

ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF *MILLETTIA DIELSIANA* IN VIETNAM

Dao Viet Hung, Dang Thi Ngoc Ha, Tran Thi Thuy Duong, Pham Thanh Hue, Vu Thi Thu Le*

TNU - University of Agriculture and Forestry

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 19/5/2022	Co mầu (<i>Millettia dielsiana</i>) is a traditional Vietnamese medicinal plant and belongs to the Fabaceae family with a bitter taste. According to folk experience, this plant is used to treat back pain, knee pain, anemia, paralysis of the limbs, sedation, arthritis, enhanced secretion clearance, and menstrual irregularity. Ethanol extract (MD) and ethyl acetate fraction (MDE) exhibited the highest antioxidant activity using the DPPH method with SC (%) values of 75.15 ± 0.3 and $79.01 \pm 0.8\%$, respectively, and SC_{50} values calculated of 27.06 and 25.68 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The remaining fractions (MDH , MDW) of MD extract showed no activity. The MD extract and its fractions exhibited cytotoxic activity against human hepatoma cell line (Hep-G2), cervical cancer cells (HeLa), and breast adenocarcinoma cells (MCF-7) according to the MTT method. MDE fraction showed good cytotoxic activity against Hep-G2 and MCF-7 cells with IC_{50} values of 18.45 $\mu\text{g/mL}$ and 13.52 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The MD extract has the best ability to inhibit the Hep-G2 cancer cell line with IC_{50} values of 15.01 $\mu\text{g/mL}$. In addition, the MD extract and its fractions did not exhibit inhibitory activity against Vero cells.
Revised: 31/5/2022	
Published: 31/5/2022	
KEYWORDS	
<i>Millettia dielsiana</i>	
Fabaceae	
Antioxidant	
Hep-G2	
HeLa	
MCF-7	
Vero	

HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA VÀ GÂY ĐỘC TẾ BÀO CỦA LOÀI CỔ MÁU (*MILLETTIA DIELSIANA*) Ở VIỆT NAM

Đào Việt Hùng, Đặng Thị Ngọc Hà, Trần Thị Thùy Dương, Phạm Thanh Huế, Vũ Thị Thu Lê*

Trường Đại học Nông Lâm – ĐHTN Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 19/5/2022	Cây Cổ máu là một cách gọi dân gian của người xưa, khi dịch của cây tiết ra gần giống với máu người, có tên khoa học <i>Millettia dielsiana</i> , thuộc họ Đậu (Fabaceae) có vị đắng, tính bình. Theo kinh nghiệm dân gian, cây có công dụng làm thuốc chữa thiếu máu, lưng gối đau mỏi, chân tay tê liệt, viêm khớp, an thần gây ngủ, tăng cường bài tiết và kinh nguyệt không đều,... Cặn tổng (MD) và cặn etyl axetat (MDE) thể hiện hoạt tính chống oxy hóa theo phương pháp DPPH tốt nhất với giá trị SC (%) lần lượt là $75,15 \pm 0,3$ và $79,01 \pm 0,8\%$, tương ứng với giá trị SC_{50} bằng 27,06 và 25,68 $\mu\text{g/mL}$. Cặn <i>n</i> -hexan (MDH) và nước (MDW) hầu như không thể hiện hoạt tính. Các cặn MD , MDH , MDE và MDW thể hiện hoạt tính gây độc đối với các tế bào ung thư gan (Hep-G2), cổ tử cung (HeLa) và vú (MCF-7) theo phương pháp MTT ở các mức độ khác nhau. Trong đó, cặn MDE biểu hiện hoạt tính gây độc với tế bào ung thư Hep-G2 và MCF-7 tốt với giá trị IC_{50} lần lượt là 18,45 $\mu\text{g/mL}$ và 13,52 $\mu\text{g/mL}$. Cặn MD biểu hiện khả năng ức chế tế bào ung thư Hep-G2 tốt nhất với giá trị IC_{50} lần lượt là 15,01 $\mu\text{g/mL}$. Bên cạnh đó, các cặn chiết không thể hiện hoạt tính với dòng tế bào thường Vero.
Ngày hoàn thiện: 31/5/2022	
Ngày đăng: 31/5/2022	
TỪ KHÓA	
<i>Millettia dielsiana</i>	
Fabaceae	
Antioxidant	
Hep-G2	
HeLa	
MCF-7	
Vero	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6020>

* Corresponding author. Email: vuthithule@tuaf.edu.vn

1. Giới thiệu

Ở Việt Nam, chi Thàn mát (*Millettia*) thuộc họ Đậu (Fabaceae) có khoảng 24 loài, được phân bố rộng rãi trong cả nước và thường được sử dụng với mục đích chống ung thư, chống viêm, kháng virus, diệt khuẩn, diệt côn trùng và diệt sâu bệnh,... [1], [2].

Giới thiệu về cây Cỏ máu (*Millettia dielsiana*):

Cây cỏ máu hay còn gọi với tên khác là kê huyết đằng, cây máu chó hay cây dây máu, có tên khoa học là *Millettia dielsiana*, thuộc họ Đậu (Fabaceae) [2].

Đặc điểm: Cây dây leo thân gỗ, hình trụ tròn hoặc dẹt. Lá của cây thường là lá kép, đa số 3 lá chét; trong đó lá chét dạng thuôn dài, mặt trên nhẵn và mặt dưới sần. Hoa mọc ở kẽ lá xếp sát nhau, dài khoảng 15 mm và có màu đỏ tươi. Quả dẹt, dài khoảng 2 cm và có màu nâu đỏ [1], [3].

Phân bố và sinh thái: Cây được phân bố chủ yếu ở vùng rừng núi phía bắc, nhiều nhất ở Cao Bằng, Lạng Sơn, Bắc Kạn, Thái Nguyên, Tuyên Quang,... Cây này thường mọc trong các quần hệ rừng kín thường xanh trên núi đất và núi đá vôi, nhưng đôi khi gặp ở rừng thưa nửa rụng lá hơi khô. Cây có thể sống trên nhiều loại đất như feralit đỏ vàng hay vàng đỏ trên núi, granit, bazan, đất pha cát dọc theo các bờ sông suối. Cây ra hoa và quả hằng năm hoặc cách năm, thường chỉ tập trung ở các cây lớn [1], [2].

Bộ phận dùng: Thân cây là bộ phận chính được sử dụng và thu hái để làm thuốc. Trong đó, cây thu được quanh năm nhưng tốt nhất từ tháng 8 đến tháng 10. Khi sơ chế cần cắt bỏ cành lá, để vài ngày cho nhựa se lại rồi mới chặt khúc và phơi khô. Dược liệu khi tươi cắt ngang có nhựa màu đỏ như máu tiết ra, lúc khô ở mặt cắt có nhiều vòng đen do nhựa quánh lại [2], [3].

Tính vị và dược lý: Cây có vị đắng, tính bình và tác dụng bổ huyết, chỉ thống, thanh nhiệt, giải độc, thư cân chữa viêm khớp, an thần và tăng cường bài tiết [1], [2].

Công dụng: Theo kinh nghiệm dân gian, cây có công dụng làm thuốc chữa thiếu máu, lưng gối đau mỏi, chân tay tê liệt, kinh nguyệt không đều. Liều dùng ngày 10 - 15g bằng cách sắc hoặc ngâm rượu uống [1], [2].

Hiện nay, đã có một số công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của loài *Millettia dielsiana* [4], [5]. Nhóm nghiên cứu của Haoyu Ye và các cộng sự đã phân lập, nhận dạng được 11 hợp chất isoflavone từ dịch chiết etyl axetat của thân loài *Millettia dielsiana*. Trong các hợp chất isoflavone thu được đã phát hiện được thêm hai hợp chất mới được đặt tên lần lượt là millesianin H, millesianin I; 9 hợp chất isoflavone đã biết gồm có millesianin C, durallone, barbigerone, ichthynone, durmillone, methoxicalpogonium isoflavone A, calopogonium isoflavone A, hydroxi-6-methoxy-3-4-methylenedioxi-8-3-3-dimethylallyl-isoflavone và millesiani D. Kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng viêm của các hợp chất isoflavone thu được trên cho thấy, hợp chất millesianin C (ức chế mạnh sự sinh ra NO với giá trị IC_{50} $1,37 \pm 0,10$ μ M, các hợp chất durallone, barbigerone, ichthynone, durmillone, methoxicalpogonium isoflavone A, calopogonium isoflavone A và millesianin D, millesianin I thể hiện ức chế trung bình với giá trị IC_{50} trong khoảng $1,63 \pm 0,21$ đến $2,22 \pm 0,20$ μ M. Ngoài ra, hợp chất hydroxi-6-methoxy-3-4-methylenedioxi-8-3-3-dimethylallyl-isoflavone và hợp chất millesianin không thể hiện hoạt tính [6], [7].

Nghiên cứu về cây Cỏ máu trong nước cho đến nay chưa nhiều. Nhóm nghiên cứu của Lê Đức Đạt và cộng sự đã phân lập và nhận dạng 15 hợp chất từ thân của cây Cỏ máu được chiết bằng etanol. Hợp chất thu được gồm có 1 hợp chất isoflavone glucoside là mildiside A và 14 dẫn xuất phenolic lần lượt gồm có formononetin, ononin, isoliquiritigenin, liquiritigenin, naringenin, galocatechin, catechin, (3S)-vestitol, tupichinol C, (+)-epicatechin, (-)-epicatechin, axit protocatechuic, axit trans-ferulic và axit trans-3'-O-p-hydroxycinnamoyl ursolic. Kết quả đánh giá khả năng ức chế tạo ra NO trên tế bào RAW264.7 do LPS gây nên của 15 hợp chất phân lập từ thân cây Cỏ máu cho thấy, hợp chất (3S)-vestitol biểu hiện ức chế mạnh nhất với giá trị IC_{50} là $16,0 \pm 1,5$ μ M. Tiếp đó, hợp chất isoliquiritigenin và tupichinol C thể hiện hoạt tính mức trung bình đối với quá trình ức chế sản sinh NO với các giá trị IC_{50} lần lượt là $31,2 \pm 2,5$ μ M và $38,4 \pm 1,9$ μ M. Các hợp chất còn lại cho thấy biểu hiện hoạt tính yếu ($IC_{50} > 50$ μ M) [8].

Như vậy, cây Cỏ máu (*Millettia dielsiana*) được nghiên cứu chưa nhiều. Nghiên cứu về hoạt tính sinh học từ loài này là nguồn thông tin quý giá giúp các nhà khoa học có định hướng nghiên cứu sâu hơn về loài này. Nghiên cứu hoạt tính sinh học của cây có khả năng phát hiện được hoạt tính mới ngoài hoạt tính kháng viêm đã được nghiên cứu trước đó.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Mẫu cây thu hái tại Yên Sơn - Tuyên Quang vào tháng 12 năm 2021, được TS. Nguyễn Quốc Bình, Bảo tàng Thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam xác định tên khoa học là *Millettia dielsiana*. Tiêu bản mẫu được lưu tại Trường Đại học Nông lâm – Đại học Thái Nguyên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thử hoạt tính chống oxy hoá in vitro [9]-[11]

Phân tích khả năng bắt các gốc tự do tạo bởi DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) theo Brand- Williams và cộng sự (1995), Shela và cộng sự (2003) và Kumar và cộng sự (2013). Chất thử được hòa trong dimethyl sulfoxide (DMSO 100%) và DPPH được pha trong ethanol 96%. Sự hấp thụ của DPPH ở $\lambda = 515$ nm được xác định sau khi nhỏ DPPH vào dung dịch mẫu thử trên phiến vi lượng 96 giếng. Kết quả các thử nghiệm được thể hiện là giá trị trung bình của ít nhất 3 phép thử lặp lại $\pm$ độ lệch chuẩn ($p \leq 0,05$).

Mẫu được pha trong DMSO 100% với nồng độ 4 mg/ml đối với dịch chiết thô và 1 mg/ml với mẫu tinh sạch. Sử dụng flavonoid 1 mM hoặc axit ascorbic 5 mM trong DMSO 10% làm đối chứng dương. Mẫu được nhỏ trên phiến vi lượng 96 giếng với dung dịch DPPH để được nồng độ cuối của mẫu thử trong phản ứng từ 200 $\mu\text{g/mL}$ đến 12,5 $\mu\text{g/mL}$ (đối với mẫu chiết thô) và từ 50 $\mu\text{g/mL}$ đến 3,1 $\mu\text{g/mL}$ (mẫu tinh sạch). Ủ ở 37°C trong 30 phút và đo mật độ quang (OD) ở bước sóng $\lambda = 515$ nm trên thiết bị đo quang (Infinite F50, Tecan, Thụy Sĩ).

Khả năng trung hòa các gốc tự do (Scavenging capacity, SC%): Giá trị trung bình của SC (%) ở các nồng độ mẫu được đưa vào chương trình xử lý số liệu Excel theo công thức 1:

$$SC (\%) = [100 \frac{OD_{\text{thí nghiệm}} - OD_{\text{DMSO}}}{OD_{\text{chứng (-)}}} \times 100] \pm \sigma$$

Độ lệch tiêu chuẩn σ tính theo công thức của Duncan như công thức 2:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (xi - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

Xác định SC_{50} : Mẫu được pha loãng thành các nồng độ giảm dần, lặp lại 3 lần ở mỗi nồng độ. Hiệu quả bắt gốc tự do tạo bởi DPPH của mỗi mẫu được tính dựa trên % trung hòa gốc tự do so với mẫu trắng và chứng âm tính. Mẫu có biểu hiện hoạt tính chống oxy hóa trên hệ DPPH được thực hiện các bước tiếp theo để tìm giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$, $\mu\text{M/mL}$). Giá trị SC_{50} được xác định bằng phần mềm TableCurve AISN Software (Jandel Scientific, USA) qua giá trị SC% và dãy các nồng độ chất thử tương ứng.

2.2.2. Phương pháp thử hoạt tính gây độc tế bào in vitro [12]

Dòng tế bào: Hep-G2 (Human hepatocellular carcinoma – Tế bào ung thư gan), Vero (Vero cells - Tế bào biểu mô thận khỉ), HeLa (Cervical cancer cells - Tế bào ung thư cổ tử cung), MCF-7 (Human breast adenocarcinoma cells - Tế bào ung thư vú). **Môi trường nuôi cấy tế bào:** Tế bào được nuôi cấy ở 37°C, CO₂ 5% trong môi trường: DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium, Sigma-Aldrich, USA) hoặc RPMI 1640 (ThermoFisher, Waltham, CHLB Đức) có bổ sung L-glutamine 2mM, kháng sinh (Penicillin + Streptomycin sulfate) và huyết thanh bê 5-10%.

Phương pháp tiến hành: Sử dụng phương pháp so màu MTT (3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium) để đánh giá ảnh hưởng của các chất lên sự sống sót của các tế bào ung thư bao gồm HepG2, PC3 và A549 nêu trên. Dịch tế bào sau đó được nhỏ lên phiên vi lượng 96 giếng (1,5 x 10⁵ tế bào/giếng), ủ với các mẫu thử ở dải nồng độ từ 100→6,25 µg/ml đối với mẫu cao chiết hoặc 50→1 µg/ml (µM) đối với chất tinh sạch, mỗi nồng độ lặp lại 3 lần. Ellipticine hoặc Paclitaxel (Taxol) trong DMSO được dùng làm chất chuẩn dương tính (+). Sản phẩm chuyển hóa dạng tinh thể formazan được hòa tan trong dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich) và đo mật độ quang ở $\lambda = 540/720$ nm trên thiết bị Infinite F50 (Tecan, Männedorf, Thụy Sĩ).

Tính kết quả: Kết quả được đọc trên máy ELISA ở bước sóng 495-515 nm. Giá trị CS (Cell Survival): là khả năng sống sót của tế bào ở nồng độ nào đó của chất thử theo % so với đối chứng. Dựa trên kết quả đo được của chứng OD (ngày 0), DMSO 10% và so sánh với giá trị OD khi trộn mẫu để tìm giá trị CS (%) theo công thức 3:

$$CS\% = \frac{OD(\text{mẫu}) - OD(\text{ngày 0})}{OD(\text{DMSO}) - OD(\text{ngày 0})} \times 100$$

Giá trị CS% sau khi tính theo công thức trên, được đưa vào tính toán Excel để tìm ra % trung bình $\pm$ độ lệch tiêu chuẩn của phép thử được lặp lại 3 lần theo công thức 2 của Duncan.

Các mẫu có biểu hiện hoạt tính (CS < 50%) sẽ được chọn ra để thử nghiệm tiếp để tìm giá trị IC₅₀. Giá trị IC₅₀ (50% Inhibitory Concentration) là nồng độ của mẫu thử mà tại đó ức chế được 50% số lượng tế bào nghiên cứu. Cách tính giá trị IC₅₀:

Dùng giá trị CS của 10 thang nồng độ, dựa vào chương trình Table curve theo thang giá trị logarit của đường cong phát triển tế bào và nồng độ chất thử để tính giá trị IC₅₀ theo công thức 4:

$$\frac{1}{y} = a + b \ln X$$

Trong đó, Y: nồng độ chất thử; X: Giá trị CS (%)

Chất thử có IC₅₀ < 20 µg/ml (với chất chiết thô, hoặc với phân đoạn hóa học) hoặc IC₅₀ ≤ 4 µg/ml (với hoạt chất tinh khiết) sẽ được xem là có hoạt tính gây độc tế bào và có khả năng ức chế sự phát triển hoặc diệt tế bào ung thư.

Hoạt tính chống oxi hóa và gây độc tế bào được thử tại phòng Sinh học thực nghiệm - Viện Hóa học các Hợp chất thiên nhiên - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Xử lý mẫu Cỏ máu

Mẫu thân Cỏ máu tươi 12 kg được sấy khô ở nhiệt độ 60°C đến khối lượng không đổi được 6000g, đem nghiền nhỏ và ngâm chiết 5 lần với ethanol (EtOH) trong thiết bị siêu âm ở nhiệt độ phòng. Dịch tổng thu được cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm, nhiệt độ < 50°C thu được cặn tổng MD (235g). Cặn tổng MD thêm nước và chiết lần lượt với dung môi *n*-hexan (H), etyl axetat (EtOAc; E) sau đó cất kiệt dung môi thu được các cặn tương ứng: *n*-hexan (MDH: 12g), EtOAc (MDE: 65g) và nước (MDW: 145g). Xử lý và chiết mẫu thân Cỏ máu được thể hiện như hình 1.

3.2. Đánh giá hoạt tính chống oxi hóa *in vitro* của cây Cỏ máu

Hoạt tính chống oxi hóa *in vitro* bằng phương pháp DPPH của các cặn chiết thân cây Cỏ máu: cặn tổng (MD), *n*-hexan (MDH), etyl axetat (MDE) và nước (MDW) với chất đối chứng dương là acid ascorbic. Kết quả hoạt tính được thể hiện như Bảng 1.

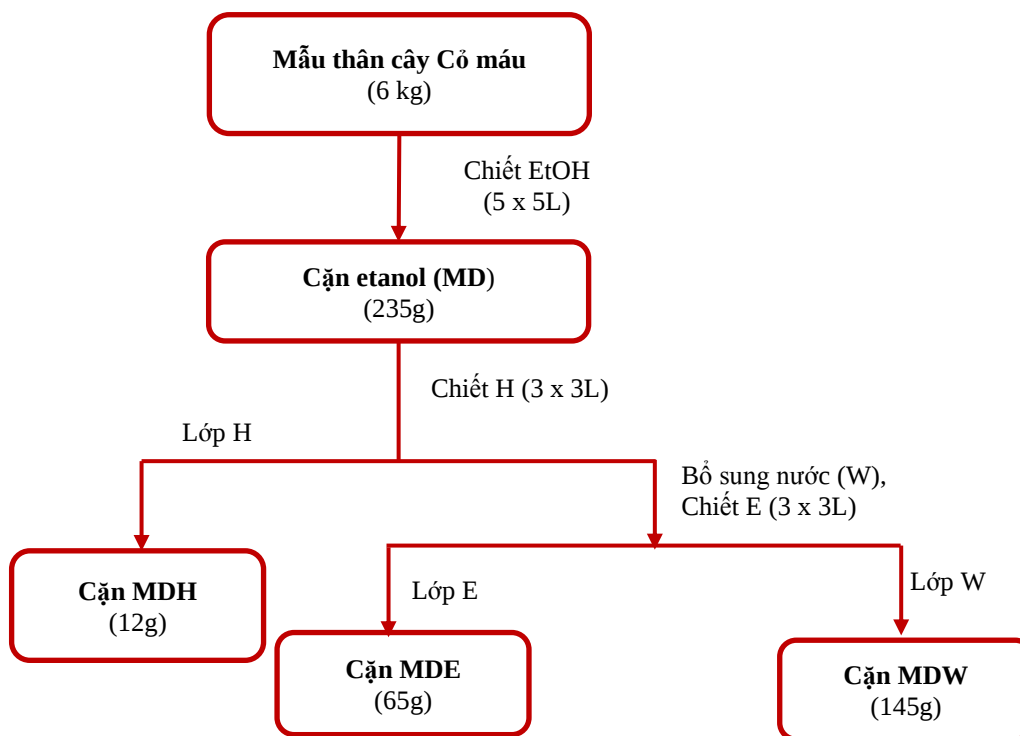
Kết quả thu được cho thấy cặn tổng (MD) và cặn etyl axetat (MDE) thể hiện hoạt tính chống oxi hóa tốt nhất với giá trị SC (%) lần lượt là 75,15 $\pm$ 0,3 và 79,01 $\pm$ 0,8%, tương ứng với giá trị SC₅₀ bằng 27,06 và 25,68 µg/mL. Các cặn còn lại hầu như không thể hiện hoạt tính. Trong các cặn chiết phân đoạn *n*-hexan (MDH), etyl axetat (MDE) và nước (MDW) của thân cây Cỏ máu

thì hoạt tính chống oxy hóa của cặn etyl axetat tốt nhất với giá trị SC_{50} 25,68 $\mu\text{g/mL}$, sau đó đến cặn nước với giá trị SC_{50} 88,14 $\mu\text{g/mL}$ và *n*-hexan với giá trị $SC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$. Điều này gợi ý đến các chất có hoạt tính chống oxy hóa mạnh chủ yếu thuộc phân đoạn etyl axetat (**MDE**). Từ đó, giúp định hướng nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học để tìm ra các hoạt chất có tác dụng chống oxy hóa từ loài *Cỏ máu*.

Bảng 1. Kết quả thử hoạt tính chống oxy hóa của các cặn chiết *Cỏ máu*

STT	Kí hiệu	Giá trị SC (%)	SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	Chứng (+) [acid ascorbic]	$85,88 \pm 0,2$	12,53
	Chứng (-) [DPPH/EtOH+ DMSO]	$0,0 \pm 0,0$	-
1	MD	$75,15 \pm 0,3$	27,06
2	MDH	$38,87 \pm 0,6$	>100
3	MDE	$79,01 \pm 0,8$	25,68
4	MDW	$55,26 \pm 0,5$	88,14

Cặn chiết *n*-hexan (**MDH**) và etyl axetat (**MDE**) của loài *M. dielsiana* (25,68-27,06 $\mu\text{g/mL}$) cho thấy thể hiện hoạt tính chống oxy hóa tốt hơn so với các cặn chiết tương ứng của loài *M. barteri* (62,74-77,23 $\mu\text{g/mL}$) [13]. Song hiện nay, nghiên cứu mới khám phá được hoạt tính chống oxy hóa ở loài *M. barteri* mà chưa được tìm thấy ở loài *M. dielsiana*. Do đó, việc nghiên cứu tiếp sẽ giúp khám phá thêm hoạt chất có khả năng chống oxy hóa các gốc tự do đáng lưu ý từ loài thực vật này.



Hình 1. Sơ đồ xử lý và chiết mẫu thân *Cỏ máu*

3.3. Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào in vitro của cây *Cỏ máu*

Hoạt tính gây độc trên các dòng tế bào ung thư gan (Hep-G2), cổ tử cung (HeLa), vú (MCF-7) và tế bào biểu mô thận khỉ (Vero) của các cặn chiết thân cây *Cỏ máu*: cặn tổng (**MD**), *n*-hexan (**MDH**), etyl axetat (**MDE**) và nước (**MDW**) được thể hiện như Bảng 2.

Kết quả cho biết, các cận chiết từ thân cây Cỏ máu thể hiện hoạt tính ức chế tốt đối với các tế bào ung thư gan (Hep-G2), cổ tử cung (HeLa) và vú (MCF-7) theo phương pháp MTT ở các mức độ khác nhau. Trong đó, cận **MDE** biểu hiện hoạt tính gây độc với tế bào ung thư Hep-G2 và MCF-7 tốt với giá trị IC_{50} lần lượt là 18,45 $\mu\text{g/mL}$ và 13,52 $\mu\text{g/mL}$. Cận **MD** biểu hiện khả năng ức chế tế bào ung thư Hep-G2 tốt nhất với giá trị IC_{50} lần lượt là 15,01 $\mu\text{g/mL}$. Bên cạnh đó, các cận chiết không thể hiện hoạt tính với dòng tế bào thường Vero.

Bảng 2. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào của các cận chiết Cỏ máu

TT	Mẫu	Tế bào Hep-G2		Tế bào Hela		Tế bào MCF-7		Tế bào Vero	
		Tỷ lệ ức chế tế bào (%)	IC_{50}	Tỷ lệ ức chế tế bào (%)	IC_{50}	Tỷ lệ ức chế tế bào (%)	IC_{50}	Tỷ lệ ức chế tế bào (%)	IC_{50}
1	MD	87,23 $\pm$ 1,5	15,01 $\mu\text{g/mL}$	73,80 $\pm$ 0,8	51,44 $\mu\text{g/mL}$	76,02 $\pm$ 1,2	45,18 $\mu\text{g/mL}$	12,88 $\pm$ 1,1	>100 $\mu\text{g/mL}$
2	MDH	60,73 $\pm$ 1,2	71,12 $\mu\text{g/mL}$	80,99 $\pm$ 0,7	30,05 $\mu\text{g/mL}$	60,87 $\pm$ 1,0	67,52 $\mu\text{g/mL}$	30,65 $\pm$ 1,5	>100 $\mu\text{g/mL}$
3	MDE	82,11 $\pm$ 0,6	18,45 $\mu\text{g/mL}$	71,09 $\pm$ 1,6	61,87 $\mu\text{g/mL}$	88,62 $\pm$ 1,5	13,52 $\mu\text{g/mL}$	26,24 $\pm$ 0,9	>100 $\mu\text{g/mL}$
4	MDW	50,11 $\pm$ 0,5	>100 $\mu\text{g/mL}$	59,26 $\pm$ 1,5	90,02 $\mu\text{g/mL}$	49,27 $\pm$ 1,8	>100 $\mu\text{g/mL}$	40,33 $\pm$ 1,4	>100 $\mu\text{g/mL}$
	Paclitaxel 50nM	55,23 $\pm$ 1,2	46,4 nM	64,09 $\pm$ 2,2	59,23 nM	69,02 $\pm$ 1,7	55,24 nM	35,27 $\pm$ 1,8	>100 nM

Đối với dòng tế bào ung thư gan (Hep-G2): Cận **MD** biểu hiện hoạt tính gây độc tế bào theo phương pháp MTT tốt nhất với tỷ lệ ức chế tế bào 87,23 $\pm$ 1,5% và giá trị IC_{50} 15,01 $\mu\text{g/mL}$, tiếp theo là cận **MDE** với tỷ lệ ức chế tế bào 82,11 $\pm$ 0,6% và giá trị IC_{50} 18,45 $\mu\text{g/mL}$, các cận **MDH** và **MDW** thể hiện hoạt tính ở mức yếu, không thể hiện hoạt tính.

Đối với dòng tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa): Cận **MD**, **MDH**, **MDE** thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ở mức trung bình với tỷ lệ ức chế tế bào lần lượt là 73,80 $\pm$ 0,8; 80,99 $\pm$ 0,7; 71,09 $\pm$ 1,6% và giá trị IC_{50} 51,44; 30,05; 61,87 $\mu\text{g/mL}$ tương ứng. Cận **MDW** biểu hiện hoạt tính ở mức yếu với tỷ lệ ức chế tế bào 59,26 $\pm$ 1,5% và giá trị IC_{50} 90,02 $\mu\text{g/mL}$.

Đối với dòng tế bào ung thư vú (MCF-7): Cận **MDE** thể hiện hoạt tính tốt nhất với tỷ lệ ức chế tế bào là 88,62 $\pm$ 1,5% và giá trị IC_{50} 13,52 $\mu\text{g/mL}$, sau đó đến cận tổng **MD** với tỷ lệ ức chế tế bào là 76,02 $\pm$ 1,2% và giá trị IC_{50} 45,18 $\mu\text{g/mL}$ và cận **MDH** với tỷ lệ ức chế tế bào là 60,87 $\pm$ 1,0% và giá trị IC_{50} 67,52 $\mu\text{g/mL}$. Cận **MDW** biểu hiện hoạt tính ở mức yếu với tỷ lệ ức chế tế bào 49,27 $\pm$ 1,8% và giá trị IC_{50} >100 $\mu\text{g/mL}$.

Theo nhiều nghiên cứu, một số hợp chất từ các loài thuộc chi *Millettia* đều cho thấy gây độc tế bào ung thư như Hep-G2, Hela và MCF-7 ở mức mạnh nhưng loài *Millettia dielsiana* chưa được đề cập đến [14]. Do vậy, định hướng nghiên cứu sâu hơn giúp tìm ra các hoạt chất có tác dụng gây độc tế bào đáng lưu ý từ loài thực vật này.

4. Kết luận

Kết quả đánh giá hoạt tính chống oxi hoá và gây độc tế bào của các cận chiết từ thân cây Cỏ máu (*Millettia dielsiana*) ở Tuyên Quang như sau:

Cận tổng (**MD**) và cận etyl axetat (**MDE**) thể hiện hoạt tính chống oxi hóa theo phương pháp DPPH tốt nhất với giá trị SC (%) lần lượt là 75,15 $\pm$ 0,3 và 79,01 $\pm$ 0,8%, tương ứng với giá trị SC_{50} bằng 27,06 và 25,68 $\mu\text{g/mL}$. Các cận còn lại (**MDH**, **MDW**) hầu như không thể hiện hoạt tính.

Các cận **MD**, **MDH**, **MDE** và **MDW** thể hiện hoạt tính gây độc đối với các tế bào ung thư gan (Hep-G2), cổ tử cung (HeLa) và vú (MCF-7) theo phương pháp MTT ở các mức độ khác nhau. Trong đó, cận **MDE** biểu hiện hoạt tính gây độc với tế bào ung thư Hep-G2 và MCF-7 tốt với giá trị IC_{50} lần lượt là 18,45 $\mu\text{g/mL}$ và 13,52 $\mu\text{g/mL}$. Cận **MD** biểu hiện khả năng ức chế tế

bào ung thư Hep-G2 tốt nhất với giá trị IC₅₀ lần lượt là 15,01 $\mu\text{g/mL}$. Bên cạnh đó, các cặn chiết không thể hiện hoạt tính với dòng tế bào thường Vero.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] N. T. Ban *et al.*, *Checklist of plant species of Vietnam*. Agricultural Publishing House, episode 2, 2003.
- [2] D. H. Bich *et al.*, *Medicinal plants and medicinal animals in Vietnam*. Science and Technology Publishing House, episode 1, 2006.
- [3] F. Adema, "Notes on Malesian Fabaceae (Leguminosae-Papilionoideae) and 7 The genus *Millettia*," *Blumea*, vol. 45, no. 2, pp. 403-425, 2000.
- [4] R. Jena *et al.*, "A review on genus *Millettia*: Traditional uses, Phytochemicals and Pharmacological Activities," *The Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 28, no. 12, pp. 1686-1703, 2020.
- [5] J. T. Banzouzu *et al.*, "Traditional Uses of the African *Millettia* species (Fabaceae)," *International Journal of Botany*, vol. 4, no. 4, pp. 406-420, 2008.
- [6] H. Ye *et al.*, "Bioactivity-guided isolation of anti-inflammation flavonoids from the stems of *Millettia dielsiana* Harms," *Fitoterapia*, vol. 95, pp. 154-159, 2014.
- [7] J. P. Dzoyem *et al.*, "In vitro antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of acetone leaf extracts of nine under-investigated Fabaceae tree species leads to potentially useful extracts in animal health and productivity," *Research Article*, vol. 14, no. 147, pp. 1-7, 2014.
- [8] D. D. Le *et al.*, "Anti-inflammatory secondary metabolites from the stems of *Millettia dielsiana* Harms ex Diels," *Carbohydrate Research*, vol. 484, pp. 1-5, 2019.
- [9] W. W. Brand *et al.*, "Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity," *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, vol. 2, no. 1, pp. 25-30, 1995.
- [10] S. Gorinstein *et al.*, "Comparison of the contents of the main biochemical compounds and antioxidant activity of some Spanish olive oils as determined by four different radical scavenging tests," *Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 14, pp. 154-159, 2003.
- [11] A. Kumar *et al.*, "Antioxidant Activity and Pharmacological Screening of *Tinospora Cordifolia* (Thunb.)," *The Bioscan*, vol. 8, no. 2, pp. 689-693, 2013.
- [12] T. Mosman *et al.*, "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assay," *J. Immunol. Method.*, vol. 65, pp. 55-63, 1983.
- [13] L. Havyarimana *et al.*, "Chemical constituents of *Millettia barteri* and their antimicrobial and antioxidant activities," *Pharmaceutical Biology*, vol. 50, no. 2, pp. 141-146, 2012.
- [14] R. Jena *et al.*, "A review on genus *Millettia*: Traditional uses, phytochemicals and pharmacological activities," *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 28, no. 12, pp. 1686-1703, 2020.