NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH CHỐNG OXY HÓA *IN VITRO* CỦA SAPONIN TOÀN PHẦN TỪ SÂM VIỆT NAM TRỒNG (*PANAX VIETNAMENSIS* HA ET GRUSHV.)

Dương Hồng Tố Quyên, Nguyễn Thị Thu Hương**, Vũ Huỳnh Kim Long***, Nguyễn Minh Đức****

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: *Hoạt tính chống oxy hóa của cao toàn phần và saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam hoang dại đã được xác định trên các nghiên cứu in vitro và in vivo. Tuy nhiên, nguồn Sâm Việt Nam hoang dại ngày càng cạn kiệt và hiện nay trên thị trường chủ yếu là nguồn Sâm Việt Nam trồng nhưng chưa có nghiên cứu báo cáo một cách có hệ thống về tác dụng dược lý cũng như hoạt tính chống oxy hóa của saponin từ Sâm Việt Nam trồng. Do đó, mục tiêu của đề tài là chiết xuất saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam trồng 6 tuổi và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa nội bào của saponin trên dòng tế bào gan Hep G2.*

Phương pháp nghiên cứu: *Chiết xuất saponin toàn phần từ cao toàn phần Sâm Việt Nam bằng cột Diaion HP-20 và định lượng một số saponin chính bằng phương pháp HPLC. Xác định khả năng chống oxy hóa của saponin Sâm Việt Nam trên dòng tế bào gan Hep G2 bằng phương pháp DCFH-DA (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetat) với mẫu đối chiếu là saponin toàn phần từ Nhân sâm 6 tuổi. Hoạt tính chống oxy hóa được xác định thông qua sự giảm gốc tự do oxy (ROS) trong tế bào.*

Kết quả: *Phần trăm hàm lượng của saponin chính trong saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam trồng như sau: ginsenosid-Rb_1 (8,37%), -Rd (8,55%), -Rg_1 (14,79%), majonosid-R2 (23,76%). Saponin Sâm Việt Nam trồng và saponin Nhân sâm ở nồng độ 5mg/ml làm giảm ROS tương ứng 76,91 ± 3,85 % và 50,58 ± 7,47 %. Nồng độ có hoạt tính chống oxy hóa 50% của saponin Sâm Việt Nam là 2,24 mg/ml và saponin Nhân sâm là 4,85 mg/ml.*

Kết luận: *Saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam trồng thể hiện hoạt tính chống oxy hóa nội bào trên dòng tế bào gan Hep G2 cao hơn saponin toàn phần từ Nhân sâm.*

Từ khóa: *Sâm Việt Nam trồng, Saponin; tế bào gan Hep G2; hoạt tính chống oxy hóa nội bào*

ABSTRACT

IN VITRO STUDY ON ANTIOXIDANT ACTIVITY IN VITRO OF TOTAL SAPONIN FROM CULTIVATED VIETNAMESE GINSENG

Duong Hong To Quyen, Nguyen Thi Thu Huong, Vu Huynh Kim Long, Nguyen Minh Duc

* Y Hoc TP. Ho Chi Minh * Supplement of Vol. 19 - No 5 - 2015: 157 - 164

Aims of the study: *In vitro and in vivo antioxidant activity of wild Vietnamese ginseng (total extract and total saponin) has been reported. However, because of the limited resource of wild Vietnamese ginseng, the cultivated one has been used in the market instead. But there have not been any systematic research carried out to identify the therapeutic value as well as antioxidant effects of saponin from cultivated Vietnamese ginseng. Therefore, the purpose of this study is to extract standardized total saponin of 6-year old cultivated Vietnamese ginseng and investigate the in vitro intracellular anti-oxidative activity in hepatic Hep G2 cell line.*

Experimental Methods: *Total saponin was extracted from crude extract of Vietnamese ginseng by column*

* Bệnh viện Y học cổ truyền TP.HCM ** Trung tâm Sâm và Dược liệu TP.HCM
*** Khoa Dược – Đại học Y Dược TP. HCM
Tác giả liên lạc: GS. Nguyễn Minh Đức *ĐT*: 0908988820 *Email*: ducng@hcm.vnn.vn

chromatography on Diaion HP-20. Some saponins were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The anti-oxidative activity of Vietnamese ginseng total saponin was determined by DCFH-DA method in hepatic Hep G2 cell line, compared to that of Panax ginseng total saponin. Antioxidant activity was measured through ability of compound to reduce reactive oxygen species (ROS) in HepG2 cells.

Results: *The percentage contents of main saponins in Vietnamese ginseng total saponin were revealed as below: Ginsenoside-Rb_1 (8.37%), -Rd (8.55%), -Rg_1 (14.79%), and majonoside-R2 (23.76%). Saponins of cultivated Vietnamese ginseng and Panax ginseng at the concentration of 5mg/ml exhibited the decrease of ROS as 76.91 ± 3.85 % and 50.58 ± 7.47 %, respectively. The concentration of 50% antioxidant activity was 2.24 mg/ml for Vietnamese ginseng saponin and 4.85mg/ml for Panax ginseng saponin.*

Conclusion: *Total saponin of cultivated Vietnamese ginseng showed antioxidant activity in HepG2 cell line higher than Panax ginseng saponin.*

Key words: *Cultivated Vietnamese ginseng; Saponin; Hep G2 cell line, intracellular antioxidant activity.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Việt Nam *(Panax Vietnamensis* Ha *et* Grushv.) là cây thuốc quý và đặc hữu của Việt Nam. Từ lâu, Sâm Việt Nam hoang dại được sử dụng với tác dụng tăng lực, chống mệt mỏi. Gần đây, có nhiều công trình nghiên cứu về hóa học cũng như một số tác dụng dược lý của Sâm Việt Nam hoang dại; cao toàn phần, saponin toàn phần được chứng minh có tác dụng tăng lực,chống stress tâm lý, chống oxy hóa và bảo vệ gan[1,5,6,8,7]. Hiện nay, nguồn Sâm Việt Nam hoang dại gần như cạn kiệt thay vào đó trên thị trường sử dụng nguồn Sâm Việt Nam từ trồng trọt. Do đó, để góp phần đánh giá tác dụng của Sâm Việt nam trồng cũng như vai trò của saponin toàn phần về tác dụng dược lý của Sâm Việt Nam; đặc biệt là tác dụng chống oxy hóa. Có nhiều phương pháp xác định hoạt tính chống oxy hóa như: phương pháp sinh hóa như DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid), ORAC (oxygen radical absorbance capacity), được sử dụng rộng rãi. Các phương pháp này có ưu điểm là ít tốn kém và dễ thực hiện, tuy nhiên chưa phản ánh chính xác điều kiện sinh lý tế bào. Các phương pháp thử trên súc vật khắc phục nhược điểm trên nhưng rất tốn kém. Do đó, mô hình thử kháng oxy hóa trên tế bào được chọn để thử tác dụng kháng oxy hóa của saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam trồng. Thông qua việc xác định sự giảm ROS (reactive oxygen species) trong tế bào *hep G2*[2]. Mẫu saponin toàn phần được tiêu chuẩn hóa, để ổn định cho kết quả thử nghiệm sau này. Đồng thời, góp phần vào chứng minh tác dụng của Sâm Việt Nam – một cây thuốc quý của quốc gia, trong công tác chăm sóc sức khỏe.

NGUYÊN LIỆU - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nguyên liệu

Thân rễ và rễ củ Sâm Việt Nam trồng (SVN) 6 tuổi được thu mẫu vào tháng 10/2012 tại trại Dược liệu Trà Linh tỉnh Quảng Nam. Dùng phương pháp chiết ngấm kiệt với cồn 45%, cô thu hồi dung môi sau đó đông khô - 50^0 dưới áp suất giảm thu được cao toàn phần (thu suất 54,32%). Rễ Nhân sâm trồng (NS) 6 tuổi (Hiệp hội Nhân sâm Hàn Quốc cung cấp) được chiết bằng cồn 45% với phương pháp chiết tương tự SVN (thu suất 53,83%) được dùng để đối chiếu.

Hóa chất

E'MEM, L-glutamine, HEPES, amphotericin B, penicillin G, streptomycin, huyết thanh bào thai bò, và hóa chất dùng trong thử nghiệm kháng oxy hóa, như DCFH-DA, AAPH. Methanol, acetonitril (merck).

Thiết bị

Máy cô quay Buchi R300 (Thụy sĩ), máy siêu âm Sanorex RK510 H (Pháp), máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Merck Hitachi 7400 (Nhật bản), máy đo huỳnh quang Synergy HT (Biotek).

Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất saponin toàn phần từ cao Sâm Việt Nam trồng 6 tuổi

Cao toàn phần được phân tán với nước, cho lên cột *Diaion HP - 20* rửa giải lần lượt với dung môi có độ phân cực khác nhau: nước, methanol 100%, cloroform. Phân đoạn methanol đem cô thu hồi dung môi, đông khô dưới áp suất giảm thu được saponin toàn phần.

Tiêu chuẩn hóa phân đoạn methanol: Gồm các chỉ tiêu như sau

Cảm quan: Màu sắc, mùi vị.

Độ ẩm: Dùng cân phân tích độ ẩm model AND MX -50, điều kiện 1g/105^{0}C.

Độ tro: Tiến hành theo DĐVN IV, Phụ lục 9.8, trang PL-183, Phương pháp 2.

G: Khối lượng của chén (g)

Định tính

- Phản ứng hóa học: Phản ứng Liebermann – Burchard**.**

- Sắc ký lớp mỏng: Bản mỏng tráng sẵn silica gel F_{254}, Hệ dung môi khai triển $CHCl_3$ – MeOH – H_2O (65 : 35 : 10, lớp dưới). Phát hiện bằng thuốc thử H_2SO_4 10%/ethanol. Sấy ở 105 ^{o}C, quan sát dưới ánh sáng thường.

Định lượng

Định lượng đồng thời G-Rb_1, G-Rd, G-Rg_1 và định lượng M-R2 trong saponin Sâm Việt Nam trồng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 7 mg phân đoạn methanol qua cột *Diaion* được hòa tan trong methanol 70% trong bình định mức 5 ml, siêu âm đến tan hoàn toàn.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan G-Rb_1, G-Rd, G-Rg_1, M-$R2_2$ với methanol 70% trong bình định mức 5 ml, siêu âm cho tan hoàn toàn.

Điều kiện sắc ký phát hiện G-Rb_1, G-Rd, G-Rg_1.

- Hệ thống sắc ký: Shimadzu LC-10AD. Cột Kyatech LC18 C18, 250 × 4,6 mm, 5 µm.

- Nhiệt độ cột: Nhiệt độ phòng. Tốc độ dòng: 0, 7 ml/phút, thể tích tiêm mẫu: 20 µl. Phát hiện: Đầu dò PDA, bước sóng 203 nm. Pha động: Rửa giải theo chương trình gradient với pha acetonitril (A), nước (B) như sau:

***Bảng 1**. Chương trình rửa giải với gradient*

Thời gian (phút)	A (%)	B (%)
0	22	78
10	30	70
20	40	60
30	55	45
31	22	78
50	22	78

Điều kiện sắc ký phát hiện M-R2:

Hệ thống sắc ký: Shimadzu LC-8A. Cột Kyatech HiQ sil C18, 250 × 4,6 mm, 5 µm. Nhiệt độ cột: Nhiệt độ phòng, tốc độ dòng: 0,8 ml/phút, thể tích tiêm mẫu: 20 µl. Pha động: Acetonitril-Nước (24 : 76), phát hiện: UV 190 nm.

Phương pháp định lượng đã được thẩm định với các chỉ tiêu như tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ lặp lại, độ đúng với kết quả đường tuyến tính đã công bố[1].

Cách tính hàm lượng saponin trong cao Sâm Việt Nam

$$\text{Hàm lượng (\%)} = \frac{S_T \times C_C \times a \times 100}{S_C \times m_T}$$

S_C: Diện tích đỉnh của mẫu chuẩn C_C: Nồng độ mẫu chuẩn m_T: Lượng cân mẫu thử a: Độ pha loãng của mẫu thử.

Thử nghiệm hoạt tính kháng oxy hóa của saponin toàn phần Sâm Việt Nam trồng trên tế bào Hep G2

Tế bào Hep G2 được nuôi trong đĩa 96 giếngvới mật độ 6x10^4 tế bào/ giếng trong 100 µl môi trường. Sau 24 giờ, loại bỏ môi trường và rửa giếng hai lần với PBS. Bổ sung 100 µl dung dịch DCFH-DA vào giếng với nồng độ 40 µM trong HBSS 10 mM HEPES. Sau khi ủ 30 phút trong tối, cho thêm 100µl mẫu cần thử nghiệm, pha đến nồng độ yêu cầu trong HBSS 10 mM HEPES, ủ 60 phút trong tối. Loại bỏ dung dịch

trong giếng và rửa lại hai lần với PBS. Sau đó, cho AAPH 600 µM vào giếng và đọc tín hiệu huỳnh quang ở 37° C. Thu thập giá trị tín hiệu huỳnh quang 10 phút/lần trong 60 phút ở bước sóng phát là 528 ± 20 nm, bước sóng kích thích là 485 ± 20 nm. Mỗi mẫu thử nghiệm luôn đi kèm với mẫu đối chứng (các giếng không xử lý với mẫu thử), mẫu đối chiếu là saponin toàn phần Nhân sâm 6 tuổi. Mỗi mẫu lặp lại 3 lần. Phân tích số liệu: Phần trăm kháng oxy hóa là phần trăm giảm tín hiệu huỳnh quang của mẫu thửnghiệm so với mẫu đối chứng.

KẾT QUẢ

Chiết xuất saponin toàn phần từ cao Sâm Việt Nam trồng 6 tuổi

Từ 50 g cao toàn phần SVN trồng hòa tan trong nước cho lên cột Diaion-HP20. Rửa lần lượt với dung môi có độ phân cực giảm dần (cho đến kiệt chất trong mỗi loại dung môi) như nước cất, methanol 100%, cloroform ($CHCl_3$). Tiến hành cô thu hồi dung môi phân đoạn methanol, đông khô -50 ^{0}C dưới áp suất giảm, thu được saponin toàn phần với thu suất 16,14 % (tính theo dược liệu khô kiệt). Saponin toàn phần Nhân sâm được điều chế từ cao toàn phần Nhân sâm cùng phương pháp như Sâm Việt Nam, thu được saponin toàn phần có thu suất 7,98% (tính theo dược liệu khô kiệt). Saponin toàn phần Nhân sâm trồng có thành phần một số saponin: ginsenosid-Rb_1 (6,71%), ginsenosid-Rd (0,75%), ginsenosid -Rg_1 (3,82 %) (định lượng bằng HPLC đầu dò UV).

Tiêu chuẩn hóa saponin toàn phần Sâm Việt Nam trồng:

Cảm quan: Bột mịn, màu vàng nhạt, mùi thơm nhẹ, vị rất đắng.

Độ ẩm: Độ ẩm trung bình của saponin toàn phần là 5,9% .

Độ tro: Độ tro trung bình là 0,64 ± 0,025 % tính trên cao khô tuyệt đối.

Định tính

Phản ứng hóa học

Phản ứng dương tính với thuốc thử Liebermann-Burchard, tạo vòng màu hồng giữa 2 mặt phân cách.

Sắc ký lớp mỏng

Chú thích:
Rb1: G-Rb_1
Rd: G-Rd
Rg1: G-Rg_1
MR2: M-R2
T: Phân đoạn methanol

Hình 1. *Kết quả định tính saponin toàn phần của Sâm Việt Nam*

Hệ dung môi: $CHCl_3$ - MeOH - H_2O (65 : 35 : 10, lớp dưới)

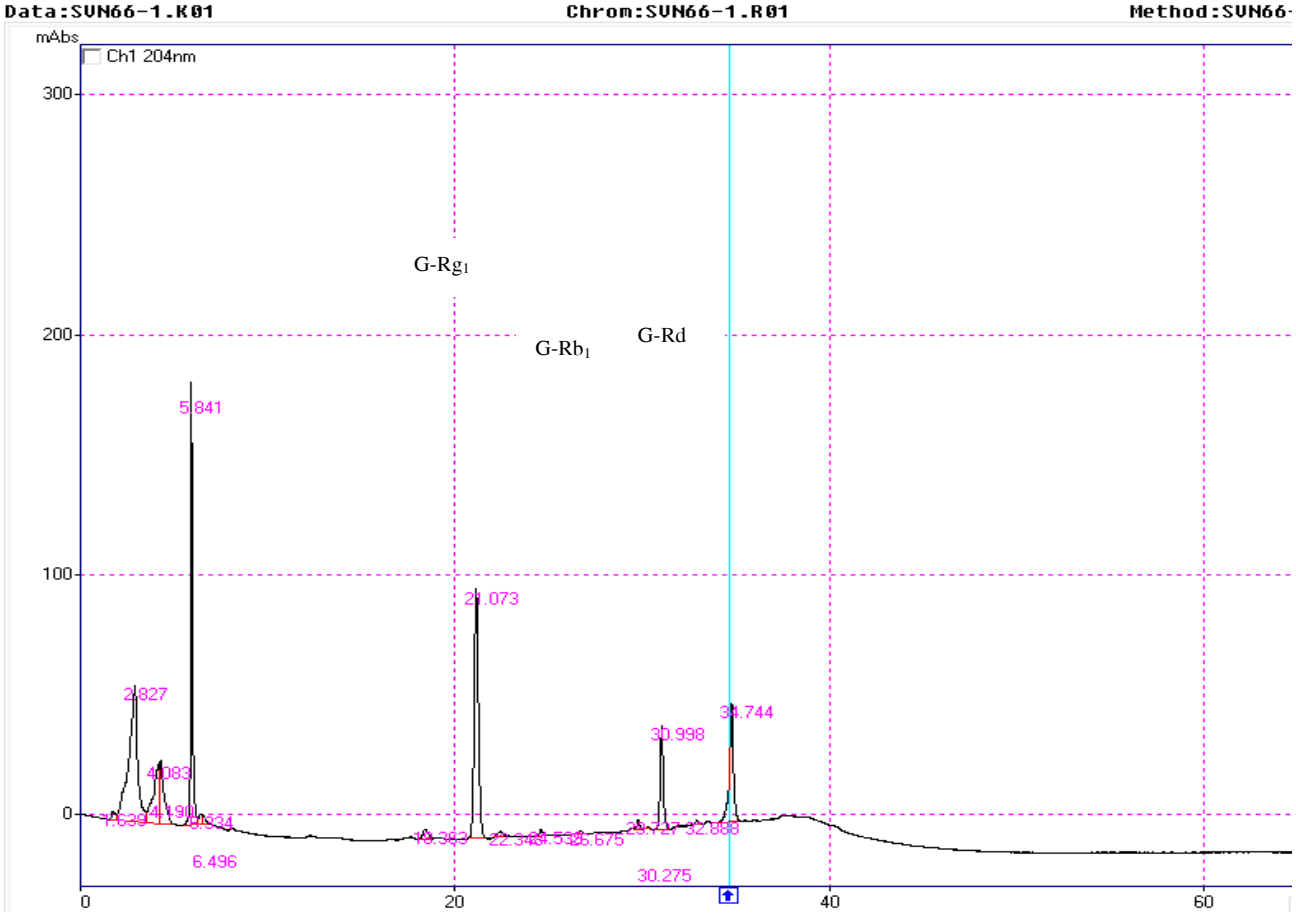
Bản mỏng tráng sẵn silica gel F_{254}

Phát hiện: H_2SO_4 10% /ethanol

Sấy ở nhiệt độ 105^{0}C, quan sát dưới ánh sáng thường

Qua kiểm tra trên sắc ký lớp mỏng, cho thấy trong saponin toàn phần có các vết có màu sắc và R_f trùng với vết của ginsenosid Rb1 (G-Rb1), ginsenosid Rg1 (G-Rg1), ginsenosid Rd (G-Rd).

Định lượng đồng thời ginsenosid-Rb_1, ginsenosid-Rd, ginsenosid-Rg_1 trong saponin toàn phần Sâm Việt Nam trồng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)



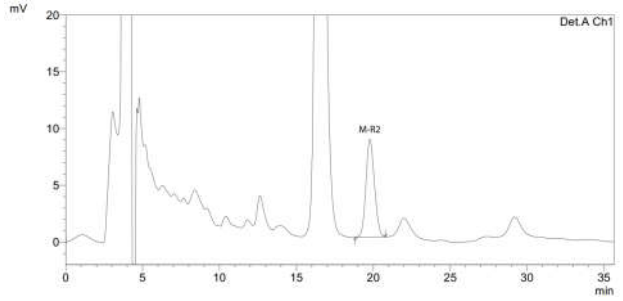
Hình 2. *Sắc ký đồ định lượng G-Rg1, G-Rb1, G-Rd bằng HPLC*

Hệ thống HPLC Shimadzu LC-10AD, cột Kyatech LC18 C18, 250 × 4,6 mm, 5 µm, tốc độ dòng: 0,7 ml/phút, thể tích tiêm mẫu: 20 µl, phát hiện UV 203 nm, pha động: Rửa giải gradient với acetonitril (A), nước (B) như bảng 1.

Nhận xét: Ở điều kiện sắc ký này, các pic tạp tách ra khỏi pic của G-Rg_1, G-Rb_1, G-Rd; thời gian định lượng 50 phút nên phù hợp với yêu cầu định lượng nhanh.

Định lượng majonosid-R2 trong sapoin toàn phần Sâm Việt Nam trồng

Hệ thống HPLC Shimadzu LC-8A, cột Kyatech HiQ sil C 18, 250 × 4,6 mm, 5 µm, tốc độ dòng: 0,8 ml/phút, thể tích tiêm mẫu: 20 µl, pha động: Acetonitril-Nước (24:76), phát hiện: UV 190 nm.



Hình 3. *Sắc ký đồ định lượng MR2 bằng HPLC*

Nhận xét: Thời gian tiến hành định lượng tương đối ngắn (40 phút), nên thích hợp cho việc định lượng nhanh và đồng thời với saponin kể trên.

Bảng 2. *Kết quả hàm lượng một số saponin trong saponin toàn phần*

Mẫu	G-Rb_1(%)	G-Rd (%)	G-Rg_1 (%)	M-R2 (%)
1	8,27	8,45	14,90	23,87
2	8,24	8,69	14,86	23,70

Mẫu	G-Rb$_1$(%)	G-Rd (%)	G-Rg$_1$ (%)	M-R2 (%)
3	8,35	8,56	14,71	23,89
4	8,57	8,47	14,68	23,54
5	8,49	8,65	14,76	23,84
6	8,34	8,53	14,57	21,75
TB	8,37	8,55	14,7	23,76
SD	0,128	0,096	0,101	0,132
RSD%	1,52	1,12	0,68	0,55

Hàm lượng phần trăm của ginsenosid trong saponin toàn phần như sau: G-Rb$_1$ (8,37%), G-Rd (8,55%), G-Rg$_1$ (14,7%), M-R2 (23,76%). Tổng hàm lượng 4 saponin chính trong saponin toàn từ cao toàn phần Sâm Việt Nam trồng là 55,38%.

Kết quả cho thấy RSD % ứng với G-Rb$_1$, G-Rd, G-Rg1, M-R2 đều < 2,7%. Vậy quy trình định lượng đồng thời G-Rb$_1$, G-Rd, G-Rg1 và định lượng M-R2 trong SVN bằng phương pháp HPLC đạt yêu cầu về độ chính xác của một quy trình định lượng.

Thành phần majonosid R2, saponin thuộc nhóm occotillol chiếm hàm lượng cao nhất (23,76%) trong saponin toàn phần Sâm Việt Nam. Điều này cho thành phần majomosid- R2 trong Sâm Việt Nam trồng chiếm tỷ lệ gần giống như Sâm Việt Nam hoang dại (22,7%) đã công bố trước đây[6].

Hoạt tính kháng oxy hóa của saponin toàn phần Sâm Việt Nam trồng trên tế bào *Hep G2*

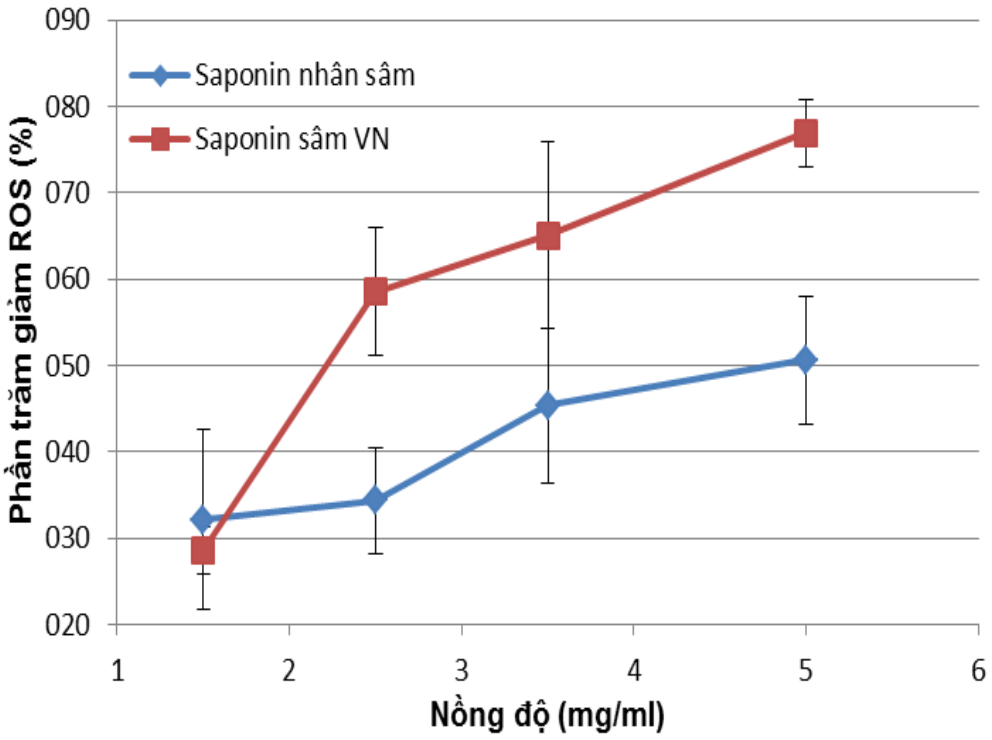
Bảng 3. *Hoạt tính kháng oxy hóa của saponin toàn phần tại nồng độ 5 mg/ml*

Mẫu	Nồng độ (mg/ml)	Phần trăm giảm ROS (%)			
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB ± SD
Saponin SVN	5	79,48	78,78	72,48	76,91 ± 3,852
Saponin NS	5	53,30	56,31	42,13	50,58 ± 7,417

SVN: Sâm Việt Nam; NS: Nhân sâm

Khả năng kháng oxy hóa của các mẫu saponin toàn phần Sâm Việt Nam tại nồng độ 5 mg/ml làm giảm ROS (reactive oxygen species) là 76,91 ± 3,85% so với mẫu đối chứng (tế bào được xử lí với nước); phần trăm giảm ROS của saponin Nhân sâm là 50,58 ± 7,47% so với mẫu đối chứng.

Xác định nồng độ kháng oxy hóa 50% (half maximal effective concentration, EC50)



Hình 4. *Phần trăm giảm ROS của saponin toàn phần ở các nồng độ khác nhau*

Nồng độ kháng oxy hóa 50% của saponin toàn phần được xác định bằng cách giảm dần nồng độ để phần trăm giảm ROS đạt gần 50%. Kết quả từ Hình 4 cho thấy khả năng làm giảm ROS của saponin toàn phần giảm dần theo nồng độ giảm dần. Dựa vào phương pháp nội suy, chúng tôi xác định giá trị EC50 của saponin Sâm Việt Nam là 2,24 ± 0,23 (mg/ml) và EC50 của saponin Nhân sâm là 4,85 ± 1,90 (mg/ml). Kết quả cho thấy saponin toàn phần của Sâm Việt Nam có tác dụng kháng oxy hóa mạnh hơn saponin toàn phần Nhân sâm. Có thể do hàm lượng các ginsenosid trong saponin toàn phần Sâm Việt Nam cao hơn trong saponin toàn phần Nhân sâm (bảng 2) hoặc thành phần majonosid – R2 chỉ có trong Sâm Việt Nam mà không có trong Nhân sâm, góp phần thể hiện hoạt tính kháng oxy hóa.

Thử nghiệm khả năng kháng oxy hóa nội bào được xác định dựa vào nguyên tắc hoạt động của DCFH-DA. DCFH-DA là chất không phát huỳnh quang và không phân cực nên thấm được qua màng tế bào. Khi vào trong tế bào, DCFH-DA bị thủy giải bởi các esterase nội bào tạo thành diclorodihyddrofluorescein (DCFH). DCFH là một chất phân cực nên bị giữ lại bên trong tế bào và nếu có sự hiện diện của ROS, DCFH sẽ bị oxy hóa thành 2′,7′-diclorofluorescein (DCF) phát huỳnh quang[2]. Hoạt tính kháng oxy hóa của một chất được xác định thông qua phần trăm làm giảm ROS so với mẫu đối chứng. Saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam nồng độ 5 mg/ml có hoạt tính giảm ROS cao gấp 52% so với Nhân sâm. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu đã công bố trước đây[4,6].

Một số nghiên cứu đã báo cáo rằng saponin toàn phần Sâm Việt Nam có tác dụng kháng oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do, hạn chế quá trình peroxid hóa lipid bằng cách làm gia tăng glutathion và giảm sự hình thành malonyl dialdehyd[4].

Kết quả nghiên cứu cho thấy tác dụng kháng oxy hóa của saponin toàn phần từ Sâm Việt Nam trồng có tác dụng kháng oxy hóa tương tự saponin Sâm Việt Nam hoang dại[5].

Kết quả đề tài là bước đầu làm cơ sở cho các thử nghiệm dược lý tiếp theo được tiến hành trên *in vivo*. Để làm rõ thêm cơ chế kháng oxy hóa của saponin toàn phần Sâm Việt Nam cần nghiên cứu thêm hoạt tính kháng oxy hóa trên tế bào của majonosid- R2, thành phần chiếm hàm lượng cao trong Sâm Việt Nam.

KẾT LUẬN

Saponin toàn phần từ cao Sâm Việt Nam trồng 6 tuổi đã được tiêu chuẩn hóa, thể hiện hiện hoạt tính kháng oxy hóa nội bào trên tế bào *Hep G2* điển hình hơn saponin Nhân sâm trồng 6 tuổi.

Lời cám ơn: *Bài báo này là một phần kết quả của đề tài mã số KC.10.25/11-15 thuộc Chương trình KC.10/11-15 "Nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ tiên tiến phục vụ bảo vệ và chăm sóc sức khoẻ cộng đồng".*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Le Quoc Viet, Vu Huynh Kim Long *et al.* (2013).“Application of solid phase extraction in quantitative determination of major saponins in Panax Vietnamensis”, *Journal of Medicinal Materials*; 18(5):330-337.
2. Nguyễn Thị My Nương, Hồ Huỳnh Thùy Dương (2013). “Xây dựng và áp dụng thử nghiệm 2′,7′-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA) xác định khả năng kháng oxy hóa của một số bài thuốc cổ truyền trên dòng tế bào ung thư Hep G2”, *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, tập 11, số 3, tr. 433-440.
3. Nguyen Thi Thu Huong, Kinzo Matsumoto *et al.* (1998).“In vitro antioxidant activity of Vietnamese Ginseng saponin and its components”, *Biol.Pharm.Bull*; 21(9):978-981.
4. Nguyen Thi Thu Huong, Yukihisa Murakami, Michihisa Tohda, et al. (2005). “Social isolation stress-induced oxidative damage in mouse brain and its modulation by majonoside-R2, a Vietnamese ginseng saponin”. *Biol. Pharm. Bull*, 28(8), 1389-1393.
5. Nguyễn Thượng Dong, Trần Công Luận, Nguyễn Thị Thu Hương (2007). *Sâm Việt nam và một số cây thuốc thuộc họ Nhân Sâm*. Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật Hà Nội, tr.189-194.
6. Nguyen Tuan Dung, Villard PH., Barlatier A., Elsisi AE., Jouve E., Nguyen Minh Duc, Sauze C., Durand A., Lacarelle B.(2002). “Panax vietnamensis protects mice against carbon

tetrachloride-induced hepatotoxicity without any modification CYP2E1 gene expression". *Planta Medica*; 66:711-719.

7. Tran Le Quan, Adnyana I.K., Tezuka Y., Harimaya Y., Saiki I., Kurashige Y., Tran Kim Quy, Kadota S.(2002). "Hepatoprotective effect of majonoside R2, the major saponin from Vietnamese ginseng (Panax vietnamensis)". *Planta Medica*; 68(5):402-406.
8. Tran Le Quan, Adnyana I.K., Tezuka Y., Nagaoka T., Tran Kim Quy, Kadota S.(2001). "Triterpene saponins from Vietnamese ginseng (Panax vietnamensis) and their hepatocytoprotective activity". *J. Nat. Prod*; 64(4):456-461.

Ngày nhận bài báo: *27/02/2015*
Ngày phản biện nhận xét bài báo: *15/05/2015*
Ngày bài báo được đăng: *08/09/2015*