

DOI:10.22144/ctu.jvn.2020.151

## KHẢO SÁT KHẢ NĂNG KHÁNG OXY HÓA, ỨC CHẾ $\alpha$ -GLUCOSIDASE VÀ GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ VÚ (MCF-7), UNG THƯ CỔ TỬ CUNG (HeLa) CỦA CAO CHIẾT TỪ CÁNH HOA VẠN THỌ (*Tagetes erecta* L.)

Huỳnh Ngọc Trung Dung\* và Nguyễn Trọng Tường

Khoa Dược – Điều Dưỡng, Trường Đại học Tây Đô

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Huỳnh Ngọc Trung Dung (email: hntrungdung@gmail.com)

### ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the total polyphenol and flavonoid contents of *Tagetes erecta* L. (yellow and orange blossoms) petals extracts by using Folin-Ciocalteu assay and aluminium chloride colorimetric method respectively. Antioxidant activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibiting activity and the cytotoxicity were also evaluated in this study. The results revealed that the total polyphenol contents ( $150.18 \pm 1.24$  mg GAE/g DW), antioxidant activity (assessed by using DPPH method) and  $\alpha$ -glucosidase inhibiting activity of *T. erecta* (yellow blossoms) petals in 70% ethanol were higher than those in the other three extracts including *T. erecta* (yellow blossoms) petals in 96% ethanol, *T. erecta* (orange blossoms) petals in 70% ethanol and 96% ethanol. There was a positive correlation between  $\alpha$ -glucosidase inhibiting capacity and flavonoid and polyphenol contents. These extracts of *T. erecta* in 500  $\mu$ g/mL concentration exhibited cytotoxic activity against two human cancer cell lines, MCF-7 breast cancer cell lines and HeLa cervical cancer cell lines estimated by using sulforhodamin B assay. The greater amount of total polyphenol compounds leads to more powerful  $\alpha$ -glucosidase inhibiting activity of *T. erecta* petals extracts.

### TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm khảo sát hàm lượng polyphenol toàn phần (bằng phương pháp Folin-Ciocalteu) và hàm lượng flavonoid (bằng phương pháp so màu  $AlCl_3$ ) của các cao chiết từ cánh hoa vạn thọ thuộc 2 giống vạn thọ hoa vàng và vạn thọ hoa cam (*Tagetes erecta* L.). Hoạt tính kháng oxy hóa, ức chế  $\alpha$ -glucosidase và gây độc tế bào cũng được khảo sát trong nghiên cứu này. Kết quả cho thấy, hàm lượng polyphenol toàn phần trong mẫu cao chiết bằng ethanol 70% của cánh hoa vạn thọ hoa vàng là  $150,18 \pm 1,24$  (mg GAE/ g được liệu khô) cũng như hoạt tính kháng oxy hóa (khảo sát bằng phương pháp khử gốc tự do DPPH) và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của mẫu cao chiết này cao hơn các mẫu cao chiết còn lại gồm cánh hoa vạn thọ hoa vàng dung môi ethanol 96%, cánh hoa vạn thọ hoa cam dung môi ethanol 70% và ethanol 96%. Kết quả thống kê cũng chỉ ra được có sự tương quan giữa hàm lượng polyphenol, flavonoid và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase trong các mẫu cao chiết. Ở nồng độ 500  $\mu$ g/mL, các mẫu cao chiết đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư vú MCF-7 và ung thư cổ tử cung HeLa (thực hiện bằng phương pháp Sulforhodamin B). Hàm lượng polyphenol và flavonoid trong mẫu cao chiết từ cánh hoa vạn thọ càng cao, hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của mẫu cũng sẽ cao tương tự.

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 22/06/2020

Ngày nhận bài sửa: 07/09/2020

Ngày duyệt đăng: 28/12/2020

### Title:

Antioxidant activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibiting activity and the cytotoxicity of the extracts from *Tagetes erecta* (L.) petals

### Từ khóa:

Flavonoid, gây độc tế bào, kháng oxy hóa, polyphenol, ức chế  $\alpha$ -glucosidase, vạn thọ

### Keywords:

Antioxidant, cytotoxicity, flavonoid, polyphenol, *Tagetes erecta* petals,  $\alpha$ -glucosidase

Trích dẫn: Huỳnh Ngọc Trung Dung và Nguyễn Trọng Tường, 2020. Khảo sát khả năng kháng oxy hóa, ức chế  $\alpha$ -glucosidase và gây độc tế bào ung thư vú (MCF-7), ung thư cổ tử cung (HeLa) của cao chiết từ cánh hoa vạn thọ (*Tagetes erecta* L.). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 56(6B): 128-138.

## 1 GIỚI THIỆU

Vạn thọ (*Tagetes erecta* L.) là loại cây phổ biến ở Việt Nam, thường biểu hiện ở hai hình thái vạn thọ hoa vàng và hoa cam tùy vào hàm lượng hai loại carotenoid khác biệt (lutein màu vàng và  $\beta$ -carotenoid màu cam) trong hoa nhiều hay ít (Young *et al.*, 1997). Dân gian sử dụng hoa vạn thọ chữa trị thấp khớp, cảm lạnh, viêm phế quản, điều trị các bệnh về mắt và lở loét (Đỗ Huy Bích và *ctv.*, 2006). Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu khảo sát hàm lượng polyphenol và flavonoid trong hoa vạn thọ, đồng thời thực hiện các khảo sát liên quan đến hoạt tính sinh học của hoa vạn thọ đối với con người như kháng oxy hóa, kháng khuẩn, gây độc tế bào ung thư, ức chế  $\alpha$ -glucosidase,... (Li *et al.*, 2007; Chivde *et al.*, 2011; Rhama and Madhavan, 2011; Gong *et al.*, 2012; Siriamornpun *et al.*, 2012; Kaisoon *et al.*, 2012; Gupta *et al.*, 2012). Nghiên cứu này thực hiện khảo sát hàm lượng polyphenol toàn phần và flavonoid toàn phần của các cao chiết từ cánh hoa thuộc 2 giống vạn thọ hoa vàng và hoa cam, đồng thời đánh giá một số hoạt tính sinh học của chúng như kháng oxy hóa, ức chế  $\alpha$ -glucosidase và gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư vú (MCF-7) và ung thư cổ tử cung (HeLa).

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương tiện

Vật liệu: Cánh hoa vạn thọ (*T. erecta* L.) thuộc 2 giống vạn thọ hoa vàng và hoa cam (giống lai F1, xuất xứ Thái Lan) được trồng và thu hái từ tháng 8 đến tháng 12 năm 2019 tại huyện Hồng Ngự, tỉnh Đồng Tháp, căn cứ vào các đặc điểm hình thái xác định là đúng loài theo mô tả của Phạm Hoàng Hộ (2003). Hoa sau khi thu hoạch được rửa sạch, tách riêng cánh hoa đem sấy khô ở 40°C trong 72 giờ, xay thành bột, thu được 2 mẫu bột cánh hoa, bảo quản ở nhiệt độ phòng tại bộ môn Sinh Hóa, Trường Đại học Tây Đô.

Hóa chất: Ethanol 70%, ethanol 96%, methanol, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (Sigma, USA), ascorbic acid (Vitamin C) (Sigma, USA), quercetin (Sigma, USA), gallic acid (Sigma, USA), Folin-Ciocalteu (Sigma, USA), môi trường Eagle's Minimal Essential Medium (E'MEM) (Sigma, USA), L-glutamine (Sigma, USA), 4-(2-hydroxyetyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES) (Sigma, USA), amphotericin B (Sigma, USA), penicillin G (Sigma, USA), streptomycin, huyết thanh bào thai bò - fetal bovine serum (FBS)

(USA), trichloroacetic acid 50% (Sigma), sulforhodamin B 0,2% (Sigma), chất đối chứng camptothecin (Calbiochem), chất đối chứng acarbose (Sigma, USA),  $\alpha$ -glucosidase (Sigma, USA), chất nền *p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (Sigma, USA), tế bào HeLa (ATCC, USA), tế bào MCF-7 (ATCC, USA), AlCl<sub>3</sub> (Merck), NaOH (Merck), NaNO<sub>2</sub> (Trung Quốc), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Trung Quốc).

### 2.2 Phương pháp

#### 2.2.1 Điều chế cao chiết từ cánh hoa vạn thọ

Chiết xuất cao chiết: Sử dụng 100 g mỗi mẫu bột cánh hoa chiết xuất bằng phương pháp ngâm lạnh ở nhiệt độ phòng trong 2 loại dung môi ethanol 70% và ethanol 96% trong 72 giờ, mỗi lần ngâm chiết sử dụng một lượng dung môi vừa đủ (100 mL dung môi/100 g mẫu), lượng dung môi sử dụng khoảng 3 L/mẫu. Các dịch chiết được cô quay dưới áp suất giảm ở 40°C đến khi các cao chiết đạt điều kiện của cao đặc (thử độ ẩm các cao chiết đạt dưới 20%) theo quy định của Dược Điển Việt Nam V, PL1 (trang PL-9). Thu được 4 mẫu cao chiết cánh hoa vạn thọ hoa vàng - dung môi ethanol 70%, cánh hoa vạn thọ hoa cam - dung môi ethanol 70%, cánh hoa vạn thọ hoa vàng - dung môi ethanol 96%, cánh hoa vạn thọ hoa cam - dung môi ethanol 96% được ký hiệu lần lượt là HV70, HC70, HV96, HC96 (Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007).

Các mẫu cao chiết sau đó được bảo quản trong tủ mát ở nhiệt độ 5°C và khảo sát hàm lượng polyphenol toàn phần, hàm lượng flavonoid toàn phần, thử nghiệm các hoạt tính sinh học như kháng oxy hóa, ức chế  $\alpha$ -glucosidase, gây độc tế bào ung thư vú (MCF-7) và ung thư cổ tử cung (HeLa).

#### 2.2.2 Phương pháp định lượng polyphenol

Hàm lượng polyphenol được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu (Waterman and Mole, 1994). Trong thành phần thuốc thử Folin-Ciocalteu có phức hợp phosphor-wolfarm-phosphomolybdat. Phức hợp này sẽ bị khử các hợp chất polyphenol tạo thành sản phẩm phản ứng có màu xanh dương, hấp thụ cực đại ở bước sóng 758 nm. Hàm lượng polyphenol có trong mẫu tỉ lệ thuận với cường độ màu và được tính theo hàm lượng gallic acid.

Dùng methanol pha loãng bốn mẫu cao chiết (HV70, HC70, HV96, HC96) thành những dung dịch có nồng độ 1.000  $\mu$ g/mL và pha chất chuẩn gallic acid thành những nồng độ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60  $\mu$ g/mL; thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% được pha loãng bằng nước cất.

Lần lượt cho 1 mL mẫu cần định lượng hoặc dung dịch gallic acid chuẩn vào bình định mức 10 mL đã có sẵn 6 mL nước cất, lắc đều sau đó thêm tiếp 0,5 mL thuốc thử Folin-Ciocalteu, lắc đều và để yên. Sau 5 phút thêm tiếp 1,5 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%. Lắc đều, thêm nước cất để đạt thể tích 10 mL. Để yên trong tối 2 giờ sau đó đo độ hấp thụ ở bước sóng 758 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, giá trị độ hấp thụ quang phổ (A) được ghi nhận để tiến hành vẽ đường thẳng hiệu chuẩn xác định hàm lượng polyphenol toàn phần trong các mẫu cao chiết.

Hàm lượng polyphenol toàn phần chứa trong mẫu cao chiết được đo lường bằng hàm lượng gallic acid đương lượng (GAE) và được tính bằng công thức:

$$P = \frac{a \times V}{m} \times (1-N) \times H$$

Trong đó: P: Hàm lượng polyphenol toàn phần (mg GAE/g được liệu khô)

a: Giá trị x từ đường chuẩn gallic acid (µg/mL)

V: Thể tích dịch chiết (mL)

m: Khối lượng cao chiết có trong thể tích (g)

N: Độ ẩm cao chiết

H: Hiệu suất chiết cao

### 2.2.3 Phương pháp định lượng flavonoid

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định bằng phương pháp so màu AlCl<sub>3</sub> (Zhishen *et al.*, 1999; Marinova *et al.*, 2005). Dùng methanol pha loãng 4 mẫu cao chiết để đạt nồng độ 1.000 µg/mL và dung dịch flavonoid chuẩn quercetin đạt các nồng độ 0, 10, 20, 40, 60, 80 µg/mL. Các dung dịch hóa chất NaNO<sub>2</sub> 5%, AlCl<sub>3</sub> 10%, NaOH 1 M được pha loãng bằng nước cất.

Cho vào bình định mức 10 mL (đã có chứa 4 mL nước cất) 1 mL thể tích mẫu cần định lượng hoặc chất chuẩn quercetin. Thêm tiếp vào bình định mức trên 0,3 mL NaNO<sub>2</sub> 5%. Sau 5 phút, cho thêm vào 0,3 mL AlCl<sub>3</sub> 10%. Sau 6 phút, cho tiếp vào 2 mL NaOH 1M, lắc đều, định mức lên thể tích 10 mL. Sau đó tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng 510 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, giá trị độ hấp thụ quang phổ (A) được ghi nhận và tiến hành vẽ đường thẳng hiệu chuẩn để sử dụng xác định hàm lượng flavonoid toàn phần trong các mẫu cao chiết.

Hàm lượng flavonoid toàn phần chứa trong mẫu cao chiết được đo lường bằng hàm lượng quercetin đương lượng (QE) và được tính bằng công thức:

$$F = \frac{c \times V}{m} \times (1-N) \times H$$

Trong đó:

F: Hàm lượng flavonoid toàn phần (mg QE/g được liệu khô)

c: Giá trị x từ đường chuẩn quercetin (mg/mL)

V: Thể tích dịch chiết (mL)

m: Khối lượng cao chiết có trong thể tích (g)

N: Độ ẩm của cao chiết

H: Hiệu suất chiết cao

### 2.2.4 Khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa

Hoạt tính kháng oxy hóa được khảo sát bằng phương pháp khử gốc tự do DPPH (Blois, 1958; Chanda and Dave, 2009). Dung dịch DPPH nồng độ 0,6 mM, các mẫu cao chiết nồng độ 25; 50; 100; 200 µg/mL, đối chứng dương ascorbic acid nồng độ 10; 20; 30; 40 µg/mL được pha loãng bằng methanol.

Lần lượt cho 0,5 mL dung dịch thử vào ống nghiệm đã có sẵn 3 mL MeOH, tiếp theo đó là 0,5 mL dung dịch DPPH 0,6 mM. Đối với mẫu đối chứng thì thay dung dịch thử bằng MeOH, ống nghiệm của mẫu trắng chỉ chứa MeOH. Các ống nghiệm sau khi pha được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng 30 phút, sau đó đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm.

$$\text{Hoạt tính kháng oxy hóa (\%)} = \frac{(A_c - A_t)}{A_c} \times 100$$

Trong đó:

A<sub>c</sub>: Giá trị hấp thụ quang phổ của mẫu đối chứng

A<sub>t</sub>: Giá trị hấp thụ quang phổ của mẫu thử

Từ kết quả tính được và nồng độ mẫu, xây dựng phương trình đường tuyến tính giữa nồng độ mẫu thử và hoạt tính kháng oxy hóa có dạng  $y = ax + b$ , thay giá trị  $y = 50$ , tính được giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ có khả năng khử 50% DPPH của mẫu). Giá trị IC<sub>50</sub> càng nhỏ tương ứng với hoạt tính kháng oxy hóa càng mạnh và ngược lại. Các số liệu kết quả thử nghiệm được biểu thị trung bình của 3 lần đo khác nhau.

### 2.2.5 Khảo sát hoạt tính ức chế α-glucosidase

Hoạt tính ức chế α-glucosidase *in vitro* được khảo sát bằng phương pháp mô tả bởi Kwon *et al.* (2008); Andrade-Cetto *et al.* (2008) và Dong *et al.* (2012) với một số hiệu chỉnh.

Chuẩn bị mẫu nghiên cứu: Cân khối lượng cao chiết và dựa vào độ ẩm để quy ra khối lượng cao khô. Các mẫu cao chiết được hòa tan bằng nước cất. Các cao chiết HV70, HC70 được khảo sát ở các nồng độ phản ứng 37,5; 281,25; 375; 750 µg/mL và các cao chiết HV96, HC96 được khảo sát ở các nồng độ phản ứng 18,75; 187,5; 281,25; 375 µg/mL để tìm giá trị phần trăm ức chế  $\alpha$ -glucosidase (I%). Acarbose được sử dụng làm đối chứng dương và khảo sát ở các nồng độ 36,5; 93,75; 187,5; 375 µg/mL.

Tiến hành khảo sát trên đĩa 96 giếng: Chuẩn bị các dung môi hóa chất cần thiết và tiến hành khảo sát trên đĩa 96 giếng, mỗi nồng độ 3 lần lặp lại với đối chứng dương. Hỗn hợp gồm 60 µL dung dịch chứa mẫu và 50 µL dung dịch đệm phosphate 0,1 M (pH 6,8) có chứa dung dịch  $\alpha$ -glucosidase (0,2 IU/mL) được ủ trong các giếng của đĩa 96 ở nhiệt độ 37°C trong 10 phút. Sau đó, thêm 50 µL dung dịch p-NPG được pha trong dung dịch đệm phosphate 0,1 M (pH 6,8) vào từng giếng và tiếp tục ủ trong 20 phút. Sau đó đo chỉ số quang phổ kế và được ghi lại ở bước sóng 405 nm bằng máy đọc vi đĩa model Elx808 (Biotek, USA) và so sánh với một mẫu chứng chứa 60 µL dung dịch đệm thay cho mẫu thử.

Khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase được đánh giá trên phần trăm lượng  $\alpha$ -glucosidase bị ức chế I%. Phần trăm ức chế được xác định theo công thức:

$$I\% = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times 100$$

Trong đó:  $A_0$ : Độ hấp thụ của mẫu đối chứng

$A_s$ : Độ hấp thụ của mẫu khảo sát

I%: Phần trăm ức chế

Từ I% và nồng độ mẫu tiến hành vẽ đường cong phi tuyến. Dựa vào đường cong phi tuyến, tính được  $IC_{50}$  (nồng độ mẫu mà tại đó ức chế 50% hoạt tính của  $\alpha$ -glucosidase) bằng cách thay  $y = 50$  vào phương trình đường cong phi tuyến logarit có dạng  $y = \ln(x) + b$ . Mẫu có hoạt tính ức chế càng mạnh khi giá trị  $IC_{50}$  càng nhỏ. Thông qua  $IC_{50}$  có thể đánh giá và so sánh hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase giữa các mẫu cao chiết với nhau và so với đối chứng dương.

#### 2.2.6 Khảo sát hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư vú và ung thư cổ tử cung

Khảo sát hoạt tính gây độc tế bào bằng phương pháp Sulforhodamin B (Skehan *et al.*, 1990) với một số hiệu chỉnh. Các dòng tế bào ung thư vú (MCF-7) và ung thư cổ tử cung (HeLa) được nuôi

cây trong môi trường E'MEM có bổ sung L-glutamine (2 mL), HEPES (20 mM), amphotericin B (0,025 µg/mL), penicillin G (100 UI/mL), streptomycin (100 µg/mL), 10% huyết thanh bào thai bò và ủ ở 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Tế bào đơn được cấy trên những đĩa nuôi cấy 96 giếng với mật độ là 10<sup>4</sup> tế bào/giếng. Sau 24 giờ nuôi cấy, quần thể tế bào được ủ với chất khảo sát ở các nồng độ khác nhau trong 48 giờ. Sau đó, protein tổng từ tế bào thử nghiệm được cố định bằng dung dịch trichloroacetic acid 50% lạnh và nhuộm với dung dịch Sulforhodamin B 0,2%. Kết quả được đọc bằng máy ELISA reader ở hai bước sóng 492 nm và 620 nm. Các thí nghiệm được lặp lại ba lần và kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn. Đối chứng dương cho các mẫu cao chiết được sử dụng là chất chuẩn camptothecin.

Sau khi có giá trị mật độ quang ở bước sóng 492 nm và 620 nm (ký hiệu là OD<sub>492</sub> và OD<sub>620</sub>):

$$\text{Tính OD}_{492} \text{ (hoặc OD}_{620}) = \text{OD}_{\text{tb}} - \text{OD}_{\text{blank}} \quad (1)$$

$$\text{Tính giá trị OD}_{\text{tn}} = \text{OD}_{492} - \text{OD}_{620} \quad (2)$$

Tính tỉ lệ (%) gây độc tế bào theo công thức:

$$\%I = \left(1 - \frac{\text{OD}_{\text{tn}}}{\text{OD}_{\text{c}}}\right) \times 100$$

Với: OD<sub>tb</sub>: Giá trị OD của giếng có chứa tế bào

OD<sub>blank</sub>: Giá trị OD của giếng blank (không có tế bào)

OD<sub>tn</sub>: Giá trị OD của mẫu thử tính từ công thức (1) và (2)

OD<sub>c</sub>: Giá trị OD của mẫu chứng tính từ công thức (1) và (2)

#### 2.2.7 Khảo sát sự tương quan giữa các kết quả

Các số liệu được phân tích, xử lý thống kê và khảo sát tương quan bằng phần mềm SPSS 16.0.

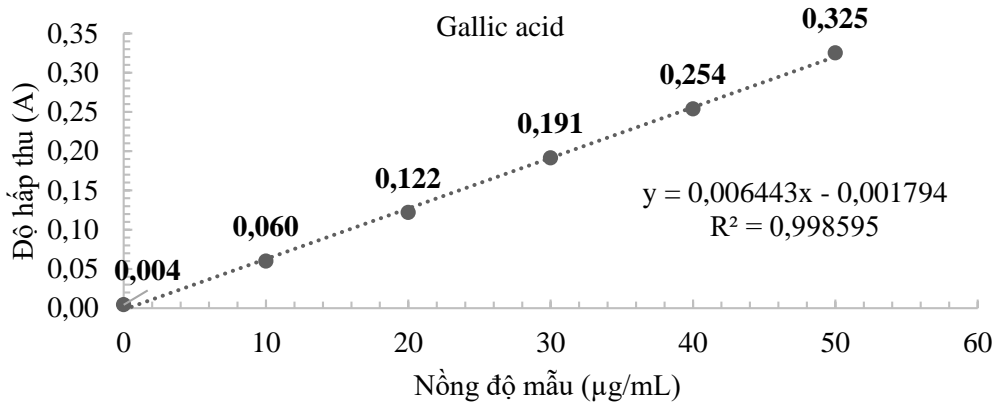
### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Kết quả định lượng polyphenol toàn phần và flavonoid toàn phần trong các cao chiết

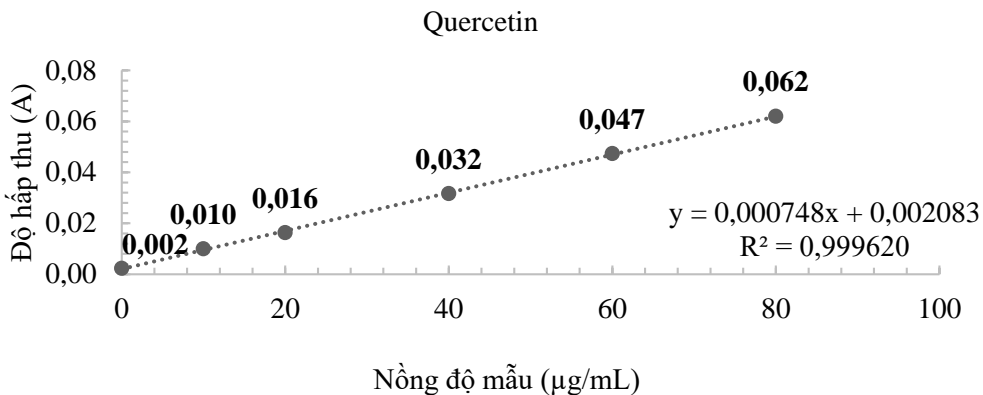
Polyphenol là nhóm hợp chất chuyển hóa thứ cấp với hơn 8.000 loại tồn tại khắp trong các loài thực vật và được liệu, có tác dụng tốt đối với cơ thể con người (Manach *et al.*, 2004; Cheyner *et al.*, 2013; Santini *et al.*, 2013; Kabera *et al.*, 2014). Flavonoid là một trong các nhóm hợp chất thuộc polyphenol, được biết đến với các tác dụng phòng ngừa các loại ung thư, các bệnh liên quan đến tim mạch và biến chứng tim mạch, bệnh đái tháo đường,

tăng huyết áp và bệnh béo phì (Durazzo *et al.*, 2019). Do đó, việc xác định hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần cũng giúp định hướng nghiên cứu các hoạt tính sinh học của thực vật. Đo độ hấp thu của chất chuẩn gallic acid ở các nồng độ 0, 10, 20, 30, 40, 50 µg/mL, chất chuẩn quercetin ở các

nồng độ 0, 10, 20, 40, 60, 80 µg/mL. Từ độ hấp thu và nồng độ chất chuẩn ban đầu, tiến hành vẽ các đường tuyến tính về sự tương quan giữa hàm lượng các chất chuẩn và độ hấp thu trong dung dịch của chúng. Kết quả thể hiện ở Hình 1 và Hình 2.



Hình 1: Đồ thị đường tuyến tính tương quan giữa độ hấp thu và nồng độ của gallic acid



Hình 2: Đồ thị đường tuyến tính tương quan giữa hàm lượng và độ hấp thu của quercetin

Từ các phương trình tuyến tính của gallic acid ( $y = 0,006443x - 0,001794$ ) và quercetin ( $y = 0,000748x + 0,002083$ ) đã có, thay giá trị độ hấp thu trung bình của các mẫu thử vào giá trị  $y$  của các

phương trình chất chuẩn gallic acid và quercetin, từ đó suy ra giá trị  $x$  chính là hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần trong các cao chiết, kết quả thể hiện ở Bảng 1.

**Bảng 1: Hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần trong các cao chiết cánh hoa vụn thò**

Mẫu cao chiết	Hàm lượng polyphenol toàn phần (mg GAE/g dược liệu khô)	Hàm lượng flavonoid toàn phần (mg QE/g dược liệu khô)
HV70	150,18 ± 1,24 <sup>a</sup>	66,01 ± 0,23 <sup>b</sup>
HC70	139,02 ± 1,77 <sup>c</sup>	77,77 ± 0,47 <sup>a</sup>
HV96	107,43 ± 2,23 <sup>d</sup>	40,38 ± 1,05 <sup>d</sup>
HC96	144,83 ± 0,76 <sup>b</sup>	57,17 ± 2,99 <sup>c</sup>
F	**	*

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1% (\*\*\*) và 5% (\*) thông qua phép so sánh Tukey. Trong đó: HV70: Cánh hoa vụn thò hoa vàng - dung môi ethanol 70%; HC70: Cánh hoa vụn thò hoa cam - dung môi ethanol 70%; HV96: Cánh hoa vụn thò hoa vàng - dung môi ethanol 96%; HC96: Cánh hoa vụn thò hoa cam - dung môi ethanol 96%.

Hàm lượng polyphenol toàn phần của các mẫu cao chiết dao động từ 107,43 đến 150,18 mg GAE/g dược liệu khô. Mẫu cao chiết HV70 có hàm lượng polyphenol toàn phần lớn nhất ( $150,18 \pm 1,24$  mg GAE/g dược liệu khô) gấp hơn 1,5 lần mẫu HV96. Hàm lượng flavonoid toàn phần của bốn mẫu cao chiết dao động trong khoảng từ 40,38 đến 77,77 mg QE/g dược liệu khô, cao nhất là mẫu cao chiết HC70 ( $77,77 \pm 0,47$  mg QE/g dược liệu khô) cao hơn khoảng 1,5 lần mẫu HC96 và hơn khoảng gần 2 lần mẫu HV96.

Hàm lượng flavonoid trong mẫu cao chiết bằng dung môi ethanol 70% cao hơn so với khi chiết bằng dung môi ethanol 96% có thể là do các hợp chất flavonoid trong cánh hoa vụn thò có độ phân cực tương đương với độ phân cực của ethanol 70%. Điều này tương tự với nghiên cứu của Gong *et al.*, 2012, hàm lượng flavonoid của cao chiết ethanol 70% từ hoa vụn thò là  $97,00 \pm 2,21$  (mg QE/g dược liệu khô) cao hơn so với cao chiết từ dung môi ethanol 96% là  $78,78 \pm 0,38$  (mg QE/g dược liệu khô). Nghiên cứu của Mazandarani *et al.*, 2012 trên cây *Onosma*

*dichroanthum* Boiss cho kết quả hàm lượng flavonoid khi chiết bằng dung môi ethanol 80% cao hơn so với khi chiết bằng ethanol nguyên chất. Trong một nghiên cứu của Sultana *et al.*, 2009, khảo sát ảnh hưởng của 4 loại dung môi chiết (methanol nguyên chất, ethanol nguyên chất, methanol 80%, ethanol 80%) cùng với 2 phương pháp chiết khác nhau (lắc và đun hồi lưu) đến hàm lượng flavonoid toàn phần của các loại dược liệu khác nhau. Kết quả cho thấy, hai loại dung môi ethanol 80% và methanol 80% chiết được nhiều flavonoid hơn so với các loại dung môi còn lại.

### 3.2 Kết quả khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa

Sau khi đo độ hấp thụ quang phổ và tính toán kết quả, tiến hành dựng đường tuyến tính tương quan giữa nồng độ phản ứng của các mẫu cao chiết và ascorbic acid với hoạt tính kháng oxy hóa. Kết quả phương trình đường tuyến tính và hoạt tính kháng oxy hóa dựa trên giá trị  $IC_{50}$  của các mẫu cao chiết thể hiện ở Bảng 2.

**Bảng 2: Hoạt tính kháng oxy hóa của các cao chiết cánh hoa vụn thò**

Mẫu cao chiết	Phương trình đường tuyến tính	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
HV70	$y = 0,566x + 4,3888; R^2 = 0,9919$	$82,03 \pm 1,37^b$
HC70	$y = 0,5703x - 1,21; R^2 = 0,9662$	$89,79 \pm 3,36^b$
HV96	$y = 0,3449x + 19,014; R^2 = 0,9644$	$89,84 \pm 0,76^b$
HC96	$y = 0,3939x + 7,2567; R^2 = 0,983$	$108,51 \pm 1,76^a$
Ascorbic acid	$y = 2,1557x - 2,2756; R^2 = 0,9957$	$24,23 \pm 0,72^c$

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1% theo phép so sánh Tukey. Trong đó: HV70: Cánh hoa vụn thò hoa vàng - dung môi ethanol 70%; HC70: Cánh hoa vụn thò hoa cam - dung môi ethanol 70%; HV96: Cánh hoa vụn thò hoa vàng - dung môi ethanol 96%; HC96: Cánh hoa vụn thò hoa cam - dung môi ethanol 96%.

Các mẫu cao chiết từ cánh hoa vụn thò đều thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa, giá trị  $IC_{50}$  của 4 mẫu cao chiết dao động từ 82,03 đến 108,51  $\mu\text{g/mL}$ , yếu hơn đối chứng dương là ascorbic acid từ 3,4 đến 4,48 lần, ở mức ý nghĩa 1% thì các mẫu cao chiết HV70, HC70, HV96 thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Cao chiết từ dung môi ethanol 70% của cánh hoa vụn thò hoa cam cho hoạt tính kháng oxy hóa ( $IC_{50} = 89,79 \pm 3,36 \mu\text{g/mL}$ ) mạnh hơn so với chiết bằng dung môi ethanol 96% ( $108,51 \pm 1,76 \mu\text{g/mL}$ ), tuy nhiên đối với mẫu cao chiết cánh hoa vụn thò hoa vàng thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, mặc dù hàm lượng polyphenol và flavonoid trong các mẫu cao chiết bằng dung môi ethanol 70% cao hơn so với dung môi ethanol 96%. Có thể kết luận, hàm lượng các hợp chất polyphenol và flavonoid trong các mẫu cao chiết từ cánh hoa vụn thò không

quyết định hoạt tính kháng oxy hóa trong nghiên cứu này.

Tuy nhiên, nghiên cứu của Gong *et al.* (2012), khi khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa bằng 2 phương pháp: DPPH và FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power, khử ion sắt III, đối chứng dương là trolox) trên các mẫu cao chiết bằng các dung môi với độ phân cực khác nhau (nước cất, ethanol 30%, ethanol 50%, ethanol 70%, ethanol nguyên chất) từ cánh hoa vụn thò, kết quả cho thấy các mẫu cao chiết bằng ethanol 70% có hàm lượng flavonoid nhiều nhất đồng thời hoạt tính kháng oxy hóa mạnh nhất. Nghiên cứu của Addai *et al.* (2013), trên 2 giống đu đủ (Hongkong và Eksotika) về ảnh hưởng của dung môi chiết và phương pháp chiết lên hoạt tính kháng oxy hóa cũng cho kết quả tương tự. Theo đó các mẫu cao chiết bằng dung môi ethanol 70% thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa vượt trội hơn mẫu chiết bằng

dung môi ethanol nguyên chất ở cả 3 phương pháp thử khác nhau.

### 3.3 Kết quả khảo sát hoạt tính ức chế $\alpha$ -glucosidase

Alpha-glucosidase được ruột non tiết ra trong quá trình thủy phân tinh bột, đây chính là chìa khóa xúc tác cuối cùng trong quá trình tiêu hóa carbohydrate. Các chất ức chế enzyme này có tác dụng cạnh tranh, làm chậm quá trình giải phóng  $\alpha$ -D-glucose từ các disaccharide và oligosaccharide.

**Bảng 3: Kết quả hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của các cao chiết cánh hoa vạn thọ**

Mẫu	Phương trình đường cong phi tuyến	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)*
HV70	$y = 24,949\ln(x) - 48,323$ ; R <sup>2</sup> = 0,9838	51,47 $\pm$ 0,90c
HC70	$y = 23,648\ln(x) - 43,604$ ; R <sup>2</sup> = 0,9909	52,36 $\pm$ 2,50c
HV96	$y = 16,344\ln(x) - 38,418$ ; R <sup>2</sup> = 0,9943	223,59 $\pm$ 5,73a
HC96	$y = 19,365\ln(x) - 43,051$ ; R <sup>2</sup> = 0,9815	122,13 $\pm$ 3,83b
Acarbose	$y = 14,773\ln(x) - 20,911$ ; R <sup>2</sup> = 0,9922	121,52 $\pm$ 3,15b

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1% theo phép so sánh Tukey. Trong đó: HV70: Cánh hoa vạn thọ hoa vàng - dung môi ethanol 70%; HC70: Cánh hoa vạn thọ hoa cam - dung môi ethanol 70%; HV96: Cánh hoa vạn thọ hoa vàng - dung môi ethanol 96%; HC96: Cánh hoa vạn thọ hoa cam - dung môi ethanol 96%.

Kết quả giá trị IC<sub>50</sub> của hai mẫu cao chiết HV70 (51,47  $\pm$  0,90  $\mu$ g/mL) và HC70 (52,36  $\pm$  2,50  $\mu$ g/mL) là cao nhất đồng nghĩa hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase mạnh nhất, mạnh hơn đối chứng dương là acarbose khoảng 2,4 lần. Như vậy, mẫu cao chiết của nghiên cứu cũng thể hiện được hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase tương tự với kết quả nghiên cứu của Kaisoon *et al.*, 2012, hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của hoa vạn thọ được chiết bằng dung môi ethanol 80% có IC<sub>50</sub> = 0,06  $\pm$  0,01 mg/mL.

Trong Bảng 3, giá trị IC<sub>50</sub> của mẫu HV96 là lớn nhất (223,59  $\pm$  5,73  $\mu$ g/mL) đồng nghĩa với hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase yếu nhất, yếu hơn gấp 4,37 lần mẫu HV70, và gấp 1,84 lần acarbose. Hai mẫu cao chiết bằng dung môi ethanol 70% thể hiện hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase mạnh hơn các mẫu cao chiết bằng dung môi ethanol 96%.

Polyphenol và flavonoid là nhóm hợp chất trong thực vật được chứng minh là có nhiều hoạt tính sinh học trong đó có ức chế  $\alpha$ -glucosidase (Kumar *et al.*, 2011). Các hợp chất flavonoid trong thực vật đã được chứng minh có ảnh hưởng tốt đến khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase, cụ thể là số lượng nhóm hydroxyl trên vòng B của các flavonoid càng nhiều, hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase sẽ càng mạnh (Tadera *et al.*, 2006). Trong nghiên cứu của Wang *et al.* (2016), hợp chất quercetagenin, một loại flavonoid được chiết xuất từ cánh hoa vạn thọ bằng dung môi ethanol 70% thể hiện hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase (IC<sub>50</sub> = 180,11  $\pm$  3,68  $\mu$ g/mL) cao hơn đối chứng

Từ đó có tác dụng làm chậm sự hấp thu glucose, ức chế tăng đường huyết sau ăn, không gây đề kháng insulin, bảo tồn tế bào  $\beta$ , giảm nồng độ HbA1c, triglycerid và giảm biến chứng bệnh (Lebovitz, 1997).

Kết quả phương trình đường cong phi tuyến và khả năng ức chế 50% hoạt tính  $\alpha$ -glucosidase (IC<sub>50</sub>) của các mẫu cao chiết và đối chứng dương acarbose được thể hiện qua Bảng 3, giá trị IC<sub>50</sub> càng nhỏ, hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase càng mạnh.

dương acarbose (IC<sub>50</sub> = 810,85  $\pm$  5,96  $\mu$ g/mL) khoảng 4 lần.

Hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của mẫu cao chiết HV96 yếu hơn có thể là do hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần trong mẫu này thấp hơn khi so sánh với các mẫu còn lại. Đồng thời, các mẫu cao chiết HV70 và HC70 chứa hàm lượng flavonoid cao hơn các mẫu HV96 và HC96 nên hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase cũng cao hơn. Từ đó có thể kết luận rằng, hàm lượng polyphenol và flavonoid quyết định hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của các mẫu cao chiết từ cánh hoa vạn thọ trong nghiên cứu.

Khi so sánh kết quả từ Bảng 2 và Bảng 3 có thể thấy, mẫu cao chiết HV96 có hoạt tính kháng oxy hóa tương đương với 2 mẫu cao chiết HV70, HC70 và mạnh hơn so với mẫu HC96. Tuy nhiên, hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase lại yếu hơn 3 mẫu còn lại. Từ đó có thể kết luận hoạt tính kháng oxy hóa không quyết định hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của các mẫu cao chiết từ cánh hoa vạn thọ trong nghiên cứu này.

### 3.4 Kết quả khảo sát hoạt tính gây độc tế bào

Các mẫu cao chiết được thử nghiệm ở nồng độ 500  $\mu$ g/mL, với đối chứng dương là chất chuẩn camptothecin (nồng độ 0,01 và 1  $\mu$ g/mL), được pha loãng với dung môi trợ tan là DMSO 0,5%. Kết quả thể hiện qua Bảng 4.

**Bảng 4: Kết quả khảo sát hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào MCF-7 và HeLa của các cao chiết cánh hoa vạn thọ**

Mẫu	Dòng tế bào			
	Ung thư vú (MCF-7)		Ung thư cổ tử cung (HeLa)	
	Nồng độ thử (µg/mL)	Phần trăm gây độc tế bào (%) <sup>*</sup>	Nồng độ thử (µg/mL)	Phần trăm gây độc tế bào (%) <sup>ns</sup>
HV70	500	82,17 ± 4,55 <sup>a</sup>	500	54,04 ± 2,46
HC70	500	84,24 ± 3,15 <sup>a</sup>	500	58,58 ± 4,70
HV96	500	79,93 ± 2,76 <sup>a</sup>	500	62,32 ± 8,51
HC96	500	80,07 ± 3,26 <sup>a</sup>	500	49,76 ± 1,11
Camptothecin	0,01	55,65 ± 5,81 <sup>b</sup>	1	49,71 ± 3,60

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số trung bình theo sau bởi một hoặc những chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 5% (\*), <sup>ns</sup>: khác biệt không có ý nghĩa thống kê thông qua phép thử Tukey. Trong đó: HV70: Cánh hoa vạn thọ hoa vàng - dung môi ethanol 70%; HC70: Cánh hoa vạn thọ hoa cam - dung môi ethanol 70%; HV96: Cánh hoa vạn thọ hoa vàng - dung môi ethanol 96%; HC96: Cánh hoa vạn thọ hoa cam - dung môi ethanol 96%.

Các mẫu cao chiết HV70, HC70, HV96, HC96 ở nồng độ 500 µg/mL đều thể hiện được hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư vú (MCF-7) và ung thư cổ tử cung (HeLa). Đối với dòng tế bào ung thư vú (MCF-7), các mẫu cao chiết ở nồng độ 500 µg/mL đều cho kết quả ức chế tương đương 80%. Kết quả nghiên cứu của Xavier and David (2019), về hoạt tính gây độc tế bào của dịch chiết ethanol nguyên chất từ cánh hoa vạn thọ bằng phương pháp MTT, ở nồng độ 500 µg/mL cao chiết cũng cho kết quả gây độc 65,41% tế bào MCF-7 thử nghiệm. Đối với dòng tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa), ở nồng độ 500 µg/mL các mẫu cao chiết cho kết quả ức chế trong khoảng 50%. Kết quả nghiên cứu của Gupta *et al.*, 2012, thực hiện trên dịch chiết ethanol nguyên chất của rễ vạn thọ cho kết quả về hoạt tính gây độc tế bào với IC<sub>50</sub> = 164,28 µg/mL.

Hợp chất lutein là một loại carotenoid có trong cánh hoa vạn thọ đã được chiết xuất và khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa) bằng phương pháp Sulforhodamin B, kết quả IC<sub>50</sub> sau 24 giờ nuôi cấy là 7,9 ± 0,3 µM và sau 48 giờ nuôi cấy là 3,7 ± 0,5 µM (Gansukh *et al.*, 2019). Các hợp chất patuletin, patulitrin và methyl protocatechuate chiết xuất từ cánh hoa vạn thọ lùn (*Tagetes patula* Linn.) thể hiện được hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư vú (MCF-7) và ung thư cổ tử cung (HeLa), trong đó hợp chất patulein thể hiện hoạt tính tốt nhất trên dòng tế bào HeLa với IC<sub>50</sub> = 2,5 ± 0,1 µg/mL (Kashif *et al.*, 2015).

Kết quả về hàm lượng polyphenol và flavonoid giữa các mẫu cao chiết khác biệt có ý nghĩa thống kê, nhưng kết quả về hoạt tính gây độc tế bào giữa

các mẫu cao chiết lại khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Như vậy, đối với các mẫu cao chiết của nghiên cứu khi thử nghiệm ở nồng độ 500 µg/mL thì hàm lượng polyphenol và flavonoid không quyết định đến khả năng gây độc tế bào trên cả hai dòng tế bào ung thư vú và ung thư cổ tử cung.

Mối liên hệ giữa ung thư và stress oxy hóa lần đầu được công bố bởi Warburg (1956). Theo đó, khi sản xuất dư thừa, các gốc tự do làm thay đổi nghiêm trọng cấu trúc của các chất sinh học trong cơ thể con người như protein, lipid, lipoprotein và DNA. Những thay đổi này dẫn đến một loạt các hoạt động tiền ung thư của tế bào như thúc đẩy chu kỳ tế bào, lão hóa, hoại tử tế bào, sự loại bỏ lẫn nhau của các tế bào,... (Noda and Wakasugi, 2000). Từ đó, hướng nghiên cứu về sự tương quan giữa hoạt tính kháng oxy hóa và hoạt tính gây độc tế bào được chú ý nhiều hơn. Trong nghiên cứu này, mặc dù hoạt tính kháng oxy hóa giữa mẫu cao chiết HC96 khác biệt có ý nghĩa thống kê với các mẫu còn lại, nhưng các kết quả về hoạt tính gây độc tế bào giữa các mẫu cao chiết lại không khác biệt có ý nghĩa thống kê, vì thế có thể kết luận rằng hoạt tính kháng oxy hóa không quyết định hoạt tính gây độc tế bào của các mẫu cao chiết ở nồng độ khảo sát. Bên cạnh đó, chỉ khảo sát hoạt tính gây độc tế bào của các mẫu cao chiết ở nồng độ 500 µg/mL, không tiến hành thực hiện trên dãy nồng độ, dựng đường chuẩn để tính giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ gây chết 50% tế bào thử nghiệm), vì thế nghiên cứu chưa thể so sánh tương quan giữa hoạt tính kháng oxy hóa và gây độc tế bào của các mẫu cao chiết một cách trực quan bằng phương pháp so sánh Pearson.



**3.5 Khảo sát tương quan giữa hàm lượng polyphenol, flavonoid, hoạt tính kháng oxy hóa và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của các cao chiết**

Kết quả phân tích Pearson bằng phần mềm SPSS

16.0 về sự tương quan giữa các kết quả về hàm lượng polyphenol, flavonoid, hoạt tính kháng oxy hóa và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của các mẫu cao chiết được thể hiện qua Bảng 5.

**Bảng 5: Sự tương quan giữa hàm lượng polyphenol, flavonoid toàn phần, hoạt tính kháng oxy hóa và hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase của các cao chiết cánh hoa vạn thọ**

	Hàm lượng flavonoid	Hàm lượng polyphenol	Khả năng kháng oxy hóa (1/IC <sub>50</sub> )	Khả năng ức chế $\alpha$ -glucosidase (1/IC <sub>50</sub> )
Hàm lượng flavonoid	1	0,736**	0,196	0,903**
Hàm lượng polyphenol		1	-0,017	0,703*
Khả năng kháng oxy hóa (1/IC <sub>50</sub> )			1	0,555

Ghi chú: Giá trị tương quan có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1% (\*\*\*) và 5% (\*) thông qua phép so sánh tương quan Pearson.

Kết quả thông qua phép so sánh này cho thấy có sự tương quan thuận (có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 1%) giữa hàm lượng polyphenol toàn phần và flavonoid toàn phần của các mẫu cao chiết với hệ số tương quan  $r = 0,736$ . Đồng thời, có sự tương quan thuận có ý nghĩa thống kê giữa hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase với hàm lượng polyphenol và flavonoid (hệ số tương quan lần lượt là 0,903 và 0,703). Kết quả này góp phần khẳng định rằng hàm lượng polyphenol và flavonoid các cao chiết cánh hoa vạn thọ ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng ức chế  $\alpha$ -glucosidase. Hoạt tính kháng oxy hóa và ức chế  $\alpha$ -glucosidase của các mẫu cao chiết trong phép so sánh Pearson tương quan không có ý nghĩa thống kê, kết quả này củng cố cho kết luận về sự bất tương quan giữa kết quả hoạt tính kháng oxy hóa và ức chế  $\alpha$ -glucosidase của các mẫu cao chiết.

Nghiên cứu của Mai *et al.* (2007) về sự tương quan giữa hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase với hàm lượng polyphenol trên 28 loài thực vật, kết quả cho thấy sự tương quan thuận, tương tự với kết quả về sự tương quan trong nghiên cứu này, với hệ số tương quan là  $r = 0,889$  (đối với dịch chiết nước) và  $r = 0,877$  (đối với dịch chiết methanol).

**4 KẾT LUẬN**

Các cao chiết của cánh hoa vạn thọ (*T. erecta*) thuộc 2 giống hoa vàng và hoa cam được định lượng hàm lượng polyphenol toàn phần, flavonoid toàn phần, khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa, ức chế  $\alpha$ -glucosidase và gây độc tế bào trên 2 dòng ung thư vú, ung thư cổ tử cung. Kết quả cho thấy, các cao chiết chứa một lượng đáng kể hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần. Mẫu cao chiết HV70 có hàm lượng polyphenol toàn phần lớn nhất ( $150,18 \pm 1,24$  mg GAE/g dược liệu khô), mẫu cao

chiết HC70 chứa hàm lượng flavonoid cao nhất ( $77,77 \pm 0,47$  mg QE/g dược liệu khô).

Bốn mẫu cao chiết đều thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa, ức chế  $\alpha$ -glucosidase và gây độc tế bào rõ rệt. Mẫu HV70 là mẫu cao chiết cho khả năng kháng oxy hóa tốt nhất ( $IC_{50} = 82,03 \pm 1,37$   $\mu$ g/mL) thấp hơn ascorbic acid ( $IC_{50} = 24,23 \pm 0,72$   $\mu$ g/mL) 3,38 lần, đồng thời cũng là mẫu có hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase cao nhất ( $IC_{50} = 51,47 \pm 0,90$   $\mu$ g/mL). Thông qua phân tích thống kê Pearson, kết luận hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần trong các mẫu cao chiết cánh hoa vạn thọ có sự tương quan thuận với hoạt tính ức chế  $\alpha$ -glucosidase. Ở nồng độ 500  $\mu$ g/mL, các mẫu cao chiết đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên 2 dòng tế bào ung thư vú (MCF-7) và ung thư cổ tử cung (HeLa).

Các kết quả trên thể hiện tiềm năng với nhiều tác dụng sinh học có lợi của cánh hoa vạn thọ trong việc hỗ trợ điều trị các bệnh liên quan đến gốc tự do, bệnh đái tháo đường. Cần nghiên cứu thêm thông qua thử nghiệm các hoạt tính sinh học khác như kháng khuẩn, kháng viêm, xem xét khả năng ứng dụng trong các sản phẩm trà dược liệu, thực phẩm chức năng.

**LỜI CẢM ƠN**

Xin gửi lời cảm ơn đặc biệt đến Trường Đại học Tây Đô đã hỗ trợ kinh phí thực hiện nghiên cứu này.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

Addai, Z.R., Abdullah, A. and Mutalib, S.A., 2013. Effect of extraction solvents on the phenolic content and antioxidant properties of two papaya cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(47): 3354-3359.

Andrade-Cetto, A., Becerra-Jiménez, J. and Cárdenas-Vázquez, R., 2008. Alfa-glucosidase-

- inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 116(1): 27-32.
- Blois, M.S., 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181(4617): 1199-1200.
- Chanda, S. and Dave, R., 2009. *In vitro* models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview. *African Journal of Microbiology Research*. 3(13): 981-996.
- Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K.M., Lattanzio, V. and Martens, S., 2013. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*. 72: 1-20.
- Chivde, B.V., Biradar, K.V., Shiramane, R.S. and Manoj, K., 2011. *In vitro* antioxidant activity studies on the flowers of *Tagetes erecta* L. (Compositae). *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2(3): 223-229.
- Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương và *ctv.*, 2006. *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam-Tập 1*. Xuất bản lần 1. Nhà xuất bản Khoa học-Kỹ thuật. Hà Nội. Tr. 591-592.
- Dong, H.Q., Li, M., Zhu, F., Liu, F.L. and Huang, J.B., 2012. Inhibitory potential of trilobatin from *Lithocarpus polystachyus* Rehd against  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase linked to type 2 diabetes. *Food Chemistry*. 130(2): 261-266.
- Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E.B. *et al.*, 2019. Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*. 33(9): 2221-2243.
- Gansukh, E., Mya, K.K., Jung, M., Keum, Y.S., Kim, D.H. and Saini, R.K., 2019. Lutein derived from marigold (*Tagetes erecta*) petals triggers ROS generation and activates Bax and caspase-3 mediated apoptosis of human cervical carcinoma (HeLa) cells. *Food and Chemical Toxicology*. 127: 11-18.
- Gong, Y., Liu, X., He, W.H., Xu, H.G., Yuan F. and Gao, Y.X., 2012. Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue. *Fitoterapia*. 83: 481-489.
- Gupta, P., Gupta, A., Agarwal, K., Tomar, P. and Satija, S., 2012. Antioxidant and cytotoxic potential of a new thienyl derivative from *Tagetes erecta* roots. *Pharmaceutical Biology*. 50(8): 1013-1018.
- Kabera, J.N., Semana, E., Mussa, A.R. and He, X., 2014. Plant secondary metabolites: Biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2(7): 377-392.
- Kaisoon, O., Konczak, I. and Siriamornpun, S., 2012. Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand. *Food Research International*. 46(2): 563-571.
- Kashif, M., Bano, S. and Naqvi, S. *et al.*, 2015. Cytotoxic and antioxidant properties of phenolic compounds from *Tagetes patula* flower. *Pharmaceutical Biology*. 53(5): 672-681.
- Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V. and Prakash, O., 2011.  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*. 5(9): 19.
- Kwon, Y.I., Apostolidis, E. and Shetty, K., 2008. Inhibitory potential of wine and tea against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes. *Journal of Food Biochemistry*. 32(1): 15-31.
- Lebovitz, H.E., 1997. Alpha-glucosidase inhibitors. *Endocrinology and Metabolism Clinics*. 26(3): 539-551.
- Li, W., Gao, Y., Zhao, J. and Wang, Q., 2007. Phenolic, flavonoid, and lutein ester content and antioxidant activity of 11 cultivars of Chinese marigold. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(21): 8478-8484.
- Mai, T.T., Thu, N.N., Tien, P.G. and Van Chuyen, N., 2007. Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of Vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 53(3): 267-276.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A. and Rémésy, C., 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 81(1): 230 -242.
- Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, M., 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*. 40(3): 255-260.
- Mazandarani, M., Moghaddam, Z.P. and Zolfaghari, M.R., Ghaemi, E.A., Bayat, H., 2012. Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in *Onosma dichroanthum* Boiss. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6(28): 4481-4488.
- Nguyễn Kim Phi Phụng, 2007. *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*. Nhà xuất bản Đại Học Quốc Gia Thành Phố Hồ Chí Minh: 35-36.
- Noda, N. and Wakasugi, H., 2000. Cancer and oxidative stress. *Journal of the Japan Medical Association*. 124(11): 1571-1574.

- Rhama, S. and Madhavan, S., 2011. Antibacterial activity of the flavonoid, patulitrin isolated from the flowers of *Tagetes erecta* L. International Journal of PharmTech Research. 3(3): 1407-1409.
- Santini, A., Novellino, E., Armini, V. and Ritieni, A., 2013. State of the art of ready-to use therapeutic food: A tool for nutraceuticals addition to foodstuff. Food Chemistry. 140: 843-849.
- Siriamornpun, S., Kaisoon, O. and Meeso, N., 2012. Changes in colour, antioxidant activities and carotenoids (lycopene,  $\beta$ -carotene, lutein) of marigold flower (*Tagetes erecta* L.) resulting from different drying processes. Journal of Functional Foods. 4(4): 757-766.
- Skehan, P., Storeng, R. and Scudiero, D. *et al.*, 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. Journal of National Cancer Institute. 82(13): 1107-1112.
- Sultana, B., Anwar, F. and Ashraf, M., 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*. 14(6): 2167-2180.
- Tadera, K., Minami, Y., Takanatsu, K., and Matsuoka, T., 2006. Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -mylase by flavonoids. Journal of Nutritional Science and Vitaminology. 52(2): 149-153.
- Wang, W., Xu, H., Chen, H., Tai, K., Liu, F. and Gao, Y., 2016. *In vitro* antioxidant, anti-diabetic and antilipemic potentials of quercetagenin extracted from marigold (*Tagetes erecta* L.) inflorescence residues. Journal of Food Science and Technology. 53(6): 2614-2624.
- Warburg, O., 1956. On the origin of cancer cells. Science. 123(3191): 309-314.
- Waterman, P.G. and Mole, S., 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publication. Oxford, 238 pages.
- Young, A., Phillip, D. and Savill, J., 1997. Carotenoids in higher plant photosynthesis. In: Pessaraki, M. (Eds.). Handbook of Photosynthesis. Marcel Dekker. New York, pp. 575-596.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 64(4): 555-559.