

Chiết xuất và đánh giá hoạt tính kháng ung thư của thân rễ Ngải tím (*Kaempferia parviflora*) ở vùng Thất Sơn - An Giang

Hồ Thị Thạch Thúy¹, Lê Thị Tường Vi²,
 Đặng Thị Lệ Thủy¹, Lý Hồng Hương Hạ¹ và Phạm Cảnh Em^{1*}

¹Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

²Bệnh viện Nhi đồng thành phố

TÓM TẮT

Kaempferia parviflora Wall. Ex Baker được biết đến là gừng đen hay ở Việt Nam gọi là Ngải tím, là một loại cây nổi tiếng thuộc họ Zingiberaceae, được dân gian dùng chữa đau bụng, nhuận tràng, vết thương và tiêu chảy. *Kaempferia parviflora* đã được chứng minh có một số tác dụng dược lý bao gồm chống co thắt, kháng nấm, kháng khuẩn và kháng ung thư. Trong nghiên cứu này, mục đích là khảo sát hàm lượng phenolic tổng (TPC) và hàm lượng flavonoid tổng (TFC) cũng như đánh giá hoạt tính kháng ung thư in vitro của cao chiết Ngải tím tại vùng Thất Sơn - An Giang với các dung môi chiết xuất khác nhau bằng phương pháp thông thường. Kết quả cho thấy cao chiết ethanol cho hiệu suất chiết tốt (18.39%) cũng như hàm lượng TPC (82.06 mg GAE/g) và TFC (70.95 mg QE/g) cao so với các cao chiết khác. Đặc biệt, cao chiết ethanol còn thể hiện hoạt tính kháng ung thư in vitro tốt trên các dòng tế bào MCF7, T47D, SKOV3, TOV-21G và Hela với giá trị IC₅₀ nằm trong khoảng từ 31.67 đến 518.06 µg/mL so với thuốc đối chứng paclitaxel (IC₅₀ = 0.12-5.38 µg/mL). Do đó, những phát hiện này cung cấp bằng chứng về hoạt tính kháng ung thư của cao chiết ethanol *Kaempferia parviflora* trên các dòng tế bào ung thư vú, cổ tử cung và buồng trứng, đồng thời gợi ý khả năng sử dụng cao chiết như một phương pháp thay thế để phòng ngừa và điều trị ung thư ở phụ nữ.

Từ khóa: *Kaempferia parviflora*, hàm lượng phenolic, hàm lượng flavonoid, kháng ung thư

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư là một căn bệnh nguy hiểm và ảnh hưởng lớn đối với sức khỏe con người vì tỷ lệ mắc bệnh và tử vong cao. Ung thư là nguyên nhân gây ra 9.6 triệu ca tử vong trên toàn thế giới chỉ đứng sau tỷ lệ tử vong do bệnh tim mạch [1]. Mặc dù những tiến bộ trong y học gần đây để điều trị ung thư bằng liệu pháp cá thể hóa và liệu pháp miễn dịch nhưng tỷ lệ sống sót không được cải thiện đáng kể. Tình trạng kháng thuốc ung thư là trở ngại lớn cho sự thất bại của các liệu pháp trị liệu hiện nay. Các nghiên cứu khác nhau đã cho thấy tác động của bệnh ung thư thực sự là gánh nặng lớn ở các nước thu nhập thấp hoặc trung bình vì có ít nguồn lực cho chuẩn đoán và xác định mục tiêu điều trị [2]. Do đó, phương pháp điều trị mới và hiệu quả cần được khám phá để giải quyết vấn đề này.

Hiện nay, các hoạt chất điều trị ung thư có nguồn gốc tự nhiên đã được quan tâm nghiên cứu rộng

rãi. *Kaempferia*, một chi thuộc họ Zingiberaceae, là một trong những chi thực vật ở vùng nhiệt đới với các loài điển hình là *Kaempferia galanga*, *Kaempferia parviflora*, *Kaempferia rotunda* và *Kaempferia augustiflora*,... được sử dụng phổ biến làm thuốc cổ truyền chữa nhiều bệnh khác nhau. Nghiên cứu về thành phần hóa học của cây thuộc chi *Kaempferia* cho thấy sự hiện diện của các hoạt chất tự nhiên như monoterpenoid, diterpenoid, flavonoid, phenolic glycosid, dẫn xuất cyclohexan oxid, diarylheptanoid và tinh dầu với hoạt tính dược lý đa dạng [3]. Chính vì thế, cây thuộc chi *Kaempferia* đã trở thành một nguồn dược liệu quý cho các ứng dụng điều trị mới có nguồn gốc tự nhiên cho con người. Đặc biệt, gừng đen hay Ngải tím (*Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker) được biết đến như một loại thảo mộc phổ biến được dùng để tăng cường sức khỏe và được dân gian sử

Tác giả liên hệ: ThS. Phạm Cảnh Em

Email: empc@hiu.vn

dụng như một loại thuốc để điều trị nhiều loại bệnh gồm nhiễm trùng, xơ gan, giảm đau, tăng đường huyết, ung thư, ho và rối loạn tiêu hóa. Ngải tím thường được sử dụng trong đồ uống truyền thống và cũng là nguyên liệu thô chính trong sản xuất các chế phẩm y học cổ truyền. Ngoài ra, Ngải tím có nhiều tác dụng dược lý tiềm năng và có lợi cho sức khỏe con người như bảo vệ thần kinh, kháng sinh, kích thích tình dục, chống béo phì, trị đái tháo đường, chống viêm, đặc biệt là kháng ung thư [4 - 5]. Đây là một loại dược liệu tiềm năng cho phát triển tác nhân kháng ung thư và chống di căn của khối u [4].

Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã xác định và phân lập thành phần chính gồm các dẫn chất methoxyflavon, flavanon và kaempferol trong cao chiết thân rễ Ngải tím [6]. Các dẫn chất này đã được chứng minh có hoạt tính kháng ung thư tốt, ngoài ra cao chiết thân rễ Ngải tím cũng thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư tốt khi so sánh với các cao chiết dược liệu khác [4 - 8]. Hơn nữa, chiết xuất và đánh giá hoạt tính kháng ung thư trên các dòng tế bào khác nhau của cao chiết Ngải tím ở Việt Nam còn hạn chế. Do vậy, mục đích của nghiên cứu là chiết xuất cao và đánh giá hoạt tính kháng ung thư của cao chiết thân rễ Ngải tím *Kaempferia parviflora* ở vùng Thất Sơn - An Giang. Kết quả nghiên cứu là minh chứng khoa học về hoạt tính kháng ung thư cũng như góp phần làm tăng giá trị thương mại của Ngải tím. Đặc biệt, nghiên cứu cũng tạo tiền đề để phát triển dược phẩm hoặc thực phẩm chức năng từ Ngải tím ở Việt Nam.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng của nghiên cứu là cao chiết Ngải tím có tiềm năng hoạt tính kháng ung thư. Thân rễ Ngải tím *Kaempferia parviflora* (10-12 tháng tuổi) được thu hái vào ngày 05/04/2023 tại vườn dược liệu ở vùng Thất Sơn, tỉnh An Giang, Việt Nam và được định danh lại tại Khoa Dược – Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng. Mẫu thân rễ Ngải tím được rửa sạch bằng nước cất, để ráo nước và thái nhỏ. Cuối cùng, mẫu được phơi khô ở nhiệt độ phòng và nghiền thành bột mịn (khoảng 0.2 mm) để điều chế cao chiết sử dụng cho khảo sát thành phần hóa học và hoạt tính sinh học.

2.2. Hóa chất

Các hóa chất (acid gallic, quercetin, L-glutamin,

penicilin, streptomycin, trypsin, paclitaxel Na_2CO_3 , AlCl_3 , NaNO_2 , NaOH), dung môi (methanol, ethanol, acetone, ethyl acetat, dichloromethan, *n*-hexan, isopropanol, dimethyl sulfoxid - DMSO) và môi trường (EMEM, huyết thanh FCS, đệm phosphat PBS) sử dụng có nguồn gốc từ Acros (Bỉ), Merck (Đức) và Sigma-Aldrich/ Fisher (Mỹ) đạt tiêu chuẩn phân tích.

2.3. Trang thiết bị

Các thiết bị chính được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: tủ sấy Memmert (Đức), máy nghiền mẫu (FM-681 C, Hanil, Incheon, Korea), máy lắc quỹ đạo PSU-10i (Anh), máy quang phổ Shimadzu UV-1800 (Nhật), máy đọc MultiskanTM GO Microplate Spectrophotometer (Mỹ) và máy cô quay chân không Rotavapor® (Buchi Essen, Đức).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Chiết cao bằng phương pháp thông thường

Mẫu bột khô Thân rễ Ngải tím được chiết bằng dung môi khác nhau (nước, methanol 99.9%, ethanol 99.9%, acetone, ethyl acetat, dichloromethan và *n*-hexan) với tỷ lệ bột: dung môi 1:10 wt/v (khối lượng mẫu gram/thể tích dung môi mL) ở nhiệt độ phòng bằng máy lắc quỹ đạo (220 vòng/phút) trong 24 giờ.

2.4.2. Xử lý hỗn hợp sau chiết

Dịch chiết được lọc qua giấy lọc Whatman® No.1 (Anh) và cô đuổi dung môi trong điều kiện áp suất giảm ở 40°C đến khô với độ ẩm cao chiết < 5% bằng máy cô quay chân không Buchi. Mẫu được lưu ở nhiệt độ 2-8°C cho các thí nghiệm tiếp theo và hạn chế tiếp xúc với ánh sáng, nhiệt và không khí.

2.4.3. Hiệu suất chiết

Hiệu suất chiết được tính bằng công thức sau:

$$\text{Hiệu suất chiết (\%)} = \frac{\text{Khối lượng cao chiết khô (g)} \times 100}{\text{Khối lượng mẫu (g)}}$$

2.4.4. Thử nghiệm hóa thực vật

Cao chiết khô của thân rễ Ngải tím được thử nghiệm để định tính các hợp chất phenolic, alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, glycosid tim và quinon theo phương pháp Ciuley cải tiến [9]. Các thử nghiệm này dựa trên quan sát trực quan về sự thay đổi màu sắc hoặc hình thành kết tủa sau khi thêm thuốc thử cụ thể.

2.4.5. Xác định hàm lượng phenolic tổng (TPC)

TPC của cao chiết thân rễ Ngải tím được xác định

bằng phương pháp Folin-Ciocalteu với acid gallic làm phenol chuẩn [10]. Hỗn hợp phản ứng gồm 250 μL thuốc thử Folin-Ciocalteu (tỉ lệ 1:4), 250 μL nước cất và 250 μL dịch chiết (1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) được lắc đều trong các ống nghiệm. Sau đó, thêm vào 250 μL dung dịch Na_2CO_3 10% trộn đều các hỗn hợp và đem ủ 30 phút ở 40°C trong bể điều nhiệt. Độ hấp thụ quang phổ của hỗn hợp phản ứng được đo ở bước sóng 765 nm. Hàm lượng phenolic tổng trong cao chiết định lượng được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn acid gallic. Kết quả được trình bày dưới dạng đương lượng mg acid gallic (GAE) trên g chất khô (mg GAE/g). TPC được tính bằng công thức như sau: $C = C_1 \times V/m$, trong đó C = hàm lượng phenolic tổng (mg GAE (đương lượng acid gallic)/g), C_1 = nồng độ acid gallic (mg/mL) được tính bằng phương trình đường chuẩn $y = 0.0365 + 0.1083 (R^2 = 0.9902)$, V = thể tích cao chiết (mL) và m = khối lượng cao chiết (g). Các thử nghiệm xác định TPC được thực hiện lặp lại 3 lần.

2.4.6. Xác định hàm lượng flavonoid tổng (TFC)

Hàm lượng flavonoid tổng được xác định bằng phương pháp so màu nhôm clorid (AlCl_3) [5]. Hỗn hợp phản ứng gồm 40 μL dung dịch NaNO_2 5% trong 200 μL nước cất và 200 μL cao chiết (nồng độ 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) và ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Sau đó, thêm 40 μL dung dịch AlCl_3 10% trộn đều thuốc thử và để yên trong 6 phút. Thêm 400 μL dung dịch NaOH 1M và nước cất vừa đủ 1 mL. Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở bước sóng 510 nm bằng máy quang phổ UV-Vis. Hàm lượng flavonoid của cao chiết được tính toán bằng phương trình đường chuẩn quercetin ($y = 0.0041 + 0.0063x$, $R^2 = 0.9913$) và TFC được biểu thị bằng đương lượng quercetin trên mỗi gam khối lượng khô (mg QE/g).

2.4.7. Đánh giá hoạt tính kháng ung thư *in vitro*

Hoạt tính kháng ung thư được xác định bằng phương pháp MTT trên các dòng tế bào ung thư gồm dòng tế bào ung thư vú (MCF7 - ATCC HTB-22 và T47D - ATCC HTB-133), dòng tế bào ung thư buồng trứng (SKOV3 - ATCC HTB-77 và TOV-21G - ATCC CRL-11730) và dòng tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa 229 - ATCC CCL-2.1) tại Khoa kỹ thuật Y Sinh – Trường Đại học Quốc tế Thành phố Hồ Chí Minh [4].

Nuôi cấy tế bào: Tế bào được nuôi cấy trong môi trường EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium) bổ sung 10% huyết thanh FCS, 2 mM L-glutamin,

100 IU/mL penicilin, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ streptomycin, ủ trong bình nuôi cấy 75 cm^2 ở 37°C , 5% CO_2 . Khi tế bào đạt độ phủ 70-80%, hút bỏ môi trường nuôi cấy, rửa tế bào với dung dịch đệm phosphat PBS. Ủ với trypsin ở 37°C đến khi tế bào tách ra khỏi bề mặt bình. Thu huyền dịch tế bào trong môi trường, cấy chuyển sang bình nuôi cấy mới hoặc đếm số lượng, chia vào đĩa nuôi cấy 96 giếng.

Chuẩn bị mẫu thử: Pha trong dung dịch DMSO ở nồng độ 10 mM, chiếu UV để vô trùng. Sau đó, mẫu thử được pha loãng trong môi trường để đạt các nồng độ khảo sát khi xử lý tế bào.

Thử nghiệm MTT: Tế bào được nuôi cấy trong đĩa 96 giếng. Ủ 24 giờ ở 37°C , 5% CO_2 , thay môi trường và xử lý tế bào với mẫu thử hoặc mẫu đối chiếu paclitaxel ở các nồng độ khác nhau (5, 10, 50, 100, 500, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) trong 24 giờ. Loại bỏ môi trường nuôi cấy, bổ sung môi trường không có FCS chứa 0.05 mg/mL MTT, ủ trong 3 giờ ở 37°C , 5% CO_2 . Loại bỏ môi trường chứa MTT và hòa tan tinh thể formazan tạo thành trong isopropanol acid hóa. Lắc 10 phút ở nhiệt độ phòng và đo OD ở 570 nm (và 620 nm) trên máy microplate MultiskanTM. Thử nghiệm thực hiện trên 6 giếng cho một nồng độ mẫu thử, song song với mẫu chứng có tế bào nuôi cấy trong môi trường bổ sung DMSO ở nồng độ tương đương.

Phần trăm ức chế tế bào ung thư được tính toán theo công thức:

$$\text{Phần trăm ức chế (\%)} = 100 - \left[\frac{(A_t - A_b)}{(A_c - A_b)} \right] \times 100\%$$

A_t = độ hấp thụ mẫu thử, A_b = độ hấp thụ mẫu trắng, A_c = độ hấp thụ mẫu chứng DMSO.

Khả năng kháng ung thư *in vitro* được thể hiện qua giá trị IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$, nồng độ ức chế 50% tế bào ung thư).

2.4.8. Phân tích thống kê

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn (SD). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0.05$) được đánh giá thông qua phân tích phương sai một chiều (One-way ANOVA) bằng phần mềm SPSS 26.

3. KẾT QUẢ

3.1. Định tính nhóm hợp chất trong các cao chiết

Thành phần các nhóm hợp chất hiện diện trong các cao chiết thân rễ Ngải tím *Kaempferia parviflora* bằng các dung môi khác nhau được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần hóa thực vật của cao chiết thân rễ Ngải tím

STT	Nhóm hợp chất	WE	ME	EE	AE	EAE	DE	HE
1	Dẫn chất phenolic	+	+	+	+	+	+	+
2	Alkaloid	+	+	+	+	+	+	+
3	Flavonoid	+	+	+	+	+	+	+
4	Saponin	+	+	-	-	-	-	-
5	Tannin	-	-	+	+	-	-	-
6	Glycosid tim	-	-	-	-	-	-	-
7	Quinon	+	+	-	-	-	-	-

(-): không có, (+): có, WE - cao chiết nước, ME - cao chiết methanol, EE - cao chiết ethanol, AE - cao chiết acetone, EAE - cao chiết ethyl acetat, DE - cao chiết dichloromethan, HE - cao chiết n-hexan.

3.2. Hiệu suất chiết

Kết quả hiệu suất chiết của cao chiết thân rễ Ngải tím (%) ở các điều kiện trích ly khác nhau được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Hiệu suất chiết của cao chiết thân rễ Ngải tím (%)

STT	Dung môi chiết	Hiệu suất chiết (%)
1	Nước	21.75 ± 0.43*
2	Methanol	21.04 ± 0.58
3	Ethanol	18.39 ± 0.37
4	Aceton	13.82 ± 0.41
5	Ethyl acetat	14.18 ± 0.35
6	Dichloromethan	15.26 ± 0.40
7	Hexan	3.11 ± 0.34

* sự khác biệt đáng kể với các dung môi khác ($p < 0.05$)

3.3. Hàm lượng phenolic tổng (TPC) và hàm lượng flavonoid tổng (TFC)

Hàm lượng TPC và TFC của cao chiết thân rễ Ngải tím (%) ở các điều kiện trích ly bằng các dung môi khác nhau được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng TPC (mg GAE/g) và TFC (mg QE/g) của cao chiết thân rễ Ngải tím

STT	Cao chiết	Ký hiệu	TPC	TFC
1	Nước	WE	80.50 ± 1.05	63.41 ± 1.08
2	Methanol	ME	87.93 ± 1.16*	57.98 ± 0.75
3	Ethanol	EE	82.06 ± 0.97	70.95 ± 0.82
4	Aceton	AE	64.34 ± 0.91	75.28 ± 0.96
5	Ethyl acetat	EAE	68.55 ± 0.77	76.11 ± 1.13
6	Dichloromethan	DE	56.14 ± 0.67	78.58 ± 0.94
7	Hexan	HE	49.43 ± 0.64	138.09 ± 1.85*

TPC: hàm lượng phenolic tổng, TFC: hàm lượng flavonoid tổng, * sự khác biệt đáng kể của cao chiết có giá trị cao nhất ở TPC và TFC ($p < 0.05$).

3.4. Hoạt tính kháng ung thư *in vitro*

Nghiên cứu thử nghiệm các cao chiết thân rễ Ngải tím trên 5 dòng tế bào ung thư trong 2 dòng tế bào ung thư vú (MCF7 và T47D), 2 dòng tế bào ung thư buồng trứng (SKOV3 và TOV-21G) và 1 dòng tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa 229) với chứng dương là dược chất

paclitaxel (PTX). Kết quả hoạt tính kháng ung thư *in vitro* của cao chiết thân rễ Ngải tím thể hiện qua giá trị ức chế 50% tế bào ung thư (IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$) được trình bày ở Bảng 4. Kết quả so sánh hoạt tính kháng ung thư của cao chiết thân rễ Ngải tím với thuốc đối chiếu paclitaxel được thể hiện ở Hình 1.

Bảng 4. Hoạt tính kháng ung thư *in vitro* của cao chiết thân rễ Ngải tím

STT	Cao chiết	Ký hiệu	IC ₅₀ , µg/mL		
			MCF7	T47D	SKOV3
1	Nước	WE	162.12 ± 2.08	97.41 ± 1.66	980.01 ± 15.29
2	Methanol	ME	151.73 ± 2.36	68.49 ± 1.82	654.24 ± 12.75
3	Ethanol	EE	136.55 ± 1.92*	31.67 ± 0.84*	518.06 ± 10.21*
4	Aceton	AE	148.04 ± 2.01	84.50 ± 1.37	1031.67 ± 14.50
5	Ethyl acetat	EAE	194.45 ± 2.11	90.22 ± 1.46	1268.05 ± 16.44
6	Dichloromethan	DE	152.59 ± 2.42	43.84 ± 0.91	790.34 ± 12.52
7	Hexan	HE	220.98 ± 2.28	195.63 ± 2.95	1796.48 ± 27.32
8	Paclitaxel	PTX	5.38 ± 0.13	1.83 ± 0.08	3.91 ± 0.12
			IC ₅₀ , µg/mL		
			Hela	TOV-21G	
1	Nước	WE	491.91 ± 6.12	73.80 ± 2.02	
2	Methanol	ME	269.02 ± 4.96	53.91 ± 1.65	
3	Ethanol	EE	227.49 ± 5.23*	33.58 ± 1.14*	
4	Aceton	AE	606.98 ± 14.65	81.65 ± 1.63	
5	Ethyl acetat	EAE	648.06 ± 13.91	82.98 ± 1.37	
6	Dichloromethan	DE	305.93 ± 5.33	55.11 ± 1.26	
7	Hexan	HE	930.24 ± 19.57	138.77 ± 2.82	
8	Paclitaxel	PTX	0.25 ± 0.007	0.12 ± 0.003	

MCF7 (ATCC HTB-22): dòng tế bào ung thư vú ở người, T47D (ATCC HTB-133): dòng tế bào ung thư biểu mô tuyến vú ở người, SKOV3 (ATCC HTB-77): dòng tế bào ung thư biểu mô buồng trứng người, TOV-21G (ATCC CRL-11730): dòng tế bào ung thư buồng trứng ở người, HeLa 229 (ATCC CCL-2.1): dòng tế bào ung thư biểu mô cổ tử cung người, * sự khác biệt đáng kể của cao chiết có giá trị IC₅₀ cao nhất ở từng dòng tế bào (p < 0.05).

4. BÀN LUẬN

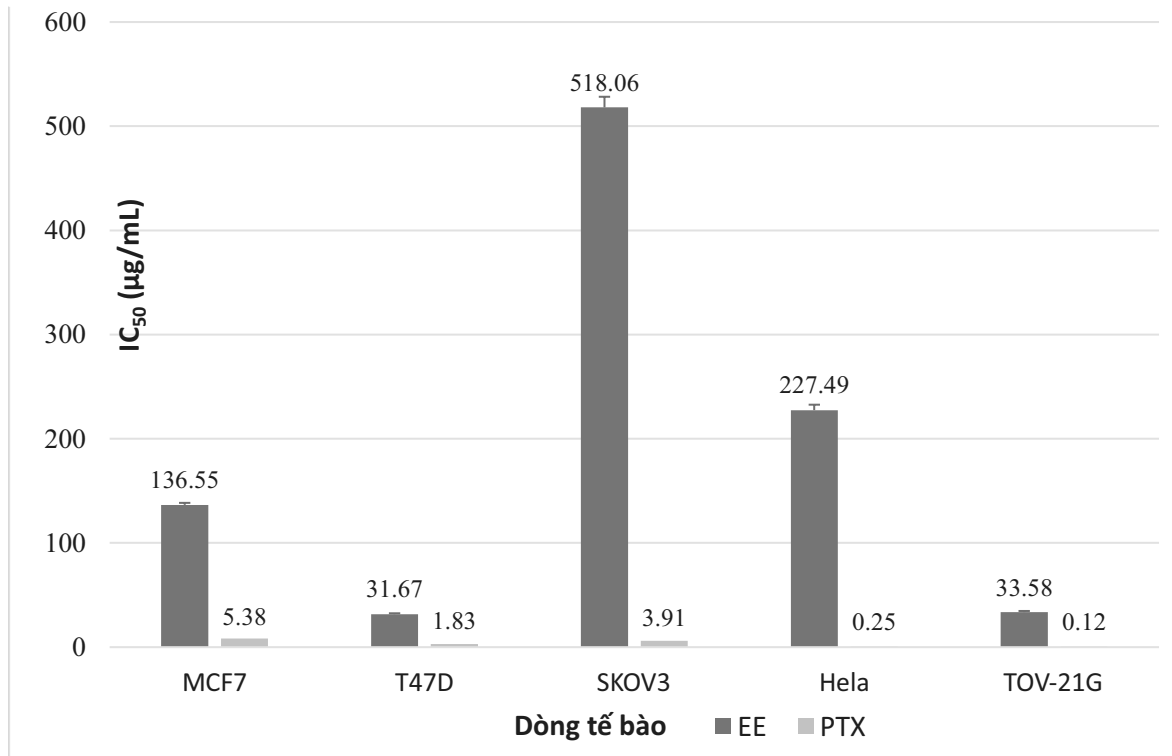
Các cao chiết thân rễ Ngải tím được chiết xuất bằng 7 loại dung môi khác nhau từ kém phân cực đến phân cực gồm: hexan, dichloromethan, ethyl acetat, aceton, ethanol, methanol và nước. Thành phần hóa thực vật của tất cả cao chiết thân rễ Ngải tím đều thể hiện sự hiện diện của dẫn chất phenolic, alkaloid, flavonoid và không có glycosid tim. Cao chiết nước (W) và methanol (M) của thân rễ Ngải tím còn có sự hiện diện của saponin và quinon, trong khi các cao chiết khác không có sự hiện diện của hai hợp chất này. Ngoài ra, trong 7 loại cao chiết chỉ có cao chiết ethanol (E) và aceton (A) thể hiện sự hiện diện của hợp chất tannin.

Hiệu suất chiết của cao thân rễ Ngải tím thể hiện sự khác nhau giữa các dung môi và có sự tăng từ dung môi kém phân cực đến dung môi phân cực. Dung môi W, E, và M thể hiện hiệu suất chiết cao nhất trong khoảng 18.39-21.75%. Điều này có thể là do dung môi phân cực sẽ tăng cường sự chiết các thành phần phân cực thân nước như phenolic, flavonoid, alkaloid và terpenoid. Dung môi A, EA

(ethyl acetat) và D (dichloromethan) thể hiện hiệu suất chiết ở mức trung bình trong khoảng 13.82-15.26%. Trái lại, dung môi kém phân cực H (hexan) thể hiện hiệu suất chiết thấp nhất với giá trị 3.11%. Dẫn chất phenolic và flavonoid là các hợp chất quan trọng trong cao chiết dược liệu và thể hiện hoạt tính dược lí đa dạng, đặc biệt là kháng ung thư. Hầu hết các flavonoid trong thân rễ Ngải tím có độ phân cực tương đối thấp vì cấu trúc có nhiều nhóm methoxy [5]. Do đó, chiết xuất Ngải tím bằng dung môi phân cực từ trung bình đến thấp sẽ cho cao chiết có hàm lượng cao hơn của một số dạng flavon methoxylat [5]. Khác với kết quả hiệu suất chiết, chiết xuất thân rễ Ngải tím bằng dung môi hexan cho cao chiết HE có hàm lượng TFC cao nhất (138.09 mg QE/g). Cao chiết EE, AE, EAE và DE thể hiện hàm lượng TFC tốt trong khoảng 70.95-78.58 mg QE/g. Ngoài ra, cao chiết WE và ME chứa hàm lượng TFC thấp nhất trong khoảng 57.98-63.41 mg QE/g (Bảng 3). Tuy nhiên, chiết xuất thân rễ Ngải tím bằng dung môi phân cực (nước và alcol) cho các cao chiết WE, ME và EE có hàm lượng TPC cao

nhất với các giá trị lần lượt là 80.50, 82.06 và 87.93 mg GAE/g. Chiết xuất thân rễ Ngải tím bằng dung môi phân cực trung bình (acetone, ethyl acetat và dichloromethan) cho cao chiết AE, EAE và DE trong khoảng 56.14-68.55 mg GAE/g, trong khi đó cao

chiết HE thể hiện hàm lượng TPC thấp nhất (49.43 mg GAE/g). Hơn nữa, cao chiết ethanol EE của thân rễ Ngải tím thể hiện hàm lượng cao ở cả TPC (82.06 mg GAE/g) và TFC (70.95 mg QE/g) khi so sánh với các dung môi còn lại.



Hình 1. Hoạt tính kháng ung thư của cao chiết ethanol (EE) thân rễ Ngải tím và paclitaxel (PTX)

Mặt khác, tất cả cao chiết thân rễ Ngải tím sử dụng các dung môi khác nhau thể hiện hoạt tính kháng ung thư *in vitro* tốt trên dòng tế bào ung thư biểu mô tuyến vú T47D và dòng tế bào ung thư buồng trứng TOV-21G khi so sánh với 3 dòng tế bào ung thư khác (tế bào ung thư vú MCF7, tế bào ung thư biểu mô buồng trứng SKOV3 và tế bào ung thư biểu mô cổ tử cung Hela) và thuốc đối chiếu paclitaxel (PTX, $IC_{50} = 0.12-5.38 \mu\text{g/mL}$). Hoạt tính kháng ung thư của các cao chiết thấp nhất thể hiện trên dòng tế bào SKOV3 với giá trị $IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$ (518.06-1796.48 $\mu\text{g/mL}$) và dòng tế bào Hela với giá trị $IC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$ (227.49-930.24 $\mu\text{g/mL}$). Trên dòng tế bào MCF7, các cao chiết thể hiện hoạt tính kháng ung thư tiềm năng với $IC_{50} = 136.55-220.98 \mu\text{g/mL}$ khi so sánh với cao chiết dược liệu khác và PTX ($IC_{50} = 5.38 \mu\text{g/mL}$) [11]. Bên cạnh đó, sáu cao chiết (WE, ME, EE, AE, EAE và DE) thể hiện hoạt tính kháng ung thư *in vitro* ở mức tốt với giá $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ (31.67-97.41 $\mu\text{g/mL}$) trên hai dòng tế bào ung thư T47D và TOV-21G, ngoại trừ cao chiết HE có giá trị $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ (138.77-195.63 $\mu\text{g/mL}$). Ngoài ra,

cao chiết EE và DE có giá trị IC_{50} nhỏ nhất trên dòng tế bào T47D với giá trị lần lượt là 31.67 và 43.84 $\mu\text{g/mL}$, trong khi cao chiết EE, ME và DE có giá trị IC_{50} nhỏ nhất trên dòng tế bào TOV-21G với giá trị lần lượt là 33.58, 53.91 và 55.11 $\mu\text{g/mL}$. Đặc biệt, cao chiết ethanol EE của thân rễ Ngải tím thể hiện hoạt tính kháng ung thư tốt nhất ($IC_{50} = 31.67-518.06 \mu\text{g/mL}$) trong các cao chiết trên 5 dòng tế bào thử nghiệm khi so sánh với thuốc đối chiếu PTX ($IC_{50} = 0.12-5.38 \mu\text{g/mL}$) (Hình 1). Đây có thể là cao chiết tiềm năng trong phát triển thuốc hay thực phẩm chức năng hỗ trợ điều trị các loại ung thư thường gặp ở phụ nữ (ung thư vú, buồng trứng và cổ tử cung).

So sánh với các nghiên cứu tương tự, cao chiết thân rễ Ngải tím có hàm lượng TPC (210 mg GAE/g) và TFC (81 $\mu\text{g QE/g}$) với tỷ lệ mẫu: dung môi nước 1:25, nhiệt độ 90°C và thời gian chiết 120 phút [12]. Mặc dù, hàm lượng TPC cao hơn, thời gian chiết ngắn hơn nhưng nhiệt độ và tỷ lệ dung môi cao hơn, trong khi hàm lượng TFC thấp hơn đáng kể so với nghiên cứu hiện tại (TPC =

80.50 mg GAE/g, TFC = 63.41 mg QE/g). Ngoài ra, hàm lượng TPC (32.31-58.45 mg GAE/g) và TFC (47.92-127.09 mg QE/g) trong cao chiết thân rễ Ngải tím được ghi nhận khi chiết ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ bằng các dung môi khác nhau [5]. Tuy nhiên, hàm lượng TPC và TFC đều thấp hơn đáng kể (khoảng 1.5 lần) so với nghiên cứu hiện tại. Điều này chứng minh thân rễ Ngải tím ở vùng Thất Sơn - An Giang có hàm lượng TPC và TFC cao cũng như có thể hiện diện thành phần hoạt tính nhiều hơn khi so sánh với thân rễ Ngải tím trên thế giới. Bên cạnh đó, cao chiết thân rễ Ngải tím thể hiện hoạt tính kháng ung thư trên các dòng tế bào ung thư SKOV3, HeLa, TOV-21G và MCF-7 với giá trị IC_{50} lần lượt là 530, 220, 30 và 138.43 $\mu\text{g/mL}$ khi chiết với dung môi ethanol 95-96% trong 72 giờ ở nhiệt độ phòng [7 - 8]. Cao chiết methanol, hexan và chloroform của thân rễ *Kaempferia rotunda* thể hiện hoạt tính kháng ung thư tốt trên dòng tế bào T47D với giá trị IC_{50} lần lượt là 71.60, 175.87 và 41.72 $\mu\text{g/mL}$ [11]. Kết quả nghiên cứu hiện tại cho thấy cao EE của thân rễ Ngải tím ở vùng Thất Sơn - An Giang đã thể hiện hoạt tính kháng ung thư *in vitro* tốt hơn trên các dòng tế bào ung thư vú,

buồng trứng và cổ tử cung so với các nghiên cứu quốc tế đã tham khảo [7, 8, 11].

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tiến hành định tính thành phần hóa thực vật, xác định hiệu suất chiết, định lượng hợp chất phenolic và flavonoid tổng cũng như đánh giá hoạt tính kháng ung thư *in vitro* của cao chiết thân rễ Ngải tím bằng phương pháp thông thường với các dung môi chiết khác nhau từ kém phân cực đến phân cực. Cao chiết ethanol thể hiện hiệu suất chiết, hàm lượng TPC và TFC cao cũng như hoạt tính kháng ung thư *in vitro* tốt nhất trên 5 dòng tế bào ung thư MCF7, T47D, SKOV3, TOV-21G và HeLa. Cao chiết ethanol là cao chiết tiềm năng cho các nghiên cứu kháng ung thư *in vivo* cũng như có thể phát triển thuốc hỗ trợ điều trị ung thư trong tương lai.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài GVTC16.03.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. L. Siegel, L. A. Torre and A. Jemal, "Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries," *CA Cancer J. Clin.*, vol. 68, pp. 394-424, 2018.
- [2] K. Unger-Saldaña, "Challenges to the early diagnosis and treatment of breast cancer in developing countries," *World J. Clin. Oncol.*, vol. 5, p. 465, 2014.
- [3] A. I. Elshamy, T. A. Mohamed, A. F. Essa, A. M. Abd-ElGawad, A. S. Alqahtani, A. A. Shahat, T. Yoneyama, A. R. H. Farrag, M. Noji, H. R. El-Seedi, A. Umeyama, P. W. Paré, M. F. Hegazy, "Recent advances in *Kaempferia* phytochemistry and biological activity: A comprehensive review," *Nutrients.*, vol. 11, p. 2396, 2019.
- [4] I. Hairunisa, M. F. A. Bakar, M. Da'i, F. I. A. Bakar and E. S. Syamsul, "Cytotoxic activity, anti-migration and *in silico* study of black ginger (*Kaempferia parviflora*) extract against breast cancer cell," *Cancers (Basel)*, vol. 15, p. 2785, 2023.
- [5] P. Sitthichai, S. Chanpirom, T. Maneerat, R.

Charoensup, T. Tree-Udom, P. Pintathong, S. Laphookhieo and T. Sripisut, "*Kaempferia parviflora* rhizome extract as potential anti-acne ingredient," *Molecules*, vol. 27, p. 4401, 2022.

[6] Z. A. Rahman, S. A. Shukor, H. Abbas, C. A. Machap, M. S. B. Alias, R. Mirad, A. N. Othman, "Optimization of extraction conditions for total phenolics and total flavonoids from *Kaempferia parviflora* rhizomes," *Adv. Biosci Biotechnol.*, vol. 9, pp. 205-214, 2018.

[7] S. Paramee, S. Sookkhee, C. Sakonwasun, M. Na Takuathung, P. Mungkornasawakul, W. Nimlamool and S. Potikanond, "Anti-cancer effects of *Kaempferia parviflora* on ovarian cancer SKOV3 cells," *BMC Complement Altern Med.*, vol. 18, p. 178, 2018.

[8] S. Potikanond, S. Sookkhee, M. Na Takuathung, P. Mungkornasawakul, N. Wikan, D. R. Smith, W. Nimlamool, "*Kaempferia parviflora* extract exhibits anti-cancer activity against HeLa cervical cancer cells," *Front Pharmacol.*, vol. 8, p. 630, 2017.

[9] Trần Hùng, "Phương pháp nghiên cứu dược

liệu,” Bộ môn Dược liệu - Khoa Dược: Trường Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, tr. 25-49, 2014.

[10] K. Slinkard and V. L. Singleton, “Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods,” *American Enol. Viticul.*, vol. 28, no. 1, pp. 49-55, 1977.

[11] S. Atun and R. Arianingrum, “Anticancer activity of bioactive compounds from *Kaempferia*

rotunda rhizome against human breast cancer,” *Inter. J. Pharm. Phytochem. Res.*, vol. 7, pp. 262-269, 2015.

[12] Z. A. Rahman, S. A. Shukor, H. Abbas, C. A. L. Machap, M. S. B. Alias, R. Mirad, S. Sofiyanand and A. N. Othman, “Optimization of extraction conditions for total phenolics and total flavonoids from *Kaempferia parviflora* rhizomes,” *Adv. Biosci. Biotech.*, vol. 9, pp. 205-214, 2018.

Extraction and evaluation of anticancer activity of black ginger rhizome (*Kaempferia parviflora*) in that son area - An Giang

Ho Thi Thach Thuy, Le Thi Tuong Vi,
Dang Thi Le Thuy, Ly Hong Huong Ha and Pham Canh Em

ABSTRACT

Kaempferia parviflora Wall. Ex Baker, also known as black ginger or in Vietnam as “Ngải tím”, is a well-known Zingiberaceae plant traditionally used to treat abdominal pain, diarrhea, laxative and wound healing. *Kaempferia parviflora* has been demonstrated to have several pharmacological effects including anti-plasmodial, anti-fungal, antimicrobial, and anti-cancer properties. In this study, the aim was to investigate total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) as well as to evaluate the *in vitro* anticancer activity of black ginger extract in That Son area – An Giang with different extract solvents using conventional method. The results showed that ethanol extract showed good extraction yield (18.39%) as well as high content of TPC (82.06 mg GAE/g) and TFC (70.95 mg QE/g) compared to other extract. In particular, ethanol extract also exhibited *in vitro* anticancer activity against MCF7, T47D, SKOV3, TOV-21G và Hela cell lines with IC_{50} values in the range between 31.67 and 518.06 $\mu\text{g/mL}$ compared to reference drug paclitaxel ($IC_{50} = 0.12\text{-}5.38 \mu\text{g/mL}$). Therefore, these findings provide evidence revealing the potent anticancer activity of *Kaempferia parviflora* ethanol extract against human breast, cervical, and ovarian cancer cell lines, and suggest its potential use as an alternative way for cancer prevention and therapy in women.

Keywords: *Kaempferia parviflora*, phenolic content, flavonoid content, anticancer

Received: 12/09/2023

Revised: 05/10/2023

Accepted for publication: 09/10/2023