

MỘT SỐ NGHIÊN CỨU VỀ CÁC HOẠT CHẤT SINH HỌC TỪ SINH VẬT BIỂN VIỆT NAM

Châu Văn Minh, Phạm Quốc Long
Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên, VAST

TÓM TẮT

Công cuộc tìm kiếm nguồn dược liệu biển đã và đang ngày càng thu hút sự quan tâm nghiên cứu của các nhà khoa học trong những năm gần đây. Theo thống kê, trung bình mỗi năm có 10% hợp chất mới trong tổng số hợp chất có nguồn gốc từ sinh vật biển được công bố, bao gồm rất nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học quý báu. Đa số các hợp chất mới được phát hiện từ các loài bọt biển và động vật ruột khoang, tiếp theo là các vi sinh vật biển. Trong các hoạt tính được thử nghiệm, hoạt tính chống ung thư và hoạt tính kháng sinh luôn chiếm tỷ lệ lớn. Thân mềm, da gai và bọt biển là những ngành động vật có tiềm năng vì chúng chứa rất nhiều hợp chất chống ung thư, kháng sinh tiềm tàng, chưa được phát hiện. Vì vậy, những nghiên cứu tìm kiếm, phát hiện các loại thuốc chống ung thư hiện đang được tập trung chủ yếu trên các đối tượng thân mềm, bọt biển và vi sinh vật. Bên cạnh đó, những nỗ lực tìm kiếm thuốc giảm đau, kháng sinh, kháng viêm cũng đang đạt được nhiều thành quả. Từ những nghiên cứu này, một số dược phẩm nguồn gốc từ biển đã được lưu hành trên thị trường như Ara-A, Ara-C, Pseudopterosin..., và một số khác đang bước vào những giai đoạn thử nghiệm lâm sàng, hứa hẹn sẽ có mặt trên thị trường trong thời gian gần nhất (ET-743, Manzamine A, Kahalalide F...). Tuy nhiên, ngành hoá học hợp chất thiên nhiên biển cũng có những khó khăn nhất định. Ví dụ như nguồn cung cấp các hợp chất biển là có hạn (những hợp chất biển thường chiếm khoảng 10^{-6} % hoặc ít hơn tổng trọng lượng mẫu có được), việc khai thác khối lượng lớn sẽ làm hủy hoại môi trường sinh thái. Phương pháp tổng hợp hoá học hay nuôi cấy các vi sinh vật có liên quan đến quá trình tạo nên chất đó có lẽ là những đường hướng chính trong tương lai nhằm giải quyết những vấn đề trên. Rõ ràng là thế giới đại dương đóng vai trò quan trọng đối với việc tìm kiếm, phát hiện và phát triển các sản phẩm hữu ích phục vụ cho cuộc sống con người.

Báo cáo này trình bày tóm tắt những kết quả nghiên cứu sàng lọc hóa học theo định hướng hoạt tính sinh học trên các đối tượng sinh vật biển (hải miên, san hô mềm và da gai) tại Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên trong thời gian gần đây.

STUDYING ON THE BIOACTIVE SUBSTANCES FROM MARINE ORGANISMS IN VIETNAM

Chau Van Minh, Pham Quoc Long
Institute of Natural Products Chemistry, VAST

ABSTRACT

The search for “drug from the sea” has been interested intensively for recent years. The statistic data revealed that the rate of new discovered compounds has achieved 10 percent every year, in which, many bioactive compounds have been found. Almost of all new bioactive compounds have been isolated from sponges, coelenterates, and microorganisms. In the bioactivities screening of marine organisms, anticancer and anti-infectious are always dominant. Tunicates,

echinoderms and sponges are considered as potential source because they contain several undiscovered compounds. Therefore, seeking for anticancer compounds has been focused on sponges, tunicates, mollusks and microorganism. On the other hand, the search for analgesic, antibiotic, and anti-inflammatory compounds also showed notable results. Based on the scientific studies, some pharmaceutical agents have been launched to the market (Ara-A, Ara-C, Pseudoterosin...), while some others have been in final states of clinical trials (ET-743, Kahalalide F, Ziconotide...). However, the study on marine natural products has been faced to the difficulties such as limited source or destroyed environment by the exhausted exploitation. Synthesis and fermentation should be the promising ways to obtain large amount of natural products. Absolutely, ocean would be a major contributor for the discovery of useful products.

This paper is presented recent results of bioassay-guided chemical study on selected marine organisms (sponges, soft corals and echinodermata) from Vietnamese sea carried out by the Institute of Natural Products Chemistry.

I. MỞ ĐẦU

Đại dương là nơi sinh sống của 34 trong 36 ngành sinh vật trên trái đất với hơn 300.000 loài thực động vật. Đây là nguồn cung cấp vô số các sản phẩm tự nhiên quý giá từ các loài sinh vật biển như rong biển, ruột khoang, rêu biển, thân mềm và các loài vi khuẩn biển. Trải qua hàng tỷ năm tiến hóa, các sinh vật biển đã tự hình thành nên các hợp chất hóa học vô cùng phức tạp hoạt động như một hệ thống phòng vệ hóa học. Chúng có thể là chất độc đối với các loài cá, gây hủy hoại các mô hay thậm chí làm độc môi trường xung quanh. Rất nhiều hợp chất có những đặc tính quý báu, tiềm tàng cho việc chế tạo thuốc chữa bệnh cho con người được phát hiện từ những loài sinh vật biển đặc biệt, khác thường hoặc ở những điều kiện sống khắc nghiệt [7].

Người ta cho rằng sự đa dạng về mặt hóa học là chiếc gương phản ánh sự đa dạng sinh học của các sinh vật biển [1]. Trên cơ sở đó, ngành hóa học chất thiên nhiên biển đã và đang ngày càng thu hút được sự quan tâm của các nhà khoa học. Nhật Bản luôn là quốc gia dẫn đầu trong việc phát triển công nghệ khai thác sinh vật biển với nguồn kinh phí đầu tư khoảng 1 tỷ USD mỗi năm (trong đó 80% là từ các công ty lớn). Năm 1992, chính phủ Hoa Kỳ đã đầu tư 44 triệu

USD cùng với sự góp vốn 25 triệu USD từ các công ty lớn vào việc nghiên cứu sàng lọc và phát triển các sản phẩm từ sinh vật biển. Tuy vậy, khoản tiền này chỉ chiếm khoảng 1% so với quỹ đầu tư vào công nghệ sinh học phục vụ cho phát triển của Mỹ hồi đó. Cho đến năm 1996, khoản đầu tư này tăng lên khoảng 55 triệu USD. Mặc dù với nguồn vốn khiêm tốn, nhưng các kết quả đạt được là rất đáng ghi nhận. Quá trình nghiên cứu từ năm 1983 đến năm 1999 đã tạo nên 170 bằng sáng chế cùng với sự ra đời của hơn 100 hợp chất mới. Kết quả này thúc đẩy sự quan tâm của các nhà đầu tư, và hàng tỷ đô la đã được cung cấp cho nghiên cứu khoa học công nghệ biển trong thời gian gần đây với tổng giá trị đầu tư tăng từ 15-20% mỗi năm [3].

Cho đến nay, con người đã phân lập được khoảng 15.000 hợp chất từ sinh vật biển. Chúng thường hiện diện ở các nhóm chất steroid, tectenit, axit amin, alcaloit, các hợp chất phenol, hợp chất thơm, các axit béo, saponin và nhiều dạng khác. Từ những kết quả nghiên cứu này, người ta phát hiện ra rất nhiều hợp chất có các đặc tính dược học độc đáo [13], đã và đang được nghiên cứu để phục vụ cho ngành công nghiệp dược. Một số loại thuốc được lưu hành hoặc đang trong giai đoạn thử nghiệm cuối cùng trước khi đưa ra thị trường, một số

khác là những hợp chất hứa hẹn khả năng phát triển cao trong các ứng dụng dược học có nguồn gốc từ sinh vật biển. Ngoài ra, các sản phẩm từ các dịch chiết, cặn tinh chế sơ bộ cũng đã có mặt trên thị trường dưới các dạng mỹ phẩm, sản phẩm bổ dưỡng, thực phẩm thuốc và một

số sản phẩm phục vụ trong y học. Với sự phong phú và đa dạng sinh vật, đại dương là nơi hứa hẹn phát hiện nhiều hợp chất có các hoạt tính quý báu, có thể đáp ứng nhu cầu về các loại dược liệu mới, hiệu quả và đặc trị cho những căn bệnh hiểm nghèo hiện nay.

Bảng 1: Một số loại thuốc đang ở giai đoạn thử nghiệm lâm sàng từ sinh vật biển
Table 1: Some drugs in stage of clinical experiment from marine organisms

Tên chất	Tên loài	Hoạt tính	Giai đoạn
Ara-A, Ara-C	<i>Cryptotethia crypta</i>	Chống vi rút	Điều trị
APL (aplidine)	<i>Apidium albicans</i>	Chống ung thư	Lâm sàng pha II
Bryostatin 1	<i>Bugula neritina</i>	Chống ung thư	Lâm sàng pha II
ET-743	<i>Ecteinascidia turbinata</i>	Chống ung thư	Lâm sàng pha III
GTS-21	<i>Amphiporus lactifloreus</i>	Chống Alzheimer	Lâm sàng pha II
Kahalalide F	<i>Bryopsis</i> sp.	Chống ung thư	Lâm sàng pha II
Manoalide	<i>Luffarriella variabilis</i>	Kháng viêm	Lâm sàng pha II
Manzamine A	<i>Pachypellina</i> sp.	Kháng lao, chống sốt rét	Lâm sàng pha I
Ziconotide(MVIIA)	<i>Conus</i> sp.	Giảm đau	Lâm sàng pha III

Với chiều dài bờ biển hơn 3.000 km và hơn 1 triệu km² diện tích vùng biển, đất nước ta sở hữu một nguồn lợi tài nguyên sinh vật biển vô cùng quý giá. Theo thống kê, Việt Nam có khoảng 12.000 loài sinh vật biển, bao gồm 2.038 loài cá, 6.000 loài động vật đáy, 635 loài rong biển và hàng ngàn loài động thực vật phù du [4, 7]. Tuy nhiên, sự quan tâm khai thác tiềm năng từ các loài động vật biển như bọt biển, da gai, san hô mềm chưa nhiều mặc dù chúng tồn tại với một số lượng lớn và rất đa dạng về mặt sinh học ở vùng biển nước ta. Ví dụ, ngành động vật da gai chiếm tỷ lệ rất cao (29% tổng lượng sinh vật đáy ở vịnh Bắc Bộ, 38% vùng biển Thuận Hải-Minh Hải, 51% ở vịnh Vân Phong, Nha Trang). Tính riêng ở bãi Vạn Bội, Vạn Hà, sao biển có khả năng khai thác 7,5 tấn/năm [5, 8, 14]. Ngoài sao biển còn có thể khai

thác các loài bọt biển, hải sâm đen, vênh, san hô mềm, cầu gai...Việc quan tâm, đánh giá và khai thác đúng mức những nguồn dược liệu này sẽ giúp bảo tồn các nguồn gen quý, phát triển những vùng nguyên liệu mới, công nghệ mới, tạo ra những sản phẩm phục vụ đời sống con người. Hơn nữa, nếu thành công, giá trị kinh tế thu được là rất to lớn.

Lĩnh vực nghiên cứu nguồn hợp chất tự nhiên biển ở nước ta bắt đầu từ những năm 60 - 70 của thế kỷ 20. Tuy nhiên, từ đó cho đến nay cũng không có nhiều công trình khoa học liên quan được công bố. Các nghiên cứu hầu hết tập trung vào xác định một số thành phần hoá học và hàm lượng các nhóm hợp chất lipid, protein, các nguyên tố đa/vi lượng, hay các nghiên cứu về tác động dược học của các nhóm chất, các độc tố biển [9, 10]. Các kết quả này dù ít nhưng cũng chỉ

ra tiềm năng khai thác và sử dụng nguồn lợi sinh vật biển. Những nghiên cứu sàng lọc hóa học theo định hướng hoạt tính sinh học thực sự bắt đầu từ những năm cuối thế kỷ 20, được thực hiện bởi Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên và các đơn vị phối hợp. Từ những nghiên cứu này, đã phát hiện rất nhiều các sinh vật biển có hoạt tính độc tế bào, chống ôxy hóa, chống vi sinh vật kiểm định. Mặt khác, hàng loạt các hợp chất phức tạp, một số hợp chất điển hình cũng được phân lập và xác định cấu trúc. Những công trình nghiên cứu trên đã đóng góp một phần hiểu biết về nguồn dược liệu biển Việt Nam, gợi ra hướng nghiên cứu mới nhằm khai thác hợp lý và hiệu quả nguồn lợi tài nguyên sinh vật biển nước ta.

II. MỘT SỐ KẾT QUẢ TRONG LĨNH VỰC NGHIÊN CỨU CÁC CHẤT CÓ HOẠT TÍNH SINH HỌC TỪ SINH VẬT BIỂN VIỆT NAM

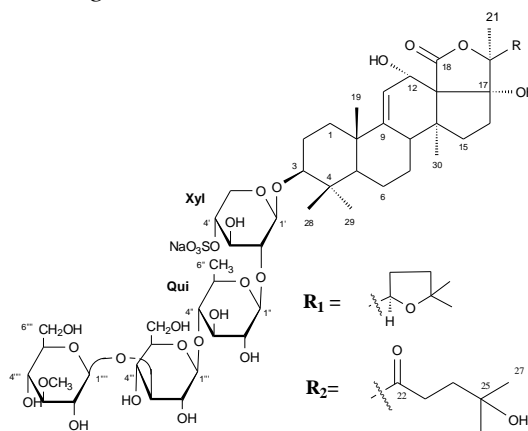
Sàng lọc hóa học theo định hướng hoạt tính sinh học là một trong những phương pháp phổ biến trên thế giới hiện nay nhằm phát hiện các hoạt chất sinh học từ tự nhiên. Phương pháp này đòi hỏi phải có trang thiết bị hiện đại, đồng bộ và đội ngũ cán bộ liên ngành. Tuy nhiên, với thời gian nhanh, hiệu quả, độ tin cậy cao, các phương pháp này đang được nhiều trung tâm trên thế giới sử dụng như là công cụ hàng đầu để phát hiện ra các dược tố mới. Từ quá trình sàng lọc quy mô lớn trong khuôn khổ chương trình nghiên cứu cấp nhà nước KC 09.15 (2003-2005) đối với 400 loài sinh vật biển, chúng tôi đã phát hiện rất nhiều mẫu sinh vật có hoạt tính mạnh, có tiềm năng khai thác các hoạt chất sinh học quý. Đặc biệt, các nhóm sinh vật bọt biển, da gai và san hô mềm biểu hiện khả năng đa dạng trong hoạt tính chống ôxy hóa, độc tế bào, kháng sinh và kháng MAO (Monoamine Oxidase Inhibitory

Activity). Thậm chí có những loài không chỉ chứa dược liệu mà còn phát triển mạnh, tạo sinh khối lớn, có tiềm năng trở thành vùng dược liệu biển lớn ở nước ta [4, 5, 8]. Từ những kết quả này, một số đối tượng chứa các hoạt chất mạnh được lựa chọn để nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học.

Thông qua các chương trình khoa học công nghệ cấp nhà nước KC09.15 (2003-2005) và KC09.09 (2006-2010), rất nhiều hợp chất điển hình đã được phân lập và xác định, trong đó một số hợp chất mới đã được ghi danh vào từ điển hợp chất thiên nhiên của thế giới. Các đối tượng có khả năng chứa các hoạt chất sinh học được lựa chọn dựa vào kết quả của quá trình sàng lọc ban đầu. Các mẫu sau khi thu thập được tiến hành tách chiết bằng các phương pháp sắc ký phân lớp, sắc ký cột pha thường và pha đảo, sắc ký lớp mỏng (TLC) và sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Các hợp chất phân lập này được xác định cấu trúc bằng các phương pháp hóa học hiện đại như phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), phổ khối (MS), phổ tử ngoại (UV), phổ hồng ngoại (IR)...Sau đó, tiến hành thử nghiệm hoạt tính thử cấp nhằm phát hiện các dược tố mới phát triển trong các giai đoạn thử nghiệm tiếp sau. Bằng quy trình nghiên cứu kỹ lưỡng và bài bản như vậy, đã phân lập và xác định cấu trúc được khoảng 100 hợp chất từ các loài sinh vật biển khác nhau. Trong số đó, rất nhiều các hợp chất giá trị đã được phát hiện. Những kết quả thu được góp phần khẳng định giá trị dược học sẵn có của các sinh vật biển Việt Nam, đồng thời mở ra những định hướng mới trong nghiên cứu và khai thác tiềm năng sinh vật biển. Do khuôn khổ báo cáo có hạn, chúng tôi xin giới thiệu một số kết quả nghiên cứu điển hình trên các nhóm sinh vật có khả năng sinh dược tố như da gai (hải sâm và sao biển), bọt biển và san hô mềm.

Thông qua phương pháp sàng lọc, chúng tôi nhận thấy các loài hải sâm thuộc chi *Holothuria* có hoạt tính kháng sinh, độc tế bào và kháng MAO rất đáng quan tâm. Do đó, các đối tượng này được lựa chọn nghiên cứu sâu hơn về hóa học. Bằng các phương pháp sắc ký, chúng tôi phân lập được một số hợp chất, trong đó đáng chú ý là nhóm chất Holothurin với nhiều hoạt tính quý như chống viêm khớp dạng thấp và viêm xương khớp, kháng nấm và chống ung thư [6]. Điển hình, đã phát hiện hàm lượng cao của Holothurin A và B ở ba loài hải sâm *H. vagabunda*,

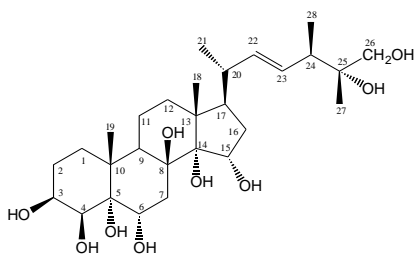
H. scabra, *H. mastensii*. Ngoài ra, một loạt các dẫn xuất Holothurin mới có hoạt tính gây độc tế bào cũng đã được phát hiện [9, 14]. Với những kết quả trên, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu hoàn thiện quy trình tách chiết và đăng ký hai bằng độc quyền sáng chế với quy trình phân lập hai hoạt chất Holothurin A (1) và Holothurin W3A (2) - một chất mới lần đầu tiên được biết đến trong tự nhiên (Bằng độc quyền sáng chế số 5846 cấp ngày 23.8.2006 của Cục sở hữu trí tuệ Việt Nam).



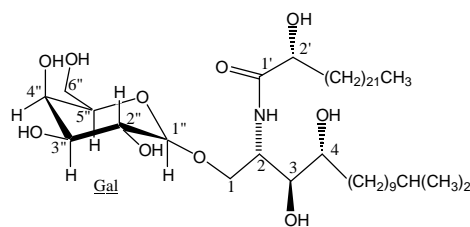
1- 2

Sao biển *Archaster typicus* cũng là một đối tượng chính của quá trình sàng lọc hoạt tính và đã phân lập được hơn 10 hợp chất có hoạt tính sinh học từ loài này, bao gồm ba hợp chất steroid hiếm, ví dụ hợp chất (3) có cấu trúc khá đặc biệt với sự có mặt của nhiều nhóm hydroxy. Cho tới nay mới chỉ có 9 hợp chất steroid

thuộc khung này được công bố trên thế giới và rất điển hình cho các loài sao biển thuộc chi *Archaster*. Ngoài ra, một hợp chất mới khung cerebosit là Archastercereboside (4) với hoạt tính sinh học rất đáng quan tâm cũng được phân lập từ loài *A. typicus* [10].



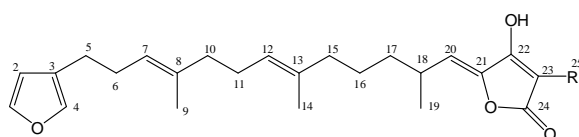
3



4

Nghiên cứu hóa học và hoạt tính sinh học đối với các loài bọt biển cũng đạt được một số kết quả đáng quan tâm. Hai hợp chất quan trọng là Variabilin (5) và 7E, 12E, 20E-variabilin (6) được phân tách từ dịch chiết methanol của loài bọt biển *Icrinia echinata*. Các hợp chất này có hoạt tính gây độc tế bào rất ấn tượng trên các dòng tế bào thử nghiệm. Variabilin có IC₅₀ đối với các dòng KB

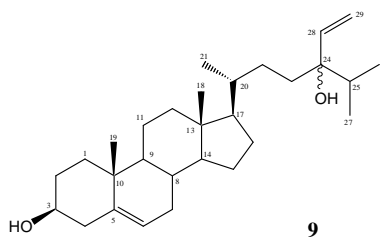
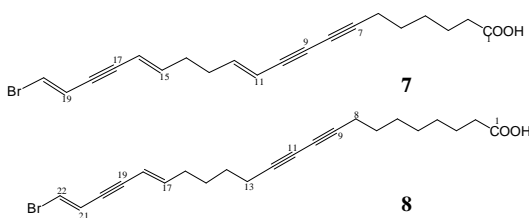
(tế bào ung thư biểu mô), Hep-2 (TB ung thư gan) và FI (TB ung thư màng tử cung) lần lượt là 5,0 µg/ml, 2,3 µg/ml và 1,6 µg/ml; 7E,12E,20E-variabilin có IC₅₀ đối với các dòng KB, Hep-2 và FI lần lượt là 1,23 µg/ml, 3,32 µg/ml và 6,12 µg/ml. Kết quả trên có tính định hướng cho các nghiên cứu phát triển các dược chất chống khối u từ nhóm chất này [11].



5: R= CH₃
6: R= OCH₃

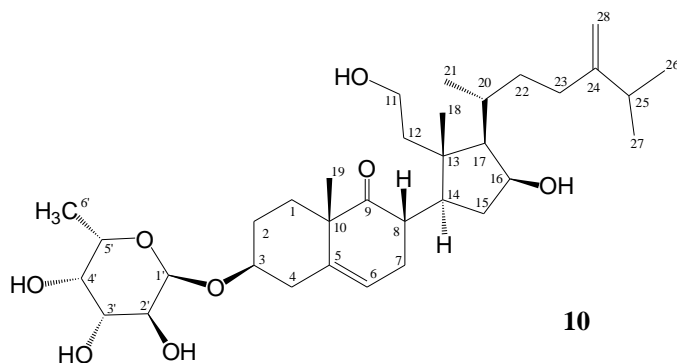
Hai hợp chất axit axetylenic chứa brom (7, 8) điển hình được phân lập từ loài bọt biển *Xetospongia testudinaria*. Đây cũng là những hợp chất mới, lần đầu tiên được phân lập từ tự nhiên. Đã có nhiều công bố về khả năng ức chế rất tốt đối với enzyme HIV protease (một enzyme liên quan đến quá trình sao mã của vi rút HIV) của nhóm chất này [12]. Đặc biệt, trong quá trình phân lập hoạt chất từ loài *X. testudinaria*, chúng tôi đã

tách chiết thành công hàm lượng khá cao saringosterol (9) có hoạt tính kháng lao mạnh nhất trong các hoạt chất kháng lao được biết đến từ các loài thực vật tự nhiên (nồng độ ức chế tối thiểu MIC với dòng vi khuẩn lao *M. tuberculosis* đạt giá trị 0,25 µg/ml) [2]. Hợp chất quan trọng này hoàn toàn có thể trở thành đối tượng nghiên cứu phát triển các dược chất chống lao hiệu quả.



Những nghiên cứu hóa học đối với loài san hô mềm *Cladiella* sp. cũng đem lại nhiều kết quả thú vị. Trong số 3 hợp chất mới được phân lập, đáng lưu ý là

hợp chất cladiasterol (10) - một secosterol có gắn phân tử đường lần đầu tiên được biết đến và có nhiều hoạt tính đáng quan tâm.



Những kết quả nghiên cứu cơ bản như chiết tách, phân lập, sàng lọc hoạt tính sinh học và xác định cấu trúc các hoạt chất, cũng như tìm kiếm nguồn hoạt chất mới từ sinh vật biển sẽ tạo cơ sở cho các nghiên cứu ứng dụng và triển khai nhằm tạo các sản phẩm có giá trị cao phục vụ cho y, dược, công nghiệp thực phẩm và đời sống cộng đồng.

III. KẾT LUẬN

Những kết quả nghiên cứu về hóa học theo định hướng hoạt tính sinh học từ sinh vật biển Việt Nam trong thời gian gần đây đã chứng minh khả năng ứng dụng to lớn của các hợp chất thiên nhiên biển trong lĩnh vực y-dược học và đời sống. Những kết quả này cho thấy tiềm năng hứa hẹn của nguồn dược liệu biển nước ta và cần thiết có sự quan tâm, đầu tư hơn nữa về lĩnh vực nghiên cứu các hoạt chất sinh học từ sinh vật biển. Nghiên cứu, khai thác và phát triển các hợp chất có hoạt tính sinh học từ sinh vật biển Việt Nam đang và sẽ là hướng đi đúng đắn, phát triển các sản phẩm tự nhiên phục vụ cuộc sống trong thế kỷ 21 - “Thế kỷ chinh phục đại dương” của loài người.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Battershill C., M. Jaspars, P. Q. Long, 2005. *Biologist*, 52(2): 107-114.
2. Brent R. C., 2003. *Nat. Prod. Rep.*, 20, 535-557.
3. Brucker A.W., 2002. *Issues in Science and Technology*, 39-44.
4. Hương L.M., C.V. Minh, H.T. Hương, T.T.H. Ha, Đ.C. Thung, 2005. *Tạp chí Dược học*, 345, 12-14.
5. Hương L.M., C.V. Minh, H.T. Hương, T.N. Hằng, P.Q. Long, Đ.C. Thung, 2005. *Tạp chí Dược học*, 350, 11-12.
6. Idid S. Z., D. M. Jalaludin, B. H. Ridzwan, A. Bukhori, S. Nor Hazlinah, C. C. Hoo, L. K. Marthivarman, 2001. *Pakis J Bio Sci.*, 4(10): 1291-1293.
7. Minh C.V., P.V. Kiem, N.H. Dang, 2006. *ASEAN Journal on S&T for Development*, 22(4): 297-311.
8. Minh C.V., P.V. Kiem, L.M. Huong, 2004. *Arch. Pharm. Res.*, 27(7): 734-737.
9. Minh C.V., P.V. Kiem, L.M. Huong, P.Q. Long, Y.H. Kim, 2005. *Tạp chí Hóa học*, 43(6): 768-772.
10. Minh C.V., N.V. Thanh, N.X. Cuong, P.V. Kiem. A new galactocerebroside from the starfish. *Archaster typicus*. *Nat. Prod. Comm.* (submitted).
11. Minh C.V., P.V. Kiem, H.T. Hương, N.X. Cuong, P.Q. Long, N.H. Nam, 2005. *Tạp chí Hóa học*, 43(6): 499-502.
12. Patil A.D., W.C. Kokke, S. Cochran, T.A. Francis, T. Tomszek, J.W.

Westley, 1992. J. Nat. Prod., 55, 1170-1177.
13. Proksch P., R. Edrada-ebel, R. Ebel, 2003. Mar. Drugs, 1, 5-17.

14. Thanh N.V., N.H. Dang, P.V. Kiem, N.X. Cuong, H.T. Huong, C.V. Minh, 2006. ASEAN Journal on S&T for Development, 23(4): 253-259.

Người nhận xét:

- TS. Bùi Minh Lý
- TS. Đào Việt Hà