

ABSTRACT

Recent studies have suggested that cancer stem cells (CSCs) may represent novel targets for cancer therapies. Meanwhile, flavonoids and alkaloids derived from medicinal plants have attracted considerable attention due to their promising bioactivities and therapeutic potential. This research aimed to evaluate the biological activities of two natural compounds of distinct chemical classes: Hesperidin (HES), a flavonoid glycoside isolated from *Zanthoxylum rhetsa*, and Nitidine (NIT), a benzophenanthridine alkaloid isolated from *Zanthoxylum myriacanthum*, against NTERA-2 cancer stem cells, a representative CSC model.

The potential anti-proliferative and anti-stemness effects of both compounds were investigated using cell viability assay, monolayer and spheroid cultures, flow cytometry, caspase activity assay, and western blot analysis. The results revealed that both Hesperidin and Nitidine exhibited selective cytotoxicity toward NTERA-2 cells, with less effect on HEK-293A human embryonic kidney cells. Hesperidin exerted antiproliferative activity with an IC_{50} value of 57.80 ± 3.55 μ M, whereas Nitidine demonstrated a potent inhibitory effect with an IC_{50} of 0.5 μ M after 48-hour treatment.

Mechanistically, both compounds triggered apoptosis via the p53 signaling pathway, inducing early and late apoptotic events, activating caspase-3, -8, and -9, increasing Bax and p53 expression levels, and causing significant cell cycle arrest at the G2/M phase. Furthermore, they significantly suppressed tumorsphere formation and down-regulated stemness-associated markers such as Oct4, Nanog, indicating the inhibition of CSC self-renewal properties. Notably, Nitidine also induced lysosome-dependent cell death (LDCD).

Collectively, these findings demonstrate that Hesperidin and Nitidine possess potent CSC-targeting activities in the NTERA-2 cell model through p53 activation, apoptosis induction, and stemness suppression. This study provides experimental evidence supporting the biological activities of *Zanthoxylum*-derived hesperidin and nitidine, suggesting their potential relevance as natural compounds targeting cancer stem cell-related features.

TÓM TẮT

Các nghiên cứu gần đây cho thấy tế bào gốc ung thư (CSCs) có thể là mục tiêu mới trong điều trị ung thư. Đồng thời, flavonoid và alkaloid từ dược liệu được quan tâm nhờ hoạt tính sinh học và tiềm năng ứng dụng. Nghiên cứu này đánh giá hoạt tính Hesperidin (HES) – một flavonoid glycoside được tách chiết từ cây Mắc khén (*Zanthoxylum rhetsa*), và Nitidine (NIT) – một benzophenanthridine alkaloid được tách chiết từ cây Hoàng mộc nhiều gai (*Zanthoxylum myriacanthum*), trên dòng tế bào gốc ung thư NTERA-2.

Các tác dụng ức chế tăng sinh và giảm đặc tính gốc của hai hợp chất được khảo sát thông qua thử nghiệm đánh giá khả năng sống sót của tế bào, nuôi cấy đơn lớp và “spheroid”, dòng chảy tế bào, đo hoạt tính caspase, và định lượng protein (Western blot). Kết quả cho thấy cả Hesperidin và Nitidine đều thể hiện tác dụng gây độc chọn lọc trên tế bào NTERA-2, trong khi ảnh hưởng ít hơn trên tế bào thận phôi người HEK-293A. Hesperidin thể hiện hoạt tính ức chế tăng sinh với IC_{50} là $57,80 \pm 3,55 \mu M$, trong khi Nitidine cho thấy hiệu quả ức chế mạnh với IC_{50} là $0,5 \mu M$ sau 48 giờ xử lý.

Về cơ chế, cả hai hợp chất đều kích hoạt quá trình “apoptosis” thông qua con đường tín hiệu p53, thể hiện bằng sự gia tăng các giai đoạn apoptosis sớm và muộn, hoạt hóa caspase-3, -8, -9, tăng biểu hiện Bax và p53, đồng thời gây ngưng chu kỳ tế bào tại pha G2/M. Hơn nữa, hai hợp chất này ức chế đáng kể khả năng hình thành khối tế bào dạng cầu và giảm biểu hiện các dấu ấn liên quan đến tính gốc như Oct4, Nanog, cho thấy tác dụng ức chế khả năng tự làm mới của CSCs. Đặc biệt, Nitidine còn cảm ứng quá trình chết tế bào phụ thuộc lysosome (LDCD).

Tổng thể, các kết quả này cho thấy Hesperidin và Nitidine có khả năng ức chế tế bào gốc ung thư qua mô hình tế bào NTERA-2, thông qua hoạt hóa p53, cảm ứng “apoptosis” và ức chế đặc tính gốc. Nghiên cứu này cung cấp bằng chứng thực nghiệm về hoạt tính sinh học của hesperidin và nitidine có nguồn gốc từ *Zanthoxylum*, cho thấy tiềm năng của chúng như các hợp chất tự nhiên trong các nghiên cứu về tế bào gốc ung thư.