

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

HỌC VIỆN QUÂN Y

BỘ QUỐC PHÒNG

NGÔ THỊ MỸ BÌNH

**NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH VÀ TÁC DỤNG
CHỐNG BÉO PHÌ, HẠ LIPID MÁU TRÊN
THỰC NGHIỆM CỦA CAO KHÔ LÁ CÂY TRÀ
HOA VÀNG (*CAMELLIA HAKODAE* NINH)**

Ngành : Dược lý và độc chất

Mã số : 9720118

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI, NĂM 2025

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI LUẬN ÁN

1. **Ngô Thị Mỹ Bình, Nguyễn Hoàng Ngân, Nguyễn Hồng Hạnh (2023)**, “Đánh giá độc tính bán trường diễn của cao khô lá cây Trà hoa vàng (*Camellia hakodae* Ninh)”, *Tạp chí Y học Việt Nam*, 529 (2), tr. 118 - 123.

2. **Ngô Thị Mỹ Bình, Nguyễn Hoàng Ngân, Nguyễn Hồng Hạnh (2023)**, “Nghiên cứu độc tính cấp và tác dụng hạ lipid máu nội sinh của cao khô lá cây Trà hoa vàng (*Camellia hakodae* Ninh) trên động vật thực nghiệm”, *Tạp chí Y Dược học quân sự*, tập 48, số chuyên đề Dược học, tr. 354 - 363.

3. **Ngo Thi My Binh, Nguyen Hoang Ngan, Do Thi Huong Lan, Nguyen Hong Hanh, Nguyen Thanh Ha Tuan (2024)**, “Anti-hyperlipidemic Effect of *Camellia hakodae* Ninh Extract in an In Vivo Rat Model”, *Trop J Nat Prod Res*, 8 (11), p. 9199-9205.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Béo phì và rối loạn lipid máu (RLLPM) là hai vấn đề sức khỏe được quan tâm trên toàn thế giới. Theo thống kê năm 2020, thế giới có khoảng 2,6 tỷ người mắc thừa cân, béo phì. Ước tính đến năm 2035, mức độ thừa cân và béo phì tăng lên hơn 4 tỷ người, riêng tỷ lệ béo phì, dự kiến sẽ tăng từ 14% lên 24% dân số, ảnh hưởng đến gần 2 tỷ người lớn, trẻ em và thanh thiếu niên. Vừa tăng cân, béo phì, vừa rối loạn lipid máu gây ảnh hưởng kép đến sức khỏe, có thể gây ra các bệnh lý nặng nề khiến tỷ lệ tử vong cao. Cho đến nay, có nhiều nhóm thuốc được sử dụng trong điều trị béo phì và RLLPM, tuy nhiên giá thành điều trị cao, nhiều tác dụng phụ dẫn đến khó khăn trong sử dụng. Do đó, xu hướng hiện nay là nghiên cứu tìm ra các thuốc mới an toàn, hiệu quả, giá thành điều trị thấp từ các nguồn dược liệu khác nhau.

Trà hoa vàng *Camellia hakodae* Ninh được sử dụng trong dân gian như một thức uống với nhiều công dụng. Trong Trà hoa vàng có chứa các hợp chất polyphenol, được chứng minh có tác dụng chống oxy hóa, giảm cân, giảm vòng eo, hạ lipid máu... Cao khô lá Trà hoa vàng *Camellia hakodae* Ninh (CKL-THV) được bào chế tại Học viện Quân y, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Để có thể đưa CKL-THV sử dụng trên lâm sàng, đề tài luận án: **“Nghiên cứu độc tính và tác dụng chống béo phì, hạ lipid máu của cao khô lá cây Trà hoa vàng (*Camellia hakodae* Ninh) trên thực nghiệm”** được thực hiện với 2 mục tiêu:

1. *Đánh giá được độc tính cấp, độc tính bán trường diễn của cao khô lá cây Trà hoa vàng trên thực nghiệm.*
2. *Đánh giá được tác dụng chống béo phì, hạ lipid máu và một số cơ chế tác dụng của cao khô lá cây Trà hoa vàng trên thực nghiệm.*

ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Luận án đã đánh giá được chế phẩm CKL-THV có những đặc điểm nổi bật, đem lại giá trị khoa học và tiềm năng ứng dụng vượt trội so với các chế phẩm được nghiên cứu trước đây. Luận án đã đánh giá được tính an toàn của CKL-THV và tác dụng chống béo phì, hạ lipid máu trên thử nghiệm in vivo.

Ngoài ra, nghiên cứu của luận án tiến thêm một bước quan trọng khi làm sáng tỏ cơ chế tác dụng của CKL-THV thông qua khả năng ức chế hai enzym HMG-CoA reductase và cholesterol esterase trên thử nghiệm in vitro, điều mà các nghiên cứu trước đây chưa thực hiện đầy đủ. Sự kết hợp giữa đánh giá hiệu quả sinh học và cơ chế phân tử cung cấp cái nhìn toàn diện, khẳng định tiềm năng của chế phẩm CKL-THV như một cơ chế kép trong điều trị rối loạn lipid máu và béo phì.

Nghiên cứu của luận án mở ra tiềm năng phát triển sản phẩm mới dựa trên nguyên liệu bột CKL-THV, với khả năng ứng dụng thực tiễn cao trong lĩnh vực dược phẩm. Việc phát triển thành công một sản phẩm từ nguồn gốc tự nhiên, kết hợp công nghệ chiết xuất hiện đại và cơ chế tác dụng rõ ràng, sẽ đóng góp đáng kể điều trị an toàn, hiệu quả cho các bệnh lý liên quan đến chuyển hóa lipid, đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng của cộng đồng.

CẤU TRÚC CỦA LUẬN ÁN

Luận án gồm 143 trang. Đặt vấn đề: 02 trang; Tổng quan: 35 trang; Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 23 trang; Kết quả nghiên cứu: 35 trang; Bàn luận: 45 trang; Kết luận: 02 trang; Kiến nghị: 01 trang. Luận án có 161 tài liệu tham khảo (tiếng Việt: 36, tiếng Anh: 125); 32 bảng, 20 biểu đồ, 22 hình ảnh và 6 phụ lục.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về béo phì và rối loạn lipid máu

1.1.1. Béo phì

Béo phì được định nghĩa là tình trạng tích tụ mỡ thừa hoặc bất thường, có thể ảnh hưởng xấu đến sức khỏe. Cơ chế bệnh sinh gây béo phì là do sự mất cân bằng năng lượng, khi năng lượng đưa vào cơ thể vượt mức so với năng lượng tiêu thụ, năng lượng dư thừa sẽ tăng cường dự trữ dưới dạng mỡ, trọng lượng cơ thể tăng lên, dẫn đến thừa cân, béo phì. Mục tiêu điều trị béo phì là kiểm soát cân nặng và giảm nguy cơ các biến chứng, cải thiện sức khỏe.

Sử dụng thuốc chống béo phì được khuyến nghị cho những bệnh nhân có BMI ≥ 30 kg/m² hoặc BMI ≥ 27 kg/m² mắc kèm bệnh liên quan như tăng huyết áp, đái tháo đường typ 2. Tính đến năm 2024, có 7 thuốc được FDA chấp thuận trong điều trị béo phì ở bệnh nhân trưởng thành. Tại Việt Nam, hiện chỉ có hai thuốc được phê duyệt trong điều trị là orlistat và liraglutid.

1.1.2. Rối loạn lipid máu

Rối loạn lipid máu là rối loạn chuyển hóa tiên phát hoặc thứ phát, đặc trưng bởi bất thường nồng độ và/hoặc chức năng của một hoặc nhiều loại lipid và lipoprotein huyết tương. Theo tiêu chuẩn hiện đại, rối loạn lipid máu được chẩn đoán khi nồng độ lipid và/hoặc lipoprotein huyết tương không đạt mức trị số mục tiêu được khuyến nghị cho dự phòng bệnh tim mạch do xơ vữa. Các Hiệp hội Tim mạch lớn trên thế giới đều xác định LDL-C là mục tiêu tiên phát trong điều trị rối loạn lipid máu. Nồng độ LDL-C càng thấp thì nguy cơ tim mạch càng giảm.

Hiện nay, có nhiều nhóm thuốc được phê duyệt trong điều trị RLLPM với các cơ chế khác nhau như: statin, fibrat, niacin, thuốc ức

chế hấp thụ cholesterol (ezetimib), thuốc gắn acid mật, thuốc ức chế PCSK9, omega-3 acid béo, acid bempedoic, inclisiran... Các thuốc này giúp giảm LDL-C, triglycerid, tăng HDL-C và đặc biệt có hiệu quả trong việc giảm nguy cơ bệnh tim mạch.

1.2. Một số mô hình nghiên cứu tác dụng chống béo phì, hạ lipid máu

1.2.1. Các mô hình gây béo phì trên in vivo

Có nhiều mô hình gây béo phì trên động vật thí nghiệm như sử dụng chế độ ăn giàu năng lượng, tác động lên vùng dưới đồi hoặc gây động vật béo phì do di truyền. Trong đó, mô hình sử dụng chế độ ăn giàu năng lượng, đặc biệt là chế độ ăn giàu chất béo (HFD) được sử dụng phổ biến nhất. Gây động vật béo phì bằng chế độ ăn HFD là phương pháp phổ biến trong các thử nghiệm sàng lọc thuốc chống béo phì bởi dễ thực hiện và hiệu quả gây béo phì cao. Tuy nhiên do chế độ ăn có nhiều chất béo nên chuột rất nhanh chán ăn, phải thay đổi chế độ ăn liên tục nhưng vẫn phải đảm bảo về hàm lượng chất béo để duy trì được tình trạng béo phì của chuột. Trong nghiên cứu của luận án, chúng tôi sử dụng chế độ ăn HFD để gây mô hình chuột béo phì trong đánh giá tác dụng chống béo phì của CKL-THV.

1.2.2. Các mô hình gây tăng lipid máu trên in vivo

Gây tăng lipid máu nội sinh trên động vật thí nghiệm có thể sử dụng các tác nhân như poloxamer P407, Tween 80, Triton WR-1339. Trong đó, mô hình sử dụng P407 là mô hình phổ biến được áp dụng cho nhiều nghiên cứu để đánh giá sàng lọc một cách nhanh chóng tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của một thuốc mới hoặc một sản phẩm mới, đặc biệt là các thuốc có tác dụng ức chế HMG-CoA reductase. Mô hình gây tăng lipid máu ngoại sinh sử dụng hỗn hợp dầu cholesterol của Nassiri và cộng sự là mô hình kinh điển và khá phổ biến để nghiên cứu các thuốc có tác dụng hạ lipid máu. Nguyễn

Trọng Thông và cộng sự đã cải tiến mô hình này, điều chỉnh một số thành phần trong hỗn hợp dầu cholesterol, và tạo ra mô hình có tính khả thi cao, chi phí rẻ hơn và có nhiều đặc điểm tương đồng với rối loạn lipid máu trên người. Do vậy, phương pháp này đã được chúng tôi lựa chọn sử dụng trong nghiên cứu đánh giá tác dụng hạ lipid máu của CKL-THV theo cơ chế ngoại sinh.

1.2.3. Các mô hình nghiên cứu cơ chế tác dụng trên in vitro

Quá trình sinh tổng hợp cholesterol được chia thành nhiều giai đoạn, với sự xúc tác của nhiều enzym. Cả hai enzym HMG-CoA reductase và cholesterol esterase đều có mối liên quan chặt chẽ tới bệnh rối loạn lipid máu và béo phì thông qua việc điều hòa chuyển hóa lipid trong cơ thể. Để đánh giá tác dụng ức chế 2 enzym này, có thể áp dụng các phương pháp phân tích hiện đại như sắc ký lỏng hiệu năng cao, sắc ký lỏng kết hợp khối phổ. Phương pháp quang phổ UV-Vis là một phương pháp phổ biến và dễ tiếp cận trong các phòng thí nghiệm, với thiết bị tương đối đơn giản và chi phí đầu tư thấp.

1.3. Một số dược liệu có tác dụng chống béo phì và hạ lipid máu

Trong những thập niên gần đây, các dược liệu có tác dụng chống béo phì, hạ lipid máu được nghiên cứu khá phổ biến. Dựa trên các nguồn cơ sở dữ liệu khoa học trên Science direct, Medicine/Pubmed và Google Scholar, một nghiên cứu hệ thống năm 2021 đã tổng hợp được trên toàn thế giới có 451 loài thực vật thuộc 329 chi và 110 họ có tác dụng chống béo phì. Các họ thực vật chính được sử dụng là Conpositae (34 chi và 43 loài) và Leguminosae (26 chi và 43 loài). Phân tích bộ phận dùng của các dược liệu trên cho thấy lá (24%) và quả (18%) là hai bộ phận được sử dụng nhiều nhất, phương pháp chế biến dạng thuốc sắc (42%) là phương pháp chủ yếu.

1.4. Trà hoa vàng *Camellia hakodae* và cao khô lá Trà hoa vàng

Trà hoa vàng *Camellia hakodae* Ninh là loài cây đặc hữu của Vườn Quốc gia Tam Đảo, Việt Nam. Theo Y học cổ truyền, Trà hoa vàng có tính bình, vị ngọt và có mùi thơm, quy vào 3 kinh là Tâm, Thận và Can. Thành phần hóa học có hoạt tính chính trong Trà hoa vàng là polyphenol. Một số nghiên cứu đã chứng minh polyphenol trong Trà hoa vàng còn có tác dụng chống ung thư, kìm hãm sự hình thành, phát triển và di căn của khối u, kháng khuẩn, chống viêm, hạ đường huyết, giảm cân và hạ lipid máu.

Về độc tính, nhiều nghiên cứu cho thấy các chế phẩm chiết xuất từ lá hoặc hoa từ các loài Trà hoa vàng khác nhau đều khá an toàn. Cao khô lá cây Trà hoa vàng *Camellia hakodae* Ninh được điều chế tại Học viện Quân y, chiết xuất theo phương pháp chiết siêu âm với dung môi ethanol 96%, sau đó bào chế bột cao khô bằng phương pháp phun sấy.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu nghiên cứu: Cao khô lá cây Trà hoa vàng được bào chế tại Học viện Quân y, đạt tiêu chuẩn cơ sở

2.1.2. Động vật nghiên cứu: Chuột nhắt trắng chủng Swiss, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng $18 \pm 2,0$ g. Chuột cống trắng chủng Wistar cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 180 ± 20 g; 100-120 g.

2.1.3. Thiết bị nghiên cứu: Máy xét nghiệm sinh hoá Biochemical Systems International Srl (Italia), Máy phân tích huyết học Humancout 30TS (Đức), Máy quang phổ tử ngoại khả kiến UV-VIS Hitachi UH5300 (Nhật Bản), Cân phân tích có độ nhạy 0,1 mg; Cân kỹ thuật (Sartorius, Đức), Bộ micro pipet Hettlite Pro (Hettich, Đức), Bộ kim cong đầu tù cho chuột uống thuốc...

2.1.4. Thuốc, hóa chất: Triton-X100, Acetonitril, Poloxamer 407, Propofol 1%, Nước siêu tinh khiết, cholesterol esterase, Atorvastatin 10mg, Orlistat 120mg, Bộ Kit đánh giá tác dụng ức chế enzyme HMG-CoA reductase.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- + Đánh giá độc tính cấp: phương pháp Litchfield Wilcoxon
- + Đánh giá độc tính bán trường diễn: hướng dẫn của Bộ Y tế
- + Đánh giá tác dụng chống béo phì: mô hình gây động vật béo phì bằng chế độ ăn giàu chất béo HFD.
- + Đánh giá tác dụng hạ lipid máu nội sinh: mô hình gây tăng lipid máu bởi P-407
- + Đánh giá tác dụng hạ lipid máu ngoại sinh: mô hình gây tăng lipid bằng hỗn hợp dầu cholesterol.
- + Đánh giá cơ chế tác dụng *in vitro*: Phương pháp UV-Vis

2.3. Phương pháp xử lý số liệu: Phần mềm thống kê y học SPSS 22.0

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nghiên cứu độc tính

3.1.1. Độc tính cấp:

Chuột nhắt trắng trong các lô được uống CKL-THV đến liều cao nhất có thể đưa được qua đường uống cho chuột nhắt qua kim cong đầu tù là 12g/kg thể trọng. Theo dõi sát chuột ở các lô trong 72 giờ sau khi uống chế phẩm và trong suốt 7 ngày sau khi uống chế phẩm, chuột ở tất cả các lô đều bình thường, lông mượt, không có biểu hiện khó thở hay tím tái, ăn uống, vận động, bài tiết bình thường. Không thấy có dấu hiệu bất thường, không có chuột chết trong suốt thời gian nghiên cứu. Không xác định được LD₅₀.

3.1.2. Độc tính bán trường diễn

* Tình trạng chung và trọng lượng chuột: Chuột ở tất cả các lô nghiên cứu đều bình thường, lông mượt, ăn uống, vận động, bài tiết bình thường. CKL-THV không ảnh hưởng đến trọng lượng chuột.

* Trên chỉ tiêu huyết học: CKL-THV không ảnh hưởng đến số lượng hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit, thể tích trung bình hồng cầu.

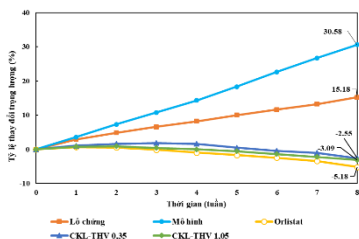
* Trên chỉ tiêu sinh hóa: CKL-THV không ảnh hưởng đến hoạt độ AST, ALT, albumin, cholesterol toàn phần, triglycerid và creatinin.

* Trên các tạng gan, lách, thận: CKL-THV không ảnh hưởng đến các cấu trúc đại thể, vi thể các tạng gan, lách, thận chuột. Không có hình ảnh hoại tử, thoái hóa tế bào các tạng gan, lách, thận chuột.

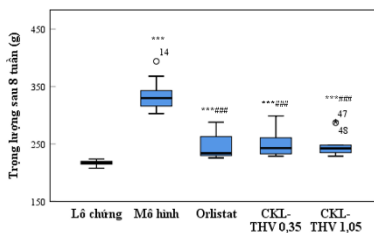
3.2. Kết quả nghiên cứu tác dụng chống béo phì, hạ lipid máu

3.2.1. Tác dụng chống béo phì

* Trọng lượng chuột:



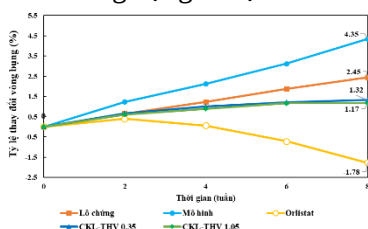
Biểu đồ 3. 1. Sự thay đổi trọng lượng chuột ở các lô



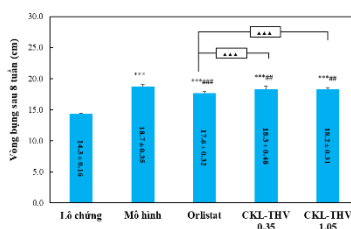
Biểu đồ 3. 2. Trọng lượng chuột ở các lô nghiên cứu sau 8 tuần

CKL-THV làm giảm 2,55 – 3,09 % trọng lượng sau 8 tuần. Tại thời điểm kết thúc thử nghiệm, CKL-THV làm giảm trọng lượng chuột ở lô trị so với lô mô hình có ý nghĩa ($p < 0,001$).

* Vòng bụng chuột:



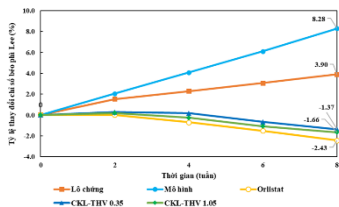
Biểu đồ 3. 3. Sự thay đổi vòng bụng chuột ở các lô nghiên cứu



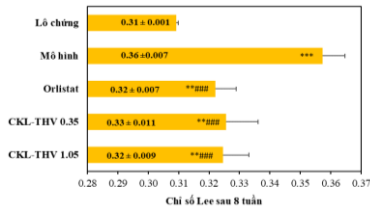
Biểu đồ 3. 4. Vòng bụng chuột ở các lô nghiên cứu sau 8 tuần

CKL-THV chưa làm giảm số đo vòng bụng chuột trong thời gian nghiên cứu. Tuy nhiên tại thời điểm kết thúc thử nghiệm, CKL-THV làm giảm số đo vòng bụng chuột ở các lô trị so với lô mô hình có ý nghĩa ($p < 0,01$).

* Chỉ số Lee: CKL-THV chưa làm giảm số đo vòng bụng chuột trong thời gian nghiên cứu. Tuy nhiên tại thời điểm kết thúc thử nghiệm, CKL-THV làm giảm số đo vòng bụng chuột ở các lô trị so với lô mô hình có ý nghĩa ($p < 0,01$).

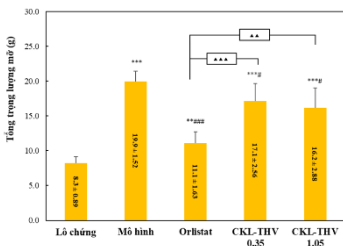


Biểu đồ 3. 5. Sự thay đổi chỉ số béo phì Lee ở các lô

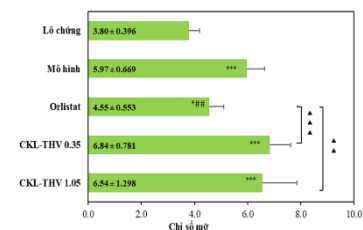


Biểu đồ 3. 6. Chỉ số béo phì Lee ở các lô nghiên cứu sau 8 tuần

* Trọng lượng mỡ và chỉ số mỡ: CKL-THV làm giảm trọng lượng mỡ ở các lô trị so với lô mô hình có ý nghĩa ($p < 0,05$). Tuy nhiên CKL-THV không ảnh hưởng đến chỉ số mỡ ở các lô nghiên cứu.



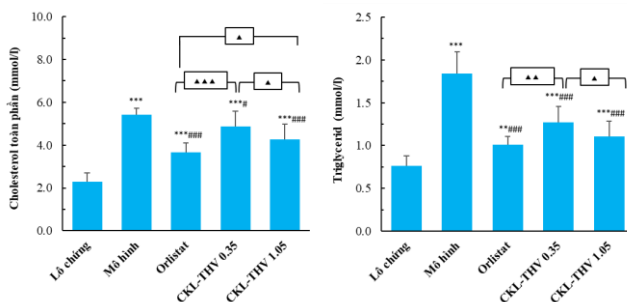
Biểu đồ 3. 7. Trọng lượng mỡ ở các lô nghiên cứu sau 8 tuần



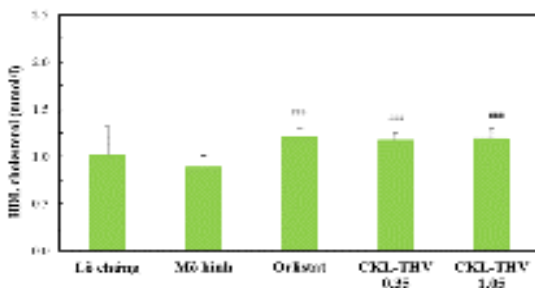
Biểu đồ 3. 8. Chỉ số mỡ ở các lô nghiên cứu sau 8 tuần

* Trọng lượng các cơ quan: CKL-THV làm giảm trọng lượng tuyệt đối các tạng tim, gan, thận, lách ở các lô trị so với lô mô hình ($p < 0,001$). Tuy nhiên, chỉ làm giảm trọng lượng tương đối của tạng gan ở các lô trị so với lô mô hình ($p < 0,05$).

* Các chỉ số lipid máu: CKL-THV làm giảm các chỉ số TC, TG, LDL-C, non HDL-C của chuột ở các lô trị so với lô mô hình. Làm tăng nồng độ HDL-C tương đương với orlistat.

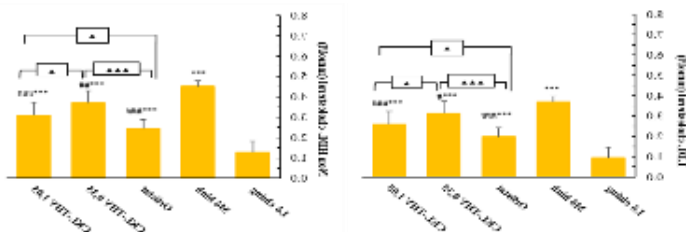


Biểu đồ 3. 9. Nồng độ TC và TG ở các lô nghiên cứu
CKL-THV làm giảm các chỉ số cholesterol toàn phần, triglycerid máu chuột ở các lô trị so với lô mô hình.



Biểu đồ 3. 10. Nồng độ HDL ở các lô nghiên cứu
CKL-THV làm tăng nồng độ HDL-C tương đương với orlistat.

Biểu đồ 3. 11. Nồng độ LDL-C và non HDL-C ở các lô nghiên cứu



CKL-THV làm giảm các chỉ số LDL-C, non HDL-C của chuột ở các lô trị so với lô mô hình

3.2.2. Tác dụng hạ lipid máu

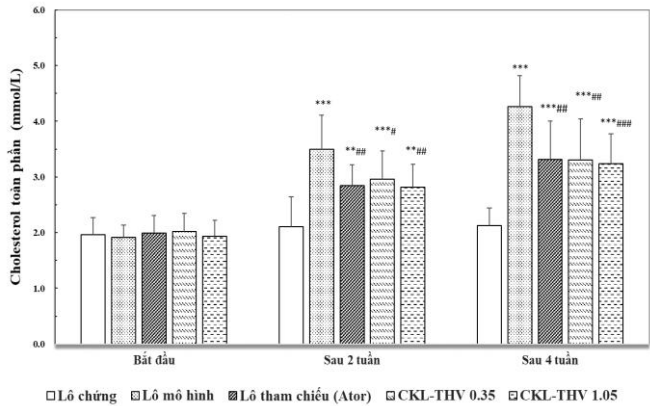
* Tác dụng trên mô hình tăng lipid máu nội sinh:

Bảng 3. 16. Ảnh hưởng của CKL-THV lên các chỉ số lipid máu

Chỉ số (n = 10, $\bar{X} \pm SD$)		Lô mô hình (2)	Lô Ator (3)	Lô CKL- THV 0,6 (4)	Lô CKL- THV 1,8 (5)
TC	Chỉ số (mmol/l)	2,76 ± 0,42	2,12 ± 0,31 ^{##}	2,03 ± 0,37 ^{##}	1,98 ± 0,55 ^{##}
	% thay đổi so với lô (2)	-	↓ 23,2 %	↓ 26,5 %	↓ 28,3 %
TG	Chỉ số (mmol/l)	1,04 ± 0,14	0,84 ± 0,10 ^{##}	0,82 ± 0,09 ^{##}	0,86 ± 0,09 ^{##}
	% thay đổi so với lô (2)	-	↓ 19,2 %	↓ 21,2 %	↓ 17,3 %
HDL	Chỉ số (mmol/l)	0,57 ± 0,09	0,56 ± 0,08	0,53 ± 0,11	0,53 ± 0,11
	% thay đổi so với lô (2)	-	↓ 1,8 %	↓ 7,0 %	↓ 7,0 %
LDL	Chỉ số (mmol/l)	1,72 ± 0,33	1,17 ± 0,30 ^{##}	1,13 ± 0,30 ^{##}	1,06 ± 0,46 ^{##}
	% thay đổi so với lô (2)	-	↓ 32,0 %	↓ 34,3 %	↓ 38,4 %
Non HDL	Chỉ số (mmol/l)	2,19 ± 0,37	1,56 ± 0,29 ^{###}	1,51 ± 0,31 ^{###}	1,45 ± 0,47 ^{##}
	% thay đổi so với lô (2)	-	↓ 28,8 %	↓ 31,1 %	↓ 33,8 %

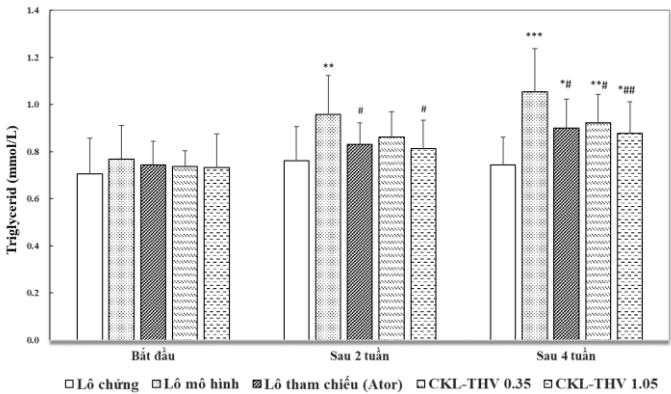
CKL-THV làm giảm các chỉ số TC, TG, LDL-C và non HDL-C máu chuột ở các lô trị so với lô mô hình ($p<0,01$). Không có sự khác biệt về chỉ số HDL-C.

* Tác dụng trên mô hình tăng lipid máu ngoại sinh:



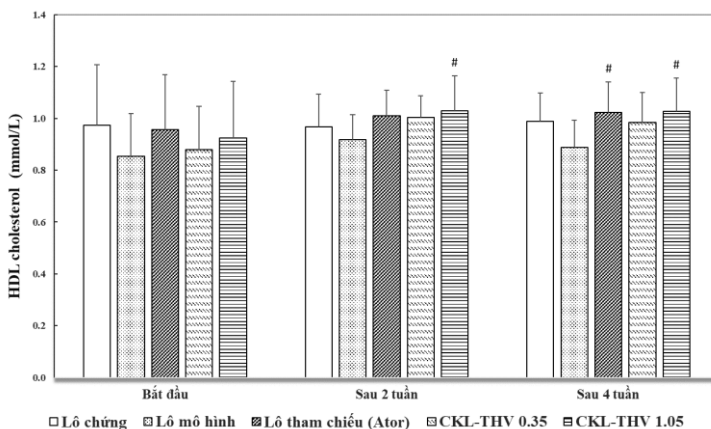
Biểu đồ 3. 12. Nồng độ TC ở các lô nghiên cứu

Sau 2 tuần, CKL-THV làm giảm chỉ số TC ở các lô trị so với lô mô hình. Sau 4 tuần, làm giảm cả TC và TG ở các lô trị.

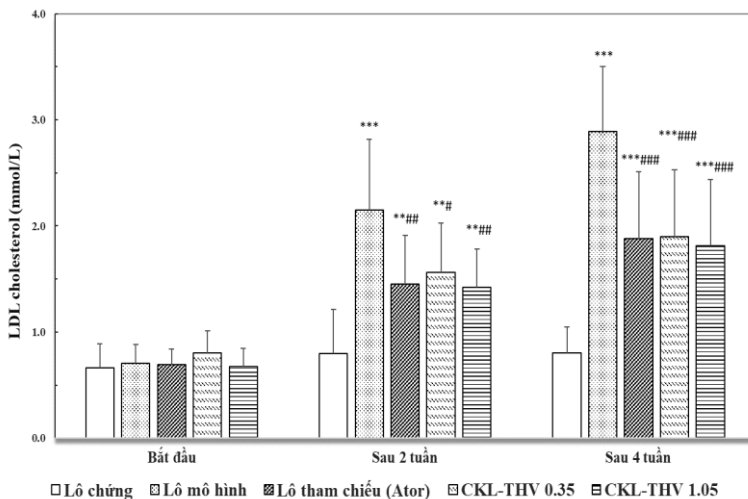


Biểu đồ 3. 13. Nồng độ TG ở các lô nghiên cứu

Sau 4 tuần, CKL-THV làm giảm TG ở các lô trị so với lô mô hình



Biểu đồ 3. 14. Nồng độ HDL-C ở các lô nghiên cứu
CKL-THV liều 1,05 g/kg/24h làm tăng HDL-C từ tuần thứ 2.



Biểu đồ 3. 15. Nồng độ LDL-C ở các lô nghiên cứu
CKL-THV làm giảm chỉ số LDL-C ở các lô trị so với lô mô hình sau 2 tuần và 4 tuần.

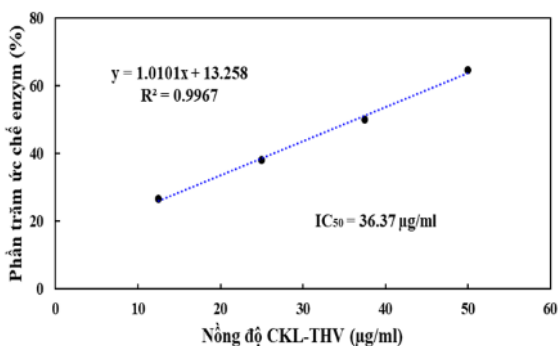
3.2.3. Cơ chế tác dụng trên in vitro

* Cơ chế ức chế enzym HMG-CoA reductase

Bảng 3.17. Phần trăm ức chế enzym HMG-CoA reductase

Dung dịch thử (µg/ml)	Phần trăm ức chế (%)
CKL-THV 12,5	26,5 ± 1,31
CKL-THV 25	38,1 ± 3,06
CKL-THV 37,5	50,0 ± 4,55
CKL-THV 50	64,6 ± 9,26
Pravastatin	85,6 ± 12,92

Khi tăng nồng độ CKL-THV từ 12,5 µg/ml lên 50 µg/ml, phần trăm ức chế enzym HMG-CoA reductase tăng tuyến tính từ 26,5% lên 64,6%. Vẽ biểu đồ đường tuyến tính giữa nồng độ CKL-THV và % ức chế enzym HMG-CoA reductase, ta được kết quả sau:



Biểu đồ 3. 18. Đường tuyến tính giữa nồng độ CKL-THV và % ức chế HMG-CoA reductase

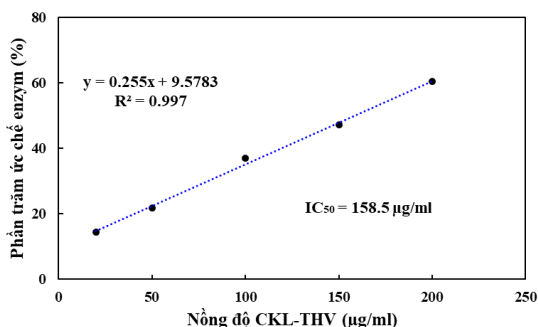
Nhận xét: Nồng độ ức chế 50% hoạt tính enzym HMG-CoA reductase của CKL-THV $IC_{50} = 36,37$ µg/ml.

* Cơ chế ức chế enzyme cholesterol esterase

Bảng 3.18. Phần trăm ức chế enzyme cholesterol esterase

Dung dịch thử ($\mu\text{g/ml}$)	Phần trăm ức chế (%)
CKL-THV 20	$14,4 \pm 1,28$
CKL-THV 50	$21,7 \pm 1,53$
CKL-THV 100	$36,9 \pm 2,66$
CKL-THV 150	$47,2 \pm 0,63$
CKL-THV 200	$60,4 \pm 3,17$

Khi tăng nồng độ CKL-THV từ 20 lên 200 $\mu\text{g/ml}$, phần trăm ức chế enzyme cholesterol esterase tăng tuyến tính từ 14,4% lên 60,4%.



Biểu đồ 3. 20. Đường tuyến tính giữa nồng độ CKL-THV và phần trăm ức chế cholesterol esterase

Nồng độ ức chế 50% hoạt tính enzyme cholesterol esterase của CKL-THV $IC_{50} = 158,5 \mu\text{g/ml}$.

CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN

4.1. Về nghiên cứu độc tính

4.1.1. Độc tính cấp

Trong 72 giờ sau khi uống CKL-THV và trong suốt 7 ngày sau đó, chuột ở tất cả các lô đều bình thường, lông mượt, không có biểu hiện khó thở hay tím tái. Các hoạt động ăn uống, vận động và bài tiết bình thường. Không có chuột chết hay bất kì dấu hiệu bất thường hoặc ngộ độc nào. Chuột đã uống đến liều 12,0 g/kg thể trọng (gấp 20 lần liều điều trị dự kiến trên người đã quy đổi sang chuột nhất) mà không có con nào chết, cũng như không thấy có bất kì biểu hiện bất thường nào. Do vậy, không xác định được LD50 của CKL-THV. Mức liều 12,0 g/kg là mức liều rất cao, cho phép khẳng định mẫu nghiên cứu có tính an toàn trong thử nghiệm độc tính cấp trên chuột nhắt trắng thực nghiệm. Đối chiếu theo phân loại độc tính cấp đường uống, CKL-THV được phân vào nhóm 5 ($LD_{50} > 5000$ mg/kg), loại gần như không độc.

4.1.2. Độc tính bán trường diễn

Các kết quả nghiên cứu về tình trạng chung, chỉ số huyết học, sinh hóa máu và hình ảnh đại thể, vi thể gan, thận, lách chuột cho thấy CKL-THV không ảnh hưởng đến tình trạng chung, sự phát triển thể trọng, các chức năng tạo máu, chức năng gan, thận, lách chuột nghiên cứu khi sử dụng các mức liều 0,35 g/kg/24h và 1,05 g/kg/24h, liên tục trong 90 ngày. Khi so sánh với các kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của chế phẩm Trà hoa vàng khác như *Camellia euphlebia*, chúng tôi nhận thấy CKL-THV *Camellia hakodae* an toàn hơn. Kết quả của chúng tôi tương đương với nghiên cứu của Nguyễn Hồng Hạnh và cộng sự trên dịch chiết lá *Camellia hakodae*. Các sản phẩm từ lá Trà hoa vàng *Camellia hakodae* dù là dịch chiết hay cao khô đều có tính an toàn cao trong các nghiên cứu thực nghiệm.

4.2. Về tác dụng chống béo phì, hạ lipid máu

4.2.1. Tác dụng chống béo phì

Chúng tôi đã xây dựng thành công mô hình chuột béo phì bằng chế độ ăn giàu chất béo HFD. Động vật thí nghiệm sử dụng chế độ ăn HFD làm tăng tổng năng lượng nạp vào cơ thể. Chất béo bão hòa từ các thành phần như mỡ lợn, bơ, sữa bột nguyên kem, sữa đặc có khả năng làm tăng mức LDL cholesterol và tích tụ mỡ nội tạng, từ đó dẫn đến béo phì.

CKL-THV làm giảm 2,55 đến 3,09% trọng lượng chuột béo phì. Trong CKL-THV có chứa polyphenol, đây là chất giúp tăng cường quá trình chuyển hóa năng lượng trong cơ thể, điều chỉnh tổng hợp lipid và điều chỉnh hệ vi khuẩn đường ruột. Ngoài ra, polyphenol còn có thể điều hòa các hormon như ghrelin và leptin, từ đó kiểm soát cảm giác thèm ăn, hỗ trợ giảm cân.

Ngoài ra, các polyphenol cũng được chứng minh có thể giúp cải thiện quá trình tiêu hao năng lượng, ngăn cản quá trình trưởng thành của tiền tế bào mỡ thành tế bào mỡ, tăng biểu hiện của adiponectin (một loại hormon do mô mỡ trong cơ thể tiết ra, có vai trò điều chỉnh lượng glucose và phân hủy acid béo). Mặc dù chưa làm giảm số đo vòng bụng chuột trong thời gian nghiên cứu nhưng tại thời điểm kết thúc thử nghiệm, CKL-THV làm giảm số đo vòng bụng chuột ở các lô trị so với lô mô hình có ý nghĩa

Chỉ số Lee của chuột sử dụng CKL-THV giảm từ 1,37 đến 1,66% so với thời điểm bắt đầu thử nghiệm chính thức. Chỉ số Lee được đánh giá phụ thuộc vào số đo cân nặng và chiều dài cơ thể chuột. Theo kết quả ở biểu đồ 3.2, sau 8 tuần, trọng lượng chuột ở các lô sử dụng CKL-THV đều giảm so với lô mô hình. Trong khi đó, các chuột nghiên cứu đều là chuột trưởng thành, chiều dài chuột thay đổi không đáng kể

trong suốt thời gian nghiên cứu. Do trọng lượng cơ thể chuột giảm trong khi chiều dài thay đổi không đáng kể dẫn đến giảm chỉ số Lee.

Nghiên cứu về chỉ số mỡ, chúng tôi mới chỉ đánh giá được ảnh hưởng của CKL-THV trên chỉ số mỡ chung của cơ thể chứ chưa đánh giá được ảnh hưởng trên từng phần mỡ khác nhau của cơ thể như chỉ số mỡ mào tinh hoàn, chỉ số mỡ sau phúc mạc... Các lô sử dụng CKL-THV đều có sự khác biệt về chỉ số mỡ chung của cơ thể ($p<0,01$), tuy nhiên, khi so sánh với lô mô hình, chưa nhận thấy có sự khác biệt.

Trọng lượng các tạng ở lô sử dụng orlistat và CKL-THV đều giảm so với lô mô hình ($p<0,001$). Việc giảm trọng lượng các tạng liên quan đến việc giảm trọng lượng cơ thể chuột được điều trị bằng orlistat hoặc CKL-THV. Trọng lượng tương đối của các tạng phản ánh mức độ thay đổi của các tạng trong cơ thể so với sự thay đổi tổng thể về trọng lượng cơ thể. Khi tổng trọng lượng cơ thể tăng, trọng lượng tuyệt đối của các tạng có thể tăng lên, nhưng trọng lượng tương đối của các tạng thì chưa chắc có sự thay đổi. CKL-THV ảnh hưởng không nhiều đến trọng lượng tương đối của các tạng tim, gan, thận, lách của chuột béo phì. Sử dụng CKL-THV liều cao (1,05 g/kg/24h) chỉ làm giảm trọng lượng tương đối của tạng gan so với lô mô hình ($p<0,05$), còn các tạng khác không thay đổi.

Polyphenol trong Trà hoa vàng được chứng minh chứng minh có tác dụng kích hoạt AMPK (protein kinase hoạt hóa mono phosphat 5' adenosin) dẫn đến làm giảm cholesterol, tổng hợp acid béo và hình thành triglycerid. Các lô sử dụng CKL-THV cũng làm giảm các chỉ số TC, TG, LDL-C, non HDL-C, tăng HDL-C so với lô mô hình có ý nghĩa thống kê.

4.2.2. Tác dụng hạ lipid máu

Kết quả nghiên cứu tác dụng hạ lipid máu nội sinh của CKL-THV (bảng 3.16) cho thấy, CKL-THV làm giảm các chỉ số lipid máu chuột (TC, TG, LDL và non HDL) có ý nghĩa thống kê. Cụ thể, so với lô mô hình, lô sử dụng CKL-THV liều 0,6 g/kg/24h làm giảm 26,5% TC, giảm 21,2% TG, giảm 34,3% LDL và giảm 31,1% non HDL. Lô sử dụng CKL-THV liều 1,8 g/kg/24h làm giảm 28,3% TC; giảm 17, 3% TG, giảm 38,4% LDL và giảm 33,8% non HDL so với lô mô hình. Theo con đường ngoại sinh, so với lô mô hình, CKL-THV liều 0,35g/kg/24h làm giảm các chỉ số non HDL-C ($p<0,01$), TC và LDL-C ($p<0,05$) sau 2 tuần. Chỉ số TG có giảm nhẹ nhưng không có ý nghĩa ($p<0,05$). Tuy nhiên, tới tuần thứ 4, tất cả các chỉ số trên đều giảm có ý nghĩa thống kê so với lô mô hình.

Trong khi đó, ở lô chuột sử dụng CKL-THV liều 1,05g/kg/24h, tất cả các chỉ số lipid máu đều thay đổi có ý nghĩa so với lô mô hình ngay sau tuần thứ hai sử dụng. Sang tới tuần thứ tư, xu hướng giảm các chỉ số mạnh hơn. Mức liều 1,05g/kg/24h có ảnh hưởng tới chỉ số HDL-C, làm tăng nồng độ cholesterol tốt trong máu chuột trong thời gian nghiên cứu ngay sau 2 tuần.

Các kết quả nghiên cứu về tác dụng hạ lipid máu của CKL-THV theo con đường nội sinh và ngoại sinh hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đó về Trà hoa vàng. Các chế phẩm chiết xuất từ các loài Trà hoa vàng khác nhau cũng được chứng minh có tác dụng làm giảm nồng độ TC, TG và LDL-C như cao chiết nước và cao chiết ethanol từ hoa *Camellia euphlebia*, chiết xuất ethanol của hoa *Camellia nitidissima*, cao đặc chiết xuất từ hoa và cao đặc chiết xuất từ lá *Camellia flava*. Các nghiên cứu về thành phần hóa học của Trà hoa vàng cho thấy các hợp chất chính tương tự như trà xanh như

phenolic, flavonoid, saponin, polysaccarid, acid amin và tinh dầu đều xuất hiện trong các mẫu hoa và lá trà. Trong đó polyphenol là hợp chất quan trọng nhất có tác dụng chống oxy hóa, chống ung thư, chống viêm, giảm cân và hạ lipid máu. Trên thực nghiệm, Trà hoa vàng *Camellia hakodae* Ninh hiện mới chỉ được nghiên cứu sử dụng dưới dạng hỗn hợp dịch chiết nước của lá với dược liệu giao cổ lam trên chuột nhắt béo phì. Trà hoa vàng *Camellia hakodae* dù là dạng dịch chiết hay cao khô, sử dụng đơn độc hay dưới dạng phối hợp cũng đều có tác dụng hạ lipid máu.

4.2.3. Cơ chế tác dụng trên in vitro

* Ức chế enzym HMG-CoA reductase:

CKL-THV có khả năng ức chế hoạt động của enzym HMG-CoA reductase và khả năng ức chế này có mối liên quan tới nồng độ của dung dịch. Dựa vào mức giảm độ hấp thụ NADPH trong các phản ứng, chúng tôi tiến hành tính phần trăm ức chế enzym HMG-CoA reductase của CKL-THV ở các nồng độ khác nhau. Khi tăng nồng độ CKL-THV từ 12,5 µg/ml lên 50 µg/ml, phần trăm ức chế enzym HMG-CoA reductase cũng tăng tuyến tính từ 26,5% lên 64,6%.

Trong lá của Trà hoa vàng *Camellia hakodae* Ninh, Nguyễn Thanh Tuyền và cộng sự đã phân lập và xác định được 7 loại flavonid, 9 dẫn xuất triterpene pentacyclic và hai dẫn xuất triterpene loại ursane mới. Các hợp chất flavonoid được chứng minh là có thể liên kết với enzym HMG-CoA reductase. Một số hợp chất triterpen cũng đã được nghiên cứu và chứng minh có tác dụng ức chế HMG-CoA reductase. Như vậy, *Camellia hakodae* Ninh được coi là loài có tiềm năng, có tác dụng ức chế enzym HMG-CoA reductase, từ đó ức chế tổng hợp cholesterol trong điều trị rối loạn lipid máu. Dựa vào tỉ lệ phần trăm ức chế enzym HMG-CoA reductase của các dung dịch CKL-THV,

chúng tôi xác định được nồng độ ức chế 50% hoạt tính enzym IC₅₀ là 36,37 µg/ml. Giá trị này góp phần chứng tỏ CKL-THV có khả năng làm giảm tổng hợp cholesterol nội sinh trong cơ thể, có ý nghĩa tích cực trong điều trị rối loạn lipid máu.

* Ức chế enzym cholesterol esterase:

Kết quả ở bảng 3.18 và biểu đồ 3.20 cho thấy: Khi tăng nồng độ CKL-THV từ 20 µg/ml lên 200 µg/ml, phần trăm ức chế enzym cholesterol esterase cũng tăng tuyến tính từ 14,4% lên 60,4%. Dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính, chúng tôi đã xác định được giá trị IC₅₀ của CKL-THV là 158,5 µg/ml. Kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học cho thấy lá của Trà hoa vàng *Camellia hakodae* Ninh có chứa 7 loại flavonoid. Đây là nhóm chất đại diện cho nhóm polyphenol. Một số nghiên cứu đã chứng minh được tác dụng ức chế enzym cholesterol esterase của các chế phẩm có chứa polyphenol. Như vậy, CKL-THV có thể được coi là một chế phẩm tiềm năng, có tác dụng ức chế enzym cholesterol esterase tốt, góp phần làm giảm hấp thu cholesterol, từ đó giúp kiểm soát cholesterol máu và hỗ trợ chống béo phì.

Các kết quả đánh giá cơ chế tác dụng ức chế enzym HMG-CoA reductase và enzym cholesterol esterase trong các thử nghiệm in vitro trên góp phần cung cấp thêm bằng chứng về cơ chế tác dụng điều trị rối loạn lipid máu và chống béo phì của CKL-THV.

KẾT LUẬN

1. Cao khô lá cây Trà hoa vàng *Camellia hakodae* Ninh an toàn trong thử nghiệm độc tính cấp và độc tính bán trường diễn trên thực nghiệm.

- CKL-THV an toàn trong thử nghiệm độc tính cấp trên chuột nhắt trắng. Mức liều tối đa được sử dụng là 12,0 g/kg/24h mà không có chuột nào chết, cũng như không thấy có bất kì biểu hiện bất thường nào, do đó không xác định được liều LD50.

- CKL-THV an toàn trong thử nghiệm độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng. Cụ thể, CKL-THV ở các mức liều 0,35 và 1,05 g/kg/24h không gây ảnh hưởng tới sự phát triển chung của chuột, không ảnh hưởng tới các chỉ số huyết học, sinh hóa máu và chức năng gan, thận, lách của chuột.

2. 2. Cao khô lá cây Trà hoa vàng *Camellia hakodae* Ninh có tác dụng hỗ trợ điều trị béo phì và hạ lipid máu

- CKL-THV liều 0,35 g/kg/24h và 1,05g/kg/24h có tác dụng hỗ trợ điều trị béo phì trên động vật thực nghiệm trong thử nghiệm in vivo. Làm giảm 2,55% đến 3,09% trọng lượng chuột béo phì, tương đương với orlistat và không phụ thuộc vào liều dùng; Làm giảm vòng bụng của chuột so với lô mô hình. Tuy nhiên, trong cùng lô, chưa làm giảm số đo vòng bụng chuột béo phì trong thời gian nghiên cứu; Làm giảm trọng lượng mỡ cơ thể, không phụ thuộc vào liều lượng sử dụng. Tuy nhiên chưa làm giảm chỉ số mỡ của cơ thể; Làm giảm từ 1,37% đến 1,66% chỉ số béo phì Lee, tác dụng này tương đương với orlistat và không phụ thuộc vào liều dùng; Làm giảm trọng lượng tuyệt đối các tạng tim, gan, thận, lách, hiệu quả thay đổi theo liều dùng. Tuy nhiên chỉ ghi nhận sự giảm trọng lượng tương đối của tạng gan khi sử dụng CKL-THV liều 1,05 g/kg/24h; Làm giảm các chỉ số lipid máu TC, TG,

LDL-C, non HDL-C và tăng chỉ số HDL-C. Tác dụng này kém orlistat và hiệu quả tác dụng thay đổi theo liều dùng.

- CKL-THV có tác dụng hạ lipid máu trên động vật thực nghiệm theo con đường nội sinh và ngoại sinh trong thử nghiệm in vivo.

+ CKL-THV liều 0,6 và 1,8 g/kg/24h làm giảm các chỉ số TC, TG, LDL-C và non HDL-C ở chuột nhắt trắng gây tăng lipid máu nội sinh bằng P-407.

+ CKL-THV liều 0,35 và 1,05g/kg/24h làm giảm các chỉ số TC, TG, LDL-C, non HDL-C sớm và mạnh hơn TG trên chuột cống gây tăng lipid máu bằng hỗn hợp dầu cholesterol. CKL-THV liều 1,05 g/kg/24h làm tăng nồng độ HDL-C có ý nghĩa.

- CKL-THV có cơ chế tác dụng ức chế enzym HMG-CoA reductase và cholesterol esterase trong thử nghiệm in vitro. Khả năng ức chế enzym HMG-CoA reductase của CKL-THV ($IC_{50} = 36,37 \mu g/ml$) mạnh hơn khả năng ức chế enzym cholesterol esterase ($158,5 \mu g/ml$).

KIẾN NGHỊ

Dựa trên các kết quả nghiên cứu đạt được về độc tính và tác dụng chống béo phì, hạ lipid máu của cao khô lá cây Trà hoa vàng *Camellia hakodae* Ninh, một số kiến nghị được đưa ra như sau:

1- Nghiên cứu thêm về cơ chế tác dụng chống béo phì của CKL-THV trên thử nghiệm in vitro về tác dụng ức chế enzym lipase tụy.

2- Nghiên cứu tác dụng chống béo phì và điều trị rối loạn lipid máu của chế phẩm CKL-THV trên lâm sàng.

CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI HỌC VIỆN QUÂN Y

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Nguyễn Hoàng Ngân
2. TS. Nguyễn Hồng Hạnh

Phản biện 1: PGS.TS Bùi Thanh Tùng

Phản biện 2: PGS.TS Cấn Văn Mão

Phản biện 3: PGS.TS Đoàn Cao Sơn

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường
vào hồi: giờ ngày tháng năm 2025

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Quốc Gia
2.
3.