

Khảo sát hoạt tính sinh học của ba saponin phân lập từ quả cà dại hoa trắng *Solanum torvum* Sw.

Phan Thiên Vy, Nguyễn Vũ Thụy Vy, Lư Bích Ngọc Giàu

Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành
ptvy@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Từ nghiên cứu trước đó, tác giả đã phân lập được ba saponin, neochlorogenin 6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranosid (S-1), (25S)-6 α -hydroxy-5 α -spirostan-3-on-6-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranosid (S-2) và solanolactosid A (S-3) từ phân đoạn cao ethyl acetat (EtOAc) của quả cà dại hoa trắng *Solanum torvum* Sw. Dựa trên một số nghiên cứu về tiềm năng của các glycosid steroid trong quả *Solanum torvum* Sw. có 3 saponin được thử hoạt tính độc tế bào. Kết quả cho thấy S-1 và S-2 có hoạt tính độc tế bào đáng được quan tâm. S-1 có khả năng ức chế mạnh 3 dòng tế bào ung thư HepG2, K562 và MCF-7 với giá trị IC₅₀ tương ứng là (41,38 \pm 2,53) μ M, (23,04 \pm 2,52) μ M và (12,04 \pm 2,28) μ M. S-2 có khả năng gây độc mạnh trên 2 dòng tế bào ung thư K562 và MCF-7 với IC₅₀ lần lượt là (12,04 \pm 2,69) μ M và (12,04 \pm 2,99) μ M. S-3 không có hoạt tính gây độc tế bào. Kết quả thử nghiệm phù hợp với các nghiên cứu trước đó và cung cấp thêm thông tin làm tăng khả năng ứng dụng của quả cà dại hoa trắng trong hỗ trợ điều trị bệnh ung thư.

Nhận 09/05/2022
Được duyệt 20/08/2022
Công bố 12/09/2022

Từ khóa
Solanum torvum,
Cà dại hoa trắng,
saponin, độc tế bào,
ung thư

© 2022 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Đặt vấn đề

Cà dại hoa trắng *Solanum torvum* Swartz (*Solanum torvum* Sw.) là loài mọc hoang ở Việt Nam, được sử dụng rộng rãi trong y học dân gian của các nước Nam Á và Đông Nam Á [1]. Bộ phận được sử dụng của cây là quả, chứa một số hợp chất như polyphenol, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, phytosterol, dầu béo, vitamin và muối sắt [2].

Theo y học cổ truyền, quả có vị cay, hơi mát, ít độc, có tác dụng hoạt huyết, tán ứ, tiêu thũng, giảm đau, trừ ho, thường dùng để điều trị đau thắt lưng, nhức mỏi xương khớp, đau dạ dày, đau răng, bế kinh và ho mạn tính [3]. Quả cà dại hoa trắng còn có tác dụng chống đái tháo

đường, chống nấm và kháng khuẩn, chống oxy hoá, bảo vệ thận và tim mạch, hạ huyết áp, điều chỉnh sự trao đổi chất, điều hòa miễn dịch và tạo hồng cầu [4-11]. Năm 2020, nhóm nghiên cứu đã phân lập được ba saponin S-1, S-2 và S-3 từ phân đoạn cao EtOAc của quả cà dại hoa trắng [12]. Dựa trên một số nghiên cứu báo cáo về tiềm năng kháng khối u của các glycosid steroid từ quả *S. torvum* [13,14] đề tài thực hiện với mục tiêu khảo sát hoạt tính độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư người, cụ thể là tế bào ung thư gan HepG2, ung thư máu K562, ung thư vú MCF-7 và lympho Jurkat T nhằm sáng tỏ hoạt tính và nâng cao giá trị sử dụng của cây cà dại hoa trắng trong chăm sóc sức khỏe.



2 Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên liệu

- Mẫu thử nghiệm

Ba saponin S-1, S-2 và S-3 tinh khiết phân lập từ phân đoạn cao EtOAc của quả cà dại hoa trắng *S. torvum*.

- Dòng tế bào

Tế bào ung thư gan HepG2, tế bào ung thư máu K562, tế bào ung thư vú MCF-7, tế bào lympho Jurkat T.

- Hóa chất dùng trong thử nghiệm, gồm: dimethyl sulfoxid (DMSO) (Merck, Mĩ), Roswell Park Memorial Institute (RPMI), phosphate buffer saline (PBS), fetal bovine serum (FBS) (Gibco, Mĩ), nultin-3a, prima-1 và camptothecin (Sigma-Aldrich, Đức), 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (Duchefa Biochemie, Hà Lan).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

- Chuẩn bị môi trường

Tế bào được nuôi cấy trong môi trường RPMI 1640 chứa

10 % FBS, ủ trong tủ ở 37 °C, 5 % CO₂. Độ tinh của chất trên tế bào được kiểm tra bằng thử nghiệm MTT.

- Tiến hành thử nghiệm

Cấy tế bào trên đĩa 96 giếng ở nồng độ 10⁴ tế bào trong 1 giếng 100 µL. Sau 24 giờ, xử lý tế bào với cao chiết ở các nồng độ khác nhau, lắc nhẹ và ủ đĩa tế bào đã xử lý ở 37 °C và 5 % CO₂. Sau 24 giờ tiếp theo, thêm MTT với nồng độ cuối là 0,5 mg/mL và ủ tế bào ở 37 °C và 5 % CO₂ trong 4 giờ. Li tâm đĩa tế bào ở tốc độ 1 000 vòng trong 5 phút, hút bỏ môi trường và hòa tan tinh thể trong 100 µL DMSO. Ủ tối đĩa trong 15 phút trên máy lắc ngang để tinh thể DMSO tan hoàn toàn. Cuối cùng, đo độ hấp thụ ở 540 nm bằng máy đọc tín hiệu đa năng Microplate reader. Mẫu đối chứng là tế bào không xử lý với cao chiết.

- Tính toán kết quả

IC₅₀ của mẫu tính theo % tế bào sống, xử lý số liệu bằng phần mềm GraphPad Prism 8. Tỷ lệ % tế bào sống được tính theo công thức

$$\text{Tỷ lệ tế bào sống (\%)} = \frac{\text{OD của tế bào bị xử lý}}{\text{OD của tế bào đối chứng âm (negative)}} \times 100$$

camptothecin được sử dụng làm chứng dương trong thử nghiệm độc tính trên tế bào HepG2; Nultin-3a và Prima-1 được chọn làm chứng dương trong thử nghiệm độc tính trên tế bào K562, MCF-7 và Jurkat T. Mỗi mẫu được thực hiện 3 lần, lấy kết quả trung bình.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả hoạt tính độc tế bào HepG2

- Đánh giá sơ bộ khả năng gây độc tế bào

Mẫu thử ở nồng độ 100 µM và 30 µM, với camptothecin là chứng dương, NEG là tế bào không xử lý thuốc. Kết quả đánh giá sơ bộ cho thấy S-1 thể hiện có hoạt tính gây độc trên tế bào HepG2 tốt, ức chế trên 50 % tế bào ở nồng độ 100 µM. S-2 và S-3 không có hoạt tính trên dòng tế bào HepG2. Vì vậy, S-1 được chọn để tiến hành thử nghiệm xác định IC₅₀.

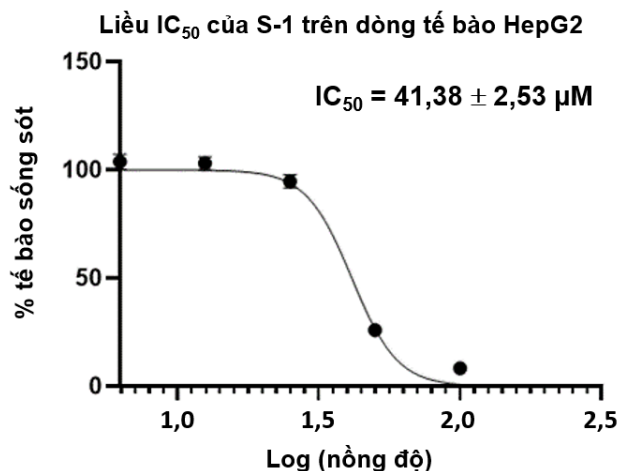
- Khảo sát IC₅₀

S-1 tiến hành thử nghiệm độc tế bào HepG2 theo dãy nồng độ để xác định IC₅₀ (xem Bảng 1 và Hình 1).

Mẫu S-1 cho giá trị IC₅₀ tương ứng là (41,38 ± 2,53) µM. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của tác giả Lu và cộng sự về tác dụng gây độc của các hợp chất glycosid steroid trên dòng tế bào ung thư HepG2 [13].

Bảng 1 Kết quả khảo sát liều IC₅₀ trên HepG2

Mẫu	Nồng độ (µM)	Tỷ lệ tế bào sống trung bình (%)	Sai số
NEG	-	100	1,90
S-1	100	8,30	1,61
	50	25,97	1,37
	25	94,64	3,07
	12,5	103,08	3,00
	6,25	103,78	3,58
Camptothecin	1	46,87	6,23
	0,3	60,20	6,05
DMSO 2,5 %	-	95,19	6,33



Hình 1 Khảo sát liều IC_{50} của S-1 trên dòng tế bào HepG2

3.2 Kết quả hoạt tính độc tế bào MCF-7

- Đánh giá sơ bộ khả năng gây độc tế bào

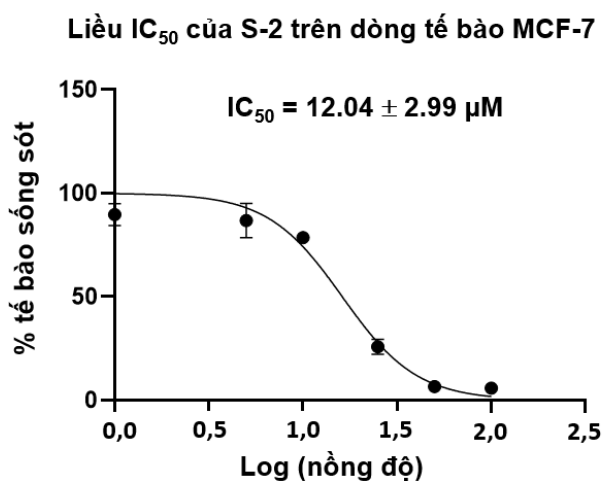
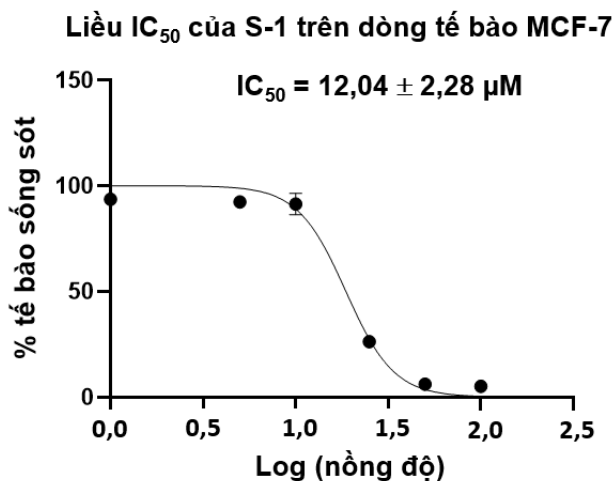
Mẫu được thử nghiệm ở nồng độ 100 μM và 30 μM , với Nutlin-3a (20 μM) và Prima-1 (80 μM) là chứng dương, NEG là tế bào không xử lý thuốc. Kết quả sơ bộ cho thấy S-1 và S-2 có khả năng ức chế trên 80 % tế bào MCF-7 ở nồng độ 100 μM . Hợp chất S-3 không có hoạt tính gây độc tế bào MCF-7, vì vậy S-1 và S-2 được tiến hành thử nghiệm tiếp theo tìm IC_{50} .

- Khảo sát liều IC_{50}

S-1 và S-2 tiến hành thử nghiệm độc tế bào MCF-7 theo dãy nồng độ để xác định IC_{50} (xem Bảng 2 và Hình 2). Kết quả cho thấy IC_{50} tương ứng của S-1 và S-2 trên dòng tế bào MCF-7 là $(12,04 \pm 2,28) \mu M$ và $(12,04 \pm 2,99) \mu M$. Khả năng ức chế của hai hợp chất phụ thuộc vào liều và tương thích với nghiên cứu trước đó của tác giả Lu và cộng sự năm 2009 [13] và tác giả Li và cộng sự năm 2014 [14].

Bảng 2 Kết quả khảo sát liều IC_{50} trên MCF-7

Mẫu	Nồng độ (μM)	Tỉ lệ tế bào sống sót trung bình (%)	Sai số
NEG	-	100	5,92
S-1	100	5,12	0,32
	50	6,02	0,24
	25	26,14	1,08
	10	91,32	5,02
	5	92,35	1,26
S-2	100	5,78	0,22
	80	6,62	0,43
	60	25,83	3,66
	40	78,58	2,27
	20	86,79	8,28
Nutlin-3a	10	89,67	5,30
	20	76,88	2,80
Prima-1	80	85,75	0,04
DMSO 2,5%	-	97,14	4,47



Hình 2 Khảo sát liều IC_{50} của S-1 và S-2 trên dòng tế bào MCF-7

3.3 Kết quả hoạt tính độc tế bào K562

- Đánh giá sơ bộ khả năng gây độc tế bào

Mẫu được thử nghiệm ở nồng độ 100 µM và 30 µM. Với Nutlin-3a (20 µM) và Prima-1 (80 µM) là chứng dương, NEG là tế bào không xử lý thuốc. Kết quả sơ bộ cho thấy S-1 và S-2 thể hiện hoạt tính gây độc mạnh, ức chế trên 80 % tế bào K562 ở nồng độ 100 µM, hợp chất S-3 không có hoạt tính độc tế bào K562, vì vậy S-1 và S-2 được tiến hành thử nghiệm tiếp theo tìm IC₅₀.

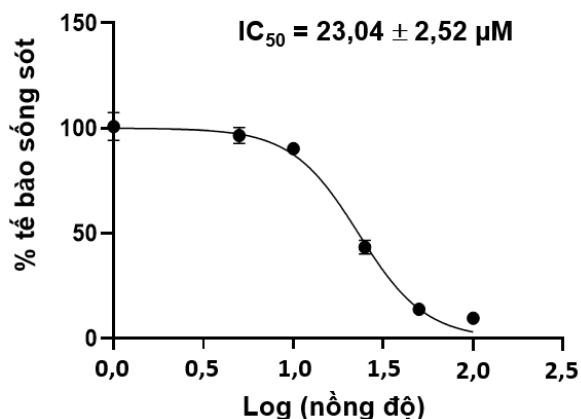
- Khảo sát liều IC₅₀

S-1 và S-2 tiến hành thử nghiệm độc tế bào K562 theo dãy nồng độ để xác định IC₅₀ (xem Bảng 3 và Hình 3). Giá trị IC₅₀ tương ứng của S-1 và S-2 trên dòng tế bào K562 lần lượt là (23,04 ± 2,52) µM và (12,04 ± 2,69) µM. Cả hai hợp chất có hoạt tính gây độc tế bào trung bình trên dòng tế bào K562 và khả năng gây độc phụ thuộc rõ rệt vào liều. Kết quả góp phần bổ sung khả năng gây độc trên tế bào ung thư máu K562 cho các nghiên cứu hoạt tính của các hợp chất saponin trong *S. torvum* đã thực hiện trước đây.

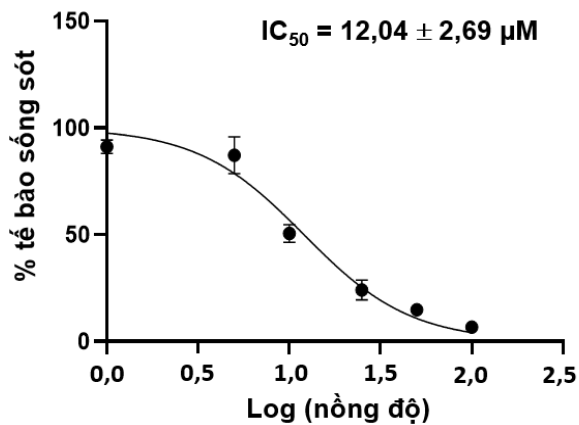
Bảng 3 Kết quả khảo sát liều IC₅₀ trên K562

Mẫu	Nồng độ (µM)	Tỉ lệ tế bào sống trung bình (%)	Sai số
NEG	-	100	1,90
S-1	100	9,66	0,48
	50	13,88	0,92
	25	43,42	3,23
	10	90,27	1,82
	5	96,59	3,79
S-2	100	6,64	0,04
	80	14,87	2,42
	60	24,00	4,73
	40	50,57	4,13
	20	87,17	8,64
Nutlin-3a	20	62,05	3,93
	80	37,88	0,70
DMSO 2,5%	-	95,19	6,33

Liều IC₅₀ của S-1 trên dòng tế bào K562



Liều IC₅₀ của S-2 trên dòng tế bào K562



Hình 3 Khảo sát liều IC₅₀ của S-1 và S-2 trên dòng tế bào K562

3.4 Kết quả hoạt tính độc tế bào Jurkat T

Đánh giá khả năng gây độc tế bào của S-1, S-2, S-3 ở nồng độ 100 µM và 30 µM, với Nutlin-3a (20 µM) và Prima-1 (80 µM) là chứng dương, NEG là tế bào không xử lý thuốc (xem Bảng 4). Kết quả cho thấy S-1 gây độc mạnh trên tế bào Jurkat T ở nồng độ 30 µM (ức chế 80 % tế bào), S-2 và S-3 gây độc tế bào Jurkat T ở nồng độ 100 µM (ức chế trên 50 %) nhưng không gây độc ở nồng độ 30 µM.

Bảng 4 Kết quả đánh giá sơ bộ khả năng gây độc tế bào của mẫu trên Jurkat T

Mẫu	Nồng độ (µM)	Tỉ lệ tế bào sống trung bình (%)	Sai số
NEG	-	100	12,36
S-1	100	23,08	1,53
	30	23,98	3,09
S-2	100	22,19	2,25
	30	100,47	17,75

S-3	100	28,18	0,89
	30	100,69	5,86
Nutlin-3a	20	62,03	8,08
Prima-1	80	21,82	1,19
DMSO 2,5 %	-	106,93	14,47

4 Kết luận và kiến nghị

Kết quả thử hoạt tính độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư của ba saponin phân lập từ cao EtOAc quả cà dại hoa trắng *S. torvum* cho thấy S-1 và S-2 thể hiện hoạt tính độc tế bào đáng quan tâm. Đặc biệt là S-1 phân lập được với lượng khá lớn (596,71 mg từ 14 g cao EtOAc – hiệu suất khoảng 4,3 %) có hoạt tính tốt trên các dòng tế bào ung thư thử nghiệm. S-1 có khả năng ức chế mạnh 3 dòng tế bào ung thư HepG2, K562 và MCF-7 với giá trị IC_{50} tương ứng là $(41,38 \pm 2,53) \mu\text{M}$; $(23,04 \pm 2,52) \mu\text{M}$ và $(12,04 \pm 2,28) \mu\text{M}$. Trong khi đó, S-2 có khả năng gây độc mạnh trên 2 dòng tế bào ung thư K562 và MCF-7 với IC_{50} tương ứng là $(12,04 \pm 2,69) \mu\text{M}$ và $(12,04 \pm 2,99) \mu\text{M}$. S-3 không có hoạt tính gây độc tế bào. Từ kết quả thử hoạt tính sinh

học của ba saponin steroid, nhóm nghiên cứu đã đưa ra kết luận về mối liên quan cấu trúc tác dụng của các hợp chất. Sự thiếu vòng spirostan trong cấu trúc S-3 có thể làm mất tác dụng gây độc tế bào, thay nhóm hydroxyl (S-1) thành nhóm ceton (S-2) ở vị trí C3 cũng làm giảm độc tính trên tế bào Jurkat T.

Kết quả nghiên cứu của đề tài đã góp phần bổ sung và làm rõ hơn các giá trị của quả *S. torvum* trong hỗ trợ và điều trị ung thư.

Nhóm tác giả đề nghị có thể tiếp tục các nghiên cứu tiếp theo như thực hiện các mô hình ức chế tế bào ung thư trên đích tác động cụ thể, thử nghiệm trên chuột để làm rõ tác dụng dược lí của các hợp chất saponin trong quả cà *S. torvum*, đồng thời tối ưu hóa quy trình chiết xuất để thu được các hoạt chất tiềm năng S-1 và S-2.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành, mã số đề tài 2021.01.90/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

1. Wiat C., Mogana S., Khalifah S., et al. (2004). *Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia*. Fitoterapia, 75 (1), 68-73.
2. Yuan-Yuan L., Jian-Guang L., Ling-Yi K. (2011). *Chemical constituents from Solanum torvum*. Chinese Journal of Natural Medicines, 9 (1), 30-32.
3. Võ Văn Chi (2014). *Từ điển cây thuốc Việt Nam (Dictionary of medicinal plants in Vietnam)*. NXB Y học Hà Nội.
4. Gandhi G. R., Ignacimuthu S., Paulraj M. G., Sasikumar P. (2011). *Antihyperglycemic activity and antidiabetic effect of methyl caffeate isolated from Solanum torvum Swartz. fruit in streptozotocin induced diabetic rats*. European Journal of Pharmacology, 670 (2-3), 623-631.
5. Balachandran C., Duraipandiyan V., Al-Dhabi N. A., et al. (2012). *Antimicrobial and antimycobacterial activities of methyl caffeate isolated from Solanum torvum Swartz. fruit*. Indian Journal of Microbiology, 52 (4), 676-681.
6. Lalitha V., Raveesha K., Kiran B. (2010). *Antimicrobial activity of Solanum torvum Swart. against important seed borne pathogens of paddy*. Iranica J Energy Environ, 1 (2), 160-164.
7. Mohan M., Kamble S., Gadhi P., Kasture S. (2010). *Protective effect of Solanum torvum on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats*. Food and Chemical Toxicology, 48 (1), 436-440.
8. Kamble S., Mohan M., Kasture S. (2009). *Protective effect of Solanum torvum on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats*. Pharmacologyonline, 2, 1192-1204.



9. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., et al. (1999). *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. Free Radical Biology and Medicine, 26 (9-10), 1231-1237.
10. Nguelefack T. B., Mekhfi H., Dimo T., et al. (2008). *Cardiovascular and anti-platelet aggregation activities of extracts from Solanum torvum (Solanaceae) fruits in rat*. Journal of Complementary and Integrative Medicine, 5 (1), 1-11.
11. Koffuor G. A., Amoateng P., Andey T. A. (2011). *Immunomodulatory and erythropoietic effects of aqueous extract of the fruits of Solanum torvum Swartz (Solanaceae)*. Pharmacognosy Research, 3 (2), 130.
12. Phan Thiện Vy N. L. T., Lu Bích Ngọc Giàu, Võ Thanh Thảo (2021). *Khảo sát thành phần hóa học phân đoạn EtOAc từ quả cây Cà dại hoa trắng (Solanum torvum Sw.)*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Nguyễn Tất Thành, 4 (1), 19-28.
13. Lu Y., Luo J., Huang X., Kong L. (2009). *Four new steroidal glycosides from Solanum torvum and their cytotoxic activities*. Steroids, 74 (1), 95-101.
14. Li J., Zhang L., Huang C., Guo F., Li Y. (2014). *Five new cytotoxic steroidal glycosides from the fruits of Solanum torvum*. Fitoterapia, 93, 209-215.
15. FDA-Recognized C. (2014). *Consensus Standards*.

Study on biological activities of three saponins isolated from the fruits of *Solanum torvum* Sw. (Solanaceae)

Phan Thien Vy, Nguyen Vu Thuy Vy, Lu Bich Ngoc Giau
Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University
ptvy@ntt.edu.vn

Abstract Three saponosides (steroidal glycosides), neochlorogenin 6-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranoside (S-1), (2S)-6 α -hydroxy-5 α -spirostan-3-on-6-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-quinovopyranoside (S-2) and solanolactoside A (S-3), previously isolated from the ethyl acetate fraction of *Solanum torvum* Sw. fruits were evaluated for cytotoxic activities against four cancer cells lines. In our study, S-1 showed moderate inhibitory activities against HepG2, K562 and MCF-7 cancer cell lines with IC₅₀ values of (41.38 \pm 2.53) μ M; (23.04 \pm 2.52) μ M, and (12.04 \pm 2.28) μ M, respectively. S-2 exhibited strong cytotoxic effects on K562 and MCF-7 cancer cell lines with IC₅₀ values of (12.04 \pm 2.69) μ M and (12.04 \pm 2.99) μ M, respectively. Meanwhile, the cytotoxic activities of S-3 against all tested cancer cell lines were not observed. The result of the study is consistent with previous studies on *S. torvum* and provides more information to improve its application possibility for cancer treatment.

Keywords *Solanum torvum*, saponin, cancer, cytotoxic activity