

MỘT SỐ HỢP CHẤT PHÂN LẬP TỪ VI TẢO BIỂN *AURANTIOCHYTRIUM* SP. SC145

NGUYỄN THỊ THU THUY^(1,2), NGUYỄN XUÂN NHIỆM^(1,3), NGUYỄN TIẾN ĐẠT^(1,4),
LÊ THỊ GIANG⁽⁵⁾, NGUYỄN TRỌNG DÂN⁽²⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi tảo là nguồn nguyên liệu tiềm năng để tìm kiếm các hoạt chất có tác dụng sinh học. *Aurantiochytrium* là một chi gồm các loài vi tảo biển dị dưỡng, thuộc họ Thraustochytridae. Chi *Aurantiochytrium* đóng vai trò quan trọng trong quá trình lên men sinh khối công nghiệp [1]. Các nghiên cứu trước đây chỉ ra thành phần hóa học của *Aurantiochytrium* sp. bao gồm nhiều loại acid béo không no như Omega-3,6,9 [2], các squalene như myristic acid, palmitic acid, palmitoleic acid... [3] và một số sterol khác [4]. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học cũng cho thấy cao chiết từ sinh khối của vi tảo *Aurantiochytrium* có hoạt tính kháng viêm, chống gốc tự do và ức chế enzyme Acetylcholinesterase [3]. Nghiên cứu này công bố kết quả phân lập và xác định cấu trúc của sáu hợp chất từ sinh khối của vi tảo biển dị dưỡng *Aurantiochytrium* sp. SC145.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

2.1. Mẫu nghiên cứu

Vi tảo *Aurantiochytrium* sp. SC145 được thu thập tại đảo Sơn Ca, quần đảo Trường Sa, tỉnh Khánh Hoà vào tháng 5 năm 2021 và được định danh bằng phương pháp giải trình tự gen 18S rRNA và so sánh với dữ liệu trên GenBank [3]. Mẫu được lưu trữ tại Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (Viện HL KH&CN VN).

2.2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) được đo trên thiết bị Bruker Avance 600 MHz (chất chuẩn nội tetramethyl silane - TMS) tại Viện Hóa học, Viện HL KH&CN VN. Phổ khối lượng phân giải cao HR-ESI-MS được đo trên máy AGILENT 6530 Accurate Mass của Viện Hóa sinh biển, Viện HL KH&CN VN.

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufoilen 60 F₂₅₄ (Merck) hoặc RP18 F_{254S} (Merck). Vết chất được phát hiện bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H₂SO₄ 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơ nóng từ từ đến khi hiện màu.

Sắc ký cột: Được tiến hành với các chất hấp phụ là silica gel, pha đảo RP-18, và diaion HP-20. Silica gel có cỡ hạt là 0,040-0,063 mm (240-430 mesh) và pha đảo RP-18 (120 µm, YMC Co. Ltd.).

2.3. Phương pháp nuôi sinh khối

Vi tảo *Aurantiochytrium* sp. SC145 được nuôi cấy trong máy lên men có dung tích 30L bằng môi trường dinh dưỡng gồm glucose 9%, chiết xuất nấm men công nghiệp 1% và độ mặn 3%. Sinh khối tảo được thu hoạch sau 120 giờ lên men ở nhiệt độ 32-37 °C bằng cách ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút. Bã tảo được rửa sạch bằng nước cất vô trùng, sau đó sấy khô đến khối lượng không đổi ở 50 °C, nghiền thành bột và bảo quản trong bình hút ẩm.

2.4. Phân lập các chất

Bột tảo sấy khô (2,2 kg) được chiết trong bể siêu âm với methanol (20 L x 3 lần) ở nhiệt độ phòng trong 24h. Dịch chiết được gom lại và cất loại dung môi ở áp suất giảm thu được 110 g cặn chiết methanol. Cặn chiết này sau đó được phân bố trong 1,5 L nước cất và chiết phân lớp với diclomethan (1,5 L x 3 lần). Pha hữu cơ được thu lại và cất loại dung môi để thu được cặn chiết diclomethan (AS, 35 g). Cặn chiết AS được phân tách trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải *n*-hexan:acetone (gradient 40:1, 20:1, 10:1, 5:1, 2,5:1, 1:1, v/v) thu được 5 phân đoạn AS1A (7,5 g), AS1B (3,1 g), AS1C (5,4 g), AS1D (5,8 g) và AS1E (6,4 g).

Phân đoạn AS1B được phân tách trên cột silica gel và rửa giải với hệ dung môi *n*-hexan:acetone (6:1, v/v) thu được 5 phân đoạn AS1B2A (130 mg), AS1B2B (864 mg), AS1B2C (986 mg), AS1B2D (172 mg) và AS1B2E (317 mg). Phân đoạn AS1B2E được phân tách trên cột RP-18 cùng với hệ dung môi MeOH:H₂O (4:1, v/v) rửa giải, thu được 3 phân đoạn AS1B2E1 (50 mg), AS1B2E2 (100 mg) và AS1B2E3 (30 mg). Phân đoạn AS1B2E2 được phân tách trên hệ thống HPLC sử dụng pha động 40% acetonitril trong nước, thu được hợp chất là **1** (1,4 mg, *t_R* 19,9 min). Phân đoạn AS1B2B được phân tách trên cột silica gel và rửa giải bằng hệ dung môi *n*-hexan:EtOAc (2:1, v/v) thu được 2 phân đoạn AS1B2B1 (300 mg) và AS1B2B2 (250 mg). Phân đoạn AS1B2B1 tiếp tục phân tách trên hệ thống HPLC, pha động 98% acetonitril trong nước, thu được 1 hợp chất **2** (26,1 mg, *t_R* 50,6 min). Phân đoạn AS1B2A tiếp tục phân tách tiếp trên cột silica gel sử dụng hệ dung môi *n*-hexan:EtOAc (3:1, v/v) thu được 2 phân đoạn AS1B2A1 (40 mg) và AS1B2A2 (45 mg). Phân đoạn AS1B2A1 tiếp tục phân tách trên hệ thống HPLC, pha động 98% acetonitril trong nước, thu được hợp chất **3** (18,7 mg, *t_R* 55,2 min). Phân đoạn AS1B2D được phân tách trên cột RP-18 và sử dụng hệ dung môi acetone:H₂O (4,5:1, v/v) để rửa giải, thu được 2 phân đoạn AS1B2D1 (70 mg) và AS1B2D2 (40 mg). Phân đoạn AS1B2D2 tiếp tục được phân tách bằng cột RP-18 với hệ dung môi rửa giải acetone:H₂O (4,5:1, v/v) thu được 1 hợp chất **4** (7,5 mg). Phân đoạn AS1D được phân tách trên cột RP-18 với hệ dung môi rửa giải acetone:H₂O (1:1, v/v) thu được 4 phân đoạn AS1D1 (3,8 g), AS1D2 (350 mg), AS1D3 (790 mg) và AS1D4 (561 mg). Phân đoạn AS1D4 được phân tách trên cột silica gel sử dụng hệ dung môi rửa giải dichloromethane:acetone: H₂O (1:5:0,3, v/v/v) thu được 3 phân đoạn AS1D4A (100 mg), AS1D4B (95 mg) và AS1D4C (120 mg). Phân đoạn AS1D4A tiếp tục được phân tách trên cột RP-18 sử dụng hệ dung môi rửa giải MeOH:H₂O (4:1, v/v) thu được hợp chất là **5** (6,8 mg). Phân đoạn AS1D2 tiếp tục được phân tách trên cột silica gel và sử dụng hệ dung môi *n*-hexan:acetone (4:1, v/v) rửa giải, thu được 3 phân đoạn AS1D2A (35 mg), AS1D2B (50 mg) và AS1D2C (30 mg). Phân đoạn AS1D2A tiếp tục được phân tách trên hệ thống HPLC, pha động 35-55% MeOH trong nước thu được hợp chất **6** (5 mg, *t_R* 27,6 phút).

Cyclo-(L-Pro-L-Leu) (1): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: C₁₁H₁₈O₃N₂. Khối lượng phân tử: 210,3. ESI-MS *m/z* 211 [M+H]⁺. UV (MeOH) λ_{max} 220, 280 nm. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -57,6 (*c*=0,1, CHCl₃). $[\alpha]_D^{25}$: -133 (*c*=0,3; ethanol). IR (KBr) ν_{max} 3259, 2921, 1668, 1633, 1433 cm⁻¹. Số liệu phổ ¹H-NMR

(CDCl₃): δ_H (ppm) 3,55 (1H; m; H-3a); 3,60 (1H; m; H-3b); 2,07 (1H; m; H-4); 1,90 (1H; m; H-4); 2,36 (2H; m; H-5); 4,12 (1H; dd; $J = 7,8$; 7,8 Hz; H-6); 4,02 (1H; dd; $J = 3,6$; 9,6 Hz; H-9); 1,52 (1H; m; H-10); 2,07 (1H; m; H-10); 1,74 (1H; m; H-11); 0,96 (3H; d; $J = 6,6$ Hz; H-12); 1,00 (3H; d; $J = 6,6$ Hz; H-13). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C (ppm) 166,1 (C-1); 45,5 (C-3); 22,7 (C-4); 28,1 (C-5); 59,0 (C-6); 170,2 (C-7); 53,4 (C-9); 38,7 (C-10); 24,7 (C-11); 21,2 (C-12); 23,3 (C-13).

(9Z,12Z)-Octadeca-9,12-dienoic acid (2): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: C₁₈H₃₂O₂. Khối lượng phân tử: 280,5. ESI-MS m/z 279 [M-H]⁻; IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3418, 2927, 1712, 1462, 1184 cm⁻¹. Số liệu phổ ¹H-NMR (CDCl₃): δ_H (ppm) 2,34 (2H; t; $J = 6,6$ Hz; H-2); 1,63 (2H; m; H-3); 1,26 (2H; m; H-4); 1,28 (2H; m; H-5); 1,34 (2H; m; H-6); 1,30 (2H; m; H-7); 2,05 (4H; q; $J = 6,6$ Hz; H-8, H-14); 5,32 (2H; m; H-9, H-13); 5,38 (1H; m; H-10, H-12); 2,77 (2H; t; $J = 6,6$ Hz; H-11); 1,28 (2H; m; H-15); 1,28 (2H; m; H-16); 1,30 (2H; m; H-17); 0,89 (3H; t; $J = 6,6$ Hz; H-18). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C (ppm) 180,0 (C-1); 34,1 (C-2); 29,7 (C-3); 29,0 (C-4); 29,1 (C-5); 29,1 (C-6); 29,3 (C-7); 27,2 (C-8); 130,2 (C-9); 128,1 (C-10); 25,6 (C-11); 127,9 (C-12); 130 (C-13); 27,2 (C-14); 29,6 (C-15); 31,5 (C-16); 22,6 (C-17); 14,0 (C-18).

Tyrosyl linoleat (3): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: C₂₆H₄₀O₃. Khối lượng phân tử: 400,6. UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ 228, 278 nm. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -92,0 ($c=0,1$, CHCl₃). IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3426, 2923, 1732, 1515, 1168 cm⁻¹. HR-ESI-MS m/z 399,2902 [M-H]⁻. Tính toán lý thuyết cho công thức [C₂₆H₃₉O₃]⁻, 399,2905. Số liệu phổ ¹H-NMR (CDCl₃): δ_H (ppm) 2,29 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-2); 1,64 (2H; m; H-3); 1,34 (2H; m; H-4); 1,29 (2H; m; H-5); 1,32 (2H; m; H-6); 1,35 (2H; m; H-7); 2,05 (4H; q; $J = 7,2$ Hz; H-8, H-14); 5,31 (1H; m; H-9, H-13); 5,41 (1H; m; H-10, H-12); 2,77 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-11); 1,30 (2H; m; H-15); 1,30 (2H; m; H-16); 1,32 (2H; m; H-17); 0,89 (3H; t; $J = 6,6$ Hz; H-18); 4,24 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-1'); 2,85 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-2'); 7,07 (2H; d; $J = 8,4$ Hz; H-4', H-8'); 6,77 (2H; d; $J = 8,4$ Hz; H-5', H-7'). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C (ppm) 173,9 (C-1); 34,4 (C-2); 24,9 (C-3); 29,1 (C-4); 29,3 (C-5); 29,2 (C-6); 29,1 (C-7); 27,2 (C-8); 130,2 (C-9); 128,1 (C-10); 25,6 (C-11); 127,9 (C-12); 130,0 (C-13); 27,2 (C-14); 29,1 (C-15); 31,5 (C-16); 22,6 (C-17); 14,1 (C-18); 65,0 (C-1'); 34,3 (C-2'); 127,8 (C-3'); 130,1 (C-4'); 115,4 (C-5'); 154,4 (C-6'); 115,4 (C-7'); 130,1 (C-8').

(S)-2,3-dihydroxypropyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoat (4): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: C₂₁H₃₈O₄. Khối lượng phân tử: 354,5. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -15,0 ($c=0,1$, CHCl₃). IR (KBr) $\nu_{\max}$ 3440, 2920, 1730, 1462, 735 cm⁻¹. HR-ESI-MS m/z 355,2830 [M+Na]⁺ (Tính toán lý thuyết cho công thức [C₂₁H₃₉O₄]⁺, 355,2843). Số liệu phổ ¹H-NMR (CDCl₃): δ_H (ppm) 2,35 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-2); 1,63 (2H; m; H-3); 1,25 (2H; m; H-4); 1,35 (2H; m; H-5); 1,30 (2H; m; H-6); 1,30 (2H; m; H-7); 2,05 (4H; q; $J = 6,6$ Hz; H-8, H-14); 5,37 (4H; m; H-9, H-10, H-12, H-13); 1,25 (2H; m; H-15); 1,35 (2H; m; H-16); 1,30 (2H; m; H-17); 0,89 (3H; t; $J = 6,6$ Hz; H-18); 4,15 (2H; dd; $J = 6,6$; 12,0 Hz; H-1'); 4,20 (1H; dd; $J = 4,8$; 12,0; H-1'); 3,95 (1H; m; H-2'); 3,70 (1H; dd; $J = 4,8$; 11,4 Hz; H-3'); 3,60 (1H; dd; $J = 6,0$; 11,4 Hz; H-3'). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C (ppm) 174,3 (C-1); 34,1 (C-

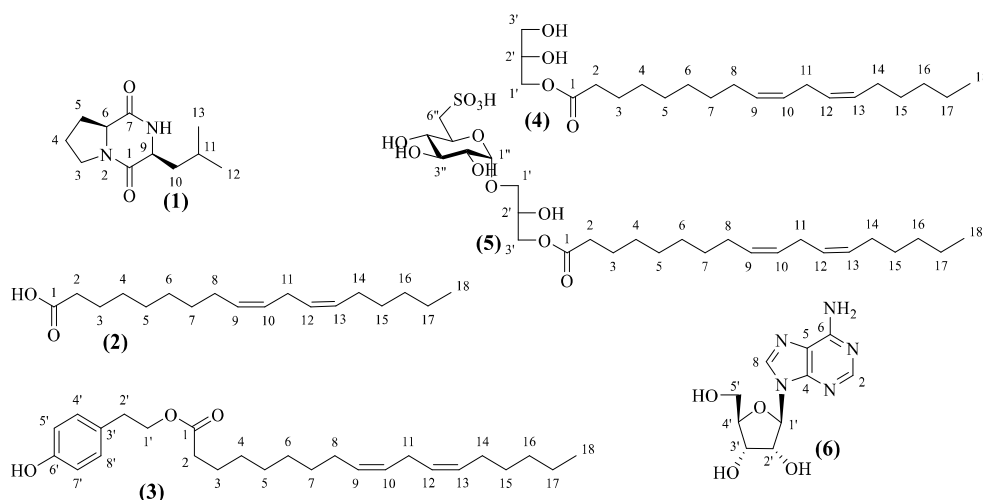
2); 25,0 (C-3); 29,6 (C-4); 29,3 (C-5); 29,1 (C-6); 29,1 (C-7); 27,2 (C-8); 130,2 (C-9); 128,1 (C-10); 25,6 (C-11); 128,1 (C-12); 130,0 (C-13); 27,2 (C-14); 29,1 (C-15); 31,5 (C-16); 22,6 (C-17); 14,1 (C-18); 70,3 (C-1'); 65,2 (C-2'); 63,4 (C-3').

Cibotiglycerol (5): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: $C_{27}H_{48}O_{11}S$. Khối lượng phân tử: 580,7. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -15,0 ($c=0,1$, $CHCl_3$). Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -120,1 ($c=0,1$, $CHCl_3$). IR (KBr) ν_{max} 3432, 2921, 1732, 1170, 749 cm^{-1} . HR-ESI-MS m/z 603,2755 $[M+Na]^+$. Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{27}H_{48}O_{11}SNa]^+$, 603,2810. 1H -NMR ($CDCl_3$): δ_H (ppm) 2,39 (2H; t; $J = 7,0$ Hz; H-2); 1,64 (2H; m; H-3); 1,36 (2H; m; H-4); 1,35 (2H; m; H-5); 1,35 (2H; m; H-6); 1,35 (2H; m; H-7); 2,09 (2H; q; $J = 7,0$ Hz; H-8); 5,30 (2H; m; H-9; H-13); 5,40 (2H; m; H-10; H-12); 2,77 (2H; t; $J = 7,0$ Hz; H-11); 2,09 (2H; t; $J = 7,0$ Hz; H-14); 1,35 (2H; m; H-15); 1,32 (2H; m; H-16); 1,35 (2H; m; H-17); 0,92 (3H; t; $J = 6,6$ Hz; H-18); 4,08 (1H; dd; $J = 3,0$; 10,2 Hz; H-1'); 3,42 (1H; dd; $J = 6,0$; 10,2 Hz; H-1'); 4,10 (1H; m; H-2'); 4,22 (1H; dd; $J = 6,6$; 12,0 Hz; H-3'); 4,12 (1H; dd; $J = 3,0$; 12,0 Hz; H-3'); 4,80 (1H; dd; $J = 3,6$ Hz; H-1''); 3,42 (1H; m; H-2''); 3,67 (1H; dd; $J = 9,6$; 9,6 Hz; H-3''); 3,11 (1H; dd; $J = 9,6$; 9,6 Hz; H-4''); 4,1 (1H; m; H-5''); 2,94 (1H; dd; $J = 9,0$; 14,4 Hz; H-6''); 3,37 (1H; dd; $J = 1,8$; 14,4 Hz; H-6''). ^{13}C -NMR (CD_3OD): δ_C (ppm) 175,6 (C-1); 34,9 (C-2); 26,0 (C-3); 30,3 (C-4); 30,5 (C-5); 30,7 (C-6); 30,2 (C-7); 28,1 (C-8); 130,9 (C-9, C-13); 129,1 (C-10, C-12); 26,5 (C-11); 28,2 (C-14); 30,2 (C-15); 32,6 (C-16); 23,6 (C-17); 14,4 (C-18); 70,6 (C-1'); 69,8 (C-2'); 66,5 (C-3'); 100,2 (C-1''); 73,7 (C-2''); 75,1 (C-3''); 74,9 (C-4''); 69,8 (C-5''); 54,3 (C-6'').

Adenosin (6): Chất bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử: $C_{10}H_{13}N_5O_4$. Khối lượng phân tử: 267,2. UV (MeOH) λ_{max} 258 nm. Độ quay cực $[\alpha]_D^{25}$: -60,0 ($c=0,1$, H_2O). HR-ESI-MS m/z 268,1042 $[M+H]^+$. Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{10}H_{14}N_5O_4]^+$, 268,1040. 1H -NMR ($DMSO-d_6$): δ_H (ppm) 8,16 (1H; s; H-2); 8,35 (1H; s; H-8); 5,91 (1H; d; $J = 6,5$ Hz; H-1'); 4,63 (1H; t; $J = 6,0$ Hz; H-2'); 4,16 (1H; dd; $J = 3,0$; 5,0 Hz; H-3'); 3,98 (1H; dd; $J = 3,6$; 6,0 Hz; H-4'); 3,68 (1H; br d; $J = 12,0$ Hz; H-5'a); 3,57 (1H; br d; $J = 12,0$ Hz; H-5'b); 7,38 (2H; br s; 6-NH₂); 5,48 (1H; br d; $J = 7,2$ Hz; 2'-OH); 5,20 (1H; br d; $J = 7,2$ Hz; 3'-OH); 5,43 (1H, br t, $J = 4,8$ Hz; 5'-OH). ^{13}C -NMR ($DMSO-d_6$): δ_C (ppm) 152,0 (C-2); 149,1 (C-4); 119,9 (C-5); 156,0 (C-6); 139,9 (C-8); 87,9 (C-1'); 73,4 (C-2'); 70,6 (C-3'); 85,8 (C-4'); 61,6 (C-5').

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hợp chất **1** được dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ ESI-MS xuất hiện tín hiệu m/z 211 $[M+H]^+$ cho phép xác định khối lượng phân tử của **1** là 210 Da, tương ứng với công thức phân tử $C_{11}H_{18}O_3N_2$. Phổ 1H -NMR của hợp chất **1** xuất hiện hai tín hiệu methyl ở δ_H 0,96 (3H; d; $J = 6,6$ Hz; H-12); 1,00 (3H; d; $J = 6,6$ Hz; H-13), hai nhóm methin sp^3 gần với nitơ ở δ_H 4,12 (1H; dd; $J = 7,8$; 7,8 Hz; H-6); 4,02 (1H; dd; $J = 3,6$; 9,6 Hz; H-9), một nhóm methylene gần với nitơ ở δ_H 3,55 (1H; m; H-3a). Phổ ^{13}C -NMR xuất hiện tín hiệu của 13 carbon, trong đó, cấu trúc dipeptide được xác định bởi tín hiệu của 2 nhóm amid carbonyl CONH (δ_C 166,1 C-1 và δ_C 170,2 C-7). So sánh số liệu phổ NMR với tài liệu tham khảo cho phép xác định cấu trúc của **1** là cyclo-(L-Pro-L-Leu) [5].



Hình 1. Cấu trúc hoá học của các hợp chất 1-6

Hợp chất **2** thu được dưới dạng dầu. Phổ ESI-MS của hợp chất **2** xuất hiện tín hiệu m/z 279 $[M-H]^-$ cho phép xác định khối lượng phân tử 278 Da của **2**. Phổ 1H -NMR của **2** có các tín hiệu đặc trưng cho một hợp chất acid béo không no chứa hai liên kết đôi gồm một nhóm methyl đầu mạch xuất hiện dưới dạng triplet tại δ_H 0,89 (3H; t; $J = 6,6$ Hz; H-18), hai nhóm methylen xuất hiện dưới dạng quintet tại δ_H 2,05 (4H; q; $J = 6,6$ Hz; H-8, H-14), hai nhóm methylen xuất hiện dưới dạng triplet tại δ_H 2,77 (2H; t; $J = 6,6$ Hz; H-11), 2,34 (2H; t; $J = 6,6$ Hz; H-2) trong đó 1 nhóm methylen gắn với nhóm carboxyl (-COOH) cộng hưởng. Tín hiệu của bốn proton dạng olefin xuất hiện dưới dạng multiplet tại δ_H 5,32, 5,38 (4H, m). Ngoài ra còn có tín hiệu của các nhóm methylen chồng chéo lên nhau tại vùng trường cao δ_H 1,25-1,32. Phổ ^{13}C -NMR có tín hiệu cộng hưởng của 18 nguyên tử cacbon trong đó có một nhóm methyl (δ_C 14,0, C-18), 4 nhóm methin dạng olefin (δ_C 130,2 (C-9) và 128,1 (C-10), 127,9 (C-12) và 130,0 (C-13)), một nhóm carboxyl (δ_C 180,00 (C-1)), và 12 nhóm methylen. Hai nối đôi của chất **2** được xác định cấu hình *Z* dựa trên độ dịch chuyển của các carbon kế tiếp C-11 (δ_C 25,6) và C-14 (δ_C 27,2). Qua các phân tích trên, kết hợp với các dữ liệu đã được công bố, cấu trúc hóa học của **2** được xác định là (9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dienoic acid [6]

Hợp chất **3** thu được dưới dạng bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử là $C_{26}H_{40}O_3$, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 399,2902 $[M-H]^-$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{26}H_{39}O_3]^-$, 399,2905). Phổ 1H -NMR của **3** có các tín hiệu đặc trưng của tiểu phân tyrosyl bao gồm δ_H 4,24 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-1'), 2,85 (2H; t; $J = 7,2$ Hz; H-2'), 7,07 (2H; d; $J = 8,4$ Hz; H-4', H-8'), 6,77 (2H; d; $J = 8,4$ Hz; H-5', H-7'), cùng với các tín hiệu đặc trưng cho một acid béo không no chứa hai liên kết đôi tương tự như hợp chất **2**. Phổ ^{13}C -NMR cũng xuất hiện các tín hiệu đặc trưng cho tiểu phân tyrosyl tại δ_C 65,0 (C-1'), 34,3 (C-2'), 127,8 (C-3'), 130,1 (C-4'), 115,4

(C-5'), 154,4 (C-6'), 115,4 (C-7'), 130,1 (C-8') cũng như các tín hiệu của một đơn vị octadeca-9,12-dienoic acid tương tự hợp chất **2**. So sánh số liệu phổ NMR của hợp chất **3** và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định cấu trúc của hợp chất này là tyrosyl linoleat [7].

Hợp chất **4** thu được dưới dạng dầu. Công thức phân tử là $C_{21}H_{38}O_4$, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 355,2830 $[M+H]^+$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{21}H_{38}O_4Na]^+$, 355,2843). Phổ 1H -NMR của **4** có các tín hiệu đặc trưng cho một hợp chất triglycerid este tại δ_H 4,15 (2H; dd; $J = 6,6; 12,0$ Hz; H-1'), 4,20 (1H; dd; $J = 4,8; 12,0$; H-1'), 3,95 (1H; m; H-2'), 3,70 (1H; dd; $J = 4,8; 11,4$ Hz; H-3'), 3,60 (1H; dd; $J = 6,0; 11,4$ Hz; H-3') cùng với các tín hiệu đặc trưng của đơn vị octadeca-9,12-dienoic acid tương tự hợp chất **2**. Phổ ^{13}C -NMR có tín hiệu cộng hưởng của 18 nguyên tử carbon đặc trưng cho dẫn xuất của hợp chất octadeca-9,12-dienoic acid tương tự như hợp chất **2** cùng với 3 tín hiệu carbon có chứa oxy thuộc nhóm rượu glycerol tại δ_C 70,3 (C-1'), 65,2 (C-2'), 63,4 (C-3'). Qua các phân tích trên, so sánh với dữ liệu đã được công bố, cấu trúc hóa học của **4** được xác định là (*S*)-2,3-dihydroxypropyl (9*Z*,12*Z*)-octadeca-9,12-dienoat [8].

Hợp chất **5** thu được dưới dạng bột màu trắng, vô định hình. Công thức phân tử là $C_{27}H_{48}O_{11}S$, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 603,2755 $[M+Na]^+$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{27}H_{48}O_{11}SNa]^+$, 603,2810). Phổ 1H -NMR và ^{13}C -NMR khẳng định sự xuất hiện của 1 nhóm đường và gốc este của 1 acid béo không no (glycoglycerolipid), trong đó, các tín hiệu phổ tương tự với hợp chất **2** cho phép xác định đây là este của octadeca-9,12-dienoic acid. Phổ HMBC của hợp chất **5** cho ra tín hiệu của proton anome tại δ_H 4,80 (H-1'') tương tác với carbon của nhóm glycerol (δ_C 70,6, C-1') chỉ ra vị trí liên kết giữa tiểu phân đường với nhóm glycerol. Phôi tử sulphoquinovos được đính tại vị trí C-6'' được xác định qua độ chuyển dịch hoá học của C-6'' (δ_C 54,3) cũng như tương tác HMBC giữa H-6'' (δ_H 2,94 và 3,37) với C-5'' (δ_C 69,8) và C-4'' (δ_C 74,9). Vị trí este hóa của acid béo tại C-1 được xác định bởi tương tác HMBC giữa H-3' (δ_H 4,12; 4,22) và carbonyl carbon C-1 (δ_C 175,6). Phân tích số liệu phổ của **5** và so sánh với tài liệu tham khảo cho phép xác định cấu trúc của hợp chất này là cibotiglycerol [9].

Hợp chất **6** thu được dưới dạng bột màu trắng. Công thức phân tử là $C_{10}H_{13}N_5O_4$, dựa trên phổ HR-ESI-MS tại m/z 268,1042 $[M+H]^+$ (Tính toán lý thuyết cho công thức $[C_{10}H_{13}N_5O_4]^+$, 268,1046). Trên phổ 1H -NMR của hợp chất **6** cho biết sự có mặt của hai proton thuộc dị vòng thơm tại δ_H 8,13 và 8,34, đặc trưng cho sự có mặt của adenin, một proton anome tại δ_H 5,87 (d, $J = 6,5$ Hz, H-1'), gợi ý sự có mặt của phần đường ribofuranosyl. Phổ ^{13}C -NMR của hợp chất **6** xuất hiện 6 tín hiệu của tiểu phân adenin tại δ_C 152,0 (C-2), 149,1 (C-4), 119,9 (C-5), 156,0 (C-6), 139,9 (C-8) và các tín hiệu của đường ribofuranosyl tại δ_C 87,9 (C-1'), 73,4 (C-2'), 70,6 (C-3'), 85,8 (C-4'), 61,6 (C-5'). Số liệu phổ HR-MS và NMR của **6** hoàn toàn giống với số liệu phổ của adenosin [10] cho phép kết luận **6** chính là adenosin.

4. KẾT LUẬN

Từ sinh khối của vi tảo *Aurantiochytrium* sp. SC145 được thu thập tại đảo Sơn Ca, quần đảo Trường Sa, sáu hợp chất đã được phân lập, bao gồm một hợp chất dipeptid Cyclo-(L-Pro-L-Leu), một acid béo là (9Z,12Z)-Octadeca-9,12-dienoic acid, ba dẫn xuất este của acid béo gồm tyrosyl linoleat, (S)-2,3-dihydroxypropyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoat, cibotiglycerol và một hợp chất alkaloid là adenosin. Kết quả nghiên cứu này góp phần làm sáng tỏ thành phần hoá học của loài vi tảo. Những nghiên cứu sâu hơn cần được tiến hành để đánh giá tác dụng sinh học của các hợp chất và cao chiết từ loài *Aurantiochytrium* sp. SC145.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Scott S. D., Armenta R. E., Berryman K. T., Norman A. W., *Use of raw glycerol to produce oil rich in polyunsaturated fatty acids by a thraustochytrid*, Enzyme and Microbial Technology, 2011, **48**(3):267-272. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2010.11.008
2. Russo G. L., Langellotti A. L., Blasco T., Oliviero M., Sacchi R., Masi P., *Production of omega-3 oil by Aurantiochytrium mangrovei using spent osmotic solution from candied fruit industry as sole organic carbon source*, 2021, **9**(10):1834. DOI: 10.3390/pr9101834
3. Hien H. T. M., Thom L. T., Ha N. C., Tam L. T., Thu N. T. H., Nguyen T. V., Loan V. T., Dan N. T., Hong D. D., *Characterization and optimization of culture conditions for Aurantiochytrium sp. SC145 Isolated from Sand Cay (Sơn Ca) Island, Vietnam, and antioxidant and neuroprotective activities of its polyunsaturated fatty acid mixture*, 2022, **20**(12):780. DOI: 10.3390/md20120780
4. Chen J., Jiao R., Jiang Y., Bi Y., Chen Z.-Y., *Algal sterols are as effective as β -sitosterol in reducing plasma cholesterol concentration*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, **62**(3):675-681. DOI: 10.1021/jf404955n
5. Pedras M. S. C., Yu Y., Liu J., Tandron-Moya Y. A., *Metabolites produced by the phytopathogenic fungus Rhizoctonia solani: Isolation, chemical structure determination, syntheses and bioactivity*, 2005, **60**(9-10):717-722. DOI: 10.1515/znc-2005-9-1010
6. Iheanacho E. K., Igwe O. U., Onyemachi P. E. N., *Isolation and characterization of linoleic acid from the leaves of Cnidoscolus aconitifolius (Miller) I. M. Johnston*, Journal of Chemical Society of Nigeria, 2023, **48**(2):245-256. DOI: 10.46602/jcsn.v48i2.870
7. Mateos R., Trujillo M., Pereira-Caro G., Madrona A., Cert A., Espartero J. L., *New lipophilic tyrosyl esters. Comparative antioxidant evaluation with hydroxytyrosyl esters*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, **56**(22):10960-10966. DOI: 10.1021/jf8020267

8. Kim C., Ha H., Kim J. S., Kim Y. T., Kwon S.-C., Park S. W., *Induction of growth hormone by the roots of Astragalus membranaceus in pituitary cell culture*, Archives of Pharmacal Research, 2003, **26**(1):34-39. DOI: 10.1007/BF03179928
9. Cuong N. X., Minh C. V., Kiem P. V., Huong H. T., Ban N. K., Nhiem N. X., Tung N. H., Jung J.-W., Kim H.-J., Kim S.-Y., Kim J. A., Kim Y. H., *Inhibitors of osteoclast formation from rhizomes of Cibotium barometz*, Journal of Natural Products, 2009, **72**(9):1673-1677. DOI: 10.1021/np9004097
10. Ciuffreda P., Casati S., Manzocchi A., *Complete ¹H and ¹³C NMR spectral assignment of α - and β -adenosine, 2'-deoxyadenosine and their acetate derivatives*, Magnetic Resonance in Chemistry, 2007, **45**(9):781-784. DOI: 10.1002/mrc.2036

SUMMARY

ISOLATED COMPOUNDS FROM MARINE MICROALGAE *AURANTIOCHYTRIUM* SP. SC145

Phytochemical investigation of the marine microalgae *Aurantiochytrium* sp. SC145 led to the isolation of six known compounds including cyclo-(L-Pro-L-Leu) (**1**), tyrosyl linoleate (**2**), (9Z,12Z)-Octadeca-9,12-dienoic acid (**3**), (S)-2,3-dihydroxypropyl (9Z,12Z)-octadeca-9,12-dienoate (**4**), cibotiglycerol (**5**), adenosine (**6**). Structures of the isolated compounds were elucidated by HRMS and NMR data.

Keywords: *Aurantiochytrium*, cyclo-(L-Pro-L-Leu), tyrosyl linoleate, octadeca-9,12-dienoic acid, cibotiglycerol, adenosine.

⁽¹⁾ Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

⁽²⁾ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

⁽³⁾ Viện Hoá sinh biển, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

⁽⁴⁾ Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ cao, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

⁽⁵⁾ Đại học Thái Nguyên

Nhận bài ngày 02 tháng 7 năm 2024

Phản biện xong ngày 09 tháng 9 năm 2024

Hoàn thiện ngày 15 tháng 9 năm 2024

Liên hệ: Nguyễn Thị Thu Thủy

Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

Điện thoại: 0987556168; Email: ntthuy.vietnga@gmail.com