Nghiên cứu hoạt tính sinh học của hoa đu đủ đực *Carica papaya* L. trên một số dòng tế bào ung thư phổ biến

Biological activity research of male papaya flowers *Carica papaya* L. on some common cancer cell lines

Ngô Thị Phương Dung[1*], Nguyễn Hoàng Dũng[1,2]

[1]Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam
[2]Viện sinh học nhiệt đới, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam
[*]Tác giả liên hệ, Email: dungntp@ntt.edu.vn

THÔNG TIN

DOI:10.46223/HCMCOUJS.tech.vi.19.2.3194.2024

Ngày nhận: 16/01/2024

Ngày nhận lại: 25/04/2024

Duyệt đăng: 02/05/2024

Từ khóa:

gây độc tế bào; hoa đu đủ đực; hoạt tính kháng oxy hóa; hoạt tính kháng ung thư; polyphenol tổng số

Keywords:

cytotoxicity; male papaya flower; antioxidant; anticancer; total polyphenol

TÓM TẮT

Cây đu đủ đực *Carica papaya* L. được trồng phổ biến ở Việt Nam, hoa của nó có nhiều tác dụng dược lý. Nghiên cứu này đề cập đến các hoạt tính sinh học gồm hiệu quả kháng oxy hóa và chống ung thư của cao chiết phân đoạn hoa đu đủ đực. Hoa đu đủ đực được ly trích bằng dung môi methanol với hiệu suất tách chiết là 15.76%. Hiệu suất thu nhận cao chiết phân đoạn n-hexan, chloroform, ethyl acetate và nước lần lượt là: 11.48; 7.32; 8.05; 73.15%. Hàm lượng polyphenol cao nhất trong cao phân đoạn nước là 88.15 ± 1.37 µg GAE/mg cao chiết, tương ứng với hiệu quả kháng oxy hóa tốt nhất với EC50 là 431.10 µg/mL được đo bằng phương pháp 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Dùng phương pháp 3-(4,5-dimethylthiazol- 2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) để kiểm tra hiệu quả gây độc tế bào, các dịch chiết phân đoạn đã ức chế tế bào ung thư HepG2, K562 và B16F10. Dịch chiết nước không có hoạt tính gây độc, nằm ngoài phạm vi khảo sát (IC50 > 400 µg/mL). Dịch chiết n-hexan ức chế tốt HepG2 (IC50 = 196.79 µg/mL), còn dịch chiết chloroform và ethyl acetate ức chế tốt K562 (IC50 = 83.23 µg/mL và 89.33 µg/mL). Nghiên cứu này được xem như bước đầu trong quá trình sàng lọc và cô lập các hợp chất sinh học từ hoa đu đủ đực ở tỉnh Đắk Lắk, tập trung vào các hợp chất có khả năng gây độc tế bào ung thư.

ABSTRACT

The male papaya tree, *Carica papaya* L., is widely cultivated in Vietnam, and its flowers possess various pharmacological properties. This study focuses on the biological activities, including antioxidant and anticancer effects, of different fractions extracted from male papaya flowers. Male papaya flowers were extracted using methanol solvent with an extraction efficiency of 15.76%. The recovery efficiencies of the n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and water fractions are 11.48, 7.32, 8.05, and 73.15%, respectively. The highest polyphenol content in the water fraction extract is 88.15 ± 1.37 µg GAE/mg extract, corresponding to the best antioxidant activity with an EC50 of

431.10 µg/mL measured by the DPPH method. Using the MTT method, the extract fractions also exhibited cytotoxic activity against HepG2 liver cancer cells, K562 leukemia cells, and B16F10 skin cancer cells. Except for the water extract, which falls outside the tested concentration range (IC50 > 400 µg/mL). The n-hexane fraction extract exhibited strong inhibition against HepG2 cells (IC50 = 196.79 µg/mL), while the chloroform and ethyl acetate fractions showed potent inhibition against K562 cells (IC50 = 83.23 µg/mL and 89.33 µg/mL, respectively). This study is considered an initial exploration in screening and isolating bioactive compounds from male papaya flowers in Dak Lak province, particularly those with cytotoxic activity against cancer cells.

1. Giới thiệu

Cây đu đủ đực, được biết đến với tên khoa học đầy đủ là *Carica papaya* L., thuộc họ Caricaceae, chi *Carica*, có nguồn gốc chủ yếu dọc theo bờ biển Caribê của Mesoamerica và đã được trồng phổ biến ở nhiều khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới trên toàn thế giới (Allan, 2002). Cây đu đủ thường là cây thân đơn mềm, thân rỗng, các mô yếu, bán mộc, thuộc cây ngắn ngày. Hoa đu đủ đực thường có hình ống hoặc hình loa kèn, mọc ra từ nách lá đu đủ. Dài từ 2.5 - 05cm, chúng có mùi thơm như sáp và ngọt ngào. Tuổi thọ hoa có thể từ 03 - 04 ngày. Màu sắc của chúng từ ngà nhạt đến vàng vàng. Hoa đực sinh sản rất lâu và mọc thành các cụm hoa dài đến 1m, chứa nhiều bông hoa. Cấu trúc của hoa đực nhỏ và thon dài, ống hoa gồm 05 cánh đài, 05 cánh ở vành, khoảng 10 nhị đực, nhị cái bị thoái hóa với nhụy nhỏ như sợ chỉ (Storey, 1953).

Các thử nghiệm định tính hóa thực vật trong hoa đu đủ đực có xuất hiện flavonoid, sterol, triterpenoids, tannin, polyphenol và glycoside ở dịch chiết của hoa đu đủ đực. Trong số các chất trên, hợp chất tannin, polyphenol, flavonoid và terpenoid có hoạt tính sinh học phong phú nhất, đóng vai trò quan trọng trong trà và y học. Polyphenol góp phần tạo ra vị đắng, làm se và dư vị ngọt của nước trà và được biết là có hoạt tính chống oxy hóa mạnh. Polyphenol như flavonoid có tác dụng chống oxy hóa, làm giảm phản ứng dị ứng, giảm viêm, có tác động kháng khuẩn, chống lại sự phát triển của ung thư và kháng lại vi rút. Sterol là tiền thân của các vitamin tan trong chất béo và nội tiết tố steroid. Là một thành phần thực phẩm hoặc phụ gia, phytosterol có đặc tính làm giảm cholesterol. Terpenoid thực vật được sử dụng rộng rãi tạo hương thơm. Chúng có vai trò trong biện pháp chữa bệnh truyền thống bằng thảo dược và đang được thử nghiệm về kháng khuẩn, chống ung thư và các chức năng dược phẩm khác. Glycoside cũng rất quan trọng vì tốt cho tim mạch và dùng để điều trị các bệnh liên quan đến tim. Glycoside trợ tim có khả năng tăng lực và sức mạnh của nhịp tim mà không cần tăng số lượng oxy cần thiết cho cơ tim, do đó có thể tăng hiệu quả của tim và ổn định nhịp đập tim. Sự có mặt của một số hợp chất hoạt tính sinh học này khẳng định rằng hoa đu đủ đực góp phần quan trọng đối với y học (King & Milagros, 2016).

Ngoài ra, ung thư hiện đang là một trong những yếu tố chính gây ra tử vong hàng đầu trên toàn cầu, với hơn 10 triệu ca tử vong vào năm 2020, chiếm gần 1/6 tổng số ca tử vong. Mà ngày nay, thực vật được sử dụng làm nguồn thuốc trở nên rất phổ biến vì nguồn gốc tự nhiên, sẵn có ở cộng đồng địa phương, giá thành rẻ, dễ mua hàng, dễ quản lý và có lẽ ít rắc rối hơn. Ngoài ra, thuốc thảo dược có thể là lựa chọn điều trị thay thế hữu ích trong trường hợp có nhiều tác dụng phụ và kháng thuốc. Các hợp chất điều trị có thể được áp dụng độc lập hoặc kết hợp với các thuốc khác để tăng hiệu quả điều trị ung thư. Từ đó phát triển hướng nghiên cứu mới, đóng góp vào nền y học hiện đại hướng tới thuốc của các hợp chất tự nhiên an toàn hiệu quả trong điều trị ung thư. Do đó, chúng tôi tập trung nghiên cứu về hàm lượng polyphenol tổng số, khả năng kháng oxy hóa và kháng ung thư của các phân đoạn hoa đu đủ đực.

2. Cơ sở lý thuyết

Những nghiên cứu khoa học trên thế giới đã khẳng định các hợp chất của cây đu đủ đực có hoạt tính như dịch chiết hexan của hoa đu đủ đực có hiệu quả kháng oxy hóa với IC50 là 100.81 ± 1.180 µg/mL và ngăn chặn tế bào ung thư ruột kết WiDr (Sianipar, Suwarso, & Rosidah, 2018). Lá đu đủ có thể ngăn chặn sự phát triển của tế bào ung thư vú MCF-7 ở người với IC50 là 1,319.25 µg/mL. Chiết xuất từ lá đu đủ cũng có thể gây ra apoptosis của tế bào ung thư vú MCF-7 khoảng 22.54% và 20.73% ở nồng độ 659.63 µg/mL và 329.81 µg/mL. Tỷ lệ tế bào chết của dịch chiết lá đu đủ thấp hơn doxorubicin nhưng cao hơn quercetin (Fatma, Mary, & Agnes, 2017). Hạt đu đủ đen có thể là một lựa chọn triển vọng trong liệu pháp điều trị ung thư gan với IC50 là 24.35 µg/mL cùng với hiệu quả gây ra các thay đổi apoptotic bằng cách điều chỉnh giảm *Bcl-2* và điều hòa *p53* và *Caspase -3* gen (Akshay & Alisha, 2022). Dịch chiết methanol và nước từ lá và vỏ đu đủ đều ngăn chặn sự phát triển của tế bào Jurkat T và tế bào Daudi B gây bệnh bạch cầu. Mặc dù lá đu đủ không được dùng làm thực phẩm, nhưng các chất chiết xuất từ lá được dùng để điều trị các bệnh như sốt xuất huyết và sốt rét, loét dạ dày, số lượng tiểu cầu thấp, ung thư vú, phổi và cổ tử cung (Zainab & ctg., 2020). Chiết xuất n-hexan từ hoa đu đủ có khả năng chống oxy hóa cao nhất (64.07%) khi thử nghiệm phương pháp bắt gốc tự do DPPH (Manish, Shruti, & Shringika, 2020).

Bên cạnh đó, các nghiên cứu khoa học trong nước đã đưa ra một số kết quả cụ thể như sau: chiết xuất hoa đu đủ đực kết hợp sóng siêu âm (UAE) thu được hàm lượng flavonoid là 10.648 ± 0.228 mg QE/g (Phan & ctg., 2020). Các chất trích ly từ lá khô và lá tươi có tác dụng gây độc tế bào HT29, A549, Huh 7R, MCF-7, LLC và HEK-293 với giá trị IC50 dao động từ 1.88 đến 13.64 mg/mL (Tran, Phan, & Pham, 2020). Tám flavonoid đã được phân lập bao gồm kaempferol, kaempferol 3-O-α-L-rhamnopyranoside, kaempferol 3-O-β-D-glucopyranoside, kaempferol 3-O-α-L-arabinopyranoside, quercetin, quercitrin, quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside và myricitrin từ chiết xuất ethyl acetate của hoa đu đủ đực (Do, 2020) và một số công bố về thành phần hợp chất thực vật của cây đu đủ.

Những công trình nghiên cứu về hoa đu đủ đực *Carica papaya* L. đã được các nhà nghiên cứu trên thế giới chứng minh nó có nhiều đặc tính sinh học trong ngăn chặn phát triển của tế bào ung thư cũng như những nghiên cứu trong nước chủ yếu tập trung vào thành phần hợp chất hóa học. Đồng thời những nghiên cứu vẫn tập trung trọng yếu vào chiết xuất từ lá đu đủ. Còn về khả năng kháng các dòng tế bào ung thư của dịch chiết hoa đu đủ đực chưa được chuyên sâu đặc biệt trên các dòng tế bào ung thư máu K562, ung thư gan HepG2 và ung thư biểu mô da B16F10. Do đó, mở rộng hướng nghiên về hoạt tính của hoa đu đủ đực tại Việt Nam nhằm tạo nền tảng cho những nghiên cứu chuyên sâu để tương lai có thể ứng dụng vào nền y học nước nhà là điều cấp thiết.

3. Phương pháp nghiên cứu

3.1. Vật liệu và hóa chất

Hoa đu đủ đực thu hái tại khu vực tỉnh Đắk Lắk, rửa sạch, sấy khô. Hóa chất gồm có: DMSO (dimethyl sulfoxide), MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl hydrate). Môi trường DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), huyết thanh bê - FBS (Fetal Bovine Serum), trypsin EDTA, Phosphate Buffered Saline (PBS), Penicillin/streptomycin được cung cấp bởi Invitrogen Corp. (CA, U.S.A). Thuốc nhuộm DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole) được cung cấp bởi Sigma-Aldrich.

3.2. Phương pháp tách chiết

Dùng 20g hoa đu đủ đực khô chiết với dung môi methanol (99.5%) trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng, lọc qua giấy lọc thu dịch chiết, đuổi dung môi bằng máy cô chân không. Cao methanol được phân đoạn bằng các dung môi hữu cơ như n-hexan, chloroform, ethyl acetate và nước để tạo thành các phân đoạn tương ứng.

3.3. Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol tổng số

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định theo phương pháp của Singleton, Orthofer, và Lamuela-Raventós (1999) với một số hiệu chỉnh nhỏ. Chuẩn bị dãy nồng độ chất chuẩn acid gallic (0; 0.025; 0.05; 0.1; 0.2) mg/mL (pha trong nước cất) và dãy cao chiết hoa đu đủ đực (1; 0.5; 0.1) mg/mL (pha trong methanol). Đặt phản ứng gồm 0.1mL mẫu và 0.5mL thuốc thử Folin-Ciocalteu, trộn đều, ủ 05 phút. Thêm 0.4mL Na_2CO_3 7.5%, ủ 30 phút ở 30ºC và đo quang phổ 765nm. Kết quả được biểu diễn bằng cách đo lường microgram acid gallic đương lượng (µg GAE) trên mỗi miligam chất khô.

3.4. Phương pháp xác định tính chống oxy hóa bằng DPPH

Sử dụng phương pháp DPPH của Kedare và Singh (2011) có hiệu chỉnh để kiểm tra hiệu quả kháng oxy hóa. Dùng nước cất mili-Q hòa tan mẫu thành các nồng độ khác nhau. Đặt phản ứng trên đĩa 96 giếng gồm 100µL mẫu và 100µL dung dịch DPPH, ủ ở 37ºC trong 30 phút và đo bước sóng 517nm. Tính hiệu quả kháng oxy hóa: % bắt gốc tự do = [OD chứng âm - OD mẫu]/ OD chứng âm × 100.

Trong đó:

OD mẫu: độ hấp thụ cực đại của mẫu cao chiết hoa đu đủ đực.

OD chứng âm: độ hấp thụ của mẫu không xử lý với cao chiết.

3.5. Phương pháp nuôi cấy tế bào

Các tế bào đều được cung cấp bởi ATCC (American Type Culture Collection). Nuôi tế bào HepG2, K562, B16F10, Hek293 trong môi trường DMEM có bổ sung 10% (v/v) huyết thanh bê (FBS) và 1% (v/v) kháng sinh penicillin/streptomycine ở điều kiện 37ºC, hàm lượng CO_2 5%, độ ẩm được duy trì bằng cách cung cấp hơi nước bão hòa. Cấy chuyền khi mật độ tế bào đạt 85 - 95%.

3.6. Phương pháp xác định độc tính bằng MTT

Sử dụng MTT (3-(4,5- dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) để xác định độc tính của hoa đu đủ đực trên tế bào HepG2, K562, B16F10 và Hek293 dựa trên sự đổi màu muối tetrazolium của MTT (Ghasemi, Turnbull, Sebastian, & Kempson, 2021). Tế bào HepG2, K562 và Hek293 (4×10^4) tế bào/mL, tế bào B16F10 (2.5×10^3) tế bào/mL nuôi trên đĩa 96 giếng trong 24 giờ cho ổn định. Sau đó, thêm dịch chiết hoa đu đủ đực ở các nồng độ khác nhau (50; 100; 200; 400 µg/mL) vào từng giếng, nuôi tiếp 48 giờ. Kế tiếp, bổ sung 20µL dung dịch MTT nồng độ 05 mg/mL vào mỗi giếng, ủ 04 giờ ở 37ºC. Loại MTT và thay thế bằng 100µL DMSO ủ trong 30 phút nhằm hòa tan các formazan được tạo ra. Đo quang phổ ở bước sóng 540nm. Công thức tính % tế bào sống = [OD mẫu xử lý/OD mẫu trắng].

Trong đó:

OD mẫu xử lý: độ hấp thụ cực đại của mẫu chứa dịch chiết hoa đu đủ đực.

OD mẫu trắng: độ hấp thụ cực đại của mẫu trắng không chứa dịch chiết.

3.7. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm đều lặp lại 03 lần. Kết quả được biểu thị ở giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Dùng phần mềm GraphPad prism 08 xử lý thống kê.

4. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

4.1. Kết quả ảnh hưởng của dung môi chiết đến khối lượng cao chiết thu được từ hoa đu đủ đực

Dùng 20g hoa đu đủ đực chiết với methanol. Đuổi dung môi, thu đươc (3.152 ± 0.069) g cao, hiệu suất 15.758%. Đem 1.5g cao vừa thu để chiết phân đoạn với các loại dung môi là n-hexan, chloroform, ethyl acetate và nước. Thu được khối lượng cao chiết nước cao nhất (1.103 ± 0.013) g, hiệu suất 73.150%. Hiệu suất thu hồi cao phân đoạn n-hexan, ethyl acetate và chloroformn lần lượt là 11.475%; 8.051% và 7.324%. (Bảng 1). Chất lỏng có độ nhớt thấp có thể dễ dàng xâm nhập vào mô thực vật do mật độ thấp và độ khuếch tán cao. Đồng thời, nước phân cực mạnh nên có khả năng tạo ra điện tích phân cực rất cao, khi tương tác với các chất khác, nước tách các chất phân cực ra khỏi hợp chất, kết quả khối lượng cao chiết nước thu nhận chiếm 73.150% chứng tỏ hợp chất trong hoa đu đủ đực chiếm đa số là các chất phân cực.

Bảng 1

Hiệu suất thu cao từ các loại dung môi chiết

Mẫu	Khối lượng mẫu cao tổng 1.5g			
	CPĐ hexan	CPĐ chloroform	CPĐ E. acetate	CPĐ nước
Khối lượng cao (g)	0.173 ± 0.018	0.110 ± 0.003	0.121 ± 0.006	1.103 ± 0.013
Hiệu suất (%)	11.475	7.324	8.051	73.150

*CPĐ: Cao phân đoạn

4.2. Kết quả hàm lượng polyphenol tổng trong các loại cao chiết

Thông qua đường chuẩn acid gallic, hàm lượng polyphenol trong cao chiết hoa đu đủ đực được biểu thị dưới dạng µg acid gallic (GAE)/mg cao chiết. Sự khác biệt về hàm lượng polyphenol toàn phần giữa các mẫu thể hiện qua Bảng 2.

Bảng 2

Hàm lượng polyphenol trong các loại cao chiết phân đoạn

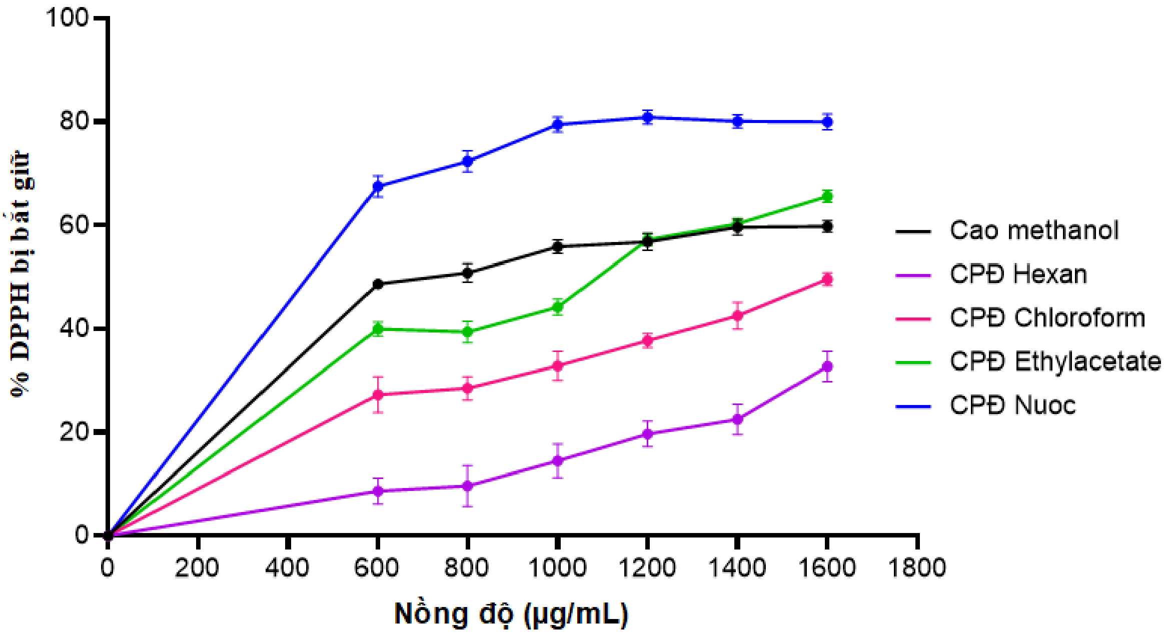
Mẫu	Methanol	n-Hexan	Chloroform	E. acetate	Nước
TPC (µg acid gallic/mg cao chiết)	64.00 ± 2.21[a]	9.26 ± 0.88[b]	33.84 ± 1.45[c]	76.23 ± 3.35[d]	88.15 ± 1.37[e]
Đường chuẩn	y = 0.005044x + 0.07615, R^2 = 0.9989				

Kết quả đi kèm với độ lệch chuẩn của từng giá trị. Các mẫu tự được thể hiện theo cột và nếu có sự khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 0.5% so sánh với mẫu cao tổng methanol.

Tại nồng độ khảo sát 0.5 mg/mL, hàm lượng polyphenol trong mẫu cao phân đoạn nước cao nhất với giá trị (88.15 ± 1.37) µg GAE/mg cao chiết, kế đến là cao chiết tổng methanol và ethyl acetate lần lượt là (64.00 ± 2.21) và (76.23 ± 3.35) µg GAE/mg cao chiết, phân đoạn chloroform và n-hexan có hàm lượng polyphenol là (33.84 ± 1.45) và (9.26 ± 0.88) µg GAE/mg cao chiết.

4.3. Kết quả hoạt tính chống oxy hóa

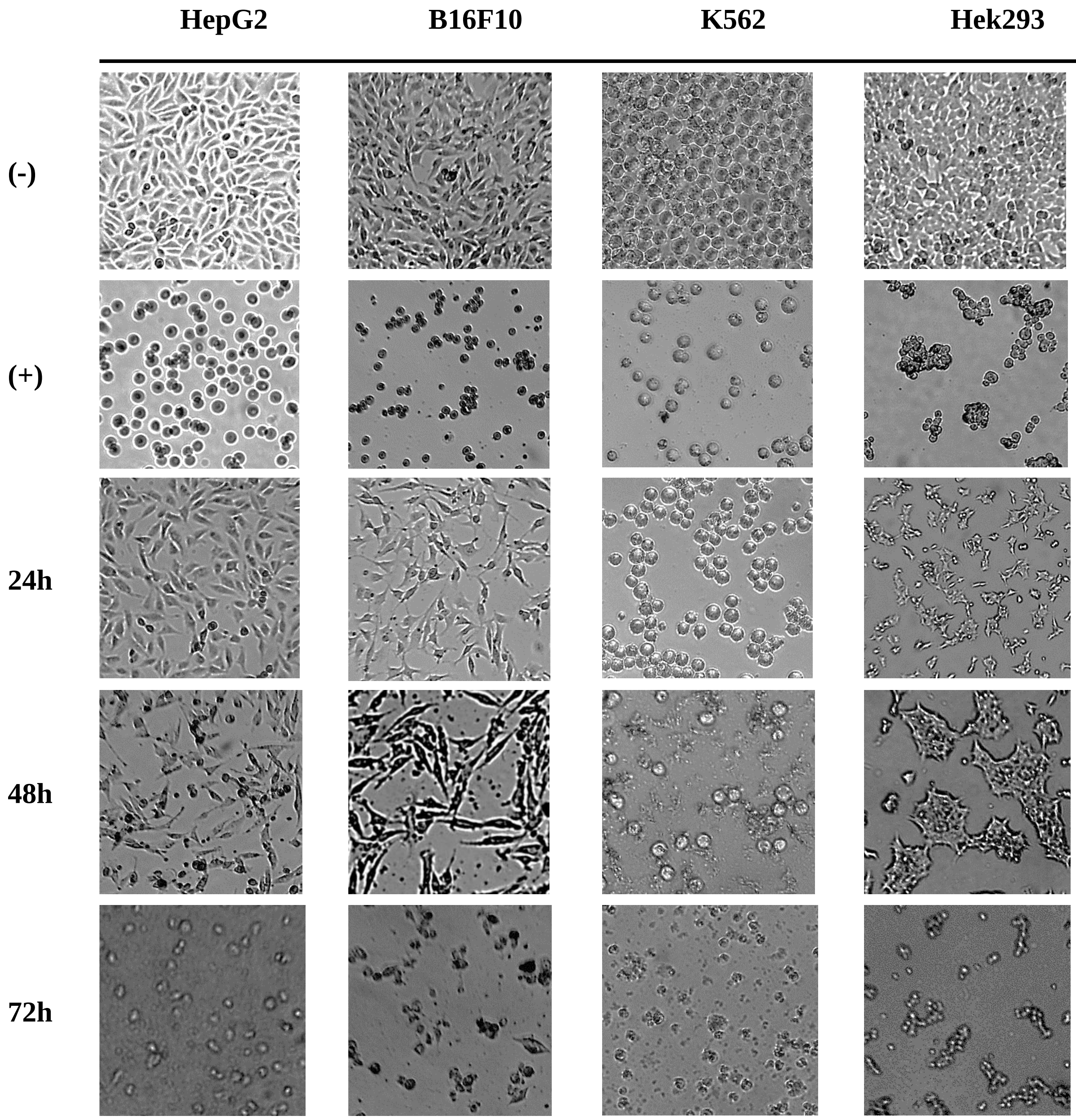
Kết quả thể hiện hoa đu đủ đực có khả năng kháng oxy hóa với EC50 của cao chiết tổng methanol là 687.622 mg/mL. Trong khi đó, giá trị EC50 của cao phân đoạn nước là 431.10 µg/mL, hiệu quả kháng oxy hóa tốt hơn các mẫu cao chiết phân đoạn còn lại, tuy nhiên thấp hơn nhiều lần so với Vitamin C (EC50 = 20.99 µg/mL). Qua đó cho thấy kết quả kháng oxy hóa phù hợp với hàm lượng polyphenol tổng số có trong cao phân đoạn được trình bày ở trên. Hàm lượng polyphenol cao chiết nước cao cho hiệu quả kháng oxy tốt. Các nhóm hydroxyl (-OH) trong cấu trúc của polyphenol có thể tương tác với các gốc tự do, từ đó làm giảm hoạt động oxy hóa của chúng. Một số polyphenol tạo ra phức chất với các ion kim loại làm giảm khả năng của chúng tham gia vào các phản ứng tạo ra gốc tự do. Một số polyphenol lại có khả năng kích thích hoạt động của các enzyme chống oxy hóa tự nhiên trong cơ thể như Superoxide Dismutase (SOD) và catalase, đây là những enzyme có vai trò quan trọng trong việc tiêu diệt các gốc tự do và bảo vệ tế bào khỏi tổn thương do oxy hóa.



Hình 1. Tác dụng chống oxy hóa của cao chiết phân đoạn hoa đu đủ đực

4.4. Kết quả về sự thay đổi hình thái tế bào khi xử lý với các phân đoạn hoa đu đủ đực

Sử dụng tế bào ung thư HepG2, B16F10, K562 và tế bào không ung thư là thận phôi người Hek293 trong khảo sát. Hình 2 thể hiện hiệu quả gây độc tế bào theo thời gian của cao chiết phân đoạn ethyl acetate hoa đu đủ đực ở nồng độ 400 µg/mL. Sau 72 giờ xử lí, tế bào HepG2 tách lên khỏi bề mặt đĩa nuôi và co tròn lại, đồng thời cứ sau mỗi 24 giờ độ bao phủ của tế bào bám giảm dần. Với tế bào B16F10 cũng ghi nhận được kết quả tương tự. Với dòng tế bào K562, nồng độ tế bào giảm sau 72h xử lý, tế bào không còn nguyên dạng hình tròn lơ lửng cố định mà một trong số đó co lại thành hình tròn nhỏ hơn hoặc phân hủy hoàn toàn. Cao chiết ethyl acetate ở nồng độ 400 µg/mL làm giảm tốc độ tăng trưởng của tế bào Hek293. Qua đó cho thấy, cao chiết hoa đu đủ đực không chỉ tiêu diệt các dòng tế bào ung thư mà còn ức chế cả dòng tế bào thường Hek293. Đối chứng dương DMSO 10% cho kết quả tương tự.



Hình 2. Hình ảnh chụp các tế bào HepG2, B16F10, K562 và Hek293 theo thời gian, khi thử nghiệm với cao phân đoạn ethyl acetate hoa đu đủ đực tại nồng độ 400 µg/mL. Chứng dương DMSO 10%

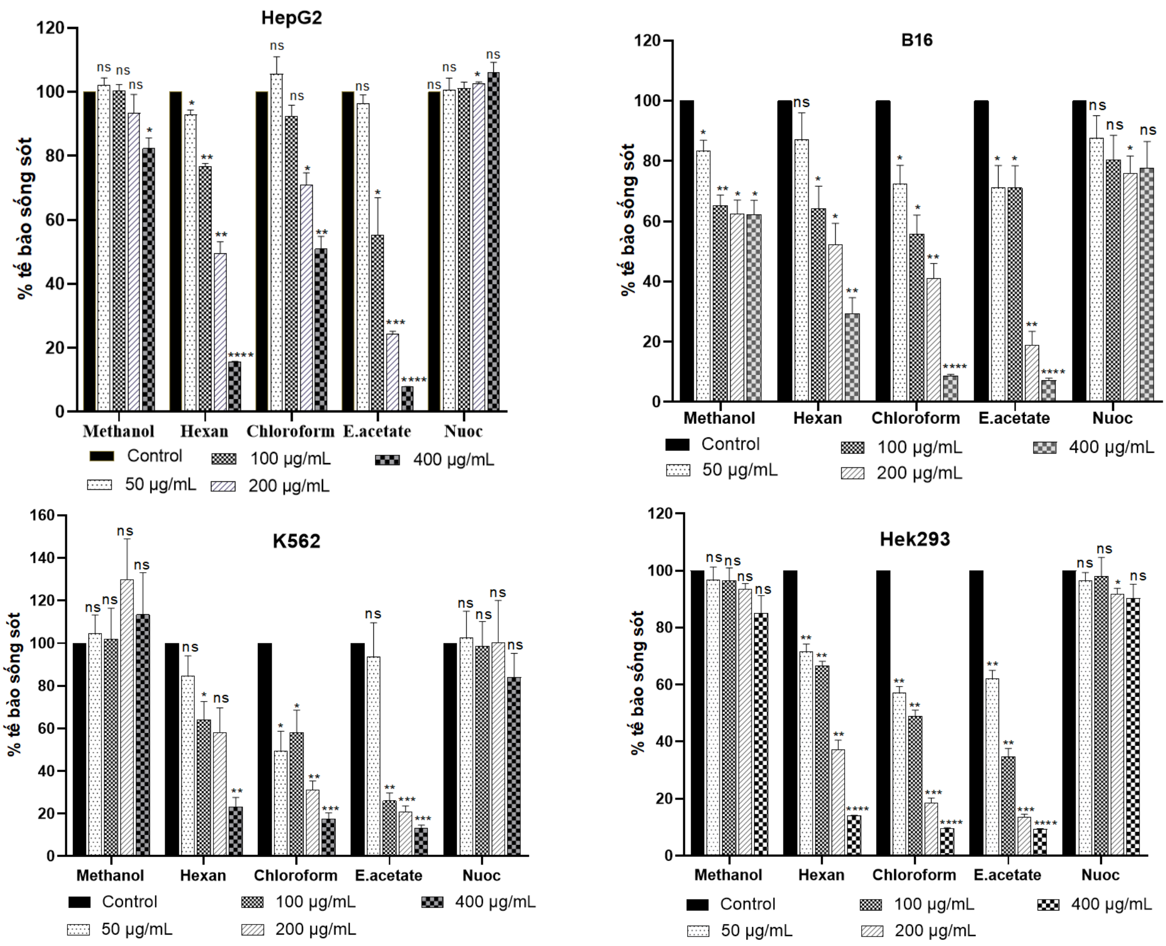
4.5. Kết quả về khả năng sống sót của tế bào khi xử lý với các phân đoạn hoa đu đủ đực

Kết quả sau 48 giờ cho thấy, hiệu quả gây độc tế bào tăng dần theo nồng độ xử lý và có sự khác biệt ở từng phân đoạn trên từng dòng tế bào khảo sát thể hiện ở Hình 3. Ở nồng độ 400 µg/mL, khi xử lý các phân đoạn n-hexan, choloroform, ethyl actetate và nước cho tỷ lệ tế bào sống sót ở tế bào HepG2 lần lượt là 15.58 ± 0.26; 50.93 ± 3.91; 7.79 ± 0.14; 105.98 ± 3.23%. Tế bào B16F10 là 29.33 ± 5.34; 8.73 ± 0.43; 7.22 ± 0.68; 77.56 ± 8.91%. Tế bào K562 là 23.26 ± 4.38; 17.60 ±2.79; 13.08 ± 1.56; 83.88 ± 11.34%. Qua đó cho thấy, phân đoạn ethyl acetate có hiệu quả gây độc tế bào tốt nhất. Phân đoạn nước ức chế chậm sự tăng sinh hoặc không gây ảnh hưởng tới tế bào.

Đồng thời, khi khảo sát hiệu quả gây độc của cao chiết tổng methanol trên các dòng tế bào HepG2, B16F10 và K562 cho tỷ lệ tế bào sống lần lượt là 82.29 ± 3.28; 62.18 ± 4.82; 113.38 ± 19.73%. Hiệu quả của cao chiết tổng thấp hơn nhiều so với cao chiết phân đoạn, có thể do cao phân đoạn đã giúp tăng tính chọn lọc những hợp chất có tác động kháng ung thư từ đó giúp tăng khả năng hiểu biết về cơ chế hoạt động và cải thiện khả năng tinh chế.

Bên cạnh đó, khi so sánh với đối chứng dương (DMSO 10%), phân đoạn ethyl acetate trên tế bào HepG2 gây độc tốt hơn gấp 3.3 lần so với đối chứng dương (25.66 ± 1.54), tế bào B16F10 tương đương với đối chứng dương là (7.76 ± 0.65). Chứng tỏ phân đoạn ethyl acetate của hoa đu đủ đực có tác động gây độc mạnh và có tiềm năng để tiếp tục nghiên cứu về tính chất độc tính hoặc có thể được sử dụng trong điều trị cũng như ngăn ngừa các bệnh lý tương tự. Tuy nhiên, cần tiếp tục nghiên cứu để xác nhận và hiểu rõ hơn về cơ chế hoạt động, tiềm năng ứng dụng của cao chiết này.

Đối với tế bào không ung thư Hek293, các cao chiết phân đoạn n-hexan, chloroform và ethyl acetate đều gây độc với khả năng sống lần lượt là 14.03 ± 0.17; 9.62 ± 0.20 và 9.33 ± 0.19% tại nồng độ 400 µg/mL. Qua đó cho thấy các mẫu cao chiết phân đoạn của hoa đu đủ đực có cơ chế tác động khác nhau lên các dòng tế bào ung thư. Hơn nữa, khả năng sống sót của dòng tế bào Hek293 là (9.33 ± 0.19) % thấp hơn so với đối chứng dương là (19.42 ± 3.31) %, điều đó chứng tỏ các cao chiết của hoa đu đủ đực không những có hiệu quả gây độc trên các dòng tế bào ung thư HepG2, B16F10, K562 mà còn gây độc luôn cả dòng tế bào thận phôi người Hek293 là dòng tế bào không ung thư.



Hình 3. Khả năng sống sót của tế bào HepG2, B16F10, K562 và Hek293 khi xử lý với các phân đoạn hoa đu đủ đực. Kết quả thống kê thể hiện so sánh hiệu quả gây độc tế bào ở từng nồng độ (50, 100, 200, 400 µg/mL) so với control ở các mẫu cao chiết methanol, n- hexan, chloroform, ethyl acetate và nước trên từng loại tế bào

****: $p < 0.0001$, ***: $p < 0.0005$, **: $p < 0.005$, *: $p < 0.05$, ns: $p > 0.05$

4.6. Kết quả độc tính của hoa đu đủ đực lên tế bào theo nồng độ

Kết quả về IC50 của các phân đoạn hoa đu đủ đực thể hiện trong Bảng 3 cho thấy rằng các phân đoạn đều có hiệu quả gây độc tế bào HepG2, B16F10 và K562 tốt, ngoại từ cao chiết tổng methanol và phân đoạn nước nằm ngoài phạm vi nồng độ khảo sát (IC50 > 400 µg/mL).

Cao chiết n-hexan gây độc tốt trên dòng tế bào ung thư gan HepG2 với IC50 khoảng 196.79 µg/mL, tuy nhiên thấp hơn so với nghiên cứu của Akshay và Alisha (2022) cho thấy dịch chiết hạt đu đủ gây độc với IC50 là 24.35 µg/mL trên cùng dòng tế bào. Cao phân đoạn ethyl acetate và chloroform cho thấy hoạt tính gây độc tốt trên các dòng tế bào ung thư da B16F10 và ung thư máu K562 với giá trị IC50 lần lượt là 126.47 µg/mL và 83.23 µg/mL. Hiện chưa có các công trình nghiên cứu trong và ngoài nước về khả năng chống lại các dòng tế bào ung thư HepG2, B16F10 và K562 của hoa đu đủ đực. Tuy nhiên, so sánh với dịch chiết lá đu đủ trên dòng tế bào ung thư vú MCF-7 ở người với giá trị IC50 là 1,319.25 µg/mL (Fatma & ctg., 2017) cho thấy hoa đu đủ có khả năng gây độc tế bào ung thư khá tốt. Ngoài ra, các kết quả nghiên cứu cũng cho thấy rằng dịch chiết hoa đu đủ đực không những gây độc với các dòng tế bào ung thư mà còn ức chế luôn cả tế bào thường Hek293 (tế bào thận phôi người) với IC50 là 68.7 µg/mL, tương ứng với cao phân đoạn ethyl acetate. Điều đó chứng tỏ, các cao chiết có những cơ chế tác động đa dạng lên các dòng tế bào và không phân biệt được tế bào thường và tế bào ung thư. Nên thực hiện các nghiên cứu cụ thể chi tiết hơn trong tương lai để làm rõ hơn cơ chế ảnh hưởng lên các dòng tế bào.

Bảng 3

Kết quả giá trị IC50 (µg/mL) của các phân đoạn hoa đu đủ đực

	IC50 (µg/mL)				
Mẫu	**Methanol**	**n-Hexan**	**Chloroform**	**E. acetate**	**Nước**
HepG2	> 400	196.79^{a}	$> 400^{a}$	130.08^{a}	> 400
B16F10	> 400	209.52^{b}	128.09^{b}	126.47^{b}	> 400
K562	> 400	254.70^{c}	83.23^{c}	89.33^{c}	> 400
Hek293	> 400	143.36^{d}	79.79^{d}	68.70^{d}	> 400

Trong cùng một cột, các số theo sau bởi một chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 0.01% bằng phép thử two way anova

5. Kết luận và kiến nghị

Nghiên cứu chỉ ra rằng cao phân đoạn nước của hoa đu đủ đực cho hiệu suất thu nhận cao 73.15% với hàm lượng polyphenol là 88.15 ± 1.37 µg GAE/mg cao chiết và có hiệu quả kháng oxy hóa (EC50 = 431.10 µg/mL). Phân đoạn ethyl acetate cho hiệu quả gây độc tế bào HepG2, B16F10, K562 tốt với IC50 lần lượt là 130.08; 126.47; 89.33 µg/mL. Nhìn chung, kết quả nghiên cứu cung cấp thêm bằng chứng về sự hiện diện của các chất hóa thực vật có hiệu quả ở trong hoa đu đủ đực, đóng vai trò trong phòng và chữa bệnh, đưa các phân tử thực vật vào điều trị ung thư trong thập kỷ tới. Từ đó cung cấp một giải pháp triển vọng và hiệu quả song hành với phương pháp truyền thống. Tuy nhiên, để được đưa vào sử dụng thì những nghiên cứu sâu hơn hay thử nghiệm trên cơ thể sống là điều hết sức cần thiết trước khi điều trị cho bệnh nhân.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

Tài liệu tham khảo

Akshay, A., & Alisha, B. (2022). *In vitro* anticancer activity of “Methanolic extract of Papaya Blackseeds” (MPB) in HepG2 cell lines and its effect in the regulation of bcl-2, caspase-3 and p53 gene expression. *Advances in Cancer Biology-Metastasis, 4*, 1-7.

Allan, P. (2002). *Carica papaya* responses under cool subtropical growth conditions. *Acta Hortic*, *575*(575), 757-763.

Do, V. T. T. (2020). *Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cây đu đủ đực Carica Papaya L. [Study on chemical composition and biological activities of male Carica papaya L.]* (Doctoral dissertation). University of Science and Education - The University of Danang (UED), Danang, Vietnam.

Fatma, Z. N., Mary, A., & Agnes, M. (2017). Anti-proliferation and apoptosis induction of aqueous leaf extract of *Carica papaya* L. on human breast cancer cells MCF-7. *National Library of Medicine*, *20*(1), 36-41.

Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., & Kempson, I. (2021). The MTT assay: Utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(23), Article 12827.

Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011), Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, *48*(4), 412-422.

King, B. B., & Milagros, A. P. (2016). The potential of male papaya (*Carica papaya*, L.) flower as a functional ingredient for herbal tea production. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, *15*(1), 41-49.

Manish, K. D., Shruti, S., & Shringika, M. (2020). Antioxidant, antibacterial activity, and phytochemical characterization of *Carica papaya* flowers. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, *9*(23), 1-11.

Phan, M. L. T., Tran, L. V., Tran, D. D., Vuong, T. H., Huynh, D. K, Mai, P. T., Hoang, N. M., & Nguyen, H. H. (2020). Optimization of flavonoids extraction from Vietnamese male papaya (*Carica papaya*, L.) flowers by ultrasound-asissted method and testing bioactivities of the extract. *Chemistry Select*, *5*(42), 13407-13416.

Sianipar, M. P., Suwarso, E., & Rosidah, R. (2018). Antioxidant and anticancer activities of hexane fraction from *Carica papaya* L. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, *11*(3), 81-83.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, *299*, 152-178.

Storey, W. B. (1953). Genetics of the papaya. *Journal of Hered*, *44*(2), 70-78.

Tran, T. P., Phan, L. B., & Pham, T. T. (2020). Nghiên cứu khả năng chống ung thư của dịch chiết lá tươi cây đu đủ đực (*Carica papaya* L.) ở Hà Tĩnh [Potential anti-tumor activites of extract from fresh leaves of the male Papaya (*Carica papaya* L.) collected in Ha Tinh province]. *Tạp chí Công nghệ sinh học*, *18*(1), 127-134.

Zainab, A., Alexus, G., Haiwen, L., Rafie, R., Andrea, R. B., Sarah, M. W., … Rafat, A. S. (2020). Antiproliferative effect of green papaya on lymphocytic leukemic cells. *Nutrition and Food Science International Journal*, *10*(2), 1-9.