



جامعة كربلاء

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم الكيمياء

## تحضير وتشخيص متراكبات نانوية دوائية جديدة للكيتوسان ودراسة قابليتها على تثبيط انتشار مرض سرطان القولون

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

كُتبت بواسطة:

اسامه وبدان عبد النبي سكر

بكالوريوس كيمياء / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء 2021

بإشراف

أ.م.د. هبة علوان عبد السلام

أ.د. محمد ناظم بهجت البياتي

تموز 2024 م

محرم الحرام 1446 هـ

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ  
﴿قَالُوا سُبْحٰنَكَ لَا عِلْمَ لَنَا بِإِلٰهٍ مَا عَزَّمْنَا بِكَ  
أَنْتَ الْعَلِیُّ الْعَظِیْمُ﴾

صدق اللّٰهُ العلیُّ العظیم

البقرة (32)

## إقرار المشرفين

نشهد أن إعداد الرسالة الموسومة "تحضير وتشخيص متراكبات نانوية دوائية جديدة للكيتوسان ودراسة قابليتها على تثبيط انتشار مرض سرطان القولون" قد جرى تحت اشرافنا في قسم الكيمياء وقسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء وهي من متطلبات نيل درجة الماجستير في الكيمياء (الكيمياء الصناعية).

التوقيع:  
الاسم: د. هبة علوان عبد السلام

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة كربلاء/ كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024/ / ٤

التوقيع:  
الاسم: د. محمد ناظم بهجت

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء/ كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024/ /

## إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا ورئيس القسم

إشارة الى التوصية أعلاه من قبل الأساتذة المشرفين، اشرح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع:  
الاسم: د. محمد ناظم بهجت

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء/ كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024/ /

رئيس لجنة الدراسات العليا ورئيس قسم الكيمياء

## إقرار المقوم اللغوي

أقر بأن رسالة الماجستير الموسومة:

( تحضير وتشخيص متراكبات نانوية دوائية جديدة للكيتوسان ودراسة قابليتها على تثبيط انتشار مرض سرطان القولون ) التي تقدم بها الطالب اسامه وبدان عبد النبي قد جرى تقويمها لغوياً بإشرافي وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الكيمياء.

التوقيع

أ.د. أمجد حميد عبدالله

العنوان: جامعة كربلاء / كلية العلوم الاسلامية

التاريخ : / / 2024

## إقرار المقوم العلمي

أقر بأن رسالة الماجستير الموسومة:

(تحضير وتشخيص متراكبات نانوية دوائية جديدة للكيوسان ودراسة قابليتها على تثبيط انتشار مرض سرطان القولون) التي تقدم بها الطالب اسامه وبدان عبد النبي قد جرى تقويمها علمياً من قبلي وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الكيمياء.

التوقيع:

ا.د. شيماء عدنان بهجت

العنوان: جامعة القادسية / كلية التربية

التاريخ: / / 2024

## إقرار المقوم العلمي

أقر بأن رسالة الماجستير الموسومة:

(تحضير وتشخيص متراكبات نانوية دوائية جديدة للكيتوسان ودراسة قابليتها على تثبيط انتشار مرض سرطان القولون) التي تقدم بها الطالب اسامه وبدان عبد النبي قد جرى تقويمها علمياً من قبلي وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الكيمياء.

التوقيع:

الاسم: أ.د. مهند موسى كريم

العنوان: جامعة بابل / كلية العلوم

التاريخ: / / 2024

## إقرار لجنة المناقشة

نشهد بأننا رئيس و أعضاء لجنة المناقشة قد اطلعنا على هذه الرسالة الموسومة " تحضير وتشخيص متراكبات نانوية دوائية جديدة للكيتوسان ودراسة قابليتها على تثبيط انتشار مرض سرطان القولون " المقدمة من قبل الطالب (اسامه وبدان عبد النبي) وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها وفي ماله علاقة بها ووجدناها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في الكيمياء (الكيمياء الصناعية) وبتقدير (امتياز)

### رئيس اللجنة

التوقيع:

الاسم: أ.د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024/ /

### عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم: د. زياد طارق حبيب

المرتبة العلمية: مدرس

العنوان: جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024/ /

### عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم: د. سناء هاتور عواد

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة بغداد/كلية العلوم للبنات

التاريخ: 2024/ /

### عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع:

الاسم: د. هبة علوان عبد السلام

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

العنوان: جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024/ /

التوقيع:

الاسم: د. محمد ناظم بهجت

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024/ /

### مصادقة عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة

التوقيع:

الاسم: د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: 2024/ /

بسم الله الرحمن الرحيم

الحمد لله الواحد الأحد الفرد الصمد الذي له العزة والجبروت الذي أفاض العلم من معدن الكرم وفتح أبواب رحمته الواسعة بالقلم وعلم الإنسان ما لم يعلم، والصلاة والسلام على أشرف الخلق أبي القاسم محمد وعلى آل بيته وصحبه الطاهرين.

لا يسعني وأنا أهني جهدي المتواضع هذا الا وأن أقدم بواف الشكر والاحترام إلى اسناذي الفاضل أ.د محمد ناظم هجت البياتي واسناذتي ا.م.د هبة علوان عبدالسلام لاقتراحهما موضوع الرسالة وأشرفهما ومنابعهما العلمية الحثيثة والدؤوبة ومرعايتهما لي طيلة مدة الدراسة. ويسرنني ان أقدم بالغ شكري وتقديري إلى رئاسته جامعة كربلاء وإلى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة لآتاحتها الفرصة لإكمال دراستي وشكري الخاص الأسناذ المساعد الدكتور علا مهدي الهنداوي وإلى جميع اساتذة القسم لجهودهم المبذولة في دعم طلبته الدراسات العليا والمساعدة التي أبدوها إذ ذلت الكثير من المصاعب في إنجاز البحث راجياً من المولى عزه وجل ان يوفقهم ويحفظهم لما فيه خير. كما أقدم بخالص شكري وأمثاني إلى الزميلهء كريمة الغانمي وكل من مديد العون والمساعدة لإنجاز هذا البحث..

اسامه



## الخلاصة

في العمل الحالي تم ربط بوليمر الكيتوسان النانوي مع عقاقير مختلفة وهي (السيفالكسين A1، الباراسيتامول A2 وحامض الميفيناميك A3) عن طريق بلمرة التكثيف، وتشخيصها بتقنيات FT-IR و<sup>1</sup>H-NMR.

تمت دراسة الخصائص الفيزيائية لعقاقير الكيتوسان النانوية المحضرة ومنها خاصية الذوبان للتأكد من قابليتها للذوبان في المذيبات المختلفة (H<sub>2</sub>O)، والأسيتون، والإيثانول، والهكسان، وDMSO، والكوروفورم، والتلوين، من بين خصائص أخرى.

تم استخدام مقياس الطيف الضوئي (UV-Vis) لقياس امتصاص إطلاق الدواء (Abs) كدالة للوقت (الساعة واليوم) في أربعة محاليل مختلفة للأس الهيدروجيني (pH = 2.2، 6.0، 7.2، و8.0) وبقيمة ثابتة. درجة الحرارة (37 °C).

تمت دراسة الالتحام الجزيئي لعقاقير الكيتوسان النانوية باستخدام برنامج (PyRx, Biovia)، لمعرفة طبيعة الارتباط بين العقاقير النانوية المحضرة وسلسلة الأحماض الامينية المكونة لبروتين (3m11) المحفز لنمو وانتشار سرطان القولون في الخط الخلوي HCT-29. ومعرفة الفعالية الدوائية لعقاقير الكيتوسان النانوية.

تم تقييم مدى تأثير عقاقير الكيتوسان النانوية (A1، A2، A3). قبل وبعد تعريضها لخط خلايا سرطان القولون (HCT-29)، تم تقييم تعبير الجين P<sup>53</sup> بعد معالجة خط خلايا سرطان القولون (HCT-29) بعقاقير الكيتوسان النانوية، وظهرت النتائج ارتفاع في مستويات التعبير الجيني مقارنة مع مجموعة السيطرة، حيث كان لعقار السيفالكسين المرتبط بالكيتوسان النانوي (A1) أعلى مستوى تعبير. وقد تبين أن الجين P<sup>53</sup> يبدأ الوظيفة الطبيعية ويوقف انقسامات الخلايا الشاذة. وأظهرت النتائج أن العقاقير تمنع بشكل فعال الخلايا السرطانية من الانتشار. وفقا لنتائج الدراسة الحالية، كان العقار (A1) سمية أقل بالمقارنة مع العقاقير الأخرى، حيث كانت قيمة IC50 لعقاقير الكيتوسان النانوي في تثبيط انتشار سرطان القولون بالترتيب التالي:

$$\leftarrow A1 > A3 > A2$$

زيادة كفاءة التثبيط عند IC50

كما أظهرت النتائج ارتفاع مستويات انتاج مجاميع الاوكسجين الفعالة (ROS) عند معالجة الخط الخلوي لسرطان القولون نوع (HCT-29) بعقاقير الكيتوسان النانوية الجديدة حيث كان أعلى مستوى في عقار السيفالكسين المرتبط بالكيتوسان النانوي (A1).

## فهرس المحتويات

قائمة المحتويات		
رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
<b>I</b>	الخلاصة	
<b>II-IV</b>	قائمة المحتويات	
<b>V</b>	قائمة الجداول	
<b>VI-VIII</b>	قائمة الاشكال	
<b>VIII</b>	قائمة المخططات والمعادلات	
<b>IX-XII</b>	قائمة الرموز والمختصرات	
1	الفصل الأول: المقدمة	
1	المقدمة	1
1	البوليمرات	1.1
3-2	تصنيف البوليمرات	1.2.1
3-4	تقنية النانو	1.2
5	تحضير الجسيمات النانوية	1.2.1
6	البوليمرات الدوائية	1.3
6-7	الكيتوسان	1.4
8-9	نظام توصيل الدواء	1.5
9-10	الناقلات الدوائية	1.6
11-21	اطلاق الدواء	1.7
12-13	السرطان	1.8
13-14	سرطان القولون	1.8.1
15-16	أنواع سرطان القولون	1.8.1.1
16	البيولوجيا الجزيئية للسرطان	1.9
16-17	جين P <sup>53</sup>	1.10
17	العقاقير المستخدمة في الدراسة	1.11
17-18	السيفالكسين	1.11.1
18	الباراسيتامول	1.11.2
18-19	حامض المفيناميك	1.11.3
20	الهدف من دراسة	1.12

## قائمة المحتويات

رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
21	الفصل الثاني: الجزء العملي	
21	الجزء العملي	2
21-22	المواد الكيميائية المستخدمة	2.1
23	المواد والأدوات البيولوجية المستخدمة	2.2
24	الأجهزة والتقنيات	2.3
24	تحضير عقاقير الكيتوسان النانوية	2.4
24	تحضير عقار (A1)	2.4.1
24	تحضير عقار (A2)	2.4.2
25	تحضير عقار (A3)	2.4.3
25	دراسة الخصائص الفيزيائية لعقاقير الكيتوسان النانوية	2.5
25	الذوبانية	2.5.1
26	تحرر الدواء	2.5.2
26	تحضير محاليل بفر	2.5.3
27-26	قياس الامتصاصية للأدوية المحضرة	2.5.4
27	الالتحام الجزيئي	2.6
27	زراعة الخلايا	2.7
28-27	اختبار السمية الخلوية	2.8
28	التغيرات الشكلية	2.9
28	اختبار التدفق الخلوي	2.10
28	الكشف عن الموت المبرمج	2.11
29	الكشف عن التعبير الجيني	2.12
29	جمع العينات	2.12.1
29	استخلاص RNA	2.12.2
29	قياس تركيز الحامض النووي ونقاوته	2.12.3
30	البادئات	2.12.4
31-30	تفاعل (qRT-PCR)	2.12.5
31	التحليل الاحصائي	2.13

قائمة المحتويات		
32 الفصل الثالث: النتائج والمناقشة		
رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
32	النتائج والمناقشة	3
32-34	تحضير عقار (A1)	3.1.1
34-37	تحضير عقار (A2)	3.1.2
37-40	تحضير عقار (A3)	3.1.3
48-40	تحضير الدواء	3.2
52-49	الالتحام الجزيئي	3.3
55-52	السمية الخلوية	3.4
57-56	اختبار التدفق الخلوي	3.5
58-57	اختبار الموت المبرمج	3.6
60-59	دراسة التعبير الجيني باستخدام تفاعل (qRT-PCR)	3.7
61-60	تقييم النشاط المضاد لسرطان القولون	3.8
62	الاستنتاجات	
63	التوصيات	
64-77	المصادر	

## فهرس الجداول

قائمة الجداول		
رقم الصفحة	عناوين الجداول	رقم الجدول
21	المواد الكيميائية المستخدمة	1-2
23	المواد المستخدمة في قياس النشاط البيولوجي	2-2
23	الأجهزة المستخدمة في النشاط البيولوجي	3-2
25	ذوبانية عقاقير الكيتوسان النانوية	4-2
27	الطول الموجي الأعظم	5-2
30	البيادئات المستخدمة في تفاعل (qRT-PCR)	6-2
31	الظروف الحرارية المثلى لتفاعل (qRT-PCR)	7-2
41	زمن تحرير الدواء في (الساعة واليوم) في (pH=2.2) عند (37 °C).	1-3
42	زمن تحرير الدواء في (الساعة واليوم) في (pH=6.0) عند (37 °C).	2-3
43	زمن تحرير الدواء في (الساعة واليوم) في (pH=7.2) عند (37 °C).	3-3
44	زمن تحرير الدواء في (الساعة واليوم) في (pH=8.0) عند (37 °C).	4-3
50	طاقة الارتباط لعقار (A1)	5-3
50	طاقة الارتباط لعقار (A2)	6-3
50	طاقة الارتباط لعقار (A3)	7-3
61	زيادة كفاءة التثبيط عند IC50(µg/mL)	8-3

## فهرس الاشكال

قائمة الاشكال		
رقم الصفحة	عناوين الاشكال	رقم الشكل
2	البوليمرات الخطية	1-1
3	البوليمرات المتفرعة	2-1
3	البوليمرات المتقاطعة	3-1
4	أنواع الجسيمات النانوية	4-1
5	طرق تحضير الجسيمات النانوية	5-1
7	إزالة مجموعة الاستيل من الكيتين للحصول على الكيتوسان	6-1
9	نظام توصيل الدواء	7-1
10	نموذج لحامل الدواء على البوليمر	8-1
12	مستويات الدواء في الدم	9-1
14	شكل افتراضي لسرطان القولون	10-1
17	التركيب الكيميائي للسيفالكسين	11-1
18	التركيب الكيميائي للباراسيتامول	12-1
19	التركيب الكيميائي لحمض الميفيناميك	13-1
33	طيف FT-IR لعقار (A1)	1-3
34	طيف <sup>1</sup> H-NMR لعقار (A1)	2-3
36	طيف FT-IR لعقار (A2)	3-3
37	طيف <sup>1</sup> H-NMR لعقار (A2)	4-3
38	طيف FT-IR لعقار (A3)	5-3
39	طيف <sup>1</sup> H-NMR لعقار (A3)	6-3
45	منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل ساعة في pH=2.2 عند 37 °C	7-3
45	منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل يوم في pH=2.2 عند 37 °C	8-3
46	منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل ساعة في pH=6.0 عند 37 °C	9-3
46	منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل يوم في pH=6.0 عند 37 °C	10-3

قائمة الأشكال		
رقم الصفحة	عناوين الأشكال	رقم الشكل
47	منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل ساعة في pH=7.2 عند 37 °C	11-3
47	منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان لكل يوم في pH=7.2 عند 37 °C	12-3
48	منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل ساعة في pH=8.0 عند 37 °C	13-3
48	منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان لكل يوم في pH=8.0 عند 37 °C	14-3
51	الالتحام الجزيئي لعقار (A1)	15-3
51	الالتحام الجزيئي لعقار (A2)	16-3
52	الالتحام الجزيئي لعقار (A3)	17-3
53	تأثير عقار (A1) على سمية خلايا سرطان نوع (HCT-29), IC50=57.82 µg/mL	18-3
53	تأثير عقار (A2) على سمية خلايا سرطان نوع (HCT-29), IC50=71.26 µg/MI	19-3
54	تأثير عقار (A3) على سمية خلايا سرطان نوع (HCT-29), IC50=62.73 µg/mL	20-3
54	التغيرات الشكلية لخط خلايا سرطان القولون (HCT-29) قبل المعالجة	21-3
55	التغيرات الشكلية لخط خلايا سرطان القولون (HCT-29) بعد معالجتها بعقار (A1)	22-3
55	التغيرات الشكلية لخط خلايا سرطان القولون (HCT-29) بعد معالجتها بعقار (A2)	23-3
55	التغيرات الشكلية لخط خلايا سرطان القولون (HCT-29) بعد معالجتها بعقار (A3)	24-3
56	قدرة عقاقير الكيتوسان النانوية على تحفيز (ROS) في خط خلايا سرطان القولون (HCT29) قبل وبعد المعالجة	25-3

قائمة الاشكال		
رقم الصفحة	عناوين الاشكال	رقم الشكل
57	الموت المبرمج لخط خلايا سرطان القولون (HCT-29) قبل المعالجة (التحكم)	26-3
58	الموت المبرمج لخط خلايا سرطان القولون (HCT-29) بعد المعالجة بعقار (A1)	27-3
58	الموت المبرمج لخط خلايا سرطان القولون (HCT-29) بعد المعالجة بعقار (A2)	28-3
58	الموت المبرمج لخط خلايا سرطان القولون (HCT-29) بعد المعالجة بعقار (A3)	29-3
59	التعبير الجيني لجين $P^{53}$ لخط خلايا سرطان القولون (HCT-29) بعد تعرضها لثلاث أنواع من عقاقير الكيتوسان النانوي مقارنة مع مجموعة السيطرة	30-3

فهرس المعادلات  
والمخططات

قائمة المخططات والمعادلات		
رقم الصفحة	العنوان	التسلسل
32	معادلة تفاعل عقار السيفالكسين مع الكيتوسان النانوي (A1)	1-3
35	معادلة تفاعل عقار الباراسيتامول مع الكيتوسان النانوي (A2)	2-3
37	معادلة تفاعل عقار حامض الميفيناميك مع الكيتوسان النانوي (A3)	3-3



فهرس الرموز والمختصرات

قائمة الرموز والمختصرات		
المصطلح باللغة العربية	The term in English	الرمز
مايكرو غرام	Micrograms	$\mu\text{g}$
مايكرو لتر	Micro liter	$\mu\text{L}$
تركيز مايكرو مولاري	Molarity Micro Concentration	$\mu\text{M}$
بروتون الرنين النووي المغناطيسي	Proton Nuclear Magnetic Resonance	$^1\text{H-NMR}$
الكثافة الضوئية للتحكم	The optical density of control	<b>A</b>
مجهر القوة الذرية	Atomic Force Microscope	<b>AFM</b>
ألنين	Alanine	<b>Ala</b>
أرجنين	Arginine	<b>Arg</b>
برولين	Pro	<b>Proline</b>
فالين	Val	<b>Valine</b>
كرات امينو اللامعة	Amino Shiny Balls	<b>Ash</b>
أسباراجين	Asparagine	<b>Asn</b>
اسبارتيك	Aspartic	<b>Asp</b>
نسخة من الحامض النووي الريبسي منقوص الأوكسجين	Copy Deoxyribose Nucleic acid	<b>Cdna</b>
إنزيم فوسفات الكاربامويل	Carbamoyl phosphate synthetize	<b>Cps</b>
سيستئين	Cysteine	<b>Cys</b>
ثنائي ميثيل السلفوكسيد	Dimethyl Sulfoxide	<b>DMSO</b>

قائمة الرموز والمختصرات		
المصطلح باللغة العربية	The term in English	الرمز
الحامض النووي الريبسي منقوص الأوكسجين	Deoxyribose Nucleic acid	<b>DNA</b>
النووي الريبسي منقوص الأوكسجين	Deoxyribose Nucleic	<b>Dnase</b>
اثلين ثنائي الامين رباعي حامض الخليك	Ethylene Diamine Tetra Acetate	<b>EDTA</b>
المرحلة انتشار السرطان	Extensive stage	<b>ES</b>
للأمام	Forward	<b>F</b>
طيف الاشعة تحت الحمراء	Fourier-transform infrared spectroscopy	<b>FT-IR</b>
غرام	Gram	<b>Gm</b>
كلوتامين	Glutamine	<b>Gln</b>
كلوتاميت	Glutamate	<b>Glu</b>
إصابة الكلى الحاد	Acute kidney injury	<b>Aki</b>
كلايسين	Glycine	<b>Gly</b>
كوانوسين ثلاثي الفوسفات	Guanosine triphosphate	<b>GTP</b>
هستيدين	Histidine	<b>His</b>
التثبيط عند متوسط التركيز	medium inhibition concentration	<b>IC50</b>
ايزوليوسين	Isoleucine	<b>Ile</b>
لتر	Liter	<b>L</b>
ليوسين	Leucine	<b>Leu</b>
تركيز مولاري	Molarity concentration	<b>M</b>
ميثيونين	Methionine	<b>Met</b>
ملي غرام	Milligrams	<b>Mg</b>
الزمن بالدقائق	Mints	<b>min.</b>
ملي لتر	Milliliters	<b>MI</b>

قائمة الرموز والمختصرات		
المصطلح باللغة العربية	The term in English	الرمز
تعدد العدوى	Multiplicity of infection	<b>MOI</b>
مرسال الحامض النووي الريبى	Messenger Ribonucleic Acid	<b>mRNA</b>
صبغة تترازوليوم	Tetrazolium dye	<b>MTT dye</b>
المجموعة	Group	<b>N = 3</b>
المركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية	National Center for Biotechnology Information	<b>NCBI</b>
نانو غرام	Nano grams	<b>Ng</b>
نانو متر	Nano Meter	<b>Nm</b>
الأدوية المضادة للالتهابات غير الستيرويدية	Non-steroidal anti-inflammatory drugs	<b>NSAID</b>
الكثافة البصرية	Optical Density	<b>O.D.</b>
جين <i>P53</i> كبح للأورام	Gene <i>P53</i> is a tumor suppressor	<b><i>P53</i></b>
محلول الفوسفات المالح	Phosphate Buffer Saline	<b>PBS</b>
بنك بيانات البروتين	Protein Data Bank	<b>PDB</b>
الدالة الحامضية	potential of hydrogen	<b>pH</b>
فينيل ألانين	Phenylalanine	<b>Phe</b>
جزء بالمليون ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Part per million ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	<b>ppm</b>
النسخ العكسي الكمي تفاعل البوليميراز المتسلسل	quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction	<b>qRT- PCR</b>
عكسي	Revers	<b>R</b>
الحامض النووي الريبى	Ribonucleic Acid	<b>RNA</b>
أنواع الاوكسجين الفعالة	Reactive Oxygen Species	<b>ROX</b>
دورة لكل دقيقة	Revolutions Per min	<b>Rpm</b>

قائمة الرموز والمختصرات

المصطلح باللغة العربية	The term in English	الرمز
وسيط معهد روزويل بارك التذكاري 1640 –	Roswell Park Memorial Medium Institute – 1640	<b>RPMI – 1640</b>
الشركة العامة لصناعة الأدوية و المستلزمات الطبية / سامراء	The General Company for the manufacture of medicines and medical supplies / Samarra	<b>SDI</b>
الزمن بالثانية	Second	<b>Sec.</b>
مجهر الكتروني ماسح	Scanning Electron Microscopy	<b>SEM</b>
سيرين	Serine	<b>Ser</b>
وسط خالي من المصل الحيواني	Serum-free medium	<b>SFM</b>
الزمن	Time	<b>T</b>
مجهر الكتروني نافذ	Transmission Electron Microscopy	<b>TEM</b>
درجة الحرارة	Temperature	<b>Temp.</b>
رباعي هيدرو الفوران	Tetrahydrofuran	<b>THF</b>
ثريونين	Threonine	<b>Thr</b>
رباعي ميثيل السيليكون	Tetra methyl silane	<b>TMS</b>
تيروسين	Tyrosine	<b>Tyr</b>
التحليل الطيفي للأشعة المرئية وال فوق البنفسجية	Ultraviolet and Visible Spectroscopy	<b>UV-Vis</b>
فالين	Valine	<b>Val</b>
منظمة الصحة العالمية	World Health Organization	<b>WHO</b>
الطول الموجي الأعظم للامتصاص	Lambda max	$\lambda_{max}$

الفصل الأول

(المقدمة)

**Chapter One)**  
**(Introduction)**

## 1. المقدمة Introduction

## Polymer

## 1.1. البوليمرات

تمثل البوليمرات فئة مواد ذات أهمية كبيرة، حيث تبدو الحياة شبه مستحيلة بدون البوليمرات خاصة في هذا العالم التكنولوجي المتزايد باستمرار، حيث يلعب علم البوليمرات دورًا رئيسيًا في تقديم حلول للتحديات الحرجة التي قد تواجه التطبيقات المتعلقة بالطاقة والغذاء والمياه النظيفة والهواء والصحة بشكل عام، لذلك توجد البوليمرات في كل التطبيقات من حولنا خلال حياتنا اليومية مثل البلاستيك، والمطاط، والراتنجات، والأشرطة اللاصقة والمواد اللاصقة، والتربة وغيرها [1].

علاوة على ذلك، فإن حقيقة أن البيولوجيا الجزيئية، والطب الحيوي، والكيمياء الحيوية، وعلم الصيدلة، هي المجالات التي تلعب فيها البوليمرات وكيمياء البوليمر دورًا رئيسيًا في تطوير مجالاتها الجديدة. ومن الواضح أن دراسة الجزيئات الكبيرة هي أحد موضوعات البحث العلمي الأكثر حضورًا والأسرع نموًا. ونتيجة لذلك، يبدو أن البوليمر هو ليس فقط تخصصًا متعدد التخصصات أو فرعًا للعلوم الكيميائية [2].

إن الكلمة اليونانية polys التي تعني كثير و mers التي تعني جزء هي التي اشتق منها مصطلح Polymer. الذي تم تقديمه لأول مرة من قبل الكيميائي السويدي بيرزيليوس في عام 1883 [3]. على الرغم من مرور عام واحد فقط على ظهور كلمة أيزومر المشتقة من الكلمة اليونانية iso تعني متساوي و mers تعني جزء لتمثيل المواد التي لها خواص مختلفة ولكن تركيب واحد [4]. تم تقديم المفهوم الحديث للبوليمر باعتباره هياكل جزيئية كبيرة مرتبطة تساهميًا من قبل هيرمان ستودينجر في عام 1920، الذي أمضى العقد التالي في جمع الأدلة التجريبية لهذه الفرضية، وبالتالي يرتبط تاريخ البوليمر ارتباطًا وثيقًا باسمه [5].

البوليمرات هي جزيئات كبيرة لها وزن جزيئي كبير، ولذلك تسمى الجزيئات الكبيرة التي تتراكم عن طريق ربط عدد كبير من الجزيئات الصغيرة التي تسمى المونومرات مع بعضها البعض، التفاعل الكيميائي الذي يجمع بين اثنين أو أكثر من المونومرات، مع وجود أي من الحرارة أو الماء أو أي مذيب آخر، لتكوين جزيء كبير الوزن الجزيئي (البوليمر) ويسمى هذا التفاعل بتفاعل البلمرة [6]. ونتيجة لذلك، فإن كتلتها الجزيئية العالية مقارنة بالمركبات الجزيئية الصغيرة تعطي خصائص فيزيائية غير مسبوقه، مثل اللزوجة والمرونة والمتانة وما إلى ذلك [7].

## Introduction

### Classification of Polymers

### 1.1.1. تصنيف البوليمرات

نظرًا لاستخداماتها المتعددة وسلوكياتها المتنوعة وهيكلها المعقدة، لا يمكن تجميع البوليمرات في فئة واحدة. بل تم تقسيمها إلى عدة فئات بناءً على مجموعة متنوعة من العوامل، أهمها مصادر البوليمر، حسب شكل المونيمر:-

#### 1.1.1.1. تصنيف البوليمرات حسب المصادر

### Classification of Polymers according to its Source

تصنف البوليمرات حسب وجودها أو مصدرها إلى ثلاثة أنواع [8]:

a. **البوليمرات الطبيعية:** فئة من البوليمرات تشير إلى البوليمرات، والتي يتم الحصول عليها بشكل طبيعي، مثل النباتات أو الحيوانات، على سبيل المثال. السليلوز، الدم، الصمغ العربي، والمطاط... الخ [9].

b. **البوليمرات الصناعية:** وهي أيضًا فئة من البوليمرات يتم الحصول عليها من ربط المونومرات والتي يتم تصنيعها من خلال التخليق الكيميائي. على سبيل المثال، بولي مثيل أكريليت، بولي فينيل كحول (PVA)، بولي إيثيلين (PE)، إلخ. [10].

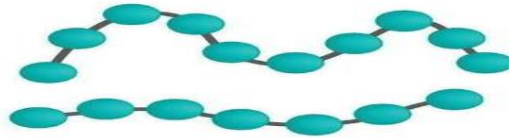
c. **البوليمرات شبه الصناعية:** هي فئة من البوليمرات التي يتم الحصول عليها عن طريق مواد كيميائية بسيطة معدلة من الألياف الطبيعية مثل: إيثيل السليلوز (EC)، وميثيل السليلوز (MC) فيما يتعلق بالأغراض الصيدلانية [10].

#### 1.1.1.2. تصنيف البوليمرات حسب ترتيب المونومير

### Classification according to its monomer chain structure

تصنف البوليمرات حسب ترتيب الوحدات المونوميرية إلى ثلاث أنواع [7, 11].

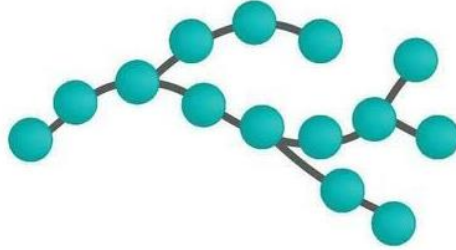
a. **البوليمرات الخطية:** في هذه الفئة من البوليمرات، ترتبط المونومرات مع بعضها البعض وتشكل سلسلة طويلة مستقيمة. لا يوجد فروع تخرج من السلسلة. على سبيل المثال، النايلون، البولي إيثيلين، PVC، إلخ. كما في الشكل (1-1)



الشكل (1-1) البوليمرات الخطية.

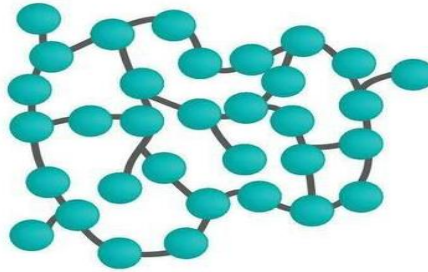
Introduction

b. البوليمرات المتفرعة: في هذه الفئة من البوليمرات، لها سلسلة طويلة مستقيمة ذات سلاسل جانبية مختلفة، على سبيل المثال الأميلوبكتين، والبول إيثيلين منخفض الكثافة، كما في الشكل (2-1)



الشكل (2-1) البوليمرات المتفرعة

c. البوليمرات المتقاطعة: في هذه الفئة ترتبط المونومرات ببعضها لتشكل شبكة ثلاثية الأبعاد، على سبيل المثال المطاط المفلكن، الباكليت وغيرها، كما في الشكل (3-1)



الشكل (3-1) البوليمرات المتقاطعة.

Nanotechnology

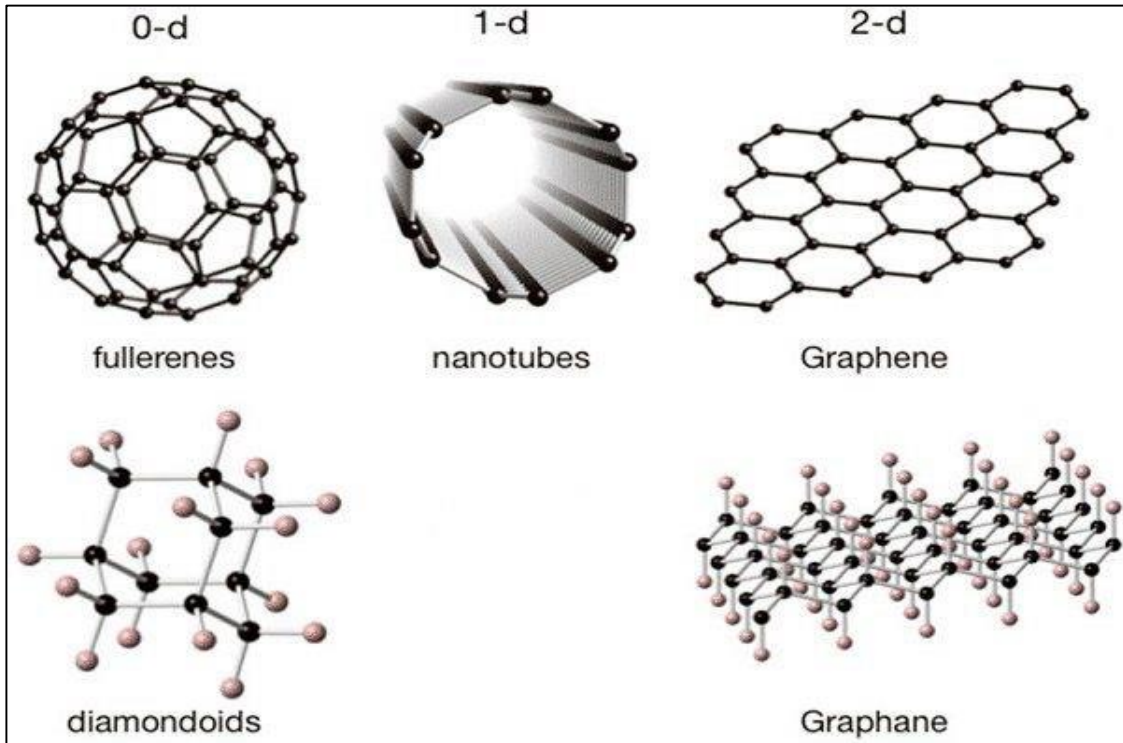
1.2 تقنية النانو

تقنية النانو سر تقدم العلوم عبر مجموعة واسعة من التخصصات، فقد اجتذبت تكنولوجيا النانو نوعاً من الاهتمام المكثف من الخبراء والباحثين لم يكن على أي تكنولوجيا أخرى مضاهاتها. إنها واحدة من العلوم الناشئة التي تولد الكثير من الاهتمام لأنها تعد بتقديم تقنيات متطورة لمختلف التطبيقات ومجموعة واسعة من الأغراض المعاصرة. يستخدم هذا المجال من الدراسة تقنية النانو لإنتاج مواد ذات أشكال وأحجام وصفات واستخدامات يمكن التحكم فيها [12]. منذ أن تم استخدام الهياكل النانوية في التطبيقات العلاجية ضد الالتهابات والاضطرابات الخبيثة في الماضي، ساهمت تكنولوجيا النانو في تطوير الأساليب والإجراءات الطبية الحديثة



[13]. ينشأ معظمها من استخدامها كحاملات للأدوية، حيث أن استخدام الهياكل النانوية في تعبئة الأدوية كعوامل توصيل أو ربط الأدوية العلاجية وتوصيلها إلى الأنسجة المستهدفة قد جعل من الأدوية النانوية في غاية الأهمية [14, 15]. تسمى الجسيمات التي تحتوي على عدد محدد من الذرات بالجسيمات النانوية.

تشير كلمة "الجسيمات النانوية" إلى الجسيمات التي يبلغ حجمها نانومتر واحد أو أقل في جميع الأبعاد الثلاثة. تعرض الجسيمات النانوية خصائص مغناطيسية وكهربائية وكيميائية مثيرة للاهتمام تختلف عن تلك الخاصة بالمواد التي تكون أجزائها المكونة كبيرة الحجم. وذلك لأن المواد ذات البنية النانوية تتكون من عناصر مجهرية. نظرًا لتأثيرات الحبس الكمي، تظهر هذه الجسيمات النانوية الخاصة قدرًا أكبر من الصلابة والقوة والمقاومة الكهربائية وانخفاض الكثافة مقارنة بحجمها الأكبر. ومن المعروف أن أشكال عديدة، بما في ذلك الكروية والنجمية، والنانابيب النانوية، والخ... كما في الشكل (4-1) [16].



الشكل (4-1) أنواع الجسيمات النانوية.

**Nanoparticles Synthesis**

**1.2.1. تحضير الجسيمات النانوية**

تعتمد تقنيات تصنيع الجسيمات النانوية المعدنية على عزل كميات صغيرة من المادة. هناك استراتيجيتان عامتان للحصول على المواد بمقياس النانو (1-100nm) كما في الشكل (1-5).

**Top – down**

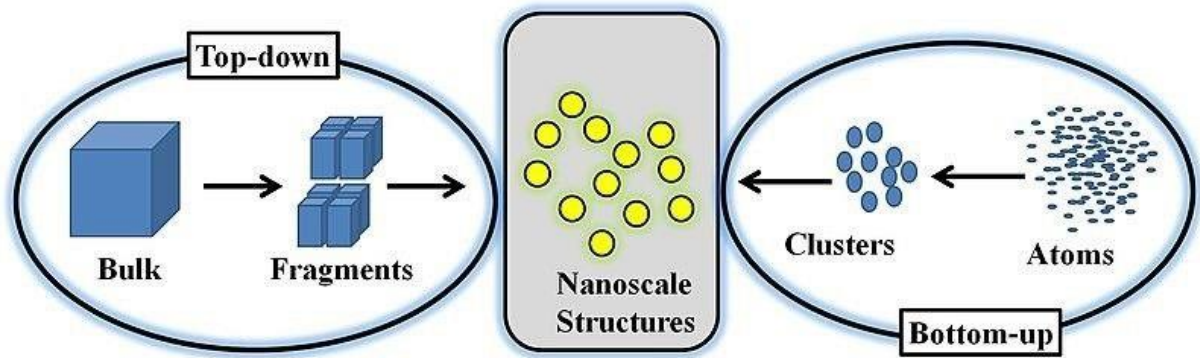
**a. طريقة اعلى-اسفل**

يعد الاستئصال بالليزر النبضي في السوائل (PLAL)، وهي طريقة من أعلى إلى أسفل وهي طريقة شائعة لإنتاج الغرويات، أحد أهم الطرق المستخدمة لتحضير الجزيئات النانوية. يبدأ عادةً من الكتلة، ويستخدم النهج من أعلى إلى أسفل الاستئصال بالليزر. تحدث عملية التنوي، بدءًا من العمود حتى تعترض الركيزة الصلبة الطريق. يمكن تنظيم حجم الجسيمات. عن طريق تعديل التدفق، والطول الموجي، وما إلى ذلك. من عيوب هذه الطريقة من أعلى إلى أسفل هو أنه يجب إزالة الكثير من المواد [17].

**Bottom-up**

**b. طريقة اسفل-اعلى**

الطريقة من أسفل إلى أعلى تبدأ من الذرات، وتشمل الاختزال الكيميائي، والاختزال الحراري والكيميائي الضوئي، وقد تم استخدامها لتوليد الجسيمات النانوية عادة ما تستخدم تقنيات التخليق من الأسفل إلى الأعلى عاملاً لإيقاف نمو الجسيم على المقياس النانوي تستخدم مواد خافضة للتوتر السطحي أو البوليمر لمنع تراكم وترسيب الجسيمات النانوية المعدنية خارج المحلول يحدد اختيار الوقت وتقنية الاختزال ومواد التغطية من شكل وحجم الجسيمات الثانوية المتولدة [18].



الشكل (1-5) طرق تحضير الجسيمات النانوي اعلى-اسفل، اسفل -اعلى [19].

Introduction

Drug polymer

1.3. البوليمرات الدوائية

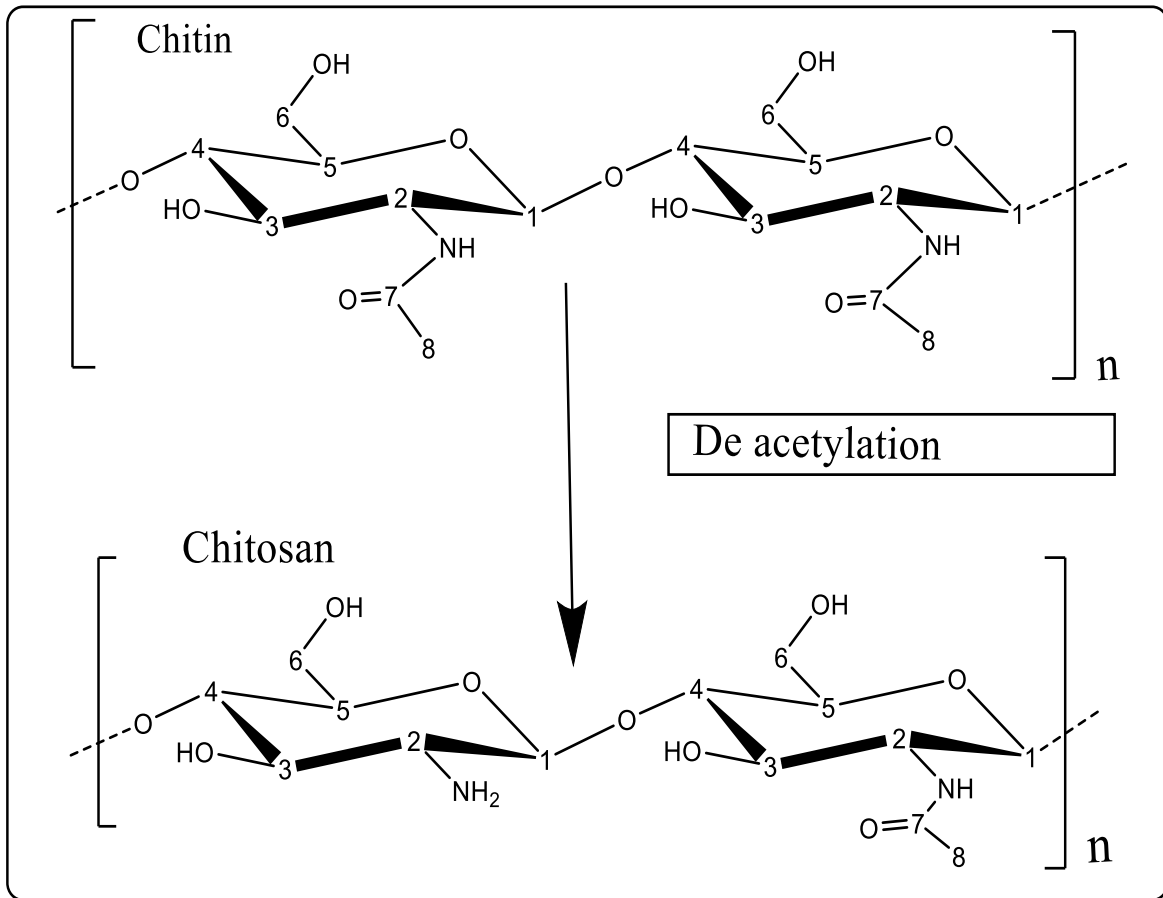
لقد شهد استخدام البوليمرات الوظيفية في الطب نموًا كبيرًا خلال العقدين الماضيين. وقد وجدت البوليمرات كمواد حيوية تطبيقات في مجالات مثل الأعضاء الاصطناعية، وهندسة الأنسجة، ومكونات الأجهزة الطبية، وطب الأسنان. الأدوية البوليمرية هي جزيئات كبيرة تثير النشاط البيولوجي. العديد من البوليمرات الاصطناعية خاملة بيولوجيا. ومع ذلك، فإن بعضها يظهر سمية، بينما يظهر البعض الآخر مجموعة واسعة من الأنشطة العلاجية [20, 21]. تشغل البوليمرات جزءًا كبيرًا من المواد المستخدمة في الإطلاق المتحكم فيه للتركيبات وأنظمة استهداف الأدوية لأن هذه الفئة من المواد تقدم تنوعًا لا نهاية له على ما يبدو في الطوبولوجيا والكيمياء. وهذه ميزة حاسمة مقارنة بالفئات الأخرى من المواد لتلبية المتطلبات المتزايدة باستمرار للتصميمات الجديدة لتركيبات توصيل الأدوية. تصف بنية البوليمر شكل جزيء بوليمر واحد. يقع كل بوليمر طبيعي وشبه طبيعي وصناعي ضمن إحدى البنات المصنفة: الخطية، والمطعمة، والمقترعة، والمترابطة، والكتلة، والنجمية [22]. اهتم الباحثون بتحضير المواد البوليمرية النشطة بيولوجيًا، عن طريق ربط الدواء بالبوليمر من خلال الارتباط التساهمي، على سبيل المثال. كان الكلورامفينيكول مرتبطًا سابقًا بميثاكريليك ليعطي وظيفة أسيتال ثم بلمرة مشتركة مع 2-هيدروكسيل ميثاكريلات [23]. في مجال الطب الحيوي، تُستخدم البوليمرات بشكل عام كغرسات ومن المتوقع أن تؤدي خدمة طويلة المدى. وهذا يتطلب أن تتمتع البوليمرات بخصائص فريدة لا توفرها البوليمرات المخصصة للتطبيقات العامة. بشكل عام، خصائص البوليمر المرغوبة في التطبيقات الصيدلانية هي تشكيل الفيلم (الطلاء)، والسماكة، والتبلور، والالتصاق، والذوبان المعتمد على الرقم الهيدروجيني، وخصائص الحاجز (الحماية والتعبئة) [24, 25]. تم استخدام البوليمرات كناقول غير فيروسي لتوصيل المواد الوراثية للعلاج الجيني، لقد كانت هناك تطورات كبيرة في مجال نظام توصيل الدواء البوليمري. النقطة الأساسية في إدارة الأدوية التقليدية هي أن مستوى العامل في الدم يجب أن يظل بين القيمة القصوى، التي قد تمثل مستوى سامًا، والقيمة الدنيا، التي يقل عنها الدواء لم يعد فعالًا [26].

Chitosan

1.4. الكيتوسان

هو بوليمر حيوي صيغته الجزيئية (C<sub>56</sub>H<sub>103</sub>N<sub>9</sub>O<sub>39</sub>) ذو وزن جزيئي عالي يتكون من وحدات متكررة (N-acetyl-D-glucosamine) متصلة بواسطة روابط كلايكوسيدية (4-β) [27]. كما هو موضح في الشكل (1-6)، يمكن إنتاج الكيتوسان عن طريق إزالة مجموعة الأسيتيل الموجودة في الكيتين. المادة العضوية الثانية الأكثر وفرة في الطبيعة هي الكيتوسان [28]. وهو في الهيكل الخارجي للمحاريات والقشريات [27]. وهو يذوب بسهولة في الأحماض العضوية ذات الرقم الهيدروجيني أقل من 6.5، مثل حمض الفورميك وحمض

الخليك، ولكنه غير قابل للذوبان في الماء والمحاليل الأساسية والمذيبات العضوية. نظرًا لأنه يمكن تغييره بسهولة بسبب مجموعات الهيدروكسيل والأمين، فإن الكيتوسان عبارة عن بوليمر نشط. يتفاعل الكيتوسان مع مجموعة متنوعة من المركبات الكيميائية لإنتاج قواعد شف، مثل الألدهايدات والكيتونات. لقد اكتسبت قابلية التحلل الحيوي للكيتوسان، والتوافق الحيوي، وعدم السمية، وقدرات مكافحة الأورام اهتمامًا كبيرًا في المجالات الطبية والصيدلانية [29]. تم تطبيق الكيتوسان في الطب لمجموعة متنوعة من الحالات، بما في ذلك التئام الجروح، وقرحة المعدة الناجمة عن الأدوية، والنشاط المضاد للحموضة [30]. الكيتوسان هي مادة كيميائية مضادة للفطريات ومضادة للبكتيريا ومضادة للأوكسدة تستخدم في الصناعة ومستحضرات التجميل والزراعة ومعالجة المياه [31]. أصبحت مادة الكيتوسان النانوي الدقيقة، التي يتراوح قطرها بين 1 و100 نانومتر، أكثر شيوعًا كحامل للدواء بسبب ثباتها الممتاز، وسميتها المنخفضة، وتقنية معالجتها السهلة [32].



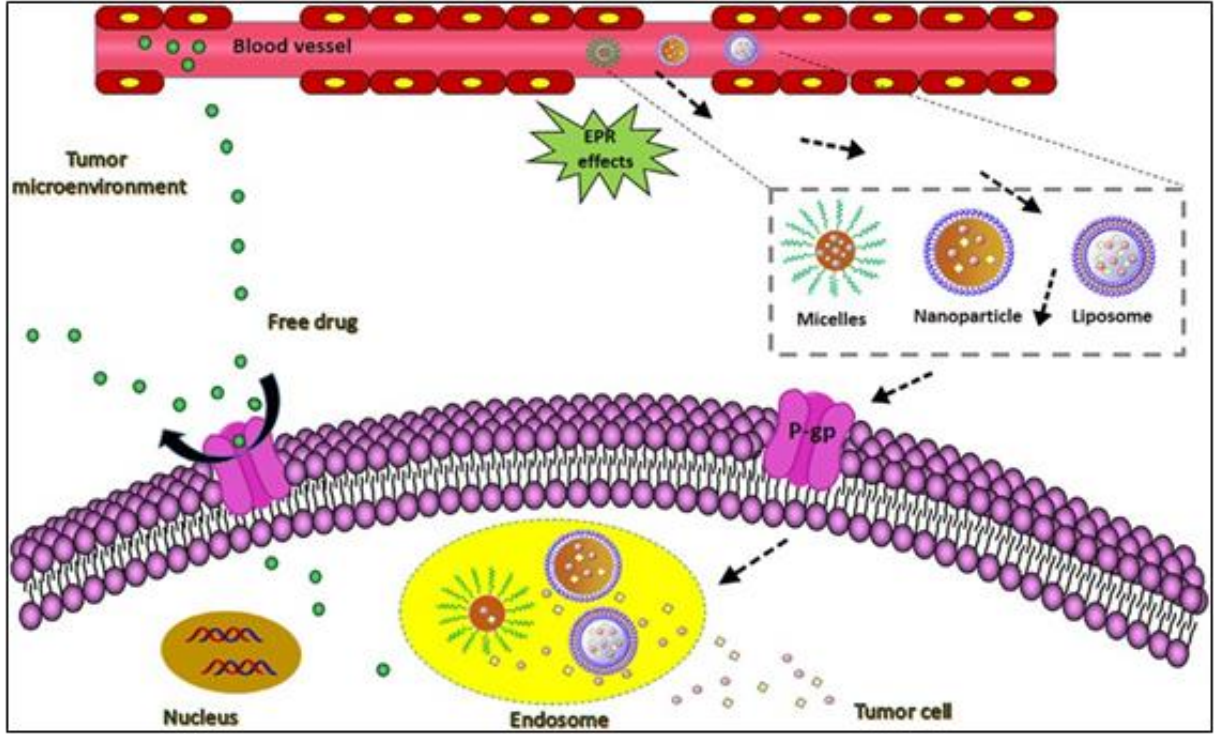
شكل (1-6) يوضح إزالة مجموعة الاسيتيل من الكيتين للحصول على الكيتوسان [33].

## Drug delivery system

## 1.5 نظام توصيل الدواء

يُعطى العلاج الى الانسان بطرق مختلفة للوصول الى الانسجة المستهدفة لتحقيق التأثير الدوائي [34], [35]. يتم الحصول على كفاءة دوائية عالية ودقيقة في التوصيل لابد من التغلب على الصعوبات التي ترافق طريقة إيصال الدواء [36, 37]. وهناك طرق عديدة لإعطاء الدواء منها : الفم ، والحقن العضلي والوريدي والحقن تحت الجلد ، والاستنشاق عن طريق الانف [38, 39]. يحتوي نظام توصيل الدواء على الاقتران الثنائي (اقتران الدواء بالبوليمر) ويعتمد بالتحديد على آلية الاستهداف غير النشطة ويواجه قيوداً على خصوصيته الحقيقية، حيث تتمثل احدى الطرق المقترحة لإزالة تلك القيود في تضمين الجسم المضاد او استهداف أصرة البوليمر الدوائي ، اعتماداً على طريقة التحضير ، اما يكون الارتباط فيزيائي او مرتبط مع البوليمر تساهمياً [40]. تعمل أنظمة توصيل الدواء عبر المعدة على تعزيز توصيل الدواء الخاضع للرقابة بأحكام والذي له منفذ امتصاص ضيق من خلال الاطلاق المستمر للدواء لفترات طويلة قبل وصوله الى مكان الامتصاص لضمان التوافر البيولوجي المثالي [41]. توفر منتجات توصيل الادوية البوليميرية خمس مزايا وهي: استقرارية الدواء، واستمرار توصيل الدواء ، وانخفاض معدلات الاطلاق وفقاً لخصائص الدواء ، اما الأنظمة التي يتم السيطرة على انتشارها، تنخفض فيها معدلات اطلاق الدواء بمرور الزمن [42]. يمكن لأنظمة إيصال الدواء المناسب تغيير اساليب عوامل إطلاق العلاج الكيميائي، وبالتالي زيادة فعالية النشاط المضاد للسرطان [43].

يمكن تحسين المزيد من المميزات الدوائية الكلاسيكية باستخدام أنظمة إيصال الدواء، وتشمل ناقلات الجسيمات التي تتألف منها الدهون، تصمم أنظمة إيصال الدواء لتغيير الحركة الدوائية والتوزيع البيولوجي للأدوية ذات الصلة او لتكون بمثابة مستودع للأدوية (أي أنظمة إطلاق مستمر) او كليهما [44] كما في الشكل (1-7). هناك عناصر مهمة في تطوير نظام إيصال الدواء، وهي ان تكون حاملات الادوية قادرة على استهداف تلف معين لتحسين فعالية الادوية وتقليل الاضرار الجانبية ، حيث يمكن من السهولة تصنيعها ، وبخصائص بيولوجية قابلة للتحلل وسمية خلوية واطئة ، كما تم تطوير واكتشاف أنظمة جديدة لإيصال الادوية لتعزيز كفاءة التوصيل إضافة الى ذلك انخفاض السمية الخلوية [45]. على الرغم من وجود أنظمة توصيل الدواء المتطورة ، إلا ان هناك مشكلات عديدة تحتاج الى حل ، مثل تعزيز قابلية الذوبان في الماء وتثبيت الادوية المضادة للسرطان لإطالة انتشارها في الدم ، واستهداف الانسجة المصابة بالسرطان لان اغلب الادوية المضادة للسرطان تكون قابلية ذوبانها في الماء منخفضة ، بالتالي تنخفض الاضرار الجانبية للأنسجة السليمة [46].

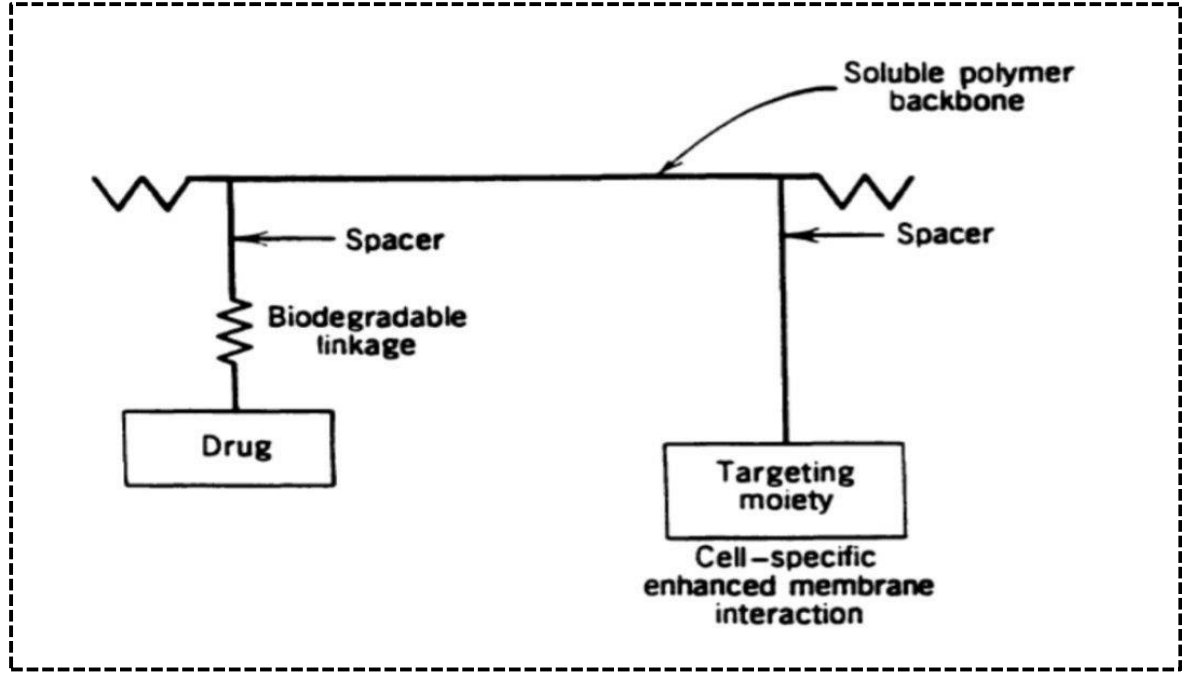


الشكل (7-1) يوضح نظام توصيل الدواء [47].

## Drug carrier

## 1.6. الناقلات الدوائية

تم تقديم طريقة الاقتران التساهمي بين الدواء والبوليمر لأول مرة بواسطة Ringsdorf في عام 1975. والسمات الرئيسية لحاملات الأدوية البوليمرية هي آثارها المستودعية، والحركية الدوائية الفريدة، وتوزيع الجسم، والفعالية الدوائية. معظم الأدوية ذات حجم جزيئي صغير وهي حرة نسبيًا في الانتشار في جميع أنحاء النظام البيولوجي. ونتيجة لذلك، كان من الصعب بطبيعتها إعطاء الأدوية بشكل موضعي ومركز داخل الأنسجة والأعضاء المستهدفة الأولية. ومع ذلك، تنتشر البوليمرات ببطء، وغالبًا ما يتم امتصاصها عند الأسطح البينية؛ يمكن أن يؤدي ربط الأجزاء الصيدلانية إلى إنتاج بوليمر حيوي ذو سلوك دوائي متميز. خصائص مثل العلاج المستدام، والإطلاق البطيء، والنشاط المطول، والكمون الدوائي. تم تطوير نموذج لحاملات أدوية البوليمر النشطة دوائيًا، مشابهًا لذلك الموضح في الشكل (8-1)، [26, 48].



الشكل (8-1) نموذج حامل الدواء على البوليمر [49].

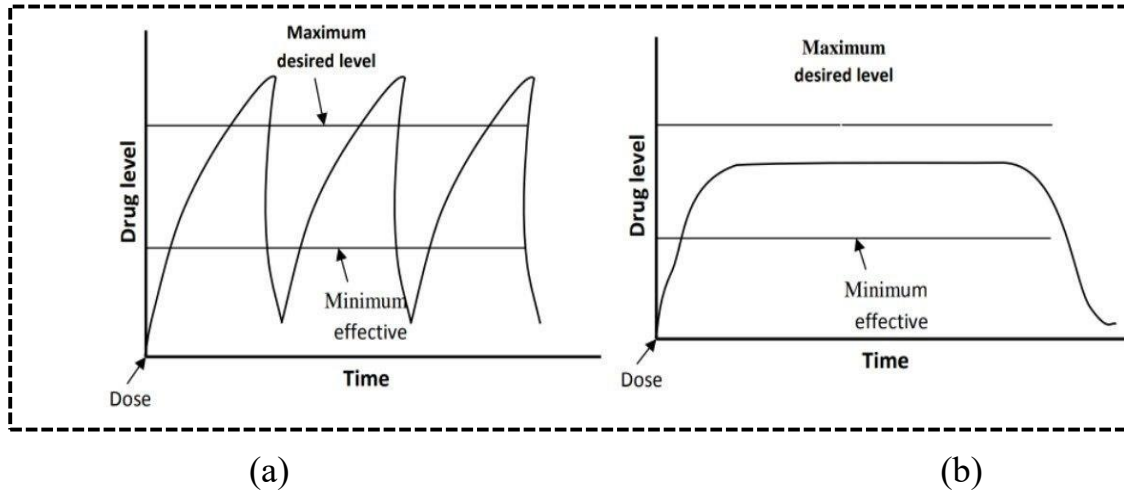
في هذا التمثيل التخطيطي، يتم ربط أربع مجموعات مختلفة بعمود فقري بوليمر قابل للتحلل الحيوي. احد المجموع هي الدواء، والثانية هي مجموعة متباعدة، والثالثة هي نظام النقل، والرابعة هي مجموعة لإذابة نظام البوليمر الحيوي بأكمله. الدواء هو الكيان الذي يثير الاستجابة الفسيولوجية. ويمكن ربطه بشكل دائم عن طريق رابطة مستقرة بين الدواء والبوليمر، أو يمكن ربطه مؤقتًا وإزالته عن طريق التحلل المائي أو عن طريق العمليات الأنزيمية. يمكن جعل نظام النقل لحاملات الأدوية البوليمرية القابلة للذوبان محددًا لخلايا أنسجة معينة ذات شواهد موجهة أو مستهدفة مثل المجموعات الحساسة للأس الهيدروجيني أو المكونات النشطة للمستقبلات، مثل التعرف على الجسم المضاد والمستضد. تتم إضافة مجموعات الإذابة (مثل الكربوكسيلات والأمينات الرباعية والسلفونات) لزيادة محبة الماء وقابلية ذوبان النظام الجزيئي بأكمله في الوسائط المائية بينما تعمل المجموعات غير القطبية على تعزيز الصفة الكارهة للماء والذوبان في المناطق الدهنية [50].

Drug release

1.7. إطلاق الدواء

تهدف جميع أنظمة الإطلاق الخاضعة للرقابة إلى تحسين فعالية العلاج الدوائي. يمكن أن يأخذ هذا التحسن شكل زيادة النشاط العلاجي مقارنة بحدّة الآثار الجانبية، أو تقليل عدد مرات تناول الدواء المطلوبة أثناء العلاج، أو إلغاء الحاجة إلى تناول دواء متخصص (على سبيل المثال، الحقن المتكررة). يمكن تحقيق نوعين من التحكم في إطلاق الدواء، التحكم الزمني والتحكم في التوزيع [51, 52]. تم تكثيف الحاجة إلى تطوير استراتيجيات إطلاق جديدة خاضعة للرقابة من خلال التقدم في تصميم الأدوية البيبتيدية وظهور العلاج الجيني. قد تهيمن هذه العوامل المشتقة من التكنولوجيا الحيوية على الجيل القادم من تصميم الأدوية. ومع ذلك، قد يعتمد نجاحها السريري على تصميم أجهزة الإطلاق الخاضعة للرقابة والتي تضمن وصول الأدوية إلى الخلايا المستهدفة بدقة في الوقت المطلوب [53, 54]. قد يتم إخراج البوليمرات مباشرة عن طريق الكلى أو قد تتحلل حيويًا إلى جزيئات أصغر يتم إخراجها بعد ذلك. تعتبر البوليمرات غير القابلة للتحلل مقبولة في التطبيقات التي يمكن فيها استعادة نظام التوصيل بعد إطلاق الدواء (على سبيل المثال، إزالة الرقعة أو الحشوة) أو للتطبيقات الفموية التي يمر فيها البوليمر عبر الجهاز الهضمي. تحتاج معظم جزيئات الدواء إلى الذوبان في البيئة المائية للمريض والانتشار بحرية داخل تلك الوسائط قبل أن تتمكن من التأثير على مستقبلاتها المستهدفة. تعمل الأجهزة البوليمرية التي تحقق إطلاقًا مؤقتًا متحكمًا فيه على حماية جزيئات الدواء من هذه البيئة المعيشية المائية لفترات زمنية مبرمجة مسبقًا. يمكن أن تتضمن هذه الحماية تأخير انحلال جزيئات الدواء، أو تثبيط انتشار الدواء خارج الجهاز، أو التحكم في تدفق محاليل الدواء [55]. كان دور العديد من أنظمة الإطلاق الخاضعة للرقابة الأصلية هو تحقيق نمط تسليم من شأنه أن يؤدي إلى ارتفاع مستوى الدواء في الدم على مدى فترة طويلة من الزمن. مع الأقراص التقليدية، يتبع مستوى الدواء في الدم الصورة الموضحة في الشكل (1-9) حيث يرتفع المستوى بعد كل تناول للدواء ثم ينخفض حتى تناول الدواء التالي. النقطة الأساسية في تناول الدواء التقليدي هي أن مستوى الدم يجب أن تظل قيمة العامل بي القيمة القصوى، التي قد تمثل مستوى سامًا، والقيمة الدنيا التي لا يعد الدواء فعالاً دونها. في أنظمة توصيل الدواء الخاضعة للرقابة والمصممة للإعطاء على المدى الطويل، وتبقى ثابتة، بين الحد الأقصى والحد الأدنى المطلوب، لفترة ممتدة من الوقت [56].





الشكل (9-1) مستويات الدواء في الدم مع (a) جرعات الأدوية التقليدية و (b) جرعات التسليم الخاضعة للرقابة [49].

أصبحت البوليمرات ذات أهمية متزايدة في مجال المستحضرات الصيدلانية التطبيقات وخاصة في مجال توصيل الأدوية. تتراوح البوليمرات من استخدامها كمواد رابطة في الأقراص إلى عوامل التحكم في اللزوجة والتدفق في السوائل والمعلقات والمستحلبات؛ يمكن استخدامها أيضاً كطلاءات غشائية، لإخفاء الطعم غير السار للدواء، ولتعزيز ثبات الدواء، ولتعديل خصائص الإطلاق. يستفيد حوالي ستين مليون مريض من أنظمة توصيل الأدوية المتقدمة اليوم، حيث يتلقون جرعات أكثر أماناً وفعالية من الأدوية اللازمة لمكافحة مجموعة متنوعة من الأمراض البشرية، بما في ذلك الأمراض التي تهدد الحياة [57, 58].

## Cancer

### 1.8 السرطان

يُعرف السرطان بأنه خلية غير طبيعية شاذة، تبدأ بانقسامات عديدة ولا تتوقف وتصيب عدد من أعضاء الجسم وتسبب الأورام في مناطق مختلفة كالدماع، القولون، الدم، الرئة، هناك اختلافات لتلك الأورام في طبيعة النشوء وطريقة انتشارها والنمو من عضو إلى آخر، يبدأ حدوث السرطان على مستوى الخلية عندما تتعرض لمسرطنات جينية أو بيئية بكمية كافية، وهذه المسرطنات تحفز على حدوث تغيرات في نواة الخلية على مستوى المادة الوراثية DNA, RNA وهكذا تتحول الخلية الطبيعية إلى خلية شاذة وتبدأ بالنمو والتكاثر بطريقة خارجة عن السيطرة، تتميز الخلايا السرطانية بالانتشار السريع والنمو (نمو، انقسام خلوي غير مسيطر عليه وغير محدود) [59]. ان تصنيف السرطان وتحديد مراحلها لها أهمية كبرى كذلك وضع برنامج محدد لاتباعه مع المريض في العلاج، تصنف الاورام السرطانية بصورة عامة الى نوعين [60]:

Introduction

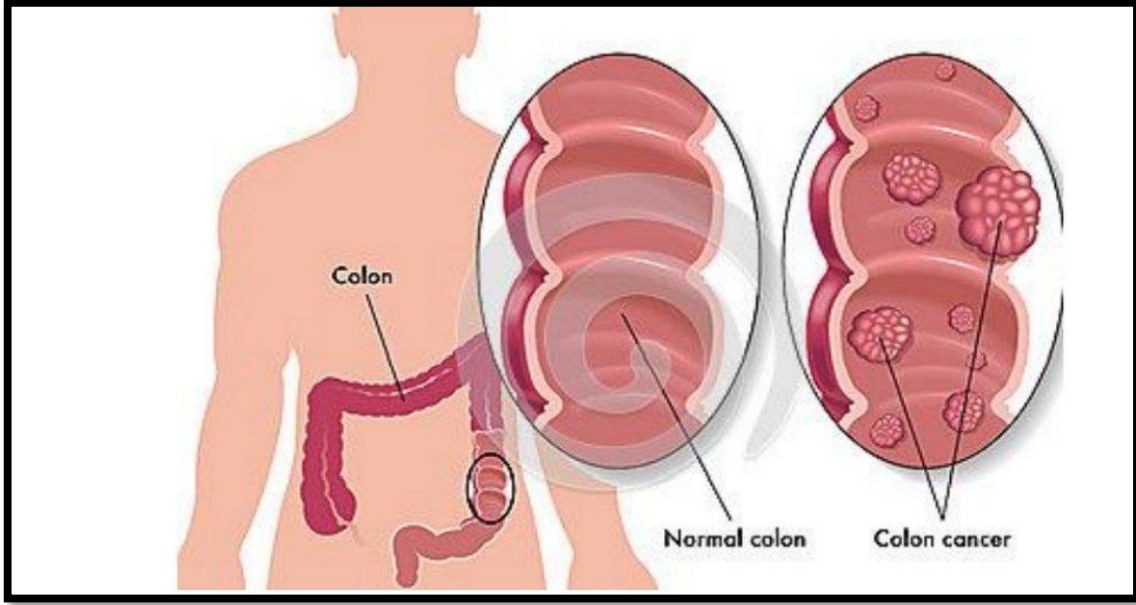
(a) الأورام الحميدة (Benign tumor) وهي غالباً ما لا تشكل خطورة على حياة المريض، وتحدث في أي مكان في الجسم ولا يمكن ان تعد ضمن الأورام الخطرة [61]. يمكن استئصالها بعملية جراحية ، لكن اذا كان الورم الحميد يضغط على مناطق حساسة مثل الاعصاب او الاوعية الدموية في الدماغ يؤثر وجوده عليه ويستدعي ذلك الى العلاج والتدخل الجراحي والتخلص من اعراضه [62].

(b) الأورام الخبيثة (Malignant tumor) وهذا النوع يشكل خطورة على حياة المريض ويؤدي الى الوفاة، ويتميز هذا النوع من الأورام بنمو وانقسام للخلايا بطريقة شاذة وغير مسيطر عليها، وهو يشكل خطراً أكثر من الورم الحميد ويؤدي الى الوفاة، وعند استئصاله هناك احتمالية كبيرة بالعودة من جديد، ويتميز ايضاً بالانتشار السريع واستهداف الانسجة والخلايا القريبة والبعيدة مما يؤدي الى تدميرها [61]. يمكن فصل الورم الاولي بنقله الى مكان اخر فيتسبب بتكوين اورام ثانوية أخرى، وفي الغالب تكون غير متجانسة لديها اكثر من نوع من الخلايا التي تكون في بداية الورم من خلية واحدة حدث فيها شذوذ في التركيب الوراثي [63].

Colon cancer

1.8.1 سرطان القولون

سرطان القولون هو ورم تتشكل فيه الخلايا السرطانية في انسجة القولون [64]. كما في الشكل (1-10). يعد سرطان القولون أحد أكثر الأمراض الخبيثة والمميتة شيوعاً في البلدان المتقدمة. في العالم الغربي، السبب الثالث الأكثر شيوعاً للوفاة المرتبطة بالسرطان هو سرطان القولون وهو مسؤول عن حوالي 50000 حالة وفاة سنوياً في الولايات المتحدة الأمريكية. يتم تشخيص ما يقرب من مليون مريض جديد كل عام بسرطان القولون [65]. يعد سرطان القولون أكثر أنواع السرطان شيوعاً بين الجنسين في جميع أنحاء العالم، بعد سرطان الرئة لدى الرجال وسرطان الثدي والرئة لدى النساء، وهو أخطر أنواع السرطان بين جميع الأورام الخبيثة. [64].



الشكل (10-1) يبين توضيح لسرطان القولون [66].

يحدث سرطان القولون عندما تحدث أخطاء متكررة في انقسام الخلايا المخاطية، ولأسباب غير معروفة، تبدأ هذه الخلايا في الانقسام بشكل غير طبيعي، وهناك انحراف في عملية الاستبدال الطبيعية للخلايا المبطنة، دون سيطرة، مما يؤدي إلى نموها في القولون يسمى الورم الحميد. تختلف أنواع الأورام الحميدة، لكن العديد منها يكون في شكل حالات سرطانية تنمو ببطء على مر السنين ولم تنتشر مع أورام حميدة في مكان آخر، ويمكن أن تؤدي الطفرات الجينية الإضافية إلى تهديد استقرار الخلية وتجعل الخلايا أكثر شذوذاً عندما يغير الورم السرطاني مساره. النمو السرطاني في معظم الحالات هذه عملية بطيئة وتستغرق حوالي 8-10 سنوات حتى تتطور هذه الخلايا المبكرة غير الطبيعية إلى سرطان واضح، لأنها تستهدف طبقات أخرى من الأمعاء الغليظة على سبيل المثال، (طبقة العضلات، أو الطبقة تحت المخاطية) [67].

يرتبط خطر الإصابة بسرطان القولون بسوء التغذية والتدخين والأمراض الالتهابية للأمعاء والأورام الحميدة والعوامل الوراثية والشيخوخة [68]. السمنة وعدم ممارسة الرياضة [69]. التشخيص المبكر لسرطان القولون من خلال الفحص والتقنيات الجراحية المتقدمة يؤدي إلى نتائج أفضل للبقاء على قيد الحياة [69]. يُعالج سرطان القولون في المراحل المتقدمة عن طريق العلاج الكيميائي والعلاج الإشعاعي والعلاج الجراحي [70]. بالإضافة إلى العلاج المناعي والعلاج المساعد، هناك العديد من الخيارات المتاحة لعلاج هذا السرطان، ولكن معدل النجاح منخفض جداً وتظهر الآثار الجانبية عند تطبيقه [71].

## Type of Colon Cancer

### 1.8.1.1 أنواع سرطان القولون

#### Adenocarcinoma

#### (a) السرطان الغدي

أكثر من 90% من حالات سرطان القولون هي سرطانات غدية تبدأ في الخلايا الظهارية للغشاء المخاطي للقولون [72]. يتميز السرطان الغدي بالتطور الغدي، والذي يعمل كأساس لتصنيف الورم النسيجي. أكثر من 95% من أورام السرطان الغدي المتميزة بشكل جيد تكون غدية المنشأ، ما بين 50% إلى 95% من الغدد هي سرطانات غدية مع درجة أقل من التمايز. السرطان الغدي غير التمايز هو ورم صلب يتكون أساساً من نمو الغدد ويحدث في 50% من الحالات [73].

يتطور السرطان الغدي من البطانة الظهارية للقولون والمستقيم ويصنف إلى نوعين فرعيين: السرطان الغدي للخلايا المخاطية والخاتم [72]. يمكن تصنيف السرطان الغدي على أنه شديد التمايز (أكثر من 95% من تكوين الغدة)، أو متمايز بشكل معتدل (50-95% من تكوين الغدة)، أو ضعيف التمايز (أقل من 55% من تكوين الغدة) [73].

#### Mucinous cancer

#### (b) السرطان الغدي المخاطي

وهو نوع مميز من السرطان الغدي حيث يشكل الميوسين خارج الخلية أكثر من 50% من الورم. توجد الخلايا الخبيثة على مجموعة طافية على سطح الميوسين [72]. بالمقارنة مع سرطان القولون الغدي غير المخاطي، فإن سرطان القولون المخاطي لديه نسبة أكبر من تسلسل العقدة الليمفاوية والزرع البرتوني، وغالباً ما يحدث في القولون القريب وحجم أقصى أكبر بكثير [74]. يتم تشخيص السرطان المخاطي بشكل متكرر في المرضى الذين يعانون من أمراض الأمعاء الالتهابية مثل مرض كرون أو التهاب القولون التقرحي [75].

#### Signet ring cell cancer

#### (c) سرطان الخلايا الحلقية الخاتمية

بالمقارنة مع المعدة، فإن سرطان الخلايا الحلقية الغدية في القولون غير شائع، ويمثل أقل من 1% من جميع سرطانات القولون. يتميز سرطان الخلايا الحلقية الخاتمية عن السرطان المخاطي بوجود أكثر من 50% من الخلايا السرطانية ذات خصائص الخلايا الحلقية بالخاتم مثل فجوة الميوسين الكبيرة داخل الفراغ التي تدفع النواة إلى المحيط [76, 77].

## Medullary cancer

## (d) سرطان النخاع

سرطان النخاع غير شائع للغاية، وهو ما يمثل حوالي 5-8 حالات لكل 10000 تشخيص لسرطان القولون، بمتوسط وقوع سنوي قدره 3.47 (0.75%) لكل 10 ملايين شخص [78]. يتميز هذا الورم بصفائح من الخلايا الورمية الظهارية ذات نوى حويصلية كبيرة ونواة واضحة، والسيتوبلازم الغني يحدد هذا الورم. بشكل عام، يكون لها حدود بارزة على عينات الاستئصال وترتبط بعدد كبير من الخلايا الليمفاوية المتسللة للورم [79, 80].

### 1.9. البيولوجيا الجزيئية للسرطان

إن عملية تنظيم وتنسيق دورة الخلية، والتي تنتج عن استجابة الضرر للحامض النووي، تتأثر بشكل أساسي وكبير بالجينات. إنها مجموعة من العمليات التي تتسبب في نمو الخلية بشكل أكبر من المعتاد ثم انقسامها. في وقت مبكر من نشأة الأورام، يكون هناك غياب للتحكم في الخلايا. السبب وراثي. فيما يتعلق بالتحكم الإيجابي أو السلبي في دورة الخلية، مثل الجينات الكابتة للورم التي تتحكم في منع نمو الخلايا، والجينات الورمية الأولية التي تتحكم في الانتشار [81]. تعمل الجينات الكابتة للورم على التحكم في دورة حياة الخلية الطبيعية والحماية من تلف الحامض النووي، في حين أن الجينات الورمية الأولية ضرورية في عملية تعزيز التسرطن [82]. إن الجينات الورمية الأولية والكابحة للأورام هما مسؤولان عن معظم عمليات الانقسام الخلوي غير المنتظم في السرطان البشرية [83]. تتحول الجينات الورمية الأولية إلى جينات مسرطنة عندما تتعرض إلى إحدى المطفرات وبالتالي تعمل على انقسام غير منتظم للخلية بواسطة الجين الطافر عن طريق التشفير وإنتاج كمية كبيرة من البروتين المحفز للنمو [84]. تشارك الجينات الكابحة للأورام في نشوء السرطان عندما تتحول إلى جينات طافرة، حيث تفقد وظيفتها نتيجة لحدوث التغيرات تحدثها طفرات الجينات الورمية، تعمل هذه التغيرات على بقاء الخلية حية وتحدث فيها طفرات إضافية أخرى [85]. يعد التعبير الجيني لجين  $P^{53}$  عامل نسخ، حيث يعمل على تنظيم أعداد كبيرة من الجينات المشاركة في العديد من النتائج الخلوية [86].

### 1.10. جين $P^{53}$

هو من الجينات الكابحة للأورام يلعب دوراً هاماً في كل أنظمة اصلاح الحامض النووي DNA والموت المبرمج للخلايا والتحكم في التكاثر الخلوي، يعمل جين  $P^{53}$  على توقف نمو الخلايا والدخول للشيخوخة [87]. يوجد جين  $P^{53}$  على الزوج الكروموسومي (13.1 q 17)، وهو يكون حاوياً على 393 حامض اميني [88]. يسهم في تنشيط الجينات التي لها الدور الهام في تنظيم دورة الخلية (Checkpoint cell cycle) إضافة إلى

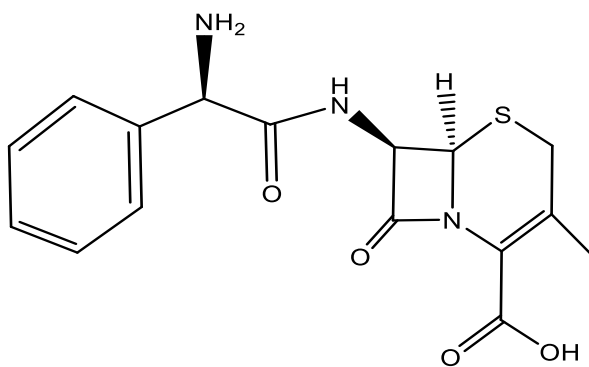
## Introduction

الجينات التي تحافظ على سلامة الجينوم والتي تعمل مع بعض الجينات لتثبيط النمو الشاذ للخلايا لذلك يعمل جين  $P^{53}$  في حماية الجينوم [89]. تعمل الطفرات في جين  $P^{53}$  على تحويل الخلايا الطبيعية الى خلايا سرطانية [90]. حيث تؤدي معظم الطفرات المرتبطة بالسرطان الى استبدال الاحماض الامينية [91]. يكون جين  $P^{53}$  الطافر اكثر استقراراً في داخل الخلية ويتجمع فيها مما يؤدي الى انقسام الخلايا بشكل عشوائي لا يمكن السيطرة عليه مسبباً أورام خبيثة [91]. هناك نوعين من الطفرات التي يتعرض لها جين  $P^{53}$  احدهما الطفرة الجسمية التي تكون متكررة بشكل اكبر مع السرطانات الانتقالية [92]. والطفرات الجرثومية التي تشارك في تكوين الخلايا السرطانية وهي غالباً ما طفرات استبدال لقاعدة مفردة [93]. يلعب جين  $P^{53}$  دوراً في سرطان القولون وفي عمليات عديدة منها التحكم والسيطرة في دورة الخلية (Cell cycle)، وإصلاح DNA والموت المبرمج للخلايا، حيث تسبب الطفرات في هذا الجين بنوعها الجسمية والجرثومية فقدان الجين لوظيفته في كبح الأورام مما يؤدي الى حدوث الإصابة بسرطان القولون [94]. جين  $P^{53}$  يُشفر الى بروتين وزنه الجزيئي 53 kDa يحتوي على احماض امينية عديدة منها (Ala,Ile,Cyc,Ser,Arg) حيث أن ارتباط الاحماض الامينية يزيد من احتمالية حدوث السرطان [95].

### 1.11. العقاقير المستخدمة في الدراسة

#### 1.11.1. السيفالكسين

السيفالكسين هو مضاد حيوي شبه اصطناعي من مجموعة السيفالوسبورينات يُعطى عن طريق الفم [96]. صيغته الجزيئية  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$  [97]. والصيغة الهيكلية للسيفالكسين كما في الشكل (11-1) [98].



الشكل (11-1) التركيب الكيميائي للسيفالكسين

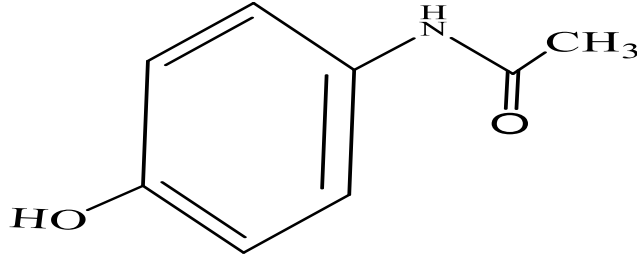
## Introduction

يستخدم السيفالكسين لعلاج الالتهابات الحساسة التالية الناجمة عن البكتيريا المحددة. ( التهابات الجهاز التنفسي، التهاب الأذن الوسطى، عدوى الجلد وبنية الجلد، التهابات العظام، عدوى الجهاز البولي التناسلي) [99]. يجب استخدام السيفالكسين فقط لعلاج حالات العدوى المؤكدة أو المشتبه فيها بشدة. للعرض من استحداث البكتيريا التي تقاوم الأدوية وحفاظ فعالية السيفالكسين والأدوية التي تقاوم البكتيريا الأخرى [100, 101].

### Paracetamol

### 1.11.2 الباراسيتامول

الباراسيتامول هو مركب مسكن وخافض للحرارة، يستخدم على نطاق واسع لتخفيف الآلام البسيطة والصداع والأعراض الجانبية لنزلات البرد والأنفلونزا صيغته الكيميائية هي  $C_8H_9NO_2$ . التركيب الكيميائي للباراسيتامول يظهر تخطيطياً في الشكل (1-12) [102, 103].



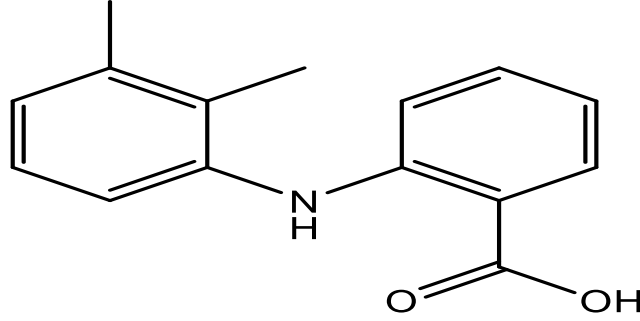
الشكل (1-12) التركيب الكيميائي للباراسيتامول

يُعرف الباراسيتامول أيضاً، باسم أسيتامينوفين، هو دواء يستخدم لعلاج الحمى والألم الخفيف إلى المتوسط. وبيع دون وصفة طبية في معظم البلدان في جميع أنحاء العالم. مميزاته الرئيسية مقارنة بمضادات الالتهاب غير الستيرويدية (NSAIDs) هي أنه يمكن إعطاؤه بشكل آمن للمرضى الذين لديهم تاريخ من القرحة الهضمية أو الربو، ولا تتعارض جرعاته مع وظيفة الصفائح الدموية. في واحد من أربعة مرضى، حقق 1gm من الباراسيتامول تخفيفاً للألم بنسبة 50% [104, 105].

### Mefenamic acid

### 1.11.3 حامض الميفيناميك

هو من الأدوية المضادة للالتهابات غير الستيرويدية (NSAID) ويُعرف أيضاً بحامض الانثرالينيك [106]. الصيغة الجزيئية لحامض الميفيناميك ( $C_{15}H_{15}NO_2$ ) اما الصيغة الكيميائية التركيبية لحامض الميفيناميك هي كما في الشكل (1-13) [98, 107].



الشكل (13-1) الصيغة التركيبية لحمض الميفيناميك

يستعمل حامض الميفيناميك كمسكن للألام الناتجة عن الالتهابات مثل الالام الاسنان، وكذلك الصداع، تنتج عن حامض الميفيناميك اثار جانبية منها التقيؤ والاسهال [108]. يلعب حامض الميفيناميك دوراً مهماً في تثبيط البروستاجلاندين الذي له وظائف فسيولوجية عديدة في جسم الانسان مثل تنظيم معدل تدفق الدم في الكلى، والحفاظ الحاجز الغشائي المخاطي في المعدة [109]. حامض الميفيناميك قليل الذوبان في شكله ولكنه يكون اكثر ذوبانية عند اقترانه مع الاملاح مثل ملح الصوديوم، 80% من حامض الميفيناميك المستهلك عن طريق الفم يتم امتصاصه، حيث يعمل الكبد بعملية الايض لحامض الميفيناميك من خلال عمليات الاكسدة ويتم طرح جزء من حامض الميفيناميك مع البراز [110]. تنتج المضادات الالتهابية غير الستيرويدية مجاميع مختلفة من المتلازمات التي الكلوية والتي تضم العجز الكلوي والالتهاب الحاد الناتج التأثير الديناميكي للدم، وهو ناتج لتثبيط انزيم السايكلوجينييز Cyclooxygenase [111, 112].



**Aim of study**

**1.12. الهدف من الدراسة**

- 1) هدفت الدراسة الى ربط الكيتوسان النانوي مع أدوية مختلفة، وهي: السيفالكسين (A1)، الباراسيتامول (A2) وحامض الميفيناميك (A3) وتشخيصها بواسطة بعض التقنيات ومنها FT-IR،<sup>1</sup>H-NMR.
- 2) دراسة بعض خواص عقاقير الكيتوسان النانوي المرتبط مع الدواء مثل: الذوبانية وإطلاق الدواء في دوال حامضية مختلفة .
- 3) دراسة طاقة الالتحام الجزيئي (Molecular Docking) الأكثر فعالية لعقاقير الكيتوسان النانوي باستخدام البرنامج (PyRx - BIOVIA)
- 4) دراسة تأثير الأدوية أعلاه والتي تعمل على انتاج مجاميع الاوكسجين الفعالة ROS والتي بدورها تؤدي الى تحفيز الموت المبرمج للخلايا.
- 5) دراسة تأثير التعبير الجيني لبعض الجينات مثل جين ( $P^{53}$ ) عند تعرض خلايا سرطان القولون خارج جسم الكائن الحي للأدوية ومدى ارتباطها بالكيتوسان النانوي.

الفصل الثاني

الجزء العملي

**Practical Part**

Practical Part 2. الجزء العملي

2.1. المواد الكيميائية المستخدمة:

الجدول (1-2) يوضح المواد الكيميائية المستخدمة والشركة والنقاوة

النقاوة (%)	الشركة	المواد الكيميائية
نقاوة عالية، متوسط ميغاواط 100 كيلو دالتون	Shaanxi Sang herb Bio-TechInc	كيتوسان نانوي (Nano Chitosan)
99.9%	SDI Company /Samarra	سيفالكسين (Cephalexin)
99.9%	SDI Company Samarra	باراسيتامول (Paracetamol)
99.9%	SDI Company Samarra	حامض الميفيناميك (Mefenamic Acid)
99%	Thomas Baker	رباعي هيدرو الفيوران (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 ميثيل 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: Nanochitosan

Batch No.:SH180314N

Manufacturing Date: 20220314

Quantities:200

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

Analyst: WangZunhua

Verification: ZhangXuelin

2.2. المواد والأدوات البيولوجية المستخدمة

الجدول (2-2) يوضح المواد التي تم استخدامها في النشاط البيولوجي والشركة المصنعة لها، اما الجدول

(3-2) يوضح الأجهزة التي استخدمت في النشاط البيولوجي والشركة المصنعة.

جدول (2-2) يوضح 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 بقرى 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 (3-2) الأجهزة المستخدمة في النشاط البيولوجي

No.	Item	Company	Country
1	CO <sub>2</sub> incubator	Cypress Diagnostics	Belgium
2	Microtiter reader	Gennex Lab	USA
3	Laminar flow hood	K & K Scientific Supplier	Korea
4	Micropipette	Cypress Diagnostics	Belgium
5	Cell culture plates	Santa Cruz Biotechnology	USA

2.3. الأجهزة والتقنيات

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

2.4. تحضير العقاقير المرتبطة بالكيوسان النانوي [113]

2.4.1. تحضير عقار السيفالكسين المرتبط مع الكيوسان النانوي (A1).

أجريت عملية التصعيد لمدة 24 ساعة وعند درجة حرارة ( $120^\circ \text{C}$ ) وذلك بإذابة ( $10.47 \text{gm}$  ،  $0.03 \text{mol}$ ) من دواء السيفالكسين في  $30 \text{mL}$  من THF مع ثلاث قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز. تمت بعد ذلك إضافة سيفالكسين إلى ( $5.0 \text{ gm}$  ،  $0.0005 \text{ mol}$ ) من بوليمر الكيوسان النانوي. بعد غسل الراسب باستخدام محلول يتكون من (2:2) من ثنائي إيثيل إيثر و  $2.0 \text{M}$  من NaOH. ثم تم تركه ليجف لمدة 16 ساعة.

2.4.2. تحضير عقار الباراسيتامول المرتبط بالكيوسان النانوي (A2)

تمت إذابة مول واحد من أنهيدريد السكسينيك و ( $4.53 \text{gm}$ ،  $0.03 \text{ mol}$ ) من الباراسيتامول في THF، وتم تحريكه بمحرك مغناطيسي وتسخينه لمدة ثلاث ساعات. بعد ترشيح الراسب، تمت إضافة قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز إلى المذيب (DMSO) لإذابة الراسب، والذي تمت إضافته بعد ذلك إلى ( $5.0 \text{ gm}$  ،  $0.000012 \text{ mol}$ ) من بوليمر الكيوسان النانوي. ثم سخن الخليط لمدة ست ساعات عند  $110^\circ \text{C}$  مع التحريك المستمر. وبعدها تم غسل الراسب أخيرًا بمحلول مكون من نسبة 2:2 من ثنائي إيثيل إيثر و  $[2.0 \text{ M}]$  هيدروكسيد الصوديوم وتم تركه ليجف لمدة 16 ساعة.

### 2.4.3. تحضير عقار حامض الميفيناميك المرتبط بالكيوسان النانوي (A3)

بعد إذابة عقار حامض الميفيناميك (0.03 mol، 7.5 gm) في THF مع قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز، تمت إضافته إلى (5 gm، 0.000012 mol) من الكيوسان النانوي. بعد ذلك، تم إجراء عملية التصعيد (Reflection) عند درجة حرارة (120 °C)، ثم تم غسل الراسب بمحلول يتكون بنسبة (2:2) من هيدروكسيد الصوديوم (M2.0) وكلوريد ثنائي إيثيل. تم بعد ذلك ترك المادة المترسبة حتى تجف لمدة 16 ساعة

### 2.5. دراسة الخصائص الفيزيائية لعقاقير الكيوسان النانوية

أجريت الدراسة لبعض الخصائص الفيزيائية لمركبات الكيوسان النانوية، مثل الذوبانية، واطلاق الدواء وكما موضح ادناه:

#### 2.5.1. الذوبانية [114]

تمت تعبئة أنبوبة اختبار بـ (0.1gm) من عقاقير الكيوسان النانوية المحضرة (A1-A3). وتم إجراء عملية الإذابة من خلال مجموعة متنوعة من المذيبات منها: (الماء منزوع الأيونات، الأثير، الإيثانول، الكلوروفورم، الإيثانول، الهكسان، DMSO، والأسيتون). ولوحظت قابلية ذوبان هذه العقاقير في المذيبات، يذوب بعضها كلياً (+)، بينما في مذيبات أخرى، يذوب بعضها جزئياً، وفي مذيبات أخرى، لا يذوب أي منها على الإطلاق (-). وكما هو موضح في الجدول (4-2).

جدول (4-2): ذوبانية العقاقير المٌحملة على الكيوسان النانوي

تلوين	كلوروفورم	DMSO	هكسان	إيثانول	اسيتون	ماء منزوع الأيونات	عقاقير الكيوسان النانوي
-	-	+	-	+	+	جزئي	A1
-	-	+	-	+	+	+	A2
-	جزئي	+	-	+	-	-	A3

### 2.5.2. دراسة تحرر الدواء من عقاقير الكيتوسان النانوي المحضرة

تم قياس إطلاق الدواء من العقاقير المُحضرة في أربعة محاليل منفصلة (8.0، 7.2، 6.0، و 2.2) وعند درجة حرارة (37 °C) (0.05gm) لكل نوع من أدوية الكيتوسان النانوية باستخدام مقياس الطيف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية (UV-Vis). وفي دورق (50mL)، وبعد ذلك تتم مراقبة إطلاق الدواء (الامتصاص) لبضعة أيام وساعات في المرة الواحدة [115].

### 2.5.3. تحضير محاليل البفر [116, 117].

تم تحضير محاليل البفر باستخدام الطرق التالية:

- 1) pH=2.2: لتحضير هذا المحلول تم مزج (500mL) من (0.2M) من كلوريد البوتاسيوم و (8.6mL) من (2M) من حامض الهيدروكلوريك.
- 2) pH=6: لتحضير هذا المحلول تم مزج (500mL) من (0.2M) من كلوريد البوتاسيوم و (8.6mL) من (2M) من حامض الهيدروكلوريك.
- 3) pH=7.2: لتحضير هذا المحلول تم مزج (500mL) من (0.025M) من البوراكس [Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.10H<sub>2</sub>O] و (0.43mL) من (0.1M) من حامض الهيدروكلوريك.
- 4) pH=8: لتحضير هذا المحلول تم مزج (500mL) من (0.025M) من البوراكس [Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.10H<sub>2</sub>O] و (0.5mL) من (0.1M) من حامض الهيدروكلوريك.

### 2.5.4. قياس الامتصاصية للأدوية المحضرة

تم استخدام التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية (UV-Vis) لتقييم امتصاص المحاليل الناتجة عن إطلاق الدواء باستخدام الماء منزوع الأيونات. تم غمس الأدوية المحملة على الكيتوسان النانوي في محاليل ذات قيم حامضية متفاوتة باستخدام بيكر سعة (50mL) لكل منها، كما هو مبين في الجدول (2-5) الذي يعرض الحد الأقصى للطول الموجي (nm) ( $\lambda$  max) لجميع الأدوية المستخدمة. ثم تم أخذ عينة من المحلول وقياس قيم امتصاصه على فترات زمنية محددة. [118].



جدول (2 - 5) الطول الموجي الأعظم ( $\lambda_{max}$ ) للأدوية.

الطول الموجي الأعظم ( $\lambda_{max}$ ) (nm)	نوع الدواء المستخدم
264	سيفالكسين Cephalaxin
243	باراستيامول Paracetamol
285	حامض الميفيناميك Mefenamic acid

### Molecular docking

### 2.6. الالتحام الجزيئي

أشارت الأبحاث السابقة إلى أن (3m11)، أحد البروتينات المشفرة لجين  $P^{53}$  والذي يمكن أن يكون موجودًا في بنك بيانات البروتين (PDB)، موجود في الخلية السرطانية [119, 120]. وتم استخدام برنامج (PyRx) لربط الدواء بالبروتين وعرض قوة الاصرة بين الاثنين. حدد برنامج (BIOVIA) مواقع الارتباط، مما يوضح كيفية ارتباط الدواء بالأحماض الأمينية المهمة الموجودة في بروتينات الجين  $P^{53}$ . وإلى جانب توفير صور ثلاثية الأبعاد، فإنه يصف أيضًا قوة وطول الارتباطات التي يمتلكها الدواء مع بروتين الجين  $P^{53}$ .

### Cells culture

### 2.7. زراعة الخلايا

في RPMI-1640 المكمل بـ 10% من مصل الأبقار الجنيني، و  $100(\mu\text{g}/\text{mL})$  من الستربتومايسين، و  $100(\mu\text{g}/\text{mL})$  من البنسلين، زرعت خلايا سرطان القولون HCT-29. تم تمرير الخلايا المعاد زرعها مرتين في الأسبوع عند نقطة 80% باستخدام التريسين-EDTA، وتم تحضينها عند درجة حرارة  $37^\circ\text{C}$  [121, 122].

### Cytotoxicity assays

### 2.8. اختبار السمية الخلوية

تم إجراء اختبار (MTT) باستخدام لوح (96-well) للتأكد من التأثير السام للخلايا من العقاقير المحملة على الكيتوسان النانوي (A1, A2, A3) [123, 124]. تمت زراعة خط الخلوي HCT-29 عند  $(1 \times 10^4 \text{ cell/well})$ ، وبعد مرور 24 ساعة تكونت طبقة أحادية وبعدها تمت معالجة هذه الخلايا بالعقاقير المحضرة (A1, A2, A3) عند تراكيز مختلفة، وبعد مرور 72 ساعة من العلاج تم قياس صلاحية الخلية بإزالة الوسط وإضافة  $28\mu\text{g}/\text{mL}$  من محلول  $2\text{mg}/\text{mL}$  من صبغة MTT واحتضان الخلايا لمدة ساعتين ونصف ودرجة حرارة  $37^\circ\text{C}$ ، وبعدها تمت إزالة الصبغة وإذابة البلورات المتبقية في الحفر بإضافة  $130\mu\text{L}$

من DMSO واحتضان الخلايا بدرجة حرارة  $37^{\circ}\text{C}$  ولمدة 15 دقيقة مع التحريك [125]. تم تحديد الامتصاصية على قارئ صفيحة ميكروية عند 492 nm وتم إجراء الفحص في ثلاث نسخ، وحساب معدل تثبيط نمو الخلايا (نسبة السمية الخلوية) بالمعادلة التالية [126, 127].

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

حيث ان:

A: الكثافة الضوئية لمجموعة السيطرة

B: الكثافة البصرية في خط خلايا السرطان

### Morphological Change

### 2.9. التغيرات الشكلية

تم زرع الخلايا في 24 لوحة معايرة دقيقة بكثافة  $(1 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1})$  خلية مل وحضنت لمدة 24 ساعة عند  $37^{\circ}\text{C}$  من أجل رؤية مورفولوجيا الخلايا تحت المجهر المعكوس، ثم تم تعريض الخلايا لعقاقير الكيتوسان النانوية (A1, A2, A3) لمدة يوم كامل. بعد فترة التعريض، تم وضع صبغة بنفسجية كرسنالية على الصفائح، ثم تم تحضيرها لمدة 10 إلى 15 دقيقة عند  $37^{\circ}\text{C}$  [126]. تم تنظيف البقعة بعناية باستخدام ماء الصنبور حتى تختفي جميع آثار الصبغة. تم استخدام كاميرا رقمية متصلة بالمجهر لالتقاط الصور أثناء فحص الخلايا تحت المجهر المقلوب بتكبير 100 X [128, 129].

### Flow Cytometry assay

### 2.10. اختبار التدفق الخلوي

تم استخدام اختبار التدفق الخلوي لقياس إنتاج مجاميع الاوكسجين الفعالة (الجزور الحرة) في الخلايا. تم زرع خلايا سرطان القولون HCT-29 بكثافة  $1 \times 10^6$  لكل حفرة. بعد الحضانه طوال الليل، عولجت الخلايا باستخدام العقاقير المُحملة على الكيتوسان النانوي وبتراكيز تبلغ  $12.5, 25, 50, 100, 200, 400 \mu\text{g/mL}$ ، على التوالي، لمدة 6 ساعة. بعد ذلك، تمت إضافة صبغة (DCFA-DA) بتركيز  $15 \mu\text{M}$  إلى الوسط الجديد واحتضانه لمدة 30 دقيقة أخرى في الظلام. تم قياس شدة الفلورة للخلايا باستخدام مقياس التدفق الخلوي [130].

### 2.11. الكشف عن الموت المبرمج للخلايا باستخدام AO/EtBr [131]

باستخدام لوح يحتوي على 12 حفرة تم جمع خلايا سرطان القولون HCT-29 وتم تعريضها الى عقاقير الكيتوسان النانوية وبتراكيز IC50 مختلفة على التوالي وبعد مرور 24 ساعة من العلاج تم طلاء الخلايا بـ  $10 \mu\text{g/mL}$  من صبغة AO/EtBr ولمدة دقيقتين وعند  $37^{\circ}\text{C}$  واخيراً تم تصويرها باستخدام المجهر الفلوري.

## 2.12. الكشف عن التعبير الجيني

### 2.12.1. جمع العينات

تم استخدام لوحين صغيرين يحتوي كل منهما ستة حفر لزراعة خلايا سرطان القولون HCT-29 بكثافة ( $10^6$  cell/well). ثم تم تحضين الخلايا عند ( $37^\circ\text{C}$ ) لمدة (24 ساعة). بعد ذلك، تم إخراجهم من الحفر، وتم اتخاذ الإجراء التالي.

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

➤ تم معالجة (3 well) لخط خلايا سرطان القولون الخلوي بـ viral particles MOI وحُضِنَ المزيج في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين من أجل التثبيت الكلي.

بعد فترة الحضانة البالغة 48 ساعة، تم كشط الخلايا في كل حفرة باستخدام مكشطة الخلية وإضافتها بمفردها إلى (1mL) من (PBS) بارد ومعقم. تم بعد ذلك إيقاف العملية، وتم جمع الخلايا في أنبوب إيبندورف وطردها بالطرد المركزي لمدة 10 دقيقة. تم إعادة تعليق الخلايا المتموجة في (200  $\mu\text{L}$ ) من المحلول المنظم (RB)، الذي يحفز استخلاص الحامض النووي الريبي (RNA) باستخدام (mRNA)، بعد الترشيح. تمت إزالته وكانت درجة الحرارة  $4^\circ\text{C}$  عند 1000 دورة في الدقيقة.

### 2.12.2. استخلاص RNA

بعد 27 ساعة من التعرض، تم عزل الحمض النووي الريبي (RNA) من خلايا HCT-29 المعالجة وغير المعالجة باستخدام (Magnesia® Total RNA (AE6101-AE6102) Kit for total RNA (Turkey, for cultured –Anatolia /purification). تمت إضافة (200  $\mu\text{L}$ ) من العينات إلى أنابيب التجميع بعد زراعة (10<sup>6</sup> خلية) في (44 دقيقة). بعد ذلك، تم وضع الكواشف في أنبوب مملوء مسبقاً مع حامل الطرف وأنبوب العينة وأنبوب الغسيل في الحامل، وتم تشغيل الجهاز.

### 2.12.3. قياس تركيز الحامض النووي الريبي ونقاوته

تم قياس تركيز الحامض النووي الريبي (RNA) بـ (ng/ $\mu\text{L}$ ) باستخدام جهاز Nanodrop. تم تقييم النقاوة عن طريق قياس نسبة الكثافة الضوئية (OD) (260-280 nm) وفقاً لامتصاص الطول الموجي للبروتين والحامض النووي. حيث ان عينات الحامض النووي الريبي ذات نطاق نقاوة مقبول هي (1.7 - 1.9)

Primers

2.12.4. البادئات

تم اختيار البادئات Primers لغرض الكشف الجزيئي في جين  $P^{53}$ ، بالاعتماد على التسلسلات القياسية التي تم الحصول عليها من قاعدة بيانات بنك الجينات العالمي NCBI وكما موضحة في الجدول ( 2 – 6 ) [127].

الجدول ( 2 – 6 ) البادئات المستخدمة في جين  $P^{53}$  والمستخدم في فحص qRT – PCR .

gene $P^{53}$	Forward	5'-CCG TCG CAA GCA ATG GAT G-3'
	Reverse	5'-GAA GAT GAC AGG GGC CAG GAG-3'

تم شراء البادئات بتركيز مختلفة كمسحوق ((lyophilized product)) من (USA). يتبع ذلك تحضير محلول العمل والمحلول المخزون وفقاً لإرشادات الشركة المصنعة. تمت إضافة الماء منزوع الأيونات إلى محلول المخزون لتحضيره. تم حفظ البادئ في المخزن عند درجة حرارة  $20^{\circ}\text{C}$ . للحصول على التركيز النهائي للعالق ( $100\ \mu\text{M}/\mu\text{L}$ )، تم جمع  $50\ \mu\text{L}$  من هذا المحلول وإضافته إلى  $150\ \mu\text{L}$  من الماء منزوع الأيونات للحصول على التركيز النهائي لمحلول العمل ( $25\ \mu\text{M}/\mu\text{L}$ ).

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

تم قياس التعبير الجيني  $P^{53}$  في خط خلايا سرطان القولون HCT.29 باستخدام اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي في الوقت الحقيقي (النسخ العكسي) باستخدام Fast SYBR Green Master Mix بعد العلاج بالأدوية المحملة على الكيتوسان النانوي. تناقضت نتائج تحليلات التعبير الجيني لهذه المجموعات مع تلك الخاصة بمجموعة التحكم. استخدمت كل تجربة ثلاث نسخ من هذه القياسات [127]. تم الحصول على [cDNA] باستخدام مجموعة (Kit: EvaGreen qRT-PCR One-Step, USA). يتكون خليط التفاعل من المكونات المذكورة أدناه ووصل الحجم النهائي لخليط التفاعل إلى  $20\ \mu\text{L}$ .

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

باتباع إرشادات الشركة المصنعة، تمت تنقية الحامض النووي الريبسي (RNA) من خط خلايا سرطان القولون باستخدام مجموعة (RNeasy Mini kit, Qiagen. Cat. No. 74,104, UK). تمت بعد ذلك معالجة الحامض النووي الريبسي (RNA) باستخدام النسخ العكسي بـ DNase و (Superscript II reverse transcriptase) للحصول على cDNA (Invitrogen. Cat. No. 18,064–071, USA). تم بعد ذلك استخدامه في تفاعل qRT-PCR، حيث يتكون خليط التفاعل من (1µL) من [cDNA]، و (7.5µL) من SYBR green ، و (0.3µL) من ROX، و (0.3µL) من البادئات. تم بعد ذلك إحضار الخليط إلى حجم إجمالي قدره (15µL) قبل وبعد العلاج الدوائي المحمل على الكيتوسان النانوي، تم تحديد معدل تعبير الجين  $P^{53}$ . اعتمادًا على قيمة Cycle Threshold (CT)، واستخدمت البيانات الواردة أعلاه لجميع التجارب ولثلاث نسخ [132].

استخدمت الظروف الحرارية المثلى (condition qPCR Thermo Cycler) لجين الدراسة ( $P^{53}$ ) كما موضح في الجدول (2-7).

جدول (2-7) الظروف الحرارية المثلى لمراحل qRT – PCR لجين  $P^{53}$

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	—

### 2.13. التحليل الإحصائي:

حُلَّت النتائج باستخدام T test وباستخدام برنامج (GraphPad Prism 6) [133].

# الفصل الثالث

**Result and**

**Discussion**

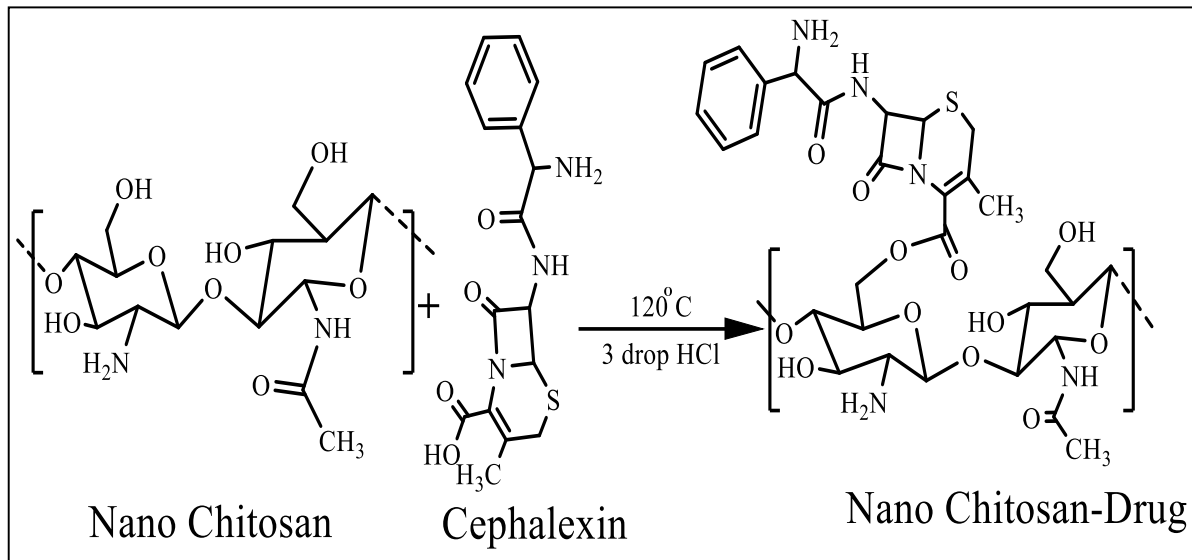
Result and Discussion

3. النتائج والمناقشة

3.1. تحضير العقاقير المرتبطة بالكيتوسان النانوي

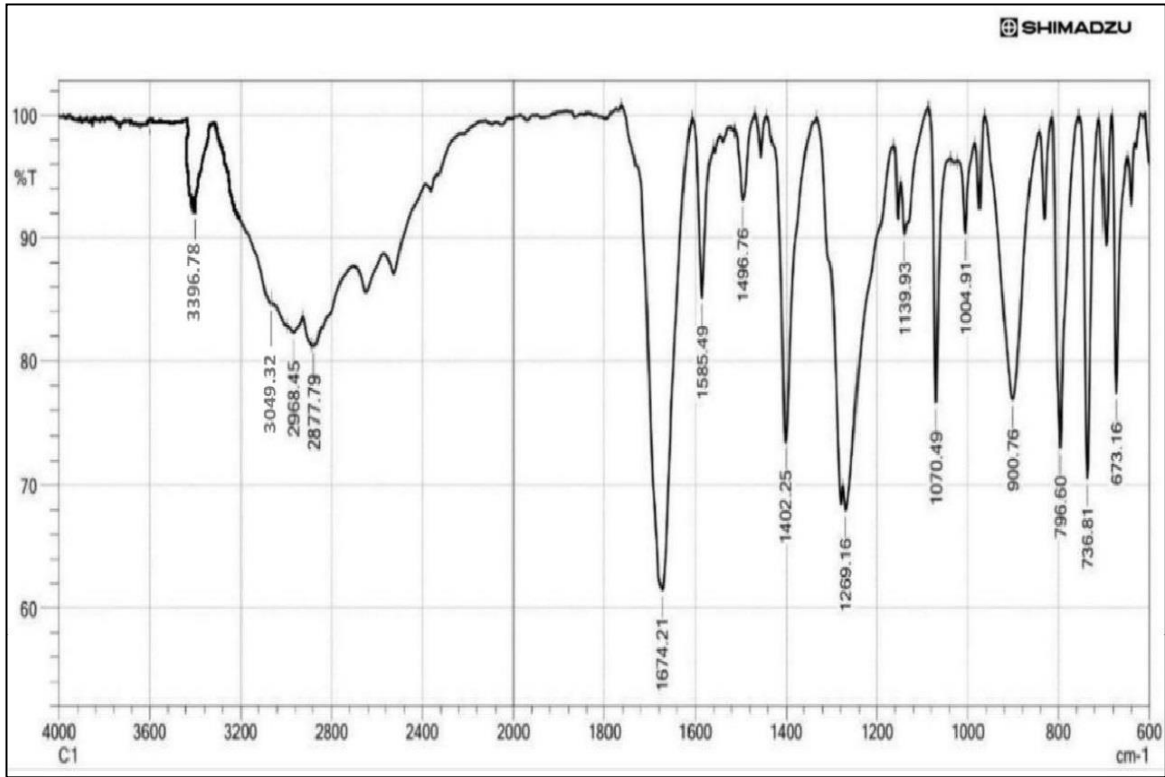
3.1.1. تحضير عقار السيفالكسين المرتبط مع الكيتوسان النانوي (A1).

تم تحضير عقار السيفالكسين المرتبط بالكيتوسان النانوي (A1)، بإجراء عملية التصعيد (Reflection) لمزيج التفاعل، عند درجة الحرارة  $120^{\circ}\text{C}$ ، ولمدة 24 ساعة كما في المعادلة (1-3)، وتم تشخيص المركب الناتج من عملية البلمرة التكتيفية بتقنيات FT-IR,  $^1\text{H-NMR}$



المعادلة (1-3) تفاعل عقار السيفالكسين مع الكيتوسان النانوي (A1)

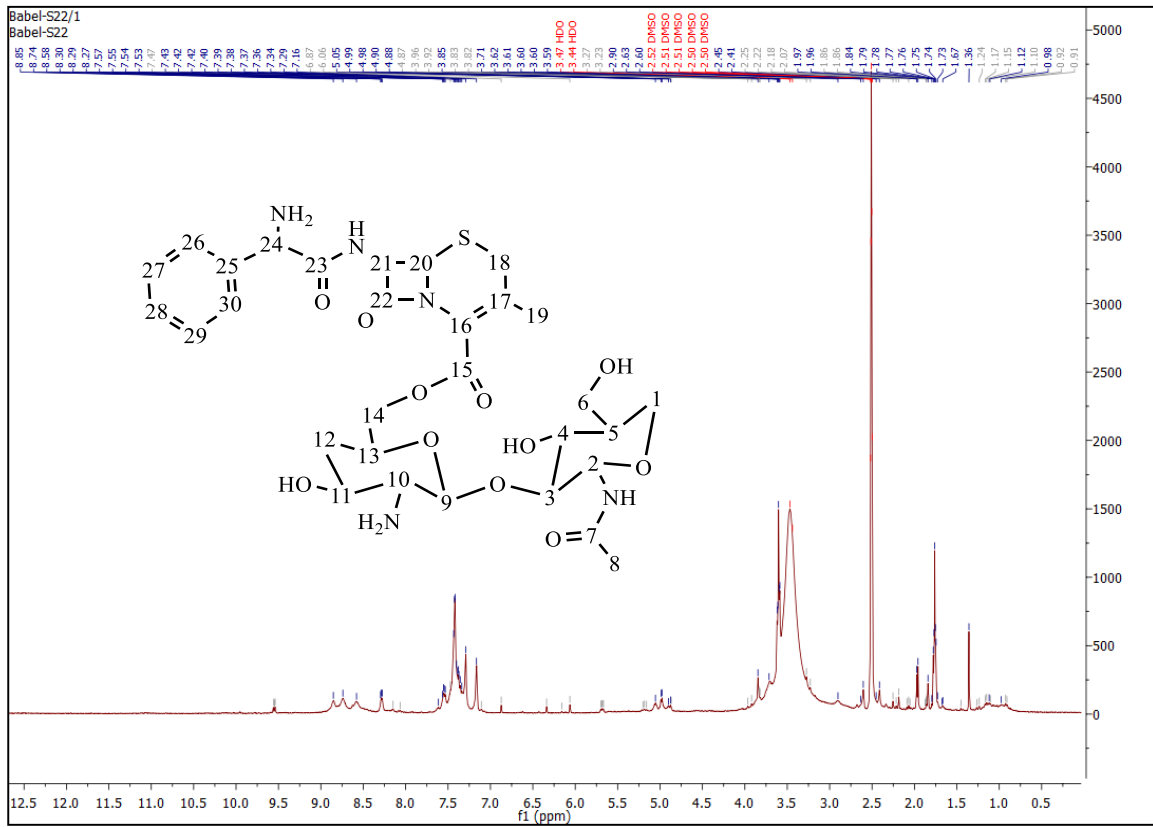
اظهر المركب (A1) حزم امتصاص عديدة بارزة في الشكل (1-3) حسب نتائج طيف FT-IR ، وعلى وجه التحديد، فإن الحزمة الحادة التي ظهرت عند  $(3396.78\text{ cm}^{-1})$  ناجمة عن اهتزاز مجموعة (OH) ، اما الحزمة التي ظهرت عند  $(3049.32\text{ cm}^{-1})$  فإنها تعود الى (C-H) الأروماتية واطهر طيف FT-IR ايضاً حزمة عند  $(2877.21 - 2968.42\text{ cm}^{-1})$  الناتجة من اهتزاز الاصرة (C-H) الأليفاتية، اما الحزمة التي ظهرت عند  $(1712.21\text{ cm}^{-1})$  فإنها تمثل مجموعة الاستر (O-C=O) ، والحزمة التي ظهرت عند  $(1674.21\text{ cm}^{-1})$  تعود لمجموعة الامايد (N-C=O)، كذلك اظهر طيف FT-IR حزمة عند  $(1269.16\text{ cm}^{-1})$  ناتجة من اهتزاز (C-O).



الشكل (1-3) طيف FT-IR لعقار (A1)

وفيما يتعلق بطيف الرنين المغناطيسي النووي ( $^1\text{H-NMR}$ ) لعقار (A1) فقد أظهر الطيف مجموعة من الإشارات في الشكل (2-3). ظهرت إشارة تعود إلى بروتونات الحلقة الأروماتية عند (9.5 ppm). وفيما يتعلق بالإشارتين اللتين ظهرتتا عند (8.74 ppm) و (8.72 ppm) فإنهما تمثلان بروتونات الأمايد الموجودتين في الدواء. توجد إشارة لبروتونات مجموعة الأمايد ( $\text{NH-C=O}$ ) في الكيتوسان عند (7.16 ppm - 7.75 ppm). وفيما يتعلق بالإشارة التي لوحظت عند 2.5 ppm، فهي مرتبطة بالمذيب ( $\text{DMSO-d}_6$ ). عند (1.43 ppm)، يمكن رؤية الإشارة لبروتون ذرة الكربون رقم (8). ويمكن رؤية إشارة لبروتون ذرة الكربون (19) عند (0.9 ppm).

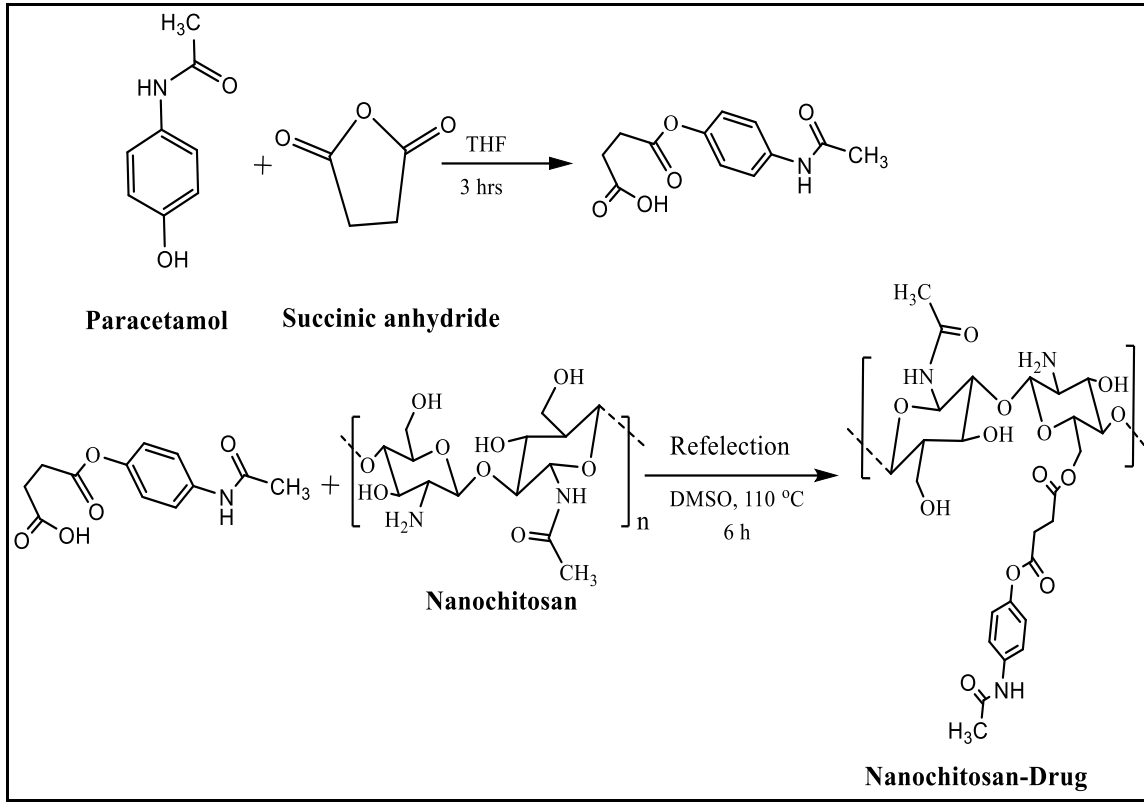




الشكل (2-3) طيف <sup>1</sup>H NMR لعقار (A1).

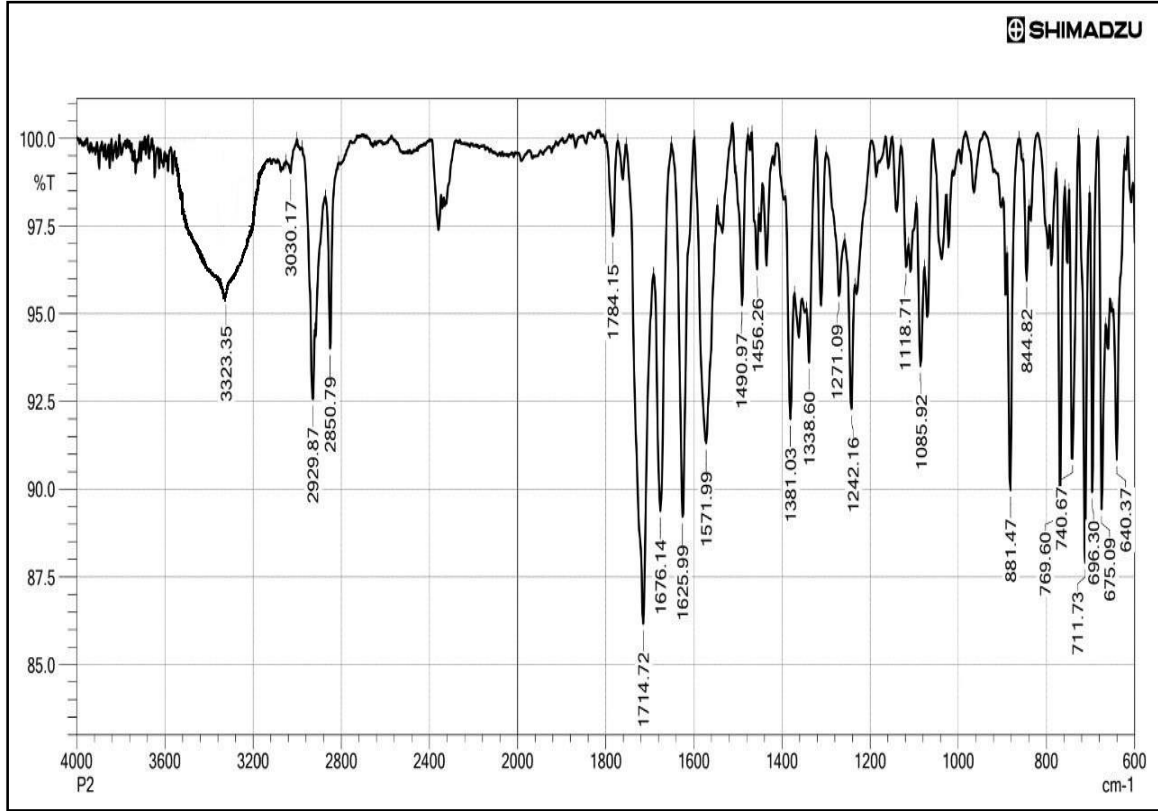
### 3.1.2. تحضير عقار الباراسيتامول المرتبط بالكيتوسان النانوي (A2).

تم تحضير عقار الباراسيتامول المرتبط بالكيتوسان النانوي (A2)، بإجراء عملية التصعيد (Reflection) لمدة 6 ساعات وعند درجة حرارة 110 °C، حسب المعادلة (2-3)، وتم تشخيص المركب الناتج من عملية البلمرة التكتيفية بتقنيات <sup>1</sup>H-NMR, FT-IR.



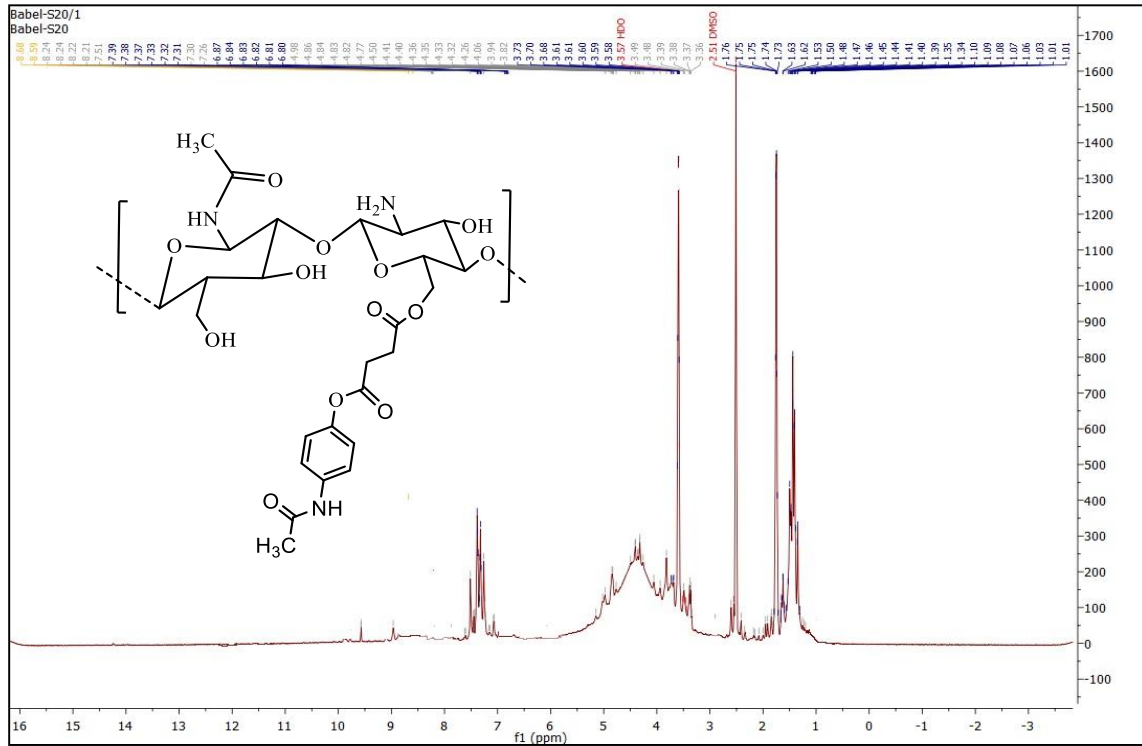
المعادلة (2-3) تحضير عقار الباراسيتامول المرتبط بالكيتوسان النانوي (A2).

أظهرت نتائج طيف FT-IR للمركب (A2)، المبينة في الشكل (3-3)، وجود حزم امتصاص رئيسية متعددة. ومن الجدير بالذكر أن مجموعة الهيدروكسيل (OH) ومجموعة الأمين (N-H) مدمجة في حزمة امتصاص عند  $(3323.35 \text{ cm}^{-1})$ ، في حين يتم تمثيل الأصرة (C-H) الأروماتية بالحزمة  $(3030.17 \text{ cm}^{-1})$  بالإضافة إلى ذلك، كشف الطيف عن حزمة امتصاص عند  $(2829.87 \text{ cm}^{-1})$  والتي تمثل الأصرة (C-H) الأليفاتية بالإضافة إلى ذلك، كشف الطيف عن حزمة امتصاص عند  $(1714.72 \text{ cm}^{-1})$ ، والتي تمثل مجموعة الإستر (O – C=O)، بالإضافة إلى ذلك، فإن حزمة الامتصاص عند  $(1676.14 \text{ cm}^{-1})$  فهي تمثل مجموعة الأمايد (N–C=O)، أما بالنسبة لحزمة (C-O) فهي ظهرت عند  $(1271.09 \text{ cm}^{-1})$ .



الشكل (3-3) طيف FT- IR لعقار (A2)

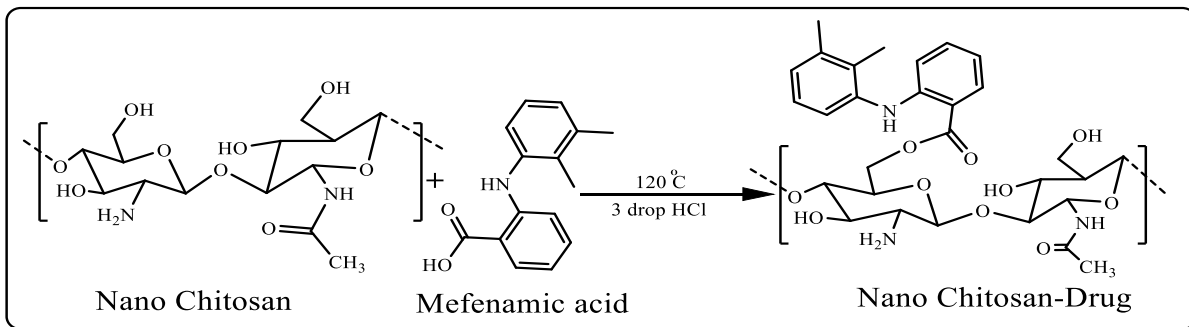
وفيما يتعلق بطيف الرنين المغناطيسي النووي ( $^1\text{H-NMR}$ )، يعرض الشكل (4-3) للمركب (A2) مجموعة من الإشارات. عند (9.5 ppm) نلاحظ إشارة تمثل تعود الى بروتونات الحلقة الاروماتية. وفيما يتعلق بالإشارتين اللتين ظهرتتا عند (8.72, 8.74 ppm) فإنهما تمثلان مجموعتي الأمايد الموجودتين في الدواء. اما بالنسبة للإشارات التي ظهرت عند (7.4 - 6.8 ppm) تعود لبروتون الهيدروجين في امايد الكيتوسان. إضافة إلى ذلك ظهرت إشارة عند (4.45 ppm) تشير إلى وجود مجموعة الهيدروكسيل في بوليمر الكيتوسان النانوي. كذلك اظهر طيف  $^1\text{H NMR}$  إشارة عند (2.5 ppm) فهي تدل على وجود المذيب ( $\text{DMSO-d}_6$ ) اما الإشارة التي ظهرت عند (1.8 ppm) فهي تمثل بروتونات C-H لمجموعة المثيلين في الذرات. وفي الأخير فقد اظهر طيف  $^1\text{H NMR}$  إشارة عند (1.01 ppm) في تمثل مجموعة المثل في بوليمر الكيتوسان النانوي.



الشكل (3-3) طيف  $^1\text{H}$  NMR لعقار (A2).

### 3.1.3 تحضير عقار حامض الميفيناميك المرتبط بالكيتوسان النانوي (A3)

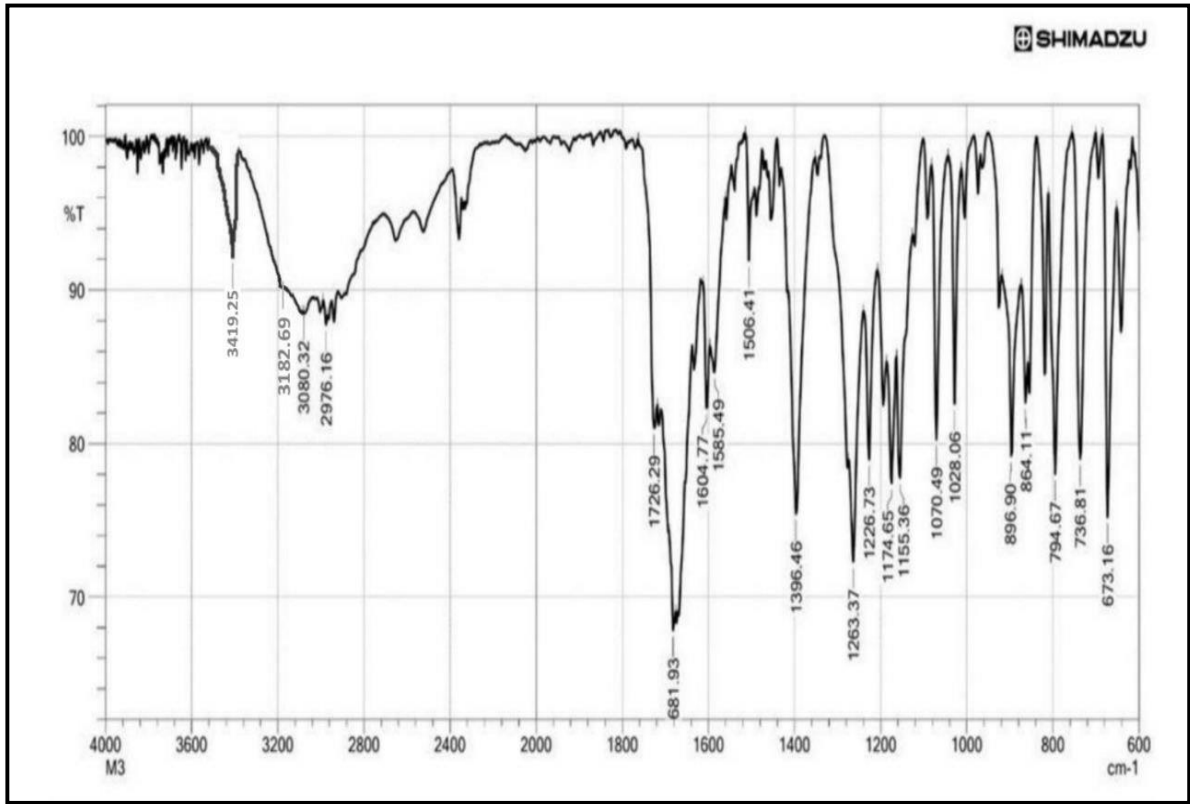
تم تحضير عقار حامض الميفيناميك المرتبط بالكيتوسان النانوي (A3)، بإجراء عملية التصعيد (Reflection) لمزيج التفاعل، عند درجة الحرارة  $120\text{ }^\circ\text{C}$ ، ولمدة 24 ساعة كما في المعادلة (3-3)، وتم تشخيص المركب الناتج من عملية البلمرة التكتيفية بتقنيات FT-IR,  $^1\text{H-NMR}$ .



المعادلة (3-3) معادلة تحضير عقار (A3).

Result and Discussion

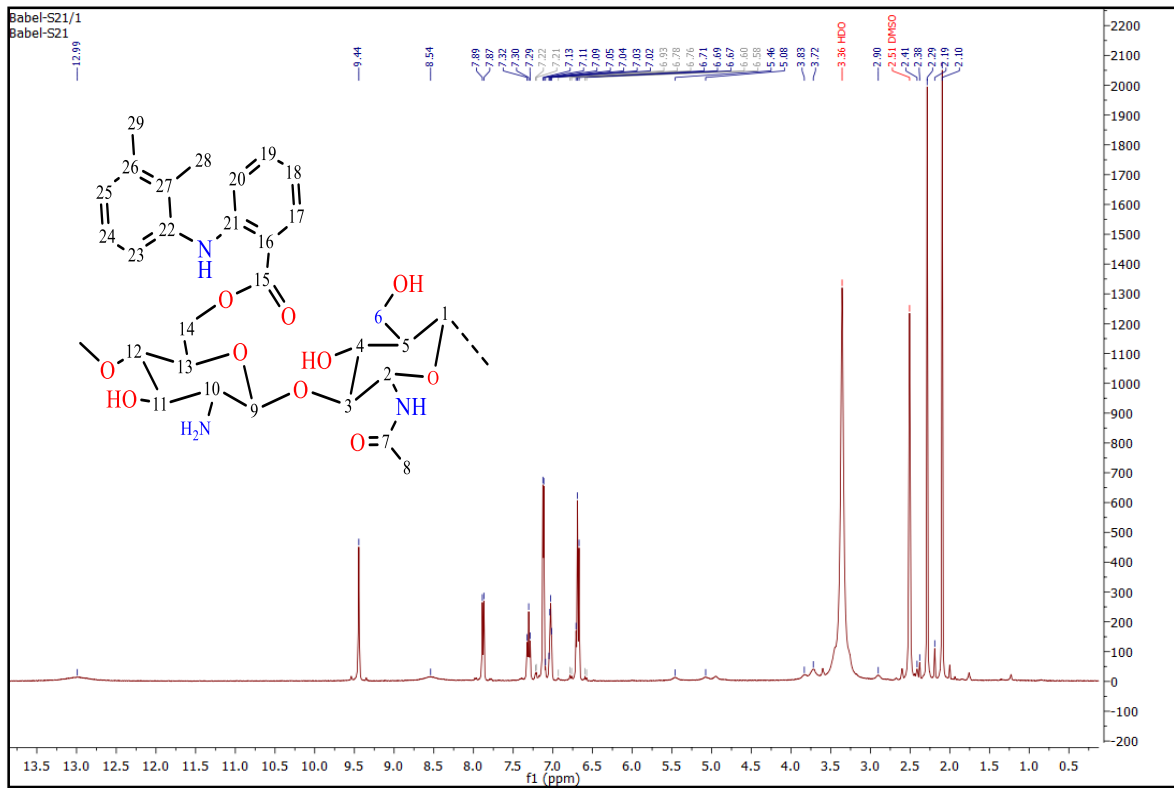
يُظهر المركب (A3) حزم امتصاص متعددة في الشكل (5-3) من طيف FT-IR. تعود الحزمة الحادة ( $3419.25 \text{ cm}^{-1}$ ) إلى المجموعة (OH)، بينما تعود حزمة الامتصاص ( $3182.69 \text{ cm}^{-1}$ ) إلى اهتزاز مجموعة الأمين الثانوية (N-H). بالإضافة إلى ذلك، يظهر الطيف حزمة امتصاص عند ( $3080.32 \text{ cm}^{-1}$ ) مما يدل على أنها الاصرة بين (C-H) الاروماتية —هـ—تـز، وعند ( $2976.16 \text{ cm}^{-1}$ ) يمكن رؤية حزمة امتصاص الاصرة (C-H) الاليفاتية، وكشف الطيف عن حزمة امتصاص عند ( $1726.29 \text{ cm}^{-1}$ )، مما يشير إلى اهتزاز مجموعة الإستر (O=C=O)، اما مجموعة الأمايد (N – C = O) فظهرت بحزمة الامتصاص ( $1681.93 \text{ cm}^{-1}$ ). ولوحظ في الطيف حزمة امتصاص عند ( $1263.37 \text{ cm}^{-1}$ ) فهي عائدة الى (C-O)



الشكل (5-3) طيف FT-IR لعقار (A3).

Result and Discussion

ويمكن رؤية أطيف  $^1\text{H-NMR}$  لعقار (A3) في الشكل (3-6). تحققت مجموعة من المؤشرات. ويمثل بروتون الهيدروجين الموجود في مجموعة الهيدروكسيل بالإشارة التي ظهرت عند (12.8 ppm)، والإشارة التي ظهرت عند (9.49 ppm) مرتبطة بالبروتون في مجموعة الأمين الاولي، ويمكن رؤية الإشارة عند (7.8 ppm) فأنها تعود للبروتون في موقع بارا، أما بالنسبة للإشارتين (7.34 ppm) و (6.8 ppm) فتعودان الى بروتون الهيدروجين الحلقة الاروماتية، أما بالنسبة للإشارة التي نشأت عند (3.4 ppm) فتعود الى الهيدروجين الموجود في مجموعة ( $\text{CH}_2$ ) التي تنموق قرب ذرة اوكسجين كهروسلبيتها عالية، اما المذيب ( $\text{DMSO-d}^6$ ) فيشار له بالإشارة التي تظهر عند (2.5 ppm)، والإشارة التي ظهرت عند (2.3 ppm) فهي تعود الى مجموعة المثل التي تنموق في الموقع اورثو، اما الإشارة التي ظهرت عند (2.1 ppm) فهي تمثل مجموعة المثل التي تجاور مجموعة الكاربونيل ( $\text{C=O}$ ).



الشكل (3-6) طيف  $^1\text{H-NMR}$  لعقار (A3).

## Result and Discussion

استناداً إلى الأطياف المعروضة أعلاه، يكشف طيف FT-IR عن عدة نطاقات امتصاص، وهو ما يتوافق مع نتائج الدراسات السابقة. وهذا الاهتزاز لمجموعة الأمينات (N – H) تنتج عنه الحزمة الذي يحدث بين  $(3500-3300 \text{ cm}^{-1})$  [134]. أما بالنسبة لمجموعة (OH) فإن الحزمة الذي تظهـر بين  $(3000-3600 \text{ cm}^{-1})$  هو نتيجة اهتزازها [135]. ويظهر طيف FT-IR وجود حزمة الامتصاص للاصرة بين (C-H) في الحلقة الاروماتية  $(2900-3100 \text{ cm}^{-1})$  [136]. تُشير حزمة الامتصاص التي ظهرت من  $(2800-3000 \text{ cm}^{-1})$  الى (C-H) الاليفاتية [137]. اما بالنسبة لحزم الامتصاص التي تظهر بين  $(1600-1800 \text{ cm}^{-1})$  فهي تمثل مجموعتي الاستر والامايد [138]. كذلك يظهر طيف FT-IR حزمة امتصاص (C-O) بين  $(1200-1250 \text{ cm}^{-1})$  [139].

اما فيما يتعلق بطيف الرنين النووي المغناطيسي  $^1\text{H NMR}$  فقد اظهر نتائج متوافقة مع الدراسات السابقة حيث اعتمدت هذه النتائج على عوامل عديدة تعمل على زيادة قيمة ppm وبعد عن TMS في طيف  $^1\text{H NMR}$  ومن بين هذه العوامل التعاقب الرنيني في حلقة البنزين حيث تقع إشارة الحلقة بين (7.5-6 ppm) [140]. والكهروسالبية [141]. وايضاً تموقع ذرات الكربون التي تتضمن بروتون والتي تبدأ من (5-1) حيث تزداد السالبية الكهربائية حسب موقعها والذرات التي ترتبط معها ارتباطاً مباشراً [142]. وإشارة المذيب التي تظهر عند (2.5 ppm) [143] اما بروتون مجموعة الامايد فيظهر بين (10-8 ppm) [144].

### 3.2. تحرير الدواء

عند درجة حرارة ثابتة تبلغ  $37^\circ\text{C}$ ، تم اختبار أربعة محاليل بفر وعند pH (2.2، 6.0، 7.2، و8.0) لإطلاق الدواء المحمل على الكيتوسان النانوي باستخدام مقياس الطيف الضوئي للأشعة فوق البنفسجية (UV-Vis). كما هو موضح في الأشكال من (3-7) إلى (3-14) التي تمثل اطلاق الدواء المُحضر من بوليمر الكيتوسان النانوي، والجداول من (3-1) إلى (3-4).

الجدول (1-3): زمن تحرير الدواء في (الساعة واليوم) من الكيتوسان النانوي في (pH =2.2) عند (37 °C).

اطلاق الدواء			الوقت
أنواع العقاقير المرتبطة مع الكيتوسان النانوي			(الساعة)
A3	A2	A1	
1.425 nm	1.393 nm	1.833 nm	1
1.467 nm	1.438 nm	1.876 nm	2
1.497 nm	1.476 nm	1.918 nm	3
1.549 nm	1.529 nm	1.968 nm	4
			(اليوم)
1.614 nm	1.559 nm	2.091 nm	1
1.697 nm	1.635 nm	2.251 nm	2
1.792 nm	1.737 nm	2.379 nm	3
1.886 nm	1.828 nm	2.458 nm	4
1.997 nm	1.928 nm	2.555 nm	5
2.098 nm	2.017 nm	2.663 nm	6
2.232 nm	2.119 nm	2.764 nm	7
2.328 nm	2.277 nm	2.857 nm	8
2.409 nm	2.373 nm	2.986 nm	9
2.519 nm	2.441 nm	3.091 nm	10



الجدول (2-3): زمن تحرير الدواء في (الساعة واليوم) من الكيتوسان النانوي في (pH =6.0) عند (37 °C).

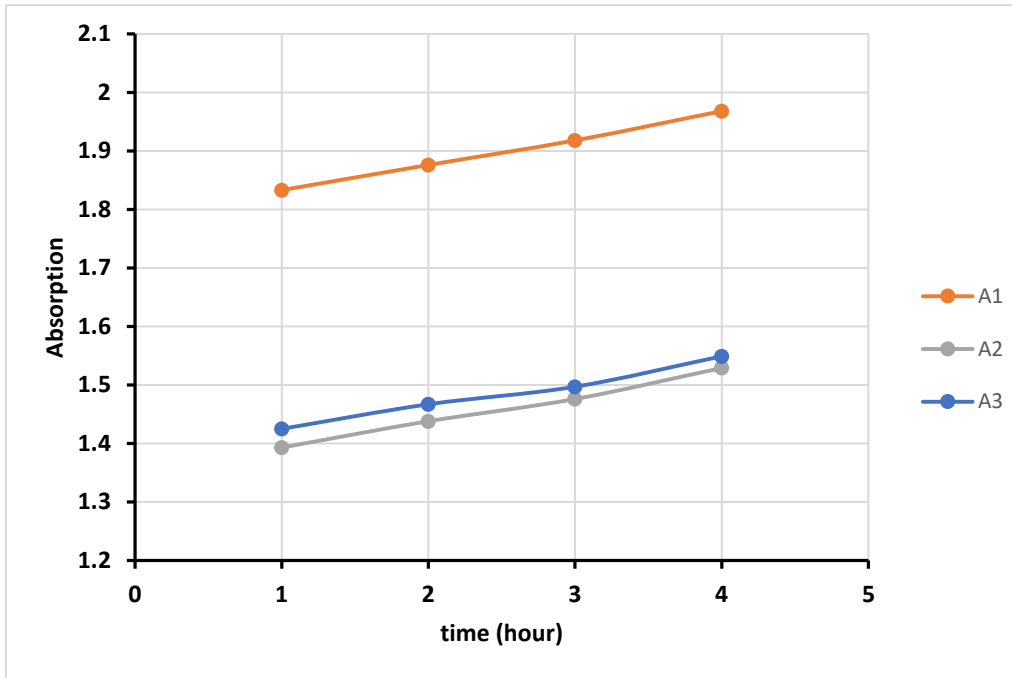
اطلاق الدواء			الوقت
أنواع عقاقير الكيتوسان النانوي			(الساعة)
A3	A2	A1	
1.355 nm	1.322 nm	1.769 nm	1
1.397 nm	1.362 nm	1.809 nm	2
1.434 nm	1.401 nm	1.849 nm	3
1.484 nm	1.451 nm	1.899 nm	4
			(اليوم)
1.552 nm	1.459 nm	1.912 nm	1
1.645 nm	1.575 nm	1.976 nm	2
1.776 nm	1.656 nm	2.065 nm	3
1.865 nm	1.794 nm	2.233 nm	4
1.965 nm	1.855 nm	2.311 nm	5
2.062 nm	1.933 nm	2.406 nm	6
2.191 nm	2.054 nm	2.514 nm	7
2.233 nm	2.093 nm	2.595 nm	8
2.332 nm	2.227 nm	2.696 nm	9
2.435 nm	2.333 nm	2.754 nm	10

الجدول (3-3) زمن تحرير الدواء في (الساعة واليوم) من الكيتوسان النانوي في (pH =7.2) عند (37 °C).

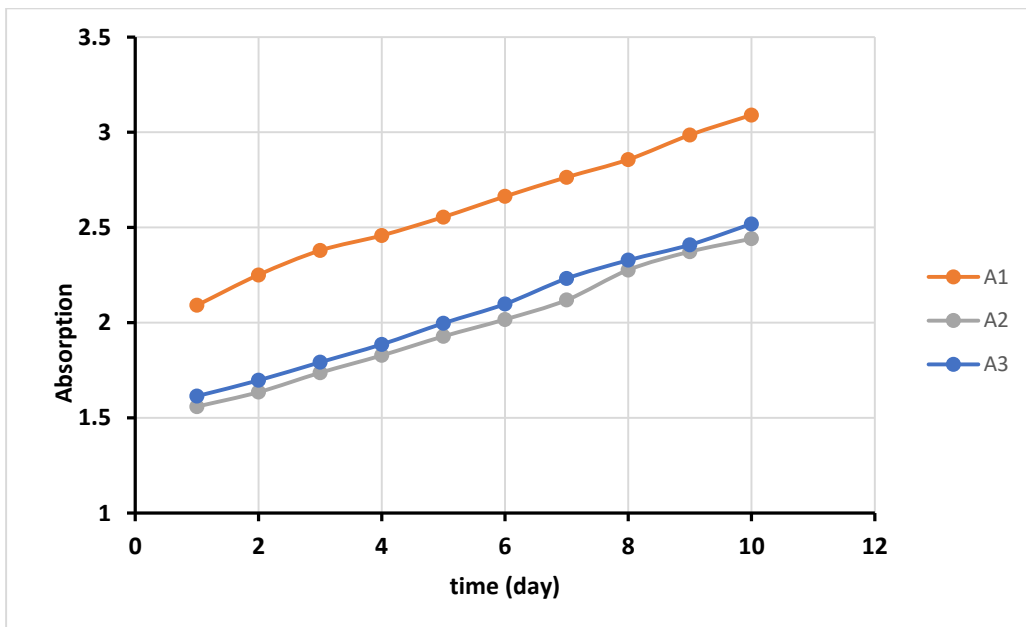
اطلاق الدواء			الوقت
أنواع عقاقير الكيتوسان النانوي			(الساعة)
A3	A2	A1	
1.375 nm	1.339 nm	1.293 nm	1
1.417 nm	1.377 nm	1.338 nm	2
1.457 nm	1.417 nm	1.376 nm	3
1.504 nm	1.467 nm	1.429 nm	4
			(اليوم)
1.697 nm	1.599 nm	1.454 nm	1
1.828 nm	1.688 nm	1.588 nm	2
1.995 nm	1.848 nm	1.697 nm	3
2.124 nm	2.014 nm	1.896 nm	4
2.253 nm	2.139 nm	2.052 nm	5
2.357 nm	2.218 nm	2.143 nm	6
2.475 nm	2.384 nm	2.235 nm	7
2.685 nm	2.544 nm	2.336 nm	8
2.743 nm	2.666 nm	2.455 nm	9
2.892 nm	2.815 nm	2.588 nm	10

الجدول (3-4): زمن تحرير الدواء في (الساعة واليوم) من الكيتوسان النانوي في (pH =8.0) عند (37 °C).

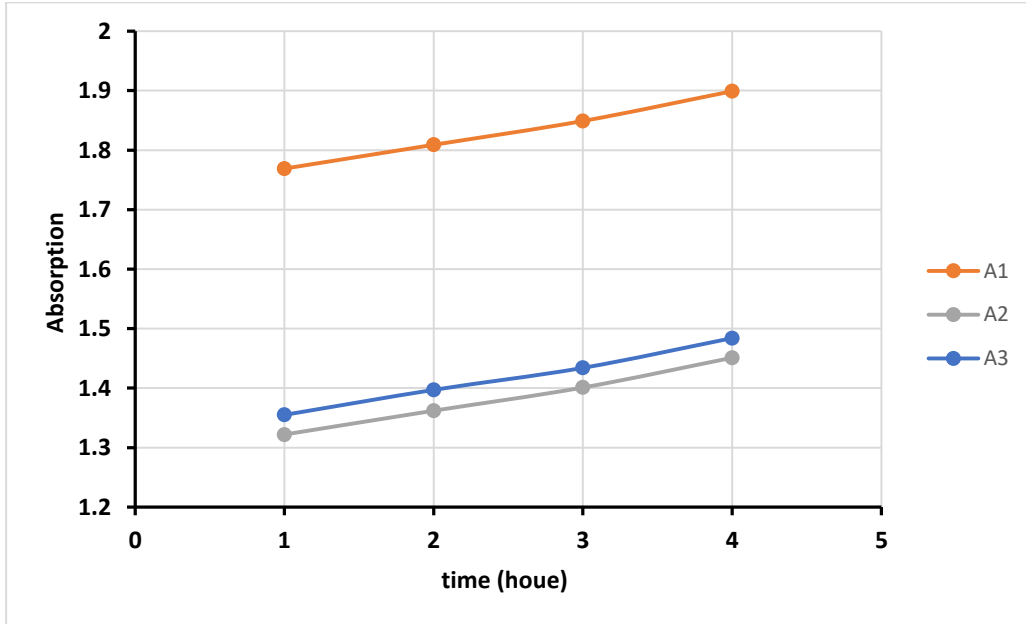
اطلاق الدواء			الوقت
أنواع عقاقير الكيتوسان النانوي			(الساعة)
A3	A2	A1	
1.475 nm	1.439 nm	1.393 nm	1
1.517 nm	1.477 nm	1.438 nm	2
1.557 nm	1.517 nm	1.476 nm	3
1.606 nm	1.567 nm	1.529 nm	4
			(اليوم)
2.012 nm	1.897 nm	1.699 nm	1
2.123 nm	2.025 nm	1.899 nm	2
2.294 nm	2.188 nm	2.055 nm	3
2.598 nm	2.244 nm	2.088 nm	4
2.999 nm	2.456 nm	2.123 nm	5
3.113 nm	2.676 nm	2.156 nm	6
3.225 nm	2.999 nm	2.188 nm	7
3.427 nm	3.066 nm	2.233 nm	8
3.582 nm	3.142 nm	2.266 nm	9
3.757 nm	3.344 nm	2.322 nm	10



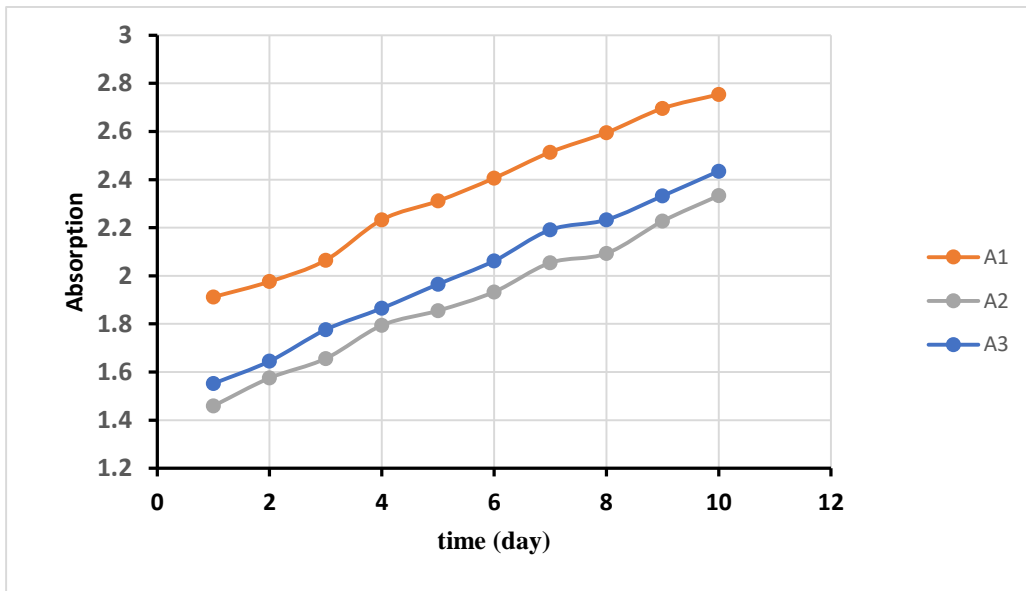
الشكل (7-3) منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل ساعة في pH=2.2 عند 37 °C



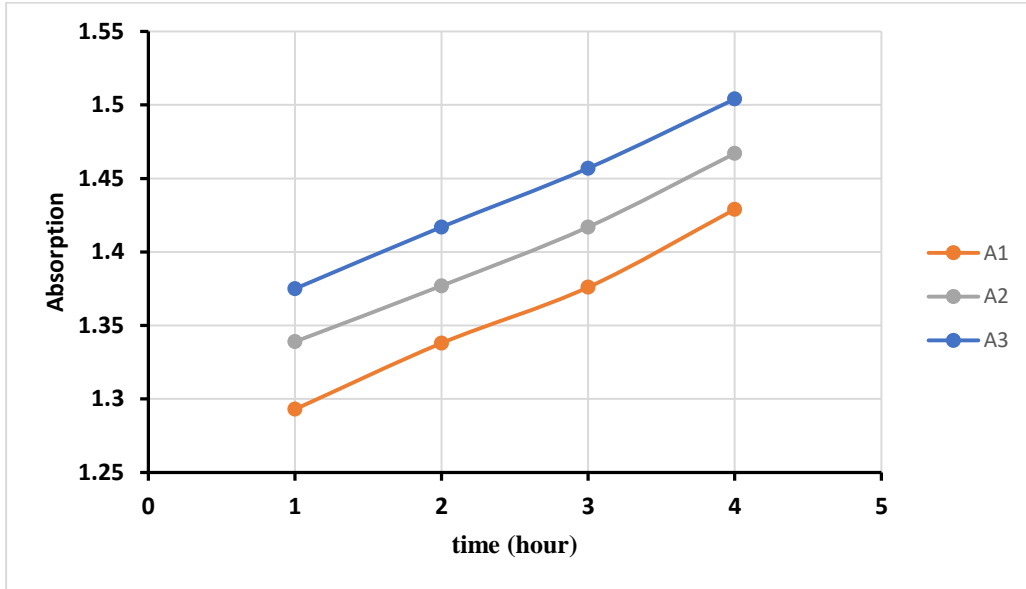
الشكل (8-3) منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل يوم في pH=2.2 عند 37 °C.



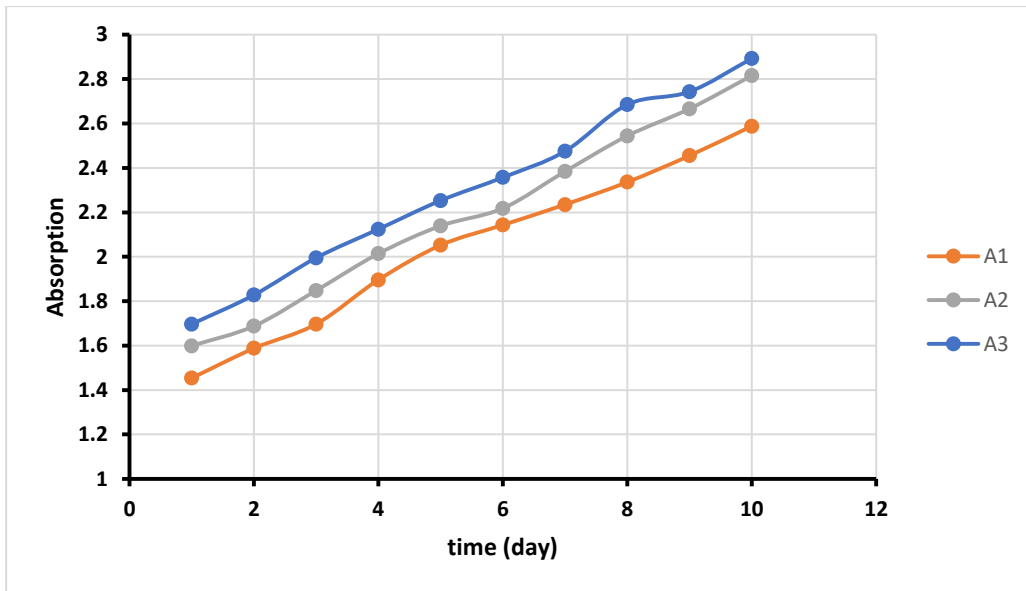
الشكل (3-9) منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل ساعة في  $\text{pH}=6.0$  عند  $310\text{ }^\circ\text{C}$ .



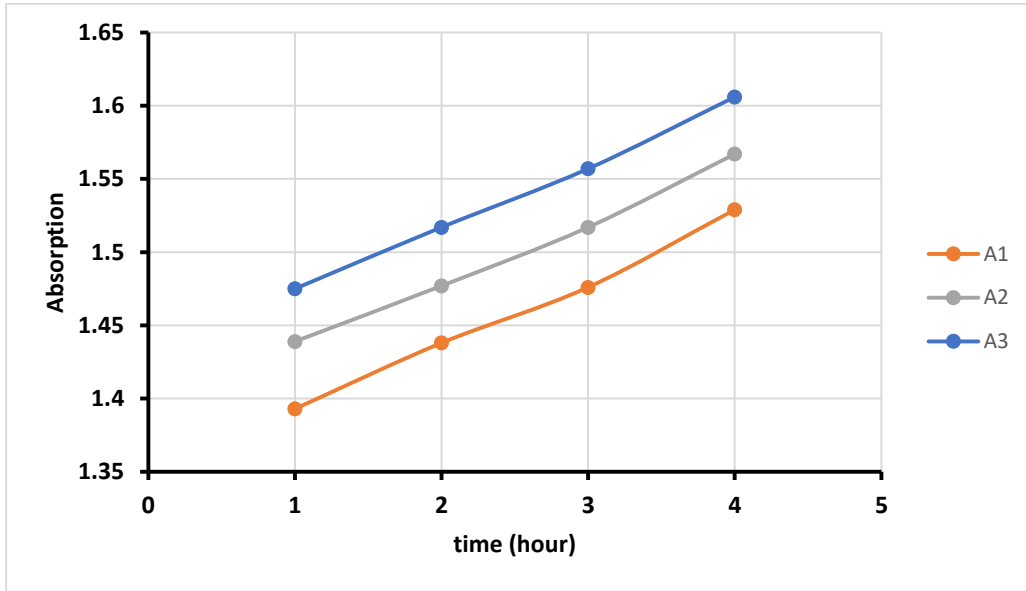
الشكل (3-10) منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل يوم في  $\text{pH}=6$  عند  $37\text{ }^\circ\text{C}$ .



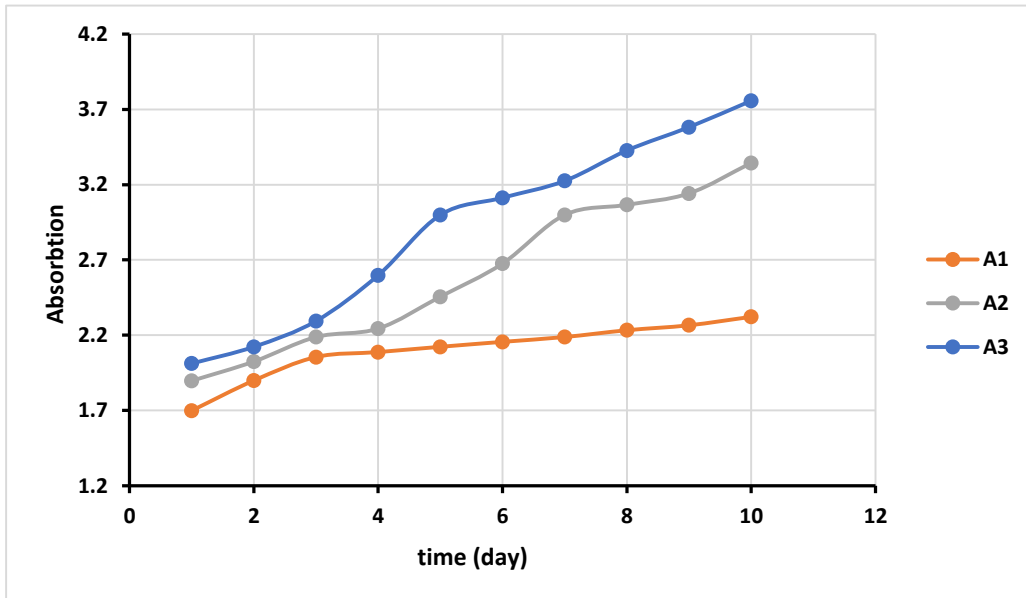
الشكل (3-11) منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل ساعة في  $\text{pH}=7.2$  عند  $37^\circ\text{C}$ .



الشكل (3-12) منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل يوم في  $\text{pH}=7.2$  عند  $37^\circ\text{C}$ .



الشكل (3-13) منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل ساعة في  $\text{pH}=8.0$  عند  $37^\circ\text{C}$ .



الشكل (3-14) منحنى تحرير الدواء من الكيتوسان النانوي لكل يوم في  $\text{pH}=8$  عند  $37^\circ\text{C}$ .

## Molecular docking study

## 3.3. دراسة الالتحام الجزيئي

الهدف من دراسة الالتحام الجزيئي هو تحديد طبيعة التجاذبات بين مركبات الكيتوسان النانوية مع البروتين المستهدف (3m11) المحفز لنمو وانتشار سرطان القولون، ولهذا الغرض تم استخدام تقنية الالتحام الجزيئي للتنبؤ وتحليل التفاعلات بين العقاقير المُحضرة والبروتين المستهدف. فهو يساعد في فهم آلية ارتباط العقاقير مع الاحماض الامينية المكونة لسلسلة البروتين المستهدف الذي يوجد في جين  $P53$  في خط خلايا سرطان القولون HCT-29، وكذلك نوع الاواصر داخل الموقع النشط للبروتين. وتتضمن نتائج دراسة الالتحام الجزيئي مواقع مستقبلات العقار مع البروتين، وطاقة الارتباط بـ (kcal/mol)، والقيمة الدنيا والعليا لـ (RMSD)، كما موضح في الجداول من (3-6) الى (3-8)، وتعرض الاشكال من (3-15) الى (13-17)، آلية الارتباط ومن ناحيه أخرى توضح العرض الثلاثي الابعاد للتفاعل بين العقاقير والبروتين المستهدف (3m11)، في هذا التفاعل تظهر أواصر عديده تحدد فعالية العقاقير المُحضرة، أهمها الاصرة الهيدروجينية التي يتم تمثيلها بخطوط منقطة ملونة باللون الأخضر الغامق، حيث تظهر الاصرة الهيدروجينية عندما تتفاعل ذرة هيدروجين من البروتين مع ذرة ذات سالبية كهربية عالية (مثل الأوكسجين أو النيتروجين)، من العقار. حيث يعد وجود الاصرة الهيدروجينية مهم في تركيب البروتينات لأن استقراريتها تتأثر بوجود او غياب الاصرة الهيدروجينية يتم تقييم دقة الالتحام عن طريق قياس مربع الانحراف الجزي المتوسط (RMSD) للعقاقير من موقعها الأصلي عند ارتباطها بالبروتين. حيث تشير قيمة RMSD الأقل إلى التحام عالي الدقة، ومن المثير للاهتمام أن تحليلنا يوضح أن عقاقير الكيتوسان النانوي حققت قيمة RMSD تبلغ صفرًا في أوضاعها المثالية، مما يعني مستوى عالٍ من الدقة في هندسة الالتحام الجزيئي.



الجدول (3-5) يوضح طاقة الارتباط لعقار (A1)

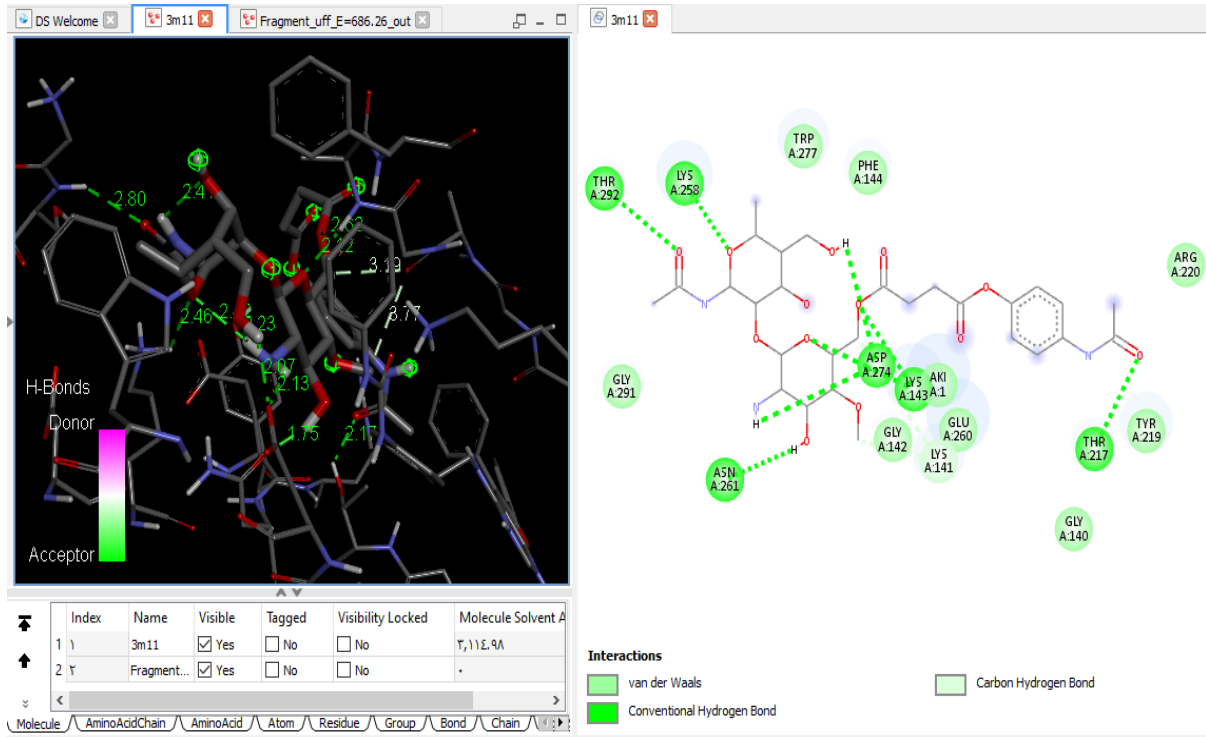
Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound »
3m11_Fragment_uff_E=1613.70	-7.4	0	0.0	0.0
3m11_Fragment_uff_E=1613.70	-6.8	6	1.809	2.158
3m11_Fragment_uff_E=1613.70	-6.7	8	2.081	2.468
3m11_Fragment_uff_E=1613.70	-6.7	7	2.252	2.909
3m11_Fragment_uff_E=1613.70	-6.9	4	2.434	3.777
3m11_Fragment_uff_E=1613.70	-6.9	3	2.604	4.857
3m11_Fragment_uff_E=1613.70	-7.0	2	6.133	8.955
3m11_Fragment_uff_E=1613.70	-7.3	1	4.989	10.492
3m11_Fragment_uff_E=1613.70	-6.8	5	18.589	23.829

الجدول (3-6) يوضح طاقة الارتباط لعقار (A2).

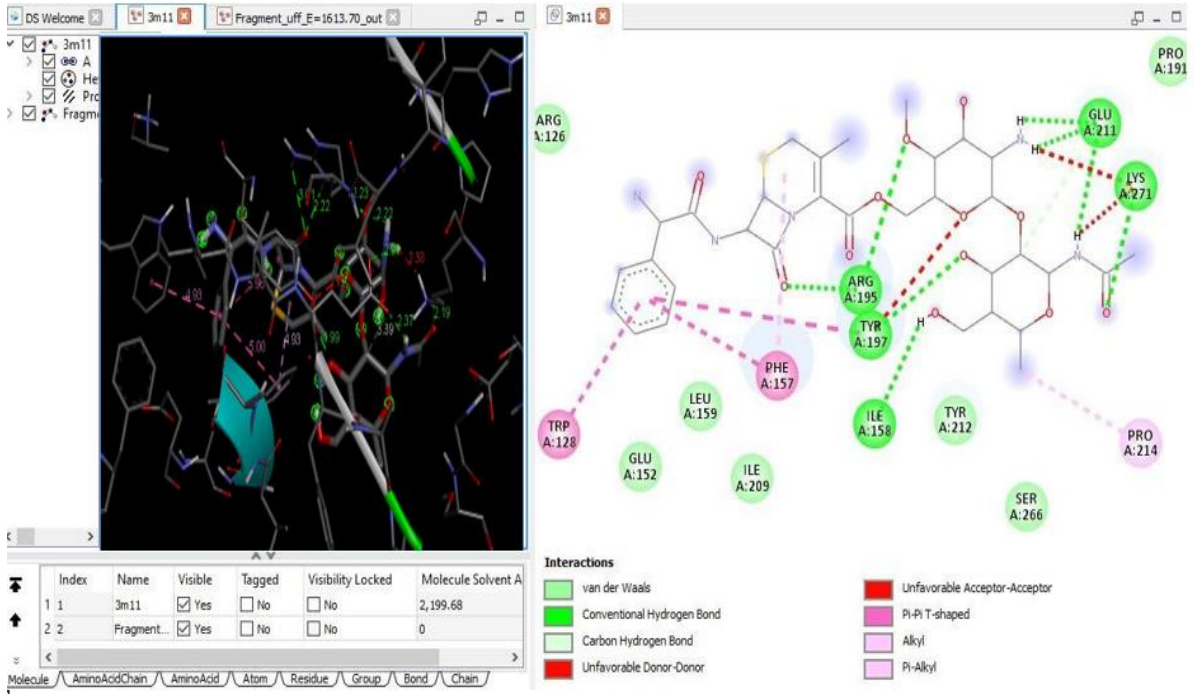
Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
3m11_Fragment_uff_E=645.79	-7.8	0	0.0	0.0
3m11_Fragment_uff_E=645.79	-7.5	1	19.407	23.372
3m11_Fragment_uff_E=645.79	-7.2	2	19.466	23.42
3m11_Fragment_uff_E=645.79	-7.1	3	21.651	24.694
3m11_Fragment_uff_E=645.79	-7.0	4	19.421	23.249
3m11_Fragment_uff_E=645.79	-7.0	5	20.75	24.284
3m11_Fragment_uff_E=645.79	-6.9	6	28.605	32.746
3m11_Fragment_uff_E=645.79	-6.9	7	19.483	22.934
3m11_Fragment_uff_E=645.79	-6.8	8	20.426	24.063

الجدول (3-7) يوضح طاقة الارتباط لعقار (A3).

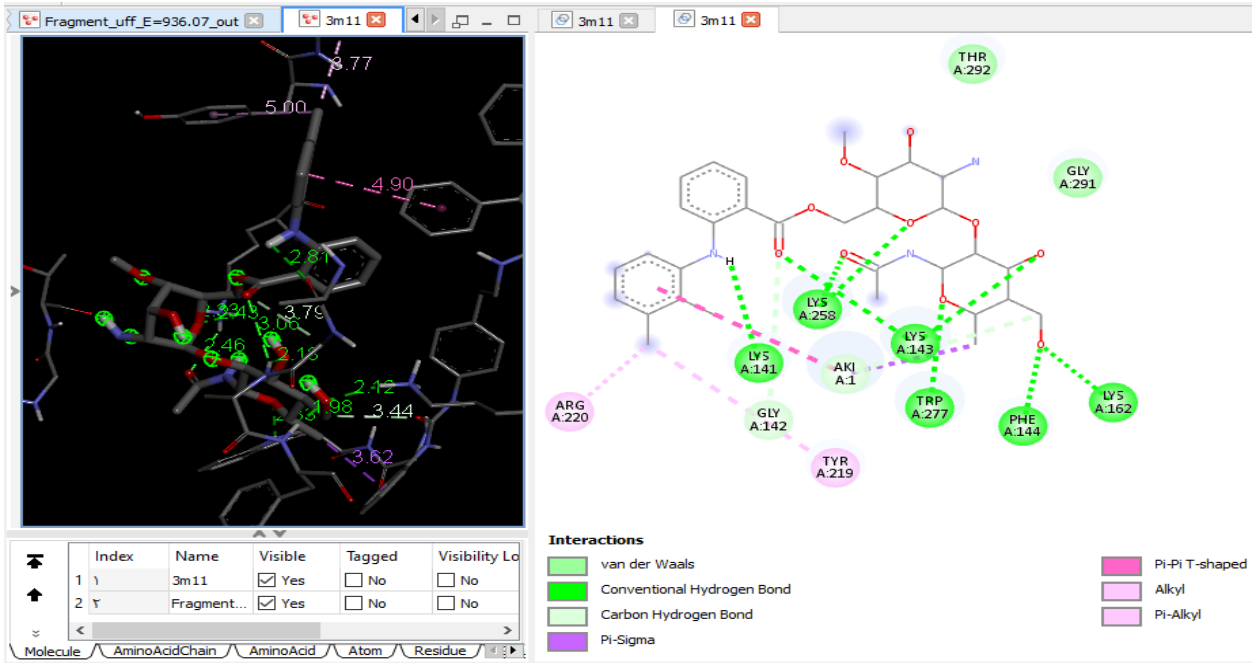
Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
3m11_Fragment_uff_E=935.97	-8.3	0	0.0	0.0
3m11_Fragment_uff_E=935.97	-8.0	1	2.043	4.611
3m11_Fragment_uff_E=935.97	-7.8	2	1.53	3.334
3m11_Fragment_uff_E=935.97	-7.7	3	2.291	4.758
3m11_Fragment_uff_E=935.97	-7.7	4	2.515	9.306
3m11_Fragment_uff_E=935.97	-7.6	5	22.035	24.951
3m11_Fragment_uff_E=935.97	-7.5	6	1.956	3.127
3m11_Fragment_uff_E=935.97	-7.4	7	1.691	4.721
3m11_Fragment_uff_E=935.97	-7.3	8	2.574	8.172



الشكل (3-15) يوضح آلية ارتباط عقار (A1) مع البروتين المستهدف.



الشكل (3-16) يوضح آلية ارتباط عقار (A2) مع البروتين المستهدف.



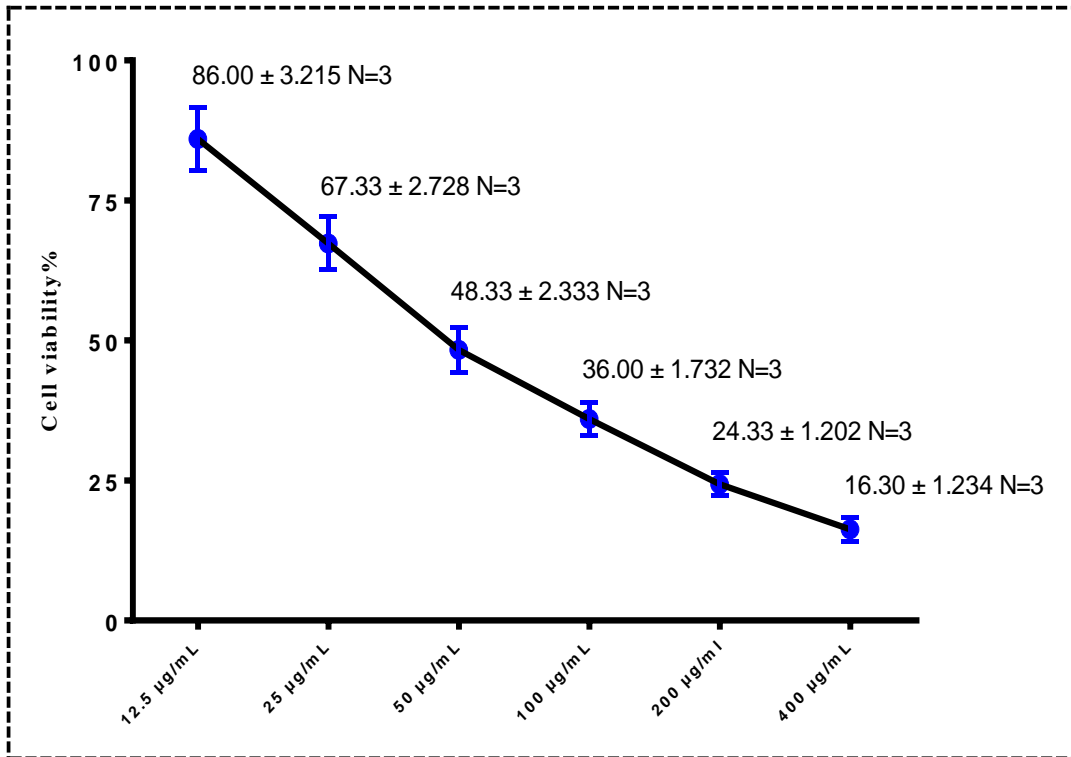
الشكل (3-17) يوضح آلية ارتباط عقار (A3) مع البروتين المستهدف.

أثبتت الأبحاث السابقة أن وجود الروابط الهيدروجينية أمر بالغ الأهمية لتخليق البروتينات لأنها تؤثر على استقرار البروتينات [145]، كما هو الحال مع تحديد موضع الأدوية المحملة في المواقع النشطة للجسيمات النانوية وتفاعلها مع الأحماض الأمينية المختلفة التي يتكون منها البروتين [146]. وعلى نفس المنوال، يزداد الارتباط مع عدد الروابط الهيدروجينية. كلما زاد ارتباط الدواء مع الأحماض الأمينية، مما يعزز فعالية الدواء عند وضعه مع الجسيمات النانوية [147, 148].

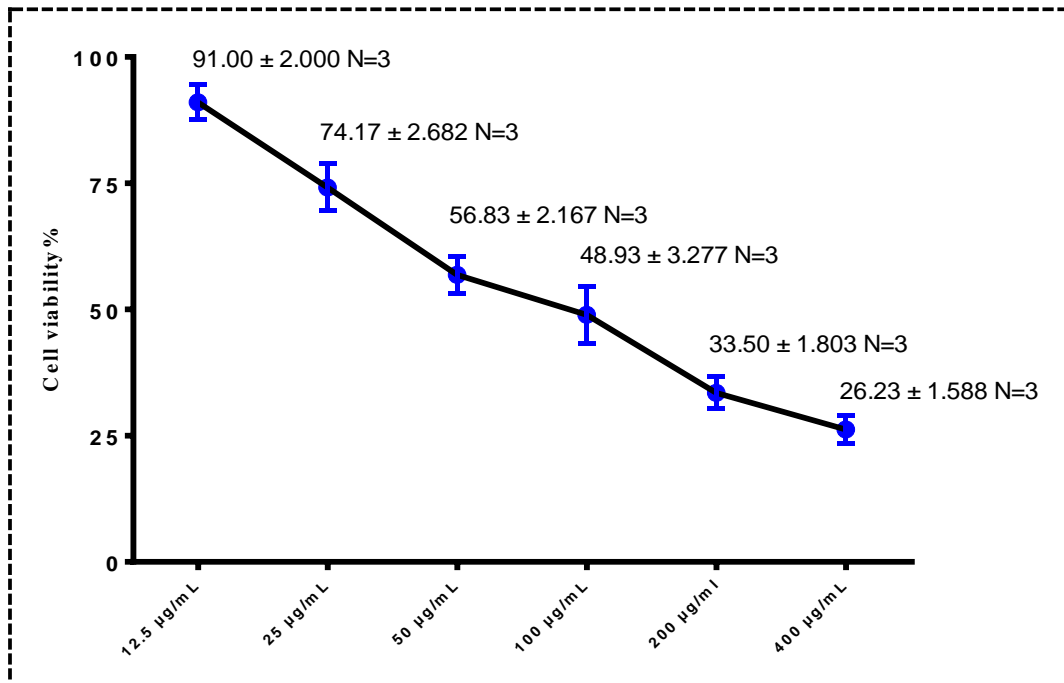
### Evaluation Cytotoxicity

### 3.4. تقييم السمية الخلوية

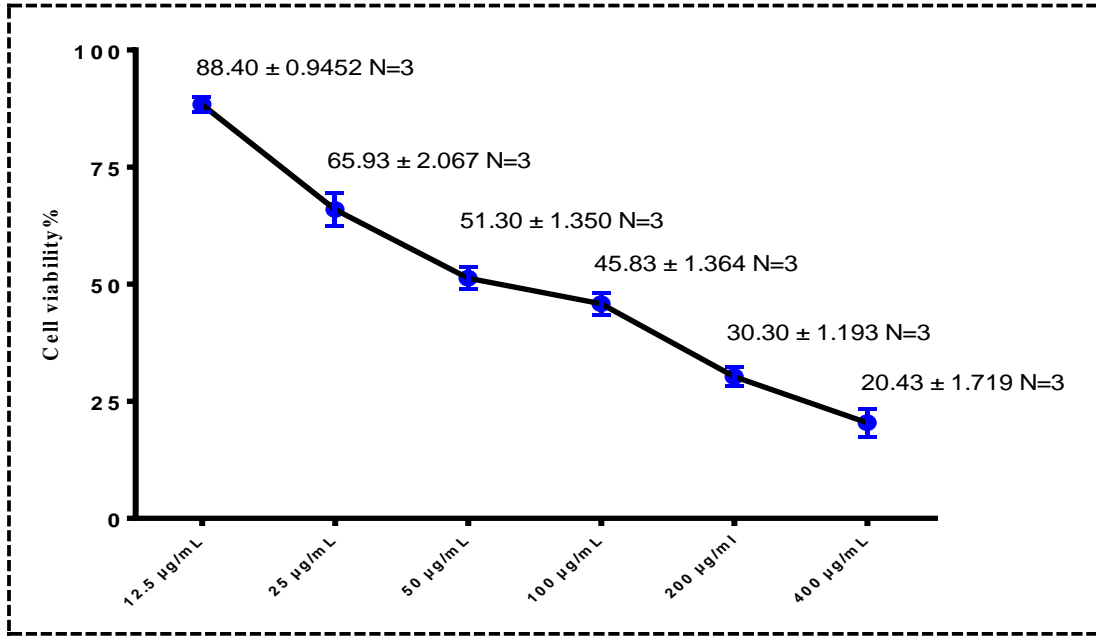
تم تقييم السمية الخلوية لخط خلايا HCT-29 بعد تعرضها لعقاقير الكيتوسان النانوية لمدة 72 ساعة وبتركيزات مختلفة (12.5, 25, 50, 100, 200, 400 µg/mL) [28]، وظهرت الدراسة نتائج مثيرة للاهتمام للعقاقير المُحضرة التي تم اختبارها على خط خلايا سرطان القولون نوع (HCT-39)، حيث بلغت قيم IC50 للعقاقير المُحضرة (A1, A2, A3)، هي على التوالي (57.82, 71.26, 62.73 µg/mL)، وظهرت العقاقير المُحضرة فعالية عالية في تثبيط انتشار خلايا سرطان القولون وتوضح الأشكال (18-20) نتائج الدراسة حيث يمثل المحور X تركيز العقار والمحور Y السمية الخلوية لخط خلايا سرطان القولون (HCT-29).



الشكل (18-3) تأثير عقار (A1) على سمية خط خلايا سرطان القولون نوع (HCT-29)  $IC_{50}=57.82 \mu g/ml$



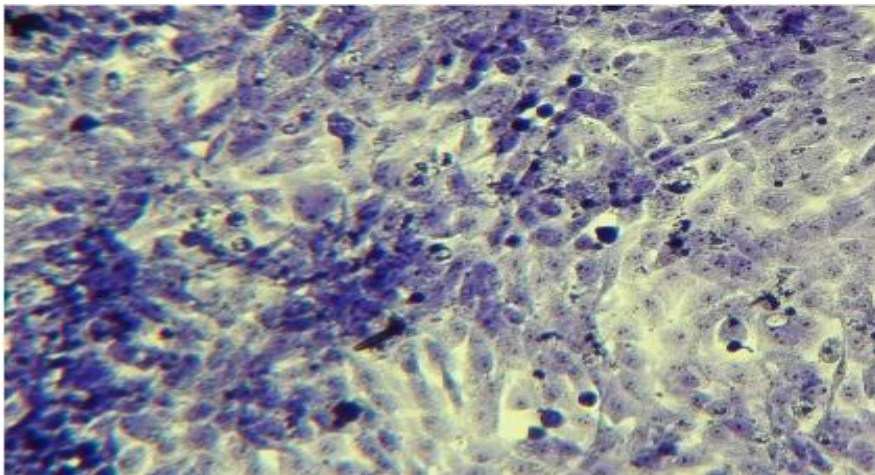
الشكل (19-3) تأثير عقار (A2) على سمية خط خلايا سرطان القولون نوع (HCT-29)  $IC_{50}=71.26 \mu g/ml$



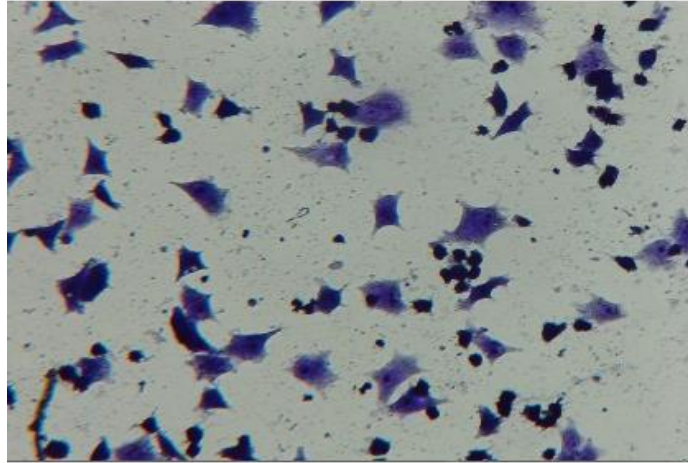
الشكل (20-3) تأثير عقار (A3) على سمية خلايا الخط خلايا لسرطان القولون نوع (HCT-29)

$$IC_{50}=62.73\mu\text{g/ml}$$

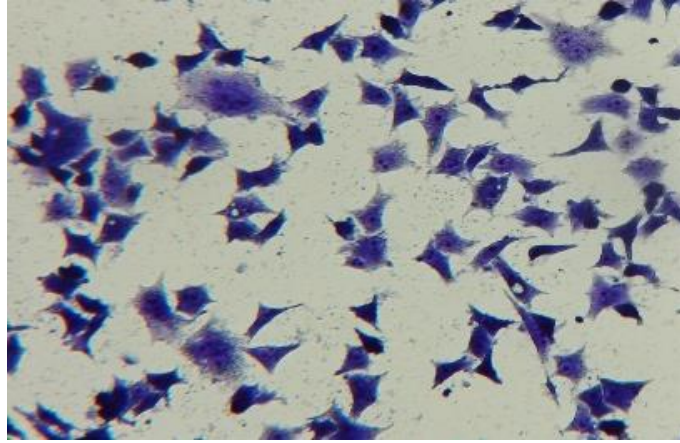
اما الاشكال من (21-3) الى (24-3) توضح التغيرات الشكلية في خط خلايا سرطان القولون نوع (HCT-29) قبل وبعد معاملتها بالعقاقير المُحملة على الكيتوسان النانوي تحت المجهر الالكتروني بقوة (40 X) ، حيث تحدث تغيرات في اشكال الخلايا المعالجة، بينما احتفظت الخلايا غير المعالجة ببنيتها وقوامها المنتظم.



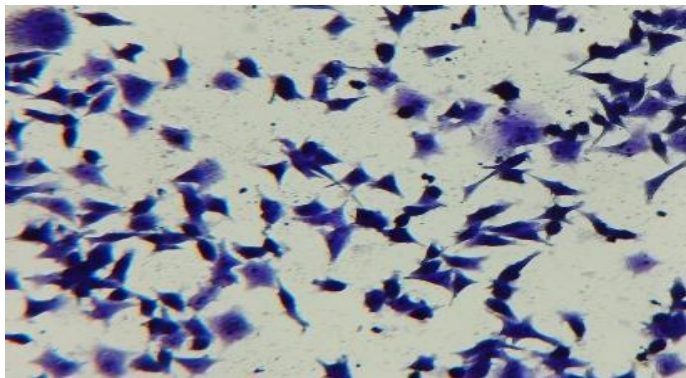
الشكل (21-3) خلايا (HCT-29) قبل المعالجة (التحكم).



الشكل (22-3) خلايا (HCT-29) بعد معالجتها بعقار (A1).



الشكل (23-3) خلايا (HCT-29) بعد معالجتها بعقار (A2).

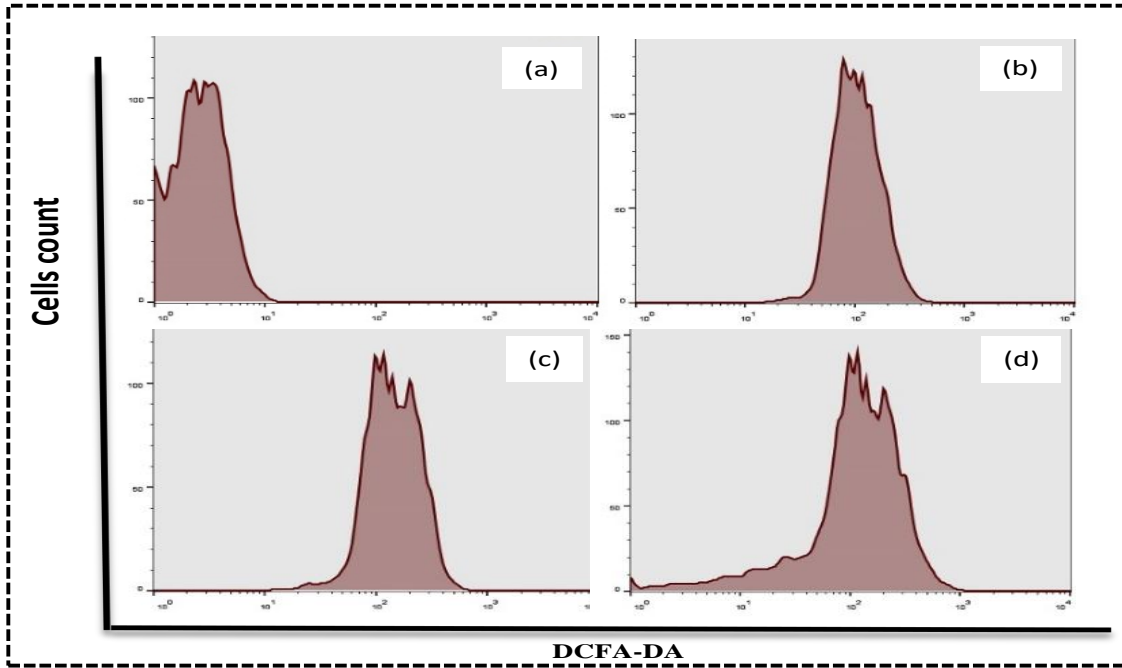


الشكل (24-3) خلايا (HCT-29) بعد معالجتها بعقار (A3).

Flow Cytometry Assay

3.5. اختبار التدفق الخلوي

تم دراسة تأثير أنواع الاوكسجين الفعالة (الجذور الحرة) ROS في خط خلايا سرطان القولون HCT-29 باستخدام فحص التدفق الخلوي، بعد معالجة خلايا HCT-29 بالعقاقير المحملة على الكيتوسان النانوي، أظهرت النتائج الحالية أن خلايا HCT-29 المعرضة لعقاقير الكيتوسان النانوية أظهرت زيادة في إنتاج ROS، حيث يمكن أن يؤدي الإجهاد التأكسدي الناجم عن الإفراط في إنتاج ROS إلى موت الخلايا المبرمج بعد العلاج باستخدام العقاقير المحضرة. يزداد مستوى مجاميع الاوكسجين الفعالة عند استخدام تراكيز مختلفة من العقاقير (12.5 , 25 , 50 , 100 , 200 , 400 µg/mL) على التوالي ولمدة 6 ساعات مقارنة بخلايا التحكم مما يؤدي الى زيادة موت الخلايا المبرمج وتثبيط انتشار خلايا HCT-29 كما في الشكل (3-25).



الشكل (3-25) يبين تحفيز العقاقير المحضرة على توليد (Ros) في خط خلايا سرطان القولون HCT-29

قبل وبعد معالجتها بعقاقير الكيتوسان النانوي

المقطع (a) خلايا التحكم،

المقطع (b) خلايا HCT-29 بعد معالجتها بعقار A1.

المقطع (c) خلايا HCT-29 بعد معالجتها بعقار A2.

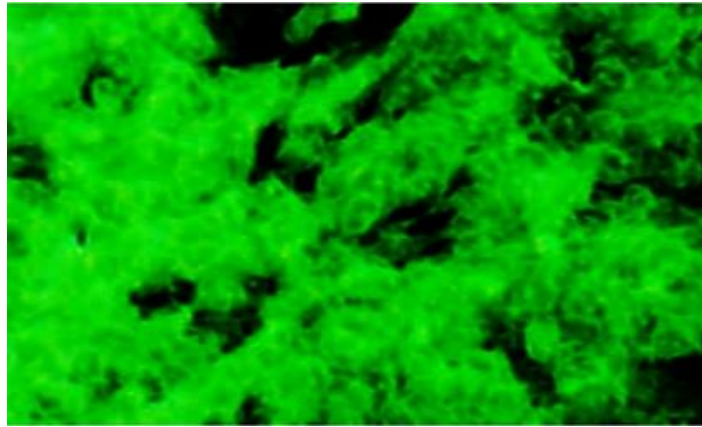
المقطع (d) خلايا HCT-29 بعد معالجتها بعقار A3.

Result and Discussion

يتم إنتاج ROS بكميات صغيرة أثناء النشاط الخلوي الفسيولوجي. يمكن أن يؤدي الإجهاد التأكسدي عبر الإفراط في إنتاج ROS إلى إتلاف الجزيئات البيولوجية الكبيرة مثل الحامض النووي والدهون والبروتينات، مما يؤدي في النهاية إلى موت الخلايا المبرمج [149]. حيث اشارت الدراسات السابقة ان العلاج مع NPs يمكن ان يحفز الاجهاد التأكسدي ويزيد من نشاط الانزيم المضاد للاكسدة مما يؤدي الى زيادة ROS [150].

3.6. اختبار الموت المبرمج للخلايا Apoptosis Assay

تم استخدام تحليل AO/EB لفحص التغيرات في التشكل النووي لخط خلايا سرطان القولون HCT-29. تم استخدام الصبغة المزدوجة AO / EB لتحديد خصائص علامات موت الخلايا المبرمج المميزة. ظهرت الخلايا الحية وغير المبرمجة باللون الأخضر، بينما ظهرت الخلايا المبرمجة باللون البرتقالي أو الأحمر. كما هو مبين في الاشكال (3-26) الى (3-29)، تسبب تعريض الخلايا لعقاقير الكيتوسان النانوية زيادة في تمزق الغشاء وتكوين فجوات الليوزومات مقارنة بخلايا التحكم غير المعالجة. ترتبط القدرة المفرطة على التسبب في موت الخلية بقدرة الجسيمات النانوية على الاختراق عبر الغشاء الخلوي والتأثير على تعبير mRNA لجين القمع الذي يسبب زيادة في مستوى إنتاج مجاميع الأوكسجين الفعالة (ROS) داخل الخلية [151]. مع زيادة مستويات ROS والإجهاد التأكسدي، تعرض عقاقير الكيتوسان النانوية تأثيرًا ضارًا على الدهون والبروتينات والحامض النووي للخلية [152]. حيث ان زيادة ROS يمكن أن تسبب تلف الغشاء عن طريق بيروكسيد الدهون وتمسخ البروتين، مما يؤدي إلى موت الخلايا عن طريق النخر وتلف خيوط الحامض النووي، مما يؤدي إلى موت الخلايا عبر عملية تسمى موت الخلايا المبرمج [153].



الشكل (26-2) خلايا (HCT-29) غير المعالجة (التحكم)





الشكل (27-3) خلايا (HCT-29) معالجة بعقار (A1).



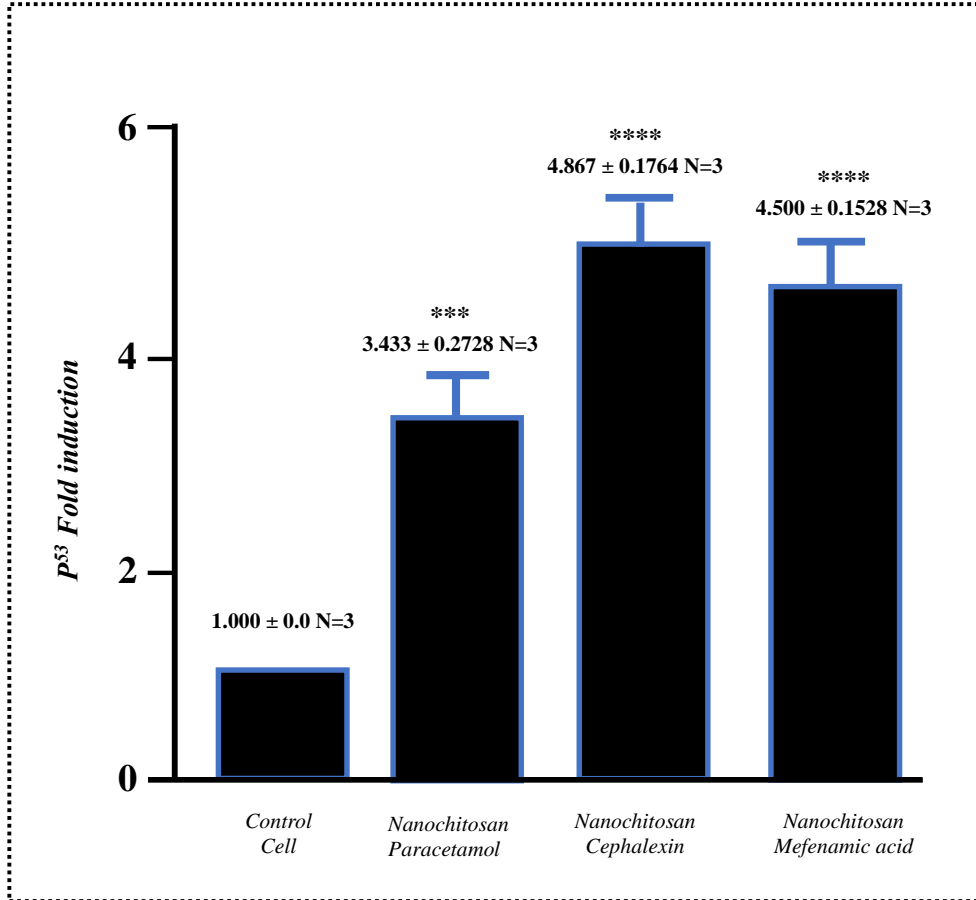
الشكل (28-3) خلايا (HCT-29) معالجة بعقار (A2)



الشكل (29-3) خلايا (HCT-29) معالجة بعقار (A3)

3.7. دراسة التعبير الجيني لجين  $P^{53}$  باستخدام تفاعل (qRT-PCR)

تم استخدام تقنية qRT-PCR لإجراء الكشف الجيني لجين  $P^{53}$  لمعرفة مدى التعبير الجيني لهذا الجين عند تعرض خط خلايا سرطان القولون نوع (HCT-29) لثلاث أنواع من العقاقير المُحملة على الكيتوسان النانوي، حيث أظهرت النتائج في الشكل (30-3)



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

الشكل (30-3) التعبير الجيني لجين  $P^{53}$  بعد خط خلايا سرطان القولون نوع (HCT-29) لثلاث أنواع من العقاقير المحملة على الكيتوسان النانوي مقارنة مع مجموعة السيطرة.

يظهر التعبير الجيني لجين P53 في خط خلايا سرطان القولون نوع (HCT-29) انخفاضاً ملحوظاً قبل تعرض الخلايا إلى أي علاج ، بالمقابل يرتفع هذا التعبير عند معاملة الخلايا السرطانية بالعلاج المحمل نانويًا [154]. فقد كشفت الدراسة [155]. ان التعبير الجيني لجين P<sup>53</sup> في خط خلايا سرطان القولون نوع (HCT-29) يزداد عند معاملته بعقاقير الكيتوسان النانوية [156]. وهذه النتائج متفقه مع دراسات سابقة فعند زيادة تراكيز العقاقير المحملة على الكيتوسان النانوي تزداد كفاءتها [157] وتقل سميتها [158] وكذلك يقل انتشار الخلايا السرطانية [159].

### 3.8. تقييم النشاط المضاد لانتشار لسرطان القولون.

توضح هذه الدراسة السمية الخلوية لمركبات الكيتوسان النانوية في خط خلايا سرطان القولون HCT-29 والآليات المحتملة المتعلقة بهذه المركبات. أظهرت النتائج التي توصلنا إليها أنه من خلال زيادة جرعة العقاقير المحملة على الكيتوسان النانوي، انخفضت صلاحية الخلايا. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت النتائج الحالية أن خلايا HCT-29 المعرضة لعقاقير الكيتوسان النانوية أظهرت زيادة في إنتاج ROS. يمكن أن يؤدي الإجهاد التأكسدي الناجم عن الإفراط في إنتاج ROS إلى موت الخلايا المبرمج. بعد العلاج باستخدام تلك العقاقير. أظهرت الدراسات السابقة أن مركبات الكيتوسان النانوية تمارس تأثيرات سامة للخلايا وتحفز موت الخلايا المبرمج عن طريق الزيادة الإجهاد التأكسدي الخلوي [160, 161]. إذ تمنع عقاقير الكيتوسان النانوية نمو العديد من الخلايا السرطانية بضمنها خلايا سرطان الثدي AMJ13 [162]. وبصورة عامة فإن الجسيمات النانوية قد تحفز موت الخلايا المبرمج عن طريق استهداف الميتوكوندريا، مما يزيد من تعبير جين p<sup>53</sup> [163]. كما أظهرت الدراسات السابقة أن العلاج باستخدام الجسيمات النانوية يمكن أن يحفز توليد مجاميع الاوكسجين الفعالة (ROS) ويزيد من نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة للحفاظ على حالة متوازنة لعمليات الأكسدة والاختزال داخل الخلايا الحية [165, 166]. ففي الحالات الطبيعية يتم إنتاج ROS بكميات صغيرة داخل الخلايا أثناء النشاط الخلوي الفسيولوجي، في حين ان الإفراط في إنتاج ROS الذي يلاحظ نتيجة الاصابات السرطانية يكون السبب الرئيسي في إتلاف الجزيئات البيولوجية المهمة في الخلايا مثل الحامض النووي والدهون والبروتينات، مما يؤدي في النهاية إلى موت الخلايا المبرمج [167]. يمكن لمضادات الأكسدة أن تقلل من التأثيرات السامة للجذور الحرة، إذ ان زيادة نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة يقلل من كمية ROS ويحافظ عليها عند مستويات طبيعية [168]. وبذلك يكون تأثير هذه العقاقير على خط خلايا سرطان القولون نوع (HCT-29) كما موضح ادناه:

← A1 > A3 > A2  
أتجاه زيادة الكفاءة

جدول (3-8) يوضح زيادة كفاءة التثبيط عند IC<sub>50</sub> (μg/ml)

IC <sub>50</sub> (μg/ml)	العقاقير المستخدمة في علاج سرطان القولون	No.
57.82	عقار (A1)	1
71.26	عقار (A2)	2
62.73	عقار (A3)	3

## الاستنتاجات

- (1) ربط بوليمر الكيتوسان النانوي مع الادوية (السيفالكسين – الباراسيتامول –حامض الميفيناميك) وتشخيص المركبات الناتجة باستخدام تقنية طيف الاشعة تحت الحمراء FT-IR وتقنية طيف الرنين النووي المغناطيسي  $^1\text{H-NMR}$
- (2) تم دراسة زمن تحرر الدواء في اليوم والساعة في وسائط مختلفة، واطهرت نتائجنا (الجدول والاشكال) ان تحرر الدواء من البوليمر في الوسط القاعدي اسرع منها في الوسط الحامضي، لذا يمكن ان نستنتج ان بوليمر الكيتوسان النانوي حساس للوسط المحيط.
- (3) تم دراسة الالتحام الجزيئي لمعرفة طبيعة الارتباط بين عقاقير الكيتوسان النانوية مع سلسلة الاحماض الامينية المكونة لبروتين (3m11) المحفز لنمو وانتشار خلايا سرطان القولون، واطهرت النتائج ان وجود الاصرة الهيدروجينية يزيد من فعالية عقاقير الكيتوسان النانوية.
- (4) ارتفاع مستوى مجاميع الاوكسجين الفعالة (ROS) عندما تم ربط بوليمر الكيتوسان النانوي مع الادوية.
- (5) الأدوية المستخدمة في هذا العمل معروفة ويستخدمها البشر بشكل يومي في علاج أمراض معينة، والشيء الرائع في هذا العمل هو أن هذه الأدوية تم ربطها ببوليمر نانوي جديد واستخدامها في علاج سرطان القولون، وقد أعطت نتائج مذهلة في تثبيط انتشار سرطان القولون وعلاج وشفاء الخلايا المصابة. وقد تم الحصول على أكثر النتائج فعالية في تثبيط انتشار وعلاج سرطان القولون في الخلايا المصابة من خلال الأدوية المرتبطة بالبوليمر النانوي كما هو موضح أدناه.

$$A1 > A3 > A2$$

التوصيات

- (1) تحضير بوليمرات متوافقة حيويًا أخرى لديها القدرة على التحلل البيولوجي وغير سامة.
- (2) تجربة استخدام أدوية أخرى وربطها مع بوليمرات متوافقة حيويًا لتقليل سمية الخلايا السرطانية.
- (3) الإطلاق الانتقائي للأدوية إلى مواقع مرضية محددة دون الوصول إلى الخلايا والأعضاء والأنسجة غير المستهدفة.
- (4) تطوير الخواص النانوية لبعض البوليمرات الصيدلانية وتطبيقاتها في الطب الحيوي.
- (5) استخدام الأدوية في معالجة خطوط خلايا السرطان الأخرى.
- (6) دراسة تأثير العقاقير المحملة نانويًا على جينات أخرى مثل جين  $CDx_2$  لبيان مدى تأثير ارتفاع أو انخفاض تعبيرها الجيني عند تعرضها لعقاقير أخرى محملة نانويًا.

المصادر

References

- [1] M. A. Karim, M. Z. Abdullah, A. F. Deifalla, M. Azab, and A. Waqar, "An assessment of the processing parameters and application of fibre-reinforced polymers (FRPs) in the petroleum and natural gas industries: A review," *Results in Engineering*, p. 1010.2023 ,91
- [2] A. Ramos-Jacques, A. Hernandez-Martinez, and R. Padilla-Hernández, "Polymers in Clinical Medicine," *Materials Research Foundations*, vol. 123.
- [3] W. B. Jensen, "The origin of the polymer concept," *Journal of Chemical Education*, vol. 85, no ,5 .p. 624, 2008.
- [4] S. Parida, A. Satpathy, A. Dalai, and S. Mishra, "Introduction of Polymers and Polymer Composites: Basic Fundamentals," in *Polymer Composites: Fundamentals and Applications*: Springer, 2024, pp. 1-37.
- [5] U. S. Schubert, "From polymers or colloids to polymers and colloids," vol. 298, ed: Springer, 2020, pp. 1609-1610.
- [6] T. Aida and E. Meijer, "Supramolecular polymers—we've come full circle," *Israel Journal of Chemistry*, vol. 60, no. 1-2, pp. 33-47, 2020.
- [7] N. S. Mustafa, M. A. A .Omer, M. E. Garlnabi, H. A. Ismail, and C. Ch, "Reviewing of general polymer types, properties and application in medical field," *Int J Sci Res (IJSR)*, vol. 5, no. 8, p. 212e221, 2016.
- [8] R. O. Ebewele, *Polymer science and technology*. CRC press, 2000.
- [9] O. Olatunji, "Classification of natural polymers," *Natural polymers: industry techniques and applications*, pp. 1-17, 2016.
- [10] J. Brady, T. Dürig, P. Lee, and J.-X. Li, "Polymer properties and characterization," in *Developing solid oral dosage forms*: Elsevier, 2017, pp. 181-223.
- [11] M. Chanda, *Introduction to polymer science and chemistry: a problem-solving approach*. CRC press, 2006.
- [12] W. Bolton, *Engineering materials technology*. Elsevier, 2013.
- [13] A. Maria *et al.*, "Green synthesis and characterization of crystalline copper nanoparticles via sodium borohydride reduction towards enhanced gas sensing application," *Journal of the Indian Chemical Society*, vol. 101, no. 6, p. 101157, 2024.
- [14] L. A. de Almeida Campos, A. F. S. Neto, M. C. S. Noronha ,M. F. de Lima, I. M. F. Cavalcanti, and N. S. Santos-Magalhães, "Zein nanoparticles for drug delivery: Preparation



- methods and biological applications," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 635, p. 122754, 2023.
- [15] Y. Wang *et al.*, "Plant exosome-like nanoparticles as biological shuttles for transdermal drug delivery," *Bioengineering*, vol. 10, no. 1, p. 104, 2023.
- [16] A. Said, M. Abu-Elghait, H. M. Atta, and S. S. Salem, "Antibacterial activity of green synthesized silver nanoparticles using lawsonia inermis against common pathogens from urinary tract infection," *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 196, no. 1, pp. 85-98, 2024.
- [17] A. Zielonka and M. Klimek-Ochab, "Fungal synthesis of size-defined nanoparticles," *Advances in natural Sciences: nanoscience and nanotechnology*, vol. 8, no. 4, p. 043001, 2017.
- [18] J.-P. Sylvestre, A. V. Kabashin, E. Sacher, M. Meunier, and J. H. Luong, "Stabilization and size control of gold nanoparticles during laser ablation in aqueous cyclodextrins," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 126, no. 23, pp. 7176-7177, 2004.
- [19] M. Ovais *et al.*, "Current state and prospects of the phytosynthesized colloidal gold nanoparticles and their applications in cancer theranostics," *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 101, pp. 3551-3565, 2017.
- [20] R. L. Dunn and R. M. Ottenbrite, *Polymeric drugs and drug delivery systems*. ACS Publications, 1991.
- [21] M. Akashi and K. Takemoto, "New aspects of polymer drugs," *Synthesis/Mechanism/Polymer Drugs*, pp.2005 ,146-107 .
- [22] H. M. Younes *et al.*, "Overview of Tissue Engineering and Drug Delivery Applications of Reactive Electrospinning and Crosslinking Techniques of Polymeric Nanofibers with Highlights on Their Biocompatibility Testing and Regulatory Aspects," *Pharmaceutics*, vol. 16, no. 1, p. 32, 2023.
- [23] P. D. Shah *et al.*, "Phase I trial of autologous RNA-electroporated cMET-directed CAR T cells administered intravenously in patients with melanoma and breast carcinoma," *Cancer Research Communications*, vol. 3, no. 5, pp. 821-829, 2023.
- [24] K. E. Uhrich, S. M. Cannizzaro, R. S. Langer, and K. M. Shakesheff, "Polymeric systems for controlled drug release," *Chemical reviews*, vol. 99, no. 11, pp. 3181-3198, 1999.

- [25] M. S. Reza, M. A. Quadir, and S. S. Haider, "Comparative evaluation of plastic, hydrophobic and hydrophilic polymers as matrices for controlled-release drug delivery," *J Pharm Pharm Sci*, vol. 6, no. 2, pp. 282-291, 2003.
- [26] R. Duncan and J. Kopeček, "Soluble synthetic polymers as potential drug carriers," in *Polymers in medicine*: Springer, 2005, pp. 51-101.
- [27] R. H. Saleh and A. A. Khalaf, "The antimicrobial activity of nanochitosan and nano-CaCO<sub>3</sub> against some bacteria," *Medical Journal of Babylon*, vol. 20, no. 3, pp. 540-546, 2023.
- [28] K. I. Ab, A. H. Abbas, A. S. Abed, and M. N. Bahjat AL-Baiati, "Nano-Poly Chitosan-Ampicillin Drug: Synthesis, Characterization and Cytotoxicity," *Egyptian Journal of Chemistry*, vol. 65, no. 131, pp. 1313-1318, 2022.
- [29] H. Tan, R. Ma, C. Lin, Z. Liu, and T. Tang, "Quaternized chitosan as an antimicrobial agent: antimicrobial activity, mechanism of action and biomedical applications in orthopedics," *International journal of molecular sciences*, vol. 14, no. 1, pp. 1854-1869, 2013.
- [30] N. Z. Yousif and S. Z. Mahmood, "Oral beads as a platform for sustained drug delivery," *Research Journal of Pharmacy and Technology*, vol. 15, no. 9, pp. 4283-4288, 2022.
- [31] J. Berger, M. Reist, J. Mayer, O. Felt, N. Peppas, and R. Gurny, "Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications," *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, vol. 57, no. 1, pp. 19-34, 2004.
- [32] L. Nemati SHizari, M. Bayat, N. Mohamadpour Dounighi, and N. Mosavari, "Antifungal activity of Amphotericin B-loaded N, N, N-trimethyl chitosan nanoparticles against *Candida albicans*," *Veterinary Research & Biological Products*, vol. 35, no. 1, pp. 123-130, 2022.
- [33] L. Huang, L. Xiao, and G. Yang, "Chitosan application in textile processing," *Current Trends in Fashion Technology & Textile Engineering*, vol. 4, no. 2, pp. 32-34, 2018.
- [34] T. Watanabe, S. Sassi, A. Ulziibayar, R. Hama, T. Kitsuka, and T. J. B. Shinoka, "The Application of Porous Scaffolds for Cardiovascular Tissues ", vol. 10, no. 2, p. 236, 2023.
- [35] G. Mamatha and P. Kumar, "A REVIEW ON TOPICAL MICROEMULSION FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY," 2022.
- [36] S. B. Bagade, S. Vyas, A. B. Page, and K. D. J. D. D. T. H. B. i. P. Patil, "Role of herbal bioenhancers in tuberculosis and drug delivery thereof," p. 87, 2022.

- [37] V. A. Guilherme, V. R. Cunha, E. de Paula, D. R. de Araujo, and V. R. J. P. Constantino, "Anti-inflammatory and analgesic evaluation of a phytochemical intercalated into layered double hydroxide," vol. 14, no. 5, p. 934, 2022.
- [38] M. B. Potdar, N. K. Jain, S. S. Rathod, and K. D. J. A. P. R. Patil, "A study on the nose to brain drug delivery system," vol. 9, no. 10, pp. 558-566, 2021.
- [39] A. Kumari and R. S. J. J. o. P. R. I. Kumar, "Formulation and Evaluation of Ibuprofen Fast Dissolving Tablets Employing Starch Malonate (Modified Starch) as a Superdisintegrant," vol. 33, no. 48B, pp. 176-198, 2021.
- [40] N. Song, X.-Y. Lou, L. Ma, H. Gao, and Y.-W. J. T. Yang, "Supramolecular nanotheranostics based on pillarenes," vol. 9, no. 11, p. 3075, 2019.
- [41] S. S. Liow *et al.*, "Long-term real-time in vivo drug release monitoring with AIE thermogelling polymer," vol. 13, no. 7, p. 1603404, 2017.
- [42] A. A. Yetisgin, S. Cetinel, M. Zuvun, A. Kosar, and O. J. M. Kutlu, "Therapeutic nanoparticles and their targeted delivery applications," vol. 25, no. 9, p. 2193, 2020.
- [43] A. K. Abbas and A. T. J. T. j. o. p. s. Alhamdany, "Floating microspheres of enalapril maleate as a developed controlled release dosage form: Investigation of the effect of an ionotropic gelation technique," vol. 17, no. 2, p. 159, 2020.
- [44] A. Azhar *et al.*, "Nanoporous iron oxide/carbon composites through in-situ deposition of prussian blue nanoparticles on graphene oxide nanosheets and subsequent thermal treatment for supercapacitor applications," vol. 9, no. 5, p. 776, 2019.
- [45] Y. Bai *et al.*, "Facile construction of shape-regulated  $\beta$ -cyclodextrin-based supramolecular self-assemblies for drug delivery," vol. 231, p. 115714, 2020.
- [46] Y. H. Feng, X. P. Zhang, Z. Q. Zhao, and X. D. J. M. P. Guo, "Dissipative particle dynamics aided design of drug delivery systems: a review," vol. 17, no. 6, pp. 1778-1799, 2020.
- [47] L. Xu, Y. Yang, Y. Mao, and Z. Li, "Self-powerbility in electrical stimulation drug delivery system," *Advanced Materials Technologies*, vol. 7, no. 2, p. 2100055, 2022.
- [48] H. Ringsdorf, "Structure and properties of pharmacologically active polymers," in *Journal of Polymer Science: Polymer Symposia*, 1975, vol. 51, no. 1: Wiley Online Library, pp. 135-153 .
- [49] S. Mohsin Ali and F. M. Ali, "Synthesis of Drug Polymers and Study of Their Hydrolysis," MSc, University of Mustansiriyah, 2014 .

- [50] L. L. Augsburger and S. W. Hoag, *Unit Operations and Mechanical Properties*. Informa Healthcare USA, 2008.
- [51] R. Langer, "Drug delivery and targeting," *Nature*, vol. 392, no. 6679 Suppl, pp. 5-10, 1998.
- [52] J. Brouwers, "Advanced and controlled drug delivery systems in clinical disease management," *Pharmacy World and Science*, vol. 18, pp. 153.1996 ,162-
- [53] S. Senapati, A. K. Mahanta, S. Kumar, and P. Maiti, "Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance," *Signal transduction and targeted therapy*, vol. 3, no. 1, p. 7, 2018.
- [54] A. J. Domb, "Polymeric site-specific pharmacotherapy," (*No Title*), 1994.
- [55] B. GS, "Rhodes CT. Modern Pharmaceutics," ed: New York: Marcel Dekker, 2002.
- [56] V. P. Torchilin, "Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems," *Journal of controlled release*, vol ,73 .no. 2-3, pp. 137-172, 2001.
- [57] S. S. Davis and L. Illum, "Drug delivery systems for challenging molecules," *Int. J. pharm*, vol. 176, no. 1, pp. 1-8, 1998.
- [58] C. Henry, "Materials scientists look for new materials to fulfill unmet needs," *C&E News*, vol. 80, no. 34, pp. 39-47, 2002.
- [59] M. R. Stratton, P. J. Campbell, and P. A. J. N. Futreal, "The cancer genome," vol. 458, no. 7239, pp. 719-724, 2009.
- [60] Y. Liu, N. Nguyen, and G. A. J. W. s. h. Colditz, "Links between alcohol consumption and breast cancer: a look at the evidence," vol. 11, no. 1, pp. 65-77, 2015.
- [61] R. Deng *et al.*, "BAP1 suppresses prostate cancer progression by deubiquitinating and stabilizing PTEN," vol. 15, no. 1, pp. 279-298, 2021.
- [62] Z. Wan, T. Yin, H. Chen, and D. J .O. l. Li, "Surgical treatment of a retroperitoneal benign tumor surrounding important blood vessels by fractionated resection: A case report and review of the literature," vol. 11, no. 5, pp. 3259-3264, 2016.
- [63] H. Wang *et al.*, "Preoperative MRI-based radiomic machine-learning nomogram may accurately distinguish between benign and malignant soft-tissue lesions: a two-center study," vol. 52, no. 3, pp. 873-882, 2020.
- [64] Y. K. Alghanimi and K. N. J. C. Najm, "Cytotoxicity of Iraqi Ethanolicpropolis Extract on Human Colon Cancer Cell Line (SW480)," vol. 15, no. 1, 2022.

- [65] R. L. Siegel, N. S. Wagle, A. Cercek, R. A. Smith, and A. J. C. a. c. j. f. c. Jemal, "Colorectal cancer statistics, 2023," vol. 73, no. 3, pp. 233-254, 2023.
- [66] P. Boyle and M. J. J. B. Langman, "ABC of colorectal cancer: Epidemiology," vol. 321, no. Suppl S6, 2000.
- [67] M. Herbst, *Fact Sheet on Colorectal Cancer*. 2015.
- [68] J. J. Granados-Romero *et al.*, "Colorectal cancer: a review," vol. 5, no. 11, p. 4667, 2017.
- [69] M. A. Koc ,S. U. Celik, and C. J. C. T. i. C. M. Akyol, "Colon Cancer," vol. 10, 2019.
- [70] Y. K. Alghanimi and K. N. Najm, "Cytotoxicity of Iraqi Propolis Nanoparticles on Human Colon Cancer Cell Line (SW480)".
- [71] J. Mishra *et al.*, "Prospective of colon cancer treatments and scope for combinatorial approach to enhanced cancer cell apoptosis," vol. 86, no. 3, pp. 232-250, 2013.
- [72] S. J. p. Hamilton and g. o. t. o. d. system, "Carcinoma of the colon and rectum," 2000.
- [73] K. Chen, H. Wang, G. Collins, E. Hollands, I. Y. J. Law, and J. W. T. J. C. O. Toh, "Current perspectives on the importance of pathological features in prognostication and guidance of adjuvant chemotherapy in colon cancer," vol. 29, no. 3, pp. 1370-1389, 2022.
- [74] T. Nozoe, H. Anai, S. Nasu ,and K. J. J. o. s. o. Sugimachi, "Clinicopathological characteristics of mucinous carcinoma of the colon and rectum," vol. 75, no. 2, pp. 103-107, 2000.
- [75] N. Hugen, G. Brown, R. Glynne-Jones, J. H. de Wilt, and I. D. J. N. r. C. o. Nagtegaal, "Advances in the care of patients with mucinous colorectal cancer," vol. 13, no. 6, pp. 361-369, 2016.
- [76] H. Kang, J. B. O'Connell, M. A. Maggard, J. Sack, C. Y. J. D. o. t. c. Ko, and rectum, "A 10-year outcomes evaluation of mucinous and signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum," vol. 48, no. 6, pp. 1161-1168, 2005.
- [77] T. Makino *et al.*, "Primary signet-ring cell carcinoma of the colon and rectum: report of eight cases and review of 154 Japanese cases," vol. 53, no. 72, pp. 845-849, 2006.
- [78] P. Thirunavukarasu *et al.*, "Medullary carcinoma of the large intestine: a population based analysis," vol. 37, no. 4, pp. 901-907, 2010.
- [79] J. Alexander, T. Watanabe, T.-T. Wu, A. Rashid, S. Li, and S. R. J. T. A. j. o. p. Hamilton, "Histopathological identification of colon cancer with microsatellite instability," vol. 158, no. 2, pp. 527-535, 2001.

- [80] T. Hinoi *et al.*, "Loss of CDX2 expression and microsatellite instability are prominent features of large cell minimally differentiated carcinomas of the colon," vol. 159, no. 6, pp. 2239-2248, 2001.
- [81] C. A. Söldner *et al.*, "A survey of biological building blocks for synthetic molecular communication systems," *IEEE Communications Surveys & Tutorials*, vol. 22, no. 4, pp. 2765-2800, 2020.
- [82] C. Yan *et al.*, "Genome-wide identification and expression pattern analysis of lipoxygenase gene family in turnip (*Brassica rapa* L. subsp. *rapa*)," vol. 10, p. e13746, 2022.
- [83] M. T. Chanu, A. S. J. W. J. o. A. R. Singh, and Reviews, "Cancer disease and its' understanding from the ancient knowledge to the modern concept," vol. 15, no. 2, pp. 169-176, 2022.
- [84] C. A. Söldner *et al.*, "A survey of biological building blocks for synthetic molecular communication systems," vol. 22, no. 4, pp. 2765-2800, 2020.
- [85] S. Zhu *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.
- [86] A. Hafner, M. L. Bulyk, A. Jambhekar, and G. J. N. r. M. c. b. Lahav, "The multiple mechanisms that regulate p53 activity and cell fate," vol. 20, no. 4, pp. 199-210, 2019.
- [87] P. Menichini *et al.*, "Antitumor effects of PRIMA-1 and PRIMA-1Met (APR246) in hematological malignancies: still a mutant p53-dependent affair?," vol. 10, no. 1, p. 98, 2021.
- [88] R. Cannarella, R. A. Condorelli, F. Barbagallo, S. La Vignera, and A. E. J. F. i. E. Calogero, "Endocrinology of the aging prostate: current concepts," vol. 12, p. 554078, 2021.
- [89] R. Tiwari and N. J. W. J. o. U. Fleshner, "The role of metformin, statins and diet in men on active surveillance for prostate cancer," pp. 1-9, 2022.
- [90] J. A. J. B. S. Malik, "P53 an oncogene or tumor suppressor gene: A confusion," vol. 1, no. 1, pp. 82-85, 2021.
- [91] P. Monti *et al.*, "Heterogeneity of TP53 mutations and P53 protein residual function in cancer: does it matter?," vol. 10, p. 593383, 2020.

- [92] F. Ghasemi, M. Khatami, M. M. Heidari, R. J. I. J. o. P. H. Chamani, and Oncology, "In-silico study to identify the pathogenic single nucleotide polymorphisms in the coding region of CDKN2A gene," 2021.
- [93] C. Matzenbacher Bittar *et al.*, "Clinical and molecular characterization of patients fulfilling Chompret criteria for Li-Fraumeni syndrome in Southern Brazil," vol. 16, no. 9, p. e0251639, 2021.
- [94] C. M. Yang *et al.*, "p53 expression confers sensitivity to 5-fluorouracil via distinct chromatin accessibility dynamics in human colorectal cancer," vol. 21, no. 3, pp. 1-1, 2021.
- [95] Y. Zhao, C. Pu, and Z. J. T. B. Liu, "Essential amino acids deprivation is a potential strategy for breast cancer treatment," vol. 62, pp. 152-161, 2022.
- [96] Y. Teng *et al.*, "Medical applications of hydrogels in skin infections: A review," pp. 391-401, 2023.
- [97] A. Kurt, F. Shakir, T. J. J. o. t. F. o. E. Yonar, and A. o. G. University, "The effect of various parameters on electrochemical removal of ampicillin with Sn/Sb/Ni-Ti anodes," vol. 38, no. 2, 2023.
- [98] M. H. Al-Mashhadani *et al.*, "Modification of poly (vinyl chloride) by mefenamic acid in presence of micro metallic oxides as self photostabilizer," vol. 6, pp. 318-330, 2023.
- [99] H. Wickens, C. J. H. Jamieson, and R. s. P. Microbiology, "Clinical Uses of Antimicrobial Drugs," 2023.
- [100] C. J. J. o. C. R. i. P. S. Ghazaei, "Study of the Effect of Bacteriocin-producing *Bacillus subtilis* Strains on Beta-lactamase-producing Pathogenic Bacteria," vol. 11, no. 2, 2022.
- [101] H. B. Hawash *et al.*, "Occurrence and spatial distribution of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the aquatic environment, their characteristics, and adopted legislations," vol. 52, p. 103490, 2023.
- [102] D. J. J. o. A. M. Monga and D. S. Research, "To compare the Diclofenac versus Different Paracetamol for Post-Operative Analgesia After Laparoscopic Cholecystectomy," vol. 9, no. 11, 2021.
- [103] J. El Khoury *et al.*, "Evaluation of efficacy and safety of subcutaneous acetaminophen in geriatrics and palliative care (APAPSUBQ)," vol. 21, no. 1, p. 42, 2022.

- [104] A. M. Alsayegh and A. N. J. J. o. S. i. F. S. Alshirifi, "H-point standard additions method for simultaneous determination of paracetamol and phenylephrine in pharmaceutical preparations," vol. 10, no. 3S, pp. 647-655, 2023.
- [105] R. Vandse, A. Vacaru, D. Propp, J. Graf, J. K. Sran, and P. J. W. N. Pillai, "Retrospective Study of the Safety and Efficacy of Intraoperative Methadone for Pain Management in Patients Undergoing Elective Intracranial Surgery," 2023.
- [106] J. K. Lee, A. A. Abbas, T. E. Cheah, R. N. Simanjuntak, S. Sockalingam, and S. J. J. o. O. R. Roohi, "Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs for management of osteoarthritis pain: A consensus recommendation," 2023.
- [107] K. V. Belov, L. A. Batista de Carvalho, A. A. Dyshin, S. V. Efimov, and I. A. J. P. Khodov, "The Role of Hidden Conformers in Determination of Conformational Preferences of Mefenamic Acid by NOESY Spectroscopy," vol. 14, no. 11, p. 2276, 2022.
- [108] A. R. Zadeh *et al.*, "Mechanism and adverse effects of multiple sclerosis drugs: a review article. Part 2," vol. 11, no. 4, p. 105, 2019.
- [109] Z. E. Fadel, S. Z. Abd Alhamid, and H. K. J. N. A. J. o. S. P. Ibrahim, "Toxicity of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs," pp. 24-31, 2023.
- [110] B. C. Lima *et al.*, "Composting as an alternative for final disposal of digested sludge from UASB reactors: a case study in the small municipalities of the state of Bahia, Brazil," vol. 9, pp. 2275-2283, 2018.
- [111] R. Nagi, S. S. Reddy, and N. Rakesh, *Adverse Drug Reactions and Drug Interactions with Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs): Adverse Drug Reactions to Nonsteroidal Anti-inflammatory Agents*. OrangeBooks Publication, 2021.
- [112] I. Ghlichloo and V. Gerriets, "Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)," 2019.
- [113] C. Li and S. J. A. d. d. r. Wallace, "Polymer-drug conjugates: recent development in clinical oncology," vol. 60, no. 8, pp. 886-898, 2008.
- [114] J. Szot *et al.*, "Focused ion beam micromachining for transmission electron microscopy specimen preparation of semiconductor laser diodes," vol. 10, no. 2, pp. 575-579, 1992.
- [115] E. J. Roche and E. L. J. P. Thomas, "Defocus electron microscopy of multiphase polymers: use and misuse," vol. 22, no. 3, pp. 333-341, 1981.
- [116] S. K. J. M. Parida and Nanosystems, "Recent Advances on Polymer-Based Nanocomposite: A Brief Review," vol. 14, no. 2, pp. 121-132, 2022.



- [117] J. Nguyen, A. Akdeniz, C. L. Anfuso, and J. D. J. J. o. C. E. Morris, "A Simple At-Home Titration: Quantifying Citric Acid in Lemon Juice with Baking Soda and Mentos," vol. 100, no. 2, pp. 739-744, 2022.
- [118] J. A. Avbunudiogba, C. A. Alalor, and Q. D. J. T. J. o. P. S. Okolocha, "A controlled release theophylline delivery system based on a bilayer floating system," vol. 17, no. 6, p. 645, 2020.
- [119] X. Tong *et al.*, "Identification of a druggable protein–protein interaction site between mutant p53 and its stabilizing chaperone DNAJA1," vol. 296, 2021.
- [120] S. Yang *et al.*, "Near-atomic structures of the BBSome reveal the basis for BBSome activation and binding to GPCR cargoes," vol. 9, p. e55954, 2020.
- [121] A. G. Al-Ziaydi, A. M. Al-Shammari, M. I. Hamzah, H. S. Kadhim, and M. S. J. C. C. I. Jabir, "Hexokinase inhibition using D-Mannoheptulose enhances oncolytic newcastle disease virus-mediated killing of breast cancer cells," vol. 20, pp. 1-10, 2020.
- [122] A. G. Al-Ziaydi, M. I. Hamzah, A. M. Al-Shammari, H. S. Kadhim, and M. S. Jabir, "The anti-proliferative activity of D-mannoheptulose against breast cancer cell line through glycolysis inhibition," in *AIP Conference Proceedings*, 2020, vol. 2307, no. 1: AIP Publishing .
- [123] R. I. Mahmood *et al.*, "Biosynthesis of copper oxide nanoparticles mediated *Annona muricata* as cytotoxic and apoptosis inducer factor in breast cancer cell lines," vol. 12, no. 1, p. 16165, 2022.
- [124] A. G. Al-Ziaydi, A. M. Al-Shammari, M. I. Hamzah, H. S. Kadhim, and M. S. J. V. Jabir, "Newcastle disease virus suppress glycolysis pathway and induce breast cancer cells death," vol. 31, pp. 341-348, 2020.
- [125] A. J. Jasim *et al.*, "Preliminary trials of the gold nanoparticles conjugated chrysin: An assessment of anti-oxidant, anti-microbial, and in vitro cytotoxic activities of a nanoformulated flavonoid," vol. 11, no. 1, pp. 2726-2741, 2022.
- [126] S. Al-Musawi *et al.*, "Dextran-coated superparamagnetic nanoparticles modified with folate for targeted drug delivery of camptothecin," vol. 11, no. 4, p. 045009, 2020.
- [127] A. M. Al-Shammari, H. Al-Saadi, S. M. Al-Shammari, and M. S. Jabir, "Galangin enhances gold nanoparticles as anti-tumor agents against ovarian cancer cells," in *AIP Conference Proceedings*, 2020, vol. 2213, no. 1: AIP Publishing .

- [128] Z. S. Abbas *et al.*, "Galangin/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex as a drug-delivery system for improved solubility and biocompatibility in breast cancer treatment ",vol. 27, no. 14, p. 4521, 2022.
- [129] A. A. Ibrahim *et al.*, "Pt (II)-thiocarbohydrazone complex as cytotoxic agent and apoptosis inducer in Caov-3 and HT-29 Cells through the P53 and caspase-8 pathways," vol. 14, no. 6, p. 509, 2021.
- [130] M. S. Jabir *et al.*, "Functionalized SWCNTs@ Ag–TiO<sub>2</sub> nanocomposites induce ROS-mediated apoptosis and autophagy in liver cancer cells," *Nanotechnology Reviews*, vol. 12, no. 1, p. 20230127, 2023.
- [131] B. P. George, N. K. Rajendran, N. N. Houreld, and H. Abrahamse, "Rubus capped zinc oxide nanoparticles induce apoptosis in MCF-7 breast cancer cells," *Molecules*, vol. 27, no. 20, p. 6862, 2022.
- [132] T. D. Schmittgen and K. J. J. N. p. Livak, "Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method," vol. 3, no. 6, pp.2008 ,1108-1101 .
- [133] H. H. Bahjat, R. A. Ismail, G. M. Sulaiman, and M. S. Jabir, "Magnetic field-assisted laser ablation of titanium dioxide nanoparticles in water for anti-bacterial applications," *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, vol. 31, no. 9, pp. 3649-3656, 2021.
- [134] M. R. Elsayed, A. M. Elseman, A. A. Abdelmageed, H. Hashem, and A. J. J. o. M. S. M. i. E. Hassen, "Green and cost-effective mortar grinding synthesis of bismuth-doped halide perovskites as efficient absorber materials," vol. 34, no. 3, p. 194, 2023.
- [135] I. Zojaji, A. Esfandiarian, J. J. A. i. C. Taheri-Shakib, and I. Science, "Toward molecular characterization of asphaltene from different origins under different conditions by means of FT-IR spectroscopy," vol. 289, p. 102314, 2021.
- [136] M. Krysa, M. Szymańska-Chargot, and A. J. F. c. Zdunek, "FT-IR and FT-Raman fingerprints of flavonoids—a review," vol. 393, p. 133430, 2022.
- [137] S. Martínez-Robles *et al.*, "Effect of  $\beta$ - hydroxy-  $\gamma$ -aminophosphonate ( $\beta$ - HPC) on the hydrolytic activity of *Nocardia brasiliensis* as determined by FT- IR spectrometry," vol. 14, p. 1089156, 2023.

- [138] L. M. L. R. d. Souza, "Novos complexos fenantrolínicos de cobre e cobalto com ligantes derivados do monastrol: síntese, estudo espectroscópico e eletroquímico," Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2022 .
- [139] Y. Liu, Z. Cheng, L. Zhi, S. J. E. Zhou, and E. Safety, "Binding of Hg to preformed ferrihydrite-humic acid composites synthesized via co-precipitation and adsorption with different morphologies," vol. 204, p. 111097, 2020.
- [140] A. Weber *et al.*, "Innovative vibrational spectroscopy research for forensic application," vol. 95, no. 1, pp. 167-205, 2023.
- [141] M. H. Rasool and M. J. C. D. C. Ahmad, "Synthesis and physico-chemical characterization of novel Epsom salt based natural deep Eutectic solvent," vol. 44, p. 101004, 2023.
- [142] I. B. Sivaev, S. A. Anufriev, and A. V. J. I. C. A. 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 <sup>1</sup>H NMR spectra," vol. 547, p. 121339, 2023.
- [143] I. M. Paczkowski, "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.
- [144] Y. O. Bouone, A. Bouzina, N.-E. Aouf, and M. J. R. o. C. I. Ibrahim-Ouali, "New efficient synthesis, spectroscopic characterization, and X-ray analysis of novel  $\beta$ -enaminocarboxamide derivatives," vol. 49, no. 4, pp. 1349-1368, 2023.
- [145] R. Kumar *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," vol. 1219, p. 113962, 2023.
- [146] X. Wang *et al.*, "A TMVP1-modified near-infrared nanoprobe: molecular imaging for tumor metastasis in sentinel lymph node and targeted enhanced photothermal therapy," vol. 21, no. 1, p. 130, 2023.
- [147] A. Ortega *et al.*, "Thermosensitive and mucoadhesive hydrogel containing curcumin-loaded lipid-core nanocapsules coated with chitosan for the treatment of oral squamous cell carcinoma," vol. 13, no. 2, pp. 642-657, 2023.
- [148] I. Aqeel and A. J. a. p. a. Majid" ,Drug Repurposing Targeting COVID-19 3CL Protease using Molecular Docking and Machine Learning Regression Approach," 2023.

- [149] M. Muchtaridi, F. Az-Zahra, H. Wongso, L. U. Setyawati, D. Novitasari, and E. H. K. Ikram, "Molecular mechanism of natural food antioxidants to regulate ROS in treating cancer: A review," *Antioxidants*, vol. 13, no. 2, p. 207, 2024.
- [150] L. Yang *et al.*, "Effect of copper nanoparticles and ions on epididymis and spermatozoa viability of Chinese soft-shelled turtles *Pelodiscus sinensis*," *Coatings*, vol. 12, no. 2, p. 110, 2022.
- [151] D.-D. Ma and W.-X. Yang, "Engineered nanoparticles induce cell apoptosis: potential for cancer therapy," *Oncotarget*, vol. 7, no. 26, p. 40882, 2016.
- [152] S. Vidovic *et al.*, "ZnO nanoparticles impose a panmetabolic toxic effect along with strong necrosis, inducing activation of the envelope stress response in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis," *Antimicrobial agents and chemotherapy*, vol. 59, no. 6, pp. 3317-3328, 2015.
- [153] M. Nita and A. Grzybowski, "The role of the reactive oxygen species and oxidative stress in the pathomechanism of the age-related ocular diseases and other pathologies of the anterior and posterior eye segments in adults," *Oxidative medicine and cellular longevity*, vol. 2016, no. 1, p. 3164734, 2016.
- [154] E. I. Salim, A. M. Mosbah, F. Elhussiny, N. A. Hanafy, and Y. J. C. N. Abdou, "Preparation and characterization of cetuximab-loaded egg serum albumin nanoparticles and their uses as a drug delivery system against Caco-2 colon cancer cells," vol. 14, no. 1, pp. 1-20, 2023.
- [155] M. Safdar, M. J. J. o. I. Ozaslan, O. Polymers, and Materials, "Enhanced catalytic, antibacterial and anti-cancer activities of erythromycin capped gold nanoparticles," vol. 32, no. 5, pp. 1819-1827, 2022.
- [156] P. Malik, 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*: Springer, 2023, pp. 1109-1175.
- [157] A. G. Muller, S. D. Sarker, I. Y. Saleem, and G. A. J. D. J. o. P. S. Hutcheon, "Delivery of natural phenolic compounds for the potential treatment of lung cancer," vol. 27, pp. 433-449, 2019.
- [158] R. Lee *et al.*, "Hyaluronic acid-decorated glycol chitosan nanoparticles for pH-sensitive controlled release of doxorubicin and celecoxib in nonsmall cell lung cancer," vol. 31, no. 3, pp. 923-932, 2020.

- [159] A. Naeimi, F. E. Ghadi, Z. P. Parizi, and M. S. J. I. J. o. B. M. Rezakhani, "68Ga radiolabeled chitosan/curcumin/biotin nanocomposite as a drug carrier and early-stage cancer detection," vol. 235, p. 123619, 2023.
- [160] M. Azizi, H. Ghourchian, F. Yazdian, F. Dashtestani, and H. AlizadehZeinabad, "Cytotoxic effect of albumin coated copper nanoparticle on human breast cancer cells of MDA-MB 231," *PloS one*, vol. 12, no. 11, p. e0188639, 2017.
- [161] L. Zou *et al.*, "Copper nanoparticles induce oxidative stress via the heme oxygenase 1 signaling pathway in vitro studies," *International Journal of Nanomedicine*, pp. 1-565 .2021 ,1573
- [162] K. I. Ab, A. H. Abbas, A. S. Abed, M. N. Bahjat AL-Baiati, and E. S. Abood, "Nano-Poly Chitosan-Ampicillin Drug: Synthesis, Characterization and Cytotoxicity," *Egyptian Journal of Chemistry*, vol. 65, no. 13, pp. 1313-1318, 2022.
- [163] M. H. Almarzoug, D. Ali, S. Alarifi, S. Alkahtani, and A. M. J. E. t. Alhadheq, "Platinum nanoparticles induced genotoxicity and apoptotic activity in human normal and cancer hepatic cells via oxidative stress-mediated Bax/Bcl-2 and caspase-3 expression ",vol. 35, no. 9, pp. 930-941, 2020.
- [164] Q. Saquib *et al.*, "Nickel oxide nanoparticles induced transcriptomic alterations in HEPG2 cells," pp. 163-174, 2018.
- [165] E. G. Canli, H. B. Ila, M. J. E. s. Canli, and p. research, "Response of the antioxidant enzymes of rats following oral administration of metal-oxide nanoparticles (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CuO, TiO<sub>2</sub>)," vol. 26, pp. 938-945, 2019.
- [166] L. Yang *et al.*, "Effect of copper nanoparticles and ions on epididymis and spermatozoa viability of Chinese soft-shelled turtles *Pelodiscus sinensis*," vol. 12, no. 2, p. 110, 2022.
- [167] H. E. Seifried, S. S. McDonald, D. E. Anderson, P. Greenwald, and J. A. J. C. r. Milner, "The antioxidant conundrum in cancer," vol. 63, no. 15, pp. 4295-4298, 2003.
- [168] W. L. Stone, K. Krishnan, S. E. Campbell, and V. E. J. W. J. o. G. O. Palau, "The role of antioxidants and pro-oxidants in colon cancer," vol. 6, no. 3, p. 55, 2014.

---

---

## Abstract

In current work to Nano-Chitosan polymer linked with drugs (Cephalexin A1, Paracetamol A2, and Mefenamic acid A3) via condensation polymerization and character its by FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR techniques.

Its physical properties were studied, including the solubility of drugs loaded on nanochitosan in different solvents (H<sub>2</sub>O), acetone, ethanol, hexane, DMSO, chloroform, and coloring.

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

The molecular docking of Nanochitosan- drugs were studied using the program (PyRx, Biovia), to determine the nature of the association between the prepared nanodrugs and the chain of amino acids that make up the 3m11 protein that stimulates the growth and spread of colon cancer in the HCT-29 cell line. And knowledge of the pharmacological effectiveness of chitosan nanomedicines

The effect of drugs loaded on chitosan nano polymer (A1, A2, A3,) was measured. In inhibiting the spread of colon cancer, the gene expression of the *p*<sup>53</sup> gene was measured before and after exposure of the colon cancer cell line (HCT-29) to chitosan nanodrugs. The results also showed an increase in the level of gene expression when the colon cancer cell line (HCT-29) was treated with the drugs. The highest level was in the drug (A1). It was observed that the *p*<sup>53</sup> gene began to function normally and began to stop abnormal cell divisions. 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 of the drug (A1) compared to other drugs. The IC<sub>50</sub> of nano-loaded chitosan drugs in preventing the spread of colon cancer was in the following order:

---

---

$$A1 > A3 > A2$$

←  
Increased inhibition efficiency at IC50

The results also showed increased levels of production of reactive oxygen species (ROS) when treating the colon cancer cell line (HCT-29) with drugs, as the highest level was in the drug (A1).



**University of Kerbala**

**College of Education for pure sciences**

**Department of Chemistry**

**Synthesis and Characterization of Nano Drug Composites of  
Chitosan and Studying their Ability to Inhibit the Spread of  
Colon Cancer**

A thesis

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

**Written by**

**Ousama Wabdan Abdalnabi Sugar**

**(B.Sc in Chemistry/ College of Education for Pure Sciences/ University of Kerbala 2021)**

**Supervised by**

**Prof Dr. Mohammad Nadhum Al-Baiati**

**Asst Prof Dr. Heba Alwan Abdulsalam**

**Muharram Al Haram 1446 A.H**

**July 2024 A.D**