



Original Article

Evaluation of Cytotoxic Effects of *Camellia sinensis* Extract on Breast Cancer Cells

Bui Thanh Tung*, Trinh Thi Duong, Nguyen Hai Ha, Tran Hoang Mai,

VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received 15 June 2024

Revised 14 November 2024; Accepted 10 December 2024

Abstract: Breast cancer is one of the most common cancers in women worldwide. Human epidermal growth factor receptor-2 (HER2) is an important target in therapeutic applications for the treatment of breast cancer. In this study, we evaluated the cytotoxic effects of *Camellia sinensis* extract. Leaves of *Camellia sinensis* were extracted with 80% ethanol (EtOH) and subsequently fractionated with *n*-hexane and ethyl acetate (EtOAc) solvents. To evaluate the cytotoxic effect *in vitro*, we performed a Sulforhodamine B (SRB) assay on the MCF-7 human breast cancer cell line. The study also evaluated the inhibitory effects on the HER2 enzyme through molecular docking of the main catechin compounds in *Camellia sinensis*. The results indicated that the total EtOH extract had the strongest cytotoxic effect on breast cancer cell lines, with an IC₅₀ of 69.15±2.35 µg/mL. Additionally, the EtOAc-fractionated extracts also had strong cytotoxic activity against the MCF-7 human breast cancer cell line, with an IC₅₀ value of 23.45±2.73 µg/mL. The molecular docking results demonstrated that the catechin compounds in green tea had strong inhibitory potential against the HER2 enzyme. Our findings indicated that the EtOAc-fractionated extracts of *Camellia sinensis* leaves had strong cytotoxic effects on breast cancer cells. Therefore, further studies are needed to evaluate the potential of green tea and its catechin compounds in the treatment of breast cancer.

Keywords: *Camellia sinensis*, cytotoxicity, SRB, breast cancer, HER2.

* Corresponding author.

E-mail address: tungbt.ump@vnu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4674>

Đánh giá tác dụng độc tính tế bào ung thư vú của cao chiết Trà xanh

Bùi Thanh Tùng*, Trịnh Thị Dương, Nguyễn Hải Hà, Trần Hoàng Mai

Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 15 tháng 6 năm 2024

Chỉnh sửa ngày 14 tháng 11 năm 2024; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 12 năm 2024

Tóm tắt: Ung thư vú là một trong những loại ung thư phổ biến nhất ở phụ nữ trên toàn thế giới. Thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì người-2 (HER2) là một mục tiêu quan trọng trong điều trị ung thư vú. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư của cao chiết Trà xanh (*Camellia sinensis*). Lá Trà xanh được chiết xuất bằng ethanol 80% và sau đó chiết phân đoạn bằng các dung môi n-Hexan, ethyl acetate (EtOAc). Tác dụng gây độc tế bào ung thư vú người MCF-7 *in vitro* được thực hiện bằng thử nghiệm Sulforhodamine B (SRB). Nghiên cứu cũng đánh giá tác dụng ức chế enzym HER2 thông qua phương pháp docking phân tử của các hợp chất catechin chính trong Trà xanh. Kết quả cho thấy cao chiết toàn phần EtOH có tác dụng ức chế tế bào ung thư mạnh nhất trên dòng tế bào ung thư vú với giá trị IC_{50} là $69,15 \pm 2,35$ $\mu\text{g/mL}$. Hơn nữa, cao chiết phân đoạn EtOAc cũng có hoạt tính ức chế tế bào ung thư mạnh trên dòng tế bào ung thư vú người MCF-7 với giá trị IC_{50} là $23,45 \pm 2,73$ $\mu\text{g/mL}$. Kết quả docking phân tử cho thấy các hợp chất catechin trong Trà xanh có khả năng ức chế mạnh enzym HER2. Kết quả của chúng tôi cho thấy cao chiết phân đoạn EtOAc lá Trà xanh có tác dụng ức chế mạnh trên tế bào ung thư vú. Do đó, cần có những nghiên cứu sâu hơn để đánh giá tiềm năng của Trà xanh và các hợp chất catechin trong điều trị ung thư vú.

Từ khóa: Trà xanh, độc tính tế bào, SRB, ung thư vú, HER2.

1. Mở đầu

Ung thư vú là sự tăng sinh ác tính của các tế bào biểu mô trong các ống dẫn hoặc tiểu thùy của tuyến vú. Ung thư vú là loại ung thư phổ biến nhất ở phụ nữ. Đối với những người có nguy cơ cao mắc ung thư vú, hóa trị liệu dự phòng có thể là một biện pháp can thiệp thay thế để ức chế hoặc trì hoãn quá trình sinh ung thư [1]. Mặc dù đã có những tiến bộ lớn trong việc điều trị ung thư vú, nhưng tỷ lệ tử vong do ung thư vú vẫn cao. Theo Globocan 2022, mỗi năm Việt Nam có 24.563 ca mắc mới và 10.008 ca tử vong vì ung thư vú [2]. Thụ thể 2 yếu tố tăng trưởng biểu bì ở người 2 (Human epidermal growth factor

receptor-2, HER2) là thụ thể protein tyrosine kinase xuyên màng [3]. HER2 đóng vai trò quan trọng trong nhiều quá trình liên quan đến việc điều chỉnh sự tồn tại, tăng trưởng và biệt hóa của tế bào. Điều này được thực hiện thông qua quá trình truyền tín hiệu liên kết với nhau, trong đó bao gồm việc kích hoạt các con đường tín hiệu PI3K/AKT và MAPK/ERK1 [4, 5]. Sự biểu hiện quá mức của HER2 liên quan mật thiết đến sự phát triển của ung thư vú, xuất hiện ở khoảng 30% bệnh nhân ung thư vú giai đoạn đầu. Do đó, HER2 là một mục tiêu quan trọng trong việc ức chế sự phát triển và nhân lên của các tế bào ung thư vú ở giai đoạn này.

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: tungbt.ump@vnu.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4674>

Trà xanh (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) được tiêu dùng trên toàn thế giới, đặc biệt là ở châu Á, như là một loại nước uống hàng ngày. Trà đã được sử dụng từ lâu và có nhiều lợi ích sức khỏe như ngăn ngừa chứng sa sút trí tuệ, tăng huyết áp và bệnh tim mạch vành,... Trà xanh chứa một lượng lớn các flavonoid khác nhau, chủ yếu là các nhóm catechin, bao gồm epicatechin (EC), epigallocatechin (EGC), epicatechin gallate (ECG) và epigallocatechin gallate (EGCG), trong đó EGCG là catechin phong phú nhất và chiếm 50%-75% tổng lượng catechin [6]. Nhiều nghiên cứu cho thấy Trà xanh có các tác dụng như chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng viêm, kháng virus, chống tăng sinh, chống đột biến, chống ung thư. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá tác dụng gây độc tế bào ung thư của cao chiết Trà xanh bằng phương pháp *in vitro* và *in silico*.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Lá cây Trà xanh, được giám định tên khoa học là *Camellia sinensis*, thu mua tại Thái Nguyên vào tháng 5 năm 2024. Mẫu nghiên cứu hiện được lưu giữ tại Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội. Lá Trà xanh (500 g) ngâm lạnh với dung môi EtOH 80% ở nhiệt độ phòng, 3 lần (mỗi lần 24 h), với tỷ lệ khối lượng/dung môi 1:10 (kg/L). Lọc loại bã được liệu, gộp các dịch chiết và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 52,5g cao EtOH 80%. Phân tán trong nước nóng, sau đó chiết lỏng - lỏng tỉ lệ 1:1, mỗi lần 1 lít x 3 lần với các dung môi có độ phân cực tăng dần: n-Hexan, EtOAc. Gộp các dịch chiết và cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 4,5 g cao n-Hexan, 17,8 g cao EtOAc và 15,6 g cặn nước. Cô quay thu hồi cặn dịch chiết các phân đoạn để tiến hành thử hoạt tính.

2.2. Phương pháp đánh giá khả năng độc tính tế bào

Hoạt tính độc tính tế bào được thực hiện dựa trên phương pháp SRRB (Sulforhodamine B)

[7]. Nghiên cứu được thực hiện trên dòng tế bào MCF-7 ung thư vú người. Tiến hành đưa 190 μ L tế bào vào đĩa 96 giếng để thử nghiệm. Mẫu thử được hòa tan trong DMSO 100% để có nồng độ ban đầu là 20 mM. Tiến hành pha loãng mẫu trên đĩa 96 giếng bằng môi trường nuôi cấy tế bào (không có FBS) thành các dãy nồng độ từ cao xuống thấp. Chất thử đã pha loãng ở các nồng độ (10 μ L) được đưa vào các giếng của đĩa 96 giếng đã chuẩn bị tế bào ở trên. Giếng không có chất thử nhưng có TBUT (190 μ L) + DMSO 1% (10 μ L) sẽ được sử dụng làm đối chứng ngày 0. Sau 1 giờ, giếng đối chứng ngày 0 tế bào sẽ được cố định bằng Trichloroacetic acid – TCA 20%. Ủ trong tủ âm 72 giờ. Sau 72 giờ, tế bào được cố định bằng TCA trong 1 giờ, được nhuộm bằng SRB trong 30 phút ở 37 °C, rửa 3 lần bằng acetic acid rồi để khô ở nhiệt độ phòng. Thêm dung dịch 10 mM unbuffered Tris base để hòa tan lượng SRB, lắc nhẹ trong 10 phút rồi đọc kết quả OD ở bước sóng 540 nm trên máy ELISA Plate Reader (BioTek). Phần trăm ức chế sự phát triển của tế bào khi có mặt chất thử sẽ được xác định thông qua công thức sau:

$$\% \text{ Ức chế} = 100\% - \frac{OD(\text{mẫu}) - OD(\text{ngày0})}{OD(\text{DMSO}) - OD(\text{ngày0})}$$

Phép thử được lặp lại 3 lần. Ellipticine được sử dụng như là chất đối chứng tham khảo. DMSO 1% luôn được sử dụng như đối chứng âm (nồng độ cuối cùng trong giếng thử là 0,05%). Giá trị IC_{50} (nồng độ ức chế 50% sự phát triển) được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

2.3. Đánh giá khả năng ức chế thụ thể HER2 của một số hợp chất catechin chính trong Trà xanh

Để nghiên cứu sâu hơn về tác dụng ức chế tế bào ung thư vú, chúng tôi thực hiện nghiên cứu docking phân tử của các catechin chính trong trà xanh bao gồm catechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate, và epigallocatechin gallate với thụ thể HER2.

Chuẩn bị cấu trúc protein: cấu trúc của thụ thể HER2 (PDB ID: 3PP0) được lấy từ ngân hàng dữ liệu protein RCSB (<https://www.rcsb.org/>). Tiến hành loại bỏ phân

tử đồng kết tinh và các phân tử nước bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 4.0. Sau đó, các nguyên tử hydro sẽ được thêm vào phân tử protein, tính toán điện tích Kollmans và xác định vùng hoạt động của protein bằng phần mềm MGL Autodock tools 1.5.6.

Vùng hoạt động của HER2 được lựa chọn bởi một hộp lưới có kích thước 30Å×30Å×30Å (tọa độ trục x = 34; y = 46; z = -12). Sau đó, protein được lưu dưới dạng pdbqt. Việc lựa chọn các chỉ số của hộp lưới tham khảo dựa trên một số bài báo đã được công bố trước đây [8].

Chuẩn bị cấu trúc phối tử: cấu trúc 3D của catechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate và epigallocatechin gallate được lấy từ cơ sở dữ liệu PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) và lưu ở định dạng .sdf sau đó chuyển thành định dạng .pdb bằng phần mềm Discovery Studio Visualizer 2021. Tiếp theo, các phối tử được tối ưu hóa bằng phần mềm Avogadro sử dụng phương pháp Gradient liên hợp (Conjugate Gradients) rồi chuyển thành định dạng .pdbqt bằng phần mềm Autodock Tools.

Thực hiện docking phân tử: các hợp chất được dock vào trung tâm hoạt động của protein sử dụng phần mềm Autodock Tools.

Đánh giá kết quả docking

Để đánh giá kết quả quá trình docking, phối tử đồng kết tinh sau khi được tách ra khỏi protein

sẽ được re-dock lại vào vị trí hoạt động của mục tiêu. Kết quả quá trình docking được gọi là đáng tin cậy nếu giá trị độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) nhỏ hơn 1,5Å. Đối với các chất cần docking, khả năng gắn kết của chúng được đánh giá thông qua tương tác với các acid amin trong hốc phản ứng và năng lượng tương tác tính bởi hàm tính điểm (scoring function) của Autodock vina.

3. Kết quả

3.1. Đánh giá khả năng độc tính tế bào ung thư in vitro

Tác dụng độc tính trên dòng tế bào ung thư MCF-7 của cao chiết toàn phần và các phân đoạn lá cây Trà xanh được thể hiện thông qua giá trị IC₅₀ (µg/mL) ở Bảng 1.

Từ Bảng 1, có thể thấy thuốc đối chứng dương Ellipticine hoạt động ổn định trong thí nghiệm, cho thấy tác dụng gây độc rõ rệt đối với dòng tế bào ung thư vú ở người với giá trị IC₅₀ là 0,31±0,02 µg/mL. Cao chiết toàn phần EtOH và phân đoạn EtOAc thể hiện tác dụng độc tính với giá trị IC₅₀ lần lượt là 69,15±2,35 µg/mL; 23,45±2,73 µg/mL; trong khi đó phân đoạn n-Hexan và phân đoạn H₂O không thể hiện tác dụng gây độc đối với tế bào ung thư vú.

Bảng 1. Tác dụng độc tính của cao chiết toàn phần và các phân đoạn lá cây Trà xanh trên dòng tế bào ung thư vú ở người

Mẫu nghiên cứu	EtOH	n-Hexan	EtOAc	Ellipticine	H ₂ O
IC ₅₀ (µg/mL)	69,15±2,35	> 100	23,45±2,73	0,31±0,02;	>100

3.2. Kết quả đánh giá khả năng ức chế thụ thể HER2 của một số hợp chất catechin chính trong Trà xanh

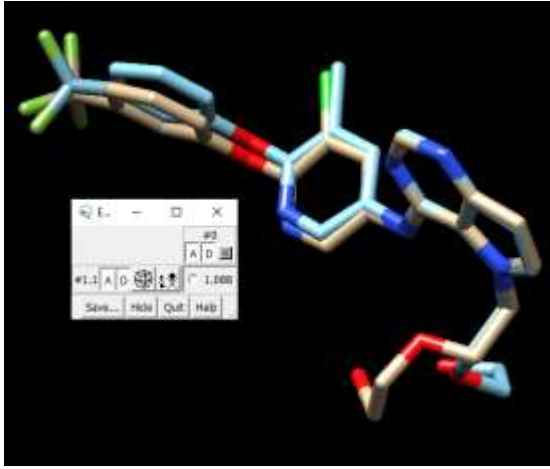
Đánh giá mô hình docking

Trước khi tiến hành sàng lọc các hợp chất, phối tử đồng kết tinh sẽ được re-dock lại vào vị trí hoạt động của protein bằng phần mềm Chimera và chúng tôi đã xác định độ lệch bình phương trung bình gốc (RMSD) của HER2 là 1,088Å <

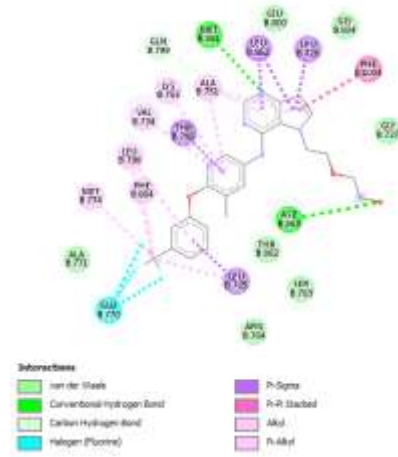
1,5Å chứng tỏ quá trình docking phân tử vào mục tiêu là đáng tin cậy.

Kết quả quá trình docking các hợp chất với HER2

Sau khi chuẩn bị phối tử, chúng tôi tiến hành docking 5 hợp chất catechin chính trong Trà xanh là catechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate và epigallocatechin gallate để đánh giá khả năng ức chế trên đích HER2. Kết quả thu được ở Bảng 2.



Hình 1. Kết quả re-dock phối tử đồng kết tinh của HER2.



Hình 2. Tương tác giữa phối tử đồng kết tinh với HER2.

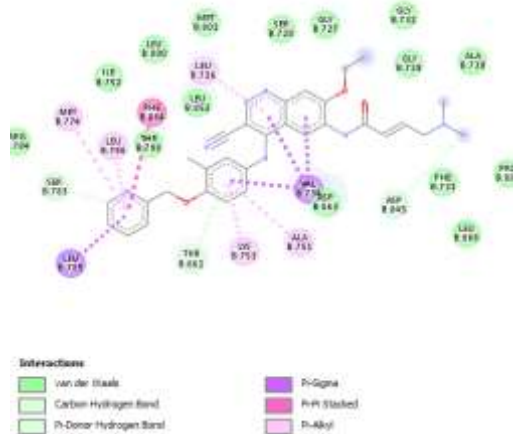
Bảng 2. Kết quả docking 5 hợp chất catechin và chất chứng dương với thụ thể HER2

STT	PubChem ID	Tên hợp chất	Năng lượng liên kết (kcal/mol)
1	9064	Catechin	-8,9
2	72276	Epicatechin	-9,0
3	72277	Epigallocatechin	-9,0
4	107905	Epicatechin gallate	-9,2
5	65064	Epigallocatechin gallate	-9,1
+	9915743	Neratinib	-9,8

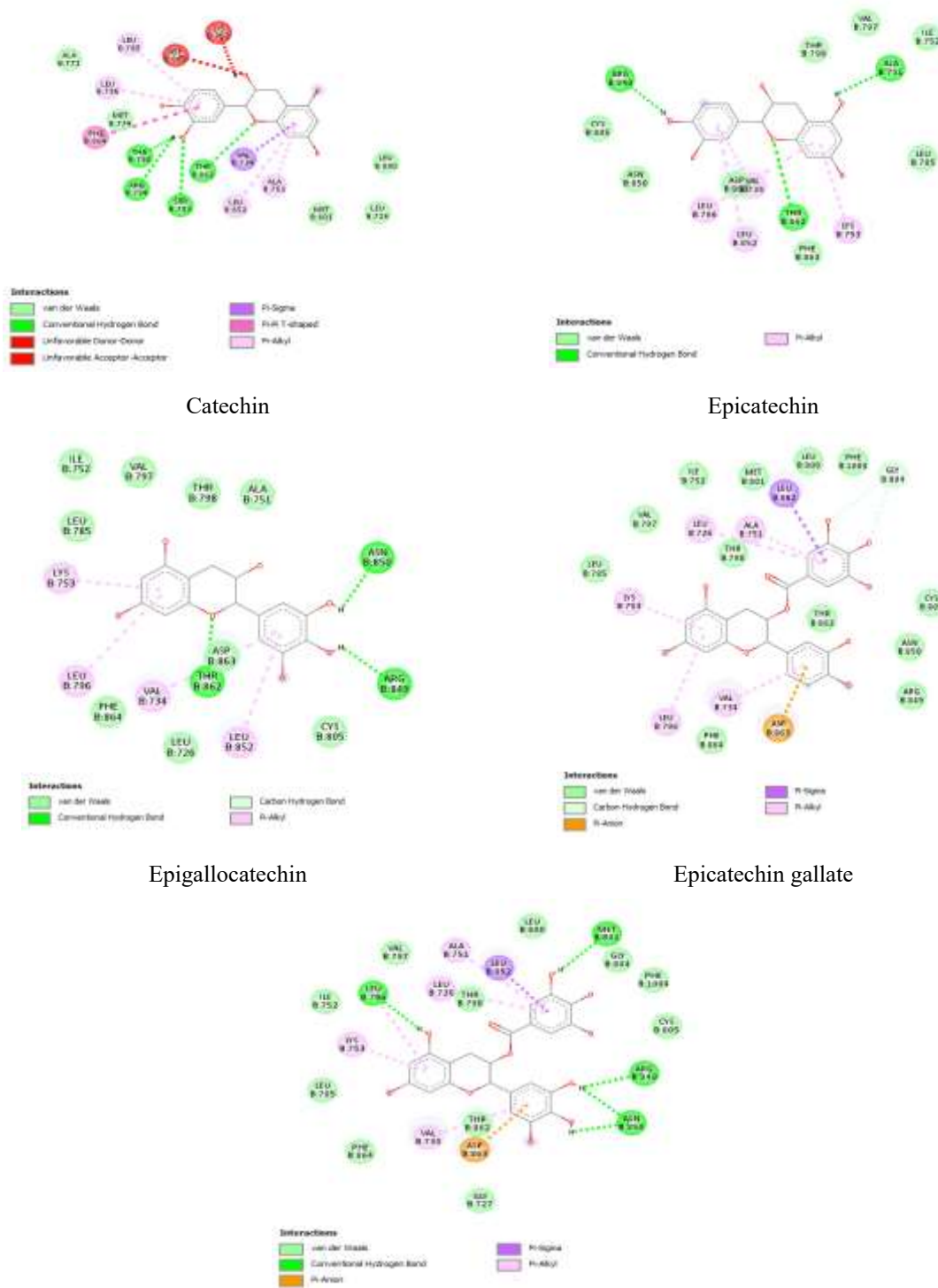
Neratinib là thuốc chống ung thư, đã được FDA phê duyệt trong điều trị ung thư vú dương tính HER2 [9]. Neratinib có năng lượng liên kết là -9,8 (kcal/mol) với đích HER2 và thể hiện liên kết với những protein quan trọng như LEU726, VAL734, ALA751, LYS753, MET774, SER783, LEU785, LEU796, ASP845, THR862, PHE864. Do đó trong nghiên cứu này, Neratinib được lựa chọn làm chất chứng dương để đánh giá khả năng ức chế đích HER2 của 5 hợp chất catechin.

Từ Bảng 2 ta thấy cả 5 hợp chất đều thể hiện năng lượng liên kết tự do thấp với đích HER2, với điểm docking từ -8,9 đến -9,2 kcal/mol. Trong đó, chất epicatechin gallate thể hiện khả năng gắn kết thấp nhất, với năng lượng liên kết là - 9,2 kcal/mol. Tương tác phối tử - amino acid giữa 5 hợp chất này với thụ thể HER2 (Hình 4) cho thấy chủ yếu là tương tác thông qua liên kết π và liên kết hydro. Các amino acid của HER2

liên kết với 5 hợp chất catechin trong Trà xanh được thể hiện chi tiết ở Bảng 3.



Hình 3. Tương tác giữa neratinib với HER2.



Catechin

Epicatechin

Epigallocatechin

Epicatechin gallate

Epigallocatechin gallate

Hình 4. Biểu diễn sự tương tác của catechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate 0 và epigallocatechin gallate với đích HER2.

Bảng 3. Các amino acid của 5 hợp chất liên kết với thụ thể HER2 trong vùng hoạt động tương ứng

STT	PubChem ID	Tên hợp chất	Amino acid liên kết với đích HER2
1	9064	Catechin	VAL734, ALA751, LYS758, SER783, ARG784, LEU785, LEU796, THR798, LEU852, THR862, ASP863, PHE864.
2	72276	Epicatechin	VAL734, ALA751, LYS753, LEU796, ARG849, LEU852, THR862, ASP868.
3	72277	Epigallocatechin	VAL734, LYS753, LEU796, ARG849, ASN850, LEU852, THR862,
4	107905	Epicatechin gallate	LEU726, VAL734, ALA751, LYS753, LEU796, GLY804, LEU852, ASP863.
5	65064	Epigallocatechin gallate	LEU726, VAL734, ALA751, LYS753, LEU796, MET801, ARG849, ASN850, LEU852, ASP863.
+	9915743	Neratinib	LEU726, VAL734, ALA751, LYS753, MET774, SER783, LEU785, LEU796, ASP845, THR862, PHE864.

So sánh tương tác của 5 hợp chất này và chứng dương Neratinib với đích HER2, có thể thấy liên kết giữa phối tử với acid amin của tất cả các hợp chất đều tương tự nhau. Cả 5 hợp chất đều liên kết với các acid amin quan trọng như VAL734, LEU726, LEU796, LYS753 giống với chứng dương. Trong đó, chất catechin thể hiện khả năng liên kết với nhiều acid amin giống Neratinib nhất (7 acid amin), lần lượt là VAL734, ALA751, SER783, LEU785, LEU796, THR862, PHE864. Bên cạnh đó, chất này còn liên kết với nhiều acid amin khác của đích như ARG784, LEU852, ASP863,...

4. Bàn luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phương pháp SRB để đánh giá khả năng gây độc tế bào ung thư của cao chiết toàn phần và các phân đoạn của lá Trà xanh. Kết quả thu được cho thấy cao chiết toàn phần và phân đoạn EtOAc thể hiện khả năng gây độc tế bào mạnh nhất với giá trị IC_{50} lần lượt là $69,15 \pm 2,35$ $\mu\text{g/mL}$; $23,45 \pm 2,73$ $\mu\text{g/mL}$. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Nghiên cứu của Liu và cộng sự cho thấy cao chuẩn hóa giàu polyphenol của trà xanh thể hiện

hoạt động ức chế sự phát triển của tế bào ung thư vú MCF-7 bằng cơ chế ngăn chặn chu kỳ tế bào ở cả hai pha chuyển tiếp G1/M và G2/M và quá trình chết rụng tế bào theo chương trình qua trung gian ty thể [10]. Tác giả Alicja Kuban-Jankowska và cộng sự cũng cho thấy hai hợp chất epigallocatechin và epigallocatechin gallate thể hiện tác dụng gây độc với tế bào ung thư mạnh, với IC_{50} lần lượt là $35,9 \pm 10,6$ và $13,9 \pm 3,1$ μM [11].

Trên mô hình *in silico*, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy các hợp chất catechin trong Trà xanh bao gồm catechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate và epigallocatechin gallate đều thể hiện khả năng ức chế tốt với thụ thể HER2. Bên cạnh đó, tương tác giữa phối tử và các acid amin của đích cho thấy chúng đều liên kết với nhiều acid amin giống chứng dương Neratinib. Trong các catechin của Trà xanh thì EGCG là hợp chất catechin chính và có hàm lượng cao nhất. Nghiên cứu của Lingling Zan và cộng sự cho thấy EGCG đã làm tăng tỷ lệ tế bào MCF-7 chết theo chương trình, làm tăng đáng kể biểu hiện mRNA và protein của p53 và giảm protein Bcl-2. EGCG cũng ngăn chặn sự tiến triển ở pha G2/M, cản trở sự biểu hiện miR-25, thúc đẩy biểu hiện PARP và Procaspase, đồng thời ngăn chặn sự phát triển

của khối u [12]. Con đường tín hiệu PI3K/AKT/mTOR là một con đường tín hiệu thường được kích hoạt trong ung thư ở người. Các nút quan trọng trong con đường này được sử dụng như các mục tiêu điều trị chính cho các liệu pháp ung thư. EGCG đã được xác nhận là một chất ức chế cạnh tranh ATP của cả PI3K và mTOR trong các tế bào ung thư vú MDA-MB-231 [13]. EGCG cũng là một chất ức chế kép của PI3K và mTOR [14]. Các nghiên cứu docking phân tử cho thấy EGCG liên kết tốt với vị trí hoạt động của PI3K kinase, cho thấy hoạt động cạnh tranh ATP [14]. FAS là một enzyme liên quan đến ung thư vú, kết nối với thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì ở người (HER). Việc ức chế FAS có thể kích hoạt chết tế bào theo chương trình của tế bào ung thư. EGCG làm giảm biểu hiện của FAS bằng cách ức chế tín hiệu HER2 và/hoặc HER3 và giảm sự kích hoạt PI3K/AKT trong dòng tế bào ung thư vú MCF-7 [15].

5. Kết luận

Kết quả nghiên cứu này cho thấy cao chiết phân đoạn EtOAc của lá Trà xanh thể hiện tác dụng ức chế mạnh với dòng tế bào ung thư vú. Ngoài ra, các hợp chất catechin trong Trà xanh thể hiện khả năng ức chế đích HER2 mạnh trên mô hình *in silico*. Do đó, cần có những nghiên cứu sâu hơn *in vitro* và *in vivo* để đánh giá các hợp chất catechin trong Trà xanh phát triển thành các hợp chất điều trị ung thư vú trong tương lai theo đích tác dụng ức chế HER2.

Tài liệu tham khảo

- [1] A. G. Waks, E. P. Winer, Breast Cancer Treatment: a Review, *Jama*, Vol. 321, No. 3, 2019, pp. 288-300.
- [2] F. Bray, M. Laversanne, H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel, I. Soerjomataram et al., Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries, CA: A Cancer Journal for Clinicians, Vol. 74, No. 3, 2024, pp. 229-263.
- [3] Y. Yarden, M. X. Sliwkowski, Untangling the ErbB Signalling Network, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Vol. 2, No. 2, 2001, pp. 127-137.
- [4] C. Bartholomeusz, A. M. G. Angulo, Targeting the PI3K Signaling Pathway in Cancer Therapy, *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, Vol. 16, No. 1, 2012, pp. 121-130.
- [5] W. Xia, R. J. Mullin, B. R. Keith, L. H. Liu, H. Ma, D. W. Rusnak et al., Anti-tumor Activity of GW572016: a Dual Tyrosine Kinase Inhibitor Blocks EGF Activation of EGFR/erbB2 and Downstream Erk1/2 and AKT Pathways, *Oncogene*, Vol. 21, No. 41, 2002, pp. 6255-6263.
- [6] T. Zhao, C. Li, S. Wang, X. Song, Green Tea (*Camellia sinensis*): A Review of Its Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology, *Molecules*, Vol. 27, No. 12, 2022, pp. 3909.
- [7] P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica et al., New Colorimetric Cytotoxicity Assay for Anticancer-Drug Screening, *Journal of the National Cancer Institute*, Vol. 82, No. 13, 1990, pp. 1107-1112.
- [8] N. B. Kim, N. T. Thuy, P. H. Minh, D. K. Thu, B. T. Tung, Screening Bioactive Compounds from *Allium sativum* as HER2 Inhibitors Targeting Breast Cancer by Docking Methods, *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 37, No. 1, 2021, pp. 35-47, <https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4295>
- [9] H. Singh, A. J. Walker, L. A. Kordestani, J. Cheng, S. Tang, P. Balcazar et al., US Food and Drug Administration Approval: Neratinib for the Extended Adjuvant Treatment of Early-Stage HER2-Positive Breast Cancer, *Clinical Cancer Research*, Vol. 24, No. 15, 2018, pp. 3486-3491.
- [10] S. M. Liu, S. Y. Ou, H. H. Huang, Green Tea Polyphenols Induce Cell Death in Breast Cancer MCF-7 Cells through Induction of Cell Cycle Arrest and Mitochondrial-Mediated Apoptosis, *Journal of Zhejiang University-Science B*, Vol. 18, No. 2, 2017, pp. 89-98.
- [11] K. J. Alicja, K. Tomasz, M. Claudia, B. Giampaolo, L. B. Giosuè, L. C. Fabrizio et al., Green Tea Catechins Induce Inhibition of PTP1B Phosphatase in Breast Cancer Cells with Potent Anti-cancer Properties: In Vitro Assay, Molecular Docking, and Dynamics Studies, *Antioxidants*, Vol. 9, No. 12, 2020, pp. 1208.
- [12] L. Zan, Q. Chen, L. Zhang, X. Li, Epigallocatechin Gallate (EGCG) Suppresses Growth and Tumorigenicity in Breast Cancer Cells by Downregulation of miR-25, *Bioengineered*, Vol. 10, No. 1, 2019, pp. 374-382.

- [13] M. R. D. Oliveira, S. F. Nabavi, M. Daglia, L. Rastrelli, S. M. Nabavi, Epigallocatechin gallate and Mitochondria - a Story of Life and Death, *Pharmacological Research*, Vol. 104, 2016, pp. 70-85.
- [14] G. S. V. Aller, J. D. Carson, W. Tang, H. Peng, L. Zhao, R. A. Copeland et al., Epigallocatechin gallate (EGCG), a Major Component of Green Tea, Is a Dual Phosphoinositide-3-kinase/mTOR Inhibitor, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 406, No. 2, 2011, pp. 194-199.
- [15] P. M. Hsiung, C. C. Lin, J. K. Lin, W. J. Chen, Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin 3-gallate Suppresses Heregulin- β 1-Induced Fatty Acid Synthase Expression in Human Breast Cancer Cells by Inhibiting Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt and Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade Signaling, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 55, No. 13, 2007, pp. 5030-5037.