

## ĐẶC ĐIỂM VI HỌC, THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ MỘT SỐ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA THÂN RỄ SÂM ĐÁ

Trần Thị Thu Vân<sup>1\*</sup>, Bùi Thị Quyên Quyên<sup>1</sup>, Trương Thị Đẹp<sup>1</sup>, Hoàng Nghĩa Sơn<sup>2,3</sup>,  
Lê Thành Long<sup>2,3</sup>, Đoàn Chính Chung<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Lạc Hồng, Số 10, Huỳnh Văn Nghệ, Bửu Long, Biên Hòa, Đồng Nai

<sup>2</sup>Viện Sinh học Nhiệt đới - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>3</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

\* Tác giả liên hệ: [thuvan@lhu.edu.vn](mailto:thuvan@lhu.edu.vn)

### ARTICLE INFO

Received: 5/6/2022

Revised: 25/11/2022

Accepted: 15/3/2023

Published: 25/09/2023

### KEYWORDS

Sâm đá;

Đặc điểm vi học;

Hoạt tính chống oxy hoá;

Hoạt tính kháng ung thư.

### TÓM TẮT

Cây Sâm đá (*Curcuma singularis* Gagnep.) thường được dùng để bồi bổ sức khỏe và tăng sinh lực. Trong nghiên cứu này, đặc điểm giải phẫu và bột dược liệu của các phần dưới mặt đất của Sâm đá (SĐ) đã được khảo sát bằng phương pháp vi học, cho thấy thân rễ chứa nhiều loại tế bào tiết hơn rễ và rễ củ. Kết quả này góp phần khẳng định thân rễ là nguyên liệu phù hợp cho các nghiên cứu tách chiết tinh dầu và các hoạt chất khác. Trong thân rễ SĐ có sự hiện diện của triterpenoid, alkaloid và polyphenol. Hoạt tính chống oxy hóa của cao chiết thân rễ SĐ được xác định bằng phương pháp DPPH cho giá trị IC<sub>50</sub> = 166,50 µg/mL, yếu hơn acid ascorbic (IC<sub>50</sub> = 18,19 µg/mL) khoảng 9 lần. Cao chiết cũng cho hoạt tính gây độc trên các dòng tế bào ung thư vú MCF-7 (IC<sub>50</sub> = 146,41 µg/mL), ung thư gan HepG2 (IC<sub>50</sub> = 181,24 µg/mL), ung thư da A375 (IC<sub>50</sub> = 220,16 µg/mL) và ung thư đại trực tràng Caco2 (IC<sub>50</sub> = 111,95 µg/mL). Đây là báo cáo đầu tiên về đặc điểm vi học, tác dụng chống oxy hoá và ức chế tăng sinh tế bào ung thư của thân rễ SĐ, góp phần làm rõ hơn tác dụng sinh học và là cơ sở để xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm cho dược liệu này.

## STUDY ON MICROMORPHOLOGY, PHYTOCHEMISTRY AND *IN VITRO* BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *CURCUMA SINGULARIS* GAGNEP. RHIZOMES

Thi Thu Van Tran<sup>1\*</sup>, Thi Quyên Quyên Bui<sup>1</sup>, Thi Dep Truong<sup>1</sup>, Nghia Son Hoang<sup>2,3</sup>,  
Thanh Long Le<sup>2,3</sup>, Chinh Chung Doan<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Lac Hong University, 10 Huynh Van Nghe Street, Bui Long, Bien Hoa, Dong Nai, Vietnam

<sup>2</sup>Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>3</sup>Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, Ha Noi, Vietnam

\*Corresponding Author: [thuvan@lhu.edu.vn](mailto:thuvan@lhu.edu.vn)

### ARTICLE INFO

Received: Jun 5<sup>th</sup>, 2022

Revised: Nov 25<sup>th</sup>, 2022

Accepted: Mar 15<sup>th</sup>, 2023

Published: Sep 25<sup>th</sup>, 2023

### KEYWORDS

*Curcuma singularis*;

Micromorphology;

Phytochemical;

Antioxidant activity.

### ABSTRACT

*Curcuma singularis* Gagnep. (CS), which is known as “Sam da”, belongs to the Zingiberaceae family. It was distributed in the Central Highlands of Vietnam. Its rhizomes were extensively used as a folk medicine for boosting health and increasing vitality. This study aims to study micromorphological characteristics and preliminary phytochemical components as well as *in vitro* biological activities of CS rhizomes. The anatomy and powder characteristics of the roots and rhizomes of CS were investigated by microscopic methods, showing that CS rhizomes have more secretory cell types than CS roots. This result confirms that CS rhizomes are a suitable material for studies on extracting essential oils and other active ingredients. Preliminary phytochemical characterization exhibited the main components, including triterpenoids, alkaloids, and polyphenols, suggesting that they might be responsible for the biological activities of CS rhizomes. Analysis carried out for antioxidant activity on DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radicals showed the antioxidant activity of CS extract with IC<sub>50</sub> at IC<sub>50</sub> = 166,50 µg/mL, which was 9-times lower than the positive control ascorbic acid with IC<sub>50</sub> = 18,19 µg/ml. CS rhizomes extract also had *in vitro* cytotoxicity on cancer cell lines with MCF-7 (IC<sub>50</sub> = 146,41 µg/mL), HepG2 (IC<sub>50</sub> = 181,24 µg/mL), A375 (IC<sub>50</sub> = 220,16 µg/mL), Caco2 (IC<sub>50</sub> = 111,95 µg/mL). This is the first report on micromorphological characteristics as well as *in vitro* antioxidant and antiproliferative activities of CS rhizomes, contributing to confirming their potency and offering helpful ground for quality standardization in material quality control.

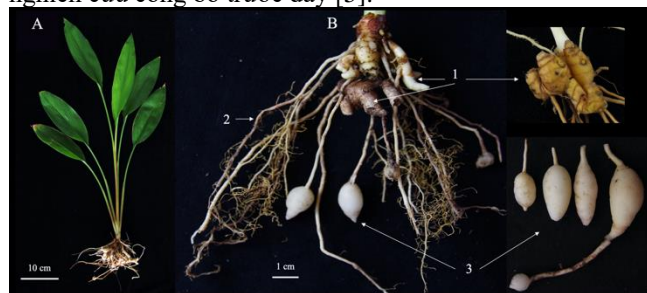
## 1. Giới thiệu

Cây Sâm đá hay còn gọi là Cây khô (tên địa phương), có tên khoa học là *Curcuma singularis* Gagnep., thuộc chi Nghệ (*Curcuma*), họ gừng (Zingiberaceae). Cây Sâm đá phân bố chủ yếu ở các vùng diện tích nhỏ thuộc huyện Kbang (Gia Lai) và Măng Đen (Kon Tum). Thân rễ và rễ củ của cây Sâm đá được ghi nhận có tác dụng bồi bổ sức khỏe, tăng sinh lực, bổ thận, hạn chế suy nhược cơ thể và hỗ trợ điều trị một số bệnh [1]. Một số nhóm hoạt chất được tìm thấy trong các cao phân đoạn khác nhau của thân rễ cây Sâm đá như terpenoid p-menthane-1,2,4-triol, amoxantin A, acid rugosic B trong phân đoạn chloroform, 2,3-butanediol và meso-2,3-butanediol trong phân đoạn nước, acid 3-hydroxy-4-methoxybenzoic trong phân đoạn ethyl acetat [2]. Tinh dầu của thân rễ cây Sâm đá có hoạt tính kháng khuẩn mạnh và chứa một số hợp chất đáng chú ý với hàm lượng cao như germacron (8,00%), caryophyllene oxid (4,48%), terpinen-4-ol (3,84%) và germacron-4,5-epoxid (3,84%) [3]. Tương tự, nghiên cứu gần đây phát hiện thấy có 3 hợp chất sesquiterpen, gồm germacron, ar-turmerone và curcumol trong cao chiết thân rễ cây Sâm đá. Các nhóm chất này có thể đóng vai trò chính trong hoạt tính kháng ung thư của cao chiết thân rễ cây Sâm đá [4]. Trong khi đó, các đặc điểm về vi học cây Sâm đá chưa được đề cập trong bất kỳ tài liệu nào. Do vậy, để cung cấp cơ sở cho những nghiên cứu sâu hơn và ứng dụng của cây Sâm đá trong y học Việt Nam, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định các đặc điểm vi học của rễ, thân rễ và rễ củ, sơ bộ thành phần hóa học, thử hoạt tính chống oxy hóa và gây độc tế bào của thân rễ cây Sâm đá.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu cây Sâm đá (Hình 1) được thu nhận ở huyện Kbang, tỉnh Gia Lai vào tháng 3/2019 và tháng 11/2020, đã được xác định là loài *Curcuma singularis* Gagnep. bằng cách so sánh các đặc điểm hình thái của loài này theo kết quả nghiên cứu công bố trước đây [5].



Hình 1. Cây Sâm đá

A. Toàn cây; B. Bộ phận dưới mặt đất: 1. Thân rễ, 2. Rễ, 3. Rễ củ

Bộ phận dưới mặt đất được rửa sạch để nghiên cứu đặc điểm vi học. Thân rễ được rửa sạch, phơi khô và xay thành bột mịn dùng trong phân tích sơ bộ thành phần hoá thực vật và thử hoạt tính sinh học.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm giải phẫu

Cắt ngang rễ, rễ củ, thân rễ thành lát mỏng bằng dao lam. Rễ được cắt ngang đoạn giữa của rễ già có đường kính trung bình 1,5-2mm, tránh vị trí rễ non. Rễ củ được cắt ngang ở đoạn có đường kính từ 3-5mm. Thân rễ được cắt ngang ở đoạn có đường kính trung bình 3-4mm. Vi phẫu được tẩy trắng với Javel và nhuộm bằng thuốc nhuộm son

phèn và lục iod. Quan sát vi phẫu trong nước dưới kính hiển vi quang học (Olympus CX23 LED), chụp ảnh và mô tả cấu trúc. Mỗi bộ phận quan sát từ 5-10 vi phẫu.

#### 2.2.2. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm bột dược liệu

Rễ, rễ củ và thân rễ được cắt nhỏ, sấy ở nhiệt độ 50-60°C đến khô, nghiền và rây qua rây số 32 (đường kính mắt rây 0,1mm). Quan sát các thành phần của bột trong nước cất dưới kính hiển vi quang học. Mô tả và chụp ảnh các cấu tử.

#### 2.2.3. Phương pháp định tính sơ bộ các hợp chất trong dược liệu

Phân tích sơ bộ thành phần hóa học của mẫu bột dược liệu theo quy trình phân tích của Ciuley (Trường Đại học Dược khoa Bucarest Rumani) được cải tiến bởi Khoa Dược – ĐHY Dược Tp. Hồ Chí Minh [6]. Bột thân rễ SD (20g) được chiết xuất lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần (diethyl ether, cồn và nước) và thu được các dịch chiết tương ứng. Các nhóm hợp chất trong từng dịch chiết được xác định bằng các phản ứng hóa học đặc trưng.

#### 2.2.4. Phương pháp chiết xuất cao toàn phần

Bột thân rễ SD (100 g) được chiết xuất bằng phương pháp ngâm lạnh với dung môi ethanol 96% trong 48 giờ, tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/10. Quy trình chiết được lặp lại nhiều lần đến khi dịch chiết không còn màu. Tất cả dịch chiết được gộp lại, lọc và loại bỏ dung môi bằng máy cô quay chân không (Buchi, Đức). Dịch chiết đậm đặc tiếp tục được sấy ở 50°C để thu được 9,6g cao đặc (độ ẩm < 20%).

#### 2.2.5. Phương pháp đánh giá hoạt tính chống oxy hóa bằng mô hình DPPH

Khả năng chống oxy hóa của cao chiết và acid ascorbic (đối chứng dương) được xác định bằng thử nghiệm DPPH [7]. Mẫu cao được pha loãng bằng ethanol ở các nồng độ 0-1000µg/mL. Mẫu đối chứng acid ascorbic được chuẩn bị ở các nồng độ 0-100µg/mL. Các mẫu được chuẩn bị trên đĩa 96 giếng. Hỗn hợp phản ứng gồm 0,5ml mẫu thử và 0,5ml dung dịch DPPH 0,6mM, hòa tan trong 3,5ml ethanol, được trộn đều và ủ trong tối trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Mẫu được đo độ hấp thụ (OD) ở bước sóng 517nm bằng máy đọc đa chức năng (Promega, Hoa Kỳ). Hoạt tính chống oxy hóa (HTCO) (%) được tính như sau:

$$HTCO(\%) = \frac{OD_b - OD_a}{OD_b} \times 100\% \quad (1)$$

Trong đó, OD<sub>a</sub>: mật độ quang của mẫu thử, OD<sub>b</sub>: mật độ quang của mẫu trắng.

Phân tích số liệu trên phần mềm Excel được phương trình đường chuẩn giữa nồng độ mẫu thử và HTCO (%) có dạng  $y = ax + b$  để suy ra giá trị IC<sub>50</sub> (nồng độ có khả năng khử 50% DPPH của mẫu).

#### 2.2.6. Phương pháp đánh giá mức độ gây độc hay ức chế tăng sinh tế bào ung thư

Các dòng tế bào ung thư đại trực tràng người Caco2 (Mã số: HTB-37), ung thư gan người HepG2 (Mã số: HB8065), ung thư da người A375 (Mã số: CRL-1619), ung thư vú người MCF7 (Mã số: HTB-22) được cung cấp bởi Trung tâm Lưu trữ giống nuôi cấy Hoa Kỳ (American Type Culture Collection – ATCC). Khả năng gây độc tế bào của cao chiết được đánh giá thông qua bộ kit tăng sinh tế bào WST-1 (Roche, Thụy Sĩ) [8]. Tế bào ung thư được nuôi

trên đĩa 96 giếng ở mật độ  $1 \times 10^4$  tế bào/giếng trong 8-12 giờ. Các tế bào bám dính sẽ được ủ với cao chiết đã được chuẩn bị ở các nồng độ khác nhau trong 24 giờ. 5-FU được sử dụng làm đối chứng dương. Sau đó, thêm 10 $\mu$ l dung dịch WST-1 vào mỗi giếng, trộn đều và tiếp tục ủ ở 37 $^{\circ}$ C, 5% CO $_2$ . Sau 4 giờ, mẫu được lắc đều trong 20 giây và xác định giá trị hấp thụ (OD) tại bước sóng 450nm. Kết quả được xác định thông qua giá trị OD của mỗi mẫu.

$$\text{Tỉ lệ tế bào sống (\%)} = \frac{OD_t}{OD_c} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{Tỉ lệ gây độc tế bào (\%)} = \left(1 - \frac{OD_t}{OD_c}\right) \times 100\% \quad (3)$$

Trong đó, OD $_t$ : mật độ quang của mẫu thử (ủ với cao chiết), OD $_c$ : mật độ quang của mẫu đối chứng (không được ủ với cao chiết). Ngoài ra, tỉ lệ gây độc tế bào là tiêu chí chọn lọc. Giá trị IC $_{50}$  (Nồng độ chất thử gây độc 50% tế bào trong khoảng thời gian xác định) được tính dựa vào phương trình thể hiện mối tương quan giữa nồng độ và tỉ lệ gây độc tế bào.

### 2.2.7. Phân tích thống kê

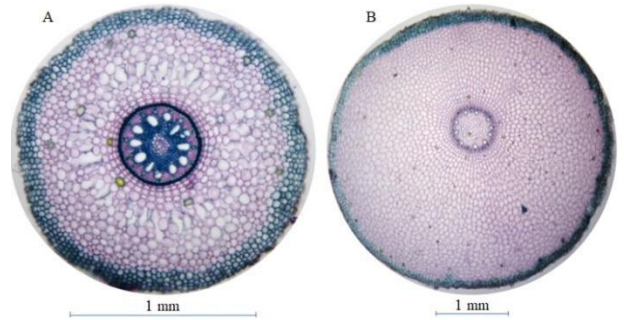
Các thử nghiệm được lặp lại 3 lần. Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình  $\pm$  sai số chuẩn (Mean $\pm$ SD). Sự khác biệt có ý nghĩa (\*P <0,05 hoặc \*\*P <0,01) giữa các giá trị trung bình được đánh giá bằng Student's t-test.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Đặc điểm giải phẫu

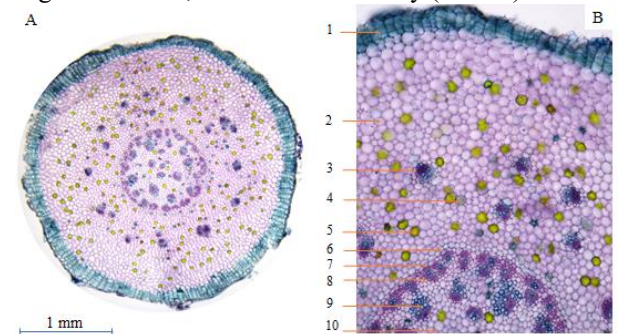
**Vi phẫu rễ:** Vi phẫu hình tròn. Ngoài cùng là vết tích tầng lông hút, tế bào hình đa giác vách uốn lượn. Tầng suberoid gồm 2-5 lớp tế bào hình đa giác hoặc chữ nhật, kích thước không đều, vách thẳng hay hơi uốn lượn, xếp thành dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ, 4-7 lớp tế bào sát tầng suberoid là mô mềm đạo, tế bào hình đa giác hay gần tròn, kích thước không đều (có những tế bào lớn gấp 5-6 lần tế bào khác); 3-4 lớp tế bào kế tiếp là mô mềm khuyết, kích thước to hơn các tế bào mô mềm bên ngoài; 3-4 lớp tế bào trong cùng có hình bầu dục nằm ngang hoặc gần chữ nhật, xếp thành dãy xuyên tâm và vòng đồng tâm. Nội bì hình chữ U, 1 lớp tế bào hình đa giác, xếp khít nhau. Trụ bì, 1 lớp tế bào hình đa giác xếp khít nhau, vách cellulose, kích thước nhỏ hơn tế bào nội bì. Hệ thống dẫn gồm khoảng 13-17 bó libe 1 xếp xen kẽ với 13-17 bó tiền mạch trên 1 vòng. Bó libe 1 gồm các tế bào hình đa giác, phân hóa hướng tâm, vách cellulose hơi uốn lượn. Bó tiền mạch gồm 1-3 mạch có hình đa giác, phân hóa hướng tâm. Tia tủy 1-2 dãy tế bào mô mềm vách cellulose. Nhiều mạch hậu mạch (11-14 mạch) kích thước lớn, hình bầu dục đứng hoặc hình đa giác, thường riêng lẻ hay đôi khi 2 mạch cạnh nhau xếp thành một vòng quanh tủy gần sát bó tiền mạch. Mô mềm vùng quanh tủy có hình đa giác, xếp khít nhau, vách hóa gỗ dày; tâm vi phẫu còn ít mô mềm đạo, tế bào hình đa giác, vách cellulose hơi uốn lượn. Tế bào tiết màu vàng hay xanh rải rác trong vùng mô mềm vỏ (Hình 1A).

**Vi phẫu rễ củ:** Cấu trúc tương tự vi phẫu rễ, nhưng phần mô mềm vỏ phát triển rộng hơn và không có khuyết to, nội bì khung Caspary, số bó dẫn nhiều hơn, mô mềm tủy chỉ có tế bào vách cellulose, tế bào tiết có ở cả mô mềm vỏ và tủy (Hình 1B).



Hình 2. Đặc điểm vi phẫu rễ (A), rễ củ (B) của cây Sâm đá

**Vi phẫu thân rễ:** Vi phẫu hình bầu dục hoặc gần tròn. Bàn 3-9 lớp tế bào hình chữ nhật, kích thước không đều, xếp thành dãy xuyên tâm, vách tâm bản và hơi uốn lượn. Mô mềm vỏ đạo, tế bào gần tròn hoặc đa giác, kích thước không đều, vách cellulose mỏng. Rải rác trong mô mềm vỏ có các bó libe gỗ cấu tạo cấp 1, vị trí của gỗ và libe thay đổi tùy theo bó dẫn (gỗ ở trong libe ở ngoài hay gỗ ở giữa libe ở 2 bên). Nội bì khung Caspary, 1 lớp tế bào hình đa giác xếp khít nhau, kích thước nhỏ hơn tế bào mô mềm vỏ. Trụ bì, 1 hay vài lớp tế bào hình đa giác xếp khít nhau, kích thước nhỏ hơn hoặc bằng tế bào nội bì, vách cellulose. Nhiều bó libe gỗ có cấu tạo cấp 1, nằm riêng lẻ từng bó hay thành cụm vài bó, xếp lộn xộn từ trụ bì vào vùng tủy. Bó riêng lẻ thì kiểu bó chông với libe ở ngoài gỗ ở trong hoặc kiểu bó đồng tâm với libe bao quanh gỗ, còn thành cụm thì gỗ bao quanh libe hoặc gỗ nằm 2 bên kẹp libe ở giữa. Mô mềm tủy đạo, tế bào gần tròn hoặc đa giác, vách cellulose mỏng, kích thước bằng tế bào mô mềm vỏ. Tế bào tiết chứa chất tiết màu vàng nhạt, vàng chanh hay xanh có nhiều trong mô mềm vỏ, ít hơn ở mô mềm tủy (Hình 2).



Hình 3. Đặc điểm vi phẫu thân rễ của cây Sâm đá

A. Toàn vi phẫu; B. Một phần vi phẫu: 1. Tế bào vách tâm bản; 2. Mô mềm vỏ; 3. Bó dẫn trong vùng vỏ; 4. Tế bào tiết chứa chất tiết màu xanh; 5. Tế bào tiết chứa chất tiết màu vàng; 6. Nội bì khung Caspary; 7. Trụ bì; 8. Libe 1; 9. Gỗ 1; 10. Mô mềm tủy.

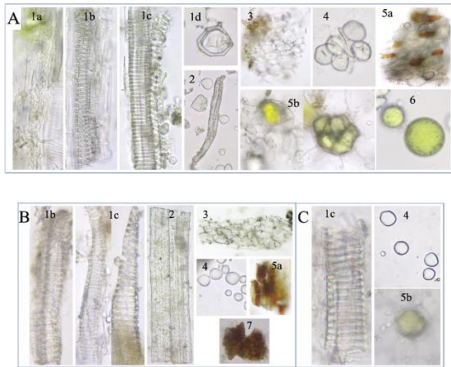
### 3.2. Đặc điểm bột dược liệu

**Bột thân rễ:** Màu vàng sáng, mùi thơm, vị hơi đắng ở đầu lưỡi. Quan sát dưới kính hiển vi có các cấu tử sau: Mảnh mạch xoắn (1a), mạch mạng (1b), mạch vạch (1c), mạch vòng (1d); sợi mô cứng hình thoi với vách dày và khoang rất hẹp (2); mảnh mô mềm, tế bào hình đa giác, có hoặc không có chứa hạt tinh bột (3); hạt tinh bột đơn, có nhiều hình dạng khác nhau như hình bầu dục, hình đa giác, đa giác gần tròn hay hình trứng, tế bào thường nằm ở đầu hẹp và chủ yếu phân nhánh dạng chữ T, một số có dạng điểm, vân tăng trưởng rõ, đường kính 7,5-26 $\mu$ m, nằm riêng rẽ hoặc thành từng đám (4); tế bào tiết chứa chất tiết màu vàng hoặc cam trong các cụm mô mềm (5a, 5b), các giọt dầu màu vàng, kích thước thay đổi (6) (Hình 4A).



**Bột rễ:** Màu xám nâu, mùi thơm dịu, không vị. Quan sát dưới kính hiển vi có các cấu tử sau: Nhiều mảnh mạch mạng (1b) và mạch vạch (1c); nhiều sợi mô cứng với vách dày và khoang hẹp nằm riêng lẻ hay thành bó (2); mảnh mô mềm, tế bào hình đa giác (3); hạt tinh bột đơn, có hình bầu dục hay đa giác gần tròn, tế bào dạng điểm nằm lệch về một phía, vân tăng trưởng rõ, đường kính 3,5-22,5µm, nằm riêng rẽ hoặc thành từng đám (4); mảnh mô mềm với các tế bào tiết chứa chất tiết màu cam (5a); các khối màu cam đậm (7) (Hình 4B).

**Bột rễ củ:** Màu trắng ngà, mùi thơm nhẹ, vị nhạt. Quan sát dưới kính hiển vi có các cấu tử sau: Mảnh mạch vạch (1c); mảnh mô mềm có chứa hạt tinh bột (3); rất nhiều hạt tinh bột đơn có hình bầu dục, hình trứng hay hình đa giác gần tròn, tế bào dạng điểm nằm lệch về một phía, vân tăng trưởng rõ, đường kính 2,5-25µm (4); mảnh mô mềm với tế bào tiết chứa chất tiết màu vàng (5b) (Hình 4C).



**Hình 4.** Đặc điểm bột thân rễ (A), bột rễ (B) và bột rễ củ (C) của cây Sâm đá

Kết quả khảo sát cấu tạo giải phẫu rễ, rễ củ và thân rễ của cây Sâm đá cho thấy tế bào tiết có ở cả 3 bộ phận nhưng tập trung nhiều nhất trong thân rễ, với nhiều loại chất tiết dạng lỏng hoặc đặc và có màu sắc khác nhau từ vàng nhạt, vàng chanh đến xanh lục. Từ đó, có thể dự đoán thành phần có hoạt tính sinh học tập trung chủ yếu trong thân rễ và ngoài tinh dầu có thể còn có thêm những chất khác. Điều này cũng hoàn toàn phù hợp với công bố trước đó cho thấy thân rễ cây Sâm đá có chứa nhiều nhóm hợp chất khác nhau có thể chiết xuất dạng tinh dầu hoặc dung môi hữu cơ. Ngoài ra, tinh dầu thân rễ Sâm đá cho thấy có hoạt tính kháng khuẩn mạnh [3], trong khi cao chiết từ thân rễ Sâm đá có hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào ung thư [4]. Do vậy, thân rễ là bộ phận dùng được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo của chúng tôi.

Kết quả nghiên cứu về bột dược liệu cho thấy những cấu tử phù hợp với cấu trúc giải phẫu tương ứng của thân rễ, rễ

và rễ củ. Đặc điểm bột dược liệu của ba bộ phận này có các cấu tử tương đồng như: Mảnh mạch, mảnh mô mềm có hoặc không chứa chất tiết và/hoặc hạt tinh bột. Tuy nhiên vẫn có những điểm khác biệt nhất định về màu sắc bột, mùi thơm, số lượng, cấu trúc hạt tinh bột và sự hiện diện hoặc vắng mặt của một số thành phần. Bột thân rễ cho thấy sự có mặt nhiều hơn của các giọt dầu và các mảnh mô mềm chứa chất tiết so với 2 mẫu còn lại. Bột rễ củ có ít cấu tử, trong đó tinh bột và mảnh mô mềm chứa tinh bột chiếm tỷ lệ lớn và không thấy sợi mô cứng. Bột rễ có nhiều sợi mô cứng hơn trong khi hạt tinh bột khá ít. Những nghiên cứu trước đây cũng chỉ ra rằng, số lượng và hình dạng hạt tinh bột là một trong những điểm khác biệt có thể sử dụng để phân biệt một số loài trong chi *Curcuma* [9,10]. Đặc điểm hình thái của cây Sâm đá đã được mô tả trong tài liệu [5], tuy nhiên, các đặc điểm vi học chưa được đề cập. Do vậy, nghiên cứu này là lần đầu tiên các mô tả chi tiết về đặc điểm vi học của các phần dưới mặt đất của loài *C. singularis* được công bố, đóng góp một phần dữ liệu về vi học giúp so sánh và định danh *C. singularis* với các loài cùng chi dựa trên đặc điểm của thân rễ và cấu tạo hạt tinh bột. Ngoài ra, qua khảo sát chúng tôi cũng ghi nhận ở vi phẫu và bột thân rễ non số lượng hạt tinh bột rất dồi dào, tập trung nhiều trong mô mềm vỏ và tủy. Trong khi đó, ở thân rễ già số lượng hạt tinh bột giảm nhưng xuất hiện nhiều tế bào tiết hơn. Do đó, chúng tôi đề nghị nên ưu tiên sử dụng thân rễ trưởng thành trong các nghiên cứu về thành phần hóa học và tác dụng sinh học hoặc khi sử dụng làm thuốc.

### 3.3. Kết quả phân tích sơ bộ thành phần các nhóm chất trong thân rễ cây Sâm đá

Kết quả xác định sơ bộ thành phần hoá thực vật cho thấy thân rễ cây Sâm đá có chứa các nhóm chất như triterpenoid, alkaloid, polyphenol, chất khử (Bảng 1). Kết quả nghiên cứu trước đây cho thấy, trong thân rễ cây Sâm đá có chứa các hợp chất thứ cấp như polyphenol và alkaloid [1]. Trong khi đó, nghiên cứu của Nguyễn Quốc Bình, 2017 cho thấy thân rễ cây Sâm đá cũng có chứa các hợp chất thuộc nhóm triterpenoid, trong đó có 2 đơn chất diarylheptanoid đáng chú ý gồm curcusin A và curcusin B [5]. Tương tự, nghiên cứu của Nguyễn Mạnh Cường cho thấy chiết xuất dạng dầu từ thân rễ cây Sâm đá có chứa nhiều các hợp chất monoterpen và sesquiterpen [3]. Như vậy, kết quả định tính sơ bộ thành phần hoá thực vật của nghiên cứu này tương đối phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước đó khi phát hiện thấy một số nhóm chất điển hình như triterpenoid, alkaloid, polyphenol trong thân rễ cây Sâm đá.

**Bảng 1.** Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hóa học của mẫu dược liệu thân rễ cây Sâm đá

TT	Nhóm chất	Các phản ứng nhận biết	Kết quả	Kết luận
1	Tinh dầu	Bay hơi tới gần, có mùi thơm	++	Có
2	Chất béo	Nhỏ dung dịch (dd) trên giấy, vết trong mờ	-	Không
3	Carotenoid	Thuốc thử Carr-Price, xanh chuyển sang đỏ	-	Không
		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> xanh lục ngả sang xanh dương	-	Không
4	Triterpenoid	Liebermann – Burchard, lớp giữa đỏ nâu/tím	++	Có
		Mayer (Valse-Mayer), tủa đục	+	
5	Alkaloid	Bouchardat, tủa đục	+	Có
		Dragendorff, tủa cam	+	
6	Coumarin	Phản ứng mở và đóng vòng lacton	-	Không

		Phản ứng với thuốc thử diazo	–	
7	Anthraquinon	NaOH 10%, dd kiểm có màu hồng tới đỏ	–	Không
8	Polyphenol	Dung dịch FeCl <sub>3</sub> , xanh rêu hay xanh đen	+	Có
9	Flavonoid	Mg/HCl, dd có màu hồng tới đỏ	–	Không
10	Proanthocyanidin	HCl/t <sup>o</sup> , dung dịch màu đỏ	–	Không
11	Glycosid tim	Thuốc thử vòng lacton và đường desoxy	–	Không
12	Tanin	Dung dịch gelatin muối, tủa bông trắng	–	Không
13	Saponin	Lắc mạnh trong nước, bọt bền	–	Không
14	Các chất khử	Thuốc thử Fehling, tủa đỏ gạch	++	Có
15	Acid hữu cơ	NaHCO <sub>3</sub> , sủi bọt	–	Không
16	Polyuronid	Tủa trong aceton, màu bông trắng, vàng nâu	+	Có

### 3.4. Hoạt tính chống oxy hóa của mẫu cao chiết thân rễ cây Sâm đá

Hoạt tính chống oxy hóa của cao Sâm đá và acid ascorbic được xác định dựa vào hiệu suất khử gốc tự do DPPH (Bảng 2). Giá trị IC<sub>50</sub> được xác định từ phương trình hồi quy tuyến tính cho thấy tác dụng chống oxy hóa *in vitro* của mẫu cao chiết thân rễ Sâm đá với giá trị IC<sub>50</sub> là 166,50 ± 7,44 µg/ml, tuy nhiên vẫn thấp hơn mẫu chứng dương acid ascorbic khoảng 9 lần (IC<sub>50</sub> = 18,19 ± 1,58 µg/ml).

Nghiên cứu của Nguyễn Trọng Tuấn, 2019 cho thấy cao chiết ethanol từ thân rễ Ngải trắng (*C. aromatica*) và Ngải tím (*C. zedoaria*) đều có hoạt tính chống oxy hóa khá tốt với giá trị IC<sub>50</sub> của cao Ngải tím và cao Ngải trắng lần lượt là 503,722µg/ml và 108,984µg/ml khi đánh giá bằng phương pháp DPPH [11]. Nghiên cứu của Srividya cho thấy cao chiết ethanol và cao chiết nước từ Ngải trắng có hoạt tính chống oxy hóa khác biệt với giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 37,45 ± 2,5µg/ml và 712,7 ± 2,66µg/ml. Tương tự, với mẫu cao Ngải tím, cao chiết nước có IC<sub>50</sub> là 757 ± 13,5µg/ml, cao hơn nhiều khi so sánh với cao chiết ethanol IC<sub>50</sub> là 227,8 ± 4,875µg/ml [12]. Như vậy, khi so sánh với một số cây cùng chi Nghệ (*Curcuma*), cao chiết Sâm đá có hoạt tính chống oxy hóa *in vitro* tương đối cao. Tuy nhiên, sự khác biệt về nguồn mẫu, dung môi chiết xuất có thể ảnh hưởng tới hoạt tính sinh học của loại dược liệu.

**Bảng 2.** Giá trị IC<sub>50</sub> của mẫu thử và mẫu chứng (theo phương pháp DPPH)

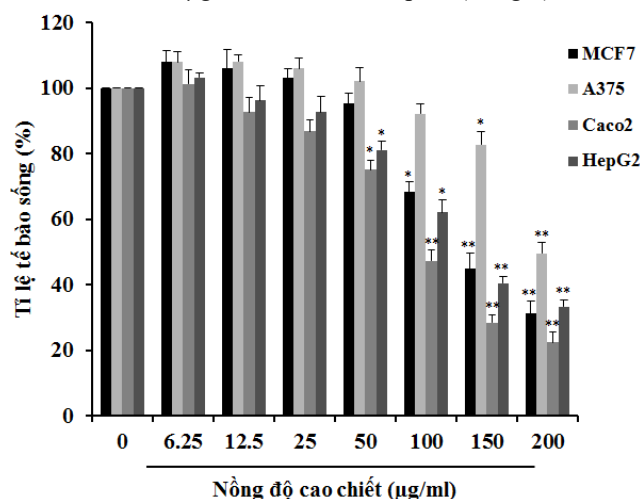
Mẫu	Phương trình hồi quy	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Acid ascorbic	y = 0,7499x + 32,8280	0,9897	18,19 ± 1,58
Cao SĐ	y = 0,0777x + 27,8340	0,9829	166,50 ± 7,44*

Kết quả biểu thị bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần lặp lại thí nghiệm. \*p < 0,05 khi so sánh với đối chứng

### 3.5. Hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào ung thư của cao chiết thân rễ cây Sâm đá

Sau 24 giờ xử lý tế bào MCF7 với các nồng độ khác nhau của cao chiết, hiệu quả ức chế tế bào ở các nồng độ xử lý 50, 100, 150 và 200µg/ml lần lượt là 5,68 ± 3,14%; 31,64 ± 3,10%; 55,14 ± 4,77% và 68,67 ± 3,78% khi so sánh với đối chứng. Như vậy, cao chiết ức chế sự tăng sinh của tế bào MCF7 phụ thuộc vào nồng độ xử lý, tuy nhiên tác động ức chế tăng sinh tế bào chỉ quan sát thấy rõ ở các nồng độ cao. Ngoài ra, nghiên cứu cũng xác định được chỉ số gây độc 50% quần thể tế bào của cao (IC<sub>50</sub>) là 146,41µg/ml. Tương tự, nghiên cứu xác định ảnh hưởng của cao chiết ở các nồng độ khác nhau lên sự tăng sinh của một số dòng tế bào ung thư khác như ung thư gan HepG2, ung thư đại trực tràng Caco2 và ung thư da A37 sau khi được xử lý 24 giờ.

Kết quả được thể hiện ở Hình 5. Giá trị IC<sub>50</sub> lần lượt là 220,16µg/ml trên tế bào A375, 111,95µg/ml trên tế bào Caco2 và 181,24µg/ml trên tế bào HepG2 (Bảng 3).



**Hình 5.** Ảnh hưởng của cao thân rễ cây Sâm đá lên sự tăng sinh của các tế bào ung thư. Sự tăng sinh tế bào MCF7, A375, Caco2 và HepG2 được xác định bằng WST-1 sau khi xử lý với cao ở các nồng độ khác nhau sau 24 giờ.

**Bảng 3.** Giá trị IC<sub>50</sub> của cao thân rễ cây Sâm Đá trên các dòng tế bào ung thư khác nhau

Loại tế bào	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Tế bào MCF7	146,41 ± 2,25**
Tế bào A375	220,16 ± 3,02
Tế bào Caco2	111,95 ± 2,84**
Tế bào HepG2	181,24 ± 3,17*

Kết quả biểu thị bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn của ba lần lặp lại thí nghiệm. \*\*p < 0,01, \*p < 0,05 khi so sánh với mẫu tế bào A375.

Theo tiêu chuẩn của Viện Nghiên cứu Ung thư Hoa Kỳ (NCI) [13], cao chiết thể hiện hoạt tính kháng ung thư trên các dòng tế bào ở mức trung bình, trong đó mạnh nhất với tế bào ung thư đại trực tràng Caco2.

## 4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, đặc điểm vi học của thân rễ, rễ củ cây Sâm đá (*C. singularis*) và thành phần hoá thực vật được mô tả chi tiết tạo tiền đề cho việc xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm dược liệu về mô tả, vi phẫu, bột và định tính. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu cũng cho thấy tác dụng chống oxy hoá và ức chế tăng sinh tế bào ung thư của thân rễ cây Sâm đá. Các kết quả nghiên cứu này góp phần làm rõ hơn tác dụng sinh học của loài này.

## 5. Cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài hợp tác giữa Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (VAST), mã số: UDNGDP.02/20-21 và Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Gia Lai, mã số: KHGL-05-19.

## 6. Tài liệu tham khảo

- [1] Phan Văn Tân, Nguyễn Quang Vinh. Đặc điểm hình thái và hàm lượng polyphenol, saponin và alkaloid tổng số của củ cây Sâm đá thu thập tại huyện Kbang, Gia Lai. *Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 6*. **2015**, 1224-1227.
- [2] Nguyen, M.C., Doan, T.V., et al. Initial research on chemical constituents of *Curcuma singularis* rhizomes. *Journal of Science and Technology*. **2016**, 54 (2C), 402-408.
- [3] Nguyen M.C.; Vu T.H.; et al. Chemical compositions and antimicrobial activity of essential oil from the rhizomes of *Curcuma singularis* growing in Vietnam. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*. **2017**, 5, 20-25.
- [4] Doan, C.C.; Le, T.L.; et al. Bioactive chemical constituents, in vitro anti-proliferative activity and in vivo toxicity of the extract of *Curcuma singularis* Gagnep. rhizomes. *J Ethnopharmacol*. **2022**, 284, 114803. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114803>
- [5] Nguyen, B.Q.; Hoang, T.A.; et al. A new record Species for Flora of Vietnam–*Curcuma singularis* Gagnep. (Zingiberaceae). *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology*. **2017**, 33 (1), 25-29.
- [6] Bộ môn Dược liệu. Giáo trình Phương pháp nghiên cứu và chiết xuất dược liệu. Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. **2016**.
- [7] Sharma, S.K.; Singh, A.P. In vitro antioxidant and free radical scavenging activity of *Nardostachys jatamansi* DC. *J Acupunct Meridian Stud*. **2012**, 5(3):112-118. <https://doi.org/10.1016/j.jams.2012.03.002>
- [8] Do, B.H.; Hoang, N.S., et al. Phenolic Extraction of Moringa Oleifera Leaves Induces Caspase-Dependent and Caspase-Independent Apoptosis through the Generation of Reactive Oxygen Species and the Activation of Intrinsic Mitochondrial Pathway in Human Melanoma Cells. *Nutr Cancer*. **2021**, 73(5), 869-888. <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1776885>
- [9] Sherlija, K.K., Remashree, A.B., Unnikrishnan, K., Ravindran, P.N. Comparative rhizome anatomy of four species of *Curcuma*. *Journal of Spices and Aromatic Crops*. **1998**, 7 (2), 103-109.
- [10] Anu, S.; Navas, M., et al. Morpho-anatomical characterisation of the rhizomes of ten species of *Curcuma* L. (Zingiberaceae) from South India. *Journal of Spices and Aromatic Crops*. **2020**, 29 (1), 38-47. <https://doi.org/10.25081/josac.2020.v29.i1.6243>
- [11] Nguyễn Trọng Tuấn, Phạm Thị Sánh. Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết ethanol thân rễ Ngải tím (*Kaempferia parviflora* Wall.Ex Baker), Ngải trắng (*Curcuma aromatica* Salisb.), Gừng gió (*Zingiber zerumbet* Sm.). *Tạp chí KHCN Việt Nam*. **2019**, 62 (5), 26-31.
- [12] Srvidya, A.R.; Yadev, A.K., et al. Antioxidant and antimicrobial activity of rhizome of *Curcuma aromatica* and *Curcuma zeodaria*, leaves of *Abutilon indicum*. *Archives of Pharmacal Research* **2009**, 1 (1), 14-19.
- [13] Geran, R.I.; Greenberg, N.H.; et al; Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems. *Cancer Chemother. Rep*. **1972**, 3, 1–91 third ed.