

Anticancer Evaluation of Acetylsalicylic Acid Loaded Black Seed Oil Nanoemulsion

Hadil Faris ALOTAIBI ¹, El-Sayed KHAFAGY ^{2,3}, Jawaher Abdullah ALAMOUDI ¹ *
& Amr Selim ABU LILA ^{4,5}

¹ Department of Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy,
Princess Nourah Bint Abdulrahman University, P.O. Box 84428, Riyadh 11671, Saudi Arabia

² Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Prince Sattam Bin Abdulaziz University,
Al-kharj 11942, Saudi Arabia

³ Department of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy, Faculty of Pharmacy,
Suez Canal University, Ismailia 41552, Egypt.

⁴ Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, University of Hail,
Hail 81442, Saudi Arabia

⁵ Department of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy, Faculty of Pharmacy,
Zagazig University, Zagazig 44519, Egypt

SUMMARY. Nanoemulsions have gained significant attention as efficient drug delivery systems due to their improved solubility, stability, and potential for targeted therapy. This study presents the formulation, characterization, and evaluation of an oil-in-water nanoemulsion containing acetylsalicylic acid (ASA) and black seed oil (BSO) for its potential as an innovative anticancer agent. The nanoemulsion was characterized for particle size, zeta potential, and polydispersity index. The formulation exhibited mean droplet sizes of 94.67 ± 5.4 nm and 157 ± 4.3 nm for plain BSO and ASA-BSO nanoemulsion, respectively. Zeta potential values were -15 ± 2.4 mV and -27.67 ± 1.24 mV, respectively. Drug content determination confirmed a high loading capacity of $98.43 \pm 2.32\%$ for ASA-loaded nanoemulsion. In vitro drug release studies demonstrated enhanced release from the nanoemulsion compared to non-formulated ASA. Stability investigations indicated retained physicochemical properties over three months. Biological assessments included cell viability assays, cell cycle analyses, and apoptosis assessments in MCF-7, HePG2, and HCT 116 cancer cell lines. The ASA-BSO nanoemulsion formulation exhibited potent cytotoxic effects, impacting cell viability and arresting cells at different cell cycle phases. Apoptosis assessment revealed a significant increase in apoptotic populations, particularly in MCF-7 cells ($84.35 \pm 2.5\%$). These findings suggest the ASA-BSO nanoemulsion's potential as an effective and multifaceted anticancer strategy. The study highlights the formulation's capacity to impact various aspects of cancer cell behavior, supporting its further exploration as a novel approach in cancer therapy.

RESUMEN. Las nanoemulsiones han ganado mucha atención como sistemas eficientes de administración de fármacos debido a su solubilidad, estabilidad y potencial mejorados para terapias dirigidas. Este estudio presenta la formulación, caracterización y evaluación de una nanoemulsión de aceite en agua que contiene ácido acetilsalicílico (ASA) y aceite de semilla negra (BSO) por su potencial como agente anticancerígeno innovador. La nanoemulsión se caracterizó por el tamaño de partícula, el potencial zeta y el índice de polidispersidad. La formulación exhibió tamaños medios de gota de $94,67 \pm 5,4$ nm y $157 \pm 4,3$ nm para nanoemulsión simple BSO y ASA-BSO, respectivamente. Los valores del potencial Zeta fueron $-15 \pm 2,4$ mV y $-27,67 \pm 1,24$ mV, respectivamente. La determinación del contenido de fármaco confirmó una alta capacidad de carga de $98,43 \pm 2,32\%$ para la nanoemulsión cargada con ASA. Los estudios de liberación de fármacos in vitro demostraron una mayor liberación de la nanoemulsión en comparación con el AAS no formulado. Las investigaciones de estabilidad indicaron propiedades fisicoquímicas conservadas durante tres meses. Las evaluaciones biológicas incluyeron ensayos de viabilidad celular, análisis del ciclo celular y evaluaciones de apoptosis en líneas celulares cancerosas MCF-7, HePG2 y HCT 116. La formulación de nanoemulsión de ASA-BSO exhibió potentes efectos citotóxicos, que afectaron la viabilidad celular y detuvieron las células en diferentes fases del ciclo celular. La evaluación de la apoptosis reveló un aumento significativo en las poblaciones apoptóticas, particularmente en las células MCF-7 ($84,35 \pm 2,5\%$). Estos hallazgos sugieren el potencial de la nanoemulsión ASA-BSO como una estrategia anticancerígena eficaz y multifacética. El estudio destaca la capacidad de la formulación para influir en diversos aspectos del comportamiento de las células cancerosas, lo que respalda su exploración adicional como un enfoque novedoso en la terapia del cáncer.

KEY WORDS: acetylsalicylic acid, anticancer, black seed oil, nanoemulsion

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: Jaalamoudi@pnu.edu.sa