

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**Nguyễn Thị Huệ**

**NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH ỨC CHẾ  
ENZYME  $\alpha$ -GLUCOSIDASE VÀ  $\alpha$ -AMYLASE CỦA CÁC  
HỢP CHẤT TỪ LOÀI RONG NÂU**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT**

*Hà Nội - Năm 2026*

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Nguyễn Thị Huệ

NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH ỨC CHẾ  
ENZYME  $\alpha$ -GLUCOSIDASE VÀ  $\alpha$ -AMYLASE CỦA CÁC  
HỢP CHẤT TỪ LOÀI RONG NÂU

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8440114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

Người hướng dẫn 1

Người hướng dẫn 2

A blue ink signature of TS. Lê Hữu Cường, consisting of stylized initials and a horizontal line.

TS. Lê Hữu Cường

A blue ink signature of PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm, consisting of stylized initials and a horizontal line.

PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

*Hà Nội - Năm 2026*

## LỜI CAM ĐOAN

*Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, các kết quả này chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nào khác. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.*

**Tác giả luận văn**



**Nguyễn Thị Huệ**

## LỜI CẢM ƠN

Với lòng biết ơn sâu sắc, em xin gửi lời cảm ơn đến TS. Lê Hữu Cường, PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm đã tận tình hướng dẫn, truyền thụ kiến thức khoa học và hướng dẫn về chuyên môn trong quá trình em học tập, nghiên cứu. Luận văn hoàn thành nhờ sự hỗ trợ từ đề tài nghiên cứu mã số VAST02.03/25-26 do TS. Lê Hữu Cường chủ nhiệm.

Em cũng xin chân thành cảm ơn Ban Lãnh đạo, phòng Đào tạo, các phòng chức năng và các thầy cô của Học viện Khoa học và Công nghệ đã tạo điều kiện và giúp đỡ em trong quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn

Cuối cùng, em xin cảm ơn gia đình, bạn bè đã quan tâm, động viên giúp em hoàn thành luận văn này.

Em xin chân thành cảm ơn!

*Hà Nội, ngày 19 tháng 06 năm 2026*

**Học viên**

**Nguyễn Thị Huệ**

## MỤC LỤC

DANH MỤC KÝ HIỆU, VIẾT TẮT .....	III
DANH MỤC BẢNG .....	IV
DANH MỤC HÌNH ẢNH .....	V
MỞ ĐẦU .....	1
<b>CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU</b> .....	4
1.1. Giới thiệu về bệnh tiểu đường.....	4
1.2. Giới thiệu về rong nâu.....	6
1.2.1. Đặc điểm và phân bố .....	6
1.2.2. Ứng dụng của rong nâu .....	7
1.2.3. Thành phần hóa học của rong nâu đối với bệnh tiểu đường .....	7
1.2.4. Tình hình nghiên cứu tại Việt Nam .....	11
1.3. Giới thiệu loài rong quạt Úc ( <i>Padina australis</i> Hauck) .....	12
1.3.1. Đặc điểm và phân bố .....	12
1.3.2. Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài rong quạt Úc ( <i>Padina australis</i> ).....	12
<b>CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</b> .....	15
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	15
2.1.1. Nguyên liệu .....	15
2.1.2. Thiết bị .....	15
2.1.3. Hóa chất .....	15
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	16
2.2.1. Các phương pháp sinh học .....	16
2.2.1.1. Phương pháp chiết mẫu rong .....	16
2.2.1.2. Phương pháp đánh giá hoạt tính chống tiểu đường .....	16
2.2.2. Các phương pháp hóa học.....	18
2.2.2.1. Phương pháp tách chiết chất .....	18
2.2.2.2. Phương pháp phân lập chất từ các cặn chiết phân đoạn của loài rong quạt Úc ( <i>Padina australis</i> ).....	21
<b>CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN</b> .....	23
3.1. Phân loại định danh 13 loài rong nâu.....	23
3.2. Sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -amylase và $\alpha$ -glucosidase của các cao chiết từ loài rong nâu. ....	26
3.2.1. Hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase .....	27

3.2.2. Hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -amylase.....	29
3.3. Nghiên cứu thành phần hóa học rong quạt Úc ( <i>Padina australis</i> ) .....	32
3.3.1. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ loài rong quạt Úc ( <i>Padina australis</i> ).....	32
3.3.2. Đánh giá tác dụng hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase và $\alpha$ -amylase của các chất tinh sạch phân lập từ rong quạt Úc ( <i>Padina australis</i> ) .....	44
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ</b> .....	46
<b>Kết luận</b> .....	46
<b>Kiến nghị</b> .....	46
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b> .....	47

## DANH MỤC KÝ HIỆU, VIẾT TẮT

Ký hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
<i>p</i> NPG	Cơ chất <i>p</i> -nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside	
DNS	3,5-dinitrosalicylic acid	
IC <sub>50</sub>	Inhibitory Concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50% hoạt động enzyme
MS	Mass spectrometry	Phổ khối lượng
<sup>1</sup> H-NMR	Proton Magnetic Resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
<sup>13</sup> C-NMR	Carbon 13 Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân carbon 13
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity	Tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence	Tương tác dị hạt nhân qua 1 liên kết
$\delta_H$	Proton chemical shift	Độ dịch chuyển hoá học của proton
$\delta_C$	Carbon chemical shift	Độ dịch chuyển hoá học của carbon
s	Singlet	
d	Doublet	
t	Triplet	
q	Quartet	
m	Multiplet	
dd	double of doublets	

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Hình ảnh và phân loại các loài rong nâu. ....	23
Bảng 3.2. Kết quả hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase của các mẫu rong nâu với nồng độ 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ .....	27
Bảng 3.3. Hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -amylase của các cao chiết loài rong nâu với nồng độ 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ .....	29
Bảng 3.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất PA1 và hợp chất tham khảo.....	33
Bảng 3.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất PA2 và hợp chất tham khảo.....	37
Bảng 3.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất PA3 và hợp chất tham khảo .....	40
Bảng 3.7. Hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase và enzyme $\alpha$ -amylase của các hợp chất và các cao chiết phân đoạn từ rong quạt Úc ( <i>Padina australis</i> ) với nồng độ 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ .....	44

## DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 2.1. Cơ chế phản ứng của enzyme lên cơ chất <i>p</i> NPG tạo <i>p</i> -nitrophenol. .....	17
Hình 2.2. Sơ đồ tách chiết, phân lập từ loài rong quạt Úc ( <i>P. australis</i> ).....	20
Hình 3.1. Hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase của các hoạt chất từ các loài rong nâu.....	28
Hình 3.2. Hình ảnh thực nghiệm hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -amylase của các cao chiết rong. ....	31
Hình 3.3. Cấu trúc hóa học của hợp chất PA1.....	32
Hình 3.4. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất PA1.....	34
Hình 3.5. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất PA1.....	34
Hình 3.6. Phổ HSQC của hợp chất PA1.....	35
Hình 3.7. Phổ HMBC của hợp chất PA1.....	35
Hình 3.8. Các tương tác HMBC chính của hợp chất PA1.....	36
Hình 3.9. Cấu trúc hóa học của hợp chất PA2.....	36
Hình 3.10. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất PA2.....	38
Hình 3.11. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất PA2.....	38
Hình 3.12. Phổ HSQC của hợp chất PA2.....	39
Hình 3.13. Cấu trúc hóa học của hợp chất PA3.....	39
Hình 3.14. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất PA3.....	40
Hình 3.15. Phổ $^{13}\text{C-NMR}$ của hợp chất PA3.....	41
Hình 3.16. Phổ HMBC của hợp chất PA3.....	41
Hình 3.17. Cấu trúc hóa học của hợp chất PA4.....	41
Hình 3.18. Phổ $^1\text{H-NMR}$ của hợp chất PA4.....	42
Hình 3.19. Phổ HSQC của hợp chất PA4.....	43
Hình 3.20. Phổ HMBC của hợp chất PA4.....	43
Hình 3.21. Các tương tác HMBC chính của hợp chất PA4.....	44

## MỞ ĐẦU

Bệnh tiểu đường là do rối loạn trong chuyển hóa nội tiết gây ra, đặc trưng bởi tình trạng tăng glucose trong máu do cơ thể thiếu insulin hoặc giảm đáp ứng với insulin, làm ảnh hưởng đến quá trình chuyển hóa carbohydrate. Xét theo cơ chế hình thành, bệnh tiểu đường được phân loại thành hai dạng chính là type 1 và type 2. Bệnh tiểu đường thường liên quan đến bệnh béo phì và có thể gây nhiều biến chứng nguy hiểm ảnh hưởng nghiêm trọng tới tim, thận, thần kinh...

Các biện pháp điều trị phổ biến hiện nay bao gồm liệu pháp tiêm insulin và dùng thuốc hạ đường huyết, tuy mang lại hiệu quả kiểm soát đường huyết nhưng vẫn tồn tại nguy cơ gây tác dụng phụ. Do đó, việc phát hiện và phát triển các hoạt chất tự nhiên an toàn hơn đang trở thành một hướng nghiên cứu tiềm năng. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng các hợp chất chiết xuất từ rong biển có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase, hai enzyme đóng vai trò quan trọng trong quá trình thủy phân carbohydrate. Cơ chế này giúp làm giảm sự hấp thu glucose tại ruột non, qua đó hỗ trợ kiểm soát nồng độ đường huyết, được xem như một hướng đi trong kiểm soát bệnh tiểu đường.

Với đường bờ biển dài trên 3.200 km, Việt Nam có nguồn tài nguyên phong phú và đa dạng cụ thể là các loài rong biển rất đa dạng. Hiện nay, tại Việt Nam đã có một số công trình nghiên cứu tập trung khảo sát hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase và enzyme  $\alpha$ -glucosidase nhằm đánh giá khả năng hỗ trợ điều trị tiểu đường. Theo nghiên cứu của Nguyễn Thế Hân và cộng sự, bảy loài rong nâu thu thập tại vùng biển Khánh Hòa như *Colpomenia sinuosa*, *Padina australis* và một số loài thuộc chi *Sargassum* đã được khảo sát về khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, cho thấy tiềm năng trong hỗ trợ kiểm soát đường huyết [1].

Kể từ thế kỷ XX, rong biển đã trở thành đối tượng nghiên cứu được quan tâm rộng rãi. Tuy nhiên, các nghiên cứu chuyên sâu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của nhóm sinh vật này vẫn còn tương đối hạn chế đặc biệt là việc nghiên cứu ở Việt Nam. Nhiều sản phẩm từ rong biển đã được phát triển theo hướng thực phẩm chức năng ở trong nước. Tuy nhiên, các sản phẩm này chủ yếu mới ở dạng nguyên liệu thô, chưa được tinh chế hoặc định hướng khai thác các hoạt chất có giá trị sinh học cao để làm giàu hoạt chất

định hướng điều trị tiểu đường. Chính vì vậy, việc thực hiện đề tài “*Nghiên cứu hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase của các hợp chất từ loài rong nâu*” là một hướng nghiên cứu có tiềm năng và mang tính cấp thiết trong việc phát triển các giải pháp hỗ trợ điều trị tiểu đường.

### **Mục đích nghiên cứu**

- Đánh giá được khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase của các cao chiết từ 13 loài rong nâu.
- Chiết tách, tinh chế, xác định cấu trúc, đánh giá hoạt tính ức chế enzyme của một loài rong được lựa chọn (rong quạt Úc, *Padina australis*).

### **Nội dung nghiên cứu**

1. Thu thập, định danh 13 loài rong nâu.
2. Tạo mẫu cao chiết ethanol của 13 loài rong nâu.
3. Đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase của cao chiết từ 13 loài rong nâu.
4. Tách chiết hóa học và đánh giá hoạt tính chất tinh sạch từ 1 loài rong lựa chọn (rong quạt Úc, *Padina australis*).

### **Cơ sở khoa học và tính thực tiễn**

Một trong những chiến lược kiểm soát đường huyết là ức chế hoạt tính của hai enzyme  $\alpha$ -amylase và enzyme  $\alpha$ -glucosidase, qua đó làm giảm sự chuyển đổi tinh bột thành glucose sau ăn. Rong nâu chứa nhiều hợp chất sinh học như phlorotannin, fucoidan có khả năng ức chế các enzyme này.

Kết quả nghiên cứu sẽ góp phần khẳng định tiềm năng của rong nâu Việt Nam trong hỗ trợ điều trị tiểu đường, đồng thời làm nền tảng khoa học cho việc phát triển các hướng nghiên cứu khoa học và ứng dụng tiếp theo. Việc nghiên cứu tách chiết và xác định thành phần hóa học của rong cũng góp phần công bố các hoạt chất mới (nếu có), cũng như hoạt tính sinh học chưa được nghiên cứu ở các loài rong Việt Nam.

Kết quả nghiên cứu góp phần định hướng khai thác hiệu quả nguồn rong nâu, nhằm phát triển các sản phẩm thực phẩm chức năng và dược phẩm hỗ trợ điều trị tiểu đường.

### **Những đóng góp của luận văn**

- 13 loài rong nâu được thu thập tại vùng vịnh Nha Trang (tỉnh Khánh Hòa), góp phần bổ sung dữ liệu về đa dạng loài rong biển.

- Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase của các cao chiết 13 loài rong đã được thử nghiệm. Kết quả nhiều loài rong có hoạt tính ức chế mạnh (>80%) lên enzyme  $\alpha$ -glucosidase.

- Từ loài rong *Padina australis* có 4 hợp chất sạch được phân lập và xác định cấu trúc, trong đó hợp chất ricinoleic acid có hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Lần đầu tiên hợp chất này được công bố (trong luận văn) có hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase.

Kết quả của luận văn góp phần làm tăng giá trị ứng dụng của tài nguyên rong biển, đồng thời là nguồn dữ liệu tham khảo cho các nghiên cứu tiếp theo trong lĩnh vực hóa học và dược học biển.

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

### 1.1. Giới thiệu về bệnh tiểu đường

Bệnh tiểu đường là do rối loạn trong chuyển hóa nội tiết gây ra, đặc trưng bởi tình trạng tăng glucose máu do cơ thể thiếu insulin hoặc giảm đáp ứng với insulin, làm ảnh hưởng đến quá trình chuyển hóa carbohydrate. Carbohydrate trong thức ăn sau khi vào cơ thể sẽ được enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase phân giải thành glucose để hấp thu vào máu. Khi nồng độ glucose trong máu tăng lên, tuyến tụy sẽ tiết hormone insulin nhằm hỗ trợ vận chuyển glucose từ máu vào tế bào để tạo năng lượng. Đồng thời insulin còn kích thích quá trình chuyển hóa glucose dư thừa thành glycogen dự trữ chủ yếu ở gan và cơ giúp duy trì nồng độ đường huyết ổn định. Xét theo cơ chế hình thành bệnh tiểu đường được phân loại thành hai dạng chính là type 1 và type 2. Ở bệnh tiểu đường type 1 cơ thể không thể sản xuất đủ insulin do tế bào  $\beta$  tuyến tụy bị phá hủy, dẫn đến glucose không được hấp thu hiệu quả vào tế bào và tích tụ trong máu. Do đó, bệnh nhân phải sử dụng insulin ngoại sinh để kiểm soát đường huyết [2]. Trong khi đó bệnh tiểu đường type 2 cơ thể vẫn sản xuất insulin nhưng các tế bào giảm đáp ứng với insulin (kháng insulin), làm giảm khả năng sử dụng glucose vào tế bào và gây tăng đường huyết kéo dài. Tiểu đường type 2 là dạng bệnh chiếm ưu thế với khoảng 90–95% số ca mắc. Bệnh có mối liên quan chặt chẽ với các yếu tố nguy cơ như béo phì, giảm hoạt động thể lực và chế độ ăn giàu lipid và carbohydrate đơn giản [3]. Việc tình trạng tăng đường huyết kéo dài là nguyên nhân dẫn đến nhiều biến chứng nghiêm trọng, gây tổn thương đa cơ quan như tim, mạch máu, mắt, thận và hệ thần dẫn tới một số bệnh liên quan khác như tăng huyết áp, mù lòa, bệnh thần kinh, suy thận, tăng lipid máu và các biến chứng khác. Vì thế tiểu đường được coi là một trong những bệnh lý có ảnh hưởng lớn đến sức khỏe cộng đồng toàn cầu. Theo báo cáo của Tổ chức Y tế Thế giới, tỷ lệ mắc bệnh ở người trưởng thành đã tăng gấp đôi, từ 7% (1990) lên khoảng 14% (2022). Trong ấn phẩm mới nhất của tổ chức đái tháo đường IDF công bố năm 2025, tính đến năm 2024 số người trưởng thành trong độ tuổi 20 đến 79 tuổi mắc bệnh tiểu đường trên toàn cầu được ước tính vào khoảng 589 triệu người, tương đương khoảng 1/9 dân số người lớn.

Đối với bệnh tiểu đường type 2, người ta cho rằng để giảm lượng đường máu có thể ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase tham gia trực tiếp vào quá trình tiêu hoá carbohydrate. Enzyme  $\alpha$ -amylase được tiết ra chủ yếu từ tuyến nước bọt và tụy, có vai trò thủy phân tinh bột thành các oligosaccharide và disaccharide nhỏ hơn. Trong khi đó enzyme  $\alpha$ -glucosidase là enzyme nằm ở ruột non tiếp tục phân giải các disaccharide và oligosaccharide thành glucose để cơ thể hấp thu vào máu. Từ đó việc ức chế hai enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase có thể làm chậm quá trình phân giải carbohydrate và hấp thu glucose, góp phần giảm lượng glucose đi vào máu sau bữa ăn. Ngoài ra, còn có liên quan đến đường huyết và tín hiệu insulin, bao gồm protein tyrosine phosphatase là một enzyme nội bào làm giảm tín hiệu insulin, được định vị trên bề mặt tế bào chất của lưới nội chất trong mô gan, cơ và mô mỡ và dipeptidyl-peptidase-4 là enzyme màng tế bào tuần hoàn được phân hủy bởi hormone incretin. Hormone incretin là hormone ruột kích thích tiết insulin theo cách phụ thuộc vào glucose, glucagon-like peptide-1 nhờ đó cải thiện nhạy cảm insulin và tăng tiết insulin sau ăn. Bên cạnh đó có thể tăng cường vận chuyển glucose vào tế bào qua 2 con đường chính: phosphoinositide 3-kinase/Akt và 5'-adenosine monophosphate activated protein kinase cơ chế then chốt trong điều hòa năng lượng và chuyển hóa glucose [4].

Các biện pháp điều trị phổ biến hiện nay bao gồm liệu pháp tiêm insulin và thuốc hạ đường huyết. Tuy mang lại hiệu quả kiểm soát đường huyết nhưng vẫn tồn tại nguy cơ gây tác dụng phụ do sử dụng lâu dài hóa chất tổng hợp. Việc tiêm insulin ngoại sinh lâu dài có thể dẫn đến tụt đường huyết biểu hiện bằng run rẩy, choáng váng, đổ mồ hôi hoặc mất ý thức khi lượng đường trong máu giảm quá mức. Ngoài ra, insulin còn có thể gây tăng cân, phù nề, phản ứng dị ứng tại vị trí tiêm, và trong một số trường hợp, làm giảm độ nhạy insulin nội sinh. Các thuốc hạ đường huyết dạng uống cũng không tránh khỏi tác dụng phụ có thể kể đến thuốc Metformin là loại thuốc phổ biến nhất ngăn chặn hấp thụ glucose. Việc sử dụng thuốc này vẫn có thể dẫn đến các tác dụng phụ như rối loạn tiêu hóa, giảm cảm giác ngon miệng, nguy cơ nhiễm toan lactic ở bệnh nhân suy thận. Sulfonylurea có thể làm tụt đường huyết kéo dài do kích thích tụy tiết insulin liên tục. Acarbose và các thuốc ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase thường gây đầy hơi, trướng bụng do sự lên men

carbohydrate trong ruột. Việc dùng thuốc trong thời gian dài có thể tác động bất lợi đến chức năng gan và thận [5]. Trước thực tế đó, việc phát hiện và phát triển các hợp chất tự nhiên an toàn, ít gây tác dụng không mong muốn đang được chú trọng trong nghiên cứu hiện nay. Chẳng hạn như chiết xuất từ rong nâu với khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase và enzyme  $\alpha$ -glucosidase hoặc tăng cường sử dụng glucose của tế bào. Cơ chế này giúp làm giảm tốc độ hấp thu carbohydrate ở ruột non, qua đó hỗ trợ điều hòa nồng độ đường huyết đang được nhiều nhà khoa học quan tâm như một hướng đi tiềm năng trong kiểm soát bệnh tiểu đường.

## 1.2. Giới thiệu về rong nâu

### 1.2.1. Đặc điểm và phân bố

Rong biển tập trung chủ yếu ở các vùng ven biển nơi điều kiện môi trường với các yếu tố như ánh sáng, nhiệt độ và độ mặn phù hợp cho sự sinh trưởng. Chúng được chia thành ba nhóm chính là rong xanh (Chlorophyta), rong nâu (Phaeophyta) và rong đỏ (Rhodophyta), được phân loại dựa trên sắc tố quang hợp đặc trưng. Mỗi nhóm rong có thành phần sắc tố và cấu trúc hóa học riêng: chlorophyll a và b là sắc tố chính trong rong xanh, fucoxanthin là carotenoid đặc trưng của rong nâu mang lại màu nâu vàng, còn phycoerythrin và phycocyanin là hai sắc tố chủ yếu của rong đỏ, giúp chúng hấp thụ ánh sáng ở độ sâu lớn hơn. Trong đó, rong nâu được biết đến bao gồm khoảng 16 bộ với 285 chi và 1800 loài. Chúng là loài rong biển lớn nhất và phát triển nhanh nhất [6].

Việt Nam được biết đến là quốc gia nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới nóng, ẩm. Ngoài ra phải kể tới Việt Nam có đường bờ biển kéo dài hơn 3.200 km mang đến nhiều lợi ích như cung cấp nguồn tài nguyên phong phú và đa dạng. Nhờ vậy Việt Nam có một hệ rong biển phong phú với khoảng 1.000 loài, trong đó có tổng số loài rong biển được ghi nhận hiện nay là 878 loài bao gồm ngành rong đỏ có 439 loài, ngành rong nâu có 156 loài và ngành rong xanh có 283 loài [7]. Trong đó rong nâu được phân bố xuất hiện khắp các vùng biển trải dài từ Bắc đến Nam. Trong đó, họ rong mơ (*Sargassaceae*) phân bố với mật độ cao, đặc biệt tại vùng biển miền Trung, nơi có trữ lượng rất

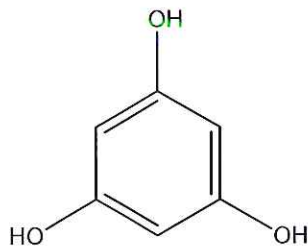
### 1.2.2. Ứng dụng của rong nâu

Trên phạm vi toàn cầu, rong biển được đánh giá cao là một nguồn tài nguyên sinh học có giá trị cao và giàu tiềm năng. Bên cạnh vai trò trong việc ổn định cân bằng hệ sinh thái biển, rong biển còn được khai thác phục vụ cho các lĩnh vực thực phẩm, dược phẩm và mỹ phẩm mang lại giá trị rất lớn. Ngoài ra rong có ứng dụng trong các ngành công nghiệp dệt nhuộm, chế tạo mực in, sơn và hàn điện... Rong biển đã được con người sử dụng từ rất sớm với ghi chép của Sze Teu, cách đây khoảng thế kỷ VI trước Công nguyên, rong biển đã được chế biến thành một món ăn quý phục vụ cho các tầng lớp hoàng gia. Ở Nhật Bản, Hàn Quốc, rong nâu đã trở thành thực phẩm truyền thống từ rất lâu. Rong nâu ăn được như *Eisenia arborea* không chỉ được sử dụng làm thực phẩm mà còn đóng vai trò trong y học cổ truyền tại một số quốc gia châu Á tiêu biểu Nhật Bản, Hàn Quốc.... Các công trình nghiên cứu hiện nay đều cho rằng loài rong nâu chứa nhiều hoạt tính sinh học có giá trị như hợp chất phlorotannin đặc trưng là phlorofucofuroeckol B, một hoạt chất có khả năng ức chế đường huyết. Ngoài ra, còn có các loài rong ăn được phổ biến như *Porphyra yezoensis* (rong mứt), *Undaria pinnatifida* (wakame), *Ascophyllum nodosum* và *Fucus vesiculosus* được biết đến là những nguồn cung cấp giàu protein, vitamin A, C, E, K và nhóm B, đồng thời cung cấp các nguyên tố khoáng thiết yếu như Ca, Mg, Zn, Fe, I... axit béo không bão hòa và chất xơ hòa tan có lợi cho sức khỏe con người. Các thành phần này góp phần cải thiện độ nhạy insulin và khả năng điều hòa glucose sau ăn [8]. Việc tiêu thụ *Undaria pinnatifida* đã được khảo sát trong chế độ ăn uống cho thấy có liên quan đến tỷ lệ mắc bệnh tiểu đường thấp ở nam giới Hàn Quốc [4]. Ngoài ra, tiêu thụ mekabu (lá bào tử của *Undaria pinnatifida*) cùng bữa ăn giàu tinh bột có thể làm giảm đường huyết sau ăn, được cho là liên quan đến các hợp chất hoạt tính như fucoxanthin và đặc tính tạo độ nhớt của polysaccharide rong nâu [4].

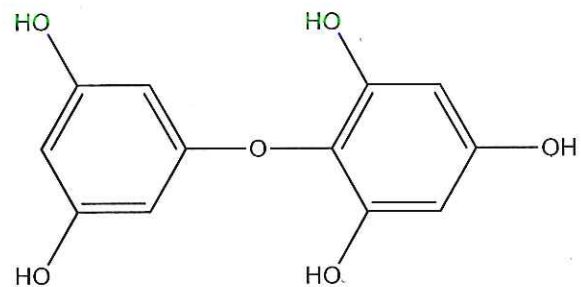
### 1.2.3. Thành phần hóa học của rong nâu đối với bệnh tiểu đường

Rong nâu chứa nhiều thành phần hoạt tính như phlorotannin, fucosterol, fucoidan, alginic acid, fucoxanthin, laminarans và phycocolloid. Trong đó hoạt tính của phlorotannin được đánh giá rất cao trong khả năng chống bệnh tiểu đường type 2. Hoạt chất phlorotannin thuộc nhóm hợp chất

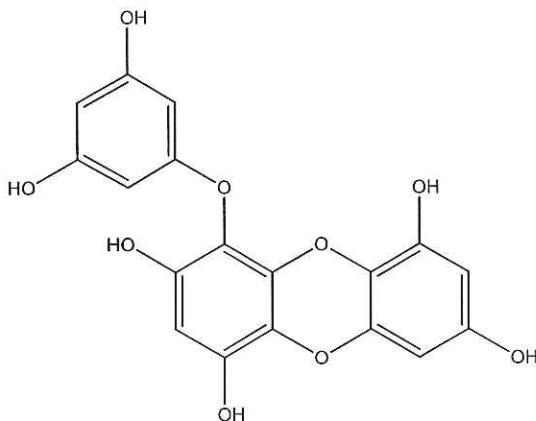
polyphenol được phân lập từ rong nâu *Fucus vesiculosus* và *Ascophyllum nodosum* đã được đánh giá khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase và enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Phlorotannin ức chế hoàn toàn enzyme  $\alpha$ -amylase ở nồng độ 30  $\mu\text{g/mL}$  và  $\alpha$ -glucosidase ở nồng độ 2  $\mu\text{g/mL}$  [9]. Một số loại phlorotannin có trong các loài rong nâu khác nhau chúng có thể được phân loại thành sáu nhóm phụ như phloretol, fuhalol, fucol, fucophloretol, eckol và carmalol dựa trên loại liên kết giữa các đơn vị phloroglucinol và các nhóm hydroxyl có trên các vòng phenol ở hình 1.1 [10]. Phlorotannin còn được phân lập từ nhiều loài thuộc chi *Ecklonia* khác nhau phân lập được các hợp chất phlorotannin khác nhau như phlorofucofuroeckol A, dieckol, eckol, phloroglucinol. Cụ thể như một số nhóm phlorotannin như dieckol, phlorofucofuroeckol A, eckol được tìm thấy trong rong *Ecklonia stolonifera*. Rong *Ecklonia cava* phân lập ra các nhóm phlorotannin như Fucodiphloretol G, phloroglucinol, eckol, dieckol cho thấy khả năng ức chế mạnh enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme  $\alpha$ -amylase, giúp làm chậm quá trình thủy phân tinh bột và hấp thu glucose [11].



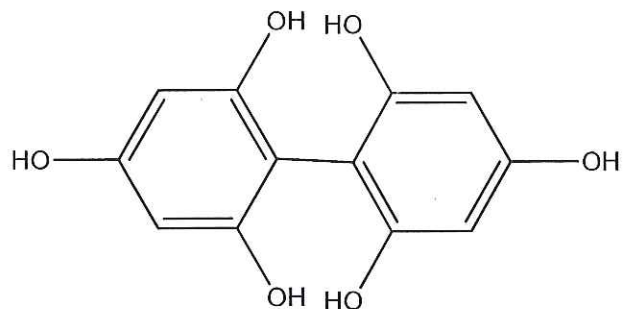
phloroglucinol



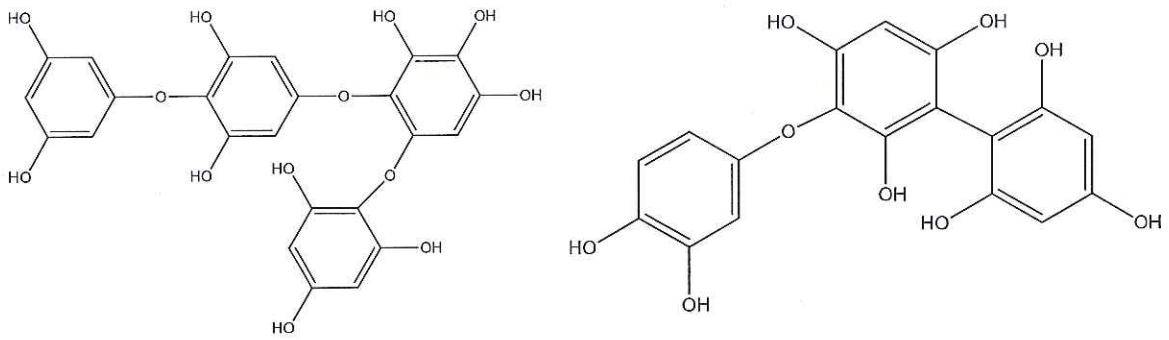
Phloretols



Eckol

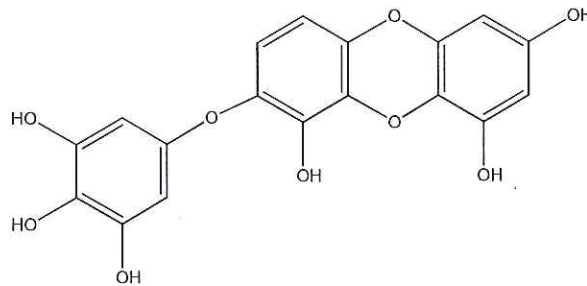


Fucol



Fuhalol

Fucophlorethol



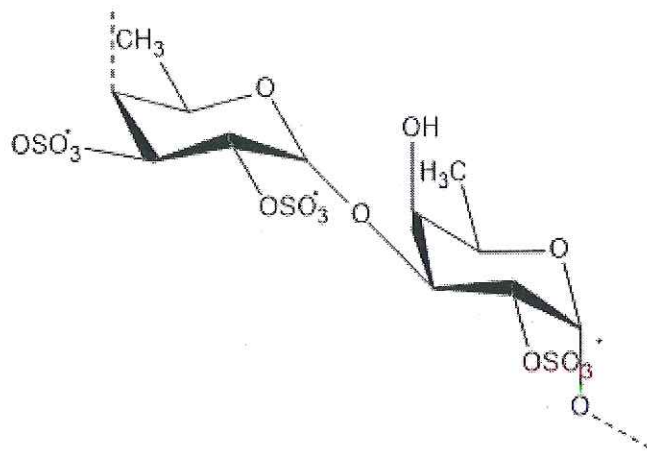
Carmalol

Hình 1.1. Cấu trúc hoá học của phloroglucinol và các nhóm phlorotannin

Đáng chú ý, trong số các phlorotannin được phân lập, phlorofucofuroeckol-A ( $IC_{50} = 1,37 \mu M$ ) và dieckol ( $IC_{50} = 1,61 \mu M$ ) thể hiện khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase mạnh nhất với hiệu lực cao hơn đáng kể so với acarbose ( $IC_{50} = 51,65 \mu M$ ) trong cùng điều kiện thử nghiệm [12]. Hoạt chất diphlorethohydroxycarmalol ở rong nâu *Ishige okamurae* ức chế mạnh lên enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase với  $IC_{50} = 0,53 \text{ mM}$  và  $IC_{50} = 0,16 \text{ mM}$ , so với thuốc acarbose là  $1,1 \text{ mM}$  và  $1,05 \text{ mM}$ . Phlorotannin từ rong *Fucus vesiculosus* ức chế mạnh lên enzyme  $\alpha$ -glucosidase ( $IC_{50} = 0,82 \mu g/mL$ , acarbose  $IC_{50} = 206,6 \mu g/mL$ ), và enzyme  $\alpha$ -amylase ( $IC_{50} = 2,8 \mu g/mL$ ; acarbose =  $0,7 \mu g/mL$ ). Ngoài ra, eckol được phân lập từ *Ecklonia maxima* cũng ghi nhận hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase ( $IC_{50} = 11,16 \mu M$ ), mạnh hơn rõ rệt so với phloroglucinol ( $IC_{50} = 1991 \mu M$ ). Một số phlorotannin khác như fucofuroeckol-A và dioxinodehydroeckol từ *Ecklonia bicyclis* đã có tác động ức chế đồng thời lên enzyme  $\alpha$ -amylase và enzyme  $\alpha$ -glucosidase theo các nghiên cứu trước đó [10].

Bên cạnh phlorotannin, fucoidan cũng được đánh giá là hợp chất tiềm năng được đánh giá cao có khả năng chống bệnh tiểu đường. Fucoidan là một

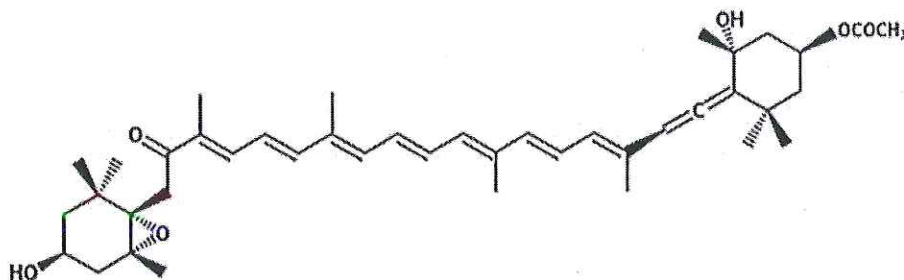
polysaccharid sunfat hóa phức tạp được tìm thấy chủ yếu trong nhiều loài rong nâu (hình 1.2). Fucoidan được chiết xuất từ các loài rong nâu như *Turbinaria conoides*, *T. ornata* và *Sargassum wightii* cũng cho thấy hoạt tính ức chế kép đối với cả enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme  $\alpha$ -amylase [13]. Bên cạnh đó, fucoidan thu nhận từ nhiều loài rong biển nâu khác, chẳng hạn *Fucus vesiculosus* ( $IC_{50} = 49 \mu\text{g/mL}$ ), *Ecklonia radiata* ( $IC_{50} = 0,29 \mu\text{g/mL}$ ) và *Undaria pinnatifida* ( $IC_{50} = 0,190 \pm 0,005 \text{ mg/mL}$ ), cho thấy hiệu quả ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase vượt trội so với acarbose một thuốc hiện đang được sử dụng để ức chế các enzyme tiêu hóa carbohydrate [14].



Hình 1.2. Công thức hoá học của Fucoidan

Ngoài phlorotannin và fucoidan với cơ chế ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase và  $\alpha$ -glucosidase, rong nâu còn chứa các thành phần sinh học khác có tiềm năng hỗ trợ phòng ngừa và kiểm soát bệnh tiểu đường thông qua những cơ chế khác biệt. Ví dụ như alginate và laminaran là một polysaccharide dự trữ đặc trưng của rong nâu đã được ghi nhận có tác dụng điều hòa đường huyết chủ yếu thông qua việc làm tăng độ nhớt trong đường tiêu hóa. Từ đó làm chậm quá trình rỗng dạ dày và hấp thu glucose sau ăn. Các hợp chất này thường tồn tại dưới dạng muối (như sodium alginate) và đã được chứng minh có khả năng hỗ trợ kiểm soát đường huyết thông qua cơ chế giảm tốc độ hấp thu carbohydrate và điều hòa chuyển hóa năng lượng, thay vì tác động trực tiếp lên enzyme tiêu hóa tinh bột. Laminarin được xem là một dạng chất xơ hòa tan và có thể đóng góp đáng kể vào tổng hàm lượng chất xơ của rong biển. Hàm lượng laminarin trong một số loài có thể dao động khoảng 20–50% khối lượng khô, tùy điều kiện sinh trưởng và loài. Trong các nghiên cứu trên

chuột cho thấy áp dụng bổ sung laminarin qua đường uống trong thời gian dài (50 mg/mL) đã được ghi nhận giúp hạn chế đáng kể tình trạng tăng cân do khẩu phần giàu chất béo gây ra, đồng thời làm giảm nồng độ glucose máu và cải thiện khả năng dung nạp glucose [15]. Việc bổ sung 5 g natri alginate mỗi sáng ở người mắc bệnh tiểu đường type 2 đã được ghi nhận giúp hạn chế tăng glucose, insulin và C-peptide sau ăn. Đồng thời còn góp phần làm kéo dài thời gian làm rỗng dạ dày [16]. Fucoxanthin là một loại xanthophyll (carotenoid), là sắc tố chiếm ưu thế, góp phần quyết định màu nâu đặc trưng của rong biển (hình 1.3). Fucoxanthin cũng được tìm thấy có hoạt tính sinh học mạnh mẽ như chống bệnh tiểu đường. Maeda và cộng sự đã cho thấy việc làm giảm đáng kể lượng đường huyết và insulin huyết tương, cũng như lượng nước uống vào ở chuột KK-Ay bị tiểu đường, béo phì [17].



Hình 1.3. Công thức cấu tạo của fucoxanthin

#### 1.2.4. Tình hình nghiên cứu tại Việt Nam

Tại Việt Nam, trong những năm gần đây, các nghiên cứu về tiềm năng sinh học của rong nâu trong phòng và hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường đã bước đầu được quan tâm và đạt được một số kết quả đáng ghi nhận. Các nhóm nghiên cứu trong nước đã tiến hành định danh, phân lập và đánh giá hoạt tính sinh học của nhiều loài rong nâu phổ biến ở vùng biển Việt Nam như *Sargassum polycystum*, *Sargassum crassifolium*, *Padina australis* và *Turbinaria ornata*. Kết quả cho thấy, các chiết xuất từ rong nâu Việt Nam giàu hợp chất phlorotannin, fucoidan, fucosterol và fucoxanthin, có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme  $\alpha$ -amylase, giúp làm chậm quá trình thủy phân tinh bột thành glucose. Đây là cơ chế quan trọng trong kiểm soát đường huyết [18]. Chi *Padina* cũng được tìm thấy ở các loài rong có ở Việt Nam như *Padina antillarum*, *Padina gymnospora*, *Padina pavonica* và *Padina boryana*, ... chứa các hợp chất hoạt tính sinh học [19]. Vũ Đình Phong

và các cộng sự có đề cập đến *Padina antillarum*, *Padina arborescens* Holmes có khả năng chống tiêu đường [20]. Ngoài ra, Nguyễn Thế Hân và cộng sự đã tiến hành đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase từ bảy loài rong nâu *Colpomenia sinuosa*, *Padina australis*, *Sargassum aquifolium*, *Sargassum mcclurei*, *Sargassum duplicatum*, *Sargassum polycystum*, *Sargassum swartzi* thuộc loài *Padina*, loài *Sargassum* thu thập tại vùng biển Khánh Hòa [1]. Trương Thị Phương Thảo và cộng sự đã nghiên cứu sàng lọc rong nâu *Dictyopteris polypodioides* nhằm xác định hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme  $\alpha$ -amylase [21].

### 1.3. Giới thiệu loài rong quạt Úc (*Padina australis* Hauck)

#### 1.3.1. Đặc điểm và phân bố

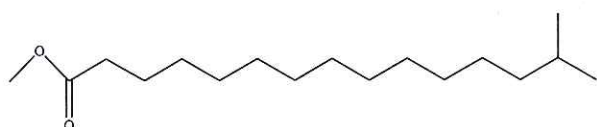
Loài rong *Padina australis* Hauck hay còn được gọi là rong quạt nang tiên cá, rong quạt Úc thuộc ngành rong nâu, có dạng hình quạt rộng với gốc bám [22]. Chi *Padina* là chi rong nâu duy nhất có hiện tượng canxi hóa ở tản, đặc biệt tại phần cuống. Tản quạt đứng có đường kính dưới 15 cm, màu vàng hơi lục hoặc nâu. Hơn nữa tản có thể được chia ra thành nhiều phần. Tản có chiều dày hai lớp khoảng 11  $\mu$ m tới 120  $\mu$ m. Cuống tương đối dài khoảng 2 cm và rộng 3 mm. Lông được thấy ở hai bên tản dọc theo cuống. Rong quạt Úc này mọc vùng nước sâu gần bờ biển, gắn với đá, san hô hoặc cát, phân bố chủ yếu ở vùng nước nhiệt đới và cận nhiệt đới. Hiện nay, loài này phân bố rộng chủ yếu ở các nước châu Á như Indonesia, Philippines, Thái Lan, Nhật Bản, Đài Loan, Việt Nam, và một số nước khác như Cameroon, Gabon và Angola, Queensland, Australia. Tại Việt Nam, loài rong quạt Úc xuất hiện ở miền Trung (Nha Trang, Lý Sơn), Côn Cát và vịnh Bắc Bộ.

#### 1.3.2. Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài rong quạt Úc (*Padina australis*)

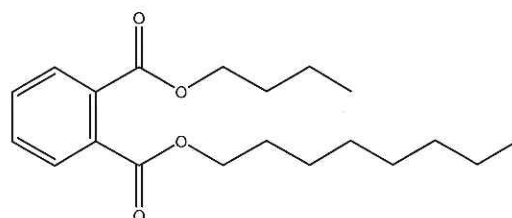
Loài rong quạt Úc có hoạt tính ức chế 5 vi khuẩn gây bệnh ở người, với giá trị MIC từ 0,13 – 1,667 mg/mL [23]. Hassat và cộng sự chỉ ra rằng rong quạt Úc có hoạt tính chống oxy hóa cao so với 5 loài rong nâu thu ở Nha Trang và rong này có hoạt tính ức chế tyrosinase tốt [24]. Murugan và cộng sự thấy rằng hoạt tính chống oxy hóa và bảo vệ tế bào thần kinh ở rong quạt Úc có liên quan đến dung môi có cực và tác giả kết luận rong này có chứa

đáng kể chất polyphenol có hoạt tính chống oxy hóa cũng như điều trị bệnh rối loạn thần kinh [25]. Gần đây Puspawati và cộng sự công bố rong này có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase 94,55% tại nồng độ 500  $\mu\text{g/mL}$  cao chiết ethyl acetate [26]. Bằng phương pháp GC-MS tác giả phát hiện 23 hợp chất, chủ yếu gồm các acid béo như *n*-hexadecanoic acid (chiếm 49,11%), oleic acid (19,18%) và myristic acid (16,41%). Một số hợp chất chiếm tỷ lệ nhỏ như loliolide, neophytadiene và các aldehyde không no. Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase được cho là có liên quan đến với hàm lượng lớn các axit béo và dẫn xuất terpenoid [26]. Rong quạt Úc chứa các hợp chất terpenoid, steroid và alkaloid và đây được cho là các chất làm nên dược tính y học của rong này [27].

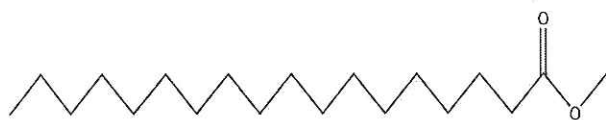
Từ cao chiết methanol, 6 hợp chất là pentadecanoic acid 14-methyl ester; 1,2 benzenedi carboxylic acid, butyl octyl ester; 10-octadecenoic acid, methyl ester; octadecenoic acid, methyl ester, oleic acid và 9-octadecenoic acid [Z]; 2-hydroxy-1 [hydroxyl methyl ester] được nhận dạng qua phân tích GC-MS như hình 1.4 [28]. Fucoxanthin là thành phần chính của nhóm carotenoid và được phát hiện nhiều (0,267%) trong rong quạt Úc, nhiều hơn 1 số loài rong nâu khác [29].



Pentadecanoic acid 14-methyl ester



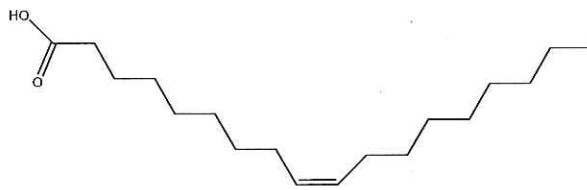
1,2 Benzenedi carboxylic acid,  
butyl octyl ester



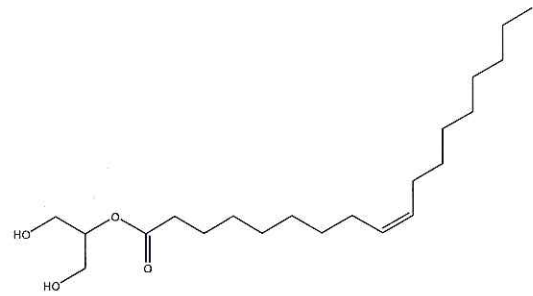
10-Octadecenoic acid, methyl ester



Octadecenoic acid, methyl ester



Oleic acid

9- Octadecenoic acid [Z]; 2-  
hydroxy-1 [hydroxyl methyl ester]

Hình 1.4. Các công thức hóa học thu được từ các cao chiết methanol của rong quạt Úc (*P. australis*)

Tại Indonesia, rong quạt Úc được coi là trà biển, dùng để làm đồ uống, vì dịch chiết rong này có chứa các alkaloid, flavonoid, saponin, tannin và chất chống oxy hóa [30].

## CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

#### 2.1.1. Nguyên liệu

Mười ba mẫu rong nâu được thu thập tại vịnh Nha Trang với độ sâu từ 8- 10 m vào tháng 3 năm 2025. Sau khi thu thập, mẫu rong đã được rửa sạch các vật bám (sỏi cát và sinh vật bám) bằng nước biển. Một lượng mẫu nhỏ được bảo quản tại  $-20^{\circ}\text{C}$  cho việc phân tách DNA. Việc giám định phân loại thực vật được thực hiện bởi ThS. Trần Mai Đức, Viện Hải dương học Nha Trang, Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam.

#### 2.1.2. Thiết bị

- Máy ly tâm (Mikro 12-24, Hettich, Đức).
- Máy vortex (ZX3, velp, Ý).
- Micropipette 100  $\mu\text{L}$ , 500  $\mu\text{L}$ , 1000  $\mu\text{L}$ .
- Máy đo quang phổ (Thermo scientific Multiskan Go, Nhật Bản).
- Máy cô quay chân không (Heidolph, Đức).
- Máy Bruker Avance 500 MHz (chất chuẩn nội là TMS).
- Một số thiết bị khác.

#### 2.1.3. Hóa chất

- $\alpha$ -amylase dịch tụy lợn ( $>5\text{U}/\text{mg}$ , A3176),  $\alpha$ -glucosidase ( $\geq 5\text{U}/\text{mg}$ , G-5003) của hãng Sigma-Aldrich.
- Cơ chất: 4-nitrophenyl- $\alpha$ -D- glucopyranoside (*p*NPG), tinh bột tan (soluble starch), hãng Sigma Aldrich.
- Các hóa chất: 3,5- dinitrosalicylic acid (DNS), methanol, ethanol, agarose, *n*-hexane, ethyl acetate, dichloromethane, acetone ... tinh khiết phù hợp cho mục đích nghiên cứu.
- Các hóa chất thông dụng khác.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Các phương pháp sinh học

#### 2.2.1.1. Phương pháp chiết mẫu rong

Tùy thuộc vào lượng rong thu hoạch, khoảng 50 g được phơi khô tại nơi thoáng mát và xay nghiền nhỏ cho mục đích tách chiết. Mẫu rong khô được ngâm chiết bằng dung môi ethanol 90% trong 1 ngày, có sử dụng siêu âm (50°C) trong 15 phút. Dịch thu sau khi chiết được thu hồi bằng lọc qua giấy lọc. Quá trình chiết lặp lại 3 lần. Mẫu dịch chiết được làm đặc bằng cách sử dụng cô quay chân không tại 50°C và cao chiết được bảo quản tại 4°C cho mục đích nghiên cứu tiếp theo.

#### 2.2.1.2. Phương pháp đánh giá hoạt tính chống tiểu đường

- Xác định khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase được thực hiện bằng phương pháp đo lượng đường khử tạo thành sau phản ứng theo mô tả của Sudha và cộng sự có cải tiến theo điều kiện thí nghiệm [31]. Thí nghiệm đo sự ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase được thực hiện trên phiên nhựa 96 giếng, sử dụng cơ chất tinh bột tan theo Ryu và cộng sự [32]. Một thể tích 10  $\mu$ L mẫu (5-10 mg/mL) được bổ sung vào dung dịch enzyme  $\alpha$ -amylase (0,2 U/mL) trong đệm Na-phosphate 50 mM; pH = 6,8 và ủ trong thời gian 10 phút. Sau đó, 50  $\mu$ L tinh bột tan 1% (trong đệm Na-phosphate 50 mM; pH = 6,8) được trộn với hỗn hợp enzyme trên và ủ tại 37°C trong 15 phút. Sau phản ứng, bổ sung 50  $\mu$ L DNS 1% vào hỗn hợp, đun nóng 100°C trong 10 phút để hiện màu với đường khử. Bước sóng 540 nm được sử dụng để đo cường độ màu của hỗn hợp sau phản ứng. Mẫu đối chứng là mẫu được chuẩn bị tương tự, trong đó đệm thay thế mẫu chiết. Chất acarbose được sử dụng làm chất thử dương tính (đối chứng dương). Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần. Tỷ lệ ức chế enzyme được tính theo công thức sau:

$$\text{Ức chế (\%)} = \left[ 1 - \frac{(S-S_0)}{(C-C_0)} \right] \times 100\%$$

Trong đó:

C: mật độ quang enzyme + tinh bột

C<sub>0</sub>: mật độ quang enzyme bất hoạt + tinh bột

S: mật độ quang mẫu thử + enzyme + tinh bột

S<sub>0</sub>: mật độ quang mẫu thử + enzyme bất hoạt + tinh bột

- Xác định khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase được xác định dựa trên phản ứng thủy phân cơ chất *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (*p*NPG) theo tác giả Zhang và cộng sự như hình 2.1 [33]. Một thể tích 10  $\mu$ L mẫu (10 mg/mL) được bổ sung vào dung dịch enzyme  $\alpha$ -glucosidase (chứa 0,1 U/mL) trong đệm Na-phosphate 50 mM; pH = 7,0 và ủ trong thời gian 10 phút. Sau đó, 100  $\mu$ L dung dịch cơ chất *p*NPG 4 mM (trong đệm Na-phosphate 50 mM; pH = 6,8) được trộn với hỗn hợp enzyme trên và ủ tại 37 °C trong 10 phút. Sau phản ứng, bổ sung 50  $\mu$ L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,2M vào hỗn hợp để dừng phản ứng. Bước sóng 405 nm được sử dụng để đo cường độ màu của hỗn hợp sau phản ứng. Mẫu trắng (blank) là mẫu được chuẩn bị tương tự, trong đó dung dịch đệm sử dụng thay thế dung dịch cơ chất. Chất acarbose được sử dụng làm chất thử dương tính (đối chứng dương). Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại ba lần. Tỷ lệ ức chế enzyme được tính theo công thức sau:

$$\text{Ức chế (\%)} = \left[ 1 - \frac{(S - S_0)}{(C - C_0)} \right] \times 100\%$$

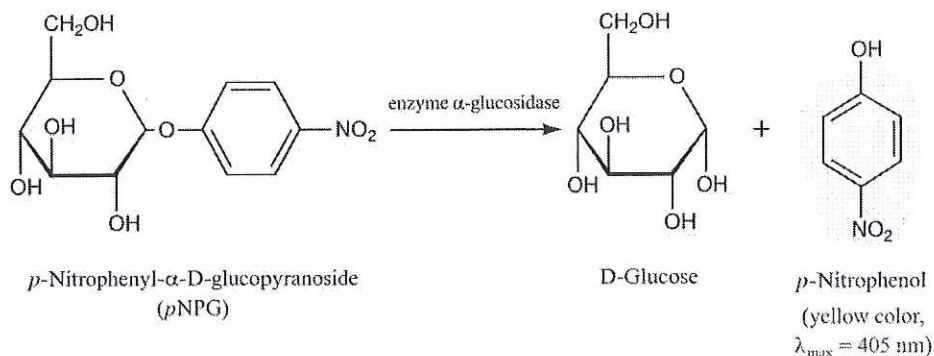
Trong đó:

C: mật độ quang hỗn hợp gồm enzyme + cơ chất

C<sub>0</sub>: mật độ quang hỗn hợp gồm enzyme + đệm

S: mật độ quang hỗn hợp gồm mẫu thử + enzyme + cơ chất

S<sub>0</sub>: mật độ quang hỗn hợp gồm mẫu thử + enzyme + đệm



Assay conditions: 37 °C, 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0)

Hình 2.1. Cơ chế phản ứng của enzyme lên cơ chất *p*NPG tạo *p*-nitrophenol.

## 2.2.2. Các phương pháp hóa học

### 2.2.2.1. Phương pháp tách chiết chất

Xử lý mẫu, tạo dịch chiết tổng và chiết phân đoạn được thực hiện theo mô hình đang áp dụng hiện nay của các nhà khoa học thế giới nhằm đảm bảo thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của mẫu không bị biến đổi: mẫu được sấy khô ở nhiệt độ thấp (<50°C), chiết với sự hỗ trợ của thiết bị siêu âm, cô quay loại dung môi dưới áp suất giảm.

\* Tạo cặn chiết tổng methanol và các phân đoạn chiết *n*-hexane, ethyl acetate và nước từ loài *P. australis*

Bột khô loài rong quạt Úc (*P. australis*) (4,0 kg) được chiết bằng methanol sử dụng phương pháp siêu âm ở nhiệt độ phòng 2 lần, mỗi lần dùng 10 L methanol và siêu âm trong vòng 2 h. Cất loại hoàn toàn dung môi từ dịch chiết methanol thu được cặn chiết methanol tổng (660 g). Phân tán cặn methanol tổng trong 2 L nước và chiết phân bố lần lượt với các dung môi *n*-hexane và ethyl acetate, mỗi dung môi chiết 2 lần, mỗi lần dùng 2 L dung môi. Cất loại hoàn toàn dung môi từ các dịch chiết thu được các cặn chiết phân đoạn tương ứng là cặn *n*-hexane (41,0 g), cặn ethyl acetate (22,4 g) và dịch nước còn lại.

Quá trình thực hiện tách chiết chất từ loài rong được thể hiện ở hình 2.2. Từ sinh khối rong quạt Úc, ba phân đoạn cao chiết gồm *n*-hexane, ethyl acetate và nước được thu hồi. Thông qua quá trình phân tách và tinh sạch từ các cao chiết thu được bốn hợp chất tinh sạch đã được phân lập. Từ cao chiết ethyl acetate, chất PA1, PA4 được tinh chế. Chất PA1, PA4 đã được xác định cấu trúc hóa học. Từ cao chiết phân đoạn nước, 2 chất gồm PA2 và PA3 được phân lập, tinh chế và xác định cấu trúc hóa học

*Padina australis* (PA)

(4.0 kg)

A	Kỹ thuật chiết tách
B	Acetone
C	Colman
D	chromatography
E	Dichloromethane
F	<i>Padina australis</i>
G	<i>n</i> -Hexane
H	Methanol
I	Water

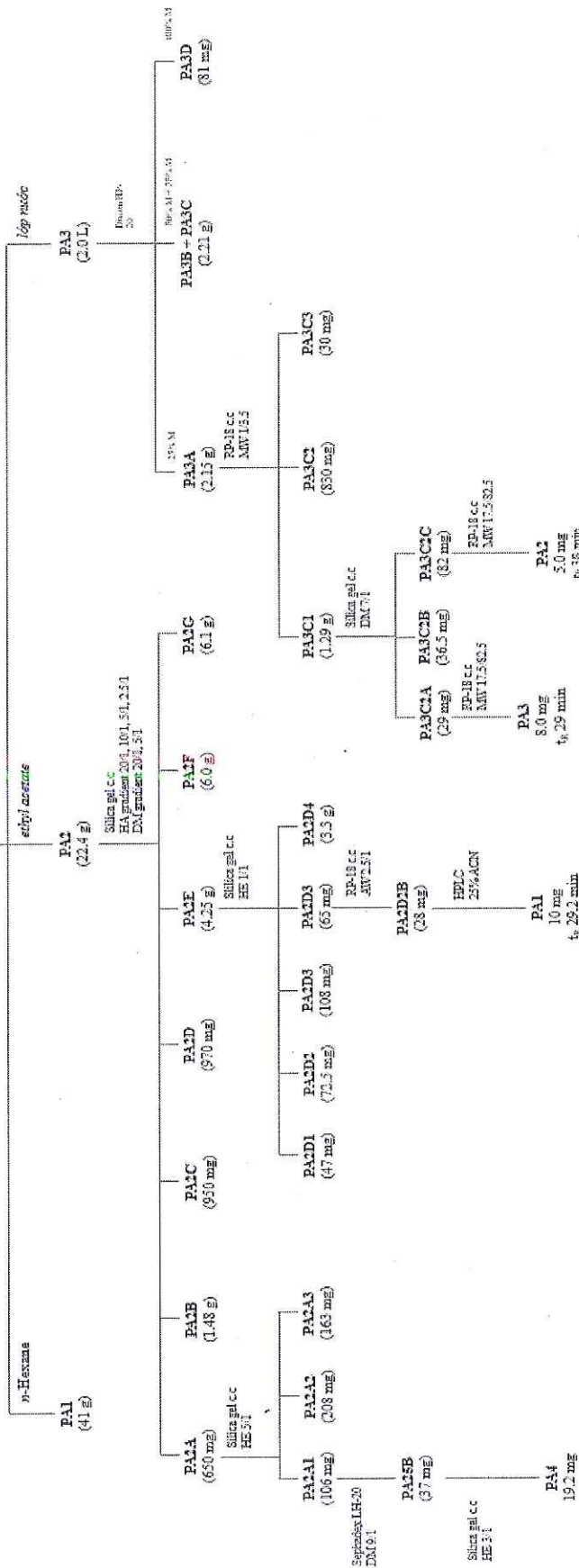
Chiết trong methanol 10 L  
hãy làm trong 2h ở 80°C  
1 lần

PA (860 g)

Phân bố đều trong nước 2.0 L

- 1. n-hexane.
- 2. ethyl acetate.
- 3. ethyl acetate.

Độ phân tách là 1 : 1 = 2 lần



Hình 2.2. Sơ đồ tách chiết, phân lập từ loài rong quạt Úc (*P. australis*)

### 2.2.2.2. Phương pháp phân lập chất từ các cặn chiết phân đoạn của loài rong quạt Úc (*Padina australis*)

Để phân lập các hợp chất sạch các phương pháp sắc kí đã được sử dụng như: sắc ký cột được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel pha thường và pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0,040–0,063 mm (240–430 mesh). Silica gel pha đảo ODS hoặc YMC (30–50  $\mu\text{m}$ , Fujisilisa Chemical Ltd.), sắc kí cột Dianion HP-20, Sephadex LH-20 (25–100  $\mu\text{m}$ , Merck) và octadecyl silica gel (RP-18, 12 nm, YMC, Kyoto, Nhật Bản), HPLC. Dung môi triển khai sắc kí là hỗn hợp của một số dung môi thường dùng như *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, acetone, methanol.

Phần dịch nước sau khi chiết bằng ethyl acetate được đưa lên cột sắc ký Diaion HP-20, rửa cột kĩ bằng nước và sau đó rửa giải bằng hệ dung môi methanol:nước tăng dần tỷ lệ methanol (1:0, 3:1, 1:1, 1:3, 0:1) thu được 4 phân đoạn (PA3A, PA3B, PA3C và PA3D).

Phân đoạn PA3A (2,15 g) được phân tách tiếp bằng cột sắc ký silica gel pha đảo sử dụng hệ dung môi rửa giải methanol: nước tỷ lệ methanol (1:3,5) thu được 3 phân đoạn (PA3C1, PA3C2, PA3C3). Tinh chế phân đoạn PA3C1 (1,29g) bằng cột sắc ký silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi rửa giải dichloromethane:methanol (7/1) thu được phân đoạn PA3C2A, PA3C2B và PA3C2C. Tinh chế phân đoạn PA3C2A (29 mg) bằng HPLC bán điều chế sử dụng hệ dung môi methanol:nước (17,5:82,5) thu được hợp chất PA3 (8,0 mg). Tinh chế phân đoạn PA3C2C (82 mg) bằng HPLC bán điều chế sử dụng hệ dung môi methanol:nước (17,5:82,5) thu được hợp chất PA2 (5,0 mg).

Tinh chế phân đoạn PA2 (22,4 g) bằng cột sắc ký silica gel pha thường sử dụng hệ dung môi rửa giải *n*-hexane:acetone (20/1; 10/1;5/1; 2,5/1) và dichloromethane: methanol (20/1, 5/1) thu được 7 phân đoạn từ PA2A – PA2G. Phân đoạn PA2A được tinh chế trên cột silica gel pha thường với hệ dung môi *n*-hexane:acetone (5:1) thu được 3 phân đoạn PA2A1-PA2D2B. Tinh chế phân đoạn PA2A1 (106 mg) bằng cột sephadex LH-20, sau đó tiếp tục tinh chế bằng cột silica gel với hệ dung môi *n*-hexane:acetone (3:1) thu được hợp chất PA4 (19,2 mg). Tinh chế phân đoạn PA2E (4,25 g) qua cột sắc ký silica gel pha thường sử dụng *n*-hexane:acetone (1:1) thu được phân đoạn PA2D3. Tinh chế phân đoạn PA2D3 (65 mg) qua cột sắc ký silica gel pha đảo



RP-18 sử dụng acetone:nước (2,5/1) thu được phân đoạn PA2D2B. Tinh chế phân đoạn PA2D2B (28 mg) bằng HPLC bán điều chế sử dụng hệ dung môi acetonitrile:nước (25/75) thu được hợp chất **PA1** (4,2 mg).





### CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN





#### 3.1. Phân loại định danh 13 loài rong nâu




Việc giám định phân loại thực vật được thực hiện bởi ThS. Trần Mai Đức. Kết quả và hình ảnh mẫu rong được trình bày tại bảng 3.1.

Bảng 3.1. Hình ảnh và phân loại các loài rong nâu.

STT	Ký hiệu	Tên khoa học	Hình ảnh
1	R-1	<i>Sargassum duplicatum</i>	
2	R-2	<i>Padina australis</i>	

3	R-3	<i>Sargassum denticarpum</i>	
4	R-4	<i>Sargassum microcystum</i>	
5	R-7	<i>Sargassum crassifolium</i>	
6	R-8	<i>Sargassum mcclurei</i>	

7	R-9	<i>Sargassum duplicatum</i>	
8	R-10	<i>Dictyota spinulosa</i>	
9	R-14	<i>Turbinaria ornata</i>	
10	R-16	<i>Colpomenia sinuosa</i>	

11	R-28	<i>Sargassum swartzii</i>	
12	R-33	<i>Dictyota dentata</i>	
13	R-20	<i>Sargassum sp. 20</i>	

### 3.2. Sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -amylase và $\alpha$ -glucosidase của các cao chiết từ loài rong nâu.

Các mẫu rong nâu được chiết bằng ethanol 90% và 13 cao chiết tổng được sử dụng nghiên cứu hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase và enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Các mẫu cao chiết có khối lượng đạt từ 79,28-201 mg, phù hợp để thực hiện các bước nghiên cứu hoạt tính sinh học.

### 3.2.1. Hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase

Kết quả sàng lọc hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và giá trị  $IC_{50}$  của cao chiết được thể hiện tại bảng 3.2 sau:

Bảng 3.2. Kết quả hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các mẫu rong nâu với nồng độ 500  $\mu$ g/mL .

STT	Ký hiệu mẫu	Loài rong	Ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase (%)	$IC_{50}^{**}$ ( $\mu$ g/mL)	Kết luận
1	R-1	<i>Sargassum duplicatum</i>	97,44 $\pm$ 4,2	11,3 $\pm$ 4,2	+
2	R-2	<i>Padina australis</i>	81,68 $\pm$ 1,9	55,1 $\pm$ 3,4	+
3	R-3	<i>Sargassum denticarpum</i>	95,40 $\pm$ 0,5	5,1 $\pm$ 2,5	+
4	R-4	<i>Sargassum microcystum</i>	46,44 $\pm$ 4,2	ND	-
5	R-7	<i>Sargassum crassifolium</i>	68,68 $\pm$ 3,9	101,3 $\pm$ 5,9	+
6	R-8	<i>Sargassum mcclurei</i>	31,40 $\pm$ 0,5	ND	-
7	R-9	<i>Sargassum duplicatum</i>	76,44 $\pm$ 2,2	92,4 $\pm$ 4,1	+
8	R-10	<i>Dictyota spinulosa</i>	61,40 $\pm$ 4,5	201,1 $\pm$ 6,2	+
9	R-14	<i>Turbinaria ornata</i>	25,20 $\pm$ 1,9	ND	-
10	R-16	<i>Colpomenia sinuosa</i>	36,44 $\pm$ 2,2	ND	-
11	R-20	<i>Sargassum sp.</i> 20	61,40 $\pm$ 0,5	352,0 $\pm$ 4,5	+
12	R-28	<i>Sargassum swartzii</i>	11,40 $\pm$ 0,5	ND	-

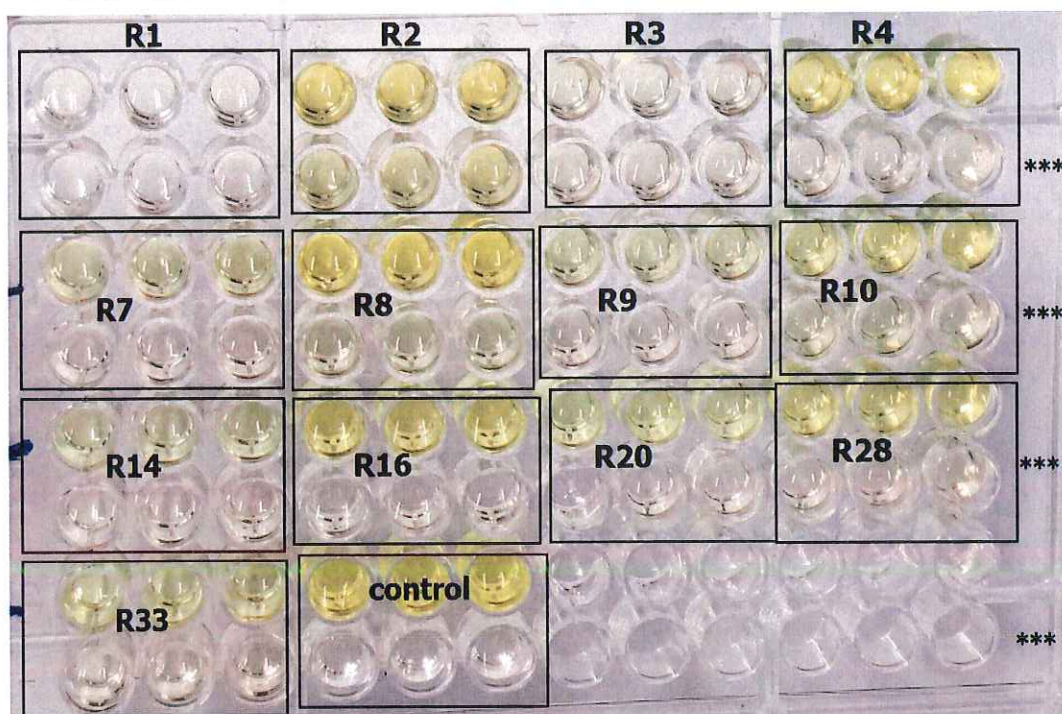
13	R-33	<i>Dictyota dentata</i>	61,60 ± 3,3	250,2 ± 6,2	+
	Acarbose		99,21 ± 5,2	0,165	+

ND: không xác định

\*\* : nồng độ ức chế 50% hoạt tính enzyme

- : Không có hoạt tính

+ : Có hoạt tính



Hình 3.1. Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase của các hoạt chất từ các loài rong nâu.

(\*\*\*: hỗn hợp phản ứng không có pNPG)

Hình ảnh 3.1 cho thấy, các mẫu có hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase sẽ làm giảm lượng *p*-nitrophenol tạo ra, và làm nhạt màu hỗn hợp phản ứng.

Trên bảng hoạt tính cho thấy, mẫu rong R-1 và R-3 có hoạt tính ức chế mạnh lên  $\alpha$ -glucosidase, thể hiện ở giá trị  $IC_{50}$  thấp là 11,3 và 5,1  $\mu$ g/mL. Đây là hai mẫu rong thuộc chi *Sargassum*, loài *S. duplicatum* và *S. denticarpum*. Một số loài thuộc chi *Sargassum* không có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase là: *S. swarzii*, *S. mcclurei*, *S. microcystum*. Loài *Turbinaria ornata* và *Colpomenia sinuosa* không có hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase. Trong khi đó, loài *Dictyota dentata* có hoạt tính ức chế 61,60% tại nồng độ thử nghiệm 500  $\mu$ g/mL.

Cũng tại vùng biển Khánh Hòa, 7 loài rong nâu được Nguyễn Thế Hân nghiên cứu đều có hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase, với giá trị  $IC_{50}$  từ 154,27- 426,27  $\mu\text{g/mL}$ . Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, các loài rong *S. mcclurei* và *S. swartzii* không thể hiện hoạt tính ức chế enzyme hoặc chỉ cho hoạt tính rất yếu. Kết quả này khác với báo cáo của Nguyễn Thế Hân và cộng sự, trong đó *S. mcclurei* được ghi nhận là loài có hoạt tính ức chế mạnh nhất trong số bảy loài rong được khảo sát, đồng thời *S. swartzii* cũng cho thấy khả năng ức chế enzyme đáng kể. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Nguyễn Thế Hân còn cho thấy loài *Padina australis* có giá trị  $IC_{50}$  là 361,64  $\mu\text{g/mL}$  so với loài *S. mcclurei* 154,27  $\mu\text{g/mL}$  [1].

Nghiên cứu gần đây của Puspawati và cộng sự cho thấy rong quạt Úc (*Padina australis*) có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase đáng kể [26]. Các phân đoạn chiết *n*-hexane, ethyl acetate và ethanol đều cho hoạt tính với khả năng ức chế từ 45,37 – 94,55% tại nồng độ 500  $\mu\text{g/mL}$ . Tác giả trên cho rằng rong quạt Úc có tiềm năng cung cấp các chất ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase.

### 3.2.2. Hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -amylase

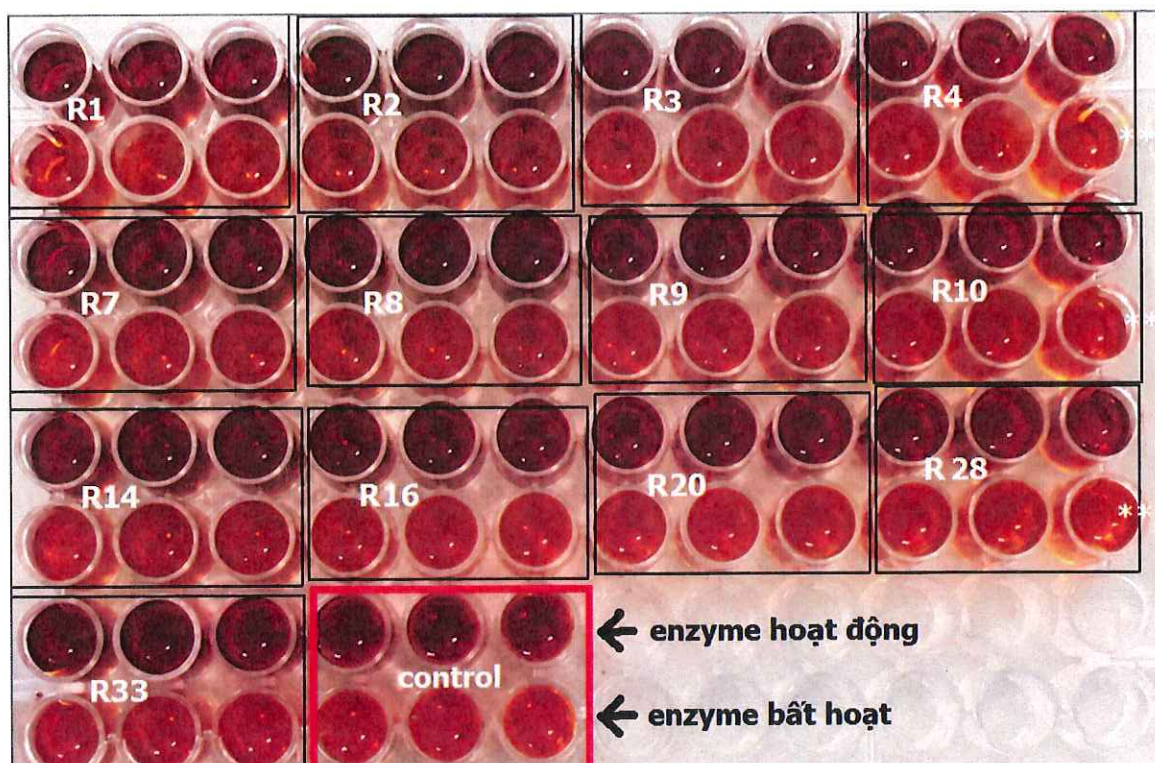
Hỗn hợp phản ứng được thực hiện với enzyme  $\alpha$ -amylase dịch tụy lợn, tại nồng độ mẫu rong là 500  $\mu\text{g/mL}$  hỗn hợp phản ứng. Kết quả được thể hiện tại bảng 3.3 sau:

Bảng 3.3. Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase của các cao chiết loài rong nâu với nồng độ 500  $\mu\text{g/mL}$

STT	Ký hiệu mẫu	Loài rong	Ức chế enzyme $\alpha$ -amylase (%)
1	R-1	<i>Sargassum duplicatum</i>	7,44 $\pm$ 2,2
2	R-2	<i>Padina australis</i>	1,28 $\pm$ 0,9
3	R-3	<i>Sargassum denticarpum</i>	5,30 $\pm$ 0,5
4	R-4	<i>Sargassum microcystum</i>	16,45 $\pm$ 0,2

5	R-7	<i>Sargassum crassifolium</i>	8,65 ± 1,9
6	R-8	<i>Sargassum mcclurei</i>	11,21 ± 0,5
7	R-9	<i>Sargassum duplicatum</i>	16,42 ± 2,1
8	R-10	<i>Dictyota spinulosa</i>	23,20 ± 1,9
9	R-14	<i>Turbinaria ornata</i>	16,21 ± 1,2
10	R-16	<i>Colpomenia sinuosa</i>	11,68 ± 1,2
11	R-20	<i>Sargassum sp. 20</i>	20,40 ± 0,3
12	R-28	<i>Sargassum swartzii</i>	11,40 ± 0,3
13	R-33	<i>Dictyota dentata</i>	15,60 ± 3,3
	Acarbose		86,21 ± 5,2

Bảng 3.3 cho thấy tại nồng độ 500 µg/mL, các mẫu rong hầu như không ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase. Giá trị ức chế cao nhất là 23,20 % bởi mẫu rong số R-10, tên loài rong nâu *Dictyota spinulosa*. Hình ảnh màu phản ứng enzyme  $\alpha$ -amylase (hình 3.2) cũng cho thấy, các mẫu rong đều không làm nhạt màu đỏ đáng kể (so sánh với mẫu control) hỗn hợp phản ứng khi nhuộm với chất DNS.



Hình 3.2. Hình ảnh thực nghiệm hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase của các cao chiết rong.

Một số nghiên cứu khác trên thế giới về hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase có thể được liệt kê, tham khảo như sau. Rong *S. patens* có hợp chất phlorotannin (DDBT) có hoạt chất ức chế rất mạnh lên enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme  $\alpha$ -amylase ( $IC_{50} = 3,2 \mu\text{g/mL}$ ), mạnh hơn so với chất thử acarbose ( $IC_{50} = 26,3 \mu\text{g/mL}$ ) [34]. Rong *S. histrix* chứa phlorotannin với hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase tốt ( $IC_{50} = 0,58 \text{ mg/mL}$ ) gần tương đương như chất acarbose ( $IC_{50} = 0,53 \text{ mg/mL}$ ). Với enzyme  $\alpha$ -glucosidase, hoạt tính ức chế với  $IC_{50} = 0,59 \text{ mg/mL}$ , tương đương acarbose ( $IC_{50} = 0,61 \text{ mg/mL}$ ) [35]. Loài *S. pallidum* chứa chất polyphenol với hoạt tính ức chế cả enzyme  $\alpha$ -amylase và enzyme  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50}$  là 334,9 và 6290  $\mu\text{g/mL}$ .

Polysaccharide từ rong nâu *S. fusiforme* có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase với giá trị  $IC_{50} = 0,681 \text{ mg/mL}$  [36], fucoidan từ rong *S. wightii* [37]. Với loài rong *S. duplicatum*, tác giả Akbari và cộng sự chứng tỏ có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase và chống oxy hóa [38].

Một trong 3 mẫu rong có hoạt tính ức chế tốt  $\alpha$ -glucosidase là *Padina australis*, ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase 81,68% hoạt tính, với giá trị  $IC_{50}$  là

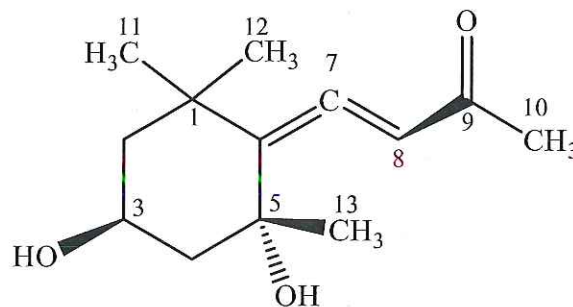
55,12  $\mu\text{g/mL}$  được chọn để nghiên cứu tách chiết hóa học chất trong rong. Tuy hoạt tính rong này thấp hơn so với 2 loài rong *S. duplicatum* và *S. denticarpum* nhưng sinh khối loài rong này lớn, dễ thu hoạch để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

### 3.3. Nghiên cứu thành phần hóa học rong quạt Úc (*Padina australis*)

#### 3.3.1. Xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất phân lập được từ loài rong quạt Úc (*Padina australis*)

Sau khi tinh chế, bốn hợp chất tinh sạch được thu hồi, xác định hoạt tính ức chế enzyme. Biện luận công thức cấu tạo của bốn hợp chất tinh sạch như sau:

Hợp chất **PA1** grasshopper ketone có công thức phân tử là  $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_3$  như hình 3.3.



Hình 3.3. Cấu trúc hóa học của hợp chất **PA1**

Hợp chất **PA1** thu được dưới dạng chất bột vô định hình màu trắng. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **PA1** ở hình 3.4 xuất hiện 3 tín hiệu proton methyl tại  $\delta_{\text{H}}$  1,18 (3H, s) và 1,40 (6H, s), 1 tín hiệu của nhóm methyl acetyl tại  $\delta_{\text{H}}$  2,21 (3H, s), tín hiệu của 1 proton olefin tại  $\delta_{\text{H}}$  5,85 (1H, s) và 1 tín hiệu proton oximethine tại  $\delta_{\text{H}}$  4,24 (1H, m). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và HSQC ở hình 3.5, hình 3.6 cho thấy 13 tín hiệu cộng hưởng của nguyên tử carbon phù hợp với khung  $\text{C}_{13}$ -norisoprenoid (megastigmane), bao gồm: một nhóm carbonyl đặc trưng tại  $\delta_{\text{C}}$  200,8; bốn carbon không liên kết trực tiếp với hydro tại  $\delta_{\text{C}}$  37,0; 72,4; 120,0; 211,5; một carbon methine tại  $\delta_{\text{C}}$  101,1; hai carbon methylene tại  $\delta_{\text{C}}$  50,0; 49,8; một nhóm oximethine tại  $\delta_{\text{C}}$  64,4 và bốn carbon methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  32,3; 30,8; 29,3; 26,5. Các tín hiệu tại  $\delta_{\text{C}}$  120,0 (C); 211,5 (C); 101,1 (CH) và 200,8 (C), cùng với proton singlet tại  $\delta_{\text{H}}$  5,85; cho thấy sự tồn tại của hệ ketone  $\alpha, \beta$ -không no (enone liên hợp), có thể dự đoán đây là hợp chất có cấu

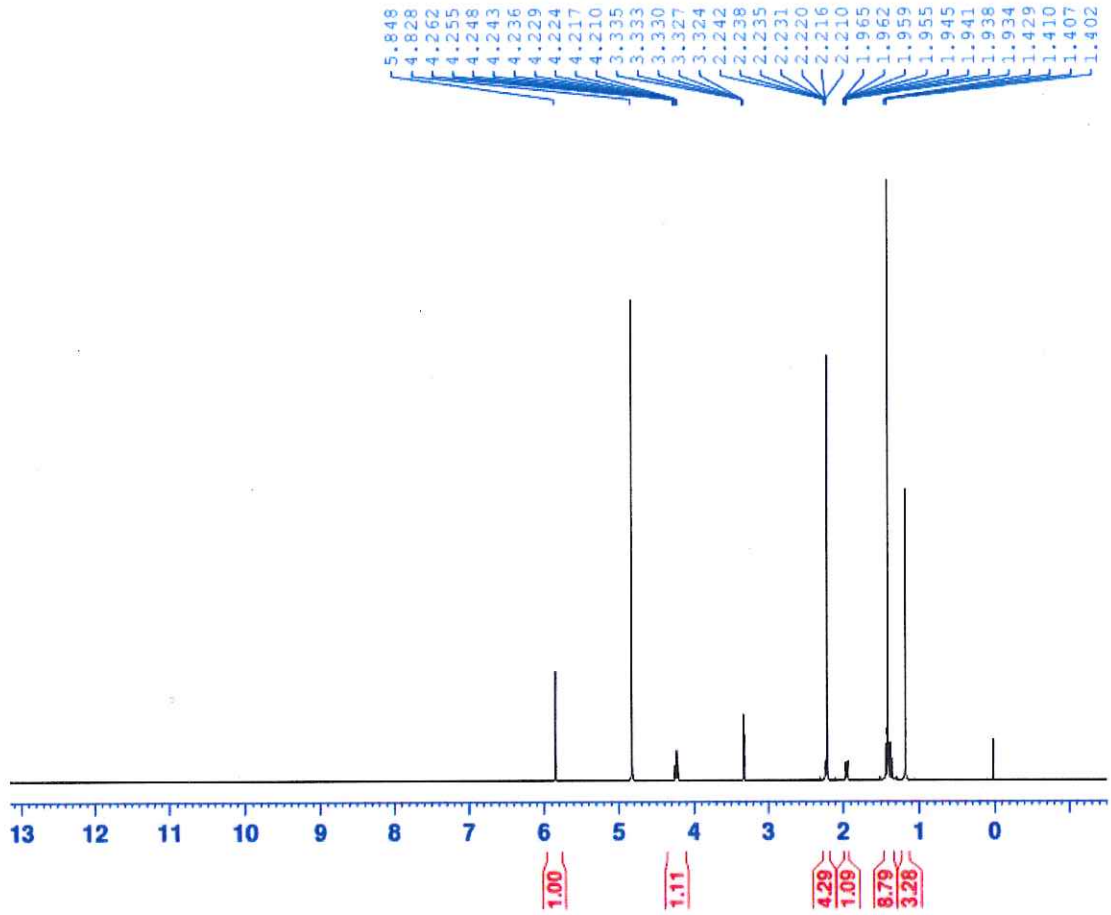
trúc C=C=C-C=O ở nhánh. Bốn nhóm methyl xuất hiện dưới dạng singlet tại  $\delta_H$  2,21; 1,18; 1,40 và 1,40 là đặc trưng cho khung megastigmane [39]. Ở hình 3.7, hình 3.8 các tương tác HMBC của H-11 ( $\delta_H$  1,18)/H-12 ( $\delta_H$  1,40) với C-1 ( $\delta_C$  37,0)/C-2 ( $\delta_C$  50,0)/C-6 ( $\delta_C$  120,0) và H-13 ( $\delta_H$  1,40) đến C-4 ( $\delta_C$  49,8)/C-5 ( $\delta_C$  72,4)/C-6 ( $\delta_C$  120,0) cho thấy vị trí của hai nhóm methyl ( $\delta_H$  1,18/ $\delta_C$  29,3;  $\delta_H$  1,40/ $\delta_C$  32,3) tại C-1 và một nhóm methyl ( $\delta_H$  1,40/ $\delta_C$  30,8) tại C-5. Ngoài ra, tương tác HMBC của H-8 ( $\delta_H$  5,85) với C-6 ( $\delta_C$  120,0)/C-9 ( $\delta_C$  200,8)/C-10 ( $\delta_C$  26,5) xác nhận sự hiện diện của nhóm allenic liên kết với vòng cyclohexane và nhóm ketone. Hơn nữa, tương tác HMBC từ H-10 ( $\delta_H$  2,21) với C-8 ( $\delta_C$  101,1)/C-9 ( $\delta_C$  200,8) cho thấy nhóm methyl ( $\delta_H$  2,21/ $\delta_C$  26,5) liên kết tại C-9. Từ các dữ kiện phổ kết hợp tài liệu tham khảo nghiên cứu của Feng và cộng sự hợp chất **PA1** được xác định là một dẫn xuất megastigmane có tên gọi là grasshopper ketone ở bảng 3.4 [40].

Bảng 3.4. Số liệu phổ NMR của hợp chất **PA1** và hợp chất tham khảo

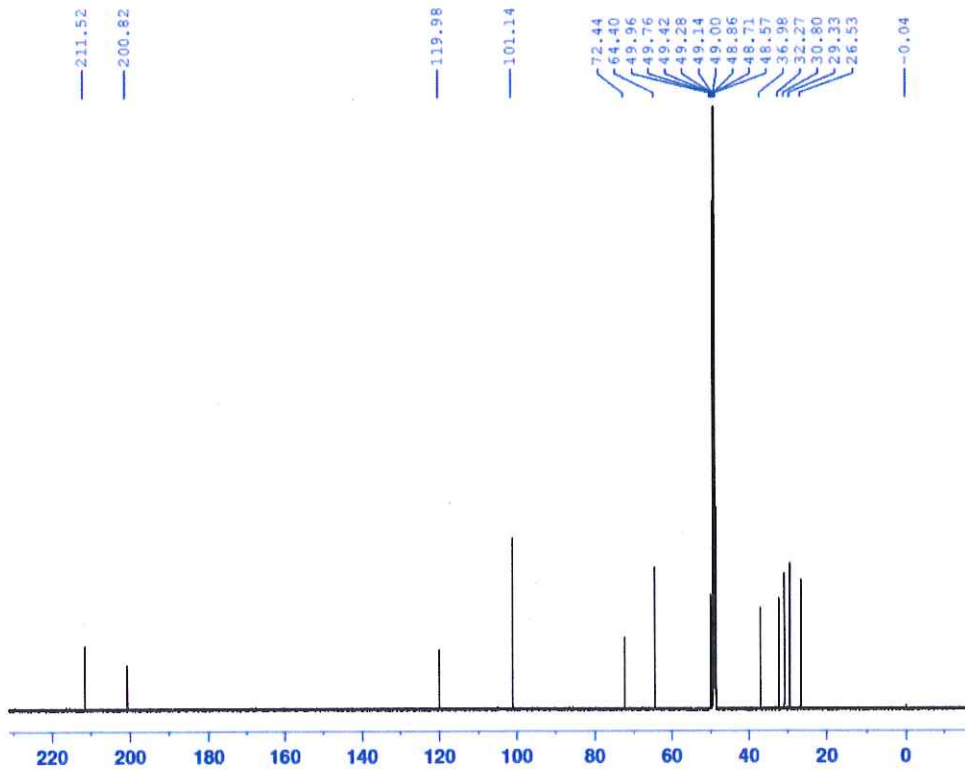
C	<sup>#</sup> $\delta_C$	<sup>a,b</sup> $\delta_C$	<sup>a,c</sup> $\delta_H$ (độ bội, $J=$ Hz)
1	37,0	37,0	-
2	49,9	50,0	1,95 (ddd; 1,8; 3,6; 12,0) 1,42 (dd; 11,4; 13,2)
3	64,4	64,4	4,24 (m)
4	49,7	49,8	2,23 (ddd; 2,4; 4,2; 13,2) 1,36 (dd; 13,2; 12,0)
5	72,4	72,4	-
6	119,9	120,0	-
7	211,5	211,5	-
8	101,1	101,1	5,85 (s)
9	200,8	200,8	-
10	26,5	26,5	2,21 (s)
11	29,3	32,3	1,40 (s)
12	32,3	29,3	1,18 (s)
13	30,8	30,8	1,40 (s)

<sup>a</sup> đo trong  $CD_3 OD$ , <sup>b</sup> 150MHz, <sup>c</sup> 600MHz, <sup>d</sup> đo trong  $CD_3 OD$

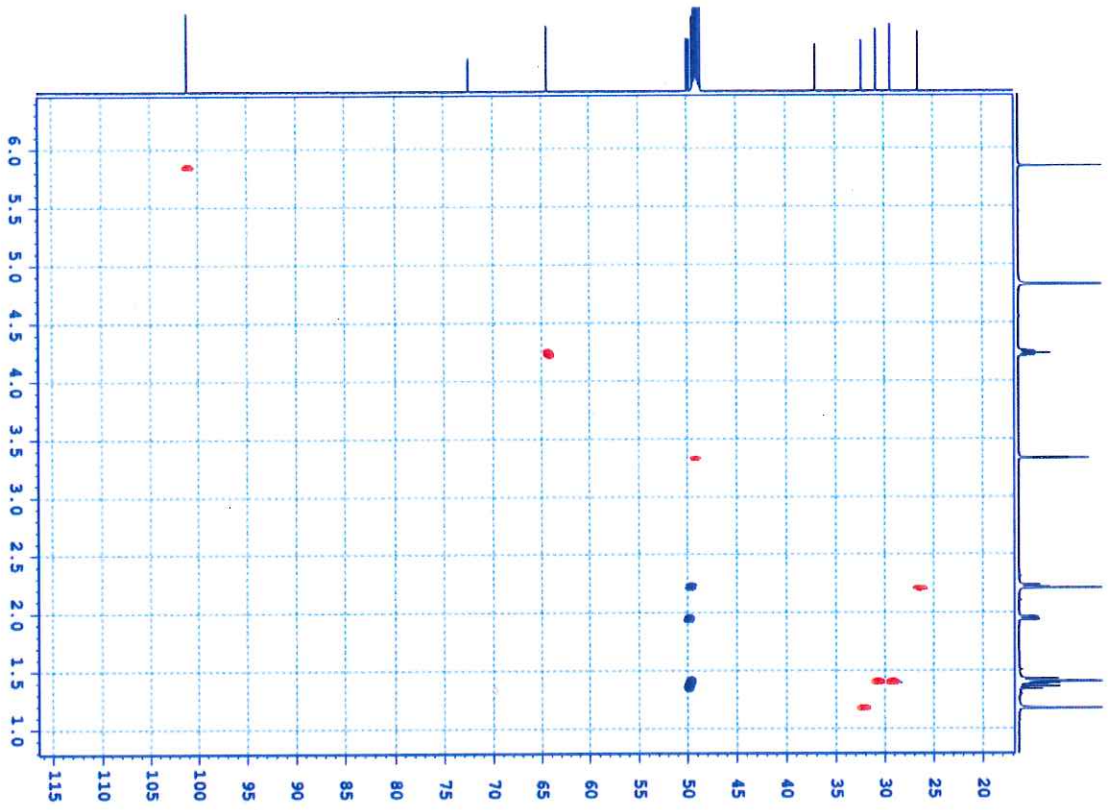
<sup>#</sup> Số liệu phổ chất grasshopper ketone [40]



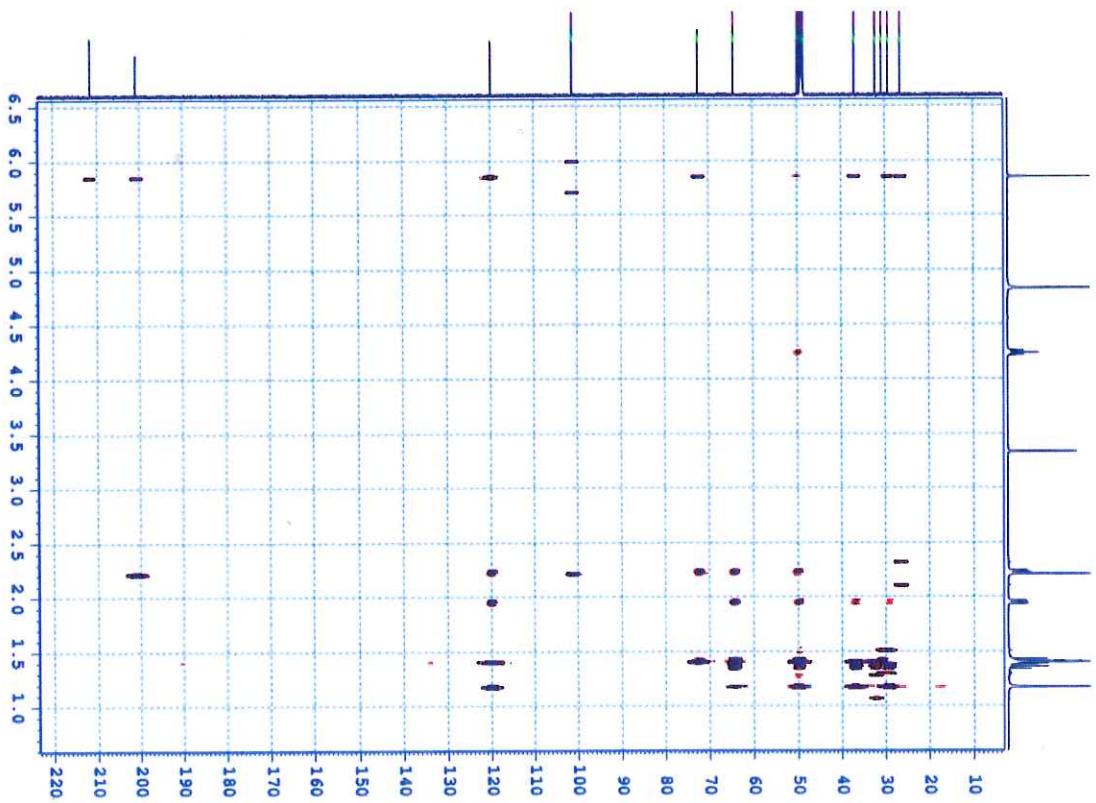
Hình 3.4. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất PA1



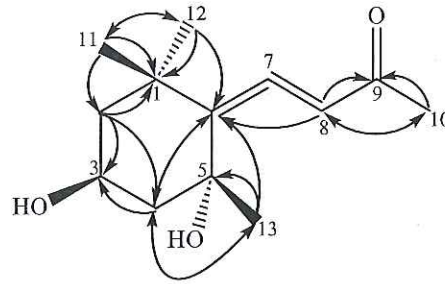
Hình 3.5. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất PA1



Hình 3.6. Phổ HSQC của hợp chất PA1

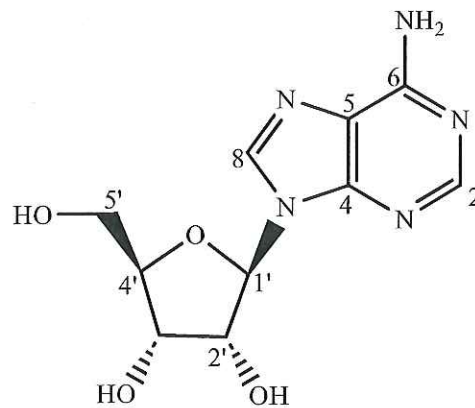


Hình 3.7. Phổ HMBC của hợp chất PA1



Hình 3.8. Các tương tác HMBC chính của hợp chất **PA1**

Hợp chất **PA2**: adenosine có công thức hóa học là  $C_{10}H_{13}N_5O_4$  như hình 3.9.



Hình 3.9. Cấu trúc hóa học của hợp chất **PA2**.

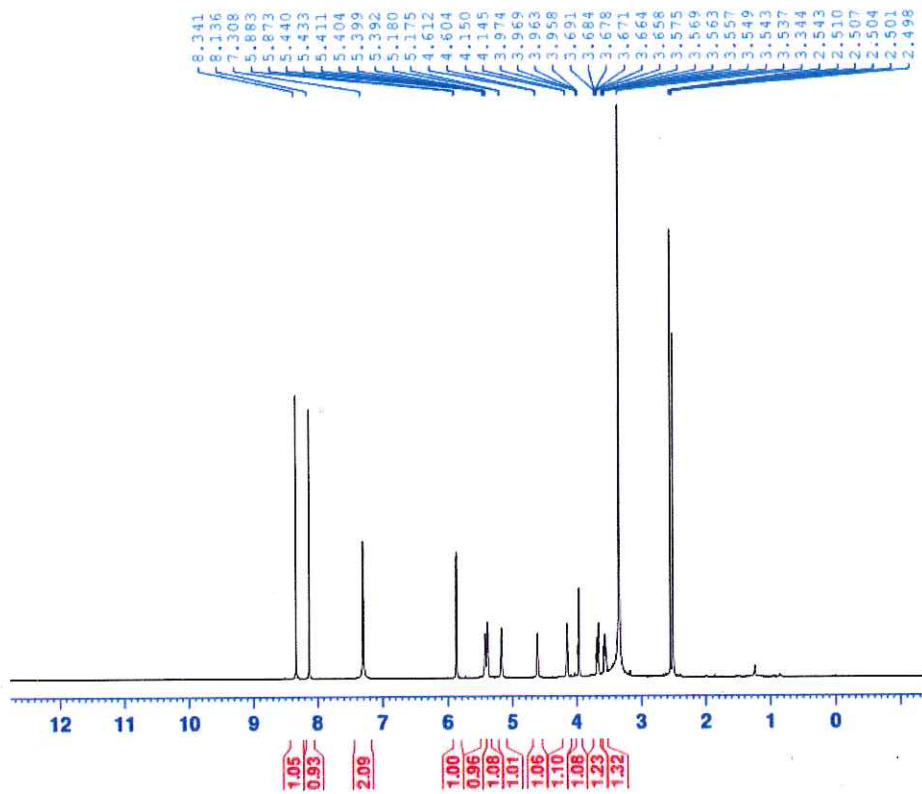
Hợp chất **PA2** thu được dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  và HSQC ở hình 3.10, hình 3.11, hình 3.12 cho thấy đây là hợp chất có chứa phân tử đường ribose. Trên phổ carbon và HSQC xuất hiện 10 tín hiệu carbon với 3 tín hiệu carbon không liên kết trực tiếp với hydro, 5 tín hiệu carbon methine, 2 tín hiệu carbon olefin của nối đôi và 1 tín hiệu carbon oxymethylene. Hai tín hiệu olefin của nối đôi xuất hiện tại  $\delta_c$  152,4 (C-2)/ $\delta_H$  8,14 (1H, s, H-2) và  $\delta_c$  140,0 (C-8)/ $\delta_H$  8,34 (1H, s, H-8). Sự chuyển dịch về phía vùng trường yếu của các tín hiệu proton này gợi ý đến sự tạo liên kết với nitơ của (-HC=N) các tín hiệu carbon này. Các tín hiệu oxymethine và oxymethylen lần lượt xuất hiện tại  $\delta_c$  87,9 (C-1')/ $\delta_H$  5,88 (1H, m, H-1'); 73,4 (C-2')/ 4,61 (1H, m, H-2'); 70,6 (C-3')/ 4,14 (1H, m, H-3'); 85,9 (C-4')/ 3,96 (1H, m, H-4') và 61,7 (C-5')/ 3, 67 (1H, m, H-5'a); 3,56 (1H, m, H-5'b). Sự chuyển dịch về phía vùng trường yếu của các tín hiệu proton đồng thời là sự chuyển dịch về phía vùng trường mạnh của các tín hiệu carbon tương ứng gợi ý sự tạo liên kết C-N. Từ các số liệu trên kết hợp so sánh với số liệu phổ của 02 hợp chất adenosine và  $\alpha$ -adenosine phù hợp với số liệu phổ của hợp

chất adenosine ở bảng 3.5 [41]. Từ đó có thể khẳng định hợp chất PA2 chính là adenosine.

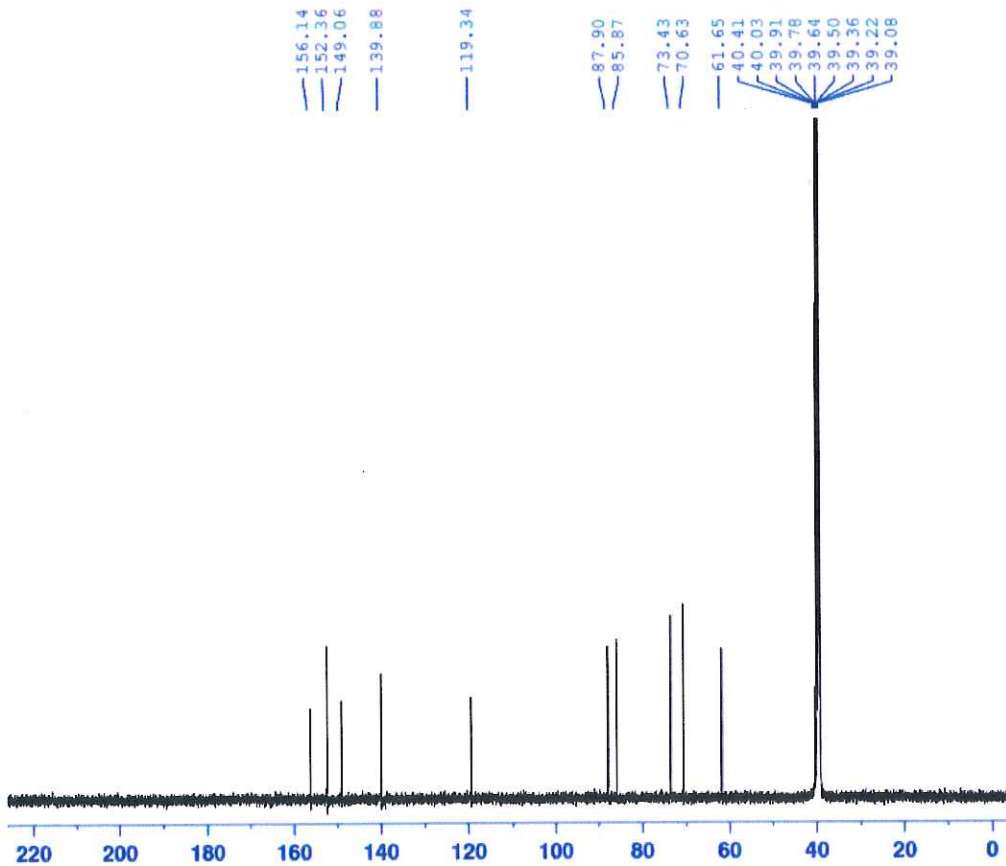
Bảng 3.5. Số liệu phổ NMR của hợp chất PA2 và hợp chất tham khảo.

C	$\delta_C^{\#}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ (độ bội, $J=$ Hz)
2	152,4	152,4	8,14 (s)
4	149,0	149,1	-
5	119,3	119,3	-
6	156,2	156,1	-
8	139,9	140,0	8,34 (s)
1'	87,9	87,9	5,88 (m)
2'	73,7	73,4	4,61 (m)
3'	70,6	70,6	4,14 (m)
4'	85,8	85,9	3,96 (m)
5'	61,6	61,7	3,56 (m) 3,67 (m)
2'-OH	-	-	7,31 (br s)
3'-OH	-	-	7,31 (br s)
5'-OH			5,39 (dd; 4,8; 7,2)

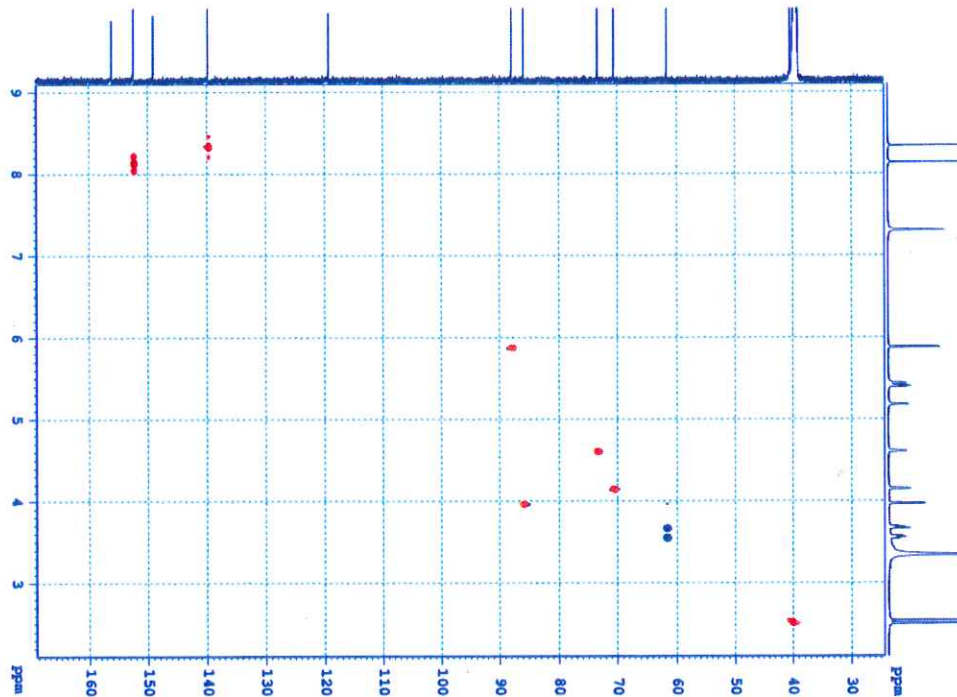
<sup>a</sup>Đo trong DMSO, <sup>b</sup>150MHz, <sup>c</sup>600MHz, <sup>#</sup> $\delta_C$  adenosine (1) đo trong DMSO [41]



Hình 3.10. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất PA2

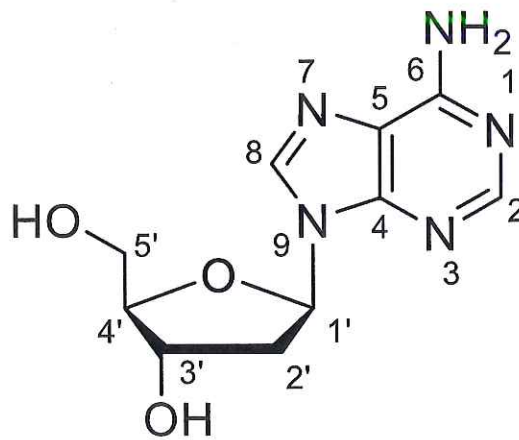


Hình 3.11. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất PA2



Hình 3.12. Phổ HSQC của hợp chất **PA2**.

Hợp chất **PA3**: 2'-Deoxyadenosine có công thức phân tử  $C_{10}H_{13}N_5O_3$  như hình 3.13.



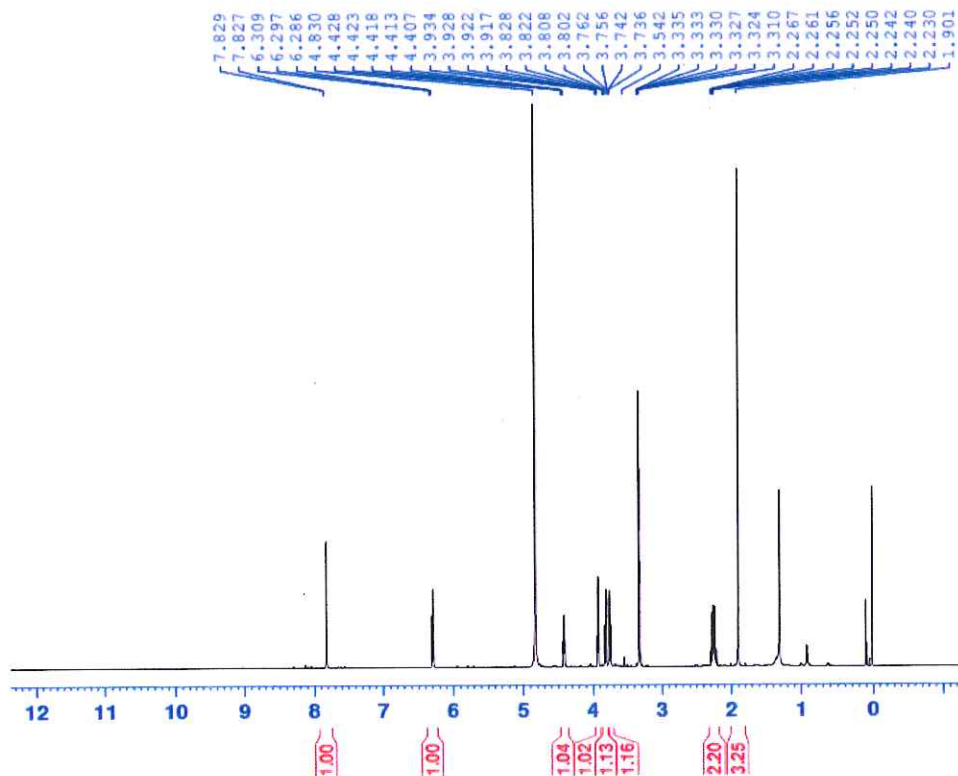
Hình 3.13. Cấu trúc hóa học của hợp chất **PA3**

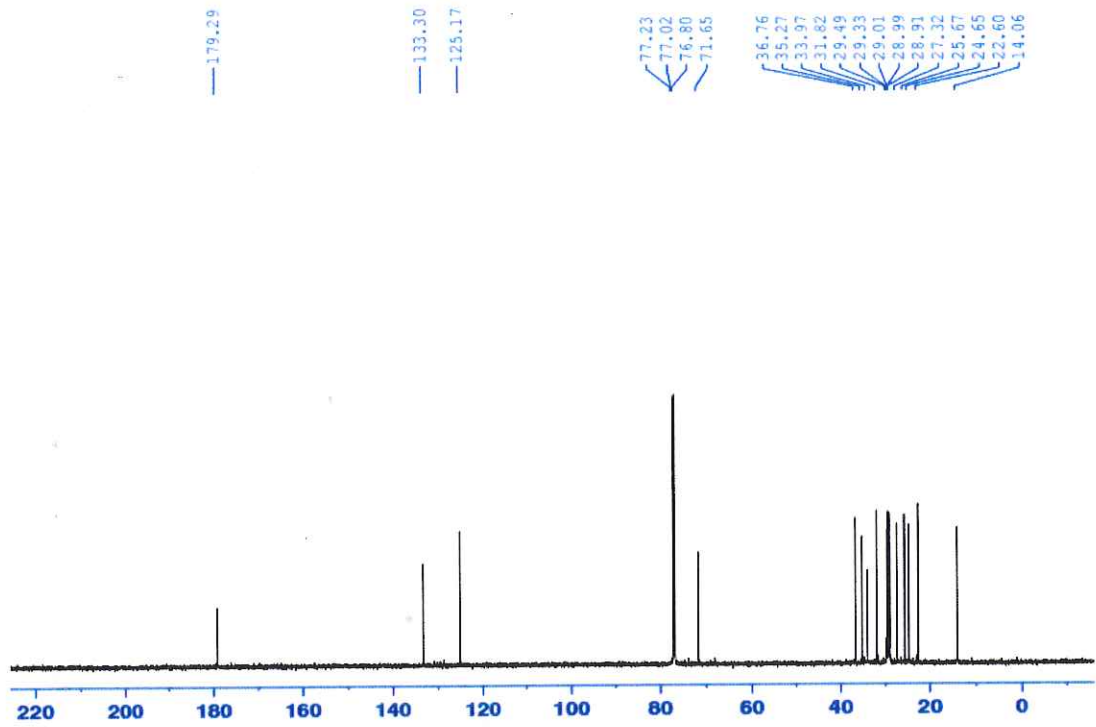
Chất **PA3** thu được dưới dạng chất rắn vô định hình màu nâu. Các tín hiệu của phổ  $^1\text{H-NMR}$  ở hình 3.14 được ghi nhận giống như các tín hiệu của 2-deoxy-arabionoside như trong cấu tạo của **PA2**. Tuy nhiên, trong vùng trường thơm, chất **PA3** còn có tín hiệu của các proton và carbon của adenin  $\delta_C$  120,8 (C-5);  $\delta_C$  141,5;  $\delta_H$  8,32 (CH-8);  $\delta_C$  149,9 (C-4);  $\delta_C$  153,5;  $\delta_H$  8,19 (CH-2) và  $\delta_C$  157,5 (C-6) ở hình 3.15, hình 3.16. Phân tích chi tiết của phổ NMR cấu trúc của **PA3** được xác định là 2'-Deoxyadenosine. Các số liệu này phù hợp với công bố trong tài liệu tham khảo của Liu và cộng sự [42] ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Số liệu phổ NMR của hợp chất PA3 và hợp chất tham khảo.

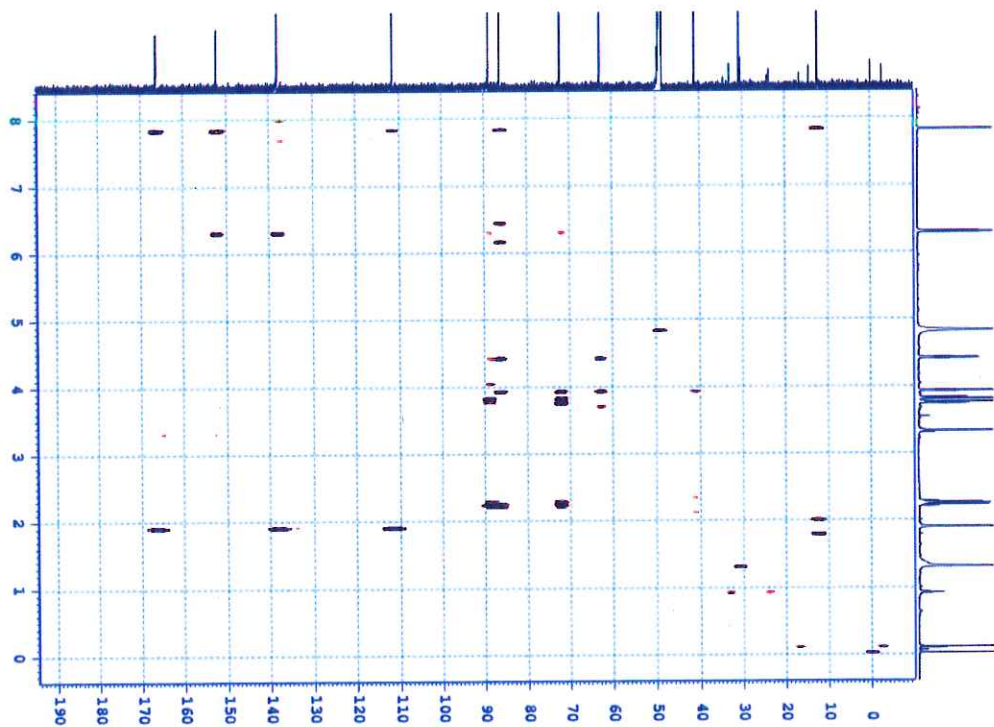
C	$^{\#}\delta_C$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_H^{a,c}$ mult, (J, Hz)
2	152,4	153,5	8,19s
3	-	-	-
4	148,9	149,9	-
5	119,3	120,8	-
6	156,9	157,5	-
7	-	-	-
8	139,5	141,5	8,33s
9	-	-	-
1'	83,9	87,1	6,46 (dd, 8,0; 6,0)
2'	39,4	41,6	2,45 (ddd, 2,5; 6,0; 13,5) 2,85 (ddd 5,5; 8,0; 13,5)
3'	71,0	73,1	4,1 (quint 2,5; 3,0; 5,5)
4'	88,0	89,9	4,09(q 3,0; 6,0)
5'	61,9	63,7	3,88 (dd; 3,0; 12,5) 5,77 (dd; 3,0; 12,5)

$^a$ CD<sub>3</sub>OD,  $^b$ 500 MHz,  $^c$ 125 MHz,  $\delta_C^{\#}$  của chất tham khảo [42]

Hình 3.14. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của hợp chất PA3

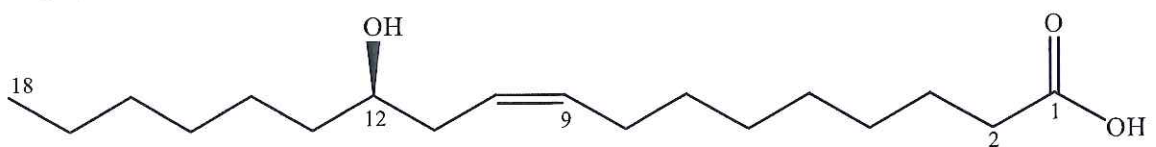


Hình 3.15. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất PA3



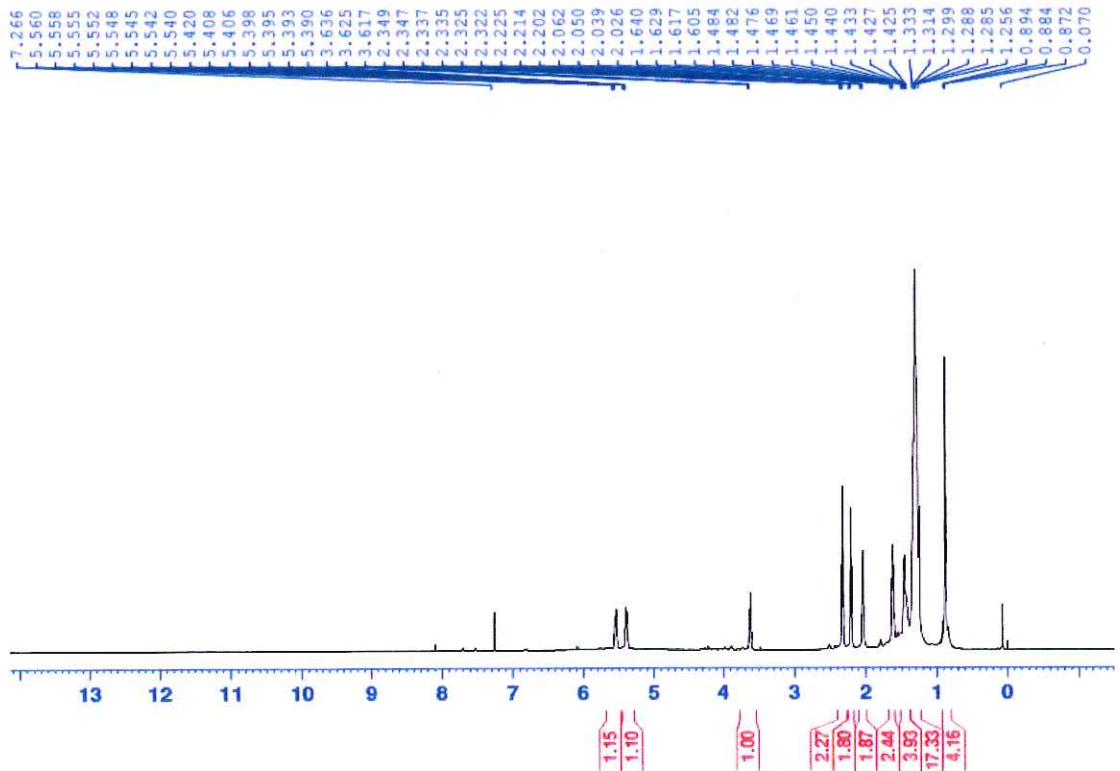
Hình 3.16. Phổ HMBC của hợp chất PA3

Hợp chất **PA4**: Ricinoleic acid có công thức phân tử  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_3$  như hình 3.7.

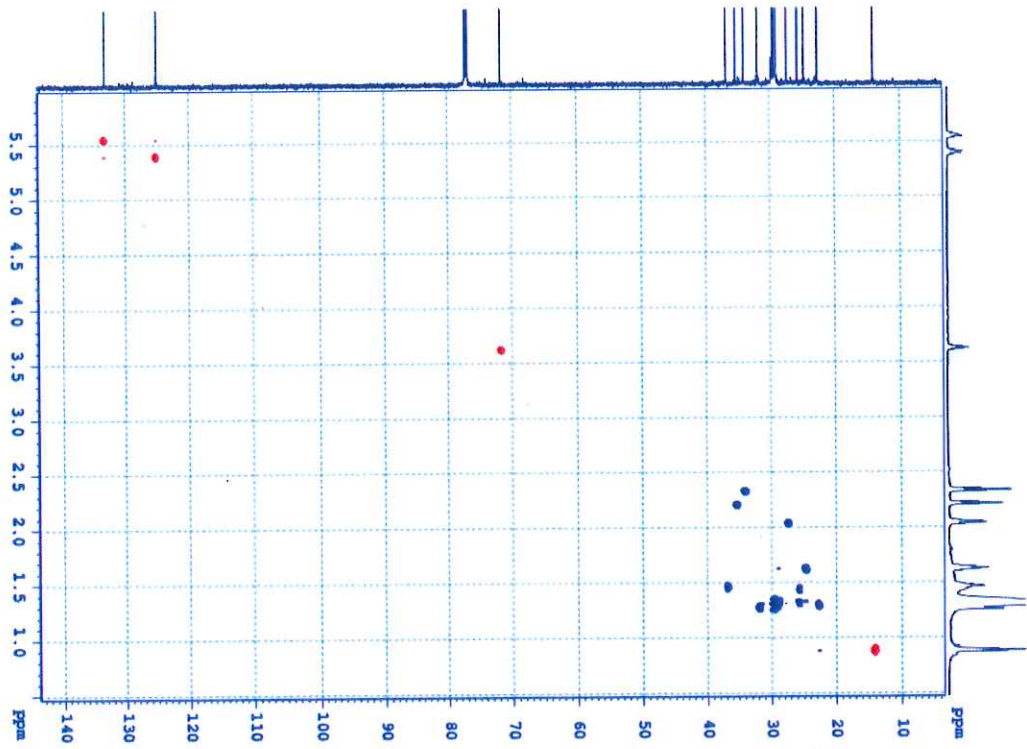


Hình 3.17. Cấu trúc hóa học của hợp chất **PA4**

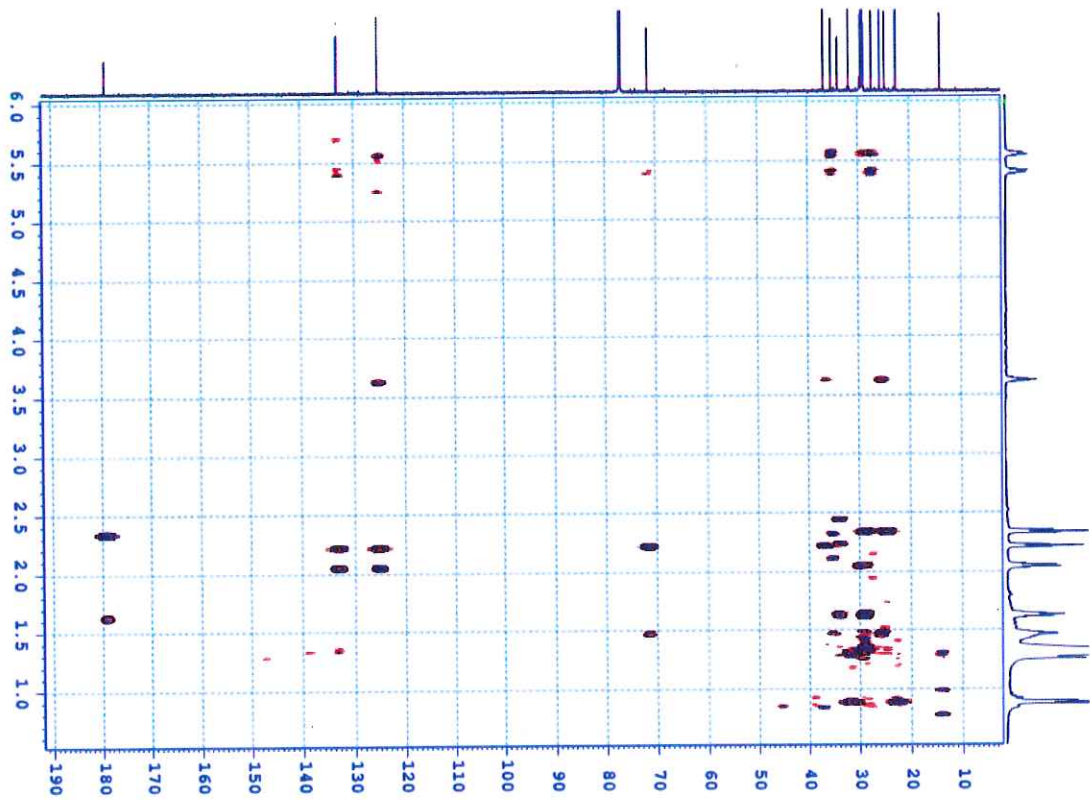
Hợp chất **PA4** thu được dưới dạng chất lỏng nhớt màu vàng. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  ở hình 3. xuất hiện hai proton olefin tại  $\delta_{\text{H}}$  5,57 (1H; m) và 5,39 (1H; m), một nhóm methyl đầu mạch tại  $\delta_{\text{H}}$  0,88 (3H; t;  $J = 6,0$  Hz), một nhóm hydroxy methine tại  $\delta_{\text{H}}$  3,64 (1H, m), các nhóm methylene tại  $\delta_{\text{H}}$  1,63 (2H; m); 2,01 (2H; q;  $J = 6,6$  Hz); 2,21 (2H; t;  $J = 6,6$  Hz); 2,33 (2H; dt;  $J = 1,2$ ; 7,2 Hz) và các nhóm methylene trong khoảng  $\delta_{\text{H}}$  1,25–1,48 (20H; m). Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của **PA4** xuất hiện tín hiệu của 18 carbon bao gồm: một carbon carboxyl ( $\delta_{\text{C}}$  179,3); hai carbon olefin ( $\delta_{\text{C}}$  125,0 và 133,3) ; một carbon oxymethine tại  $\delta_{\text{C}}$  71,7; mười ba carbon methylene tại  $\delta_{\text{C}}$  22,6; 24,7; 25,7; 27,3; 28,9; 29,0; 29,0; 29,3; 29,5; 31,8; 34,0; 35,3; 36,8 và một carbon methyl tại  $\delta_{\text{C}}$  14,1. Các tương tác HMBC giữa H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  0,88) và C-17 ( $\delta_{\text{C}}$  22,6), C-16 ( $\delta_{\text{C}}$  31,8) cho thấy vị trí của nhóm methyl đầu mạch. Các tương tác HMBC của H-9 ( $\delta_{\text{H}}$  5,57) với C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  125,2); C-11 ( $\delta_{\text{C}}$  35,3); C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  27,3); C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  28,9); tương tác HMBC của H-10 ( $\delta_{\text{H}}$  5,39) với C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  133,0); C-11 ( $\delta_{\text{C}}$  35,3); C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  71,7); C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  27,3) và tương tác HMBC giữa H-12 ( $\delta_{\text{H}}$  3,64) với C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  125,2); C-13 ( $\delta_{\text{C}}$  36,8), C-14 ( $\delta_{\text{C}}$  25,7) cho thấy vị trí nhóm hydroxyl liên kết với nhóm methine C-12 ( $\delta_{\text{C}}$  71,7). Dựa trên phân tích các dữ kiện phổ HSQC và phổ NMR của hợp chất **PA4** và so sánh với tài liệu tham khảo [43] đã xác định được cấu trúc hóa học của **PA4** là ricinoleic acid.



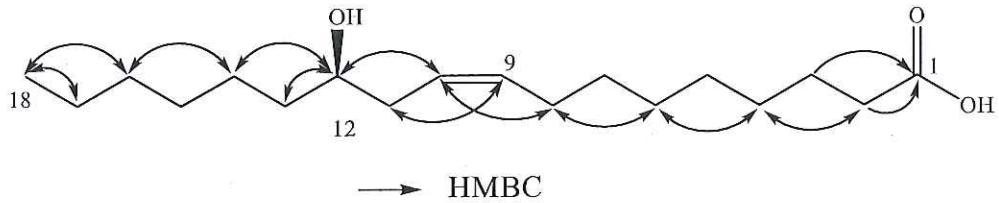
Hình 3.18. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất **PA4**



Hình 3.19. Phổ HSQC của hợp chất PA4



Hình 3.20. Phổ HMBC của hợp chất PA4



Hình 3.21. Các tương tác HMBC chính của hợp chất PA4

### 3.3.2. Đánh giá tác dụng hoạt tính ức chế enzyme $\alpha$ -glucosidase và $\alpha$ -amylase của các tinh sạch phân lập từ rong quạt Úc (*Padina australis*)

Trong quá trình phân lập, bốn hợp chất tinh sạch đã được thu thập và xác định cấu trúc như trình bày ở trên. Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase của các hợp chất này cũng được đánh giá. Kết quả được trình bày trong bảng 3.7.

Bảng 3.7. Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme  $\alpha$ -amylase của các hợp chất và các cao chiết phân đoạn từ rong quạt Úc (*Padina australis*) với nồng độ 500  $\mu\text{g/mL}$ .

STT	Chất thô	Chất sạch	Enzyme $\alpha$ -glucosidase			Enzyme $\alpha$ -amylase	
			Ức chế $\alpha$ -glucosidase (%)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )**	Kết luận	Ức chế $\alpha$ -amylase (%)	Kết luận
1		PA3	14,89 $\pm$ 1,12				
2		PA2	0	-	-	0	-
3	PA25B		88,54 $\pm$ 2,31	55,68 $\pm$ 3,21	+	-	-
4		PA1	0	-	-	-	-
5		PA4	97,63 $\pm$ 4,52	65,61 $\pm$ 6,86	+	-	-
6	PA2A		89,26 $\pm$ 2,22	122,58 $\pm$ 5,70	+	-	-
7	PA2B		82,81 $\pm$ 3,27	59,05 $\pm$ 3,12	+	-	-
8	PA2D1		80,66 $\pm$ 6,32	60,21 $\pm$	+	-	-

				2,99			
9	PA2D3		62,29± 2,92	321,98 ± 7,11	+	-	-
10	PA2G		42,48± 1,99	ND	-	-	-
11	PA2C		49,40 ± 2,28	ND	-	-	-
	Acarbose		99,21 ± 5,22	0,165		89,61 ± 3,31	+

-: không hoặc ức chế không đáng kể lên hoạt tính (dưới 50%); ND: không xác định

\*: nồng độ chất ( $\mu\text{g}$ ) trong dịch enzyme.

\*\**: IC<sub>50</sub> là nồng độ mẫu tại đó ức chế 50% hoạt tính enzyme.*

Hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và enzyme  $\alpha$ -amylase của 4 chất sạch PA1-PA4 và một số phân đoạn thô đã được trình bày tại bảng 3.7.

#### **Đối với enzyme $\alpha$ -glucosidase:**

Tại nồng độ thử nghiệm (500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), có 6 chất (phân đoạn) có hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase từ 62,29% tới 97,63%, trong đó có 5 chất ức chế tốt (>80%). Đặc biệt chất sạch PA4 ức chế tốt nhất, tới 97,63% enzyme. Chất này được xác định là ricinoleic acid. 3 chất sạch còn lại không ức chế (hoặc không đáng kể) lên enzyme. Chất PA4 có giá trị  $\text{IC}_{50} = 65,61 \mu\text{g}/\text{mL}$ .

Ricinoleic acid là một axit béo và có nhiều trong hạt thầu dầu (*ricinus communis*). Chất này có giá trị thương mại lớn, và được sử dụng rộng rãi trong ngành mỹ phẩm, dược, nông nghiệp... Hoạt tính sinh học của chất này có phổ rộng gồm kháng khuẩn, kháng viêm, chống mụn... bởi axit này có nhóm chức năng như  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{OH}$  và  $-\text{C}=\text{C}$ . Hơn nữa, axit béo còn có thể được chuyển đổi thành các dẫn xuất với các ứng dụng khác nhau [44].

#### **Đối với enzyme $\alpha$ -amylase:**

Kết quả cho thấy các mẫu thử, bao gồm các chất thô và các hợp chất tinh sạch đều không thể hiện hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -amylase ở nồng độ khảo sát 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### Kết luận

Đã thu thập, định danh và tạo cao chiết ethanol từ mười ba loài rong nâu.

8/13 cao chiết rong nâu thể hiện hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase với tỷ lệ ức chế trên 50% tại nồng độ 500  $\mu\text{g/mL}$ , ba loài thể hiện hoạt tính mạnh với tỷ lệ ức chế vượt quá 80% gồm *Sargassum duplicatum*, *Padina australis* và *Sargassum denticarpum*. Không có mẫu rong nào thể hiện hoạt tính ức chế đáng kể đối với enzyme  $\alpha$ -amylase.

Từ rong quạt Úc (*Padina australis*), bốn hợp chất đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học bao gồm PA1 (grasshopper ketone), PA2 (adenosine), PA3 (2'-deoxyadenosine) và PA4 (ricinoleic acid). Việc xác định cấu trúc được thực hiện dựa trên phân tích các dữ liệu phổ và đối chiếu với các tài liệu tham khảo đã công bố.

Bốn hợp chất tinh sạch thu được đã được đánh giá hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase. Kết quả cho thấy hợp chất PA4 (ricinoleic acid) có hoạt tính ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase mạnh nhất, với tỷ lệ ức chế đạt 97,63% và giá trị  $\text{IC}_{50}$  là 65,61  $\mu\text{g/mL}$ . Trong khi đó, không có hợp chất hoặc phân đoạn nào thể hiện hoạt tính ức chế đáng kể (trên 50%) đối với enzyme  $\alpha$ -amylase.

### Kiến nghị

Đánh giá mở rộng các hoạt tính sinh học khác của các hợp chất đã tách chiết, xác định thêm cấu trúc hóa học của các hợp chất ở các phân đoạn còn lại.

Mở rộng nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài rong nâu có tiềm năng, đặc biệt là *Sargassum duplicatum* và *Sargassum denticarpum*.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thế Hân và cs (2020), thu nhận và xác định tính chất của các chất ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase từ rong tại vùng biển Khánh Hòa, Việt Nam và đánh giá khả năng kháng bệnh tiểu đường, 106-NN.05-2016.73, Trường ĐH Nha Trang.
2. M. A. Atkinson, G. S. Eisenbarth, and A. W. Michels, Type 1 diabetes, *Lancet*, vol. 383, no. 9911, pp. 69–82, Jan. 2014.
3. DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., ... & Weiss, R. (2022), type 2 diabetes mellitus, *Nature Reviews Disease Primers*, 8(1), 1–24.
4. Sharifuddin, Y., Chin, Y. X., Lim, P. E., & Phang, S. M. (2015), Potential bioactive compounds from seaweed for diabetes management. *Marine Drugs*, 13(8), 5447–5491.
5. Chaudhury, A., Duvoor, C., Dendi, V. S. R., Kraleti, S., Chada, A., Ravilla, R., Marco, A., Shekhawat, N. S., Montales, M. T., Kuriakose, K., Sasapu, A., Beebe, A., Patil, N., Musham, C. K., Lohani, G. P., & Mirza, W. (2017), Clinical review of antidiabetic drugs: Implications for type 2 diabetes mellitus management, *Frontiers in Endocrinology*, 8, Article 6.
6. Vidyashree, J. S., Shetti, P. P., & Ghagane, S. C. (2024), Seaweeds as a potential resource in diabetes management: A review, *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 12.
7. Nguyen, M.-L., Kim, M.-S., Nguyen, N.-T. N., Nguyen, X.-T., Cao, V.-L., Nguyen, X.-V., & Vieira, C. (2023), Marine floral biodiversity, threats, and conservation in Vietnam: An updated review, *Plants*, 12(9), 1862.
8. Paradis, M.-E., Couture, P., & Lamarche, B. (2011), A randomised crossover placebo-controlled trial investigating the effect of brown seaweed (*Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*) on postchallenge plasma glucose and insulin levels in men and women, *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 36(6), 913–919.
9. Gabbia, D., Dall'Acqua, S., Di Gangi, I. M., Bogialli, S., Caputi, V., Albertoni, L., Marsilio, I., Paccagnella, N., Carrara, M., ... & De Martin,

- S. (2017), The phytocomplex from *Fucus vesiculosus* and *Ascophyllum nodosum* controls postprandial plasma glucose levels: An in vitro and in vivo study in a mouse model of NASH, *Marine Drugs*, 15(2), 41.
10. Gunathilaka, T. L., Samarakoon, K., Ranasinghe, P., & Peiris, L. D. C. (2020). Antidiabetic potential of marine brown algae—A mini review, *Journal of Diabetes Research*, 1230218.
  11. Hakim, M.M., Patel, I.C. A review on phytoconstituents of marine brown algae. *Futur J Pharm Sci* 6, 129 (2020).
  12. Abdelsalam S.S., Korashy H.M., Zeidan A., and Agouni A. (2019). The role of protein tyrosine phosphatase (PTP)-1B in cardio-vascular disease and its interplay with insulin resistance, *Bio Molecules* 9(7): 286.
  13. Senthil, S. L., & Raghu, C. (2019), in vitro and in silico inhibition properties of fucoidan against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -D-glucosidase with relevance to type 2 diabetes mellitus, *Carbohydrate Polymers*, 209, 350–355.
  14. Mabate, B., Daub, C. D., Malgas, S., Edkins, A. L., & Pletschke, B. I. (2021), Fucoidan structure and its impact on glucose metabolism: Implications for diabetes and cancer therapy. *Marine Drugs*, 19(1), 30.
  15. Yang, L., Wang, L., Zhu, C., Wu, J., Yuan, Y., Yu, L., Xu, Y., Xu, J., Wang, T., Liao, Z., et al. (2017), Laminarin attenuates diet-induced obesity associated with glucagon-like peptide-1 secretion, *Oncotarget*, 8, 99470–99481.
  16. Vaugelade P, Hoebler C, Bernard F, Guillon F, Lahaye M, Duee PH, Darcy-Vrillon B (2000) Non-starch polysaccharides extracted from seaweed can modulate intestinal absorption of glucose and insulin response in the pig, *ournal of Nutrition*, 130(10), 2497–2502.
  17. Maeda, H., Hosokawa, M., Sashima, T., & Miyashita, K. (2007), Combination of dietary fucoxanthin and fish oil attenuates the weight gain of white adipose tissue and decreases blood glucose in obese/diabetic KK-Ay mice, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7701–7706.
  18. Nguyễn Thị Kim Liên, Trần Minh Dũng, và cs. (2021), Đánh giá hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của chiết xuất rong nâu *Sargassum* spp. thu hái tại vùng biển Nha Trang. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển*.

19. Trần Thị Bích Ngọc, Phạm Hồng Hạnh, và cs. (2020), Hoạt tính chống oxy hóa và tác dụng hạ đường huyết của chiết xuất rong nâu *Padina australis*. *Tạp chí Dược học*, 60(3), 38–47.
20. Vũ Đình Phóng, Nguyễn Thị Hồng Nhung, Bùi Thị Nhật Yến & Lê Tất Thành (2023), Đa dạng thành phần loài rong biển chi *Padina* (Dictyotales, Phaeophyceae) tại Việt Nam và hoạt tính sinh học của chúng, *Tạp chí Dược học, (số đặc biệt)*, Trường Đại học Hòa Bình – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
21. Trương Thị Phương Thảo, Trang D.T.X., Mến T.T and Linh T.C. (2022). Sàng lọc phân đoạn tảo nâu Dictyopteris polypodioides có khả năng ức chế enzyme  $\alpha$ -glucosidase và  $\alpha$ -amylase, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 2*: 59-67
22. Chellappan, D. K., Chellian, J., Leong, J. Q., Liaw, Y. Y., et al., 2020, Biological and therapeutic potential of the edible brown marine seaweed *Padina australis* and their pharmacological mechanism, *Journal of Tropical Biology and Conservation*, 17, 251–271.
23. Wei, C. C., Ling, H. S., Lee, W. C., 2011, Antibacterial activity of *Sargassum polycystum* C. Agardh and *Padina australis* Hauck (Phaeophyceae), *African Journal of Biotechnology*, 10(64), 14125–14131.
24. Hassan, I.H., Pham, H.N.T., & Nguyen, T.H. (2021). Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions for phenolics, antioxidant, and tyrosinase inhibitory activities of Vietnamese brown seaweed (*Padina australis*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(5), e15386.
25. Murugan, A. C., Vallail, D., Karim, M. R., et al., 2015, In vitro antiradical and neuroprotective activity of polyphenol extract from marine algae *Padina australis* H., *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(8), 355–362.
26. Puspawati, N. M., Maharani, P. F., Parwata, I. M. O. A., Patel, R. K., 2026, Dual inhibition and safety profiling of *Padina australis* extracts as a marine-derived  $\alpha$ -glucosidase modulator: an integrated in vitro and in silico study, *Trends in Sciences*, 23(7), 12559.
27. Sami, F. J., Soekamto, N. H., Latip, J., 2020, Antioxidant activity, toxicity effect and phytochemical screening of some brown algae *Padina australis*

- extracts from Dutungan Island of South Sulawesi, Indonesia, *International Journal of Medical Science and Dental Research*, 3(5), 16–21.
28. Shiney, E., Wilsy, J. I., 2014, Bioactive compounds identification from marine macroalga *Padina australis* using methanol extract, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(8), 3353–3357.
29. Zailanie, K., Purnomo, H., 2011, Fucoxanthin content of five species brown seaweed, *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 1, 1103–1105.
30. Fitri, N., Nuryanti, I. F., Mutamimah, D., Adharani, N., 2021, Phytochemicals and antioxidant of seaweed tea *Padina australis*, *International Journal of Marine Engineering Innovation and Research*, 6(4), 255–258.
31. Sudha, P., Zinjarde, S. S., Bhargava, S. Y., Kumar, A. R., 2011, Potent  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11, 5–12.
32. Ryu J.W., Lee M.S., Yim M.J., Lee J.M., Lee D.S., Kim Y.M., Eom S.H. (2023),  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibition effects of Korean edible brown, green, and red seaweed extracts. *Fish Aquat Sci* 26(3): 181-187.
33. Zhang J., Zhao S., Yin P., Yan L., Han J., Shi L., Zhou X., Liu Y., and Ma C, (2014).  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of polyphenols from the Burs of *Castanea mollissima* Blume. *Molecules* 19, 8373-8386.
34. Kawamura-Konishi, Y., Watanabe, N., Saito, M., Nakajima, N., Sakaki, T., Katayama, T., Enomoto, T., 2012, Isolation of a new phlorotannin, a potent inhibitor of carbohydrate-hydrolyzing enzymes, from the brown alga *Sargassum patens*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(22), 5565–5570.
35. Husni, A., Pratiwi, T., Ustadi, 2018, In vitro antidiabetic activity of *Sargassum hystrix* and *Eucheuma denticulatum* from Yogyakarta Beach of Indonesia, *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences B: Life and Environmental Sciences*, 55(3), 1–8.
36. Zhang, M., Yang, R., Yu, S., Zhao, W., 2022, A novel  $\alpha$ -glucosidase inhibitor polysaccharide from *Sargassum fusiforme*, *International Journal of Food Science and Technology*, 57(1), 67–77.

37. Kumar, R. V., et al 2015, Fucoidan – A  $\alpha$ -d-glucosidase inhibitor from *Sargassum wightii* with relevance to type 2 diabetes mellitus therapy, *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1044–1047.
38. Akbari, M. K., et al 2025, The effect of conventional and ultrasound-assisted extraction methods on phytochemical composition, antioxidant, and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of Indonesian brown seaweeds (*Sargassum duplicatum*, *Turbinaria ornata* and *Padina australis*), *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 70, 103861.
39. Yu, Q., Matsunami, K., Otsuka, H., Takeda, Y., 2005, Staphylionosides A–K: megastigmane glucosides from the leaves of *Staphylea bumalda* DC., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(7), 800–807.
40. Kuang, H.-X., Yang, B.-Y., Xia, Y.-G., Feng, W.-S., 2008, Chemical constituents from the flower of *Datura metel* L., *Archives of Pharmacal Research*, 31(9), 1094–1097.
41. Ciuffreda, P., Casati, S., Manzocchi, A., 2007, Complete  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral assignment of  $\alpha$ - and  $\beta$ -adenosine, 2'-deoxyadenosine and their acetate derivatives, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 45(9), 781–784.
42. Huang, R., Zhou, X., Peng, Y., Yang, X., Xu, T., Liu, Y., 2011, Nucleosides from the marine sponge *Callyspongia* sp., *Chemistry of Natural Compounds*, 46(6), 1010–1011.
43. Z.P.Pai, T.B.Khlebnikova, Y.V.Mattsat, V.N.Parmon, *Catalytic oxidation of fatty acid. I. Epoxidation of unsaturated fatty acid*, *Reaction Kinetics and Catalysis Letters*, 2009, 98, 1–8
44. Pabi, S., Kula, J., 2016, Synthesis and bioactivity of R-ricinoleic acid derivatives: a review, *Current Medicinal Chemistry*, 23(35), 4037–4056.