استخلاص زيت طيار غني بثايموكينون من بذور الحبة السوداء (حبة البركة) المحلية وفحص فعالياته المضادة للسرطان

إعداد الطالب

صفي الدين رضا السنوسي

رسالة مقدمة استكمالا لمتطلبات نيل درجة الماجستير في العلوم (الكيمياء الحيوية)

إشراف

د. محمود الحسين

قسم الكيمياء الحيوية

كلية العلوم

جامعة الملك عبد العزيز

جدة – المملكة العربية السعودية

1444 هـ - ٢٠٢٢ م

المستخلص العربي

زيت حبة البركة، المعروف باسم زيت الحبة السوداء (BSO)، هو غذاء متوسطي معروف، ويرتبط استهلاكه بآثار مفيدة على صحة الإنسان. يمكن أن يُعزى جزء كبير من خصائص BSO العلاجية إلى مركبها النشط دوائيًا، بثايموكينون (TQ) الذي يمنع تكاثر الخلايا ويحث على موت الخلايا المبرمج من خلال استهداف العديد من مشغلات الوراثة اللاجينية، UHRF1، DNMT1) DNA methyltransferase 1) وHDAC1 (هيستون ديستيلاز ١). تم تصميم هذا العمل لاستخراج BSO من البذور السوداء من السوق المحلي في القصيم بالمملكة العربية السعودية، وتحديد محتواها من TQ. بعد ذلك تقييم BSO المستخلص لتأثيراته المثبطة على التعبير عن UHRF1 وDNMT1 وHDAC1 في العديد من الخلايا السرطانية والأحداث ذات الصلة. خضع TQ النقي لنفس الاختبارات لغرض المقارنة. تم استخلاص BSO باستخدام نظام استخراج السوائل فوق الحرج. واستخدام نظام GC-MS لتحديد مكونات BSO المستخرجة، ولتقييم كفاءة استخلاص المركبات النشطة بيولوجيًا في BSO المستخلص. تم إجراء الكشف والتقدير الكمي لـ TQ على HPLC. ثم تحليل تأثيرات BSO المستخرج على تكاثر الخلايا والحث على موت الخلايا المبرمج بواسطة مقايسة تكاثر الخلايا WST-1 وAnnexin V Binding Guava Nexin على التوالي. واستخدام RT-qPCR لدراسة تأثير BSO المستخرج على التعبير عن المركب الثلاثي UHRF1 / DNMT1.HDAC. تم تحقيق الالتحام الجزيئي وتحليل المحاكاة الديناميكية الجزيئية (MD) لتقييم تفاعلات TQ مع UHRF1 وDNMT1 وHDAC1. أوضح تحليل HPLC أن الثيموكينون (٥,٩٪) كان المركب المتطاير الرئيسي في BSO المستخلص. منع BSO بشكل كبير تكاثر خلايا MCF-7 وHela وJurkat بطريقة تعتمد على الجرعة. تسبب BSO بشكل كبير في موت الخلايا المبرمج في الخلايا السرطانية وكان هذا التأثير مرتبطًا بانخفاض كبير في تعبير mRNA عن UHRF1 وDNMT1 وHDAC1. أظهر الالتحام الجزيئي ومحاكاة MD أن TQ يربط UHRF1 وDNMT1 وHDAC1. تشير نتائجنا إلى أن استخدام BSO الغني بـ TQ يمثل استراتيجية واعدة للعلاج الجيني لكل من الأورام الصلبة وأورام الدم على الأرجح من خلال الاستهداف المباشر لـ UHRF1 وشركائه DNMT1 وHDAC1.

Extraction of thymoquinone-rich volatile oil of Saudi Arabian black cumin seeds and screening of its anticancer activities

Submitted by

Safialdeen Reda Alsanosi

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the Master's Degree in Biochemistry

Under Supervision of

Dr. Mahmoud Alhosin (PI)

Associate Professor of Biochemistry

Faculty of Science - King Abdulaziz University

FACULTY OF SCIENCE

KING ABDULAZIZ UNIVERSITY

JEDDAH- SAUDI ARABIA

1444H-2022G

Abstract

Black seed oil (BSO), also known as Nigella sativa oil, is a well-known Mediterranean cuisine that has been linked to improved human health. Thymoquinone (TQ), the pharmacologically active component of BSO, is largely responsible for its therapeutic effects. TQ targets several epigenetic players, including the ubiquitin-like-containing plant homeodomain (PHD), an intriguing new gene (RING finger domains 1), DNA methyltransferase 1 (DNMT1), and HDAC1 to inhibit cell proliferation and induce apoptosis (histone deacetylase1). This project's goal was to extract BSO. From black seeds obtained from local Al- Qassim's market in Saudi Arabia, and to ascertain its TQ content. After that, the isolated BSO's inhibitory effects on the expression of UHRF1, DNMT1, and HDAC1 in various cancer cells and the associated events were assessed. The same tests were also run on a pure TQ for comparison. A supercritical fluid extraction device was used to extract BSO. The components of the extracted BSO were profiled, and the extraction effectiveness of the bioactive chemicals in the extracted BSO was assessed, using a GC-MS system. TQ detection and quantification were done using HPLC. The WST-1 Cell Proliferation test and the Annexin V Binding Guava Nexin were used to measure the effects of the isolated BSO during a 24-hour period on cell proliferation and apoptosis, respectively. The effect of the extracted BSO on the expression of the trimeric complex UHRF1/DNMT1.HDAC was investigated using RT-qPCR. To assess the interactions of TQ with UHRF1, DNMT1, and HDAC1, molecular docking and molecular dynamic (MD) simulation analyses were accomplished. Thymoquinone (5.9%) was the main volatile component in the extracted BSO, according to HPLC analysis. MCF-7, Hela, and Jurkat cell growth was markedly and dose-dependently reduced by BSO. BSO dramatically reduced the mRNA expression of UHRF1, DNMT1, and HDAC1 in cancer cells, causing apoptosis to occur as a result. TQ binds to UHRF1, DNMT1, and HDAC1 according to molecular docking and MD modelling. Our findings suggest that the direct targeting of UHRF1 and its companions DNMT1 and HDAC1 by TQ-rich BSO provides a promising approach for epigenetic therapy for both solid and blood cancers.