

ISSN 1859 - 4735



TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

JOURNAL OF MEDICINAL MATERIALS

SỐ 3 - TẬP 31

6/2026

VIỆN DƯỢC LIỆU
NATIONAL INSTITUTE OF MEDICINAL MATERIALS

3B Quang Trung, phường Cửa Nam, thành phố Hà Nội - Việt Nam
TEL: (+84-24) 38247058 FAX: (+84-24) 39348740
Email: tapchiduoclieu@nimm.org.vn; tapchiduoclieu@gmail.com

TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU (Bản in và Bản điện tử)

BAN BIÊN TẬP (Nhiệm kỳ 2025-2030)

(Kèm theo Quyết định số 666/QĐ-VDL ngày 24/4/2025 của Viện trưởng Viện Dược liệu)

TỔNG BIÊN TẬP **PGS.TS. Đỗ Thị Hà**

I. Tiểu ban Dược liệu - Dược học cổ truyền

- **PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi - Trưởng Ban**
- PGS.TS. Nguyễn Thượng Dong - Ủy viên
- GS.TS. Nguyễn Minh Đức - Ủy viên
- GS.TS. Trần Công Luận - Ủy viên
- GS.TS. Won Keun Oh - Ủy viên
- PGS.TS. Trần Hùng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu - Ủy viên
- PGS.TS. Phương Thiện Thương - Ủy viên
- PGS.TS. Phan Minh Giang - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Việt Dũng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Quốc Huy - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thu Hằng - Ủy viên
- TS. Trần Minh Ngọc - Ủy viên
- TS. Nguyễn Văn Tài - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Đình Chi - Ủy viên
- TS. Nguyễn Tuấn Hiệp - Ủy viên.

II. Tiểu ban Dược lý - Dược lâm sàng

- **PGS.TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng - Trưởng Ban**
- PGS.TSKH. Đỗ Trung Đàm - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương - Ủy viên
- GS.TS. William R. Folk - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thùy Dương - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Văn Minh - Ủy viên
- TS. Trần Thị Hiền - Ủy viên.

III. Tiểu ban Nông Sinh

- **TS. Nguyễn Văn Khiêm - Trưởng Ban**
- TS. Phan Thúy Hiền - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Văn Tập - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thanh Huyền - Ủy viên
- GS.TS. Trần Thế Bách - Ủy viên.

IV. Tiểu ban Thư ký - Trị sự

- **PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Trưởng Ban**
- TS. Lê Thị Xoan - Thư ký chuyên môn
- CN. Nguyễn Thị Minh Lộc - Thư ký trị sự.

Trang	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC	Page	SCIENTIFIC RESEARCH
163	Thành phần hóa học và tác dụng ức chế sản sinh NO của phần trên mặt đất loài cúc mùi - Nguyễn Thị Hồng Anh, Nguyễn Thị Huế, Phan Thị Trang, Phạm Văn Công, Nguyễn Văn Tài	163	Chemical Constituents and NO Inhibitory Activity of the Aerial Parts of <i>Tridax procumbens</i> - Nguyen Thi Hong Anh, Nguyen Thi Hue, Phan Thi Trang, Pham Van Cong, Nguyen Van Tai
170	Xây dựng phương pháp xác định 11 chất cấm trộn trái phép trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe hỗ trợ giảm cân bằng sắc ký lỏng khối phổ phân giải cao - Nguyễn Quang Hưng, Trần Hồng Ngọc, Mạc Thị Thanh Hoa, Nguyễn Văn Khoa, Vũ Phương Hạnh, Trần Thúy Hạnh, Bùi Thế Kiên, Trần Cao Sơn, Nguyễn Thị Kiều Anh	170	Development of a Method for Determination of Eleven Illicit Adulterants in Weight-Loss Dietary Supplements by Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry - Nguyen Quang Hung, Tran Hong Ngoc, Mac Thi Thanh Hoa, Nguyen Van Khoa, Vu Phuong Hanh, Tran Thuy Hanh, Bui The Kien, Tran Cao Son, Nguyen Thi Kieu Anh
179	Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở vị thuốc nụ hộc sao vàng - Nguyễn Thị Hà Ly, Trần Huyền Trang, Lê Hồng Văn Anh, Phạm Thị Hiền, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Thanh Hương, Tạ Thị Thảo	179	Establishing In-house Standards for Processed <i>Syphnolobium japonicum</i> L. Buds - Nguyen Thi Ha Ly, Tran Huyen Trang, Le Hong Van Anh, Pham Thi Hien, Do Thi Ha, Nguyen Thanh Huong, Ta Thi Thao
187	Tối ưu hóa quy trình chiết siêu âm để chiết xuất polyphenol và triterpenoid từ lá cây insulin trồng ở Việt Nam bằng phương pháp bề mặt đáp ứng - Nguyễn Lâm Hồng, Trần Văn Sang, Vũ Minh Đức, Nguyễn Bá Trung, Nguyễn Hoàng Quân, Nguyễn Tiến Trung, Dương Minh Tân	187	Optimization of Ultrasonic Extraction Process for the Extraction of Polyphenols and Triterpenoids from Insulin Leaves (<i>Costus pictus</i> D. Don) Grown in Vietnam Using the Response Surface Method - Nguyen Lam Hong, Tran Van Sang, Vu Minh Duc, Nguyen Ba Trung, Nguyen Hoang Quan, Nguyen Tien Trung, Duong Minh Tan
197	Tác dụng an thần, giải lo âu, chống trầm cảm của cao chiết từ thân rễ sâm Lai Châu - Tô Trung Kiên, Trần Bá Luân, Ngô Quỳnh Như, Trương Quang Đạt, Nguyễn Trương Lễ Nghi, Trần Thị Thảo Trần, Lê Văn Minh, Nguyễn Hoàng Minh	197	Sleep-Prolonging, Anxiolytic and Antidepressant-Like Effects of the Extract from <i>Panax vietnamensis</i> var. <i>fuscifolius</i> K.Komatsu, S.Zhu & S.Q.Cai - To Trung Kien, Tran Ba Luu, Ngo Quynh Nhu, Truong Quang Dat, Nguyen Truong Le Nghi, Tran Thi Thao Tran, Le Van Minh, Nguyen Hoang Minh
203	Bảy lá một hoa ức chế ung thư vú thực nghiệm trên chuột bằng độc tế bào và apoptosis - Phạm Thị Nguyệt Hằng, Trần Thị Hồng Vân, Phạm Minh Hiếu, Phạm Anh Tùng, Phí Đình Uy, Nguyễn Văn Hiệp, Lê Thị Xoan, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Thị Ngọc Bích, Trần Đình Nghĩa, Hoàng Thị Tuyết Nhung	203	<i>Paripolyphylla</i> var. <i>chinensis</i> Smith Inhibits Experimental Breast Cancer in Mice via Cytotoxicity and Apoptosis - Pham Thi Nguyet Hang, Tran Thi Hong Van, Pham Minh Hieu, Pham Anh Tung, Phi Dinh Uy, Nguyen Van Hiep, Le Thi Xoan, Do Thi Ha, Nguyen Thi Ngoc Bich, Tran Dinh Nghia, Hoang Thi Tuyet Nhung
211	Nghiên cứu trên thực nghiệm tác dụng hạ đường huyết của cao chiết từ lá cây nọc xoài, họ Cúc - Nguyễn Đông Nhi, Trương Nhật Minh, Võ Thành Nhân, Trần Hoàng Khả Hân, Nguyễn Thị Thu Hương	211	Experimental Study on Hypoglycemic Effect of Leaf Extract from <i>Struchium sparganophorum</i> (L.) Kuntze (Asteraceae) - Nguyen Dong Nhi, Truong Nhat Minh, Vo Thanh Nhan, Tran Hoang Kha Han, Nguyen Thi Thu Huong
220	Đánh giá tiềm năng chống oxy hóa và độc tính tế bào HEPG2 của lá trà hoa đỏ - Nguyễn Thị Thu Hương, Trần Thanh Hào, Trần Hoàng Khả Hân, Nguyễn Trần Hoàng Anh, Lý Hải Triều	220	Evaluation of Antioxidant Potential and HepG2 Cytotoxicity of Red-Flowered <i>Camellia</i> (<i>Camellia longi</i> Orel & Lau) Leaves - Nguyen Thi Thu Huong, Tran Thanh Hao, Tran Hoang Kha Han, Nguyen Tran Hoang Anh, Ly Hai Trieu
232	Tác dụng ức chế vi khuẩn <i>Helicobacter pylori</i> của cao chiết và các diterpenoid từ khổ sâm - Vũ Thị Oanh, Lương Thùy Nhung, Trần Thị Minh Nguyệt, Phạm Bảo Yên, Nguyễn Khắc Tiếp, Phương Thiên Thương	232	Antibacterial Activity of Extracts and Isolated Compounds from <i>Croton tonkinensis</i> Gagnep. Against <i>Helicobacter pylori</i> - Vu Thi Oanh, Luong Thuy Nhung, Tran Thi Minh Nguyet, Pham Bao Yen, Nguyen Khac Tiep, Phuong Thien Thuong
239	Đánh giá đặc điểm hình thái, năng suất và chất lượng một số nguồn gen đậu mèo thu thập tại Việt Nam - Trần Thị Trang, Trần Ngọc Thanh, Lô Đức Việt, Trần Thị Kim Dung, Nguyễn Thị Mai Phương, Đào Xuân Quang, Nhu Thu Nga, Nguyễn Đức Mạnh, Đào Việt Quốc, Nguyễn Văn Tài, Lê Thị Loan, Đặng Minh Tú	239	Evaluation of Morphological Characteristics, Yield, and Quality of <i>Mucuna pruriens</i> (L.) DC. Germplasm Collected in Vietnam - Tran Thi Trang, Tran Ngoc Thanh, Lo Duc Viet, Tran Thi Kim Dung, Nguyen Thi Mai Phuong, Dao Xuan Quang, Nhu Thu Nga, Nguyen Duc Manh, Dao Viet Quoc, Nguyen Van Tai, Le Thi Loan, Dang Minh Tu
246	Đánh giá đặc điểm nông sinh học và hàm lượng sinensetin của các mẫu giống rau mèo tại Hà Nội - Nhu Thu Nga, Lô Đức Việt, Trần Thị Kim Dung, Trần Thị Trang, Nguyễn Thị Mai Phương, Trần Ngọc Thanh, Tô Minh Tú, Hoàng Thị Tuyết, Nguyễn Văn Hiếu, Trịnh Văn Vương, Nguyễn Đức Mạnh	246	Assessment of Agro-Biological Characteristics and Sinensetin Content of <i>Orthosiphon spiralis</i> (Lour.) Merr. in Hanoi - Nhu Thu Nga, Lo Duc Viet, Tran Thi Kim Dung, Tran Thi Trang, Nguyen Thi Mai Phuong, Tran Ngoc Thanh, To Minh Tu, Hoang Thi Tuyet, Nguyen Van Hieu, Trinh Van Vuong, Nguyen Duc Manh

ĐÁNH GIÁ TIỀM NĂNG CHỐNG OXY HÓA VÀ ĐỘC TÍNH TẾ BÀO HEPG2 CỦA LÁ LOÀI TRÀ HOA ĐỎ

**Nguyễn Thị Thu Hương¹, Trần Thanh Hào¹, Trần Hoàng Khả Hân¹, Nguyễn Trần Hoàng Anh¹,
Lý Hải Triều^{2,*}**

¹Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng;

²Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu

*Email: lhtrieu12csh@gmail.com

Nhận bài: 23/4/2026

Chấp nhận đăng: 08/6/2026

Tóm tắt

Nghiên cứu này nhằm đánh giá sơ bộ thành phần hóa thực vật và một số hoạt tính sinh học của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ (*Camellia longii*). Bốn loại cao chiết gồm cao chiết nước (W) và cao chiết ethanol ở các nồng độ 96% (E96), 70% (E70) và 45% (E45) được xác định hàm lượng các nhóm hợp chất bao gồm polyphenol (TPC), flavonoid (TFC) và tannin (TTC) toàn phần, hoạt tính chống oxy hóa bằng các thử nghiệm DPPH, ABTS, năng lực khử (RP) và tác động trên sự sống của tế bào gan HepG2 trong điều kiện thường và gây tổn thương bằng acetaminophen (APAP). Kết quả cho thấy lá trà hoa đỏ có chứa flavonoid, tannin, saponin, anthocyanosid, anthraglycosid, carotenoid, hợp chất khử và hợp chất polyuronic. Cao chiết E45 có TPC (420,84 mg GAE/g trọng lượng khô) và TTC (659,89 mg TAE/g trọng lượng khô) cao nhất, trong khi cao chiết E70 có TFC (68,87 mg CE/g trọng lượng khô) cao nhất. Cao chiết E70 thể hiện hoạt tính bắt gốc tự do DPPH và ABTS mạnh nhất với IC₅₀ lần lượt là 8,00 và 8,31 µg/mL, trong khi cao chiết E45 thể hiện năng lực khử mạnh nhất với EC₅₀ là 33,44 µg/mL. Hơn nữa, phân tích Pearson cho thấy TFC tương quan mạnh hơn với hoạt tính ức chế DPPH ($r = -0,92$) và ABTS ($r = -0,73$), TPC và TTC tương quan mạnh hơn với RP ($r = -0,84$ và $-0,83$). Cao chiết E96, E70 và E45 thể hiện khả năng gây độc tế bào HepG2 với IC₅₀ lần lượt là 55,82; 36,17 và 45,95 µg/mL. Các cao chiết ở các nồng độ khảo sát không thể hiện tác dụng bảo vệ tế bào HepG2 chống lại tổn thương do APAP gây ra. Những kết quả này cung cấp thêm bằng chứng khoa học cho thấy lá trà hoa đỏ là nguồn hợp chất phenolic có tiềm năng chống oxy hóa đáng chú ý.

Từ khóa: Trà hoa đỏ (*Camellia longii*); Chống oxy hóa, polyphenol; Phân tích tương quan Pearson; HepG2.

Summary

Evaluation of Antioxidant Potential and HepG2 Cytotoxicity of Red-Flowered *Camellia* (*Camellia longii* Orel & Luu) Leaves

This study evaluated preliminary phytochemical screening and some biological activities of *Camellia longii* leaf extracts. Four extracts, including a water extract (W) and three ethanol extracts (96% - E96, 70% - E70, and 45% - E45), were investigated for total polyphenol content (TPC), total flavonoid content (TFC), total tannin content (TTC), antioxidant activity via DPPH, ABTS, and reducing power (RP) assays. Additionally, their effects on HepG2 cell viability under both normal conditions and APAP-induced damage. Results revealed that the *C. longii* leaves contain flavonoids, tannins, saponins, anthocyanosides, anthraglycosides, carotenoids, reducing compounds, and polyuronic compounds. The E45 extract showed the highest TPC (420.84 mg GAE/g dry weight, DW) and TTC (659.89 mg TAE/g DW), whereas E70 showed the highest TFC (68.87 mg CE/g DW). The E70 extract exhibited the strongest DPPH and ABTS radical-scavenging activities (IC₅₀ values of 8.00 and 8.31 µg/mL, respectively), while the E45 extract showed the strongest reducing power (EC₅₀ of 33.44 µg/mL). Pearson correlation analysis indicated that TFC had a stronger correlation with DPPH ($r = -0.92$) and ABTS ($r = -0.73$) inhibitory activity, whereas TPC and TTC correlated more closely with RP ($r = -0.84$ and -0.83). Notably, E96, E70, and E45 extracts exhibited cytotoxicity in HepG2 cells, with IC₅₀ values of 55.82, 36.17, and 45.95 µg/mL, respectively, but showed no protective effect against APAP-induced damage. These results provide further scientific evidence showing that *C. longii* leaves are a rich source of phenolic compounds with significant antioxidant potential.

Keywords: *Camellia longii*; Antioxidant, polyphenols; Pearson correlation analysis; HepG2.

1. Đặt vấn đề

Stress oxy hóa là một cơ chế quan trọng trong nhiều quá trình bệnh lý, phát sinh khi sự tạo thành các gốc tự do oxy hoặc nitơ vượt quá khả năng kiểm soát của hệ thống chống oxy hóa nội sinh. Tình trạng này có thể dẫn đến peroxy hóa lipid, oxy hóa protein, tổn thương acid nucleic và rối loạn chức năng tế bào, từ đó góp phần vào sự tiến triển của nhiều bệnh lý mạn tính. Vì vậy,

việc tìm kiếm các hợp chất, đặc biệt là các hợp chất tự nhiên, có khả năng chống oxy hóa đang được quan tâm [1].

Thực vật là nguồn giàu các hợp chất có hoạt tính sinh học; trong đó, các hợp chất phenolic, đặc biệt là flavonoid, được chú ý nhờ tiềm năng chống oxy hóa nổi bật. Các hợp chất này có khả năng trung hòa gốc tự do và hạn chế tổn thương oxy hóa, góp phần làm giảm các rối loạn liên

quan đến stress oxy hóa. Do đó, thực vật giàu phenolic được xem là nguồn nguyên liệu triển vọng cho việc tìm kiếm các chất có hoạt tính chống oxy hóa [2].

Trà hoa đỏ (*Camellia longii* Orel & Luu) được mô tả lần đầu tại Việt Nam vào năm 2014 [3]. Mặc dù các nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài này còn hạn chế, một số dữ liệu ban đầu đã cho thấy tiềm năng đáng chú ý. Cao chiết và tinh dầu từ hoa trà hoa đỏ có hoạt tính chống oxy hóa và ức chế α -glucosidase *in vitro* [4]. Nghiên cứu gần đây cho thấy sự hiện diện của polyphenol, flavonoid, tannin, saponin và một số nhóm chất thứ cấp khác trong lá *C. longii*; đồng thời cao chiết lá có hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH (IC_{50} là 3,07 μ g/mL) và năng lực khử sắt (EC_{50} là 12,85 μ g/mL) và ức chế acetylcholinesterase (IC_{50} là 330,88 μ g/mL) *in vitro* [5]. Ngoài ra, nghiên cứu so sánh trên ba loài *Camellia* ở Việt Nam cho thấy thành phần phenolic và hoạt tính sinh học của lá có thể thay đổi theo loài và hệ dung môi chiết [6]. Những kết quả này cho thấy lá trà hoa đỏ (*C. longii*) là đối tượng có tiềm năng để tiếp tục khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính sinh học. Mặc dù bước đầu đã xác định được hoạt tính chống oxy hóa của lá *C. longii* [5], nhưng ảnh hưởng của dung môi chiết đến hiệu suất thu hồi hoạt chất, mối liên hệ giữa thành phần hợp chất với hoạt tính chống oxy hóa vẫn chưa được làm rõ. Hiện cũng chưa có nghiên cứu nào đánh giá đồng thời khả năng gây độc tế bào cũng như tác động bảo vệ tế bào gan của các cao chiết từ lá *C. longii* trên mô hình tế bào HepG2 gây độc bởi acetaminophen (APAP). Gan là cơ quan chính chịu tác động của stress oxy hóa và APAP là tác nhân gây tổn thương gan thực nghiệm phổ biến thông qua cơ chế gây cạn kiệt glutathion, một chất chống oxy hóa nội sinh của tế bào [1],[7]. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá tiềm năng chống oxy hóa của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ (*C. longii*) qua các thử nghiệm *in vitro* và trên dòng tế bào HepG2 gây độc bởi acetaminophen (APAP), đồng thời phân tích mối tương quan giữa thành phần hợp chất và hoạt tính.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu thực vật

Mẫu trà hoa đỏ được thu hái tại Vườn quốc gia Bù Gia Mập, tỉnh Đồng Nai vào tháng 9 năm

2025 và được định danh bởi Phòng Tài nguyên và Phát triển Dược liệu, Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh, xác định tên khoa học của loài nghiên cứu là *Camellia longii* Orel & Luu (Ký hiệu mẫu: TBĐD-250923). Lá trà hoa đỏ được làm sạch bằng nước, phơi khô ở nhiệt độ phòng và xay thành bột để nghiên cứu. Bột nguyên liệu khô được xác định một số chỉ tiêu bao gồm độ ẩm, độ tro toàn phần và độ tro không tan trong acid theo Dược điển Việt Nam V.

2.2. Hoá chất, thuốc thử

Acid ascorbic, acid gallic (CAS: 149-91-7, HPLC $\geq$ 98%), catechin (CAS: 7295-85-4, HPLC $\geq$ 98%), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid) (ABTS), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid (MTT), acetaminophen (APAP) và silymarin được cung cấp từ Sigma-Aldrich (Hoa Kỳ); acid tannic (CAS: 1401-55-4, HPLC $\geq$ 92%) từ Shanghai Zhanyun (Trung Quốc); thuốc thử Folin-Ciocalteu, methanol (98% v/v), nhôm clorid ($AlCl_3$) và dimethyl sulfoxid (DMSO) từ Merck (Đức); Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), huyết thanh thai bò (Fetal Bovine Serum - FBS) và hỗn hợp kháng sinh-kháng nấm từ Gibco (Hoa Kỳ). Các hóa chất và dung môi khác đều đạt độ tinh khiết phân tích.

2.3. Chiết xuất dược liệu

Bột nguyên liệu khô từ lá trà hoa đỏ (100 g) được chiết với ethanol ở nồng độ 96%, 70% hoặc 45% bằng phương pháp ngâm kiệt ở nhiệt độ phòng theo tỷ lệ dược liệu:dung môi là 1:15 (khối lượng:thể tích) với thời gian ngâm là 48 giờ trước khi rút dịch chiết với tốc độ 2 mL/phút ($\times 1$ lần). Đối với cao chiết nước, bột dược liệu (100 g) được chiết nóng với nước cất ($\times 3$ lần) với tổng tỷ lệ dược liệu:dung môi là 1:15 (khối lượng:thể tích) ở 100°C trong 60 phút. Các dịch chiết được tập trung và cô quay chân không dưới áp suất giảm ở 60°C và sau đó cô trên bếp cách thủy ở nhiệt độ $\leq 60^\circ C$ để thu được các cao đặc bao gồm cao ethanol 96% (E96), cao ethanol 70% (E70), cao ethanol 45% (E45) và cao nước (W). Các cao chiết được bảo quản trong lọ kín, ở 2–8°C và tránh ánh sáng cho đến khi sử dụng.

2.4. Phân tích sơ bộ thành phần hoá thực vật

Dịch chiết diethyl ether, ethanol và nước từ lá trà hoa đỏ được kiểm tra sự hiện diện của alkaloid, anthocyanosid, anthraglycosid,

carotenoid, hợp chất khử, coumarin, flavonoid, glycosid tim, hợp chất polyuronic, proanthocyanidin, saponin, tannin, tinh bột và leucoanthocyanidin theo phương pháp của Ciulei [8]. Đối với alkaloid, nghiên cứu tiến hành khảo sát định tính sơ bộ từ các dịch chiết nêu trên, chưa thực hiện quy trình chiết xuất, làm giàu alkaloid chuyên biệt.

2.5. Định lượng polyphenol toàn phần (TPC)

Hàm lượng polyphenol toàn phần của các cao chiết được xác định bằng phương pháp đo màu Folin–Ciocalteu có điều chỉnh từ Lefahal và cs. [9]. Hỗn hợp phản ứng gồm 5 μL dung dịch mẫu hoặc dung dịch chuẩn acid gallic, 165 μL nước cất và 10 μL thuốc thử Folin–Ciocalteu. Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 5 phút, sau đó thêm 30 μL dung dịch Na_2CO_3 20% và tiếp tục ủ trong tối 2 giờ. Độ hấp thụ của hỗn hợp sau phản ứng được đo ở bước sóng 758 nm bằng máy đọc đĩa (Biotek, Mỹ). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm lượng polyphenol toàn phần được tính theo đường chuẩn acid gallic ($y = 0,001268x + 0,02694$, $R^2 = 0,9968$) và được biểu thị bằng mg đương lượng acid gallic có trong 1 g trọng lượng khô (mg GAE/g DW).

2.6. Định lượng flavonoid toàn phần (TFC)

Hàm lượng flavonoid toàn phần của các cao chiết được xác định bằng phương pháp so màu với AlCl_3 theo Belew và cs. [9]. Hỗn hợp phản ứng gồm 100 μL dung dịch mẫu hoặc dung dịch chuẩn catechin, 6 μL AlCl_3 10%, 6 μL NaNO_2 10% và 48 μL nước cất. Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, sau đó thêm 40 μL NaOH 1 M và tiếp tục ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Độ hấp thụ của hỗn hợp sau phản ứng được đo ở bước sóng 500 nm bằng máy đọc đĩa. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm lượng flavonoid toàn phần được tính theo đường chuẩn catechin ($y = 0,007974x + 0,006175$, $R^2 = 0,9964$) và được biểu thị bằng mg đương lượng catechin có trong 1 g trọng lượng khô (mg CE/g DW).

2.7. Định lượng tannin toàn phần (TTC)

Hàm lượng tannin toàn phần của các cao chiết được xác định bằng phương pháp Folin–Ciocalteu theo Attard [10]. Hỗn hợp phản ứng gồm 20 μL dung dịch mẫu hoặc dung dịch chuẩn acid tannic và 100 μL thuốc thử Folin–Ciocalteu pha loãng 10 lần. Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 5 phút, sau đó thêm 60 μL

Na_2CO_3 20% và 20 μL nước cất và tiếp tục được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng 35 phút. Độ hấp thụ của hỗn hợp sau phản ứng được đo ở bước sóng 750 nm bằng máy đọc đĩa. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm lượng tannin toàn phần được tính theo đường chuẩn acid tannic ($y = 0,003597x + 0,05275$, với $R^2 = 0,9986$) và được biểu thị bằng mg đương lượng acid tannic có trong 1 g trọng lượng khô (mg TAE/g DW).

2.8. Phương pháp đánh giá hoạt tính chống oxy hoá

2.8.1. Thử nghiệm đánh giá hoạt tính bắt gốc tự do DPPH:

Quy trình được thực hiện theo mô tả của Ly và cs. [11] như sau: Hỗn hợp phản ứng gồm 25 μL dung dịch mẫu ở các nồng độ khảo sát, 150 μL methanol và 25 μL dung dịch DPPH 0,6 mM. Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Độ hấp thụ của hỗn hợp sau phản ứng được đo ở bước sóng 515 nm bằng máy đọc đĩa. Acid ascorbic (Vitamin C, VC) được sử dụng làm mẫu đối chứng dương. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả được biểu thị bằng giá trị IC_{50} của mỗi mẫu thử.

2.8.2. Thử nghiệm đánh giá hoạt tính bắt gốc tự do ABTS:

Quy trình được thực hiện theo mô tả của Re và cs. [12], có điều chỉnh như sau: Dung dịch ABTS 7 mM được phối hợp với dung dịch $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 2,45 mM theo tỷ lệ thể tích 1:1, sau đó ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ để tạo gốc cation $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Trước khi sử dụng, dung dịch $\text{ABTS}^{\bullet+}$ được pha loãng bằng methanol đến khi độ hấp thụ tại bước sóng 734 nm đạt khoảng $0,70 \pm 0,02$. Hỗn hợp phản ứng gồm 5 μL dung dịch mẫu ở các nồng độ khảo sát và 145 μL dung dịch ABTS. Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 6 phút. Độ hấp thụ của hỗn hợp sau phản ứng được đo ở bước sóng 734 nm bằng máy đọc đĩa. Vitamin C (VC) được sử dụng làm mẫu đối chứng dương. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả được biểu thị bằng giá trị IC_{50} của mỗi mẫu thử.

2.8.3. Thử nghiệm đánh giá năng lực khử (RP):

Quy trình được thực hiện theo mô tả của Kızıl và cs. [13]. Hỗn hợp phản ứng gồm 40 μL dung dịch mẫu ở các nồng độ khảo sát, 100 μL đệm phosphat natri 200 mM (pH 6,6) và 100 μL kali ferricyanid 1%. Hỗn hợp được ủ ở 50°C trong 30 phút, sau đó thêm 100 μL acid trichloroacetic

10% và ly tâm ở 3000 vòng/phút trong 10 phút. Lấy 100 μ L dịch nổi, trộn với 100 μ L nước cất và 20 μ L ferric clorid 0,1%. Độ hấp thụ của hỗn hợp sau phản ứng được đo ở bước sóng 700 nm bằng máy đọc đĩa. Vitamin C (VC) được sử dụng làm mẫu đối chứng dương. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả được biểu thị bằng giá trị EC_{50} của mỗi mẫu thử.

2.8.4. Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa:

Đối với các thử nghiệm DPPH và ABTS, hoạt tính chống oxy hóa được biểu thị bằng phần trăm ức chế theo công thức: $HTKO (\%) = [(A - A_0 - A_1 + A_2) \times 100] / (A - A_0)$. Trong đó, A là độ hấp thụ của mẫu chứng, A_0 là độ hấp thụ của mẫu trắng chứng, A_1 là độ hấp thụ của mẫu thử, A_2 là độ hấp thụ của mẫu trắng thử. Giá trị IC_{50} được xác định là nồng độ mẫu thử cần thiết để đạt 50% hoạt tính kháng oxy hóa. Đối với phép thử năng lực khử, hoạt tính được đánh giá thông qua độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng; giá trị EC_{50} là nồng độ mẫu thử cho độ hấp thụ bằng 0,5. IC_{50} và EC_{50} được xác định bằng phần mềm GraphPad Prism phiên bản 8.0.2 (GraphPad Software Inc., Hoa Kỳ) từ đường hồi quy tương quan giữa nồng độ mẫu thử và đáp ứng đo được.

2.9. Phương pháp đánh giá tác động lên sự sống sót của tế bào

2.9.1. Nuôi cấy tế bào:

Dòng tế bào gan HepG2 (ATCC) được nuôi cấy trong môi trường DMEM glucose thấp có bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò và 1% kháng sinh-kháng nấm trong tủ ấm ở 37°C, 5% CO_2 .

2.9.2. Thử nghiệm đánh giá độc tính tế bào:

Độc tính tế bào được đánh giá bằng thử nghiệm MTT theo Kupesik [14]. Tế bào HepG2 được gieo vào đĩa 96 giếng với mật độ 1×10^4 tế bào/giếng trong 100 μ L môi trường nuôi cấy và ủ trong 24 giờ. Sau đó, tế bào được xử lý với 200 μ L môi trường chứa mẫu thử ở các nồng độ khảo sát trong 24 giờ. Môi trường nuôi cấy sau xử lý được loại bỏ, sau đó 100 μ L môi trường mới có chứa MTT (0,5 mg/mL) được thêm vào mỗi giếng và tiếp tục được ủ ở 37°C trong 4 giờ. Sau thời gian ủ, dung dịch chứa MTT được loại bỏ, tinh thể formazan được hòa tan bằng 100 μ L DMSO trong 15 phút. Độ hấp thụ được đo ở

bước sóng 570 nm và 630 nm. Mỗi nồng độ được bố trí trên 3 giếng lặp lại. Khả năng sống của tế bào được biểu thị bằng phần trăm so với nhóm chứng dung môi sau khi chuẩn hóa mẫu trắng, theo công thức:

$$\text{Khả năng sống của tế bào (\%)} = \frac{Abs_{mẫu} - Abs_{trắng}}{Abs_{chứng dung môi} - Abs_{trắng}} \times 100$$

Trong đó, $Abs_{mẫu}$ là độ hấp thụ của giếng tế bào được xử lý với mẫu thử, $Abs_{chứng dung môi}$ là độ hấp thụ của giếng tế bào được xử lý với DMSO 0,05% và $Abs_{trắng}$ là độ hấp thụ của giếng môi trường nuôi cấy tế bào.

2.9.3. Thử nghiệm đánh giá tác dụng bảo vệ tế bào gan trước độc tính do APAP gây ra:

Quy trình được thực hiện theo mô tả của Ribeiro và cs., Odeyemi và Dewar [15],[16] có sửa đổi như sau: Tế bào HepG2 được gieo vào đĩa 96 giếng với mật độ 1×10^4 tế bào/giếng và ủ trong 24 giờ. Sau đó, tế bào được tiền xử lý với mẫu thử ở các nồng độ khảo sát hoặc silymarin 100 μ g/mL trong 1 giờ. Sau giai đoạn tiền xử lý, tế bào tiếp tục được nuôi trong môi trường có chứa mẫu thử/silymarin ở nồng độ tương ứng và APAP 20 mM trong 24 giờ. Các nhóm tế bào thí nghiệm được xử lý với môi trường nuôi cấy, DMSO 0,45%, APAP, mẫu thử với APAP và silymarin với APAP. Silymarin 100 μ g/mL được sử dụng làm chứng dương trong thí nghiệm này nhằm đánh giá khả năng cải thiện tỷ lệ sống của tế bào HepG2 dưới tác động gây độc của APAP. Mỗi nồng độ được bố trí trên 3 giếng lặp lại. Khả năng sống của tế bào được xác định bằng thử nghiệm MTT như mô tả ở Mục 2.9.2.

2.10. Xử lý thống kê

Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD). Xử lý thống kê được thực hiện bằng phần mềm GraphPad Prism phiên bản 8.0.2 (GraphPad Software Inc., Hoa Kỳ). Sự khác biệt giữa các nhóm được so sánh bằng phân tích phương sai một yếu tố (One-way ANOVA) với hậu kiểm Tukey. Mọi tương quan giữa hàm lượng các nhóm chất và hoạt tính chống oxy hóa được đánh giá bằng hệ số tương quan Pearson (r). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Kết quả

3.1. Thành phần hóa thực vật của lá trà hoa đỏ (*C. longii*)

Bảng 1. Một số chỉ tiêu đánh giá nguyên liệu và các cao chiết từ lá trà hoa đỏ (*C. longii*)

Mẫu khảo sát	Độ ẩm (%)	Tro toàn phần (%)	Tro không tan trong HCl (%)
Bột	9,18 ± 0,42	4,85 ± 0,41	0,13 ± 0,06
Cao chiết	Độ ẩm (%)	Hiệu suất chiết chưa trừ ẩm (%)	Hiệu suất chiết đã trừ ẩm (%)
E96	9,97 ± 0,60	13,45	13,33
E70	13,34 ± 0,48	22,49	21,45
E45	12,45 ± 1,06	26,89	25,91
W	10,38 ± 0,56	14,40	14,21

Chú thích: Cao ethanol 96% (E96), cao ethanol 70% (E70), cao ethanol 45% (E45) và cao nước (W)

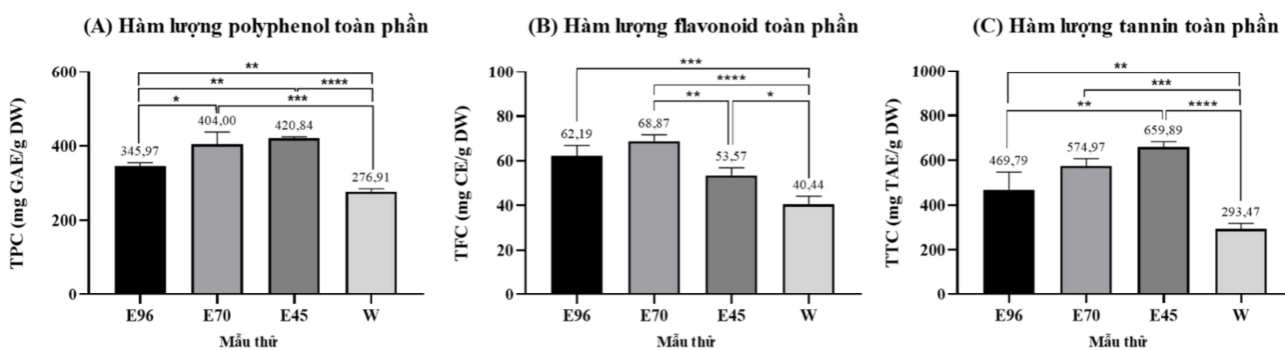
Bảng 1 cho thấy bột nguyên liệu lá trà hoa đỏ có độ ẩm 9,18%, tro toàn phần 4,85% và tro không tan trong HCl 0,13%. Hàm lượng tro không tan trong acid thấp cho thấy nguyên liệu ít lẫn tạp chất vô cơ không tan. Đối với các cao chiết, độ ẩm dao động từ 9,97% đến 13,34%, đạt yêu cầu của cao đặc. Hiệu suất chiết tăng theo thứ tự E96 < W < E70 < E45.

Kết quả định tính sơ bộ cho thấy các dịch chiết nước và ethanol từ lá trà hoa đỏ đều có sự hiện diện của flavonoid, tannin, saponin, hợp chất khử, anthraglycosid và hợp chất polyuronic. Anthocyanosid chỉ được phát hiện trong dịch chiết ethanol, trong khi carotenoid chỉ xuất hiện trong dịch chiết ether. Glycosid tim, proanthocyanidin, tinh bột và leucoanthocyanidin chưa được phát hiện trong điều kiện khảo sát. Đối với alkaloid, các phản ứng định tính trên các dịch chiết ether, ethanol và nước cho kết quả âm tính.

Hàm lượng polyphenol, flavonoid và tannin toàn phần của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ: Hàm lượng polyphenol toàn phần (TPC) của các cao chiết thay đổi theo dung môi chiết, theo thứ tự

E45 (420,84 ± 3,74 mg GAE/g DW) > E70 (404,00 ± 33,95 mg GAE/g DW) > E96 (346,00 ± 9,40 mg GAE/g DW) > W (276,91 ± 8,25 mg GAE/g DW) (Hình 1A). So với cao W, hàm lượng polyphenol toàn phần của các cao E45, E70 và E96 cao hơn lần lượt khoảng 1,52; 1,46 và 1,25 lần.

Tương tự, hàm lượng flavonoid toàn phần (TFC) của các cao chiết cũng thay đổi theo dung môi chiết, theo thứ tự E70 (68,87 ± 2,84 mg CE/g DW) > E96 (62,19 ± 4,75 mg CE/g DW) > E45 (53,57 ± 3,43 mg CE/g DW) > W (40,44 ± 3,73 mg CE/g DW) (Hình 1B). So với cao W, hàm lượng flavonoid toàn phần của các cao E70, E96 và E45 cao hơn lần lượt khoảng 1,70; 1,53 và 1,32 lần. Đối với hàm lượng tannin toàn phần (TTC), thứ tự hàm lượng giữa các cao chiết là E45 (659,89 ± 23,50 mg TAE/g DW) > E70 (575,00 ± 33,11 mg TAE/g DW) > E96 (469,80 ± 77,92 mg TAE/g DW) > W (293,47 ± 24,90 mg TAE/g DW) (Hình 1C). So với cao W, hàm lượng tannin toàn phần của các cao E45, E70 và E96 cao hơn lần lượt khoảng 2,25; 1,96 và 1,60 lần.



Hình 1. Hàm lượng các nhóm hợp chất trong các cao chiết từ lá trà hoa đỏ (*C. longii*). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ bằng phép kiểm Tukey

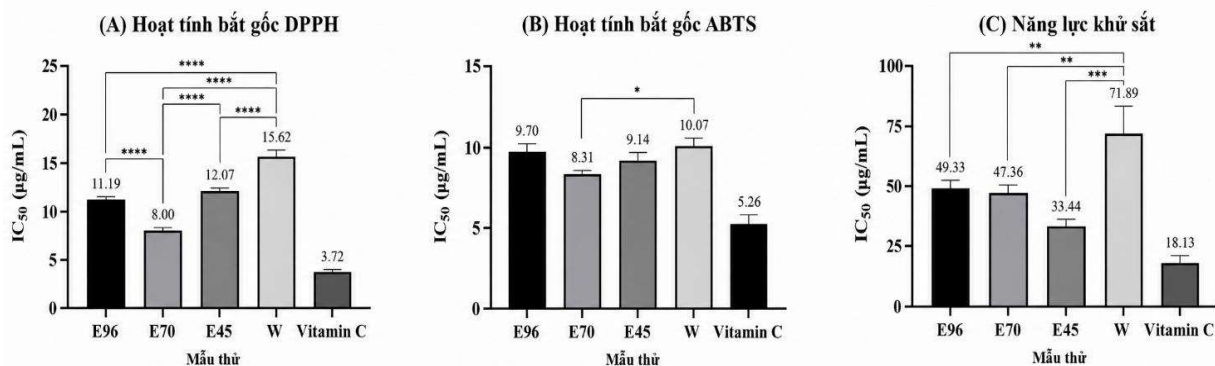
Các cao chiết từ lá trà hoa đỏ đều có chứa polyphenol, flavonoid và tannin; đồng thời, sự khác biệt về hàm lượng của các nhóm hợp chất này giữa các cao chiết gợi ý khả năng khác biệt tương ứng về hoạt tính kháng oxy hóa. Do đó, nghiên cứu tiếp tục đánh giá tác dụng chống oxy hóa của các cao chiết bằng các phép thử khác nhau và làm rõ mối liên hệ giữa thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các mẫu.

3.2. Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ

Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ được đánh giá đồng thời bằng 3 thử nghiệm bao gồm DPPH, ABTS và năng lực khử (Hình 2). Trong thử nghiệm DPPH, cao E70 có giá trị IC_{50} thấp nhất ($8,00 \pm 0,36 \mu\text{g/mL}$), trong khi cao W có giá trị IC_{50} cao nhất ($15,62 \pm 0,83$

$\mu\text{g/mL}$). Kết quả ghi nhận tương tự đối với thử nghiệm ABTS, cao E70 tiếp tục cho giá trị IC_{50} thấp nhất ($8,31 \pm 0,24 \mu\text{g/mL}$), còn cao W cho giá trị cao nhất ($10,07 \pm 0,55 \mu\text{g/mL}$). Xét theo giá trị IC_{50} , hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết giảm dần theo thứ tự $E70 > E45 > E96 > W$. Trong thử nghiệm năng lực khử, cao E45 cho giá trị EC_{50} thấp nhất ($33,44 \pm 3,30 \mu\text{g/mL}$), trong khi cao W cho giá trị cao nhất ($71,89 \pm 11,78 \mu\text{g/mL}$). Dựa trên giá trị EC_{50} , năng lực khử của các cao chiết giảm dần theo thứ tự $E45 > E70 > E96 > W$.

Nhìn chung, trong các cao chiết khảo sát, E70 nổi bật ở khả năng bắt gốc tự do DPPH và ABTS, trong khi E45 nổi bật ở năng lực khử. Cao chiết nước cho hoạt tính thấp nhất trong cả ba thử nghiệm.



Hình 2. Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ (*C. longii*) và vitamin C được thể hiện qua giá trị IC_{50} . * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$: So sánh giữa các cao chiết bằng phép kiểm Tukey

3.3. Tương quan giữa hàm lượng các nhóm chất và hoạt tính chống oxy hóa

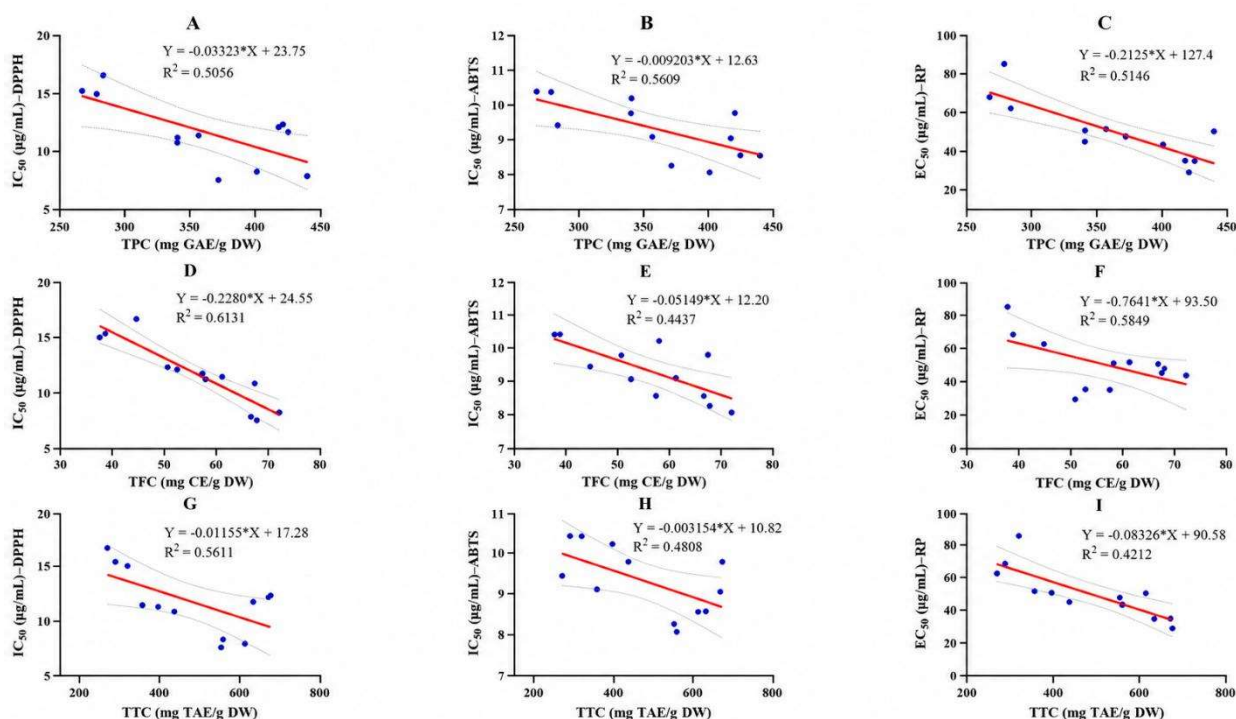
Mối tương quan giữa TPC, TFC, TTC và hoạt tính chống oxy hóa được trình bày ở Hình 3 và Hình 4. Các đồ thị hồi quy tuyến tính ở Hình 3 đều cho thấy xu hướng dốc âm giữa hàm lượng các nhóm chất và các giá trị IC_{50} DPPH, IC_{50} ABTS hoặc EC_{50} RP, cho thấy khi hàm lượng các nhóm chất tăng thì các chỉ số IC_{50} hoặc EC_{50} có xu hướng giảm.

Trong ba nhóm chất khảo sát, TFC cho mối tương quan nghịch mạnh nhất với IC_{50} DPPH, với $r = -0,92$ và $p < 0,0001$. TFC cũng tương quan nghịch có ý nghĩa với IC_{50} ABTS ($r = -0,73$ và $p = 0,007$), nhưng mối liên hệ với EC_{50} RP không đạt ý nghĩa thống kê. Trong khi đó, TPC

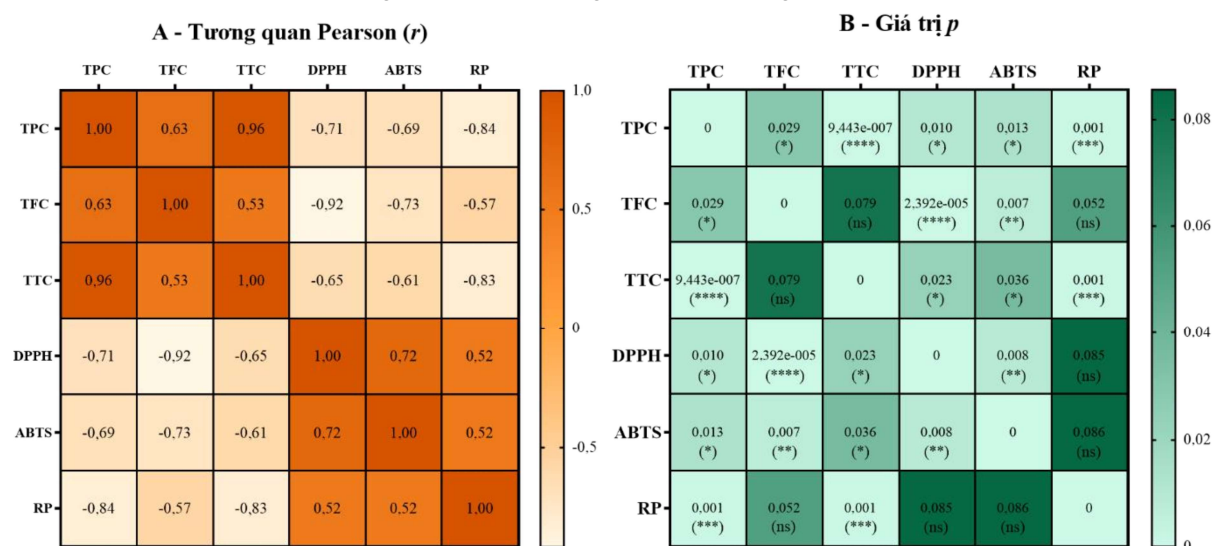
và TTC đều tương quan nghịch có ý nghĩa với cả ba chỉ số hoạt tính, trong đó mối liên hệ mạnh nhất được ghi nhận với EC_{50} RP, với r lần lượt là $-0,84$ và $-0,83$, $p = 0,001$.

Giữa các nhóm chất, TPC tương quan thuận rất mạnh với TTC, với $r = 0,96$ và $p < 0,0001$, đồng thời tương quan thuận mức vừa với TFC, với $r = 0,63$ và $p = 0,029$. Ngược lại, mối tương quan giữa TFC và TTC không đạt ý nghĩa thống kê.

Phân tích các kết quả hoạt tính giữa các thử nghiệm, IC_{50} DPPH tương quan thuận với IC_{50} ABTS ($r = 0,72$ và $p < 0,008$), trong khi mối liên hệ của kết quả trong thử nghiệm DPPH và ABTS với RP đều không có ý nghĩa thống kê.



Hình 3. Tương quan giữa hàm lượng các nhóm chất và hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ (*C. longii*). (A–C), (D–F) và (G–I) lần lượt là phương trình hồi quy tuyến tính giữa TPC, TFC và TTC với các giá trị IC_{50} của khả năng bắt gốc DPPH, ABTS và giá trị EC_{50} của năng lực khử



Hình 4. Ma trận nhiệt hệ số tương quan Pearson và giá trị p giữa hàm lượng các nhóm chất và các chỉ số hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ (*C. longii*). (A) Ma trận nhiệt hệ số tương quan Pearson; (B) Ma trận nhiệt giá trị p , * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$; ns: không có ý nghĩa thống kê

3.4. Ảnh hưởng của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ lên khả năng sống của tế bào HepG2

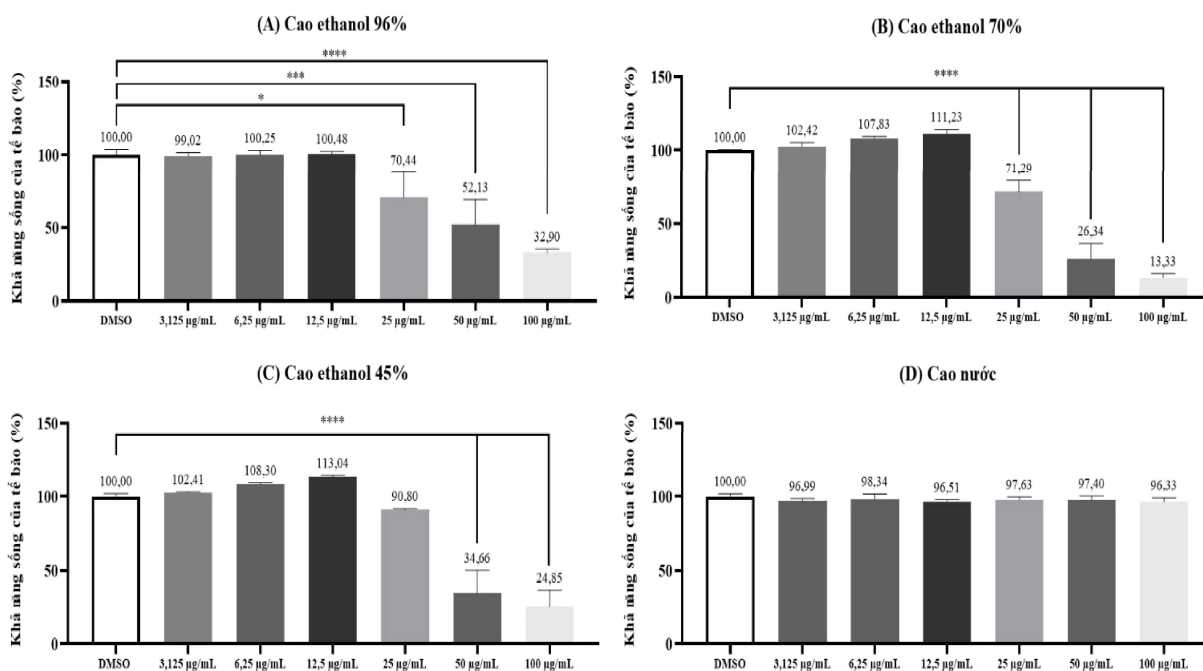
Ảnh hưởng của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ đến khả năng sống của tế bào HepG2 được trình bày ở Hình 5. Ở các nồng độ thấp (3,125 – 12,5 $\mu\text{g/mL}$), các cao chiết ethanol chưa làm thay đổi

đáng kể khả năng sống của tế bào so với nhóm chứng. Khi tăng nồng độ lên 25 $\mu\text{g/mL}$, cao E96 và E70 làm giảm có ý nghĩa thống kê tỷ lệ tế bào sống sót, lần lượt còn $70,44 \pm 17,59\%$ và $71,29 \pm 7,99\%$; trong khi đó, cao E45 chưa làm giảm tỷ lệ sống sót của tế bào ($90,80 \pm 0,96\%$). Ở nồng độ

50 và 100 µg/mL, cả 3 cao chiết ethanol đều làm giảm khả năng sống của tế bào, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chứng. Giá trị IC₅₀ của cao E96, E70 và E45 được xác định lần lượt là 55,82 µg/mL, 36,17 µg/mL và 45,95 µg/mL. Kết quả cho thấy cao E70 có độc tính tế bào HepG2 mạnh nhất, tiếp theo là cao E45, trong khi cao E96% thể hiện độc tính thấp hơn.

Từ kết quả này, cao E96, E70 và E45 ở nồng độ khảo sát từ 1,5625–12,5 µg/mL được chọn cho nghiên cứu khảo sát tác động của các cao

chiết lên khả năng sống của tế bào HepG2 trong mô hình gây độc tế bào bằng APAP. Bên cạnh đó, cao chiết nước không làm thay đổi có ý nghĩa thống kê khả năng sống của tế bào ở các nồng độ khảo sát, với phần trăm tế bào sống trên 95% so với nhóm chứng. Do đó, nồng độ khảo sát từ 12,5–100 µg/mL được chọn cho nghiên cứu khảo sát tác động của cao chiết nước lên khả năng sống của tế bào HepG2 trong mô hình gây độc tế bào bằng APAP.



Hình 5. Ảnh hưởng của các cao chiết lá trà hoa đỏ ở các nồng độ khảo sát lên khả năng sống của tế bào HepG2. Chỉ hiển thị các cặp so sánh với nhóm DMSO có ý nghĩa thống kê. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ bằng phép kiểm tra Tukey

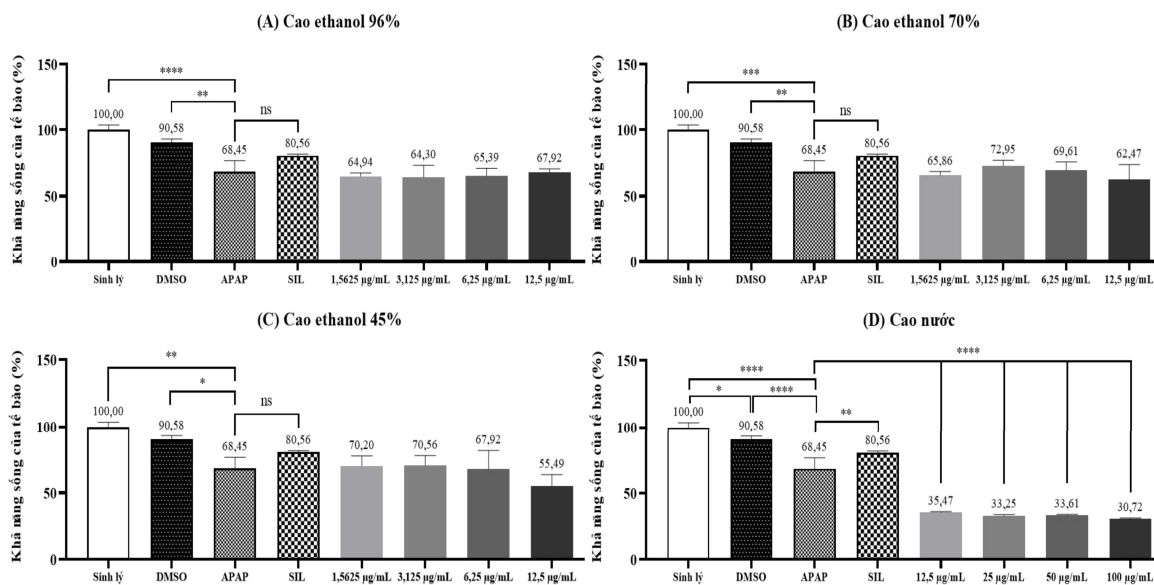
3.5. Tác động của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ lên khả năng sống của tế bào HepG2 dưới độc tính của APAP

Tác động của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ lên khả năng sống của tế bào HepG2 trong mô hình gây độc tế bào bằng APAP được trình bày ở Hình 6. Kết quả cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ tế bào sống giữa nhóm chứng dung môi ($90,58 \pm 2,63\%$) so với nhóm sinh lý ($100,00 \pm 3,64\%$). Trong khi đó, xử lý bằng APAP làm giảm khả năng sống của tế bào xuống còn $68,45 \pm 8,37\%$, khác biệt có ý nghĩa

thống kê so với chứng. Silymarin thể hiện khả năng cải thiện đáng kể tỷ lệ tế bào sống ($80,56 \pm 1,27\%$) trước độc tính của APAP.

Các cao chiết ethanol ở các nồng độ khảo sát từ 1,5625–12,5 µg/mL chưa thể hiện khả năng cải thiện tỷ lệ tế bào sống trước độc tính của APAP. Cao chiết nước làm giảm mạnh khả năng sống của tế bào ở các nồng độ khảo sát.

Nhìn chung, các cao chiết từ lá trà hoa đỏ không thể hiện tác dụng bảo vệ tế bào gan trong mô hình tế bào HepG2 gây tổn thương bởi APAP trong các điều kiện khảo sát của thử nghiệm.



Hình 6. Ảnh hưởng của các cao chiết từ lá trà hoa đỏ (*C. longii*) lên khả năng sống của tế bào HepG2 trong mô hình gây độc bởi APAP. APAP: Acetaminophen 20 mM; SIL: Silymarin 100 µg/mL. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$; ns: không có ý nghĩa thống kê bằng phép kiểm Tukey

4. Bàn luận

Kết quả hiệu suất chiết cao cho thấy hỗn hợp ethanol–nước là dung môi phù hợp hơn cho chiết xuất cao chiết từ lá trà hoa đỏ. Kết quả định tính sơ bộ cho thấy cao chiết nước và ethanol đều hiện diện flavonoid, tannin, saponin, chất khử, anthraglycosid và hợp chất polyuronic, trong khi carotenoid chỉ được ghi nhận ở dịch chiết diethyl ether. Sự phân bố này phù hợp với bản chất phân cực của từng nhóm chất. Phan và cs. cũng đã ghi nhận sự hiện diện của polyphenol, flavonoid, tannin và saponin trong các cao chiết lá *C. longii* [5]. Đối với định tính sơ bộ alkaloid, dịch chiết ether, ethanol và nước cho kết quả âm tính, điều này cũng chưa đủ cơ sở để loại trừ hoàn toàn sự hiện diện của nhóm chất này trong lá *C. longii* do chưa thực hiện quy trình chiết làm giàu alkaloid. Do đó, cần thực hiện quy trình xử lý mẫu chuyên biệt bằng dung môi hữu cơ thích hợp cho alkaloid, sau đó định tính bằng các thuốc thử đặc hiệu như Mayer, Dragendorff, ... nhằm xác định sự hiện diện của alkaloid.

Kết quả định lượng cho thấy cao chiết ethanol 45% có TPC và TTC cao nhất, cao ethanol 70% có TFC cao nhất, còn cao nước luôn có TPC, TFC và TTC thấp nhất, cho thấy sự ưu tiên thu hồi các nhóm cấu tử khác nhau bởi từng dung môi. Hiệu quả chiết các hợp chất phenolic đã được chứng minh phụ thuộc vào độ phân cực của dung môi do ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng

hòa tan và hồ sơ hóa học của dịch chiết [17],[18]. Các flavonoid trong thực vật có thể hiện diện ở cả dạng aglycon và glycosid, vì vậy thường được thu hồi tốt trong các hệ dung môi hydroalcoholic có độ phân cực trung gian [17]. Trong khi đó, tannin và một phần các hợp chất phenolic phân tử lớn, giàu nhóm hydroxyl, có xu hướng cần môi trường giàu nước hơn để được hydrat hóa và hòa tan; đồng thời, sự hiện diện của ethanol vẫn có vai trò hỗ trợ thâm vào mô thực vật và cải thiện hiệu quả chiết [19]. Vì vậy, ethanol 45% có thể thuận lợi hơn cho việc thu hồi tannin và một phần polyphenol phân cực hơn, còn ethanol 70% có thể ưu tiên hơn đối với một phần cấu tử liên quan đến flavonoid. Ở các loài *Camellia* khác như lá *C. quephongensis* và hoa *C. polyodonta*, thay đổi dung môi chiết xuất cũng dẫn đến sự khác biệt về thành phần phenolic và hoạt tính sinh học [20],[21].

TTC cao hơn TPC cho thấy *C. longii* có thể giàu các phân tử tannin đa chức. Thuốc thử Folin-Ciocalteu không chỉ phản ứng với polyphenol mà còn với bất kỳ chất khử nào (bao gồm cả một số tannin) nên sự chồng lấn (overlap) giữa TPC và TTC là điều tất yếu về mặt hóa lý. Trong chi *Camellia*, nhóm tannin ngưng tụ (condensed tannins/proanthocyanidins) là nhóm tannin phổ biến nhất, được cấu tạo từ các đơn vị flavan-3-ol (như catechin hoặc epicatechin) liên kết với nhau, nhờ mật độ nhóm -OH dày đặc,

nhóm tannin này có khả năng “bẫy” các gốc tự do mạnh thông qua việc cho nguyên tử hydro và tạo phức (chelate) với kim loại chuyển hóa (như Fe^{2+} , Cu^{2+}) tốt [19]. Đây là cơ sở để giải thích TPC và TTC trong nghiên cứu có tương quan mạnh hơn với năng lực khử (RP) so với TFC. Ngoài ra, dù ít được nhắc đến hơn so với catechin trong trà xanh thông thường, nhưng các tannin thủy phân (hydrolysable tannins) lại xuất hiện nhiều ở các loài trà rừng, trà hoa vàng, bao gồm các ellagitannin hoặc gallotannin. Do có khung đường và nhiều nhóm chức ester, các tannin thủy phân tan tốt trong các dung môi hydro-alcoholic (như ethanol 45%). Điều này lý giải cao E45 trong nghiên cứu này đạt hàm lượng TTC cao nhất.

Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết phản ánh khá rõ đặc điểm thành phần hóa học, với vai trò đã biết của flavonoid trong khả năng bắt gốc tự do nhờ cấu trúc giàu nhóm hydroxyl và khả năng cho proton hoặc electron [2], trong khi các hợp chất phenolic, đặc biệt là tannin, thường liên hệ chặt hơn với năng lực khử [20],[21]. Cao chiết ethanol 70% thể hiện hoạt tính bắt gốc tự do mạnh nhất trong hai thử nghiệm DPPH và ABTS, trong khi cao ethanol 45% thể hiện năng lực khử mạnh nhất. Theo cách phân loại hoạt tính chống oxy hóa dựa trên IC_{50} đã được dùng trong một số nghiên cứu, các mẫu có $\text{IC}_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ được xem là rất mạnh, $10 < \text{IC}_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ là mạnh, $50 < \text{IC}_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ là trung bình, $100 < \text{IC}_{50} < 250 \mu\text{g/mL}$ là yếu và $\text{IC}_{50} > 250 \mu\text{g/mL}$ được xem là không có hoạt tính [22]. Theo đó, cao ethanol 70% có hoạt tính rất mạnh trong cả thử nghiệm DPPH và ABTS; các cao ethanol 96%, 45% và nước có hoạt tính mạnh trong thử nghiệm DPPH; các cao ethanol đều có hoạt tính rất mạnh và cao nước có hoạt tính mạnh trong thử nghiệm ABTS. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu trước của Phan và cs. [5], trong đó cao chiết ethanol 70% từ lá *C. longii* cũng được ghi nhận có hoạt tính bắt gốc tự do DPPH với giá trị IC_{50} là $3,07 \mu\text{g/mL}$, trong khi giá trị IC_{50} của cao ethanol 70% trong nghiên cứu hiện tại là $8,00 \mu\text{g/mL}$. Sự khác biệt này có thể liên quan đến khác biệt về lô nguyên liệu, thời điểm thu hái, điều kiện sơ chế – bảo quản được liệu, quy trình chiết, cách chuẩn bị mẫu thử. Do đó, các giá trị IC_{50} giữa các nghiên cứu chỉ nên được đối chiếu theo hướng tham khảo, trong khi

xu hướng chung về tiềm năng chống oxy hóa mạnh của cao chiết ethanol 70% từ lá *C. longii* vẫn được ghi nhận nhất quán. Như vậy, kết quả của nghiên cứu này cũng góp phần củng cố thêm giá trị của loài *C. longii* trong chi *Camellia*.

Phân tích tương quan Pearson cho thấy mối liên hệ chặt chẽ giữa thành phần hóa học và hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết. Theo cách phân loại mức độ tương quan dựa trên trị tuyệt đối của hệ số r đã được sử dụng trong một số nghiên cứu [23], các giá trị từ 0,00–0,19 được xem là rất yếu, 0,20–0,39 là yếu, 0,40–0,59 là trung bình, 0,60–0,79 là mạnh và 0,80–1,00 là rất mạnh. Trên cơ sở đó, TPC tương quan nghịch có ý nghĩa với cả IC_{50} DPPH, IC_{50} ABTS và EC_{50} RP, trong khi TTC cũng cho xu hướng tương tự và đặc biệt liên hệ chặt hơn với EC_{50} RP, gợi ý vai trò nổi bật hơn của các hợp chất phenolic, đặc biệt là tannin, đối với năng lực cho electron của cao chiết. Trong số các nhóm chất khảo sát, TFC cho mối tương quan nghịch mạnh nhất với IC_{50} DPPH, cho thấy flavonoid có thể đóng góp nổi bật hơn vào khả năng bắt gốc tự do trong thử nghiệm này. Tuy nhiên, TFC không tương quan có ý nghĩa với EC_{50} RP, cho thấy vai trò của flavonoid không đồng đều giữa các thử nghiệm. Ngoài ra, TPC tương quan thuận rất mạnh với TTC và tương quan thuận có ý nghĩa với TFC, cho thấy các thành phần quy đổi theo acid tannic có thể đóng góp đáng kể vào dữ liệu phenolic của lá *C. longii*.

Ở điều kiện cơ bản, các cao chiết ethanol ở nồng độ cao thể hiện độc tính tế bào HepG2, trong khi cao nước không thể hiện độc tính ở các nồng độ khảo sát. HepG2 là tế bào ung thư, vốn có trạng thái stress oxy hóa nội bào cao hơn tế bào bình thường. Các polyphenol nồng độ cao có thể đóng vai trò là chất tiền oxy hóa (pro-oxidant), tạo ra ROS nội bào vượt ngưỡng chịu đựng của tế bào ung thư, gây rối loạn chức năng ty thể, dẫn đến chết tế bào [16]. Có thể giải thích là do các hợp chất flavonoid và tannin trong các cao ethanol *C. longii* thường có độ phân cực trung bình, cho phép các hợp chất này tương tác tốt hơn với lớp phospholipid kép của màng tế bào, gây xáo trộn tính toàn vẹn của màng (làm biến tính các protein màng tế bào, gây stress oxy hóa trên màng tế bào) hoặc kích hoạt các thụ thể gây chết tế bào (apoptosis) trên bề mặt tế bào ung thư [24].

Trong mô hình tế bào HepG2 gây độc bởi APAP, các cao chiết ethanol *C. longii* không cải thiện khả năng sống của tế bào so với nhóm APAP ở các nồng độ khảo sát. Đáng chú ý, mặc dù cao nước không thể hiện độc tính trên tế bào HepG2 ở điều kiện cơ bản, cao chiết này lại làm giảm mạnh khả năng sống của tế bào trong mô hình gây độc bởi APAP ở tất cả các nồng độ khảo sát. Acetaminophen gây độc cho gan thông qua chất chuyển hóa NAPQI (*N*-acetyl-*p*-benzoquinon imin), làm cạn kiệt glutathion (GSH) và gây tổn thương ty thể. Cao nước dù không độc ở điều kiện thường, nhưng có thể chứa các hợp chất (như saponin phân cực hoặc các polysaccharid nhất định) làm tăng tính thấm của màng ty thể hoặc ức chế các enzym sửa chữa tế bào. Ngoài ra, các flavonoid kém phân cực (vốn có khả năng đi vào tế bào để trung hòa NAPQI hoặc kích hoạt con đường Nrf2 - con đường bảo vệ gan) có thể đã không được thu hồi hiệu quả ở cao nước. Mặc dù các cao ethanol lá *C. longii* thể hiện độc tính tế bào HepG2 ở nồng độ cao, nghiên cứu cũng không ghi nhận khả năng bảo vệ tế bào của các cao chiết này trong mô hình gây độc bằng APAP. Điều này có thể được giải thích bởi một số cơ chế. Thứ nhất, các polyphenol và flavonoid có thể biểu hiện hiệu ứng hai pha (dual effect), trong đó ở nồng độ thấp có thể đóng vai trò chất chống oxy hóa, nhưng ở nồng độ cao lại chuyển sang vai trò tiền oxy hóa, làm gia tăng stress oxy hóa nội bào [25],[26]. Trong điều kiện thí nghiệm hiện tại, dải nồng độ sử dụng cho các cao ethanol có thể vẫn nằm gần ngưỡng gây độc, do đó làm che lấp hoặc đối kháng với bất kỳ tác dụng bảo vệ tiềm năng nào. Thứ hai, hoạt tính kháng oxy hóa trong các thử nghiệm hóa học không phản ánh đầy đủ khả năng bảo vệ tế bào, vì trong môi trường tế bào, hiệu quả còn phụ thuộc vào khả năng thấm qua màng, tích lũy nội bào và tương tác với các hệ thống sinh học như glutathion và enzym chống oxy hóa [27],[28]. Thứ ba, mô hình APAP liên quan đến cơ chế gây

độc đặc hiệu thông qua NAPQI, là một chất chuyển hóa trung gian của APAP có độc tính trên gan) và suy giảm GSH, do đó các chất chỉ có khả năng bắt gốc tự do đơn thuần có thể không đủ để bảo vệ tế bào nếu không tác động được lên các con đường chuyển hóa này. So với một số cao chiết thực vật giàu polyphenol đã được báo cáo có thể cải thiện rõ khả năng sống của HepG2 trong mô hình APAP [7],[15],[16], khả năng của các cao chiết *C. longii* trong nghiên cứu này còn hạn chế. Do đó, các nghiên cứu sâu rộng hơn liên quan đến thăm dò nồng độ, tối ưu hóa điều kiện thí nghiệm, đánh giá thêm các chỉ dấu chuyên sâu hơn như ROS nội bào, chức năng ty thể và apoptosis/hoại tử nên được thực hiện để làm rõ hơn tác động của cao chiết. Mặt khác, để làm rõ hơn cơ sở hóa học của các cao chiết liên quan đến hoạt tính sinh học, các nghiên cứu tiếp theo nên định danh thành phần của các cao chiết bằng các kỹ thuật như HPLC-DAD hoặc LC-MS/MS, từ đó xác định các hợp chất chính chịu trách nhiệm cho hoạt tính sinh học.

5. Kết luận

Lá trà hoa đỏ (*C. longii*) có chứa hàm lượng polyphenol, flavonoid và tannin tương đối cao; trong đó, cao ethanol 45% tối ưu cho việc thu hồi polyphenol và năng lực khử, trong khi cao ethanol 70% ưu thế về hàm lượng flavonoid và khả năng bắt gốc tự do (DPPH và ABTS). Mặc dù các cao chiết không thể hiện tác dụng bảo vệ tế bào HepG2 trước tổn thương do APAP, nhưng được ghi nhận độc tính tế bào phụ thuộc vào nồng độ. Kết quả này định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo về tiềm năng chống oxy hóa và kháng ung thư biểu mô tế bào gan của loài này.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng đã hỗ trợ kinh phí thực hiện với mã số đề tài GVTC19.61. Nhóm nghiên cứu cũng xin chân thành cảm ơn Trung tâm Sâm và Dược liệu TP. Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu đã tạo điều kiện phòng thí nghiệm và chuyên môn để thực hiện nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. Li S., Tan H. Y., Wang N., Zhang Z. J., Lao L., Wong C. W., Feng Y. (2015), The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases, *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 26087-26124.
2. Gajender, Mazumder A., Sharma A., Azad M. A. K. (2023), A comprehensive review of the pharmacological importance of dietary flavonoids as hepatoprotective agents, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicines*, 2023, 4139117.
3. Orel G., Wilson P. G., Truong H. L. (2014), *Camellia curryana* and *C. longii* spp. nov. (Theaceae) from Vietnam, *Nordic Journal of Botany*, 32, 42-50.

4. Tran T. H., Nguyen T. C., Dung V. C., Ngoc H. N., Nguyen D. K., Vu D. C., Van S. D., Nguyen Q. A. T., Nguyen T. H. D., Tham V. M., Dau X. D. (2023), Characterization and evaluation of the *in vitro* antioxidant, α -glucosidase inhibitory activities of *Camellia longii* Orel and Luu (Theaceae) flower essential oil and extracts from Vietnam, *Natural Product Communications*, 18(11), 1-8.
5. Phan D. T. A., Tran H. T., Le H. P., Khuong T. H., Ha H. T., Nguyen D. T., Nguyen G. T., Le M. V., Ly H. T. (2024), Exploring the Therapeutic potential of *Camellia longii* Orel & Luu leaf extracts for memory loss in Alzheimer's disease: Novel findings and functional food applications, *ACS Omega*, 9(27), 29651-29665.
6. Vu D. C., Nguyen T. H., Tran-Trung H., Tuan N. H., Nguyet N. T. (2024), Comparative analysis of pigments, phenolics, and bioactivities of three *Camellia* species growing in Vietnam, *Natural Product Communications*, 19(4), 1-8.
7. Liao J., Lu Q., Li Z., Li J., Zhao Q., Li J. (2023), Acetaminophen-induced liver injury: Molecular mechanism and treatments from natural products, *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1122632.
8. Ciulei I. Practical manuals on the industrial utilization of medicinal and aromatic plants. Vol. 1: Methodology for analysis of vegetable drugs. Bucharest: Faculty of Pharmacy; 1982. 1-67.
9. Lefahal M., Zaabat N., Ayad R., Makhloufi E. H., Djarri L., Benahmed M., Laouer H., Nieto G., Akkal S. (2018), *In vitro* assessment of total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and photoprotective activities of crude methanolic extract of aerial parts of *Capnophyllum peregrinum* (L.) Lange (Apiaceae) growing in Algeria, *Medicines*, 5(2), 26.
10. Attard E. (2013), A rapid microtitre plate Folin-Ciocalteu method for the assessment of polyphenols, *Open Life Sciences*, 8(1), 48-53.
11. Ly H. T., Nguyen T. T. H., Tran T. T. L., Lam B. T., Phung T. T. H., Le V. M. (2019), Hypoglycemic and antioxidant activities of *Clerodendrum inerme* leaf extract on streptozotocin-induced diabetic models in mice, *Chinese Herbal Medicines*, 11(4), 387-393.
12. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999), Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
13. Kizil G., Kizil M., Yavuz M., Emen S., Hakimoglu F. (2008), Antioxidant activities of ethanol extracts of *Hypericum triquetrifolium* and *Hypericum scabroides*, *Pharmaceutical Biology*, 46(4), 231-242.
14. Kupcsik L. (2011), Estimation of cell number based on metabolic activity: the MTT reduction assay. In: Stoddart MJ, editor. Mammalian cell viability: methods and protocols. 740. Totowa, NJ: Humana Press, p. 13-19.
15. Ribeiro G. d. S., Martins D. H. N., Gomes J. V. D., Fonseca-Bazzo Y. M., Silva J. C., Teles A. P., Bailão E. F. d. M., Melo-Reis P. R., Pimenta A. d. C. F., Toledo R. C. d., Silva F. R. d., Pereira H. A., Silva M. R. F. M., Valadares M. C., Lívero F. A. (2023), Hepatoprotective effects of four brazilian savanna species on acetaminophen-induced hepatotoxicity in HepG2 cells, *Plants*, 12(19), 3393.
16. Odeyemi S., Dewar J. (2019), Repression of acetaminophen-induced hepatotoxicity in HepG2 cells by polyphenolic compounds from *Lauridia tetragona* (L.f.) R.H. Archer, *Molecules*, 24(11), 2118.
17. Dai J., Mumper R. J. (2010), Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties, *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
18. Kaczorová D., Karalija E., Dahija S., Bešta-Gajević R., Parić A., Čavar Zeljković S. (2021), Influence of extraction solvent on the phenolic profile and bioactivity of two *Achillea* species, *Molecules*, 26(6), 1601.
19. Fraga-Corral M., García-Oliveira P., Pereira A. G., Lourenço-Lopes C., Jimenez-Lopez C., Prieto M. A., Simal-Gandara J. (2020), Technological application of tannin-based extracts, *Molecules*, 25(3), 614.
20. Nguyen T. H. D., Vu D. C., Nguyet N. T. M., Tran-Trung H., Nguyen L. L. P., Baranyai L. (2023), Evaluation of phenolics and bioactivities of *Camellia quephongensis* leaf extracts as affected by various extraction solvents, *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, 100914.
21. Xiang Z., Liu L., Xu Z., Kong Q., Feng S., Chen T., Zhou L., Yang H., Xiao Y., Ding C. (2024), Solvent effects on the phenolic compounds and antioxidant activity associated with *Camellia polyodonta* flower extracts, *ACS Omega*, 9(25), 27192-27203.
22. Phongpaichit S., Nikom J., Rungjindamai N., Sakayaroj J., Hutadilok-Tawatana N., Rukachaisirikul V., Kirtikara K. (2007), Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants, *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 51(3), 517-525.
23. Devaraj S., Paulraj S. (2015), An efficient feature subset selection algorithm for classification of multidimensional dataset, *The Scientific World Journal*, 2015(6), 1-9.
24. Moura de Melo L. F., Verônica Giuliani de Queiroz A.-M., da Silva A. P., Rocha H. A. O., Scortecchi K. C. (2023), Biological and pharmacological aspects of tannins and potential biotechnological applications, *Food Chemistry*, 414, 135645.
25. Bouayed J., Bohn T. (2010), Exogenous antioxidants-double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(4), 228-237.
26. Eghbaliferiz S., Iranshahi M. (2016), Prooxidant activity of polyphenols, flavonoids, anthocyanins and carotenoids: Updated review of mechanisms and catalyzing metals, *Phytotherapy Research*, 30(9), 1379-1391.
27. Wolfe K. L., Liu R. H. (2007), Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(22), 8896-8907.
28. Suraweera T. L., Rupasinghe H. P. V., Dellaire G., Xu Z. (2020), Regulation of Nrf2/ARE pathway by dietary flavonoids: A friend or foe for cancer management?, *Antioxidants*, 9(10), 973.