

IN VITRO ANTI-OXIDANT, ANTI-HEPG2 PROPERTIES OF AQUEOUS EXTRACTS FROM VARIOUS PARTS OF *Ludwigia hyssopifolia*

Huynh Anh Duy*, Huynh Phu Vinh, Nguyen Van Hoa, Tran Thi Kim Nga

Can Tho University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 30/01/2024	<i>Ludwigia hyssopifolia</i> is traditionally used in the treatment of jaundice in Asian countries. There were no reports on the plant for <i>in vitro</i> hepatoprotective property in Vietnam. This study was aimed to evaluate the aqueous extracts of four various parts (whole plant, leaves, stems and roots) of <i>L. hyssopifolia</i> for its <i>in vitro</i> anti-oxidant and hepatoprotective activities. Medicinal plants were authenticated by DNA barcoding technique. Preliminary analysis of phytoconstituents, total polyphenol and flavonoid contents were also conducted. The antioxidant potential of the 04 extracts was investigated by employing <i>in vitro</i> DPPH assay while the hepatoprotective activity was assessed by calculating <i>in vitro</i> growth inhibition percentage on HepG2 cells. The results showed aqueous extract of whole plant contained flavonoids, saponins, tanninoid, reducing sugars and polyuronid. Leaf and whole plant extracts displayed the highest total polyphenol contents (148.30 ± 0.80 and 136.23 ± 1.00 mg GAE/g) as well as total flavonoid contents (30.34 ± 5.74 and 23.56 ± 8.81 mg QE/g). Leaf and whole plant aqueous extracts also exhibited the greatest antioxidant activity (IC_{50} of 45.27 ± 0.92 μ g/ml and 46.00 ± 0.78 μ g/ml). Whole plant aqueous extract showed the highest anti-HepG2 activity (IC_{50} of 176.3 ± 5.12 μ g/mL). Aqueous extract from <i>Ludwigia hyssopifolia</i> whole plants is potential sources in the development of hepatoprotective medications.
Revised: 23/02/2024	
Published: 23/02/2024	
KEYWORDS	
<i>Ludwigia hyssopifolia</i>	
Whole plants	
Anti-oxidant	
Anti-HepG2	
Total polyphenol content	
Total flavonoid content	

ĐẶC TÍNH KHÁNG OXY HÓA, ỨC CHẾ DÒNG TẾ BÀO HEPG2 IN VITRO CỦA CÁC CAO CHIẾT NƯỚC TỪ RAU MƯƠNG THON (*Ludwigia hyssopifolia*)

Huỳnh Anh Duy*, Huỳnh Phú Vinh, Nguyễn Văn Hóa, Trần Thị Kim Nga

Trường Đại học Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 30/01/2024	Rau mương thon (<i>Ludwigia hyssopifolia</i>) được sử dụng để điều trị bệnh vàng da ở nhiều nước châu Á. Tuy nhiên, chưa có báo cáo về đặc tính bảo vệ gan <i>in vitro</i> ở Việt Nam. Nghiên cứu nhằm đánh giá tác dụng kháng oxy hóa và bảo vệ gan <i>in vitro</i> của cao nước từ toàn cây, lá, thân và rễ. Mẫu được định danh bằng giải trình tự DNA thực vật. Phân tích sơ bộ thành phần hóa học, hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần cũng được khảo sát. Khả năng kháng oxy hóa được tiến hành bằng thử nghiệm DPPH và hoạt tính bảo vệ gan được thử nghiệm ức chế dòng tế bào HepG2. Dịch chiết có chứa flavonoid, saponin, tanninoid, đường khử và polyuronid. Cao lá và toàn cây có hàm lượng polyphenol và flavonoid toàn phần cao nhất, lần lượt $148,30 \pm 0,80$ và $136,23 \pm 1,00$ mg GAE/g, $30,34 \pm 5,74$ và $23,56 \pm 8,81$ mg QE/g. Lá và toàn cây có hoạt tính kháng oxy hóa cao nhất (IC_{50} $45,27 \pm 0,92$ μ g/ml và $46,00 \pm 0,78$ μ g/ml). Cao nước toàn cây có hoạt tính ức chế HepG2 cao nhất, IC_{50} $176,3 \pm 5,12$ μ g/mL. Cao nước từ toàn cây Rau mương thon thể hiện là tác dụng bảo vệ gan tiềm năng.
Ngày hoàn thiện: 23/02/2024	
Ngày đăng: 23/02/2024	
TỪ KHÓA	
Rau mương thon	
Toàn cây	
Kháng oxy hóa	
Ức chế HepG2	
Polyphenol toàn phần	
Flavonoid toàn phần	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.9652>

* Corresponding author. Email: haduy@ctu.edu.vn

1. Giới thiệu

Theo thống kê, ước tính có trên 900.000 ca được chẩn đoán ung thư gan và hơn 830.000 ca tử vong hàng năm, làm cho bệnh lý này là nguyên nhân gây tử vong liên quan đến ung thư đứng thứ tư trên thế giới [1]. Các trường hợp mắc mới và tử vong có tỷ lệ cao nhất ở khu vực Đông Á, Bắc Phi và Đông Nam Á [1]. Trong đó, ung thư biểu mô tế bào gan (Hepatocellular Carcinoma, viết tắt là HCC) chiếm khoảng 90% các trường hợp ung thư gan nguyên phát. Các yếu tố nguy cơ chính của HCC bao gồm nghiện rượu, viêm gan siêu vi B, viêm gan siêu vi C và bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu [2]. HepG2 là dòng tế bào ung thư tế bào gan người, với khả năng tăng sinh cao nên được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu các tác dụng dược lý của các thuốc [3]. Hơn 90% trường hợp HCC gặp trên các bệnh nhân viêm gan. Các nghiên cứu cho thấy viêm gan mãn tính dẫn đến stress oxy hóa (oxidative stress) cùng với quá trình peroxy hóa lipid, dẫn đến sự hình thành các gốc oxy phản ứng, sau đó phản ứng với DNA tạo ra các đột biến. Do đó, quá trình stress oxy hóa đóng một vai trò quan trọng trong quá trình sinh ung thư [4].

Rau mương thon với tên khoa học *Ludwigia hyssopifolia* (G. Don) Exell thuộc họ Rau dền nước (Onagraceae), được dùng trong y học cổ truyền của một số quốc gia châu Á như Bangladesh, Ấn Độ, Sri Lanka, Indonesia và Việt Nam để điều trị bệnh vàng da, trị tiêu chảy, kiết lỵ, mụn nhọt, viêm ruột, viêm họng và ho ra máu. Nhiều bộ phận của cây thường được dùng dưới dạng nước sắc uống hoặc cây tươi giã đắp [5], [6]. Bên cạnh đó, một nghiên cứu tại Ấn Độ đã chứng minh tác dụng kháng oxy hóa và ức chế đáng kể dòng tế bào HepG2 *in vitro* của cao chiết methanol từ phần trên mặt đất (aerial parts) của *Ludwigia hyssopifolia* [7]. Dược liệu này chứa nhiều hợp chất tiềm năng như flavonoid, steroid, triterpenoid, phenolic và coumarin [8], [9], chúng ngày càng được quan tâm trong các liệu pháp điều trị liên quan đến ung thư biểu mô tế bào gan (HCC) nói riêng và ung thư gan (liver cancer) nói chung [10], [11].

Tại Việt Nam, bước đầu đã có các nghiên cứu tổng quan về thành phần hóa học [8] hoặc hoạt tính kháng khuẩn [12] của thân và lá cây Rau mương thon. Trên các cơ sở đó, bài báo này nhằm cung cấp thêm thông tin khoa học về hoạt tính sinh học của loài này, thông qua tiến hành sàng lọc tác dụng kháng oxy hóa và ức chế dòng tế bào ung thư gan người HepG2 *in vitro* của cao nước từ 04 bộ phận dùng (toàn cây, lá, thân và rễ) của Rau mương thon thu hái tại Tây Nam Bộ.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Các bộ phận dùng khác nhau gồm: toàn cây, lá, thân và rễ cây Rau mương thon (*Ludwigia hyssopifolia*) được thu hái vào tháng 12/2022 tại huyện Thanh Bình, tỉnh Đồng Tháp. Sau khi được làm sạch và loại bỏ lá sâu, dược liệu tươi được cắt nhỏ và tiến hành phơi trong bóng râm đến khô. Mẫu khô được nghiền thành bột (4 kg), sử dụng cho các bước chiết xuất và thử nghiệm sinh học tiếp theo. Ngoài ra, mẫu lá non tươi (50 gram) sau khi thu hái riêng, loại bỏ tạp cơ học, sẽ được bảo quản trong túi nylon đựng mẫu, kèm hút ẩm để phục vụ cho mục đích định danh DNA thực vật.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Định danh mẫu bằng giải trình tự ADN thực vật

Thử nghiệm được tiến hành bằng phương pháp khuếch đại một phần vùng gen RbcL và BLAST đôi chiều trên ngân hàng gen NCBI (National Center for Biotechnology Information). ADN của các mẫu được ly trích theo phương pháp CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide). Tiếp tục, khuếch đại ADN bằng phản ứng PCR và kiểm tra ADN bằng phương pháp điện di gel agarose. Điện di sản phẩm PCR, tinh chế bằng bộ kit Wizard SV Gel và PCR Clean-up System (Promega), dựa vào sự hiện diện của các băng khuếch đại để nhận diện sự đa dạng giữa các loài. Sau đó giải trình tự bằng phương pháp Sanger với mồi RbcL. Kết quả giải trình tự phân tích bằng

phần mềm BioEdit phiên bản 7.0.5. Dùng phương pháp BLAST trên hệ thống ngân hàng gen NCBI để nhận diện loài.



Hình 1. Cây Rau mương thon (*Ludwigia hyssopifolia*)

Thời điểm: Tháng 12/2022; Địa điểm: huyện Thanh Bình, tỉnh Đồng Tháp (10.56573° N, 105.54435° E)

2.2.2. Điều chế các mẫu cao chiết khác nhau từ dược liệu Rau mương thon

Mỗi bộ phận dùng (100 gram) của Rau mương thon (toàn cây, lá, thân và rễ) được chiết xuất lần lượt với dung môi là nước cất, ở nhiệt độ chiết là 95 °C đến kiệt. Gom tất cả các dịch chiết tương ứng, đông khô trên hệ thống Firstek scientific, BFD4.5/50 để loại dung môi nước. Thu được 04 mẫu cao chiết nước tương ứng, ký hiệu lần lượt là TW50, LW50, SW50 và RW50.

Từ đó, các mẫu cao này sẽ được xác định hàm lượng polyphenol toàn phần (TPC), flavonoid toàn phần (TFC), cũng như xác định đặc tính kháng oxy hóa và ức chế dòng tế bào ung thư gan HepG2 trên các mô hình *in vitro*. Riêng mẫu cao nước toàn cây (TW50) sẽ được định tính để xác định sơ bộ thành phần hóa thực vật của dược liệu.

2.2.3. Định tính sơ bộ thành phần hóa học

Định tính mẫu cao nước của toàn cây để xác định alkaloid, flavonoid, coumarin, saponin, tanninoid, polyphenol, acid hữu cơ, đường khử và các polyuronid theo tài liệu tham khảo [13].

2.2.4. Xác định hàm lượng polyphenol toàn phần, flavonoid toàn phần

Hàm lượng polyphenol toàn phần

Hàm lượng polyphenol toàn phần được xác định theo phương pháp Folin-Ciocalteu bởi Slinkard và Singleton (1977) [14]; Singleton và cộng sự (1999) [15]. Lấy 200 μ L nước cất được thêm vào 200 μ L mẫu. Sau đó được trộn với thuốc thử Folin-Ciocalteu (200 μ L). Hỗn hợp này được lắc đều và để yên trong 5 phút. Sau đó, thêm 200 μ L natri carbonat (Na_2CO_3) và được ủ hỗn hợp ở 40 °C trong 30 phút. Tiến hành đo độ hấp thụ ở bước sóng 765 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Acid gallic được sử dụng làm chất chuẩn. Hàm lượng polyphenol toàn phần được tính toán dựa theo phương trình đường chuẩn của acid gallic.

Hàm lượng flavonoid toàn phần

Hàm lượng flavonoid toàn phần được xác định theo phương pháp tạo màu với AlCl_3 trong môi trường kiềm bởi Zhishen và cộng sự (1999) [16]. Lấy 200 μ L nước cất được thêm vào 200 μ L mẫu, sau đó được trộn với NaNO_2 (200 μ L). Hỗn hợp này được lắc đều và để yên trong 5 phút. Tiếp theo thêm 40 μ L AlCl_3 . Hỗn hợp được trộn, lắc đều một lần nữa và được ủ trong 6 phút. Sau đó, thêm 400 μ L NaOH 1M, 120 μ L H_2O trong các đĩa 96 giếng và được đo độ hấp thụ

ở bước sóng 510 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Quercetin được sử dụng làm chất chuẩn. Hàm lượng flavonoid toàn phần được tính toán dựa theo phương trình đường chuẩn quercetin.

2.2.5. Khảo sát tác dụng kháng oxy hóa *in vitro* trên thử nghiệm quét gốc tự do DPPH

Thử nghiệm được tiến hành theo Marxen và cộng sự (2007) [17]. Mẫu đối chiếu là cao chiết cây Ké sủi *Silybum marianum* (milk thistle) với thành phần chính là silymarin (chiếm 53,8%).

Trên đĩa 96 giếng, tiến hành hút chính xác lần lượt các thể tích dung dịch mẫu thử hoặc mẫu đối chiếu và methanol. Thêm tiếp 40 µL dung dịch DPPH nồng độ 1000 µg/mL, sao cho nồng độ cuối cùng của mẫu trong giếng tạo thành dãy nồng độ trong khoảng từ 256-8 µg/mL. Trộn đều, để yên hỗn hợp phản ứng ở điều kiện tránh ánh sáng và nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 517 nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và lấy giá trị trung bình. Xây dựng phương trình hồi quy để thể hiện mối tương quan giữa phần trăm ức chế gốc tự do DPPH và nồng độ của mẫu. Từ đó, xác định giá trị IC₅₀ của các mẫu thử và mẫu đối chiếu.

2.2.6. Khảo sát tác dụng gây độc tế bào *in vitro* trên dòng tế bào ung thư gan HepG2 bằng phương pháp MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium)

Thử nghiệm được tiến hành tại Phòng Hóa sinh ứng dụng, Viện hóa học. Mẫu đối chiếu là cao chiết Ké sủi (*Silybum marianum*) với thành phần chính là silymarin (chiếm 53,8%).

Trypsin hóa tế bào thí nghiệm để làm rời tế bào và đếm trong buồng đếm tế bào. Tiếp đó, pha tế bào bằng môi trường sạch và điều chỉnh mật độ cho phù hợp với thí nghiệm (khoảng 1-3x10⁴ tế bào/ml tùy theo từng dòng tế bào). Lấy vào mỗi giếng 10 µl chất thử và 190 µl dung dịch tế bào. Đối chứng dương của thí nghiệm là môi trường có chứa tế bào, đối chứng âm chỉ có môi trường nuôi cấy. Đĩa thí nghiệm được ủ ở điều kiện tiêu chuẩn. Sau 72 giờ mỗi giếng thí nghiệm được tiếp tục ủ với 10 µl MTT (5 mg/ml) trong 4h. Sau khi loại bỏ môi trường, tinh thể formaran được hòa tan bằng 100 µl DMSO 100%. Kết quả được xác định bằng giá trị độ hấp thụ quang (OD) đo ở bước sóng 540 nm trên máy quang phổ Biotek. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Giá trị IC₅₀ được xác định thông qua giá trị % ức chế tế bào phát triển và phần mềm Rawdata.

$$\% \text{ ức chế tế bào} = (\text{OD}_{\text{chứng (+)}} - \text{OD}_{\text{thử}}) / (\text{OD}_{\text{chứng (+)}} - \text{OD}_{\text{chứng (-)}}) \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} = \text{High}_{\text{Conc}} - \frac{(\text{High}_{\text{Inh}\%} - 50) \times (\text{High}_{\text{Conc}} - \text{Low}_{\text{Conc}})}{\text{High}_{\text{Inh}\%} - \text{Low}_{\text{Inh}\%}}$$

Trong đó,

High_{Conc}/Low_{Conc}: chất thử ở nồng độ cao/chất thử ở nồng độ thấp;

High_{Inh%}/Low_{Inh%}: % ức chế ở nồng độ cao/% ức chế ở nồng độ thấp).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả định danh loài bằng giải trình tự ADN

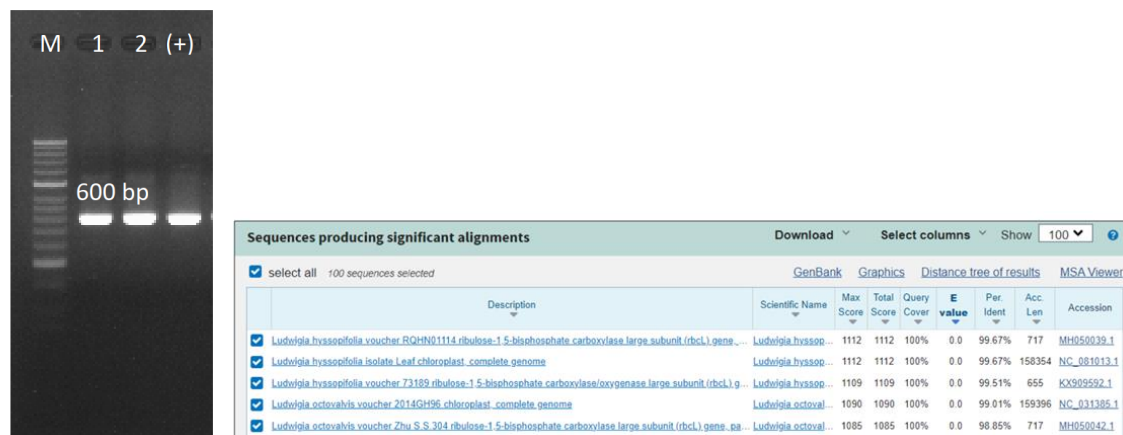
Dựa trên kết quả khuếch đại gen rbcL và so sánh dữ liệu trên Ngân hàng gen NCBI (Hình 2), trình tự khảo sát tương đồng với các trình tự trên ngân hàng NCBI như sau:

- Ludwigia hyssopifolia* voucher RQHN01114 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase large subunit (rbcL) gene, partial cds; chloroplast (99,67% tương đồng).
- Ludwigia hyssopifolia* isolate Leaf chloroplast, complete genome (99,67% tương đồng).
- Ludwigia hyssopifolia* voucher 73189 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL) gene, partial cds; chloroplast (99,51% tương đồng).

Kết luận: mẫu phân tích được định danh là loài *Ludwigia hyssopifolia* (Rau mương thon).

3.2. Hiệu suất điều chế các cao chiết từ Rau mương thon

Kết quả điều chế các loại cao nước của 04 bộ phận dùng được tóm tắt qua bảng 1, cho thấy Lá cho dữ liệu cao nhất (6,15%), tiếp đến là toàn cây, cuối cùng là rễ và thân.



Hình 2. Phổ băng điện di sản phẩm PCR của gen *rbcL* và so sánh dữ liệu trên NCBI

M: thang chuẩn 100 bp; 1,2: mẫu phân tích; (+): mẫu đối chứng dương

Bảng 1. Kết quả điều chế cao nước từ 04 bộ phận dùng của Rau mương thon

Mẫu cao chiết	Hiệu suất chiết cao (%)
Toàn cây	4,75
Lá	6,15
Thân	2,11
Rễ	3,04

3.3. Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học

Kết quả định tính sơ bộ cao nước của toàn cây Rau mương thon được trình bày trong bảng 2, cho thấy cao nước có chứa flavonoid, saponin, tannin, đường khử và polyuronid. Kết quả này phù hợp với dữ liệu của Deepak [6] và Nguyễn Thị Thu Trâm [8].

Bảng 2. Thành phần hóa thực vật cao nước toàn cây Rau mương thon

Hợp chất	Thuốc thử	Kết quả	Hợp chất	Thuốc thử	Kết quả
Alkaloid	Wagner	-	Tanninoid	Gelatin muối 1%	++
	Dragendorff	-		FeCl ₃ 5%	++
Flavonoid	NaOH	+	Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃	-
	Cyanidin (Mg/HCl đậm đặc)	+	Đường khử	TT Fehling	+
Coumarin	Mở vòng lacton trong môi trường kiềm	-	Polyuronid	Pha loãng với cồn 90%	+
Saponin	Lắc mạnh dung dịch nước, quan sát bọt bên sau 15 phút	++			

3.4. Hàm lượng polyphenol toàn phần, flavonoid toàn phần

Bảng 3 trình bày hàm lượng polyphenol toàn phần, flavonoid toàn phần của cao nước của toàn cây, lá, thân và rễ của Rau mương thon. Cao lá và toàn cây chứa hàm lượng polyphenol toàn phần ($148,30 \pm 0,80$ và $136,23 \pm 1,00$ mg GAE/g) và flavonoid toàn phần ($30,34 \pm 5,74$ và $23,56 \pm 8,81$ mg QE/g) cao hơn rõ rệt so với thân và rễ. Đáng chú ý, mẫu cao nước của lá, hàm lượng polyphenol toàn phần ($148,30 \pm 0,80$ mg GAE/g) cao hơn khoảng 2,2 lần so với dữ liệu của

Mangao và cộng sự (2019) khi khảo sát loài *Ludwigia hyssopifolia* tại Philippine ($66 \pm 0,30$ mg GAE/g) [18].

Các hợp chất phenolic và flavonoid được chứng minh còn làm giảm các cytokin gây viêm liên quan tới bệnh lý tại gan, nên có thể góp phần vào tác dụng bảo vệ gan [7].

Bảng 3. Hàm lượng polyphenol toàn phần, flavonoid toàn phần cao nước từ Rau muống thon

Bộ phận dùng	Ký hiệu mẫu	Polyphenol toàn phần (mg GAE/g)	Flavonoid toàn phần (mg QE/g)
Toàn cây	TW50	$136,23 \pm 1,00$	$23,56 \pm 8,81$
Lá	LW50	$148,30 \pm 0,80$	$30,34 \pm 5,74$
Thân	SW50	$69,77 \pm 2,60$	$10,63 \pm 9,20$
Rễ	RW50	$92,34 \pm 9,79$	$15,03 \pm 12,46$

3.5. Khảo sát tác dụng kháng oxy hóa in vitro trên thử nghiệm quét gốc tự do DPPH

Bảng 4 cho thấy cao nước của lá ($IC_{50} = 45,27 \pm 0,92$ μ g/ml) và toàn cây ($IC_{50} = 46,00 \pm 0,78$ μ g/ml) cho tác dụng kháng oxy hóa cao nhất so với rễ ($IC_{50} = 88,00 \pm 1,15$ μ g/ml) và thân ($IC_{50} = 199,53 \pm 2,86$ μ g/ml). Kết quả này khá tương đồng với dữ liệu của Praneetha (2019) khi khảo sát trên cao methanol từ phần trên mặt đất (aerial parts) của *Ludwigia hyssopifolia* tại Ấn Độ, với $IC_{50} = 48,3 \pm 1,6$ μ g/ml [7]. Hoạt tính kháng oxy hóa của cao nước toàn cây và lá chỉ thấp hơn khoảng 2 lần so với mẫu cao chiết cây Kế sữa ($IC_{50} = 21,73 \pm 2,06$ μ g/ml). Điều này thể hiện tiềm năng của cao chiết nước từ Rau muống thon, bởi cao Kế sữa đã được chứng minh có hoạt tính quét gốc tự do DPPH tốt và ngăn ngừa quá trình peroxid hóa lipid, nên đã được sử dụng trong nhiều chế phẩm với tác dụng chống oxy hóa, bảo vệ gan [19], [20].

Bảng 4. Giá trị IC_{50} (μ g/mL) của các mẫu thử trên thử nghiệm DPPH

Mẫu	Nồng độ (µg/ml)	Ức chế (%)	IC ₅₀ (µg/ml)	Mẫu	Nồng độ (µg/ml)	Ức chế (%)	IC ₅₀ (µg/ml)
TW50	256	78	46,00 ± 0,78	SW50	256	60	199,53 ± 2,86
	64	65			64	26	
	16	25			16	0	
	4	0			4	0	
LW50	256	80	45,27 ± 0,92	RW50	256	64	88,00 ± 1,15
	64	66			64	48	
	16	25			16	9	
	4	0			4	0	
Cao Kế sữa	128	89	21,73 ± 2,06				
	64	71					
	32	54					
	16	46					

3.6. Khảo sát tác dụng gây độc tế bào in vitro trên dòng tế bào ung thư gan HepG2

Kết quả sàng lọc tác dụng ức chế dòng tế bào ung thư gan HepG2 của 04 mẫu cao nước toàn cây, lá, thân và rễ được trình bày trong bảng 5, cho thấy cao chiết từ toàn cây cho tác dụng ức chế HepG2 cao nhất với $IC_{50} = 176,3 \pm 5,12$ μ g/ml và khá tương đồng với dữ liệu của cao Kế sữa, $IC_{50} = 179,2 \pm 4,18$ μ g/ml. Kết quả cho thấy tiềm năng của cao nước toàn cây từ Rau muống thon, bởi cao chiết Kế sữa (milk thistle extract) với thành phần chính là silymarin, các flavolignan này đã được chứng minh khả năng ngăn ngừa ung thư và ức chế tăng sinh dòng tế bào HepG2. Cây kế sữa và silymarin cũng được sử dụng như là liệu pháp điều trị bổ sung (complementary treatments) nhằm bảo vệ gan [21]. Cao chiết từ lá cho tác dụng yếu hơn ($IC_{50} = 228,5 \pm 4,03$ μ g/ml), cao nước từ thân và rễ hầu như không ức chế HepG2 ($IC_{50} > 256$ μ g/ml).

Theo một nghiên cứu tại Ấn Độ của Praneetha và cộng sự (2019) [7], cao chiết methanol từ phần trên mặt đất của *Ludwigia hyssopifolia* ở mức nồng độ 100 và 200 $\mu\text{g/ml}$ sẽ ức chế khoảng 30% tế bào HepG2. Mặc dù, dung môi chiết và bộ phận dùng trong nghiên cứu này có khác nhau, nhưng phần nào thể hiện được khả năng tác dụng bảo vệ gan *in vitro* thông qua ức chế dòng tế bào HepG2 của dược liệu này.

Bảng 5. Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) của các mẫu thử trên thử nghiệm ức chế tế bào HepG2

Mẫu	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Ức chế (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Mẫu	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Ức chế (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
TW50	256	72	176,3 $\pm 5,12$	SW50	256	34	>256
	64	19			64	20	
	16	9			16	13	
	4	4			4	3	
LW50	256	55.5	228,5 $\pm 4,03$	RW50	256	43	>256
	64	17			64	22	
	16	5			16	15	
	4	5			4	8	
Cao Kế sữa	256	75.5	179,2 $\pm 4,18$				
	64	11					
	16	7					
	4	3					

4. Kết luận

Nghiên cứu đã định danh loài *Ludwigia hyssopifolia* thông qua giải trình tự DNA thực vật và xác định được hàm lượng chất chiết của cao nước từ toàn cây, lá, thân và rễ của Rau mương thon. Cao nước có chứa các hợp chất như flavonoid, saponin, tannin, đường khử và polyuronid. Hàm lượng hợp chất phenolic từ lá và toàn cây là cao nhất, cụ thể polyphenol toàn phần là $148,30 \pm 0,80$ và $136,23 \pm 1,00$ mg GAE/g; flavonoid toàn phần là $30,34 \pm 5,74$ và $23,56 \pm 8,81$ mg QE/g. Toàn cây và lá cũng cho tác dụng kháng oxy hóa cao nhất với IC_{50} lần lượt là $46,00 \pm 0,78$ $\mu\text{g/ml}$ và $45,27 \pm 0,92$ $\mu\text{g/ml}$. Đối với tác dụng ức chế HepG2, chỉ có cao nước toàn cây cho hoạt tính tiềm năng nhất với IC_{50} là $176,3 \pm 5,12$ $\mu\text{g/ml}$. Do đó, từ những dữ liệu, cao nước từ toàn cây thể hiện tiềm năng nhất đối với cả tác dụng chống oxy hóa và bảo vệ gan. Hơn nữa, chưa tìm thấy nhiều công bố liên quan đến tác dụng ức chế dòng tế bào ung thư gan người HepG2 của cao chiết nước từ Rau mương thon (*Ludwigia hyssopifolia*) tại Việt Nam, nên các kết quả trên mong muốn góp phần chứng minh tiềm năng của dược liệu trên tác dụng bảo vệ cũng như phòng ngừa bệnh lý liên quan đến ung thư gan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] H. Rumgay *et al.*, "Global burden of primary liver cancer in 2020 and predictions to 2040," *J. Hepatol.*, vol. 77, no. 6, pp. 1598-1606, 2022.
- [2] D. Janevska, V. Chaloska-Ivanova, and V. Janevski, "Hepatocellular Carcinoma: Risk Factors, Diagnosis and Treatment," *Open Access Maced. J. Med. Sci.*, vol. 3, no. 4, pp. 732-736, 2015.
- [3] M. T. Donato, L. Tolosa, and M. J. Gómez-Lechón, "Culture and Functional Characterization of Human Hepatoma HepG2 Cells," *Methods in molecular biology*, vol. 1250, pp. 77-93, 2015.
- [4] Y. Fu and F. L. Chung, "Oxidative stress and hepatocarcinogenesis," *Hepatoma Res*, vol. 4, p. 39, 2018.
- [5] H. B. Do, *Medicinal plants and medicinal animals in Vietnam*. Science and Technics Publishing House (in Vietnamese), 2004.
- [6] V. Deepak, S. Arumugam, C. Amritha, P. Prajitha, and H. Faslu, "Phytopharmacological activities of *Ludwigia hyssopifolia* (g. Don) exell: a review," *Asian Journal of Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences*, vol. 7, no. 2, pp. 781-789, 2019.

-
- [7] P. Praneetha, Y. N. Reddy, and B. R. Kumar, "In vitro and In vivo hepatoprotective studies on methanolic extract of aerial parts of *Ludwigia hyssopifolia* G. Don Exell," *Pharmacognosy Magazine*, vol. 14, no. 59s, pp. s546-s553, 2018.
- [8] Q. D. Tran, T. S. Khuu, T. T. G. Le, M. T. A. Nguyen, T. N. G. Ngo, and T. T. T. Nguyen, "A review on chemical constituents of *Ludwigia* genus in Vietnam," *Cantho Journal of Medicine and Pharmacy*, vol. 65, pp. 234-243, 2023.
- [9] E. M. Shawky, M. Elgindi, and M. M. Hassan, "Phytochemical and biological diversity of genus *Ludwigia*: A comprehensive review," *ERU Research Journal*, vol. 2, no. 3, pp. 447-474, 2023.
- [10] A. K. Singh, S. V. Singh, R. Kumar, S. Kumar, S. Senapati, and A. K. Pandey, "Current therapeutic modalities and chemopreventive role of natural products in liver cancer: Progress and promise," *World J Hepatol*, vol. 15, no. 1, pp. 1-18, 2023.
- [11] M. A. Asma and A. E. Hussien, "Natural products and hepatocellular carcinoma: a review," *Hepatoma Research*, vol. 1, pp. 119-124, 2015.
- [12] H. K. Dieu and L. T. L. Em, "The genetic diversities and the antibacterial activity of *Kalanchoe pinnata* and *Ludwigia hyssopifolia* in the Mekong Delta of Vietnamese," *CTU Journal of Science*, no. 17b, pp. 289-296, 2011.
- [13] N. K. P. Phung, *Methods for the extraction of organic compounds*. Ho Chi Minh City National University Publishing House, 2007.
- [14] K. Slinkard and V. L. Singleton, "Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods," *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 28, pp. 49-55, 1977.
- [15] V. L. Singleton, R. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventós, "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent," *Methods in Enzymology*, vol. 299, pp. 152-178, 1999.
- [16] J. Zhishen, T. Mengcheng, and W. Jianming, "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals," *Food chemistry*, vol. 64, no. 4, pp. 555-559, 1999.
- [17] K. Marxen, K. H. Vanselow, S. Lippemeier, R. Hintze, A. Ruser, and U. P. Hansen, "Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements," *Sensors (Basel)*, vol. 7, no. 10, pp. 2080-2095, 2007.
- [18] A. Mangao, S. Arreola, E. San Gabriel, and K. Salamaney, "Aqueous Extract from Leaves of *Ludwigia hyssopifolia* (G. Don) Exell as Potential Bioherbicide," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 100, no. 3, pp. 1185-1194, 2019.
- [19] J. Viktorova *et al.*, "Complex Evaluation of Antioxidant Capacity of Milk Thistle Dietary Supplements," *Antioxidants (Basel)*, vol. 8, no. 8, p. 317, 2019.
- [20] S. Mukhtar *et al.*, "Hepatoprotective activity of silymarin encapsulation against hepatic damage in albino rats," *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 28, no. 1, pp. 717-723, 2021.
- [21] S. A. Emadi, M. G. Rahbardar, S. Mehri, and H. Hosseinzadeh, "A review of therapeutic potentials of milk thistle (*Silybum marianum* L.) and its main constituent, silymarin, on cancer, and their related patents," *Iran J. Basic Med. Sci.*, vol. 25, no. 10, pp. 1166-1176, 2022.