KHẢO SÁT HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA VÀ ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ GAN NGƯỜI HepG2 *IN VITRO* CỦA CÁC PHÂN ĐOẠN TỪ RỄ, THÂN XÁO TAM PHÂN [*Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill]

Trần Thị Thúy Quỳnh[1], Nguyễn Hồng Hạnh[2], Phan Thị Giang Thủy[1], Phạm Đông Phương[1], Đỗ Thị Hồng Tươi[1*]

1. Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

2. Bệnh viện Đa khoa khu vực Phía Nam Bình Thuận

**Email: hongtuoi@ump.edu.vn*

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: *Hiện nay, Xáo tam phân được dùng chữa một số loại ung thư nhưng các nghiên cứu về tác động này còn hạn chế ở Việt Nam.* ***Mục tiêu nghiên cứu:*** *Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và độc tế bào ung thư gan người HepG2 in vitro của các cao phân đoạn từ rễ, thân Xáo tam phân.* ***Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:*** *Chiết nóng thân, rễ Xáo tam phân với ethanol 96%, thu cao, hòa trong ethanol 25%, lắc phân bố lỏng - lỏng, lần lượt thu các cao phân đoạn n-hexan, cloroform, ethyl acetat, nước. Các cao được khảo sát hoạt tính chống oxy hóa in vitro bằng phương pháp DPPH và định lượng MDA; hoạt tính gây độc tế bào ung thư gan người HepG2 bằng test MTT sau 72 giờ xử lý tế bào.* ***Kết quả:*** *Các cao thể hiện hoạt tính oxy hóa in vitro giảm dần theo thứ tự: cao cloroform, cao ethyl acetat > cao n-hexan > cao nước với phương pháp DPPH và thứ tự: cao n-hexan > cao cloroform > cao ethyl acetat > cao nước với phương pháp định lượng MDA. Chỉ có các cao phân đoạn n-hexan, cloroform từ rễ Xáo tam phân thể hiện hoạt tính độc tế bào HepG2 sau 72 giờ xử lý tế bào với IC_{50} lần lượt là 36,76 µg/ml và 40,73 µg/ml; các cao phân đoạn từ thân và cao phân đoạn phân cực từ rễ không thể hiện hoặc thể hiện hoạt tính độc tế bào HepG2 yếu ở các nồng độ khảo sát.* ***Kết luận:*** *Các phân đoạn kém phân cực của rễ, thân Xáo tam phân thể hiện hoạt tính chống oxy và độc tế bào HepG2 in vitro mạnh hơn các phân đoạn phân cực.*

Từ khóa: *Xáo tam phân, hoạt tính chống oxy hóa, hoạt tính độc tế bào, tế bào HepG2.*

ABTRACT

STUDY ON *IN VITRO* ANTIOXIDANT AND CYTOTOXICITY IN HEPG2 CELLS OF FRACTION EXTRACTS FROM [*Paramignya trimera* (Oliv.) Burkill)]

Tran Thi Thuy Quynh[1], Nguyen Hong Hanh[2], Phan Thi Giang Thuy[1], Pham Đong Phuong[1], Do Thi Hong Tuoi[1*]

1.University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city

2. Binh Thuan Southern Regional General Hospital

Background*: Nowadays, Paramignya trimera (Oliv.) Burkill, Rutaceae has been used to treat some cancers; however, in Vietnam, the report on this pharmacological effect has limited.* ***Objectives:*** *The present work studied on in vitro antioxidant and cytotoxicity in HepG2 cells of extracts from Paramignya trimera (Oliv.) Burkill) to isolate their compounds according to guide of biological effects.* ***Materials and methods****: The stems, roots of P. trimera was hot extracted with 96% alcohol. The collected extract dissolved in 25% alcohol and liquid-liquid fractionated with n-hexan, chloroform, ethyl acetate and the residual aqueous fractions. The in vitro antioxidant activity was determined by DPPH and MDA methods. The in vitro cytotoxicity in HepG2 cells was assessed by MTT test after treating HepG2 cells with extracts during 72 hours.* ***Results:*** *In the DPPH method, the fractionned extracts expressed their in vitro antioxidant effects in the order: chloroform, ethyl acetat extracts > n-hexan extract > aqueous extract. In the MDA method, the in vitro antioxidant*

activity of tested extracts exhibited in the order: n-hexan extract > chloroform extract > ethyl acetate extract > aqueous extract. The n-hexan and chloroform extracts from P. trimera roots exhibed in vitro cytotoxicity in human hepatoma HepG2 after 72h-treatment with IC_{50} values of 36.76 µg/ml and 40.73 µg/ml, respectively. The fractioned extracts from P. trimera stems and polar extracts from P. trimera roots did not express or expressed weak cytotoxicity in HepG2 cells at the tested concentrations. ***Conclusion:*** *The non-polar fractioned extracts from roots, stems of P. trimera expresssed in vitro antioxidant activity and cytotoxicity in human hepatoma HepG2; these effects were stronger than those of polar fractioned extracts.*

Keywords: *Paramignya trimera (Oliv.) Burkill, Rutaceae; antioxidant activity, cytotoxicity, HepG2 cell.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các bệnh ung thư nói chung và bệnh ung thư gan nói riêng là những bệnh không lây nhiễm ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe cộng đồng, trở thành vấn đề sức khỏe cấp bách của nhiều nước trên thế giới. Theo Tổ chức quốc tế về ung thư (Global Cancer Observatory – GLOBOCAN) năm 2020, ung thư gan là loại ung thư phổ biến đứng thứ sáu trong tất cả các loại ung thư, trong đó ung thư biểu mô tế bào gan chiếm 80% số ca. Ở Việt Nam, năm 2020, tỷ lệ mắc mới ung thư gan là 26.418 ca, chiếm 14,5% tổng số ung thư với 25.272 ca bị tử vong chiếm 21% tổng số tử vong do ung thư [1].

Gần đây, tại Việt Nam, Xáo tam phân được sử dụng chữa một số loại ung thư. Theo Công văn số 359/VDL-QLKHĐT ngày 14/11/2012 của Viện Dược liệu, Bộ Y tế, mẫu Xáo tam phân [*Paramignya trimera* (Oliv) Burkill., họ Cam (Rutaceae)] thu hái ở Hòn Hèo, Khánh Hòa chứa các nhóm chất flavonoid, saponin, alkaloid, courmarin, triterpenoid,...; cao chiết methanol, phân đoạn n-hexan và hợp chất ostruthin phân lập từ thân Xáo tam phân thể hiện hoạt tính độc tế bào trên 5 dòng tế bào ung thư: ung thư gan người HepG2, ung thư đại tràng người HTC116, ung thư vú người MDA-MB-231, ung thư buồng trứng người OVCAR-8 và ung thư cổ tử cung người Hela, trong đó hoạt tính độc tế bào ung thư gan HepG2 và tế bào ung thư cổ tử cung Hela mạnh hơn trên 3 dòng tế bào còn lại [5]. Trịnh Hoàng Dương và cộng sự (2016) báo cáo coumarin và acridon alkaloid phân lập từ rễ Xáo tam phân thể hiện hoạt tính độc tính tế bào ung thư gan HepG2 với IC_{50} từ 30,53 - 62,90 µg/ml [3]. Một số nghiên cứu báo cáo độc tính cấp, tác dụng bảo vệ gan trên chuột nhắt gây tổn thương gan bằng CCl_4 hoặc paracetamol của cao chiết rễ, thân Xáo tam phân [2], [4]. Do đó, đề tài này khảo sát hoạt tính chống oxy hóa, độc tế bào ung thư gan người HepG2 *in vitro* của các cao chiết phân đoạn từ rễ và thân Xáo tam phân nhằm cung cấp cơ sở khoa học để nghiên cứu thành phần hóa học và lựa chọn bộ phận dùng phù hợp của dược liệu này theo định hướng hoạt tính sinh học.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1.1. Nguyên liệu

Rễ, thân Xáo tam phân được Lương y Nguyễn Đức Nghĩa thu hái ở đảo Hòn Lớn, vịnh Vân Phong, xã Vạn Thạnh, huyện Vạn Ninh, tỉnh Khánh Hòa vào tháng 3/2013 và đã được TS. Võ Văn Chi định danh. Dược liệu được cắt thành lát mỏng, phơi khô, xay cỡ bột thô để chiết xuất thu cao.

1.2. Hóa chất

Các dung môi n-hexan, cloroform, ethyl acetat, ethanol 96%, methanol… dùng loại AR mua từ Công ty Xi long, Trung Quốc. Môi trường EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium), huyết thanh bào thai bê (FCS), L-glutamin, penicilin-streptomycin, trypsin-EDTA, đệm phosphat (PBS) mua từ công ty Gibco (Hoa Kỳ); trypan blue, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid) (MTT) mua từ công ty Sigma-Aldrich (Hoa Kỳ); doxorubicin mua từ công ty Ebewe Pharma (Úc).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất cao dược liệu: Dược liệu được chiết xuất bằng phương pháp chiết nóng với ethanol 96% theo tỷ lệ 1 kg: 10 lít dung môi; thu hồi dung môi dưới áp suất giảm để thu cao ethanol 96% toàn phần. Hòa cao toàn phần trong ethanol 25% theo tỷ lệ 1: 5. Sau đó, lắc phân bố lỏng - lỏng với các dung môi n-hexan (50 lần, 100 ml/lần), cloroform (40 lần, 100 ml/lần), ethyl acetat (30 lần, 100 ml/lần), thu dịch và cô giảm áp thu lần lượt các cao phân đoạn n-hexan, cloroform, ethylacetat, nước để khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và độc tế bào ung thư gan người HepG2 *in vitro*.

Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* theo phương pháp DPPH [6]: Dùng 2 ml DPPH (nồng độ 0,2 mM trong methanol) cho vào 2 ml dung dịch mẫu thử có nồng độ khác nhau trong methanol. Hỗn hợp được lắc đều, ủ ở nhiệt độ phòng trong bóng tối. Đo OD sau 30 phút ở bước sóng 517 nm. Mẫu chứng được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng không sử dụng cao. Tiến hành 3 lần, lấy giá trị trung bình. Tính hoạt tính chống oxy hóa (HTCO): HTCO (%) = [($OD_{chứng}$ - $OD_{thử}$)/$OD_{chứng}$] x 100, trong đó: $OD_{chứng}$: độ hấp thu của mẫu chứng, $OD_{thử}$: độ hấp thu của mẫu thử. Thông qua phương trình hồi quy lập được, xác định EC_{50} (nồng độ có HTCO bằng 50%) của mẫu thử.

Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* theo phương pháp định lượng MDA [8]: Nghiền đồng thể gan chuột trong KCl 1,15% (tỉ lệ 1 g:10 ml) ở 0-5 ^oC. Dùng 0,1 ml mẫu thử ở các nồng độ khác nhau phản ứng với 0,5 ml dịch đồng thể gan. Thêm đệm phosphat 50 mM vừa đủ 2 ml, ủ hỗn hợp 15 phút ở 37 ^oC và dừng phản ứng bằng cách thêm 1 ml acid tricloacetic 10%. Sau khi ly tâm (3000 vòng/phút trong 10 phút), lấy 1 ml dịch trong phản ứng với 1 ml acid thiobarbituric 0,8% ở 100 ^oC trong 15 phút. Làm lạnh và đo OD ở bước sóng 532 nm. Mẫu chứng được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng không sử dụng cao thử. Thực hiện 3 lần, lấy giá trị trung bình. Tính hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) theo công thức: HTCO (%) = [($OD_{chứng}$ - $OD_{thử}$)/$OD_{chứng}$] x 100, trong đó: $OD_{chứng}$ và $OD_{thử}$: độ hấp thu của mẫu chứng và mẫu thử. Thông qua phương trình hồi quy lập được, xác định EC_{50} (nồng độ có HTCO bằng 50%) của mẫu thử.

Khảo sát hoạt tính độc tế bào ung thư gan người HepG2 *in vitro*

Chuẩn bị mẫu thử: Mẫu thử được chuẩn bị trong dimethyl sulfoxid (DMSO) ở nồng độ 10 mg/ml, bảo quản ở -20 ^oC, rã đông và pha loãng trong môi trường nuôi cấy để đạt các nồng độ khảo sát, lọc vô trùng qua màng lọc 0,22 µm trước khi xử lý tế bào.

Nuôi cấy tế bào: Tế bào HepG2 được nuôi cấy trong môi trường EMEM, bổ sung 10% FCS, 2 mM L-glutamin, 100 IU/ml penicilin, 100 µg/ml streptomycin trong bình nuôi cấy 75 cm^2, ủ ở 37 ^oC, 5% CO_2. Khi tế bào đạt độ phủ 70-80%, hút bỏ môi trường nuôi cấy, rửa tế bào với PBS. Ủ với trypsin ở 37 ^oC đến khi tế bào tách ra khỏi bề mặt bình. Thu huyền dịch tế bào, cấy chuyển sang bình nuôi cấy mới hoặc đếm số lượng, chia vào đĩa nuôi cấy 96 giếng để khảo sát hoạt tính độc tế bào gan người HepG2 của mẫu thử.

***Xử lý tế bào [7]*:** Tế bào HepG2 được nuôi cấy trong đĩa 96 giếng với mật độ 2,5 × 10^4/cm^2. Sau 24 giờ ủ ở 37 °C, 5% CO_2, thay môi trường và xử lý tế bào với mẫu thử ở các nồng độ khác nhau (12,5 - 100 µg/ml) hoặc mẫu đối chiếu doxorubicin 10 µg/ml trong 72 giờ. Loại bỏ môi trường nuôi cấy, bổ sung 100 µl môi trường nuôi cấy chứa MTT (0,05 mg/ml) vào mỗi giếng. Ủ 3 giờ ở 37 °C, 5% CO_2. Loại bỏ môi trường chứa MTT. Hòa tan tinh thể formazan tạo thành trong 100 µl dung dịch isopropanol acid hóa. Lắc rung trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo OD ở bước sóng 570 nm trên máy đọc microplate Multiskan™. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần với 6 mẫu cho 1 điều kiện nuôi cấy (1 nồng độ của mẫu thử). Mẫu thử được chuẩn bị trong DMSO, vì vậy mẫu chứng tiến hành đồng thời trong đó tế bào HepG2 được nuôi cấy trong môi trường bổ sung DMSO với nồng độ tương đương trong mẫu thử (1% và 0,5%). Các mẫu có nồng độ DMSO cuối cùng trong môi trường là 0,25% và 0,12% sử dụng chung mẫu chứng tế bào HepG2 nuôi cấy trong môi trường bình thường vì đây là những nồng độ không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của tế bào [9]. Tỷ lệ ức chế tăng trưởng tế bào được tính theo công thức: Tỷ lệ ức chế (%) = [($OD_{chứng}$ - $OD_{thử}$)/$OD_{chứng}$] x 100, trong đó: $OD_{chứng}$ và $OD_{thử}$: độ hấp thu của mẫu chứng và mẫu thử. Thông qua phương trình hồi quy lập được, xác định IC_{50} (nồng độ có tỷ lệ ức chế bằng 50%) của mẫu thử.

2.4. Phân tích kết quả và xử lý số liệu thống kê

Kết quả được xử lý bằng Microsoft Excel, trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (Mean ± SD) của 3 lần đối với hoạt tính chống oxy hóa và giá trị trung bình ± sai số chuẩn của giá trị trung bình (Mean ± SEM) của một thí nghiệm đại diện đối với hoạt tính độc tế bào, sau đó phân tích thống kê bằng phép kiểm Mann-Whitney trên phần mềm SPSS 20.0. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Chiết xuất các cao phân đoạn

Hiệu xuất chiết các cao phân đoạn từ rễ, thân Xáo tam phân được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Hiệu suất chiết của các cao phân đoạn phân cực từ Xáo tam phân

Khối lượng cao thu được từ 1000 g dược liệu			Hiệu suất chiết (%)	
	Rễ	Thân	Rễ	Thân
Cao n-hexan	19,11 g	5,4 g	1,91	0,54
Cao cloroform	44,44 g	8,55 g	4,44	0,86
Cao ethyl acetat	8,89 g	4,07 g	0,89	0,41
Cao nước	73,33 g	21,83 g	7,33	2,18

Nhận xét: Đối với rễ và thân Xáo tam phân, hiệu suất chiết các cao phân đoạn giảm dần theo thứ tự: cao nước > cao cloroform > cao n-hexan > cao ethyl acetat.

3.2. Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro*

Phương pháp DPPH

Phương trình hồi quy biểu diễn mối liên quan giữa nồng độ và hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của mẫu thử cùng giá trị EC_{50} được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của mẫu thử xác định bằng phương pháp DPPH

	Rễ			Thân		
Mẫu thử	Phương trình hồi quy	R^2	EC_{50} (µg/ml)	Phương trình hồi quy	R^2	EC_{50} (µg/ml)
Cao n-hexan	$y = -0,00002x^2 + 0,0989x + 15,525$	0,9820	377,39	$y = 0,000002x^2 + 0,131x + 6,6478$	0,9986	329,28
Cao cloroform	$y = -0,0007x^2 + 0,4788x - 1,4185$	0,9932	133,41	$y = -0,0003x^2 + 0,318x + 2,0041$	0,9974	182,27
Cao ethyl acetat	$y = -0,0004x^2 + 0,3461x + 0,541$	0,9997	180,60	$y = -0,001x^2 + 0,5311x + 6,3881$	0,9998	86,33
Cao nước	$y = -0,00002x^2 + 0,0853x + 8,5554$	0,9911	559,18	$y = -0,00004x^2 + 0,1027x + 16,918$	0,9942	377,68
Quercetin	$y = -0,0518x^2 + 11,252x – 4,35$	0,9994	4,94			

Nhận xét: Kết quả thu được cho thấy các cao phân đoạn từ rễ Xáo tam phân thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh theo thứ tự giảm dần: cao cloroform > cao ethyl acetat > cao n-hexan > cao nước. Đối với mẫu cao từ thân Xáo tam phân, các cao có hoạt tính oxy hóa mạnh theo thứ tự giảm dần: cao ethyl acetat > cao cloroform > cao n-hexan > cao nước.

Phương pháp định lượng MDA

Hoạt tính chống oxy hóa trong phương pháp định lượng MDA trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* của mẫu thử bằng phương pháp định lượng MDA

	Rễ			Thân		
Mẫu thử	Phương trình hồi quy	R^2	EC_{50} (µg/ml)	Phương trình hồi quy	R^2	EC_{50} (µg/ml)
Cao n-hexan	$y = -0,00001x^2 + 0,0764x + 26,163$	0,9971	325,91	$y = -0,00003x^2 + 0,0914x + 19,38$	0,9993	383,21
Cao cloroform	$y = -0,00003x^2 + 0,0981x + 14,037$	0,9974	420,73	$y = -0,00002x^2 + 0,0803x + 19,218$	0,9951	429,22
Cao ethyl acetat	$y = -0,00001x^2 + 0,0599x + 25,449$	0,9978	442,57	$y = -0,000004x^2 + 0,046x + 23,438$	0,9960	653,98
Cao nước	$y = -0,0000001x^2 + 0,0049x + 7,044$	0,9935	11435,16	$y = -0,00000008x^2 + 0,006x + 4,6399$	0,9982	8530,21
Quercetin	$y = 0,1807x^2 + 1,948x - 9,0147$	0,9934	13,47			

Nhận xét: Các cao n-hexan, cloroform và ethyl acetat từ rễ thể hiện khả năng chống oxy hóa, ngăn peroxyd hóa lipid màng tế bào, làm giảm lượng MDA gấp 26-35 lần cao nước (EC_{50} của 3 cao 325,91 - 442,57 µg/ml so với cao nước 11435,16 µg/ml). Kết quả của các cao phân đoạn từ thân Xáo tam phân tương tự các cao từ rễ, hoạt tính chống oxy hóa theo thứ tự giảm dần: cao n-hexan > cao cloroform > cao ethyl acetat > cao nước. Các cao n-hexan, cloroform và ethyl acetat từ rễ thể hiện tác động chống oxy hóa tốt hơn so với cao tương ứng từ thân; ngược với tác dụng của cao nước. Chất đối chiếu quercetin có EC_{50} lần lượt là 4,94 µg/ml và 13,47 µg/ml trong phương pháp DPPH và định lượng MDA.

3.3. Hoạt tính độc tế bào ung thư gan người HepG2

Kết quả của cao thử và chất đối chiếu doxorubicin (DOX) được trình bày ở Bảng 4, 5.

Bảng 4. Hoạt tính độc tế bào gan HepG2 của các cao phân đoạn của rễ, thân Xáo tam phân

Mẫu thử	Nồng độ (µg/ml)	Cao n-hexan	Cao cloroform	Cao ethyl acetat	Cao nước	Mẫu chứng
Rễ	12,5	0,464 ± 0,011	0,464 ± 0,011	0,523 ± 0,016**	0,523 ± 0,023	0,469 ± 0,009
	25	0,393 ± 0,006**	0,393 ± 0,006**	0,538 ± 0,019**	0,541 ± 0,021*	0,469 ± 0,009
	50	0,114 ± 0,015**	0,114 ± 0,015**	0,474 ± 0,013	0,495 ± 0,023	0,465 ± 0,009
	100	0,058 ± 0,001**	0,058 ± 0,001**	0,487 ± 0,006	0,477 ± 0,013	0,450 ± 0,007
DOX	10	0,062 ± 0,001**				0,469 ± 0,009
Thân	25	0,260 ± 0,020**	0,370 ± 0,020	0,310 ± 0,012*	0,321 ± 0,006**	0,352 ± 0,005
	50	0,201 ± 0,006**	0,393 ± 0,016**	0,293 ± 0,012	0,293 ± 0,004	0,291 ± 0,002
	100	0,247 ± 0,017	0,296 ± 0,008**	0,314 ± 0,012**	0,283 ± 0,006**	0,230 ± 0,005
DOX	10	0,060 ± 0,001**				0,352 ± 0,005

*: $p < 0,05$ và **: $p < 0,01$: so với mẫu chứng tương ứng

Bảng 5. Hoạt tính độc tế bào gan HepG2 của các cao phân đoạn của rễ Xáo tam phân

Nồng độ (µg/ml)	% ức chế sự tăng trưởng của tế bào so với mẫu chứng âm	
	Cao n-hexan	Cao cloroform
12,5	1,0	9,8
25	16,2	24,7
50	75,5	62,4
100	87,1	86,7
	86,8	

Nhận xét: Các cao phân đoạn từ thân Xáo tam phân không thể hiện tác động ức chế sự tăng trưởng của tế bào HepG2, trừ cao phân đoạn n-hexan làm giảm 10-20% tỷ lệ tế bào sống ở các nồng độ khảo sát so với mẫu chứng trong khi chất đối chiếu doxorubicin 10 µg/ml làm giảm 83 - 87% tỷ lệ tế bào sống sau 72 giờ. Đối với cao phân đoạn chiết từ rễ, cao ethyl acetat và cao nước kích thích sự tăng trưởng của tế bào HepG2, làm tăng tỷ lệ tế bào sống khi đánh giá bằng phương pháp MTT sau 72 giờ xử lý (Bảng 4).

Bảng 6. Hoạt tính độc tế bào gan HepG2 của các cao phân đoạn của rễ Xáo tam phân

Cao thử	Phương trình hồi quy	R^2	IC_{50} (µg/ml)
n-hexan	$y = -0,019x^2 + 3,1921x - 41,674$	0,9709	36,76
Cloroform	$y = -0,0101x^2 + 2,0368x - 16,199$	0,9941	40,73

Nhận xét: Cao n-hexan và cao cloroform thể hiện hoạt tính độc tế bào HepG2, giảm lượng tế bào sống tỷ lệ thuận với các nồng độ khảo sát theo phương trình hồi quy được trình bày ở Bảng 6. Từ đó, đề tài xác định giá trị IC_{50} của cao n-hexan và cao cloroform sau 72 giờ xử lý với tế bào HepG2 lần lượt là 36,76 µg/ml và 40,73 µg/ml.

IV. BÀN LUẬN

Kết quả khảo sát hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* bằng phương pháp bắt giữ gốc tự do DPPH và định lượng MDA cho thấy các cao phân đoạn kém phân cực (n-hexan, cloroform) từ rễ hoặc thân Xáo tam phân thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt hơn cao phân cực (ethyl acetat, nước); các cao phân đoạn từ rễ thể hiện tác dụng chống oxy hóa *in vitro* tốt hơn các cao từ thân. Sự khác biệt về hoạt tính của các cao có thể do các chất kém phân

cực, thân lipid dễ qua màng tế bào để thể hiện tác động cũng như khác biệt về thành phần hóa học giữa rễ và thân. Kết quả là cơ sở để phát triển nghiên cứu hóa thực vật các bộ phận dùng của Xáo tam phân theo định hướng tác dụng chống oxy hóa. Hoạt tính này phù hợp với tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ gan của cao chiết từ thân Xáo tam phân phòng ngừa tác hại của paracetamol trên chuột nhắt đã báo cáo trước đây [2].

Về hoạt tính độc tế bào *in vitro*, kết quả cho thấy các cao phân đoạn phân cực từ rễ và các cao phân đoạn từ thân Xáo tam phân không thể hiện hoạt tính độc tế bào HepG2. Kết quả này phù hợp với báo cáo trước đây của Viện Dược liệu (2013), theo đó các phân đoạn phân cực n-butanol, ethyl acetat của thân Xáo tam phân không làm giảm tỷ lệ tế bào HepG2 sống xác định bằng phương pháp MTT [5]. Các cao phân đoạn kém phân cực (n-hexan, cloroform) từ rễ thể hiện hoạt tính độc tế bào HepG2 tốt phù hợp với báo cáo của Viện Dược liệu (2013) về tác động làm giảm mạnh tỷ lệ tế bào HepG2 sống ở nồng độ 100 µg/ml của cao n-hexan [5].

Kết quả thu được từ đề tài gợi ý mối quan hệ giữa hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* bằng phương pháp định lượng MDA (sử dụng dịch đồng thể gan) với hoạt tính độc tế bào ung thư gan HepG2: hoạt tính chống oxy hóa càng mạnh thì khả năng ức chế sự tăng trưởng của tế bào ung thư càng tốt. Những kết quả thu được là tiền đề để tiến hành các nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học theo định hướng tác dụng chống oxy hóa, độc tế bào ung thư gan của Xáo tam phân và định hướng sử dụng bộ phận dùng thích hợp (rễ tốt hơn thân) trong nghiên cứu, phát triển sản phẩm ứng dụng phòng và điều trị bệnh.

V. KẾT LUẬN

Các cao phân đoạn từ thân, rễ Xáo tam phân thể hiện hoạt tính chống oxy hóa và độc tế bào ung thư gan người HepG2 *in vitro* theo hướng các cao phân đoạn kém phân cực (n-hexan, clorofrom) thể hiện hoạt tính mạnh hơn, tốt hơn các cao phân cực (ethyl acetat, nước) và cao chiết từ rễ thể hiện tác động tốt hơn cao chiết từ thân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Duy Anh, Phạm Văn Thái, Trần Hải Bình, Trịnh Hà Châu, Lê Văn Khảng (2022). Đánh giá shunt gan-phổi ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan trước xạ trị trong chọn lọc bằng hạt vi cầu phóng xạ ^{90}Y. Tạp Chí Y học Việt Nam, 509(2): tr. 78-83.
2. Nguyễn Mạnh Cường, Trần Thu Hường, Phạm Ngọc Khanh, Vũ Thị Hà, Nguyễn Thị Cúc, Đỗ Thị Thảo (2016), "Đánh giá tác dụng bảo vệ gan của rễ cây Xáo tam phân (*Paramygnia trimera*) trên chuột gây tổn thương gan bằng paracetamol", *Tạp chí Khoa học Và Công nghệ,* 54(1): tr. 37-45.
3. Trịnh Hoàng Dương, Trần Thu Phương, Hà Diệu Ly, Nguyễn Thụy Vy, Đặng Văn Sơn, Nguyễn Diệu Liên Hoa (2016). Coumarin và acridon alkaloid từ rễ cây Xáo tam phân *Paramignya trimera*", *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Tự nhiên và công nghệ,* 32(4): tr. 115-123.
4. Nguyễn Minh Khởi, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Đỗ Thị Phương (2013). Nghiên cứu độc tính cấp, tác dụng bảo vệ gan và tác dụng gây độc tế bào ung thư của Xáo tam phân, *Tạp chí Dược liệu,* 18(1): tr. 14-20.
5. Viện Dược liệu (2012). Công văn số 539/VDL-QLKHĐT của Viện Dược liệu, Bộ Y tế gửi Sở Y tế tỉnh Khánh Hòa.
6. Bondet V, Brand-Williams W, Berset C (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method, *Food Science and Technology,* 30(6): pp. 609-615.

7. Denizot F, Lang R (1986). Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to this tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability, *J Immunol Methods*, 89(2): 271-277.
8. Inter-organization programme for the sound management of chemicals (2010). Guidance document on using cytotoxicity test to estimate starting doses for acute oral systemic toxicity tests, *OECD Environment, Health and Safety Publications*, 129: pp. 20-21.
9. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal Biochem*, 95(2): pp. 351-358.

(Ngày nhận bài: 12/08/2022 – Ngày duyệt đăng: 08/01/2023)