

# دراسات جينومية لوصف ميكانيكية عمل المواد الكيميائية النباتية لبعض النباتات الطبية في المملكة العربية السعودية

محمد عبدل وسيم

بإشراف

أ.د. جمال صابر محمد صابر

أ.د. كلوفندر سنج ساتي

المستخلص

على مدى قرون، تم استغلال النباتات الطبية والعطرية لعلاج مختلف الأمراض ، بسبب فاعليتها البيولوجية والدوائية. ومعلوم أن أكثر من ٦٠٪ من الأدوية الحديثة مستمدة من النباتات و في ذلك دلالة على إمكاناتها الهائلة. ثبت علمياً أن المنتجات الطبيعية تمثل مصدرا فعالا وغنيا للمركبات الحيوية لاكتشاف أدوية جديدة ذات آثار جانبية أقل بالمقارنة مع تلك التي يتم تصنيعها كيميائيا. و لذلك، هناك حاجة قصوى لعزل هذه المواد الكيميائية الفعالة لتطوير عقاقير قوية وأمنة جديدة للاستخدام العلاجي .

حاليا تكتسب مقاربات علم الجينوم ، مثل تسلسل الجينوم وتحليل الترانسكريبتوم و ما يشمل ذلك من مجموعة النواسخ الكاملة أو ممّا يعبر عنه بصياغة التعبيرات الجينية ، زخما كبيرا حاليا في الأوساط العلمية و البحثية. ويمكن تطبيق هذه التقنيات لفك رموز الآلية الكامنة وراء النشاط البيولوجي لمختلف المواد الكيميائية النباتية و تستعمل في هذه التقنيّة أحدث التطورات في التكنولوجيا الجينومية ، بالتالي فتح آفاقا جديدة للعلاجات الجديدة.

وتزخر المملكة العربية السعودية بتنوع نباتي فريد في نوعه و تركيبته الجينية والبيوكيميائية و بينته الصّحراويّة القاسية و الذي يمكن أن يكون مصدرا يستفاد منه لاكتشاف أدوية و عقاقير جديدة ضد مجموعة واسعة من الأمراض. وقد أظهرت النباتات المختلفة بما في ذلك نبتة الخروع (*R.communis*)، ونبته الحرمل (*R.stricta*) أن يكون مضاد للجراثيم، و ضد السرطان، ومضادة للفطريات والخصائص المضادة للالتهابات. في الأطروحة الحالية، تم تقييم اثنين من النباتات الطبية السعودية نبتتي الخروع و الحرمل كمضادات للجراثيم و للسرطان .

تم استخلاص المواد الفعّالة من أوراق الخروع بخلطه مع الايثانول المطلق، وتم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام Agarose well diffusion assay, liquid broth assay وطريقة المجهر الإلكتروني (TEM). تعرضت سلالتان بكتريتان: إشيريشيا كولي (*E.coli*) و كليسيلا أوكسيتوكا (*K.oxytoca*) إلى جرعات شبه مميتة من المستخلصات النباتية لمدة أربعة أسابيع لإنتاج سلالات مقاومة. وأخيرا، تم استخراج الحمض النووي الجيني من البكتيريا البرية والمتحولة التي تعرّضت لمستخلص الخروع وتم إجراء تحليل تسلسل الجينوم لتحديد الجينات المتأثرة، و المقاومة و المتضرّرة و المسهمة في . تطوير مقاومة مضادات الميكروبات وتضمّن ذلك تكرار الحمض النووي، والنسخ، واثنين من مكون تنبيغ إشارة (TCS) وجينات النقل.

تم استخلاص المواد الفعّالة من أوراق الحرمل بخلطه مع الايثانول المطلق وتم إستخراج أشباه القلويدات من مستخلصات الاوراق باستعمال تقنيّة . تم اختبار القلويدات كمواد فعالة مضادة للسرطان. وتم اكتشاف مادّة إيزوبكرينين كأهمّ مادّة فعّالة مضادة لسرطان الثدي (MCF-7). أوضحت نتائج البحث أنّ مادّة إيزوبكرينين تؤثر على الجينات المؤثرة في موت الخلايا المبرمج، ودورة الخلية، والنسخ، والانقسام، وانتشار الخلايا. ومن أهمّها ارتفاع نسبة ناسخة جين (p53) . و انخفاض نسبة ناسخة جين سورففين (survivin)

الدراسة الحالية تختتم آلية المقاومة المتورطة في البكتيريا المعالجة ب ري بواسطة تكنولوجيا التسلسل الجيني بأكملها. تم فك شفرة آلية مكافحة السرطان من خلايا سرطان الثدي عن طريق تحليل ترانسسكريبتوم بعد العلاج مع إيزوبيسرين من رازيا سترينكتا.

# Genomic approaches to delineate the mechanism of action of phytochemicals from some Saudi medicinal plants

**Mohammed Abdul Waseem**

**Supervised by**

**Prof Jamal Sabir Mohammed Sabir**

**Prof Kulvinder Singh Saini**

## **Abstract**

For centuries, medicinal and aromatic plants have been exploited for treating and curing various human diseases, due to their extensive biological and pharmacological activities. The fact that more than 60% of the modern drugs were derived from plants is a testimony to their immense potential. Natural products are proved to be effective and rich source of bioactive compounds for the discovery of novel drugs with lesser side effects compared to chemically synthesized ones. However, there is utmost need to isolate the active phytochemicals and delineate their mechanism of action to develop new potent and safe drugs for therapeutic use in humans.

Genomics approaches such as whole genome sequencing and transcriptome analysis of gene expression profiling are gaining a significant momentum currently. These techniques can be applied for deciphering the mechanism underlying biological activity of various phytochemicals. This work exploits the latest advances in genomic technology to characterize the mode of action of these novel herbal compounds thus opening up new avenues for new therapeutics.

The medicinal plant diversity in Saudi Arabia presents an enormous untapped genetic, biochemical and ecologically large pool that can be leveraged to discover new drugs against a wide variety of diseases. A number of these plants grow under drought, distress and extreme weather conditions, which makes their genomes remarkably unique. Various plants including *Ricinus communis* (*R.communis*), *Allium ampeloprasum* and *Rhazya stricta* (*R.stricta*) were shown to have antibacterial, anti-cancer, antifungal and anti-inflammatory properties. In the current thesis, two Saudi Arabian medicinal plants *R. communis* and *R. stricta* were evaluated for their antimicrobial and anticancer mechanisms, respectively.

*Ricinus communis* dried leaves were extracted with absolute ethanol, and the antibacterial activity was evaluated using agar well assay and liquid broth assay and subsequently observed their morphological changes by Transmission Electron Microscopy (TEM) techniques. Two bacterial strains: *Escherichia coli* (*E.coli*) and *Klebsiella oxytoca* (*K.oxytoca*) were exposed to sub-lethal doses of plant extract for four weeks to generate resistant strains. Finally, genomic DNA was extracted from wild and mutant bacteria treated with and without *Ricinus* ethanol extract (REE), and whole genome sequencing was performed for eventual identification of affected genes. Whole genome sequencing of resistant bacteria species revealed the affected genes, involved in antimicrobial resistance development, which includes DNA replication, transcription, two-component signal transduction (TCS) and transporter genes.

*Rhazya stricta* leaves were extracted with ethanol and were subjected to purification for various alkaloids. The alkaloids fraction were tested for their anticancer activity. One of the novel alkaloid, termed Isopicrinine exhibited potent anticancer activity against breast cancer cell line, MCF-7. RNA-Seq experiment was performed to delineate the mechanism of its anticancer activity. Exposure of MCF-7 cells with Isopicrinine affected the genes involved in apoptosis, cell cycle, transcription, mitosis and cell proliferation. One of the crucial pro-apoptotic gene PUMA (p53 upregulated modulator of apoptosis) was upregulated. Survivin – anti-apoptotic gene- was downregulated.

The current studies demonstrate the potential of genomics-based approaches in understanding the mechanism of action of phytochemicals derived from various traditional medicinal plants, which would further lead to the development of novel drugs with more efficacy and better safety profile.

