PHÍ HẢI ANH

KHOA HỌC VẬT CHẤT

2026

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Phí Hải Anh

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ SẢN SINH NITRIC OXIT CỦA LOÀI TRÀ HOA VIỆT NAM *Camellia drupifera* Lour.

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Hà Nội - 2026

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Phí Hải Anh

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ SẢN SINH NITRIC OXIT CỦA LOÀI TRÀ HOA VIỆT NAM *Camellia drupifera* Lour.

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
TS. Nguyễn Thị Thu Hà	**PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm**

Hà Nội - 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, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

Hà Nội, 19 tháng 6 năm 2026

Người làm luận văn

Phí Hải Anh

LỜI CẢM ƠN

Luận văn này được hoàn thành tại Học viện Khoa học và Công nghệ, với sự hỗ trợ kinh phí từ Quỹ Phát triển khoa học & công nghệ Quốc gia Nafosted, mã số NCUD.01-2023.23.

Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc tới TS. Nguyễn Thị Thu Hà và PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm – người đã vô cùng tận tâm, nhiệt huyết định hướng và giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu làm luận văn thạc sĩ tại Viện Hoá học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ và Viện Hoá học đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình họC.Tôi xin chân thành cảm ơn các anh, chị cùng nghiên cứu tại Viện Hoá học đã luôn chân thành, nhiệt tình giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi trong suốt quá trình tôi học tập và nghiên cứu.

Đặc biệt, tôi xin được tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới toàn thể những người thân trong gia đình, bạn bè đã động viên để tôi có thể hoàn thành luận văn thạc sĩ này.

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, 18 tháng 6 năm 2026

Người làm luận văn

Phí Hải Anh

LỜI CẢM ƠN

Luận văn này được hoàn thành tại Học viện Khoa học và Công nghệ, với sự hỗ trợ kinh phí từ Quỹ Phát triển khoa học & công nghệ Quốc gia Nafosted, mã số NCUD.01-2023.23.

Tôi xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc tới TS. Nguyễn Thị Thu Hà và PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm – người đã vô cùng tận tâm, nhiệt huyết định hướng và giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu làm luận văn thạc sĩ tại Viện Hoá học – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Tôi xin trân trọng cảm ơn Ban lãnh đạo Học viện Khoa học và Công nghệ và Viện Hoá học đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình họC.Tôi xin chân thành cảm ơn các anh, chị cùng nghiên cứu tại Viện Hoá học đã luôn chân thành, nhiệt tình giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi trong suốt quá trình tôi học tập và nghiên cứu.

Đặc biệt, tôi xin được tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới toàn thể những người thân trong gia đình, bạn bè đã động viên để tôi có thể hoàn thành luận văn thạc sĩ này.

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, 19 tháng 6 năm 2026

Người làm luận văn

Phí Hải Anh

MỤC LỤC

DANH MỤC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT ..... **II**
DANH MỤC BẢNG ..... **III**
DANH MỤC HÌNH ..... **IV**
DANH MỤC SƠ ĐỒ ..... **V**
MỞ ĐẦU **1**
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU **3**
1.1. Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước về chi Camellia **3**
1.1.1. Tình hình nghiên cứu ngoài nước về chi Camellia ***3***
1.1.2. Tình hình nghiên cứu trong nước về chi Camellia ***10***
1.1.3. Tình hình nghiên cứu loài C. drupifera Lour. ***12***
1.2. Viêm và vai trò của phân tử nitric oxit **14**
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU **16**
2.1. Đối tượng nghiên cứu **16**
2.1.1. Mẫu thực vật ***16***
2.1.2. Đại thực bào RAW 264.7 ..... ***16***
2.1.3. Vật tư hóa chất ***16***
2.2. Phương pháp nghiên cứu **17**
2.2.1. Các phương pháp về hóa học ***17***
2.2.2. Các phương pháp về sinh học ***20***
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN **23**
3.1. ***Dữ liệu phổ của các chất phân lập được*** **23**
3.2. ***Kết quả xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được*** **23**
3.3. ***Đánh giá hoạt tính kháng viêm các cặn chiết và các hợp chất trên tế bào RAW 264.7*** **43**
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ **47**
KẾT LUẬN **47**
KIẾN NGHỊ **47**
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO **48**
PHỤ LỤC **53**

DANH MỤC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT

Ký hiệu	Tiếng Anh	Diễn giải
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
^{1}H-NMR	Proton Magnetic Resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
^{13}C-NMR	Carbon 13 Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân cacbon 13
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarisation	Phổ DEPT
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation	Phổ tương tác dị hạt nhân qua nhiều liên kết
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence	Phổ tương tác dị hạt nhân trực tiếp H $\rightarrow$ C
COSY	Corrrlated Spectroscopy	Phổ COSY
MS	Mass spectrometry	Phổ khối lượng MS
TMS	Tetramethylsilance	
DMSO	Dimethyl sulfoxide	
EtOAc	Ethylacetate	
MeOH	Methanol	
IC_{50}	Inhibitory Concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50% hoạt động enzyme
δ_H	Proton chemical shift	Độ dịch chuyển hoá học của proton
δ_C	Carbon chemical shift	Độ dịch chuyển hoá học của carbon
s	Singlet	
d	Doublet	
t	Triplet	
q	Quartet	
m	Multiplet	
Dd	Double doublet	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV09** 26
Bảng 3.2. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV01** 31
Bảng 3.3. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV08** 33
Bảng 3.4. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV04** 37
Bảng 3.5. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV07** 39
Bảng 3.6. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV10** 41
Bảng 3.7. Tác dụng ức chế sản sinh NO của các mẫu nghiên cứu loài *C.drupifera* **.... 44**

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1 Các hợp chất polyphenol được phân lập từ C. sinensis 4
Hình 1.2. Các hợp chất alkaloid được phân lập từ C. sinensis 5
Hình 1.3. Các hợp chất axit amin được phân lập từ C. sinensis 5
Hình 1.4. Các hợp chất axít hữu cơ được phân lập từ C. sinensis 6
Hình 1.5. Các hợp chất phân lập được từ các loài Camellia thu hái tại Việt Nam 11
Hình 2.1. Loài Camellia drupifera Lour 16
Hình 2.2. Đồ thị hàm lượng chuẩn $NaNO_2$ 22
Hình 3.1. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV09** 24
Hình 3.2. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV09** 25
Hình 3.3. Phổ COSY giãn rộng của hợp chất **CV09** 27
Hình 3.4. Phổ HSQC giãn rộng của hợp chất **CV09** 28
Hình 3.5. Phổ HMBC của hợp chất **CV09** 28
Hình 3.6. Một số tương tác chính trên phổ COSY và HMBC của hợp chất **CV09** 29
Hình 3.7. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV01** 30
Hình 3.8. Phổ DEPT của hợp chất **CV01** 30
Hình 3.9. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV01** 31
Hình 3.10. Phổ ^{1}H-NMR giãn rộng của hợp chất **CV08** 34
Hình 3.11. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV08** 34
Hình 3.12. Phổ HSQC của hợp chất **CV08** 35
Hình 3.13. Phổ HMBC của hợp chất **CV08** 35
Hình 3.14. Một số tương tác chính trên phổ HMBC của hợp chất **CV08** 36
Hình 3.15. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV04** 38
Hình 3.16. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV04** 38
Hình 3.17. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV07** 40
Hình 3.18. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV07** 40
Hình 3.19. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV10** 42
Hình 3.20. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV10** 42
Hình 3.21. Các chất phân lập được phân lập và xác định cấu trúc từ loài *C. drupifera* 43

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2.1. Sơ đồ ngâm chiết mẫu thực vật 18
Sơ đồ 2.2. Sơ đồ phân lập và tinh chế các hợp chất sạch từ cặn EtOAc 19

MỞ ĐẦU

Việt Nam là một trong các quốc gia có sự đa dạng sinh học phong phú nhất trên thế giới. Với hơn 12.000 loài thực vật bậc cao, nhưng chỉ rất ít các loài được nghiên cứu đầy đủ về thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học. Nguồn thực vật phong phú này chính là nguyên liệu cho việc nghiên cứu tìm kiếm các hợp chất có hoạt tính sinh học cao ứng dụng trong lĩnh vực y dược. Ở Việt Nam, chi *Camillia* hiện đã biết 68 loài trong đó có tới 15 loài đặc hữu, nhiều loài đã biết công dụng [1].

Chi *Camellia* (họ Theaceae) là một trong những nhóm thực vật có hoa quan trọng nhất ở khu vực Đông và Nam Á. Hiện nay, số lượng loài trong chi này được ước tính dao động từ 120 đến hơn 200, với khoảng 80–95% được tìm thấy tại Trung Quốc [2],[3]. *Camellia* có đặc điểm là cây bụi hoặc cây gỗ nhỏ thường xanh, cao từ 2–20 m, lá mọc so le, phiến dày, mép răng cưa, hoa lớn và màu sắc đa dạng (trắng, hồng, đỏ, vàng) [2]. Trong số đó, *Camellia sinensis* (cây trà) phổ biến hơn cả, được dùng để sản xuất trà. *Camellia oleifera* (chè dầu) được trồng để lấy dầu hạt, giàu axit oleic, trong khi *Camellia japonica* và nhiều loài khác lại có giá trị cảnh quan và làm thuốc [4][5]. Ngoài giá trị kinh tế, chi *Camellia* còn có ý nghĩa khoa học lớn vì chứa nhiều hợp chất thứ cấp quan trọng. Đặc biệt, polyphenol, flavonoid, alkaloid, saponin và các hợp chất béo từ hạt *Camellia* đã chứng minh tác dụng sinh học đa dạng. Chính vì vậy, *Camellia* trở thành đối tượng nghiên cứu trọng điểm trong các lĩnh vực hóa học thực vật, dược lý học và công nghệ thực phẩm.

Chi Chè từ lâu đã rất phổ biến do có nhiều công dụng y dược, làm thực phẩm chức năng và là đồ uống phổ biến chỉ đứng sau nước. Đã có nhiều nghiên cứu ở trong nước và trên thế giới về chi *Camellia*, kết quả cho thấy phần lớn các loài trong chi này chứa đa dạng các thành phần, chủ yếu là triterpenoid, saponin, alkaloid, flavonoid và các hợp chất phenolic. Các kết quả nghiên cứu dược lý đã chứng tỏ việc sử dụng các loài *Camellia* là có cơ sở khoa học. Nhiều tác dụng có lợi cho sức khỏe đã được báo cáo liên quan đến hoạt tính chống oxy hóa, chống ung thư, chống đột biến, trị đái tháo đường, hạ lipid máu, kháng viêm, kháng khuẩn, kháng virus, kháng nấm, bảo vệ thần kinh, bảo vệ gan, hoạt tính gây độc tế bào. Các loài trong chi Chè có tiềm năng lớn về các hợp chất có hoạt tính sinh học. Nhìn chung, chi *Camellia* là một nguồn phong phú hợp chất tự nhiên có giá trị khoa học và ứng dụng thực tiễn.

Tuy nhiên, phần lớn các nghiên cứu tập trung vào *C. sinensis*, *C. oleifera* và *C. japonica*, trong khi loài *C. drupifera* vẫn ít được quan tâm. Do vậy, các nghiên cứu phân tích về thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính sinh học, đặc biệt tác dụng kháng viêm từ loài thực vật này sẽ có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao.

Để định hướng cho quá trình nghiên cứu, cao chiết cồn thân lá loài *C. drupifera* được đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO trên mô hình *in vitro*. Kết quả thực nghiệm cho thấy, ở nồng độ 32 µg/ml, cao chiết dược liệu ức chế 85.2 % khả năng sản sinh NO của tế bào RAW 264.7 khi bị kích thích bởi LPS với giá trị IC_{50} là 15.47 ± 1.22 µg/ml. Cao chiết có giá trị IC_{50} nhỏ hơn 100 µg/ml được coi là dược liệu có tiềm năng trong việc điều trị kháng viêm. Đây là giá trị rất có ý nghĩa trên mô hình thử nghiệm *invitro*, là tiền đề để tiến hành thử nghiệm trên mô hình động vật và nghiên cứu tìm kiếm phát triển thuốc mới. Từ cơ sở khoa học trên, em đã lựa chọn đề tài "**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit của loài trà hoa Việt Nam** *Camellia drupifera* Lour."

Mục tiêu của luận văn là: Nghiên cứu được thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sản sinh NO của cao chiết và các hợp chất phân lập được từ loài trà hoa Việt Nam *C. drupifera* Lour.

Nội dung nghiên cứu:

- Xử lí mẫu thân lá loài *C. drupifera*

- Tạo cao chiết và các phân đoạn; chiết xuất, phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất phân lập được từ loài *C. drupifera*

- Đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO của cao chiết và các hợp chất phân lập được từ loài *C. drupifera*

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước về chi Camellia

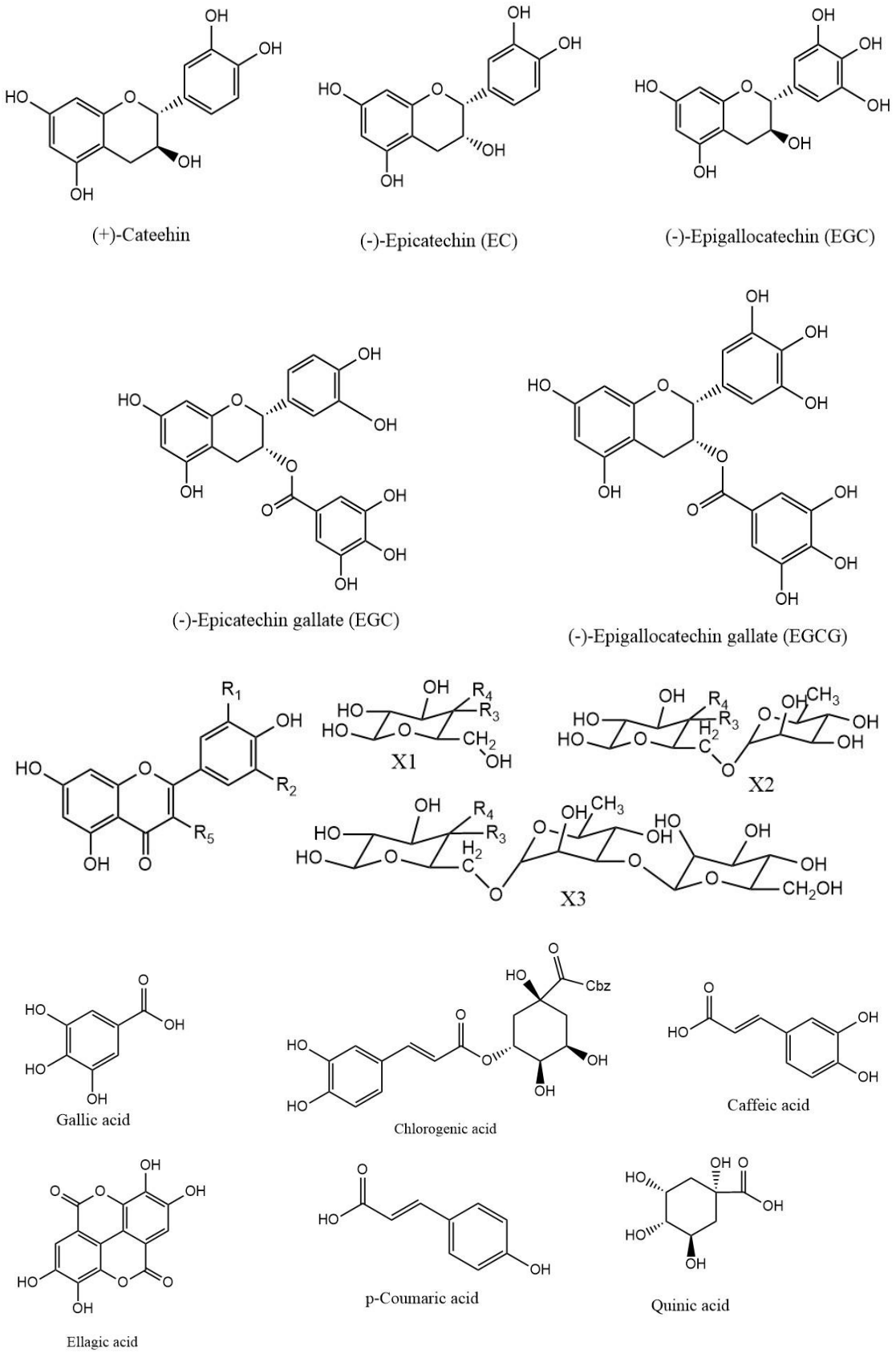
1.1.1. Tình hình nghiên cứu ngoài nước về chi Camellia

Cho đến nay, khoảng 400 hợp chất đã được báo cáo từ các loài *C. sinensis, C. sinensis var. assamica, C. taliensis, C. crassicolumna var. multiplex, C. fangchenensis và C. sinensis var. pubillimba*. Các hợp chất có thể được chia thành sáu loại: tannin thủy phân, flavan-3-ol và các dẫn xuất của chúng, flavonoid, alkaloid và theanine, terpenoid và phenolic. Nghiên cứu về tannin trong *Camellia* được bắt đầu từ năm 1958. Trong đó, các hợp chất flavan-3-ols là những chất chính của *Camellia*. Vị đắng và chát của chúng cho thấy tác dụng chống oxy hóa nhờ vào khả năng loại bỏ gốc tự do. Các tannin được thủy phân, góp phần quan trọng tạo dư vị ngọt ngào kéo dài. Các flavonol (kaempferol, quercetin, và myricetin) và glycoside của chúng cũng tồn tại với số lượng đáng kể. Là một trong các axit amin chính trong trà, theanine (γ-glutamylethylamide) góp phần tạo nên hương vị tươi và ngọt cho loài thực vật này. Ngoài ra, ba alkaloid chính trong *Camellia* là caffeine, theobromine, và theophylline cùng theogallin cũng góp phần mang lại hương vị cảm giác dễ chịu và tác dụng có lợi của các sản phẩm trà [4].

Các hợp chất polyphenol

Có khoảng 30 loại của các hợp chất polyphenol chủ yếu bao gồm catechin, flavonoid, anthocyanin và phenolic axit. Hàm lượng polyphenol cao nhất là trong *C. sinensis* (20–30%). Các catechin trong trà chủ yếu bao gồm catechin (C), epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epicatechin gallate (ECG) và epigallocatechin Gallate (EGCG).

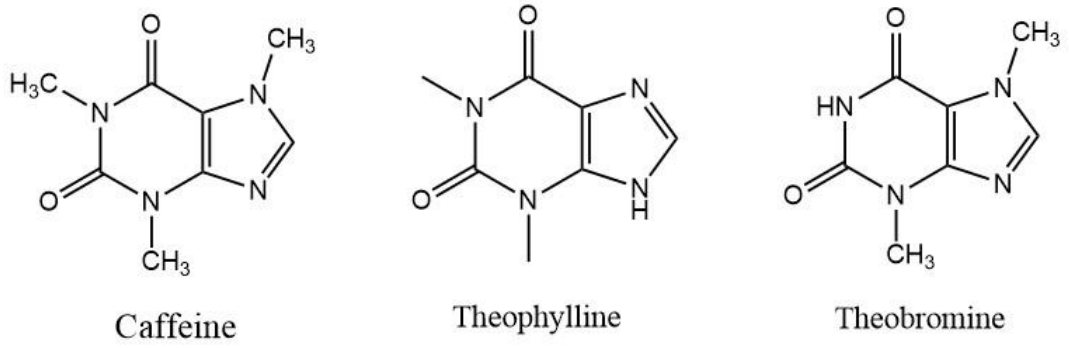
Các hợp chất polyphenol là nhóm thành phần chủ yếu, quyết định chất lượng trà xanh. Hiện nay có rất ít nghiên cứu về hợp chất axit phenolic trong trà xanh. Hàm lượng axit phenolic trong trà xanh tương đối nhỏ nhưng nó bao gồm nhiều thành phần khác nhau như axit gallic, axit chlorogen, axit caffeic, axit p-coumaric, axit ellagic, axit quinic.



Hình 1.1 Các hợp chất polyphenol được phân lập từ C. sinensis

Hợp chất alkaloid

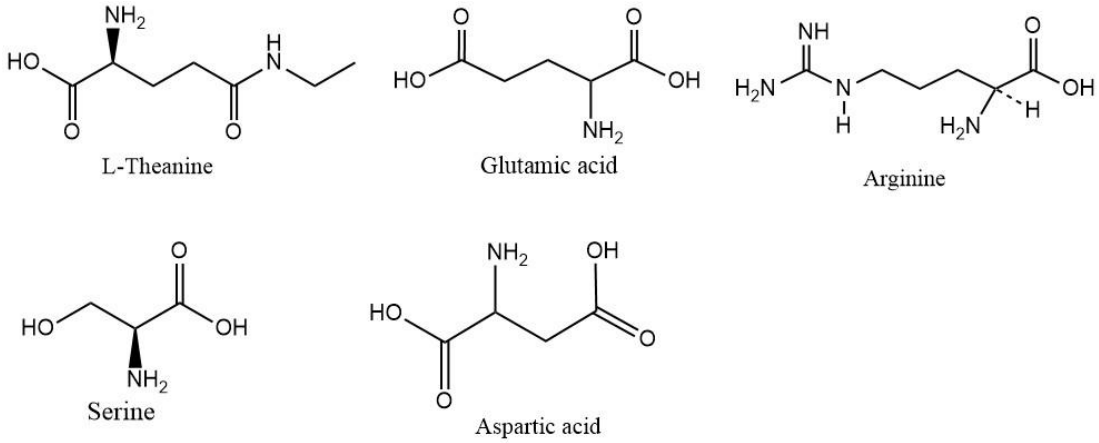
Các alcaloit chủ yếu là các ancaloit purine, trong đó hàm lượng caffeine là nhiều nhất (2~5%), một lượng nhỏ theophylline và theobromine. Ba loại ancaloit này là cơ sở nguyên liệu chính tạo nên tác dụng giải khát của trà.



Hình 1.2. Các hợp chất alkaloid được phân lập từ C. sinensis

Các axit amin

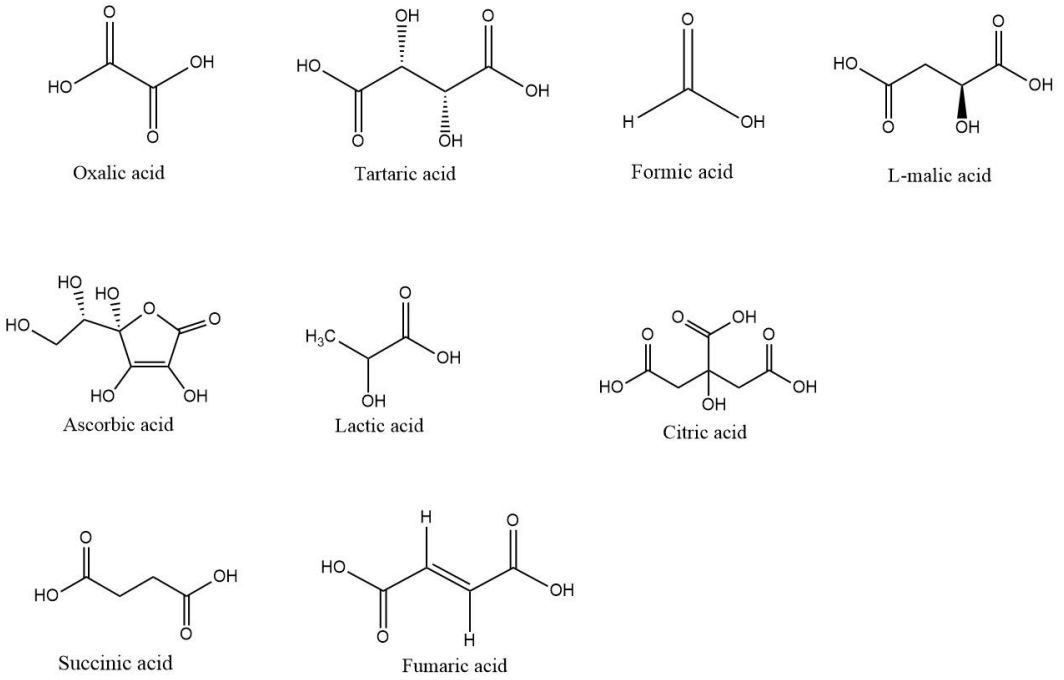
Trà chứa khoảng 1% đến 4% axit amin. Cho đến nay, 26 axit amin đã được tìm thấy trong trà, bao gồm 20 axit amin protein và 6 axit amin phi protein. Hàm lượng cao nhất là theanine, axit glutamic, arginine, serine và axit aspartic. Theanine chiếm khoảng 50% tổng số axit amin, tuy nhiên axit aminobutyric thấp. Chen và cộng sự đã sử dụng máy phân tích axit amin để xác định hàm lượng axit amin tự do trong một số loại trà khác nhau và nhận thấy rằng không có sự khác biệt đáng kể về thành phần axit amin của trà xanh và trà đen [6].



Hình 1.3. Các hợp chất axit amin được phân lập từ C. sinensis

Axit hữu cơ

Axit hữu cơ là chất hòa tan trong nước, là một trong những thành phần chính ảnh hưởng đến mùi thơm và vị của súp trà. Hơn 40 axit hữu cơ được phân lập và xác định từ trà, bao gồm cả axit hữu cơ tự do trong nước trà và hơn 30 trong các thành phần hương thơm. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh khả năng chữa bệnh và tác dụng dược lý của dịch chiết và các hợp chất phân lập được từ các loài thực vật trong chi *Camellia*. Các nghiên cứu chủ yếu liên quan đến hoạt tính chống oxy hóa, chống ung thư và chống đột biến, trị đái tháo đường, chống viêm, hạ đường huyết và chống béo phì, kháng khuẩn, bảo vệ gan, và tác dụng bảo vệ thần kinh [4].



Hình 1.4. Các hợp chất axít hữu cơ được phân lập từ C. sinensis

Hợp chất Terpenoid

Các terpenoid chính ở *C. japonica* là saponin, bao gồm cả Camellidin. Hiện nay, tổng cộng 132 triterpenoid và saponin của nó đã được phát hiện từ hoa, lá, chồi và hạt của *C. oleifera*, đặc biệt ở dạng hạt và lá. Chủ yếu là saponin triterpenoid loại oleanane.

Hoạt tính chống oxy hóa

Các loài của chi *Camellia* được biết đến là nguồn cung cấp dồi dào các hợp chất chống oxy hóa tự nhiên phong phú. Hầu hết các nghiên cứu tập trung vào bộ

phận lá của loài *C. sinensis, C. japonica, C. oleifera, C. taliensis, C. crassicolumna, C. fangchenensis*, … thông qua dịch chiết hoặc hợp chất tinh sạch của chúng. Hoạt động chống oxy hóa của cao chiết và hợp chất polyphenol trong *Camellia* được đánh giá tốt hơn vitamin C và E trên các mô hình thử nghiệm invitro khác nhau, như bẫy gốc DPPH và ABTS, ức chế tyrosinase và khả năng khử sắt (FRAP). Mô hình invivo đã chứng minh tác dụng ức chế stress oxy hóa của hợp chất polyphenol. Tác dụng này không chỉ nhờ vào khả năng loại bỏ gốc superoxide mà còn thúc đẩy hoạt động các enzyme chống oxy hóa như catalase, superoxide dismutase và glutathione peroxidase. Nghiên cứu về hoạt tính chống oxy hóa của các hợp chất tannin thủy phân và flavan-3-ols được cho là cao hơn các polyphenol khác. Giải thích về điều này, các nhà khoa học cho rằng, hoạt tính bắt giữ gốc tự do phụ thuộc vào cả loại nhóm phenolic [hexahydroxydiphenoyl (HHDP) và galloyl] và số nhóm OH trong phân tử. Hoạt tính của nhóm HHDP mạnh hơn hoạt tính của nhóm galloyl [7]. Tannin có nhiều nhóm HHDP trong phân tử thể hiện hoạt động mạnh hơn so với những chất chỉ có các nhóm galloyl. Đối với flavan-3-ols, sự có mặt của ít nhất một vòng catechol B được cho là cần thiết cho quá trình oxy hóa và sự tồn tại của nhóm galloyl có thể tăng cường đáng kể cho hoạt tính này. Càng nhiều nhóm galloyl và hydroxy vòng B, hoạt tính chống oxy hóa của chúng càng mạnh, điều này phù hợp với kết quả của phương pháp tính hóa học lượng tử [8].

Hoạt tính chống ung thư và chống đột biến

Trong những năm gần đây, cơ chế chống ung thư của polyphenol trong loài *Camellia* đã được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu trên nhiều mô hình khác nhau. Đặc biệt hợp chất EGCG đã được chứng minh khả năng ức chế yếu tố κB (NF-κB) và HIF-1α làm suy yếu sự hình thành mạch thông qua yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF) điều hòa gen, kích hoạt p53, p21, và p27 để ức chế hoạt động của kinase phụ thuộc cyclin, và ức chế DNA methyltransferase [9]. Vai trò của EGCG đối với bệnh ung thư miệng ở người đã được cho là điều hòa miễn dịch protein indoleamine 2,3-dioxygenase thông qua việc ngăn chặn tín hiệu JAK-PKC-δ-STAT1 do γ-interferon gây ra [10]. Dịch chiết nước của *C. taliensis* được báo cáo có tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào khối u bằng cách điều hòa đột biến gen p53 và ức chế biểu hiện protein HSP70 và HSP90 trong khối u [11]. Dịch chiết của *C. sinensis* đã

được báo cáo là có khả năng chống lại bệnh ung thư vú bằng cách giảm mức độ ức chế quá trình apoptosis và biểu hiện Bcl-2, tăng tỷ lệ protein Bax/Bcl-2 gây ra apoptosis, giảm sự phát triển tế bào ung thư vú trong nuôi cấy cũng như ức chế khối u vú ở chuột do chất gây ung thư tạo ra [12].

Hoạt tính kháng viêm

Dịch chiết xuất giàu polyphenol từ *C. sinensis* không chỉ ức chế hiệu quả chứng đau tai do dầu croton và phù chân do carrageenin mà còn ức chế quá trình viêm gan do lipopolysaccharide (LPS) gây ra bởi đảo ngược tổn thương mô và tăng alanine aminotransferase (ALT) trong huyết tương. Nó đã ngăn chặn đáng kể mức độ của yếu tố hoại tử khối u (TNF)-α, oxit nitric (NO), và interleukin (IL)-1β mRNA ở chuột với phương pháp miễn dịch viêm gan. Nghiên cứu về dịch chiết nước và ethyl axetat của *C. sinensis* var. assamica cũng cho thấy chúng thể hiện tác dụng ức chế sản xuất TNF-a, NO và IL-6 và biểu hiện iNOS trong đại thực bào RAW264.7 do LPS gây ra. Hoạt tính kháng viêm của theasinensin A đã được nghiên cứu ở cả mô hình tế bào và động vật, kết quả cho thấy nó có thể làm giảm ảnh hưởng của các chất trung gian gây viêm, bao gồm cả nitric cảm ứng protein tổng hợp oxit (iNOS), TNF-α, IL-12, NO và protein hóa hướng động đơn nhân-1 (MCP-1) gây ra bởi LPS. Trong mô hình động vật, theasinensin A đã ức chế sản xuất IL-12, TNF-α và MCP-1 và giảm phù chân chuột do LPS [4].

Hoạt tính hạ đường huyết

Sự tương tác của β-glucan trong lúa mạch và polyphenol trong *C. sinensis* lên quá trình chuyển hóa glucose ở chuột mắc bệnh tiểu đường do streptozotocin gây ra cho thấy chúng rất hữu ích trong việc điều trị đái tháo đường và tác dụng hạ đường huyết tổng hợp. Kết quả chỉ ra rằng chế độ ăn ngũ cốc giàu β-glucan cùng polyphenol có thể được sử dụng như một chiến lược để duy trì sức khỏe cho bệnh nhân tiểu đường. Dịch chiết nước của *C. taliensis* cho thấy khả năng ức chế enzym α-glucosidase và giảm sự tăng đường huyết sau bữa ăn ở chuột mắc bệnh tiểu đường, tương tự như nhóm sử dụng thuốc acarbose với cùng liều lượng (50 mg/kg thể trọng), cho thấy dịch chiết này có thể được phát triển thành thuốc điều trị đái tháo đường tiềm năng. Nghiên cứu về chức năng tim ở chuột mắc bệnh cơ tim do tiểu đường cho

thấy polyphenol trong *C. sinensis* có thể làm thay đổi mức độ tự thực bào để cải thiện chuyển hóa glucose và lipid ở bệnh tiểu đường. Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng sử dụng polyphenol trong *C. sinensis* như liệu pháp bổ sung trong việc quản lý bệnh thận do tiểu đường gây ra.

Hạ lipid máu và chống béo phì.

Các hợp chất polyphenol trong *C. sinensis* đã được chứng minh là có tác dụng ức chế quá trình tạo lipid trong tế bào ung thư vú MCF- 7 bằng cách điều hòa quá trình tổng hợp axit béo biểu hiện gen trong nhân và kích thích tế bào tiêu hao năng lượng trong ty thể. Cơ chế phân tử quá trình ức chế của polyphenol (EGCG và theaflavin) có thể thông qua việc điều chỉnh giảm con đường dẫn truyền tín hiệu EGFR/PI3K/Akt/Sp-1. Polyphenol trong trà đen có thể ngăn ngừa béo phì do ăn kiêng bằng cách ức chế sự hấp thu lipid ở ruột. Trên mô hình chuột béo phì do chế độ ăn nhiều chất béo, trọng lượng cơ thể của chuột, triacylglycerol huyết tương, cholesterol lipoprotein mật độ thấp (LDL) và cholesterol toàn phần đã giảm đáng kể sau uống dịch chiết nước của chè Fuzhuan. Trong khi biểu hiện gen của FAS và chuyển hóa lipogen protein bị suy giảm thì sự biểu hiện gen của các enzyme liên quan đến quá trình phân hủy lipid và tiêu hao năng lượng lại tăng cao.

Tác dụng bảo vệ thần kinh.

Nhiều cuộc điều tra đã đã chứng minh rằng sử dụng loài *Camellia* có thể làm giảm nguy cơ mắc bệnh bệnh thoái hóa thần kinh, chẳng hạn như bệnh Parkinson và bệnh Alzheimer. Tác giả Mo và cộng sự đã nghiên cứu tác dụng bảo vệ thần kinh của polyphenol từ loài *C. taliensis* bằng mô hình gây xuất huyết khoang dưới của nhện và kết quả cho thấy polyphenol tăng cường tác dụng bảo vệ thần kinh bằng cách tăng hàm lượng adenosine triphosphate, ức chế sự phân cực của màng ty thể, và ngăn chặn giải phóng cytochrome C. Hợp chất polyphenol trong *C. sinensis* được phát hiện có thể làm giảm tỷ lệ mắc các bệnh thoái hóa thần kinh bằng cách giảm quá trình oxy hóa căng thẳng và điều chỉnh các đường truyền tín hiệu [28]. Hợp chất theanine đã được chứng minh là có tác dụng bảo vệ thần kinh bằng cách ức chế các thụ thể glutamate và điều chỉnh nồng độ glutamine ngoại bào, trong khi cơ chế bảo vệ thần kinh của caffeine và theaflavin có thể góp phần vào khả năng đối kháng thụ

thể adenosine và hoạt tính chống oxy hóa. Ngoài ra, hoạt tính ức chế acetylcholinesterase của loài *C. sinensis* và cũng như một số hợp chất catechin cũng được đánh giá. Từ đó cho thấy các loài *Camellia* có thể hữu ích về mặt lâm sàng trong điều trị rối loạn thoái hóa thần kinh.

Hoạt tính sinh học khác

Hoạt tính kháng nấm in vitro của polyphenol, saponin của *C. sinensis* cho thấy ức chế sự phát triển của chủng Rhizopus stolonifera phụ thuộc vào liều lượng [31]. Các hợp chất catechin, đặc biệt là EGCG và các dẫn xuất của nó có khả năng ức chế sự xâm nhập của virus viêm gan C (HCV) và viêm gan B (HBV) [13]. Hoạt động kháng khuẩn của catechin và theaflavin chống lại chủng Bacillus cereus cũng đã được Friedman và cộng sự đánh giá. Kết quả đã chứng minh rằng ECG, CG, GCG, EGCG, theaflavin-3,3′-digallate, theaflavin-3′-gallate, và theaflavin-3- gallate cho thấy hoạt động kháng khuẩn mạnh ở mức độ nanomol [14]. Nhiều tác dụng khác polyphenol như bảo vệ gan, hạ huyết áp, tăng cường hệ tiêu hóa cũng đã được nghiên cứu.

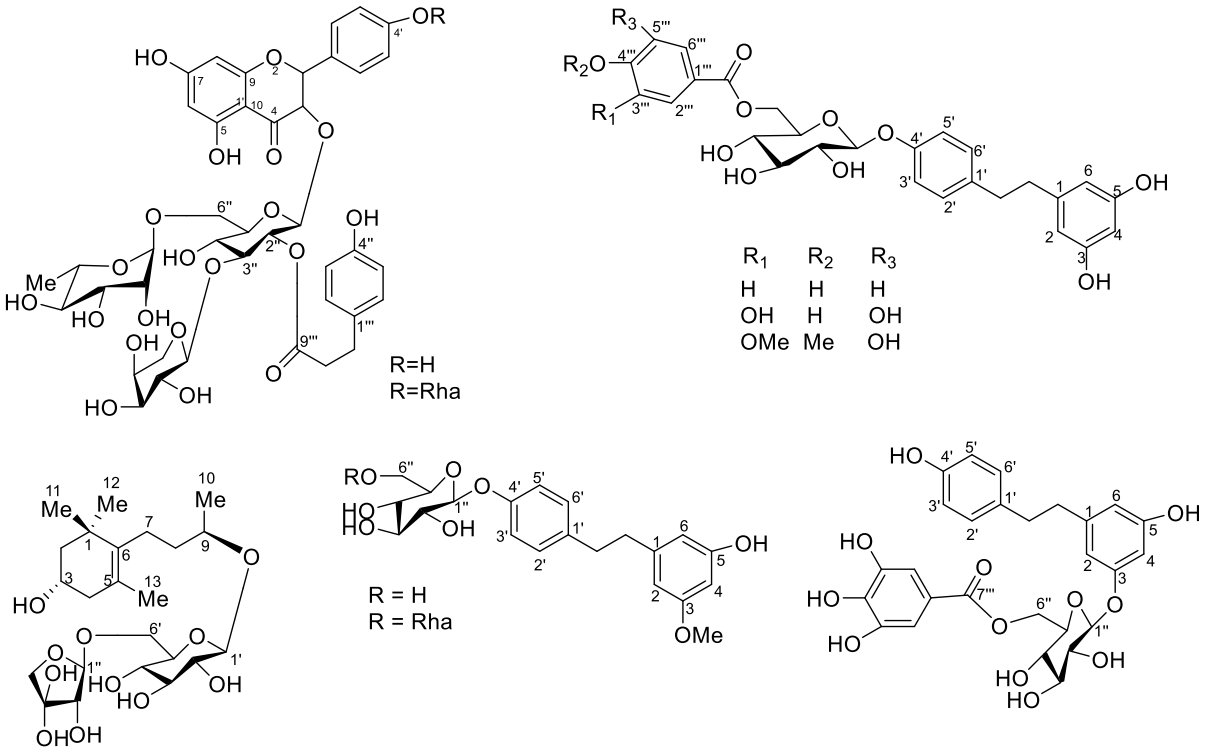
1.1.2. Tình hình nghiên cứu trong nước về chi Camellia

Trữ lượng đa dạng sinh học của Việt Nam là cơ sở cho các nghiên cứu hóa hợp chất tự nhiên. Chi *Camellia* từ lâu đã được biết đến rộng rãi với nhiều hoạt tính sinh học được ứng dụng trong cuộc sống.

Ở nước ta *C. sinensis* hay còn gọi là chè xanh, được trồng trên 33 tỉnh thành, chủ yếu ở Phú Thọ, Tuyên Quang, Hà Giang, Thái Nguyên, Quảng Nam, Đà Nẵng, Lâm Đồng, Đắc Lắc và là nguồn cung cấp thức uống phổ biến. Đã có rất nhiều các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của chè xanh được công bố. Các hợp chất phenol được xem như là một trong các chất chỉ thị của loài thực vật này. Cây chứa lượng lớn các hợp chất (chiếm khoảng 30 % trọng lượng khô). Hàm lượng các hoạt chất trong cây thay đổi tùy theo địa điểm và thời gian thu hái.

Trong nghiên cứu về thành phần hóa học của lá trà C. sinensis tại Thái Nguyên, nhóm của Nguyễn Thị Cúc đã định danh ba glycoside hoàn toàn mới. Các chất này bao gồm hai cấu trúc thuộc nhóm acylated flavonol glycoside cùng một megastigmane glycoside (ký hiệu là 3). Bên cạnh các chất mới, nghiên cứu cũng thu

được 5 hợp chất thứ cấp đã biết khác thuộc nhóm phenolic và flavonoid. Đáng chú ý, nhóm nghiên cứu đã tập trung đánh giá tiềm năng hạ đường huyết của các hoạt chất này thông qua mô hình ức chế enzym *α*-glucosidase in vitro. Đây là enzym then chốt trong việc thủy phân carbohydrate thành glucose, và việc ức chế nó sẽ giúp kiểm soát hiệu quả nồng độ đường trong máu sau khi ăn. Khi thử nghiệm hoạt tính sinh học, dẫn xuất neolignan glucoside 7S,8S-threo-4,9,9′-trihydroxy-3,3′-dimethoxy-8-O-4′-neolignan 7-O-*β*-D-glucopyranoside thể hiện hoạt tính ức chế *α*-glucosidase mạnh nhất (57,2%) nồng độ 200 µM [15].



Hình 1.5. Các hợp chất phân lập được từ các loài Camellia thu hái tại Việt Nam

Khi tiến hành sàng lọc hoạt tính kháng ung thư của các hợp chất từ lá trà đắng (C. sinensis var. assamica) thu tại Nguyên Bình, Cao Bằng, nhóm nghiên cứu đã ghi nhận những kết quả khả quan. Trong số 10 hợp chất được phân lập (bao gồm 3 dẫn xuất dihydrostilbene glycoside mới và 7 hoạt chất đã biết), (-)-epigallocatechin 3-O-gallate thể hiện khả năng ức chế tế bào vượt trội. Cụ thể, hợp chất này gây độc tế bào mạnh trên dòng ung thư miệng ở người (CAL27) và ung thư vú ở người (MDAMB231) với giá trị IC_{50} lần lượt là 9,78 ± 0,25 và 3,27 ± 0,18 µM so với các dòng đối chứng dương, capecitabine (giá trị IC_{50} là 8,20 ± 0,75 và 5,20 ± 0,89 µM).

[16]. Tiếp nối các kết quả nghiên cứu về tác dụng hạ đường huyết của mẫu Sơn trà (C. sasanqua) thu hái tại tỉnh Cao Bằng, nhóm tác giả đã mở rộng phân lập và thu được 13 hợp chất trong đó 3 hợp chất mới là: Sasastilboside A, Sasastilboside B, Sasastilboside C cùng 10 hợp chất đã biết: Danh sách các hoạt chất còn lại bao gồm các glycoside của dihydrostilbene và các flavonoid phổ biến kaempferol 3-O -*β*-D-glucopyranoside, quercitrin, rutin, nicotiflorin, catechin, cùng với rehmaionoside A và nudiposide. Ba hợp chất Sasastilboside C, kaempferol 3-O -*β*-D-glucopyranoside và catechin có hoạt tính ức chế enzym *α*-glucosidase với giá trị IC_{50} lần lượt là 77.62 ± 1.58, 123.03 ± 2.08 và 72.44 ± 1.34 μM. Hợp chất CS1 có hoạt tính ức chế enzym *α*-amylase với giá trị IC_{50} là 53.70 ±1.57 μM [17].

Trà hoa vàng là loại cây quý hiếm thuộc chi Camellia, xuất hiện chủ yếu ở vùng núi phía Bắc như Tam Đảo, Cúc Phương và đặc biệt là Ba Chẽ (Quảng Ninh). Theo công bố của Hồng Vân [18], từ các cặn chiết dung môi khác nhau (n-hexan, ethyl acetate và nước) của loài Camellia sp. tại Quảng Ninh, 23 thành phần hóa học đã được xác định cấu trúc, trong đó chiếm đa số là flavonoid (16 chất), bên cạnh triterpenoid (4 chất), steroid (2 chất) và chất béo (1 chất). Nghiên cứu cũng chỉ ra rằng nhóm flavonoid có tiềm năng chống oxy hóa mạnh nhất trong số các chất thu được. Ngoài ra, hợp chất flavonoid có tác dụng chống oxi hóa tốt nhất và tác dụng gây độc trên 3 dòng tế bào ung thư (LU-1, MCF-7, HepG2) ở mức độ trung bình [18].

Nghiên cứu về thành phần polyphenol, hoạt tính peroxid hóa lipid và gây độc tế bào hoạt động của hai loài *C. vuquangensis* và *C. hatinhensis* thu hái tại Vườn quốc gia Vũ Quang (Hà Tĩnh) cho thấy hàm lượng polyphenol tổng số trong tất cả các bộ phận của hai loài này tương đương với hàm lượng *C. sinensis* với giá trị từ 319,3 đến 342,6 mg đương lượng axit galic (GAE/g). Dịch chiết lá, hoa loài *C. vuquangensis* và *C. hatinhensis* có hoạt tính ức chế peroxid hóa lipid mạnh (IC_{50}: 7,92–17,45 μg/mL) và hoạt tính gây độc tế bào (HepG2, A549, MCF7, SK-Mel-2, HT-29 và AGS) ở mức vừa phải (IC_{50}: 34,73–80,58 μg/mL) [19].

1.1.3. Tình hình nghiên cứu loài C. drupifera Lour.

Loài *C. drupifera* Lour. (có tên khoa học khác là *C. vietnamensis* Huang ex

Hu) hay còn gọi là trà hoa Việt Nam. *C. drupifera* là một loại cây lấy dầu thân gỗ có giá trị kinh tế, được sự chú ý rộng rãi vì giá trị dinh dưỡng và dược tính phong phú của chúng.

Loài *C. drupifera* được định danh khoa học vào năm 1965, là dạng cây thân gỗ với chiều cao dao động từ 4 đến 6 m, bao phủ bởi lớp vỏ màu nâu xám. Đặc điểm cành có sự khác biệt giữa cành non mang lông và cành già nhẵn có màu nâu xám. Lá có cuống dài 1,0 cm, phiến dày chất da với hình dáng phổ biến là bầu dục hoặc hình trứng (dạng trứng ngược rất ít gặp), kích thước chiều dài đạt 5-10 cm và chiều rộng khoảng 3-6 cm. Bề mặt trên của lá xanh bóng, gân chính không nổi rõ và có lông hai bên; trong khi mặt dưới có màu xanh nhạt, trạng thái nhẵn hoặc có lông mịn dọc theo gân chính. Cấu tạo lá bao gồm đầu nhọn, gốc hình nêm hoặc gần tròn, mép xẻ răng cưa cùng hệ thống gân bên từ 10-11 cặp. Hoa sắc trắng mọc ở đỉnh cành, đường kính hoa khi nở đạt 6-9 cm với cuống dài 5-8 mm. Hệ thống lá bắc và lá đài gồm 9-10 chiếc, đặc trưng bởi lớp lông ở mép. Mỗi bông có 6-8 cánh hoa rời hình trứng ngược, dài 4,5–5,5 cm và xẻ hai thùy ở đầu. Bộ phận sinh sản gồm nhiều nhị dài 1,2-2 cm hơi dính nhau tại gốc; bộ nhụy có 3 lá noãn với bầu hình cầu 3 ô phủ lông trắng và vòi nhụy chẻ 3. Cây cho quả hình cầu hoặc cầu dẹt, đường kính 4-5 cm, chia 3 ô với phần vỏ dày từ 3-5 mm. Hạt có màu nâu, hình bán nguyệt, kích thước đạt 1,4-1,8 cm.Mùa ra hoa: Mùa hè và mùa thu

Điều kiện sinh thái: Trong rừng thường xanh nhiệt đới ở độc cao 200 – 600 m.

Phân bố: Ngoài Vườn Quốc gia Tam Đảo còn gặp ở Hà Tây (Ba Vì), Quảng Ninh (Uông Bí, Tiên Yên), Lạng Sơn (Hữu Lũng) và Trung Quốc (Quảng Đông, Quảng Tây và Hải Nam). Khi mô tả loài này T. C. Huang cho rằng *C. vietnamensis* được lấy từ Việt Nam và được đem trồng ở Quảng Tây từ năm 1956.

Hầu hết các công bố hiện tại về loài cây này đều từ các nghiên cứu tại Trung Quốc. Dựa trên các kết quả thu được, thành phần axit béo và thành phần hoạt chất chính như rutin, saponin tổng số, flavonoid tổng số, squalene và vitamin E của hạt loài C. *drupifera* có chất lượng tốt và hoạt tính chống oxy hóa mạnh nhất so với các loài khác trong cùng nghiên cứu *như C. oleifera, C. osmantha, và C. gigantocarpa*. Đóng góp có ý nghĩa lớn đối với việc nhân giống và sản xuất dầu từ loài thực vật này

[20]. Ở một thí nghiệm khác, các nhà khoa học đã sử dụng methyl jasmonate (MeJA) làm chất cảm ứng để thay đổi hàm lượng các chất chuyển hóa thứ cấp trong quá trình sinh tổng hợp, đặc biệt là lớp chất flavonoid ở *C. drupifera* với mục đích tăng cường hoạt tính sinh học quý như chống viêm, chống oxy hóa, chống ung thư, v.v. [21]. Tác giả Lu Feng và cộng sự đã nghiên cứu tác dụng của các peptide phân lập từ *C. drupifera* đối với tổn thương gan do rượu, để tìm ra mối quan hệ giữa các peptide hoạt động và mức độ nghiêm trọng của tổn thương. Các peptide hoạt động có tác dụng sinh lý quan trọng đối với cơ thể con người. Nghiên cứu cho thấy các chất chuyển hóa được điều chỉnh tăng lên là ribothymidine và xanthine; các chất chuyển hóa được điều hòa xuống là axit hydroxyphenyllactic, creatinine, stearoylcarnitine và inosine. Nghiên cứu này cung cấp một cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo [22].

Đến nay ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học, đặc biệt là hoạt tính kháng viêm của loài *C. drupifera* được công bố.

1.2. Viêm và vai trò của phân tử nitric oxit

Viêm trong cơ thể là kết quả của phản ứng tự nhiên với tác nhân gây viêm gây ra. Các thuốc kháng viêm corticosteroid và không steroid đều được sử dụng để kháng viêm bằng cách tác động lên các con đường kháng viêm. Tuy nhiên, những loại thuốc này có tác dụng phụ không mong muốn như loét dạ dày, đôi khi là nhồi máu cơ tim và đột quỵ. Thực vật được biết đến với các hoạt tính sinh học phổ biến, đặc biệt là việc sử dụng trong y học dân gian để điều trị một số rối loạn chuyển hóa và bệnh truyền nhiễm từ thời cổ đại. Trong nhiều thế kỷ, các hợp chất tự nhiên có nguồn gốc từ thực vật đã được sử dụng để điều trị viêm. Những hợp chất này dưới dạng thực phẩm bổ sung và thuốc thảo dược đang ngày càng phổ biến do tương đối ít tác dụng phụ. Sự hiện diện của các hợp chất thực vật có hoạt tính sinh học, đặc biệt là các hợp chất phenolic, tocopherol, phytol, v.v., là nguyên nhân tạo nên các hoạt tính sinh học tiềm tàng của thực vật [4]. Các loài thực vật thuộc chi Trà (*Camellia*) được ghi nhận là sử dụng trong y học dân gian. Các tác dụng chống oxy hóa và chống viêm của các loài trong chi Trà đã được chứng minh là do nguồn các hợp chất thứ cấp như triterpen, flavonoid, tannin ... Việc nghiên cứu hóa thực vật các loài thực vật trong chi này là một trong các mục tiêu để tìm kiếm và phát triển các loại thuốc kháng viêm mới.

Nitric oxide (NO) là một phân tử tín hiệu quan trọng, giữ vị trí then chốt trong các đáp ứng miễn dịch và tiến trình viêm của cơ thể. Khi xảy ra tình trạng viêm, các dòng tế bào như đại thực bào, thực bào đơn nhân, cùng các bạch cầu trung tính và ái toan sẽ được huy động để giải phóng một lượng lớn NO, prostaglandin E2 (PGE2) cùng các cytokine tiền viêm (điển hình là IL-1β, IL-6, và TNF-α). Phản ứng này đóng vai trò như một cơ chế tự vệ nhằm ức chế sự tăng trưởng hoặc tiêu diệt các vi sinh vật xâm nhập và tế bào ung thư. Đáng chú ý, Lipopolysaccharide (LPS) từ màng ngoài vi khuẩn Gram âm là tác nhân quan trọng kích thích đại thực bào sản sinh các chất trung gian này. Quá trình tổng hợp NO được điều phối bởi hệ thống enzyme Nitric oxide synthase (NOS) gồm ba dạng: nNOS, eNOS (biểu hiện ở mức độ thấp) và iNOS. Trong đó, iNOS là enzyme chính xúc tác cho phản ứng chuyển hóa L-Arginine thành L-Citrulline để tạo ra NO trong các phản ứng viêm. Trong điều kiện sinh lý bình thường iNOS không hoạt động trong các tế bào, nhưng trong điều kiện bệnh lý, enzym này được hoạt hóa và tạo ra một lượng lớn NO, có thể cao gấp 10 lần. iNOS đóng vai trò kép trong bệnh lý viêm mãn tính và ung thư. Mặt khác, viêm còn được biết là phản ứng phức tạp liên quan tới lộ trình axit arachidonic (AA), tạo nên các prostaglandin (trong đó có PGE2) xúc tác bởi enzym Cyclooxygenase (COX). COX có 2 dạng đồng dạng, dạng 1 là COX-1 có tác dụng bảo vệ tế bào trong hệ tiêu hóa, và một dạng cảm ứng COX-2, là nguyên nhân gây ra sự tăng sinh PGE2 trong quá trình viêm. Sự hiện diện của Lipopolysaccharide (LPS) đóng vai trò là tác nhân kích hoạt các con đường truyền tin nội bào trong đại thực bào, thúc đẩy quá trình phiên mã các gen viêm chủ chốt như iNOS và COX-2. Hệ quả của quá trình này là sự khởi phát các đáp ứng viêm điển hình của cơ thể. Chính vì vậy, việc theo dõi sự biến động nồng độ của các chất trung gian như NO và PGE2 – thông qua cơ chế ức chế hoạt tính enzyme iNOS và COX-2 – được coi là tiêu chí quan trọng để định tính và định lượng hiệu quả của các hợp chất có hoạt tính kháng viêm. Các chất ức chế chọn lọc iNOS và COX-2 cũng được coi là mục tiêu tiềm năng để điều trị viêm và giảm các triệu chứng viêm. Mô hình xác định nồng độ NO được tạo ra trong các đại thực bào RAW 264.7 chuột được kích hoạt bởi LPS là mô hình tốt để sàng lọc và đánh giá tác dụng của thuốc kháng viêm tiềm năng.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Mẫu thực vật

Mẫu thân lá loài *Camellia drupifera* Lour thu tại huyện Hải Lăng, tỉnh Quảng Trị hái vào tháng 9 năm 2024. Mẫu thực vật được giám định bởi PGS.TS Vũ Tiến Chính, Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm KHCN Việt Nam.

Mẫu tiêu bản kí hiệu là CDr-2024/QT được lưu trữ tại Trung tâm nghiên cứu và phát triển thuốc, Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCN Việt Nam.

Hình 2.1. Loài *Camellia drupifera* Lour

2.1.2. Đại thực bào RAW 264.7

Dòng tế bào RAW 264.7 (ATCC®-TIB-71™) được nuôi trong môi trường DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) có bổ sung thêm 10 % huyết thanh (FBS), 1 % Antibiotic-antimycotic ở điều kiện 37°C, 5% CO_2. Tế bào được cấy chuyển sau 2-3 ngày nuôi cấy. Tế bào ở pha log sẽ được sử dụng để đánh giá hoạt tính kháng viêm.

2.1.3. Vật tư hóa chất

- Các dung môi hữu cơ: *n*-hexane, dichloromethane, ethylacetate, acetone, methanol; Môi trường DMEM (GIBCO), huyết thanh FBS (GIBCO), antibiotic-antimycotic 100X (GIBCO), đệm phosphate buffered saline (PBS), lipopolysaccharides (LPS) từ

Escherichia coli (SIGMA), thuốc thử MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide), thuốc thử Griess (SIGMA).

- Máy cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) Bruker Avance 600 MHz với TMS là chất chuẩn nội; máy quang phổ Biotech Epock 2 bước sóng 540 nm**.**

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Các phương pháp về hóa học

2.2.1.1. Phương pháp xử lý mẫu và chiết xuất mẫu

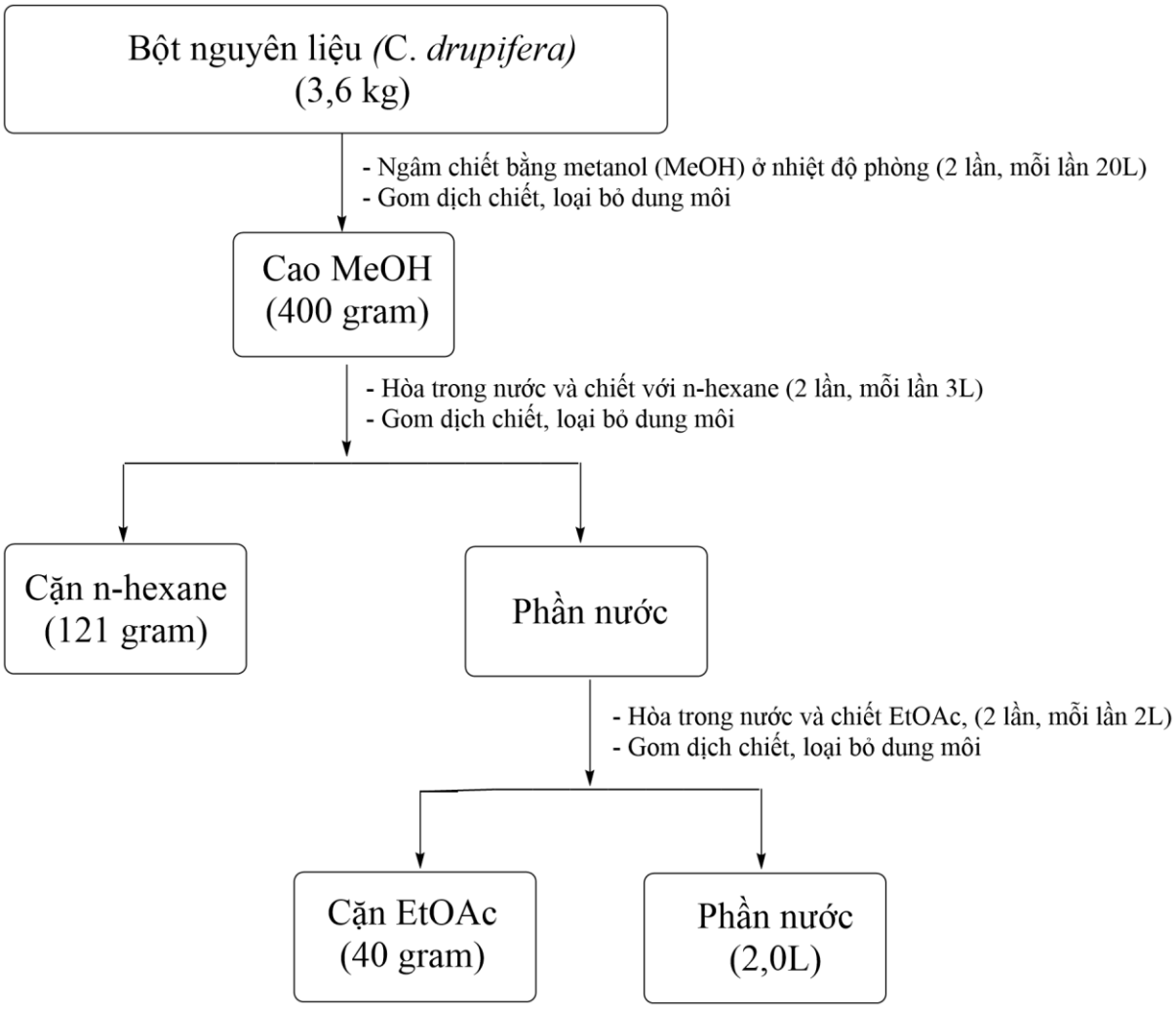
Mẫu thực vật sau khi đã sấy khô và nghiền nhỏ (3.6 kg) được ngâm trong thiết bị chiết với dung môi methanol (12 lít/24 giờ) ở nhiệt độ phòng. Gom các dịch chiết methanol (20 lít) và cất loại dung môi bằng máy cô quay chân không, thu được cao chiết MeOH (400 gam). Hòa cao chiết MeOH với 2 lít nước cất ấm rồi chiết phân bố lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần là *n*-hexan (2 lít/ 2lần) và ethyl aceatate (2 lít/2 lần). Gom các dịch chiết và cất loại dung môi thu được các cao chiết tương ứng là cặn *n*-hexan (121 gam), cặn EtOAc (40 gam) và phần dịch nước (2 lít).

Quá trình ngâm chiết mẫu thực vật được thể hiện ở ***Sơ đồ 2.1***.

2.2.1.2. Phương pháp phân lập chất sạch

Để phân lập các hợp chất sạch các phương pháp sắc kí đã được sử dụng như: sắc ký lớp mỏng (TLC Silica gel 60 F_{254}), sắc ký cột thường (CC), sắc ký pha đảo Sephadex LH-20. Sắc kí lớp mỏng được thực hiện trên bản mỏng đế nhôm tráng sẵn Silica gel 60 F_{254} của hãng Merck có độ dày 0,2 mm. Dung môi triển khai sắc kí là hỗn hợp của một số dung môi thường dùng như *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, acetone, methanol. Sắc kí cột chủ yếu dùng cột thường với pha tĩnh là silica gel, rửa giải với các dung môi *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, acetone, methanol. Khi pha tĩnh là Sephadex LH-20 thì rửa giải bằng methanol, hỗn hợp methanol/dichloromethane, methanol/nước…

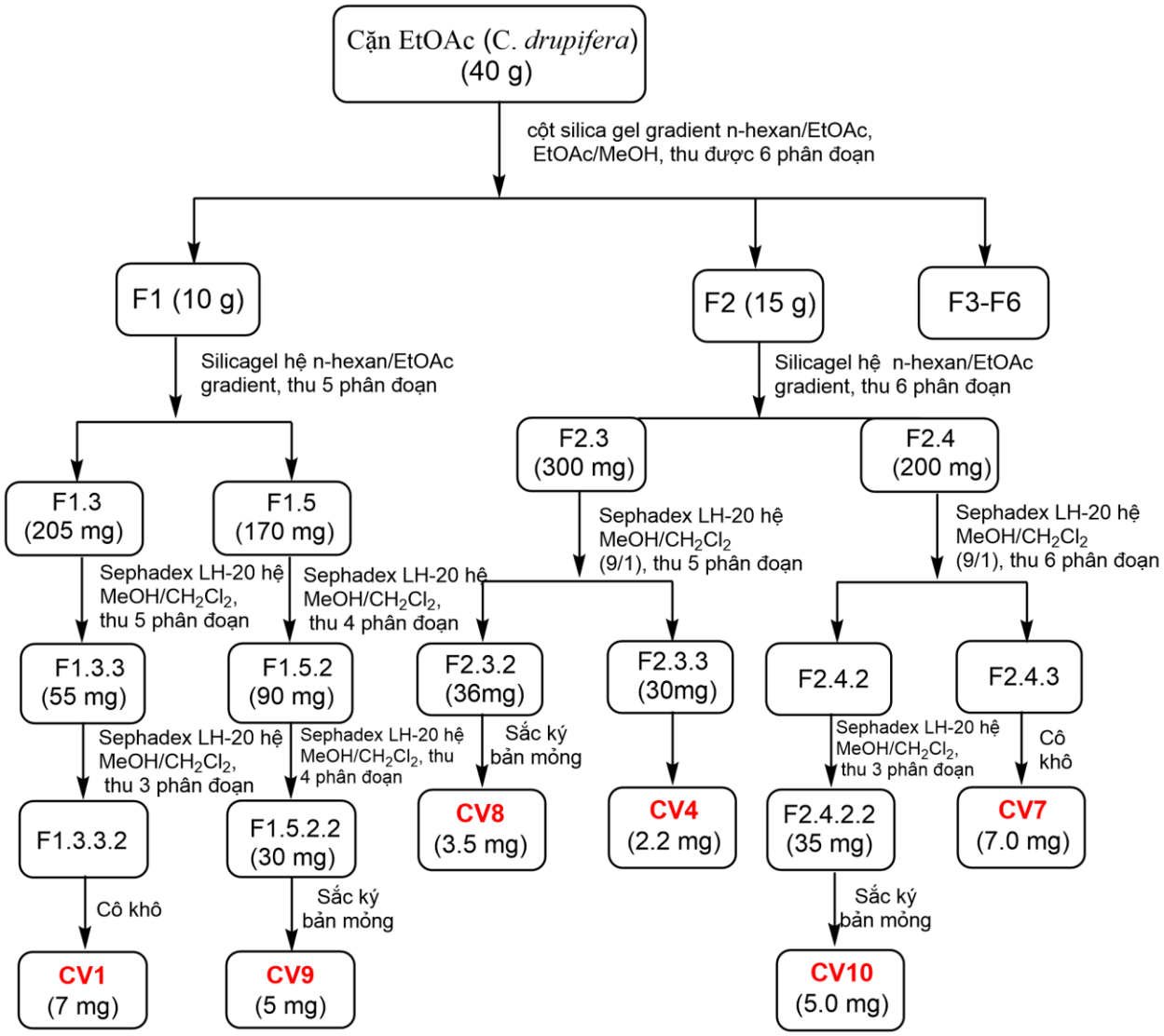
Cặn chiết EtOAc của lá loài *C. drupifera* (40 g) được phân tách sơ bộ trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải là *n*-hexan/EtOAc gradient rồi đến hệ EtOAc/MeOH gradient, thu được 6 phân đoạn ký hiệu từ F1 đến F6.



Sơ đồ 2.1. Sơ đồ ngâm chiết mẫu thực vật

Từ phân đoạn F1 (10 g), phân tách trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải là n-hexan/EtOAc gradient thu được 5 phân đoạn nhỏ, kí hiệu từ F1.1-F1.5. Từ phân đoạn nhỏ F1.3 (205 mg), tiếp tục phân tách trên cột sephadex LH-20 hệ MeOH/CH_2Cl_2 thu 5 phân đoạn nhỏ kí hiệu từ F1.3.1-F1.3.5. Phân đoạn nhỏ F1.3.3 (55 mg) tiếp tục phân tách trên cột sephadex LH-20 hệ MeOH/CH_2Cl_2 thu 3 phân đoạn nhỏ kí hiệu từ F1.3.3.1-F1.3.3.3. Cô khô phân đoạn F1.3.3.2 thu được chất **CV1** (7 mg). Từ phân đoạn nhỏ F1.5 (170 mg), tiếp tục phân tách trên cột sephadex LH-20 hệ MeOH/CH_2Cl_2 thu 4 phân đoạn nhỏ kí hiệu từ F1.5.1-F1.5.4. Phân đoạn nhỏ F1.5.2 (90 mg) tiếp tục phân tách trên cột sephadex LH-20 hệ MeOH/CH_2Cl_2 thu 4 phân đoạn nhỏ kí hiệu từ F1.5.2.1-F1.5.2.4. Phân đoạn F1.5.2.2 sử dụng bản mỏng sắc ký điều chế thu được chất **CV9** (5 mg).

Quá trình phân lập và tinh chế các chất sạch được thể hiện ở ***Sơ đồ 2.2***.



Sơ đồ 2.2. Sơ đồ phân lập và tinh chế các hợp chất sạch từ cặn EtOAc

Từ phân đoạn F2 (15 g), phân tách trên cột silica gel với hệ dung môi rửa giải là n-hexan/EtOAc gradient thu được 6 phân đoạn nhỏ, kí hiệu từ F2.1-F2.6. Phân đoạn F2.3 (300 mg) được phân tách trên cột sephadex LH-20 hệ MeOH/CH_2Cl_2 thu được 5 phân đoạn nhỏ, kí hiệu từ F2.3.1-F2.3.5. Phân đoạn F2.3.2 sử dụng bản mỏng sắc ký điều chế thu được chất **CV8** (3.5 mg). Phân đoạn F2.3.3 sử dụng bản mỏng sắc ký điều chế thu được chất **CV4** (2.2 mg). Phân đoạn F2.4 (200 mg) được phân tách trên cột sephadex LH-20 hệ MeOH/CH_2Cl_2 thu được 6 phân đoạn nhỏ, kí hiệu từ F2.4.1-F2.4.6. Phân đoạn F2.4.2 tiếp tục được phân tách trên cột sephadex LH-20 hệ MeOH/CH_2Cl_2 thu được 3 phân đoạn nhỏ, kí hiệu từ F2.4.2.1-F2.4.2.3. Phân đoạn

F2.4.2.2 sử dụng bản mỏng sắc ký điều chế hệ thu được chất **CV10** (5 mg). Cô khô phân đoạn F2.4.3 thu được hợp chất **CV7** (7 mg).

Như vậy, từ cao chiết EtOAc loài *C. drupifera* đã phân lập và tinh chế được 06 hợp chất sạch. Các hợp chất này sẽ được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ hiện đại.

2.2.1.3. Các phương pháp xác định cấu trúc

Việc xác định cấu trúc của các hợp chất sau khi phân lập thành công bao gồm quá trình đồng bộ của dữ liệu phổ NMR 1D (1H và 13C) và các kỹ thuật phổ NMR 2D (HSQC, HMBC). Phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) là một công cụ phân tích cấu trúc hiện đại, hoạt động dựa trên nguyên lý tương tác cộng hưởng của hạt nhân trong môi trường từ trường. Hai thông số kỹ thuật then chốt được trích xuất từ phổ là hằng số tương tác spin - spin (J) cùng độ dịch chuyển hóa học (δ), từ đó cho phép xây dựng mô hình cấu trúc phân tử của mẫu đo một cách logic thông qua việc phân tích dữ liệu từ phổ 1D và 2D. Quy trình phân tích phổ được triển khai ngay sau khi các hợp chất đã được làm sạch hoàn toàn bằng các kỹ thuật sắc ký chuyên dụng. Ban đầu, phổ proton (1H-NMR) sẽ được thực hiện để khảo sát các tín hiệu đặc trưng. Nếu kết quả cho thấy mẫu đã đạt độ sạch cần thiết, quá trình đo phổ carbon (13C-NMR) sẽ được tiến hành tiếp theo. Đối với những cấu trúc đơn giản, các thông số thu được từ phổ 1H-NMR và 13C-NMR thường đã đủ để định danh hợp chất. Ngược lại, với các phân tử có cấu tạo phức tạp, việc bổ sung thêm các dữ liệu tương quan từ phổ NMR hai chiều như HSQC và HMBC là yêu cầu bắt buộc nhằm mục đích giải đoán cấu trúc. Các số liệu NMR trong nghiên cứu này được ghi nhận ở các tần số tương ứng là 600 MHz cho 1H và 150 MHz cho 13C. Thiết bị được sử dụng là máy quang phổ Bruker 600 MHz đặt tại cơ sở của Viện Hóa học, thuộc Viện Hàn lâm KHCNVN.

2.2.2. Các phương pháp về sinh học

2.2.2.1. Kiểm tra độc tính của các chất thử đối với tế bào Raw264.7 theo phương pháp MTT [23]

- Tế bào phát triển 80 % sẽ được thu hoạch và điều chỉnh đạt nồng độ $2x10^5$ tế bào/giếng

- Hút 190 µl dịch tế bào vào các giếng của đĩa 96 giếng, nuôi trong 24 giờ trong tủ CO_2 ở điều kiện 37°C, 5% CO_2

- Bổ sung 10µl chất thử đã pha ở vào các giếng sao cho các nồng độ cuối đạt được là 256 µg/ml-64 µg/ml-16 µg/ml-4 µg/ml. Trên cùng một đĩa thí nghiệm, bố trí một số giếng không có chất thử để làm đối chứng.

- Sau 24 giờ, 10 µl dung dịch MTT (5 mg/ml) được cho vào mỗi giếng.

- Sau 4 giờ, loại bỏ môi trường, tinh thể formaran được hòa tan bằng 100 µl DMSO và đo độ hấp thụ (OD) ở bước sóng 540 nm bằng máy quang phổ.

- Mẫu thử ở các nồng độ có tế bào sống sót hơn 80 % sẽ được chọn để tiến hành thí nghiệm ức chế sản sinh NO.

2.2.2.2. Đánh giá hoạt tính kháng viêm in vitro trên đại thực bào RAW 264.7 [24]

- Tế bào được nuôi cấy trong môi trường DMEM trên đĩa 96 giếng với nồng độ $2x10^5$ tế bào/giếng), ủ 24 giờ ở 37°C, 5 % CO2.

- Thay toàn bộ môi trường trong giếng bằng môi trường DMEM không FBS.

- Bổ sung chất thử đã pha ở các nồng độ khác nhau vào đĩa thử nghiệm sao cho các nồng độ cuối đạt được là 256 µg/ml-64 µg/ml-16 µg/ml-4 µg/ml.

- Sau 2 giờ, tế bào được kích thích bằng LPS (1 µg/ml) và ủ tiếp trong 24 giờ.

- Lấy 100 µL dịch nuôi cấy tế bào được và 100 µL thuốc thử Griess cho sang đĩa 96 giếng mới và đo mầu của phản ứng ở bước sóng 540 nm trên máy quang phổ. Màu của phản ứng tỷ lệ thuận với hàm lượng NO sản sinh trong thí nghiệm.

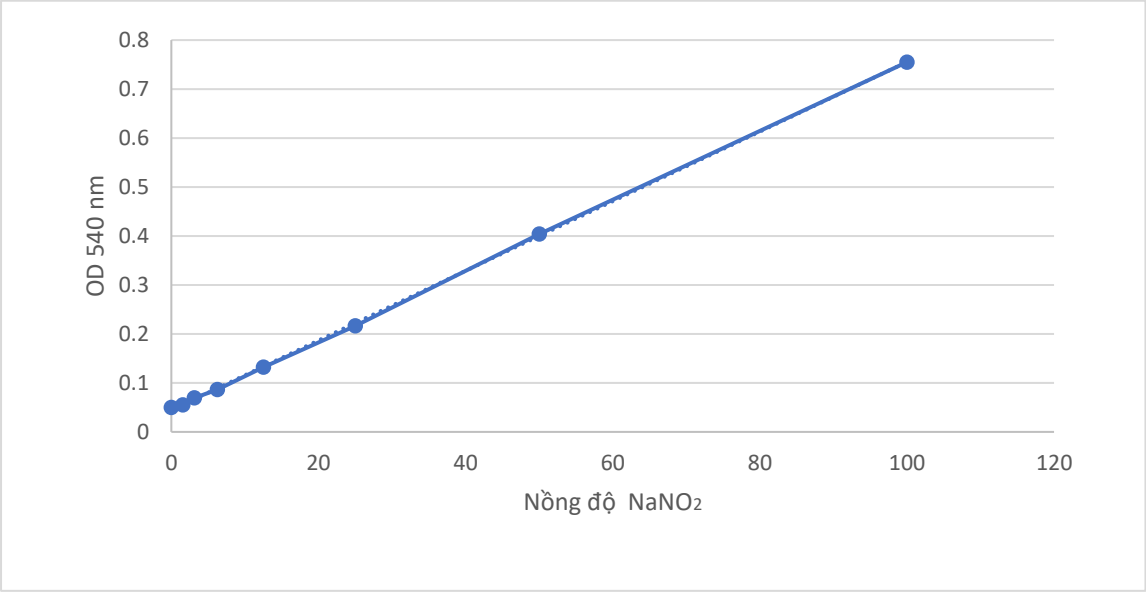
- Hoạt chất N^G-Methyl-L-arginine acetate (L-NMMA) được sử dụng làm chất tham khảo. Môi trường có tế bào kích thích bởi LPS được sử dụng làm đối chứng dương và môi trường có tế bào không có LPS được sử dụng để làm đối chứng âm.

2.2.2.3. Xử lý số liệu

Hàm lượng nitrite của từng mẫu thí nghiệm được xác đinh nhờ vào đường cong hàm lượng chuẩn $NaNO_2$. Khả năng ức chế sản sinh NO của mẫu được xác định nhờ công thức:

% ức chế sản sinh NO = $(OD_{chứng\ (+)} - OD_{mẫu\ thử})/(OD_{chứng\ (+)} - OD_{chứng\ (-)})$ x 100%

Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50 % sự sản sinh NO) sẽ được xác định dựa vào % ức chế sản sinh NO và phần mềm Rawdata.



Hình 2.2. Đồ thị hàm lượng chuẩn $NaNO_2$

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. *Dữ liệu phổ của các chất phân lập được*

*3.1.1. Hợp chất **CV09**: Friedelin*

Chất rắn màu trắng; ^{1}H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C-NMR (125 MHz, $CDCl_3$): Xem bảng 3.1

*3.1.2. Hợp chất **CV01**: β-amyrine*

Chất rắn màu trắng; ^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) và ^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$): Xem bảng 3.2

*3.1.3. Hợp chất **CV08**: Trans-3,4,5-Trimethoxycinnamic alcohol*

Chất rắn màu trắng; ^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) và ^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD): Xem bảng 3.3

*3.1.4. Hợp chất **CV04**: Naringenin*

Chất rắn màu trắng; ^{1}H-NMR: (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C-NMR: (CD_3OD, 150 MHz): Xem bảng 3.4

*3.1.5. Hợp chất **CV07**: Kaempferol*

Chất rắn màu vàng nhạt; ^{1}H-NMR: (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C-NMR: (CD_3OD, 150 MHz): Xem bảng 3.5

*3.1.6. Hợp chất **CV10**: 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid*

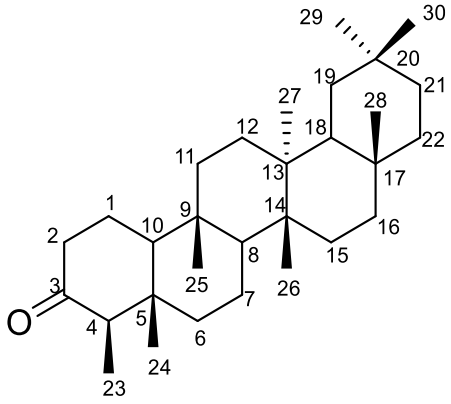
Chất rắn màu vàng nhạt; ^{1}H-NMR: (CD_3OD, 600 MHz) và ^{13}C-NMR: (CD_3OD, 150 MHz) : Xem bảng 3.6

3.2. *Kết quả xác định cấu trúc các hợp chất phân lập được*

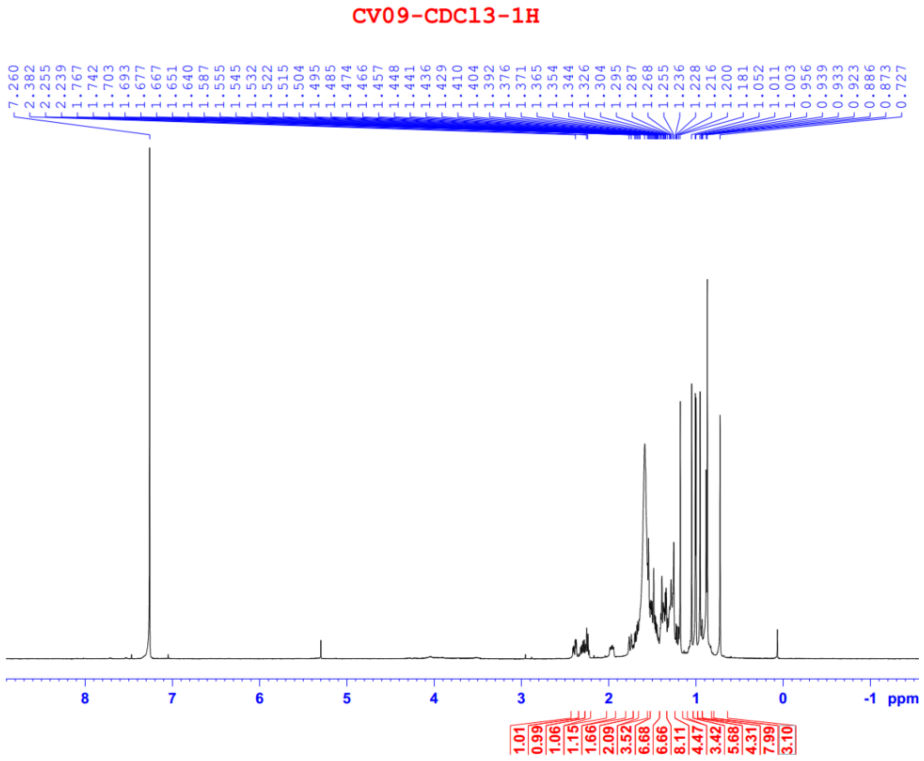
3.2.1.Hợp chất CV09: Friedelin

Hợp chất **CV09** được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ ^{13}C-NMR và DEPT của hợp chất **CV09** cho tín hiệu cộng hưởng của 30 nguyên tử carbon bao gồm 1 nhóm carbonyl ở δ_C 213,2 (C-3), 8 nhóm methyl ở δ_C 6,82 (C-23); 14,7 (C-24); 17,9 (C-25); 18,7 (C-27); 20,3 (C-26); 31,8 (C-29); 32,1 (C-28); 35,0 (C-30), 4 nhóm

methine ở δ_C 42,8 (C-18); 53,1 (C-8); 58,3 (C-4); 59,5 (C-10); 11 nhóm methylen và 6 carbon không liên kết với trực tiếp với hydro.

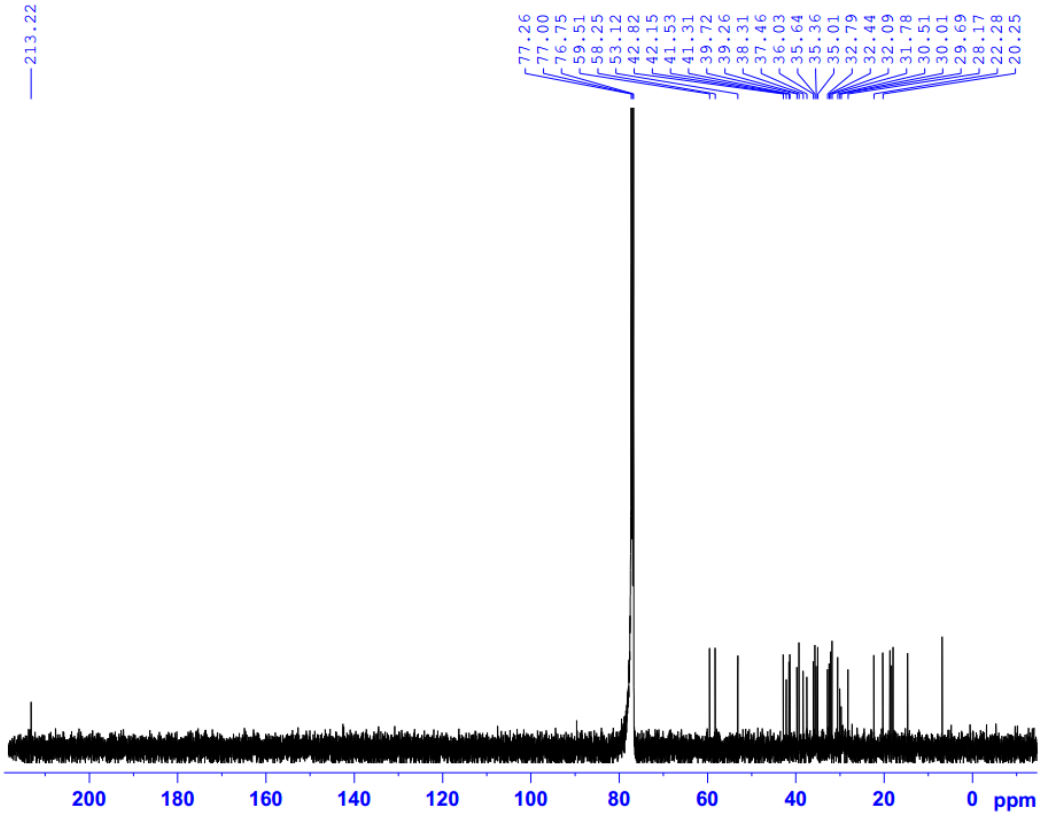


Trên phổ ^{1}H-NMR xuất hiện tín hiệu của 8 nhóm methyl trong đó có 1 nhóm methyl doublet ở δ_H 0,88 (3H, d, J = 6,5 Hz, , CH_3-23) và 7 nhóm methyl singlet ở δ_H 0,73 (3H, s, CH_3-24); 0,87 (3H, s, CH_3-25); 0,96 (3H, s, CH_3-29); 1,00 (3H, s, CH_3-26); 1,01 (3H, s, CH_3-30); 1,05 (3H, s, CH_3-27); 1,18 (3H, s, CH_3-28). Từ các dữ liệu phổ 1D NMR (Bàng 3.1) cho phép dự kiến hợp chất **CV09** là một triterpen có 5 vòng khung friedelan.



*Hình 3.1. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV09***

Phân tích phổ COSY xác định hợp chất **CV09** có 7 hệ tương tác spin-spin giữa CH_2-1/CH_2-2; CH_3-23/H-4; CH_2-6/CH_2-7/H-8; CH_2-11/CH_2-12; CH_2-15/CH_2-16; H-18/CH_2-19 và CH_2-21/CH_2-22 (Hình 6). Tương tác giữa proton thuộc nhóm CH_3-23 ở δ_H 0,88 với C-3/C-4/C-5 và tương tác giữa H-4 với C-3/C-23/C-24/C-5 cho thấy nhóm CH_3 gắn ở vị trí C-4. Tương tác giữa proton của 2 nhóm CH_3-29, CH_3-30 với C-20/C-19/C-21 xác định 2 nhóm methyl này gắn ở vị trí C-20. Tương tác giữa proton của nhóm CH_3-24 với C-4/C-5/C-6 xác định nhóm CH_3-24 gắn ở vị trí C-5. Tương tác giữa proton của nhóm methyl CH_3-25 với C-8/C-9/C-10/C-11 cho phép xác định nhóm CH_3-25 gắn ở vị trí C-9. Tương tác giữa proton của nhóm methyl CH_3-26 với C-8/C-9/C-10/C-11 chỉ ra CH_3-25 gắn ở vị trí C-9. Tương tự, các nhóm methyl CH_3-27 và CH_3-28 được xác định lần lượt gắn ở vị trí C-13 và C-17 dựa vào các tương tác trên phổ HMBC (Hình 6). Tương tác giữa H-4 với với C-3/C-23/C-24/C-5 và H-2 với C-3/C-4/C-10 xác định nhóm carbonyl ở vị trí C-3.



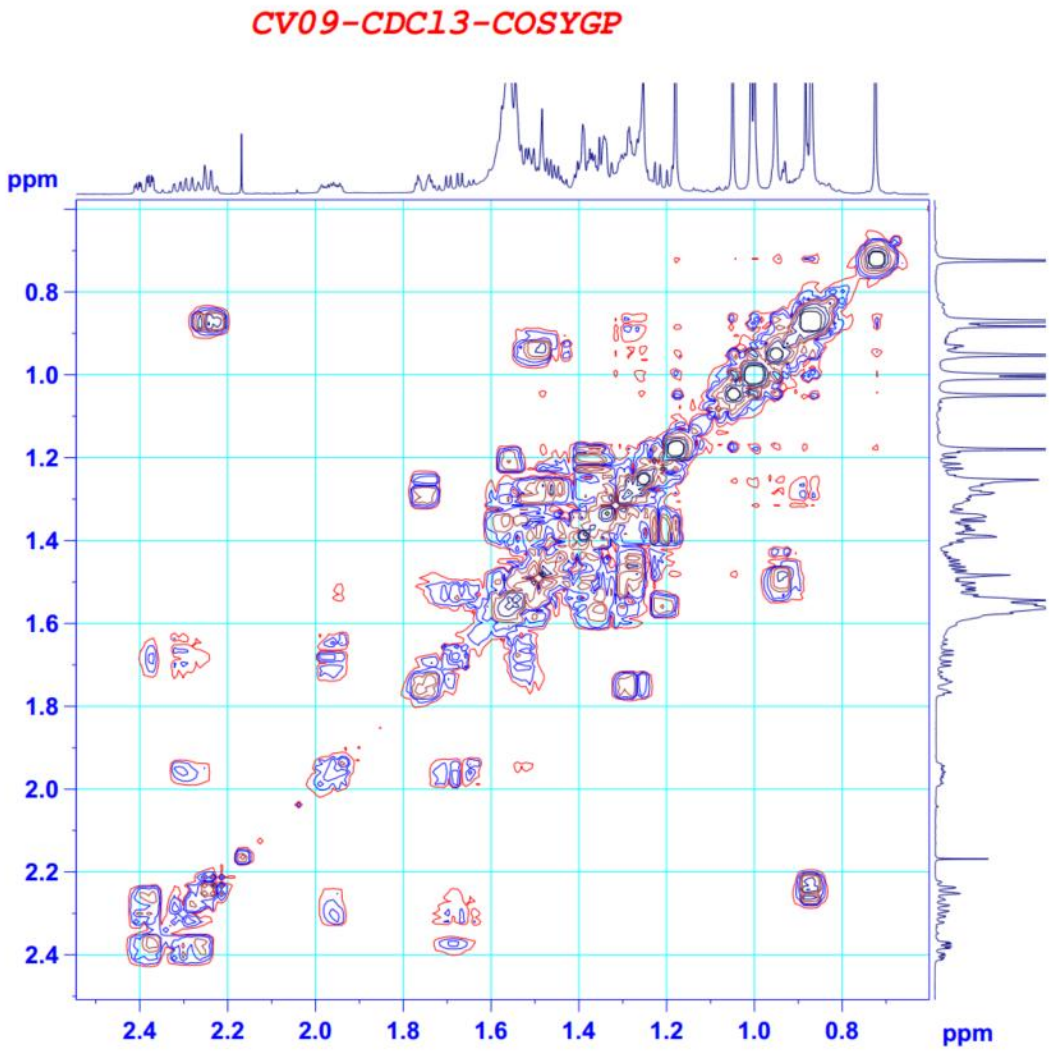
*Hình 3.2. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV09***

Bảng 3.1. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV09**

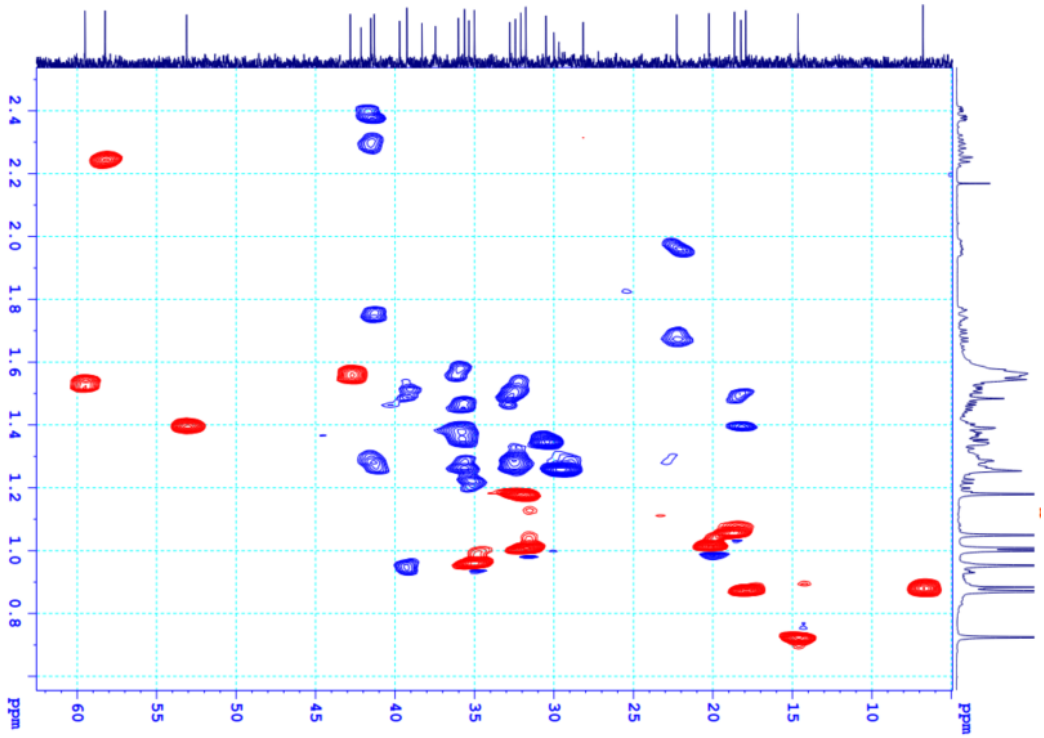
C	Hợp chất CV09		Hợp chất Friedelin
	δ_C[a,b]	δ_C[a,b]	δ_C[(d, #)]
1	22,3	1,69, m 1,95, m	22,3
2	41,5	2,30, m 2,39, m	41,5
3	213,2		213,2
4	58,3	2,25, q (6,5)	58,2
5	42,2		42,1
6	41,3	1,27, m 1,75, m	41,3
7	18,3	1,39, m 1,50, m	18,2
8	53,1	1,40, m	53,1
9	37,5		37,4
10	59,5	1,53, m	59,5
11	35,7	1,26, m 1,44, m	35,7
12	30,5	1,33, m	30,5
13	39,7		39,7
14	38,3		38,3
15	32,5	1,27, m 1,50, m	32,4
16	36,0	1,35, m 1,51, m	36,0
17	30,0		30,0
18	42,8	1,56, m	42,8
19	35,4	1,26, m 1,39, m	35,3
20	28,2		28,2
21	32,8		32,8
22	39,3		39,2
23	6,8	0,88, d (6,5)	7,0
24	14,7	0,73, s	14,6

C	Hợp chất CV09		Hợp chất Friedelin
	δ_C[a,b]	δ_C[a,b]	δ_C[(d, #)]
25	17,9	0,87, s	17,9
26	20,3	1,00, s	20,2
27	18,7	1,05, s	18,6
28	32,1	1,18, s	32,1
29	35,0	1,01, s	35,0
30	31,8	0,96, s	31,8

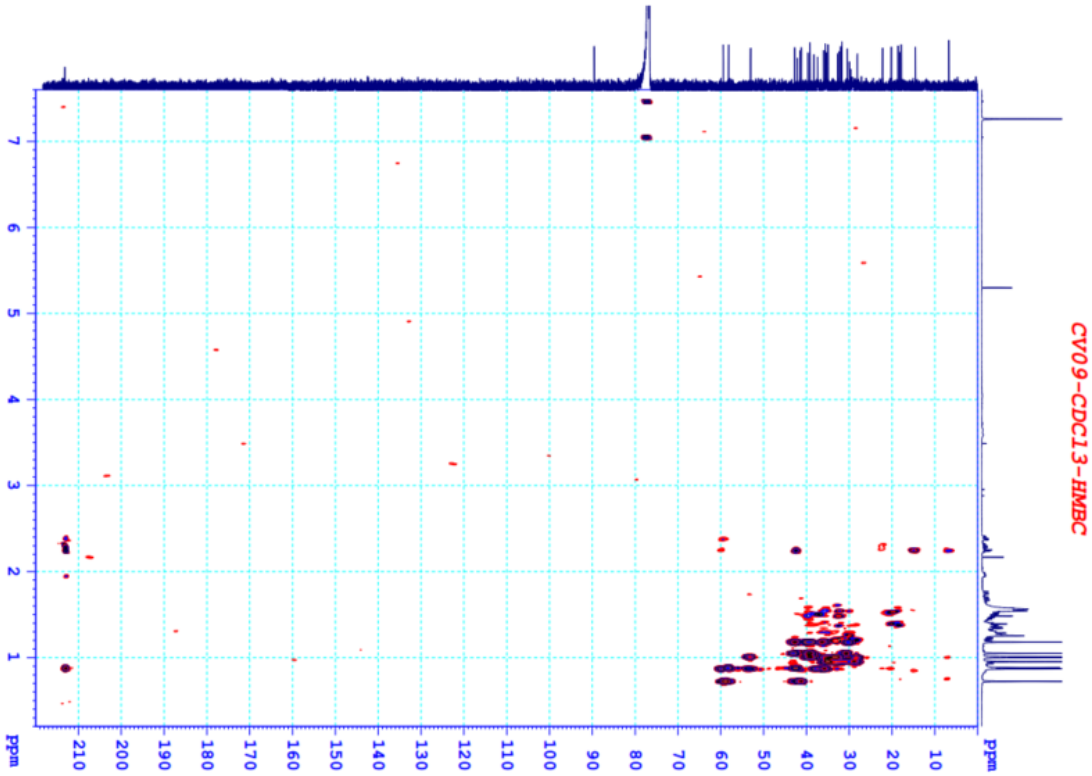
[a]Đo trong $CDCl_3$, [b]125 MHz, [c]500 MHz, [d] 125 MHz, [≠] [25]



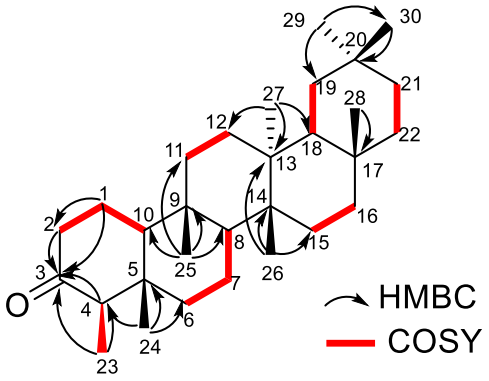
*Hình 3.3. Phổ COSY giãn rộng của hợp chất **CV09***



Hình 3.4. Phổ HSQC giãn rộng của hợp chất ***CV09***



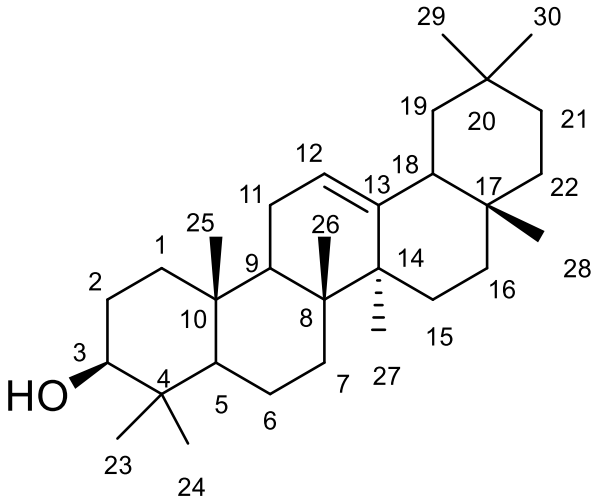
Hình 3.5. Phổ HMBC của hợp chất ***CV09***



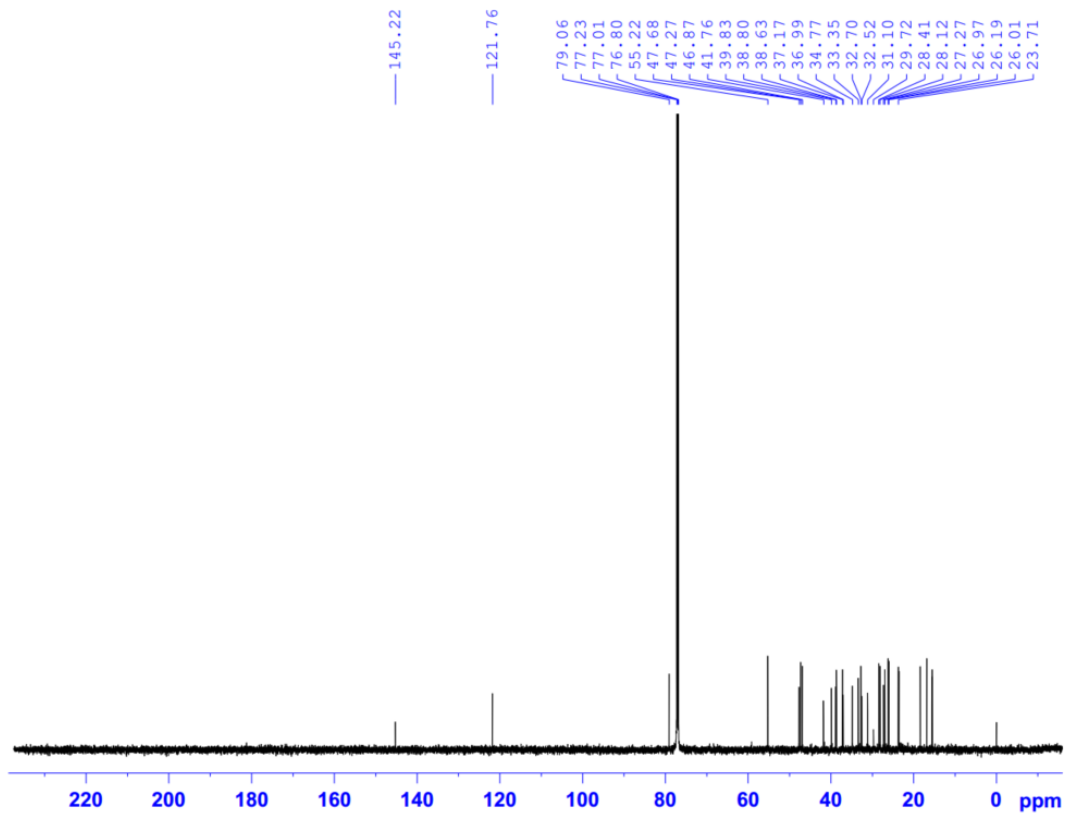
*Hình 3.6. Một số tương tác chính trên phổ COSY và HMBC của hợp chất **CV09***

Kết hợp các dữ liệu phổ COSY, HSQC, HMBC, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, DEPT và so sánh với tham khảo tài liệu [25] cho phép xác định hợp chất **CV09** là friedelin.

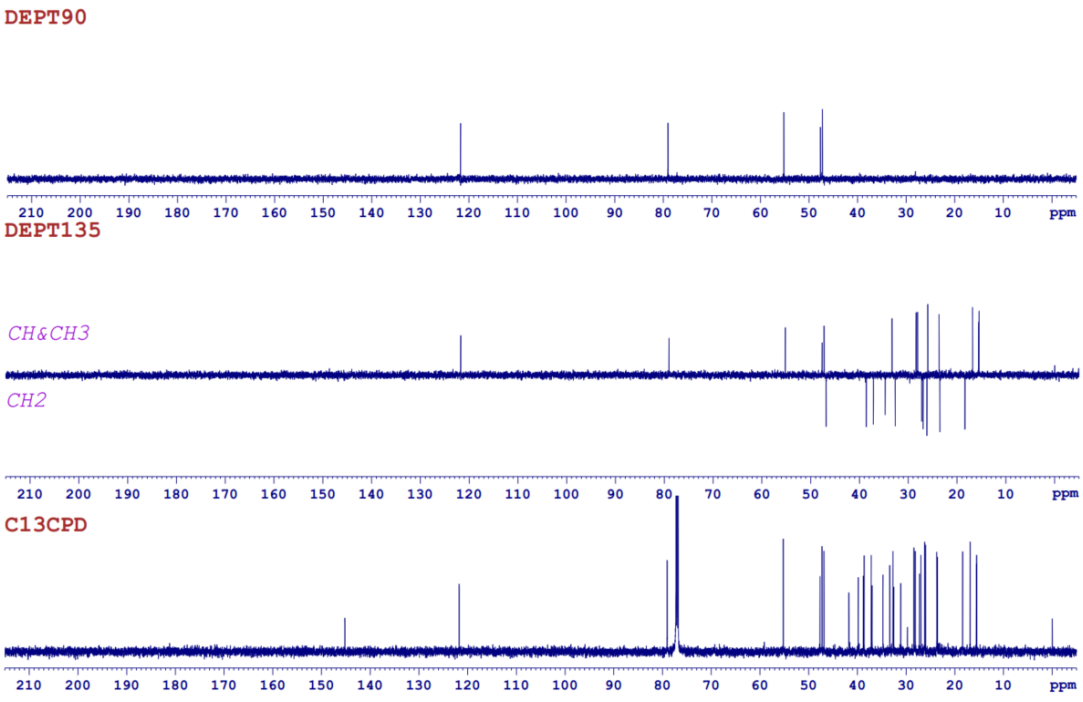
3.2.2. Hợp chất CV01: β-amyrine



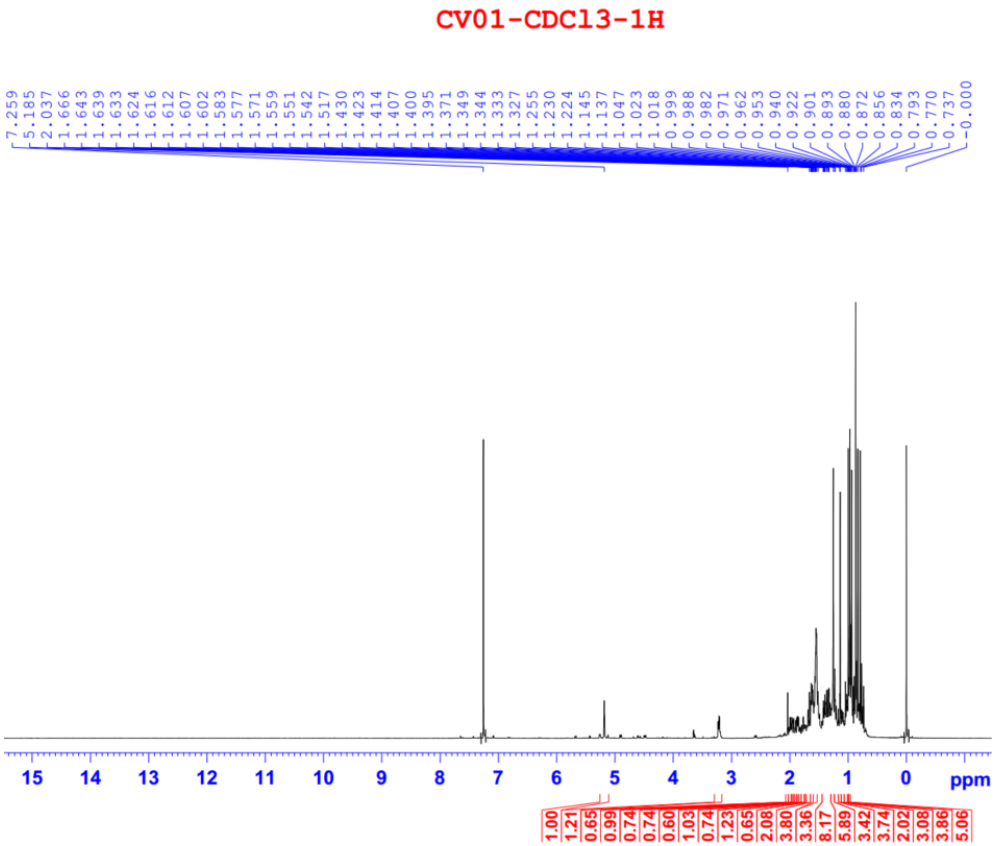
Hợp chất **CV01** được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng. Phổ ^{13}C-NMR và phổ DEPT của hợp chất **CV01** cho tín hiệu cộng hưởng của 30 carbon bao gồm 1 nhóm oxymethin ở δ_C 79,1 (C-3), 1 nhóm methine sp^2 ở δ_C 121,8 (C-12), 8 nhóm methyl ở δ_C 15,5 (C-24), 15,6 (C-25), 16,8 (C-26), 23,7 (C-30), 26,0 (C-27), 28,1 (C-23), 28,4 (C-28), 33,4 (C-29), 4 nhóm methine ở δ_C 42,8 (C-18); 53,1 (C-8); 58,3 (C-4); 59,5 (C-10); 10 nhóm methylen và 7 cacbon không liên kết với trực tiếp với hydro.



*Hình 3.7. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV01***



*Hình 3.8. Phổ DEPT của hợp chất **CV01***



*Hình 3.9. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV01***

Trên phổ ^{1}H-NMR xuất hiện các tín hiệu của 8 nhóm methyl dưới dạng singlet ở δ_H 0,79 (3H, s, CH_3-23); 0,83 (3H, s, CH_3-28); 0,87 (3H, s, CH_3-29); 0,87 (3H, s, CH_3-30); 0,94 (3H, s, CH_3-25); 0,97 (3H, s, CH_3-26); 0,99 (3H, s, CH_3-24); 1,14 (3H, s, CH_3-27), 1 nhóm oxymethin ở δ_H 3,22 (1H, dd, J = 4,8; 11,4 Hz, H-3) và 1 proton olefinic ở δ_H 5,19 (1H, t, J = 3,6 Hz, H-12). Hằng số tương tác của proton thuộc nhóm oxymethin J = 4,8; 11,4 Hz cho phép xác định proton này có cấu hình α. Kết hợp các dữ liệu phổ ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, DEPT và so sánh với tham khảo tài liệu [26] cho phép xác định hợp chất **CV01** là β-amyrine.

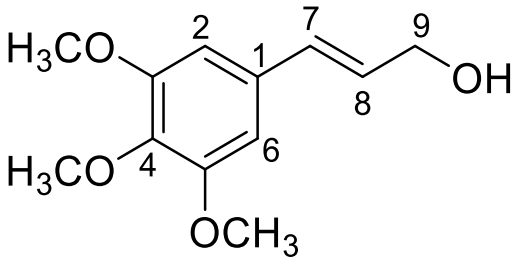
Bảng 3.2. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV01**

C	Hợp chất CV01		Hợp chất β-amyrine
	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_C^{(d,\#)}$
1	38,6		37,8
2	27,3		28,1

C	Hợp chất CV01		Hợp chất *β*-amyrine
	δ_C[a,b]	δ_C[a,b]	δ_C[(d, #)]
3	79,1	3,22 dd, (4,8; 11,4)	78,8
4	38,8		38,4
5	55,2		55,6
6	18,4		18,8
7	32,7		33,1
8	41,8		39,2
9	46,9		47,8
10	36,9		37,2
11	23,6		23,4
12	121,8	5,19 t, (3,6)	121,4
13	145,2		145,6
14	39,8		41,2
15	26,2		26,8
16	26,9		27,3
17	32,5		32,2
18	47,3		47,2
19	47,7		46,6
20	31,1		31,1
21	34,7		34,2
22	37,2		37,3
23	28,1	0,79, s	28,9
24	15,5	0,99, s	15,5
25	15,6	0,94, s	15,6
26	16,8	0,97, s	16,7
27	26,0	1,14, s	26,4
28	28,4	0,83, s	28,8
29	33,4	0,87, s	33,4
30	23,7	0,87, s	23,8

[a]Đo trong $CDCl_3$, [b]150 MHz, [c]600 MHz, [d] 100 MHz, [≠] [26]

3.2.3. Hợp chất CV08: Trans-3,4,5-Trimethoxycinnamic alcohol

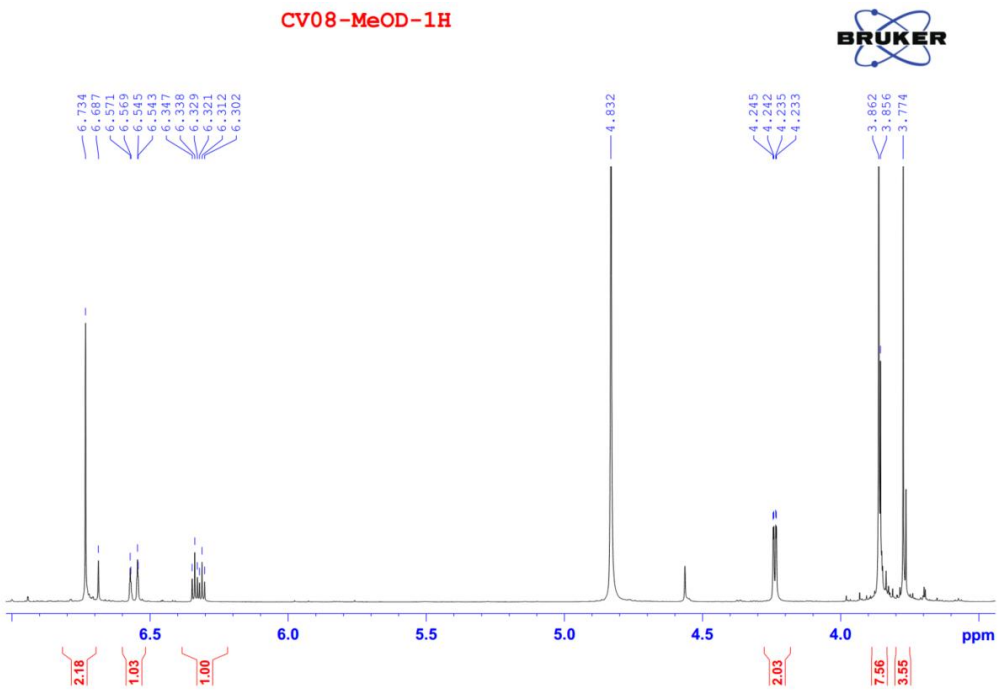


Phổ ^{1}H-NMR cho tín hiệu của 3 nhóm methoxy ở δ_H 3,77 (3H, s, OCH_3-4); 3,86 (6H, s, OCH_3-3 + OCH_3-5), 2 proton vòng thơm ở δ_H 6,73 (2H, s, H-2 + H-6), 1 nhóm oxymethylen ở δ_H 4,24 (2H, dd, J = 6,0; 1,6 Hz, CH_2-9), 2 proton olefinic ở δ_H 6,32 (1H, dt, J = 15,6; 5,4 Hz, H-8); 6,56 (1H, dd, J = 15,6; 1,2 Hz, H-7). Hằng số tương tác lớn J = 15,6 Hz giữa 2 proton olefinic cho phép xác định chúng có dạng tương tác *trans*.

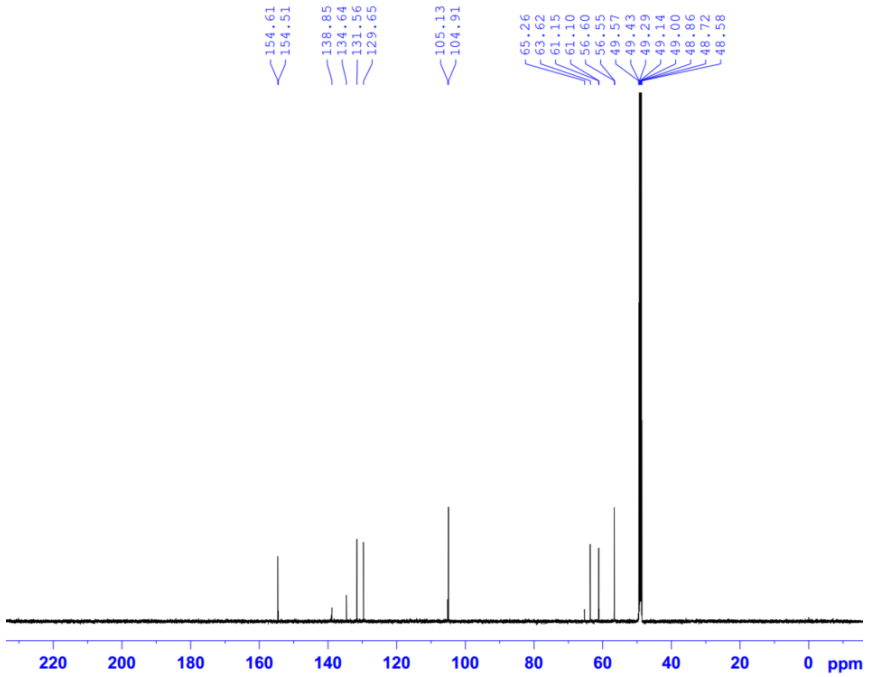
Bảng 3.3. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV08**

C	**Hợp chất CV08**		**Hợp chất *trans*-3,4,5-trimethoxycinnamic alcohol**
	δ_C[a,b]	δ_C[a,b]	δ_C[(d, #)]
1	134,6		132,5
2	105,1	6,73, s	103,8
3	154,6		153,4
4	138,5		138,2
5	154,6		153,4
6	105,1	6,73, s	103,8
7	131,6	6,56 dd, (15,6; 1,2)	131,1
8	129,7	6,32 dt, (15,6; 5,4)	128,1
9	63,6	4,24 dd, (6,0; 1,6)	63,6
3-OCH_3	56,6	3,86, s	56,2
4-OCH_3	61,1	3,77, s	60,9
5-OCH_3	56,6	3,86, s	56,2

[a]Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c]600 MHz, [d] 62,5 MHz, [≠] [27]



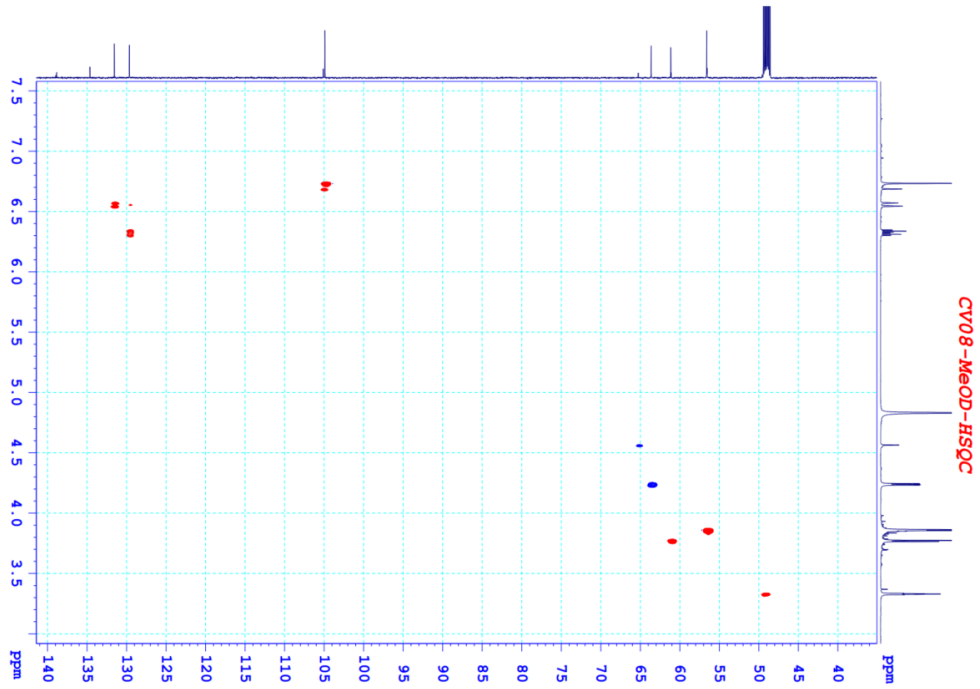
*Hình 3.10. Phổ ^{1}H-NMR giãn rộng của hợp chất **CV08***



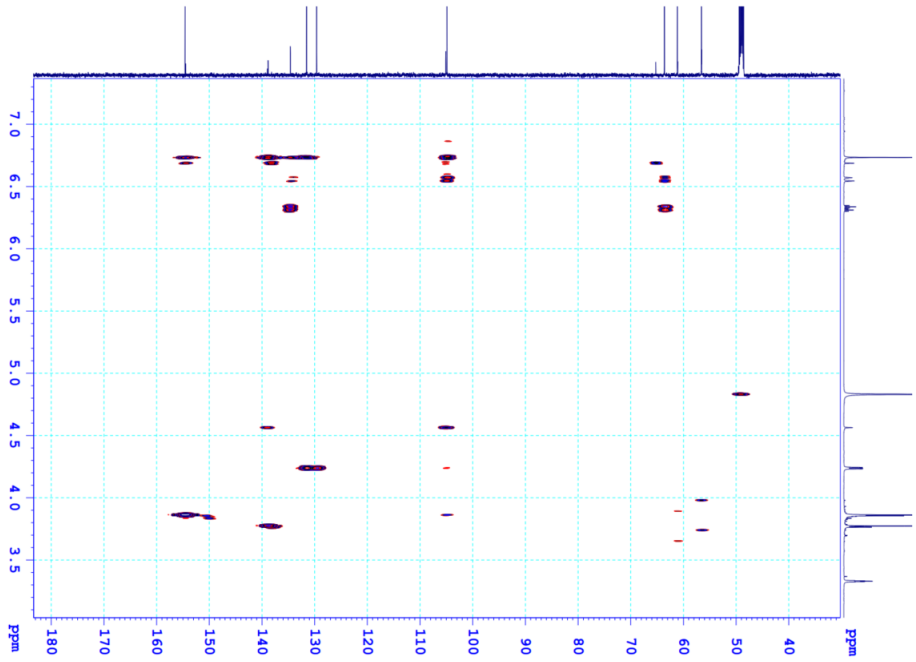
*Hình 3.11. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV08***

Phân tích phổ ^{13}C-NMR và HSQC của **CV08** cho biết sự có mặt của 12 nguyên tử cacbon trong đó 3 nhóm methoxy ở δ_C 56,6 (OCH_3-3 + OCH_3-5); 61,1 (OCH_3-4), 4 nhóm methin sp^2 ở δ_C 105,1 (C-2 + C-6), 129,7 (C-8), 131,6 (C-7), 1 nhóm

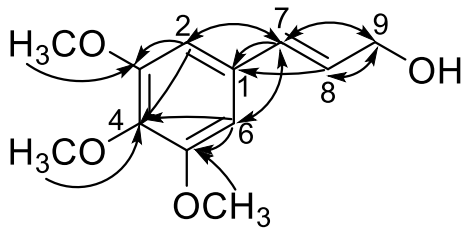
oxymethylen sp^3 ở δ_C 63,6 (C-9) và 4 carbon không liên kết với trực tiếp với hydro ở δ_C 134,6 (C-1), 138,5 (C-4), 154,6 (C-3 và C-5). Dựa vào độ chuyển dịch hóa học của C-9, C-4, C-3, C-5 cho phép xác định các carbon này gắn trực tiếp với oxy.



*Hình 3.12. Phổ HSQC của hợp chất **CV08***



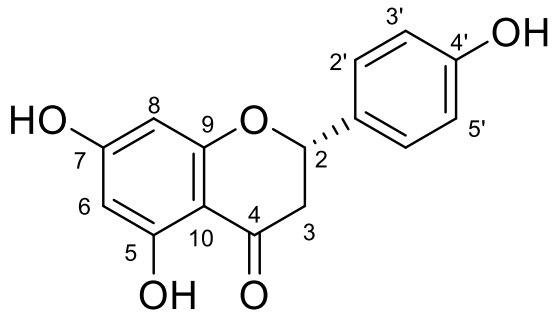
*Hình 3.13. Phổ HMBC của hợp chất **CV08***



*Hình 3.14. Một số tương tác chính trên phổ HMBC của hợp chất **CV08***

Phân tích phổ HMBC của **CV08** cho thấy tương tác giữa proton của 3 nhóm methoxy gắn với C-3, C-4 và C-5 cho phép xác định vị trí 3 nhóm methoxy (Hình 14). Trên phổ HMBC, tương tác giữa H-8 với C-9/C-1, tương tác giữa H-7 với C-9/C-2/C-6/C-1, tương tác giữa proton của nhóm oxymethylen với C-7/C-8, tương tác giữa H-2/H-6 với C-1/C-7 cho phép xác định liên kết từ nhóm oxymethylen C-9 đến nối đôi C-8=C-7 gắn với vòng benzen ở vị trí C-1. Từ các dữ liệu phổ 1D-NMR và 2D-NMR và so sánh với tài liệu tham khảo [27] cho phép xác định hợp chất CV08 là *trans*-3,4,5-trimethoxycinnamic alcohol.

3.2.4. Hợp chất CV04: Naringenin



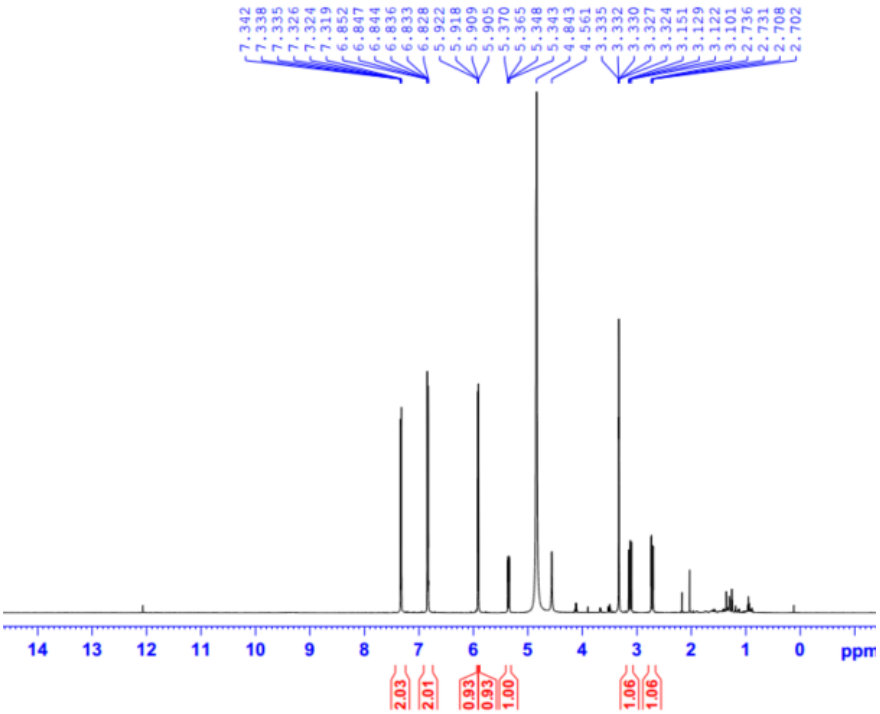
Trên phổ ^{1}H-NMR của **CV04** có tín hiệu của 3 proton dưới dạng double doublet ở δ_H 2,72 (1H, dd, *J* = 3,0; 16,8 Hz, H-3a), 3,12 (1H, dd, *J* =13,2; 16,8; H-3b); 5,35 (1H, dd, *J* = 3,0; 13,2 Hz, H-2) là các tín hiệu đặc trưng cho CH_2-3 và H-2 của một flavanon. Tín hiệu của 2 proton ở vị trí *meta* trong vòng benzen ở δ_H 5,91 (1H, d, *J* = 2,4 Hz, H-6); 5,92 (1H, d, *J* = 2,4 Hz, H-8) và tín hiệu của 4 proton vòng thơm thế *para* ở δ_H 6,84 (1H, d, *J* = 8,4 Hz, H-3', H-5'); 7,33 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, H-2', H-6') cũng được quan sát thấy trên phổ ^{1}H-NMR.

Phân tích phổ ^{13}C-NMR của **CV04** cho biết sự có mặt của 15 nguyên tử carbon trong đó 12 carbon sp^2 và 3 carbon sp^3 tương ứng với 1 nhóm carbonyl ở δ_C 197,8 (C-4), 1 nhóm methylen ở 44,0 (C-3), 1 nhóm oxymethin sp^3 ở δ_C 80,5 (C-2), 6 nhóm methin vòng thơm và 5 carbon không liên kết với trực tiếp với hydro. Độ chuyển dịch hóa học của các carbon ở δ_C 168,4 (C-7); 165,5 (C-5); 164,9 (C-9); 159,0 (C-4') cho phép xác định chúng gắn trực tiếp với oxy. Kết hợp các dữ liệu phổ ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR và đối chiếu với tài liệu tham khảo [28] cho phép xác định hợp chất **6** chính là naringenin.

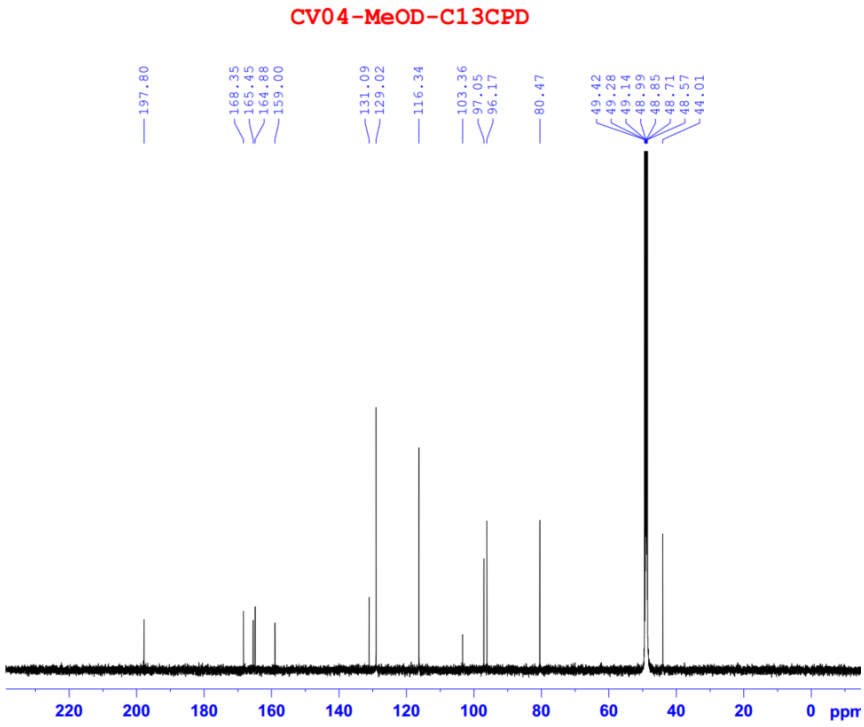
Bảng 3.4. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV04**

C	Hợp chất CV04		Hợp chất Naringenin
	δ_C[a,b]	δ_C[a,b]	δ_C[(d, #)]
2	80,5	5,35 dd, (3,0; 13,2)	79,1
3	44,0	2,72 dd, (3,0; 16,8) 3,12 dd, (13,2; 16,8)	42,6
4	197,8		196,4
5	165,5		164,0
6	97,1	5,91 d, (2,4)	95,7
7	168,4		166,9
8	96,2	5,92 d, (2,4)	94,8
9	164,9		163,5
10	103,4		101,9
1'	131,1		129,7
2'	129,0	7,33 d, (8,4)	127,7
3'	116,3	6,84 d, (8,4)	114,9
4'	159,0		157,6
5'	116,3	6,84 d, (8,4)	114,9
6'	129,0	7,33 d, (8,4)	127,7

[a]Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c]600 MHz, [d] 75 MHz, [≠] [28]

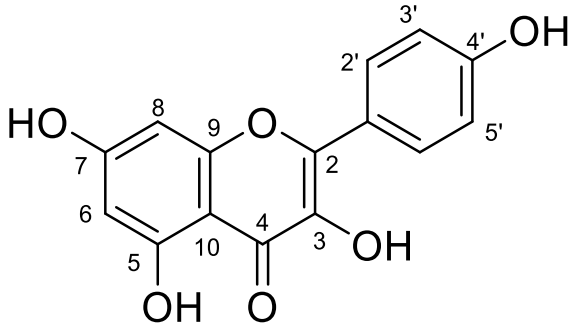


*Hình 3.15. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV04***



*Hình 3.16. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV04***

3.2.5. Hợp chất CV07: Kaempferol



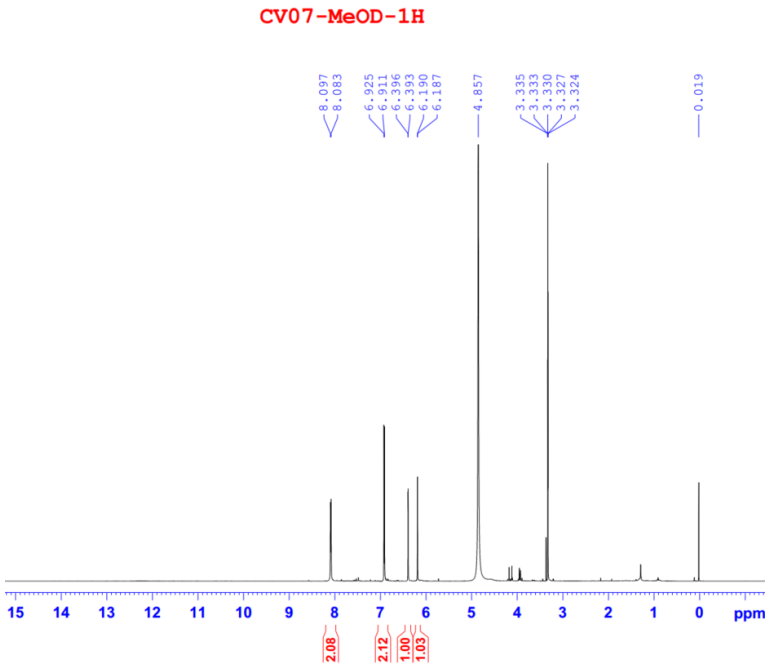
Phổ ^{13}C-NMR của **CV07** cho tín hiệu của 15 nguyên tử carbon trong đó có 1 nhóm carbonyl ở δ_C 177,3 (C-4), 6 nhóm methin vòng thơm ở 130,7 (C-2', C-6'); 116,3 (C-3', C-5'); 99,3 (C-6); 94,5 (C-8) và 8 carbon không liên kết với trực tiếp với hydro. Độ chuyển dịch hóa học của các carbon ở δ_C 165,7 (C-7); 162,5 (C-5); 160,5 (C-4'); 158,3 (C-9); 148,0 (C-2), 137,1 (C-3) cho thấy chúng gắn trực tiếp với oxy. Phổ ^{1}H-NMR của **CV07** đặc trưng cho 1 hợp chất flavonoid với tín hiệu của 2 doublet kép với cường độ cho mỗi tín hiệu là 2H ở δ_H 8,09 (2H, d, J = 8,4 Hz, H-2', H-6'); 6,92 (1H, d, J = 8,4 Hz, H-3', H-5') và 2 proton ở vị trí *meta* ở δ_H 6,42 (1H, d, J= 2,0 Hz, H-8); 6,21 (1H, d, J= 2,0 Hz, H-6).

Bảng 3.5. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV07**

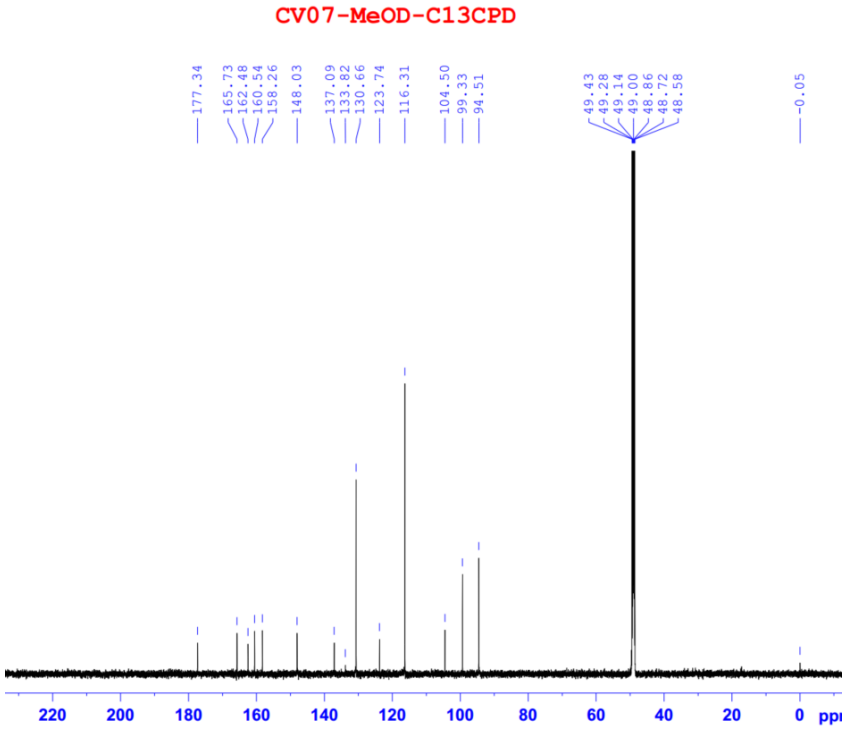
C	Hợp chất CV04		Hợp chất Kaempferol
	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_C^{(d,\#)}$
2	148,0		148,1
3	137,1		137,1
4	177,3		177,3
5	162,5		162,4
6	99,3	6,21 d, (2,0)	99,3
7	165,7		165,5
8	94,5	6,42 d, (2,0)	94,5
9	158,3		158,2
10	104,6		104,5
1'	123,7		123,7
2'	130,7	8,09 d, (8,4)	130,7
3'	116,3	6,92 d, (8,4)	116,3
4'	160,5		160,5

5’	116,3	6,92 d, (8,4)	116,3
6’	130,7	8,09 d, (8,4)	130,7

[a]Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c]600 MHz, [d] 125 MHz, [≠] [29]



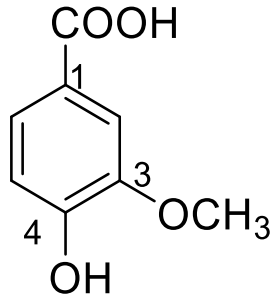
*Hình 3.17. Phổ [1]H-NMR của hợp chất **CV07***



*Hình 3.18. Phổ [13]C-NMR của hợp chất **CV07***

Từ các dữ kiện phổ ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR và đối chiếu với tài liệu tham khảo [29] cho phép xác định chất **CV07** là 1 hợp chất flavonol có tên là kaempferol.

3.2.6. Hợp chất CV10: 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid

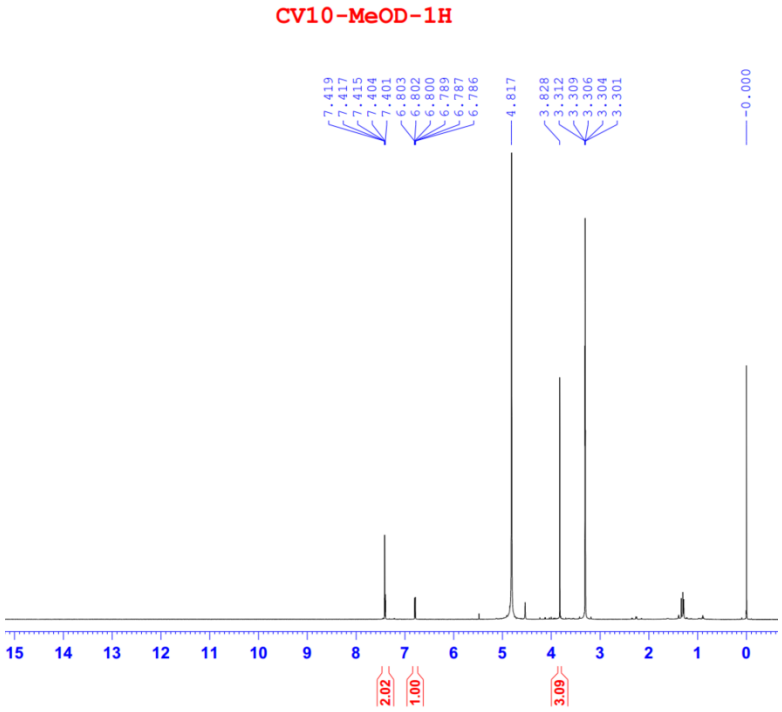


Phổ ^{13}C-NMR của **CV10** cho tín hiệu của 7 nguyên tử carbon trong đó có 1nhóm carbonyl ở δ_C 168,9 (C-7), 1 nhóm methoxy ở δ_C 52,2 (OCH_3), 3 nhóm methin vòng thơm ở δ_C 123,6 (C-6); 117,4 (C-2); 115,9 (C-5) và 3 carbon không liên kết với trực tiếp với hydro ở 151,7 (C-4); 146,2 (C-3); 122,6 (C-1). Độ chuyển dịch hóa học của các carbon ở δ_C 151,7 (C-4), 146,2 (C-3) cho phép xác định chúng gắn trực tiếp với oxy. Phổ ^{1}H-NMR của **CV10** cho tín hiệu của 3 proton vòng thơm tương tác kiểu ABX ở δ_H 7,42 (1H, d, J = 1,8 Hz, H-2); 7,41 (1H, dd, J = 1,8; 8,4 Hz, H-6); 6,80 (1H, d, J= 8,4 Hz, H-5) và 1 nhóm methoxy ở 3,83 (3H, s, OCH_3). Từ các dữ kiện phổ đối chiếu tài liệu tham khảo [30] cho phép xác định chất **CV10** là 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid.

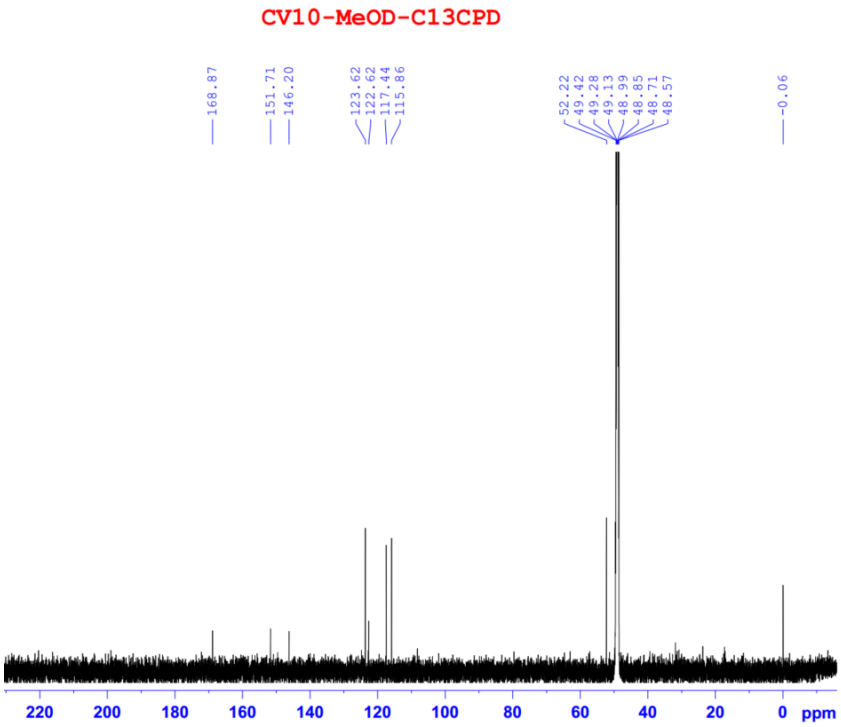
Bảng 3.6. Dữ liệu phổ NMR của hợp chất **CV10**

C	Hợp chất CV10		Hợp chất 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid
	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_C^{a,b}$	$\delta_C^{(d,\#)}$
1	122,6		124,1
2	117,4	7,42 d, (1,8)	116,7
3	146,2		147,6
4	151,7		151,5
5	115,9	6,80 d, (8,4)	114,7
6	123,6	7,41 dd, (1,8; 8,4)	123,0
7	168,9		168,0
3-OCH_3	52,2	3,83, s	55,4

[a]Đo trong CD_3OD, [b]150 MHz, [c]600 MHz, [d] 125 MHz, [≠] [30]

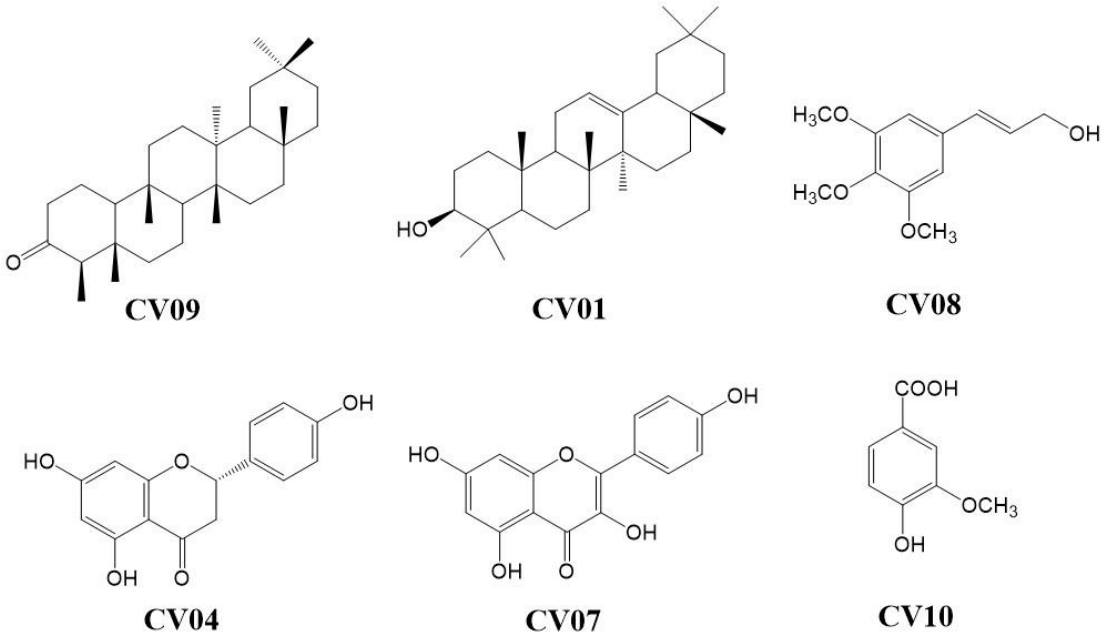


*Hình 3.19. Phổ [1]H-NMR của hợp chất **CV10***



*Hình 3.20. Phổ [13]C-NMR của hợp chất **CV10***

Từ loài *Camellia drupifera,* đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 6 hợp chất (Hình 3.21), cấu trúc của các hợp chất được xác định là: friedelin (**CV09**), *β*-amyrine (**CV01**), Trans-3,4,5-Trimethoxycinnamic alcohol (**CV08),** naringenin (**CV04**), kaempferol (**CV07**), 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid (**CV10**). Các hợp chất phân lập được là triterpenoid, flavonoid và hợp chất phenolic có tương thích với các lớp chất đã được phân lập từ chi *Camellia.*



Hình 3.21. Các chất phân lập được phân lập và xác định cấu trúc từ loài C. drupifera

3.3. *Đánh giá hoạt tính kháng viêm các cặn chiết và các hợp chất trên tế bào RAW 264.7*

NO (nitric oxit) là một chất truyền tin và hiệu ứng sinh lý quan trọng phân tử trong nhiều hệ thống sinh học, bao gồm hệ thống miễn dịch, tế bào thần kinh và mô tim mạch [31], [32]. Do sự tham gia của nó vào các hệ thống đa dạng này, nên việc xác định NO trong các mô và dịch nội bào được quan tâm mạnh mẽ. Một phương pháp để khảo sát sự hình thành NO là đo hàm lượng nitrit ($NO2^-$), là một trong hai sản phẩm chính, ổn định và không bay hơi của NO. Thử nghiệm này đã được mô tả ban đầu bởi tác giả Griess năm 1879 [33]. Nguyên lý thuốc thử Griess dựa trên phản ứng diazo hóa, trong đó sử dụng hợp chất sulfanilamide và N-1-napthylethylenediamine dihydrochloride (NED) trong điều kiện axit (axit photphoric). Thuốc thử này phát hiện $NO2^-$ trong nhiều loại dịch lỏng sinh học như

huyết tương, huyết thanh, nước tiểu và môi trường nuôi cấy mô/tế bào. Giới hạn phát hiện $NO2^-$ là 2,5 µM (125 pmol).

Sự hiện diện của NO được ghi nhận tại đa dạng các mô và tế bào như tế bào gan, nguyên bào sợi hay đại thực bào, đồng thời nồng độ của hợp chất này thường tỷ lệ thuận với mức độ đáp ứng viêm của cơ thể. Để phục vụ mục đích kiểm tra và đánh giá tính kháng viêm của các hoạt chất, LPS thường được sử dụng như tác nhân ngoại lai nhằm thúc đẩy sự phóng thích các cytokine. Là một thành phần quan trọng của màng ngoài vi khuẩn Gram âm, LPS tương tác trực tiếp với hệ thống thụ thể Toll-like (TLR) khu trú trên màng tế bào đại thực bào, từ đó thúc đẩy quá trình tổng hợp các cytokine gây viêm, trong đó IL-1β là một chỉ dấu điển hình. Trong quy trình khảo sát hoạt tính sinh học, dòng tế bào đại thực bào chuột RAW 264.7 sẽ được kích thích bởi LPS, khiến tế bào trải qua các biến đổi sinh hóa nội bào và giải phóng NO ra môi trường. Do đó, thước đo quan trọng để xác định năng lực kháng viêm của một hợp chất chính là khả năng can thiệp và làm suy giảm hàm lượng NO được tạo ra trong điều kiện thực nghiệm này [34].

Bảng 3.7. Tác dụng ức chế sản sinh NO của các mẫu nghiên cứu loài *C.drupifera*

STT	Tên mẫu	Nồng độ thử (µg/ml)	% tế bào sống sót	% ức chế sản sinh NO	Giá trị IC_{50} (µg/ml)
1	Cao tổng MeOH	256	10	-	>256
		64	14	-	
		16	80	6	
		4	98	0	
2	Cao *n*-hexan	256	6	-	>256
		64	75	-	
		16	99	36	
		4	100	29	
3	Cao EtOAc	256	19	-	13,26±0,77
		64	25	-	
		16	85	58	
		4	91	23	
4	Cao nước	256	6	-	Độc tế bào
		64	10	-	
		16	40	-	
		4	75	-	

STT	Tên mẫu	Nồng độ thử (µg/ml)	% tế bào sống sót	% ức chế sản sinh NO	Giá trị IC_{50} (µg/ml)
5	CV1: *β*-amyrine	256	100	47	>256
		64	100	30	
		16	100	28	
		4	100	20	
6	CV9: Friedelin	256	100	40	>256
		64	100	37	
		16	100	31	
		4	100	30	
7	CV4: Naringenin	256	12	-	28,86±1,52
		64	100	91	
		16	100	35	
		4	100	27	
8	CV7: Kaempferol	256	100	98	2,8±0,5
		64	100	97	
		16	100	74	
		4	100	60	
		1	100	35	
9	CV8: Trans-3,4,5-Trimethoxycinnamic alcohol	256	11	-	12,87±0,62
		64	100	97	
		16	100	56	
		4	100	33	
10	CV10: 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid	256	100	92	28,00±2,09
		64	100	68	
		16	100	44	
		4	100	40	
Chất tham chiếu	L-NMMA	256	87	86	4,6±0,5
		64	95	75	
		16	98	69	
		4	100	49	

Kết quả Bảng 3.7 cho thấy, trong 4 mẫu cao chiết được thử nghiệm, cao chiết EtOAc loài *C. drupifera* có hoạt tính ức chế sản sinh NO trên dòng tế bào Raw 264.7 mạnh nhất với giá trị IC_{50} là 13,26±0,77 µg/ml, tuy nhiên ở các nồng độ > 64 µg/ml cao chiết này gây độc lên tế bào với khả năng sóng sót < 80%. Cao chiết nước cũng gây độc với Raw 264.7 ở dãy nồng độ nghiên cứu. Cao chiết tổng và cao chiết *n*-hexan không thể hiện tác dụng ở nồng độ <256 µg/ml.

Trong số 6 hợp chất sạch phân lập từ cặn EtOAc, hợp chất CV7 là kaempferol thể hiện khả năng kháng viêm tốt nhất với giá trị IC_{50} là 2,8±0,5 µg/ml, mạnh hơn cả chất đối chứng L-NMMA có giá trị IC_{50} là 4,08±0,5 µg/ml. Nghiên cứu mới nhất của tác giả Zhu và cộng sự đã chỉ ra rằng 50 µM hợp chất kaempferol phân lập từ loài *C. vietnamensis* (*C. drupifera*) thu hái tại Trung Quốc có tác dụng mạnh trong việc ngăn ngừa tổn thương tăng trưởng tế bào, điều hòa cytokine gây viêm và giảm stress oxy hóa nội bào bằng cách ức chế con đường NF-κB/MAPK. Nghiên cứu đã làm sáng tỏ tác dụng kháng viêm của các hoạt chất và có thể sử dụng nó trong chế độ ăn uống để kiểm soát bệnh viêm đại tràng [35]. Trong một công bố khác, tác giả Gou và cộng sự cũng đã công bố các hợp chất kaempferol, trans-cinnamic và axit protocatechuic trong *C. vietnamensis* (*C. drupifera*) thu hái tại Trung Quốc đóng vai trò quan trọng trong tác dụng chống viêm của loài thực vật này [36]. Nhiều báo cáo cho rằng kaempferol có tác dụng chống viêm đáng kể thông qua các cơ chế khác nhau trên mô hình invitro và invivo. Các nghiên cứu *in vitro* đã chỉ ra rằng kaempferol có tác dụng ức chế đáng kể COX1 và COX2. Con đường cyclooxygenase được kích hoạt khi xảy ra chấn thương vật lý, hóa học hoặc cơ học tại bất kỳ vị trí nào của cơ thể. Màng phospholipid bị vỡ, và axit arachidonic được sản xuất, sau đó được chuyển đổi thành các chất tương tự prostaglandin thông qua các enzyme cyclooxygenase, gây viêm. Do đó, kaempferol ức chế các enzyme cyclooxygenase và ngăn ngừa quá trình viêm. Các nhà nghiên cứu khác nhau đã báo cáo rằng kaempferol chịu trách nhiệm ức chế tổng hợp oxit nitric được tạo ra bởi việc cung cấp LPS cho các tế bào J77 và tế bào RAW264.7 và dẫn đến việc giảm viêm. Người ta cũng chứng minh rằng nồng độ TNF-α, NO và IL-1B đã giảm nhờ điều trị bằng kaempferol ở bệnh nhân bệnh thần kinh đái tháo đường [37].

Ngoài ra, hoạt chất CV8 (trans-3,4,5-trimethoxycinnamic alcohol) cũng thể hiện tác dụng kháng viêm mạnh với giá trị IC_{50} là 12,87±0,62 µg/ml. Hai chất CV10 (4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid) và CV4 (naringenin) có tác dụng tương đối tốt với giá trị IC_{50} lần lượt là 28,00±2,09 µg/ml và 28,86±1,52 µg/ml. Hai hợp chất khung triterpen là CV1 (β-amyrine) và CV9 (friedelin) không thể hiện hoạt tính ở nồng độ nghiên cứu với giá trị IC_{50} >256 µg/ml.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Từ cặn chiết ethyl acetate của loài *C.drupifera* đã tiến hành phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 06 hợp chất bằng các phương pháp sắc ký kết hợp với các kỹ thuật phổ hiện đại. Các hợp chất được xác định bao gồm: *β*-amyrine (**CV01**), naringenin (**CV04**), kaempferol (**CV07**), friedelin (**CV09**), trans-3,4,5-trimethoxycinnamic alcohol (**CV08**), và 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid (**CV10**).

Kết quả đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh NO trên mô hình tế bào RAW 264.7 kích thích bởi LPS cho thấy: trong các cao chiết, cao ethyl acetate thể hiện khả năng ức chế sản sinh NO mạnh nhất với giá trị IC_{50} là 13,26 ± 0,77 µg/mL, tuy nhiên có biểu hiện gây độc tế bào ở nồng độ ≥ 64 µg/mL. Cao chiết nước cũng thể hiện độc tính trên tế bào này trong khoảng nồng độ khảo sát, trong khi cao tổng và cao *n*-hexan không biểu hiện hoạt tính (IC_{50} > 256 µg/mL).

Đối với các hợp chất tinh khiết, kaempferol (**CV07**) thể hiện hoạt tính kháng viêm mạnh nhất với IC50 = 2,8 ± 0,5 µg/mL, cao hơn chất đối chứng L-NMMA (IC50 = 4,08 ± 0,5 µg/mL). Hợp chất trans-3,4,5-trimethoxycinnamic alcohol (**CV08**) cũng thể hiện hoạt tính đáng chú ý (IC50 = 12,87 ± 0,62 µg/mL). Hai hợp chất naringenin (**CV04**) và 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid (**CV10**) có hoạt tính trung bình với IC50 lần lượt là 28,86 ± 1,52 µg/mL và 28,00 ± 2,09 µg/mL. Ngược lại, hai hợp chất triterpen là *β*-amyrine (**CV01**) và friedelin (**CV09**) không thể hiện hoạt tính ức chế NO trong phạm vi nồng độ nghiên cứu (IC50 > 256 µg/mL).

KIẾN NGHỊ

Những kết quả này chứng minh các hợp chất flavonoid và phenolic đóng vai trò chính trong hoạt tính kháng viêm của loài *C. drupifera*, đặc biệt là kaempferol. Cần tiếp tục nghiên cứu cơ chế kháng viêm của các hợp chất có hoạt tính mạnh, đặc biệt là kaempferol, đồng thời đánh giá trên mô hình *in vivo* để xác nhận hiệu quả và độ an toàn. Bên cạnh đó, nên mở rộng phân lập các hợp chất khác và nghiên cứu mối liên hệ cấu trúc – hoạt tính nhằm định hướng phát triển ứng dụng trong dược phẩm hoặc thực phẩm chức năng.

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ninh HNL., 2017, *Nghiên cứu phân loại chi Camellia L. thuộc họ Chè – Theaceae ở Việt Nam*, Luận án Tiến sĩ, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, Hà Nội.
2. Ming TL., 2000, *A Revision of the Genus Camellia*, Yunnan Science and Technology Press, Kunming, China.
3. Chase MW., et al., 2016, An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), pp. 1-20.
4. Gao J., Clifford CR., Martens T., 2005, *Chinese Camellia*, China Forestry Publishing House, Beijing, China.
5. He DP., Zhang YJ., Yang CR., Zhang YJ., 2011, Chemical constituents of plants from the genus Camellia, *Chemistry & Biodiversity*, 8(12), pp. 2131-2242.
6. Chen L., Zhou YM., Xu YX., 2005, Comparison of the content of free amino acids in different tea types, *Journal of Tea Science*, 25(2), pp. 119-125.
7. Okuda T., Hatano T., Yazaki K., 1989, Anti-oxidative effects of tannins and related polyphenols, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(8), pp. 2015-2021.
8. Leopoldini M., Russo N., Toscano M., 2004, The antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism, *Food Chemistry*, 84(4), pp. 203-210.
9. Khan N., Afaq F., Saleem M., Ahmad N., Mukhtar H., 2006, Targeting multiple signaling pathways by green tea polyphenol (−)-epigallocatechin-3-gallate, *Cancer Research*, 66(6), pp. 2500-2505.
10. Cheng CY., et al., 2010, Epigallocatechin gallate inhibits the expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in human oral cancer cells through blocking the IFN-γ-induced JAK–PKC-δ–STAT1 signaling pathway, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), pp. 230-237.

11. Shi SJ., et al., 2010, Growth inhibitory effect of the extract from Camellia taliensis on human cancer cells and its mechanism, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 8(1), pp. 48-54.
12. Roy P., et al., 2003, Tea polyphenols inhibit the mammary tumor growth in rats and induce apoptosis in breast cancer cell lines, *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 22(2), pp. 105-118.
13. Ciesek S., et al., 2011, The green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG) inhibits hepatitis C virus entry, *Hepatology*, 54(6), pp. 1947-1955.
14. Friedman M., et al., 2006, Antimicrobial activities of tea catechins and theaflavins and tea extracts against Bacillus cereus, *Journal of Food Protection*, 69(2), pp. 354-361.
15. Nguyễn Thị Cúc, Nguyễn Xuân Nhiệm, Bùi Hữu Tài, Đoàn Thị Mai Hương, Phạm Hải Yến, Nguyễn Hữu Tùng, Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Văn Thanh, Phan Văn Kiệm, 2016, Acylated flavonol glycosides from the leaves of Camellia sinensis and their α-glucosidase inhibitory activity, *Natural Product Communications*, 11(4), tr. 473-476.
16. Nguyễn Xuân Nhiệm, Bùi Hữu Tài, Nguyễn Thị Cúc, Phạm Hải Yến, Đoàn Thị Mai Hương, Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Văn Thanh, Phan Văn Kiệm, 2019, Dihydrostilbene Glycosides from the Leaves of Camellia sinensis var. assamica and Their Cytotoxic Activity, *Natural Product Communications*, 14(5), tr. 1-5.
17. Nguyễn Xuân Nhiệm, Bùi Hữu Tài, Nguyễn Thị Cúc, Phạm Hải Yến, Đoàn Thị Mai Hương, Nguyễn Hữu Tùng, Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Văn Thanh, Phan Văn Kiệm, 2021, Sasastilbosides A–C, Three New Dihydrostilbene Glycosides from the Leaves of *Camellia sasanqua* and Their α-Glucosidase and α-Amylase Inhibitory Activities, *Natural Product Communications*, 16(7), tr. 1-6.
18. Nguyễn Thị Hồng Vân, 2016, *Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài Trà hoa vàng (Camellia sp.) thu hái ở Quảng Ninh*, Luận án Tiến sĩ Hóa học, Viện Hợp chất thiên nhiên, Hà Nội.
19. Nguyễn Việt Thân, Lê Ngọc Diệp, Nguyễn Thế Cường, Ninh Khắc Bản, Phan Văn Kiệm, 2018, Thành phần polyphenol, hoạt tính ức chế peroxid

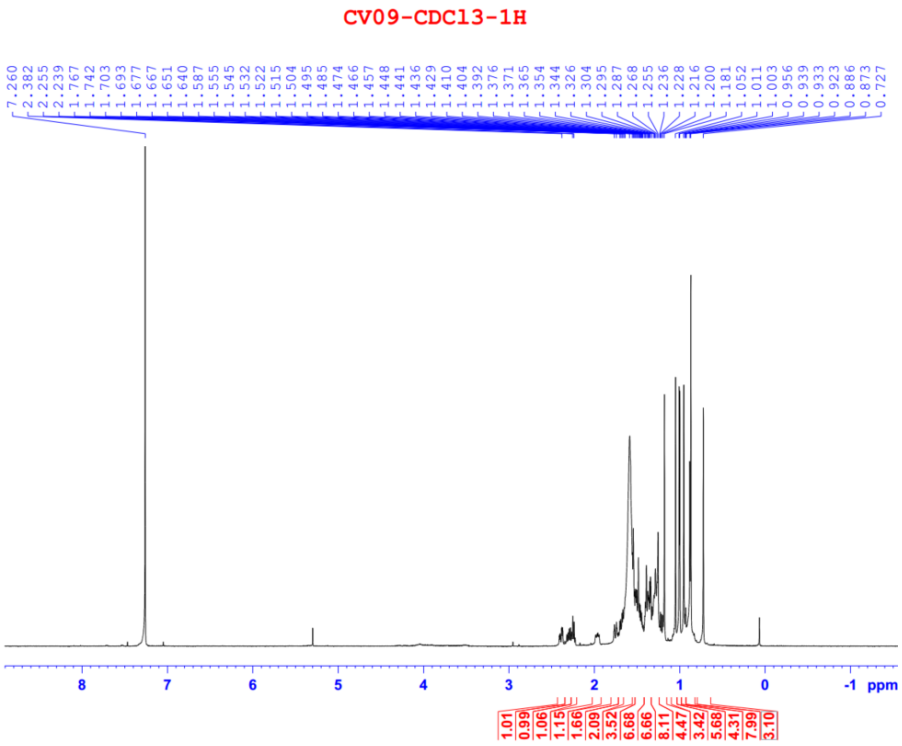
hóa lipid và gây độc tế bào của hai loài *Camellia vuquangensis* và *Camellia hatinhensis* thu hái tại Vườn quốc gia Vũ Quang, tỉnh Hà Tĩnh, *Tạp chí Dược liệu*, 23(3), tr. 157-162.

20. Long S., Wu S., Lin L., Chen J., Wu X., 2018, Comparison of the fatty acids and bioactive components of tea seed oil from different Camellia species, *Journal of Food Quality*, 2018, pp. 5851496.
21. Chen G., Zhang Y., Wang Y., Zhang B., Wu X., 2021, Methyl jasmonate treatment induces the biosynthesis of flavonoids and improves the antioxidant activity in *Camellia drupifera* Lour., *Agronomy*, 11(12), pp. 2382.
22. Feng L., Ma Z., Zhang Y., Wu X., 2021, Protective effect of peptides derived from *Camellia drupifera* Lour. on alcohol-induced liver injury in mice: a metabolomic analysis, *Journal of Food Science and Technology*, 58(12), pp. 4768-4779.
23. Marques RV., Sestito SE., Bourgaud F., Miguel S., Cailotto F., Reboul P., Jouzeau JY., Rahuel-Clermont S., Boschi-Muller S., Simonsen HT., Moulin D., 2022, Anti-Inflammatory Activity of Bryophytes Extracts in LPS-Stimulated RAW264.7 Murine Macrophages, *Molecules*, 27(6), pp. 1940.
24. Nguyễn Hà Thành, Nguyễn Thị Thu Hà, Braire J., Đặng Thị Tuyết Anh, Nguyễn Văn Tuyên, 2023, Microwave-Assisted Multicomponent Synthesis of New 6-Arylated 5-Hydroxy-benzo[a]phenazine Derivatives and Their Potential Anti-inflammatory Activity, *ChemistrySelect*, 8(2), pp. e202204376.
25. Mujawah A., Rauf A., Bawazeer S., Wadood A., Hemeg HA., Bawazee S., 2023, Isolation, Structural Elucidation, In Vitro Anti-α-Glucosidase, Anti-β-Secretase, and In Silico Studies of Bioactive Compound Isolated from Syzygium cumini L., *Processes*, 11(3), pp. 880.
26. Trần Đức Việt, Trần Đăng Xuân, Lã Hoàng Anh, 2021, α-Amyrin and β-Amyrin Isolated from *Celastrus hindsii* Leaves and Their Antioxidant, Anti-Xanthine Oxidase, and Anti-Tyrosinase Potentials, *Molecules*, 26(23), tr. 7248.

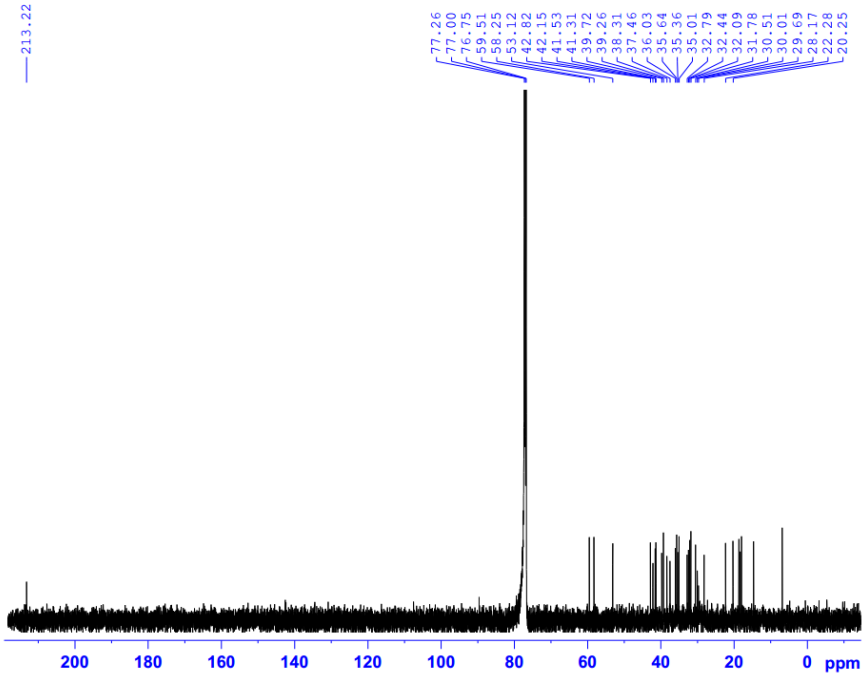
27. Ritonga RAFH., Arifin B., Sugita P., Achmadi SS., Irfana L., 2023, Steglich Esterification of Activated Cinnamyl Cinnamate Derivatives and Computational Studies of Intramolecular Diels-Alder for *Lignan Synthesis*, *Chiang Mai Journal of Science*, 50(6), pp. 1-16.
28. Cordenonsia LM., Sponchiado RM., Campanharoa SC., Garcia CV., Raffin RP., Schapoval EES., 2017, Study of Flavonoids presente in Pomelo (Citrus máxima) by DSC, UV-VIS, IR, 1H AND 13C NMR AND MS, *Drug Analytical Research*, 1(1), pp. 31-37.
29. Nguyễn Công Thùy Trâm, Ninh Thế Sơn, Đỗ Thị Thảo, Nguyễn Mạnh Cường, 2016, Kaempferol and kaempferol glycosides from *Phyllanthus acidus* leaves, *Vietnam Journal of Chemistry*, 54(6), tr. 790-793.
30. Delita N., Elya B., Hanafi M., 2020, Isolation and Identification of Chemical Compounds from *Garcinia fruticosa* Lauterb Stem Bark Extract, *Pharmacognosy Journal*, 12(6), pp. 1641-1652.
31. Bredt DS., Snyder SH., 1994, Nitric oxide: A physiologic messenger molecule, *Annual Review of Biochemistry*, 63, pp. 175-195.
32. Dawson TM., Dawson VL., 1995, Nitric oxide: Actions and pathological roles, *The Neuroscientist*, 1(1), pp. 7-18.
33. Griess P., 1879, Bemerkungen zu der abhandlung der H.H. Weselsky und Benedikt 'Ueber một số azoverbindungen', *Chemische Berichte*, 12(1), pp. 426-428.
34. Promega Corporation, 2009, *Griess Reagent System G2930*, Technical Bulletin, Madison, USA.
35. Zhu Z., et al., 2025, *Camellia vietnamensis* Huang. Oil decreases inflammation and oxidative stress on pre-clinical models of ulcerative colitis, *Food Bioscience*, 63, pp. 105575.
36. Guo Y., et al., 2022, The Effects of Refine Processing on Camellia Oil (Camellia vietnamensis): Phytochemical Composition, Antioxidant Capacity, and Anti-Inflammatory Activity in LPS-Stimulated THP-1 Macrophages, *SSRN*, pp. 4285441.

37. Alam W., Khan H., Shah MA., Cauli O., Saso L., 2020, Kaempferol as a Dietary Anti-Inflammatory Agent: Current Therapeutic Standing, *Molecules*, 25(18), pp. 4073.

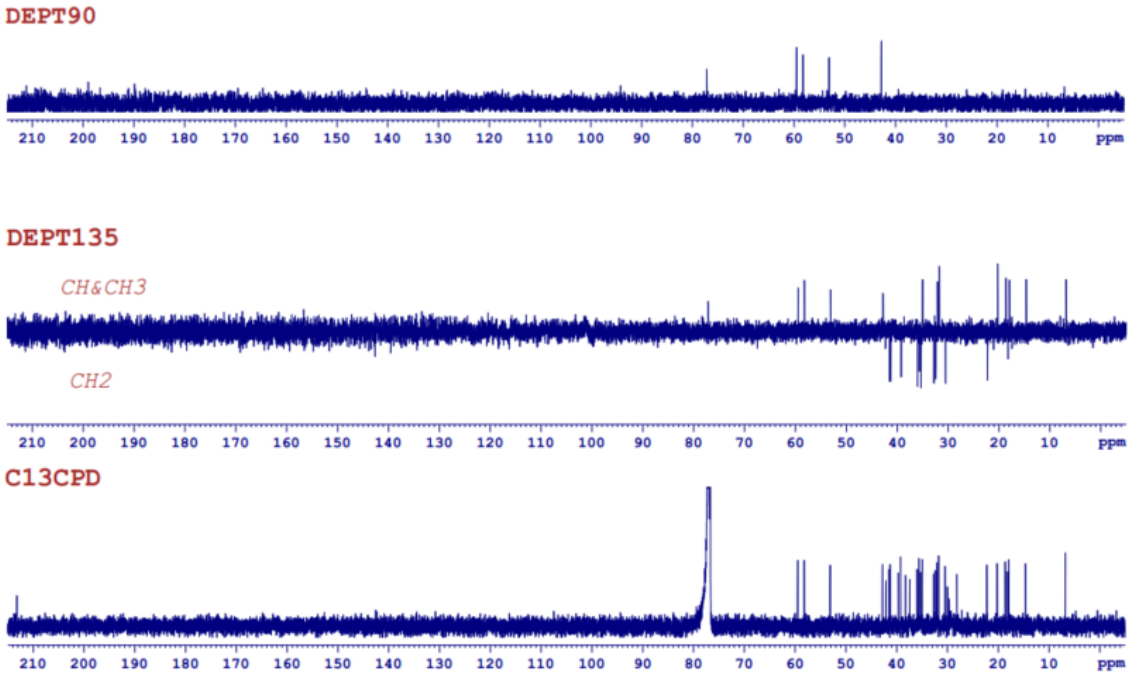
PHỤ LỤC



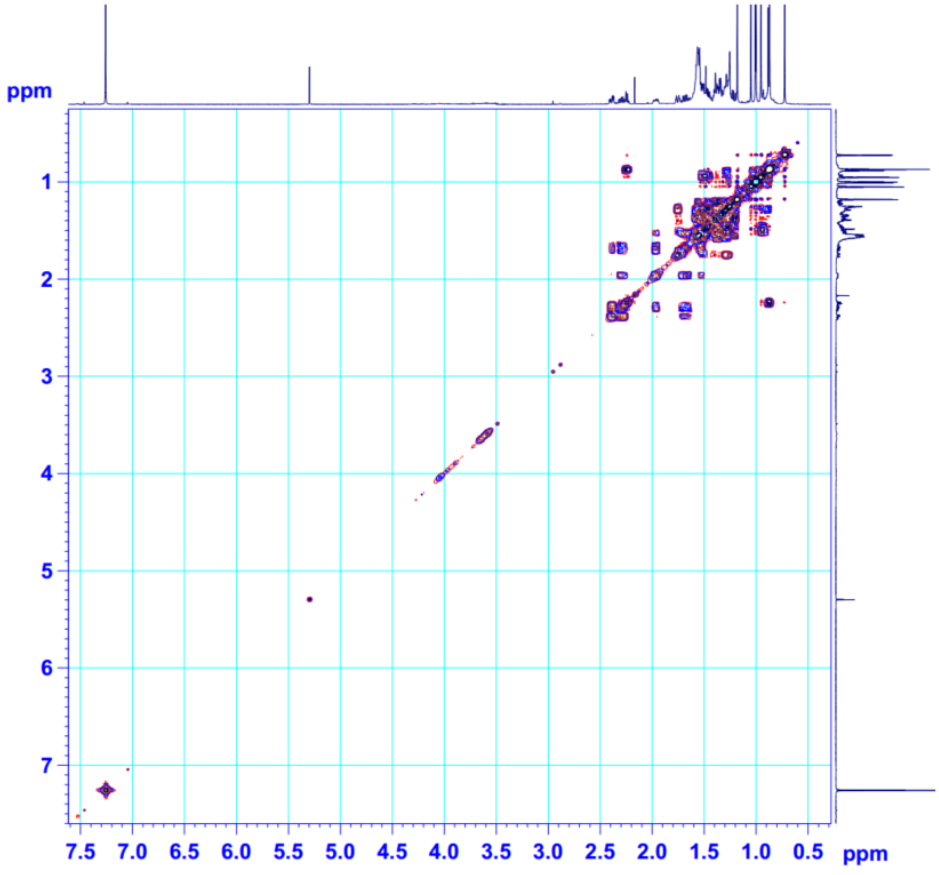
Hình PL1. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV09**



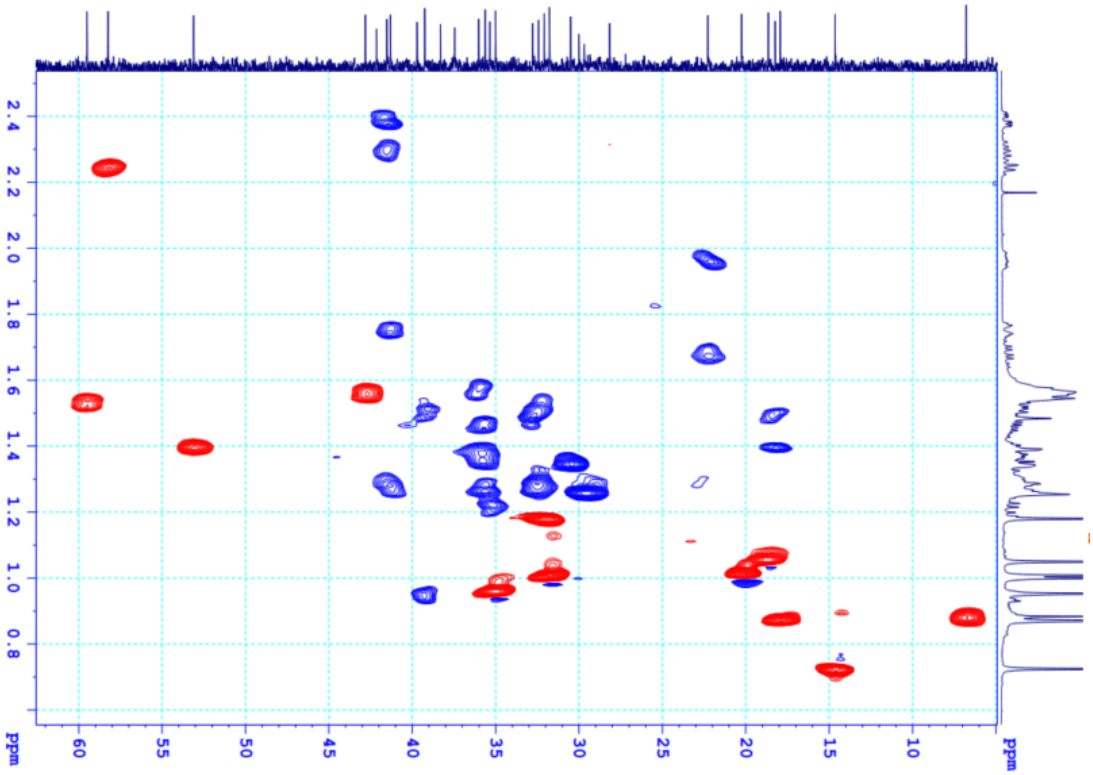
Hình PL2. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV09**



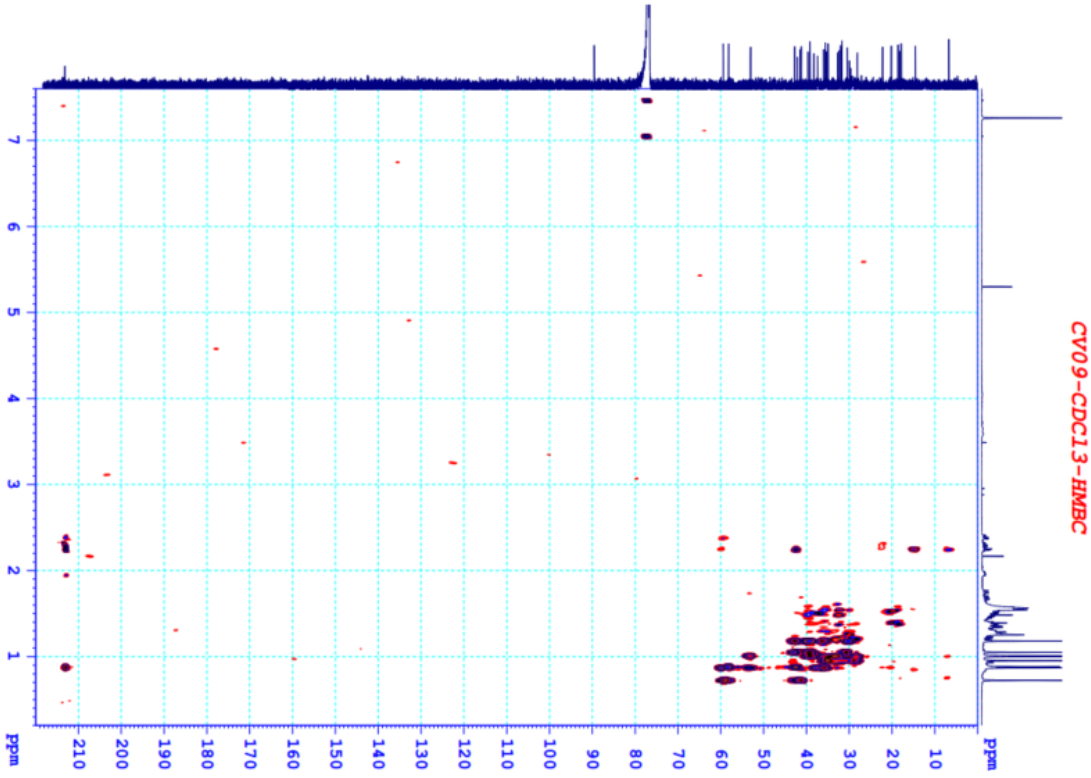
Hình PL3. Phổ DEPT của hợp chất **CV09**



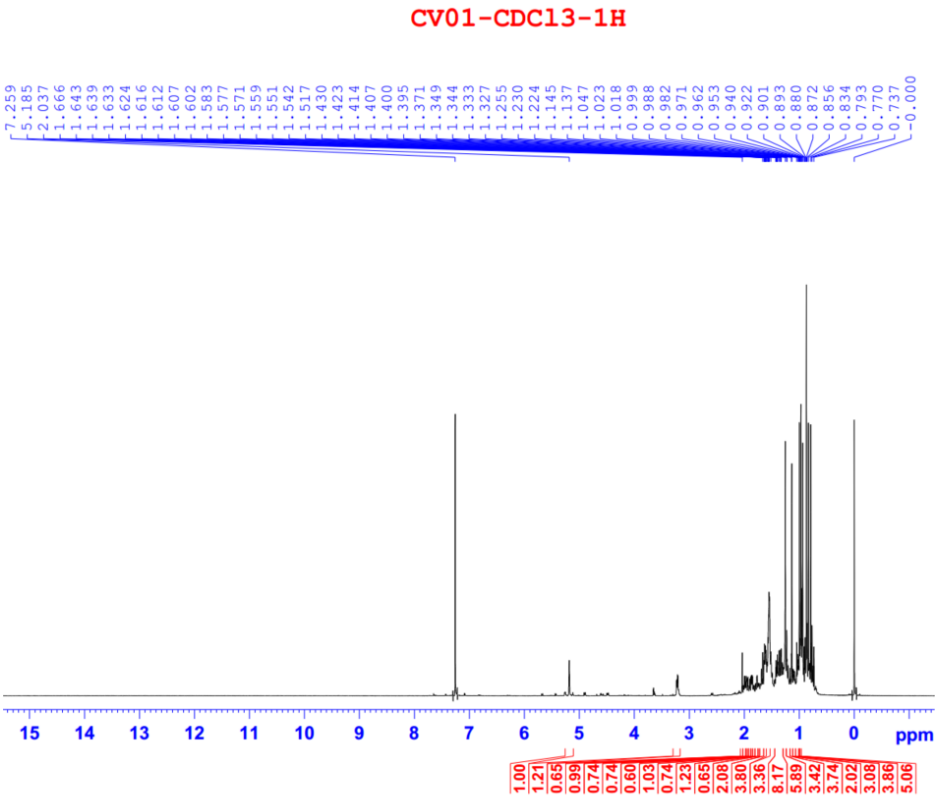
Hình PL4. Phổ COSY của hợp chất **CV09**



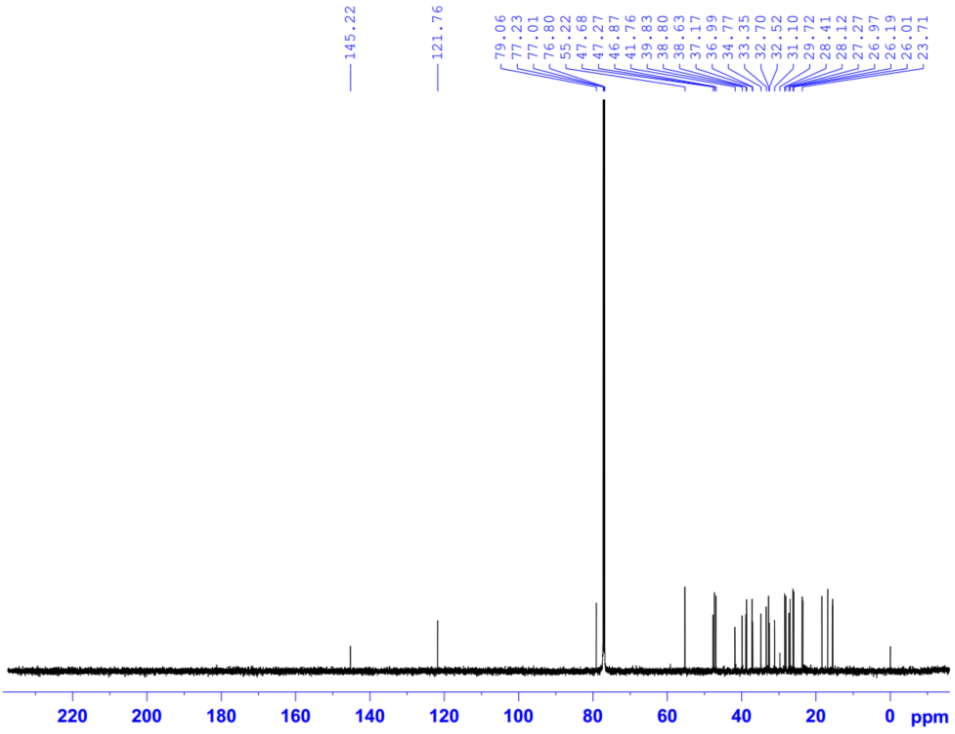
Hình PL5. Phổ HSQC giãn rộng của hợp chất **CV09**



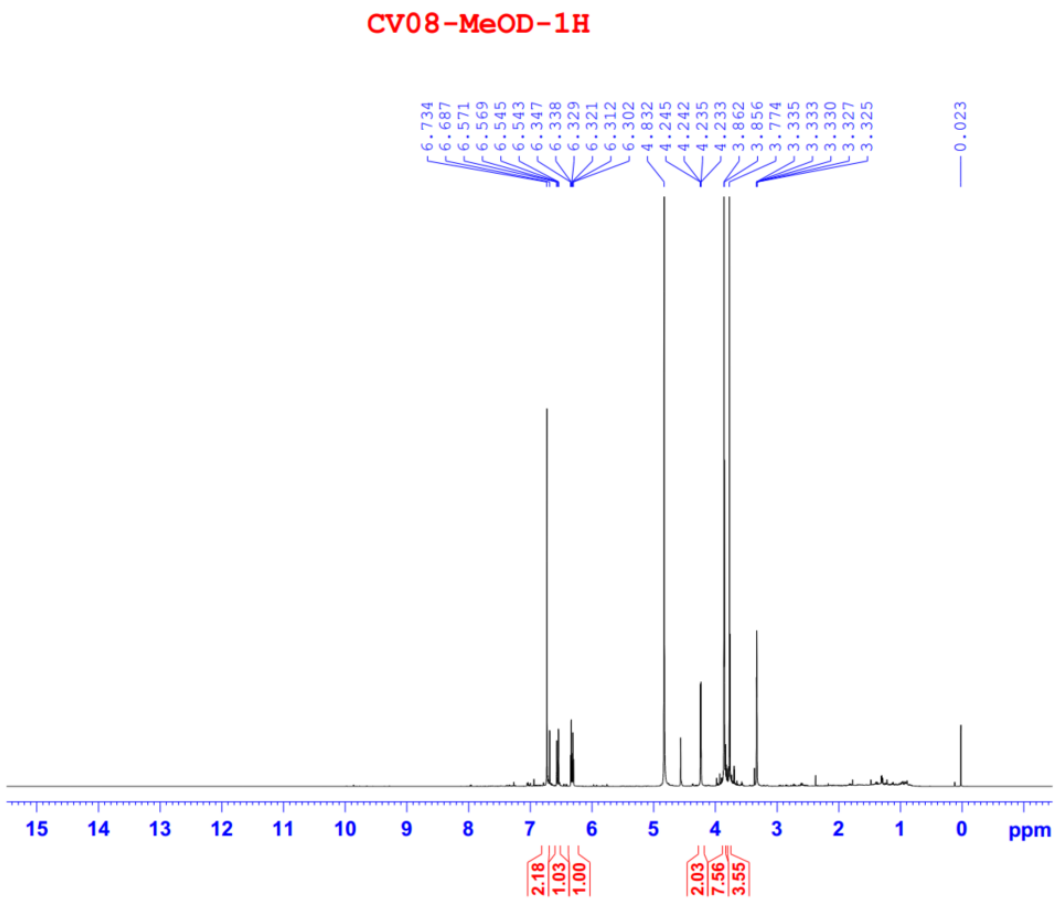
Hình PL6. Phổ HMBC của hợp chất **CV09**



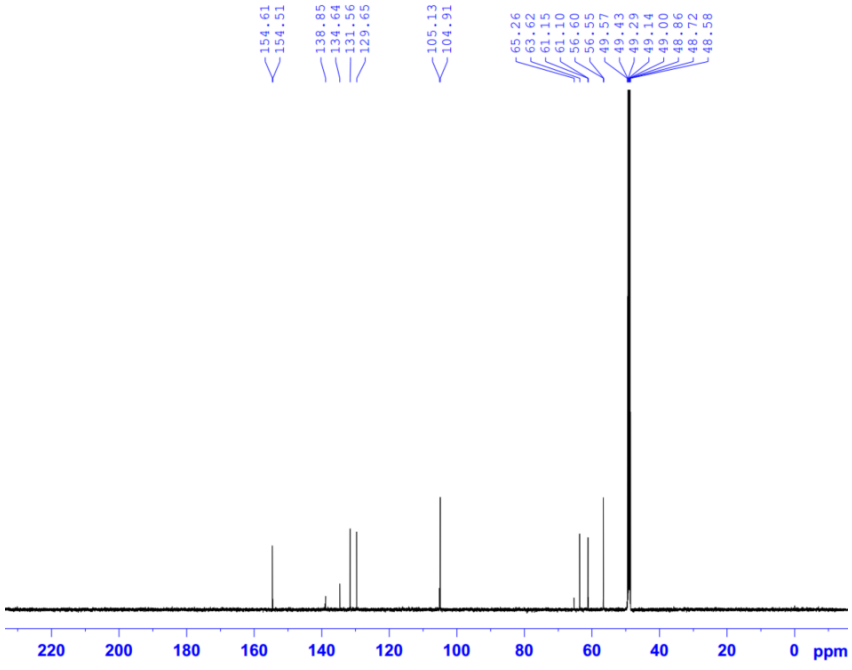
Hình PL7. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV01**



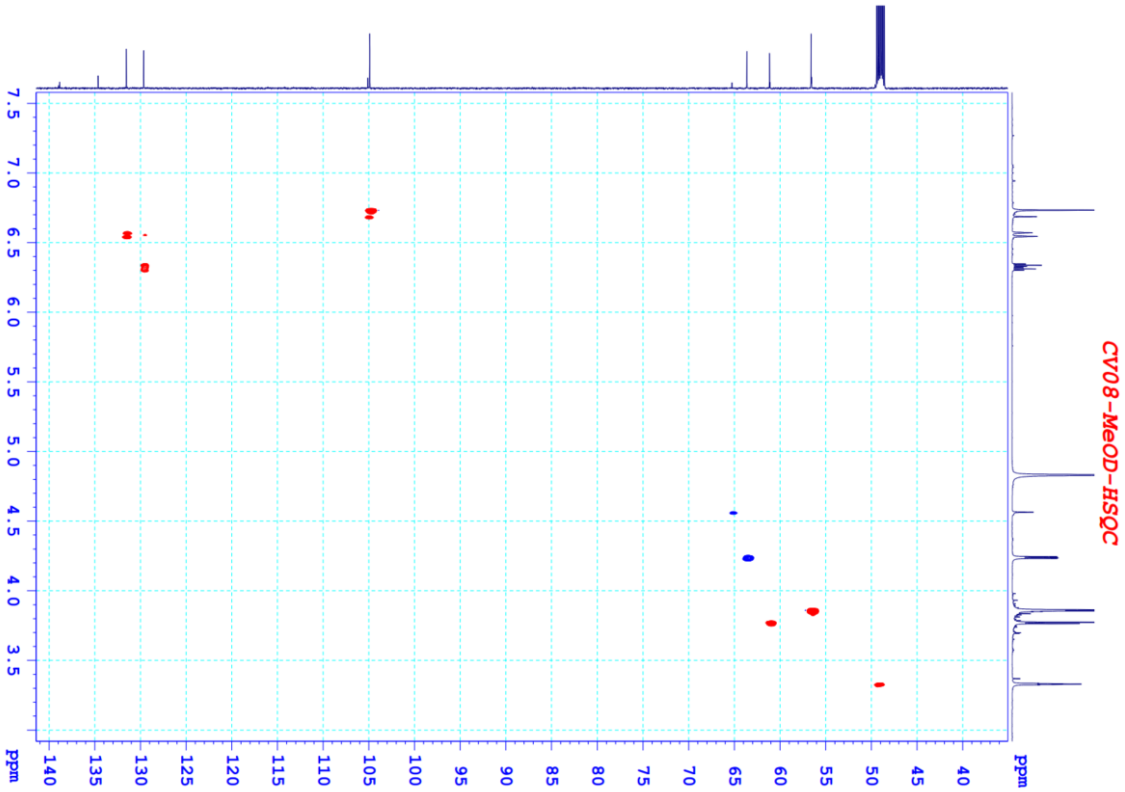
Hình PL8. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV01**



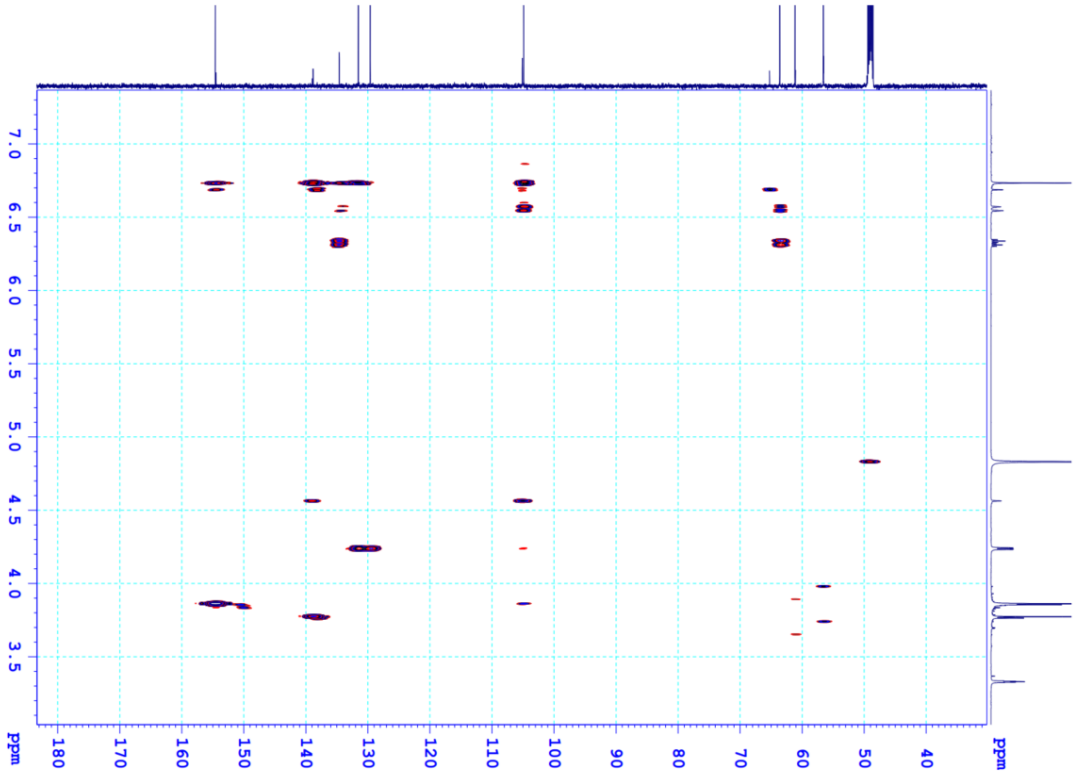
Hình PL9. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất CV08



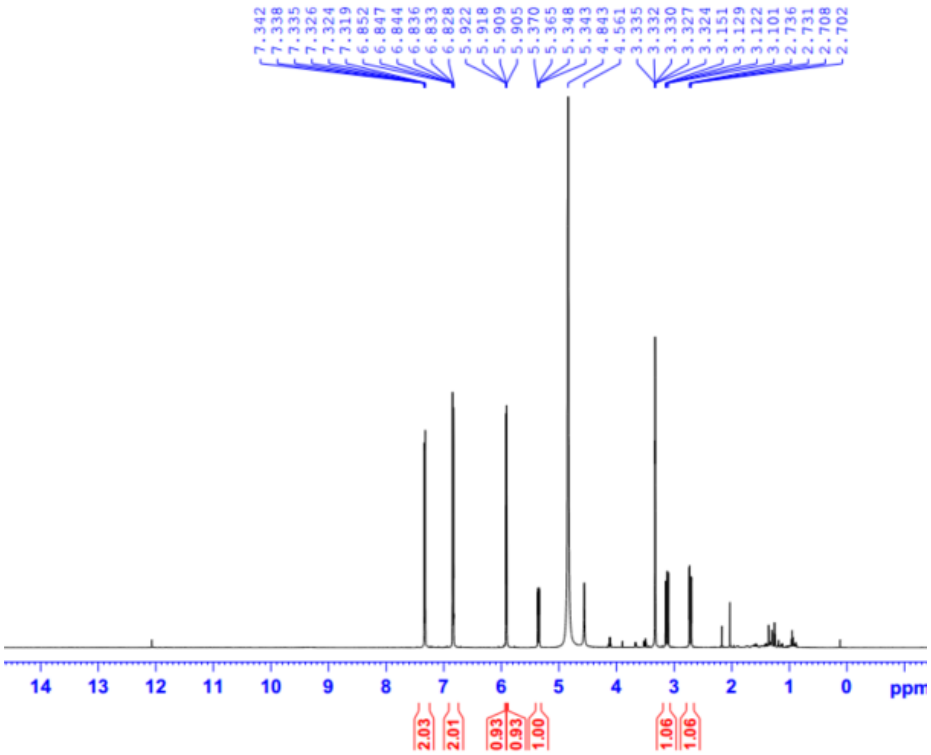
Hình PL10. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV08**



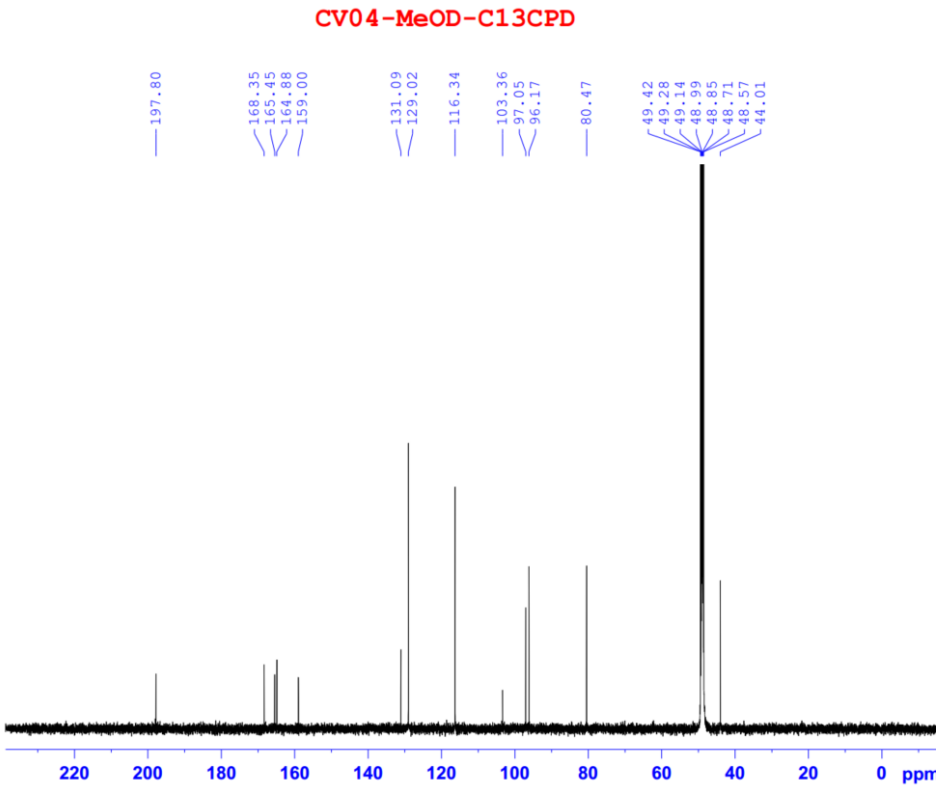
Hình PL11. Phổ HSQC của hợp chất **CV08**



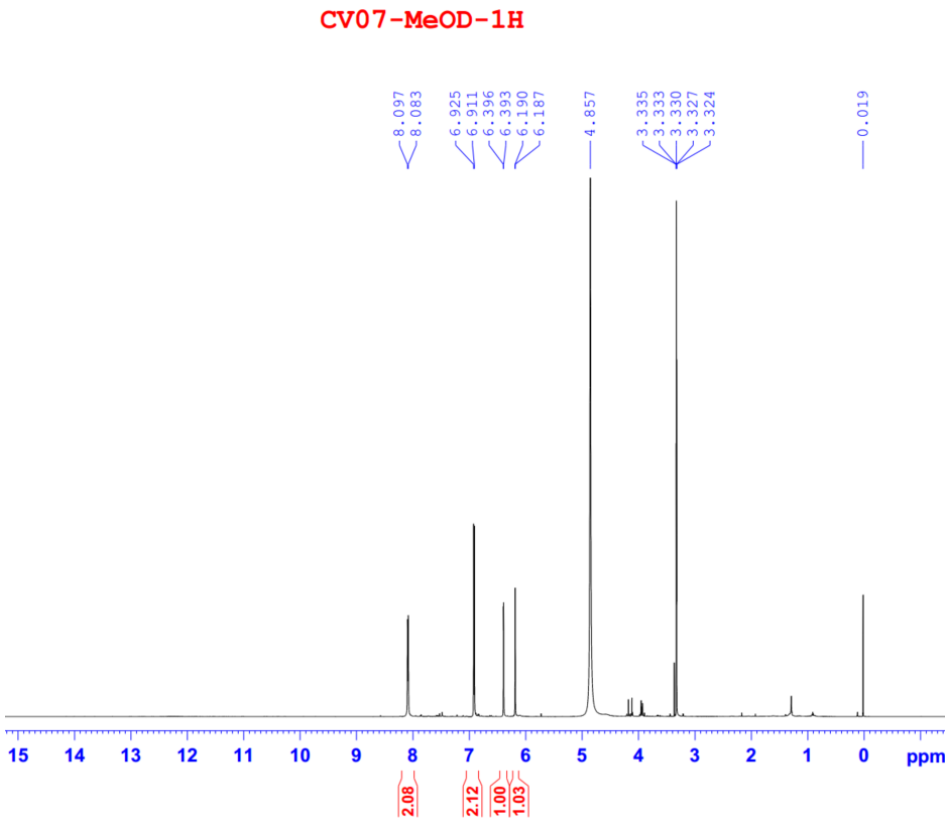
Hình PL12. Phổ HMBC của hợp chất **CV08**



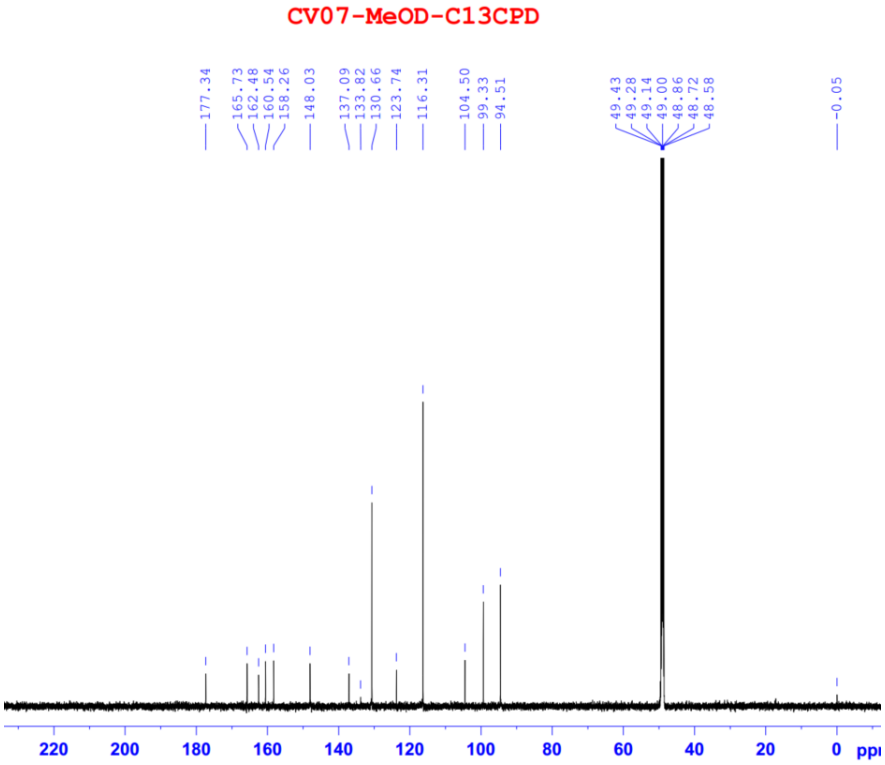
Hình PL13. [1]H-NMR của hợp chất **CV04**



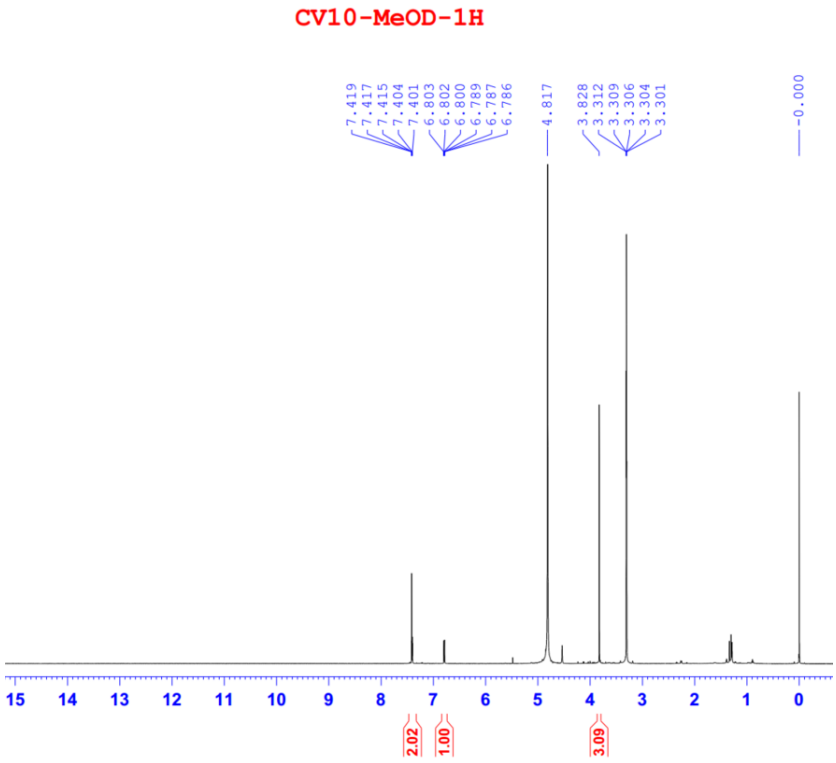
Hình PL14. [13]C-NMR của hợp chất **CV04**



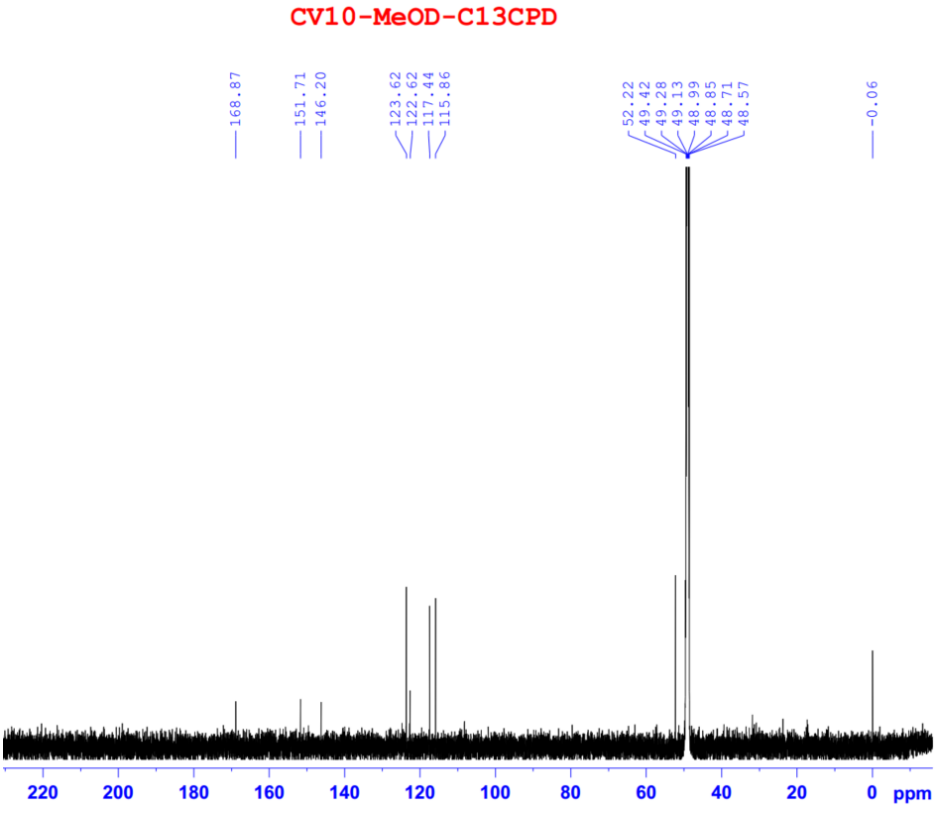
Hình PL15. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV07**



Hình PL16. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV07**



Hình PL17. Phổ ^{1}H-NMR của hợp chất **CV10**



Hình PL18. Phổ ^{13}C-NMR của hợp chất **CV10**

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
*

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM

Số 346 - QĐ/HVKHCN

Hà Nội, ngày 27 tháng 5 năm 2026

QUYẾT ĐỊNH
về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ

- Căn cứ Quyết định số 175-QĐ/VHLKHCNVN ngày 28/4/2026 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

- Căn cứ Thông tư số 23/2021/TT-BGDĐT ngày 30/8/2021 của Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

- Căn cứ Quyết định số 1966/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

- Căn cứ Quyết định số 724/QĐ-HVKHCN ngày 28/6/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học đợt 1 năm 2024;

- Căn cứ Quyết định số 971/QĐ-HVKHCN ngày 02/10/2025 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

- Xét đề nghị của Trưởng khoa Hóa học, Trưởng phòng Đào tạo,

GIÁM ĐỐC HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
QUYẾT ĐỊNH

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Phí Hải Anh với đề tài: **"Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit của loài Trà hoa Việt Nam *Camellia drupifera* Lour."**

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 8 44 01 14

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn thạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức - Hành chính, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, Trưởng khoa Khoa Hóa học, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:
- Như Điều 3,
- Lưu hồ sơ NCS,
- Lưu VT,ĐT, TN(9).

GIÁM ĐỐC

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

PGS.TS. Hoàng Anh Sơn

DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số 346 /QĐ-HVKHCN ngày 27/5 /2026
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Cho luận văn của học viên: Phí Hải Anh

Tên đề tài: **"Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit của loài Trà hoa Việt Nam *Camellia drupifera* Lour."**

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Người hướng dẫn 1: TS. Nguyễn Thị Thu Hà – Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn 2: PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm – Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	GS.TS. Nguyễn Văn Tuyến	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Vũ Kim Thư	Hóa hữu cơ	Trường Đại Học mỏ - Địa chất	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Đoàn Thị Mai Hương	Hóa hữu cơ	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 2
4.	TS. Lê Hữu Cường	Hóa sinh học	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
5.	PGS.TS. Phạm Minh Quân	Hóa hữu cơ	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên-Thư ký

Hội đồng gồm 05 thành viên.

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
*

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM

Hà Nội, ngày 05 tháng 6 năm 2026

BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 346 -QĐ/HVKHCN ngày 27/5/2026 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Phí Hải Anh

Tên đề tài: **Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit của loài Trà hoa Việt Nam *Camellia drupifera* Lour.**

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Hôm nay, ngày 05/ 6 /2026 Hội đồng đã họp tại hội trường tầng trệt Viện Hải dương học vào lúc 14h00, Hội đồng gồm 05 thành viên:

TT	Họ và tên	Chức danh
1.	GS.TS. Nguyễn Văn Tuyến	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Vũ Kim Thư	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Đoàn Thị Mai Hương	Phản biện 2
4.	TS. Lê Hữu Cường	Ủy viên
5.	PGS.TS. Phạm Minh Quân	Ủy viên- Thư ký

Thành viên vắng mặt:

NỘI DUNG LÀM VIỆC

1. Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn
2. Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp
3. Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên
4. Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng
5. Phản biện 1:

Đề tài có ý nghĩa thời sự, phương pháp nghiên cứu phù hợp. Kết quả thu được góp phần làm sáng tỏ tình hướng sử dụng, điều trị của loài Trà hoa.

Góp ý: Rà soát lỗi văn bản, tên loài in nghiêng, ký hiệu

Chú ý dấu phẩy chấm cho đơn vị thập phân. Đánh số lại chất cho theo thứ tự. Khối lượng trong sơ đồ với kiện luận chưa thống nhất

Câu hỏi: Sao tất ký hiệu không theo thứ tự

Học viên trả lời

Xin tiếp thu ý kiến góp ý và chỉnh sửa. Học viên sẽ ký hiệu lại ký tự chất

6. Phản biện 2:

Đánh giá cao hàm lượng khoa học của luận văn. Một số góp ý hoàn thiện: Tổng quan bổ sung thông tin về terpenoid, rà soát cách ghi ký hiệu khoa học

Câu hỏi: Nếu có điều kiện nghiên cứu cơ chế kháng viêm thì sẽ làm gì tiếp theo

Học viên trả lời

Xin tiếp thu ý kiến và sẽ chỉnh sửa hoàn thiện

7. Các thành viên Hội đồng

T.S. Lê Thế Cường: Đánh giá cao nội dung luận văn. Có tiềm năng công bố quốc tế. Cần ghi rõ bộ phận cây được sử dụng

P.G.S. Phạm Minh Quân: Luận văn đã thực hiện khối lượng công việc lớn. Chỉnh sửa cách trình bày, lỗi văn bản

Học viên trả lời

Xin tiếp thu ý kiến và chỉnh sửa luận văn theo góp ý

8. Hội đồng họp kín và cho điểm

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:

Trưởng ban: Vũ Kim Thư

Ủy viên: Lê Hữu Cường

Ủy viên: Phạm Minh Quân

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: 05

Số phiếu thu về: 05

Tổng số điểm: 43,8

Điểm trung bình: 8,76

Điểm thưởng công trình công bố: 0

Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố: 8,76

- Kết luận của Hội đồng: Luận văn .....đạt..... (đạt/không đạt yêu cầu)

- Tính không trùng lặp nội dung và tên đề tài với các công bố:

.....Nội dung luận văn và tên đề tài không trùng lặp
.....với công bố nào.....

8. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

.....Học viên đã hoàn thành luận văn đáp ứng yêu cầu
.....bảo vệ thạc sĩ. Kết quả điểm trung bình 8,76. Đề nghị
.....học viên chỉnh sửa hoàn thiện luận văn.....
.....

Buổi họp đã kết thúc vào 16 giờ 15 phút ngày 05/6/2026

Hà Nội, ngày 05 tháng 6 năm 2026

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG	**CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG**
Phạm Minh Quân	CS.TS. Nguyễn Văn Tuyến

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO

KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Nguyễn Thị Trung

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Phí Hải Anh

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ SẢN SINH NITRIC OXIT CỦA LOÀI TRÀ HOA VIỆT NAM *Camellia drupifera* Lour.

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8440114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC

Người hướng dẫn 1: **TS. Nguyễn Thị Thu Hà**

Người hướng dẫn 2: **PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm**

Hà Nội - 2026

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: Vũ Kim Thư
Học hàm, học vị: PGS. TS
Ngành: Hóa học hữu cơ – Hóa học các HCTN
Cơ quan công tác: Trường ĐH Mỏ - Địa chất

Họ và tên học viên: Phí Hải Anh
Tên đề tài: "Nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit của loài Trà hoa Việt Nam *Camellia drupifera* Lour.".
Chuyên ngành: Hóa hữu cơ
Mã số: 8 44 01 14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn: Đề tài có tính cấp thiết và tính thời sự cao khi tập trung nghiên cứu loài trà hoa Việt Nam (*Camellia drupifera*), một đối tượng còn ít được nghiên cứu trong khi Việt Nam sở hữu nguồn tài nguyên thực vật phong phú và nhu cầu tìm kiếm các hoạt chất tự nhiên phục vụ chăm sóc sức khỏe ngày càng gia tăng. Nghiên cứu không chỉ góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu về thành phần hóa học của loài *C. drupifera* mà còn làm rõ tiềm năng hoạt tính ức chế sinh nitric oxide (NO), một chỉ dấu quan trọng liên quan đến quá trình viêm. Đề tài cung cấp những dẫn liệu mới về hóa thực vật và hoạt tính sinh học của loài nghiên cứu, góp phần mở rộng hiểu biết về chi *Camellia*. Kết quả nghiên cứu là cơ sở cho việc khai thác, sử dụng hợp lý nguồn dược liệu trong nước, đồng thời định hướng phát triển các sản phẩm hỗ trợ phòng ngừa và điều trị các bệnh liên quan đến viêm từ nguồn hợp chất tự nhiên.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Nội dung nghiên cứu của đề tài không trùng lặp với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước. Luận văn sử dụng 37 TLTK, cập nhật đến năm 2025. Các TLTK trích dẫn trung thực, rõ ràng và đầy đủ, thống nhất theo format quy định tuy nhiên sau cùng cần rà soát viết in nghiêng cho tên khoa học của các loài thwucj vật.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Luận văn có nội dung nghiên cứu phù hợp với tên đề tài và phù hợp chuyên ngành hóa học hữu cơ, mã số đào tạo là 8 44 01 14.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Học viên đã sử dụng phương pháp nghiên cứu phù hợp với nội dung nghiên cứu, có độ tin cậy cao và hiện đại để hoàn thành luận văn. Bao gồm: thu mẫu, giám định mẫu, ngâm chiết, phối hợp các phương pháp sắc kí để phân lập được 5 hợp chất sạch; Xác định cấu trúc các hợp chất dựa trên phổ MS, 1D và 2D-NMR kết hợp so sánh với số liệu của TLTK; đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* trên đại hực bào RAW 264.7.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Phần kết luận được trình bày tương đối rõ ràng, ngắn gọn và bám sát mục tiêu nghiên cứu đã đề ra. Tác giả đã phân lập và xác định được 06 hợp chất từ phân đoạn ethyl acetate của loài *Camellia drupifera*, đồng thời đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxide (NO) của các cao chiết và hợp chất tinh khiết trên mô hình tế bào RAW 264.7. Kết quả cho thấy kaempferol (**CV07**) và 4-trans-3,4,5-trimethoxycinnamic alcohol (**CV08**) là các hợp chất có hoạt tính kháng viêm đáng chú ý, qua đó góp phần làm sáng tỏ cơ sở khoa học cho việc sử dụng loài trà hoa Việt Nam trong nghiên cứu và phát triển các sản phẩm hỗ trợ chăm sóc sức khỏe.

6. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

Luận văn có chất lượng tốt, nội dung khoa học đáp ứng yêu cầu luận văn thạc sĩ. Tuy nhiên cần lưu ý chỉnh sửa một số lỗi sau:

- Một số lỗi trình bày:

+ Rà soát in nghiêng cho kí hiệu *α, β, R, S, E, Z* theo quy định quốc tế khi viết tên các chất.

+ Tên khoa học các loài thực vật cần sửa lại viết *in nghiêng* → kiểm tra và chỉnh sửa sau khi cập nhật tự động cho mục lục và TLTK.

+ Thống nhất viết số thập phân sử dụng dấu phẩy trong toàn luận văn.

+ Kí hiệu các chất thống nhất viết **đậm** trong toàn luận văn.

- Nên đặt kí hiệu và trình bày theo thứ tự từ **1** đến **6**. Không nên trình bày không theo thứ tự và không liên tiếp khó theo dõi, giảm tính logic, mạch lạc.

- Sơ đồ 2.1, 2.2 kiểm tra lại các khối lượng cho thống nhất với phần trình bày/bình luận.

- Bảng 3.2. Cần bổ sung giá trị δ_H cho proton H-12 của hợp chất *β*-amyrine.

- Hình 3.21 thống kê 6 hợp chất phân lập được nên gán trực tiếp kí hiệu và tên chất dưới mỗi CTCT.

- Rà soát lại phần biện luận có chú thích hình cho khớp với đánh số của luận văn.

- Viết lại phần Kết luận cẩn thận, các kí hiệu cần viết chính xác và thống nhất trong toàn luận văn.

7. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?
Kết quả nghiên cứu của luận văn có thể viết bài gửi đăng Tạp chí khoa học trong nước hoặc hội nghị hoa học các cấp.

8. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):
Luận văn "Nghiên cứu thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit của loài Trà hoa Việt Nam *Camellia drupifera* Lour." của học viên Phí Hải Anh có nội dung và kết quả nghiên cứu đáp ứng tốt các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ chuyên ngành Hóa hữu cơ (mã số: 8 44 01 14). Người phản biện hoàn toàn đồng ý để học viên được bảo vệ tại HĐ chấm luận văn Thạc sĩ. Sau khi chỉnh sửa luận văn theo góp ý của Hội đồng Học viên đủ điều kiện nhận học vị Thạc sỹ.

Hà Nội, ngày 05 tháng 06 năm 2026

Người phản biện

(Ký, ghi rõ họ tên)

PGS.TS. Vũ Kim Thư

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: Đoàn Thị Mai Hương
Học hàm, học vị: PGS.TS
Chuyên ngành: Hóa hữu cơ
Cơ quan công tác: Viện Hoá học, Viện Hàn lâm KH&CNVN

Họ và tên học viên: Phí Hải Anh
Đề tài: **Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit của loài Trà hoa Việt Nam *Camellia drupifera* Lour.**
Chuyên ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 8.44.01.14

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn

Hướng nghiên cứu phân lập các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học từ thực vật để tìm ra các loại thuốc chữa bệnh mới là một hướng nghiên cứu có ý nghĩa khoa học cũng như ý nghĩa thực tiễn được các nhà khoa học trên thế giới cũng như các nhà khoa học Việt Nam đặc biệt quan tâm. Trong bối cảnh nguồn dược liệu tự nhiên ngày càng được khai thác hiệu quả và nhu cầu phát triển thuốc mới có nguồn gốc thiên nhiên ngày càng gia tăng, việc nghiên cứu các loài thực vật có tiềm năng sinh học là hết sức cần thiết.

Chi *Camellia* đã được nghiên cứu khá rộng rãi trong và ngoài nước. Các kết quả cho thấy các loài thuộc chi này chứa chủ yếu các hợp chất như terpenoid, flavonoid, saponin và alkaloid. Nhiều hợp chất trong số đó đã được chứng minh thể hiện hoạt tính sinh học đáng chú ý như gây độc tế bào ung thư, kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng viêm và hạ lipid máu. Tuy nhiên, đối với loài *Camellia drupifera* Lour., các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học còn tương đối hạn chế.

Kết quả sàng lọc hoạt tính bước đầu cho thấy cặn chiết của loài *C. drupifera* có khả năng ức chế sản sinh nitric oxit (NO) với giá trị IC_{50} = 15,47 µg/mL. Xuất phát từ cơ sở khoa học và thực tiễn đó, học viên cao học đã lựa chọn đề tài: "**Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit của loài Trà hoa Việt Nam**

Camellia drupifera Lour.". Với cách tiếp cận như vậy trong việc lựa chọn đề tài nghiên cứu, học viên cao học đã có đóng góp có giá trị trong việc phát triển các hợp chất có hoạt tính sinh học từ nguồn tài nguyên thiên nhiên của Việt Nam.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình nghiên cứu trước đây; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Kết quả của luận văn không trùng lặp với các công trình nghiên cứu trong và ngoài nước trước đây. Tài liệu tham khảo được trích dẫn đầy đủ, rõ ràng và cập nhật.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như chuyên ngành và mã số đào tạo

Các kết luận của luận văn phù hợp với cách đặt vấn đề và mục tiêu nghiên cứu đề ra. Kết quả nghiên cứu của đề tài đã phản ánh đúng tên của đề tài. Tên đề tài hoàn toàn phù hợp giữa nội dung với chuyên ngành và mã số của chuyên ngành đào tạo.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn

Phương pháp nghiên cứu khoa học, hiện đại, phù hợp với nội dung và mục tiêu nghiên cứu. Việc phân lập và xác định cấu trúc của các hợp chất được thực hiện với một kỹ năng tốt, kết quả đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 6 hợp chất từ loài *C. drupifera*. Các chất phân lập được đều được xác định cấu trúc bằng các bằng các phương pháp vật lý trên các thiết bị hiện đại như phổ cộng hưởng từ hạt nhân một và 2 chiều. Phương pháp thử hoạt tính gây ức chế sản sinh NO là phương pháp chuẩn tại các phòng thí nghiệm trên thế giới.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn

Đây là một công trình nghiên cứu có ý nghĩa khoa học. Từ cặn chiết EtOAc của loài Trà hoa Việt Nam (*C. drupifera*), đã phân lập và xác định cấu trúc hóa học của 6 hợp chất là friedelin (**CV09**), β-amyrine (**CV01**), *trans*-3,4,5-Trimethoxycinnamic alcohol (**CV08**), naringenin (**CV04**), kaempferol (**CV07**), 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid (**CV10**).

Tất cả 6 hợp chất được thử nghiệm hoạt tính ức chế sản sinh NO, kết quả cho thấy 4 hợp chất thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh NO trong đó hợp chất kaempferol (**CV07**) thể hiện hoạt tính tốt nhất với giá trị IC_{50} = 2,8 ± 0,5 µg/ml. Hợp chất *trans*-3,4,5-Trimethoxycinnamic alcohol (**CV08**) thể hiện hoạt tính với giá trị IC_{50} = 12,87 ± 0,62 µg/ml. Hai hợp chất naringenin (**CV04**) và 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid (**CV10**) thể

hiện hoạt tính trung bình với giá trị IC_{50} lần lượt là 28,86 ± 1,52 và 28,00 ± 2,09 µg/ml.

6. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức

Luận văn được trình bày một cách khoa học, các hình minh họa, phụ lục được bố trí hợp lý, đầy đủ và rõ ràng, tuy nhiên còn một số sai sót nhỏ cần phải chỉnh sửa như sau:

- Ở phần tổng quan, cần bổ sung thêm nhóm chất terpenoid đã được phân lập từ chi *Camellia*.
- Cần thống nhất cách trình bày tên khoa học của chi và loài (viết in nghiêng), đồng thời rà soát, chuẩn hóa một số thuật ngữ chuyên ngành.
- Nội dung phần phương pháp nghiên cứu (trang 17) và phần thực nghiệm (trang 18) chưa thống nhất, cần kiểm tra và chỉnh sửa để đảm bảo tính nhất quán.
- Trang 43, Hình 3.21 cần bổ sung đầy đủ ký hiệu của 6 hợp chất đã phân lập để tăng tính rõ ràng và dễ theo dõi.

7. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể viết thành các bài báo để gửi đăng hay không

Kết quả của luận văn có thể viết và gửi đăng 1 bài báo khoa học trong nước.

8. Kết luận chung

Các kết quả nghiên cứu phong phú và có độ tin cậy cao. Bản luận văn đáp ứng đầy đủ nội dung, hình thức của một luận văn thạc sĩ hóa học có thể đưa ra bảo vệ để nhận học sĩ thạc sĩ theo qui định của Bộ Giáo dục và Đào tạo.

Hà Nội, ngày tháng năm 2026

NGƯỜI NHẬN XÉT

Đoàn Thị Mai Hường

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

ĐẢNG CỘNG SẢN VIỆT NAM

BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN THEO KẾT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ tên học viên: Phí Hải Anh Lớp: Hóa Hữu cơ 2024A

Tên đề tài luận văn: **Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxit của loài trà hoa việt nam *Camellia drupifera* Lour.**

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Người hướng dẫn khoa học: TS. Nguyễn Thị Thu Hà và PGS.TS. Nguyễn Xuân Nhiệm

Ngày bảo vệ luận văn: 05/06/2026

Căn cứ biên Bản họp Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên đã chỉnh sửa luận văn như sau:

STT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1	Thống nhất cách trình bày tên khoa học của chi và loài, chuẩn hóa một số thuật ngữ chuyên ngành	Đã rà soát và chỉnh sửa trên toàn bộ bài luận văn
2	Phương pháp nghiên cứu và thực nghiệm chưa thống nhất	Đã rà soát và chỉnh sửa tại trang 17 và 18
3	Bổ sung đầy đủ kí hiệu 6 hợp chất	Đã chỉnh sửa tại hình 3.21 trang 43
4	Bổ sung thêm nhóm chất terpenoid được phân lập từ chi Camellia	Đã bổ sung tại trang 6 luận văn

Hà Nội, ngày 17 tháng 06 năm 2026...

Chủ tịch hội đồng	Tập thể hướng dẫn	Học viên	Xác nhận của học viện khoa học và công nghệ
			KT.GIÁM ĐỐC PHÓ GIÁM ĐỐC
	Nguyễn Xuân Nhiệm Nguyễn Thị Thu Hà		Nguyễn Thị Trung

Lưu ý: Các chữ ký xác nhận cần gắn với nội dung trên cùng một trang giấy. Học viện sẽ không xác nhận nếu phần chữ ký tách rời với nội dung.