نشاط مكافحة الانتشار للإتوبوسيد المركب في مستحلب نانومتري مكون من زيوت بذور الكشمش الأسود وزهرة ربيع المساء العضوية ضد الخلايا السرطانية المختلفة

اعداد

سلوى محمد الهاشمي

إشراف

أ. د. ميسون حسني الخطيب
أ.د. هناء محمد قشلان

المستخلص

إن صياغة العقار الكيميائي في مستحلب نانومتري يعتمد على الجمع بين اثنين من الزيوت الطبيعية هما زيت بذور الكشمش الأسود وزيت زهرة الربيع المسائية العضوية قد يطور من نشاطه المضاد للورم في مختلف الخلايا السرطانية. كان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو إنتاج ودراسة الخواص الفيزيائية للمستحلب ومن ثم تقدير التأثير السمي للعقار المحمل على مستحلبات نانومتريه على خلايا سرطان الرئة والقولون والمبيض . تم تحضير المستحلبات النانو مترية بواسطة تقنية الموجات الصوتية ومن ثم دراسة الخواص الفيزيائية باستخدام مقياس الطيف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية و جهاز زيتا سايزر. تم تقدير النشاط المضاد للسرطان لصيغ المستحلبات على مختلف الخلايا السرطانية باستخدام عدة تركيزات لمدة ٢٤ ساعة باستخدام صبغة لعد الخلايا الحية (سي سي ك)، في حين تم تحديد آلية موت الخلية من خلال مراقبة التغيرات الشكلية على الخلايا المعالجة تحت المجهر الضوئي، وتحديد ما إذا كانت الخلايا قد ماتت بشكل مبرمج باستخدام فحص لصبغ الميتوكوندريا وفحص الابوبنيكسن و فحص كميه الحمض النووي المدمر كذلك مشاهدة التغيرات الشكلية في تركيبة الكروماتين عن طريق صبغ الخلايا ب٤َ, ٦ داي امدينو ٢- فينل إندول (دابي) وفحصها بالمجهر الضوئي المقلوب ومن ثم فحص لتقييم قدرة المستحلبات على تثبيط غزو الخلايا السرطانية لغشاء الكولاجين. ووفقا لنتائج الخصائص الفيزيائية للمستحلبات النانو مترية، فقد زاد حجم جميع المستحلبات بعد دمجها مع عقار الاتوبوسيد. حيث كانت الزيادة في متوسط حجم النانو المحضر في محلول ذو رقم هيدروجيني ٥ من (٥٩,٤٢ ± ٢,٥) نانومتر الى (١٤٤,٦ ± ٥,٣) نانوميتر وفي متوسط حجم النانو المحضر في ذا رقم هيدروجيني ٧من (٧٥,١٩ ± ٩,٠١) نانوميتر الى (٢٣٦,٩ ± ٦,٨) نانوميتر وفي متوسط حجم النانو المحضر في ماءمقطر من (١٩,٥٥ ± ١,٠١) نانوميتر الى (٨٧,٦ ± ٣,٣) نانوميتر. أظهرت النتائج المخبرية أن المستحلبات النانومترية المعتمدة على زيوت طبيعية تزيد من قوة تأثير الاتوبوسيد عند تعريضه لخلايا سرطان المبيض والقولون و الرئة. حيث أن تركيز الاتوبوسيد الموافق للتثبيط النصفي انخفض من (٤,٧٥ ± ٢,١٠) عند معالجة خلايا سرطان المبيض و(١٨,١± ٣,٢) عند معالجة خلايا القولون الى (٠,٠٠٣ ± ٠,٠٠١) و (١,٧ ± ٠,٧) على التوالي. بينما عند معالجة سرطان الرئة لم يكن هناك أي تأثير ملحوظ لعقار الاتوبوسيد الحر بينما انخفض معدل نمو الخلايا بشكل ملحوظ عند دمج عقار الاتوبوسيد مع المستحلب النانومتري. بالإضافة إلى ذلك، فإن علامات موت الخلايا المبرمج، مثل فقدان غشاء الميتوكوندريا وزيادة نسبة تكسر الحمض النووي وتثبيط غزو الخلايا كانت أكبر عندما تم علاج الخلايا السرطانية بعقار الاتوبوسيد المحمل مع المستحلبات النانو مترية. لقد أثبتت الدراسة الحالية أن دمج عقار الاتوبوسيد مع المستحلب النانومتري أدى إلى تحسين القدرة العلاجية للعقار ضد الخلايا السرطانية المختلفة.

Antiproliferation activity of etoposide formulated in a nanoemulsion consisting of black currant seed and organic evening primrose oils against various cancer cells

By
Salwa Mohammed Al-Hashemi

Principal Supervisor
Prof. Mayson Husni Alkhatib

Co-supervisor
Prof. Hana Mohamed Gashlan

Abstract

Formulating etoposide (ETP) into a nanoemulsion (NEs) based on combining two natural oils, black currant seed oil, and organic evening primrose oils may improve its antineoplastic activity in cancer cells. The present study aimed to synthesize, characterize and *in vitro* evaluate the cytotoxic effect of ETP when loaded in three NEs, prepared in various buffers and designated as BC/EP-NE5, BC/EP-NE7, and BC/EP-NE-D, on lung, colon, and ovarian cancer cells. The entire NE formulas were prepared by the ultrasonication method and physically characterized by UV-Vis spectrophotometer and zetasizer. The anti-proliferation effect of the produced formula on the cancer cells was investigated at various concentrations for 24 h using the cell counting kit-8. In order to detect the apoptotic effect of NEs formulas, mitochondrial staining kit, annexin V-FITC double staining, nucleosome detection, light microscopy and DAPI fluorescent stain were utilized. The collagen-based cell invasion assay assessed the anti-invasion effect of the EP-NE5 /produced NE formulas. According to the zetasizer, the average diameters of BC EP-NE-D (19.55 ± 1.01) nm /EP-NE7 (75.19 ± 9.01) nm, and BC/(59.42 ± 2.5) nm, BC EP-/were markedly increased when loaded with ETP to be (144.6 ± 5.3) nm for ETP-BC

EP-NE-/EP-NE7, and (87.63 ± 3.3) nm for ETP-BC/NE5, (236.9 ± 6.8) nm for ETP-BC D. The ETP-loaded BC/EP-NEs showed a noticeably quick-release profile than the native ETP solution. The cell proliferations of HCT116 and SK-OV-3 cells treated with ETP-BC/EP-NEs and BC/EP-NEs were markedly decreased when compared to the native ETP. In the case of A549 cells, ETP did not have any notable effect on the cellular proliferation, while a considerable decrease was detected in the proliferation of the cells exposed to the EP-NEs and ETP-BC/EP-NEs formulas. Only (IC_{50} = 0.003 ± 0.001) (v/v) of ETP-/BC BC/EP-NE-D and (IC_{50} = 1.7 ± 0.7) (v/v) of ETP-BC/EP-NE5 was able to cause 50% reduction in the SK-OV-3 and HCT116 cellular growth respectively, which was strikingly lower than that of native ETP (IC_{50} = 4.75 ± 2.10) µM and (IC_{50} =18.1 ± 3.2) µM, respectively. In terms of A549, the IC_{50} of ETP-BC/EP-NE7 (0.20 ± 0.05) (v/v) was half than the IC_{50} of BC/EP-NE7 (0.42 ± 0.03) (v/v). Additionally, the signs of apoptosis, such as the loss of the mitochondrial membrane potential, increased amount of apoptotic cells, and enhancement in the mono- and oligo-nucleosomes ratios were larger when SK-OV-3, HCT116, and A549 cells were treated with ETP-loaded BC/EP-NEs. Regarding the invasion assay, the ETP-loaded BC/EP-NEs have a potent anti-invasion effect since it can suppress the invasion of 55 %, 45.8 %, and 66 % of the SK-OV-3, HCT116, and A549 cells, respectively. In conclusion, incorporating ETP into BC/EP-NEs formula had improved the anti-tumor and anti-invasion effect on SK-OV-3, HCT116, and A549 cancer cells.