

HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ GAN VÀ UNG THƯ PHỔI CỦA CAO CHIẾT CÂY LAN GẮM TẠI AN GIANG

Nguyễn Công Kha¹, Đỗ Thị Hồng Tươi², Nguyễn Lê Thanh Tuyền¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện đánh giá khả năng gây độc tế bào ung thư gan và ung thư phổi của cao chiết cây Lan gắm trong điều kiện phòng thí nghiệm. Cao chiết cây Lan gắm được thực hiện theo phương pháp ngâm dầm với dung môi cồn và nước, kết hợp sóng siêu âm. Tế bào ung thư gan và ung thư phổi sử dụng trong nghiên cứu là tế bào HepG2 và tế bào A549. Hiệu quả gây độc tế bào ung thư gan và ung thư phổi được xác định bằng phương pháp MTT [3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid]. Phương pháp MTT dựa trên phản ứng khử màu của MTT- 3-(4,5- Dimethylthiazol-2-yl)- 2,5- diphenyltetrazolium bromide, 1-tetrazol) có màu vàng thành formazan có màu tím trong ty thể của tế bào sống. Kết quả cho thấy, cao chiết cây Lan gắm bằng nước và cồn có khả năng gây độc tế bào ung thư gan HepG2 và ung thư phổi A549 nhưng tác dụng gây độc chưa cao. Cây Lan gắm từ vùng Thất Sơn có khả năng gây độc tế bào ung thư và là nguồn nguyên liệu cho quá trình sản xuất các sản phẩm có khả năng hỗ trợ và điều trị bệnh trong tương lai.

Từ khóa: Lan gắm, hoạt tính gây độc, ung thư gan, ung thư phổi

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cùng với sự phát triển của xã hội, hiện nay số người mắc bệnh ung thư ở Việt Nam cũng như trên thế giới ngày càng gia tăng. Bệnh ung thư đã trở thành một mối đe dọa cho sức khỏe cộng đồng, không loại trừ một ai trong xã hội. Việc nghiên cứu tìm ra các chất có khả năng điều trị căn bệnh ung thư, cũng như ngăn cản sự phát triển của các tế bào ung thư làm tăng thời gian sống cho bệnh nhân luôn được các nhà khoa học trong nước và thế giới quan tâm nghiên cứu. Đến nay, đã có nhiều hoạt chất chống ung thư có nguồn gốc tự nhiên đã được khám phá ra và đưa vào sử dụng trên lâm sàng như paclitaxel, vinblastin và vincristin, camptothecin,... (Nguyễn Thị Ngọc Trâm và *ctv.*, 2011). Tế bào ung thư gan HepG2 là một dòng tế bào bắt từ bao gồm các tế bào ung thư biểu mô gan ở người, xuất phát từ mô gan của một nam giới da trắng 15 tuổi. Tế bào ung thư phổi A549 là dòng tế bào ung thư khối u ở phổi và được phân lập từ phổi bị ung thư của bệnh nhân nam 58 tuổi và thường được dùng trong nghiên cứu ung thư và phát triển các loại thuốc điều trị ung thư. Xu hướng trên thế giới và Việt Nam hiện nay là nghiên cứu sử dụng các sản phẩm tiềm năng từ tự nhiên có khả năng gây độc các tế bào ung thư nhưng ít tác dụng phụ, để tìm và nguồn cung cấp phong phú. Nhóm Lan gắm (*Jewel orchid*) gồm có 04 loài khác nhau như *Anoectochilus* spp., *Goodyera* spp., *Ludisia* spp. và *Macodes* spp. (Hayden, 2016). Nhóm Lan gắm (*Jewel orchid*) là một loại thảo dược quý hiếm và chứa nhiều hoạt tính sinh học như flavonoid, phenolic, polysaccharide và kinsenoside là hợp chất đầy tiềm năng và đầy hứa hẹn trong hỗ

trợ và điều trị bệnh trong những năm trở lại đây của cây Lan gắm (Qi *et al.*, 2018). Các hợp chất này của cây Lan gắm được sử dụng để chống oxy hóa khuẩn, virus, bệnh tim mạch, bệnh thoái hóa thần kinh, ung thư và các bệnh liên quan tới lão hóa (Harleen *et al.*, 2011); có tác dụng chống ung thư, giảm đường trong máu, ngăn ngừa thoái hóa tế bào, giải độc cơ thể (Nguyễn Văn Bình và *ctv.*, 2018) và bảo vệ gan, chống tăng mỡ máu, chống viêm, bảo vệ mạch máu và chống loãng xương. An Giang là một tỉnh thuộc vùng Đồng bằng sông Cửu long, được thiên nhiên ban tặng có vùng Thất Sơn chứa rất nhiều cây dược liệu đa dạng và phong phú. Theo điều tra của Trung tâm Sâm và Dược liệu Thành phố Hồ Chí Minh và Trung tâm Công nghệ Sinh học An Giang thu thập được khoảng 2 - 4 giống cây Lan Gắm tại vùng Núi Cấm, An Giang. Các giống Lan gắm thu thập tại vùng Thất Sơn, An Giang cho kết quả phân tích hình thái học và sinh học phân tử (vùng trình tự ITS) thuộc loài *Ludisia* spp. Để góp phần nâng cao giá trị dược liệu cây Lan gắm, nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng gây độc tế bào ung thư gan và phổi, góp phần tạo nguồn nguyên liệu cho quá trình sản xuất các sản phẩm có khả năng hỗ trợ và điều trị bệnh.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây Lan gắm (*Ludisia discolor* MK451745.1) thu thập tại xã Cô Tô, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang. Dòng tế bào ung thư gan (tế bào HepG2) và tế bào ung thư phổi (tế bào A549) được cung cấp từ Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

¹Trung tâm Công nghệ Sinh học tỉnh An Giang; ²Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tạo cao chiết cây Lan gấm

Cây Lan gấm (*Lusidia discolor* MK451745.1) thu thập tại xã Cô Tô, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang và lưu giữ tại Trung tâm Công nghệ Sinh học tỉnh An Giang (sau 4 tháng chăm sóc). Toàn bộ phận của cây Lan gấm (thân, lá và rễ) thu thập, rửa sạch và sấy khô ở nhiệt độ 50°C trong 96 giờ và nghiền thành bột mịn. 300 g bột Lan gấm khô được chiết với ethanol 80% và nước cất theo tỷ lệ nguyên liệu và dung môi là 1:10 (w/v), kết hợp với sóng siêu âm 12 giờ, ngâm trong 72 giờ và để trong tối để tránh oxy hóa. Sau 72 giờ, hỗn hợp được ly tâm 5.000 vòng/phút trong 20 phút, thu phần dịch và bỏ phần bã. Phần dịch lọc qua giấy lọc Whatman 0,45 µm, thu dịch lọc và tiến hành cô quay chân không ở nhiệt độ 50°C và đông khô bằng máy đông khô chân không để thu cao chiết Lan gấm. Cao Lan gấm nước và cồn không bổ sung thêm chất bảo quản và được trữ ở nhiệt độ -4°C và thực hiện thí nghiệm.

2.2.2. Khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư phổi và ung thư gan in vitro

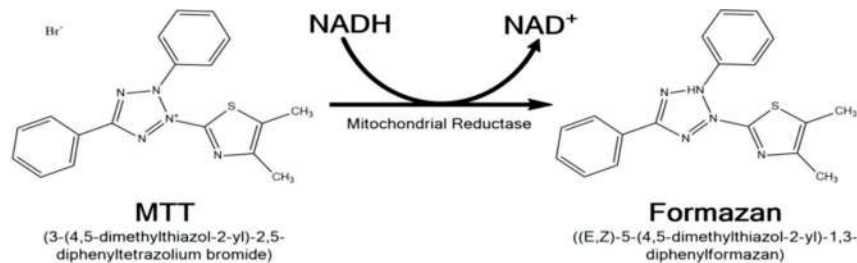
Chuẩn bị mẫu thử: mẫu thử được hòa tan trong DMSO thành các dung dịch mẹ có nồng độ 10 mg/mL. Các dung dịch mẹ được bảo quản ở -20°C, rã đông và pha loãng trong môi trường nuôi cấy để đạt các nồng độ khảo sát trước khi xử lý tế bào.

Tủ an toàn sinh học được chiếu UV trong 30 phút, các dụng cụ được hấp tiệt trùng ở nhiệt độ 121°C

trong 30 phút trước khi sử dụng. Tất cả hóa chất, dụng cụ đều phải được xít cồn trước khi đưa vào tủ an toàn sinh học. Các hóa chất, thuốc thử được chuẩn bị trong tủ an toàn sinh học, lọc vô trùng qua màng lọc 0,22 µm hoặc chiếu UV trong 60 phút trước khi sử dụng.

Tế bào được nuôi trong môi trường MEM (tế bào HepG2) hoặc DMEM/F12 (tế bào A549), bổ sung 10% huyết thanh bào thai bê (FCS), 2 mM L-glutamin, 100 IU/mL penicilin, 100 µM streptomycin và ủ ở 37°C, 5% CO₂ trong bình nuôi cấy. Khi độ phủ đáy bình nuôi cấy của tế bào đạt khoảng 70 - 80%, thu và đếm số lượng tế bào sống, cho tế bào vào đĩa nuôi cấy 96 giếng với mật độ thích hợp. Ủ tế bào ở 37°C, 5% CO₂ trong 18 - 24 giờ để tế bào bám lên bề mặt đĩa nuôi cấy và phát triển ổn định. Xử lý tế bào với các mẫu thử ở các nồng độ khác nhau (100, 50, 25, 12,5 µg/mL) trong 72 giờ, nồng độ cuối cùng của dung môi pha mẫu DMSO trong môi trường nuôi cấy là 1% (v/v). Mẫu đối chứng âm (môi trường nuôi cấy chứa DMSO 1%) được tiến hành đồng thời. Sau 72 giờ, tiến hành đánh giá tỷ lệ tế bào sống bằng phương pháp MTT.

Nguyên tắc: Tỷ lệ sống của tế bào được xác định dựa trên hoạt tính của enzym succinat dehydrogenase (SDH) trong ty thể của tế bào sống. Enzym này chuyển MTT thành tinh thể formazan có màu tím, tan trong dung môi hữu cơ như isopropanol. Tỷ lệ tế bào sống được tính dựa trên OD đo ở 570 nm (Wan *et al.*, 2011).



Hình 1. Cơ chế của phản ứng của phương pháp MTT

Tế bào sau khi xử lý với các mẫu thử, được loại bỏ môi trường nuôi cấy, bổ sung môi trường không huyết thanh chứa 0,5 mg/mL thuốc thử MTT. Ủ tế bào ở 37°C, 5% CO₂ để tạo thành các tinh thể formazan. Sau 3 giờ, đổ bỏ môi trường chứa MTT, thấm khô, hòa tan tinh thể formazan trong dung dịch isopropanol acid hóa (HCl 0,1%), lắc rung ở nhiệt độ phòng đến khi các tinh thể tan hoàn toàn, đo OD ở bước sóng 570 nm. Tính kết quả: % ức chế so với mẫu chứng = 100 - (OD mẫu thử/OD mẫu chứng) × 100.

2.2.3. Phương pháp thống kê

Các số liệu thí nghiệm xử lý bằng phần mềm Excel, thống kê bằng phương pháp Statgraphics plus 16.0 và trình bày dạng trung bình.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 5 đến tháng 11 năm 2020 tại Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái, phân bố, thành phần hóa học trong các bộ phận của cây Lan gấm

Cây Lan gấm (*Lusidia discolor* MK451745.1) thu thập tại xã Cô Tô, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang với độ cao khoảng 500 - 614 m. Cây Lan gấm ưa ẩm và mọc ở nơi có bóng râm trên các tầng đá hoặc trên mặt đất.

Hình thái của thân, rễ, lá và hoa của các giống Lan gấm thu thập tỉnh An Giang có những đặc điểm như sau: (i) Hoa có màu trắng; có 05 cánh hoa và nhị có màu vàng nhạt; (ii) lá có hình dạng oval hoặc trái xoan; (iii) màu sắc lá có 03 màu khác nhau như lá có màu nâu với các đường gân (03 - 05 gân) màu cam hoặc đỏ; lá có màu xanh nhạt với những đường gân (03 - 05 đường gân) màu vàng và lá có màu xanh đậm với 03 - 05 gân lá; lá có bẹ và bẹ lá bao bọc quanh thân. Màu sắc lá tùy thuộc và ánh sáng và ẩm độ của môi trường mà có sự khác biệt; (iv) thân có màu xanh trắng, đôi khi có màu nâu đỏ, thường nhẵn và không phủ lông, thân có mạng nước và đường kính mm và chiều cao mm; (v) rễ được mọc ra từ các mấu trên thân của cây, đôi khi rễ cũng được hình thành từ thân khí sinh (Hình 2).



Hình 2. Mẫu Lan gấm *Lusidia discolor* MK451745.1 thu thập vùng Thất Sơn, tỉnh An Giang

Mẫu Lan gấm thu thập tại xã Cô Tô, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang cho kết quả tương đồng với mẫu Lan gấm *Lusidia discolor* MK451745.1 với độ tương đồng 99,84%. Cao chiết nước và ethanol của cây Lan gấm có chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học như alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, tannin và phenol. Tiến hành phân tích một số thành phần hoạt chất chính cây Lan gấm bằng phương pháp quang phổ và HPLC cho thấy, cây Lan gấm *Lusidia discolor* MK451745.1 có chứa các hoạt chất có hoạt tính sinh học như phenolic (55,17 mg gallic acid/g), flavonoid (724,58 mg quercetin/g), polysaccharide (93,25 mg GE/g) và kinsenoside (62,75 mg/g trọng lượng khô) (Bảng 1) (Nguyễn Công Kha và *ctv.*, 2019). Hợp chất thuộc nhóm

flavonoid và polysaccharide có tiềm năng trong điều trị ung thư gan. Trong khi đó, hợp chất kinsenoside vừa có tiềm năng kháng tế bào ung thư phổi và vừa có tác dụng bảo vệ gan (Yu *et al.*, 2017).

Bảng 1. Kết quả phân tích hoạt chất sinh học trong cao chiết Lan gấm.

Hoạt chất	Hàm lượng hoạt chất
Hàm lượng phenolic	55,17 mg gallic acid/g
Hàm lượng flavonoid	724,58 mg quercetin/g
Hàm lượng polysaccharide	93,25 mg GE/g
Hàm lượng kinsenoside	62,75 mg/g trọng lượng khô

3.2. Kết quả tạo cao chiết cây Lan gấm

Quy trình trích cao chiết với nguyên liệu là 300 gram (khô). Độ ẩm của cây Lan gấm là 81,19% (Bảng 2). Hiệu suất chiết cao nước và ethanol của cây Lan gấm đạt lần lượt là 6,62% và 5,06%. Quá trình tạo cao chiết từ các loại dung môi khác nhau cho hiệu suất trích ly khác nhau, nguyên nhân là do nếu sử dụng nước làm loại dung môi để ly trích thì mẫu trích nhiễm nhiều tạp chất như các acid hữu cơ, đường và protein tan trong nước ảnh hưởng tới quá trình định tính hay định lượng các hợp chất thiên nhiên. Ngoài ra, nếu sử dụng cồn tuyệt đối sẽ giảm hiệu suất chiết cao do ethanol khó thấm vào mẫu. Vì vậy, việc sử dụng ethanol 80% làm dung môi sẽ tạo một môi trường tối ưu cho việc li trích, tăng sự tiếp xúc mẫu và dung môi, tăng hiệu suất trích ly và bảo quản mẫu khỏi các vi sinh vật (Bandar *et al.*, 2013).

Bảng 2. Kết quả phân tích độ ẩm, hiệu suất trích cao của cây Lan gấm

Chỉ tiêu theo dõi	Cao chiết nước	Cao chiết ethanol
Khối lượng mẫu tươi (g)	2.000	2.000
Độ ẩm (%)	80,19	80,19
Khối lượng mẫu khô (g)	300	300
Khối lượng cao khô (g)	19,87	15,18
Hiệu suất chiết (%)	6,62	5,06

3.3. Khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư phổi *in vitro*

Tác dụng gây độc tế bào ung thư phổi A549 của cao thử Lan gấm cồn và Lan gấm nước sau 72 giờ xử lý được trình bày trong bảng 1. Kết quả cho thấy khi xử lý tế bào trong 72 giờ, cao thử Lan gấm cồn và Lan gấm nước thể hiện tác động ức chế tăng trưởng đối với tế bào ung thư phổi A549 yếu, tỷ lệ ức chế tăng trưởng tế bào A549 ở nồng độ 100 µg/mL thấp

(< 10%). Cụ thể, cao chiết Lan gấm bằng cồn cho hiệu quả ức chế tế bào ung thư phổi A549 ở nồng độ 50 và 100 µg/mL cho hiệu quả ức chế đạt lần lượt là 7,14% và 2,73%. Trong khi đó, cao chiết Lan gấm cồn ở nồng độ 25 và 12,5 µg/mL không cho hiệu quả ức chế tế bào ung thư phổi A549 (Bảng 3).

Cao chiết Lan gấm bằng nước cho hiệu quả ức chế tế bào ung thư phổi A549 ở nồng độ 50 và 100 µg/mL đạt hiệu quả lần lượt là 9,44% và 3,96%. Trong khi đó, cao chiết Lan gấm bằng nước ở nồng độ 25 µg/mL cho hiệu quả ức chế tế bào ung thư phổi A549 đạt 1,66%. Ở nồng độ cao chiết Lan gấm bằng nước 12,5 µg/mL không có hiệu quả gây độc tế bào ung thư phổi A549 (Bảng 3).

Bảng 3. Tác động của cao Lan gấm lên tỷ lệ sống của tế bào ung thư phổi A549

Tế bào A549	Tỷ lệ ức chế (%)			
	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL	12,5 µg/mL
Lan gấm cồn	6,59	3,05	-1,85	-3,46
	6,94	2,18	-1,69	-4,60
	7,89	2,95	-0,40	-4,07
Trung bình	7,14 ± 0,67	2,73 ± 0,48		
Lan gấm nước	9,08	3,78	1,53	-11,41
	9,35	3,23	1,85	-10,73
	9,89	4,86	1,59	-10,45
Trung bình	9,44 ± 0,41	3,96 ± 0,83	1,66 ± 0,17	

Kết quả nghiên cứu cao chiết Lan gấm nước và cồn có khả năng kháng tế bào ung thư phổi A549. Kết quả nghiên cứu này thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Le Dinh Chac và cộng tác viên (2021), cao chiết Lan gấm *Anoectochilus setaceus* Blume có chứa các hoạt chất quercetin, isorhamnetin ferulic acid và có khả năng kháng tế bào ung thư phổi A549 với giá trị IC₅₀ đạt 14,85 µg/mL. Hơn nữa, Yu và cộng tác viên (2017) tinh sạch hợp chất polysaccharide từ cây Lan gấm *Anoectochilus roxburghii* (wall.) Lindl có khả năng kháng tế bào ung thư phổi A549 với giá trị IC₅₀ đạt 15,12 µmol/mL (sau 48 giờ) và giá trị IC₅₀ đạt 11,34 µmol/mL (sau 48 giờ).

3.4. Khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư gan in vitro

Tác dụng của cao thủ Lan gấm cồn và Lan gấm nước sau 72 giờ tiếp xúc lên tỷ lệ sống của tế bào ung thư gan HepG2 được trình bày trong bảng 4. Ở các nồng độ cao chiết Lan gấm bằng cồn và nước

khảo sát đều có khả năng gây độc tế bào ung thư gan HepG2 nhưng tác động gây độc chưa mạnh. Cụ thể, cao chiết Lan gấm bằng cồn cho hiệu quả ức chế tế bào ung thư gan HepG2 ở nồng độ 25, 50 và 100 µg/mL đạt hiệu quả lần lượt là 14,70%; 14,84 và 14,71% và không có sự khác biệt giữa các mức nồng độ khảo sát. Trong khi đó, cao chiết Lan gấm cồn ở nồng độ 12,5 µg/mL cho hiệu quả ức chế tế bào ung thư gan HepG2 thấp hơn chỉ đạt 4,14% (Bảng 4).

Bảng 4. Tác động của cao Lan gấm lên tỷ lệ sống của tế bào ung thư gan HepG2

Tế bào HepG	Tỷ lệ ức chế (%)			
	100 µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL	12,5 µg/mL
Lan gấm cồn	14,48	13,93	14,07	3,28
	15,16	15,16	15,29	3,65
	14,48	15,42	14,75	5,50
Trung bình	14,71 ± 0,39	14,84 ± 0,80	14,70 ± 0,61	4,14 ± 1,19
Lan gấm nước	9,00	5,81	8,27	2,32
	10,78	6,32	8,62	1,44
	10,16	5,08	8,13	1,02
Trung bình	9,98 ± 0,90	5,74 ± 0,62	8,34 ± 0,25	1,59 ± 0,66

Cao chiết Lan gấm bằng nước cho hiệu quả ức chế tế bào ung thư gan HepG2 ở nồng độ 50 và 100 µg/mL đạt hiệu quả lần lượt là 5,74% và 9,98%. Trong khi đó, cao chiết Lan gấm bằng nước ở nồng độ 25 µg/mL cho hiệu quả ức chế tế bào ung thư gan HepG2 đạt 8,34%. Ở nồng độ cao chiết Lan gấm bằng nước là 12,5 µg/mL cho hiệu quả gây độc tế bào ung thư gan HepG2 thấp hơn, chỉ đạt 1,59% (Bảng 4).

Kết quả nghiên cứu cao chiết lan gấm nước và cồn có khả năng kháng tế bào ung thư gan HepG2. Theo Yu và cộng tác viên (2017), tinh sạch hợp chất polysaccharide từ cây Lan gấm *Anoectochilus roxburghii* (wall.) Lindl có khả năng kháng tế bào ung thư phổi gan HepG2 với giá trị IC₅₀ đạt 35,22 µmol/mL (sau 48 giờ) và giá trị IC₅₀ đạt 33,67 µmol/mL (sau 48 giờ).

IV. KẾT LUẬN

Cây Lan gấm thu thập tại xã Cô Tô, huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang có đặc điểm hình thái học và trình tự gene tương đồng giống Lan gấm (*Lusidia discolor* MK451745.1). Cây Lan gấm có chứa các hoạt chất như phenolic (55,17 mg gallic acid/g), flavonoid (724,58 mg quercetin/g), polysaccharide (93,25 mg GE/g)

và kinsenoside (62,75 mg/g trọng lượng khô). Độ ẩm của cây Lan gấm là 81,19%, hiệu suất chiết cao nước và ethanol của cây Lan gấm đạt 6,62% và 5,06%. Cao chiết Lan gấm bằng nước ở nồng độ 100 µg/mL cho hiệu quả ức chế tế bào ung thư gan HepG2 và ung thư phổi A549 đạt hiệu quả 9,98% và 9,44%. Cao chiết Lan gấm bằng cồn ở nồng độ 50-100 µg/mL cho hiệu quả ức chế tế bào ung thư gan HepG2 và ung thư phổi A549 đạt hiệu quả 14,84% và 7,14%.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả chân thành cảm ơn Trung tâm Công nghệ sinh học An Giang và Trường Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện và hỗ trợ nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Văn Bình, Phạm Thị Phương, Nguyễn Tá Lợi,** 2018. Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly hàm lượng polysaccharide toàn phần trong nấm linh chi đỏ. *Tạp chí khoa học và Công nghệ*, Đại học Thái nguyên, 180 (04): 3-8.
- Nguyễn Công Kha, Nguyễn Phạm Tuấn, Lâm Bảo Như Phương, Nguyễn Phạm Tú,** 2019. Phân tích hàm lượng flavonoid, phenolic, polysaccharide và kinsenoside của cây lan gấm thu thập ở vùng Thất sơn, An Giang và tỉnh Lâm Đồng. Kỷ yếu Hội nghị Công nghệ sinh học Toàn quốc năm 2019.
- Nguyễn Thị Ngọc Trâm, Kamenarka Z., Bankova V., Popov S., Zvetkova E. và Lê Mai Hương,** 2011. Hoạt tính gây độc tế bào của các phân đoạn Alcoloid từ cây Trinh nữ hoàng cung (*Crium latifolium*). *Tạp chí Dược học*, số 11: 21-23.

- Bandar, H., Hijazi, A., Rammal, H., Hach, A., Saad, Z. and Badran, B.** 2013. Techniques for the extraction of bioactive compounds from Lebanese *Urtica Dioica*. *American J. of Phytomedicine and C. Therapeutics*, 6: 507-513.
- Harleen, K.S., K. Bimlesh, P. Sunil, T. Prashant, S. Manoj, S. Pardeep.** 2011. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale pharmaceuticasciencia*, 1(1).
- Hayden W.J.,** 2016. Jewels of the Orchidaceae. *Sempervirens Quarterly*, Fall 2016: 6-7.
- Le Dinh Chac, Bui Bao Thinh, Nguyen Thi Yen.** 2021. Anti-cancer activity of dry extract of *Anoectochilus setaceus* Blume against BT474 breast cancer cell line and A549 lung cancer cell line. *Research J. Pharm. and Tech.* 14 (2): 730-734.
- Qi C.X., Q. Zhou, Z. Yuan, Z.W Luo, C. Dai, H.C. Zhu,** 2018. Kinsenoside: A Promising Bioactive Compound from *Anoectochilus* Species. *Curent Medical Science*, 38 (1): 11-18.
- Nguyen Van Ket, Hahn E.J., Park S.Y., Chakrabarty D., Paek K.Y.,** 2004. Micropropagation of an endangered orchid *Anoectochilus formosanus*. *Biologia Plantarum*, 48(3): 339-344.
- Wan, C., Yanying, Y., Shouran, Z., Wei, L., Shuge, T. and Shuwen, C.,** 2011. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of *Gynura divaricate* leaf extracts at different temperatures. *Pharmacognosy Magazine*, 7 (25): 40-45.
- Yu, X., Lin, S., Zhang, J., Huang, L., Li, S.,** 2017. Purification of polysaccharide from artificially cultivated *Anoectochilus roxburghii* (wall.) Lindl. by high-speed counter current chromatography and its antitumor activity. *Journal of Separation Science*, 40(22): 4338-4346.

Cytotoxicity activity of *Lusidia discolor* extract against lung and liver cancer cells in An Giang

Nguyen Cong Kha, Do Thi Hong Tuoi, Nguyen Le Thanh Tuyen

Abstract

The study was conducted to evaluate the cytotoxicity of liver and lung cancer cells from *Lusidia discolor* extract under laboratory conditions. *Lusidia discolor* extract were made by the method of soaking with alcohol and aqueous solvent combined with ultrasonic waves. Liver cancer and lung cancer cells used in the study were HepG2 cells and A549 cells. The cytotoxic effect of liver cancer cells and lung cancer cells was determined by MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromid)] method. The method of MTT is based on the reduction of a yellow tetrazolium salt (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide or MTT) to purple formazan crystals by the mitochondria of cells. The results showed that the *Lusidia discolor* extract with aqueous and alcohol has the ability to cause cytotoxicity of liver and lung cancer, but the toxic effect is not high. The *Lusidia discolor* from That Son region having ability to cause cytotoxicity to cancer cells and can be used as a source of raw materials for the production of products capable of supporting and treating diseases in the future.

Keywords: *Lusidia discolor*, Cytotoxicity activity, lung cancer, liver cancer

Ngày nhận bài: 28/4/2021
Ngày phản biện: 11/5/2021

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Huy Sơn
Ngày duyệt đăng: 04/6/2021

ẢNH HƯỞNG CỦA GIẢM LƯỢNG THỨC ĂN LÊN TĂNG TRƯỞNG VÀ TỶ LỆ SỐNG CỦA ẤU TRÙNG VÀ HẬU ẤU TRÙNG TÔM CÀNG XANH (*Macrobrachium rosenbergii*) ÁP DỤNG CÔNG NGHỆ BIOFLOC VÀ KHÔNG BIOFLOC

Trần Ngọc Hải¹, Phạm Minh Truyền²,
Nguyễn Văn Hòa¹, Châu Tài Tảo¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm giảm lượng thức ăn thích hợp cho tăng trưởng, tỷ lệ sống và năng suất của ấu trùng và hậu ấu trùng tôm càng xanh. Thí nghiệm gồm 8 nghiệm thức là (1) Cho ăn bình thường, không tạo biofloc; (2) Giảm 20% lượng thức ăn, không tạo biofloc, (3) Giảm 40% lượng thức ăn, không tạo biofloc (4) Giảm 60% lượng thức ăn, không tạo biofloc (5) Cho ăn bình thường có tạo biofloc, (6) Giảm 20% lượng thức ăn, có tạo biofloc (7) Giảm 40% lượng thức ăn, có tạo biofloc, và (8) Giảm 60% lượng thức ăn, có tạo biofloc. Bể ương ấu trùng có thể tích 250 lít, mật độ ương 60 con/L, độ mặn 12‰. Kết quả nghiên cứu cho thấy PL-15 ở nghiệm thức giảm 20% lượng thức ăn, có tạo biofloc tăng trưởng về chiều dài ($11,0 \pm 0,7$ mm) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức cho ăn bình thường không tạo biofloc, nhưng tỷ lệ sống ($48,0 \pm 3,3$ %) và năng suất (28.801 ± 1.989 con/m³) khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) so với nghiệm thức cho ăn bình thường không tạo biofloc. Vì vậy có thể kết luận rằng, giảm 20% lượng thức ăn trong ương ấu trùng tôm càng xanh bằng công nghệ biofloc là tốt nhất để giúp tối ưu chi phí sản xuất.

Từ khóa: Ấu trùng tôm càng xanh, biofloc, giảm lượng thức ăn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tôm càng xanh là đối tượng được nuôi phổ biến ở Việt Nam. Những năm gần đây phát triển nuôi rất mạnh với mô hình tôm lúa vùng nước lợ do đó nhu cầu con giống rất lớn. Tuy nhiên, con giống và chất lượng giống không đảm bảo. Để tìm được giải pháp cho nghề sản xuất giống tôm càng xanh theo hướng an toàn sinh học thì việc ứng dụng công nghệ biofloc trong ương ấu trùng tôm càng xanh để tạo ra con giống chất lượng cao phục vụ cho nghề nuôi là rất cần thiết. Theo McIntosh và cộng tác viên (2000) biofloc có vai trò quan trọng trong việc ổn định môi trường nước, an toàn sinh học, ngăn ngừa mầm bệnh, làm thức ăn trực tiếp cho tôm, tăng cường dưỡng chất tự nhiên. Cho đến nay đã có các công trình ương ấu trùng tôm càng xanh bằng công nghệ biofloc (Trần Ngọc Hải và *ctv.*, 2019; Phạm Minh Truyền và *ctv.*, 2020; Lê Thanh Nghị và *ctv.*, 2020). Theo Loureiro và cộng tác viên (2012), Ray và cộng tác viên (2010) cho rằng đã xác định được hạt biofloc trong ống tiêu hóa của ấu trùng tôm càng xanh khi ương bằng công nghệ biofloc, nên nghiên cứu giảm lượng thức ăn tăng trưởng, tỷ lệ sống và năng suất của hậu ấu trùng tôm càng xanh được thực hiện nhằm giảm chi phí để ứng dụng vào thực tế sản xuất.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Nguồn nước thí nghiệm

Nguồn nước thí nghiệm được pha từ nguồn nước ót có độ mặn 80‰ và nguồn nước máy thành phố để có được độ mặn 12‰, xử lý bằng chlorine với nồng độ 50 ppm, sục khí mạnh từ 2 - 3 ngày cho hết lượng chlorine trong nước, sử dụng sodium bicarbonate nâng độ kiềm lên 120 mg CaCO₃/L (Châu Tài Tảo và Trần Minh Phú, 2015) rồi bơm vào bể ương qua thiết bị lọc 1µm trước khi bố trí ấu trùng.

2.1.2. Nguồn ấu trùng tôm càng xanh

Nguồn ấu trùng được thu từ tôm càng xanh mẹ mang trứng màu xám đen, chất lượng tốt, khỏe mạnh, kích cỡ từ 40 - 60 g/con, màu sắc tự nhiên cho nở trong bể 500 lít, độ mặn 12‰. Sau khi trứng nở thành ấu trùng, chọn ấu trùng khỏe có tính hướng quang mạnh rồi định lượng bố trí vào bể ương.

2.1.3. Tạo biofloc

Biofloc được tạo bằng nguồn cacbon từ đường cát (Biên Hòa Pure) có 55,54% C (Lê Thanh Nghị và *ctv.*, 2020), tỷ lệ C/N = 17,5 (Phạm Minh Truyền và *ctv.*, 2020). Đường cát hòa vào nước ấm 60°C, khuấy đều, và ủ trong 48 giờ trước khi cho vào bể ương tôm. Phương thức bổ sung đường cát dựa theo lượng thức

¹ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ; ² Nghiên cứu sinh Nuôi trồng thủy sản Khóa 2017