

SƠ BỘ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA MỘT SỐ LOÀI RONG VÀ CỎ BIỂN Ở VIỆT NAM

Trần Thị Hồng Hà^{1*}, Lê Mai Hương¹, Trần Thị Như Hằng¹, Nguyễn Đình Luyện¹, Hoàng Kim Chi¹, Lê Hữu Cường¹, Vũ Đình Giáp¹, Đỗ Thị Nhuận¹, Đỗ Hữu Nghị¹, Đặng Thị Phương Ly¹, Andrey Imbs B.², Phạm Quốc Long¹

¹: Viện Hoá học các Hợp chất thiên nhiên, Viện HL Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²: Institute of Marine Biology, FEB.

Abstract

Seaweed and seagrass are considered an underexploited plant resource despite being used in diets and traditional medicine for centuries. Their beneficial properties for human, animals and plants were recognised in the past and are appreciated nowadays. They are of considerable importance as new promising source of a huge number of biologically active compounds. Vietnam is a tropical country and a total number of 350 seaweed species is recorded on the coasts of Vietnam and its numerous islands, showing a rich source of bioactive compounds. In this study, 57 CHCl₃/MeOH extracts of seaweed and seagrass samples were tested for bioactivity including antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities. The result showed that 13 extracts (24.07%) had cytotoxicity on 1 cancer cell line and 4 extracts (7.4%) had cytotoxicity on 2 cancer cell lines. For antimicrobial activity, 18 extracts (37.5%) inhibited 1-2 test microbes and 16 extracts (33.33%) inhibited at least 3 test microbes. Of 57 extracts, only 1 extract (1.85%) showed antioxidant activity using DPPH system.

Keywords: seaweed, seagrass, antimicrobial, antioxidant, cytotoxic activities.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ:

Đại dương chiếm tới 70% diện tích bề mặt trái đất là nơi sinh sống của 34 trong 36 ngành sinh vật trên trái đất trong đó có khoảng 20 ngành hoàn toàn không có trên cạn. Trong môi trường biển, các sinh vật cạnh tranh khốc liệt nơi trú ngụ, thức ăn, kẻ thù do đó chúng đã thường sản sinh ra các chất hoá học có độc tính với những loài khác hoặc chứa sinh vật cộng sinh có khả năng tổng hợp chất ức chế, xua đuổi sinh vật khác. Các chất hóa học từ sinh vật biển và hoạt tính sinh học của chúng rất đa dạng, vì vậy con người đã và đang tìm cách khai thác, sử dụng hiệu quả nhằm phục vụ cho sức khỏe con người.

Tiềm năng nguồn rong biển (tảo lóu) Việt Nam rất lớn với khoảng 350 loài, 100 loài có tiềm năng và 60 loài hiện đang được sử dụng cho thực phẩm, công nghiệp, nông nghiệp và nguyên liệu thuốc (Titlyanov, 2012). Rong biển có chứa nhiều thành phần gồm các chất màu chlorophyl, carotenoid, biliprotein; các polysaccharit như axit alginic, agar, carrageenan, fucoidan, các glucan và đường manitol; các nguyên tố đa vi lượng, protein, vitamin và các polyphenol, các axit béo dạng omega-3 ... (Pal và cs, 2014). Các hoạt tính có ứng dụng trong ngành y dược cũng thường được tìm thấy ở rong

biển như loài rong đỏ sản xuất các polymer là alginat, carrageenan, và rong nâu sản xuất beta-glucan, fucoidan có ứng dụng trong công nghiệp y dược. Pal và cs (2014) chỉ ra rằng, rong biển có các hoạt tính như kháng vi rút bởi chất carrageenan, fucoidan, kháng vi sinh vật bởi hợp chất có gốc phenol, aldehyde, hydroquinone, ketone..., chống viêm bởi các axit béo không bão hòa như eicosapentaenoic hoặc docosahexanoic (còn được gọi là PUFAS), chống đông máu bởi chất fucoidan từ rong *Fucus vesiculosus*, chống mỡ máu và cholesterol, ức chế hoặc hoạt hóa enzyme liên quan bệnh tật như ức chế phospholipase A2 bởi chất sesquiterpene, ức chế cholinesterase bởi plastoquinones ... Một số chất trao đổi thứ cấp từ rong nâu *Sargassum siliquastrum*, *Hizikia fusiformis* và *Undaria pinnatifida* là fucoxanthin có hoạt tính chống oxy hóa, kháng vi sinh vật và chống ung thư (Orazio và cs, 2012).

Ở Việt Nam, hiện nay khoảng 60 loài rong được nuôi trồng và khai thác trong đó hơn 30 loài dùng làm thực phẩm, 20 loài dùng làm nguyên liệu dược hoặc trong y học dân gian. Các chi *Sargassum* (rong nâu), *Fucus* (rong nâu), *Gracilaria* (rong đỏ), *Kappaphycus* (rong đỏ), *Porphyra* (rong đỏ) hiện

ngày được trồng và khai thác chủ yếu ở Việt Nam, với sản lượng hàng trăm nghìn tấn khô mỗi năm.

Ngoài rong biển, cỏ biển (seagrass) cũng chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học và có tiềm năng trong ngành y dược (Papenbrock, 2012). Cỏ biển chứa một số nhóm chất như aquaporines, phenols, polyphenols, sulfated polysaccharide, dimethylsulfoniopropionate (DMSP) (Papenbrock, 2012). Các hoạt tính như kháng vi sinh vật, chống viêm, chống tiểu đường, chống ung thư ... cũng được phát hiện ở cỏ biển. Cỏ biển *Zostera japonica* chứa các axit béo có hoạt tính chống viêm (Hua và cs, 2006). Cỏ biển *Halodule pinifolia* và *Cymodocea rotundata* có hoạt tính ức chế các vi khuẩn gây bệnh cho người (Kannan và cs, 2013). Loài cỏ biển *Enhalus acoroides* có cả hoạt tính kháng khuẩn và gây độc dòng tế bào ung thư ở người (Ismail và cs, 2012). Loài *Zostera asiatica* tổng hợp chất zosterin

có hoạt tính loại bỏ kim loại nặng trong cơ thể (Papenbrock, 2012). Chất L-chiro-inositol, chiếm tỉ lệ cao (tới 2,5% trọng lượng khô) từ cỏ *Syringodium fotsam*, có hoạt tính chống tiểu đường và được cho là nguồn nguyên liệu tiềm năng trong y dược.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Mẫu rong và cỏ biển nghiên cứu được thu thập tại các vùng biển Hải Phòng, Nam Định, Huế, Thái Bình, Nam Định - Việt Nam (2013-2015). Các mẫu được xác định tên loài bởi PGS. TS. Đỗ Công Thung và cs. - Viện Tài Nguyên môi trường biển Hải Phòng, và được lưu giữ tiêu bản và bảo quản theo các điều kiện tiêu chuẩn (bảng 1).

Bảng 1: Danh sách các loài rong và cỏ biển

| TT | Kí hiệu mẫu | Tên khoa học | Địa điểm và thời gian thu mẫu |
|----|-------------|---|--|
| 1 | LP4 | <i>Ruppia maritima</i> | |
| 2 | LP5 | <i>Halodule pinifolia</i> (Miki) Den Hartog | Cố Tô, Quảng Ninh 04.2014 |
| 3 | LP6 | <i>Halophila ovalis</i> (R. Br.) Hooker | Cố Tô, Quảng Ninh 04.2014 |
| 4 | LP7 | <i>Gracilaria bairdii</i> Chang et Xia | Tiền Hải, Thái Bình 05.2014 |
| 5 | LP9 | <i>Gracilaria salicornia</i> (C. Ag.) Daws. | Tiền Hải, Thái Bình 05.2014 |
| 6 | LP10 | <i>Gracilaria gigas</i> Harv | Tiền Hải, Thái Bình 05.2014 |
| 7 | LP11 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Tiền Hải, Thái Bình 05.2014 |
| 8 | LP12 | <i>Hydroglossis euchaeumoides</i> Gyrgel et Fred. | Cồn Thoi, Ninh Bình 06.2014 |
| 9 | LP15 | <i>Halodule pinifolia</i> (Miki) Den Hartog | Tiền Yên, Quảng Ninh 04.2015 |
| 10 | LP16 | <i>Gracilaria salicornia</i> (C.Ag) Daws | Cát Bà, Hải Phòng 03.2015 |
| 11 | LP17 | <i>Polycavernosa fastigiata</i> Zhang et Xia | Hạ Long, Quảng Ninh 07.2014 |
| 12 | LP18 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Xuân Thủy, Nam Định (Đám nuôi) 03.2015 |
| 13 | LP19 | <i>Acanthophora muscoides</i> (L.) Bory | Cát Bà, Hải Phòng 03.2015 |
| 14 | LP20 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Trà Cổ, Quảng Ninh 04.2015 |
| 15 | LP21 | <i>Pterocladia pinnata</i> (Huds.) Papenf | Tiền Yên, Quảng Ninh 04.2015 |
| 16 | LP22 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Hạ Long, Quảng Ninh 04.2015 |
| 17 | LP23 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> | Quảng Yên, Quảng Ninh 03.2015 |
| 18 | LP24 | <i>Enteromorpha-Ciathrata</i> | Kim Sơn, Ninh Bình 03.2015 |
| 19 | LP25 | <i>Chaetomorpha linum</i> (Muell.) Kuetzing | Cát Bà, Hải Phòng 03.2015 |
| 20 | LP26 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Tiền Hải, Thái Bình 04.2015 |
| 21 | LP27 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Đình Vũ, Hải Phòng 01.2015 |
| 22 | LP28 | <i>Enteromorpha linum</i> (Muell.) Kuetzing | Ninh Bình 03.2015 |
| 23 | LP29 | <i>Halophila ovalis</i> | Tiền Yên, Quảng Ninh (Đám nuôi) 04.2015 |
| 24 | LP30 | <i>Caulerpa verticillata</i> J.Ag. | Tiền Yên, Quảng Ninh (Ven rừng ngập mặn) 04.2015 |
| 25 | LP31 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Cát Hải, Hải Phòng 02.2015 |
| 26 | LP32 | <i>Gracilaria blodgettii</i> Korr | Quảng Yên, Q Ninh 04.2015 |
| 27 | LP33 | <i>Enteromorpha clathrata</i> (Roth.) Grev. | Cát Bà, Hải Phòng 03.2015 |
| 28 | LP34 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Đỗ Sơn, Hải Phòng 01.2015 |
| 29 | LP35 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Tiền Yên, Quảng Ninh 04.2015 |
| 30 | LP36 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Cầu Hai, Huế 05.2014 |

| | | | |
|----|-------|---|---|
| 31 | LP37 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Cát Hải, Hải Phòng 03.2015 |
| 32 | LP38 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Trảng Cát, Hải Phòng 01.2015 |
| 33 | LP39 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Cồn Thoi, Ninh Bình 04.2013 |
| 34 | LP40 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Thịnh Hưng, Nam Định 04.2013 |
| 35 | LP41 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Thịnh Hưng, Nam Định 04.2013 |
| 36 | LP42 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Giao Xuân, Nam Định 04.2013 |
| 37 | LP43 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Giao Xuân, Nam Định 04.2013 |
| 38 | LP44 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | VQG Xuân Thủy (ngoài biển) 04.2013 |
| 39 | LP45 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Thủy Hải, Thái Bình 04.2013 |
| 40 | LP46 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Tiền Hải (ngoài biển), Thái Bình 04.2013 |
| 41 | LP47 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Tiền Hải (ngoài biển), Thái Bình 04.2013 |
| 42 | LP48 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Tiền Lãng, Hải Phòng 04.2013 |
| 43 | LP 49 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Đỗ Sơn, Hải Phòng 04.2013 |
| 44 | LP 50 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Thủy Hải, Thái Thủy (đầm nuôi), Hải Phòng 04.2013 |
| 45 | LP51 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Đỗ Sơn, Hải Phòng 04.2013 |
| 46 | LP52 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Cống Trảng, Hải Phòng 04.2013 |
| 47 | LP 53 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Cát Hải, Hải Phòng (ngoài đê) 04.2013 |
| 48 | LP 54 | <i>Gracilaria tenuistipitata</i> Zhang et Xia | Đồng Bãi, Cát Hải (đầm muối) 04.2013 |
| 49 | LP55 | <i>Gracilaria gigas</i> Harv. | Thủy Hải, Thái Bình 04.2013 |
| 50 | LP56 | <i>Gracilaria gigas</i> Harv. | Thủy Trường, Thái Thủy 04.2013 |
| 51 | LP57 | <i>Gracilaria gigas</i> Harv. | Bằng La, Đỗ Sơn 04.2013 |
| 52 | LP58 | <i>Gracilaria gigas</i> Harv. | Thủy Hải, Thái Thủy 04.2013 |
| 53 | LP59 | <i>Gracilaria gigas</i> Harv. | Phù Long, Cát Hải (đầm nuôi) 26.4.2013 |
| 54 | LP60 | <i>Gracilaria busu-pastoris</i> (Gmel.) Silva | Giao Xuân, Nam Định (đầm muối) 04.2013 |
| 55 | LP61 | <i>Gracilaria gigas</i> Harv. | Yên Hưng, Quảng Ninh 03.2012 |
| 56 | LP62 | <i>Gracilaria busu-pastoris</i> (Gmel.) Silva | Cát Hải, Hải Phòng 07.2014 |
| 57 | LP63 | <i>Gracilaria gigas</i> Harv. | Cát Hải, Hải Phòng 07.2014 |

2.1.1. Chủng giống

Chủng vi sinh vật kiểm định (YSYKE):

Các chủng vi sinh vật kiểm định được cung cấp từ Phòng Sinh học Thực nghiệm - Viện Hoá học các Hợp chất Thiên nhiên, gồm:

Vi khuẩn Gr(+): *Bacillus subtilis* ATCC 27212;

Staphylococcus aureus ATCC 12222;

Vi khuẩn Gr(-): *Escherichia coli* ATCC 25922;

Pseudomonas aeruginosa ATCC 25923;

Nấm men: *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 7754; *Candida albicans* SH 20;

Nấm mốc: *Aspergillus niger* 439; *Fusarium oxysporum* M42.

Các dòng tế bào ung thư người:

Được cung cấp từ phòng Sinh học Thực nghiệm - Viện Hoá học các Hợp chất thiên nhiên, gồm: Dòng Hep-G2 (Hepatocellular carcinoma - ung thư gan) và LU-1(Human lung adenocarcinoma - ung thư phổi).

2.2. Phương pháp

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

Hoạt tính kháng vi sinh vật của các mẫu chiết được tiến hành trên các đĩa vi sinh và lượng 96 giếng (96-well microtiter plate) theo phương pháp pha loãng liên tục của Vanden Bergher và Vlietlinck (1991) và hiện đang được áp dụng tại trường Đại học Dược, Đại học Tổng hợp Illinois, Chicago, Mỹ.

2.2.2. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào

Nuôi tế bào ung thư *in vitro* theo Skehan và cs (1991). Xác định hoạt tính gây độc các dòng tế bào ung thư theo phương pháp SRB của Likhivitiyawuid và cs (1993) đang được tiến hành tại Viện Nghiên cứu Ung thư Quốc gia của Mỹ (NCI). Phương pháp này đã được phòng Sinh học Thực nghiệm thuộc Viện Hoá học các Hợp chất Thiên nhiên áp dụng từ năm 1996.

2.2.3. Phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hoá

Nguyên lý của phương pháp (theo Shea và cs, 2003) như sau: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) có khả năng tạo ra các gốc tự do bên trong dung dịch

anol bão hoà. Khi cho các mẫu thử nghiệm vào ống hợp này, nếu mẫu thử nghiệm có khả năng làm rung hoà hoặc bao vây các gốc tự do thì nó sẽ làm giảm độ hấp thụ ánh sáng của các gốc tự do đó. Hoạt tính chống oxy hoá được đánh giá thông qua giá trị hấp thụ ánh sáng của dịch thí nghiệm so với đối chứng khi đọc trên máy đo quang ở bước sóng 515 nm.

2.2.4. Phương pháp chiết mẫu

Các mẫu được nghiền nhỏ đến cỡ 1-3 mm, sau đó chiết lipid tổng theo phương pháp Folch (1957). Lipid được chiết bằng hệ dung môi $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (2/1, theo thể tích) (30 ml dung môi được sử dụng để chiết 10 g mẫu) (6h, 4°C) (2x30 ml). Toàn bộ dịch chiết được phân lớp bằng cách bổ sung 35 ml H_2O

và 30 ml CHCl_3 . Lớp lipid (lớp dưới) được làm khan bằng Na_2SO_4 , lọc bỏ muối, cất loại dung môi thu được dịch thô lipid tổng. Toàn bộ phần lipid tổng được hòa tan trong CHCl_3 và được bảo quản ở nhiệt độ -18°C

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào

Chúng tôi đã tiến hành khảo sát đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của 57 cận chiết các mẫu rong và cỏ biển trên 2 dòng tế bào ung thư ở người là ung thư gan và ung thư phổi. Kết quả cho thấy có 17 mẫu có hoạt tính gây độc với ít nhất 1 dòng tế bào (bảng 2).

Bảng 2: Hoạt tính gây độc tế bào các dịch chiết thô của mẫu rong và cỏ biển

| T T | KH mẫu | Nồng độ đầu ($\mu\text{g/ml}$) | Cell survival (CS, %) | | IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) | | Kết luận |
|--------|-----------|--|-----------------------|-----------|---------------------------------------|-------|----------------------|
| | | | Hep-G2 | LU | Hep-G2 | LU-1 | |
| | DMSO | | 100,0±0,0 | 100,0±0,0 | | | |
| | Chung (±) | 5 | 2,5±0,5 | 3,5±0,5 | | | Dương tính |
| 1 | LP5 | 40 | 16,09±2,1 | 67,41±2,1 | 30,03 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 2 | LP6 | 40 | 18,47±2,7 | 67,97±1,8 | 30,52 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 3 | LP7 | 40 | 20,21±2,0 | 74,27±2,7 | 33,98 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 4 | LP9 | 40 | 39,85±2,1 | 87,13±0,4 | 31,42 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 5 | LP10 | 40 | 16,91±1,3 | 77,20±1,3 | 31,15 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 6 | LP11 | 40 | 47,35±1,2 | 83,03±2,0 | 39,21 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 7 | LP19 | 40 | 42,35±2,7 | 72,31±1,7 | 36,15 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 8 | LP21 | 40 | 0 | 27,59±2,0 | 28,91 | 25,79 | Dương tính 2 dòng TB |
| 9 | LP23 | 40 | 46,37±0,5 | 82,55±1,5 | 38,76 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 10 | LP29 | 40 | 0 | 43,21±1,5 | 29,12 | 33,16 | Dương tính 2 dòng TB |
| 11 | LP33 | 40 | 0 | 43,37±2,1 | 19,19 | 37,95 | Dương tính 2 dòng TB |
| 12 | LP37 | 40 | 24,73±2,7 | 78,07±2,4 | 30,53 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 13 | LP38 | 40 | 2,09±0,9 | 54,48±2,2 | 38,15 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 14 | LP41 | 40 | 46,14±0,9 | 96,62±1,2 | 38,53 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 15 | LP42 | 40 | 45,05±2,6 | 91,13±1,7 | 37,21 | - | Dương tính 1 dòng TB |
| 16 | LP45 | 40 | 0 | 0 | 4,36 | 6,04 | Dương tính 2 dòng TB |
| 17 | LP54 | 40 | 32,94±1,5 | 82,83±0,8 | 31,58 | - | Dương tính 1 dòng TB |

Kết quả cho thấy có 13 mẫu có hoạt tính gây độc ít nhất 1 dòng tế bào và 4 mẫu (các mẫu có ký hiệu LP21, LP29, LP33, và LP45) có hoạt tính gây độc ít nhất 2 dòng tế bào. Đặc biệt, mẫu có ký hiệu LP45, dịch chiết từ loài rong biển *Gracilaria mistipitata* thu tại Thái Thụy (Thái Bình), biểu hiện hoạt tính gây độc mạnh trên cả hai dòng tế bào ung thư thử nghiệm với giá trị IC₅₀ dưới 10 $\mu\text{g/ml}$.

3.2. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật (KVSVKĐ)

Chúng tôi đã xác định hoạt tính kháng VSVKĐ của 57 cận chiết thô của các mẫu rong và cỏ biển. Tổng số có 36 mẫu có hoạt tính với ít nhất 1 chủng VSVKĐ. Kết quả được trình bày tại bảng 3.

Bảng 3: Hoạt tính kháng VSVKĐ các cận chiết của mẫu rong và cỏ biển

| STT | KH mẫu | Nồng độ đầu (µg/ml) | Nồng độ ức chế tối thiểu đối với các VSVKĐ, MIC (µg/ml) | | | | | | | |
|-----|--------|---------------------|---|----------------------|--------------------|------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------------------|
| | | | Vi khuẩn Gr (-) | | Vi khuẩn Gr (+) | | Nấm mốc | | Nấm men | |
| | | | <i>E. coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>A. niger</i> | <i>F. oxysporum</i> | <i>C. albicans</i> | <i>S. cerevisiae</i> |
| 1 | LP5 | 400 | 400 | (-) | (-) | (-) | 200 | (-) | (-) | (-) |
| 2 | LP10 | 400 | (-) | (-) | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 3 | LP15 | 400 | 400 | (-) | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 4 | LP17 | 400 | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 5 | LP18 | 400 | 200 | (-) | 200 | 200 | 400 | (-) | (-) | (-) |
| 6 | LP19 | 400 | 400 | (-) | 200 | 200 | 200 | (-) | (-) | (-) |
| 7 | LP20 | 400 | 400 | (-) | 200 | 200 | 400 | 400 | (-) | (-) |
| 8 | LP21 | 400 | (-) | (-) | 200 | (-) | 200 | (-) | (-) | (-) |
| 9 | LP22 | 400 | 400 | (-) | 400 | 400 | 400 | 200 | (-) | (-) |
| 10 | LP25 | 400 | 400 | (-) | 200 | 400 | 200 | 400 | (-) | (-) |
| 11 | LP26 | 400 | 400 | (-) | 400 | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 12 | LP27 | 400 | 200 | (-) | 200 | 200 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 13 | LP28 | 400 | 200 | (-) | 200 | 400 | 400 | (-) | (-) | (-) |
| 14 | LP29 | 400 | 200 | (-) | 200 | 200 | 400 | 200 | (-) | (-) |
| 15 | LP31 | 400 | (-) | (-) | 400 | (-) | 400 | (-) | (-) | (-) |
| 16 | LP33 | 400 | 400 | (-) | 200 | 200 | 400 | (-) | (-) | (-) |
| 17 | LP34 | 400 | (-) | (-) | 400 | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 18 | LP37 | 400 | 200 | (-) | 400 | 400 | 400 | (-) | (-) | (-) |
| 19 | LP38 | 400 | (-) | (-) | 400 | (-) | 400 | (-) | (-) | (-) |
| 20 | LP39 | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) | 400 | (-) | (-) | (-) |
| 21 | LP42 | 400 | (-) | (-) | 200 | (-) | 200 | (-) | (-) | (-) |
| 22 | LP43 | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) | 200 | (-) | (-) | (-) |
| 23 | LP44 | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) | 400 | (-) | (-) | (-) |
| 24 | LP45 | 400 | 200 | (-) | 200 | (-) | 100 | 200 | (-) | (-) |
| 25 | LP46 | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) | 200 | (-) | (-) | (-) |
| 26 | LP47 | 400 | (-) | (-) | 400 | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 27 | LP49 | 400 | (-) | (-) | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 28 | LP51 | 400 | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) | 400 | (-) | (-) |
| 29 | LP52 | 400 | (-) | (-) | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 30 | LP54 | 400 | (-) | (-) | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 31 | LP57 | 400 | 200 | (-) | 200 | 200 | 200 | 200 | (-) | (-) |
| 32 | LP58 | 400 | 200 | (-) | 200 | 200 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 33 | LP59 | 400 | 400 | (-) | 400 | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 34 | LP60 | 400 | (-) | (-) | 400 | 400 | 400 | (-) | (-) | (-) |
| 35 | LP61 | 400 | 100 | (-) | 100 | 200 | (-) | (-) | (-) | (-) |
| 36 | LP62 | 400 | 400 | (-) | 400 | 400 | (-) | (-) | (-) | (-) |

Kết quả từ bảng 3 cho thấy có 18 cận chiết kháng 1-2 chủng VSVKĐ và 18 cận chiết có hoạt tính kháng từ 3 VSVKĐ trở lên. Số lượng mẫu biểu hiện hoạt tính kháng từ 4-5 VSVKĐ là 9 chủng, tương đương 15,8% số mẫu thử nghiệm hoạt tính, đây là một tỷ lệ tương đối cao, cho thấy nhóm rong và cỏ biển là một nguồn sinh vật biển có hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm rất tốt. Đa số mẫu biểu hiện khả năng kháng 5 VSVKĐ là các mẫu được chiết từ chi *Gracilaria* (rong đỏ), gợi ý rằng chi rong biển trên bao gồm rất nhiều loài có hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm cao.

3.3. Hoạt tính chống oxy hóa của các dịch chiết

57 cận chiết thô của các rong và cỏ biển được thử hoạt tính chống oxy hóa trên hệ DPPH. Kết quả cho thấy hầu hết tất cả các mẫu thử đều không biểu hiện hoạt tính chống oxy hóa trên hệ DPPH, chỉ có 1 mẫu chiết từ *Halophila ovalis* (đám nuôi) biểu hiện hoạt tính chống oxy hóa, với giá trị SC_{50} là 376,9 µg/ml (bảng 4)

Bảng 4: Hoạt tính chống oxy hóa cận chiết của mẫu rong và cỏ biển

| Kí hiệu mẫu | Nồng độ mẫu (µg/ml) | Scavenging capacity (SC, %) | SC ₅₀ (µg/ml) | Kết quả |
|-------------|---------------------|-----------------------------|--------------------------|------------|
| Chứng (+) | 44 | 80,87 ± 0,13 | 20,7 | Dương tính |
| Chứng (-) | | 0,0 ± 0,0 | | Âm tính |
| LP29 | 400 | 54,98 ± 1,8 | 376,9 | Dương Tính |

Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào, kháng vi sinh vật và chống oxy hóa của các dịch chiết cho thấy, mặc dù được chiết từ các mẫu vật thuộc loài phân loại giống nhau nhưng hoạt tính sinh học của các mẫu dịch chiết lại không hoàn toàn đồng nhất. Nguyên nhân có thể do thời gian và điều kiện ngoại cảnh như nhiệt độ, độ ẩm làm ảnh hưởng đến bảo quản mẫu sau khi thu và sau khi chiết. Ngoài ra còn phải kể đến một số sai số trong quá trình chiết mẫu và thử hoạt tính. Như vậy có thể thấy, đối với các mẫu sinh vật biển, đặc biệt là mẫu rong và cỏ biển thì quá trình bảo quản mẫu phải được thực hiện một cách tuyệt đối nghiêm ngặt, nhằm hạn chế tối đa sai số trong kết quả nghiên cứu.

Kết quả nêu trong Bảng 2, 3 và 4 cho thấy, mẫu thử ký hiệu LP29 được chiết từ loài cỏ biển *Halophila ovalis* thu tại Tiên Yên, Quảng Ninh biểu hiện cả 3 hoạt tính (gây độc tế bào ung thư *in vitro*, kháng 5 VSVKĐ và chống oxy hóa trên hệ DPPH). Điều này cho thấy đây là một loài tiềm năng để khai thác các hoạt tính sinh học và được học, vì vậy cần tiến hành thêm nhiều nghiên cứu hơn về đối tượng này để định hướng khai thác, sử dụng hợp lý.

4. KẾT LUẬN

Đã tiến hành chiết tách bằng hệ dung môi CHCl₃/MeOH các mẫu rong và cỏ biển thu được 57 cận chiết. Hoạt tính kháng VSVKĐ, gây độc tế bào và chống oxy hóa của 57 cận chiết này đã được thử nghiệm. Kết quả cho thấy:

- 13 mẫu (chiếm 24,07%) có hoạt tính gây độc với 1 dòng tế bào, và 4 cận chiết (chiếm 7,4%) có hoạt tính với 2 dòng tế bào.
- 18 cận chiết (chiếm 37,5%) có hoạt tính kháng từ 1-2 chủng VSVKĐ và 16 cận chiết (chiếm 33,33%) cận chiết có hoạt tính kháng từ 3 VSVKĐ trở lên.
- 1 cận chiết (chiếm 1,85%) biểu hiện hoạt tính chống oxy hoá trên hệ DPPH.

Lời cảm ơn: Công trình được tiến hành dưới sự tài trợ của đề tài VAST.ĐAB.05/13-15, thuộc Đề án Khoa học công nghệ trọng điểm cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam "Nghiên cứu tiềm năng về dược liệu biển vùng Đông Bắc Việt Nam" và quỹ Grant 15-04-02686 from the Russian Foundation for Basis Research (RFBR)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Buchholz C.M., Gesche Krause, and Buck B.H. *Seaweed and Man. In Seaweed Biology*. Springer Verlag Berlin Heidelberg, pp: 471-493 (2012).
2. Folch J. F., Lees M., Sloane Stanley G. H. *A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue*. J Biol Chem 226: 497-509 (1957).
3. Hua K.F., Hsu H.Y., Su Y.C, et al. *Study on the antiinflammatory activity of methanol extract from seagrass Zostera japonica*. J. Agric. Food. Chem. 54:306-311 (2006).
4. Ismail M.S.A.F.M., Ismail M.F., Bohari N., et al. *Antimicrobial and anticancer properties of leaf extract of seagrass enhalus acoroides*. International Journal of Undergraduate Studies 1(1): 32-36 (2012).
5. Kannan R.R.R., Arumugam R., et al. *In vitro antibacteria, cytotoxicity and haemolytic activities and phytochemical analysis of seagrasses from the Gulf of Mannar, South India*. Food Chemistry 136:1484-1489 (2013).
6. Likhitayavuid K., Angerhofer C.K., Cordell G.A., Pezzuto J.M., Ruangrunsi N. *Cytotoxic and antimalarial bisbenzylisoquinoline alkaloids from *Sephania erecta**. Journal of Natural Products 56(1): 30-38 (1993).
7. Orazio N.D., Gemello E., Gammone M.A., et al. *Fucozanfin: a treasure from the sea*. Marine Drugs 10(3): 604-616 (2012).
8. Pal A., Karthania M.C., and Kumar A. *Bioactive compounds and properties of seaweeds - A review*. Open Access Library Journal 1: e752 (2014).
9. Papebrock J. *Highlights in seagrass phylogeny, physiology, and metabolism: What makes them*

special? International Scholarly Research Network.
Article ID 103892, 15 pages (2012).

10. Shela G., Olga M. B., Elen K., Lojek A., Ciz M., Grigelmo-Miguel N., Park Y-S., Jung S-T., Haruonkit R., and Trakhtenberg S. *Comparison of the contents of the main biochemical compounds and the antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests.* *Journal of Nutritional Biochemistry* 14: 154–159 (2003).
11. Skehan P., Storeng R., Scudiero D., Monks A., McMahon J., Vistica D., Warren J.T., Bokesch H., Kenney S., Boyd M.R. *New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer agents.* *European Journal of Cancer* 27:1162–1168 (1991).
12. Titlyanov E.A., Titlyanova T.V., and Pham V.H. *Stocks and the use of economic marine macrophytes of Vietnam.* *Russian Journal of Marine Biology* 38(4): 285–298 (2012).
13. Vanden B.D.A., Vlietinck A.J. (1991). *Methods in Plant Biochemistry* 6, Academic Press, New York, pp. 47–68.

Liên hệ: **Trần Thị Hồng Hà**
Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên
18 - Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội
Email: tranhongha1974@gmail.com
Điện thoại : +84-1689518889