**Therapeutic Application of Nanoparticles**

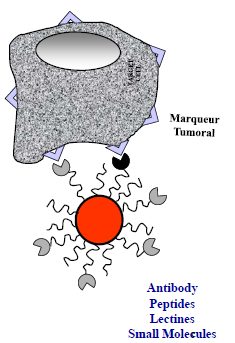
**معالجة السرطان Treatment of Cancer:**

* Anticancer Drug
* Cytokines  
  السيتوكينات وهي المواد المسؤولة عن نقل الإشارات بين الخلايا والجراثيم
* Nucleic Acids

**التشخيص الشعاعي Radiodiagnostic:**

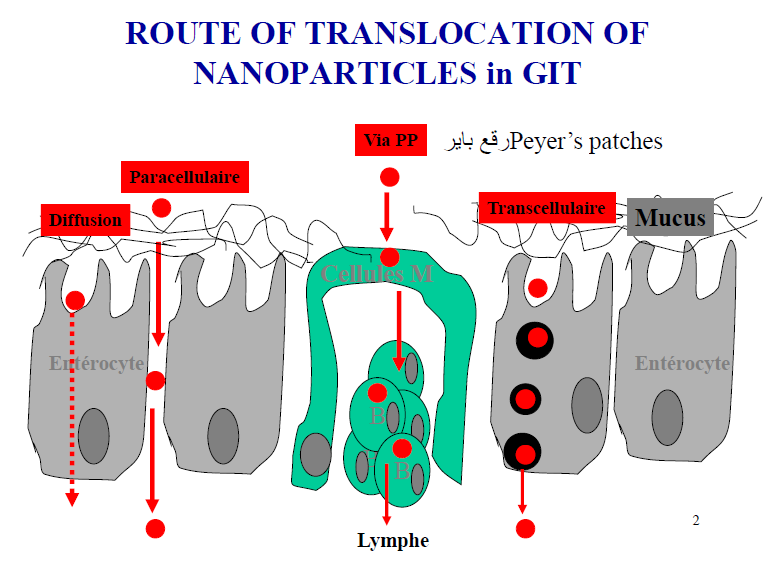
للتصوير بالطرق المختفة، الرنين المغناطيسي MRI أو التصوير الطبقي المحوري CTS أو الأمواج فوق الصوتية واللإيكو Echography باستعمال عوامل التباين Contrast Agents كأكسيد الحديد المغناطيسي ومشتقات الغاليوم ...

**استهداف الأنسجة الملتهبة Targeting Inflamed Tissue (Infections)**

**استهداف جزيئات المستقبلات على سطح الخلية Molecular Targeting:**

تتم بآلية القفل والمفتاح، أي أننا نوم بإضافة لجائن Ligands على الجسيم النانومتري حتى تتطابق فراغيا مع جزيئات المستقبل.

وتتنوع أنواعها حسب الخلية، كماهو واضح في الشكل التالي:



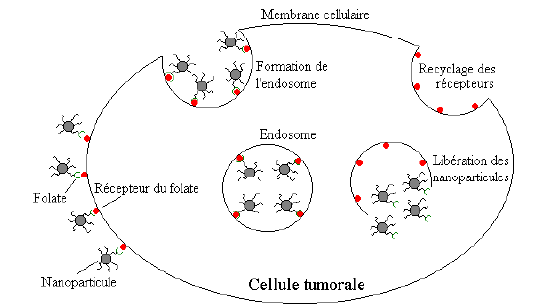
**عملية دخول الجسميات النانومترية عبر بطانة الأمعاء في القناة الهضمية:**

نلاحظ في بطانة الأمعاء وجود خلايا غير مغطاة بطبقة مخاطية Mucus كما هو الحال في رقع باير Peyer’s Patches التي تحتوي على الخلايا البدينة Mast Cell وتتصل بالأوعية اللمفية.

فإذا كانت المادة محبة للدسم فيتم امتصاصها عبر هذه الخلايا إلى الدوران اللمفاوي، وبإمكاننا الاستفادة من هذه الظاهرة في إيصال الجسيمات النانومترية (ذات السطح الدسم) إلى الجهاز اللمفاوي مباشرة لمقاومة الفيروسات، كماهو الحال في فيروس الإيدز الذي يهاجم الجهاز اللمفاوي.

**Targeting of Tumoral Receptors:**

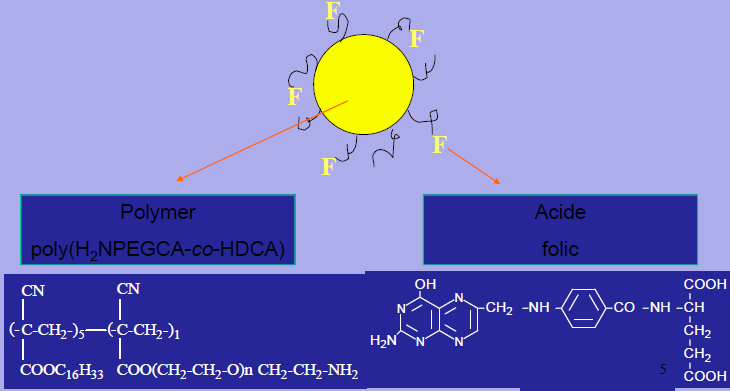
فمثلا ترتبط الجسميات النانومترية بالادمصاص على سطح الخلية بفضل مستقبلات الفولات Folate (أملاح حمض الفوليك) وتدخل إلى داخل الخلية ويتشكل لدينا جسيم داخلي Endosome يحوي على هذه الجسيمات النانومترية، قد يكون تشكل الجسيمات الداخلية أمر سلبياً في بعض الأحيان ولكننا نحاول الستفادة منه بأفضل طريقة ممكنة كما سنرى في الفقرات اللاحقة، بحيث يتم تحرير الجسيمات النانومترية ضمن السيتوبلاسما.

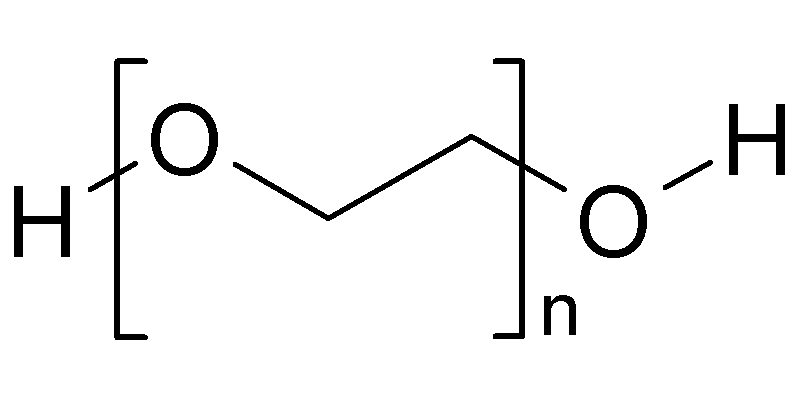


يتم ربط حمض الفوليك Folic Acid على الجسيمات الناومترية للاستفادة من خصائصه في استهداف الخلايا الورمية السرطانية، وهذا الاستهداف استهداف فاعل Active Targeting: ويتم ذلك بالاستعانة بالبوليميرات كماهو واضح في الشكل:

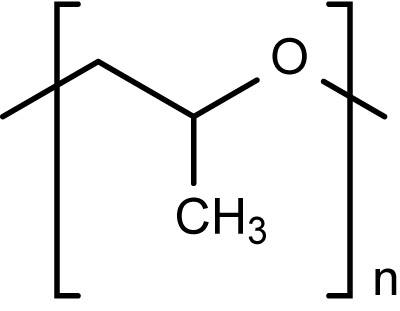
فكما نعلم فإن تغليف الجسيم بالبولي إيثلين غليكول PEG يساهم في حماية الجسيم من الجملة الشبيكية الباطنية والجهاز المناعي.

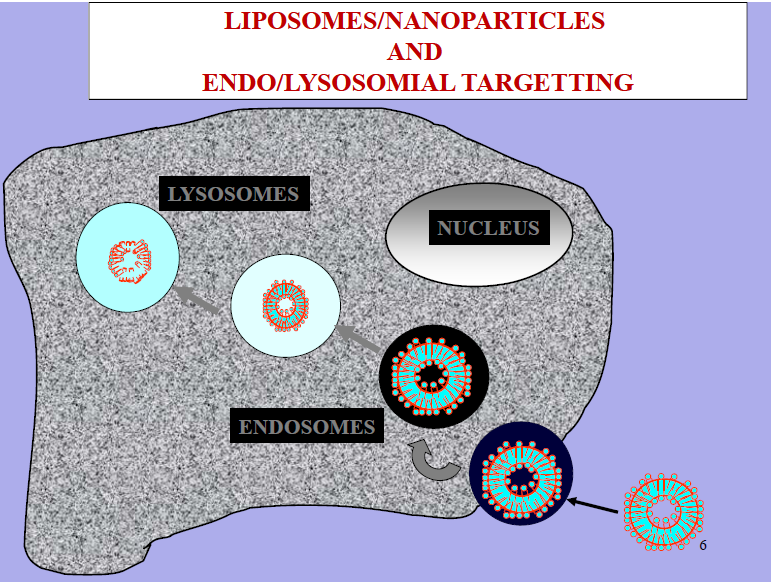
يتألف البوليمير من Cyanoacrylates ويرتبط فيه حمض الزيت Oleic Acid، في حين يتألف الغلاف من البولي إيثلين غليكول PEG والذي يؤدي دور Spacer يمنع الإعاقة الفراغية (بالإضافة لدوره في الحماية من الجهاز المناعي) وتنتهي سلسلة البوليمير بوظيفة أمينية –NH2 ترتبط مع حمض الفوليك Folic Acid.



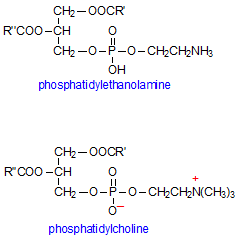
**ملاحظة: (صيغ مطلوبة)**

***PEG: بولي إيثلين غليكول:***

***PPG: بولي بروبيلين غليكول:***



عندما تدخل الجسيمات الشحمية Liposomes إلى داخل الخلية فإنها تشكل جسيم داخلي، يتحد هذه الجسيم مع الليزوزومات (الجسيمات الحالة) التي تحتوي على أنزيمات وخمائر تبطل فعالية الجسيم الشحمي Liposome. وكما نعلم فإن pH الليزوزومات حمضي، ويمكننا الاستفادة من هذا الأمر في تحرر الجسيمات النانومترية ومنع تفكيكيها، ولكن بداية يجب التذكير ببعض الأمور:

كما نعلم تتألف الجسيمات الشحمية Liposomes من فوسفوليبيدات متنوعة، فإذا استخدمنا فوسفوليبيدات مرتبطة بوظيفة أمينية NH3، تعطي الأمينات عند تشردها شحنة موجبة، في حين تكون شحنة الفوسفوليبيدات سالبة (زمرة الفوسفات). وبالتالي تكون الفوسفوليبيدات المرتبطة مع الأمين بشكل عام ثنائية الشحنة Amphoteric. **(مهمة)**

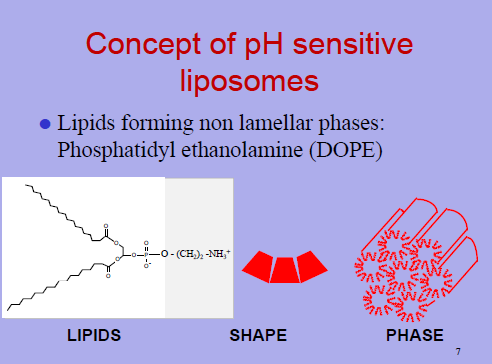
كماهو الحال في الفوسفاتيديل إيثانولامين Phosphatidyl Ethanolamine أو الفوسفاتيديل كولين Phosphatidyl Choline.

تتوضع الشحنات الموجبة الناتة عن الأوظيفة الأمينية على سطح الليبوزومات فتكسبه شحنة موجبة تمكنه من الارتباط بسهولة على أغشية الخلايا (ذات الشحنة السالبة).

وتكون هذه الشحنة أفضل في حالة الإيثانول أمين (-NH3) لأنه أمين أولي يعطي متبادلات بسهولة، على عكس الكولين حيث يكون الأمين ثالثي –N(CH3)3

**الجسيمات الشحمية الحساسة للحموضة: (مهمة)**

في الوسط الحامضي (H+) تتحول الوظيفة الأمينية للإيثانول أمين إلى أمين رابعي لتعطي أملاح الأمونيوم الرباعية والتي ستفيدنا للتخلص من تأثير أنزيمات الليزوزوم.

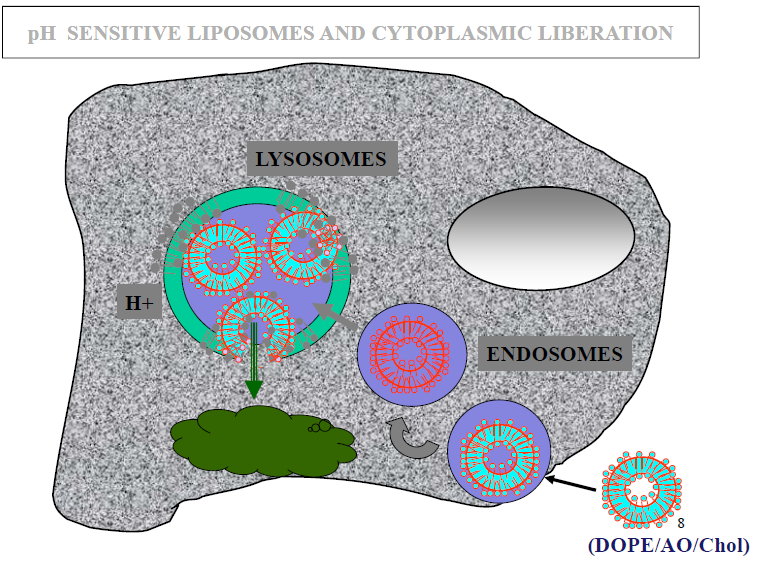


**ملاحظة مهمة:** يختلف انتظام الليبيدات حسب التركيز والشكل الفراغي:

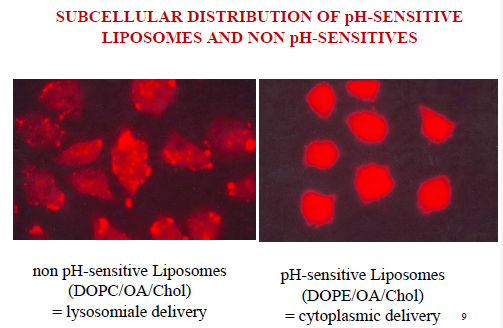
* جسميمات شحمية Liposomes
* مذيلات Micelles
* Hexagonal Phase مسدس الشكل.
* Lamellar Phase الصفائح

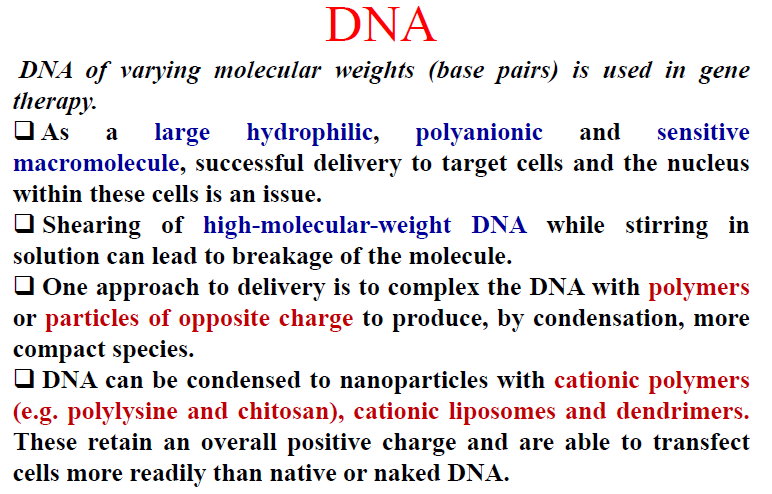
وحتى نتمكن من الاستفادة من هذه الخاصية الحساسة للحمض يجب أن تكون **الليبيدات غير صفائحية Non Lamellar**، والحالة الأفضل أن تكون Liposomes.

**\*Note: (DOPE) Dioleic phosphatidylethanolamine**



عندما تتحد الإندوسومات Endosomes الحاوية على الليبوزومات Liposomes (ذات السطح الموجب NH3) مع الليزوزومات Lysosomes ذات الوسط الحامضي فستتشكل لدينا شحنة موجبة عالية ناتجة عن الأمونيوم الرابعي Quaternary Ammonium، وهذه الشحنة الموجبة ستجذب الشوارد السالبة كالكلور Cl- لتشكيل أملاح أمونيوم رباعية، ونتيجة لتشكل الملح سيزداد الضغط الحلولي داخل الليزوزوم وتزداد كمية الماء الداخلة إليه حتى ينفجر... وبالتالي تتحرر المادة الدوائية من الليبوزومات إلى السيتوبلاسما.

نلاحظ في الشكل التالي (على أمل يطلع بالطباعة!!) مجموعات من الخلايا، في الأيمن نلاحظ انتشار الدواء في كل الخلية بفضل الخاصية السابقة باستعمال جسيمات نانومترية تتألف من فوسفاتيديل الإيثانول أمين (DOPE) وحمض الزيت Oleic Acid والكولسترول Cholesterol (الكولسترول يزيد ثباتية الليبوزومات)، أما في حال الجسيمات النانومترية الحاوية على فوسفاتيديل كولين (DOPC) انتشرت المادة الدوائية ضمن الليزوزومات فقط.

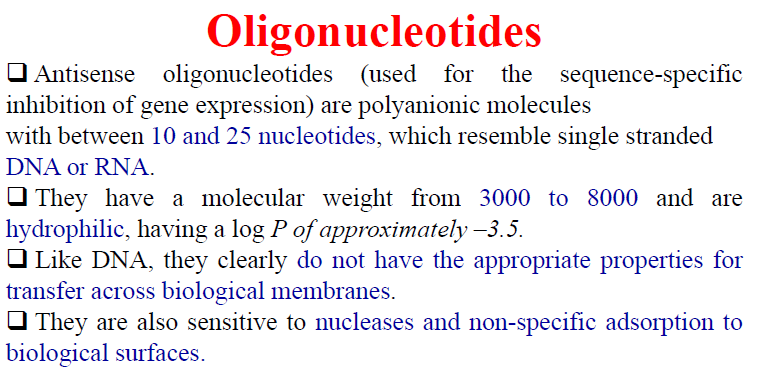


أجريت العديد من الدراسات حول استعمال الـ DNA في المعالجة الجينية، ويمتلك الحمض النووي DNA عدة خصائص يجب الانتباه لها أثناء استخدامه:

* يتألف من تجمع كبير للجزيئات الكارهة للماء، والتي تمتلك شحنة سالبة Anion، كما أن حساسيته عالية.
* الهدف الأساسي هو إيصاله لنواة الخلية الهدف حتى تتم الاستفادة الجينية منه.
* من أهم الطرق المتبعة في إيصال الدواء هي تشكيل معقد من الـ DNA مع بوليمير أو جزيء ذو شحنة معاكسة (شحنة موجبة) بحيث تتكاثف مع بعضها. وتصبح عملية دخولها إلى داخل الخلايا أسهل وأسرع من إعطاءه منفرداً (شحنة سطح الخلايا سالبة)
* يتكاثف الـ DNA ضمن الجسيمات النانومترية مع الجزيئات ذات الشحنات الموجبة Cation كما هو الحال في استخدام:

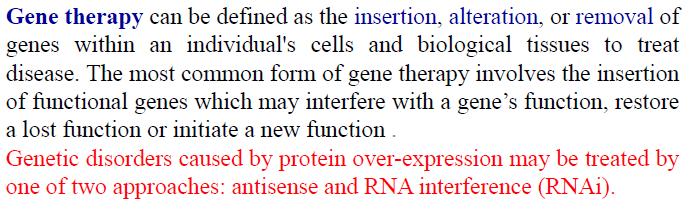
**Cationic Polymer + DNA = Polyplex**

**Cationic Liposomes + DNA = Lipoplex**

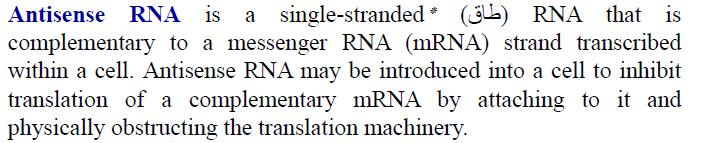


الأوليغونوكليوتيدات هي عبارة عن عديدات نوكليوتيد ذات شحنة سالبة، يتراوح عدد جزيئات النوكليوتيد فيها من 10 – 25 تشكل طاق واحد (سلسلة) مشابهة للـ DNA أو الـ RNA.

**وكما هو الحال في الـ DNA**، فهي حساسة أيضاً لأنزيم النوكلياز الذي يفكك الحموض النووية كما قد يحصل لها ادمصاص غير نوعي على سطوح الخلايا الحية. ولاتدخل إلى داخلها لإنها لاتمتلك الخصائص الملائمة للمرور عبر الأغشية الخلوية (أي دون تكثيفها مع شحنة موجبة)

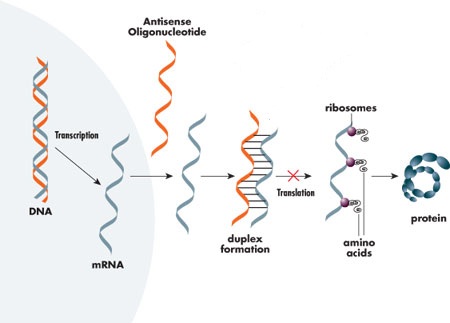
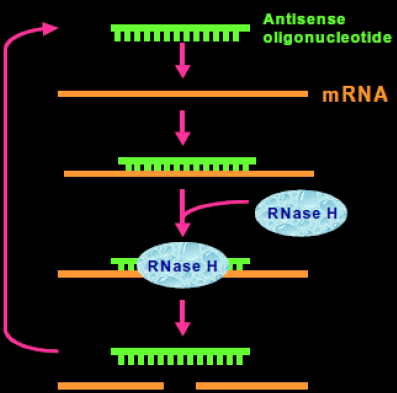


**(مهمة جداً)** من الاضطرابات الجينية التي قد تحدث زيادة اصطناع البروتينات ضمن الخلية (وخاصة في الخلايا الشاذة أو الورمية)، والذي يمكن أن يعالج باتباع أحدى الطريقين:



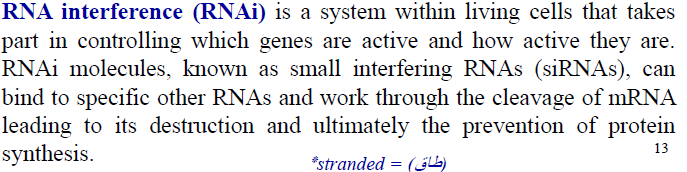
**Antisense RNA (مهم):**

وهو عبارة عن سلسلة وحيدة من الـ RNA تكون **مكملة** لسلسة الـ m-RNA الرسول (المسؤول عن نسخ التعليمات الوراثية واصطناع البروتينات في الخلية)، وبالتالي يثبط الـ Antisense RNA آلية ترجمة التعليمات الورائية المحمولة على m-RNA عن طريق الارتباط به.



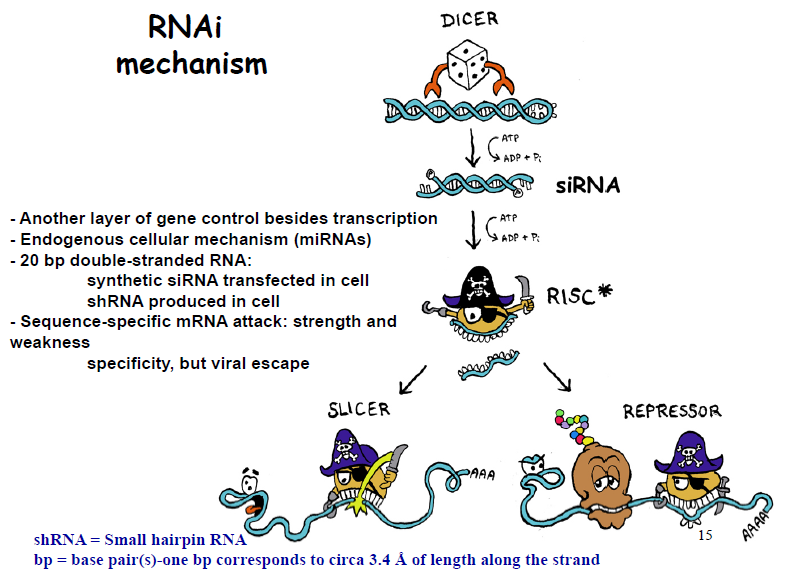
وقد يؤدي الارتباط أيضاً إلى تنشيط أنزيم **RNase H** الذي يقوم **بشطر سلسلة الـ m-RNA**.

ولكن الأساس في هذه الطريقة هو تثبيط الـ m-RNA عبر الارتباط بالسلسلة المكلمة له Antisense قبل أن يرتبط بالريبوزوم...



**RNA Interference (RNAi): (مهم)**

وهو نظام في الخلايا الحية له دور في التحكم في تنشيط جينات معينة وآلية تنشيطها، تعرف الـ RNAi أيضاً (siRNA) أي سلاسل الـ RNA الصغيرة المتدخلة والتي ترتبط مع أنواع خاصة أخرى من الـ RNA وتعمل معاً عبر تشكيل معقد RISC لتقوم بشطر سلسلة الـ m-RNA، أي إيقاف عملية تصنيع البروتينات في الخلية.



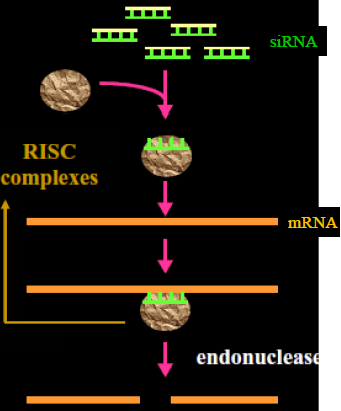
**إضافة مهمة من النت حول آلية عملها وأنواع الـ RNA الداخلة ولكن الدكتور لم يشرحها بالتفصيل واكتفى بذكر المبادئ:** [**http://en.wikipedia.org/wiki/RNA\_interference**](http://en.wikipedia.org/wiki/RNA_interference)

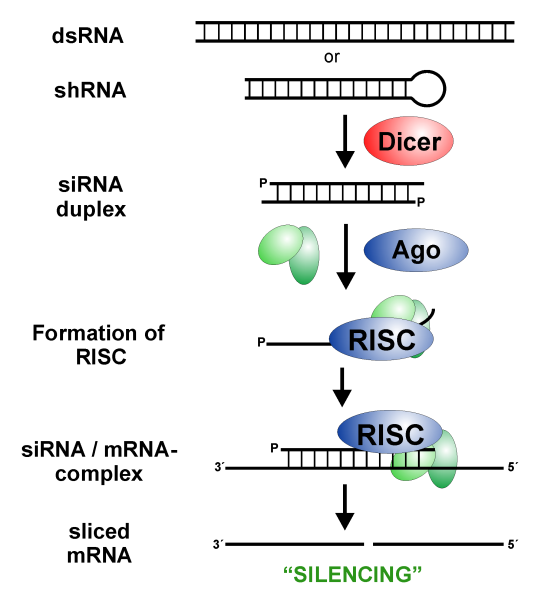
Two types of small [ribonucleic acid](http://en.wikipedia.org/wiki/Ribonucleic_acid) (RNA) molecules – [microRNA](http://en.wikipedia.org/wiki/MicroRNA) (miRNA) and [small interfering RNA](http://en.wikipedia.org/wiki/Small_interfering_RNA) (siRNA) – are central to RNA interference. RNAs are the direct products of genes, and these small RNAs can bind to other specific [messenger RNA](http://en.wikipedia.org/wiki/Messenger_RNA) (mRNA) molecules and either increase or decrease their activity, for example by preventing an mRNA from producing a [protein](http://en.wikipedia.org/wiki/Protein). RNA interference has an important role in defending cells against parasitic genes – [viruses](http://en.wikipedia.org/wiki/Virus) and [transposons](http://en.wikipedia.org/wiki/Transposon) – but also in directing [development](http://en.wikipedia.org/wiki/Developmental_biology) as well as [gene expression](http://en.wikipedia.org/wiki/Gene_expression) in general.

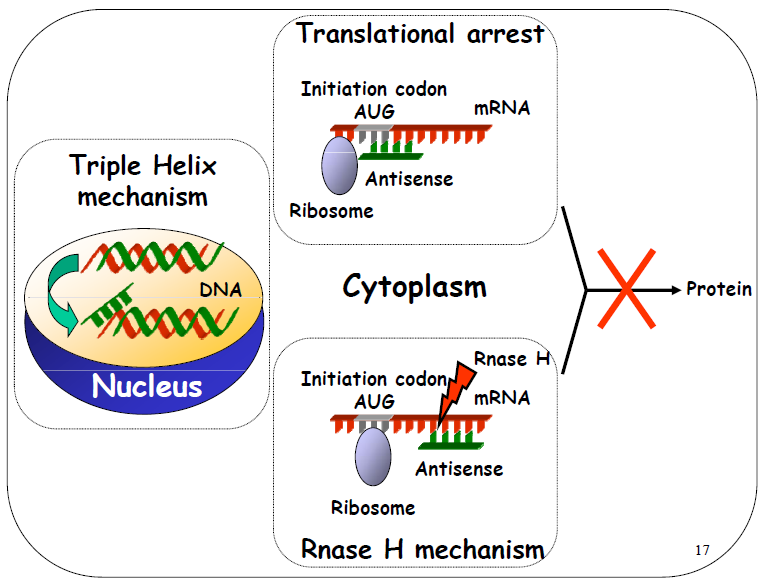
The RNAi pathway is found in many [eukaryotes](http://en.wikipedia.org/wiki/Eukaryote) including animals and is initiated by the enzyme [Dicer](http://en.wikipedia.org/wiki/Dicer), which cleaves long [double-stranded RNA](http://en.wikipedia.org/wiki/RNA#Double-stranded_RNA) (dsRNA) [molecules](http://en.wikipedia.org/wiki/Molecules) into short fragments of ~20[nucleotides](http://en.wikipedia.org/wiki/Nucleotide) that are called siRNAs. Each siRNA is unwound into two single-stranded (ss) ssRNAs, namely the passenger strand and the guide strand. The passenger strand will be degraded, and the guide strand is incorporated into the [RNA-induced silencing complex](http://en.wikipedia.org/wiki/RNA-induced_silencing_complex) (RISC). The most well-studied outcome is post-transcriptional gene silencing, which occurs when the guide strand base pairs with a complementary sequence of a messenger RNA molecule and induces cleavage by [Argonaute](http://en.wikipedia.org/wiki/Argonaute" \o "Argonaute), the catalytic component of the RISC complex. In some organisms this process is known to spread systemically despite the initially limited molar concentrations of siRNA.

Two US scientists win the Nobel prize in Medicine 2006:

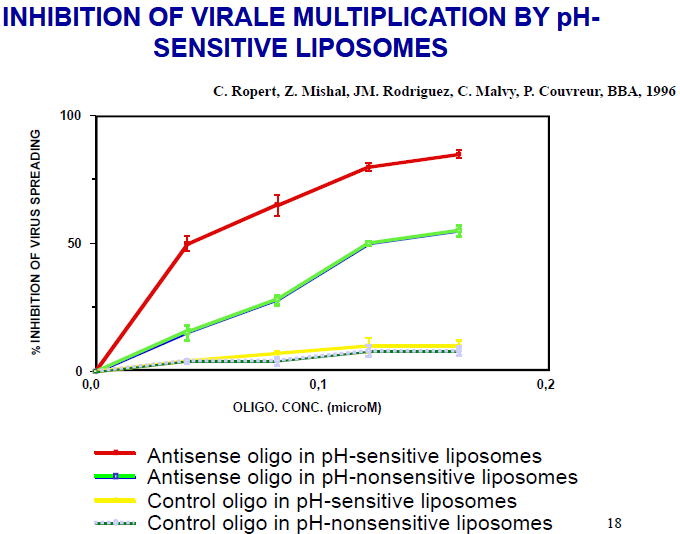
Craig Mello (UMass) & Andrew Fire (Stanford)

For the discovery of RNA interference (RNAi) Gene regulation mechanism that controls cell development via double-stranded RNA (microRNAs, miRNA) Biological relevance obvious, clinical relevance in the works.

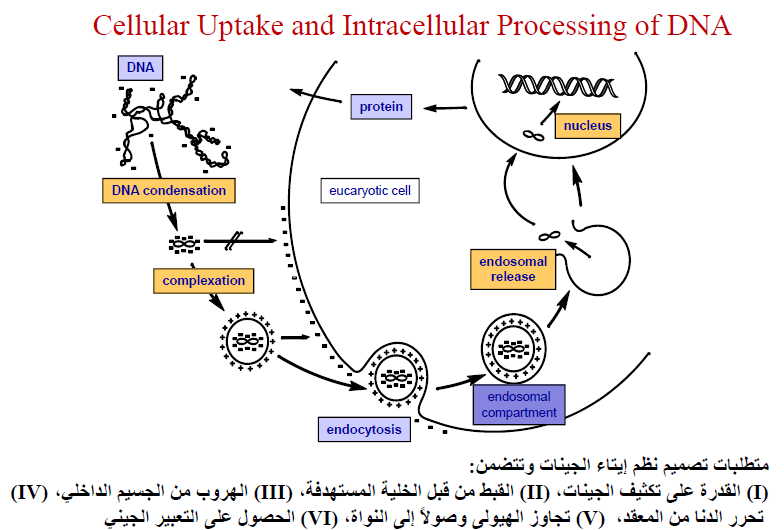
نال مكتشفا هذه الطريقة جائزة نوبل في الطب عام 2006، وتعد من أهم الاكتشافات الحديثة في علم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحيوية.



أما الطريقة الثالثة في التحكم بتصنيع البروتينات هي Triple Helix Mechanism أي آلية الحلزون الثلاثي. وتعتمد على إضافة جزء من الـ DNA على سلسلتي الـ DNA الأصلية **ضمن النواة** بحيث تمنع عملية نسخ التعليمات الوراثية من الأصل...

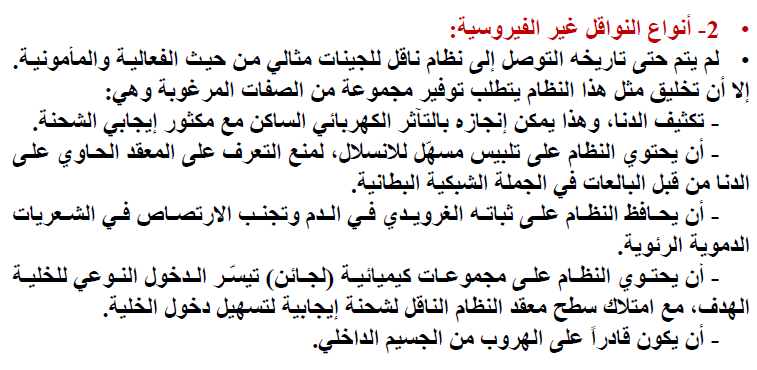
وقد تمكننا هذه الطريقة من إدخال وظائف جديدة أو تعليمات وراثية على الخلايا الحية، والتطبيقات تجري الآن على الجراثيم... ومازالت بحاجة لدراسات عديدة قبل تطبيقها على البشر.

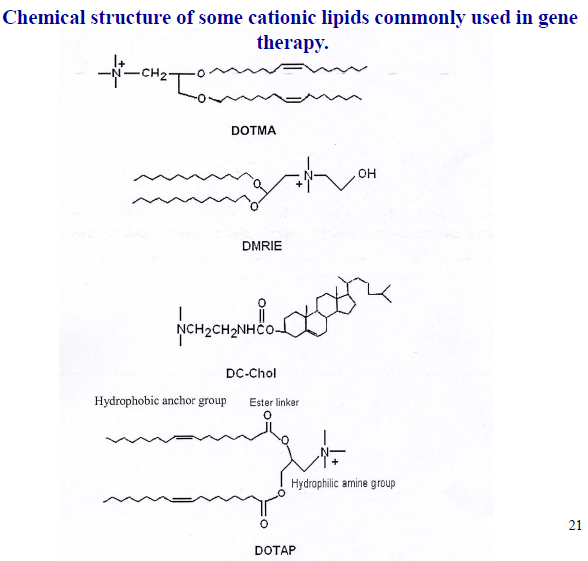
يمثل المخطط التالي نتائج عملية تثبيط تكاثر الفيروسات باستخدام جسيمات نانومترية (ليبوزومات) بآليات مختلفة. ترتيب الفعالية كترتيب أنواع الآليات أسفل الصورة.



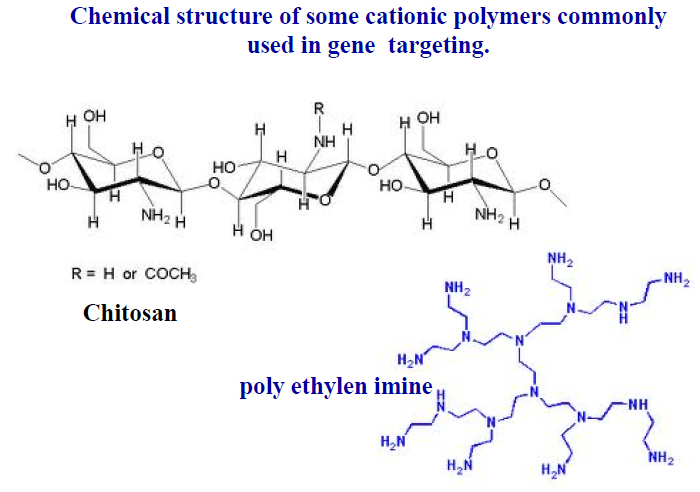
1. **النواقل الفيروسية:**

تعد النواقل الفيروسية أفضل أنظمة الإيتاء في المعالجة الجينية على الإطلاق، إلا أنها لاتزال قيد الدراسات والأبحاث لإمكانية حدوث طفرات وغيرها من المخاطر الكبيرة. وتجري الأبحاث الآن للاسفتادة من غلاف الفيروسات (كابسيد) لاستخدامه كجسيم نانومتري حامل للـ DNA أي أننا نقوم باستبدال الحمض النووي المطلوب إيصاله لنواة الخلية بالحمض النووي للفيروس.

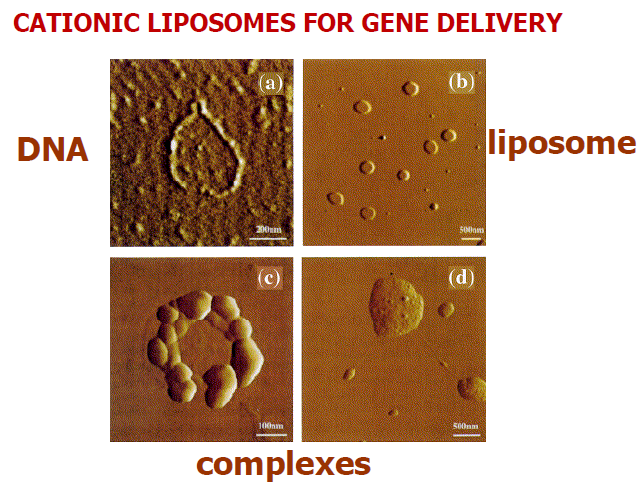


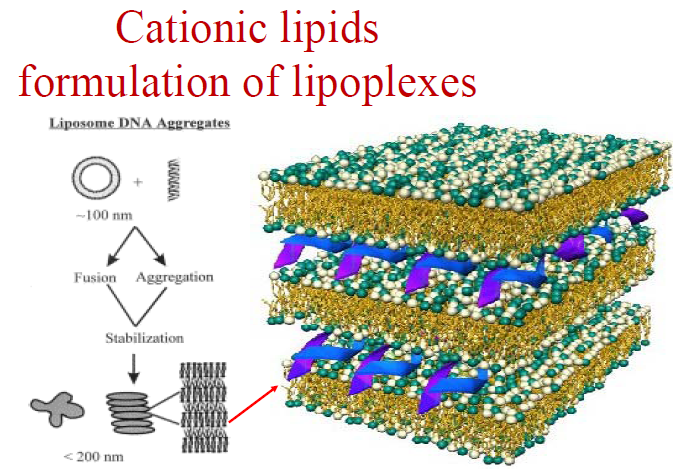


**الأمونيوم الرباعي يعطي الشحنة الموجبة التي ستعدل الشحنة السالبة للـ DNA**

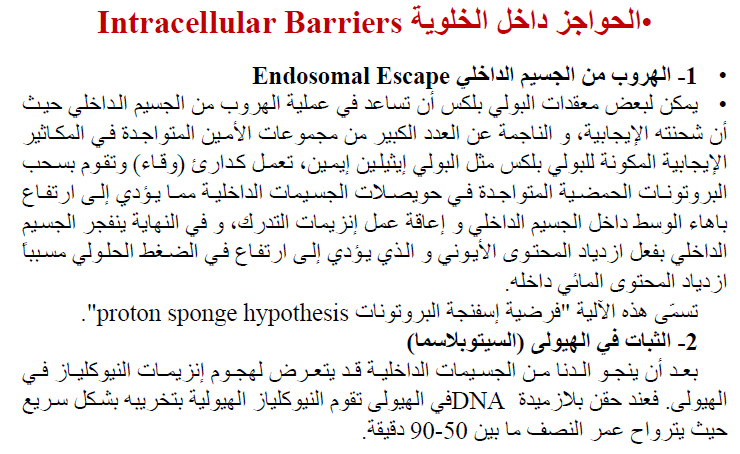


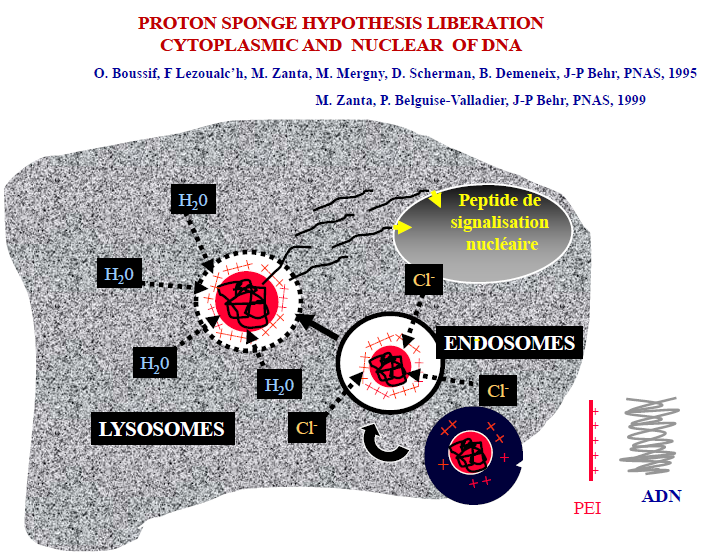
**يتم استخلاص الشيتوسان Chitosan من بعض الرخويات البحرية كالقرديس والمحار وهو غلوكوزأمين Glucosamine**





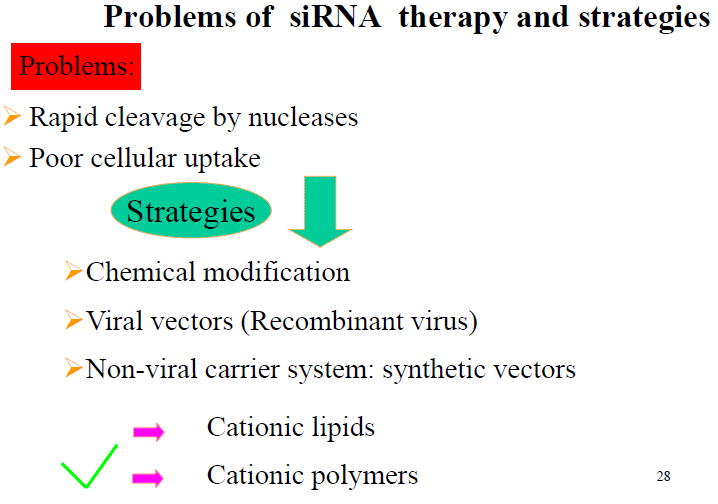
تكون على شكل طبقات من مواد شحمية إيجابية الشحنة يتم وضع الحمض النووي ضمن هذه الطبقات، وبالتالي نتغلب على مشكلة الحجم الكبير عن طريق جعل الـ Lipoplexe بشكل طبقات.

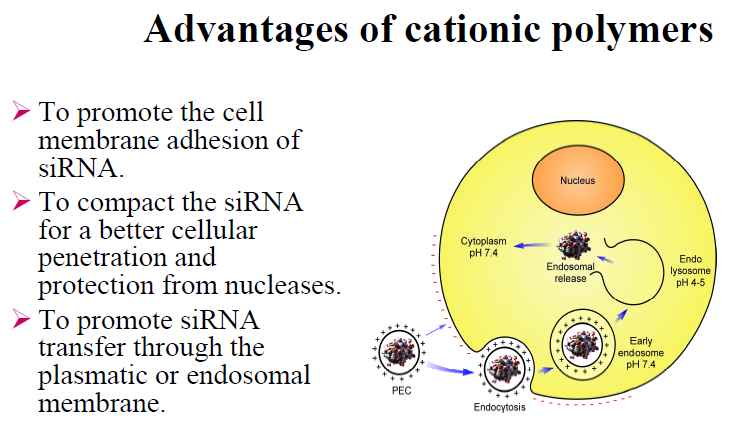




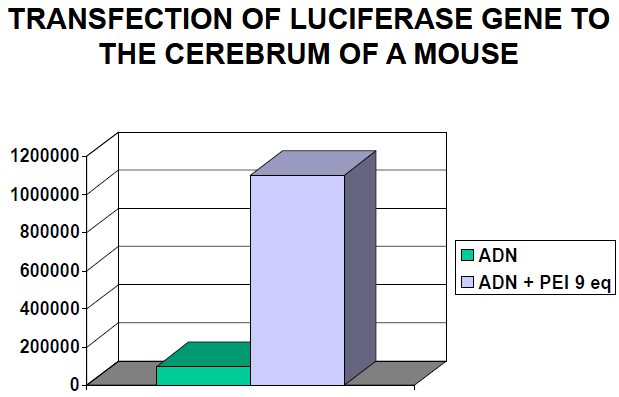
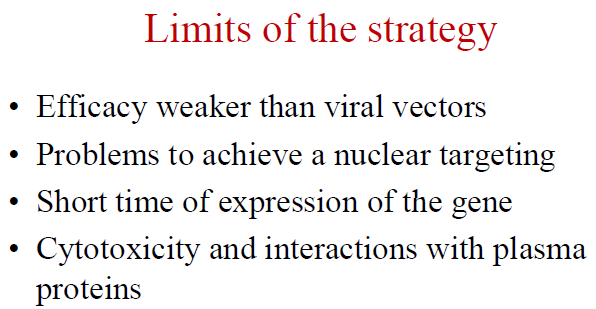
**المرور النووي:**

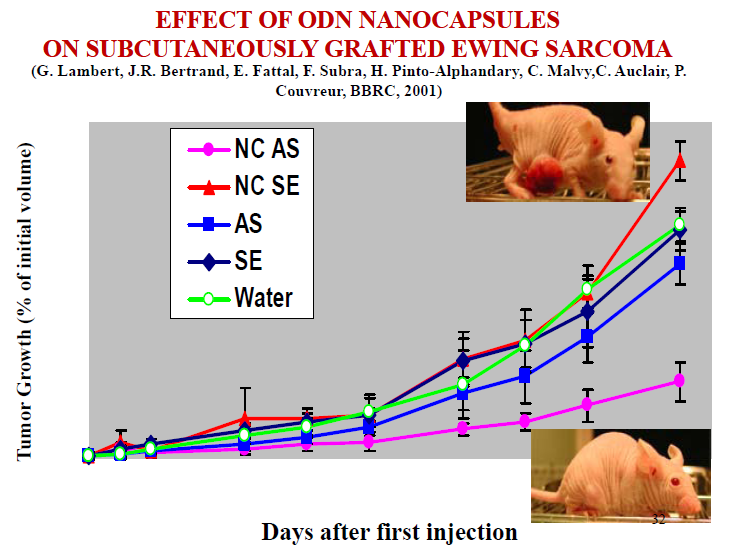
أفضل الأوقات لإجراء المعالجة الجينية على الخلايا هي خلال عملية انقسام الخلايا حقيقية النوى، حيث يحدث انتقال للـ DNA بين الهيولى والنواة عندما تتحطم المحفظة النووية خلال مرحلة الانقسام الفتيلي Mitoses. وكما نعلم معظم أنسجة الجسم تتجدد كل فترة (ماعدا الخلايا العصبية)...





نلاحظ في الشكل الفرق عند استعمال DNA+PEI في عملية مرور الجين إلى خلايا دماغ فأر:



تم إجراء تجارب على الفئران: حيث تم حقنها بخلايا سرطانية (ساركوما) ثم تطبيق المعالجة الجينية والتي نجحت في إزالة الورم نهائيا وعودة الفأر إلى نشاطه !!! ☺

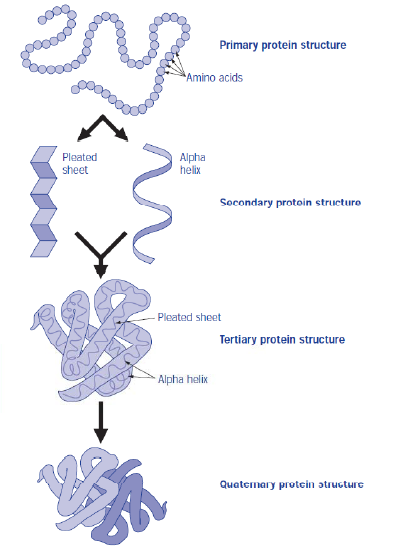
ومازالت التجارب أولية وتحتاج إلى وقت حتى نستطيع تطبيق العلاج على البشر

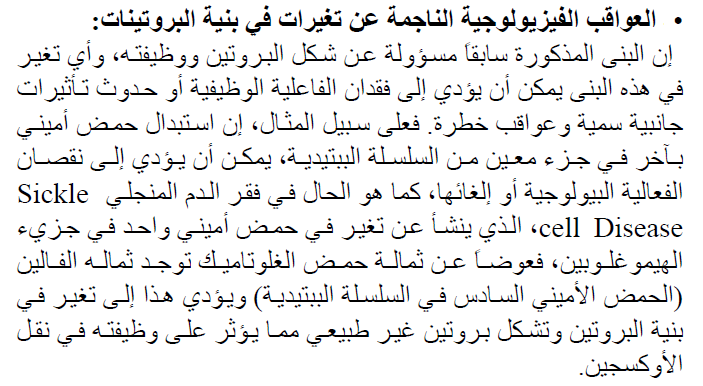
**Peptides & Proteins**

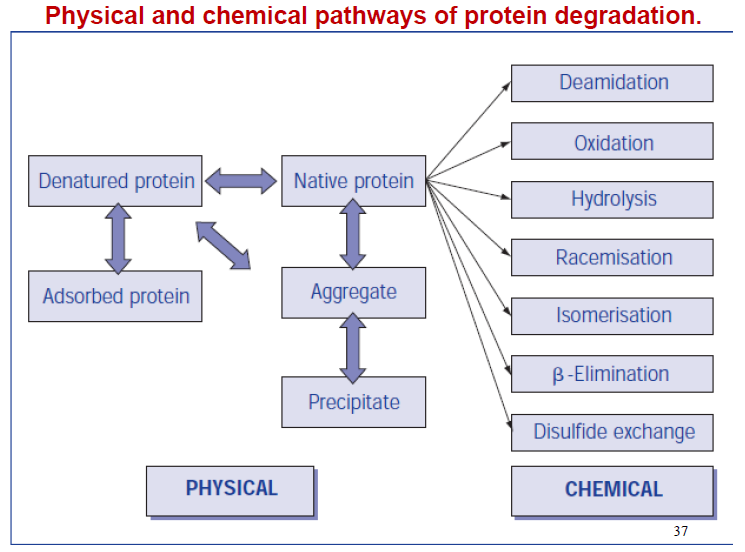
**Structure of peptides and proteins**

Proteins have in increasing order of Complexity:

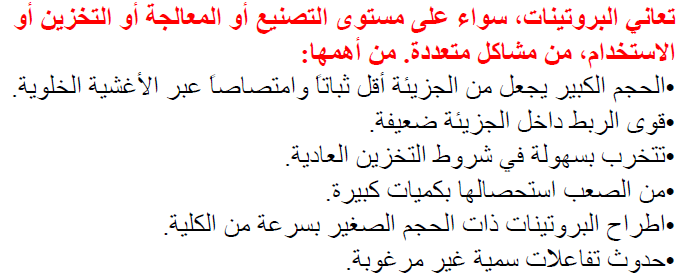
* *Primary structure – the order in which the* individual amino acids are arranged.
* *Secondary structures – including coiled α-helix and pleated* sheets.
* *Tertiary structure – the three-dimensional arrangement of* helices and coils.
* *Quaternary forms – the association of ternary forms (e.g. the* hexameric form of insulin).



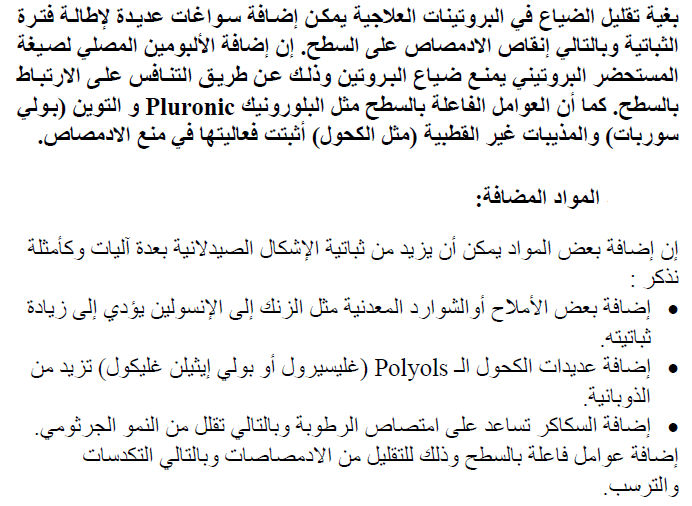


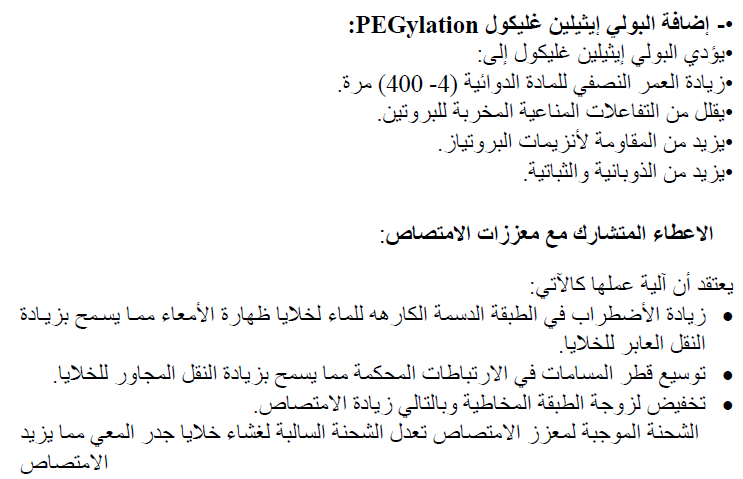


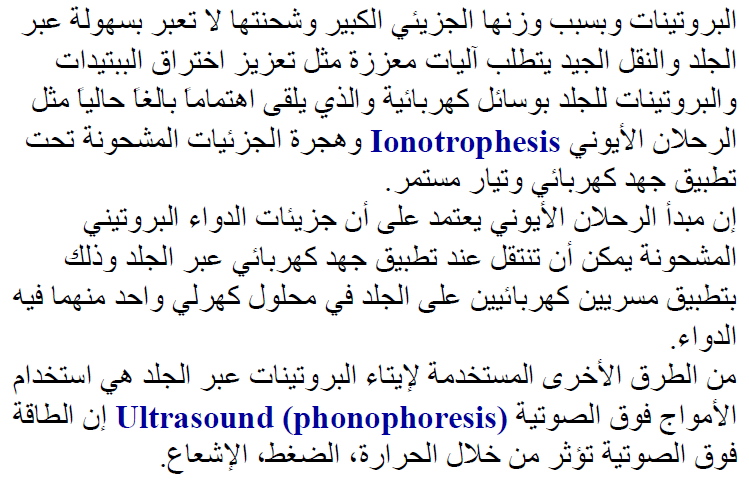
* Native Protein: البنية الفراغية الأصلية للبروتين
* Denatured Protein: تمسخ البروتين
* Aggregate: تكتل
* Precipitate: ترسب
* Adsorbed: ادمصاص على سطح الأوعية
* Deamination: نزع الأمين
* Hydrolysis: حلمهة
* Racemization: (البنية الفراغية في حال كان البروتين ميمن أو ميسر)
* Isomerization: التحول إلى مماكب آخر
* Disulfide Exchange: حصول تبادل لجزيئات الكبريت (موجود في بعض البروتينات)



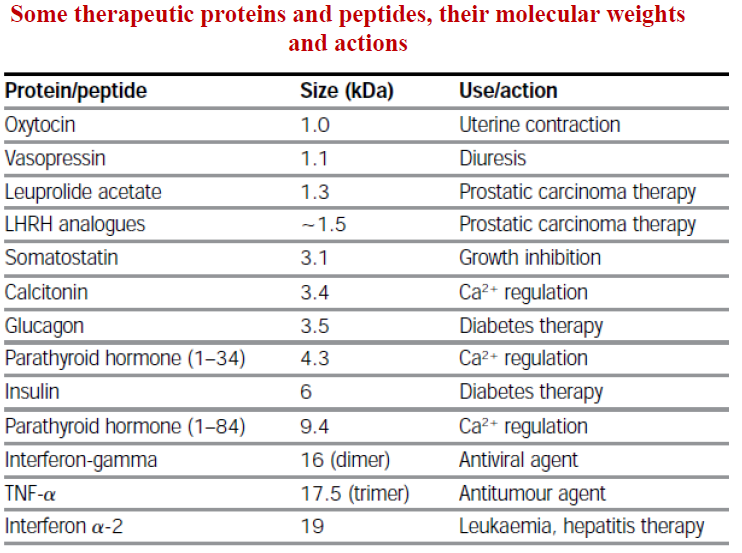
***ملاحظة مهمة:****تعد الحموض النووية وعديدات الببتيد من المواد ذات الثباتية الضعيفة، ولكنها ذات انحلالية عالية في الماء ... لذلك قد نتعرض للعديد من المشاكل أثناء تصنيعها...*

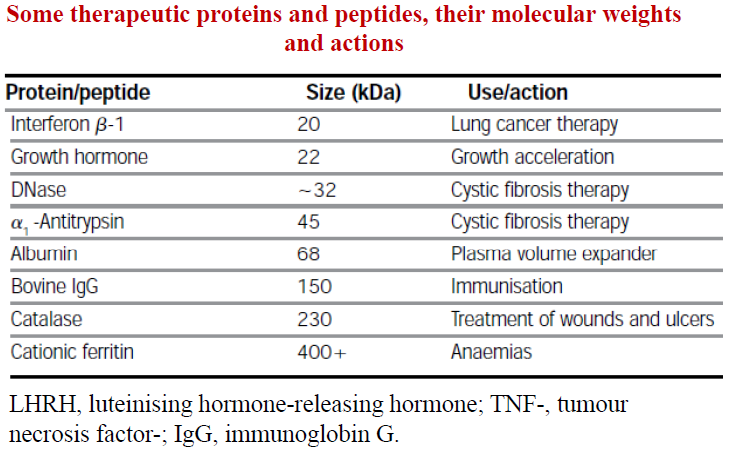


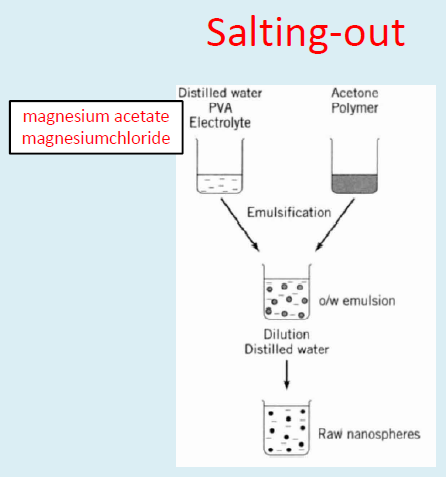




**الجداول مفيدة ولكن غير مطلوبة في الامتحان (للاطلاع)**

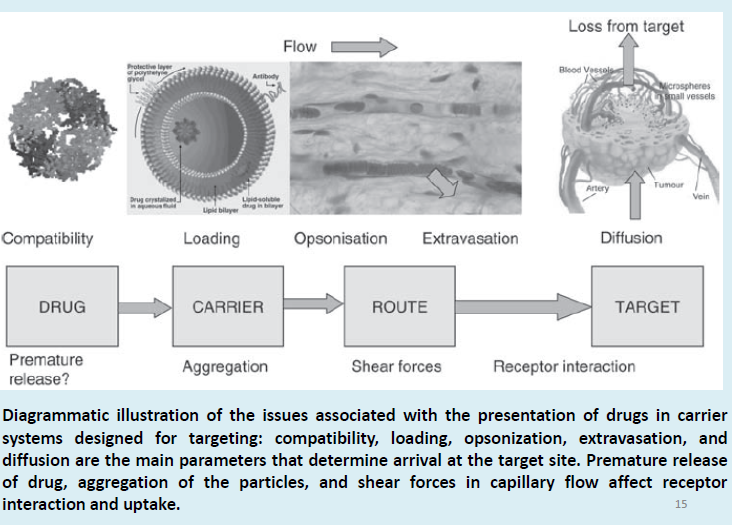




للأمانة العلمية فقط !!! بعض السلايدات التي لم يشرحها الدكتور ... ☺

من الطرق المتبعة في تصنيع الجسيمات النانومترية (محاضرة 3)

ملحق بالمحاضرة (3) بعض الملاحظات حول إعطاء الجسيمات النانومترية..



تم بعون الله قسم الدكتور محمد عثمان ... وتمت محاضرات التكنولوجيا الصيدلانية

الأسئلة ستركز على الأساسيات وستكون عامة ومما تم ذكره في محاضرات الدكتور...

**ملاحظات حول المحاضرات السابقة: (للدكتور محمد أمين)**

* **المحاضرة الثانية: صـ 18: مناقشة علاقة جيبس... توضيح فقط:**

عند مناقشة حالة تشكل العناقيد القانون بقي كماهو... ولكن ضمن شروط التشكل أصبحت "القيمة المطلقة" لكل من التغيرين  **و سالبة بسبب التناقص، يعني صار القانون: لهيك انعكست الإشارة بالحالات صـ 19.**

* **المحاضرة الثالثة: صـ 8:** شروط التخزين في الـ Enantiotropic Materials تتحكم بالسرعة وجهة التحول...
* **المحاضرة الخامسة: صـ 9:** المطلوبين من السلايد الثاني (DSC) أول 4 فقط...  
  صـ15: في حالة الغازات من الأصح علميا ذكر ST بدلاً من SFE .... (فقط تبديل مصطلحات)
* **المحاضرة السادسة: صـ 4: عنوان الفقرة: Performance of Particles**
* **المحاضرة السابعة: صـ12:** في السلايد... يمكننا العودة بالتجفيف من حالة Suspension إلى Capillary إلى ...... الخ، **فقط في حال عدم تشكل جسور صلبة بين الأجزاء.** والمطلوب في المحاضرة السابعة حتى صـ 13 .... والباقي محذوف ...

**في حال ورود أي ملاحظات آخرى سيتم ذكرها على صفحة الفريق:** [**www.facebook.com/TopPharmaTeam**](http://www.facebook.com/TopPharmaTeam)

****بالتوفيق في الامتحانات**

***Done by: Eyad***