

ĐÁNH GIÁ SƠ BỘ KHẢ NĂNG ỨC CHẾ SỰ PHÁT TRIỂN TẾ BÀO UNG THƯ GAN CỦA VIÊN NANG CHỨA CAO LÁ MĂNG CẦU XIÊM (*ANNONA MURICATA* (L.), ANNONACEAE) 200MG TRÊN MÔ HÌNH IN VITRO VÀ IN VIVO

Huỳnh Thị Mỹ Duyên*, Lê Bảo Khuyên, Lê Hoàng Vũ

Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

*Email: htmduyen@ctump.edu.vn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Măng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.), Annonaceae) từ lâu đã được sử dụng trong nhiều nền y học trên thế giới như một phương thuốc tự nhiên với hàng loạt tác dụng điều trị đã được chứng minh. Hầu hết các nghiên cứu về Măng cầu xiêm đã tập trung vào một nhóm hoạt chất gọi là acetogenins (ACGs). Nhiều nghiên cứu đã khẳng định rằng các nhóm chất này có đặc tính kháng ung thư và độc tính chọn lọc đối với nhiều dòng tế bào ung thư khác nhau (mà không làm hại các tế bào khỏe mạnh). **Mục tiêu nghiên cứu:** Nghiên cứu đánh giá sơ bộ khả năng ức chế sự phát triển tế bào ung thư của viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm 200mg trên in vitro và in vivo. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Đối tượng nghiên cứu là viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.) Annonaceae) 200mg chiết từ ba loại dung môi n-hexan, EtOAc và EtOH đã được bào chế tại Bộ môn Bào chế đạt các tiêu chuẩn kiểm nghiệm theo tiêu chuẩn cơ sở xây dựng của Bộ môn (được xây dựng dựa trên tiêu chuẩn quy định của ĐBVN V); Chuột nhắt trắng đực chủng Swiss albino khỏe mạnh, 8-10 tuần tuổi, trọng lượng 32 ± 2 g, không có biểu hiện bất thường. Khảo sát hoạt tính độc tế bào của viên nang chứa ba loại cao được chiết từ ba dung môi có độ phân cực khác nhau bằng phương pháp MTT [(3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid)] trên tế bào ung thư gan HepG2; Xây dựng mô hình u gan trên chuột nhắt đực suy giảm miễn dịch và sơ bộ khảo sát tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang. **Kết quả:** Xác định được giá trị IC_{50} của viên nang chứa cao ethanol, cao ethyl acetat và cao n-hexan lần lượt là: 25,73 μ g/mL, 39,40 μ g/mL, 61,01 μ g/mL; Đã đánh giá được hiệu quả của mô hình gây ung thư gan trên in vivo và sơ bộ khảo sát tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm 200mg trên in vivo. **Kết luận:** Viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm có khả năng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư gan HepG2 và trên mô hình u gan trên chuột nhắt đực suy giảm miễn dịch.

Từ khóa: Măng cầu xiêm, acetogenins, HepG2.

ABSTRACT

ASSESSMENT THE GROWTH INHIBITION EFFECT OF LIVER CANCER CELLS OF CAPSULES CONTAIN GRAVIOLA EXTRACT (*ANNONA MURICATA* (L.) ANNONACEAE) ON IN VITRO AND IN VIVO MODELS

Huỳnh Thị Mỹ Duyên*, Lê Bảo Khuyên, Lê Hoàng Vũ

Cantho University of Medicine and Pharmacy

Backgrounds: *Annona muricata* (soursop or graviola) of Annonaceae family has been used worldwide as a natural medicinal for many years, and it has been reported to have a broad range of therapeutic effects. Most of the research on graviola focuses on compounds called acetogenins (ACGs). The separate research groups have confirmed that these chemicals have significant antitumorous properties and selective toxicity against various types of cancer cells (without harming healthy cells). **Objectives:** The aim of this study was to assess ability to inhibit the growth of liver cancer cells of capsule contain graviola extracts on in vitro and in vivo. **Materials and methods:** Estimate cytotoxic activity of three types of extracts were extracted from

three different polarization solvents by MTT [(3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid)] method on HepG2 liver cancer cells; Modeling of liver tumor in immunocompromised male mice and preliminary investigation of the inhibitory effect of capsules. **Results:** Identify IC_{50} values of ethanol extract, ethyl acetate extract and n-hexane extract respectively: 25.73 $\mu\text{g/mL}$, 39.40 $\mu\text{g/mL}$, 61.01 $\mu\text{g/mL}$ and the effect was assessed on in vivo model. **Conclusion:** The capsules contain graviola extracts are capable of inhibiting the growth of human hepatocellular carcinoma HepG2 and on a liver tumor model of immunocompromised male mice.

Keywords: graviola, acetogenins, HepG2.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh ung thư là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây tử vong trên toàn thế giới [1], [2]. Các biện pháp điều trị ung thư được áp dụng như phẫu thuật, hóa trị hoặc xạ trị thường để lại nhiều tác dụng phụ, gây ảnh hưởng xấu đến chất lượng cuộc sống của bệnh nhân [3]. Vì vậy, việc hướng tới các phương pháp trị liệu mới đặc biệt là các hợp chất có nguồn gốc dược liệu có hiệu quả điều trị tốt và an toàn cho người sử dụng đang thu hút sự quan tâm của nhiều nhà nghiên cứu hiện nay.

Cây Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.) Annonaceae) là loài cây ăn quả quen thuộc ở Việt Nam đặc biệt là các tỉnh miền Tây Nam Bộ. Mãng cầu xiêm không những đem lại nhiều lợi ích về mặt kinh tế mà hiện nay còn thu hút sự nghiên cứu của nhiều nhà khoa học trên thế giới về tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư [4]. Cho đến nay, trên thế giới đã có khá nhiều công trình nghiên cứu về tác dụng kháng ung thư của cây Mãng cầu xiêm. Tuy nhiên, ở Việt Nam, hầu như có rất ít nghiên cứu cụ thể về loài thực vật này trong khi nó rất phổ biến ở nước ta. Chính vì vậy, nghiên cứu đánh giá sơ bộ khả năng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.) Annonaceae) trên *in vitro* và *in vivo* được thực hiện với các mục tiêu chính:

1. Khảo sát tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.), Annonaceae) 200mg trên *in vitro*.
2. Đánh giá sơ bộ tác dụng ức chế sự phát triển tế bào u gan của viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.), Annonaceae) 200mg trên *in vivo*.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm 200mg đã được bào chế tại Bộ môn Bào chế-Trường Đại học Y Dược Cần Thơ, đạt các tiêu chuẩn kiểm nghiệm theo tiêu chuẩn cơ sở xây dựng (được xây dựng dựa trên tiêu chuẩn quy định của DĐVN V). Thành phần công thức viên nang gồm: Cao Mãng cầu xiêm (200mg), Kaolin (100mg), Magnesi carbonat (26,9mg), PVP K30 (6,7mg), Talc (3,4mg), Cồn 50% vđ.

Dòng tế bào HepG2: Tế bào HepG2 được cung cấp bởi ATCC (HB8065R) và lưu giữ tại Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh.

Động vật thí nghiệm: chuột nhắt trắng đực chủng Swiss albino khỏe mạnh, không có biểu hiện bất thường. Chuột đực 8-10 tuần tuổi, trọng lượng $32 \pm 2\text{g}$ được cung cấp bởi Viện Vaccin và Sinh phẩm Nha Trang.

Môi trường, hóa chất, thuốc thử: môi trường EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium), huyết thanh bào thai bê (FCS), L-glutamin, penicilin-streptomycin, trypsin-EDTA, đệm phosphate (PBS) mua từ công ty Gibco (Mỹ), MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-

2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid)] mua từ công ty Sigma-Aldrich (Mỹ), doxorubicin, cyclophosphamide, đệm phosphat...

Trang thiết bị: máy đọc ELISA Multiskan, máy ủ lắc Heidolph Titramax 1000, tủ đông -20 °C

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm 200mg trên *in vitro*

Phương pháp MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid)]

MTT là một thử nghiệm so màu để đánh giá hoạt động trao đổi chất của tế bào, thường thực hiện trong tối do thuốc thử nhạy cảm ánh sáng. Phương pháp này dựa trên hoạt tính enzyme succinat dehydrogenase (SDH) của ty thể chỉ có trong tế bào sống nên nhờ đó tỉ lệ sống của tế bào được xác định. SDH chuyển MTT [3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diPhenyl tetrazolium bromid)] màu vàng thành tinh thể formazan ngăn sự thấm nước của màng tế bào, vì thế giữ nguyên sự tích tụ bên trong tế bào khỏe. Sau đó, các dung môi hữu cơ như isopropanol, dimethylsulfoxid hoặc natri dodecyl sulfat (chất tẩy rửa) được cho vào để hòa tan tinh thể tạo dung dịch màu tím đo mật độ quang OD ở bước sóng 570nm, cho kết quả sự thay đổi số lượng được xác định bằng mối quan hệ tuyến tính giữa số tế bào và khả năng hấp thu [5].

Tế bào HepG2 được nuôi cấy trong đĩa 96 giếng. Sau 24 giờ ủ ở 37 °C, 5% CO₂, thay môi trường và xử lý tế bào với mẫu thử ở các nồng độ khác nhau (Bảng 2.1) hoặc mẫu đối chiếu doxorubicin 10µg/ mL trong 24 giờ. Loại bỏ môi trường nuôi cấy, bổ sung 100µL môi trường nuôi cấy chứa MTT (0,05mg/ mL) vào mỗi giếng. Ủ 3 giờ ở 37 °C, 5% CO₂. Loại bỏ môi trường chứa MTT. Hòa tan tinh thể formazan tạo thành trong 100µL dung dịch isopropanol acid hóa. Lắc rung trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang OD ở bước sóng 570nm trên máy đọc microplate MultiskanTM [6],[7].

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần cho một điều kiện nuôi cấy (1 nồng độ mẫu thử).

Nếu giá trị IC₅₀ không thu được từ khoảng nồng độ trên thì tiếp tục thay đổi nồng độ mẫu thử để thu được kết quả IC₅₀. Tỷ lệ ức chế tăng trưởng tế bào được tính bằng công thức:

$$\% \text{ ức chế tăng trưởng tế bào} = 100 - \left(\frac{OD_{thu} \times 100}{OD_{chung}} \right) \quad (2.1)$$

Trong đó: OD_{thu}: mật độ quang của mẫu thử.

OD_{chung}: mật độ quang của mẫu chứng.

Bảng 1. Các nồng độ của mẫu thử viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm trong khảo sát hoạt tính độc tính tế bào

Nồng độ mẫu thử (µg/mL)			Mẫu chứng tương ứng
Cao n-hexan	Cao EtOAc	Cao EtOH	
12,5	12,5	12,5	DMSO 0,125%
25	25	25	DMSO 0,25%
50	50	50	DMSO 0,5%
100	100	100	DMSO 1%
Mẫu đối chiếu doxorubicin 10µg/ mL			Môi trường nuôi cấy bình thường

2.2.2. Đánh giá sơ bộ tác dụng ức chế sự phát triển tế bào u gan của viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm 200mg trên *in vivo*

Khảo sát mô hình gây suy giảm miễn dịch trên chuột nhắt đực

Tham khảo các nghiên cứu trước đây [8],[9], doxorubicin (DOX) và cyclophosphamid (CYP) được lựa chọn để gây suy giảm miễn dịch trên 6 chuột đực khỏe mạnh, trọng lượng trung bình $32 \pm 2g$.

Lô sinh lý: Tiêm IP dung dịch sinh lý, thể tích tiêm 0,1mL/ 10g chuột.

Lô thử 1: Tiêm IP CYP liều 100mg/ kg, thể tích tiêm 0,1mL/ 10g vào ngày 1,3.

Lô thử 2: Tiêm IP CYP liều 100mg/ kg, thể tích tiêm 0,1mL/ 10g ngày 1, 3, 5.

Lô thử 3: Tiêm IP DOX liều duy nhất 10mg/ kg vào ngày 1 và tiêm ip CYP liều 100mg/ kg vào ngày 3.

Lấy máu đuôi chuột và đếm tổng lượng bạch cầu trong 1mm³ máu bằng buồng đếm Neubauer mỗi ngày từ ngày 1 đến ngày 7 và mỗi 2 ngày từ ngày 9 đến ngày 21. Theo dõi tỷ lệ tử vong và khả năng duy trì tình trạng suy giảm miễn dịch để tiến hành thử nghiệm tạo khối u gan.

Xây dựng mô hình u gan trên chuột nhắt đực suy giảm miễn dịch và sơ bộ khảo sát tác dụng ức chế sự phát triển tế bào u gan của viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm 200mg

Dựa trên kết quả khảo sát mô hình gây suy giảm miễn dịch, chúng tôi chọn tiêm phúc mô CYP liều 100mg/ kg vào ngày 1 và ngày 3 để tiến hành thử nghiệm tạo khối u gan sử dụng dòng tế bào HepG2 tiêm dưới da.

Chuột được gây suy giảm miễn dịch bằng cách tiêm ip CYP 100mg/ kg vào ngày 1 và 3. Vào ngày 5 (lượng bạch cầu thấp nhất), chuột được cạo sạch lông và sát trùng cõn 70% vùng lưng gần đuôi phải dưới (2 x 2cm), chia ngẫu nhiên thành 2 lô.

- Lô sinh lý (n = 6): tiêm dưới da 0,1mL/ chuột dung dịch PBS 1X.

- Lô tạo khối u (n = 30): tiêm dưới da 0,1mL huyền dịch tế bào HepG2 (nồng độ 10⁷ tế bào/ mL) tương đương 10⁶ tế bào/ chuột.

Quá trình thao tác thực hiện trong điều kiện vô trùng (tủ vô trùng cấp 2). Theo dõi tỷ lệ tử vong của chuột và xác định sự hình thành khối u trên chuột xung quanh vị trí tiêm tế bào bằng cách quan sát, sờ nắn.

Ngày thứ 12 (sau khi tiêm tế bào 7 ngày), khối u xuất hiện, tính hiệu suất tạo khối u, đo kích thước khối u (đường kính lớn nhất và nhỏ nhất) bằng thước kẹp caliper, đếm tổng lượng bạch cầu từ máu đuôi chuột và chia chuột mang khối u thành 2 lô theo thể tích khối u:

- Lô gây bệnh: uống dung dịch NaCl 0,9% với 0,1mL/ 10g, 1 lần/ ngày, 5 ngày liên tiếp.

- Lô điều trị: uống viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm liều 200mg, 4 lần/ ngày, 5 ngày liên tiếp. Ghi nhận trọng lượng chuột, kích thước khối u mỗi 2 ngày đến ngày thứ 19. Tính kết quả:

Hiệu suất tạo khối u (%) = số chuột mang khối u / tổng số chuột được tiêm tế bào x 100%

Kích thước khối u: $V \text{ (mm}^3\text{)} = 1/2 \times a \times b^2$

Trong đó: a và b lần lượt là đường kính lớn nhất và nhỏ nhất (mm).

Phần trăm khác biệt về kích thước khối u: $\% KB = (V_s - V_t) / V_t \times 100$

V_t và V_s lần lượt là kích thước khối u vào ngày 12 và các ngày khảo sát. Ngày thứ 19, lấy máu đuôi chuột đếm tổng lượng bạch cầu. Chuột được giết sau khi gây mê bằng đá CO₂, bóc lộ khối u, quan sát đại thể. Bóc tách khối u, rửa sạch bằng dung dịch

sinh lý, thẩm khô, đo kích thước khối u và ngâm trong dung dịch formol 10% để làm xét nghiệm vi thể bằng phương pháp nhuộm hematoxylin-eosin (HE). Hình thái tế bào, cấu trúc mô, sự hoại tử, viêm... được quan sát và đánh giá dưới kính hiển vi quang học.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Khảo sát tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm 200mg trên *in vitro*

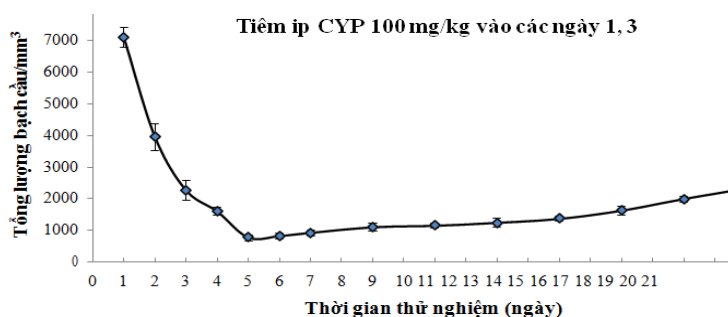
Bảng 1. Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% sự tăng trưởng tế bào gan HepG2) của viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm sau 24 giờ

Stt	Tên mẫu	Giá trị IC ₅₀ (µg/mL)
1	Cao n-hexan	61,01
2	Cao EtOAc	39,40
3	Cao EtOH	25,73
4	Doxorubicin	69,32

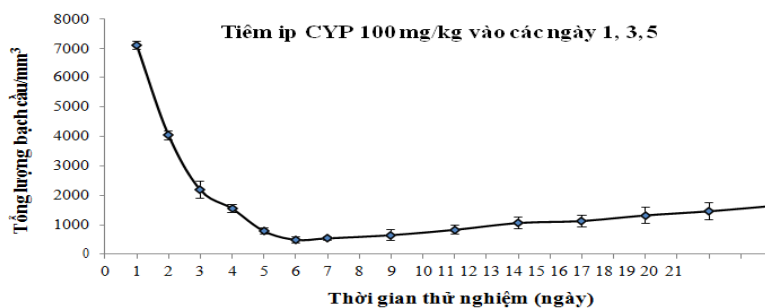
Để ức chế được 50% tế bào ung thư gan HepG2 trong vòng 24 giờ thì nồng độ cần thiết của 3 loại cao ethanol, ethyl acetat, n-hexan lần lượt là 25,73µg/ mL; 39,40µg/ mL; 61,01µg/ mL. Do viên nang chứa cao ethanol chứa ACGs nhiều nhất, nồng độ ACGs cao nhất nên có khả năng ức chế tế bào ung thư mạnh nhất trong 3 loại viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm, viên nang chứa cao ethanol được sử dụng tiếp tục để đánh giá sơ bộ khả năng kháng ung thư gan trên *in vivo*.

3.2. Đánh giá sơ bộ tác dụng ức chế sự phát triển tế bào u gan của viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm trên *in vivo*

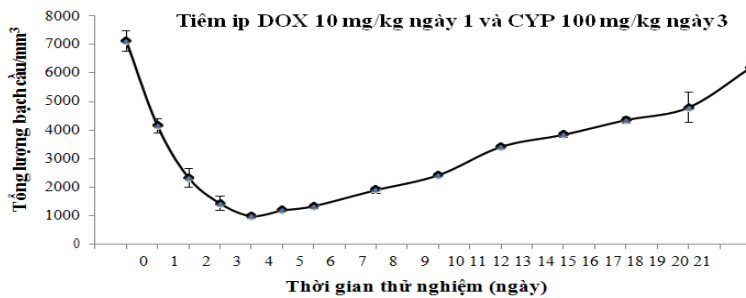
3.2.1. Khảo sát mô hình gây suy giảm miễn dịch trên chuột nhắt đực



Hình 1. Lượng bạch cầu trung bình của chuột được tiêm ip CYP vào ngày 1, 3

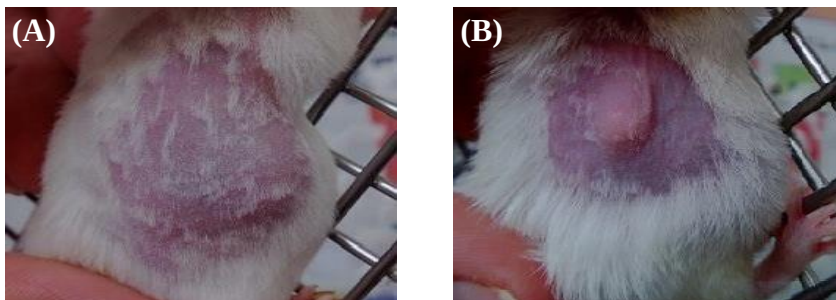


Hình 2. Lượng bạch cầu trung bình của chuột được tiêm ip CYP vào ngày 1, 3, 5

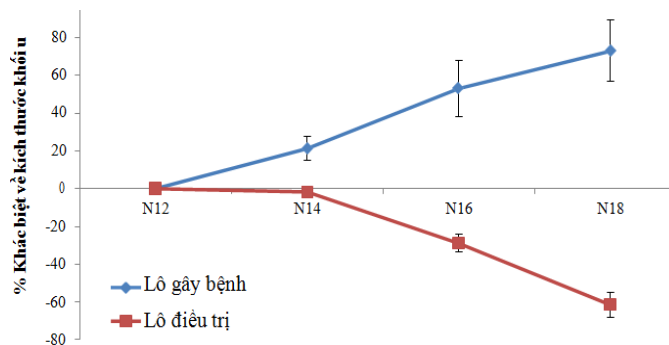


Hình 3. Lượng bạch cầu trung bình của chuột tiêm ip DOX ngày 1, CYP ngày 2

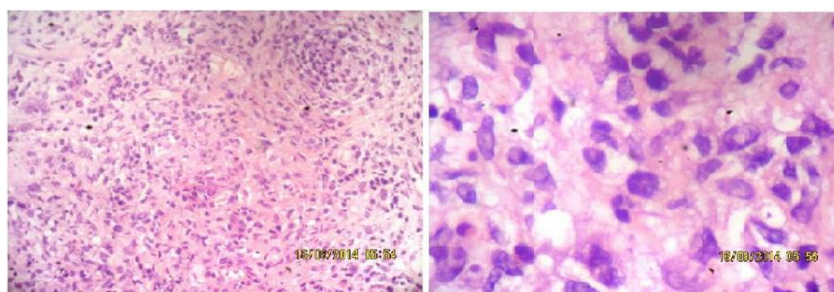
3.2.2. Xây dựng mô hình u gan trên chuột nhắt đực suy giảm miễn dịch và sơ bộ khảo sát tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm 200mg



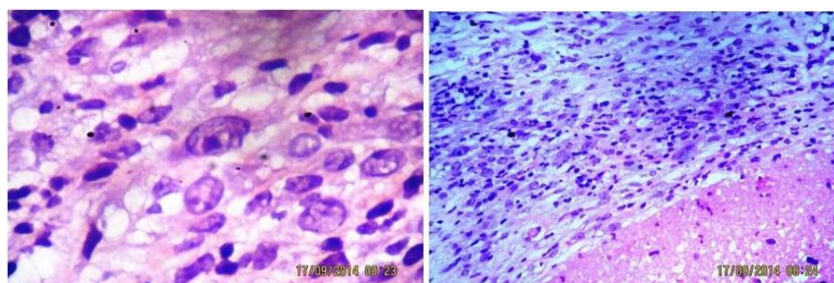
Hình 4. Hình ảnh chuột suy giảm miễn dịch được tiêm PBS 1X không có khối u (A) và tiêm dịch tế bào HepG2, có khối u nổi rõ (B) vào ngày 18



Hình 5. Sự thay đổi kích thước khối u trước và sau 2 ngày đo của chuột ở lô chứng bệnh và lô điều trị bằng viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm (N: ngày)



Hình 6. Hình ảnh vi thể khối u dưới da của chuột ở lô gây bệnh



Hình 7. Hình ảnh vi thể khối u dưới da của chuột ở lô điều trị bằng viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm

IV. BÀN LUẬN

4.1. Khảo sát tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang chứa cao lá Măng cầu xiêm 200mg trên *in vitro*

Ba loại viên nang chứa ba loại cao từ lá Măng cầu xiêm được khảo sát hoạt tính ức chế sự phát triển tế bào ung thư thông qua phép thử gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư gan HepG2. Từ kết quả cho thấy cả ba đều có hoạt tính độc tế bào ung thư gan HepG2, làm giảm đáng kể tỷ lệ tế bào HepG2 sống ($> 50\%$) so với mẫu chứng tương ứng. Hoạt tính ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan HepG2 của cả 3 loại cao đều giảm dần theo nồng độ, sau 24 giờ xử lý. Điều này có thể giải thích là do khi tăng nồng độ mẫu thử (cao lá Măng cầu xiêm) đồng nghĩa với việc nồng độ ACGs cũng tăng lên. Lượng ACGs càng tăng càng ức chế được nhiều và mạnh lên tế bào ung thư gan HepG2 trong khi mẫu chứng không có ACGs nên không làm giảm tỷ lệ sống của tế bào ung thư. Tuy cả 3 loại viên nang chứa cao từ lá Măng cầu xiêm đều có khả năng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư gan HepG2 nhưng ở mỗi loại cao cho thấy khả năng ức chế khác nhau. Để ức chế được 50% tế bào ung thư gan HepG2 trong vòng 24 giờ thì nồng độ cần thiết của 3 loại cao ethanol, ethyl acetat, n-hexan lần lượt là $25,73\mu\text{g/mL} < 39,40\mu\text{g/mL} < 61,01\mu\text{g/mL}$. Cho thấy ethanol là dung môi tối ưu để chiết ACGs. Ở cùng nồng độ mẫu thử nhưng ACGs trong cao ethanol $>$ cao ethyl acetat $>$ cao n-hexan.

4.2. Đánh giá sơ bộ tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm trên *in vivo*

Tham khảo các báo cáo trước đây, đề tài khảo sát mô hình suy giảm miễn dịch với CYP 100mg/ kg, ip vào 2 ngày 1, 3 hoặc 3 ngày 1, 3, 5 hoặc DOX 10mg/ kg, ip ngày 1 kết hợp CYP 100mg/ kg, ip vào ngày 3. Từ kết quả thu được, chọn mô hình CYP 100mg/ kg, ip ngày 1, 3 gây giảm bạch cầu mạnh nhất vào ngày 5 và duy trì tình trạng suy giảm miễn dịch ổn định trong 3 tuần với thể trạng chuột khỏe mạnh, không bị chết để thực hiện mô hình tạo khối u. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với cơ chế gây độc tế bào của CYP. Sản phẩm chuyển hóa phosphoramid mù tạt của CYP là tác nhân alkyl hóa phân tử ADN, liên kết đồng hóa trị với guanin trong ADN, ức chế quá trình tổng hợp ADN, gây độc tế bào, suy tủy, giảm tế bào máu trong đó giảm lượng bạch cầu dẫn đến suy giảm miễn dịch. Việc sử dụng chuột đực *Swiss albino* suy giảm miễn dịch để tạo khối u gan trong chuyên đề này hoàn toàn phù hợp với một số nghiên cứu trước đây và phù hợp với hoạt động miễn dịch của cơ thể [10], [11]. Tế bào HepG2 được dùng để tạo khối u gan dưới da với hiệu suất 100% trên chuột “nude” trong nhiều công trình [8], [9]. Như vậy, tiêm dưới da tế bào ung thư gan người HepG2 trên chuột đực *Swiss albino* được suy giảm miễn dịch (10^6 tế bào/chuột) tạo được khối u gan sau 7 ngày tiêm tế bào (ngày 12) với hiệu suất 56,7% và kích thước khối u trung bình $9,67\text{mm}^3$ tăng dần đến cuối thử nghiệm (ngày 18) là $17,83\text{mm}^3$. Hình ảnh vi thể khối u có tăng sản nguyên bào sợi, nhiều tế bào dị dạng kèm nhiều phân bào, hạt nhân to, có vùng hoại tử trung tâm ngấm tế bào viêm hỗn hợp. Kích thước khối u và dấu hiệu của tế bào u giảm khi điều trị với thuốc. Những khối u nhỏ, đường kính 1-2mm (kích thước 1-4mm³) biến mất hoàn toàn sau 5 ngày. Từ đó có thể áp dụng mô hình này tạo khối u gan, sử dụng chuột mang khối u lớn kích thước hơn 4mm³ để nghiên cứu, phát triển các chất/dược liệu có khả năng làm thuốc phòng ngừa hoặc điều trị. Ứng dụng đánh giá sơ bộ hiệu quả ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm 200mg, kết quả cho thấy hiệu quả kích thước khối u của chuột ở lô điều trị giảm dần có ý nghĩa thống kê, hình ảnh phân tích vi thể cũng cho thấy khối u đáp ứng với thuốc điều trị.

V. KẾT LUẬN

1. Đã khảo sát tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.), Annonaceae) 200mg trên *in vitro*: với nồng độ ức chế 50% tế bào ung thư gan HepG2 trong vòng 24 giờ cần thiết của 3 loại cao ethanol, ethyl acetat, n-hexan lần lượt là 25,73µg/ mL, 39,40 µg/ mL, 61,01 µg/ mL.

2. Đã đánh giá sơ bộ được hiệu quả tác dụng ức chế sự phát triển tế bào ung thư gan của viên nang chứa cao lá Mãng cầu xiêm (*Annona muricata* (L.), Annonaceae) 200mg trên *in vivo*: kích thước khối u của chuột ở lô điều trị giảm dần có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), cụ thể giảm khoảng 30% vào ngày 16 và khoảng 40% vào ngày 18 (kích thước trung bình là $4,08\text{mm}^3$); Hình ảnh phân tích vi thể cũng cho thấy khối u đáp ứng với thuốc điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Islam Rady, Siddiqui I. (2017), “Melittin, a major peptide component of bee venom, and its conjugates in cancer therapy”, *Cancer Letters*, 402, tr. 16-31.
2. Rebecca Siegel, K. D. Miller, and A. Jemal (2018), “Cancer statistics, 2018”, CA: A

- Cancer Journal for Clinicians*, 68 (1), tr. 7-30.
3. Nussbaumer S, P. Bonnabry, J. L. Veuthey (2011), “Analysis of anticancer drugs: a review”, *Talanta*, 85 (5), tr. 2265-2289.
 4. Moghadamtousi S, M. Fadaeinasa (2015), “*Annona muricata* (Annonaceae): a review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities”, *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (7), tr. 15625-15658.
 5. Florian M. Freimoser, C.A. Jakob, M. Aebi và Urs Tuor (1999), “The MTT [3 (4 5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diPhenyltetrazolium Bromide) assay is a fast and reliable method for colorimetric determination of fungal cell densities”, *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (8), tr.3727-3729.
 6. Freshney R.Ian (2010), *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications*, John Wiley & Sons Inc., 6th Edition, pp. 373-374.
 7. Chang Fang-Rong, Liaw Chih-Chuang, (2003), “New Adjacent Bis-Tetrahydrofuran Annonaceous Acetogenins from *Annona muricata*”, *Planta Med* 2003, 69 (3), tr. 241-246.
 8. Leenders WH. M., Nijkamp M. W., Rinkes I. H. M. B. (2008), “Mouse models in liver cancer research: A review of current literature”, *World journal of gastroenterology*, 14 (45), tr. 6915-6923.
 9. Richmond Ann, Su Y. J. (2008), “Mouse xenograft models vs GEM models for human cancer therapeutics”, *Disease models & mechanisms*, 1 (2-3), tr.78-82.
 10. Banerjee A, Sengupta A và cộng sự (2017), “Possible Cytotoxic Activity of *Annona muricata* Leaves in Huh-7 Human Liver Cancer Cells”, *Hepatol Pancreat Sci*, 1 (1)1, tr. 104-110.
 11. Chen Yong, Chen Jian-wei và cộng sự (2013), “Antitumor activity and toxicity relationship of annonaceous acetogenins”, *Food and Chemical Toxicology*, 58, tr. 394-400.
- (Ngày nhận bài: 26/11/2020 - Ngày duyệt đăng: 25/04/2021)
-