Title: Enhanced antitumor activity of the Lapatinib via loading in human serum albumin

S. Mohsen Asghari, Ph.D.

Associate Professor of Biochemistry, Institute of Biochemistry and Biophysics (IBB), University of Tehran, Tehran, Iran. Email: sm.asghari@ut.ac.ir

Abstract:

Introduction: Triple-negative breast cancer (TNBC) represents a particularly aggressive form of cancer that is notoriously difficult to treat due to the absence of hormone receptors and HER2 expression. Traditional therapeutic strategies have limited efficacy and are often accompanied by significant side effects. Lapatinib, a tyrosine kinase inhibitor, has shown potential against TNBC; however, its clinical application is hindered by poor aqueous solubility and systemic toxicity. This study explores a novel drug delivery system aimed at enhancing the therapeutic index of Lapatinib through encapsulation with Human Serum Albumin (HSA), a biocompatible and non-toxic carrier recognized for its excellent drug binding capacity.

Objectives: This research aims to improve the therapeutic efficacy and selectivity of Lapatinib for TNBC treatment by employing Human Serum Albumin as a delivery platform. By encapsulating Lapatinib within HSA nanoparticles, the study seeks to enhance its solubility, enable controlled drug release, and reduce the systemic toxicity typically associated with chemotherapy.

Methods: Lapatinib was incorporated into HSA via hydrophobic interactions, with the resultant HSA-LAP complexes characterized using spectroscopic methods (UV and fluorescence spectroscopy), Atomic Force Microscopy (AFM), and Transmission Electron Microscopy (TEM) to evaluate structural integrity and drug loading efficiency. In vitro cytotoxicity was assessed using the MTT assay on the 4T1 breast cancer cell line to determine IC50 values. The study also incorporated apoptosis assays (Annexin V/PI staining and caspase activation) and wound healing assays to investigate anti-migratory properties. In vivo efficacy was evaluated using a BALB/c mouse model, measuring tumor growth suppression and survival extensions. Biodistribution studies were facilitated by radiolabeling HSA-LAP with Technetium-99m (99mTc) to observe tumor-targeting abilities.

Results: The encapsulation process preserved the structural integrity of HSA with minor conformational changes observed. In vitro assays demonstrated that HSA-LAP exhibits significantly enhanced anti-proliferative and pro-apoptotic effects on TNBC cells compared to free Lapatinib, with a notable decrease in IC50 values (1.05 µg/mL for HSA-LAP vs. 5.47 µg/mL for LAP). Furthermore, the synergistic combination with VGB3, a VEGFR1/2-targeting peptide, resulted in a dramatic IC_{50} reduction to 0.2 µg/mL, and a notable increase in apoptosis rates to 50.2%. In the in vivo model, tumor growth was profoundly reduced by 59% with HSA-LAP and 89% when combined with VGB3, together with improved survival rates relative to standard treatment modalities. Biodistribution analysis confirmed preferential uptake of HSA-LAP by tumor tissues, suggesting enhanced targeting and retention capabilities.

Conclusion: These findings affirm the potential of HSA as a highly effective delivery system for Lapatinib, significantly augmenting its anticancer potency against TNBC. The research highlights the merits of using HSA in drug formulation, offering optimized delivery profiles that mitigate systemic toxicity. Moreover, the impactful results of the combined therapy with VGB3 warrant further exploration and development, potentially offering a transformative approach in treating aggressive breast cancer subtypes.

Keywords: Lapatinib, Human Serum Albumin, Triple-Negative Breast Cancer, Drug Delivery Systems, Combination Therapy

عنوان: بهبود فعالیت ضد توموری داروی شیمی درمانی لاپاتینیب از طریق بارگذاری در آلبومین سرم انسان

سیدمحسن اصغری

دانشیار بیوشیمی، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران. ایمیل: sm.asghari@ut.ac.ir.

چکیده:

مقدمه: سرطان سینه سه‌گانه منفی (TNBC) به‌ویژه نوعی مهاجم از سرطان است که به علت فقدان گیرنده‌های هورمونی و بیان HER2 به سختی قابل درمان است. استراتژی‌های درمانی سنتی کارایی محدودی دارند و اغلب با عوارض جانبی قابل توجهی همراه هستند. لاپاتینیب، یک مهارکننده تیروزین کیناز، در برابر TNBC پتانسیل مناسبی نشان داده است؛ با این حال، کاربرد بالینی آن به دلیل حلالیت پایین و سمیت سیستمیک محدود شده است. این مطالعه سیستم تحویل داروی جدیدی را بررسی می‌کند که هدف آن ارتقای شاخص درمانی لاپاتینیب از طریق کپسوله کردن با آلبومین سرم انسانی(HSA) است، که به‌عنوان حامل زیست‌سازگار و غیرسمی با ظرفیت بالای اتصال به دارو شناخته می‌شود.

اهداف: این پژوهش بهبود کارآیی درمانی و انتخاب‌پذیری لاپاتینیب برای درمان TNBC را با استفاده از HSA به‌عنوان پلتفرم تحویل هدف قرار داده است. با کپسوله کردن لاپاتینیب در نانوذرات HSA، مطالعه به ارتقای حلالیت آن، ایجاد آزادسازی کنترل‌شده دارو و کاهش سمیت سیستمیک معمولاً مرتبط با شیمی‌درمانی می‌پردازد.

روش‌ها: لاپاتینیب از طریق برهمکنش‌های هیدروفوبیک در HSA وارد شد و کمپلکس‌های HSA-LAP حاصله با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی (طیف‌سنجی UV و فلورسانس)، میکروسکوپ نیروی اتمی ((AFM، و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) برای ارزیابی یکپارچگی ساختاری و کارایی بارگذاری دارو شناسایی شدند. در آزمایش‌های سلولی، سمیت سلولی با استفاده از آزمون MTT بر روی سلول‌های سرطان سینه 4T1 برای تعیین مقادیر IC_{50} ارزیابی شد. این مطالعه همچنین شامل آزمون‌های آپوپتوز (رنگ‌آمیزی Annexin V/PI و فعال‌سازی کاسپاز) و آزمون‌های ترمیم زخم برای بررسی خواص ضد مهاجرتی بود. کارآیی درون تنی با استفاده از مدل موش BALB/c، اندازه‌گیری سرکوب رشد تومور و افزایش بقا بود. مطالعات توزیع زیستی (Biodistribution) با نشان‌گذاری رادیویی HSA-LAP با تکنسیوم-99 (^{99m}Tc) قابلیت تجمع HAS-LAP در تومور را آشکار ساخت.

نتایج: فرآیند کپسوله‌سازی با حفظ یکپارچگی ساختاری HSA و تغییرات جزئی همراه بود. آزمون‌های کشت سلولی نشان داد که HSA-LAP اثرات ضد تکثیر و پرو-آپوپتوزی بیشتری روی سلول‌های TNBC نسبت به لاپاتینیب آزاد دارد، با کاهش قابل توجه مقادیر IC_{50} (1/05) میکروگرم/میلی‌لیتر برای HSA-LAP در مقابل 5.47 میکروگرم/میلی‌لیتر برای (LAP). علاوه بر این، ترکیب با VGB3، یک پپتید متصل شونده به گیرنده های VEGFR1 و VEGFR2، موجب تقویت این اثرات و کاهش چشمگیر IC_{50} به 0.2 میکروگرم/میلی‌لیتر و افزایش قابل توجه نرخ‌های آپوپتوز به 50.2٪ شد. در مدل درون‌تنی، رشد تومور با HSA-LAP به میزان 59٪ و با ترکیب VGB3 به 89٪ کاهش یافت. اثرات ضد توموری با افزایش نرخ بقا نسبت به گروه شاهد همراه بود. بررسی توزیع زیستی (Biodistribution) نشان دهنده تجمع ترجیحی HSA-LAP توسط بافت‌های تومور بود که نشان‌دهنده قابلیت‌های بهبود یافته هدف‌گیری و ماندگاری است.

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها پتانسیل HSA را به‌عنوان یک سیستم موثر در تحویل لاپاتینیب تأیید می‌کنند و به‌طور قابل‌توجهی قدرت ضدسرطانی آن را علیه TNBC افزایش می‌دهند. این تحقیق به مزایای استفاده از HSA در فرمولاسیون دارو اشاره دارد و پروفایل‌های تحویلی بهینه‌ای ارائه می‌کند که سمیت سیستمیک را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، نتایج مؤثر درمان ترکیبی با VGB3 نیازمند بررسی و توسعه بیشتر است که می‌تواند رویکردی تحول‌آفرین در درمان زیرگروه‌های تهاجمی سرطان سینه ارائه دهد.

واژه‌های کلیدی: لاپاتینیب، آلبومین سرم انسانی، سرطان سینه سه‌گانه منفی، سیستم‌های تحویل دارو، درمان ترکیبی