

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC VINH**

---



**NGUYỄN THỊ TÓ TRANG**

**KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ THỬ NGHIỆM HOẠT  
TÍNH SINH HỌC CỦA HAI LOÀI TRÀ HOA VÀNG PHÂN BỐ TẠI  
HUYỆN QUẾ PHONG, TỈNH NGHỆ AN**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC SINH HỌC**

**NGHỆ AN - 2022**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC VINH**

---

**NGUYỄN THỊ TỐ TRANG**

**KHẢO SÁT THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ THỬ NGHIỆM HOẠT  
TÍNH SINH HỌC CỦA HAI LOÀI TRÀ HOA VÀNG PHÂN BỐ TẠI  
HUYỆN QUẾ PHONG, TỈNH NGHỆ AN**

**Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm**

**Mã số: 8.42.01.14**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC SINH HỌC**

**Người hướng dẫn: TS. BS VŨ VĂN KHOA**

**TS. NGUYỄN THỊ GIANG AN**

**NGHỆ AN - 2022**

## *Lời cảm ơn*

Đầu tiên tôi xin chân thành gửi lời cảm ơn đến Ban giám hiệu, Phòng Đào tạo sau đại học, Lãnh đạo khoa cùng toàn thể quý thầy/ cô, cán bộ công nhân viên khoa Sinh học- Đại học Vinh đã cho tôi cơ hội, tạo điều kiện giúp đỡ tôi thực hiện đề tài nghiên cứu này. Đồng thời tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới trung tâm Thực hành Thí nghiệm, Thư viện Trường Đại học Vinh; phòng Thử nghiệm sinh học- Viện Công nghệ sinh học- Thuộc viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tận tình giúp đỡ và hỗ trợ để tôi hoàn thiện đề tài.

Để hoàn thành đề tài luận văn này, bên cạnh quá trình học tập, nghiên cứu, tìm tòi của bản thân, tôi đã được sự quan tâm giúp đỡ, hướng dẫn tận tình, chia sẻ kinh nghiệm quý báu, động viên tinh thần rất lớn của **TS. Nguyễn Thị Giang An** cùng với **TS.BS. Vũ Văn Khoa**. Qua đây tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành và sâu sắc đến cô và bác sĩ.

Tôi thật sự vô cùng biết ơn bố mẹ và gia đình đã luôn yêu thương, dõi theo và động viên tôi, là chỗ dựa vững chắc cho tôi.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn tới anh chị, bạn bè, đồng nghiệp đã luôn ở bên động viên, yêu thương và ủng hộ tôi những lúc khó khăn, để tôi hoàn thành tốt luận văn này.

Tôi xin chân thành cảm ơn!

Nghệ An, tháng 7 năm 2022

Học viên

**Nguyễn Thị Tố Trang**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi tên: **Nguyễn Thị Tố Trang**, là học viên chuyên ngành Sinh học Thực Nghiệm khóa K28 Trường Đại học Vinh, xin cam đoan:

1. Đây là luận văn do tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Thị Giang An và TS.BS Vũ Văn Khoa.
2. Luận văn này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã công bố trước đó tại Việt Nam.
3. Các số liệu, hình ảnh trong nghiên cứu là chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nghiên cứu.

Tôi xin chịu hoàn toàn trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

*Nghệ An, ngày 28 tháng 7 năm 2022*

Người viết cam đoan

*(Ký và ghi rõ họ tên)*

Nguyễn Thị Tố Trang

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT

Ký hiệu, chữ viết tắt	Tên đầy đủ
<b>DMSO</b>	Dimethyl sulfoxide
<b>DMEM</b>	Dulbecco's modified Eagle's medium
<b>ED50</b>	Liều có hiệu quả với 50% trên tế bào động vật thí nghiệm
<b>ETE</b>	Ether dầu hỏa
<b>FBS</b>	Fetal Bovine Serum
<b>HDL</b>	High density lipoprotein cholesterol
<b>HQP</b>	Hoa Trà hoa vàng Quế Phong
<b>HPH</b>	Hoa Trà hoa vàng Pù Hoạt
<b>IC50</b>	Liều ức chế 50% tế bào động vật thí nghiệm
<b>LB</b>	Lysogeny Broth (môi trường nuôi cấy VSV)
<b>LDL</b>	Low density lipoprotein cholesterol
<b>LQP</b>	Lá Trà hoa vàng Quế Phong
<b>LPH</b>	Lá Trà hoa vàng Pù Hoạt
<b>MIC</b>	Nồng độ ức chế tối thiểu
<b>MTT</b>	3[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-phenyltetrazole Brom
<b>OCOP</b>	Chương trình “ mỗi xã một sản phẩm”
<b>OD</b>	Mật độ quang
<b>SRB</b>	Sulforhodamine
<b>TBUT</b>	Tế bào ung thư
<b>P.ư</b>	Phản ứng
<b>VSVKD</b>	Vi sinh vật kiểm định
<b>VQG</b>	Vườn quốc gia

## MỤC LỤC

<b>ĐẶT VẤN ĐỀ</b> .....	1
<b>CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN</b> .....	4
<b>1.1. KHÁI QUÁT VỀ CÂY TRÀ HOA VÀNG</b> .....	4
1.1.1. Tên gọi.....	4
1.1.2. Phân loại khoa học.....	4
1.1.3. Đặc điểm.....	4
<b>1.2. THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TRÀ HOA VÀNG</b> .....	11
<b>1.3. TÁC DỤNG DƯỢC LÝ VÀ CÔNG DỤNG CỦA TRÀ HOA VÀNG</b> .....	17
1.3.1. Các tác dụng dược lý của Trà hoa vàng .....	17
1.3.2. Khả năng kháng oxy hoá, ung thư và vi sinh vật của các hợp chất thiên nhiên .....	23
1.3.3. Khả năng kháng vi sinh vật từ hợp chất thiên nhiên .....	31
<b>1.4. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VỀ TRÀ HOA VÀNG TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC</b> .....	32
1.4.1. Ngoài nước .....	32
1.4.2. Trong nước .....	33
<b>CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</b> .....	39
<b>2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU</b> .....	39
2.1.1. Nguyên liệu.....	39
2.1.2. Tế bào thử nghiệm.....	39
2.1.3. Các chủng vi sinh vật kiểm định .....	39
2.1.4. Một số thiết bị và hóa chất được sử dụng trong đề tài .....	40
<b>2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU</b> .....	41
2.2.1 Phương pháp thu hái mẫu .....	41
2.2.2 Chiết xuất cao toàn phần trà hoa vàng.....	42
2.2.3. Phương pháp định tính các nhóm chất hóa học.....	43
2.2.4. Phép thử sinh học xác định tính độc tế bào (cytotoxic assay).....	46

2.2.5. Phương pháp chống oxi hoá (MDA) .....	47
2.2.6. Phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định.....	48
2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu .....	48
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN.....</b>	<b>49</b>
<b>3.1. CHIẾT CAO TỔNG CỦA TRÀ HOA VÀNG.....</b>	<b>49</b>
<b>3.2. KHẢO SÁT MỘT SỐ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CƠ BẢN CÓ TRONG LÁ VÀ HOA CÂY TRÀ HOA VÀNG .....</b>	<b>50</b>
3.2.1. Kết quả sàng lọc nhóm flavonoid.....	50
3.2.2. Kết quả sàng lọc nhóm coumarin .....	52
3.2.3. Kết quả sàng lọc nhóm tanin .....	53
3.2.4. Kết quả sàng lọc nhóm saponin.....	55
3.2.5. Kết quả sàng lọc nhóm đường khử.....	57
3.2.6. Kết quả sàng lọc nhóm polysaccharide .....	58
3.2.7. Kết quả sàng lọc nhóm acid amin.....	60
3.2.8. Kết quả sàng lọc nhóm alcaloid.....	61
<b>3.3. KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH SINH HỌC.....</b>	<b>64</b>
3.3.1. Kết quả thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa peroxy hóa lipid .....	64
3.3.2. Kết quả thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư .....	67
3.3.3. Kết quả sàng lọc hoạt tính kháng vi sinh vật của dịch chiết trà hoa vàng .....	79
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>83</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>85</b>

## DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1: Danh mục các loài <i>Camellia</i> có hoa vàng ở Việt Nam.....	9
Bảng 1.2: Tác dụng sinh học của một số loài Trà hoa vàng.....	17
Bảng 1.3: Tác dụng chất chính có trong trà hoa vàng và tác dụng sinh học .....	18
Bảng 1.4: Các thuốc điều trị ung thư có nguồn gốc từ thực vật được thương mại hóa.....	28
Bảng 3.1: Hiệu suất chiết cao cồn của mẫu chiết trà hoa vàng .....	49
Bảng 3.2: Kết quả sàng lọc nhóm flavonoid mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học .....	50
Bảng 3.3: Kết quả sàng lọc nhóm coumarin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học .....	52
Bảng 3.4: Kết quả sàng lọc nhóm tanin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học.....	54
Bảng 3.5: Kết quả sàng lọc nhóm saponin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học .....	56
Bảng 3.6: Kết quả sàng lọc nhóm đường khử mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học .....	57
Bảng 3.7: Kết quả sàng lọc nhóm polysaccharide mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học .....	59
Bảng 3.8: Kết quả sàng lọc nhóm acid amin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học .....	61
Bảng 3.9: Kết quả sàng lọc nhóm alcaloid mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học .....	63
Bảng 3.10: Bảng kết quả tổng hợp sàng lọc các nhóm chất có trong trà hoa vàng phân bố Nghệ An .....	64
Bảng 3.11: Hoạt tính chống peroxy hóa của các mẫu nghiên cứu lá và hoa loài trà hoa vàng ở Nghệ An.....	66
Bảng 3.12: Khả năng gây độc tế bào của dịch chiết HQP trên các dòng tế bào	67
Bảng 3.13: Khả năng gây độc tế bào của dịch chiết LQP trên các dòng tế bào.	70

Bảng 3.14: Khả năng gây độc tế bào của dịch chiết HPH trên các dòng tế bào	73
Bảng 3.15: Khả năng gây độc tế bào ung thư của các mẫu dịch chiết LPH .....	75
Bảng 3.16: Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật gram dương của dịch .....	79
Bảng 3.17: Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật gram âm của dịch chiết trà hoa vàng .....	80
Bảng 3.18: Kết quả thử hoạt tính kháng nấm của dịch chiết trà hoa vàng .....	81

**DANH MỤC HÌNH**

Hình 1.1: Trà hoa vàng ( <i>Camellia quephongensis</i> ) tại Nghệ An .....	5
Hình 1.2: Trà hoa vàng ( <i>Camellia puhoatensis</i> ) tại Nghệ An.....	5
Hình 3.1: Hình ảnh sàng lọc flavonoid mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm.....	51
Hình 3.2: Hình ảnh sàng lọc coumarin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm.....	53
Hình 3.3: Hình ảnh định tính tanin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm.....	55
Hình 3.4: Hình ảnh sàng lọc saponin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm.....	57
Hình 3.5: Hình ảnh sàng lọc đường khử mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm. ....	58
Hình 3.6: Hình ảnh sàng lọc polysaccharide mẫu trà hoa vàng nghiên cứu trong ống nghiệm .....	60
Hình 3.7: Hình ảnh sàng lọc acid amin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm.....	61
Hình 3.8: Hình ảnh sàng lọc alcaloid mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm.....	62
Hình 3.9: Hình ảnh các tế bào ung thư bị ức chế bởi dịch chiết HQP .....	69
Hình 3.10: Hình ảnh các tế bào ung thư bị ức chế bởi dịch chiết LQP.....	72
Hình 3.11: Hình ảnh các tế bào ung thư bị ức chế bởi dịch chiết HPH .....	74
Hình 3.12: Hình ảnh tế bào bị ức chế bởi dịch chiết LPH .....	77

## ĐẶT VẤN ĐỀ

### LÝ DO CHỌN ĐỀ TÀI

Trà hoa vàng được phát hiện đầu tiên ở Quảng Tây, Trung Quốc vào những năm 60 của thế kỷ XX, và sau đó nó nhanh chóng nhận được sự quan tâm của nhiều nhà khoa học [11], [31]. Trà hoa vàng (*Yellow Camellia*) là tên gọi chung cho các loài có hoa màu vàng, thuộc chi Trà (*Camellia*), họ Chè (*Theaceae*).

Loài trà hoa vàng là một trong số 48 loài thuộc chi *Camellia* đã được ghi nhận ở Việt Nam và là một trong hơn 300 loài trà hoa vàng quý hiếm phân bố ở nhiều nơi trên thế giới. Chi *Camellia* ở Trung Quốc có khoảng 30 loài trà hoa vàng. Trung Quốc được xem như là trung tâm phát sinh của các loài trà hoa vàng [41]. Đây là loài rất được quan tâm nghiên cứu vì không chỉ có giá trị về khoa học mà còn có giá trị rất lớn về kinh tế và y học hiện đại.

Nhiều loài trà hoa vàng ở Trung Quốc được dùng làm thuốc bởi tác dụng bảo vệ gan, thải độc, hạ cholesterol máu, chống béo phì, tốt cho hệ tim mạch, giúp cho tâm trí tỉnh táo và tăng cường sinh lực... Trong số các loài Trà hoa vàng ở quốc gia này, có loài *Camellia nitidissima* được coi là cây thuốc đặc biệt quý giá, nên có tên gọi là “*Kim hoa trà*” (*Golden Camellia*) [25], [38].

Theo Tạp chí chuyên nghiên cứu về trà của thế giới "*Camellia International Journal*", hợp chất của chè hoa vàng có thể kiềm chế sự sinh trưởng của các khối u lên đến 33,8%; giúp giảm đến 35% hàm lượng cholesterol trong máu, trong khi đó dùng các loại thuốc khác thì mức độ giảm tối đa là 33,2% [65]. Các nghiên cứu về thành phần hóa học và dược tính của nhiều loài Trà hoa vàng đã cho thấy: Thành phần của trà hoa vàng có các chất khác nhau thuộc 13 nhóm chất, trong đó, các thành phần quan trọng nhất liên quan đến các nhóm chất có tác dụng là saponin, polysaccharide, polyphenol, flavonoid [13]. Các công trình nghiên cứu khác cũng cho thấy hoa của trà hoa vàng có tác dụng giúp giảm triệu chứng xơ vữa động mạch do máu nhiễm mỡ, điều hòa huyết áp, hạ đường huyết; chữa

kiết ly, đại tiện ra máu... Lá cây chè hoa vàng có thể uống để điều chỉnh các hàm lượng chất béo trong cơ thể, đường trong máu, giải độc gan và thận [65].

Tiến sỹ John Welsburger là thành viên cao cấp của tổ chức sức khỏe Hoa Kỳ cho biết các thành phần chứa trong cây trà hoa vàng có khả năng làm giảm nguy cơ mắc một số bệnh mãn tính như đột quỵ, suy tim và ung thư [10]. Các nghiên cứu ở Hà Lan, những người uống 4 - 5 tách trà từ lá, hoa của cây Trà hoa vàng hàng ngày giúp giảm 70% nguy cơ đột quỵ so với những người khác uống 2 tách hoặc ít hơn [12].

Vào năm 2013, một số nhà khoa học Việt Nam và Nhật Bản do giáo sư Hakoda phối hợp với PGS,TS Trần Ninh đã đến khảo sát tại Nghệ An và phát hiện ra loài trà hoa vàng sau đó đặt tên theo địa phương là *Camellia quephongensis* (Hakoda et Ninh). Đến năm 2020 Nguyễn Danh Hùng và cộng sự đã phát hiện thêm một loài trà hoa vàng ở vườn Quốc Gia Pù Hoạt và đặt tên là *Camellia puhoatensis* [28], [44]. Tuy nhiên, đến nay chưa có một công trình khoa học nào công bố về giá trị dược học của các loài trà hoa vàng này. Vì vậy, để có những dẫn liệu về thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của trà hoa vàng thu hái tại Nghệ An chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “**Khảo sát thành phần hoá học và thử nghiệm hoạt tính sinh học của hai loài trà hoa vàng phân bố tại huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An**”.

## **MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU**

### **Mục tiêu tổng quát:**

Xác định một số thành phần hoá học cơ bản và thử nghiệm một số hoạt tính sinh học của hai loài trà hoa vàng thu hái tại huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An.

### **Mục tiêu cụ thể:**

Xác định hiệu suất chiết từ lá và hoa của 2 loài trà hoa vàng *Camellia quephongensis* và *Camellia puhoatensis* trong ethanol 70%.

Khảo sát một số thành phần hóa học cơ bản có trong hai loài trà hoa vàng *Camellia quephongensis* và *Camellia puhoatensis* phân bố tại huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An.

Xác định hoạt tính kháng oxy hóa, kháng khuẩn và kháng tế bào ung thư có trong dịch chiết lá và hoa trà hoa vàng thu hái tại Nghệ An.

### **Nội dung nghiên cứu**

**Nội dung 1.** Chiết dịch trà từ hoa và lá của 2 loài trà hoa vàng *C. quephongensis* và *C. puhoatensis* trong dung môi ethanol 70%.

**Nội dung 2.** Sàng lọc một số chất hóa học có trong trà hoa vàng *C. quephongensis* và *C. puhoatensis*.

**Nội dung 3.** Thử nghiệm hoạt tính sinh học có trong dịch chiết trà hoa vàng;

- + Thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa peroxy hóa lipid
- + Thử nghiệm hoạt tính gây độc trên 7 dòng tế bào ung thư
- + Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn của dịch chiết trà hoa vàng.

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

### 1.1. KHÁI QUÁT VỀ CÂY TRÀ HOA VÀNG

#### 1.1.1. Tên gọi

Tên gọi : Trà hoa vàng

Tên khoa học là: *Camellia petelotii* (Merr.) J.R. Sealy [69].

Các tên gọi khác là: Trà rừng, kim hoa trà, trà trường thọ...[41], [49].

#### 1.1.2. Phân loại khoa học

Dựa vào hệ thống phân loại thực vật của Takhtajan (2009), vị trí phân loại của trà hoa vàng *Camellia*.L [53]. có thể được tóm tắt như sau:

Giới: Thực vật (Plantae)

Ngành: Ngọc lan (Magnoliophyta).

Lớp: Ngọc lan (Magnoliopsida)

Phân lớp: Sỏ (Dilleniidae)

Bộ: Chè (Theales)

Họ: Chè (Theaceae) .

Chi chè *Camellia*

#### 1.1.3. Đặc điểm

##### 1.1.3.1 Mô tả hình thái

Trà hoa vàng được tìm thấy tại các tỉnh trung du và miền núi phía Bắc như: Bắc Giang, Lào Cai, Nghệ An...Trà hoa vàng ở Nghệ An, qua thu mẫu các mẫu trà hoa vàng tại các tuyến nghiên cứu cho thấy, đặc điểm hình thái loài trà hoa vàng ở huyện Quế Phong có một số điểm sau:



**Hình 1.1: Trà hoa vàng (*Camellia quephongensis*) tại Nghệ An**



**Hình 1.2: Trà hoa vàng (*Camellia puhoatensis*) tại Nghệ An**

Loài trà hoa vàng ở Quế Phong (*Camellia quephongensis*) phân bố chủ yếu ở xã Đồng Văn, có đặc điểm là cây bụi, gỗ nhỏ cao 2-4 m, lá hình trái xoan thuôn dài, hoặc hình trứng ngược, đầu lá nhọn, đuôi lá gập tròn, lá có chiều dài từ 10–18 cm, chiều rộng từ 3–6 cm, lá đơn mọc cách không có lá kèm, cuống lá ngắn từ 0,5–1 cm, mép lá có hình răng cưa, có màu xanh đậm, phiến lá không phủ lông. Hệ gân lá song song, nổi rõ ở 2 mặt, có từ 15–18 đôi gân, các gân phụ mờ, hợp mép, cành non, lá non màu tím nhạt; hoa đơn độc đầu cành, đường kính góc của thân từ 4-7 cm Thân cây thường có màu

nâu xám, đến nâu xanh. Đặc trưng trên vỏ thân thường có những vết loang màu trắng giống như nhiều loài thuộc họ Chè (Theaceae) [17]. Các cành trên thân thường có sự phân cành sớm, tạo cho cây có đường kính tán khá lớn từ 2–3 m. Tán cây tự nhiên thường có hình gần tròn. Cành đường kính 1–2 cm, các cành già có màu nâu đen, những cành non có màu nâu đỏ; Hoa của trà hoa vàng là hoa lưỡng tính mẫu 5, có 5 đài hoa màu xanh vàng, 10 cánh tràng màu vàng tươi và nhiều nhị màu vàng. Hoa có đường kính 4–6 cm, mọc ở nách lá hoặc đầu cành, hoa nở thường duy trì được 8–10 ngày, mùa hoa bắt đầu từ tháng 10 đến tháng 1 năm sau; quả chưa thấy. Tại Nghệ An, loài này được phát hiện tại các vành đai thấp từ 50-100 m so với mực nước biển, phân bố ở sinh cảnh ven sông suối.

Loài thứ hai là trà hoa vàng ở Pù Hoạt (*C. puhoatensis*) có đặc điểm là cây bụi hoặc gỗ nhỏ, cao 4- 6 m, cành non có lông; lá hình bầu dục đến mũi mác, rộng 3- 5 cm, dài 11-15 cm; hoa đơn độc đầu cành có đường kính 8-9 cm, cánh hoa màu trắng và vàng nhạt; quả hình cầu rộng 3,5- 4 cm, có lá bắc tồn tại, có lông, quả mở 3 ô, trụ giữa tiêu giảm, mỗi ô 1-2 (3) hạt; hạt hình nêm, hình bán cầu, cao 1,6- 1,9 cm, rộng 1,1- 1,4 cm, nhẵn. Phân bố ở độ cao khoảng 700 m [28].

### 1.1.3.2. Sinh thái

Theo nghiên cứu của Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam và Trường Đại học Lâm nghiệp thì cây trà hoa vàng sinh trưởng tốt nhất trong môi trường tự nhiên với các điều kiện sau:

- Nhiệt độ trung bình năm: 20,1°C - 23,4°C
- Lượng mưa trung bình năm: 1.560 mm – 2.594 mm
- Đất trồng: đất cát pha, đất thịt nhẹ đến đất thịt trung bình, đất chua hoặc hơi chua, đất màu nâu, nâu xám hoặc xám đen, đất bề mặt tơi xốp, đất có độ ẩm cao phân bố ở thung lũng, ven khe suối, nơi có độ cao từ 200- 500 m so với mực nước biển. Khả năng tái sinh bằng chồi cao hơn gieo bằng hạt.

- Trà hoa vàng ưa sống dưới tán rừng thấp, rừng thứ sinh có chiều cao trung bình là 10-15 m có độ tàn che 0,55-0,7, thường đi cùng các loài cây gỗ chân chim, ba bét, máu chó, vàng anh, chẹo, kháo... [9], [68].

Điều kiện khí hậu ở Quế phong, tỉnh Nghệ An rất thích hợp cho trà hoa vàng phát triển với độ cao trên 500 m so mực nước biển, nhiệt độ trung bình 22 đến 24°C, Độ ẩm không khí bình quân 84%, tháng khô nhất 18%. Lượng bốc hơi bình quân 638 mm, tháng cao nhất 82 mm (tháng 4,6) tháng thấp nhất 22 mm (tháng 12 đến tháng 2). Lượng mưa trung bình trong năm là 1.800 mm và phân bố theo mùa. Mùa mưa từ tháng 5 và kết thúc vào tháng 10, lượng mưa tập trung 70 đến 90% lượng mưa cả năm. Mùa khô từ tháng 11 đến tháng 4 năm sau, số ngày mưa trên 190 ngày/năm [17].

Dân cư trên đại bàn có các dân tộc sinh sống như: Kinh, Thái, Mông, Khơ mú. Nhóm dân tộc Kinh, Thái chiếm chủ yếu với 10.498 người, chiếm tới 96,1% dân số. Nhóm đồng bào Mông, Khơ mú với 426 người chiếm 3,9% dân số. Người dân sinh sống chủ yếu ở vùng sâu, vùng cao, nơi gần rừng, có nguồn nước nhưng đường giao thông đi lại rất khó khăn. Nương rẫy là nguồn sống chính, ngoài ra còn kết hợp chăn nuôi và thu lượm sản phẩm sẵn có trong rừng. Từ đó cho thấy rằng mức độ khai thác và sử dụng trà hoa vàng là rất lớn [17].

### **1.1.3.3. Tính đa dạng sinh học và phân bố**

#### ***a. Trên thế giới***

Năm 1964, một loài Trà có hoa màu vàng được các nhà thực vật Trung Quốc phát hiện ở Quảng Tây là loài *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama. Việc phát hiện ra loài Trà hoa vàng ở Quảng Tây đã gây sự chú ý của nhiều nhà thực vật, nhất là các nhà lai tạo giống cây cảnh ở các nước phương tây. Kể từ đó đến nay, việc nghiên cứu trà ở Trung Quốc được đặc biệt chú ý. Theo Trương Hồng Đạt (1998), chuyên gia nổi tiếng của Trung Quốc cũng như của thế giới, số loài tìm thấy ở Trung Quốc đã lên tới 238 loài [14].

Chi *Camellia* có khoảng 280 loài, phân bố chủ yếu ở nhiệt đới và á nhiệt đới, có nguồn gốc ở khu vực miền Đông và miền Nam châu Á, từ phía Đông dãy Himalaya tới Nhật Bản và Indonesia.

Ở Trung Quốc, các loài *Camellia* đã được quan tâm bảo tồn và phát triển từ khá sớm. Đến nay có nhiều trung tâm bảo tồn và nghiên cứu phát triển Trà, trong đó có Trà hoa vàng. Vườn ngân hàng gen *Camellia* Nam Ninh là nơi lưu giữ bộ sưu tập lớn nhất Trà hoa vàng (*Camellia chrysantha*.M.Sealy) trên thế giới. Lưu giữ hơn 20 loài *Camellia* và 15 thứ trà hoa vàng (*Camellia chrysantha*) nhằm bảo tồn, nghiên cứu, lai tạo giống và nghiên cứu về trồng trọt. Có 3.000 cá thể được lưu giữ, từ đó tạo ra 7.000 dòng lai từ cây bố mẹ là Trà hoa vàng (*Camellia chrysantha* M.Sealy) và các loài khác trong chi *Camellia* L. Có 6 loài trong bộ sưu tập được thu từ Việt Nam, gồm: *C. chrysantha* M.Sealy, *C. ptilosperma* S. Ye Liang & Q. T. Chen, *C. tunghinensis* H.T. Chang, *C. murauchii* Ninh & Hakoda, *C. impressinervis* Hung T. Chang & S. Ye Liang và *C. amplexicaulis* (Pitard) Cohen-Stuart. Ngoài ra, còn nhiều vườn khác lưu giữ các loài và giống *Camellia*, bao gồm: Guilin Botanic Garden Yanshan - Quảng Tây (20 loài); The Jinhua International *Camellia* Species Garden - Chiết Giang (25 loài); The Fangcheng Golden *Camellia* Nature Reserve and Gene Bank - Quảng Tây (28 loài và giống Trà hoa vàng); Kunming Institute of Botany - Vân Nam (25 loài, trong đó có 8 loài từ Việt Nam), bao gồm: *C. crassiphylla* Ninh & Hakoda; *C. cucphuongensis* Ninh & Rosmann; *C. hakodae*. M.Sealy; *C.rosmannii* Ninh; *C. vidalii* J.C.Rosmann; *C. dongnaiensis* Orel; *C. luteocerata* Orel; *C. inusitata* Orel Curry&Luu [12].

### ***b. Ở Việt Nam***

Cây Trà hoa vàng được tìm thấy ở một số tỉnh của nước ta thường phân bố trong các khu rừng thứ sinh, xen giữa các nương rẫy, ở một số địa hình dốc, nhiều đá lộ đầu, ven khe suối.

Có khoảng 280 loài, phân bố chủ yếu ở Nhiệt đới và Á nhiệt đới như Ấn Độ, Trung Quốc, Việt Nam, Thổ Nhĩ Kỳ, Brazil, Australia,... Ở Việt Nam đã bắt gặp 58 loài *Camellia* [12], trong đó có hơn 40 loài có hoa màu vàng, tập trung ở khu vực phía Bắc (Thái Nguyên, Vĩnh Phúc, Quảng Ninh,...) và phía Nam ở một số tỉnh như Lâm Đồng, Đồng Nai,...

Năm 1910 nhà thực vật học người Pháp tên là B. Balansa thu được mẫu trà có hoa màu vàng đầu tiên tại vùng núi Ba Vì (Hà Nội). Dựa trên mẫu này, Pitard đặt tên là *Thea tonkinensis*, về sau được đổi thành *Camellia tonkinensis*. Sau đó, hai loài Trà hoa vàng khác tiếp tục được các nhà thực vật người Pháp phát hiện có ở Việt Nam. Tuy nhiên, những phát hiện này không được các nhà thực vật quan tâm [14].

Trà hoa vàng ở Việt Nam phân bố ở 3 vùng chính là Vùng Đông Bắc, gồm các tỉnh: Lạng Sơn, Quảng Ninh, Tuyên Quang, Bắc Kạn, Thái Nguyên và Vĩnh Phúc – Vùng này có 25 loài; vùng Bắc Trung Bộ gồm các tỉnh từ Thanh Hóa đến Thừa Thiên Huế có 10 loài; vùng Tây Nguyên và Nam Tây Nguyên gồm tỉnh Gia Lai, Đắk Nông, Lâm Đồng, Bình Phước hiện có 16 loài. Như vậy, hiện nay các loài Trà hoa vàng chủ yếu phân bố ở Miền Bắc và Bắc Trung Bộ và theo đánh giá của một số nhà thực vật học nước ngoài, vùng Đông Bắc Việt Nam được coi như là nơi phát sinh của chi *Camellia* nói chung và của các loài Trà hoa vàng nói riêng của thế giới.

Việt Nam được các nhà khoa học xác định nằm trong trung tâm đa dạng sinh học của các loài Trà được tìm thấy ở một số khu vực như Tam Đảo, Quảng Ninh, Lâm Đồng, Tuyên Quang, Yên Bái, Cúc Phương, Vũ Quang, Quế Phong ... Đến nay đã xác định có 58 loài *Camellia* L, thuộc các nhóm: Trà, Hải đường, Trà mi, Sở (Trà dầu), trong đó có 27 loài *Camellia* L. có hoa màu vàng [12], [14].

**Bảng 1.1:** Danh mục các loài *Camellia* có hoa vàng ở Việt Nam [43]

Số TT	Tên loài trà hoa vàng
1	<i>Camellia petelolii</i> (Merr.) Sealy

2	<i>Camellia megasepala</i> Hung T.Chang & Tran Ninh
3	<i>Camellia dormoylii</i> (Pierre) Sealy
4	<i>Camellia dalatensis</i> Luong, Tran et Hakoda
5	<i>Camellia dongnaiensis</i> Orel
6	<i>Camellia sonthaiensis</i> Luu, Luong, Q.D.Nguyen & T.Q.T.Nguyen
7	<i>Camellia vidalii</i> Rosmann
8	<i>Camellia bugiamapensis</i> Orel, Curry, Luu & Q. D. Nguyen
9	<i>Camellia luteocerata</i> Orel
10	<i>Camellia luteopallida</i> Luong, T.Q.T. Nguyen & Luu
11	<i>Camellia capitata</i> Orel, Curry & Luu
12	<i>Camellia fleurylii</i> (A.A.Chev.) Sealy
13	<i>Camellia gilberlii</i> (A.A.Chev.) Sealy
14	<i>Camellia indochinensis</i> Merr.
15	<i>Camellia aurea</i> H.T.Chang
16	<i>Camellia crassiphylla</i> Ninh & Hakoda
17	<i>Camellia cucphuongensis</i> Ninh & Rosmann
18	<i>Camellia euphlebica</i> Merr. ex Sealy
19	<i>Camellia fllii</i> (Pit.) Sealy
20	<i>Camellia hakodae</i> Ninh
21	<i>Camellia hirsuta</i> Hakoda & N.Tran
22	<i>Camellia limonia</i> C.F.Liang & S.L.Mo
23	<i>Camellia luongii</i> Tran et Le
24	<i>Camellia murauchii</i> Ninh & Hakoda
25	<i>Camellia ninhii</i> Luong & Le
26	<i>Camellia nitidissima</i> C.W.Chi
27	<i>Camellia oconoriana</i> Orel, Curry & Luu
28	<i>Camellia phanii</i> Hakoda & N.Tran
29	<i>Camellia rosmannii</i> Ninh
30	<i>Camellia thanxaensa</i> Hakoda & Kirino

31	<i>Camellia thuongiana</i> Luong, Anna Le & Lau,
32	<i>Camellia tonkinlii</i> Cohen-(Pit.) Pit.) Cohen-Stuart
33	<i>Camellia tuyenquangensis</i> D. V. Luong, N. N. H. Le & N. Tran
34	<i>Camellia dilinhensis</i> Tran & Luong
35	<i>Camellia inusitata</i> Orel, Curry & Luu

Việt Nam là vùng trung tâm phát sinh đa dạng sinh học, số loài và nguồn gen Trà hoa vàng chắc chắn sẽ rất lớn, đặc biệt là ở phía Bắc Việt Nam, trong đó có Quảng Ninh, Nghệ An, Thanh Hoá, Hà Tĩnh... Ở Quảng Ninh, theo các tài liệu chính thức mới có 4 loài được ghi nhận là *Camellia rosmannii* (Trà hoa vàng Rotman), *Camellia furfuracea* (Trà hoa cám), *Camellia euphlebia* (Trà hoa vàng Tiên Yên) và *Camellia gilberti* (Trà vàng Gilbec) [13]. Về tính đa dạng di truyền, trong một nghiên cứu về phân loại dựa trên kiểu hình và kiểu gen của 25 mẫu Trà hoa vàng thu thập được ở Quảng Ninh, ở mức độ tương đồng di truyền 0,71 và chúng được chia thành 9 nhóm khác nhau mặc dù chúng có kiểu hình khá giống [3]. Điều này cho thấy Trà hoa vàng ở Quảng Ninh có tính đa dạng sinh học rất cao.

## 1.2. THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TRÀ HOA VÀNG

Theo "Camellia International Journal" (Tạp chí chuyên nghiên cứu về Chè của thế giới), các hợp chất của chè hoa vàng có khả năng kiềm chế sự sinh trưởng của các khối u đến 33,8% trong khi chỉ cần đạt đến ngưỡng 30% đã có thể xem là thành công trong điều trị ung thư; giúp giảm đến 35% hàm lượng cholesterol trong máu, trong khi dùng các loại thuốc khác thì mức độ giảm chỉ là 33,2%...[24]. Các nghiên cứu về thành phần hóa học và dược tính của nhiều loài Trà hoa vàng đã cho thấy: Thành phần của Trà hoa vàng có chứa hơn 400 chất dinh dưỡng và không có tác dụng phụ gây độc. Giàu polysacarit, polyphenol trong trà, tổng saponin, tổng flavonoid, sắc tố trà, caffeine, protein, vitamin B1, B2, vitamin C, vitamin E, axit folic, axit béo, B-carotene và các chất dinh dưỡng tự nhiên khác; Trà thơm chứa hàng

chục axit amin như theanine và threonine, và rất giàu nhiều loại Germanium hữu cơ tự nhiên (Ge), selenium (Se), molybdenum (Mo), kẽm (Zn), có tác dụng quan trọng đối với cơ thể con người. Các nguyên tố vi lượng như vanadi (V) và các nguyên tố vĩ mô như kali (K), canxi (Ca) và magiê (Mg).

***Thành phần chính và chức năng như sau:***

- **Polysaccharide:** Trà vàng rất giàu polysaccharit. Polysaccharit có thể kiểm soát hiệu quả sự gia tăng glucose máu sau ăn và cải thiện dung nạp glucose, và có thể cải thiện rối loạn chuyển hóa lipid, và có tác dụng hạ đường huyết rõ ràng.

Polysaccharid trong Trà hoa vàng đã được nghiên cứu nhiều trên thế giới nhằm tìm ra được điều kiện chiết xuất và tinh chế polysaccharid trong Trà hoa vàng. Năm 2011, Ai-ze và cộng sự đã sử dụng aceton để kết tủa polysaccharid trong dịch chiết nước Trà hoa vàng một cách hiệu quả, đơn giản và nhanh chóng [22]. Bên cạnh đó, Lu. W. E. I và cộng sự cũng đã chứng minh được rằng điều kiện chiết xuất tối ưu lá Trà hoa vàng cho hàm lượng polysaccharid cao nhất là: tỷ lệ dung môi và dược liệu là 1 lít nước cho 50g dược liệu, phương pháp chiết siêu âm trong vòng 1 giờ tại 80°C với tần số 53,2 kHz sẽ thu được lượng polysaccharide lớn nhất là 3,1% [39].

Wei Lu cũng đã tiến hành Đánh giá tác dụng hạ lipid máu của polysaccharide toàn phần trong Trà hoa vàng in-vivo trên chuột ở các mức liều khác nhau cho thấy polysaccharid trong Trà hoa vàng có hiệu quả hạ lipid máu trên chuột được gây tăng lipid máu [56].

Các thành phần flavonoid và polysaccharid là những hoạt chất có nhiều tác dụng sinh học tác dụng sinh học quan trọng, điển hình trong đó là rutin, quercetin và vitexin.

- **Polyphenol trong trà:** Trà vàng rất giàu polyphenol trong trà. Polyphenol trong trà có thể làm sạch các gốc tự do, làm giảm sự gia tăng lượng đường trong máu, từ đó cải thiện sự dung nạp glucose và ổn định lượng đường trong máu.

Polyphenol tổng là nhóm chất có nhiều công dụng trong sinh – dược học như: giúp ổn định huyết áp, giảm nguy cơ đột quỵ và bệnh tim mạch, bảo vệ da khỏi tác dụng của tia UV. Trong đó, EGCG chiếm thành phần chủ yếu, chiếm khoảng 48 - 55% polyphenol tổng trong lá Trà xanh, có vai trò quan trọng làm giảm các nguy cơ bệnh tim mạch và ung thư [59].

- **Saponin:** Hàm lượng saponin trong trà Kim Hoa 6300 mg/kg tim mạnh, mạch máu tâm trương và chống mệt mỏi, nhịp tim chậm và huyết áp lưỡng cực thúc đẩy sinh tổng hợp DNA, protein và lipid, làm dịu cơn khát, bài tiết, sung, đau họng, hạ sốt và giảm đau.

Năm 1910 nhà thực vật học người Pháp tên là B. Balansa thu được mẫu trà có hoa màu vàng đầu tiên tại vùng núi Ba Vì (Hà Nội). Dựa trên mẫu này, Pitard đặt tên là *Thea tonkinensis*, về sau được đổi thành *Camellia tonkinensis*. Sau đó, hai loài Trà hoa vàng khác tiếp tục được các nhà thực vật người Pháp phát hiện có ở Việt Nam. Tuy nhiên, những phát hiện này không được các nhà thực vật quan tâm [14].

Chỉ có saponin triterpenoid pentacyclic được báo cáo phát hiện từ chi *Camellia*, và hầu hết chúng là các saponin triterpenoid loại oleanane. Các nghiên cứu đã phân lập được 188 hợp chất saponin từ rễ, thân, lá, hoa và hạt của các loài thuộc chi *Camellia*. Trong đó có 87 saponin từ *C. sinensis*; 33 từ *C. japonica*; 24 từ *C. sinensis*; *C. assamica*; 37 từ *C. oleifera* và 7 từ *C. sasanqua* [32].

- **Tổng flavonoid:** tổng hàm lượng flavonoid của Jinhua cha 4.400 mg/kg, làm giãn mạch vành, hạ huyết áp, tăng cường co bóp tim, giảm nhịp tim, làm dịu cơn khát, kháng khuẩn và chống viêm, chống viêm mao mạch, chống viêm và chống viêm bất thường. Nó bảo vệ gan và túi mật, tiêu chảy, làm giảm đờm, có chức năng của cytokine trứng, làm giảm sốt và giảm đau, giảm cholesterol, lợi tiểu...

- **Sắc tố trà:** Trà vàng rất giàu sắc tố trà, hạ đường huyết, đường nước tiểu, lipid máu, huyết sắc tố glycated, giảm kháng insulin, cải thiện lưu biến

máu và giảm rối loạn vi tuần hoàn. Giảm cholesterol và triglyceride, cải thiện vai trò của lipoprotein mật độ cao, và ngăn ngừa và điều trị các biến chứng tim mạch và mạch máu não, xơ vữa động mạch ...

- **Selenium** (Se): Golden Camellia chứa selenium, một thành phần của glutathione trong tế bào hồng cầu của con người. Nó có khả năng chống oxy hóa, bảo vệ màng tế bào và bảo vệ chức năng tim mạch. Các nhà khoa học Trung Quốc cũng phát hiện ra rằng selen là một loại thuốc hiệu quả để điều trị bệnh Keshan và bệnh Kashin-Beck. Ngoài ra, selenium còn có chức năng giải độc, làm giảm độc tính của Astragalus B1, có tác dụng làm giảm độc tố của một số chất gây ung thư. Tổn thương tế bào gan.

- **Ge** (Ge): Golden Camellia chứa germanium, có thể làm giảm khả năng sinh học của tế bào ung thư, thay đổi trạng thái sinh lý, ức chế sự phát triển của tế bào ung thư và gây ra interferon của các chất chống ung thư trong cơ thể người, có thể gây ra cảm ứng đại thực bào. Để chống lại các tế bào ung thư, một số người sử dụng germanium để điều trị ung thư. Ngoài ra, germanium có tác dụng chữa bệnh rõ ràng đối với bệnh xơ cứng động mạch, huyết khối não, xuất huyết não, bệnh gan thận, bệnh dạ dày, tiểu đường, viêm khớp và đau thần kinh mạn tính.

- **Kẽm** (Zn): Trà hoa vàng có hàm lượng kẽm là 283mg/kg và hàm lượng kẽm cao. Kẽm có liên quan đến các enzyme hoạt động trong cơ thể con người, như carboxypeptidase, một loại enzyme quan trọng thúc đẩy quá trình thủy phân protein trong ruột, có chứa kẽm. Kẽm có thể làm tăng sự thèm ăn, thúc đẩy tăng trưởng và phát triển, thúc đẩy tái tạo mô, tăng cường chức năng tinh dịch, tăng cường chức năng miễn dịch, tăng cường sức đề kháng và bảo vệ thị lực.

-**Vanadi** (V): liên quan đến chuyển hóa lipid và cholesterol. Nó thúc đẩy tạo máu và làm giảm đáng kể cholesterol huyết tương. Khi không có đồng vị V, triglyceride huyết thanh tăng và nồng độ cholesterol tăng. Kết quả cho thấy, tổng lượng cholesterol-lipoprotein trong huyết thanh của nhóm

Jinhuacha thấp hơn đáng kể so với nhóm kiểm soát động vật có chất béo cao, cholesterol toàn phần trong huyết thanh: nhóm chất béo cao của nhóm jinhuacha giảm 35%; nhóm chất béo cao của nhóm Antoxin giảm 33,2%; lipoprotein: Chất béo cao hơn trong nhóm jinhuacha giảm 36,6%; nhóm chất béo cao trong nhóm clofibrate giảm 23% (antamine được công nhận trên toàn thế giới là thuốc hạ cholesterol và hạ đường huyết).

- **Mangan (Mn):** có hàm lượng cao, là một nguyên tố vi lượng thiết yếu trong cơ thể con người và nó tham gia vào các phản ứng enzyme khác nhau. Có thể cải thiện chuyển hóa lipid ở bệnh nhân xơ vữa động mạch. Ngăn ngừa xơ vữa động mạch. Tỷ lệ mắc bệnh xơ cứng động mạch cao hơn ở người Mỹ và nồng độ Mn, Cr và Cu trong động mạch chủ ít hơn so với các quốc gia châu Á và châu Phi có tỷ lệ mắc bệnh xơ cứng động mạch và bệnh tim mạch vành thấp hơn.

- **Kali (K):** Nó có thể duy trì áp suất thẩm thấu trong các tế bào và duy trì sự co bóp bình thường của tim.

- **Vitamin B1:** Golden Camellia rất giàu vitamin B1, có hiệu quả trong việc ngăn ngừa rối loạn chuyển hóa glucose và duy trì các chức năng bình thường của hệ thần kinh, hệ tiêu hóa và tim.

- **Vitamin B2:** tham gia phản ứng oxi hóa khử của cơ thể người và duy trì cơ chế bình thường của võng mạc.

- **Vitamin C:** Golden Camellia rất giàu vitamin C, có thể duy trì độ dẻo dai và tính thấm bình thường của microvessels. Do đó, bệnh nhân có vi mạch yếu có thể khôi phục chức năng bình thường bằng cách uống trà.

- **Vitamin A:** Nó có tác dụng ngăn ngừa bệnh quáng gà, đục thủy tinh thể và chống ung thư.

Đến nay, người ta phát hiện được trong thành phần của Trà nói chung và Trà hoa vàng nói riêng có 13 nhóm gồm 120-130 hoạt chất khác nhau [2], [8].

- **Nhóm chất đường:** Glucose, fructose,.. tạo giá trị dinh dưỡng và mùi thơm khi chế biến ở nhiệt độ cao.

- **Nhóm tinh dầu:** methyl salicylate, citronellol,.. tạo nên hương thơm riêng của mỗi loại trà. Nhóm này chịu ảnh hưởng của khí hậu, loại đất và quy trình chế biến.

- **Nhóm sắc tố:** diệp lục, carotene, xanthophile, làm cho nước Trà có thể từ màu xanh nhạt đến xanh lục sẫm hoặc từ màu vàng đến đỏ nâu và nâu sẫm.

- **Nhóm acid hữu cơ:** gồm 8-9 loại khác nhau, có tác dụng tăng giá trị về mặt thực phẩm và có chất tạo ra vị.

- **Nhóm chất vô cơ:** kali, photpho, lưu huỳnh, flo, magiê, canxi,...

- **Nhóm vitamin:** C, B1, B2, PP,...: hầu hết tan trong nước, do đó người ta nói nước Trà có giá trị như thuốc bổ.

- **Nhóm glycozid:** góp phần tạo ra hương trà và có thể làm cho nước trà có vị đắng, chát và màu hồng đỏ.

- **Nhóm tanin:** chiếm 15-30% trong trà, sau khi chế biến thì nó trở thành vị chát...

**Nhóm chất nhựa:** đóng vai trò tạo mùi thơm và giữ cho mùi không thoát đi nhanh (chất này rất quan trọng trong việc chế biến trà rời thành trà bánh).

- **Nhóm pectin** (chất keo): giúp bảo quản trà được lâu vì có tính năng khó hút ẩm.

- **Nhóm alcaloid:** cafein, theobromine, theophylline, adenin, guanin,... phát hiện trong một số loài *Camellia*.

- **Nhóm protein và acid amin:** tạo giá trị dinh dưỡng và hương thơm cho Trà.

- **Nhóm enzym:** là những chất xúc tác sinh học quan trọng trong quá trình biến đổi của cơ thể sống.

Năm 2011, Peng và cộng sự đã phân lập được các thành phần flavonoid từ hoa của *Camellia chrysantha* bằng sắc kí cột bao gồm quercetin, quercetin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, rutin, vitexin, kaempferol, kaempferol-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside [47]. Năm 2013 Wei, J. B và cộng sự đã xác định được sự có mặt của nhóm chất flavonoid trong lá Trà hoa vàng, bao gồm: vitexin, isovitexin, quercetin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranosid và kaempferol [57].

### 1.3. TÁC DỤNG DƯỢC LÝ VÀ CÔNG DỤNG CỦA TRÀ HOA VÀNG

#### 1.3.1. Các tác dụng dược lý của Trà hoa vàng

Một số tác dụng dược lý đã được nghiên cứu của các loài *Camellia.L* bao gồm các tác dụng: chống viêm, ức chế tế bào ung thư, chống oxy hóa, hạ đường huyết, điều hòa và hạ lipid máu, kích thích khẩu vị, ức chế tổng hợp acid béo (Bảng 1.2).

**Bảng 1.2:** Tác dụng sinh học của một số loài Trà hoa vàng

Tác dụng	Bộ Phân loại	Loài
Tác dụng kháng viêm	Lá và hoa	<i>Camellia chrysantha</i>
Ức chế ung thư gan	Lá	<i>Camellia chrysantha</i>
Chống oxy hóa, dọn gốc tự do	Lá và hoa	<i>Camellia chrysantha</i> <i>Camellia nitidissima</i> <i>Camellia euphobia</i> <i>Camellia tunghinesis</i> <i>Camellia impressinervis</i> <i>Camellia nitidissima var microcarpa</i>
Hạ đường huyết	Lá	<i>Camellia chrysantha</i>
Điều hòa, hạ Lipit máu		<i>Camellia chrysantha</i> <i>Camellia nitidissima</i>
Kích thích khẩu vị	Lá và hoa	<i>Camellia chrysantha</i>

Ức chế tổng hợp acid béo	Lá	<i>Camellia nitidissima</i>
--------------------------	----	-----------------------------

Gần đây, Trung Quốc đã có những nghiên cứu chuyên sâu về loài cây này và đã chế biến thành nhiều loại thực phẩm chức năng khác nhau mang lại giá trị kinh tế rất cao. Kết quả cho thấy, trong lá của Trà hoa vàng có chứa rất nhiều nguyên tố vi lượng như germanium (Ge), selenium (Se), mangan (Mn), molybden (Mo), kẽm (Zn), vanadium... Các hoạt chất trong lá, hoa Trà hoa vàng có tác dụng hạ huyết áp, giảm tiểu đường, hạ cholesterol, hạ lipid máu, chống u bướu, tăng cường hệ miễn dịch và kéo dài tuổi thọ.

Ngoài ra, các thành phần flavonoid và polysaccharid là những hoạt chất có nhiều tác dụng sinh học quan trọng, điển hình trong đó là rutin, quercetin và vitexin (Bảng 1.3).

**Bảng 1.3:** Tác dụng chất chính có trong trà hoa vàng và tác dụng sinh học

Hoạt chất		Tác dụng sinh học đã được nghiên cứu: công dụng chúng.
<b>I. FLAVONOID</b>		
1	Rutin	Rutin có thể làm giảm tỉ lệ cholesterol, tăng cường sức chịu đựng của mao mạch, ngăn ngừa huyết khối và đột quỵ có tác dụng chống viêm nhẹ và là một chất chống oxy hóa mạnh có tiềm năng trong các bệnh về lão hóa và Alzheimer's.
2	Quercetin	Quercetin là một flavonoid có tính oxy hóa mạnh, có nhiều trong thực vật với các tác dụng sinh học quan trọng như: chống viêm, phòng ngừa các bệnh tim mạch, hỗ trợ điều trị rối loạn thần kinh: Alzheimer's hay Parkinson, kháng ung thư, viêm loét dạ dày, tá tràng, kháng khuẩn, nấm, điều trị dị ứng và cảm sốt.

3	Vitexin	Vitexin cũng là một flavonoid quan trọng, vitexin (apigenin-8-C-glucoside) có tác dụng chống viêm, chống tăng nhãn áp và bảo vệ thần kinh.
<b>II. POLYSACCHARIDE</b>		
4	Polysaccharide	Polysaccharide trong lá Trà hoa vàng có tác dụng trên lipid máu; giảm cholesterol, triglycerid và LDL đồng thời cải thiện hàm lượng HDL trên động vật thực nghiệm.

### ***1.3.1.1. Tác dụng kháng oxy hoá của trà hoa vàng***

Khả năng chống oxy hóa của trà do hoạt tính của hợp chất polyphenol [18]. Một nghiên cứu năm 2017 đã so sánh khả năng chống oxy hóa của các gốc tự do được thể hiện nhiều nhất ở hợp chất polyphenol. Cụ thể khả năng bắt gốc tự do nằm ở nhóm flavonoid, catechin. Trong nhóm flavonoid có rutin làm giảm tỉ lệ cholesterol bị oxy hóa giúp ngăn ngừa các bệnh lão hóa, xơ vữa động mạch và mất trí nhớ ở người già. Bên cạnh đó nghiên cứu cũng cho thấy epicatechin và catechin giúp bảo vệ chống lại sự tan máu hồng cầu do AAPH ( 2,2'- Azobis ( 2- amidinopropan) dihydrochlorid), những hợp chất thuộc nhóm catechin như epicatechin gallat (ECG), epigallocatechin gallat ( ECGG) được nghiên cứu là có hiệu quả nhất trong quá trình ức chế sự oxi hóa do AAPH gây ra [1], [27].

Năm 2018 trong nghiên cứu của Wang Bing và cộng sự cho thấy tác dụng bắt các gốc tự do và chống oxi hóa của thành phần tinh dầu và chiết xuất ethanol. Bằng cách so sánh chỉ số IC<sub>50</sub> của tinh dầu hoa và lá cây, chiết xuất ethanol với vitamin C trong các test DPPH ( 2,2- diphenyl 1-1- pycrylhydrazyl) và ABTS ( 2, 2'- azino- bis ( 3- ethylbenz- thiazoline- 6 sulfonic acid) cho thấy được tác dụng cũng tương tự [5], [55].

### ***1.3.1.2. Tác dụng kháng tế bào ung thư của trà hoa vàng***

Theo Tạp chí chuyên nghiên cứu về Chè của thế giới "*Camellia International Journal*", hợp chất của chè hoa vàng có thể kiềm chế sự sinh trưởng của các khối u lên đến 33,8%. Năm 2016 của Malgozata Kujawska và các cộng sự cũng cho rằng chiết xuất *Camelia sinensis* có tác dụng chống lại tác nhân chống ung thư gan N- nitrosodiethylamine (NDEA) ở chuột bằng các phương pháp xét nghiệm sinh hóa và mô học trên chiết xuất của lá trà giúp bảo vệ gan chuột khỏi ung thư gan. Đồng thời trà hoa vàng giúp chứng minh được khả năng khởi động quá trình chết theo chương trình của tế bào ung thư [37].

Viện Lý Hóa – Viện Hàn lâm khoa học Liên Xô (cũ) đã sử dụng những hợp chất flavonoid hoặc 7 polyphenol có độc tính thấp như những chất chống oxy hóa để nghiên cứu lâm sàng điều trị một số bệnh ung thư và cho rằng cơ chế chống khối u của flavonoid không chỉ do khả năng chống oxy hóa mà còn tác dụng tổng hợp do khả năng phản ứng đa dạng của phân tử flavonoid.

Vào năm 2012, Jin đã báo cáo hoạt động chống khối u của polysaccharide với tỉ lệ chống lại khối u là 85,6% (phụ thuộc vào liều lượng) và được các tác giả tuyên bố rằng hợp chất này có đặc tính chống khối u mạnh mẽ trong cơ thể sống. Tingting và cộng sự đã nghiên cứu hoạt động chống khối u trong ống nghiệm của 3 thành phần chính là: saponin, protein và polysaccharide trên dòng tế bào u gan ở người (HepG2) và dòng tế bào gan chuột bình thường (IAR20) cho thấy kết quả khá tốt. Cụ thể, polysaccharide chống lại tế bào Hep G2 (IC<sub>50</sub> = 5,826 µg/ml), tiếp theo là saponin (IC<sub>50</sub> = 26,754 µg/ml) và protein (IC<sub>50</sub> = 36,794 µg/ml) Tỷ lệ ức chế của ba hợp chất trên tế bào Hep G2 cao hơn 80% khi được thử nghiệm trên dòng IAR20.

### **1.3.1.3. Tác dụng kháng vi sinh vật của trà hoa vàng**

#### **- Tính kháng khuẩn**

Các loài hoa trà đã được khám phá nhiều trong những năm qua như một nguồn tự nhiên của các hợp chất mới có hoạt tính kháng sinh đã nghiên cứu các hoạt động kháng khuẩn của nhiều lá trà tươi và chiết xuất hoa trà (chiết xuất từ ethanol, methanol và nước) chống lại các vi khuẩn *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, *E. coli* Loại 1 và *Bacillus cereus*. Chiết xuất từ hoa trà cũng có thể có các ứng dụng tiềm năng trong việc ngăn ngừa sâu răng, kiểm soát mảng bám răng và các vấn đề sức khỏe răng miệng khác liên quan đến tổn thương nghiêm trọng. Hai vi khuẩn gram dương (*S. aureus* và *B. subtilis*) và hai vi khuẩn gram âm (*E. coli* và *P. aeruginosa*) được chọn để đánh giá các hoạt động diệt khuẩn trong in-vitro của tinh dầu và chiết xuất ethanol *C. nitidissima* trên đĩa thạch agar loãng. Các giá trị MIC cho thấy hiệu quả kháng khuẩn đáng kể khi so sánh với ampicillin và tobramycin, trong đó phần tinh dầu hiệu quả hơn với *S. aureus*, *B. subtilis* và *E. coli* (các giá trị MIC lần lượt là 0,625; 1,25 và 1,25 mg/mL), nhưng không chống lại *P. aeruginosa* (MIC 10,0 mg/mL). Chiết xuất ethanol của *C. nitidissima* thể hiện hiệu quả tốt hơn với hai chủng vi khuẩn gram dương [55].

Tính kháng nấm: Hoạt tính kháng nấm của *Camellia spp* đã được đánh giá bởi một số tác giả, hầu hết các nghiên cứu tập trung vào loại trà thực vật phổ biến *C. sinensis*. Các loài hoa trà đã được chỉ ra là một nguồn tuyệt vời của các hợp chất hoạt tính sinh học bao gồm cả những chất kháng nấm. *C. albicans* dường như nhạy cảm với một số catechin (phụ thuộc vào pH), chúng cũng làm tăng tác dụng kháng nấm của amphotericin B và fluconazole.

Kháng virus: Chi Trà nói chung được coi là một chất miễn dịch tự nhiên có thể tăng cường phản ứng miễn dịch để giảm thiểu COVID-19 (SARS-COV-2) [63]. Phenolics của nó được cho là có một số lợi ích đối với sức khỏe và có thể hoạt động như tác nhân kháng vi-rút nhờ hiệu quả chống lại vi-rút gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV). Một số nghiên cứu đã báo

cáo đặc tính này ở các loài trà hoa vàng cho chứa chất Epigallocatechin-gallate (EGCG) là flavonoid chính có khả năng kháng virus cao thông qua một số cơ chế hoạt động. Liu và cộng sự đã chứng minh được hiệu quả của EGCG từ trà xanh đối với HIV-1 nhưng báo cáo hoạt động của EGCG cao hơn khi thu được từ trà đen. EGCG cũng được chứng minh là có thể bất hoạt adenovirus và virus Epstein-Barr [39].

#### **1.3.1.4 Tác dụng theo y học cổ truyền**

Một số công trình nghiên cứu khác cũng cho thấy hoa của chè hoa vàng giúp giảm triệu chứng xơ vữa động mạch do máu nhiễm mỡ, điều hòa huyết áp, hạ đường huyết; chữa kiết lỵ, đại tiện ra máu [24], [31]. Lá chè hoa vàng có thể uống để điều chỉnh các chất béo trong cơ thể, lượng đường trong máu nhờ nhóm chất EGCG là chất có hoạt tính sinh học cao nhất giúp hỗ trợ giảm trọng lượng của cơ thể, giải độc gan và thận.

Theo y học Trung Quốc, chè hoa vàng (cả lá và hoa) có 9 tác dụng là làm giảm tổng hàm lượng lipid trong huyết thanh máu; làm giảm lượng cholesterol mật độ thấp và tăng lượng cholesterol mật độ cao; làm hạ huyết áp rõ ràng và tác dụng được duy trì trong thời gian tương đối dài; ức chế sự tụ tập của tiểu cầu, chống sự hình thành huyết khối gây tắc nghẽn mạch máu; ngừa ung thư và ức chế sự phát triển của các khối u khác; tăng hưng phấn thần kinh, duy trì trạng thái bình thường của tuyến giáp; lợi tiểu; giải độc gan và thận, ngăn ngừa xơ vữa động mạch máu; ức chế và tiêu diệt vi khuẩn, chống viêm, chống dị ứng [71].

#### **1.3.1.5. Độc tính của Trà hoa vàng**

*C. nitidissima* là một trong những loài Trà hoa vàng được sử dụng làm thuốc chữa bệnh lâu đời trong Y học cổ truyền Trung Quốc, tuy nhiên vẫn có rất ít các báo cáo liên quan đến đánh giá một cách có hệ thống về độc tính và an toàn của nó. Tại Việt Nam cũng chưa tìm thấy bất kỳ một nghiên cứu nào có liên quan về độc tính và độ an toàn của Trà hoa vàng. Một nghiên cứu gần đây cho thấy không có phản ứng bất lợi hoặc hiện tượng tử vong

nào quan sát thấy ở chuột sau khi dùng đường uống với mức liều từ 500 đến 4.000mg/kg chuột cao dịch chiết nước loài *C. nitidissima* [13].

Dịch chiết methanol 70% lá loài *C. nitidissima* đã xác định được LD50 chứa 106,7 g/kg (tính theo phương pháp của Karber; Karber 1937) ở chuột. Điều này cho thấy dược liệu Trà hoa vàng có độ an toàn cao [13].

Độc tính của Trà hoa vàng cũng được tiến hành nghiên cứu trên chuột sau khi đưa thẳng thuốc vào dạ dày dịch chiết nước với liều 66.000 mg/kg trong vòng hai tuần. Liều dùng này gấp khoảng 1.000 lần so với liều lượng bình thường dùng trên người trong các ứng dụng lâm sàng. Kết quả nghiên cứu cho thấy sau 2 tuần uống thuốc thử, chưa quan sát thấy có sự tử vong trên các lô chuột nghiên cứu [13]. Peng và cộng sự đã nghiên cứu độc tính bán trường diễn của dịch chiết lá loài *C. nitidissima* qua đường uống ở 3 mức liều 6,67; 13,33 và 20g dược liệu khô/kg trong vòng 90 ngày và không có ghi nhận độc tính trên chức năng tạo máu của dịch chiết.

### **1.3.2. Khả năng kháng oxy hoá, ung thư và vi sinh vật của các hợp chất thiên nhiên**

#### **1.3.2.1. Khả năng kháng oxy hóa của hợp chất thiên nhiên**

Trong nhiều nguyên nhân gây ra bệnh tật thì sự hiện diện quá mức và mất cân đối của các gốc tự do có thể gây ra nhiều bệnh lý nguy hiểm. Gốc tự do rất không ổn định, hoạt động mạnh và luôn có xu hướng chiếm đoạt điện tử của các cấu trúc lân cận, tạo ra hàng loạt gốc tự do mới, quá trình diễn ra theo một phản ứng dây chuyền. gốc tự do, làm cho cấu trúc tế bào bị thay đổi và bị phá vỡ, tổn thương đến màng tế bào và các phân tử khác. Sự tấn công của các gốc tự do gây ra rất nhiều bệnh khác nhau, thí dụ như thoái hóa thần kinh, đau nửa đầu, đột quỵ, thoái hóa võng mạc, đốm vàng, đục thủy tinh thể, lão hóa da, ảnh hưởng tới hệ miễn dịch, xơ hóa cơ tim, mạch máu, cao huyết áp, rối loạn chức năng tế bào nội mô [20].

Thông thường, cơ thể chúng ta có khả năng điều hòa quá trình oxy hóa và duy trì hàm lượng gốc tự do ở mức độ cho phép nên cơ thể vẫn khỏe

manh. Sự gia tăng đột ngột các tác động từ bên ngoài sẽ phá vỡ sự ổn định quá trình oxy hóa và khả năng tự “thu dọn” các gốc tự do của cơ thể, và do đó sẽ dẫn tới các tình trạng bệnh lý. Sự tương tác giữa các gốc tự do và chất kháng oxy hóa là yếu tố quan trọng trong việc duy trì sức khỏe. Sự tăng các gốc tự do dẫn đến sự mất cân bằng oxy hóa trong cơ thể, nếu quá trình tạo ra gốc tự do vượt quá tác dụng bảo vệ của các chất kháng oxy hóa sẽ dẫn đến các bệnh liên quan đến lão hóa [35].

Khi cơ thể hoạt động sẽ sản sinh ra các gốc tự do, các gốc tự do này có thể được tạo ra nhiều hơn khi căng thẳng, vận động quá mức, tiếp xúc môi trường khói bụi, ô nhiễm... Khi có sự tăng quá nhiều gốc tự do sẽ gây ra tình trạng viêm nhiễm ở các cơ quan, các bệnh lý như tim mạch, bệnh thần kinh, đục thủy tinh thể, thoái hóa hoàng điểm ở mắt, tăng nguy cơ các bệnh ung thư và nhất là sớm xuất hiện hiện tượng lão hoá. Các gốc tự do này có thể phản ứng với bất kỳ tế bào nào trong cơ thể. Một số tế bào có thể phục hồi, nhưng những tế bào khác thì sẽ bị hư hỏng vĩnh viễn và nhà khoa học tin rằng các gốc tự do đóng góp vào gia tăng quá trình lão hóa cũng như các bệnh ung thư, bệnh tiểu đường và bệnh tim mạch...

Các chất chống oxy hóa được hoạt động theo nguyên tắc phát hiện ra các gốc oxy tự do hoạt động có hoạt tính cao tổn thương tế bào qua cơ chế hoạt động của enzyme xúc tác hoặc phản ứng trực tiếp lên chúng. Ức chế sự hình thành của các gốc oxy tự do ngăn ngừa sự hình thành của nó diễn ra trong tế bào (như qua chuỗi vận chuyển điện tử của hoạt động hô hấp diễn ra trong ty thể). Loại bỏ hoặc sửa chữa những ảnh hưởng do gốc tự do gây nên bằng cách loại bỏ các phân tử sinh học bị biến đổi trong quá trình oxy hóa ra khỏi cơ thể [15].

### **1.3.2.2. Ung thư và khả năng kháng ung thư của các hợp chất thiên nhiên**

#### *a. Khái niệm*

Ung thư là căn bệnh tế bào. Nó là tên gọi chung cho trên 200 loại ung thư khác nhau về tế bào, vị trí trong cơ thể, cơ chế bệnh sinh và biểu hiện lâm sàng. Bình thường, các tế bào lành có một tuổi thọ nhất định, chúng tuân theo quy luật khi chúng già đi rồi chết. Các tế bào chết lại được thay thế bởi các tế bào mới. Cơ thể luôn có một cơ chế kiểm soát chu kỳ tế bào rất nghiêm ngặt, để nhằm đảm bảo số lượng tế bào của mỗi cơ quan, tổ chức luôn ở mức ổn định.

#### *b. Đặc tính của tế bào ung thư*

Ung thư là bệnh lý rất nguy hiểm do nhiều nguyên nhân khác nhau gây ra, trong đó có một số nguyên nhân mà có thể hạn chế và khắc phục được nhưng cũng có những nguyên nhân khiến chúng ta không thể thay đổi.

So với tế bào bình thường, tế bào ung thư có các đặc tính khác như sau:

- *Tế bào ung thư có khả năng biệt hóa kém do đó phân chia nhanh và liên tục.*
- *Tế bào ung thư có khả năng sinh sản thiếu kiểm soát:* một tế bào bình thường khi sinh ra chúng sẽ phát triển, biệt hóa để thực hiện chức năng và chết theo một lập trình được kiểm soát chặt chẽ. Nhưng đối với tế bào ung thư chúng sẽ phân chia bất thường. Quá trình phân chia này thường diễn ra nhanh và tế bào con cháu khi sinh ra sẽ không trưởng thành, ít biệt hóa, và không bị chết đi như tế bào bình thường khác. Khi tế bào phân chia nhiều lần, các telomere này ngắn lại gây ra tiến trình lão hóa của tế bào và tế bào chết đi. Tuy nhiên, đối với tế bào ung thư, đoạn telomere không bị ngắn đi sau các lần phân chia do đó chúng không bị lão hóa và chết đi [7], [15].
- *Tế bào ung thư có khả năng thoát khỏi hệ thống miễn dịch của cơ thể.*

Trong cơ thể có tế bào Natural Killer Cell có thể nhận dạng và tiêu diệt các tế bào lạ xâm nhập hay xuất hiện trong cơ thể. Tế bào ung thư mặc dù có những khác lạ so với tế bào bình thường, nhưng lại thoát khỏi sự phát hiện và tiêu diệt của hệ miễn dịch. Theo Darnell và cộng sự tế bào ung thư có khả

năng đấu mình để vượt qua sự nhận biết của các tế bào Lympho nên cơ thể không thể nhận biết và tiêu diệt chúng.

- *Tế bào ung thư có khả năng xâm lấn và di căn:* khi các khối u ngày càng lớn dần gây nên việc chiếm chỗ, chèn ép các cơ quan và tổ chức sống lân cận. Các tế bào ung thư trong khối u sẽ tiếp tục tăng sinh, mất đi các thụ cảm giới hạn với các tế bào lân cận, sản xuất ồ ạt các cytokine và các enzyme protease dẫn tới phá hủy màng đệm lót và môi trường ngoại bào bao quanh khiến chúng liên kết lỏng lẻo, dễ dàng tách ra khỏi khối u mẹ, theo mạch máu và mạch bạch huyết di chuyển tới các tổ chức và cơ quan mới, bám lại và tiếp tục tăng sinh vô tổ chức. Quá trình này gọi là di căn [7], [15].

Bệnh ung thư mang đến nhiều hệ lụy về sức khỏe, có thể gây ra cái chết cho bệnh nhân nếu không được chẩn đoán và điều trị kịp thời. Theo số liệu mới nhất được đăng trên website của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), ung thư được xác định là nguyên nhân hàng đầu gây ra tử vong trên khắp thế giới.

### *c. Sự chết theo chương trình của tế bào*

Trong cơ thể, với 100 nghìn tỷ tế bào được quy định không chỉ bằng cách kiểm soát tỷ lệ phân chia mà còn bằng cách kiểm soát tỉ lệ chết của tế bào. Khi các tế bào không còn cần thiết hoặc trở thành một mối đe dọa cho cơ thể, nó sẽ trải qua một sự tự chết tế bào chết theo chương trình, hay còn gọi là apoptosis. Quá trình này liên quan đến một đợt li giải protein đặc hiệu gây ra làm cho tế bào co lại và ngưng tụ, tháo rời khung tế bào của nó, và làm thay đổi bề mặt tế bào, tạo điều kiện cho đại thực bào gắn vào màng tế bào và tiêu hóa tế bào đó [15].

Apoptosis được bắt đầu bởi kích hoạt của một tập hợp các protease gọi caspases, đó là các enzym được tổng hợp và được tích trữ trong tế bào dưới dạng không hoạt động procaspases. Cơ chế hoạt hóa của caspases là khi được kích hoạt, các enzyme sẽ tách ra và kích hoạt những procaspas khác, gây ra một dòng thác nhanh chóng phá vỡ protein trong tế bào. Các tế bào do đó dỡ bỏ bản thân, và những thành phần còn lại của nó nhanh chóng

bị tiêu hóa bởi các thực bào lân cận. Một số to lớn của quá trình apoptosis xảy ra trong các mô đang được tu sửa trong phát triển. Ngay cả ở người trưởng thành, tỷ lệ tế bào chết mỗi giờ trong các mô như ruột và tủy xương và được thay thế bằng tế bào mới. Lập trình chết tế bào, tuy nhiên, thường là sự cân bằng sự hình thành các tế bào mới ở người trưởng thành khỏe mạnh. Nếu không, các mô của cơ thể sẽ co lại hoặc phát triển quá mức. Các nghiên cứu gần đây cho thấy những bất thường của quá trình apoptosis có thể đóng một vai trò quan trọng trong các bệnh thoái hóa thần kinh như bệnh Alzheimer, các bệnh ung thư và các rối loạn tự miễn dịch [15].

Trong lộ trình thụ thể chết, sự tham gia của các thụ thể chết với các ligands cùng nguồn gốc dẫn đến bổ sung các protein chuyển đổi, như protein tuyển chọn và tổng hợp một số phân tử caspase 8 (FADD). Phức hợp tín hiệu gây chết do đó hình thành trong màng bào tương của tế bào, thúc đẩy quá trình xử lý tự động và kích hoạt tiền caspase 8. Caspase 8 hoạt động sau đó ly giải protein bằng cách cắt đứt và kích hoạt caspase 3, 6, 7 dẫn đến các việc kích hoạt thêm caspase cho đến quá trình ly giải protein chất nền và chết tế bào [15].

#### *d. Hợp chất thiên nhiên kháng ung thư*

Không phải từ bây giờ mà từ hàng ngàn năm trước, con người đã sử dụng các loại thực vật trong việc điều trị nhiều loại bệnh khác nhau. Hơn 50 năm trước, hợp chất thiên nhiên bắt đầu đóng vai trò quan trọng trong tìm kiếm thuốc điều trị ung thư. Hai loại thực vật đầu tiên được nghiên cứu là *podophyllum peltatum* (Táo ma) và *catharanthus roseus* (Dừa cạn) [70]. Các nghiên cứu chỉ ra rằng thành phần chính của cây Táo ma là podophyllotoxin. Đây là tiền thân của nhóm hợp chất điều trị ung thư Podophyllins. Một số thuốc điều trị ung thư thường được sử dụng hiện nay nằm trong nhóm podophyllins là Etoposide và Teniposide.

Những thành công trong nghiên cứu hợp chất thiên nhiên đã thúc đẩy Viện Nghiên Cứu Ung thư Quốc gia (National Cancer Institute, NCI) của

Hoa Kỳ khởi động dự án khảo sát hợp chất thiên nhiên trong điều trị ung thư vào những năm 1960. Từ năm 1960 đến năm 1982, 35.000 loài thực vật đã được lấy mẫu và kiểm tra khả năng tiêu diệt dòng tế bào ung thư máu của chuột L1210 và P388. Một trong những hợp chất quan trọng được tìm thấy trong dự án này là Paclitaxel (Taxol). Taxol là một hợp chất được tìm thấy từ quá trình phân lập từ vỏ cây *Taxus brevifolia* (cây Thông đỏ). Taxol được sử dụng trong điều trị ung thư buồng trứng, ung thư vú, ung thư phổi, ung thư tuyến tụy và một vài loại ung thư khác. Không dừng lại ở đó, vào năm 1985, NCI tiếp tục khởi động dự án nghiên cứu liên quan đến hợp chất thiên nhiên. Dự án này đã mở rộng các chủng loại dược liệu nghiên cứu bao gồm thực vật, động vật, vi sinh vật và đặc biệt quan tâm đến các loại dược liệu có nguồn gốc từ sinh vật biển. Đây là bước khởi đầu cho các nghiên cứu về hợp chất thiên nhiên có nguồn gốc từ sinh vật biển, một hướng mới đang thu hút được sự quan tâm hiện nay.

Những thành công bước đầu trong nghiên cứu hợp chất thiên nhiên đã tạo động lực cho cuộc tìm kiếm các thuốc điều trị ung thư từ thực vật. Khám phá và phát triển thuốc điều trị ung thư Vinblastine, Vincristine, và podophyllotoxins là nền tảng cho hàng loạt những nghiên cứu về hợp chất thiên nhiên trong điều trị ung thư sau này. Nổi tiếp thành công là một loạt thuốc mới có nguồn gốc thực vật được tìm thấy, tiêu biểu là taxol, etoposide, camptothecin. Tại Mỹ, từ năm 1961 tính đến 2014 có 13 hợp chất từ thực vật được cấp phép sử dụng như thuốc điều trị ung thư. Số lượng chủng loại và doanh số bán ra của các thuốc ung thư có nguồn gốc thực vật là minh chứng rõ ràng về vai trò của thực vật như một nguồn lợi to lớn. Một số hợp chất được liệt kê trong bảng sau:

**Bảng 1.4:** Các thuốc điều trị ung thư có nguồn gốc từ thực vật được thương mại hóa

Hợp chất chống ung	Loại hợp chất	Nguồn gốc thực vật	Loại ung thư

thư nguồn gốc thực vật			
Vinblastine (Velban)	Monoterpene indole alkaloids	Cây Dừa cạn ( <i>Catharanthus roseus</i> )	Ung thư hệ bạch huyết Hodgkin
Vincristine (Oncovin)	Alkaloids	Cây Dừa cạn ( <i>Catharanthus roseus</i> )	Ung thư máu, hệ bạch huyết
Taxol (Paclitaxel)	Diterpene alkaloids	Vỏ của cây Thông đỏ <i>T. brevifolia</i>	Ung thư cổ tử cung, vú, phổi và burowsu thịt Kaposi
Vinorelbine (Navelbine)	Monoterpene	Cây Dừa cạn ( <i>Catharanthus roseus</i> )	Khối u cứng, ung thư hệ bạch huyết, ung thư phổi.
Etoposide	Dạng Pliccoside của Podophyllotaxin	Dẫn xuất bán tổng hợp của từ Podophyllotaxin rễ cây táo ma ( <i>Taxus brevifolia</i> )	Ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư tinh hoàn
Taxotere (Docetaxel)	Dẫn xuất của 10-Deacetyl baccatin III	Từ 4 loài Thông ( <i>Taxus</i> , <i>T. brevifolia</i> , <i>T. baccata</i> , <i>T. canadensis</i> , <i>T. cuspidata</i> )	Ung thư não, ung thư phổi, ung thư tuyến tiền liệt.
Camptothecin	Quinoline	<i>Camptotheca</i>	Ung thư dạ dày,

	alkaloids	<i>accuminata</i>	ung thư trực tràng, ung thư ruột kết, ung thư bàng quang
Cabazitaxel (Jevtana)	Dẫn xuất của taxoid 10-Deacetyl baccatin III	Từ 4 loài Thông ( <i>Taxus</i> , <i>T. brevifolia</i> , <i>T. baccata</i> , <i>T. canadensis</i> , <i>T. cuspidata</i> )	Ung thư tụy giai đoạn di căn
Homoharringtonine; Omacetaxine mepesuccinate (Ceflatonin)	Alkaloids	<i>Cephalotaxus haringtonia</i>	Bệnh bạch cầu cấp tính (AML, APL)
Ingenol mebutate (Picato)	Este của diterpene ingenol và axit angelic	<i>Euphorbia peplus</i>	Ung thư da

*e. Đặc điểm nuôi cấy các tế bào ung thư*

Trong quá trình nuôi cấy tế bào, đối với tế bào bình thường sự nuôi cấy đòi hỏi môi trường trung gian nghiêm ngặt nhưng chúng chỉ sống được trong một thời gian nhất định trong ống nghiệm, các tế bào non như nguyên bào sợi có thể sống được lâu hơn với một số lượng phân chia ít nhất rồi sẽ chết. Trong khi đó, các tế bào tế bào ung thư lại dễ sống sót trong môi trường chỉ bao gồm các carbohydrate, protein, vitamin và muối khoáng cần thiết.

Trong môi trường nuôi cấy, các tế bào ung thư có khả năng kết dính thấp bởi vì các phân tử dính trên bề mặt bị mất đi và chúng có thể tự tách ra khỏi bề mặt đáy bình và nổi lên trên môi trường nuôi cấy.

Các tế bào ung thư có thể phát triển trong môi trường chuyển động không cần thiết phải có môi trường đệm. Trong khi các tế bào bình thường cần môi trường có độ chắc nhất định để làm môi trường đệm (ngoại trừ tế bào máu).

Trong ống nghiệm tế bào ung thư dễ tồn tại bởi chúng có thể đáp ứng với các kích thích tối thiểu của môi trường bên ngoài, chúng có khả năng tự phát triển, hoặc tiết ra các thụ thể phát triển nhanh để kích thích sự phát triển tác động lên chính tế bào.

Sự thiếu các kích thích ức chế tiếp xúc làm cho tế bào phát triển quá mức chính là nguyên nhân tạo thành khối tế bào không cấu trúc và chèn ép lẫn nhau. Trong cơ thể sự phát triển của tế bào u là rối loạn sự sắp xếp của mô và cơ quan [46], [54].

### **1.3.3. Khả năng kháng vi sinh vật từ hợp chất thiên nhiên**

Bên cạnh thực vật, vi sinh vật cũng là một chìa khóa trong việc nghiên cứu các thuốc điều trị ung thư từ hợp chất thiên nhiên. Đáng chú ý trong số đó là Bleomycins (Blenoxane), Dactinomycin, Mitomycin C, Anthracyclines, Daunomycin và Doxorubicin (Adriamycin). Một trong những loại thuốc điều trị ung thư nổi bật trong nhóm này là Doxorubicin, một kháng sinh thuộc nhóm Anthracyclin gây độc tế bào được phân lập từ môi trường nuôi cấy vi khuẩn *Streptomyces peucetius* var. *caecius* [23], [26]. Doxorubicin được Tổ chức Y tế Thế giới xếp vào danh sách một trong những loại thuốc quan trọng nhất trong nhóm thuốc chăm sóc sức khỏe cơ bản. Một thuốc nổi bật khác là Etoposides. Bộ khung Etoposide được phát hiện lần đầu tiên vào năm 1993 trong dịch chiết của loài *Myxobacterium* tên là *Sorangium cellulosum*. Tháng 10 năm 2007, Cơ quan kiểm định Thực phẩm và Dược phẩm (FDA) Hoa Kỳ đã cấp phép cho

Ixabepilone, một loại thuốc có bộ khung Epothilone được nghiên cứu và phát triển bởi công ty dược phẩm Hoa Kỳ Bristol-Myers Squibb [69].

## **1.4. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VỀ TRÀ HOA VÀNG TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC**

### **1.4.1. Ngoài nước**

Chi *Camellia* được bắt đầu nghiên cứu bởi nhà thực vật Linne người Thụy Điển từ đầu thế kỷ XVII trong cuốn “Genera Plantarum”, ông đặt tên chi Trà là *Camellia* để tưởng nhớ người cha quá cố Camellus. Sau đó gần 20 năm, các loài *Camellia japonica*, *Camellia sinensis* mới được nghiên cứu và mô tả [41].

Theo thống kê trên thế giới, chi *Camellia* L. có khoảng 280 loài, phân bố chủ yếu ở nhiệt đới và á nhiệt đới. Các loài trong chi này có nguồn gốc ở khu vực miền đông và miền nam châu Á, từ phía đông dãy Himalaya tới Nhật Bản và Indonesia.

Theo “World checklist of selected plant families” (2020), chi *Camellia* trên thế giới có khoảng 185 loài. Trong số đó chỉ riêng tại Trung Quốc có tới 97 loài với 76 loài đặc hữu. Chi *Camellia* ở Trung Quốc có khoảng 30 loài trà hoa vàng. Trung Quốc được xem như là trung tâm phát sinh của các loài trà hoa vàng [49]. Tuy nhiên, ngoài Trung Quốc các loài Trà hoa vàng còn có ở Lào, Campuchia và một số nước khác ở Đông Nam Á, song hiện không có tư liệu chính xác về số loài hiện có ở mỗi quốc gia [16], [51].

Các loài Trà hoa vàng ưa khí hậu nóng ẩm, thường mọc ở nơi đất tươi xốp bên bờ suối có bóng râm, thoát nước tốt. Phạm vi phân bố tự nhiên rất hẹp, chỉ thấy mọc hoang ở vùng đồi gò có độ cao khoảng 100-200m. Tại huyện Ung Ninh - Nam Ninh - Quảng Tây - Trung Quốc, các loài Trà hoa vàng được đưa vào danh sách các loài cây bảo hộ cấp I của Trung Quốc [51].

Ở Trung Quốc, nhiều loài Trà hoa vàng được dùng làm thuốc bởi tác dụng bảo vệ gan, thải độc, hạ cholesterol máu, chống béo phì, tốt cho hệ tim

mạch, giúp cho tâm trí tỉnh táo và tăng cường sinh lực... Trong số các loài Trà hoa vàng ở Quốc gia này, có loài *Camellia nitidissima* được coi là cây thuốc đặc biệt quý giá, nên có tên gọi là “Kim hoa trà” (Golden Camellia) [11], [12].

Trần Ninh cho biết, trong một lần tham gia hội thảo quốc tế về trà hoa vàng tại Quảng Tây, ông đã được một doanh nghiệp Trung Quốc giới thiệu loại “Golden Camellia” dạng nước có giá tiền Việt Nam khoảng 4,76 triệu đồng/chai. Doanh nghiệp này cũng đã trồng thành công vùng trà hoa vàng nguyên liệu rộng hơn 20ha và sản xuất các sản phẩm xuất khẩu tại một xưởng sản xuất tại Quảng Tây chỉ với 80 công nhân, mỗi năm cho lợi nhuận hơn 80 tỷ đồng. Ngoài ra, Trung Quốc cũng đã xây dựng Vườn Camellia Quốc tế, đã trồng thành công những vùng trà hoa vàng nguyên liệu rộng hàng chục hécta; nghiên cứu thành công các chế phẩm và sản xuất, xuất khẩu hàng loạt dược liệu và thực phẩm chức năng làm từ trà hoa vàng như Superior tea, Golden Camellia... Một chai Golden Camellia trị giá khoảng 4,76 triệu đồng [6].

Ngoài ra, các nghiên cứu của nước ngoài cũng chỉ ra rằng, Trà hoa vàng còn có khả năng hấp thụ CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, Cl, HF và các thể khí độc hại khác, có tác dụng bảo vệ môi trường mạnh, làm sạch không khí. Một công viên Trà hoa vàng đã được xây dựng tại Nam Ninh - Trung Quốc để phục vụ người dân thăm quan và là nơi bảo vệ nguồn gen cho các nhà khoa học nghiên cứu.

#### **1.4.2. Trong nước**

Trà hoa vàng lần đầu tiên được người Pháp phát hiện ở miền Bắc nước ta năm 1910, nhưng cho đến nay các công tác nghiên cứu về bảo tồn Trà hoa vàng không đáng kể. Những năm 90 của thế kỷ XX, Trà hoa vàng mới được quan tâm điều tra nghiên cứu về hình thái, phân loại. Trong những năm nửa đầu thế kỷ XX, nhiều nhà thực vật quốc tế đã tiến hành nhiều đợt khảo sát và thu thập các mẫu vật trong đó có các loài thuộc chi *Camellia* ở Việt Nam. Trong số đó phải kể đến các nhà thực vật học người pháp như Eberhardt và

Petelot đã thu thập được các mẫu *Camellia amplexicaulis* và *Camellia caudata*. Các loài này đã được Gagnepain công bố trong “Thực vật chí Đông Dương” xuất bản năm 1943 [16].

Chi *Camellia* ở Việt Nam hiện ghi nhận 68 loài và 1 thứ, trong đó các loài trà hoa vàng có 47 loài [4], [24]. Với số loài đã biết, Việt Nam trở thành một trong những Quốc gia sở hữu nhiều loài Trà hoa vàng nhất trên thế giới. Trong số 47 loài này, có 32 loài được coi là đặc hữu Việt Nam, hoặc cho đến nay mới chỉ được công bố có ở Việt Nam. Trong đó loài *C. nitidisma* C.W. Chi - Kim hoa trà Theo các Tác giả Trung Quốc, loài này có ở Việt Nam (Lạng Sơn, Quảng Ninh).

Năm 1995, Tiến sĩ Trần Ninh (Đại học quốc gia Hà Nội) đã tìm ra 2 loài Chè hoa vàng tại Vườn Quốc Gia Cúc Phương được công bố trên Tạp chí “Di truyền và ứng dụng”. Đến năm 2002, ông đã thống kê được 50 loài và thứ thuộc chi *Camellia* trong phạm vi cả nước.

Năm 2000 Đỗ Đình Tiến đã nghiên cứu về nhân giống bằng giâm hom cho loài *C. tonkinensis* và *C. euphleboides* đạt tỷ lệ ra rễ từ 70% - 86%.

Năm 2020, Nguyễn Duy Thành đã tiến hành nghiên cứu đặc điểm phân bố, sinh thái và giá trị sử dụng của Trà hoa vàng (*C. quephongensis* Hakoda et Ninh) phân bố tại xã Đồng Văn, huyện Qué Phong, ban Quản lí khu bảo tồn thiên nhiên Pù Hoạt Tỉnh Nghệ An.

Năm 2002, Trần Đức Mạnh và các cộng sự khi nghiên cứu về đa dạng thành phần loài họ Chè (Theaceae) đã công bố 6 loài trà hoa vàng phân bố ở phía nam Trung Quốc và Miền Bắc Việt Nam.

Bên cạnh đó nhiều phát hiện mới tại các tỉnh thuộc khu vực phía Bắc, Trần Ngọc Hải năm 2002 (Đại học Lâm Nghiệp Việt Nam) cho biết Trà hoa vàng có phân bố ở vùng rừng tái sinh thuộc xã Phước Lộc, Lâm Đồng.

Vào năm 2007, sau gần một thế kỷ loài trà hoa vàng được phát hiện, Viện Dược liệu (Bộ Y tế) có công trình: “Bước đầu khảo sát thành phần hóa

học của một số loài trà hoa vàng *Camellia spp.* ở Việt Nam”. Kết quả của đề tài khoa học cấp Viện này cũng mới chỉ dừng lại ở mức xác định được một số nhóm chất của 5/20 loại trà hoa vàng bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng.

Mặc dù chưa được quan tâm nghiên cứu nhiều, nhưng căn cứ vào hiện trạng phân bố đã biết của các loài Trà hoa vàng, các nhà thực vật ở nước ta đã đưa 3 loài Trà hoa vàng mọc tự nhiên (*Camellia fleuryi*, *C. gilberti* và *C. pleurocarpa*) vào Sách Đỏ Việt Nam, phần II – Thực vật (2007), nhằm khuyến cáo bảo tồn [66]. Mở đường cho việc nhân trồng Trà hoa vàng ở Việt Nam, trong Hội nghị Quốc tế lần thứ nhất về Trà hoa vàng, tổ chức ở nước ta năm 2002, Trần Ninh đã đưa ra ấn phẩm bản dịch tiếng Việt Cách nhân giống Trà hoa vàng, từ bản tiếng Anh của Tác giả Nhật Bản Shuho Kirino. Theo tài liệu này, các loài Trà hoa vàng đều có thể nhân giống thành công từ hom thân, cành và gieo hạt. Trong khuôn khổ đề tài cấp ngành, VQG Tam Đảo đã thu thập được 6 loài Trà hoa vàng mọc tự nhiên ở VQG, đưa vào trồng bảo tồn chuyển vị tại Vườn thực vật. Đồng thời đề tài còn tiến hành nghiên cứu về một số đặc điểm lâm học và nhân giống vô tính 2 loài Trà vàng pêtêlô (*Camellia petelotii*) và Trà vàng tam đảo (*C. tamdaoensis*). Các cây con nhân giống được đã được đem ra trồng, bước đầu cây sinh trưởng phát triển tốt [12]. Gần trùng hợp với đề tài này, nhóm nghiên cứu của Trường đại học Lâm nghiệp và Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, cũng tiến hành nghiên cứu sơ bộ về đặc điểm lâm học và nhân giống bằng hom 6 loài trà hoa vàng: *Camellia cucphuongensis*, *C. euphlebia*, *C. flava*, *C. petelotii*, *C. tamdaoensis*, *C. tonkinensis*.

Được sự hỗ trợ, đầu tư của sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Vĩnh Phúc, Công ty DIA đang tiến hành đề tài nghiên cứu bảo tồn đi đôi với phát triển nhân trồng Trà hoa vàng trên diện tích lớn, tại xã Ngọc Thanh, huyện Tam Đảo. Sau 2 năm thực hiện (2015 và 2016), đề tài đã thu thập được 15 loài Trà hoa vàng, đưa về trồng, dưới hình thức bảo tồn chuyển vị (*Camellia*

*euphlesia*, *C. hakodae*, *C. hirsute*, *C. phannii*, *C. tiennii*, *C. tamdaoensis*, *C. Luongii*, *C. crassiphylla*, *C. thanxaensis*, *C. petelottii*, *C. cucphuongensis*, *C. rossmannii*, *C. gilbertii*, *Camellia sp1.* và *Camellia sp2.*), mỗi loài có từ 5-30 cá thể. Bằng phương pháp nhân giống vô tính, công ty đã trồng được gần 5 ha với khoảng 12.000 cây, thuộc 8 loài. Một số cây trồng năm 2015 đã ra hoa lúa đầu. Có lẽ đây là Dự án bảo tồn và nhân trồng Trà hoa vàng được thực hiện một cách đồng bộ và có bài bản nhất ở nước ta cho đến bây giờ [66].

Vài năm gần đây, sản phẩm Trà hoa vàng Việt Nam đã bắt đầu được giới thiệu trên thị trường trong nước. Sản phẩm Trà hoa vàng, gồm có cây giống, dược liệu lá và hoa khô. Thực hiện chương trình “Mỗi xã – phường Một sản phẩm” (OCOP - One Commune One Product Program), năm 2016, tỉnh Quảng Ninh đã cấp chứng nhận cho 39 sản phẩm OCOP, trong đó có sản phẩm là hoa khô Trà hoa vàng. Năm 2017, tại thị trấn huyện Ba Chẽ tỉnh Quảng Ninh, đã diễn ra Hội chợ Trà hoa vàng. Hội chợ có nhiều hoạt động giới thiệu về tiềm năng và quảng bá sản phẩm Trà hoa vàng của địa phương. Với “Thương hiệu” này, Trà hoa vàng ở Quảng Ninh được giao bán với giá từ 14-15 triệu đồng/kg hoa khô. Tuy nhiên, hiện chưa thấy có công bố khoa học nào về thành phần loài cũng như thành phần hóa học của các loài Trà hoa vàng đang được trồng và thương mại hóa ở tỉnh Quảng Ninh. Ngoại trừ một trang mạng ghi chung tên cây Trà hoa vàng ở địa phương này là *Camellia chrysantha* [8].

Trong những năm gần đây nhiều nhà nghiên cứu nước ngoài (Úc, Pháp, Anh, Nhật...) đã tới Việt Nam nghiên cứu, tìm hiểu về các giống, đặc biệt là Trà hoa vàng. Trà hoa vàng phân bố chủ yếu ở vùng á nhiệt đới, nóng ẩm và có mùa đông, rất thích hợp với miền Bắc và Đà Lạt, có thể trồng được trên nhiều loại đất, trong đó đất tơi xốp, thoát nước, đất chua có độ pH từ 4,5 - 5,5 là thích hợp nhất. Trà hoa vàng đang là loài quý hiếm, chưa nơi nào trồng với diện tích lớn. Một số loài không có nhị (bạch trà) nên không có

quả. Vì vậy, phương pháp nhân giống chủ yếu hiện nay là nhân giống vô tính (chiết, ghép, giâm hom, nuôi cấy mô), trong đó cách giâm hom là đơn giản và có tỷ lệ cây sống cao [60].

Đề tài “Nghiên cứu khả năng bảo tồn ngoại vi (Ex situ) và nhân giống một số loài Trà hoa vàng nhằm bảo vệ và phát triển” đã được thực hiện cho hai loài *C. tonkinensis* và *C. euphlebia*. Đề tài đã tìm hiểu điều kiện sống của 2 loài Trà hoa vàng Ba Vì và Sơn Động làm cơ sở cho việc xác định biện pháp kỹ thuật gây trồng nó sau này. Việc tìm thấy loài Trà hoa vàng ba vì (*Camellia tonkinensis*) là thành công, do trước đây Rossmann (1995) đã đi tìm nhưng chưa thấy và tưởng loài này đã mất. Đề tài đã tiến hành giâm hom thành công 2 loài này đạt tỉ lệ ra rễ và sống 50 – 80,6%. Lần đầu tiên phân tích các nguyên tố vi lượng trong lá Trà hoa vàng ba vì và sơn động tại nơi sinh sống tự nhiên của chúng.

Giai đoạn 2013-2016, đề tài “Khai thác và phát triển nguồn gen trà hoa vàng Tam Đảo (*Camellia tamdaoensis*) và trà hoa vàng pêtêlô (*Camellia petelotii*) tại Vườn Quốc gia Tam Đảo” đã nhân giống thành công 2 loài trà hoa vàng ở VQG Tam Đảo. Năm 2016, Phạm Xuân Trung và các cộng sự đã đưa ra một số dẫn liệu về Trà hoa vàng quế phong có một số hàm lượng các vi lượng khá cao và đánh giá một số đặc điểm sinh học của loài này.

Nghiên cứu thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của các loài trà hoa vàng ở Việt Nam có rất ít công trình như: Nguyễn Thị Hồng Vân và cs (2018) đã nghiên cứu về loài *Camellia chrysantha*, kết quả nghiên cứu đã xác định được 5 hợp chất vitexin, quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, quercetin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, quercetin-3'-O- $\beta$ -D-glucopyranoside và quercetin-3-O-rutinose [52]. Nguyễn Văn Tuyên và cs (2019) đã công bố thành phần hoá học của loài *Camellia hakodae*, trong đó đã phân lập được 01 hợp chất mới là sexangularetin 3-O-(2''-O-(E)-p-coumaroyl- $\beta$ -d-glucopyranoside) và 9 hợp chất đã biết. Khi thử hoạt tính từ hợp chất mới cho thấy có khả năng kháng các dòng tế bào ung thư: HepG2 (IC50 192.0

$\mu\text{g/mL}$ ), Lu ( $\text{IC}_{50}$  90.2  $\mu\text{g/mL}$ ) và KB ( $\text{IC}_{50}$  72.7  $\mu\text{g/mL}$ ). Rui Yang và cs (2018), nghiên cứu dịch chiết của loài *Camellia nitidissima* đã cho thấy dịch chiết loài này có khả năng chống oxy hoá. Như vậy, các công trình này chỉ tập trung nghiên cứu chuyên sâu, chưa đánh giá được giá trị dược liệu của các loài Trà hoa vàng. Trần Văn Ôn (2018), nghiên cứu một số thành phần hóa học, tác dụng sinh học của cây trà hoa vàng tại Ba chẽ, Quảng Ninh.

Những bước đầu về kết quả nghiên cứu thành phần hóa học của hoa trà hoa vàng *Camellia quephongensis* trong tạp chí Khoa học và công nghệ đại học Đà Nẵng công bố 46 hợp chất đã được phát hiện có mặt trong cao tổng cồn/ nước và 20 hợp chất được phát hiện trong cao chiết phân đoạn ethyl axetat hoa trà hoa vàng *Camellia quephongensis* Hakoda et Ninh thu tại Quế Phong, Nghệ An bằng việc sử dụng kỹ thuật sắc ký lỏng phân giải cao ghép nối khối phổ [36].

Như vậy, việc nghiên cứu bảo tồn, nhân trồng Trà hoa vàng cũng như thành phần hoá học, hoạt tính sinh học ở nước ta, nhìn chung chưa có chủ trương hay chiến lược phát triển đồng bộ ở mức vĩ mô. Trà hoa vàng đang được nghiên cứu, đưa vào phát triển, sử dụng như là một cây thuốc có giá trị kinh tế cao tại Trung Quốc. Việt Nam là một trong những quốc gia có số loài Trà hoa vàng nhiều nhất trên thế giới, do vậy việc nghiên cứu Trà hoa vàng một cách toàn diện, từ đó lựa chọn ra những loài có giá trị sử dụng cao, đưa vào phát triển trồng để sử dụng, đang là một yêu cầu cần thiết được đặt ra ở nước ta hiện nay. Trong đó, chỉ một số ít công trình nghiên cứu về các loài trà hoa vàng ở Việt Nam mới tập trung ở Miền Bắc, Tây Nguyên và Nam Tây Nguyên, chưa có nghiên cứu nào đánh giá đầy đủ về đa dạng, bảo tồn và giá trị dược liệu của các loài Trà hoa vàng đặc hữu ở Bắc Trung Bộ.

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

### 2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

#### 2.1.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu sử dụng thu hái từ bộ phận lá và hoa của hai loài trà hoa vàng:

+ Loài trà hoa vàng *C. puhoatensis* được thu hái tại xã Đồng Văn, huyện Quế Phong vào ngày 31/1/2021; tại toạ độ 19<sup>0</sup>11'52" B, 104<sup>0</sup>10'57" Đ; độ cao so với mực nước biển là khoảng 700m.

+ Loài trà hoa vàng *C. quephongensis* (*Hakoda et Ninh*): được thu hái tại xã Hạnh dịch, huyện Quế Phong vào ngày 31/1/2021; tại toạ độ 19<sup>0</sup>48'31" B, 105<sup>0</sup>5'43" Đ; độ cao so với mực nước biển là khoảng 700m.

#### 2.1.2. Tế bào thử nghiệm

Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng tế bào ung thư đã được lấy từ dịch chiết lá và hoa của hai loài trà hoa vàng được thực hiện trên 7 dòng tế bào ung thư: Tế bào tử cung (Hela), tế bào ung thư vú (MCF-7), tế bào ung thư phổi (A549), tế bào ung thư đại tràng (HT-29), tế bào ung thư gan (HepG2), tế bào ung thư dạ dày (MNK-7) và tế bào ung thư da (SK-Mel-2). Các dòng tế bào ung thư này được cung cấp bởi GS.TS. J.M Pezzuto, trường Đại học Hawaii và GS.TS Jeanette Maier, trường Đại học Milan.

#### 2.1.3. Các chủng vi sinh vật kiểm định

Được cung cấp bởi Công ty chủng vi sinh vật Quốc tế ATCC (American Type Culture Collection). Gồm: 3 chủng vi khuẩn Gram âm: *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella enterica* ATCC13076; 3 chủng vi khuẩn Gram dương: *Enterococcus faecalis* ATCC29212, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC14579; 1 chủng nấm men *Candida albicans* ATCC10231 (Microbiologics, Mỹ).

Động vật: Chuột thuần chủng dòng BALB/c khoẻ mạnh, không phân biệt giống, không mắc bệnh, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, có khối lượng từ 24-26 g do phòng Thử nghiệm sinh học, Viện Công nghệ sinh học, thuộc Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam cung cấp.

#### **2.1.4. Một số thiết bị và hóa chất được sử dụng trong đề tài**

##### **2.1.4.1. Một số thiết bị sử dụng trong đề tài**

**Bảng 2.1:** Các trang thiết bị phục vụ nghiên cứu

<b>Tên thiết bị</b>	<b>Hãng sản xuất</b>
<b>1. Chiết mẫu</b>	
Cân điện tử	Vibra HAW
Cân phân tích	Precisa 262SMA-FR
Máy cô quay chân không	Buchi rotavapor R-300
Tủ sấy	Memmert, Binder-FD115.
Tủ âm CO <sub>2</sub>	Binder C150
<b>2. Thử hoạt tính tế bào và kháng oxy hóa</b>	
Đèn soi tử ngoại hai bước sóng 254nm và 365nm	Zhejiang Sujing WFH-203B
Máy lắc	DH. WSR04020 Daihan
Máy đọc ELISA 96 giếng	Bio-rad
Đĩa 96 giếng nhựa	Corning, USA
Pipette	eppendorf

##### **2.1.4.2. Một số hóa chất được sử dụng trong đề tài**

- Hóa chất dùng trong thử nghiệm gây độc tế bào ung thư gồm có: FBS của GIBCO và Dimethyl sulfoxit (DMSO) của hãng Invitrogen; Chất tham khảo là Ellipticine (Sigma, USA), Trypsin (Sigma), Trichloroacetic acid – TCA (Sigma, USA), Sulforhodamine B (SRB) (Sigma, USA), Unbuffered Tris base (Sigma, USA) và một số hóa chất thông thường khác. 10% FBS,

penicillin: 100 units/ml, streptomycin sulphate: 100 $\mu$ g/ml, MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide).

- *Hoá chất thử nghiệm kháng oxy hoá* gồm có: Trolox (Sigma Aldrich) Ascorbic acid (Fisher), đệm phosphat hoặc đệm KCl, Acid tricloacetic (TCA, Fisher), Acid thiobarbituric (TBA) (Sigma Aldrich), FeSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O.

- *Hoá chất dùng nuôi cấy vi sinh vật*: Các môi trường sử dụng trong nghiên cứu vi sinh được tham khảo bởi Stanley và Holt (1989) có cải tiến của Khoa Hoá dược phẩm và Dược liệu học, Đại học Dược, Đại học Illinois Chicago: A1(g/l): tinh bột tan: 10, cao nấm men: 4, pepton: 2, muối biển nhân tạo: 30, thạch agar: 15; A1+ (g/l): tinh bột tan: 10, cao nấm men: 4, pepton: 2, muối biển nhân tạo: 30, CaCO<sub>3</sub>: 1,5 ml 20 mg/ml FeSO<sub>4</sub>, 5 ml 8 mg/ml KBr, thạch agar: 15; M1 (g/l): tinh bột tan: 1, cao nấm men: 0,4, pepton: 0,2, muối biển nhân tạo: 30, thạch agar: 15; SWA (g/l): muối biển nhân tạo: 30, thạch agar: 15; SCA: muối biển nhân tạo: 10g/l, CaCO<sub>3</sub>: 2 mg/l, FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 10 mg/l; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 50 mg/l; casitone 300 mg/l; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 2 g/l; KNO<sub>3</sub>: 2 g/l; thạch agar: 15; NZSG (g/l): Tinh bột tan: 20, cao nấm men: 5, đường glucoza: 10, NZ amine A: 5, muối biển nhân tạo: 30, thạch agar: 15; ISP1 (g/l): cao nấm men: 2, casitone: 5, muối biển nhân tạo: 30, thạch agar: 15; ISP2 (g/l): tinh bột tan: 5, cao nấm men: 2, đường glucoza: 10, cao mạch nha: 10, muối biển nhân tạo: 30.

## 2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.2.1 Phương pháp thu hái mẫu

Mẫu lá và hoa tươi của 2 loài trà hoa vàng (*Camellia puhoatensi*) được thu hái tại vườn Quốc gia Pù Hoạt, xã Đồng Văn, huyện Quế Phong và trà hoa vàng Quế Phong (*Camellia quephongensis*) thu hái tại xã Hạnh dịch, huyện Quế Phong, được bảo quản trong thùng xốp lạnh và đưa về phòng thí nghiệm Sinh lý người và động vật của Trường Đại học Vinh.

## 2.2.2 Chiết xuất cao toàn phần trà hoa vàng

### 2.2.2.1. Sơ chế nguyên liệu

Lá và hoa của cây trà hoa vàng được loại bỏ những phần dập nát, tiến hành rửa sạch, cắt khúc kích thước 3 mm, sấy khô ở nhiệt độ 60°C với mục đích bảo quản nguyên liệu khỏi bị nhiễm mốc, vi khuẩn và hạn chế các biến đổi thành phần hóa học có thể xảy ra trong nguyên liệu như bị thủy phân, oxy hóa...

### 2.2.2.2. Chuẩn bị dung môi

Dung môi sử dụng: Hỗn hợp ethanol/nước = 7/3. Đây là dung môi giúp chiết được hầu hết các thành phần có trong nguyên liệu, có các ưu điểm như: giá thành rẻ, dễ tìm, ít gây độc hại cho người và môi trường.

### 2.2.2.3. Chiết cao toàn phần

- **Bước 1:** Nguyên liệu sau khi sơ chế được đưa vào xay thô có kích thước 3 mm.

Theo lý thuyết kích thước của nguyên liệu càng nhỏ thì bề mặt tiếp xúc với dung môi càng cao, chất khuếch tán vào dung môi tăng và thời gian để chiết xuất sẽ nhanh hơn. Nhưng, trong thực tế khi nguyên liệu quá nhỏ, mịn sẽ gây ra một số bất lợi như khi ngâm bột nguyên liệu vào dung môi, bột sẽ bị bết dính, nhão, vón cục khiến cho quá trình chiết bị chậm lại và khi rút dịch chiết sẽ khó khăn, không chảy được (làm tắc thiết bị). Khi xay nguyên liệu quá mịn, nhiều tế bào trong nguyên liệu bị phá hủy, dịch chiết sẽ bị lẫn tạp chất, gây khó khăn cho quá trình tinh chế bảo quản. Vì lý do đó, nên xay mẫu thô với kích thước bằng hạt gạo (sử dụng sàng có lỗ 3 mm).

- **Bước 2:** Chiết cao toàn phần (trong dung môi ethanol 70%)

Cho nguyên liệu vào bình thủy tinh rồi đổ ngập dung môi, ngâm trong 2 tuần, ở nhiệt độ phòng, sau đó chiết, thu dịch lỏng.

Sau đó ngâm nguyên liệu trong bình với dung môi lần 2 và lần 3 trong thời gian 1-2 ngày, sau đó chiết và thu dịch lỏng (lúc này màu dịch chiết đã rất nhạt => đã kiệt).

Dịch chiết lúc này gọi là dịch chiết thô sẽ gồm dung môi và chất chiết. Nên cần phải loại bỏ dung môi ở bước tiếp theo.



**Hình 2.1:** Máy cô quay chân không

Hiệu suất thu nhận cao còn

$$P\% = \frac{M_c}{M_{bđ}} \times 100$$

Trong đó:

P: Hiệu suất cao thu được(%).

$M_c$ : Khối lượng cao còn thu được (g).

$M_{bđ}$ : Khối lượng dược liệu ban đầu (g).

- **Bước 3:** Loại bỏ dung môi

Dịch chiết sau khi thu được sẽ sử dụng máy cô quay chân không để loại bỏ dung môi ở áp suất thấp để thu được cao tổng.

*Nguyên lý: Áp suất được tạo ra bằng bơm, hút khí nên dịch chiết sôi ở nhiệt độ thấp.*

### 2.2.3. Phương pháp định tính các nhóm chất hóa học

Mẫu phân tích gồm 4 mẫu cao lỏng, ký hiệu lần lượt là LQP, HQP, LPH, HPH. Các mẫu cao này được cô cách thủy đến khi thu được cao đặc.

**Yêu cầu kiểm nghiệm**

Định tính một số nhóm chất thường gặp bằng phản ứng hóa học với thuốc thử đặc trưng.

### **2.2.3.1. Định tính flavonoid**

- Phản ứng cyanidin: Cho 2 ml dịch lọc vào một ống nghiệm, thêm một ít bột magie kim loại, rồi thêm vài giọt acid hydrocloric đặc. Đun nóng trên cách thủy sau vài phút thấy xuất hiện màu tím đỏ (phản ứng dương tính).
- Phản ứng với dung dịch  $\text{FeCl}_3$  5%: Cho 2 ml dịch lọc vào một ống nghiệm, thêm 2-3 giọt  $\text{FeCl}_3$  5%, thấy dung dịch có màu xanh đen.
- Phản ứng với kiềm: cho vào ống nghiệm 1 ml dịch lọc, thêm vài giọt dung dịch  $\text{NaOH}$  10%, phản ứng dương tính khi màu vàng của dung dịch tăng thêm.

### **2.2.3.2 Định tính coumarin: định tính bằng phản ứng ống nghiệm**

Phản ứng đóng / mở vòng lacton: Cho 1 ml dịch lọc vào 2 ống nghiệm, cho vào ống thứ nhất 0,5 ml dung dịch  $\text{NaOH}$  10%, ống thứ hai thì không. Sau khi đun cả hai ống nghiệm trên nồi cách thủy sôi vài phút, ống nghiệm thứ nhất có màu vàng xuất hiện. Sau đó, thêm vào mỗi ống 2 ml nước cất thì ống thứ nhất trong hơn ống thứ hai, nhưng sau khi chúng được axit hoá bằng vài giọt  $\text{HCl}$  đặc thì cả hai ống đều đục như nhau (phản ứng dương tính).

Phản ứng với thuốc thử diazo: Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, sau đó cho 2 ml dung dịch  $\text{NaOH}$  10% vào ống nghiệm. Đun nóng ống nghiệm đến sôi, để nguội, thêm vài giọt thuốc thử diazo (mới chuẩn bị), quan sát thấy kết tủa đỏ gạch (phản ứng dương tính). Thuốc thử diazo được chuẩn bị theo quy trình sau. 0,9 g axit sunfanilic được hòa tan trong 9 ml axit hydroclorid đậm đặc bằng cách đun nóng, sau đó pha loãng với nước thành 100 ml. Tiếp theo, 10 ml dung dịch trên được ngâm trong nước đá, sau đó thêm 10 ml dung dịch natri nitrit 4,5% đã làm lạnh trước (bằng cách ngâm trong nước đá). Hỗn hợp được ngâm trong nước đá khoảng 15 phút, sau đó 20 ml dung dịch natri cacbonat 10% được thêm vào.

### 2.2.3.3 **Định tính tanin:** định tính bằng phản ứng ống nghiệm

- Ống 1: 2 ml dịch lọc, thêm 2 giọt  $\text{FeCl}_3$  5%. Phản ứng dương tính khi xuất hiện tủa xanh đen hoặc xanh nâu nhạt.
- Ống 2: 2 ml dịch lọc, thêm 2 giọt chì acetat 10%. Phản ứng dương tính khi xuất hiện tủa bông.
- Ống 3: 2 ml dịch lọc, thêm 5 giọt dung dịch gelatin 1%. Phản ứng dương tính khi xuất hiện tủa bông trắng.

### 2.2.3.4 **Định tính saponin:** định tính bằng phản ứng ống nghiệm

Quan sát hiện tượng tạo bọt: Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm có dung tích 20ml, thêm vào đó 10 ml nước cất. Bịt ống nghiệm bằng ngón tay cái, lắc mạnh ống nghiệm theo chiều dọc 5 phút, để yên và quan sát. Phản ứng dương tính khi bọt bền sau 10 phút.

Phản ứng Salkowski: Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, bốc hơi dịch lọc đến cạn. Hòa tan một ít cặn trong 1ml anhydrid acetic, thêm vào dung dịch 0,5 ml chloroform. Dùng pipet nhỏ từ từ 1-2 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  vào thành ống nghiệm. Phản ứng dương tính khi xuất hiện vòng tím đỏ ở mặt ngăn cách.

### 2.2.3.5 **Định tính đường khử:** định tính bằng phản ứng ống nghiệm

Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm. Thêm vào đó 0,5 ml TT Fehling A và 0,5 ml TT Fehling B. Đun sôi cách thủy vài phút thấy xuất hiện tủa đỏ gạch (phản ứng dương tính).

### 2.2.3.6. **Định tính polysaccharide:** định tính bằng phản ứng ống nghiệm

Cho vào 2 ống nghiệm:

Ống 1: 4 ml nước cất + 5 giọt thuốc thử Lugol.

Ống 2: 4 ml dịch lọc + 5 giọt thuốc thử Lugol.

Quan sát màu ống 2 đậm hơn ống 1 thì phản ứng dương tính.

### 2.2.3.7 **Định tính axit amin:** định tính bằng phản ứng ống nghiệm

Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm. Thêm vài giọt thuốc thử ninhydrin 3%, đun cách thủy sôi 2 phút, dung dịch chuyển màu tím (phản ứng dương tính).

### **2.2.3.8 Định tính alkaloid: định tính bằng phản ứng ống nghiệm:**

- Lấy 100 mg cao chiết cho vào bình nón dung tích 50 ml, thêm 15 ml dung dịch  $H_2SO_4$  2%, đun sôi vài phút. Để nguội, lọc dịch chiết vào bình gạn, kiềm hóa dịch lọc bằng dung dịch  $NH_4OH$  6N đến pH kiềm. Chiết alkaloid bằng chloroform ( $CHCl_3$ ) 3 lần, mỗi lần 5ml. Dịch chiết  $CHCl_3$  được gộp lại và lắc với  $H_2SO_4$  2%. Gạn lấy lớp nước acid, cho vào 3 ống nghiệm, mỗi ống khoảng 1ml để làm các phản ứng sau:

- Với thuốc thử Mayer (tủa trắng hay vàng nhạt)
- Với thuốc thử Bouchardat (tủa nâu)
- Với thuốc thử Dragendorff (tủa vàng cam hoặc đỏ)

### **2.2.4. Phép thử sinh học xác định tính độc tế bào (cytotoxic assay)**

#### **2.2.4.1. Phương pháp nuôi cấy tế bào ung thư**

Tế bào ung thư được tiến hành nuôi cấy theo hướng dẫn thường qui của ATCC (American type culture collection), đó là nuôi cấy tế bào dạng đơn lớp và dạng hỗn dịch. Cụ thể, bảy dòng tế bào ung thư thử nghiệm sẽ được nuôi trong các môi trường nuôi cấy phù hợp có bổ sung thêm 10% huyết thanh phôi bò FBS và các thành phần cần thiết khác ở điều kiện  $CO_2$  5%, ở  $37^\circ C$ .

#### **2.2.4.2. Phép thử sinh học xác định tính độc tế bào (cytotoxic assay)**

Phương pháp thử độ độc tế bào in vitro được đánh giá là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện các chất có khả năng kìm hãm sự phát triển hoặc tiêu diệt TBUT ở điều kiện in vitro (Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ). Phép thử được thực hiện theo phương pháp của Monks (1991). Phép thử tiến hành xác định hàm lượng protein tế bào tổng số dựa vào mật độ quang học (OD – Optical Density) đo được khi thành phần protein của tế bào được nhuộm bằng Sulforhodamine B (SRB). Lượng tế bào càng nhiều (lượng protein càng nhiều) thì giá trị OD càng lớn bởi vì giá trị OD máy đo được tỉ lệ thuận với lượng SRB gắn với phân tử protein.

Giá trị  $IC_{50}$  (nồng độ ức chế 50% sự phát triển của tế bào) được xác

định nhờ vào phần mềm máy tính Table-Curve.

### 2.2.5. Phương pháp chống oxi hoá (MDA)

Phương pháp chống oxi hóa thông qua ức chế quá trình peroxidation lipid màng tế bào (thử nghiệm MDA) được thực hiện theo phương pháp của Botsoglou *et al.* (1994), Jelili A Badmus *et al.*, (2011) và của Hodges *et al.* (1999), có sự thay đổi nhỏ cho phù hợp với điều kiện của phòng thí nghiệm. Xác định khả năng ức chế peroxy hoá lipid của mẫu nghiên cứu qua việc xác định hàm lượng malonyl dialdehyd (MDA), là sản phẩm của quá trình peroxy hoá lipid màng tế bào. MDA có khả năng phản ứng với acid thiobarbituric để tạo thành phức hợp trimethin (có màu hồng) có đỉnh hấp thụ cực đại ở  $\lambda = 532$  nm.

#### ***Pha mẫu thử:***

Cân mẫu sau đó pha thành các nồng độ 2000  $\mu\text{g/ml}$ , 400  $\mu\text{g/ml}$ , 80  $\mu\text{g/ml}$ , 16  $\mu\text{g/ml}$ , 3.2  $\mu\text{g/ml}$ , nên sau khi cho 0,1 ml mẫu thử ở các nồng độ thử nghiệm được cho phản ứng với 1 ml dịch đồng thể gan và thêm 0,8 ml đệm phosphat, cùng với 0,1 ml hệ Fenton vừa đủ 2 ml thì nồng độ mẫu trong ống thử giảm xuống 20 lần còn 100  $\mu\text{g/ml}$ , 20  $\mu\text{g/ml}$ , 4  $\mu\text{g/ml}$ , 0.8  $\mu\text{g/ml}$ , 0.16  $\mu\text{g/ml}$ .

***Cách tiến hành:*** Tách não chuột và nghiền đồng thể trong dung dịch đệm phosphat (pH = 7,4) theo tỉ lệ 1:10 ở nhiệt độ 0-4°C. Sau đó lấy 1 ml dịch đồng thể thêm vào 0,1 ml mẫu thử ở các nồng độ và 0,8 ml đệm phosphat thêm 0,1 ml hệ Fenton ( $\text{FeSO}_4$  0,1 mM:  $\text{H}_2\text{O}_2$  15 mM theo tỉ lệ 1:1). Ủ hỗn hợp ở 37°C trong 15 phút. Dừng phản ứng bằng 1 ml acid tricloacetic 10%. Li tâm 12.000 vòng trong 5 phút. Lấy dịch trong cho phản ứng với 1 ml acid thiobarbituric 0,8% (theo tỉ lệ 2:1). Ủ ở nhiệt độ 100°C 15 phút. Làm lạnh và tiến hành đo ở bước sóng  $\lambda = 532$  nm. Chất Trolox được sử dụng làm chất đối chiếu tham khảo.

#### ***Tính toán kết quả***

Công thức tính phần trăm hoạt tính chống oxy hoá (HTCO)

$$\text{HTCO (\%)} = [(\text{OD}_C - \text{OD}_T)/\text{OD}_C] \times 100$$

$\text{OD}_C$  : Mật độ quang học của giếng chứng không có mẫu thử (đã trừ OD blank).  $\text{OD}_T$  : Mật độ quang học của mẫu thử (đã trừ OD blank).

### 2.2.6. Phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được thực hiện dựa trên phương pháp pha loãng đa nồng độ của Hadacek F, Greger H., 2000 [29]. Đây là phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định và nấm nhằm đánh giá mức độ kháng khuẩn mạnh yếu của các mẫu thử thông qua các giá trị thể hiện hoạt tính là MIC (nồng độ ức chế tối thiểu). Mẫu ban đầu được pha loãng trong DMSO ở dải nồng độ giảm dần: 256  $\mu\text{g/ml}$ , 128  $\mu\text{g/ml}$ , 64  $\mu\text{g/ml}$ , 32  $\mu\text{g/ml}$ , 16  $\mu\text{g/ml}$ , 8  $\mu\text{g/ml}$ , 4  $\mu\text{g/ml}$  và 2  $\mu\text{g/ml}$  với số thí nghiệm lặp lại 3 lần.

Chuẩn bị dung dịch vi khuẩn hoặc nấm với nồng độ  $2 \times 10^5$  CFU/ml

Tiến hành thử: lấy 5,12  $\mu\text{l}$  dung dịch mẫu thử có nồng độ 10 mg/ml vào hàng đầu tiên có chứa 100  $\mu\text{l}$  môi trường LB rồi pha loãng nối tiếp giảm  $\frac{1}{2}$  nồng độ vào các hàng có chứa 50  $\mu\text{l}$  cho đến khi đạt được nồng độ là 2  $\mu\text{g/ml}$ , thêm 50  $\mu\text{l}$  dung dịch vi khuẩn và nấm ở nồng độ  $2 \times 10^5$  CFU/ml, ủ ở  $37^\circ\text{C}$ . Sau 24h, xác định sơ bộ giá trị MIC bằng quan sát. Giá trị MIC được xác định tại giếng có nồng độ chất thử thấp nhất gây ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi sinh vật sau 24 giờ nuôi cấy và được xác định chính xác dựa trên số liệu đo độ đục tế bào bằng máy quang phổ Bioteck và phần mềm Raw data. Chất đối chứng là kháng sinh *Streptomycin* cho các chủng vi khuẩn *cycloheximide* cho nấm.

### 2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê trên phần mềm SPSS.

### CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 3.1. CHIẾT CAO TỔNG CỦA TRÀ HOA VÀNG

Lá và hoa của trà hoa vàng sau khi thu hái, sẽ tiến hành loại bỏ những phần dập nát, sau đó rửa sạch, sấy khô ở nhiệt độ 60°C với mục đích bảo quản nguyên liệu khỏi bị nhiễm mốc, vi khuẩn và hạn chế các biến đổi hóa học có thể xảy ra trong nguyên liệu như bị thủy phân, oxy hóa... Sau khi sấy khô nguyên liệu được chuyển sang máy xay và nghiền. Ngâm trong cồn 70%, để chiết cao trong 24 giờ. Sau đó chiết mẫu 3 lần thu dịch chiết.

**Bảng 3.1:** Hiệu suất chiết cao cồn của mẫu chiết trà hoa vàng

Tên mẫu	Ký hiệu mẫu	Nguyên liệu ban đầu (g)	Khối lượng cao chiết (g)	Hiệu suất (%)
Lá của <i>C. quephongensis</i>	LQP	1000	90	9,0
Hoa của <i>C. quephongensis</i>	HQP	1000	12,2	12,2
Lá của <i>C. puhoatensis</i>	LPH	1000	9,4	9,4
Hoa của <i>C. puhoatensis</i>	HPH	1000	128	12,8

Qua kết quả phân tích ta dễ dàng nhận thấy cao chiết thu được ở 4 mẫu đều cho hiệu suất cao trà cao, trong đó bộ phận hoa có hiệu suất chiết 12,2% (HQP), 12,8% (HPH), cao hơn hiệu suất chiết ở lá. Hiệu suất chiết này cũng tương đương với kết quả chiết trên loài trà hoa vàng được tìm thấy ở Vũ Quang, Hà Tĩnh.

## 3.2. KHẢO SÁT MỘT SỐ THÀNH PHẦN HÓA HỌC CƠ BẢN CÓ TRONG LÁ VÀ HOA CÂY TRÀ HOA VÀNG

### 3.2.1. Kết quả sàng lọc nhóm flavonoid

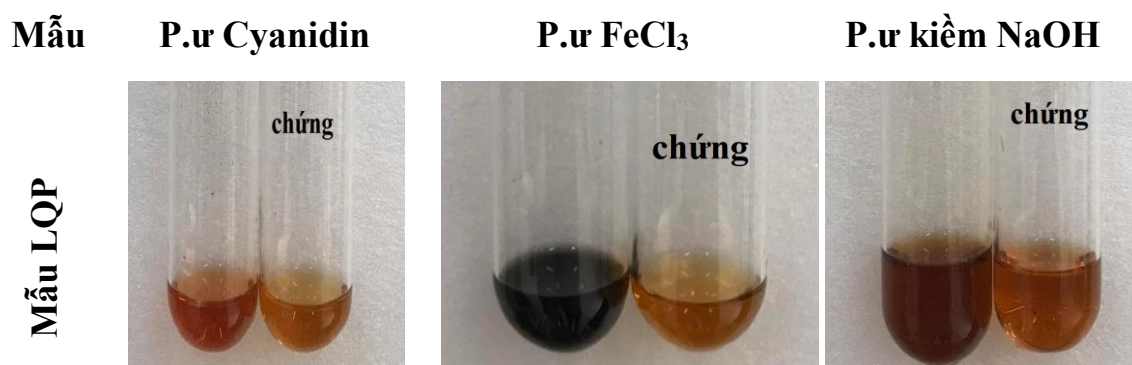
Nhóm Flavonoid (đặc biệt các chất như rutin, quercetin,...) có tác dụng chống oxy hóa cao thông qua nghiên cứu của Wei, J. B (2013) trong môi trường invitro [10]. Ngoài ra Flavonoid có liên quan đến bảo vệ da, chức năng não, ổn định đường huyết và điều hòa huyết áp và chống viêm...[67].

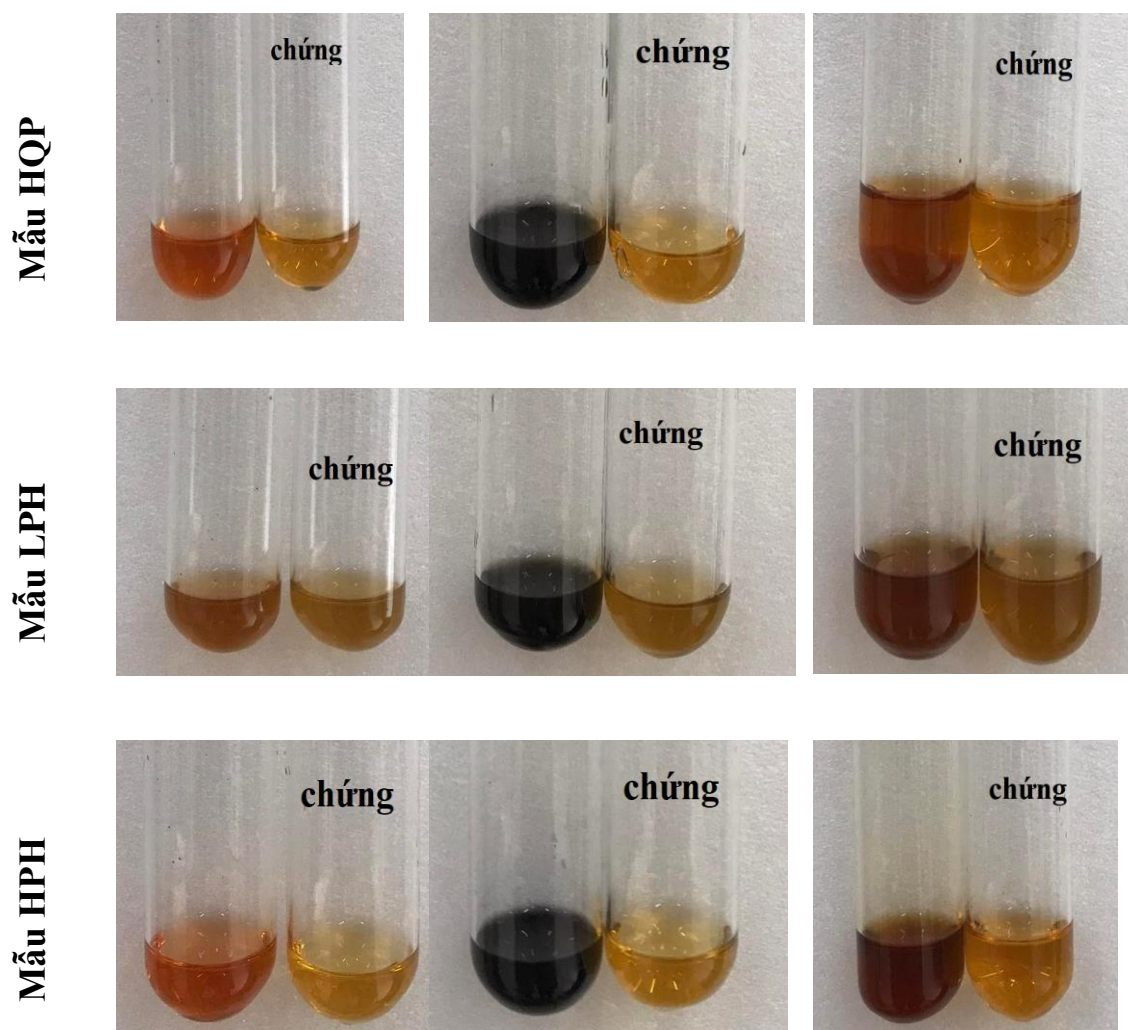
Kết quả sàng lọc nhóm chất flavonoid trong các mẫu cao được trình bày ở bảng 3.2 và hình 3.1.

**Bảng 3.2:** Kết quả sàng lọc nhóm flavonoid mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học

TT	Mẫu	Kết quả			Kết luận
		Phản ứng Cyanidin	Phản ứng với kiềm	Phản ứng với FeCl <sub>3</sub>	
1	LQP	++	++	++	Có
2	HQP	++	++	++	Có
3	LPH	+	++	++	Có
4	HPH	++	++	++	Có

Chú thích: (-): âm tính, (+): dương tính, (++) : dương tính rõ.





**Hình 3.1:** Hình ảnh sàng lọc flavonoid mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm

Từ kết quả bảng 3.2 và hình 3.1 cho thấy, kết quả sàng lọc bằng phản ứng hóa học cả 4 mẫu cao chiết đều chứa flavonoid rất rõ (++), riêng ở mẫu lá *C. puhoatensis* phản ứng Cyanidin có kết quả dương tính yếu (+). Điều đó cũng được khẳng định thông qua hình 3.1 phản ứng trong ống nghiệm:

+ Phản ứng với cyanidin: màu đỏ đậm hơn so với ống nghiệm kiểm chứng.

+ Phản ứng với dung dịch  $\text{FeCl}_3$ : dung dịch có màu xanh đen đặc trưng đã cho thấy sự có mặt của những Flavonoid có cấu tạo orthodiphenol.

+ Phản ứng với dung dịch kiềm  $\text{NaOH}$ : màu vàng tăng dần.

Kết quả này cũng tương tự nghiên cứu của loài trà hoa vàng Thái Nguyên, Cúc phương và 2 loài trà hoa vàng ở Hà Tĩnh.

### 3.2.2. Kết quả sàng lọc nhóm coumarin

Coumarin là hợp chất có tác dụng kháng viêm, chống máu đông, hạ sốt, chống dẫn mạch vành... Nhưng nếu quá nhiều thì có tác hại gây viêm da, tổn thương gan và dễ bị ung thư.

Kết quả sàng lọc nhóm chất coumarin trong các mẫu cao được trình bày ở bảng 3.3 và hình 3.2.

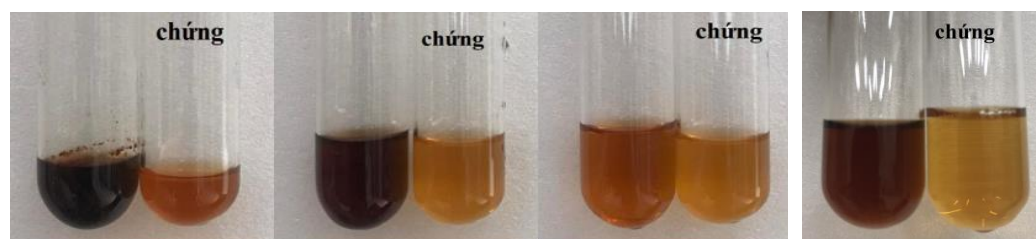
**Bảng 3.3:** Kết quả sàng lọc nhóm coumarin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học

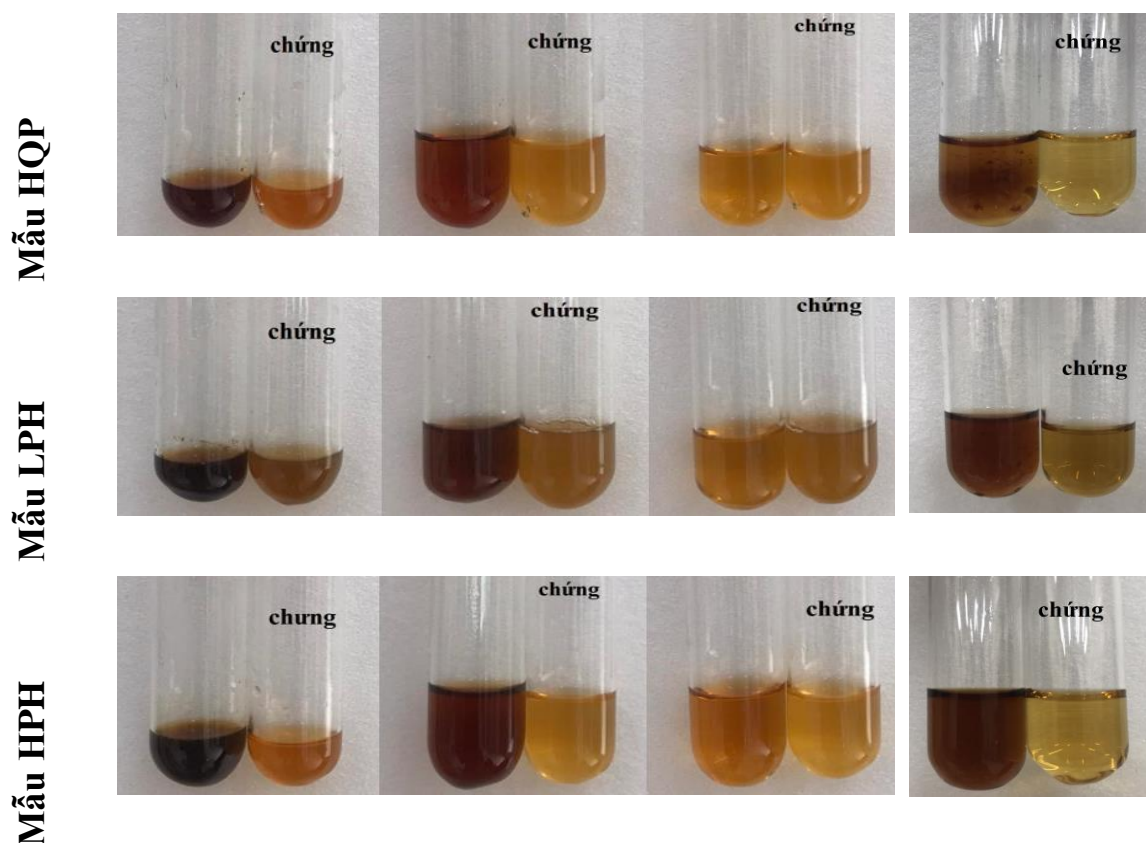
TT	Mẫu	Kết quả		Kết luận
		Phản ứng đóng mở vòng lacton	Phản ứng với thuốc thử Diazo	
1	LQP	-	++	Không
2	HQP	-	++	Không
3	LPH	-	++	Không
4	HPH	-	++	Không

Chú thích: (-): âm tính, (+): dương tính, (++) : dương tính rõ.

Mẫu                      Phản ứng đóng mở vòng lacton                      Phản ứng TT diazo

Mẫu LQP





**Hình 3.2:** Hình ảnh sàng lọc coumarin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm

Qua kết quả sàng lọc thông qua phản ứng ống nghiệm hình 3.2 cho thấy cả 4 mẫu thử đều cho ra kết quả âm tính trong phản ứng mở, đóng vòng lacton và cho kết quả dương tính trong phản ứng với thuốc thử diazo. Qua kết quả thí nghiệm kết luận trong 2 loài trà hoa vàng đều không chứa coumarin. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu trên đối tượng trà hoa vàng ở Cúc Phương của Trần Thị Thơm (2019) thuộc Đại học quốc gia Hà Nội, trà Thái Nguyên của nhóm tác giả Trường Đại học dược Hà Nội [10] và tương tự 2 loài trà Hà Tĩnh cũng không chứa coumarin trong nghiên cứu của Võ Quỳnh Trang và cộng sự (2022) tại trường Đại học Vinh.

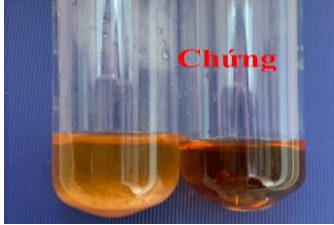
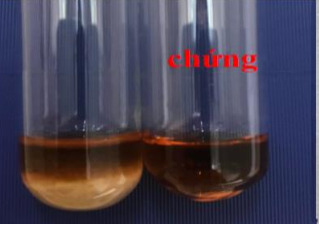
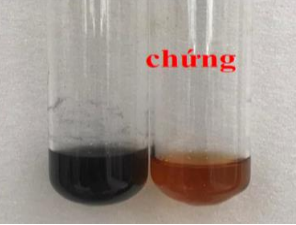
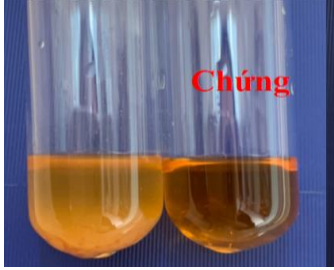

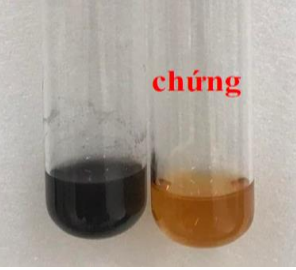
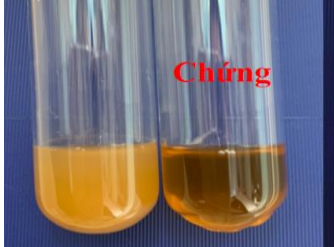
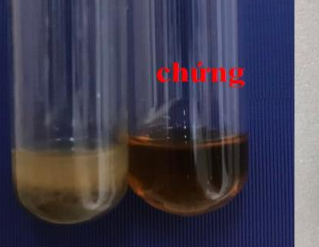
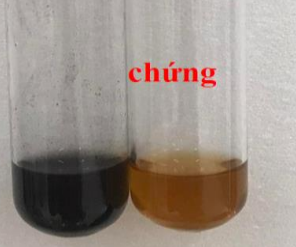
### 3.2.3. Kết quả sàng lọc nhóm tanin

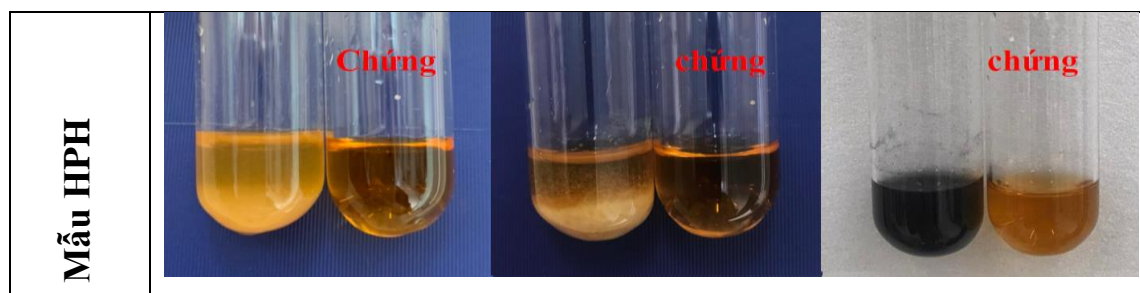
Kết quả sàng lọc nhóm chất tanin trong các mẫu cao chiết được trình bày ở bảng 3.4 và hình 3.3.

**Bảng 3.4:** Kết quả sàng lọc nhóm tanin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học

TT	Mẫu	Kết quả			Kết luận
		Phản ứng với Gelatin	Phản ứng với $Pb(CH_3CO)_2$	Phản ứng với $FeCl_3$	
1	LQP	++	++	++	Có
2	HQP	++	++	++	Có
3	LPH	+	++	++	Có
4	HPH	++	++	++	Có

Chú thích: (-): âm tính, (+): dương tính, (++) : dương tính rõ.

Mẫu	+ Gelatin	+ Chì acetate	+ $FeCl_3$
Mẫu LQP			
Mẫu HQP			
Mẫu LPH			



**Hình 3.3:** Hình ảnh định tính tanin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm

Từ kết quả sàng lọc thể hiện bằng phản ứng hóa học thể hiện ở bảng 3.4 và hình 3.3 cho thấy thấy mẫu cao chiết có chứa tanin.

Trà hoa vàng *C. quephongensis* và *C. puhoatensis*, tanin có trong cả ở bộ phận lá và hoa. Đối chiếu với trà hoa vàng ở Yên Ninh, Thái Nguyên, Hà Tĩnh thông qua các phản ứng sàng lọc thành phần tanin thì lại chứa tanin nhiều ở trong lá trà mà lại không có trong hoa trà[10].

Theo nghiên cứu của Manach và các cộng sự cho thấy trong cơ thể các gốc tự do được sinh ra và tích lũy, là nguyên nhân dẫn đến suy giảm về sức khỏe, làm tăng tốc độ quá trình lão hóa, gây ra nhiều loại bệnh ở người. Hợp chất trong tanin trong trà có tác dụng khử các gốc tự do, như gallic axit và isoflavones có thể hấp thụ khoảng 5% các gốc tự do. Các hợp chất tanin có rất nhiều trong các loài thực vật, tanin có vai trò bảo vệ tránh các loài ăn chúng, và có lẽ cũng có tác dụng như thuốc trừ sâu và điều hòa sinh trưởng của thực vật [42]. Tuy nhiên, tanin là chất gây nên vị chát đối với trà, nếu có nhiều tanin trong trà, nó sẽ gây ảnh hưởng đến hương vị của trà.

#### **3.2.4. Kết quả sàng lọc nhóm saponin**

Saponin là nhóm chất có hàm lượng nhiều trong trà xanh. Hai nhà khoa học Trung Quốc là Rao và Sung đã quan sát thấy rằng saponin chiết xuất từ đậu nành đã ức chế sự phát triển của tế bào ung thư biểu mô đại tràng. Saponin có nhiều lợi ích sức khỏe con người. Các nghiên cứu đã chứng minh chúng có tác dụng ngăn ngừa cholesterol xấu trong máu, tăng cường sức khỏe của xương và kích thích hệ miễn dịch [48].

Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng hàm lượng saponin trong trà hoa vàng có khoảng 6.300 mg/kg có tác dụng đến tim mạch, mạch máu tâm trương và chống mệt mỏi, nhịp tim chậm và huyết áp lưỡng cực thúc đẩy sinh tổng hợp DNA, protein và lipid, làm dịu cơn khát, bài tiết, sưng, đau họng, hạ sốt và giảm đau [62].

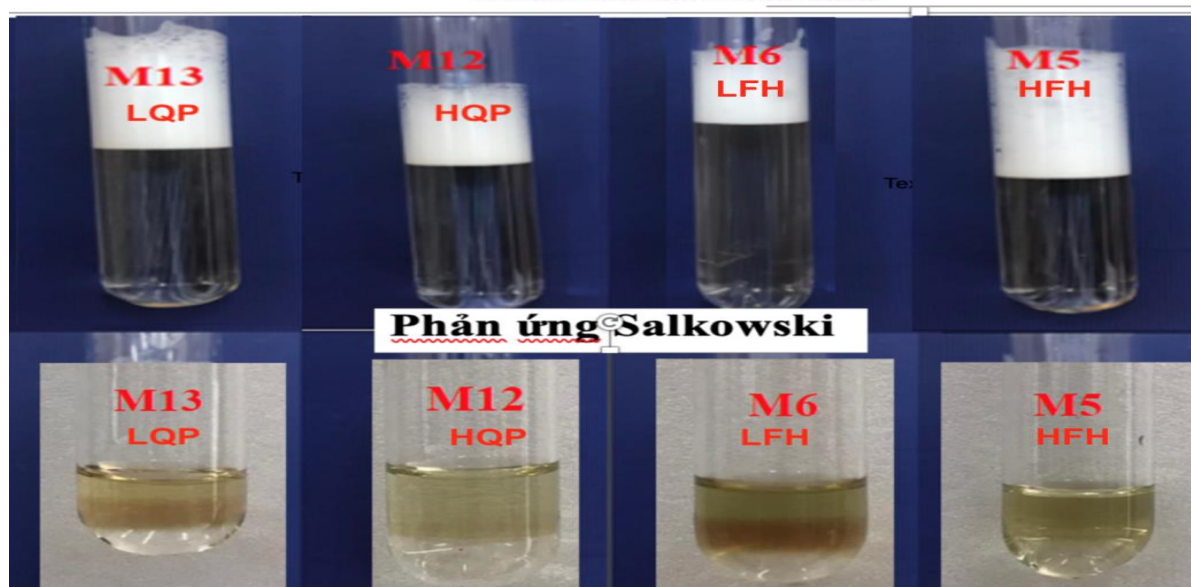
Kết quả sàng lọc nhóm chất saponin trong các mẫu cao chiết ở 2 loài trà hoa vàng phân bố tại huyện Quế Phong được trình bày ở bảng 3.5 và hình 3.4.

**Bảng 3.5:** Kết quả sàng lọc nhóm saponin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học

TT	Mẫu	Kết quả		Kết luận
		Hiện tượng tạo bọt	Phản ứng Salkowski	
1	LQP	++	+	Có
2	HQP	++	+	Có
3	LFH	++	++	Có
4	HPH	++	+	Có

Chú thích: (-): âm tính, (+): dương tính, (++) : dương tính rõ.

#### Hiện tượng tạo bọt



**Hình 3.4:** Hình ảnh sàng lọc saponin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm.

Thông qua kết quả sàng lọc cả 4 mẫu chiết từ 2 loài trà hoa vàng Nghệ An đều có kết quả dương tính trong phản ứng Salkowski và quan sát cả 4 ống nghiệm đều có hiện tượng sủi bọt cho thấy trong các mẫu trà đều có chứa saponin. Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu ở trà hoa vàng Thái Nguyên, Hà Tĩnh và Cúc Phương [10].

### 3.2.5. Kết quả sàng lọc nhóm đường khử mẫu trà hoa vàng nghiên cứu

Đường khử có tác dụng quan trọng trong việc tạo chất lượng chất tạo ngọt cho thực phẩm, tham gia tạo ra màu sắc (phản ứng tạo màu Maillard) và hương thơm cho sản phẩm. Kết quả sàng lọc nhóm chất đường khử trong các mẫu cao chiết được trình bày ở bảng 3.6 và hình 3.5.

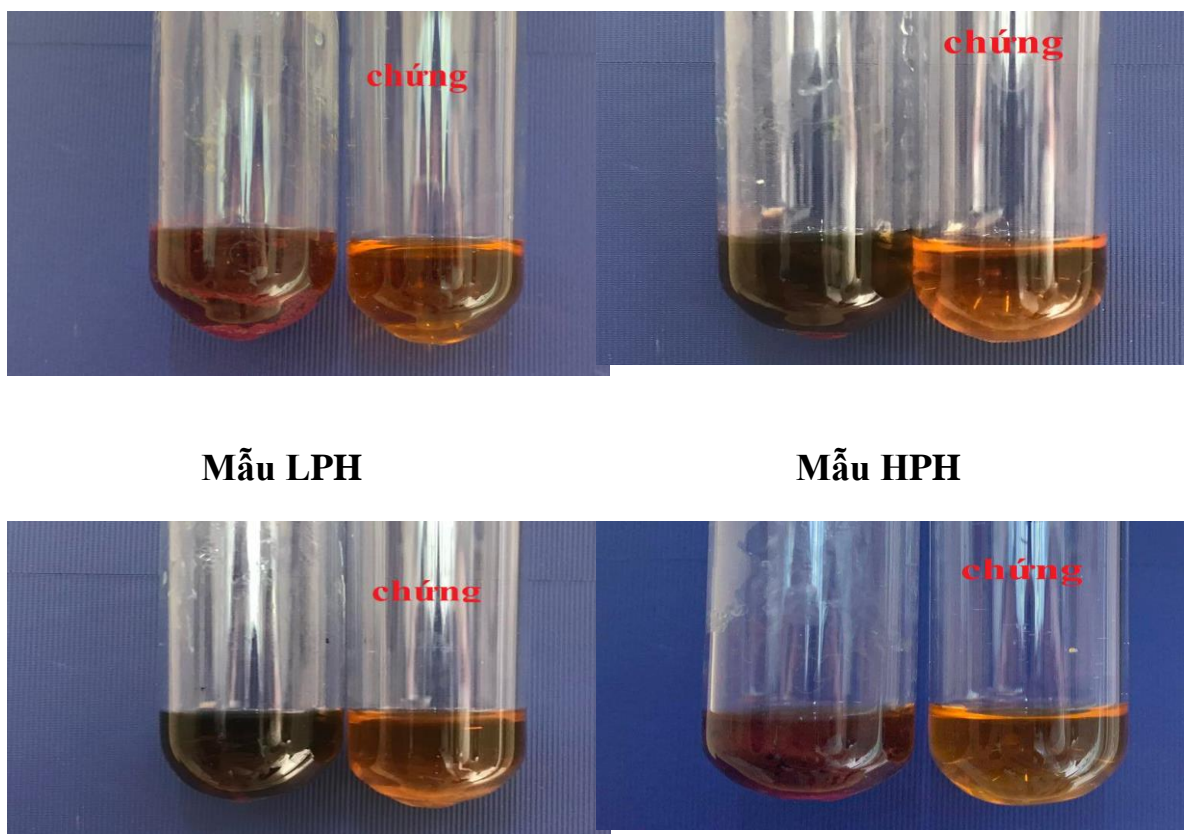
**Bảng 3.6:** Kết quả sàng lọc nhóm đường khử mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học

T T	Mẫu	Kết quả	Kết luận
		Phản ứng với thuốc thử Fehling	
1	LQP	++	Có
2	HQP	++	Có
3	LPH	++	Có
4	HPH	++	Có

Chú thích: (-): âm tính, (+): dương tính, (++) : dương tính rõ.

**Mẫu LQP**

**Mẫu HQP**



**Hình 3.5:** Hình ảnh sàng lọc đường khử mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm.

Từ kết quả sàng lọc bằng phản ứng thuốc thử Fehling thể hiện ở bảng 3.6 và hình 3.5 cho thấy dịch chiết của lá và hoa trà Hoa vàng đều chứa đường khử.

Kết quả này cũng tương tự với trà hoa vàng ở Cúc Phương và 2 loài trà hoa vàng ở Hà Tĩnh *Camellia hatinhensis* và *Camellia vuquangensis* trong nghiên cứu của Võ Quỳnh Trang và cộng sự.

### 3.2.6. Kết quả sàng lọc nhóm polysaccharide

Polysaccharide là đại phân tử carbohydrate gồm chuỗi dài của đơn vị monosaccharide liên kết với nhau. Polysaccharides là một trong những cấu trúc chính của carbohydrate, được tìm thấy trong hệ thống sống. Các nghiên cứu khoa học đã chỉ ra rằng, polysaccharide mang lại nhiều tác dụng cho sức khỏe con người. Đặc biệt là tác dụng trong điều trị ung thư. Hoạt chất này còn được sử dụng để kích hoạt sản xuất interferon, phục hồi tủy xương bị hư

hông. Giúp làm tăng mức năng lượng và cung cấp giảm đau ở những bệnh nhân ung thư.

Kết quả sàng lọc nhóm chất polysaccharide trong các mẫu cao chiết được trình bày ở bảng 3.7 và hình 3.6.

**Bảng 3.7:** Kết quả sàng lọc nhóm polysaccharide mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học

TT	Mẫu	Kết quả	Kết luận
		Phản ứng với thuốc thử Lugol	
1	LQP	++	Có
2	HQP	++	Có
3	LPH	++	Có
4	HPH	++	Có

Chú thích: (-): âm tính, (+): dương tính, (++) : dương tính rõ.

**Mẫu LQP**



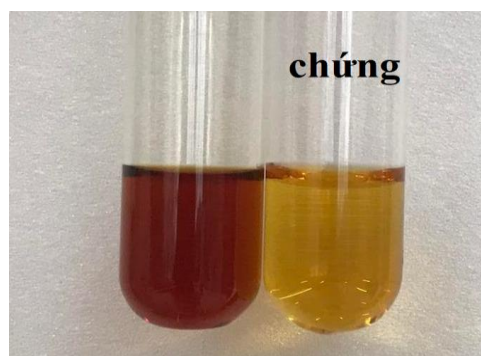
**Mẫu HQP**



**Mẫu LPH**



**Mẫu HPH**



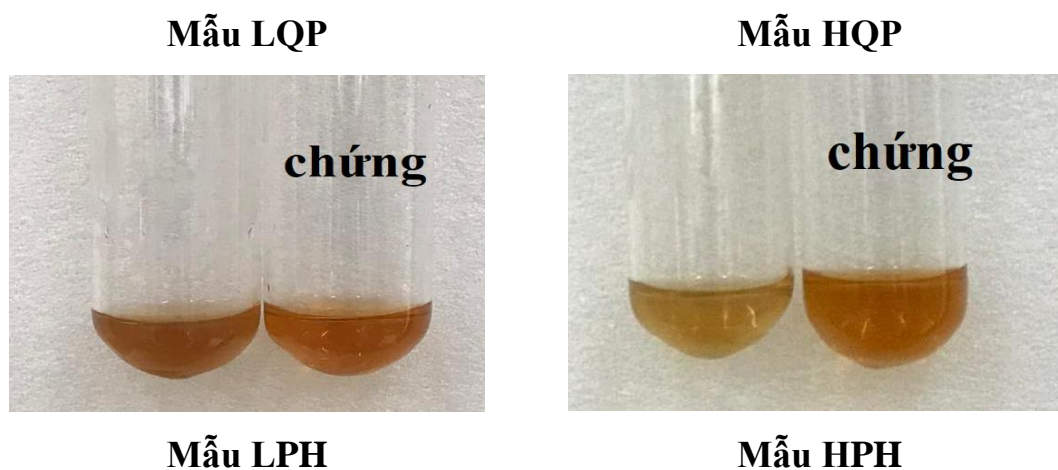
**Hình 3.6:** Hình ảnh sàng lọc polysaccharide mẫu trà hoa vàng nghiên cứu trong ống nghiệm

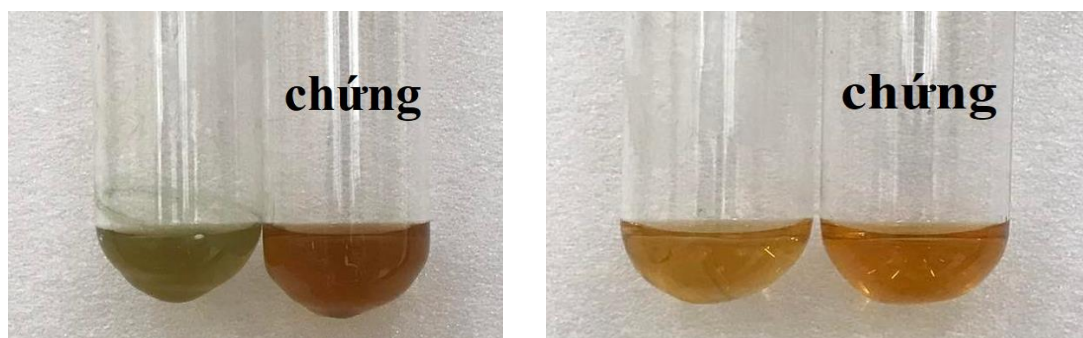
Polisaccharide theo nghiên cứu trong lá Trà hoa vàng có tác dụng giảm hàm lượng lipid máu; giảm cholesterol, triglycerid và LDL đồng thời cải thiện hàm lượng HDL trên động vật thực nghiệm. Polysaccharide cũng được ghi nhận là có khả năng làm giảm sự tăng trưởng của khối u trên động vật thực nghiệm, nghiên cứu của Tingting và cộng sự. Đồng thời polysaccharide còn giúp kéo dài sự sống cho bệnh nhân bằng cách kích thích miễn dịch, giải độc và kích thích tạo máu [64].

Qua kết quả sàng lọc với thuốc thử Lugol ở hình 3.6 cả 4 mẫu cao chiết đều có phản ứng ở mức độ 2+ và bắt màu với thuốc thử cho thấy trong 2 loài trà hoa vàng đều chứa thành phần polysaccharide. Kết quả này cũng nhận được ở các loài trà hoa vàng ở Hà Tĩnh.

**3.2.7 Kết quả sàng lọc nhóm acid amin**

Kết quả sàng lọc nhóm chất acid amin trong các mẫu cao chiết được trình bày ở hình 3.7 và bảng 3.8.





**Hình 3.7:** Hình ảnh sàng lọc acid amin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm

**Bảng 3.8:** Kết quả sàng lọc nhóm acid amin mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học

TT	Mẫu	Kết quả	Kết luận
		Phản ứng với thuốc thử Ninhydrin	
1	LQP	-	Không
2	HQP	-	Không
3	LPH	-	Không
4	HPH	-	Không

Chú thích: (-): âm tính, (+): dương tính, (++) : dương tính rõ.

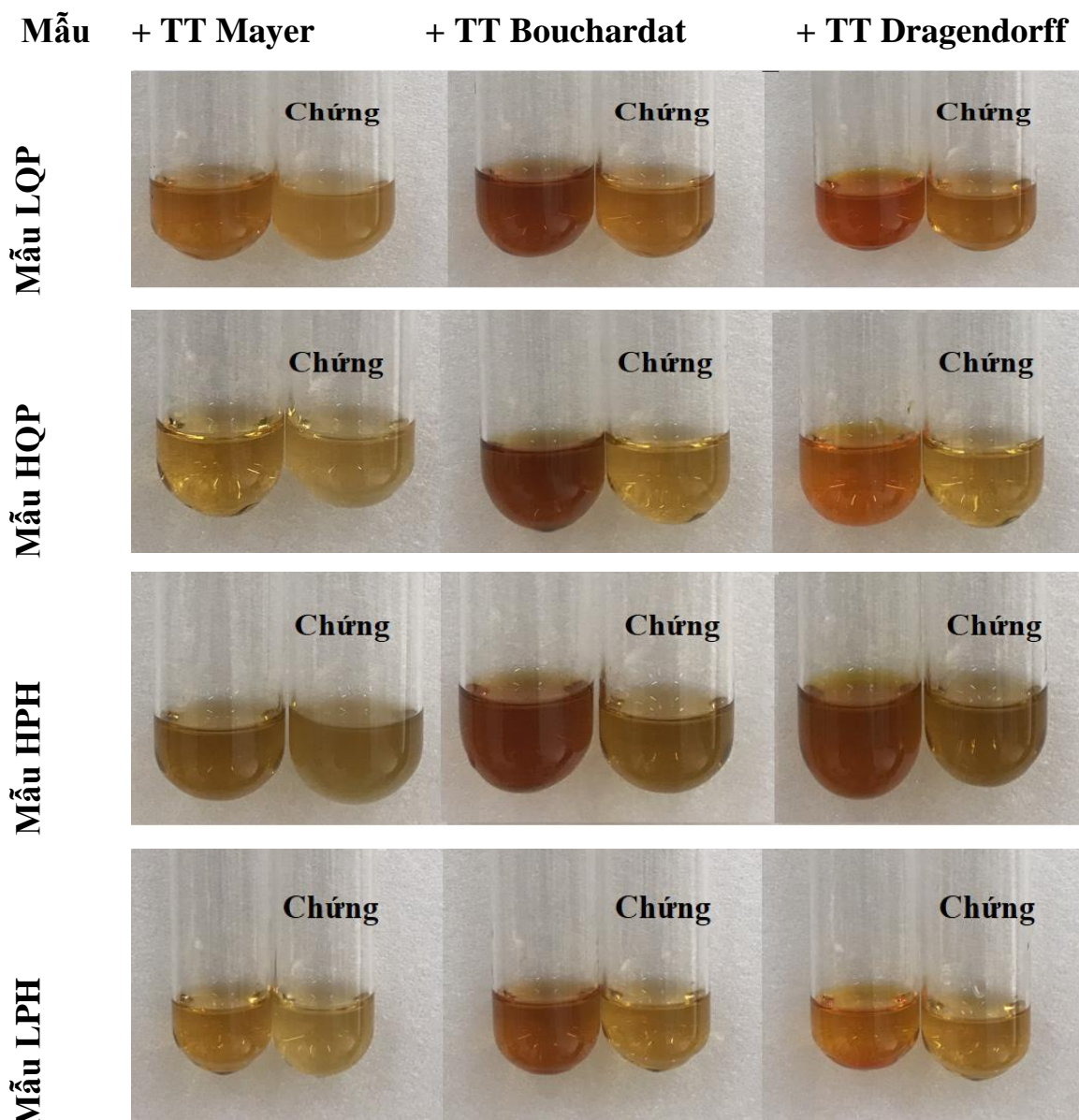
Khảo sát thành phần acid amin có trong dịch chiết lá và hoa của Trà hoa vàng thông qua phản ứng Ninhydrin, kết quả bảng 3.8 và hình 3.7 cho thấy 4 mẫu cao chiết đều không có phản ứng dương tính với thuốc thử Nynhidrin, kết luận được trong cả 2 loài trà đều không có thành phần acid amin. Kết quả này giống với trà hoa vàng Hà Tĩnh, tuy nhiên trong nghiên cứu loài trà hoa vàng ở Thái Nguyên của nhóm tác giả của Trường đại học được Hà Nội, trà hoa vàng ở Cúc Phương và trà hoa vàng ở Ba Chẽ lại có chứa thành phần acid amin [13].

### 3.2.8. Kết quả sàng lọc nhóm alkaloid

Alcaloid là nhóm quan trọng nhất trong lá trà, chất này quyết định nên chất lượng của trà và nó không bị biến đổi trong quá trình chế biến. Nhóm

chất này bao gồm: theobromin, cafein, theophylin, adenin, guanin,... Đây là các hợp chất tự nhiên có tác dụng sinh học cao [4], [34].

Kết quả sàng lọc nhóm chất alcaloid trong các mẫu cao chiết được trình bày ở hình 3.8 và bảng 3.9



**Hình 3.8:** Hình ảnh sàng lọc alcaloid mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng trong ống nghiệm

**Bảng 3.9:** Kết quả sàng lọc nhóm alcaloid mẫu trà hoa vàng nghiên cứu bằng phản ứng hóa học

T T	Mẫu	Kết quả			Kết luận
		Phản ứng với TT Mayer	Phản ứng với TT Bouchardat	Phản ứng với TT Dragendorff	
1	LQP	-	-	-	Không
2	HQP	-	-	-	Không
3	LPH	-	-	-	Không
4	HPH	-	-	-	Không

Chú thích: (-): âm tính, (+): dương tính, (++) : dương tính rõ.

Nhóm chất alcaloid là thành phần chứa nhiều trong trà xanh, là chất gây nghiện, ảnh hưởng đến hệ thần kinh theo nghiên cứu Karan Vasisht và cộng sự.

Qua kết quả định tính ở hình 3.8 và bảng 3.9 kết luận cả 4 mẫu cao chiết đều phản ứng âm tính với 3 thuốc thử Mayer, Bouchardat và Dragendorff cho thấy cả 2 loài trà hoa vàng đều không chứa thành phần alcaloid. Kết quả này cũng tương tự với kết quả về trà hoa vàng ở Cúc Phương của tác giả Nguyễn Thị Thơm và trong nghiên cứu của Lixa Song và cộng sự khi nghiên cứu trên 6 mẫu trà hoa vàng Trung Quốc bao gồm: *C. chrysantha*, *C. euphlebica*, *C. microcarpa*, *C. nitidissima*, *C. tunghinensis* và *C. impressinervis*[45]. Đặc tính này rất tốt vì sử dụng trà hoa vàng để uống mà không ảnh hưởng đến hệ thần kinh giống như trà xanh do đó có thể tận dụng lợi thế này của trà hoa vàng để sử dụng thay thế trà xanh.

Như vậy qua kết quả sàng lọc thành phần hoá học có trong mẫu trà hoa vàng: LQP, HQP, LPH, HPH được thể hiện ở bảng số sau:

**Bảng 3.10:** Bảng kết quả tổng hợp sàng lọc các nhóm chất có trong trà hoa vàng phân bố Nghệ An

	<b>LQP</b>	<b>HQP</b>	<b>LPH</b>	<b>HPH</b>
<b>Flavonoid</b>	+	+	+	+
<b>Saponin</b>	+	+	+	+
<b>Đường khử</b>	+	+	+	+
<b>Polysaccharid</b>	+	+	+	+
<b>Tanin</b>	+	+	+	+
<b>Coumarin</b>	-	-	-	-
<b>Acid amin</b>	-	-	-	-
<b>Alcaloid</b>	-	-	-	-

Kết quả ở bảng 3.10 cho thấy, khi so sánh với các nghiên cứu của các loài thuộc chi trà nói chung và giữa các loài trà hoa vàng nói riêng nhận thấy 2 loài trà hoa vàng *camellia quephongtensis* và *camellia puhoatensis* đều có sự xuất hiện của các nhóm chất chính như flavonoid, polyphenol, polysaccharide, saponin, tanin, đường khử. Đây là các nhóm chất có vai trò quan trọng như kháng oxi hóa, kháng ung thư, kháng khuẩn, nhưng không chứa chất alcaloid (chất gây nghiện), coumarin, axit amin. Đặc tính này là lý do giúp Trà hoa vàng có giá trị kinh tế và chữa bệnh vượt trội hơn đặc biệt so với trà xanh và cần được nghiên cứu, bảo tồn và nhân rộng hơn.

### **3.3. KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM HOẠT TÍNH SINH HỌC**

#### **3.3.1. Kết quả thử nghiệm hoạt tính chống oxy hóa peroxy hóa lipid**

Trong cơ thể con người luôn tồn tại theo hệ thống cân bằng giữa quá trình tạo ra các gốc tự do (quá trình oxy hóa) và quá trình sản sinh ra các chất chống oxy hóa. Tuy nhiên, trong quá trình trao đổi chất – các tác nhân bên trong (nội sinh) hoặc tác nhân từ bên ngoài (ngoại sinh) như môi trường bị ô nhiễm, chất phóng xạ, tia tử ngoại... làm cho hệ thống cân bằng bị thay

đổi, làm gia tăng các gốc tự do và giảm các chất chống oxy hóa dẫn đến việc phá hủy các đại phân tử của tế bào gây ra các loại bệnh tật [27].

Chất chống oxy hóa là chất mà khi có mặt của nó ở nồng độ thấp giúp ngăn chặn hoặc làm chậm quá trình oxy hóa chất khác. Sự oxy hóa là loại phản ứng hóa học trong đó electron được chuyển sang chất oxy hóa, có khả năng tạo các gốc tự do sinh ra phản ứng dây chuyền phá hủy tế bào sinh vật. Chất chống oxy hóa ngăn quá trình phá hủy này bằng cách khử đi các gốc tự do, kìm hãm sự oxy hóa bằng cách oxy hóa chính chúng. Để làm vậy người ta hay dùng các chất khử [27]. Chất khử hay còn gọi là chất chống oxy hóa gồm có 2 loại chính bao gồm: chất khử tự nhiên có thể là hợp chất phenolic (flavonoid, acid phenolic), hợp chất nito (amino acid, alcaloids) và chất khử tổng hợp (butyllated hydroxyanisole).

Các nghiên cứu trước đây khẳng định quá trình peroxy hóa lipid là nguyên nhân gây ra các bệnh về não và hệ thần kinh trung ương, viêm khớp dạng thấp, rối loạn chức năng thận, thoái hóa mắt và đái tháo đường [27]. Khả năng chống oxy hóa của trà do hoạt tính của các hợp chất polyphenol [18]. Khả năng bắt gốc tự do cũng được chứng minh nằm ở nhóm flavonoid, catechin. Trong nhóm flavonoid có rutin làm giảm tỉ lệ cholesterol bị oxy hóa giúp ngăn ngừa các bệnh lão hóa, xơ vữa động mạch và mất trí nhớ ở người già. Đồng thời nghiên cứu cho thấy chất epicatechin và catechin giúp bảo vệ chống lại sự tan máu hồng cầu do AAPH (2,2'-Azobis (2-amidinopropan) dihydrochlorid), còn lại những hợp chất thuộc nhóm catechin như epicatechin gallat (ECG), epigallocatechin gallat (EGCG) được nghiên cứu là có hiệu quả nhất trong quá trình ức chế sự oxy hóa do AAPH gây ra.

Kết quả về xác định hoạt tính chống oxy hóa thông qua ức chế quá trình peroxy hóa lipid màng tế bào (thử nghiệm MDA) được trình bày ở bảng 3.11. *Kết quả được tiến hành tại phòng Thử nghiệm sinh học- Viện Công nghệ sinh học- Thuộc viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào tháng 6 năm 2022.*

**Bảng 3.11:** Hoạt tính chống peroxy hóa của các mẫu nghiên cứu lá và hoa loài trà hoa vàng ở Nghệ An

<b>Nồng độ (µg/mL)</b>	<b>HPH</b>	<b>HQP</b>	<b>LQP</b>	<b>LPH</b>	<b>Trolox</b>
<b>100</b>	76,45±2,52	78,04±1,77	85,39±2,41	68,48±2,32	84,41±1,16
<b>20</b>	59,63±2,39	75,21±2,56	83,18±1,31	50,60±2,03	81,84±1,01
<b>4</b>	49,54±2,87	56,18±1,31	74,59±1,46	18,81±1,20	29,34±1,60
<b>0,8</b>	32,27±1,74	38,47±1,07	44,05±1,16	9,52±1,11	7,58±0,55
<b>0,16</b>	14,48±0,80	7,48±0,55	5,36±0,85	1,41±0,11	5,23±0,21
<b>IC50</b>	<b>4,79 ± 0,44</b>	<b>3,65 ± 0,36</b>	<b>2,02 ± 0,19</b>	<b>29,60 ± 1,37</b>	<b>8,67 ± 0,52</b>

Malondialdehyde (MDA) là một chất chỉ thị cho quá trình peroxy hóa lipid trên màng tế bào động vật. Giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ ức chế tối đa một nửa) là một thước đo trong việc ức chế một chức năng sinh học hoặc hóa sinh đặc biệt. IC<sub>50</sub> là một biện pháp định lượng 50% mức độ chất ức chế một quá trình hoặc thành phần sinh học như enzyme, tế bào, thụ thể tế bào hoặc vi sinh vật. IC<sub>50</sub> thường được sử dụng như một thước đo trong nghiên cứu dược lý.

Kết quả bảng 3.11 cho thấy, dịch chiết từ lá và hoa trà hoa vàng đã thể hiện hoạt tính ức chế nồng độ MDA trong não chuột rất tốt với giá trị IC<sub>50</sub> tương đương, thậm chí còn cao hơn chất đối chứng là Trolox ở các nồng độ khác nhau. Trong đó, dịch chiết hoa và lá của 2 loài trà hoa vàng *Camellia quephongensis* và *Camellia puhoatensis* có khả năng ức chế tốt so với chất chuẩn Trolox. Cụ thể IC<sub>50</sub> của HPH là 4,79 ± 0,44, HQP: 3,65 ± 0,36 và lá LQP là 2,02 ± 0,19 và LPH 29,60 ± 1,37, còn IC<sub>50</sub> của Trolox là 8,67 µg/ml. So sánh kết quả nghiên cứu ở trà hoa vàng *Camellia vuquangensis* và *Camellia hatinhensis* ở tỉnh Hà Tĩnh ức chế peroxy hóa lipid ở IC<sub>50</sub> từ 7,02-

17,45  $\mu\text{g/ml}$  chứng tỏ trà hoa vàng ở Nghệ An có khả năng kháng oxy hóa tốt hơn.

Năm 2013 Haidari và cộng sự đã chiết xuất lá loài trà *C. sinensis* trong dung môi etanol 95% với liều lượng 200 mg/kg đã làm giảm đáng kể nồng độ MDA trong huyết thanh và gan ở chuột [30]; Lu và cộng sự năm 2019 đã chiết xuất trong etanol từ hoa tươi của *C. japonica* ở liều 40, 80 mg/kg đã làm giảm đáng kể nồng độ MDA huyết thanh ở chuột [40]. Xu và cộng sự năm 2021 đã chiết xuất hoa của loài *C. japonica* trong ethyl acetate và xác định được thành phần axit gallic, axit p-hydroxybenzoic, axit ferulic, axit ellagic, quercetin và kaempferol có trong loài trà này và thử nghiệm kháng oxy hoá ở liều 2 và 4 g/kg cho thấy hàm lượng MDA gan trong gan chuột giảm đáng kể [58]. Hoạt động peroxy hóa lipid mạnh của hai loài *Camellia quephongensis* và *Camellia phuhoatensis* trong nghiên cứu của chúng tôi có thể là do các hợp chất flavonoid hoặc là phenolic.

### 3.3.2. Kết quả thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Ung thư đang là căn bệnh có tốc độ phát triển nhanh và gây tử vong cao ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Tìm kiếm các loại thuốc mới có khả năng ức chế nhiều dòng ung thư khác nhau, ít tác dụng phụ đang là ưu tiên hàng đầu. Hiện nay, các nhà khoa học đã quan tâm nhiều vào các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính chống ung thư. Dự án này đã mở rộng các chủng loại dược liệu nghiên cứu bao gồm thực vật, động vật, vi sinh vật và đặc biệt quan tâm đến các loại dược liệu có nguồn gốc từ sinh vật biển.

#### 3.3.2.1. Khả năng kháng tế bào ung thư của dịch chiết hoa Quế Phong

Dịch chiết của hoa Quế Phong (HQP) được thử trên 7 dòng tế bào ung thư ở các nồng độ khác nhau, kết quả được thể hiện ở bảng 3.12 và hình 3.9

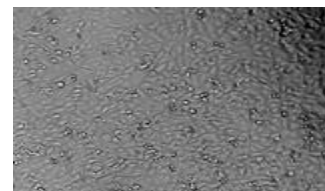
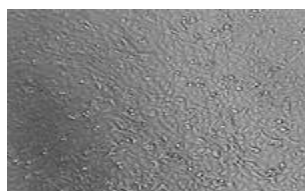
**Bảng 3.12: Khả năng gây độc tế bào của dịch chiết HQP trên các dòng tế bào**

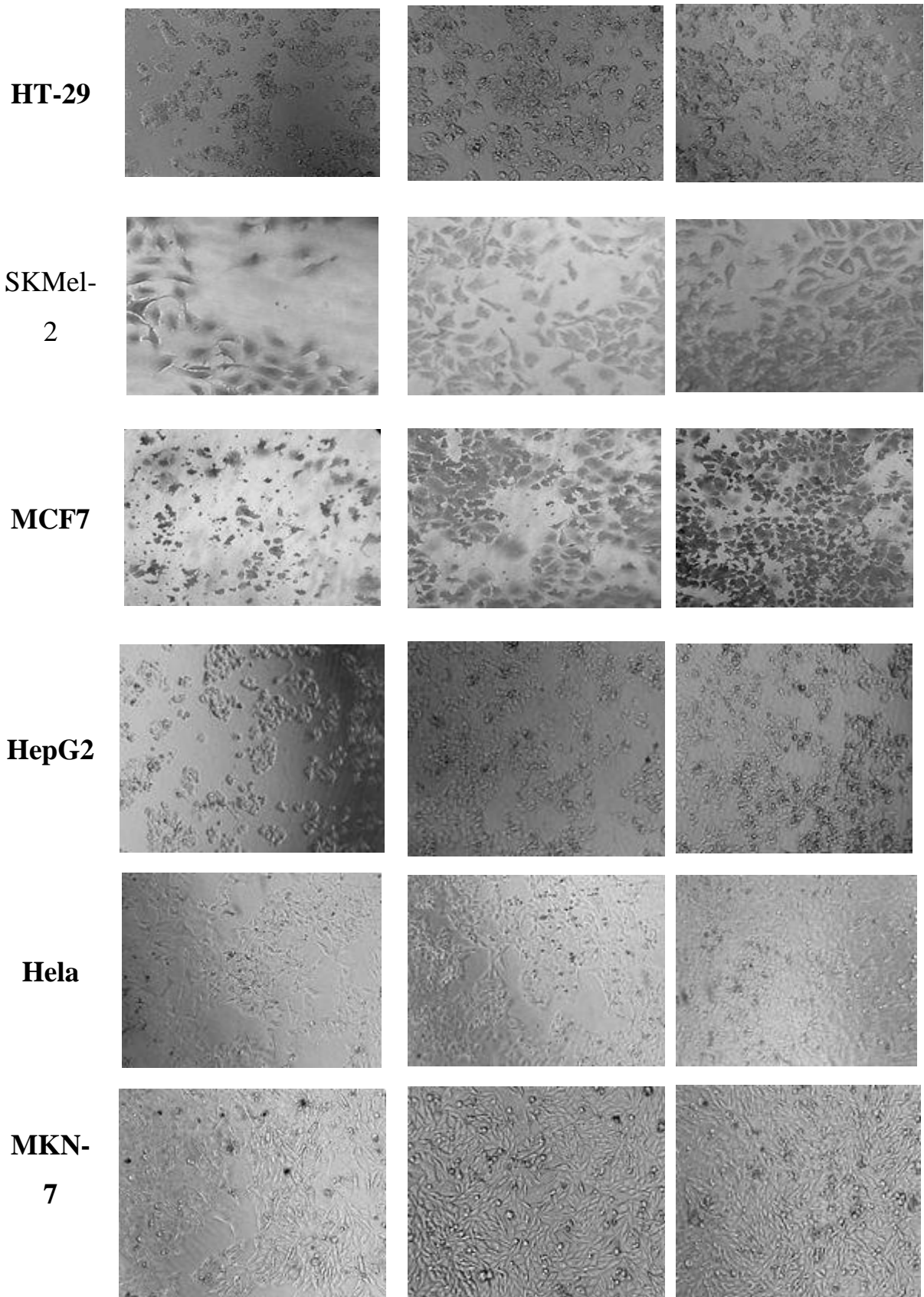
Nồng	Tỷ lệ ức chế tế bào ung thư
------	-----------------------------

độ ( $\mu\text{g/ml}$ )	HQP						
	A549	HT-29	SK-Mel-2	MCF-7	HepG2	Hela	MKN-7
100	37.09	52.20	54.57	43.91	58.93	52.78	54.56
20	12.87	8.42	8.53	16.72	14.60	20.39	18.86
4	7.86	1.77	2.91	4.22	5.76	10.84	5.92
0.8	7.15	1.53	-0.15	-0.39	2.16	5.13	1.62
IC <sub>50</sub>	>100	<b>96.43±</b> <b>3.59</b>	<b>92.72±</b> <b>3.23</b>	>100	<b>83.19±</b> <b>3.59</b>	<b>91.64±</b> <b>6.60</b>	<b>87.48±</b> <b>4.62</b>
Nồng độ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Ellipticine (chất đối chứng)						
	A549	HT-29	SK-Mel-2	MCF-7	HepG2	Hela	MKN-7
10	90.26	96.76	91.51	97.07	99.95	98.14	98.75
2	79.97	82.37	84.23	78.48	80.24	83.52	78.03
0.4	50.32	51.02	52.11	48.52	52.95	50.15	49.23
0.08	22.48	23.19	24.48	21.17	26.34	24.50	22.18
IC <sub>50</sub>	<b>0.43±</b> <b>0.02</b>	<b>0.32±</b> <b>0.02</b>	<b>0.31±</b> <b>0.04</b>	<b>0.44±</b> <b>0.05</b>	<b>0.34±</b> <b>0.03</b>	<b>0.32±</b> <b>0.03</b>	<b>0.42±</b> <b>0.05</b>

Tế bào      Nồng độ 100  $\mu\text{g/ml}$       Nồng độ 20 $\mu\text{g/ml}$       Nồng độ 0,8 $\mu\text{g/ml}$

A549





**Hình 3.9:** Hình ảnh các tế bào ung thư bị ức chế bởi dịch chiết HQP  
Kết quả bảng 3.12 và hình 3.9 ta thấy:

Hoạt tính ức chế tế bào ung thư của dịch chiết HQP ức chế với tế bào ung thư rất tốt với giá trị IC<sub>50</sub> từ 83,19 đến trên 100. Trong đó, thể hiện tốt nhất với dòng tế bào ung thư gan (HepG2), với giá trị IC<sub>50</sub> = 83,19 µg/ml và có thể ức chế được 58,93% tế bào ung thư ở nồng độ 100 µg/ml. Khả năng ức chế tế bào ung thư kém hơn ở dòng tế bào ung thư vú MCF-7 và dòng tế bào ung thư phổi A549, với IC<sub>50</sub> >100.

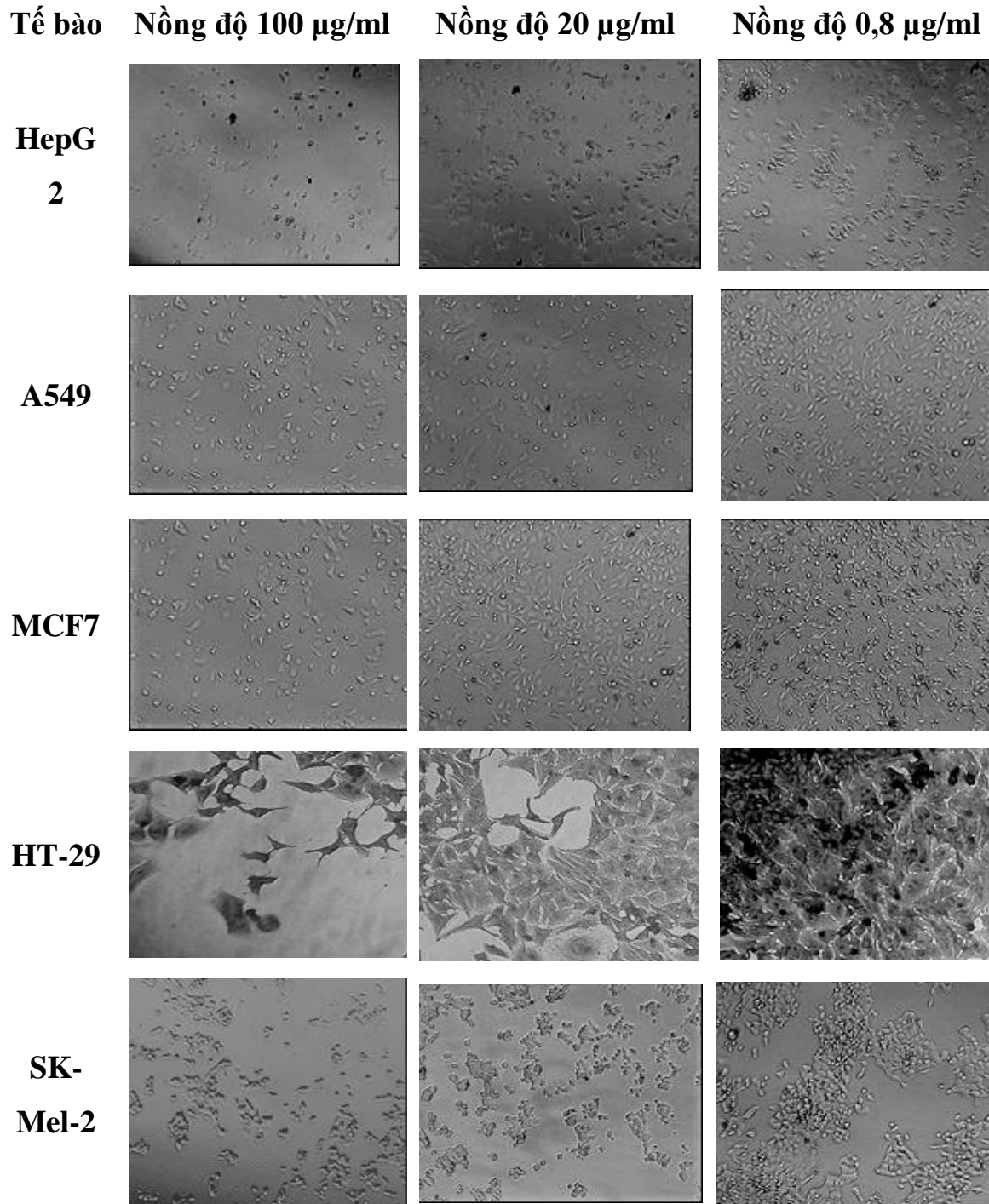
### 3.3.2.2. Khả năng kháng tế bào ung thư của dịch chiết LQP

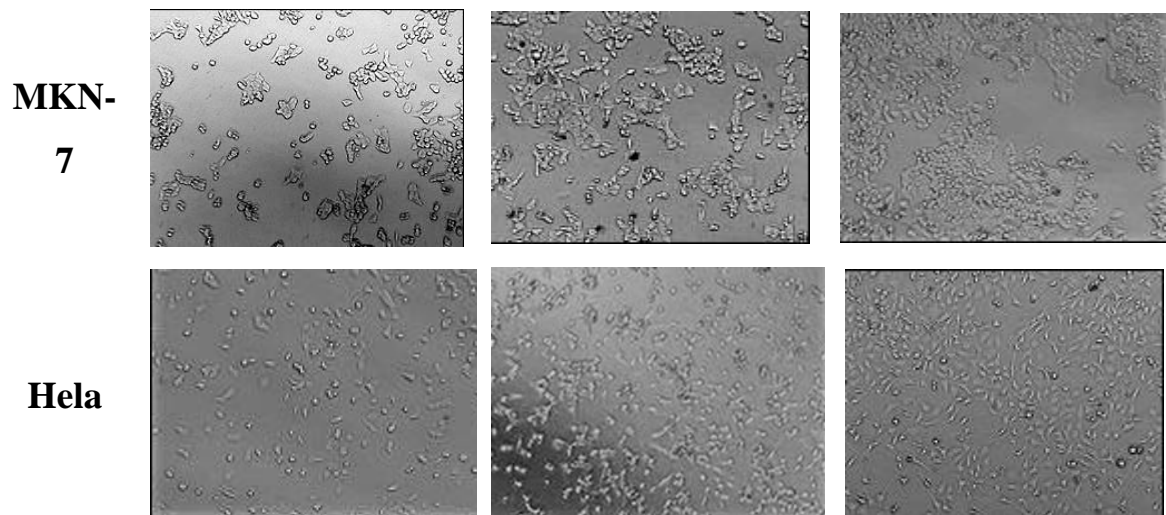
Dịch chiết LQP được thử trên 7 dòng tế bào ung thư ở các nồng độ khác nhau, kết quả được thể hiện ở bảng 3.13 và hình 3.10

**Bảng 3.13:** Khả năng gây độc tế bào của dịch chiết LQP trên các dòng tế bào

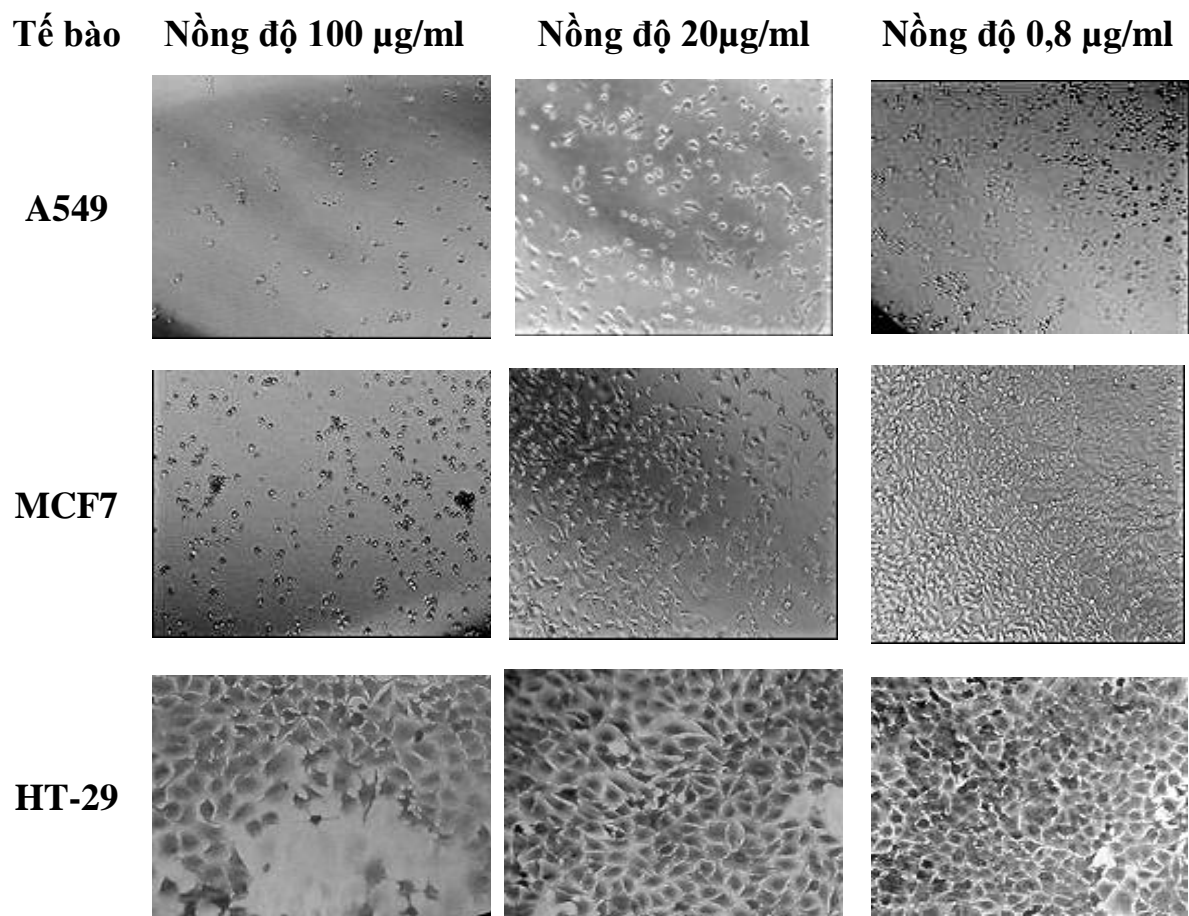
Nồng độ (µg/m)	Tỷ lệ ức chế tế bào ung thư của dịch chiết						
	LQP						
	A549	HT-29	SK-Mel-2	MCF-7	HepG2	Hela	MKN-7
100	70.25	60.39	75.18	48.16	61.63	58.06	54.63
20	22.70	23.45	29.99	7.86	15.25	18.24	14.60
4	6.61	6.12	4.88	2.89	4.58	8.60	1.53
0.8	-3.04	3.20	-2.77	1.04	-1.05	3.44	-0.32
IC <sub>50</sub>	<b>59.19± 4.25</b>	<b>72.94± 1.73</b>	<b>48.20± 1.83</b>	<b>&gt;100</b>	<b>77.73± 5.33</b>	<b>81.67± 4.57</b>	<b>89.47± 2.70</b>
Nồng độ (µg/ml)	Ellipticine (chất đối chứng)						
	A549	HT-29	SK-Mel-2	MCF-7	HepG2	Hela	MKN-7
	10	90.26	96.76	91.51	97.07	99.95	98.14
2	79.97	82.37	84.23	78.48	80.24	83.52	78.03
0.4	50.32	51.02	52.11	48.52	52.95	50.15	49.23

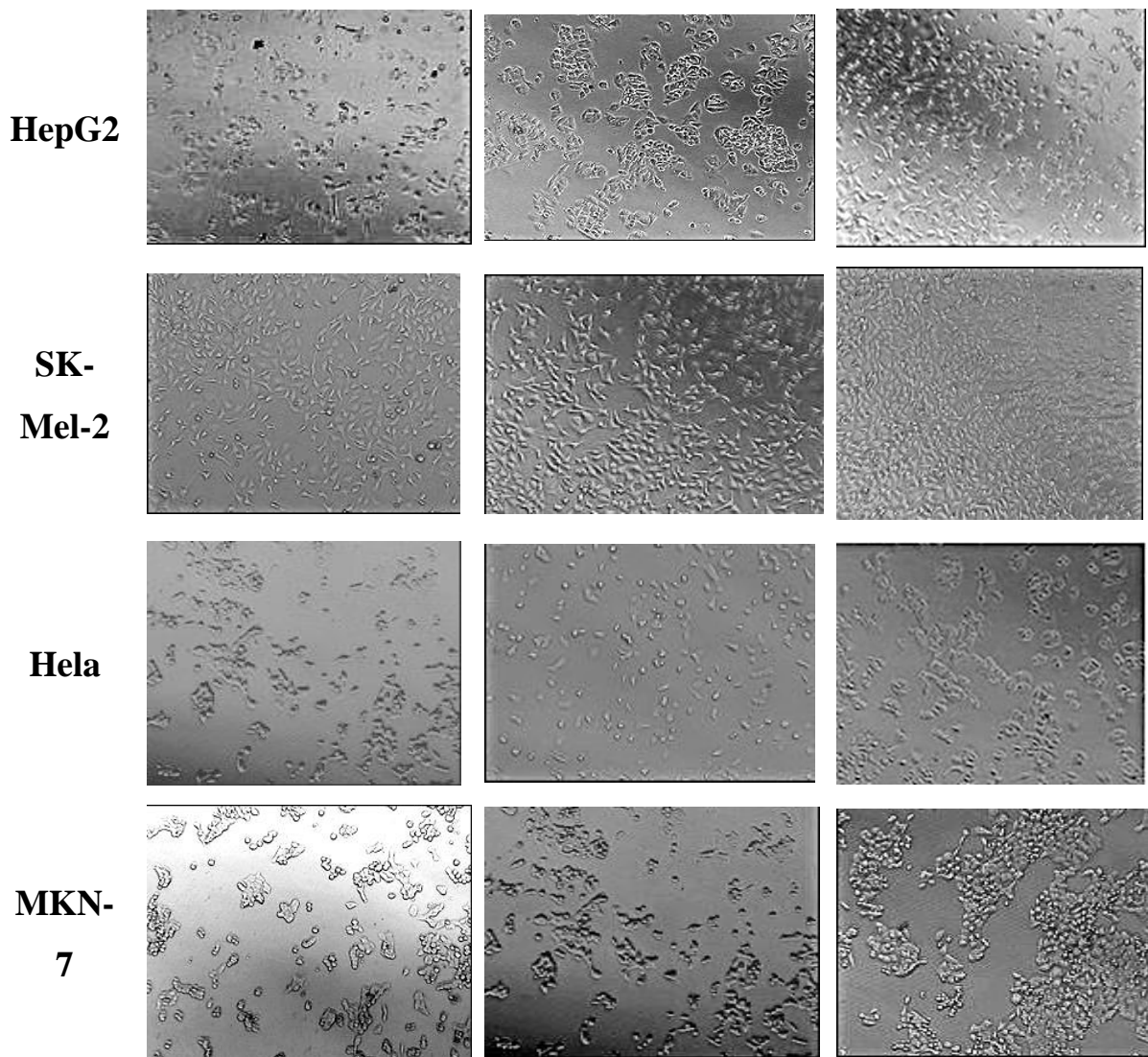
0.08	22.48	23.19	24.48	21.17	26.34	24.50	22.18
<b>IC<sub>50</sub></b>	<b>0.43±</b>	<b>0.32±</b>	<b>0.31±</b>	<b>0.44±</b>	<b>0.34±</b>	<b>0.32±</b>	<b>0.42±</b>
	<b>0.02</b>	<b>0.02</b>	<b>0.04</b>	<b>0.05</b>	<b>0.03</b>	<b>0.03</b>	<b>0.05</b>





**Hình 3.10:** Hình ảnh các tế bào ung thư bị ức chế bởi dịch chiết LQP  
 Kết quả bảng 3.13 và hình 3.10 ta thấy:





Hoạt tính ức chế tế bào ung thư của dịch chiết LQP ức chế với tế bào ung thư rất cao với giá trị  $IC_{50}$  từ 48,2 đến trên 100. Trong đó, thể hiện tốt nhất với dòng tế bào ung thư da (SK-Mel-2), với giá trị  $IC_{50} = 48,20$  và có thể ức chế được 75,18% tế bào ung thư ở nồng độ 100  $\mu\text{g/ml}$ . Khả năng ức chế tế bào ung thư kém hơn ở dòng tế bào ung thư vú (MCF-7) với  $IC_{50} > 100$ , ức chế được 48,16% tế bào ung thư ở nồng độ 100  $\mu\text{g/ml}$ .

### 3.3.2.3. Khả năng kháng tế bào ung thư của dịch chiết HPH

Dịch chiết HPH được thử trên 7 dòng tế bào ung thư ở các nồng độ khác nhau, kết quả được thể hiện ở bảng 3.14 và hình 3.11

**Bảng 3.14:** Khả năng gây độc tế bào của dịch chiết HPH trên các dòng tế bào

Nồng độ	Tỷ lệ ức chế tế bào ung thư của dịch chiết HPH	
---------	--	--

	<b>A549</b>	<b>HT-29</b>	<b>SK-Mel- 2</b>	<b>MCF-7</b>	<b>HepG2</b>	<b>Hela</b>	<b>MKN- 7</b>
100	55.90	62.57	59.10	52.60	66.71	61.99	55.01
20	23.12	32.70	29.62	17.37	23.99	26.48	23.38
4	13.14	11.33	9.83	9.01	6.95	10.60	11.57
0.8	7.95	0.54	6.33	0.75	-0.51	9.23	1.73
IC <sub>50</sub>	<b>82.63±</b>	<b>56.03±</b>	<b>68.79±</b>	<b>92.92±</b>	<b>62.24±</b>	<b>68.89±</b>	<b>82.78±</b>
	<b>4.07</b>	<b>5.02</b>	<b>3.72</b>	<b>2.33</b>	<b>2.65</b>	<b>2.82</b>	<b>5.14</b>
<b>Nồng độ (µg/ml )</b>	<b>Ellipticine (chất đối chứng)</b>						
	<b>A549</b>	<b>HT-29</b>	<b>SK-Mel- 2</b>	<b>MCF-7</b>	<b>HepG2</b>	<b>Hela</b>	<b>MKN- 7</b>
10	90.26	96.76	91.51	97.07	99.95	98.14	98.75
2	79.97	82.37	84.23	78.48	80.24	83.52	78.03
0.4	50.32	51.02	52.11	48.52	52.95	50.15	49.23
0.08	22.48	23.19	24.48	21.17	26.34	24.50	22.18
IC <sub>50</sub>	<b>0.43±</b>	<b>0.32±</b>	<b>0.31±</b>	<b>0.44±</b>	<b>0.34±</b>	<b>0.32±</b>	<b>0.42±</b>
	<b>0.02</b>	<b>0.02</b>	<b>0.04</b>	<b>0.05</b>	<b>0.03</b>	<b>0.03</b>	<b>0.05</b>

**Hình 3.11:** Hình ảnh các tế bào ung thư bị ức chế bởi dịch chiết HPH

Kết quả bảng 3.14 và hình 3.11 ta thấy: Hoạt tính ức chế tế bào ung thư của dịch chiết HPH ức chế với tế bào ung thư rất cao với giá trị IC<sub>50</sub> từ 56,03 đến 92,92. Trong đó, thể hiện tốt nhất với dòng tế bào ung thư gan (HepG2), với giá trị IC<sub>50</sub> = 62,24 và có thể ức chế được 66,71% tế bào ung thư ở nồng độ 100 µg/ml. Khả năng ức chế tế bào ung thư kém hơn ở dòng tế bào ung thư vú (MCF7) với IC<sub>50</sub> 92,92, ức chế được 52,6% tế bào ung thư ở nồng độ 100 µg/ml .

#### **3.3.2.4. Khả năng kháng tế bào ung thư của dịch chiết LPH**

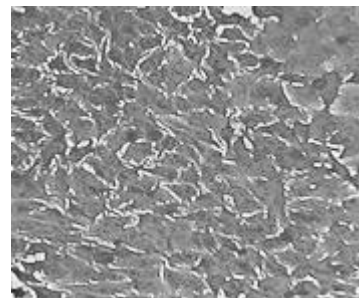
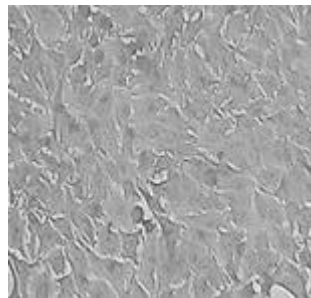
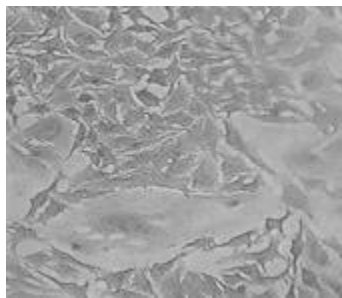
Dịch chiết LPH được thử trên 7 dòng tế bào ung thư ở các nồng độ khác nhau, kết quả được thể hiện ở bảng 3.15 và hình 3.12

Bảng 3.15: Khả năng gây độc tế bào ung thư của các mẫu dịch chiết LPH

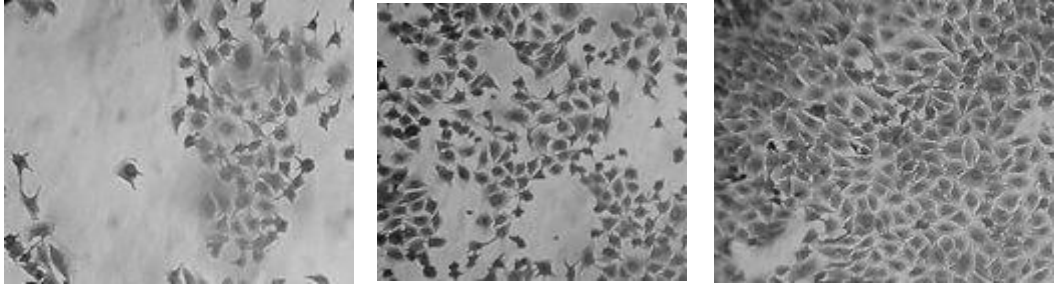
Nồng độ ( $\mu\text{g/mL}$ )	% ức chế							
	628L (lá Pù Hoạt)							
	HepG2	A549	MCF7	HT-29	Hela	RD	LNCaP	HL-60
100	52.59	38.82	38.53	67.66	45.80	41.22	29.28	51.77
20	17.14	10.36	11.21	12.19	13.43	15.26	12.55	18.03
4	7.23	5.99	3.24	3.22	3.60	6.48	5.86	7.18
0.8	2.14	3.83	-0.86	-0.39	0.66	1.07	1.22	2.65
IC <sub>50</sub>	<b>93.11± 3.69</b>	<b>&gt;100</b>	<b>&gt;100</b>	<b>82.50± 8.11</b>	<b>&gt;100</b>	<b>&gt;100</b>	<b>&gt;100</b>	<b>94.92± 7.86</b>
Nồng độ ( $\mu\text{g/ml}$ )	Ellipticine							
	HepG2	A549	MCF7	HT-29	Hela	RD	LNCaP	HL-60
	10	95.27	87.01	97.99	93.55	92.38	85.62	85.06
2	73.78	72.12	80.24	76.56	76.87	73.17	78.10	78.64
0.4	49.22	48.15	50.39	49.13	50.48	48.36	49.48	50.93
0.08	23.37	21.21	24.56	22.03	23.73	22.40	21.07	23.84
IC <sub>50</sub>	<b>0.45± 0.02</b>	<b>0.53± 0.06</b>	<b>0.39± 0.03</b>	<b>0.45± 0.05</b>	<b>0.43± 0.03</b>	<b>0.51± 0.05</b>	<b>0.49± 0.03</b>	<b>0.42± 0.02</b>

Tế bào      Nồng độ 100  $\mu\text{g/ml}$       Nồng độ 20  $\mu\text{g/ml}$       Nồng độ 0,8  $\mu\text{g/ml}$

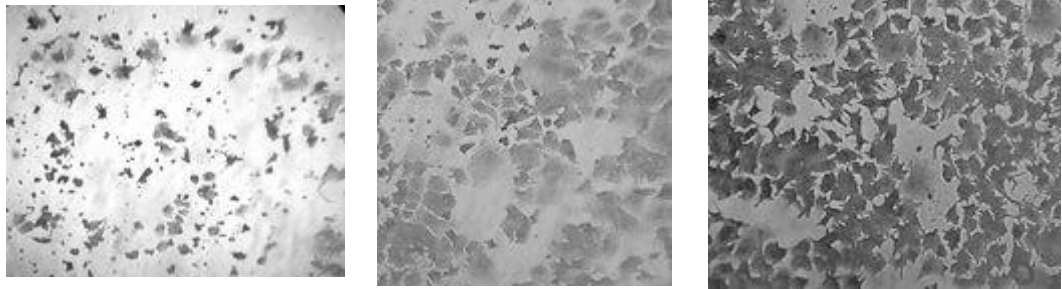
HepG2



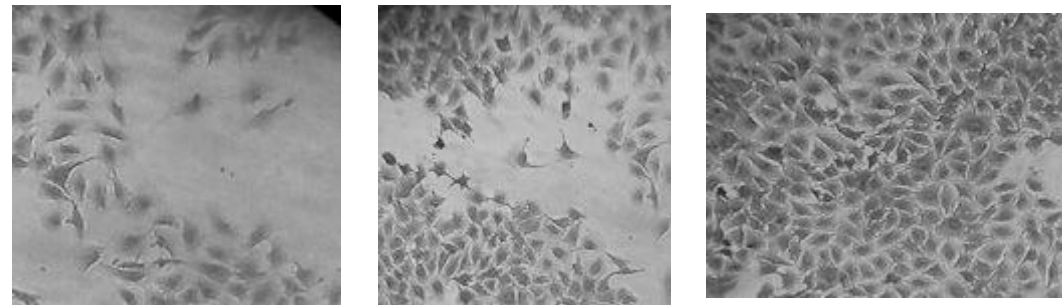
**A549**



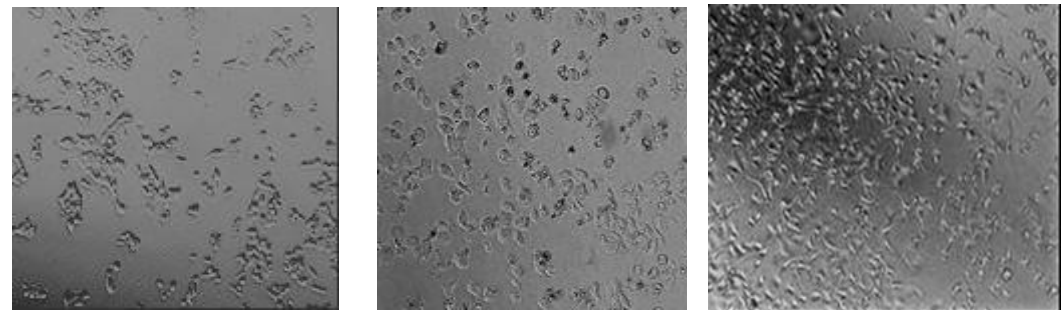
**MCF7**



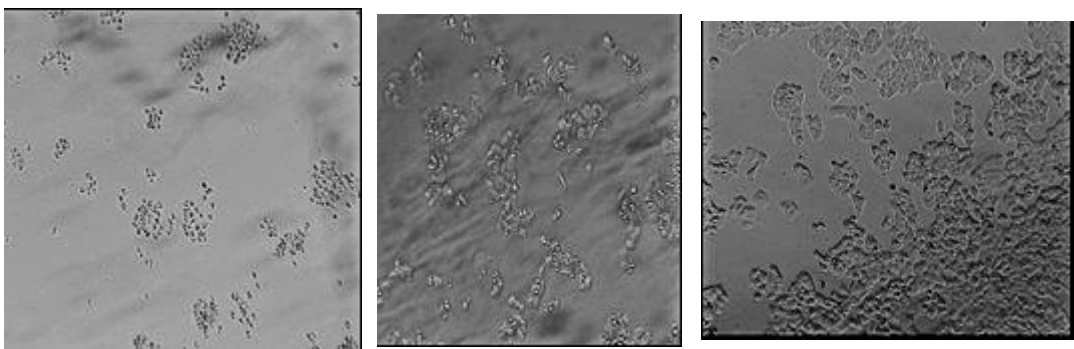
**HT-29**



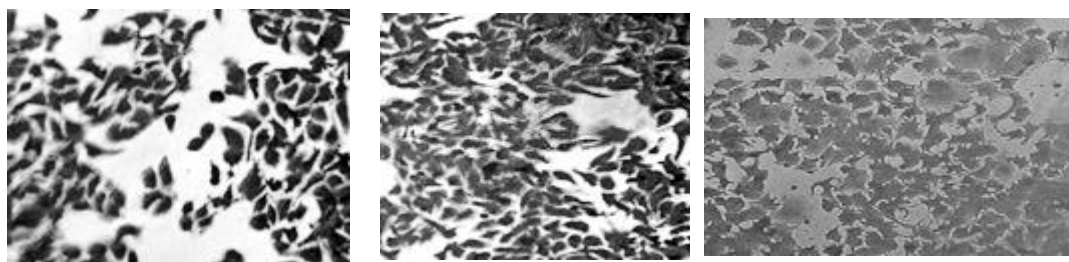
**Hela**



**SK-  
Mel-2**



MKN-  
7



**Hình 3.12:** Hình ảnh tế bào bị ức chế bởi dịch chiết LPH

Kết quả bảng 3.15 và hình 3.12 ta thấy:

Hoạt tính ức chế tế bào ung thư của dịch chiết LPH ức chế với tế bào ung thư cao với giá trị  $IC_{50}$  từ 82,5 đến trên 94,92  $\mu\text{g/ml}$ . Trong đó, thể hiện tốt nhất với dòng tế bào ung thư phổi (A549) với giá trị  $IC_{50} = 82,5$  và có thể ức chế được 67,66% tế bào ung thư ở nồng độ 100  $\mu\text{g/ml}$ . Khả năng ức chế tế bào ung thư kém hơn ở dòng tế bào ung thư vú (MCF-7) với  $IC_{50} > 100$ , ức chế được 38,53% tế bào ung thư ở nồng độ 100  $\mu\text{g/ml}$ .

Kết quả thử nghiệm dịch chiết của các mẫu HQP, LQP, HPH, LPH, đã thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư nghiên cứu với giá trị  $IC_{50}$  từ 48,02 ở nồng độ 100  $\mu\text{g/ml}$ . Đối chiếu kết quả nghiên cứu ở Hà Tĩnh thì nhận thấy hoạt tính ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư nghiên cứu cụ thể ở hoa loài *Camellia hatinhtensis* cao hơn 2 loài trà hoa vàng ở Nghệ An với giá trị  $IC_{50}$  từ 34,73  $\mu\text{g/ml}$  ở nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$  ức chế lên đến 98,79% tế bào ung thư da SK-Mel-2. Tuy nhiên Mẫu lá *Camellia vuquangtensis* lại có khả năng ức chế tế bào ung thư kém hiệu quả với giá trị  $IC_{50} > 100$ .

Theo nghiên cứu năm 2016 của Malgozata Kujawska và các cộng sự cho thấy chiết xuất từ lá *Camelia sinensis* có tác dụng chống lại tác nhân gây ung thư gan N- nitrosodiethylamine ( NDEA) ở chuột bằng các phương pháp xét nghiệm sinh hóa và mô học [61]. Theo "*Camellia International Journal*", các hợp chất của chè hoa vàng có khả năng kiềm chế sự sinh trưởng của các khối u đến 33,8% trong khi chỉ cần đạt đến ngưỡng 30% đã có thể xem là

thành công trong điều trị ung thư. FASN được xác định là chất đóng vai trò vô cùng quan trọng cho quá trình phát triển của ung thư và tạo mỡ. Một nghiên cứu đã chỉ ra lá trà hoa vàng có tác dụng ức chế FASN làm suy giảm sự tăng sinh và phát triển của khối u với 1 số cơ chế như ngăn sự xáo trộn của màng, ức chế quá trình sao chép liên tục DNA. Đồng thời trà hoa vàng giúp chứng minh được khả năng khởi động quá trình chết theo chương trình của tế bào ung thư [65].

Okuda và cộng sự là một trong những tác giả đầu tiên có những nghiên cứu về các hợp chất chống ung thư có trong chi *Camellia*. Cụ thể hợp chất chính ở đây là Epigallocatechin gallate (EGCG), một nhóm chất polyphenol có trong trà xanh được xem là chất ngăn ngừa ung thư hiệu quả. Sau đó nhiều nghiên cứu đã chứng minh hoạt động chống khối u của chất này qua chiết xuất từ lá của chi này [59].

Vào năm 2000, Mimoto và cộng sự đã đánh giá tác động của EGCG đối với khối u phổi do cisplatin một chất dùng để điều trị ung thư phổi nhưng cũng có thể gây nên ung thư ở động vật. Mittal và cộng sự đã dành riêng nghiên cứu của họ về EGCG giúp ức chế sự hình thành và phát triển của tế bào ung thư vú ( dòng MCF7) mà không gây ảnh hưởng xấu đến sự phát triển của tế bào bình thường. Roy và cộng sự cũng đạt được kết quả khá giống với kết quả thu được của Mittal và đồng nghiệp nhưng dòng tế bào thử nghiệm là dòng tế bào ung thư vú MDA-MB-468 cho thấy sự ức chế tăng sinh tế bào ung thư vú và quá trình chết theo chương trình của tế bào ung thư phụ thuộc vào sự tăng liều lượng EGCG.

Vào năm 2012, Jin đã báo cáo hoạt động chống khối u của polysaccharide với tỉ lệ chống lại khối u là 85,6% (phụ thuộc vào liều lượng) và được các tác giả tuyên bố rằng hợp chất này có đặc tính chống khối u mạnh mẽ trong cơ thể sống. Tingting và cộng sự đã nghiên cứu hoạt động chống khối u trong ống nghiệm của 3 thành phần chính là: saponin, protein và polysaccharide trên dòng tb u gan ở người ( HepG2) và dòng tế bào gan

chuột bình thường (IAR20) cho thấy kết quả khá tốt. Cụ thể, polysaccharide chống lại tế bào Hep G2 (IC<sub>50</sub> = 5,826 µg / mL), tiếp theo là saponin (IC<sub>50</sub> = 26,754 µg / mL) và protein (IC<sub>50</sub> = 36,794 µg / mL) Tỷ lệ ức chế của ba hợp chất trên tế bào Hep G2 cao hơn 80% khi được thử nghiệm trên dòng IAR20 [32], [33].

### 3.3.3. Kết quả sàng lọc hoạt tính kháng vi sinh vật của dịch chiết trà hoa vàng

Polyphenol được chiết xuất từ trà hoa vàng, chúng không chỉ có tác dụng khác kháng oxy hóa các chất có nguồn gốc tự nhiên. Ngoài ra, catechin tên gọi chung của polyphenol còn có khả năng ức chế các enzyme có nguồn gốc từ vi khuẩn và tiêu diệt các loại vi khuẩn làm hư hỏng thực phẩm, loại bỏ các độc tố do chúng gây ra. Vì vậy, catechin là tác nhân kháng khuẩn được ứng dụng nhiều trong thực phẩm và là thành phần trong nhiều loại thực phẩm chức năng. Khảo sát tính chất kháng khuẩn của trà hoa vàng được thực hiện thông qua việc pha loãng dịch chiết ở các nồng độ 256 µg/ml, 128 µg/ml, 64 µg/ml, 32 µg/ml, 16 µg/ml, 8 µg/ml, 4 µg/ml và 2 µg/ml, sau đó nuôi cấy các vi sinh vật kiểm định trong môi trường DMSO. Sử dụng chất đối chứng là kháng sinh Streptomycin cho các chủng vi khuẩn cycloheximide cho nấm kết quả được thể hiện như sau:

#### 3.3.3.1. Kết quả sàng lọc hoạt tính kháng vi khuẩn gram dương của dịch chiết trà hoa vàng

**Bảng 3.16:** Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật gram dương của dịch chiết trà hoa vàng

Tên mẫu	Giá trị (µg/ml)	HQP	LQP	HPH	LPH	Strepto mycin	Cycloh eximide
<i>Enterococcus</i>	<b>MIC</b>	128	128	128	128	256	-
<i>faecalis</i> ATCC299212	<b>IC<sub>50</sub></b>	45,36	50,23	46,32	51,21	50,34	-

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	<b>MIC</b>	-	-	-	-	256	-
	<b>IC<sub>50</sub></b>	-	-	-	-	45,24	-
<i>Bacillus cereus</i> ATCC14579	<b>MIC</b>	256	256	256	256	128	-
	<b>IC<sub>50</sub></b>	78,35	87,34	75,36	84,56	20,45	-

(-): Mẫu cho kết quả âm tính ở nồng độ thử nghiệm

Kết quả sàng lọc bảng 3.16 cho thấy: cả 4 loại dịch chiết từ hoa và lá của loài trà hoa vàng *C. quephongensis* và *C. puhoatensis* đều thể hiện hoạt tính kháng khuẩn, trung bình với chủng vi khuẩn *Enterococcus faecalis* ATCC299212 với giá trị MIC từ 2 – 128 µg/mL (IC<sub>50</sub> từ 45,36 đến 51,21 ) và chủng vi khuẩn *Bacillus cereus* ATCC14579 với giá trị MIC từ 2 – 256 µg/mL (IC<sub>50</sub> từ 75,36 đến 87,34); không có khả năng ức chế với *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Mẫu đối chứng là Streptomycin và Cycloheximide có giá trị MIC lớn hơn hoặc bằng so với mẫu thử.

### 3.3.3.2. Kết quả sàng lọc hoạt tính kháng vi khuẩn gram âm của dịch chiết trà hoa vàng

**Bảng 3.17:** Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật gram âm của dịch chiết trà hoa vàng

<b>Tên mẫu</b>	<b>Giá trị (µg/ml)</b>	<b>HQP</b>	<b>LQP</b>	<b>HPH</b>	<b>LPH</b>	<b>Streptomycin</b>	<b>Cycloheximide</b>
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	<b>MIC</b>	128	128	128	128	32	-
	<b>IC<sub>50</sub></b>	42,14	38,67	43,32	41,21	9,45	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	<b>MIC</b>	128	128	128	128	256	-
	<b>IC<sub>50</sub></b>	41,46	39,23	40,23	38,21	41,46	-
<i>Salmonella enterica</i>	<b>MIC</b>	64	64	64	64	128	-
	<b>IC<sub>50</sub></b>	20,34	21,58	20,31	21,21	45,67	-

ATCC13076							
-----------	--	--	--	--	--	--	--

(-): Mẫu cho kết quả âm tính ở nồng độ thử nghiệm

Kết quả sàng lọc ở bảng: 3.17 cho thấy: dịch chiết từ hoa và lá của loài trà hoa vàng Quế Phong thể hiện hoạt tính kháng thể hiện khả năng ức chế 3 chủng VSVKĐ gram âm là *E. coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 và *Salmonella enterica* ATCC13076 với giá trị MIC là 128 ( $\mu\text{g/ml}$ ), IC<sub>50</sub> từ 20,31- 43,32 ( $\mu\text{g/ml}$ ). Hai mẫu có khả năng kháng khuẩn phổ rộng, đặc biệt kháng chủng VSVKĐ *Salmonella enterica* ATCC13076 gây bệnh đường ruột cấp với giá trị MIC và IC<sub>50</sub> khá cao cụ thể MIC: 64 $\mu\text{g/ml}$  và IC<sub>50</sub>: 20,34 – 21,58  $\mu\text{g/ml}$ .

Nguyên nhân cho sự nhạy cảm về kháng sinh giữa các vi khuẩn Gram âm và Gram dương có thể là do sự khác biệt về cấu trúc của thành tế bào, vi khuẩn Gram âm có màng là một lớp kép của phospholipid và lipopolysaccharide (LPS), cấu trúc này giúp cho thành của tế bào khó bị tác động bởi các kháng sinh [21].

### 3.3.3.3. Kết quả sàng lọc hoạt tính kháng nấm của dịch chiết trà hoa vàng

**Bảng 3.18:** Kết quả thử hoạt tính kháng nấm của dịch chiết trà hoa vàng

Tên mẫu	Giá trị ( $\mu\text{g/ml}$ )	HQP	LQP	HPH	LPH	Streptomycin	Cycloheximide
Candida albicans	MIC	128	128	128	128	-	32
ATCC10231	IC <sub>50</sub>	34,68	52,67	33,12	51,25	-	10,46

(-): Mẫu cho kết quả âm tính ở nồng độ thử nghiệm

Kết quả sàng lọc ở bảng 3.18 cho thấy dịch chiết từ hoa và lá của loài trà hoa vàng Quế Phong và Pù Hoạt đều thể hiện hoạt tính kháng thể hiện hoạt tính tốt kháng *C. albicans* với giá trị MIC từ 2 – 128  $\mu\text{g/mL}$ , IC<sub>50</sub> từ 33,12 đến 52,67  $\mu\text{g/ml}$ . Hoạt tính này rất đáng quan tâm vì nhiều thuốc kháng sinh hiện

nay khó có khả năng kiểm soát được chủng nấm này [19]. Hiện nay, việc điều trị hiệu quả bệnh nấm *Candida* bị hạn chế bởi hai yếu tố chính, đó là khó chẩn đoán nhanh và chính xác tác nhân xâm lấn và số lượng phương pháp điều trị hạn chế. Sự xuất hiện của các chủng kháng thuốc, bao gồm cả những chủng trở nên kháng nhiều loại thuốc, ngày càng được báo cáo nhiều hơn trong những năm gần đây [50].

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### I. Kết luận

Sau khi thực hiện đề tài “ *Khảo sát thành phần hoá học và thử nghiệm hoạt tính sinh học có trong hai loài trà hoa vàng phân bố tại huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An*” chúng tôi đã thu nhận được kết quả sau:

1. Đã chiết được dịch chiết tổng số của cao ethanol 70% của lá và hoa 2 loài *Camellia quephongensis* và *Camellia puhoatensis* hiệu suất từ 9%-12,8%.
2. Đã xác định được trong mẫu lá và hoa trà hoa vàng *Camellia quephongensis* và *Camellia puhoatensis* đều có chứa các nhóm chất flavonoid, tanin, saponin, đường khử, polysaccharide, không chứa coumarin, acid amine và alkaloid.
3. Kiểm tra hoạt tính sinh học có trong dịch chiết trà hoa vàng
  - + Bốn mẫu nghiên cứu đều có thể ức chế sự peroxy hóa lipid mạnh với giá trị  $IC_{50}$  từ 2.02 – 29.6  $\mu\text{g/ml}$ .
  - + Các mẫu LQP, HQP, LPH và HPH đã thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư nghiên cứu với giá trị  $IC_{50}$  từ 56,03  $\mu\text{g/ml}$ .
  - + Các mẫu LQP, HQP, LPH và HPH đã thể hiện hoạt tính ức chế các vi sinh vật kiểm định giá trị  $IC_{50}$  từ 20,31  $\mu\text{g/ml}$  giá trị MIC 64  $\mu\text{g/ml}$ .

### II. KIẾN NGHỊ

Với thời gian hạn chế, đề tài đã đạt được một số kết quả như trên. Nếu đề tài được tiếp tục, chúng tôi có một số kiến nghị như sau:

- Cần chiết phân đoạn từ dịch chiết tổng của các mẫu trà hoa vàng trên bằng các dung môi khác nhau để xác định hoạt tính sinh học kháng ung thư của mẫu thử nằm ở phân đoạn nào.

- Thử nghiệm các đặc tính kháng ung thư trên động vật thí nghiệm để khẳng định chắc chắn hoạt tính này trên cơ thể động vật toàn vẹn.

- Thử nghiệm lâm sàng để sản xuất các chế phẩm, dược phẩm nhằm phục vụ công tác hỗ trợ điều trị các bệnh ung thư và kháng vi sinh vật.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### Tài liệu tiếng Việt

- [1] Hoàng Thành Chí B.M.H. (2020), *Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của catechin chiết xuất từ lá trà xanh*. Trường Đại học KHTN.
- [2] Trần Ngọc Thêm, *Các loại chè, trà và công dụng của trà*. Thảo mộc thiên nhiên Thuận Thành.
- [3] Đặng Quang Bích, N T P Thảo (2017), *Đánh giá đa dạng nguồn gen 25 mẫu trà hoa vàng tại Quảng Ninh*. Tạp chí khoa học nông nghiệp Việt Nam.
- [4] Võ Văn Chi (2003), *Từ điển thực vật thông dụng*. Nxb khoa học kỹ thuật, pp.
- [5] Lê Văn Cơ, Nguyễn Thị Xuân San (2018), *Khảo sát khả năng bắt gốc tự do DPPH, ABTS của cao chiết từ một số loài nấm Linh Chi đen Amauroderma*.
- [6] Phạm Hoàng Hộ (2001), *Cây cỏ Việt Nam (Tập 2)*. NXB Trẻ, pp 424-432.
- [7] A Hung, Nguyễn Chân Hùng (2004), *Ung bướu học nội khoa*. NXB Y học.
- [8] Đặng Hải Khôi (1983), *Chè và công dụng*. NXB khoa học kỹ thuật.
- [9] Nguyễn Văn Khương cộng sự (1998), *Đánh giá tình hình sinh trưởng và tái sinh của Chè hoa vàng tại một số tỉnh phía Bắc*. Viện khoa học lâm nghiệp Việt Nam.
- [10] Nguyễn Thị Hà Ly và cộng sự *Nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần học và tác dụng sinh học của Trà hoa vàng Thái Nguyên*. NXB Đại học Dược Hà Nội.
- [11] Lương Thịnh Nghiệp (2000), *Trung Quốc danh ưu Trà hoa*. NXB Kim Thuần - Bắc Kinh.
- [12] Trần Ninh, Naotoshi (2010), *Các loài trà VQG Tam Đảo*. NXB VHNT.

- [13] Trần Văn Ôn (2018), *Nghiên cứu một số thành phần hóa học tác dụng sinh học và phát triển sản phẩm từ trà hoa vàng tại Ba chẽ, Quảng Ninh*. Sở KH và CN tỉnh Quảng Ninh.
- [14] Phân loại trà hoa vàng, có mấy loại? Loại giống nào chuẩn nhất? *Quy Hoa Trà - Tinh hoa Trà Việt lưu truyền*.
- [15] Phùng, Phạm Thiên Tánh và Nguyễn P. (2012), "*Apoptosis - sự chết của tế bào*".
- [16] Nguyễn Tập, Nguyễn H Nga (2019), *Vài nét về trà hoa vàng ở Việt Nam và các hoạt động bảo tồn, nhân giống*. Tạp chí Dược liệu.
- [17] Nguyễn Duy Thành (2020), *Nguyên cứu đặc điểm phân bố, sinh thái và giá trị sử dụng của Loài chè hoa vàng (Camellia quephongensis Hakoda et Ninh) tại xã Đông Văn huyện Quế Phong*. Trường ĐH Lâm Nghiệp.
- [18] Thông N.M. "Nghiên cứu về cấu trúc, khả năng chống oxy hóa của một số polyphenol và dẫn xuất trên nền fullerene bằng phương pháp hóa tính toán.", 134.

#### **Tài liệu nước ngoài**

- [19] A. Forastiero, A.C.M. Arango, A.A. Izquierdo (2013), *Antimicrob Agents Chemother*. *Candida tropicalis* antifungal crossresistance is related to different azole target (Erg11p) modifications. 4769–4781.
- [20] Abheri, D.S., Anisur, R.M. and Ghosh, A.K., (2010), *Free radicals and their role in different clinical conditions: An overview*. International Journal of Pharma Sciences and Research, 1(3): 185-192. Halliwell, B., 2011. Free radicals and antioxidants - quo vadis? Trends in Pharmacological Sciences. 32(3): 125 -30.
- [21] A.H Delcour, (2009), "*Biochim Biophys Acta.*" Review: Outer membrane permeability and antibiotic resistance.

- [22] Ai-ze, X. I. E (2011), *Study on the Extraction of Polysaccharides from Camellia chrysantha (Hu) Tuyama by Acetone Precipitation* J. Journal o/Anlnti Agríicultural Sciences.
- [23] Arcamone F, Cassinelli G, Fantini G, et al (1969), *Adriamycin, 14-hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic from S. peucetius var. caesius*. Biotechnology and Bioengineering 11 (6): 1101–1110.
- [24] Chen JH, et al (1993), *The wholesome function elements of leaves artificial asexual propagation of Camellia chrysantha (Hu)*.
- [25] DAI Dai, L., Li, J. L., Liang, X. Q., Li, L., Feng, Y., Liu, H. Z., Zhang, L. T. (2016), *Flowers of Camellia nitidissima cause growth inhibition, cell-cycle dysregulation and apoptosis in a human esophageal squamous cell carcinoma cell line*. Molecular medicine reports, 14(2).
- [26] Di Marco A, B Gaetani M, Scarpinato B (1969), *Adriamycin (NSC-123,127): a new antibiotic with antitumor activity*. Cancer Chemother 53 (1): 33–7.
- [27] Grzesik M (2017), “ *Antioxidant properties of catechins : Comparison with other antioxidants* ”, *Food Chemistry*. 241, pp. 4800-492.
- [28] H Nguyen D. H (2020), *Camellia puhoatensis*. a new species from Vietnam. PhytoKeys,1531–11.
- [29] Hadacek F., Greger H. (2000), *Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice*. Phytochemical Analysis11(3).
- [30] Haidari F, Omidian K, Rafiei H, Zarei M, Mohamad Shahi MM (2013), *Green tea (Camellia sinensis) supplementation to diabetic rats improves serum and hepatic oxidative stress markers*. *Iran J Pharm Res*. 2(1):109-14. PMID 24250578.
- [31] Huang XC (1994), “*Development and prospect forecast of yellow Camellia*”, *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese*

- Medicine. 1, pp. 10– 11. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine. 1, pp. 10– 11.*
- [32] Itokawwa H, et al (1968), “ *Isolation of Camelliagenin A,B and C from the fruit of Camellia japonica L*”,. *Yakugaku zassi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. 88, pp, 1463-1466.*
- [33] Jin, X.; Ning, Y. (2012), *Antioxidant and antitumor activities of the polysaccharide from seed cake of Camellia oleifera Abel. Int J. . Biol Macromol. 51, 364–368.*
- [34] Kamran G, Yosef G, Mohammad A, Ebrahimzadeh (2009), “*Antioxidants Activity, flavonoids phenol and contents pells and 13 citrus species tissues*”, *Pak. J. Pharm. Sci., Vol. 22, No. 3, pp. 277-28.*
- [35] Khalid, R *Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors.: 219–236. Clinical Interventions in Aging , 2(2).*
- [36] Khoi N.V.M., Trung P.V., Hao H.M. and Lan N.T.N. (2017), "A study of chemical constituents of the *Camellia quephongensis* Hakoda et Ninh flowers with high resolution mass spectrometry", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Đà Nẵng*, 121–125.
- [37] Kujawskaa M, et al (2016), *Protective effect of yellow tea extract on N-nitrosodiethylamine – induced liver carcinogenesis*”,. *Pharmaceutical Biology. 54 ((9), pp. 1891-1900.*
- [38] Linnaeus, C.L. (1753), *Species plantarum, Tomus 1, Holmiae.*
- [39] Lu, w. E. I., Xiao-ming, Q. I. N., IIUANG, R. Q., HU’ ANG, Y. Y., &Zhi-xin, L. I. u (2007), *Study 3 on tea polysaccharide from the leave of Camellia chrysantha (Hu) Tuyama by the ultrasonic extraction process [J]. Food Science and Technology’.*
- [40] Lu W, Xv L, Wen J (2019), *Protective effect of extract of the Camellia japonica L.on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. Arq Neuro-Psiquiatr.. 77(1):39-46. doi: 10.1590/0004-282x20180146.*

- [41] Ming, T.L. & Bartholomew, B. (2007), *Theaceae*. In: Wu, Z.Y. & Raven P.H. (eds.); Flora of China, vol. 12; Science Press, Beijing and Missouri Bot. Garden press, St. Louis: 367-412.
- [42] Manach, C; Williamson, G; Morand, C; Scalbert, A; Rémésy, C (2005), “Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies”. American Journal of Clinical Nutrition.
- [43] Tran Duc Manh, Nguyen Toan Thang, Hoang Thanh Son, Dang Van Thuyet, Phung Dinh Trung, Nguyen Van Tuan, Dao Trung Duc, Mai Thi Linh, Vu Tien Lam, and Nguyen Huu Thinh, Nguyen Thi Thu Phuong và Tran Van Do *Archives of Current Research International*,. “Golden Camellias: A Review” 16(2): 1-8, 2019; Article no.ACRI.46837, ISSN: 2454-7077.
- [44] Nguyen D.-H., Luong T.-B. and Lê T.-H. (2020), "Camellia puhoatensis (Sect. Archecamellia – Theaceae), a new species from Vietnam", *PhytoKeys*, 1531–11.
- [45] Tran Ninh and Luong Van Dung (2013), *Camellia Dilinhensis: A New yellow species from Vietnam*. International Camellia Journal, pp. 87-89.
- [46] OECD (2008), *Test Guideline for the Testing of Chemicals. Repeated dose 28-day Oral toxicity Study in Rodents, OECD 407*,.
- [47] PENG, X., YU, D. Y., FENG, B. M., TANG, L., WANG, Y. Q., & SHI, L. Y. . (2011), *Guihaia*. Chemical constituents from the floxvers of *Camellia chrysantha* [J]. , 31(4), 550-553.
- [48] Sapo Saponins from Edible Legumes: Chemistry, Processing, and Health Benefits.
- [49] Sealy J.R (1958), *A revision of the genus Camellia*. Royal Horticultural Society, London.
- [50] S.R Lockhart, K.A Etienne, S. Vallabhaneni, J. Farooqi, A. Chowdhary, N.P Govender, A.L Colombo, B. Calvo, C.A Cuomo, C.A Desjardins *Simultaneous emergence of multidrug-resistant Candida auris on 3*

*continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses.* Clin Infect Dis., 64(2017) 134–140.

- [51] Pham V.T., Luong (2019), *Camellia velutina* (Theaceae, Sect. *Chrysantha*). A new species.
- [52] Tuyen T., Van H., Inh C., Minh H., Thuy T., Nghi D., Vu H. and Pham Q. (2018), *Non-alkaloid compounds isolated from Zanthoxylum nitidum*.
- [53] Takhtajan (2009), *Flowering plant*.
- [54] Wallace Hayes A (2001), *Principles and Method of Toxicology, 4th Edition, Taylor & Francis, Philadelphia, 2001.* Wallace Hayes A, 2001. - *Principles and Method of Toxicology, 4th Edition, Taylor & Francis, Philadelphia,.*
- [55] Wang B, et a (2018), “ *Essential oils and ethanol extract from Camellia nitidissima and evaluation of their biological activity .*” Journal of Food Science and Technology. 55 (12), pp. 5075-5081.
- [56] WEI Lul, QIN Xiao- mingl\*, LIN Hua- juan et al, (2008), *Study on the hylolipidemia activity of 7 polysacchrides from the leaves of Camellia chrysantha (Hu) Tuyama.* Food Science and Technology.
- [57] Wei, J. B., Li, X., Song, H., Liang, Y. H., Pan, Y. z., Ruan, J. X., ... & Su, z. H. (2013), *Characterization and determination of antioxidant components in the leaves of Camellia chrysantha (Hu) Tuyama based on composition-activity relationship approach.* Journal o f Food and Drug Analysis.
- [58] Xu Y, Cao X, Zhao H, Yang E, Wang Y, Cheng N et al (2021), *Impact of Camellia japonica bee pollen polyphenols on hyperuricemia and gut microbiota in potassium oxonate-induced mice.* Nutrients 13(8):2665. doi: 10.3390/nu13082665, PMID 34444825.

### **Nguồn Internet**

- [59] EGCG (Epigallocatechin Gallate): Lợi ích hỗ trợ giảm cân hiệu quả: <https://gymstore.vn>. Accessed: 2022-06-11.

- [60] Hướng dẫn cách giâm hom cây trà hoa vàng | Cổng TTĐT Tài năng trẻ Quốc gia: <http://m.tainangviet.vn/huong-dan-cach-giam-hom-cay-tra-hoa-vang-dar1283/>. Accessed: 2022-05-12.
- [61] Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa của catechin chiết xuất từ lá trà xanh.: <https://vjol.info.vn/index.php/tdm/article/view/53535/44248>. Accessed: 2022-08-13.
- [62] Lý Do Cần Phát Triển Kim Hoa Trà | [www.kimhoatra.com](http://www.kimhoatra.com): <http://www.kimhoatra.com/spage/25-ly-do-can-phat-trien-kim-hoa-tra.html>. Accessed: 2022-08-13.
- [63] Polyphenol trong trà xanh có thể ức chế SARS-CoV-2: (2022), <https://suckhoedoisong.vn/polyphenol-trong-tra-xanh-co-the-uc-che-su-xam-nhap-cua-sars-cov-2-169220221184424934.htm>. Accessed: 2022-08-13.
- [64] Polysaccharide là gì? Công dụng của Polysaccharide với sức khỏe: <https://dongtrunghathaohector.com/bai-viet/song-khoe/polysaccharide-la-gi-cong-dung-cua-polysaccharide-doi-voi-suc-khoe-tot-nhu-the-nao>. Accessed: 2022-08-13.
- [65] Tài liệu Quốc Tế nói về trà hoa vàng <https://trahoavangtamdao.vn/tai-lieu-quoc-te-noi-ve-tra-hoa-vang>.
- [66] Trà hoa vàng: [http://vienduoclieu.org.vn/tin-tuc/Tra\\_hoa\\_vang\\_8055](http://vienduoclieu.org.vn/tin-tuc/Tra_hoa_vang_8055). Accessed: 2022-05-09.
- [67] Vai trò của flavonoids trong việc ngăn ngừa ung thư như thế nào? (2018), <https://suckhoedoisong.vn/news-169133397.htm>. Accessed: 2022-08-15.
- [68] <https://trahoavangtamdao.vn/cay-tra-hoa-vang-sinh-truong-tot-nhat-trong-dieu-kien-nao>.
- [69] <https://www.gbif.org/species/101435144>.
- [70] <http://www.vjsonline.org/science-technology-pulse/1496063999>.