دراسة أثر تحميل ٢-ميثوكسي أستراديول في جسيمات نانونية على سميته الخلوية في خلايا سرطان الثدي

إعداد

سلوى بنت ظافر مسفر القحطاني

محاضرة، كلية العلوم الطبية التطبيقية، جامعة المجمعة

بحث مقدم لنيل درجة الدكتوراه في العلوم (الكيمياء الحيوية)

المشرفان على الرسالة

أ .د. فهد بن أحمد محمد العباسي

قسم الكيمياء الحيوية، كلية العلوم، جامعة الملك عبدالعزيز

أ .د. أشرف بهي الدين عبد النعيم

قسم علم الأدوية والسموم، كلية الصيدلة، جامعة الملك عبدالعزيز

كلية العلوم

جامعة الملك عبدالعزيز– جدة

١٤٤٤هـ-٢٠٢٣ م

المستخلص

-ميثوكسيستراديول هو مستقلب من هرمون الاستروجين و وجد ان له أنشطة تجعله قادر على التقلقل من تكاثر الخلايا. ومع ذلك، فإن له خصائص حركية دوائية غير مواتية. كان الهدف من هذه الدراسة هو إعداد نظام محسن لتوصيل 2-ميثوكسيستراديول من خلال نظام ذات الاستحلاب الذاتي النانوي (2ME-SNEDDS) وتقييم السمية الخلوية والأنشطة المؤيدة لموت الخلايا المبرمج في خلايا سرطان الثدي MCF-7. لتحسين 2ME-SNEDDS ، تم استخدام نظام مكون من ثلاثة مكونات في الدراسة التجريبية للخليط ا لأمثل. تمت معالجة خلايا MCF-7 باستخدام 2ME-SNEDDS وخضعت لتقييم تثبيط النمو وتطور دورة الخلية صبغة انيكسين-V وتركيز كاسباس 3 ومستويات حمض الريبونوكليك للباكس و بي س ي ال-2 و سيكليدين-دي-1 وأنواع الأكسجين التفاعلية. أظهرت النتائج أن الصيغة المحسنة لها حجم كروي 97.94 ± 35.4 نانومتر ، و زيتا بوتنشيل -4.3 ± 2.1 مع 34.0 بي ام اي، بالإضافة إلى 3.96 ± 3.4٪ من 2-ميثوكسيستراديول تم إطلاقها من 2ME-SNEDDS خلال 24 ساعة. أيضًا ، أظهر 2ME-SNEDDS المحضر تحسينًا كبيرًا في السمية الخلوية في خلايا MCF-7 المعالجة بالمقارنة بمقارنة بالخلايا المعالجة بال2-ميثوكسيستراديول الخام. كان هذا مرتبطًا بتقليل نسب السيكلدين-دي-1 وتراكم الخلايا في مرحلتي G0 / G1 و G2 / M. تم تأكيد الأنشطة المؤيدة لموت الخلايا المبرمج لـ 2ME-SNEDDS من خلال صبغة انيكسين- V الذي أشار إلى موت الخلايا المبكر والمتأخر. ويصاحب ذلك تعديل في مستويات ال للباكس و بي س ي ال-2 في اتجاه زيادة موت الخلايا المبرمج. عزز 2ME-SNEDDS بشكل كبير تركيز كاسباس 3 المشقوق مقارنةً بـ 2-ميثوكسيستراديول الخام. بالإضافة إلى ذلك، زاد 2ME-SNEDDS بشكل كبير في زيادة الإجهاد التاكسدي في الخلايا. في الختام ، يُظهر 2ME-SNEDDS سمية خلوية محسّنة ونشاطًا مؤيدًا لموت خلايا MCF-7. يمكن أن نفسر ذلك ، على الأقل جزئيًا من خلال زيادة الإجهاد التاكسدي.

Study the impact of loading 2-methoxyestradiol on nanoparticles and its cytotoxicity in breast cancer cells

Submitted by

Salwa Dhaffer Mesffer Al-Qahtani

A Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirements of the PhD Degree of Science in Biochemistry

Supervised by

Prof. Fahad Ahmed Mohammed Al-Abbasi

Biochemistry Department, Faculty of Sciences,

King Abdulaziz University

Prof. Ashraf Bayeldin Abdel-Naim

Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy,

King Abdulaziz University

KING ABDULAZIZ UNIVERSITY

SAUDI ARABIA

1444 H –2023 G

ABSTRACT

2-Methoxyestradiol (2ME) is an estrogen metabolite that possesses promising antiproliferative and cytotoxic activities. However, it suffers unfavorable pharmaco-kinetic characteristics. The aim of this study was to prepare an optimized 2ME self-nanoemulsifying drug delivery system (2ME-SNEDDS) and evaluate its cytotoxicity and proapoptotic activities in the breast cancer cells, MCF-7. For optimization of 2ME-SNEDDS, a three-component system was used in the D-optimal mixture experimental study. MCF-7 cells were incubated with 2ME-SNEDDS and subjected to assessment of growth inhibition, cell cycle progression, annexin V staining, caspase-3 concentration, Bax, Bcl-2, and CyclinD1 mRNA expression, and reactive oxygen species (ROS) production. The results showed that the optimized formula had a globule size of 94.97 ± 4.35 nm, Zetapotential was -3.4 ±1.2 with PDI 0.34, in addition to 96.3 ± 4.3% of 2ME was released from 2ME-SNEDDS within 24 h using activated analysis bag technique. Also, the prepared 2ME-SNEDDS exhibited significant enhancement of cytotoxicity against MCF-7 cells in comparison to raw 2ME. This was associated with cyclin D1 expression down-regulation and increase of cells in G0/G1 and G2/M phases. The pro-apoptotic activities of 2ME-SNEDDS were confirmed by annexin V staining which indicated enhanced early and late cell death. This is accompanied by modulation of mRNA expression of Bax and Bcl2 in favor of apoptosis. 2ME-SNEDDS significantly enhanced cleaved caspase-3 concentration in comparison to raw 2ME. In addition, 2ME-SNEDDS significantly elevated the generation of ROS in MCF7 cells. In conclusion, 2ME-SNEDDS exhibits enhanced cytotoxicity and pro-apoptotic activity in MCF-7 cells. This can be attributed to, at least partially, ROS generation.