

## THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN TIẾN SĨ

1. Họ và tên nghiên cứu sinh: Lê Huy Hoàng
2. Giới tính: Nam
3. Ngày sinh: 16/08/1981
4. Nơi sinh: Bắc Giang
5. Quyết định công nhận nghiên cứu sinh: 4860/QĐ-ĐHKHTN ngày 24/11/2014 của Hiệu trưởng Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội
6. Các thay đổi trong quá trình đào tạo: Quyết định gia hạn số 3548/QĐ-ĐHKHTN ngày 18/10/2017 và số 4728/QĐ-ĐHKHTN ngày 28/12/2018 của Hiệu trưởng Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội.
7. Tên đề tài luận án: Nghiên cứu quy trình thu nhận chế phẩm quercetin từ một số loài cây thuốc và đánh giá hoạt tính sinh học trên thực nghiệm
8. Chuyên ngành: Hóa sinh học
9. Mã số: 9420101.16
10. Cán bộ hướng dẫn khoa học: Hướng dẫn chính: PGS.TS. Nguyễn Quang Huy  
Hướng dẫn phụ: PGS.TS. Hồ Bá Do
11. Tóm tắt các kết quả mới của luận án:

- Luận án đã thiết lập được điều kiện sắc ký HPLC để phân tách và phát hiện hoạt chất quercetin trong dịch chiết đạt hiệu quả cao nhất, đáp ứng tốt tính chính xác, tính thích hợp hệ thống HPLC: thể tích mẫu 10  $\mu$ l, pha động methanol/axetonitril/H<sub>2</sub>O có tỷ lệ 15/65/20, tốc độ dòng 1,0 ml/phút, phân tách theo cách thức đẳng dòng qua cột ZORBAX SB-C18, nhiệt độ cột 25°C, thời gian 7 phút/mẫu, bước sóng 370 nm.

- Lần đầu tiên ở Việt Nam, luận án đã xây dựng được quy trình tạo chế phẩm chứa quercetin từ nụ hoa hòe và lá sen với độ tinh khiết khác nhau. Theo hai quy trình thiết lập đã thu nhận được chế phẩm quercetin bán tinh khiết từ dịch chiết toàn phần của nụ hoa hòe (H1) hoặc từ lá sen (S); thu nhận được chế phẩm quercetin tinh khiết (H2) từ rutin của nụ hoa hòe. Các chế phẩm H1, H2, S có chứa quercetin với phần trăm về hàm lượng tương ứng đạt 59,19 %, 90,02 % và 10,85 % .

- Luận án đã cung cấp bộ dữ liệu mới về hoạt tính sinh học trên *in vitro* và *in vivo* của các chế phẩm quercetin ở dạng tinh khiết thấp (H1) và tinh khiết cao (H2) được thu nhận từ nụ hoa hòe. Trên *in vitro*, chế phẩm H1, H2 có giá trị IC<sub>50</sub> của hoạt tính chống oxy hóa tương ứng đạt 13,62, 16,35  $\mu$ g/ml và hoạt tính kháng ung thư trên dòng tế bào ung thư trực tràng HCT116 tương ứng đạt 18,79; 19,53  $\mu$ g/ml. Trên *in vivo*, ở mức liều 20 mg/kg, các chế phẩm H1, H2 không gây độc và có tác dụng cải thiện tình trạng tổn thương do stress oxy hóa dưới ảnh hưởng của paracetamol hoặc nhiệt độ cao.

12. Khả năng ứng dụng thực tiễn:

Những kết quả nghiên cứu thu được góp phần định hướng cách thức thu nhận chế phẩm chứa quercetin từ cây thuốc, để gia tăng khả năng ứng dụng của quercetin theo hướng dinh dưỡng trị liệu cho cải thiện tình trạng stress oxy hóa liên quan đến tuổi, điều kiện sống, nghề nghiệp hoặc độc tính của thuốc trong điều trị.

13. Các hướng nghiên cứu tiếp theo:

- Tiếp tục nghiên cứu về mức độ điều hòa tín hiệu tế bào (cytokin, protein sốc nhiệt, hormone cortisol) để đánh giá sâu hơn hiệu quả gia tăng sức chịu đựng trong điều kiện stress bệnh lý (sử dụng paracetamol) hoặc trong điều kiện stress sinh lý (sốc nhiệt) của chế phẩm quercetin dạng bán tinh khiết từ nụ hoa hòe (H1) so sánh với quercetin chuẩn.

- Tiếp tục nghiên cứu trên khối lượng chiết xuất lớn hơn để tạo chế phẩm và tiếp tục tiêu chuẩn hóa các thành phần có lợi khác (không phải là quercetin) có thể có trong chế phẩm quercetin dạng bán tinh khiết từ nụ hoa hòe (H1) và lá sen (S).

14. Các công trình công bố liên quan đến luận án:

[1]. Do Thi Hai Anh, Le Huy Hoang, Kitsamone Shihavong, Nguyen Thai Uy, Nguyen Quang Huy (2016), “*In vitro* antibacterial activity of Quercetin containing extract from *Hibiscus sabdariffa* L. calyxes”, *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology* T. 32 (1S), tr. 147-152.

[2]. Lê Huy Hoàng, Đỗ Thị Hải Anh, Đỗ Thị Huệ, Trần Thị Kiều Oanh, Nguyễn Quang Huy (2017), “Xác định quercetin dạng tự do trong dịch chiết nụ hoa của cây Hòe (*Sophora japonica* L.) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao”, *Tạp chí Khoa học-Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, ĐHQGHN*, T.33 (1S), tr. 214-223.

[3]. Lê Huy Hoàng, Phạm Thị Phương, Nguyễn Thị Hạnh, Hồ Bá Do, Nguyễn Quang Huy (2019), “Nghiên cứu điều kiện thủy phân có hỗ trợ siêu âm để thu nhận và đánh giá hoạt tính chống oxi hoá của quercetin từ một số thực vật”, *Tạp chí Khoa học-Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, ĐHQGHN*, T.35 (4), tr. 88-95.

[4]. Lê Huy Hoàng, Phạm Thị Phương, Bùi Thị Vân Khánh, Hồ Bá Do, Nguyễn Quang Huy (2019), “Đánh giá hoạt tính của chế phẩm quercetin tách từ nụ hoa hòe (*Sophora japonica* L.) và lá sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.)”, *Tạp chí Dược học*, T. 519, tr. 55-58.

Ngày tháng năm 2020

**Người hướng dẫn luận án**

**Nghiên cứu sinh**

**PGS. TS. Nguyễn Quang Huy**

**Lê Huy Hoàng**

## INFORMATION ON DOCTORAL THESIS

1. Full name: Lê Huy Hoàng
2. Sex: Male
3. Date of birth: 16/08/1981
4. Place of birth: Bac Giang
5. Admission decision number: Decision No. 4860/QĐ-ĐHKHTN, dated on 24 November, 2014 by Rector of VNU University of Science
6. Changes in academic process: Decision No. 3548/QĐ-ĐHKHTN date on 18/10/2017 and Decision No. 4728/QĐ-ĐHKHTN date on 28/12/2018
7. Official thesis title: Research of an extraction process for obtaining a standardized extract of quercetin from some medicinal plants and their biological activity.
8. Major: Biochemistry
9. Code: 9420101.16
10. Supervisors: Assoc. Prof. Dr. Nguyen Quang Huy  
Assoc. Prof. Dr. Ho Ba Do

### 11. Summary of the new findings of the thesis

- The thesis has been established an HPLC method to simultaneously separate and detect quercetin compound in plant extracts with the highest efficiency. The separation was performed on a ZORBAX SB-C18 column which operated at 25 degrees C with the isocratic elution by using methanol/acetonitrile/H<sub>2</sub>O (15/65/20, v/v/v) as mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min and detection by DAD at 370 nm. The total run time was 7 minutes. The method meet the requirements of the accuracy as well as system suitability in HPLC analysis according to the ICH guidelines.

- The thesis has been shown for the first time in Vietnam that the standardized extract of quercetin which had different purity were obtained from the flower buds of *Sophora japonica* L or leaf of *Nelumbo nucifera* Gaertn. According to the process for obtaining a standardized extract of quercetin, the semi-purified extract, that was denoted either by H1 (from the flower buds of *Sophora japonica* L) or by S (from the leaf of *Nelumbo nucifera* Gaertn), as well as the purified extract that was denoted by H2 (from rutin that was isolated from the flower buds of *Sophora japonica* L) was obtained. This research has been determined that quercetin was found in all extracts the contents (% , weight) being highest in samples H2 (90.02%), H1 (59.19%), and S (10.85%).

- The thesis has been shown that the new data about biological activity *in vitro* and *in vivo* of both the semi-purified extract (H1) and the purified extract (H2) from the flower buds of *Sophora japonica* L. The H1 or H2 sample presented considerable biological properties including *in vitro* antioxidant activity by % DPPH free radical scavenging activity showing an IC<sub>50</sub> value of 413,62 or 16,35 µg/ml and anticancer activity evaluated by cytotoxicity assay against HCT116 colorectal cancer cell line with an IC<sub>50</sub> value of 18,79 or 19,53 µg/ml. *In vivo*, the H1 and H2 samples (at doses of 20 mg/kg) were non-toxic; improved antioxidant ability and protected liver mice in a normal state or in conditions of heat shock. Their samples had an

antioxidant activity as well as protected liver mice from being poisoned by the paracetamol drug.

12. Paractical applicability, if any:

These results contribute oriented method of obtaining the standardized extract of quercetin from the medicinal plants in order to promote the application of bioactive quercetin in nutritional therapy to ameliorate oxidative stress which related to age, living conditions, occupations or drug toxicity during treatment.

13. Further research directions, if any:

- Future research is required to evaluate the semi-purified extract (H1) for its effect on strength, stamina, and fatigue which related to paracetamol drug or heat stress based on the signaling molecules such as cytokines, heat shock proteins, hormones cortisol.

- Further research is needed the extraction of a larger mass of the flower buds of *Sophora japonica* L) or the leaf of *Nelumbo nucifera* Gaertn. This study for obtaining the standardized extract of quercetin (H1, S) in order to standardize compounds which is beneficial ingredients but not quercetin.

14. Thesis-related publications:

[1]. Do Thi Hai Anh, Le Huy Hoang, Kitsamone Shihavong, Nguyen Thai Uy, Nguyen Quang Huy (2016), “*In vitro* antibacterial activity of Quercetin containing extract from *Hibiscus sabdariffa* L. calyxes”, *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology* 32 (1S), 147-152.

[2] Le Huy Hoang, Do Thi Hai Anh, Do Thi Hue, Tran Thi Kieu Oanh, Nguyen Quang Huy (2016), “Determination of quercetin qglycone in flos *Sophorae japonicae* extract by high performance liquid chromatography”, *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology* 33 (1S), 214-223.

[3] Le Huy Hoang, Pham Thi Phuong, Nguyen Thi Hanh, Ho Ba Do, Nguyen Quang Huy (2019), “Study of ultrasound-assisted acid hydrolysis to obtain quercetin and their antioxidant activities from some plants”, *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology* 35 (4), 88-95.

[4] Le Huy Hoang, Pham Thi Phuong, Bui Thi Van Khanh, Ho Ba Do, Nguyen Quang Huy (2019), “Biological evaluation of the standardized quercetin extracts from the flos sopharae immaturus (of *Sophora japonica* L.) and the lotus leaves (of *Nelumbo nucifera* Gaertn.), *Pharmaceutical Journal* 519, 55-58.

Date:

**Supervisor**

**PhD Student**

**Assoc. Prof. Dr. Nguyen Quang Huy**

**Lê Huy Hoàng**