HOẠT TÍNH ỨC CHẾ α-GLUCOSIDASE CỦA BA LOÀI RONG LỤC THU TẠI VÙNG BIỂN KHÁNH HÒA

Nguyễn Thế Hân[1*], Nguyễn Thị Kim Hằng[2,3], Vũ Lệ Quyên[1], Ngô Thị Hoài Dương[3]
[1]Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nha Trang,
[2]Trường THPT Lê Hồng Phong, Huyện Di Linh, Lâm Đồng
[3]Viện Công nghệ Sinh học và Môi Trường, Trường Đại học Nha Trang

TÓM TẮT

Một trong những cách hiệu quả để kiểm soát bệnh đái tháo đường type 2 là ức chế hoạt động của α-glucosidase. Nghiên cứu này đánh giá hoạt tính ức chế α-glucosidase của 3 loài rong lục (*Halimeda macroloba*, *Ulva reticulata* và *Ulva lactuca*) thu mẫu tại vùng biển Khánh Hòa và kết quả nghiên cứu cho thấy, hoạt tính ức chế α-glucosidase (giá trị IC_{50}) của 3 loài *H. macroloba*, *U. reticulata* và *U. lactuca* lần lượt là 3,98; 4,76 và 5,21 mg/ml. Ảnh hưởng của thời gian chiết và nhiệt độ chiết đến hoạt tính ức chế α-glucosidase của loài rong lục *H. macroloba* được nghiên cứu thích hợp tương ứng ở 60 phút chiết và 60°C. Trong các phân đoạn dung môi chiết, phân đoạn ethyl acetate có hoạt tính ức chế α-glucosidase cao nhất (giá trị IC_{50} là 2,45 mg/ml), tiếp theo là *n*-hexane, butanol và nước với giá trị IC_{50} lần lượt là 2,79; 4,11 và 4,91 mg/ml. Kết quả nghiên cứu định tính cho thấy phân đoạn ethyl acetate của loài rong lục *H. macroloba* có mặt của các nhóm chất phenolic, flavonoid và terpenoid.

Từ khóa: *Chất ức chế α-glucosidase; điều kiện chiết; Halimeda macroloba; Ulva reticulata; Ulva lactuca*

Ngày nhận bài: 01/3/2020; Ngày hoàn thiện: 09/7/2020; Ngày đăng: 10/7/2020

α-GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITY OF THREE GREEN SEAWEEDS COLLECTED IN THE COAST OF KHANH HOA PROVINCE

Nguyen The Han[1*], Nguyen Thi Kim Hang[2,3], Vu Le Quyen[1], Ngo Thi Hoai Duong[3]
[1]Faculty of Food Technology, Nha Trang University
[2]Le Hong Phong High School, Di Linh District, Lam Dong Province
[3]Insitute of Biotechnology and Environment, Nha Trang University

ABSTRACT

One of the effective therapeutic approaches in the management of type 2 diabetes is inhibition of α-glucosidase. This study investigated α-glucosidase inhibitory activity of three green seaweeds (*Halimeda macroloba*, *Ulva reticulate* and *Ulva lactuca*) and the results indicated that the inhibitory effect (IC_{50} values) of *H. macroloba*, *U. reticulata* and *U. lactuca* and were 3.98, 4.76 and 5.21 mg/ml, respectively. The suitable extraction time and extraction temperature for extracting high activity α-glucosidase inhibitors from green seaweed *H. macroloba* were found to be 60 min and 60 °C, respectively. Among the extract fractions, ethyl acetate showed the highest α-glucosidase inhibitory activity (IC_{50} value of 2.45 mg/ml), followed by *n*-hexane, butanol and water with IC_{50} values of 2.79, 4.11 and 4.91 mg/ml, respectively. Phytochemical screening showed phenolic, flavonoids and terpenoid were present in the ethyl acetate fraction of green seaweed *H. macroloba*.

Keywords: *α-Glucosidase inhibitor; extraction condition; Halimeda macroloba; Ulva reticulata; Ulva lactuca*

Received: 01/3/2020; Revised: 09/7/2020; Published: 10/7/2020

* Corresponding author. *Email: hannt@ntu.edu.vn*

1. Giới thiệu

Đái tháo đường là một bệnh nội tiết do rối loạn chuyển hóa carbohydrate khi hormone insulin của tuyến tụy bị thiếu hoặc giảm tác động trong cơ thể. Người mắc bệnh đái tháo đường có hàm lượng đường trong máu cao trong một thời gian dài. Một trong những cách tiếp cận để giảm lượng đường huyết là làm chậm sự hấp thu glucose thông qua ức chế α-glucosidase [1]. Một số thuốc đã được sử dụng để điều trị bệnh đái tháo đường thông qua cách tiếp cận này bao gồm: acarbose, voglibose và miglitol. Tuy nhiên, sử dụng những loại thuốc này gây ra sự lo ngại đối với người bệnh bởi một số tác dụng phụ của chúng [2]. Để hạn chế tác dụng phụ trong việc sử dụng thuốc và đa dạng hóa nguồn nguyên liệu trong ngăn ngừa và điều trị bệnh đái tháo đường, nhiều nguồn nguyên liệu tự nhiên đã được nghiên cứu thử nghiệm hoạt tính ức chế α-glucosidase *in vitro* và kháng bệnh đái tháo đường *in vivo.*

Rong biển đã được chứng minh là nguồn nguyên liệu giàu các hợp chất có hoạt tính ức chế α-glucosidase. Việt Nam có nguồn nguyên liệu rong biển phong phú và đa dạng, tuy nhiên việc sử dụng rong biển ở Việt Nam chưa thực sự hiệu quả. Một trong những nguyên nhân dẫn đến vấn đề này là chưa khai thác được những thành phần có giá trị y dược quý từ nguồn nguyên liệu rong biển. Một số nghiên cứu đã bước đầu đánh giá hoạt tính sinh học của rong biển thu mẫu tại vùng biển Việt Nam như: hoạt tính chống oxy hóa, hoạt tính kháng khuẩn, hoạt tính kháng tế bào ung thư [3]-[5]. Tuy nhiên, những nghiên cứu về hoạt tính ức chế ***α***-glucosidase của rong biển thu hoạch tại Việt Nam, đặc biệt là rong lục còn rất hạn chế [6].

Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá hoạt tính ức chế α-glucosidase của 3 loài rong lục (*Halimeda macroloba*, *Ulva reticulata* và *Ulva lactuca*) thu hoạch tại vùng biển Khánh Hòa. Định tính một số thành phần có hoạt tính sinh học trong loài rong tiềm năng cũng được nghiên cứu.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng 3 loài rong lục (*H. macroloba*, *U. reticulata* và *U. Lactuca*) thu mẫu tại các khu vực biển Bãi Tiên, Hòn Chồng và Sông Lô (Nha Trang, Khánh Hòa) trong khoảng thời gian từ tháng 3 đến tháng 7 năm 2018. Các mẫu rong được định danh bằng phương pháp hình thái học bởi ThS. Đỗ Anh Duy (Viện Nghiên cứu Hải sản, Hải Phòng).

α-Glucosidase thu từ nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (loại 1, ≥10 unit/mg) và cơ chất *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranosid được cung cấp bởi công ty Sigma-Aldrich (Hoa Kỳ). Các dung môi: methanol, *n*-hexane, ethyl acetate, butanol, DMSO được cung cấp bởi công ty Merck (Đức).

2.2. Sàng lọc hoạt tính ức chế α-glucosidase của các loài rong lục

Để sàng lọc hoạt tính ức chế α-glucosidase của các loài rong lục, quá trình chiết được thực hiện như sau: 10 g rong lục khô được chiết trong methanol 100%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi chiết (NL/DM) (w/v) là: 1/20, nhiệt độ chiết là: 60°C trong 60 phút [7]. Sau quá trình chiết, hỗn hợp được lọc bằng giấy lọc Whatman No.40. Dịch chiết được cô quay chân không ở nhiệt độ ≤60°C để loại hết dung môi chiết và sử dụng để đánh giá hoạt tính ức chế α-glucosidase.

2.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian chiết đến hoạt tính ức chế α-glucosidase

Để nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ chiết, các điều kiện chiết khác được giữ cố định bao gồm: dung môi chiết là: methanol 100%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi chiết (NL/DM, w/v) là: 1/20 và thời gian chiết là: 60 phút ở các nhiệt độ chiết nghiên cứu là: 50; 60; 70; 80; 90 và 100°C.

Để nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian chiết, các điều kiện chiết khác được giữ cố định bao gồm: dung môi chiết là: methanol 100%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi chiết (NL/DM, w/v) là: 1/20 và nhiệt độ chiết được lựa chọn từ thí nghiệm trước ở các thời gian chiết nghiên cứu là: 15; 30; 45; 60; 75 và 90 phút.

Trong tất cả các thí nghiệm về điều kiện chiết, 5 g rong lục *H. macroloba* được chiết với methanol 100% ở các điều kiện chiết thí

nghiệm. Sau quá trình chiết, hỗn hợp được lọc bằng giấy lọc Whatman No.40 để thu dịch chiết. Dịch chiết được cô quay chân không ở nhiệt độ ≤60°C để loại hết dung môi chiết và sử dụng để đánh giá hoạt tính ức chế α-glucosidase.

2.4. Tách phân đoạn

Rong khô (50 g) được chiết trong điều kiện chiết thích hợp đã được xác định. Tiếp theo, tiến hành loại dung môi của dịch chiết bằng thiết bị cô quay chân không. Dịch chiết sau khi loại hết dung môi methanol được tách phân đoạn sử dụng các dung môi có độ phân cực tăng dần bao gồm: *n*-hexane, ethyl acetate, butanol và nước. Dịch chiết sau khi đuổi dung môi được hòa vào 200 ml nước cất. Hỗn hợp sau đó đổ vào bình tách lỏng - lỏng (separatory funnel). Tiếp theo, một lượng 200 ml dung môi *n*-hexane được cho vào bình tách, lắc mạnh hỗn hợp dung môi trong thời gian 1 phút và để đứng yên trên giá đỡ trong khoảng thời gian 30 phút. Sau đó, thu phân đoạn dịch chiết *n*-hexane bằng cách mở van đáy của thiết bị tách lỏng - lỏng. Tiếp tục cho một lượng thể tích 200 ml vào bình tách lỏng - lỏng và lặp lại các thao tác như trên. Quá trình thu phân đoạn dung môi *n*-hexane được tiến hành đến khi quan sát phân đoạn dung môi này không màu. Phân đoạn dịch chiết *n*-hexane thu được bằng cách trộn lại sau các lần tách phân đoạn. Quá trình tách phân đoạn đối với dung môi ethyl acetate và butanol được tiến hành tương tự với *n*-hexane. Cuối cùng thu được các phân đoạn dung môi chiết: *n*-hexane, ethyl acetate, butanol và nước. Các phân đoạn dịch chiết được đuổi hết dung môi bằng thiết bị cô quay chân không. Phân đoạn dung môi thu được sau khi loại hết dung môi được xác định khả năng ức chế α-glucosidase.

2.5. Định tính một số thành phần trong dịch chiết

Dịch chiết và phân đoạn ethyl acetate của rong *H. Macrobola* được định tính một số nhóm chất bao gồm: phenolic, flavonoid, terpenoid, carotenoid, saponin và tannin. Trong mỗi thí nghiệm, cho 0,5 ml dịch chiết/phân đoạn dịch chiết vào ống nghiệm chứa 1,5 ml thuốc thử. Tiếp theo, quan sát màu của dung dịch để nhận biết các nhóm chất [8].

2.6. Xác định hoạt tính ức chế enzyme

Hoạt tính ức chế α-glucosidase được xác định theo phương pháp của Kim và cộng sự (2008) [7]. Cho 0,1 ml mẫu ở các nồng độ khác nhau từ 1 – 10 mg/ml (hòa tan trong dung môi dimethyl sulfoside – DMSO) vào hỗn hợp gồm 0,1 ml dung dịch enzyme (0,25 U/ml) và 2,2 ml đệm phosphate (0,01 M; pH 7,0). Hỗn hợp được lắc đều và ủ ở 37°C trong 5 phút. Tiếp theo bổ sung 0,1 ml dung dịch cơ chất chất *p*-nitrophenyl-α-D-glucopyranosid (3 mM) vào hỗn hợp để thực hiện quá trình phản ứng. Hỗn hợp được giữ ở nhiệt độ 37°C trong 30 phút. Mẫu trắng bao gồm tất cả các thành phần giống như mẫu thí nghiệm ngoại trừ 0,1 ml dung dịch enzyme được thay bằng 0,1 ml dung môi DMSO. Để kết thúc phản ứng, cho 1,5 ml dung dịch Na_2CO_3 (0,1 M) vào hỗn hợp và đo độ hấp thụ quang học ở bước sóng 405 nm. Hoạt tính ức chế α-glucosidase được tính theo công thức:

Hoạt tính ức chế α-glucosidase (%) = $[(A_0 – A_1)/A_0]\times100$; trong đó:

A_1: Độ hấp thụ quang của mẫu thí nghiệm

A_0: Độ hấp thụ quang của mẫu trắng

Giá trị IC_{50} (mg/ml) là nồng độ dịch chiết hoặc phân đoạn dịch chiết cho hoạt tính ức chế enzyme 50% (giá trị IC_{50} càng thấp, hoạt tính ức chế enzyme càng cao). Giá trị này được tính dựa vào sự tương quan giữa nồng độ dịch chiết hoặc phân đoạn dịch chiết với hoạt tính ức chế α-glucosidase (%).

2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được thực hiện 2 lần độc lập. Kết quả của thí nghiệm được biểu diễn bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Giá trị trung bình được phân tích ANOVA theo phép thử Ducan ($p<0,05$ chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê sử dụng phần mềm SPSS phiên bản 16,0).

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Sàng lọc hoạt tính ức chế α-glucosidase của các loài rong lục

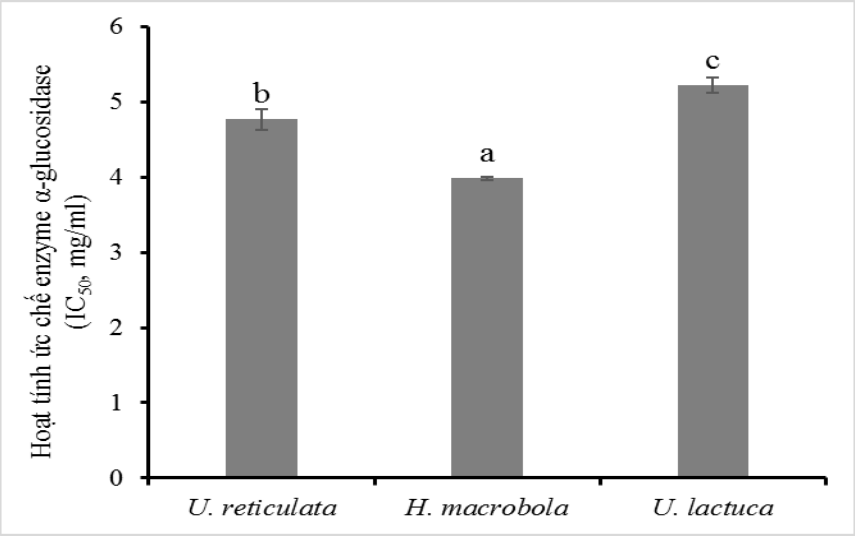
Hoạt tính ức chế α-glucosidase của 3 loài rong lục (*H. macroloba, U. reticulata* và *U. lactuca*) thu mẫu tại vùng biển Khánh Hòa được thể hiện ở hình 1.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, dịch chiết của rong lục *H. macroloba* có giá trị IC_{50} thấp nhất trong các loài rong nghiên cứu (3,98 mg/ml). Giá trị này thấp hơn có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so với loài *U. reticulata* (4,76 mg/ml) và *U. lactuca* (5,22 mg/ml). Một số nghiên cứu trên các đối tượng rong tương tự ở các vùng biển khác nhau trên thế giới đã được thực hiện. Theo kết quả nghiên cứu của Kumar và cộng sự (2012), giá trị IC_{50} của dịch chiết từ loài rong lục *U. lactuca* thu hoạch tại vùng biển Ấn Độ là 0,05 mg/ml; giá trị này thấp hơn rất nhiều so với loài rong này thu mẫu ở vùng biển Khánh Hòa (5,22 mg/ml) [9]. Theo Chin và cộng sự (2014), giá trị IC_{50} của loài rong lục *H. macroloba* ở vùng biển Malaysia là 6,39 mg/ml; giá trị này cao hơn so với loài rong lục *H. macroloba* ở vùng biển Khánh Hòa trong nghiên cứu này (3,98 mg/ml) [10]. Như vậy, hoạt tính ức chế α-glucosidase của các loài rong lục sử dụng trong nghiên cứu thu mẫu tại Khánh Hòa khác rất nhiều so với các loài rong này thu hoạch tại các vùng biển khác trên thế giới. Sự khác nhau này có thể do thành phần các chất thứ cấp có trong các loài rong biển. Ngoài ra, thành phần các chất thứ cấp của các loài rong nói chung còn phụ thuộc vào các yếu tố sau thu hoạch (mùa vụ thu hoạch, phương pháp thu hoạch và bảo quản sau thu hoạch, độ trưởng thành của rong thu hoạch) và các yếu tố công nghệ (phương pháp chiết tách, điều kiện chiết tách).

Như vậy, rong *H. macroloba* có khả năng ức chế α-glucosidase cao nhất trong các loài rong nghiên cứu và loài rong này được lựa chọn cho những nghiên cứu tiếp theo: xác định điều kiện chiết thích hợp và đánh giá hoạt tính của các phân đoạn dung môi chiết từ loài rong này.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hoạt tính ức chế α-glucosidase

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hoạt tính ức chế α-glucosidase của dịch chiết từ loài rong lục *H. macroloba* được trình bày ở hình 2.



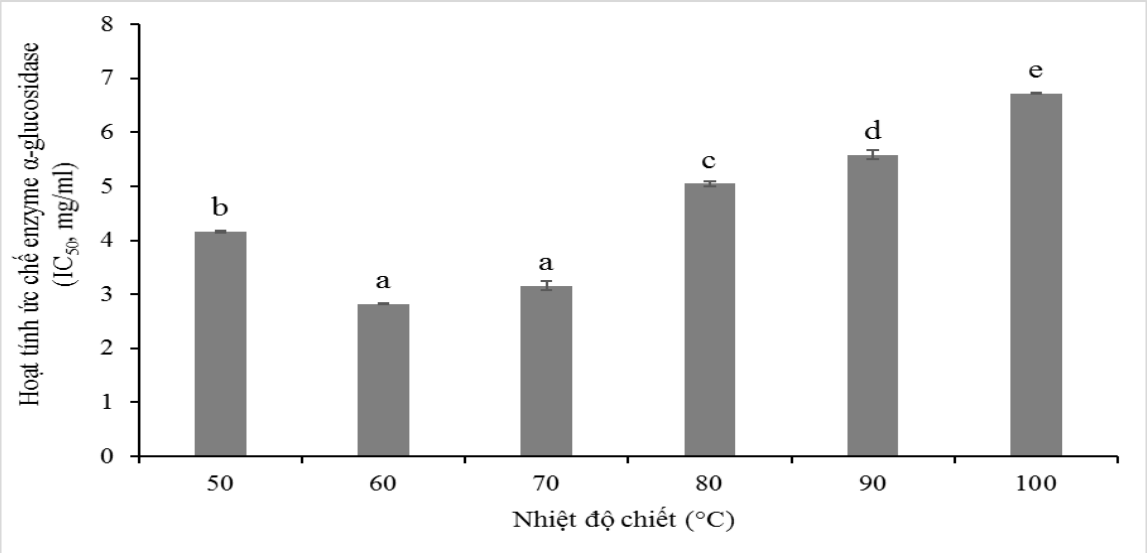
Hình 1. *Hoạt tính ức chế α-glucosidase (giá trị IC_{50}) của ba loài rong U. reticulata, H. macroloba* và *U. lactuca. Các chữ cái trên cột khác nhau chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) giữa các mẫu rong lục*

Kết quả thể hiện rõ xu hướng nhiệt độ chiết ảnh hưởng đáng kể đến hoạt tính ức chế α-glucosidase của loài rong lục *H. macroloba*. Cụ thể, dịch chiết thu ở nhiệt độ 60 và 70°C có hoạt tính ức chế enzyme cao nhất và không có sự khác biệt giữa hai nhiệt độ chiết này ($p>0,05$). Giá trị IC_{50} tăng dần theo chiều tăng của nhiệt độ từ 60 đến 100°C; dịch chiết thu ở nhiệt độ chiết 50; 60; 70; 80; 90 và 100°C có hoạt tính ức chế α-glucosidase (giá trị IC_{50}) lần lượt là 4,16; 2,82; 3,15; 5,04; 5,58 và 6,71 mg/ml. Dựa vào kết quả nghiên cứu này, nhiệt độ chiết 60°C được lựa chọn cho những nghiên cứu tiếp theo.

Như vậy, hoạt tính ức chế α-glucosidase của dịch chiết từ loài rong lục *H. macroloba* chỉ tăng trong khoảng nhiệt độ từ 50 đến 70°C. Khi tiếp tục tăng nhiệt độ chiết lên đến 100°C thì hoạt tính ức chế enzyme giảm xuống. Kết quả nghiên cứu này có thể được giải thích như sau: Theo lý thuyết của quá trình trích ly, khi tăng nhiệt độ trong một khoảng nhất định sẽ làm tăng hiệu suất của các hợp chất có trong nguyên liệu. Hệ số khuếch tán và khả năng hòa tan của chất tan sẽ tăng khi nhiệt độ chiết tăng [11]. Ngoài ra, khi nhiệt độ tăng sẽ làm phá vỡ lớp màng cellulose, tạo điều kiện cho các chất tách chiết ra khỏi nguyên liệu. Một yếu tố khác, nhiệt độ tăng thì độ nhớt của dung môi giảm, do đó sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình chiết xuất, tốc độ phản ứng giữa các thành phần hóa học trong nguyên liệu với dung môi tăng làm tăng tốc độ khuếch tán các chất tan trong tế bào nguyên liệu ra môi trường ngoài, tốc độ hòa tan các chất sẽ tăng. Như vậy, khi tăng nhiệt độ chiết trong khoảng từ 50 đến 70°C làm tăng khả năng chiết các chất có hoạt tính ức chế α-glucosidase. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nhiệt độ chiết, hoạt tính ức chế α-glucosidase của dịch chiết từ loài rong lục giảm dần. Kết quả này là do: khi tiếp tục tăng nhiệt độ chiết lên trên 70°C xuất hiện sự cân bằng giữa nồng độ chất tan bên trong với bên ngoài tế bào, dẫn đến hiệu suất chiết các chất hòa tan trong dung môi không tiếp tục tăng theo chiều tăng của nhiệt độ. Đồng thời, khi chiết ở nhiệt độ cao, một số hợp chất sinh học có thể bị phá hủy hoặc thay đổi tính chất, dẫn đến giảm hoạt tính sinh học do tính không bền nhiệt của chúng [12].

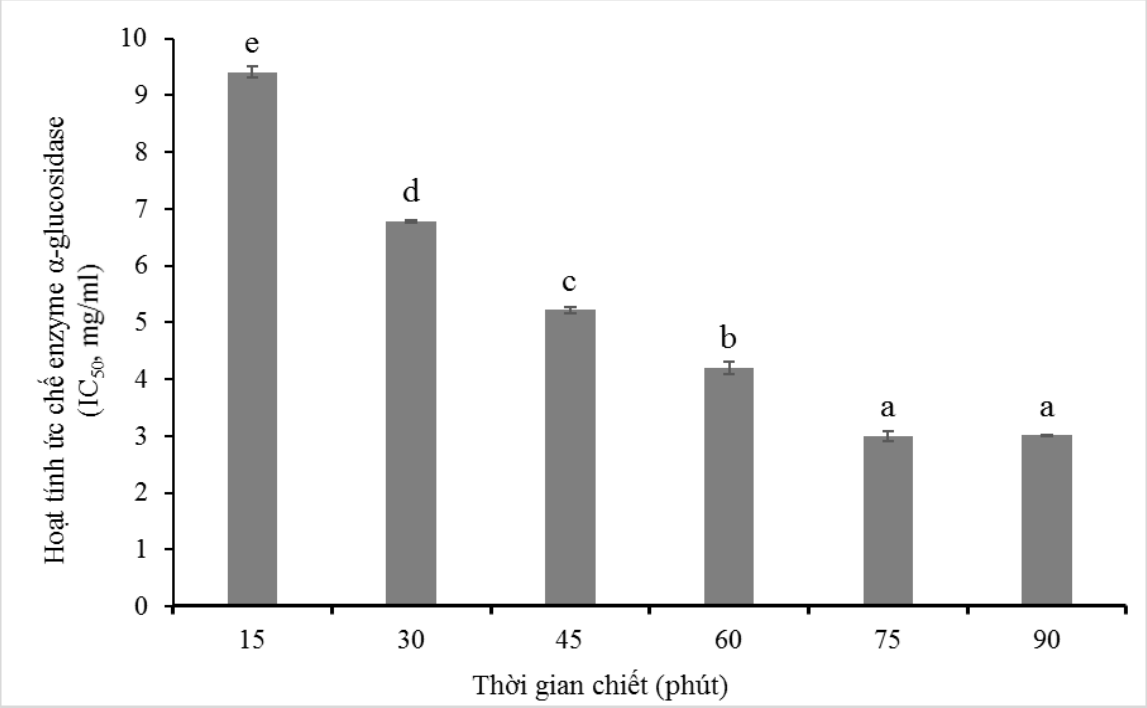
3.3. Ảnh hưởng của thời gian chiết đến hoạt tính ức chế α-glucosidase

Bên cạnh nhiệt độ chiết, thời gian cũng là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hiệu quả chiết các hợp chất sinh học. Do vậy, trong nghiên cứu này ảnh hưởng của thời gian chiết (15 - 90 phút) đến hoạt tính ức chế α-glucosidase của dịch chiết từ loài rong lục *H. macroloba* được đánh giá và thể hiện ở hình 3. Giá trị IC_{50} của dịch chiết thu nhận sau các thời gian chiết 15, 30, 45, 60, 75 và 90 phút lần lượt là 9,41; 6,77; 5,21; 4,20; 2,99 và 3,01 mg/ml. Kết quả này thể hiện rõ xu hướng ảnh hưởng của thời gian chiết đến hoạt tính ức chế enzyme của dịch chiết; giá trị IC_{50} giảm dần theo chiều tăng của thời gian chiết trong khoảng từ 15 đến 75 phút, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) giữa thời gian chiết 75 và 90 phút. Dựa trên kết quả nghiên cứu đạt được, 75 phút được xác định là thời gian chiết thích hợp để thu nhận dịch chiết có hoạt tính ức chế α-glucosidase từ loài rong lục *H. macroloba*.



Hình 2. *Ảnh hưởng của nhiệt độ chiết đến hoạt tính ức chế α-glucosidase (giá trị IC_{50}) của dịch chiết từ loài rong lục H. macroloba. Các chữ cái trên cột chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) giữa các nhiệt độ chiết*

Bản chất của quá trình trích ly là sự khuếch tán, thẩm thấu và thẩm tích [13]. Do đó, khi thời gian chiết tăng lên thì hàm lượng các chất trong nguyên liệu khuếch tán ra càng nhiều; thời gian đầu của quá trình chiết, sự chênh lệch lớn giữa nồng độ các chất bên trong và bên ngoài tế bào lớn nên quá trình khuếch tán diễn ra nhanh. Do đó, khi tăng thời gian chiết thì hàm lượng các chất tan trong dung môi được tách ra càng nhiều. Tuy nhiên, đến một thời điểm chiết nhất định, quá trình khuếch tán đạt trạng thái cân bằng. Khi đó, nếu tiếp tục tăng thời gian chiết, hiệu quả chiết các chất có hoạt tính sinh học sẽ không tiếp tục tăng. Ngoài ra, khi kéo dài thời gian chiết, trong điều kiện nhiệt độ cao và có mặt của oxy không khí, một số hợp chất sinh học không bền nhiệt và/hoặc bị oxy hóa có thể bị phá hủy hoặc thay đổi cấu trúc.



Hình 3. *Ảnh hưởng của thời gian chiết đến hoạt tính ức chế α-glucosidase (giá trị IC_{50}) của dịch chiết từ loài rong lục H. macroloba. Các chữ cái trên cột chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05) giữa các thời gian chiết*

3.4. Hoạt tính ức chế α-glucosidase của các phân đoạn dung môi chiết

Các hợp chất có hoạt tính sinh học có khả năng hòa tan và độ phân cực khác nhau. Dựa vào tính chất này, các dung môi có độ phân cực khác nhau thường được sử dụng để tách sơ bộ các nhóm chất trong dịch chiết thô. Trong nghiên cứu này, loài rong lục *H. macroloba* được chiết với methanol 100% ở điều kiện chiết thích hợp đã được xác định. Dịch chiết thô sau đó được tách phân đoạn theo phương pháp chiết lỏng - lỏng lần lượt qua các dung môi có độ phân cực tăng dần: *n*-hexane, ethyl acetate, butanol và nước.

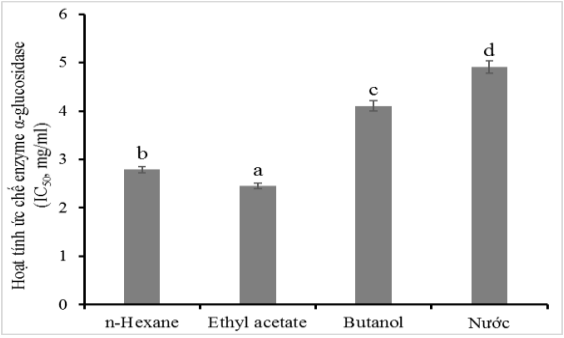
Hoạt tính ức chế α-glucosidase của các phân đoạn dịch chiết được thể hiện ở hình 4. Phân đoạn dung môi chiết ethyl acetate có hoạt tính ức chế α-glucosidase cao nhất (p<0,05) (giá trị IC_{50} là 2,45 mg/ml), tiếp theo là *n*-hexane (giá trị IC_{50} là 2,79 mg/ml), butanol (giá trị IC_{50} là 4,11 mg/ml) và nước (giá trị IC_{50} là 4,91 mg/ml).

Mỗi nhóm chất trong nguyên liệu tự nhiên có tính chất lý hóa khác nhau. Do đó, người ta sử dụng các dung môi có độ phân cực và một số tính chất khác nhau để thu nhận được các nhóm chất mong muốn. Các hợp chất không phân cực hoặc phân cực yếu như lipid, chlorophyll, sterol thường được phân tách trong dung môi *n*-hexane. Nhóm hợp chất polyphenol và các hợp chất flavonoid thường được chiết trong dung môi ethyl acetate. Các hợp chất tan trong nước như các protein hòa tan và các hợp chất polysaccharide thường

được chiết trong dung môi butanol [7]. Như vậy, các hợp chất có khả năng ức chế α-glucosidase từ loài rong lục *H. macroloba* có thể thuộc nhóm polyphenol, flavonoid… Yoshie và cộng sự (2002) đã chỉ ra polyphenol và các hợp chất polyphenol chiếm khoảng 3% trọng lượng khô của loài rong lục *H. macroloba* thu tại vùng biển Nhật Bản [14]. Một số hợp chất polyphenol có hàm lượng đáng kể cũng đã được xác định có trong loài rong này bao gồm: pigallocatechin, acid caffeic, myricetin, morin, catechol và hesperidin. Bên cạnh phân đoạn ethyl acetate, phân đoạn *n*-hexane cũng cho hoạt tính ức chế α-glucosidase khá mạnh với giá trị IC_{50} là 2,79 mg/ml. Như vậy, một số chất ức chế enzyme này có trong loài rong lục *H. macroloba* có thể thuộc nhóm có độ phân cực thấp. Một số acid béo có khả năng kháng bệnh đái tháo đường đã được tìm thấy trong các loài rong biển khác nhau [15].

3.5. Nhận biết một số nhóm chất có trong dịch chiết từ loài rong lục H. macroloba

Kết quả định tính một số thành phần phổ biến (phenolic, flavonoid, carotenoid, terpenoid, tannin, saponin) có trong dịch chiết và phân đoạn dịch chiết từ loài rong lục *H. macroloba* được thể hiện ở bảng 1. Dịch chiết loài rong lục *H. macroloba* có chứa alkaloid, phenolic, flavonoid, carotenoid, terpenoid, saponin và không chứa tannin. Trong khi đó, phân đoạn dịch chiết ethyl acetate chỉ có sự xuất hiện của ba nhóm chất: phenolic, flavonoid, terpenoid. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với một số nghiên cứu trước đây trên các loài rong lục. Trong thành phần dịch chiết của loài rong lục *U. lactuca* thu hoạch tại vùng biển Ai Cập có chứa alkaloid, phenolic, flavonoid, carotenoid, terpenoid, saponin nhưng không chứa tannin [16]. Thành phần các nhóm chất có trong rong biển phụ thuộc vào điều kiện tách chiết và tác động bởi các yếu tố môi trường sống của các loài rong [17]. Sự xuất hiện của các nhóm chất phenolic, flavonoid, terpenoid trong phân đoạn dịch chiết ethyl acetate phù hợp với giải thích về quá trình tách chiết các phân đoạn đã được đề cập ở các phần trên. Những nhóm chất này có thể là thành phần chính đóng góp vào hoạt tính ức chế α-glucosidase của phân đoạn này.



Hình 4. *Hoạt tính ức chế α-glucosidase (giá trị IC_{50}) của các phân đoạn dịch chiết từ loài rong lục H. macroloba. Các chữ cái khác nhau trên cột chỉ ra sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (p<0,05) giữa các phân đoạn dung môi chiết*

4. Kết luận

Dịch chiết của ba loài rong lục thu hoạch tại vùng biển Khánh Hòa (*H. macroloba*, *U. reticulata* và *U. lactuca*) đều có hoạt tính ức chế α-glucosidase, trong đó loài *H. macroloba* có hoạt tính ức chế cao nhất (giá trị IC_{50} là 3,98 mg/ml). Nhiệt độ và thời gian chiết thích hợp để thu nhận dịch chiết có hoạt tính ức chế α-glucosidase cao từ loài rong lục *H. macroloba* là 60°C và 75 phút. Phân đoạn dịch chiết ethyl acetate có hoạt tính ức chế α-glucosidase cao nhất trong các phân đoạn dung môi chiết (giá trị IC_{50} là 2,45 mg/ml). Phân đoạn dịch chiết này có mặt của các nhóm chất: phenolic, flavonoid và terpenoid.

Bảng 1. *Định tính một số nhóm chất có trong dịch chiết và phân đoạn dịch chiết của loài rong lục H. macroloba*

Nhóm chất	Dịch chiết methanol	Phân đoạn dịch chiết ethyl acetate
Alkaloid	+	-
Phenolic	+	+
Flavonoid	+	+
Terpenoid	+	+
Carotenoid	+	-
Tannin	-	-
Saponin	+	-

Dấu "-": không xuất hiện, dấu "+": có xuất hiện

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106-NN.05-2016.73.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

[1]. S. R. Joshi, E. Standl, N. Tong, P. Shah, S. Kalra, and R. Rathod, "Therapeutic potential of α-glucosidase inhibitors in type 2 diabetes mellitus: an evidence-based review," *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, vol. 16, no. 13, pp. 1959-1981, 2015.

[2]. H. Sugihara et al., "Comparison of three α-glucosidase inhibitors for glycemic control and bodyweight reduction in Japanese patients with obese type 2 diabetes," *Journal of Diabetes investigation*, vol. 5, no. 2, pp. 206-212, 2014.

[3]. D. X. Cuong, V. N. Boi, and T. T. T. Van, "Effect of storage time on phlorotannin content and antioxidant activity of six *Sargassum* species from Nhatrang Bay, Vietnam," *Journal of Applied Phycology*, vol. 28, no. 1, pp. 567-572, 2016.

[4]. T. V. A. Tran, V. M. Nguyen, D. H. Tran, L. T. T. Nguyen, T. H. T. Do, T. L. T. Nguyen, Q. N. Tran, A. D. Do, S. M. Kim, and T. H. Nguyen, "Isolation and evaluation of antimicrobial and anticancer activities of brominated sesquiterpenes from Vietnamese red alga *Laurencia intermedia* Yamada," *Bioscience Research*, vol. 17, no. 1, pp. 459-466, 2020.

[5]. T. T. V. Tran, H. B. Truong, N. H. V. Tran, T. M. T. Quach, T. N. Nguyen, M. L. Bui, Y. Yoshiaki, and T. T. T. Thanh, "Structure, conformation in aqueous solution and antimicrobial activity of ulvan extracted from green seaweed *Ulva reticulata*," *Natural Product Research*, vol. 32, no. 19, pp. 2291-2296, 2018.

[6]. T. H. Nguyen, T. K. N. Nguyen, and V. M. Nguyen, "Evaluation of α-glucosidase inhibitory activity of some selected seaweed extracts," *Journal of Fisheries Science and Technology*, vol. 1, pp. 24-33, 2018.

[7]. K. Y. Kim, K. A. Nam, H. Kurihara, and S. M. Kim, "Potent α-glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*," *Phytochemistry*, vol. 69, no. 16, pp. 2820-2825, 2008.

[8]. M. Yadav, S. Chatterji, S. K. Gupta, and G. Watal, "Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine," *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 6, no. 5, pp. 539-542, 2014.

[9]. S. Kumar, S. Sudha, M. Diagnosis, and D. Laboratory, "Evaluation of α-glucosidase and α-amylase inhibitory properties of selectef seaweed from Gulf of Mannar," *International Research Journal of Pharmacy*, vol. 3, no. 8, pp. 128-130, 2012.

[10]. Y. X. Chin, P. E. Lim, C. A. Maggs, S. M. Phang, Y. Sharifuddin, and B. D. Green, "Anti-diabetic potential of selected Malaysian seaweeds," *Journal of Applied Phycology*, vol. 27, no. 5, pp. 2137-2148, 2014.

[11]. G. Spigno, L. Tramelli, and D.M. Faveri, "Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of phenolics," *Journal of Food Engineering*, vol. 8, no. 1, pp. 200-208, 2007.

[12]. K. Chew et al., "Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella asiatica* extracts," *International Food Research Journal*, vol. 18, no. 2, pp. 571-578, 2011.

[13]. N. J. Simpson, "Solid-phase extraction: principles, techniques, and applications," *CRC Press Book*, 2000.

[14]. Y. Yoshie, W. Wang, Y. Hsieh, and T. Suzuki, "Compositional difference of phenolic compounds between two seaweeds, Halimeda spp," *Journal of Tokyo University of Fisheries*, vol. 88, pp. 21-24, 2002.

[15]. H. Pereira et al., "Polyunsaturated fatty acids of marine macroalgae: Potential for nutritional and pharmaceutical applications," *Marine Drugs*, vol. 10, pp. 1920-1935, 2012.

[16]. D. F. A. Elmegeed, D. A. Ghareeb, M. Elsayed, and M. El-Saadani, "Phytochemical constituents and bioscreening activities of green algae *Ulva lactuca*," *International Journal of Agricultural Policy and Research*, vol. 2, no. 11, pp. 373-378, 2014.

[17]. M. Janarthanan, and M. S. Kumar, "Qualitative and quantitative analysis of phytochemical studies on selected seaweeds Acanthopora spicifera and Sargassum wightii," *International Journal of Engineering Research and Development*, vol. 7, no. 3, pp. 11-15, 2013.