

Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và tác dụng gây độc tế bào của cao chiết cồn và chloroform từ thân cây An xoa *helicteres hirsuta* Lour. *sterculiaceae*

Phan Thị Thanh Thủy

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành
ptthuy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Cây An xoa trong dân gian sử dụng làm thuốc điều trị ung nhọt, tiêu độc... Những nghiên cứu gần đây cho thấy khả năng chống lại các gốc tự do là tác nhân gây ung thư cũng như khả năng chống ung thư của An xoa. Nghiên cứu này thực hiện nhằm đánh giá về khả năng quét dọn gốc tự do và khả năng gây độc tế bào của cao chiết cồn và chloroform từ thân cây An xoa. Kết quả cho thấy hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết cồn ($IC_{50} = 60,83\mu g/ml$) mạnh hơn cao chiết chloroform ($IC_{50} = 74,58\mu g/ml$). Tuy nhiên, hoạt tính gây độc tế bào gan HepG₂ của cao chiết chloroform ($IC_{50} = 9,17\mu g/ml$) lại mạnh hơn cao chiết cồn ($IC_{50} = 19,96\mu g/ml$). Như vậy, cây An xoa có chứa các hoạt chất ngăn ngừa ung thư (chất chống oxy hóa) và các hoạt chất có khả năng tiêu diệt tế bào ung thư.

Nhận 22.08.2018
Được duyệt 08.11.2018
Công bố 25.12.2018

Từ khóa
cây An xoa, hoạt tính chống oxy hóa, hoạt tính gây độc tế bào, IC_{50} , ung thư

© 2018 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Cây An xoa (*Helicteres hirsuta* .Lour) còn được gọi là dó lông, thường dùng làm thuốc chữa ung nhọt; rễ làm thuốc dịu đau, tiêu độc, kết lỵ, cầm cúm, đậu, sởi, sốt rét và rắn độc cắn; vỏ thân cho sợi dùng dệt bao tải [1].

Theo một nghiên cứu ở Indonesia thì cây An xoa có khả năng chống lại các tế bào ung thư, nhất là ung thư gan. Các nghiên cứu gần đây, đã phân lập được một số hợp chất Lignan có tác dụng gây độc với các tế bào ung thư như Pinorensinol, Medioresinol, Syringaresinol, Boehmenan, Boehmenan H, Dihydrodiconiferyl alcohol [2].

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Thân cây An xoa được thu thập tại thị trấn Lộc Ninh, tỉnh Bình Phước. Mẫu thực vật gồm lá, hoa, quả và thân cây An xoa được đối chiếu với tài liệu của TS. Võ Văn Chi [1]. Kết quả xác định đây chính là cây An xoa (*Helicteres hirsuta* Lour.) thuộc họ Trôm (*Sterculiaceae*). Thân được phơi khô và xay nhỏ thành bột 0,5 – 1mm để làm thí nghiệm.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Chiết xuất

Ngâm bột thân cây An xoa với 2 dung môi cồn và chloroform ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ (100g bột khô với 2 lít dung môi). Dịch chiết được cô tới khối lượng không đổi để thu cao thành phẩm.

2.2.2 Xác định hoạt tính chống oxy hoá [3]

Khả năng chống oxy hóa được xác định bằng phương pháp dọn gốc tự do DPPH [6]. Pha loãng dịch chiết mẫu ở những nồng độ phù hợp sau đó hút thêm 0,5ml dung dịch DPPH vào ống nghiệm và để trong bóng tối trong 30 phút, đo độ hấp thụ quang học ở 517nm. Hoạt tính chống oxy hóa được xác định theo công thức:

$$IC(\%) = \frac{OD_c - OD_t}{OD_c} \times 100$$

IC(%): Hoạt tính dọn gốc tự do DPPH

OD_c: Mật độ quang của mẫu chứng âm

OD_t: Mật độ quang của mẫu thử

Từ IC (%) và nồng độ mẫu ta dựng được đường hồi qui tuyến tính, từ đó tính được IC_{50} (khả năng dọn dẹp 50% DPPH của mẫu). Giá trị IC_{50} càng thấp tương ứng với hoạt tính chống oxy hóa của mẫu thử càng cao và ngược lại. Mẫu chứng dương được sử dụng để so sánh là Vitamin C.

2.2.3 Thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư [4] [5]



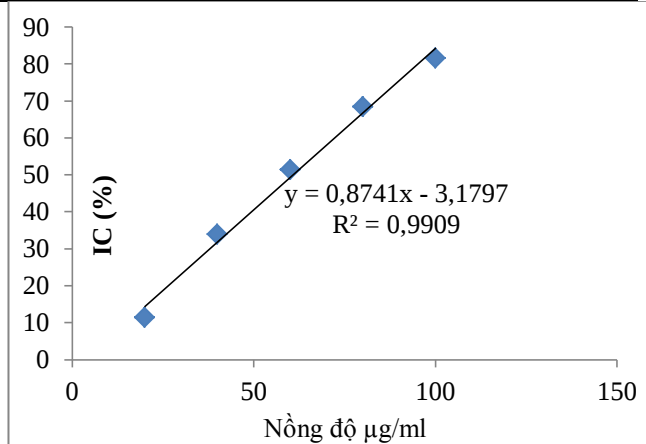
- Dòng tế bào ung thư HepG₂
- Thử độc tế bào: 200μl dung dịch tế bào ở pha log nồng độ 3×10^4 tế bào/ml vào mỗi giếng (đĩa 96 giếng) trong môi trường DMEM. Mẫu thử được pha loãng sao cho đạt đến nồng độ cuối cùng là 128μg/ml và các nồng độ pha loãng thấp hơn. Ủ ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂ trong 3 ngày.
- Đối chứng dương gồm 200μl dung dịch tế bào, nồng độ 3×10^4 tế bào/ml.
- Đối chứng âm gồm 200μl môi trường nuôi cấy.
- Ellipticine (Sigma) được dùng làm chất tham khảo
- Sau 3 ngày nuôi cấy; ủ tiếp với MTT 0,2mg/ml ở 37°C trong 4 giờ; loại bỏ môi trường, thêm 100μl DMSO lắc đều đọc kết quả ở bước sóng 540nm.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Hoạt tính chống oxy hóa

Bảng 1 Thông số thử hoạt tính dọn gốc tự do DPPH trên cao còn 96%

Mẫu cao còn 96%			
Ống	Nồng độ (μg/ml)	OD trung bình	IC (%)
Chứng âm	0	0,815	
1	20	0,780	11,274
2	40	0,581	33,925
3	60	0,428	51,320
4	80	0,278	68,339
5	100	0,163	81,479

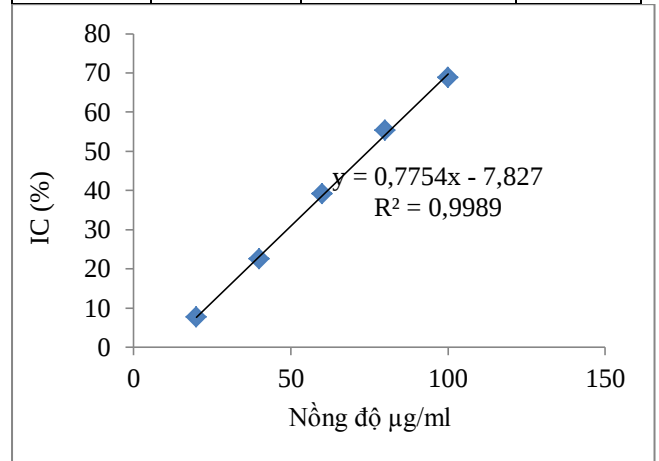


Hình 1 Sơ đồ tương quan giữa nồng độ và hoạt tính chống oxy hóa của cao còn

Bảng 2 Thông số thử hoạt tính dọn gốc tự do DPPH trên cao phân đoạn Chloroform

Mẫu cao Chloroform			
Ống	Nồng độ (μg/ml)	OD trung bình	IC (%)
Chứng âm	0	0,815	
1	20	0,752	7,681

2	40	0,631	22,528
3	60	0,496	39,129
4	80	0,364	55,325
5	100	0,254	68,822

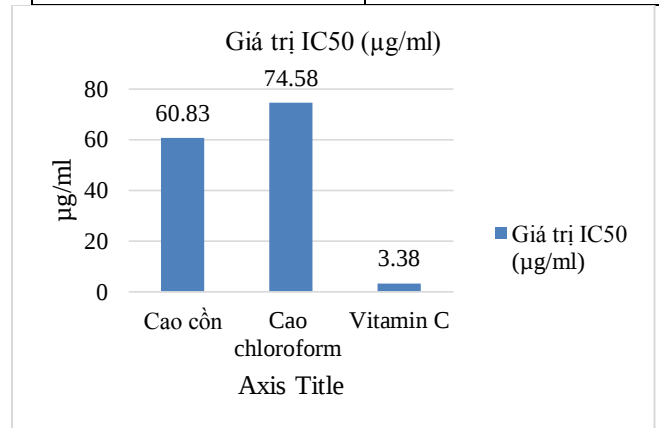


Hình 2 Sơ đồ tương quan giữa nồng độ và hoạt tính chống oxy hóa của cao chloroform

Nồng độ cao càng tăng thì khả năng bắt các gốc tự do của cao càng mạnh. Dựa vào phương trình hồi qui, ta tính được giá trị IC₅₀ là nồng độ thu dọn được 50% gốc tự do DPPH. Các mẫu có giá trị IC₅₀ càng thấp thì hoạt tính chống oxy hóa càng cao.

Bảng 3 Giá trị IC₅₀ của các mẫu thử

Mẫu	Giá trị IC ₅₀ (μg/ml)
Cao còn	60,83
Cao chloroform	74,58
Vitamin C	3,38



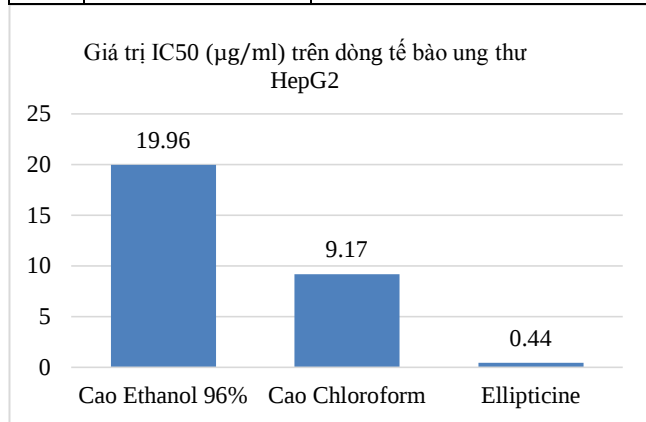
Hình 3 Biểu đồ so sánh giá trị IC₅₀ của các loại cao chiết về hoạt tính chống oxy hóa

Giá trị IC₅₀ về khả năng dọn dẹp gốc tự do DPPH của cao còn, cao chloroform lần lượt là 60,83μg/ml và 74,58μg/ml, cho thấy cao còn có hoạt tính chống oxy hóa mạnh hơn cao chloroform. Nồng độ này so với IC₅₀ của vitamin C là 6,38μg/ml vẫn còn rất cao. Nhưng nếu có sự tinh khiết hóa hợp chất có khả năng chống oxy hóa trong các cao thì giá trị IC₅₀ sẽ rất thấp.

3.2 Thử hoạt tính gây độc tế bào của các cao

Bảng 4 Kết quả thử hoạt tính độc tế bào

STT	Tên mẫu	Giá trị IC ₅₀ (µg/ml) trên dòng tế bào ung thư HepG2
1	Cao Ethanol 96%	19,96
3	Cao Chloroform	9,17
	Ellipticine	0,44



Hình 4 Biểu đồ so sánh giá trị IC₅₀ của các loại cao chiết về hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Hoạt tính gây độc tế bào gan HepG2 của cao chloroform (IC₅₀ = 9,17µg/ml) mạnh hơn cao cồn (IC₅₀ = 19,96µg/ml).

Tài liệu tham khảo

- Võ Văn Chi (2012). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học Hà Nội, pp. 1011-1017.
- Chin Y-W, Jones WP, Rachman I, Riswan S, Kardono LBS, Chai H-B, et al (2006). Cytotoxic lignans from the stems of *Helicteres hirsuta* collected in Indonesia, *Phytother Res*, 20:62–5.
- Molyneux P (2004). *The use of the stable free radical diphenylpicryl hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. *J. Sci. Technol*, 26:211-21
- Fresney R.I (1993): *Culture of animal Cells*; John Wiley & Sons Inc., New York. A manual of basis techniques, 3rd Edition
- Scudiero D.A., Shoemaker R.H., Kenneth D.P., Monks A., Tierney S., Nofziger T.H., Currens M.J., Seniff D., Boyd M.R. (1988) *Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines*. *Cancer Reseach*. 48: 4827-4833

***In vitro* antioxidant and cytotoxic activities of alcohol and chloroform extract**

***Helicteres hirsuta* Lour. Sterculiaceae**

Thuy Thi Thanh Phan

Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University
pttthuy@ntt.edu.vn

Abstract *Helicteres hirsuta* Lour. Sterculiaceae is known as a type of medicine for cancer treatment, detoxification ... Recent research shows that the ability to fight free radicals as well as the ability to fight cancer of *Helicteres hirsuta* Lour. Sterculiaceae. This study was conducted to evaluate the ability of free radical scavenging and cytotoxic activities of alcohol extracts and chloroform extracts of *Helicteres hirsuta* Lour. Sterculiaceae. The results showed that the antioxidant activity of alcohol extracts (IC₅₀ = 60.83µg/ml) was higher than that of chloroform extract (IC₅₀ = 74.58µg/ml). However, HepG2 hepatotoxic activity of chloroform extracts (IC₅₀ = 9.17µg/ml) was stronger than that of alcohol extract (IC₅₀ = 19.96µg/ml). Thus, *Helicteres hirsuta* Lour. Sterculiaceae contains anti-oxidant and cytotoxic active ingredients.

Keywords *Helicteres hirsuta* L. antioxidant activity, cytotoxic, IC₅₀, cancer



Từ 2 thử nghiệm xác định hoạt tính chống oxy hóa và gây độc tế bào cho thấy:

- Các hợp chất chống oxy hóa phân cực nhiều nên phân bố nhiều trong cao cồn, các hợp chất có khả năng gây độc tế bào kém phân cực phân bố nhiều trong cao chloroform.
- Cao cồn và cao chloroform là những cao chứa nhiều thành phần hợp chất. Trong đó, cao cồn chứa nhiều các hợp chất có khả năng chống oxy hóa, cao chloroform chứa các hợp chất có khả năng gây độc tế bào. Sự tinh khiết hóa các thành phần hợp chất trong mỗi loại cao sẽ cho tác dụng mạnh hơn cao tương ứng.

4 Kết luận

Khả năng chống oxy hóa của cao cồn mạnh hơn so với cao chloroform.

Khả năng gây độc tế bào ung thư của cao cồn yếu hơn so với cao chloroform.

Những kết quả trên cho thấy:

- Khả năng chống oxy hóa quét dọn gốc tự do, chứng tỏ cây An xoa có chứa những hợp chất ngăn ngừa và phòng chống được ung thư.
- Khả năng gây độc tế bào tế bào gan HepG2, chứng tỏ cây An xoa có chứa những hợp chất chữa được bệnh ung thư.