

Nghiên cứu sàng lọc khả năng ức chế hoạt động Nrf2 *in vitro* của cao chiết từ một số dược liệu và cây thuốc Việt Nam

Nguyễn Minh Hiền^{1,*}, Lê Nguyễn Thiên Ân¹, Nguyễn Thị Yến Nhi^{1,2}, Võ Thanh Hóa¹, Phạm Tấn Thi², Chia Hung Yen³

TÓM TẮT

Nuclear factor erythroid 2–related factor 2 (Nrf2) đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa quá trình bảo vệ tế bào chống lại sự oxy hóa hoặc tác nhân gây hại từ môi trường. Ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy rằng việc tăng hoạt động của Nrf2 có ảnh hưởng đến tính kháng thuốc hóa trị trong ung thư và Nrf2 trở thành mục tiêu hấp dẫn trong nghiên cứu điều trị ung thư. Đã tiến hành sàng lọc tác dụng của 52 cao methanol chiết từ các bộ phận khác nhau của 24 cây thuốc và dược liệu được sử dụng trong y học cổ truyền và dân gian ở nồng độ 100 mg/mL để đánh giá khả năng ức chế Nrf2 và khả năng sống sót của tế bào *in vitro* trên tế bào ung thư gan Huh7. Đã xây dựng thành công mô hình sàng lọc mức độ biểu hiện của Nrf2 dựa trên phản ứng phát huỳnh quang của luciferase được cấy truyền với gen Nrf2 trên tế bào Huh7. Kết quả nghiên cứu cho thấy rễ Lá lốt có khả năng ức chế gần 90% hoạt tính Nrf2 trên tế bào ung thư. Hơn nữa, cao chiết lá Mật gấu, thân cây Chó đẻ thân xanh, lá Gừng gió, lá và rễ É lớn tròn, lá Mật nhân, lá Thần xạ hương, lá An xoa, thân Núc nác, quả Ráy gai và lá Lục lạc ức chế hơn 60% mức độ biểu hiện Nrf2. Bên cạnh đó, cao chiết từ lá Thần xạ hương và Nga truyệt có khả năng gây độc tế bào ung thư hơn 70%.

Từ khóa: Nrf2, In vitro screening, Herbal extracts, Chemotherapy resistance, Antitumor activity

¹Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Khoa Khoa học Ứng dụng, Trường Đại học Bách Khoa, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Viện nghiên cứu hợp chất thiên nhiên, Trường Dược, Đại học Y Cao Hùng, Đài Loan

Liên hệ

Nguyễn Minh Hiền, Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Email: nmhien@medvnu.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 19-5-2023
- Ngày chấp nhận: 18-9-2023
- Ngày đăng: 30-9-2023

DOI:

<https://doi.org/10.32508/stdjet.v6i3.1098>



Bản quyền

© ĐHQG TP.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



MỞ ĐẦU

Ung thư được định nghĩa là hiện tượng tăng sinh bất thường của tế bào với khả năng xâm lấn hoặc lây lan sang các cơ quan khác của cơ thể¹. Ước tính đến năm 2040, số ca mắc ung thư mới có thể lên đến 28,4 triệu, trong đó khu vực Châu Á thuộc top đầu khu vực có tỷ lệ mắc ung thư cao nhất với khoảng 5,5 triệu ca mới, và khoảng 4,02 triệu ca tử vong do ung thư². Hiện nay, nhiều phương pháp khác nhau đã được áp dụng trong điều trị ung thư, tuy nhiên sử dụng thuốc hóa trị vẫn là một trong những liệu pháp phổ biến nhất. Dự đoán đến năm 2040, nhu cầu sử dụng thuốc hóa trị lần đầu cho bệnh nhân ung thư sẽ tăng từ 9,8 lên 15,0 triệu, với tỷ lệ gia tăng là 53%³. Tuy nhiên, thực tế cho thấy 50% trường hợp cơ thể bệnh nhân đã có đề kháng với thuốc hóa trị trước khi được tiến hành điều trị và 50% còn lại xuất hiện trong quá trình điều trị⁴. Tình trạng kháng thuốc làm cho bệnh nhân không đạt hiệu quả điều trị mong muốn mà còn có thể bị ảnh hưởng xấu bởi tác dụng phụ của thuốc⁵, được xem là nguyên nhân của hơn 90% trường hợp tử vong ở bệnh nhân ung thư đã di căn⁶. Do đó, việc nghiên cứu mô hình đánh giá tình trạng kháng thuốc ung thư cũng như kết hợp nghiên cứu các hợp chất có tác dụng hỗ trợ ức chế và/hoặc đảo ngược kháng thuốc điều trị ung thư là nhu cầu hết sức cần thiết.

Nhiều mô hình thử nghiệm đã được đưa ra nhằm đánh giá cơ chế hình thành kháng thuốc trên tế bào ung thư, mô hình tiền lâm sàng gồm mô hình *in vitro* và *in vivo* nhằm nghiên cứu khả năng ức chế khối u của các hoạt chất, nghiên cứu cơ sở hình thành kháng thuốc nội tại và kháng thuốc mắc phải trong quá trình điều trị⁷. Hầu hết các mô hình được sử dụng để nghiên cứu thường tập trung vào tín hiệu của protein ức chế hoặc hoạt hóa apoptosis như con đường PI3K/Akt⁸, con đường Raf/MEK/ERK⁹ dựa trên phương pháp PCR, Western Blot và các phương pháp tương đương¹⁰. Nuclear factor erythroid-2 p45-related factor 2 (Nrf2) là một yếu tố phiên mã có vai trò bảo vệ tế bào, kể cả tế bào thường và cả tế bào ác tính, khởi tác động từ các phản ứng oxi hóa, mất cân bằng nội môi và các tổn thương do DNA¹¹. Đối với các tế bào ung thư, hoạt động của Nrf2 dẫn đến tình trạng kháng thuốc hóa trị và được chứng minh là thúc đẩy sự tăng sinh ở tế bào ung thư^{12,13}. Ngoài ra, kích hoạt Nrf2 cũng có liên quan đến sự phát triển và di căn của khối u ở một số bệnh ung thư^{14,15}. Nghiên cứu về con đường Nrf2/Keap1 hiện nay đang thu hút được sự quan tâm của nhiều nhà khoa học vì một số nghiên cứu đã chứng minh rằng việc trực tiếp hoặc gián tiếp ức chế biểu hiện Nrf2 có thể làm các tế bào ung thư trở nên nhạy với hóa trị¹⁶⁻¹⁹ và đảo ngược tình

Trích dẫn bài báo này: Hiền N M, Ân L N T, Nhi N T Y, Hóa V T, Thi P T, Yen C H. **Nghiên cứu sàng lọc khả năng ức chế hoạt động Nrf2 *in vitro* của cao chiết từ một số dược liệu và cây thuốc Việt Nam.** *Sci. Tech. Dev. J. - Eng. Tech.* 2023; 6(3):1975-2000.

trạng kháng thuốc điều trị²⁰. Do đó, nghiên cứu các chất ức chế Nrf2 có thể là một chiến lược điều trị đầy hứa hẹn đối với một số loại ung thư và nâng cao hiệu quả của các loại thuốc hóa trị liệu.

Nhiều nghiên cứu đã cho thấy khả năng làm giảm/ức chế/đảo ngược tình trạng kháng thuốc hóa trị, thể hiện tác động cộng gộp khi sử dụng kết hợp một số hợp chất chuyển hóa thứ cấp từ thực vật với thuốc điều trị ung thư và khả năng làm giảm độc tính của thuốc điều trị ung thư^{21,22}. Một số flavonoid được báo cáo rộng rãi với khả năng tái nhạy cảm tế bào kháng thuốc với thuốc hóa trị và đảo ngược tình trạng kháng thuốc thông qua nhiều cơ chế khác nhau²³⁻²⁵. Theo nghiên cứu của Tang và cộng sự, 2011, flavone luteolin có khả năng ức chế mạnh với Nrf2 với kết quả làm giảm 34% mức Nrf2 mRNA khi điều trị cùng với actinomycin D sau 30 phút và 43% sau 1,5 giờ đối với tế bào ung thư biểu mô phổi A549 ở người²⁶. Luteolin còn thể hiện khả năng ức chế hoạt động của Nrf2 ở gan chuột và trong các khối u xenograft mà không thể hiện tác dụng gây độc tế bào²⁷. Ngoài ra, một số hợp chất như quercetin, curcumin cũng đang được đưa vào thử nghiệm lâm sàng để khắc phục tình trạng kháng thuốc ung thư²⁸⁻³¹.

Việt Nam được biết đến có nguồn cây thuốc và dược liệu phong phú với hơn 4.000 loài thực vật được ghi nhận có công dụng làm thuốc³². Tuy nhiên, hiện nay vẫn chưa có nhiều nghiên cứu liên quan đến việc sử dụng dược liệu và cây thuốc Việt Nam trong việc điều trị hay hỗ trợ điều trị kháng thuốc ung thư. Trong nghiên cứu này, danh mục 24 loài dược liệu và cây thuốc sử dụng trong dân gian và y học cổ truyền trong việc hỗ trợ điều trị ung thư được thiết lập. 52 bộ phận khác nhau của 24 loài dược liệu và cây thuốc này được thu thập để đánh giá khả năng sống sót của tế bào cũng như khả năng ức chế Nrf2 *in vitro* đối với tế bào Huh7 từ các cao methanol thu được. Từ đó đưa ra định hướng để chọn lọc và phát triển các hợp chất có khả năng ức chế biểu hiện của Nrf2 đối với tế bào ung thư.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Hóa chất, nguyên liệu và thiết bị

Hóa chất, nguyên liệu

Môi trường Eagle sửa đổi của Dulbecco (DMEM), Huyết thanh nhau thai bò (FBS), Streptomycin, Acid amin không thiết yếu, L-glutamin, Thuốc thử TRIzol Puromycin, Hygromycin, Tris, Sodium Chloride, EDTA, NP-40, Sodium Dodecyl Sulfate (SDS), chất ức chế protease và phosphatase, Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), Alamarblue (Thermo Fisher Scientific, Mỹ); anti-NRF2

(GTX103322, GeneTex, Mỹ), anti-GAPDH (60004-Ig, Proteintech, Mỹ), anti-KEAP1 (10503-2-AP, Proteintech, Mỹ), anti-lamin B1 (66095-1-Ig, Proteintech, Mỹ); KAPA SYBR FAST qPCR Master Mix (2X) Kit (KAPA Biosystems, Mỹ); Luciferase Assay Substrate, Luciferase Assay Buffer, Cell Culture Lysis 5X Reagent (Promega, Mỹ); Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Merck, Đức); Thuốc thử TurboFect (Fermentas, Mỹ); Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, Mỹ), Methanol (Xi Long Scientific, Trung Quốc). TOOLS Easy Fast RT Kit (TOOLS Biotechnology, Đài Loan).

Thiết bị

Tủ an toàn sinh học (Sanxiong Technology, Đài Loan), Máy cô quay chân không RE300 (Stuart, London, Anh), Cân phân tích, Synergy HT Multi-Mode Reader (Bio-Tek Instruments Inc, Mỹ); Tủ ủ NuAire CO₂ (NuAire, Mỹ).

Mẫu dược liệu

Nghiên cứu đã tiến hành thu thập các bộ phận khác nhau từ 24 loài dược liệu/cây thuốc tiềm năng để thực hiện sàng lọc hoạt tính ức chế gen Nrf2. Dược liệu/cây thuốc được nhóm tác giả thu hái các bộ phận dùng tương ứng vào tháng 8/2022, tại tỉnh An Giang. Các mẫu dược liệu được định danh bởi TS. Võ Thanh Hóa. Sau khi thu hái, dược liệu/cây thuốc được rửa sạch, để ráo, sau đó cắt nhỏ và sấy ở 50 °C cho đến khi khô hoàn toàn (độ ẩm dưới 10%). Dược liệu/cây thuốc sau khi khô được xay nhỏ và sàng qua rây 1 mm để thu được bột dược liệu. 20 g bột dược liệu được chiết ngấm kiệt với 180 mL methanol trong 3 ngày, sau đó thu dịch lọc và cô quay chân không để thu cao chiết toàn phần tương ứng với mỗi dược liệu.

Nuôi cấy tế bào và cấy truyền DNA

Tế bào HEK293T, Huh7 được cung cấp bởi Trung tâm nghiên cứu và phát triển thuốc (Drug Development and Value Creation Research Center, Đại học Y Cao Hùng, Đài Loan). Tế bào được nuôi cấy trong môi trường môi trường Eagle sửa đổi của Dulbecco (DMEM) với 10% huyết thanh nhau thai bò đã được bất hoạt bằng nhiệt (FBS), penicillin (100 U/ml), streptomycin (100 µg/ml), L-glutamine (2 mM), và acid amin không thiết yếu (0,1 mM). Tế bào lentivirus để chuyển nạp được nuôi cấy trong DMEM và được bổ sung hygromycin (100 µg/mL) hoặc hỗn hợp gồm puromycin (1 µg/mL) và hygromycin (100 µg/mL). Thuốc thử TurboFect đã được sử dụng để truyền DNA plasmid theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Bảng 1: Trình tự các đoạn mồi được sử dụng trong nghiên cứu

HO1 (NM_002133)	Forward	5'-GCCAGCAACAAAGTCAAG
	Reverse	5'-GAGTGTAAGGACCCATCGGA
NQO1 (NM_000903)	Forward	5'-TGCAGCGGCTTTGAAGAAGAAAGG
	Reverse	5'-TCGGCAGGATACTGAAAGTTTCGA
GCLC (NM_001498)	Forward	5'-CTGGGGAGTGATTTCTGCAT
	Reverse	5'-AGGAGGGGGCTTAAATCTCA
ABCC2 (NM_000392)	Forward	5'-TACCTAGGCACATGGCTCCT
	Reverse	5'-AGAACAGGCAGGAGTAGGCT
G6PD (NM_000402)	Forward	5'-CAACATCGCCTGCGTTA
	Reverse	5'-CTTGACCTTCTCATCACGG
COX2 (NM_000963)	Forward	5'-GTTCCACCCGCAGTACAGAA
	Reverse	5'-AGGGCTTCAGCATAAAGCGT
IL-1 β (NM_000576)	Forward	5'-TGAGCTCGCCAGTCAAATGA
	Reverse	5'-AGATTCGTAGCTGGATGCCG
TNF- α (NM_000594)	Forward	5'-TGGCGTGGAGCTGAGAGATA
	Reverse	5'-CTTGGTCTGGTAGGAGACGG
MMP1 (NM_002421)	Forward	5'-GAGATCATCGGGACAACCTCCT
	Reverse	5'-GTTGGTCCACCTTTCATCTTCAT
MMP3 (NM_002422)	Forward	5'-TGAAATTGGCCACTCCCTGG
	Reverse	5'-GGAACCGAGTCAGGTCTGTG
GAPDH (NM_002046)	Forward	5'-GCAAAATCCATGGCACCGTCA
	Reverse	5'-TCCTGGAAGATGGTGATGGGA

Mô hình xác định hoạt động của Nrf2 trên tế bào Huh7

Real-time PCR định lượng mức độ biểu hiện mRNA của các gen mục tiêu Nrf2

RNA được phân lập bằng cách sử dụng thuốc thử TRIzol và được phiên mã ngược thành cDNA bằng TOOLS Easy Fast RT Kit. qPCR được thực hiện trên ABI StepOne Plus System (Applied Biosystems, Foster City, CA, Mỹ) bằng KAPA SYBR FAST qPCR Master Mix (2X) Kit. Mức mRNA được chuẩn hóa với mức mRNA glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). Các đoạn mồi được sử dụng thể hiện tại Bảng 1.

Immunoblot để xác định protein Nrf2

Tế bào được rửa bằng dung dịch đệm PBS, sau đó được thu hoạch bằng cách sử dụng dung dịch đệm ly giải RIPA (50 mM Tris (pH 7,5), 150 mM NaCl,

1mM EDTA, 1% NP-40, 0,1% SDS) và bổ sung chất ức chế protease và phosphatase (chứa 1 mM PMSF, 10 μ g/mL Leupeptin, 50 μ g/mL TLCK, 50 μ g/mL TPCK, 1 μ g/mL Aprotinin, 1 mM NaF, 5 mM NaPPi và 10 mM Na₃VO₄). Tế bào sau khi ly giải được ly tâm lạnh ở 4 °C với tốc độ 13.000 vòng/phút trong 15 phút. Nồng độ protein được xác định bằng Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, Hercules, CA, Mỹ). Các kháng thể được sử dụng bao gồm: anti-NRF2 (GTX103322), anti-GAPDH (60004-1g), anti-KEAP1 (10503-2-AP), và anti-lamin B1 (66095-1-Ig).

Thiết kế plasmid

pGL4.37 [luc2P/ARE/Hygro] (Promega Corporation, Mỹ) được cắt giới hạn bằng enzym SspI và SalI để thu được đoạn Nrf2 reporter 4kB. Plasmid pLKO.1-shLuc (clone#TRCN0000072249) cung cấp bởi National RNAi Core Facility (Academia Sinica, Đài

Loan) được cắt giới hạn bằng enzym ClaI và KpnI để tạo đoạn khung chính chứa các yếu tố cần thiết cho quá trình chuyển nạp vào Lentivirus. Quick Blunting Kit (New England Biolabs, Beverly MA, Mỹ) được sử dụng để cắt phần thừa không tương thích ở đầu 5' hoặc 3' trong đoạn plasmid theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau khi ghép 2 đoạn DNA với nhau, thiết lập bản đồ gen và xác định hướng chèn của plasmid bằng enzym cắt giới hạn SspI và EcoRV. Cấu trúc của plasmid thu được là pLV-ARE-Luc_R. Hai plasmid mã hóa các shRNA khác nhau của Nrf2 bao gồm: shNrf2-1 (5'AGTTTGGGAGGAGCTATTATC, clone #: TRCN0000007555) và shNrf2-2 (5'GCTCCTACTGTGATGTGAAAT, clone #: TRCN0000273494); plasmid kiểm soát RNAi (pLKO.1-shSCR); plasmid đóng gói (pCMV-DR8.91); và plasmid vỏ (pMD.G) từ National RNAi Core Facility (Academia Sinica, Đài Loan)

Tạo dòng virus chứa plasmid

Để tạo lentivirus, tế bào HEK293T được đồng chuyển nạp với các plasmid đã thiết kế trước đó sử dụng thuốc thử TurboFect theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các hạt nổi có chứa lentivirus được thu hoạch theo quy trình đã được công bố (<http://rna.genmed.sinica.edu.tw/>). Để tạo ra các dòng tế bào ổn định, tế bào Huh7 được nuôi cấy trong môi trường chứa lentivirus và polybrene (8 $\mu\text{g}/\text{mL}$) trong 24 giờ. Các tế bào ổn định sau khi chuyển nạp plasmid được chọn bằng cách nuôi cấy trong môi trường chứa kháng sinh trong 48 giờ.

Kiểm tra khả năng sống của tế bào và hoạt động tương đối của Nrf2

Tế bào Huh7 được gieo trong đĩa 96 giếng (10 tế bào/giếng), sau đó được xử lý với cao chiết nồng độ 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ và ủ 18 giờ ở nhiệt độ 37 °C và 5% CO₂. Sau 18 giờ, cao chiết và môi trường được loại bỏ, sau đó thêm vào mỗi giếng 100 μL môi trường nuôi cấy mới và 10 μL Alamarblue (1 mg/mL) sau đó tiếp tục ủ trong 4 giờ. Độ huỳnh quang của resazurin trong alamarblue bị khử được đo ở lớp dung dịch trên của bề mặt nuôi cấy bằng cách sử dụng Synergy HT Multi-Mode Reader và từ đó xác định khả năng sống của tế bào. Sau đó, tế bào được ly giải bằng dung dịch đệm ly giải nhằm thu được protein luciferase. Hoạt động tương đối của Nrf2 trên tế bào Huh7 được xác định bằng cách xác định độ phát huỳnh quang của phản ứng của protein luciferase với luciferin. Giếng đối chứng với DMSO 1% được quy ước là Nrf2 có hoạt tính 100%.

Xử lý số liệu

Kết quả xác định tế bào sống sót và hoạt động của Nrf2 được thu thập bằng phần mềm Gen5. Kết quả thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và GraphPad Prism 9.5.0. Tất cả dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình \pm SD. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

KẾT QUẢ

Kết quả thiết lập danh mục các loài được liệu được dân gian sử dụng trong hỗ trợ điều trị ung thư

Bảng 2: Danh mục 24 loài dược liệu được sử dụng trong hỗ trợ điều trị ung thư theo y học cổ truyền

STT	Tên tiếng Việt	Tên khoa học	Các nhóm hoạt chất chính	Tác dụng dược lý	Sử dụng trong y học cổ truyền
1	Lá lốt	<i>Piper sarmentosum</i> Roxb.	Alkaloid ³³ , tinh dầu ³⁴ và flavonoid gồm rutin, myricetin, quercetin ³⁵ .	Hỗ trợ chữa lành gãy xương ³⁶ , kháng vi khuẩn ^{37,38} ; kháng viêm ³⁹ ; hoạt động chống trầm cảm và bảo vệ thần kinh ^{39,40} ; chống xơ vữa động mạch ⁴¹ ; hạ đường huyết ⁴² ; chống ung thư ^{43,44} .	Trị phong hàn thấp, chân tay lạnh, tê bại. Rối loạn tiêu hóa, nôn mửa, đầy hơi, tiêu chảy, thận và bàng quang lạnh, đau răng, đau đầu ⁴⁵ . Chữa đau xương, thấp khớp, tê thấp, đổ mồ hôi tay chân ⁴⁶ .
2	Rau đắng đất	<i>Glinus oppositifolius</i> (L.) Aug.DC.	Triterpenoid saponin (glinoside A và B) ⁴⁷ , L-(–)-(N-trans-cinnamoyl)-arginine, flavonoid glycoside (kaempferol 3-O-galactopyranoside, vitexin, vicenin-2, isorhamnetin 3-O-β-D-xylopyranosyl-(1→2)-β-D-galactopyranoside), adenosine và L-phenylalanine ⁴⁸ .	Kháng khuẩn ⁴⁹ , kháng nấm ⁵⁰ , giảm đau, kháng viêm ⁵¹ ; hoạt tính chống oxy hóa ⁵² ; hạ đường huyết, chống tăng lipid máu ⁵³ ; bảo vệ gan ⁵⁴ .	Trị sốt cao, tiểu bí, tiểu buốt, đái, viêm gan, vàng da, ăn uống không tiêu, dị ứng mẫn ngứa, u nhọt ⁴⁵ .
3	Mật gấu	<i>Vernonia amygdalina</i> Delile	Methyl-2-O-benzyl-d-arabinofuranoside, phytol, acid hexadecanoic, ethyl ester, squalene và 9, 12, 15, acid octadecatrienoic ⁵⁵ . Tinh dầu chứa các sesquiterpenoid mà chủ yếu là α-muurolol, ngoài ra còn có terpinen-4-ol, γ-muurolene và isophorone ⁵⁶ .	Chống ung thư ^{57,58} , chống đái tháo đường ⁵⁹ , chống sốt rét, giảm đau, chống viêm ⁶⁰ , bảo vệ gan ⁶¹ , hạ lipid máu, chống tán huyết ⁶²	Rối loạn dạ dày, vết thương ngoài da, tiêu chảy, ghẻ, giun đũa, viêm amidan, sốt và nhiễm giun ⁶³ . chống ung thư ⁶⁴ .
4	Ngãi trắng	<i>Curcuma aromatica</i> Salisb.	Tinh dầu chứa camphor, borneol, vinyl-dimethyl-carbinol, caryophyllene oxide, cubenol, cucumber alcohol, ledol, germacrene D, veridiflorol và nerolidol, b-farnesene, nerolidyl acetate, epiglobulol, trans-Z-a-bisabolene epoxide và cyclohexane ⁶⁵ .	Kháng khuẩn, chống oxy hóa, chống viêm ⁶⁶ , ngăn ngừa lão hóa da ⁶⁷ , chống tích mỡ ⁶⁸ , bảo vệ tim mạch ⁶⁹ , điều trị bệnh tim mạch vành (CHD) ⁷⁰ , bảo vệ tế bào gan ⁷¹ , chống ung thư ⁷²⁻⁷⁴ .	Chữa bong gân, kiết lỵ và bệnh dạ dày, chữa lành vết thương và gãy xương ⁷⁵ . Chống khối u ⁷⁶ .

Continued on next page

Table 2 continued

5	Chó đẻ thân xanh	<i>Phyllanthus amarus</i> Schumach. & Thonn.	Alkaloid (securinine, securinol, dihydrosecurinine, phyllanthine, tetrahydrosecurinine, allosecurine, norsecurinine, epibubbialine, isobubbialine, 4-methoxy dihydrosecurinine, 4-methoxytetrahydrosecurinine, 4-hydrosecurinine), flavonoid (quercetin, quercetrin, rutin, gallo-catechin, phyllanthusiin, kaempferol), ellagitanin, lignan (phyllanthin, hypophyllanthin, nirurin niranthin, phytetralin, niranthin, nirtetralin), sterol (amarosterol-A, amarosterol-B) và tinh dầu (linalool, phytol, phyllanthenol, phyllanthenone, phytllantheol) ⁷⁷	Kháng khuẩn ⁷⁸ , kháng viêm ⁷⁹ , chống ung thư ⁸⁰ , bảo vệ tế bào thần kinh do tác động của Doxorubicin ⁸¹ , điều trị sỏi thận, sỏi mật ⁸² , ức chế miễn dịch ⁸³ .	Trị viêm gan, vàng da; sốt, đau mắt, tiểu tiện bí, rắt; tắc sữa; kinh bế hoặc mụn nhọt; lở ngứa ngoài da; rắn cắn ⁴⁵ .
6	Ngải quế	<i>Crinum</i> sp.	Phenolic, flavonoid, tannin và alkaloid ⁸⁴ .	Kháng viêm, giảm đau xương khớp, giảm cân, an thần, chống nhiễm trùng, chống oxi hóa ⁸⁵ , chống béo phì ⁸⁶ , ức chế acetylcholinergic trong điều trị bệnh Alzheimer ⁸⁷ , chống ung thư ⁸⁴ .	Trị phong thấp, đau tai ⁸⁸ ; chống ung thư (theo kinh nghiệm dân gian).

Continued on next page

Table 2 continued

7	Gừng gió	<i>Zingiber zerumbet</i> (L.) Roscoe ex Sm.	Polyphenol, alkaloid và tinh dầu terpenoid (zerumbone, humulene, humulene oxide, β -caryophyllene, α -caryophyllene và các monoterpenoids). Tinh dầu chứa zerumbone, α -humulene, camphene, humulene oxide I, humulene oxide II, và camphor ⁸⁹ .	Chống khối u, chống viêm, chống oxy hóa, trị đái tháo đường, chống sốt rét, chống tiết, chống vi khuẩn, chống tăng sinh, chống vi rút, chống dị ứng, hạ nhiệt, giảm đau ^{89,90} .	Đau dạ dày, tiêu chảy, viêm nhiễm, đầy hơi, sốt, ngộ độc, dị ứng và nhiễm khuẩn ⁹⁰ . Chống ung thư ⁹¹ .
8	É lớn trồng	<i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poir.	Tinh dầu, alkaloid, flavonoid (quercetin, acid chlorogenic và rutin) ⁹² , tannin, phenolic (acid gallic, acid ferulic) và saponin ⁹³ .	Chống oxi hóa, gây độc tế bào ⁹⁴ , chống ung thư ⁹⁵ , kháng khuẩn, kháng nấm; hoạt động chống tăng đường huyết/chống tiểu đường; chống sốt rét; giúp chữa lành vết thương; chống viêm, kháng virus ⁹⁶ .	Chữa cảm sốt, đau đầu, đau dạ dày, ruột chướng khí, đau bụng, nôn mửa, tiêu chảy; ngoài ra còn có tác dụng cầm máu vết thương, chấn thương, trị viêm da, ecaema, rần cấn ⁹⁷ .
9	Gan heo	<i>Dicliptera chinensis</i> (L.) Juss.	Myricetin, isoliquiritigenin, curcumin, atractylactone I và physcion ⁹⁸ .	Bảo vệ và chống xơ gan ^{99,100} , chống oxi hóa và chống lão hóa ¹⁰¹ .	Trị đau bụng, viêm ruột và tiêu chảy; bảo vệ gan ^{100,102} .

Continued on next page

Table 2 continued

10	Nga truật	<i>Curcuma zedoaria</i> (Christm.) Roscoe	Glycopyrrolate, cucurbitacin I, flurandrenolide, 26,26,26,27,27,27-hexafluoro-1 alpha, propofol, 24-dihydroxyvitaminD3/26,26,26, hexafluoro-1 alpha, ibuprofen, proto porphyrinogen IX, Phenylbutazone glucuronide, methyl gamboginate ¹⁰³ . Tinh dầu chứa β -elemene, curdione, neocurdione, curzerene, germacrone và furanodiene ¹⁰⁴ .	Kháng khuẩn, chống ung thư, giảm đau, hạ sốt, kháng vi-rút, chống oxy hóa, chữa lành vết thương, chống viêm; hạ lipid máu, hỗ trợ làm lành vết thương; hoạt động bảo vệ tim mạch, bảo vệ gan ¹⁰⁵ .	Kinh nguyệt huyết khối, bế kinh, đau bụng kinh, đau bụng đầy trước, đau do thực tích khí trệ ⁴⁵ .
11	Mật nhân	<i>Eurycoma longifolia</i> Jack	Eurycomanone, acid benzoic và acid gallic ¹⁰⁶ .	Chống sốt rét; gây độc tế bào, chống tăng sinh tế bào ung thư; kháng khuẩn, chống viêm; hỗ trợ phòng ngừa loãng xương, trị đái tháo đường ¹⁰⁷	Khí huyết lưỡng hư, cơ thể yếu mệt, thiếu máu, ăn uống kém; khó tiêu, các bệnh tả, lỵ; các trường hợp sinh dục yếu, dương suy, tảo tiết. Ngoài ra còn dùng để chữa cảm mạo, phát sốt, sốt rét, giải độc rượu, tẩy giun ⁴⁵ .

Continued on next page

Table 2 continued

12	Cà dại hoa trắng	<i>Solanum torvum</i> Sw.	Một số steroid, steroidal glycoside, saponin, alkaloid, flavonoid và tannin như torvanol A, neochlorogenin 6-O- β -D-quinovopyranoside, neochlorogenin 6-O- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranoside, neochlorogenin 6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranoside, solagenin 6-O- β -D-quinovopyranoside, solagenin 6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranoside, isoquercetin, rutin, kaempferol và quercetin ¹⁰⁸ .	Kháng khuẩn, kháng virus, chống oxy hóa, giảm đau, kháng viêm ¹⁰⁸ , gây độc tế bào ung thư ¹⁰⁹ .	Trị chân tay nứt nẻ, nước ăn chân, côn trùng đốt ⁴⁶ . Trị gan, lách to, chữa đau bụng, nhức răng ^{110,111} ; Cầm máu và chống viêm ¹¹²
13	Hoa mua	<i>Melastoma malabathricum</i> L.	Triterpenoid (α -amyrin), alkaloid (patriscabratine, auranamide), flavonoid (quercetin, quercitrin và kaempferol-3-O-(2",6"-di-O-p-trans-coumaroyl)- β -glucoside) ¹¹³ .	Hoạt động kháng khuẩn, kháng vi-rút, chống ký sinh trùng, chống oxy hóa, gây độc tế bào, chống đông máu, ức chế yếu tố kích hoạt tiểu cầu, chữa lành vết thương, chống loét, chống tiêu chảy, chống nọc độc, chống viêm, chống nôn và hạ sốt ¹¹⁴ .	Điều trị các bệnh về gan, viêm gan ¹¹⁰ .
14	Thần xạ hương	<i>Luvunga scandens</i> (Roxb.) Buch. - Ham	Flindissol, 3-oxotirucalla-7,24-dien-21-oic acid ¹¹⁵ .	Gây độc tế bào ⁹⁴ , chống oxy hóa, chống viêm và kháng khuẩn ¹¹⁶ .	Chữa xơ gan, cổ trướng ⁹⁷
15	Xăng mã	<i>Carallia brachiata</i> (Lour.) Merr.	Proanthocyanidinb (caralidin, mahuanin và parahydroxy benzoic acid); megastigmane diglycoside (3-hydroxy-5,6-epoxy- β -ionol-3-O- β apiofuranosyl (1 \rightarrow 6)- β -glucopyranoside), alkaloid (hygroline), tannin, flavonoid và glyceroglycolipid ¹¹⁷ .	Giảm đau, kháng viêm, chống tiểu đường ¹¹⁸ , ức chế dự trữ lipid ¹¹⁹ .	Chữa bệnh apto, viêm hầu, viêm họng. Vò dùng chữa ghè ⁹⁷
16	An xoa	<i>Helicteres hirsuta</i> Lour.	Phenolic, flavonoid, saponin ¹²⁰ , và lignan ¹²¹ .	Khả năng gây độc tế bào ung thư ¹²² ; bảo vệ gan ¹²³ , chống oxy hóa ¹²⁴ ; kháng khuẩn, và chống ung thư ¹²⁵ .	Trị bệnh về gan như xơ gan, ung thư gan (theo kinh nghiệm dân gian).

Continued on next page

Table 2 continued

17	Cò sen	<i>Milium velutinum</i> (A.DC.) Hook.f. & Thomson	Stigmasterol, sitosterol, yagonin, 3-geranyl-2,5-dihydroxybenzaldehyde, methyl-2-(1' β geranyl-5' β -hydroxy-2'-oxocyclohex-3'-enyl)acetate, acid 2-(1' β -geranyl5' β -hydroxy-2'-oxocyclohex-3'-enyl)acetic, , velutinindimer A, velutinindimer B, cananginone A, cananginone H, 4-hydroxybenzotrile, 4-hydroxybenzaldehyde, isovanillin, 5-acetyloxymethylfurfural, 5-methoxyfurfural, 5-hydroxymethylfurfural, lirioidenine, norcorydine, reticuline, (+)-isocorydine α -N-oxide, spathulenol và benzyl benzoate ¹²⁶ .	Kháng khuẩn, gây độc tế bào ung thư ^{126,127} .	Trị viêm xoang mũi, ghẻ lở, bệnh ngoài da hắc bào, mụn nhọt; đau dạ dày, viêm mắt ⁹⁷
18	Chua ke	<i>Grewia nervosa</i> (Lour.) Panigrahi	Flavonoid, phenol, tannin, saponin, steroid, glycoside, alkaloid (Microgrewiapine A, N-Methyl-microcosamine, Homomicrogrewiapine) terpenoid, coumarin ^{128,129} .	Chống oxi hóa ¹³⁰ , chống tăng sinh tế bào ung thư ¹³¹	Chữa bệnh cảm lạnh, rối loạn tiêu hóa, viêm gan, đau đầu (theo kinh nghiệm dân gian).

Continued on next page

Table 2 continued

19	Núc nác		<i>Oroxylum indicum</i> (L.) Kurz	Phenolic (anthraquinone, acid tannic and acid ellagic, alkaloid, và phytosterol); flavonoid (Baicalin, baicalein, biochanin A, oroxylin A, chrysin, apigenin, và các glycoside), alkaloid, triterpene; các acid béo (acid lauric, myristic, palmitic, stearic, oleic, và linoleic) ¹³²	Kháng khuẩn, kháng viêm, kháng ung thư, chống oxy hóa; giảm đau, chống viêm khớp, kích thích hệ miễn dịch, trị đái tháo đường, trị viêm đại tràng; bảo vệ gan, thận; làm lành vết thương ¹³³	Hoàng đàn, mẫn ngứa dị ứng, viêm họng, đái buốt, đái đục, đái đỏ do bang qang thấp nhiệt ⁴⁵ . Chữa ho lâu ngày, viêm khí quản, đau dạ dày, đau bụng; vết loét không liền miệng ⁴⁶ .
20	Màng trắng	màng	<i>Cleome gynandra</i> L.	Acid phenolic (acid protocatechuic, acid p-hydroxybenzoic, acid salicylic, acid caffeic, p-coumaric acid, acid sinapic, acid ferulic) , glucosinolate, flavonoid (quercetin, kaempferol) ¹³⁴⁻¹³⁶	Kháng nấm ¹³⁷ , kháng viêm và trị viêm khớp ¹³⁸ , điều hòa miễn dịch, chống oxy hóa, chống ung thư ¹³⁹	Viêm khớp, mụn nhọt, sốt, chống sốt rét, kiết lỵ [Cây có Việt Nam, Phạm Hoàng Hộ]. Chữa bệnh gan (theo kinh nghiệm dân gian)
21	Ráy gai		<i>Lasia spinosa</i> (L.) Thwaites	Phenolic (apigenin, acid cinnamic, Morin, acid 4-hydroxybenzoic, acid gentisic, acid syringic), acid béo (acid oleic, acid palmitic, Stearic acid) , tinh dầu (α -pinene, camphene, δ -3-carene, caryophyllene, limonene và α -selinene) ¹⁴⁰	Chống oxy hóa ¹⁴¹ , kháng khuẩn, khả năng gây độc tế bào ¹⁴² ; trị đái tháo đường ¹⁴³ , hạ mỡ máu ¹⁴⁴ ; bảo vệ dạ dày ¹⁴⁵	Chữa ho, đau họng, phù thũng, tê thấp, suy gan, di chứng sốt rét ⁴⁶ .

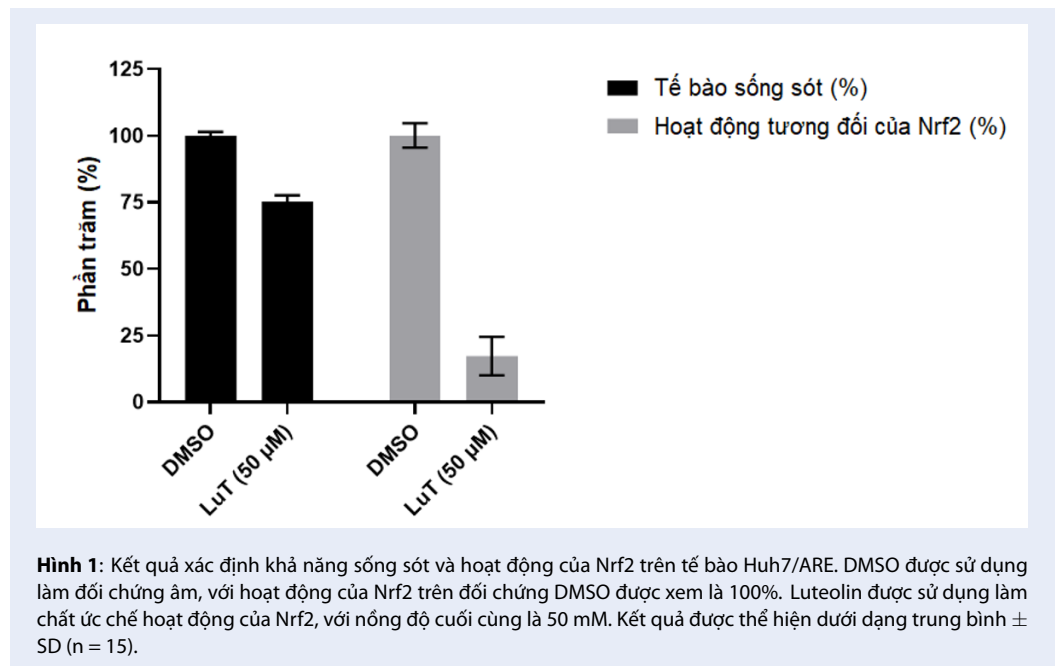
Continued on next page

Table 2 continued

22	Dây chân chó	<i>Ipomoea pestigridis</i> L.	Tannin, terpenoid, glycosides và alkaloid ¹⁴⁶ , acid béo (acid palmitic, stearic, oleic, α -linoleic, α -linolenic, behenic) ¹⁴⁷	Giảm đau ¹⁴⁸ , chống nhiễm trùng, kháng viêm ¹⁴⁹ ; chống oxi hóa, hạ đường huyết, chống kết tập tiểu cầu; khả năng gây độc tế bào ^{150,151} .	Trị mụn nhọt, ho ra máu ⁹⁷ . Trị các bệnh về gan (theo kinh nghiệm dân gian)
23	Màng màng tím	<i>Cleome rutidosperma</i> DC.	Tannin, saponin, flavonoid, alkaloid, glycoside tim ¹⁵² .	Chống oxi hóa, kháng khuẩn ¹⁵³ ; Hạ sốt, kháng viêm ¹⁵⁴ ; giảm đau; giúp chữa lành vết thương ¹⁵⁵ ; chống tiểu đường, chống ung thư ¹⁵⁶ .	Chữa viêm gan (theo kinh nghiệm dân gian).
24	Lục lạc	<i>Crotalaria pallida</i> Aiton	Pyrrolizidine alkaloid, tinh dầu và flavonoid glycoside apigenin và 2'-hydroxygenistein ^{157,158} .	Kháng khuẩn, kháng viêm, chống oxi hóa ¹⁵⁹ ; chống tăng sinh tế bào ung thư ¹⁶⁰ .	Chữa tiểu tiện nhiều lần, đái són, can thận kém, mờ mắt, di tinh, viêm tuyến vú, chứng cam tích ở trẻ ⁴⁶ . Chống ung thư (theo kinh nghiệm dân gian).

Mô hình xác định hoạt động của Nrf2 trên tế bào Huh7

Để xây dựng mô hình đánh giá hoạt động của Nrf2 trên tế bào Huh7, chúng tôi đã thiết lập một đoạn DNA chứa yếu tố phản ứng oxi hóa (ARE - antioxidant response element), một đoạn gen chỉ thị luciferase Luc2p, gen kháng hygromycin và một số yếu tố cần thiết khác vào lentivirus pLKO, sau đó chuyển nạp vào tế bào Huh7. Các tế bào Huh7 chuyển nạp thành công được chọn lọc và duy trì trong môi trường chứa hygromycin là các tế bào Huh7/ARE. Luteolin (LuT) được sử dụng làm tác nhân ức chế biểu hiện của Nrf2. Kết quả kiểm tra khả năng sống sót của tế bào trên nhóm đối chứng âm (DMSO) và đối chứng dương (Luteolin) lần lượt là $100\pm 1\%$ và $75\pm 2\%$ (Hình 1). Hoạt động của Nrf2 trên nhóm đối chứng âm DMSO là $100\pm 5\%$ và đối tế bào được xử lý với Luteolin ($50\ \mu\text{M}$) là $17\pm 7\%$. Kết quả này cho thấy nghiên cứu của chúng tôi đã xây dựng thành công mô hình xác định hoạt động tương đối của gen Nrf2 trên tế bào Huh7 với kết quả tế bào mang gen chuyển nạp có khả năng sống sót và biểu hiện Nrf2 sự ổn định. Kết quả sàng lọc hoạt động của Nrf2 đối với 52 cao chiết từ các bộ phận khác nhau của 24 loài được liệt



Hình 1: Kết quả xác định khả năng sống sót và hoạt động của Nrf2 trên tế bào Huh7/ARE. DMSO được sử dụng làm đối chứng âm, với hoạt động của Nrf2 trên đối chứng DMSO được xem là 100%. Luteolin được sử dụng làm chất ức chế hoạt động của Nrf2, với nồng độ cuối cùng là 50 mM. Kết quả được thể hiện dưới dạng trung bình \pm SD (n = 15).

Bảng 3: Kết quả sàng lọc tác động của 52 cao chiết từ các bộ phận khác nhau của 24 loài dược liệu

STT	Dược liệu	Bộ phận dùng	Phần trăm tế bào sống sót (% trung bình ± SD)	Hoạt động của Nrf2 trên tế bào Huh7 ^a (% trung bình ± SD)
1	Lá lốt <i>Piper sarmentosum</i> Roxb. Piperaceae	Rễ	84,5±12,3	10,9±2,1
		Lá	71,1±4,6	49,7±4,2
		Thân	86,2±16,2	64,3±6,8
2	Rau đắng đất <i>Glinus oppositifolius</i> (L.) Aug.DC. Molluginaceae	Thân	101,4±10,3	73,9±3,3
3	Mật gấu <i>Vernonia amygdalina</i> Delile Compositae	Lá	95,2±11,7	32,0±3,7
4	Ngãi trắng <i>Curcuma aromatica</i> Salisb. Zingiberaceae	Rễ	101,7±9,5	40,5±2,6
5	Chó đẻ thân xanh <i>Phyllanthus amarus</i> Schumach. & Thonn. Phyllanthaceae	Lá	102,1±17,3	58,1±10,0
		Rễ	107,6±13,5	56,4±4,6
6	Ngải quăn <i>Crinum sp.</i> Crinum	Thân	98,2±13,7	39,0±1,5
		Lá	96,4±9,4	85,3±5,4
7	Gừng gió <i>Zingiber zerumbet</i> (L.) Roscoe ex Sm. Zingiberaceae	Rễ	89,8±9,7	132,3±6,1
8	Ế lớn trồng <i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit. Lamiaceae	Lá	101,2±10,6	38,8±8,1
		Thân	126,7±10,1	101,3±12,6
		Rễ	64,5±8,2	34,1±7,0
9	Gan heo <i>Dicliptera chinensis</i> (L.) Juss. Acanthaceae	Thân	49,8±9,2	41,1±5,5
		Lá	97,2±4,4	23,9±4,5
		Thân	103,7±5,4	63,7±2,5

Continued on next page

Table 3 continued

10	Nga truật	Lá	97,2±14,8	59,5±4,7
		Rễ	96±12,7	43,1±2,2
		Lá	14,9±13,2	39,2±7,2
11	Mật nhân <i>Eurycoma longifolia</i> Jack Simaroubaceae	Thân	95,8±12,5	44,3±2,5
		Lá	90,1±10,0	22,1±1,5
12	Cà đại hoa trắng <i>Solanum torvum</i> Sw. Solanaceae	Quả	95,9±10,4	88,1±5,0
		Thân rễ	105,1±11,1	65,9±3,9
13	Hoa mua <i>Melastoma malabathricum</i> L. Melastomataceae	Lá	78,5±10,5	43,2±5,3
		Quả	100,8±13,8	111,4±17,5
		Thân	87,9±10,5	64,3±4,1
14	Thần xạ hương <i>Luvunga scandens</i> (Roxb.) Buch. - Ham Rutaceae	Lá	98,1±10,5	45,8±5,3
		Lá	28,7±15,9	23,1±1,0
15	Xăng mã <i>Carallia brachiata</i> (Lour.) Merr. Rhizophoraceae	Thân rễ	87,3±6,6	40,6±5,4
16	An xoa <i>Helicteres hirsuta</i> Lour. Malvaceae	Lá	104,7±17,9	48,1±4,3
		Lá	92,9±9,2	39,8±1,4
17	Cò sen <i>Milium velutina</i> (A.DC.) Hook.f. & Thomson Annonaceae	Thân	104,6±15,0	91,0±18,7
18	Chua ke <i>Grewia nervosa</i> (Lour.) Panigrahi Malvaceae	Lá	91,3±9,6	77,8±4,4
		Quả	97,7±8,5	82,6±5,1
		Thân	113,0±12,0	75,7±4,1
		Lá	116,4±9,9	91,8±8,5

Continued on next page

Table 3 continued

19	Núc nác <i>Oroxylum indicum</i> (L.) Kurz Bignoniaceae	Thân	103,4±7,5	31,3±0,9
		Lá	114,7±10,1	40,9±8,0
20	Màng màng trắng <i>Cleome gynandra</i> L. Cleomaceae	Thân	98,8±15,4	86,5±9,2
		Lá	100,8±10,7	54,7±3,4
21	Ráy gai <i>Lasia spinosa</i> (L.) Thwaites Araceae	Quả	84,2±20,5	17,8±3,5
		Thân rễ	103,1±15,3	93,6±4,7
		Thân	100,5±16,7	85,7±5,7
		Lá	115,4±13,7	43,7±2,8
22	Dây chân chó <i>Ipomoea pes-tigridis</i> L. Convolvulaceae	Rễ	80,7±15,0	53,6±12,9
		Thân	111,2±15,1	60,7±3,9
		Lá	122,3±10,4	57,3±2,0
23	Màng màng tím <i>Cleome rutidosperma</i> DC. Cleomaceae	Thân	116,5±11,0	103,0±8,2
		Lá	82,9±4,2	55,4±7,0
24	Lục lạc <i>Crotalaria pallida</i> Aiton Leguminosae	Thân	83,4±19,6	72,1±5,1
		Lá	88,3±7,3	23,8±1,4
25	Luteolin (50 μM) ^b		—	28,3±2,5
26	Đối chứng		99,8±10,9	—

^a Huh7, tế bào ung thư biểu mô tế bào gan.

^b Luteolin, được sử dụng làm đối chứng dương cho thí nghiệm xác định hoạt động của Nrf2, nồng độ cuối 50 μM.

Kết quả sàng lọc khả năng ức chế biểu hiện 52 cao chiết methanol từ các bộ phận khác nhau (rễ, lá, thân, quả, thân rễ) của 24 dược liệu được trình bày ở Bảng 3. Giá trị hoạt động tương đối của Nrf2 trên tế bào Huh7 (%) được khảo sát với nồng độ cao chiết là 100 $\mu\text{g/mL}$. Hoạt động tương đối của Nrf2 càng thấp cho thấy khả năng ức chế Nrf2 của cao chiết càng mạnh. Trong số 52 mẫu được khảo sát, rễ Lá lốt cho thấy khả năng ức chế Nrf2 tốt nhất với kết quả hoạt tính của Nrf2 chỉ còn $10,9 \pm 2,1\%$ và không gây độc trên tế bào Huh7. Ngoài ra, một số cao chiết từ lá Mật gấu, thân cây Chó đẻ thân xanh, lá Gừng gió, lá và rễ Ế lớn tròng, lá cây Mật nhân, lá Thần xạ hương, lá An xoa, thân Núc nác, quả Ráy gai và lá Lục lạc cho kết quả ức chế hơn 60% hoạt động của Nrf2 trên tế bào Huh7 ở nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$. Hầu hết các mẫu cao chiết không gây độc trên tế bào ung thư Huh7, ngoại trừ cao chiết lá Nga truật và lá Thần xạ hương, với phần trăm tế bào sống sót lần lượt là $14,9 \pm 13,2$ và $28,7 \pm 15,9\%$.

THẢO LUẬN

Hiện nay, việc tác động lên Nrf2 được chia làm hai khuynh hướng: ức chế Nrf2 để khắc phục tình trạng kháng hóa trị hoặc/và kích hoạt Nrf2 để ngăn chặn hình thành ung thư do stress oxy hóa¹⁶¹⁻¹⁶³. Trong nghiên cứu của chúng tôi, hầu hết các mẫu cao chiết có khả năng gây ức chế Nrf2 trên tế bào Huh7 đều không gây ra độc tính đáng kể lên tế bào, trừ trường hợp lá Nga truật và Lá Thần xạ hương. Trong số các cây ghi nhận khả năng ức chế Nrf2 mạnh trong nghiên cứu, những hợp chất tự nhiên nổi trội được phân lập từ các cây bao gồm những nhóm flavonoid, alkaloid, steroid và tinh dầu (Bảng 2).

Các thành phần chính trong rễ Lá lốt được phân lập phần lớn là tinh dầu³⁴, alkaloid³³ và một vài hoạt chất flavonoid³⁵. Đáng chú ý, tinh dầu asaricin và isoasarone phân lập từ rễ Lá lốt từng được ghi nhận khả năng tăng tích lũy các gốc oxy hóa và thúc đẩy tín hiệu apoptosis của dòng tế bào ung thư vú ở người (MDA-MB-231) trong nghiên cứu trước đây⁴³. Zerumbone là thành phần chính nổi trội trong tinh dầu của cây Gừng Gió. Hoạt chất này được ghi nhận gây ra quá trình chết theo chương trình ở các tế bào ung thư buồng trứng và tử cung¹⁶⁴. Chó đẻ thân xanh có chứa lượng lớn các alkaloid, flavonoid, ellagitannin, lignan, sterol, và tinh dầu. Alkaloid securinine phân lập từ cây thuốc chi *Phyllanthus* có tác dụng tích lũy gốc oxy hóa trong tế bào HeLa và kích hoạt các tín hiệu apoptosis của ty thể¹⁶⁵. Chó đẻ thân xanh được nghiên cứu để điều trị ung thư vú bằng cách làm giảm tiềm năng của màng ty thể, tăng các loại oxy phản ứng nội bào, điều chỉnh tăng biểu hiện caspase-3 và điều chỉnh giảm biểu hiện Bcl-2¹⁶⁶. Ngoài ra

sự hiện diện của acid gallic, geraniin, quercetin và rutin trong cây chó đẻ thân xanh thể hiện khả năng bắt giữ chu kỳ tế bào và điều hòa các tín hiệu phosphoryl hóa gây apoptosis¹⁶⁶. Flavonoid chrysin phân lập từ Núc nác được chứng minh có khả năng điều chỉnh giảm con đường truyền tín hiệu Nrf2, qua đó làm tăng khả năng nhạy cảm thuốc hóa trị và gây độc trên tế bào BEL-7402 kháng doxorubicin¹⁶⁷. Các nhóm flavonoid apigenin, apigenin, luteolin trong cây Mật gấu được ghi nhận chống ung thư trên các tế bào ung thư vú 4T1 thông qua việc gây ra apoptosis, tăng cường tích lũy tế bào trên pha G2/M trong chu kỳ tế bào và ức chế biểu hiện của PI3K và mTOR¹⁶⁸. Tinh dầu và các alkaloid, flavonoid, tannin, phenolic, và saponin chiết xuất từ cây Ế lớn tròng được chứng minh là thành phần chính cho thấy hoạt động chống ung thư trên dòng tế bào MCF-7⁹⁵. An xoa, Thần xạ hương được sử dụng trong bài thuốc cổ truyền để điều trị xơ gan, ung thư gan. Các hoạt chất tìm thấy trong cây An Xoa gồm những dẫn xuất của acid betulonic và dẫn xuất của flavonoid isoscutellarein ghi nhận hoạt tính kháng ung thư trung bình trên các dòng tế bào ung thư gan khác nhau¹⁶⁹. Thần xạ hương được xem là phương thuốc quý trong việc hỗ trợ điều trị các bệnh xơ gan, cổ trướng và hỗ trợ điều trị ung thư theo kinh nghiệm dân gian; tuy nhiên vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về tác động dược lý của chúng. Nhìn chung, các dược liệu cho thấy khả năng gây ức chế Nrf2 trên tế bào Huh7 trong nghiên cứu này đều chứa các nhóm hợp chất có tác dụng dược lý đáng lưu tâm, đặc biệt là các flavonoid.

Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam cho thấy khả năng ức chế hoạt động của Nrf2 trên tế bào Huh7 của cao chiết một số dược liệu Việt Nam. Nghiên cứu cũng đồng thời ghi nhận Nga truật có khả năng gây độc mạnh trên tế bào Huh7 với phần trăm tế bào sống sót dưới 15% và khả năng ức chế Nrf2 hơn 50%. Bên cạnh khả năng kháng ung thư, hỗ trợ các bệnh lý về gan đã được nghiên cứu trước đây, nghiên cứu này đã chỉ ra khả năng ức chế hoạt động Nrf2 của các loài thực vật trên dòng tế bào Huh7. Điều này cho thấy tiềm năng của cây thuốc trong kim hãm sự tiến triển của khối u và cải thiện tình trạng kháng thuốc của bệnh ung thư. Đồng thời mở ra hướng kết hợp dược liệu với các loại thuốc hoá trị hiện có để khắc phục tình trạng kháng thuốc¹⁷⁰. Tuy nhiên, việc ức chế không chọn lọc hoạt động của Nrf2 có thể gây tác dụng phụ không mong muốn trên cơ thể của bệnh nhân ung thư vì điều này có thể làm giảm hiệu quả của hàng rào bảo vệ tự nhiên của bệnh nhân với thuốc hóa trị trên các tế bào thường¹⁷¹. Vì vậy cần có nhiều nghiên cứu hơn nữa về hoạt tính của dược liệu liên quan đến cơ chế tác động trên Nrf2 của cả tế bào ung thư và các dòng tế bào thường.

KẾT LUẬN

Lần đầu tiên tại Việt Nam đã nghiên cứu sàng lọc hoạt tính ức chế biểu hiện Nrf2 trên tế bào ung thư gan Huh7 của 52 cao chiết bằng methanol từ các bộ phận khác nhau như: thân, lá, rễ, thân rễ của 24 dược liệu/cây thuốc vốn được sử dụng trong dân gian và y học cổ truyền để hỗ trợ điều trị ung thư. Rễ lá lốt cho thấy khả năng ức chế Nrf2 trên tế bào ung thư gan Huh7 mạnh lên đến 90%. Cao chiết lá Mật gấu, thân cây Chó đẻ thân xanh, lá Gừng gió, lá và rễ Ế lớn tròng, lá cây Mật nhân, lá Thần xạ hương, lá An xoa, thân Núc nác, quả Ráy gai và lá Lục lạc cũng ức chế Nrf2 dưới 40% khả năng hoạt động trên tế bào Huh7. Ngoài ra, chúng tôi còn ghi nhận cao methanol lá Thần xạ hương và á Nga truật có khả năng gây độc tế bào ung thư hơn 70%. Những phát hiện này là cơ sở để chúng tôi thực hiện các nghiên cứu sâu hơn về cơ chế tác động cũng như tìm ra các hoạt chất thiên nhiên có tác động đảo ngược tình trạng kháng thuốc điều trị thông qua việc ức chế biểu hiện của Nrf2 trên tế bào ung thư.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số B2023-44-01.

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

DMEM: Môi trường Dulbecco có sửa biến đổi (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)
FBS: Huyết thanh nhau thai bò đã được bất hoạt bằng nhiệt (heat-inactivated fetal bovine serum)
Huh7: dòng tế bào ung thư biểu mô tế bào gan Huh7 (Huh-7 human hepatocellular carcinoma cells)
Nrf2: Nuclear factor erythroid-2 p45-related factor 2
PCR: Phản ứng chuỗi polymerase (Polymerase-Chain-Reaction)

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Nhóm tác giả cam kết rằng không có xung đột lợi ích khi thực hiện nghiên cứu này.

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Tác giả Nguyễn Minh Hiền đưa ra ý tưởng và thiết kế thí nghiệm. Các tác giả Lê Nguyễn Thiên Hân, Nguyễn Thị Yến Nhi và Nguyễn Minh Hiền tiến hành thu thập mẫu, thực hiện thí nghiệm, thu thập, phân tích và xử lý số liệu. Tác giả Chia-Hung Yen hướng dẫn và hỗ trợ các thí nghiệm liên quan đến tế bào. Các tác giả Nguyễn Minh Hiền, Lê Nguyễn Thiên Hân, Nguyễn Thị Yến Nhi, Võ Thanh Hóa, Phạm Tấn Thi và Chia-Hung Yen tham gia viết bản thảo và chỉnh sửa nội dung bản thảo. Tất cả các tác giả đã đọc và duyệt bản thảo cuối cùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. National Cancer Institute. What is Cancer? 2021 [updated 2021 October 11th; cited 2023 May 15th]; Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021;71(3):209-249; Available from: <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
3. Wilson BE, Jacob S, Yap ML, Ferlay J, Bray F, Barton MB. Estimates of global chemotherapy demands and corresponding physician workforce requirements for 2018 and 2040: a population-based study. *The Lancet Oncology*. 2019;20(6):769-780; Available from: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30163-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30163-9).
4. Pinedo HM, Giaccone G. Drug resistance in the treatment of cancer: Cambridge University Press; 1998; Available from: <https://doi.org/10.1017/CBO9780511526992>.
5. Fojo T, Parkinson DR. Biologically targeted cancer therapy and marginal benefits: are we making too much of too little or are we achieving too little by giving too much? *Clinical Cancer Research*. 2010;16(24):5972-5980; PMID: 21169250. Available from: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-1277>.
6. Bukowski K, Kciuk M, Kontek R. Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(9):3233-3256; Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms21093233>.
7. Rosa R, Monteleone F, Zambrano N, Bianco R. In Vitro and In Vivo Models for Analysis of Resistance to Anti-cancer Molecular Therapies. *Current Medicinal Chemistry*. 2014;21(14):1595-1606; Available from: <https://doi.org/10.2174/09298673113209990226>.
8. Ghoneum A, Said N. PI3K-AKT-mTOR and NFκB pathways in ovarian cancer: implications for targeted therapeutics. *Cancers*. 2019;11(7):949-974; Available from: <https://doi.org/10.3390/cancers11070949>.
9. Shaul YD, Seger R. The MEK/ERK cascade: from signaling specificity to diverse functions. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*. 2007;1773(8):1213-1226; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.10.005>.
10. Boussommier-Calleja A. In vitro models of cancer. *Bioengineering Innovative Solutions for Cancer*: Elsevier; 2020. p. 273-325; Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813886-1.00013-9>.
11. Sporn MB, Liby KT. Nrf2 and cancer: the good, the bad and the importance of context. *Nature Reviews Cancer*. 2012;12(8):564-571; Available from: <https://doi.org/10.1038/nrc3278>.
12. Tao S, Park SL, de la Vega MR, Zhang DD, Wondrak GT. Systemic administration of the apocarotenoid bixin protects skin against solar UV-induced damage through activation of Nrf2. *Free Radical Biology and Medicine*. 2015;89:690-700; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.08.028>.
13. Tao S, Rojo de la Vega M, Chapman E, Ooi A, Zhang DD. The effects of Nrf2 modulation on the initiation and progression of chemically and genetically induced lung cancer. *Molecular Carcinogenesis*. 2018;57(2):182-192; Available from: <https://doi.org/10.1002/mc.22745>.
14. Lignitto L, LeBoeuf SE, Homer H, Jiang S, Askenazi M, Karakousi TR, et al. Nrf2 activation promotes lung cancer metastasis by inhibiting the degradation of Bach1. *Cell*. 2019;178(2):316-329. e318; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.06.003>.

15. Zhang C, Wang H-J, Bao Q-C, Wang L, Guo T-K, Chen W-L, et al. NRF2 promotes breast cancer cell proliferation and metastasis by increasing RhoA/ROCK pathway signal transduction. *Oncotarget*. 2016;7(45):73593-73606; Available from: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12435>.
16. Cucci MA, Grattarola M, Dianzani C, Damia G, Ricci F, Roetto A, et al. Ailanthone increases oxidative stress in CDDP-resistant ovarian and bladder cancer cells by inhibiting of Nrf2 and YAP expression through a post-translational mechanism. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020;150:125-135; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.021>.
17. Harder B, Tian W, La Clair JJ, Tan AC, Ooi A, Chapman E, et al. Brusatol overcomes chemoresistance through inhibition of protein translation. *Molecular Carcinogenesis*. 2017;56(5):1493-1500; Available from: <https://doi.org/10.1002/mc.22609>.
18. Tarumoto T, Nagai T, Ohmine K, Miyoshi T, Nakamura M, Kondo T, et al. Ascorbic acid restores sensitivity to imatinib via suppression of Nrf2-dependent gene expression in the imatinib-resistant cell line. *Experimental Hematology*. 2004;32(4):375-381; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2004.01.007>.
19. Gao A-M, Ke Z-P, Wang J-N, Yang J-Y, Chen S-Y, Chen H. Apigenin sensitizes doxorubicin-resistant hepatocellular carcinoma BEL-7402/ADM cells to doxorubicin via inhibiting PI3K/Akt/Nrf2 pathway. *Carcinogenesis*. 2013;34(8):1806-1814; Available from: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt108>.
20. Li D, Hong X, Zhao F, Ci X, Zhang S. Targeting Nrf2 may reverse the drug resistance in ovarian cancer. *Cancer Cell International*. 2021;21(1):1-10; Available from: <https://doi.org/10.1186/s12935-021-01822-1>.
21. Wang P, Yang HL, Yang YJ, Wang L, Lee SC. Overcome cancer cell drug resistance using natural products. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015;2015:1-14; Available from: <https://doi.org/10.1155/2015/767136>.
22. Zuo Y, Zhang C-z, Ren Q, Chen Y, Li X, Yang J-r, et al. Activation of mitochondrial-associated apoptosis signaling pathway and inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway by voacamine suppress breast cancer progression. *Phytomedicine*. 2022;99:154015; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154015>.
23. Jucá MM, Cysne Filho FMS, de Almeida JC, Mesquita DdS, Barriga JRdM, Dias KCF, et al. Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. *Natural Product Research*. 2020;34(5):692-705; Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1493588>.
24. Ferreira A, Rodrigues M, Fortuna A, Falcão A, Alves G. Flavonoid compounds as reversing agents of the P-glycoprotein-mediated multidrug resistance: An in vitro evaluation with focus on antiepileptic drugs. *Food Research International*. 2018;103:110-120; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.010>.
25. Ye Q, Liu K, Shen Q, Li Q, Hao J, Han F, et al. Reversal of multidrug resistance in cancer by multi-functional flavonoids. *Frontiers in Oncology*. 2019;9:487-502; Available from: <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00487>.
26. Tang X, Wang H, Fan L, Wu X, Xin A, Ren H, et al. Luteolin inhibits Nrf2 leading to negative regulation of the Nrf2/ARE pathway and sensitization of human lung carcinoma A549 cells to therapeutic drugs. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011;50(11):1599-1609; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.03.008>.
27. Chian S, Thapa R, Chi Z, Wang XJ, Tang X. Luteolin inhibits the Nrf2 signaling pathway and tumor growth in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2014;447(4):602-608; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.04.039>.
28. Tang S-N, Singh C, Nall D, Meeker D, Shankar S, Srivastava RK. The dietary bioflavonoid quercetin synergizes with epigallocatechin gallate (EGCG) to inhibit prostate cancer stem cell characteristics, invasion, migration and epithelial-mesenchymal transition. *Journal of Molecular Signaling*. 2010;5(1):1-15; Available from: <https://doi.org/10.1186/1750-2187-5-14>.
29. Nautiyal J, Kanwar SS, Yu Y, Majumdar AP. Combination of dasatinib and curcumin eliminates chemo-resistant colon cancer cells. *Journal of Molecular Signaling*. 2011;6(1):1-11; Available from: <https://doi.org/10.1186/1750-2187-6-7>.
30. Kakarala M, Brenner DE, Korkaya H, Cheng C, Tazi K, Ginestier C, et al. Targeting breast stem cells with the cancer preventive compounds curcumin and piperine. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2010;122:777-785; Available from: <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0612-x>.
31. Hossain MM, Banik NL, Ray SK. Synergistic anti-cancer mechanisms of curcumin and paclitaxel for growth inhibition of human brain tumor stem cells and LN18 and U138MG cells. *Neurochemistry International*. 2012;61(7):1102-1113; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.08.002>.
32. Nguyen PH, Luu DC, Nguyen QB. A survey of traditional medicinal plants used by K'ho people in the buffer zone of Chu Yang Sin national park, Vietnam. *Journal of Vietnamese Environment*. 2014;6(3):276-280; Available from: <https://journals.qucosa.de/jve/article/view/101>.
33. Martha Perez Gutierrez R, Maria Neira Gonzalez A, Hoyos-Vadillo C. Alkaloids from piper: a review of its phytochemistry and pharmacology. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2013;13(2):163-193; Available from: <https://doi.org/10.2174/138955713804805148>.
34. Masuda T, Inazumi A, Yamada Y, Padolina WG, Kikuzaki H, Nakatani N. Antimicrobial phenylpropanoids from Piper sarmentosum. *Phytochemistry*. 1991;30(10):3227-3228; Available from: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83180-S](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83180-S).
35. Miean KH, Mohamed S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001;49(6):3106-3112; PMID: 11410016. Available from: <https://doi.org/10.1021/jf000892m>.
36. Estai MA, Suhaimi F, Shuid AN, Das S, Abdullah S, Soelaiman I-N. Biomechanical evaluation of fracture healing following administration of Piper sarmentosum in ovariectomised rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2012;6(3):144-147; Available from: https://academicjournals.org/article/article1380892674_Estai%20et%20al.pdf.
37. Syed-Ab-Rahman SF, Omar D. Development of bio-formulations of Piper sarmentosum extracts against bacterial rice diseases. *Current Biotechnology*. 2018;7(6):453-463; Available from: <http://doi.org/10.2174/2211550108666190125114359>.
38. Lee J, Cho S, Paik H, Choi C, Nam K, Hwang S, et al. Investigation on antibacterial and antioxidant activities, phenolic and flavonoid contents of some Thai edible plants as an alternative for antibiotics. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences (AJAS)*. 2014;27(10):1461-1468; Available from: <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13629>.
39. Yeo ETY, Wong KWL, See ML, Wong KY, Gan SY, Chan EWL. Piper sarmentosum Roxb. confers neuroprotection on beta-amyloid (A β)-induced microglia-mediated neuroinflammation and attenuates tau hyperphosphorylation in SH-SY5Y cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018;217:187-194; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.02.025>.
40. Li Q, Qu F-L, Gao Y, Jiang Y-P, Rahman K, Lee K-H, et al. Piper sarmentosum Roxb. produces antidepressant-like effects in rodents, associated with activation of the CREB-BDNF-ERK signaling pathway and reversal of HPA axis hyperactivity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2017;199:9-19; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.01.037>.
41. Ugusman A, Zakaria Z, Hui CK, Megat Mohd Nordin NA. Piper sarmentosum inhibits ICAM-1 and Nox4 gene expression in oxidative stress-induced human umbilical vein endothelial cells. *BMC Complementary Medicine and Thera-*

- pies. 2011;11(1):1-8;Available from: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-31>.
42. Krisanapun C, Wongkrajang Y, Temsiririrkkul R, Phornchirasilp S, Peungvicha P. In vitro evaluation of anti-diabetic potential of Piper sarmentosum Roxb. extract. Wiley Online Library; 2012;Available from: https://doi.org/10.1096/fasebj.26.1_supplement.686.7.
 43. Hematpoor A, Paydar M, Liew SY, Sivasothy Y, Mohebalı N, Looi CY, et al. Phenylpropanoids isolated from Piper sarmentosum Roxb. induce apoptosis in breast cancer cells through reactive oxygen species and mitochondrial-dependent pathways. *Chemico-biological interactions*. 2018;279:210-218;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.11.014>.
 44. Yong Y, Matthew S, Wittwer J, Pan L, Shen Q, Kinghorn AD, et al. Dichamanetin inhibits cancer cell growth by affecting ROS-related signaling components through mitochondrial-mediated apoptosis. *Anticancer Research*. 2013;33(12):5349-5355;Available from: <https://ar.iiarjournals.org/content/33/12/5349>.
 45. Bộ Y Tế. Dược điển Việt Nam V. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học; 2018.
 46. Đỗ Tất Lợi. Những Cây thuốc và Vị thuốc Việt Nam. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học; 2004.
 47. Traore F, Faure R, Ollivier E, Gasquet M, Azas N, Debrauwer L, et al. Structure and antiprotozoal activity of triterpenoid saponins from *Glinus oppositifolius*. *Planta Medica*. 2000;66(04):368-371;Available from: <https://doi.org/10.1055/s-2000-8551>.
 48. Sahakitpichan P, Disadee W, Ruchirawat S, Kanchanapoom T. L-(-)-(N-trans-Cinnamoyl)-arginine, an Acylamino Acid from *Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC. *Molecules*. 2010;15(9):6186-6192;Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules15096186>.
 49. Martin-Puzon JJR, Valle Jr DL, Rivera WL. TLC profiles and antibacterial activity of *Glinus oppositifolius* L. Aug. DC.(Molluginaceae) leaf and stem extracts against bacterial pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2015;5(7):569-574;Available from: [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)60838-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)60838-6).
 50. Zhang D, Fu Y, Yang J, Li X-N, San MM, Oo TN, et al. Triterpenoids and their glycosides from *Glinus oppositifolius* with antifungal activities against *Microsporium gypseum* and *Trichophyton rubrum*. *Molecules*. 2019;24(12):2206-2228;Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules24122206>.
 51. Hoque N, Habib RM, Imam MZ, Ahmed J, Rana SM. Analgesic and anti-inflammatory potential of methanolic extract of *Glinus oppositifolius* L. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 2011;5(8):729-733;Available from: <https://espace.library.uq.edu.au/view/UQ:940bb3d>.
 52. Behera GM, Satish Kumar B, Malay Baidya M, Panigrahi G. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant activity of *Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC. *Pharmacologyonline*. 2010;3:915-936;Available from: <https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2010/vol3/86.Behera.pdf>.
 53. Panigrahi G, Mishra U, Mahapatra S, Panda C, Pasa G, Hati D. Hypoglycemic and hypolipidemic activities of methanolic extract of *Glinus oppositifolius*. *International Journal of Pharmacy*. 2012;2(3):491-497;Available from: <https://www.pharmascholars.com/articles/hypoglycemic-and-hypolipidemic-activities-of-methanolic-extract-of-glinus-oppositifolius.pdf>.
 54. Natarajan P, Thirupathi AT, Sekharan TR, Sundar A, Arivukkarasu R, Ganesan M. Hepatoprotective effect of *Glinus oppositifolius* Linn. *Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics*. 2010;2(4):289-292;Available from: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:rjppd&volume=2&issue=4&article=007>.
 55. Oladunmoye M, Afolami O, Oladejo B, Amoo I, Osho B. Identification and Quantification of Bioactive Compounds Present in the Plant *Vernonia amygdalina* Delile using GC-MS Technique. *Natural Products Chemistry & Research*. 2019;7(356):1-5;Available from: <https://www.scinapse.io/papers/2959845492>.
 56. Ogunbinu AO, Flamini G, Cioni PL, Ogunwande IA, Okeniyi SO. Essential oil constituents of *Eclipta prostrata* (L.) L. and *Vernonia amygdalina* Delile. *Natural Product Communications*. 2009;4(3):1934578X0900400321;Available from: <https://doi.org/10.1177/1934578X0900400321>.
 57. Johnson W, Tchounwou PB, Yedjou CG. Therapeutic Mechanisms of *Vernonia amygdalina* Delile in the Treatment of Prostate Cancer. *Molecules*. 2017;22(10):1594-1606;Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules22101594>.
 58. Yedjou CG, Sims JN, Njiki S, Tsubang N, Ogunbe IV, Tchounwou PB. *Vernonia amygdalina* Delile exhibits a potential for the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Global journal of advanced engineering technologies and sciences*. 2018;5(8):1-9;Available from: <https://doi.org/10.5281/zenodo.1343591>.
 59. Asante D-B, Effah-Yeboah E, Barnes P, Abban HA, Ameyaw EO, Boampong JN, et al. Antidiabetic effect of young and old ethanolic leaf extracts of *Vernonia amygdalina*: A comparative study. *Journal of Diabetes Research*. 2016;2016;Available from: <https://doi.org/10.1155/2016/8252741>.
 60. Asante D-B, Henneh IT, Acheampong DO, Kyei F, Adokoh CK, Ofori EG, et al. Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antipyretic activity of young and old leaves of *Vernonia amygdalina*. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2019;111:1187-1203;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.147>.
 61. Iwo MI, Sjahlim SL, Rahmawati SF. Effect of *Vernonia amygdalina* Del. leaf ethanolic extract on intoxicated male Wistar rats liver. *Scientia Pharmaceutica*. 2017;85(2):16;Available from: <https://doi.org/10.3390/scipharm85020016>.
 62. Adesanoye OA, Molehin OR, Delima AA, Adefegha AS, Farombi EO. Modulatory effect of methanolic extract of *Vernonia amygdalina* (MEVA) on tert-butyl hydroperoxide-induced erythrocyte haemolysis. *Cell Biochemistry and Function*. 2013;31(7):545-550;Available from: <https://doi.org/10.1002/cbf.2933>.
 63. Abebe W. Traditional pharmaceutical practice in gondar region, northwestern Ethiopia. *Journal of Ethnopharmacology*. 1984;11(1):33-47;Available from: [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(84\)90094-1](https://doi.org/10.1016/0378-8741(84)90094-1).
 64. Siew Y-Y, Yew H-C, Neo S-Y, Seow S-V, Lew S-M, Lim S-W, et al. Evaluation of anti-proliferative activity of medicinal plants used in Asian Traditional Medicine to treat cancer. *Journal of Ethnopharmacology*. 2019;235:75-87;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.12.040>.
 65. Al-Reza SM, Rahman A, Sattar M, Rahman MO, Fida HM. Essential oil composition and antioxidant activities of *Curcuma aromatica* Salisb. *Food and Chemical Toxicology*. 2010;48(6):1757-1760;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.04.008>.
 66. Xiang H, Zhang L, Yang Z, Chen F, Zheng X, Liu X. Chemical compositions, antioxidative, antimicrobial, anti-inflammatory and antitumor activities of *Curcuma aromatica* Salisb. essential oils. *Industrial Crops and Products*. 2017;108:6-16;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.058>.
 67. Pabuprapap W, Nakyai W, Chaichompoo W, Pheedee N, Phetkeereerat S, Vijoch J, et al. *Curcuma aromatica* and *Curcuma comosa* extracts and isolated constituents provide protection against UVB-induced damage and attenuate matrix metalloproteinase-1 expression in HaCaT cells. *Cosmetics*. 2022;9(1):23;Available from: <https://doi.org/10.3390/cosmetics9010023>.
 68. Lim J, Nguyen TTH, Pal K, Kang CG, Park C, Kim SW, et al. Phytochemical properties and functional characteristics of wild turmeric (*Curcuma aromatica*) fermented with *Rhizopus oligosporus*. *Food Chemistry: X*. 2022;13:100198;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100198>.

69. Li Y, Feng J, Mo Y, Liu H, Yang B. Concordance between cardio-protective effect on isoproterenol-induced acute myocardial ischemia and phenolic content of different extracts of *Curcuma aromatica*. *Pharmaceutical Biology*. 2016;54(12):3226-3231; Available from: <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1216134>.
70. Fei C, Ji D, Tong H, Li Y, Su L, Qin Y, et al. Therapeutic mechanism of *Curcuma aromatica* Salisb. rhizome against coronary heart disease based on integrated network pharmacology, pharmacological evaluation and lipidomics. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13; PMID: 36016561. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.950749>.
71. Kim H, Hong J, Lee J, Jeon W, Yeo C, Lee Y, et al. *Curcuma aromatica* Salisb. Protects from Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity by Regulating the Sirt1/HO-1 Signaling Pathway. *Nutrients*. 2023;15(4):808; PMID: 36839166. Available from: <https://doi.org/10.3390/nu15040808>.
72. Xiang H, Zhang L, Xi L, Yang Y, Wang X, Lei D, et al. Phytochemical profiles and bioactivities of essential oils extracted from seven *Curcuma* herbs. *Industrial Crops and Products*. 2018;111:298-305; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.035>.
73. Liu F, Liang Y, Sun R, Yang W, Liang Z, Gu J, et al. *Astragalus mongholicus* Bunge and *Curcuma aromatica* Salisb. inhibits liver metastasis of colon cancer by regulating EMT via the CXCL8/CXCR2 axis and PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Chinese Medicine*. 2022;17(1):91; Available from: <https://doi.org/10.1186/s13020-022-00641-4>.
74. Liang ZQ, Bian Y, Gu JF, Yin G, Sun RL, Liang Y, et al. Exploring the anti-metastatic effects of *Astragalus mongholicus* Bunge-*Curcuma aromatica* Salisb. on colorectal cancer: A network-based metabolomics and pharmacology approach. *Phytomedicine*. 2023;114:154772; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154772>.
75. Sikha A, Harini A. Pharmacological activities of wild turmeric (*Curcuma aromatica* Salisb): a review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2015;3(5):01-04; Available from: https://www.phytojournal.com/vol3Issue5/Issue_jan_2015/1.1..pdf.
76. Liu B, Gao Y-Q, Wang X-M, Wang Y-C, Fu L-Q. Germacrone inhibits the proliferation of glioma cells by promoting apoptosis and inducing cell cycle arrest. *Molecular medicine reports*. 2014;10(2):1046-1050; Available from: <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2290>.
77. Patel JR, Tripathi P, Sharma V, Chauhan NS, Dixit VKJJoe. *Phyllanthus amarus*: ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacology: a review. 2011;138(2):286-313; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.040>.
78. Ribeiro AMB, de Sousa JN, Costa LM, de Alcântara Oliveira FA, Dos Santos RC, Nunes ASS, et al. Antimicrobial activity of *Phyllanthus amarus* Schumacher. & Thonn and inhibition of the NorA efflux pump of *Staphylococcus aureus* by *Phyllanthin*. *Microbial Pathogenesis*. 2019;130:242-246; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.03.012>.
79. Harikrishnan H, Jantan I, Haque M, Kumolosasi E. Anti-inflammatory effects of *Phyllanthus amarus* Schum. & Thonn. through inhibition of NF- κ B, MAPK, and PI3K-Akt signaling pathways in LPS-induced human macrophages. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2018;18(1):1-13; Available from: <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2289-3>.
80. Ahmad S, Bano S, Anwar S. Cancer ameliorating potential of *Phyllanthus amarus*: In vivo and in vitro studies against Aflatoxin B1 toxicity. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2015;16(4):343-353; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejmhg.2015.05.005>.
81. Oyeleye SI, Olasehinde TA, Fasakin OW, Oboh G, Saliu JA-JJPP. *Phyllanthus amarus* Schumacher. & Thonn. and *Momordica charantia* L extracts improve memory function, attenuate cholinergic and purinergic dysfunction, and suppress oxidative stress in the brain of doxorubicin-treated rats. *Phytomedicine Plus*. 2022;2(2):100283; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100283>.
82. Bose Mazumdar Ghosh A, Banerjee A, Chattopadhyay S. An insight into the potent medicinal plant *Phyllanthus amarus* Schum. and Thonn. *The Nucleus*. 2022;1-36; Available from: <https://doi.org/10.1007/s13237-022-00409-z>.
83. Ilangkovan M, Jantan I, Bukhari SNA. *Phyllanthin* from *Phyllanthus amarus* inhibits cellular and humoral immune responses in Balb/C mice. *Phytomedicine*. 2016;23(12):1441-1450; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.08.002>.
84. Ghane S, Attar U, Yadav P, Lekhak M. Antioxidant, anti-diabetic, acetylcholinesterase inhibitory potential and estimation of alkaloids (lycorine and galanthamine) from *Crinum species*: An important source of anticancer and anti-Alzheimer drug. *Industrial Crops and Products*. 2018;125:168-177; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.087>.
85. Mahomoodally M, Sadeer N, Suroowan S, Jugreet S, Lobine D, Rengasamy K. Ethnomedicinal, phytochemistry, toxicity and pharmacological benefits of poison bulb-*Crinum asiaticum* L. *South African Journal of Botany*. 2021;136:16-29; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.06.004>.
86. Jeong YJ, Sohn E-H, Jung Y-H, Yoon W-J, Cho YM, Kim I, et al. Anti-obesity effect of *Crinum asiaticum* var. *japonicum* Baker extract in high-fat diet-induced and monogenic obese mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016;82:35-43; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.04.067>.
87. Adewusi EA, Steenkamp V. In vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from southern Africa. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2011;4(10):829-835; Available from: [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60203-4](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60203-4).
88. Pham LH, Döpke W, Wagner J, Mügge C. Alkaloids from *Crinum amabile*. *Phytochemistry*. 1998;48(2):371-376; Available from: [http://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)01081-9](http://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)01081-9).
89. Padalia RC, Verma RS, Chauhan A, Singh VR, Goswami P, Singh S, et al. *Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm. from northern India: Potential source of zerumbone rich essential oil for antiproliferative and antibacterial applications. *Industrial Crops and Products*. 2018;112:749-754; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.006>.
90. Sidahmed HMA, Hashim NM, Abdulla MA, Ali HM, Mohan S, Abdelwahab SI, et al. Antisecretory, gastroprotective, antioxidant and anti-Helicobacter pylori activity of zerumbone from *Zingiber zerumbet* (L.) Smith. *PloS one*. 2015;10(3):e0121060; Available from: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0121060>.
91. Koga AY, Beltrame FL, Pereira AV. Several aspects of *Zingiber zerumbet*: a review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2016;26:385-391; Available from: <http://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.01.006>.
92. Asha D, Mathew L, Rishad K. Evaluation of HPTLC fingerprints of flavonoids and antioxidant activity of selected medicinal plants of Lamiaceae Family. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 2015;7(2):240-245; Available from: http://impactfactor.org/PDF/IJPPR/7/IJPPR_Vol7_Issue2_Article7.pdf.
93. Edeoga H, Omosun G, Uche L. Chemical composition of *Hyptis suaveolens* and *Ocimum gratissimum* hybrids from Nigeria. *African journal of Biotechnology*. 2006;5(10); Available from: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/42928/26493>.
94. Nguyen HM, Nguyen NYT, Chau NTN, Nguyen ABT, Tran VKT, Hoang V, et al. Bioassay-guided discovery of potential partial extracts with cytotoxic effects on liver cancer cells from vietnamese medicinal herbs. *Processes*. 2021;9(11):1956; Available from: <https://doi.org/10.3390/pr9111956>.
95. Poonkodi K, Karthika J, Tamilselvi V, Anitha R, Vasanthamani S. Chemical composition of essential oil of *Hyptis*

- suaveolens (L) Poit and its invitro anticancer activity. Journal of Pharmacy Research. 2017;11(5):410-413;Available from: <https://www.semanticscholar.org/paper/Chemical-composition-of-essential-oil-of-Hyptis-and-Poonkodi-Karthika/4d3534a6a4b4d817c6a00fb0b78551373ac43e3a>.
96. Mishra P, Sohrab S, Mishra SK. A review on the phytochemical and pharmacological properties of Hyptis suaveolens (L.) Poit. Future Journal of Pharmaceutical Sciences. 2021;7(1):1-11;Available from: <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00219-1>.
 97. Võ Văn Chi. Cây thuốc An Giang. Ủy ban Khoa học - Kỹ thuật An Giang: An Giang; 1991;.
 98. Liu Y, Bi Y-m, Pan T, Zeng T, Mo C, Sun B, et al. Ethyl acetate fraction of *Dicliptera chinensis* (L.) Juss. ameliorates liver fibrosis by inducing autophagy via PI3K/AKT/mTOR/p70S6K signaling pathway. Chinese Journal of Integrative Medicine. 2022;28(1):60-68;PMID: 34105096. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11655-021-3298-5>.
 99. Xu Q, Xu J, Zhang K, Zhong M, Cao H, Wei R, et al. Study on the protective effect and mechanism of *Dicliptera chinensis* (L.) Juss (Acanthaceae) polysaccharide on immune liver injury induced by LPS. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2021;134:111159;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111159>.
 100. Zhang K, Gao Y, Zhong M, Xu Y, Li J, Chen Y, et al. Hepatoprotective effects of *Dicliptera chinensis* polysaccharides on dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis rats and its underlying mechanism. Journal of ethnopharmacology. 2016;179:38-44;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.12.053>.
 101. Xu Y, Gao Y, Zhong M, Li J, Cao H, Huang S, et al. Isolation, characterization and bioactivities of the polysaccharides from *Dicliptera chinensis* (L.) Juss. International Journal of Biological Macromolecules. 2017;101:603-611;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.112>.
 102. Zhang K, Xu Q, Gao Y, Cao H, Lian Y, Li Z, et al. Polysaccharides from *Dicliptera chinensis* ameliorate liver disturbance by regulating TLR-4/NF- κ B and AMPK/Nrf2 signalling pathways. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2020;24(11):6397-6409;Available from: <http://doi.org/10.1111/jcmm.15286>.
 103. Jadhao A, Bhuktar A. Phytochemical screening of rhizome extract of *Curcuma zedoaria* (Christm) Roscoe by HPLC-MS technique. International Journal of Life Sciences. 2019(Special Issue A13):53-57;Available from: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20203505419>.
 104. Chen C-c, Chen Y, Hsi Y-T, Chang C-S, Huang L-F, Ho C-T, et al. Chemical constituents and anticancer activity of *Curcuma zedoaria* roscoe essential oil against non-small cell lung carcinoma cells in vitro and in vivo. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2013;61(47):11418-11427;PMID: 24199734. Available from: <https://doi.org/10.1021/jf4026184>.
 105. Gharge S, Hiremath SI, Kagawad P, Jivaje K, Palled MS, Suryawanshi SS. *Curcuma zedoaria* Rosc (Zingiberaceae): a review on its chemical, pharmacological and biological activities. Future Journal of Pharmaceutical Sciences. 2021;7(1):1-9;Available from: <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00316-1>.
 106. Mohamad M, Ali MW, Ripin A, Ahmad A. Effect of extraction process parameters on the yield of bioactive compounds from the roots of *Eurycoma longifolia*. Jurnal Teknologi. 2013;60(1):51-57;Available from: <https://doi.org/10.11113/jt.v60.1441>.
 107. Rehman SU, Choe K, Yoo HH. Review on a traditional herbal medicine, *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali): its traditional uses, chemistry, evidence-based pharmacology and toxicology. Molecules. 2016;21(3):331;Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules21030331>.
 108. Yousafa Z, Wanga Y, Baydoun E. Phytochemistry and pharmacological studies on *Solanum torvum* Swartz. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2013;3(4):152-160;Available from: https://japsonline.com/abstract.php?article_id=868&sts=2.
 109. Lu Y, Luo J, Huang X, Kong L. Four new steroidal glycosides from *Solanum torvum* and their cytotoxic activities. Steroids. 2009;74(1):95-101;PMID: 18950652. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2008.09.011>.
 110. Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Chung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Đông, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, et al. Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam. Hà Nội: Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật; 2006;.
 111. Siemonsma J, Piluek K. Plant resources of south-east Asia. No. 8: Vegetables. 1993;.
 112. Zhu Z, Gao L, Wang J. Illustrated handbook for medicinal materials from nature in Yunnan (Vol. 2). Yunnan Science and Technology Press: Kunming. 2003;121;.
 113. Susanti D, Sirat HM, Ahmad F, Ali RMJJIF. Bioactive constituents from the leaves of *Melastoma malabathricum* L. 2008;5;Available from: <https://core.ac.uk/download/pdf/300361046.pdf>.
 114. Joffry S, Yob N, Rofee M, MeorMohd M, Affandi M, Suhaili Z, et al. *Melastoma malabathricum* (L.) smith ethnomedicinal uses, chemical constituents, and pharmacological properties: A Review. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2012;PMID: 22242040. Available from: <https://doi.org/10.1155/2012/258434>.
 115. Al-Zikri PNH, Taher M, Susanti D, Rezali MF, Read RW, Sohrab M, et al. Cytotoxic tirucallane triterpenes from the stem of *Luvunga scandens*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2014;24:561-564;Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bjrp.2014.10.003>.
 116. Sirinuta P, Awanwee P, Panumart T, editors. Biological activities of stem extracts from *Luvunga scandens*. The 5th International conference on Natural products for Health and Beauty Thailand; 2014;.
 117. Junejo JA, Zaman K, Rudrapal M, Mondal P, Singh KD, Verma VK. Preliminary phytochemical and physicochemical evaluation of *Carallia brachiata* (Lour.) Merr. leaves. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2014;4(12):123-127;Available from: https://japsonline.com/admin/php/uploads/1402_pdf.pdf.
 118. Islam MA, Hossain MS, Azad M, Rashid MH-O, Mofizur M. In vivo evaluation of analgesic, antiinflammatory and antidiabetic activities of methanol extract of *Carallia brachiata* L. leaves. PharmacologyOnline. 2020;1:38-46;Available from: <http://dspace.daffodilvarsity.edu.bd:8080/handle/123456789/6415>.
 119. Chularojmontri L, Nanna U, Kaewamatawong R, Homhual S, Suwannaloet W. Inhibitory Effect of *Carallia Brachiata* Extract Through Regulation of Adipogenesis Pathways in 3T3-L1 Cells. Pharmacognosy Journal. 2022;14(5);Available from: <http://dx.doi.org/10.5530/pj.2022.14.149>.
 120. Brzeska J, Morawska M, Sikorska W, Tercjak A, Kowalczyk M, Rutkowska M. Degradability of cross-linked polyurethanes based on synthetic polyhydroxybutyrate and modified with polylactide. Chemical Papers. 2017;71:2243-2251;Available from: <https://doi.org/10.1007/s11696-017-0218-4>.
 121. Chin YW, Jones WP, Rachman I, Riswan S, Kardono LB, Chai HB, et al. Cytotoxic lignans from the stems of *Helicteres hirsuta* collected in Indonesia. Phytotherapy Research. 2006;20(1):62-65;Available from: <https://doi.org/10.1002/ptr.1806>.
 122. Nguyen TT, Kretschmer N, Pferschy-Wenzig E-M, Kunert O, Bauer R. Triterpenoidal and phenolic compounds isolated from the aerial parts of *Helicteres hirsuta* and their cytotoxicity on several cancer cell lines. Natural Product Communications. 2019;14(1):1934578X1901400103;Available from: <https://doi.org/10.1177/1934578X1901400103>.
 123. Thang Hoang D, Hien Truong TT, Viet Duc N, Anh Hoang LT, Do TT, Vinh LB, et al. Hepatoprotective Effects of Extract of *Helicteres hirsuta* Lour. on Liver Fibrosis Induced by Carbon Tetrachloride in Rats. Applied Sciences. 2021;11(18):8758;Available from: <https://doi.org/10.3390/>

- app11188758.
124. Pham HNT, Vuong Q, Bowyer MC, Scarlett CJ. Phytochemical profiles and antioxidant capacity of the crude extracts, aqueous-and saponin-enriched butanol fractions of *Helicteres hirsuta* Lour. leaves and stems. *Chemical Papers*. 2017;71:2233-2242; Available from: <https://doi.org/10.1007/s11696-017-0216-6>.
 125. Pham HNT, Sakoff JA, Bond DR, Vuong QV, Bowyer MC, Scarlett CJ. In vitro antibacterial and anticancer properties of *Helicteres hirsuta* Lour. leaf and stem extracts and their fractions. *Molecular biology reports*. 2018;45(6):2125-2133; Available from: <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4370-x>.
 126. Son NT. Genus *Milium*: A review of phytochemistry and pharmacology. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2019;2019; Available from: <https://doi.org/10.1155/2019/8314693>.
 127. Promgool T, Kanokmedhakul K, Tontapha S, Amornkitbamrung V, Tongpim S, Samjan W, et al. Bioactive homogentisic acid derivatives from fruits and flowers of *Milium velutinum*. *Fitoterapia*. 2019;134:65-72; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.02.007>.
 128. Meena SN, Majik MS, Ghadi SC, Tilve SG. Quick identification of piperidine alkaloid from roots of *Grewia nervosa* and their glucosidase inhibitory activity. *Chemistry and Biodiversity*. 2017;14(12):e1700400; Available from: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201700400>.
 129. Neha C, Abdussalam A. Biochemical studies on fruit extract of *Grewia nervosa* (Lour.) Panigrahi: a promising wild plant. *Plant Functional Biology*. 2021;164; Available from: https://sirsyedcollege.ac.in/Uploads/Documents/Doctrina_Webinar%20Series_Online-14-02-21.pdf#page=166.
 130. Ramesh M, Rao C. Antioxidant capacity of hydroalcoholic extracts of *Grewia serrulata* DC and *Grewia nervosa* (Lour.) Panigrahi. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2018;9(1):121-127; Available from: <https://ijrps.com/index.php/home/article/view/4182/13460>.
 131. Meena S, Sharma S, Kulshreshtha R, Janarthanam M, Ghadi S. Antiproliferative activity and phytochemical analysis of methanol leaf extract of *Grewia nervosa*. *Current Science*. 2017;113:1828-1830; Available from: <https://www.currentscience.ac.in/Volumes/113/10/1828.pdf>.
 132. Rojsanga P, Bunsupa S, Sithisarn P. Flavones Contents in Extracts from *Oroxylum indicum* Seeds and Plant Tissue Cultures. 2020;25(7):1545-1552; Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules25071545>.
 133. Dinda B, SilSarma I, Dinda M, Rudrapaul P. *Oroxylum indicum* (L.) Kurz, an important Asian traditional medicine: From traditional uses to scientific data for its commercial exploitation. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015;161:255-278; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.027>.
 134. Moyo M, Amoo SO, Aremu AO, Gruz J, Šubrtová M, Jarošová M, et al. Determination of Mineral Constituents, Phytochemicals and Antioxidant Qualities of *Cleome gynandra*, Compared to *Brassica oleracea* and *Beta vulgaris*. *Frontiers in Chemistry*. 2018;5; Available from: <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00128>.
 135. Kasem WT, Fatahy S. Flavonoids and isoenzymes as chemotaxonomic markers in *Cleome* L. (Cleomaceae Bercht. & J.Presl). *Current Botany*. 2016;7:11-16; Available from: <https://doi.org/10.19071/cb.2016.v7.3026>.
 136. Moyo M, Aremu AO. Nutritional, phytochemical and diverse health-promoting qualities of *Cleome gynandra*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022;62(13):3535-3552; Available from: <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1867055>.
 137. Imanirampa L, Alele PE. Antifungal activity of *Cleome gynandra* L. aerial parts for topical treatment of *Tinea capitis*: an in vitro evaluation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2016;16(1):194-201; Available from: <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1187-9>.
 138. Narendhirakannan RT, Subramanian S, Kandaswamy M. Anti-inflammatory and lysosomal stability actions of *Cleome gynandra* L. studied in adjuvant induced arthritic rats. *Food and Chemical Toxicology*. 2007;45(6):1001-1012; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.12.009>.
 139. Adhikari PP, Paul SB. Medicinally important plant *Cleome gynandra*: A phytochemical and pharmacological explanation. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018;11(1):21-29; Available from: <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i1.22037>.
 140. Rahman A, Siddiqui S, Oke-Altuntas F, Okay S, Gül F, Demirtas I. Phenolic Profile, Essential Oil Composition and Bioactivity of *Lasia spinosa* (L.) Thwaites. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2019;62:e19170757; Available from: <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019170757>.
 141. Goshwami D, Rahman MM, Muhi MA, Islam MS, Anasri M. Antioxidant Property, Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of *Lasia spinosa* Leaves. *Nepal Journal of Science and Technology*. 2013;13(2):215-218; Available from: <https://doi.org/10.3126/njst.v13i2.7739>.
 142. Alam F, Haque M, Sohrab M, Monsur M, Hasan C, Ahmed N. Antimicrobial and Cytotoxic Activity from *Lasia spinosa* and Isolated Lignan. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2011;30(3):550-553; Available from: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/8177>.
 143. Das SK, Baruah M, Shill D. Evaluation of Antidiabetic Activity from the Stem of *Lasia spinosa* in Dexamethasone Induced Diabetic Albino Rats. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences* 2014;1(1); Available from: <https://www.semanticscholar.org/paper/Evaluation-of-Antidiabetic-Activity-from-the-Stem-Das-Baruah/a9c6fe4f7353b43b4666f35bcf2611fafd3af5b0>.
 144. Mahmood S, Atif M, Rashid S, Ahmed M, Rahman S. Evaluation of antihyperlipidemic activity of methanolic leaves extract of *Lasia spinosa* and its role in prevention of hyperlipidemia induced pancreatitis in rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2015;6(4):1502-1508; Available from: [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6\(4\).1502-08](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.6(4).1502-08).
 145. Atif M, Azharuddin M, Mahmood S. Gastroprotective potential of *Lasia spinosa* in albino rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2015;7(3):254-257; Available from: <https://journals.innovareacademics.in/index.php/ijpps/article/view/4365/8443>.
 146. Thamizh Selvam N, Vasanth Kumar K, Acharya M. Physicochemical, Phytochemical and Spectroscopic Characterization of various extracts of leaves and stems of *L. Ipomoea pestigridis*. *Adv Pharm J*. 2017;2:34-40; Available from: <http://www.apjonline.in/uploaded/p29.pdf>.
 147. Das S, Ganguly SN, Mukherjee KK. Fatty acids and phytochemical components of *Ipomoea* spp. seeds. *Natural Product Sciences*. 1999;5(3):121-123; Available from: <https://koreascience.kr/article/JAKO199903041126685.pdf>.
 148. Okoruwa M. Effect of heat stress on thermoregulatory, live bodyweight and physiological responses of dwarf goats in southern Nigeria. *European Scientific Journal*. 2014;10(27); Available from: <https://doi.org/10.19044/esj.2014.v10n27p%25p>.
 149. Deb D, Dev S, Das AK, Khanam D, Banu H, Shahriar M, et al. Antinociceptive, anti-inflammatory and anti-diarrheal activities of the hydroalcoholic extract of *Lasia spinosa* Linn.(Araceae) roots. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2010;29; Available from: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/8061>.
 150. Chowdhury R, Saha R, Bhuiyan M, Hossain M, Kowsar S, Hossain M. An In vitro Assessment of Antimicrobial, Thrombolytic and Cytotoxic Activity on *Ipomoea pestigridis*. *Journal of Advancement in Medical and Life Sciences*. 2014;2(1):1-8; Available from: <https://scienceq.org/wp-content/uploads/2018/01/1977505343.pdf>.
 151. Begum MSS, Aruna A, Sivakumar T, Premanand C, Srihuaneswari MC. In vitro Cytotoxic Activity On Ethanol

- Extracts Of Leaves Of Ipomoea Pes-Tigridis (Convolvaceae) Against Liver Hepg2 Cellline. *International Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*. 2015;5(3):1778-1784; Available from: <http://interscience.org.uk/images/article/v5-i3/5ijahm.pdf>.
152. Edeoga HO, Okwu D, Mbaebie B. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology*. 2005;4(7):685-688; Available from: <https://doi.org/10.5897/AJB2005.000-3127>.
 153. Ghosh P, Biswas M, Biswas S, Dutta A, Hazra L, Nag SK, et al. Phytochemical screening, anti-oxidant and antimicrobial activity of leaves of *Cleome ruidosperma* DC. (Cleomaceae). *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*; 2019;1(5):1790-1795; Available from: <https://www.jpsr.pharmainfo.in/Documents/Volumes/vol11issue05/jpsr11051922.pdf>.
 154. Bose A, Mondal S, Gupta JK, Ghosh T, Dash GK, Si SJF. Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the ethanolic extract and its fractions of *Cleome ruidosperma*. 2007;78(7-8):515-520; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.05.002>.
 155. Mondal S, Suresh P. Wound healing activity of *Cleome ruidosperma* DC. roots. *International Current Pharmaceutical Journal*. 2012;1(6):151-154; Available from: <https://doi.org/10.3329/icpj.v1i6.10536>.
 156. Prabha S, Rao M, Kumar M. Evaluation of in vitro Antioxidant, Antibacterial and Anticancer activities of leaf extracts of *Cleome ruidosperma*. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2017;10(8):2492-2496; Available from: <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2017.00440.1>.
 157. Ukil S, Laskar S, Roy RN. Physicochemical characterization and antibacterial activity of the leaf oil of *Crotalaria pallida* Aiton. *Journal of Taibah University for Science*. 2016;10(4):490-496; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2015.07.001>.
 158. Kumari R, Kumar S. Pharmacological, Phytochemical and Their Application of *Crotalaria L. Genus*. 2022; Available from: https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=4097263.
 159. Govindappa M, Bharath N, Shruthi H, Sadananda T, Sharanappa P. Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity and phytochemical screening of *Crotalaria pallida* Aiton. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2011;5(21):2359-2371; Available from: https://academicjournals.org/article/article1380885223_Govindappa%20et%20al%20a%20%203.pdf.
 160. Rumondor EM, Moektiwardoyo M, Barliana MI. Antiproliferative Activity of *Crotalaria pallida* Aiton on MCF-7 Breast Cancer Cells. *Pharmacology and Clinical Pharmacy Research*. 2017;2(3):63-65; Available from: <https://doi.org/10.15416/pcpr.v2i3.16216>.
 161. Zhang L, Wang H. FTY720 inhibits the Nrf2/ARE pathway in human glioblastoma cell lines and sensitizes glioblastoma cells to temozolomide. *Pharmacological Reports*. 2017;69(6):1186-1193; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.07.003>.
 162. Shin D, Kim EH, Lee J, Roh J-L. RITA plus 3-MA overcomes chemoresistance of head and neck cancer cells via dual inhibition of autophagy and antioxidant systems. *Redox Biology*. 2017;13:219-227; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.05.025>.
 163. Roh J-L, Kim EH, Jang H, Shin D. Nrf2 inhibition reverses the resistance of cisplatin-resistant head and neck cancer cells to artesunate-induced ferroptosis. *Redox biology*. 2017;11:254-262; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.010>.
 164. Abdelwahab SI, Abdul AB, Zain ZNM, Hadi AHA. Zerumbone inhibits interleukin-6 and induces apoptosis and cell cycle arrest in ovarian and cervical cancer cells. *International Immunopharmacology*. 2012;12(4):594-602; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2012.01.014>.
 165. Stefanowicz-Hajduk J, Spazak-Stefanowska B, Krauze-Baranowska M, Ochocka JR. Securinine from *Phyllanthus glaucus* induces cell cycle arrest and apoptosis in human cervical cancer HeLa cells. *PLoS One*. 2016;11(10):e0165372; Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165372>.
 166. Tang Y-Q, Sekaran SD. Evaluation of *Phyllanthus* for its anticancer properties. Prostate cancer-from bench to bedside. 2011:305-320; Available from: <https://doi.org/10.5772/27296>.
 167. Gao A-M, Ke Z-P, Shi F, Sun G-C, Chen H. Chrysin enhances sensitivity of BEL-7402/ADM cells to doxorubicin by suppressing PI3K/Akt/Nrf2 and ERK/Nrf2 pathway. *Chemico-biological interactions*. 2013;206(1):100-108; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2013.08.008>.
 168. Hasibuan PAZ, Harahap U, Sitorus P, Satria D. The anticancer activities of *Vernonia amygdalina* Delile. Leaves on 4T1 breast cancer cells through phosphoinositide 3-kinase (PI3K) pathway. *Heliyon*. 2020;6(7):e04449; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04449>.
 169. Quang DN, Pham CT, Le LTK, Ta QN, Dang NK, Hoang NT, et al. Cytotoxic constituents from *Helicteres hirsuta* collected in Vietnam. *Natural product research*. 2020;34(4):585-589; PMID: 30445838. Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1490907>.
 170. Yu-Jen C. Potential role of tetrandrine in cancer therapy. *Acta Pharmacol Sin*. 2002;23:1102-1106; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12466047/>.
 171. Sova M, Saso L. Design and development of Nrf2 modulators for cancer chemoprevention and therapy: A review. *Drug design, development and therapy*. 2018;3:181-3197; PMID: 30288023. Available from: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S172612>.

Screening for *in vitro* inhibiting Nrf2 of some Vietnamese medicinal plants

Hien Minh Nguyen^{1,*}, Thien Han Nguyen Le¹, Yen Nhi Thi Nguyen^{1,2}, Hoa Thanh Vo¹, Thi Tan Pham², Chia Hung Yen³

ABSTRACT

Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) is vital in regulating cellular defenses against oxidative or environmental aggressors. Some studies reveal that increasing Nrf2 activity affects chemotherapy drug resistance in cancer; thus, Nrf2 has become an attractive target in cancer therapeutics research. Our study screened the effects of 52 methanol extracts from different parts of 24 medicinal plants used in traditional and folk medicine to evaluate the ability to inhibit Nrf2 and the cell viability by an *in vitro* model of Huh7 liver cancer cells at the crude extract concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$. The study has successfully suggested a screening model for Nrf2 expression based on luciferase fluorescence assay of Huh7 cells transfected with the Nrf2 gene. The results of our study show that the *Piper sarmentosum* roots can inhibit nearly 90% of Nrf2 activity in cancer cells. We also found that the extracts of *Vernonia amygdalina* leaves, *Phyllanthus amarus* leaf, *Zingiber zerumbet* leaves, *Hyptis suaveolens* leaf and roots, *Curcuma zedoaria* leaves and roots, *Luvunga scandens* leaf, *Helicteres hirsuta* leaf, *Oroxylum indicum* stem and leaf, *Lasia spinosa* fruits and *Crotalaria pallida* leaf inhibited more than 60% of Nrf2 expression levels. Furthermore, the extracts from the leaves of *Luvunga scandens* and *Curcuma zedoaria* can cause toxicity on cancer cell of more than 70% at 100 $\mu\text{g/mL}$. From the study, we have the basis for further studies on natural active substances that have the effect of drug resistance by inhibiting the expression of Nrf2 on cancer cells.

Key words: Nrf2, In vitro screening, Herbal extracts, Chemotherapy resistance, Antitumor activity

¹School of Medicine, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Viet Nam

²Faculty of Applied Science, Ho Chi Minh City University of Technology, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Viet Nam

³Graduate Institute of Natural Products, School of Pharmacy, Kaohsiung Medical University, Taiwan

Correspondence

Hien Minh Nguyen, School of Medicine, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Viet Nam

Email: nmhien@medvnu.edu.vn

History

- Received: 19-5-2023
- Accepted: 18-9-2023
- Published Online: 30-9-2023

DOI :

<https://doi.org/10.32508/stdjet.v6i3.1098>



Copyright

© VNUHCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Nguyen H M, Le T H N, Nguyen Y N T, Vo H T, Pham T T, Yen C H. **Screening for *in vitro* inhibiting Nrf2 of some Vietnamese medicinal plants.** *Sci. Tech. Dev. J. – Engineering and Technology* 2023; 6(3):1975-1999.