تقييم النشاط المضاد للسرطان للايبيروبيسين المغلف في زيوت الطحالب والقرفة المستندة على مستحلب نانومتري

ماجده عبدالوكيل الجدعاني

اشراف

أ.د. ميسون حسني الخطيب

د. سوسن حسان محاسني

المستخلص

تمتلك العلاجات النانوية إمكانات كبيرة في علاج السرطان لأنها قد تتكون من أكثر من عامل مضاد للسرطان يحتوي على آلية مختلفة للعمل. هدفت الدراسة الحالية إلى دمج مادة الايبيروبيسين في مستحلب النانوالذي يحتوي على زيوت الطحالب والقرفة باستخدام تقنية الموجات فوق الصوتية. تم تقييم فعالية موت الخلايا المبرمج للمستحلبات النانومترية المختلفة (المحضره بمحلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٧ و محلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٨) في سرطان القولون البشري وخلايا سرطان الكبد البشري. تم تقييم الخصائص الفيزيائية، وفحص السمية الخلوية باستخدام عدّ الخلايا (سي سي كي-٨) ، تحليل التدفق الخلوي من موت الخلايا المبرمج، والقدرة على توليد أنواع الأكسجين السامة، والقدرة المضادة للغزو للعلاجات النانوية الجديدة. وكان متوسط قطر وشحنة الايبيروبيسن المدمج في المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٨ (٣,٠٢ ± ١١٧,٢) نانومتر و (-١,٨١٠ ± ٠,٠٧) ميلي فولت، على التوالي. بينما الايبيروبيسن المدمج في المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٧ بمتوسط قطر وشحنة (١٠٩,٩٠ ± ٢,٩٧) نانومتر و (-٢,٩٨ ± ٠,٢٢)، على التوالي. المستحلب النانومتري الأكثر سمية على خلايا سرطان القولون كان المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٨ بينما المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٧ هي أكثر قوة في خلايا سرطان الكبد، وتم اختيارهم لتغليف الايبيروبيسن وفي التجارب التالية. كشفت نتائج تقييم موت الخلايا المبرمج أن التركيز الموافق للتثبيط النصفي للايبيروبيسن المدمج في المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم ذو رقم هيدروجين 8 (٠,٧ ± ٠,٢١ ميكرومولار) كان أقل بشكل واضح من تركيز الايبيروبيسن الحر (٦,٠٠ ± ١,٥٦ ميكرومولار). تم تضخيم تكسير الحمض النووي لخلايا HCT116 بمعامل مقداره (٨ ± ٠,٢٤) عندما عولج بـ الايبيروبيسن المدمج في المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم

ذو رقم هيدروجيني ٨ لكنه لم يختلف بشكل كبير عند التعامل مع EPI الحر (١,١٣ ± ٠,٣١). قام العلاج بـ الايبيروبيسن المدمج في المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٨ بتثبيط قدرة خلايا سرطان القولون على الغزو (٣٢,٩٨ ± ٣,٢٨) ٪، بينما تم تقليل قدرة غزو الخلايا التي تعرضت للايبيروبيسين فقط إلى حوالي (٥٦ ± ١,٨١) ٪. كان التركيز الموافق للتثبيط النصفي للايبيروبيسن المدمج في المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٧ في خلايا HepG2 و Huh7 (٠,٣٢ ± ٠,١٥ و ٠,٢٠ ± ٠,١١ ميكرومولار، على التوالي) وهو أقل بكثير من الايبيروبيسن الحر (٥,٢٥ ± ١,١٢ و ٧,٤٠ ± ١,٣٢ ميكرومولار، على التوالي). بالإضافة إلى ذلك، تكسر الحمض النووي لخلايا HepG2 و Huh7 اللتي تعرضت لـ الايبيروبيسن المدمج في المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٧ كانت أعلى من عناصر التحكم المقابلة بنسبة ٧,٤ و ٣,٥ أضعاف ، على التوالي. قلل العلاج بـ المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٧ من قدرة الغزو في خلايا HepG2 و Huh7 بنحو ٣٩ ٪ ، في حين قلل العلاج بـ الايبيروبيسن من قدرة الغزو في خلايا HepG2 و Huh7 إلى ٥٥,٥٨ ٪ و ٦٣,٣٥ ٪ على التوالي. ينتج عن الخلايا المعالجة بـ الايبيروبيسن المدمج في المستحلب النانومتري ارتفاع كبير في إنتاج أنواع الأكسجين السامة داخل الخلايا ونسب عالية من موت الخلايا المبرمج مقارنة بـ بالخلايا المعالجة بـ الايبيروبيسن. في الختام، فإن العلاجات النانوية الجديدة (الايبيروبيسن المدمج في المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٧ و الايبيروبيسن المدمج في المستحلب النانومتري المحضر بمحلول منظم ذو رقم هيدروجيني ٨) قد عززت النشاط المضاد للسرطان للايبيروبيسين وحثت على موت الخلايا المبرمج في خلايا سرطان القولون والكبد البشري عبر توليد أنواع الأكسجين السامة وتثبيط قدرتها على الغزو.

Evaluation of the Antitumor Activity for Epirubicin Encapsulated in a Nanoemulsion-based Algae and Cinnamon Oils

Majidah Abdulwakil Aljadani

Supervised By

Prof. Mayson Husni Alkhatib (Principle Supervisor)

Dr. Sawsan Hassan Mahassni (Co-supervisor)

Abstract

The nanotherapeutics hold great potential in cancer therapy since they may consist of more than one anticancer agent that has a different mechanism of action. The present study aimed to encapsulate the epirubicin (EPI) into a nanoemulsion (NE) containing algae (ALG) and cinnamon (CN) oils using ultrasonication technique. The antitumor activities of different NEs (ALG-CN/pH7 and ALG-CN/pH8) were evaluated in the HCT116 human colon cancer cells, HepG2 and Huh7 human hepatocellular carcinoma (HCC) cells. The physical properties, the cytotoxicity screening using cell counting kit-8 (CCK-8), flow cytometric analyses of apoptosis, reactive oxygen species (ROS) generation, and anti-invasion ability of the new nanotherapeutics were examined. The zeta average diameter and zeta potential of the nano-suspensions of ALG-CN-EPI/pH8 were 117.2 ± 3.02 nm and -1.810 ± 0.07 mV, respectively whereas ALG-CN-EPI/pH7 has a mean z-average diameter and zeta potential of 109.90 ± 2.97 nm and -2.98 ± 0.22, respectively. The higher cytotoxic NE formula in HCT116 was ALG-CN/pH8, while ALG-CN/pH7 exhibited the greatest potency in both HepG2 and Huh7 cells. Therefore, they were selected for the EPI encapsulation and in the next subsequent experiments. Results of the apoptotic evaluation revealed that the half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of ALG-CN-EPI/pH8 (0.7 ± 0.21 µM) was distinctly

lower than that of free EPI (6.00 ± 1.56 µM) in HCT116 cells. The DNA fragmentations of HCT116 cells treated with ALG-CN-EPI/pH8 were amplified by a factor of 8 ± 0.24 relative to the untreated cells but they did not considerably differ when treated with the free EPI (1.13 ± 0.31). ALG-CN-EPI/pH8 treatment suppressed the invasion ability of HCT116 cells to (32.98 ± 3.28) %, whereas the invasion ability of EPI exposed cells was only reduced to about (56 ± 1.81) %. In HepG2 and Huh7 cells, the IC_{50} values of ALG-CN-EPI/pH7 were (0.32 ± 0.15) µM and (0.20 ± 0.11) µM, respectively which were much less than that of free EPI (5.25 ± 1.12 and 7.40 ± 1.32 µM, respectively). Additionally, the DNA fragmentation of HepG2 and Huh7 cells exposed to ALG-CN-EPI/pH7 were higher than the corresponding controls by 7.4- and 3.5-folds, respectively ($P < 0.001$). ALG-CN-EPI/pH7 treatment reduced the invasion ability in HCC cell lines by about 39 %, whereas EPI treatment reduced the invasion ability of HepG2 and Huh7 cells to 55.58 % and 63.35%, respectively. Cells treated with EPI encapsulated in NEs resulted in a significant elevation of the intracellular ROS production and higher percentages of apoptotic cells relative to the EPI treated cells. In conclusion, the resulted new nanotherapeutics (ALG-CN-EPI/pH8 and ALG-CN-EPI/pH7) have potentiated the antitumor activity of EPI and induced apoptosis in human colon cancer cells and HCC cells via reactive oxygen species (ROS) generation and the inhibition of the invasion ability.