

BỘ TÀI NGUYÊN VÀ MÔI TRƯỜNG  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC TÀI NGUYÊN VÀ MÔI TRƯỜNG HÀ NỘI

## BÁO CÁO TỔNG HỢP

ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ  
CẤP CƠ SỞ HỖ TRỢ KINH PHÍ NĂM 2024

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ BƯỚC ĐẦU THỬ  
HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT TỪ PHÂN  
ĐOẠN ETYL ACETATE LOÀI TRẦU KHÔNG (*PIPER BETLE L.*)

Mã số: 13.01.24.H.01

Tổ chức chủ trì: Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội

Chủ nhiệm đề tài: Bùi Thị Nha Trang

Hà Nội - 2024

BỘ TÀI NGUYÊN VÀ MÔI TRƯỜNG  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC TÀI NGUYÊN VÀ MÔI TRƯỜNG HÀ NỘI

**BÁO CÁO TỔNG HỢP**  
**ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**  
**CẤP CƠ SỞ HỖ TRỢ KINH PHÍ NĂM 2024**  
**NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ BƯỚC ĐẦU THỬ**  
**HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA MỘT SỐ HỢP CHẤT TỪ PHÂN**  
**ĐOẠN ETYL ACETATE LOÀI TRÀU KHÔNG (*PIPER BETLE L.*)**

Mã số: 13.01.24.H.01

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI

Bùi Thị Nha Trang

TRƯỜNG ĐẠI HỌC  
TÀI NGUYÊN VÀ MÔI TRƯỜNG HÀ NỘI  
KT. HIỆU TRƯỞNG  
PHÓ HIỆU TRƯỞNG



Le Thị Trinh

Hà Nội - 2024

# THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

## 1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: Nghiên cứu thành phần hóa học và bước đầu thử hoạt tính sinh học của một số hợp chất từ phân đoạn etyl acetate loài trầu không (*Piper betle l.*)

- Mã số: **13.01.24.H.01**

- Chủ nhiệm đề tài: Bùi Thị Nha Trang

- Tổ chức chủ trì: Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội

- Thời gian thực hiện: năm 2024

## 2. Mục tiêu:

- Tách chiết một số chất từ loài trầu không bằng dung môi hữu cơ etyl acetate.

- Nghiên cứu thành phần hóa học của một số hợp chất phân lập được .

- Bước đầu thử hoạt tính sinh học của một số hợp chất phân lập được từ dịch chiết etyl acetate từ loài trầu không.

## 3. Tính mới và sáng tạo:

- Việc nghiên cứu phương pháp chiết tách các chất trong dung môi etyl acetate có ý nghĩa quan trọng trong khả năng tìm kiếm các chất có độ phân cực khác nhau có thể không phân tách được trong phương pháp trích ly tinh dầu và phân chiết trong nước.

- Đánh giá và đưa ra nhận xét về hoạt tính sinh học kháng viêm từ một số hợp chất phân lập được từ lá trầu không.

## 4. Kết quả nghiên cứu:

+ Đã tách chiết được 4 chất sạch từ dịch chiết etyl acetate của loài trầu không

+ Đã xác định được cấu trúc chính xác hóa học của 4 hợp chất từ dịch chiết etyl acetate của loài trầu không bằng các phương pháp phân tích hiện đại.

+ Bước đầu đã đánh giá hoạt tính sinh học kháng viêm của các hợp chất tinh chế được.

## 5. Sản phẩm:

- 01 Báo cáo tổng hợp kết quả nghiên cứu

- 01 Báo cáo tóm tắt kết quả nghiên cứu

- 01 công bố khoa học đăng trên tạp chí quốc tế có chỉ số ISSN phù hợp với lĩnh vực nghiên cứu của đề tài.

**6. Phương thức chuyển giao, địa chỉ ứng dụng, tác động và lợi ích mang lại của kết quả nghiên cứu:**

a. Phương thức chuyển giao, địa chỉ ứng dụng

- Kết quả của đề tài sẽ được chuyển giao toàn bộ cho bộ môn Hóa học thuộc khoa Khoa học đại cương, Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội để phục vụ cho việc đào tạo và các nhiệm vụ khác có liên quan.

- Sản phẩm của đề tài sẽ được chuyển toàn bộ cho Trung tâm Thư Viện và Công nghệ Thông Tin để lưu trữ và làm tài liệu tham khảo cho cán bộ giảng viên và sinh viên.

b. Tác động và lợi ích mang lại của kết quả nghiên cứu

- Nâng cao năng lực nghiên cứu của các giảng viên trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội trong quá trình tham gia thực hiện đề tài;

- Kết quả nghiên cứu của đề tài góp phần bổ sung vào cơ sở dữ liệu cho chuyên ngành hóa học các hợp chất thiên nhiên, đồng thời là tài liệu tham khảo giúp cho sinh viên, học viên cao học các ngành có liên quan đến Hóa học hữu cơ, Hóa học các hợp chất thiên nhiên và Hóa dược theo hướng ứng dụng.

## **INFORMATION ON RESEARCH RESULTS**

### **1. General information:**

- Project title: Research on the chemical composition and initial testing of biological activity of some compounds from the ethyl acetate fraction of the betel nut (*Piper betle l.*)
- Code number: **13.01.24.H.01**
- Coordinator: Bui Thi Nha Trang
- Implementing institution: Ha Noi University of Natural Resources and Environment
- Duration: 2024

### **2. Objective(s):**

- Extraction of some substances from betel species using the organic solvent ethyl acetate.
- Research the chemical composition of some isolated compounds.
- Initial testing of biological activity of some compounds isolated from ethyl acetate extract from betel species.

### **3. Creativeness and innovativeness:**

- Researching the extraction method of substances in ethyl acetate solvent is important in the ability to search for substances with different polarities that may not be able to be separated in the essential oil extraction method and the internal extract in water.
- Evaluate and comment on the anti-inflammatory biological activity of some compounds isolated from betel leaves..

### **4. Research results:**

- + Four substances have been extracted from the ethyl acetate extract of betel species.
- + The exact chemical structure of 4 compounds from the ethyl acetate extract of betel species has been determined using modern analytical methods.
- + Initially evaluated the anti-inflammatory biological activity of the purified compounds.

### **5. Products:**

- Synthesize report.

- Summarize report.
- Scientific article published in an international journal with an ISSN index appropriate to the research field of the project.

## **6. Transfer alternatives, application institutions, impacts and benefits of research results:**

### **a. Transfer alternatives, application institutions**

+ The research results will be fully transferred to the Chemistry Department of the Faculty of General Sciences, Hanoi University of Natural Resources and Environment to serve training and other related tasks.

+ All products of the project will be transferred to the Center for Library and Information Technology for storage and reference materials for lecturers and students.

### **b. Impacts and benefits of research results**

+ Improve the research capacity of lecturers at Hanoi University of Natural Resources and Environment during the process of participating in the project;

+ The research results of the project contribute to supplementing the database for the field of natural compounds chemistry, and are also a reference to help students and graduate students in related fields: organic chemistry, chemistry of natural compounds and applied medicinal chemistry.

## MỤC LỤC

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT.....	i
DANH MỤC CÁC BẢNG BIỂU .....	ii
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ .....	iii
MỞ ĐẦU .....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VỀ VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU .....	3
1.1. Tổng quan về cây Tràu không .....	3
1.1.1. Tên và họ loài Tràu không .....	3
1.1.2. Đặc điểm thực vật.....	3
1.1.3. Phân bố và sinh thái.....	4
1.1.4. Công dụng của cây Tràu không.....	4
1.2. Tổng quan tình hình nghiên cứu ngoài nước .....	5
1.3. Tổng quan tình hình nghiên cứu trong nước .....	6
1.4. Phân tích, đánh giá các công trình nghiên cứu trong và ngoài nước .....	7
CHƯƠNG 2. PHẠM VI, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	10
2.1. Phạm vi nghiên cứu của đề tài .....	10
2.2. Đối tượng nghiên cứu của đề tài .....	10
2.3. Phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng .....	10
2.3.1. Phương pháp phân tích, phân tách và phân lập các hợp chất .....	10
2.3.2. Phương pháp xác định cấu trúc hoá học các hợp chất.....	11
2.3.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng viêm .....	11
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ CỦA ĐỀ TÀI.....	14
3.1. Chiết xuất dịch chiết etyl acetate và phân lập các hợp chất từ dịch chiết etyl acetate của loài tràu không .....	14
3.1.1. Sơ đồ chiết xuất và phân lập các hợp chất từ dịch chiết etyl acetate của loài tràu không.....	14
3.1.2. Thông số vật lý của các hợp chất từ loài tràu không.....	17

<b>3.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ dịch chiết etyl acetate của loài trầu không.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2.1. Hợp chất 1.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2.2. Hợp chất 2.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.3. Hợp chất 3.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2.4. Hợp chất 4.....</b>	<b>26</b>
<b>3.3. Khảo sát hoạt tính kháng viêm của các hợp chất phân lập từ dịch chiết etyl acetate của loài trầu không. ....</b>	<b>28</b>
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>30</b>
<b>    Kết luận.....</b>	<b>30</b>
<b>    Kiến nghị.....</b>	<b>30</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	



## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

<b>Kí hiệu</b>	<b>Tiếng Anh</b>	<b>Diễn giải</b>
CRP	C-reactive protein	Protein phản ứng C
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's medium	Môi trường nuôi cấy tế bào
DMSO	Dimethyl sulfoxide	Dung môi để hòa tan các chất
FBS	Fetal Bovine Serum	Huyết thanh thai bò
HMBC	Heteronuclear multiple-bond correlation	Phổ tương tác 2 chiều dị hạt nhân
HPLC	High performance liquid chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao (sắc ký lỏng áp suất cao)
HSQC	Heteronuclear single quantum correlation	Phổ tương tác 2 chiều dị hạt nhân
IC <sub>50</sub>	Inhibitory concentration at 50%	Nồng độ ức chế 50% đối tượng thử nghiệm
iNOS	Inducible nitric oxide synthase	enzyme tổng hợp Nitric oxid
LPS	Lipopolysaccharide	lipoglycan hoặc nội độc tố
MIC	Minimum inhibitory concentration	Nồng độ ức chế tối thiểu
MPO	Myeloperoxidase	Enzym peroxid hóa tủy bào
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide	Phương pháp so màu (sau phản ứng khử hóa MTT bằng enzyme)
NMR	Nuclear magnetic resonance	Cộng hưởng từ hạt nhân
NO	nitric oxid	Nitro oxid
PG	Prostaglandin	Axit béo trung gian cho quá trình viêm
v/v	Volume/volume	Tỉ lệ tính theo thể tích

## DANH MỤC CÁC BẢNG BIỂU

<i>Bảng 1.1. Thành phần hóa học chính của loài trầu không.....</i>	<i>8</i>
<i>Bảng 3.1. Dữ liệu phổ <math>^1\text{H-NMR}</math> và <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất 1 và 2.....</i>	<i>19</i>
<i>Bảng 3.2. Dữ liệu phổ <math>^1\text{H-NMR}</math> và <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất 3 và 4.....</i>	<i>25</i>
<i>Bảng 3.3. Kết quả thử hoạt tính kháng viêm của các hợp chất.....</i>	<i>28</i>

## DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

<i>Hình 1.1. Cây Trầu không (Piper betle L.)</i> .....	3
<i>Hình 3.1. Sơ đồ chiết xuất và phân lập các hợp chất từ trầu không</i> .....	16
<i>Hình 3.2. Phổ <math>^1\text{H-NMR}</math> của hợp chất 1</i> .....	18
<i>Hình 3.3. Phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất 1</i> .....	18
<i>Hình 3.4. Phổ hai chiều HMBC của hợp chất 1</i> .....	20
<i>Hình 3.5. Phổ hai chiều HSQC của hợp chất 1</i> .....	21
<i>Hình 3.6. Cấu trúc hóa học của hợp chất 1</i> .....	22
<i>Hình 3.7. Phổ <math>^1\text{H-NMR}</math> của hợp chất 2</i> .....	22
<i>Hình 3.8. Phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất 2</i> .....	23
<i>Hình 3.9. Cấu trúc hóa học của hợp chất 2</i> .....	24
<i>Hình 3.10. Phổ <math>^1\text{H-NMR}</math> của hợp chất 3</i> .....	24
<i>Hình 3.11. Phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất 3</i> .....	25
<i>Hình 3.12. Cấu trúc hóa học của hợp chất 3</i> .....	26
<i>Hình 3.13. Phổ <math>^1\text{H-NMR}</math> của hợp chất 4</i> .....	26
<i>Hình 3.14. Phổ <math>^{13}\text{C-NMR}</math> của hợp chất 4</i> .....	27
<i>Hình 3.15. Cấu trúc hóa học của hợp chất 4</i> .....	27

## MỞ ĐẦU

Việt Nam là một trong những quốc gia có nền khí hậu nhiệt đới cận xích đạo, có thảm thực vật phong phú được đánh giá là 1 trong 25 điểm nóng về đa dạng sinh học toàn cầu. Đa dạng sinh học ở Việt Nam đứng thứ 16 trên thế giới với trên 36.000 loài thực vật, động vật, vi tảo, vi sinh vật biển trong đó có nhiều loài đặc hữu quý hiếm. Nền y dược học cổ truyền, dược liệu được hình thành và phát triển cho tới ngày nay, đã ghi nhận tri thức sử dụng 5.117 loài thuộc 1.823 chi của 362 họ thực vật có giá trị làm thuốc chữa bệnh và chăm sóc, bảo vệ sức khỏe nhân dân trong số 13.766 loài thực vật được ghi nhận ở Việt Nam. Bên cạnh những loài cây dược liệu quý, hiếm đặc hữu vừa có công dụng chữa bệnh vừa có giá trị kinh tế cao, các loại thực vật phổ biến cũng có nhiều giá trị quý báu được ứng dụng trong các bài thuốc đông y cổ truyền tuệf nhiều năm nay như tía tô, đinh lăng, ngải cứu, trầu không ...

Trầu không (*Piper betle* L.) là một loài cây leo rễ lâu năm thuộc họ hồ tiêu, đây là loài cây quen thuộc trong đời sống của người dân châu Á nói chung và tất cả các vùng miền của Việt Nam nói riêng. Trầu không đã được ứng dụng trong nhiều bài thuốc cổ truyền... Ngoài việc dùng lá trầu nhai với cau và vôi để ăn trầu và bảo vệ răng miệng, dân gian còn dùng nước lá trầu để sát trùng, chống lở loét, chống viêm nhiễm...[2]. Hiện nay việc nghiên cứu về thành phần hóa học của trầu không bắt đầu được chú trọng trong các công trình nghiên cứu trong và ngoài nước nhằm tìm ra thành phần hóa học cũng như hoạt tính sinh học thú vị của những thành phần này, với mục đích ứng dụng vào công nghệ y dược sản xuất các dược phẩm, bán dược phẩm có nguồn gốc từ thiên nhiên. Những nghiên cứu này cũng là cơ sở để giải thích nguyên lý của các bài thuốc dân gian được lưu truyền hàng trăm năm nay. Hiện nay có nhiều công trình công bố nghiên cứu thành phần hóa học của loài trầu không chiết xuất từ dung môi phân cực như nước, etanol... tuy

nhiên chưa có nhiều khảo sát về thành phần của lớp chất có thể xuất hiện trong các dung môi ít phân cực hơn. Xuất phát từ thực trạng đó việc nghiên cứu, khảo sát để lựa chọn điều kiện chiết xuất các hợp chất trong trà không bằng một dung môi chưa được công bố khảo sát là etyl acetate có ý nghĩa không chỉ trong việc đóng góp hiểu biết của cá nhân vào bức tranh nghiên cứu các hợp chất dược liệu tự nhiên nói riêng mà còn giúp ích cho công tác giảng dạy và học tập của giảng viên, học viên và sinh viên của trường ở các học phần liên quan.

Với các vấn đề đã đề cập ở trên, tôi lựa chọn thực hiện đề tài: “ *Nghiên cứu thành phần hóa học và bước đầu thử hoạt tính sinh học của một số hợp chất từ phân đoạn etyl acetate loài trà không (Piper betle l.)*” với các mục tiêu đặt ra như trên.

#### **Mục tiêu nghiên cứu:**

- + Tách chiết một số chất từ loài trà không bằng dung môi hữu cơ etyl acetate
- + Nghiên cứu cấu trúc hóa học của một số hợp chất phân lập được
- + Đánh giá hoạt tính sinh học kháng viêm của một số hợp chất phân lập từ loài trà không.

#### **Nội dung nghiên cứu:**

- Nghiên cứu tổng quan về các vấn đề liên quan đến đề tài nghiên cứu
- Chiết tách dịch chiết trong etyl acetate của loài trà không
- Phân lập và xác định thành phần hóa học của các hợp chất có trong dịch chiết
- Khảo sát hoạt tính kháng viêm của các hợp chất phân lập được và rút ra khuyến nghị ứng dụng phù hợp.
- Xử lý số liệu, viết công bố trên tạp chí và viết báo cáo tổng kết

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VỀ VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

### 1.1. Tổng quan về cây Trầu không

#### 1.1.1. Tên và họ loài Trầu không

Trầu không có tên khoa học là *Piper betle* L. là một loài cây leo rễ lâu năm thuộc họ hồ tiêu (*Piperaceae*). Tên gọi khác: Trầu cay, Trầu lương, Thổ lâu đấng. Tên gọi nước ngoài: Betel pepper, betel-leaf, vine pepper, poivrier bétel, chavique bétel (Pháp) [1].



**Hình 1.1. Cây Trầu không (*Piper betle* L.)**

#### 1.1.2. Đặc điểm thực vật

Trầu không là loại cây thân thảo, mọc leo, vì vậy muốn trồng cần phải có giá thể. Loại giá thể này phổ biến là cây cau. Lá trầu không mọc so le nhau, cuống lá có bẹ, phiến hình trái xoan có kích thước dài khoảng 10 – 13cm, chiều rộng là 6-9cm. Cuống lá hình trái tim, đầu lá nhọn. Nhìn lên mặt lá có 5 gân, khi đem soi dưới ánh sáng sẽ thấy những điểm chứa tinh dầu nhỏ trên lá. Cụm hoa mọc buông thõng ở kẽ lá thành bông ngắn. Lá bắc tròn hoặc hình trái xoan, hoa đực dài có cuống, có lông, hoa cái dài khoảng 5cm, cuống phủ lông dày, bầu có lông ở đỉnh, quả mọng, tròn và có lông ở đỉnh. Toàn cây có tinh dầu thơm, cay. Mùa hoa quả từ tháng 5 đến tháng 8 [1].

### ***1.1.3. Phân bố và sinh thái***

Trầu không được trồng phổ biến khắp các nước nhiệt đới ở vùng Nam Á và Đông Nam Á như Ấn Độ, Srilanca, Malaysia, Việt Nam, Trung Quốc, Thái Lan,... Trầu không thuộc loại cây ưa ẩm, ưa sáng và có thể hơi chịu bóng. Sinh trưởng mạnh trong mùa mưa ẩm, nhiệt độ trung bình từ 22 đến 26°C. Trầu không thích nghi với các loại đất giàu chất hữu cơ, có thành phần đất sét cao, với pH từ 6-7 [1].

### ***1.1.4. Công dụng của cây Trầu không***

Trầu không được dùng chữa hàn thấp, nhức mỏi, đau bụng đầy hơi, vết thương nhiễm trùng có mủ sưng đau. Trầu không có tác dụng giảm hen suyễn khi thời tiết thay đổi, giảm các triệu chứng đờm đặc gây khó thở; cảm mạo, viêm quanh răng, viêm tai, viêm họng hoặc các bệnh ngoài da như bỏng, mụn nhọt, hắc lào, mào đay, ghẻ ngứa, sần kiến đốt... Trầu không có thể dùng dạng thuốc sắc, dùng ngoài da như đắp lá tươi giã nát hoặc ngâm lá với nước để rửa vết thương.

Ở Ấn Độ, lá và tinh dầu trầu không được dùng điều trị các bệnh phổi, làm thuốc đắp vết thương, thuốc súc miệng hoặc thuốc ngủ trong bệnh bạch hầu. Lá trầu không có trong thành phần chế phẩm thuốc cổ truyền Ấn Độ phối hợp với một số dược liệu khác trị hen phế quản [17].

Trầu không được trồng để lấy lá nhai cùng với vôi, cau và thuốc trong tập tục ăn trầu của nhiều quốc gia châu Á như Trung Quốc, Ấn Độ, Việt Nam..., Lá trầu còn có tác dụng làm tiết mật, vú ngưng tiết sữa, hoặc hơi gây buồn ngủ. Ở Iran, lá trầu không được ghi nhận có tác dụng làm tăng trí nhớ, chống nhiều vi khuẩn. Trong lá trầu không chứa hàm lượng lớn vitamin và khoáng chất cần thiết cho răng miệng như canxi, caroten, thiamin,... hơn thế nữa, các nhóm chất chavibetol, chavicol, eugenol,... trong lá trầu trong có tác dụng diệt khuẩn hiệu quả [5].

Lá là bộ phận thực vật có giá trị cao nhất và được sử dụng như một vị thuốc dân gian vì những dược tính của chúng. Trước đây lá trầu thường được nhai để ngăn ngừa chứng hôi miệng. Lá cũng có tác dụng làm cứng nướu, bảo vệ răng và ngăn ngừa chứng khó tiêu, viêm phế quản, táo bón, tắc nghẽn, ho và hen suyễn [5]. Lá trầu còn có tác dụng kích thích chính đến chức năng

lipase của tuyến tụy, thúc đẩy tiêu hóa, giúp ngăn ngừa bệnh phổi và giúp điều trị nhiều loại bệnh bao gồm nhọt, áp xe, viêm kết mạc và táo bón [5]. Các nghiên cứu khác cũng đã báo cáo rằng chiết xuất trà không có tiềm năng trong việc chữa lành vết thương và điều trị chống lão hóa [15,17,18].

## 1.2. Tổng quan tình hình nghiên cứu ngoài nước

Mohottalage và cộng sự (2007) khi nghiên cứu tinh dầu chiết xuất từ lá loài trà không tại Sri Lanka bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước, phân tích thành phần hóa học bằng GC – MS cho thấy có chứa safrole (52,7%), allylpyrocatechol diacetate (15,4%), eugenol (6,4%) và eugenyl acetate (5,8%) là các thành phần chính. Hoạt tính diệt côn trùng (ruồi nhà *Musca domestica*) cũng được nghiên cứu cho thấy khả năng tiêu diệt côn trùng của tinh dầu trà không [19].

Sugumaran và cộng sự (2011) khi nghiên cứu tinh dầu từ lá trà không chiết xuất trên thiết bị Clevenger cho thấy có khoảng 35 hợp chất, trong đó thành phần hóa học chính bao gồm 5- (2-propenyl) - 1,3-benzodioxole (25,67%), eugenol (18,27%) và 2-metoxy-4- (2-propenyl) acetate-phenol (8,00%), có khả năng kháng khuẩn tốt chống lại các vi khuẩn gây bệnh răng miệng như: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Candida albicans* và *Saccharomyces cerevisiae* [22].

Các tác giả Proshanta Guha và Sujosh Nandi (2019), D.Gupta (2023) khi nghiên cứu về tinh dầu chiết xuất từ lá trà không cho thấy: Hàm lượng tinh dầu trong lá trà không dao động từ 0,09% đến 1,0% tùy thuộc vào giống, phương pháp chiết xuất, phương pháp sơ chế, điều kiện môi trường,... Có tới 30-60 hợp chất được tìm thấy trong tinh dầu lá trà không bao gồm eugenol, isoeugenol, methyl eugenol, safrole, chavicol, hydroxychavicol, chavibetol, anethole, estragole, germacrene-D,... Nó có đặc tính chống oxy hóa và kháng khuẩn tốt ở nồng độ rất thấp (> 0,20 µl / ml), và các vi sinh vật nhạy cảm bao gồm vi khuẩn gram (+) và vi khuẩn gram (-), nấm chằng hạn như các loại: *Aspergillus*, *Candida*, *Escherichia*, *Penicillium*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Vibrio*,... Nó còn được sử dụng như một chất bảo quản thực phẩm và chất tăng cường cảm quan (mùi, vị). Chính vì vậy nó được dùng trong một số sản phẩm với tỷ lệ từ 0,005-0,5% như bánh cupcake,



sô cô la, bánh quy, kẹo ngậm,... Tinh dầu từ loài trầu không hứa hẹn có tiềm năng trong tương lai trong lĩnh vực công nghiệp thực phẩm [11, 12].

Gần đây, tác giả Lê Thị Thu Hằng và nhóm cộng sự tại đại học Seoul Hàn Quốc (2023) đã báo cáo về 4 dẫn xuất N-phenethylbenzamide mới, được đặt tên là piperbetamides A-D (1-4), và sáu dẫn xuất allylbenzene (5-10) đã được phân lập từ thân cây *Piper betle L.* Các hợp chất piperbetamides A, C, D thể hiện hoạt tính kháng khuẩn tiềm tàng đối với *S. flexneri*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* kháng methicillin và *E. faecalis* kháng vancomycin với giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) trong khoảng 16-32  $\mu\text{g/mL}$  [14].

Như vậy, các nghiên cứu trên thế giới đều chỉ ra tinh dầu và các hợp chất chiết xuất từ trầu không có giá trị trong nhiều lĩnh vực bao gồm cả công nghệ dược phẩm, thực phẩm,... và có tác dụng kháng nhiều loại vi khuẩn.

### 1.3. Tổng quan tình hình nghiên cứu trong nước

Tác giả Phạm Thế Chính và cộng sự (2010) đã tách thành công tinh dầu lá trầu (*Piper betle L.*) trồng tại tỉnh Hải Dương bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước với hiệu suất đạt 1,01%. Tinh dầu lá trầu tách được có tỉ trọng  $d_{425} = 0,963$  và chiết suất lớn  $n_{D25} = 1,5362$ . Thành phần hóa học chính của tinh dầu lá trầu là eugenol, với hàm lượng lên tới 77,24% [2].

Nguyễn Thiện Chí và cộng sự (2016) đã khảo sát về thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu lá trầu không thu hái tại tỉnh Hậu Giang. Tinh dầu lá trầu không được trích ly bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước đạt hiệu suất 0,63%. Thành phần hóa học chính trong tinh dầu trầu không là hợp chất 4-Allyl-1,2-diacetoxybenzene với hàm lượng 34,55%. Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật cho thấy tinh dầu trầu không có khả năng ức chế sự tăng trưởng của 3 chủng vi sinh vật *B. subtilis*, *F. oxysporum* và *A. niger* với giá trị MIC lần lượt là 100, 200 và 200  $\mu\text{g/mL}$  [3].

Chế Thị Cẩm Hà và cộng sự (2021) đã tách chiết và thử nghiệm hoạt tính của dịch chiết lá trầu không thu hái tại thành phố Huế, tỉnh Thừa Thiên Huế. Kết quả cho thấy dịch chiết lá trầu không chứa 16 hợp chất khác nhau (kết quả GC-MS), trong đó các thành phần như eugenol, phytol đã được chứng minh là có khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng tế bào nấm và chống ung thư. Trong nghiên cứu cũng cho thấy dịch chiết lá trầu không ở

nồng độ 0.025  $\mu\text{L}/\text{mL}$  kích thích tăng sinh nguyên bào sợi, do đó thúc đẩy quá trình chữa lành vết thương [13].

Năm 2020, tác giả Bùi Thị Thu Trang tiến hành nghiên cứu phân đoạn nước của loài trầu không, theo đó tác giả đã được phân lập ba hợp chất gồm thymidine, adenosine và 1,2-di-O- $\beta$ -glucopyranosyl-4-allylbenzene. Theo đó đây là lần đầu tiên có tác giả công bố phân lập được hợp chất 1,2-di-O- $\beta$ -glucopyranosyl-4-allylbenzene từ loài trầu không [23].

Hoàng Thùy Dương và cộng sự (2022) nghiên cứu đánh giá hoạt tính sinh học của cao chiết lá trầu không thu nhận bằng phương pháp chiết siêu âm. Kết quả cho thấy hàm lượng các hợp chất khung phenolic và flavonoid là hai thành phần chính của cao chiết. Khả năng ức chế 50% gốc tự do ( $\text{IC}_{50}$ ) ghi nhận ở nồng độ 47,18  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Nồng độ diệt nấm và vi khuẩn tối thiểu của cao chiết từ ethanol 96% trên *C. albicans*, *S. mutans*, *S. pyogenes*, *C. diphtheriae* có giá trị lần lượt là 1000, 500, 500 và 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Các kết quả cho thấy, cao chiết lá trầu không trong ethanol 96% với sự hỗ trợ của sóng siêu âm có tiềm năng ứng dụng trong dược phẩm, mỹ phẩm [4].

#### **1.4. Phân tích, đánh giá các công trình nghiên cứu trong nước và ngoài nước**

Từ những công trình nghiên cứu đã được công bố trong và ngoài nước, tác giả nhận thấy rằng thành phần chính của loài trầu không là các phytol, polyphenol, alkaloid.... Các hợp chất phân lập được cũng như các cặn chiết của loài này cũng được đánh giá hoạt tính như: kháng khuẩn, chống viêm, chống oxy hóa và chống ung thư [19, 20, 21] và đã được chứng minh là có tác dụng tích cực trong điều trị nhiều loại bệnh như bệnh tiểu đường, viêm kết mạc, viêm vú, bỏng, vết loét... trong các bài thuốc dân gian.

Trên thực tế việc phân lập các hợp chất dựa trên khả năng hòa tan và phân bố của các chất tan trong các dung môi khác nhau. Độ phân cực của các dung môi quyết định thành phần lớp chất mà chúng ta có thể phân lập được. Tác giả Suryasnata Das đã nghiên cứu về ảnh hưởng của các kỹ thuật chiết xuất sử dụng aceton và nước làm dung môi cho kết quả tổng hàm lượng phenolic và flavonoid khác nhau, hàm lượng eugenol và eugenol acetate khác nhau [9]. Từ nghiên cứu trên ta có thể thấy rằng phương thức chiết xuất đóng

một vai trò quan trọng đối với số lượng, loại hợp chất thu được cũng như hoạt tính sinh học của cao chiết. Tuy nhiên hầu hết các công trình nghiên cứu thường tập trung vào phần dịch chiết trong các dung môi phân cực như dung môi nước, dung môi ethanol, methanol ... hoặc tinh dầu tổng theo phương pháp chưng cất hơi nước trích ly. Trong số hơn 20 tài liệu mà tác giả đã tham khảo có 12 tài liệu các tác giả tiến hành nghiên cứu trong các dung môi phân cực nói trên, các tài liệu còn lại thường nghiên cứu dịch chiết tổng mà không đánh giá hoạt tính của từng thành phần riêng biệt trong dịch chiết. Các tài liệu công bố cũng khẳng định có khoảng trên 40 hợp chất được tìm ra trong thành phần của loài trà không, trong đó có một số thành phần chính thường được tìm ra như các alkaloids, phenolics, glycosides, tuy nhiên hàm lượng của các thành phần này cũng có sự khác biệt với từng mẫu trà không tại các vùng thổ nhưỡng khác nhau [2,3,13].

**Bảng 1.1. Thành phần hóa học chính của loài trà không**

STT	Hợp chất	TLTK
1	1,2-di-O- $\beta$ -glucopyranosyl-4-allylbenzene	[23]
2	2-metoxy-4- (2-propenyl)	[22]
3	4-Allyl-1,2-diacetoxybenzene	[3]
4	5- (2-propenyl) -1,3-benzodioxole	[22]
5	allylbenzene	[14]
6	allylpyrocatechol diacetate	[19]
7	anethole	[11]
8	acetate-phenol	[22]
9	chavibetol	[11]
10	chavicol	[11]
11	estragole	[11]
12	eugenol	[2], [11], [13], [19] [22]
13	eugenyl acetate	[2], [11]
14	germecrene-D	[11]

15	hydroxychavicol	[11], [18]
16	isoeugenol	[11], [13]
17	metyl eugenol	[2], [11]
18	safrole	[11], [19]

Như vậy, các nghiên cứu trên thế giới và trong nước tập trung vào phân tách tinh dầu và dịch chiết trong nước từ lá của *Piper betle* L. đều chỉ ra loài trầu không có giá trị trong nhiều lĩnh vực bao gồm cả công nghệ dược phẩm, thực phẩm,... và có tác dụng kháng nhiều loại vi khuẩn khác nhau. Tuy nhiên, trong các công bố trước đó các tác giả chưa đi vào các phương pháp chiết với các dung môi ít phân cực hơn và do đó chưa bao quát hết thành phần hóa học của các chất trong loài trầu không, vì thế tác giả đề tài chọn hướng  **nghiên cứu thành phần hóa học từ phân đoạn chiết etyl acetate của loài trầu không, qua đó đánh giá hoạt tính sinh học của chúng** để có được cái nhìn đầy đủ hơn về thành phần hóa học của loài, qua đó góp một phần phát triển việc nghiên cứu và ứng dụng loài này trong y-dược học hiện đại. Việc tiến hành đánh giá hoạt tính sinh học kháng viêm của các hợp chất, nhằm tìm ra câu trả lời cho những ứng dụng trong đông y và các bài thuốc cổ truyền có sử dụng trầu không qua hàng trăm năm qua không chỉ tại Việt Nam còn trên thế giới. Đây cũng là hướng đi mới của đề tài trong đối tượng nghiên cứu phổ biến và rất quen thuộc trong đời sống của người dân châu Á.

## **CHƯƠNG 2. PHẠM VI, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Phạm vi nghiên cứu của đề tài**

- Nghiên cứu điều kiện phân lập các hợp chất sạch từ dịch chiết etyl acetate của loài trâu không.

- Nghiên cứu xác định cấu trúc hóa học của các hợp chất sạch được phân lập.

- Đánh giá hoạt tính kháng viêm của các hợp chất sạch được phân lập từ dịch chiết etyl acetate loài trâu không.

### **2.2. Đối tượng nghiên cứu của đề tài**

Mẫu trâu không được thu hái tại vùng trồng trâu thuộc trung tâm công nghệ cao, viện Hàn Lâm và khoa học Việt Nam tại Việt Trì, Phú Thọ và các chất sạch được phân lập từ dịch chiết etyl acetate loài trâu không.

### **2.3. Phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng**

#### ***2.3.1. Phương pháp phân tích, phân tách và phân lập các hợp chất***

Để phân tích và phân tách các phần chiết cũng như phân lập các hợp chất, các phương pháp sắc ký đã được sử dụng như: sắc ký lớp mỏng (TLC, dùng để khảo sát), sắc ký cột thường (CC), sắc ký cột pha đảo.

Sắc ký bao gồm có pha tĩnh và pha động. Trên thế giới hiện nay phổ biến là sử dụng pha tĩnh là pha rắn (bao gồm các chất hấp phụ như silica gel, YMC, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ..), còn pha động là các dung môi hữu cơ có độ phân cực khác nhau, tùy thuộc vào sự hòa tan của chất vào dung môi. Nguyên tắc căn bản được sử dụng ở đây là dựa vào sự khác nhau về ái lực giữa các chất cần tách với chất hấp phụ.

- Sắc ký lớp mỏng (TLC): được thực hiện trên bản mỏng tráng sẵn DC-Alufoalien 60 F254 (Merck 1,05715), RP18 F254 (Merck). Phát hiện chất bằng đèn tử ngoại ở hai bước sóng 254 nm và 365 nm hoặc dùng thuốc thử là dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% được phun đều lên bản mỏng, sấy khô rồi hơi nóng từ từ trên bếp điện đến khi hiện màu.

- Sắc ký cột (CC): được tiến hành với chất hấp phụ là silica gel pha thường và chất hấp phụ pha đảo. Silica gel pha thường có cỡ hạt là 0.040-0.063 mm. Chất hấp phụ pha đảo là octadecylsilyl (ODS) hoặc YMC (30-50 μm), nhựa trao đổi ion Diaion HP-20.

• Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) bán điều chế: được thực hiện trên hệ thống HPLC Agilent 1260 infinity II bao gồm bơm dung môi hai kênh, bộ lấy mẫu tự động, detector DAD, bộ hứng phân đoạn, cột điều chế J'sphere ODS H-80 (20×250 mm, 4µm). Tốc độ dòng sử dụng là 3 mL/ phút. Quá trình tinh chế các hợp chất được theo dõi ở bước sóng 205 và 254 nm.

### **2.3.2. Phương pháp xác định cấu trúc hoá học các hợp chất**

Cấu trúc hóa học của các hợp chất được xác định dựa trên kết hợp phân tích các thông số lý-hóa của hợp chất đó bao gồm độ quay cực, phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HMBC, HSQC,...và so sánh với các số liệu phổ đã công bố trước đây. Trong một số trường hợp, cấu trúc hóa học của các hợp chất còn được xác định bằng các chuyển hóa hóa học như thủy phân, ester hóa...

• Phổ cộng hưởng từ hạt nhân đo trên máy: Bruker Avance 500 MHz và Bruker 600 MHz (chất chuẩn nội là TMS), tại Viện Hoá học, Viện Hàn lâm KHCN Việt Nam. Các kỹ thuật đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân được sử dụng bao gồm:

- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân một chiều:  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR
- Phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều: HMBC, HMQC.

### **2.3.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng viêm**

Trong tế bào của loài động vật có vú, nitric oxit (NO) được tạo ra với số lượng lớn bởi enzyme tổng hợp nitric oxit (iNOS). NO chịu trách nhiệm với sự giãn mạch máu và tăng huyết áp-biểu hiện trong sốc nhiễm khuẩn và quá trình viêm [6,20,21]. Nitric oxit (NO) là một phân tử tín hiệu đóng một vai trò quan trọng trong quá trình sinh bệnh của viêm. Quá trình sản sinh NO là một trong các phản ứng tự bảo vệ của cơ thể tuy nhiên sự sản sinh quá mức lượng NO lại là nguyên nhân dẫn đến sự tổn thương của các tế bào và mô, thúc đẩy quá trình viêm và gây ra các bệnh viêm cấp và mãn tính. Do vậy mức độ sản sinh NO có thể phản ánh mức độ gây viêm và được coi là một trong những yếu tố chỉ thị cho quá trình viêm xảy ra. NO còn tham gia vào quá trình sinh bệnh viêm khớp, viêm ruột và viêm phổi. Do đó, ức chế NO là sự tiên bộ quan trọng trong việc điều trị các bệnh viêm. Các hợp chất ức chế sự sản sinh NO có thể được coi là các tác nhân chống viêm.

Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* thông qua ức chế sản sinh NO trong tế bào RAW 264.7 gồm 4 bước:

**Bước 1 :** Chuẩn bị vật liệu

- Lipopolysaccharides (LPS)
- Các hóa chất cần thiết khác
- Dòng tế bào: RAW 264.7 do GS.TS. Domenico Delfino, Đại học Perugia, Italia cung cấp.

**Bước 2:** Nuôi cấy tế bào *in vitro*

- Dòng tế bào RAW264.7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM với thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES, và 1,0 mM sodium pyruvate, ngoài ra bổ sung 10% fetal bovine serum – FBS (GIBCO).
- Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày với tỉ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ấm CO<sub>2</sub> ở điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.

**Bước 3:** xác định khả năng ức chế sản sinh NO của tế bào macrophage RAW 264.7

- Tế bào RAW 264.7 được đưa vào đĩa 96 giếng ở nồng độ  $2 \times 10^5$  tb/giếng và nuôi trong tủ ấm ở 37°C, 5% CO<sub>2</sub> trong 24h.
- Tiếp theo, môi trường nuôi cấy được loại bỏ, thay bằng môi trường DMEM không có FBS trong 3h.
- Tế bào sau đó được ủ mẫu nghiên cứu ở các nồng độ khác nhau trong 2h trước khi được kích thích sản sinh yếu tố NO bằng LPS (10 µg/mL) trong 24h.

Một số giếng không được ủ mẫu mà chỉ sử dụng dung dịch pha mẫu được coi là đối chứng âm. Trong khi đối chứng dương được sử dụng là Dexamethasone ở các nồng độ 100; 20; 4 và 0.2 µM.

Nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), được xem là chỉ thị cho việc tạo NO, sẽ được xác định nhờ bộ Griess Reagent System (Promega Cooperation, WI, USA). Hàm lượng nitrite của từng mẫu thí nghiệm và mẫu trắng được xác định nhờ vào đường cong hàm lượng chuẩn NaNO<sub>2</sub> và được so sánh % với mẫu chứng âm (LPS).

- Khả năng sống của tế bào được xác định bằng cách thêm 10 µL dung dịch MTT (5 mg/mL) và ủ trong 4 giờ. Tinh thể Formazan được hòa tan trong 50 µL DMSO. Độ hấp thụ được đọc ở 540 nm và so sánh với nhóm chất mang.

**Bước 4:** Xử lý số liệu.

Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác.

Phần trăm tế bào sống sót sẽ được tính theo công thức:

$$\% \text{ sống sót} = \frac{[\text{OD}(\text{chất thử}) - \text{OD}(\text{đối chứng trắng})]}{[\text{OD}(\text{DMSO}) - \text{OD}(\text{đối chứng trắng})]} \times 100\%$$

Khả năng ức chế sản sinh NO tương ứng của mẫu xác định nhờ công thức :

$$\% \text{ ức chế} = 100\% - \left[ \frac{\text{hàm lượng NO}_{\text{mẫu thử}}}{\text{hàm lượng NO}_{(LPS)}} \right] \cdot 100$$

Giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ ức chế 50% sự hình thành NO) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4



### CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ CỦA ĐỀ TÀI

#### 3.1. Chiết xuất dịch chiết etyl acetate và phân lập các hợp chất từ dịch chiết etyl acetate của loài trầu không

##### 3.1.1. Sơ đồ chiết xuất và phân lập các hợp chất từ dịch chiết etyl acetate của loài trầu không

Để định hướng cho việc phân lập các hợp chất, một lượng nhỏ mẫu cành lá loài Trầu không (*Piper betle L.*) được thái nhỏ, sấy khô ở nhiệt độ 40-45°C. Các mẫu đã được nghiền nhỏ, ngâm chiết methanol có sự hỗ trợ của thiết bị chiết siêu âm. Dịch chiết methanol tiếp tục được chiết phân bố trong dichloromethane và etyl acetate. Các cặn chiết thu được được thử sàng lọc hoạt tính kháng viêm. Kết quả cho thấy, các phân đoạn của loài Trầu không (*Piper betle L.*) đều thể hiện hoạt tính kháng viêm. Do đó, hướng phân lập các chất và đánh giá hoạt tính sinh học kháng viêm từ dịch chiết etyl acetate của loài Trầu không (*Piper betle L.*) là hướng nghiên cứu có triển vọng.

Các mẫu trầu không khô và dạng bột (2,0 kg) được chiết xuất siêu âm bằng methanol ba lần (mỗi lần sử dụng 3 L methanol, chiết xuất trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng). Các dung dịch methanol được lọc và cô trong chân không để thu được chiết xuất thô, dạng rắn, tối màu (118 g). Chiết xuất thô này sau đó được trộn đều với 1,5 L nước cất và sau đó lần lượt tách bằng n-hexan và etyl acetate. Phần hòa tan trong etyl acetate (31 g) được đưa vào sắc ký cột silica gel và sau đó rửa giải bằng hệ dung môi gradient dichloromethane/methanol (0-100% thể tích metanol) để thu được tám phân, kí hiệu lần lượt là EA1–EA8. Dựa trên sắc ký bản mỏng và khối lượng cặn chiết, phân đoạn EA3 và EA5 được lựa chọn để phân lập các hợp chất. Sơ đồ chiết xuất và phân lập các hợp chất theo từng phân đoạn con được thể hiện ở hình 3.1.

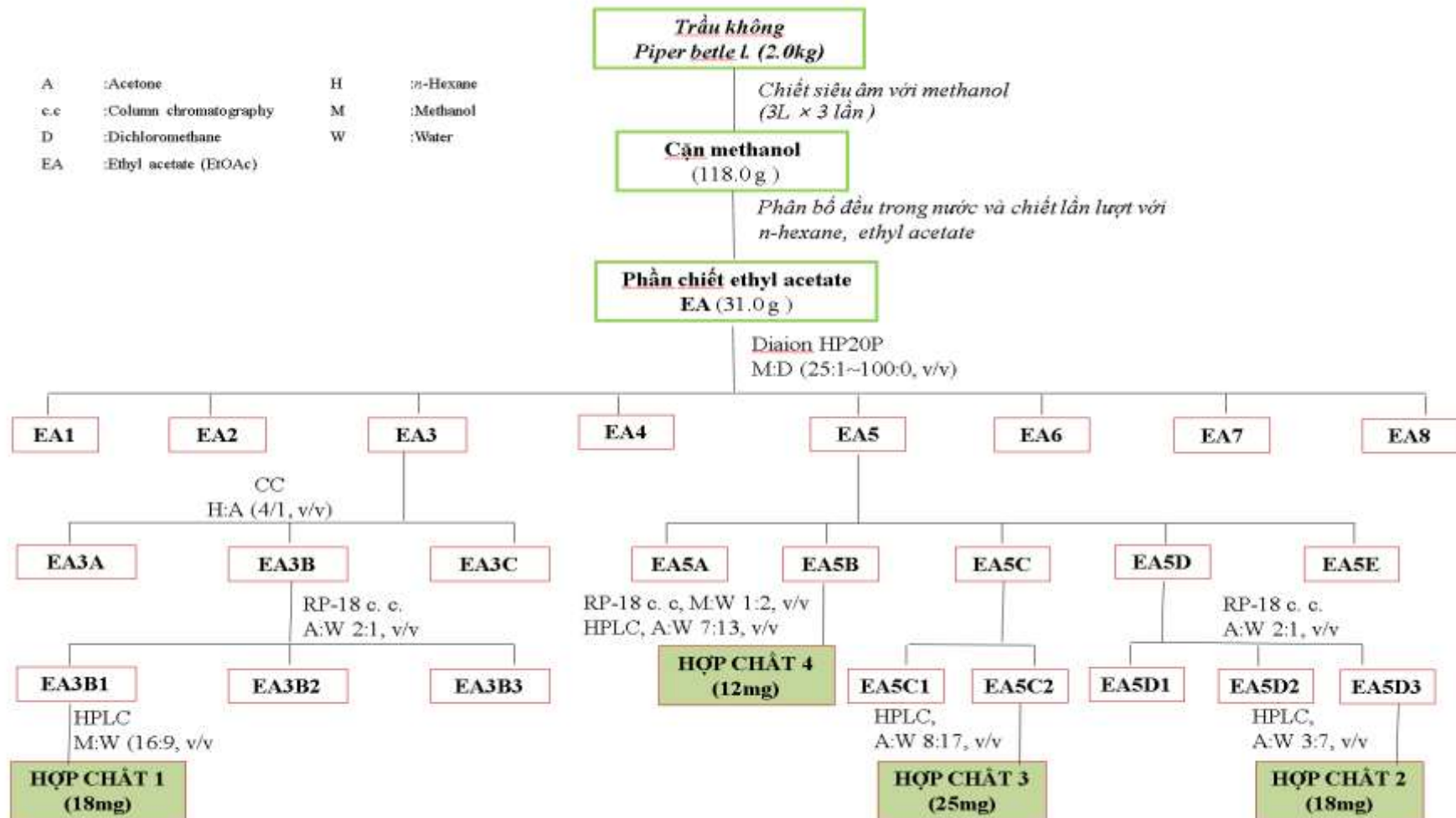
Phân đoạn EA3 được sắc ký nhiều lần trên cột silica gel, rửa giải bằng n-hexan/acetone (4/1, v/v) để thu được ba phân đoạn, EA3A–EA3C. Phân đoạn EA3B được phân đoạn tiếp theo trên sắc ký cột pha đảo RP18, rửa giải bằng acetone/nước (2/1, v/v) để thu được hai phân đoạn con, EA3B1 và EA3B2. Phân đoạn con EA3B1 được tinh chế bằng HPLC bán điều chế sử dụng methanol/nước (thể tích methanol 64%) để thu được hợp chất **1** (18 mg).

Phân đoạn EA5 được tiến hành trên sắc ký cột silica gel và rửa giải bằng dichloromethane/methanol/nước (7/1/0,1, v/v/v) để thu được năm phân đoạn, EA5A–EA5E.

- Phân đoạn EA5B đầu tiên được sắc ký trên cột RP18, rửa giải bằng methanol/nước (1/2, v/v) và sau đó được tinh chế thêm bằng HPLC bán điều chế sử dụng hệ dung môi acetonitrile/nước (35% acetonitrile theo thể tích) để thu được hợp chất **4** (12 mg).

- Phân đoạn EA5C được tách trên cột silica gel, rửa giải bằng dichloromethane/acetone (1/1, v/v) để tạo thành hai phân đoạn EA5C1 và EA5C2. Phân đoạn EA5C2 được tinh chế bằng HPLC bán điều chế, chạy với acetonitrile/nước (thể tích acetonitrile 32%) để tạo thành hợp chất **3** (25 mg).

- Phân đoạn E5D cũng được đưa vào sắc ký cột silica gel và rửa giải bằng dichloromethane/acetone (1/1, v/v) để tạo thành ba phân đoạn E5D1– E5D3. Cuối cùng, phân đoạn E5D3 được tinh chế bằng HPLC bán điều chế, chạy với acetonitrile/nước (30/70, v/v) để tạo thành hợp chất **2** (18 mg).



**Hình 3.1. Sơ đồ chiết xuất và phân lập các hợp chất từ trâu không**

### 3.1.2. Thông số vật lý của các hợp chất từ loài trà không

#### Hợp chất 1:

- Neotaiwandimerol A (1)
- Dạng bột vô định hình màu vàng nhạt
- Công thức phân tử:  $C_{18}H_{18}O_4$ ;
- Dữ liệu  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR được đưa ra trong Bảng 3.1.

#### Hợp chất 2:

- Hydroxychavicol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (2)
- Dạng bột vô định hình màu trắng
- Công thức phân tử:  $C_{15}H_{20}O_7$ ;
- Dữ liệu  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR được đưa ra trong Bảng 3.1.

#### Hợp chất 3:

- Benzyl alcohol O- $\beta$ -D-glucopyranoside (3)
- Dạng bột vô định hình màu trắng
- Công thức phân tử:  $C_{13}H_{18}O_6$ ;
- Dữ liệu  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR được đưa ra trong Bảng 3.2.

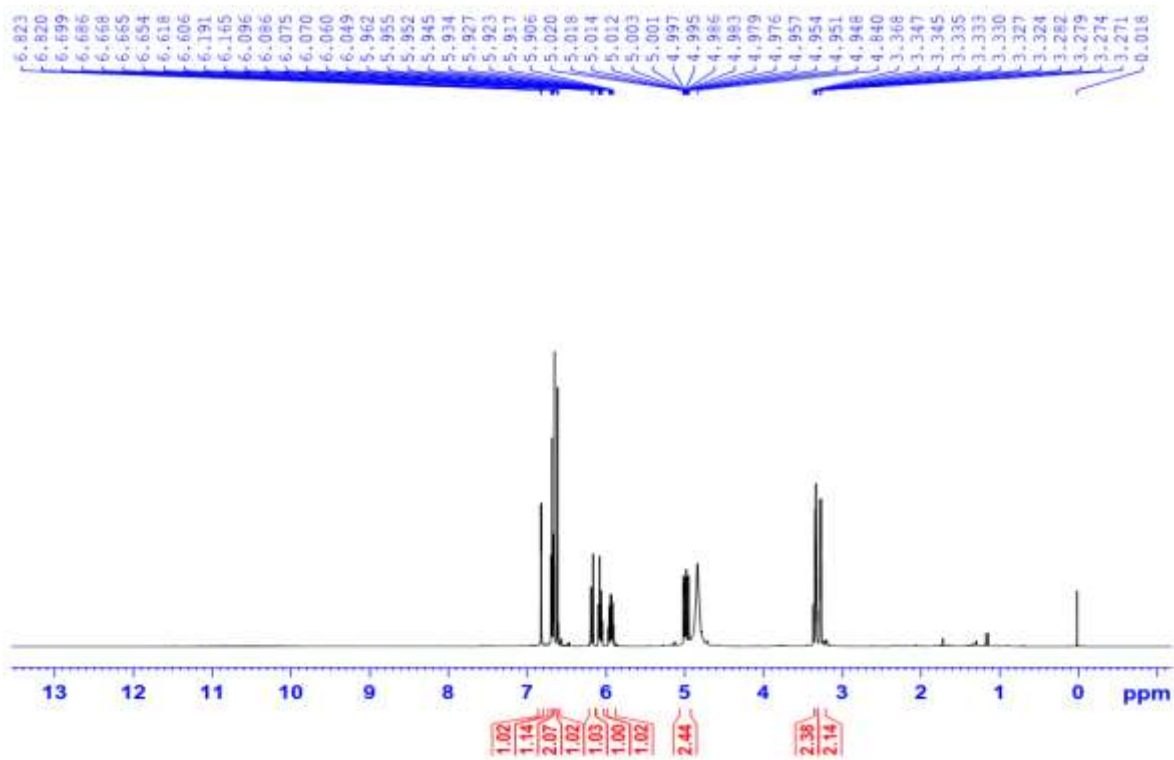
#### Hợp chất 4:

- (S)-1-Phenylethyl  $\beta$ -D-glucopyranoside (4)
- Dạng bột vô định hình màu vàng nhạt
- Công thức phân tử:  $C_{14}H_{20}O_6$ ;
- Dữ liệu  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR được đưa ra trong Bảng 3.2.

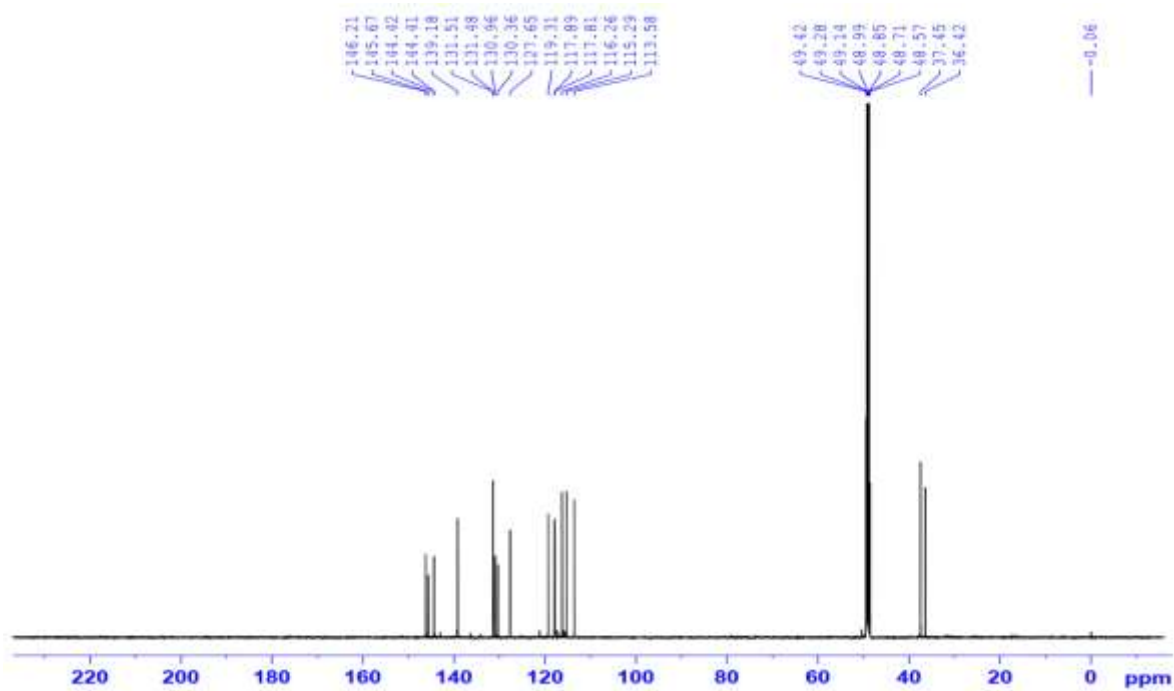
### 3.2. Xác định cấu trúc các hợp chất phân lập từ dịch chiết etyl acetate của loài trà không.

#### 3.2.1. Hợp chất 1

Hợp chất 1 được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Phổ  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR của hợp chất được thể hiện qua hình 3.2 và 3.3.



Hình 3.2. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất 1



Hình 3.3. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất 1

Các tín hiệu phổ NMR được đọc và tổng hợp như trong bảng 3.1 như sau:

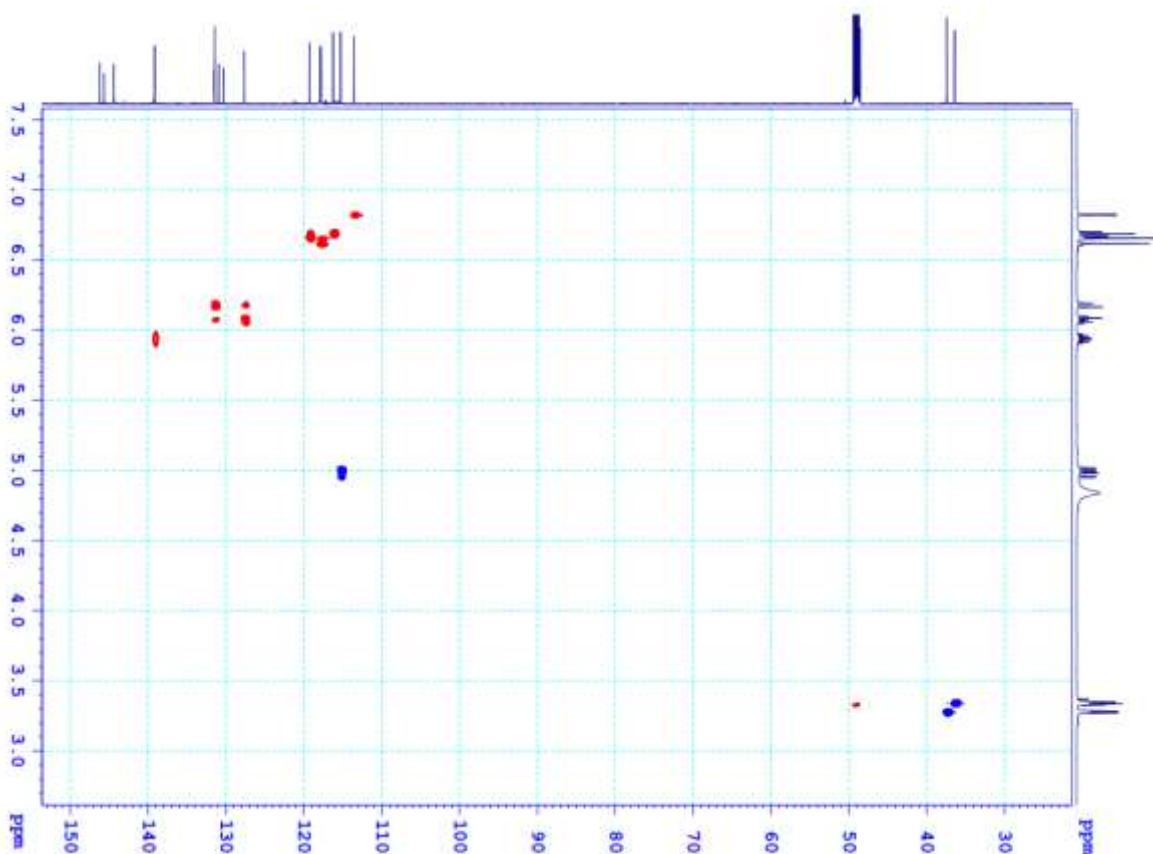
**Bảng 3.1. Dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất 1 và 1**

STT.	Hợp chất 1		Hợp chất 2	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)
1	130.4	-	133.2	-
2	117.8	6.56 (s)	119.3	7.05 (d, 2.0)
3	144.4	-	146.6	-
4	144.4	-	146.6	-
5	117.9	6.61 (s)	117.0	6.78 (d, 8.0)
6	131.0	-	124.8	6.75 (dd, 8.0, 2.0)
7	37.5	3.28 (d, 6.6)	40.5	3.29 (d, 7.0)
8	139.2	5.94 (m)	139.2	5.96 (ddd, 16.0, 10.0, 6.5)
9	115.3	4.97 (d, 16.4) 5.01 (d, 11.2)	115.6	5.06 (dd, 16.0, 2.0) 5.02 (dd, 10.0, 2.0)
1'	131.5	-	104.5	4.75 (d, 7.5)
2'	113.6	6.82 (d, 1.8)	74.9	3.44-3.51 (m)
3'	146.2	-	78.3	3.44-3.51 (m)
4'	145.7	-	71.3	3.44-3.51 (m)
5'	116.3	6.69 (d, 7.8)	77.7	3.44-3.51 (m)
6'	119.3	6.66 (dd, 1.8, 7.8)	62.4	3.90 (dd, 12.0, 2.0) 3.74 (dd, 12.0, 6.0)
7'	131.5	6.18 (d, 15.6)		
8'	127.6	6.07 (dt, 15.6, 7.2)		
9'	36.7	3.34 (d, 7.2)		

Phân tích bảng số liệu phổ của (**1**) cho thấy các tín hiệu proton tương ứng với hệ liên kết proton thơm ABX [ $\delta_{\text{H}}$  6,82 (1H, d, J = 1,8 Hz) 6,69 (1H, d, J = 7,8 Hz) 6,66 (1H, dd, J = 1,8 và 7,8 Hz)], hệ liên kết proton thơm AX [ $\delta_{\text{H}}$  6,61 (1H, s) và 6,56 (1H, s)], năm proton olefin [ $\delta_{\text{H}}$  6,18 (1H, d, J = 15,6 Hz), 6,07 (1H, dt, J = 15,6, 7,2 Hz), 5,94 (1H, m), 5,01 (1H, d, J = 11,2 Hz),

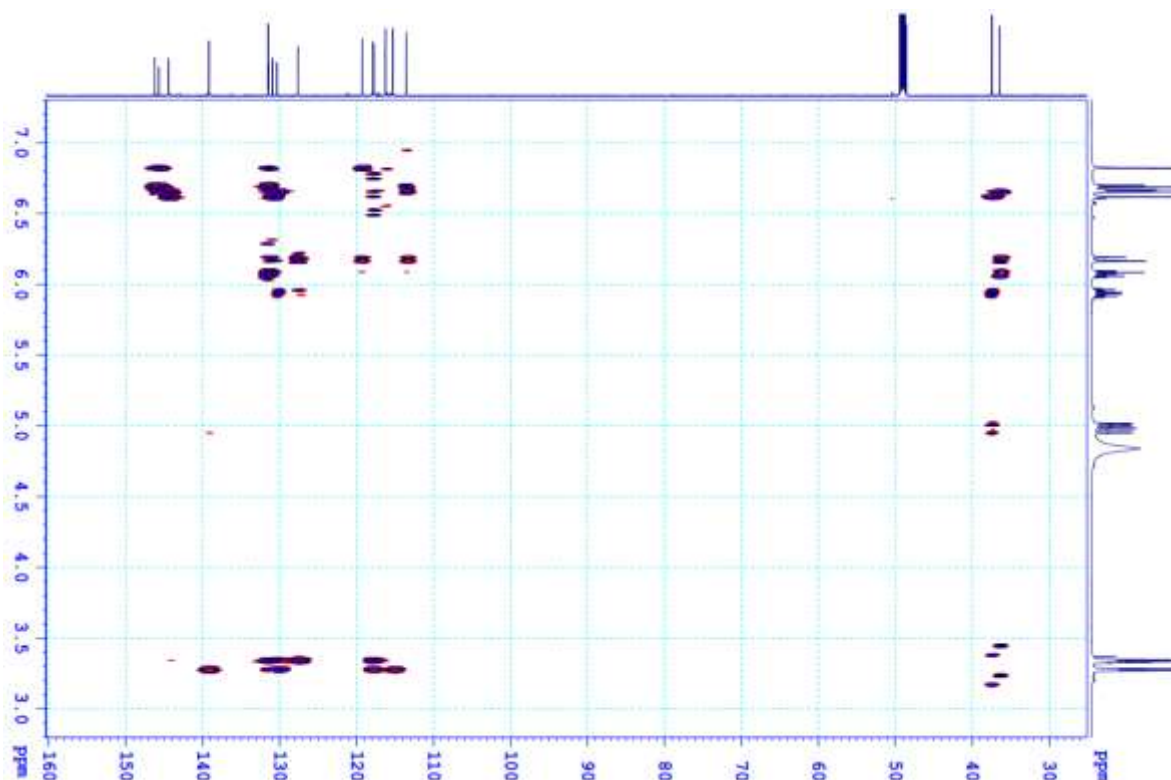
4,97 (1H, d, J = 16,4 Hz)], và hai nhóm methylene [ $\delta_{\text{H}}$  3,34 (2H, d, 7,2 Hz) và 3,28 (2H, d, J = 6,6 Hz)].

Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của (**1**) chứa tín hiệu của 18 carbon bao gồm 16 carbon lai hóa  $\text{sp}^2$  ( $\delta_{\text{C}}$  có giá trị từ 113,6 đến 146,2) và 2 carbon methylene bão hòa ( $\delta_{\text{C}}$  37,5 và 36,7).



**Hình 3.4. Phổ hai chiều HSQC của hợp chất 1**

Để phân tích rõ hơn cấu trúc và vị trí các liên kết trong hợp chất (**1**) cần dựa trên phân tích phổ 2 chiều HSQC (hình 3.4), các tín hiệu carbon trên được phân bổ thành bảy carbon không proton hóa, tám methine olefinic, một methylene olefinic và hai nhóm methylene bão hòa của một phenylpropanoid.

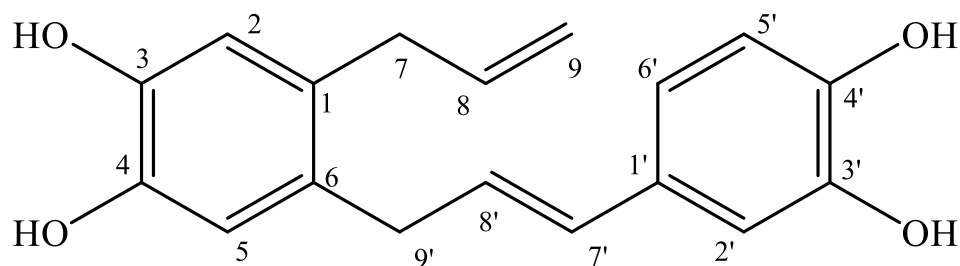


**Hình 3.5. Phổ hai chiều HMBC của hợp chất 1**

Các tương quan HMBC giữa H2-9 ( $\delta_H$  5,01 và 4,97) và C-8 ( $\delta_C$  139,2)/ C-7 ( $\delta_C$  37,5) chỉ ra sự hiện diện của nhóm prop-2-en-1-yl. Sau đó, các tương quan HMBC giữa H2-7 ( $\delta_H$  3,28) và C-1 ( $\delta_C$  130,4)/ C-2 ( $\delta_C$  117,8)/ C-6 ( $\delta_C$  131,0) chứng minh nhóm prop-2-en-1-yl liên kết với C-1 của vòng benzen liên kết AX. Các tương quan HMBC giữa H-2 ( $\delta_H$  6,56) và C-3 ( $\delta_C$  144,4)/ C-4 ( $\delta_C$  144,4) và tín hiệu carbon không được che chắn của C-3 ( $\delta_C$  144,4) và C-4 ( $\delta_C$  144,4) chỉ ra sự hiện diện của nhóm hydroxy tại C-3 và C-4. Tiếp theo, trong vòng benzen liên kết ABX, các tương quan HMBC giữa H-2' ( $\delta_H$  6,82)/ H-6' ( $\delta_H$  6,66) và C-4' ( $\delta_C$  145,7), H-5' ( $\delta_H$  6,69) và C-1' ( $\delta_C$  131,5)/ C-3' ( $\delta_C$  146,2), cùng với các tín hiệu cacbon không được che chắn của C-3' ( $\delta_C$  146,2) và C-4' ( $\delta_C$  145,7) cũng chỉ ra sự hiện diện của các nhóm hydroxy khác tại C-3' và C-4'. Các tương quan HMBC giữa H-2' ( $\delta_H$  6,82)/ H-6' ( $\delta_H$  6,66) và C-7' chỉ ra một liên kết đôi tại C-7'/C-8' và liên kết giữa C-7' và C-1'. Ngoài ra, giá trị hằng số ghép nối giữa H-7' và H-8' ( $J = 15,6$  Hz) đã xác nhận cấu hình hình học *E* của liên kết đôi C-7'/C-8'. Cuối cùng, các tương quan HMBC giữa H2-9' ( $\delta_H$  3,34) và C-7' ( $\delta_C$  131,5)/ C-8' ( $\delta_C$  127,6)/ C-1 ( $\delta_C$  130,4)/ C-5 ( $\delta_C$



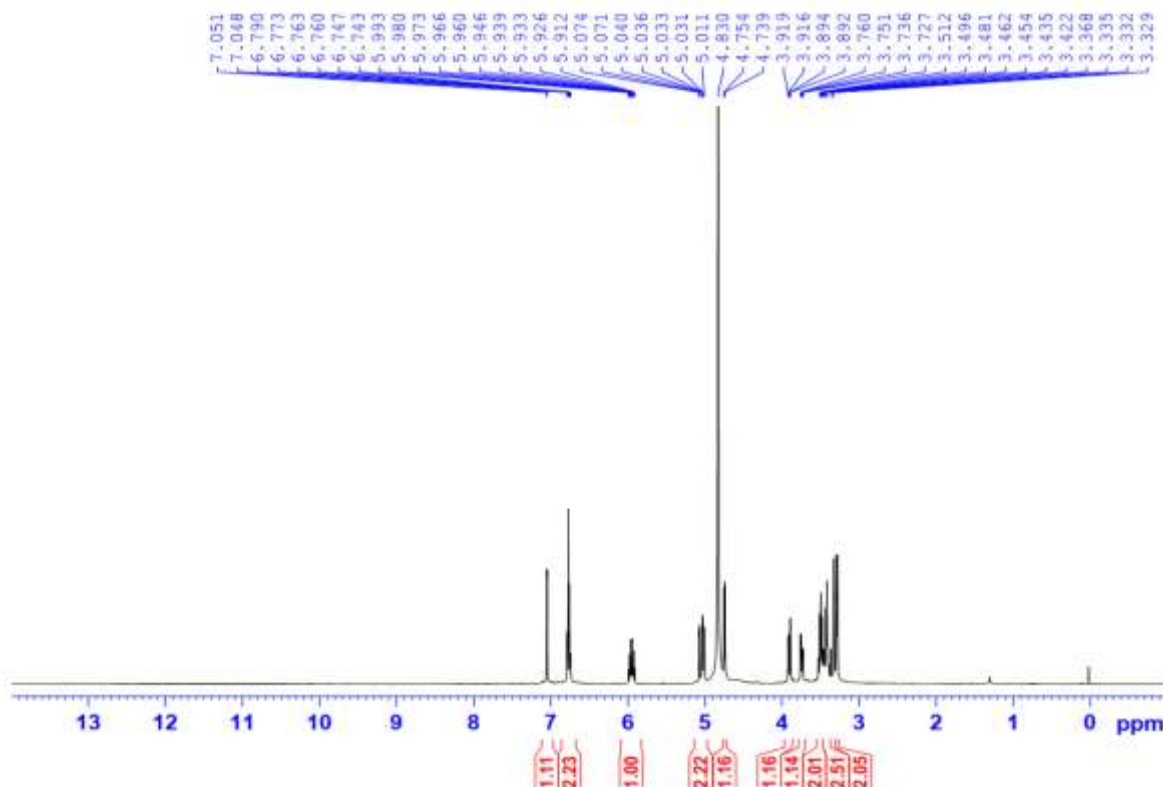
117,9)/ C-6 ( $\delta_C$  131,0) đã thiết lập liên kết giữa hai nhóm phenylpropanoid bởi C-9'/C-6. Do đó, cấu trúc hóa học của (1) được xác định là **neotaiwandimerol A**. Đây là một phenylpropanoid và trước đây đã được phân lập từ các loài *P. taiwanense* và *P. hymenophyllum* [7,10]. Tuy nhiên, đây là báo cáo đầu tiên về việc phân lập hợp chất này từ loài trà không (*P. betle l.*)



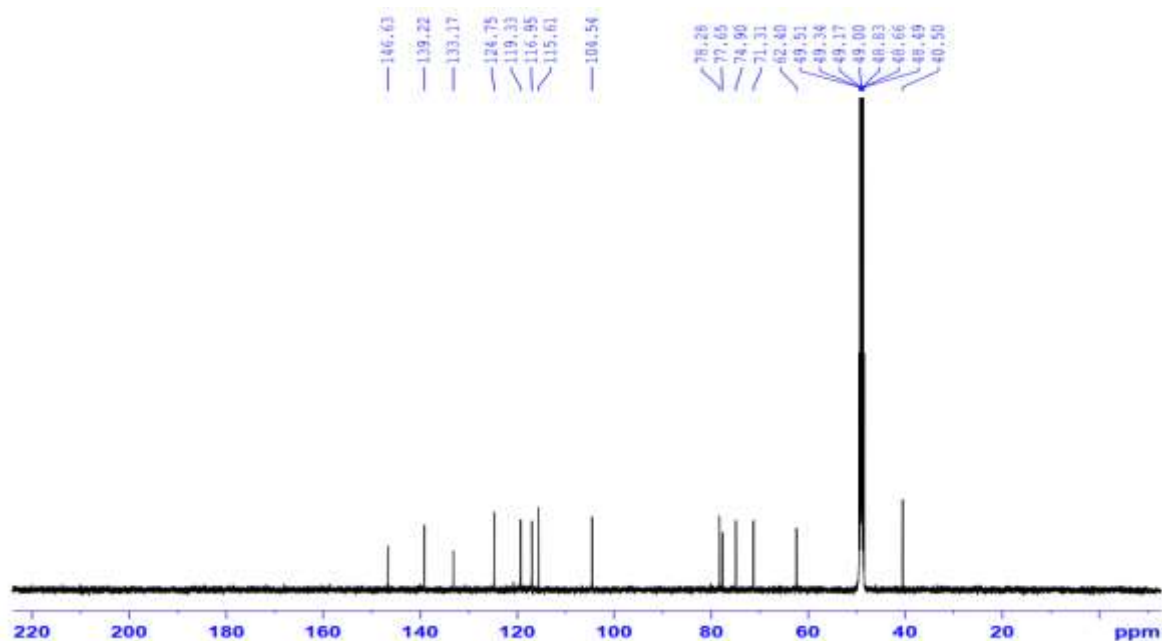
**Hình 3.6. Cấu trúc hóa học của hợp chất 1**

### 3.2.2. Hợp chất 2

Hợp chất 2 được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Hợp chất 2 được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất được thể hiện thông qua hình 3.7 và 3.8.



**Hình 3.7. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất 2**

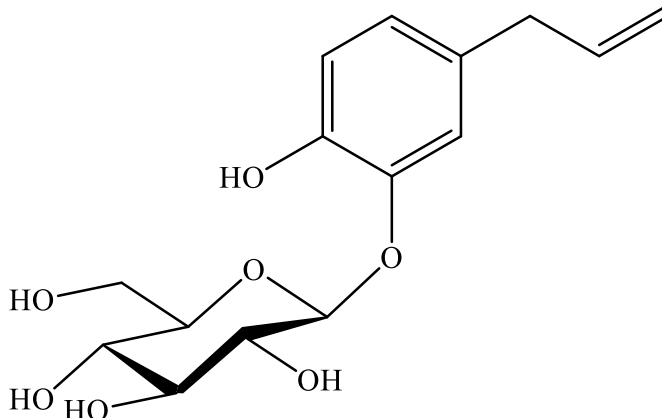


**Hình 3.8. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất 2**

Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của **2** cho thấy các tín hiệu bao gồm một proton liên kết thơm ABX [ $\delta_{\text{H}}$  7,05 (1H, d,  $J = 2,0$  Hz), 6,78 (1H, d,  $J = 8,0$  Hz), 6,75 (1H, dd,  $J = 8,0$  và  $2,0$  Hz)], ba proton olefin [ $\delta_{\text{H}}$  5,96 (1H, ddd,  $J = 16,0$ ,  $10,0$  và  $6,5$  Hz), 5,06 (1H, dd,  $J = 16,0$  và  $2,0$  Hz), 5,02 (1H, dd,  $J = 10,0$  và  $2,0$  Hz)], một nhóm methylene [ $\delta_{\text{H}}$  3,29 (2H, d,  $J = 7,0$  Hz)], một proton anomeric [ $\delta_{\text{H}}$  4,75 (1H, d,  $J = 7,5$  Hz)], và các proton carbinol khác [ $\delta_{\text{H}}$  3,44–3,51 (4H, m), 3,90 (1H, dd,  $J = 12,0$  và  $2,0$  Hz), 3,74 (1H, dd,  $J = 12,0$  và  $6,0$  Hz)]. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của **2** tín hiệu quan sát được của 15 nguyên tử cacbon. Trong số này, một nguyên tử cacbon anomeric ( $\delta_{\text{C}}$  104,5) và 5 nguyên tử cacbon carbinol ( $\delta_{\text{C}}$  78,3, 77,7, 74,9, 71,3, 62,4) gợi ý sự hiện diện của nhóm glucopyranosyl. Ngoài ra, giá trị hằng số ghép nối của proton anomeric  $J = 7,5$  Hz chỉ ra liên kết  $\beta$ -glucopyranosyl; 9 nguyên tử cacbon khác bao gồm 8 nguyên tử cacbon lai hóa  $\text{sp}^2$  và một nhóm methylene bão hòa gợi ý cho một khung phenylpropanoid. Các tín hiệu của ba proton olefinic ( $\delta_{\text{H}}$  5,96, 5,06 và 5,02) được gán cho một nhóm vinyl, chỉ ra một liên kết đôi tại C-8/C-9.

Hơn nữa, các tín hiệu của vòng benzen ABX và hai nguyên tử cacbon không được che chắn ( $\delta_{\text{C}}$  146,6 và 146,6) dự kiến rằng aglycone của **2** là hydroxychavicol. Do đó, phần đường phải được liên kết với aglycone bằng liên kết O-glycoside tại C-3 hoặc C-4. Sau đó, khi so sánh dữ liệu  $^{13}\text{C}$ -NMR

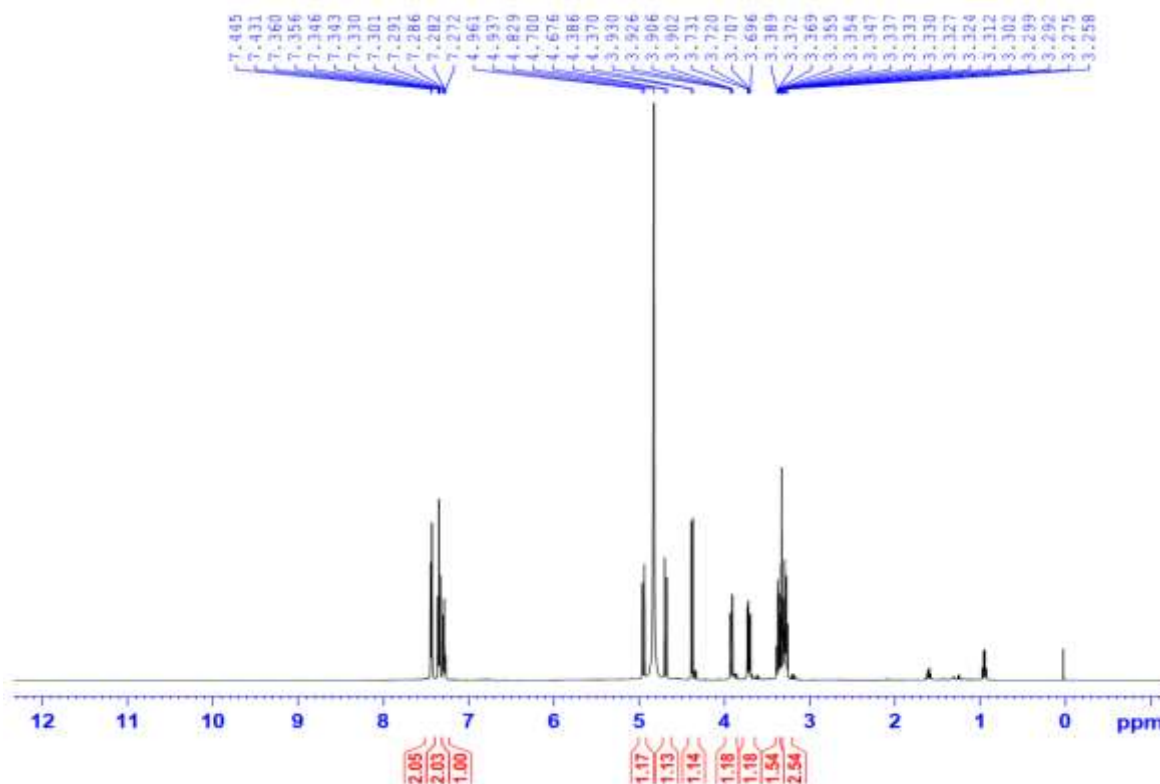
của **2** với những dữ liệu được báo cáo trong tài liệu đã xác nhận cấu trúc của **2** là **hydroxychavicol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside** [16]. Hợp chất này trước đây đã được báo cáo phân lập từ lá của trà không *Piper betle l.* [14].



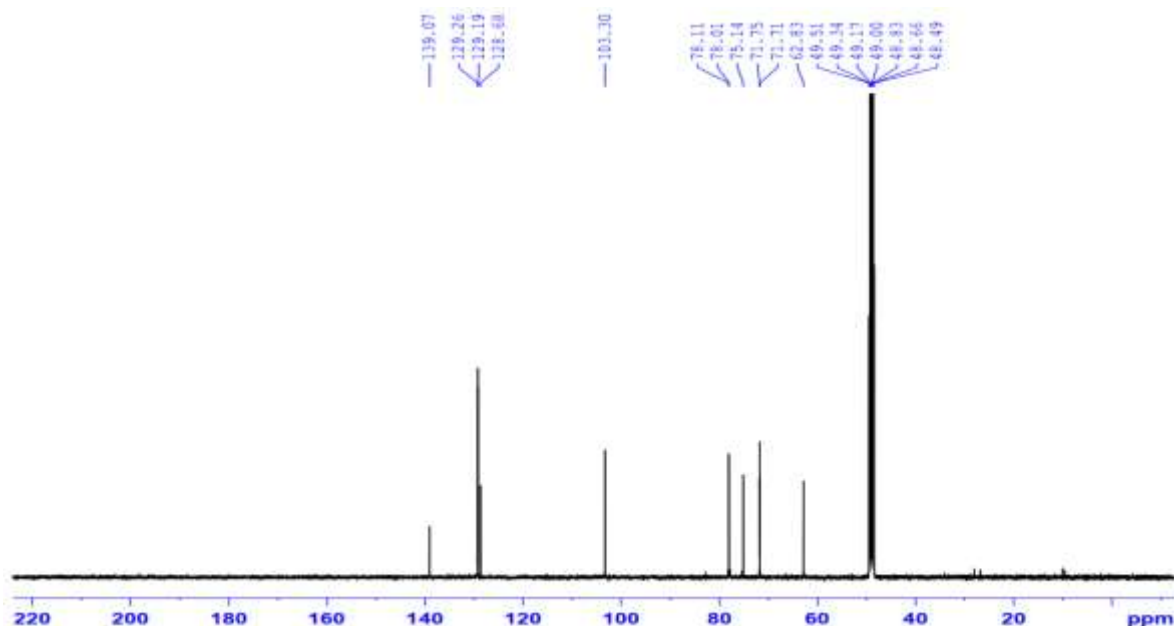
**Hình 3.9. Cấu trúc hóa học của hợp chất 2**

### 3.2.3. Hợp chất 3

Hợp chất **3** được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu trắng. Phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất được thể hiện thông qua hình 3.10 và 3.11.



**Hình 3.10. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất 3**



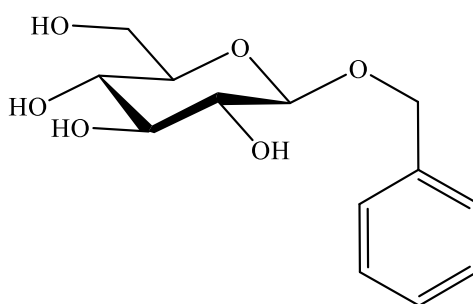
**Hình 3.11. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất 3**

Dữ liệu phổ của hợp chất 3 và 4 được phân tích trong bảng 3.2 như sau:

**Bảng 3.2. Dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất 3 và 4**

ST T	Hợp chất 3		Hợp chất 4	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (mult., J Hz)
1	139.1	-	144.0	-
2	129.2	7.44 (d, 8.0)	127.9	7.44 (d, 8.0)
3	129.3	7.34 (t, 8.0)	129.4	7.34 (t, 8.0)
4	128.7	7.27 (t, 8.0)	128.6	7.25 (t, 8.0)
5	129.3	7.34 (t, 8.0)	129.4	7.34 (t, 8.0)
6	129.2	7.44 (d, 8.0)	127.9	7.44 (d, 8.0)
7	71.7	4.69 (d, 12.0); 4.95 (d, 12.0)	76.0	5.07 (q, 7.5)
8			24.6	1.48 (d, 7.5)
1'	103.3	4.38 (d, 7.5)	101.1	4.09 (d, 7.5)
2'	75.1	3.36 (dd, 9.0, 7.5)	75.2	3.25 (dd, 9.0, 7.5)
3'	78.1	3.33 (t, 9.0)	77.9	3.27 (t, 9.0)
4'	71.7	3.35 (t, 9.0)	71.8	3.26 (t, 9.0)
5'	78.0	3.34 (m)	78.0	3.11 (m)
6'	62.8	3.71 (dd, 5.0, 11.5) 3.91 (dd, 2.0, 11.5)	62.8	3.68 (dd, 5.5, 12.0) 3.89 (dd, 2.0, 12.0)

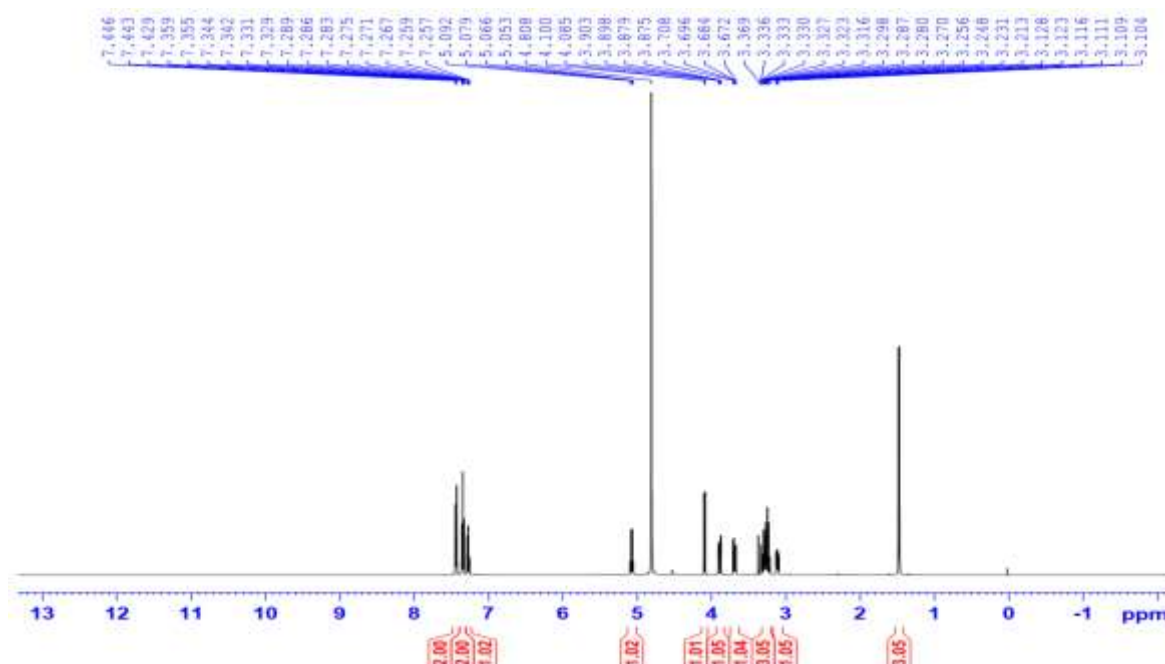
Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của **3** cho thấy sự có mặt của nhóm phenyl thông qua sự xuất hiện của năm tín hiệu proton thơm [ $\delta_{\text{H}}$  7,44 (2H, d,  $J = 8,0$  Hz), 7,34 (2H, t,  $J = 8,0$  Hz), 7,27 (1H, t,  $J = 8,0$  Hz)]. Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  của **3** cho thấy tín hiệu của 13 nguyên tử cacbon bao gồm sáu nguyên tử cacbon của nhóm glucopyranosyl ( $\delta_{\text{C}}$  103,3, 78,1, 78,0, 75,1, 62,8), sáu nguyên tử cacbon của một nhóm phenyl ( $\delta_{\text{C}}$  139,1, 129,3/2C, 129,2/2C và 128,7) và một metylen oxy hóa ( $\delta_{\text{C}}$  71,7). Dựa trên những tín hiệu phổ NMR, kết hợp với tra cứu dữ liệu SCI-Finder, cấu trúc của hợp chất **3** được xác định là **benzyl alcohol O- $\beta$ -D-glucopyranoside**, phù hợp với dữ liệu được báo cáo trong tài liệu [8].



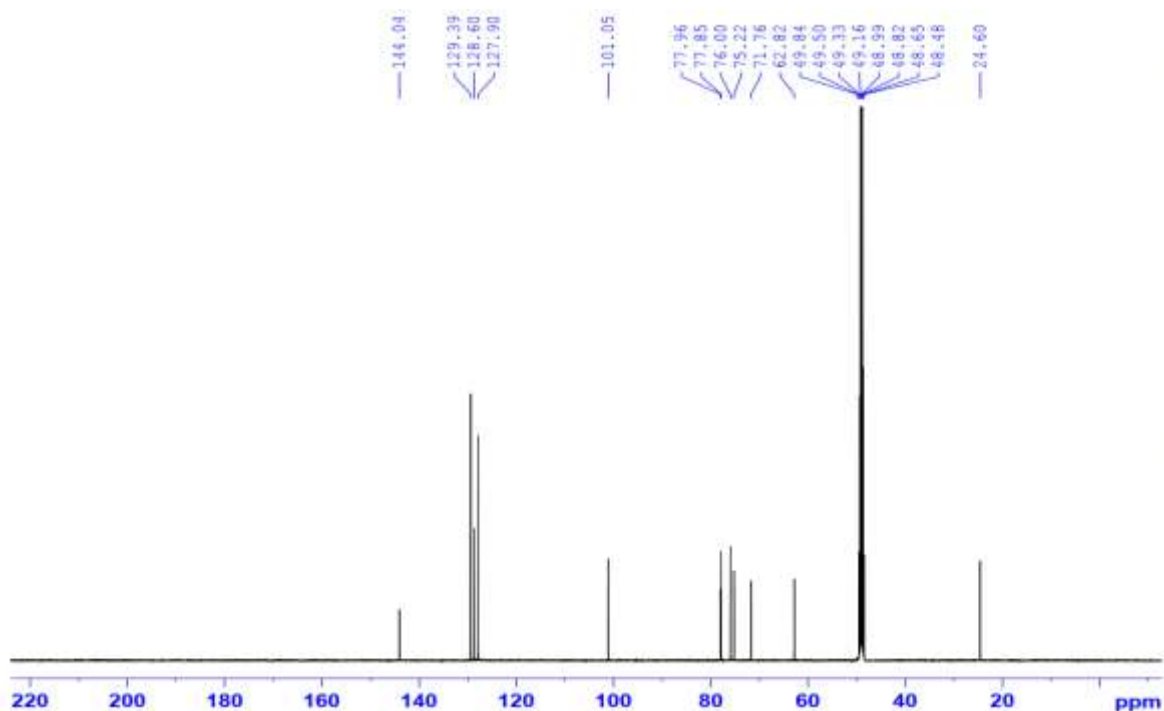
**Hình 3.12. Cấu trúc hóa học của hợp chất 3**

### 3.2.4. Hợp chất 4

Hợp chất **4** được phân lập dưới dạng bột vô định hình màu vàng nhạt. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  và  $^{13}\text{C-NMR}$  của hợp chất được thể hiện ở hình 3.13 và 3.14.

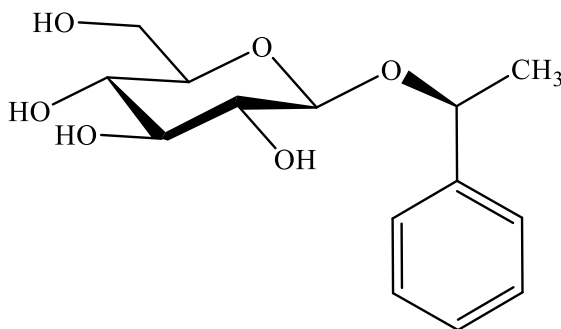


**Hình 3.13. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của hợp chất 4**



**Hình 3.14. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất 4**

Phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$ -NMR của hợp chất **4** cho thấy tín hiệu của nhóm glucopyranosyl và nhóm phenyl rất giống với phổ của hợp chất **3**. Dữ liệu phổ NMR của **4** cho thấy tín hiệu của nhóm methyl [ $\delta_{\text{C}}$  24,6 và  $\delta_{\text{H}}$  1,48 (3H, d,  $J = 7,5$  Hz)] và nhóm methane bị oxy hóa [ $\delta_{\text{C}}$  76,0 và  $\delta_{\text{H}}$  5,07 (1H, q,  $J = 7,5$  Hz)] thay vì nhóm methylene oxy hóa như trong hợp chất **3**. Bằng chứng này cho thấy aglycone của **4** là 1-phenylethanol. Các giá trị dịch chuyển hóa học cacbon của C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  76,0), C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  24,6) và C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  101,1) chỉ ra cấu hình 7S tương tự với dữ liệu đã báo cáo trước đó được ghi lại trong cùng dung môi [24]. Do đó, hợp chất **4** được xác định là (*S*)-1-phenylethyl  $\beta$ -D-glucopyranoside. Đây cũng là báo cáo đầu tiên về việc phân lập hợp chất này từ loài trà không.



**Hình 3.15. Cấu trúc hóa học của hợp chất 4**

### 3.3. Khảo sát hoạt tính kháng viêm của các hợp chất phân lập từ dịch chiết etyl acetate của loài trầu không.

Các hợp chất (1–4) được đánh giá về hoạt tính kháng viêm của chúng bằng cách ức chế sản xuất oxit nitric NO trong các tế bào RAW 264.7 được kích hoạt bởi LPS.

- Đầu tiên, tác dụng của các hợp chất này đối với các tế bào RAW 264.7 đã được kiểm tra ở nồng độ cao tới 100  $\mu$ M. Các hợp chất (1–4) không cho thấy tác dụng gây độc tế bào đáng kể (tỷ lệ tế bào sống trên 95%).

- Hoạt tính ức chế của các hợp chất đối với sản xuất NO sau đó đã được nghiên cứu ở nồng độ pha loãng trong khoảng 0,2-100  $\mu$ M.

- Chất đối chứng dương được sử dụng trong quá trình đánh giá hoạt tính kháng viêm là Dexamethasone.

**Bảng 3.3. Kết quả thử hoạt tính kháng viêm của các hợp chất**

Nồng độ ( $\mu$ M)	EA1				EA2			
	% ức chế NO		% tế bào sống		% ức chế NO		% tế bào sống	
	TB	SD	TB	SD	TB	SD	TB	SD
100	77.02	1.81	83.50	1.76	36.81	2.60	80.92	2.46
20	35.74	2.41	88.18	2.35	17.45	1.42	84.81	1.59
4	23.40	1.13			11.06	1.20		
0.2	1.64	1.03			1.43	1.01		
IC50	47.10 $\pm$ 1.60		-		12.4 $\pm$ 0.7			
Nồng độ ( $\mu$ M)	EA3				EA4			
	% ức chế NO		% tế bào sống		% ức chế NO		% tế bào sống	
	TB	SD	TB	SD	TB	SD	TB	SD
100	52.79	3.01	99.22	2.98	68.51	2.45	94.44	2.75
20	25.53	1.61	98.44	2.27	17.45	1.81	99.27	1.21
4	-3.83	0.28			-0.43	0.60		
0.2	-11.06	1.20			-8.09	0.81		
IC50	105.53 $\pm$ 8.16		-		95.67 $\pm$ 3.97		-	
Nồng độ ( $\mu$ M)	Dexamethasone							
	% ức chế NO		% tế bào sống					
	TB	SD	TB	SD				

<b>100</b>	87.42	1.20	92.62	2.41				
<b>20</b>	54.57	1.81	99.43	2.56				
<b>4</b>	40.55	1.24						
<b>0.8</b>	32.97	1.31						
<b>IC50</b>	<b>13.35±1.52</b>		-					

Kết quả nghiên cứu ở bảng 3.3, cho thấy :

- Các hợp chất **(1)** và **(2)** ức chế đáng kể quá trình sản xuất NO trên tế bào với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là  $47,1 \pm 1,6$  và  $12,4 \pm 0,7$   $\mu$ M.

- Các hợp chất **(3)** và **(4)** không thể hiện hoạt tính kháng viêm (giá trị IC<sub>50</sub> khoảng 100  $\mu$ M).

Từ mối liên quan cấu trúc và tác dụng cho thể nhận xét những hợp chất có cấu trúc phenyl propanoid có thể có tác dụng ức chế NO đáng kể và cao hơn so với các hợp chất còn lại. Nhận xét này rút ra dựa vào sự so sánh và tìm điểm tương đồng trong khung cấu trúc của hợp chất **(1)** và **(2)**. Tuy nhiên, để khẳng định và làm rõ vùng có hoạt tính cũng như cơ chế tác động của hoạt tính cần có những nghiên cứu sâu hơn để đưa ra những nhận định chính xác.



## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### Kết luận

Sau quá trình nghiên cứu thực nghiệm, đề tài “Nghiên cứu thành phần hóa học và bước đầu thử hoạt tính sinh học của một số hợp chất từ phân đoạn etyl acetate loài trầu không (*Piper betle l.*)”, đã thu được một số kết quả như sau:

1. Đã chiết tách, phân lập được phân đoạn chiết trong etyl acetate từ loài trầu không tại vùng trầu không Phú Thọ, Việt Nam.

2. Đã phân lập, điều chế và xác định được cấu trúc hóa học của 4 hợp chất từ phân đoạn chiết etyl acetate từ loài trầu không. Các hợp chất này lần lượt được xác định bằng các phương pháp phổ hiện đại 1 chiều ( $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ ), phương pháp phổ tương tác 2 chiều (HMBC, HSQC) và kiểm tra trên dữ liệu hợp chất SCI-Finder. Các hợp chất này là :

Neotaiwandimerol A (1)

Hydroxychavicol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (2)

Benzyl alcohol O- $\beta$ -D-glucopyranoside (3)

(S)-1-Phenylethyl  $\beta$ -D-glucopyranoside (4)

Trong đó, các hợp chất Neotaiwandimerol A và (S)-1-Phenylethyl  $\beta$ -D-glucopyranoside lần đầu tiên được báo cáo tìm thấy trong thành phần hóa học của loài trầu không.

3. Đã thử hoạt tính sinh học kháng viêm của các hợp chất bằng phương pháp *in vitro* ức chế sản sinh NO trên tế bào RAW 264.7 ở các nồng độ khác nhau từ 0,2-100  $\mu\text{M}$ , kết quả cho thấy các hợp chất Neotaiwandimerol A (1) và Hydroxychavicol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (2) ức chế đáng kể quá trình sản xuất NO trên tế bào với giá trị  $\text{IC}_{50}$  lần lượt là  $47,1 \pm 1,6$  và  $12,4 \pm 0,7$   $\mu\text{M}$ . Các hợp chất (3) và (4) không thể hiện hoạt tính kháng viêm (giá trị  $\text{IC}_{50}$  lớn, khoảng trên 100  $\mu\text{M}$ ).

### Kiến nghị

Để khẳng định và làm rõ vùng có hoạt tính cũng như cơ chế tác động của hoạt tính cần có những nghiên cứu sâu hơn để đưa ra những nhận định chính xác, qua đó có định hướng phát triển trầu không thành cây cung cấp dược liệu, phát triển giá trị của cây trong thực tế đời sống và có những tác động tích cực đến các vùng trồng trầu không.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### Tiếng Việt

1. Đỗ Huy Bích (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Tập 2, NXB Khoa học và Kỹ Thuật, trang 1007-1010.
2. Phạm Thế Chính, Dương Nghĩa Bang, Phan Thanh Phương, Khiếu Thị Tâm, Phạm Thị Thắm, Lê Thị Xuân, Bùi Thị Thúy (2010), “Thành phần hóa học của tinh dầu lá trầu (*Piper betle* L.) trồng tại Hải Dương”, *Tạp chí KH&CN trường Đại học Thái Nguyên*, 72(10), trang 48-52.
3. Nguyễn Thiện Chí, Nguyễn Thị Ngọc Châm, Phạm Khánh Ngọc, Đỗ Duy Phúc, Dương Tùng Kha và Nguyễn Thị Thu Thủy (2016), “Khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu lá trầu không (*Piper betle* L.), họ hồ tiêu (*Piperaceae*)”, *Tạp chí Khoa học trường Đại học Cần Thơ*, 45, trang 28-32.
4. Hoàng Thùy Dương, Nguyễn Kim Thanh Kiều, Ngô Hồng Loan, Phan Thị Kim Ngân, Lâm Hoàng Anh Thư, Phạm Tiến Dũng, Ngô Võ Kế Thành, Nguyễn Hữu Tuyển (2022), “Đánh giá hoạt tính sinh học của cao chiết lá trầu không (*Piper betle* L.) thu nhận bằng phương pháp chiết siêu âm”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 64(3), trang 37-42
5. Đỗ Tất Lợi (2005), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, trang 118-119.

### Tiếng Anh

6. A.R. Amin, M. Attur, S.B. Abramson (1999), “Nitric oxide synthase and cyclooxygenases: distribution, regulation, and intervention in arthritis”. *Curr Opin Rheumatol*, 11(3), pp. 202-209.
7. S. Chen, H.Y. Huang, M.J. Cheng, C.C. Wu, T. Ishikawa, C.F. Peng, H.S. Chang, C.J. Wang, S.L. Wong, I.S. Chen (2013), "Neolignans and phenylpropanoids from the roots of *Piper taiwanense* and their antiplatelet and antitubercular activities", *Phytochemistry*, 93, pp. 203-209.
8. M. Coen, R. Engel, A. Nahrstedt (1995), "Chavicol  $\beta$ -d-glucoside, a phenylpropanoid heteroside, benzyl- $\beta$ -d-glucoside and glycosidically bound volatiles from subspecies of *Cedronella canariensis*", *Phytochemistry*, 40, pp. 149-155.
9. S. Das, A. Ray, N. Nasim, S. Nayak, S. Mohanty (2019), “Effect of different extraction techniques on total phenolic and flavonoid contents, and antioxidant activity of betelvine and quantification of its phenolic constituents by validated HPTLC method”, *3 Biotech*, 9(1), pp. 1-8,

10. H.V. Dung, T.D. Cuong, M.C. Nguyen, D. Quyen, J.S. Byeon, J.A. Kim, M.H. Woo, J.S. Choi, B.S. Min (2014), "Cholinesterase inhibitors from the aerial part of *Piper hymenophyllum*," *Bull Korean Chem Soc*, 35, pp. 655-658
11. P. Guha, S. Nandi (2019), "Essential oil of betel leaf (*piper betle l.*): a novel addition to the world food sector", *Essential Oil Research, Trends in Biosynthesis, Analytics, Industrial Applications and Biotechnological Production*, pp.149-196.
12. D. Gupta, R. Yadav, N. Agrawal, S. Saxena, R. Goel, S. Saxena (2023), "Phytochemical screening and evaluation of anti-inflammatory activity of *Piper betle*," *Eur Chem Bull*, 12, pp. 6313-6334.
13. C.T.C. Ha, Nguyen Huu Dat, Le Hoang Duy Minh (2021), "Influence of *Piper betle L.* extract on umbilical cord cells in vitro and potential treating cutaneous wound", *Heliyon*, 7, e06248.
14. L.T.T. Hang, N.Q. Huy, T.T.T. Tam, L.T. Huong, P.H. Nam, N.H. Dang, P. Quyet-Tien, D.T. Trang, S.Y. Yang, B.H. Tai (2023), "Four new N-phenethylbenzamide derivatives from the stems of *Piper betle* and their antimicrobial activity," *Nat Prod Res*, 37, pp. 1969-1977.
15. E.C. Keat, S.S. Razak, N.M. Fadil, F.M. Yusof, L.H. Chan, F.K. Chyi, S.L. Teoh, S. Das, A.A. Latiff, M. Mazlan (2021), "The effect of *Piper betel* extract on the wound healing process in experimentally induced diabetic rats", *La Clinica terapeutica*, 161(2), pp. 117–120.
16. T.N. Ly, R. Yamauchi, M. Shimoyamada, K. Kato (2002), "Isolation and structural elucidation of some glycosides from the rhizomes of smaller galanga (*Alpinia officinarum* Hance)," *J Agric Food Chem*, 50, pp. 4919-4924.
17. M. Madhumita, P. Guha, A. Nag (2020), "Bio-actives of betel leaf ( *L.*): A comprehensive review on extraction, isolation, characterization, and biological activity," *Phytother Res*, 34, pp. 2609-2627.
18. A.G. Majumdar, M. Subramanian (2019), "Hydroxychavicol from *Piper betle* induces apoptosis, cell cycle arrest, and inhibits epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells", *Biochem. Pharmacol.* 166(1), pp. 274–291.
19. S. Mohottalage, R. Tabacchi and P. M. Guerin (2007), "Components from Sri Lankan *Piper betle L.* leaf oil and their analogues showing toxicity against the housefly, *Musca domestica*", *Flavour and Fragrance Journal*, 22(2), pp. 130-138.
20. S.H. Nile, S. W. Park (2013), "Optimized Methods for In Vitro and In Vivo Anti-Inflammatory Assays and Its Applications in Herbal and Synthetic Drug Analysis". *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(1), pp. 95–100.

21. U. Singh, J. Tabibian, S.K. Venugopal, S. Devaraj, I. Jialal (2005). "Development of an in vitro screening assay to test the antiinflammatory properties of dietary supplements and pharmacological agents", *Clin. Chem.*, 51, pp. 2252-2256
22. Sugumaran. M, Poornima. M, Venkatraman. S, Lakshmi. M, (2011). "Chemical composition and antimicrobial activity of sirugamani variety of Piper betle Linn Leaf oil". *Journal of Pharmacy Research*, 4(10), pp. 3424-3426.
23. B.T.T. Trang (2020), "Investigation on chemical constituent of water fraction of piper betle l.", *Tạp chí khoa học và công nghệ*, 56(1), pp. 100-103.
24. Y. Zhou, F. Dong, A. Kunimasa, Y. Zhang, S. Cheng, J. Lu, L. Zhang, A. Murata, F. Mayer, P. Fleischmann, N. Watanabe, Z. Yang (2014), "Occurrence of glycosidically conjugated 1-phenylethanol and its hydrolase  $\beta$ -primeverosidase in tea (*Camellia sinensis*) Flowers," *J Agric Food Chem*, 62, pp. 8042-8050.