


## NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG CHỐNG UNG THƯ CỦA DỊCH CHIẾT LÁ TƯƠI CÂY ĐU ĐỦ ĐỰC (*Carica papaya* L.) Ở HÀ TĨNH

Trần Phương Trinh, Phan Bảo Linh, Phạm Thị Tâm 

Trường Trung học phổ thông Chuyên Hà Tĩnh

 Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: tamsinhcht@gmail.com

Ngày nhận bài: 09.01.2020

Ngày nhận đăng: 24.3.2020

### TÓM TẮT

Hiện nay, tỉ lệ người dân bị bệnh ung thư đang tăng lên hàng năm. Bên cạnh các biện pháp điều trị như xạ trị, hóa trị, sử dụng tế bào gốc... thì các cây thuốc, các hoạt chất thiên nhiên vẫn luôn được quan tâm nghiên cứu và sử dụng. Với dung môi là cồn 90°, chúng tôi đã chiết được bốn loại cao lỏng: hoa khô, hoa tươi, lá khô, lá tươi cây đu đủ đực. Trong điều kiện *in vitro*, các loại cao lỏng hoa khô, hoa tươi không thể hiện hoạt tính gây độc đối với các dòng tế bào nghiên cứu là: MCF-7, A549, HT29, Huh 7R, HEK-293 và LLC. Cao lỏng lá tươi và cao lỏng lá khô thể hiện hoạt tính với chỉ số IC<sub>50</sub> đạt từ 1,88-13,64 mg/mL, trong đó, cao lỏng lá tươi có hoạt tính cao gấp 4-6 lần cao lỏng lá khô. Cao lỏng lá tươi ở nồng độ 4 mg/mL và 0,8 mg/mL đã ức chế được 50,56% và 23,79% sự sản xuất IL-6 đại thực bào so với đối chứng âm ( $P < 0,01$ ) một cách tương ứng, nhưng chưa thể hiện khả năng cảm ứng sinh IL-2 ở các nồng độ nghiên cứu. Trên chuột nhắt bị gây u thực nghiệm, cao lỏng lá tươi đã thể hiện rõ tác dụng kháng u tích cực so với nhóm đối chứng bệnh lý trong thời gian uống mẫu 28 ngày, với 2 liều dùng 3 mL/kg/ngày và 6 mL/kg/ngày (tương ứng khối lượng mẫu lá tươi là 30 g và 60 g). Cụ thể là sau 28 ngày, cao lỏng lá tươi ở mức liều 6 mL/kg/ngày đã ức chế khối u phát triển tới 33,44%, trọng lượng khối u giảm còn 9,84g (so với 13,76g) ( $P < 0,05$ ); chỉ số bạch cầu giảm mạnh còn 19,1 triệu/mL (so với 41,65 triệu/mL); chỉ số AST giảm còn 1038,97 IU/L (so với 1441,60 IU/L), creatinin giảm còn 20,63  $\mu\text{mol/L}$  (so với 26,37  $\mu\text{mol/L}$ ). Những kết quả này là bằng chứng khoa học cho thấy tiềm năng ứng dụng làm sản phẩm hỗ trợ ung thư của cao chiết lá cây đu đủ đực ở Hà Tĩnh.

**Từ khóa:** BALB/c, cao lỏng lá tươi, đu đủ đực, IL-6, Lewis lung carcinoma

### MỞ ĐẦU

Hiện nay, tỉ lệ người dân bị bệnh ung thư đang tăng lên hàng năm. Theo thống kê của Tổ chức Y tế thế giới (WHO), số ca bị ung thư tại Việt Nam không ngừng tăng lên: Năm 2000 có 68000 ca; năm 2010 có 126000 ca; năm 2018 có 165000 ca. Việt Nam được xếp thứ 19 châu Á và thứ 5 tại khu vực Đông Nam Á về tỉ lệ mắc bệnh ung thư. Bên cạnh các biện pháp như xạ trị, hoá trị, dùng thuốc chỉ thị đích..., nhiều người dân và các nhà khoa học vẫn luôn tìm kiếm và nghiên cứu các cây thuốc, các hoạt chất thiên nhiên để hỗ trợ điều trị bệnh ung thư.

Theo kinh nghiệm dân gian và một số tài liệu y học thì cây đu đủ (*Carica papaya* L.) có khả năng tiêu u, ức chế một số tế bào ung thư. Một số nghiên cứu cho biết, trong hoa và lá đu đủ có chứa các chất có hoạt tính chống ung thư và thể hiện hoạt tính trong điều kiện *in vitro*. Cặn chiết methanol của lá đu đủ chỉ có tác dụng gây độc tế bào ung thư phổi LU với IC<sub>50</sub> = 19,2  $\mu\text{g/mL}$ , và không có tác dụng gây độc các dòng tế bào ung thư khác như ung thư biểu mô KB, ung thư vú MCF-7, ung thư máu cấp tính HL-60, ung thư tiền liệt tuyến LNCaP, ung thư gan Hepal1c7 (Thảo *et al.*, 2008). Kết quả thử sàng lọc hoạt tính gây độc tế bào các dòng tế bào ung thư

phôi (A549), ung thư gan (Hep3B) và ung thư vú (MCF-7) của 11 phân đoạn từ 3 dịch chiết tổng cho thấy: Các phân đoạn N/E<sub>T</sub>, N/N; M/E<sub>T</sub>, M/M; E/H, E/E<sub>T</sub>, E/E đều không thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên cả 3 dòng tế bào ung thư thử nghiệm. Các phân đoạn khác thể hiện hoạt tính: M/H gây độc tế bào A549; N/C thể hiện hoạt tính gây độc tế bào A549 và MCF-7; M/C thể hiện hoạt tính gây độc trên cả ba dòng tế bào A549, Hep3B và MCF-7 và E/C gây độc tế bào Hep3B (Liên *et al.*, 2019). Phân đoạn cặn chiết CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> của lá đu đủ có khả năng gây độc tế bào ung thư biểu mô KB (IC<sub>50</sub> = 18,44 µg/mL), ung thư phổi LU-1 (IC<sub>50</sub> = 18,21 µg/mL) và ung thư vú MCF-7 (IC<sub>50</sub> = 19,16 µg/mL). Đồng thời hai hợp chất *carpaine* và *pseudocarpaine* phân lập từ cặn CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> của lá đu đủ lần đầu tiên được chứng minh có hoạt tính gây độc mạnh trên cả bốn dòng tế bào ung thư người: ung thư biểu mô KB, ung thư máu HL-60, ung thư phổi LU-1, ung thư vú MCF-7 (IC<sub>50</sub> từ 1,13 đến 3,49 µg/mL) (Hà, 2014). Các nhà khoa học đã phát hiện và nghiên cứu chức năng của hàng chục loại cytokines trong hệ thống miễn dịch liên quan tới bệnh ung thư như: IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-α ... (Thao *et al.*, 2007; Mihara *et al.*, 2012; Tsukamoto *et al.*, 2018; Whlcher *et al.*, 1990). Tuy nhiên, hiện chưa có báo cáo nào xác định hoạt tính cảm ứng miễn dịch kháng u và đánh giá hoạt tính chống ung thư trong điều kiện *in vivo* trên động vật thử nghiệm, cũng như chưa có so sánh hoạt tính chống ung thư của hoa và lá, của mẫu tươi và mẫu khô của cây đu đủ được. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi đã tiến hành đánh giá khả năng gây độc tế bào ung thư, cảm ứng miễn dịch kháng ung thư *in vitro*, cũng như hoạt tính kháng u trên chuột của các dịch chiết từ lá và hoa cây đu đủ được thu từ khu vực tỉnh Hà Tĩnh, Việt Nam

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Vật liệu nghiên cứu

Hoa và lá của cây đu đủ được (*Caria papaya* L.) được thu hái vào khoảng tháng 5 đến tháng 12 năm 2019 ở địa bàn huyện Cẩm Xuyên, tỉnh

Hà Tĩnh do nhà thực vật Phạm Hồng Ban làm việc tại trường Đại học Vinh định danh khoa học; Chuột nhắt thuần chủng dòng BALB/c do Phòng Thử nghiệm Sinh học, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp; Các dòng tế bào: MCF-7, A549, HT29, Huh 7R, HEK-293, RAW 264.7, LLC do GS. J. M. Pezzuto, Trường Đại học Long-Island, US và GS. Jeanette Maier, trường Đại học Milan, Italia cung cấp; Môi trường DMEM, huyết thanh phôi bò (Fetal bovine serum- FBS) của GIBCO, Invitrogen, TCA, SRB, Ellipticine (Sigma), đĩa 96 giếng nhựa (Corning, USA), pipette (eppendorf), máy đọc ELISA 96 giếng (Biotek, ELx800).

### Phương pháp nghiên cứu

#### Phương pháp tạo dịch chiết và cao lỏng

Mỗi loại mẫu hoa, lá được chiết theo phương pháp ngâm dầm với dung môi cồn 90° trong thời gian 48 giờ sau đó lọc dịch chiết, cô đui dung môi tạo cao lỏng: 50 gam bột khô hoa hoặc lá; 362 gam hoa tươi hoặc 305 gam lá tươi tạo được 5 mL cao lỏng mỗi loại. Có 4 loại cao lỏng thu được là: cao lỏng hoa khô, cao lỏng hoa tươi, cao lỏng lá khô, cao lỏng lá tươi.

#### Phương pháp nuôi cấy tế bào

Các dòng tế bào MCF-7, A549, HT29, Huh 7R, HEK-293, RAW 264.7, LLC được nuôi cấy trong môi trường DMEM có bổ sung 10% huyết thanh phôi bò FBS, 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES và 1,0 mM sodium pyruvate. Tế bào được cấy chuyển sau 3 - 5 ngày với tỷ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ấm ở điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.

#### Phương pháp xác định tính độc tế bào ung thư (cytotoxic assay) đối với tế bào nuôi cấy dạng đơn lớp

Phép thử xác định khả năng gây độc tế bào ung thư thực hiện theo phương pháp của Skehan *et al.* (1991), được Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ NCI (National Cancer Institute) sử dụng làm phương pháp chuẩn để sàng lọc tìm chất chống ung thư từ năm 1991. Các tế bào ung thư được nuôi trong phiên vi lượng 96 giếng, được thử chất, nhuộm bằng SRB (sulforhodamine B) và

đo hàm lượng ở bước sóng 515 nm bằng máy Microplate Reader (BioTek, ELx800).

Phép thử được lặp lại 3 lần. Ellipticine ở các nồng độ 10 µg/mL; 2 µg/mL; 0.4 µg/mL; 0.08 µg/mL được sử dụng như là chất đối chứng dương. DMSO 10% luôn được sử dụng như đối chứng âm. Giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ ức chế 50% sự phát triển) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

#### **Phương pháp thử nghiệm hoạt tính cảm ứng miễn dịch kháng u *in vitro***

Tế bào RAW 264.7 được đưa ra các giếng của đĩa 96 giếng với nồng độ  $2 \times 10^5$  tế bào/giếng, tế bào được nuôi ổn định trong tủ ấm CO<sub>2</sub> qua đêm trước khi được ủ với mẫu nghiên cứu ở các nồng độ khác nhau với sự có mặt của LPS (5 µg/mL) trong 24 giờ. Sau đó dịch nổi được thu lại, ly tâm để loại bỏ tế bào, và giữ ở -20°C cho thí nghiệm tiếp theo. Sự sản xuất IL-6 và IL-2 trong dịch nổi tế bào dưới tác động của mẫu thử được xác định bằng các bộ Mouse IL-2 (mouse) ELISA Kit và Mouse IL-6 (mouse) ELISA Kit (BIOVISION Inc., USA) theo đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

#### **Phương pháp thử nghiệm tiền lâm sàng xác định khả năng kháng khối u ung thư của dịch chiết lá đu đủ**

Phương pháp thử nghiệm tiền lâm sàng được tiến hành theo Thao *et al.* (2008). Cụ thể là tế bào LLC được nuôi ở 37°C và 5% CO<sub>2</sub>, trong môi trường DMEM có bổ sung 10% huyết thanh phôi bò và 1% kháng sinh, khi tế bào phát triển đủ số lượng, tiến hành thu hoạch và tiêm vào bắp đùi chuột nồng độ  $2 \times 10^6$  tế bào/con (là nồng độ gây u cho chuột thí nghiệm đạt 100%). Sau khi tiêm tế bào LLC 5 ngày thấy có u thì chia chuột thành các lô thử nghiệm. Theo đó, 24 chuột có u được chia làm 4 lô (6 chuột/lô) gồm: lô 1 uống mẫu với liều 3 mL/kg/ngày tương đương khối lượng mẫu lá tươi 30 g/kg/ngày; lô 2 uống mẫu với liều 6 mL/kg/ngày tương đương khối lượng mẫu lá tươi 60 g/kg/ngày; lô 3 là đối chứng bệnh lý uống nước với thể tích 3 mL/kg/ngày; lô 4 là đối chứng tham khảo uống Capecitabine liều 200 mg/kg/ngày; Theo dõi

chuột hàng ngày, cân khối lượng và đo kích thước khối u sơ cấp tại vị trí tiêm 5-7 ngày/lần theo phương pháp của Ligo *et al.* (1991), Lee *et al.* (2006) để xác định khả năng ức chế khối u của mẫu nghiên cứu. Thể tích khối u được tính theo công thức của Ligo (1991):  $V = a \times b^2/2$ , trong đó,  $V$ : thể tích khối u;  $a$ : chiều dài khối u;  $b$ : đường kính khối u.

#### **Phương pháp xử lý số liệu**

Các số liệu được xử lý trên Excel, được trình bày dạng mean ± SE. Các thuật toán thống kê Student's *t*-test, F' test và phương pháp phân tích phương sai một nhân tố ngẫu nhiên (one way ANOVA) để kiểm tra sự sai khác có ý nghĩa so với đối chứng bệnh lý, với  $P < 0,05$  được coi là sai khác có ý nghĩa thống kê.

### **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

#### **Kết quả thử nghiệm hoạt tính gây độc tế bào ung thư**

Với phương pháp tạo cao chiết lỏng từ lá, hoa của cây đu đủ được như đã trình bày, chúng tôi đã thu được các mẫu cao lỏng hoa tươi, cao lỏng hoa khô, cao lỏng lá tươi và cao lỏng lá khô để nghiên cứu hoạt tính gây độc tế bào ung thư *in vitro*. Khả năng gây độc tế bào ung thư được xác định thông qua giá trị IC<sub>50</sub> là nồng độ gây chết 50% tế bào và được trình bày ở Bảng 1.

Kết quả trên cho thấy hai mẫu cao lỏng hoa tươi và cao lỏng hoa khô không thể hiện hoạt tính ở các nồng độ nghiên cứu trên các dòng tế bào ung thư sử dụng. Hai mẫu cao lỏng lá tươi và cao lỏng lá khô thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư nghiên cứu với giá trị IC<sub>50</sub> từ 1,88 – 13,64 mg/mL. Trong đó, mẫu cao lỏng lá tươi có hoạt tính cao hơn rất nhiều so với cao lỏng lá khô (giá trị IC<sub>50</sub> thấp hơn) vào cao nhất đối với dòng ung thư đại tràng (HT29) (IC<sub>50</sub> = 1,88 mg/mL). Đối với dòng tế bào thường (HEK-293), giá trị IC<sub>50</sub> của cao lỏng lá tươi cao hơn so với các dòng tế bào ung thư phổi (A549) và ung thư đại tràng (HT29), chứng tỏ mức độ gây hại của cao lỏng lá tươi đối với tế bào thường thấp hơn tế bào ung thư phổi và ung thư đại tràng. Trong một

số nghiên cứu khác, hoạt tính gây độc tế bào của lá đu đủ thể hiện trên nhiều dòng tế bào ung thư như LU-1, MCF-7, KB... (Thảo *et al.*, 2007; Hà, 2014). Hai mẫu cao lỏng lá tươi và cao lỏng lá khô cũng thể hiện hoạt tính với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 4,91 mg/mL và 14,27 mg/mL trên dòng tế bào ung thư phổi (LLC) ở

chuột - là dòng tế bào sử dụng để gây khối u *in vivo*. Như vậy, trong nghiên cứu này, hoạt tính gây độc tế bào của cao lỏng lá đu đủ được tươi thể hiện rõ nét trên các dòng tế bào ung thư nghiên cứu và là cơ sở để chúng tôi lựa chọn cho thử nghiệm kháng khối u ung thư *in vivo* trên động vật.

**Bảng 1.** Khả năng gây độc tế bào của các mẫu trên các dòng tế bào ở người.

Các dòng tế bào	IC <sub>50</sub> (mg/mL) của các mẫu				
	Cao lỏng hoa tươi	Cao lỏng hoa khô	Cao lỏng lá tươi	Cao lỏng lá khô	Ellipticine (µg/mL)
Huh7R	>20	>20	2,42± 0,39	13,64± 0,93	0,85± 0,15
A549	>20	>20	2,15± 0,26	9,61± 1,01	0,41± 0,04
HT29	>20	>20	1,88± 0,15	6,81± 0,25	0,39± 0,05
MCF7	>20	>20	2,32± 0,25	9,54± 1,23	0,49± 0,05
HEK-293	>20	>20	2,21± 0,17	8,98± 0,59	0,26± 0,03
LLC	>20	>20	4,91± 0,54	14,27± 1,39	0,49± 0,05

IC<sub>50</sub><20 có hoạt tính; IC<sub>50</sub>>20 không có hoạt tính;

#### Kết quả thử nghiệm hoạt tính cảm ứng miễn dịch kháng u trong điều kiện *in vitro* của cao lỏng lá tươi

Để sơ bộ tìm hiểu hoạt tính kháng ung thư của cao lỏng lá tươi từ cây đu đủ được, khả năng cảm ứng miễn dịch kháng u trên mô hình tế bào RAW264.7 được đánh giá

thông qua ảnh hưởng tới sự thay đổi sản sinh (tăng cường hay ức chế) các cytokines miễn dịch liên quan khối u là IL-2 và IL-6 của đại thực bào.

Khả năng sinh cytokine của mẫu thí nghiệm trên tế bào RAW264.7 kích ứng bằng LPS được trình bày ở Bảng 2 dưới đây.

**Bảng 2.** Khả năng sản xuất IL-2 và IL-6 của tế bào RAW 264.7 dưới sự tác động của cao lỏng lá tươi so với đối chứng âm.

Nồng độ (mg/mL)	IL-6		IL-2		% Tế bào sống	
	% Sản xuất	sai số	% Sản xuất	sai số	% Sản xuất	sai số
4	49,44**	4,05	90,27	5,50	98,15	2,22
0,8	76,21**	5,64	98,23	1,25	98,59	1,32
0,16	102,49	1,59	95,58	2,50	99,22	1,06
LPS (ĐC âm)	100,00	0,53	100,00	3,75	100,00	0,61

\*\* P<0,01 so với đối chứng; \* P<0,05 so với đối chứng

Qua Bảng 2 chúng tôi nhận thấy mẫu cao lỏng lá tươi ức chế mạnh sự sản sinh IL-6 ở nồng độ 4 mg/mL, 0,8 mg/mL ở mức có ý nghĩa thống

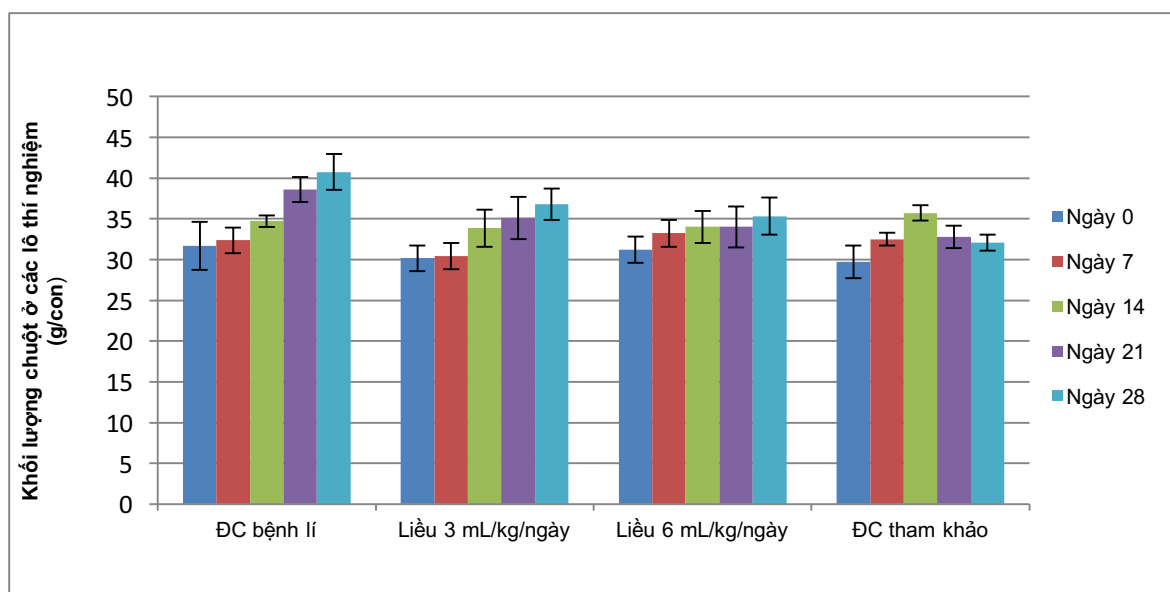
kê ( $P<0,01$ ) tương ứng với mức ức chế 50,56% sức sản xuất IL-6 của đại thực bào ở nồng độ 4 mg/mL và 23,79% ở nồng độ 0,8 mg/mL (so với

đối chứng âm,  $P < 0,01$ ). Khi nồng độ giảm xuống đến 0,16 mg/mL, mẫu không thể hiện khả năng ức chế sản xuất IL-6. Tuy nhiên, mẫu không thể hiện khả năng cảm ứng sinh IL-2 ở các nồng độ nghiên cứu. Nhiều báo cáo cho thấy IL-6 có vai trò quan trọng trong điều hòa miễn dịch, tạo máu, viêm và oncogenesis bằng cách điều chỉnh tăng trưởng tế bào, kích hoạt gen, sự phát triển, sự sống còn và sự biệt hóa. IL-6 cũng cho thấy vai trò hết sức quan trọng trong quá trình tạo mạch máu (angiogenesis) khi kích hoạt VEGF. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng IL-6 liên quan đến cơ chế phát triển và di căn của nhiều loại ung thư do tác động thúc đẩy sự sống sót của tế bào khối u (Tsukamoto *et al.*, 2018), thúc đẩy sự phosphoryl hóa STAT3, sự giao tiếp giữa các tế bào ác tính và stroma, sự hình thành mạch (Milagre *et al.*, 2015). Vì thế, rất nhiều báo cáo cho rằng việc ức chế quá trình sản xuất, truyền tín hiệu của IL-6 hay dùng kháng thể kháng IL-6 sẽ là đích hướng tới của các liệu pháp

mới chữa trị bệnh ung thư (Thao *et al.*, 2007; Mihara *et al.*, 2012; Whlcher *et al.*, 1990). Như vậy, kết quả thu được cho thấy một trong các cơ chế tiềm năng chống ung thư của cao lỏng lá tươi có thể là nhờ ức chế sự sản sinh IL-6.

#### Hoạt tính kháng khối u *in vivo* trên chuột bị gây u thực nghiệm của cao lỏng lá tươi

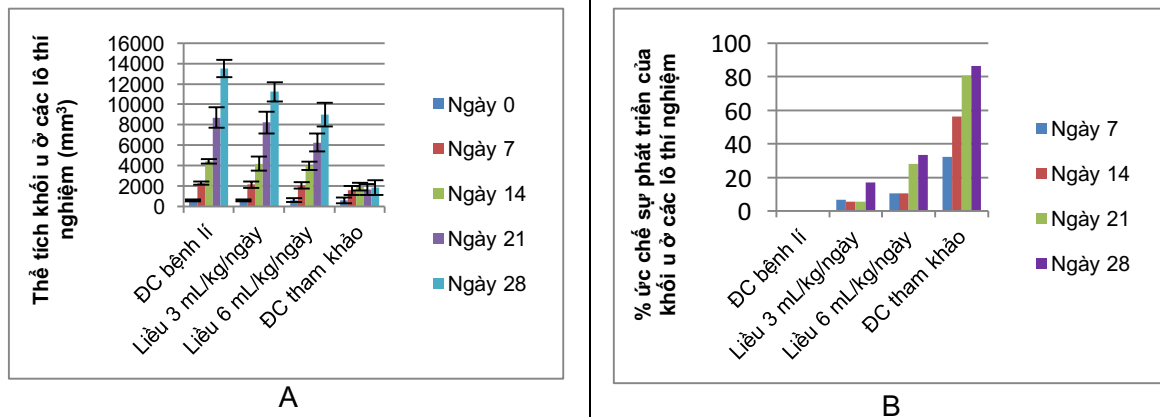
Khả năng kháng u của cao lỏng lá tươi được nghiên cứu trên mô hình chuột BALB/c gây u thực nghiệm bằng tế bào LLC. Thông qua các chỉ số về sự thay đổi khối lượng chuột (Hình 1), chúng tôi nhận thấy cao lỏng lá tươi không ảnh hưởng rõ rệt lên trọng lượng cơ thể động vật. Chuột ở tất cả các lô thí nghiệm tại thời điểm 28 ngày đều tăng trọng lượng so với thời điểm bắt đầu thí nghiệm nhưng không có sự sai khác thống kê so với đối chứng bệnh lý ( $P > 0,05$ ). Trọng lượng chuột ở lô đối chứng tham khảo có hiện tượng giảm ở mức có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ).



Hình 1. Trọng lượng chuột thí nghiệm bị gây u khi thử nghiệm với cao chiết lá tươi từ cây đu đủ đực Hà Tĩnh.

Khả năng ức chế khối u là một chỉ tiêu rất quan trọng để đánh giá tác dụng kháng u của mẫu nghiên cứu. Kết quả ở Hình 2 cho thấy tác động của cao lỏng lá tươi đối với sự phát triển của khối u phụ thuộc vào liều dùng. Sau 28 ngày sử dụng cao lỏng lá tươi, thể tích khối u

của chuột ở lô sử dụng liều 3 mL/kg/ngày không giảm so với đối chứng bệnh lý ( $P > 0,05$ ); còn thể tích khối u của chuột ở lô sử dụng liều 6 mL/kg/ngày giảm còn 9003,49 mm<sup>3</sup>, ức chế được 33,44% thể tích khối u so với lô đối chứng âm là 13527,21 mm<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ).



**Hình 2.** A - Quá trình phát triển của khối u (mm<sup>3</sup>) của chuột thí nghiệm bị gây u khi thử nghiệm với cao chiết lá tươi từ cây đu đủ đực Hà Tĩnh; B- Khả năng ức chế sự phát triển của khối u của cao chiết lá tươi.

**Bảng 3.** Trọng lượng khối u tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Lô thí nghiệm	Trọng lượng khối u trung bình tại thời điểm sau 28 ngày thí nghiệm (g/con)	% Trọng lượng u giảm so với đối chứng (%)
ĐC bệnh lí	13,76 ± 1,67	-
Liều 3 mL/kg/ngày	11,48 ± 0,52	16,51
Liều 6 mL/kg/ngày	9,84 ± 1,48	28,44
ĐC tham khảo	3,04** ± 1,56	77,89

\*P<0,05 so với đối chứng bệnh lí; \*\*P<0,01 so với đối chứng bệnh lí.

**Bảng 4.** Các chỉ số huyết học tại thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Các chỉ số	ĐC bệnh lí		Uống 3 mL/kg/ngày		Uống 6 mL/kg/ngày		ĐC tham khảo	
	$\bar{X}$	SE	$\bar{X}$	SE	$\bar{X}$	SE	$\bar{X}$	SE
Bạch cầu (10 <sup>9</sup> /L)	41,65	0,02	42,89	5,56	19,10*	6,53	5,75**	0,25
Hồng cầu (10 <sup>12</sup> /L)	7,05	0,08	6,18	0,39	6,70	0,15	5,98	0,54
Hemoglobin (g/L)	102,00	2,31	93,67	5,81	96,00	2,00	95,33	7,01
HCT (L/L)	0,35	0,01	0,31	0,02	0,32	0,00	0,30	0,02
Tiểu cầu (10 <sup>9</sup> /L)	521,67	7,36	549,33	7,22	537,67	13,66	540,33	7,25
AST (U/L)	1441,60	13,06	1431,40	10,43	1038,97**	9,31	257,37**	7,03
ALT (U/L)	62,03	1,27	63,30	0,79	62,50	1,04	36,53	0,85
Creatinin (micromol/L)	26,37	1,00	20,63*	0,24	20,63*	0,32	27,90	0,66

\*P<0,05 so với đối chứng bệnh lí; \*\*P<0,01 so với đối chứng bệnh lí

Trọng lượng khối u của chuột (Bảng 3) tại ngày thứ 28 giảm còn 11,48 g/con và 9,84 g/con ở 2 lô thí nghiệm sử dụng liều dùng 3 mL và 6

mL so với lô đối chứng bệnh lí là 13,76 g/con ( $P>0,05$ ). Mức độ ức chế trọng lượng khối u của liều 6 mL đạt 28,44% tốt hơn liều 3 mL (đạt

16,51%) ( $P > 0,05$ ).

Ngoài ra, khi kiểm tra các chỉ tiêu huyết học và sinh hóa máu của chuột gây u, cao lỏng lá tươi với liều 6 mL đã làm giảm chỉ số bạch cầu còn  $19,1.10^9/L$  so với đối chứng bệnh lí là  $41,65.10^9/L$  ( $P < 0,05$ ), giảm chỉ số AST còn 1038,97 IU/L so với lô đối chứng bệnh lí là 1441,60 IU/L ( $P < 0,01$ ) và cả 2 liều 3 mL và 6 mL đều làm giảm chỉ số creatinin còn 20,63  $\mu\text{mol/L}$  so với lô đối chứng bệnh lí là 26,37  $\mu\text{mol/L}$  ( $P < 0,05$ ). Kết quả này cho thấy, cao lỏng lá tươi có tác dụng tích cực trong việc điều trị cho chuột bị u và cải thiện tốt hoạt động chức năng của gan, thận ở chuột bị u.

Như vậy, cao lỏng lá đu đủ đực tươi đã thể hiện khả năng kháng u cũng như cải thiện chức năng gan thận trên mô hình chuột được gây u bằng tế bào LLC. Các kết quả thu được là rất có ý nghĩa, cho thấy tiềm năng kháng u hiệu quả của dịch chiết lá tươi cây đu đủ đực ở Hà Tĩnh.

## KẾT LUẬN

Dịch chiết lá đu đủ đực tươi đã được chứng minh có khả năng chống ung thư trong điều kiện *in vitro* trên các dòng tế bào ung thư MCF-7, A549, HT29, Huh 7R ở người và LLC ở chuột ( $IC_{50} = 1,88 - 4,91 \text{ mg/mL}$ ) và trong điều kiện *in vivo* là chuột nhắt BALB/c được gây u thực nghiệm bằng tế bào LLC: ức chế 33,44% thể tích khối u ( $P < 0,05$ ); trọng lượng khối u giảm 28,44% ở ngày 28; chỉ số bạch cầu giảm còn  $19,1.10^9/mL$  so với đối chứng âm là  $41,65.10^9/mL$  ( $P < 0,05$ ). Dịch chiết lá đu đủ đực tươi còn giúp cải thiện chức năng gan thận cho chuột bị u, làm giảm chỉ số AST và creatin so với đối chứng bệnh lí ở mức có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$  và  $P < 0,01$ ). Một trong các hoạt động chống ung thư của dịch chiết lá đu đủ đực tươi được xác định là có thể thông qua ức chế sự sản sinh IL-6 của đại thực bào (ức chế 50,56% ở nồng độ 4 mg/mL;  $P < 0,01$ ). Kết quả nghiên cứu *in vitro* và tiền lâm sàng cho thấy khả năng chống ung thư của cây đu đủ đực và đây là cơ sở khoa học cho việc ứng dụng phát triển thực phẩm chức năng hỗ trợ điều trị cho bệnh nhân ung thư từ lá cây đu đủ đực.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Đỗ Thị Thảo, Nguyễn Thị Nga, Nguyễn Thị Trang, Nguyễn Thị Cúc, Đỗ Thị Phương (2008) Gây u thực nghiệm trên chuột bằng dòng tế bào ung thư Lewis Lung Carcinoma. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 6(4A): 619-624.

Đỗ Thị Thảo, Đỗ Thị Phương, Đỗ Khắc Hiếu, Nguyễn Văn Hùng (2008) Xác định khả năng phòng chống ung thư của một số chất chiết thực vật Việt Nam bằng các phép thử sinh học *in vitro*. *Tạp chí Sinh học* 30(1): 79-82.

Đỗ Thị Thảo, Đỗ Thị Phương, Vũ Minh Đức, Đặng Trần Hoàng, Trương Nam Hải (2007) Xác định hoạt tính sinh học của interleukin-2 tái tổ hợp bằng phép thử sinh học trên tế bào CTL2. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 5(2): 157-161.

Giang Thị Kim Liên và cộng sự (2019) Xác định thành phần hóa học và thử nghiệm một số hoạt chất sinh học có khả năng ức chế tế bào ung thư từ hoa đu đủ đực. *Đề tài khoa học và công nghệ cấp Bộ*.

Hồ Thị Hà (2014) Nghiên cứu hoạt tính sinh học của một số hợp chất tách chiết từ lá đu đủ. *Luận án Tiến sĩ sinh học*.

Lee E, Lee H, Hwang H, Ahn K, Chae C, Kang K, Lu J, Kim S (2006) Potent inhibition of Lewis lung cancer growth by heyneanol A from the roots of *Vitis amurensis* through apoptotic and anti-angiogenic activities. *Carcinogenesis* 27(10): 2059-2069.

Ligo M, Hoshi A, Kadosawa H, Fujigaki M (1991) Antitumor activity and metabolism of a new anthracycline-containing fluorine (ME2303) in Lewis lung carcinoma-bearing mice. *J Cancer Res* 82: 1317-1321.

Marline N and Kasmirul (2015) Cytotoxicity activity of male *Carica papaya* L. flowers on MCF-7 breast. *Chem Pharmaceut Res* 7(5): 772-775.

Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, Suzuki M, Shiina M (2012) IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)* 122(4): 143-159.

Milagre CS, Ganga G, Evenitt G, Thompson RG, Kulbe H, Zhong H, Hollingsworth RE, Grose R, Bowtell DD, Hochhauser D, Balkwill FR (2015) Adaptive upregulation of EGFR limits attenuation of tumor growth by neutralizing IL6 antibodies, with implications for combined therapy in ovarian cancer. *Cancer Res* 75(7): 1255-1264.

- Monks A, Scudiero D, Skehan P, Shoemaker R, Paull K, Vistica D, Hose C, Langley J, Cronise P, Vaigro-Wolff A, Gray-Goodrich M (1991) Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *Nat Cancer Ins* 83(11):757-766.
- Tsukamoto H, Fujieda K, Miyashita A, Fukushima S, Ikeda T, Kubo Y, Senju S, Ihn H, Nishimura Y, Oshiumi H (2018) Combined blockade of IL6 and PD-1/PD-L1 signaling abrogates mutual regulation of their immunosuppressive effects in the tumor microenvironment. *Cancer Res* 78(17): 5011-5023.
- Whlcher JT, Evans SW (1990) Cytokines in disease. *Clin chem* 36: 1269-1281.

## **POTENTIAL ANTI-TUMOR ACTIVITIES OF EXTRACT FROM FRESH LEAVES OF THE MALE PAPAYA (*Carica papaya* L.) COLLECTED IN HA TINH PROVINCE**

**Phuong Trinh Tran, Bao Linh Phan, Thi Tam Pham**

*Ha Tinh High School for Gifted Students*

### **SUMMARY**

Nowadays, the percentage of people with cancer is increasing. There are many methods used to treat cancer such as surgery, chemotherapy, the radiation, etc. In addition, the use of medicinal plants, natural products, is also popularly applied for cancer patients. Using 90% ethanol as the extraction solvent, we produced 4 kinds of concentrated extracts from dried flowers, dried leaves, fresh flowers, fresh leaves of male papaya (*Carica papaya* Linn). *In vitro* study, the extracts of dried flowers, fresh flowers did not effect on MCF7, A549, HT 29, Huh 7R, HEK 293 and LLC cancer cell lines. The extracts of dried leaves and fresh leaves presented cytotoxic effects with IC<sub>50</sub> values ranging from 1.88 to 13.64 mg/mL. Meanwhile, activities of the extract of fresh leaves was 4-6 times stronger than that of the extract of dried leaves's. Based on evaluation of the IL2 and IL6 production capability of macrophage, we found that the extract of fresh leaves strongly inhibited the IL-6 production at 4 mg/mL (50.56%) and 0.8 mg/mL (23.79%) in comparison with the negative control ( $P<0.05$ ) while it did not show the ability to induce IL-2 in the same studied concentrations. Using tumor bearing mice as model for studying the antitumor activities of extract of fresh leaves at the dose of 3 mL/kg/day and 6 mL/kg/day, we identified the positive effects of the higher dose treatment. The results showed that the extract of fresh leaves at the dose of 6 mL/kg/day could inhibit 33.44% the tumors' sizes on day 28 ( $P<0.05$ ); tumor's weigh decreased to 9.84 against 13.76 g of the negative control; the WBC parameter reduced from  $41.65 \times 10^6/\text{mL}$  to  $19.1 \times 10^6/\text{mL}$  ( $P<0.05$ ), AST decreased from 1441.6 U/L to 1038.97 U/L ( $P<0.01$ ), and creatinin decreased from 26.37  $\mu\text{mol/L}$  to 20.63  $\mu\text{mol/L}$  compared with the negative control group ( $P<0.05$ ). These promising results are the scientific evidences for applying this extract in cancer treatment in the future.