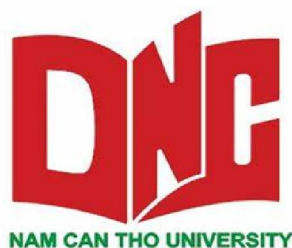


**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NAM CẦN THƠ
KHOA Y**



Đề tài nghiên cứu khoa học

**KHẢO SÁT SƠ BỘ THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ
HOẠT TÍNH ỨC CHẾ ENZYME α -GLUCOSIDASE
CỦA CAO CHIẾT TẢO NÂU (*SARGASSUM*)**

Chủ nhiệm đề tài: ThS. Nguyễn Duy Tuấn

**Thành viên: TS. Thái Thị Cẩm
ThS. Trần Duy Khang
DS. Trần Lê Thiện Huy**

Cần Thơ 12/2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NAM CẦN THƠ

KHOA Y



Đề tài nghiên cứu khoa học

**KHẢO SÁT SƠ BỘ THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ
HOẠT TÍNH ỨC CHẾ ENZYME α -GLUCOSIDASE
CỦA CAO CHIẾT TẢO NÂU (*SARGASSUM*)**

Chủ nhiệm đề tài: ThS. Nguyễn Duy Tuấn

Thành viên: TS. Thái Thị Cẩm
ThS. Trần Duy Khang
DS. Trần Lê Thiện Huy

Cần Thơ 12/2023

DANH SÁCH THÀNH VIÊN THAM GIA NGHIÊN CỨU

| TT | Họ và tên | Học hàm, học vị | Chuyên môn | Đơn vị công tác | Chức danh dự kiến trong đề tài (chủ nhiệm, thư ký, chuyên gia,...) |
|----|-------------------|-----------------|------------------------|-----------------|--|
| 1 | Nguyễn Duy Tuấn | ThS | Hóa hữu cơ | Khoa Y | Chủ nhiệm |
| 2 | Thái Thị Cẩm | TS | Dược | Khoa Dược | Thành viên |
| 3 | Trần Duy Khang | ThS | Hóa hữu cơ; Dược sĩ | Khoa Dược | Thành viên |
| 4 | Trần Lê Thiện Huy | DS | Dược sĩ | TT THTN | Thành viên |

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, xã hội càng tiến bộ, thì chất lượng cuộc sống cũng ngày càng được bảo đảm. Đặc biệt là về vấn đề sức khỏe, luôn được con người quan tâm hàng đầu. Để chữa bệnh con người không chỉ dùng những loại thuốc được tạo ra từ quá trình tổng hợp mà còn sử dụng các loại thảo dược có nguồn gốc từ thiên nhiên. Hướng nghiên cứu thảo dược và các loại cây có hoạt tính sinh học cao đang được nhiều người quan tâm nghiên cứu. Sở dĩ thảo dược được con người sử dụng nhiều là do ngoài tác dụng chữa bệnh còn hỗ trợ để bồi bổ sức khỏe, sử dụng an toàn, đơn giản, dễ tìm và không gây ra những tác dụng phụ.

Việt Nam là một nước nhiệt đới gió mùa, khí hậu thuận lợi cho sự phát triển của các thảm thực vật, từ rừng núi đến đồng bằng thực vật phát triển đa dạng, đem đến cho nước ta nguồn nguyên liệu thảo dược phong phú. Hơn nữa, Việt Nam cũng là một quốc gia có nhiều mặt giáp biển. Việc giáp biển mang đến nhiều lợi ích như cung cấp nguồn tài nguyên phong phú và đa dạng. Trong đó tài nguyên về thực vật biển cũng là những nguồn cung cấp nguyên liệu làm thuốc quan trọng, đang được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu.

Tảo biển (Rong biển) là thực vật thủy sinh có đời sống gắn liền với nước. Chúng có thể đơn bào, đa bào sống thành quần thể, có kích thước hiển vi hoặc có thể dài hàng chục mét. Hình dạng có thể là hình cầu, hình sợi, hình phiến lá hay hình thù rất đặc biệt. Tảo biển thường phân bố ở các vùng nước mặn, nước lợ, cửa sông, vùng triều sâu, vùng biển cạn,... Chúng hấp thụ một lượng thức ăn phong phú hay trôi dạt từ lục địa ra. Đời sống của tảo biển phụ thuộc vào các yếu tố: địa bàn sinh trưởng, nhiệt độ, ánh sáng, độ muối, độ pH, muối dinh dưỡng, khí hòa tan, mức triều, sóng, gió, hải lưu. Tảo biển ngày càng được sử dụng nhiều trên thế giới để ứng dụng vào nhiều lĩnh vực khác nhau. Trong đó việc sử dụng tảo để làm thực phẩm chiếm một vai trò đáng kể. Gần đây nguồn tảo biển trở thành nguồn thực phẩm và thảo dược quý giá và có nhu cầu ngày càng tăng, cung cấp nhiều chất dinh dưỡng tốt cho cơ thể và phòng chống nhiều bệnh tật. [19]

Trên thế giới, việc nghiên cứu về tảo biển đã được tiến hành từ thế kỷ XVIII, vào thời kỳ đó cũng có những công trình công bố về tảo biển thuộc vùng biển Việt Nam. Đó là những công trình điều tra, nghiên cứu về sinh thái, sinh học của tảo. Việc nghiên cứu sử dụng tảo biển mới được đẩy mạnh trong thế kỷ XX. Các công bố về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài tảo biển còn rất hạn chế. [19]

So với các nước vùng Đông Nam Á, nước ta thuộc vào nước có nguồn tảo biển phong phú và đa dạng. Với tổng số gần 800 loài tảo tìm thấy ở vùng biển Việt Nam, các tác giả Việt Nam đều cùng một quan điểm xếp chúng vào 4 ngành trong hệ thống phân loại 10 ngành của Gollerbakh năm 1977: Tảo lam *Cyanophyta*; Tảo đỏ *Rhodophyta*; Tảo nâu *Phaeophyta* và tảo lục *Chlorophyta*. Trong đó, ba ngành có giá trị kinh tế cao là tảo lục, tảo nâu, tảo đỏ. [19]

Ngành tảo lục: Có trên dưới 360 chi và hơn 5.700 loài, nét đặc trưng của loài tảo này là có màu lục, sản phẩm quang hợp là tinh bột. Tảo có dạng tế bào đơn giản hoặc phức tạp, nhiều tế bào hình phiến hay dạng sợi, chia nhánh hoặc không chia nhánh. Trừ một số trường hợp tảo chỉ là tế bào trần không có vỏ còn lại đại đa số có vỏ riêng như chất pectin hay cellulose. [19]

Ngành tảo nâu: Có trên 190 chi, hơn 900 loài, phần lớn sống ở biển, số chi, loài tìm thấy tảo nước ngọt không nhiều lắm. Tảo có cấu tạo nhiều tế bào dạng màng giả, dạng phiến, dạng sợi đơn giản, một hàng tế bào chia nhánh, dạng ống hoặc phân nhánh phức tạp hơn thành dạng cây có gốc, rễ, lá, thân. Tảo sinh trưởng ở đỉnh, ở giữa, ở gốc các tảo. Ngoài ra, do các tế bào tảo dạng phiến chia cắt sinh trưởng khuếch tán gọi là sinh trưởng bề mặt. [19]

Ngành tảo đỏ: Có khoảng 400 chi và khoảng 2.500 loài, thuộc nhiều họ, phần lớn sống ở biển, có cấu tạo từ nhiều tế bào, trừ một số dạng từ một tế bào hay quần thể. Tảo có dạng hình trụ dẹp dài, phiến chia hoặc không chia nhánh. Sinh trưởng chủ yếu ở đỉnh, ở giữa đốt hay phân tán. Đặc trưng của loài này chứa nhiều sắc tố đỏ. [19]

Năm 1954 Womersley công bố hệ thống phân loại *Sargassum* (Tảo nâu) của mình ở Úc, cùng với các tác giả đương thời ở nhiều vùng khác nhau trên thế giới như Phạm Hoàng Hộ của Việt Nam, Chou, Chiang của Taiwan và Ang, Trono của

Philippin, đến nay tổng số loài của chi *Sargassum* đã lên đến hơn 500. *Sargassum* tại Việt Nam hiện nay có khoảng 70 loài (theo Thực vật chí Việt Nam), số lượng loài *Sargassum* phân bố trên các nước luôn thay đổi theo các nghiên cứu gần đây nên khó có thể kết luận hiện nay *Sargassum* phân bố nhiều nhất ở nước nào. Riêng tính đến 1998 thì nhiều nhất là ở Ấn Độ, Philippin và Việt Nam. Phân bố về số loài tảo biển tuy đã được tổng kết sơ bộ, tuy nhiên, tùy theo diện tích lãnh hải, điều kiện môi trường phát triển, kỹ thuật nuôi trồng khác nhau của các nước mà sản lượng tảo biển trên thế giới khác với phân bố các loài tảo. [9], [19]

Tảo biển đã được sử dụng từ rất sớm, khoảng 2700 năm trước công nguyên ở Trung Quốc. Sze Teu đã viết rằng 600 năm trước công nguyên, tảo biển đã được chế biến thành một món ăn quý dành cho vua chúa. Thuốc "trường sinh bất tử" được vị hoàng đế đầu tiên của Trung Hoa là Tần Thủy Hoàng sử dụng vào năm 200 trước công nguyên đã được khoa học hiện đại chứng minh đó chính là thành phần của tảo nâu sau hơn 2000 năm. Tại Nhật tảo nâu đã được sử dụng làm thức ăn từ thế kỷ thứ V, cuối năm 2001 cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm đã xem xét và cấp phép cho các sản phẩm thực phẩm chức năng của Nhật được bổ sung thêm thành phần fucoidan để tăng cường hệ miễn dịch, giảm cholesterol, giảm mỡ máu,... và trở thành thực phẩm hỗ trợ trị bệnh nan y phổ biến của nước Nhật. Tảo biển đã được dùng làm thực phẩm trên toàn thế giới rất quen thuộc với chúng ta (tảo đỏ: *agar*, *carrageenan*, tảo nâu: *alginate*), chúng cũng là nguồn bổ sung dưỡng chất (protein, vitamin, khoáng vi lượng) cho thức ăn nuôi tôm, thức ăn gia súc, được dùng trong công nghiệp dệt, nhuộm, mực in, sơn, hàn điện, lọc và hấp phụ các hợp chất, công nghiệp giấy, trong kỹ thuật nuôi cấy vi sinh, điện di, nó còn là nguyên liệu không thể thiếu cũng như trong công nghiệp nước giải khát và đồ hộp, socola, mỹ phẩm cao cấp (*carrageenan*), ngoài ra tảo biển còn dùng làm chất kích thích sinh trưởng với chất oligoalginate, laminaran (tảo nâu) cùng các hợp chất như auxin, gibberelin, cytokinin (trong hầu hết các ngành tảo). Tảo biển còn được sử dụng chữa trị ung thư theo các bài thuốc gia truyền dưới dạng dùng kết hợp với các thuốc khác và polyphenol trong tảo nâu cũng được dùng làm trà chống lão hoá. Đặc biệt trong thời gian gần đây tại trung tâm đăng ký phát minh sáng chế của Mỹ đã có qui trình sản xuất biodiesel từ tảo. Tảo biển thuộc vào

loại những tài nguyên quý hiếm, có vai trò quan trọng và là một trong những nguồn lợi kinh tế lớn trong nền kinh tế biển. [19]

Với các định hướng nêu trên, nhóm nghiên cứu tiến hành đề xuất đề tài "***Khảo sát sơ bộ thành phần hóa học và hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase của cao chiết tảo nâu (*Sargassum*)***" nhằm góp phần cung cấp những thông tin về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học của loài tảo nâu (*Sargassum*).



Tảo nâu *Sargassum sandei*

TÓM TẮT

Tảo nâu (*Sargassum sandei*) được thu tại Bãi Thơm, Thành phố Phú Quốc, Tỉnh Kiên Giang. Tọa độ thu mẫu 10°24'04.9"N 104°03'22.5"E. Mẫu tảo sau khi thu được rửa sạch, loại bỏ phần hư, phơi khô, xay thành bột. Tiến hành ngâm dầm với ethanol, cô quay thu được cao ethanol tổng (60,335 gam). Từ cao ethanol tổng đã điều chế các cao có độ phân cực khác nhau với thu suất (%) so với cao ethanol tổng ban đầu lần lượt là: Cao Hex (48,90%), cao C (18,00%), cao Ea (8,84%), cao Bu (20,67%).

– Từ cao chiết ethanol tổng của tảo nâu *Saragassum sandei* sử dụng phương pháp hóa học định tính sơ bộ thành phần hóa học tìm thấy các họ hợp chất như: Triterpenoid, flavonoid, polyphenol, tanin, proanthocyanidine, saponin, chất béo và các chất khử.

– Kết quả thử hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase đối với 5 loại cao gồm: Cao ethanol tổng (Et tổng), cao *n*-hexane (Hex), cao dichloromethane (C), cao ethyl acetate (Ea) và cao *n*-butanol (Bu) cho thấy hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase xuất hiện ở cả 5 loại cao tại nồng độ khảo sát.

MỤC LỤC

| | |
|--|-----------|
| DANH SÁCH THÀNH VIÊN THAM GIA NGHIÊN CỨU | i |
| ĐẶT VẤN ĐỀ | ii |
| TÓM TẮT | vi |
| MỤC LỤC | vii |
| DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT..... | ix |
| DANH MỤC HÌNH | x |
| DANH MỤC SƠ ĐỒ..... | xii |
| DANH MỤC BẢNG..... | xiii |
| CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN..... | 1 |
| 1.1 Giới thiệu về họ tảo nâu <i>Sargassum</i> | 1 |
| 1.1.1 Tổng quan về tảo nâu <i>Sargassum</i> | 1 |
| 1.1.2 Một số loài tảo nâu <i>Sargassum</i> | 1 |
| 1.1.3 Thành phần hóa học và hoạt tính của tảo nâu <i>Sargassum</i> | 5 |
| 1.2 Đặc điểm thực vật và phân bố về tảo nâu <i>Saragassum Sandei</i>..... | 12 |
| 1.3 Tình hình nghiên cứu về tảo nâu <i>Sargassum</i> | 14 |
| 1.3.1 Nghiên cứu trong nước..... | 14 |
| 1.3.2 Nghiên cứu ngoài nước | 17 |
| 1.4 Tổng quan về bệnh đái tháo đường..... | 19 |
| 1.4.1 Giới thiệu về bệnh đái tháo đường..... | 19 |
| 1.4.2 Phân loại bệnh đái tháo đường | 21 |
| 1.4.3 Biểu chứng của bệnh đái tháo đường | 23 |
| 1.4.4 Phương pháp điều trị bệnh đái tháo đường | 24 |
| 1.5 Phương pháp thử nghiệm hoạt tính đái tháo đường | 27 |
| 1.5.1 Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase | 27 |
| 1.5.2 Hoạt tính ức chế enzyme α -amylase..... | 31 |
| CHƯƠNG II: THỰC NGHIỆM | 33 |
| 2.1 Đối tượng và phương pháp nghiên cứu..... | 33 |
| 2.1.1 Đối tượng nghiên cứu..... | 33 |
| 2.1.2 Địa điểm và thời gian nghiên cứu..... | 33 |
| 2.1.3 Phương tiện và phương pháp nghiên cứu | 33 |
| 2.2 Điều chế các loại cao | 34 |
| 2.2.1 Điều chế cao ethanol tổng..... | 34 |

| | |
|--|-----------|
| 2.2.2 Điều chế cao <i>n</i> -hexane | 35 |
| 2.2.3 Điều chế cao dichloromethane | 36 |
| 2.2.4 Điều chế cao ethyl acetate | 37 |
| 2.2.5 Điều chế cao <i>n</i> -butanol | 37 |
| 2.3 Định tính sơ bộ thành phần hóa học cao chiết tảo nâu <i>Sargassum sandei</i>..... | 38 |
| 2.3.1 Chuẩn bị cho quá trình định tính | 38 |
| 2.3.2 Định tính bằng SKLM..... | 39 |
| 2.4 Khảo sát hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase của cao chiết tảo nâu (<i>Sargassum</i>) | 40 |
| CHƯƠNG III: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN | 42 |
| 3.1 Kết quả định tính thành phần hóa học của cao chiết tảo nâu <i>Sargassum sandei</i>..... | 42 |
| 3.1.1 Thuốc thử dùng trong quá trình định tính | 42 |
| 3.1.2 Bảng kết quả định tính thành phần hóa học | 43 |
| 3.1.3 Kết quả định tính bằng sắc ký lớp mỏng | 46 |
| 3.2 Kết quả thử nghiệm hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase của cao chiết tảo nâu <i>Sargassum sandei</i>..... | 47 |
| 3.2.1 Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase trên cao ethanol tổng | 47 |
| 3.2.2 Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase trên cao <i>n</i> -hexane (<i>Hex</i>) | 48 |
| 3.2.3 Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase trên cao dichloromethane (<i>C</i>) | 49 |
| 3.2.4 Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase trên cao ethyl acetate (<i>Ea</i>) | 50 |
| 3.2.5 Hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase trên cao <i>n</i> -butanol (<i>Bu</i>) | 51 |
| 3.2.6 Nhận xét về hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase trên các cao chiết tảo nâu..... | 52 |
| CHƯƠNG IV: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ | 53 |
| 4.1 Kết luận | 53 |
| 4.2 Kiến nghị | 53 |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO | 54 |
| A. TÀI LIỆU TIẾNG VIỆT..... | 54 |
| B. TÀI LIỆU TIẾNG ANH..... | 57 |

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

| Từ viết tắt | Tiếng Anh | Tiếng Việt hoặc giải nghĩa |
|-------------|----------------------------------|---|
| Hex | <i>n</i> -hexane | $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ |
| DC | Dichloromethane | CH_2Cl_2 |
| C | Chloroform | CHCl_3 |
| Ea | Ethyl acetate | $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ |
| EtOH | Ethanol | $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ |
| MeOH | Methanol | CH_3OH |
| M | Mass | Khối lượng phân tử |
| MIC | Minimal Inhibitory Concentration | Nồng độ ức chế tối thiểu |
| R_f | Retention factor | Hệ số di chuyển |
| SKLM (TLC) | Thin layer chromatography | Sắc ký lớp mỏng |

DANH MỤC HÌNH

| | |
|--|----|
| Hình 1.1 Tảo <i>Sargassum binderi</i> | 2 |
| Hình 1.2 Tảo <i>Sargassum heniphyllum</i> | 3 |
| Hình 1.3 Tảo <i>Sargassum oligocystum</i> | 4 |
| Hình 1.4 Tảo <i>Sargassum mcclurei</i> | 4 |
| Hình 1.5 Tảo <i>Sargassum polycystum</i> | 5 |
| Hình 1.6 Cấu trúc của fucoidan từ <i>Fucus vesiculosus</i> | 7 |
| Hình 1.7 Phloroglucinol..... | 10 |
| Hình 1.8 Tetrafucol A..... | 10 |
| Hình 1.9 Tetraphlorethol B..... | 10 |
| Hình 1.10 Fucodiphlorethol A..... | 10 |
| Hình 1.11 Tetraisofuhalol..... | 10 |
| Hình 1.12 Tảo nâu <i>Sargassum sandei</i> | 12 |
| Hình 1.13 Cấu tạo tảo nâu <i>Sargassum Sandei</i> | 13 |
| Hình 1.14 Cấu trúc hóa học của hợp chất zonarol..... | 17 |
| Hình 1.15 Biến chứng tiểu đường..... | 21 |
| Hình 1.16 Cơ chế thủy phân liên kết α -glycosyl thông qua thể nucleophil..... | 28 |
| Hình 1.17 Cơ chế thủy phân liên kết α -glycosyl thông qua ion carbenium trung gian..... | 29 |
| Hình 2.1 Tảo nâu <i>Sargassum sandei</i> | 33 |
| Hình 2.2 Bình ngâm bột tảo nâu <i>Sargassum sandei</i> | 35 |
| Hình 2.3 Cao ethanol tổng..... | 35 |
| Hình 2.4 Cao <i>n</i> -hexane..... | 36 |
| Hình 2.5 Cao dichloromethane..... | 36 |

| | |
|---|----|
| Hình 2.6 Cao ethyl acetate..... | 37 |
| Hình 2.7 Cao <i>n</i> -butanol | 37 |
| Hình 3.1 Sắc ký dưới bước sóng 254 nm | 46 |
| Hình 3.2 Sắc ký dưới bước sóng 365 nm | 46 |
| Hình 3.3 Sắc ký khi nhúng thuốc thử MS | 47 |
| Hình 3.4 Biểu đồ thể hiện hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase (Cao ethanol tổng)..... | 48 |
| Hình 3.5 Biểu đồ thể hiện hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase (Cao <i>n</i> -hexane) | 49 |
| Hình 3.6 Biểu đồ thể hiện hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase (Cao dichloromethane) | 50 |
| Hình 3.7 Biểu đồ thể hiện hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase (Cao ethyl acetate) | 51 |
| Hình 3.8 Biểu đồ thể hiện hoạt tính ức chế enzyme α -glucosidase (Cao <i>n</i> -butanol).. | 52 |

DANH MỤC SƠ ĐỒ

| | |
|---|----|
| Sơ đồ 1.1 Quá trình hình thành glucose dưới tác dụng của enzyme | 30 |
| Sơ đồ 2.1 Quá trình điều chế các loại cao và khối lượng cao | 38 |
| Sơ đồ 2.2 Chiết suất tảo nâu theo phương pháp Ciuley | 39 |

DANH MỤC BẢNG

| | |
|---|-----------|
| Bảng 1.1 Thành phần hóa học của fucoidan trong một số loại tảo nâu..... | 5 |
| Bảng 1.2 Thành phần hoá học (%) của một số loài tảo biển..... | 6 |
| Bảng 1.3 Hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase của 1 số loài rong nâu..... | 15 |
| Bảng 1.4 Ý nghĩa của kí hiệu enzyme | 27 |
| Bảng 3.1 Kết quả định tính các thành phần hóa học trong tảo nâu <i>Sargassum sandei</i> | 43 |
| Bảng 3.2 Kết quả thử nghiệm hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase trên cao ethanol tổng..... | 47 |
| Bảng 3.3 Kết quả hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase trên cao <i>n</i>-hexane | 48 |
| Bảng 3.4 Kết quả hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase trên cao dichloromethane | 49 |
| Bảng 3.5 Kết quả hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase trên cao ethyl acetate | 50 |
| Bảng 3.6 Kết quả hoạt tính ức chế enzyme α-glucosidase trên cao <i>n</i>-butanol..... | 51 |