

# ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO UNG THƯ BẠCH CẦU K562 CỦA CAO CHIẾT METHANOL TỪ CÂY CHÈ NHỤY NGẮN *CAMELLIA KISSI*

## INVESTIGATE THE ANTI-CANCER EFFECTS OF *CAMELLIA KISSI* METHANOL EXTRACT ON K562 LEUKEMIA CELLS

Nguyễn Anh Xuân<sup>1,2</sup>, Sử Nguyễn Tấn Tín<sup>3</sup>, Phùng Mỹ Trung<sup>4</sup>, Hoàng Thành Chí<sup>4</sup>, Bùi Thị Kim Lý<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Tp. HCM, Việt Nam

<sup>3</sup>Công ty Cổ phần SDG Life, Việt Nam

<sup>4</sup>Trường Đại học Thủ Dầu Một, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ / Corresponding author: lybtk@tdmu.edu.vn

(Nhận bài / Received: 09/12/2022; Sửa bài / Revised: 15/3/2023; Chấp nhận đăng / Accepted: 17/4/2023)

**Tóm tắt** – Bệnh bạch cầu mãn dòng tủy (CML) là một loại bệnh ung thư máu, đặc trưng bởi sự phát triển không kiểm soát của các tế bào bạch cầu trong tủy xương. Hiện nay, việc điều trị CML vẫn còn nhiều thách thức vì bệnh nhân không thể tiếp cận phương pháp điều trị, hoặc tiếp cận được nhưng điều trị thất bại hoặc bệnh nhân kháng với thuốc điều trị sau thời gian đáp ứng thuốc ban đầu rất tốt. Vì thế, mục tiêu của nghiên cứu này là nhằm tìm ra liệu pháp điều trị thay thế để cải thiện những khó khăn trên, cụ thể là chứng minh tiềm năng gây độc tế bào bạch cầu mãn dòng tủy K562 của cao chiết methanol từ cây *Camellia kissi*. Kết quả cho thấy, cao chiết có khả năng ức chế tốt sự phát triển của dòng tế bào ung thư bạch cầu mãn dòng tủy K562 với giá trị  $IC_{50}$  là  $40,01 \pm 3,12$  ( $\mu\text{g/mL}$ ). Hơn nữa, tác động này được chứng minh là phụ thuộc vào nồng độ và thời gian xử lý cao chiết.

**Từ khóa** – Khả năng gây độc tế bào; *Camellia kissi*; bệnh bạch cầu mãn dòng tủy (CML); K562.

### 1. Đặt vấn đề

Ung thư máu là một bệnh ung thư ác tính liên quan đến rối loạn tăng sinh tế bào máu, do những thay đổi bất thường của quá trình tạo máu trong tủy xương. Có nhiều loại ung thư máu khác nhau, bao gồm bệnh bạch cầu (leukemia) [1], ung thư hạch (lymphoma) [2], u tủy (myeloma) [3], hội chứng tăng sinh tủy (myelodysplastic syndromes) [4] và ung thư tăng sinh tủy (myeloproliferative neoplasms) [5]. Trong đó bệnh bạch cầu mãn dòng tủy (CML) là một loại bệnh ung thư máu, đặc trưng bởi sự phát triển không kiểm soát của các tế bào bạch cầu trong tủy xương. Bệnh gây ra do sự đột biến chuyển đoạn giữa hai nhiễm sắc thể số 9 và 22, tạo thành nhiễm sắc thể Philadelphia (Ph) [6, 7]. Hơn 90% người bệnh mắc CML dương tính với nhiễm sắc thể Ph [8]. Một đoạn gen *ABL1* từ nhiễm sắc thể số 9 đã được chuyển đến và gắn vào đoạn gen của *BCR* trên nhánh dài nhiễm sắc thể số 22, ký hiệu t(9;22)(q34;q11) [7] từ đó hình thành tổ hợp gen *BCR-ABL* trên nhiễm sắc thể số 22. Protein dung hợp *BCR-ABL* được mã hóa từ tổ hợp gen *BCR-ABL* có hoạt tính kinase rất mạnh và là một protein sinh ung thư (oncoprotein). *BCR-ABL* hoạt hóa con đường dẫn truyền tín hiệu trong tế bào liên quan đến tăng sinh mất kiểm soát. Chính điều này làm cho các tế bào dòng tủy tồn

**Abstract** - Chronic myeloid leukaemia (CML) is a type of blood cancer that causes uncontrollable growth of white blood cells in the bone marrow. Currently, CML treatment remains difficult because patients cannot access it, or can but the treatment fails, or the patient is resistant to treatment after an initial good drug response. The purpose of this study was to find an alternative therapy to overcome these difficulties, specifically to demonstrate the cytotoxic potential of *Camellia kissi* methanol extract on K562 cells. With an  $IC_{50}$  of  $40.01 \pm 3.12$   $\mu\text{g/mL}$ , the methanol extract of *C. kissi* was able to effectively inhibit the growth of the chronic myeloid leukemia cell line K562. This effect has been shown to be extract concentration and incubation time dependent.

**Keywords** - Cytotoxicity effect; *Camellia kissi*; Chronic Myeloid Leukemia (CML); K562

tại nhiều ở dạng tế bào non chưa biệt hóa và không thực hiện được chức năng nhưng lại tăng sinh rất nhiều và nhanh [9]. Theo thống kê của hiệp hội ung thư Hoa Kỳ vào đầu năm 2022, tỷ lệ bệnh nhân mắc CML chiếm 15% trong tất cả các bệnh về máu với ước tính 1.220 trường hợp tử vong vì căn bệnh này [10]. Về liệu pháp điều trị CML thì gần hai thập kỉ qua, bệnh nhân có  $Ph^+$  sẽ được ưu tiên sử dụng chất ức chế hướng đích là thuốc Imatinib, thuốc này có mục tiêu là hoạt động cạnh tranh vị trí gắn với phân tử ATP trên protein *BCR-ABL* [11]. Tuy vậy, việc điều trị CML vẫn còn nhiều thách thức chẳng hạn như bệnh nhân không thể tiếp cận phương pháp điều trị, hoặc tiếp cận được nhưng điều trị thất bại hoặc bệnh nhân kháng với thuốc điều trị sau thời gian đáp ứng thuốc ban đầu rất tốt [12]. Vì thế, mục tiêu của nghiên cứu này là nhằm tìm ra liệu pháp điều trị thay thế để cải thiện những khó khăn trên, cụ thể là chứng minh tiềm năng gây độc tế bào bạch cầu mãn dòng tủy K562 của cao chiết methanol từ cây *C. kissi*.

*C. kissi* còn được gọi là chè nhụy ngắn hay chè dẫu cánh rụng, thuộc loài thực vật có hoa [13]. *C. kissi* là cây gỗ trung bình, thuộc chi *Camellia*, họ Chè (Theaceae). Thân cao khoảng 8 m, vỏ có màu xám nhạt, bóng. Cành khi còn non có lông nhung, về già có lông tơ. Lá dài 5 ~ 8 cm, rộng 2 ~

<sup>1</sup> Hong Bang International University, Vietnam (Nguyen Anh Xuan)

<sup>2</sup> University of Science, Viet Nam National University Ho Chi Minh City, Vietnam (Nguyen Anh Xuan)

<sup>3</sup> SDG Life Joint Stock Company, Vietnam (Su Nguyen Tan Tin)

<sup>4</sup> Thu Dau Mot University, Vietnam (Phung My Trung, Hoang Thanh Chi, Bui Thi Kim Ly)

2,5 cm, hình thuôn dài, chóp nhọn hình mũi mác, mép có khía, mặt trên màu xanh lục đậm, mặt dưới màu xanh lục nhạt, cuống lá 3 ~ 7 mm. Hoa màu trắng, mọc ở nách lá, đứng đơn độc, cánh hoa chia 5 hoặc 6 cánh, hình trứng hoặc đầu nhọn hình tròn [14]. Về phân bố, *C. kissi* tập trung chủ yếu dọc theo dãy núi Himalaya đến phía Nam Trung Quốc, và ở các nước khác như Ấn Độ, Myanmar, Lào, Campuchia, Nepal, Bangladesh, Myanmar, Sri Lanka, Đài Loan, Thái Lan [15]. Tại Việt Nam, *C. kissi* đang được trồng và bảo tồn tại vườn quốc gia Tam Đảo, ngoài ra còn có thể tìm thấy tại các vùng núi ở Cao Bằng, Lạng Sơn, Vĩnh Phúc, Thừa Thiên Huế, Ninh Thuận, Lâm Đồng [16].

Dựa trên nghiên cứu của họ Chè cho thấy, thành phần hóa học của chè gồm có các chất như: carbohydrate, vitamin, khoáng chất, nguyên tố vi lượng, alkaloid, polyphenol, axit amin, glucid, protein [17, 18]. Trong chè chứa nhiều flavonoid, chủ yếu là catechin (phổ biến nhất là epigallocatechin gallate (EGCG)) và các dẫn xuất của chúng, đã được chứng minh là có nhiều tác dụng kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, và kháng ung thư [19, 20]. Nhiều nghiên cứu khoa học đã chỉ ra rằng, EGCG có khả năng chống viêm, đồng thời cũng là chất kháng ung thư vì EGCG có tính an toàn, giá thành rẻ và ứng dụng cao [21, 22]. Về hoạt tính sinh học, *C. kissi* chỉ mới được chứng minh là có khả năng kháng oxy hóa cao [23]. Bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ GC – MS, chiết xuất ethanol từ lá của *C. kissi* cho thấy, có sự hiện diện nhiều của  $\alpha$ -amyrin (60,715 %) và  $\beta$ -amyrin (27,50 %), tuy nhiên hoạt tính của chúng chưa được chứng minh rõ [23]. Vì thế mục tiêu của nghiên cứu này là nhằm đánh giá tác động của cao chiết methanol từ lá cây *C. kissi* lên tế bào CML dòng K562.

## 2. Vật liệu và phương pháp

### 2.1. Vật liệu, tế bào

Mẫu vật liệu là lá của cây chè nhụy ngắn *C. kissi* được thu hái tại huyện Di Linh, tỉnh Lâm Đồng vào tháng 3 năm 2022. Vị trí thu hái tại tọa độ 11.481178.108.130521 do nhà nghiên cứu đa dạng sinh học Phùng Mỹ Trung cấp mã định danh PMT-C-01.

Tế bào sử dụng là dòng K562 (ATCC®CCL-243™) được phân lập từ tế bào của bệnh nhân CML mang tổ hợp gen *BCR-ABL* [24].

### 2.2. Phương pháp thu nhận cao chiết methanol

Mẫu lá chè *C. kissi* được rửa sạch sau đó sấy khô ở 40°C cho tới khi trọng lượng không đổi. Mẫu lá khô được xay nhuyễn thành bột. Tiến hành lấy 200g bột chiết ngâm dầm với dung môi methanol (Merk) theo tỷ lệ 1:3 (w/v), sao cho toàn bộ lượng bột phải ngập trong dung môi. Tiếp theo lắc đều hỗn hợp trên máy lắc với tốc độ 180 vòng/phút trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, lọc lấy phần dịch nổi bên trên qua giấy lọc Whatman, phần bã còn lại tiếp tục được bổ sung thêm dung môi methanol mới và lặp lại các bước như trên thêm 3 lần. Dịch lọc từ các lần chiết sẽ được gộp lại, và tiến hành loại dung môi bằng máy cô quay chân không ở 40°C. Cao chiết thu nhận được đông khô để thu cao chiết thô [25].

Hiệu suất chiết (H) được xác định theo công thức sau:

$$H (\%) = \frac{\text{Khối lượng cao thô thu được (g)}}{\text{Khối lượng bột ban đầu (g)}} \times 100\%$$

### 2.3. Phương pháp chuẩn bị dịch chiết

Cao chiết methanol của lá chè *C. kissi* sẽ được hòa tan với dung môi dimethyl sulfoxide (DMSO) để đạt nồng độ gốc là 300 mg/mL. Sau đó, dịch chiết được lọc lần lượt qua các màng lọc 0,45  $\mu$ m và 0,22  $\mu$ m trong tủ cấy vô trùng. Dịch chiết được lưu trữ lạnh ở -20°C và chỉ rã đông ngay trước khi sử dụng [26].

### 2.4. Phương pháp nuôi cấy tế bào

Dòng tế bào ung thư máu K562 được nuôi cấy trong các đĩa có chứa môi trường Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 có bổ sung 10% huyết thanh thai bò (Fetal Bovine Serum) và kháng sinh 5% penicillin/streptomycin [27]. Sau đó, đem nuôi cấy ở 37°C trong điều kiện được cấp ẩm và nạp CO<sub>2</sub> liên tục ở mức 5%. Tế bào được tiến hành ly tâm và thay môi trường định kỳ sau 72 giờ và cấy chuyển khi mật độ tế bào chiếm khoảng 80% thể tích nuôi cấy.

### 2.5. Phương pháp đánh giá độc tính trên tế bào

Hoạt tính gây độc tế bào của cao chiết methanol cây chè *C. kissi* sẽ được xác định theo phương pháp nhuộm trypan blue. Nguyên tắc hoạt động của trypan blue là khi tế bào khỏe mạnh, màng tế bào vẫn còn nguyên vẹn, thuốc nhuộm trypan blue không thể xâm nhập vào tế bào do bản chất màng tế bào có tính chọn lọc rất cao. Tuy nhiên, khi màng tế bào bị tổn thương, không còn giữ được tính vẹn toàn ban đầu, khi đó thuốc nhuộm trypan blue sẽ thẩm thấu vào trong tế bào và liên kết với các protein nội bào làm cho tế bào có màu xanh lam [28].

Độc tính của cao chiết *C. kissi* trên tế bào K562 được tiến hành theo các bước dưới đây:

#### 2.5.1. Chuẩn bị tế bào

Theo dõi mật độ tế bào trong đĩa nuôi cấy đến khi đạt được hơn 80% không gian nuôi thì tiến hành thu hoạch và ly tâm để loại bỏ dịch nuôi cũ. Hòa cạn tế bào với một lượng môi trường RPMI nhất định, sao cho mật độ tế bào trong dung dịch đạt được 2x10<sup>5</sup> tế bào/mL.

#### 2.5.2. Chuẩn bị dịch chiết

Dịch chiết methanol *C. kissi* (300 mg/mL) sẽ được pha loãng ra thành các nồng độ khác nhau, sao cho nồng độ cuối cùng trong tổng thể tích dịch thử có giá trị trong khoảng từ 6,25  $\mu$ g/mL đến 100  $\mu$ g/mL.

### 2.6. Đánh giá khả năng gây độc tế bào

Tế bào ung thư máu K562 được bổ sung lần lượt vào đĩa 6 giếng, mỗi giếng 1,5 mL dung dịch tế bào và 1,5 mL dịch chiết methanol *C. kissi* ở các nồng độ khảo sát khác nhau đã được chuẩn bị như trên. Ở giếng đối chứng, bổ sung vào 1,5 mL môi trường nuôi cấy thay vì cao chiết methanol *C. kissi*. Tổng thể tích của mỗi giếng là 3 mL. Sau 72 giờ, tế bào được nhuộm với trypan blue theo tỷ lệ 1:1 (10  $\mu$ l dung dịch tế bào: 10  $\mu$ l trypan blue), mẫu thử được cho vào buồng đếm hồng cầu Neubauer và đếm trên kính hiển vi có độ phóng đại 200 lần. Tế bào được đếm ở 4 ô 4 góc trên buồng đếm, những tế bào nằm trên đường viền thì đếm ở đường viền bên trái và phía trên, không đếm tế bào nằm ở đường viền bên phải và phía dưới.

Di chuyển quang trường theo đường zíc - zắc để tránh đếm lặp lại các tế bào, số tế bào đếm được tính bằng công thức sau:

$$N \times 5 \times 10^3 \text{ (tế bào/mL)}$$

Trong đó, N là số tế bào đếm được trong 4 ô trên buồng đếm Neubauer.

Từ đó, tỷ lệ tế bào sống ở giếng chứa dịch chiết so với giếng đối chứng theo công thức:

$$\frac{\text{Số lượng tế bào sống ở giếng chứa dịch chiết}}{\text{Số lượng tế bào sống ở giếng đối chứng}} \times 100\%$$

Ghi nhận lại kết quả, từ đó tính ra giá trị IC<sub>50</sub> [29].

### 2.7. Phương pháp thử nghiệm độc tính theo thời gian

Nồng độ cao chiết thử nghiệm được chọn dao động quanh giá trị IC<sub>50</sub> từ kết quả đánh giá khả năng gây độc tế bào. Tế bào được nuôi cấy đạt đến mật độ  $2 \times 10^5$  tế bào/mL, bổ sung lần lượt vào đĩa 6 giếng, mỗi giếng 1,5 mL dung dịch tế bào và 1,5 mL dịch chiết methanol *C. kissi*. Ở giếng đối chứng, bổ sung vào 1,5 mL môi trường nuôi cấy. Lần lượt sau 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ tế bào được nhuộm với trypan blue theo tỷ lệ 1:1 (10 μl dung dịch tế bào: 10 μl trypan blue). Mẫu thử được cho vào buồng đếm hồng cầu Neubauer và đếm trên kính hiển vi có độ phóng đại 200 lần.

Từ đó tính được số lượng tế bào sống ở giếng chứa dịch chiết so với giếng đối chứng theo thời gian. Quy trình được trình bày ở Mục 2.6

### 2.8. Phương pháp phân tích số liệu

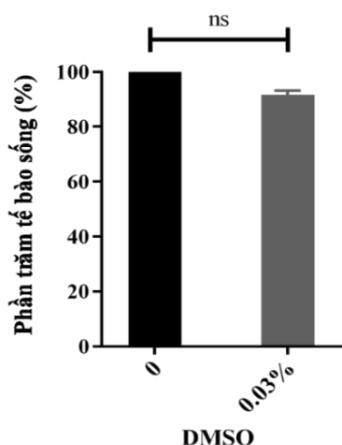
Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu thu được từ 3 lần lặp lại thí nghiệm khác nhau, được biểu diễn bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (mean ± SD). Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm GraphPad Prism 7.

## 3. Kết quả và thảo luận

### 3.1. Tác động của dung môi DMSO lên tế bào K562

Thí nghiệm này nhằm mục đích kiểm tra sự ảnh hưởng của dung môi DMSO dùng để hòa tan cao chiết *C. kissi* lên sự tăng sinh và phát triển của dòng tế bào K562. Nồng độ DMSO thử nghiệm là 0,03% tương đương với lượng DMSO có trong nghiệm thức ở nồng độ cao chiết cao nhất.

Kết quả khảo sát độc tính của dung môi DMSO được thể hiện thông qua Hình 2.



Hình 2. Biểu đồ so sánh tỷ lệ sống (%) của tế bào K562 trong điều kiện có và không có dung môi DMSO

Kết quả cho thấy, sau 72 giờ nuôi cấy với môi trường có bổ sung DMSO 0,03%, tỷ lệ sống sót của tế bào là hơn 90%, cho thấy dung môi không có tác động gây độc lên tế bào K562 thử nghiệm.

Hình 2 cho thấy không có sự khác biệt về tỉ lệ tế bào sống sót trong điều kiện có và không có tác động của dung môi DMSO 0,03%.

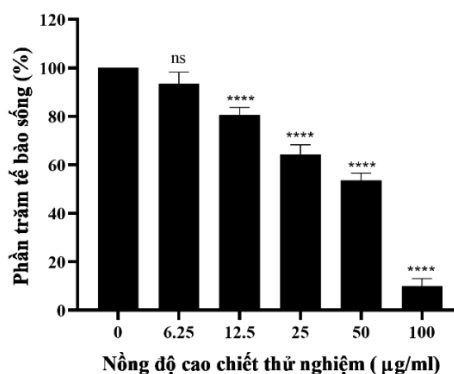
Trong các nghiên cứu trước đây về tác động của dung môi DMSO, báo cáo đã chỉ ra rằng nồng độ DMSO gây độc phụ thuộc vào loại tế bào thử nghiệm: Tế bào fibroblast chết khi nuôi cấy trong môi trường có chứa nồng độ DMSO lớn hơn 3% [30], tế bào u ruột kết Caco2/TC7 chết khi nuôi cấy trong môi trường có chứa nồng độ DMSO trên 10% [31]. Ở nghiên cứu khác đã chứng minh nồng độ DMSO dưới 0,2% có khả năng kích thích tăng sinh một số loại tế bào như tế bào fibroblast, và tế bào ung thư buồng trứng [30, 32, 33]. Có thể thấy, ở nồng độ thấp, DMSO an toàn cho sự sống và sinh trưởng của tế bào, do đó được sử dụng để làm dung môi hòa tan cho nhiều thuốc và cao chiết.

Ở thí nghiệm này, kết quả khảo sát tác động của dung môi DMSO ở mức nồng độ 0,03% lên tế bào K562 cho thấy, dung môi không gây ảnh hưởng nào đến sự sống của tế bào, từ đó có thể kết luận rằng dung môi DMSO ở nồng độ 0,03% là an toàn và không ảnh hưởng đến các kết quả thí nghiệm sau trong nghiên cứu lần này.

### 3.2. Tác động của cao chiết methanol *C. kissi* lên sự tăng sinh của tế bào K562 theo nồng độ

Từ 200 g bột lá chè *C. kissi* chiết ngâm đậm với dung môi methanol, sau 3 lần lặp lại quy trình chiết thu được  $14,25 \pm 2,21$ g cao thô. Từ đó suy ra hiệu suất chiết cao là  $7,125 \pm 2,21\%$ .

Kết quả khảo sát khả năng gây độc của cao chiết methanol cây *C. kissi* đối với dòng tế bào ung thư máu K562 được thể hiện cụ thể thông qua Hình 3 và 4.



Hình 3. Tác động của cao chiết *C. kissi* lên sự tăng sinh của tế bào K562 theo nồng độ

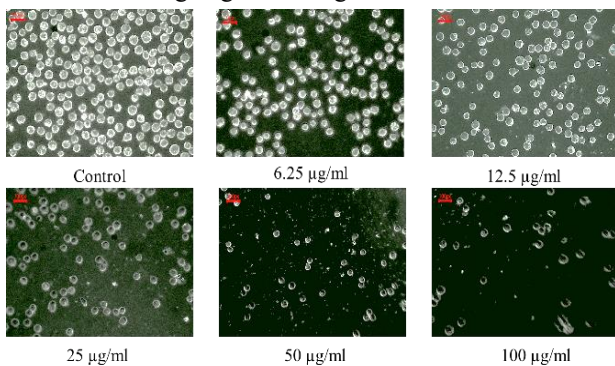
Từ kết quả ở Hình 3 cho thấy cao chiết methanol cây *C. kissi* có tác động gây độc lên sự sống của dòng tế bào K562 theo nồng độ. Trong đó, tỷ lệ sống sót của tế bào so với nồng độ dịch chiết giảm theo tỷ lệ thuận. Khi nồng độ tăng từ 6,25 μg/mL đến 100 μg/mL thì phần trăm số tế bào sống giảm từ 93,47% xuống còn 10,03%. Giá trị IC<sub>50</sub> trung bình 3 lần lặp lại sau khi được xử lý thống kê là  $40,01 \pm 3,12$  (μg/mL).

Theo chương trình sàng lọc của Viện Ung Thư Quốc Gia Hoa Kỳ (National Cancer Institute - NCI), cao chiết thực vật được xem là có hoạt tính gây độc cho tế bào in vitro tốt nếu giá trị IC<sub>50</sub> ≤ 20 μg/ml trên các dòng tế bào ung thư [34]. Vì vậy, kết quả khảo sát dịch chiết cho thấy, cao chiết thể hiện

hoạt tính gây độc cho dòng tế bào K562 mức trung bình ( $IC_{50} = 40,01 \pm 3,12 \mu\text{g/mL}$ ). Nghiên cứu trước đây cho thấy tế bào bạch cầu của người được xử lý bằng cao chiết methanol *C. sinensis* có giá trị  $IC_{50}$  là  $170 \pm 10,39 \mu\text{g/mL}$  [35]. Điều này cho thấy, cao chiết *C. kissi* có độc tính trên dòng tế bào ung thư máu cao hơn là *C. sinensis*.

Hình 3 là biểu đồ thể hiện mối tương quan giữa nồng độ cao chiết *C. kissi* và phần trăm tế bào K562 còn sống. Từ Hình 3 có thể thấy, ngoại trừ nghiệm thức tế bào được xử lý cao chiết ở nồng độ  $6,25 \mu\text{g/mL}$  là không có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng thì ở các nghiệm thức còn lại đều có sự khác biệt đáng kể có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Ghi nhận ở các nồng độ 12,5; 25 và  $50 \mu\text{g/mL}$  thì tỷ lệ sống sót trung bình của tế bào lần lượt là  $80,52 \pm 3,20$ ;  $64,40 \pm 3,91$  và  $53,62 \pm 3,03 \%$  và đến nồng độ  $100 \mu\text{g/mL}$  tỷ lệ sống sót chỉ còn  $10,03 \pm 2,96 \%$ . Điều đó cho thấy, sự ức chế tăng sinh tế bào K562 của cao chiết từ cây *C. kissi* là phụ thuộc vào nồng độ của cao chiết.

Hình 4 thể hiện mật độ tế bào K562 ở giếng được xử lý cao chiết so với giếng đối chứng.



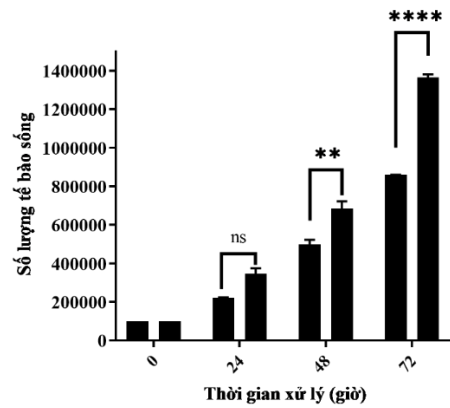
**Hình 4.** Ảnh chụp tế bào K562 dưới tác động của cao chiết *C. kissi* ở các nồng độ khác nhau (kính hiển vi soi ngược Nikon, vật kính X 10)

Từ Hình 4 cho thấy, mật độ tế bào K562 giảm dần theo nồng độ của cao chiết. Ở giếng đối chứng, sau 72 giờ nuôi cấy, tế bào phát triển mạnh mẽ, chiếm trên 90% diện tích đĩa nuôi. Khi nồng độ của cao chiết là  $50 \mu\text{g/mL}$  thì mật độ tế bào chỉ còn dưới 60%, và ở nồng độ cao chiết là  $100 \mu\text{g/mL}$  thì mật độ tế bào còn khoảng 10%.

### 3.3. Tác động của cao chiết methanol *C. kissi* lên sự tăng sinh của tế bào K562 theo thời gian

Để đánh giá mối quan hệ giữa sự tăng sinh của tế bào ung thư và thời gian tiếp xúc với dược liệu, thử nghiệm như sau được tiến hành: Cao chiết methanol *C. kissi* ở nồng độ  $50 \mu\text{g/mL}$  được ủ chung với cao chiết dược liệu (mẫu đối chứng chỉ bổ sung DMSO ở nồng độ tương ứng) và được theo dõi số lượng tế bào sống qua 4 cột mốc thời gian (0 giờ, 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ). Kết quả thí nghiệm được ghi nhận tại Hình 5, và Hình 6.

Từ kết quả ở Hình 5 cho thấy, tác động cao chiết methanol *C. kissi* đối với dòng tế bào K562 trong 48 giờ đầu tăng sinh chậm, tuy nhiên 24 giờ tiếp theo (cột mốc 72 giờ), số lượng tế bào K562 tăng sinh giữa mẫu cao chiết và mẫu chứng đã có sự khác biệt rõ rệt. Số lượng tế bào K562 tăng sinh của mẫu chứng cao gấp 4 lần so với mẫu cao chiết.

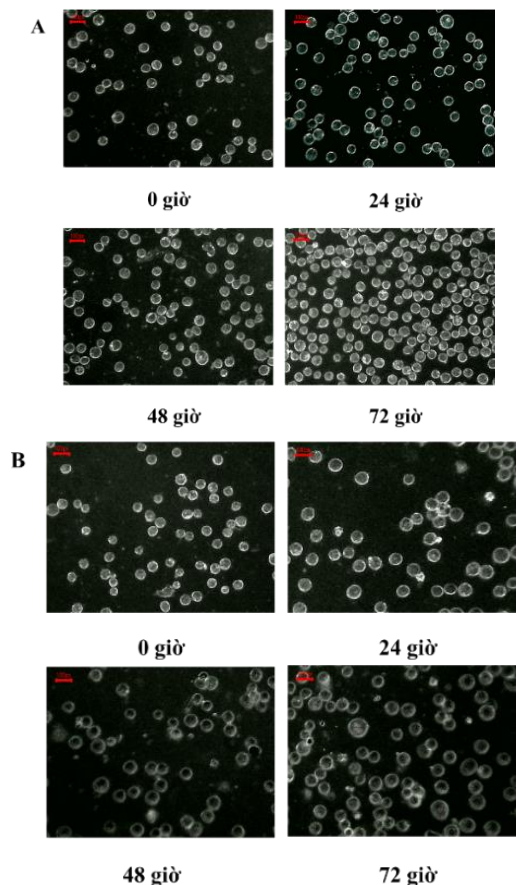


**Hình 5.** Tác động của cao chiết *C. kissi* lên sự tăng sinh của tế bào K562 theo thời gian

Hình 5 cho thấy cho thấy, sau 48 giờ nuôi cấy, số lượng tế bào sống trong giếng thử nghiệm tăng sinh chậm hơn so với giếng đối chứng, chứng tỏ có sự ức chế tăng sinh tế bào của mẫu cao chiết.

Qua ngày tiếp theo (ở cột mốc 72 giờ) số lượng tế bào ở mẫu cao chiết tăng sinh thấp hơn so với số lượng tế bào ở mẫu chứng là 42,93%. Có thể kết luận rằng, cao chiết methanol *C. kissi* có khả năng ức chế sự tăng sinh tế bào K562.

Hình 6 thể hiện hình ảnh tế bào K562 dưới tác dụng của cao chiết *C. kissi* theo thời gian.



**Hình 6.** Ảnh chụp tế bào K562 dưới tác động của cao chiết *C. kissi* theo thời gian (kính hiển vi soi ngược Nikon, vật kính X 10)

- A. Mẫu đối chứng  
B. Mẫu cao chiết



Hình 6 cho thấy, sự khác biệt về khả năng tăng sinh số lượng của tế bào K562 giữa mẫu chúng và mẫu cao chiết từ tầng mốc thời gian khảo sát.

Các hợp chất trong tự nhiên đã được nghiên cứu và chỉ ra rằng một số dẫn xuất của chúng có hoạt tính chống ung thư [36]. Viện ung thư quốc gia (National Cancer Institute – NCI) đã nghiên cứu với 60 dòng tế bào, thử nghiệm hơn 75.000 hợp chất tự nhiên cho thấy, có khoảng 1.400 hợp chất có hoạt tính chống ung thư bạch cầu [37]. Dựa trên những nghiên cứu, có thể thấy được tiềm năng kháng ung thư từ các hợp chất tự nhiên, đặc biệt là những hợp chất được chiết xuất từ họ chè.

#### 4. Kết luận

Từ các kết quả khảo sát sơ bộ ở trên nhóm tác giả nhận thấy, cao chiết methanol từ cây chè *C. kissi* là cao chiết rất có tiềm năng trong ức chế tăng sinh của tế bào ung thư bạch cầu mãn dòng tủy K562 với IC<sub>50</sub> là 40,01 ± 3,12 (µg/mL). Kết quả nghiên cứu này là cơ sở, định hướng cho những nghiên cứu sâu hơn sau này về cơ chế tác động và đưa *C. kissi* ứng dụng vào thực tiễn trong điều trị bệnh ung thư máu.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Davis, A. J. Viera, and M. D. Mead, "Leukemia: an overview for primary care", *American Family Physician*, vol. 89, no. 9, pp. 731-738, 2014.
- [2] E. N. Mugnaini and N. Ghosh, "Lymphoma", *Primary Care: Clinics In Office Practice*, vol. 43, no. 4, pp. 661-675, 2016.
- [3] S. V. Rajkumar and S. Kumar, "Multiple myeloma: diagnosis and treatment", *Mayo Clinic Proceedings*, pp. 101-119, 2016.
- [4] N. Tuzuner, C. Cox, J. M. Rowe, D. Watrous, and J. M. Bennett, "Hypocellular myelodysplastic syndromes (MDS): new proposals", *British Journal Of Haematology*, vol. 91, no. 3, pp. 612-617, 1995.
- [5] R. C. Skoda, A. Duek, and J. Grisouard, "Pathogenesis of myeloproliferative neoplasms", *Experimental Hematology*, vol. 43, no. 8, pp. 599-608, 2015.
- [6] C. L. Sawyers, "Chronic myeloid leukemia", *New England Journal of Medicine*, vol. 340, no. 17, pp. 1330-1340, 1999.
- [7] S. Saless and C. M. Verfaillie, "BCR/ABL: from molecular mechanisms of leukemia induction to treatment of chronic myelogenous leukemia", *Oncogene*, vol. 21, no. 56, pp. 8547-8559, 2002.
- [8] J. Erikson, C. A. Griffin, A. Ar-Rushdi, M. Valtieri, J. Hoxie, J. Finan, *et al.*, "Heterogeneity of chromosome 22 breakpoint in Philadelphia-positive (Ph+) acute lymphocytic leukemia", *Proceedings of The National Academy of Sciences*, vol. 83, no. 6, pp. 1807-1811, 1986.
- [9] A. Bedi, B. A. Zehnbaauer, J. P. Barber, S. J. Sharkis, and R. J. Jones, "Inhibition of apoptosis by BCR-ABL in chronic myeloid leukemia", *Blood*, vol. 83, no. 8, pp. 2038-2044, 1994.
- [10] R. L. Siegel, K. D. Miller, H. E. Fuchs, and A. Jemal, "Cancer statistics, 2022", *CA Cancer J Clin*, vol. 72, no. 1, pp. 7-33, 2022.
- [11] E. Buchdunger, T. O'Reilly, and J. Wood, "Pharmacology of imatinib (STI571)", *European Journal of Cancer*, vol. 38, pp. 28-36, 2002.
- [12] P. A. Thompson, H. M. Kantarjian, and J. E. Cortes, "Diagnosis and treatment of chronic myeloid leukemia in 2015", *Mayo Clinic Proceedings*, pp. 1440-1454, 2015.
- [13] R. J. L. r. Alitalo, "Induced differentiation of K562 leukemia cells: a model for studies of gene expression in early megakaryoblasts", *Leukemia Research*, vol. 14, no. 6, pp. 501-514, 1990.
- [14] M.-H. Su, C.-F. Hsieh, C.-H. Tsou, and J.-C. Wang, "Camellia kissi Wallich (Theaceae): a newly recorded tree from Taiwan", *Taiwan J For Sci*, vol. 23, no. 4, pp. 301-307, 2008.
- [15] Alice M. Coats and J. L. Creech, *Garden shrubs and their histories*, Simon & Schuster, 1992.
- [16] T. Ninh and L. Ninh, "The yellow Camellias of the Tam Dao National Park", *International Camellia Journal*, vol. 45, pp. 122-128, 2014.
- [17] M. M. Hürkul and U. Seker, *Camellia sinensis (L.) Kuntze*, Springer, 2022.
- [18] G. V. Stagg and D. J. Millin, "The nutritional and therapeutic value of tea—a review", *Journal Of The Science Of Food Agriculture*, vol. 26, no. 10, pp. 1439-1459, 1975.
- [19] J. V. Higdon and B. Frei, "Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions", *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, vol. 43, no. 1, pp. 89-143, 2003.
- [20] Y.-C. Wang and U. Bachrach, "The specific anti-cancer activity of green tea (–)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG)", *Amino Acids*, vol. 22, no. 2, pp. 131-143, 2002.
- [21] Z. Cheng, Z. Zhang, Y. Han, J. Wang, Y. Wang, X. Chen, *et al.*, "A review on anti-cancer effect of green tea catechins", *Journal of Functional Foods*, vol. 74, pp. 1-20, 2020.
- [22] B. N. Singh, S. Shankar, and R. K. Srivastava, "Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): mechanisms, perspectives and clinical applications", *Biochemical Pharmacology*, vol. 82, no. 12, pp. 1807-1821, 2011.
- [23] N. Jalli, S. S. KV, S. Hnamte, S. Pattnaik, P. Paramanatham, and B. Siddhardha, "Experimental investigations on Camellia kissi wall. for antioxidant, anti-quorum sensing and anti-biofilm activities", *Journal of Microbiology, Biotechnology Food Sciences*, vol. 9, no. 4, pp. 736-741, 2021.
- [24] G. Grosveld *et al.*, "The chronic myelocytic cell line K562 contains a breakpoint in bcr and produces a chimeric bcr/c-abl transcript", *Molecular Cellular Biology*, vol. 6, no. 2, pp. 607-616, 1986.
- [25] N. K. P. Phung, *Methods for Isolation of Organic Compounds*, National University Publishing House Ho Chi Minh City, 2007, 2007.
- [26] N. T. T. Huong, P. H. Linh, H. T. Chi, and B. T. K. Ly, "The antioxidant activity of methanolic extract from *Camellia kissi* (Theaceae) collected in Lam Dong province", *The University of Danang - Journal of Science and Technology*, vol. 21, no. 1, pp. 51-55, 2023.
- [27] T. Yao and Y. Asayama, "Animal-cell culture media: History, characteristics, and current issues", *Reproductive Medicine Biology*, vol. 16, no. 2, pp. 99-117, 2017.
- [28] W. Strober, "Trypan blue exclusion test of cell viability", *Current Protocols In Immunology*, vol. 21, no. 1, A. 3B. 1-A. 3B. 2, 1997.
- [29] G. Indrayanto, G. S. Putra, and F. Suhud, "Validation of in-vitro bioassay methods: Application in herbal drug research", *Profiles of Drug Substances, Excipients Related Methodology*, vol. 46, pp. 273-307, 2021.
- [30] M. Singh, K. McKenzie, and X. Ma, "Effect of dimethyl sulfoxide on in vitro proliferation of skin fibroblast cells", *Journal of Biotech Research*, vol. 8, p. 78, 2017.
- [31] G. Da Violante, N. Zerrouk, I. Richard, G. Provot, J. C. Chaumeil, and P. Arnaud, "Evaluation of the cytotoxicity effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on Caco2/TC7 colon tumor cell cultures", *Biological Pharmaceutical Bulletin*, vol. 25, no. 12, pp. 1600-1603, 2002.
- [32] C. Rodriguez-Burford, D. Oelschlager, L. Talley, M. Barnes, E. Partridge, and W. Grizzle, "The use of dimethylsulfoxide as a vehicle in cell culture experiments using ovarian carcinoma cell lines", *Biotechnic Histochemistry*, vol. 78, no. 1, pp. 17-21, 2003.
- [33] J. Wen, Y. Tong, and Y. Zu, "Low concentration DMSO stimulates cell growth and in vitro transformation of human multiple myeloma cells", *British Journal of Medicine Medical Research*, vol. 5, no. 1, pp. 65-74, 2015.
- [34] S. A. Fadeyi, O. O. Fadeyi, A. A. Adejumo, C. Okoro, and E. L. Myles, "In vitro anticancer screening of 24 locally used Nigerian medicinal plants", *BMC Complementary And Alternative Medicine*, vol. 13, no. 1, pp. 1-10, 2013.
- [35] S. D. Yusoff, E. Kumolosasi, M. M. Ali, Y. Qian, and N. Mohd, "Camellia sinensis and Phyllanthus amarus Ethanol Extracts Induced Apoptosis and Cell Cycle Arrest on Human Leukemic Cell Lines", *Sains Malaysiana*, vol. 51, no. 8, pp. 2609-2617, 2022.
- [36] G. Powis, "Metabolism and reactions of quinoid anticancer agents", *Pharmacology Therapeutics*, vol. 35, no. 1-2, pp. 57-162, 1987.
- [37] M. Monga and E. A. Sausville, "Developmental therapeutics program at the NCI: molecular target and drug discovery process", *Leukemia*, vol. 16, no. 4, pp. 520-526, 2002.