

NGHIÊN CỨU TỔ HỢP DESGALACTOTIGONIN VỚI CÁC TIỂU PHẦN NANOLIPOSOME VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ SÁU DÒNG TẾ BÀO UNG THƯ *IN VITRO*

Đỗ Thị Phương¹, Nguyễn Thị Nga¹, Nguyễn Thị Cúc¹, Triệu Hà Phương¹, Phạm Thị Hải Yến², Hoàng Lê Tuấn Anh³, Đỗ Thị Thảo^{1,2,✉}

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Học Viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

✉Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: thaodo74@yahoo.com

Ngày nhận bài: 15.11.2020

Ngày nhận đăng: 10.3.2021

TÓM TẮT

Ung thư là căn bệnh nan y và gây tỉ lệ tử vong rất cao, trong khi chưa có thuốc chữa trị hiệu quả. Do vậy, việc tìm kiếm và phát triển những loại thuốc mới, hiệu quả, ít tác dụng phụ và hướng đích tới các tế bào ung thư hiện đang rất được quan tâm. Desgalactotigonin (DGT) phân lập từ cây Lu lu đực (*Solanum nigrum*) đã cho thấy hoạt tính tiềm năng ức chế sự phát triển của nhiều loại tế bào ung thư khác nhau. Tuy nhiên, giống như nhiều hợp chất thiên nhiên khác, DGT cho thấy tính tan kém, độc tính mạnh. Nhằm tăng cường tính sinh khả dụng của hoạt chất DGT, một phương thức hiệu quả là tích hợp vào các tiểu phần nanoliposome. Trong nghiên cứu này, DGT đã được tổ hợp thành công vào phức hệ nanoliposome với hiệu suất là 70,26%, có cấu trúc hình cầu màng kép đặc trưng. Tổ hợp DGT-nanoliposome có kích thước trung bình 93,17 nm, chỉ số PDI là 0,168 và thế zeta là -3,67 mV. Hoạt tính ức chế sự phát triển tế bào ung thư của của DGT-nanoliposome có giá trị IC₅₀ nằm trong khoảng 38,94 - 61,69 µg/mL (tương ứng hàm lượng hợp chất trong tổ hợp là 1,30 - 2,06 µg/mL), khác nhau trên các dòng tế bào ung thư khác nhau. Bên cạnh đó, tổ hợp vào nanoliposome đã khiến cho độc tính của DGT giảm đáng kể trên tế bào lành dòng HEK-293 với IC₅₀ chỉ còn là 2,75 µg/mL và cho thấy tiềm năng ứng dụng lâm sàng của tổ hợp này.

Từ khóa: desgalactotigonin, HEK-293, nanoliposome, PDI, *Solanum nigrum*

MỞ ĐẦU

Hiện nay, nhiều hoạt chất phân lập từ tự nhiên đã được nghiên cứu và chứng minh có tác dụng tốt trong điều trị bệnh. Tuy nhiên, việc ứng dụng các hoạt chất này vào lâm sàng còn gặp nhiều khó khăn do tính sinh khả dụng kém, thời gian lưu thông trong máu ngắn, dễ bị đào thải khỏi cơ thể hoặc thể hiện độc tính với cơ thể. Vì vậy việc sử dụng các hệ thống vận chuyển thuốc dạng nano có ý nghĩa to lớn trong ngành công nghiệp dược phẩm và có vai trò rất quan trọng, cải thiện được tính cho nhiều loại thuốc được vận chuyển (Rekha, Sharma, 2011). Hiện nay, liposome là một hệ vận chuyển thuốc thu hút được nhiều sự chú ý. Với cấu trúc dạng cầu được tạo bởi lớp kép phospholipid, nanoliposome có khả năng vận chuyển được cả các phân tử, thuốc tan trong nước như dibucaine và các thuốc không tan trong nước như 5-fluorouracil (Nounou *et al.*, 2006). Các lợi thế của liposome khi sử dụng làm hệ vận chuyển thuốc phải kể đến khả năng

tương thích sinh học cao (Lee, 2020), bảo vệ các hoạt chất khỏi sự bất hoạt sớm hay bị giáng hóa, và bị suy giảm nồng độ khi lưu thông trong hệ tuần hoàn (Ulrich, 2002), làm giảm độc tính toàn thân và có thể tăng cường lượng hoạt chất đến cơ quan đích (Sercombe *et al.*, 2015). Bên cạnh đó, kích thước hạt liposome có thể thay đổi đến kích thước nanomet khiến cho các thuốc có thể dễ dàng được hấp thu và phân bố vào cơ thể. Vì vậy, việc sử dụng liposome có tiềm năng lớn trong công nghệ bào chế thuốc đặc biệt đối với các hoạt chất ít tan trong nước. Hiện nay đã có một số thuốc điều trị bệnh ung thư sử dụng liposome làm hệ vận chuyển đã được chấp nhận như doxorubicine, vincristine (Douer, 2016). Ngoài ra, nhiều hoạt chất tiềm năng khác cũng đã được nghiên cứu tổ hợp với liposome. Desgalactotigonin (DGT) là một hoạt chất được tách từ cây Lu lu đực (*Solanum nigrum*) có hoạt tính gây độc tế bào mạnh trên dòng tế bào ung thư vú (MCF-7), ung thư gan (HepG2), ung thư phổi (NCI-H460), ung thư thần kinh (SF-268) với

giá trị IC₅₀ trong khoảng 0,25 - 4,49 μM (Zhou *et al.*, 2006). Hoạt chất này cũng thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư xương như HOS, 143B, U2OS, MG63, SAO, ZOS-M v.v. Bên cạnh đó, DGT có khả năng ức chế đến 57,6% sự phát triển khối ung thư xương trên mô hình gây ung thư bằng dòng tế bào U2OS/MTX ở chuột (Zhao *et al.*, 2018). Các kết quả này cho thấy tiềm năng của hoạt chất này trong điều trị bệnh ung thư. Tuy nhiên, tính tan trong nước không hoàn toàn là một trở ngại trong việc ứng dụng DGT vào lâm sàng. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành tổ hợp DGT với các tiểu phần nanoliposome nhằm nâng cao tính sinh khả dụng của hoạt chất và đánh giá hoạt tính ức chế tế bào ung thư *in vitro* của tổ hợp này.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Desgalactotigonin (DGT) được cung cấp bởi viện Hóa sinh biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. DPPC, cholesterol, DSPE-PEG2000 được mua từ Avanti-polar lipid (Alabaster, AL, USA). Môi trường DMEM, huyết thanh phôi bò (FBS), kháng sinh (antibiotics-antimycotics), trypsin-EDTA được nhập từ Invitrogen (Carlsbad, CA, USA). Các hóa chất khác được mua từ Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

Phương pháp chế tạo nanoliposome và xác định đặc tính

DGT được tổ hợp vào liposome theo phương pháp màng mỏng của Bangham và cs. (1964) với một số thay đổi nhỏ để phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Theo đó, các lipid gồm DPPC, mPEG2000-cholesterol, cholesterol và DGT theo tỉ lệ về khối lượng khác nhau được hòa tan trong hệ dung môi dichloromethane-methanol (DMC) trong bình cầu thủy tinh. Sau đó hỗn hợp này được cô quay bằng thiết bị cô quay chân không Rotoxy evaporator EYELA N1110- Nhật Bản ở nhiệt độ 20°C, áp suất 541 mBar,

tốc độ quay 200 vòng/phút để loại bỏ dung môi và tạo thành màng mỏng lipid (thin film). Tiếp theo nhỏ từ từ đệm PBS (pH=7,4) vào bình cầu để hydrate hóa lớp màng lipid ở điều kiện 60°C. Sau khi lớp lipid đã được hydrate hóa hoàn toàn, hỗn dịch được siêu âm ở 2 atm theo chu kỳ 20 giây siêu âm và nghỉ 10 giây, lặp lại 10 lần. Tiếp theo, dung dịch được ly tâm ở 12000 vòng trong 30 phút để thu cặn liposome. Dịch nổi được thu giữ để xác định hiệu suất tổ hợp. Để đồng nhất kích thước, hỗn hợp liposome thu được sau khi hydrat hóa với nhiều loại kích thước sẽ được loại bỏ các hạt liposome có kích thước lớn bằng cách, ép lọc hỗn dịch ba lần qua màng lọc PVDF kích thước 0,22 μm.

Phương pháp đánh giá đặc tính tổ hợp nanoliposome - hoạt chất

Để đánh giá đặc tính của tổ hợp liposome, cặn liposome được hòa lại trong nước sau đó sử dụng thiết bị Zetasizer Nano-Z (Malvern Instruments, UK) để xác định kích thước (Z-average), phân bố hạt (PDI-particle distribution index) và giá trị điện thế (zeta potential) của tổ hợp. Hình ảnh về hình thái cấu trúc của liposome sau đó được xác định bởi các bức ảnh TEM nhờ phương pháp chụp hiển vi điện tử truyền qua (transmission electron microscopy – TEM)

Phương pháp đánh giá hiệu suất tổ hợp nanoliposome - hoạt chất

Hiệu suất tổ hợp DGT vào liposome được đánh giá thông qua tỉ lệ DGT còn dư trong dịch nổi sau khi ly tâm so với tổng khối lượng DGT đưa vào ban đầu. Dịch phân tách sau khi tạo liposome và ly tâm được lấy ra 1 mL để định lượng hợp chất không được tổ hợp bằng phương pháp quang phổ. Hoạt chất DGT được pha trong DMSO 100% và pha loãng ở các nồng độ khác nhau để tạo dãy đường chuẩn. Tiến hành đo giá trị OD của các mẫu dịch sau khi tổ hợp và các ống của dãy đường chuẩn. Dựa vào đường chuẩn được vẽ trên phần mềm Microsoft office Excel để tính lượng hoạt chất được bao gói bởi liposome. Hiệu suất tổ hợp được tính theo công thức sau:

$$EE(\%) = 100 \times \frac{\text{tổng khối lượng mẫu đưa vào} - \text{Khối lượng mẫu trong dịch li tâm}}{\text{tổng khối lượng mẫu đưa vào}}$$

Phương pháp nuôi cấy tế bào

Các dòng tế bào MCF-7 (ung thư vú ở người), SK-LU-1 (ung thư phổi ở người), SK-Mel-2 (ung thư da ở người), HepG2 (ung thư gan ở người), Hela (ung thư cổ tử cung ở người), và LNCaP (ung thư tiền liệt ở người) và dòng tế bào lành HEK-293 (tế bào thận gốc phôi ở người) được nuôi cấy trong môi trường

DMEM có thành phần kèm theo gồm 2 mM L-glutamine, 10 mM HEPES và 1,0 mM sodium pyruvate, 1% MEM non-essential amino acid solution, ngoài ra bổ sung 10% huyết thanh phôi bò (fetal bovine serum, FBS). Tế bào được cấy chuyển sau 3-5 ngày với tỷ lệ (1:3) và nuôi trong tủ ấm ở điều kiện 37°C, 5% CO₂.

Phương pháp đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư

Khả năng gây độc tế bào của tổ hợp nanoliposome với DGT được xác định thông qua phương pháp SRB (Skehan *et al.*, 1990). Theo đó, tế bào ung thư được nuôi trong đĩa 96 giếng và được ủ với các chất thử ở các mức nồng độ khác nhau. Sau 3 ngày nuôi cấy trong tủ âm CO₂, ở 37°C, tế bào được cố định vào đáy giếng bằng TCA 20% ở 4°C sau đó loại bỏ rửa tế bào bằng nước cất và nhuộm bằng SRB 0,4% trong 1 giờ ở 37°C. Lượng SRB dư được loại bỏ bằng cách rửa 3 lần bằng axit axetic 1%. Sau khi đĩa thí nghiệm được để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, lượng SRB đã bám nhuộm các phân tử protein được hòa tan bằng dung dịch Tris base. Hàm lượng màu của SRB được xác định qua phổ hấp phụ ở bước sóng 540 nm. Các phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. DMSO 10% sử dụng như chất đối chứng âm

Phương pháp phân tích số liệu

Các kết quả nghiên cứu được trình bày dưới dạng giá trị Trung bình (mean) ± standard deviation (SD), và được phân tích bằng phần mềm GraphPad Prism 7. Các sai khác có giá trị $P < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Xác định thành phần và tỉ lệ phospholipid phù hợp

Theo nhiều báo cáo, thành phần phospholipid như

DPPC sẽ có tác dụng làm chắc cấu trúc của tiểu phần nanoliposome, trong khi mPEG-cholesterol sẽ giúp tăng độ đàn hồi của lớp màng kép đồng thời giúp tránh khô tác động của hệ miễn dịch (Akbarzadeh *et al.*, 2013; Briuglia *et al.*, 2015). Do vậy các thành phần phospholipid này được chúng tôi sử dụng để chế tạo phức hợp nanoliposome chứa hợp chất DGT. Tuy nhiên, trước khi tổ hợp hợp chất vào liposome, chúng tôi trước hết đánh giá tỉ lệ, thành phần của phospholipid đến đặc tính của liposome như kích thước hạt và độ đồng đều về kích thước hạt thông qua chỉ số PDI. Kết quả ở Bảng 1 cho thấy tổ hợp liposome A có chứa DPPC, mPEG-cholesterol và cholesterol có kích thước 131,05 nm trong khi tổ hợp B bao gồm DPPC và mPEG-cholesterol có kích thước nhỏ hơn là 81,22 nm. Bên cạnh đó, chỉ số PDI thể hiện độ đồng đều về kích thước hạt cũng được đánh giá. Thông thường, chỉ số PDI có giá trị từ 0 đến 1. Chỉ số này càng nhỏ thể hiện kích thước hạt càng đồng đều. Tổ hợp liposome A và liposome B có PDI lần lượt là 0,267 và 0,243 cho thấy các hạt của cả hai tổ hợp này đều đồng đều về kích thước. Theo Magin và cộng sự, khả năng loại bỏ và phân bố của liposome phụ thuộc một phần vào kích thước của liposome (Magin *et al.*, 1986). Kích thước của liposome từ 50 - 150 nm được khuyến cáo (Danaei *et al.*, 2018). Theo Ma và cộng sự, khả năng khuếch tán của các hạt liposome nhỏ tốt hơn so với các hạt liposome có kích thước lớn (Ma *et al.*, 2017). Do tổ hợp không chứa cholesterol có giá trị về kích thước và PDI đều thấp hơn so với tổ hợp có cholesterol nên chúng tôi lựa chọn tổ hợp không chứa cholesterol để tổ hợp hoạt chất vào liposome.

Bảng 1. Đặc điểm của các tiểu phần nanoliposome sử dụng các thành phần khác nhau.

Tổ hợp	DPPC (mg)	mPEG-cholesterol (mg)	Cholesterol (mg)	Kích thước (nm)	PDI
Liposome A	16	4	1	131,05	0,267
Liposome B	16	4	0	81,22	0,243

Đặc điểm của tổ hợp liposome và DGT

Sử dụng các thành phần DPPC và cholesterol để tổ hợp với hoạt chất DGT, chúng tôi tiến hành nghiên cứu tác động của nồng độ hoạt chất đến đặc tính của liposome. Nồng độ hoạt chất khác nhau ảnh hưởng đến các đặc tính của liposome. Khi sử dụng hệ liposome bao gồm DPPC:mPEG: DGT với tỉ lệ 16:4:1 (hệ liposome A1), kích thước hạt liposome là 93,17 nm, tăng nhẹ so với mẫu không liposome trắng (không tổ hợp hoạt chất). Thông qua chỉ số PDI, các hạt

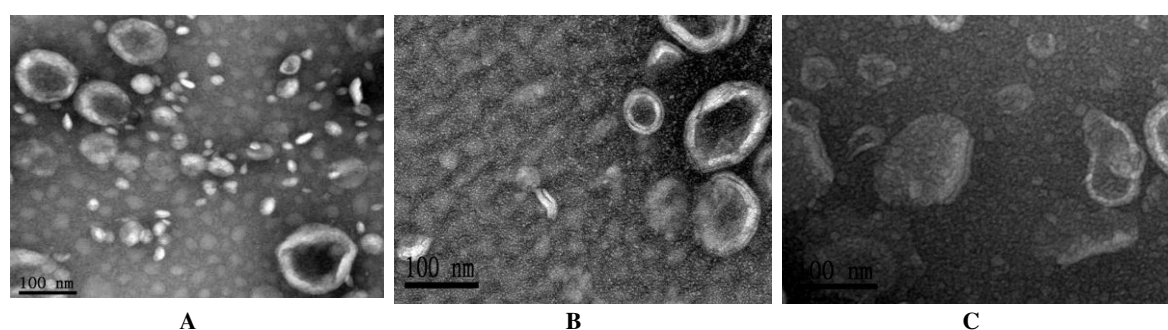
liposome được tổ hợp ở nồng độ hoạt chất này cũng có kích thước khá đồng đều. Khi tăng nồng độ DGT lên 2 lần (hệ liposome A2), chỉ số về kích thước và PDI đều tăng lên cho thấy hệ liposome không đồng nhất về kích thước hạt. Cùng với việc đánh giá đặc điểm của hạt liposome, hiệu suất tổ hợp cũng được xác định thông qua phương trình đường chuẩn của DGT ở bước sóng 254 nm. DGT được tổ hợp vào nanoliposome với hiệu suất đến 70,26% ở nồng độ thấp trong khi giá trị này chỉ đạt 44,02% khi tăng hàm lượng hoạt chất lên gấp hai lần ở tổ hợp liposome A2.

Như vậy tỉ lệ DPPC, mPEG và DGT là 16:4:1 phù hợp để thiết lập tạo phức hệ nanoliposome vận chuyển DGT. Cấu trúc của tổ hợp liposome cũng được tìm hiểu và phân tích bằng kính hiển vi điện tử truyền qua TEM. Kết quả ở Hình 1 cho thấy tổ hợp DGT-

liposome có cấu trúc hình cầu màng kép điển hình và có sự phân tán hạt khá đều. Với mức kích thước trong khoảng 100 nm, tổ hợp A1 cho thấy tiềm năng tuần hoàn tốt và có thời gian tồn tại lâu hơn trong hệ mạch máu (Nag and Awasthi, 2015).

Bảng 2. Đặc tính của tổ hợp nanoliposome-DGT.

Tổ hợp	Thành phần	Kích thước (nm)	PDI	Zeta (mV)	Hiệu suất tổ hợp (%)
Liposome A1	DPPC, mPEG, DGT (16:4:1)	93,17	0,268	-3,67 ± 0,34	70,26 ± 6,13
Liposome A2	DPPC, mPEG, DGT (16:4:2)	146,35	0,400	-7,83 ± 0,68	44,02 ± 4,05



Hình 1. Hình thái của nanoliposome –DGT dưới kính hiển vi điện tử quét (Jeol 1200EX TEM, Jeol Company, Tokyo, Japan); (A) DGT-nanoliposome A1; (B) DGT-nanoliposome A2; (C) blank nanoliposome.

Khả năng gây độc tế bào của tổ hợp DGT-liposome

Hệ nanoliposome A1 ở trên được chúng tôi đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên các dòng tế bào ung thư khác nhau. Kết quả ở Bảng 3 cho thấy DGT-liposome thể hiện hoạt tính mạnh nhất trên dòng tế bào MCF-7 với giá trị IC₅₀ là 38,94 µg/mL (tương ứng hàm lượng hoạt chất DGT trong tổ hợp là 1,29 µg/mL). Hoạt tính của DGT-liposome trên các dòng SK-LU-1, Hela và LNCaP tương đương nhau với giá trị IC₅₀ nằm trong khoảng

45,08 - 48,64 µg/mL (tương ứng hàm lượng hoạt chất DGT trong tổ hợp là 1,49 – 1,61 µg/mL). Khả năng gây độc tế bào của tổ hợp DGT-liposome trên dòng tế bào HepG2 yếu nhất trong các dòng tế bào ung thư nghiên cứu với giá trị IC₅₀ cao nhất 61,69 µg/mL (tương ứng hàm lượng hoạt chất DGT trong tổ hợp là 2,06 µg/mL). Tuy nhiên, trên dòng tế bào lành ở người thì giá trị này là 82,17 µg/mL (tương ứng hàm lượng hoạt chất DGT trong tổ hợp là 2,75 µg/mL), có sai khác đáng kể so với các dòng tế bào ung thư (P<0,05);

Bảng 3. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư của DGT-liposome trên các dòng tế bào khác nhau.

Giá trị IC ₅₀	Các dòng tế bào						
	MCF7	SK-LU-1	Hela	LNCaP	SK-Mel-2	HepG2	HEK-293
DGT (µg/mL)	1,05 ± 0,08	1,01 ± 0,03	1,19 ± 0,14	1,03 ± 0,08	1,31 ± 0,14	1,25 ± 0,10	0,98 ± 0,08
DGT-liposome (µg/mL)	38,94 ± 4,44	45,08 ± 5,16	47,72 ± 4,53	48,64 ± 2,56	56,90 ± 5,54	61,69 ± 4,74	82,17 ± 5,62
Ellipticine (µg/mL)	0,35 ± 0,05	0,38 ± 0,04	0,43 ± 0,02	0,40 ± 0,04	0,57 ± 0,06	0,38 ± 0,04	0,32 ± 0,03

Như vậy, sau khi được tổ hợp vào các tiểu phần nanoliposome thì hoạt tính của phức hợp DGT-nanoliposome đều giảm nhẹ so với hoạt tính của DGT khi không được tổ hợp trên các dòng tế bào ung thư khác nhau. Ví dụ như, trên dòng tế bào MCF-7, giá trị IC_{50} tương ứng hàm lượng hợp chất DGT là $1,30 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$, tăng nhẹ so với dạng không tổ hợp là $1,05 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$ ($P > 0,05$). Tuy nhiên, với dòng HepG2 thì giá trị này là $2,06 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$, cho thấy hoạt tính của DGT đã giảm khá nhiều. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu của chúng tôi trước đây, cũng như của nhiều tác giả khác (Do *et al.*, 2019; Cruz *et al.*, 1993) do khả năng giải phóng thuốc khỏi liposome chậm hoặc do tế bào hấp thụ tổ hợp thuốc chậm hơn so với hoạt chất dạng tự do. Kết quả phần nào phản ánh sự giảm độc tính cho mẫu sau khi được tổ hợp vào tiểu phần nanoliposomes khi giá trị IC_{50} của tổ hợp trên dòng tế bào lành tăng mạnh lên $82,17 \mu\text{g/mL}$, tương ứng hàm lượng hợp chất DGT trong tổ hợp là $2,75 \mu\text{g/mL}$ so với dạng tự do là $0,98 \mu\text{g/mL}$. Hơn nữa, các báo cáo đều cho thấy sự tăng cường hoạt tính và sinh khả dụng của tổ hợp thuốc-nanoliposome luôn thể hiện rõ và khác biệt với hợp chất/thuốc dạng tự do trên mô hình cơ thể động vật. Do vậy, chúng tôi cũng cho rằng cần đánh giá tiếp tục đánh giá hoạt tính kháng ung thư hay kháng u của tổ hợp DGT-nanoliposome trên mô hình chuột bị gây u thực nghiệm.

KẾT LUẬN

Nhằm tăng cường tính sinh khả dụng của hoạt chất Desgalactotigonin (DGT), một phương thức hiệu quả là tích hợp vào các tiểu phần nanoliposome. Trong nghiên cứu này, DGT đã được tổ hợp thành công vào phức hệ nanoliposome bao gồm DPPC:mPEG: DGT có tỉ lệ 16:4:1, đạt hiệu suất tích hợp là 70,26%, có cấu trúc hình cầu màng kép đặc trưng, với kích thước tổ hợp là 93,17 nm, khá đồng đều về kích thước với chỉ số PDI là 0,168 và có điện thế trung tính với thế zeta là -3,67 mV. Hoạt tính ức chế sự phát triển tế bào ung thư của DGT-nanoliposome có giá trị IC_{50} nằm trong khoảng 38,94 - 61,69 $\mu\text{g/mL}$ (tương ứng hàm lượng hợp chất trong tổ hợp là 1,30 - 2,06 $\mu\text{g/mL}$), khác nhau trên các dòng tế bào ung thư khác nhau. Kết quả này cho thấy hoạt tính ức chế tế bào ung thư của tổ hợp DGT-nanoliposome giảm nhẹ so với dạng không tổ hợp, phản ánh khả năng giải phóng thuốc khỏi liposome chậm hơn và có thể do tế bào hấp thụ tổ hợp thuốc chậm hơn so với hoạt chất dạng tự do khi nuôi cấy ở dạng đơn lớp. Bên cạnh đó, tổ hợp vào nanoliposome đã khiến cho độc tính của DGT giảm đáng kể trên tế bào lành và

cho thấy tiềm năng ứng dụng lâm sàng của tổ hợp này.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.02-2017.20.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Akbarzadeh A, Sadabady RR, Davaran S, Joo SV, Zarghami N, Hanifehpour Y, Samiei M, Kouhi M, Koshki KN (2013) Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett*, 8(1):102.
- Briuglia ML, Rotella C, McFarlane A, Lamprou DA (2015) Influence of cholesterol on liposome stability and on in vitro drug release. *Drug Deliv Transl Res* 5(3):231-42.
- Cruz MEM, Gaspar MM, Lopes F, Jorge JS, Perez-Soler R (1993) Liposomal L-asparaginase: in vitro evaluation. *Int J Pharmaceut* 96: 67-77.
- Danaei M, Dehghankhold M, Ataei S, Hasanzadeh Davarani F, Javanmard R, Dokhani A, Khorasani S, Mozafari MR (2018) Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics* 10(2):57.
- Do TT, Do TP, Nguyen TN, Nguyen TC, Vu T T P, & Nguyen T. G. A. (2019). Nanoliposomal L-Asparaginase and Its Antitumor Activities in Lewis Lung Carcinoma Tumor-Induced BALB/c Mice. *Adv Mater Sci Eng*, 1-8. doi:10.1155/2019/3534807
- Douer D (2016) Efficacy and Safety of Vincristine Sulfate Liposome Injection in the Treatment of Adult Acute Lymphocytic Leukemia. *Oncologist* 21(7):840-7.
- Immordino ML, Dosio F, Cattel L (2006) Stealth liposomes: review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential. *Int J Nanomedicine* 1(3):297-315.
- Lee MK (2020) Liposomes for Enhanced Bioavailability of Water-Insoluble Drugs: In Vivo Evidence and Recent Approaches. *Pharmaceutic* 12(3):264.
- Ma S, Li M, Liu N, Li Y, Li Z, Yang Y, Yu F, Hu X, Liu C, Mei X (2017) Vincristine liposomes with smaller particle size have stronger diffusion ability in tumor and improve tumor accumulation of vincristine significantly. *Oncotarget* 8(50):87276-87291.
- Magin RL, Hunter JM, Niesman MR, Bark GA (1986) Effect of vesicle size on the clearance, distribution, and tumor uptake of temperature-sensitive liposomes. *Cancer drug delivery* 3(4):223-37.
- Nounou M, El-Khordagui LK, Khalafallah NA, Khalil SA (2006) In vitro drug release of hydrophilic and hydrophobic drug entities from liposomal dispersions and gels. *Acta pharmaceutica* 56(3):311-24.

- Nag OK, Awasthi V (2013) Surface engineering of liposomes for stealth behavior. *Pharmaceutics* 5(4):542-69.
- Rekha MR, Sharma CP (2011) *Nanoparticle mediated oral delivery of peptides and proteins: challenges and perspectives*. In Peptide and Protein Delivery. Academic Press: 165-194
- Sercombe L, Veerati T, Moheimani F, Wu SY, Sood AK, and Hua S (2015) Advances and challenges of liposome assisted drug delivery. *Front. Pharmacol* 6:286.
- Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR (1990). New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 82(13):1107-12.
- Ulrich AS (2002) Biophysical aspects of using liposomes as delivery vehicles. *Bioscience reports* 22(2):129-50.
- Zhao Z, Jia Q, Wu MS, Xie X, Wang Y, Song G, Zou CY, Tang Q, Lu J, Huang G, Wang J. (2018) Desgalactotigonin, a natural compound from *Solanum nigrum* L., inhibits growth and metastasis of osteosarcoma through GSK3 β inactivation-mediated repression of the Hedgehog/Gli1 pathway. *Clinical Cancer Research* 24(1):130-44.
- Zhou X, He X, Wang G, Gao H, Zhou G, Ye W, Yao X (2006) Steroidal saponins from *Solanum nigrum*. *Journal of Natural Products* 69(8):1158-63.

CONJUGATION OF DESGALACTOTIGONIN INTO NANOLIPOSOMAL PARTICLES AND MEASUREMENT OF *IN VITRO* INHIBITORY ACTIVITIES ON SIX CANCEROUS CELL LINES

Do Thi Phuong¹, Nguyen Thi Nga¹, Nguyen Thi Cuc¹, Trieu Ha Phuong¹, Pham Thi Hai Yen², Hoang Le Tuan Anh³, Do Thi Thao^{1,2}

¹*Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology*

²*Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology*

³*Center for Research and Technology Transfer, Vietnam Academy of Science and Technology*

SUMMARY

Cancer is a deadly disease with high mortality and having no efficient drugs for treatment. Therefore, discovering and developing new drugs with improved efficiency, lowering side effects and highly targeting, are obtaining much attention over the world. Desgalactotigonin (DGT) isolated from the plant Lu-lu-duc (*Solanum nigrum*) presented its promising anticancer activities by inhibiting a category of cancer cell lines. However, the compound also showed the limitation in reality applications since its low solubility as well as highly toxic, same as many other natural compounds. In order to improve DGT bioavailability, the compound was conjugated into nanoliposomes, ideal drug carriers. In this research, DGT was entrapped into nanoliposomal particles with entrapment efficiency (EE) at 70.26% and showed typical bilayer spherical morphology. The conjugation presented average size as 93.17 nm, PDI as 0.168 and zeta voltage as -3.67 mV. The anticancer activities of the DGT-nanoliposomes exhibited with IC₅₀ values ranging from 38.94 - 61.69 μ g/mL (equal to DGT amount in the complex as 1.30 - 2.06 μ g/mL) on six different cancer cell lines. Typically, the DGT nanoliposomes presented much lower toxicity on HEK-293 normal cell line with the IC₅₀ as 2,75 μ g/mL, showing its potential clinical applications.

Keywords: *desgalactotigonin, HEK-293, nanoliposome, PDI, Solanum nigrum*