

**SURVEY ON ANTIOXIDANT ACTIVITY AND CYTOTOXICITY  
OF HUMAN LIVER CANCER CELLS**

**HepG2 IN VITRO OF FRACTIONS**

**OF THE CELASTRUS HINDSII BENTH ET HOOK PLANT**

**Chu Quang Truyen<sup>a\*</sup>**

**Tran Ngoc Tuan<sup>g</sup>**

**Tran Van Thanh<sup>b</sup>**

**Ha Manh Cuong<sup>h</sup>**

**Le Hong Manh<sup>c</sup>**

**Dang Ngoc Phuong<sup>i</sup>**

**Nguyen Thi Thuy Trang<sup>d</sup>**

**Mai Duc Thang<sup>j</sup>**

**Do Cong Tuan Nghia<sup>e</sup>**

**Cam Thi Inh<sup>k\*</sup>**

**Nguyen Nhat<sup>f</sup>**

<sup>a, d, e, i</sup> Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

<sup>a</sup> Email: quangtruyen69@gmail.com

<sup>b</sup> Faculty of Pharmacy, Trung Vuong University

<sup>b</sup> Email: thanhtv63@gmail.com

<sup>c</sup> Institute of Physics, Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

<sup>c</sup> Email: lehongmanh@gmail.com

<sup>f, g</sup> Department of Science and Technology of Quang Tri province

<sup>d</sup> Email: thuytrang600977@gmail.com

<sup>h, j</sup> Central Hospital of Traditional Medicine

<sup>e</sup> Email: docongтуannghia@gmail.com

<sup>k</sup> Institute of Chemistry, VAST; Academy of Science and Technology

<sup>f</sup> Email: nguyennhatk45@gmail.com

<sup>g</sup> Email: tranngoctuanbkdn@gmail.com

<sup>h</sup> Email: hacuongyhn@gmail.com

<sup>i</sup> Email: phuongdn986@gmail.com

<sup>j</sup> Email: bsmaiducthang@gmail.com

<sup>k</sup> Email: camthiinh@gmail.com

Received: 02/4/2025; Reviewed: 25/4/2025; Revised: 15/5/2025; Accepted: 15/6/2025; Released: 30/6/2025.

DOI:

<https://doi.org/10.64223/tvj.p2025.v1.i2.a36>

<sup>b</sup> ORCID iD:

<https://orcid.org/0009-0007-6820-6573>

*Celastrus hindsii Benth et Hook* lives and grows in semi-mountainous and low-lying areas, has a fairly wide distribution range in harsh and difficult environments, so it accumulates many biological active substances. According to folk experience, this is a medicinal herb that is effective in cancer treatment. In this study, we evaluated the inhibitory effect on some cancer cell lines and the antioxidant effect of *Celastrus hindsii Benth et Hook*. *Celastrus hindsii Benth et Hook*. The *Celastrus hindsii* leaf sample was extracted with 70% ethanol and fractionated with n-hexane (Hex), dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), ethyl acetate (EtOAc). The inhibitory effect on cancer cells was performed by the MTT method (3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl) - 2,5 - diphenyltetrazolium) on 2 cell lines: Hep-G2 liver cancer, LU-1 lung cancer. Antioxidant effects were conducted through the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical scavenging method. The results of cancer cell inhibition showed that the EtOAc fraction had cytotoxic effects on liver and lung cancer cells compared to other fractions with IC<sub>50</sub> of 18.08 ± 0.8 µg / mL and 98.07 ± 0.6 µg / mL, respectively. The results of this study showed that the black leaf extract had high anti-cancer and antioxidant effects. Pharmacological studies have shown that black leaf extract contains a variety of components, but the compound Flavonoid is an antioxidant that can effectively prevent tumors, Triterpenoid Saponin has anti-bacterial effects and Quinone has the ability to liquefy and digest tumor cells. In addition, this is a medicinal herb that is also used in medicine to prevent and eliminate the development of tumors and tumors. The *Celastrus hindsii Benth et Hook* also helps stabilize blood pressure, especially high blood pressure, supports the treatment of cirrhosis, high liver enzymes, hepatitis B. Helps the body cool down and detoxify, supports the treatment of inflammatory diseases, diabetes, fatty blood, used in pain relief and increases

*the body's resistance. In Vietnam, there are currently many research projects on the chemical composition and biological effects of this species. The research objective is to isolate a number of compounds in the direction of antioxidant effects by the DPPH method, determine antimicrobial activity and test cytotoxic activity. The *Celastrus hindsii* Benth et Hook is extracted with ethanol and separated into fractions. From the ethyl acetate extract, the structures of 4 compounds were determined: compound XĐE1 (Daucosterol), substance XĐE2 (Rutin), XĐE3 (Kaempferol 3- rutinoside), substance XĐE4 (Methyl caffeate). The above research results have added more information, contributing to improving the use value and orientation for further research on this species in Vietnam.*

**Keywords:** *Celastrus hindsii* Benth et Hook; Antioxidant activity; Cytotoxic activity; HepG2 cells.

## 1. Đặt vấn đề

Cây xạ đen, tên khoa học *Celastrus hindsii*, họ Dây gối (Celastraceae), là loại dược liệu được biết đến trong y học cổ truyền với công dụng điều trị viêm gan, tiêu viêm, giải độc, thông kinh, lợi niệu. Các nghiên cứu về hoạt tính sinh học cho thấy, cây xạ đen có khả năng kháng oxy hóa, gây tế bào ung thư gan, ung thư phổi và chống thoái hóa võng mạc. Nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học trong cây xạ đen đã được phân lập như: daucosterol, coniferaldehyde, methyl caffeate, 9'-methoxydehydrodiconiferyl alcohol, oresbusin B, vanillic acid, polyphenol, rosmarinic acid, methylrosmarinic acid, lithospermic B acid, astragalín và kaempferol 3-rutinoside.

Cây xạ đen mọc tự nhiên ở khắp nơi trên đất nước ta, nó có thể mọc ở các bờ rào, bờ giậu và chịu đựng tốt trong mọi điều kiện thời tiết, khí hậu. Chính vì khả năng phân bố rộng rãi của cây xạ đen nên nó đã trở thành nguồn dược liệu phong phú. Đặc biệt, nhờ chất đất và khí hậu, cây phát triển mạnh ở Hòa Bình và đây cũng là nơi cung cấp dược liệu xạ đen có chất lượng dược tính tốt.

Thành phần của cây xạ đen rất đa dạng, nhưng có 3 chất quan trọng cần chú ý đến đó là: Fanavolnoid là một loại chất chống oxy hóa có khả năng phòng ngừa u bướu hiệu quả, Saponin Triterpenoid có công dụng chống nhiễm khuẩn và Quinon có khả năng làm cho tế bào u bướu hóa lỏng và dễ tiêu. Ngoài các hoạt chất này, cây còn chứa các thành phần khác như: Tanin, Polyphenol, Acid amin, Cyanoglycosid...

Xạ đen là cây thuốc nam quý mọc tự nhiên trong các khu rừng ở nước ta. Không chỉ có tác dụng y học, cây xạ đen còn có giá trị về mặt kinh tế và đây cũng là cây trồng "xóa đói, giảm nghèo" tăng thu nhập cho người dân ở một số huyện của tỉnh Hòa Bình. Thị trường tiêu thụ sản phẩm từ cây thuốc nam xạ đen rất rộng lớn. Tại Việt Nam, đã có một số công trình nghiên cứu về cây xạ đen như: Trung, L. T. đã nghiên cứu về khả năng chữa ung thư của cây xạ đen Hòa Bình; Cương, N. H. (2008) nghiên cứu thành phần hóa học và thăm dò hoạt tính sinh học cây xạ đen; năm 1999, xạ đen được công nhận là một trong số ít các vị thuốc chữa ung thư. Kết quả nghiên cứu đã bước đầu xác định trong cây xạ đen có hoạt chất

Fanavolnoid, Quinon có tác dụng phòng, chống ung thư và làm cho tế bào ung thư hóa lỏng dễ tiêu, hợp chất Saponin Triterbenoid có tác dụng chống nhiễm khuẩn.

Các nhà khoa học đã thu thập lá cây xạ đen ở tỉnh Hòa Bình để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa gồm các chất phenolics và flavonoids. Mẫu lá được khử trùng và sấy khô ở nhiệt độ 300C, sau đó phân tách các phân đoạn hoạt tính từ chiết xuất của lá cây bằng phương pháp phân tích sắc ký ghép khối phổ (GC-MS) và sắc ký lỏng ghép khối phổ (EIS-MS).

Các thí nghiệm để đánh giá các hoạt chất có trong lá cây cũng được thực hiện, trong đó đặc biệt quan tâm tới hàm lượng phenolic - chứa nhiều hoạt động dược lý như khả năng chống oxy hóa và chống viêm, khả năng ức chế mạnh bệnh tim mạch, ung thư và tiểu đường. Các hoạt tính sinh học như kháng khuẩn, chống viêm, chống ung thư và ức chế protein kinase cũng được đánh giá.

Các phát hiện của nghiên cứu này cho thấy, lá cây xạ đen chứa nhiều hợp chất hoạt tính sinh học có thể được khai thác cho mục đích y học và dược phẩm. Loại cây này có đặc tính chống oxy hóa mạnh, cho hàm lượng phenolics và flavonoids cao.

Cây xạ đen rất tốt cho việc kìm hãm sự phát triển của các tế bào ung thư, có thể kết hợp cùng các loại cây thuốc khác như nấm lim xanh... điều trị ung thư rất tốt.

Theo y học cổ truyền: Xạ đen có vị đắng chát, tính hàn, thơm mát. Xạ đen là loại dược liệu quý có nhiều tác dụng: Thanh nhiệt, giải độc, tác dụng chữa bệnh như thông kinh, lợi tiểu, chữa ung nhọt và lở loét, phòng ngừa ung thư, tiêu viêm, mát gan mật, giúp cơ thể loại trừ độc tố. Hỗ trợ trị các bệnh về gan như viêm gan, xơ gan, men gan cao, gan nhiễm mỡ; hỗ trợ điều trị cao huyết áp, bình ôn huyết áp; cải thiện giấc ngủ, trị suy nhược thần kinh; nâng cao sức đề kháng, hệ miễn dịch cho cơ thể; tăng cường tuần hoàn máu não, giúp trị chứng hoa mắt chóng mặt.

Những công trình đã chứng minh công dụng tuyệt vời của loại thảo dược này mà hiện nay, xạ đen được dùng cả trong y học hiện đại và y học cổ truyền giúp hỗ trợ điều trị nhiều loại bệnh lý nguy hiểm.

Theo như nhiều nghiên cứu khoa học đã chỉ ra rằng, xạ đen có tác dụng trong việc điều trị ung thư gan, ung thư biểu mô tế bào gan nguyên phát, ung thư đường ống dẫn mật. Sử dụng xạ đen có tác dụng bất ngờ đối với những trường hợp ung thư vừa kể trên.

Xạ đen sử dụng để điều trị xơ gan do có tác dụng giúp các mô sẹo, mô xơ tại gan bị hạn chế sự hình thành. Ngoài ra, gan nhiễm mỡ cũng do nhiều nguyên nhân khác nhau gây ra như bệnh béo phì, nghiện rượu, phẫu thuật, tiểu đường, rối loạn di truyền... gây ra, vì thế nên sử dụng xạ đen chỉ có tác dụng một phần, còn người bệnh cũng phải có phương án kiêng kị cụ thể. Từ lâu trong dân gian đã quan niệm, xạ đen là một loại thảo dược có công dụng làm mát gan, giải độc và thanh nhiệt rất tốt, nhất là khả năng trong việc loại bỏ những nốt mụn xấu xí do cơ thể bị nóng trong.

Những người bị máu nhiễm mỡ hoàn toàn có thể giảm tình trạng bệnh hoặc ngăn ngừa bệnh bằng việc sử dụng lá xạ đen.

Xạ đen còn được rất nhiều người sử dụng trong việc giảm đau các khớp của cơ thể và tăng sức đề kháng, phòng, chống bệnh tật cho những người tuổi già.

Ngoài ra, xạ đen được sử dụng dưới dạng đồ uống có tác dụng giải nhiệt, giải khát, kích thích tiêu hóa, tăng cường tuần hoàn máu, giảm béo. Nước xạ đen uống ban đầu có vị hơi đắng, hơi chát, tính mát và lạnh. Trong nắng lửa mùa hè, khi đi làm về, chỉ cần uống một bát nước xạ đen là cơn khát tiêu tan, toàn thân mát mẻ, sáng khoái. Nhờ đó, xạ đen được xem là một loại dược liệu quý hiếm và rất lợi cho sức khỏe con người.

Do đó, đề tài này khảo sát hoạt tính chống oxy hóa, độc tế bào ung thư gan người Hep G2 in vitro của các cao chiết phân đoạn từ xạ đen nhằm cung cấp cơ sở khoa học để nghiên cứu thành phần hóa học và lựa chọn bộ phận dùng phù hợp của dược liệu này theo định hướng hoạt tính sinh học.

## 2. Vật liệu

### 2.1. Nguyên liệu thực vật

Phần trên mặt đất xạ đen thu hái tại Quảng Trị (Thời điểm thu hái tháng 6). Mẫu dược liệu được định danh bởi Chi, V. V. xác định tên khoa học là *Celastrus hindsii* Benth et Hook. Dược liệu được cắt thành lát mỏng, phơi khô, xay cỡ bột thô để chiết xuất thu cao.

Mẫu nghiên cứu hiện đang được lưu giữ tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

### 2.2. Thiết bị nghiên cứu

Phổ NMR được ghi bằng máy quang phổ Bruker ở

tần số 500 MHz (<sup>1</sup>H-NMR) và 250 MHz (<sup>13</sup>C-NMR) sử dụng TMS làm tham chiếu nội bộ. Phổ HR-ESI-MS thu được trên máy quang phổ khối Sciex X500R QTOF. Sắc ký cột được thực hiện trên silica gel 60 (0,063-0,2 mm), Sephadex LH-20 (25-100 μm) và silica gel RP-18 (40-63 μm). Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên silica gel 60F254 (0,25 mm, Merck, Darmstadt, Đức) và các tấm Rp-18. Vết trên các bản mỏng được quan sát dưới ánh sáng UV (254 nm và 365 nm) và bằng cách phun dung dịch vanillin/axit sunfuric và sấy nóng trong 5 phút.

### 2.3. Hóa chất

Các dung môi n-hexan, cloroform, ethyl acetat, ethanol 96%, methanol... dùng loại AR mua từ Trung Quốc. Môi trường EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium), huyết thanh bào thai bê (FCS), L-glutamin, penicilin-streptomycin, trypsin- EDTA, đệm phosphat (PBS) mua từ công ty Gibco (Hoa Kỳ); trypan blue, 3-(4,5- dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid (MTT) mua từ công ty Sigma- Aldrich (Hoa Kỳ); doxorubicin mua từ công ty Ebewe Pharma (Úc).

### 3. Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất cao dược liệu: Dược liệu được chiết xuất bằng phương pháp chiết nóng với ethanol 96% theo tỷ lệ 1 kg: 5 lít dung môi; thu hồi dung môi dưới áp suất giảm để thu cao ethanol 96% toàn phần. Hòa cao toàn phần trong ethanol 25% theo tỷ lệ 1: 5. Sau đó, lắc phân bố lỏng - lỏng với các dung môi n-hexan (3 lần), cloroform (3lần), ethyl acetat (3 lần), thu dịch và cô giảm áp thu lần lượt các cao phân đoạn n-hexan, cloroform, ethylacetat, nước để khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và độc tế bào ung thư gan người HepG2 in vitro.

Xác định hoạt tính chống oxy hóa dựa trên khả năng bắt các gốc tự do tạo bởi DPPH

Đây là phương pháp đã được công nhận để xác định nhanh hoạt tính chống oxy hóa dựa trên khả năng quét các gốc tự do tạo bởi 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Brand-Williams *et al.* 1995, Shela *et al.* 2003, Kumar *et al.* 2013). Chất thử được hòa trong dimethyl sulfoxide (DMSO 100%) và DPPH được pha trong ethanol 96%. Sự hấp thụ của DPPH ở bước sóng  $\lambda = 515$  nm được xác định bằng máy đọc TECAN (Infinite® 200 PRO, Switzerland) sau khi nhỏ DPPH vào dung dịch mẫu thử trên phiên vi lượng 96 giếng. Kết quả các thử nghiệm được thể hiện là giá trị trung bình của ít nhất 3 phép thử lặp lại  $\pm$  độ lệch chuẩn ( $p \leq 0,05$ ).

Khả năng trung hòa các gốc tự do (Scavenging capacity, SC%).

Giá trị trung bình của SC (%) ở các nồng độ mẫu được đưa vào chương trình xử lý số liệu Excel theo công thức:

$$SC\% = \left[ 100 - \frac{OD(\text{mẫu thử}) - OD(\text{mẫu trắng})}{OD(\text{chứng âm tính})} \times 100 \right] \pm \sigma$$

Độ lệch tiêu chuẩn  $\sigma$  tính theo công thức của Duncan như sau:

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

Giá trị  $SC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ )

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

Thử nghiệm hoạt tính kháng VSVKĐ

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được tiến hành để đánh giá hoạt tính kháng sinh của các mẫu chiết được thực hiện trên phiên vi lượng 96 giếng (96-well microtiter plate) theo phương pháp hiện đại của Vander Bergher và Vlietlinck (1991), và McKane & Kandel (1996).

Các chủng vi sinh vật kiểm định:

- Vi khuẩn Gr (-): *Escherichia coli* (ATCC 25922)
- Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145)
- Vi khuẩn Gr (+): *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* (ATCC 6633)
- Staphylococcus aureus subsp. aureus* (ATCC 25923)

- Nấm sợi: *Aspergillus niger* (ATCC 6275)

*Fusarium oxysporum* (ATCC 7601)

- Nấm men: *Candida albicans* (ATCC 10231)

*Saccharomyces cerevisiae* (VTCC-Y-62)

Chứng dương tính:

- Streptomycin cho vi khuẩn Gr (+)
- Tetracyclin cho vi khuẩn Gr (-)
- Nystatin hoặc Amphotericin B cho nấm sợi và nấm men.

Kháng sinh pha trong DMSO 100% với nồng độ thích hợp.

Chứng âm tính:

Vi sinh vật kiểm định không trộn kháng sinh và chất thử.

- Môi trường duy trì và bảo tồn giống: Sabouraud Dextrose Broth (SDB-Sigma) cho nấm men và nấm mốc. Trypcase Soya Broth (TSB-Sigma) cho vi khuẩn.

- Môi trường thí nghiệm: Eugon Broth (Difco, Mỹ) cho vi khuẩn, Mycophil (Difco, Mỹ) cho nấm.

Tiến hành thí nghiệm:

- Các chủng kiểm định được hoạt hóa và pha loãng theo tiêu chuẩn McFarland 0,5 rồi tiến hành thí nghiệm.

- Các phiên thí nghiệm trong tủ ấm 37°C/24 giờ cho vi khuẩn và 30°C/48 giờ đối với nấm sợi và nấm men.

- Tính kết quả

+ Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC-Minimum Inhibitory Concentration) của mẫu.

- Các mẫu được pha loãng theo các thang nồng độ thấp dần để tính nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là nồng độ mà ở đó vi sinh vật bị ức chế gần như hoàn toàn.

Thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào

Theo phương pháp của Skehan & cs. (1990) và Likhiwitayawuid & cs. (1993) đã được áp dụng tại Viện Nghiên cứu ung thư Quốc gia của Mỹ (NCI) và Trường Đại học Dược, Đại học Tổng hợp Illinois, Chicago, Mỹ.

Dòng tế bào (cell lines)

- Dòng Hep-G2 (Human hepatocellular carcinoma)
- Ung thư gan)

Môi trường và các dụng cụ, hóa chất:

+ Môi trường DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) hoặc MEME (Minimum Essential Medium with Eagle's salt) có bổ sung L-Glutamine, Sodium pyruvate,  $\text{NaHCO}_3$ , PSF (Penicillin - Streptomycin sulfate - Fungizone); NAA (Non-Essential Amino Acids); 10% BCS (Bovine Calf Serum).

+ Trypsin-EDTA 0,05%; DMSO (Dimethyl sulfoxide); TCA (Trichloro acetic acid); Tris Base; PBS (Phosphate Buffered Saline); SRB (Sulfo Rhodamine B); Acetic acid.

+ Các dụng cụ dùng 1 lần: Bình nuôi cấy tế bào, phiên vi lượng 96 giếng, pipet Pasteur, đầu tip cho

micropipette...

*Chất chuẩn chứng dương tính:*

- Dùng chất chuẩn có khả năng diệt tế bào: Ellipticine pha trong DMSO.

Tính kết quả:

+ Kết quả được đọc trên máy Tecan Infinite F50 (Tecan, Thụy Sĩ) ở bước sóng 540 nm.

+ Giá trị CS (Cell Survival) là khả năng sống sót của tế bào ở nồng độ nào đó của chất thử tính theo % so với đối chứng. Dựa trên kết quả đo được của chúng OD (ngày 0), DMSO 10% và so sánh với giá trị OD khi trộn mẫu để tìm giá trị CS (%) theo công thức:

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

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

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

+ Các mẫu có biểu hiện hoạt tính (CS < 50%) sẽ được chọn ra để thử nghiệm tiếp để tìm giá trị IC<sub>50</sub>.

Giá trị IC<sub>50</sub>  $\rightarrow$  (50% Inhibitory Concentration) là nồng độ của mẫu thử mà tại đó ức chế được 50% số lượng tế bào nghiên cứu. Cách tính giá trị IC<sub>50</sub>:

Dùng giá trị CS của 10 thang nồng độ, dựa vào chương trình Table curve theo thang giá trị logarit của đường cong phát triển tế bào và nồng độ chất thử để tính giá trị IC<sub>50</sub>. Công thức:  $1/y = a + b \ln X$

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

#### 4. Kết quả và thảo luận

##### 4.1. Chiết xuất các cao phân đoạn

Mẫu thân cây xạ đen được thái nhỏ, phơi khô và nghiền nhỏ (3 kg), sau đó được ngâm chiết 3 lần với EOH. Dịch chiết sau đó được cô đặc bằng máy cất quay dưới áp suất giảm thu được 285g cặn chiết EOH. Cặn này được hòa vào nước (1 L) và chiết lần lượt bằng n-hexan, diclometan và ethyl axetat (mỗi dung môi 1 L  $\times$  3) thu được các cặn n-hexan (10,5 g), diclometan (36,6 g) etyl axetat (38,5 g) và cặn nước tương ứng. Như vậy, từ thân cây xạ đen, chúng tôi đã tách chiết được 4 cao chiết.

**Bảng 1.** Hiệu suất chiết của các cao phân đoạn phân cực từ xạ đen

<i>Khối lượng cao thu được từ xạ đen</i>		<i>Hiệu suất chiết xạ đen (%)</i>
Cao n-hexan	10,15 g	1,02
Cao diclometan	36,6 g	3,65
Cao ethyl acetat	38,5 g	3,85
Cao nước	5,8 g	0,58
Hợp chất XĐE1	9 mg	-
Hợp chất XĐE2	8 mg	-
Hợp chất XĐE3	6 mg	-
Hợp chất XĐE4	5,5 mg	-

*Nhận xét: Đối với xạ đen, hiệu suất chiết các cao phân đoạn giảm dần theo thứ tự: Cao ethyl acetat > Cao cloroform > Cao n-hexan > Cao nước.*

##### 4.2. Phân loại các hợp chất

Sau khi thu được các cao chiết phân đoạn, tiến hành phân lập phần cặn chiết EtOAc Cặn etyl (E: 38,5 g) được đưa lên cột sắc ký silica gel, rửa giải bằng hệ gradient CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O (từ 5:1:0,1 đến 2:1:0,1, v/v) để tạo ra 6 phân đoạn (E1-E6). Phân đoạn E2 được sắc ký trên cột silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O, 4,5:1:0,1 đến 3,5:1:0,1, v/v) và sau đó đưa tiếp lên cột silica gel pha đảo Rp-18 (MeOH-H<sub>2</sub>O = 1,5:1, v/v) để thu được hợp chất XĐE1 (9 mg). Phân đoạn E3 được tách trên cột silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-

MeOH-H<sub>2</sub>O, 4:1:0,1) và sau đó tinh chế trên cột silica gel pha đảo Rp-18 (MeOH-H<sub>2</sub>O = 1,5:1, v/v) XĐE2 (8 mg), XĐE3 (6 mg) và XĐE4 (5,5 mg).

*Hợp chất XĐE1:*

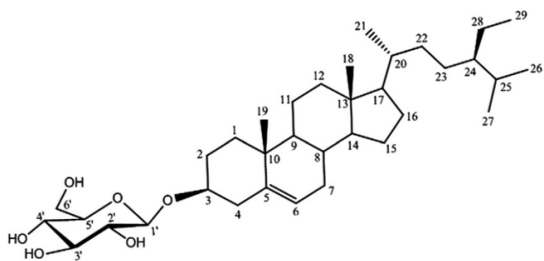
Hợp chất XĐE1 thu được ở dạng chất bột màu trắng. Trên phổ ESI-MS của XĐE1 xuất hiện pic ion tại 397,3[M -C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>+H]<sup>+</sup> phù hợp với công thức phân tử là C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub>.

Chất bột trắng (89 mg), điểm nóng chảy 287-289°C.

FT-IR  $\nu_{max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3390 (rộng, OH); 2934; 1644; 1461; 1373; 1073; 1026. EI-MS (m/z): 396 [M-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>);  $\delta$  (ppm): 3,50 (1H; m; H-3); 5,26 (1H, dd, 5,0 và 2,0 Hz, H-6); 1,01 (3H; s; H-18); 0,91 (3H; d; 6,6 Hz, H-21); 0,83 (3H; d; 7,1 Hz; H-26); 0,80 (3H; d; 6,6 Hz; H-27); 0,81 (3H; t; 7,0 Hz, H-29); 0,67 (3H; s; H-19). Phần đường: 4,23 (1H; d; 8,0 Hz; H-1''); 3,40 (1H, m, H-2); 3,70 (1H, m, H-3); 3,19 (1H, m, H-4); 3,67 (1H, m, H-5); 3,90 (1H, dd, 12,5; 1,5 Hz; H6'a); 3,87 (1H, dd, 12,5; 5 Hz; H-6''b).

<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, DMSO-d<sub>6</sub>);  $\delta$  (ppm): Phần genin: 36,3 (C-1); 27,9 (C-2); 76,8 (C-3); 38,4 (C-4); 140,6 (C5); 121,3 (C-6); 31,7 (C-7); 31,5 (C-8); 50,7 (C-9); 35,6 (C-10); 21,0 (C-11); 36,9 (C-12); 45,2 (C-13); 56,3 (C-14); 23,9 (C-15); 29,4 (C-16); 55,5 (C-17); 11,9 (C-18); 19,8 (C-19); 33,4 (C-20); 19,6 (C-21); 31,5 (C-22); 28,8 (C-23); 49,7 (C-24); 25,5 (C-25); 19,0 (C-26); 20,7 (C-27); 22,7 (C-28); 12,2 (C-29); Phần đường: 100,9 (C-1'); 77,1 (C-3'); 76,8 (C-5'); 73,6 (C-2'); 70,2 (C-4'); 61,2 (C-6').



**Hình 1.** Cấu trúc hóa học của hợp chất XĐE1 (Daucosterol)

Hợp chất XĐE2:

Hợp chất XĐE2 được tách ra ở bột màu vàng, mp 193–195oC. Phổ UV (MeOH) chỉ ra các cực đại hấp thụ tại  $\lambda$  257 và 357 nm.

Phổ IR (KBr) cho biết sự hiện diện của nhóm hydroxyl (3418 cm<sup>-1</sup>), carbonyl (1651 cm<sup>-1</sup>), nhân thơm (1605, 1504 cm<sup>-1</sup>) và ether (1204, 1065 cm<sup>-1</sup>). Từ các pic cơ bản tại m/z 633,1 [M+Na]<sup>+</sup>, 609,1 [M-H]<sup>-</sup> trên phổ ESIMS và các dữ kiện phổ <sup>13</sup>C-NMR, CTPT của XĐE2 được xác định là C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub> (M = 610 g/mol).

Phổ <sup>1</sup>H-NMR đo trong CD<sub>3</sub>OD của hợp chất này chỉ ra các tín hiệu đặc trưng của khung flavonoid: 2 proton meta của vòng A tại  $\delta$ H 6,45 (1H, d, J = 1,5 Hz, H-8), 6,24 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-6); 3 proton thơm của vòng B thế 1,3,4 tại  $\delta$ H 6,91(1H, d, J = 8,5 Hz, H-5'), 7,65 (1H, dd, J = 2,0, 8,5 Hz, H-6') và 7,68 (1H, d, J = 2,0 Hz, H-2'). Ngoài ra, tín hiệu của 2 proton anomer tại  $\delta$ H 5,15 (1H, d, J = 7,5 Hz, H-1'') và 4,56 (1H, s, H-1''') gợi ý sự hiện diện của 2 đơn vị monosaccharide với cấu hình  $\beta$ ,  $\alpha$  tương

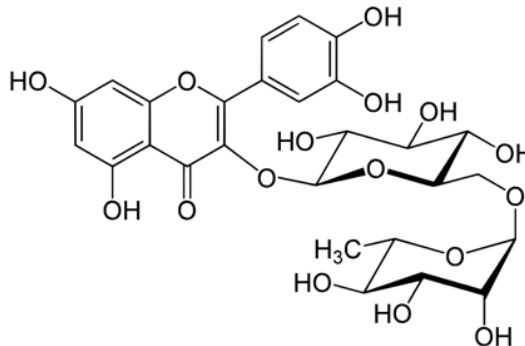
ứng; 1 nhóm methyl bậc hai tại  $\delta$ H 1,15 (d, J = 6,5 Hz, H3-6''').

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>);  $\delta$  (ppm): 7,68 (1H, d, 2,0 Hz, H-2'), 7,65 (1H, dd, 2,0 và 8,5 Hz, H-6'), 6,91 (1H, d, 8,5 Hz, H-5'), 6,45 (1H, d, 1,5 Hz, H-8), 6,24 (1H, d, 2,0 Hz, H-6), 5,15 (1H, d, 7,5 Hz, H-1''), 4,56 (1H, s, H-1'''), 3,85 (2H, dd, 1,5 và 10,5 Hz, H-6''), 3,67 (1H, dd, 1,5 và 3,5 Hz, H-2'''), 3,55 (1H, dd, 3,5 và 9,5 Hz, H-3'''), 1,15 (d, 6,5 Hz, H3-6''').

<sup>13</sup>C-NMR (125MHz, DMSO-d<sub>6</sub>);  $\delta$  (ppm): 179,2 (C-4), 162,7 (C-5), 166,1 (C-7), 159,2 (C-2), 158,6 (C-9), 149,7 (C-4'), 145,6 (C-3'), 135,5 (C-3), 132 (C-1'), 123,2 (C-6'), 117,8 (C-2'), 116,2 (C-5'), 105,5 (C-10), 104,8 (C-1''), 102,6 (C-1'''), 99,8 (C-6), 94,8 (C-8), 78,5 (C-3''), 77,3 (C-5''), 75,6 (C-2''), 73,8 (C-4'''), 72,5 (C-3'''), 72,2 (C-2'''), 71,4 (C-4''), 69,6 (C-5'''), 68,8 (C-6''), 17,8 (C-6''').

Phổ <sup>13</sup>CNMR và DEPT chỉ ra tín hiệu của 27 carbon, gồm 1 nhóm methyl, 1 nhóm methylene, 15 nhóm methine và 10 carbon không mang hydro.

Nhìn chung, dữ kiện phổ <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất XĐE2 gợi ý sự tương đồng về cấu trúc giữa chúng - với hợp chất XĐE2 có nhóm hydroxyl tại C-3'. Điều này được thể hiện qua sự dịch chuyển mạnh về phía trường thấp của C-3'' cũng như sự dịch chuyển theo chiều ngược lại của C-2', C-4' và C-6'. Sự xuất hiện tín hiệu của 3 proton thơm vòng B thế 1,3,4 tại  $\delta$ H 6,91 (d, J = 8,5 Hz, H-5'), 7,65 (dd, J = 8,5, 2,0, Hz, H-6') và 7,68 (d, J = 2,0 Hz, H-2') cũng phù hợp với đề nghị trên. Việc gán ghép giá trị  $\delta$ H,  $\delta$ C cho toàn bộ phân tử và xác nhận lại cấu trúc của XĐE2 được thực hiện bằng phổ 2D-NMR. Từ các lập luận trên, hợp chất XĐE2 được xác định là quercetin-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (còn gọi là rutin).



**Hình 2.** Cấu trúc của hợp chất XĐE2 (Rutin)

Hợp chất XĐE3

Hợp chất có dạng bột vô định hình màu vàng, tan trong dung môi metanol.

Sắc ký lớp mỏng giải ly bằng hệ dung môi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9/1 (v/v) hiện hình bằng dung dịch

acid H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3 Rf= 0.4; và hiện hình bằng dung dịch FeCl<sub>3</sub>/ancol, sấy nhẹ cho một vết màu xanh đen.

Phổ 1H-NMR phổ của hợp chất cũng chia ra hai vùng tín hiệu rõ rệt.

Trong vùng từ trường δH 6.5-8.0 ppm, có sự khác biệt ở cấu trúc nhân thơm của vòng B. Phổ 1H-NMR của 2 xuất hiện hai tín hiệu mũi đôi, ghép cặp orto với nhau tại δH 8.08 (2H, d, J = 8.5 Hz) và 6.92 (2H, d, J = 9 Hz)

Trong vùng từ trường δH 3.0-5.0 ppm xuất hiện thêm các tín hiệu khác. Tín hiệu ở δH 4.53 (1H, d, J = 1.5) là tín hiệu của proton anomer thứ hai H-1'''; ngoài ra, tại δH 1.14 (3H, d, J = 6.5 Hz) là tín hiệu đặc trưng của proton nhóm methyl H-6''' của đường rhamnopyranose. Từ đây, có thể xác định hợp chất 2 có thêm một đơn vị đường α-L-rhamnopyranose.

<sup>13</sup>C-NMR kết hợp phổ DEPT-NMR cho thấy hợp chất có 27 carbon. Ngoài tín hiệu tương tự như phổ <sup>13</sup>C-NMR của hợp chất 1, hợp chất 2 còn xuất hiện thêm một carbon acetal δC 101.0 (C-1'''), bốn carbon metin mang oxy trong vùng δC 65-80 ppm (C-2'''; C-3'''; C-4'''; C-5''') và một carbon methyl bão hòa δC 16.5 ppm (C-6'''). Đây là tín hiệu đặc trưng của phần đường L-rhamnose.

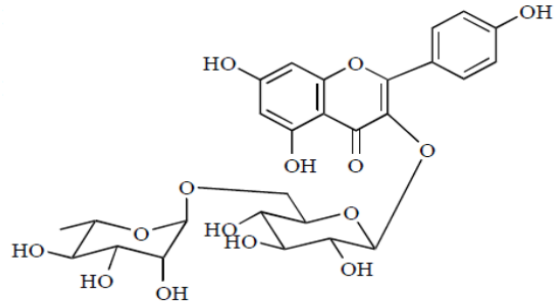
<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz); δ (ppm):

6,22 (d; 2,2 Hz, H-6), 6,41 (d; 2,2 Hz, H-8), 8,12 (dd, 2,2 và 8,5 Hz, H-2'), 6,90 (dd, 2,2 và 8,5 Hz, H-3'), 6,90 (dd, 2,2 và 8,5 H-5'), 8,12 (dd, 2,2 và 8,5 Hz, H-6'), 5,14 (d; 7,5 Hz, Glc- H-1''), 4,54 (brs, Rha-H-1'''), 1,15 (d; 6,2 Hz, Rha-H-6''')

<sup>13</sup>C-NMR

<sup>13</sup>C-NMR (125MHz); δ (ppm): 161,49 (C-2); 135,53 (C-3);, 179,42 (C-4);, 162,97(C-5); , 162,97 (C-6);, 99,97 (C-7);,, 165,96 (C-7); 94,91 (C-8); 158,58 (C-9); 105,66 (C-10); 122,77 (C-1'); 132,38 (C-2'); 116,13 (C-3'); 159,38 (C-4'); 116,14 (C-5'); 132,48 (C-6'); 104,52 (C-1''); 75,77 (C-2''); 78,26 (C-3''); 71,46 (C-4''); 77,22 (C-5''); 67,45 (C-6''); 102,42 (C-1'''); 72,08 (C-2'''); 72,32(C-3'''); 73,92 (C-4'''); 69,72 (C-5'''); 17,93(C-6''');

Tín hiệu của -CH<sub>2</sub>- xuất hiện tại δC 67.2 ppm, kết hợp với phổ HMBC cho thấy proton anomer thứ hai H-1'''' cho tương quan với C-6'' chứng tỏ đơn vị đường thứ hai gắn với đơn vị đường thứ nhất qua cầu nối 1-6. So sánh số liệu phổ với kaempferol 3-O-β-D-rutinoside cho thấy sự tương đồng. Vậy, cấu trúc của hợp chất XĐE3 được đề nghị là Kaempferol 3-rutinoside.



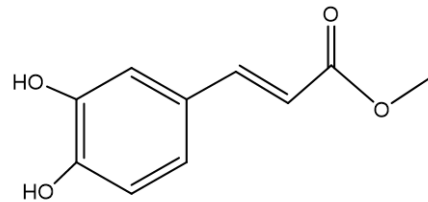
**Hình 3.** Cấu trúc của hợp chất XĐE3 (Kaempferol 3-rutinoside)

Hợp chất XĐE4

Dạng tinh thể hình lục giác. FT-IR v<sub>max</sub> (cm<sup>-1</sup>) 3398-2531 (rộng, OH); 2931; 1718 (C=O). ESI-MS: m/z: 195,20 [M + H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub> δ ppm): 7,06 (1H; d; 2,0 Hz; H-2); 6,83 (1H; d; 8,0 Hz; H-5); 6,94 (1H; dd; 2,0; 8,0 Hz; H-6); 7,57 (1H; d; 16,0 Hz; H-7); 6,23 (1H; d; 16,0 Hz; H-8); 3,80 (3H; s; OCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>); δ (ppm): 51,56 (OCH<sub>3</sub>); 126,8 (C-1); 113,9 (C-2); 145,4 (C-3); 147,2 (C-4); 115,1 (C-5); 122,0 (C-6); 144,6 (C-7); 114,4 (C-8); 168,3 (C-9).



**Hình 4.** Cấu trúc của hợp chất XĐE4 (Metyl caffeate)

### 4.3. Hoạt tính chống oxy hóa in vitro Phương pháp DPPH

Các phân đoạn cao chloroform, cao ethyl acetat, cao n- hexan, cao nước và hai hợp chất trên được đánh giá hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bẫy gốc tự do DPPH và giá trị SC<sub>50</sub> (μg/mL) được tính toán bằng phần mềm TableCurve AISN (Jandel Scientific, USA). Kết quả cho thấy, cả ba hợp chất đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa in vitro trung bình với giá trị SC<sub>50</sub> lần lượt là 56,08 μg/mL, 84,6 μg/mL, 85,2μg/mL, 89,39μg/mL, 198,94 μg/mL, 395,47 μg/mL và 257,47 μg/mL. Phương trình hồi quy biểu diễn mối liên quan giữa nồng độ và hoạt tính chống oxy hóa in vitro của mẫu thử cùng giá trị EC<sub>50</sub> được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2.** Hoạt tính chống oxy hóa in vitro của mẫu thử xác định bằng phương pháp DPPH

TT	Ký hiệu mẫu *	Nồng độ đầu của mẫu (µg/mL)	Scavenging capacity (SC, %)	SC50 (µg/mL)	Kết quả
	Đối chứng (+)	50	80,16 ± 0,21	15,78	Dương tính
	Đối chứng (-)	-	0	-	Âm tính
1	Cao xạ đen	400	20,84 ± 0,16	-	Âm tính
2	Xạ đen n-Hexan	400	59,27 ± 0,25	257,47	Dương tính
3	Xạ đen CHCl <sub>3</sub>	400	61,80 ± 0,22	198,94	Dương tính
4	Xạ đen - EtOAc	400	52,14 ± 0,07	395,47	Dương tính
5	XĐE1	200	60,17 ± 2,2	85,2	Dương tính
6	XĐE2	200	60,65 ± 1,0	84,6	Dương tính
7	XĐE3	200	78,38 ± 0,23	56,08	Dương tính
8	XĐE4	200	54,78 ± 0,5	89,39	Dương tính

*Phương pháp thử*

Đối với thử nghiệm kháng vi sinh vật kiểm định, trên tám loại vi khuẩn và nấm mốc, tất cả các hợp chất đều thể hiện hoạt tính ức chế sinh trưởng đối với nấm mốc *A.niger* với giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) là 200 µg/mL (Bảng 3).

**Bảng 3.** Thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định

TT	Ký hiệu mẫu	Nồng độ đầu của mẫu (µg/mL)	Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC, µg/mL)								Nhận xét	
			Vi khuẩn Gr(-)		Vi khuẩn Gr(+)		Nấm mốc		Nấm men			
			<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>A. niger</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. albicans</i>		
1	Cao xạ đen	200	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Âm tính
2	Xạ đen - n-Hexan	200	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Âm tính
3	Xạ đen - CHCl <sub>3</sub>	200	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Âm tính
4	Xạ đen - EtOAc	200	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Âm tính
5	XĐE1	200	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Âm tính
6	XĐE2	200	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Âm tính
7	XĐE3	200	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Âm tính
8	XĐE4	200	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	Âm tính

#### 4.4. Hoạt tính độc tế bào ung thư gan người Hep-G2

**Bảng 4.** Hoạt tính độc tế bào gan HepG2 của các cao phân đoạn của xạ đen Quảng Trị

TT	KH mẫu	Nồng độ đầu ( $\mu\text{g/mL}$ )	Hoạt tính gây độc tế bào $C_{\text{đầu}} = 40 \mu\text{g/ml}$ , chứng + tại $5 \mu\text{g/ml}$ , chứng – với DMSO		
			Giá trị CS (%) Dòng tế bào Hep-G2	Giá trị CS (%) Dòng tế bào LU-1	Kết quả
	DMSO	-	100	-	
	Đối chứng (+)	5			
1	Cao xạ đen	40	$66,8 \pm 1,4$	$84,89 \pm 0,2$	-
2	Xạ đen – n-Hexan	40	$0,26 \pm 0,1$	$89,19 \pm 1,4$	Hep-G2
3	Xạ đen – $\text{CHCl}_3$	40	0	$77,43 \pm 0,7$	-
4	Xạ đen - EtOAc	40	$18,54 \pm 0,8$	$98,07 \pm 0,6$	Hep-G2, LU-1
5	CXD - $\text{H}_2\text{O}$	40	$59,92 \pm 1,3$	$87,62 \pm 0,7$	-
6	XĐE1	40	-		-
7	XĐE2	40	0	$86,1 \pm 0,5$	Hep-G2
8	XĐE3	40	$68,45 \pm 1,8$	$76,32 \pm 2,2$	Hep-G2
9	XĐE4	40	$5,36 \pm 0,09$	$79,28 \pm 0,4$	Hep-G2, LU-1

Các mẫu xạ đen - n-Hexan, xạ đen - EtOAc, XĐE2, XĐE3 biểu hiện hoạt tính gây độc trên dòng tế bào ung thư Hep-G2 tại nồng độ thử nghiệm, xạ đen - EtOAc và XĐE4 thể hiện hoạt tính gây độc trên dòng tế bào ung thư Hep-G2, LU-1.

#### 5. Bàn luận

Kết quả khảo sát hoạt tính chống oxy hóa in vitro bằng phương pháp bắt giữ gốc tự do DPPH từ xạ đen thể hiện hoạt tính chống oxy hóa in vitro trung bình với giá trị SC50 lần lượt là  $56,08 \mu\text{g/mL}$ ,  $84,6 \mu\text{g/mL}$ ,  $85,2 \mu\text{g/mL}$ ,  $89,39 \mu\text{g/mL}$ ,  $198,94 \mu\text{g/mL}$ ,  $395,47 \mu\text{g/mL}$  và  $257,47 \mu\text{g/mL}$ . Kết quả là cơ sở để phát triển nghiên cứu hóa thực vật xạ đen theo định hướng tác dụng chống oxy hóa. Hoạt tính này phù hợp với tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ gan của cao chiết từ xạ đen. Phương trình hồi quy biểu diễn mối liên quan giữa nồng độ và hoạt tính chống oxy hóa in vitro của mẫu thử cùng giá trị EC50. Về hoạt tính độc tế bào in vitro, kết quả cho thấy, các cao phân đoạn xạ đen – n-Hexan, XĐE2, XĐE3 thể hiện hoạt tính độc tế bào HepG2, xạ đen – EtOAc, XĐE4 thể hiện hoạt tính độc tế bào HepG2 và LU-1.

Kết quả thu được từ đề tài gợi ý mối quan hệ giữa hoạt tính chống oxy hóa in vitro với hoạt tính độc tế bào ung thư gan HepG2: hoạt tính chống oxy hóa càng mạnh thì khả năng ức chế sự tăng trưởng của tế bào ung thư càng tốt. Những kết quả thu được

là tiền đề để tiến hành các nghiên cứu sâu hơn về thành phần hóa học theo định hướng tác dụng chống oxy hóa, độc tế bào ung thư gan của xạ đen và định hướng sử dụng bộ phận dùng thích hợp trong nghiên cứu, phát triển sản phẩm ứng dụng phòng và điều trị bệnh.

#### 6. Kết luận

Từ phần trên mặt đất của cây xạ đen (*Celastrus hindsii*) thu tại Quảng Trị, Việt Nam, xạ đen –  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , xạ đen – EtOAc và bốn hợp chất đã biết, hợp chất XĐE1 (Daucosterol), chất XĐE2 (Rutin), XĐE3 (Kaempferol 3- rutinoside), chất XĐE4 (Metyl caffeate) đã được phân lập và xác định cấu trúc. Các phân đoạn cận chiết và hai hợp chất đều thể hiện hoạt tính chống oxy hóa bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH. Ngoài ra, tất cả các phân đoạn và hai hợp chất đều thể hiện khả năng ức chế loài nấm *A. niger* với giá trị MIC  $200 \mu\text{g/mL}$ .

*Lời cảm ơn: Công trình được thực hiện dưới sự tài trợ của dự án: “Ứng dụng công nghệ sản xuất thực phẩm bảo vệ sức khỏe hỗ trợ gan từ an xoa, cà gai leo, linh chi, xạ đen”. Mã số: Số: 01/2023/ĐTCT ngày 29/12/2023. Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Quảng Trị.*

## Tài liệu tham khảo

- Vo, V. C., *Common Botanical Dictionary*, vol. 1, Publishing Scientific and Technical, 2003.
- Chi, V. V. (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, Nxb. Y học.
- M. Ramezani, M. S. Amiri, E. Zibae, Z. Boghrati, Z. Ayati, A. Sahebkar, and S. A. Emami, *A review on the phytochemistry, ethnobotanical uses and pharmacology of Borago species*, Current Pharmaceutical Design, vol. 26, no. 1, pp. 110-128, 2020.
- Pham, T. M. T.; Ngo, K.S. and Le, T. T. T., *Effects of medium composition on xa đen (Ehretia asperula Zoll. et Mor.) cell cultures*, Hue University Journal of Science, vol. 129, no. 1A, pp. 31-41, 2020.
- Le, T. T.; Tae, K.K.; Do, H. T., Nghiem, T. D; L. Wook-Bin, and H. J. Sang, *Protection against oxidative stress-induced retinal cell death by compounds isolated from Ehretia Asperula*, Natural Product Communications, vol. 16, no. 12, pp. 1-7, 2021.
- Hải, N. K. (2013), *Giáo trình mô đun trồng cây xạ đen*, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 146.
- Trung, L. T., Liêm, N. và Hanh, T. V. (1999), *Kết quả nghiên cứu bước đầu về chiết xuất K10 từ cây Celastrus hindsii Benth họ Celastreae. Kỹ yếu công trình nghiên cứu Y học quân sự*, Tạp chí Y dược học Quân sự, 3,
- Cường, N. H. (2008), *Nghiên cứu thành phần hóa học và thăm dò hoạt tính sinh học cây xạ đen (Celastrus hindsii Benth. and Hook.) và cây chùm rùm răng (Ehretia Dentata Courch.)*, (Luận án tiến sĩ).
- Nguyệt, V. T., Đạt, N. T., Hương, L. M., Hà, T. T. H., Chuyên, N. H., Hằng, N. T. và Kim, Đ. Đ. (2018). *Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các chất chiết từ thân cây xạ đen (Ehretia asperula Zoll. & Mor)*. Tạp chí Sinh học, 40(2), 145-152.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 28: 25-30 (1995).
- Kumar, G.P., Navyaa, K., Ramya, E.M., Venkataramana, M., Anand, T., Anilakumar, K.R. DNA damage protecting and free radical scavenging properties of Terminalia arjuna bark in PC-12 cells and plasmid DNA. *Free Rad. Antioxid.* 3: 35-39 (2013).
- Shela G., Olga, M. B., Elena, K., Antonin, L., Milan, C., Nuria, G. M., Ratiporn, H., Yong-Seo, P., Soon-Teck, J., and Simon, T. Bioactive compounds and antioxidant potential in fresh and dried Jaffa sweets, a new kind of citrus fruit *J. Nutri. Biolchem.*, 14, 154- 159 (2003).
- VLIETINCK, A.,J., Screening methods for detection and evaluation of biological activities of plant preparation, *Bioassay Methods in Natural Product reseach and Drug development*, Kluwer academic publishers, USA, 1998.
- VANDEN BERGHER, D.A., and VLIETINCK, Screening methods for Antibacterial and Ativiral Agent from Higher Plants, *Methods in Plant biochemistry*. Academic Press., USA, V . 6, 1991.
- MCKANE, L. & KANDEL J., *Microbiology*, McGraw-Hill, INC., 1996.
- Fabrice B., Robert A. T., Olympe T., Nathalie J., Hubert H., Philippe C., 2013. Antiproliferative and apoptotic effects of the oxidative dimerization product of methyl caffeate on human breast cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(2): 574-578.
- Machana S., Weerapreeyakul N., Barusrux S., Nonpunya A., Sripanidkulchai B., Thitimetharoh T., 2011. Cytotoxic and apoptotic effects of six herbal plants against the human hepatocarcinoma (HepG2) cell line, *Chin Med*, 6(1): 39.
- Momtaf M. H., Hamada R. G., 2010. Antioxidative Effects of Acetone Fraction and Vanillic Acid from Chenopodium murale L. on Tomato Plant. *Weed Biol. Manag*, 10: 64-72.
- Moridi F. M., Nazarianpoor E., Rustaie A., Akhbari M., 2017. Phytochemical constituents and biological activities of Cleome iberica DC. *Nat Prod Res.*, 31(11): 1329-1332.

**KHẢO SÁT HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA VÀ ĐỘC TẾ BÀO  
UNG THƯ GAN NGƯỜI HepG2 IN VITRO CỦA CÁC PHẦN ĐOẠN  
CÂY XẠ ĐEN (*Celastrus hindsii* Benth et Hook.)**

**Chu Quang Truyền<sup>a\*</sup>**      **Trần Ngọc Tuấn<sup>g</sup>**  
**Trần Văn Thanh<sup>b</sup>**      **Hà Mạnh Cường<sup>h</sup>**  
**Lê Hồng Mạnh<sup>c</sup>**      **Đặng Ngọc Phượng<sup>i</sup>**  
**Nguyễn Thị Thùy Trang<sup>d</sup>**      **Mai Đức Thăng<sup>j</sup>**  
**Đỗ Công Tuấn Nghĩa<sup>e</sup>**      **Cầm Thị Ính<sup>k\*</sup>**  
**Nguyễn Nhật<sup>f</sup>**

<sup>a, d, e, i</sup> Viện Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST)

<sup>b</sup> Khoa Dược, Đại học Trung Vương

<sup>c</sup> Viện Vật lý - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST)

<sup>f, g</sup> Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Quảng Trị

<sup>h, j</sup> Bệnh viện Y học cổ truyền Trung ương

<sup>k</sup> Viện Hóa học - VAST; Học viện Khoa học và Công nghệ

<sup>a</sup> Email: quangtruyen69@gmail.com

<sup>b</sup> Email: thanhtv63@gmail.com

<sup>e</sup> Email: lehongmanh@gmail.com

<sup>d</sup> Email: thuytrang600977@gmail.com

<sup>e</sup> Email: docongтуannghia@gmail.com

<sup>f</sup> Email: nguyennhatk45@gmail.com

<sup>g</sup> Email: tranngoctuanbkdn@gmail.com

<sup>h</sup> Email: hacuongyhn@gmail.com

<sup>i</sup> Email: phuongdn986@gmail.com

<sup>j</sup> Email: bsmaiducthang@gmail.com

<sup>k</sup> Email: camthiinh@gmail.com

Ngày nhận bài: 02/4/2025; Ngày phản biện: 25/4/2025; Ngày tác giả sửa: 15/5/2025;  
 Ngày duyệt đăng: 15/6/2025; Ngày phát hành: 30/6/2025.

DOI:

<https://doi.org/10.64223/tvj.p2025.v1.i2.a36>

<sup>b</sup>ORCID iD:

<https://orcid.org/0009-0007-6820-6573>

**Tóm tắt:**

**C**ây xạ đen (*Celastrus hindsii* Benth et Hook.) sinh sống và phát triển ở các vùng bán sơn địa, đồi núi thấp, có phạm vi phân bố khá rộng trong môi trường khắc nghiệt, khó khăn, nên tích lũy nhiều hoạt chất sinh học. Theo kinh nghiệm dân gian, đây là một dược liệu có tác dụng trong điều trị ung thư. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá tác dụng ức chế một số dòng tế bào ung thư và tác dụng chống oxy hóa của lá xạ đen (*Celastrus hindsii* Benth et Hook.). Mẫu lá xạ đen được chiết bằng ethanol 70% và tiến hành chiết phân đoạn lần lượt với *n*-hexane (Hex), diclometan (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), ethyl acetate (EtOAc). Tác dụng ức chế tế bào ung thư được thực hiện bằng phương pháp MTT (3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5 - diphenyltetrazolium) trên 2 dòng tế bào: ung thư gan Hep-G2, ung thư phổi LU-1. Tác dụng chống oxy hóa được tiến hành thông qua phương pháp quét gốc tự do DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Kết quả ức chế tế bào ung thư cho thấy, phân đoạn EtOAc có tác dụng gây độc tế bào ung thư gan, phổi so với các phân đoạn khác với IC50 lần lượt là 18,08 ± 0,8 µg /mL và 98,07 ± 0,6µg /mL, kết quả nghiên cứu này cho thấy, cao chiết lá xạ đen có tác dụng ức chế tế bào ung thư và chống oxy hóa cao. Nghiên cứu dược lý chứng minh xạ đen có chứa các thành phần rất đa dạng, nhưng có hợp chất Flavonoid là một loại chất chống oxy hóa có khả năng phòng ngừa u bướu hiệu quả, Saponin Triterpenoid có công dụng chống nhiễm khuẩn và Quinon có khả năng làm cho tế bào u bướu hóa lỏng và dễ tiêu.

Ngoài ra, đây là loại dược liệu trong y học còn được sử dụng để ngăn ngừa và triệt tiêu sự phát triển của khối u, bướu. Xạ đen còn có tác dụng giúp ổn định huyết áp, đặc biệt là huyết áp cao, hỗ trợ điều trị xơ gan,

---

men gan cao, viêm gan B. Giúp cơ thể thanh nhiệt và giải độc, hỗ trợ điều trị các bệnh viêm nhiễm, bệnh tiểu đường, máu nhiễm mỡ, dùng trong giảm đau, tăng sức đề kháng của cơ thể.

Ở Việt Nam, hiện có nhiều công trình nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học của loài này. Mục tiêu nghiên cứu là phân lập một số hợp chất theo hướng tác dụng chống oxy hóa bằng phương pháp DPPH, xác định hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định, thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào. Xạ đen được chiết ngấm kiệt với ethanol và tách phân đoạn. Từ cao ethyl acetat đã phân lập, xác định cấu trúc 4 hợp chất: hợp chất XĐE1 (Daucosterol), chất XĐE2 (Rutin), XĐE3 (Kaempferol 3- rutinoside), chất XĐE4 (Metyl caffeate). Kết quả nghiên cứu trên đã bổ sung thêm thông tin, góp phần nâng cao giá trị sử dụng và định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo trên loài này ở Việt Nam.

**Từ khóa:** Cây xạ đen; Hoạt tính chống oxy hóa; Hoạt tính độc tế bào; Tế bào HepG2.