

TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH CHIẾT XUẤT VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA CAO NƯỚC TỪ HOA ĐU ĐỦ ĐỰC THU HÁI Ở QUẢNG NAM - ĐÀ NẴNG

OPTIMIZATION THE EXTRACTION PROCESS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF WATER EXTRACT FROM MALE *CARICA PAPAYA* FLOWERS IN QUANGNAM - DANANG

Đỗ Thị Thúy Vân^{1*}, Giang Thị Kim Liên²

¹Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng, Việt Nam

²Viện Nghiên cứu và Đào tạo Việt-Anh - Đại học Đà Nẵng, Việt Nam

*Tác giả liên hệ / Corresponding author: dttvan@ued.udn.vn

(Nhận bài / Received: 07/7/2023; Sửa bài / Revised: 23/8/2023; Chấp nhận đăng / Accepted: 24/8/2023)

Tóm tắt - Nghiên cứu được thực hiện với mục đích khảo sát các đơn yếu tố: tỉ lệ dung môi/nguyên liệu và thời gian ảnh hưởng đến quá trình chiết cao nước từ hoa đu đủ đực, thu được kết quả tương ứng 40/1 (v/w) và 3,0 giờ với hàm lượng cao nước 31,40%. Bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm trực giao cấp I đã tìm được điều kiện chiết tối ưu là 100/1 (v/w) và 4,0 giờ với hàm lượng cao nước 31,75%. Thử nghiệm khảo sát các đơn yếu tố trong phòng thí nghiệm cho kết quả có độ tương thích gần với mô hình nên tỉ lệ dung môi/nguyên liệu 40/1 (v/w) và thời gian 3,0 giờ là các điều kiện chiết tối ưu được lựa chọn để thu cao nước. Cao nước thể hiện hoạt tính kháng vi khuẩn *Enterococcus faecalis* với MIC 128 µg/mL, ức chế sự phát triển của nấm *Candida albicans* với MIC 128 µg/mL và gây độc trên dòng tế bào ung thư phổi A549, ung thư gan Hep3B, ung thư vú MCF-7 với CS% từ 70,25±1,77 đến 78,50±2,18 ở nồng độ 30 µg/mL; từ 57,12±1,75 đến 95,71±3,24 ở nồng độ 100 µg/mL.

Từ khóa - *Carica papaya*; hoa đu đủ đực; tối ưu hóa, hoạt tính kháng khuẩn; hoạt tính gây độc tế bào ung thư

1. Đặt vấn đề

Cây đu đủ thuộc họ đu đủ (Caricaceae), có nguồn gốc từ châu Mỹ, được trồng khắp nơi ở nước ta. Trên thế giới, họ đu đủ gồm có 4 chi và 45 loài. Ở nước ta có một chi và một loài [1-3]. Trong dân gian, hoa đu đủ đực được dùng để điều trị các bệnh về đường hô hấp như viêm họng, ho, viêm cuống phổi, khàn tiếng hoặc mất tiếng ở người lớn, nhất là ở trẻ em; các bệnh về hệ bài tiết như sỏi thận, sỏi mật, đau niệu đạo; sỏi thận; kích thích tiêu hóa [1], [3]. Ngoài ra, hoa đu đủ đực còn được sử dụng để hỗ trợ điều trị ung thư như ung thư phổi, ung thư vú và ung thư gan [4]. Trong phạm vi và khả năng tra cứu tài liệu tham khảo, nhóm nghiên cứu vẫn chưa ghi nhận được công trình khoa học công bố về tối ưu hóa các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình thu nhận cao nước cũng như hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của cao nước từ hoa đu đủ đực.

Nghiên cứu này tập trung vào việc tối ưu hóa điều kiện chiết tách các hoạt chất trong hoa đu đủ đực bằng dung môi nước cất, khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm và ức chế khối u của cao nước thu được. Như vậy, để thu nhận và ứng dụng cao chiết có hoạt tính sinh học quý từ hoa đu đủ đực thì vấn đề đặt ra là phải thiết lập được một quá trình chiết tối ưu. Trong số những phương pháp quy hoạch thực nghiệm hiện nay thì phương pháp quy hoạch thực nghiệm

Abstract - The purpose of this study was to investigate the single factors: solvent/material ratio and time that affected the extraction process of components from the male *Carica papaya* flowers with distilled water, resulting in 40/1 (v/w) and 3.0 hours, respectively, with the yield of 31.40%. Application of Box-Behnken design found the optimal extraction condition with 100/1 (v/w) and 4.0 hours with the amount of extract of 31.75%. Experimental results showed close compatibility with the model, so 40/1 (v/w) and 3.0 hours are optimal for conducting the extract. The obtained extract showed *Enterococcus faecalis* antimicrobial activity with MIC 128 µg/mL, inhibition of *Candida albicans* with MIC 128 µg/mL, and cytotoxic activity on cancer cells of lung A549, liver Hep3B, breasts MCF-7 with CS% from 70.25±1.77 to 78.50±2.18 at concentration 30 µg/mL; from 57.12±1.75 to 95.71±3.24 at concentration 100 µg/mL.

Key words - *Carica papaya*; male *Carica papaya* flowers; optimization; antibacterial activity; anticancer activity

trực giao cấp I với sự hỗ trợ của các phần mềm xử lý số liệu đã trở thành một công cụ hữu ích giúp thực hiện nghiên cứu các quá trình tối ưu hóa nhằm tiết kiệm thời gian và chi phí [5], [6]. Đồng thời, nghiên cứu cũng đã sử dụng phương pháp pha loãng đa nồng độ [7] để khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm và phương pháp thử độ độc tế bào *in vitro* (được Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (National Cancer Institute - NCI) xác nhận là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện cao chiết và chất có khả năng kìm hãm sự phát triển hoặc tiêu diệt tế bào ung thư *in vitro* [8]) để khảo sát hoạt tính ức chế khối u của cao nước thu được trên ba dòng tế bào ung thư phổi (A549), ung thư gan (Hep3B) và ung thư vú (MCF-7).

Bài báo này trình bày kết quả tối ưu hóa các điều kiện chiết cao nước từ hoa đu đủ đực và kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm và gây độc tế bào ung thư của cao nước thu được tại các điều kiện chiết tối ưu. Kết quả nghiên cứu sẽ tạo tiền đề cho việc sử dụng cao nước từ hoa đu đủ đực để hỗ trợ điều trị bệnh cho con người trong thực tế.

2. Thử nghiệm

2.1. Nguyên liệu

Hoa đu đủ đực được thu hoạch vào tháng 12/2016 tại Quảng Nam – Đà Nẵng và đã được TS. Ngô Văn Trại

¹ The University of Danang - University of Science and Education, Vietnam (Do Thi Thuy Van)

² The University of Danang - VN-UK Institute for Research and Executive Education, Vietnam (Giang Thi Kim Lien)

(Chuyên gia cây thuốc Việt Nam – Viện dược liệu), ThS. Nguyễn Thế Anh và ThS. Hồ Ngọc Anh (Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam) xác định tên khoa học là *Carica papaya* L. (họ Đu đủ – Caricaceae). Mẫu tiêu bản ký hiệu DD001 hiện đang được lưu giữ tại phòng tiêu bản của Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2. Hóa chất và thiết bị

Dung môi, hóa chất: nước cất, dimethyl sulfoxide (DMSO) (Merck), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (Merck), các chất đối chứng dương (Việt Nam): camptothecin, streptomycin, tetracycline, kanamycin, nistatin, cyclohexamide. Các hóa chất sử dụng đều đạt tiêu chuẩn phân tích.

Dụng cụ, thiết bị: cốc thủy tinh, bình cầu, giấy lọc, cân phân tích, máy cô quay chân không (IKA, Indonesia), tủ sấy (Binder, Germany), tủ âm (VELP FTC 90I, Germany), máy quang phổ và phần mềm Raw data (Biotek, USA), máy đọc Elisa (xMark Pro, Biorad, USA).

2.3. Bố trí thí nghiệm

Hoa đu đủ được tươi (độ ẩm 85,37%) sau khi thu hái sẽ được rửa sạch, để ráo nước, phơi trong bóng râm và có gió, tiếp theo sấy khô ở 70°C trong 2 giờ thu được hoa đu đủ khô (độ ẩm 10,16%), sau đó xay thành bột. Bột hoa đu đủ được có màu vàng nhạt, được bảo quản nơi thoáng mát.

Chung nình bột hoa đu đủ được trong dung môi nước cất một lần ở nhiệt độ 100°C với các tỉ lệ dung môi/nguyên liệu lần lượt là 10/1; 20/1; 40/1; 60/1; 80/1; 100/1 (v/w) trong các khoảng thời gian 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 giờ thu được các dịch chiết nước tương ứng. Sau đó, tiến hành cô quay chân không các dịch chiết nước đến khối lượng không đổi thu được các cao nước với khối lượng tương ứng. Đây là hàm mục tiêu để tiến hành thí nghiệm khảo sát các đơn yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thu cao nước từ hoa đu đủ được.

Sau khi tiến hành khảo sát các đơn yếu tố, nhóm tác giả lựa chọn cả hai đơn yếu tố tỉ lệ dung môi/nguyên liệu và thời gian để đánh giá khả năng ảnh hưởng của chúng đến quá trình chiết xuất. Để đạt được mục tiêu này, nhóm tác giả sử dụng phương pháp quy hoạch thực nghiệm trực giao cấp I với sự hỗ trợ của phần mềm Matlab R2017b để tối ưu hóa các điều kiện chiết đã chọn.

Sự lựa chọn hai đơn yếu tố ảnh hưởng đến quá trình thu nhận cao nước từ hoa đu đủ được là tỉ lệ dung môi/nguyên liệu và thời gian cùng với thông số của hai đơn yếu tố đó xuất phát từ các thí nghiệm thăm dò, sàng lọc và sự phù hợp với các điều kiện nghiên cứu của nhóm về dụng cụ, thiết bị trong quy mô phòng thí nghiệm.

2.4. Xác định hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm

Các chủng vi sinh vật kiểm định chuẩn quốc tế ATCC được cung cấp bởi viện Kiểm nghiệm Vệ sinh An toàn Thực phẩm Quốc gia bao gồm:

- Ba chủng vi khuẩn Gram âm (-): *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Salmonella enterica* ATCC12228;

- Ba chủng Gram dương (+): *Enterococcus faecalis* ATCC13124, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Bacillus cereus* ATCC 13245;

- Một chủng nấm men *Candida albicans* ATCC10231.

Sáu chủng vi sinh vật và một chủng nấm men được lựa chọn để khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của cao nước từ hoa đu đủ được dựa trên sự tra cứu tài liệu tham khảo về hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của hoa đu đủ được [9], [10] và phụ thuộc vào điều kiện mẫu chủng vi sinh vật và chủng nấm men hiện có của phòng thí nghiệm tiến hành thử nghiệm này.

Các bước tiến hành: Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định, kháng nấm được thực hiện dựa trên phương pháp pha loãng đa nồng độ [7]. Đây là phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định và nấm nhằm đánh giá mức độ kháng khuẩn mạnh yếu của các mẫu thử thông qua các giá trị thể hiện hoạt tính là MIC (nồng độ ức chế tối thiểu). Mẫu ban đầu được pha loãng trong DMSO 100% ở dải nồng độ giảm dần: 256 µg/mL, 128 µg/mL, 64 µg/mL, 32 µg/mL, 16 µg/mL, 8 µg/mL, 4 µg/mL và 2 µg/mL với số thí nghiệm lặp lại N=3. Chuẩn bị dung dịch vi khuẩn hoặc nấm với nồng độ 2×10^4 CFU/mL. Môi trường nuôi cấy: LB (Lysogeny Broth).

Tiến hành thử: Lấy 5,12 µL dung dịch mẫu thử có nồng độ 10 mg/mL vào hàng đầu tiên có chứa 100 µL môi trường LB rồi pha loãng nối tiếp giảm $\frac{1}{2}$ nồng độ vào các hàng có chứa 50 µL cho đến khi đạt được nồng độ là 2 µg/mL, thêm 50 µL dung dịch vi khuẩn và nấm ở nồng độ 2×10^4 CFU/mL, ủ ở 37°C. Sau 24 giờ, xác định sơ bộ giá trị MIC bằng quan sát sự hiện diện và không có sự tăng trưởng (độ đục). Giá trị MIC được xác định tại giếng có nồng độ chất thử thấp nhất gây ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi sinh vật sau 24 giờ nuôi cấy (không có sự tăng trưởng hoặc độ đục có thể nhìn thấy) và được xác định chính xác dựa trên số liệu đo độ đục tế bào bằng máy quang phổ Biotek và phần mềm Raw data. Chất đối chứng dương (256 µg/mL, 128 µg/mL, 64 µg/mL, 32 µg/mL, 16 µg/mL, 8 µg/mL, 4 µg/mL và 2 µg/mL) là streptomycin, tetracycline và kanamycin cho các chủng vi khuẩn, nistatin và cyclohexamide cho nấm.

Quá trình thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm được thực hiện tại phòng thử hoạt tính sinh học thuộc trung tâm tiên tiến về hóa sinh hữu cơ, Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.5. Xác định hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Các dòng tế bào ung thư ở người được cung cấp bởi GS. Jeong-Hyung Lee, Trường ĐHQG Kangwon, Hàn Quốc bao gồm tế bào ung thư phổi (A549), tế bào ung thư gan (Hep3B) và tế bào ung thư vú (MCF-7).

Ba dòng tế bào ung thư A549, Hep3B và MCF-7 được lựa chọn để khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư của cao nước từ hoa đu đủ được dựa trên sự tra cứu tài liệu tham khảo về hoạt tính gây độc tế bào ung thư của hoa đu đủ được [4], [11], [12], các dòng tế bào hiện có của phòng thí nghiệm và sự quan sát về việc sử dụng hoa đu đủ được của con người để hỗ trợ điều trị bệnh ung thư trong dân gian. Các dòng tế bào ung thư được nuôi cấy trong môi trường RPMI 1640 hoặc DMEM có bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò (FBS), 100 U/mL penicillin, và 100 µg/mL streptomycin ở 37°C trong tủ âm 5% CO₂. Các tế bào được cấy chuyển vào trong phiên 96 giếng (mật độ

tế bào 1×10^5 tế bào/giếng) và được xử lý với các nồng độ khác nhau của mẫu thử. Sau 48 giờ ủ, thêm 20 μL 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (5 mg/mL) vào các giếng và ủ tiếp 4 giờ. Sau đó, gạn bỏ môi trường và hòa tan tinh thể formazan trong 100 μL isopropanol và giá trị mật độ quang (OD) được đo bằng máy đọc Elisa (xMark Pro, Biorad, USA) ở bước sóng 570 nm. Camptothecin (0,5 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$) được sử dụng làm đối chứng dương [8]. Kết quả tính được biểu diễn bằng phần trăm tế bào sống sót (CS %).

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

Quá trình thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư được thực hiện tại phòng thử hoạt tính sinh học thuộc trung tâm tiên tiến về hóa sinh hữu cơ, Viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi/nguyên liệu

Kết quả ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi/nguyên liệu đến quá trình chiết cao hoa đu đủ đực với dung môi nước cất một lần được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi/nguyên liệu đến hàm lượng cao chiết

TN	Thể tích nước cất (mL)	Khối lượng bột hoa (g)	Tỉ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w)	Khối lượng cao chiết (g)	Hàm lượng cao chiết (%)
1	50	5,0	10/1	1,50	30,00
2	100	5,0	20/1	1,51	30,20
3	200	5,0	40/1	1,57	31,40
4	300	5,0	60/1	1,57	31,40
5	400	5,0	80/1	1,59	31,80
6	500	5,0	100/1	1,61	32,20

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy khi chiết với tỉ lệ dung môi/nguyên liệu khác nhau sẽ thu được hàm lượng cao chiết khác nhau và hàm lượng tăng lên khi chiết ở tỉ lệ 10/1 đến 100/1 (v/w). Từ tỉ lệ 40/1 (v/w) đến tỉ lệ 100/1 (v/w) thu được hàm lượng cao chiết tăng chậm, không đáng kể nên tỉ lệ 40/1 (v/w) là tỉ lệ thích hợp để thực hiện quá trình chiết cao hoa đu đủ đực với dung môi nước cất một lần trong phòng thí nghiệm.

3.2. Ảnh hưởng của thời gian

Kết quả ảnh hưởng của thời gian đến quá trình chiết cao hoa đu đủ đực với dung môi nước cất một lần được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng cao chiết

TN	Tỉ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w)	Thời gian (giờ)	Khối lượng cao chiết (g)	Hàm lượng cao chiết (%)
1	40/1	1,5	1,40	28,00
2	40/1	2,0	1,46	29,20
3	40/1	2,5	1,50	30,00
4	40/1	3,0	1,57	31,40
5	40/1	3,5	1,58	31,60
6	40/1	4,0	1,58	31,60

Từ kết quả ở Bảng 2 cho thấy, hàm lượng cao chiết thu được tăng theo thời gian. Với thời gian từ 1,5 giờ đến 3,0 giờ, hàm lượng cao chiết tăng cao từ 28,00% lên 31,40%. Tiếp tục tăng thời gian từ 3,0 giờ đến 4,0 giờ thì hàm lượng cao chiết chỉ tăng 0,2%. Vì vậy, nhóm tác giả chọn thời gian thích hợp là 3,0 giờ để tiết kiệm thời gian và chi phí cho quá trình chiết cao hoa đu đủ đực với dung môi nước cất một lần trong phòng thí nghiệm.

3.3. Tối ưu hóa quá trình chiết

Trên cơ sở khảo sát hai đơn yếu tố tỉ lệ dung môi/nguyên liệu và thời gian ảnh hưởng đến quá trình chiết cao hoa đu đủ đực với dung môi nước cất một lần trong phòng thí nghiệm, nhóm tác giả nhận thấy hai đơn yếu tố này ảnh hưởng rõ rệt đến quá trình chiết xuất. Chúng tôi sử dụng phương pháp quy hoạch thực nghiệm trực giao cấp I với sự hỗ trợ của phần mềm Matlab R2017b để tiến hành tối ưu hóa nhằm xác định giá trị của hai đơn yếu tố đã chọn mà tại đó hàm lượng cao chiết là lớn nhất.

Ảnh hưởng của hai yếu tố tỉ lệ dung môi/nguyên liệu (Z_1) và thời gian (Z_2) đến hàm lượng cao chiết được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3. Ma trận thực nghiệm quy hoạch trực giao cấp I hai đơn yếu tố của cao nước hoa đu đủ đực

TN	Biến thực		Khối lượng cao chiết (g)	Hàm lượng cao chiết (%)
	Z_1 (Tỉ lệ dung môi/nguyên liệu, v/w)	Z_2 (Thời gian, giờ)		
1	20/1	2,0	1,45	29,00
2	20/1	4,0	1,52	30,40
3	100/1	2,0	1,51	30,20
4	100/1	4,0	1,59	31,80
5	60/1	3,0	1,56	31,20
6	60/1	3,0	1,56	31,20
7	60/1	3,0	1,57	31,40
8	60/1	3,0	1,57	31,40

Áp dụng phương pháp phân tích hồi quy các số liệu thực nghiệm, thu được mô hình tuyến tính bậc một thể hiện hàm lượng cao chiết (Y) dự báo thu được:

$$Y = 1,35625 + 1,625 \cdot 10^{-4} \cdot Z_1 + 0,0375 \cdot Z_2$$

Để đánh giá mô hình, nhóm tác giả sử dụng phương pháp tối ưu hóa kiểu lưới với ưu điểm là khi các biến số ít sẽ tính toán nhanh và sai số chấp nhận được trong công nghệ. Theo phương pháp này, nhóm tác giả sử dụng phần mềm Matlab R2017b để thiết lập thuật toán. Để thuận tiện, sử dụng các biến x, y thay thế cho các biến thực tương ứng Z_1, Z_2 . Thuật toán như sau:

```
>>x=linspace(100,500,100);
>>y=linspace(2,4,100);
>>[x1,y1]=meshgrid(x,y);
>>f=1,35625 + 0,0001625*x1 + 0,0375*y1
>>A=max(max(f))
>>[a,b]=find(f==A);
>>xc=x1(a,b)
>>yc=y1(a,b)
```

Tiến hành mô phỏng thuật toán đã viết trên phần mềm Matlab thu được $f_{\max} = A = 31,75\%$; $x = 100/1$, $y = 4,0$.

Kết quả thu được các giá trị tối ưu tương ứng với giá trị cực đại ($Y_{\max} = 31,75\%$) của hàm mục tiêu với $Z_1 = 100/1$ (v/w), $Z_2 = 4,0$ giờ.

Như vậy, tại các điều kiện chiết tối ưu gồm tỉ lệ dung môi/nguyên liệu 100/1 (v/w) và thời gian 4,0 giờ thì thu được hàm lượng cao chiết là 31,75%. Qua đó cho thấy thực nghiệm khảo sát các đơn yếu tố trong phòng thí nghiệm cho kết quả có độ tương thích gần với mô hình. Cho nên, tỉ lệ dung môi/nguyên liệu 40/1 (v/w) và thời gian 3,0 giờ là các điều kiện chiết tối ưu được lựa chọn để tiến hành thu nhận cao nước từ hoa đu đủ đực.

3.4. Hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của cao nước từ hoa đu đủ đực thu được ở điều kiện chiết tối ưu

Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của cao nước từ hoa đu đủ đực ở các điều kiện chiết tối ưu được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng nấm của cao nước từ hoa đu đủ đực

Mẫu	Gram dương (+)			Gram âm (-)			Nấm men
	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella enterica</i>	
MIC ($\mu\text{g/mL}$)							
Cao nước	128	-	-	-	-	-	128
Streptomycin ^a	256	256	128	32	256	128	-
Tetramycin ^a	4	16	64	8	256	256	-
Kanamycin ^a	128	4	8	128	64	16	-
Nistatin ^b	-	-	-	-	-	-	8
Cyclohexamide ^b	-	-	-	-	-	-	32

^aChất đối chứng dương cho các chủng vi khuẩn

^bChất đối chứng dương cho nấm

Kết quả thu được ở Bảng 4 cho thấy cao nước từ hoa đu đủ đực thể hiện hoạt tính kháng vi khuẩn *Enterococcus faecalis* với giá trị MIC là 128 $\mu\text{g/mL}$ và thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của nấm *Candida albicans* với giá trị MIC là 128 $\mu\text{g/mL}$. Các chất đối chứng dương hoạt động ổn định trong thí nghiệm. Theo tra cứu tài liệu tính đến thời điểm nghiên cứu thì đây là công bố đầu tiên về hoạt tính kháng vi khuẩn *Enterococcus faecalis* và kháng nấm *Candida albicans* của cao nước từ hoa đu đủ đực [9], [10]. So sánh với streptomycin, kanamycin và tetramycin thì cao nước từ hoa đu đủ đực thể hiện hoạt tính kháng vi khuẩn *Enterococcus faecalis* tốt hơn streptomycin, tương đương với kanamycin và yếu hơn tetramycin. Bên cạnh đó, cao nước thu được thể hiện hoạt tính kháng nấm *Candida albicans* yếu khi so sánh với nistatin và cyclohexamide.

3.5. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của cao nước từ hoa đu đủ đực thu được ở điều kiện chiết tối ưu

Kết quả khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên ba dòng tế bào A549, Hep3B, MCF-7 của cao nước từ hoa đu đủ đực ở điều kiện chiết tối ưu được thể hiện ở Bảng 5.

Kết quả thu được ở Bảng 5 cho thấy cao nước từ hoa đu đủ đực thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên cả ba dòng tế bào ung thư phổi A549, ung thư gan Hep3B, ung thư vú MCF-7 ở nồng độ 30 $\mu\text{g/mL}$ và 100 $\mu\text{g/mL}$ với các mức độ khác nhau. Cụ thể ở nồng độ 30 $\mu\text{g/mL}$, cao nước thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên cả ba dòng tế bào ung thư A549, Hep3B, MCF-7 với CS% lần lượt là 78,50 \pm 2,18; 75,28 \pm 1,40; 70,25 \pm 1,77. Trong đó, khả năng gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư MCF-7 tốt hơn so với hai dòng tế bào A549 và Hep3B. Tại nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$, cao nước cũng thể hiện hoạt tính trên cả ba dòng tế bào ung thư A549, Hep3B, MCF-7 với CS% lần lượt là 95,71 \pm 3,24; 57,12 \pm 1,75; 60,28 \pm 2,87. Trong đó, khả năng gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư Hep3B và MCF-7 tốt hơn so với dòng tế bào A549. Bên cạnh đó, ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$, cao nước thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào A549 kém hơn, còn đối với hai dòng tế bào Hep3B và MCF-7 thì cao nước thể hiện hoạt tính gây độc tế bào tốt hơn so với ở nồng độ 30 $\mu\text{g/mL}$. Chất đối chứng dương camptothecin hoạt động ổn định trong thí nghiệm.

Bảng 5. Kết quả khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư của cao nước từ hoa đu đủ đực

Mẫu	Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	Tế bào sống sót (CS %)		
		A549	Hep3B	MCF-7
Control		100 \pm 2,40	100 \pm 1,89	100 \pm 3,76
Cao nước	30	78,50 \pm 2,18	75,28 \pm 1,40	70,25 \pm 1,77
	100	95,71 \pm 3,24	57,12 \pm 1,75	60,28 \pm 2,87
Camptothecin*	0,5	76,00 \pm 2,27	48,73 \pm 1,35	62,82 \pm 2,10
	10	41,77 \pm 1,25	28,27 \pm 2,64	42,66 \pm 2,08

Camptothecin*: Chất đối chứng dương

Marline Nainggolan và cộng sự vào năm 2015 đã công bố nghiên cứu dịch chiết ethanol của hoa đu đủ đực thu hái tại Sumatera Utara, Indonesia có tác dụng gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư MCF-7 [4]. Năm 2018, Masria Phetheresia Sianipar và cộng sự đã công bố phân đoạn hexane của hoa đu đủ đực thu hái ở North Sumatera, Indonesia có tác dụng gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư ruột kết WiDr [11]. Võ Thị Ngà và cộng sự vào năm 2020 đã xác định dịch chiết ethanol của hoa đu đủ đực thu hái ở Bình Định, Việt Nam không có tác dụng gây độc tế bào trên dòng tế bào MCF-7 và NCI-H460, thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào Hep-G2 và HeLa [12]. Như vậy, trong khả năng tra cứu tài liệu tham khảo thì nhóm tác giả nhận thấy các công bố về hoạt tính gây độc tế bào ung thư của các cao chiết từ hoa đu đủ đực trên các dòng tế bào ung thư nói chung và trên ba dòng tế bào A549, Hep3B, MCF-7 nói riêng còn hạn chế.

4. Kết luận

Điều kiện chiết tối ưu được lựa chọn để thu nhận cao nước từ hoa đu đủ đực là tỉ lệ dung môi/nguyên liệu 40/1 (v/w) và thời gian 3,0 giờ, dựa trên thực nghiệm khảo sát các đơn yếu tố trong phòng thí nghiệm cho kết quả có độ tương thích gần với mô hình. Cao nước thu được tại các điều kiện chiết tối ưu thể hiện hoạt tính kháng vi khuẩn *Enterococcus faecalis* với MIC là 128 $\mu\text{g/mL}$, ức chế sự phát triển của nấm *Candida albicans* với MIC là

128 µg/mL và gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư phổi A549 với CS% = $78,50 \pm 2,18$ ở nồng độ 30 µg/mL; CS% = $95,71 \pm 3,24$ ở nồng độ 100 µg/mL, ung thư gan Hep3B với CS% = $75,28 \pm 1,40$ ở nồng độ 30 µg/mL; CS% = $57,12 \pm 1,75$ ở nồng độ 100 µg/mL, ung thư vú MCF-7 với CS% = $70,25 \pm 1,77$ ở nồng độ 30 µg/mL; CS% = $60,28 \pm 2,87$ ở nồng độ 100 µg/mL. Những kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả góp phần cung cấp thông tin bổ ích về việc khai thác và sử dụng nguồn nguyên liệu tự nhiên này phục vụ việc chăm sóc và bồi bổ sức khỏe của con người.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D. T. Loi, *Vietnamese medicinal plants and herbs*, Hanoi Medical Publishing House, 2004.
- [2] H. T. Ha, D. T. H. Vien, L. Q. Hoa, "The study on bioactive properties of some compounds from *Carica papaya* leaves", *Vietnam Journal of Science and Technology*, no. 2+3, pp. 119-122, 1994.
- [3] K.L. Krishna, M. Paridhavi, and J. A. Patel, "Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of papaya (*Carica papaya* Linn.)", *Natural Product Radiance*, vol. 7, no. 4, pp. 364-373, 2008.
- [4] M. Nainggolan and Kasmirul, "Cytotoxicity activity of male *Carica papaya* L. flowers on MCF-7 breast cancer cells", *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, vol. 7, no. 5, pp. 772-775, 2015.
- [5] N. M. Tuyen, *Experimental planning*, Science and Technology Publishing House, 2005.
- [6] P. T. Kien, *Lecture on experimental planning*, Hanoi University of Mining and Geology, 2013.
- [7] F. Hadacek, H. Greger, "Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice", *Phytochemical Analysis*, vol. 11, no. 3, pp. 137-147, 2000.
- [8] T. Mosmann, "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays", *Journal of Immunological Methods*, vol. 65, no. 1-2, pp. 55-63, 1983.
- [9] S. V. Devi and N. K. U. Prakash, "A study on phytochemical, antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of male flower of *Carica papaya* L.", *International Journal of Applied Biology*, vol. 2, no. 3, pp. 20-23, 2011.
- [10] M. K. Dwivedi, S. Sonter, S. Mishra, D. K. Patel, and P. K. Singh, "Antioxidant, antibacterial activity, and phytochemical characterization of *Carica papaya* flowers", *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, vol. 9, no. 23, pp. 1-11, 2020.
- [11] M. P. Sianipar, E. Suwarso, and R. Rosidah, "Antioxidant and anticancer activity of hexane fraction from *Carica papaya* L. male flower", *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, vol. 11, no. 3, pp. 81-83, 2018.
- [12] V. T. Nga *et al.*, "Ethanol extract of male *Carica papaya* flowers demonstrated non-toxic against MCF-7, Hep-G2, Hela, NCI-H460 cancer cell lines", *Vietnam Journal of Chemistry*, vol. 58, no. 1, pp. 86-90, 2020.