

THE CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF STEM EXTRACTS OF *Adinandra glischroloma*

Pho Thi Thuy Hang^{1,2}, Tran Dai Duong¹, Nguyen Thi Thu Nga¹, Tu Quang Tan¹,
 Nguyen Huu Quan^{1*}, Chu Hoang Mau¹

¹TNU - University of Education, ²TNU - University of Medicine and Pharmacy

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 21/02/2022	<i>Adinandra glischroloma</i> collected in Lao Cai province, Vietnam belongs to <i>Adinandra</i> genus. Some species of the <i>Adinandra</i> genus have been studied for their botanical characteristics and bioactive compounds, however, <i>A. glischroloma</i> has not been studied to date. Therefore, studying the chemical composition and biological activity of <i>A. glischroloma</i> stem extracts is necessary. The stem extracts of <i>A. glischroloma</i> have been quantified and determined whether they contain flavonoids, coumarins and polyphenolic compounds. The stem extracts were not able to inhibit the growth of the test bacteria (except, the dichloromethane extract inhibited <i>B. subtilis</i> and <i>L. plantarum</i> at a concentration of 200 µg/mL). The dichloromethane extract, ethyl acetate extract and ethanol extract have free radical reduction activity, which EC ₅₀ values reached 86.7, 88.5, and 111.2 µg/mL, respectively. The ethanol extract exhibited inhibitory activities on breast cancer, lung and gastric cell lines with IC ₅₀ values of 59.1, 63.23, and 67.48 µg/mL, respectively. The results show that <i>A. glischroloma</i> is a potential plant that contains many compounds that have biological activities that need to be further researched and exploited.
Revised: 27/4/2022	
Published: 28/4/2022	
KEYWORDS	
Total stem extracts	
Anti-cancer	
Antibacterial	
Antioxidant	
<i>Adinandra glischroloma</i>	

THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CAO CHIẾT TỪ THÂN CỦA LOÀI SUM LÔNG

Phó Thị Thúy Hằng^{1,2}, Trần Đại Dương¹, Nguyễn Thị Thu Nga¹, Từ Quang Tân¹,
 Nguyễn Hữu Quân^{1*}, Chu Hoàng Mậu¹

¹Trường Đại học Sư phạm - ĐH Thái Nguyên, ²Trường Đại học Y Dược - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 21/02/2022	Loài Sum lông có tên khoa học là <i>Adinandra glischroloma</i> Hand.-Mazz. var. <i>hirta</i> (Gagnep.) Kobuski, thuộc chi Dương đồng (<i>Adinandra</i>) phân bố ở tỉnh Lào Cai, Việt Nam. Một số loài thuộc chi Dương đồng đã được nghiên cứu về đặc điểm thực vật và các chất có hoạt tính sinh học, tuy nhiên loài Sum lông chưa được tác giả nào nghiên cứu. Do đó, phân tích thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết từ thân của loài Sum lông là nghiên cứu đầu tiên, mang tính thời sự và cần thiết. Cao chiết từ thân có chứa nhóm chất polyphenol, flavonoid và coumarin. Cao chiết từ thân không có khả năng ức chế vi khuẩn kiểm định (ngoại trừ cao dichloromethane ức chế <i>B. subtilis</i> và <i>L. plantarum</i> ở nồng độ 200 µg/mL). Cao dichloromethane có hoạt tính chống oxy hóa mạnh nhất, tiếp đến là ethyl acetate và thấp nhất là ethanol với giá trị EC ₅₀ lần lượt là 86,7; 88,5 và 111,2 µg/mL. Cao ethanol có hoạt tính ức chế các dòng tế bào ung thư vú, phổi và dạ dày với giá trị IC ₅₀ lần lượt là 59,1; 63,23 và 67,48 µg/mL. Kết quả này cho thấy, loài Sum lông là cây trồng tiềm năng chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cần được tiếp tục nghiên cứu và khai thác.
Ngày hoàn thiện: 27/4/2022	
Ngày đăng: 28/4/2022	
TỪ KHÓA	
Cao tổng	
Chống oxy hóa	
Kháng khuẩn	
Kháng tế bào ung thư	
Sum lông	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5561>

* Corresponding author. Email: quannh@tnue.edu.vn

1. Giới thiệu

Hiện nay, các loài thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*), họ Chè (Theaceae) đang được các nhà khoa học trên Thế giới và ở Việt Nam quan tâm nghiên cứu. Min và Bruce (2007) trong “Thực vật chí Trung Quốc (Flora of China)” đã thống kê được chi *Adinandra* trên thế giới có khoảng 85 loài. Ở Trung Quốc, chi *Adinandra* có tới 22 loài, trong đó có 17 loài là đặc hữu [1]. Phạm Hoàng Hộ (2000) trong “Cây cỏ Việt Nam” đã thống kê được chi *Adinandra* ở Việt Nam có khoảng 15 loài, phân bố rải rác khắp cả nước [2]. Trên Thế giới, các nghiên cứu tập trung chủ yếu ở loài *Adinandra nitida* [3], [4]; *Adinandra millettii* và *Adinandra latifolia* [5]. Ở Việt Nam, các nghiên cứu bước đầu tập trung ở một số loài như loài *Adinandra lienii* nhằm xác định đặc điểm thực vật học, một số nhóm gen để nhận diện loài, xác định thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết [6]-[8]; loài *Adinandra megaphylla* Hu nhằm xác định thành phần hóa học, hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa và ức chế dòng tế bào ung thư *in vitro*, cũng như giải mã hệ gen lục lạp [9]-[11].

Loài Sum lông hay còn gọi là Hồng đam lông, có tên khoa học là *Adinandra glischroloma* Hand.-Mazz. var. *hirta* (Gagnep.) Kobuski, thuộc chi Dương đồng, họ Chè. Loài Sum lông là cây bụi hoặc thân gỗ, cao 3-8 m. Cành non có màu nâu xám, các cành nhỏ hiện tại và chồi cuối phát triển rộng có màu vàng nâu hoặc màu lông nhung. Cuống lá dày 8-10 mm, phiến lá hình elip thuôn dài diện tích 8-13 × 2,5-4,5 cm, có nhiều lông, có mặt ngoài màu xanh lục hơi vàng và nâu vàng đến gần đen với các lông nhô ra ngoài rìa, phía trên có màu xanh đậm và bóng, gân phụ từ 10-12 ở mỗi mặt của gân giữa và dễ thấy trên cả hai mặt. Hoa mọc ở nách lá, có 2 hay 3 chùm, ít khi đơn độc. Cuống nhỏ từ 0,6-1,5 cm thường uốn cong, rậm rạp; lá bắc có nhiều lông. Đài hoa hình trứng rộng 5-14 mm, bên ngoài có hình trứng dày, đỉnh hình chóp nhọn. Cánh hoa màu trắng, thuôn dài khoảng 8-15 × 4-6 mm. Quả màu đen khi chín, hình cầu, dài 0,8-1,3 cm, quả đặc. Ở Việt Nam, loài Sum lông chỉ phân bố ở Lào Cai và hiện nay chưa có bất kỳ công trình nghiên cứu nào về loài này. Do đó, công trình này là nghiên cứu đầu tiên về loài Sum lông nhằm tiến hành tạo cao chiết, định tính thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa, khả năng gây độc các tế bào ung thư của cao chiết thu được.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu và môi trường nuôi cấy

Nguyên liệu sử dụng để tách cao chiết là thân của loài Sum lông được thu tại huyện Bát Sát, tỉnh Lào Cai, Việt Nam và được PGS.TS. Sỹ Danh Thường, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên định danh dựa trên các đặc điểm thực vật học khi tiến hành thu mẫu.

Các loài vi khuẩn sử dụng để nghiên cứu hoạt tính sinh học từ cao chiết thân của loài Sum lông do Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên cung cấp gồm loài *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens* và *Lactobacillus plantanum*. Các loài vi khuẩn kiểm định được nuôi hoạt hóa trong môi trường LB có thành phần gồm cao nấm men 0,5%; NaCl 1,0%; pepton 1,0% và được định tính trong môi trường LB đặc (bổ sung 2,0% thạch agar).

Dòng tế bào ung thư vú (MDA-MB-231), ung thư dạ dày (AGS) và ung thư phổi (A549) do Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp để xác định hoạt tính gây độc tế bào.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Điều chế mẫu từ thân của loài Sum lông để thử hoạt tính

Sau khi thu mẫu và xác định đặc điểm hình thái, thân của loài Sum lông được rửa sạch, thái nhỏ, phơi trong bóng mát và sấy khô ở nhiệt độ 50°C đến khối lượng không đổi, sau đó đem nghiền nhỏ. Mẫu nghiền được chiết hai lần bằng ethanol trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng. Dịch tổng số được cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm, nhiệt độ <50°C và thu được cặn cô

ethanol. Cặn cô ethanol được chiết với các dung môi có độ phân cực tăng dần lần lượt là dichlormethane và ethyl acetate. Sau khi cất đuôi dung môi thu được cặn dịch dichlormethane, ethyl acetate và cặn chiết. Các cặn dịch thu được sẽ sấy khô ở nhiệt độ 50°C và thu được cao sấy khô tương ứng. Các cao chiết ethanol, dichlormethane và ethyl acetate được sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo.

2.2.2. Định tính các hợp chất có trong cao ethanol từ thân của loài Sum lông

Định tính polyphenol: Phản ứng với muối sắt (III), lấy 5 ml cao ethanol cho vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho thêm 0,5 ml muối sắt (III) vào ống II và quan sát hiện tượng. Tùy theo số lượng và vị trí nhóm hydroxyl trong phân tử polyphenol mà cho màu lục, xanh hoặc nâu. Phản ứng với dung dịch H₂SO₄ đặc, lấy 2 ml cao ethanol vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho thêm 1-2 giọt H₂SO₄ đặc vào ống II và quan sát hiện tượng. Khi nhỏ H₂SO₄ đặc lên các dẫn xuất của flavon và flavonol thì cho màu vàng đậm; đối với chalcon và auron cho màu đỏ, đỏ thẫm và đỏ tươi; flavanon cho màu đỏ da cam do sự chuyển thành chalcon.

Định tính các coumarin: Lấy 2 ml cao ethanol vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho vào ống II 0,5 ml dung dịch NaOH 10%. Đun cả 2 ống trên bếp cách thủy đến sôi, lấy ra để nguội cho thêm 4 ml nước cất vào cả 2 ống I và II. Quan sát thấy chất lỏng ở ống II (có kiềm) trở lên trong suốt hoặc trong hơn ống I (không kiềm) có thể xem là có coumarin. Nếu đem axit hóa ống nghiệm có kiềm bằng một vài giọt HCl đặc mà làm cho dịch mất màu vàng đục hoặc xuất hiện kết tủa bông (cũng có khi xuất hiện kết tủa) thì có thể kết luận có coumarin [12].

Định tính các flavonoid: 0,05g cao chiết ethanol được hòa với 10 mL CH₃OH trong ống nghiệm và lắc đều, đun nóng ống nghiệm cho tan rồi lọc qua giấy lọc. Lấy 2 mL dịch đã lọc vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Thêm một ít bột Mg kim loại vào cả 2 ống, lắc đều và cho 5 giọt HCl đặc vào ống II, đun trong bình cách thủy vài phút và quan sát thấy dung dịch có màu từ vàng, đỏ đến xanh là dương tính với các flavonoid.

2.2.3. Xác định hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết

Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ thân của loài Sum lông được xác định bằng phương pháp đục lỗ thạch theo Mahesh và Satish (2008) [13]. Hút 70 µL dịch nuôi mỗi loài vi khuẩn kiểm định đã được hoạt hóa từ 4-8 giờ trong môi trường LB lỏng ở 28°C, lắc 200 vòng/phút lên đĩa môi trường LB đặc và trải đều dịch vi khuẩn trên mặt thạch cho đến khi khô. Dùng khoan nút chai tạo 4 giếng có đường kính 1 cm trên đĩa thạch sau đó bổ sung 100 µL cao chiết mỗi loại từ loài Sum lông vào 3 giếng ở các nồng độ 20; 60 và 200 µg/mL (giếng đối chứng bổ sung DMSO). Các đĩa petri đã bổ sung cao chiết được đặt vào tủ lạnh 4°C khoảng 1-2h để cho dịch được ngấm đều vào đĩa thạch và tiến hành đặt đĩa thạch vào tủ ấm nuôi ở 28°C, từ 18-24h. Tiến hành đo đường kính vòng kháng khuẩn, chụp hình và ghi lại kết quả của các mẫu nghiên cứu. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đường kính vòng kháng khuẩn được xác định theo công thức: $H = D - d$ (mm). Trong đó: D là đường kính vòng vô khuẩn tính từ tâm đục lỗ (mm); d là đường kính đục lỗ thạch (mm).

2.2.4. Xác định khả năng chống oxy hóa của cao chiết bằng phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết từ thân của loài Sum lông bằng phương pháp trung hòa gốc tự do DPPH được thực hiện dựa trên công thức của Tabart và cộng sự (2009) [14]. Tiến hành hút 100 µl cao chiết mỗi loại ở các nồng độ 0,5; 2; 8; 32 và 64 µg/mL vào ống nghiệm, sau đó bổ sung 2,9 mL dung dịch DPPH nồng độ 0,1 mM pha trong dung dịch methanol, lắc đều và để yên trong 30 phút và đo ở bước sóng 517 nm. Khả năng khử gốc tự do DPPH của cao chiết được xác định theo công thức sau: Khả năng khử gốc tự do DPPH (%) = $100 \times (A_c - A_s) / A_c$. Trong đó, A_c là độ hấp thụ quang của mẫu đối chứng, A_s là độ hấp thụ quang của mẫu cần xác định. Khả năng kháng oxy hóa được xác định dựa vào giá trị EC₅₀ (là nồng độ mẫu có khả năng khử gốc tự do DPPH là 50%).

2.2.5. Xác định khả năng gây độc tế bào ung thư bằng phương pháp nuôi cấy dạng đơn lớp

Phương pháp nuôi cấy dạng đơn lớp để xác định khả năng gây độc tế bào ung thư *in vitro* của cao chiết từ loài Sum lông được xác định theo phương pháp của Monks (1991) [15]. Cao chiết ethanol từ loài Sum lông được thử nghiệm ở các nồng độ 100; 20; 4 và 0,8 $\mu\text{g/mL}$. Chất tham khảo Ellipticine sử dụng ở các nồng độ 10; 2; 0,4 và 0,08 $\mu\text{g/mL}$ được dùng như là chất đối chứng dương. Dimethyl sulfoxide (DMSO) ở nồng độ 10% được sử dụng như là chất đối chứng âm. Chất thử đã pha ở các nồng độ vào đĩa 96 giếng, thêm tế bào đã điều chỉnh phù hợp vào các giếng này sao cho nồng độ chất thử trong giếng lần lượt là 100; 20; 4; 0,8 $\mu\text{g/mL}$ và ủ trong tủ ấm 48 giờ. Giếng không có chất thử nhưng có tế bào ung thư (180 μl) sẽ sử dụng làm đối chứng ngày 0. Sau 1 giờ, giếng đối chứng ngày 0 tế bào sẽ được cố định bằng TCA. Sau 72 giờ, tế bào được cố định bằng TCA trong 1 giờ, được nhuộm bằng SRB trong 30 phút ở 37°C, rửa 03 lần bằng acid acetic rồi để khô ở nhiệt độ phòng. Bổ sung 10 mM unbuffered Tris base để hòa tan lượng SRB, lắc nhẹ trong 10 phút. Hàm lượng protein tổng số của tế bào được xác định dựa vào mật độ quang học (OD) đo được khi thành phần protein của tế bào được nhuộm bằng Sulforhodamine B (SRB). Giá trị OD được đọc ở bước sóng 515 nm trên máy ELISA Plate Reader. Giá trị OD máy đo được tỉ lệ thuận với lượng SRB gắn với phân tử protein. Giá trị OD càng lớn thì hàm lượng tế bào và hàm lượng protein càng nhiều. Khả năng gây độc tế bào được xác định bằng nồng độ của chất cái mà ức chế 50% sự phát triển của tế bào. Nồng độ ức chế 50% tế bào (IC_{50}) được xác định là nồng độ của mẫu ức chế được 50% tế bào, các gốc tự do hoặc enzyme. Chất chuẩn được coi có hoạt tính tốt khi $\text{IC}_{50} = 5 \mu\text{M}$ [16].

3. Kết quả và thảo luận

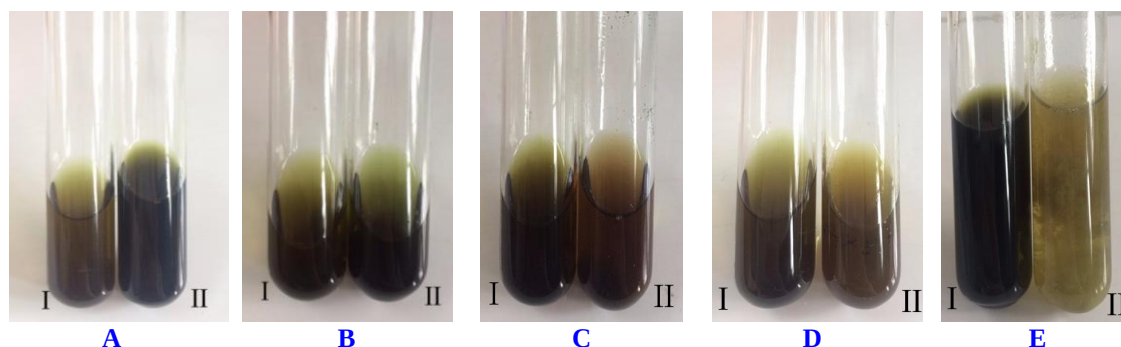
3.1. Định tính thành phần các chất có trong cao chiết ethanol của loài Sum lông

Định tính polyphenol: Cao ethanol từ thân của loài Sum lông được định tính bằng thuốc thử với muối sắt (III), nhận thấy dung dịch trong ống nghiệm II chuyển sang màu xanh lục và khác so với màu của ống nghiệm I (Hình 1A). Trong khi định tính bằng H_2SO_4 đặc, dung dịch trong ống nghiệm II vẫn giữ nguyên màu của ống nghiệm I (Hình 1B). Như vậy, trong lá của loài Sum lông có chứa nhóm chất polyphenol, nhưng không có dẫn xuất của flavon và flavonol.

Định tính các flavonoid: Cao ethanol từ thân của loài Sum lông được định tính flavonoid bằng dung dịch axit HCl đặc và bột Mg kim loại. Kết quả hình 1C nhận thấy, dung dịch trong ống nghiệm II chuyển từ màu vàng sang màu đỏ và cuối cùng là màu xanh. Như vậy, trong dịch chiết của loài Sum lông chứa thành phần flavonoid.

Định tính các coumarin: Cao chiết của loài Sum lông được định tính các coumarin bằng dung dịch NaOH 10%. Kết quả nhận thấy, khi cho 0,5 mL NaOH 10% vào ống nghiệm 2, đem đun cả 2 ống nghiệm trên bếp cách thủy, sau khi làm nguội và cho thêm 4 mL nước cất vào cả ống thì dung dịch ống 2 trở lên trong hơn (Hình 1D). Sau khi cho vài giọt HCl đặc vào cả 2 ống nghiệm thì ống 2 mất màu vàng đục (Hình 1E). Như vậy, trong dịch chiết của loài Sum lông chứa thành phần coumarin.

Các nghiên cứu đã công bố cho thấy, cao chiết từ lá của loài *A. lienii* có chứa các nhóm chất polyphenol, coumarin và flavonoid [8]; trong khi cao chiết từ lá của loài *A. megaphylla* Hu có chứa các hợp chất polyphenol, coumarin và không chứa flavonoid [9]; cao chiết từ thân của loài Sum lá lớn chứa các nhóm chất polyphenol, coumarin và không chứa nhóm chất flavonoid [10]. So với các nghiên cứu đã công bố, cao chiết từ thân của loài Sum lông có chứa các nhóm chất tương đồng so với các nhóm chất trong lá của loài *A. lienii* và khác so với các nhóm chất của loài *A. megaphylla* Hu. Như vậy, trong cao chiết từ thân của loài Sum lông trong nghiên cứu này có chứa nhóm chất polyphenol, coumarin và flavonoid. Các nhóm hợp chất polyphenol, flavonoid và coumarin có ý nghĩa trong việc ứng dụng làm thuốc chữa bệnh và kết quả này là cơ sở để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo ở loài Sum lông.

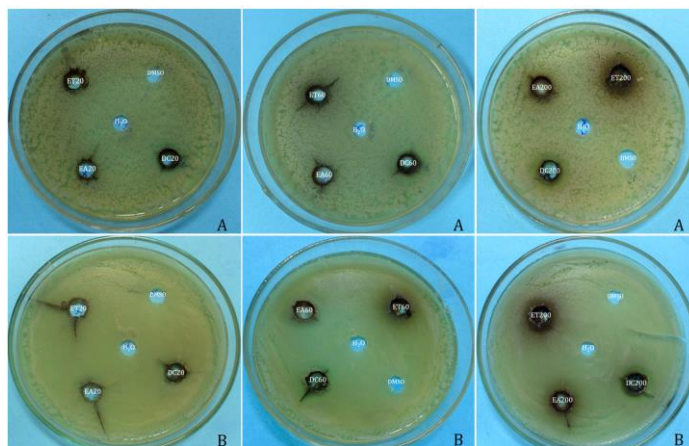


Hình 1. Kết quả định tính polyphenol (A, B), flavonoid (C) và coumarin (D, E) trong cao chiết ethanol từ thân của loài Sum lông

(A) Phản ứng với muối sắt III; (B) Phản ứng với dung dịch H_2SO_4 đặc; (C) Phản ứng với dung dịch axit HCl đặc và bột Mg kim loại; (D) Phản ứng với NaOH; (E) Phản ứng với HCl đặc; I: Cao ethanol toàn phần ban đầu; II: Cao ethanol sau phản ứng.

3.2. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ thân của loài Sum lông

Hoạt tính kháng vi khuẩn *B. subtilis*, *S. marcescens* và *L. plantarum* của cao ethanol, ethyl acetate và dichloromethane từ thân của loài Sum lông được trình bày ở bảng 1 và hình 2. Cao ethanol ở nồng độ 20 và 60 $\mu\text{g/mL}$ không có khả năng ức chế vi khuẩn *B. subtilis*, *S. marcescens* và *L. plantarum*; trong khi ở nồng độ 200 $\mu\text{g/mL}$ không ức chế vi khuẩn *S. marcescens*, ức chế yếu vi khuẩn *B. subtilis* và ức chế vi khuẩn *L. plantarum*. Cao ethyl acetate ở cả 3 nồng độ khảo sát đều không ức chế vi khuẩn *B. subtilis*, *S. marcescens* và *L. plantarum*. Cao dichloromethane không ức chế vi khuẩn *S. marcescens* ở cả 3 nồng độ khảo sát; ức chế yếu vi khuẩn *B. subtilis* và *L. plantarum* ở nồng độ 20 và 60 $\mu\text{g/mL}$ và ức chế vi khuẩn *B. subtilis* và *L. plantarum* ở nồng độ 200 $\mu\text{g/mL}$. Như vậy, cao dichloromethane có hoạt tính kháng vi khuẩn *B. subtilis* và vi khuẩn *L. plantarum* tốt hơn so với cao ethanol và cao ethyl acetate không có hoạt tính kháng vi khuẩn kiểm định.



Hình 2. Hoạt tính kháng vi khuẩn *B. subtilis* (A) và vi khuẩn *L. plantarum* (B) của cao chiết từ thân của loài Sum lông

DMSO và H_2O là đối chứng; ET20, ET60, ET200: Cao ethanol lần lượt ở các nồng độ 20, 60 và 200 $\mu\text{g/mL}$; EA20, EA60, EA200: Cao ethyl acetat lần lượt ở các nồng độ 20, 60 và 200 $\mu\text{g/mL}$; DC20, DC60, DC200: Cao dichloromethan lần lượt ở các nồng độ 20, 60 và 200 $\mu\text{g/mL}$.

Nghiên cứu của Nguyễn Hữu Quân và cộng sự (2019) đã chứng minh cao chiết ethanol, etyl acetate và dichloromethane từ loài *A. lienii* ở nồng độ 200 $\mu\text{g/mL}$ ức chế sự phát triển của vi khuẩn *B. subtilis*, *S. marcessens* và *L. plantarum* [8]. Năm 2020, Nguyễn Thị Ngọc Lan và cộng

sự đã chứng minh cao chiết ethanol, etyl acetate và dichloromethane từ lá của loài *A. megaphylla* Hu ở nồng độ 200 µg/mL cũng có hoạt tính ức chế các loài vi khuẩn *B. subtilis*, *S. marcescens* và *L. plantarum* [9]. Nguyễn Thị Ngọc Lan và Nguyễn Hữu Quân (2021) đã chứng minh cao chiết ethanol, etyl acetate và dichloromethane từ thân của loài Sum lá lớn không có hoạt tính kháng vi khuẩn *S. marcescens* nhưng có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *B. subtilis* và *L. plantarum* ở cả 3 nồng độ 20; 60 và 200 µg/mL; đặc biệt cao dichloromethane còn ức chế mạnh ở nồng độ 200 µg/mL [10]. Như vậy, hoạt tính kháng vi khuẩn *B. subtilis* và *L. plantarum* của cao chiết từ thân của loài Sum lông yếu hơn so với loài Sum lá lớn và loài *A. lienii*. So với các nghiên cứu đã công bố trên, có thể nhận thấy cao dichloromethane có hoạt tính tốt nhất, tiếp đến là cao ethanol và ethyl acetate.

Bảng 1. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ thân của loài Sum lông

TT	Vi khuẩn	Các loại cao chiết ở nồng độ khảo sát								
		ET20	ET60	ET200	EA20	EA60	EA200	DC20	DC60	DC200
1	<i>B. subtilis</i>	-	-	+	-	-	-	+	+	++
2	<i>S. marcescens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	<i>L. plantarum</i>	-	-	++	-	-	-	+	+	++

Ghi chú: (-) không ức chế (không xuất hiện vòng kháng khuẩn); (+) ức chế yếu (đường kính vòng kháng khuẩn từ 1-5 mm); (++) ức chế (đường kính vòng kháng khuẩn từ 6-10 mm); (+++) ức chế mạnh (đường kính vòng kháng khuẩn >10 mm).

E1, E2, E3: Cao chiết ethanol ở nồng độ 20; 60 và 200 µg/mL; E4, E5, E6: Cao ethyl acetate ở nồng độ 20; 60 và 200 µg/mL; E7, E8, E9: Cao dichloromethane ở nồng độ 20; 60 và 200 µg/mL.

3.3. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ thân của loài Sum lông

Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết dichloromethane, cao ethyl acetate và cao ethanol ở các nồng độ 0,5; 2,0; 8,0 và 32 µg/mL được thể hiện ở Bảng 2. Khi nồng độ thử nghiệm của cao chiết dichloromethane, cao ethyl acetate và cao ethanol tăng thì khả năng khử gốc tự do DPPH cũng tăng. Ở nồng độ 0,5-8,0 µg/mL, cao dichloromethane, cao ethyl acetate và cao ethanol chưa thể hiện khả năng khử gốc tự do DPPH. Hoạt tính khử gốc tự do DPPH có được ở nồng độ 32 và 128 µg/mL (giá trị dao động từ 14,1-58,9%). Hoạt tính khử gốc tự do DPPH mạnh nhất đối với cao dichloromethane, tiếp đến là cao ethyl acetate và thấp nhất là cao ethanol với giá trị EC₅₀ của các cao này lần lượt ở các nồng độ 86,7; 88,5 và 111,2 µg/mL.

Bảng 2. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết

Nồng độ (µg/mL)	Khả năng khử gốc tự do DPPH (%)		
	Cao ethanol	Cao dichloromethane	Cao ethyl acetate
0,5	0	0	0
2,0	0	0	0
8,0	0	0	0
32	14,1	27,9	23,8
128	58,9	55,2	58,3
EC ₅₀	111,2	86,7	88,5

Nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngọc Lan và cộng sự (2020) đã chứng minh cao chiết ethanol và cao ethyl acetate từ lá của loài *A. megaphylla* Hu có khả năng khử gốc tự do DPPH tốt với giá trị EC₅₀ lần lượt là 33,2 và 30,3 µg/mL; trong khi cao dichloromethane hoạt tính khử yếu với giá trị EC₅₀ > 128 µg/mL [9]. Năm 2021, Nguyễn Thị Ngọc Lan và Nguyễn Hữu Quân đã chứng minh cao chiết ethanol và cao ethyl acetate từ thân của loài Sum lá lớn có khả năng khử gốc tự do DPPH tốt với giá trị EC₅₀ lần lượt là 33,2 và 30,3 µg/mL; Trong khi cao dichloromethane hoạt tính khử yếu với giá trị EC₅₀ > 128 µg/mL [10]. Như vậy, khả năng khử gốc tự do DPPH của cao chiết ethanol và ethyl acetate từ loài Sum lông trong nghiên cứu này thấp hơn so với một số nghiên cứu trước [9], [10], tuy nhiên cao dichloromethane từ loài Sum lông có hoạt tính ức chế tốt hơn loài *A. megaphylla* Hu.

3.4. Hoạt tính ức chế dòng tế bào ung thư của cao chiết ethanol từ thân của loài Sum lông

Cao chiết ethanol từ loài Sum lông được thử nghiệm khả năng ức chế 03 dòng tế bào ung thư vú (MDA-MB-231), ung thư dạ dày (AGS) và ung thư phổi (A549) ở các nồng độ 100; 20; 4 và 0,8 $\mu\text{g/mL}$ trong điều kiện *in vitro*. Kết quả nghiên cứu nhận thấy, hoạt tính kháng tế bào ung thư của cao chiết ethanol được thể hiện thông qua phần trăm ức chế sự phát triển của dòng ba tế bào tăng dần khi nồng độ cao chiết tăng từ 0,8 đến 100 $\mu\text{g/mL}$. Trong đó, cao chiết ethanol ức chế dòng tế bào ung thư vú mạnh nhất đạt 87,05%; tiếp đến là dòng tế bào ung thư phổi (tỉ lệ đạt 86,12%) và dòng tế bào ung thư dạ dày bị ức chế thấp nhất đạt 80,91% ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ (Bảng 3). Giá trị IC_{50} của cao chiết ethanol tăng dần đối với ba dòng tế bào ung thư vú, ung thư phổi và ung thư dạ dày, giá trị IC_{50} đối với ba dòng tế bào ung thư vú, ung thư phổi và ung thư dạ dày lần lượt đạt 59,01; 63,23 và 67,48 $\mu\text{g/mL}$.

Nghiên cứu trước đây đã chứng minh, cao chiết ethanol từ lá của loài *A. megaphylla* Hu ức chế sự phát triển của 3 dòng tế bào ung thư dạ dày, ung thư phổi và ung thư vú với giá trị IC_{50} lần lượt là 67,76; 77,02 và 84,46 $\mu\text{g/mL}$ [9]. Trong khi, cao chiết ethanol từ thân của loài Sum lá lớn ức chế sự phát triển của 3 dòng tế bào ung thư dạ dày, ung thư phổi và ung thư vú với giá trị IC_{50} lần lượt là 56,54; 43,52 và 58,24 $\mu\text{g/mL}$ [10]. Như vậy, cao chiết ethanol từ loài Sum lông trong nghiên cứu và cao chiết ethanol từ loài *A. megaphylla* Hu của các nghiên cứu đã công bố đều có khả năng ức chế các dòng tế bào ung thư dạ dày, ung thư phổi và ung thư vú. Tuy nhiên, khả năng ức chế của cao chiết đối với từng dòng tế bào ung thư có sự khác nhau. Cao ethanol từ loài Sum lông ức chế dòng tế bào ung thư vú mạnh nhất và dòng tế bào ung thư dạ dày thấp nhất. Trong khi cao ethanol từ loài *A. megaphylla* Hu ức chế dòng tế bào ung thư phổi cao nhất và dòng tế bào ung thư vú thấp nhất. Ngoài ra, Gao và cộng sự (2010) đã phân lập được camellianin A, một loại flavonoid từ lá của loài *A. nitida* và chất camellianin A đã được chứng minh có hoạt tính ức chế sự tăng sinh và quá trình apoptosis của tế bào ung thư gan và tế bào ung thư tuyến vú [17]. Do đó, cao chiết ethanol từ thân của loài Sum lông có hoạt tính ức chế các dòng tế bào ung thư vú, ung thư dạ dày và ung thư phổi. Kết quả nghiên cứu này làm căn cứ để phân lập các hợp chất sạch từ cao ethanol có khả năng ức chế các dòng tế bào ung thư trong điều kiện *in vitro*.

Bảng 3. Hoạt tính kháng tế bào ung thư của cao chiết ethanol từ thân của loài Sum lông

Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	% ức chế sự phát triển của dòng tế bào		
	Ung thư phổi	Ung thư dạ dày	Ung thư vú
100	86,12 $\pm$ 0,25	80,91 $\pm$ 2,60	87,05 $\pm$ 0,31
20	11,02 $\pm$ 0,58	11,02 $\pm$ 2,47	14,99 $\pm$ 0,91
4	0,32 $\pm$ 0,87	1,00 $\pm$ 0,64	0,83 $\pm$ 0,91
0,8	-3,62 $\pm$ 0,43	-0,28 $\pm$ 0,47	-1,80 $\pm$ 0,98
IC_{50}	63,23 $\pm$ 2,03	67,48 $\pm$ 2,78	59,10 $\pm$ 5,24

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, polyphenol, flavonoid và coumarin đã được xác định có trong cao chiết từ thân của loài Sum lông (*A. glischroloma*). Cao chiết ethanol và dichloromethane từ thân của loài Sum lông ở nồng độ 200 $\mu\text{g/mL}$ mới có khả năng ức chế vi khuẩn *B. subtilis* và *L. plantarum*; trong khi cả 3 loại cao chiết đều không ức chế vi khuẩn *S. marcescens*. Cao dichloromethane có hoạt tính chống oxi hóa mạnh nhất, tiếp đến là ethyl acetate và thấp nhất là ethanol với giá trị EC_{50} lần lượt là 86,7; 88,5 và 111,2 $\mu\text{g/mL}$. Cao ethanol có hoạt tính ức chế các dòng tế bào ung thư vú, phổi và dạ dày với giá trị IC_{50} lần lượt là 59,1; 63,23 và 67,48 $\mu\text{g/mL}$. Kết quả nghiên cứu đã chứng minh Sum lông là loài thực vật tiềm năng chứa các chất có hoạt tính sinh học và hứa hẹn phân lập được các chất sạch có hoạt tính sinh học từ loài thực vật này.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Giáo dục và Đào tạo thông qua đề tài có mã số B2022-TNA-43. Các tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] T. L. Min and B. B. Bruce, "Theaceae. In: Wu Z. Y., Raven P. H. and Hong D. Y. (eds.), Flora of China," *Science Press, Beijing and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.*, vol. 12, pp. 435-443, 2007.
- [2] H. H. Pham, *An Illustrate Flora of Vietnam*. Young Publishing, vol. 11, 2000.
- [3] B. Liu, J. Yang, Y. Ma, E. Yuan, and C. Chen, "Antioxidant and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activities of ethanol extract and pure flavonoids from *Adinandra nitida* leaves," *Pharmaceutical biology*, vol. 48, pp. 1432-1438, 2010.
- [4] H. Gao, B. Liu, F. Liu, and Y. Chen, "Anti-proliferative effect of camellianin A in *Adinandra nitida* leaves and its apoptotic induction in human Hep G2 and MCF-7 cells," *Molecules*, vol. 15, pp. 3878-3886, 2010.
- [5] Y. Chen, G. Chen, X. Fu, and R. H. Liu, "Phytochemical Profiles and Antioxidant Activity of Different Varieties of *Adinandra* Tea (*Adinandra* Jack)," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 63, pp. 169-176, 2015.
- [6] H. Q. Nguyen and T. T. G. Kieu, "Use of matK DNA barcode to identify *Adinandra* samples collected at Lao Cai, Vietnam," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 197, pp. 205-210, 2015.
- [7] H. Q. Nguyen, P. D. Le, and H. M. Chu, "Studying of anatomical characteristics and sequence of *ITS* gene from *Adinandra lienii*," *CASEAN-6 Proceedings*, 2019, pp. 153-159.
- [8] H. Q. Nguyen, T. K. P. Than, and H. M. Chu, "Study on chemical composition and antibacteria activity of extracts total from leaves of *Adiandra lienii* species," *Proceedings National Biotechnology Conference 2019*, 2019, pp. 178-182.
- [9] T. N. L. Nguyen, H. Q. Nguyen, T. T. N. Nguyen, T. T. X. Vi, T. D. Sy, T. T. Nguyen, and H. M. Chu, "Antibacterial, Antioxidant and Anti - Cancerous Activities of *Adiandra megaphylla* Hu Leaf Extracts," *Biosc. Biotech. Res. Comm.*, vol. 13, pp. 1015-1020, 2020.
- [10] T. N. L. Nguyen and H. Q. Nguyen, "Chemical composition and biological activity of extracts total from stem of *Adiandra megaphylla* Hu collected in lao cai, Vietnam," *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 226, pp. 55-61, 2021.
- [11] H. Q. Nguyen, T. N. L. Nguyen, T. N. Doan, T. T. N. Nguyen, M. H. Pham, T. L. Le, T. D. Sy, H. H. Chu, and H. M. Chu, "Complete chloroplast genome of novel *Adrinandra megaphylla* Hu species: molecular structure, comparative and phylogenetic analysis," *Scientific Reports*, 2021, doi: 10.1038/s41598-021-91071-z.
- [12] T. A. Nguyen and T. H. Bui, "Study on Flavonoid and Coumarin components of drugs in dispersion method," *Journal of Pharmacy*, vol. 368, pp. 37-40, 2008.
- [13] B. Mahesh and S. Satish, "Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens," *World J. Agric. Sci.*, vol. 4, pp. 839-843, 2008.
- [14] J. Tabart, C. Kevers, J. Pincemail, J. O. Defraigne, and J. Dommes, "Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests," *Food Chem.*, vol. 113, pp. 1226-1233, 2009.
- [15] A. Monks, D. Scudiero, P. Skehan, R. Shoemaker, K. Paull, D. Vistica, C. Hose, J. Langley, P. Cronise, A. Vaigro-Wolff, and M. Gray-Goodrich, "Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines," *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 83, pp. 757-766, 1991.
- [16] J. P. Hughes, S. Rees, S. B. Kalindjian, and K. L. Philpott, "Principles of early drug discovery," *British journal of pharmacology*, vol. 162, pp. 1239-1249, 2011.
- [17] H. Gao, B. Liu, F. Liu, and Y. Chen, "Anti-Proliferative Effect of Camellianin A in *Adinandra nitida* Leaves and Its Apoptotic Induction in Human Hep G2 and MCF-7 Cells," *Molecules*, vol. 15, pp. 3878-3886, 2010, doi: 10.3390/molecules15063878.