

## KHẢO SÁT ĐẶC ĐIỂM VI HỌC, THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TRÊN MỘT SỐ DÒNG TẾ BÀO UNG THƯ CỦA THÂN RỄ SÙNG THẢO - RHIZOMA STACHYDIS AFFINIS

Nguyễn Thanh Hoàng<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Vy Phương<sup>2</sup>, Đặng Thị Xuân Quyên<sup>2</sup>, Võ Văn Lợi<sup>1</sup>,  
Nguyễn Việt Kinh<sup>1</sup>, Võ Thị Bạch Huệ<sup>3</sup>, Mã Chí Thành<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh  
41 Đinh Tiên Hoàng, Quận 1, Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup> Công ty Cổ phần Dược phẩm Tipharco  
Đường số 3, Mỹ Tho, Tiền Giang

<sup>3</sup> Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng  
10 Huỳnh Văn Nghệ, Biên Hòa, Đồng Nai

\* Tác giả chịu trách nhiệm chính: [mcthanh@ump.edu.vn](mailto:mcthanh@ump.edu.vn)

Ngày nhận bài: 24.11.2021, Ngày chấp nhận: 20.12.2021, Ngày đăng: 30.03.2022

### TÓM TẮT:

Thân rễ Sùng thảo (*Rhizoma Stachydis affinis*) được dùng như một thực phẩm cũng như là một vị thuốc trong y học cổ truyền nhằm điều trị nhiễm trùng, cảm lạnh và viêm phổi. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân tích đặc điểm hình thái học, khảo sát sơ bộ thành phần hóa học và thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư của thân rễ Sùng thảo. Đặc điểm vi phẫu dược liệu này đã được làm sáng tỏ, những thông tin này sẽ góp phần tiêu chuẩn hoá nguyên liệu Sùng thảo cho việc sản xuất các dược phẩm an toàn có nguồn gốc tự nhiên. Kết quả khảo sát sơ bộ thành phần hóa học cho thấy, thân rễ Sùng thảo chứa nhóm hợp chất carotenoid, tinh dầu, triterpenoid tự do, coumarin, proanthocyanidin, polyphenol, và polyuronic. Ở nồng độ 100 µg/mL, các mẫu cao chiết có khả năng gây độc các dòng tế bào ung thư phổi MDA-MB-231, ung thư gan Hep3B và ung thư cổ tử cung Hela ở mức độ trung bình. Kết quả nghiên cứu này góp phần xác định đúng dược liệu Sùng thảo ở Việt Nam bằng các đặc điểm hình thái và vi học, cũng như cung cấp những thông tin quan trọng về thành phần dược chất cũng như hoạt tính kháng lại một số dòng tế bào ung thư.

**Từ khóa:** Sùng thảo; *Rhizoma Stachys affinis*; stachyose; độc tính tế bào

## INVESTIGATION OF MICROSCOPIC CHARACTERISTICS, PRELIMINARY CHEMICAL CONSTITUENTS AND CYTOTOXICITY ACTIVITY ON CANCER CELL LINES OF RHIZOMA STACHYDIS AFFINIS

Nguyen Thanh Hoang<sup>1</sup>, Nguyen Thi Vy Phuong<sup>2</sup>, Dang Thi Xuan Quyen<sup>2</sup>, Vo Van Leo<sup>1</sup>,  
Nguyen Viet Kinh<sup>1</sup>, Vo Thi Bach Hue<sup>3</sup>, Ma Chi Thanh<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy  
41 Dinh Tien Hoang, District 1, Ho Chi Minh City 70000, Vietnam

<sup>2</sup> Tipharco Pharmaceutical Joint Stock Company  
Street 3, My Tho, Tien Giang 860000, Vietnam

<sup>3</sup> Faculty of Pharmacy, Lac Hong University  
10 Huynh Van Nghe, Bien Hoa, Dong Nai 810000, Vietnam

\* Corresponding author: [mcthanh@ump.edu.vn](mailto:mcthanh@ump.edu.vn)

Received: November 24, 2021, Accepted: December 20, 2021, Published: March 30, 2022

## ABSTRACT:

The rhizoma *Stachydis affinis* is used as a food as well as a medicinal herb in traditional medicine to treat infections, colds and pneumonia. In this study, we carried out morphological analysis, preliminary survey of chemical composition and tested the cytotoxic activity of this rhizome. The morphological characteristics had been clarified, and this information will contribute to the standardization of herbal ingredients for the production of safe pharmaceutical products of natural origin. Preliminary investigation results showed that this rhizome contains carotenoid compounds, essential oils, triterpenoids, coumarins, proanthocyanidins, polyphenols, and polyuronics. At a concentration of 100  $\mu\text{g/mL}$ , the extracts were capable of causing moderate toxicity to lung cancer MDA-MB-231, liver cancer Hep3B and cervical cancer Hela cell lines. The results of this study contribute to the correct identification of this rhizome in Vietnam by the morphology characteristics, and provide important information on the medicinal ingredients as well as the activity against some cancer cell lines.

**Keywords:** Sùng thảo; *Rhizoma Stachydis affinis*; morphology; cytotoxicity

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Sùng thảo (*Stachys affinis* Bunge, Lamiaceae) là một dược liệu giàu dinh dưỡng, với nhiều hoạt tính sinh học có lợi cho sức khỏe (Goren và cộng sự, 2011; Rosa và cộng sự, 2010). Thân rễ Sùng thảo (*Rhizoma Stachydis affinis*) cùng các cao chiết đã được sử dụng trong y học cổ truyền nhằm điều trị các chứng nhiễm trùng, cảm lạnh, bệnh tim, bệnh lao và viêm phổi (Alessandro và cộng sự, 2016). Tuy nhiên, các nghiên cứu về thành phần hóa học của loài Sùng thảo được trồng ở Việt Nam theo phương pháp nuôi cấy mô còn rất hạn chế, và tại Việt Nam hầu như chưa có nghiên cứu nào về đặc điểm vi học, thành phần hóa học cũng như các tác dụng sinh học của loài này. Do đó, việc khảo sát các đặc điểm hình thái về vi học để giúp định danh, phân biệt và nhằm tránh nhầm lẫn khi sử dụng cũng như khảo sát về thành phần hoá học góp phần làm rõ hơn các công dụng của dược liệu này. Các khảo sát về hoạt tính sinh học nhằm góp phần chứng minh tính an toàn của dược liệu này khi sử dụng.

Trong nghiên cứu trước đây của nhóm tác giả về thành phần hoá học của dược liệu Sùng thảo đã phân lập được 4 hợp chất là stachyose, ethyl- $\alpha$ -galactopyranose, 8-O-acetyl harpagid và harpagid, trong đó stachyose được xem là chất đánh dấu của dược liệu này (Nguyễn Thanh Hoàng và cộng sự, 2021). Nghiên cứu được thực hiện nhằm xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cho dược liệu Sùng thảo và khảo sát tính an toàn của dược liệu này khi sử dụng trong sản xuất các sản phẩm có liên quan. Trong các nghiên cứu tiếp theo trên dược liệu Sùng thảo đã tiến hành khảo sát chi tiết các đặc điểm hình thái, vi phẫu và bột dược liệu Sùng thảo. Thành phần hóa thực vật thân rễ Sùng thảo có chứa nhóm hợp chất: carotenoid, tinh dầu, triterpenoid tự do, coumarin, proanthocyanidin, polyphenol, chất khử, hợp chất polyuronic. Các phân đoạn cao chiết và các hợp chất stachyose, ethyl- $\alpha$ -galactopyranose đã được tiến hành thử độc tính tế bào trên các dòng tế bào MDA-MB-231, Hela, và Hep3B. Các cao phân đoạn cao chiết (ở nồng độ 100  $\mu\text{g/mL}$ ) và các hợp chất tinh khiết phân lập được (ở nồng độ 100  $\mu\text{M}$ ) thể hiện độc tính ở mức độ trung bình trên các dòng tế bào thử nghiệm.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Đối tượng

Nguyên liệu dùng cho khảo sát hoá học là thân rễ sấy khô của cây Sùng thảo (*Rhizoma Stachydis affinis*), khối lượng 700 gam. Thân rễ khô này sau đó được xay thành bột thô (0,5 mm). Nguyên liệu cho khảo sát vi học là thân rễ Sùng thảo tươi (50 g). Cả 2 dạng nguyên liệu này đều do Công ty Cổ phần Dược phẩm TIPHARCO cung cấp (Tháng 7 và Tháng 8 năm 2018, **Hình 1**).



(A)



(B)

**Hình 1.** Thân rễ Sùng thảo tươi (A) và sấy khô (B)

## 2.2 Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1 Khảo sát thực vật học

Quan sát các cấu tử của bột thân rễ khô *Stachys affinis* dưới kính hiển vi. Khảo sát cấu tạo vi học thân rễ tươi Sùng thảo bằng phương pháp cắt nhuộm và quan sát dưới kính hiển vi.

### 2.2.2 Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật

Thực hiện trên 25 g dược liệu, lần lượt chiết kiệt các hoạt chất với các dung môi có độ phân cực tăng dần (ether ethylic, cồn 95% và nước) thu được các dịch chiết tương ứng. Xác định các nhóm hoạt chất trong từng dịch chiết bằng các phản ứng hoá học đặc trưng.

### 2.2.3 Nghiên cứu phương pháp chiết xuất, phân lập và tinh chế hợp chất chính

Cao cồn 96° (Et9) và cao cồn 60° (Et6) của thân rễ sùng thảo được tách thành các phân đoạn đơn giản hơn bằng cách dùng kỹ thuật phân bố lỏng - lỏng với các dung môi hữu cơ. Phân lập hợp chất chính trong dược liệu bằng phương pháp sắc ký cột (SKC) như SKC cổ điển, SKC Diaion HP-20. Theo dõi quá trình tách phân đoạn bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM), phát hiện bằng UV, thuốc thử vanilin sulfuric và kiểm tra độ tinh khiết bằng hệ thống HPLC-ELSD. Xác định cấu trúc hóa học hợp chất phân lập được dựa trên các dữ liệu phổ IR, MS và các phổ NMR 1 chiều, 2 chiều (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-CPD, DEPT; HSQC, HMBC, COSY, NOESY).

### 2.2.4 Thử nghiệm độc tính tế bào

Ba cao chiết ET9, ET6, Et-CF cùng 2 hợp chất stachyose và ethyl galactose được tiến hành thử độc tính trên các dòng tế bào ung thư vú MDA-MB-231, ung thư gan Hep3B và ung thư cổ tử cung Hela (Mosmann, 1983). Ba mẫu cao chiết được pha thành dung dịch gốc với nồng độ 100 mg/mL trong DMSO. Hợp chất tinh khiết được pha thành dung dịch gốc với nồng độ 100 mM trong DMSO, sau đó pha loãng thành các nồng độ khác nhau sử dụng trong các thử nghiệm. Phương pháp MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) là một phương pháp so màu, đo độ giảm màu vàng của MTT (Mosmann, 1983). MTT tham gia phản ứng oxy hoá khử với ty thể của tế bào và tạo thành các formazan dạng tinh thể. Có thể dùng một số dung môi hữu cơ (isopropanol) để vừa phá huỷ màng tế bào và hoà tan các tinh thể formazan, sau đó đo độ hấp thụ quang của các dung dịch này ở bước sóng 570 nm.

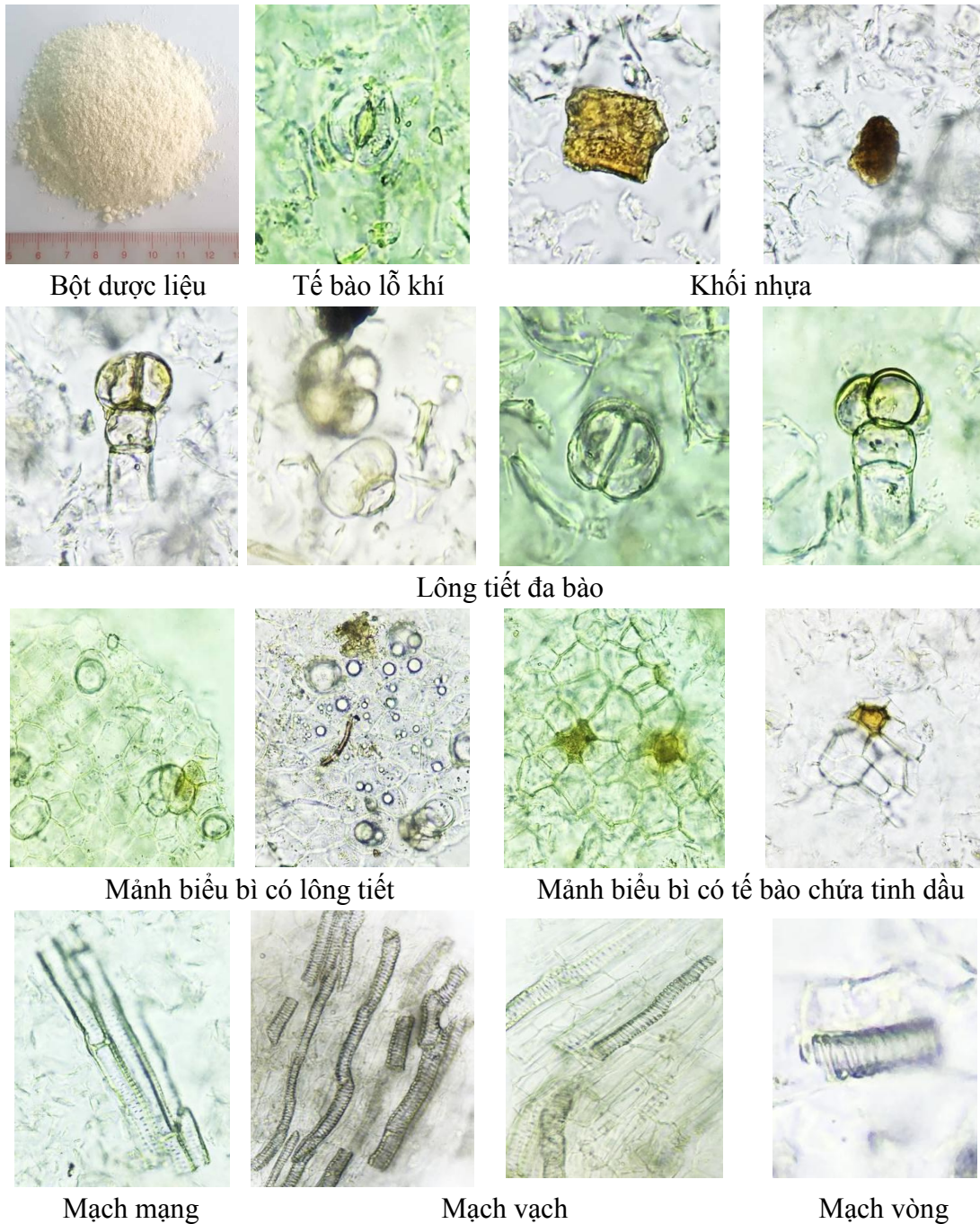
## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Kết quả khảo sát thực vật học

#### 3.1.1 Đặc điểm bột dược liệu

Bột thân rễ sùng thảo khô có màu trắng ngà, mịn, mùi thơm, vị hơi ngọt. Quan sát dưới kính hiển vi gồm có các thành phần như mô tả ở **Hình 2**.





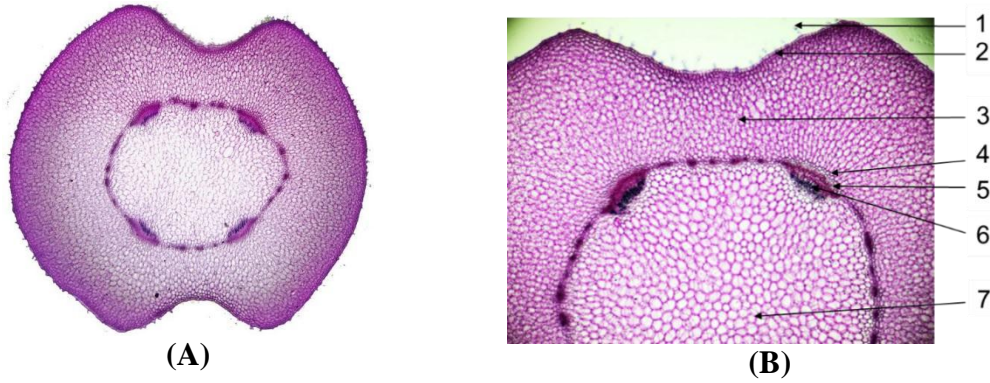
**Hình 2.** Đặc điểm bột và cấu tử bột thân rễ Sùng thảo

1. Mảnh tế bào biểu bì có lỗ khí
2. Mảnh tế bào biểu bì có lông tiết
3. Mảnh biểu bì hình đa giác chứa tinh dầu
4. Lông tiết chân đa bào, đầu đa bào, đầu lông tiết có hình tròn, gồm 4 tế bào.
5. Mảnh mạch vòng, mạch xoắn,
6. Mảnh mạch mạng
7. Mảnh mạch vạch.
8. Khôi nhựa màu.

### 3.1.2 Đặc điểm vi phẫu

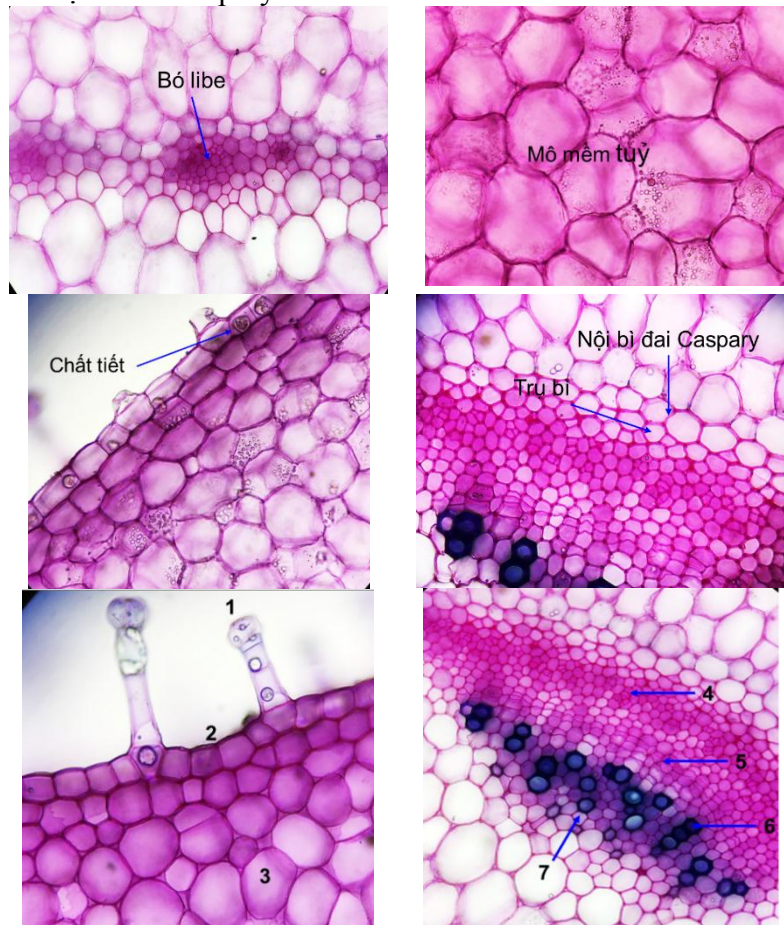
Mặt cắt ngang thân rễ Sùng thảo có tiết diện gần tròn, 2 cạnh lõm, có nhiều lông tiết ở 2 cạnh lõm. Lớp biểu bì bên ngoài, 1 lớp tế bào, hình chữ nhật xếp đều nhau, mang lớp cutin mỏng. Hạ bì 1-2 lớp tế bào hình chữ nhật, vách mỏng, kích thước không đều. Mô dày 2 - 3 lớp, là loại mô dày phiến. Mô mềm vỏ đạo gồm nhiều tế bào khá tròn, để hở khoảng gian bào, có vách mỏng, kích thước không đều, xếp lộn xộn. Nội bì hình đa giác, to nhỏ không đều, có đai caspary rõ, trụ bì gồm

1 lớp, tế bào hình đa giác, vách cellulose, kích thước bằng 1/2 và xếp xen kẽ tế bào nội bì. Vòng tế bào mô dày góc không liên tục, tập trung nhiều ở 4 góc. Bó libe gỗ nhiều và phát triển ở 4 góc. Mỗi bó gồm: libe 1 hợp thành từng bó, xếp lộn xộn. Libe 2 khoảng 5 lớp tế bào, hình chữ nhật xếp khá đồng tâm, xuyên tâm. Tầng phát sinh libe gỗ không liên tục. Gỗ 2 mạch gỗ xếp rời rạc, lộn xộn. Gỗ 1 xếp đều. Bó libe gỗ ở phần cạnh không phát triển, hợp thành từng bó nhỏ, đôi khi chỉ có libe không thấy gỗ. Mô mềm tủy là mô mềm đạo, trong mô mềm tủy cũng chứa giọt tinh dầu (**Hình 3, 4**).



**Hình 3.** Đặc điểm vi phẫu tổng thể (A) và chi tiết (B) thân rễ Sùng thảo

- |                       |               |
|-----------------------|---------------|
| 1. Lông tiết đa bào   | 5. Trụ bì     |
| 2. Biểu bì            | 6. Bó libe gỗ |
| 3. Mô mềm vỏ          | 7. Mô mềm tủy |
| 4. Nội bì đai caspary |               |



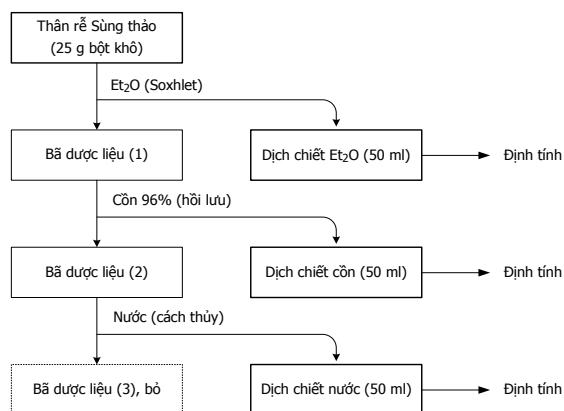
**Hình 4.** Đặc điểm vi phẫu thân rễ sùng thảo



1. Lòng tiết đa bào
2. Biểu bì
3. Mô mềm vỏ
4. Libe 1
5. Libe 2
6. Gỗ 1
7. Gỗ 2

### 3.2. Phân tích sơ bộ thành phần hóa thực vật.

Bột thân rễ Sùng thảo khô được chiết lần lượt với 3 dung môi có độ phân cực tăng dần: Ether ethylic, cồn 96 % và nước theo **Sơ đồ 1**.



**Sơ đồ 1.** Sơ đồ chuẩn bị các dịch chiết

Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học cho thấy thân rễ Sùng thảo có thể có chứa các nhóm hợp chất như carotenoid, tinh dầu, triterpenoid tự do, coumarin, proanthocyanidin, polyphenol, chất khử, hợp chất polyuronic. Ngoài ra, thành phần hợp chất alkaloid cũng được tìm thấy trong dịch chiết cồn (**Bảng 1**).

**Bảng 1.** Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học trong thân rễ Sùng thảo

Nhóm hợp chất	Thuốc thử / Cách thực hiện	Phản ứng dương tính	Kết quả định tính trên dịch chiết			Kết quả định tính chung
			Ether	Cồn	Nước	
Chất béo	Nhỏ dd lên giấy	Có vết trong mờ	-	-	-	Không
Carotenoid	Carr-Price	Xanh chuyển sang đỏ	+	-	-	<b>Có</b>
Tinh dầu	Bốc hơi tới cạn	Có mùi thơm	++	-	-	<b>Có</b>
Triterpenoid / Steroid	Liebermann- Burchard	Vòng sậm, lớp trên có màu xanh lục	+++	-	-	<b>Có</b>
Alkaloid	Bertrand	Kết tủa trắng	+	++	-	<b>Nghi ngờ có</b>
	Boucharlat (Wagner)	Kết tủa nâu đỏ	-	+	-	
	Valse Mayer	Kết tủa trắng	-	+	-	
	Hager	Kết tủa vàng	-	-	-	
	Dragendorff	Kết tủa vàng cam, đỏ cam	-	-	-	
Coumarin	Phát quang trong kiềm	Phát quang mạnh hơn	+	+++	-	<b>Có</b>
Antraglycosid	NaOH 10%	DD kiềm có màu hồng tới đỏ	-	-	-	Không
Flavonoid	Bột Mg/HCl đđ	DD có màu hồng tới đỏ	-	-	-	Không

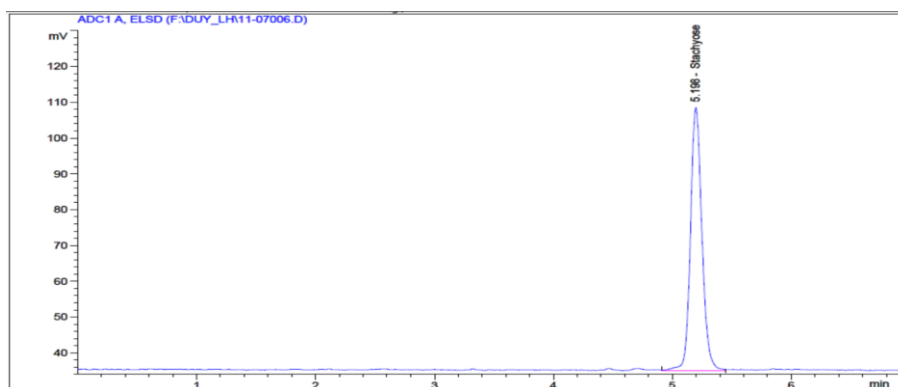
Glycosid tim	TT vòng lacton	Tím	-	-	-	Không
	TT Xanthidrol	Đỏ mật	-	*	-	
Anthocyanosid	HCl	Đỏ	-	-	-	Không
	KOH	Xanh	-	-	-	
Proanthocyanidin	HCl / t <sup>o</sup>	Đỏ	+++	+++	-	<b>Có</b>
Tannin	DD FeCl <sub>3</sub>	Xanh rêu hay xanh đen (polyphenol)	-	+++	-	<b>Có</b>
	DD gelatin muối	Tủa bông trắng (Tannin)	-	-	-	Không
Saponin	TT Liebermann	Có vòng nhẫn màu nâu, đỏ đến tím.	-	+++	-	Không
	Lắc mạnh dd nước	Tạo bọt bền	-	-	-	
Acid hữu cơ	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Sủi bọt	-	-	-	Không
Chất khử	TT Fehling	Tủa đỏ gạch	-	++++	-	<b>Có</b>
Hợp chất polyuronic	Pha loãng với cồn 96%	Tủa bông trắng-vàng nâu	-	-	++++	<b>Có</b>
	Pha loãng với acetone	Tủa bông trắng-vàng nâu	-	-	++++	

\* Không quan sát được vì dịch chiết có chứa proanthocyanidin khi gặp HCl/t<sup>o</sup> đã chuyển sang đỏ.

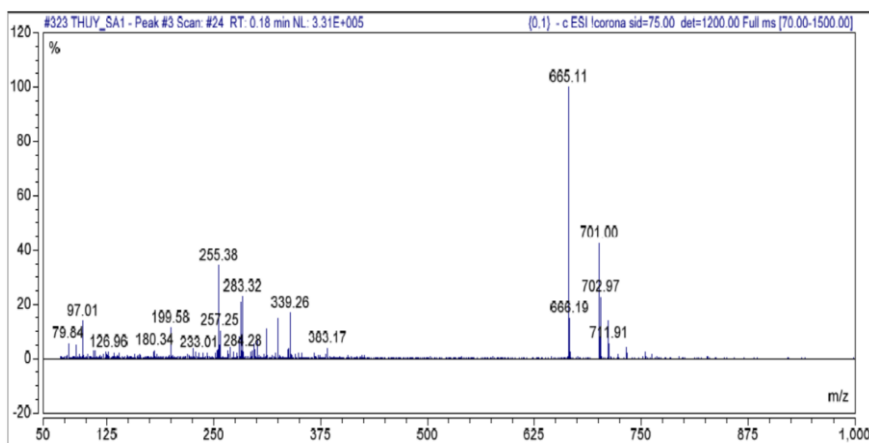
Ghi chú: (-) Không có, (+) Có ít, (+++) Có nhiều

### 3.3. Nghiên cứu phương pháp chiết xuất, phân lập và tinh chế hợp chất chính.

Các quá trình chiết xuất cao phân đoạn và phân lập các hợp chất tinh khiết được thực hiện và trình bày trong nghiên cứu trước đây của Nguyễn Thanh Hoàng và cộng sự (Nguyễn T. H. và cộng sự, 2021). Tóm tắt quá trình phân tách các phân đoạn như sau: từ 500 g bột thân rễ Sùng thảo được chiết nóng lần lượt với 10 lít EtOH 96% và 15 lít EtOH 60% thu được dịch cồn 96% và dịch cồn 60%. Cô quay thu hồi dung môi thu được cao cồn 96% (Et9; 35,4 g) và cao cồn 60% (Et6; 358 g). Et9 được lắc phân bố với CHCl<sub>3</sub>, cô quay thu được cao CHCl<sub>3</sub> (Et-CF; 5,6 g). Cao Et6 được hòa với một lượng tối thiểu nước, kết tủa bằng cồn 96% thu được phần tan (Et6N) và phần tủa, giàu polysaccharid (Et6S; 200 g). Qua quá trình sắc ký lớp mỏng so sánh với stachyose chuẩn (Sigma, USA), kết quả cho thấy thành phần chính của dược liệu Sùng thảo là các oligosaccharid. Phân tích các đặc điểm hóa lý, và so sánh các giá trị NMR của hoạt chất chính trong cây này cho thấy, hoạt chất chủ yếu là Sta-1 (stachyose) (**Bảng 2**). Đây là chất đánh dấu (biomarker) trong Sùng thảo phục vụ cho việc kiểm nghiệm và tiêu chuẩn hóa nguyên liệu Sùng thảo. Độ tinh khiết của hợp chất stachyose được tiến hành xác định bằng HPLC-ELSD. Kết quả cho thấy hợp chất stachyose có độ tinh khiết tính theo diện tích đỉnh là 100% (**Hình 5**).



(A)



(B)

**Hình 5.** Độ tinh khiết của hợp chất Sta-1 kiểm tra bằng hệ thống HPLC-ELSD (A), và phổ khối MS của hợp chất (B)

**Bảng 2.** So sánh dữ liệu phổ  $^1\text{H}$  và  $^{13}\text{C}$  NMR của Sta-1 và Stachyose

Đường	C	vị trí	Sta-1 (D <sub>2</sub> O, thực đo)		Stachyose (D <sub>2</sub> O)		
			* $\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , m, (J/Hz)	** $\delta_{\text{C}}$	*** $\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , m, (J/Hz)
$\alpha\text{D-Gal.p}$ (terminal)	19	1	98.1	4,99 d (3,0)	100.6	97.9	4.99 d (4.0)
	20	2	68.3	3,81 m	71.0	68.3	3.81 d (10.0)
	21	3	69.6	3,82 m	72.2	69.5	3.84 d (3.0)
	22	4	69.3	3,98 m	72.0	69.3	3.98 d (1.0)
	23	5	71.0	3,98 m	73.7	70.0	4.00 m (7.0)
	24	6	61.2	3,73 m	63.9	61.2	3.74 d (13.0, 2H)
$\alpha\text{D-Gal.p}$ (internal)	13	1	98.4	4,99 d (4,0)	101.1	98.4	4.99 d (4.0)
	14	2	68.5	3,81 m	71.2	68.5	3.83 d (10.0)
	15	3	69.4	3,89 m	72.1	69.4	3.91 d (3.0)
	16	4	69.4	4,02 m	72.1	69.4	4.04 d (1.0)
	17	5	68.8	4.14 dd (7,0; 5,0)	71.5	68.8	4.14 dd (8; 5)
	18	6	66.5	3,71 m 3,84 m	69.2	66.5	3.72 d (11.0) 3.87 d (11.0)
$\alpha\text{D-Glc.p}$	7	1	92.1	5.42 d (3,5)	94.8	92.1	5.42 d (4.0)
	8	2	71.0	3,55 dd (10,0; 3,5)	73.7	71.0	3.57 d (10.0)
	9	3	72.8	3,74 m	75.5	72.8	3.75 d (9.0)
	10	4	69.6	3,51 t (9,5)	72.2	69.5	3.53 d (10.0)
	11	5	71.3	4,04 m	74.0	71.3	4.06 dd (9; 4)
	12	6	65.9	3,66 m 4,02 m	68.6	65.9	3.67 d (13.0) 4.05 d (13.0)
$\beta\text{D-Fru.f}$	1	1	61.5	3,66 m	64.2	61.5	3.67 m
	2	2	103.8	—	106.5	103.8	—
	3	3	76.5	4.22 d (8.5)	79.1	76.4	4.22 d (9.0)
	4	4	74.1	4,04 m	76.8	74.1	4.06 d (9.0)
	5	5	81.4	3,87 dd (7,0; 3,5)	84.1	81.4	3.89 dd (7,0; 4,0)
	6	62.5	7,76 m 3,81 m	65.2	62.5	3.77 d (12.0) 3.83 d (12.0)	

\* $\delta_{\text{C}}$  của Sta-1 (ppm, thực đo trong D<sub>2</sub>O, 125 MHz), J = Hz, dùng chuẩn là TMS.

\*\* $\delta_{\text{C}}$  của Stachyose (ppm, đo trong D<sub>2</sub>O, 100 MHz), chuẩn là TSP. (MyIntyre, D. D. và cộng sự, 1989). \*\*\* $\delta_{\text{C}}$  của Stachyose đã được hiệu chỉnh theo chuẩn TMS.



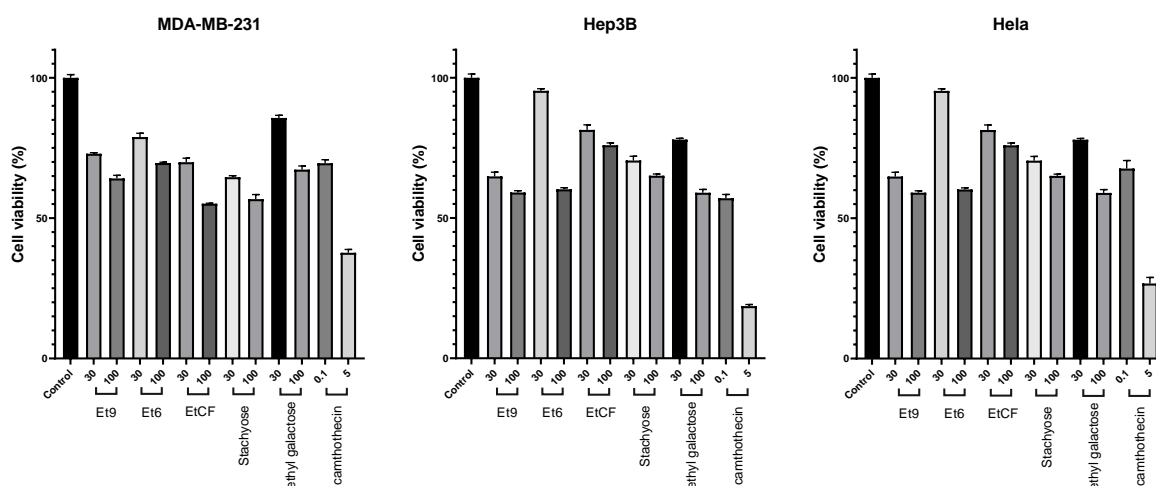
### 3.4. Đánh giá hoạt tính độc tế bào

Ba cao chiết ET9, ET6, Et-CF cùng 2 hợp chất stachyose (MyIntyre và cộng sự, 1989) và ethyl galactose (Yang và cộng sự, 2013) được tiến hành sàng lọc hoạt tính gây độc tế bào ung thư vú MDA-MB-231, ung thư gan Hep3B và ung thư cổ tử cung Hela. Kết quả được trình bày trong **Bảng 3** và **Hình 6**.

**Bảng 3.** Kết quả thử độc tính tế bào của các mẫu

Mẫu	Nồng độ	Tỷ lệ sống sót của tế bào (CV%)					
		MDA-MB-231		Hep3B		Hela	
		% TB sống	Sai số	% TB sống	Sai số	% TB sống	Sai số
Control	(-)	100.0	1.15	100.0	1.34	100.0	1.36
Et9 (µg/mL)	30	72.93	0.37	64.85	1.50	64.85	1.50
	100	64.16	1.09	59.11	0.65	59.11	0.65
Et6 (µg/mL)	30	78.91	1.34	95.35	0.74	95.35	0.74
	100	69.66	0.29	60.23	0.59	60.23	0.59
Et-CF (µg/mL)	30	69.94	1.40	81.44	1.78	81.44	1.78
	100	55.13	0.19	75.98	0.81	75.98	0.81
Stachyose (µM)	30	64.61	0.50	70.51	1.49	70.51	1.49
	100	56.76	1.66	65.07	0.62	65.07	0.62
Ethyl galactose (µM)	30	85.70	0.93	77.97	0.44	77.97	0.44
	100	67.30	1.27	59.03	1.15	59.03	1.15
Camptothecin* (µM)	0.1	69.56	1.27	57.06	1.35	67.68	2.88
	5	37.65	1.21	18.61	0.56	26.74	2.16

\*Camptothecin: được sử dụng làm chất đối chứng



**Hình 6.** Kết quả thử độc tính trên các dòng tế bào MDA-MB-231, Hep3B, Hela

Kết quả từ **Bảng 3** và **Hình 6** cho thấy, ở nồng độ 100 µg/mL, các mẫu cao chiết Et9, Et6, Et-CF và hai hợp chất tinh khiết stachyose, ethyl galactose có khả năng gây độc tế bào ung thư phổi MDA-MB-231, ung thư gan Hep3B, ung thư cổ tử cung Hela ở mức độ trung bình. Ở nồng độ 30 µg/mL, cao chiết Et-CF hoạt tính ức chế chỉ thể hiện trên tế bào ung thư phổi MDA-MB-231. Cao chiết Et9 cho thấy hoạt tính ức chế cả 2 dòng tế bào ung thư gan Hep3B, ung thư cổ tử cung Hela ở

mức trung bình. Ở nồng độ 30  $\mu\text{M}$ , các hợp chất tinh khiết đều không thể hiện hoạt tính gây độc trên cả 2 dòng tế bào ung thư gan (Hep3B) và ung thư cổ tử cung (Hela).

#### IV. KẾT LUẬN

Từ các dược liệu thân rễ Sùng thảo tươi và khô đã khảo sát chi tiết các đặc điểm hình thái, vi phẫu và cấu tử bột dược liệu Sùng thảo. Đã xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm cho dược liệu Sùng thảo dựa trên các đặc điểm thực vật học. Qua khảo sát sơ bộ thành phần hóa thực vật cho thấy thân rễ Sùng thảo (*Rhizoma Stachydis affinis*) có chứa chủ yếu các nhóm hợp chất: carotenoid, tinh dầu, triterpenoid tự do, coumarin, proanthocyanidin, polyphenol, chất khử, hợp chất polyuronic. Tất cả các cao chiết và chất tinh khiết đều thể hiện độc tính ở mức độ trung bình trên các dòng tế bào thử nghiệm ở nồng độ thử nghiệm 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  đối với cao chiết và 100  $\mu\text{M}$  đối với chất tinh khiết. Ở nồng độ thấp hầu hết các cao chiết và chất tinh khiết đều không thể hiện độc tính tế bào. Điều này cho thấy dược liệu Sùng thảo có tính an toàn trong sử dụng làm nguyên liệu dược cho các chế phẩm có liên quan.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alessandro, V., Claudio, F., Diana, C., Armandodoriano, B., Mauro, S., Kevin, C., Dennis, F., Stefano, F., Filippo, M., Anna, R.L., & Giuseppe, C. (2016). Polar constituents, protection against reactive oxygen species, and nutritional value of Chinese artichoke (*Stachys affinis* Bunge). *Food Chemistry*, 221, 473-481.
- Goren, A.C., Piozzi, F., Akçicek, E., Kılıc, T., Canıkc, S., Mozioglu, E., & Setzer, W.N. (2011). Essential oil composition of 24 *Stachys* species and their biological activities. *Phytochemistry Letters*, 4, 448-453.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65 (1-2), 55-63.
- MyIntyre, D. D., & Vogel, H. J. J. o. N. P. (1989). Complete assignment of the  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of stachyose by two-dimensional NMR spectroscopy. *Journal of Natural Products*, 52(5), 1008-1014.
- Nguyen, T. H., Vo, V. L., Nguyen, V. K., Vo, T. B. H, Pham, Q. B., Nguyen, T. V. P., & Ma, C. T. (2021). Chemical constituents from chinese artichoke rhizome (*Stachys affinis* Bunge) and their anti-microbial activities. *Journal of Medicinal Materials*, 26 (1-2), 15-19.
- Rosa, T., Lorenzo, P., & Francesco, M. (2010). Phytochemical and biological studies of *Stachys* species in relation to chemotaxonomy: A review. *Phytochemistry*, 102, 7-39.
- Yang, S.J., Liu, M. H., Liang, N., Xiang, H. M., & Yang, S. (2013). Chemical constituents of *Cyrtomium fortunei* (J.) Smith. *Natural Product Research*, 27 (21), 2066-2068.