



دراسة تأثير الكيتوسان النانوي المرتبط ببعض العقاقير على خلايا سرطان الرئة

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة كربلاء ، وهي جزء من
متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الكيمياء

من قبل:

بهاء كريم خليل الغانمي

(جامعة كربلاء / بكالوريوس تربية كيمياء 2016)

المشرف الأول

أ. د. محمد ناظم بهجت البياتي / قسم الكيمياء

المشرف الثاني

أ. م. د. زينب نزار جواد / قسم علوم الحياة

نيسان – 2023 م

رمضان – 1444

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

﴿قَالَ رَبِّ اشْرَحْ لِي صَدْرِي * وَسِّرْ لِي أَمْرِي *

وَاجْعَلْ لِي لِسَانِي ﴿

صَدْرُ اللّٰهِ الْعَلِيِّ الْعَظِيمِ

سورة طه (25-27)

إقرار المشرف

أقر بأن إعداد الرسالة الموسومة:

(دراسة تأثير الكيتوسان النانوي المرتبط ببعض العقاقير على خلايا سرطان الرئة)

قد جرى بإشرافي في قسم الكيمياء، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة كربلاء وقسم الكيمياء، قسم علوم الحياة، جامعة كربلاء هي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في الكيمياء (الكيمياء الصناعية).

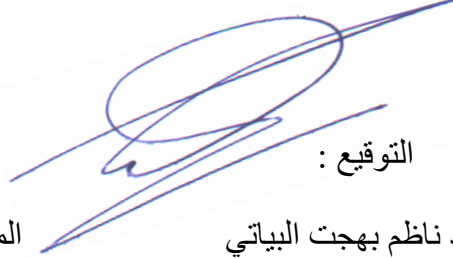


التوقيع :

المشرف : أ.م. د. زينب نزار جواد

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : 2023 / 4 / 10



التوقيع :

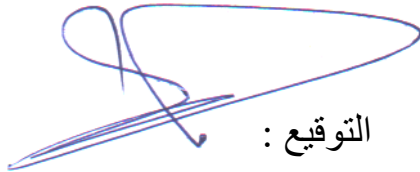
المشرف : أ. د. محمد ناظم بهجت البياتي

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : 2023 / 4 / 10

إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا ورئيس القسم

بناءً على التوصيات المقدمة من المشرف أرشح هذه الرسالة للمناقشة.



التوقيع :

الاسم : أ. د. ساجد حسن كزار

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : 2023 / 4 / 10

رئيس لجنة الدراسات العليا

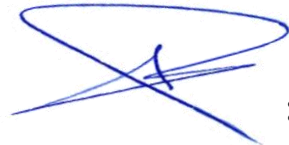
ورئيس قسم الكيمياء

إقرار المقوم العلمي

أقر بأن رسالة الماجستير الموسومة:

(دراسة تأثير الكيتوسان النانوي المرتبط ببعض العقاقير على خلايا سرطان الرئة)

التي تقدم بها الطالب بهاء كريم خليل الغانمي
قد جرى تقويمها علمياً من قبلي وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في
علوم الكيمياء.



التوقيع:

الاسم: أ.د. فائز عبد الحسين الرماحي

العنوان: جامعة الكوفة / كلية التربية للبنات

التاريخ : 2023 / 4 / 30

إقرار المقوم العلمي

أقر بأن رسالة الماجستير الموسومة:

(دراسة تأثير الكيتوسان النانوي المرتبط ببعض العقاقير على خلايا سرطان الرئة)

التي تقدم بها الطالب بهاء كريم خليل الغانمي
قد جرى تقويمها علمياً من قبلي وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في
علوم الكيمياء.



التوقيع:

الاسم: أ.م.د. سناء هتور عواد
العنوان: جامعة بغداد / كلية العلوم للبنات

التاريخ : 2023 / 4 / 30

إقرار المقوم اللغوي

أقر بأن رسالة الماجستير الموسومة:

(دراسة تأثير الكيتوسان النانوي المرتبط ببعض العقاقير على خلايا سرطان الرئة)

التي تقدم بها الطالب بهاء كريم خليل الغانمي
قد جرى تقويمها لغوياً بإشرافي وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في
علوم الكيمياء.

 التوقيع:

الاسم: مسلم مالك الاسدي

العنوان: جامعة كربلاء / كلية العلوم الاسلامية

التاريخ : 2023 / 4 / 25


إقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا أعضاء لجنة المناقشة إطلعنا على هذه الرسالة الموسومة (دراسة تأثير الكيتوسان النانوي المرتبط ببعض العقاقير على خلايا سرطان الرئة)، وقد ناقشنا الطالب (بهاء كريم خليل الغانمي) في محتوياتها وفي ما له علاقة بها ووجدناها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الكيمياء وبتقدير (أمتياز).

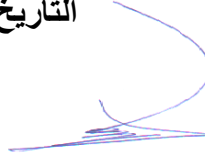


التوقيع:

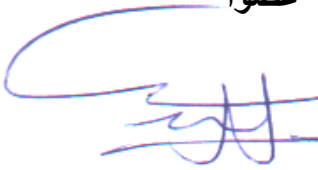
الاسم: أ. د. مهند موسى كريم
التاريخ: 2023 / 5 / 25
رئيساً




التوقيع:
الاسم: أ. م. د. جلال حسن محمد
التاريخ: 2023 / 5 / 25
عضواً



التوقيع:
الاسم: أ. م. د. هبه علوان عبد السلام
التاريخ: 2023 / 5 / 25
عضواً



التوقيع:
المشرف: أ. م. د. زينب نزار جواد
التاريخ: 2023 / 5 / 25
عضواً و مشرفاً



التوقيع:
المشرف: أ. د. محمد ناظم بهجت البياتي
التاريخ: 2023 / 5 / 25
عضواً و مشرفاً

مصادقة السيد عميد الكلية



التوقيع:

الاسم: الأستاذ الدكتور حميدة عيدان سلمان
المنصب: عميد كلية التربية للعلوم الصرفة

2023 / 6 / 11

الأقرباء

إلى شمس الحقيقة، إلى بقية الله التي لا تفلو من العترة الهاذية، إلى المعد لقطع دابن الظلمة، إلى المر تجى لإزالة الجور والعدوان، إلى باب الله الذي منه يؤتى، إلى وجه الله الذي إليه يوجه الأولياء، إلى السبب المنصل بين الأرض والسماء، إلى صاحب العص والزمان الحجة المنظر المهدي عليه السلام... عجل الله تعالى فرجه الشريف

إلى من كانت دعواتها نوراً يضيء دربي وسوراً تخميني التي لو لا قصصها إلى الله لما كتب لي التوفيق...
أمي مرجها الله

إلى العزيزين اطال الله في عمرها واعطاهما دوام الصحة والعافية وحفظهما من كل ش ومكرو...
أبي وخالتي (زوجة أبي)

إلى الينايع التي مروت ارض الاخوة حباً وولاء وسندي في هذه الدنيا...

أخوتي وأخواتي

إلى من ملأت حياتي بالنعدي، وخطي الصعاب... التي لم تبخل بجهدها ووقتها بمساعدتي...
.. إلى من شاركتني اليس والعس ولم تنل من يوماً...

زوجتي المخلصة.

إلى فلذة كبدي... اللهم بارك لي فيهم ووفهم لطاعتك وامنقني بهم، اللهم اجعلهم هداة
مُهتدين غير ضالين ولا مُضلين...

أولادي

داعياً المولى - سبحانه وتعالى أن تُكَلِّم رسالتي بالنجاح والتبول من جانب أعضاء لجنة المناقشة المُبجلين.

الشكر والاعتراف

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الحمد لله رب العالمين، والصلاة والسلام على أشرف الأنبياء وخاتم المرسلين، حبيب قلوب الصادقين، أبي القاسم محمد المصطفى صلى الله عليه وعلى أهل بيته الطيبين الطاهرين.

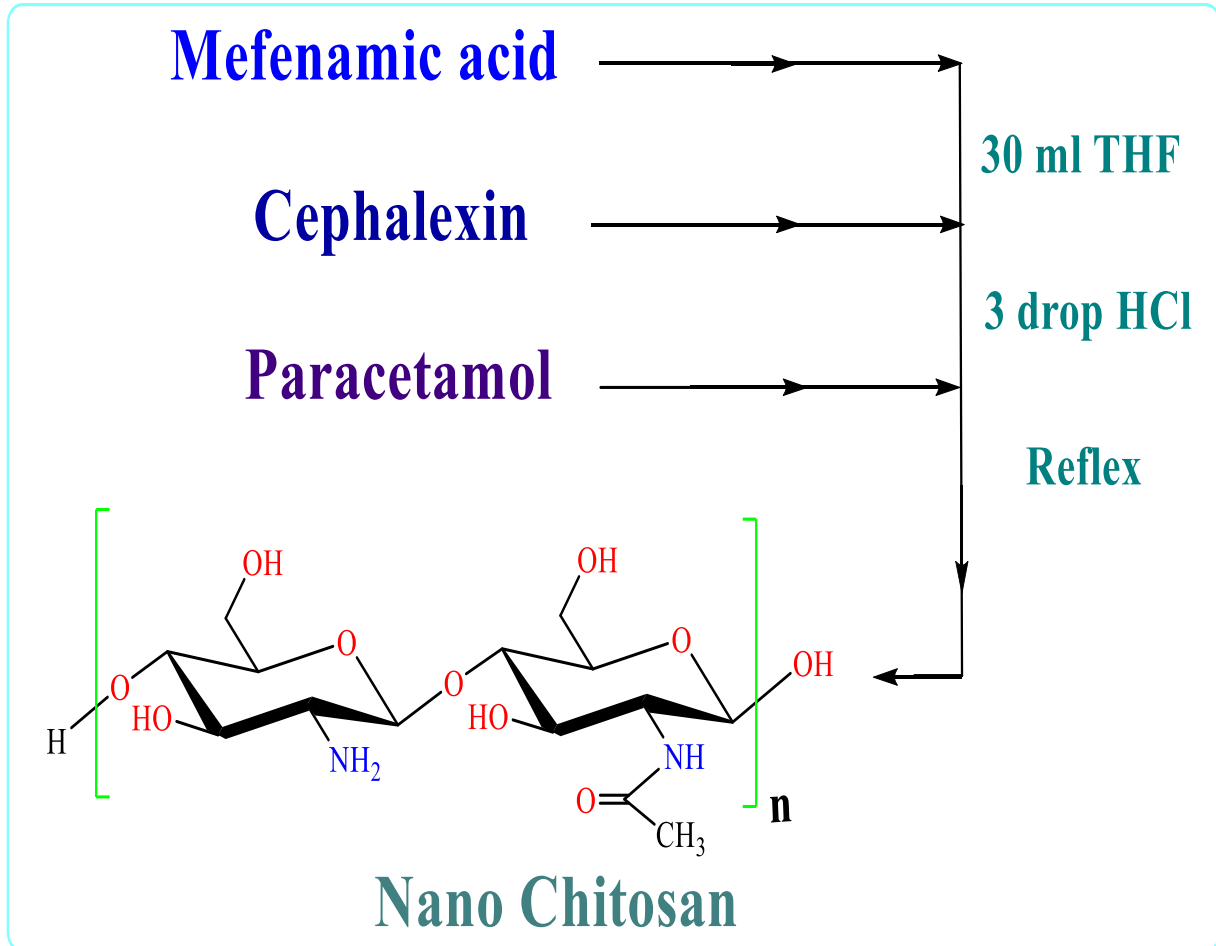
الشكر لله فضيلة جميلة وبه تكتمل انسانية الإنسان، وأفضل مصاديقة هو الشكر على الولاية. يعلمنا الامام زين العابدين كيف نشكر المعروف من يسدي معروفاً لنا (وأما حق ذي المعروف عليك فأنت تشكره وتذكر معروفه وتنشر له المقالة الحسنة وتخلص له الدعاء فيما بينك وبين الله سبحانه، فإنك إذا فعلت ذلك كنت قد شكرته سرا وعلانية. ثم إن أمكن مكافأته بالفعل كافأته وإلا كنت مرصدا له موطناً نفسك عليها)

يطيب لي وأنا أضع اللمسات الأخيرة لرسالتني أن أشكر الله على كرمه وفضله وإحسانه في إتمام هذا العمل , وأتقدم بالشكر الجزيل والثناء الجميل إلى استاذي المشرفين على رسالتني الأستاذ الدكتور محمد ناظم بهجت البياتي و الأستاذ المساعد الدكتور زينب نزار جواد لإقتراحهما موضوع البحث وإشرافهما على الرسالة ولأرائهما التي أغنت محتواها العلمي, ولما أحاطاني به من توجيهات ونصائح وتشجيع في كتابة البحث، ودعمهما المتواصل لي لما كان لهما الأثر البالغ في الوصول إلى غايته، فهما منبعان لا ينضب من العلم والمعرفة, أسأل الله أن يجزيهما عني خير الجزاء وفقهما الله لكل خيرٍ وسدد خطاهما ليبقيا شمعة تنير درب لطلاب العلم و المعرفة.

كما أتقدمُ بخالص شكري وتقديري إلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة كربلاء، ورئيس قسم الكيمياء الأستاذ الدكتور ساجد حسن كزار، وأساتذة قسم الكيمياء لما أبدوه من مساعدةٍ في توفير متطلبات إنجاز هذه الرسالة ولتوجيهاتهم السديدة خلال مدة الدراسة.

الخلاصة:

هدفت هذه الدراسة الى تحضير ومعرفة تأثير عقاقير الكيتوسان النانوية المحمل بالأدوية (حامض الميفيناميك و السيفالكسين و الباراسيتامول) على بعض الخصائص الكيميائية و دراسة تأثيرها في تثبيط نمو الخلايا السرطانية لسرطان الرئة.



تمت دراسة الخصائص الكيميائية لها ومنها قابلية ذوبان الكيتوسان النانوي المحمل ببعض العقاقير الطبية في مذيبات مختلفة (H_2O ، الأستون ، الإيثانول ، الهكسان ، DMSO ، الكلوروفورم والتولوين).

تم قياس امتصاصية (Abs.) إطلاق العقاقير باستخدام جهاز مقياس الطيف الضوئي (UV-Vis) في أربع محاليل بفر مختلفة ذات (2.2 ، 6.0 ، 7.2 ، 8.0) pH= وعند درجة حرارة ثابتة $37^{\circ}C$ كدالة للوقت (الساعة واليوم).

تمت دراسة ارتباط عقاقير الكيتوسان النانوي بالأحماض الأمينية الموجودة ضمن بروتينات الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع (A549)، وتم التنبؤ بمواقع الارتباط، ودراسة طاقة الارتباط الأكثر

فاعلية لعقاقير الكيتوسان النانوي. معرفة انواع الروابط بين عقاقير الكيتوسان النانوية والأحماض الامينية.

تم قياس تأثير الأدوية المحملة على عقار الكيتوسان النانوي (B1 , B2 , B3) في تثبيط انتشار سرطان الرئة، كما تم قياس التعبير الجيني لجين P53 قبل وبعد تعرض الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع (A549) لعقاقير الكيتوسان النانوية، أظهرت النتائج أن الأدوية لها تأثير فعال في تثبيط انتشار الخلايا السرطانية. أظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاض قيمة السمية في العقار (B2) مقارنة بالأدوية الأخرى. إذ كانت (IC50) لعقاقير الكيتوسان المحملة نانويًا في منع انتشار سرطان الرئة بالترتيب التالي:

عقار الكيتوسان النانوي $B2 > B1 > B3$
← زيادة كفاءة التثبيط عند IC50

كما أظهرت النتائج ارتفاع مستوى التعبير الجيني عند معالجة الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع (A549) بالعقاقير حيث كان أعلى مستوى في عقار (B2). لوحظ أن جين P53 بدأ عمله بصورة طبيعية وبدأ بإيقاف انقسامات الخلايا غير الطبيعية.

فهرس المحتويات

قائمة المحتويات		
رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
I - II	الخلاصة	
III - V	قائمة المحتويات	
VI - VII	قائمة الجداول	
VIII - X	قائمة الاشكال	
X	قائمة المخططات والمعادلات	
XI - XIV	قائمة الرموز والمختصرات	
1	الفصل الأول المقدمة	
2	المقدمة	1
2	البوليمرات	1.1
3	تقنية النانو	1.2
4-3	الجسيمات النانوية	1.3
6-4	الكيوسان النانوي	1.4
6	نظام إيصال الدواء	1.5
8-7	النواقل الدوائية	1.6
9-8	السرطان	1.7
10	الرئة	1.8
10	سرطان الرئة	1.8.1
12-10	تصنيف سرطان الرئة	1.8.2
12-10	سرطان الرئة غير صغير الخلية	1.8.2.1

12	سرطان الرئة صغير - الخلية	1.8.2.2
17-13	وبائية سرطان الرئة	1.8.3
18	دور الجينات في نشوء السرطان	1.9
19-18	جين P53	1.10

قائمة المحتويات		
رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
20	الأدوية المستخدمة في الدراسة	1.11
20	حامض الميفيناميك (B1)	1.11.1
21-20	السيفالكسين (B2)	1.11.2
21	الباراسيتيمول (B3)	1.11.3
22	الهدف من العمل	1.11.4
23	الفصل الثاني الجزء العملي	
24	المواد الكيميائية والتقنيات المستخدمة	2
24	الكيميائية والتقنيات	2.1
25-24	المواد الكيميائية المستخدمة	2.1.1
27-26	المواد والادوات البيولوجية المستخدمة	2.1.2
27	التقنيات	2.2
28	التحضير العام لعقاقير الكيتوسان النانوية	2.3
29-28	الخصائص الفيزيائية للعقاقير المرتبطة بالكيتوسان النانوي	2.4
28	خاصية الذوبان	2.4.1
28	تحرر الأدوية من عقاقير الكيتوسان النانوية المحضرة	2.4.2
29	تحضير محاليل بفر	2.4.3
29	قياس الامتصاصية للأدوية	2.4.4
30	تقنية الالتحام الجزيئي	2.5
30	الحفاظ على زراعة الخلايا	2.6

31-30	اختبارات السمية الخلوية	2.7
32-31	التشخيص الجزيئي	2.8
31	جمع العينات	2.8.1
31	استخلاص ال RNA	2.8.2
قائمة المحتويات		
رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
31	قياس تركيز الحامض النووي الريبسي ونقاوته	2.8.3
32	البوادئ	2.8.4
33-32	فحص تفاعل سلسلة البلمرة في الوقت الحقيقي الكمي (qRT-PCR)	2.9
33	التحليل الإحصائي	2.10
الفصل الثالث النتائج و المناقشة		
34		
35	النتائج والمناقشة	3
35	ربط الكيتوسان النانوي مع الأدوية	3.1
37-35	تحضير دواء حامض الميفيناميك المرتبط مع الكيتوسان النانوي (B1)	3.1.1
39-37	تحضير عقار السيفالكسين مع الكيتوسان النانوي (B4)	3.1.2
41-39	تحضير عقار الباراسيتيمول مع الكيتوسان النانوي (B5)	3.1.3
50-42	الخواص المركبات الدوائية النانوية المحضرة	3.2
42	خاصية الذوبان	3.2.1
50-42	إطلاق الدواء	3.2.2
56-51	الالتحام الجزيئي	3.3
52-51	الالتحام الجزيئي لعقار (B1)	3.3.1
54-53	الالتحام الجزيئي لعقار (B2)	3.3.2
56-55	الالتحام الجزيئي لعقار (B3)	3.3.3
63-56	فحوصات قياس السمية الخلوية	3.4
64-63	التشخيص الجزيئي qRT – PCR	3.5

65	الاستنتاجات	3.6
66	التوصيات	3.7
91-67		4

فهرس الجداول

قائمة الجداول		
رقم الصفحة	عناوين الجداول	رقم الجدول
14	العدد الكلي لحالات الإصابة بالأورام السرطانية في العراق لعام 2017 لدى الذكور حسب إحصائيات الجهاز المركزي للإحصاء - وزارة التخطيط العراقية	1-1
15	العدد الكلي لحالات الإصابة بالأورام السرطانية في العراق لعام 2018 لدى الذكور حسب إحصائيات الجهاز المركزي للإحصاء - وزارة التخطيط العراقية	2-1
16	العدد الكلي لحالات الإصابة بالأورام السرطانية لعام 2021 في محافظة كربلاء حسب إحصائيات مركز الأمام الحسين عليه السلام للأورام السرطانية وأمراض الدم.	3-1
17	العدد الكلي لحالات الإصابة بالأورام السرطانية لعام 2022 في محافظة كربلاء حسب إحصائيات مركز الأمام الحسين عليه السلام للأورام السرطانية وأمراض الدم.	4-1
25-24	المواد الكيماوية المستخدمة	1-2
26	المواد المستخدمة في قياس النشاط البيولوجي	2-2
27	الادوات المستخدمة في قياس النشاط البيولوجي	3-2
29	الطول الموجي الأعظم ($\lambda \max$)	4-2
32	البوادئ المستخدمة في جين P53 والمستخدم في فحص qRT – PCR	5-2

33	الظروف الحرارية المثلى لمراحل PCR – qRT للجين P53	6-2
42	ذوبانية عقار الكيتوسان النانوي المرتبط مع الأدوية	1-3
43	زمن تحرر الدواء في (الساعة واليوم) من عقاقير الكيتوسان النانوي في (pH =2.2) عند (37°C)	2-3
قائمة الجداول		
رقم الصفحة	عناوين الجداول	رقم الجدول
44	زمن تحرر الدواء في (الساعة واليوم) من عقاقير الكيتوسان النانوي في (pH =6.0) عند (37°C)	3-3
45	زمن تحرر الدواء في (الساعة واليوم) من عقاقير الكيتوسان النانوي في (pH =7.2) عند (37°C)	4-3
46	زمن تحرر الدواء في (الساعة واليوم) من عقاقير الكيتوسان النانوي في (pH =8.0) عند (37°C)	5-3
52	طاقة ارتباط عقار (B1)	6-3
54	طاقة ارتباط عقار (B2)	7-3
55	طاقة ارتباط عقار (B3)	8-3
63	زيادة كفاءة التثبيط عند IC ₅₀ (µg/ml)	9-3

فهرس الأشكال

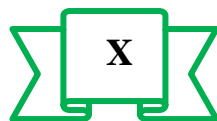
قائمة الأشكال		
رقم الصفحة	عناوين الأشكال	رقم الشكل
2	تصنيف البوليمرات	1-1
4	رسم تخطيطي لبنية الكبسولات النانوية وكريات النانو (يشير السهم إلى وجود عقار نشط بيولوجياً داخل الجسيمات النانوية)	2-1
5	تحويل الكيتين إلى الكيتوسان عن طريق نزع أسيتايل	3-1
8	أنواع نواقل الدواء	4-1
12	مراحل سرطان الرئة	5-1
20	التركيب الكيميائي لحمض الميفيناميك	6-1
21	التركيب الكيميائي للسيفالكسين	7-1
21	التركيب الكيميائي للباراسيتيمول	8-1
27	يوضح خطوات التفاعلات في هذا العمل	1-2
36	طيف FT-IR للعقار (B1)	1-3
37	طيف ¹ H-NMR للعقار (B1)	2-3
38	طيف FT-IR للعقار (B2)	3-3
39	طيف ¹ H-NMR للعقار (B2)	4-3
40	طيف FT-IR للعقار (B3)	5-3
41	طيف ¹ H-NMR للعقار (B3)	6-3

47	منحنيات تحرير الدواء لكل ساعة من عقار الكيتوسان النانوي في pH=2.2 عند (37°C)	7-3
47	منحنيات تحرير الدواء لكل يوم من عقار الكيتوسان النانوي في pH=2.2 عند (37°C)	8-3
قائمة الأشكال		
رقم الصفحة	عناوين الأشكال	رقم الشكل
48	منحنيات تحرير الدواء لكل ساعة من عقار الكيتوسان النانوي في pH= 6 عند (37°C)	9-3
48	منحنيات تحرير الدواء لكل يوم من عقار الكيتوسان النانوي في pH= 6 عند (37°C)	10-3
49	منحنيات تحرير الدواء لكل ساعة من عقار الكيتوسان النانوي في pH= 7.2 عند (37°C)	11-3
49	منحنيات تحرير الدواء لكل يوم من عقار الكيتوسان النانوي في pH= 7.2 عند (37°C)	12-3
50	منحنيات تحرير الدواء لكل ساعة من عقار الكيتوسان النانوي في pH= 8 عند (37°C)	13-3
50	منحنيات تحرير الدواء لكل يوم من عقار الكيتوسان النانوي في pH= 8 عند (37°C)	14-3
52	ارتباط عقار (B1) مع الأحماض الامينية	15-3
54	ارتباط عقار (B2) مع الأحماض الأمينية	16-3
56	ارتباط عقار (B3) مع الأحماض الأمينية	17-3
57	تأثير عقار الكيتوسان النانوي فقط على سمية خلايا الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع (A549) . IC50 = 137.87 µg/ml	18-3
58	تأثير عقار (B1) على سمية خلايا الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع IC50 = 102.55 µg/ml. (A549)	19-3

59	تأثير عقار (B2) على سمية خلايا الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع IC50 = 98.04 µg/ml. (A549)	20-3
60	تأثير عقار (B3) على سمية خلايا الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع IC50 = 109.49 µg/ml. (A549)	21-3
قائمة الأشكال		
رقم الصفحة	عناوين الأشكال	رقم الشكل
62-61	شكل خط خلايا سرطان الرئة (A549) قبل وبعد تعرضها لعقاقير الكيتوسان النانوي تحت المجهر الالكتروني بقوة (40 X).	22-3
64	التعبير الجيني لجين P53 عند تعرض خط سرطان خلايا الرئة نوع (A549) لست انواع من العقارات بالمقارنة مع مجموعة السيطرة	23-3

فهرس المخططات والمعادلات

قائمة المخططات و المعادلات		
رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
35	معادلة تفاعل عقار حامض الميفيناميك مع الكيتوسان النانوي (B1)	1 – 3
37	معادلة تفاعل عقار السيفالكسين مع الكيتوسان النانوي (B2)	2 – 3
39	معادلة تفاعل عقار الباراسيتيمول مع الكيتوسان النانوي (B3)	3 – 3



فهرس الرموز والمختصرات

قائمة الرموز والمختصرات		
المصطلح باللغة العربية	The term in English	الرمز
مايكرو غرام	Micrograms	μg
مايكرو لتر	Micro liter	μL
تركيز مايكرو مولاري	Molarity Micro Concentration	μM
بروتون الرنين النووي المغناطيسي	Proton Nuclear Magnetic Resonance	$^1\text{H-NMR}$
الكثافة الضوئية للتحكم	The optical density of control	A
سرطان الرئة الغدي	Adenocarcinoma	AC
مجهر القوة الذرية	Atomic Force Microscope	AFM
ألنين	Alanine	Ala
أرجنين	Arginine	Arg
كرات امينو اللامعة	Amino Shiny Balls	Ash
أسباراجين	Asparagine	Asn
اسبارتيك	Aspartic	Asp
الكثافة البصرية للعينات	The optical density of the samples	B
جين BRCA1 كايح للورم	Breast cancer gene 1	BRCA1
جين BRCA2 كايح للورم	Breast cancer gene 2	BRCA2
نسخة من الحامض النووي الريبي منقوص الأوكسجين	Copy Deoxyribose Nucleic acid	cdNA

إنزيم فوسفات الكاربامويل	Carbamoyl phosphate synthetize	Cps
سيستئين	Cysteine	Cys
ثنائي ميثيل السلفوكسيد	Dimethyl Sulfoxide	DMSO
قائمة الرموز والمختصرات		
المصطلح باللغة العربية	The term in English	الرمز
الحامض النووي الريبى منقوص الأوكسجين	Deoxyribose Nucleic acid	DNA
النووي الريبى منقوص الأوكسجين	Deoxyribose Nucleic	DNase
اثلين ثنائي الامين رباعي حامض الخليك	Ethylene Diamine Tetra Acetate	EDTA
المرحلة انتشار السرطان	Extensive stage	ES
للأمام	Forward	F
طيف الاشعة تحت الحمراء	Fourier-transform infrared spectroscopy	FT-IR
غرام	Gram	Gm
كلوتاميك	Glutamic	Glu
كلايسين	Glycine	Gly
كوانوسين ثلاثي الفوسفات	Guanosine triphosphate	GTP
هستيدين	Histidine	His
التثبيط عند متوسط التركيز	medium inhibition concentration	IC50
ايزوليوسين	Isoleucine	Ile
لتر	Liter	L
سرطان الخلية الكبيرة	Large cell carcinoma	LCC
ليوسين	Leucine	Leu
المرحلة المحدودة للسرطان	Limited stage	LS
تركيز مولاري	Molarity concentration	M
ميثيونين	Methionine	Met

ملي غرام	Milligrams	Mg
الزمن بالدقائق	Mints	min.
ملي لتر	Milliliters	mL
قائمة الرموز والمختصرات		
المصطلح باللغة العربية	The term in English	الرمز
تعدد العدوى	Multiplicity of infection	MOI
مرسال الحامض النووي الريبسي	Messenger Ribonucleic Acid	mRNA
صبغة تترازوليوم	Tetrazolium dye	MTT dye
المجموعة	Group	N = 3
المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية	National Center for Biotechnology Information	NCBI
نانو غرام	Nano grams	ng
نانومتر	Nano Meter	nm
الأدوية المضادة للالتهابات غير الستيرويدية	Non-steroidal anti-inflammatory drugs	NSAID
سرطان الرئة غير صغير الخلية	Non-small cell lung cancer	NSCLC
الكثافة البصرية	Optical Density	O.D.
جين <i>P53</i> كابح للأورام	Gene <i>P53</i> is a tumor suppressor	<i>P53</i>
محلول الفوسفات المالح	Phosphate Buffer Saline	PBS
بنك بيانات البروتين	Protein Data Bank	PDB
الدالة الحامضية	potential of hydrogen	Ph
فينيل ألانين	Phenylalanine	Phe
جزء بالمليون (mg.L^{-1})	Part per million (mg.L^{-1})	Ppm
النسخ العكسي الكمي تفاعل البوليميراز المتسلسل	quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction	qRT- PCR
عكسي	Revers	R
الحامض النووي الريبسي	Ribonucleic Acid	RNA

أنواع الاوكسجين التفاعلية	Reactive Oxygen Species	ROX
دورة لكل دقيقة	Revolutions Per Minute	Rpm
قائمة الرموز والمختصرات		
المصطلح باللغة العربية	The term in English	الرمز
وسيط معهد روزويل بارك التذكاري 1640 –	Roswell Park Memorial Medium Institute – 1640	RPMI – 1640
سرطان الخلية الحرشفية	Squamous cell carcinoma	SCC
سرطان الرئة صغير - الخلية	Small cell lung carcinoma	SCLC
معدل خطأ الانحراف القياسي	standard deviation error rate	SD \pm
الشركة العامة لصناعة الأدوية و المستلزمات الطبية / سامراء	The General Company for the manufacture of medicines and medical supplies / Samarra	SDI
الزمن بالثانية	Second	Sec.
مجهر الكتروني ماسح	Scanning Electron Microscopy	SEM
سيرين	Serine	Ser
وسط خالي من المصل الحيواني	Serum-free medium	SFM
الزمن	Time	T
مجهر الكتروني نافذ	Transmission Electron Microscopy	TEM
درجة الحرارة	Temperature	Temp.
رباعي هيدرو الفوران	Tetrahydrofuran	THF
ثريونين	Threonine	Thr
رباعي ميثيل السيليكون	Tetra methyl silane	TMS
تيروسين	Tyrosine	Tyr
التحليل الطيفي للأشعة المرئية والفوق البنفسجية	Ultraviolet and Visible Spectroscopy	UV–Vis
فالين	Valine	Val
منظمة الصحة العالمية	World Health Organization	WHO
الطول الموجي الأعظم للامتصاص	Lambda max	λ_{\max}

الفصل الأول

المقدمة

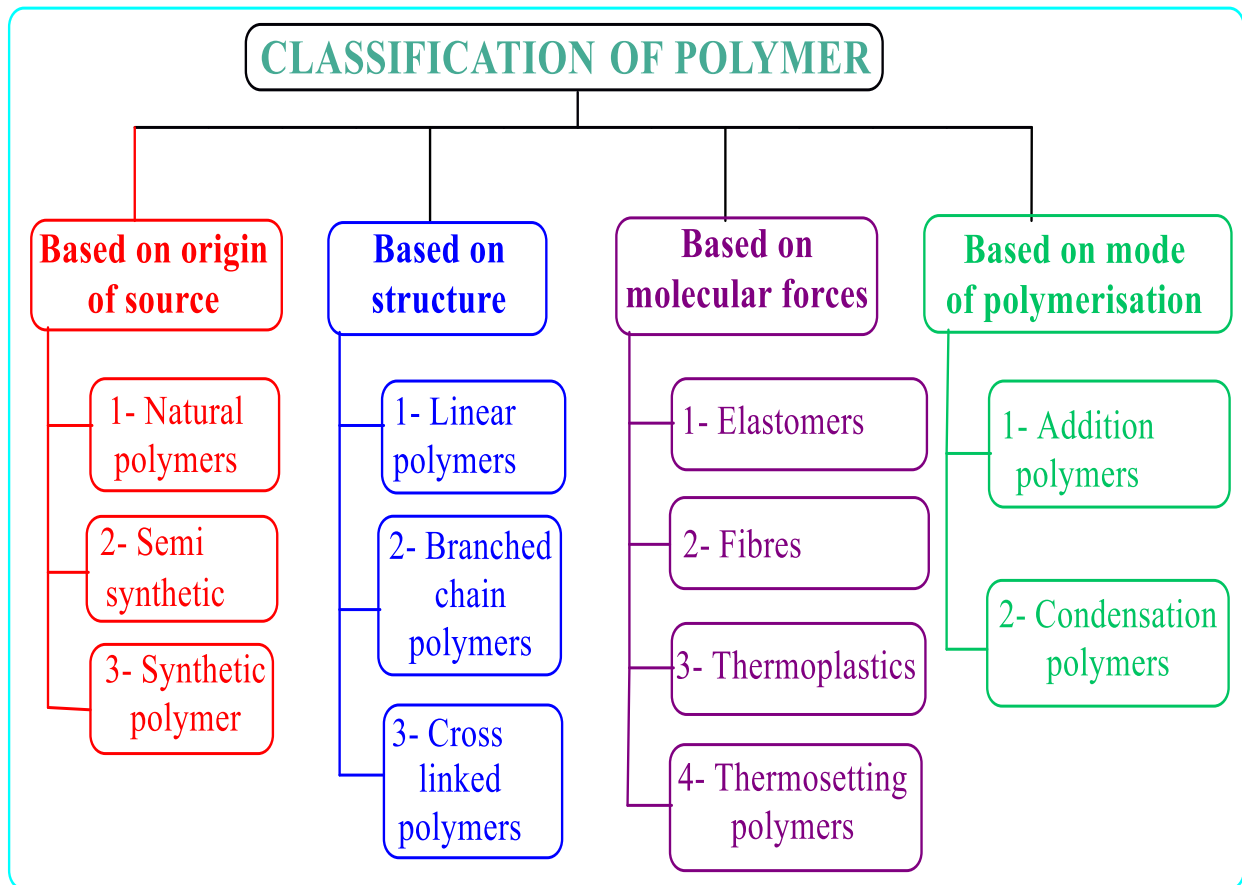
Chapter one

Introduction

1. المقدمة:

1.1 البوليمرات (polymers)

البوليمر: كلمة اغريقية تعني متعدد الوحدات ويمكن تعريف البوليمر بأنه مجموعة من الجزيئات الضخمة والكبيرة، وهذه الجزيئات تتألف من وحدات كيميائية صغيرة، ومتكررة تعرف بالمونومير، وإن عملية ارتباط وحدات المونومير بعضها ببعض تدعى بالبلمرة وبهذا تتكون جزيئات كبيرة ذات وزن جزيئي عالي [1, 2]. تم اكتشاف مجاميع، وعائلات جديدة من البوليمرات خلال القرن العشرين إذ استخدمت في تطبيقات مختلفة، منها: المجالات الطبية، والصيدلانية، مثل: نظام إيصال الدواء المسيطر على تحرره، وصناعة الأطراف، والجراحة الترقيعية، وتضميد الجروح، ومعالجتها وتطبيقات أخرى متعددة [3]. الغرض من استعمال البوليمرات كنواقل دوائية هو لتحسين الخصائص الحركية للدواء واستقراره ومن ثم الحصول على الكفاءة العالية [4]. صنفت البوليمرات على عدة أسس منها: مصدر البوليمر، نوع البلمرة، وعلى نوع القوى الجزيئية الرابطة، كما موضح بالشكل (1-1).

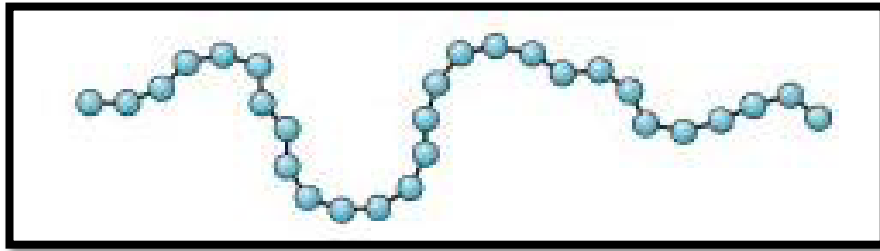


شكل (1-1) تصنيف البوليمرات [5]

1.1.1 انواع البوليمرات بحسب الشكل التركيبي

1.1.1.1 البوليمر الخطية [6]

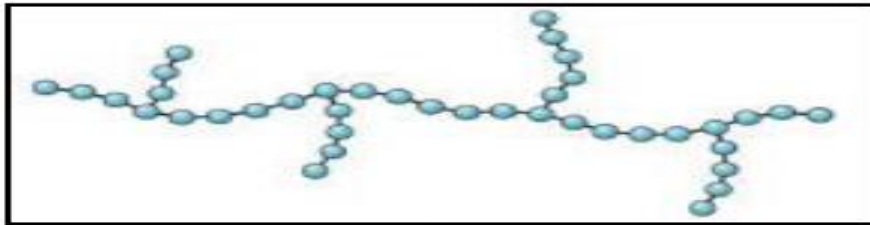
يعد من ابسط انواع البوليمرات اذ يرتبط المونومير بالمونومير الاخر بشكل مستقيم مكونا بذلك سلسلة تخلو من التفرعات الجانبية، مثل: [7] Poly vinyl chloride و [8] Poly ester. كما في شكل (2-1)



شكل (2-1) البوليمر الخطي

1.1.1.2 البوليمر المتفرع [9]

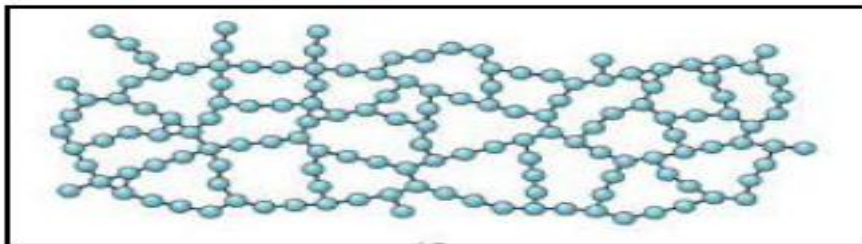
وهو بوليمر مستقيم ولكن يحتوي على تفرعات جانبية كثيرة على طول السلسلة، مثل Amylopectin [10]. كما في الشكل (3-1)



الشكل (3-1): البوليمر المتفرع

1.1.1.3 البوليمر المتشابك [11]

يعد من أقوى أنواع البوليمرات لأنه يقاوم الحرارة، وصلب اذ ترتبط المونومرات بعضها ببعض بشكل شبكة ثلاثية الابعاد، مثل: [12] Melamine. كما في الشكل (4-1)



الشكل (4-1) البوليمر المتشابك

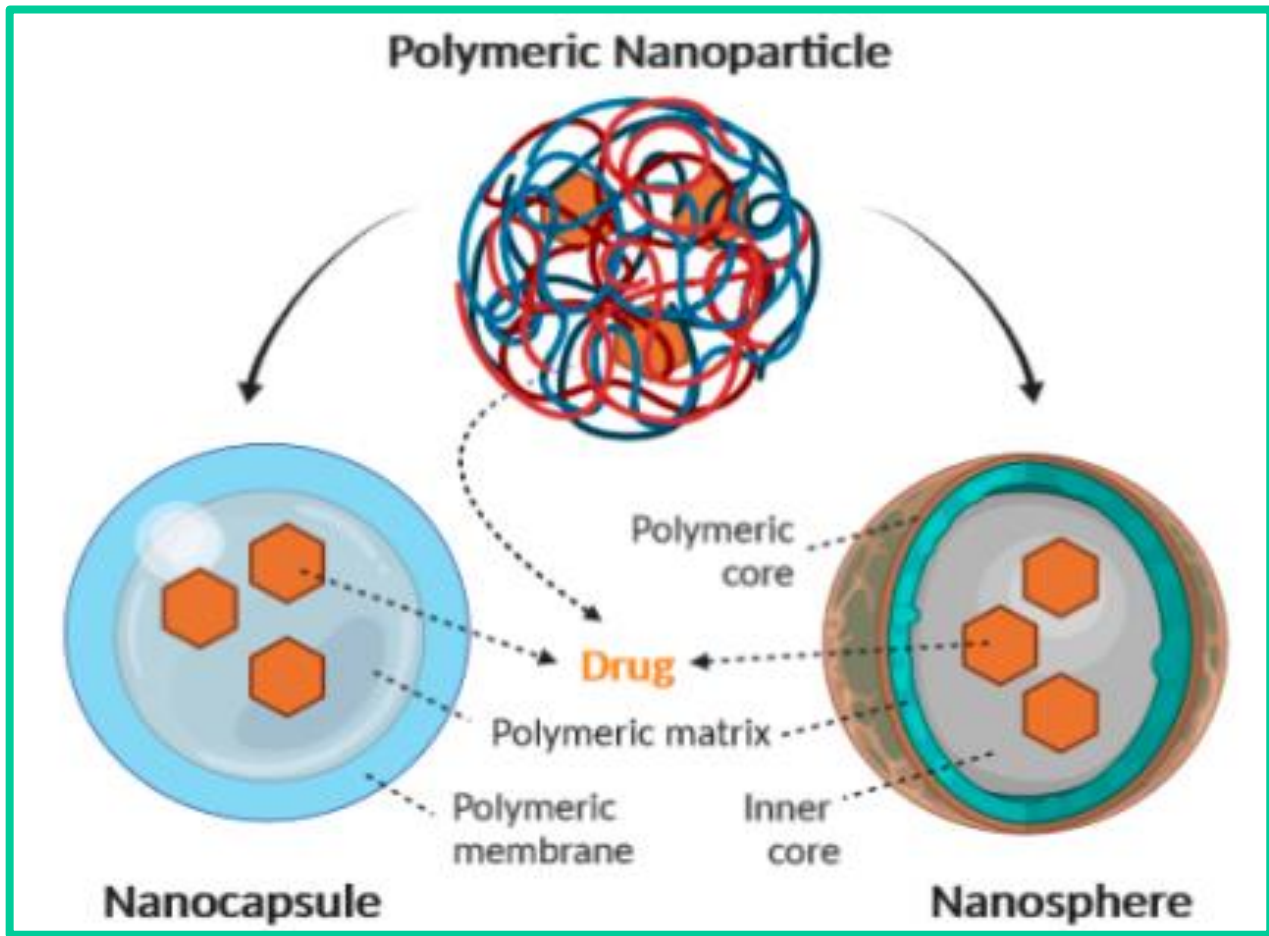
1.2 تقنية النانو

يعد نوريو تانيجوتشي أول عالم عرّف مصطلح تكنولوجيا النانو. وقد عرّف "تقنية النانو" على أنها عملية فصل ودمج المواد عن طريق معالجة ذرة واحدة أو جزيء واحد [13]. تدخل تقنية النانو في مجالات متعددة كالعلوم والهندسة والطب والتكنولوجيا [14]. مصطلح "نانو" هو كلمة يونانية تعني قزم [15]، تتراوح أحجام المادة النانوية بين (1-100) nm [16, 17]. توفر تقنية النانو مسارات لفئات جديدة تمامًا من ناقلات النانو ذات الهندسة المؤثرة وأجهزة الاستشعار الحيوية وأنظمة غيرت طرق توصيل الأدوية الحديثة بشكل كبير [18]. يحاول الباحثون في الوقت الحاضر الوصول إلى مواقع بيولوجية غير مكتشفة عن طريق تقليل أحجام الناقل دون التأثير على تحميل الدواء لتوفير علاج أفضل وأسرع، مثل الجهاز العصبي المركزي، لذلك طورت مجموعة متنوعة من المواد العضوية وغير العضوية، من أجل تعزيز أنظمة توصيل الدواء [19]. الجسيمات النانوية تشتمل على مواد ذرية أو جزيئية بشكل كرات نانو صغيرة الحجم [17, 20]، يمكن ان تنتقل بسهولة أكبر داخل جسم الإنسان إذا ما قورنت بالمواد ذات الأحجام الأكبر، كما أن تصنيع المواد وهندستها بحجم جزيئي يساعد في الوصول إلى مواقع بيولوجية مثل حاجز الدم في الدماغ [19]. أصبحت الأدوية النانوية ذات أهمية بسبب استخدام الهياكل النانوية بواسطة تغليف الأدوية كعوامل توصيل، أو ربط الأدوية العلاجية وإيصالها إلى الأنسجة المستهدفة [16, 21]، بالإضافة إلى ذلك وهناك استراتيجيات رئيسية يتم استخدامها لتجميع عمليات المواد النانوية (البوليمر النانوي) تكون من الأعلى إلى الأسفل ومن الأسفل إلى الأعلى [22]. في الاستراتيجية من الأعلى إلى الأسفل، يمكن تصنيع المواد النانوية باستخدام العديد من العمليات لتفكيك الهياكل الكبيرة إلى أصغر شيء تكون ضمن نطاق النانو مع الحفاظ على خصائصها الأصلية، في الاستراتيجية من الأسفل إلى الأعلى يتم تجميع المواد النانوية عن طريق العديد من العمليات الهندسية مثل تفكيك هيك الذرات معًا لإنتاج مركبات نانوية ضمن مقياس النانو [23].

1.3 الجسيمات النانوية

يشمل مصطلح الجسيمات النانوية الكبسولات النانوية والقدائف النانوية والتي تختلف في العديد من العوامل الرئيسية فيما يتعلق بحجمها وطريقة تشكيلها، وبواسطة بعض التقنيات المجهرية مثل – Transmission Electron Microscopy (TEM) – Atomic Force Microscope (AFM) { Scanning Electron Microscopy (SEM) }، يمكن قياسها اعتمادًا على طريقة التحضير وتركيب المرحلة العضوية [24]، يمكن إنتاج الأغلفة النانوية أو الكبسولات النانوية [25]. يحتوي جسيم الكبسولة النانوية على قشرة أساسية ذات تجويف زيتي أو مائي، ومن ناحية أخرى تكون المركبات النشطة محاطة بغلاف من البوليمر نانوي، ان هذا الغلاف النانوي يكون على شكل مصفوفة بوليميرية فيها المركبات النشطة والبوليمر حيث يتم فصل هذه المركبات والبوليمر بشكل متساوي بحيث يتم الاحتفاظ بالدواء بداخل البوليمر أو

امتصاصه على سطحه [26]. يُطلق على نظام الخزانات باسم الكبسولة النانوية أما نظام المصفوفة فيطلق عليها باسم كرة النانو، كما هو موضح في الشكل (1-2) [22].



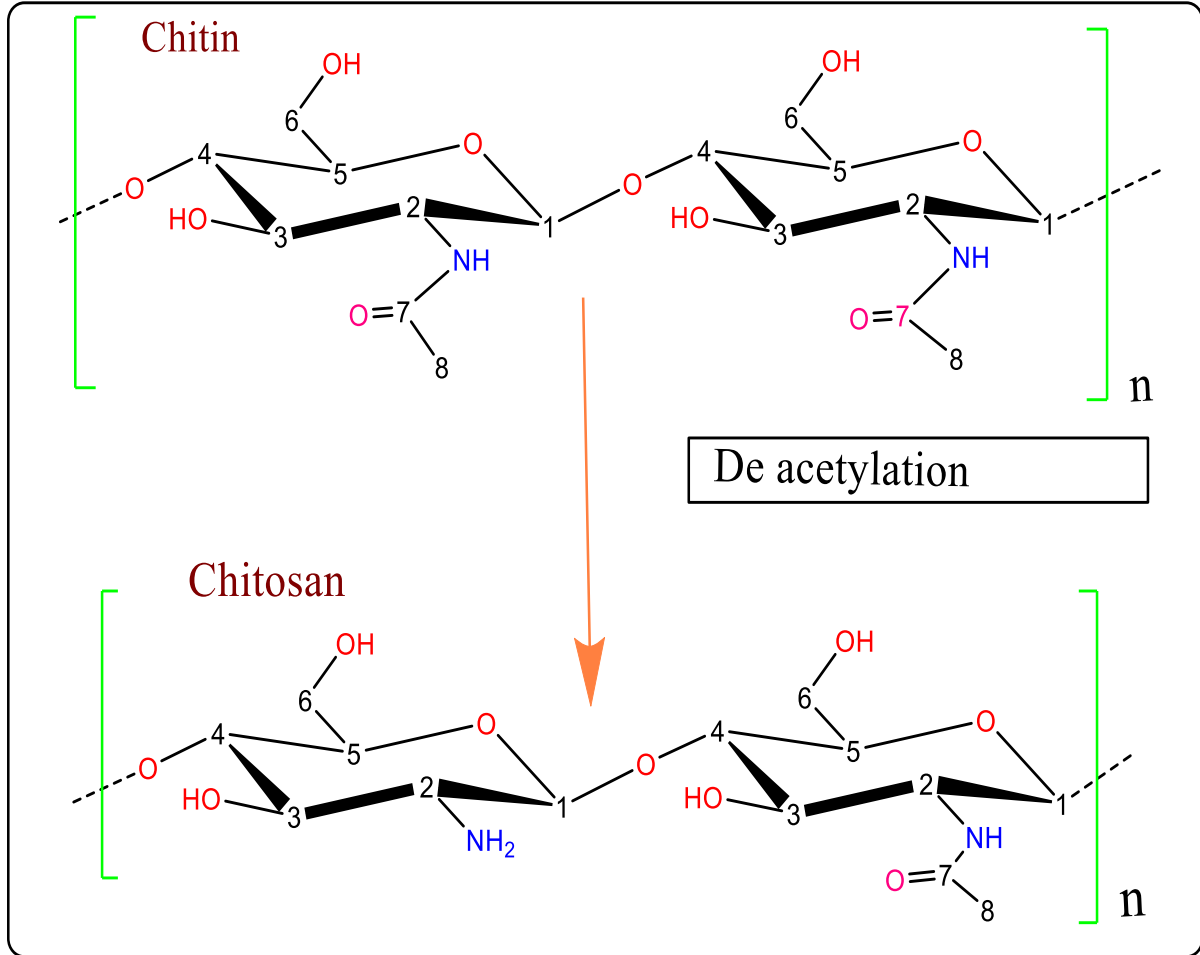
شكل (1-2): رسم تخطيطي لبنية الكبسولات النانوية وكريات النانو (يشير السهم إلى وجود عقار نشط بيولوجياً داخل الجسيمات النانوية)

يمكن استخدام طرق مختلفة لإعداد الجسيمات النانوية البوليميرية وفقاً لنوع الدواء الذي يتم تحميله في الجسيمات النانوية البوليميرية، بسبب احتياج الدواء إلى طريق تجريع مناسبة حسب الخصائص الفيزيائية والكيميائية للدواء [27]. غالباً ما يتم استخدام المذيبات العضوية في الخطوات الأولية من أجل إذابة البوليمر [22]، وقد تسبب هذه المذيبات مشاكل سمية ومخاطر بيئية فضلاً عن ذلك يجب التخلص من بقايا المذيب الموجود في المنتج النهائي. وأن اغلب طرق التحضير المستخدمة في إنتاج الدواء تكون بصورة محلول معلق غروي مائي [22].

1.4 الكيتوسان (C₅₆H₁₀₃N₉O₃₉)

هو بوليمر حيوي يتم الحصول عليه من الكيتين، وهو أحد أكثر المواد وفرةً وتجددًا على وجه الأرض [28]. الكايتين هو عنصر أساسي في جدران خلايا الفطريات، والهياكل الخارجية للمفصليات، مثل

الفشريات وعلى سبيل المثال (سرطان البحر – الجمبري – الحشرات – الأسماك) يتكون الكيتين من سلسلة خطية من مجموعات أسيتايل كلوكوز امين [29]. يتم الحصول على الكيتوسان عن طريق نزع مجموعة أسيتايل بحيث يكون الجزيء قابل للذوبان في معظم الأحماض المخففة و تسمى هذه العملية بنزع مجموعة الاسيتايل (De acetylation) كما هو موضح في الشكل (3-1) [30, 31].



شكل (3-1) تحويل الكيتين إلى الكيتوسان عن طريق نزع أسيتايل

الكيتوسان هو سكر متعدد خطي يحتوي على [(4-1) بيتا D- كلوكوز امين N-أسيتايل كلوكوز امين] [32, 33]. يحتوي الكيتوسان على ثلاثة أنواع من المجاميع الوظيفية الفاعلة: المجموعة الأمينية في الكربون C2 ومجموعة الهيدروكسيل الأولية والثانوية على الكربون (C3) والكربون (C6) يحتوي الكيتوسان على خصائص كيميائية وبيولوجية استثنائية مثل (التوافق الحيوي – قابلية التحلل البيولوجي – عدم السمية – سهولة الامتصاص الحيوي – مضاد للبكتيريا) [34]. تم استخدامه لأغراض طبية حيوية مختلفة مثل (تعزيز التئام الجروح – النشاط المضاد للعدوى – أنشطة مضادات الحموضة – قرحة المعدة الناجمة عن بعض الأدوية) [35]، كذلك يتم استخدامه في الصناعة مثل تكوين الطلاء، يمكن أيضاً استخدام الكيتوسان في الزراعة كعلاج للبذور ومبيد حيوي ، مما يساعد النباتات على مكافحة الالتهابات الفطرية [36]، حيث انه قابل

للذوبان في المحاليل الحامضية العضوية عند درجة حموضة أقل من (6.5)، مثلاً (حامض الفورميك – حامض الخليك – حامض الستريك)، ولكنه غير قابل للذوبان في (حامض الفوسفوريك – حامض الكبريتيك) [37]. في الوسط الحمضي، يحتوي الكيتوسان على بروتونات في المجموعات الأمينية مما يسمح له بالتفاعلات الأيونية مع الجينات السالبة الشحنة. إذ أنه يعتمد على (pH) الرقم الهيدروجيني مما يجعله مناسباً لتوصيل الأدوية [38].

جسيمات نانو الكيتوسان (التي يبلغ قطرها من 1 إلى 100 نانومتر) [39] اكتسبت الكثير من الاهتمام كناقلات توصيل الأدوية بسبب (ثباتها العالي وسميتها المنخفضة وكذلك طريقة التجهيز بسيطة) [40].

1.5 نظام إيصال الدواء Drug delivery system

أن اعطاء العلاج إلى الإنسان يكون بطرق مختلفة لغرض وصوله إلى النسيج المقترض لتحقيق التأثير العلاجي [41, 42]. وللحصول على كفاءة دوائية عالية ودقة في إيصال الدواء يكون لا بد من التغلب على المعوقات التي تصاحب طريقة إيصال الدواء [43, 44] وهناك عدة طرق لإعطاء الدواء منها: الفم، والحقن الوريدي، والعضلي، والجلدي، والاستنشاق عن طريق الأنف [45, 46]. يعد تناول العلاج عن طريق الفم هو الأكثر شيوعاً إذ يمثل 52% من الأدوية الموجودة المتوفرة في الصيدليات [45]، وهي الطريقة التي يفضلها غالبية المجتمع، ومن أهم الأسباب لهذا التفضيل تعود إلى البساطة، والسهولة، والراحة عند الاستخدام، والمرونة من الناحية التصنيعية في تصميم الجرعة الدوائية ذات الكلفة القليلة، ولكن هذه الطريقة لا تخلو من بعض المحددات و التي منها يعتمد بشكل كبير على المريض من ناحية الالتزام بمواعيد أخذ الدواء، وقد يحصل ايضاً للدواء وتحطم انزيمي عند عبوره القناة الهضمية [47, 48] ، وقد واجهه الباحثون في مجال العلوم الصيدلانية وتطوير الأدوية عدة مشكلات خصوصاً في الأدوية المعطاة فمويًا، وبهذا بدأت فكرة نظام إيصال الدواء المسيطر على تحرره، وفي الوقت الحالي يتم استخدام هذه الطريقة مع الأدوية المضادة للسرطان وذلك لتقليل السمية على اجزاء الجسم الاخرى واستهداف الخلايا السرطانية فقط وايضا التقليل من الاضرار الناتجة لهذه الأدوية على الخلايا السليمة [49] ، وأن ما يمتاز به نظام إيصال الدواء ذو التحرر المسيطر عليه عن النظام التقليدي هو تحرر جرعة الدواء في المكان المراد معالجته و بقاء العلاج لأطول مدة من الوقت عند اخذه ومروره بجزء الجسم و عدم تأثيرها لحين الوصول للمكان المراد معالجته لدى المريض ، و بذلك يتم اختزال تكرار الجرعات الدوائية وبالنتيجة تقليل السمية الدوائية، والتقليل من تغيرات تراكيز الأدوية في المستويات البلازمية، إذ أن زيادتها تؤدي إلى حدوث تأثيرات جانبية أخرى أحيانا تكون مضرّة، أو غير مرغوبة، أما إذا كانت تراكيز الأدوية أقل فلا تعطي الفعالية العلاجية الكافية، وحماية المادة الدوائية

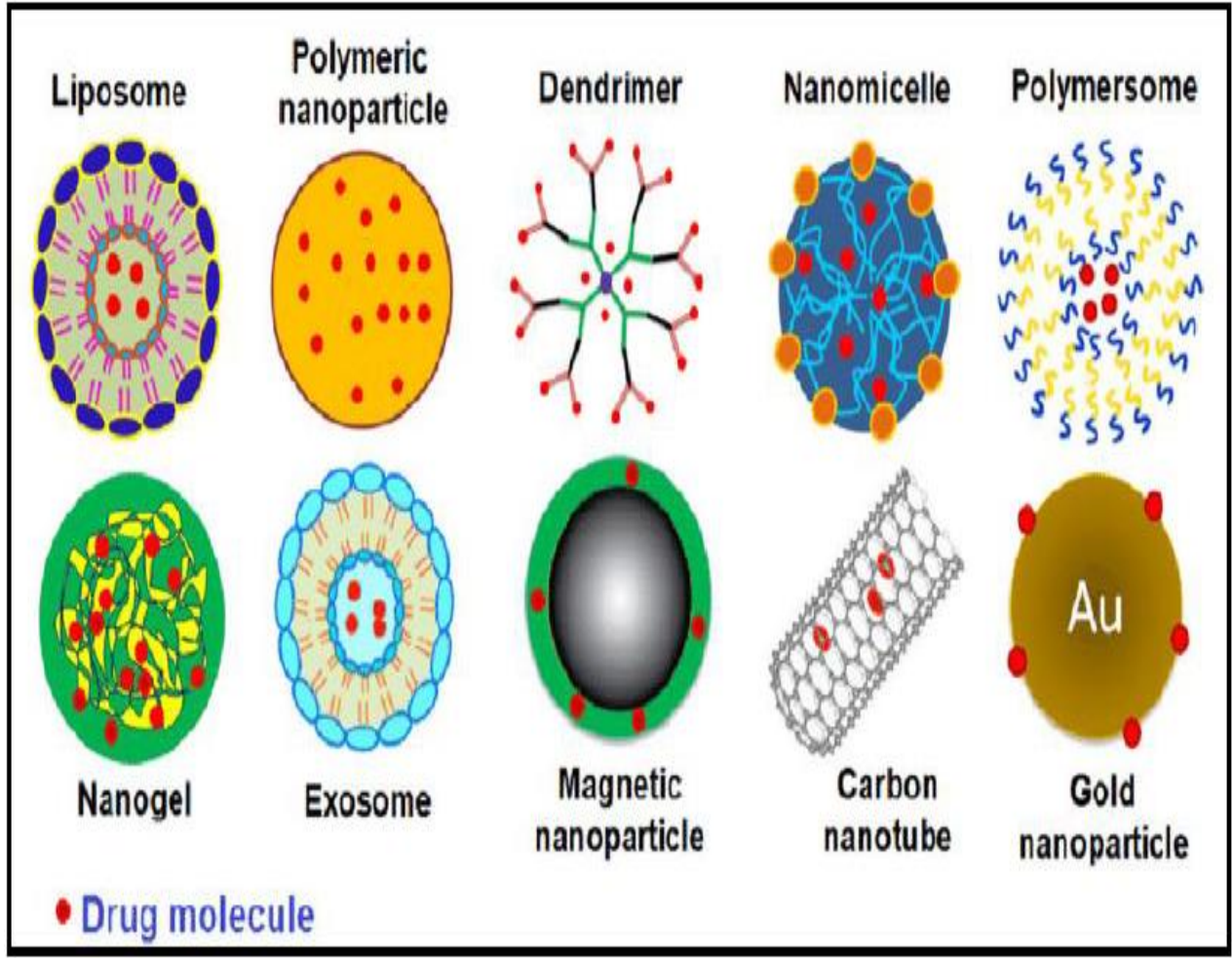
من افرازات وتأثيرات القناة المعوية وتحديد تأثير الجرعة بشكل كبير، وهذا يؤدي إلى اعطاء الكفاءة العلاجية العالية[50]..

1.6 النواقل الدوائية Drugs carriers

إن الزيادة في عدد المجاميع الدوائية الفعالة للمركب الدوائي سوف تواجه عدة مشاكل عند دخولها إلى الجسم مما يجعلها قد تتفاعل كيميائياً نتيجة التغيرات الحامضية والانزيمية داخل جسم الإنسان لذا يتطلب على تلك الأدوية من التحطم الأنزيمي وتأثيرات القناة المعوية، إذ وجد المختصون طريقة معينة لضمان إيصال الدواء تمثلت في تصنيع نظام ناقل لإيصال الأدوية، ويعرف الناقل الدوائي بأنه نظام يستخدم لنقل الدواء إلى المناطق المحددة، ويتكون من عدة جزيئات خاصة تقوم أما بتغليف الدواء، أو يتم تحميلها على السطح، وهي بذلك تتميز بقدرتها العالية في حماية الأدوية من التأثيرات الانزيمية وزيادة توفرها البيولوجي وإيصالها بشكل آمن إلى المكان المرغوب، وبالتالي تعمل النواقل الدوائية على تغليف الدواء، أو الامتزاز على سطح الناقل و الوصول بالدواء إلى الموقع المطلوب في جسم الإنسان و الامتصاص أو العبور من خلال غشاء الخلية إلى داخلها، ثم تتحرر أو تطلق الدواء من الناقل[51, 52] إن النواقل الدوائية المستخدمة في إيصال العلاجات قد صممت من مواد طبيعية وصناعية، وتكون على أنواع متعددة، منها: نواقل الدهون، والمواد المسامية[53]، والنواقل البوليميرية[54]، ودقائق الذهب[55]، والنانوب كاربونية[56]. كما موضح في الشكل (1- 4).

أن أهم الاسباب التي ادت إلى تطوير النواقل الدوائية

- 1- استهداف اعضاء محددة في الجسم دون أخرى لتجنب التأثير على صحتها باستعمال النواقل الدوائية.
- 2- اطالة نصف العمر البيولوجي الفعال للدواء ومن ثم زيادة الكفاءة الدوائية.
- 3- إن الحجم الصغير لنواقل الدوائية التي تصل إلى المايكرو، والنانو تكسبها امكانية عبور الأغشية الخلوية، واستهداف الانسجة المتضررة[57, 58].
- 4- استخدام نواقل الجسيمات الشحمية Liposome لنقل الأدوية الكارهة للماء [59, 60].
- 5- من خلال تطور النواقل الدوائية زادت الخصائص الحركية الدوائية التي تشمل الامتصاص Absorption، والتوزيع Distribution، والأيض Metabolism، والإخراج Extraction، والخصائص الديناميكية الدوائية Pharmacodynamics [61]



شكل (1-4) بعض أنواع نواقل الدواء [62]

1.7 السرطان Cancer

يعد السرطان من الأمراض الخطيرة والقاتلة وسبب رئيسي للوفاة في العالم، يصيب جزء أو عدداً من أجزاء جسم الإنسان، حيث تبدأ خلايا الجسم بالنمو غير الطبيعي والسبب هو خلل في النظام الطبيعي للخلية الذي يتحكم بالانقسام والزيادة المستمرة في عدد الخلايا، وهذه الزيادة والانقسام غير المنتظم يؤدي بالجسم إلى تكوين خلايا غير طبيعية فينتج نتيجة لذلك أنسجة متكتلة تدعى بالأورام (Tumors)، تقسم الأورام إلى قسمين:

أ- الأورام الحميدة (Benning Tumors): تكون بطبيعتها غير خطيرة وتشبه الخلايا النسيجية التي تكونت منها ولا تنتشر أو تنتقل إلى المناطق القريبة أو البعيدة منها في الجسم [63]. حيث لا يمكن احتسابها كنوع من أنواع السرطان أو الأورام الخطرة، في بعض الأحيان الورم يؤثر على مناطق أو أعضاء حساسة مثل الاوعية الدموية أو الاعصاب في الدماغ لذا يجب إعطاء العلاج المناسب أو التدخل الجراحي لأزالته والورم و التخلص من اعراض هذا الورم [64]

ب- الأورام الخبيثة (Malignant Tumors): تكون خطيرة لأنها تنتشر و تغزو المناطق القريبة منها ومن ثم تنتقل إلى المناطق البعيدة من أعضاء الجسم [63]. حيث تسبب تدمير للأنسجة القريبة والبعيدة التي تمر فيها. قد تختلف عن الاورام الحميدة بانتقالها عبر المجرى الدموي فيحدث نشوء ورم ثانوي جديد، غالباً تكون الأورام الخبيثة مختلفة نسيجياً تكونت في بادئ الأمر من خلية واحدة حصل فيها تغير في تركيبها الوراثي [65].

يحدث مرض السرطان نتيجة لحدوث تغيرات قد تكون متوارثة أو مكتسبة في الحامض النووي (DNA) وتتضمن هذه التغيرات حدوث طفرات بسبب خطأ اثناء الانقسام الخلوي أو بسبب تلف بالحامض النووي (DNA) نتيجة لمؤثرات خارجية منها (المواد الكيميائية والاشعة فوق البنفسجية من الشمس والتبغ) وغيرها من المؤثرات. أن قدرة الجسم على إصلاح الخلايا تبدأ بالانخفاض عندما يزداد عمر الإنسان، لذلك تكثر الاحتمالية من الإصابة بمرض السرطان بتقدم العمر [66]. اهتم العلماء بدراسة السرطان من تأريخ أكتشافه وإلى وقتنا الحاضر و بكافة جوانبه، بسبب الخطورة الكبيرة على حياة الإنسان، ومن أسباب السرطان هو عدم قدرة الجسم على اكتشاف الضرر في DNA وبهذا تستمر الخلايا السرطانية في انتاج خلايا جديدة وعدم الاستجابة لإشارات التأخير بالنمو و النشاط الخلوي غير المنتظم مع إمكانيتها في الاختباء من الجهاز المناعي [67] يتكون الورم في البدء من خلية واحدة طبيعية الا أنها تتعرض للعديد من العوامل المسرطنة فتتحول إلى خلية غير طبيعية بسبب تراكم الطفرات [68]، ولا ينشأ الورم السرطاني الا بعد تراكم الطفرات التي تتعرض لها الجينات ذات العلاقة بفعاليتها البيولوجية [69]. ومن الجينات المهمة في نشوء السرطان هي:

1. جينات الورم الأولية وهي جينات محفزة للنمو (Proto-oncogenes) مثل (*H-ras - ACP*)

2. الجينات الكابحة للورم (Tumor suppressor genes) والتي تتحكم بتنظيم تثبيط نمو الخلايا ولها دوراً هاماً في تنظيم دورة الخلية مثل (*P53 - P21*)

الجينات الورمية والجينات الكابحة للورم مسؤولتان عن اغلب عمليات تكاثر الخلايا غير المنتظم الذي يصيب خلايا البشر مسببا لهم السرطان عند تعرضها للطفرات [70].

1.71 سرطان الرئة Lung cancer

يعد سرطان الرئة هو السبب الأول للوفاة في أنحاء العالم لوفيات بهذا السرطان و لكلا الجنسين في السنوات الأخيرة [71]. تبدأ معظم سرطانات الرئة بالغشاء الذي يبطن الشعب الهوائية، وكثيراً ما يتكون في جوار الرئتين ويتكون أحياناً في خلايا الغدد الموجودة تحت غشاء الشعب الهوائية [72] كما موضح بالشكل (1-5)، يعد سرطان الرئة مهدداً للحياة لأنه ينتشر غالباً بعملية الانتشار، ومن الممكن ان ينتقل السرطان إلى الرئة نتيجة الإصابة بالسرطان في أعضاء أخرى من الجسم مثل سرطان الثدي و سرطان الامعاء [73].

1.72. تصنيف سرطان الرئة:

صنف سرطان الرئة على نطاق واسع نسجياً إلى نوعين:

1.7.2.1 سرطان الرئة غير صغير الخلية Non-small cell lung cancer

يطلق عليه اصطلاحاً (NSCLC) ، ويشكل سرطان الرئة غير صغير الخلية أكثر من (85 %) من أنواع سرطان الرئة ، ولهذا النوع ثلاثة أنواع وهي (السرطان الغدي وسرطان الخلية الحرشفية وسرطان الخلية الكبيرة)، وهي تختلف من حيث الحجم والشكل عند فحصها تحت المجهر [74]

أ- سرطان الرئة الغدي (AC) Adenocarcinoma

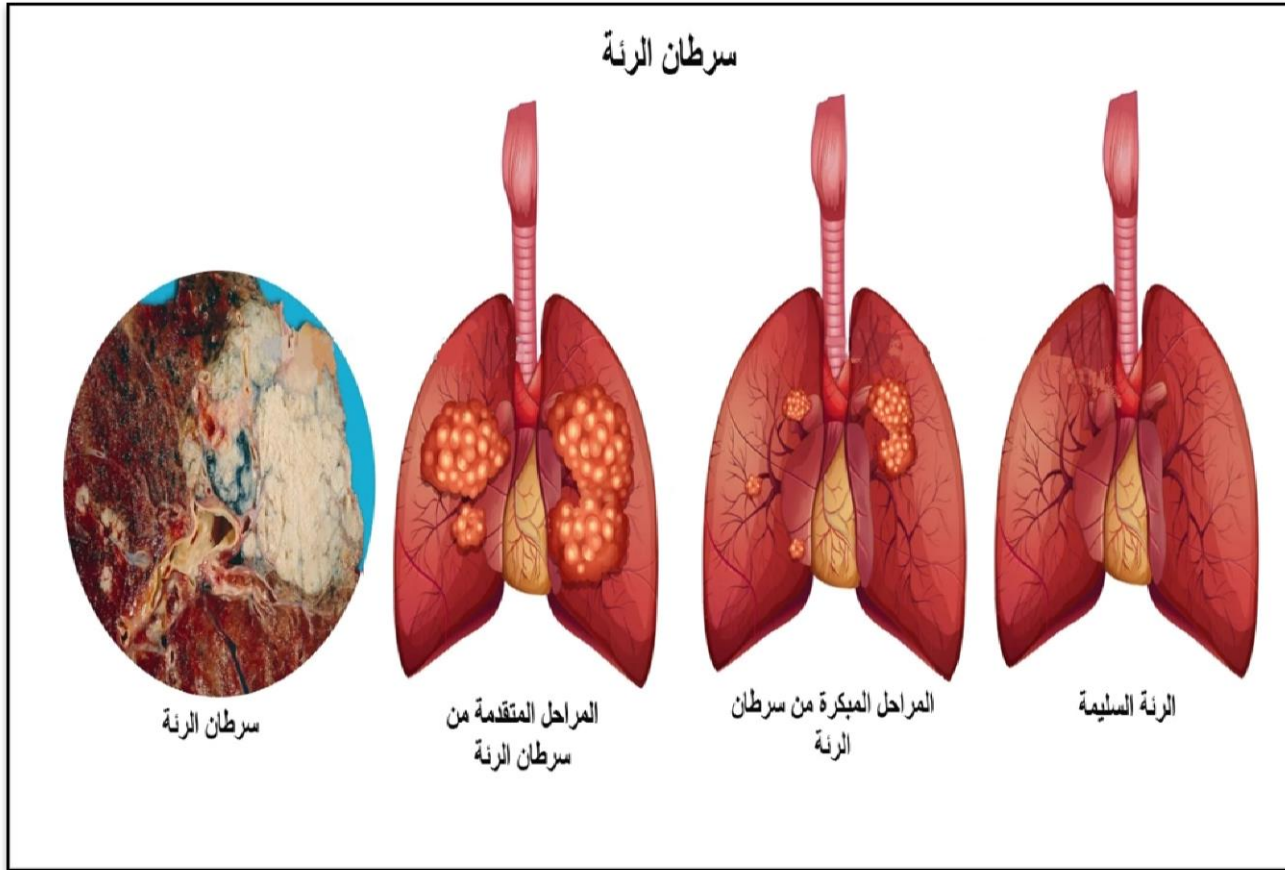
يعد سرطان الرئة الغدي الأكثر شيوعاً من بين أنواع سرطان الرئة الغير صغيرة الخلية، إذ يشكل نسبة تصل إلى (65 %) من أنواع سرطان الرئة [74, 75]. ينشأ هذا النوع في الخلايا المنتجة للمخاط في المسالك التنفسية [52]. ويأخذ موقعاً محيطياً في الرئة، يظهر بشكل التهاب رئوي وينتشر بسهولة إلى غشاء الجنب والعقد اللمفاوية [76]، يحدث في المدخنين بنسبة 75% [77] ونسبة إصابة النساء به أكثر من الرجال [78]

ب- سرطان الخلية الحرشفية (SCC) Squamous cell carcinoma

يشكل نسبة (40 %) من بين جميع أنواع سرطانات الرئة [75]. حيث انه ينمو في بطانة المسالك الهوائية [79]. يبقى هذا النوع من سرطان الرئة ضمن الرئة وينمو بشكل كبير مما يشكل تجويفاً [80]. وله ارتباط مع مدة تدخين المريض [81]

ج- سرطان الخلية الكبيرة (LCC) Large cell carcinoma

هذا النوع من السرطان يشكل نسبة (10 %) من سرطانات الرئة [82] ويشار إليه أحياناً بالسرطان غير المتمايز، تبدو خلاياه كبيرة ومستديرة وذات نواة بارزة، وتكون فترة بقاء المريض على قيد الحياة قصيرة عند الإصابة به بسبب ضعف وصعوبة تشخيصه [83]، قد يظهر في أي جزء من الرئة ويميل إلى النمو والانتشار بسرعة يشبه بذلك إلى حد بعيد سرطان الرئة صغير الخلايا مما يجعل علاجه صعباً، وله نوع فرعي يعرف بسرطان الغدد الصماء ذات الخلايا الكبيرة [84].



شكل (1-5) مراحل سرطان الرئة [85]

1.7.2.2 سرطان الرئة صغير- الخلية Small cell lung carcinoma

يطلق عليه اصطلاحاً (SCLC) نسبته (10-20 %) من جميع سرطانات الرئة [86]. سمي بهذه التسمية بسبب حجم الخلايا السرطانية الصغيرة التي تظهر تحت المجهر بشكل عام ككتلة رمادية باهتة موجودة في مركز الرئة، خلاياه ذات شكل بين الدائري والمغزلي، تحتوي هذه الخلايا على حويصلات تحتوي على هرمونات الغدد الصم العصبية التي تمنح هذا الورم ارتباطاً بمتلازمة الغدد الصماء [87]، يحدث وينمو هذا النوع من السرطانات وينتشر بسرعة إلى العديد من أعضاء الجسم ويتم غالباً اكتشاف الإصابة به بعد انتشارها على نطاق واسع [88]، ويمتلك نوعان فرعيان وهما سرطان الخلايا الصغيرة المتجانسة والمدمجة [89]. يصنف هذا السرطان إلى مرحلتين الأولى المحدودة (LS) Limited stage التي تصاب بها إحدى الرئتين أو كليهما، والمرحلة الثانية وتسمى المرحلة واسعة النطاق (Extensive stage) (ES) وفيها يكون السرطان قد انتشر إلى مناطق أبعد [86]

1.7.3 وبائية سرطان الرئة: Lung cancer epidemiology

حسب احصائيات منظمة الصحة العالمية (WHO) في عام 2020 فإن السرطان السبب الرئيسي للوفاة في العالم، يعد سرطان الرئة ضمن أخطر أنواع السرطانات المسببة للوفاة حيث سُجل (1 800 000) حالة وفاة به، ثم يليه سرطان القولون والمستقيم بـ(916 000) حالة وفاة، ومن ثم سرطان الكبد بـ(830 000) حالة وفاة، و سرطان المعدة بـ(769 000) حالة وفاة، و يعد سرطان الثدي من اكثر أنواع السرطان انتشاراً لدى النساء و يأتي بالمرتبة الأولى من حيث الاصابة وبلغت حالات الوفاة فيه (685 000) حالة وفاة[90]، يعد سرطان الرئة من أهم أنواع السرطانات التي يتم تشخيصها بين الرجال والنساء في العالم، إذ أن اعداد الإصابات به مرتفعة حتى لدى النساء مما يجعله منتشرًا تقريبًا مثل سرطان الثدي[91]. يحتل سرطان الرئة أحد المراتب الخمسة الأولى لأنواع السرطانات المعروفة في العالم ويعد السبب الاول للوفاة بالسرطان لدى الرجال في اغلب الدول[92]. يزداد سنويا معدل الإصابة والوفاة بسرطان الرئة في بعض دول العالم [93]، ويختلف معدل اكتشاف هذا المرض بشكل كبير من منطقة إلى أخرى في العالم[94]، وقد تتباين نسب الإصابة بسرطان الرئة حسب العرق والبيئة فهي مثلاً أقل انتشاراً بين الآسيويين وأكثر انتشار بين الرجال السود[95].

حسب احصائيات GLOBOCAN 2020 تم تشخيص 19,292,789 حالة إصابة لجميع أنواع السرطان في العالم في عام 2020[96]، وسجلت نحو 229000 حالة إصابة جديدة بسرطان الرئة في الولايات المتحدة في عام 2020 [97]. أما في دولة جنوب افريقيا فسجلت (1.8) مليون حالة وفاة بسرطان الرئة في عام 2018[98]، تم تشخيص المرض في تونس في العام 2003 وقد وجد انه يحتل المرض المرتبة الرابعة من بين أكثر أنواع السرطانات[99] وفي عام 1991 لغاية عام 2006 احتل سرطان الرئة المرتبة الأولى من بين أهم السرطانات في الذكور لدى القطريين بعمر 65 عام[100]، أما في العراق فسجل الجهاز المركزي للإحصاء آخر إحصائية له في سنة 2019 والخاصة بسنة 2017 (853) شخص مصاب بسرطان الرئة أي بنسبة (6.82 %) من بين أنواع السرطان الأخرى والتي تصيب الذكور بمعدل (4.55) لكل (100,000) نسمة، وبذلك يحتل المرتبة الخامسة من بين العشرة مواقع الأكثر انتشارا للسرطان بين الذكور في العراق كما هو موضح في الجدول (1-1)، أما في عام 2018 وكما هو موضح في الجدول (1-2) فقد زادت عدد الإصابات إلى (1023) مصاب بسرطان الرئة وبنسبة (7.52%) من مجموع المصابين لأنواع السرطان لدى الذكور وبمعدل (5.31) لكل (100,000) نسمة، وبذلك اصبح يحتل المرتبة الرابعة من بين المراتب العشرة الأكثر انتشارا بالسرطان بين الذكور في العراق وهذا يشير إلى الزيادة الملحوظة في عدد المصابين بسرطان الرئة في انحاء العراق، وبحسب إحصائية رسمية لدى مركز الأمام الحسين عليه السلام لأورام السرطان وأمراض الدم / مستشفى الأمام الحسين التعليمي في كربلاء المقدسة في العام 2021 فقد كان اعداد المصابين بلغت (96) مصاب من مجموع (781) حالة للأنواع العشرة الاولى من مرض السرطان أي بمعدل 12.29

% من بين الحالات السرطانية المصابة كما موضح في الجدول (1-3). وقد احتل سرطان الرئة التسلسل الثاني من بين الأنواع العشرة الأولى لأمراض السرطان للأشخاص المصابين في محافظة كربلاء المقدسة. أما في العام 2022 فبلغ عدد المصابين (106) مصاب من مجموع (816) حالة أيضا للأنواع العشرة الأولى من مرض السرطان أي بمعدل 12.99 % من بين الحالات السرطانية المصابة كما موضح في الجدول (1-4)، وقد احتل سرطان الرئة التسلسل الثاني من بين الأنواع العشرة الأولى لأمراض السرطان للأشخاص المصابين في محافظة كربلاء المقدسة.

جدول رقم (1-1) العدد الكلي لحالات الإصابة بالأورام السرطانية في العراق لعام 2017 لدى الذكور حسب إحصائيات الجهاز المركزي للإحصاء - وزارة التخطيط العراقية

ت	نوع السرطان	عدد الإصابات	النسبة المئوية %	معدل الإصابات لكل (100) الف نسمة من الذكور
1	الرئة والقصبات الهوائية	1,579	%12.63	8.42
2	الدم	1,159	%9.27	6.18
3	المتانة	1,123	%8.98	5.98
4	القولون - المستقيم	927	%7.41	4.94
5	الرئة	853	%6.82	4.55
6	ورم الغدد اللمفاوية غير هودجكيني	775	%6.20	4.13
7	الدماغ وبقية اجزاء الجهاز العصبي	718	%5.74	3.83
8	الجلد	513	%4.10	2.73
9	المعدة	477	%3.82	2.54
10	الكلى	411	%3.29	2.19
	إجمالي إصابات المواقع العشرة الأولى للذكور	8,535	%68.27	45.49
	إجمالي إصابات المواقع الأخرى للذكور	3,967	%31.73	21.14
	إجمالي إصابات الأورام الكلي للذكور	12,502	%100	66.63

*المصدر: وزارة التخطيط - جمهورية العراق - الجهاز المركزي للإحصاء- الإحصاءات البيئية للعراق والمؤشرات الصحية لسنة 2019.

جدول رقم (1-2) العدد الكلي لحالات الإصابة بالأورام السرطانية في العراق لعام 2018 لدى الذكور حسب إحصائيات الجهاز المركزي للإحصاء - وزارة التخطيط العراقية

ت	نوع السرطان	عدد الإصابات	النسبة المئوية %	معدل الإصابات لكل (100) ألف نسمة من الذكور
1	الرئة والقضبات الهوائية	1830	% 13.44	9.50
2	المثانة	1173	% 8.62	6.09
3	الدم	1061	% 7.79	5.51
4	الرئة	1023	% 7.52	5.31
5	القولون - المستقيم	1018	% 7.48	5.29
6	الدماغ وبقية أجزاء الجهاز العصبي	820	% 6.02	4.26
7	ورم الغدد اللمفاوية غير هودجكيني	680	% 5.00	3.53
8	الجلد ومناطق أخرى	584	% 4.29	3.03
9	المعدة	524	% 3.85	2.72
10	البنكرياس	413	% 3.03	2.14
	إجمالي إصابات المواقع العشرة الأولى للذكور	9,126	% 67.04	47.38
	إجمالي إصابات المواقع الأخرى للذكور	4,486	% 32.96	23.29
	إجمالي إصابات الأورام الكلي للذكور	13,612	%100	70.67

*المصدر: وزارة التخطيط - جمهورية العراق - الجهاز المركزي للإحصاء- الإحصاءات البيئية للعراق والمؤشرات الصحية لسنة 2019.

جدول رقم (1-3) العدد الكلي لحالات الإصابة بالأورام السرطانية لعام 2021 في محافظة كربلاء حسب

إحصائيات مركز الإمام الحسين عليه السلام للأورام السرطانية وأمراض الدم.

سرطان	سرطان	سرطان	سرطان	سرطان	سرطان	سرطان	سرطان	سرطان	سرطان	أشهر الاصابات لعام 2021
سرطان الدماغ	سرطان البنكرياس	سرطان الرحم	سرطان ابيضاض الدم الليمفاوي	سرطان الانسجة الرخوة	سرطان البروستات	سرطان القالون	سرطان المثانة	سرطان الرئة	سرطان الثدي	
0	5	4	3	7	3	2	7	10	22	كانون الثاني
5	6	5	2	6	4	5	6	6	22	شباط
3	2	6	2	3	5	5	4	6	32	اذار
3	4	4	2	3	2	1	7	8	26	نيسان
5	2	4	6	4	0	7	12	9	17	أيار
2	4	1	6	3	6	5	12	13	22	حزيران
4	3	2	5	4	3	4	6	3	27	تموز
5	3	1	4	0	1	7	5	9	28	اب
4	1	3	2	6	5	2	3	8	23	أيلول
1	2	2	4	1	4	3	2	6	32	تشرين الأول
4	5	4	4	4	5	6	7	9	35	تشرين الثاني
0	2	4	3	4	8	3	2	9	27	كانون الأول
36	39	40	43	45	46	50	73	96	313	المجموع
4.61 %	4.99 %	5.12 %	5.51 %	5.76 %	5.89 %	6.40 %	9.35 %	12.29 %	40.0 %8	النسبة المئوية %

جدول رقم (1 - 4) العدد الكلي لحالات الإصابة بالأورام السرطانية لعام 2022 في محافظة كربلاء حسب إحصائيات مركز الأمام الحسين عليه السلام للأورام السرطانية وأمراض الدم

سرطان	سرطان	سرطان	سرطان	سرطان ابيضاض الدم الليمفاوي	سرطان البروستات	سرطان القولون	سرطان الانسجة الرخوة	سرطان الرئة	سرطان الثدي	أشهر الاصابات لعام 2021
1	9	2	5	8	2	4	8	11	23	كانون الثاني
6	5	6	2	6	4	5	6	6	25	شباط
3	6	2	2	3	7	5	4	6	30	آذار
3	4	4	3	5	2	1	8	11	22	نيسان
5	4	2	4	6	3	7	12	9	16	أيار
2	1	4	3	6	6	5	15	13	25	حزيران
4	2	3	4	5	3	4	6	4	29	تموز
5	1	3	0	4	1	5	5	8	25	أب
4	3	1	6	2	5	2	3	8	28	أيلول
1	2	2	1	4	4	0	2	10	33	تشرين الأول
4	4	5	4	4	5	6	7	9	35	تشرين الثاني
1	4	2	4	3	8	3	2	11	30	كانون الأول
39	45	36	38	56	50	47	78	106	321	المجموع
4.78	5.51	4.41	4.66	6.86	6.13	5.76	9.56	12.99	39.34	النسبة المئوية %

1.9 دور الجينات في نشوء السرطان

تلعب الجينات دوراً رئيسياً ومهماً في ترتيب وتنسيق دورة انقسام الخلية، حيث توجد الجينات الورمية الأولية المسؤولة عن هذا النمو والجينات الكابتة للأورام مثل *BRCA1*, *BRCA2*, *P53* تكون مسؤولة عن تنظيم تثبيط نمو الخلية [101]. إن الجينات الورمية الأولية والكابتة للأورام هما المسؤولان معا عن معظم عمليات التكاثر الخلوي غير المنتظم في السرطانات وغيرها من الأدوار المهمة [102]، حيث يعملان بالحالة الطبيعية على تنظيم دورة حياة الخلية ومنع ضرر الـ DNA مثل جين *P53* وكذلك تحفيز التسرطن بالحالة غير الطبيعية عند تعرض الجينات الورمية الأولية إلى أحد الطفرات تحولها إلى جينات مسرطنة [103]، حيث تعمل هذه الجينات على تكاثر الخلية مع انعدام السيطرة عليه بسبب قيام الجين الطافر بالتشفير و إنتاج كمية كبيرة من البروتين المحفز [101]. أما بالنسبة للجينات الكابتة للأورام فهي كذلك تشارك في نشوء السرطان عندما تصبح هذه الجينات طافرة، أن طفرات الجينات الورمية تسبب حدوث تغيرات في الجينات الكابتة للأورام عندها تفقد وظيفتها، وهذه التغيرات تعمل على بقاء الخلية على قيد الحياة وحدث فيها طفرات إضافية [104]. و إن التعبير الجيني لجين *P53* يعد كعامل نسخ [105]، أي ينظم عدداً كبيراً من الجينات المشاركة في العديد من النتائج الخلوية [105]. فضلاً عن ذلك تم اكتشاف العديد من طفرات جين *P53* التي تلعب دوراً مهماً في تسلسل الجينوم الكامل، وقد تم اعتبار البعض من الطفرات كنقاط ارتباط مهمه [106]، ومن هذه الطفرات R248 - R249 وغيرها التي تعد أكثر شيوعاً لبعض أنواع السرطان مثل سرطان الرئة و الكبد وسرطان اللسان [108, 109].

1.10 جين *P53*

يوجد جين *P53* على كروموسوم (13.1 q 17) ، وهو يحتوي على 393 حامض أميني [110]، له دور مهم في زيادة فعالية الجينات التي لها دور مهم في تنظيم دورة الخلية (checkpoint cell cycle) فضلاً عن جينات التي تحافظ على سلامة الجينوم التي تعمل مع بعض الجينات لمنع النمو غير الصحيح للخلايا، لذلك يعد *P53* حارس الجينوم [111]. جين *P53* من الجينات المثبطة للورم له دور كبير في إصلاح الحمض النووي و موت الخلايا المبرمج و التحكم في انقسام الخلية ، إلى جانب ذلك يتسبب *P53* في توقف نمو الخلايا والدخول في الشيخوخة [112]. في حالة السرطانات المختلفة تؤدي الطفرات في جين *P53* إلى تحول الخلية الطبيعية إلى خلية سرطانية [113]، و أكثر الطفرات ارتباطاً بالسرطان تلك التي تؤدي إلى استبدال الأحماض الأمينية [114] ، إن جين *P53* الطافر أكثر استقراراً داخل الخلايا ويتراكم فيها مما يسبب تكاثراً في الخلايا بشكل لا يمكن السيطرة عليه مؤدياً إلى أورام خبيثة [115]. يمتلك جين *P53* تعددات شكلية (polymorphisms) مرتبطة بزيادة خطر الإصابة بعدة سرطانات كسرطان المثانة و الرئة و الثدي و الرحم

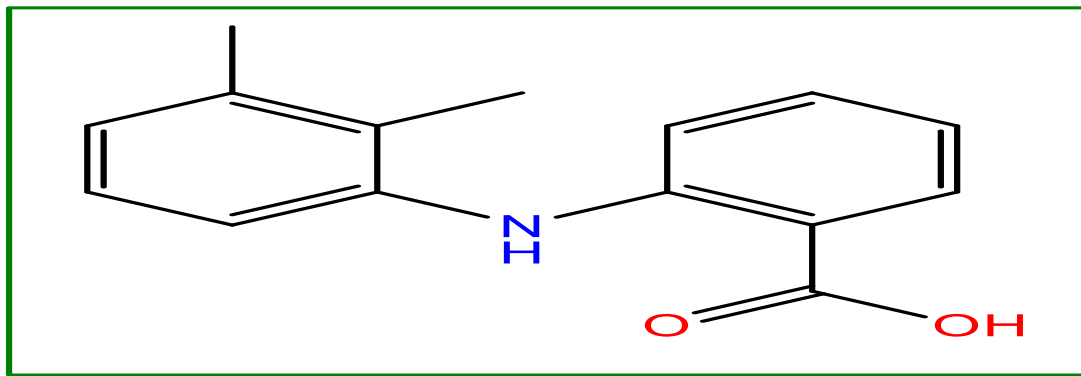
و القولون وغيرها من أنواع السرطان الأخرى [116]، إذ يتعرض جين P53 لنوعين من الطفرات احدهما جسمية والتي يكون تكرارها أكثر مع السرطانات الانتقالية [117] و طفرات جرثومية التي تشترك في تكون السرطان وهي بالغالب طفرات استبدال لقاعدة مفردة [118] , يلعب جين P53 في سرطان الرئة دورًا هاماً في العديد من العمليات الخلوية مثل التحكم في دورة الخلية وإصلاح الحمض النووي وموت الخلايا المبرمج و كثيراً ما تُلاحظ الطفرات في هذا الجين في كلا نوعيها الجرثومية والجسدية مسببة فقدان الجين لوظيفته في كبح الورم مما قد يتطور إلى الإصابة بسرطان الرئة [119]. لجين (P53) بروتين يسمى (P53) وزنه الجزيئي (53) كيلو دالتون حاوي على العديد من الأحماض الأمينية ومن هذه الأحماض الأمينية () Ala – Ile – Thr – Cys – Ser – Arg. وقد وجد ان هنالك ارتباط للاحماض الامينية مع زيادة احتمالية حدوث السرطان [120]، ، حيث تحتاج الخلايا السرطانية إلى الغذاء ليزداد انقسامها [121]. ومن هذه الأغذية هي تلك الحاوية على السكريات والأحماض الأمينية [122]، إن بعض الأحماض الأمينية لا يستطيع الجسم إنتاجها بعضها تنتج داخل الجسم بصورة طبيعية فعند نقصان ونفاذ هذه الأحماض يؤدي إلى ضعف الخلية السرطانية و موتها [123]. ومن هذه الأحماض هو حامض الارجنين (Arg) وهو غير موجود في أغلب البروتينات و ذلك بسبب صناعته داخل الجسم [124]، له وظائف فسيولوجية مثل زيادة إنتاج هرمون النمو وتعزيز دفاعات الجهاز المناعي [125]، وهو من الأحماض الأمينية غير المصنعة في الجسم [126]. أما الحامض الاميني السيرين (Ser) الذي ينتج داخل الجسم من نواتج التمثيل الغذائي [127]. و من الأحماض الأمينية الأخرى هو السيستين (Cys) الحاوي في تركيبه على الكبريت [128]، يحتاجه الجسم كثيراً لإنتاج الجلوتاثيون مضاد التأكسد الذي يستخدمه الكبد والخلايا للمقاومة في التخلص من المواد الضارة مثل سموم الكحول و دخان التبغ والملوثات البيئية الأخرى [129]. الثريونين (Thr) يعد من الأحماض الأمينية الضرورية للحفاظ على صحة الأسنان، ويعد مكوناً أساسياً في مينا الأسنان [130]. يعد الميثيونين (Met) من الأحماض الأمينية الأساسية ويحتوي على الكبريت، ولا يتكون في جسم الإنسان [131]، يوجد في بعض الأغذية مثل السمسم والمكسرات والسمك [132]. يساهم الحامض الاميني ايزولوسين (Ile) في العديد من الوظائف في الجسم، ومنها المساعدة على التئام الجروح وتنظيم نسبة السكر في الدم وتكوين الهيموغلوبين [133]. أما الحامض الاميني الأئين (Ala) فهو من الأحماض الأمينية غير الأساسية والأكثر استخداماً لبناء البروتين، ويشارك في عملية الأيض [134]. عند تناول الأغذية الحاوية على الارجنين (Arg) من قبل الأشخاص المصابين بالسرطان يؤدي ذلك زيادة انقسامات الخلايا السرطانية وبالتالي سوف يحدث انتشار السرطان [135]. أما بالنسبة للحامض الاميني السيرين (Ser) فيكون مثبت على سطح الخلية عند تحرره يساهم في تكوين الاورام [136]. تستخدم الأحماض الأمينية (Met – Cys – Ala – His – Thr – Arg) كمؤشرات بيولوجية في تشخيص سرطان الرئة (NSCLC) فعند عدم وجودها في بلازما

الدم تدل على وجود خلايا سرطانية في الجسم و السبب الرئيسي لعدم وجودها هو تغذي الخلايا السرطانية عليها[137]

1.11 الأدوية المستخدمة في الدراسة

1.11.1 حامض الميفيناميك

يعرف بحامض أنثرانيليك ويعد دواء غير ستيرويدي مضاد للالتهاب (NSAID)[138]. تكون الصيغة الكيميائية الجزيئية لحامض الميفيناميك [C₁₅H₁₅NO₂] أما الصيغة الكيميائية التركيبية لحامض الميفيناميك كما في الشكل (1-6) [139, 140].

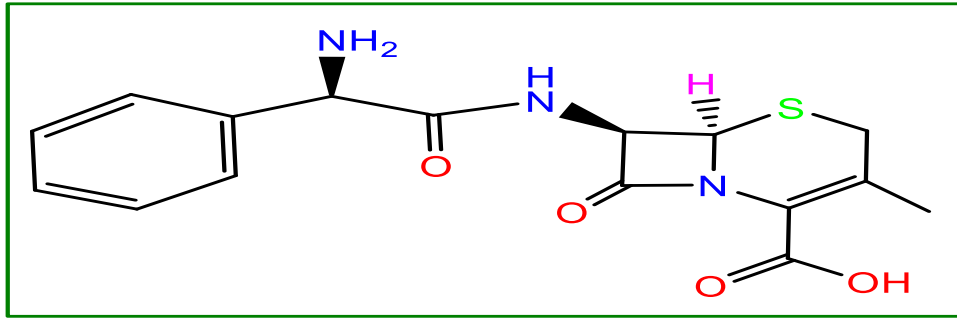


شكل (1-6) التركيب الكيميائي لحامض الميفيناميك

يستخدم حامض الميفيناميك في كثير من الأحيان في العلاج المصاحب لعسر الحيض وكذلك الألم الخفيف إلى المتوسط (مثل وجع الأسنان والصداع وآلام ما بعد الجراحة). وهو مماثل إلى مضادات الالتهاب غير الستيرويدية الأخرى ، يظهر الامتصاص السريع لحامض الميفيناميك بعد تناوله عن طريق الفم ويبلغ وزنه الجزيئي (241.285 gm/mol) وعمر النصف له في الجسم حوالي ساعتين [141]. يظهر حامض الميفيناميك أنشطة مسكنة ومضادة للالتهابات وخافض للحرارة، ويثبط تركيب البروستاغلاندين ، حيث يمتلك البروستاغلاندين العديد من الوظائف الفسيولوجية في جسم الإنسان مثل (تنظيم تدفق الدم الكلوي والحفاظ على حاجز الغشاء المخاطي في المعدة) . وله دور مهم في العمليات المسببة للألم والالتهابات ، لذا فإن تثبيط إنتاجه يمكن أن يؤدي إلى التأثير الدوائي لمضادات الالتهاب غير الستيرويدية [142].

1.11.2 السيفالكسين

مضاد حيوي للسيفالوسبورين شبه اصطناعي مخصص للإعطاء عن طريق الفم [143]. الصيغة الكيميائية الجزيئية للسيفالكسين [C₁₆H₁₉N₃O₄S] [144]. أما الصيغة الكيميائية التركيبية للسيفالكسين فهي كما في الشكل (1-7) [145].

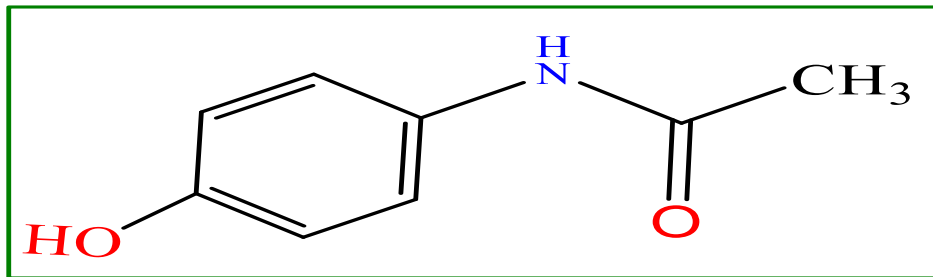


شكل (7-1) التركيب الكيميائي السيفالكسين

يستخدم السيفالكسين لعلاج الالتهابات الحساسية التي تسببها بكتيريا محددة ومنها (عدوى الجهاز التنفسي والتهاب الأذن الوسطى و عدوى الجلد و عدوى في العظام و عدوى الجهاز البولي التناسلي) [146]. يستخدم السيفالكسين لعلاج الالتهابات الناتجة من البكتيريا، وذلك للحد من تطور البكتيريا المقاومة للعقاقير والحفاظ على فعالية السيفالكسين والأدوية الأخرى المضادة للبكتيريا. يبلغ وزنه الجزيئي gm/mol (347.39) و عمر النصف له في الجسم يتراوح بين (0.5 إلى 1.20) ساعة [147, 148].

1.11.3 الباراسيتيمول

مركب كيميائي له استخدامات واسعة مثل (تخفيف الآلام الطفيفة - الصداع - الأعراض الجانبية لنزلات البرد - الإنفلونزا) و غيرها من الاستخدامات، يمتلك الباراسيتيمول صيغته الكيميائية جزيئية هي $[C_8H_9NO_2]$ وصيغة التركيبية الكيميائية الشكل (8-1) [149, 150].



الشكل (8-1) الصيغة التركيبية الكيميائية للباراسيتيمول

المعروف أيضًا باسم الأسيتامينوفين ، هو دواء يستخدم لعلاج الحمى والألم الخفيف إلى المتوسط. له وزن جزيئي (151.165 gm/mol). نصف العمر في الجسم هو 1-4 ساعات [151, 152].

1.12 الهدف من العمل

يمكن تلخيص الهدف من هذا العمل على النحو التالي:

- (1) ربط الكيتوسان النانوي مع ثلاث أدوية وهي (حامض الميفيناميك – السيفالكسين – الباراسيتامول) وتشخيصها بواسطة تقنية طيف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) وتقنية طيف الرنين النووي المغناطيسي ($^1\text{H-NMR}$).
- (2) دراسة بعض الخصائص الكيميائية لمتراكبات الكيتوسان النانوي المرتبط مع الدواء مثل: الذوبان وإطلاق الدواء.
- (3) ربط ودراسة طاقة الالتحام الجزيئي (Molecular Docking) لعقاقير الكيتوسان النانوي مع الأحماض الأمينية الموجودة ضمن بروتينا الخاص بسرطان الرئة باستخدام البرامج (BIOVIA – PyRx).
- (4) دراسة تأثير الأدوية (حامض الميفيناميك – السيفالكسين – الباراسيتامول) التي ترتبط بالكيتوسان النانوي واستعمالها في تثبيط الانتشار السريع لسرطان الرئة.
- (5) معرفة تأثير التعبير الجيني لجين (*P53*) بعد تعرض الخط الخلوي لسرطان الرئة خارج جسم الكائن الحي لعقاقير الكيتوسان النانوي.

الفصل الثاني

الجزء العملي

Chapter two

Experimental part

2. المواد الكيماوية والتقنيات المستخدمة

2.1 الكيماوية والتقنيات

2.1.1 المواد الكيماوية المستخدمة:

الجدول رقم (1-2) يوضح المواد الكيماوية المستخدمة والشركة والنقاوة لهذا العمل.

جدول (1-2) المواد الكيماوية المستخدمة

النقاوة (%)	الشركة	المواد الكيماوية
نقاوة عالية ، مشتق من غير حيواني ، متوسط ميغاواط 100 كيلو دالتون	Shaanxi Sang herb Bio-TechInc	كيتوسان نانوي (Nano Chitosan)
99.9%	SDI Company /Samarra	حامض الميفيناميك (Mefenamic acid)
99.9%	SDI Company Samarra	سيفالكسين (Cephalexin)
99.9%	SDI Company Samarra	باراسيتيمول (Paracetamol)
99 %	Thomas Baker	رباعي هيدرو الفوران (THF)
37 %	BDH	حامض الهيدروكلوريك (HCl)
99.8	BDH	هيدروكسيد الصوديوم (NaOH)
98 %	Thomas Baker	ثنائي اثيل أثير (Diethyl Ether)
99 %	BDH	البوراكس (Borax)
96 %	Thomas Baker	كلوريد البوتاسيوم (KCl)
99.9%	BDH	الايثانول (Ethanol)
99 %	Thomas Baker	ثنائي مثيل سلفوكسايد (DMSO)
99.8%	BDH	الأسيتون (acetone)
99.8%	BDH	الأيثر (Ether)
99.8%	BDH	الكلوروفورم (chloroform)
99.8%	BDH	الهكسان (hexane)

مواصفات الكيتوسان النانوي المستخدم:

SHAANXI SANGHERB BIO-TECHLNC

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: Nano Chitosan

Batch No.: SH180314N

Manufacturing Date: 20220314

Quantities: 200

(Items)	(Specifications)	(Results)
(D.A.C) %	≥ 95	95.7
Viscosity Cps	≤ 100	25
(Insolubles) %	≤ 1	0.10
(Ash) %	≤ 1	0.73
(Moisture) %	≤ 10	9.45
(fineness) nm	≤ 80 nm	(Pass)
(Heavy metals) ppm	≤ 10	< 1.0
(Arsenic) ppm	≤ 0.5	0.02
(Density) g/ml	0.28	0.32
(Appearance)	White Powder	(Pass)

Analyst: WangZunhua

Verification: ZhangXuelin

2.1.2 المواد والادوات البيولوجية المستخدمة

يوضح الجدول رقم (2-2) المواد المستخدمة في النشاط البيولوجي والشركة، أما الجدول (3-2) يوضح

الأدوات المستخدمة في النشاط البيولوجي والشركة المصنعة.

جدول (2-2) المواد المستخدمة في قياس النشاط البيولوجي

الشركة	المواد	No.
Santa Cruz Biotechnology	صبغة MTT	1
Gennex Lab	التريبسين Trypsin	2
K & K Scientific Supplier	وسط RPMI - 1640	3
Cypress Diagnostics	مصل بقري الجنين (Fetal bovine serum)	4
Pfizer	بنسلين Penicillin	5
BIGCOMMERCE	ستربتومايسين Streptomycin	6
Gennex Lab	EDTA	7
Qiagen	RNeasy	8
Invitrogen	(DNase) Deoxyribonuclease	9
Applied Bio systems	SYBR Green master	10
LONZA	SFM	11
American Biolnnovations	PBS	12
Suppharm	Magnesia® Total RNA (AE6101-AE6102)	13
Superscript II reverse transcriptase	Superscript II reverse transcriptase	14

جدول (2-3) الادوات المستخدمة في قياس النشاط البيولوجي

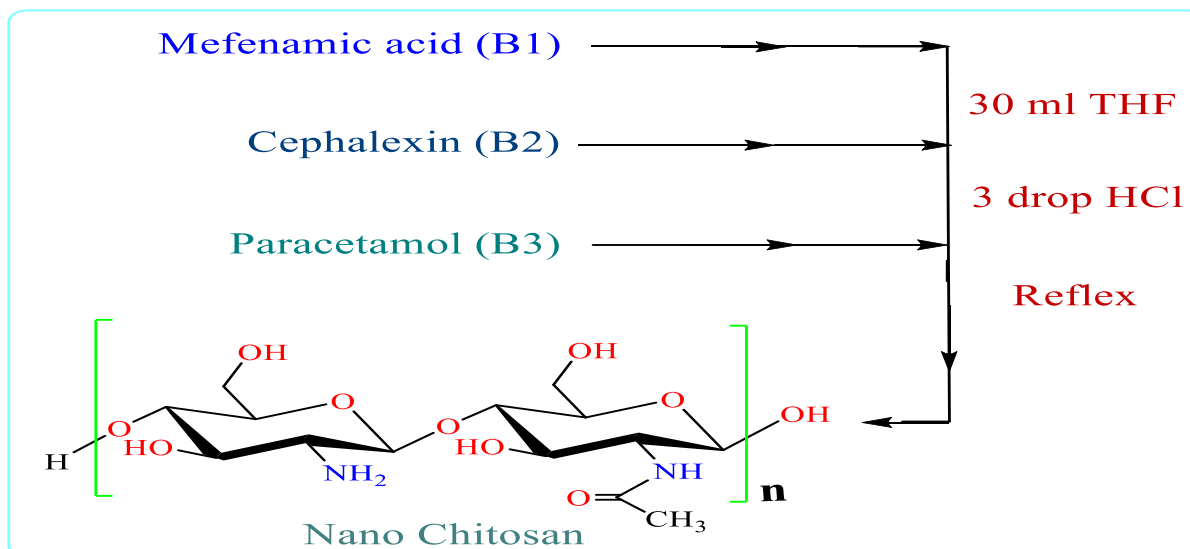
الشركة	الأدوات	No.
Cypress Diagnostics	حاضنة (CO ₂)	1
Gennex Lab	قارئ المعايرة الدقيقة	2
K & K Scientific Supplier	الكابينة المعقمة	3
Santa Cruz Biotechnology	لوحات زراعة الخلايا	4

2.2 التقنيات

1. تم اختبار مطيافية (FT-IR) بمدى $(4000 - 400) \text{cm}^{-1}$ ، جهاز (شيمادزو، اليابان) ، قسم الكيمياء – كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء.
2. تم اختبار أطياف ¹HNMR و باستخدام مطياف بروكر أفانس الثلاثي عند 400 MHz باستخدام ⁶DMSO-d مع المرجع TMS ، غازي عثمان باشا، تركيا.
3. مطياف الأشعة UV. – Vis. (شيمادزو، اليابان)، قسم الكيمياء – كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة كربلاء.

2.3 التحضير العام لعقاقير الكيتوسان النانوية

أُذيب (0.03m mol) من الدواء، في (30 mL) من THF مع ثلاث قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز ثم أُضيف إلى (4.77gm ، 0.03mol) من الكيتوسان النانوي ومن ثم اجريت عملية التصعيد (Reflection) للخليط لمدة 24 ساعة وذلك للحصول على الراسب، ثم رُشَّح الراسب ومن ثم غُسل الراسب بواسطة خليط (2 : 2) من ثنائي اثيل إيثر و (2.0 M) هيدروكسيد الصوديوم وتُرك ليُجف لمدة 16 ساعة [153].



الشكل (1-2) يوضح خطوات التفاعلات في هذا العمل

2.4 الخصائص الفيزيائية للعقاقير المرتبطة بالكييتوسان النانوي

تمت دراسة بعض الخصائص الفيزيائية لمركبات الكييتوسان النانوية الدوائية، مثل الذوبان وتحرر

الدواء، كما هو موضح أدناه:

2.4.1 خاصية الذوبان

وُضِعَ في أنبوب اختبار (0.1gm) من أدوية الكييتوسان النانوي المحضرة (B3- B1) الذي حُضِرَ ومن ثم اجريَ محاولة إذابته في عدد من المذيبات (الماء منزوع الايونات ، الإيثانول ، الأيثر ، الكلوروفورم ، DMSO ، الهكسان والأسيتون) ومن ثم قياس قابلية الذوبان لعقار الكييتوسان النانوي المحضر [154].

2.4.2 تحرر الأدوية من عقاقير الكييتوسان النانوية المحضرة

أُستخدِمَ جهاز مطياف الأشعة (UV-Vis) و حُدِدَ مقياس الطيف الضوئي الذي يطلقه الدواء من عقاقير الكييتوسان النانوية المحضرة في أربعة محاليل معزولة مختلفة (2.2 ، 6.0 ، 7.2 و 8.0) عند درجة حرارة (37°C) (0.05gm) لكل نوع من عقاقير الكييتوسان النانوية. دُورِقَ (50 mL) . وقيست امتصاصية (إطلاق الدواء) لبعض ساعات متتالية وكذلك لبضعة أيام [155].

2.4.3 تحضير محاليل بفر [156, 157]

حُضِرَت محاليل بفر، بأستخدام الطرق التالية:

(1) pH = 2.2 : حُضِرَ هذا المحلول عن طريق خلط (500mL) من (0.2 M) من كلوريد البوتاسيوم

و (8.6 mL) من (2 M) من حامض الهيدروكلوريك.

(2) pH=6 : حُضِرَ هذا المحلول عن طريق خلط (500 mL) من (0.2 M) كلوريد البوتاسيوم و (8.6 mL) من (2 M) من حامض الهيدروكلوريك.

(3) pH=7.2 : حُضِرَ هذا المحلول عن طريق خلط (500 mL) من (0.025 M) من البوراكس [Na₂B₄O₇.10H₂O] و (0.43 mL) من (0.1 M) من حامض الهيدروكلوريك.

(4) pH=8 : حُضِرَ هذا المحلول عن طريق خلط (500 mL) من (0.025M) من البوراكس [Na₂B₄O₇.10H₂O] و (0.5 mL) من (0.1 M) من حامض الهيدروكلوريك, [156, 157].

2.4.4 قياس الامتصاصية للأدوية [158]

قيست امتصاص المحاليل الناتجة من تحرر الدواء باستخدام الماء منزوع الأيونات باستخدام مقياس الطيف الضوئي (UV-Vis). كما في الجدول (2-4) الذي يوضح الطول الموجي الأعظم (λ_{max}) (nm) لجميع الأدوية المستخدمة، حيث غمرت الأدوية النانوية المرتبطة مع الكيتوسان في محاليل ذات قيمة حامضية مختلفة، باستخدام بيكر حجم (50 mL) لكل واحد منها، تم اخذ عينة من المحلول في فترات زمنية معينة، وقيست قيمة الامتصاصية لها.

جدول (2 - 4) الطول الموجي الأعظم (λ_{max}) للأدوية

الطول الموجي الأعظم (λ_{max}) (nm)	نوع الدواء المستخدم
285	حمض الميفيناميك Mefenamic acid
264	سيفالكسين Cephalixin
243	باراسيتيمول Paracetamol

2.5 تقنية الالتحام الجزيئي (Molecular Docking)

بناءً على الدراسات السابقة هنالك العديد من البروتينات الموجودة ضمن الموقع الإلكتروني (PDB بنك بيانات البروتينات)، ولكن تم اختيار البروتينات المشفرة من جين (*P53*) ومن هذه البروتينات الموجودة داخل الخلية سرطانية هما (*1put*[160], *1tup*[159]). تم استخدام برنامج (PyRx) الذي يربط الليكند (العقار) مع البروتين وكذلك يبين قوة الارتباط بينهما. أما بالنسبة لمواقع الارتباط فتم الكشف عنها في برنامج اخر

(BIOVIA) الذي يوضح ارتباط العقار مع الأحماض الأمينية المهمة الموجودة في بروتينات جين (P53)، وكذلك يبين طول وقوة الاواصر الموجودة بين العقار والبروتينات في جين P53 مع اعطاء صور ثنائية الابعاد لمواقع الارتباط بينهما.

2.6 الحفاظ على زراعة الخلايا:

حُفظت خط خلايا سرطان الرئة A549 في الوسط RPMI-1640 وُكمل الوسط بنسبة 10 % بإضافة المصل البقري الجنيني (100 µg/mL) من البنسلين و (100 µg/mL) من الستربتومايسين. ثم مُرثت الخلايا المعاد زرعها في الوسط عند نقطة 80% وذلك باستخدام التربسين - EDTA لمرتين في الأسبوع ، وحُضنت عند درجة حرارة (37°C) [162 ,161].

2.7 اختبارات السمية الخلوية

لتحديد التأثير السام للخلايا من العقاقير (الكيوتوسان النانوي فقط ، B1 ، B2 ، B3)، أُجري اختبار صبغة MTT باستخدام لوح ذو (96) حفرة [164 ,163]. زُرعت الخلايا في cell\well (1 × 10⁴) بعد 24 ساعة تكونت طبقة أحادية متماسكة ومن ثم عُلبت هذه الخلايا بالعقاقير (الكيوتوسان النانوي فقط ، B1 ، B2 ، B3) بتركيز مختلفة. تم قياس صلاحية الخلية بعد (48 h) من العلاج عن طريق إزالة الوسط وإضافة (28 µL) من محلول و (2mg/mL) من صبغة MTT و حُضنت الخلايا لمدة (2.5 h) عند درجة حرارة (37°C). بعد إزالة صبغة MTT أُذيبت البلورات المتبقية في الحفر بإضافة (130 µL) من DMSO حُضنت عند درجة حرارة (37°C) لمدة (15min.) مع الرج [165]. حُدث الامتصاصية على (a microplate reader) عند (492nm) ، وقد أُجري الفحص في ثلاث نسخ. ومن ثم حساب معدل تثبيط نمو الخلايا (النسبة المئوية للسمية الخلوية) بالمعادلة التالية [167 ,166]:

$$\text{معدل التثبيط} = 100 \times \frac{A-B}{A}$$

حيث A هي الكثافة الضوئية لمجموعة السيطرة ، و B هي الكثافة البصرية خط الخلايا السرطانية [168]. تحت المجهر المعكوس صُورت شكل الخلايا عندما زُرعت الخلية في 24 لوحة معايرة دقيقة بكثافة (1×10⁵ cells mL⁻¹) وحُضنت لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة (37°C) بعدها عُرضت الخلايا (الكيوتوسان النانوي فقط ، B1 ، B2 ، B3) لمدة (24 h). بعد وقت التعرض صُبغت الألواح بصبغة بنفسجية بلورية وحُضنت عند درجة حرارة (37°C) لمدة (10-15)min. [169]. أُزيلت البقعة بواسطة غسلها برفق بماء الصنبور حتى تمت إزالة الصبغة تمامًا. تمت ملاحظة الخلايا تحت المجهر المعكوس بقوة تكبير (400) مرة والتقطت الصور بكاميرا رقمية متصلة بالمجهر [170 ,171].

2.8 التشخيص الجزيئي (Molecular Detection)

2.8.1 جمع العينات

تم زراعة طبقة أحادية للخط الخلوي لسرطان الرئة نوع A549 في صحتان صغيرتان بستة حفر وبتكريز (10^6 cells / well) و حضنت عند درجة ($37C^{\circ}$) لمدة (24 h) ، بعد ذلك رفعت من الحفر ثم اجري الاتي :

❖ تمت معاملة (3 well) بمادة SFM كمجموعة سيطرة.

❖ تم معاملة (3 well) حفر لخط خلايا سرطان الرئة الخلوي ب viral particles MOI وُحُصن المزيج في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين من اجل التثبيت الكلي .

بعد (48 h) من وقت الحضانة، تم وضع الخلايا بـ (1) مل من PBS الهادئ والمعقم بواسطة مكشطة الخلية، بعد ذلك تم إيقاف العمل وجمعت الخلايا من كل حفرة ووضع في أنابيب ايبندروف وتم طردها مركزياً لمدة (10) دقائق عند (1000) دورة بالدقيقة عند درجة الحرارة ($4^{\circ}C$)، ثم تمت إزالة الرائق وإعادة تعليق الخلايا المتكورة في ($200 \mu l$) من محلول بفر (RB) الذي يزيد من استخراج الحامض النووي الريبي مع ($-80^{\circ}C$; mix by vortex and stored at -80 C°) Kit التي تستخدم لكشف المستوى الجيني لـ(mRNA).

2.8.2 استخلاص ال RNA

تم استخلاص الحامض النووي الريبي من خلايا (A549) المعاملة وغير المعاملة بعد (27hre) من وقت التعريض باستخدام (Magnesia® Total RNA (AE6101-AE6102) (Kit for total RNA) purification /Anatolia – Turkey, for cultured (10⁶ cells) خلية بوقت (44 min.) ، تمت اضافة ($200 \mu l$) من العينات في أنابيب الجمع ، ثم وضعت الكواشف في خرطوشة مملوءة مسبقا بحامل الطرف وانبوبة العينة وانبوبة الغسل في الرف و بعدها تم تشغيل الجهاز.

2.8.3 قياس تركيز الحامض النووي الريبي ونقاوته

تم قياس تركيز الحامض النووي الريبي للعينات باستخدام جهاز (Nanodrop) لقياس تركيز الحامض النووي الريبي في وحدة ($ng/\mu L$). وتم كشف النقاوة عن طريق قياس نسبة الكثافة البصرية (O.D) nm (260 – 280) حسب امتصاصية الطول الموجي للحامض النووي والبروتين. حيث تكون نقاوة عينات الحامض النووي الريبي المقبولة بين (1.7 – 1.9).

2.8.4 البودئ Primers

تم اختيار البودئ Primers كما في الجدول (2 – 5) لغرض الكشف الجزيئي في جين P53، بالاعتماد على التسلسلات القياسية التي تم الحصول عليها من قاعدة بيانات بنك الجينات العالمي NCBI وكما موضحة في الجدول (2 – 5) [167].

جدول (2 – 5) البوادي المستخدمة في جين P53 والمستخدم في فحص qRT – PCR .

gene P53	Forward	5'-CCG TCG CAA GCA ATG GAT G-3'
	Reverse	5'-GAA GAT GAC AGG GGC CAG GAG-3'

تم الحصول على البوادي من (USA) كمسحوق (lyophilized product) بتركيز مختلفة، حضر محلول الخزن ومحلول العمل بحسب تعليمات شركة المصنعة حضر محلول الخزن بإضافة الماء المزال الايون للحصول على التركيز النهائي للعالق (100 μM / μL)، تم أخذ (50 μL) من هذا المحلول واضافته إلى (150 μL) من الماء منزوع الايونات للحصول على التركيز النهائي لمحلول العمل (25 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$) وحفظت البوادي بدرجة حرارة (20 °C).

2.9 فحص تفاعل سلسلة البلمرة في الوقت الحقيقي الكمي (qRT-PCR)

تم اجراء فحص تفاعل سلسلة البلمرة في الوقت الحقيقي الكمي (الاستنساخ العكسي) باستخدام (Fast SYBR Green master mix) من أجل معرفة التعبير الجيني لجين P53 في خط خلايا سرطان الرئة نوع (A549) بعد معاملتها بالعقاقير (الكيوتوسان النانوي فقط ، B1 ، B2 ، B3) بالإضافة إلى مجموعة السيطرة (خلية سرطانية لسرطان الرئة غير معاملة بأي عقار) ، إذ تمت مقارنة نتائج التعبير الجيني لهذه المجموع مع نتائج التعبير الجيني في مجموعة السيطرة. تم الحصول على cDNA باستخدام العدة (one-step EvaGreen qRT-PCR kit ,USA) إذ تكون خليط التفاعل من مكونات موضحة في ادناه ، حيث بلغ الحجم النهائي لخليط التفاعل 20 μL .

- ❖ 1.5 μl of forward (F) primer at concentration: 25 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$.
- ❖ 1.5 μl of reverse (R) primer at concentration: 25 $\mu\text{M}/\mu\text{L}$.
- ❖ 10 μl of qPCR Master Mix Buffer at concentration: 1X.
- ❖ 0.5 μl of RT Mix Buffer at concentration: 1X.
- ❖ 6.5 μl of extracted RNA template.

تمت تنقية الحامض RNA من خط خلايا سرطان الرئة وفقا لتعليمات عمل الشركة المصنعة (RNeasy Mini kit, Qiagen. Cat. No. 74,104, UK) ، ثم تمت معاملتها بإنزيم DNase ، وتمت معاملة الناتج بإنزيم (Superscript II reverse transcriptase) لغرض الحصول على cDNA (Invitrogen. Cat. No. 18,064–071, USA) ليستخدم بعد ذلك في تفاعل (qRT–PCR). حيث يتكون مزيج التفاعل على (1 μL) من (cDNA) و(7.5 μL) من SYBR green و (0.3 μL) من ROX و (0.3 μL) من البادئات وأكمل الحجم الكلي للخليط حتى (15 μL) عن طريق إضافة (5.9 μL)

من الماء منزوع الايونات باستخدام (Fast SYBR Green master mix). تم احتساب معدل التعبير الجيني لجين P53 قبل المعاملة وبعد المعاملة بالعقاقير المحملة نانويًا بالاعتماد على قيمة Cycle Threshold (CT) حسب معادلة (Livak and Schmittgen) [172]، وأُستخدمت هذه القياسات لثلاث نسخ في جميع التجارب [167]. تم تطبيق الظروف الحرارية المثلى (condition qPCR Thermo Cycler) لجين الدراسة (P53) كما موضح في الجدول (2-6).

جدول (2-6) الظروف الحرارية المثلى لمراحل qRT – PCR لجين P53

NO.	Cycle	Time	Temperature	Step
1	cDNA synthesis	42°C	5min	Hold
2	Inactivate RT	95°C	3min	Hold
3	Denaturation	95°C	3sec	40
4	Anneal/extend	58 °C	20sec	40
5	Elongation	95 °C 55 °C 95 °C	1 min for Each temp.	—
6	Dissociation	72°C	10min	—

2.14 التحليل الإحصائي:

حُلَّت النتائج باستخدام T test وباستخدام برنامج (GraphPad Prism 6) [173].

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

Chapter Three

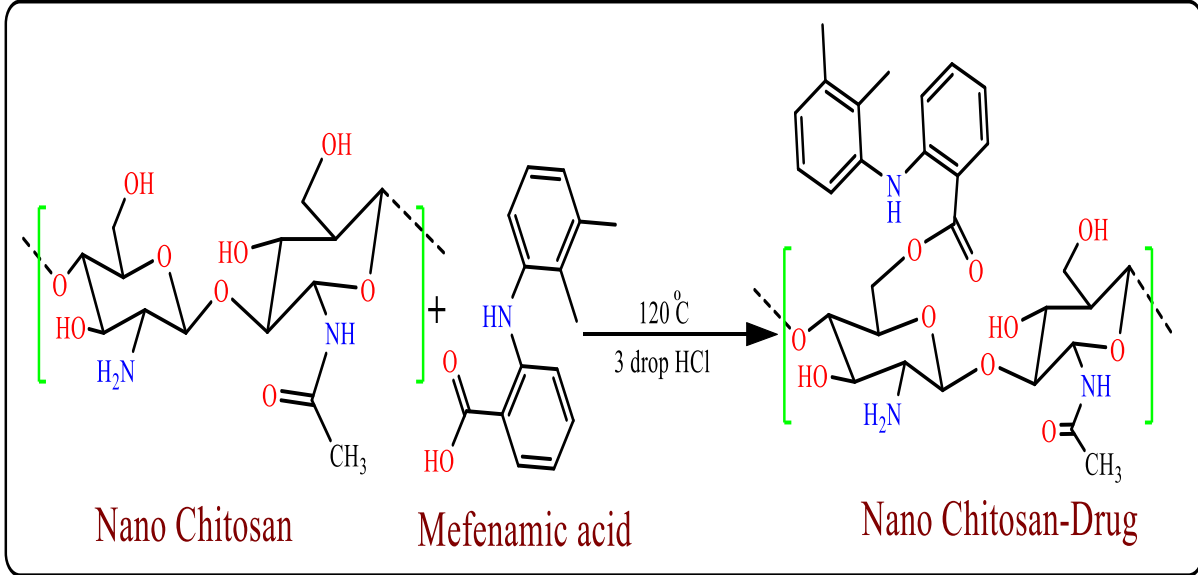
Results and Discussion

3. النتائج والمناقشة

3.1 تحضير الكيتوسان النانوي مع الأدوية

3.1.1 تحضير دواء حامض الميفيناميك المرتبط مع الكيتوسان النانوي (B1)

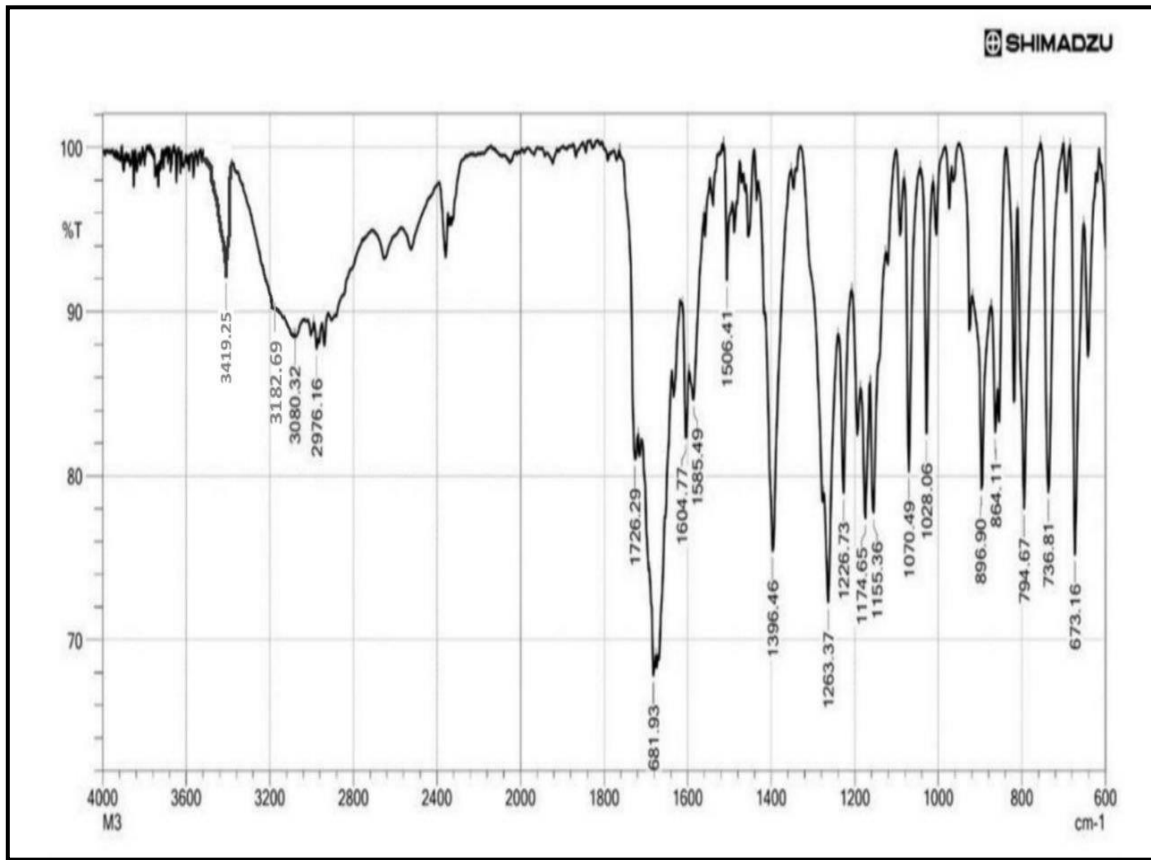
تم إذابة عقار حامض الميفيناميك (0.03moles, 7.5gm) في THF مع قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز وبعدها تم اضافته إلى الكيتوسان النانوي (0.000012 moles , 5.0 gm) ومن ثم اجرينا عملية التصعيد (Reflection) ، واخيراً تم غسل الراسب بمحلول مكون من نسبة (2:2) من ثنائي ايثيل إيثر و (2.0 M) هيدروكسيد الصوديوم ومن ثم ترك ليجف كما في المعادلة التحضير التالية:



المعادلة (1-3): تفاعل عقار حامض الميفيناميك مع الكيتوسان النانوي (B1)

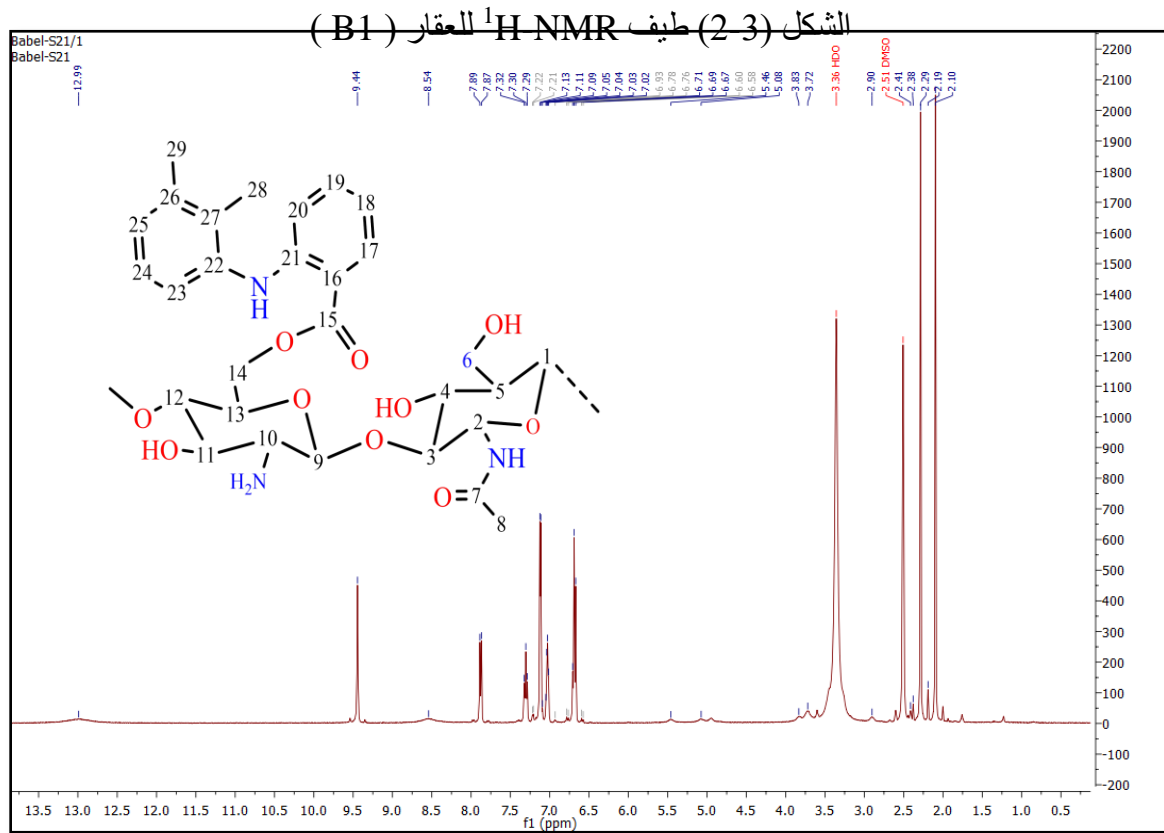
أظهرت نتائج طيف الأشعة تحت الحمراء FT-IR في الشكل (1-3) للمركب (B1) عن وجود عدة حزم امتصاص رئيسية ، إذ نلاحظ حزمة (3419.25cm^{-1}) تعود إلى مجموعة (O-H) وتكون حادة لعدم وجود الأصرة الهيدروجينية، و حزمة امتصاص عند (3182.69cm^{-1}) ناتجة من الاهتزاز لمجموعة (N-H)، وكذلك اظهر الطيف حزمة امتصاص عند (3080.32cm^{-1}) وتمثل مط الاصرة بين (C-H) الأروماتية أما عند (2976.16 cm^{-1}) وتمثل مط الاصرة (C-H) الألفاتية، وأظهر الطيف حزمة امتصاص عند (1726.29cm^{-1}) وتمثل مط مجموعة الاستر (O-C=O)،

أما بالنسبة لحزمة امتصاص (1681.93cm^{-1}) فهي تمثل مجموعة الامايد (N-C=O)، أما بالنسبة لحزمة (C-O) فهي ظهرت عند (1263.37cm^{-1}).



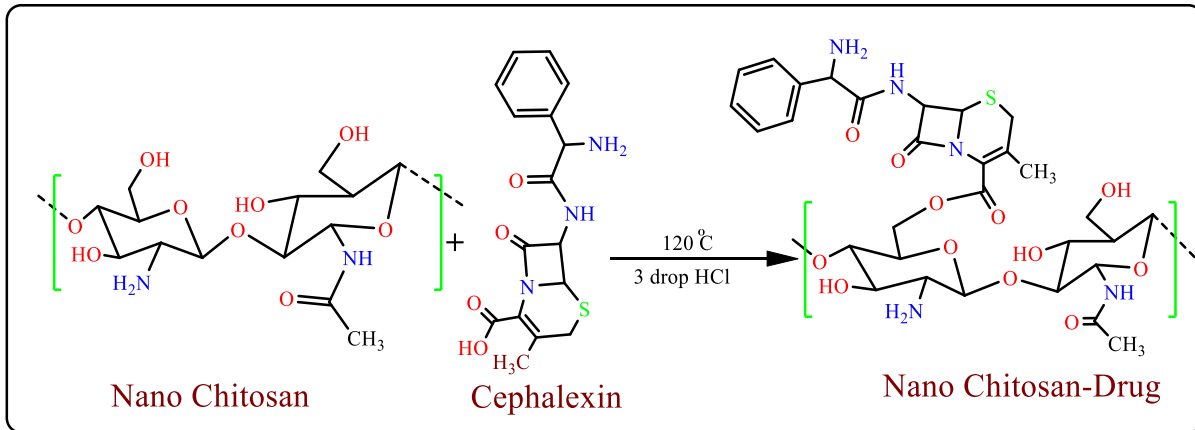
الشكل (1-3) طيف FT-IR للعقار (B1)

أما بالنسبة لطيف الرنين النووي المغناطيسي ($^1\text{H-NMR}$) في الشكل (2-3) للمركب (B1) فقد أظهرت مجموعة من الإشارات. فالإشارة التي ظهرت عند (12.8 ppm) هي لبروتون الهيدروجين في مجموعة الهيدروكسيل الحامضية، والإشارة التي ظهرت عند (9.8 ppm) هي لبروتون الهيدروجين في مجموعة الأمين الثانوي، أما الإشارة التي ظهرت عند (9.49 ppm) هي لبروتون الهيدروجين في مجموعة الأمين الأولي، وظهرت الإشارة عند (7.8 ppm) التي ترجع إلى البروتون في موقع بارا. أما الإشارتين (7.34 ppm) و (6.8 ppm) فأنهما يدلان على الهيدروجين في الحلقة الأروماتية. وبالنسبة للإشارة التي ظهرت عند (3.4 ppm) فأنها تدل على الهيدروجين في مجموعة (CH_2) التي بالقرب من ذرة أوكسجين ذات الكهروسالبية العالية. أما الإشارة (2.5 ppm) فهي تعود إلى المذيب (DMSO-d^6)، والإشارة التي تليها (2.3 ppm) فهي ترجع إلى مجموع المثل في الموقع أورثو. أما الإشارة (2.1 ppm) فهي لمجموعة المثل التي بالقرب من مجموعة الكربونيل (C=O).



3.1.2 تحضير عقار السيفالكسين مع الكيتوسان النانوي (B2)

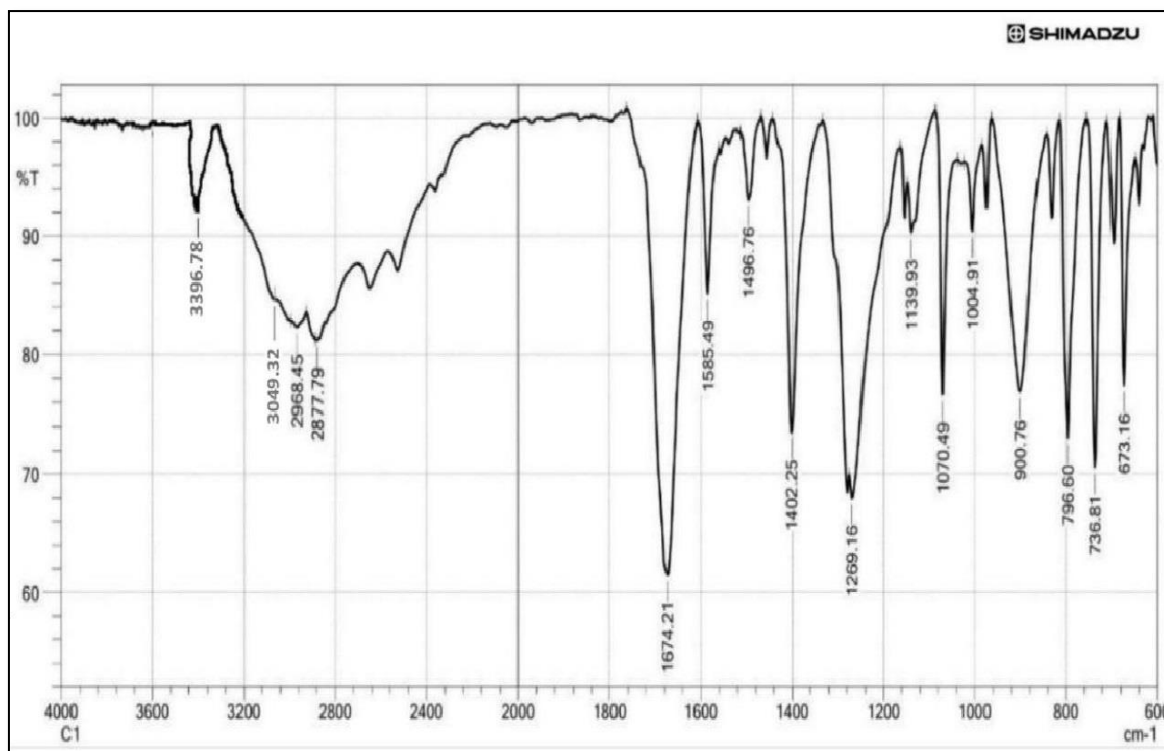
تم إذابة عقار السيفالكسين (9.9gm , 0.03 moles) في THF مع قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز وبعدها تم اضافته إلى الكيتوسان النانوي (5.0 gm , 0.000012 moles) ومن ثم اجرينا عملية التصعيد (Reflection). واخيراً تم غسل الراسب بمحلول مكون من نسبة (2:2) من ثنائي اثيل إيثر و (2.0 M) هيدروكسيد الصوديوم ومن ثم ترك ليجف كما في المعادلة التحضير التالية:



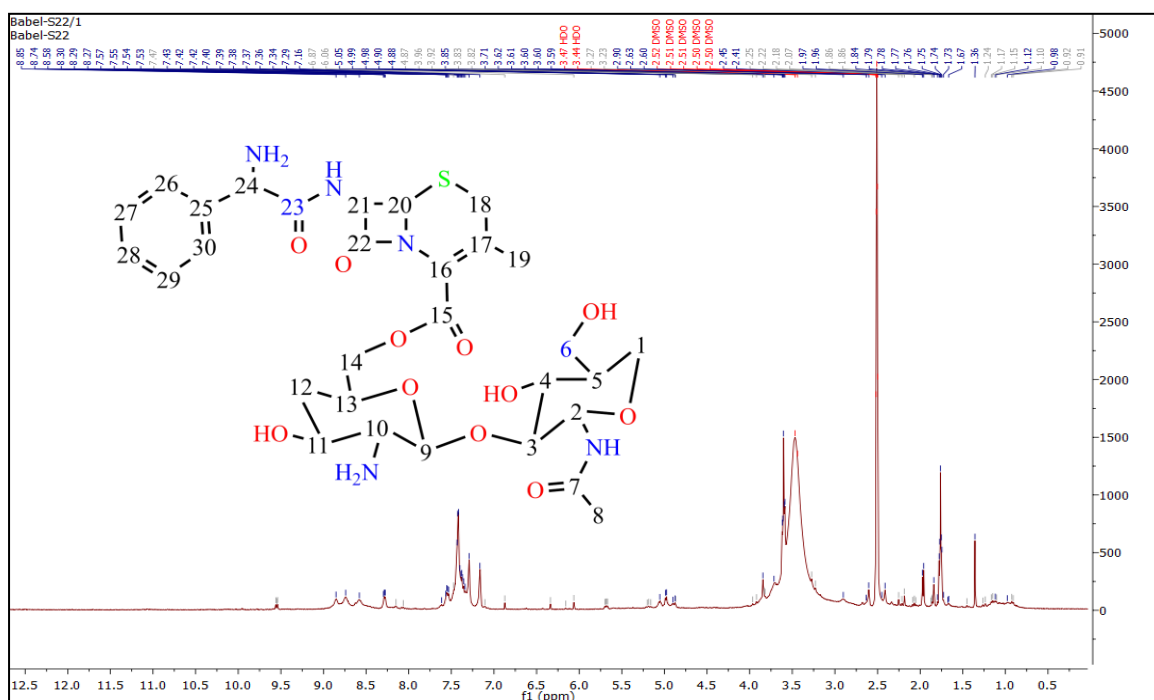
المعادلة (2-3) تفاعل عقار السيفالكسين مع الكيتوسان النانوي (B2)

أظهرت نتائج طيف الأشعة تحت الحمراء FT-IR في الشكل (3-3) للمركب (B2) عن وجود عدة حزم امتصاص رئيسية، إذ نلاحظ حزمة (3396.78cm^{-1}) تعود إلى مجموعة (O-H) وتكون حادة لعدم وجود الأصرة الهيدروجينية، و حزمة امتصاص عند (3049.32cm^{-1}) ناتجة من الاهتزاز لمجموعة الأمين، وكذلك اظهر الطيف حزمة امتصاص عند (2968.45cm^{-1}) وتمثل الاصرة بين (C-H) الأروماتية، أما عند (2877.79cm^{-1}) وتمثل الاصرة بين (C-H) الألفاتية، وأظهر الطيف حزمة امتصاص عند (1674.21cm^{-1}) مدمجة فيها مجموعتي الاستر (O-C=O) و الامايد (N-C=O)، أما حزمة (C-O) فهي ظهرت عند (1269.16cm^{-1}).

اما بالنسبة لطيف الرنين النووي المغناطيسي ($^1\text{H-NMR}$) في الشكل (4-3) للمركب (B2) فقد أظهرت مجموعة من الإشارات. ظهرت إشارة عند 9.5 ppm تعود إلى مجموعة الامايد في بوليمر الكيتوسان النانوي أما الإشارتان اللتان ظهرتتا عند 8.74 , 8.72 ppm فهما يدلان عن مجموعتي الامايد الموجودتان ضمن العقار. إشارة عند 7.75 – 7.16 ppm لبروتون الهيدروجين في الحلقة الأورماتية. أما الإشارة التي ظهرت عند 2.5 ppm فهي تعود إلى المذيب (DMSO-d^6). وتظهر إشارة عند 1.43 ppm لذرة الكربون رقم (8). وتظهر إشارة عند 0.9 ppm لذرة الكربون رقم (19).



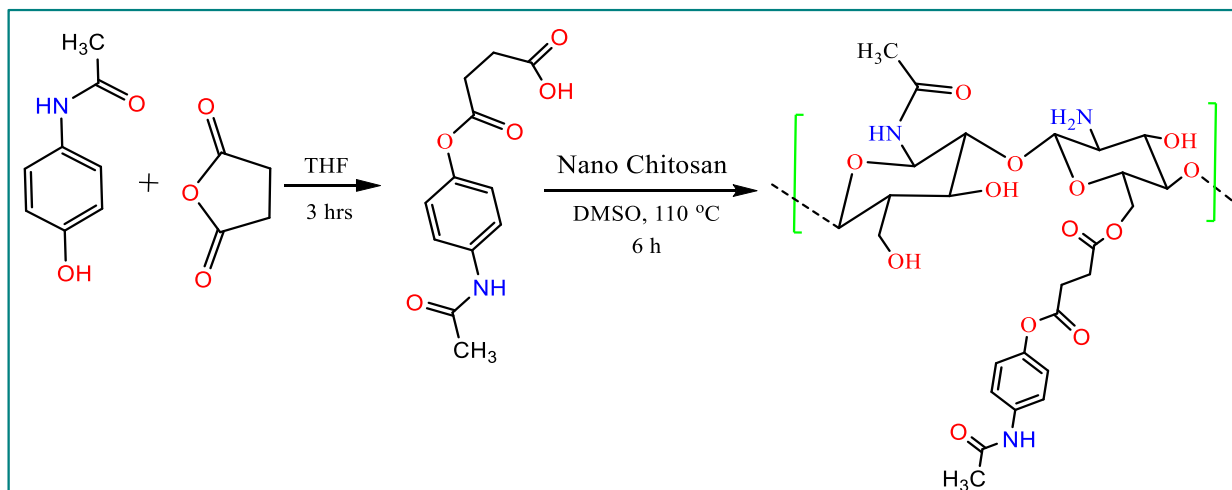
الشكل (3-3) طيف FT-IR للعقار (B2)



الشكل (4-3) طيف $^1\text{H-NMR}$ للعقار (B2)

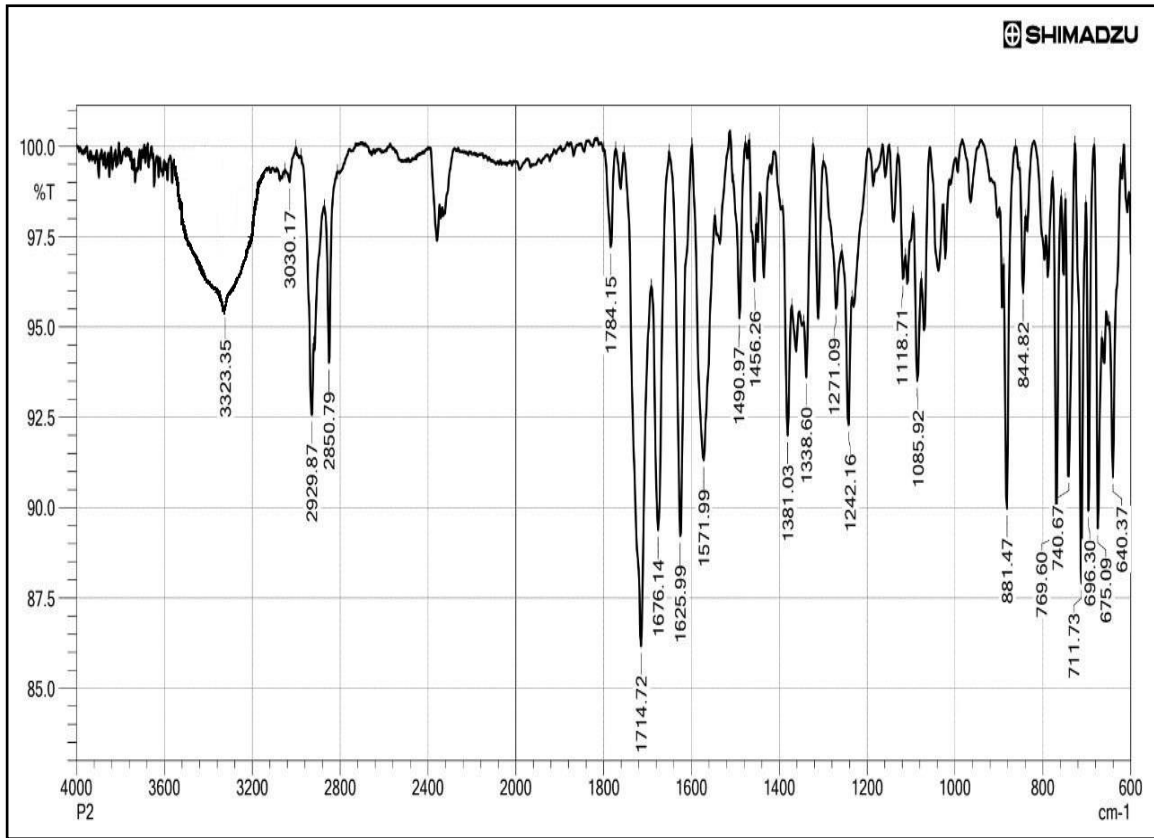
3.1.3 تحضير عقار الباراسيتيمول مع الكيتوسان النانوي (B3)

تم إذابة عقار الباراسيتيمول (4.53 gm , 0.03 moles) في THF مع (1)mol من انهدريد السكسينيك مع التحريك والتسخين لمدة 3 ساعات ثم رشح الراسب ومن ثم تم اذابت الراسب في المذيب (DMSO) مع إضافة قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز وبعدها تم اضافته إلى الكيتوسان النانوي (5.0 gm , 0.000012 moles) ومن ثم اجرينا عملية التسخين بدرجة (110 °C) مع التحريك المستمر لمدة 6 ساعات ، واخيراً تم غسل الراسب بمحلول مكون من نسبة (2:2) من ثنائي اثيل إيثر و (M) 2.0 هيدروكسيد الصوديوم ومن ثم ترك ليجف لمدة 16 ساعة كما في المعادلة التحضير التالية:



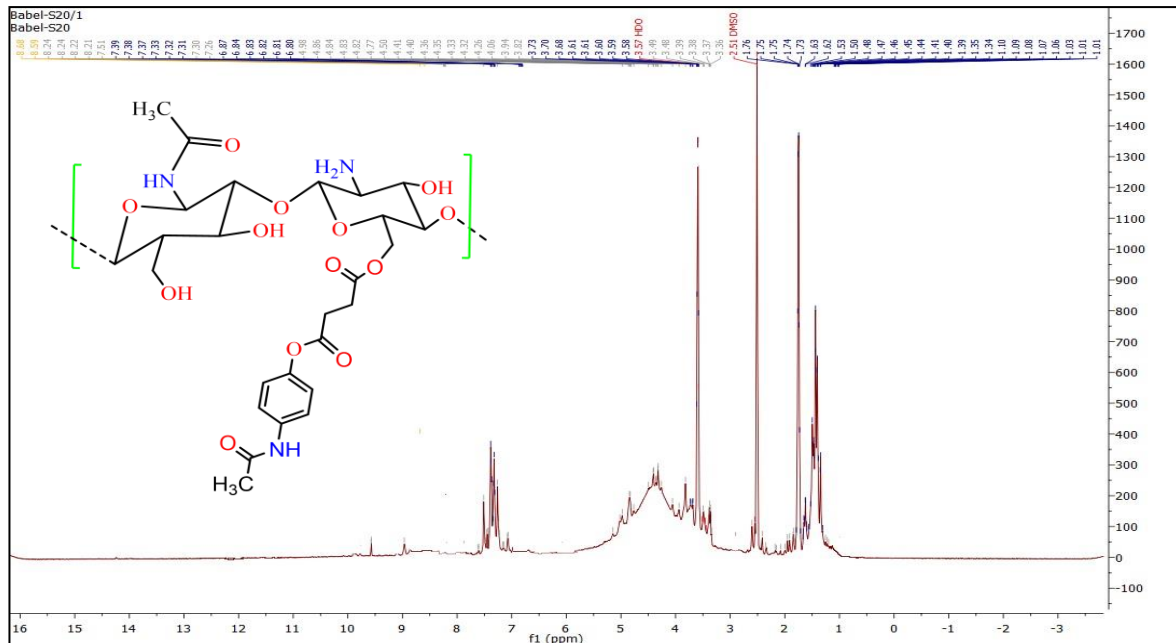
المعادلة (3 - 3) تفاعل عقار الباراسيتيمول مع الكيتوسان النانوي (B3)

أظهرت نتائج طيف الأشعة تحت الحمراء FT-IR ، في الشكل (3-5) للمركب (B3) عن وجود عدة حزم امتصاص رئيسية، إذ نلاحظ حزمة امتصاص عند (3323.35cm^{-1}) مدمجة فيها مجموعتي الهيدروكسيل (O-H) ومجموعة الأمين (N-H)، وحزمة (3030.17cm^{-1}) وتمثل الاصرة (C-H) الأروماتية ، وكذلك اظهر الطيف حزمة امتصاص عند (2829.87cm^{-1}) وتمثل الاصرة (C-H) الألفاتية، وأظهر الطيف حزمة امتصاص عند (1714.72cm^{-1}) وتمثل مجموعة الاستر (O-C=O)، أما بالنسبة لحزمة امتصاص (1676.14cm^{-1}) فهي تمثل مجموعة الامايد (N-C=O)، أما بالنسبة لحزمة (C-O) فهي ظهرت عند (1271.09cm^{-1}) .



الشكل (5-3) طيف FT-IR للعقار (B3)

اما بالنسبة لطيف الرنين النووي المغناطيسي ($^1\text{H-NMR}$) ، في الشكل (6-3) للمركب (B3) فقد أظهرت مجموعة من الإشارات. ظهرت إشارة عند 9.5 ppm تعود إلى مجموعة الامايد في بوليمر الكيتوسان النانوي أما الإشارتان اللتان ظهرتتا عند 8.74 , 8.72 ppm فهما يدلان عن مجموعتي الامايد الموجودتان ضمن العقار. و ظهرت مجموعة من الإشارات (6.8 – 7.4) ppm لبروتون الهيدروجين في الحلقة الاورماتية. بالإضافة إلى ظهور إشارة عند 4.45 ppm تشير إلى وجود مجموعة هيدروكسيل الكيتوسان النانوي. أما الإشارة التي ظهرت عند 2.5 ppm فهي تعود إلى المذيب (DMSO-d^6) وتظهر إشارة عند 1.8 ppm للبروتونات C-H للميثيلين في الذرات، تظهر إشارة عند 1.01 ppm لمجموعة الميثيل في الكيتوسان النانوي.

الشكل (6-3) طيف $^1\text{H-NMR}$ للعقار (B3)

من الاطياف اعلاه يمكن الاستنتاج والاستدلال على انه تظهر عدة حزم امتصاص في طيف الأشعة تحت الحمراء FT-IR وهي تتفق مع الدراسات السابقة فالحزمة التي تظهر بين ($3300 - 3500 \text{ cm}^{-1}$) ناتجة من الاهتزاز لمجموعة الأمين (N-H) [174]. أما الحزمة التي تظهر بين ($3000 - 3600 \text{ cm}^{-1}$) تعود إلى مجموعة (O-H) والسبب وجود الأصرة الهيدروجينية [175]. كذلك يظهر الطيف حزمة امتصاص بين ($2900 - 3100 \text{ cm}^{-1}$) فتمثل الاصرة بين (C-H) في الحلقة الأروماتية [176] ، أما الحزمة التي تظهر من ($2800 - 3000 \text{ cm}^{-1}$) فتمثل الاصرة بين (C-H) الألفاتية [177] ، أما مجموعة الاستر و مجموعة الامايد تظهر حزم امتصاصا في الطيف بين ($1600-1800 \text{ cm}^{-1}$) [178]. أما بالنسبة لحزمة (C-O) فهي تظهر في الطيف [179] ($1200-1250 \text{ cm}^{-1}$).

اما بالنسبة لطيف الرنين النووي المغناطيسي فقد اعطى نتائج تتفق مع الدراسات السابقة حيث هذه النتائج تعتمد على عدة عوامل تزيد من قيمة ppm وابتعادها عن TMS في طيف الرنين المغناطيسي $^1\text{H-NMR}$ ومن هذه العوامل الرنين في حلقه البنزين حيث تظهر الإشارة من ppm (6 – 7.5) [180] والرنين [181] والكهروسالبية [182] وكذلك مواقع ذرات الكربون سواء كانت (أولي أم ثانوي أم ثالثي) التي تحتوي على بروتون الهيدروجين والتي تبدأ من (1-5) حيث تزداد بحسب موقعها و الذرات التي ترتبط بها ارتباطاً مباشراً [183]، وظهور إشارة المذيب (DMSO-d_6) عند ppm (2.5) دائماً [184]. أما الإشارة التي تظهر بين ppm (8 – 10) التي تعود للبروتون في مجموعة الامايد [185].

3.2 خواص المركبات الدوائية النانوية المحضرة:

3.2.1 خاصية الذوبان

تمت دراسة خاصية الذوبان للكييتوسان النانوي المرتبط مع الأدوية (حامض الميفيناميك، السيفالكسين، الباراسيتيمول)، في مذيبات مختلفة (ماء منزوع الايونات، الأسيتون، الإيثانول، الهكسان، DMSO، الكلوروفورم، التولوين)، وتمت ملاحظة قابلية ذوبان هذه البوليمرات حيث بعضها ذابت تمامًا (+) في بعض المذيبات، وقسم من هذه البوليمرات كانت قابلية ذوبانها في بعض المذيبات قليل أي يذوب جزء منها فقط (جزئي)، وبعض البوليمرات لم تذوب نهائيًا في بعض المذيبات (-)، تم ملاحظة ان جميع العقاقير ذابت في المذيبان الايثانول و DMSO، اما المذيبان الهكسان والتولوين لم يذوب فيها اي من العقاقير المستخدمة عكس المذيبان السابقان، اما بالنسبة للعقار (B1) فقد تم ملاحظة ان ذوبانه كان جزئيا في المذيب الكلوروفورم، اما عقار (B2) فأن ذوبانه ايضاً كان جزئياً ولكن في المذيب ماء منزوع الايونات، كما موضح في جدول (1-3).

جدول (1-3): ذوبانية عقار الكييتوسان النانوي المرتبط مع الأدوية

عقار الكييتوسان النانوي	ماء منزوع الايونات	اسيتون	ايثانول	هكسان	DMSO	كلوروفورم	تلوين
B1	-	-	+	-	+	جزئي	-
B2	جزئي	+	+	-	+	-	-
B3	+	+	+	-	+	-	-

3.2.2 إطلاق الدواء

باستخدام جهاز الطيف الضوئي (UV. -Vis.). تم قياس إطلاق العقار المحضر مع الكييتوسان النانوي في أربعة من محاليل بفر (2.2 ، 6.0 ، 7.2 ، 8.0) pH عند درجة حرارة ثابتة (37°C). كما موضح في الجداول من (2 - 3) إلى (5 - 3) والأشكال من (3 - 7) إلى (3 - 14) تمثل إطلاق الدواء المحضر من الكييتوسان النانوي مع العقار.

جدول (2-3): زمن تحرر الدواء في (الساعة واليوم) من عقاقير الكييتوسان النانوي في (pH=2.2) عند (37°C)

اطلاق الدواء			الوقت
أنواع العقاقير المرتبطة مع الكيتوسان النانوي			(الساعة)
B3	B2	B1	
1.293 nm	1.733 nm	1.325 nm	1
1.338 nm	1.776 nm	1.367 nm	2
1.376 nm	1.818 nm	1.397 nm	3
1.429 nm	1.868 nm	1.449 nm	4
1.429 nm	1.868 nm	1.449 nm	5
			(اليوم)
1.459 nm	1.991 nm	1.514 nm	1
1.535 nm	2.151 nm	1.597 nm	2
1.637 nm	2.279 nm	1.692 nm	3
1.728 nm	2.358 nm	1.786 nm	4
1.828 nm	2.455 nm	1.897 nm	5
1.917 nm	2.563 nm	1.998 nm	6
2.019 nm	2.664 nm	2.132 nm	7
2.177 nm	2.757 nm	2.228 nm	8
2.273 nm	2.886 nm	2.309 nm	9
2.341 nm	2.991 nm	2.419 nm	10
2.465 nm	3.142 nm	2.589 nm	11
2.465 nm	3.142 nm	2.589 nm	12

جدول (3-3): زمن تحرر الدواء في (الساعة واليوم) من عقاقير الكيتوسان النانوي في (pH =6.0) عند (37°C)

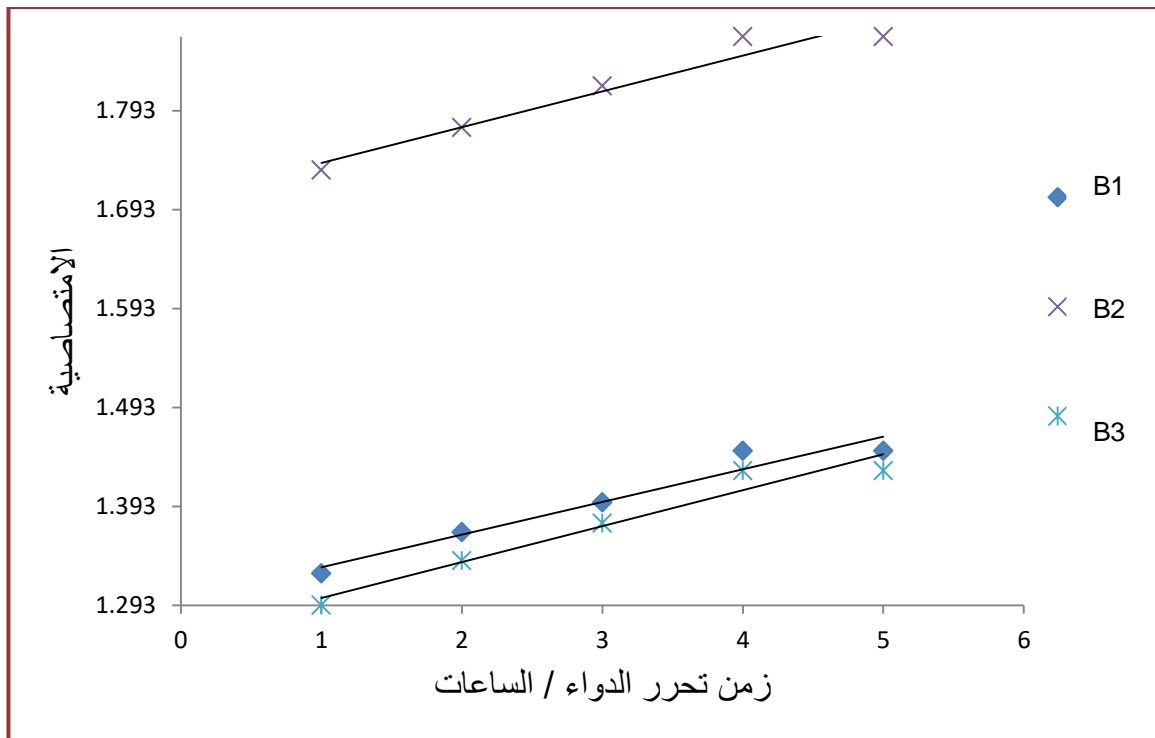
اطلاق الدواء			الوقت
أنواع عقاقير الكيتوسان النانوي			(الساعة)
B3	B2	B1	
1.222 nm	1.669 nm	1.255 nm	1
1.262 nm	1.709 nm	1.297 nm	2
1.301 nm	1.749 nm	1.334 nm	3
1.351 nm	1.799 nm	1.384 nm	4
1.351 nm	1.799 nm	1.384 nm	5
			(اليوم)
1.359 nm	1.812 nm	1.452 nm	1
1.475 nm	1.876 nm	1.545 nm	2
1.556 nm	1.965 nm	1.676 nm	3
1.694 nm	2.133 nm	1.765 nm	4
1.755 nm	2.211 nm	1.865 nm	5
1.833 nm	2.306 nm	1.962 nm	6
1.954 nm	2.414 nm	2.091 nm	7
1.993 nm	2.495 nm	2.133 nm	8
2.127 nm	2.596 nm	2.232 nm	9
2.233 nm	2.654 nm	2.335 nm	10
2.277 nm	2.753 nm	2.413 nm	11
2.277 nm	2.753 nm	2.413 nm	12

جدول (3-4): زمن تحرر الدواء في (الساعة واليوم) من عقاقير الكيتوسان النانوي في (pH =7.2) عند (37°C)

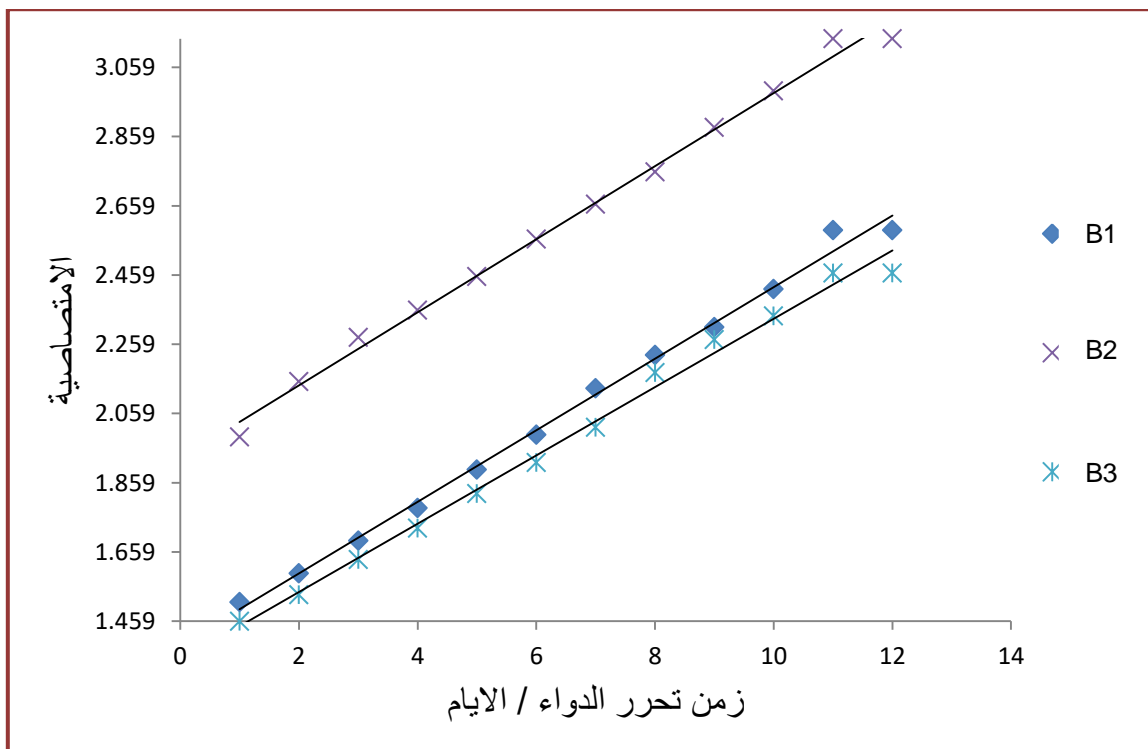
اطلاق الدواء			الوقت
أنواع عقاقير الكيتوسان النانوي			(الساعة)
B3	B2	B1	
1.439 nm	1.393 nm	1.475 nm	1
1.477 nm	1.438 nm	1.517 nm	2
1.517 nm	1.476 nm	1.557 nm	3
1.567 nm	1.529 nm	1.604 nm	4
1.567 nm	1.529 nm	1.604 nm	5
			(اليوم)
1.699 nm	1.554 nm	1.797 nm	1
1.788 nm	1.688 nm	1.928 nm	2
1.948 nm	1.797 nm	2.095 nm	3
2.114 nm	1.996 nm	2.224 nm	4
2.239 nm	2.152 nm	2.353 nm	5
2.318 nm	2.243 nm	2.457 nm	6
2.484 nm	2.335 nm	2.575 nm	7
2.644 nm	2.436 nm	2.785 nm	8
2.766 nm	2.555 nm	2.843 nm	9
2.915 nm	2.688 nm	2.992 nm	10
3.077 nm	2.784 nm	3.200 nm	11
3.077 nm	2.784 nm	3.200 nm	12

جدول (3-5): زمن تحرر الدواء في (الساعة واليوم) من عقاقير الكيتوسان النانوي في (pH =8.0) عند (37°C)

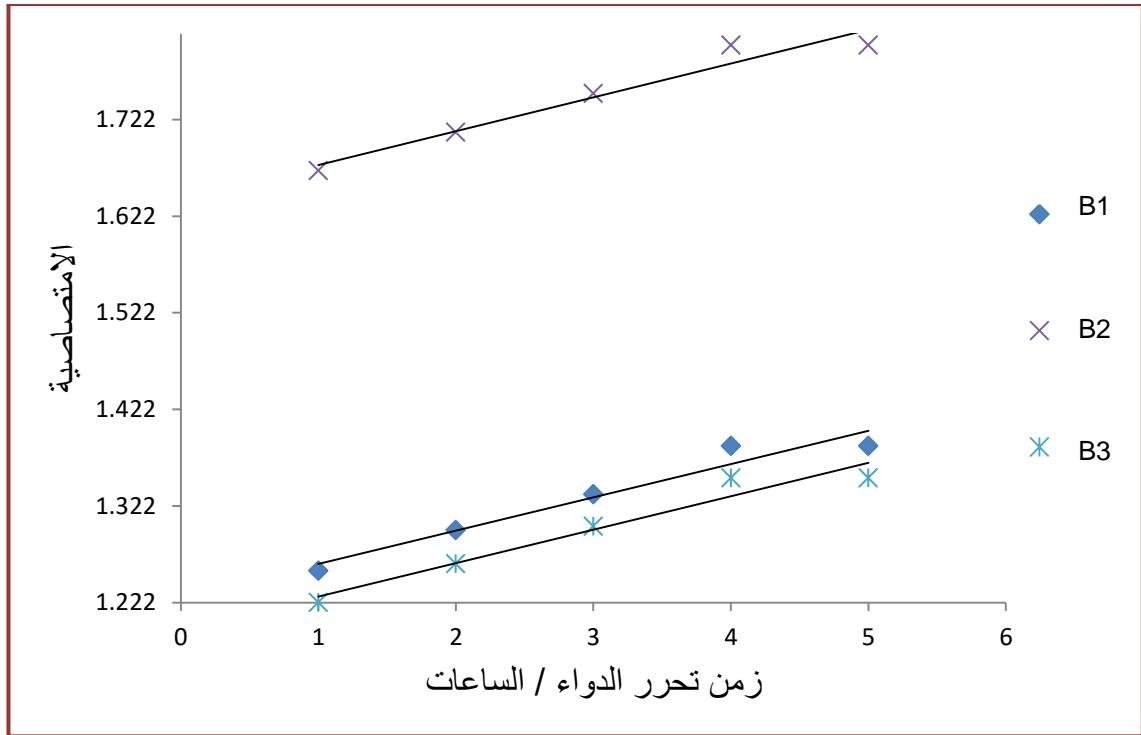
اطلاق الدواء			الوقت
أنواع عقاقير الكيتوسان النانوي			(الساعة)
B3	B2	B1	
1.539 nm	1.493 nm	1.575 nm	1
1.577 nm	1.538 nm	1.617 nm	2
1.617 nm	1.576 nm	1.657 nm	3
1.667 nm	1.629 nm	1.706 nm	4
1.667 nm	1.629 nm	1.706 nm	5
			(اليوم)
1.997 nm	1.799 nm	2.112 nm	1
2.125 nm	1.999 nm	2.223 nm	2
2.288 nm	2.155 nm	2.394 nm	3
2.344 nm	2.188 nm	2.698 nm	4
2.556 nm	2.223 nm	3.000 nm	5
2.776 nm	2.256 nm	3.213 nm	6
3.000 nm	2.288 nm	3.325 nm	7
3.166 nm	2.333 nm	3.527 nm	8
3.242 nm	2.366 nm	3.682 nm	9
3.444 nm	2.422 nm	3.857 nm	10
3.748 nm	2.665 nm	4.111 nm	11
3.748 nm	2.665 nm	4.111 nm	12



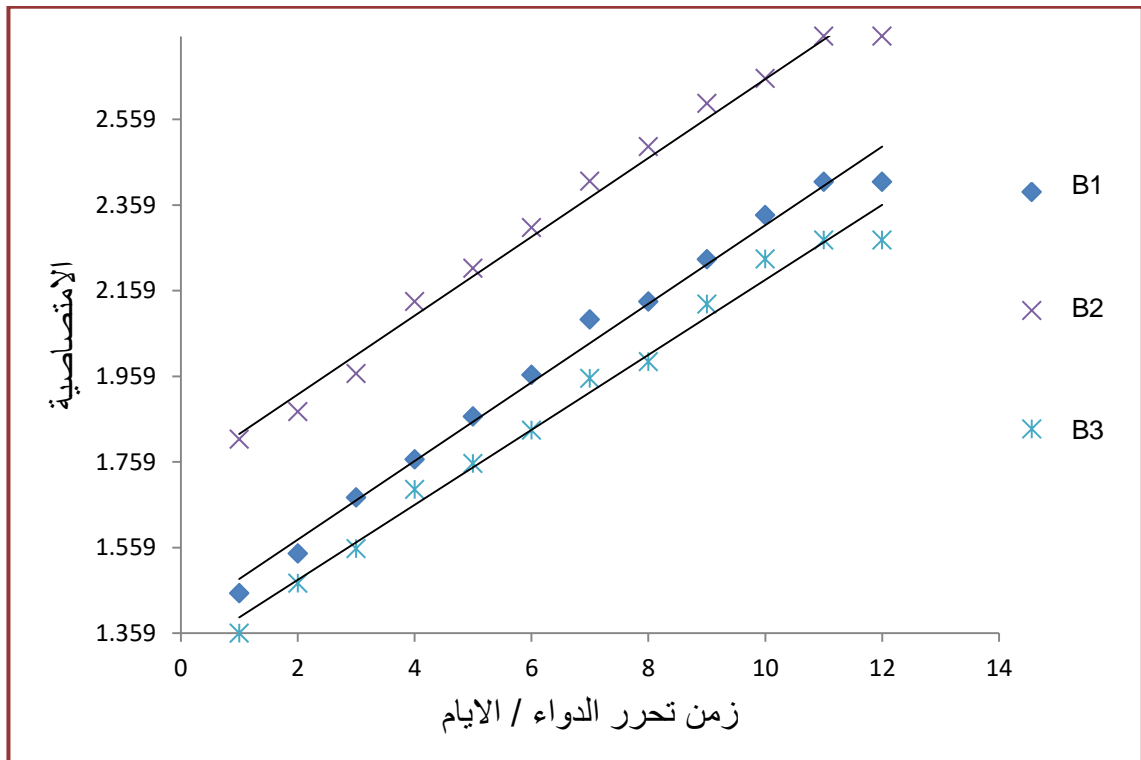
الشكل (7-3) منحنيات تحرير الدواء لكل ساعة من عقار الكيتوسان النانوي في (pH = 2.2) عند 37°C



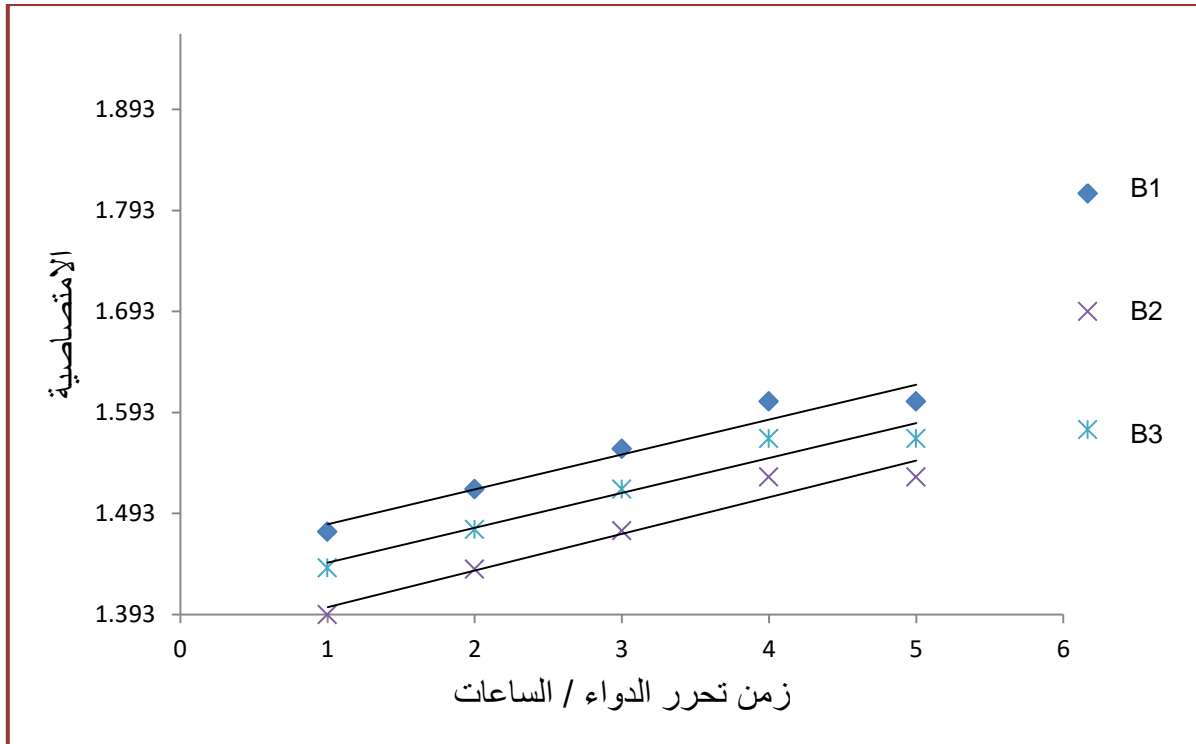
الشكل (8-3) منحنيات تحرير الدواء لكل يوم من عقار الكيتوسان النانوي في (pH = 2.2) عند 37°C



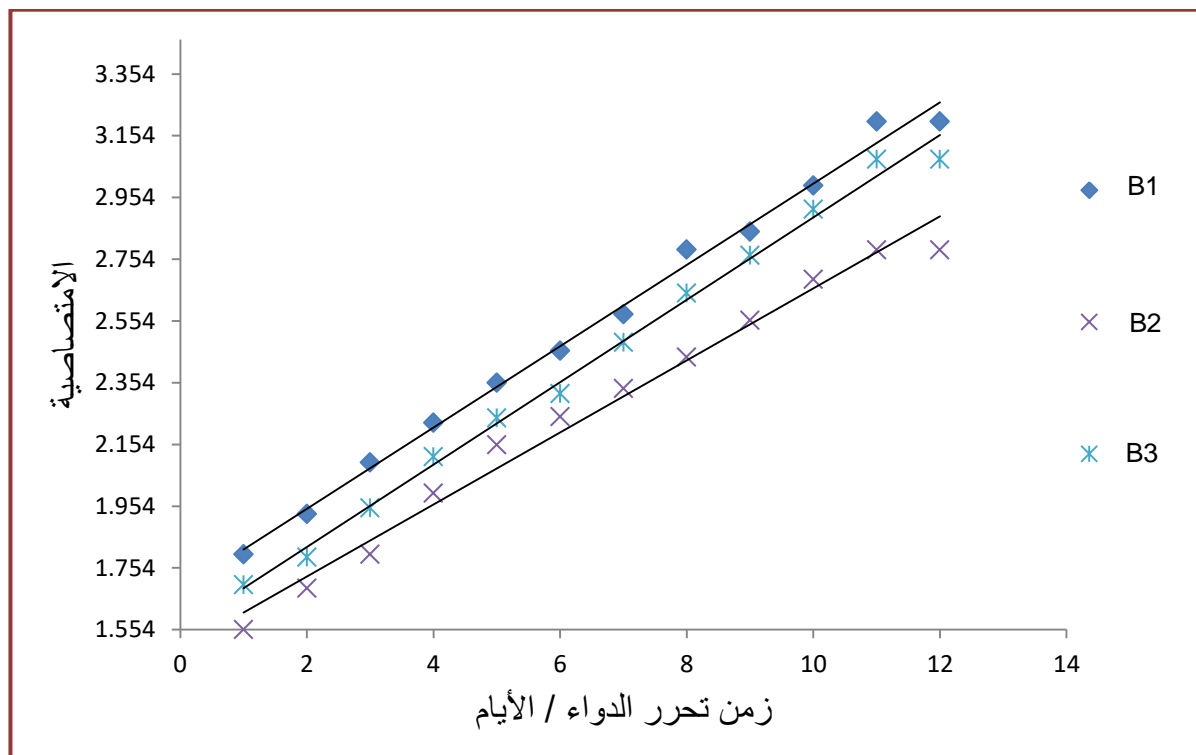
الشكل (3-9) منحنيات تحرير الدواء لكل ساعة من عقار الكيتوسان النانوي في (pH = 6.0) عند 37°C



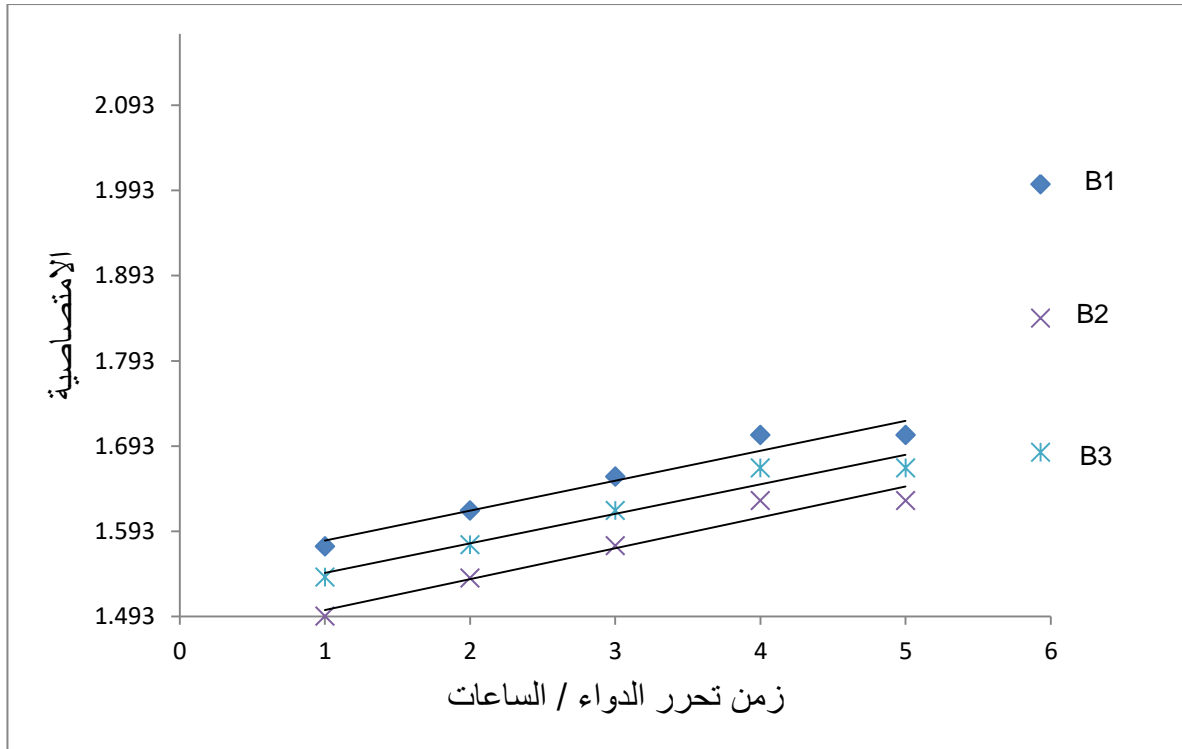
الشكل (3-10) منحنيات تحرير الدواء لكل يوم من عقار الكيتوسان النانوي في (pH = 6.0) عند 37°C



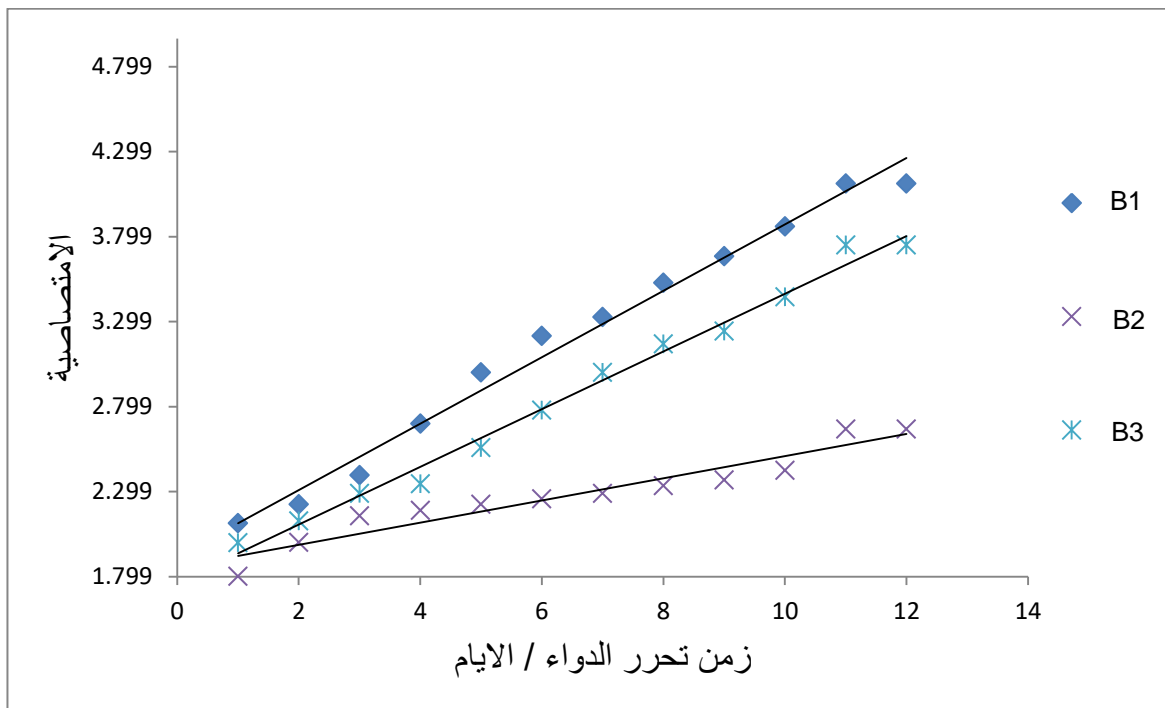
الشكل (11-3) منحنيات تحرير الدواء لكل ساعة من عقار الكيتوسان النانوي في (pH = 7.2) عند 37°C



الشكل (12-3) منحنيات تحرير الدواء لكل يوم من عقار الكيتوسان النانوي في (pH = 7.2) عند 37°C



الشكل (13-3) منحنيات تحرير الدواء لكل ساعة من عقار الكيتوسان النانوي في (pH = 8) عند 37°C



الشكل (14-3) منحنيات تحرير الدواء لكل يوم من عقار الكيتوسان النانوي في (pH = 8) عند 37°C

3.3 الالتحام الجزيئي Molecular Docking

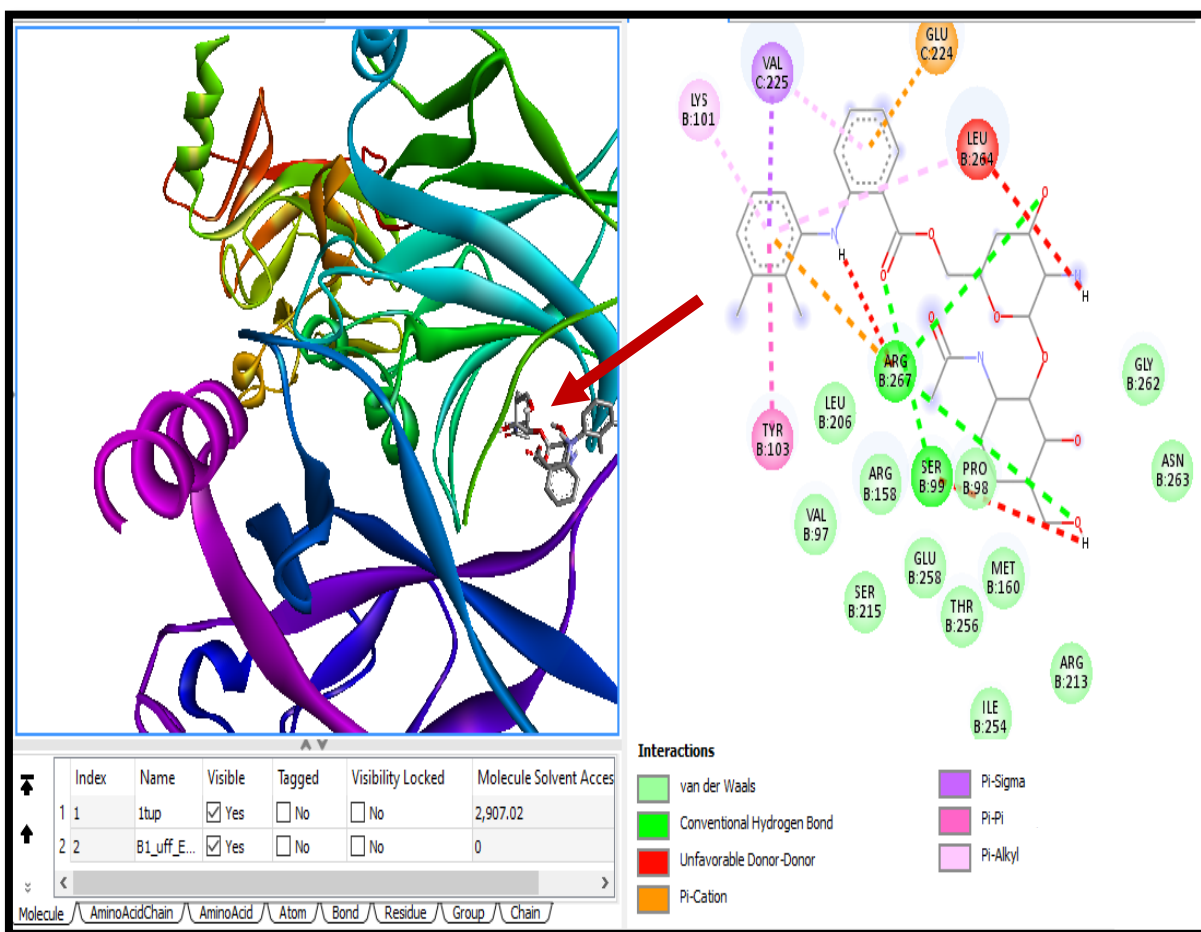
3.3.1 الالتحام الجزيئي لعقار (B1)

يوضح الجدول (3-6) طاقة ارتباط عقار (B1) مع الأحماض الأمينية الموجودة ضمن البروتينات لجين P53 و كذلك يوضح الحد الأدنى والحد الأعلى (RMSD). أما الشكل (3 – 15) يوضح ارتباط عقار (B1) مع الأحماض الأمينية التي يحتويها بروتين جين P53 لخط سرطان الرئة (A549) ومن هذه الأحماض: الحامضين الامينيين الارجينين (Arg) والذي يحمل الرقم التسلسلي (B:267) والسيرين (Ser) والذي يحمل الرقم التسلسلي (B:99) يرتبطان برابطة هيدروجينية ذات اللون الأخضر. اما الرابطة التي تظهر باللون الأحمر فهي بسبب التنافر بين مجموعة أمين البروتين مع مجموعة أمين العقار والتي تعود الى كل من الاحماض الارجينين (Arg) والذي يحمل الرقم التسلسلي (B:267) والسيرين (Ser) والذي يحمل الرقم التسلسلي (B:99) والليوسين (Leu) والذي يحمل الرقم التسلسلي (B:264). وكذلك ظهرت رابطة باللون البرتقالي (باي – كتيون) للحامضين الامينيين الارجينين (Arg) والذي يحمل الرقم التسلسلي (B:267) والكلوتاميك (Glu) والذي يحمل الرقم التسلسلي (C:224). اما الحامض الاميني الفالين (Val) الذي يحمل الرقم التسلسلي (C:225) فهو يكون رابطة باللون البنفسجي ويطلق على هذه الرابطة برابطة (باي – سكما). اما الحامض الاميني التايروسين (Tyr) الذي يحمل الرقم التسلسلي (B:103) فهو يكون رابطة (باي – باي) ذات اللون الوردي الداكن. اما الاحماض الامينية التي ظهرت برابطة ذات لون وردي فاتح يطلق عليها برابطة (باي – الكيل) فهي تعود لكل من الحامض الاميني الليوسين (Leu) والذي يحمل الرقم التسلسلي (B:264) والحامض الاميني الفالين (Val) الذي يحمل الرقم التسلسلي (C:225) و الحامض الاميني اللايسين (Lys) الذي يحمل الرقم التسلسلي (B:101). أما ما تبقى من الأحماض الأمينية التي ظهرت ذات اللون الأخضر الفاتح عند ارتباطها الجزيئي فأنها ترتبط مع البروتين بقوة فاندرفالز.

(Gly – Thr – Ser – Arg – Leu – Pro – Glu – Asn – Met – Ile – Val)

جدول (3-6) يوضح طاقة ارتباط عقار (B1)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
1tup_B1_uff_E=837.49	-7.6	0	0.0	0.0
1tup_B1_uff_E=837.49	-7.5	1	17.845	21.036
1tup_B1_uff_E=837.49	-7.5	2	17.93	20.949
1tup_B1_uff_E=837.49	-7.4	3	16.465	19.465
1tup_B1_uff_E=837.49	-7.4	4	17.303	20.772
1tup_B1_uff_E=837.49	-7.3	5	22.876	25.844
1tup_B1_uff_E=837.49	-7.3	6	17.664	20.655
1tup_B1_uff_E=837.49	-7.3	7	17.496	20.467
1tup_B1_uff_E=837.49	-7.3	8	18.315	21.684



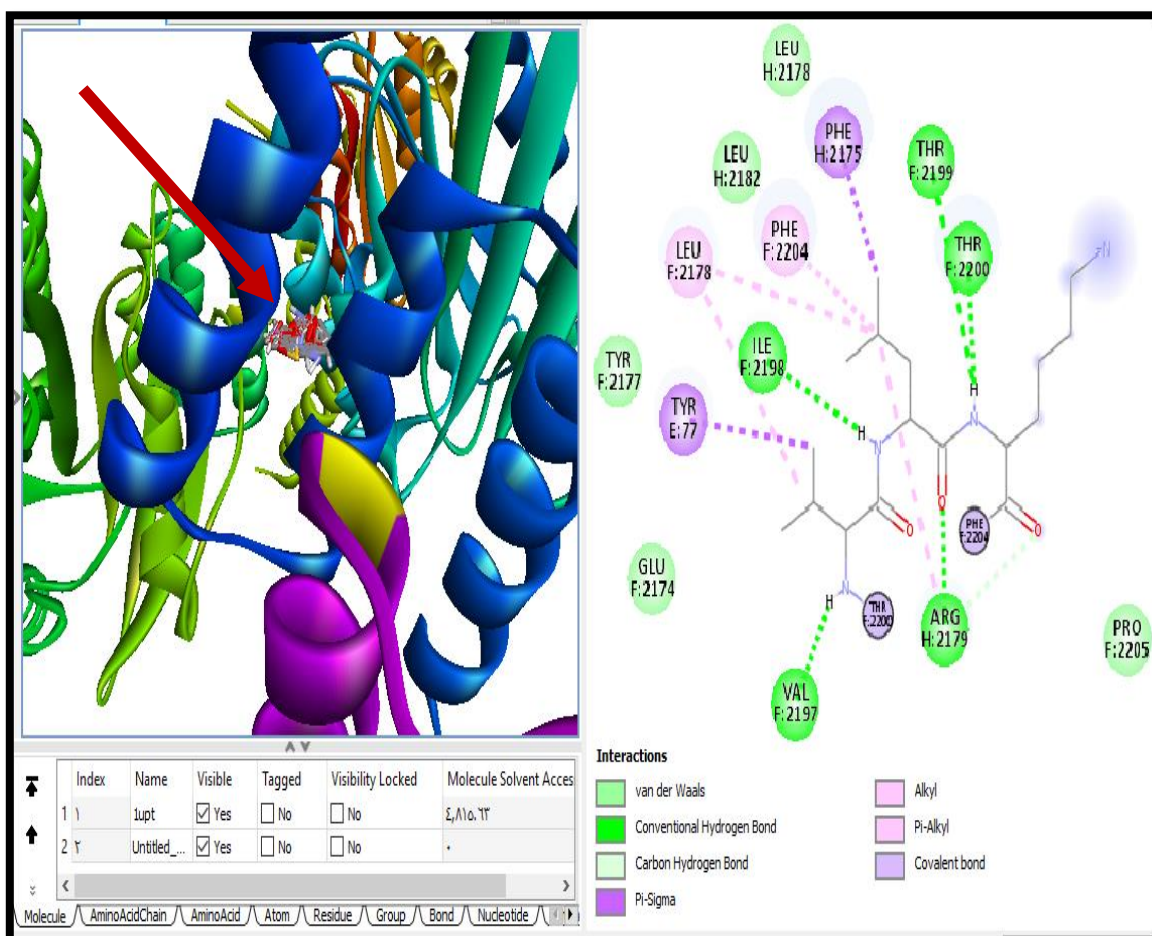
الشكل (3-15) يوضح ارتباط عقار (B1) مع الأحماض الأمينية

3.3.2 الالتحام الجزيئي لعقار (B2)

يوضح الجدول (3-7) طاقة ارتباط عقار (B2) مع الأحماض الأمينية الموجودة ضمن البروتينات لجين P53 وكذلك يوضح الحد الأدنى والحد الأعلى (RMSD). أما الشكل (3-16) يوضح ارتباط عقار (B2) مع الأحماض الأمينية التي يحتويها بروتين جين P53 ، حيث يرتبطان الحامضين الامينيين الفينيل ألانين (Phe) الذي يحمل الرقم التسلسلي (F:2204) و الثريونين (Thr) والذي يحمل الرقم التسلسلي (F:2200) برابطة تساهمية ذات اللون البنفسجي الفاتح، أما الأحماض الأمينية الثريونين (Thr) الذي يحمل الرقم التسلسلي (F:2200) و الفينيل ألانين (Phe) الذي يحمل الرقم التسلسلي (H:2175) و الفينيل ألانين (Phe) الذي يحمل الرقم التسلسلي (F:2204) و الليوسين (Lue) الذي يحمل الرقم التسلسلي (F:2178) ترتبط بروابط هيدروجين كاربون (C – H) ويكون لونها اخضر فاتح جداً، وكذلك الأحماض الأمينية الثريونين (Thr) الذي يحمل الرقمين التسلسليين (F:2199) (F:2200) و الفينيل ألانين (Phe) الذي يحمل الرقم التسلسلي (H:2175) والفالين (Val) الذي يحمل الرقم التسلسلي (F:2204) و الايزوليوسين (Ile) الذي يحمل الرقم التسلسلي (F:2198) و الارجينين (Arg) الذي يحمل الرقم التسلسلي (H:2179) ترتبط بروابط هيدروجينية ويكون لونها اخضر. وكذلك الحامضين الامينيين الفينيل ألانين (Phe) والذي يحمل الرقم التسلسلي (H:2175) والتايروسين (Tyr) الذي يحمل الرقم التسلسلي (E:77) ولكن يرتبطان برابطة (باي – سكما) ذات اللون البنفسجي الفاتح. وكذلك الأحماض الأمينية الليوسين (Leu) والذي يحمل الرقم التسلسلي (F:2178) والارجينين (Arg) الذي يحمل الرقم التسلسلي (H:2179) و الفينيل ألانين (Phe) الذي يحمل الرقم التسلسلي (F:2204) إنها ترتبط برابطة (باي – الكيل) ذات اللون الوردي. أما ما تبقى من الأحماض الأمينية التي ظهرت (Glu – Pro – Tyr – Leu) عند الارتباط الجزيئي ذات اللون الأخضر الفاتح فأنها ترتبط مع البروتين بقوة فاندر فالز.

جدول (3-7) يوضح طاقة ارتباط عقار (B2)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
1upt_Untitled_Document-2_uff_E=3399880013197.30	-23.2	0	0.0	0.0
1upt_Untitled_Document-2_uff_E=3399880013197.30	-22.5	1	36.559	37.71
1upt_Untitled_Document-2_uff_E=3399880013197.30	-22.4	2	2.006	2.591
1upt_Untitled_Document-2_uff_E=3399880013197.30	-22.0	3	0.652	3.322
1upt_Untitled_Document-2_uff_E=3399880013197.30	-21.8	4	25.388	26.014
1upt_Untitled_Document-2_uff_E=3399880013197.30	-21.8	5	37.049	38.173
1upt_Untitled_Document-2_uff_E=3399880013197.30	-21.5	6	38.989	39.866
1upt_Untitled_Document-2_uff_E=3399880013197.30	-21.4	7	26.075	26.771
1upt_Untitled_Document-2_uff_E=3399880013197.30	-21.4	8	37.496	38.514



الشكل (3-16) يوضح ارتباط عقار (B2) مع الأحماض الامينية

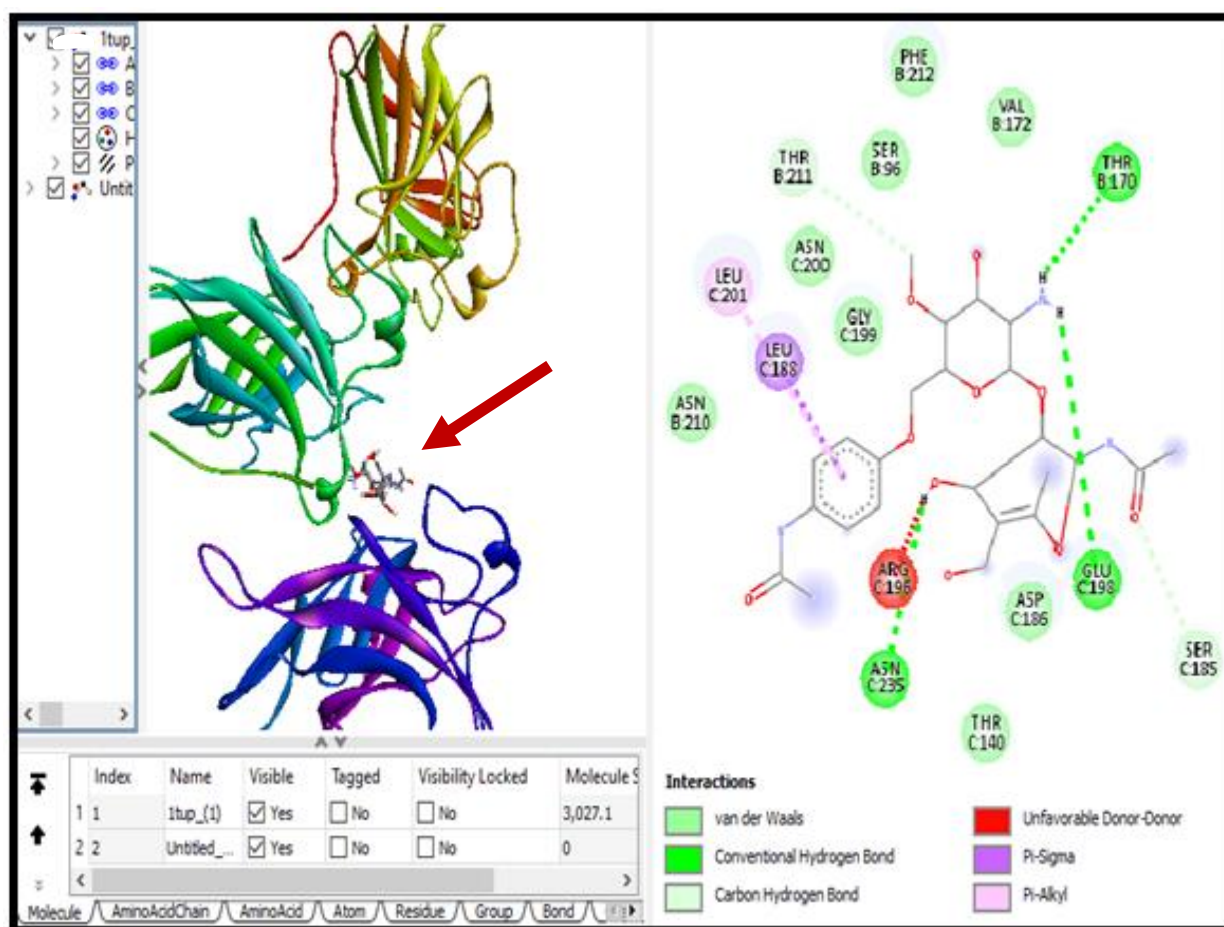
3.3.3 الالتحام الجزيئي لعقار (B3)

يوضح الجدول (3-8) طاقة ارتباط عقار (B3) مع الأحماض الأمينية الموجودة في بروتينات لجين P53 وكذلك يوضح الحد الأدنى والحد الأعلى (RMSD). ويبين الشكل (3-17) ارتباط عقار (B5) مع الأحماض الأمينية التي يحتويها بروتين جين P53 حيث يرتبطان الحامضين الامينيين السيرين (Ser) الذي يحمل الرقم التسلسلي (C:185) و الثريونين (Thr) والذي يحمل الرقم التسلسلي (B:211) برابطة كاربون هيدروجين (C-H) ذات اللون الأخضر الفاتح جداً، أما الأحماض الأمينية الثريونين (Thr) والذي يحمل الرقم التسلسلي (B:170) و الكلوتاميك (Glu) والذي يحمل الرقم التسلسلي (C:198) و الأسبارجين (Asn) والذي يحمل الرقم التسلسلي (C:235) حيث يرتبطان برابطة هيدروجينية ويكون لونها اخضر، أما الحامض الاميني الليوسين (Leu) والذي يحمل الرقم التسلسلي (C:188) فيرتبط برابطة (باي - سكما) ذات اللون البنفسجي، وكذلك الحامض الاميني الليوسين (Leu) والذي يحمل الرقم التسلسلي (C:201) ولكن يرتبط برابطة (باي - الكيل) ذات اللون الوردى، أما الحامض الاميني الأرجينين (Arg) والذي يحمل الرقم التسلسلي (C:196) حيث تكون الرابطة غير ملائمة بسبب التنافر بين مجموعة أمين البروتين مع مجموعة أمين العقار ذات اللون الأحمر لأن البروتين مانح للبروتون وكذلك الحامض مانح للبروتون. أما ما تبقى من الأحماض الأمينية التي

ظهرت (Gly - Phe - Thr - Ser - Asn - Asp - Val) عند الارتباط الجزيئي ذات اللون الأخضر الفاتح فأنها ترتبط مع البروتين بقوة فاندرو فاندر فالز.

جدول (3-8) يوضح طاقة ارتباط عقار (B3)

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
1tup_Unitled_Document-2_uff_E=307760030429.26	-16.9	0	0.0	0.0
1tup_Unitled_Document-2_uff_E=307760030429.26	-16.7	1	0.983	2.657
1tup_Unitled_Document-2_uff_E=307760030429.26	-16.5	2	13.018	14.575
1tup_Unitled_Document-2_uff_E=307760030429.26	-16.1	3	33.695	35.326
1tup_Unitled_Document-2_uff_E=307760030429.26	-16.0	4	0.999	2.858
1tup_Unitled_Document-2_uff_E=307760030429.26	-15.8	5	0.779	2.048
1tup_Unitled_Document-2_uff_E=307760030429.26	-15.7	6	26.72	28.226
1tup_Unitled_Document-2_uff_E=307760030429.26	-15.7	7	34.097	35.681
1tup_Unitled_Document-2_uff_E=307760030429.26	-15.7	8	0.668	2.898

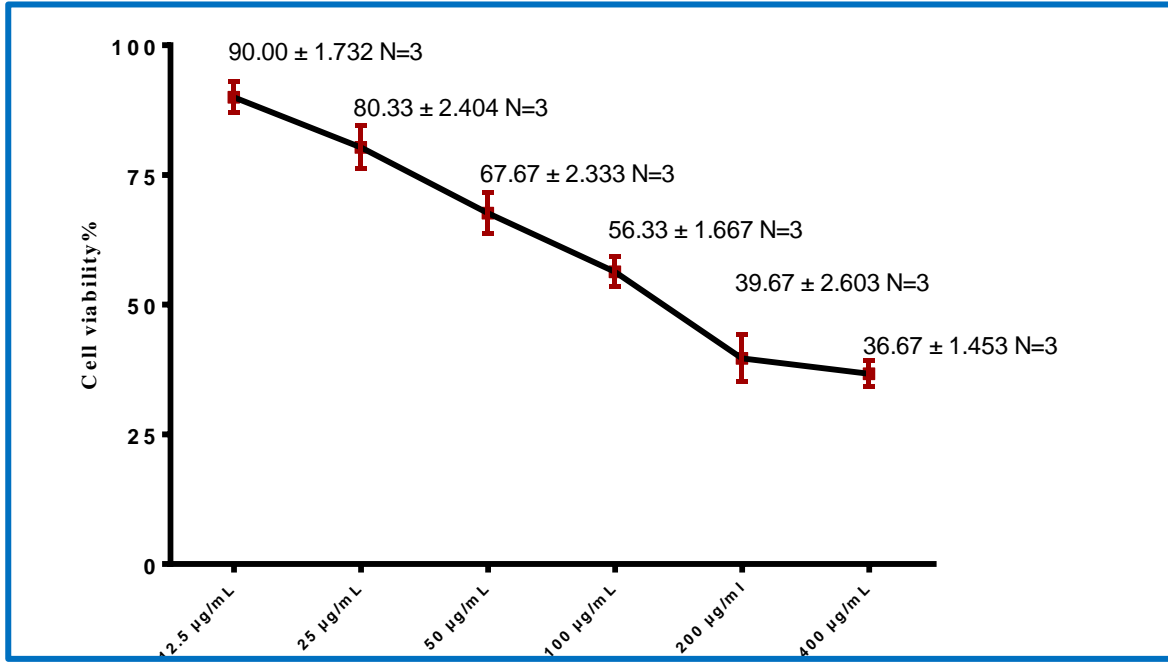


الشكل (3-17) يوضح ارتباط عقار (B3) مع الأحماض الامينية

بشكل عام مما تقدم فإن الدراسات أوضحت أن وجود الاصرة الهيدروجينية مهم في تركيب البروتينات لان استقراريتها تتأثر بوجود الاصرة الهيدروجينية [186]، وكذلك تموقع العقاقير المحملة نانويا في المواقع الفعالة وارتباطها مع عدد من الأحماض الأمينية المكونة للبروتين [187]، كلما زادت الاواصر الهيدروجينية زاد ارتباط الدواء مع الأحماض الأمينية وبذلك تزداد فاعلية الدواء المحمل نانويا [188].

3.4 فحوصات قياس السمية الخلوية (Cytotoxicity Assays)

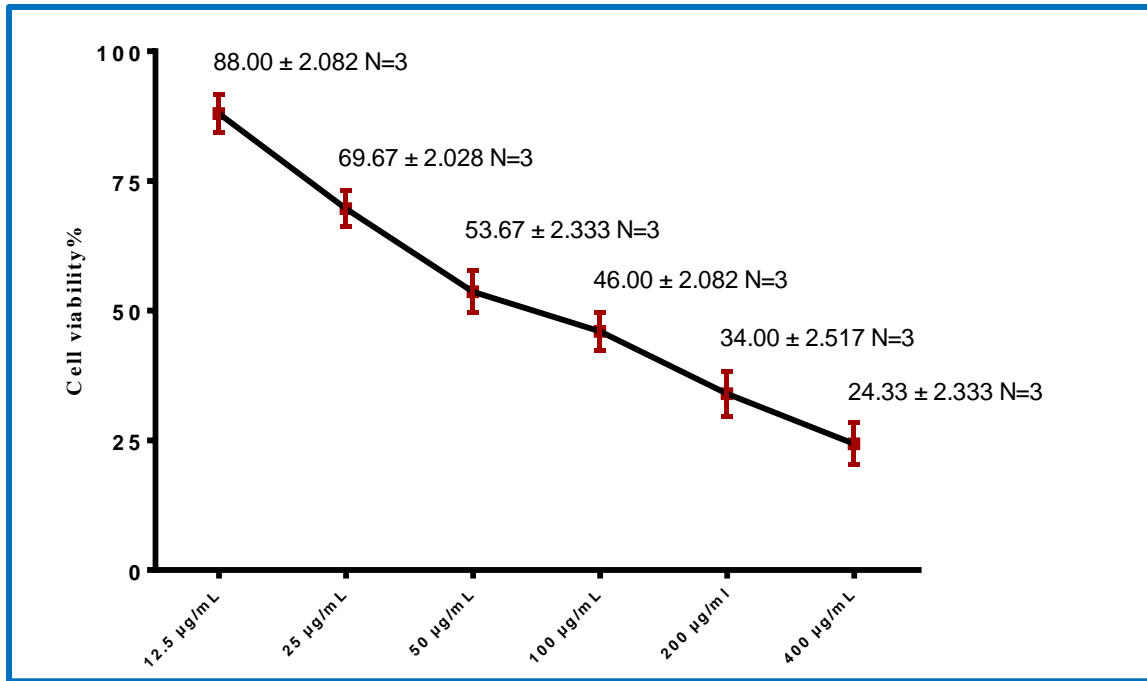
تم دراسة تأثير سمية الخلايا السرطانية لسرطان الرئة (A549) وتم اختبار نشاط سمية الخلايا وتكاثرها عنده تعرضها لعقاقير الكيتوسان النانوي كما نلاحظ في الشكل (3 - 18) والذي يوضح سمية الخلايا السرطانية (A549) عند تعرضها لعقار الكيتوسان النانوي فقط. حيث المحور (X) يمثل تركيز العقاقير والمحور (Y) يمثل سمية الخلايا السرطانية حيث نلاحظ في الشكل بزيادة تركيز عقار الكيتوسان النانوي تقل سمية الخلايا السرطانية في خط سرطان الرئة (A549) أي يقل انتشارها، فعند تركيز (12.5 µg/ml) كانت سمية الخلايا بمعدل وخطأ قياسي مقدار 90.00 ± 1.732 (N=3) و عندما زاد التركيز إلى (25 µg/ml) قلة سمية الخلية بمعدل وخطأ قياسي مقدار (80.33) ± 2.404 N=3 ، وبزيادة التركيز إلى (50 µg/ml) أصبحت السمية أقل بمعدل وخطأ قياسي مقداره (67.67 ± 2.333 N=3)، زود التركيز إلى (100 µg/ml) فكان معدل تركيز السمية (56.33 ± 1.667 N=3) ، وبتركيز (200 µg/ml) قلت كمية السمية إلى (39.67 ± 2.603 N=3)، ظهرت السمية بمعدل وخطأ قياسي مقداره (36.67) ± 1.453 N=3 عند تركيز (400 µg/ml) . وكانت قيمة $IC_{50} = 137.87$ µg/ml



الشكل (3 – 18) تأثير عقار الكيتوسان النانوي فقط على سمية خلايا الخط الخلوي لسرطان

الرئة نوع (A549) . $IC_{50} = 137.87 \mu g/ml$

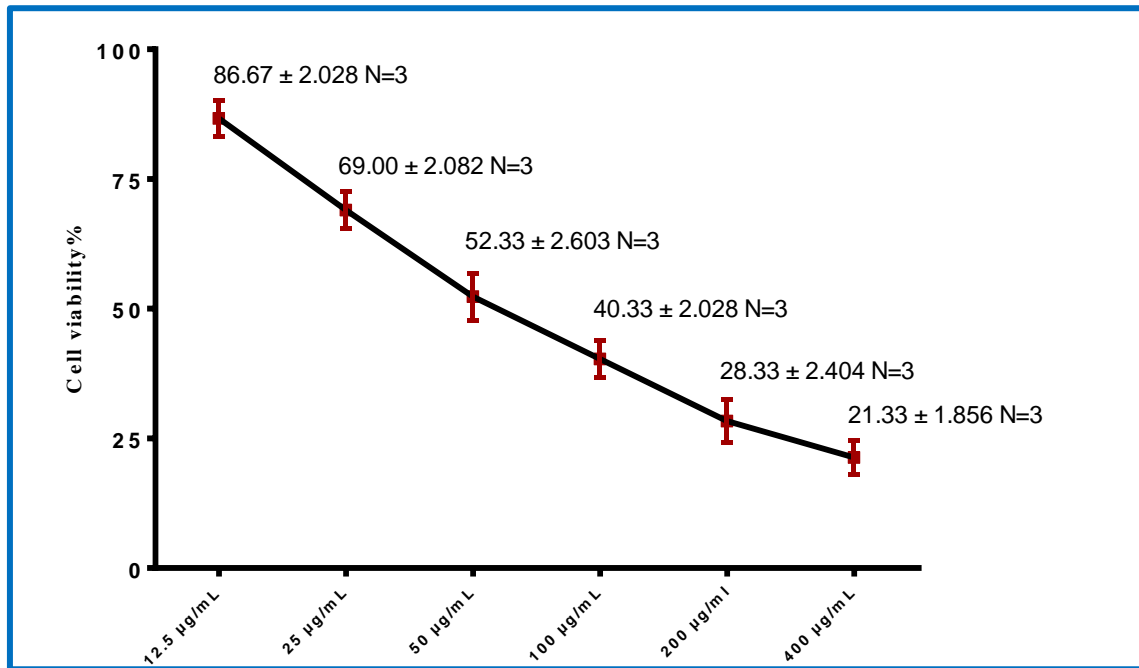
يوضح الشكل (3-19) سمية الخلايا السرطانية لخط سرطان الرئة (A549) بعد معاملتها بعقار (B1). حيث المحور (X) يمثل تركيز العقاقير والمحور (Y) يمثل سمية خط سرطان الرئة الخلوي (A549) حيث نلاحظ في الشكل أن استخدام تركيز (12.5 µg/ml) من العقار (B1) يصبح معدل السمية لخط سرطان الرئة الخلوي (A549) بمقدار (88.00 ± 2.028 N=3) و عندما زاد التركيز إلى (25 µg/ml) قلّت سمية الخط الخلوي لسرطان الرئة (A549) بمقدار (69.67 ± 2.028 N=3)، وبزيادة التركيز إلى (50 µg/ml) أصبحت كمية السمية اقل بنسبة (53.67 ± 2.333 N=3) ، تمت زيادة التركيز بالمعادلة بمقدار إلى (100 µg/ml) فكانت السمية المتبقية (46.00 ± 2.082 N=3)، ظهرت السمية بمعدل قياسي إلى (34.00 ± 2.517 N=3) وعند تعرضها لعقار (B1) بتركيز (200 µg/ml)، وعند استخدام التركيز (400 µg/ml) أصبح معدل السمية المتبقية (24.33 ± 2.333 N=3). كانت قيمة $IC_{50} = 102.55 \mu g/ml$



الشكل (3-19) تأثير عقار (B1) على سمية خلايا الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع

$$IC_{50} = 102.55 \mu\text{g/ml. (A549)}$$

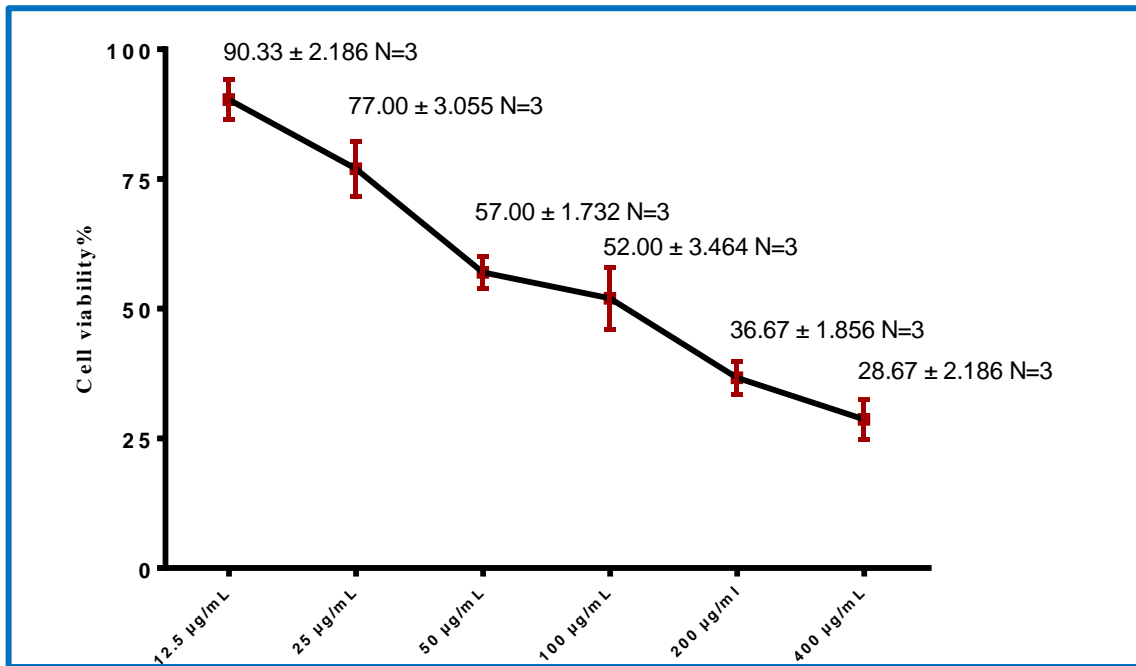
يبين الشكل (3-20) تأثير التعرض لعقار (B2) على سمية خط خلايا سرطان الرئة نوع (A549). فعند التركيز (12.5 µg/ml) كان معدل سمية خط خلايا سرطان الرئة نوع (A549) (86.67 ± 2.028 N=3) و عندما زاد التركيز إلى (25 µg/ml) ظهرت السمية بمعدل (69.00 ± 2.082 N=3)، ثم زود التركيز إلى (50 µg/ml) ظهر معدل السمية بمقدار (52.33 ± 2.603 N=3)، تمت زيادة التركيز إلى (100 µg/ml) فكان يقابل هذا التركيز من السمية المتبقية (40.33 ± 2.028 N=3)، وعند زيادة معدل التركيز التعرض للعقار بمقدار (200 µg/ml) قلت كمية السمية إلى (28.33 ± 2.404 N=3) وعندما كان التركيز (400 µg/ml) كانت السمية (21.33 ± 1.856 N=3). كانت قيمة $IC_{50} = 98.04$



الشكل (3 - 20) تأثير عقار (B2) على سمية خلايا الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع

$$IC_{50} = 98.04 \mu\text{g/ml. (A549)}$$

شكل (3 - 21) يوضح سمية خط خلايا سرطان الرئة نوع (A549) لعقار (B1). فعند تعرض خط خلايا سرطان الرئة نوع (A549) لتركيز (12.5 µg/ml) من عقار كان معدل السمية (90.33 ± 2.186 N=3) و عندما زاد التركيز إلى (25 µg/ml) قلّة سمية الخلية (77.00 ± 3.055 N=3)، ثم زود التركيز إلى (50 µg/ml) أصبحت كمية السمية أقل بمعدل قياسي (57.00 ± 1.732 N=3)، تمت زيادة التركيز إلى (100 µg/ml) فأصبحت السمية (52.00 ± 3.464 N=3)، ومن ثم زود التركيز إلى (200 µg/ml) فظهر معدل السمية (36.67 ± 1.856 N=3) وعند استخدام تركيز (400 µg/ml) أصبح معدل السمية (28.67 ± 2.186 N=3). كانت قيمة $IC_{50} = 109.49 \mu\text{g/ml}$



الشكل (3 – 21) تأثير عقار (B3) على سمية خلايا الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع

$IC_{50} = 109.49 \mu\text{g/ml. (A549)}$

تم تحديد كفاءة العقاقير في تثبيط انتشار الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع (A549) عند (IC_{50}) كما موضح في جدول (3-9):

IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	العقاقير المستخدمة في علاج سرطان الرئة	No.
137.87	الكيوتوسان النانوي	1
102.55	عقار (B1)	2
98.04	عقار (B2)	3
109.49	عقار (B3)	4

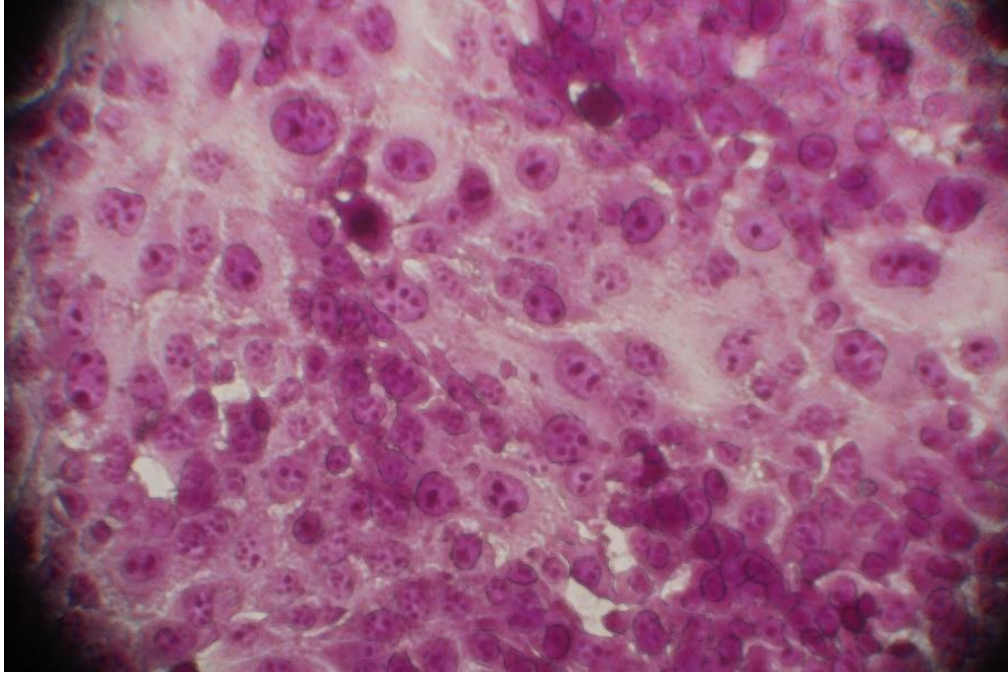
جدول (3-9) يوضح زيادة كفاءة التثبيط عند (IC_{50} $\mu\text{g/ml}$)

ومن ذلك نستنتج تأثير العقاقير على الخط الخلوي لسرطان الرئة (A549) كما موضح ادناه:

← الكيوتوسان النانوي > B3 > B1 > B2
أتجاه زيادة الكفاءة التثبيط عند IC_{50}

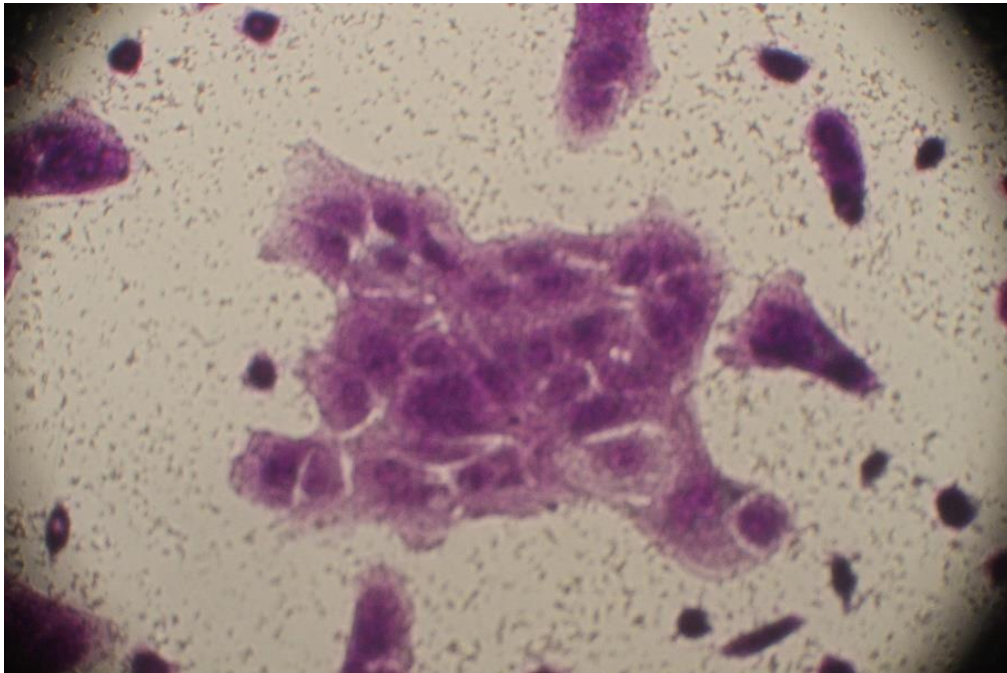
حيث أظهرت النتائج انها تتفق مع دراسات سابقة فلو زاد تراكيز عقاقير الكيوتوسان النانوي تزداد كفاءتها [189] وتقل سميتها للخلايا السرطانية [190] وكذلك يقل انتشارها [191].

يوضح شكل (3 - 22) الخط الخلوي لسرطان الرئة (A549) قبل تحت المجهر الالكتروني بقوة (40 X). حيث يبين شكل الخلية قبل تعرضها لأي عقار و يتبين ان الخلايا بصورة انقسام غير طبيعية و ان كل خلية يوجد في داخلها نقطتان سوداء تمثل كل نقطة نواة واحدة.



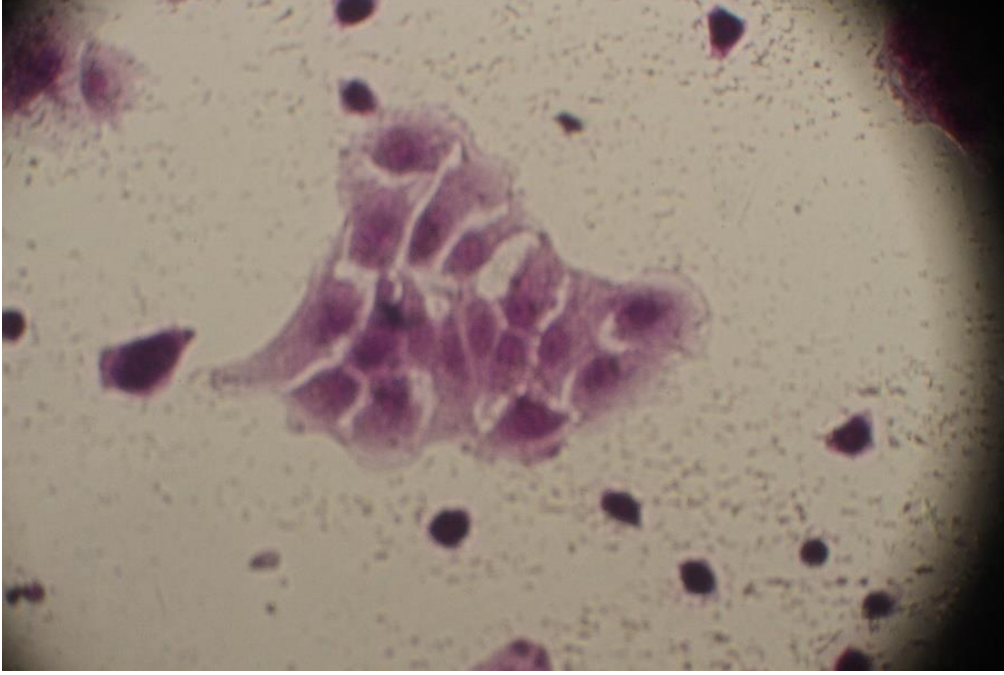
شكل (3 - 22) مجموعة من الخلايا السرطانية قبل تعرضها لأي عقار (الكونترول)

أما الشكل (3 - 23) يوضح التغير الشكلي للخلية في خط سرطان الرئة (A549) بعد معالجتها بعقار الكيتوسان النانوي فقط حيث ابدى تأثيراً في الخلايا حيث بدأت بالانتفاخ وأيضاً وجود نقاط سوداء تدل على ان الخلايا السرطانية انتفخت الى ازيد من حجمها المقرر و بدأت بالانفجار.



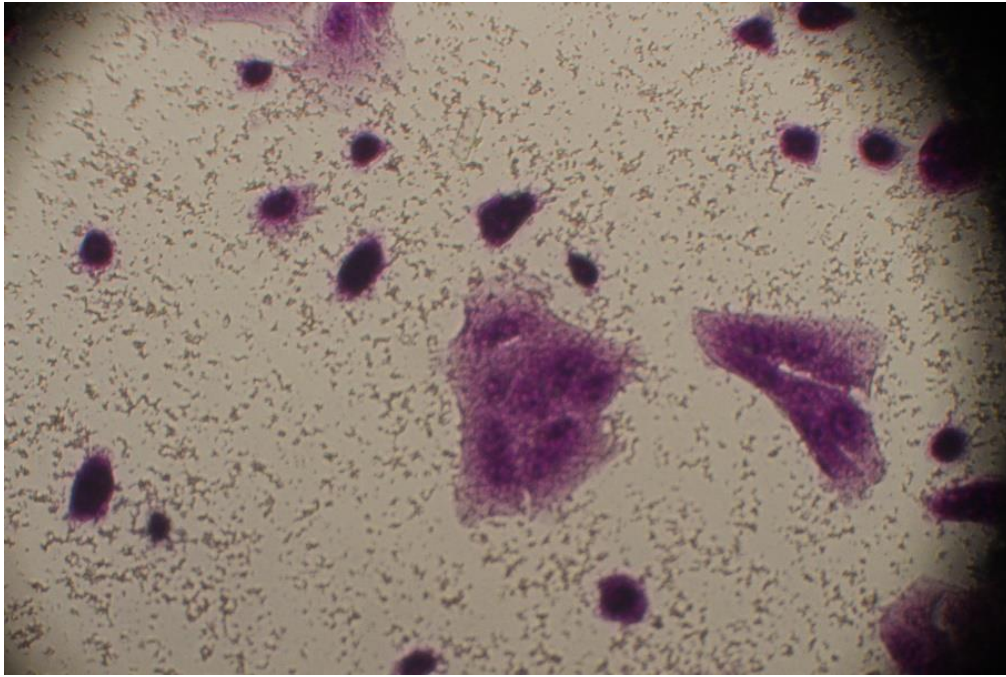
شكل (3- 23) مجموعة من الخلايا السرطانية بعد تعرضها لعقار الكيتوسان النانوي فقط

اما الشكل (3 - 24) مجموعة من الخلايا السرطانية بعد تعرضها لعقار (B1) يبين التغير الشكلي في خط سرطان الرئة (A549) بعد معالجتها بعقار حامض الميفيناميك المحمل على الكيتوسان النانوي (B1) انه اعطى نتائج افضل بدأت الخلايا بالانفجار و بعضها بدأت بتحول شكلها الى الشكل الطبيعي و كذلك وجود نقاط سوداء تدل على بقايا الخلايا المنفجرة.



الشكل (3 - 24) مجموعة من الخلايا السرطانية بعد تعرضها لعقار (B1)

و يفسر الشكل (3 - 25) التغير الشكلي في خط سرطان الرئة (A549) بعد معالجتها بعقار السيفالكسين المحمل على الكيتوسان النانوي (B2) حيث ابدى نتائج ممتازة بحيث اغلب الخلايا السرطانية بدأت بالتحول الى شكلها الطبيعي و بدأ شكلها يتحول الى الشكل المستدير اما الخلايا التي لم ترجع الى طبيعتها فأنفجرة و النقاط السوداء تدل على ذلك كذلك يبين وجود نواة واحدة في الخلية أي أصبحت خلية طبيعية



الشكل (3 - 25) مجموعة من الخلايا السرطانية بعد تعرضها لعقار (B2)

يعرض الشكل (3 - 26) التغير الشكلي في خط سرطان الرئة (A549) عند تعرضه لعقار الباراستمول المحمل على الكيتوسان النانوي (B3) حيث العقار كذلك اعطى نتائج جيدة كالنقاط السوداء التي هي بقايا الخلايا المنفجرة و الخلايا المنتفخة .



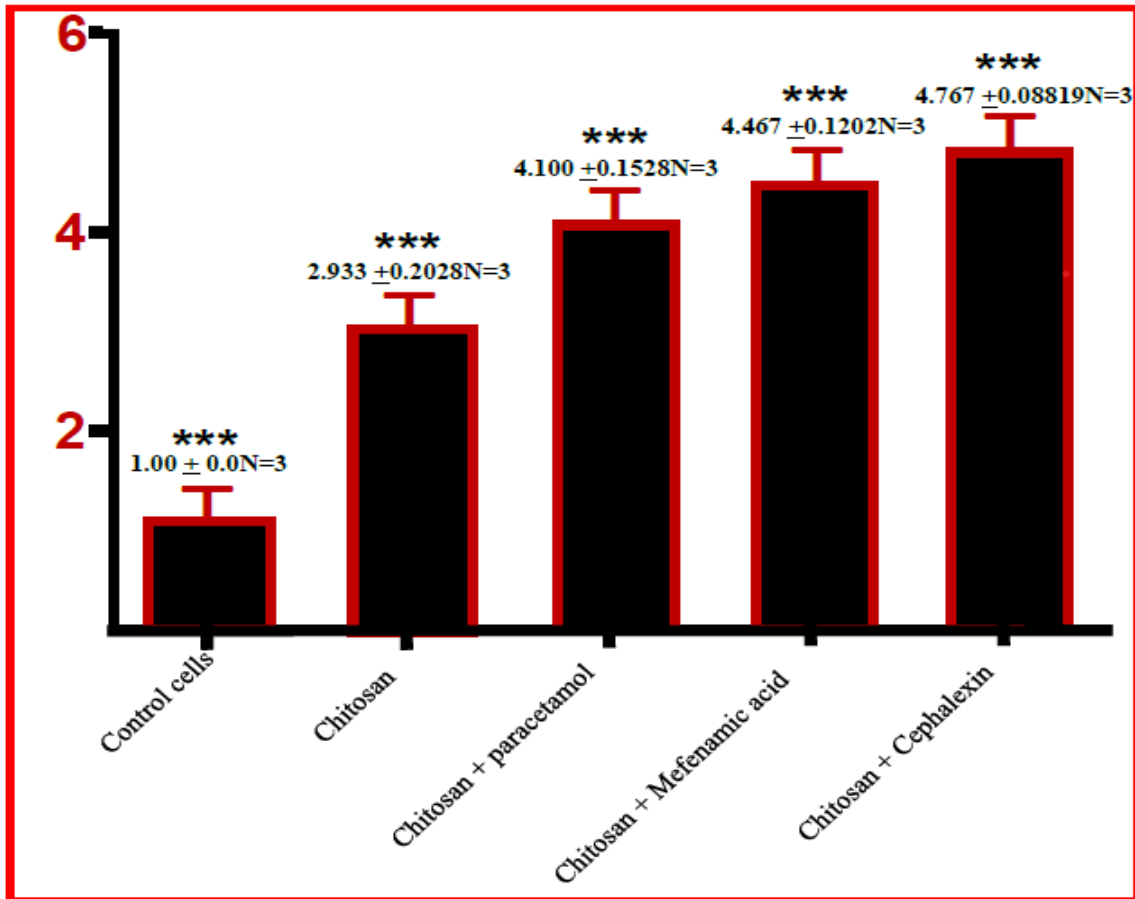
الشكل (3 - 26) مجموعة من الخلايا السرطانية بعد تعرضها لعقار (B2)

حيث ابدى الشكل (3 - 22) لخط سرطان الرئة (A 549) انه يتفق مع دراسات سابقة التي تكون الخلايا فيها انها تملئ الشكل قبل معالجتها وتكون أشكالها غير منتظمة وعددها كثيره وتكون غير

منتفخة [192]. كما أن الاشكال (3 - 23) الى (3 - 26) أنها تتفق مع دراسة سابقة إن أشكال الخلايا بعد تعرضها للعلاج يكون عددها قليل وشكلها غير منتظم بالإضافة إلى وجود خلايا منتفخة وكذلك وجود نقاط سوداء تدل على بقايا الخلايا المنتفخة التي انفجرت بعد تعرضها إلى العلاج [193].

3.5 التشخيص الجزيئي باستخدام فحص تفاعل البلمرة المتسلسل في الوقت الحقيقي الكمي (الاستنساخ العكسي) (qRT-PCR)

تم اجراء الكشف الجزيئي لجين P53 باستخدام تقنية qRT-PCR لقياس مدى التعبير الجيني لهذا الجين عند تعرض خط خلايا سرطان الرئة نوع (A549) لثلاث انواع من العقاقير المحملة على الكيتوسان النانوي بالإضافة إلى عقار الكيتوسان النانوي فقط، حيث اظهرت نتائج الشكل (3 - 23) فروقات معنوية في مستوى التعبير الجيني لجين P53 عند تعرضه إلى عقار الكيتوسان النانوي (2.933 ± 0.2028 N=3) بالمقارنة مع مقدار التعبير الجيني لجين P53 في مجموعة السيطرة (1.00 ± 0.0 N = 3)، وظهر التعبير الجيني لجين P53 مرتفعاً عند التعرض إلى عقار الباراستمول المحمل على الكيتوسان النانوي وبمقدار (4.100 ± 0.1528 N=3) بالمقارنة مع تعبيره في مجموعة السيطرة (1.00 ± 0.0 N = 3)، ازداد التعبير الجيني لجين P53 عند التعرض عند تعرض خلايا سرطان الرئة نوع (A549) إلى عقار حامض الميفيناميك المحمل على الكيتوسان النانوي بمقدار (4.467 ± 0.1202 N=3) بالمقارنة مع تعبيره في مجموعة السيطرة (1.00 ± 0.0 N = 3)، ظهرت علاقة عالية المعنوية (4.767 ± 0.08819 N=3) في تعبير جين P53 عند التعرض لعقار السيفالكسين المحمل على الكيتوسان النانوي بالمقارنة مع تعبيره في مجموعة السيطرة (1.00 ± 0.0 N = 3)،



(المعدل + الخطأ القياسي، N=مجموعة، العلامة * تدل على وجود فروقات معنوية)

شكل (3 – 23) التعبير الجيني لجين *P53* عند تعرض خط سرطان خلايا الرئة نوع (A549) لأربعة أنواع من العقاقير بالمقارنة مع مجموعة السيطرة

يظهر التعبير الجيني لجين *P53* في الخلايا السرطانية قبل تعرضها إلى أي علاج تعبيراً جينياً في حين يرتفع هذا التعبير عند التعرض إلى العلاج المحمل نانويًا [194]. يبدأ جين *P53* وهو جين كابح للورم بعمله بصورة طبيعية ويقوم بإيقاف زيادة الانقسامات عند تعرض الخلية للعقاقير المحملة نانويًا وذلك بزيادة كفاءتها ووصولها إلى المكان المحدد من المرض دون تأثيرات جانبية على باقي أعضاء الجسم [195]، وظهرت الدراسة [196]. أن التعبير الجيني لجين *P53* في الخلايا السرطانية يزداد عند تعرضه لعقار الباراسيتامول المحمل نانويًا كما وتقل السمية في الخلايا السرطانية [197].

الاستنتاجات

- (1) ربط العقاقير (حامض الميفيناميك – السيفالكسين – الباراسيتامول) مع الكيتوسان النانوي وتم تشخيصها باستخدام تقنيتي تقنية طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR وتقنية طيف الرنين المغناطيسي $^1\text{H-NMR}$.
- (2) اجري زمن التحرر للعقاقير المحملة على الكيتوسان النانوي في محاليل بفر مختلفة (2.2 ، 6.0 ، 7.2 و 8.0 pH).
- (3) ربطت عقاقير الكيتوسان النانوية بالأحماض الأمينية الموجودة في البروتين (1TUP) الكابح للورم الموجود في الخلية السرطانية بواسطة تقنية الالتحام الجزيئي (Molecular Docking).
- (4) بدأت السمية الخلوية بالنقصان أي ان كفاءة تثبيط العقار عند نقطة (IC50) في الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع (A549) أي ان كفاءة تثبيط العقاقير كانت كالتالي: (عقار الكيتوسان النانوي فقط $B2 > B1 > B3$)
- (5) ارتفع التعبير الجيني لجين $P53$ عنده تعرض الخط الخلوي لسرطان الرئة نوع (A549) إلى العقاقير بمقارنة مع مقدار تعبيرها الجيني قبل تعرضها الى أي عقار.

التوصيات

- (1) تحضير بوليمرات طبيعية أخرى لها قدرة على التحلل البيولوجي وغير سامة.
- (2) إمكانية استخدام أدوية أخرى وربطها مع بوليمرات طبيعية من أجل تقليل السمية.
- (3) إيصال الأدوية بشكل انتقائي إلى مواقع مرضية محددة، دون الوصول إلى الخلايا أو الأعضاء أو الأنسجة غير المستهدفة.
- (4) تطوير في الخصائص النانوية لبعض البوليمرات الصيدلانية وتطبيقاتها في المجال الطبي الحيوي.
- (5) استخدام الأدوية في علاج الخطوط السرطانية الأخرى.
- (6) دراسات استخدام جينات أخرى ذات أهمية في العلاج البيولوجي.
- (7) دراسة مناطق أخرى لجين *P53* لبيان مدى تأثير ارتفاع أو انخفاض تعبيرها الجيني عند تعرضها لعقاقير أخرى محملة نانويًا.

المصادر

REFERENCES

REFERENCES

1. Wang, T. and Y. Luo, *Fabrication strategies and supramolecular interactions of polymer-lipid complex nanoparticles as oral delivery systems*. Nano Research, 2021. **14**(12): p. 4487-4501.
2. Kaur, J., et al., *Biomedical Applications of polymeric micelles in the treatment of diabetes mellitus: Current success and future approaches*. Expert Opinion on Drug Delivery, 2022. **19**(7): p. 771-793.
3. Padilla-Hernández, R., A. Ramos-Jacques, and A. Hernandez-Martinez, *Polymers in Clinical Medicine*. Applications of Polymers in Surgery, 2022. **123**: p. 1-29.
4. de Jesus Oliveira, A.C., et al., *pH-responsive phthalate cashew gum nanoparticles for improving drugs delivery and anti-Trypanosoma cruzi efficacy*. International Journal of Biological Macromolecules, 2023: p. 123272.
5. Campagnolo, L., et al., *Au/ZnO hybrid nanostructures on electrospun polymeric mats for improved photocatalytic degradation of organic pollutants*. Water, 2019. **11**(9): p. 1787.
6. Huo, L., et al., *Design of linear polymer-based liquid lubricants by a strategy of complementary advantages*. Polymer, 2023. **265**: p. 125592.
7. Aberoumand, M., et al., *4D printing of polyvinyl chloride (PVC): a detailed analysis of microstructure, programming, and shape memory performance*. Macromolecular Materials and Engineering, 2023: p. 2200677.
8. Li, B., et al., *Co-pyrolysis of waste polyester enameled wires and polyvinyl chloride: Evolved products and pyrolysis mechanism analysis*. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2023. **169**: p. 105816.
9. Shi, H., et al., *Thermally conductive and compliant polyurethane elastomer composites by constructing a tri-branched polymer network*. Materials Horizons, 2023.
10. Fawzy, A., et al., *Experimental and Computational Exploration of Chitin, Pectin, and Amylopectin Polymers as Efficient Eco-Friendly Corrosion Inhibitors for Mild Steel in an Acidic Environment. Kinetic, Thermodynamic, and Mechanistic Aspects*. Polymers, 2023. **15**(4): p. 891.
11. Ahmadi, Y. and K.-H. Kim, *Recent progress in the development of hyper-cross-linked polymers for adsorption of gaseous volatile organic compounds*. Polymer Reviews, 2023. **63**(2): p. 365-393.
12. Ye, J., et al., *Improved curing reactivity, thermal resistance and mechanical properties of furylamine-based benzoxazine using melamine as an amine source*. Polymers for Advanced Technologies, 2023. **34**(4): p. 1253-1264.
13. Bayda, S., et al., *The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine*. Molecules, 2019. **25**(1): p. 112.
14. Da Silva, N.M.C., et al., *Production and characterization of starch nanoparticles*. Applications of Modified Starches, 2018: p. 41-48.
15. Tonelli, F.M.P. and F.C.P. Tonelli, *Biocompatibility of green synthesized nanomaterials*, in *Synthesis of Bionanomaterials for Biomedical Applications*. 2023, Elsevier. p. 209-223.
16. de Almeida Campos, L.A., et al., *ZEIN NANOPARTICLES FOR DRUG DELIVERY: PREPARATION METHODS AND BIOLOGICAL APPLICATIONS*. International Journal of Pharmaceutics, 2023: p. 122754.
17. Hashim, N., A.M. Bashi, and A. Jasim. *Biosynthesis of silver nanoparticles by mentha spicata ethanolic leaves extract and investigation the antibacterial activity*. in *AIP Conference Proceedings*. 2019. AIP Publishing LLC.

18. Siddiqi, A., et al., *Renal cell carcinoma management: A step to nano-chemoprevention*. Life Sciences, 2022: p. 120922.
19. Zafar, A., et al., *Recent Developments in Oral Delivery of Vaccines Using Nanocarriers*. Vaccines, 2023. **11**(2): p. 490.
20. Ahmad, V. and M.O. Ansari, *Synthesis, Characterization, and Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Reduced Graphene–ZnO–Copper Nanocomplex*. Antibiotics, 2023. **12**(2): p. 246.
21. Wang, Y., et al., *Plant Exosome-like Nanoparticles as Biological Shuttles for Transdermal Drug Delivery*. Bioengineering, 2023. **10**(1): p. 104.
22. Zielińska, A., et al., *Polymeric nanoparticles: production, characterization, toxicology and ecotoxicology*. Molecules, 2020. **25**(16): p. 3731.
23. Chakraborty, S., B.W. Jo, and Y.-S. Yoon, *Development of nano cement concrete by top-down and bottom-up nanotechnology concept*, in *Smart Nanoconcretes and Cement-Based Materials*. 2020, Elsevier. p. 183-213.
24. Patra, J.K., G. Das, and H.-S. Shin, *Facile green biosynthesis of silver nanoparticles using *Pisum sativum* L. outer peel aqueous extract and its antidiabetic, cytotoxicity, antioxidant, and antibacterial activity*. International Journal of Nanomedicine, 2019. **14**: p. 6679.
25. Castro, K.C.d., J.M. Costa, and M.G.N. Campos, *Drug-loaded polymeric nanoparticles: a review*. International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, 2022. **71**(1): p. 1-13.
26. Yan, C., et al., *Promising Nanomedicines of Shikonin for Cancer Therapy*. International Journal of Nanomedicine, 2023: p. 1195-1218.
27. Hendy, D.A., et al., *Preclinical developments in the delivery of protein antigens for vaccination*. Expert Opinion on Drug Delivery, 2023. **20**(3): p. 367-384.
28. Ab, K.I., et al., *Nano-Poly Chitosan-Ampicillin Drug: Synthesis, Characterization and Cytotoxicity*. Egyptian Journal of Chemistry, 2022. **65**(13): p. 1313-1318.
29. Jaferník, K., et al., *Chitosan-Based Nanoparticles as Effective Drug Delivery Systems—A review*. Molecules, 2023. **28**(4): p. 1963.
30. Paul, P., B. Kolesinska, and W. Sujka, *Chitosan and its derivatives-biomaterials with diverse biological activity for manifold applications*. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2019. **19**(9): p. 737-750.
31. Duolikun, T., C.W. Lai, and M.R.B. Johan, *Agricultural waste-based bionanocomposites in tissue engineering and regenerative medicine*, in *Bionanocomposites in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2021, Elsevier. p. 499-506.
32. Delan, W.K., et al., *Formulation of simvastatin chitosan nanoparticles for controlled delivery in bone regeneration: Optimization using Box-Behnken design, stability and in vivo study*. International journal of pharmaceutics, 2020. **577**: p. 119038.
33. Abdulrasool, M., et al., *Regeneration of Chitosan-Based Adsorbents Used in Heavy Metal Adsorption*. Journal of Life Sciences, 2021. **15**: p. 11-9.
34. Dhanya, K., *INNOVATIONS AND FUTURE PROSPECTS OF BIOPLASTICS*. Processing and Quality Evaluation of Postharvest products of Sheep and Rabbits [E-book] Hyderabad: CSWRI, 2022: p. 65.
35. Yousif, N.Z. and S.Z. Mahmood, *Oral Beads as a Platform for Sustained Drug Delivery*. Research Journal of Pharmacy and Technology, 2022. **15**(9): p. 4283-4288.
36. Jana, S., A. Gandhi, and C. Roy, *Marine Biomaterials-Based Systems: Delivery of Therapeutics*. Encyclopedia of Marine Biotechnology, 2020. **2**: p. 1141-1174.

37. Taghe, S. and S. Mirzaeei, *Preparation and characterization of novel, mucoadhesive ofloxacin nanoparticles for ocular drug delivery*. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2019. **55**.
38. E El Gohary, E.G., et al., *Insecticidal activity and biochemical study of the clove oil (Syzygium aromaticum) nano-formulation on Culex pipiens l.(Diptera: Culicidae)*. Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, 2021. **25**(1): p. 227-239.
39. Wei, X., et al., *Internalization mechanism of phenylboronic-acid-decorated nanoplatfor for enhanced nasal insulin delivery*. ACS Applied Bio Materials, 2020. **3**(4): p. 2132-2139.
40. Nemati SHizari, L., et al., *Antifungal activity of Amphotericin B-Loaded N, N, N-Trimethyl Chitosan Nanoparticles against Candida albicans*. Veterinary Researches & Biological Products, 2022. **35**(1): p. 123-130.
41. Watanabe, T., et al., *The Application of Porous Scaffolds for Cardiovascular Tissues*. Bioengineering, 2023. **10**(2): p. 236.
42. Mamatha, G. and P. Kumar, *A REVIEW ON TOPICAL MICROEMULSION FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY*. 2022.
43. Bagade, S.B., et al., *Role of herbal bioenhancers in tuberculosis and drug delivery thereof*. Drug Delivery Technology: Herbal Bioenhancers in Pharmaceuticals, 2022: p. 87.
44. Guilherme, V.A., et al., *Anti-inflammatory and Analgesic evaluation of a phytochemical intercalated into Layered Double Hydroxide*. Pharmaceutics, 2022. **14**(5): p. 934.
45. Potdar, M.B. and N.K. Jain, *A STUDY ON THE NOSE TO BRAIN DRUG DELIVERY SYSTEM*. Annals of Pharma Research, 2021. **9**(10).
46. Kumari, A. and R. Santosh Kumar, *Formulation and Evaluation of Ibuprofen Fast Dissolving Tablets Employing Starch Malonate (Modified Starch) as a Superdisintegrant*. 2021.
47. Prieto, C., et al., *Nanostructured valsartan microparticles with enhanced bioavailability produced by high-throughput electrohydrodynamic room-temperature atomization*. Molecular Pharmaceutics, 2021. **18**(8): p. 2947-2958.
48. Stypik, M., et al., *Design, Synthesis, and Development of Pyrazolo [1, 5-a] pyrimidine Derivatives as a Novel Series of Selective PI3K δ Inhibitors: Part II—Benzimidazole Derivatives*. Pharmaceutics, 2022. **15**(8): p. 927.
49. Jo, M.J., et al., *Evaluation of pH-Sensitive Polymeric Micelles Using Citraconic Amide Bonds for the Co-Delivery of Paclitaxel, Etoposide, and Rapamycin*. Pharmaceutics, 2023. **15**(1): p. 154.
50. Patel, K., S. Shah, and J. Patel, *Solid dispersion technology as a formulation strategy for the fabrication of modified release dosage forms: A comprehensive review*. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 2022: p. 1-25.
51. Fopase, R., et al., *Engineered drug delivery systems: insights of biointerface, in Biointerface Engineering: Prospects in Medical Diagnostics and Drug Delivery*. 2020, Springer. p. 1-30.
52. Alzayd, A.A.M. and F.F. Karam, *Adsorption of Atenolol drug from Aqueous solution by poly (AAM_MA) hydrogel and used in Drug Delivery System: Study kinetic and Thermodynamic*. Research Journal of Pharmacy and Technology, 2019. **12**(10): p. 4678-4682.
53. Fița, A.C., et al., *The Influence of the Polymer Type on the Quality of Newly Developed Oral Immediate-Release Tablets Containing Amiodarone Solid Dispersions Obtained by Hot-Melt Extrusion*. Molecules, 2022. **27**(19): p. 6600.
54. Syed Azhar, S.N.A., et al., *Nanostructured lipid carriers-hydrogels system for drug delivery: Nanohybrid technology perspective*. Molecules, 2022. **27**(1): p. 289.

55. El-Wakil, E.S., et al., *Therapeutic Efficacy of Albendazole and Berberine Loaded on Bovine Serum Albumin Nanoparticles on Intestinal and Muscular Phases of Experimental Trichinellosis*. *Acta Tropica*, 2023: p. 106896.
56. Zhang, X.-X., et al., *Physicochemical characterization and cytotoxicity of chitosan-modified single walled carbon nanotubes as drug carriers*. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 2019. **49**(1): p. 57-65.
57. Eedara, B.B., et al., *Inhalation Aerosol Phospholipid Particles for Targeted Lung Delivery*, in *Organ Specific Drug Delivery and Targeting to the Lungs*. 2023, CRC Press. p. 405-430.
58. Shim, G., et al., *Lipid-based nanoparticles for photosensitive drug delivery systems*. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 2022: p. 1-10.
59. Wang, S., et al., *Liposomes for Tumor Targeted Therapy: A Review*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023. **24**(3): p. 2643.
60. Erkus, H., et al., *Innovative transdermal drug delivery system based on amoxicillin-loaded gelatin methacryloyl microneedles obtained by 3D printing*. *Materialia*, 2023. **27**: p. 101700.
61. Devi, S., et al., *Enhancement of ketoprofen dissolution rate by the liquisolid technique: optimization and in vitro and in vivo investigations*. *Drug Delivery and Translational Research*, 2022. **12**(11): p. 2693-2707.
62. Khodabandehloo, H., H. Zahednasab, and A.A. Hafez, *Nanocarriers usage for drug delivery in cancer therapy*. *Iranian journal of cancer prevention*, 2016. **9**(2).
63. Deng, R., et al., *BAP1 suppresses prostate cancer progression by deubiquitinating and stabilizing PTEN*. *Molecular Oncology*, 2021. **15**(1): p. 279-298.
64. Wan, Z., et al., *Surgical treatment of a retroperitoneal benign tumor surrounding important blood vessels by fractionated resection: A case report and review of the literature*. *Oncology letters*, 2016. **11**(5): p. 3259-3264.
65. Wang, H., et al., *Preoperative MRI-based radiomic machine-learning nomogram may accurately distinguish between benign and malignant soft-tissue lesions: a two-center study*. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2020. **52**(3): p. 873-882.
66. Dixon, C.J., *Identifying Genetic Differences among African American and Caucasian Triple Negative Breast Cancer Genotypes*. 2022, Texas Southern University.
67. Naing, A., et al., *Phase 2 study of pembrolizumab in patients with advanced rare cancers*. *Journal for immunotherapy of cancer*, 2020. **8**(1).
68. Park, Y., D. Heider, and A.-C. Hauschild, *Integrative analysis of next-generation sequencing for next-generation cancer research toward artificial intelligence*. *Cancers*, 2021. **13**(13): p. 3148.
69. Matthews, H.K., C. Bertoli, and R.A. de Bruin, *Cell cycle control in cancer*. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2022. **23**(1): p. 74-88.
70. Vivarelli, S., et al., *Gut microbiota and cancer: from pathogenesis to therapy*. *Cancers*, 2019. **11**(1): p. 38.
71. Ferlay, J., et al., *Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods*. *International journal of cancer*, 2019. **144**(8): p. 1941-1953.
72. van der Vaart, J. and H. Clevers, *Airway organoids as models of human disease*. *Journal of internal medicine*, 2021. **289**(5): p. 604-613.
73. Riaz, F., et al., *Identification of Secondary Breast Cancer in Vital Organs through the Integration of Machine Learning and Microarrays*. *Electronics*, 2022. **11**(12): p. 1879.
74. Bao, J., *Histopathology-selective spatial oncogenic phenotypes in non-small cell lung cancer*. DSHHealth doctoral thesis series, 2022.

75. Stankovic, B., et al., *Immune cell composition in human non-small cell lung cancer*. *Frontiers in immunology*, 2019. **9**: p. 3101.
76. Biesinger, M., et al., *Lymph but Not Blood Vessel Invasion Is Independent Prognostic in Lung Cancer Patients Treated by VATS-Lobectomy and Might Represent a Future Upstaging Factor for Early Stages*. *Cancers*, 2022. **14**(8): p. 1893.
77. Ventura, L., et al., *Relationship between the diffusing capacity of the lung for carbon monoxide (DLCO) and lung adenocarcinoma patterns: new possible insights*. 2022.
78. Lee, J.H., et al., *Obesity is associated with improved postoperative overall survival, independent of skeletal muscle mass in lung adenocarcinoma*. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 2022. **13**(2): p. 1076-1086.
79. Liu, X., et al., *LINC00472 suppresses oral squamous cell carcinoma growth by targeting miR-455-3p/ELF3 axis*. *Bioengineered*, 2022. **13**(1): p. 1162-1173.
80. Lin, L.-H., et al., *Overexpression of platelet-derived growth factor and its receptor are correlated with oral tumorigenesis and poor prognosis in oral squamous cell carcinoma*. *International journal of molecular sciences*, 2020. **21**(7): p. 2360.
81. Tarazi, M., S. Chidambaram, and S.R. Markar, *Risk factors of esophageal squamous cell carcinoma beyond alcohol and smoking*. *Cancers*, 2021. **13**(5): p. 1009.
82. Ramos-Paradas, J., et al., *Comprehensive Characterization of Human Lung Large Cell Carcinoma Identifies Transcriptomic Signatures with Potential Implications in Response to Immunotherapy*. *Journal of clinical medicine*, 2022. **11**(6): p. 1500.
83. Huang, S., et al. *Artificial intelligence in lung cancer diagnosis and prognosis: current application and future perspective*. in *Seminars in Cancer Biology*. 2023. Elsevier.
84. Hermans, B.C., et al., *In-depth molecular analysis of combined and co-primary pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma and adenocarcinoma*. *International Journal of Cancer*, 2022. **150**(5): p. 802-815.
85. Limbu, S.H., et al., *Small Cell Lung Carcinoma with Pancoast Syndrome: A Case Report*. *Journal of the Nepal Medical Association*, 2022. **60**(246).
86. El Sayed, R. and N. Blais, *Immunotherapy in Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer*. *Current Oncology*, 2021. **28**(5): p. 4093-4108.
87. Soomro, Z., et al., *Paraneoplastic syndromes in small cell lung cancer*. *Journal of thoracic disease*, 2020. **12**(10): p. 6253.
88. Mardente, S., et al., *Extra-Cellular Vesicles Derived from Thyroid Cancer Cells Promote the Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT) and the Transfer of Malignant Phenotypes through Immune Mediated Mechanisms*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023. **24**(3): p. 2754.
89. Tamási, L. and V. Müller, *A tüdő neuroendokrin daganatainak tünetei és diagnosztikája= Symptoms and diagnostics of lung neuroendocrine tumors*. *Orvosi Hetilap*, 2011. **152**(10): p. 366-370.
90. Piñeros, M., et al., *Scaling up the surveillance of childhood cancer: a global roadmap*. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 2021. **113**(1): p. 9-15.
91. Musial, C., et al., *Plausible role of estrogens in pathogenesis, progression and therapy of lung cancer*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021. **18**(2): p. 648.
92. Cao, W., et al., *Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020*. *Chinese medical journal*, 2021. **134**(07): p. 783-791.
93. Siegel, R.L., et al., *Cancer statistics, 2021*. *Ca Cancer J Clin*, 2021. **71**(1): p. 7-33.
94. Lam, S. and M. Tammemagi, *Contemporary issues in the implementation of lung cancer screening*. *European Respiratory Review*, 2021. **30**(161).

95. Ozaki, K., et al., *Comparison of efficacy and medical costs between upfront docetaxel and abiraterone treatments of metastatic hormone-sensitive prostate cancer patients in real-world practice: a multicenter retrospective study*. World Journal of Urology, 2023. **41**(1): p. 67-75.
96. Qiu, H., S. Cao, and R. Xu, *Cancer incidence, mortality, and burden in China: a time-trend analysis and comparison with the United States and United Kingdom based on the global epidemiological data released in 2020*. Cancer communications, 2021. **41**(10): p. 1037-1048.
97. Thandra, K.C., et al., *Epidemiology of lung cancer*. Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia, 2021. **25**(1): p. 45-52.
98. Idris, A.A.A. and T.A. Hassen Okasha, *The value of PAP and AgNOR techniques in identification of bacterial infections and cytomorphological changes in sputum of Sudanese pango Smokers*. Microbes and Infectious Diseases, 2022.
99. Albawardi, A., et al., *Molecular Profiles of Prostate Cancer in Men of Middle Eastern Ancestry Identifies Key Differences with Western Populations: A Multiethnic SNP Array Study*. 2021.
100. Al-Najar, G., et al., *Perceptions of clinical benefits through human papillomavirus vaccination in Qatar*. American Journal of Life Science Researches, 2021. **9**(1): p. 24-31.
101. Söldner, C.A., et al., *A survey of biological building blocks for synthetic molecular communication systems*. IEEE Communications Surveys & Tutorials, 2020. **22**(4): p. 2765-2800.
102. Chanu, M.T. and A.S. Singh, *Cancer disease and its' understanding from the ancient knowledge to the modern concept*. World Journal of Advanced Research and Reviews, 2022. **15**(2): p. 169-176.
103. Yan, C., et al., *Genome-wide identification and expression pattern analysis of lipoxigenase gene family in turnip (*Brassica rapa L. subsp. rapa*)*. PeerJ, 2022. **10**: p. e13746.
104. Zhu, S., et al., *Integrating conflicting cancer theories by recognizing the roles of epigenetic and genetic alterations in the immediate-cancer-causing genes that establish cellular immortality and autonomy*. 2020.
105. Hafner, A., et al., *The multiple mechanisms that regulate p53 activity and cell fate*. Nature reviews Molecular cell biology, 2019. **20**(4): p. 199-210.
106. Chen, H., et al., *Association of LRP1B mutation with tumor mutation burden and outcomes in melanoma and non-small cell lung cancer patients treated with immune check-point blockades*. Frontiers in immunology, 2019. **10**: p. 1113.
107. Garcia-Melo, L.F., et al., *Detection of the p53 Gene Mutation Using an Ultra-sensitive and Highly Selective Electrochemical DNA Biosensor*. Journal of the Mexican Chemical Society, 2023. **67**(1): p. 33-45.
108. Ding, Y., et al., *On the complexity measures of mutation hotspots in human TP53 protein*. Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science, 2020. **30**(7): p. 073118.
109. Khadiullina, R., et al., *Assessment of Thermal Stability of Mutant p53 Proteins via Differential Scanning Fluorimetry*. Life, 2023. **13**(1): p. 31.
110. Cannarella, R., et al., *Endocrinology of the aging prostate: current concepts*. Frontiers in Endocrinology, 2021. **12**: p. 554078.
111. Tiwari, R. and N. Fleshner, *The role of metformin, statins and diet in men on active surveillance for prostate cancer*. World Journal of Urology, 2022. **40**(1): p. 61-69.

112. Menichini, P., et al., *Antitumor Effects of PRIMA-1 and PRIMA-1Met (APR246) in Hematological Malignancies: Still a Mutant P53-Dependent Affair?* Cells, 2021. **10**(1): p. 98.
113. Malik, J.A., *P53 an oncogene or tumor suppressor gene: A confusion.* Biological Sciences, 2021. **1**(1): p. 82-85.
114. Monti, P., et al., *Heterogeneity of TP53 mutations and P53 protein residual function in cancer: does it matter?* Frontiers in oncology, 2020. **10**: p. 593383.
115. Favero, A., et al., *The many facets of miR-223 in cancer: Oncosuppressor, oncogenic driver, therapeutic target, and biomarker of response.* Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA, 2021. **12**(6): p. e1659.
116. Chen, F., et al., *Moving pan-cancer studies from basic research toward the clinic.* Nature Cancer, 2021. **2**(9): p. 879-890.
117. Ghasemi, F., et al., *In-silico study to identify the pathogenic single nucleotide polymorphisms in the coding region of CDKN2A gene.* Iranian Journal of Pediatric Hematology and Oncology, 2021. **11**(2): p. 114-133.
118. Matzenbacher Bittar, C., et al., *Clinical and molecular characterization of patients fulfilling Chompret criteria for Li-Fraumeni syndrome in Southern Brazil.* PloS one, 2021. **16**(9): p. e0251639.
119. Kang, J., et al., *Ribosomal proteins and human diseases: molecular mechanisms and targeted therapy.* Signal Transduction and Targeted Therapy, 2021. **6**(1): p. 1-22.
120. Zhao, Y., C. Pu, and Z. Liu, *Essential amino acids deprivation is a potential strategy for breast cancer treatment.* The Breast, 2022. **62**: p. 152-161.
121. Gurba, A., et al., *Gold (III) derivatives in colon cancer treatment.* International Journal of Molecular Sciences, 2022. **23**(2): p. 724.
122. Paulusma, C.C., et al., *Amino acid metabolism, transport and signalling in the liver revisited.* Biochemical Pharmacology, 2022: p. 115074.
123. Das, R., et al., *Human skeletal dysplasia causing L596P-mutant alters the conserved amino acid pattern at the lipid-water-Interface of TRPV4.* Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 2023. **1865**(2): p. 184085.
124. Erens, C., et al., *The dark side of an essential amino acid-L-arginine in spinal cord injury.* Journal of Neurotrauma, 2022(ja).
125. Al Jabri, H., et al., *Zinc oxide nanoparticles and their biosynthesis: overview.* Life, 2022. **12**(4): p. 594.
126. Ji, Y., et al., *A review on electrospun poly (amino acid) nanofibers and their applications of hemostasis and wound healing.* Biomolecules, 2022. **12**(6): p. 794.
127. Jeon, H., et al., *Restoration of Cathepsin D level via L-serine attenuates PPA-induced lysosomal dysfunction in neuronal cells.* International Journal of Molecular Sciences, 2022. **23**(18): p. 10613.
128. Liu, D., et al., *The Transcriptional Repressor PerR Senses Sulfane Sulfur by Cysteine Persulfidation at the Structural Zn²⁺ Site in Synechococcus sp. PCC7002.* Antioxidants, 2023. **12**(2): p. 423.
129. Boateng, I.D., *Potentialities of Ginkgo extract on toxicants, toxins, and radiation: a critical review.* Food & Function, 2022.
130. Jayasinghe, T.N., et al., *Protein Intake and Oral Health in Older Adults—A Narrative Review.* Nutrients, 2022. **14**(21): p. 4478.
131. Rais, N., et al., *Taurine, a non-proteinous essential amino acid for human body systems: an overview.* Arab Gulf Journal of Scientific Research, 2023. **41**(1): p. 48-66.
132. Langyan, S., et al., *Sustaining protein nutrition through plant-based foods.* Frontiers in Nutrition, 2022. **8**: p. 1237.

133. Nguyen, Y.T., et al., *The role of SLC transporters for brain health and disease*. Cellular and Molecular Life Sciences, 2022. **79**: p. 1-21.
134. Niknafs, S., et al., *Alanine-specific appetite in slow growing chickens is associated with impaired glucose transport and TCA cycle*. BMC genomics, 2022. **23**(1): p. 393.
135. Wolkersdorfer, A., et al., *Deprivation of arginine and lysine interferes with growth of patient-derived tumor xenografts*. bioRxiv, 2023: p. 2023.01. 17.524398.
136. Martin, C.E. and K. List, *Cell surface–anchored serine proteases in cancer progression and metastasis*. Cancer and Metastasis Reviews, 2019. **38**: p. 357-387.
137. Zhang, C., et al., *Study on plasma amino acids and piperonamide as potential diagnostic biomarkers of non-small cell lung cancer*. Translational Cancer Research, 2022. **11**(5): p. 1269.
138. Lee, J.K., et al., *Topical non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for management of osteoarthritis pain: A consensus recommendation*. Journal of Orthopaedic Research®, 2023.
139. Belov, K.V., et al., *The Role of Hidden Conformers in Determination of Conformational Preferences of Mefenamic Acid by NOESY Spectroscopy*. Pharmaceutics, 2022. **14**(11): p. 2276.
140. Al-Mashhadani, M.H., et al., *Modification of poly (vinyl chloride) by mefenamic acid in presence of micro metallic oxides as self photostabilizer*. Materials Science for Energy Technologies, 2023. **6**: p. 318-330.
141. Hoque, M., et al., *Infrared Spectroscopic Study of Binding Interaction of Metal Complexes with Mefenamic Acid (MFA)*. Journal of Pharmaceutical Research International, 2023. **35**(2): p. 30-40.
142. Fadel, Z.E., S.Z. Abd Alhamid, and H.K. Ibrahim, *Toxicity of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs*. North African Journal of Scientific Publishing (NAJSP), 2023: p. 24-31.
143. Teng, Y., et al., *Medical applications of hydrogels in skin infections: A review*. Infection and Drug Resistance, 2023: p. 391-401.
144. Kurt, A., F. Shakir, and T. Yonar, *The effect of various parameters on electrochemical removal of ampicillin with Sn/Sb/Ni-Ti anodes*. Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University, 2023. **38**(2).
145. Murugapandian, R., S. Clement, and V. Uthirapathy, *Fabrication and In Vitro Drug Delivery Evaluation of Cephalexin Monohydrate-Loaded PLA: PVA/HAP: TiO2 Fibrous Scaffolds for Bone Regeneration*. ACS omega, 2023. **8**(5): p. 5017-5032.
146. Wickens, H. and C. Jamieson, *Clinical Uses of Antimicrobial Drugs*. Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology, 2023.
147. Ghazaei, C., *Study of the Effect of Bacteriocin-producing Bacillus subtilis Strains on Beta-lactamase-producing Pathogenic Bacteria*. Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences, 2022. **11**(2).
148. Hawash, H.B., et al., *Occurrence and spatial distribution of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the aquatic environment, their characteristics, and adopted legislations*. Journal of Water Process Engineering, 2023. **52**: p. 103490.
149. Monga, D., *To compare the Diclofenac versus Different Paracetamol for Post-Operative Analgesia After Laparoscopic Cholecystectomy*. Journal of Advanced Medical and Dental Sciences Research, 2021. **9**(11).
150. El Khoury, J., et al., *Evaluation of efficacy and safety of subcutaneous acetaminophen in geriatrics and palliative care (APAPSUBQ)*. BMC Palliative Care, 2022. **21**(1): p. 42.

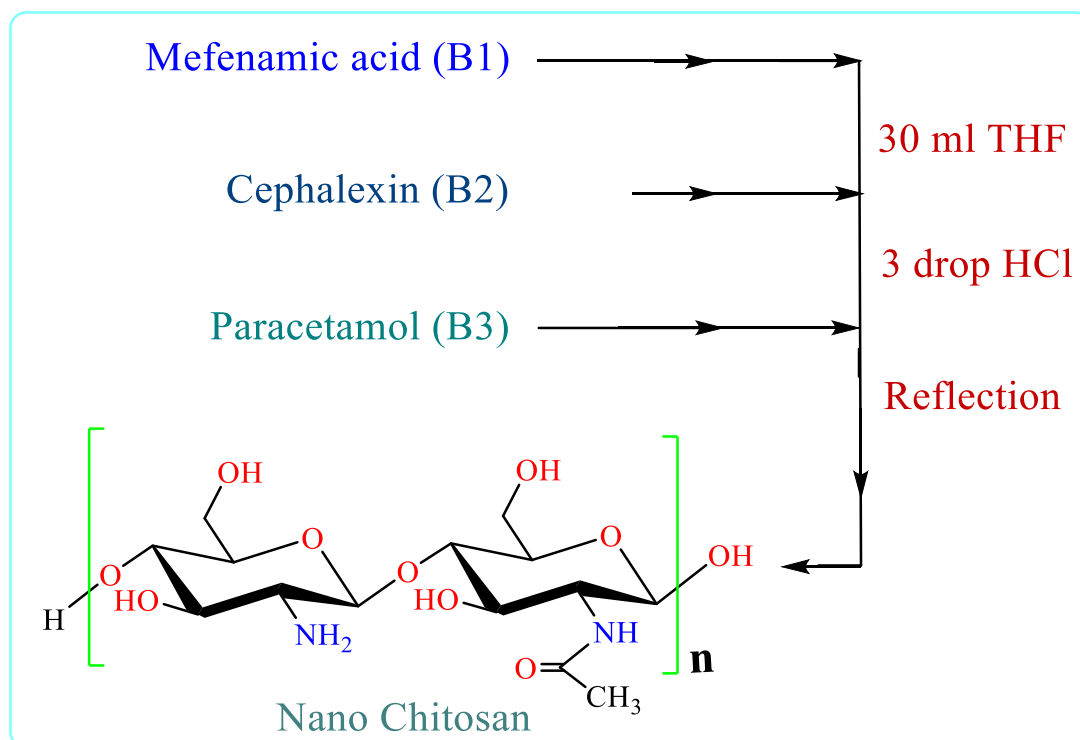
151. Alsayegh, A.M. and A.N. Alshirifi, *H-point standard additions method for simultaneous determination of paracetamol and phenylephrine in pharmaceutical preparations*. Journal of Survey in Fisheries Sciences, 2023. **10**(3S): p. 647-655.
152. Vandse, R., et al., *Retrospective Study on the Safety and Efficacy of Intraoperative Methadone for Pain Management in Patients Undergoing Elective Intracranial Surgery*. World Neurosurgery, 2023.
153. Li, C. and S. Wallace, *Polymer-drug conjugates: recent development in clinical oncology*. Advanced drug delivery reviews, 2008. **60**(8): p. 886-898.
154. Szot, J., et al., *Focused ion beam micromachining for transmission electron microscopy specimen preparation of semiconductor laser diodes*. Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures Processing, Measurement, and Phenomena, 1992. **10**(2): p. 575-579.
155. Roche, E.J. and E.L. Thomas, *Defocus electron microscopy of multiphase polymers: use and misuse*. Polymer, 1981. **22**(3): p. 333-341.
156. Parida, S.K., *Recent Advances on Polymer-Based Nanocomposite: A Brief Review*. Micro and Nanosystems, 2022. **14**(2): p. 121-132.
157. Nguyen, J., et al., *A Simple At-Home Titration: Quantifying Citric Acid in Lemon Juice with Baking Soda and Mentos*. Journal of Chemical Education, 2022.
158. Avbunudiogba, J.A., C.A. Alalor, and Q.D. Okolocha, *A Controlled Release Theophylline Delivery System Based on a Bilayer Floating System*. Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020. **17**(6): p. 645.
159. Tong, X., et al., *Identification of a druggable protein–protein interaction site between mutant p53 and its stabilizing chaperone DNAJA1*. Journal of Biological Chemistry, 2021. **296**.
160. Yang, S., et al., *Near-atomic structures of the BBSome reveal the basis for BBSome activation and binding to GPCR cargoes*. elife, 2020. **9**: p. e55954.
161. Al-Ziaydi, A.G., et al., *Hexokinase inhibition using D-Mannoheptulose enhances oncolytic newcastle disease virus-mediated killing of breast cancer cells*. Cancer Cell International, 2020. **20**(1): p. 1-10.
162. Al-Ziaydi, A.G., et al. *The anti-proliferative activity of D-mannoheptulose against breast cancer cell line through glycolysis inhibition*. in *AIP Conference Proceedings*. 2020. AIP Publishing LLC.
163. Al-Salman, H., et al., *2-Benzhydrylsulfinyl-N-hydroxyacetamide-Na extracted from fig as a novel cytotoxic and apoptosis inducer in SKOV-3 and AMJ-13 cell lines via P53 and caspase-8 pathway*. European Food Research and Technology, 2020. **246**(8): p. 1591-1608.
164. Al-Ziaydi, A.G., et al., *Newcastle disease virus suppress glycolysis pathway and induce breast cancer cells death*. Virusdisease, 2020. **31**(3): p. 341-348.
165. Jabir, M.S., et al., *Fe₃O₄ nanoparticles capped with PEG induce apoptosis in breast cancer AMJ13 cells via mitochondrial damage and reduction of NF-κB translocation*. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, 2021. **31**(3): p. 1241-1259.
166. Jabir, M.S., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles from Eriobotrya japonica extract: a promising approach against cancer cells proliferation, inflammation, allergic disorders and phagocytosis induction*. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology, 2021. **49**(1): p. 48-60.
167. Al-Shammari, A.M., et al. *Galangin enhances gold nanoparticles as anti-tumor agents against ovarian cancer cells*. in *AIP Conference Proceedings*. 2020. AIP Publishing LLC.

168. Jabir, M., et al., *Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Annona muricata Extract as an Inducer of Apoptosis in Cancer Cells and Inhibitor for NLRP3 Inflammasome via Enhanced Autophagy*. *Nanomaterials* 2021, **11**, 384. 2021, s Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published
169. Khashan, K.S., et al., *Anticancer activity and toxicity of carbon nanoparticles produced by pulsed laser ablation of graphite in water*. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 2020. **11**(3): p. 035010.
170. Jabir, M., et al., *Linalool-loaded glutathione-modified gold nanoparticles conjugated with CALNN peptide as apoptosis inducer and NF- κ B translocation inhibitor in SKOV-3 cell line*. *International Journal of Nanomedicine*, 2020. **15**: p. 9025.
171. Sameen, A.M., M.S. Jabir, and M.Q. Al-Ani. *Therapeutic combination of gold nanoparticles and LPS as cytotoxic and apoptosis inducer in breast cancer cells*. in *AIP Conference Proceedings*. 2020. AIP Publishing LLC.
172. Schmittgen, T., *l. ivak KJ*. Analyzing real-time PC'R data by the comparative (2 (" I) method: J 1. *Nat Protoc*. 2008, 3 (6): 1101-1108.
173. Bahjat, H.H., et al., *Magnetic field-assisted laser ablation of titanium dioxide nanoparticles in water for anti-bacterial applications*. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 2021. **31**(9): p. 3649-3656.
174. Elsayed, M.R., et al., *Green and cost-effective mortar grinding synthesis of bismuth-doped halide perovskites as efficient absorber materials*. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 2023. **34**(3): p. 194.
175. Zojaji, I., A. Esfandiarian, and J. Taheri-Shakib, *Toward molecular characterization of asphaltene from different origins under different conditions by means of FT-IR spectroscopy*. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2021. **289**: p. 102314.
176. Krysa, M., M. Szymańska-Chargot, and A. Zdunek, *FT-IR and FT-Raman fingerprints of flavonoids—a review*. *Food Chemistry*, 2022: p. 133430.
177. Martínez-Robles, S.S., et al., *Effect of β -hydroxy- γ -aminophosphonate (β -HPC) on the hydrolytic activity of *Nocardia brasiliensis* as determined by FT-IR spectrometry*. *Frontiers in Microbiology*, 2023. **14**: p. 96.
178. Souza, L.M.L.R.d., *Novos complexos fenantrolínicos de cobre e cobalto com ligantes derivados do monastrol: síntese, estudo espectroscópico e eletroquímico*. 2022, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
179. Liu, Y., et al., *Binding of Hg to preformed ferrihydrite-humic acid composites synthesized via co-precipitation and adsorption with different morphologies*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020. **204**: p. 111097.
180. Weber, A., et al., *Innovative vibrational spectroscopy research for forensic application*. *Analytical Chemistry*, 2023. **95**(1): p. 167-205.
181. Babailov, S.P., et al., *Nuclear magnetic resonance thermosensing properties of holmium (III) and thulium (III) tris (tetra-15-crown-5-phthalocyaninato) complexes*. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2022. **26**(04): p. 334-339.
182. Rasool, M.H. and M. Ahmad, *Synthesis and physico-chemical characterization of novel Epsom salt based Natural Deep Eutectic Solvent*. *Chemical Data Collections*, 2023: p. 101004.
183. Sivaev, I.B., S.A. Anufriev, and A.V. Shmalko, *How substituents at boron atoms affect the CH-acidity and the electron-withdrawing effect of the ortho-carborane cage: A close look on the 1H NMR spectra*. *Inorganica Chimica Acta*, 2023. **547**: p. 121339.
184. Paczkowski, I.M., *2-Fenilbenzo [d] oxazóis e 2-fenilbenzo [d] tiazóis fluorescentes: síntese e aplicação de métodos solvatocrômicos a partir de parâmetros de polaridade do solvente*. 2022.

185. Bouone, Y.O., et al., *New efficient synthesis, spectroscopic characterization, and X-ray analysis of novel β -enaminocarboxamide derivatives*. Research on Chemical Intermediates, 2023: p. 1-20.
186. Kumar, R., et al., *Efficiency of C= Se as hydrogen bond acceptor in controlling regioselective amination of 5, 7-dinitroquinazoline-4-selenone: Quantum mechanical, AIM and docking analysis by density functional method*. Computational and Theoretical Chemistry, 2023. **1219**: p. 113962.
187. Wang, X., et al., *A TMVP1-modified near-infrared nanoprobe: molecular imaging for tumor metastasis in sentinel lymph node and targeted enhanced photothermal therapy*. Journal of Nanobiotechnology, 2023. **21**(1): p. 1-19.
188. Ortega, A., et al., *Thermosensitive and mucoadhesive hydrogel containing curcumin-loaded lipid-core nanocapsules coated with chitosan for the treatment of oral squamous cell carcinoma*. Drug Delivery and Translational Research, 2023. **13**(2): p. 642-657.
189. Muller, A.G., et al., *Delivery of natural phenolic compounds for the potential treatment of lung cancer*. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 2019. **27**: p. 433-449.
190. Lee, R., et al., *Hyaluronic acid-decorated glycol chitosan nanoparticles for pH-sensitive controlled release of doxorubicin and celecoxib in nonsmall cell lung cancer*. Bioconjugate Chemistry, 2020. **31**(3): p. 923-932.
191. Naeimi, A., et al., *^{68}Ga radiolabeled chitosan/curcumin/biotin nanocomposite as a drug carrier and early-stage cancer detection*. International Journal of Biological Macromolecules, 2023: p. 123619.
192. Hao, Y., et al., *Exopolysaccharide from *Cryptococcus heimaeyensis* S20 induces autophagic cell death in non-small cell lung cancer cells via ROS/p38 and ROS/ERK signalling*. Cell proliferation, 2020. **53**(8): p. e12869.
193. Jin, Y., et al., *Hydroponic Ginseng ROOT Mediated with CMC Polymer-Coated Zinc Oxide Nanoparticles for Cellular Apoptosis via Downregulation of BCL-2 Gene Expression in A549 Lung Cancer Cell Line*. Molecules, 2023. **28**(2): p. 906.
194. Salim, E.I., et al., *Preparation and characterization of cetuximab-loaded egg serum albumin nanoparticles and their uses as a drug delivery system against Caco-2 colon cancer cells*. Cancer Nanotechnology, 2023. **14**(1): p. 1-20.
195. Anitha, J., R. Selvakumar, and K. Murugan, *Chitosan capped ZnO nanoparticles with cell specific apoptosis induction through P53 activation and G2/M arrest in breast cancer cells—in vitro approaches*. International journal of biological macromolecules, 2019. **136**: p. 686-696.
196. Safdar, M. and M. Ozaslan, *Enhanced catalytic, antibacterial and anti-cancer activities of erythromycin capped gold nanoparticles*. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, 2022. **32**(5): p. 1819-1827.
197. Malik, P., R.K. Ameta, and T.K. Mukherjee, *Emerging Drug Delivery Potential of Gold and Silver Nanoparticles to Lung and Breast Cancers*, in *Practical Approach to Mammalian Cell and Organ Culture*. 2023, Springer. p. 1-67.

Abstract

This study aimed to prepare and know the effect of chitosan nanoparticles loaded with drugs (Mefenamic acid, Cephalexin and Paracetamol) on some chemical properties and study their effect in inhibiting the growth of lung cancer cells.

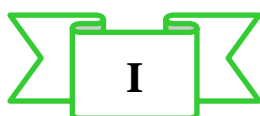


Its chemical properties were studied, including the solubility of nano-chitosan loaded with some medicinal drugs in different solvents (H₂O, acetone, ethanol, hexane, DMSO, chloroform and coloring).

The absorbance (Abs.) and drug release were measured using a UV-Vis spectrophotometer in four different Buffer solutions with pH= (2.2, 6.0, 7.2, and 8.0) and at a constant temperature of 37°C as a function of time (hour and day).

The binding of nano-chitosan drugs to the amino acids present in the proteins of the lung cancer cell line type (A549) was studied, and the binding sites were predicted, and the most effective binding energy of nano-chitosan drugs was studied. Knowing the types of bonds between chitosan nanodrugs and amino acids.

The effect of drugs loaded on chitosan nanodrugs (B1, B2, and B3) was measured in inhibiting the spread of lung cancer, and the gene expression of the p53 gene was measured before and after exposure of lung cancer cell line type (A549) to chitosan nanodrugs. The results showed that the drugs have an effective effect in inhibiting the spread of



cancer cells. The results of the current study showed a low toxicity value in the drug (B2) compared to other drugs. The (IC50) of nano-loaded chitosan drugs in preventing the spread of lung cancer was in the following order:

$$\text{B2} > \text{B1} > \text{B3} > \text{عقار الكيتوسان النانوي}$$

← زيادة كفاءة التثبيط عند IC50

The results also showed an increase in the level of gene expression when the lung cancer cell line type (A549) was treated with drugs, where the highest level was in drug (B2). It was observed that the p53 gene started functioning normally and began to stop abnormal cell divisions.



**University of Kerbala
College of Education for pure Science
Department of Chemistry**

**Studying The Effect of Nano Scale Chitosan Bound to
Some Drugs on Lung Cancer Cells**

Submitted to The Council of College of Education for pure
Science University of Kerbala /In Partial Fulfillment of the
Requirements for the Degree of Master in Chemistry Sciences

By

Bahaa Karim Khalil Al-Ghanimi

**Supervised by
Professor Dr. Mohammad Nadhum Al-Baiati**

**Second Supervised
Asst. Professor Dr. Zainab Nizar Jawad**