

ANTIBACTERIAL, ANTIOXIDANT, CANCER CELL TOXIC ACTIVITIES ETHANOL EXTRACT OF KHAM CAM SON TRANG DECOCTION TO TREAT COLITISVi Thi Xuan Thuy^{1*}, Le Dieu Linh², Dang Xuan Hoang¹, Nguyen Thanh Son¹, Le Sy Binh¹¹Tay Bac University, ²Department of Education and Training of Son La province

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 28/12/2023	Kham cam son trang is a decoction of Bui Van Ngoi, and has been used to treat colitis since the 1950s. Kham cam son trang decoction includes 3 species of plants: <i>Dalbergia tsoi</i> Merr. & Chun, <i>Paederia lanuginosa</i> Wall and <i>Curcuma longa</i> L. Research on the biological activity of ethanol extract aims to conserve and develop the Kham cam son trang decoction. Research results show that ethanol extract contains biologically active compounds polyphenol, tannin and coumarin. Ethanol extract (200 mg/mL) showed resistance to <i>S.aureu</i> , <i>P. aeruginosa</i> and <i>E. coli</i> with antibacterial circle diameters of 3.25 mm, 19.75 mm, 25.25 mm, respectively. At 100 µg/mL ethanol extract reduces DPPH free radicals reaching 88.97% with SC ₅₀ at 25.17 µg/mL. Ethanol extract showed cytotoxicity on A549 (lung cancer), LNCaP (prostate cancer), MCF-7 (breast cancer), and HepG2 (liver cancer) cell lines with IC ₅₀ values respectively reaching 64.04 µg/mL, 65.72 µg/mL, 75.49 µg/mL, 87.65 µg/mL. Research results show that the Kham cam son trang decoction has a potential colitis remedy and can be developed into a convenient form of medicine for use and higher treatment effectiveness.
Revised: 25/3/2024	
Published: 03/4/2024	
KEYWORDS	
Antioxidant	
Antibacterial	
Cancer cell toxin	
Colitis	
Kham cam son trang	

HOẠT TÍNH KHÁNG KHUẨN, CHỐNG OXY HÓA, GÂY ĐỘC TỔ TẾ BÀO UNG THƯ CAO ETHANOL CỦA BÀI THUỐC KHAM CẨM SƠN TRĂNG CHỮA VIÊM ĐẠI TRÀNGVi Thị Xuân Thủy^{1*}, Lê Diệu Linh², Đặng Xuân Hoàng¹, Nguyễn Thành Sơn¹, Lê Sỹ Bình¹¹Trường Đại học Tây Bắc, ²Sở Giáo dục và Đào tạo tỉnh Sơn La

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 28/12/2023	Kham cẩm sơn tràng là bài thuốc của Lương y Bùi Văn Ngợi, được sử dụng điều trị bệnh viêm đại tràng từ những năm 1950 đến nay. Bài thuốc gồm 3 loài thực vật: Trắc đặc lắc (<i>Dalbergia tsoi</i> Merr. & Chun), Mơ tam thể (<i>Paederia lanuginosa</i> Wall) và Nghệ vàng (<i>Curcuma longa</i> L.). Nghiên cứu hoạt tính sinh học của cao ethanol nhằm góp phần bảo tồn và phát triển bài thuốc Kham cẩm sơn tràng. Bằng phương pháp định tính cho thấy, cao ethanol bài thuốc có chứa các hợp chất polyphenol, tanin và coumarin. Ở nồng độ 200 mg/mL, cao ethanol biểu hiện kháng chủng <i>S.aureu</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 3,25 mm, 19,75 mm, 25,25 mm. Ở nồng độ 100 µg/mL, cao ethanol có hiệu quả khử gốc tự do DPPH đạt 88,97% với giá trị SC ₅₀ là 25,17 µg/mL. Cao ethanol của bài thuốc có biểu hiện gây độc các dòng tế bào ung thư A549 (ung thư phổi), LNCaP (ung thư tuyến tiền liệt), MCF-7 (ung thư vú), HepG2 (ung thư gan) với giá trị IC ₅₀ lần lượt đạt 64,04 µg/mL, 65,72 µg/mL, 75,49 µg/mL, 87,65 µg/mL. Kết quả nghiên cứu cho thấy, bài thuốc Kham cẩm sơn tràng là bài thuốc chữa viêm đại tràng tiềm năng, có thể phát triển thành các dạng thuốc thuận lợi cho sử dụng và có hiệu quả chữa trị cao hơn.
Ngày hoàn thiện: 25/3/2024	
Ngày đăng: 03/4/2024	
TỪ KHÓA	
Chống oxy hóa	
Kháng khuẩn	
Độc tế bào ung thư	
Viêm đại tràng	
Kham cẩm sơn tràng	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9490>

* Corresponding author. Email: xuanthuy@utb.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Viêm đại tràng là một trong những loại bệnh viêm đường ruột, nó chủ yếu ảnh hưởng đến phần dưới của ống tiêu hóa là ruột già và trực tràng, một bệnh tái phát mạn tính. Bệnh nhân thường có biểu hiện các triệu chứng lâm sàng khác nhau, chủ yếu bao gồm đau bụng, tiêu chảy ra máu, suy dinh dưỡng, tiêu chảy [1], [2]. Trong những thập kỷ qua, bệnh viêm đại tràng có xu hướng ngày càng tăng trên toàn thế giới với tỷ lệ mắc ngày càng cao, dao động từ 0,5 đến 238 trên 100.000 người mỗi năm, tùy thuộc vào từng quốc gia [3]. Chi phí y tế trực tiếp hàng năm cho mỗi bệnh nhân dao động từ 6.217 đến 11.477 USD ở Hoa Kỳ và từ 8.949 đến 10.395 Euro ở Châu Âu. Ước tính tổng chi phí hàng năm của viêm đại tràng ở Hoa Kỳ là 8,1 đến 14,9 tỷ USD và 12,5 đến 29,1 tỷ Euro ở châu Âu [4], [5].

Tùy thuộc vào mức độ nghiêm trọng của bệnh, viêm đại tràng sẽ được áp dụng nhiều nhóm thuốc, chủ yếu bao gồm 5-aminosalicylates, thiopurine và các tác nhân sinh học tác động vào các chất trung gian gây viêm hoặc phân tử tín hiệu khác nhau, chẳng hạn như yếu tố hoại tử khối u- α (TNF- α), integrins và chất ức chế Janus kinase. Tuy nhiên, một số bệnh nhân có thể không đáp ứng với các liệu pháp này, dẫn đến các triệu chứng đại tràng của họ tiến triển thêm. Hơn nữa, hầu hết các phương pháp điều trị có thể gây ra tác dụng phụ nghiêm trọng như nhức đầu, chóng mặt, buồn nôn, chán ăn, rụng tóc, đầy hơi, phát ban, sốt và giảm số lượng bạch cầu... [6], [7]. Vì vậy, việc phát triển các phương pháp điều trị mới có hiệu quả cao, ít tác dụng phụ, giá thành hợp lý là vấn đề quan trọng trong các nghiên cứu về điều trị viêm đại tràng.

Những nghiên cứu gần đây cho thấy, nhiều bài thuốc để sắc uống hoặc hợp chất có nguồn gốc từ thực vật có tác dụng chống viêm loét đại tràng [8]. Các hợp chất hoặc thuốc sắc này tác động đến sự tiến triển của viêm đại tràng thông qua nhiều cơ chế. Một trong những cơ chế quan trọng nhất của các liệu pháp điều trị viêm đại tràng này là điều chỉnh tính toàn vẹn của chức năng hàng rào ruột [9], [10]. Thuốc thảo dược đã được sử dụng rộng rãi trong điều trị viêm đại tràng ở Trung Quốc trong hàng ngàn năm qua nhờ nguồn cung dồi dào, hiệu quả điều trị và chi phí thấp [1]. Nhiều bài thuốc từ thảo mộc đã được nghiên cứu cho thấy chứa các thành phần hợp chất có tác dụng dược lý tích cực như chống oxy hóa, chống viêm, điều hòa miễn dịch và chống vi khuẩn, do đó có tác dụng điều trị bệnh viêm đại tràng [9], [10].

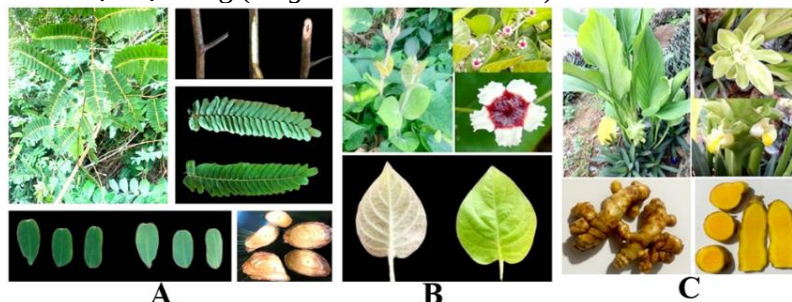
Ở Việt Nam, với tài nguyên thiên nhiên phong phú cùng với đa dạng về văn hóa, dân tộc nên có một kho tàng tri thức truyền thống về cây thuốc, bài thuốc có giá trị đã và đang được sử dụng. Bệnh viêm đại tràng có xu hướng ngày càng tăng ở thế giới và Việt Nam cũng không nằm ngoài quy luật đó. Ở Sơn La, bệnh viêm đại tràng có tỷ lệ mắc bệnh khá cao. Theo thống kê của Phòng Kế hoạch Tổng hợp Bệnh viện Y học cổ truyền Sơn La từ năm 1995 – 2001, tỷ lệ bệnh nhân bị bệnh viêm đại tràng chiếm 60% trong tổng số bệnh nhân điều trị các bệnh đường tiêu hóa tại bệnh viện. Đa số người dân Sơn La còn gặp nhiều khó khăn nên các bài thuốc chữa bệnh viêm đại tràng từ thực vật được người dân lựa chọn. Bài thuốc Kham cãm sơn tràng chữa viêm đại tràng của Lương y Bùi Công Ngợi được truyền miệng qua các thế hệ và đang có nguy cơ bị mai một, hơn nữa cách sử dụng là sắc uống cũng không thuận tiện, phù hợp cho người sử dụng hiện nay. Do đó, nghiên cứu hoạt tính sinh học của bài thuốc này góp phần bảo tồn tri thức dân gian và là cơ sở để phát triển thành các dạng thuốc thuận lợi cho sử dụng và hiệu quả chữa trị cao hơn là cần thiết.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Kham cãm sơn tràng (Cây thuốc vàng của núi chữa đại tràng) là bài thuốc để chữa bệnh viêm đại tràng được sử dụng từ năm 1950 đến nay của Lương y Bùi Công Ngợi gồm ba loài cây: Kham chưa (tiếng dân tộc Thái), tên phổ thông là Trắc đặc lắc (hình 1A), tên khoa học là *Dalbergia tsoi* Merr. & Chun, thuộc họ Đậu (Fabaceae Juss); Mơ lông (hình 1B) có tên khoa học

Paederia lanuginosa Wall. thuộc họ Cà phê (Rubiaceae), Nghệ vàng (*Curcuma longa* L. thuộc họ Gừng (*Zingiberaceae* Martinov.).



Hình 1. Hình ảnh cây Trắc đắc lắc (*Dalbergia tsoi* Merr. & Chun (A), Mơ lông (*Paederia lanuginosa* Wall.) (B), Nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) (C) dùng trong bài thuốc Kham cảm sơn tràng

Các loài vi khuẩn kiểm định *Escherichia coli* (ATCC 25922); *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa* do Trung tâm Thực hành – Thí nghiệm, Trường Đại học Tây Bắc cung cấp.

Các dòng tế bào ung thư gồm: LNCaP (ung thư tuyến tiền liệt), HepG2 (ung thư gan), A549 (ung thư phổi), MCF-7 (ung thư vú) được sử dụng để xác định hoạt tính gây độc tế bào do Phòng Thử nghiệm Sinh học, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học & Công nghệ Việt Nam cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chiết cao ethanol: Cân 100g mẫu khô đã được nghiền nhỏ, ngâm chiết bằng ethanol 96% trong bể rung siêu âm (Elmasonic P 120 H, Elma – Đức) 30 phút ở nhiệt độ phòng. Dịch tổng số được cất kiệt dung môi dưới áp suất giảm, nhiệt độ <50°C bằng máy cô quay chân không (RV 10 Digital V, IKA –Đức) và thu được cao chiết ethanol. Cao được sấy khô ở nhiệt độ 50°C và thu được cao sấy khô, bảo quản ở nhiệt độ thường để sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo.

Phương pháp định tính các hợp chất có trong cao, cặn chiết

Định tính polyphenol: Phản ứng với muối sắt (III): đong 5 ml dịch cao ethanol vào ống nghiệm. Sau đó bổ sung 0,5 ml muối sắt (III), 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 H_2SO_4 đặc: đong 2 ml dịch cao ethanol vào ống nghiệm sau đó nhỏ 1-2 giọt H_2SO_4 đặc và quan sát hiện tượng. (Khi nhỏ H_2SO_4 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: Đong 2 ml dịch 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, sau đó cho thêm 4 ml nước cất vào cả 2 ống I và II. Quan sát thấy chất lỏng ở ống II (có kiềm) trở nên trong suốt hoặc trong hơn ống I (không kiềm) có thể xem là có coumarin. Nếu đem acid 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 [11].

Định tính tannin: Đong 2 ml dịch cao ethanol vào ống nghiệm rồi bổ sung thuốc thử vanilin/ H_2SO_4 lắc đều và quan sát. Nếu dịch chiết chuyển sang màu đỏ đậm là chứng tỏ có tannin.

Phương pháp thử hoạt tính sinh học của cao chiết

Phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn: Được xác định bằng phương pháp đục lỗ thạch của B. Mahesh và S. Satish (2008) [12]. Các loài vi khuẩn kiểm định được nuôi hoạt hóa trong môi trường LB lỏng ở 28°C, lắc 200 vòng/phút trong thời gian 8h. Hút 70 µl dịch nuôi mỗi loài vi khuẩn đã được hoạt hóa lên đĩa môi trường LB đặc và trải đều trên mặt thạch cho đến khi khô. Cao được pha loãng bằng nước cất, đục các giếng có đường kính 8 mm trên đĩa thạch và tra 100 µl cao ethanol vào giếng ở các nồng độ 20, 60 và 200 mg/mL. Các đĩa petri đã bổ sung dịch vào

tủ lạnh 4°C khoảng 1-2 giờ rồi đặt vào tủ ấm nuôi ở 30°C, từ 18 đến 24 giờ. Đo đường kính vòng kháng khuẩn. 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 kháng khuẩn (mm); d là đường kính giếng thạch (mm).

Phương pháp xác định khả năng chống oxy hóa DPPH: Được tiến hành theo phương pháp của Abramović và cộng sự (2018) [13] sử dụng khả năng trung hòa gốc tự do DPPH. DPPH pha trong methanol (100%) nồng độ 0,25 μ M. Hút mẫu 100 μ L mẫu đã pha ở các nồng độ vào các giếng. Thêm dung dịch DPPH đã chuẩn bị ở trên vào các giếng đã có sẵn mẫu nghiên cứu (tỉ lệ 1:1). Giếng đối chứng không có mẫu thử chỉ có 100 μ L nước và 100 μ L DPPH. Giếng chỉ có 100 μ L mẫu đã pha trong methanol ở các nồng độ tương ứng. Ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó đo độ hấp thụ (OD) của dung dịch sau phản ứng tại bước sóng 517 nm. Khả năng trung hòa gốc oxy hóa tự do sinh ra từ DPPH của mẫu thử được tính theo công thức sau: Khả năng khử gốc tự do DPPH (%) = $100 \times (OD_{\text{đối chứng}} - OD_{\text{mẫu thử}}) / OD_{\text{đối chứng}}$. Khả năng chống oxy hóa được xác định dựa vào giá trị EC₅₀ (là nồng độ mẫu có khả năng khử gốc tự do DPPH đạt 50%).

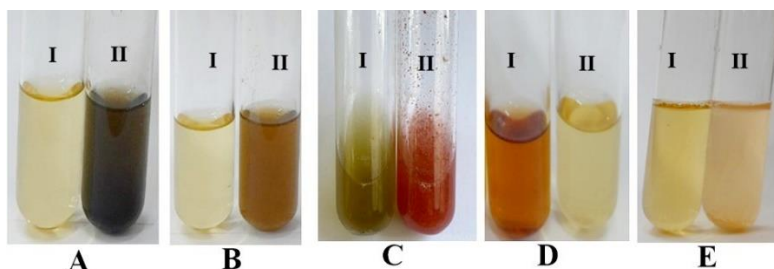
Phương pháp xác định tính độc tế bào ung thư nuôi cấy dạng đơn lớp: Phương pháp thử độc tố tế bào ung thư được thực hiện theo phương pháp của Skekan và cộng sự (1990) [14]. Cao ethanol thử nghiệm ở các nồng độ 100, 20, 4 và 0,8 μ g/mL. DMSO 1% được sử dụng là chất đối chứng âm, ellipticine được sử dụng như là chất đối chứng dương. Xác định hàm lượng protein tổng số của tế bào 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 540 nm trên máy ELISA Plate Reader (Biotek). Phần trăm ức chế sự phát triển của tế bào khi có mặt chất thử sẽ được xác định thông qua công thức sau:

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

Khả năng gây độc tế bào được xác định bằng nồng độ của chất ức chế 50% sự phát triển của tế bào. Nồng độ ức chế 50% tế bào (IC₅₀) được xác định là nồng độ của mẫu ức chế được 50% tế bào, các gốc tự do hoặc enzyme.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Định tính hợp chất có trong cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng



Hình 2. Kết quả định tính polyphenol (A, B), tannin (C) và coumarin (D, E) trong cao ethanol bài thuốc Kham cầm sơn tràng

(A) Phản ứng với muối sắt III; (B) Phản ứng với dung dịch H₂SO₄ đặc; (C) Phản ứng với dung dịch vanilin/H₂SO₄; (D) Phản ứng với NaOH; (E) Phản ứng với HCl; I: cao ethanol toàn phần ban đầu;

II: cao ethanol sau phản ứng

Định tính cao ethanol bài thuốc Kham cầm sơn tràng bằng phản ứng với muối sắt III nhận thấy dung dịch cao chiết trong ống nghiệm II chuyển sang màu xanh lục và khác so với màu của cao ban đầu (hình 2A). Khi định tính bằng H₂SO₄ đặc, dung dịch trong ống nghiệm II chuyển sang màu nâu đậm hơn màu của ống nghiệm I (hình 2B). Như vậy, có thể nhận thấy, trong bài thuốc Kham cầm sơn tràng có chứa nhóm chất polyphenol. Kết quả định tính bằng thuốc thử vanilin trong H₂SO₄ với cao ethanol bài thuốc Kham cầm sơn tràng cho thấy, màu của dịch trong

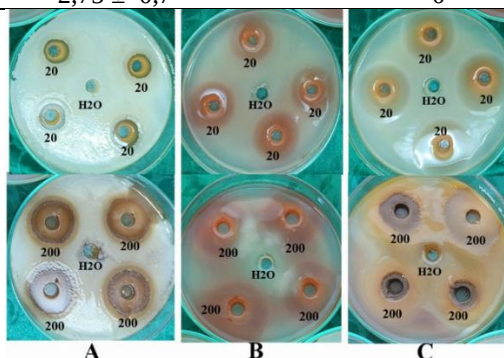
ống nghiệm chứa cao ethanol (II) chuyển sang màu đỏ (hình 2C) chứng tỏ bài thuốc Kham cầm sơn tràng chứa nhóm chất tanin. Dung dịch cao ethanol bổ sung NaOH 10%, đem đun cả 2 ống nghiệm trên bếp cách thủy, sau khi làm nguội và cho thêm 4 ml nước cất vào cả hai ống thì dung dịch ống II trở nên trong hơn ống I (hình 2D). Sau khi cho vài giọt dung dịch HCl đặc vào ống nghiệm thì ống II mất màu vàng đục, kết quả định tính cho thấy bài thuốc Kham cầm sơn tràng chứa nhóm coumarin. Như vậy, cao ethanol, bài thuốc Kham cầm sơn tràng có chứa các nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học được ứng dụng trong làm thuốc và chữa bệnh là polyphenol, tannin và coumarin.

3.2. Hoạt tính kháng khuẩn cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng

Khả năng kháng khuẩn là một chỉ tiêu quan trọng quyết định hiệu quả chữa bệnh của một bài thuốc chữa bệnh viêm đại tràng [9], do đó khả năng kháng 3 chủng khuẩn *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa* của bài thuốc Kham cầm sơn tràng đã được tiến hành, kết quả được trình bày ở bảng 1 và hình 3.

Bảng 1. Hoạt tính kháng khuẩn cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng

Nồng độ thử (mg/mL)	Đường kính kháng khuẩn (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
200	25,25 ± 0,6	3,25±0,7	19,75 ± 1,03
60	7,75 ± 0,3	0	4,75 ± 0,7
20	2,75 ± 0,7	0	1,75 ± 0,3



Hình 3. Hoạt tính kháng khuẩn *Escherichia coli* (ATCC 25922) (A), vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (B) và vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* (C) của cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng (200: Cao ethanol nồng độ 200 mg/mL; 20: Cao ethanol nồng độ 20 mg/mL; H2O: đối chứng âm).

Kết quả cho thấy, cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng ở nồng độ 20 mg/mL không có khả năng kháng chủng *S. Aureus*, còn kháng với chủng *E. coli* và *P. aeruginosa* đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 2,75 mm và 1,7 mm. Khi tăng nồng độ lên 60 mg/mL, cao ethanol của bài thuốc vẫn không có biểu hiện kháng chủng *S. aureus*, còn kháng chủng *E. coli* và *P. aeruginosa* đường kính vòng kháng khuẩn tăng lên đạt 7,75 mm và 4,75 mm. Khi nồng độ cao ethanol của bài thuốc tăng lên 200 mg/mL có biểu hiện kháng cả 3 chủng vi khuẩn *S. Aureus*, *P. aeruginosa* và *E. coli* đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 3,25 mm, 19,75 mm và 25,25 mm. Kết quả này lần nữa khẳng định hiệu quả chữa viêm đại tràng của bài thuốc Kham cầm sơn tràng vì có khả năng kháng chủng *E. coli* (Gây viêm đường tiêu hóa như: viêm ruột, viêm dạ dày, viêm đại tràng...) và chủng *P. aeruginosa* (gây viêm phổi, viêm vết thương hở, viêm đường ruột, tiết niệu,...). Nhiều bài thuốc từ thảo dược (đun uống) chữa viêm đại tràng như bài thuốc Kujiyeyuan (2020) [15], bài thuốc Jiawei Gegen Qinlian (2021) [16] cũng đã được chứng minh có hoạt tính kháng khuẩn để bảo vệ hàng rào bảo vệ của ruột.

3.3. Hoạt tính chống oxy hóa cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng

Khởi đầu của viêm đại tràng là dưới tác động của các yếu tố liên quan làm tổn thương lớp biểu mô ruột và hệ vi khuẩn đường ruột sẽ xâm nhập vào bên trong qua vị trí bị tổn thương. Sự

xâm nhập của vi khuẩn và kích hoạt các tế bào viêm, gây ra oxy hóa trong ruột, gây ra tổn thương mô và làm trầm trọng thêm tình trạng viêm [14]. Do đó, hoạt tính chống oxy hóa cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng đã được nghiên cứu, kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Hoạt tính chống oxy hóa cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng

Mẫu	Nồng độ thử ($\mu\text{g/mL}$)	Khả năng khử gốc tự do DPPH (%)	Giá trị SC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Kham cầm sơn tràng	100	88,97 $\pm$ 1,36	25,17 $\pm$ 1,16
	20	42,87 $\pm$ 1,62	
	4	12,46 $\pm$ 0,96	
	0,8	3,85 $\pm$ 0,36	
L-Ascorbic acid	100	91,38 $\pm$ 2,22	6,39 $\pm$ 0,23
	20	74,69 $\pm$ 1,11	
	4	33,15 $\pm$ 1,70	
	0,8	14,85 $\pm$ 0,56	

Kết quả bảng 2 cho thấy chất L-Ascorbic acid đối chứng dương hoạt động ổn định trong thí nghiệm. Hiệu quả khử gốc tự do DPPH cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng tỷ lệ thuận với nồng độ. Ở nồng độ 0,8 $\mu\text{g/mL}$ khả năng trung hòa gốc tự do cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng là 3,85%, khi tăng lên 4 $\mu\text{g/mL}$ thì khả năng trung hòa gốc tự do đạt 12,46%, khi tăng lên 20 $\mu\text{g/mL}$ trung hòa gốc tự do của cao ethanol là 42,87%, và khi nồng độ là 100 $\mu\text{g/mL}$ tỷ lệ khử gốc tự do lên đến 88,97%. Giá trị SC_{50} cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng là 25,17 $\mu\text{g/mL}$. Priyanka và cộng sự (2017) đã nghiên cứu hoạt tính chống oxy hóa của Nghệ vàng (*Curcuma longa* L.), kết quả cho thấy hoạt tính chống oxy hóa của củ Nghệ vàng với chỉ số SC_{50} là 72,93 $\mu\text{g/mL}$ [17]. Nghiên cứu của Phan Kim Định và cộng sự (2019) về hiệu quả chống oxy hóa lá Mỡ lông (*Paederia lanuginosa* W.) cho thấy, lá Mỡ lông có khả năng chống oxy hóa với chỉ số SC_{50} đạt 72,93 $\mu\text{g/mL}$ [18]. Như vậy có thể thấy, sự kết hợp của các loài trong bài thuốc Kham cầm sơn tràng cho hiệu quả chống oxy hóa cao hơn các loài riêng lẻ. Kết quả này cho thấy, bài thuốc có tác dụng làm giảm độ tổn thương của viêm đại tràng và góp phần bảo vệ đường ruột.

3.4. Hoạt tính kháng tế bào ung thư cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng

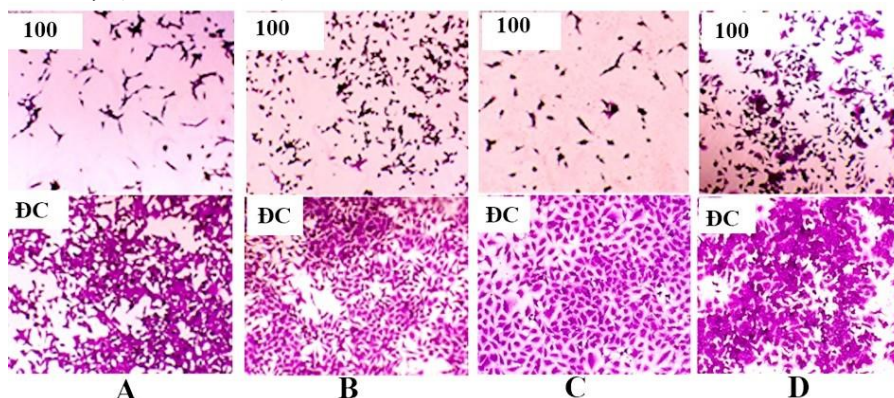
Hoạt tính kháng tế bào ung thư LNCaP, HepG2, A549, MCF-7 cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng đã được nghiên cứu, kết quả được trình bày ở bảng 3 và hình 4.

Bảng 3. Hoạt tính kháng tế bào ung thư cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng

Mẫu	Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Khả năng ức chế sự phát triển của dòng tế bào (%)			
		LNCaP	HepG2	A549	MCF-7
Kham cầm sơn tràng	100	71,59 $\pm$ 2,12	61,98 $\pm$ 1,43	76,87 $\pm$ 1,61	63,64 $\pm$ 1,55
	20	18,37 $\pm$ 1,42	10,48 $\pm$ 0,78	16,29 $\pm$ 0,93	15,89 $\pm$ 1,30
	4	5,59 $\pm$ 0,27	9,74 $\pm$ 0,68	2,24 $\pm$ 0,23	1,75 $\pm$ 0,12
	0,8	2,01 $\pm$ 0,22	6,97 $\pm$ 0,38	0,73 $\pm$ 0,06	0,49 $\pm$ 0,03
	IC_{50}	65,72$\pm$3,28	87,65$\pm$2,23	64,04$\pm$2,05	75,49$\pm$2,99
Ellipticine	10	99,80 $\pm$ 1,17	98,28 $\pm$ 2,43	94,06 $\pm$ 2,31	92,00 $\pm$ 2,37
	2	76,76 $\pm$ 1,34	78,16 $\pm$ 1,58	78,85 $\pm$ 0,93	76,61 $\pm$ 1,15
	0,4	51,41 $\pm$ 1,02	51,13 $\pm$ 1,04	52,04 $\pm$ 1,76	51,29 $\pm$ 0,63
	0,08	21,47 $\pm$ 0,96	22,97 $\pm$ 1,36	23,25 $\pm$ 0,69	22,22 $\pm$ 1,12
	IC_{50}	0,34$\pm$0,03	0,35$\pm$0,03	0,32$\pm$0,02	0,37$\pm$0,02

Kết quả bảng 3 cho thấy Ellipticine đối chứng dương tham khảo hoạt động ổn định trong thí nghiệm. Nồng độ cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng tăng từ 0,8 lên 100 $\mu\text{g/mL}$ thì khả năng ức chế sự phát triển *in vitro* các dòng tế bào ung thư tăng. Ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ ức chế sự phát triển của dòng tế bào A549 cao nhất đạt 76,87% với giá trị IC_{50} là 64,04 $\mu\text{g/mL}$. Tiếp đến ức chế sự phát triển của dòng tế bào LNCaP đạt 71,59% giá trị IC_{50} là 65,72 $\mu\text{g/mL}$. Ức chế dòng

tế bào MCF-7 với 63,64%, chỉ số IC_{50} là 75,49 $\mu\text{g/mL}$. Cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng ức chế dòng tế bào HepG2 thấp nhất với 61,98% chỉ số IC_{50} cao nhất là 87,65 $\mu\text{g/mL}$. Có thể dễ dàng nhận thấy chỉ số IC_{50} cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng có giá trị cao so với Ellipticine, có thể do cao ethanol chứa nhiều hợp chất khác nhau, do đó cần có những nghiên cứu tách chất đơn, sạch để thử hoạt tính.



Hình 4. Khả năng gây độc tế bào ung thư cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$ (A: LNCaP; B: HepG2; C: A549; D: MCF-7; 100: cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$; ĐC: đối chứng)

4. Kết luận

Bài thuốc Kham cầm sơn tràng của lương y Bùi Văn Ngợi gồm 3 loài, Trắc đặc lặc (*D. tsoi* Merr. & Chun), Mơ tam thể (*P. lanuginosa* Wall), Nghệ vàng (*C. longa* L.). Cao ethanol của bài thuốc Kham cầm sơn tràng có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học polyphenol, tanin và coumarin. Ở nồng độ 200 mg/mL, cao ethanol biểu hiện kháng cả 3 chủng vi khuẩn *S.aureu*, *P. aeruginosa*, *E. coli* với đường kính vòng kháng khuẩn lần lượt là 3,25 mm, 19,75 mm và 25,25 mm. Ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$, cao ethanol có hiệu quả khử gốc tự do DPPH đạt 88,97% với giá trị SC_{50} là 25,17 $\mu\text{g/mL}$. Cao ethanol có biểu hiện gây độc các dòng tế bào ung thư A549, LNCaP, MCF-7, HepG2 với giá trị IC_{50} lần lượt đạt 64,04 $\mu\text{g/mL}$, 65,72 $\mu\text{g/mL}$, 75,49 $\mu\text{g/mL}$ và 87,65 $\mu\text{g/mL}$. Bài thuốc Kham cầm sơn tràng là bài thuốc chữa viêm đại tràng tiềm năng, có thể phát triển thành các dạng thuốc thuận lợi cho sử dụng và hiệu quả chữa trị cao hơn.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ từ nguồn kinh phí Khoa học và Công nghệ của Trường Đại học Tây Bắc cho đề tài mã số: TTB 2023-36.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] Y. Yang, Y. Wang, L. Zhao, F. Wang, M. Li, Q. Wang, H. Luo, Q. Zhao, J. Zeng, Y. Zhao, F. Du, Y. Chen, J. Shen, S. Wei, Z. Xiao, and X. Wu, "Chinese herbal medicines for treating ulcerative colitis via regulating gut microbiota-intestinal immunity axis," *Chinese Herbal Medicines*, vol. 15, pp. 181-200, 2023.
- [2] J. D. Feuerstein, A. C. Moss, and F. A. Farraye, "Ulcerative colitis," *Mayo Clin. Proc*, vol. 94, no. 7, pp. 1357-1373, 2019.
- [3] H. R. Rostamani, S. Semnani, and M. Yousefi, "Persian Traditional Medicine in Treatment of Ulcerative Colitis: a Case Report," *Research Journal of Pharmacognosy (RJP)*, vol. 8, no. 1, pp. 1-6, 2021.
- [4] K. D. Null, Y. Xu, M. K. Pasquale, C. Su, A. Marren, J. Harnett, J. Mardekian, A. Manuchehri, and P. Healey, "Ulcerative colitis treatment patterns and cost of care," *Value Health*, vol. 20, no. 6, pp. 752-761, 2017.

- [5] E. K. Akkol, B. Karpuz, E. Sobarzo-Sanchez, and H. Khan, "A phytopharmacological overview of medicinal plants used for prophylactic and treatment of colitis," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 144, 2020, Art. no. 111628.
- [6] D. C. Baumgart and C. Le Berre, "Newer biologic and small-molecule therapies for inflammatory bowel disease," *N. Engl. J. Med.*, vol. 385, no. 14, pp. 1302-1315, 2021.
- [7] X. He, J. Liu, G. Long, X. H. Xia, and Liu, "M. 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-beta-D-glucoside, a major bioactive component from *Polygoni multiflori Radix* (Heshouwu) suppresses DSS induced acute colitis in BALB/c mice by modulating gut microbiota," *Biomed. Pharmacother*, vol. 137, 2021, Art. no. 111420.
- [8] S. Huang, X. Wang, X. Xie, Y. Su, Z. Pan, Y. Li *et al.*, "Dahuang Mudan decoction repairs intestinal barrier in chronic colitic mice by regulating the function of ILC3," *J. Ethnopharmacol*, vol. 299, 2022, Art. no. 115652.
- [9] Y. Yao, Y. Liu, J. Zhang, and L. Mao, "The mechanism of traditional medicine in alleviating ulcerative colitis: regulating intestinal barrier function," *Front. Pharmacol*, vol. 14, 2023, Art. no. 1228969.
- [10] X. Han, J. Guo, Y. Qin, W. Huang, Y. You, and J. Zhan, "Dietary regulation of the SIgA-gut microbiota interaction. Crit. Rev," *Food Sci. Nutr.*, vol. 63, pp. 6379-6392, 2022.
- [11] 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.
- [12] B. Mahesh and S. Satish, "Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens," *World J. Agric. Sci.*, vol. 4(S), pp. 839-843, 2008.
- [13] H. Abramovič, B. Grobin, N. P. Ulrih, and B. Cigić, "Relevance and Standardization of In Vitro Antioxidant Assays: ABTS, DPPH, and Folin-Ciocalteu," *Journal of Chemistry*, vol. 2018, pp. 1-9, 2018.
- [14] P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J. T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney, and M. R. Boyd, "New colorimetric cytotoxic assay for anticancer-drug screening," *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 82, no. 13, pp. 1107-1112, 1990.
- [15] B. Liu, X. Piao, W. Niu, Q. Zhang, C. Ma, T. Wu *et al.*, "Kuijieyuan decoction improved intestinal barrier injury of ulcerative colitis by affecting TLR4- dependent PI3K/AKT/NF-κB oxidative and inflammatory signaling and gut microbiota," *Front. Pharmacol*, vol. 11, p.1036, 2020.
- [16] Q. Li, Y. Cui, B. Xu, Y. Wang, F. Lv, Z. Li *et al.*, "Main active components of Jiawei Gegen Qinlian decoction protects against ulcerative colitis under different dietary environments in a gut microbiota-dependent manner," *Pharmacol. Res*, vol. 170, 2021, Art. no. 105694.
- [17] R. Priyanka, M. Vasundhara, G. G. E. Rao, B. S. Thara, B. Radhika, and N. Marappa, "Antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) cultivars," *Medicinal Plants - International Journal of Phytomedicines and Related Industries*, vol. 9, no. 3, pp. 189-194, 2017.
- [18] K. D. Phan, T. X. T. Dai, and T. T. L. Nguyen, "Survey of antioxidant and liver protection activity of methanol extract of *Paederia Lanuginosa* w.," *Journal Biotechnology of Can Tho University*, vol. 17, no. 1, pp. 157-166, 2019.