

ISSN 1859 - 4735



TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

JOURNAL OF MEDICINAL MATERIALS

SỐ 3 - TẬP 31

6/2026

VIỆN DƯỢC LIỆU
NATIONAL INSTITUTE OF MEDICINAL MATERIALS

3B Quang Trung, phường Cửa Nam, thành phố Hà Nội - Việt Nam
TEL: (+84-24) 38247058 FAX: (+84-24) 39348740
Email: tapchiduoclieu@nimm.org.vn; tapchiduoclieu@gmail.com

TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU (Bản in và Bản điện tử)

BAN BIÊN TẬP (Nhiệm kỳ 2025-2030)

(Kèm theo Quyết định số 666/QĐ-VDL ngày 24/4/2025 của Viện trưởng Viện Dược liệu)

TỔNG BIÊN TẬP

PGS.TS. Đỗ Thị Hà

I. Tiểu ban Dược liệu - Dược học cổ truyền

- **PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi - Trưởng Ban**
- PGS.TS. Nguyễn Thượng Dong - Ủy viên
- GS.TS. Nguyễn Minh Đức - Ủy viên
- GS.TS. Trần Công Luận - Ủy viên
- GS.TS. Won Keun Oh - Ủy viên
- PGS.TS. Trần Hùng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu - Ủy viên
- PGS.TS. Phương Thiện Thương - Ủy viên
- PGS.TS. Phan Minh Giang - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Việt Dũng - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Quốc Huy - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thu Hằng - Ủy viên
- TS. Trần Minh Ngọc - Ủy viên
- TS. Nguyễn Văn Tài - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Đình Chi - Ủy viên
- TS. Nguyễn Tuấn Hiệp - Ủy viên.

II. Tiểu ban Dược lý - Dược lâm sàng

- **PGS.TS. Phạm Thị Nguyệt Hằng - Trưởng Ban**
- PGS.TSKH. Đỗ Trung Đàm - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thị Thu Hương - Ủy viên
- GS.TS. William R. Folk - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thị Vân Anh - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Thùy Dương - Ủy viên
- PGS.TS. Lê Văn Minh - Ủy viên
- TS. Trần Thị Hiền - Ủy viên.

III. Tiểu ban Nông Sinh

- **TS. Nguyễn Văn Khiêm - Trưởng Ban**
- TS. Phan Thúy Hiền - Ủy viên
- PGS.TS. Nguyễn Văn Tập - Ủy viên
- PGS.TS. Phạm Thanh Huyền - Ủy viên
- GS.TS. Trần Thế Bách - Ủy viên.

IV. Tiểu ban Thư ký - Trị sự

- **PGS.TS. Lê Nguyễn Thành - Trưởng Ban**
- TS. Lê Thị Xoan - Thư ký chuyên môn
- CN. Nguyễn Thị Minh Lộc - Thư ký trị sự.

Trang	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC	Page	SCIENTIFIC RESEARCH
163	Thành phần hóa học và tác dụng ức chế sản sinh NO của phần trên mặt đất loài cúc mùi - Nguyễn Thị Hồng Anh, Nguyễn Thị Huế, Phan Thị Trang, Phạm Văn Công, Nguyễn Văn Tài	163	Chemical Constituents and NO Inhibitory Activity of the Aerial Parts of <i>Tridax procumbens</i> - Nguyen Thi Hong Anh, Nguyen Thi Hue, Phan Thi Trang, Pham Van Cong, Nguyen Van Tai
170	Xây dựng phương pháp xác định 11 chất cấm trộn trái phép trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe hỗ trợ giảm cân bằng sắc ký lỏng khối phổ phân giải cao - Nguyễn Quang Hưng, Trần Hồng Ngọc, Mạc Thị Thanh Hoa, Nguyễn Văn Khoa, Vũ Phương Hạnh, Trần Thúy Hạnh, Bùi Thế Kiên, Trần Cao Sơn, Nguyễn Thị Kiều Anh	170	Development of a Method for Determination of Eleven Illicit Adulterants in Weight-Loss Dietary Supplements by Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry - Nguyen Quang Hung, Tran Hong Ngoc, Mac Thi Thanh Hoa, Nguyen Van Khoa, Vu Phuong Hanh, Tran Thuy Hanh, Bui The Kien, Tran Cao Son, Nguyen Thi Kieu Anh
179	Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở vị thuốc nụ hộc sao vàng - Nguyễn Thị Hà Ly, Trần Huyền Trang, Lê Hồng Văn Anh, Phạm Thị Hiền, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Thanh Hương, Tạ Thị Thảo	179	Establishing In-house Standards for Processed <i>Syphnolobium japonicum</i> L. Buds - Nguyen Thi Ha Ly, Tran Huyen Trang, Le Hong Van Anh, Pham Thi Hien, Do Thi Ha, Nguyen Thanh Huong, Ta Thi Thao
187	Tối ưu hóa quy trình chiết siêu âm để chiết xuất polyphenol và triterpenoid từ lá cây insulin trồng ở Việt Nam bằng phương pháp bề mặt đáp ứng - Nguyễn Lâm Hồng, Trần Văn Sang, Vũ Minh Đức, Nguyễn Bá Trung, Nguyễn Hoàng Quân, Nguyễn Tiến Trung, Dương Minh Tân	187	Optimization of Ultrasonic Extraction Process for the Extraction of Polyphenols and Triterpenoids from Insulin Leaves (<i>Costus pictus</i> D. Don) Grown in Vietnam Using the Response Surface Method - Nguyen Lam Hong, Tran Van Sang, Vu Minh Duc, Nguyen Ba Trung, Nguyen Hoang Quan, Nguyen Tien Trung, Duong Minh Tan
197	Tác dụng an thần, giải lo âu, chống trầm cảm của cao chiết từ thân rễ sâm Lai Châu - Tô Trung Kiên, Trần Bá Luân, Ngô Quỳnh Như, Trương Quang Đạt, Nguyễn Trương Lễ Nghi, Trần Thị Thảo Trần, Lê Văn Minh, Nguyễn Hoàng Minh	197	Sleep-Prolonging, Anxiolytic and Antidepressant-Like Effects of the Extract from <i>Panax vietnamensis</i> var. <i>fuscifolius</i> K.Komatsu, S.Zhu & S.Q.Cai - To Trung Kien, Tran Ba Lun, Ngo Quynh Nhu, Truong Quang Dat, Nguyen Truong Le Nghi, Tran Thi Thao Tran, Le Van Minh, Nguyen Hoang Minh
203	Bảy lá một hoa ức chế ung thư vú thực nghiệm trên chuột bằng độc tế bào và apoptosis - Phạm Thị Nguyệt Hằng, Trần Thị Hồng Vân, Phạm Minh Hiếu, Phạm Anh Tùng, Phí Đình Uy, Nguyễn Văn Hiệp, Lê Thị Xoan, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Thị Ngọc Bích, Trần Đình Nghĩa, Hoàng Thị Tuyết Nhung	203	<i>Paripolyphylla</i> var. <i>chinensis</i> Smith Inhibits Experimental Breast Cancer in Mice via Cytotoxicity and Apoptosis - Pham Thi Nguyet Hang, Tran Thi Hong Van, Pham Minh Hieu, Pham Anh Tung, Phi Dinh Uy, Nguyen Van Hiep, Le Thi Xoan, Do Thi Ha, Nguyen Thi Ngoc Bich, Tran Dinh Nghia, Hoang Thi Tuyet Nhung
211	Nghiên cứu trên thực nghiệm tác dụng hạ đường huyết của cao chiết từ lá cây nọc xoài, họ Cúc - Nguyễn Đông Nhi, Trương Nhật Minh, Võ Thành Nhân, Trần Hoàng Khả Hân, Nguyễn Thị Thu Hương	211	Experimental Study on Hypoglycemic Effect of Leaf Extract from <i>Struchium sparganophorum</i> (L.) Kuntze (Asteraceae) - Nguyen Dong Nhi, Truong Nhat Minh, Vo Thanh Nhan, Tran Hoang Kha Han, Nguyen Thi Thu Huong
220	Đánh giá tiềm năng chống oxy hóa và độc tính tế bào HEPG2 của lá trà hoa đỏ - Nguyễn Thị Thu Hương, Trần Thanh Hào, Trần Hoàng Khả Hân, Nguyễn Trần Hoàng Anh, Lý Hải Triều	220	Evaluation of Antioxidant Potential and HepG2 Cytotoxicity of Red-Flowered <i>Camellia</i> (<i>Camellia longi</i> Orel & Lau) Leaves - Nguyen Thi Thu Huong, Tran Thanh Hao, Tran Hoang Kha Han, Nguyen Tran Hoang Anh, Ly Hai Trieu
232	Tác dụng ức chế vi khuẩn <i>Helicobacter pylori</i> của cao chiết và các diterpenoid từ khổ sâm - Vũ Thị Oanh, Lương Thùy Nhung, Trần Thị Minh Nguyệt, Phạm Bảo Yên, Nguyễn Khắc Tiếp, Phương Thiên Thương	232	Antibacterial Activity of Extracts and Isolated Compounds from <i>Croton tonkinensis</i> Gagnep. Against <i>Helicobacter pylori</i> - Vu Thi Oanh, Luong Thuy Nhung, Tran Thi Minh Nguyet, Pham Bao Yen, Nguyen Khac Tiep, Phuong Thien Thuong
239	Đánh giá đặc điểm hình thái, năng suất và chất lượng một số nguồn gen đậu mero thu thập tại Việt Nam - Trần Thị Trang, Trần Ngọc Thanh, Lô Đức Việt, Trần Thị Kim Dung, Nguyễn Thị Mai Phương, Đào Xuân Quang, Nhu Thu Nga, Nguyễn Đức Mạnh, Đào Việt Quốc, Nguyễn Văn Tài, Lê Thị Loan, Đặng Minh Tú	239	Evaluation of Morphological Characteristics, Yield, and Quality of <i>Mucuna pruriens</i> (L.) DC. Germplasm Collected in Vietnam - Tran Thi Trang, Tran Ngoc Thanh, Lo Duc Viet, Tran Thi Kim Dung, Nguyen Thi Mai Phuong, Dao Xuan Quang, Nhu Thu Nga, Nguyen Duc Manh, Dao Viet Quoc, Nguyen Van Tai, Le Thi Loan, Dang Minh Tu
246	Đánh giá đặc điểm nông sinh học và hàm lượng sinensetin của các mẫu giống rau mero tại Hà Nội - Nhu Thu Nga, Lô Đức Việt, Trần Thị Kim Dung, Trần Thị Trang, Nguyễn Thị Mai Phương, Trần Ngọc Thanh, Tô Minh Tú, Hoàng Thị Tuyết, Nguyễn Văn Hiếu, Trịnh Văn Vương, Nguyễn Đức Mạnh	246	Assessment of Agro-Biological Characteristics and Sinensetin Content of <i>Orthosiphon spiralis</i> (Lour.) Merr. in Hanoi - Nhu Thu Nga, Lo Duc Viet, Tran Thi Kim Dung, Tran Thi Trang, Nguyen Thi Mai Phuong, Tran Ngoc Thanh, To Minh Tu, Hoang Thi Tuyet, Nguyen Van Hieu, Trinh Van Vuong, Nguyen Duc Manh

BẢY LÁ MỘT HOA ỨNG CHẾ UNG THƯ VÚ THỰC NGHIỆM TRÊN CHUỘT BẰNG ĐỘC TẾ BÀO VÀ APOPTOSIS

**Phạm Thị Nguyệt Hằng^{1,*}, Trần Thị Hồng Vân¹, Phạm Minh Hiếu¹, Phạm Anh Tùng¹,
Phí Đình Uy¹, Nguyễn Văn Hiệp¹, Lê Thị Xoan¹, Đỗ Thị Hà¹, Nguyễn Thị Ngọc Bích²,**

Trần Đình Nghĩa², Hoàng Thị Tuyết Nhung²

¹*Viện Dược liệu; ²Trường Đại học Dược Hà Nội*

*Email: phamhangtoyama@gmail.com

Nhận bài: 20/4/2026

Chấp nhận đăng: 16/5/2026

Tóm tắt

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng chống ung thư vú thực nghiệm của cao định chuẩn chiết xuất từ thân rễ bảy lá một hoa (*Paris polyphylla* var. *chinensis* - PPC). Cao chiết được chuẩn hóa theo hàm lượng bốn hợp chất saponin chính (paris saponin H, paris saponin D, gracillin và polyphyllin D, tổng hàm lượng trên 10%). Cao chiết PPC thể hiện tác dụng ức chế tăng sinh tế bào ung thư vú 4T1 *in vitro* với giá trị IC₅₀ là 125,7 µg/mL. Trên mô hình chuột Balb/c được gây u vú thực nghiệm bằng tế bào 4T1 và điều trị bằng PPC với hai mức liều 200 và 400 mg/kg/ngày trong 28 ngày, kết quả cho thấy PPC liều 400 mg/kg làm chậm rõ rệt sự phát triển khối u từ ngày thứ 8. Cả hai mức liều đều làm giảm đáng kể khối lượng khối u sơ cấp so với lô bệnh lý. Nhuộm TUNEL cho thấy cao chiết PPC thúc đẩy quá trình apoptosis của tế bào khối u, cơ chế này có thể liên quan đến thành phần polyphyllin D trong cao chiết. Kết quả nghiên cứu cung cấp thêm bằng chứng khoa học hỗ trợ tiềm năng phát triển sản phẩm từ bảy lá một hoa trong hỗ trợ điều trị ung thư vú tại Việt Nam.

Từ khóa: *Bảy lá một hoa, độc tế bào 4T1; Kháng u vú thực nghiệm; TUNEL.*

Summary

***Paris polyphylla* var. *chinensis* Smith Inhibits Experimental Breast Cancer in Mice via Cytotoxicity and Apoptosis**

This study was conducted to investigate the experimental anti-breast cancer activity of a standardized extract derived from the rhizomes of *Paris polyphylla* var. *chinensis* (PPC). The extract was standardized based on the content of four major saponin compounds - paris saponin H, paris saponin D, gracillin, and polyphyllin D - with a combined content of over 10%. The PPC extract demonstrated inhibitory effects on the proliferation of 4T1 breast cancer cells *in vitro*, with an IC₅₀ value of 125.7 µg/mL. In a Balb/c mouse model of experimental breast tumor induced by 4T1 cells, treatment with PPC at doses of 200 and 400 mg/kg/day for 28 days revealed that the 400 mg/kg dose significantly slowed tumor growth from day 8 onward. Both doses markedly reduced primary tumor weight compared to the untreated group. TUNEL staining indicated that the PPC extract promoted apoptosis in tumor cells, a mechanism likely associated with the polyphyllin D component of the extract. These findings provide additional scientific evidence supporting the potential for developing *Paris polyphylla*-based products as a complementary treatment for breast cancer in Vietnam.

Keywords: *Paris polyphylla* var. *chinensis*; 4T1 cytotoxicity; Experimental breast cancer; Anti-tumor activity, TUNEL.

1. Đặt vấn đề

Theo thống kê đến năm 2025 của WHO, ung thư vú đã xuất hiện ở mọi quốc gia trên thế giới và là loại ung thư phổ biến nhất ở phụ nữ tại 157 quốc gia trong năm 2022. Tính đến năm 2022, khoảng 2,3 triệu phụ nữ đã được chẩn đoán mắc ung thư vú và gây tử vong cho 670.000 ca trên toàn cầu. Yếu tố nguy cơ của một nửa số ca ung thư vú ở phụ nữ chủ yếu là giới tính và tuổi tác. Khoảng 99% số ca mắc ung thư vú xảy ra ở nữ giới, chỉ khoảng 0,5 - 1% ca mắc ung thư vú là nam giới [1]. Tại Việt Nam, khoảng 24.600 ca ung thư vú mắc mới và hơn 10.000 ca tử vong do ung thư vú vào năm 2022. Các biện pháp điều trị ung thư vú hiện nay bao gồm phẫu thuật loại bỏ khối u, xạ trị để giảm nguy cơ tái phát ở vú và các mô xung quanh, kết hợp với điều trị nội khoa để diệt tế bào ung thư (liệu pháp hormone, hóa trị

hoặc liệu pháp điều trị hướng đích) [1]. Tuy nhiên, các phương pháp này thường đi kèm với nhiều tác dụng không mong muốn và vẫn tồn tại nguy cơ tái phát cao.

Bảy lá một hoa (*Paris polyphylla* var. *chinensis* - PPC), hay còn gọi là thất diệp nhất chi hoa, tào hưu, cửa dô (H'Mông) thuộc họ Bảy lá một hoa (Trilliaceae); phân bố ở Trung Quốc, Ấn Độ, Nepal và Myanmar. Ở Việt Nam, cây phân bố ở Mộc Châu (Sơn La), Đồng Văn (Hà Giang) và một số nơi khác. Nghiên cứu về thành phần hóa học của *Paris polyphylla* (PP) cho thấy saponin là thành phần chính của loài này, ngoài ra còn có các nhóm chất khác như anthraquinon, flavonoid, sterol, polyacetylen và 1 số hợp chất phenolic. Bảy lá một hoa được dân gian sử dụng trị viêm não nhiễm truyền, viêm mủ da, lao màng não, hen suyễn; còn dùng trị yết hầu, bạch hầu, trẻ em

lên sỏi có viêm phổi, quai bị, lồi dom. Nghiên cứu được lý cho thấy PPC có nhiều hoạt tính sinh học, như độc tế bào ung thư, hạ sốt, giảm đau, kháng vi sinh vật, cầm máu... trong đó nổi bật là tác dụng gây độc trên tế bào ung thư vú [2],[3],[4]. Về mặt cơ chế, PPC ức chế sự phát triển của các tế bào ung thư thông qua việc kích hoạt sự chết theo chương trình (apoptosis), hoạt hoá autophagy, bắt giữ chu trình tế bào, hoạt hóa các gen ức chế ung thư như connexin 26, ức chế sự bám dính, xâm lấn và di căn thông qua việc làm giảm biểu hiện của MMP-2 và MMP-9, và ức chế peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator (PGC)-1 alpha [2],[5]. Polyphyllin D là một saponin steroid chính trong rễ PPC, đã được chứng minh có khả năng ức chế sự sống sót của tế bào MCF-7 và MDA-MB-231 (với giá trị IC_{50} lần lượt là 5 và 2,5 μM) thông qua cơ chế kích hoạt apoptosis và thúc đẩy tự thực bào qua con đường JNK1/Bcl-2 [6],[7]. Nghiên cứu chỉ ra cây bảy lá một hoa là một dược liệu tiềm năng hướng đến điều trị ung thư vú đồng thời có thể mở ra các hướng nghiên cứu về bệnh ung thư khác.

Tại Việt Nam, Lý Hải Triều và cs. đã bước đầu chứng minh PPC có tác dụng giảm thể tích và khối lượng khối u trên mô hình chuột bị gây u vú bằng tế bào 4T1 nhưng không thay đổi về mô học khối u bằng phương pháp nhuộm H&E. Hơn nữa, trong nghiên cứu này chưa đánh giá được cơ chế gây giảm thể tích khối u của cao chiết PPC [8]. Do vậy, nghiên cứu của chúng tôi tiếp tục đánh giá về khả năng gây độc trên tế bào ung thư vú 4T1 cũng như cơ chế kháng u vú thực nghiệm nhằm cung cấp thêm những bằng chứng khoa học cho việc định hướng phát triển sản phẩm từ cây bảy lá một hoa ở Việt Nam.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu và chiết xuất

Cây bảy lá một hoa được thu hái tại Lào Cai (tháng 7/2017) và được giám định tên khoa học là *Paris polyphylla* var. *chinensis* Smith bởi Trung tâm Tài nguyên Dược liệu, Viện Dược liệu. Cao định chuẩn từ thân rễ bảy lá một hoa là sản phẩm của đề tài “Nghiên cứu cây bảy lá một hoa theo hướng hỗ trợ điều trị ung thư vú” do PGS.TS. Đỗ Thị Hà làm chủ nhiệm. Quy trình được mô tả tóm tắt như sau: Thân rễ bảy lá một hoa khô được chiết bằng ethanol 70% (3 lần, 2,5 giờ/lần). Dịch chiết được lọc, gộp và cô chân

không thu cao lỏng (2:1). Cao được loại tạp bằng phương pháp cồn-nước (thêm nước, để qua đêm), lọc lấy tủa và sấy khô thu cao định chuẩn (ký hiệu PPC), chứa hàm lượng tổng 4 hợp chất paris saponin H, paris saponin D, gracillin và polyphyllin D trên 10% và hiệu suất thu hồi saponin của toàn quy trình trên 70%.

2.2. Tế bào và động vật nghiên cứu

Dòng tế bào 4T1 có nguồn gốc từ ngân hàng tế bào Hoa Kỳ (CRL-2539TM, ATCC, Rockville, MD, USA) và được nuôi cấy trong môi trường DMEM có bổ sung 10% huyết thanh thai bò, 1% Penicillin/Streptomycin. Tế bào được nuôi cấy ở 37°C, 5% CO₂/95% độ ẩm cho đến khi phát triển tới mức phủ 70% bề mặt đĩa nuôi, cấy chuyển 3 lần để tế bào phát triển ổn định, lúc đó tế bào đã sẵn sàng để thực hiện thí nghiệm.

Chuột nhắt trắng, chủng Balb/c, giống cái, 6-8 tuần tuổi, cân nặng 18-20 g, khỏe mạnh, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm được cung cấp bởi công ty cổ phần Galovis quốc tế, thôn Thượng, xã Hồng Sơn, Hà Nội. Chuột được nuôi ổn định ở 22 ± 1°C, chu kỳ sáng tối là 12/12 h (chu kỳ sáng từ 7:00 - 19:00). Chuột được nuôi ổn định trong 7 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm.

2.3. Hóa chất và thuốc thử

Môi trường DMEM, Trypsin và Penicillin/Streptomycin 100x (Thermo Fisher Scientific Inc., Hoa Kỳ); huyết thanh thai bò (FBS, Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ); 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid (MTT, Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ); Doxorubicin (Sigma-Aldrich, Hoa Kỳ); kit Elabscience® One-step TUNEL *In Situ* Apoptosis (Elabscience, Hoa Kỳ) và các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn nghiên cứu.

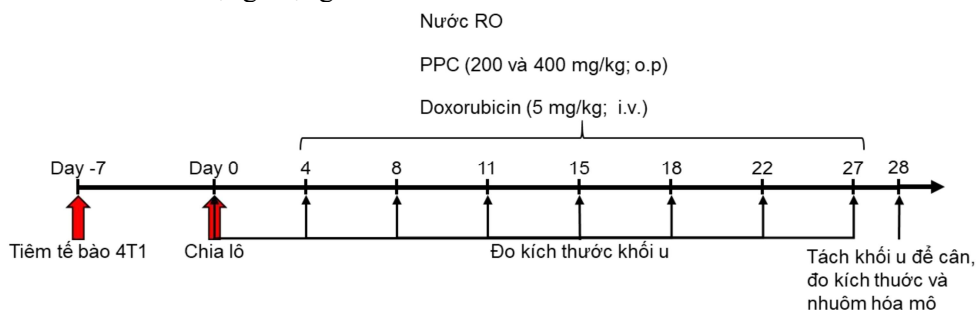
2.4. Phương pháp đánh giá tác dụng độc trên tế bào ung thư 4T1

Sau khi tế bào mọc được khoảng 80% đĩa nuôi cấy, Tách tế bào ra khỏi đĩa petri bằng trypsin-EDTA 0,05%, ủ ấm 2-3 phút. Hòa loãng dung dịch huyền phù bằng môi trường DMEM, rửa và đếm số lượng tế bào. Tái phân bố tế bào trong môi trường mới với mật độ 7x10³ tế bào/giếng vào đĩa 96 giếng, nuôi cấy ở 37°C/ 5% CO₂/95% độ ẩm trong 24h. Sau 24h, thêm vào mỗi giếng các nồng độ khác nhau của cao chiết dược liệu. Mỗi nồng độ được tiến hành thử nghiệm trên 3 giếng và thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần. 48h sau khi ủ mẫu, tiến hành đánh giá khả năng

sống sót của tế bào bằng thử nghiệm MTT [9]. Thử nghiệm MTT được mô tả ngắn gọn như sau: 20 μ L dung dịch MTT được thêm vào mỗi giếng tế bào, ủ trong 4h ở 37°C, 5% CO₂/ 95% độ ẩm, sau đó tiến hành đo mật độ quang ở bước sóng 570 nm bằng máy đọc microplate reader (Human, Mỹ). Mật độ quang phản ánh số tế bào sống, tính bằng % tế bào sống = $A_s/A_c \times 100$, trong đó A_s là mật độ quang của mẫu, A_c là mật độ quang của dung môi pha mẫu.

2.5. Phương pháp đánh giá tác dụng kháng u trên mô hình ung thư vú thực nghiệm gây bởi tế bào 4T1

Tiêm tế bào 1×10^6 tế bào 4T1 (pha trong 100 μ L môi trường DMEM) vào mô đệm tuyến vú số 4 [8],[10],[11]. Sau 7 ngày tiêm, khối u sẽ đạt thể tích khoảng 50-100 mm³, khi đó chuột được chia ngẫu nhiên thành 4 lô thí nghiệm (10 con/lô) dựa trên kích thước khối u và trọng lượng cơ thể.



Hình 1. Sơ đồ thiết kế thử nghiệm đánh giá tác dụng ức chế khối u *in vivo* của PPC

- Thể tích khối u = $(L \times W^2)/2$ (mm³), trong đó L là trục dài nhất và W là trục ngắn nhất của khối u.
- Phần trăm tăng trưởng khối u = $(V_i - V_0)/V_0 \times 100$, trong đó V_i : thể tích khối u ngày thứ i; V_0 : thể tích khối u ngày 0.
- Tỷ lệ phần trăm ức chế khối u = $(V_{BL} - V_T)/V_{BL} \times 100$, trong đó V_{BL} : thể tích khối u trung bình khối u sơ cấp của lô bệnh lý; V_T : thể tích khối u trung bình khối u sơ cấp của lô điều trị.

Phân tích mô bệnh học

Khối u sau khi được tách ra được cố định trong dung dịch formalin 10% trong 48 giờ ở nhiệt độ phòng, sau đó được xử lý đúc parafin và cắt thành các lát mỏng với độ dày 5 μ m. Mẫu mô được khử parafin bằng xylen, sau đó được hydrat hóa qua dãy ethanol với nồng độ giảm dần (100%, 95%, 90%, 80%, 75%). Tiếp theo tiêu bản được nhuộm H&E và TUNEL để đánh giá mức độ hoại tử và apoptosis.

Đánh giá hoại tử bằng phương pháp nhuộm H&E

- Lô chứng bệnh lý: chuột được tiêm tế bào 4T1 và uống nước RO hàng ngày trong suốt quá trình thí nghiệm.

- Lô điều trị: chuột được tiêm tế bào 4T1 và uống cao chiết PPC (liều 200 và 400 mg/kg) hàng ngày trong suốt quá trình thí nghiệm.

- Lô đối chứng dương: chuột được tiêm tế bào 4T1 và tiêm tĩnh mạch đuôi chuột với liều 5 mg/kg doxorubicin mỗi 4 ngày trong suốt quá trình thí nghiệm.

Các lô chuột được điều trị trong vòng 28 ngày, kích thước khối u được đo tại các thời điểm như trình bày trong Hình 1 và khối lượng cơ thể được theo dõi hàng tuần. Đo kích thước khối u bằng thước kẹp (caliper) để đo 2 đường kính vuông góc của khối u. Sau điều trị, khối u sơ cấp được tách để đo thể tích và khối lượng, đồng thời đánh giá hoại tử và apoptosis lần lượt bằng nhuộm H&E và TUNEL.

Các tiêu bản sau khi được hydrat hóa được rửa bằng nước cất và nhuộm Hematoxylin Harris trong 5 phút, tiếp đó rửa dưới vòi nước chảy 10 phút và nhuộm Eosin 1% trong 4 phút. Tiếp tục rửa 1 phút dưới vòi nước chảy, loại bỏ thuốc nhuộm thừa bằng ethanol 95-100% và tẩy ethanol bằng xylene. Mỗi lát cắt được nhỏ 1 giọt môi trường gắn Eprelia™ Aqua-Mount Slide Mounting Media (Hoa Kỳ) và gắn lamên. Hình ảnh tiêu bản được chụp bằng kính hiển vi soi ngược Olympus (Nhật Bản) với độ phóng đại 4 $\times$. Diện tích hoại tử trong toàn bộ lát cắt khối u được xác định bằng cách sử dụng phần mềm phân tích hình ảnh QuPath (<https://qupath.github.io>) trong đó vùng hoại tử và toàn bộ diện tích khối u được khoanh vùng riêng biệt. Tỷ lệ phần trăm diện tích hoại tử được tính toán bằng cách lấy diện tích vùng hoại tử chia cho tổng diện tích khối u, cung cấp chỉ số định lượng phản ánh mức độ tổn thương và hiệu quả điều trị trên mô khối u [12].

Đánh giá apoptosis bằng phương pháp nhuộm TUNEL

Thử nghiệm TUNEL được thực hiện bằng bộ kit One-step TUNEL In Situ Apoptosis Kit (Red, Elab Fluor® 594) nhằm phát hiện các tế bào chết theo chương trình trong mô khối u. Các tiêu bản sau khi hydrat hóa được rửa bằng PBS (3×5 phút), làm khô và xử lý với Proteinase K ở 37°C trong 20 phút. Các tiêu bản được ủ với dung dịch TdT Equilibration Buffer ở 37°C / 15 phút, tiếp tục ủ với dung dịch Label working solution ở 37°C / 60 phút trong điều kiện tránh ánh sáng. Sau khi rửa lại bằng PBS (3 lần, 5 phút/lần), phủ dung dịch mounting medium có chứa DAPI để nhuộm nhân và gắn lamén. Hình ảnh được chụp bằng kính hiển vi huỳnh quang (Olympus, Nhật Bản) ở độ phóng đại $40\times$ và tiến hành đếm số lượng tế bào dương tính với TUNEL và DAPI. Tỷ lệ apoptosis (%) được tính theo công thức:

Tỷ lệ apoptosis (%) = (số tế bào TUNEL dương tính/ tổng số tế bào nhuộm DAPI) $\times$ 100.

Chỉ số này phản ánh mức độ chết tế bào theo chương trình trong khối u, từ đó góp phần đánh giá hiệu quả gây độc tế bào của PPC.

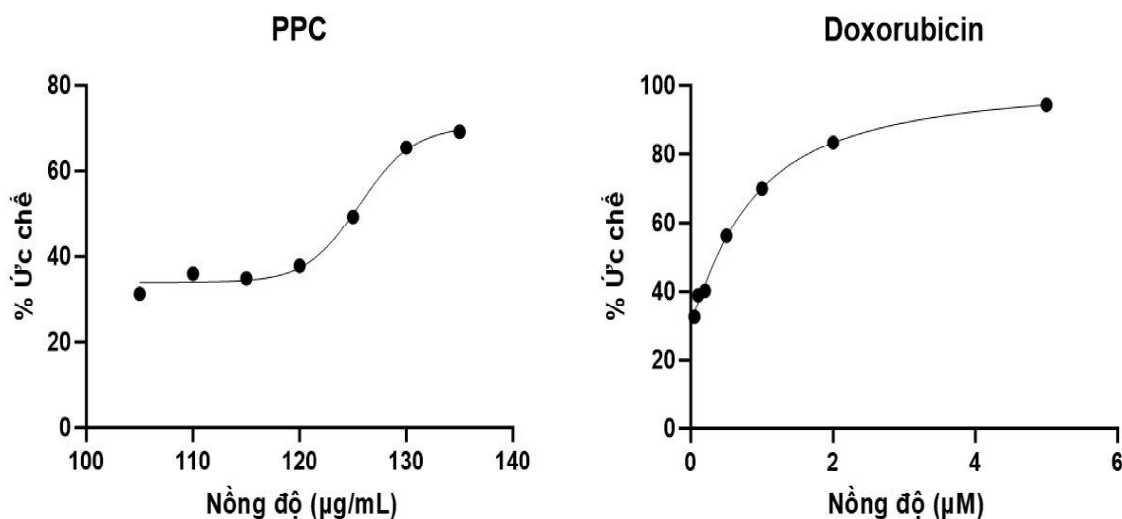
2.6. Xử lý số liệu

Các số liệu được trình bày ở dạng kết quả trung bình $\pm$ SEM. Phân tích thống kê được tính toán bằng phần mềm SPSS, sử dụng kiểm định one-way analysis of variance (ANOVA) tiếp theo bằng post hoc test (Tukey HSD, Dunnett's T3 hoặc LSD) hoặc Kruskal-Wallis test tùy từng trường hợp cụ thể. Giá trị $p < 0,05$ biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3. Kết quả

3.1. Tác dụng gây độc trên tế bào ung thư vú 4T1

Tác dụng của cao chiết bầy lá một hoa được tiến hành *in vitro* trên dòng tế bào ung thư vú 4T1 bằng phương pháp MTT. Kết quả ở Hình 2 cho thấy cao chiết PPC có tác dụng ức chế tăng sinh tế bào 4T1 với IC_{50} là 125,7 (123,4 - 128,0) $\mu\text{g/mL}$. Doxorubicin được sử dụng làm đối chứng dương với giá trị IC_{50} là 0,2423 (0,1456 - 0,3770) μM .



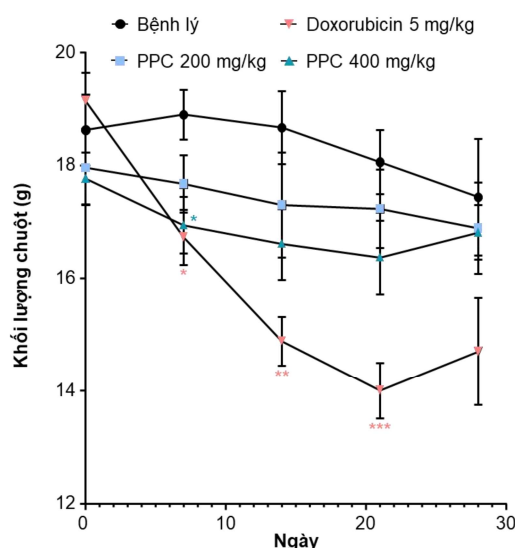
Hình 2. Biểu đồ % ức chế tăng sinh tế bào 4T1 theo nồng độ của cao chiết PPC và Doxorubicin ($n = 3/\text{lô}$).

3.2. Tác dụng ức chế khối u thực nghiệm trên chuột gây bởi tế bào 4T1

3.2.1. Khối lượng chuột, phần trăm tăng trưởng, khối lượng và phần trăm ức chế khối u sơ cấp:

Bảng 1 cho thấy trọng lượng chuột có xu hướng giảm dần qua các ngày. Trong đó, lô chuột

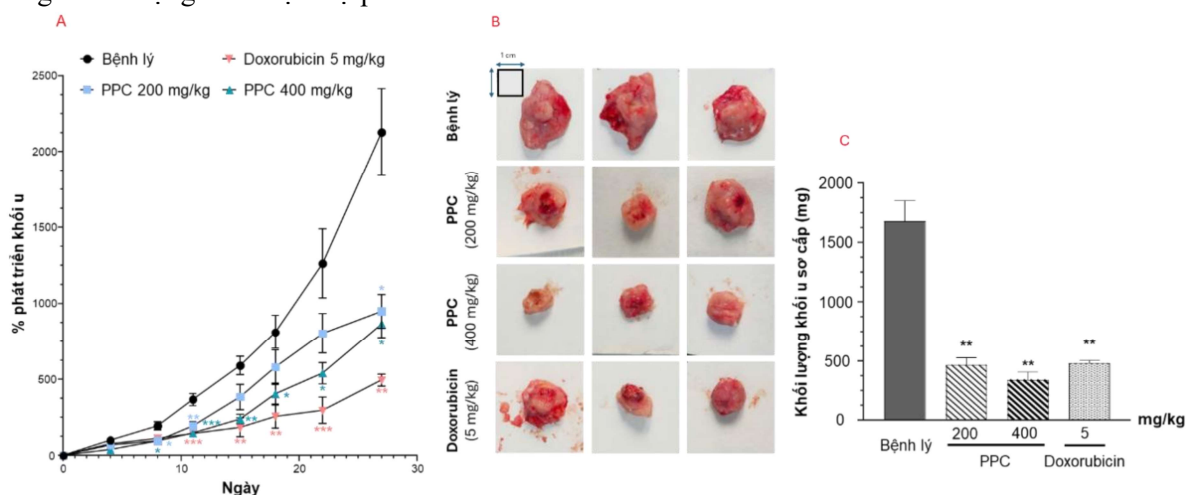
được điều trị bằng Doxorubicin giảm khối lượng nhiều nhất so với lô bệnh lý ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$). Các lô chuột được điều trị bằng cao chiết PPC có mức độ giảm khối lượng chuột không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô bệnh lý.



Hình 3. Khối lượng chuột theo các ngày điều trị (n = 7/lô)

Kết quả ở Hình 4A cho thấy khối u của lô bệnh lý có tốc độ tăng trưởng cao và tăng dần theo thời gian, trong khi đó, tốc độ tăng trưởng khối u của lô tiêm doxorubicin thấp nhất, tác dụng làm chậm quá trình phát triển khối u của doxorubicin bắt đầu có tác dụng từ khoảng ngày 11 đến ngày 15 sau khi điều trị. Cao chiết PPC cũng có tác dụng làm chậm sự phát triển của khối

u bắt đầu từ ngày thứ 8 sau khi điều trị ở cả hai mức liều ($p < 0,05$), tuy nhiên, những ngày sau chỉ cao chiết PPC liều 400 mg/kg mới có tác dụng làm chậm rõ rệt sự phát triển của khối u với giá trị p được chỉ ra trong Hình 4A, trong khi liều 200 mg/kg cũng có xu hướng làm chậm nhưng sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê.



Hình 4. Tác dụng ức chế khối u sơ cấp của PPC trên mô hình chuột Balb/c ung thư vú gây bởi tế bào 4T1. A) Phần trăm phát triển khối u theo từng ngày; B) Hình ảnh minh họa khối u sơ cấp sau khi bóc tách; C) Khối lượng khối u sơ cấp. (n = 7/lô); * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ so với lô bệnh lý ở cùng thời điểm

Kết quả khối lượng khối u sơ cấp ở Hình 4B cho thấy lô chuột bệnh lý có khối lượng u lớn nhất, trong khi lô chuột được điều trị bằng cao chiết PPC ở các mức liều và doxorubicin có khối lượng khối giảm đáng kể với sự khác biệt đạt ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

Kết quả phần trăm ức chế khối u ở Bảng 1 cho thấy lô chuột tiêm doxorubicin có phần trăm ức chế khối u cao rõ rệt từ ngày 11 và cao nhất ở ngày 22 với phần trăm ức chế là 74,17%. Cao chiết PPC ở mức liều 200 mg/kg có xu hướng ức chế khối u chưa rõ rệt trong những ngày đầu

nhưng tăng dần trong những ngày sau và đạt đỉnh ở ngày 27 với 51,77% ức chế khối u sơ cấp. Trong khi đó, cao chiết PPC ở mức liều 400

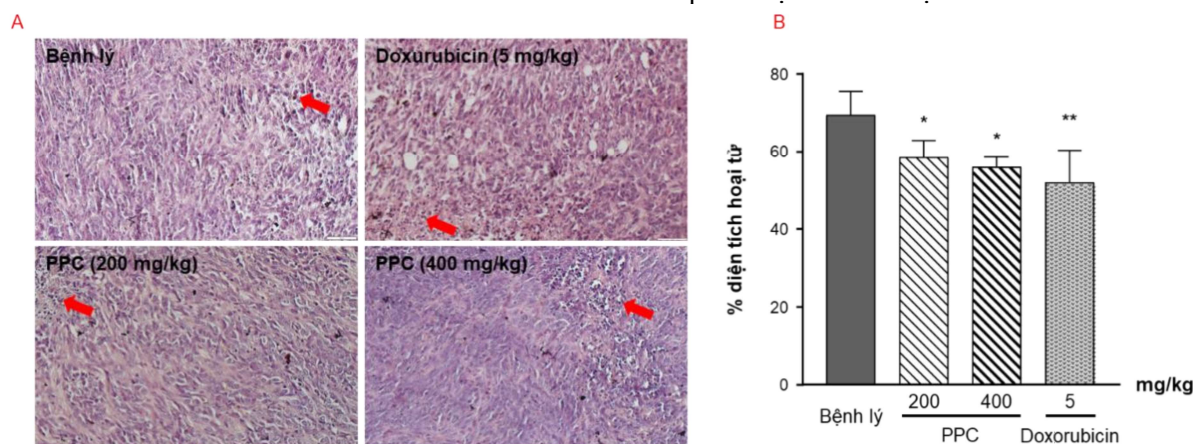
mg/kg có tác dụng ức chế khối u mạnh ngay từ ngày thứ 4 và cũng đạt đỉnh ở ngày 27 với khả năng ức chế 52,27% khối u sơ cấp.

Bảng 1. Phần trăm ức chế khối u của từng lô theo ngày (n = 7/lô)

Lô	% ức chế khối u							
	Ngày 0	Ngày 4	Ngày 8	Ngày 11	Ngày 15	Ngày 18	Ngày 22	Ngày 27
Bệnh lý	0	0	0	0	0	0	0	0
PPC (200 mg/kg)	0,90	13,93	31,11	33,47	35,36	33,53	30,01	51,77
PPC (400 mg/kg)	4,85	27,50	30,68	45,65	47,90	41,19	46,97	52,27
Doxorubicin (5 mg/kg)	-1,22	14,79	28,97	49,56	59,19	62,02	70,98	74,17

3.2.2. Mô bệnh học khối u sơ cấp:

Mô bệnh học khối u sơ cấp được đánh giá bằng phương pháp nhuộm H&E và nhuộm TUNEL. Kết quả nhuộm H&E được chỉ ra ở Hình 5.

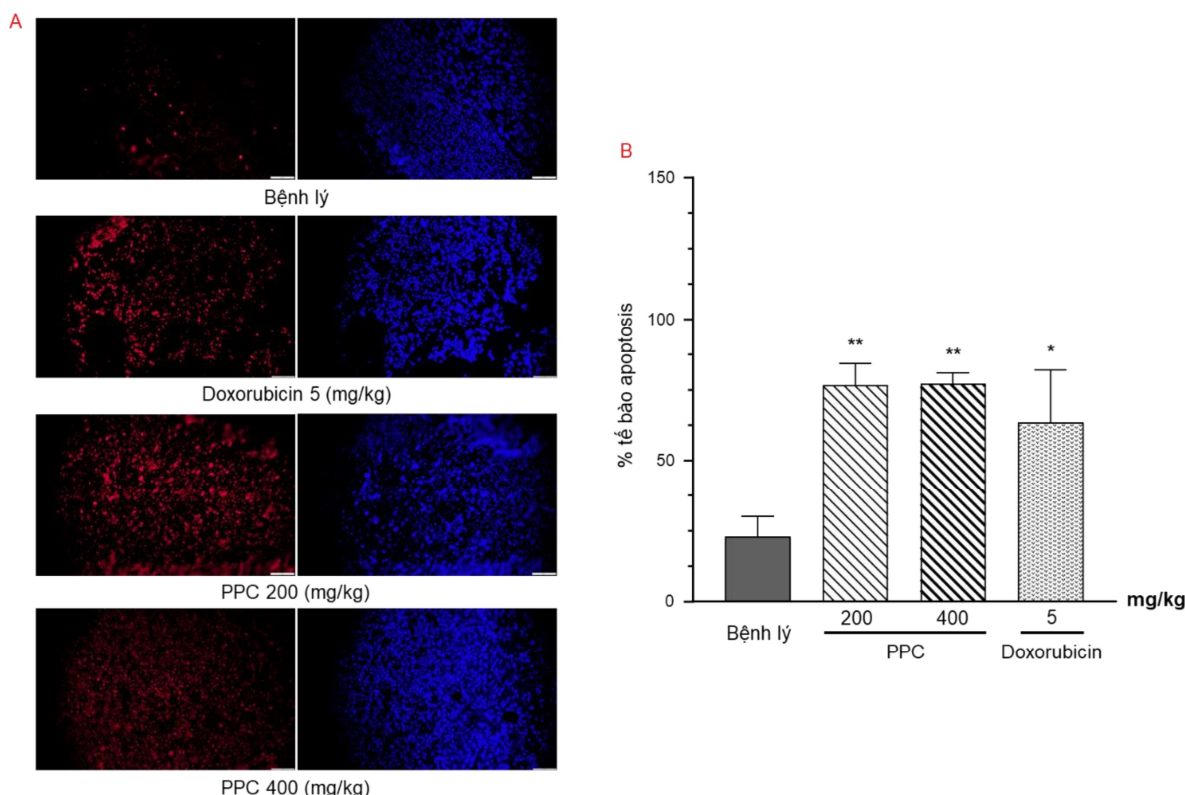


Hình 5. Kết quả nhuộm H&E. A) Hình ảnh nhuộm H&E (40x) của các lô thí nghiệm, mũi tên chỉ vị trí hoại tử; B) Phần trăm diện tích hoại tử của các lô (n = 4/lô, * $p < 0,05$ so với lô chứng bệnh lý).

Quan sát mô học trên các tiêu bản nhuộm H&E cho thấy các khối u 4T1 có đặc điểm phát triển chủ yếu dạng đặc (solid pattern), kèm theo các vùng hoại tử trung tâm rộng. Phân tích định lượng cho thấy sự khác biệt rõ rệt về tỷ lệ hoại tử giữa các nhóm thí nghiệm. Nhóm bệnh lý (không điều trị) có tỷ lệ hoại tử cao nhất, chiếm 69,32% tổng diện tích khối u. Điều trị bằng thuốc đối chứng dương doxorubicin cho thấy giảm đáng kể tỷ lệ hoại tử so với lô chứng bệnh lý (tỷ lệ hoại tử đạt 51,73%, $p < 0,01$). Điều trị bằng cao chiết PPC (liều 200 và 400 mg/kg) trong 28 ngày cũng làm giảm tỷ lệ hoại tử đáng kể, với giá trị lần lượt là 58,41% và 55,75% ($p < 0,05$). Kết quả này cho thấy các khối u không được điều trị phát triển

nhau và hình thành các vùng hoại tử trung tâm rộng, trong khi các can thiệp điều trị làm giảm tỷ lệ hoại tử trong khối u tại thời điểm đánh giá.

Phương pháp nhuộm TUNEL và được đánh giá thông qua phần trăm apoptosis. Kết quả ở Hình 6A cho thấy lô bệnh lý các tế bào dương tính TUNEL thừa thớt, hơn so với các nhóm được điều trị bằng PPC (200 và 400 mg/kg) và Doxorubicin (5 mg/kg). Kết quả phần trăm apoptosis ở Hình 6B cho thấy lô bệnh lý có phần trăm apoptosis thấp nhất. Các lô điều trị bằng cao chiết PPC (200 và 400 mg/kg) và Doxorubicin (5 mg/kg) đều cho phần trăm apoptosis cao hơn đáng kể ($p < 0,01$ và $p < 0,05$).



Hình 6. Kết quả nhuộm TUNEL. A) Hình ảnh nhuộm TUNEL và DAPI (40x) của các lô thí nghiệm; B) Phần trăm tế bào apoptosis của các lô (n = 4/lô); * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ so với lô chứng bệnh lý.

4. Bàn luận

Một số nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh bảy lá một hoa có tiềm năng hỗ trợ điều trị ung thư; nghiên cứu này nhằm mục đích bổ sung thêm những bằng chứng khoa học về tiềm năng gây độc tế bào ung thư và ức chế sự phát triển khối u vú thực nghiệm của dược liệu này ở Việt Nam. Trước khi tiến hành đánh giá trên mô hình động vật thực nghiệm, chúng tôi tiến hành đánh giá tác dụng ức chế tăng sinh trên tế bào 4T1. Kết quả cho thấy cao chiết có IC₅₀ vào khoảng 125,7 $\mu\text{g/mL}$, tương đương với các nghiên cứu trước đó [13]. Từ kết quả trên dòng tế bào 4T1, chúng tôi tiếp tục tiến hành đánh giá tác dụng ức chế khối u trên mô hình chuột BALB/c gây u vú bằng tế bào 4T1. Tế bào 4T1 là tế bào ung thư vú được tách ra từ khối u trên chuột BALB/c dương tính với MMTV (Mouse Mammary Tumor Virus). Dòng tế bào này có lợi thế gây ung thư cao, xâm lấn, dễ di căn đến các cơ quan khác và có thể gây ung thư vú tương tự trên người nên thường được sử dụng trong các nghiên cứu tác dụng ức chế khối u cũng như di căn trên động vật thực nghiệm [14].

Kết quả của nghiên cứu cho thấy cao chiết PPC có khả năng làm chậm sự phát triển của khối

u từ ngày thứ 8 sau khi uống, tuy nhiên chỉ có mức liều 400 mg/kg có tác dụng duy trì đến ngày 27. Cao chiết PPC ở mức liều 200 mg/kg có xu hướng làm giảm khối lượng khối u sơ cấp, tuy nhiên sự khác biệt này chưa đạt ý nghĩa thống kê. Trong khi đó, mức liều 400 mg/kg có tác dụng giảm khối lượng khối u sơ cấp rõ rệt. Kết quả phần trăm ức chế khối u qua các ngày cũng cho thấy mức liều 200 mg/kg của PPC có phần trăm ức chế thấp hơn nhưng tăng dần qua các ngày, trong khi mức liều 400 mg/kg có tác dụng ức chế khối u mạnh ngay từ ngày thứ 4 và cũng đạt đỉnh ở ngày 27. Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu trước đây của nhóm tác giả Lý Hải Triều và cs. [8].

Phương pháp nhuộm TUNEL được sử dụng để phát hiện các đầu 3'OH tự do của ADN. Trong quá trình apoptosis, ADN bị phân cắt thành các đoạn có độ dài xác định và có đầu 3'OH tự do. Do đó, phương pháp nhuộm TUNEL có thể phát hiện các tế bào trong quá trình apoptosis. Kết quả nhuộm TUNEL của nghiên cứu cho thấy cả hai mức liều của cao chiết PPC (200 và 400 mg/kg) đều làm tăng phần trăm tế bào apoptosis. Do đó,

khả năng ức chế khối u của cao chiết PPC có thể thông qua thúc đẩy quá trình tế bào chết theo chương trình. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đó trên cây *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [13]. Một nghiên cứu khác trên tế bào ung thư tuyến tiền liệt cũng cho thấy cao chiết cồn của bầy lá một hoa cũng có tác dụng gây apoptosis và ngăn chặn chu trình tế bào [4]. Tác dụng này có thể đến từ thành phần saponin, đặc biệt là polyphyllin D, đã được chứng minh trước đây có khả năng làm tăng apoptosis trên các dòng tế bào MCF-7 và MDA-MB-231 thông qua làm giảm biểu hiện của procaspase-9 và Bcl-2, trong khi làm tăng biểu hiện của Bax [7].

5. Kết luận

Cao định chuẩn bầy lá một hoa (*Paris polyphylla* var. *chinensis*) có tác dụng gây độc tế bào ung thư vú 4T1 với giá trị IC₅₀ là 125,7 µg/mL. Đồng thời cao chiết này có tác dụng ức chế sự phát triển của khối u trên mô hình chuột BALB/c bị gây u vú thực nghiệm bằng dòng tế bào 4T1 thông qua làm giảm đáng kể tốc độ phát triển và khối lượng khối u sơ cấp. Cơ chế ức chế sự phát triển khối u của cao chiết bầy lá một hoa có thể thông qua thúc đẩy quá trình apoptosis của tế bào ung thư.

Lời cảm ơn: Kết quả thu được trong nghiên cứu này là sản phẩm của đề tài cấp Viện dược liệu (2024-2026): “Triển khai mô hình ung thư vú in vivo trên chuột Balb/c bằng phương pháp cấy ghép tế bào 4T1 và áp dụng đánh giá tác dụng chống ung thư vú của một số dược liệu”.

Tài liệu tham khảo

1. World Health Organization (2025), *Breast cancer*.
2. He H., Zheng L., Sun Y. P., Zhang G. W., Yue Z. G. (2014), Steroidal saponins from *Paris polyphylla* suppress adhesion, migration and invasion of human lung cancer A549 cells via down-regulating MMP-2 and MMP-9, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(24), 10911-10916.
3. Lin L. T., Shi Y. C., Choong C. Y., Tai C. J. (2021), The fruits of *Paris polyphylla* inhibit colorectal cancer cell migration induced by *Fusobacterium nucleatum*-derived extracellular vesicles, *Molecules*, 26(13), 4081.
4. Zhang D., Li K., Sun C., Cao G., Qi Y., Lin Z., Guo Y., Liu Z., Chen Y., Liu J., Cheng G., Wang P., Zhang L., Zhang J., Wen J., Xu D., Kong F., Zhao S. (2018), Anti-cancer effects of *Paris polyphylla* ethanol extract by inducing cancer cell apoptosis and cycle arrest in prostate cancer cells, *Current Urology*, 11(3), 144-150.
5. Li F. R., Jiao P., Yao S. T., Sang H., Qin S. C., Zhang W., Zhang Y. B., Gao L. L. (2012), *Paris polyphylla* Smith. extract induces apoptosis and activates cancer suppressor gene connexin26 expression, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(1), 205-209.
6. Liu J., Liu Y., Li H., Wei C., Mao A., Liu W., Pan G. (2022), Polyphyllin D induces apoptosis and protective autophagy in breast cancer cells through JNK1-Bcl-2 pathway, *Journal of Ethnopharmacology*, 282, 114591.
7. Lee M. S., Yuet-Wa J. C., Kong S. K., Yu B., Eng-Choon V. O., Nai-Ching H. W., Chung-Wai T. M., Fung K. P. (2005), Effects of polyphyllin D, a steroidal saponin in *Paris polyphylla*, in growth inhibition of human breast cancer cells and in xenograft, *Cancer Biology & Therapy*, 4(11), 1248-1254.
8. Ly H. T., Le T. L., Nguyen T. T., Do T. T., Tran V. T., Vu T. D., Ngo T. T., Nguyen M. K., Do T. H. (2025), Tác dụng kháng u của cao định chuẩn bầy lá một hoa trên mô hình chuột bị gây u vú thực nghiệm bằng tế bào 4T1, *Tạp chí Dược liệu*, 30(1), 30-36.
9. Mosmann T. (1983), Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, *Journal of Immunological Methods*, 65(1), 55-63.
10. Nesrine M., Cindy R., Jingxuan S., Aurélie M., Silvia G., Malorie P., Lucile D., Elise B., Caroline T., Romain B., François H., Valentin D., Mélanie B., Frédérique V., Lotfi C., François G., Ali B., Catherine P. (2023), GTN enhances antitumor effects of doxorubicin in TNBC by targeting the immunosuppressive activity of PMN-MDSC, *Cancers*, 15(12), 3129.
11. Yang S., Zhang J. J., Huang X. Y. (2012), *Mouse Models for Tumor Metastasis, Rational Drug Design: Methods and Protocols*. Humana Press, Totowa, 221-228.
12. Rodrigues-Jesus J., Canadas-Sousa A., Santos M., Oliveira P., Figueira A. C., Marrinhas C., Petrucci G. N., Gregório H., Tinoco F., Goulart A., Felga H., Vilhena H., Dias-Pereira P. (2024), Level of necrosis in feline mammary tumors: How to quantify, Why and for what purpose?, *Animals*, 14(22), 3280.
13. Li H. L., Yan C. P., Qi J. S., Zhang S., Guo D. Q., Gu W. C., Wu Y. M., Wu Y., Zhou N. (2023), Analysis of the heavy metal contents' effect on steroidal saponins and the anti-breast cancer activity of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*, *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1277395.
14. Pulaski B. A., Ostrand-Rosenberg S. (2000), Mouse 4T1 breast tumor model, *Current Protocols in Immunology*, 39(1), 20.2.1-20.2.16.