

Thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết từ lá loài Dương đồng bắc (*Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels)

Nguyễn Hữu Quân*, Nguyễn Thị Ngọc Lan, Nguyễn Thị Thu Nga, Sỹ Danh Thường, Chu Hoàng Mậu

Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên, 20 đường Lương Ngọc Quyến, thành phố Thái Nguyên, Việt Nam

Ngày nhận bài 20/5/2021; ngày chuyển phản biện 24/5/2021; ngày nhận phản biện 24/6/2021; ngày chấp nhận đăng 2/7/2021

Tóm tắt:

Dương đồng bắc có tên khoa học là *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels, thuộc chi Dương đồng 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 trong cây, tuy nhiên cho đến nay loài Dương đồng bắc chưa được tác giả nào nghiên cứu. Do đó, nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết từ lá loài này là công trình đầu tiên và cần thiết trong thực tiễn. Cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc có chứa nhóm chất polyphenol, tanin và coumarin. Cao ethanol, dichloromethan và ethyl acetat ở nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml ức chế sự phát triển của vi khuẩn *B. subtilis*, *L. plantarum* và *S. macescens*. Cao ethanol, dichloromethane và ethyl acetate có hoạt tính khử gốc tự do DPPH mạnh, giá trị EC_{50} lần lượt đạt 0,2, 0,47 và 5,7 µg/ml. Cao ethanol có hoạt tính ức chế các dòng tế bào ung thư dạ dày, phổi và vú với giá trị IC_{50} lần lượt là 58,62, 48,73 và 43,15 µg/ml. Kết quả này cho thấy, loài Dương đồng bắc là cây trồng tiềm năng bởi chứa nhiều hợp chất có khả năng kháng khuẩn, kháng oxy hóa và ức chế các dòng tế bào ung thư.

Từ khóa: cao tổng, chống oxy hóa, Dương đồng bắc, kháng khuẩn, kháng tế bào ung thư.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

Việt Nam là quốc gia có đa dạng sinh học phong phú và tiềm năng cao về cây dược liệu. Tuy nhiên, có nhiều loài chưa được nghiên cứu về tầm quan trọng và giá trị làm thuốc của chúng, đặc biệt là các loài thuộc chi Dương đồng. Ở Việt Nam, chi Dương đồng có khoảng 14 loài, phân bố rải rác khắp cả nước [1]. Loài *Adinandra lienii* trước đây được nghiên cứu về vị trí phân bố địa lý, đặc điểm thực vật học và trình tự gen *matK*, vùng ITS giúp nhận diện loài [2, 3]. Ngoài ra, thành phần hóa học và hoạt tính kháng khuẩn từ lá của loài *A. lienii* được chứng minh có hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa và ức chế một số dòng tế bào ung thư [4]. T.T.N Nguyen và cs (2020) [5] đã nghiên cứu về loài *A. megaphylla* Hu và nhận thấy cao chiết từ lá của loài này có chứa các hợp chất polyphenol, coumarin; đồng thời chứng minh cao chiết từ lá có hoạt tính kháng khuẩn, khử gốc tự do và ức chế dòng tế bào ung thư vú, dạ dày, phổi. Như vậy, các nghiên cứu ở Việt Nam hiện nay tập trung chủ yếu vào *A. lienii* và *A. megaphylla* là các loài phân bố chủ yếu ở khu vực miền núi phía Bắc.

Dương đồng bắc hay còn gọi là Hồng đạm Tam Đảo, có tên khoa học là *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels, thuộc chi Dương đồng (*Adinandra*), họ Chè (*Theaceae*). Dương đồng bắc là cây thân gỗ, cao 2-6 m và thường mọc trên sườn núi hoặc trong thung lũng, nơi có độ cao 200-1500 m. Loài Dương đồng bắc chỉ phân bố ở Trung Quốc và Việt Nam. Hiện nay, chưa có bất kỳ công trình nghiên cứu nào về loài này. Vậy loài Dương đồng bắc có hay không có hợp chất có khả năng kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng tế bào ung thư và nếu có thì là những hợp chất thứ cấp nào? Đây chính là câu hỏi đặt ra cho

nghiên cứu này và cũng là nghiên cứu đầu tiên về loài Dương đồng bắc để trả lời câu hỏi trên. Nghiên cứu tiến hành tách cao chiết, định tính thành phần hóa học của loài Dương đồng bắc và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa, kháng 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

Loài Dương đồng bắc sử dụng trong nghiên cứu được thu tại Khu bảo tồn thiên nhiên Hoàng Liên - Văn Bàn thuộc xã Liềm Phú, huyện Văn Bàn, tỉnh Lào Cai vào tháng 8/2019 ở độ cao 800 m, tọa độ 21°59'15"N, 104°19'28"E. Tên khoa học của loài được xác định bởi PGS.TS Sỹ Danh Thường, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên (hình 1). Loài Dương đồng bắc thu thập được sự cho phép của Ban quản lý Khu bảo tồn thiên nhiên Hoàng Liên - Văn Bàn. Mẫu lá được sử dụng để tạo cao chiết và nghiên cứu các bước tiếp theo.



Hình 1. Hình ảnh của loài Dương đồng bắc sử dụng trong nghiên cứu. (A) Mặt sau của lá; (B) Cảnh mang nụ (ảnh được chụp bởi nhóm tác giả trong quá trình thu mẫu).

*Tác giả liên hệ: Email: quannh@tnue.edu.vn

Chemical composition and biological activity of leaf extracts of *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels

Huu Quan Nguyen*, Thi Ngoc Lan Nguyen,
Thi Thu Nga Nguyen, Danh Thuong Sy, Hoang Mau Chu

Department of Biology, Thai Nguyen University of Education,
20 Luong Ngoc Quyen Street, Thai Nguyen City, Vietnam

Received 20 May 2021; revised 24 June 2021; accepted 2 July 2021

Abstract:

Adinandra bockiana E. Pritz. ex Diels collected in Lao Cai province, Vietnam belongs to the *Adinandra* genus. Some species of the genus *Adinandra* have been studied for their botanical characteristics and bioactive compounds, however, *A. bockiana* has not been studied to date. Therefore, studying the chemical composition and biological activity of *A. bockiana* leaf extracts is pioneering and necessary in reality. The leaf extracts of *A. bockiana* have been quantified and determined to contain tannins, coumarins and polyphenolic compounds. The ethanol extract, dichloromethane extract and ethyl acetate extract at the concentrations 20, 60, and 200 µg/ml can inhibit the growth of *B. subtilis*, *L. plantarum*, and *S. marcescens*. The ethanol extract, dichloromethane extract and ethyl acetate extract have free radical reduction activity, which EC₅₀ values reached 0.2, 0.47, and 5.7 µg/ml, respectively. The ethanol extract exhibited inhibitory activities on gastric, lung, and breast cancer cell lines with IC₅₀ values of 58.62, 48.73, and 43.15 µg/ml, respectively. The results show that *A. bockiana* is a potential plant that contains many compounds that have antibacterial, antioxidant, and anticancer activities.

Keywords: *Adinandra bockiana* E. Pritz. ex Diels, antibacterial, anti-cancer, antioxidant, total leaf extract.

Classification number: 3.4

Các loài vi khuẩn kiểm định *B. subtilis*, *S. marcescens* và *L. plantarum* do Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên cung cấp. Môi trường LB để nuôi cấy vi khuẩn kiểm định có thành phần gồm cao nấm men 0,5%, NaCl 1,0%, pepton 1,0%. Môi trường LB đặc bổ sung 2,0% thạch agar.

Các dòng tế bào ung thư gồm: MDA-MB-231 (ung thư vú), AGS (ung thư dạ dày) và A549 (ung thư phổi) 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 KH&CN Việt Nam cung cấp.

2.2. Phương pháp điều chế mẫu thử hoạt tính

Lá của loài Dương đồng hồ thu hái được rửa sạch và thái nhỏ, phơi trong bóng mát, sấy khô ở nhiệt độ 50°C đến khối

lượng không đổi, sau đó đem nghiền nhỏ. Mẫu nghiền được ngâm 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 pha loãng bằng nước cất, sau đó chiết phân bố lần lượt với các dung môi là dichloromethan và ethyl acetat. Sau khi cất đuổi dung môi thu được cặn dịch dichloromethan, ethyl acetat 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 được cho vào bình thủy tinh, ghi nhãn, đậy kín và bảo quản ở nhiệt độ thường để sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo.

2.3. Định tính các hợp chất có trong cao ethanol

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, 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 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 [6].

Định tính tannin: Lấy 2 ml cao ethanol vào 2 ống nghiệm ký hiệu lần lượt là I và II. Cho thêm thuốc thử vanilin/H₂SO₄ vào ống I lắc đều và quan sát. Nếu dịch chiết chuyển sang màu đỏ đậm là chứng tỏ có tannin.

2.4. Phương pháp thử hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết

Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ lá của loài Dương đồng hồ được xác định bằng phương pháp đục lỗ thạch theo B. Mahesh và cs (2008) [7]. 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. Đục các giếng có đường kính 10 mm trên đĩa thạch và nhỏ 100 µl cao chiết mỗi loại từ lá của loài Dương đồng hồ vào giếng ở các nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml (giếng đối chứng bổ sung Dimethyl sulfoxide (DMSO)). Đặt 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, chụp hình và ghi lại kết quả. 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).

2.5. Phương pháp xác định khả năng chống oxy hóa DPPH

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc được xác định theo phương pháp của J. Tabart và cs (2009) [8] sử dụng khả năng trung hòa gốc tự do DPPH. 100 μ l cao chiết mỗi loại ở các nồng độ 0,5, 2, 8, 32 và 64 μ g/ml được 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, sau đó đo ở bước sóng 517 nm. Khả năng khử gốc tự do DPPH được tính theo công thức sau:

$$\text{Khả năng khử gốc tự do DPPH (\%)} = 100 \times (A_c - A_s) / A_c$$

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 chống oxy hóa được xác định dựa vào giá trị EC_{50} (là nồng độ mẫu có khả năng khử gốc tự do DPPH đạt 50%).

2.6. Phương pháp xác định tính độc tế bào ung thư nuôi cấy dạng đơn lớp

Thử độ độc tế bào ung thư *in vitro* được xác định theo phương pháp của A. Monks và cs (1991) [9]. Cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc được chuẩn bị và thử nghiệm ở 4 nồng độ 100, 20, 4 và 0,8 mg/ml. Chất tham khảo Ellipticine ở các nồng độ 10, 2, 0,4 và 0,08 μ g/ml được sử dụng như là chất đối chứng dương. DMSO ở nồng độ 10% được sử dụng như là chất đối chứng âm. 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 tỷ 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 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 $IC_{50} = 5 \mu$ M [10].

Cả 4 chất DPPH, Ellipticine, DMSO, SRB được chúng tôi sử dụng là chất tinh khiết, được cung cấp từ Hãng Sigma Aldrich và sử dụng làm chất chuẩn, cũng như để pha cao chiết.

3. Kết quả

3.1. Định tính các hợp chất có trong lá của loài Dương đồng bắc

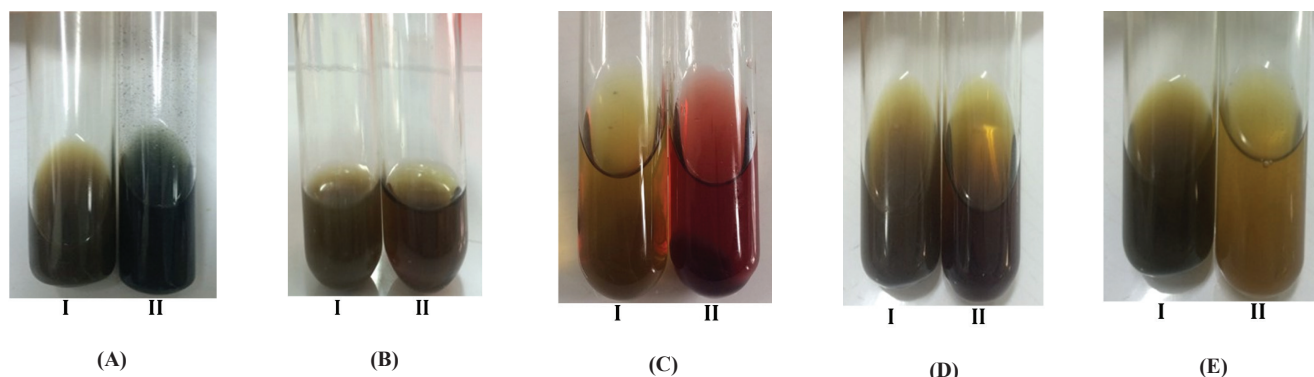
Định tính polyphenol: Cao ethanol từ lá của loài Dương đồng bắc được định tính bằng thuốc thử với muối sắt (III), nhận thấy dung dịch trong ống nghiệm II chuyển sang màu xanh lục và khác so với màu của ống nghiệm I (hình 2A). Khi định tính bằng H_2SO_4 đặc, dung dịch trong ống nghiệm II chuyển sang màu nâu đậm hơn màu của ống nghiệm I (hình 2B). Như vậy, trong lá của loài Dương đồng bắc có chứa nhóm chất polyphenol.

Định tính các tannin: Cao ethanol từ lá của loài Dương đồng bắc được định tính bằng thuốc thử vanilin trong H_2SO_4 làm cho dung dịch trong ống nghiệm II có màu đỏ khác so với màu của ống nghiệm I (hình 2C). Như vậy, trong lá của loài Dương đồng bắc có chứa nhóm chất tannin.

Định tính các coumarin: Kết quả hình 2D nhận thấy, khi cho 0,5 ml NaOH 10% vào ống nghiệm II, 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. Sau khi cho vài giọt dung dịch HCl đặc vào cả hai ống nghiệm thì ống II mất màu vàng đục (hình 2E). Từ kết quả định tính cho thấy, trong lá của loài Dương đồng bắc có chứa nhóm coumarin. Các nhóm hợp chất polyphenol, tannin 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 về loài Dương đồng bắc.

3.2. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc

Hoạt tính kháng khuẩn của cao ethanol, ethyl acetat và dichloromethan từ lá của loài Dương đồng bắc được trình bày

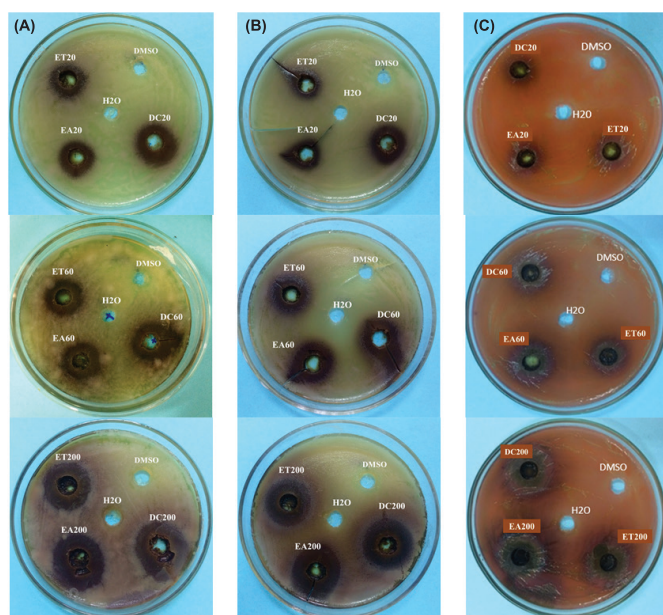


Hình 2. Kết quả định tính polyphenol (A, B), tannin (C) và coumarin (D, E) trong cao chiết ethanol từ lá của loài Dương đồng bắc. (A) Phản ứng với muối sắt III; (B) Phản ứng với dung dịch H_2SO_4 đặc; (C) Phản ứng với dung dịch vanilin/ H_2SO_4 ; (D) Phản ứng với NaOH; (E) Phản ứng với HCl đặc; I: cao ethanol toàn phần ban đầu; II: cao ethanol sau phản ứng.

ở bảng 1. Cao ethanol, ethyl acetat và dichloromethan đều có hoạt tính kháng vi khuẩn *B. subtilis* (hình 3A), *L. plantarum* (hình 3B) và *S. marcescens* (hình 3C) ở cả 3 nồng độ khảo sát. Hoạt tính kháng khuẩn tăng từ nồng độ 20 đến 60 µg/ml và mạnh nhất là nồng độ 200 µg/ml. Đường kính vòng kháng khuẩn đạt 6,7-24 mm đối với vi khuẩn *B. subtilis*; 3-21,3 mm đối với vi khuẩn *L. plantarum* và 2,0-14,3 mm đối với vi khuẩn *S. marcescens*. Trong đó, cao dichloromethane ở nồng độ 200 µg/ml có hoạt tính kháng khuẩn mạnh hơn so với cao ethanol và cao ethyl acetate.

Bảng 1. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết từ loài Dương đồng bắc.

Vi khuẩn	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)								
	ET20	ET60	ET200	EA20	EA60	EA200	DC20	DC60	DC200
<i>B. subtilis</i>	6,7±0,3	7,7±0,3	15,7±0,3	7,3±0,3	11,0±0,6	22,3±0,3	9,3±0,3	13,3±0,3	24,0±0,6
<i>S. marcescens</i>	2,0±0,1	7,3±0,3	13,0±0,6	5,0±0,6	6,3±0,3	14,0±0,6	8,3±0,3	11,0±0,6	14,3±0,7
<i>L. plantarum</i>	3,0±0,6	6,3±0,3	15,7±0,3	5,0±0,6	3,7±0,3	20,7±0,3	5,3±0,3	7,0±0,6	21,3±0,3



Hình 3. Hoạt tính kháng vi khuẩn *B. subtilis* (A), vi khuẩn *L. plantarum* (B) và vi khuẩn *S. marcescens* (C) của cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc. DMSO và H₂O là đối chứng; ET20, ET60, ET200: cao ethanol lần lượt ở các nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml; EA20, EA60, EA200: cao ethyl acetat lần lượt ở các nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml; DC20, DC60, DC200: cao dichloromethan lần lượt ở các nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml.

3.3. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc

Trong nghiên cứu này, cao ethyl acetat, dichloromethan và ethanol từ lá của loài Dương đồng bắc được chúng tôi thử nghiệm hoạt tính khử gốc tự do DPPH. Kết quả bảng 2 cho thấy, hiệu quả khử gốc tự do DPPH của cao ethyl acetat, dichloromethan và ethanol tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết,

khi nồng độ cao chiết tăng từ 0,5 đến 128 µg/ml thì hiệu quả khử gốc tự do cũng tăng dần từ 0 đến 89,8%. Cao ethyl acetate có hoạt tính mạnh nhất thể hiện ở nồng độ khử gốc tự do DPPH với giá trị EC₅₀ là 0,2 µg/ml, tiếp đến là cao dichloromethan (giá trị EC₅₀ là 0,47 µg/ml) và cao ethanol (giá trị EC₅₀ đạt 5,7 µg/ml). Tuy nhiên, ở nồng độ 128 µg/ml, hoạt tính khử gốc tự do của cao dichloromethan cao nhất đạt 89,8%; tiếp đến là cao ethyl acetat (đạt 84,1%) và cao ethanol (đạt 71,5%).

Bảng 2. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết từ lá của loài Dương đồng bắc.

Nồng độ (µg/ml)	Khả năng khử gốc tự do DPPH (%)		
	Cao ethyl acetat	Cao dichloromethan	Cao ethanol
0,5	83,4	53,0	0,0
2,0	84,4	71,0	1,4
8,0	87,9	88,6	70,1
32	87,7	89,1	77,9
128	84,1	89,8	71,5
EC ₅₀ (µg/ml)	0,2	0,47	5,7

3.4. Hoạt tính kháng tế bào ung thư của cao ethanol từ loài Dương đồng bắc

Kết quả bảng 3 cho thấy, cao ethanol từ loài Dương đồng bắc có khả năng ức chế sự phát triển của ba dòng tế bào ung thư MDA-MB-231 (ung thư vú), AGS (ung thư dạ dày) và A549 (ung thư phổi) với giá trị IC₅₀ lần lượt đạt 43,15±2,39, 58,62±1,45 và 48,73±3,76 µg/ml. Trong đó, hiệu quả ức chế của cao ethanol trên dòng tế bào ung thư vú là lớn nhất, tiếp đến là dòng tế bào ung thư phổi và thấp nhất là dòng tế bào ung thư dạ dày. Như vậy, cao ethanol từ loài Dương đồng bắc 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 cơ sở để phân lập các hợp chất tinh khiết từ cao ethanol có khả năng ức chế các dòng tế bào ung thư trong điều kiện *in vitro*.

Bảng 3. Tác động gây độc tế bào ung thư của cao ethanol từ lá của loài Dương đồng bắc.

Nồng độ (µg/ml)	% ức chế sự phát triển của dòng tế bào		
	A549 (ung thư phổi)	AGS (ung thư dạ dày)	MDA-MB-231 (ung thư vú)
100	93,20±1,50	85,08±1,23	91,20±1,59
20	24,32±1,31	18,48±0,75	27,72±1,47
4	14,81±0,67	11,22±0,98	10,49±0,62
0,8	6,07±0,93	3,64±1,02	0,62±1,29
IC ₅₀	48,73±3,76	58,62±1,45	43,15±2,39

4. Bàn luận

Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh, một số loài thuộc chi Dương đồng có chứa các hợp chất hóa học có hoạt tính sinh học. H. Gao và cs (2010) [11] đã phân lập được camellianin A, một loại flavonoid từ lá của loài *Adinandra nitida* và đã chứng minh chất này có hoạt tính ức chế sự tăng sinh và quá trình apoptosis của tế bào ung thư gan (Hep G2) và tuyến vú (MCF-7).

Một số hợp chất dị vòng chứa coumarin có liên quan đến các đặc tính như chống viêm [12], kháng khuẩn [13], kháng virus [14] và chống ung thư [15]. Ngoài ra, coumarin cũng thể hiện tác dụng gây độc tế bào ung thư đối với các tế bào Hep2 (loại tế bào biểu mô người), ảnh hưởng tới quá trình apoptosis, sự biến mất của lớp màng vi nhung mao, làm giảm hàm lượng huyết tương của tế bào chất và sự phân hủy nhân [16]. Cao chiết từ lá của loài Sum liên (*A. lienii*) có chứa nhóm chất polyphenol, flavonoid và coumarin. Cao ethanol, ethyl acetat và dichloromethan ức chế sự phát triển của các loài vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, *B. subtilis*, *S. marcescens*, *Sarcina lutea*, *L. plantarum* và *E. coli* ở nồng độ 200 µg/ml. Trong đó, cao dichloromethan có hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn so với cao ethanol và ethyl acetat [4]. Cao chiết từ lá của loài Sum lá lớn (*A. megaphylla* Hu) chứa các hợp chất polyphenol, coumarin; đồng thời cao ethanol, ethyl acetat và dichloromethan có hoạt tính ức chế các loài vi khuẩn *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. marcescens*, *S. lutea*, *L. plantarum* và *E. coli*. Cao ethyl acetat và ethanol có hoạt tính khử gốc tự do DPPH, giá trị EC_{50} lần lượt đạt 30,3 và 33,2 µg/ml. Cao dichloromethane có hoạt tính khử gốc tự do rất yếu, giá trị $EC_{50} > 128$ µg/ml. Cao ethanol ức chế 3 dòng tế bào ung thư dạ dày, ung thư phổi và ung thư gan với giá trị IC_{50} lần lượt là 67,76, 77,02 và 84,46 µg/ml [5].

Trong nghiên cứu này, cao ethanol từ lá của loài Dương đồng bồ có chứa các nhóm chất polyphenol, tanin và coumarin. Cao ethanol, dichloromethan và ethyl acetat ức chế sự phát triển của vi khuẩn *B. subtilis*, *L. plantarum* và *S. marcescens*. Cao ethyl acetat, dichloromethan và ethanol có hoạt tính khử gốc tự do DPPH mạnh, giá trị EC_{50} lần lượt là 0,2, 0,47 và 5,7 µg/ml. Cao ethanol ức chế 3 dòng tế bào ung thư vú, ung thư dạ dày và ung thư phổi, giá trị IC_{50} lần lượt đạt 43,15, 58,62 và 48,73 µg/ml. Như vậy, nghiên cứu này phù hợp về thành phần và hoạt tính sinh học với các nghiên cứu đã công bố. Tuy nhiên, hoạt tính kháng khuẩn, hoạt tính khử gốc tự do và ức chế các dòng tế bào ung thư của cao chiết từ loài Dương đồng bồ trong nghiên cứu này mạnh hơn so với loài Sum liên và Sum lá lớn.

5. Kết luận

Nghiên cứu đã chứng minh được cao chiết từ lá của loài Dương đồng bồ có chứa hợp chất polyphenol, tanin và coumarin. Ở nồng độ 20, 60 và 200 µg/ml cao ethanol, dichloromethan và ethyl acetat đều ức chế sự phát triển của vi khuẩn *B. subtilis*, *L. plantarum* và *S. marcescens*. Cao ethyl acetat, dichloromethan và ethanol có hoạt tính khử gốc tự do DPPH mạnh, giá trị EC_{50} lần lượt là 0,2, 0,47 và 5,7 µg/ml. Cao chiết ethanol từ lá của loài Sum lá lớn có hoạt tính ức chế 3 dòng tế bào ung thư vú, ung thư dạ dày và ung thư phổi, giá trị IC_{50} lần lượt đạt 43,15, 58,62 và 48,73 µg/ml. Kết quả nghiên cứu đã chứng minh Dương đồng bồ 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 Quỹ phát triển KH&CN quốc gia (NAFOSTED) thông qua đề tài mã số 106.02-2018.338. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H.H. Pham (1999), *An Illustrate Flora of Vietnam*, Young Publishing (in Vietnamese).
- [2] H.Q. Nguyen, T.T.G. Kieu (2019), "Use of matK DNA barcode to identify *Adinandra* samples collected at Lao Cai, Vietnam", *TNU Journal of Science and Technology*, **197(4)**, pp.205-210 (in Vietnamese).
- [3] H.Q. Nguyen, P.D. Le, D.T. Sy, et al. (2019), "Studying of anatomical characteristics and sequence of *ITS* gene from *Adinandra lienii*", *CASEAN-6 Proceedings*, pp.153-159 (in Vietnamese).
- [4] H.Q. Nguyen, T.K.P. Than, H.M. Chu (2019), "Study on chemical composition and antibacteria activity of extracts total from leaves of *Adiandra lienii* species", *Proceedings National Biotechnology Conference 2019*, pp.178-182 (in Vietnamese).
- [5] L.T.N. Nguyen, Q.H. Nguyen, N.T.T. Nguyen, et al. (2020), "Antibacterial, antioxidant and anti - Cancerous activities of *Adiandra megaphylla* Hu leaf extracts", *Biosc. Biotech. Res. Comm.*, **13(3)**, pp.1015-1020, DOI:10.21786/bbrc/13.3/5.
- [6] T.A. Nguyen, T.H. Bui (2008), "Study on Flavonoid and Coumarin components of drugs in dispersion method", *Journal of Pharmacy*, **368**, pp.37-40 (in Vietnamese).
- [7] B. Mahesh, S. Satish, H. Drug (2008), "Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens", *World J. Agric. Sci.*, **4(S)**, pp.839-843.
- [8] J. Tabart, C. Kevers, J. Pincemail, et al. (2009), "Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests", *Food Chem.*, **113(4)**, pp.1226-1233, DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.08.013.
- [9] A. Monks, D. Scudiero, P. Skehan, et al. (1991), "Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines", *Journal of the National Cancer Institute*, **83(11)**, pp.757-766, DOI: 10.1093/jnci/83.11.757.
- [10] J.P. Hughes, S. Rees, S.B. Kalindjian, et al. (2011), "Principles of early drug discovery", *Br.J. Pharmacol.*, **162(6)**, pp.1239-1249, DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.01127.x.
- [11] H. Gao, B. Liu, F. Liu, et al. (2010), "Anti-proliferative effect of camellianin A in *Adinandra nitida* leaves and its apoptotic induction in human hep G2 and MCF-7 Cells", *Molecules*, **15(6)**, pp.3878-3886, DOI: 10.3390/molecules15063878.
- [12] R.E. Hagggar, R.I.A. Wabli (2015), "Anti-Inflammatory screening and molecular modeling of some novel coumarin derivatives", *Molecules*, **20(4)**, pp.5374-5391, DOI: 10.3390/molecules20045374.
- [13] Y. Shi, C. Zhou (2011), "Synthesis and evaluation of a class of new coumarin triazole derivatives as potential antimicrobial agents", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **21(3)**, pp.956-960, DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.12.059.
- [14] S.C. Tsay, J.R. Hwu, R. Singha, et al. (2014), "Coumarins hinged directly on benzimidazoles and their ribofuranosides to inhibit hepatitis C virus", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **63**, pp.290-298, DOI: 10.1016/j.ejmech.2013.02.008.
- [15] Y. Jacquot, I. Laïos, A. Cleeren, et al. (2007), "Synthesis, structure, and estrogenic activity of 4-amino-3-(2-methylbenzyl)coumarins on human breast carcinoma cells", *Bioorg. Med. Chem.*, **15(6)**, pp.2269-2282, DOI: 10.1016/j.bmc.2007.01.025.
- [16] S. Mirunalini, K. Deepalakshmi, J. Manimozhi (2014), "Antiproliferative effect of coumarin by modulating oxidant/antioxidant status and inducing apoptosis in Hep2 cells", *Biomed. Aging Pathol.*, **4(2)**, pp.131-135, DOI: 10.1016/j.biomag.2014.01.006.