

## EVALUATING THE NRF2 INHIBITORY ACTIVITY OF EXTRACTS FROM THE VIETNAMESE MEDICINAL PLANT HELICTERES HIRSUTA USING A ZEBRAFISH MODEL

Nguyen Thanh Vu<sup>1</sup>, Le Thi Ngoc Tam<sup>2,3</sup>, Le Nguyen Thien Han<sup>2,3</sup>,  
Nguyen Kim Anh<sup>2,3</sup>, Thai Khac Minh<sup>2,3</sup>, Le Minh Tri<sup>2,3</sup>, Nguyen Minh Hien<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Aquatic Biotechnology, Biotechnology Center of Ho Chi Minh City -  
2374 QL1A, Ward 2, Dist 12, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>University of Health Sciences, Vietnam National University, Ho Chi Minh City

<sup>2</sup>University of Health Sciences, Vietnam National University at Ho Chi Minh City - Hai Thuong Lan Ong Street,  
Ho Chi Minh City National University Urban Area, Dong Hoa Ward, Di An City, Binh Duong Province, Vietnam

<sup>3</sup>Vietnam National University at Ho Chi Minh City - Hai Thuong Lan Ong Street,  
Ho Chi Minh City National University Urban Area, Dong Hoa Ward, Di An City, Binh Duong Province, Vietnam

Received: 23/10/2024

Revised: 02/11/2024; Accepted: 23/11/2024

### ABSTRACT

**Background:** *Helicteres hirsuta* Lour. is a medicinal plant traditionally used to treat liver diseases.

**Aim:** This study aimed to evaluate the Nrf2 inhibitory activity of the n-hexane extract from *H. hirsuta* leaves (AX-He) using a zebrafish model.

**Method:** Wild-type (AB) and Keap1b knockout (*keap1b<sup>dl40</sup>*) zebrafish larvae were treated with AX-He at various concentrations. The *nrf2<sup>dl703</sup>* knockout line was used as a negative control for Nrf2 activity. The antioxidant activity of AX-He was assessed by its ability to protect WT larvae against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress. The expression of Nrf2 target genes, including *gstp1*, *prdx1*, and *nrf2a*, was analyzed by RT-qPCR.

**Results:** AX-He suppressed the expression of *prdx1* and *nrf2a* in *keap1b<sup>dl40</sup>* larvae at concentrations of 50 and 75 µg/mL. At 100 µg/mL, AX-He reduced the antioxidant capacity of WT larvae against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exposure.

**Conclusion:** To sum up, this study provides evidence that AX-He can inhibit Nrf2, suggesting the potential use of *H. hirsuta* in treating diseases associated with Nrf2 dysregulation, including cancer.

**Keywords:** *Helicteres hirsuta*, inhibit Nrf2, Keap1, zebrafish.

---

\*Corresponding author

Email: nmhien@uhs.edu.vn Phone: (+84) 908448976 <https://doi.org/10.52163/yhc.v65iCD12.1815>

# ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ NRF2 CỦA CAO CHIẾT LÁ AN XOA (HELICTERES HIRSUTA LOUR) TRÊN MÔ HÌNH CÁ NGỰA VẦN

Nguyễn Thành Vũ<sup>1</sup>, Lê Thị Ngọc Tâm<sup>2,3</sup>, Lê Nguyễn Thiên Hân<sup>2,3</sup>,  
Nguyễn Kim Anh<sup>2,3</sup>, Thái Khắc Minh<sup>2,3</sup>, Lê Minh Trí<sup>2,3</sup>, Nguyễn Minh Hiền<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Phòng Công nghệ sinh học Thủy sản, Trung tâm Công nghệ sinh học TP. Hồ Chí Minh -  
2374 QL1A, Khu phố 2, Q. 12, Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Sức khỏe, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh - Đường Hải Thượng Lãn Ông,  
Khu đô thị Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, P. Đông Hòa, Tp. Dĩ An, Tỉnh Bình Dương, Việt Nam

<sup>3</sup>Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh - Đường Hải Thượng Lãn Ông,  
Khu đô thị Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, P. Đông Hòa, Tp. Dĩ An, Tỉnh Bình Dương, Việt Nam

Ngày nhận bài: 23/10/2024

Chỉnh sửa ngày: 02/11/2024; Ngày duyệt đăng: 23/11/2024

## TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Cây An Xoa (*Helicteres hirsuta* Lour.) được sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị các bệnh lý về gan.

**Mục tiêu nghiên cứu:** Nghiên cứu này nhằm đánh giá hoạt tính ức chế yếu tố phiên mã Nrf2 của cao chiết n-hexan từ lá cây An Xoa (AX-He) trên mô hình cá ngựa vằn.

**Đối tượng và phương pháp:** Ấu trùng cá ngựa vằn hoang dại (AB), và dòng knockout Keap1b (*keap1b<sup>dl40</sup>*) được xử lý với AX-He ở các nồng độ khác nhau. Dòng knockout *nrf2* (*nrf2<sup>dl703</sup>*) được sử dụng làm đối chứng âm cho hoạt động của Nrf2. Hoạt tính kháng oxy hóa của AX-He được đánh giá thông qua khả năng bảo vệ ấu trùng WT khỏi stress oxy hóa gây ra bởi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Biểu hiện của các gen đích Nrf2, bao gồm *gstp1*, *prdx1* và *nrf2a*, được phân tích bằng phương pháp RT-qPCR.

**Kết quả:** Kết quả cho thấy AX-He ức chế biểu hiện của *prdx1* và *nrf2a* trên dòng *keap1b<sup>dl40</sup>* ở nồng độ 50 và 75 µg/mL. Ở nồng độ 100 µg/mL, AX-He làm giảm khả năng chống oxy hóa của ấu trùng WT khi tiếp xúc với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Kết luận:** Nghiên cứu này cung cấp bằng chứng cho thấy AX-He có khả năng ức chế Nrf2, mở ra tiềm năng ứng dụng của cây An Xoa trong điều trị các bệnh lý liên quan đến hoạt động bất thường của Nrf2, bao gồm ung thư.

**Từ khóa:** Cây An Xoa, *Helicteres hirsuta*, Nrf2, Keap1, cá ngựa vằn, stress oxy hóa.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Stress oxy hóa là tình trạng mất cân bằng oxy hóa khử, gây ra tổn thương oxy hóa cho các phân tử sinh học, góp phần vào sự phát triển của nhiều bệnh lý [1, 2]. Một trong những protein điều hòa kiểm soát stress oxy hóa quan trọng nhất là yếu tố phiên mã Nrf2 (yếu tố liên kết erythroid 2 loại 2). Trong điều kiện bình thường, Nrf2 liên kết với protein ức chế Keap1 (protein liên kết Kelch giống với protein 1) trong tế bào chất và bị ức chế hoạt động [3, 4]. Khi stress oxy hóa xảy ra, Nrf2 được giải phóng, di chuyển vào nhân tế bào và kích hoạt phiên mã của các gen bảo vệ chống oxy hóa [5]. Mặc dù Nrf2 đóng vai trò quan trọng trong việc chống oxy hóa tế bào nhưng hoạt động quá mức của Nrf2 có thể gây ra

tác động bất lợi. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng sự hoạt hóa Nrf2 quá mức có thể góp phần vào sự phát triển của ung thư, bệnh tim mạch và các bệnh lý khác [6, 7]. Do đó, điều hòa hoạt động của Nrf2 là một chiến lược tiềm năng để phòng ngừa và điều trị các bệnh liên quan đến stress oxy hóa.

Cá ngựa vằn (*Danio rerio*) là mô hình động vật có xương sống được sử dụng rộng rãi do kích thước nhỏ, thời gian phát triển nhanh, phôi trong suốt và dễ dàng thao tác di truyền [8, 9]. Cá ngựa vằn có hai đồng dạng của Keap1, Keap1a và Keap1b, trong khi động vật có vú chỉ có một dạng Keap1 [10, 11]. Khi knockout gen

\*Tác giả liên hệ

Email: nmhien@uhs.edu.vn Điện thoại: (+84) 908448976 <https://doi.org/10.52163/yhc.v65iCD12.1815>

Keap1 ở cá ngựa vằn sẽ làm kích hoạt liên tục hoạt động Nrf2[10, 12].

Cây An Xoa được sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị các bệnh về gan, thận và đường tiêu hóa[13, 14]. Các nghiên cứu trước đây của nhóm tác giả Nguyễn Minh Hiền đã chỉ ra rằng cao chiết lá An Xoa có khả năng ức chế Nrf2 trên dòng tế bào ung thư gan Huh7[15]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng mô hình cá ngựa vằn hoang dại và cá knockout Keap1 (keap1b<sup>dl40</sup>) xử lý với cao chiết cây An Xoa để đánh giá tác động của cao chiết lên biểu hiện của Nrf2 và các gen mục tiêu của Nrf2, bao gồm gstp1 và prdx1.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Hóa chất và thiết bị

- *Hóa chất*: Methanol, n-hexan, cloroform, ethyl acetat, n-butanol (Xilong, Trung Quốc). Dimethyl sulfoxid (Sigma, Mỹ), 35% hydroperoxid (Xilong, Trung Quốc), Luteolin (Ark Pharm, Trung Quốc); nước diethylpyrocarbonat (DEPC), Trisure (Bioline, Mỹ) Se,nsiFAST cDNA Synthesis Kit (Bioline, Mỹ), Maxima SYBR Green qPCR Master Mix (Thermo Fischer, Mỹ).

- *Thiết bị*: Máy ly tâm eppendorf 5425R (Eppendorf, Đức); Máy ủ gia nhiệt Stuart SBH200D (Stuart, Anh); Nanodrop 2000 (Thermo Fischer Scientific, Mỹ), Eppendorf MasterCycler (Eppendorf, Đức), Máy cô đặc chân không có ly tâm (Eppendorf, Đức); Máy Real-time PCR LightCycler® 96 (Roche, Mỹ).

### 2.2. Chuẩn bị cao chiết lá An Xoa (*Helicteres hirsuta*)

Lá cây An Xoa (*Helicteres hirsuta* Lour.) được thu hái tại tỉnh An Giang, Việt Nam vào tháng 12 năm 2022. Mẫu lá được xử lý theo quy trình sau: rửa sạch, sấy khô ở 60°C, nghiền thành bột mịn và rây qua rây có kích thước 0,5 mm. 25 g bột lá An Xoa được chiết xuất bằng phương pháp ngâm chiết với 400 mL methanol (MeOH) trong 3 ngày ở nhiệt độ phòng. Dịch chiết thu được cô quay chân không ở 50°C để loại bỏ dung môi, thu được cao khô. Cao khô được hòa tan lại trong dung môi n-hexan để phân đoạn. Cuối cùng, dịch chiết n-hexan được cô quay chân không ở nhiệt độ 50°C để thu được cao chiết n-hexan. Cao chiết được bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng.

### 2.3. Dòng cá ngựa vằn và điều kiện nuôi

Dòng cá ngựa vằn hoang dại (wild-type, AB) được cung cấp bởi Giáo sư Makoto Kobayashi, Đại học Tsukuba (Nhật Bản). Dòng cá ngựa vằn keap1b knockout (keap1b<sup>dl40</sup>) được tạo ra bằng kỹ thuật CRISPR/Cas9. Cả hai dòng cá được nuôi và lưu giữ tại Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh. Cá ngựa vằn

được nuôi trong hệ thống tuần hoàn nước ngọt ở điều kiện tiêu chuẩn: nhiệt độ 28-30°C, pH 7-7,5, độ cứng 6-8 dH và chu kỳ sáng/tối 14/10 giờ. Cá bố mẹ được nuôi trong hệ thống hai tầng. Trứng được thu thập và phân loại, loại bỏ trứng chưa được thụ tinh. Thí nghiệm được thực hiện trên ấu trùng cá 3,5 và 4 ngày sau thụ tinh (dpf).

### 2.4. Khảo sát nồng độ an toàn của cao chiết lá An Xoa

Để xác định nồng độ an toàn của cao chiết cây An Xoa trên ấu trùng cá ngựa vằn, chúng tôi tiến hành khảo sát độc tính cấp tính. Ấu trùng cá ngựa vằn AB ở giai đoạn 3,5 dpf được xử lý với các nồng độ cao chiết 250-1750 µg/mL trong 72 giờ. Quy trình xử lý được liệu và đánh giá tỷ lệ sống của cá ngựa vằn được mô tả bởi nhóm tác giả Nguyễn Thành Vũ và cộng sự 2022[16]. Tỷ lệ sống của ấu trùng được ghi nhận sau mỗi 12 giờ xử lý. Nồng độ cao chiết không gây chết hoặc gây dị tật hình thái trên ấu trùng được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

### 2.5. Đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa in vivo

Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết n-hexan lá cây An Xoa được đánh giá thông qua khả năng bảo vệ ấu trùng cá ngựa vằn AB khỏi stress oxy hóa gây ra bởi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa được mô tả bởi Nguyễn Thành Vũ và cộng sự 2022[16]. Cụ thể, ấu trùng cá ngựa vằn 3,5 ngày tuổi được chia thành ba nhóm: nhóm được xử lý với cao chiết n-hexan lá cây An Xoa ở nồng độ an toàn trong 12 giờ, sau đó tiếp xúc với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 mM (nhóm 1); nhóm chỉ tiếp xúc với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 mM (nhóm 2); và nhóm đối chứng không được xử lý với cao chiết hay H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (nhóm 3). Tỷ lệ sống của ấu trùng được theo dõi và ghi nhận mỗi 12 giờ trong vòng 48 giờ sau khi tiếp xúc với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### 2.6. Xử lý cá ngựa vằn với cao chiết lá An Xoa

Dựa trên kết quả khảo sát nồng độ an toàn, ấu trùng cá ngựa vằn AB; nrf2<sup>dl703</sup> và keap1b<sup>dl40</sup> ở giai đoạn 3,5 dpf được chia ngẫu nhiên thành các nhóm thí nghiệm và được xử lý với cao chiết cây An Xoa trong 12 giờ. Sau 24 giờ xử lý, RNA được chiết xuất từ toàn bộ ấu trùng cá ngựa vằn bằng bộ kit Trisure. Quy trình thực hiện RT-qPCR được mô tả chi tiết bởi Nguyễn Thành Vũ và cộng sự 2022[17]. Cụ thể, cDNA được tổng hợp từ RNA bằng bộ kit SensiFAST cDNA Synthesis Kit. Biểu hiện của các gen đích gstp1, prdx1 và nrf2a được định lượng bằng phương pháp PCR định lượng thời gian thực (RT-qPCR) trên hệ thống LightCycler® 96 với các primer đặc hiệu (Bảng 1). Gen eflα được sử dụng làm gen tham chiếu nội bộ. Mức độ biểu hiện gen tương đối được phân tích bằng phương pháp 2<sup>-ΔΔCt</sup>.

**Bảng 1. Trình tự các cặp mồi được sử dụng trong nghiên cứu**

Gen	Primer	Trình tự (5'-3')	Trích dẫn
<i>ef1a</i>	Forward	CGTGGTAATGTG-GCTGGAGA	[15,16]
	Reverse	CTGAGCGTT-GAAGTTGGCAG	
<i>gstp1</i>	Forward	CAACGCCATGCT-GAGACATC	
	Reverse	GAAGATCTTCAACG-CCGTCG	
<i>prdx1</i>	Forward	GTCCCACTGAGAT-CATCGCC	
	Reverse	AAC-CACCTTGTTTTCGG-GGT	
<i>nrf2a</i>	Forward	ATGTCTAAAATG-CAGCCAAGCC	[5]
	Reverse	CGGTAGCTGAAGTC-GAACAC	

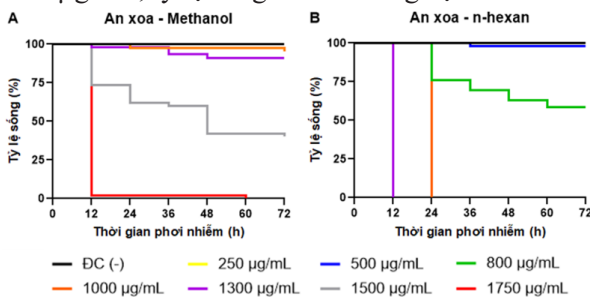
**2.7. Phân tích thống kê**

Các thí nghiệm được thực hiện ít nhất ba lần độc lập với ba lần lặp kỹ thuật cho mỗi lần thí nghiệm. Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (SD). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm được phân tích bằng phần mềm GraphPad Prism 10 sử dụng ANOVA một chiều, tiếp theo là kiểm định hậu nghiệm Tukey. Giá trị  $p < 0,05$  được coi là có ý nghĩa thống kê.

**3. KẾT QUẢ**

**3.1. Độ tính của các cao chiết từ cây An Xoa**

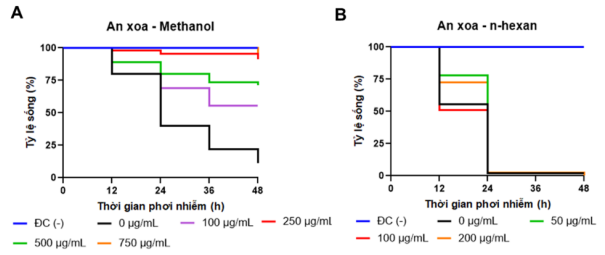
Đối với cao chiết methanol tổng lá An xoa (AX-Me), tất cả ấu trùng cá ngựa vằn đều sống sót ở nồng độ ≤ 800 µg/mL sau 12 giờ, và tỷ lệ sống này được duy trì trong suốt 72 giờ thử nghiệm (Hình 1A). Đối với cao chiết phân đoạn n-hexan lá An xoa (AX-He), ấu trùng chết ở nồng độ từ 1300 đến 1750 µg/mL của AX-He trong vòng 12 giờ đầu tiên (Hình 1B). Tuy nhiên, ở nồng độ ≤ 250 µg/mL, tỷ lệ sống của ấu trùng đạt 100%.



**Hình 1. Tỷ lệ sống của ấu trùng khi phơi nhiễm AX-Me (A) và AX-He (B) nồng độ 250 – 1750 µg/mL**

**3.2. Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết lá An Xoa**

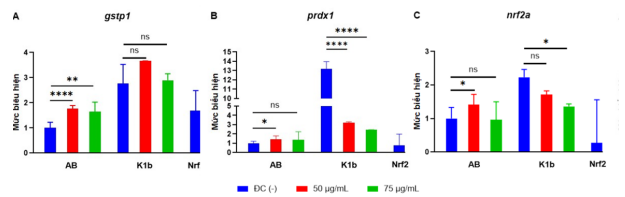
Kiểm định log-rank cho thấy không có mối tương quan rõ ràng giữa nồng độ AX-Me (100-750 µg/mL) và khả năng bảo vệ ấu trùng cá ngựa vằn khỏi stress oxy hóa (Hình 2). Tuy nhiên, ở tất cả các nồng độ thử nghiệm, tỷ lệ sống của ấu trùng sau 48 giờ tiếp xúc với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> đều cao hơn nhóm đối chứng chỉ xử lý với H<sub>2</sub>O (Hình 2A). Đối với cao chiết AX-He, nồng độ 100 µg/mL thể hiện khả năng bảo vệ ấu trùng cá ngựa vằn thấp nhất sau 12 giờ tiếp xúc với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, với tỷ lệ sống chỉ 50%, thấp hơn nhóm đối chứng không xử lý với dược liệu (55,56%) (Hình 2B).



**Hình 2. Tỷ lệ sống của ấu trùng được xử lý AX-Me (A) và AX-He (B) sau khi phơi nhiễm với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 mM**

**3.3. Khả năng ức chế Nrf2 của lá An Xoa trên mô hình cá ngựa vằn**

Kết quả ở Hình 3A cho thấy AX-He làm tăng biểu hiện của các gen đích Nrf2, đặc biệt là gen *gstp1* ở dòng cá ngựa vằn AB. Trong khi đó, ở dòng cá *keap1b<sup>dl40</sup>*, AX-He ở nồng độ 50 và 75 µg/mL làm giảm đáng kể biểu hiện của gen *prdx1* (Hình 3B), và gen *nrf2a* (Hình 3C). Điều này cho thấy AX-He có khả năng ức chế Nrf2, đặc biệt là trong điều kiện Nrf2 được kích hoạt liên tục do thiếu hụt Keap1b.



**Hình 3. Biểu hiện gen mục tiêu Nrf2 với AX-He 50, 75 µg/mL. AB: cá ngựa vằn hoang dại; K1b: cá ngựa vằn knockout gen Keap1 (keap1b<sup>dl40</sup>); Nrf2: cá ngựa vằn knockout gen nrf2a**

**4. THẢO LUẬN**

Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng cao chiết AX-He có tiềm năng ức chế Nrf2 trên mô hình cá ngựa vằn. Điều này được thể hiện qua việc giảm biểu hiện của các gen mục tiêu Nrf2 như *prdx1* và *nrf2a* trên dòng cá knockout *keap1b (keap1b<sup>dl40</sup>)* khi xử lý với AX-He ở nồng độ 50 và 75 µg/mL. Keap1b là một protein ức chế hoạt động của Nrf2, do đó, việc loại bỏ Keap1b dẫn đến sự hoạt hóa liên tục của Nrf2 và tăng cường biểu hiện của các gen mục tiêu Nrf2 [10, 12]. Việc bất hoạt Keap1b trên cá ngựa vằn mô phỏng tình trạng đột biến Keap1

thường xuất hiện ở các tế bào ung thư hiện [18, 19], làm tăng cường sự tích lũy của Nrf2 trong nhân, dẫn đến tăng các enzyme chống oxy hóa[20]. Đối với gen nrf2a quy định trình tự chức năng gắn mục tiêu vùng ARE trên Nrf2, việc giảm mức độ biểu hiện gen trước phiên mã làm giảm tín hiệu đến các gen mục tiêu[21]. Sự giảm biểu hiện của prdx1 và nrf2a trên dòng cá keap1b<sup>dl40</sup> cho thấy AX-He có khả năng ức chế Nrf2 ngay cả khi không có sự kiểm soát của Keap1b.

Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng lá An Xoa chứa nhiều flavonoid, sterol, phenolic và saponin, có khả năng kháng viêm, bảo vệ tế bào gan và chống ung thư[22, 23]. Đặc biệt, một số hợp chất trong cây An Xoa có khả năng ức chế yếu tố phiên mã Nrf2[24], đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa phản ứng chống oxy hóa của tế bào, đồng thời liên quan đến quá trình tự thực bào và con đường tín hiệu PI3K/AKT[24]. Kết quả sắc ký lớp mỏng cho thấy sự hiện diện của các sterol thực vật như stigmasterol và  $\beta$ -sitosterol trong cao chiết lá cây An Xoa [25]. Các sterol này có khả năng điều hòa Nrf2, làm tăng độ nhạy cảm của tế bào ung thư với cisplatin, gợi ý rằng chúng có thể đóng vai trò quan trọng trong việc ức chế Nrf2 và hỗ trợ điều trị ung thư kháng thuốc. Khả năng ức chế Nrf2 của cao chiết lá cây An Xoa mở ra tiềm năng ứng dụng trong điều trị ung thư bằng cách làm giảm mức độ biểu hiện Nrf2 trong tế bào ung thư, ức chế sự phát triển của khối u và có khả năng hiệp đồng tác dụng với các con đường gây tự thực bào hoặc tăng độ nhạy cảm của tế bào ung thư với các thuốc điều trị ung thư khác[26].

Kết quả nghiên cứu cho thấy phân đoạn n-hexan của lá An Xoa (AX-He) có khả năng ức chế hoạt động của Nrf2, tương tự như một số hợp chất tự nhiên khác như brusatol từ cây xoan rừng[27-29]. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng việc ức chế Nrf2 có thể thông qua nhiều cơ chế khác nhau, bao gồm ức chế sự liên kết của Nrf2 với DNA, ức chế sự ổn định của Nrf2, hoặc kích hoạt các con đường tín hiệu ức chế hoạt động của Nrf2[30]. Mặc dù ức chế Nrf2 là một chiến lược tiềm năng để điều trị ung thư, nhưng cần lưu ý rằng Nrf2 cũng đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ tế bào khỏi stress oxy hóa. Do đó, việc ức chế Nrf2 cần được thực hiện một cách chọn lọc và cân nhắc để tránh các tác dụng phụ không mong muốn.

## 5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã đánh giá khả năng ức chế Nrf2 của cao chiết n-hexan từ lá An Xoa trên mô hình cá ngựa vằn. Kết quả cho thấy AX-He có khả năng ức chế Nrf2, thể hiện qua việc giảm biểu hiện của các gen đích Nrf2 (prdx1 và nrf2a) trên dòng cá ngựa vằn knockout Keap1b (keap1b<sup>dl40</sup>). Mặc dù cơ chế ức chế Nrf2 của AX-He còn cần được nghiên cứu thêm, nhưng những phát hiện này cho thấy tiềm năng của AX-He trong việc điều hòa hoạt động của Nrf2 và ứng dụng trong hỗ trợ điều trị kháng thuốc ung thư.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh (ĐHQG-HCM) trong khuôn khổ Đề tài mã số B2023-44-01.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Aramouni K, Assaf R, Shaito A, Fardoun M, Al-Asmakh M, Sahebkar A, Eid AH (2023). Biochemical and cellular basis of oxidative stress: Implications for disease onset. *Journal of Cellular Physiology*, 238(9): 1951-1963.
- [2] Sies H, Berndt C, Jones DP (2017). Oxidative Stress. *86(Volume 86, 2017): 715-748.*
- [3] Kaspar JW, Niture SK, Jaiswal AK (2009). Nrf2:INrf2 (Keap1) signaling in oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 47(9): 1304-1309.
- [4] Sun Z, Zhang S, Chan JY, Zhang DD (2007). Keap1 Controls Postinduction Repression of the Nrf2-Mediated Antioxidant Response by Escorting Nuclear Export of Nrf2. *Molecular and Cellular Biology*, 27(18): 6334-6349.
- [5] Nguyen VT, Fuse Y, Tamaoki J, Akiyama S-i, Muratani M, Tamaru Y, Kobayashi M (2016). Conservation of the Nrf2-Mediated Gene Regulation of Proteasome Subunits and Glucose Metabolism in Zebrafish. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016(1): 5720574.
- [6] Kim J, Keum Y-S (2016). NRF2, a Key Regulator of Antioxidants with Two Faces towards Cancer. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016(1): 2746457.
- [7] van der Wijst MGP, Brown R, Rots MG (2014). Nrf2, the master redox switch: The Achilles' heel of ovarian cancer? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1846(2): 494-509.
- [8] Lam SH, Gong Z (2006). Modeling Liver Cancer Using Zebrafish: A Comparative Oncogenomics Approach. *Cell Cycle*, 5(6): 573-577.
- [9] Tsang B, Zahid H, Ansari R, Lee RC-Y, Partap A, Gerlai R (2017). Breeding Zebrafish: A Review of Different Methods and a Discussion on Standardization. *Zebrafish*, 14(6): 561-573.
- [10] Nguyen VT, Bian L, Tamaoki J, Otsubo S, Muratani M, Kawahara A, Kobayashi M (2020). Generation and characterization of keap1a- and keap1b-knockout zebrafish. *Redox Biology*, 36: 101667.
- [11] Li L, Kobayashi M, Kaneko H, Nakajima-Takagi Y, Nakayama Y, Yamamoto M (2008). Molecular Evolution of Keap1: TWO Keap1 MOLECULES WITH DISTINCTIVE INTERVENING REGION STRUCTURES ARE CONSERVED AMONG FISH\*. *Journal of Biological Chemistry*, 283(6): 3248-3255.
- [12] Bian L, Nguyen VT, Tamaoki J, Endo Y, Dong

- G, Sato A, Kobayashi M (2023). Genetic hyperactivation of Nrf2 causes larval lethality in Keap1a and Keap1b-double-knockout zebrafish. *Redox Biology*, 62: 102673.
- [13] [13] Peeters L, Van der Auwera A, Beirnaert C, Bijttebier S, Laukens K, Pieters L, Hermans N, Foubert K (2020). Compound Characterization and Metabolic Profile Elucidation after In Vitro Gastrointestinal and Hepatic Biotransformation of an *Herniaria hirsuta* Extract Using Unbiased Dynamic Metabolomic Data Analysis. *Metabolites*, 10(3): 111.
- [14] (2022). *Herniaria hirsuta*. CABI Compendium.
- [15] Nguyen MH, Nguyen NYT, Chen Y-S, Nguyen Le HT, Vo HT, Yen C-H (2024). Unveiling the potential of medicinal herbs as the source for in vitro screening toward the inhibition of Nrf2. *Heliyon*, 10(19): e38411.
- [16] Thanh Nguyen V, Nguyen TTT, Phuong Phi N, Mai Que DN, Thu Hien L, Phuong Hanh LL, Phuong Thao NH, Nguyen XT, Thanh Luu P, Thuy Vy NH, Thi Thuy D (2022). Keap1/Nrf2-independent antioxidative activity of *Phyllanthus amarus* extract in zebrafish. *Vietnam Journal of Biotechnology*, 20(4): 653-661.
- [17] Nguyen VT, Thao VTM, Hanh LLP, Rol TH, Thao NHP, Nguyen TX, Luu PT, Thuy DT (2024). Exploring the Phytochemical Diversity and Antioxidant Potential of the Vietnamese *Smilax glabra* Roxb: Insights from UPLC-QTOF-MS/MS and Zebrafish Model Studies. *Applied Biochemistry and Biotechnology*.
- [18] Singh A, Venkannagari S, Oh KH, Zhang Y-Q, Rohde JM, Liu L, Nimmagadda S, Sudini K, Brimacombe KR, Gajghate S, Ma J, Wang A, Xu X, Shahane SA, Xia M, Woo J, Mensah GA, Wang Z, Ferrer M, Gabrielson E, Li Z, Rastinejad F, Shen M, Boxer MB, Biswal S (2016). Small Molecule Inhibitor of NRF2 Selectively Intervenes Therapeutic Resistance in KEAP1-Deficient NSCLC Tumors. *ACS Chemical Biology*, 11(11): 3214-3225.
- [19] Taguchi K, Yamamoto M (2017). The KEAP1-NRF2 System in Cancer. *Frontiers in Oncology*, 7.
- [20] Scalera S, Mazzotta M, Cortile C, Krasniqi E, De Maria R, Cappuzzo F, Ciliberto G, Maugeri-Saccà M (2022). KEAP1-Mutant NSCLC: The Catastrophic Failure of a Cell-Protecting Hub. *Journal of Thoracic Oncology*, 17(6): 751-757.
- [21] Sant KE, Hansen JM, Williams LM, Tran NL, Goldstone JV, Stegeman JJ, Hahn ME, Timme-Laragy A (2017). The role of Nrf1 and Nrf2 in the regulation of glutathione and redox dynamics in the developing zebrafish embryo. *Redox Biology*, 13: 207-218.
- [22] van Dooren I, Foubert K, Bijttebier S, Theunis M, Velichkova S, Claeys M, Pieters L, Exarchou V, Apers S (2016). Saponins and Flavonoids from an Infusion of *Herniaria hirsuta*. *Planta Med*, 82(18): 1576-1583.
- [23] Kozachok S, Kolodziejczyk-Czepas J, Marchyshyn S, Wojtanowski KK, Zgórk G, Oleszek W (2022). Comparison of Phenolic Metabolites in Purified Extracts of Three Wild-Growing *Herniaria L.* Species and Their Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities In Vitro. *Molecules*, 27(2): 530.
- [24] Wang L, Chen Y, Sternberg P, Cai J (2008). Essential Roles of the PI3 Kinase/Akt Pathway in Regulating Nrf2-Dependent Antioxidant Functions in the RPE. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 49(4): 1671-1678.
- [25] Liao H, Zhu D, Bai M, Chen H, Yan S, Yu J, Zhu H, Zheng W, Fan G (2020). Stigmasterol sensitizes endometrial cancer cells to chemotherapy by repressing Nrf2 signal pathway. *Cancer Cell International*, 20(1): 480.
- [26] Gjorgieva Ackova D, Maksimova V, Smilkov K, Buttari B, Arese M, Saso L (2023). Alkaloids as Natural NRF2 Inhibitors: Chemoprevention and Cytotoxic Action in Cancer. *Pharmaceuticals*, 16(6): 850.
- [27] He T, Zhou F, Su A, Zhang Y, Xing Z, Mi L, Li Z, Wu W (2023). Brusatol: A potential sensitizing agent for cancer therapy from *Brucea javanica*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 158: 114134.
- [28] Xi W, Zhao C, Wu Z, Ye T, Zhao R, Jiang X, Ling S (2024). Brusatol's anticancer activity and its molecular mechanism: a research update. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 76(7): 753-762.
- [29] Yu X-q, Shang X-y, Huang X-x, Yao G-d, Song S-j (2020). Brusatol: A potential anti-tumor quassinoid from *Brucea javanica*. *Chinese Herbal Medicines*, 12(4): 359-366.
- [30] Cloer EW, Goldfarb D, Schrank TP, Weissman BE, Major MB (2019). NRF2 Activation in Cancer: From DNA to Protein. *Cancer Research*, 79(5): 889-898.