

ISSN 1859 - 4735



TẠP CHÍ DƯỢC LIỆU

JOURNAL OF MEDICINAL MATERIALS

SỐ 1 - TẬP 30
2/2025

VIỆN DƯỢC LIỆU
NATIONAL INSTITUTE OF MEDICINAL MATERIALS

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

Trang	NGHIÊN CỨU KHOA HỌC	Page	SCIENTIFIC RESEARCH
3	Thành phần hóa học lá cây <i>Maesa chisia</i> D. Don (Primulaceae) - Đỗ Thị Thủy, Nguyễn Thành Công, Bùi Thu Hà, Nguyễn Hoàng Nam, Nguyễn Quốc Vương, Đỗ Thị Hà, Anna Stojakowska, Lê Nguyễn Thành	3	Chemical Constituents from the Leaves of <i>Maesa chisia</i> D. Don. (Primulaceae) - Do Thi Thuy, Nguyen Thanh Cong, Bui Thu Ha, Nguyen Hoang Nam, Nguyen Quoc Vuong, Do Thi Ha, Anna Stojakowska, Le Nguyen Thanh
8	Thành phần hóa học cao chiết ethyl acetat lá cây khô - Nguyễn Thị Hồng Anh, Nguyễn Thị Huệ, Phạm Thanh Huyền, Lại Việt Hưng, Nguyễn Văn Tài	8	Chemical Constituents from the Ethyl Acetate Extract of <i>Artisia gigantifolia</i> Stapf. Leaves - Nguyen Thi Hong Anh, Nguyen Thi Hue, Pham Thanh Huyen, Lai Viet Hung, Nguyen Van Tai
12	Thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu thân giả loài <i>Conanomonium vietnamense</i> - Ngô Thị Thủy, Trần Trung Hiếu, Ngũ Thị Trà Giang, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Hoàng Tuấn, Nguyễn Văn Thu	12	Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from the pseudo-stems of <i>Conanomonium vietnamense</i> - Ngo Thi Thuy, Tran Trung Hieu, Ngui Thi Tra Giang, Nguyen Thi Thu, Nguyen Hoang Tuan, Nguyen Van Thu
18	Chiết xuất, phân lập và đánh giá tác dụng ức chế α -glucosidase <i>in vitro</i> và <i>in silico</i> của ginsenosid Rd trong sâm Việt Nam - Chử Lương Luân, Nguyễn Thị Văn Anh, Đặng Hoàng Hiệp, Đặng Thị Ngần, Nguyễn Thị Hoàng Anh, Nguyễn Ngọc Hiếu, Vũ Văn Tuấn, Phạm Hà Thanh Tùng, Nguyễn Hữu Tùng	18	Study on Extraction, Isolation and α -Glucosidase Inhibition <i>in vitro</i> and <i>in silico</i> of Ginsenoside Rd from Vietnamese ginseng (<i>Parax vietnamensis</i> Ha & Grushv.) - Chu Luong Lun, Nguyen Thi Van Anh, Dang Hoang Hiep, Dang Thi Ngan, Nguyen Thi Hoang Anh, Nguyen Ngoc Hieu, Vu Van Tuan, Pham Ha Thanh Tung, Nguyen Huu Tung
24	Tối ưu hóa quy trình chiết xuất để bào chế cao đặc Tan thông phong dựa trên chất đánh dấu berberin clorid - Bùi Hồng Cường, Bùi Thị Ngọc Huyền	24	Optimization of the Extraction Process for Preparing the Tan thông phong Viscous Extract Based on Marker Berberine Chloride - Bui Hong Cuong, Bui Thi Ngoc Huyen
30	Tác dụng kháng u của cao khô định chuẩn bảy lá một hoa trên mô hình chuột bị gây u vú thực nghiệm bằng tế bào 4T1 - Lý Hải Triều, Lê Thị Loan, Nguyễn Thị Thu, Đỗ Thị Thảo, Trần Văn Thông, Vũ Thị Diệp, Ngô Thị Thủy, Nguyễn Minh Khôi, Đỗ Thị Hà	30	Antitumor Effect of Standardized Extract of <i>Paris polyphylla</i> var. <i>chinensis</i> Smith in 4T1 Cell-Induced Breast Tumor Mouse Model - Ly Hai Trieu, Le Thi Loan, Nguyen Thi Thu, Do Thi Thao, Tran Van Thong, Vu Thi Diep, Ngo Thi Thuy, Nguyen Minh Khoi, Do Thi Ha
37	Tác dụng cải thiện suy giảm trí nhớ của cao chiết lá chè đắng liên quan đến sự phục hồi biểu hiện của gen PIK3R2 trên mô hình chuột bị thoái hóa thần kinh gây bởi trimethyltin - Phạm Thị Nguyệt Hằng, Lê Khánh Duy, Nguyễn Văn Hiệp, Phạm Linh Chi, Lê Thị Xoa, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Trần Mai Phương, Lê Minh Khôi	37	Effect of <i>Ilex kudingcha</i> C.J. Tseng Extract on Improving Memory Deficits Associated with the Restoration of PIK3R2 Gene Expression in Mice Model of Trimethyltin-Induced Neurodegeneration - Pham Thi Nguyet Hang, Le Khanh Duy, Nguyen Van Hiep, Pham Linh Chi, Le Thi Xoa, Nguyen Thi Phuong, Nguyen Tran Mai Phuong, Le Minh Khoi
43	Tác dụng chống lão hóa da của mỹ phẩm đắp mặt chứa cao dương xỉ và astaxanthin trên mô hình thực nghiệm - Lê Hồng Oanh, Nguyễn Thị Lê, Phạm Thị Kiều Dung, Đoàn Thị Nguyệt, Nguyễn Thị Thanh Hà, Phạm Thị Văn Anh, Phương Thiên Thương, Mai Thị Nga	43	The Anti-Aging Effect on Skin of Cosmetic Products Containing <i>Dryopteris crassirhizoma</i> Extract and Astaxanthin in a Mouse Experiment Model - Le Hong Oanh, Nguyen Thi Le, Pham Thi Kieu Dung, Doan Thi Nguyet, Nguyen Thi Thanh Ha, Pham Thi Van Anh, Phuong Thien Thuong, Mai Thi Nga
48	Tác dụng kháng viêm và kích thích miễn dịch của cao chiết và tinh dầu từ quả cây nhàu - Võ Thị Bạch Tuyết, Trần Thị Duoc, Nguyễn Thị Thu Hương	48	Anti-Inflammatory and Immunostimulating Effects of Crude Extract and Essential Oil from <i>Morinda citrifolia</i> Fruit (Noni) - Vo Thi Bach Tuyet, Tran Thi Duoc, Nguyen Thi Thu Huong
54	Khảo sát tác dụng an thần, giải lo âu của cao chiết từ thành phần dược liệu gồm: xấu hổ, vông nem, hậu phác nam và cam thảo nam trên mô hình chuột bị stress cô lập - Hứa Hoàng Oanh, Trần Thị Hồng Hải, Trần Thị Bích Hiền, Phạm Tấn Bảo	54	A Survey on the Sedative and Anxiolytic Effects of the Extract from Herbal Medicine Ingredients Including <i>Herba Mimosae pudicae</i> , <i>Folium Erythrinae variegatae</i> , <i>Cortex Cinnamomi iners</i> , <i>Herba et Radix Scopariae</i> by Employing a Social Isolation Stress Model in Mice - Hua Hoang Oanh, Tran Thi Hong Hai, Tran Thi Bích Hiền, Pham Tan Bao
60	Đa dạng cây thuốc tỉnh Bắc Giang - Phạm Thanh Huyền, Đặng Minh Tú, Nguyễn Quỳnh Nga, Lại Việt Hưng, Nguyễn Văn Hiếu, Phan Văn Trường, Nhâm Minh Phúc, Nguyễn Hoàng, Nguyễn Khương Duy, Trần Quang Thi, Trần Ngọc Bích, Ngô Hoàng Diệp, Trương Đức Đáng	60	Diversity of Medicinal Plants in Bac Giang Province - Pham Thanh Huyen, Nguyen Quynh Nga, Lai Viet Hung, Nguyen Van Hieu, Phan Van Truong, Nam Minh Phuc, Nguyen Hoang, Nguyen Khuong Duy, Tran Quang Thi, Tran Ngoc Bích, Ngo Hoang Diep, Truong Duc Dang

đã xây dựng có độ tin cậy cao. Phương pháp này đã chứng tỏ tính hiệu quả trong việc rút ngắn thời gian, giảm công sức cũng như chi phí do số thí nghiệm phải thực hiện giảm đi đáng kể. Việc xác định vùng tối ưu (hay không gian thiết kế) thay cho xác định điểm (hay chỉ một điều kiện chiết xuất) tối ưu mang lại tính linh hoạt trong việc cải tiến và nâng cấp quy trình chiết xuất ở các bước nghiên cứu tiếp theo.

5. Kết luận

Quy trình chiết xuất hồi lưu để bào chế cao đặc phương thuốc Tán thống phong được tối ưu về hàm lượng và hiệu suất chiết berberin clorid sử dụng thiết kế thí nghiệm D-optimal và phương pháp mạng neuron nhân tạo. Các thông số của quy trình chiết xuất tối ưu được xác định gồm: Tỷ lệ dung môi/được liệu là 8 ml/g, nồng độ ethanol là 90%, thời gian chiết 90 phút, và số lần chiết là 3.

Tài liệu tham khảo

1. Bộ Y tế (2020), *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh theo y học cổ truyền kết hợp y học cổ truyền và y học hiện đại* (Ban hành kèm theo Quyết định số 5013/QĐ-BYT, ngày 01/12/2020 của Bộ trưởng Bộ Y tế).
2. Chinese Pharmacopoeia Commission (2020), *Pharmacopoeia of the people's republic of China*. Vol. I, China Medical Science Press, 7, 34, 64, 109, 350, 441, 1571.
3. Naz H., Naz S., Miraj R., Zaheer A., Zam N., Mughail I. S., Khan A. W., Ishaq M., Sundas F., Hanif M. (2021), The effect of berberine, a drug from chinese folk medicine, on serum and urinary uric acid levels in rats with hyperuricemia, *Cureus*, 13(2), doi:10.7759/cureus.13186.
4. Li Q., Huang Z., Liu D., Zhang J., Xie J., Chen J., Zeng H., Su Z., Li Y. (2021), Effect of berberine on hyperuricemia and kidney injury: A network pharmacology analysis and experimental validation in a mouse model, *Drug Design, Development and Therapy*, 15, 3241 - 3254.
5. Liu Y. F., Wen C. Y., Chen Z., Wang Y., Huang Y., Tu S. H. (2016), Effects of berberine on NLRP3 and IL-1 β expressions in monocytic THP-1 cells with monosodium urate crystals-induced inflammation, *BioMed Research International*, doi: 10.1155/2016/2503703.
6. Neag M. A., Mocan A., Echeverría J., Pop R. M., Bocsan C. I., Crisan G., Buzoianu A. D. (2018), Berberine: Botanical occurrence, traditional uses, extraction methods, and relevance in cardiovascular, metabolic, hepatic, and renal disorders, *Front. Pharmacol.*, 9, doi: 10.3389/fphar.2018.00557.
7. Lievense R. (2018), *Pharmaceutical quality by Design Using JMP®: Solving Product Development and Manufacturing Problems*, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
8. Bui Hong Cuong, Do Hoang Yen, Pham Thai Ha Van (2022), Quantitative determination of berberine hydrochloride in the Tan Thong Phong viscous extracts by HPLC, *Journal of Medicinal Materials*, 27(2), 117 - 123.
9. AOAC (2016), *Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements*, AOAC International, Rockville, MD, USA.
10. ICH (2005), *ICH harmonised tripartite guideline. Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1)*, International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use.
11. ICH (2009), *ICH harmonised tripartite guideline. Pharmaceutical Development Q8(R2)*, International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use.

Tạp chí Dược liệu, tập 30, số 1/2025 (Trang 30 - 36)

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

Lý Hải Triều^{1,2}, Lê Thị Loan², Nguyễn Thị Thu², Đỗ Thị Thảo³, Trần Văn Thông^{1,2}, Vũ Thị Diệp², Ngô Thị Thúy⁴, Nguyễn Minh Khởi², Đỗ Thị Hà^{2,*}

¹Trung tâm Sâm và Dược liệu thành phố Hồ Chí Minh, Viện Dược liệu;

²Viện Dược liệu; ³Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;

⁴Bệnh viện Đại học Y Hà Nội;

*Email: hado.nimms@gmail.com

(Nhận bài ngày 02 tháng 01 năm 2025)

Tóm tắt

Bầy lá một hoa (*Paris polyphylla* var. *chinensis* Smith) là dược liệu có tác dụng kháng ung thư nổi bật bởi các cơ chế phân tử khác nhau. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá tính an toàn và tác dụng kháng u của cao định chuẩn từ thân rễ bầy lá một hoa (PPCE) trên mô hình chuột bị gây u vú bằng tế bào 4T1. Tính an toàn của PPCE được đánh giá thông qua thử nghiệm độc tính cấp đường uống. Tác dụng kháng u của PPCE được đánh giá trên chuột BALB/c gây khối u bằng cách tiêm tế bào ung thư vú 4T1 vào mô mỡ đệm tuyến vú. Chuột mang khối u được điều trị bằng PPCE ở liều uống 100, 200 và 400 mg/kg/ngày hoặc doxorubicin ở liều tiêm 5 mg/kg/ngày (3 ngày một lần) trong 28 ngày liên tục. Kết quả nghiên cứu cho thấy PPCE có độc tính cấp đường uống với LD₅₀ là 9,73 g/kg. PPCE ở liều 400 mg/kg làm giảm đáng kể thể tích khối u sau 21 và 28 ngày điều trị với phần trăm ức chế khối u trên 50% so với lô bệnh lý. PPCE ở liều 200 và 400 mg/kg làm giảm đáng kể trọng lượng khối u sau 28 ngày điều trị. Tuy nhiên, tác động của PPCE ở các liều khảo sát trên giải phẫu mô bệnh học khối u chưa rõ ràng. Các kết quả của nghiên cứu này đã cung cấp bằng chứng về tác dụng kháng u vú của PPCE trên mô hình chuột BALB/c bị gây u vú bằng tế bào 4T1, cho thấy tiềm năng hướng đến nghiên cứu ứng dụng sản phẩm hỗ trợ điều trị ung thư vú của dược liệu này.

Từ khóa: Bầy lá một hoa, Cao định chuẩn, Kháng u, Ung thư vú, tế bào 4T1.

Summary

Antitumor Effect of Standardized Extract of *Paris polyphylla* var. *chinensis* Smith in 4T1 Cell-Induced Breast Tumor Mouse Model

Paris polyphylla var. *chinensis* Smith is a medicinal herb with prominent anticancer effect by various molecular mechanisms. This study was conducted to evaluate the safety and antitumor effect of quantified dried extract of *Paris polyphylla* var. *chinensis* Smith rhizomes (PPCE) in 4T1 cell-induced breast tumor mouse model. The safety of PPCE was

evaluated by acute oral toxicity test. The antitumor effect of PPCE was evaluated in BALB/c mice that were tumorigenic by injecting 4T1 breast cancer cells into the mammary adipose tissue. These mice were administered PPCE at oral doses of 100, 200, and 400 mg/kg/day or doxorubicin at an injection dose of 5 g/kg/day (once every three days) for 28 consecutive days. The study results showed that PPCE had acute oral toxicity with an LD₅₀ of 9.73 g/kg. PPCE at a dose of 400 mg/kg significantly reduced tumor volume after 21 and 28 days of treatment with a tumor inhibition percentage of over 50% compared to the pathological group. PPCE at doses of 200 and 400 mg/kg remarkably reduced tumor weight after 28 days of treatment. However, the effects of PPCE at the tested doses on tumor histopathology were unclear. The results of this study provided evidence of the anti-breast tumor effect of PPCE in the 4T1 cell-induced breast tumor BALB/c mouse model, indicating the potential for research into the application of this medicinal plant as a product to support breast cancer treatment.

Keywords: *Paris polyphylla* var. *chinensis* Smith, Standardized extract, Antitumor, Breast cancer, 4T1 cells.

1. Đặt vấn đề

Ung thư là một trong những gánh nặng y tế hàng đầu trên toàn cầu với khoảng 20 triệu ca mắc mới và 9,7 triệu ca tử vong trên thế giới trong năm 2022. Ung thư đang trở thành nguyên nhân gây tử vong hàng đầu ở nhiều quốc gia, đặc biệt là tại các nước phát triển và đang phát triển [1]. Tại Việt Nam, ung thư đã tăng gấp 3 lần trong khoảng ba thập kỷ qua, với tỷ lệ mắc cao nhất ở các loại ung thư như phổi, gan, dạ dày, vú và cổ tử cung [2]. Trong đó, ung thư vú là loại ung thư phổ biến nhất ở phụ nữ trên toàn cầu. Trên thế giới, ung thư vú chiếm khoảng 11,6% tổng số ca ung thư mới, với tỷ lệ mắc ngày càng gia tăng, đặc biệt ở các nước có thu nhập trung bình và thấp [1]. Tại Việt Nam, ung thư vú là loại ung thư phổ biến nhất ở phụ nữ, chiếm khoảng 20 - 25% tổng số ca ung thư ở nữ giới. Mặc dù tỷ lệ mắc còn thấp so với các nước phát triển, tuy nhiên tỷ lệ này đã gia tăng đáng kể trong hai thập kỷ qua. Trong ung thư vú, có khoảng 13% được phân loại là bộ ba âm tính (Triple-negative breast cancer), tế bào ung thư phát triển và lan rộng nhanh hơn, liệu pháp điều trị hạn chế hơn và tiên lượng cũng xấu hơn so với các loại ung thư vú xâm lấn khác [3]. Mặc dù các phương pháp điều trị hiện nay như phẫu thuật, hóa trị và xạ trị đã đạt được một số tiến bộ, tuy nhiên chúng thường đi kèm với các tác dụng phụ và tỷ lệ tái phát cao. Do đó, việc tìm kiếm các phương pháp điều trị hiệu quả, ít tác dụng phụ hơn từ nguồn gốc tự nhiên đang là xu hướng được quan tâm trên toàn thế giới. Nhiều thảo dược đã được chứng minh có khả năng tăng cường miễn dịch, gây apoptosis tế bào ung thư, ức chế quá trình hình thành mạch máu và giảm tác dụng phụ của liệu pháp hóa trị. Khi kết hợp với hóa trị, thảo dược có thể nâng cao hiệu quả điều trị, giảm tác dụng phụ và nâng cao chất lượng sống cho bệnh nhân [4].

Việt Nam là một quốc gia có nguồn thảo dược và kinh nghiệm sử dụng cây thuốc trong dân gian phong phú. Trong đó, Báy lá một hoa (*Paris polyphylla* var. *chinensis* Smith) hay còn gọi là Thất diệp nhất chi hoa có chứa các hợp chất saponin có tác dụng tốt trong ức chế sự phát triển của các tế bào ung thư. Chẳng hạn như, polyphyllin D (0,5-2 μ M) ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư vú MCF-7 và MDA-MB-468 thông qua cảm ứng apoptosis phụ thuộc caspase, tự thực bởi kích hoạt con đường JNK1/Bcl-2. Polyphyllin D 2,73 mg/kg có hiệu quả trong việc giảm kích thước khối u ở chuột BALB/c suy

giảm miễn dịch mang khối u do tế bào MCF-7 mà không gây độc tính đáng kể trên gan và tim [5]. Polyphyllin D ức chế tăng sinh của tế bào ung thư vú MCF-7 và MDA-MB-231 với IC₅₀ tương ứng là 5 μ M và 2,5 μ M bởi cơ chế gây apoptosis và bất giữ chu kỳ tế bào [6]. Paris saponin H, paris saponin II và gracillin có tác dụng ức chế tế bào ung thư vú MCF-7 với IC₅₀ tương ứng là 8,52, 8,14 và 2,21 μ M [7]. Cao chiết ethanol và paris saponin II từ thân rễ Báy lá một hoa tại vùng núi phía Bắc Việt Nam có tác dụng gây độc tế bào ung thư vú MCF-7 bởi cơ chế apoptosis và bất giữ chu kỳ tế bào ở pha G1/S [8]. Kết quả nghiên cứu của nhóm cũng cho thấy cao định chuẩn và một số hợp chất saponin từ thân rễ Báy lá một hoa có tác dụng gây độc tế bào MDA-MB-231, MCF-7 và 4T1 mạnh với giá trị IC₅₀ nhỏ hơn 20 μ g/mL (dữ liệu chưa công bố). Với nguồn dược liệu sẵn có của Báy lá một hoa ở các vùng núi phía Bắc Việt Nam tạo thuận lợi cho việc khai thác và nghiên cứu tiềm năng ứng dụng của dược liệu này trong điều trị ung thư. Trong điều kiện thí nghiệm tại Việt Nam, nghiên cứu này tiến hành đánh giá tiền lâm sàng tính an toàn và tác dụng kháng u của cao định chuẩn từ thân rễ Báy lá một hoa trên mô hình chuột BALB/c bị gây u vú bằng tế bào 4T1.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu và chiết xuất

Toàn cây Báy lá một hoa được thu hái vào tháng 11/2017 tại Lào Cai, được xác định tên khoa học là *Paris polyphylla* var. *chinensis* Smith. Thân rễ được tách riêng, làm sạch, để ráo nước và sấy ở nhiệt độ 55°C đến khối lượng không đổi. Các mẫu được bảo quản trong túi kín hút chân không ở nhiệt độ phòng.

Cao định chuẩn từ thân rễ Báy lá một hoa được điều chế theo quy trình sau: Thân rễ Báy lá một hoa khô được chiết với ethanol 70% x 3 lần; thời gian chiết 2,5 giờ. Lọc loại bã dược liệu và gộp các dịch chiết, cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được cao lỏng (2:1). Loại tạp bằng phương pháp cồn nước bằng cách thêm nước vào cao lỏng, phân tán đều, để qua đêm, lọc lấy tủa. Sấy khô tủa thu được cao định chuẩn với 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. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino* khỏe mạnh, cả đực và cái, có trọng lượng 20 ± 2 g được cung cấp bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung

ương. Chuột được sử dụng trong nghiên cứu thử nghiệm độc tính cấp đường uống của PPCE. Chuột được nuôi ổn định 3 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm. Chuột cái chủng BALB/c khỏe mạnh, từ 6 - 7 tuần tuổi, có trọng lượng 20 ± 2 g được cung cấp bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương. Chuột được sử dụng trong nghiên cứu tác dụng kháng u của PPCE. Chuột được nuôi ổn định 1 tuần trước khi tiến hành thử nghiệm. Các thí nghiệm trên động vật tuân thủ “Hướng dẫn chăm sóc và sử dụng động vật trong phòng thí nghiệm”, thực hiện theo hướng dẫn của Bộ Y tế [9] và đảm bảo tuân thủ nguyên tắc 3R (Reduction-Replacement-Refinement).

2.3. Hóa chất và thuốc thử

Môi trường RPMI 1640 và trypsin (Gibco BRL, Grand Island, NY, Mỹ), huyết thanh thai bò (FBS) và Penicillin/streptomycin (Biochrom). Doxorubicin (Sigma-Aldrich, Mỹ), formol 10%, parafin, hematoxylin/eosin, ethanol 96% (Công ty Cổ phần Dược phẩm OPC, Việt Nam) và các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn nghiên cứu.

2.4. Khảo sát độc tính cấp đường uống của PPCE

Thử nghiệm được thực hiện theo “Phương pháp xác định độc tính của thuốc” của tác giả Đỗ Trung Đàm (2014) [10]. Trước khi thử nghiệm, chuột được nhịn đói qua đêm nhưng vẫn được cho uống nước bình thường. Mẫu được cân một lượng chính xác rồi nghiền với một thể tích nước nhất định để đạt được đậm độ có thể cho chuột uống. Cho chuột uống bằng cách dùng bơm tiêm kim cong đầu tù để đưa thẳng cao chiết một cách nhẹ nhàng vào dạ dày chuột. Thử nghiệm được tiến hành để xác định liều LD_0 (không làm chết chuột thí nghiệm) và LD_{100} (làm chết 100% số chuột thí nghiệm). Chuột được chia thành 5 lô ($n=10$) với 5 mức liều bao gồm 3 liều trung gian giữa các liều LD_0 và LD_{100} để tính liều LD_{50} (sử dụng cộng thức của Karber Behrens). Sau khi được uống mẫu thử, chuột được cho ăn và uống đầy đủ. Theo dõi và quan sát các biểu hiện về hành vi, hoạt động, ăn uống, bài tiết của chuột và số chuột sống chết trong 3 ngày (72 giờ). Công thức tính LD_{50} theo Karber Behrens như sau:

$$LD_{50} = LD_{100} - \Sigma a \times b / N; \text{ Trong đó:}$$

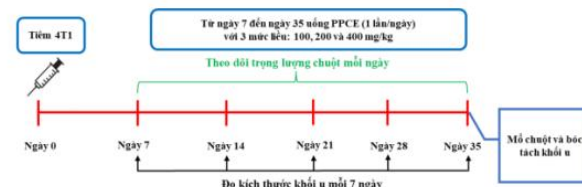
- LD_{50} : Liều chết 50% động vật thí nghiệm
 LD_{100} : Liều thấp nhất gây chết 100% động vật thí nghiệm
 N : Số động vật trong một nhóm
 a : Sự khác biệt về liều giữa hai liều liên tiếp
 b : Tỷ lệ tử vong trung bình của hai nhóm liên tiếp

2.5. Khảo sát tác dụng ức chế khối u của PPCE trên mô hình chuột bị gây u tuyến vú bằng dòng tế bào 4T1

Tế bào 4T1 được nuôi trong môi trường RPMI 1640 có bổ sung 10% FBS và 1% penicillin/streptomycin ở 37°C và 5% CO_2 , sau khi tế bào mọc tốt tiến hành lấy tế bào và tiêm vào mô đệm ở khu vực tuyến vú chuột với

mật độ 5×10^5 tế bào/chuột. Sau 5 ngày tiêm tế bào (có thể phát hiện thấy khối u tế bào ở khu vực tiêm), chuột được phân lô ngẫu nhiên và bắt đầu được cho uống PPCE liều các liều khác nhau, trong khi lô chứng bệnh lý chỉ uống nước cất [11],[12]. Chuột mang khối u được chia thành các lô thử nghiệm ($n=10$), như sau:

1. Lô chứng bệnh lý: Chuột được tiêm tế bào 4T1 và uống nước cất với thể tích 0,3 mL/chuột/ngày trong 28 ngày liên tục.
2. Lô đối chiếu (Doxorubicin): Chuột được tiêm tế bào 4T1 và tiêm doxorubicin liều 5 mg/kg/ngày (3 ngày một lần) trong 28 ngày.
3. Các lô thử: Chuột được tiêm tế bào 4T1 và uống PPCE ở liều 100, 200 và 400 mg/kg/ngày trong 28 ngày liên tục (PPCE100, PPCE200 và PPCE400).



Hình 1. Thiết kế thử nghiệm đánh giá tác dụng kháng u *in vivo* của PPCE

Chuột được theo dõi cân nặng hàng ngày và đo kích thước khối u sơ cấp tại vị trí tiêm 7 ngày/lần theo phương pháp của Kimura. Thể tích khối u được tính theo công thức: $V = a \times b^2 / 2$; trong đó, V là thể tích khối u, a là chiều dài khối u, b là chiều rộng khối u. Khả năng ức chế khối u của PPCE so với lô chứng bệnh lý được tính theo công thức: (%) Ức chế = $[(A-B)/A] \times 100$; trong đó, A là thể tích khối u trung bình của lô chuột bệnh lý và B là thể tích khối u trung bình của lô chuột uống mẫu thử. Kết thúc thử nghiệm, khối u sơ cấp được bóc tách để xác định trọng lượng bằng cân phân tích và phân tích mô bệnh học (Hình 1).

2.6. Phân tích mô bệnh học

Các khối u sơ cấp và phổi của chuột ở các lô thử nghiệm được thu và bảo quản trong dung dịch formol 10%. Tiêu bản mô bệnh học các mô được thực hiện tại Khoa giải phẫu bệnh, Bệnh viện 103. Mẫu bệnh phẩm được đúc trong paraffin, cắt lát mỏng và nhuộm hematoxylin/eosin (H-E). Tiêu bản mô bệnh học được quan sát dưới kính hiển vi để xác định sự di căn của tế bào ung thư đến phổi. Các tế bào ung thư được xác định là những tế bào có nhân lớn, méo mó, tăng sắc, tương bào hẹp và mật độ nhân chia cao.

2.7. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý trên Microsoft Excel 2016, được trình bày dạng $\text{mean} \pm \text{SE}$. Các phép kiểm thống kê Student's t-test, F-test và phương pháp phân tích phương sai một yếu tố ngẫu nhiên (One-way ANOVA) bằng phần mềm GraphPad Prism (phiên bản 8.0.1, Inc., La Jolla, Mỹ) để kiểm tra sự khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng bệnh lý, với $p < 0,05$ được coi là sai khác có ý nghĩa.

3. Kết quả

3.1. Độc tính cấp đường uống của PPCE

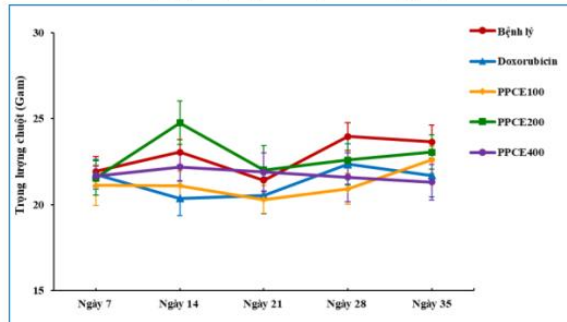
Kết quả ở Bảng 1 cho thấy liều LD₀ của PPCE là 7,00 g/kg, liều LD₁₀₀ là 13,75 g/kg. Liều LD₅₀ được tính toán là 9,73 g cao/kg chuột. Sau khi uống PPCE, chuột có các biểu hiện ngộ độc tùy theo mức liều uống. Ở mức liều thấp (7,00 g/kg) không nhận thấy có biểu hiện ngộ độc, sau 72 giờ theo dõi tất cả chuột đều khỏe mạnh và không có chuột nào chết. Ở mức liều trong khoảng từ 8,80 đến 11,00 g/kg, một số chuột có biểu hiện ít vận động sau 6 - 7 giờ cho uống, một số chuột chết sau khi uống khoảng 18 - 48 giờ. Sau 24 giờ, số chuột không chết vẫn ăn uống hoạt động bình thường trở lại. Chuột được cho uống PPCE liều 13,75 g/kg có biểu hiện ít vận động, không ăn uống và sau 2 giờ đã xuất hiện chuột chết. Giải phẫu chuột chết không phát hiện sự bất thường về tim, gan và thận.

Bảng 1. Kết quả thử độc tính cấp đường uống của PPCE

Lô thử nghiệm	Liều uống (g cao/kg chuột)	Số chuột chết/sống (con)	Tỷ lệ chuột chết (%)
1	7,00	0/10	0
2	8,80	3/7	30
3	9,90	7/3	70
4	11,00	8/2	80
5	13,75	10/0	100

3.2. Tác dụng ức chế khối u của PPCE trên chuột gây u tuyến vú bằng dòng tế bào 4T1

3.2.1. Trọng lượng chuột thử nghiệm:



Hình 2. Trọng lượng chuột thí nghiệm tại các thời điểm khảo sát

Bảng 2. Phần trăm ức chế sự phát triển khối u của PPCE tại các thời điểm sau khi tiêm tế bào 4T1 (%)

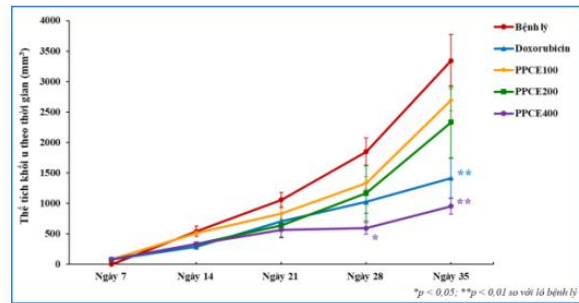
STT	Lô thử nghiệm	Ngày 7	Ngày 14	Ngày 21	Ngày 28	Ngày 35
1	Bệnh lý	0	0	0	0	0
2	Doxorubicin	0,92	46,68	32,94	44,58	57,64
3	PPCE100	1,64	4,84	21,53	27,72	19,32
4	PPCE200	0,34	38,34	39,66	36,79	30,16
5	PPCE400	-0,87	38,71	46,33	67,86	71,47

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy lô chuột được điều trị bằng PPCE liều 200 và 400 mg/kg đã ức chế tốt sự phát triển của khối u sau 14 ngày điều trị. Lô chuột được điều trị bằng PPCE liều 200 mg/kg có phần trăm ức chế khối u duy trì từ 30 - 40% trong 28 ngày điều trị. Trong khi đó, PPCE liều 400 mg/kg có phần

Kết quả ở Hình 2 cho thấy trọng lượng chuột trung bình ở các lô thử nghiệm không có sự thay đổi rõ ràng trong suốt thời gian thử nghiệm và trọng lượng chuột giữa các lô thử nghiệm cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Kết quả này cho thấy gây u tuyến vú bằng dòng tế bào 4T1 và điều trị chuột mang khối u bằng PPCE hay doxorubicin ở liều khảo sát không ảnh hưởng đến trọng lượng chuột.

Sự phát triển của khối u là một chỉ tiêu rất quan trọng để đánh giá khả năng kháng u của mẫu nghiên cứu. Do đó, khả năng ức chế sự phát triển khối u của PPCE được đánh giá thông qua thể tích và trọng lượng khối u sơ cấp. Bên cạnh đó, tác dụng của PPCE còn được đánh giá thông qua sự thay đổi đặc điểm mô bệnh học khối u sơ cấp và sự di căn mô phổi.

3.2.2. Thể tích khối u sơ cấp:

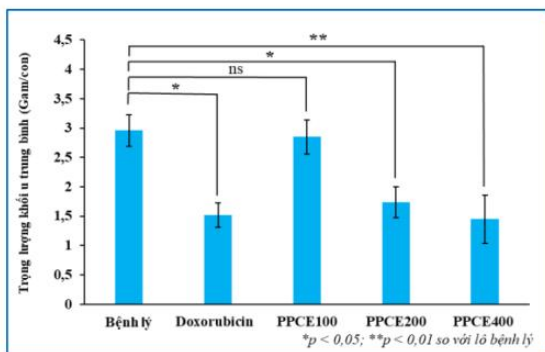


Hình 3. Quá trình phát triển của khối u ở các lô thử nghiệm

Kết quả ở Hình 3 cho thấy khối u sơ cấp ở lô bệnh lý phát triển nhanh và đạt thể tích 3343,35 mm³ sau 28 ngày thử nghiệm kể từ khi uống mẫu nghiên cứu. Trong khi đó, chuột mang khối u được điều trị bằng PPCE liều 400 mg/kg có thể tích khối u giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý sau ngày 21 ($p < 0,05$) và ngày 28 ($p < 0,01$) điều trị. Thể tích khối u ở lô chuột được điều trị bằng doxorubicin 5 mg/kg cũng giảm có ý nghĩa thống kê so với lô bệnh lý sau 28 ngày điều trị ($p < 0,01$).

trăm ức chế khối u tăng dần theo thời gian và ức chế 71,47% sự phát triển của khối u so với lô chứng bệnh lý. Doxorubicin cho thấy tác động ức chế tốt sự phát triển của khối u sau 7 ngày điều trị và duy trì ở mức 30 - 60% ức chế sự phát triển khối u.

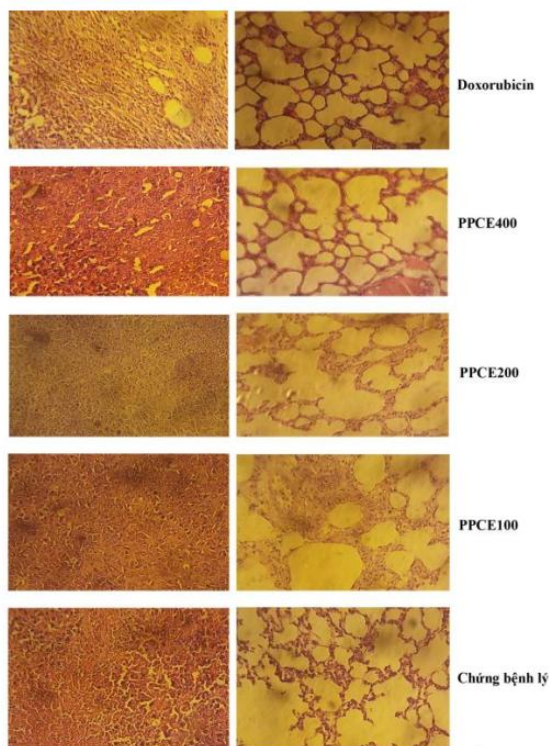
3.2.4. Trọng lượng khối u sơ cấp:



Hình 4. Tác dụng của PPCE lên trọng lượng khối u sơ cấp tại thời điểm 28 ngày điều trị

Kết quả nghiên cứu cho thấy trọng lượng khối u ở lô chuột được điều trị bằng PPCE liều 200 và 400 mg/kg sau 28 ngày đã giảm đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và tương đương với thuốc đối chiếu doxorubicin. PPCE liều 100 mg/kg không có tác dụng làm giảm trọng lượng khối u so với lô chứng bệnh lý (Hình 4).

3.2.5. Mô bệnh học khối u sơ cấp và phổi:



Hình 5. Hình ảnh đại diện vi thể khối u sơ cấp (bên trái) và phổi (bên phải) chuột ở các lô thử nghiệm sau 28 ngày điều trị

Tiêu bản mô bệnh học của khối u sơ cấp ở cả 5 lô thử nghiệm cho thấy cấu trúc khối u của các tế bào biểu mô có nhân lớn, méo mó, tăng sắc, tương bào hẹp tạo thành các đám lớn, mật độ nhân chia cao, mô đệm u rất ít. U có nơi xâm lấn mô mỡ, ngoài u có vùng còn thấy một số ống tuyến có cấu trúc bình thường. Tuy nhiên ở lô

chứng bệnh lý, tế bào ung thư liên kết với nhau, phân bố khuếch tán và xen kẽ với chất nền. Ở lô chuột được điều trị với PPCE, có giới hạn giữa tế bào ung thư và các mô xung quanh rõ ràng. Mặt khác, mô bệnh học của các mẫu phổi cho thấy không có hình ảnh tế bào ung thư di căn ở cả 5 lô thử nghiệm (Hình 5).

4. Bàn luận

Bảy lá một hoa (*P. polyphylla* var. *chinensis* Smith) là một dược liệu có tiềm năng lớn trong điều trị ung thư do sự tồn tại của nhiều hợp chất có tác dụng gây độc hay ức chế sự phát triển của tế bào ung thư, đặc biệt là các hợp chất saponin. Đánh giá độc tính cấp là bước quan trọng để xác định ngưỡng an toàn trước khi ứng dụng được liệu này trong y học. Nghiên cứu này đã tiến hành đánh giá độc tính cấp đường uống của PPCE trên chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino* để tìm mức liều an toàn và các biểu hiện ngộ độc nếu có. Kết quả cho thấy PPCE an toàn ở mức liều dưới 7 g/kg, không gây biểu hiện bất thường về hành vi, hoạt động hay tổn thương cơ quan nội tạng chuột. Điều này cho thấy khả năng sử dụng PPCE ở liều điều trị thấp mà không ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe. Ở liều cao hơn từ 8,8 g/kg, chuột bắt đầu xuất hiện các triệu chứng ngộ độc như giảm vận động, không ăn uống và tử vong. Tuy nhiên, không phát hiện tổn thương đáng kể ở các cơ quan quan trọng như gan, tim và thận. Điều này có thể cho thấy nguyên nhân tử vong không phải do tổn thương nội tạng mà có thể liên quan đến tác động hệ thống như rối loạn chuyển hóa hoặc tác động trên thần kinh. Kết quả của nghiên cứu này cũng khá tương đồng với nghiên cứu của Krishna và cs. thử độc tính cấp của cao chiết Bảy lá một hoa trên chuột cống, liều từ 0,3 - 2 g/kg không gây chết chuột trong suốt 14 ngày thử nghiệm, chuột cũng cho thấy giảm vận động trong 15 phút đầu tiên sử dụng cao chiết, có thể thấy sự ức chế nhẹ thần kinh của cao chiết [13]. Liều LD₅₀ của PPCE là 9,73 g/kg nên các liều điều trị nhỏ hơn LD₅₀/10 vẫn có thể an toàn. Mặc dù nghiên cứu này đã cung cấp được dữ liệu về độc tính cấp của PPCE; tuy vậy, các thử nghiệm độc tính dài ngày cũng nên được tiến hành để đánh giá mức độ an toàn của PPCE khi sử dụng lâu dài.

Các nghiên cứu trước đây đã cho thấy cao chiết và hợp chất từ thân rễ Bảy lá một hoa có tác dụng ức chế sự phát triển của nhiều dòng tế bào ung thư; trong đó, tác dụng tốt được phát hiện trên các dòng tế bào ung thư vú như MCF-7, MDA-MB-231 và 4T1. Do đó, để hướng đến nghiên cứu ứng dụng PPCE trong hỗ trợ điều trị ung thư vú, nghiên cứu này tiến hành đánh giá tác dụng ức chế sự phát triển khối u của PPCE trên mô hình chuột BALB/c bị gây u vú bằng dòng tế bào 4T1. Trong điều kiện thực hiện nghiên cứu này tại Việt Nam, dòng tế bào ung thư vú 4T1 được lựa chọn vì đây là dòng tế bào ung thư vú ở chuột được tách từ chuột BALB/c bị

ung thư giai đoạn IV, tương thích với hệ thống miễn dịch của chuột BALB/c, cho phép nghiên cứu tác động trong các mô hình chuột với hệ miễn dịch nguyên vẹn, giúp đánh giá các tương tác giữa khối u và hệ miễn dịch, cũng như thử nghiệm các liệu pháp miễn dịch so với các dòng tế bào ung thư vú người như MCF-7, MDA-MB-231 hay T47D. Tế bào 4T1 có tốc độ phát triển nhanh, hình thành khối u trong thời gian ngắn sau khi cấy ghép, thuận lợi cho việc đo lường sự phát triển khối u và di căn một cách hiệu quả, hỗ trợ đánh giá tác động của các liệu pháp chống ung thư. Mặt khác, sự phát triển khối u và sự di căn của các tế bào ung thư vú 4T1 ở chuột BALB/c khá tương đồng với ung thư vú ở người, khối u này được xem như là một mô hình động vật cho nghiên cứu ung thư vú giai đoạn IV ở người; các khối u được tạo thành bởi tế bào ung thư vú 4T1 có thể được sử dụng làm mô hình nghiên cứu phù hợp với ung thư vú ở người sau phẫu thuật cũng như không phẫu thuật vì khối u gây ra bởi dòng tế bào 4T1 di căn một cách tự nhiên trong cả hai mô hình có động lực học tương tự [14],[15]. Kết quả nghiên cứu cho thấy PPCE ở liều 400 mg/kg ($<LD_{50}/10$ và $<LD_0/10$) làm giảm đáng kể thể tích khối u sau 21 và 28 ngày điều trị với phần trăm ức chế khối u trên 50% so với lô bệnh lý, PPCE ở liều 200 và 400 mg/kg làm giảm đáng kể trọng lượng khối u sau 28 ngày điều trị. Kết quả mô bệnh học trong nghiên cứu này cũng cho thấy tế bào ung thư trong khối u sơ cấp ở lô chuột được điều trị bằng PPCE có sự giới hạn giữa tế bào ung thư với các mô xung quanh rõ ràng và khác biệt so với lô bệnh lý, kết quả này cũng tương tự với lô đối chiếu sử dụng doxorubicin. Tế bào 4T1 có khả năng di căn tự nhiên từ tuyến vú đến các cơ quan khác như phổi, gan, xương và não, tương tự như ung thư vú giai đoạn cuối ở người [16]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này chưa ghi nhận tình trạng di căn phổi của tế bào ung thư.

Tác dụng kháng ung thư của PPCE có thể do sự tồn tại của các hợp chất có tác dụng kháng ung thư trong cao chiết tạo nên, đặc biệt là các hợp chất saponin. Các paris saponin I, II, VI và VII ức chế sự tăng sinh và di căn của tế bào nội mô mạch máu, thông qua việc điều chỉnh các con đường truyền tín hiệu như VEGFR2, PI3K/Akt/mTOR và JAK2/STAT3, góp phần làm giảm nguồn cung cấp máu cho khối u [17]. Polyphyllin D, một saponin chính được tìm thấy trong Bảy lá một hoa, đã được chứng minh có khả năng gây apoptosis các tế bào ung thư vú MCF-7 và MDA-MB-231 do làm giảm điện thế màng ty thể và kích hoạt caspase-9 [6]. Paris saponin VII làm tăng hiệu quả của thuốc hóa trị adriamycin bằng cách ức chế P-glycoprotein (có tác dụng như là bơm đẩy thuốc (efflux)) và thúc đẩy apoptosis trong dòng tế bào MCF-7/ADR kháng adriamycin [18]. Polyphyllin VI được

chứng minh có khả năng ức chế di căn dòng tế bào ung thư vú 4T1 bằng cách điều chỉnh microRNA-18a và tăng cường biểu hiện Rell2, một yếu tố chống di căn. Trong mô hình chuột, polyphyllin VI giảm rõ rệt khả năng di căn của tế bào ung thư [19]. Paris saponin II cũng đã được chứng minh tăng cường hiệu quả của các thuốc hóa trị như cisplatin trên dòng tế bào ung thư vú 4T1, bằng cách kích hoạt apoptosis và các con đường liên quan đến stress lưới nội chất, góp phần giảm kháng thuốc [20]. Paris saponin XA-2 kích hoạt quá trình tự thực bào và thúc đẩy apoptosis đối với các dòng tế bào ung thư vú MCF-7 và MDA-MB-231, liên quan đến việc ức chế con đường tín hiệu Akt/mTOR [21]. Saponin steroid từ Bảy lá một hoa cũng làm giảm sản sinh ROS (Reactive Oxygen Species) và các cytokin viêm như TNF- α , IL-6, và TGF- β 1, hỗ trợ quá trình apoptosis của tế bào ung thư và cải thiện phản ứng viêm trong điều trị ung thư trên chuột [22]. Nghiên cứu của Wang và cs. cho thấy saponin từ Bảy lá một hoa có khả năng ức chế khối u ở chuột mang khối u H22 với tỷ lệ ức chế lên tới 42,6%, so với thuốc đối chiếu cisplatin đạt 53,9% [23]. Cao chiết xuất ethanol của Bảy lá một hoa không chỉ cảm ứng apoptosis mà còn tăng hiệu quả của thuốc hóa trị như 5-FU và Oxaliplatin trên dòng tế bào ung thư gan SMMC-7721 [24].

Doxorubicin là một trong những thuốc hóa trị được sử dụng rộng rãi để điều trị nhiều loại ung thư do tác động ngăn cản sự sao chép DNA thông qua cơ chế ức chế topoisomerase II. Doxorubicin gây tổn thương DNA và cảm ứng apoptosis tế bào ung thư thông qua nhiều con đường khác nhau, bao gồm sản sinh ROS và hoạt hóa caspase [25], là một thuốc đối chiếu nổi bật trong các nghiên cứu tiền lâm sàng, giúp so sánh hiệu quả của các phương pháp điều trị mới. Tuy nhiên, doxorubicin có thể gây độc tính trên tim và có thể dẫn đến suy tim trong điều trị dài hạn [26]. Ngoài ra, một số tế bào ung thư phát triển khả năng kháng lại doxorubicin, làm giảm hiệu quả điều trị. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng kết hợp doxorubicin với các chất điều hòa microRNA hoặc các chất ức chế P-glycoprotein có thể khắc phục vấn đề này [27]. Trong nghiên cứu này, trên mô hình chuột BALB/c mang khối u có nguồn gốc từ tế bào ung thư vú 4T1, PPCE liều 400 mg/kg ức chế khối u lên tới 71,47%, cao hơn doxorubicin (57,64%). Các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy Bảy lá một hoa có cơ chế kháng ung thư đa mục tiêu do tồn tại của nhiều hợp chất kháng ung thư bởi các cơ chế khác nhau, bao gồm cả apoptosis, bất giữ chu kỳ tế bào, chống viêm và ức chế hình thành mạch máu, trong khi doxorubicin chủ yếu tập trung vào phá hủy ADN nên doxorubicin cũng thường được kết hợp với các liệu pháp khác để giảm tác dụng phụ và tăng hiệu quả. Do đó, các nghiên cứu về

PPCE như là một liệu pháp tiềm năng để bổ sung hoặc thay thế cho doxorubicin có thể được xem xét tiến hành, đặc biệt ở những bệnh nhân cần giảm tác dụng phụ.

5. Kết luận

Cao định chuẩn Bảy lá một hoa (*Paris polyphylla* var. *chinensis* Smith) có LD₅₀ là 9,73 g/kg trên chuột nhắt trắng chủng *Swiss albino*. Cao định chuẩn Bảy lá một hoa liều 400 mg/kg

có khả năng 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 thể tích và trọng lượng khối u.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài cấp Bộ Y tế “Nghiên cứu cây Bảy lá một hoa (*Paris polyphylla* var. *chinensis* Smith.) theo hướng hỗ trợ điều trị ung thư vú”, mã số 50/HĐ-K2ĐT ngày 11/8/2017.

Tài liệu tham khảo

1. Bray F., Laversanne M., Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Soerjomataram I., Jemal A. (2024), Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229-263.
2. Pham T., Bui L., Kim G., Hoang D., Tran T., Hoang M. (2019), Cancers in Vietnam—Burden and control efforts: A narrative scoping review, *Cancer Control*, 26(1), 1073274819863802.
3. Plasilova M. L., Hayse B., Killelea B. K., Horowitz N. R., Chagpar A. B., Lannin D. R. (2016), Features of triple-negative breast cancer: Analysis of 38,813 cases from the national cancer database, *Medicine*, 95(35), e4614.
4. Ye L., Jia Y., Ji K. E., Sanders A. J., Xue K., Ji J., Mason M. D., Jiang W. G. (2015), Traditional Chinese medicine in the prevention and treatment of cancer and cancer metastasis, *Oncology Letters*, 10(3), 1240-1250.
5. 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.
6. 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.
7. Phí Thị Xuyên, Phạm Thị Nguyệt Hằng, Nguyễn Thị Phương, Đỗ Thị Hà, Nguyễn Minh Khôi, Phương Thiện Thương (2020), Đánh giá độc tế bào của ba chất tinh khiết tách từ bảy lá một hoa (*Paris polyphylla* var. *chinensis* Smith.) và CT-1 tách từ khô sâm cho lá (*Croton tonkinensis* Gagnep.) *in vitro* và xác định cơ chế gây chết của CT-1, gracillin trên tế bào ung thư tụy PANC-1, *Tạp chí Dược học*, 525(60), 50-56.
8. Duyen N. T., Vinh L. B., Phong N. V., Khoi N. M., Ha D. T., Long P. Q., Dung L. V., Hien T. T., Dat N. T., Lee K. Y. (2022), Steroid glycosides isolated from *Paris polyphylla* var. *chinensis* aerial parts and paris saponin II induces G1/S-phase MCF-7 cell cycle arrest, *Carbohydrate Research*, 519, 108613.
9. Bộ Y tế (2015), Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu, Quyết định 141/QĐ-K2ĐT, 27/10/2015.
10. Đỗ Trung Đàm (2014), *Phương pháp xác định độc tính của thuốc*, NXB Y học, Hà Nội.
11. Mabrouk N., Racœur C., Shan J., Massot A., Ghione S., Privat M., Dondaine L., Ballot E., Truntzer C., Boidot R., Hermetet F., Derangère V., Bruchard M., Végran F., Chouchane L., Ghiringhelli F., Bettaieb A., Paul C. (2023), GTN Enhances antitumor effects of doxorubicin in TNBC by targeting the immunosuppressive activity of PMN-MDSC, *Cancers (Basel)*, 15(12), 3129.
12. Yang S., Zhang J. J., Huang X. Y. (2012), Mouse models for tumor metastasis, *Methods in Molecular Biology*, 928, 221-228.
13. Krishna A. B., Sharma N., Sharma V. K., Manikam H. K. (2015), Acute oral toxicity study of *Paris polyphylla* extract in rats, *International Journal of Phytomedicine*, 7, 359-365.
14. Pulaski B. A., Ostrand-Rosenberg S. (2001), Mouse 4T1 breast tumor model, *Current Protocols in Immunology*, Chapter 20, Unit 20.22.
15. Gao Z. G., Tian L., Hu J., Park I. S., Bae Y. H. (2011), Prevention of metastasis in a 4T1 murine breast cancer model by doxorubicin carried by folate conjugated pH sensitive polymeric micelles, *Journal of Controlled Release*, 152(1), 84-89.
16. Tao K., Fang M., Alroy J., Sahagian G. G. (2008), Imagable 4T1 model for the study of late stage breast cancer, *BMC Cancer*, 8, 228.
17. Wang W., Liu Y., You L., Sun M., Qu C., Dong X., Yin X., Ni J. (2020), Inhibitory effects of Paris saponin I, II, VI and VII on HUVEC cells through regulation of VEGFR2, PI3K/AKT/mTOR, Src/eNOS, PLCγ/ERK/MERK, and JAK2-STAT3 pathways, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110750.
18. Li Y., Sun Y., Tang T., Niu Y., Li X., Xie M., Jin H., Mei Q. (2019), Paris saponin VII reverses chemoresistance in breast MCF-7/ADR cells, *Journal of Ethnopharmacology*, 232, 47-54.
19. Wang P., Yang Q., Du X., Chen Y., Zhang T. (2019), Targeted regulation of Rel2 by microRNA-18a is implicated in the anti-metastatic effect of polyphyllin VI in breast cancer cells, *European Journal of Pharmacology*, 851, 161-173.
20. Man S., Lv P., Cui J., Liu F., Peng L., Ma L., Liu C., Gao W. (2020), Paris saponin II-induced paraptosis-associated cell death increased the sensitivity of cisplatin, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 406, 115206.
21. Xie Z. Z., Li M. M., Deng P. F., Wang S., Wang L., Lu X. P., Hu L. B., Chen Z., Jie H. Y., Wang Y. F., Liu X. X., Liu Z. (2017), Paris saponin-induced autophagy promotes breast cancer cell apoptosis via the Akt/mTOR signaling pathway, *Chemico-Biological Interactions*, 264, 1-9.
22. Li Y., Gu J. F., Zou X., Wu J., Zhang M. H., Jiang J., Qin D., Zhou J. Y., Liu B. X., Zhu Y. T., Jia X. B., Feng L., Wang R. P. (2013), The anti-lung cancer activities of steroidal saponins of *P. polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara through enhanced immunostimulation in experimental Lewis tumor-bearing C57BL/6 mice and induction of apoptosis in the A549 cell line, *Molecules*, 18(10), 12916-12936.
23. Wang Y. H., Shi M., Niu H. M., Yang J., Xia M. Y., Luo J. F., Chen Y. J., Zhou Y. P., Li H. (2018), Substituting one Paris for another? *In vitro* cytotoxic and *in vivo* antitumor activities of *Paris forrestii*, a substitute of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*, *Journal of Ethnopharmacology*, 218, 45-50.
24. Sun J., Liu B. R., Wei J., Qian X. P., Yu L. X., Guo R. H., Shen H., Wang T. S., Shu Y. Q. (2011), The extract of *Paris polyphylla* exerts apoptotic induction and synergic antiproliferative effect with anticancer drugs in SMMC-7721 human liver cancer cells, *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 1(3), 186-194.
25. Dubowchik G. M., Firestone R. A., Padilla L., Willner D., Hofstead S. J., Mosure K., Knipe J. O., Lasch S. J., Trail P. A. (2002), Cathepsin B-labile dipeptide linkers for lysosomal release of doxorubicin from internalizing immunoconjugates: model studies of enzymatic drug release and antigen-specific *in vitro* anticancer activity, *Bioconjugate Chemistry Journal*, 13(4), 855-869.
26. Lucas A., Lam D., Cabrales P. (2019), Doxorubicin-loaded red blood cells reduced cardiac toxicity and preserved anticancer activity, *Drug Delivery*, 26(1), 433-442.
27. Kopecka J., Campia I., Olivero P., Pescarmona G., Ghigo D., Bosia A., Riganti C. (2011), A LDL-masked liposomal-doxorubicin reverses drug resistance in human cancer cells, *Journal of Controlled Release*, 149(2), 196-205.