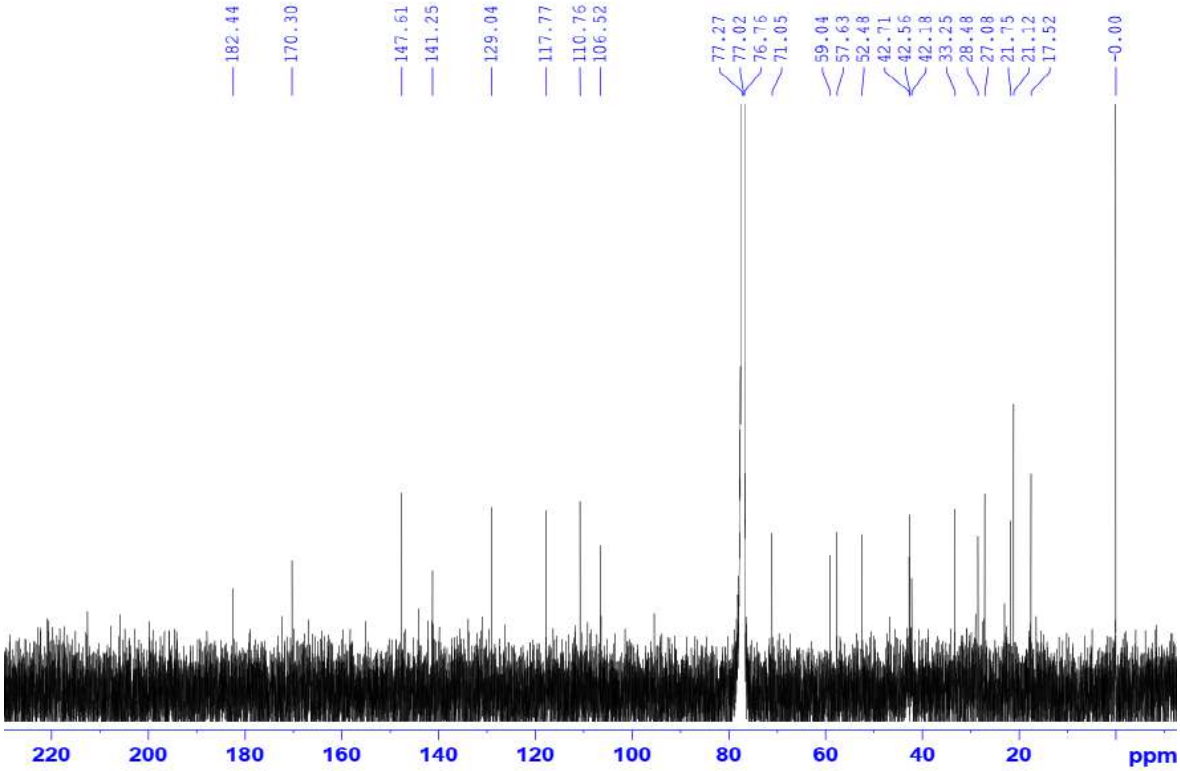
Hình 4.40. Phổ COSY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.4**



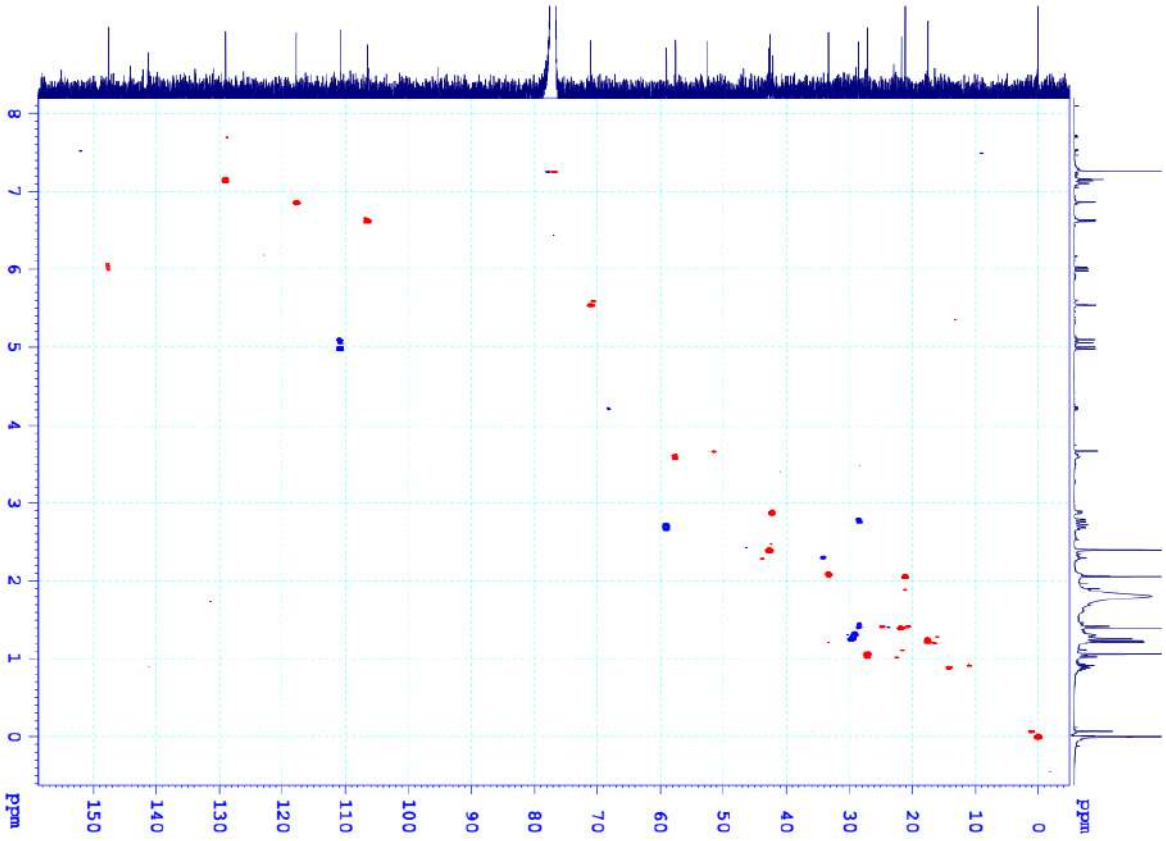
Hình 4.41. Phổ NOESY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT37.4**



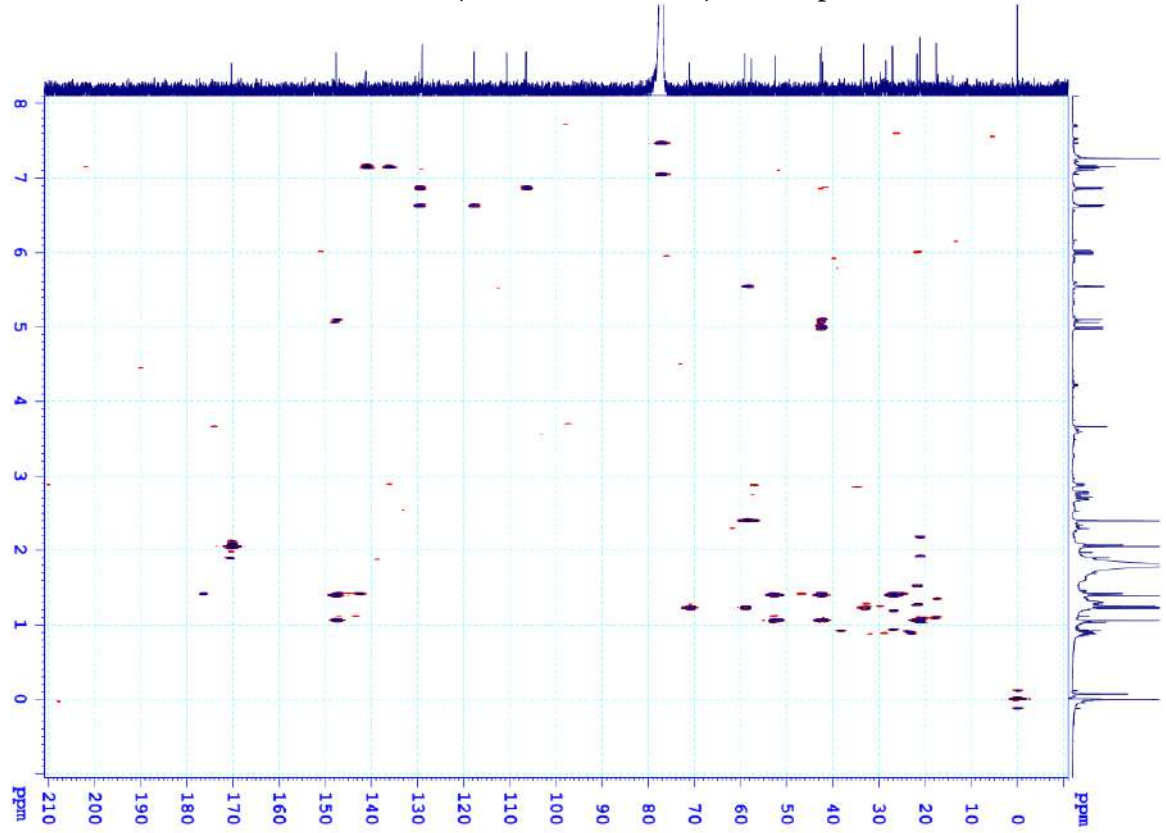
Hình 4.42. Phổ ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất **XT37.4**



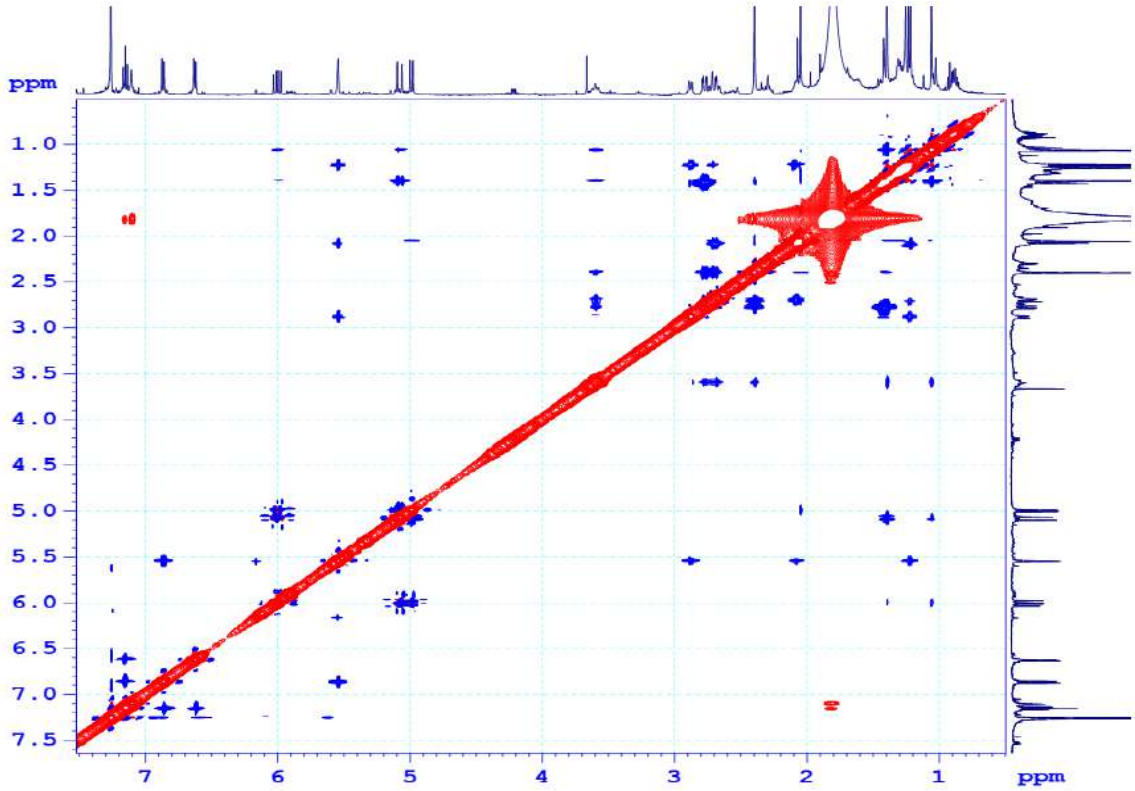
Hình 4.43. Phổ ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) của hợp chất **XT37.4**



Hình 4.44. Phổ HSQC ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất **XT37.4**

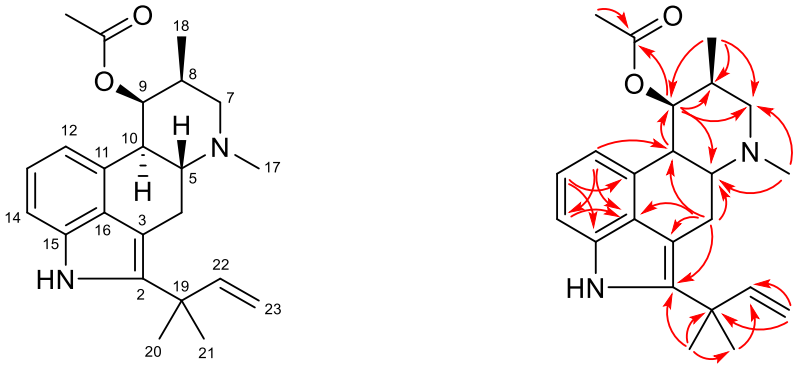


Hình 4.45. Phổ HMBC ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất **XT37.4**



Hình 4.46. Phổ NOESY ($CDCl_3$, 600 MHz) của hợp chất **XT37.4**

4.1.1.5. Hợp chất XT37.5: Fumigaclavine C



Hình 4.47. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT37.5**

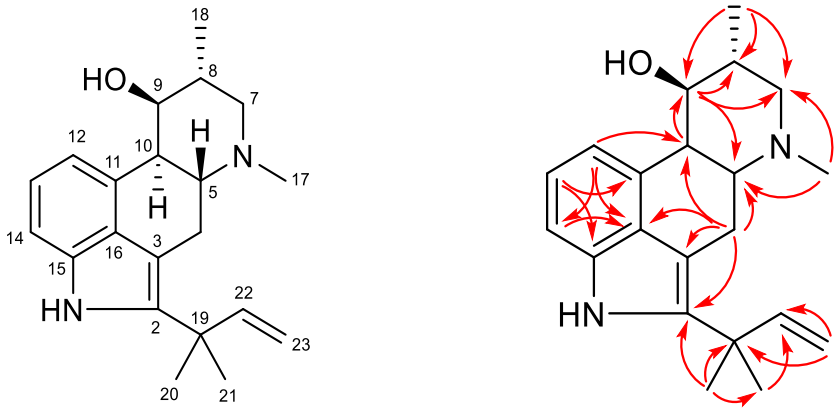
Hợp chất **XT37.5** có dạng bột màu trắng. Tiến hành phân tích phổ ^{1}H và ^{13}C NMR cho thấy sự tương đồng cao với hợp chất **XT37.2**, ngoại trừ sự thay thế tín hiêu của nhóm *N*-methyl oxide ở **XT37.2** bằng tín hiệu của một nhóm *N*-methyl ở hợp chất **XT37.5** tại δ_H 2.92 (s) (Bảng 4.5). Vị trí của nhóm methyl tại N-6 được khẳng định thông qua các tương tác HMBC từ δ_H 2.92 đến C-5 và C-7 (Hình 4.47). Tiến hành so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất này với hợp chất egot alkaloid đã biết là fumigaclavine C cho kết quả hoàn toàn tương đồng, do đó, hợp chất **XT37.5** được xác định là fumigaclavine C [90].

Bảng 4.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT37.5**

Vị trí	δ_C[a,[90]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (J = Hz)
2	136.7	138.2	
3	106.1	102.5	
4	28.1	25.1	3.64 (dd, 4.8, 14.4) 3.17 (đ, 11.4, 14.4)
5	61.6	62.2	3.42 (m)
7	57.8	56.3	3.40 (m) 3.22 (m)
8	33.1	32.3	2.32 (m)
9	71.4	69.3	5.71 (br s)
10	39.4	37.4	3.75 (br d, 10.4)
11	129.2	125.4	
12	112.8	112.6	6.70 (br d, 7.8)
13	122.2	122.1	7.04 (br t, 7.8)
14	107.7	108.9	7.17 (br d, 7.8)
15	134.5	132.6	
16	128.0	127.1	
17	43.5	42.0	2.92 (s)
18	16.6	15.3	1.42 (d, 7.2)
19	39.0	39.0	
20	27.2	27.2	1.52 (s)
21	27.4	27.2	1.51 (s)
22	145.7	145.5	6.09 (dd, 10.8, 17.4)
23	111.8	111.7	5.12 (br d, 17.4) 5.10*
9-OAc	170.9	170.6	
	21.2	20.8	1.90 (s)

*[a] Đo trong CD_3OD; [b] $CDCl_3$; [c] 150 MHz; [d] 600 MHz; * tín hiệu bị chồng lấp*

4.1.1.6. Hợp chất XT37.6: Fumigaclavine E



Hình 4.48. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT37.6**

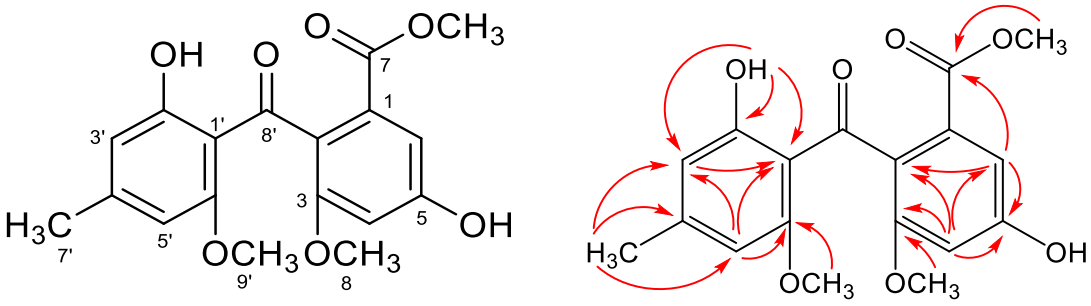
Hợp chất **XT37.6** có dạng bột màu trắng. So sánh các dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất **XT37.5** cho kết quả khá tương đồng, ngoại trừ sự thiếu hụt tín hiêu của nhóm 9-OAc ở **XT37.5** ở hợp chất **XT37.6** và độ chuyển dịch hóa học về phía trường cao của vị trí C-9 tại δ_C 67.4. Điều này gợi ý sự thay thế nhóm acetyl bằng nhóm hydroxy tại vị trí C-9 ở hợp chất **XT37.6**. Cấu trúc hóa của hợp chất này được khẳng định thông qua sự tương đồng hoàn toàn khi so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất này với hợp chất egot alkaloid đã biết là fumigaclavine E [90] cùng với các phân tích chi tiết phổ HMBC (Hình 4.48). Do đó, hợp chất **XT37.6** được xác định là fumigaclavine E.

Bảng 4.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT37.6**

Vị trí	δ_C[a,[90]]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (***J*** **= Hz)**
2	138.4	139.5	
3	105.9	103.1	
4	28.5	26.5	3.75 (m) 2.98 (m)
5	62.3	63.0	3.70 (m)
7	58.7	57.8	3.67 (m) 3.35 (m)
8	36.8	36.1	2.31 (m)
9	69.4	67.4	4.62 (br s)
10	41.5	40.2	3.48 (br d, 10.8)
11	129.6	127.1	
12	113.8	114.2	6.97 (d, 7.8)
13	122.7	123.0	7.11 (t, 7.8)
14	109.1	109.8	7.19 (d, 7.8)
15	134.5	134.5	
16	129.4	128.7	
17	43.7	42.3	3.02 (s)
18	17.7	15.7	1.36 (d, 7.8)
19	40.8	40.3	
20	28.0	28.1	1.56 (s)
21	28.1	28.0	1.56 (s)
22	147.6	147.3	6.18 (dd, 10.2, 17.4)
23	111.5	111.9	5.12 (dd, 0.6, 10.2) 5.10 (dd, 1.2, 17.4)

[a] Đo trong CD_3OD; [b] 150 MHz; [c] 600 MHz

4.1.1.7. Hợp chất XT37.7: Monomethylsulochrin



Hình 4.49. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT37.7**

Hợp chất **XT37.7** thu được ở dạng bột màu trắng. Trên phổ ^{1}H NMR xuất hiện tín hiệu proton thơm của 2 hệ spin AX tại δ_H 6.62 và 6.99 (d, J = 1.8 Hz, H-4 và H-6) và δ_H 6.44 và 6.07 (s, H-3′ và H-5′), cho thấy sự xuất hiện của 2 vòng benzene thế 1,2,3,5 (Bảng 4.7). Bên cạnh đó, tín hiệu của 3 nhóm methoxy tại δ_H 3.68, 3.66, và 3.37 (s, C-8, 7-OOCH$_3$, và C-9′) và một nhóm methyl tại δ_H 2.29 (s, C-7′) cũng được ghi nhận trên phổ ^{1}H NMR. Trên phổ ^{13}C NMR và HSQC ghi nhận 18 tín hiệu carbon, bao gồm 2 carbonyl carbon tại δ_C 166.7 (C-7) và 200.1 (C-8′), 12 tín hiệu carbon sp^2 (trong đó có 8 carbon không liên kết với proton), và 4 carbon sp^3 (bao gồm một nhóm methyl và 3 nhóm methoxy) (Bảng 4.7). Tiến hành so sánh dữ liệu phổ của **XT37.7** với hợp chất benzophenone đã biết là monomethylsulochrin cho kết quả hoàn toàn tương đồng [91], cho thấy sự đồng nhất về cấu trúc hóa học của 2 hợp chất. Cấu trúc của hợp chất **XT37.7** được khẳng định thông qua các tương tác được ghi nhận trên phổ HMBC (Hình 4.49). Như vậy, hợp chất **XT37.7** được xác định là monomethylsulochrin.

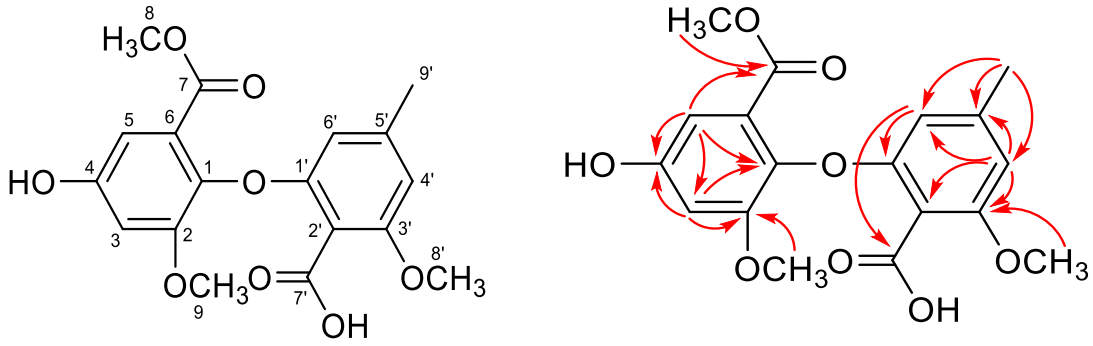
Bảng 4.7. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT37.7**

Vị trí	δ_C[a, [91]]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (*J* = Hz)
1	128.3	128.3	
2	127.6	127.0	
3	156.5	157.0	
4	102.9	103.4	6.62 (d, 1.8)
5	157.0	157.6	
6	107.9	108.0	6.99 (d, 1.8)
7	166.3	166.7	
8	56.1	56.1	3.68 (s)
7-COOCH$_3$	52.2	52.2	3.66 (s)

1′	110.9	110.5	
2′	164.2	164.1	
3′	110.4	110.8	6.44 (s)
4′	148.1	148.1	
5′	103.2	103.1	6.07 (s)
6′	160.9	161.0	
7′	22.5	22.4	2.29 (s)
8′	199.8	200.1	
9′	55.6	55.7	3.37 (s)
2′-OH			13.00 (s)

[a] Đo trong $CDCl_3$; [b] 150 MHz, [c] 600 MHz

4.1.1.8. Hợp chất XT37.8: 8′-O-Methylasterric acid



Hình 4.50. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT37.8**

Hợp chất **XT37.8** được thu nhận ở dạng bột màu trắng. Trên phổ ^{1}H NMR xuất hiện tín hiệu proton thơm của 2 hệ spin AX tại δ_H 6.77 và 6.86 (d, J = 2.4 Hz, H-3 và H-5) và δ_H 6.52 và 5.88 (s, H-4′ và H-6′), cho thấy sự xuất hiện của 2 vòng benzene thế 1,2,3,5 (Bảng 4.8). Ngoài ra, tín hiệu của 3 nhóm methoxy tại δ_H 3.73, 3.75, và 3.85 (s, C-8, C-9 và C-8′) và một nhóm methyl tại δ_H 2.20 (s, C-9′) cũng được ghi nhận trên phổ ^{1}H NMR. Tiến hành phân tích phổ ^{13}C NMR và HSQC xác định được 18 tín hiệu carbon, bao gồm 2 carbonyl carbon tại δ_C 167.9 (C-7) và 170.4 (C-7′), 12 tín hiệu carbon sp^2 (với 8 carbon không liên kết với proton), và 4 carbon sp^3 (với một nhóm methyl và 3 nhóm methoxy) (Bảng 4.8). Các dữ kiện phổ này cho thấy cấu trúc của hợp chất **XT37.8** có sự tương đồng so với **XT37.7**, tuy nhiên có sự thay thế cầu liên kết ketone ở **XT37.7** bằng cầu liên kết ether giữa hai đơn vị phenyl và sắp xếp lại nhóm thế ở **XT37.8**. Điều này được khẳng định thông qua các tương tác trên phổ HMBC (Hình 4.50). Trên cơ sở các phân tích phổ đã đề cập và sự phù hợp hoàn toàn

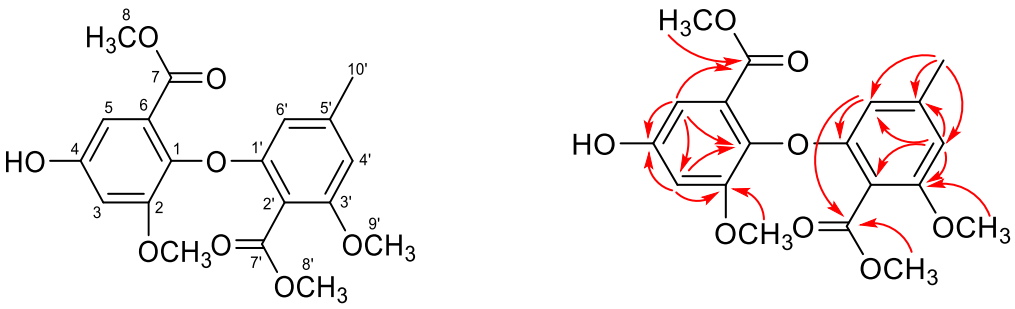
khi so sánh dữ liệu phổ NMR của **XT37.8** với hợp chất benzophenone tham khảo [86], hợp chất **XT37.8** được xác định là 8′-*O*-methylasterric acid.

Bảng 4.8. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT37.8**

Vị trí	δ_C[a,[86]]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (*J* = Hz)
1	133.6	136.4	
2	153.5	155.3	
3	104.8	106.0	6.77 (d, 2.4)
4	155.2	156.7	
5	107.4	109.0	6.86 (d, 2.4)
6	125.9	127.3	
7	165.5	167.9	
8	52.2	52.8	3.73 (s)
9	56.1	56.7	3.75 (s)
1′	155.5	157.7	
2′		112.7	
3′	156.3	158.6	
4′	105.2	106.4	6.52 (br s)
5′	139.6	142.4	
6′	105.7	107.5	5.88 (br s)
7′	166.6	170.4	
8′	55.7	56.5	3.85 (s)
9′	21.6	22.0	2.20 (s)

[a] *Đo trong DMSO-d_6; CD_3OD;* [b] *150 MHz;* [c] *600 MHz*

4.1.1.9. Hợp chất XT37.9: 2,3′-Dimethylosoate



Hình 4.51. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT37.9**

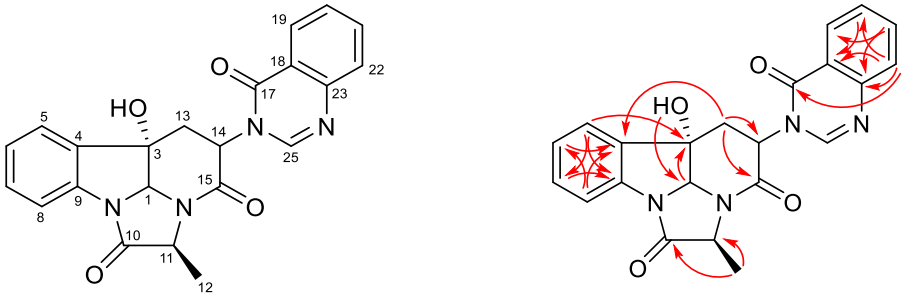
Hợp chất **XT37.9** có dạng bột màu trắng. So sánh các dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất **XT37.8** cho kết quả gần tương đồng, ngoại trừ sự xuất hiện thêm của tín hiêu của một nhóm methyl ester tại δ_H 3.91 (s)/ δ_C 52.4 (C-8′) ở hợp chất **XT37.9** (Bảng 4.9). Vị trí của nhóm methyl ester tại C-7′ được khẳng định thông qua tương tác HMBC từ δ_H 3.91 đến C-7′ (Hình 4.51). Như vậy, hợp chất **XT37.9** được xác định là 2,3′-dimethylosoate [92].

Bảng 4.9. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT37.9**

Vị trí	δ_C[a,[92]]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (*J* = Hz)
1	136.2	135.8	
2	154.2	154.2	
3	105.1	105.3	6.69 (d, 2.4)
4	153.5	154.0	
5	108.5	108.7	6.98 (d, 2.4)
6	125.9	125.9	
7	166.3	166.5	
8	52.5	52.4	3.71 (s)
9	56.4	56.3	3.67 (s)
1′	156.5	156.7	
2′	109.9	109.9	
3′	157.3	157.4	
4′	105.0	105.3	6.35 (s)
5′	141.3	141.5	
6′	106.4	106.6	5.87 (s)
7′	167.0	167.4	
8′	52.4	52.4	3.91 (s)
9′	55.9	56.0	3.80 (s)
10′	22.1	22.1	2.18 (s)

[a] *Đo trong $CDCl_3$;* [b] *150 MHz;* [c] *600 MHz*

4.1.1.10. Hợp chất XT37.10: Chaetominine



Hình 4.52. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT37.10**

Hợp chất **XT37.10** thu được ở dạng bột màu trắng. Trên phổ ^{1}H NMR xuất hiện tín hiệu proton thơm của 2 hệ spin AA′BB′ tại δ_H 7.50 và 7.51 (d, *J* = 8.4 Hz, H-5 và H-8), 7.25 (t, *J* = 8.4 Hz, H-6) và 7.44 (td, *J* = 1.2, 8.4 Hz, H-7) và δ_H 8.18 và 7.70 (br d, *J* = 7.8 Hz, H-19 và H-22), 7.58 (t, *J* = 7.8 Hz, H-20) và 7.88 (td, *J* = 1.2, 7.8 Hz, H-21), cho thấy sự xuất hiện của 2 vòng benzene thế 1,2 (Bảng 4.10). Bên cạnh đó, tín hiệu của một proton olefin tại 8.23 (br s, H-25) cùng với tín hiệu doublet của một methyl bậc 2 tại 1.60 (d, 6.6, H-12) cũng được ghi nhận trên phổ ^{1}H NMR. Trên phổ ^{13}C NMR và HSQC ghi nhận tín hiệu của 22 carbon, bao gồm 3 carbonyl

carbon tại δ_C 172.0 (C-10), 165.5 (C-15) và 160.0 (C-17), 13 tín hiệu carbon sp^2 [trong đó có 4 carbon không liên kết với proton, 8 methine vòng thơm, và một methine liên kết với nitơ tại 146.9 (C-25)], và 6 carbon sp^3 (bao gồm một nhóm methyl, một methylene, 3 nhóm methine liên kết với Nitơ và một carbon không liên kết với proton) (Bảng 4.10). Các dữ kiện phổ này gợi ý **XT37.10** là một hợp chất thuộc nhóm quinazoline alkaloid [96]. Điều này được khẳng định bởi sự tương đồng khi so sánh dữ liệu phổ NMR của **XT37.10** với hợp chất quinazoline alkaloid đã biết là chaetominine [96]. Cuối cùng, các vị trí của **XT37.10** được khẳng định thông qua các phân tích chi tiết trên phổ HMBC (Hình 4.52), trong đó H-12 thể hiện tương tác tương tác với C-10 và C-11, H-13 tương tác với C-4, C14, và C-15, 3-OH tương tác với C-1, H-22 tương tác với C-23 và C-17 (Hình 4.52). Trên cơ sở các phân tích đã nêu, hợp chất **XT37.10** được xác định là chaetominine.

Bảng 4.10. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT37.10**

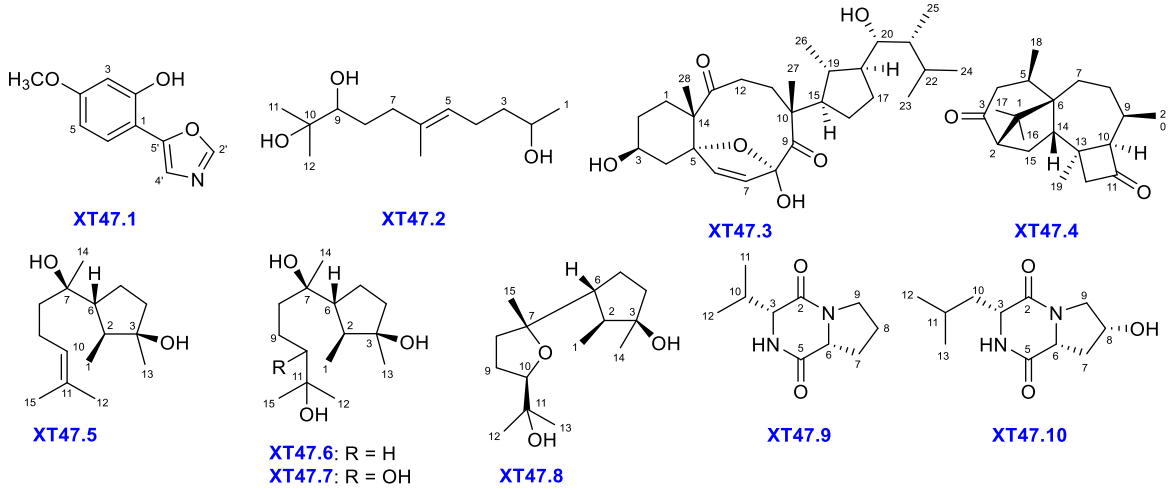
Vị trí	δ_C[a,[96]]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (***J*** **= Hz)**
2	83.0	82.5	5.60 (s)
3	76.8	76.3	
4	137.2	136.7	
5	125.4	124.8	7.50 (d, 8.4)
6	126.0	125.4	7.25 (t, 8.4)
7	130.4	129.8	7.44 (td, 1.2, 8.4)
8	115.0	114.4	7.51 (d, 8.4)
9	137.2	138.7	
10	172.5	172.0	
11	60.1	59.5	4.61 (q, 7.2)
12	14.5	13.9	1.60 (d, 6.6)
13	38.6	38.0*	2.93 (t, 12.6) 2.50 (m)
14	50.9	50.0*	5.92 (br)
15	165.9	165.5*	
17	160.5	160.0	
18	121.6	121.0*	
19	126.9	126.4	8.18 (br d, 7.8)
20	127.8	127.2	7.58 (t, 7.8)
21	135.2	134.6	7.88 (td, 1.2, 7.8)
22	127.7	127.2	7.70 (br d, 7.8)
23	147.2	147.4	
25	147.9	146.9	8.23 (br s)
3-OH	6.70 (s)		6.68 (br s)

[a] Đo trong DMSO-d_6; [b] 150 MHz; [c] 600 MHz;
** tín hiệu cường độ thấp được khẳng định bằng phổ 2D NMR*

4.1.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ chủng Trichoderma sp. GXT-22.1

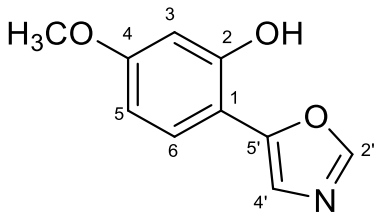
Cấu trúc hóa học của các hợp chất **XT47.1–XT47.10** được xác định bằng các phương pháp phân tích phổ kết hợp, bao gồm phổ NMR, HRESIMS, kết hợp với so sánh với tài liệu tham khảo. Kết quả đã xác định được 2 hợp chất mới: 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole (**XT47.1**) và (*E*)-6,10-dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol (**XT47.2**) và 8 hợp chất đã biết: tricholumin A (**XT47.3**) [97], harzianol J (**XT47.4**) [98], cyclonerodiol (**XT47.5**) [99], 10,11-dihydro-11-hydroxycyclonerodiol (**XT47.6**) [100], cyclonerodiol B (**XT47.7**) [101], epicyclonerodiol oxide (**XT47.8**) [102], cyclo(Val-Pro) (**XT47.9**) [103] và cyclo-(4-hydroxyprolinyl-leucine) (**XT47.10**) [104] (Hình 4.53).

Các nghiên cứu hóa học cho thấy *E. agallocha* chứa nhiều nhóm hợp chất thứ cấp đa dạng, bao gồm polyphenol, terpenoid, flavonoid, sterol, diterpenoid, triterpenoid và các hợp chất dễ bay hơi. Cho đến nay, gần 20 hợp chất polyphenol, 15 terpenoid cùng hơn 50 hợp chất dễ bay hơi đã được phân lập và xác định từ lá, thân, rễ và nhựa mủ của loài này [105]. Từ sinh khối các chủng vi nấm liên kết với cây *E. agallocha*, nhiều hợp chất thuộc các nhóm polyphenol, sesquiterpene, polyketide đã được công bố [58-60]; tuy nhiên, đây là lần đầu tiên các hợp chất **XT47.1-XT47.10** được phát hiện từ vi nấm từ cây *E. agallocha* cũng như từ thực vật chủ.



Hình 4.53. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập từ chủng *Trichoderma* sp. GXT-22.1

4.1.2.1. Hợp chất XT47.1: 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole (chất mới)



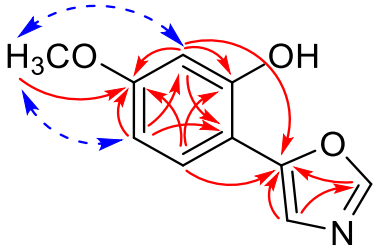
Hình 4.54. Cấu trúc hóa học của hợp chất **XT47.1**

Hợp chất **XT47.1** thu được dưới dạng bột màu trắng. Trên phổ HRESIMS ghi nhận tín hiệu ion phân tử $[M+H]^+$ tại *m/z* 192.0651 (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{10}H_{10}NO_3$, 192.0661), tương ứng với công thức phân tử $C_{10}H_9NO_3$ và 7 độ bất bão hòa (Hình 4.56). Trên phổ ^{1}H NMR, các tín hiệu proton vòng thơm đặc trưng của hệ spin ABX được ghi nhận tại δ_H 6.52 (d, J = 2.4 Hz, H-3), 6.55 (dd, J = 2.4, 8.4 Hz, H-5), và 7.62 (d, J = 8.4 Hz, H-6) (Bảng 4.11). Ngoài ra, phổ này còn ghi nhận hai tín hiệu olefinic singlet tại δ_H 8.14 (H-2′) và 7.43 (H-4′), cùng một nhóm methoxy tại δH 3.80 (s). Phân tích kết hợp các phổ ^{13}C NMR và HSQC ghi nhận 10 nguyên tử carbon, trong đó có sáu carbon của vòng benzene, bao gồm hai carbon không liên kết với proton mang oxy tại δ_C 156.7 (C-2) và 162.5 (C-4), cùng với một carbon không liên kết với proton khác tại δC 109.6 (C-1), gợi ý sự hiện diện của vòng benzene thế 1,2,4 (Bảng 4.11). Dựa trên tín hiệu tương tác HMBC từ δ_H 3.80 đến δ_C 162.5 (C-4) và tương tác NOE từ δ_H 3.80 đến H-3 và H-5, vị trí của nhóm methoxy được xác định tại C-4 (Hình 4.55). Ngoài ra, trong số 3 carbon olefin còn lại, bao gồm hai carbon methine tại δ_C 150.8 (C-2′) và 123.1 (C-4′) và một carbon không mang proton tại δ_C 150.5 (C-5′), kết hợp với 3 độ bất bão hòa còn lại, gợi ý sự có mặt của một vòng oxazole trong phân tử. Điều này được củng cố thông qua so sánh dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất **XT47.1** với một số dẫn xuất oxazole tổng hợp đã biết [106] cùng với các tương tác từ δ_H 8.14 (H-2′) đến δ_C 123.1 (C-4′) và 150.5 (C-5′) trên phổ HMBC (Hình 4.55). Ngoài ra, tương tác HMBC từ H-3 và H-6 đến C-5′ giúp xác nhận vị trí của vòng oxazole gắn tại C-1 của vòng benzene. Trên cơ sở các phân tích trên, cấu trúc của hợp chất **XT47.1** được xác định là 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole. Đáng chú ý, dạng khung cấu trúc oxazole là đặc điểm hiếm gặp trong số các chất chuyển hóa từ vi nấm khi chỉ một số ít hợp chất có chứa nhóm này đã được báo cáo cho đến nay [107-109].

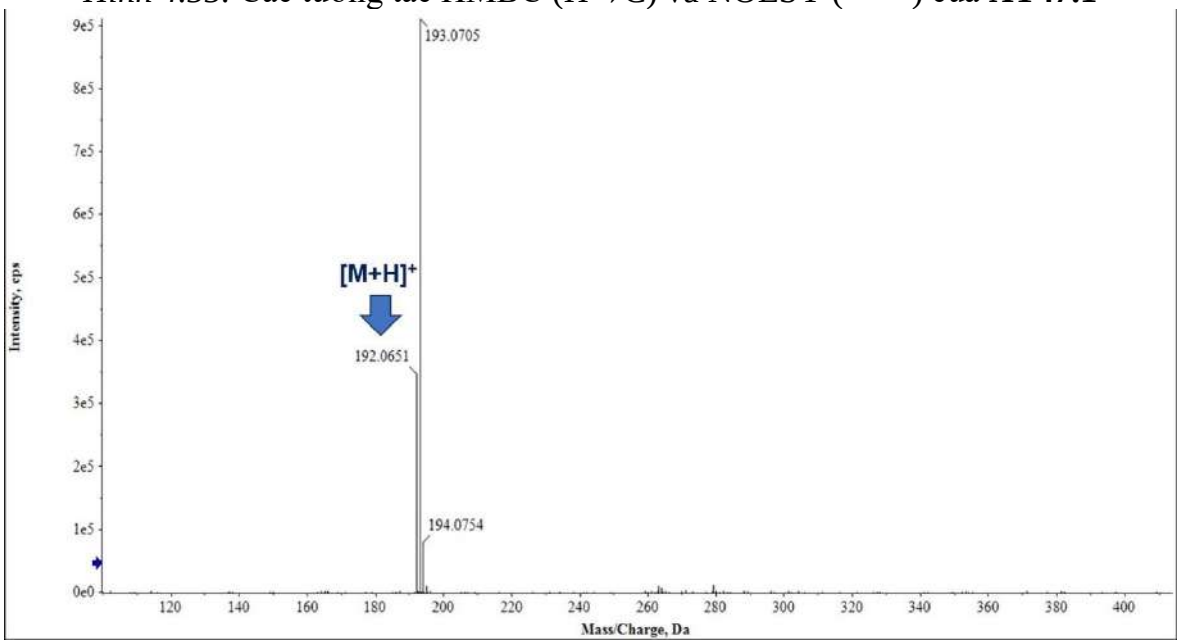
Bảng 4.11. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT47.1**

Vị trí	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (*J* = Hz)
1	109.6	
2	156.7	
3	102.4	6.52 (d, 2.4)
4	162.5	
5	106.7	6.55 (dd, 2.4. 8.4)
6	127.8	7.62 (d, 8.4)
2′	150.8	8.14 (s)
4′	123.1	7.43 (s)
5′	150.5	
4-OCH_3	55.7	3.80 (s)

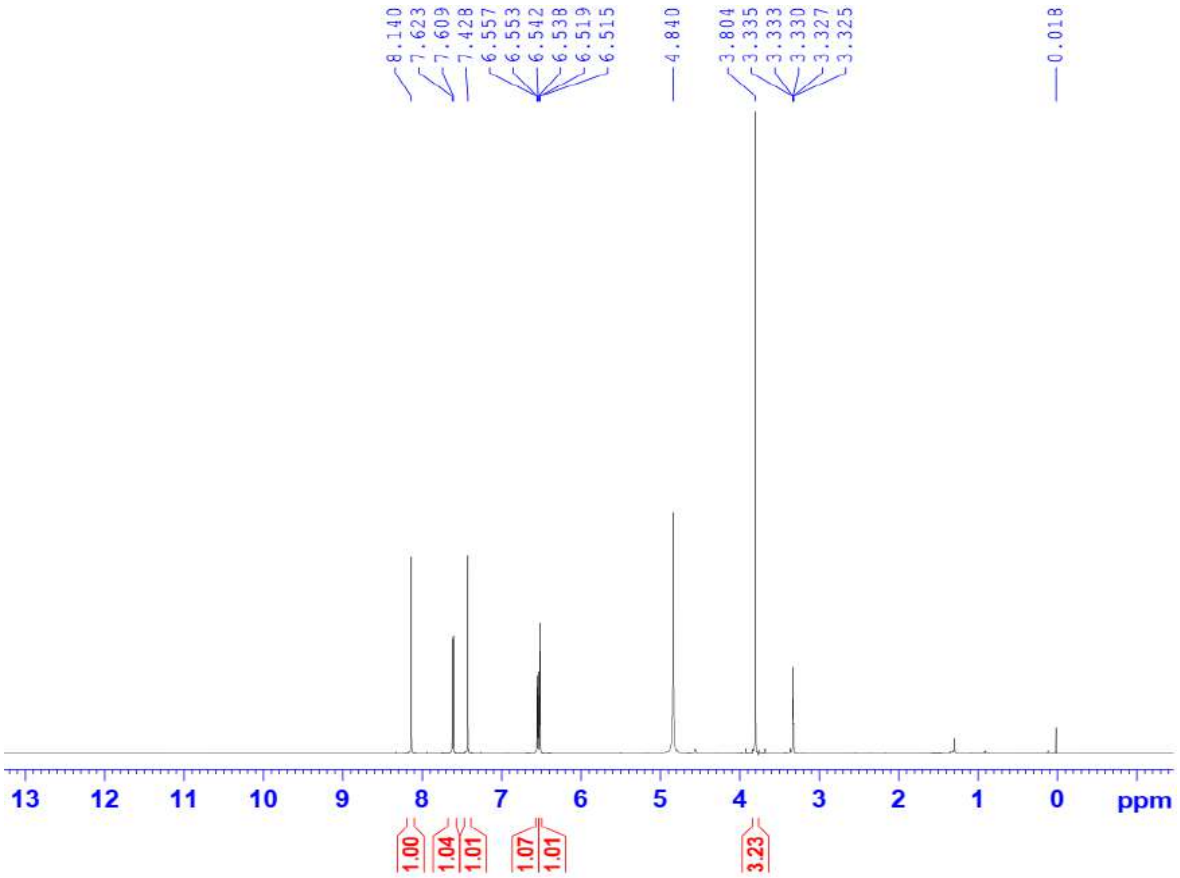
[a] *Đo trong CD_3OD;* [b] *150 MHz;* [c] *600 MHz*



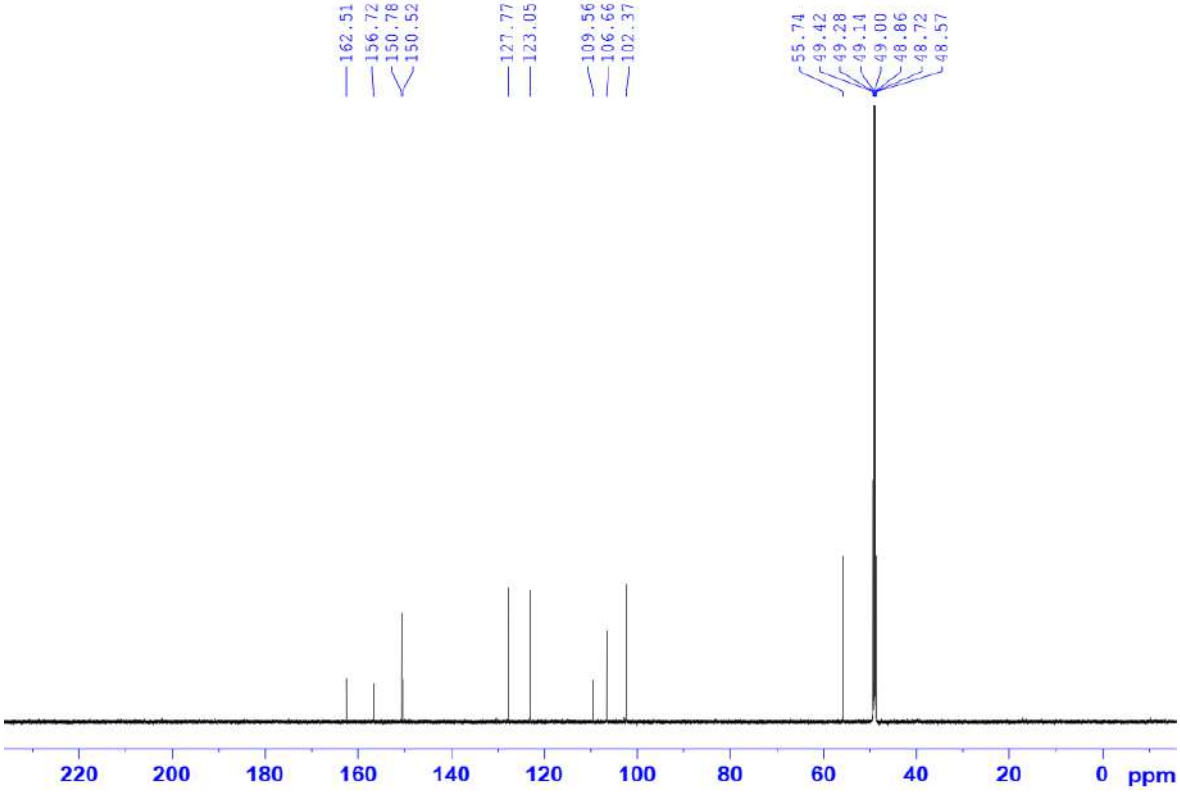
Hình 4.55. Các tương tác HMBC (H→C) và NOESY (◄···►) của **XT47.1**



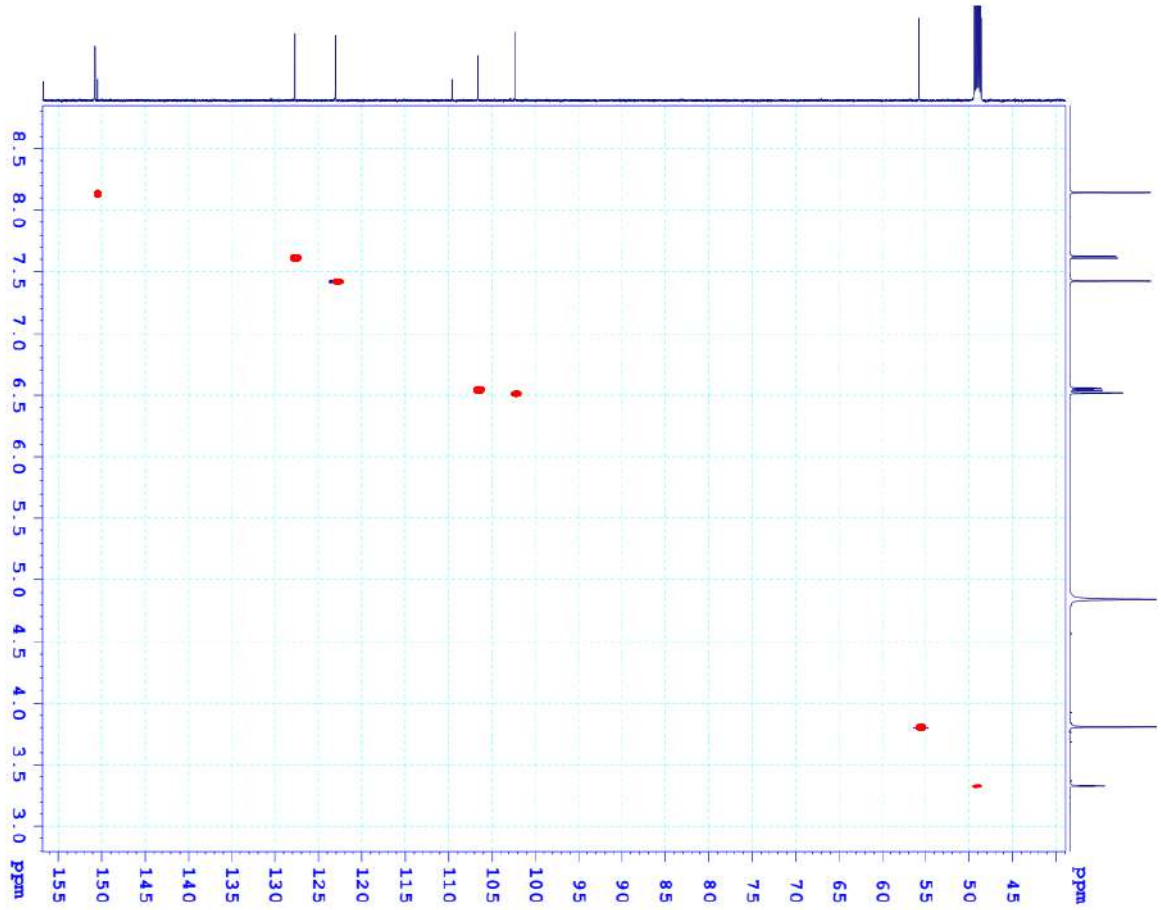
Hình 4.56. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **XT47.1**



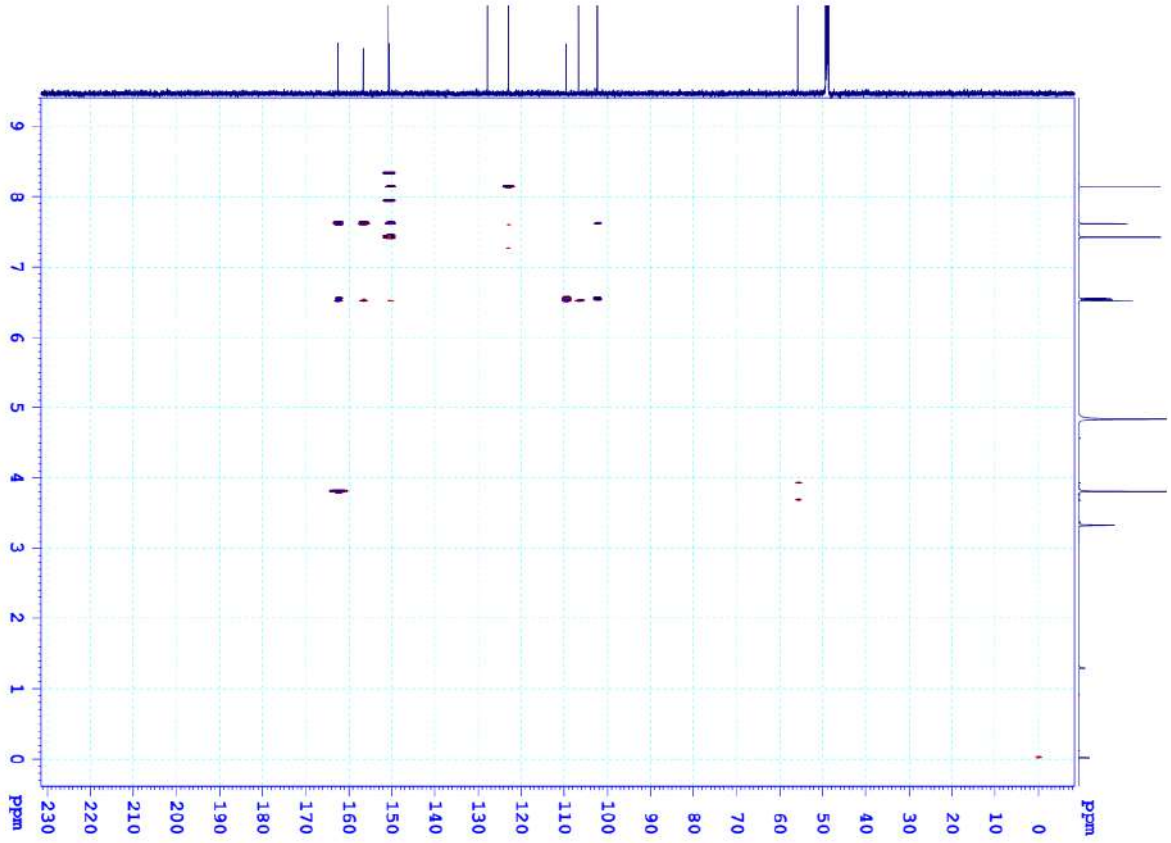
Hình 4.57. Phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT47.1**



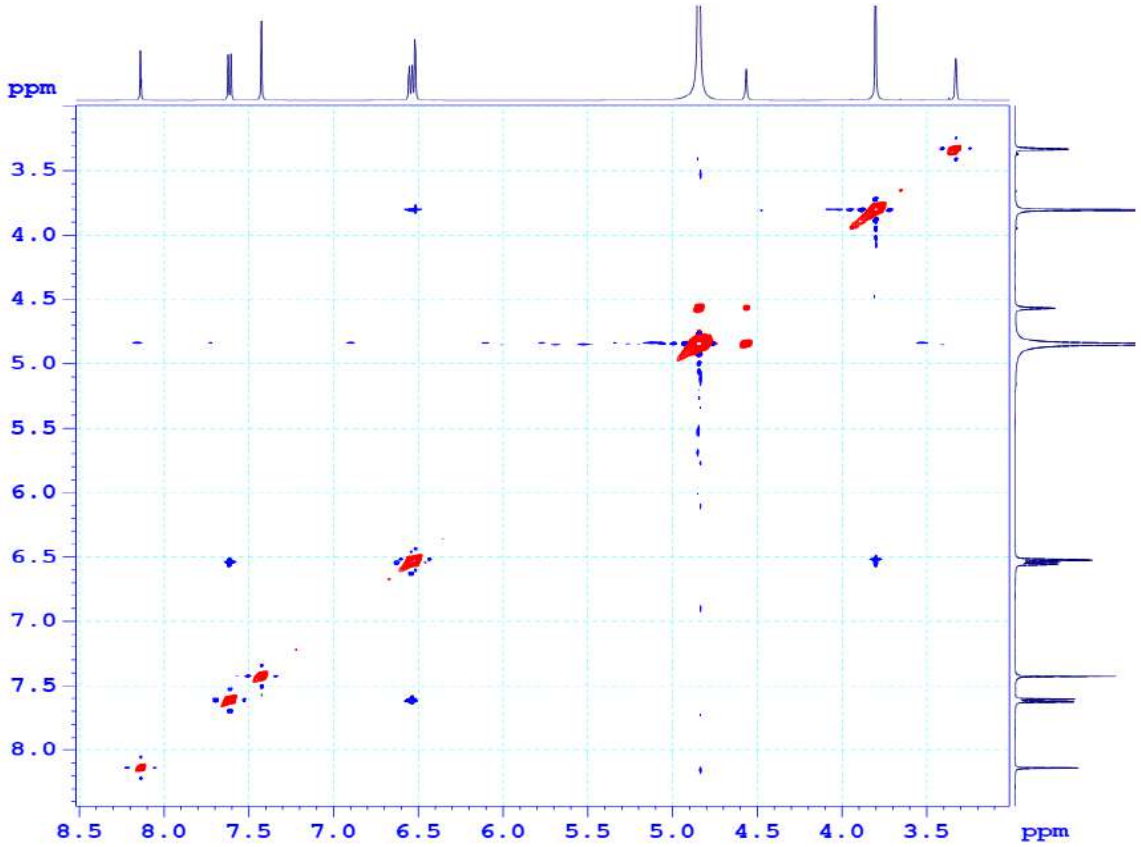
Hình 4.58. Phổ ^{13}C (CD_3OD, 150 MHz) của hợp chất **XT47.1**



Hình 4.59. Phổ HSQC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT47.1**

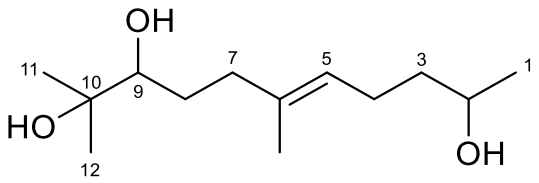


Hình 4.60. Phổ HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT47.1**



Hình 4.61. Phổ NOESY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT47.1**

4.1.2.2. Hợp chất XT47.2: (E)-6,10-Dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol (hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên)



Hình 4.62. Cấu trúc hóa học của hợp chất **XT47.2**

Hợp chất **XT47.2** thu được dưới dạng dầu không màu. Trên phổ HRESIMS ghi nhận tín hiệu ion $[M+Na]^+$ tại *m/z* 253.1764 (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử: $C_{13}H_{26}O_3Na$ là 253.1780), tương ứng với công thức phân tử $C_{13}H_{26}O_3$ (Hình 4.64). Phổ ^1H NMR ghi nhận tín hiệu của một proton olefin tại δ_H 5.23 (td, J = 1.2, 7.2 Hz, H-5), hai nhóm oxymethine tại δ_H 3.74 (m, H-2) và 3.26 (dd, J = 1.8, 10.8 Hz, H-9), cùng bốn nhóm methyl tại δ_H 1.17 (d, J = 6.6 Hz, H-1) và δ_H 1.18, 1.15, và 1.66 (s, H-11, H-12 và H-13) (Bảng 4.12). Phân tích phổ ^{13}C NMR và HSQC cho thấy có hai carbon sp^2 tại δ_C 125.5 (C-5) và 136.3 (C-6) và 11 carbon sp^3, bao gồm một carbon không liên kết với proton mang oxy tại δ_C 73.7 (C-10), hai nhóm

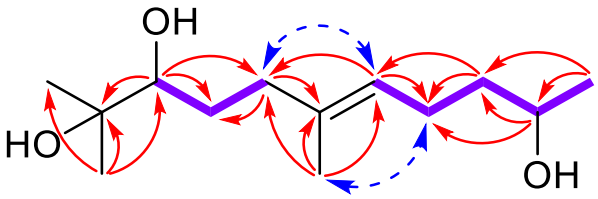
oxymethine tại δ_C 68.1 (C-2) và 79.0 (C-9), bốn nhóm methylene và bốn nhóm methyl (Bảng 4.12). Những dữ liệu này cho dự đoán hợp chất **XT47.2** là một terpenoid mạch hở [110]. Dựa trên phân tích phổ COSY và HSQC, các mảnh cấu trúc phân tử từ C-1 đến C-5 và từ C-7 đến C-9 được thiết lập (Hình 4.63). Trên cơ sở các tương tác phổ HMBC quan sát được từ H-13 đến C-5, C-6 và C-7, vị trí của liên kết đôi tại C-4 được xác định (Hình 4.63). Vị trí của ba nhóm oxymethine tại C-2, C-9 và C-10 được xác định thông qua các tương tác HMBC lần lượt từ H-1 đến C-2 và từ H-11 và H-12 đến C-9 và C-10. Cấu hình hình học dạng *E* của liên kết đôi được khẳng định bởi các tương tác NOE giữa H-5 và H-7 và giữa H-13 và H-4 (Hình 4.63). Từ những phân tích phổ đã nêu trên, cấu trúc của chất **XT47.2** được xác định là (*E*)-6,10-dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol. Hợp chất này được công bố là một sản phẩm được tổng hợp từ geranylacetone thông qua chuyển hóa với sự xúc tác của các enzyme ở vi sinh vật [110]. Như vậy, đây là lần đầu tiên phân lập được hợp chất này từ nguồn thiên nhiên. Cấu hình tương đối tại C-9 được xác định là S^* thông qua so sánh giá trị độ quay cực riêng ($[\alpha]_D$) tính toán lý thuyết (giá trị tính toán cho đồng phân 2*R*9*S* là +11.25 và đồng phân 2*S*9*S* là +5.49) với giá trị thực nghiệm (+19.5) và với đồng phân đã biết [111]. Tuy nhiên cấu hình tương đối tại vị trí C-2 vẫn chưa được xác định.

Bảng 4.12. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT47.2**

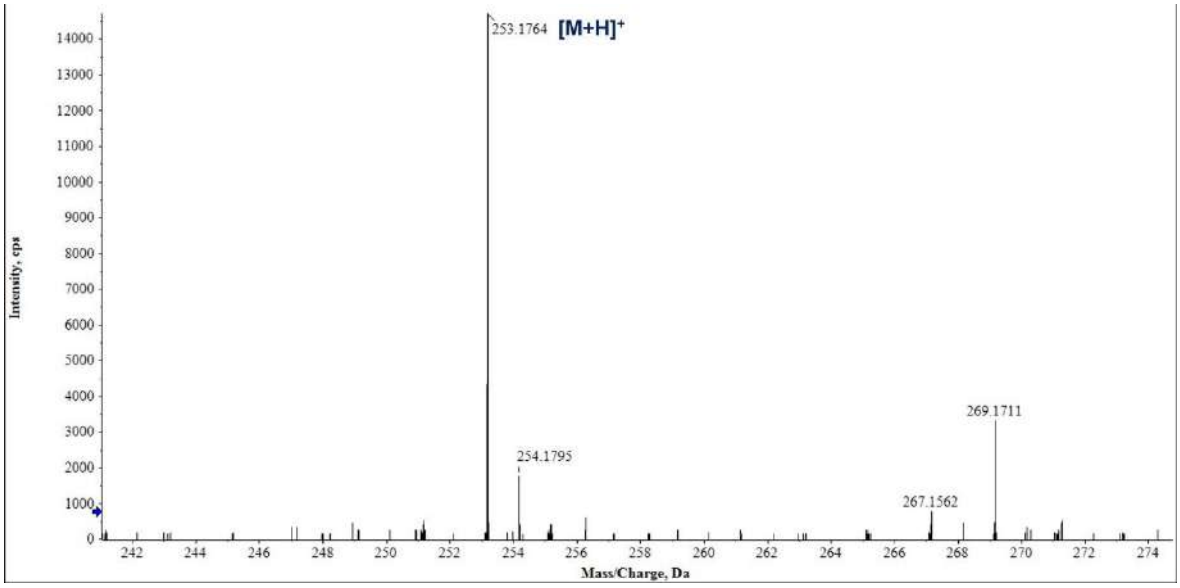
Vị trí	$\delta_C^{\#}$	δ_C^{a}	δ_H^{a} (***J*** **= Hz)**
1	23.35	23.4	1.17 (d, 6.6)
2	67.81	68.1	3.74 (m)
3	38.97	40.2	1.50 (m) 1.45 (m)
4	24.35	25.3	2.10 (m)
5	124.68	125.5	5.23 (td, 1.2, 7.2)
6	135.27	136.3	
7	36.68	37.8	2.27 (m) 2.04 (m)
8	29.60	30.8	1.73 (m) 1.38 (m)
9	73.01	79.0	3.26 (dd, 1.8, 10.8)
10	77.98	73.7	
11	26.31	25.6	1.18 (s)
12	23.15	24.9	1.15 (s)
13	15.84	16.1	1.66 (s)

[a] Đo trong CD_3OD; [b] 150 MHz; [c] 600 MHz

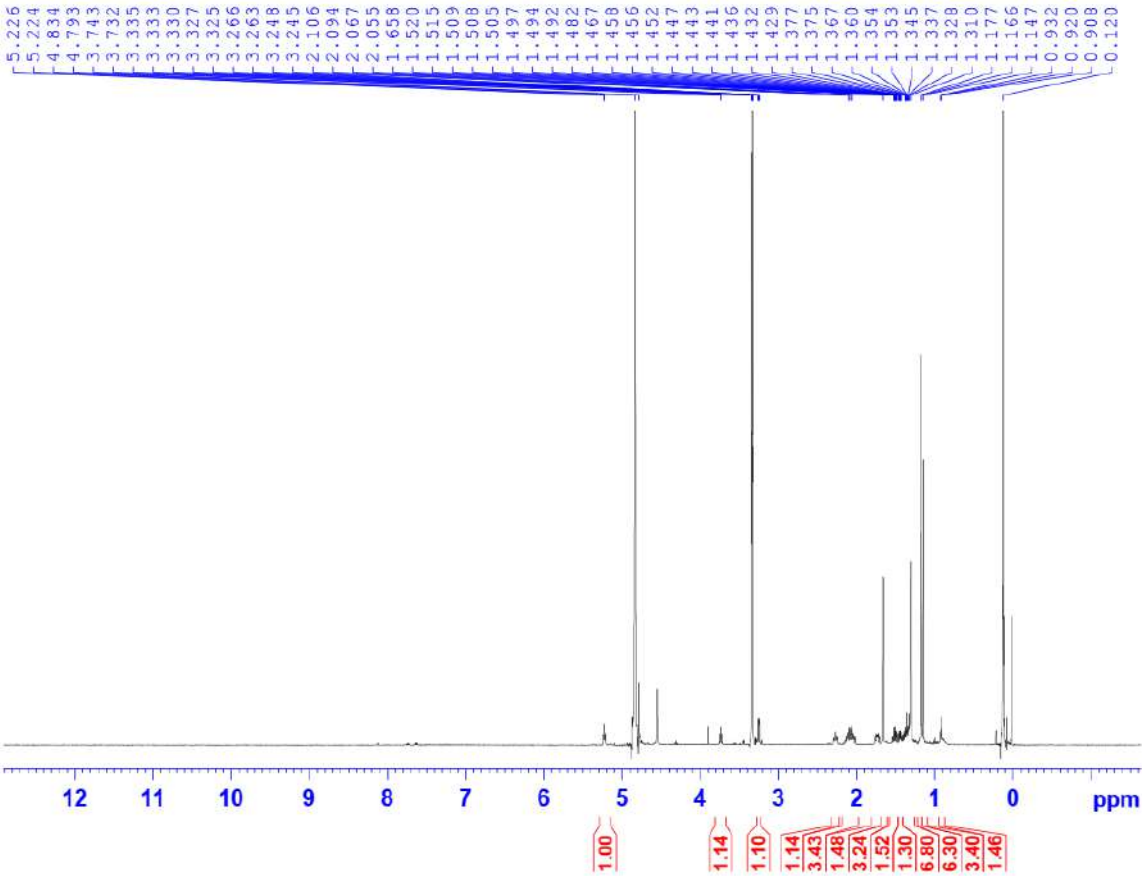
$\delta_C^{\#}$ của hợp chất tham khảo đo trong $CDCl_3$ [110]



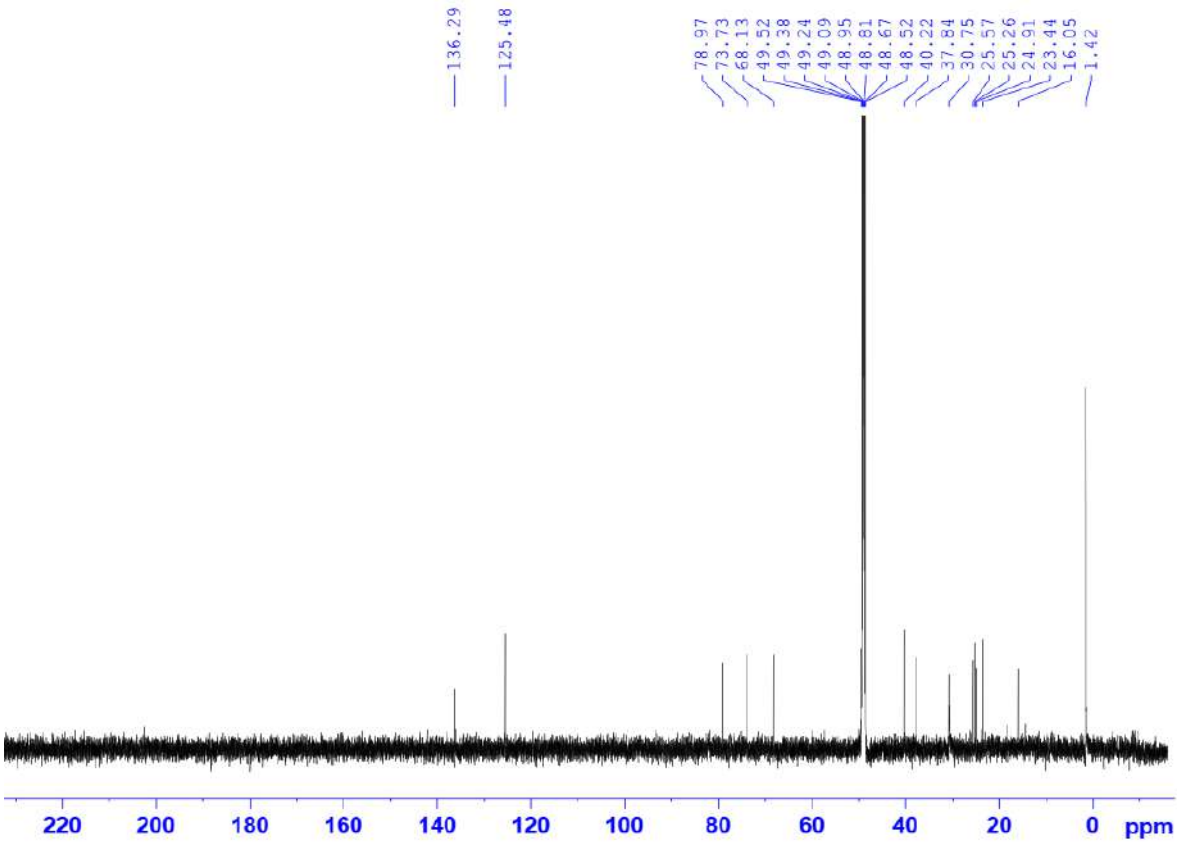
Hình 4.63. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của **XT47.2**



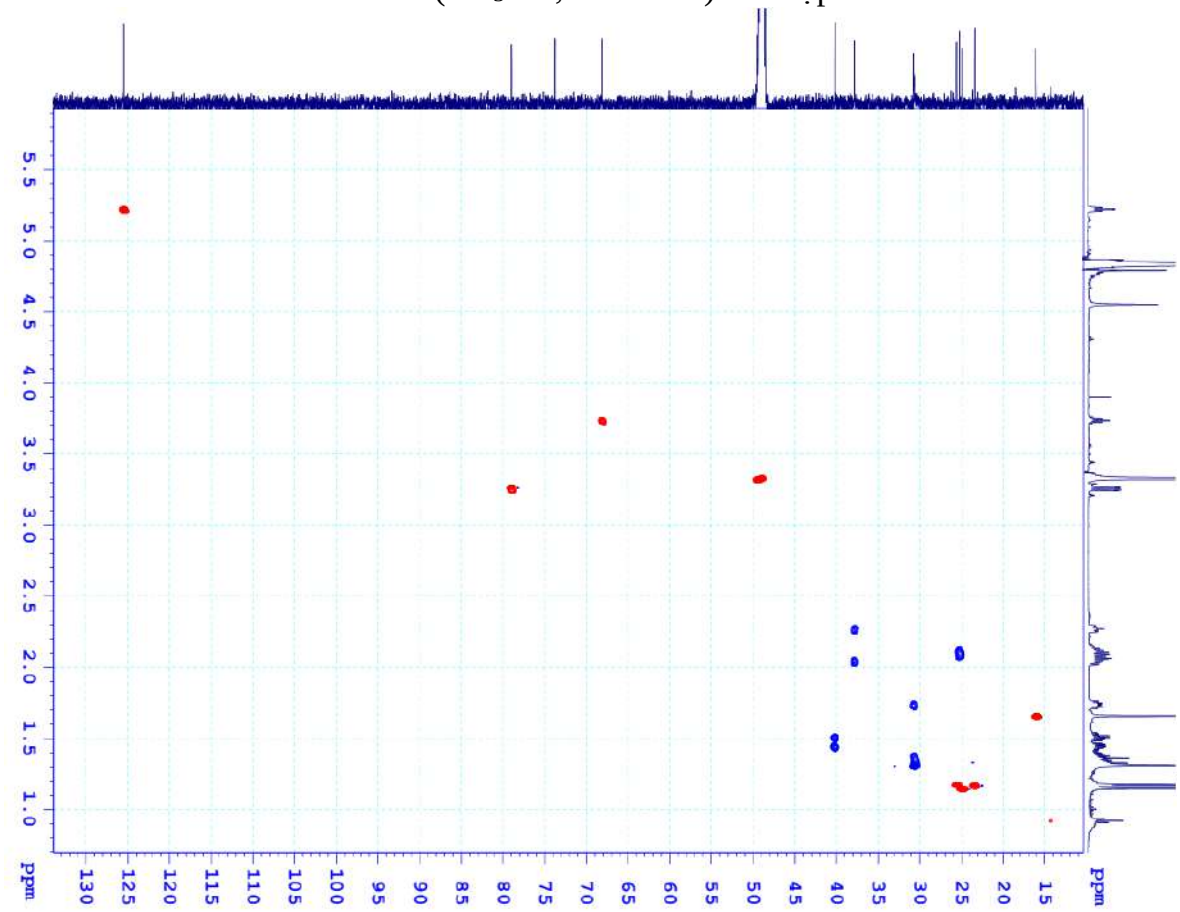
Hình 4.64. Phổ HR-ESI-MS của hợp chất **XT47.2**



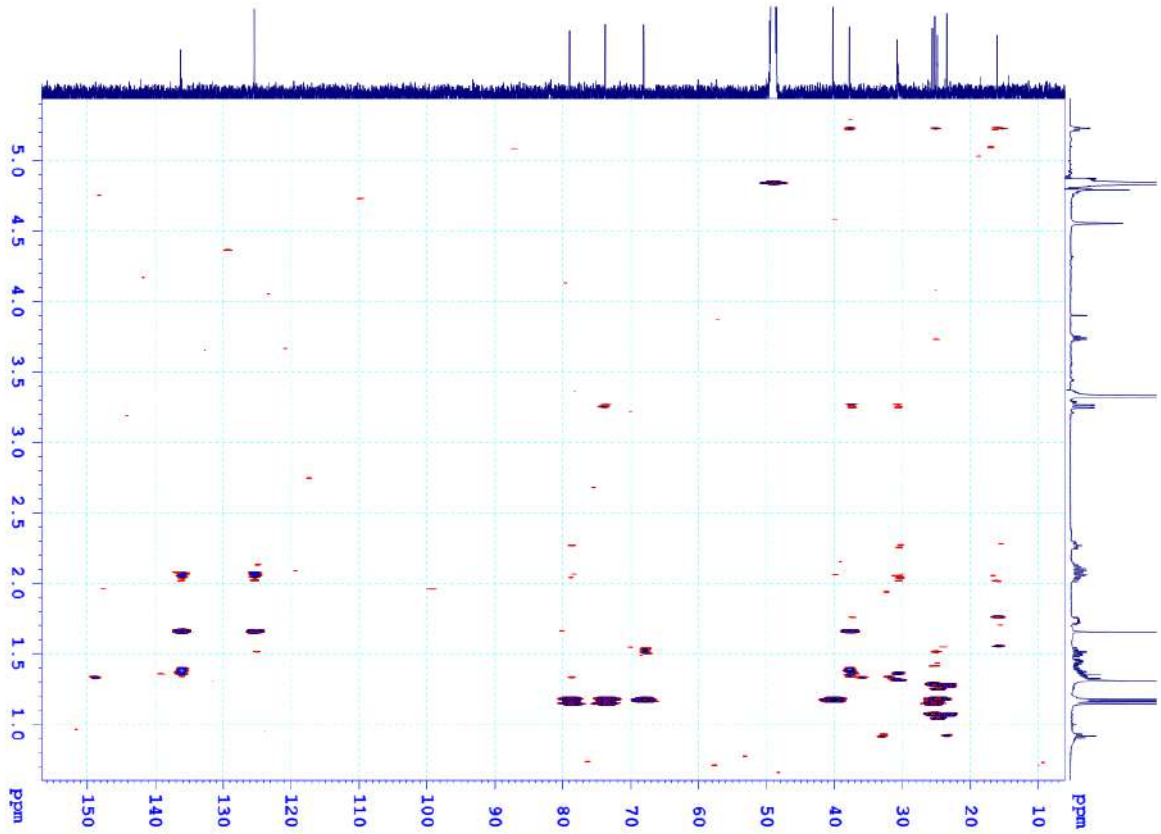
Hình 4.65. Phổ ^{1}H NMR (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT47.2**



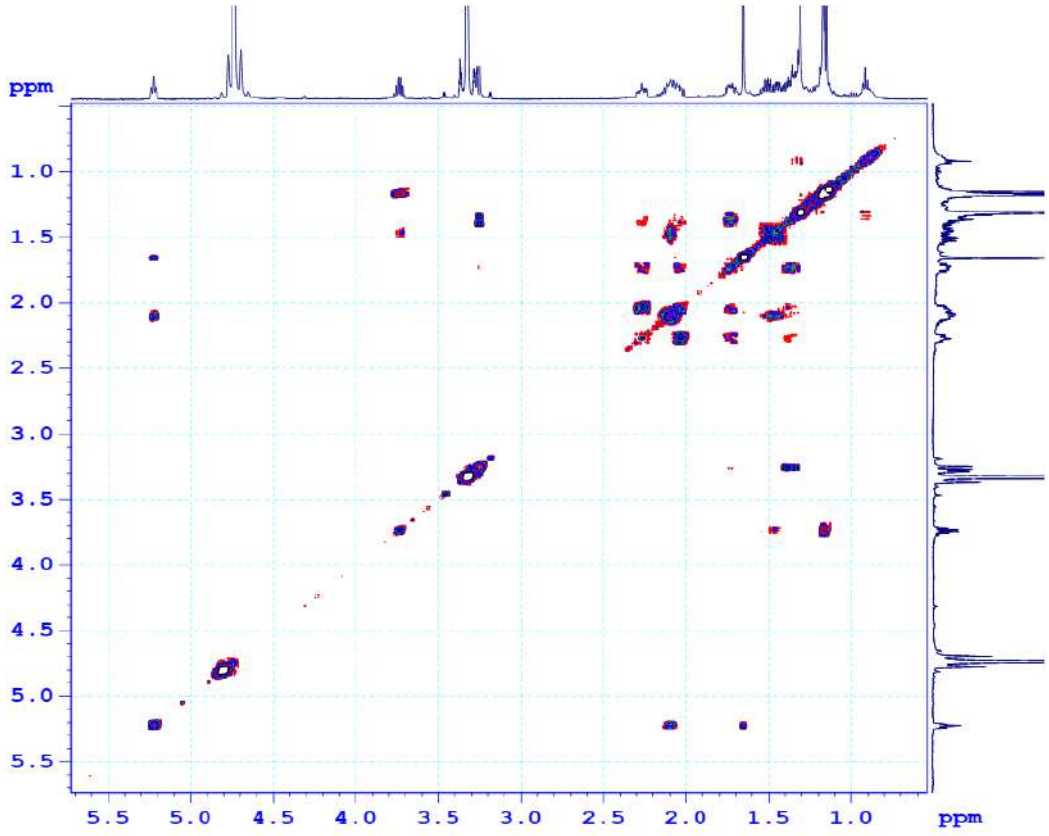
Hình 4.66. Phổ ^{13}C (CD_3OD, 150 MHz) của hợp chất **XT47.2**



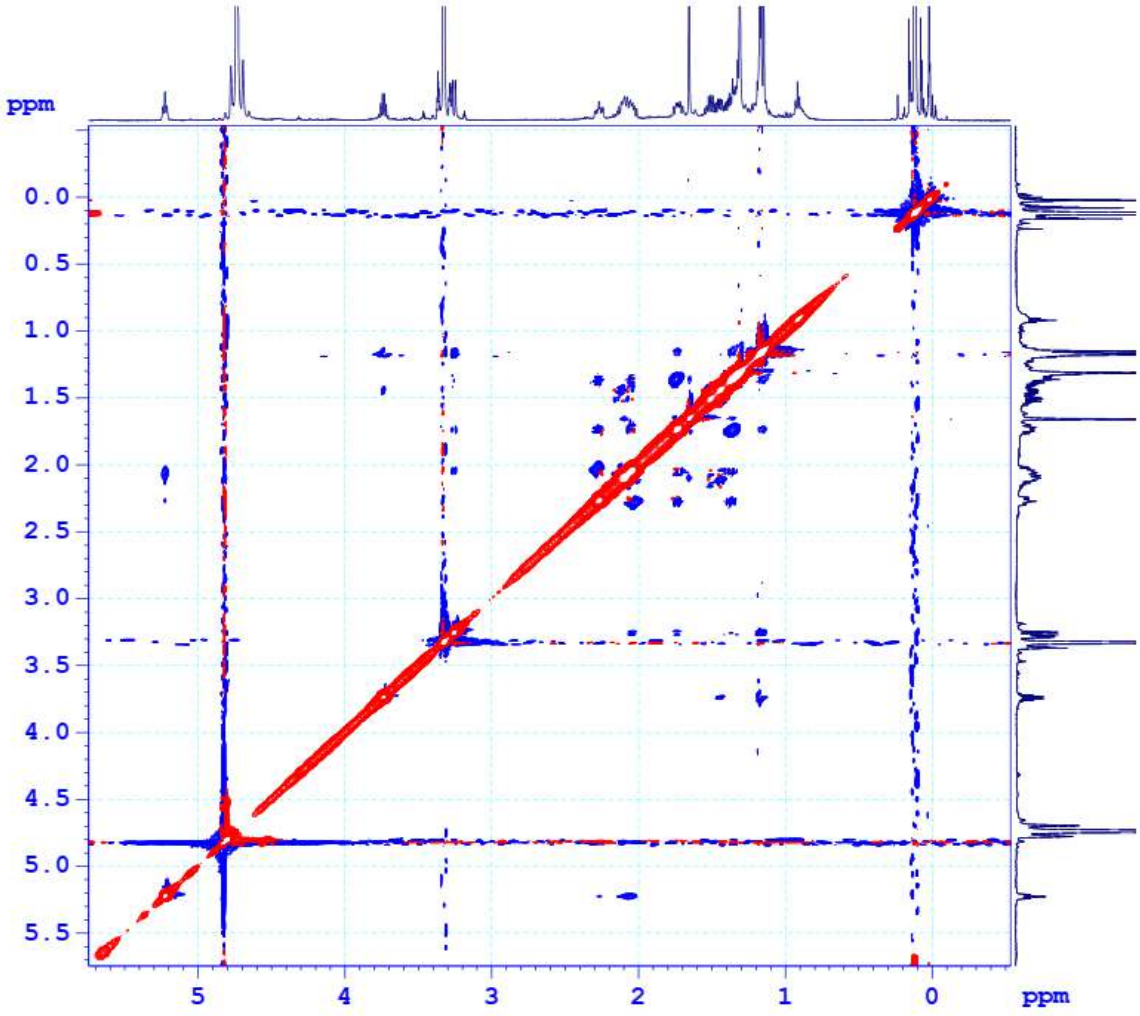
Hình 4.67. Phổ HSQC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT47.2**



Hình 4.68. Phổ HMBC (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT47.2**

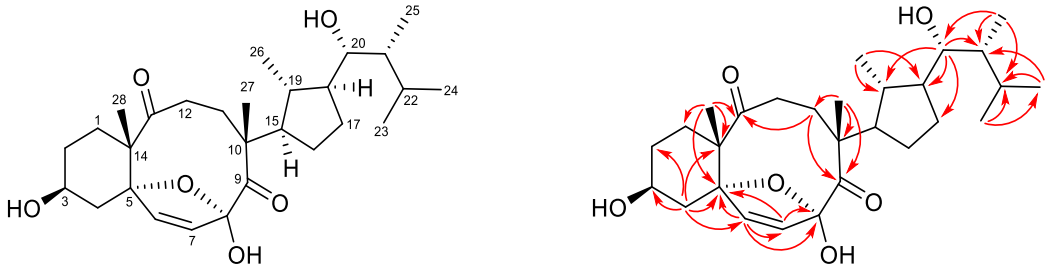


Hình 4.69. Phổ COSY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT47.2**



Hình 4.70. Phổ NOESY (CD_3OD, 600 MHz) của hợp chất **XT47.2**

4.1.2.3. Hợp chất XT47.3: Tricholumin A



Hình 4.71. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT47.3**

Hợp chất **XT47.3** thu được ở dạng bột màu trắng. Trên phổ ESIMS ghi nhận tín hiệu ion giả phân tử $[M+Na]^+$ tại *m/z* 499.3 và $[M+Cl]^-$ tại *m/z* 511.1, tương ứng với công thức phân tử $C_{28}H_{44}O_6$, với 7 độ bất bão hòa. Phổ ^1H NMR ghi nhận tín hiệu của 2 proton olefin tại δ_H 6.05 và 5.94 (d, J = 6.0 Hz, H-6 và H-7), gợi ý sự xuất hiện của một nối đôi nội vòng thế 2 vị trí (Bảng 4.13). Ngoài ra, các tín hiệu proton singlet của 2 nhóm methyl bậc 3 tại δ_H 1.00 (H-27) và 1.13 (H-28), và 4 nhóm methyl bậc 2

tại δ_H 0.84, 0.95, 0.84 (d, *J* = 7.2 Hz, H-23, H-24, và H-25) và 1.31 (d, *J* = 6.6 Hz, H-26), và vùng tín hiệu của các aliphatic proton. Phân tích kết hợp các phổ ^{13}C NMR và HSQC ghi nhận tín hiệu của 27 carbon, trong đó có 2 carbon carbonyl tại δ_C 211.8 (C-9) và 215.3 (C-13), 2 carbon sp^2 của một nối đôi, và 19 carbon sp^3, trong đó có 6 nhóm methyl, 7 nhóm methylene, 7 nhóm methine [trong đó có 2 nhóm gắn với oxy có độ dịch chuyển hóa học ở phía trường thấp tại δ_C 67.8 (C-3) và 78.3 (C-20)], và 4 carbon không liên kết với proton (Bảng 4.13). Đáng chú ý, trong số các carbon không liên kết với proton có 2 carbon có độ dịch chuyển hóa học nằm xa ở vùng trường thấp tại δ_C 97.2 (C-5) và 113.9 (C-8), cho dự đoán 2 vị trí này có sự ảnh hưởng của nối đôi và nhóm carbonyl liền kề. Điều này được khẳng định bởi các tương tác HMBC từ 2 proton olefin H-6 và H-7 đến C-5 và C-8 (Hình 4.71). Các dữ kiện phổ này gợi ý hợp chất này thuộc nhóm terpenoid. Tiến hành so sánh số liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất terpenoid đã công bố cho kết quả phù hợp hoàn toàn, cho thấy sự tương đồng về cấu trúc hóa học của 2 hợp chất [97]. Sự quy kết các vị trí được khẳng định thêm bởi phân tích chi tiết các tương tác trên phổ HMBC (Hình 4.71). Trên cơ sở các phân tích phổ nêu trên, hợp chất **XT47.3** được xác định là tricholumin A. Đáng chú ý, cấu trúc của hợp chất này đã được công bố là có dạng khung carbon chưa từng có tiền lệ [97]. Bên cạnh đó, hợp chất này cũng rất hiếm gặp khi chưa có phát hiện nào khác kể từ khi lần đầu tiên được công bố cho đến nay.

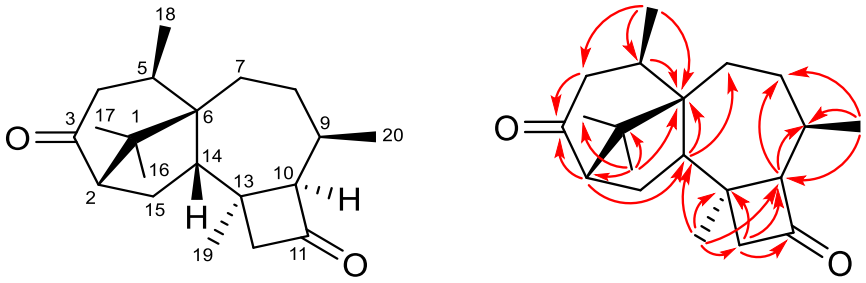
Bảng 4.13. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT47.3**

Vị trí	δ_C[a, [97]]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (*J* = Hz)
1	32.2	32.2	2.70 (td, 3.6, 13.8) 1.87 (m)
2	31.1	31.1	3.01 (m) 1.52 (m)
3	67.8	67.8	4.02 (m)
4	43.9	43.9	1.94 (ddd, 1.8, 4.2, 13.2) 1.85 (m)
5	97.2	97.2	
6	136.1	136.1	6.05 (d, 5.4)
7	130.9	130.9	5.94 (d, 6.0)
8	113.9	113.9	
9	211.8	211.8	
10	56.2	56.2	
11	36.3	36.3	2.19 (m) 1.83 (m)

12	n.d.	n.d.	2.97 (br) 2.58 (br)
13	215.3	215.3	
14	55.6	55.6	
15	n.d.	n.d.	n.d.
16	29.4	29.4	1.68 (m) 1.27 (m)
17	32.4	32.4	1.54 (m) 1.42 (m)
18	52.9	52.9	1.80 (m)
19	36.9	36.9	2.03 (m)
20	78.3	78.3	3.37 (m)
21	43.3	43.3	1.45 (m)
22	27.7	27.7	2.15 (m)
23	16.6	16.6	0.84 (d. 7.2)
24	22.7	22.7	0.95 (d. 7.2)
25	11.1	11.1	0.84 (d. 7.2)
26	25.6	25.6	1.31 (d. 6.6)
27	17.5	17.5	1.00 (s)
28	19.9	19.9	1.13 (s)

[a] Đo trong CD_3OD; [b] 150 MHz; [c] 600 MHz
n.d.: tín hiệu không xuất hiện trên phổ

4.1.2.4. Hợp chất XT47.4: Harzianol J



Hình 4.72. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT47.4**

Hợp chất **XT47.4** thu được dưới dạng bột màu trắng. Trên phổ ^{1}H NMR ghi nhận tín hiệu proton singlet của 3 nhóm methyl tại δ_H 1.11 (H-16), 0.99 (H-17) và 1.43 (H-19), và 2 nhóm methyl bậc 2 tại δ_H 1.16 và 1.18 (d, J = 7.2 Hz, H-18 và H-20), và vùng tín hiệu của các aliphatic proton (Bảng 4.14). Phân tích kết hợp các phổ ^{13}C NMR và HSQC cho thấy sự xuất hiện của dạng khung diterpenoid, với sự ghi nhận của 20 tín hiệu carbon, trong đó có 2 carbon carbonyl tại δ_C 217.8 (C-3) và 214.2 (C-11), và 18 carbon sp^3 (Bảng 4.14). Trong số các carbon sp^3, có 5 nhóm methyl, 5 nhóm methylene, 6 nhóm methine, và 2 carbon không liên kết với proton. Tiến hành so sánh số liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất diterpenoid khung harziane đã biết cho kết quả hoàn toàn tương đồng, cho thấy sự tương đồng về cấu

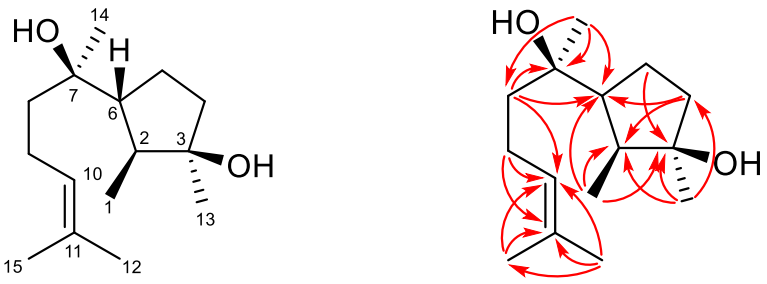
trúc hóa học của 2 hợp chất [98]. Hơn nữa, các vị trí được khẳng định bởi các các tương tác ghi nhận trên phổ HMBC, trong đó H-18 tương tác với C-4, C-5, và C-6, H-19 tương tác với C-10, C-12, C-13, và C-14, H-20 tương tác với C-8, C-9, và C-10, trong khi H-16 tương tác với C-1, C-2, C-6, và C-17 (Hình 4.72). Như vậy, hợp chất **XT47.4** được xác định là harzianol J.

Bảng 4.14. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT47.4**

Vị trí	δ_C[a, [98]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (*J* = Hz)
1	48.7	49.9	
2	60.9	62.5	2.23 (d, 7.8)
3	214.6	217.8	
4	43.0	44.2	2.98 (dd, 11.4, 19.2) 2.10 (br d, 19.2)
5	30.0	31.4	2.58 (m)
6	52.0	53.3	
7	25.5	26.5	1.84 (m) 1.75 (m)
8	29.1	30.2	1.80 (m) 1.73 (m)
9	31.8	33.3	2.40 (m)
10	73.9	75.1	3.15 (td, 2.4, 6.0)
11	211.7	214.2	
12	63.8	64.4	2.86 (dd, 1.2, 16.8) 2.65 (dd, 6.6, 16.8)
13	35.0	36.0	
14	52.3	53.4	3.08 (dd, 7.8, 11.4)
15	26.6	27.4	2.16 (m) 1.65 (dd, 7.8, 14.4)
16	25.1	25.4	1.11 (s)
17	23.0	23.5	0.99 (s)
18	20.8	21.1	1.16 (d, 7.2)
19	26.0	26.4	1.43 (s)
20	16.8	17.1	1.18 (d, 7.2)

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b] CD_3OD, [c] 150 MHz, [d] 600 MHz

4.1.2.5. Hợp chất XT47.5: Cyclonerodiol



Hình 4.73. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT47.5**

Hợp chất **XT47.5** thu được ở dạng dầu không màu. Trên phổ ^{1}H NMR ghi nhận tín hiệu của một proton olefin tại δ_H 5.14 (br t, J = 7.2 Hz, H-10), gợi ý sự xuất hiện của một nối đôi nội vòng thế 3 vị trí (Bảng 4.15). Ngoài ra, tín hiệu proton singlet của 4 nhóm methyl tại δ_H 1.70 (H-12), 1.25 (H-13), 1.15 (H-14), và 1.64 (H-15) và một nhóm methyl bậc 2 tại δ_H 1.05 (d, J = 6.6 Hz, H-1), và vùng tín hiệu của các aliphatic proton. Phân tích kết hợp các phổ ^{13}C NMR và HSQC cho thấy sự xuất hiện của dạng khung sesquiterpenoid, với 15 tín hiệu carbon, bao gồm 2 carbon sp^2 thuộc liên kết đôi và 13 carbon sp^3, trong đó có 5 nhóm methyl, 4 nhóm methylene, 2 nhóm methine, và 2 carbon không liên kết với proton (Bảng 4.14). Tiến hành so sánh số liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất sesquiterpenoid khung cyclonerane đã biết cho kết quả tương đồng, tuy có một số khác biệt là do khác dung môi đo với hợp chất tham khảo. Trên cơ sở các phân tích trên, kết hợp với chi tiết phổ HMBC, trong đó H-1 tương tác với C-2, C-3, và C-6, H-13 tương tác với C-2, C-3, và C-4, H-14 tương tác với C-6, C-7, và C-8, và H-12 tương tác với C-10, C-11, và C-15 (Hình 4.73), hợp chất **XT47.5** được xác định là cyclonerodiol [99].

Bảng 4.15. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT47.5**

Vị trí	δ_C[a,99]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (J = Hz)
1	14.5	15.4	1.05 (d, 6.6)
2	44.2	45.5	1.63 (m)
3	81.3	82.0	
4	40.4	41.4	1.66 (m) 1.55 (m)
5	24.3	25.1	1.85 (m) 1.63 (m)
6	54.2	55.4	1.86 (m)
7	74.8	75.5	
8	40.4	42.1	1.48 (m)
9	22.6	23.7	2.04 (m) 2.08 (m)
10	124.5	125.9	5.14 (br t, 7.2)
11	131.7	132.0	
12	25.7	25.9	1.70 (s)
13	26.1	26.2	1.25 (s)
14	25.5	24.8	1.15 (s)
15	17.7	17.7	1.64 (s)

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b] CD_3OD, [c] 150 MHz, [d] 600 MHz

4.1.2.6. Hợp chất XT47.6: 10,11-dihydro-11-hydroxycyclonerodiol



Hình 4.74. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT47.6**

Hợp chất **XT47.6** có dạng dầu không màu. So sánh các dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất **XT47.5** cho kết quả khá tương đồng, ngoại trừ sự thay thế của tín hiệu của một nối đôi ở **XT47.5** bởi tín hiệu của một methylene tại δ_H 1.46 (2H, m, H-10)/ 45.5 (C-10) và một carbon không liên kết với proton mang oxy tại δ_C 71.5 (C-11), gợi ý sự có mặt của nhánh 2-methyl-propan-2-ol ở **XT37.6** (Bảng 4.16). Điều này được khẳng định bởi tương tác HMBC từ H-12 và H-15 đến C-11 và C-10 (Hình 4.74). Ngoài ra, các tương tác HMBC của H-1 với C-2, C-3, và C-6, H-13 với C-2, C-3, và C-4, và của H-14 với C-6, C-7, và C-8 khẳng định các vị trí còn lại của phân tử. Cấu trúc hóa học của hợp chất này tiếp tục được khẳng định thông qua so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất này với hợp chất cyclonerane sesquiterpenoid đã biết, tuy độ dịch chuyển hóa học ở một số vị trí khác biệt do khác dung môi đo (hợp chất **XT47.6** đo trong CD_3OD trong khi hợp chất tham khảo đo trong DMSO-d_6) [100]. Do đó, hợp chất **XT47.6** được xác định là 10,11-dihydro-11-hydroxycyclonerodiol.

Bảng 4.16. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT47.6**

Vị trí	δ_C[a, [100]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (*J* = Hz)
1	15.2	15.4	1.05 (d, 6.6)
2	43.5	45.5	1.62 (m)
3	79.0	82.0	
4	40.4	41.4	1.66 (m); 1.56 (m)
5	30.3	25.1	1.85 (m); 1.62 (m)
6	56.7	55.5	1.86 (m)
7	76.2	75.7	
8	34.9	42.7	1.49 (m); 1.45 (m)
9	24.3	19.9	1.45 (m)
10	40.5	45.5	1.46 (m)
11	73.5	71.5	
12	25.3	29.1	1.21 (s)
13	26.1	26.2	1.25 (s)
14	24.4	24.9	1.15 (s)
15	31.9	29.3	1.21 (s)

[a] Đo trong DMSO-d_6, [b] CD_3OD, [c] 150 MHz, [d] 600 MHz

4.1.2.7. Hợp chất XT47.7: Cyclonerodiol B



Hình 4.75. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT47.7**

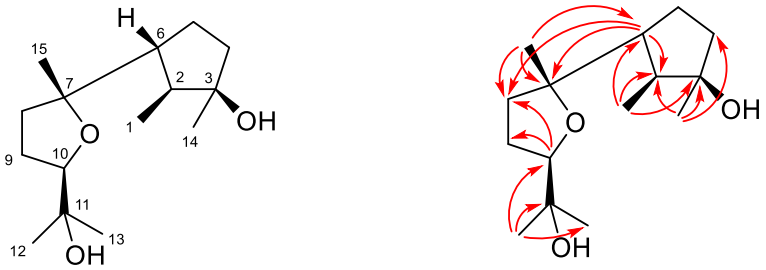
Hợp chất **XT47.7** có dạng dầu không màu. Số liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này khá tương tự so với hợp chất **XT47.6**, điểm khác biệt là sự thay thế của tín hiệu của một nhóm methylene ở **XT47.5** bởi tín hiệu của một nhóm oxymethine tại δ_H 3.25 (dd, J = 1.8, 10.2 Hz)/ δ_C 80.5 (C-10) ở **XT37.6**, gợi ý sự có mặt của một nhóm hydroxy ở vị trí C-10 (Bảng 4.17). Điều này được khẳng định bởi tương tác HMBC từ H-12 và H-15 đến C-10 (Hình 4.75). Bên cạnh đó, các tương tác HMBC của H-1 với C-2, C-3, và C-6, H-13 với C-2, C-3, và C-4, và của H-14 với C-6, C-7, và C-8 khẳng định các vị trí còn lại của phân tử. Do đó, hợp chất **XT47.7** được xác định là cyclonerodiol B [101].

Bảng 4.17. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT47.7**

Vị trí	δ_C[a, [101]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (J = Hz)
1	15.1	15.4	1.06 (d, 6.6)
2	43.8	45.6	1.62 (m)
3	79.1	82.1	
4	38.2	41.4	1.66 (m) 1.56 (m)
5	25.4	25.3	1.86 (m) 1.64 (m)
6	54.2	56.1	1.86 (m)
7	71.7	75.7	
8	39.9	39.2	1.84 (m) 1.46 (td, 3.6, 12.0)
9	26.3	26.6	1.74 (m) 1.35 (m)
10	78.5	80.5	3.25 (dd, 1.8, 10.2)
11	73.0	73.9	
12	24.8	25.5	1.19 (s)
13	26.2	26.2	1.25 (s)
14	24.0	24.6	1.15 (s)
15	24.8	25.2	1.17 (s)

[a] Đo trong DMSO-d_6, [b] CD_3OD, [c] 150 MHz, [d] 600 MHz

4.1.2.8. Hợp chất XT47.8: Epicyclonerodiol oxide



Hình 4.76. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT47.8**

Bảng 4.18. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT47.8**

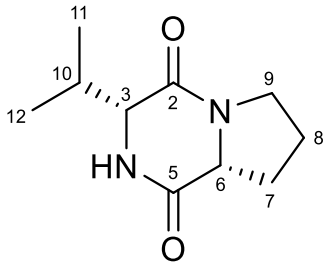
Vị trí	δ_C[a,[102]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (*J* = Hz)
1	13.8	14.5	1.06 (d, 7.2)
2	45.1	46.5	1.61 (m)
3	81.2	82.0	
4	40.4	41.3	1.68 (m) 1.60 (m)
5	24.1	26.3	1.89 (m) 1.42 (m)
6	54.3	55.7	2.04 (m)
7	85.9	87.2	
8	34.8	35.7	1.94 (m) 1.71 (m)
9	25.4	27.6	1.85 (m)
10	86.7	88.8	3.72 (dd, 7.8, 8.4)
11	70.3	72.0	
12	26.9	25.6	1.15 (s)
13	26.3	26.3	1.18 (s)
14	26.1	26.0	1.25 (s)
15	27.8	27.1	1.19 (s)

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b] CD_3OD, [c] 150 MHz, [d] 600 MHz

Hợp chất **XT47.8** có dạng dầu không màu. Tiến hành so sánh các số liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất **XT47.7** cho kết quả khá tương đồng ở các vị trí thuộc vòng cyclopentane; sự khác biệt dễ nhận thấy thể hiện ở độ dịch chuyển hóa học của các vị trí từ C-7 đến C-10 (thuộc mạch nhánh ở **XT47.7**) [**XT47.8:** δ_C 87.2 (C-7), 35.7 (C-8), 27.6 (C-9), và 88.8 (C-10) so với **XT47.7:** δ_C 75.7 (C-7), 39.2 (C-8), 26.6 (C-9), và 80.5 (C-10)] (Bảng 4.18). Điều này gợi ý mạch nhánh ở **XT47.7** có sự đóng vòng tạo thành vòng tetrahydrofuran ở **XT47.8**. Cấu trúc của hợp chất này được khẳng định thêm bởi các tương tác ghi nhận trên phổ HMBC (Hình 4.76). Mặc dù tương tác HMBC từ vị trí H-10 đến C-7 không được ghi nhận trên phổ (với thông số cường độ tương tác điều chỉnh ở mức trung bình), tuy nhiên, cấu trúc của hợp chất này được khẳng định thông qua so sánh số liệu phổ NMR với

hợp chất epicyclonerodiol oxide đã được công bố (mặc dù có một số khác biệt do phổ NMR của 2 hợp chất được đo trong dung môi khác nhau) [102]. Trên cơ sở các phân tích phổ nêu trên, hợp chất **XT47.8** được xác định là epicyclonerodiol oxide.

4.1.2.9. Hợp chất XT47.9: cyclo(Val-Pro)



Hình 4.77. Cấu trúc hóa học hợp chất **XT47.9**

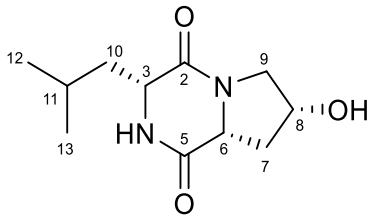
Hợp chất **XT47.9** thu được ở dạng bột màu trắng. Trên phổ ^{1}H NMR ghi nhận tín hiệu của 2 nhóm methyl bậc hai tại δ_H 1.08 và 0.92 (d, J = 6.6 Hz, H-11 và H-12) và vùng tín hiệu của các aliphatic proton (Bảng 4.19). Trên phổ ^{13}C NMR ghi nhận 10 tín hiệu carbon, bao gồm 2 carbon carbonyl tại δ_C 170.0 (C-2) và 164.9 (C-5), 3 nhóm methine [trong đó 2 nhóm liên kết với nitro cộng hưởng tại δ_C 60.4 (C-3) và 58.9 (C-6)], 3 nhóm methylene [trong đó một nhóm có liên kết với nitro δ_C 45.2 (C-9)], cùng với 2 nhóm methyl (Bảng 4.19). Các số liệu phổ này gợi ý sự có mặt của phần cấu trúc diketopiperazine. Tiến hành so sánh số liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất cyclopeptide đã biết cho kết quả hoàn toàn phù hợp [103], qua đó khẳng định hợp chất **XT47.9** là cyclo(Val-Pro) (Hình 4.77).

Bảng 4.19. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT47.9**

Vị trí	δ_C[a,[103]]	δ_C[a,b]	δ_H[a,b] (J = Hz)
2	170.08	170.0	
3	60.37	60.4	5.92 (br s)
5	164.86	164.9	
6	58.81	58.9	4.08 (br t, 7.8)
7	28.32	28.4	2.38 (m) 2.06 (m)
8	22.37	22.4	2.06 (m) 1.93 (m)
9	45.15	45.2	3.65 (m) 3.55 (td, 3.6, 12.6)
10	28.52	28.6	2.64 (m)
11	19.28	19.3	1.08 (d, 6.6)
12	16.03	16.1	0.92 (d, 6.6)
NH			5.92 (br s)

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b]150 MHz, [c]600 MHz

4.1.2.10. Hợp chất XT47.10: cyclo-(4-Hydroxyprolinyl-leucine)



Hình 4.78. Cấu trúc hóa học hợp chất **XT47.10**

Hợp chất **XT47.10** có dạng dầu không màu. Số liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này khá tương đồng so với hợp chất **XT47.9**; điểm khác biệt là sự thay thế của tín hiệu của một nhóm methylene ở **XT47.9** bởi tín hiệu của một nhóm oxymethine tại δ_H 4.52 (m)/ δ_C 69.1 (C-8) và có thêm tín hiệu của một nhóm methylene tại δ_H 1.93 và 1.52 (m)/ δ_C 38.2 (C-10) ở **XT47.10** (Bảng 4.20). Sự khác biệt này gợi ý sự có mặt của một nhóm hydroxy ở vị trí C-8 và nhánh isobutyl ở **XT47.10**. Điều này được khẳng định thông qua so sánh số liệu phổ NMR của **XT47.10** với hợp chất tham khảo, tuy có sự khác biệt khá tuyến tính về độ dịch chuyển hóa học carbon do phổ NMR của 2 hợp chất được đo trong dung môi khác nhau) [104]. Như vậy, hợp chất **XT47.10** được xác định là cyclo-(4-hydroxyprolinyl-leucine) (Hình 4.78)**.**

Bảng 4.20. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT47.10**

Vị trí	δ_C**[a,104]**	δ_C**[b,c]**	δ_H**[b,d] (*J* = Hz)**
2	169.8	173.0	
3	56.1	54.6	4.46 (br t, 4.2)
5	167.7	169.0	
6	56.2	58.7	4.17 (br t, 5.6)
7	36.8	39.4	2.28 (br dd, 6.6, 13.2) 2.11 (m)
8	68.1	69.1	4.52 (m)
9	54.0	55.2	3.67 (dd, 4.2, 12.6) 3.44 (d, 13.2)
10	42.2	38.2	1.93 (m) 1.52 (m)
11	24.6	25.8	1.88 (m)
12	23.0	23.3	0.97 (d, 6.0)
13	21.5	22.2	0.96 (d, 6.6)

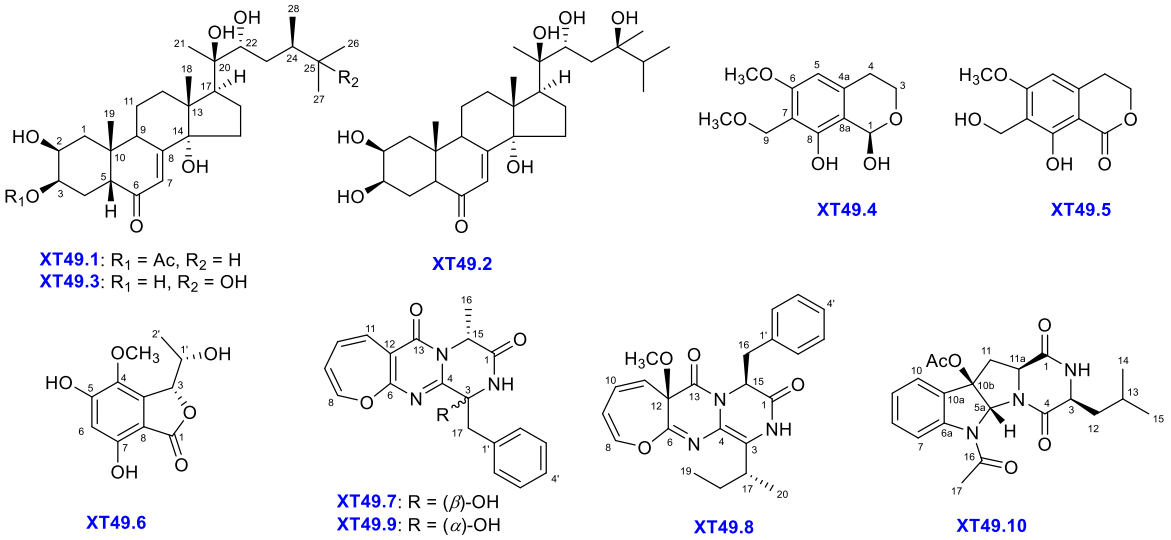
[a] Đo trong $CDCl_3$, [b] CD_3OD, [c] 150 MHz, [d] 600 MHz

4.1.3. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được từ chủng Aspergillus sp. BCXT-22.1

Bằng các phương pháp phân tích phổ NMR và HRESIMS, kết hợp với so sánh với các hợp chất đã biết, cấu trúc hóa học của 10 hợp chất sạch đã được xác định,

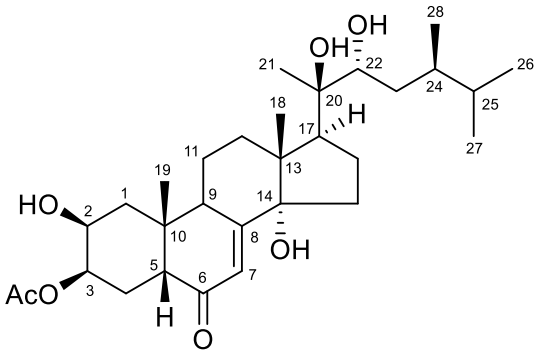
trong đó có 2 hợp chất mới: polyporusterone H (**XT49.1**) và stellatinol A (**XT49.4**) và 8 hợp chất đã biết: panuosterone (**XT49.2**) [112], makisterone A (**XT49.3**) [113], stellatin (**XT49.5**) [114], embeurekol C (**XT49.6**) [115], oxepinamide D (**XT49.7**) [116], oxepinamide F (**XT49.8**) [116], oxepinamide J (**XT49.9**) [117] và protubonine B (**XT49.10**) [118] (Hình 4.79).

Các nghiên cứu hóa học loài *S. caseolaris* cho đến nay đã xác định được hơn 140 hợp chất từ các bộ phận khác nhau của cây như lá, quả, vỏ thân, thân và cành non. Thành phần hóa học của *S. caseolaris* chủ yếu bao gồm các acid phenolic, flavonoid và tanin, bên cạnh các nhóm hợp chất khác như terpenoid, steroid, acid béo, alcol béo, aldehyde, hydrocarbon và polysaccharide [119]. Vi nấm liên kết với cây *S. caseolaris* cho thấy có khả năng sinh tổng hợp các nhóm hợp chất peptide, pyrone, lactone, và alkaloid [17, 46, 47]. Tuy nhiên, đây là lần đầu tiên các hợp chất **XT49.1-XT49.10** được xác định từ vi nấm liên kết với *S. caseolaris* cũng như từ cây chủ.



Hình 4.79. Cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập từ chủng *Aspergillus* sp. BCXT-22.1

4.1.3.1. Hợp chất XT49.1: Polyporusterone H (chất mới)



Hình 4.80. Cấu trúc hóa học của hợp chất **XT49.1**

Hợp chất **XT49.1** thu được dưới dạng bột màu trắng. Phổ HRESIMS ghi nhận sự xuất hiện của ion giả phân tử $[M+Cl]^-$ tại *m/z* 555.3080 (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử: $C_{30}H_{48}ClO_7$ là 555.3089) và ion $[M+H]^+$ tại *m/z* 521.3479 (giá trị tính toán lý thuyết công thức phân tử $C_{30}H_{49}O_7$ là 521.3478) (Hình 4.82), tương ứng với công thức phân tử $C_{30}H_{48}O_7$, với 7 độ bất bão hòa. Phổ ^{1}H NMR ghi nhận tín hiệu của một proton olefin tại δH 6.22 (s, H-7), ba nhóm oxymethine tại δ_H 4.28 (br s, H-2), 5.46 (br s, H-3), và 3.90 (d, *J* = 10.5 Hz, H-22), ba nhóm methyl bậc hai tại δ_H 0.80, 0.78, 0.84 (d, J = 6.5 Hz, H-26, H-27, và H-28), và bốn nhóm methyl dạng singlet tại δ_H 1.20, 1.05, 1.57 và 1.99 (s, H-18, H-19, H-21 và 3-OAc) (Bảng 4.21). Tiến hành phân tích phổ ^{13}C NMR và HSQC (đo trong dung môi C_5D_5N) ghi nhận 30 tín hiệu carbon, bao gồm bốn carbon sp^2, bao gồm hai carbon carbonyl tại δ_C 202.5 (C-6) và 170.6 (OAc), cùng một liên kết đôi thế ba tại δ_C 121.4 (C-7) và 166.5 (C-8) (Bảng 4.21). Trong số 26 carbon sp^3 còn lại có tám carbon methine [gồm ba carbon oxymethine tại δ_C 66.0 (C-2), 71.2 (C-3), và 74.0 (C-22)], bảy carbon methylene, bảy carbon methyl, và bốn carbon không mang proton (gồm hai carbon mang oxy tại δ_C 84.0 (C-14) và 76.8 (C-20)] được ghi nhận (Bảng 4.21). Các dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR này, cùng với bảy độ bất bão hòa, cho thấy hợp chất **XT49.1** có khung carbon ecdysteroid. Tiến hành so sánh dữ liệu phổ NMR của hợp chất **XT49.1** với các ecdysteroid đã biết như polyporusterone A và punicesterone D cho thấy sự tương đồng cao, ngoại trừ sự xuất hiện thêm của tín hiệu nhóm acetyl [δ_C 170.6, 21.0/ δ_H 1.99 (s)] ở hợp chất **XT49.1** [120, 121]. Vị trí của nhóm acetyl tại C-3 được xác định dựa vào độ dịch chuyển hóa học của C-3 bị kéo lệch về phía trường thấp tại δ_C 71.2/ δ_H 5.46 (br s), kết hợp với so sánh với các dẫn xuất 3-OAc và 3-OH đã biết [120, 121]. Điều này tiếp tục được khẳng định bởi các tương tác COSY giữa H-1/H-2, H-2/H-3, và H-3/H-4, cùng với tương tác HMBC từ H-1 đến C-3 (Hình 4.81). Trên cơ sở phân tích chi tiết phổ HMBC và COSY, các vị trí của hợp chất **XT49.1** được xác định đầy đủ.

Trên phổ ^{1}H NMR đo trong CD_3OD, hằng số bắt cặp của H-2 (dt, *J* = 4.0, 12.0 Hz) và H-3 (br d, *J* = 2.5 Hz) giúp xác định 2 proton H-2 và H-3 lần lượt nằm ở vị trí *axial* và *equatorial* [121, 122]. Trên phổ NOESY (đo trong C_5D_5N), H-2 thể hiện tương tác với H-9 và H-3 nhưng không có tương tác với H-5, trong khi H-5 thể hiện tương tác NOE với H-19, cho thấy H-2, H-3 và H-9 có hướng α, trong khi đó H-5 và H-19 quay về phía mặt phẳng β (Hình 4.81). Ngoài ra, độ dịch chuyển hóa học của các carbon C-24, C-25, C-26, C-27 và C-28 khác biệt rõ ràng so với các vị trí của hợp chất tương tự đã biết là (24*S*)-polyporusterone A, cho thấy H-28 có hướng β [120]. Điều này được củng cố thông qua so sánh dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của các vị trí

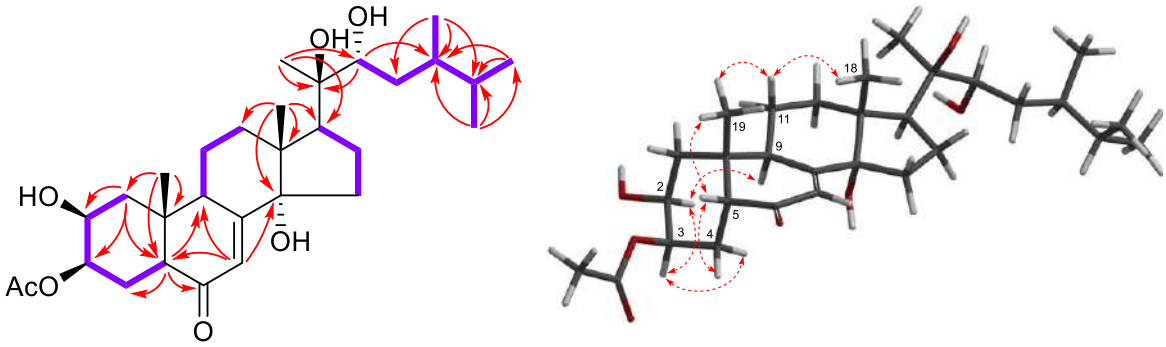
này với hợp chất ecdysteroid đã biết là punicesterone D mang cấu hình 24*R* [121]. Hơn nữa, cấu hình tương đối tại các vị trí C-14, C-20 và C-22 của hợp chất **XT49.1** được xác định là tương đồng với các hợp chất tương tự đã biết, dựa trên sự tương đồng cao khi so sánh số liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR tại các vị trí C-13, C-14, C-15, C-20, C-21 và C-22 [120-122]. Trên cơ sở các phân tích phổ nêu trên, cấu trúc của hợp chất **XT49.1** được xác định và được đặt tên là polyporusterone H.

Bảng 4.21. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT49.1**

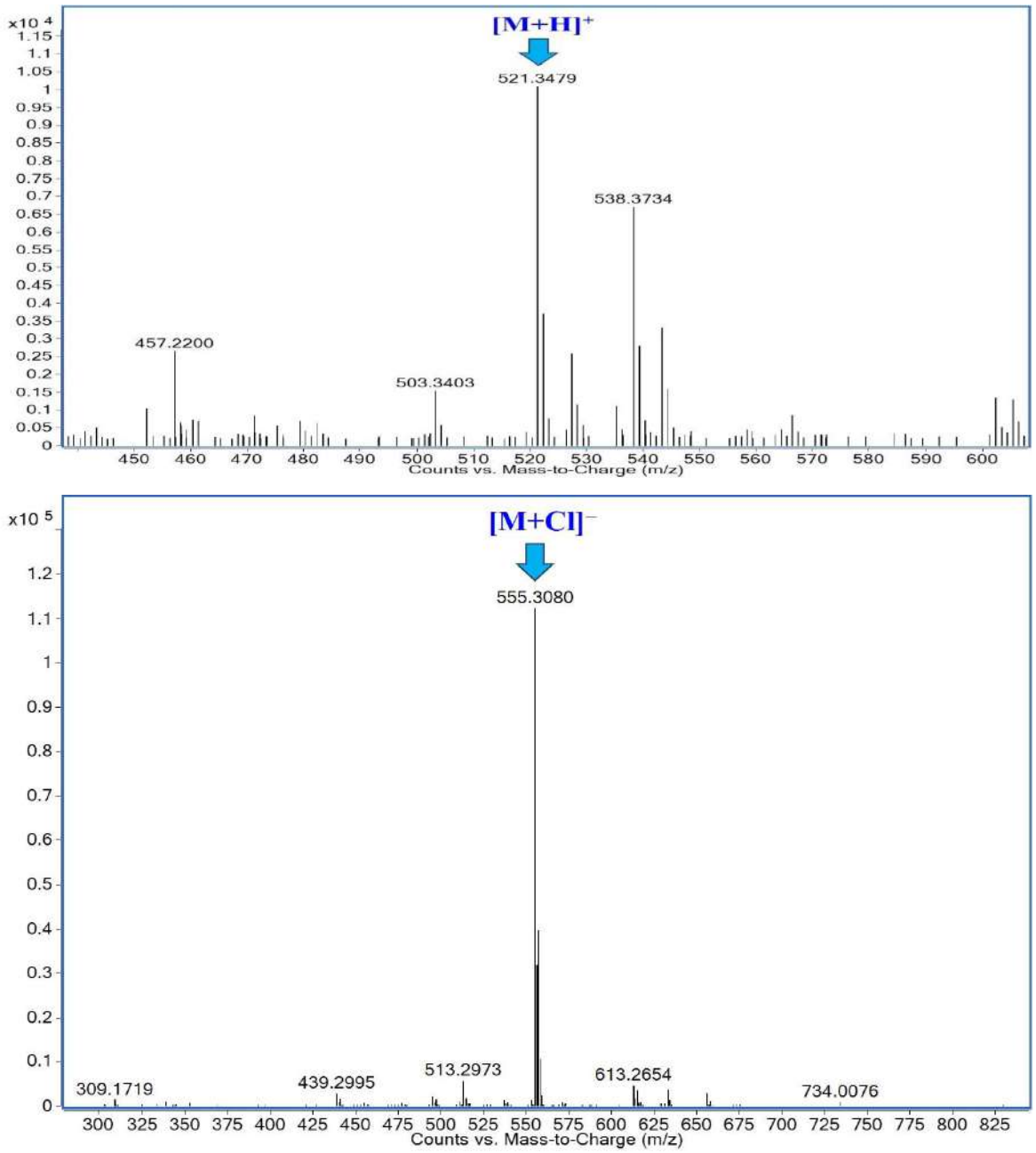
Vị trí	δ_C[#]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c] (*J* = Hz)	δ_C[d,b]	δ_H[d,c] (*J* = Hz)
1	38.0	38.5	1.82 (m) 2.23 (dd, 3.0, 13.5)	38.4	1.95 (m); 1.45 (t, 12.5)
2	68.1	66.0	4.28 (m)	67.1	4.00 (dt, 4.0, 12.0)
3	68.0	71.2	5.46 (br s)	71.8	5.17 (br d, 2.5)
4	32.5	29.5	1.96 (m) 1.78 (m)	30.3	1.80 (m)
5	51.3	51.9	2.62 (m)	52.6	2.26 (dd, 5.0, 12.5)
6	203.4	202.5		205.4	
7	121.6	121.4	6.22 (s)	122.0	5.85 (d, 2.5)
8	166.1	166.5		168.3	
9	34.0	34.3	3.56 (br s)	35.2	3.18 (m)
10	38.6	38.5		39.2	
11	21.1	21.0	1.84 (m); 1.72 (m)	21.4	2.01 (m); 1.73 (m)
12	32.0	31.9	2.55 (m); 2.00 (m)	32.5	2.16 (m); 1.90 (m)
13	48.1	48.0		48.7	
14		84.0		85.2	
15	31.7	31.6	2.16 (m); 1.92 (m)	31.8	2.00 (m); 1.61 (m)
16	21.4	21.3	2.44 (m); 2.06 (m)	21.6	1.84 (m); 1.73 (m)
17	49.9	49.8	2.88 (m)	50.4	2.38 (m)
18	17.8	17.8	1.20 (s)	18.1	0.92 (s)
19	24.4	24.2	1.05 (s)	24.3	1.02 (s)
20	76.8	76.8		77.9	
21	21.3	21.4	1.57 (s)	21.0	1.20 (s)
22	74.5	74.0	3.90 (d, 10.5)	75.2	3.49 (dd, 1.5, 11.0)
23	37.3	36.7	1.62 (m); 1.44 (m)	37.1	1.32 (m); 1.27 (m)
24	36.1	35.5	1.93 (m)	36.2	1.62 (m)
25	29.5	33.6	1.49 (m)	34.7	1.57 (m)
26	21.3	20.1	0.80 (d, 6.5)	20.4	0.93 (d, 6.5)
27	16.0	18.6	0.78 (d, 6.5)	18.8	0.89 (d, 6.5)
28	15.7	15.1	0.84 (d, 6.5)	15.2	0.88 (d, 6.5)
3-OAc		170.6 21.0	 1.99 (s)	172.6 21.1	 2.13 (s)

[a] Đo trong C_5D_5N, [b] 125 MHz, [c] 500 MHz, [d] CD_3OD

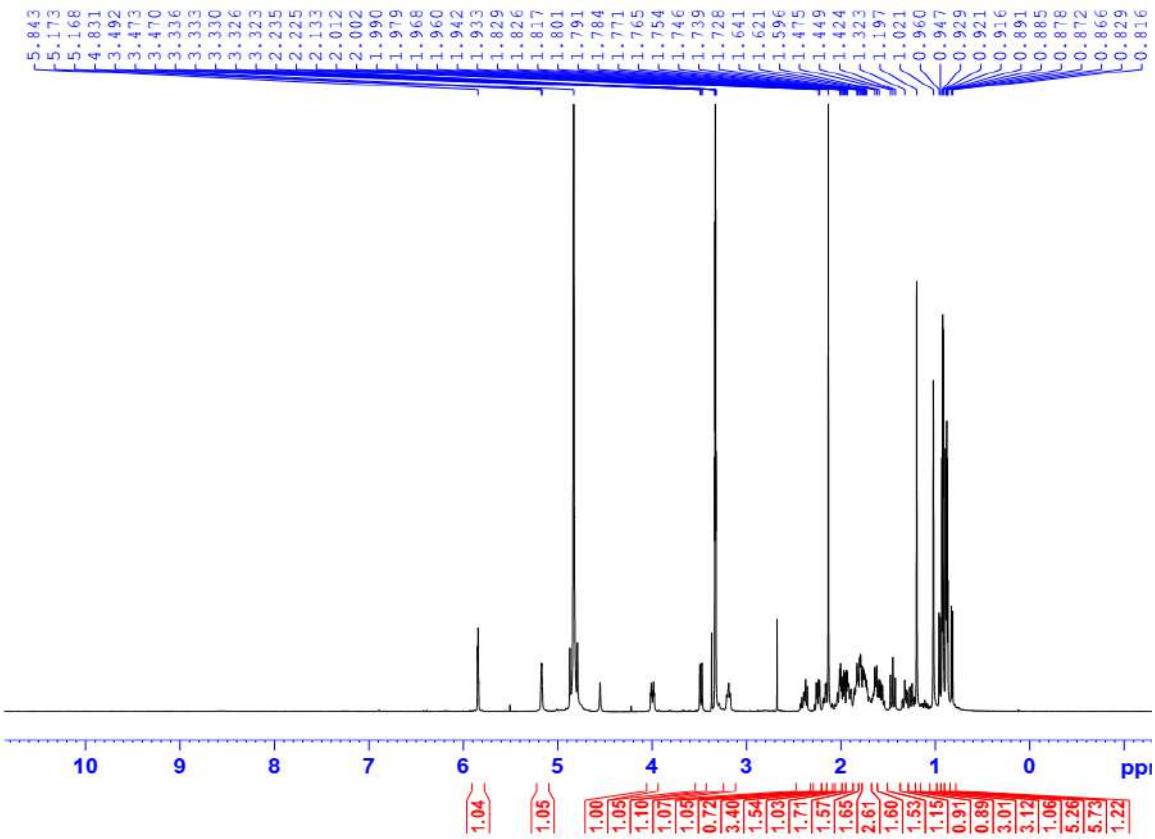
[#] δ_C của hợp chất tham khảo [(24S)-polyporusterone A] đo trong C_5D_5N [120]



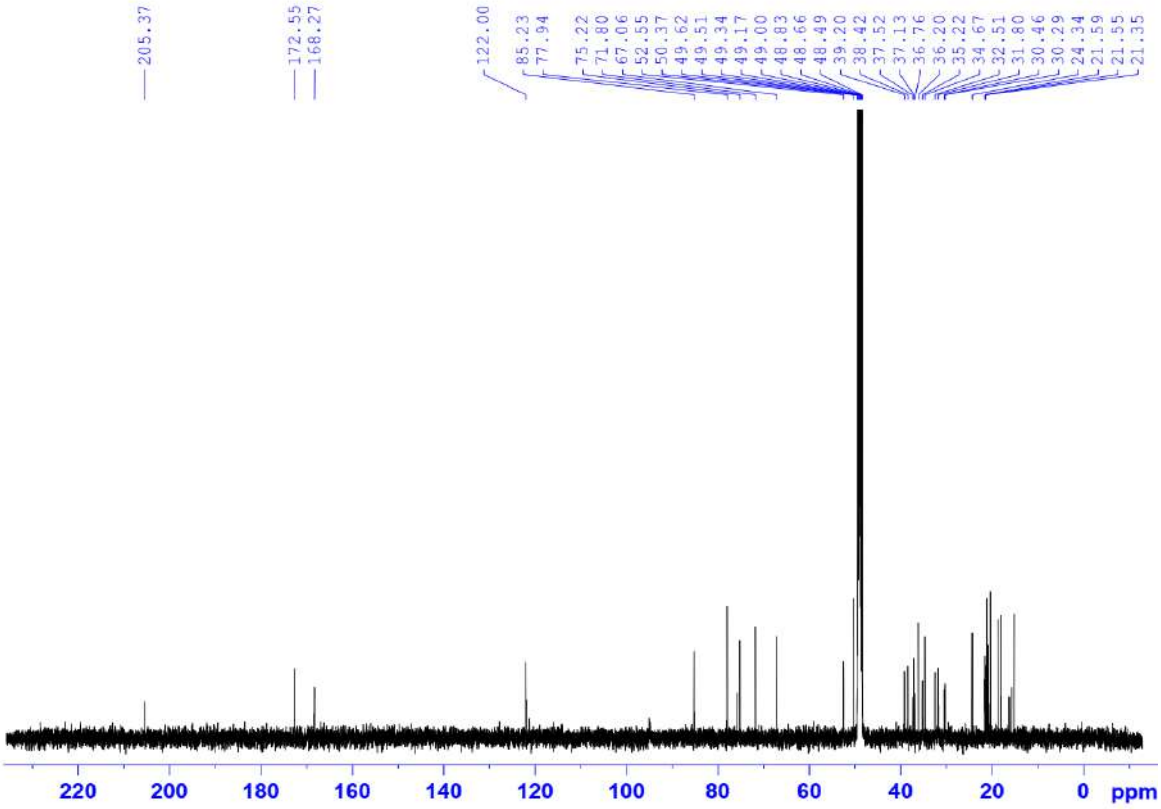
Hình 4.81. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) và NOESY (◄···►) của **XT49.1**



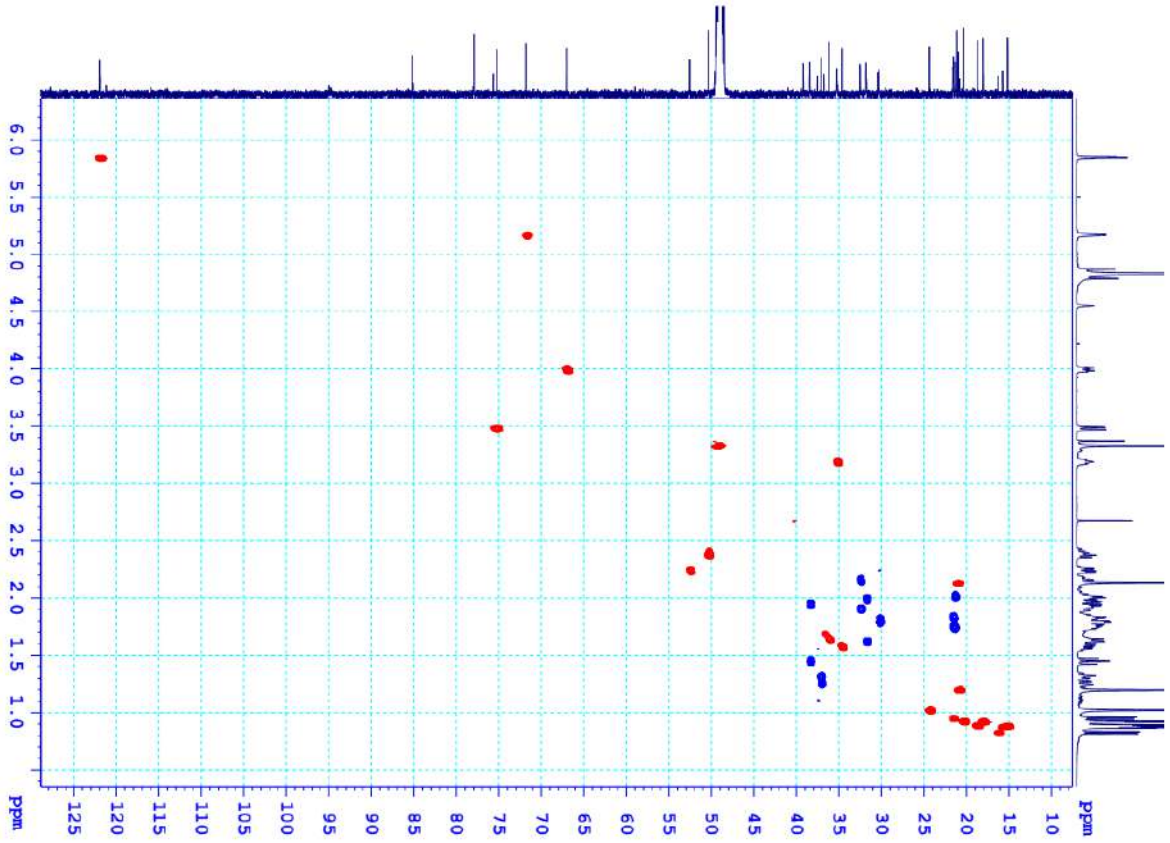
Hình 4.82. Phổ HR-ESI-MSMS của hợp chất **XT49.1**



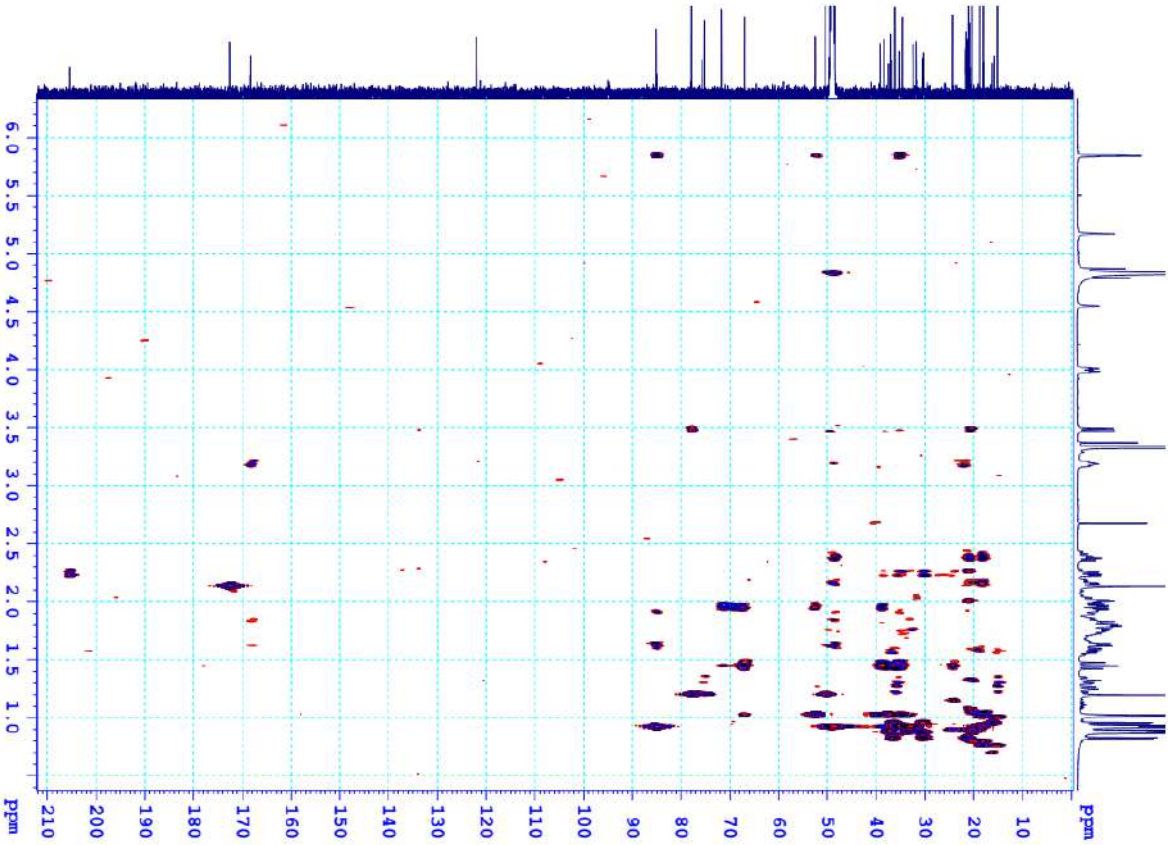
Hình 4.83. Phổ ^{1}H (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất **XT49.1**



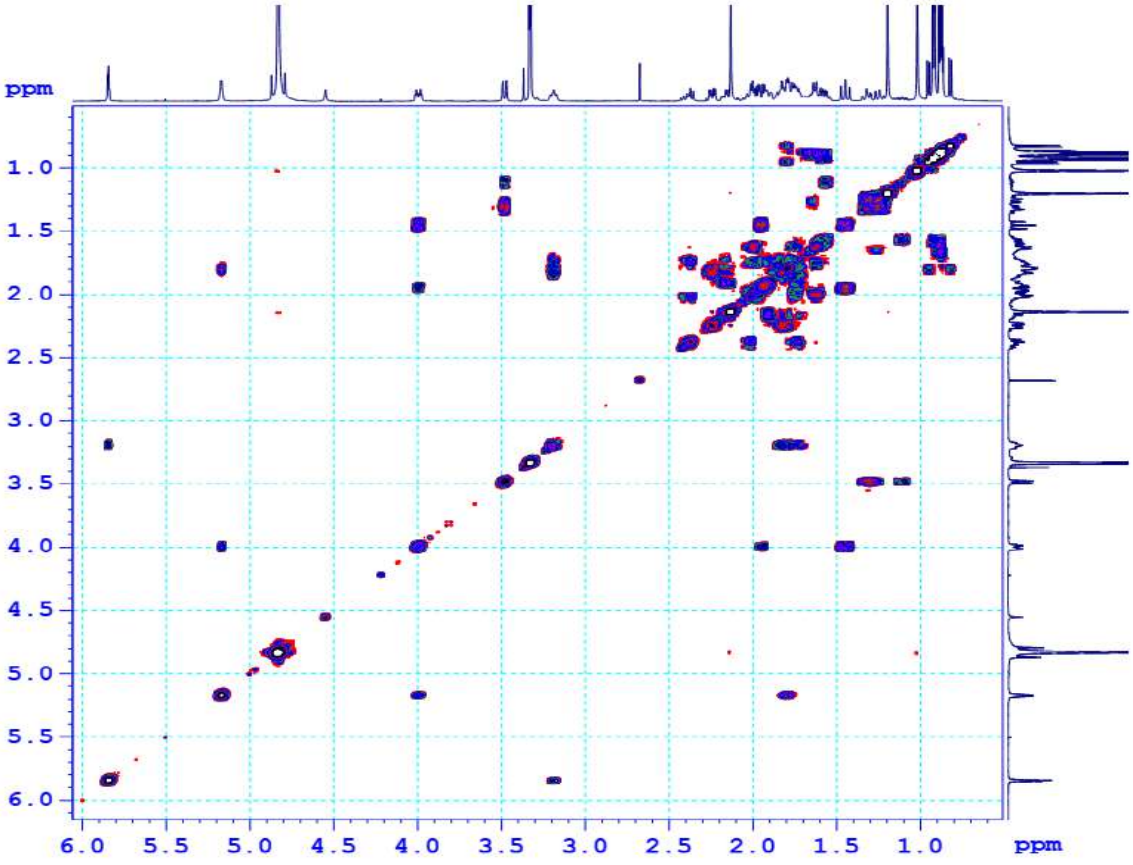
Hình 4.84. Phổ ^{13}C (CD_3OD, 125 MHz) của hợp chất **XT49.1**



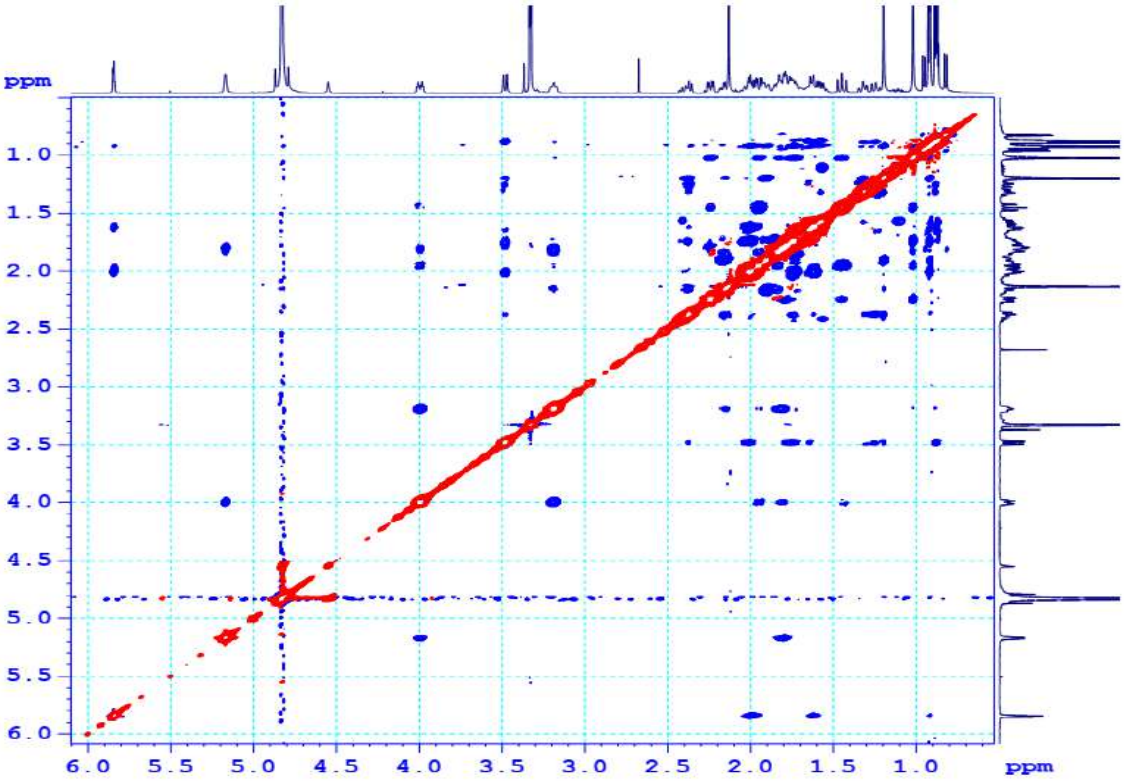
Hình 4.85. Phổ HSQC (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất **XT49.1**



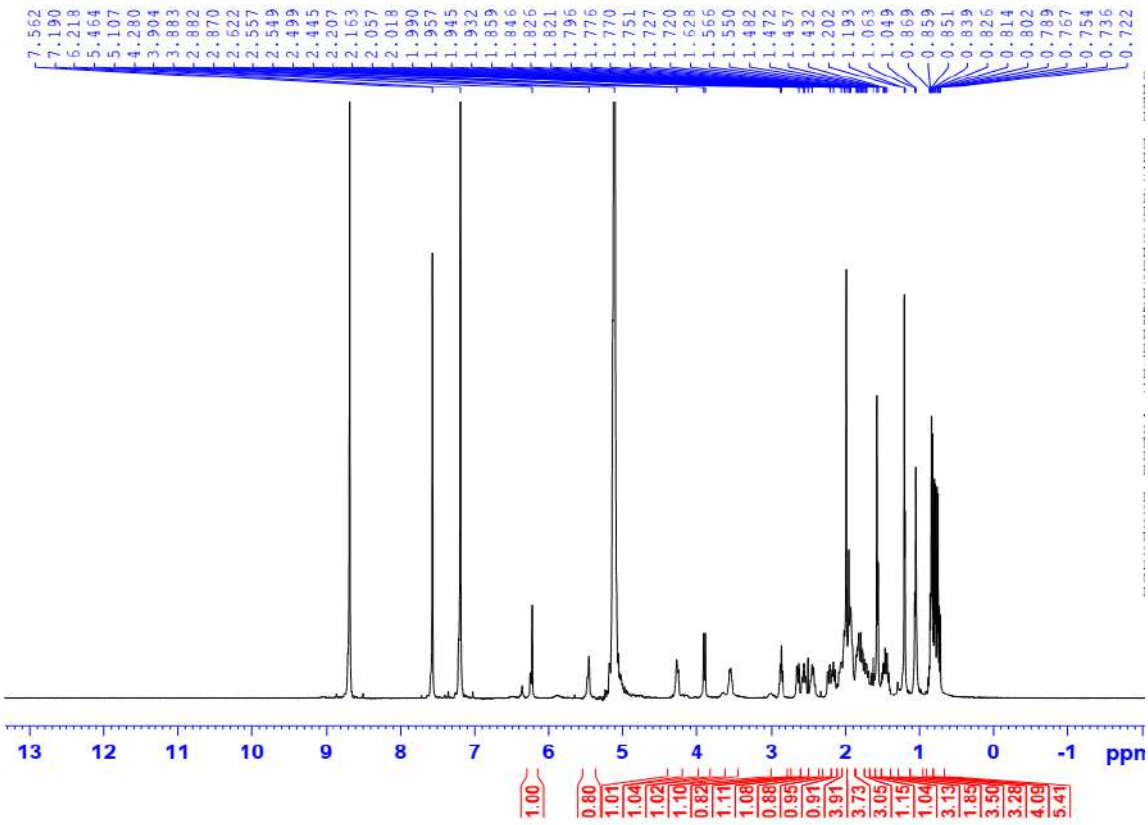
Hình 4.86. Phổ HMBC (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất **XT49.1**



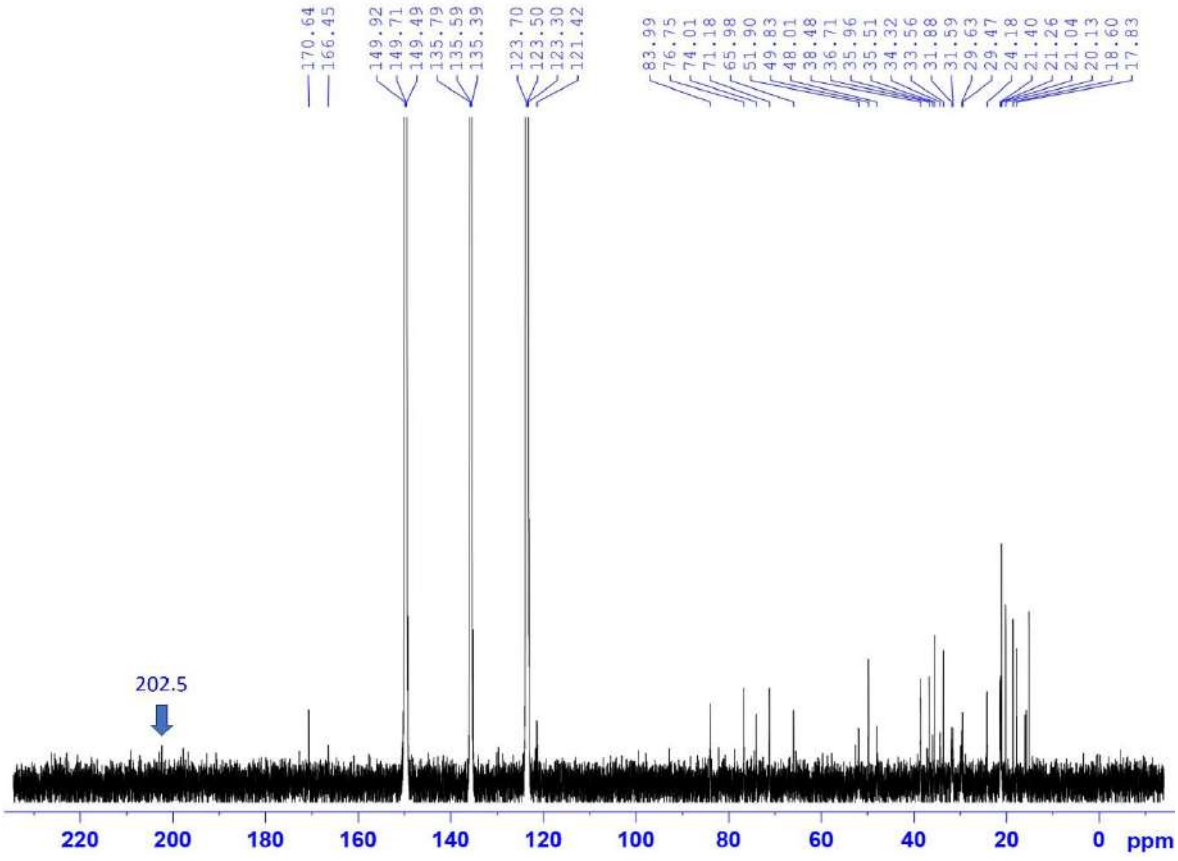
Hình 4.87. Phổ COSY (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất **XT49.1**



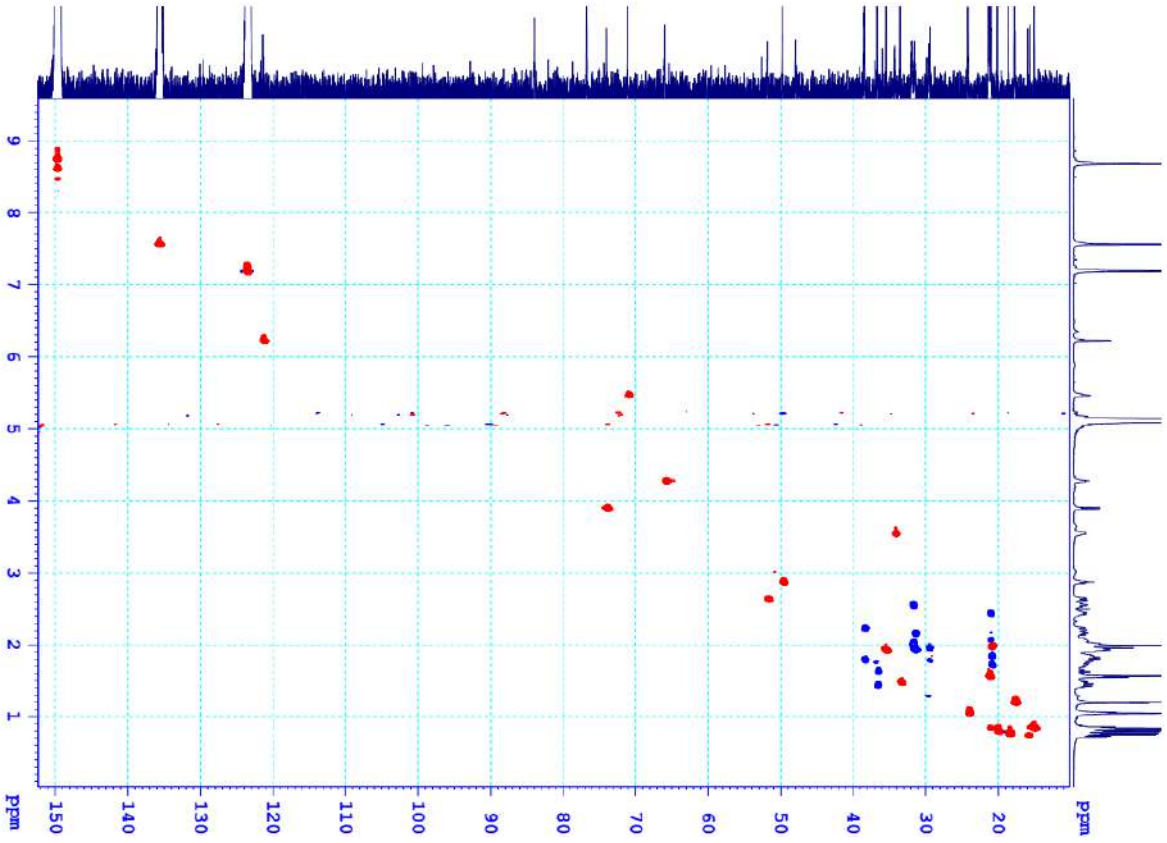
Hình 4.88. Phổ ROESY (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất **XT49.1**



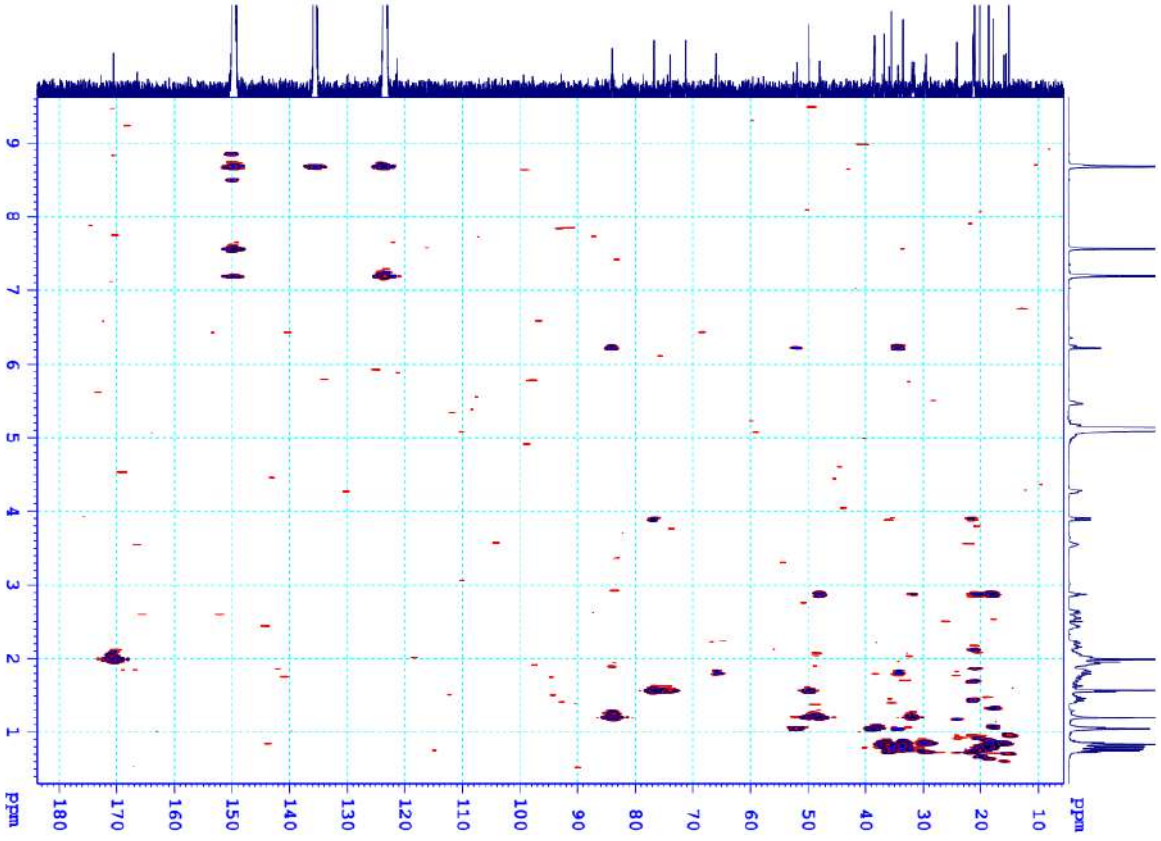
Hình 4.89. Phổ ^{1}H (C_5D_5N, 500 MHz) của hợp chất **XT49.1**



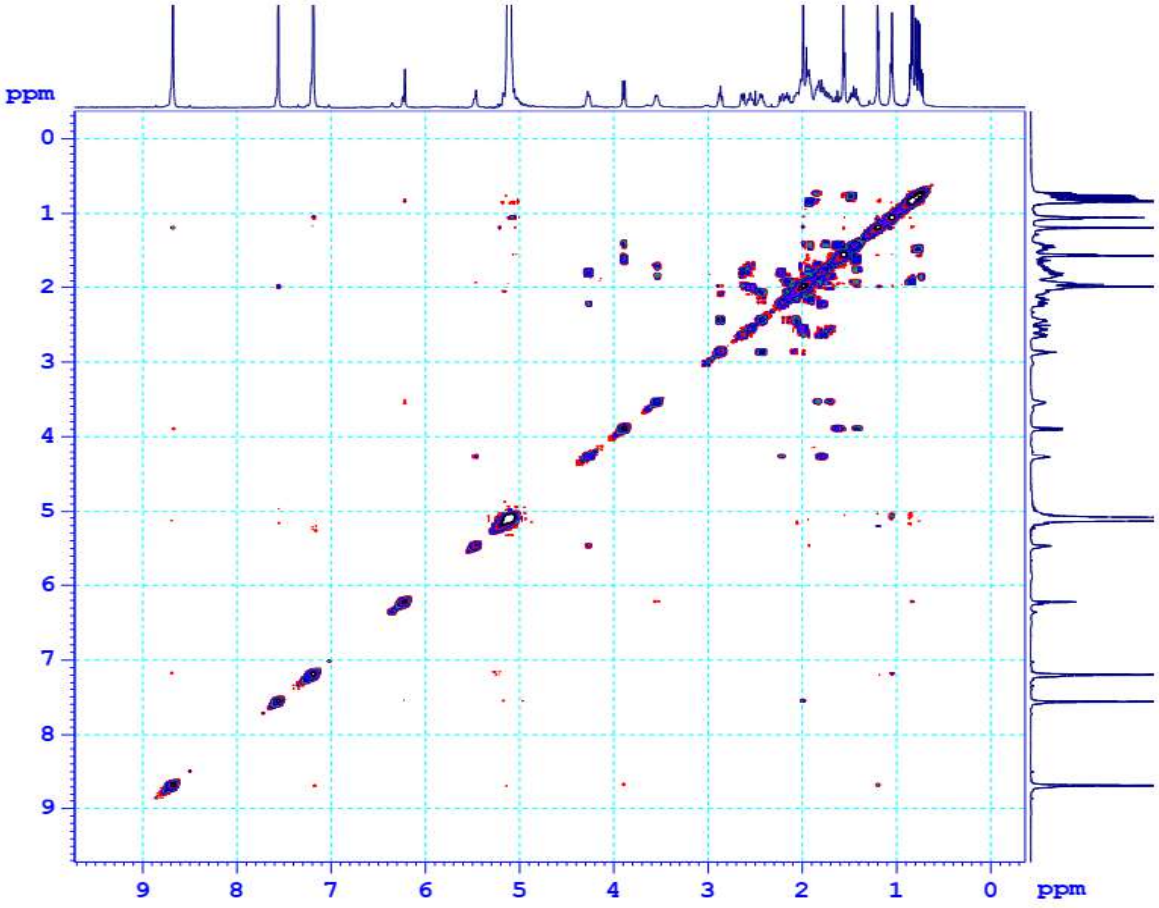
Hình 4.90. Phổ ^{13}C (C_5D_5N, 125 MHz) của hợp chất **XT49.1**



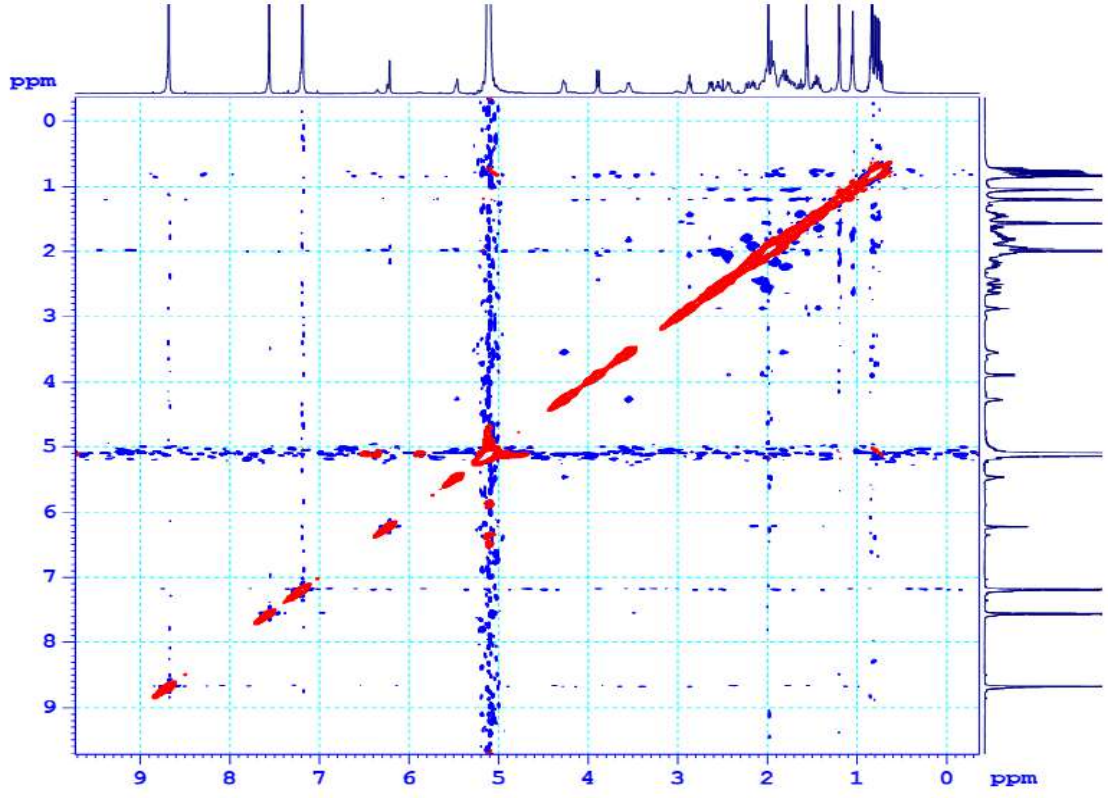
Hình 4.91. Phổ HSQC (C_5D_5N, 500 MHz) của hợp chất **XT49.1**



Hình 4.92. Phổ HMBC (C_5D_5N, 500 MHz) của hợp chất **XT49.1**

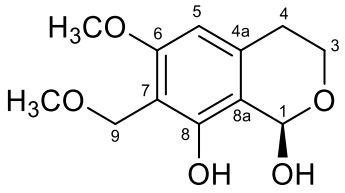


Hình 4.93. Phổ COSY (C_5D_5N, 500 MHz) của hợp chất **XT49.1**



Hình 4.94. Phổ NOESY (C_5D_5N, 500 MHz) của hợp chất **XT49.1**

4.1.3.2. Hợp chất XT49.4: Stellatinol A (chất mới)



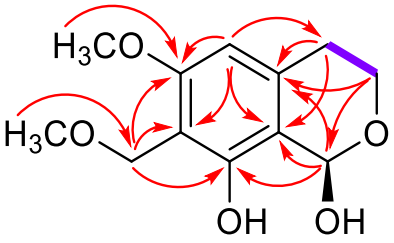
Hình 4.95. Cấu trúc hóa học của hợp chất **XT49.4**

Hợp chất **XT49.4** thu được ở dạng bột màu trắng. Trên phổ HRESIMS ghi nhận ion $[M-H]^-$ tại *m/z* 239.0916 (tính toán lý thuyết cho công thức phân tử $C_{12}H_{15}O_5$ là 239.0919), tương ứng với công thức phân tử $C_{12}H_{16}O_5$ và năm độ bất bão hòa (Hình 4.95). Phổ ^{1}H NMR ghi nhận một tín hiệu singlet ứng với một proton thơm tại δH 6.35 (H-5), gợi ý sự có mặt của một vòng benzene thế năm vị trí. Ngoài ra, hai tín hiệu singlet của nhóm methoxy được quan sát tại δ_H 3.80 (6-OCH_3) và 3.39 (9-OCH_3) (Bảng 4.22). Phân tích dữ liệu phổ ^{13}C NMR và HSQC cho thấy sự hiện diện của sáu carbon sp^2 thuộc vòng benzene thế năm vị trí, một nhóm hemiacetal đặc trưng tại δ_H 5.51 / δC 96.2 (C-1), hai nhóm oxymethylene [δ_H 4.08 và 3.86 / δ_C 58.5 (C-3) và δ_H 4.66 và 4.64 / δ_C 66.0 (C-9)], một nhóm methylene và hai nhóm methoxy (Bảng 4.22). Vị trí của hai nhóm methoxy tại C-6 và C-9 được xác định thông qua các tương quan HMBC lần lượt từ δ_H 3.80 đến δ_C 159.7 (C-6) và từ δ_H 3.39 đến δ_C 66.0 (C-9) (Hình 4.96). So sánh dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất **XT49.4** với dẫn xuất isochromane-1-one đã biết (stellatin) và với hợp chất **XT49.5** cho thấy sự tương đồng tương đối, tuy nhiên, phổ NMR của hợp chất **XT49.4** ghi nhận thêm một carbon hemiaxetal và một nhóm methoxy, thay thế lần lượt cho nhóm carbonyl và hydroxyl trong stellatin [114], gợi ý hợp chất **XT49.4** mang bộ khung carbon isochromane-1-ol. Vị trí của carbon hemiaxetal (C-1) được khẳng định thông qua tương tác HMBC từ H-3 đến C-1 và từ δ_H 5.51 đến C-3, C-4a, C-8 và C-8a. Chuỗi nhánh –CH_2–OCH_3 tại C-7 được xác định bởi các tương tác HMBC từ δ_H 4.66 và 4.64 đến C-6, C-7 và C-8. Ngoài ra, tương quan HMBC từ δ_H 6.35 (H-5) đến C-4 và C-6 giúp khẳng định sự hiện diện của nhóm hydroxyl tại C-8 (Hình 4.96). Cấu hình tuyệt đối của hợp chất **XT49.4** được xác định là *R* thông qua các tính toán phổ ECD sử dụng lý thuyết hàm mật độ phụ thuộc thời gian (TD-DFT) bằng phần mềm Gaussian 16W (Hình 4.97). Với những phân tích phổ chi tiết đã nêu, cấu trúc của hợp chất **XT49.4** được xác định là (*R*)-6-methoxy-7-(methoxymethyl)isochromane-1,8-diol, với tên gọi stellatinol A.

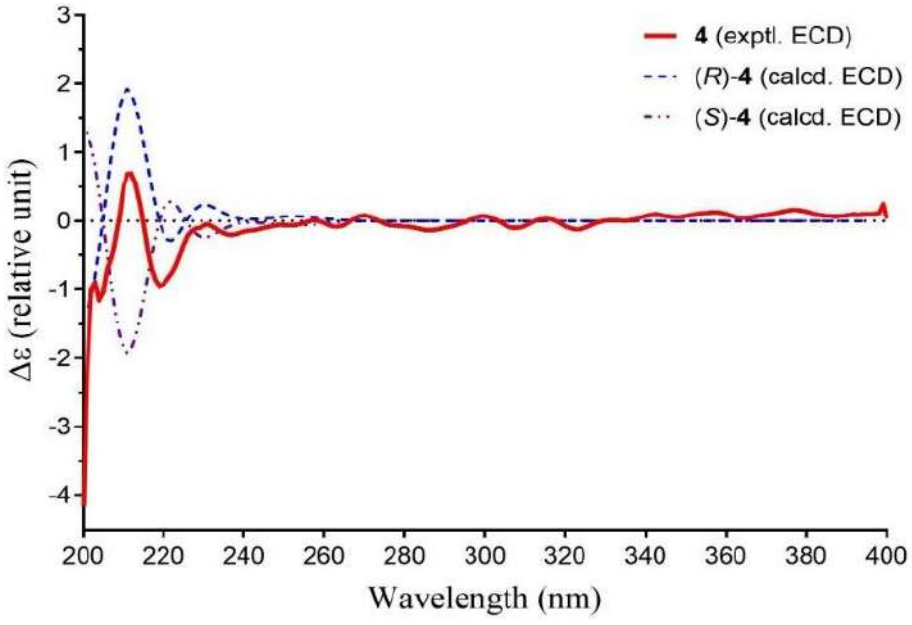
Bảng 4.22. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT49.4**

Vị trí	δ_C[#]	δ_C[a]	δ_H[a] (*J* in Hz)
1	166.5	96.2	5.51 (s)
3	63.9	58.5	4.08 (td, 3.5, 11.5) 3.86 (ddd, 1.0, 6.0, 11.5)
4	28.4	29.1	2.94 (m); 2.60 (dd, 3.0, 17.0)
4a	143.1	137.4	
5	102.6	103.1	6.35 (s)
6	151.4	159.7	
7	116.9	110.9	
8	158.7	156.0	
8a	105.2	115.9	
9	47.1	66.0	4.66 (s); 4.64 (s)
6-OCH_3	56.9	56.1	3.80 (s)
9-OCH_3		58.2	3.39 (s)

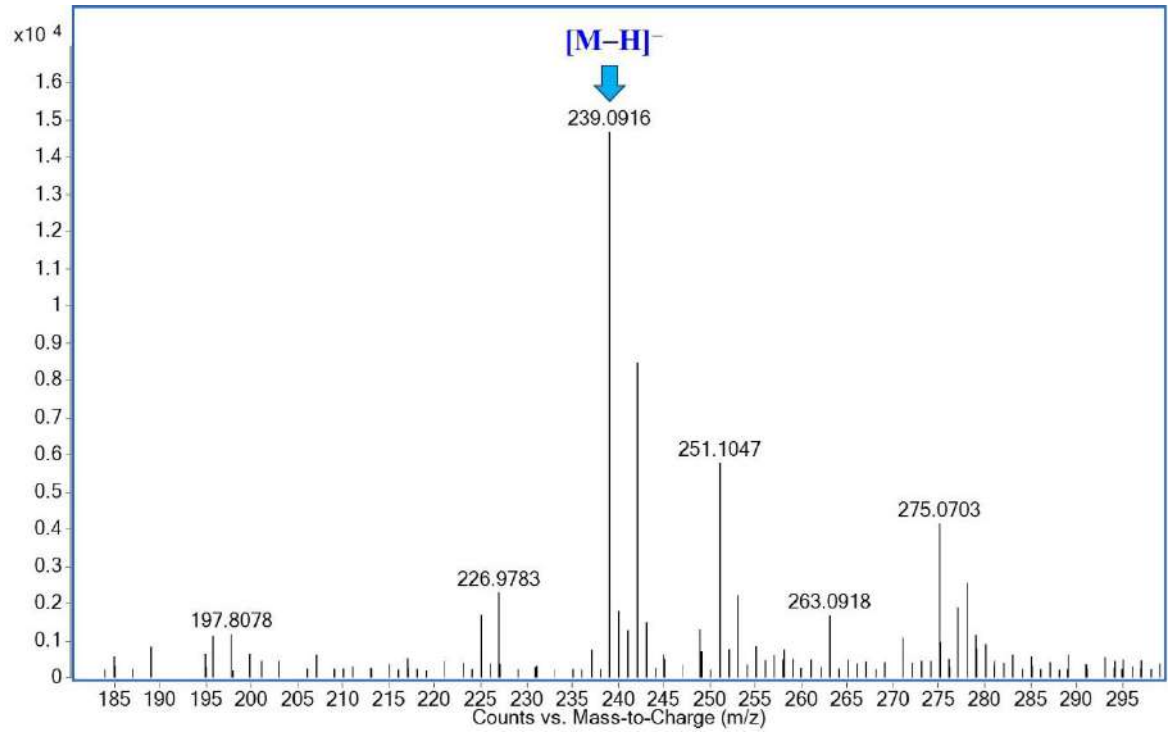
[a] Đo trong CD_3OD, [b]125 MHz, [c]500 MHz
[#] δ_C của hợp chất tham khảo đo trong $CDCl_3$ [114]



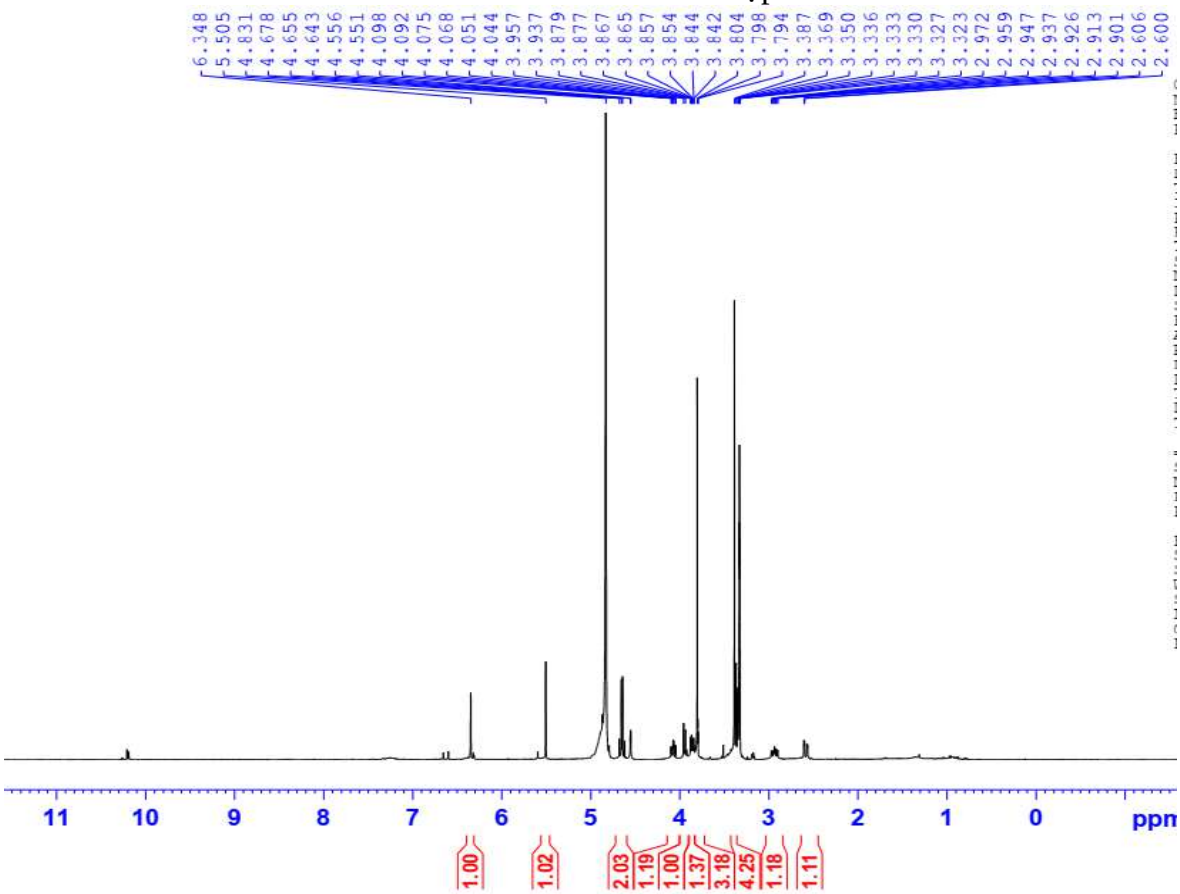
Hình 4.96. Các tương tác HMBC (H→C), COSY (▬) của **XT49.4**



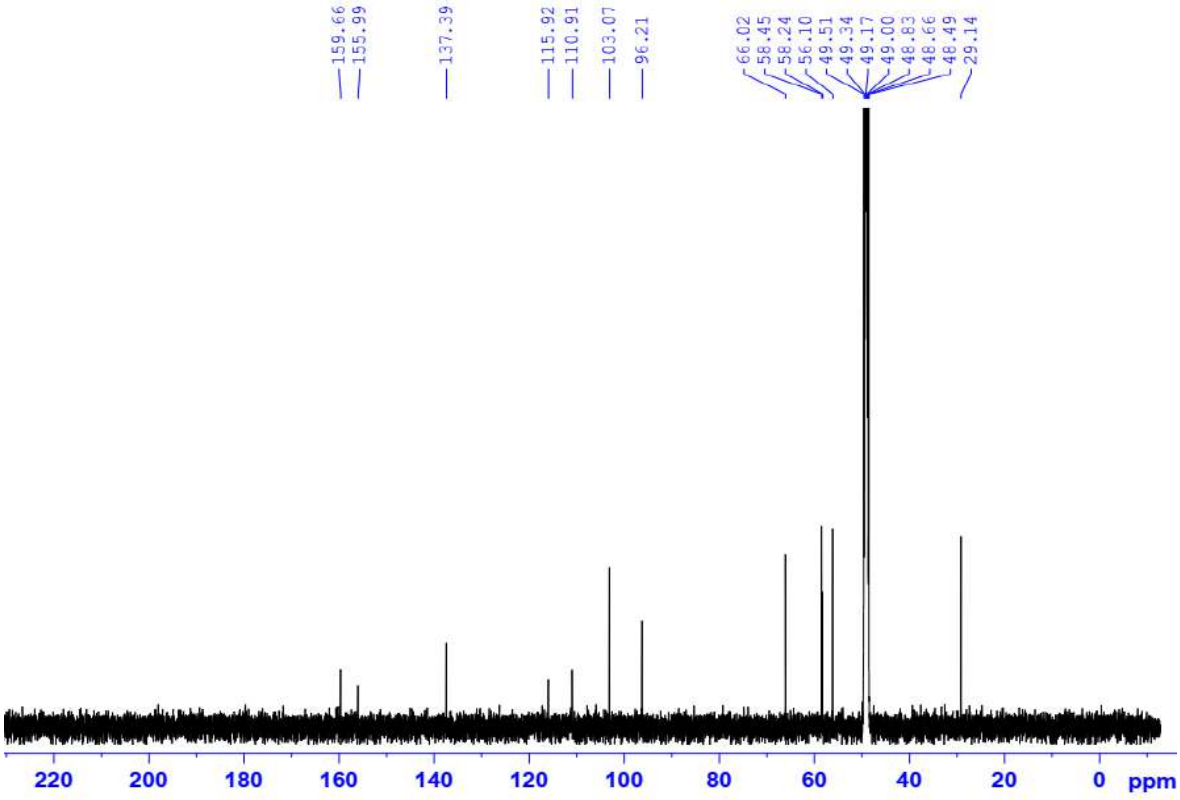
Hình 4.97. Phổ ECD thực nghiệm và tính toán của hợp chất **XT49.4**



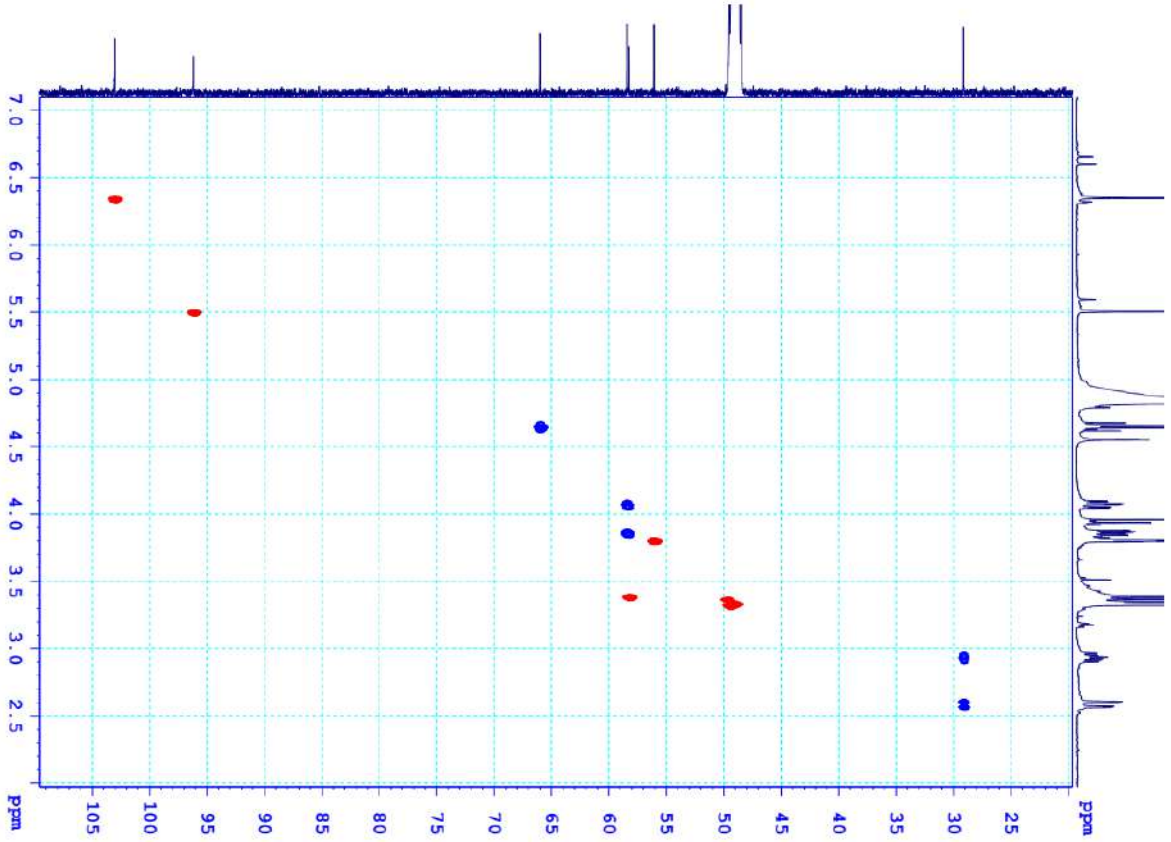
Hình 4.98. Phổ HR-ESI-MSMS của hợp chất **XT49.4**



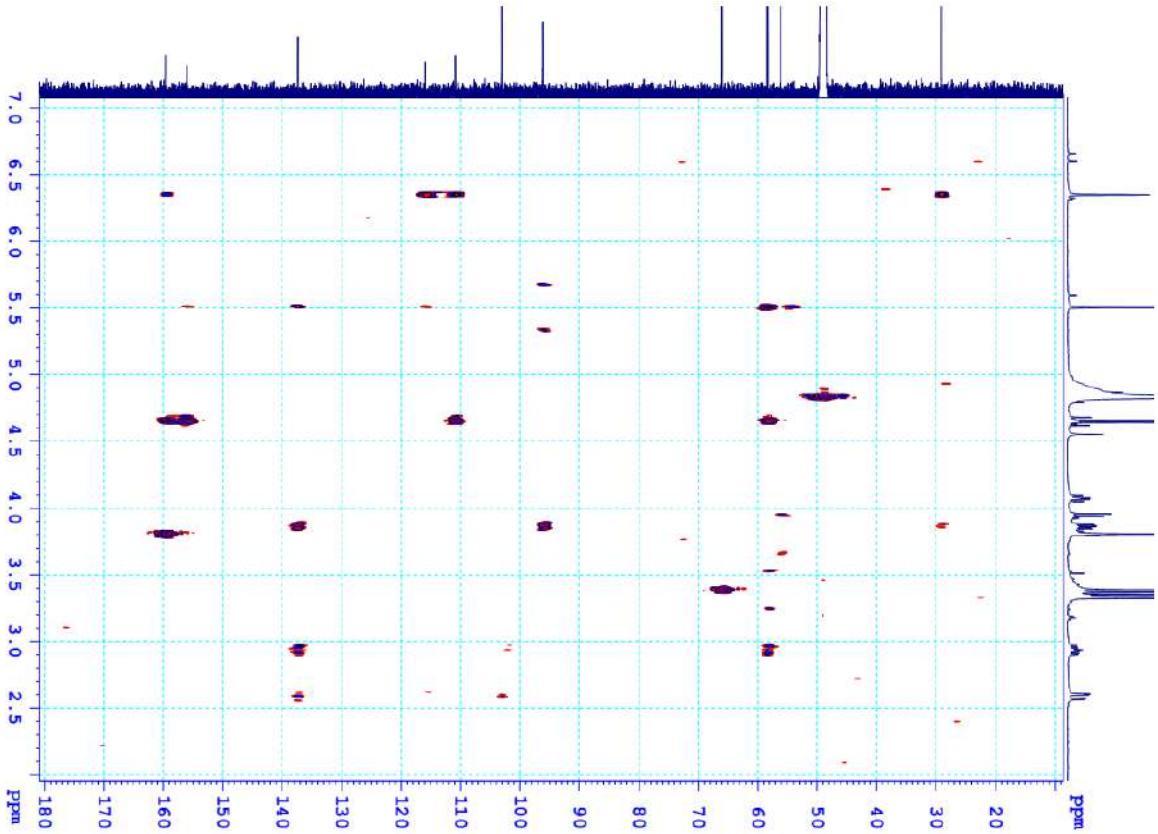
Hình 4.99. Phổ ^{1}H (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất **XT49.4**



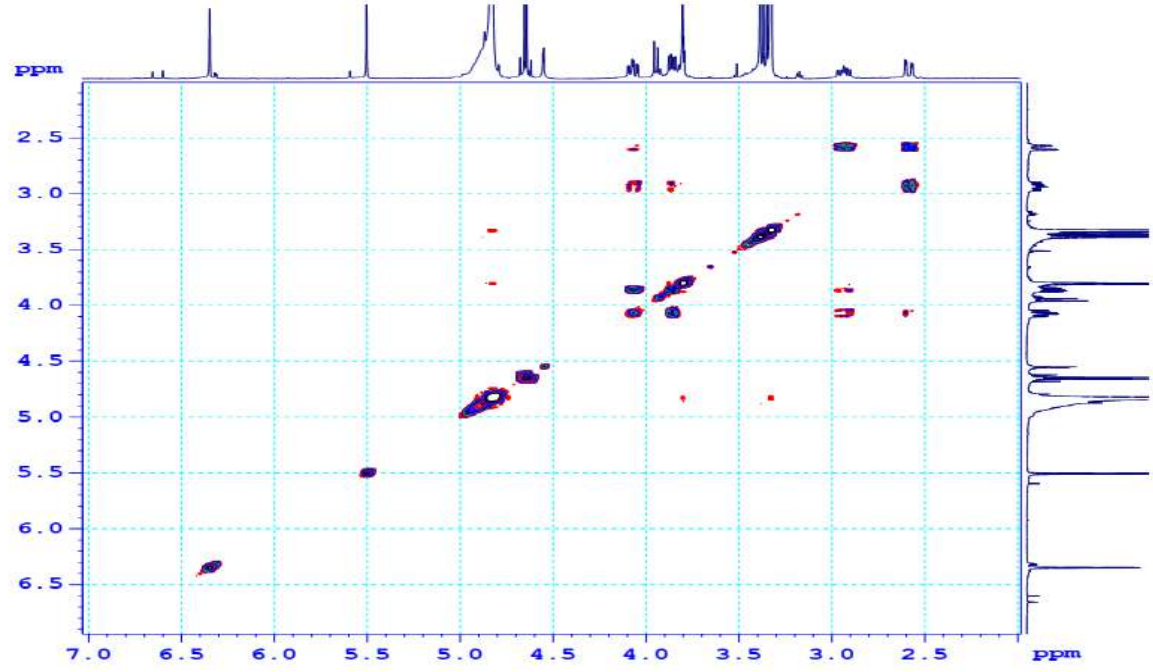
Hình 4.100. Phổ ^{13}C (CD_3OD, 125 MHz) của hợp chất **XT49.4**



Hình 4.101. Phổ HSQC (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất **XT49.4**

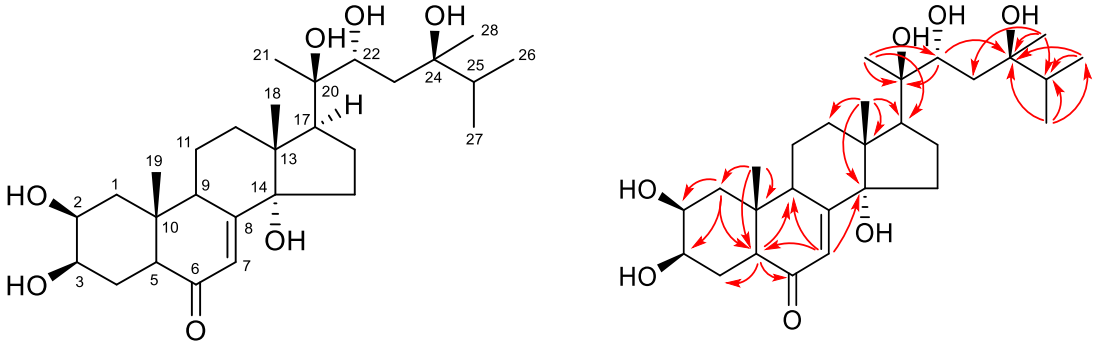


Hình 4.102. Phổ HMBC (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất **XT49.4**



Hình 4.103. Phổ COSY (CD_3OD, 500 MHz) của hợp chất **XT49.4**

4.1.3.3. Hợp chất XT49.2: Panuosterone



Hình 4.104. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT49.2**

Hợp chất **XT49.2** có dạng bột màu trắng. Các dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR thu được cho thấy đây cũng là một hợp chất ecdysteroid, tương tự như **XT49.1**. Theo đó, tiến hành so sánh các dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất **XT49.1** cho kết quả khá tương đồng, ngoại trừ sự thay thế tín hiệu của một nhóm methine ở **XT49.1** bởi tín hiệu của một carbon không liên kết với proton mang oxy tại δ_C 76.2 (C-24) ở **XT49.2**, đồng thời không ghi nhận tín hiệu của nhóm acetyl ở **XT49.2**, gợi ý 2 vị trí C-24 và C-3 ở **XT49.2** đã bị hydroxy hóa (Bảng 4.23). Điều này được khẳng định bởi tương tác HMBC từ H-28 đến C-23, C-24, và C-25 và từ H-1 đến C-3 (Hình 4.104). Tiến hành so sánh số liệu phổ NMR của hợp chất này (bao gồm các vị trí C-20, C-22 và C-24) với hợp chất panuosterone đã biết [112] cùng với các hợp chất đã được xác định cấu hình tuyệt đối [121], cho kết quả hoàn toàn tương đồng, qua đó khẳng định các vị trí và cấu hình tương đối của hợp chất **XT49.2**. Như vậy, trên cơ sở các phân tích phổ nêu trên, hợp chất **XT49.2** được xác định là panuosterone. Đáng chú ý, hợp chất này vẫn còn ít được phát hiện từ nguồn vi nấm [121].

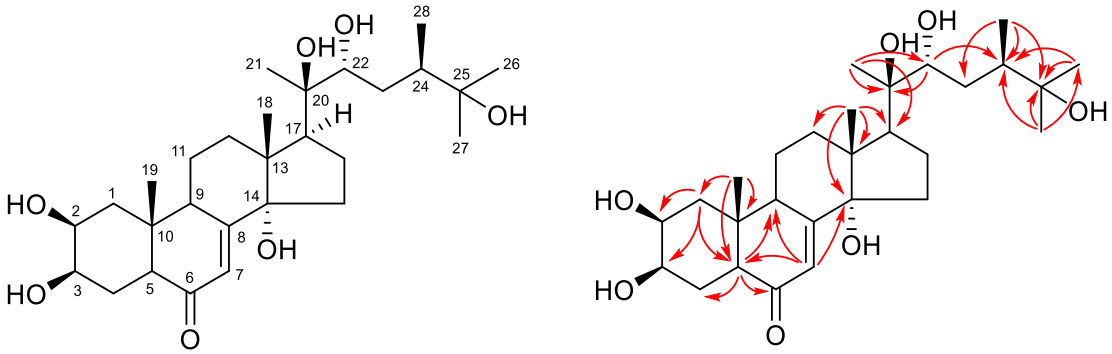
Bảng 4.23. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT49.2**

Vị trí	δ_C[a,[112]]	δ_C[a,b]	δ_H[a,c,d] (*J* = Hz)
1	37.38	37.4	1.82; 1.44
2	68.72	68.7	3.86 (dt, 3.5, 11.5)
3	68.52	68.5	3.97 (br s)
4	32.86	32.8	1.78; 1.73
5	51.80	51.8	2.41 (dd, 4.5, 12.5)
6	205.42	206.4	
7	122.30	122.3	5.84 (d, 2.5)
8	167.60	167.7	
9	34.90	35.1	3.17

10	39.30	39.3	
11	21.54	21.5	1.83; 1.73
12	32.44	32.4	2.14; 1.90
13		48.0	
14	85.40	85.4	
15	31.83	31.8	1.98; 1.62
16	21.44	21.4	2.05; 1.84
17	50.19	50.2	2.29 (t, 9.0)
18	17.98	18.0	0.92 (s)
19	24.40	24.4	0.99 (s)
20	77.81	77.8	
21	20.69	20.7	1.23 (s)
22	74.06	74.1	3.81 (d, 10.5)
23	41.18	41.2	1.77; 1.47
24	76.26	76.2	
25	37.28	37.2	1.93
26	18.82	18.8	0.94 (d, 7.0)
27	17.30	17.3	1.01 (d, 6.5)
28	22.16	22.2	1.10 (s)

[a] Đo trong CD_3OD, [b] 125 MHz, [c] 500 MHz
[d] Các tín hiệu bị chồng lấp không được gán độ bội

4.1.3.4. Hợp chất XT49.3: Makisterone A



Hình 4.105. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT49.3**

Hợp chất **XT49.3** có dạng bột màu trắng. Tiến hành so sánh các dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất **XT49.1** cho kết quả khá tương đồng, ngoại trừ không ghi nhận tín hiệu của nhóm acetyl ở **XT49.3** và có sự thay thế tín hiệu của một nhóm methine ở **XT49.1** bởi tín hiệu của một carbon không liên kết với proton mang oxy tại δ_C 71.0 (C-25) ở **XT49.2**, gợi ý vị trí C-3 và C-25 của **XT49.3** đã bị hydroxy hóa (Bảng 4.24). Điều này được khẳng định bởi tương tác HMBC từ H-26 và H-27 đến C-25 và từ H-1 đến C-3 (Hình 4.105). Tiến hành so sánh số liệu phổ NMR của hợp chất này (bao gồm các vị trí C-20, C-22 và C-24) với hợp chất

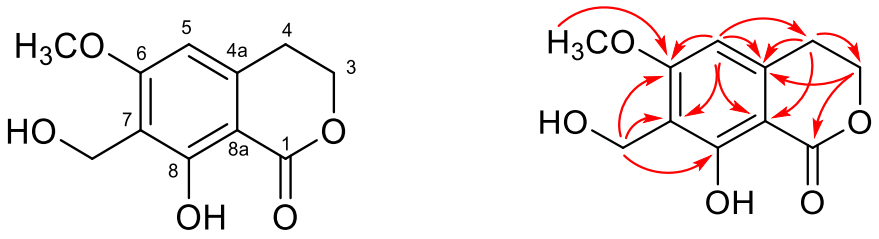
makisterone A và với các hợp chất có cấu hình tuyệt đối đã biết [113, 121] cho kết quả tương đồng, do đó, hợp chất **XT49.3** được xác định là makisterone A. Đáng chú ý, đây là lần đầu tiên hợp chất này được phân lập từ nguồn vi nấm.

Bảng 4.24. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT49.3**

Vị trí	δ_C[a,[113]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (*J* = Hz)
1	37.4	36.6	1.60; 1.26
2	68.7	66.7	3.60
3	68.5	66.5	3.76 (br s)
4	32.9	31.5	1.57; 1.48
5	51.8	50.0	2.20
6	206.5	202.6	
7	122.2	120.4	5.62 (d, 2.0)
8	168.0	165.2	
9	35.1	33.1	3.00 (br t, 8.0)
10	39.3	37.6	
11	21.5	20.0	1.88; 1.64
12	32.5	30.8	2.00; 1.72
13		46.8	
14	82.3	82.9	
15	31.8	30.2	1.78; 1.50
16	21.4	20.0	1.64; 1.53
17	50.4	48.5	2.21
18	18.1	17.1	0.77 (s)
19	24.4	23.8	0.85 (s)
20	78.0	75.8	
21	21.0	20.8	1.06 (s)
22	75.4	73.0	3.27 (dd, 1.5, 11.5)
23	34.5	33.1	1.44; 0.94 (t, 12.0)
24	41.7	39.5	1.60
25	73.8	71.0	
26	27.5	27.2	1.03 (s)
27	26.1	26.6	1.02 (s)
28		14.2	0.82 (d, 7.0)
2-OH			4.40 (br s)
3-OH			4.31 (d, 2.5)
14-OH			4.62 (s)
20-OH			3.56 (s)
22-OH			4.29 (d, 5.0)
25-OH			4.00 (s)

[a] Đo trong CD_3OD, [b] DMSO-d_6, [c] 125 MHz, [d] 500 MHz
[d] Các tín hiệu bị chồng lấp không được gán độ bội

4.1.3.5. Hợp chất XT49.5: Stellatin



Hình 4.106. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT49.5**

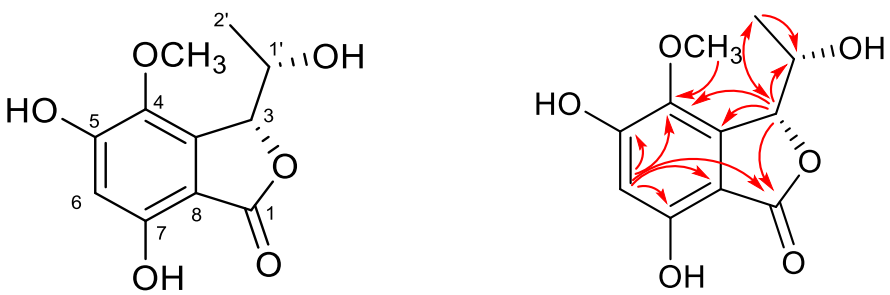
Hợp chất **XT49.5** có dạng bột màu trắng. Tiến hành so sánh các dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này với hợp chất **XT49.4** cho kết quả khá tương đồng, ngoại trừ sự thay thế tín hiệu của một nhóm oxymethine ở **XT49.1** bởi tín hiệu của một carbon carbonyl tại δ_C 171.5 (C-1) ở **XT49.5**, gợi ý hợp chất **XT49.5** thuộc nhóm 3,4-dihydroisocoumarin (Bảng 4.25). Vị trí của nhóm carbonyl được khẳng định bởi tương tác HMBC từ H-3 đến C-1 (Hình 4.106). Như vậy, hợp chất **XT49.5** được xác định là stellatin [123].

Bảng 4.25. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT49.5**

Vị trí	δ_C[a, [123]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (*J* = Hz)
1	169.3	171.5	
3	67.5	69.2	4.56 (t, 6.0)
4	28.0	28.8	3.08 (t, 6.0)
4a	141.1	143.9	
5	101.2	102.8	6.56 (s)
6	163.0	165.5	
7	114.9	115.5	
8	161.4	162.9	
8a	102.4	103.3	
9	53.9	53.0	4.69 (s)
6-OCH_3	55.9	56.6	3.94 (s)

[a] Đo trong D_2O, [b] CD_3OD, [c] 125 MHz, [d] 500 MHz

4.1.3.6. Hợp chất XT49.6: Embeurekol C



Hình 4.107. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT49.6**

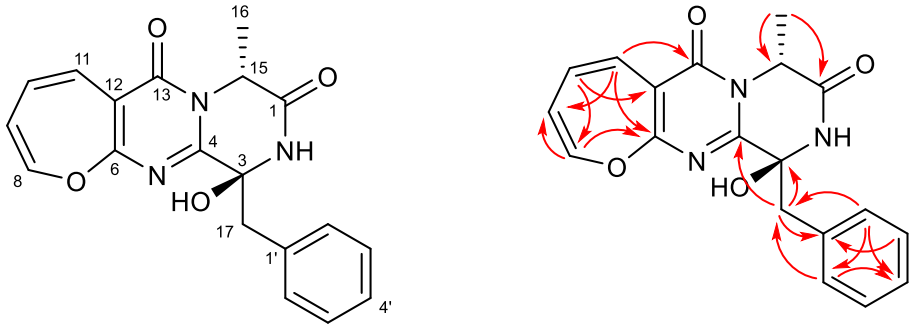
Hợp chất **XT49.6** có dạng bột màu trắng. Trên phổ ^{1}H NMR ghi nhận một tín hiệu singlet của một proton thơm tại δ_H 6.43 (H-6), gợi ý sự có mặt của một vòng benzene thế năm vị trí. Ngoài ra, tín hiệu singlet của một nhóm methoxy tại δ_H 3.82 (4-OCH_3), một doublet của một nhóm methyl bậc 2 tại δ_H 0.95 (J = 6.5 Hz, H-2′) và tín hiệu của hai nhóm oxymethine tại δ_H 5.60 (d, J = 2.5 Hz, H-3) và 4.44 (dd, J = 2.5, 6.5 Hz, H-1′) (Bảng 4.26). Phân tích dữ liệu phổ ^{13}C NMR và HSQC ghi nhận 11 tín hiệu carbon, bao gồm một carbon carbonyl tại δ_C 171.9 (C-1), sáu carbon sp^2 thuộc vòng benzene thế năm vị trí và 4 carbon sp^3 trong đó có 2 nhóm oxymethine, một nhóm methoxy và một nhóm methyl (Bảng 4.26). Các dữ kiện phổ này gợi ý hợp chất này thuộc nhóm isobenzofuranone. Theo đó, số liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất **XT49.6** hoàn toàn tương đồng với hợp chất isobenzofuranone đã biết, cho thấy sự phù hợp về cấu trúc của 2 hợp chất [115]. Điều này được khẳng định bởi các tương tác trên phổ HMBC, trong đó, tương tác từ δ_H 3.82 tới C-4 giúp xác định nhóm methoxy tại C-4 (Hình 4.107). Ngoài ra, tương tác từ δ_H 0.95 tới C-3 và C-1′ giúp khẳng định vị trí của nhánh CH_3-CH(OH)- tại C-3 của vòng γ-lactone. Như vậy, hợp chất **XT49.6** được xác định là embeurekol C.

Bảng 4.26. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT49.6**

Vị trí	δ_C[a, [115]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (*J* = Hz)
1	167.9	171.9	
3	82.0	84.7	5.60 (d, 2.5)
4	134.2	136.5	
5	156.7	159.4	
6	104.4	105.7	6.43 (s)
7	153.6	155.5	
8	102.8	104.4	
9	140.4	141.1	
4-OCH_3	59.8	60.9	3.82 (s)
1′	66.1	68.6	4.44 (dd, 2.5, 6.5)
2′	15.1	15.4	0.95 (d, 6.5)

[a] Đo trong DMSO-d_6, [b] CD_3OD, [c] 125 MHz, [d] 500 MHz

*4.1.3.7. Hợp chất **XT49.7**: Oxepinamide D*



Hình 4.108. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT49.7**

Hợp chất **XT49.7** có dạng bột màu trắng. Trên phổ ^{1}H NMR ghi nhận tín hiệu các 5 proton thơm, trong đó có 2 cặp proton đối xứng tại δ_H 7.13 (br d, 8.5, H-2′ và H-6′) và 7.28 (br t, 8.5, H-3′ và H-5′) và một proton tại δ_H 7.26 (br t, 8.5, H-4′), gợi ý sự có mặt của vòng phenyl (Bảng 4.27). Ngoài ra, tín hiệu của bốn proton olefin được ghi nhận tại δ_H 6.25 (d, 5.0, H-8), 5.77 (t, 5.0, H-9), 6.23 (dd, 5.0, 11.0, H-10), và 6.67 (d, 11.0, H-11), gợi ý sự xuất hiện của 2 liên kết đôi thế hai vị trí. Tín hiệu của một nhóm methyl bậc 2 tại δ_H 0.51 (d, 7.0, H-16) cũng được nhận diện trên phổ. Phân tích dữ liệu phổ ^{13}C NMR và HSQC ghi nhận 19 tín hiệu carbon, bao gồm 2 carbon carbonyl tại δ_C 168.1 (C-1) và 161.9 (C-13), 13 carbon sp^2 và 4 carbon sp^3 (Bảng 4.27). Trong số các carbon sp^2, tín hiệu của một vòng phenyl, 2 liên kết đôi thế hai vị trí, và 3 carbon không liên kết với proton [trong đó có 2 tín hiệu có độ dịch chuyển hóa học xa về phía trường thấp tại δ_C 158.9 (C-4) và 164.5 (C-6)]. Phổ HMBC ghi nhận tương tác của các proton olefin tại δ_H 6.67 (H-11) với δ_C 164.5 (C-6), 118.4 (C-9), và 161.9 (C-13), của δ_H 6.23 (H-10) với δ_C 144.7 (C-8) và 112.1 (C-12), và của δ_H 6.25 (H-8) với δ_C 164.5 (C-6), gợi ý có sự xuất hiện của một vòng oxepin trong phân tử (Hình 4.108) [116]. Tương tự, trong số các carbon sp^3, một nhóm methine liên kết với nitro tại δ_C 53.6 (C-15), một methylene tại δ_C 48.5 (C-17), một methyl và một carbon không liên kết với proton có độ dịch chuyển hóa học xa về phía trường thấp tại δ_C 85.7 (C-3) được ghi nhận. Các số liệu phổ này gợi ý hợp chất **XT49.7** thuộc nhóm alkaloid pyrimidine có chứa vòng oxepin. Theo đó, tiến hành so sánh số liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất **XT49.7** với hợp chất alkaloid pyrimidine có chứa vòng oxepin đã biết cho kết quả hoàn toàn tương đồng, cho thấy sự phù hợp về cấu trúc của 2 hợp chất [116]. Các vị trí được khẳng định bởi phân tích chi tiết phổ HMBC. Trong đó, vị trí của nhóm methyl tại C-15 được khẳng định bởi tương tác

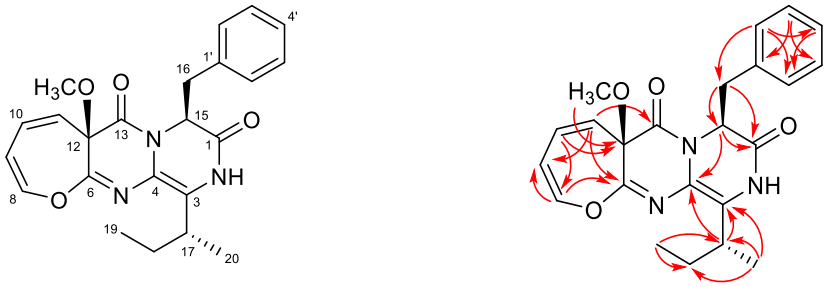
HMBC từ δ_H 0.51 (H-16) đến δ_C 168.1 (C-1) và 53.6 (C-15) (Hình 4.108). Vị trí của vòng benzyl tại C-3 được xác nhận bởi tương tác từ δ_H 3.70 và 3.20 (H-17) đến δ_C 85.7 (C-3) và 158.9 (C-4). Trên cơ sở các phân tích phổ nêu trên, hợp chất **XT49.7** được xác định là oxepinamide D.

Bảng 4.27. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT49.7**

Vị trí	δ_C[a, [116]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (*J* = Hz)
1	165.0	168.1	
3	84.3	85.7	
4	157.7	158.9	
6	162.3	164.5	
8	143.6	144.7	6.25 (d, 5.0)
9	117.3	118.4	5.77 (t, 5.0)
10	128.5	129.7	6.23 (dd, 5.0, 11.0)
11	125.1	125.9	6.67 (d, 11.0)
12	109.8	112.1	
13	159.6	161.9	
15	51.5	53.6	4.69 (q, 7.0)
16	17.7	18.3	0.51 (d, 7.0)
17	46.4	48.5	3.70 (d, 13.0) 3.20 (d, 13.0)
1′	134.6	135.5	
2′, 6′	130.6	132.0	7.13 (br d, 8.5)
3′, 5′	128.5	129.9	7.28 (br t, 8.5)
4′	127.3	128.9	7.26 (br t, 8.5)

[a] *Đo trong DMSO-d_6,* [b] *CD_3OD,* [c] *125 MHz,* [d] *500 MHz*

4.1.3.8. Hợp chất XT49.8: Oxepinamide F



Hình 4.109. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT49.8**

Hợp chất **XT49.8** có dạng bột màu trắng. Dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này khá tương đồng với hợp chất **XT49.7** cho thấy hợp chất **XT49.8** cũng thuộc nhóm hợp chất alkaloid pyrimidine có chứa vòng oxepin tương tự như **XT49.7**. Điểm khác biệt giữa 2 hợp chất là sự xuất hiện thêm của một nhóm methoxy tại δ_H 2.88 (s)/ δ_C 53.7 (12-OCH_3) ở **XT49.8** và sự thay thế một methyl bậc 2 của **XT49.7** bằng một

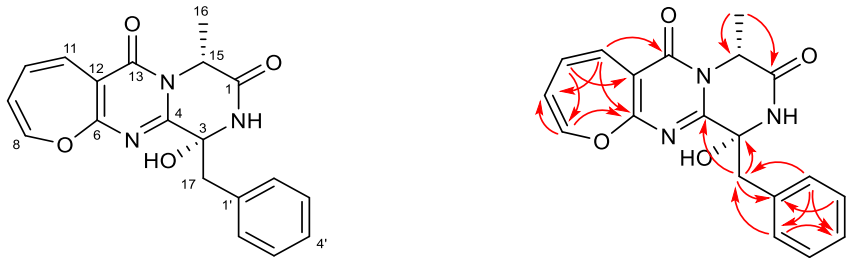
nhánh *sec*-butyl [δ_H 3.03 (m)/ δ_C 33.9 (C-17), δ_H 1.37 (m)/ δ_C 27.5 (C-18), δ_H 0.86 (t, J = 7.0 Hz)/ δ_C 12.3 (C-19), δ_H 1.03 (d, J = 7.0 Hz)/ δ_C 18.2 (C-20)] ở **XT49.8** (Bảng 4.28). Vị trí của nhóm methoxy tại C-12 được khẳng định bởi tương tác từ δ_H 2.88 tới δ_C 78.3 (C-12) (Hình 4.109). Ngoài ra, nhánh *sec*-butyl được xác định tại C-3 thông qua tương tác HMBC từ δ_H 1.03 (H-20) tới δ_C 125.2 (C-3) và từ δ_H 3.03 (H-17) đến δ_C 125.2 (C-3) và 117.3 (C-4). Với những biện giải phổ nêu trên, hợp chất **XT49.8** được xác định là oxepinamide F [116].

Bảng 4.28. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT49.8**

Vị trí	δ_C[a, [116]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (J = Hz)
1	165.4	167.9	
3	123.4	125.2	
4	115.1	117.3	
6	151.8	153.8	
8	144.5	145.4	6.69 (d, 7.0)
9	104.0	105.3	5.50 (t, 7.0)
10	130.9	132.4	6.29 (dd, 7.0, 10.0)
11	127.0	127.7	5.77 (d, 10.5)
12	76.3	78.3	
13	166.4	166.3	
15	55.8	57.8	5.40 (dd, 5.5, 8.5)
16	36.4	38.1	3.26 (dd, 5.5, 13.5) 3.02 (m)
17	32.1	33.9	3.03 (m)
18	25.6	27.5	1.37 (m)
19	12.1	12.3	0.86 (t, 7.0)
20	17.8	18.2	1.03 (d, 7.0)
12-OCH_3	52.3	53.7	2.88 (s)
1′	135.1	136.3	
2′, 6′	129.6	131.0	7.17 (br d, 8.5)
3′, 5′	128.3	129.6	7.27 (td, 1.5, 8.5)
4′	126.8	128.3	7.22 (br t, 8.5)

[a] Đo trong DMSO-d_6, [b] CD_3OD, [c] 125 MHz, [d] 500 MHz

4.1.3.9. Hợp chất XT49.9: Oxepinamide J



Hình 4.110. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT49.9**

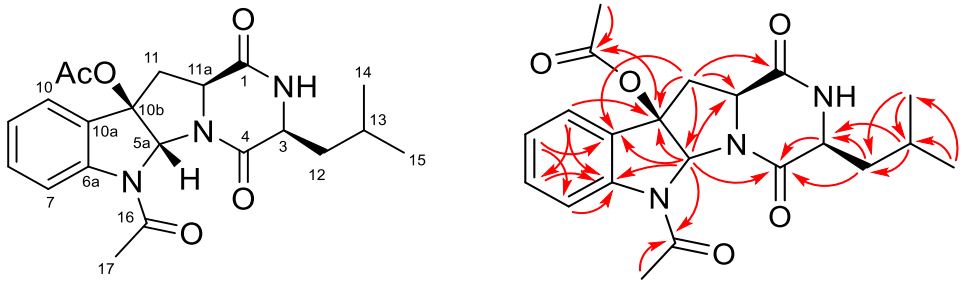
Hợp chất **XT49.9** có dạng bột màu trắng. Dữ liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất này khá tương đồng với hợp chất **XT49.7** cho thấy sự tương đồng về cấu trúc của 2 hợp chất. Tuy nhiên, độ dịch chuyển carbon ở một số vị trí có sự khác biệt đáng kể như [**XT49.9** (CD_3OD): δ_C 171.4 (C-1), 84.0 (C-3), 156.8 (C-4), 19.3 (C-16), 45.4 (C-17) so với **XT49.7** (CD_3OD): δ_C 168.1 (C-1), 85.7 (C-3), 158.9 (C-4), 18.3 (C-16), 48.5 (C-17)], gợi ý 2 hợp chất có cấu hình khác nhau ở vị trí C-3 (Bảng 4.29). Điều này được khẳng định bằng sự tương đồng hoàn toàn khi so sánh số liệu phổ của **XT49.9** với hợp chất tham khảo có cấu hình 3*R* [117] cùng với phân tích chi tiết các tương tác phổ HMBC (Hình 4.110). Như vậy, hợp chất **XT49.9** được xác định là oxepinamide J.

Bảng 4.29. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT49.9**

Vị trí	δ_C[a, [117]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (*J* = Hz)
1	168.8	171.4	
3	82.5	84.0	
4	155.4	156.8	
6	161.5	164.1	
8	143.4	144.5	6.20 (d, 5.5)
9	117.4	118.4	5.76 (t, 5.5)
10	128.5	129.6	6.25 (dd, 5.5, 11.0)
11	125.0	126.0	6.68 (d, 11.0)
12	110.1	112.3	
13	159.8	162.3	
15	52.0	54.0	4.80 (q, 7.0)
16	18.4	19.3	1.63 (d, 7.0)
17	43.0	45.4	3.82 (d, 14.0) 3.31 (d, 14.0)
1′	135.0	135.7	
2′, 6′	130.8	132.0	7.34 (br d, 8.0)
3′, 5′	127.8	129.2	7.24 (br t, 8.0)
4′	126.6	128.3	7.19 (br t, 8.0)

[a] Đo trong DMSO-d_6, [b] CD_3OD, [c] 125 MHz, [d] 500 MHz

4.1.3.10. Hợp chất XT49.10: Protubonine B



Hình 4.111. Cấu trúc hóa học và tương tác HMBC (H→C) của hợp chất **XT49.10**

Hợp chất **XT49.10** có dạng bột màu trắng. Trên phổ ^{1}H NMR ghi nhận tín hiệu các proton thơm tương ứng với hệ spin AA′BB′ tại δ_H 7.96 (d, J = 8.0, H-7), 7.42 (td, 1.0, 8.0, H-8), 7.24 (td, 1.0, 8.0, H-9), 7.61 (dd, 1.0, 8.0, H-10), gợi ý sự có mặt của một vòng benzene thế 1,2. Ngoài ra, của 2 nhóm methyl bậc 2 tại δ_H 0.98 và 0.95 (J = 6.5 Hz, H-14 và H-15) và tín hiệu singlet của hai nhóm methyl khác tại δ_H 2.64 (H-17) và 2.04 (10b-OAc) (Bảng 4.30). Phân tích dữ liệu phổ ^{13}C NMR và HSQC ghi nhận 21 tín hiệu carbon, bao gồm 4 carbon carbonyl tại δ_C 170.3 (C-1), 168.8 (C-4), 174.0 (C-16), 171.2 (10b-OAc), 6 carbon sp^2 thuộc vòng benzene thế 1,2, cùng với 11 carbon sp^3 (Bảng 4.30). Tín hiệu của 2 nhóm acetyl được khẳng định thông qua tương tác HMBC lần lượt từ δ_H 2.64 và 2.04 tới δ_C 174.0 (C-16) và 171.2 (10b-OAc) (Hình 4.111). Trong số 9 carbon sp^3 còn lại, tín hiệu 2 nhóm methylene tại δ_C 40.1 (C-11 và C-12), 4 nhóm methine [trong đó có 3 nhóm liên kết với nitro tại δ_C 54.5 (C-3), 81.0 (C-5a), và 58.8 (C-11a)], và 2 nhóm methyl bậc 2 còn lại (Bảng 4.30). Các dữ kiện phổ này gợi ý hợp chất này thuộc nhóm diketopipierazine alkaloid [118, 124]. Tiến hành so sánh số liệu phổ ^{1}H và ^{13}C NMR của hợp chất **XT49.10** với hợp chất diketopipierazine đã biết cho kết quả hoàn toàn tương đồng, cho thấy sự phù hợp về cấu trúc của 2 hợp chất [118]. Vị trí của 2 nhóm acetyl được khẳng định thông qua độ dịch chuyển hóa học về phía trường thấp tại 89.1 (C-10b) và tương tác HMBC từ δ_H 6.52 (H-5a) tới δ_C 174.0 (C-16). Vị trí của nhánh isobutyl tại C-3 được xác nhận bởi tín hiệu từ δ_H 1.95 và 1.56 (H-12) đến δ_C 54.5 (C-3) và 168.8 (C-4). Cuối cùng, hợp chất **XT49.10** được xác định là protubonine B.

Bảng 4.30. Số liệu phổ NMR của hợp chất **XT49.10**

Vị trí	δ_C[a,[118]]	δ_C[b,c]	δ_H[b,d] (*J* = Hz)
1	167.7	170.3	
3	53.3	54.5	4.10 (m)
4	166.3	168.8	
5a	80.1	81.0	6.52 (s)
6a	144.6	145.8	
7	119.3	120.1	7.96 (d, 8.0)
8	131.5	131.9	7.42 (td, 1.0, 8.0)
9	125.2	126.4	7.24 (td, 1.0, 8.0)
10	124.9	125.7	7.61 (dd, 1.0, 8.0)
10a	127.9	130.0	
10b	88.1	89.1	
11	39.5	40.1	3.16 (dd, 5.5, 12.0) 2.74 (t, 12.0)
11a	58.1	58.8	4.00 (ddd, 1.5, 6.0, 12.0)
12	39.6	40.1	1.95 (m) 1.56 (m)
13	24.5	25.6	1.89 (m)
14	23.4	23.4	0.98 (d, 6.5)
15	21.2	22.2	0.95 (d, 6.5)
16	171.4	174.0	
17	23.7	23.8	2.64 (s)
10b-OAc	169.6 21.2	171.2 21.1	 2.04 (s)

[a] Đo trong $CDCl_3$, [b] CD_3OD, [c] 125 MHz, [d] 500 MHz

4.2. Hoạt tính sinh học của các hợp chất

4.2.1. Hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Aspergillus sp. DVXT-221

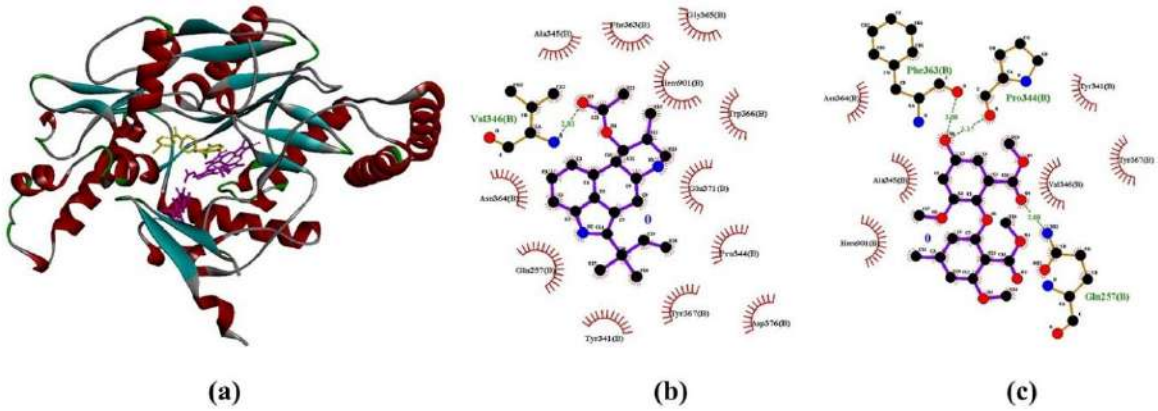
Trong y học cổ truyền, *R. stylosa* đã được sử dụng từ lâu để hỗ trợ điều trị vết thương, bệnh thấp khớp, tưa miệng, tiểu ra máu, các rối loạn chức năng gan, đau nhức cơ, đau lưng và đau xương. Nhiều nghiên cứu dược lý hiện đại đã chứng minh các dịch chiết từ cây *R. stylosa* thể hiện nhiều hoạt tính sinh học đáng chú ý, bao gồm kháng viêm, kháng khuẩn, chống oxy hóa, gây độc tế bào ung thư hạ sốt [93]. Trên cơ sở đó, các hợp chất phân lập từ chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221 từ cây *R. stylosa* được tiến hành đánh giá hoạt tính gây độc tế bào và kháng viêm thông qua mô hình ức chế sản sinh NO ở dòng tế bào RAW264.7.

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các hợp chất thử nghiệm đối với sự sống sót của tế bào bằng phương pháp MTT cho thấy các hợp chất không có độc tính đáng kể đổi với dòng tế bào thử nghiệm (Bảng 3.1). Kết quả thử nghiệm hoạt tính ức chế sự sản sinh NO cho thấy 2 hợp chất **XT37.1** và **XT37.9** ức chế mạnh sự sản sinh NO ở tế bào đại thực bào RAW264.7 kích thích bằng LPS (Bảng 3.1). Tiến hành phân tích so sánh cấu trúc và hoạt tính sinh học của các đồng phân ergot alkaloid (**XT37.1-XT37.5**) cho thấy các yếu tố như cấu hình H-10(β) ở hợp chất **XT37.1**, hướng quay α của nhóm prenyl tại vị trí C-3 ở hợp chất **XT37.3** có ảnh hưởng khá tích cực đến khả năng ức chế sản sinh NO. Bên cạnh đó, sự hiện diện của nhóm methyl ester đóng góp hoạt tính ức chế NO tốt hơn so với nhóm carboxyl khi quan sát hoạt tính của 2 hợp chất **XT37.8** và **XT37.9**.

Trên cơ sở kết quả thử nghiệm khả năng ức chế sản sinh NO, hợp chất **XT37.1** và **XT37.9** được tiến hành nghiên cứu khả năng liên kết với trung tâm hoạt động của enzyme iNOS - enzyme xúc tác cho quá trình tổng hợp NO trong các đại thực bào. Theo đó, nghiên cứu mô phỏng docking phân tử của 2 hợp chất **XT37.1** và **XT37.9** với cấu trúc tinh thể của enzyme iNOS (PDB ID: 3E6T) được phân tích thông qua công cụ docking AutoDock 4.2 (Hình 4.112). Kết quả cho thấy chất **XT37.1** có khả năng gắn kết tốt tại vùng hoạt động của enzym (năng lượng liên kết –12.71 kcal/mol), thể hiện qua sự hình thành liên kết hydro với gốc amino acid Val346, cùng với nhiều tương tác kỵ nước với các acid amin quan trọng như Ala345, Phe363, Gly365, Trp366, Glu371, Pro344, Tyr367, Asp376, Tyr341, Gln257 và Asn364. Sự hiện diện đồng thời của liên kết hydrogen và tương tác kỵ nước này cho thấy chất **XT37.1** có thể chiếm giữ vùng hoạt động một cách hiệu quả, từ đó ức chế hoạt động xúc tác của enzym iNOS. Đáng chú ý, năng lượng liên kết của **XT37.1** đối với trung tâm hoạt động của enzyme tương đương so với năng lượng liên kết của ligand tham chiếu AR-C118901 của enzyme này (–11.56 kcal/mol) cho thấy ái lực cao của **XT37.1**. Ngoài ra, hợp chất **XT37.9** thể hiện tương tác với trung tâm hoạt động của iNOS, với năng lượng liên kết –6.62 kcal/mol, thông qua các liên kết H với các gốc Phe363 và Pro344 và Gln257 và các tương tác kỵ nước với các gốc amino acid như Tyr341, Tyr367, Val346, Ala345 và Asn364. Kết quả docking phân tử cho thấy sự hiện diện đồng thời của liên kết hydrogen và tương tác kỵ nước cho thấy 2 hợp chất **XT37.1** và **XT37.9**

có thể chiếm giữ vùng hoạt động một cách hiệu quả, từ đó có thể ức chế hoạt động xúc tác của enzym iNOS trong sản sinh NO. Điều này củng cố giả thuyết rằng cả 2 hợp chất ức chế sự sản sinh quá mức NO thông qua điều hòa hoạt động của iNOS trên dòng tế bào RAW264.7 được kích thích bởi LPS. Những phát hiện cho thấy tiềm năng nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính kháng viêm của 2 hợp chất **XT37.1** và **XT37.9**.

Trên cơ sở kết quả hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất **XT37.5, XT37.7, XT37.8**, và **XT37.10** đã được nghiên cứu và công bố trên thế giới [85-87], hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất của **XT37.1-XT37.4, XT37.6** và **XT37.9** đối với 2 dòng tế bào ung thư biểu mô HepG2 và MCF7 được đánh giá bằng phương pháp SRB [77, 88]. Kết quả cho thấy, các hợp chất **XT37.1** và **XT37.3** thể hiện độc tính tế bào yếu đối với cả dòng tế bào HepG2 và MCF7, với giá trị IC_{50} dao động từ 61.1 ± 3.1 đến 77.2 ± 1.5 μM (Bảng 3.1), trong khi các hợp chất **XT37.2**, **XT37.4**, **XT37.6** và **XT37.9** không thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên cả hai dòng tế bào (IC_{50} > 100 μM).



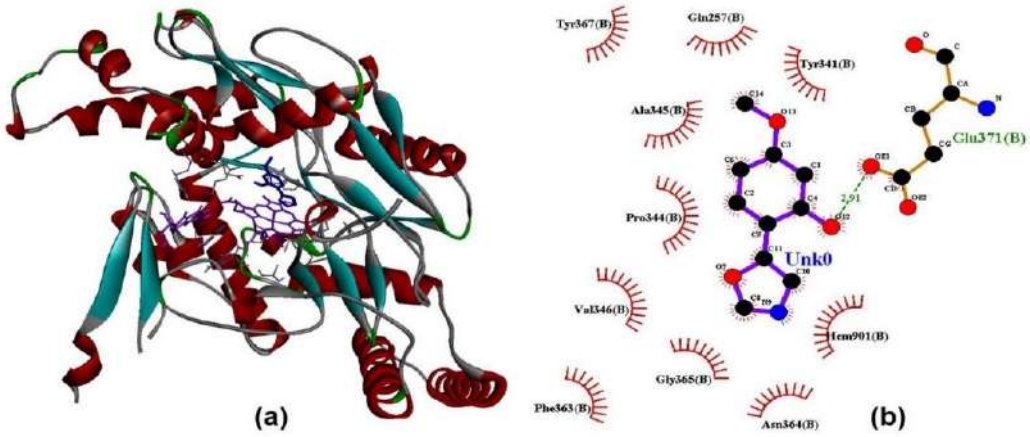
Hình 4.112. Mô hình docking phân tử 3D (a) và tương tác 2D với protein iNOS của hợp chất **XT37.1** (b) và **XT37.9** (c)

4.2.2. Hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Trichoderma sp. GXT-22.1

Các nghiên cứu dược lý ở cây *E. agallocha* đã chứng minh rằng các dịch chiết và hợp chất phân lập từ loài thực vật này thể hiện nhiều hoạt tính sinh học đáng chú ý, bao gồm chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, giảm đau, chống loét, chống ung thư, chống đái tháo đường và bảo vệ chống sự phát triển của khối u [105]. Trên cơ sở đó, các hợp chất phân lập từ sinh khối chủng vi nấm *Trichoderma* sp. GXT-22.1 từ cây *E. agallocha* được tiến hành đánh giá hoạt tính gây gây độc tế bào và kháng viêm.

Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO ở tế bào RAW264.7 kích thích bởi LPS cho thấy hợp chất **XT47.1** thể hiện hoạt tính sinh học nổi bật, với khả năng ức chế sự sản sinh NO, với giá trị IC_{50} đạt 37.5 ± 2.6 μM, trong khi các hợp chất còn lại (trừ **XT47.6** và **XT47.7** không có hoạt tính) chỉ thể hiện tác dụng ức chế tương đối thấp với sự sản sinh NO, với giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ 60.2 đến 86.5 μM (Bảng 3.2). Bên cạnh đó, các hợp chất thử nghiệm đều không có độc tính đáng kể đối với dòng tế bào thử nghiệm (Bảng 3.2). Kết quả mô phỏng docking phân tử cho thấy hợp chất **XT47.1** có khả năng tương tác hiệu quả với vị trí hoạt động của enzyme iNOS, với năng lượng liên kết –6.34 kcal/mol (Hình 4.113). Cụ thể, hợp chất **XT47.1** hình thành liên kết hydro với gốc Glu371 và tương tác kỵ nước với nhiều gốc amino acid quan trọng khác như Tyr341, Gln257, Tyr367, Ala345, Pro344, Val346, Gly365, Phe363 và Asn364. Những tương tác này cho thấy hoạt tính ức chế NO của hợp chất **XT47.1** có thể liên quan mật thiết đến khả năng gắn kết với iNOS để điều hòa hoạt động của enzyme này.

Các hợp chất **XT47.1–XT47.8** được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào đối với hai dòng tế bào ung thư là MCF-7 và HepG2. So với chất đối chứng dương ellipticine (tỷ lệ chết tế bào đạt 80.7% trên MCF-7 và 84.6% trên HepG2 ở nồng độ 2 μg/mL), tất cả các hợp chất thử nghiệm đều có gây chết tế bào thấp hơn ở nồng độ 100 μM ((Bảng 3.2). Đối với dòng tế bào MCF-7, hợp chất **XT47.4** thể hiện hoạt tính cao nhất, với tỷ lệ gây chết tế bào đạt 39.3 ± 2.3%, tiếp theo là **XT47.1** (32.9 ± 1.9%) và **XT47.3** (25.4 ± 1.9%), trong khi các hợp chất **XT47.7, XT47.5, XT47.6** và **XT47.8** gây chết tế bào từ 15% đến 22%. Ở dòng tế bào HepG2, hợp chất **XT47.1** cho thấy hoạt tính cao nhất, với tỷ lệ gây chết tế bào đạt 41.5 ± 3.0%, trong khi các hợp chất **XT47.3, XT47.4** và **XT47.7** gây chế tế bào ở mức thấp hơn, trong khoảng từ 21–23%. Các kết quả cho thấy chỉ có hợp chất **XT47.1** và **XT47.4** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào vẫn ở mức yếu, các hợp chất còn lại không gây ảnh hưởng đáng kể đến khả năng sống sót của tế bào và được xem là không có độc tính ở nồng độ thực nghiệm.



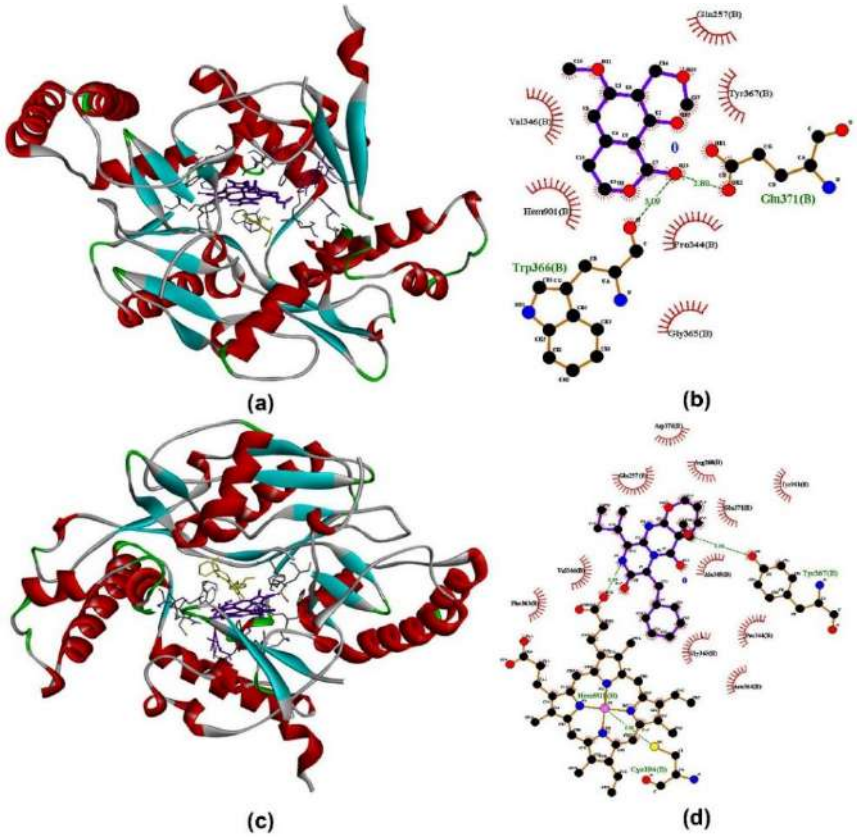
Hình 4.113. Mô hình docking phân tử 3D (a) và tương tác 2D (b) với protein iNOS của hợp chất **XT47.1**

4.2.3. Hoạt tính ức chế sự sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư của các hợp chất phân lập từ chủng Aspergillus sp. BCXT-22.1

Đối với loài *S. caseolaris*, hoạt tính chống oxy hóa và kháng vi sinh vật là hai hướng nghiên cứu được quan tâm nhiều. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu còn ghi nhận các tác dụng sinh học khác như ức chế hệ thần kinh trung ương, chống tiêu chảy, điều hòa chuyển hóa, kháng viêm, giảm đau, hạ sốt và chống dị ứng. Tuy nhiên, các nghiên cứu về hoạt tính gây độc tế bào ung thư còn tương đối hạn chế [119]. Trên cơ sở kết quả sàng lọc cho thấy chủng *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh trên các dòng tế bào ung thư thử nghiệm, các hợp chất **XT49.1–XT49.10** phân lập từ chủng *Aspergillus* sp. GXT-22.1 được thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào đối với 2 dòng tế bào ung thư người, bao gồm MCF-7 và HepG2 bằng phương pháp SRB. Kết quả cho thấy, trong các hợp chất thử nghiệm, hợp chất **XT49.1** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên cả 2 dòng tế bào MCF-7 và HepG2, với giá trị IC_{50} lần lượt là từ 75.41 ± 5.76 và 87.65 ± 3.49 µM (Bảng 3.3). Các hợp chất **XT49.2–XT49.7**, **XT49.9** và **XT49.10** chỉ thể hiện hoạt tính gây độc ở mức yếu trên dòng tế bào MCF-7, với giá trị IC_{50} trong khoảng từ 78.05 ± 2.24 đến 94.20 ± 3.41 µM. Tuy nhiên, ngoại trừ hợp chất **XT49.1**, tất cả các hợp chất đều không thể hiện hoạt tính trên dòng tế bào HepG2 (IC_{50} > 100 µM).

Ngoài ra, tất cả các hợp chất được khảo sát cũng được đánh giá hoạt tính chống viêm thông qua khả năng ức chế sản xuất NO trong tế bào vi thần kinh BV2 được kích thích bởi LPS. Ở nồng độ không gây độc tính đáng kể đối với tế bào thử nghiệm (40 µM), hầu hết các hợp chất chỉ thể hiện tác dụng ức chế yếu, với tỷ lệ ức chế NO

dao động từ 10.4 ± 0.9 đến 36.6 ± 1.3% (Bảng 3.3). Trong đó, hai hợp chất **XT49.4** và **XT49.8** cho thấy mức ức chế cao hơn rõ rệt so với các hợp chất còn lại, lần lượt đạt 36.6 ± 1.3% và 31.7 ± 2.9%. Trên cơ sở kết quả sàng lọc này, 2 hợp chất **XT49.4** và **XT49.8** đã được chọn để tiến hành mô phỏng docking phân tử nhằm khảo sát khả năng gắn kết với vị trí hoạt động của enzyme iNOS (PDB ID: 3E6T). Kết quả docking cho thấy cả hai hợp chất **XT49.4** và **XT49.8** đều có khả năng tương tác với vị trí hoạt động của iNOS thông qua liên kết hydro và các tương tác kỵ nước với các gốc amino acid đặc hiệu, với năng lượng liên kết lần lượt là –7.02 và –10.31 kcal/mol, cho thấy ái lực gắn kết với vị trí hoạt động của enzyme (Hình 4.114). Tương tự như với các nghiên cứu trên thế giới, hợp chất **XT49.4** hình thành liên kết hydro với amino acid Glu371, đây được xem là một amino acid quan trọng trong cơ chế xúc tác của iNOS, và tương tác kỵ nước với các gốc Gln257, Tyr367, Pro344 và Val346. Trong khi đó, hợp chất **XT49.8** có liên kết hydro với amino acid Tyr367 và nhóm Hem901, đồng thời tương tác kỵ nước với các amino acid quan trọng khác như Gln257, Arg260, Glu371, Tyr341 và Pro344. Những kết quả này cho thấy hoạt tính ức chế NO của các hợp chất **XT49.4** và **XT49.8** có thể liên quan đến khả năng điều hòa hoạt động của iNOS thông qua tương tác với vùng hoạt động của enzyme.



Hình 4.114. Mô hình docking phân tử 3D và tương tác 2D với protein iNOS của hợp chất **XT49.4** (a, b) và **XT49.8** (c, d)

KẾT LUẬN

1. Đã phân lập và xác định cấu trúc của 30 hợp chất sạch từ 3 chủng vi nấm thực vật ngập mặn *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1, trong đó có 6 hợp chất mới: fumigaclavine K–M **(XT37.1–XT37.3),** 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole **(XT47.1),** polyporusterone H **(XT49.1)** và stellatinol A **(XT49.4)** và một hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên: (*E*)-6,10-dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol **(XT47.2)**.

2. Đã đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh quá mức NO của các hợp chất sạch. Trong đó 2 hợp chất **XT37.1** và **XT37.9** thể hiện hoạt tính mạnh nhất (IC_{50} = 5.3 ± 0.2 và 8.7 ± 0.4 μM), 16 hợp chất **XT37.1–XT37.4, XT37.8–XT37.10, XT47.1–XT47.5, XT47.8, XT47.10, XT49.4,** và **XT49.8** thể hiện hoạt tính yếu hơn. Mô hình hóa docking phân tử cho thấy các hợp chất **XT37.1, XT37.9, XT47.1, XT49.4**, và **XT49.8** đều thể hiện ái lực liên kết với trung tâm hoạt động của enzyme iNOS, với năng lượng liên kết từ −12.71 đến −6.34 kcal/mol.

3. Đã đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư HepG2 và MCF7 của các hợp chất sạch. Trong đó 3 hợp chất **XT37.1**, **XT37.3** và **XT49.1** thể hiện hoạt tính trên cả 2 dòng tế bào HepG2 và MCF7 (IC_{50} = 61.1 ± 3.1 − 87.65 ± 3.49 μM). Các hợp chất **XT49.2–XT49.7**, **XT49.9** và **XT49.10** gây độc dòng tế bào MCF7 (IC_{50} = 76.56 ± 4.70 − 94.20 ± 3.41 μM).

ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Đã phân lập và xác định cấu trúc của 06 hợp chất mới, bao gồm: fumigaclavine K **(XT37.1),** fumigaclavine L **(XT37.2),** fumigaclavine M **(XT37.4),** 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole **(XT47.1),** polyporusterone H **(XT49.1)** và stellatinol A **(XT49.4),** và 01 hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên: (*E*)-6,10-dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol **(XT47.2)**.

2. Lần đầu tiên đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của 19 hợp chất, bao gồm: **XT37.1**, **XT37.3**, **XT47.1**–**XT47.8, XT49.1–XT49.7**, **XT49.9** và **XT49.10** đối với 2 dòng tế bào ung thư HepG2 và MCF-7.

3. Lần đầu tiên đánh giá hoạt tính hoạt tính ức chế sản sinh quá mức NO của 24 hợp chất, bao gồm: **XT37.1–XT37.4**, **XT37.8**–**XT37.10, XT47.1–XT47.5**, **XT47.8**, **XT47.10**, **XT49.1–XT49.10** và mô hình hóa docking phân tử của các hợp chất **XT37.1, XT37.9, XT47.1, XT49.4**, và **XT49.8** đối với trung tâm hoạt động của enzyme iNOS.

KIẾN NGHỊ

- Tiếp tục tiến hành các nghiên cứu sâu hơn về hoạt tính kháng viêm của các hợp chất **XT37.1, XT37.9, XT47.1, XT49.4**, và **XT49.8** để xác định cơ chế hoạt động ở cấp độ phân tử.
- Mở rộng nghiên cứu sàng lọc các hoạt tính sinh học khác của các các hợp chất sạch như hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định, ức chế enzyme, chống oxy hóa...

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Dang Viet Anh**, Tran Hong Quang, Ninh Thi Ngoc, Tran Thi Hong Hanh, Nguyen Xuan Cuong, Nguyen Thi Thanh Ngan, Nguyen Ngoc Tung, Nguyen Hoai Nam, Chau Van Minh. Fumigaclavines K-M, undescribed ergot alkaloids from the mangrove-derived fungus *Aspergillus* sp. DVXT-221 with cytotoxic and NO inhibitory activities. ***Tetrahedron***, 2025; 171: 134414. DOI: 10.1016/j.tet.2024.134414.

2. **Dang Viet Anh**, Do Hoang Anh, Le Thi Vien, Pham Thi Mai Huong, Nguyen Xuan Cuong, Nguyen Thi Thanh Ngan, Nguyen Ngoc Tung, Tran Hong Quang. An Oxazole Alkaloid, Terpenoids, and Cyclodipeptides with Cytotoxic and NO Inhibitory Effects from a Mangrove-Derived Fungus *Trichoderma* sp. GXT-22.1. ***Chemistry & Biodiversity***, 2025; 22(5): e202402986. DOI: 10.1002/cbdv.202402986.

3. **Dang Viet Anh**, Le Thi Vien, Pham Thi Cham, Nguyen Hoang Nam, Nguyen Quoc Vuong, Nguyen Thi Thanh Ngan, Do Thi Thao, Dong-Sung Lee, Tran Hong Quang. Ecdysteroids, Phenolics, and Alkaloids from a Mangrove-Derived Fungus *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 with Cytotoxic and NO Inhibitory Activities. ***Chemistry & Biodiversity***, 2025; 22(11): e01213. DOI: 10.1002/cbdv.202501213.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Keller N.P., Turner G., Bennett J.W., 2005, Fungal secondary metabolism — from biochemistry to genomics, *Nature Reviews Microbiology*, 3, 937-947.

[2] Schulz B., Boyle C., Draeger S., Römmert A.-K., Krohn K., 2002, Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites, *Mycological Research*, 106, 996-1004.

[3] Debbab A., Aly A.H., Lin W.H., Proksch P., 2010, Bioactive compounds from marine bacteria and fungi, *Microbial Biotechnology*, 3, 544-563.

[4] Hong K., Gao A.H., Xie Q.Y., Gao H., Zhuang L., Lin H.P., Yu H.P., Li J., Yao X.S., Goodfellow M., Ruan J.S., 2009, Actinomycetes for marine drug discovery isolated from mangrove soils and plants in China, *Marine Drugs*, 7, 24-44.

[5] Chen S., Cai R., Liu Z., Cui H., She Z., 2022, Secondary metabolites from mangrove-associated fungi: source, chemistry and bioactivities, *Natural Product Reports*, 39, 560-595.

[6] Kohlmeyer J., Volkmann-Kohlmeyer B., 1991, Illustrated key to the filamentous higher marine fungi, *Botanica Marina*, 34, 1-61.

[7] Jia S.L., Chi Z., Liu G.L., Hu Z., Chi Z.M., 2020, Fungi in mangrove ecosystems and their potential applications, *Critical reviews in biotechnology*, 40, 852-864.

[8] Deshmukh S.K., Gupta M.K., Prakash V., Reddy M.S., 2018, Mangrove-associated fungi: a novel source of potential anticancer compounds, *Journal of Fungi*, 4, 101.

[9] Ancheeva E., Daletos G., Proksch P., 2018, Lead compounds from mangrove-associated microorganisms, *Marine Drugs*, 16, 319.

[10] Yu Y., Wang Z., Xiong D., Zhou L., Kong F., Wang Q., 2024, New secondary metabolites of mangrove-associated strains, *Marine Drugs*, 22, 372.

[11] Chooi Y.-H., Tang Y., 2012, Navigating the fungal polyketide chemical space: from genes to molecules, *Journal of Organic Chemistry*, 77, 9933-9953.

[12] Sacchettini J.C., Poulter C.D., 1997, Creating isoprenoid diversity, *Science*, 277, 1788-1789.

[13] Gershenzon J., Dudareva N., 2007, The function of terpene natural products in the natural world, *Nature Chemical Biology*, 3, 408-414.

[14] Tholl D., 2015, Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants, *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 148, 63-106.

[15] Bohlmann J., Keeling C.I., 2008, Terpenoid biomaterials, *The Plant Journal*, 54, 656-669.

[16] Gang D., Kim D.W., Park H.-S., 2018, Cyclic Peptides: Promising Scaffolds for Biopharmaceuticals, *Genes*, 9, 557.

[17] Ebrahim W., Kjer J., El Amrani M., Wray V., Lin W., Ebel R., Lai D., Proksch P., 2012, Pullularins E and F, two new peptides from the endophytic fungus

Bionectria ochroleuca isolated from the mangrove plant *Sonneratia caseolaris*, *Marine Drugs*, 10, 1081.

[18] Cai S., Luan Y., Kong X., Zhu T., Gu Q., Li D., 2013, Isolation and photoinduced conversion of 6-epi-stephacidins from *Aspergillus taichungensis*, *Organic letters*, 15, 2168-2171.

[19] Phan Nguyên Hồng L.X.T., Phan Thị Anh Đào, 2007, Đa dạng sinh học ở Vườn quốc gia Xuân Thủy, *MERC-MCD, Hà Nội*,

[20] Thanh N.V., 2013-2014, Điều tra các chất có hoạt tính sinh học từ nguồn thực vật rừng ngập mặn tại khu vực vườn Quốc gia Xuân Thủy tỉnh Nam Định, *Đề tài Điều tra cơ bản cấp Viện Hàn lâm KHCNVN (Mã số: VAST.ĐTCB02/13-14)*,

[21] Wang H., Lu Z., Qu H.-J., Liu P., Miao C., Zhu T., Li J., Hong K., Zhu W., 2012, Antimicrobial aflatoxins from the marine-derived fungus *Aspergillus flavus* 092008, *Archives of Pharmacal Research*, 35, 1387-1392.

[22] Wu Y., Chen S., Liu H., Huang X., Liu Y., Tao Y., She Z., 2019, Cytotoxic isocoumarin derivatives from the mangrove endophytic fungus Aspergillus sp. HN15-5D, *Archives of Pharmacal Research*, 42, 326-331.

[23] Lu Z., Wang Y., Miao C., Liu P., Hong K., Zhu W., 2009, Sesquiterpenoids and benzofuranoids from the marine-derived fungus *Aspergillus ustus* 094102, *Journal of Natural Products*, 72, 1761-1767.

[24] Zhu T., Lu Z., Fan J., Wang L., Zhu G., Wang Y., Li X., Hong K., Piyachaturawat P., Chairoungdua A., Zhu W., 2018, Ophiobolins from the mangrove fungus *Aspergillus ustus*, *Journal of Natural Products*, 81, 2-9.

[25] Wu G., Yu G., Kurtan T., Mandi A., Peng J., Mo X., Liu M., Li H., Sun X., Li J., 2015, Versixanthones A–F, cytotoxic xanthone–chromanone dimers from the marine-derived fungus *Aspergillus versicolor* HDN1009, *Journal of Natural Products*, 78, 2691-2698.

[26] Yu G., Wu G., Sun Z., Zhang X., Che Q., Gu Q., Zhu T., Li D., Zhang G., 2018, Cytotoxic tetrahydroxanthone dimers from the mangrove-associated fungus *Aspergillus versicolor* HDN1009, *Marine Drugs*, 16, 335.

[27] Du L., Zhu T., Liu H., Fang Y., Zhu W., Gu Q., 2008, Cytotoxic polyketides from a marine-derived fungus *Aspergillus glaucus*, *Journal of Natural Products*, 71, 1837-1842.

[28] Zhou G., Chen X., Zhang X., Che Q., Zhang G., Zhu T., Gu Q., Li D., 2020, Prenylated p-terphenyls from a mangrove endophytic fungus, *Aspergillus candidus* LDJ-5, *Journal of Natural Products*, 83, 8-13.

[29] Cai S., Sun S., Zhou H., Kong X., Zhu T., Li D., Gu Q., 2011, Prenylated Polyhydroxy-p-terphenyls from Aspergillus taichungensis ZHN-7-07, *Journal of Natural Products*, 74, 1106-1110.

[30] Zhou H., Zhu T., Cai S., Gu Q., Li D., 2011, Drimane sesquiterpenoids from the mangrove-derived fungus *Aspergillus ustus*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59, 762-766.

[31] Deng C., Huang C., Wu Q., Pang J., Lin Y., 2013, A new sesquiterpene from the mangrove endophytic fungus *Aspergillus terreus* (No. GX7-3B), *Natural Product Research*, 27, 1882-1887.

[32] Cai R., Jiang H., Mo Y., Guo H., Li C., Long Y., Zang Z., She Z., 2019, Ophiobolin-Type Sesterterpenoids from the Mangrove Endophytic Fungus Aspergillus sp. ZJ-68, *Journal of Natural Products*, 82, 2268-2278.

[33] Elsbaey M., Tanaka C., Miyamoto T., 2019, New secondary metabolites from the mangrove endophytic fungus *Aspergillus versicolor*, *Phytochemistry Letters*, 32, 70-76.

[34] Gao H., Hong K., Chen G.-D., Wang C.-X., Tang J.-S., Yu Y., Jiang M.-M., Li M.-M., Wang N.-L., Yao X.-S., 2010, New oxidized sterols from *Aspergillus awamori* and the endo-boat conformation adopted by the cyclohexene oxide system, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 48, 38-43.

[35] Lin Z.-J., Zhang G.-J., Zhu T.-J., Liu R., Wei H.-J., Gu Q.-Q., 2009, Bioactive cytochalasins from *Aspergillus flavipes*, an endophytic fungus associated with the mangrove plant *Acanthus ilicifolius*, *Helvetica Chimica Acta*, 92, 1538-1544.

[36] Cai S., Sun S., Peng J., Kong X., Zhou H., Zhu T., Gu Q., Li D., 2015, Okaramines S–U, three new indole diketopiperazine alkaloids from *Aspergillus taichungensis* ZHN-7-07, *Tetrahedron*, 71, 3715-3719.

[37] Shen Y., Zou J., Xie D., Ge H., Cao X., Dai J., 2012, Butyrolactone and cycloheptanetrione from mangrove-associated fungus *Aspergillus terreus*, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 60, 1437-1441.

[38] Wang Y., Zhong Z., Zhao F., Zheng J., Zheng X., Zhang K., Huang H., 2022, Two new pyrone derivatives from the mangrove-derived endophytic fungus *Aspergillus sydowii* #2B, *Natural Product Research*, 36, 3872-3878.

[39] Bo X., Zhao Y., Qin F., Wu F., Tan M., Ju S., Song Z., Li W., He F., Wei Y., Xu H., Huang X., 2025, Cytotoxic metabolites from the mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. GXNU QG1a, *Natural Product Research*, 39, 2572-2579.

[40] Zhou D., Zhang W., Hao L., Qin X., Yang R., Li J., Huang X., 2022, A new sesquiterpene from mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. GXNU-MA1, *Natural Product Research*, 36, 1857-1863.

[41] Liu Z., Dong Z., Qiu P., Wang Q., Yan J., Lu Y., Wasu P.-a., Hong K., She Z., 2018, Two new bioactive steroids from a mangrove-derived fungus *Aspergillus* sp, *Steroids*, 140, 32-38.

[42] Zhang W., Hao L., Qin X., Huang J., Yang R., Li J., Huang X., 2023, A new lactone from mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. GXNU-A9, *Natural Product Research*, 37, 417-423.

[43] Zhang M., Liu J.-M., Zhao J.-L., Li N., Chen R.-D., Xie K.-B., Zhang W.-J., Feng K.-P., Yan Z., Wang N., Dai J.-G., 2016, Two new diterpenoids from the endophytic fungus Trichoderma sp. Xy24 isolated from mangrove plant Xylocarpus granatum, *Chinese Chemical Letters*, 27, 957-960.

[44] Zhang W., Zhao B., Du L., Shen Y., 2017, Cytotoxic Polyketides with an Oxygen-Bridged Cyclooctadiene Core Skeleton from the Mangrove Endophytic Fungus Phomosis sp. A818, *Molecules*, 22, 1547.

[45] Hương P.T.T., 2018, Nghiên cứu thực vật rừng ngập mặn có hoạt tính sinh học tại Vườn quốc gia Xuân Thủy và đề xuất khả năng sử dụng bền vững, *Luận án Tiến sĩ sinh học Học viện Khoa học và Công nghệ*,

[46] Rönsberg D., Debbab A., Mándi A., Wray V., Dai H., Kurtán T., Proksch P., Aly A.H., 2013, Secondary metabolites from the endophytic fungus *Pestalotiopsis virgatula* isolated from the mangrove plant *Sonneratia caseolaris*, *Tetrahedron Letters*, 54, 3256-3259.

[47] Liu Y., Wu Y., Zhai R., Liu Z., Huang X., She Z., 2016, Altenusin derivatives from mangrove endophytic fungus *Alternaria* sp. SK6YW3L, *RSC Advances*, 6, 72127-72132.

[48] Zhu M., Zhang X., Feng H., Che Q., Zhu T., Gu Q., Li D., 2016, Campyridones A–D, pyridone alkaloids from a mangrove endophytic fungus *Campylocarpon* sp. HDN13-307, *Tetrahedron*, 72, 5679-5683.

[49] Peng X., Wang Y., Sun K., Liu P., Yin X., Zhu W., 2011, Cerebrosides and 2-Pyridone Alkaloids from the Halotolerant Fungus *Penicillium chrysogenum* Grown in a Hypersaline Medium, *Journal of Natural Products*, 74, 1298-1302.

[50] Zang L.Y., Wei W., Guo Y., Wang T., Jiao R.H., Ng S.W., Tan R.X., Ge H.M., 2012, Sesquiterpenoids from the mangrove-derived endophytic fungus *Diaporthe* sp, *Journal of Natural Products*, 75, 1744-1749.

[51] Chen C.-J., Liu X.-X., Zhang W.-J., Zang L.-Y., Wang G., Ng S.W., Tan R.-X., Ge H.-M., 2015, Sesquiterpenoids isolated from an endophyte fungus *Diaporthe* sp, *RSC Advances*, 5, 17559-17565.

[52] Zou G., Li T., Yang W., Sun B., Chen Y., Wang B., Ou Y., Yu H., She Z., 2023, Antioxidative Indenone and Benzophenone Derivatives from the Mangrove-Derived Fungus Cytospora heveae NSHSJ-2, *Marine Drugs*, 21, 181.

[53] An C.-Y., Li X.-M., Luo H., Li C.-S., Wang M.-H., Xu G.-M., Wang B.-G., 2013, 4-Phenyl-3, 4-dihydroquinolone derivatives from *Aspergillus nidulans* MA-143, an endophytic fungus isolated from the mangrove plant *Rhizophora stylosa*, *Journal of Natural Products*, 76, 1896-1901.

[54] An C.-Y., Li X.-M., Li C.-S., Wang M.-H., Xu G.-M., Wang B.-G., 2013, Aniquinazolines A–D, Four New Quinazolinone Alkaloids from Marine-Derived Endophytic Fungus *Aspergillus nidulans*, *Marine Drugs*, 11, 2682.

[55] Gao S.-S., Li X.-M., Williams K., Proksch P., Ji N.-Y., Wang B.-G., 2016, Rhizovarins A–F, indole-diterpenes from the mangrove-derived endophytic fungus *Mucor irregularis* QEN-189, *Journal of Natural Products*, 79, 2066-2074.

[56] Zhang P., Li X.-M., Liu H., Li X., Wang B.-G., 2015, Two new alkaloids from *Penicillium oxalicum* EN-201, an endophytic fungus derived from the marine mangrove plant *Rhizophora stylosa*, *Phytochemistry Letters*, 13, 160-164.

[57] Zhou J., Feng Z., Zhang W., Xu J., 2022, Evaluation of the antimicrobial and cytotoxic potential of endophytic fungi extracts from mangrove plants Rhizophora stylosa and R. mucronata, *Scientific Reports*, 12, 2733.

[58] Wang J., Lu Z., Liu P., Wang Y., Li J., Hong K., Zhu W., 2012, Cytotoxic polyphenols from the fungus *Penicillium expansum* 091 006 endogenous with the mangrove plant *Excoecaria agallocha*, *Planta medica*, 78, 1861-1866.

[59] Lu Z., Zhu H., Fu P., Wang Y., Zhang Z., Lin H., Liu P., Zhuang Y., Hong K., Zhu W., 2010, Cytotoxic polyphenols from the marine-derived fungus *Penicillium expansum*, *J. Nat. Prod.*, 73, 911-914.

[60] Wang L., Han X., Zhu G., Wang Y., Chairoungdua A., Piyachaturawat P., Zhu W., 2018, Polyketides from the endophytic fungus *Cladosporium* sp. isolated from the mangrove plant *Excoecaria agallocha*, *Frontiers in chemistry*, 6, 344.

[61] Le H.M.T., Do Q.T., Doan M.H.T., Vu Q.T., Nguyen M.A., Vu T.H.T., Nguyen H.D., Duong N.T.T., Tran M.H., Chau V.M., 2019, Chemical Composition and Biological Activities of Metabolites from the Marine Fungi *Penicillium* sp. Isolated from Sediments of Co To Island, Vietnam, *Molecules*, 24, 3830.

[62] Luyen N.D., Ha T.T.H., Yen D.T.H., Nhiem N.X., Tai B.H., Gardes A., Kopprio G., Van Kiem P., 2019, Aspermicrones A-C, novel dibenzospiroketals from the seaweed-derived endophytic fungus *Aspergillus micronesiensis*, *Journal of Antibiotics*, 1-5.

[63] Luyen N.D., Huong L.M., Ha T.T.H., Cuong L.H., Yen D.T.H., Tai B.H., Nhiem N.X., Van Kiem P., 2019, Polyoxygenated polyketides from the marine-derived fungus *Aspergillus micronesiensis*, *Vietnam Journal of Chemistry*, 57, 654-660.

[64] Quang T.H., Kim D.C., Van Kiem P., Van Minh C., Nhiem N.X., Tai B.H., Yen P.H., Thi Thanh Ngan N., Kim H.J., Oh H., 2018, Macrolide and phenolic metabolites from the marine-derived fungus *Paraconiothyrium* sp. VK-13 with anti-inflammatory activity, *Journal of Antibiotics*, 71, 826-830.

[65] Quang T.H., Nhiem N.X., Tai B.H., Yen P.H., Dung D.T., Ngan N.T.T., Le Tuan Anh H., Van Minh C., Van Kiem P., 2018, Secondary metabolites from the marine-derived fungus *Paraconiothyrium* sp. VK-13, *Vietnam Journal of Chemistry*, 56, 434-439.

[66] Quang T.H., Phong N.V., Hanh T.T.H., Cuong N.X., Ngan N.T.T., Oh H., Nam N.H., Van Minh C., 2021, Cytotoxic and immunomodulatory phenol derivatives from a marine sponge-derived fungus *Ascomycota* sp. VK12, *Nat. Prod. Res.*, 35, 5153-5159.

[67] Quang T.H., Huong P.T.M., Ngan N.T.T., Hanh T.T.H., Cuong N.X., Nam N.H., Minh C.V., 2020, Secondary metabolites from a marine sponge-associated fungus *Xenomyrothecium* sp. IMBC-FP2.11, *Vietnam Journal of Chemistry*, 58, 752-758.

[68] Quang T.H., Vien L.T., Ngan L.N.A.N.T.T., Hanh T.T.H., Cuong N.X., Nam N.H., Minh C.V., 2021, Anti-inflammatory metabolites from a marine sponge-associated fungus *Aspergillus* sp. IMBC-FP2.05, *Vietnam Journal of Chemistry*, 59, 52-56.

[69] Trinh P.T.H., Chanh N.T.K., Ngoc N.T.D., Tien P.Q., Ly B.M., Van T.T.T., 2017, Secondary metabolites from a marine-derived fungus *Penicillium chrysogenum* 045-357-2, *Vietnam Journal of Science and Technology*, 55, 65-72.

[70] Bình N.T.T., 2010, Nghiên cứu thu nhận enzym amylase của một số chủng nấm sợi phân lập từ rừng ngập mặn Cần Giờ, *Luận văn Thạc sỹ sinh học trường ĐHSP TP Hồ Chí Minh*,

[71] Hà N.T., 2011, Tuyển chọn một số chủng nấm sợi từ rừng ngập mặn Cần Giờ có khả năng sinh tổng hợp enzyme chitinase cao, *Luận văn Thạc sỹ sinh học trường ĐHSP TP Hồ Chí Minh*,

[72] Kjer J., Debbab A., Aly A.H., Proksch P., 2010, Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products, *Nature Protocols*, 5, 479-490.

[73] Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Scalmani G., Barone V., Petersson G.A., Nakatsuji H., Li X., Caricato M., Marenich A.V., Bloino J., Janesko B.G., Gomperts R., Mennucci B., Hratchian H.P., Ortiz J.V., Izmaylov A.F., Sonnenberg J.L., Williams, Ding F., Lipparini F., Egidi F., Goings J., Peng B., Petrone A., Henderson T., Ranasinghe D., Zakrzewski V.G., Gao J., Rega N., Zheng G., Liang W., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Throssell K., Montgomery Jr. J.A., Peralta J.E., Ogliaro F., Bearpark M.J., Heyd J.J., Brothers E.N., Kudin K.N., Staroverov V.N., Keith T.A., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A.P., Burant J.C., Iyengar S.S., Tomasi J., Cossi M., Millam J.M., Klene M., Adamo C., Cammi R., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Farkas O., Foresman J.B., Fox D.J., 2016, Gaussian 16 Rev. C.01, *Gaussian Inc., Wallingford CT*,

[74] O'Boyle N.M., Vandermeersch T., Flynn C.J., Maguire A.R., Hutchison G.R., 2011, Confab-Systematic generation of diverse low-energy conformers, *Journal of Cheminformatics*, 3, 1-9.

[75] Bruhn T., Schaumlöffel A., Hemberger Y., Bringmann G., 2013, SpecDis: Quantifying the comparison of calculated and experimental electronic circular dichroism spectra, *Chirality*, 25, 243-249.

[76] Bruhn T., Schaumlöffel A., Hemberger Y., Pescitelli G., 2017, SpecDis version 1.71, Berlin, Germany, *https:/specdis-software.jimdo.com*,

[77] Monks A., Scudiero D., Skehan P., Shoemaker R., Paull K., Vistica D., Hose C., Langley J., Cronise P., Vaigro-Wolff A., Gray-Goodrich M., Campbell H., Mayo J., Boyd M., 1991, Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines, *Journal of the National Cancer Institute*, 83, 757-766.

[78] Scudiero D.A., Shoemaker R.H., Paull K.D., Monks A., Tierney S., Nofziger T.H., Currens M.J., Seniff D., Boyd M.R., 1988, Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines, *Cancer Research*, 48, 4827-4833.

[79] Hanh T.T.H., Huong P.T.M., Cham P.T., Anh D.H., Quang T.H., Cuong N.X., Oh H., Lee D.-S., Nam N.H., Minh C.V., 2024, Iridoids from the aerial parts of *Adenosma caeruleum* with their nitric oxide inhibitory effects, *Journal of Molecular Structure*, 1299, 137149.

[80] Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J., 2009, AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility, *Journal of Computational Chemistry*, 30, 2785-2791.

[81] Garcin E.D., Arvai A.S., Rosenfeld R.J., Kroeger M.D., Crane B.R., Andersson G., Andrews G., Hamley P.J., Mallinder P.R., Nicholls D.J., St-Gallay S.A., Tinker A.C., Gensmantel N.P., Mete A., Cheshire D.R., Connolly S., Stuehr D.J., Åberg A., Wallace A.V., Tainer J.A., Getzoff E.D., 2008, Anchored plasticity opens doors for selective inhibitor design in nitric oxide synthase, *Nature Chemical Biology*, 4, 700-707.

[82] Wallace A.C., Laskowski R.A., Thornton J.M., 1995, LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions, *Protein Engineering, Design and Selection*, 8, 127-134.

[83] Zhang J., Zhao W.-Y., Wang C., Yi J., Yu Z.-L., Deng S., Zhang H.-L., Huo X.-K., Sun C.-P., Ma X.-C., 2021, Identification, semisynthesis, and anti-inflammatory evaluation of 2,3-*seco*-clavine-type ergot alkaloids from human intestinal fungus *Aspergillus fumigatus* CY018, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 224, 113731.

[84] Hao L., Zhou D., Qin X., Zhang W., Yang R., Li J., Huang X., 2022, A new depsidone derivative from mangrove endophytic fungus *Aspergillus* sp. GXNU-A9, *Natural Product Research*, 36, 1878-1882.

[85] Zhang H., Zhu H.-T., Wang D., Yang C.-R., Zhang Y.-J., 2019, Sphingofungins G and H: new five-membered lactones from *Aspergillus penicilliodes* Speg, *Natural Product Research*, 33, 1284-1291.

[86] Xie F., Li X.-B., Zhou J.-C., Xu Q.-Q., Wang X.-N., Yuan H.-Q., Lou H.-X., 2015, Secondary metabolites from *Aspergillus fumigatus*, an endophytic fungus from the liverwort *Heteroscyphus tener* (Steph.) Schiffn, *Chemistry & Biodiversity*, 12, 1313-1321.

[87] Zou R., Wei C., Zhang X., Zhou D., Xu J., 2022, Alkaloids from endophytic fungus *Aspergillus fumigatus* HQD24 isolated from the Chinese mangrove plant *Rhizophora mucronata*, *Natural Product Research*, 36, 5069-5073.

[88] Quang T.H., Phong N.V., Anh D.V., Hanh T.T.H., Cuong N.X., Ngan N.T.T., Trung N.Q., Oh H., Nam N.H., Minh C.V., 2021, Bioactive secondary metabolites from a soybean-derived fungus *Aspergillus versicolor* IMBC-NMTP02, *Phytochemistry Letters*, 45, 93-99.

[89] Wang W.-H., Li C.-R., Qin X.-J., Yang X.-Q., Xie S.-D., Jiang Q., Zou L.-H., Zhang Y.-J., Zhu G.-L., Zhao P., 2024, Novel alkaloids from *Aspergillus fumigatus* VDL36, an endophytic fungus associated with *Vaccinium dunalianum*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72, 10970-10980.

[90] Xu J., Song Y.C., Guo Y., Mei Y.N., Tan R.X., 2014, Fumigaclavines D–H, new ergot alkaloids from endophytic *Aspergillus fumigatus*, *Planta Medica*, 80, 1131-1137.

[91] Ma Y.M., Li Y., Liu J.Y., Song Y.C., Tan R.X., 2004, Anti-*Helicobacter pylori* metabolites from *Rhizoctonia* sp. Cy064, an endophytic fungus in *Cynodon dactylon*, *Fitoterapia*, 75, 451-456.

[92] Liu R., Zhu W., Zhang Y., Zhu T., Liu H., Fang Y., Gu Q., 2006, A new diphenyl ether from marine-derived fungus *Aspergillus* sp. B-F-2, *Journal of Antibiotics*, 59, 362-365.

[93] Kalasuba K., Miranti M., Rahayuningsih S.R., Safriansyah W., Syamsuri R.R.P., Farabi K., Oktavia D., Alhasnawi A.N., Doni F., 2023, Red Mangrove (*Rhizophora stylosa* Griff.)-A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacological Activities, and Prospects, *Plants (Basel)*, 12,

[94] Tabudravu J.N., Jaspars M., 2002, Purealidin S and purpuramine J, bromotyrosine alkaloids from the Fijian marine sponge *Druinella* sp, *Journal of Natural Products*, 65, 1798-1801.

[95] Tian L.-W., Feng Y., Shimizu Y., Pfeifer T., Wellington C., Hooper J.N.A., Quinn R.J., 2014, Aplysinellamides A–C, bromotyrosine-derived metabolites from an Australian *Aplysinella* sp. marine sponge, *Journal of Natural Products*, 77, 1210-1214.

[96] Jiao R.H., Xu S., Liu J.Y., Ge H.M., Ding H., Xu C., Zhu H.L., Tan R.X., 2006, Chaetominine, a Cytotoxic Alkaloid Produced by Endophytic *Chaetomium* sp. IFB-E015, *Organic Letters*, 8, 5709-5712.

[97] Song Y.-P., Shi Z.-Z., Miao F.-P., Fang S.-T., Yin X.-L., Ji N.-Y., 2018, Tricholumin A, a Highly Transformed Ergosterol Derivative from the Alga-Endophytic Fungus *Trichoderma asperellum*, *Organic Letters*, 20, 6306-6309.

[98] Li W.-Y., Liu Y., Lin Y.-T., Liu Y.-C., Guo K., Li X.-N., Luo S.-H., Li S.-H., 2020, Antibacterial harziane diterpenoids from a fungal symbiont *Trichoderma atroviride* isolated from *Colquhounia coccinea* var. *mollis*, *Phytochemistry*, 170, 112198.

[99] Li X., Kim S.-K., Kang J.S., 2004, Polyketide and sesquiterpenediol metabolites from a marine-derived fungus, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 25, 607-608.

[100] Shi X.-S., Meng L.-H., Li X., Wang D.-J., Zhou X.-W., Du F.-Y., Wang B.-G., Li X.-M., 2020, Polyketides and terpenoids with potent antibacterial activities from the *Artemisia argyi*-derived fungus *Trichoderma koningiopsis* QA-3, *Chemistry & Biodiversity*, 17, e2000566.

[101] Wang L., Zhou X., Li X., 2016, Preparing method and application of fungi culture extract, *China, CN105503531A*,

[102] Fujita T., Takaishi Y., Takeda Y., Fujiyama T., Nishi T., 1984, Fungal metabolites. II. Structural elucidation of minor metabolites, valinotricin, cyclonerodiol oxide, and epicyclonerodiol oxide, from *Trichoderma polysporum*, *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 32, 4419-4425.

[103] Domzalski A., Margent L., Vigo V., Dewan F., Pilarsetty N.V.K., Xu Y., Kawamura A., 2021, Unambiguous Stereochemical Assignment of Cyclo(Phe-Pro), Cyclo(Leu-Pro), and Cyclo(Val-Pro) by Electronic Circular Dichroic Spectroscopy, *Molecules*, 26, 5981.

[104] Lin W.-X., Xie C.-L., Zhou M., Xia M.-L., Zhou T.-T., Chen H.-F., Yang X.-W., Yang Q., 2020, Chemical constituents from the deep sea-derived *Streptomyces xiamenensis* MCCC 1A01570 and their effects on RXRα transcriptional regulation, *Natural Product Research*, 34, 1461-1464.

[105] Sultana T., Mitra A.K., Das S. Phytochemicals and Biological Activities of Excoecaria agallocha L. In: Murthy HN, editor. Bioactive Compounds in Mangroves and their Associates. Cham: Springer Nature Switzerland; 2025. p. 1-16.

[106] Rashamuse T.J., Harrison A.T., Mosebi S., van Vuuren S., Coyanis E.M., Bode M.L., 2020, Design, synthesis and biological evaluation of imidazole and oxazole fragments as HIV-1 integrase-LEDGF/p75 disruptors and inhibitors of microbial pathogens, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 28, 115210.

[107] Julianti E., Lee J.-H., Liao L., Park W., Park S., Oh D.-C., Oh K.-B., Shin J., 2013, New polyaromatic metabolites from a marine-derived fungus *Penicillium* sp, *Organic Letters*, 15, 1286-1289.

[108] Matio Kemkuignou B., Treiber L., Zeng H., Schrey H., Schobert R., Stadler M., 2020, Macrooxazoles A–D, new 2,5-disubstituted oxazole-4-carboxylic acid derivatives from the plant pathogenic fungus *Phoma macrostoma*, *Molecules*, 25, 5497.

[109] He J., Yu W.-W., Isaka M., Cox R.J., Liu J.-K., Feng T., 2022, Antroxazole A, an oxazole-containing chamigrane dimer from the fungus *Antrodiella albocinnamomea* with immunosuppressive activity, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 20, 7278-7283.

[110] Miyazawa M., Nankai H., Kameoka H., 1996, Biotransformations of acyclic terpenoids, (±)-*trans*-nerolidol and geranylacetone, by *Glomerella cingulata*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1543-1547.

[111] Wolf-Rainer A., Burkhard S., Klaus K. Chiral compounds having a 1,2-dihydroxy-2-methylpropyl structure and preparation processes. Federal Republic of Germany: Gesellschaft fuer Biotechnologische Forschung m.b.H.; 1985.

[112] Vokáč K., Buděšnský M., Harmatha J., Kohoutová J., 1998, Ecdysteroid constituents of the mushroom *Tapinella panuoides*, *Phytochemistry*, 49, 2109-2114.

[113] Píš J., Buděšínskỳ M., Vokáč K., Laudová V., Harmatha J., 1994, Ecdysteroids from the roots of *Leuzea carthamoides*, *Phytochemistry*, 37, 707-711.

[114] Saeed A., Zaman A., and Rafique H., 2011, Total synthesis and cytotoxic activity of stellatin, *Journal of Asian Natural Products Research*, 13, 97-104.

[115] Ebrahim W., Aly A.H., Mándi A., Wray V., Essassi E.M., Ouchbani T., Bouhfid R., Lin W., Proksch P., Kurtán T., Debbab A., 2013, *O*-Heterocyclic Embeurekols from *Embellisia eureka*, an Endophyte of *Cladanthus arabicus*, *Chirality*, 25, 250-256.

[116] Lu X.-H., Shi Q.-W., Zheng Z.-H., Ke A.-B., Zhang H., Huo C.-H., Ma Y., Ren X., Li Y.-Y., Lin J., Jiang Q., Gu Y.-C., Kiyota H., 2011, Oxepinamides: Novel Liver X Receptor Agonists from *Aspergillus puniceus*, *European Journal of Organic Chemistry*, 2011, 802-807.

[117] Liang X., Zhang X., Lu X., Zheng Z., Ma X., Qi S., 2019, Diketopiperazine-Type Alkaloids from a Deep-Sea-Derived *Aspergillus puniceus* Fungus and Their Effects on Liver X Receptor α, *Journal of Natural Products*, 82, 1558-1564.

[118] Lorenzo P., Alvarez R., de Lera A.R., 2014, Total synthesis and structural revision of (–)-protubonine A and (–)-protubonine B, *European Journal of Organic Chemistry*, 2014, 2557-2564.

[119] Cerri F., Galli P., 2025, Phytochemistry and Pharmacological Potential of the Mangrove Plant *Sonneratia caseolaris*: A Comprehensive Review, *Marine Drugs*, 23, 378.

[120] Ishida H., Inaoka Y., Nozawa A., Shibatani J.-i., Fukushima M., Tsuji K., 1999, Studies of Active Substances in Herbs Used for Hair Treatment. IV. The Structure of the Hair Regrowth Substance, Polyporusterone A, from *Polyporus umbellatus* F, *Chem. Pharm. Bull.*, 47, 1626-1628.

[121] Huang Z.-H., Liang X., Gu Q., Ma X., Qi S.-H., 2023, Punicesterones A-G, polyhydroxylated mycoecdysteroids from the deep-sea-derived fungus *Aspergillus puniceus* SCSIO z021, *Phytochemistry*, 205, 113511.

[122] Ohsawa T., Yukawa M., Takao C., Murayama M., Bando H., 1992, Studies on constituents of fruit body of *Polyporus umbellatus* and their cytotoxic activity, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 40, 143-147.

[123] Simpson T.J., 1978, Use of long range 1H–13C couplings in structure determination: stellatin, a novel dihydroisocoumarin from *Aspergillus variecolor*, *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 627-628.

[124] Lee S.U., Asami Y., Lee D., Jang J.-H., Ahn J.S., Oh H., 2011, Protuboxepins A and B and protubonines A and B from the marine-derived fungus *Aspergillus* sp. SF-5044, *Journal of natural products*, 74, 1284-1287.

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
*

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM

Số 777-QĐ/HVKHCN

Hà Nội, ngày 27 tháng 8 năm 2026

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

- Căn cứ Quyết định số 175-QĐ/VHLKHCNVN ngày 28/04/2026 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

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

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

- Căn cứ Quyết định số 2013/QĐ-HVKHCN ngày 30/11/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận nghiên cứu sinh thông thường đợt 2 năm 2022;

- Căn cứ Quyết định số 1284 /QĐ-HVKHCN ngày 27/ 11 /2025 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc gia hạn lần 1 thời gian học tập cho nghiên cứu sinh Đặng Việt Anh;

- Xét đề nghị của Trưởng phòng Đào tạo.

GIÁM ĐỐC HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
QUYẾT ĐỊNH

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Đặng Việt Anh với đề tài:

Nghiên cứu thành phần hoá học , hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 9 44 01 14

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

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

Quyết định có hiệu lực kể từ ngày ký đến trước ngày 24/11/2026. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

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

Nơi nhận:
- Như Điều 3,
- Lưu hồ sơ NCS,
- Lưu VT,ĐT,HK.12.

GIÁM ĐỐC

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

PGS.TS. Hoàng Anh Sơn

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

(Kèm theo Quyết định số 777- QĐ/HVKHCN ngày 27/ 8 /2026 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Cho luận án của nghiên cứu sinh: Đặng Việt Anh

Về đề tài: **Nghiên cứu thành phần hoá học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1**

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 9 44 01 14

Người hướng dẫn chính: PGS.TS. Trần Hồng Quang, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn phụ: PGS.TS. Nguyễn Ngọc Tùng, Trung tâm Đổi mới sáng tạo công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1	GS.TS. Ngô Quốc Anh	Hóa hữu có	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2	PGS.TS. Phan Văn Kiệm	Hóa hữu cơ	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 1
3	PGS.TS. Lê Nguyễn Thành	Hóa hữu cơ	Viện Dược liệu	Phản biện 2
4	PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh	Hóa hữu cơ	Trung tâm Đổi mới sáng tạo công nghệ cao, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
5	GS.TS. Nguyễn Huy Hoàng	Sinh học phân tử	Viện Sinh học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
6	PGS.TS. Bùi Thị Thu Trang	Hóa hữu cơ	Đại học Công nghiệp Hà Nội	Ủy viên
7	TS. Trương Thị Thu Hiền	Hóa hữu cơ	Học viện Quân y	Ủy viên

(Hội đồng gồm 07 thành viên)./.

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

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: Lê Nguyễn Thành
Học hàm, học vị: PGS.TS
Cơ quan công tác: Viện Dược liệu
Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Việt Anh
Thầy hướng dẫn: PGS.TS. Trần Hồng Quang
PGS.TS. Nguyễn Ngọc Tùng
Tên đề tài luận án: **"Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1"**
Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 9 44 01 14

Nội dung nhận xét:

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

Việc tìm kiếm các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học nhằm định hướng phát triển dược chất mới (đặc biệt là thuốc kháng viêm và thuốc điều trị ung thư) từ hệ sinh thái đặc thù như rừng ngập mặn đang là xu hướng nghiên cứu mũi nhọn của ngành Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Vườn Quốc gia (VQG) Xuân Thủy là khu vực của Việt Nam với đa dạng sinh học phong phú. Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đây tại khu vực này chủ yếu tập trung vào thực vật bậc cao; nguồn tài nguyên vi nấm nội sinh/liên kết thực vật ngập mặn hầu như chưa được khảo sát một cách có hệ thống về hóa học và hoạt tính sinh học.

Luận án "Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1" đã cung cấp bộ dữ liệu khoa học tin cậy về thành phần chuyển hóa thứ cấp của ba chủng vi nấm thuộc hai chi *Aspergillus* và *Trichoderma*. Các kết quả đóng góp quan trọng vào kho tàng tri thức về sự đa dạng hóa học của vi sinh vật biển và vi nấm đất ngập nước ven biển. Việc phát hiện ra các hoạt chất có khả năng ức chế mạnh sự sản sinh NO kích thích bởi LPS trên tế bào đại thực bào (điển hình như XT37.1 và XT37.9 với IC50 từ 5,3−8,7μM, mạnh hơn cả đối chứng dương dexamethasone) cùng với nghiên cứu mô phỏng docking phân tử trên enzyme iNOS mở ra triển vọng ứng dụng cụ thể trong nghiên cứu phát triển thuốc kháng viêm nguồn gốc tự nhiên.

Luận án có tính cấp thiết, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn

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

Đề tài là công trình nghiên cứu nguyên bản, độc lập và hoàn toàn không trùng lặp với bất kỳ công trình, luận án nào đã bảo vệ trước đây ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Ba chủng vi nấm (*Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1, *Aspergillus* sp. BCXT-22.1) được định danh bằng sinh học phân tử (giải trình tự gen ITS rDNA) và đăng ký mã GenBank (PQ119563, PQ559788, PV425981).

Tài liệu tham khảo gồm 124 công trình uy tín, cập nhật nhiều bài báo quốc tế chuyên ngành xuất bản giai đoạn 2018–2025, được trích dẫn đúng quy chuẩn..

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

Tên đề tài phản ánh trung thực, chính xác và bao quát toàn bộ nội dung nghiên cứu thực nghiệm trong luận án. Tên đề tài hoàn toàn phù hợp với nội dung, kết quả nghiên cứu, phù hợp với chuyên ngành và mã số của chuyên ngành

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

Quy trình sinh học vi sinh Quy trình hoạt hóa 3 cấp, nhân giống và lên men tĩnh sinh khối rắn trên môi trường PDA quy mô lớn (~15 kg giá thể/chủng) được chuẩn hóa, kiểm soát nhiễm tạp nghiêm ngặt.

Kỹ thuật phân lập và tinh sạch: Sử dụng Kết hợp các phương pháp sắc ký cổ điển và hiện đại gồm sắc ký cột pha thường (Silica gel), sắc ký rây phân tử (Sephadex LH-20), sắc ký pha đảo (RP-C18) và sắc ký lỏng hiệu năng cao điều chế (Prep-HPLC) với đầu dò DAD, cho phép tinh sạch được 30 hợp chất.

Phương pháp xác định cấu trúc: Sử dụng các phương pháp hiện đại như phổ khối phân giải cao HRESI-QTOFMS, phổ cộng hưởng từ hạt nhân 1D/2D NMR (1H, 13C, HSQC, HMBC, COSY, NOESY/ROESY). Cấu hình lập thể tuyệt đối được xác lập vững chắc nhờ kết hợp phổ lưỡng sắc tròn (ECD), góc quay cực thực nghiệm với tính toán mô phỏng hóa lượng tử bằng lý thuyết TD-DFT.

Đánh giá hoạt tính sinh học và tin sinh học: Các phương pháp thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào (SRB) trên dòng MCF-7, HepG2 và thử nghiệm ức chế NO trên dòng RAW264.7/BV2 tuân thủ quy chuẩn của Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (NCI) và các phương pháp thường quy, Nghiên cứu docking phân tử sử dụng AutoDock 4.2.6 là phương pháp hiện đại.

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

Đóng góp mới về mặt hóa học: Đã phân lập và xác định cấu trúc của 30 hợp chất sạch từ 3 chủng vi nấm thực vật ngập mặn *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1, trong đó có 6 hợp chất mới: fumigaclavine K–M **(XT37.1–XT37.3),** 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole **(XT47.1),** polyporusterone H **(XT49.1)** và stellatinol A **(XT49.4)** và một hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên: (*E*)-6,10-dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol **(XT47.2)** .

Về hoạt tính sinh học:

+ Đã đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh quá mức NO của các hợp chất sạch. Trong đó 2 hợp chất **XT37.1** và **XT37.9** thể hiện hoạt tính mạnh nhất (IC_{50} = 5.3 ± 0.2 và 8.7 ± 0.4 μM), 16 hợp chất **XT37.1–XT37.4, XT37.8–XT37.10, XT47.1–XT47.5, XT47.8, XT47.10, XT49.4,** và **XT49.8** thể hiện hoạt tính yếu hơn. Mô hình hóa docking phân tử cho thấy các hợp chất **XT37.1, XT37.9, XT47.1, XT49.4,** và **XT49.8** đều thể hiện ái lực liên kết với trung tâm hoạt động của enzyme iNOS, với năng lượng liên kết từ −12.71 đến −6.34 kcal/mol.

+ Đã đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư HepG2 và MCF7 của các hợp chất sạch. Trong đó 2 hợp chất **XT37.1**, **XT37.3** và **XT49.1** thể hiện hoạt tính trên cả 2 dòng tế bào HepG2 và MCF7 (IC_{50} = 61.1 ± 3.1 – 87.65 ± 3.49 μM). Các hợp chất **XT49.2–XT49.7**, **XT49.9** và **XT49.10** gây độc dòng tế bào MCF7 (IC_{50} = 76.56 ± 4.70 – 94.20 ± 3.41 μM).

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

Luận án có khối lượng thực hiện lớn về mặt số liệu thực nghiệm.

Sô lượng 30 hợp chất sạch (trong đó có 6 chất mới, 1 chất lần đầu tách từ tự nhiên) là một thành tích nổi bật đối với một luận án tiến sĩ Hóa hữu cơ.

Biện luận cấu trúc hóa học rất chặt chẽ, logic, phân tích phổ tương tác hạt nhân 2D (HMBC, COSY, NOESY/ROESY) tường minh; việc áp dụng tính toán ECD lý thuyết (TD-DFT) giải quyết cấu hình tuyệt đối của các tâm bất đối phức tạp.

Bố cục luận án cân đối, khoa học; văn phong học thuật trong sáng, súc tích. Các bảng số liệu NMR được gán tín hiệu chi tiết, so sánh đối chiếu thấu đáo với tài liệu tham khảo.

Góp ý cần chỉnh sửa:

Chương 2: Xem lại máy phổ khối lượng phân giải cao.

Chương 3: m/z: in nghiêng

Nhiều hợp chất (hợp chất đã biết) không có phổ khối, cần bổ sung phổ ESI-MS.

Về hoạt tính ức chế NO, cần bổ sung tác dụng gây độc tế bào theo phương pháp MTT để minh chứng tác dụng ức chế sự sản sinh NO là không phụ thuộc vào tác dụng gây độc tế bào.

Các bảng số liệu, dữ liệu trong luận án cần viết theo quy định tiếng Việt, sử dụng dấu , khi viết phần thập phân.

Tại Tại trang 40, hình sơ đồ phân lập chủng BCXT-22.1 bị ghi thành "Hình 3.34" thay vì "Hình 3.4"

Chương 4: Kết quả và thảo luận

Xem lại đánh số tài liệu tham khảo, một số tài liệu tham khảo không thấy liền mạch như 83-85, 87-88.

Các bảng số liệu, dữ liệu trong luận án cần viết theo quy định tiếng Việt, sử dụng dấu , khi viết phần thập phân.

Bổ sung tính toán lý thuyết cho hợp chất XT37.2

Trang 107: XT47.7 in đậm, có xác định được cấu hình tương đối tại C-10 hay không ?

Trang 110, cuối mục XT47.9 (Hình 2.4.9)" -> Cần sửa thành (Hình 4.77)

Bảng 4.21 (trang 114) có ghi "Bảng 2.6.1" ở dòng text mô tả.

Mục 4.1.3.2 (trang 123), hợp chất XT49.4 chú thích nhầm hình phổ là "Hình 2.6.2.1", "Hình 2.6.2.2", "Hình 2.6.2.3" phải đổi thành Hình 4.98, Hình 4.97, Hình 4.102.

Hoạt tính sinh học cần bổ sung về tác dụng gây độc tế bào trên dòng tế bào RAW264.7 và thảo luận kết quả

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

Các kết quả chính của Luận án đã được công bố trong 03 bài báo khoa học quốc tế thuộc danh mục SCIE/Scopus, xếp hạng Q1/Q2, có chỉ số ảnh hưởng (IF) cao và phản biện quốc tế nghiêm ngặt, NCS đều là tác giả thứ nhất (first author) của cả 3 công trình quốc tế. Điều này chứng minh đầy đủ về năng lực nghiên cứu độc lập, giá trị khoa học vượt trội và mức độ tin cậy của các kết quả nghiên cứu trong luận án, hoàn toàn vượt quy định tối thiểu của Bộ Giáo dục & Đào tạo và Học viện KHCN đối với một luận án tiến sĩ

8. **Kết luận chung cần khẳng định**:

- Mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành.
- Bản tóm tắt luận án có phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án không.
- Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ được hay không.

Luận án của NCS. Đặng Việt Anh là một công trình nghiên cứu khoa học thực nghiệm rất công phu, nghiêm túc, chứa đựng hàm lượng khoa học cao, giải quyết trọn vẹn mục tiêu và nhiệm vụ đặt ra. Luận án đáp ứng xuất sắc các yêu cầu của một Luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa hữu cơ theo Quy chế đào tạo tiến sĩ hiện hành. NCS đều là tác giả thứ nhất (first author) của cả 3 công trình quốc tế.

Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thực, chính xác và đầy đủ các nội dung, số liệu cũng như những đóng góp mới của luận án.

Luận án hoàn toàn xứng đáng được đưa ra bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án tiến sĩ cấp Học viện để công nhận học vị và cấp bằng Tiến sĩ (chuyên ngành Hóa hữu cơ) cho Nghiên cứu sinh Đặng Việt Anh.

..

Hà Nội, Ngày 21.. tháng 9 năm 2026

Người nhận xét

Lê Nguyễn Thành

(Mẫu 8-HV-Mẫu nhận xét luận án)

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

Họ và tên người nhận xét luận án: Bùi Thị Thu Trang
Học hàm, học vị: PGS.TS
Cơ quan công tác: Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Việt Anh

Thầy hướng dẫn: PGS.TS. Trần Hồng Quang

PGS.TS. Nguyễn Ngọc Tùng

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 9.44.01.14

Nội dung nhận xét:

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

Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học từ nguồn tài nguyên thiên nhiên với mục tiêu làm phong phú cơ sở dữ liệu về các hợp chất có hoạt tính, làm tiền đề cho các nghiên cứu phát triển các dược chất mới có nguồn gốc từ tự nhiên hiện đang nhận được nhiều sự quan tâm của các nhà khoa học. Vườn Quốc gia Xuân Thủy là khu Ramsar đầu tiên của Việt Nam với hệ sinh thái phong phú và có nhiều nghiên cứu về đa dạng sinh học, tuy nhiên chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nguồn tài nguyên thiên nhiên nơi đây. Đối tượng nghiên cứu của đề tài lựa chọn là ba chủng vi nấm liên quan đến thực vật ngập mặn chủ yếu ở Vườn Quốc gia này, *Aspergillus* sp. DVXT-221 (phân lập từ lá loài Đước vòi *Rhizophora sylosa*), *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 (phân lập từ rễ cây Giá *Excoecaria agallacha*) và *Aspergillus* sp. GXT-22.1 (phân lập từ rễ cây Bần chua *Sonneratia caseolaris*); với mục tiêu phân tích thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được từ của sinh khối ba chủng vi nấm; do đó, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

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

Luận án có tên đề tài, các kết quả nghiên cứu, nhận xét và kết luận không trùng lặp với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; các tài liệu tham khảo được trích dẫn trung thực, rõ ràng và đầy đủ các thông tin cần thiết như tên tác giả, tên nghiên cứu, tên tạp chí, thời gian xuất bản.

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

Nội dung luận án phù hợp với tên đề tài, phù hợp với chuyên ngành và mã số chuyên ngành của chương trình đào tạo.

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

Luận án sử dụng các phương pháp nghiên cứu phù hợp với mục tiêu cần thực hiện của đề tài: phân lập bằng các phương pháp sắc ký lớp mỏng, sắc ký cột và sắc ký lỏng hiệu năng cao; xác định cấu trúc bằng các phương pháp hóa lý gồm khối lượng phân giải cao, phổ cộng hưởng từ hạt nhân, phổ lưỡng sắc tròn, xác định độ quay cực; đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên hai dòng tế bào (Hep-G2 và MCF-7) và đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh NO trên dòng tế bào RAW264.7/BV2 của các hợp chất phân lập được. Đây là các phương pháp nghiên cứu hiện đại, có độ tin cậy và chính xác cao.

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

Các kết quả nghiên cứu đã đóng góp vào cơ sở dữ liệu thành phần hóa học và tác dụng kháng viêm và gây độc tế bào ung thư của ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1. Cụ thể, những kết quả mới của luận án như sau:

- Đã phân lập được 06 hợp chất mới, 01 hợp chất lần đầu tiên được phân lập từ tự nhiên từ 3 chủng vi nấm: fumigaclavine K, fumigaclavine L và fumigaclavine M từ chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221; 01 hợp chất mới 5'-(4-methoxyphenyl)-1',3'-oxazole và 01 hợp chất lần đầu phân lập từ thiên nhiên (e)-6,10-dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol từ chủng vi nấm *Trichoderma* sp. GXT-22.1; và 02 hợp chất mới polyporusterone H, stellatinol A từ chủng vi nấm *Aspergillus* sp. BCXT-22.1.

- Lần đầu tiên 19 hợp chất phân lập được tử ba chủng vi nấm được đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư Hep-G2 và MCF-7, trong đó hợp chất XT37.1, XT37.3 từ chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221 và hợp chất mới XT49.1 từ chủng vi nấm *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 thể hiện hoạt tính trên cả 2 dòng tế bào thử nghiệm. Các hợp chất XT49.2-XT49.7 và XT49.9-XT49.10 từ chủng vi nấm *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 thể hiện tác dụng trên dòng tế bào MCK-7.

- Hoạt tính ức chế sản sinh NO trên đại thực bào RAW 264.7 của 24 hợp chất được đánh giá trong đó các hợp chất từ chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221 thể hiện tác dụng mạnh hơn so với các hợp chất từ hai chủng vi nấm còn lại.

Các kết quả nghiên cứu thu được từ các phương pháp nghiên cứu phù hợp, hiện đại, đảm bảo độ chính xác và tin cậy của kết quả. Đây cũng là cơ sở khoa học, tham khảo cho những nghiên cứu về vi nấm – đối tượng nghiên cứu có nhiều khó khăn và đòi hỏi quy

trình nuôi cấy sinh khối cẩn thận để đảm bảo sự đồng đều trong các mẫu. Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học với tác dụng dược lý tốt còn là tài liệu cho các nghiên cứu phát triển dược chất mới. Các kết quả nghiên cứu của luận án do đó có tính khoa học và giá trị thực tiễn.

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

Luận án có chất lượng tốt, trình bày cẩn thận, logic, rõ ràng, cung cấp đầy đủ các thông tin cần thiết. Tổng quan các vấn đề liên quan đến đề tài được trình bày đầy đủ, khoa học, có trích dẫn tài liệu tham khảo có độ tin cậy và được cập nhật các tài liệu mới với các nội dung về các kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước về đối tượng và nội dung nghiên cứu. Luận án đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu phù hợp, hiện đại, đảm bảo được độ tin cậy của các kết quả thu được. Các kết quả xác định cấu trúc và hoạt tính sinh học được biện luận rõ ràng, chi tiết cho kết quả thu được. Luận án đảm bảo văn phong khoa học, kết cấu chặt chẽ và rõ ràng.

Một số nội dung tác giả nên xem xét sửa chữa, bổ sung:

- Trang 30, xem xét lại bước sóng đèn tử ngoại sử dụng.
- Trang 32, bổ sung đơn vị của tỷ lệ trong phương pháp nuôi cấy tế bào (mục 2.2.5.1)
- Trang 35, xem xét bổ sung giải thích ký hiệu mẫu XT37, XT47, XT49 để tương đương với các mẫu sinh khối của vi nấm.
- Hình 4.1. xem xét thống nhất lại cách trình bày cấu trúc.
- Rà soát lại cấu trúc của hợp chất XT37.2 ở Hình 4.12 và Hình 4.13
- Thống nhất cách gọi tên phổ HR-ESI-MS trong các chú thích hình phổ khối lượng ở chương 4.
- Hình ảnh kết quả phổ của các chất đã có trong chương 4 nên cân nhắc lược bỏ ở phụ lục để tránh trùng lặp không cần thiết
- Rà soát lại các lỗi chính tả, lỗi văn bản, lỗi viết tắt trong toàn báo cáo và tóm tắt.

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

Đề tài đã công bố được 3 bài báo trên các tạp chí quốc tế uy tín thuộc danh mục ISI/Scopous:

+ 01 bài trên tạp chí Tetrahedron (SCIE, IF 2.1, Q3)

+ 02 bài trên tạp chí Chemistry & Biodiversity (SCIE, IF 2.9, Q2).

Đây là các tạp chí quốc tế uy tín thuộc WoS, phù hợp với chuyên ngành của NCS và kết quả đề tài, đảm bảo độ tin cậy của kết quả nghiên cứu và chất lượng của bài báo.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

- Mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành: Luận án đã đáp ứng tốt các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành Hóa hữu cơ.
- Bản tóm tắt luận án có phản ảnh trung thành nội dung cơ bản của luận án không: Bản tóm tắt luận án đã phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.
- Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ được hay không: Tôi đồng ý để luận án được đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ sau khi chỉnh sửa theo các góp ý trong hội đồng.

Hà Nội, Ngày 29 tháng 9 năm 2026

Người nhận xét



Bùi Thị Thu Trang

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

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: Phan Văn Kiệm

Học hàm, học vị: PGS TS

Cơ quan công tác: Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCV Việt Nam

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Việt Anh

Thầy hướng dẫn: PGS.TS. Trần Hồng Quang

PGS.TS, Nguyễn Ngọc Tùng

Tên đề tài luận án: **"Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1"**

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 9 44 01 14

Nội dung nhận xét:

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

Rừng ngập mặn là một trong những hệ sinh thái ven biển có năng suất sinh học cao, phân bố tại vùng chuyển tiếp giữa đất liền và biển, nơi chịu tác động thường xuyên của thủy triều, độ mặn, điều kiện thiếu oxy và sự biến động mạnh về các yếu tố môi trường. Trong hệ sinh thái này tồn tại một quần xã vi sinh vật rất đa dạng, bao gồm vi khuẩn, cổ khuẩn (archaea), nấm, vi tảo, động vật nguyên sinh và virus, phân bố trong đất/trầm tích, nước, vùng rễ, bề mặt và bên trong các mô thực vật ngập mặn.

Vi sinh vật rừng ngập mặn tham gia trực tiếp vào hầu hết các quá trình sinh địa hóa quan trọng của hệ sinh thái. Chúng phân giải xác thực vật và các hợp chất hữu cơ, thúc đẩy chu trình carbon, nitrogen, phosphorus và sulfur, đồng thời tham gia vào quá trình cố định nitrogen, khử nitrate, sulfate reduction, methanogenesis và methane oxidation. Đặc biệt, hệ vi sinh vật vùng rễ có mối quan hệ mật thiết với cây ngập mặn, góp phần cải thiện khả năng hấp thu dinh dưỡng, thúc đẩy sinh trưởng và tăng khả năng chống chịu của cây trước độ mặn, thiếu oxy, kim loại nặng và các stress môi trường khác.

Bên cạnh vai trò sinh thái, vi sinh vật rừng ngập mặn còn là nguồn tài nguyên sinh học có giá trị. Các vi sinh vật thích nghi với môi trường đặc biệt này có khả năng sản sinh nhiều enzyme ngoại bào, chất chuyển hóa thứ cấp và các hợp chất hoạt tính sinh học có tiềm năng ứng dụng trong công nghệ sinh học, dược phẩm, thực phẩm, xử lý môi trường và công nghiệp.

Việt Nam có đường bờ biển dài và hệ thống rừng ngập mặn phân bố ở nhiều vùng sinh thái khác nhau, từ Đồng bằng sông Hồng đến miền Trung và Đồng bằng sông Cửu Long. Các khu vực này có sự khác biệt lớn về độ mặn, chế độ thủy triều, loại trầm tích, nguồn dinh dưỡng và mức độ tác động của con người, do đó nhiều khả năng tồn tại những cộng đồng vi sinh vật đặc hữu hoặc có cấu trúc rất khác nhau. Tuy nhiên, nghiên cứu vi sinh vật rừng ngập mặn ở Việt Nam hiện vẫn còn rất hạn chế. Việc NCS lựa chọn đề tài "Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1" có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao. Kết quả nghiên cứu của đề tài không chỉ góp phần làm sáng tỏ về thành phần các sản phẩm thứ cấp của hai chủng vi sinh vật của hệ sinh thái rừng ngập mặn mà còn mở ra tiềm năng khai thác các nguồn tài nguyên di truyền và hợp chất sinh học mới.

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

Các kết quả nghiên cứu hoàn toàn không trùng lặp với các công trình, luận văn, luận án trước đây cả ở trong và ngoài nước. Việc trích dẫn tài liệu tham khảo đảm bảo tính trung thực, rõ ràng.

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

Đề tài có mục tiêu rõ ràng, nội dung cụ thể. Các nội dung nghiên cứu phù hợp với tên đề tài, và phù hợp với mục tiêu đề ra. Các nội dung này hoàn toàn phù hợp với mã số chuyên ngành.

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

NCS đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu hiện đại, hoàn toàn phù hợp với các nội dung nghiên cứu đề ra. Các phương pháp này đều đang được áp dụng phổ biến cả ở trong và ngoài nước, đảm bảo tính khoa học và có đủ độ tin cậy cần thiết.

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

Thực hiện đề tài, NCS đã thu được nhiều kết quả mới:

a). Đã phân lập được ba chủng vi sinh vật rừng ngập mặn, *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1 và sinh khối được ba chủng vi sinh này để nghiên cứu thành phần hóa học các hợp chất thứ cấp do VSV sinh ra.

b). Đã phân lập được 30 hợp chất từ 3 chủng nêu trên. Trong đó có 6 hợp chất mới được đặt tên là fumigaclavine K–M, 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole, polyporusterone H, stellatinol A, cùng với 1 hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên: (*E*)-6,10-dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol.

c) Đã đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh quá mức NO của các hợp chất sạch. Trong đó 2 hợp chất **XT37.1** và **XT37.9** thể hiện hoạt tính mạnh nhất (IC_{50} = 5.3 ± 0.2 và 8.7 ± 0.4 μM), 16 hợp chất khác thể hiện hoạt tính yếu hơn. Mô hình hóa docking phân tử cho thấy có 5 hợp chất thể hiện ái lực liên kết với trung tâm hoạt động của enzyme iNOS, với năng lượng liên kết từ –12.71 đến –6.34 kcal/mol.

3. Đã đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư HepG2 và MCF7 của các hợp chất sạch. Trong đó 3 hợp chất **XT37.1, XT37.3** và **XT49.1** thể hiện hoạt tính trên cả 2 dòng tế bào HepG2 và MCF7 (IC_{50} = 61.1 ± 3.1 – 87.65 ± 3.49 μM). Các hợp chất **XT49.2–XT49.7, XT49.9** và **XT49.10** gây độc dòng tế bào MCF7 (IC_{50} = 76.56 ± 4.70 – 94.20 ± 3.41 μM).

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

Ưu điểm:

a) Luận án có mục tiêu, phạm vi nghiên cứu rõ ràng, nội dung cụ thể, các phương pháp nghiên cứu phù hợp và thu được nhiều kết quả mới, có đóng góp tích cực cho khoa học, làm sáng tỏ thêm thành phần hóa học các hợp chất thứ cấp do 3 chủng VSV rừng ngập mặn sinh ra.

b) Luận án có bố cục hợp lý, trình bày tốt, sáng sủa, ít lỗi. Các hình vẽ, bảng được trình bày khoa học và dễ theo dõi. Các tài liệu tham khảo được trích dẫn đầy đủ, khoa học, đảm bảo tính trung thực.

c) Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định chính xác bằng các phương pháp hiện đại.

d) Luận án có kết quả rất tốt, được trình bày trong 3 bài báo SCI đạt chất lương cao. Đây là điểm nổi bật nhất của luận án, thể hiện một công trình nghiên cứu khoa học nghiêm túc, có chất lượng tốt.

Một số góp ý:

a) Việc ký hiệu các chất bằng nhiều ký tự phức tạp làm cho người đọc khó theo dõi. NCS nên nghiên cứu thay đổi ký hiệu ngắn gọn hơn để dễ theo dõi hơn. Trong mục 3 phần kết luận có nhầm lẫn số lượng "Trong đó 2 hợp chất **XT37.1, XT37.3** và **XT49.1".** Cần xem xét sửa lại.

b) Phần kết luận và những điểm mới của luận án nên nghiên cứu viết lại cho tường minh hơn. Những điểm mới của luận án thường được chắt lọc từ kết luận chung về kết quả thu được. Và như vậy, những điểm mới nên có khuôn khổ ngắn gọn hơn phần kết luận. Ở đây NCS đang thể hiện ngược lại.

c) Số lượng chất đem thử các hoạt tính cần xác định chính xác. Một số không được thử nên nói rõ lý do.

d) Nhiều bảng số liệu cần format lại, thí dụ bảng 4.29 trang 138: Hàng đầu để hai dòng với nhiều khoảng trống là chưa hợp lý. Vì bảng còn mở rộng hàng ngang đến lề hai bên nên dòng C-17 có thể bố trí một hàng sẽ đẹp hơn. Các bảng khác cũng nên format lại cho đẹp hơn và nên để mỗi bảng tỏng nguyên 1 trang giấy sẽ dễ theo dõi. Một số bảng để dòng single, một số lại để dãn 1,5 hoặc kích cỡ khác. Nên căn chỉnh thống nhất về định dạng, canh lề bảng, dãn dòng, cũng như các chú thích thống nhất. Vì luận án có nhiều kết quả nên các bảng nên để dòng đơn single cho giảm bớt số trang. Ví dụ bảng 4.23, 4.24 và nhiều bảng khác, cột thứ tư kết quả phổ proton, nhiều proton chỉ ghi giá trị, không ghi dạng píc hay tính trạng chồng lấp tín hiệu và mỗi số 1 dòng làm cho bảng khá dài chưa phù hợp. Các bảng khác cũng chú ý điểm này.

e) Hiện luận án có 162 trang, nên bố trí gọn (các bảng để dòng đơn. vv…) về 150 trang (không kể phần mục lục, nhưng vẫn tính TLTK).

f) Về ký hiệu các chất nên thống nhất, ví dụ **(37)** nên chuyển thành (37), tức là các dấu ngoặc đơn cho các chất không in đậm. Một số tiếng Anh lẫn trong tiếng Việt, ví dụ: dòng 1 trang 15: "deoxy-7,14-didehydro-12-acetoxy-sydonic acid, and (*E*)-7-deoxy-7,8-didehydro-12…"

g) Đánh số thứ tự lại giữa hợp chất XT37.4 và XT37.3 theo trật tự thông thường. Mặt khác, phân tích cấu trúc hợp chất XT37.4 chỉ nên so sánh với XT37.3 và tài liệu tham khảo đã công bố [89] mà bỏ phần so sánh dữ liệu phổ ^{13}C với các hợp chất XT37.1 và XT37.2 vì hai hợp chất này có cấu trúc khác hoàn toàn cả về thêm nối đôi cũng như chuyển vị nhóm thế giữa hai vị trí C-2 và C-3. Bổ sung bảng 4.5 chất XT37.5 bị thiếu.

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

Luận án công bố được 3 bài báo: Tetrahedron và 2 bài Chemistry and Biodiversity có chất lượng tốt thuộc 3 tạp chí SCI chuyên ngành. Cả ba bài báo có nội dung phù hợp với nội dung của luận án. Đáp ứng đủ điều kiện của một luận án tiến sĩ chuyên ngành Hóa học.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

Luận án là một công trình khoa học nghiêm túc, có chất lượng tốt, có nhiều kết quả mới, đóng góp cho khoa học. Nội dung và kết quả của luận án đáp ứng hoàn toàn đầy đủ các yêu cầu cả về nội dung và hình thức đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành hóa hữu cơ. Bản tóm tắt luận án phản ảnh trung thành nội dung cơ bản của luận án.

Luận án của NCS Đặng Việt Anh hoàn toàn có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để NCS Đặng Việt Anh được nhận bằng Tiến sĩ hóa học.

Hà Nội, Ngày 17 tháng 9 năm 2026

Người nhận xét



PGS TS Phan Văn Kiệm

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

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

Học hàm, học vị: GS.TS

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

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Việt Anh

Thầy hướng dẫn: PGS.TS. Trần Hồng Quang

PGS.TS. Nguyễn Ngọc Tùng

Tên đề tài luận án: "Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DCXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1"

Ngành: Hóa hữu cơ; Mã số: 9.44.01.14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Đề tài có tính cần thiết và phù hợp với định hướng nghiên cứu hiện nay về khai thác nguồn tài nguyên sinh học, đặc biệt là các nguồn vi sinh vật có tiềm năng tạo ra các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học. Việc nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của vi nấm có nguồn gốc từ thực vật ngập mặn Việt Nam có ý nghĩa trong việc khai thác hiệu quả nguồn tài nguyên sinh học còn nhiều tiềm năng này. Kết quả nghiên cứu đã bổ sung các dữ liệu mới về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các chủng vi nấm được nghiên cứu (*Aspergillus* sp. DCXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1), đồng thời cung cấp thêm cơ sở khoa học cho việc tìm kiếm, sàng lọc và phát triển các hợp chất tự nhiên có tiềm năng ứng dụng trong lĩnh vực dược phẩm. Qua đó, đề tài có ý nghĩa cả về mặt khoa học và thực tiễn, phù hợp với xu hướng nghiên cứu và khai thác hợp lý nguồn tài nguyên sinh học của Việt Nam.

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

Đề tài có tính mới và không trùng lặp với các công trình, luận văn, luận án đã được công bố trong và ngoài nước. Nội dung nghiên cứu được thực hiện một cách nghiêm túc, trung thực; các tài liệu tham khảo được trích dẫn tương đối đầy đủ, rõ ràng và phù hợp với nội dung luận án.

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

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu của luận án. Nội dung nghiên cứu phù hợp với chuyên ngành và mã số chuyên ngành Hóa hữu cơ, tập trung vào phân lập, xác định cấu trúc các hợp chất hữu cơ và đánh giá hoạt tính sinh học. Nhìn chung, tên đề tài, nội dung và chuyên ngành có sự thống nhất.

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

Các phương pháp nghiên cứu được lựa chọn phù hợp với mục tiêu và nội dung của luận án, có độ tin cậy và tính hiện đại. NCS đã sử dụng các phương pháp chiết xuất, phân lập và tinh chế phù hợp, kết hợp các kỹ thuật phổ hiện đại để xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được. Bên cạnh đó, các phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học và docking phân tử được sử dụng nhằm bổ sung cơ sở thực nghiệm và lý thuyết cho việc đánh giá tiềm năng sinh học của các hợp chất. Nhìn chung, hệ thống phương pháp được lựa chọn và triển khai phù hợp, góp phần bảo đảm tính khoa học và độ tin cậy của các kết quả nghiên cứu.

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

NCS đã hoàn thành một khối lượng nghiên cứu lớn, có nhiều đóng góp mới cho ngành Hóa hữu cơ.

Những đóng góp mới của luận án:

Về hóa học:

- Đã phân lập và xác định cấu trúc của 30 hợp chất, trong đó co 6 hợp chất mới và 1 hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên từ cao chiết lên men lượng lớn của 3 chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DCXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1.

Về hoạt tính sinh học:

- Một số hợp chất phân lập được lựa chọn để đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO và gây độc tế bào trên các dòng tế bào HepG2, và MCF-7, trong đó một số hợp chất thể hiện hoạt tính đáng kể.

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

- *Ưu điểm:* Luận án có bố cục hợp lý, nội dung được trình bày mạch lạc và bám sát mục tiêu nghiên cứu đề ra. Các phương pháp nghiên cứu được lựa chọn phù hợp với mục tiêu và được triển khai tương đối đầy đủ. Nghiên cứu sinh đã phân lập và xác định cấu trúc

của 30 hợp chất từ 3 chủng vi nấm, đồng thời đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO và hoạt tính gây độc tế bào của một số hợp chất phân lập được, với các kết quả thu được có độ tin cậy. Luận án cung cấp nhiều kết quả thực nghiệm mới, được phân tích và thảo luận tương đối rõ ràng, góp phần bổ sung dữ liệu khoa học về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của vi nấm có nguồn gốc từ thực vật ngập mặn của Việt Nam. Nhìn chung, luận án được trình bày rõ ràng, có tính hệ thống và đáp ứng yêu cầu khoa học của một công trình nghiên cứu.

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

+ Mục 3.3 (Trang 40-45), khối lượng phân tử của các hợp chất hiện được làm tròn đến số nguyên, trong khi các giá trị HRMS được thể hiện đến 4 chữ số thập phân. NCS nên trình bày khối lượng phân tử đến 2 chữ số thập phân nhằm đảm bảo độ chính xác của số liệu.

+ Trang 50-76: Trong quá trình biện luận cấu trúc của ba hợp chất mới **XT37.1**, **XT37.2** và **XT37.4**, NCS nên bổ sung hình vẽ cấu trúc của các hợp chất tham khảo có cấu trúc gần giống với các hợp chất mới. Việc này sẽ thuận tiện cho việc đối chiếu, so sánh những điểm khác biệt về cấu trúc, đồng thời giúp làm rõ hơn cơ sở biện luận cấu trúc dựa trên các dữ liệu phổ tương ứng.

+ Trang 69: Chất tham khảo được lựa chọn có sự khác biệt về cấu trúc và được đo trong dung môi khác với hợp chất cần xác định **XT37.4**, do đó việc đối chiếu, so sánh dữ liệu phổ giữa hai hợp chất còn hạn chế và chưa thực sự có ý nghĩa khoa học. NCS nên đo bổ sung phổ ^{13}C NMR của **XT37.4** trong cùng dung môi với chất tham khảo để thuận tiện cho việc đối chiếu và làm rõ các tương đồng, khác biệt về dữ liệu phổ.

+ Do NCS có bổ sung nội dung docking phân tử đối với hoạt tính ức chế sản sinh NO, có sử dụng enzyme iNOS làm đích tác dụng (target enzyme), cần trình bày rõ ligand tham chiếu (reference ligand) tương ứng với đích tác dụng, đồng thời cung cấp giá trị ái lực liên kết (binding affinity) của ligand tham chiếu. Đây là cơ sở cần thiết để đối chiếu và đánh giá tương đối khả năng liên kết của các hợp chất phân lập với đích tác dụng.

+ Trong quyển Tóm tắt luận án, phần "Những đóng góp mới của luận án" (trang 23), nội dung về đánh giá hoạt tính gây độc tế bào chưa thống nhất với nội dung được trình bày trong luận án. Cụ thể, Tóm tắt luận án có đề cập đến việc đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư hắc tố **SK-Mel-2**, trong khi trong nội dung luận án không thực hiện đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào này. Đề nghị NCS rà soát và chỉnh sửa để bảo đảm sự thống nhất giữa Tóm tắt luận án và nội dung luận án.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI...), scopus

quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước...và xếp hạng SCIMAGO):

Liên quan đến luận án có 3 công trình đã được công bố trên Tạp chí quốc tế SCIE (Tetrahedron, Q3, IF 2.1) và (Chemistry & Biodiversity, Q3, IF 2.9). Các công trình công bố đều phản ánh trực tiếp nội dung chính của luận án và có hàm lượng khoa học cao.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

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

Tôi đồng ý để NCS. Đặng Việt Anh được bảo vệ luận án trước hội đồng cấp Học Viện và xứng đáng nhận học vị Tiến sĩ Khoa học vật chất, chuyên ngành: Hóa hữu cơ.

Hà Nội, Ngày 24 tháng 9 năm 2026

NGƯỜI NHẬN XÉT

GS. TS. Ngô Quốc Anh

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét: TS. Trương Thị Thu Hiền

Cơ quan công tác: Học viện Quân y

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Việt Anh

Giáo viên hướng dẫn: PGS.TS. Trần Hồng Quang

PGS.TS, Nguyễn Ngọc Tùng

Tên đề tài luận án: **"Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1"**

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 9 44 01 14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Việc tìm kiếm các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học từ vi sinh vật, đặc biệt là vi nấm, đang là hướng nghiên cứu có nhiều triển vọng trong lĩnh vực hóa sinh và phát triển các hợp chất có giá trị ứng dụng trong y dược.

Đối tượng nghiên cứu của đề tài là vi nấm trong điều kiện sinh thái đặc thù của hệ sinh thái rừng ngập mặn tại Vườn Quốc gia Xuân Thủy có tính đa dạng sinh học cao, trong khi nguồn tài nguyên vi sinh vật, đặc biệt là vi nấm liên quan đến thực vật ngập mặn vẫn còn chưa được nghiên cứu đầy đủ về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Vì vậy, đề tài có ý nghĩa khoa học trong việc bổ sung dữ liệu về thành phần hóa học của vi nấm phân lập từ hệ sinh thái ngập mặn, đồng thời cung cấp thêm các dữ liệu về hoạt tính ức chế sản sinh NO và hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất phân lập được. Về mặt thực tiễn, các kết quả thu được có thể tạo tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm khai thác các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguồn tài nguyên vi sinh vật bản địa.

Đề tài luận án này tập trung nghiên cứu ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 có định hướng nghiên cứu

rõ ràng , có ý nghĩa khoa học và thực tiễn tốt, tạo cơ sở khoa học cho những nghiên cứu ứng dụng tiếp theo.

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

Kết quả nghiên cứu của đề tài tập trung vào ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 gồm phân lập, xác định cấu trúc các hợp chất và đánh giá hoạt tính sinh học nên mang nhiều tính mới.

Theo tra cứu, các kết quả nghiên cứu của luận án này hoàn toàn không trùng lặp với các công trình nghiên cứu trước đây. Các kết quả nghiên cứu đảm bảo tính trung thực, rõ ràng. Các tài liệu tham khảo được trích dẫn trung thực, rõ ràng, đầy đủ.

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

Luận án có nội dung hoàn toàn phù hợp với tên của luận án. Phạm vi nghiên cứu đã được xác định rõ ràng. Các nội dung nghiên cứu phù hợp hoàn toàn với mã số chuyên ngành đào tạo.

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

Các phương pháp nghiên cứu trong đề tài là các phương pháp hiện đại, phù hợp với mục tiêu và nội dung nghiên cứu:

- Định danh các chủng vi nấm được thực hiện bằng sinh học phân tử, sử dụng PCR và giải trình tự gen ITS rDNA.

- Trong nghiên cứu hóa học, tác giả sử dụng hệ thống các phương pháp phổ hiện đại để xác định cấu trúc hợp chất, bao gồm phổ NMR một chiều và hai chiều như ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, kết hợp với phổ khối phân giải cao, phổ CD và phương pháp tính toán lý thuyết phổ ECD

- Đối với hợp chất fumigaclavine K, tác giả đã sử dụng kết hợp các dữ liệu phổ và tính toán ECD lý thuyết để xác định cấu hình tuyệt đối, cho thấy cách tiếp cận có độ tin cậy cao trong nghiên cứu cấu trúc hóa học.

- Các phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học phù hợp với mục tiêu nghiên cứu, trong đó hoạt tính ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7/BV2. Hoạt tính gây độc tế bào được đánh giá trên các dòng HepG2 và MCF-7 bằng phương pháp SRB. Ngoài ra, mô phỏng docking phân tử được sử dụng để khảo sát khả năng tương tác của một số hợp chất với trung tâm hoạt động của iNOS, góp phần bổ sung cơ sở giải thích cơ chế tác dụng.

Các phương pháp sử dụng trong quá trình sinh khối, tách chiết, xác định cấu trúc hóa học cũng như đánh giá hoạt tính sinh học đều tuân thủ các tiêu chuẩn khoa học hiện hành trong nước và quốc tế. Điều này góp phần bảo đảm tính chính xác, độ tin cậy và giá trị khoa học của các kết quả nghiên cứu.

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

Thực hiện đề tài nghiên cứu của luận án, NCS đã thu được nhiều kết quả có ý nghĩa:

1. Đã phân lập và xác định cấu trúc của 30 hợp chất sạch từ 3 chủng vi nấm thực vật ngập mặn *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1, trong đó có 6 hợp chất mới: fumigaclavine K–M **(XT37.1–XT37.3),** 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole **(XT47.1),** polyporusterone H **(XT49.1)** và stellatinol A **(XT49.4)** và một hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên: (*E*)-6,10-dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol **(XT47.2).**

2. Đã đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh quá mức NO của các hợp chất sạch. Trong đó 2 hợp chất **XT37.1** và **XT37.9** thể hiện hoạt tính mạnh nhất (IC_{50} = 5.3 ± 0.2 và 8.7 ± 0.4 μM), 16 hợp chất **XT37.1–XT37.4, XT37.8–XT37.10, XT47.1–XT47.5, XT47.8, XT47.10, XT49.4,** và **XT49.8** thể hiện hoạt tính yếu hơn. Mô hình hóa docking phân tử cho thấy các hợp chất **XT37.1, XT37.9, XT47.1, XT49.4,** và **XT49.8** đều thể hiện ái lực liên kết với trung tâm hoạt động của enzyme iNOS, với năng lượng liên kết từ –12.71 đến –6.34 kcal/mol.

3. Đã đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư HepG2 và MCF7 của các hợp chất sạch. Trong đó 2 hợp chất **XT37.1, XT37.3** và **XT49.1** thể hiện hoạt tính

trên cả 2 dòng tế bào HepG2 và MCF7 (IC_{50} = 61.1 ± 3.1 – 87.65 ± 3.49 μM). Các hợp chất **XT49.2–XT49.7**, **XT49.9** và **XT49.10** gây độc dòng tế bào MCF7 (IC_{50} = 76.56 ± 4.70 – 94.20 ± 3.41 μM).

Các hợp chất thu được đều được xác định bằng các phương pháp phổ hiện đại và phù hợp. Đặc biệt, luận án đã có đóng góp phát hiện 6 hợp chất mới cho khoa học. Đây là những kết quả đáng được ghi nhận đối với nghiên cứu về vi nấm nói chung và vi nấm thực vật ngập mặn nói riêng.

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

Ưu điểm:

- Đề tài có mục tiêu và nội dung nghiên cứu rõ ràng, có tính liên kết từ phân lập vi nấm, lên men tạo sinh khối, tạo cao chiết, phân lập hợp chất, xác định cấu trúc đến đánh giá hoạt tính sinh học.

- Đối tượng nghiên cứu được xác định cụ thể và có nguồn gốc rõ ràng; các chủng vi nấm được định danh bằng phương pháp sinh học phân tử và có mã số GenBank.

- Kết quả thực nghiệm thu được tương đối lớn, với 30 hợp chất sạch được phân lập và xác định cấu trúc từ ba chủng vi nấm.

- Việc phối hợp nhiều phương pháp phân tích phổ hiện đại, thử nghiệm hoạt tính sinh học và docking phân tử giúp tăng tính toàn diện của nghiên cứu.

- Kết quả nghiên cứu có những phát hiện mới về hóa học và hoạt tính sinh học, có khả năng đóng góp cho lĩnh vực nghiên cứu các hợp chất tự nhiên từ vi sinh vật.

- Luận án được thiết kế hợp lý, hình thức đẹp, rất ít lỗi in ấn. Các hình, bảng, sơ đồ đều được trình bày khá rõ ràng. Phần phụ lục cung cấp đầy đủ những dữ liệu cần thiết nhất đáp ứng yêu cầu của việc tham khảo.

- Tài liệu tham khảo được trình bày thống nhất, trích dẫn đầy đủ và chính xác.

Góp ý sửa chữa:

Một số cách gọi tên chủng vi nấm còn chưa thống nhất. Cần rà soát và thống nhất tên khoa học, mã chủng trong luận án và bản tóm tắt. Tuy nhiên, hạn chế trên thuộc về hình thức trình bày, không làm thay đổi giá trị khoa học của đề tài luận án.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên các tạp chí, hội nghị và giá trị của các công trình đã công bố

Nội dung của luận án được công bố trên 3 bài báo quốc tế. Nội dung các bài báo đều phản ánh nội dung cơ bản của luận án. Các bài báo đều phù hợp về chất lượng cho luận án tiến sỹ chuyên ngành. Hai tạp chí Tetrahedron (1 bài) và Chemistry and Biodiversity (hai bài) đăng tải nội dung luận án đều là các tạp chí SCIE có chất lượng cao. Kết quả này đáp ứng hoàn toàn yêu cầu của luận án tiến sĩ chuyên ngành.

8. Kết luận chung

Luận án có mục tiêu rõ ràng, nội dung cụ thể, phương pháp nghiên cứu hiện đại và phù hợp. Nghiên cứu vi nấm là lĩnh vực nghiên cứu khó, đòi hỏi cách tiếp cận phù hợp, logic và khoa học. Đề tài có tính cần thiết, có ý nghĩa khoa học và phù hợp với xu hướng nghiên cứu hiện nay về khai thác nguồn tài nguyên vi sinh vật để tìm kiếm các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học.

Luận án có khối lượng nghiên cứu lớn, đối tượng nghiên cứu được lựa chọn có cơ sở, phương pháp nghiên cứu phù hợp và sử dụng nhiều kỹ thuật hiện đại. Kết quả đã có những đóng góp khoa học mới, có giá trị đối với chuyên ngành và đáp ứng yêu cầu của một luận án tiến sĩ.

Luận án "Nghiên cứu thành phần hoá học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp BCXT-22.1" là một công trình khoa học có chất lượng tốt. Tôi đồng ý để NCS đưa luận án của mình ra bảo vệ trước hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận học vị tiến sĩ.

Hà Nội, ngày 18 tháng 09 năm 2026

Người phản biện kín

Trương Thị Thu Hiền

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

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

Học hàm, học vị: Nguyễn Huy Hoàng

Cơ quan công tác: Viện Sinh học, VHLKHCNVN

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Việt Anh

Thầy hướng dẫn: PGS.TS. Trần Hồng Quang

PGS.TS, Nguyễn Ngọc Tùng

Tên đề tài luận án: **"Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1"**

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 9 44 01 14

Nội dung nhận xét:

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

Về tính cần thiết và có ý nghĩa khoa học: Vi nấm, đặc biệt là vi nấm liên quan với thực vật trong hệ sinh thái rừng ngập mặn, là nguồn tiềm năng của các chất chuyển hóa thứ cấp có cấu trúc đa dạng và hoạt tính sinh học. Luận án lựa chọn ba chủng vi nấm thu nhận từ thực vật ngập mặn tại Vườn Quốc gia Xuân Thủy để nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học là phù hợp với hướng nghiên cứu tìm kiếm các hợp chất tự nhiên có cấu trúc mới và tiềm năng ứng dụng trong y dược.

Tính cần thiết của nghiên cứu được củng cố bởi thực tế nguồn tài nguyên vi sinh vật tại Vườn Quốc gia Xuân Thủy, đặc biệt là vi nấm liên quan đến thực vật ngập mặn, còn chưa được nghiên cứu đầy đủ và có hệ thống về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học.

Về khoa học, luận án góp phần bổ sung dữ liệu về thành phần hóa học của vi nấm ngập mặn, đặc biệt đã phát hiện các hợp chất mới. Về thực tiễn, kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO và gây độc tế bào ung thư cung cấp dữ liệu ban đầu cho việc định hướng nghiên cứu các chất có tiềm năng sinh học. Tuy nhiên, ý nghĩa ứng dụng hiện chủ yếu ở mức tiềm năng, do các thử nghiệm sinh học mới tập trung ở mức *in vitro* và docking phân tử; chưa có các nghiên cứu sâu về cơ chế, độc tính chọn lọc hoặc *in vivo*. Vì vậy không nên diễn giải quá mức về khả năng ứng dụng y dược.

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

Đề tài nghiên cứu trên ba chủng vi nấm cụ thể phân lập từ thực vật ngập mặn tại Vườn Quốc gia Xuân Thủy; chưa thấy có sự trùng lặp với các công trình, luận văn, luận án đã công bố. Kết quả nghiên cứu có tính mới, thể hiện qua việc phát hiện và xác định cấu trúc một số hợp chất mới. 124 tài liệu tham khảo được trích dẫn tương đối đầy đủ, rõ ràng và phù hợp với nội dung nghiên cứu, có 22 tài liệu trong năm năm gần đây từ 2021-2025 (Khoảng gần 18%).

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

Tên đề tài về cơ bản phản ánh đúng đối tượng và nội dung nghiên cứu. Hai nội dung chính trong tên đề tài là "thành phần hóa học" và "hoạt tính sinh học" đều được triển khai xuyên suốt luận án: phân lập các hợp chất, xác định cấu trúc hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học. Mục tiêu và nội dung nghiên cứu cũng thể hiện rõ logic này.

Nội dung luận án phù hợp với chuyên ngành Hóa hữu cơ, đặc biệt là hóa học các hợp chất thiên nhiên: phân lập, tinh chế, xác định cấu trúc và cấu hình của hợp chất bằng các phương pháp phổ hiện đại, kết hợp đánh giá hoạt tính sinh học.

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

Hệ thống phương pháp nghiên cứu nhìn chung phù hợp và có độ tin cậy đối với nghiên cứu hóa học hợp chất thiên nhiên. Luận án sử dụng các phương pháp lên men tạo sinh khối, chiết, sắc ký phân lập và các kỹ thuật phổ hiện đại để xác định cấu trúc, bao gồm HR-ESI-MS/HRESIQTOFMS, NMR, HSQC, HMBC, COSY, NOESY/ROESY và ECD. Hệ thống dữ liệu phổ tương đối đầy đủ, đặc biệt đối với các hợp chất mới. Nhiều hợp chất mới được trình bày đồng thời dữ liệu phổ khối lượng phân giải cao, NMR một và hai chiều và ECD.

Phần hoạt tính sinh học sử dụng các mô hình đánh giá ức chế sản sinh NO và gây độc trên hai dòng tế bào ung thư HepG2 và MCF-7; docking phân tử với iNOS được sử dụng để hỗ trợ giải thích kết quả hoạt tính. Các phương pháp này phù hợp với mục tiêu của luận án.

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

Tác giả đã phân lập và xác định cấu trúc 30 hợp chất từ ba chủng vi nấm. Trong đó xác định được 6 hợp chất mới, gồm: fumigaclavine K (XT37.1), fumigaclavine L (XT37.2), fumigaclavine M (XT37.4), 5-(4-methoxyphenyl)-1,3-oxazole (XT47.1), polyporusterone H (XT49.1) và stellatinol A (XT49.4); đồng thời xác định (E)-6,10-dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol (XT47.2) là hợp chất lần đầu được phân lập từ tự nhiên.

Đây là đóng góp khoa học rõ ràng của luận án, đặc biệt về đa dạng cấu trúc hóa học và hóa học các hợp chất tự nhiên từ vi nấm ngập mặn.

Luận án còn cung cấp dữ liệu hoạt tính sinh học của các hợp chất phân lập được. Trong nhóm thử nghiệm ức chế sản sinh NO, XT37.1 và XT37.9 thể hiện hoạt tính nổi bật nhất; một số hợp chất khác cũng có hoạt tính ở các mức độ khác nhau. Đối với hoạt tính gây độc tế bào, một số hợp chất thể hiện tác dụng trên HepG2 và/hoặc MCF-7.

Tuy nhiên, nên phân biệt rõ "hợp chất mới" với "hoạt tính sinh học mới". Giá trị mới nổi bật nhất của luận án nằm ở phát hiện và xác định cấu trúc các hợp chất mới; phần hoạt tính sinh học có giá trị bổ sung và định hướng nghiên cứu tiếp theo nhưng phần lớn mức hoạt tính gây độc tế bào chưa đủ mạnh để khẳng định tiềm năng phát triển thuốc.

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

Ưu điểm: Luận án có khối lượng nghiên cứu tương đối lớn; bố cục từ tổng quan → đối tượng/phương pháp → kết quả → thảo luận tương đối logic. Phần hóa học được đầu tư công phu, đặc biệt là biện giải cấu trúc các hợp chất mới với hệ thống dữ liệu phổ khá đầy đủ. Kết quả phân lập 30 hợp chất, trong đó có 6 hợp chất mới, thể hiện khối lượng thực nghiệm đáng kể. Phần kết quả và thảo luận được tách thành các chương riêng, thuận lợi cho việc trình bày và đánh giá. Cấu trúc toàn luận án gồm đầy đủ tổng quan, phương pháp, kết quả, thảo luận, kết luận, đóng góp mới và kiến nghị.

Hạn chế cần chỉnh sửa:

Có một số lỗi không thống nhất tên/mã chủng vi nấm giữa các phần. Một số thuật ngữ, ký hiệu, đơn vị và cách trình bày tên hợp chất cần được rà soát lại.

Phần thảo luận hoạt tính sinh học còn có thể tăng chiều sâu, nhất là mối liên hệ cấu trúc – hoạt tính (SAR) và so sánh định lượng với các hợp chất tương tự đã

công bố. Cần phân định rõ hơn giữa kết quả thực nghiệm và các suy luận từ docking. Phần ý nghĩa thực tiễn cũng nên trình bày thận trọng, tương xứng với mức độ bằng chứng hiện có.
Cách diễn đạt số lượng các hợp chất có hoạt tính và một số khoảng IC50 hiện chưa thật rõ ràng; cần đối chiếu lại với các bảng kết quả gốc trước khi in bản cuối.

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

Luận án liệt kê 03 bài báo liên quan trực tiếp đến nội dung nghiên cứu, đều công bố năm 2025:
Một bài trên Tetrahedron (SCImago 2025 SJR 0.360, H-index 245 và Q3; IF khoảng 2.1), về các fumigaclavine K–M từ *Aspergillus* sp. DVXT-221.
Hai bài trên Chemistry & Biodiversity (SCImago 2025 SJR 0.449, H-index 91, IF=2,9 và Q2), lần lượt về các hợp chất từ *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1.
Nhìn về nội dung, ba công trình này bao phủ khá trực tiếp ba đối tượng nghiên cứu chính của luận án, và các kết quả quan trọng về hợp chất mới cũng đã được phản ánh trong các công bố.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

Bản tóm tắt của luận án phản ánh các nội dung cơ bản của luận án.

Về mức độ đáp ứng yêu cầu của luận án tiến sĩ: Qua nội dung đã xem xét, luận án có khối lượng nghiên cứu đáng kể, sử dụng các phương pháp phù hợp và tương đối hiện đại, có kết quả mới rõ ràng, nổi bật là việc phân lập và xác định cấu trúc 6 hợp chất mới và 1 hợp chất lần đầu được phân lập từ tự nhiên. Các kết quả chính đã được công bố trong các bài báo khoa học liên quan trực tiếp đến luận án. Do đó, xét về nội dung khoa học, luận án đáp ứng các yêu cầu cơ bản đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành Hóa hữu cơ, NCS xứng đáng được nhận học vị Tiến sỹ.

Hà Nội, Ngày 24 tháng 9 năm 2026

Người nhận xét

Nguyễn Huy Hoàng

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét: PGS. TS. Hoàng Lê Tuấn Anh

Cơ quan công tác: Trung tâm Đổi mới sáng tạo công nghệ cao

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Việt Anh

Giáo viên hướng dẫn: PGS.PGS. TS. Trần Hồng Quang

PGS.TS, Nguyễn Ngọc Tùng

Tên đề tài luận án: **"Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1"**

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 9 44 01 14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

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

Theo Quyết định số 21/2026/QĐ-TTg của Thủ tướng Chính phủ ban hành Danh mục công nghệ chiến lược và Danh mục sản phẩm công nghệ chiến lược bao quát nhiều lĩnh vực then chốt thì Công nghệ sinh học và y sinh tiên tiến và Công nghệ biển, đại dương và lòng đất là 2 trong 10 công nghệ chiến lược ưu tiên phát triển trong thời gian tới. Việc nghiên cứu và tìm hướng đi từ vi sinh vật, đặc biệt là vi nấm biển/ngập mặn, đang là hướng nghiên cứu có nhiều triển vọng, giá trị ứng dụng trong y dược.

Đối tượng nghiên cứu của đề tài là vi nấm trong điều kiện sinh thái đặc thù của hệ sinh thái rừng ngập mặn tại Vườn Quốc gia Xuân Thủy vẫn còn nhiều khoản trống, chưa được nghiên cứu chuyên sâu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học.

Vì vậy, đối tượng nghiên cứu của NCS rất có ý nghĩa khoa học, góp phần xây dựng cơ sở dữ liệu về thành phần hóa học và đồng thời cung cấp thêm các dữ liệu về hoạt tính ức chế sản sinh NO và hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất phân lập được.

Đối tượng nghiên cứu của luận án là ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1, cho thấy luận an có định hướng nghiên cứu rõ ràng , có ý nghĩa khoa học và thực tiễn tốt.

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

Kết quả nghiên cứu của đề tài tập trung vào ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 gồm phân lập, xác định cấu trúc các hợp chất và đánh giá hoạt tính sinh học nên mang nhiều tính mới.

Theo tra cứu, các kết quả nghiên cứu của luận án này hoàn toàn không trùng lặp với các công trình nghiên cứu trước đây. Các kết quả nghiên cứu đảm bảo tính trung thực, rõ ràng. Các tài liệu tham khảo được trích dẫn trung thực, rõ ràng, đầy đủ.

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

Nội dung nghiên cứu của luận án hoàn toàn phù hợp với tên của luận án, cũng như phù hợp với chuyên ngành và mã số chuyên ngành đào tạo của NCS.

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

Các phương pháp nghiên cứu sử dụng trong đề tài là các phương pháp thường quy, phù hợp với mục tiêu và nội dung nghiên cứu đã đề ra:

- Các phương pháp sử dụng trong quá trình sinh khối, tách chiết, xác định cấu trúc hóa học cũng như đánh giá hoạt tính sinh học đều phù hợp với các tiêu chuẩn khoa học hiện hành trong nước và quốc tế.

- Sử dụng PCR và giải trình tự gen ITS rDNA để định danh các chủng vi nấm, được thực hiện bằng sinh học phân tử.

- Với thành phần hóa học hóa học, NCS sử dụng hệ thống các phương pháp phổ phù hợp để xác định cấu trúc hợp chất, bao gồm phổ NMR một chiều và hai chiều như ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, kết hợp với phổ khối phân giải cao, phổ CD và phương pháp tính toán lý thuyết phổ ECD.

- Các phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học phù hợp với mục tiêu nghiên cứu, trong đó hoạt tính ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW264.7/BV2. Hoạt tính gây độc tế bào được đánh giá trên các dòng HepG2 và MCF-7 bằng phương pháp SRB. Bên cạnh đó, phương pháp docking phân tử cũng được NCS được sử dụng để đánh giá khả năng tương tác của một số hợp chất với trung tâm hoạt động của iNOS, góp phần bổ sung cơ sở giải thích cơ chế tác dụng.

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

NCS đã thu được nhiều kết quả mới và có ý nghĩa, :

1. Đã phân lập và xác định được cấu trúc của 6 hợp chất mới (tổng số 30 hợp chất) là fumigaclavine K–M **(XT37.1–XT37.3),** 5′-(4-methoxyphenyl)-1′,3′-oxazole **(XT47.1),** polyporusterone H **(XT49.1)** và stellatinol A **(XT49.4)** và một hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên: (*E*)-6,10-dimethyl-5-undecene-2,9,10-triol **(XT47.2).**

2. Đã đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh quá mức NO của các hợp chất và phát hiện 2 hợp chất **XT37.1** và **XT37.9** có hoạt tính mạnh nhất (IC_{50} = 5.3 ± 0.2 và 8.7 ± 0.4 μM), 16 hợp chất **XT37.1–XT37.4, XT37.8–XT37.10, XT47.1–XT47.5, XT47.8, XT47.10, XT49.4,** và **XT49.8** thể hiện hoạt tính trung bình. Các hợp chất mới **XT37.1, XT47.1, XT49.4**, và các hợp chất **XT37.9, XT49.8** đều thể hiện ái lực liên kết với trung tâm hoạt động của enzyme iNOS, trên mô hình docking, với năng lượng liên kết từ –12.71 đến –6.34 kcal/mol.

3. Hai hợp chất mới **XT37.1, XT37.3** và hợp chất **XT49.1** thể hiện hoạt tính trên cả 2 dòng tế bào HepG2 và MCF7 (IC_{50} = 61.1 ± 3.1 – 87.65 ± 3.49 μM). Bên cạnh đó, các hợp chất **XT49.2–XT49.7, XT49.9** và **XT49.10** có tác dụng trung tình đối với dòng tế bào MCF7 (IC_{50} = 76.56 ± 4.70 – 94.20 ± 3.41 μM).

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

Ưu điểm:

- Đề tài có mục tiêu và nội dung nghiên cứu rõ ràng.

- Đối tượng nghiên cứu được xác định rõ ràng; các chủng vi nấm được định danh bằng phương pháp sinh học phân tử và có mã số GenBank.

- Luận án được trình bày cẩn thận rõ ráng. Các hình, bảng, sơ đồ đều được trình bày khá rõ ràng. Phần phụ lục cung cấp đầy đủ những dữ liệu cần thiết nhất đáp ứng yêu cầu của việc tham khảo.

- Tài liệu tham khảo được trích dẫn đầy đủ và chính xác.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên các tạp chí, hội nghị và giá trị của các công trình đã công bố

Nội dung các bài báo đều phản ánh đúng nội dung của luận án. Cả 3 bài báo đều phù hợp về chuyên ngành đào tạo của NCS. Hai tạp chí Tetrahedron (1 bài) và Chemistry and Biodiversity (hai bài) là các tạp chí SCIE có chất lượng tốt và hoàn toàn đáp ứng hoàn toàn yêu cầu của luận án tiến sĩ .

8. Kết luận chung

Luận án có mục tiêu rõ ràng, nội dung cụ thể, phương pháp nghiên cứu phù hợp. Nghiên cứu vi nấm là lĩnh vực nghiên cứu khó, đòi hỏi cách tiếp cận phù hợp, logic và khoa học. Luận án có khối lượng nghiên cứu lớn, đối tượng nghiên cứu được lựa chọn có cơ sở và có ý nghĩa khoa học và phù hợp với định hướng nghiên cứu hiện nay công nghệ sinh học cũng như công nghệ biển.

Kết quả của Luận án đã đóng góp thêm nhiều kiến thức khoa học mới, có giá trị đối với chuyên ngành và đáp ứng yêu cầu của một luận án tiến sĩ.

Tôi đồng ý để NCS đưa luận án của mình ra bảo vệ trước hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận học vị tiến sĩ.

Hà Nội, ngày 18 tháng 09 năm 2026

Người nhận xét

PGS. TS Hoàng Lê Tuấn Anh

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
*

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM

Hà Nội, ngày 16 tháng 10 năm 2026

QUYẾT NGHỊ CỦA
HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Căn cứ quyết định số 777/QĐ-HVKHCN ngày 27 tháng 08 năm 2026 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện, Hội đồng đã họp vào hồi 09 giờ 00 ngày 16 tháng 10 năm 2026 tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, số 18 đường Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội để đánh giá luận án tiến sĩ.

Họ và tên NCS: **Đặng Việt Anh**

Tên đề tài luận án:· Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1

Ngành: Hóa Hữu Cơ Mã số: 9 44 01 14

Người hướng dẫn chính: PGS.TS. Trần Hồng Quang

Người hướng dẫn phụ: PGS.TS. Nguyễn Ngọc Tùng

HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN CỦA NCS ĐẶNG VIỆT ANH KẾT LUẬN

1. Tính phù hợp của tên đề tài và sự không trùng lặp về nội dung luận án

- Tên đề tài, nội dung và kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với ngành đào tạo Hóa hữu cơ, mã số 9 44 01 14.

- Nội dung của luận án không trùng lặp với các luận án đã bảo vệ và các kết quả nghiên cứu đã công bố trong và ngoài nước.

- Các tài liệu tham khảo của luận án có nội dung phù hợp và đã được trích dẫn trong luận án.

2. Kết quả, ý nghĩa khoa học, thực tiễn của đề tài

Đề tài có ý nghĩa khoa học trong việc bổ sung dữ liệu về thành phần hóa học của vi nấm phân lập từ hệ sinh thái ngập mặn, đồng thời cung cấp thêm các dữ liệu về hoạt tính ức chế sản sinh NO và hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất phân lập được. Về mặt thực tiễn, các kết quả thu được có thể tạo tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo nhằm khai thác các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguồn tài nguyên vi sinh vật bản địa.

Luận án này tập trung nghiên cứu ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1 có định hướng nghiên cứu rõ ràng, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn tốt, tạo cơ sở khoa học cho những nghiên cứu ứng dụng tiếp theo.

3. Những thiếu sót của luận án, vấn đề cần bổ sung, sửa chữa

NCS cần tiếp thu, rà soát, chỉnh sửa, bổ sung nội dung luận án theo ý kiến đóng góp trong bản nhận xét của các thành viên Hội đồng và Biên bản của Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện trước khi nộp luận án cho Thư viện Quốc gia Việt Nam.

4. Mức độ đáp ứng yêu cầu của luận án tiến sĩ về cả nội dung và hình thức theo các quy chế hiện hành về đào tạo tiến sĩ của Bộ Giáo dục và Đào tạo

Luận án của NCS Đặng Việt Anh đáp ứng yêu cầu của một luận án tiến sĩ ngành "Hóa hữu cơ", mã số 9 44 01 14 về nội dung và hình thức theo các quy chế hiện hành về đào tạo tiến sĩ của Bộ Giáo dục và Đào tạo và của Học viện Khoa học và Công nghệ.

Kết luận:

Kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án của Hội đồng: 7/7 thành viên tán thành với 6 phiếu Xuất sắc.

Hội đồng kết luận thông qua luận án, đề nghị Học viện Khoa học và Công nghệ công nhận kết quả bảo vệ và cấp bằng tiến sĩ cho NCS Phạm Việt Anh.

Quyết nghị này được 7/7 thành viên Hội đồng biểu quyết công khai thông qua.

THƯ KÝ	CHỦ TỊCH
PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh	GS.TS. Ngô Quốc Anh

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

Nguyễn Thị Trung

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
*

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM

Hà Nội, ngày 16 tháng 10 năm 2026

BIÊN BẢN CỦA
HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Căn cứ quyết định số 777/QĐ-HVKHCN ngày 27 tháng 08 năm 2026 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện, Hội đồng đã họp vào hồi 09 giờ ngày 16 tháng 10 năm 2026 tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, số 18 đường Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội để đánh giá luận án tiến sĩ.

Nghiên cứu sinh: **Đặng Việt Anh**

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1

Ngành: Hóa Hữu Cơ

Mã số: 9 44 01 14

Người hướng dẫn chính: PGS.TS. Trần Hồng Quang

Người hướng dẫn phụ: PGS.TS. Nguyễn Ngọc Tùng

THAM DỰ BUỔI BẢO VỆ GỒM CÓ

- Đại diện cơ sở đào tạo: PGS.TS Nguyễn Xuân Nhiệm, phó giám đốc học viện
- Thành viên Hội đồng có mặt: 7/7 thành viên

1. GS.TS. Ngô Quốc Anh, Chủ tịch Hội đồng
2. PGS.TS. Phan Văn Kiệm, Phản biện 1
3. PGS.TS. Lê Nguyễn Thành, Phản biện 2
4. PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh, Thư ký Hội đồng
5. GS.TS. Nguyễn Huy Hoàng, Ủy viên
6. PGS.TS. Bùi Thị Thu Trang, Ủy viên
7. TS. Trương Thị Thu Hiền, Ủy viên

- Thành viên Hội đồng vắng mặt: Không.
- Đại diện tập thể cán bộ hướng dẫn: PGS.TS. Trần Hồng Quang, PGS.TS. Nguyễn Ngọc Tùng
- Cùng tham dự buổi bảo vệ còn có nhiều cán bộ nghiên cứu khoa học trong và ngoài Học viện.

TIẾN TRÌNH BUỔI BẢO VỆ

1. *Đại diện cơ sở đào tạo* tuyên bố lý do, giới thiệu đại biểu và đọc quyết định số 777/QĐ-HVKHCN ngày 27 tháng 08 năm 2026 của Giám đốc HVKHCN về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho NCS Đặng Việt Anh và đề nghị Chủ tịch Hội đồng điều khiển phiên họp.
2. *Chủ tịch Hội đồng*, GS.TS. Ngô Quốc Anh, công bố danh sách thành viên có mặt là 07, thông qua chương trình buổi bảo vệ, đề nghị Thư ký thông báo các điều kiện chuẩn bị cho buổi bảo vệ và đọc lý lịch khoa học của NCS.
3. *Thư ký Hội đồng*, PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh thông báo các điều kiện cho buổi bảo vệ
   - Đọc lý lịch khoa học của NCS Đặng Việt Anh.
   - Đã nhận đủ 07 nhận xét của các phản biện và các thành viên HĐ.
   - Lịch bảo vệ của NCS đã được đăng trên Cổng thông tin điện tử Học viện Khoa học và Công nghệ ngày 05/10/2026.
   - Các giấy tờ cần thiết khác.

   NCS Đặng Việt Anh có đủ các điều kiện về thủ tục để bảo vệ luận án trước Hội đồng đánh giá luận án cấp Học viện.
4. Các thành viên hội đồng và những người tham dự thông qua về lý lịch khoa học và quá trình đào tạo của nghiên cứu sinh.
5. Nghiên cứu sinh Đặng Việt Anh trình bày nội dung luận án trong 30 phút trước Hội đồng. Báo cáo của NCS bao gồm các nội dung chính như sau:
   - Mở đầu/Giới thiệu
   - Tổng quan
   - Thực nghiệm và kết quả
   - Thảo luận kết quả
   - Kết luận và Kiến nghị
   - Danh mục công trình công bố
   - Những điểm mới của luận án

6. Phản biện đọc bản nhận xét và đặt câu hỏi cho luận án của NCS Đặng Việt Anh

1) **Phản biện 1: PGS.TS. Phan Văn Kiệm** đọc nhận xét đánh giá luận án và kết luận (có văn bản kèm theo).

Luận án không trùng lặp với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước.

Luận án có mục tiêu rõ ràng, nội dung cụ thể. Các nội dung nghiên cứu phù hợp với tên Luận án và phù hợp với mục tiêu đề ra. Các nội dung này hoàn toàn phù hợp với mã số chuyên ngành.

NCS đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu thường quy, hoàn toàn phù hợp để thực hiện các nội dung nghiên cứu đề ra, đảm bảo được tính khoa học và có đủ độ tin cậy cần thiết.

NCS đã thu được nhiều kết quả mới :

- Đã phân lập được ba chủng vi sinh vật rừng ngập mặn, *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. BCXT-22.1 và *Aspergillus* sp. GXT-22.1 và sinh khối được ba chủng vi sinh này để nghiên cứu thành phần hóa học các hợp chất thứ cấp do VSV gây ra.

- Đã phân lập và xác định được cấu trúc hóa học 30 hợp chất, có 6 hợp chất mới được đặt tên là fumigaclavine K-M, polyporusterone H, stellatinol A, cùng với 1 hợp chất lần đầu tiên phân lập từ thiên nhiên từ 3 chủng nêu trên.

- Đã đánh giá hoạt tính ức chế sự sản sinh quá mức NO của các hợp chất sạch. Trong đó 2 hợp chất **XT37.1** và **XT 37.9** thể hiện hoạt tính mạnh nhất, 16 hợp chất khác thể hiện hoạt tính kém hơn. Mô hình docking phân tử cho thấy có 5 hợp chất thể hiện ái lực liên kết với trung tâm hoạt động của enzym iNOS.

- Đã đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư HepG2 và MCF7 của các hợp chất sạch. Trong đó 3 hợp chất **XT37.1**, **XT37.3** và **XT49.1** thể hiện hoạt tính trên cả 2 dòng tế bào HepG2 và MCF7; các hợp chất **XT49.2–XT49.7**, **XT49.9** và **XT49.10** gây độc dòng tế bào MCF7.

Ưu điểm:

Luận án có mục tiêu, phạm vi nghiên cứu rõ ràng, nội dung cụ thể, các phương pháp nghiên cứu phù hợp và thu được nhiều kết quả mới, có đóng góp tích cực cho khoa học, làm sáng tỏ thêm thành phần hóa học các hợp chất thứ cấp do 3 chủng VSV rừng ngập mặn sinh ra

Luận án có bố cục hợp lý, trình bày tốt, sáng sủa, ít lỗi. Các hình vẽ, bảng được trình bày khoa học để theo dõi. Các tài liệu tham khảo được trích dẫn đầy đủ, khoa học và đảm bảo tính trung thực.

Luận án có kết quả rất tốt, được công bố trong 3 bài báo SCI đạt chất lượng cao. Đây là điểm nổi bật nhất của luận án, thể hiện một công trình nghiên cứu khoa học nghiêm túc và có chất lượng tốt

Nhược điểm:

- Việc ký hiệu các chất bằng nhiều ký tự phức tạp làm cho người đọc khó theo dõi. NCS nên nghiên cứu thay đổi ký hiệu ngắn gọn hơn để dễ theo dõi hơn. Trong mục 3 phần kết luận có nhầm lẫn số lượng "Trong đó 2 hợp chất XT37.1, XT37.3 và XT49.1". Cần xem xét sửa lại.

- Phần kết luận và những điểm mới của luận án nên nghiên cứu viết lại cho tường minh hơn. Những điểm mới của luận án thường được chắt lọc từ kết luận chung về kết quả thu được. Và như vậy, những điểm mới nên có khuôn khổ ngắn gọn hơn phần kết luận. Ở đây NCS đang thể hiện ngược lại.

- Số lượng chất đem thử các hoạt tính cần xác định chính xác. Một số không được thử nên nói rõ lý do.

- Nhiều bảng số liệu cần format lại, thí dụ bảng 4.29 trang 138: Hàng đầu để hai dòng với nhiều khoảng trống là chưa hợp lý. Vì bảng còn mở rộng hàng ngang đến lề hai bên nên dòng C-17 có thể bố trí một hàng sẽ đẹp hơn. Các bảng khác cũng nên format lại cho đẹp hơn và nên để mỗi bảng tỏng nguyên 1 trang giấy sẽ dễ theo dõi. Một số bảng để dòng single, một số lại để dãn 1,5 hoặc kích cỡ khác. Nên căn chỉnh thống nhất về định dạng, quả canh lề bảng, dãn dòng, cũng như các chú thích thống nhất. Vì luận án có nhiều kết nên các bảng nên để dòng đơn single cho giảm bớt số trang. Ví dụ bảng 4.23, 4.24 và nhiều bảng khác, cột thứ tư kết quả phổ proton, nhiều proton chỉ ghi giá trị, không ghi dạng píc hay tính trạng chồng lấp tín hiệu và mỗi số 1 dòng làm cho bảng khá dài chưa phù hợp. Các bảng khác cũng chú ý điểm này.

- Về ký hiệu các chất nên thống nhất, ví dụ (37) nên chuyển thành (37), tức là các dấu ngoặc đơn cho các chất không in đậm. Một số tiếng Anh lẫn trong tiếng Việt, ví dụ: dòng 1 trang 15: "deoxy-7, 14-didehydro-12-acetoxy-sydonic acid, and (E)-7-deoxy-7,8- didehydro-12..."

- Đánh số thứ tự lại giữa hợp chất XT37.4 và XT37.3 theo trật tự thông thường. Mặt khác, phân tích cấu trúc hợp chất XT37.4 chỉ nên so sánh với XT37.3 và tài liệu tham khảo đã công bố [89] mà bỏ phần so sánh dữ liệu phổ ^{13}C với các hợp chất XT37.1 và XT37.2 vì hai hợp chất này có cấu trúc khác hoàn toàn cả về thêm nối

đôi cũng như chuyển vị nhóm thế giữa hai vị trí C-2 và C-3. Bổ sung bảng 4.5 chất XT37.5 bị thiếu.

- Câu hỏi :

Câu hỏi 1: Các phương pháp chung để xác định tên khoa học của các loài vi sinh vật là ?

Câu hỏi 2: Nghiên cứu về hóa học ở vi sinh vật có điểm nào khác với nghiên cứu hóa học ở thực vật , nếu có khó khăn thì khó khăn là gì ?

Câu hỏi 3: Tại sao khi phân lập lại thấy kết quả đa phần là chủng *Aspergillus* mà không phải các chủng khác .

Câu hỏi 4: Hướng nghiên cứu này có được định hướng trước không? Cách thực hiện?

2. **Phản biện 2: PGS.TS. Lê Nguyễn Thành** đọc nhận xét đánh giá luận án và kết luận (có văn bản kèm theo).

Ưu điểm:

- Nhìn chung, các đóng góp của luận án hướng tới mục tiêu cải thiện bài toán rút gọn thuộc tính trong bối cảnh dữ liệu nhiễu và dữ liệu động, đồng thời được cụ thể hóa thành các thuật toán có khả năng triển khai.

- Luận án có khối lượng thực hiện lớn về mặt số liệu thực nghiệm.

- Số lượng 30 hợp chất sạch (trong đó có 6 chất mới, 1 chất lần đầu tách từ tự nhiên) là một thành tích nổi bật đối với một luận án tiến sĩ Hóa hữu cơ.

- Biện luận cấu trúc hóa học rất chặt chẽ, logic, phân tích phổ tương tác hạt nhân 2D (HMBC, COSY, NOESY/ROESY) tường minh; việc áp dụng tính toán ECD lý thuyết (TD-DFT) giải quyết cấu hình tuyệt đối của các tâm bất đối phức tạp.

- Bố cục luận án cân đối, khoa học; văn phong học thuật trong sáng, súc tích. Các bảng số liệu NMR được gán tín hiệu chi tiết, so sánh đối chiếu thấu đáo với tài liệu tham khảo.

Nhược điểm:

- Chương 2: Xem lại máy phổ khối lượng phân giải cao.

- Chương 3:

+ "m/z" in nghiêng.

+ Về hoạt tính ức chế NO, cần bổ sung tác dụng gây độc tế bào theo phương pháp MTT để minh chứng tác dụng ức chế sự sản sinh NO là không phụ thuộc vào tác dụng gây độc tế bào.

+ Tại trang 40, hình sơ đồ phân lập chủng BCXT-22.1 bị ghi thành "Hình 3.34" thay vì "Hình 3.4".

- Chương 4: Kết quả và thảo luận:

+ Xem lại đánh số tài liệu tham khảo, một số tài liệu tham khảo không thấy liền mạch như 83-85, 87-88.

+ Bổ sung tính toán lý thuyết cho hợp chất XT37.2

+ Trang 110, cuối mục XT47.9 "(Hình 2.4.9)". Cần sửa thành (Hình 4.77).

+ Bảng 4.21 (trang 114) có ghi "Bảng 2.6.1" ở dòng text mô tả.

+ Mục 4.1.3.2 (trang 123), hợp chất XT49.4 chú thích nhầm hình phổ là "Hình 2.6.2.1"

+ "Hình 2.6.2.2", "Hình 2.6.2.3" phải đổi thành Hình 4.98, Hình 4.97, Hình 4.102.

+ Hoạt tính sinh học cần bổ sung về tác dụng gây độc tế bào trên dòng tế bào RAW264.7 và thảo luận kết quả.

- Câu hỏi:

+ Câu hỏi 1 : Tại trang 107 , hợp chất XT47.7 được nêu ra là cấu hình tương đối hay tuyệt đối ?

+ Câu hỏi 2 : NCS có thể đưa ra cấu hình tuyệt đối của hợp chất XT47.7 không ?

NCS Đặng Việt Anh tiếp thu ý kiến nhận xét của các phản biện và trả lời đầy đủ câu hỏi của các uỷ viên phản biện.

7. Các thành viên khác trong Hội đồng đưa ra ý kiến nhận xét; Hội đồng và những người tham dự đặt câu hỏi:

1) **GS.TS. Ngô Quốc Anh:**

- Mục 3.3: khối lượng phân tử của các hợp chất hiện được làm tròn đến số nguyên, trong khi các giá trị HRMS được thể hiện đến 4 chữ số thập phân. NCS nên trình bày khối lượng phân tử đến 2 chữ số thập phân nhằm đảm bảo độ chính xác của số liệu.

- Do NCS có bổ sung nội dung docking phân tử đối với hoạt tính ức chế sản sinh NO, có sử dụng enzyme iNOS làm đích tác dụng (target enzyme), cần trình bày rõ ligand tham chiếu (reference ligand) tương ứng với đích tác dụng, đồng thời cung cấp giá trị ái lực liên kết (binding affinity) của ligand tham chiếu. Đây là cơ sở cần thiết để đối chiếu và đánh giá tương đối khả năng liên kết của các hợp chất phân lập với đích tác dụng.

2) **PGS.TS. Bùi Thị Thu Trang:**

- Trang 30, xem xét lại bước sóng đèn tử ngoại sử dụng.

- Trang 32, bổ sung đơn vị của tỷ lệ trong phương pháp nuôi cấy tế bào (mục 2.2.5.1)

- Trang 35, xem xét bổ sung giải thích ký hiệu mẫu XT37, XT47, XT49 để tương đương với các mẫu sinh khối của vi nấm.

- Thống nhất cách gọi tên phổ HR-ESI-MS trong các chú thích hình phổ khối lượng ở chương 4.

- Rà soát lại các lỗi chính tả, lỗi văn bản, lỗi viết tắt trong toàn báo cáo và tóm tắt.

- **Câu hỏi:** NCS giải thích về sự khác biệt về độ dịch chuyển hóa học giữa hợp chất XT47.2 với hợp chất tham khảo.

3) **TS. Trương Thị Thu Hiền:**

- Một số cách gọi tên chủng vi nấm còn chưa thống nhất. Cần rà soát và thống nhất tên khoa học, mã chủng trong luận án và bản tóm tắt. Tuy nhiên, hạn chế trên thuộc về hình thức trình bày, không làm thay đổi giá trị khoa học của đề tài luận án.

4) **GS.TS. Nguyễn Huy Hoàng**

- Có một số lỗi không thống nhất tên và mã chủng vi nấm giữa các phần. Một số thuật ngữ, ký hiệu, đơn vị và cách trình bày tên hợp chất cần được rà soát lại. Cần phân định rõ hơn giữa kết quả thực nghiệm và các suy luận từ docking. Phần ý nghĩa thực tiễn cũng nên trình bày thận trọng, tương xứng với mức độ bằng chứng hiện có.

- Cách diễn đạt số lượng các hợp chất có hoạt tính và một số khoảng IC_{50} hiện chưa thật rõ ràng; cần đối chiếu lại với các bảng kết quả gốc trước khi in bản cuối.

- **Câu hỏi:**

+ Câu hỏi 1: Lí do tại sao ở 3 chủng vi nấm được nêu lên trong luận văn lại được thu thập ở 3 vị trí khác nhau mà không phải cùng 1 vị trí, có điểm đặc biệt nào trong quá trình thu thập chủng vi nấm hay không?

+ Câu hỏi 2: Nêu độ dài của 1 đoạn gen ITS .

5) **PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh**

Cần rà soát các lỗi về format, căn chỉnh bảng, hình, giãn dòng cho hợp lý.

8. Thư ký đọc nhận xét của 02 chuyên gia phản biện độc lập.
9. NCS Đặng Việt Anh tiếp thu ý kiến nhận xét của các thành viên của Hội đồng. NCS trả lời các câu hỏi của các thành viên Hội đồng và trình bày giải trình nhận xét của 02 chuyên gia phản biện độc lập.

10. Đại diện tập thể hướng dẫn phát biểu ý kiến bằng văn bản.

11. Hội đồng tiến hành họp riêng để bầu ban kiểm phiếu, bỏ phiếu kín và thảo luận thông qua quyết nghị của Hội đồng.

1) Bầu ban kiểm phiếu gồm:

- Trưởng ban: PGS.TS. Phan Văn Kiệm
- Uỷ viên: GS.TS. Nguyễn Huy Hoàng
- Uỷ viên: PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh

2) Bỏ phiếu kín và thảo luận thông qua Quyết nghị của Hội đồng.

- Trưởng ban kiểm phiếu, PGS.TS. Phan Văn Kiệm công bố kết quả kiểm phiếu (có biên bản kiểm phiếu).

- Chủ tịch Hội đồng, GS.TS. Ngô Quốc Anh, thông qua Quyết nghị (có văn bản kèm theo).

3) Tóm tắt nghị quyết của Hội đồng

3.1. Tính phù hợp của tên đề tài và sự không trùng lặp về nội dung luận án

- Tên đề tài, nội dung và kết quả nghiên cứu của luận án phù hợp với Ngành đào tạo "Hóa hữu cơ", mã số "9 44 01 14".
- Nội dung của luận án không trùng lặp với các luận án đã bảo vệ và các kết quả nghiên cứu đã công bố trong và ngoài nước.
- Các tài liệu tham khảo của luận án có nội dung phù hợp và đã được trích dẫn trong luận án.

3.2. Các kết quả chính của luận án

Đề tài có mục tiêu và nội dung nghiên cứu rõ ràng, có tính liên kết từ phân lập vi nấm, lên men tạo sinh khối, tạo cao chiết, phân lập hợp chất, xác định cấu trúc đến đánh giá hoạt tính sinh học.

Đối tượng nghiên cứu được xác định cụ thể và có nguồn gốc rõ ràng; các chủng vi nấm được định danh bằng phương pháp sinh học phân tử và có mã số GenBank.

Kết quả thực nghiệm thu được tương đối lớn, với 30 hợp chất sạch được phân lập và xác định cấu trúc từ ba chủng vi nấm.

Việc phối hợp nhiều phương pháp phân tích phổ hiện đại, thử nghiệm hoạt tính sinh học và docking phân tử giúp tăng tính toàn diện của nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu có những phát hiện mới về hóa học và hoạt tính sinh học, có khả năng đóng góp cho lĩnh vực nghiên cứu các hợp chất tự nhiên từ vi sinh vật.

Luận án được thiết kế hợp lý, hình thức đẹp, ít lỗi in ấn. Các hình, bảng, sơ đồ đều được trình bày khá rõ ràng. Phần phụ lục cung cấp đầy đủ những dữ liệu cần thiết nhất đáp ứng yêu cầu của việc tham khảo.

Tài liệu tham khảo được trình bày thống nhất, trích dẫn đầy đủ và chính xác.

3.3. Các điểm cần bổ sung chỉnh sửa trước khi nộp luận án cho Thư viện Quốc gia Việt Nam

NCS cần tiếp thu, rà soát, chỉnh sửa, bổ sung nội dung luận án theo ý kiến đóng góp trong bản nhận xét của các thành viên Hội đồng và Biên bản của Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện trước khi nộp luận án cho Thư viện Quốc gia Việt Nam.

3.4. Mức độ đáp ứng yêu cầu của luận án tiến sĩ về cả nội dung và hình thức

- Luận án của NCS Đặng Việt Anh đáp ứng yêu cầu của luận án tiến sĩ ngành "Hóa hữu cơ", mã số "9 44 01 14" về nội dung và hình thức theo các qui chế hiện hành về đào tạo tiến sĩ của Bộ Giáo dục và Đào tạo, của Học viện Khoa học và Công nghệ.
- Đề nghị Học viện Khoa học và Công nghệ công nhận kết quả bảo vệ và cấp bằng tiến sĩ cho NCS Đặng Việt Anh sau khi chỉnh sửa, bổ sung luận án theo các góp ý của Hội đồng.

12. Tổng kết

- Trưởng ban kiểm phiếu, PGS.TS. Phan Văn Kiệm công bố kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án.
- Chủ tịch Hội đồng, GS.TS. Ngô Quốc Anh, đọc Quyết nghị của Hội đồng.
- Chủ tịch Hội đồng tuyên bố Hội đồng đã hoàn thành nhiệm vụ và trao lại quyền điều khiển cho Cơ sở đào tạo.
- Các đại biểu và NCS phát biểu ý kiến.
- Đại diện cơ sở đào tạo tuyên bố kết thúc buổi bảo vệ luận án tiến sĩ.

Biên bản họp Hội đồng này được 7/7 ủy viên Hội đồng biểu quyết công khai thông qua.

Buổi họp Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện kết thúc vào lúc 12 giờ 30 phút, ngày 16 tháng 10 năm 2026.

Thư ký Hội đồng	**Chủ tịch Hội đồng**
PGS.TS. Hoàng Lê Tuấn Anh	**GS.TS. Ngô Quốc Anh**

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Nguyễn Thị Trung

(Mẫu 6-HV-Bản giải trình chỉnh sửa, bổ sung cấp HV)

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
*

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM

BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA, BỔ SUNG LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Ngày 16 tháng 10 năm 2026, Học viện Khoa học và Công nghệ đã tổ chức đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Đặng Việt Anh theo Quyết định số 777/QĐ-HVKHCN ngày 27 tháng 8 năm 2026 của Giám đốc Học viện.

Đề tài: Nghiên cứu thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của sinh khối ba chủng vi nấm *Aspergillus* sp. DVXT-221, *Trichoderma* sp. GXT-22.1 và *Aspergillus* sp. BCXT-22.1

Ngành: Hóa hữu cơ, Mã số: 9 44 01 14

Người hướng dẫn khoa học: 1. PGS. TS. Trần Hồng Quang

2. PGS. TS. Nguyễn Ngọc Tùng

Theo Biên bản của Hội đồng, NCS phải bổ sung và chỉnh sửa luận án các điểm sau đây:

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung
1.	Việc ký hiệu các chất bằng nhiều ký tự phức tạp làm cho người đọc khó theo dõi. NCS nên nghiên cứu thay đổi ký hiệu ngắn gọn hơn để dễ theo dõi hơn. Trong mục 3 phần kết luận có nhầm lẫn số lượng "Trong đó 2 hợp chất XT37.1, XT37.3 và XT49.1". Cần xem xét sửa lại.	Ký hiệu chất và phần kết luận đã được rà soát và chỉnh sửa theo ý kiến của Hội đồng.
2.	Phần kết luận và những điểm mới của luận án nên nghiên cứu viết lại cho tường minh hơn. Những điểm mới của luận án thường được chắt	Phần Kết luận và Những điểm mới của luận án đã được chỉnh sửa theo ý kiến của Hội đồng.

Lưu ý: Các chữ ký xác nhận cần gắn với nội dung trên cùng một trang giấy. Học viện sẽ không xác nhận nếu phần chữ ký tách rời với nội dung

	lọc từ kết luận chung về kết quả thu được. Và như vậy, những điểm mới nên có khuôn khổ ngắn gọn hơn phần kết luận. Ở đây NCS đang thể hiện ngược lại.	
3.	Số lượng chất đem thử các hoạt tính cần xác định chính xác. Một số không được thử nên nói rõ lý do.	Số lượng các chất thử hoạt tính đã được xác định ở phần kết quả thử hoạt tính tại Chương 3. Lý do các hợp chất không được thử nghiệm cũng đã được bổ sung ở Chương 4.
4.	Nhiều bảng số liệu cần format lại, thí dụ bảng 4.29 trang 138: Hàng đầu để hai dòng với nhiều khoảng trống là chưa hợp lý. Vì bảng còn mở rộng hàng ngang đến lề hai bên nên dòng C-17 có thể bố trí một hàng sẽ đẹp hơn. Các bảng khác cũng nên format lại cho đẹp hơn và nên để mỗi bảng tỏng nguyên 1 trang giấy sẽ dễ theo dõi. Một số bảng để dòng single, một số lại để dãn 1,5 hoặc kích cỡ khác. Nên căn chỉnh thống nhất về định dạng, quả canh lề bảng, dãn dòng, cũng như các chú thích thống nhất. Vì luận án có nhiều kết nên các bảng nên để dòng đơn single cho giảm bớt số trang. Ví dụ bảng 4.23, 4.24 và nhiều bảng khác, cột thứ tư kết quả phổ proton, nhiều proton chỉ ghi giá trị, không ghi dạng píc hay tính trạng chồng lấp tín hiệu và mỗi số 1 dòng làm cho bảng khá dài chưa phù hợp. Các bảng khác cũng chú ý điểm này.	Các bảng số liệu ở Chương 4 đã được rà soát, chỉnh sửa lại theo ý kiến của Hội đồng.
5.	Về ký hiệu các chất nên thống nhất, ví dụ (37) nên chuyển thành (37), tức là các dấu ngoặc đơn cho các	Ký hiệu chất đã được chỉnh sửa thống nhất và một số từ tiếng Anh đã được Việt hóa (Chương 1) theo

	chất không in đậm. Một số tiếng Anh lẫn trong tiếng Việt, ví dụ: dòng 1 trang 15: "deoxy-7, 14-didehydro-12-acetoxy-sydonic acid, and (E)-7-deoxy-7,8- didehydro-12..."	ý kiến của Hội đồng.
6.	Đánh số thứ tự lại giữa hợp chất XT37.4 và XT37.3 theo trật tự thông thường. Mặt khác, phân tích cấu trúc hợp chất XT37.4 chỉ nên so sánh với XT37.3 và tài liệu tham khảo đã công bố [89] mà bỏ phần so sánh dữ liệu phổ ^{13}C với các hợp chất XT37.1 và XT37.2 vì hai hợp chất này có cấu trúc khác hoàn toàn cả về thêm nối đôi cũng như chuyển vị nhóm thế giữa hai vị trí C-2 và C-3. Bổ sung bảng 4.5 chất XT37.5 bị thiếu.	Các luận giải phân tích cấu trúc hợp chất XT37.3 và XT37.4 ở Chương 4 đã được chỉnh sửa theo ý kiến của Hội đồng.
7.	Chương 2: Xem lại máy phổ khối lượng phân giải cao.	Thông tin về máy phổ khối lượng phân giải cao ở Chương 2 đã được chỉnh sửa theo ý kiến của Hội đồng.
8.	- Chương 3: + "m/z" in nghiêng. + Về hoạt tính ức chế NO, cần bổ sung tác dụng gây độc tế bào theo phương pháp MTT để minh chứng tác dụng ức chế sự sản sinh NO là không phụ thuộc vào tác dụng gây độc tế bào. + Tại trang 40, hình sơ đồ phân lập chủng BCXT-22.1 bị ghi thành "Hình 3.34" thay vì "Hình 3.4".	Chương 3: Tác dụng gây độc tế bào trong phương pháp ức chế sản sinh NO ở đã được bổ sung, các lỗi văn bản cũng đã được chỉnh sửa theo ý kiến của Hội đồng.
9.	- Chương 4: Kết quả và thảo luận: + Xem lại đánh số tài liệu tham khảo, một số tài liệu tham khảo không thấy liền mạch như 83-85,	Chương 4: Kết quả và thảo luận + Trích dẫn tài liệu tham khảo trong chương 4 đã được rà soát và chỉnh sửa.

	87-88. + Bổ sung tính toán lý thuyết cho hợp chất XT37.2 + Trang 110, cuối mục XT47.9 "(Hình 2.4.9)". Cần sửa thành (Hình 4.77). + Bảng 4.21 (trang 114) có ghi "Bảng 2.6.1" ở dòng text mô tả. + Mục 4.1.3.2 (trang 123), hợp chất XT49.4 chú thích nhầm hình phổ là "Hình 2.6.2.1" + "Hình 2.6.2.2", "Hình 2.6.2.3" phải đổi thành Hình 4.98, Hình 4.97, Hình 4.102. + Hoạt tính sinh học cần bổ sung về tác dụng gây độc tế bào trên dòng tế bào RAW264.7 và thảo luận kết quả.	+ Kết quả tính toán lý thuyết cho hợp chất XT37.2 đã được thể hiện. + Các lỗi ký hiệu Hình, Bảng đã được rà soát và chỉnh sửa theo ý kiến của Hội đồng. + Tác dụng gây độc tế bào trên dòng tế bào RAW264.7 và thảo luận kết quả đã được thể hiện theo ý kiến của Hội đồng.
10.	Mục 3.3: khối lượng phân tử của các hợp chất hiện được làm tròn đến số nguyên, trong khi các giá trị HRMS được thể hiện đến 4 chữ số thập phân. NCS nên trình bày khối lượng phân tử đến 2 chữ số thập phân nhằm đảm bảo độ chính xác của số liệu.	Khối lượng phân tử của các chất đã được chỉnh sửa đến 2 chữ số thập phân ở Chương 3 đã được thể hiện theo ý kiến của Hội đồng.
11.	Do NCS có bổ sung nội dung docking phân tử đối với hoạt tính ức chế sản sinh NO, có sử dụng enzyme iNOS làm đích tác dụng (target enzyme), cần trình bày rõ ligand tham chiếu (reference ligand) tương ứng với đích tác dụng, đồng thời cung cấp giá trị ái lực liên kết (binding affinity) của ligand tham chiếu. Đây là cơ sở cần thiết để đối chiếu và đánh giá tương đối khả năng liên kết của các hợp chất phân	Thông tin về ligand tham chiếu, giá trị ái lực liên kết của ligand tham chiếu đã được trình bày rõ ở Chương 4 theo ý kiến của Hội đồng.

	lập với đích tác dụng.	
12.	Trang 30, xem xét lại bước sóng đèn tử ngoại sử dụng.	Bước sóng đèn tử ngoại sử dụng đã được chỉnh sửa theo ý kiến của Hội đồng ở Chương 2.
13.	Trang 32, bổ sung đơn vị của tỷ lệ trong phương pháp nuôi cấy tế bào (mục 2.2.5.1)	Đơn vị của tỷ lệ trong phương pháp nuôi cấy tế bào ở Chương 2 đã được bổ sung theo ý kiến của Hội đồng
14.	Trang 35, xem xét bổ sung ký hiệu mẫu XT37, XT47, XT49 để tương đương với các mẫu sinh khối của vi nấm.	Ký hiệu mẫu XT37, XT47, XT49 đã được bổ sung ở Chương 3 theo ý kiến của Hội đồng
15.	Thống nhất cách gọi tên phổ HR-ESI-MS trong các chú thích hình phổ khối lượng ở chương 4.	Các chú thích hình phổ khối lượng ở Chương 4 đã được chỉnh sửa theo ý kiến của Hội đồng
16.	Rà soát lại các lỗi chính tả, lỗi văn bản, lỗi viết tắt trong toàn báo cáo và tóm tắt.	Các lỗi chính tả, lỗi văn bản, lỗi viết tắt đã được rà soát và chỉnh sửa theo ý kiến của Hội đồng.
17.	Một số cách gọi tên chủng vi nấm còn chưa thống nhất. Cần rà soát và thống nhất tên khoa học, mã chủng trong luận án và bản tóm tắt. Tuy nhiên, hạn chế trên thuộc về hình thức trình bày, không làm thay đổi giá trị khoa học của đề tài luận án.	Tên khoa học, mã chủng đã luận án và tóm tắt luận án đã đã được rà soát và chỉnh sửa thống nhất theo ý kiến của Hội đồng.
18.	Có một số lỗi không thống nhất tên và mã chủng vi nấm giữa các phần. Một số thuật ngữ, ký hiệu, đơn vị và cách trình bày tên hợp chất cần được rà soát lại. Cần phân định rõ hơn giữa kết quả thực nghiệm và các suy luận từ docking.	Các lỗi tên, mã chủng, thuật ngữ, ký hiệu, đơn vị, cách trình bày tên hợp chất đã được rà soát và chỉnh sửa. Kết quả thực nghiệm và các suy luận từ docking (Chương 4) đã được phân định rõ theo ý kiến của Hội đồng.
19.	Cách diễn đạt số lượng các hợp chất có hoạt tính và một số khoảng IC_{50} hiện chưa thật rõ ràng; cần đối chiếu lại với các bằng kết quả gốc trước khi in bản cuối.	Số lượng các hợp chất có hoạt tính cùng với các giá trị IC_{50} trong Chương 4 và phần Kết luận đã được rà soát và chỉnh sửa theo ý kiến của Hội đồng.

20.	Cần rà soát các lỗi về format, căn chỉnh bảng, hình, giãn dòng cho hợp lý.	Các lỗi về format, căn chỉnh bảng, hình, giãn dòng đã được chỉnh sửa theo ý kiến của Hội đồng.

Nghiên cứu sinh chân thành cảm ơn Quí thầy, cô trong Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện đã góp ý và tạo cơ hội cho NCS hoàn thiện luận án của mình.

Xin trân trọng cảm ơn./.

Hà Nội, ngày 28 tháng 10 năm 2026

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

Hướng dẫn 1

PGS.TS. Trần Hồng Quang

Hướng dẫn 2

PGS.TS. Nguyễn Ngọc Tùng

NGHIÊN CỨU SINH

Đặng Việt Anh

XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Nguyễn Thị Trung

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

GS.TS. Ngô Quốc Anh