

دراسة التأثير المضاد للنمو للفيتوسومات المحملة بالأندروجرافولايد ضد خلايا سرطان الكبد

إعداد

هوازن هشام عبدالله بن مليح

إشراف

أ.د. أسامة عبدالله حسين أبو زنادة

د. ذكريات عبداللطيف عبدالقادر نعمة الله

المستخلص

الأندروجرافولايد، وهو مكون نشط رئيسي في نبات الأندروجرافيس بنيكيولانا، معروف بمنع نمو عدة أنواع من السرطان. ومع ذلك، فإن استخدامه في التطبيقات السريرية مقيد بسبب خصائصه الحركية الدوائية الضعيفة. هدفت هذه الدراسة إلى صياغة فيتوسومات محملة بالأندروجرافولايد لتعزيز النشاط المضاد للنمو للأندروجرافولايد ضد خط خلايا سرطان الخلايا الكبدية. الطرق: تم تحسين الصيغة لتحقيق الحد الأدنى من حجم الجسيمات، حيث تم اختيار نسبة الفوسفاتيديل كولين إلى الأندروجرافولايد ومدة الصوتنة كمتغيرات مستقلة. تم وصف خصائص الصيغة المحسنة بكفاءة الحصر، التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء لتحويل فوربييه، ونمط تحرر الدواء في المختبر. بعد ذلك، تم تقييم تأثير الفيتوسومات المحملة بالأندروجرافولايد المحسنة على نمو سرطان الخلايا الكبدية، الامتصاص الخلوي، دورة الخلية، الموت الخلوي المبرمج، أنواع الأكسجين التفاعلية، الجهد الغشائي للميتوكوندريا وتركيز بروتين كاسبس-3 النشط مقارنة بالأندروجرافولايد الخام. علاوة على ذلك، تم أيضًا دراسة تعبير الحمض النووي الريبوزي المرسل للجينات المتعلقة بالموت المبرمج (باكس، بي سي ال ٢ وسيتوكروم سي) والجينات المتعلقة بالانبات (إم إم بي ٣، إم إم بي ٧ و إن-كادهيرن-٢). النتائج: تم تحضير الصيغة المحسنة عند نسبة مولارية ١ إلى ٢.٧ من الأندروجرافولايد: فوسفاتيديل كولين وزمن صوتنة يبلغ ٤.٩ دقائق مما نتج عنه جسيم يبلغ حجمه 243.7 ± 7.3 نانومتر وكفاءة حصر $72.2 \pm 4.53\%$. أشار التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء لتحويل فوربييه إلى تكوين رابطة هيدروجينية جديدة، مما يشير إلى نجاح صياغة فيتوسومات محملة بالأندروجرافولايد. أيضًا، أظهرت الصيغة المعدلة تحررًا بطيئًا للأندروجرافولايد خلال فترة ٢٤ ساعة. أظهرت الفيتوسومات المحملة بالأندروجرافولايد تحسنًا في النشاط المضاد للنمو ضد خلايا سرطان الخلايا الكبدية، مع قيمة تبلغ 4.02 ± 0.14 مايكرومولر لتركيز الدواء اللازم لكبح ٥٠% من النمو وأظهرت زيادة الامتصاص الخلوي للأندروجرافولايد. تسببت الفيتوسومات المحملة بالأندروجرافولايد أيضًا في توقف دورة الخلية في طور النمو الثاني/الإنقسام الميتوزي وزيادة نسبة موت الخلايا المبرمج.

الكلمات المفتاحية: أندروجرافولايد; ناقلات النانو; فيتوسومات; موت الخلايا المبرمج; سرطان الكبد

STUDY OF THE ANTIPROLIFERATIVE EFFECT OF ANDROGRAPHOLIDE- LOADED PHYTOSOMES AGAINST LIVER CANCER CELLS

By

HAWAZEN HISHAM BIN MELAIH

Supervised By

Prof. Dr. Osama Abdullah Abuzinadah

Dr. Thikryat Abdullatif Neamatallah

Abstract

Andrographolide (AG), a main active component of *Andrographis paniculata*, is known to suppress the proliferation of several types of cancer. However, its use in clinical applications is constrained by its poor pharmacokinetic properties. This study aimed to formulate AG-loaded phytosomes (AG-PTMs) to enhance the antiproliferative activity of AG against hepatocellular carcinoma cell line (HepG2). Methods: The formulation was optimized to achieve minimal particle size, in which L- α -phosphatidylcholine (PC): AG ratio and sonication time (ST) were selected as independent variables. The optimized formulation was characterized by entrapment efficiency, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), and an in vitro drug release pattern. After that, the effect of the optimized AG-PTMs on HepG2 cells' proliferation, cellular uptake, cell cycle, apoptosis, reactive oxygen species (ROS), mitochondrial membrane potential (MMP), and active caspase-3 protein concentration were evaluated in comparison to raw AG. Furthermore, the mRNA expression of the apoptotic-related genes (*BAX*, *BCL2*, and *CYCS*) and metastatic-related genes (*MMP7*, *MMP9*, and *CDH2*) were also examined. Results: The optimized formula was prepared at 1:2.7 for AG: PC molar ratio and 4.9 min for ST and exhibited a particle size of 243.7 ± 7.3 nm and entrapment efficiency of $72.20 \pm 4.53\%$. FTIR indicated new hydrogen bond formation, indicating the successful formulation of AG-PTMs. Also, the prepared formula showed a slow release of AG over 24-h period. AG-loaded PTMs exhibited a significant improvement in antiproliferative activity against HepG2 cells compared to AG, with half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) value of 4.02 ± 0.14 μ M and increased cellular uptake of AG. AG-PTMs also caused G2-M cell cycle phase arrest and increased the apoptotic cell fraction.

Key words: Andrographolide; Nanocarriers; Phytosomes; Apoptosis; liver Cancer