

## تأثير إضافة عقار البروفوسارين ومركب التورالاکتون على فعالية عقار التاكسول

استخدام المركبات الطبيعية في الطب التكميلي عامل مساعد في زيادة فعالية العقاقير الكيميائية المضادة للسرطان. الباكليتاكسيل عقار كيميائي يستخدم لعلاج سرطان الثدي. البروفوسارين و التورالاکتون مركبات طبيعية لها تأثيرات محتملة كيميائية علاجية، كيميائية وقائية، وكيميائية معدلة ضد السرطان. الهدف من هذه الدراسة هو التحقق من التأثير المحتمل لمركبات البروفوسارين و التورالاکتون على سمية عقار الباكليتاكسيل ضد خلايا سرطان الثدي المقاومة للعقاقير الكيميائية MCF-7<sup>adr</sup> مقارنة بالخلايا السرطانية الغير مقاومة MCF-7. اظهرت مركبات البروفوسارين و التورالاکتون سمية معتدلة ضد الخلايا السرطانية MCF-7 بنسبة  $IC_{50}$ 's of  $32.4 \pm 4.2 \mu M$  and  $13.9 \pm 6.1 \mu M$  على التوالي. ومن المثير للاهتمام ان مركبات البروفوسارين والتورالاکتون اظهرت سمية اعلى ضد الخلايا المقاومة للعقاقير الكيميائية بمعدل على التوالي  $IC_{50}$ 's of  $7.3 \pm 0.7 \mu M$  and  $7.8 \pm 0.6 \mu M$ . الباكليتاكسيل واجه مقاومة ملحوظة في الخلايا السرطانية المقاومة MCF-7<sup>adr</sup> مقارنة بالخلايا السرطانية MCF-7 بمعدل  $IC_{50}$ 's of  $4.9 \pm 0.9 \mu M$  and  $57.7 \pm 4.5 nM$ . مركبات البروفوسارين و التورالاکتون بالتآزر مع الباكليتاكسيل لم تظهر اي تحسين في السمية ضد الخلايا السرطانية بمعدل  $IC_{50}$ 's of  $24.2 \pm 2.2 nM$  and  $69.7 \pm 6.6 nM$  مقارنة بسمية الباكليتاكسيل  $4,5 \pm 57,7$ . مقاومة الخلايا السرطانية المقاومة للعقاقير الكيميائية MCF-7<sup>adr</sup> انخفضت بشكل كبير عند تعرضها للباكليتاكسيل بالتآزر مع مركبات البروفوسارين والتورالاکتون  $IC_{50}$ 's of  $3.4 \pm 0.2 nM$  and  $4.9 \pm 0.5 nM$  مقارنة بتعرضها للباكليتاكسيل بنسبة  $0,9 \pm 4,9 \mu M$ . باستخدام قياس التدفق الخلوي، البروفوسارين والتورالاکتون عمل على زيادة تركيز المادة الخاضعة داخل الخلايا السرطانية المقاومة MCF-7<sup>adr</sup> من  $21,5 \pm 1794,7$  إلى  $12,5 \pm 2003,3$  و  $2113 \pm 10.5$  على التوالي. كما ان المركبات ادت الى تثبيط نشاط ب- جلايكوبروتين عن طريق تفاعله مع انزيم Pgp ATPase. بالاضافة ان الباكليتاكسيل اثر على دورة الخلية المتواليه حيث اظهر إعاقة ملحوظة في المرحلة المستهدفة G2/ M وزيادة النسبة المئوية للمرحلة pre- G من  $0,9 \pm 3,4\%$  إلى  $23.6 \pm 2.1\%$  ومن  $1.4 \pm 0.6\%$  إلى  $17.2 \pm 3.2\%$ . أخيراً، يمكن لمركبات البروفوسارين والتورالاکتون تحسين سمية الباكليتاكسيل عن طريق تثبيط نشاط ب - جلايكوبروتين وبذلك زيادة تركيز المادة الخاضعة داخل الخلايا.

## Potential modulatory effects of Rubrofusarin and Toralactone on the Efficacy of Paclitaxel

The use of anti-cancer adjuvant therapy is rationalized by potentiating the efficacy and/or protecting from major side effects of chemotherapeutics. Paclitaxel is an effective spindle toxin anticancer agent used for the treatment of breast cancer. Rubrofusarin and toralactone are naturally occurring structurally related naphthopyrones with potent chemoprotective activity and potential anticancer chemomodulatory properties. The purpose of this study is to investigate the influence of rubrofusarin and toralactone on the cytotoxic profile of paclitaxel (PTX) against chemo-resistant breast cancer cell line (MCF-7<sup>adr</sup>) compared to parent MCF-7 cells. MCF-7<sup>adr</sup> was prepared by continuous culturing of MCF-7 cells in media containing subcytotoxic concentration of doxorubicin (IC<sub>10%</sub>) for two months duration. Toralactone and rubrofusarin showed moderate cytotoxic effects against MCF-7 cells with IC<sub>50</sub>'s of 32.4±4.2 μM and 13.9±6.1 μM, respectively. Interestingly, toralactone and rubrofusarin showed stronger cytotoxicity against MCF-7<sup>adr</sup> cells with IC<sub>50</sub>'s of 7.3±0.7 μM and 7.8±0.6 μM, respectively. PTX treatment was opposed by significant resistance from MCF-7<sup>adr</sup> cells compared to parent MCF-7 cells having IC<sub>50</sub>'s of 4.9±0.9 μM and 57.7±4.5 nM, respectively. Combination of toralactone or rubrofusarin with PTX did not significantly improve its cytotoxicity against MCF-7; IC<sub>50</sub>'s were 24.2±2.2 nM and 69.7±6.6 nM, respectively compared to 57.7±4.5 nM for PTX alone. Surprisingly, combination with either toralactone or rubrofusarin abolished the resistance of MCF-7<sup>adr</sup> to PTX resulting in IC<sub>50</sub>'s of 3.4±0.2 nM and 4.9±0.5 nM, respectively compared to 4.9±0.9 μM for PTX alone. Using flowcytometric analysis, rubrofusarin and toralactone increased median intracellular fluorescence signal count of rhodamine dye (non-cytotoxic P-gp substrate) within MCF-7<sup>adr</sup> from 1794.7±21.5 to 2003.3±12.5 and 2113±10.5 cellular events, respectively. Using purified membrane bound humanized recombinant P-gp molecules; it was found that both rubrofusarin and toralactone might be inhibiting P-gp efflux activity via dual interaction with both P-gp ATPase enzyme subunit and P-gp active binding site. In both MCF-7 and MCF-7<sup>adr</sup> cells, PTX exerted significant cell cycle block at G<sub>2</sub>/M-phase with significant increase in the pre-G dead cell fraction from 3.4±0.9% to 23.6±2.1% and from 1.4±0.6% to 17.2±3.2%, respectively. Neither rubrofusarin nor toralactone exerted any significant influence for PTX induced cell cycle interruption in both normal (MCF-7) and resistant (MCF-7<sup>adr</sup>) cell lines. In conclusion, rubrofusarin and toralactone can enhance the cytotoxic profile of P-gp substrates, such as PTX, via inhibiting P-gp efflux activity and enhancing the intracellular entrapment of P-gp substrates.