

THÀNH PHẦN VÀ HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN CỦA CAO ETYL AXETAT CHIẾT TỪ 3 LOÀI RONG ĐỎ THUỘC CHI *LAURENCIA*

Lê Hồ Khánh Hỷ*, Nguyễn Kim Hạnh, Phạm Xuân Kỳ,
Đào Việt Hà, Nguyễn Thu Hồng, Nguyễn Phương Anh

Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
E-mail: lehokhanhhy@gmail.com

Ngày nhận bài: 12-12-2016 / Ngày chấp nhận đăng: 3-3-2017

TÓM TẮT: Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu về thành phần và hoạt tính kháng khuẩn của cao etyl axetat chiết từ 3 loài rong đỏ thuộc chi *Laurencia*: *Laurencia papillosa* Graville, *Laurencia flexilis* và *Laurencia cartilaginea* thu ở các vùng biển phía nam Việt Nam. Kết quả cho thấy cao etyl axetat của 3 loài rong này đều có hoạt tính kháng vi khuẩn *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* và *Bacillus subtilis*. Nghiên cứu định tính xác định có sự hiện diện của hai hợp chất chuyển hóa thứ cấp quan trọng sesquiterpen là Elatol và Palisadin A trong cao chiết của cả 3 loài rong trên.

Từ khóa: *Laurencia*, hoạt tính kháng khuẩn, Elatol, Palisadin A.

GIỚI THIỆU

Rong biển từ lâu đã được dùng làm nguyên liệu cho rất nhiều ngành công nghiệp để chế biến ra các sản phẩm có giá trị sử dụng cao như agar, alginate, carrageenan, fucoidan,... Rong biển chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao. Nhiều hoạt chất từ rong biển có khả năng ứng dụng trong y dược, điển hình như curacin A (chiết từ một loài rong tại bờ biển Curacao phía nam biển Caribe) thể hiện hoạt tính chống ung thư vú cao hơn cả taxol [1]; fucoidan, một loại sunphat polysaccarit, chiết từ rong nâu có khả năng ngăn ngừa di căn của ung thư, điều trị và hỗ trợ điều trị một số bệnh nan y như ung thư, viêm loét dạ dày, rối loạn đường tiêu hoá [2, 3]; phloroglucinol có tác dụng tiêu diệt các gốc tự do làm giảm cơ chế hình thành khối u [4]; các axit béo không no nhiều nối đôi (PUFA-Polyunsaturated fatty acids) như axit arachidonic (AA), axit eicosapentaenoic (EPA), axit docosahexaenoic (DHA) có tác dụng ức chế cạnh tranh làm hạn chế hình thành các chất tiền viêm (leukotriene, thromboxane,...) và có nhiều ứng dụng trong y, dược [5].

Ở Việt Nam, việc nghiên cứu về nguồn lợi rong biển giai đoạn trước năm 1954 hoàn toàn do người nước ngoài thực hiện (tổng quan luận án hóa học bởi Lê Tất Thành (2016)). Các nghiên cứu này chủ yếu về thành phần loài của một vài nhóm nhỏ riêng lẻ ở từng khu vực và phạm vi khảo sát còn rất hẹp. Sau năm 1954, việc nghiên cứu về rong biển Việt Nam mới bắt đầu do các nhà khoa học Việt Nam thực hiện. Trong đó đáng kể nhất là công trình của Phạm Hoàng Hộ (1969) về rong biển Việt Nam ở phía nam [6]; công trình của Nguyễn Hữu Dinh và nnk., (1993) về rong biển Việt Nam ở phía bắc [7]. Những nghiên cứu này chủ yếu tập trung về phân loại rong biển.

Rong đỏ và rong nâu là hai nguồn rong có trữ lượng lớn ở nước ta. Trong đó, rong đỏ (*Rhodophyta*) là loài rong phổ biến, rong đỏ và các chế phẩm của nó được dùng làm thực phẩm, thuốc chữa bệnh, phân bón lá, xử lý nước bị nhiễm bẩn [8]... Một số loài rong nâu (rong đỏ) còn là nguyên liệu chính cho công nghiệp sản xuất agar. Bên cạnh đó, rong sụn

được đánh giá là loài rong có giá trị kinh tế cao, là nguyên liệu chính để sản xuất carrageenan hiện nay trên thế giới [9]. Các nghiên cứu về thành phần hóa học của một số loài rong đỏ có giá trị kinh tế ở ven biển Nam Việt Nam được tiến hành. Lê Đình Hùng và nnk (2004) đã công bố các giá trị về vi lượng cũng như axit amin của 5 loài rong, chủ yếu là rong câu, có thể sử dụng làm thực phẩm với hàm lượng dinh dưỡng khá cao [8]. Đặng Diễm Hồng (2008) đã nghiên cứu chiết tách lectin từ 18 mẫu tảo đỏ, trong đó hoạt tính mạnh với hồng cầu cừu và thỏ sau khi xử lý enzym đã được phát hiện trong các dịch chiết từ 4 mẫu *Rhodophyta* [10]. Mới đây nhất, Lê Tất Thành (2016) đã phân lập và nhận dạng các hoạt chất axit béo, axit arachidonic và prostaglandin từ 70 mẫu thuộc 25 loài rong đỏ biển (luận án tiến sĩ hóa học). Tuy nhiên, việc nghiên cứu các hợp chất từ rong đỏ, đặc biệt là các terpen và terpenoid còn rất hạn chế, chưa được các nhà khoa học trong nước quan tâm chú ý.

Trong tự nhiên, terpen và terpenoid có mặt ở khắp nơi, chủ yếu có trong các loại thực vật. Chúng có vai trò quan trọng đối với việc bảo vệ cũng như trong sinh sản của nhiều loại cây nhờ phát ra mùi hương để dẫn dụ côn trùng thụ phấn. Terpen có nhiều trong tinh dầu thảo mộc như tinh dầu thông, sả, quế, chanh, cam, hoa hồng, cây linh sam, bạc hà, cây long não, ... và các dẫn xuất của chúng (các terpenoid) được dùng làm hương liệu, sản xuất thuốc chữa bệnh, dầu bôi trơn, thuốc trừ sâu, ...

Tiềm năng y sinh của terpenoid phân lập từ rong biển đã được nghiên cứu gần đây. Theo nghiên cứu của Butler và nnk (2004) [11], rong đỏ thuộc chi *Laurencia* (họ Rhodomelaceae, bộ Ceramiales) có khoảng 135 loài trên toàn thế giới. Chúng có thể là nguồn chính để phân lập các hợp chất terpen chứa halogen và các chất này có các chức năng sinh học, có thể sử dụng làm các phân tử thuốc trong ngành công nghiệp dược phẩm [12]. *Laurencia* spp. là loài đầu tiên được phát hiện nguồn các hợp chất tự nhiên chứa halogen như Laurinterol một hợp chất terpen brom [13]. Gần đây các hợp chất terpen brom được phân lập từ *Laurencia snackeyi* như 5-hydroxypalisadin B, palisadin B, palisol và pacifigorgiol đã cho thấy tiềm năng chống viêm *in vitro*. Ngoài ra, hợp chất diterpen brom được

phân lập từ *Laurencia* spp. ở Malaysia có hoạt tính kháng khuẩn [14, 15]. Thêm vào đó, hoạt tính kháng khuẩn của hợp chất β -amyrin lần đầu tiên được phân lập từ *Laurencia microcladia* ở Hy Lạp đã được chứng minh [16]. Ở Việt Nam, có gần 1.000 loài rong biển được ghi nhận [17]. Trong đó, khu vực phía nam là nơi có trữ lượng rong biển lớn nhất nước và đa dạng loài cao nhất với thành phần loài rong đỏ đến 89 loài, đặc biệt chi *Laurencia* có 7 loài [18]. Do đó, rong đỏ thuộc chi *Laurencia* này có thể được xem là nguồn vật liệu quan trọng để tìm kiếm các hoạt chất có giá trị sinh học cao.

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn của cao thô chiết từ 3 loài rong đỏ thuộc chi *Laurencia* ở vùng biển phía nam Việt Nam và thành phần các hợp chất terpenoid có trong các mẫu cao này.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thu mẫu rong. Ba loài rong đỏ thuộc chi *Laurencia* được thu tại vùng biển phía nam Việt Nam, khi thủy triều xuống. Hai loài rong đỏ *Laurencia papillosa* Graville (khoảng 1 kg tươi) và *Laurencia flexilis* (khoảng 1 kg tươi) được thu ở Thôn Thái An, xã Vĩnh Hải, huyện Ninh Hải, Ninh Thuận vào tháng 3/2016. Loài *Laurencia cartilaginea* (khoảng 300 g tươi) được thu tại bãi biển Hòn Chông, Nha Trang, Khánh Hòa vào tháng 4/2016.

Xử lý mẫu. Mẫu rong được bảo quản cẩn thận và được rửa lại nhiều lần tại phòng thí nghiệm để loại đất cát và các mảng bám bám. Sau đó, các mẫu rong được phơi khô trong vòng 10 ngày ở nhiệt độ thường, nghiền nhỏ cho vào lọ trữ để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tách chiết cao. 100 g mẫu rong khô đối với 2 loài *L. papillosa* Graville và *L. flexilis*; 31,74 g đối với loài *L. cartilaginea* được nghiền nhỏ. Dung môi EtOH 95% (Việt Nam) được cho vào lọ chứa từng mẫu rong với tỉ lệ 1:10 (w/v), giữ ở nhiệt độ phòng. Sau 7 ngày, tiến hành lọc để thu hồi EtOH chứa các chất hòa tan, sau đó thêm EtOH 95% vào với tỉ lệ 1:3 (w/w) và thu hồi dung môi lần nữa. Mẫu dịch chiết được cô quay chân không để thu được cao thô EtOH ban đầu. Một lượng nước thích hợp được thêm vào cho đến khi hòa tan hết cao thô và được chiết lỏng - lỏng (3 lần) với

ethyl axetat (EtOAc) (Việt Nam). Phân đoạn EtOAc được thu và cô quay để thu cao EtOAc chứa các hợp chất terpenoid [15, 19]. Cao khô được cân để tính hàm lượng thô và được sử dụng để nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn và thành phần hóa học.

Xác định thành phần các hợp chất từ cao chiết EtOAc. Sử dụng dung môi n-hexane (Nga) và EtOAc (Prolabo, Pháp) để phân tách các hợp chất trong cao EtOAc trên sắc ký bản mỏng (TLC Silica gel 60 F₂₅₄, Merck, Đức) với tỉ lệ n-hexane: EtOAc = 9:1 và 8:2.

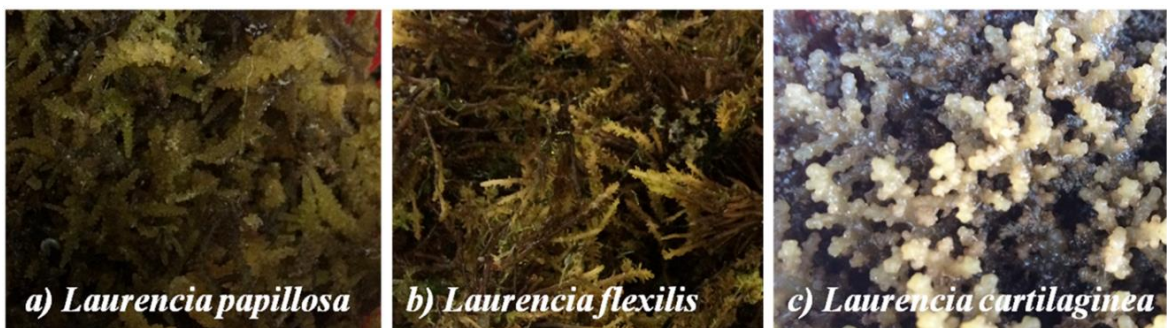
Định tính các hợp chất terpenoid: Các hợp chất terpenoid sẽ phản ứng với thuốc thử Liebermann - Burchard và chuyển sang màu dương tính như xanh dương, lục, cam hoặc đỏ trên bản mỏng khi được phun sấy ở 110°C trong 5-10 phút [16, 20].

Tính toán hệ số di chuyển R_f của chất phân tách bằng công thức R_f = A/B với A là khoảng cách di chuyển của chất phân tách và B là khoảng cách di chuyển của dung môi.

Phương pháp thử nghiệm đặc tính kháng khuẩn của cao EtOAc. Phương pháp khuếch tán thạch được sử dụng để thử nghiệm đặc tính kháng khuẩn của cao EtOAc [21]. Môi trường khuếch tán thạch dùng trong thử nghiệm này là

Müller-Hinton agar (MHA) (Ấn Độ) có chứa sẵn: 300 g thịt bò (dạng tiêm truyền), 17,5 g casein acid hydrolysate, 17 g agar, 1,5 g starch. Pha môi trường theo tỷ lệ, hấp khử trùng, để nguội môi trường đến 45 - 60°C và đổ vào các đĩa Petri sạch vô trùng. Cho 1 ml dịch nuôi cấy vi khuẩn kiểm định đã qua tăng sinh vào đĩa thạch và dùng que cấy thủy tinh trạng đều vi khuẩn lên bề mặt thạch. Vi khuẩn kiểm định sử dụng trong thử nghiệm này bao gồm: *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Salmonella typhimurium* (ATCC 6994) và *Escherichia coli* O157 (Micro-genomics). Tiếp theo, dùng đầu tip thủy tinh sạch vô trùng đục 5 lỗ trên mặt thạch (đường kính 6 mm/lỗ đục), cách nhau khoảng 20 mm lỗ thạch. Dùng pipet cho vào mỗi lỗ thạch 50 µl MeOH (Merck, Đức) (n=3) có hòa tan cao chiết EtOAc. Tại giếng đối chứng âm (n=2) cho 50 µl MeOH nguyên chất. Đặt đĩa vào tủ ấm ở 37°C trong 24 h. Vòng kháng khuẩn được nhìn thấy bằng mắt thường và đo đường kính (mm). Kết quả được trình bày là giá trị trung bình ± sai số chuẩn.

Phương pháp phân tích số liệu. Sự sai khác đường kính kháng khuẩn được thực hiện bằng phép ANOVA một chiều, trên cơ sở sử dụng phần mềm Excel.



Hình 1. Hình dạng ngoài của 3 loài rong đỏ thuộc chi *Laurencia*:
a) *L. papillosa*; b) *L. flexilis*; c) *L. cartilaginea*

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hàm lượng cao từ 3 loài rong đỏ. Kết quả định lượng thể hiện ở bảng 1.

Từ kết quả hàm lượng cao chiết ở Bảng 1, có thể nhận thấy hàm lượng cao EtOH và EtOAc ở loài *L. papillosa* và *L. flexilis* là gần

tương đương nhau mặc dù khối lượng cao EtOH và EtOAc của *L. papillosa* có phần lớn hơn một ít so với *L. flexilis*. Trong khi đó, theo % khối lượng khô thì khối lượng cao EtOH và EtOAc từ loài *L. cartilaginea* lớn hơn 2 loài còn lại.

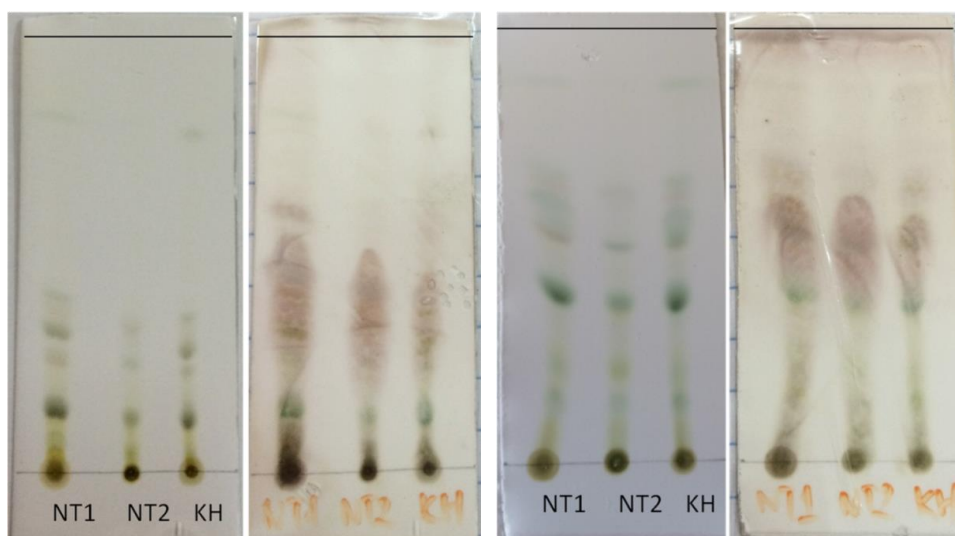
Bảng 1. Hàm lượng cao chiết từ 3 loài rong đỏ

STT	Tên loài rong	Khối lượng khô của rong (g)	Hàm lượng (%) cao EtOH (theo khối lượng khô)	Hàm lượng (%) cao EtOAc (theo khối lượng khô)
1	<i>L. papillosa</i> Graville (kí hiệu NT1)	100	6,66	2,46
2	<i>L. flexilis</i> (kí hiệu NT2)	100	5,91	2,13
3	<i>L. cartilaginea</i> (kí hiệu KH)	31,74	8,98	3,31

Thành phần hợp chất trong cao thô chiết từ 3 loài rong. Hình 2 là kết quả của sắc kí bản mỏng các hợp chất trong cao EtOAc của 3 loài rong sử dụng các hệ dung môi n-hexane và EtOAc với các tỉ lệ khác nhau. Với hệ dung môi n-hexane: EtOAc = 9:1 có độ phân cực thấp (hình 2a), các hợp chất tách nhau không hoàn toàn trên sắc kí bản mỏng và hầu hết các chất đều chuyển sang nâu, nâu đỏ khi nhận diện bằng phản ứng Liebermann-Burchard trừ những chất có độ phân cực cao. Với hệ dung môi n-hexane: EtOAc = 8:2 có độ phân cực cao hơn (hình 2b), các hợp chất được tách ra tương đối rõ ràng. Cao chiết từ loài *L. papillosa* chứa khoảng 8 chất, *L. flexilis* chứa khoảng 5 chất và *L. cartilaginea* cũng có khoảng 8 chất giống *L. papillosa*. Hơn nữa, các hợp chất có độ phân cực thấp hơn đều chuyển sang màu nâu, nâu đỏ

khi phản ứng với thuốc thử Liebermann-Burchard. Điều đó có nghĩa rằng có sự hiện diện của các hợp chất terpenoid trong cao chiết EtOAc từ các loài rong đỏ: Có từ 3 (*L. papillosa*) đến 5 hợp chất (*L. cartilaginea*, *L. flexilis*).

Qua quan sát trên sắc kí bản mỏng, chúng tôi nhận thấy cả 3 loài rong trên có thể có sự hiện diện của các nhóm chất có tính chất gần giống nhau, điều này thể hiện thông qua các hệ số di chuyển R_f của các chất này. Khi thay đổi hệ dung môi khác, quãng đường di chuyển của các nhóm chất này là giống nhau. Các hợp chất trong cao chiết từ *L. papillosa* khá giống với *L. cartilaginea*; *L. flexilis* cũng có những hợp chất phân cực cao tương tự *L. papillosa* và *L. cartilaginea*. Như vậy, 3 loài rong được thu mẫu có thể chứa những hợp chất giống nhau.



(a) Hệ dung môi: n-hexane: EtOAc = 9:1

(b) Hệ dung môi: n-hexane: EtOAc = 8:2

Hình 2. Sắc kí bản mỏng của các hợp chất trong cao EtOAc của 3 loài rong sử dụng các hệ dung môi n-hexane và EtOAc với các tỉ lệ khác nhau; NT1, NT2 và KH tương ứng lần lượt với *L. papillosa*, *L. flexilis* và *L. cartilaginea*

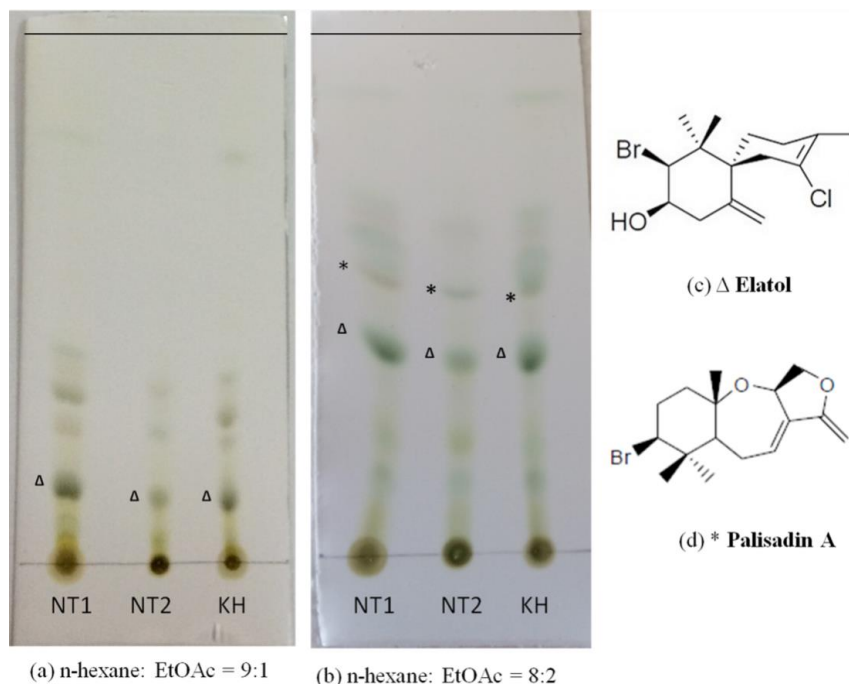
Các loài rong đỏ khác nhau thuộc chi *Laurencia* đã được biết đến như nguồn sản sinh

sesquiterpen có halogen là Elatol, một chất chuyển hóa thứ cấp quan trọng. Một số nghiên

cứu đã chỉ ra rằng Elatol đóng vai trò quan trọng trong tương tác sinh thái, như sản sinh các chất chống lại động vật ăn cỏ và bảo vệ chống nhiễm trùng do vi sinh vật [14, 22-25]. Ngoài ra, Elatol còn có hoạt tính kháng 13 loài vi khuẩn [23].

Thật vậy, Elatol đã được phân lập lần đầu tiên từ loài *L. elata* ở Úc [22] vào những năm 1974, sau đó từ loài *L. obtusa* tại vùng đảo Caribe của Dominica [24], *L. cartilaginea* tại Hawaii [25], *L. majuscula* ở Malaysia [14], *L. microcladia* ở Brazil [26], *L. dendroidea* ở Brazil [27, 28]. Khi so sánh với nghiên cứu trước đây về hợp chất Elatol được phân lập từ

loài rong đỏ là *L. dendroidea* ở Brazil [28] trong hệ dung môi n-hexane: EtOAc = 8:2, Elatol có hệ số di chuyển là 0,45. Điều này cho thấy trong 3 loài rong được thu ở nghiên cứu này có sự hiện diện của Elatol (phản ứng Liebermann-Burchard dương tính, hình 2b) có cùng hệ số di chuyển 0,45 ở hệ dung môi n-hexane: EtOAc = 8:2 trên sắc kí bản mỏng (hình 3b). Trong nghiên cứu này, loài *L. cartilaginea* thu tại Khánh Hòa cũng có chứa Elatol, tương tự như loài được thu ở Hawaii [25]. Như vậy, có thể nhận định rằng loài *L. cartilaginea* luôn có sự hiện diện của Elatol không phụ thuộc vùng địa lý.



Hình 3. a) Hợp chất Elatol (kí hiệu Δ) ở hệ dung môi n-hexane: EtOAc = 9:1; b) Hợp chất Elatol (kí hiệu Δ) và hợp chất Palisadin A (kí hiệu *) ở hệ dung môi n-hexane: EtOAc = 8:2; c) cấu trúc hóa học của Elatol; d) cấu trúc hóa học của Palisadin A.

Tương tự, Palisadin A cũng là một sesquiterpen lacton có tác dụng ức chế các bào tử của tảo lục *Ulva lactuca* và ấu trùng *B. Neretina* [29], Palisadin A đã được tìm thấy trong nhiều loài rong thuộc chi *Laurencia* như: *L. similis* ở Hải Nam (Trung Quốc) [19], *L. karlae* ở Quần đảo Trường Sa (Việt Nam) [30], *L. snackeyi* từ đảo Bum Bum của Malaysia [31] và Phú Quốc (Việt Nam) [32], *L. luzonensis* ở quần đảo Okinawa (Nhật Bản) [33], *L. flexilis* ở

Philippines [34]. So sánh với nghiên cứu của Couladouros và nmk (2004) [35], Palisadin A có hệ số di chuyển là 0,6 khi sử dụng hệ dung môi n-hexane: EtOAc = 8:2. Điều này cho thấy trong 3 loài rong được thu ở nghiên cứu này có thể có sự hiện diện của Palisadin A (phản ứng Liebermann-Burchard dương tính, hình 2b) có cùng hệ số di chuyển 0,6 ở hệ dung môi n-hexane: EtOAc = 8:2 trên sắc kí bản mỏng (hình 3b). Tương tự như loài *L. flexilis* thu ở

Philippines, loài này thu ở Ninh Thuận trong nghiên cứu này cũng có chứa Palisadin A không phụ thuộc vùng địa lý. Tuy nhiên, có thể do hàm lượng của Palisadin A là thấp trong cao EtOAc nên vết trên bản mỏng tương đối mờ.

Với các chất khác xuất hiện trên sắc ký bản mỏng, chúng tôi chưa tìm thấy sự tương đồng về R_f của chúng trong cùng hệ dung môi khảo sát với các nghiên cứu khác. Các nghiên cứu về tinh sạch và xác định lại cấu trúc hóa học của các hợp chất Elatol, Palisadin A và các hợp chất còn lại đang được tiếp tục. Các thử nghiệm về khả năng kháng khuẩn và hoạt tính sinh học khác của các chất sẽ được triển khai để có thể ứng dụng trong y sinh.

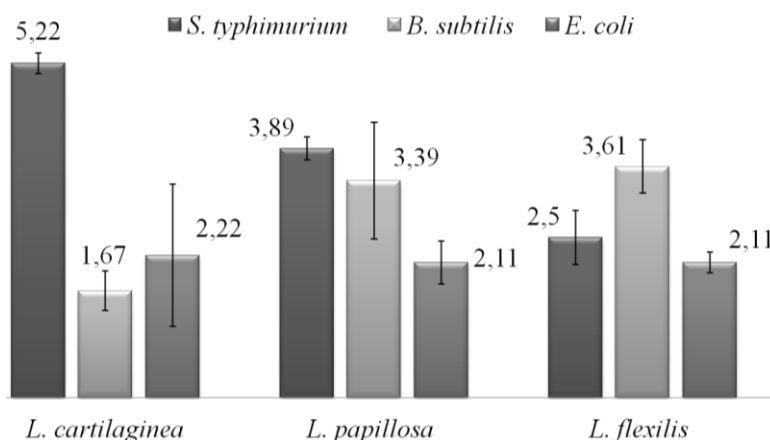
Hoạt tính kháng khuẩn của cao EtOAc chiết từ 3 loài rong. Từ kết quả phân tích thành phần trong 3 loài cao có chứa các hợp chất có tính chất gần giống nhau và có thể chứa các hợp chất sesquiterpen có hoạt tính sinh học cao, hình 3 cho thấy kết quả khuếch tán thạch chứng minh hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ 3 loài rong *L. cartilaginea*, *L. papillosa*, *L. flexilis*. Trong mỗi đĩa có 3 lỗ chứa cao EtOAc và 2 lỗ đối chứng âm chứa dung môi MeOH. Các lỗ chứa cao EtOAc hầu hết đều xuất hiện vòng kháng khuẩn, chứng tỏ các cao thô đều có khả năng kháng khuẩn; các lỗ đối chứng âm không xuất hiện vòng kháng khuẩn nên không có hoạt tính kháng khuẩn.

Bảng 2. Đường kính kháng khuẩn của cao chiết từ 3 loài rong

a) đường kính kháng khuẩn của 3 loài rong

Loài rong	Đường kính kháng khuẩn (mm)		
	<i>S. typhimurium</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>
<i>L. cartilaginea</i>	5,22 ± 0,16	1,67 ± 1,18	2,22 ± 0,42
<i>L. papillosa</i>	3,89 ± 0,31	3,39 ± 0,91	2,11 ± 0,42
<i>L. flexilis</i>	2,50 ± 1,11	3,61 ± 0,34	2,11 ± 0,16

b) Đồ thị biểu diễn theo đường kính kháng khuẩn của 3 loài cao chiết từ *L. cartilaginea*, *L. papillosa* và *L. flexilis*

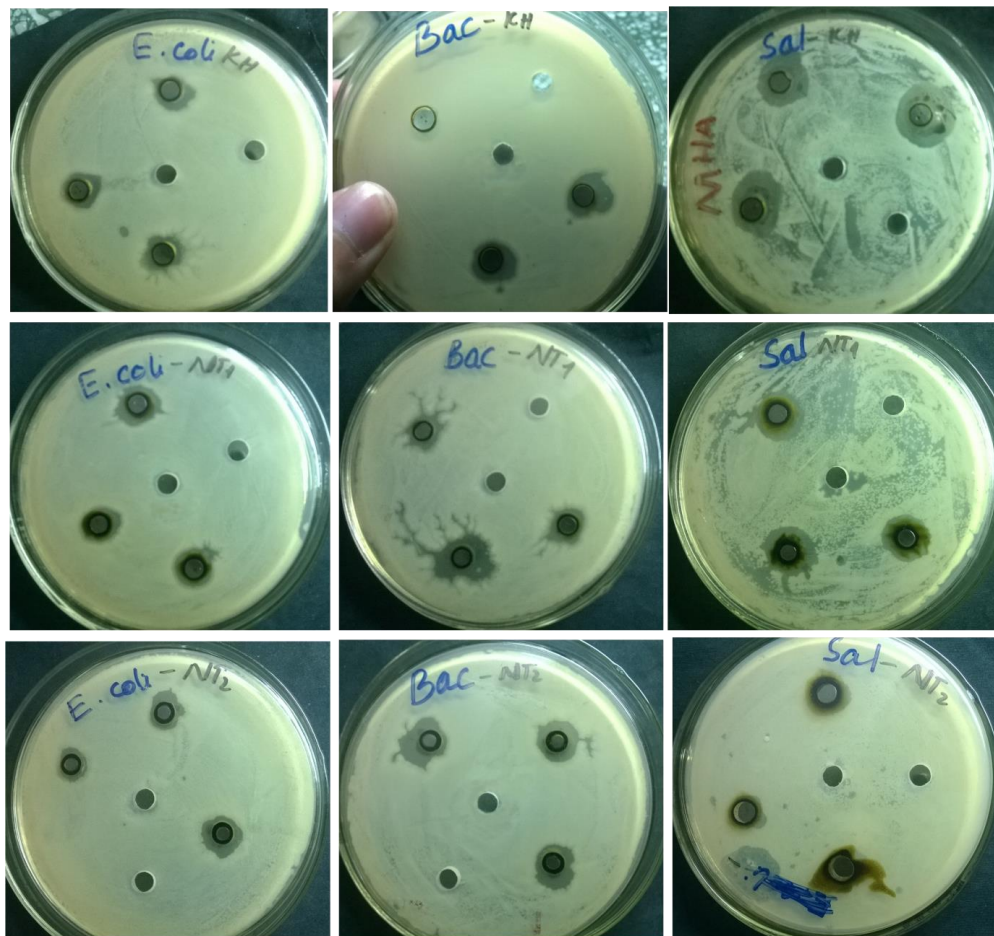


Số liệu hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ 3 loài rong được tổng hợp trong bảng 2. Theo đó, cao chiết từ loài *L. cartilaginea* có khả năng kháng *S. typhimurium* mạnh nhất trong ba loài rong ($p = 0,02 < 0,05$ thể hiện sai khác có ý nghĩa về giá trị trung bình đường kính kháng *S. typhimurium*). Trong khi đó cao chiết từ loài *L. flexilis* có hoạt tính kháng *B.*

subtilis có vẻ cao nhất trong 3 loài rong ($p = 0,13 > 0,05$ thể hiện sai khác không có ý nghĩa về giá trị trung bình đường kính kháng *B. subtilis*). Về khả năng kháng *E. coli*, cả 3 cao phát huy hoạt tính kháng khuẩn gần như tương đương nhau ($p = 0,93 > 0,05$ thể hiện sai khác không có ý nghĩa về giá trị trung bình đường kính kháng *E. coli*).

Nồng độ cao chiết được thử nghiệm từ loài *L. cartilaginea*, *L. papillosa*, *L. flexilis* là 2,5 mg/50 µl lổ thạch (50 mg/ml). Khi tham khảo với nghiên cứu trước đây, Vairappan và nnk., [15] đã phân lập được 5 chất tinh sạch từ loài *Laurencia* spp. được thu từ đảo Borneo của Malaysia: Khi thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn của 5 chất này, nhóm tác giả đã sử dụng nồng độ 30 mg/chất đối với một lổ thạch thí nghiệm, kết quả về đường kính kháng khuẩn là

từ 8-18 mm tùy chất và tùy vi khuẩn thí nghiệm. Trong nghiên cứu này, đối với nồng độ 2,5 mg cao thô EtOAc/lổ thạch từ 3 loài rong *L. cartilaginea*, *L. papillosa*, *L. flexilis*, đường kính kháng khuẩn từ 2 - 5 mm, kết quả cho thấy cao thô có khả năng kháng khuẩn khá mạnh. Việc phân lập, tinh chế và xác định cấu trúc từng chất từ cao thô và thử nghiệm hoạt tính sinh học của chúng để có thể ứng dụng trong y sinh sẽ được thực hiện trong các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3. Hoạt tính kháng *E. coli*, *B. subtilis* và *S. typhimurium* của cao thô EtOAc của 3 loài rong *L. cartilaginea*, *L. papillosa*, *L. flexilis* trên đĩa thạch (KH, NT1 và NT2 tương ứng lần lượt với *L. cartilaginea*, *L. papillosa* và *L. flexilis*; *E. coli*, *Bac*, *Sal* tương ứng lần lượt với *E. coli*, *B. subtilis*, *S. typhimurium*)

KẾT LUẬN

Cao EtOAc của 3 loài rong đỏ thuộc chi *Laurencia* là *L. papillosa* Gravelle, *L. flexilis* và *L. cartilaginea* đều có khả năng kháng vi khuẩn *S. typhimurium*, *B. subtilis* và *E. coli*.

Kết quả định tính ban đầu cho thấy trong cao thô của 3 loài rong này đều chứa terpenoid và có sự hiện diện của hai sesquiterpen là Elatol và Palisadin A, đều là hợp chất chuyển hóa thứ cấp quan trọng.

Lời cảm ơn: Chúng tôi xin cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện thực hiện đề tài nhiệm vụ trẻ về “Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết thô chứa các hợp chất terpenoid từ một số loài rong đỏ thuộc chi *Laurencia* vùng biển phía nam Việt Nam”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Gerwick, W. H., Proteau, P. J., Nagle, D. G., Hamel, E., Blokhin, A., and Slate, D. L., 1994. Structure of curacin A, a novel antimetabolic, antiproliferative and brine shrimp toxic natural product from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. *The Journal of Organic Chemistry*, **59**(6), 1243-1245.
- Nguyễn Duy Nhứt, Bùi Minh Lý, Nguyễn Mạnh Cường, Trần Văn Sung, 2007. Phân lập và đặc điểm của fucoidan từ 5 loài rong mơ Miền Trung. *Tạp chí Hóa học*, **45**(3), 339-345.
- Park, M. K., Jung, U., and Roh, C., 2011. Fucoidan from marine brown algae inhibits lipid accumulation. *Marine Drugs*, **9**(8), 1359-1367.
- Blackman, A. J., Rogers, G. I., and Volkman, J. K., 1988. Phloroglucinol derivatives from three Australian marine algae of the genus *Zonaria*. *Journal of Natural Products*, **51**(1), 158-160.
- Sánchez-Machado, D. I., López-Cervantes, J., Lopez-Hernandez, J., and Paseiro-Losada, P., 2004. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*, **85**(3), 439-444.
- Phạm Hoàng Hộ, 1969. Rong biển Việt Nam (phần phía Nam). *Trung tâm học liệu xuất bản, Bộ Giáo dục và Thanh Niên, Sài Gòn*. 559 tr.
- Nguyễn Hữu Dinh, Huỳnh Quang Năng, Trần Ngọc Bút, Nguyễn Văn Tiên, 1993. Rong biển Việt Nam (phần phía Bắc). *Nxb. Khoa học và Kỹ thuật*. 364 tr.
- Lê Đình Hùng, Huỳnh Quang Năng, Bùi Minh Lý, Ngô Quốc Bửu, Trần Thị Thanh Vân, 2004. Thành phần hóa học của một số loài rong đỏ (*Rhodophyta*) kinh tế ở ven biển Nam Việt Nam. *Tạp chí Hóa học*, **42**(2), 159-162.
- Prajapati, V. D., Maheriya, P. M., Jani, G. K., and Solanki, H. K., 2014. RETRACTED: Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. *Carbohydrate Polymers*, **105**, 97-112.
- Le Dinh, H., Hori, K., and Quang, N. H., 2009. Screening and preliminary characterization of hemagglutinins in Vietnamese marine algae. *Journal of Applied Phycology*, **21**(1), 89-97.
- Butler, A., Franklin, J. N. C., 2004. The role of vanadium bromoperoxidase in the biosynthesis of halogenated marine natural products. *Natural Product Reports*, **21**, 180-188.
- Chatter, R., Othman, R. B., Rabhi, S., Kladi, M., Tarhouni, S., Vagias, C., Roussis, V., Guizani-Tabbane, L., and Kharrat, R., 2011. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of neorogioltriol, a new diterpene extracted from the red algae *Laurencia glandulifera*. *Marine Drugs*, **9**(7), 1293-1306.
- Fenical, W., 2006. Marine pharmaceuticals: past, present, and future. *Oceanography*, **19**, 111-119.
- Vairappan, C. S., 2003. Potent antibacterial activity of halogenated metabolites from Malaysian red algae, *Laurencia majuscula* (Rhodomelaceae, Ceramiales). *Biomolecular Engineering*, **20**(4-6), 255-259.
- Vairappan, C. S., Ishii, T., Lee, T. K., Suzuki, M., and Zhaoqi, Z., 2010. Antibacterial activities of a new brominated diterpene from Bornean *Laurencia* spp. *Marine Drugs*, **8**(6), 1743-1749.
- Abdel-Raouf, N., Al-Enazi, N. M., Al-Homaidan, A. A., Ibraheem, I. B. M., Al-Othman, M. R., and Hatamleh, A. A., 2015. Antibacterial β -amyrin isolated from *Laurencia microcladia*. *Arabian Journal of Chemistry*, **8**(1), 32-37.
- Titlyanov, E. A., Titlyanov, T. V., Phạm Văn Huyền, 2012. Sử dụng và nuôi trồng rong ở Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ biển*, **12**(1), 87-98.
- Tsutsui, I., Huynh, Q. N., Nguyen, H. D., Arai, S., and Yoshida, T., 2005. The common marine plants of southern Vietnam.

- Numerous Colour Photographs Usa: Japan Seaweed Association*, **251**, 1-250.
19. Su, H., Shi, D. Y., Li, J., Guo, S. J., Li, L. L., Yuan, Z. H., and Zhu, X. B., 2009. Sesquiterpenes from *Laurencia similis*. *Molecules*, **14**(5), 1889-1897.
 20. Nguyễn Kim Phi Phụng. 2007. Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ. *Nxb. Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh*. 527 tr.
 21. Smania Jr, A., Monache, F. D., Smania, E. D. F. A., and Cuneo, R. S., 1999. Antibacterial activity of steroidal compounds isolated from *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat.(Aphyllphoromycetideae) fruit body. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **1**(4). 325-330.
 22. Sims, J. J., Lin, G. H., and Wing, R. M., 1974. Marine natural products X elatol, a halogenated sesquiterpene alcohol from the red alga *Laurencia elata*. *Tetrahedron Letters*, **15**(39), 3487-3490.
 23. Vairappan, C. S., Daitoh, M., Suzuki, M., Abe, T., and Masuda, M., 2001. Antibacterial halogenated metabolites from the Malaysian *Laurencia* species. *Phytochemistry*, **58**(2), 291-297.
 24. König, G. M., and Wright, A. D., 1997. Sesquiterpene content of the antibacterial dichloromethane extract of the marine red alga *Laurencia obtusa*. *Planta Medica*, **63**(2), 186-187.
 25. Juagdan, E. G., Kalidindi, R., and Scheuer, P., 1997. Two new chamigranes from an Hawaiian red alga, *Laurencia cartilaginea*. *Tetrahedron*, **53**(2), 521-528.
 26. Lhullier, C., Donnangelo, A., Caro, M., Palermo, J. A., Horta, P. A., Falkenberg, M., and Schenkel, E. P., 2009. Isolation of elatol from *Laurencia microcladia* and its palatability to the sea urchin *Echinometra lucunter*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **37**(4), 254-259.
 27. Veiga-Santos, P., Pelizzaro-Rocha, K. J., Santos, A. O., Ueda-Nakamura, T., Dias Filho, B. P., Silva, S. O., Sudatti, D. B., Bianco, E. M., Pereira, R. C., and Nakamura, C. V., 2010. In vitro anti-trypanosomal activity of elatol isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*. *Parasitology*, **137**(11), 1661-1670.
 28. Santos, A. O. D., Veiga-Santos, P., Ueda-Nakamura, T., Sudatti, D. B., Bianco, E. M., Pereira, R. C., and Nakamura, C. V., 2010. Effect of elatol, isolated from red seaweed *Laurencia dendroidea*, on *Leishmania amazonensis*. *Marine Drugs*, **8**(11), 2733-2743.
 29. McClintock, J. B., and Baker, B. J., 2001. Marine chemical ecology. *CRC press*. 613 p.
 30. Su, J. Y., Zhong, Y. L., Zeng, L. M., Wu, H. M., and Ma, K., 1995. Terpenoids from *Laurencia karlae*. *Phytochemistry*, **40**(1), 195-197.
 31. Kamada, T., and Vairappan, C. S., 2016. Non-halogenated new sesquiterpenes from Bornean *Laurencia snackeyi*. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, **31**(3), 333-340.
 32. Masuda, M., Takahashi, Y., Okamoto, K., Matsuo, Y., and Suzuki, M., 1997. Morphology and halogenated secondary metabolites of *Laurencia snackeyi* (Weber-van Bosse) stat. nov. (Ceramiales, Rhodophyta). *European Journal of Phycology*, **32**(3), 293-301.
 33. Kuniyoshi, M., Marma, M. S., Higa, T., Bernardinelli, G., and Jefford, C. W., 2001. New Bromoterpenes from the Red Alga *Laurencia luzonensis*. *Journal of Natural Products*, **64**(6), 696-700.
 34. de Nys, R., Wright, A. D., König, G. M., Sticher, O., and Alino, P. M., 1993. Five new sesquiterpenes from the red alga *Laurencia flexilis*. *Journal of Natural Products*, **56**(6), 877-883.
 35. Couladouros, E. A., and Vidali, V. P., 2004. Novel Stereocontrolled Approach to syn-and anti-Oxepene-Cyclogeranyl trans-Fused Polycyclic Systems: Asymmetric Total Synthesis of (-)-Aplysistatin, (+)-Palisadin A, (+)-Palisadin B, (+)-12-Hydroxy-Palisadin B, and the AB Ring System of Adociasulfate-2 and Toxicol A. *Chemistry-A European Journal*, **10**(15), 3822-3835.

COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES
OF ETHYL ACETATE EXTRACTS FROM 3 SPECIES
OF *LAURENCIA* (RHODOPHYTA)

**Le Ho Khanh Hy, Nguyen Kim Hanh, Pham Xuan Ky,
Dao Viet Ha, Nguyen Thu Hong, Nguyen Phuong Anh**

Institute of Oceanography, VAST

ABSTRACT: This paper is concerned with composition and antibacterial activities of ethyl acetate extracts from 3 species of *Laurencia* (Rhodophyta): *Laurencia papillosa*, *Laurencia flexilis* and *Laurencia cartilaginea* collected from the southern coasts of Vietnam. The results showed that ethyl acetate (EtOAc) extracts of these species displayed antibacterial activities against *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. The qualitative investigations revealed the presence of two sesquiterpene secondary metabolites Elatol and Palisadin A in EtOAc extracts from the three above- mentioned *Laurencia* species.

Keywords: *Laurencia*, antibacterial activities, Elatol, Palisadin A.