

Khảo sát hoạt tính chống oxy hoá, khả năng kháng tế bào ung thư HepG2 *in vitro*, hàm lượng flavonoid và hợp chất phenol toàn phần của cao methanol bốn loài thực vật tại vùng Bảy Núi, An Giang

Lê Minh Trí^{1,2}, Châu Ngọc Trọng Nghĩa¹, Nguyễn Thị Yến Nhi³, Huỳnh Thị Kim Ngân³, Nguyễn Minh Hiền^{1,*}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Ung thư gan đã và đang trở thành loại ung thư phổ biến trên thế giới và Việt Nam. Việc nghiên cứu tính gây độc trên dòng tế bào ung thư biểu mô gan người HepG2 trên *in vitro* trong việc sàng lọc các hoạt chất thực sự có khả năng điều trị ung thư có ý nghĩa quan trọng. Trong nghiên cứu này, dựa trên các tài liệu và kinh nghiệm dân gian trong việc sử dụng dược liệu Việt Nam để điều trị ung thư và các bệnh về gan, nhóm đã sàng lọc và khảo sát tính gây độc trên tế bào HepG2, khả năng chống oxy hóa và hàm lượng flavonoid, phenol toàn phần của các mẫu cao chiết trong methanol của lá Thần xạ hương (RLD1), rễ É lớn tròng (RLD9), lá Cà đại hoa trắng (RLD10) và thân rễ gừng gió (RLD7R). Kết quả cho thấy, ở nồng độ cao chiết 100 mg/L, mẫu RLD1 và RLD9 có khả năng kháng tế bào HepG2 mạnh với % tế bào sống sót lần lượt là $26,65 \pm 0,70\%$ và $26,16 \pm 1,76\%$. Tuy nhiên, hoạt tính chống oxy hóa của RLD1 yếu ($IC_{50} = 426,275 \pm 0,005$ mg/L), trong khi đó mẫu RLD9 cho thấy khả năng chống oxy hóa mạnh hơn ($IC_{50} = 24,320 \pm 0,031$ mg/L) và đồng thời có hàm lượng phenol toàn phần cao nhất ($97,44 \pm 1,46$ mg GAE/g cao chiết). Mẫu RLD7R tuy không có khả năng kháng tế bào HepG2 nhưng lại cho thấy hoạt tính chống oxy hóa rất nổi bật ($IC_{50} = 21,326 \pm 0,083$ mg/L) và hàm lượng flavonoid toàn phần cao nhất ($63,13 \pm 14,30$ mg QE/g cao chiết). Từ các kết quả này, nghiên cứu đã cho thấy tiềm năng của lá Thần xạ hương và rễ É lớn tròng trong hỗ trợ điều trị ung thư gan.

Từ khoá: HepG2, DPPH, flavonoid, phenol, GAE, QE

¹Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

²Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

³Khoa Khoa học Ứng dụng, Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Liên hệ

Nguyễn Minh Hiền, Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Email: nmhien@medvnu.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 01-10-2020
- Ngày chấp nhận: 15-12-2020
- Ngày đăng: 08-02-2021

DOI:



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



MỞ ĐẦU

Ung thư gan đang trở thành loại ung thư phổ biến trên thế giới và ở Việt Nam. Theo báo cáo của GLOBOCAN, năm 2018 Việt Nam có 25.335 ca mắc mới ung thư gan, đứng đầu trong toàn phần số ca mắc mới và tử vong do ung thư¹. Trong đó, ung thư biểu mô tế bào gan chiếm 75-85% trường hợp².

Thuốc cổ truyền Việt Nam từ lâu đã sử dụng nhiều dạng bào chế từ dược liệu hoặc một số vị thuốc để hỗ trợ điều trị các bệnh về gan và ung thư gan. Vì vậy, cần tiếp tục nghiên cứu những thực vật khác có hoạt tính và thực sự tác động trên tế bào ung thư gan nhằm giúp sàng lọc và định hướng sử dụng trong điều trị. Các nghiên cứu thường sử dụng tế bào ung thư biểu mô gan người HepG2 để nghiên cứu *in vitro* về tính gây độc tế bào do dòng tế bào HepG2 có tỷ lệ tăng sinh cao, hình thái giống biểu mô gan và thực hiện nhiều chức năng gan biệt hóa³. Ngoài ra, dòng tế bào HepG2 vốn được sử dụng nhiều trong các nghiên cứu liên quan đến khả năng chống oxy hóa và kháng ung thư *in vitro* của các hợp chất phenol⁴.

Dựa trên các tài liệu trong nước kết hợp cùng các kinh nghiệm dân gian trong điều trị các bệnh liên quan

đến gan, nhóm nghiên cứu đã tập trung sàng lọc hoạt tính kháng tế bào ung thư gan HepG2 của cây Cà đại hoa trắng (*Solanum torvum* Sw. họ Cà Solanaceae), cây É lớn tròng (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit. họ Hoa môi Lamiaceae), cây gừng gió (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. họ gừng Zingiberaceae), cây Thần xạ hương (*Luvunga scandens* họ Cam Rutaceae). Đồng thời khảo sát khả năng chống oxy hoá làm sạch các gốc tự do vì một trong những nguyên nhân dẫn đến ung thư gan là do các gốc tự do gây rối loạn chức năng của tế bào⁵. Trong dược liệu, hợp chất phenol và flavonoid được cho là có khả năng chống oxy hoá làm sạch gốc tự do⁶. Từ đây, sơ bộ xác định hàm lượng flavonoid toàn phần và phenol toàn phần trong các dược liệu trên.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU, HOÁ CHẤT, TRANG THIẾT BỊ VÀ ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Hóa chất, trang thiết bị và đối tượng nghiên cứu

Trích dẫn bài báo này: Trí L M, Nghĩa C N T, Nhi N T Y, Ngân H T K, Hiền N M. **Khảo sát hoạt tính chống oxy hoá, khả năng kháng tế bào ung thư HepG2 *in vitro*, hàm lượng flavonoid và hợp chất phenol toàn phần của cao methanol bốn loài thực vật tại vùng Bảy Núi, An Giang.** *Sci. Tech. Dev. J. - Health Sci.*; 1(2):86-93.

Hoá chất

Chất đối chiếu Acid gallic (GA, Sigma-Aldrich, Số lô: SLCB 2701, hàm lượng: 97,5-102,5%), Quercetin (Viện kiểm nghiệm thuốc TP.HCM, Số lô: QT104 140520, hàm lượng: 95,8%, Acid ascorbic (Xilong Scientific, Số lô: 190516 2, hàm lượng \geq 99,7%), Doxorubicin (Merck), Dimethyl sulfoxide (DMSO, Merck), Thuốc thử Folin-Ciocalteu pha sẵn (Merck), Aluminium chloride hexahydrate (Xilong Scientific), Sodium carbonate anhydrous (Xilong Scientific), Methanol (Xilong Scientific), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma-Aldrich), Môi trường Eagle sửa đổi của Dulbecco (DMEM, Sigma-Aldrich), MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) (Sigma-Aldrich).

Thiết bị

Dụng cụ: Pipette bầu (Brand, Đức), Bình định mức (Brand, Đức), Micropipette (Eppendorf, Đức).
Thiết bị: Cân phân tích ABS220-4N (Kern, Philippines), Máy quang phổ UV-Vis Shimadzu UV 1800 (Nhật Bản), Máy cô quay chân không Stuart RE300 (Anh), Máy đo quang phổ và độ hấp thụ Multiskan Ascent (Thermo Scientific, Mỹ), Tủ ấm CO₂ (NuAire, Mỹ).

Đối tượng nghiên cứu

- Thân xạ hương (*Luvunga scandens* họ Cam Rutaceae).
- É lớn trồng (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit. họ Hoa môi Lamiaceae).
- Cà dại hoa trắng (*Solanum torvum* Sw. họ Cà Solanaceae).
- Gừng gió (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. họ Gừng Zingiberaceae).
- Tế bào ung thư gan HepG2.

Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị cao chiết

Các mẫu Lá thân xạ hương (RLD1), Thân rễ gừng gió (RLD7R), Rễ é lớn trồng (RLD9) và Lá cà dại hoa trắng (RLD10) được các tác giả thu hái ở huyện Tịnh Biên, tỉnh An Giang vào tháng 10/2019. Mẫu được liệu được định danh theo hệ thống phân loại của Phạm Hoàng Hộ, 2003. Mẫu sau khi thu thập rửa sạch, để ráo, cắt nhỏ và sấy ở 50 °C trong vòng 7 ngày để khô hoàn toàn. Mẫu sau đó được nghiền nhỏ, rây đều bằng rây inox 1 mm. Cân 20 g mẫu đã rây, ngâm trong methanol trong 3 ngày. Lọc thu lấy dịch lọc, thu hồi methanol bằng máy cô quay chân không để thu được cao methanol tương ứng với các dược liệu chiết.

Hiệu quả kháng tế bào ung thư gan HepG2

Tế bào ung thư gan HepG2 được cung cấp bởi Trung tâm nghiên cứu và thu thập nguồn sinh học (Bioresource Collection and Research Center-BCRC, Hsinchu, Taiwan). Tất cả các tế bào được duy trì trong môi trường Eagle sửa đổi của Dulbecco (DMEM) và được bổ sung 10% huyết thanh thai bò (FBS-Gibco). Tế bào được nuôi ở 37 °C, 5% CO₂.

1×10⁴ tế bào HepG2 được gieo vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng. Cao chiết pha loãng trong DMSO thành nồng độ 100 mg/L được thêm vào, ủ trong 48 tiếng. Môi trường nuôi cấy sau đó được thay bằng môi trường với MTT có nồng độ cuối là 0,5 mg/mL và tiếp tục ủ trong 4 tiếng. Máy đo quang phổ và độ hấp thụ Multiskan Ascent được dùng để xác định các tinh thể formazan hoà tan trong DMSO ở bước sóng 550 nm^{7,8}. Phần trăm tế bào sống sót được tính theo công thức:

$$\% \text{ Tế bào sống sót (\%TBSS)} = \text{OD}_{\text{test}} / \text{OD}_{\text{control}} \times 100\%$$

Mỗi thí nghiệm được thực hiện 3 lần nhằm xác định %TBSS quy về giá trị trung bình \pm sai số chuẩn. Các tế bào được xử lý với một dãy nồng độ pha loãng của Doxorubicin từ 0,5-5,0 μ M trong 48 tiếng làm mẫu đối chứng dương và tính toán giá trị IC₅₀ của Doxorubicin đối với HepG2.

Hiệu quả chống oxy hoá

Hoạt tính chống oxy hoá của cao chiết được đánh giá thông qua khả năng trung hoà gốc DPPH⁹. Các mẫu chiết được pha thành các dải nồng độ khác nhau trong methanol, cụ thể: RLD1 (150-550 mg/L), RLD7R (10-50 mg/L), RLD9 (10-30 mg/L), RLD10 (150-550 mg/L). Sau đó, lần lượt thêm vào 1,1 mL dung dịch DPPH 0,2 mM trong methanol và methanol sao cho hỗn hợp phản ứng có thể tích 3 mL. Hỗn hợp được giữ trong tối ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Song song với mỗi mẫu chiết, tiến hành chuẩn bị mẫu đối chứng là mẫu với cùng điều kiện nhưng không có dung dịch mẫu chiết. Độ hấp thụ của các mẫu được đo ở bước sóng 516 nm ứng với đỉnh hấp thụ cực đại bằng máy quang phổ UV-Vis Shimadzu UV 1800 với mẫu trắng là methanol. Mỗi mẫu được chuẩn bị và đo 3 lần.

Hoạt tính khử gốc tự do DPPH được đánh giá thông qua giá trị phần trăm loại bỏ SC% và được tính theo công thức:

$$SC\% = \frac{Ac - At}{Ac} \times 100$$

Trong đó: SC%: phần trăm loại bỏ gốc tự do DPPH, Ac: Độ hấp thụ của mẫu đối chứng, At: Độ hấp thụ của mẫu thử.

Tác dụng chống oxy hóa của mẫu chiết được so sánh với chất chuẩn là Acid ascorbic. Giá trị IC₅₀ của các mẫu chiết được tính tại điểm đập tắt 50% gốc tự do DPPH dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng.

Xác định hàm lượng flavonoid toàn phần

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định theo phương pháp so màu phức nhôm-flavonoid của Christ và Müller, 1960 có hiệu chỉnh¹⁰. Nghiên cứu của Pekał và Pyrzyńska (2014) về sau cho thấy việc bổ sung muối acetat (ở dạng CH₃COOK hoặc CH₃COONH₄) là không cần thiết vì khi có và không có chúng, các giá trị của độ hấp thụ là tương tự nhau¹¹. Đường chuẩn được chuẩn bị bằng cách hút chính xác 0,4 mL; 0,8 mL; 1,6 mL; 2,4 mL; 3,2 mL và 4,0 mL dung dịch chuẩn Quercetin 250 mg/L trong methanol vào các bình định mức 20 mL. Thêm 2,5 mL AlCl₃ 8% vào bình và lắc nhẹ sau đó định mức lên đến vạch bằng nước cất. Các mẫu trắng được chuẩn bị tương tự, nhưng dung dịch AlCl₃ 8% được thay bằng lượng nước cất tương đương. Hỗn hợp được ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút và sau đó các dung dịch được đo độ hấp thụ bằng máy quang phổ UV-Vis Shimadzu UV 1800 ở bước sóng 429 nm. Mỗi mẫu chuẩn bị được đo 3 lần.

Hút chính xác 3 mL; 5 mL; 7 mL và 9 mL dung dịch cao chiết có nồng độ 1000 mg/L vào các bình định mức 20 mL. Các bước tiếp theo thực hiện tương tự như khi xây dựng đường chuẩn. Các dung dịch chứa mẫu cao chiết được đo độ hấp thụ để xác định nồng độ. Các mẫu RLD1, RLD9, RLD10 được xác định với dãy nồng độ 150-450 mg/L, riêng mẫu RLD7R, dãy nồng độ được giảm xuống 25-100 mg/L. Hàm lượng flavonoid toàn phần được biểu diễn tương đương mg QE/g cao chiết theo công thức:

$$F = a \times V/m$$

Trong đó: F: Hàm lượng flavonoid toàn phần (mg QE/g cao chiết), a: giá trị từ đường chuẩn với Quercetin (mg/L), V: thể tích dung dịch cao chiết (L), m: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

Xác định hàm lượng phenol toàn phần

Hàm lượng phenol toàn phần được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu¹². Phương pháp này dựa trên sự khử hoá của thuốc thử Folin-Ciocalteu với các nhóm hydroxy phenol tạo nên sản phẩm khử có màu xanh lam. Đường chuẩn được xây dựng bằng cách lấy chính xác 0,5 mL dung dịch chuẩn GA (khoảng nồng độ 50-1000 mg/L) cho vào các bình định mức 20 mL. Thêm vào mỗi bình 10 mL nước cất

và 1 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu. Lắc đều và ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong vòng 6 phút. Thêm vào mỗi bình 3 mL dung dịch Na₂CO₃ 20% và định mức đến đúng thể tích bằng nước cất. Hỗn hợp được lắc đều và ủ trong bóng tối ở nhiệt độ phòng trong vòng 2 giờ. Sau đó các dung dịch được đo độ hấp thụ bằng máy quang phổ UV-Vis Shimadzu UV 1800 ở bước sóng 751 nm với mẫu trắng là hỗn hợp của 1 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu, 3 mL Na₂CO₃ 20% và được định mức đến 20 mL bằng nước cất. Mỗi mẫu chuẩn bị được đo 3 lần.

Hút chính xác 0,5 mL; 1,5 mL; 2,5 mL; 3,5 mL và 4,5 mL dung dịch cao chiết với nồng độ 2000 mg/L vào các bình định mức 20 mL. Các bước tiếp theo thực hiện tương tự như khi xây dựng đường chuẩn. Các dung dịch chứa mẫu cao chiết được đo độ hấp thụ để xác định nồng độ phenol toàn phần, được biểu diễn tương đương mg GAE/g cao chiết theo công thức:

$$P = a \times V/m$$

Trong đó P: Hàm lượng phenol toàn phần (mg GAE/g cao chiết), a: giá trị từ đường chuẩn với Acid gallic (mg/L), V: thể tích dung dịch cao chiết (L), m: khối lượng cao chiết có trong thể tích V (g).

KẾT QUẢ

Hiệu suất chiết các mẫu dược liệu

Bảng 1: Hiệu suất chiết các mẫu dược liệu trong methanol

Cao chiết	Khối lượng cao chiết (gam)	Hiệu suất chiết
RLD1	5,14	25,70%
RLD9	1,32	6,60%
RLD10	2,76	13,80%
RLD7R	6,29	31,45%

Ghi chú: Hiệu suất chiết dược liệu được tính dựa trên 20 g bột dược liệu ban đầu đem ngâm trong methanol.

Từ kết quả bảng 1, hiệu suất chiết cao nhất là mẫu RLD7R (31,45%), giá trị này gấp 1,22 lần RLD1 (25,70%), 2,28 lần so với RLD10 (13,80%) và gấp 4,80 lần mẫu có hiệu suất chiết thấp nhất là RLD9 (6,60%).

Hiệu quả kháng tế bào ung thư gan HepG2

Hiệu quả kháng tế bào ung thư gan HepG2 của 4 loại cao chiết được trình bày trong Bảng 2.

Theo kết quả từ bảng 2, ở nồng độ cao chiết 100 mg/L, khả năng kháng tế bào ung thư gan HepG2 cao nhất ở lá thần xạ hương (RLD1) và rễ é lớn tròng (RLD9) với % tế bào HepG2 sống sót lần lượt là 26,65 ± 0,70% và

Bảng 2: Phần trăm tế bào HepG2 sống sót

Cao chiết	% Tế bào HepG2 sống sót
RLD1	26,65 ± 0,70
RLD9	26,16 ± 1,76
RLD10	75,33 ± 1,56
RLD7R	0,00 ± 4,46

Ghi chú: Mỗi thí nghiệm được thực hiện 3 lần và được biểu diễn bằng giá trị trung bình ± sai số chuẩn.

26,16 ± 1,76%. Lá cà đại hoa trắng (RLD10) kháng tế bào ung thư gan HepG2 thấp với %TBSS tế bào là 75,33 ± 1,56, gấp gần 3 lần so với mẫu RLD1 và RLD9. Thân rễ gừng gió (RLD7R) không kháng tế bào ung thư HepG2. Giá trị IC₅₀ của Doxorubicin đối với HepG2 là 1,67 ± 0,33 μM.

Khả năng chống oxy hoá

Sau khi tính toán giá trị SC% của các mẫu chiết, khả năng chống oxy hoá của các cao chiết được thể hiện trong bảng 3.

Kết quả trình bày trong bảng 3 cho thấy RLD7R chống oxy hoá mạnh nhất (IC₅₀ là 21,326 ± 0,083 mg/L), khả năng chống oxy hoá tương đương ở RLD9 (IC₅₀ là 24,320 ± 0,031 mg/L). Mẫu RLD1 và RLD10 không thể hiện khả năng chống oxy hoá (IC₅₀ lần lượt là 426,275 ± 0,005 mg/L và 541,104 ± 0,002 mg/L).

Xác định hàm lượng toàn phần flavonoid và phenol

Kết quả định lượng flavonoid và phenol toàn phần được trình bày trong bảng 4.

Theo kết quả trong bảng 4, hàm lượng flavonoid toàn phần của cao chiết RLD7R cao nhất trong các mẫu cao chiết (63,13 ± 14,30 mg QE/g cao chiết), gấp 1,7 lần so với RLD1 (38,11 ± 13,29 mg QE/g cao chiết), 5,3 lần so với RLD9 (12,52 ± 3,14 mg QE/g cao chiết) và 6,4 lần so với mẫu có hàm lượng thấp nhất là RLD10 (9,85 ± 0,94 mg QE/g cao chiết).

Hàm lượng phenol toàn phần của cao chiết RLD9 cao nhất trong các mẫu cao chiết (97,44 ± 1,46 mg GAE/g cao chiết), giá trị này gấp 1,8 lần mẫu RLD7R. Hai mẫu có hàm lượng phenol toàn phần thấp hơn là RLD10 (25,04 ± 2,09 mg GAE/g cao chiết), thấp hơn gần 4,0 lần so với RLD9 và RLD1 (17,44 ± 0,71 mg GAE/g cao chiết), thấp hơn 5,6 lần so với RLD9.

THẢO LUẬN

Hiệu quả kháng tế bào ung thư gan HepG2

Mặc dù lá thần xạ hương vốn đã được sử dụng từ lâu để trị bệnh gan nhưng nghiên cứu về khả năng

kháng tế bào ung thư gan HepG2 chưa được đẩy đủ¹⁴, nghiên cứu của Al-Zikri và cộng sự thì thân và lá loài này chỉ có khả năng gây độc tế bào ung thư biểu mô vú MCF-7¹⁵. Tương tự như lá thần xạ hương, cây é lớn trồng thường dùng trong dân gian để chữa cảm sốt và có khả năng kháng khuẩn tốt¹⁶. É lớn trồng đã được đánh giá tính gây độc trên tế bào ung thư biểu mô cổ tử cung Ehrlich (EAC) và kháng mạnh với EAC do kích hoạt sự chết theo chương trình của tế bào¹⁷. Tuy nhiên, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu khai thác khả năng kháng tế bào ung thư gan HepG2 trên hai loại dược liệu này. Từ kết quả khảo sát hoạt tính trên cho thấy trong 4 loài dược liệu thì lá thần xạ hương (RLD1) và rễ é lớn trồng (RLD9) có hoạt tính kháng tế bào ung thư gan HepG2 mạnh nhất. Ngoài ra, khả năng kháng tế bào ung thư gan HepG2 của lá loài RLD10 có hoạt tính yếu. Nghiên cứu của Lu và cộng sự, 2009 đã tìm ra 2 hợp chất glycosid là torvosid M, torvosid N và nghiên cứu của Viet Cuong và cộng sự, 2020 cũng tìm ra 4 hoạt chất steroid glycosid từ các bộ phận trên mặt đất của cà đại hoa trắng có hoạt tính kháng HepG2^{18,19}. Điều này cho thấy ở phần lá, các hoạt chất có khả năng kháng tế bào HepG2 có hàm lượng thấp so với các bộ phận khác như quả và thân. RLD7R hầu như không cho thấy khả năng kháng tế bào HepG2. Theo các nghiên cứu trước đây, RLD7R chủ yếu chứa tinh dầu, thành phần chủ yếu là zerumbon (75,2%) với hiệu suất chiết tinh dầu là 0,12%²⁰. Trong nghiên cứu của Sakinah, Handayani và cộng sự, 2007 đã chứng minh hoạt chất zerumbon có khả năng gây độc trên HepG2 với IC₅₀ là 3,45 ± 0,026 mg/L²¹. Tuy nhiên trong thử nghiệm thì mẫu cao chiết RLD7R hầu như không kháng tế bào HepG2. Điều này có thể giải thích do hiệu suất chiết zerumbon rất thấp, và ở nồng độ khảo sát của cao toàn phần hàm lượng zerumbon không đáng kể nên không cho thấy khả năng kháng HepG2.

Khả năng chống oxy hoá

Cao chiết RLD7R chống oxy hoá mạnh nhất (IC₅₀ là 21,326 ± 0,083 mg/L). Giá trị IC₅₀ RLD7R thấp hơn gần 20 lần so với kết quả của Nag và cộng sự, 2013 chiết xuất bằng ethanol với IC₅₀ là 417,14 mg/L²². Ngược lại, tinh dầu RLD7R cho kết quả khả năng chống oxy hoá rất mạnh với IC₅₀ là 1,60 mg/L²⁰. Sự khác biệt giá trị IC₅₀ do thành phần mẫu thu được phụ thuộc vào chất lượng mẫu đầu vào, phương pháp chiết xuất, đặc biệt là dung môi chiết xuất. Các nghiên cứu cũng cho thấy các hợp chất có tính chống oxy hoá, điển hình như hợp chất phenol tan tốt trong methanol hơn so với ethanol. Ngược lại với RLD7R là RLD1 có khả năng chống oxy hoá rất thấp. Thử nghiệm

Bảng 3: Hoạt tính chống oxy hóa của các cao chiết được thể hiện qua giá trị IC₅₀

Cao chiết	Phương trình hồi quy tuyến tính	IC ₅₀ (mg/L) ⁽¹⁾
RLD1	y = 0,0902x + 11,5505; R ₂ = 0,9595	426,275 ± 0,005
RLD9	y = 1,9151x + 3,4241; R ₂ = 0,9958	24,320 ± 0,031
RLD10	y = 0,1817x + 5,7918; R ₂ = 0,9835	541,104 ± 0,002
RLD7R	y = 1,6029x + 15,8173; R ₂ = 0,9741	21,326 ± 0,083
Acid ascorbic	y = 20,5706x + 13,7406; R ₂ = 0,9949	1,76 ± 0,46 ⁽²⁾ ¹³

*Ghi chú: (1): các giá trị trong cột này được xác định dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng tại giá trị ức chế 50% DPPH (y = 50%) ± sai số chuẩn của phương trình hồi quy tuyến tính với P<0,05. Mỗi mẫu chuẩn bị được đo 3 lần. (2): Giá trị này thấp hơn trong nghiên cứu của Aryal S và cộng sự, cụ thể là 3,276 mg/L

Bảng 4: Hàm lượng phenol và flavonoid toàn phần trong các mẫu cao chiết

Cao chiết	Hàm lượng flavonoid toàn phần (mg QE/g cao chiết) ⁽¹⁾	Hàm lượng phenol toàn phần (mg GAE/g cao chiết) ⁽²⁾
RLD1	38,11 ± 13,29	17,44 ± 0,71
RLD9	12,52 ± 3,14	97,44 ± 1,46
RLD10	9,85 ± 0,94	25,04 ± 2,09
RLD7R	63,13 ± 14,30	53,39 ± 4,98

*Ghi chú: (1): các giá trị trong cột này được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của Quercetin y = 0,0661x + 0,0938, R₂ = 0,9956, (2): các giá trị trong cột này được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của Gallic acid y = 0,1141x + 0,0072, R₂ = 0,9998. Mỗi mẫu được chuẩn bị và đo 3 lần. Các giá trị được biểu diễn có P<0,05.

khả năng chống oxy trên tinh dầu của quả thần xạ hương cho kết quả IC₅₀ là 3,61 mg/L¹⁷. Trong chiết xuất thân và rễ của thần xạ hương, Sirinut và cộng sự, 2017 đã phân lập được các hợp chất Isobutylglucosinolat có hoạt tính chống oxy hoá cao (IC₅₀ là 30,1 ± 0,2 mg/L)²³. Như vậy, lá thần xạ hương có khả năng chống oxy hoá mạnh tương đương các bộ phận khác. Tương tự như RLD1, cao chiết RLD10 cũng không thể hiện khả năng chống oxy hoá (IC₅₀ là 541,1040 ± 0,0024 mg/L). Giá trị này phù hợp với nghiên cứu của Acheampong và cộng sự, 2016 với IC₅₀ là 416,8 mg/L trong cùng điều kiện thí nghiệm và cao hơn mẫu chiết quả cà đại hoa trắng chiết xuất bằng ethanol với IC₅₀ là 180 mg/L Waghulde, Kamble và cộng sự, 2011^{24,25}. RLD9 là một trong những cao chiết chống oxy hoá mạnh (IC₅₀ là 24,320 ± 0,031 mg/L), chỉ sau RLD7R. Giá trị IC₅₀ này tương đương với thử nghiệm của Alok và cộng sự, 2010 trên lá é lớn trồng chiết xuất methanol với IC₅₀ là 24,56 mg/L²⁶. Hiện chưa có thử nghiệm khả năng chống oxy hoá của rễ é lớn trồng. Tuy nhiên các kết quả đều ủng hộ rằng các bộ phận của é lớn trồng đều có khả năng chống oxy hoá mạnh và tương đương nhau²⁷.

Hàm lượng toàn phần flavonoid và phenol

Theo kết quả trong bảng 4, hàm lượng flavonoid cao nhất ở RLD7R (63,13 ± 14,30 mg QE/g cao chiết).

Theo Ali Ghasemzadeh và cộng sự, 2016, hàm lượng flavonoid ở thân rễ gừng gió là 29,7 ± 4,11 mg QE/g cao chiết, giá trị này thấp hơn 2 lần so với kết quả của nghiên cứu²⁸. Thần xạ hương có hàm lượng flavonoid thấp hơn 1,7 lần so với thân rễ gừng gió. É lớn trồng có hàm lượng flavonoid thấp hơn 5,3 lần so với mẫu RLD7R. Ghafari H, Ghassam BJ và cộng sự, 2014 đã chiết xuất các bộ phận trên mặt đất của é lớn trồng bằng methanol và xác định hàm lượng flavonoid toàn phần là 28,58 ± 1,74 mg QE/g cao chiết, cao hơn 2 lần so với kết quả nhóm nghiên cứu²⁹. Khi nghiên cứu về mối liên hệ giữa các thành phần hoá học trong dược liệu với tính chống oxy hoá, Heim và cộng sự, 2002 đã chứng minh flavonoid có khả năng chống oxy hoá tốt³⁰. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, hàm lượng flavonoid cao không ảnh hưởng đến khả năng kháng oxy hoá.

Có thể thấy hai cao chiết có nồng độ phenol toàn phần cao nhất (RLD9 là 97,44 ± 1,46 mg GAE/g cao chiết và RLD7R là 53,39 ± 4,98 mg GAE/g cao chiết), khả năng chống oxy hoá tương ứng cũng mạnh nhất (IC₅₀ của RLD7R là 21,326 ± 0,083 mg/L và RLD9 là 24,320 ± 0,031 mg/L). Nghiên cứu của Ghafari H và Ghassam BJ, 2014 cho thấy khi chiết tất cả bộ phận trên mặt đất của é lớn trồng bằng methanol thu được hàm lượng phenol toàn phần (74,56 ± 1,33 mg GAE/g cao chiết) thấp hơn 1,3 lần so với kết quả của

nghiên cứu²⁹. Ở cây gừng gió, Akinola và cộng sự, 2014, chiết xuất bằng methanol, hàm lượng phenol toàn phần được xác định vào khoảng 6 mg GAE/g cao chiết³¹. Trong khi đó, hàm lượng phenol toàn phần của RLD7R là $53,39 \pm 4,98$ mg GAE/g cao chiết, là một trong hai dược liệu có hàm lượng phenol toàn phần cao nhất trong 4 loài khảo sát. Lá cà đại hoa trắng có hàm lượng phenol toàn phần thấp hơn thân rễ gừng gió. Trong nghiên cứu của Djouedam FG và cộng sự, 2019 chiết xuất lá cà đại hoa trắng bằng ethanol, hàm lượng phenol toàn phần là $29,64 \pm 0,59$ mg GAE/g cao chiết, tương đương với hàm lượng mẫu RLD10 dù khác hệ dung môi chiết xuất³². Giá trị này cũng tương đương với nghiên cứu Abdulkadir và cộng sự, 2016 với hàm lượng phenol toàn phần là $37,48 \pm 0,41$ mg GAE/g cao chiết từ lá trong methanol³³. Nghiên cứu khác của Wagholde, Kamble và cộng sự, 2011 chiết xuất quả cà đại hoa trắng bằng dung môi ethanol cho kết quả hàm lượng phenol là $99,52 \pm 0,42$ mg GAE/g cao chiết, cao gấp 4 lần hàm lượng ở lá. Thân xạ hương có hàm lượng phenol thấp nhất trong bốn mẫu dược liệu. Hàm lượng flavonoid toàn phần cho thấy mối tương quan với hoạt tính gây độc tế bào HepG2, trong khi đó hàm lượng phenol toàn phần tỉ lệ thuận với hoạt tính chống oxy hoá.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã chỉ ra tiềm năng kháng tế bào ung thư gan HepG2 của lá thần xạ hương và rễ é lớn trong vốn chưa được khảo sát nhiều về khả năng này (%TBSS lần lượt là $26,65 \pm 0,70\%$ và $26,16 \pm 1,76\%$). Đặc biệt ở lá thần xạ hương ít thể hiện khả năng chống oxy hoá ($IC_{50} = 426,275 \pm 0,005$ mg/L) nhưng lại kháng tốt với tế bào ung thư gan HepG2. Ngược lại, thân rễ gừng gió thể hiện khả năng chống oxy hoá rất tốt ($IC_{50} = 21,326 \pm 0,083$ mg/L), nhưng lại không kháng với tế bào HepG2 (%TBSS = $0,00 \pm 4,46\%$). Rễ é lớn trong cũng cho thấy khả năng chống oxy hoá mạnh với IC_{50} là $24,320 \pm 0,031$ mg/L. Lá cà đại hoa trắng không thể hiện khả năng chống oxy hoá ($IC_{50} = 541,104 \pm 0,002$ mg/L) và cũng kháng yếu tế bào ung thư gan HepG2 (%TBSS = $75,33 \pm 1,56\%$).

Với quy trình chiết xuất bằng dung môi methanol, hàm lượng phenol toàn phần cao nhất ở rễ é lớn trong ($97,44 \pm 1,46$ mg GAE/g cao chiết), thân rễ gừng gió ($53,39 \pm 4,98$ mg GAE/g cao chiết). Hàm lượng flavonoid toàn phần cao nhất ở thân rễ gừng gió ($63,13 \pm 14,30$ mg QE/g cao chiết), lá thần xạ hương ($38,11 \pm 13,29$ mg QE/g cao chiết).

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl.

DMSO: Dimethyl sulfoxide.
 DMEM: môi trường Eagle sửa đổi của Dulbecco - Dulbecco's Modified Eagle Medium.
 EAC: tế bào ung thư biểu mô cổ tử cung Ehrlich - Ehrlich Ascites Carcinoma.
 FBS: Huyết thanh thai bò - Fetal Bovine Serum.
 GA: Axit gallic - Gallic Acid.
 GAE: Tương đương Axit gallic - Gallic Acid Equivalent.
 IC₅₀: nồng độ ức chế tối đa 50% - The half maximal inhibitory concentration.
 MTT: 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide.
 QE: Tương đương Quercetin - Quercetin Equivalent.
 RLD1: Lá thần xạ hương.
 RLD9: Rễ é lớn trong.
 RLD10: Lá cà đại hoa trắng.
 RLD7R: Thân rễ gừng gió.

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Nhóm tác giả cam kết rằng không có xung đột lợi ích khi thực hiện nghiên cứu này.

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Tất cả các tác giả đều đóng góp vào việc thiết kế thí nghiệm, tiến hành thí nghiệm, tổng hợp, xử lý số liệu. Tất cả các tác giả đều tham gia vào việc giải thích số liệu, chỉnh sửa, hoàn thiện bản thảo.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số C2019-44-02 và được thực hiện tại phòng thí nghiệm Khoa Y, ĐHQG – HCM.

Chúng tôi cũng muốn gửi lời cảm ơn đến Giáo sư Hui-Chun Wang, Trường Dược, Đại học Y Cao Hùng, Cao Hùng, Đài Loan vì những hỗ trợ trong thí nghiệm khảo sát khả năng kháng tế bào HepG2.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. GLOBOCAN. Vietnam Fact Sheets 2019 [cited 2020 Sep 15]; Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/704-viet-nam-fact-sheets.pdf>.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424; PMID: 30207593. Available from: <https://doi.org/10.3322/caac.21492>.
3. Donato MT, Tolosa L, Gómez-Lechón MJ. Culture and functional characterization of human hepatoma HepG2 cells. *Methods Mol Biol*; 2015. p. 77-93; PMID: 26272135. Available from: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2074-7_5.
4. Chen M, Meng H, Zhao Y, Chen F, Yu S. Antioxidant and in vitro anticancer activities of phenols isolated from sugar beet molasses. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15(1):313; PMID: 26347338. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0847-5>.

5. Marra M, Sordelli IM, Lombardi A, Lamberti M, Tarantino L, Giudice A, et al. Molecular targets and oxidative stress biomarkers in hepatocellular carcinoma: an overview. *J Transl Med.* 2011;9(1):171;PMID: 21985599. Available from: <https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-171>.
6. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenol acids. *Free Radic Biol Med.* 1996;20(7):933-956; Available from: [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9).
7. Mosman, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival, Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J Immunol Methods.* 1983;65:55-63.; Available from: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
8. Kuo CY, Weng TS, Kumar KJS, Tseng YH, Tung TW, Wang SY, et al. Ethanol Extracts of Dietary Herb, *Alpinia nantoensis*, Exhibit Anticancer Potential in Human Breast Cancer Cells. *Integr Cancer Ther.* 2019;18.; PMID: 31409145. Available from: <https://doi.org/10.1177/1534735419866924>.
9. Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Sci Technol* 1995;28(1):25-30; Available from: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
10. Christ B, Müller KH. Zur serienmäßigen Bestimmung des Gehaltes an Flavonol-Derivaten in Drogen. *Arch Pharm.* 1960; 293:1033-1042; PMID: 13693338. Available from: <https://doi.org/10.1002/ardp.19602931202>.
11. Pękal A, Pyrzynska K. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Anal Methods.* 2014;7(9):1776-1782; Available from: <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>.
12. Waterhouse AL. Determination of Total Phenols. *Curr Protoc Food Anal Chem.* 2002;6(1): I1.1.1-11.1.8; Available from: <https://doi.org/10.1002/0471142913.fai0101s06>.
13. Aryal S, Baniya MK, Danekhu K, Kunwar P, Gurung R, Koirala N. Total phenol content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal. *Plants.* 2019;8(4):96.; PMID: 30978964. Available from: <https://doi.org/10.3390/plants8040096>.
14. Chi VV. *Cây thuốc An Giang. Ủy ban Khoa học - Kỹ thuật An Giang.* 1991,;
15. Al-Zikri PNH, Taher M, Susanti D, Ichwan SJA. Cytotoxic activity of *Luvunga scandens* against human cancer cell lines. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering).* 2016;78(10): 153-157; Available from: <https://doi.org/10.11113/jt.v78.7328>.
16. Mozhiyarasi P, Anuradha R. A study on phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Hyptis suaveolens* (L.) poit. *J Chem Pharm Res.* 2016;8(6):438-442; Available from: <https://www.semanticscholar.org/paper/A-study-on-phytochemical-analysis-and-antimicrobial-Mozhiyarasi-Anuradha/23fb3e70cfe43b2e23be8e64d9d710879bc15eb8>.
17. Dubey NK, Kumar A, Kumar A. Efficacy of *Luvunga scandens* Roxb. essential oil as antifungal, aflatoxin suppressor and antioxidant. *J Food Technol Pres.* 2017; 1:37-41; Available from: <https://www.alliedacademies.org/articles/efficacy-of-luvunga-scandens-roxb-essential-oil-as-antifungal-aflatoxin-suppressor-and-antioxidant.html>.
18. Lu Y, Luo J, Huang X, Kong L. Four new steroidal glycosides from *Solanum torvum* and their cytotoxic activities. *Steroids.* 2009;74(1):95-101.; PMID: 18950652. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2008.09.011>.
19. Cuong LCV, Lien LT, Phuong NTM, Thu VTK, Ha TP, Dat TTH, et al. Cytotoxic activity of steroidal glycosides from the aerial parts of *Solanum torvum* collected in Thua Thien Hue, Vietnam. *Nat Prod Res.* 2020;1-6.; PMID: 32608263. Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1788022>.
20. Singh CB, Chanu SB, Kh L, Swapana N, Cantrell C, Ross SA. Chemical composition and biological activity of the essential oil of rhizome of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith. *J Pharm Phytochem.* 2014;3:130-133; Available from: <https://pubag.nal.usda.gov/download/62328/PDF>.
21. Sakinah SA, Handayani ST, Hawariah LP. Zerumbone induced apoptosis in liver cancer cells via modulation of Bax/Bcl-2 ratio. *Cancer Cell Int.* 2007; 7.4.; PMID: 17407577. Available from: <https://doi.org/10.1186/1475-2867-7-4>.
22. Nag A, Bandyopadhyay M, Mukherjee A. Antioxidant activities and cytotoxicity of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith rhizome. *J Pharmacogn Phytochem.* 2013;2(3):102-108.; Available from: <http://www.phytojournal.com/archives/2013/vol2issue3/PartB/30.1.pdf>.
23. Sirinut P, Petchkongkeaw A, Romsaiyud J, Prateetongkum S, Thongyoo P. Phytochemical constituents from the root of *Luvunga scandens* and biological activity evaluation. *Nat Prod Comm.* 2017;12(9): 1438-1484; Available from: <https://doi.org/10.1177/1934578X1701200926>.
24. Acheampong ABM, Agyemang AY. Comparative total phenols and antioxidant activities of *Xanthosoma colocasia*, *Solanum torvum* and *Allium ascalonicum* L. *Inter J Chem Biomol Sci.* 2016;2(4):73-79; Available from: https://www.researchgate.net/profile/Akwasi_Acheampong3/publication/307918066_Comparative_Total_Phenols_and_Antioxidant_Activities_of_Xanthosoma_colocasia_Solanum_torvum_and_Allium_ascalonicum_L/links/57d1996408a6c399a38b812e.pdf.
25. Waghulde H, Kamble S, Patankar P, Jaiswal B, Pattanayak S, Bhagat C, et al. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of seeds of *Punica granatum* (Punicaceae) and *Solanum torvum* (Solanaceae). *Pharmacologyonline.* 2011;1:193-202; Available from: https://www.researchgate.net/profile/Harshal_Waghulde/publication/265806162_Antioxidant_Activity_Phenol_and_Flavonoid_Contents_of_Seeds_of_Punica_Granatum_Punicaceae_and_Solanum_Torvum_Solanaceae/links/54cb9a670cf2598f7117dbc6.pdf.
26. Alok S, Sanjay J, Monika S, Alok M, Padmini S, Prabodh S. In-vitro evaluation of antioxidant activity of leaves of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. *Int J Pharm Res.* 2010;1(2): 86-93; Available from: <https://www.ijpr.co.in/pdf/10-In-vitro-evaluation-of-antioxidant-activity-of-leaves-of-Hyptis-suaevolens-Poit.pdf>.
27. Oscar S-A, Antonio C-N, Marina G-V, Elsa R-S, Gabriel V-A. Phytochemical screening, antioxidant activity and in vitro biological evaluation of leave extracts of *Hyptis suaveolens* (L.) from south of Mexico. *S Afr J Bot.* 2020;128:62-66; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.016>.
28. Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Ashkani S, Rahmat A, Juraimi AS, Puteh A, et al. Variation in secondary metabolite production as well as antioxidant and antibacterial activities of *Zingiber zerumbet* (L.) at different stages of growth. *BMC Complement Altern Med.* 2016;16(1):104.; PMID: 27004511. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1072-6>.
29. Ghaffari H, Ghassam BJ, Nayaka SC, Kini KR, Prakash HS. Antioxidant and neuroprotective activities of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. against oxidative stress-induced neurotoxicity. *Cell Mol Neurobiol.* 2014;34(3):323-331; PMID: 24420496. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10571-013-0016-7>.
30. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem.* 2002;13(10):572-584; Available from: [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5).
31. Akinola AA, Ahmad S, Maziah M. Total anti-oxidant capacity, flavonoid, phenol acid and polyphenol content in ten selected species of *Zingiberaceae* rhizomes. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2014;11(3):7-13; PMID: 25371557. Available from: <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v11i3.2>.
32. Djouedam FG, Fowa AB, Fodouop CSP, Kodjio N, Gatsing D. *Solanum torvum* Sw.(Solanaceae): Phytochemical screening, antisalmonellal and antioxidant properties of leaves extracts. *J Med Plant Stud.* 2019;7(1):5-12; Available from: <https://www.plantsjournal.com/archives/2019/vol7issue1/PartA/6-6-15-674.pdf>.
33. Abdulkadir AR, Nashriyah M, Hasan MM, Jahan MS. In vitro antioxidant activity of the ethanolic extract from fruit, stem, and leaf of *Solanum torvum*. *Sci Asia.* 2016;42(3):184-189; Available from: <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2016.42.184>.