NANOPARTICLES - PREPARATION AND APPLICATIONS

الجسيمات النانومترية – تحضير و تطبيقات

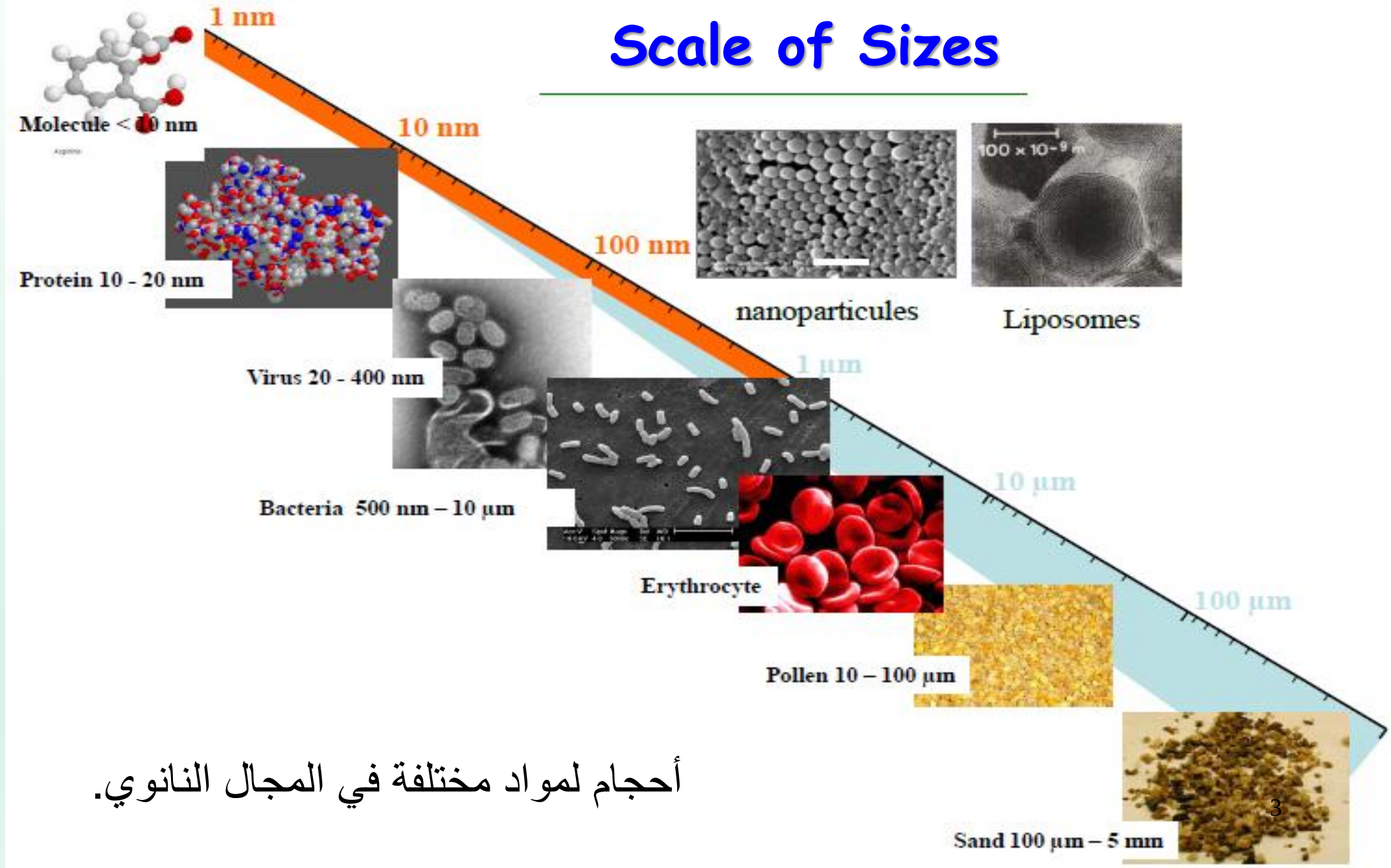
DEFINITION OF NANOPARTICLES

تعريف الجسيمات النانومترية

Nanoparticles are solid polymeric particles of a size between 10 and 1000 nm into which drugs or biologically active materials are incorporated, surface adsorbed or chemically bound.

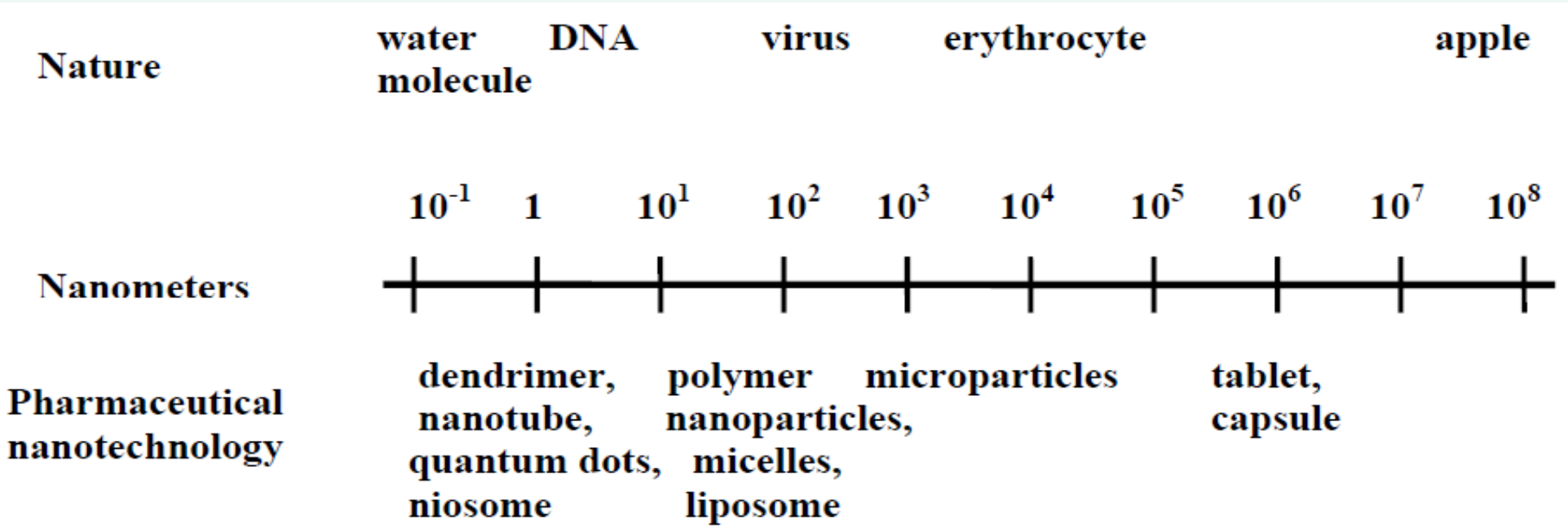
- **الجسيمات النانومترية عبارة عن جسيمات بلمرية أي من بلمرات (و قد تكون من مصدر آخر غير البلمرات) ذات حجم يتراوح بين 10 – 1000 نانومتر، قادرة على أن تشتمل أو تضم في بنائها على الأدوية أو المواد الفعالة حيوياً، و يتم ذلك من خلال الإدمصاص على سطحها أو بتشكيل روابط كيميائية**

Scale of Sizes



أحجام لمواد مختلفة في المجال النانوي.

Scale of Sizes



أحجام لمواد مختلفة في المجال النانوي.

Table 1 Typical Size of Various Objects

Object	Size (nm)
Carbon atom	0.1
DNA double helix (diameter)	3
Ribosome	10
Virus	100
Bacterium	1,000
Red blood cell	5,000
Human hair (diameter)	50,000
Resolution of unaided human eyes	100,000

Table 3 Particle Settling Velocities

Particle size (nm)	Settling velocity (nm/sec)
1	0.00043
10	0.043
100	4.30
1,000	430
10,000	43,005

FEW GENERAL REMARKS
ملاحظات عامة

Why do we need a pharmaceutical carrier?

لماذا نحتاج النواقل الصيدلانية

1. Protect a drug from the body

لحماية الدواء من الجسم.

2. Protect the body from the drug

لحماية الجسم من الدواء.

3. Adjust pharmacokinetics, i.e. distribution and clearance

لضبط حركية الدواء مثل: التوزع والتصفية.

من أهم ميزات الحجم النانويNano sizing

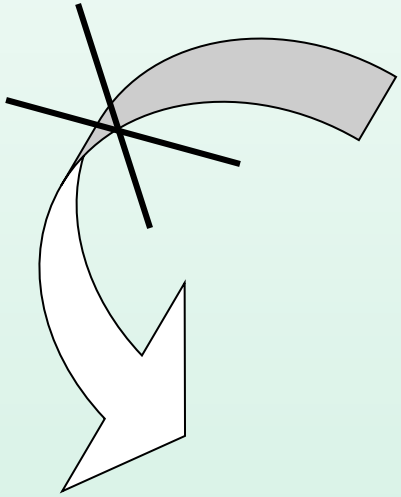
- زيادة مساحة السطح.
- زيادة الذوبانية.
- زيادة معدل الذوبان.
- زيادة التوافر البيولوجي الفموي.
- بداية أسرع للفعل العلاجي.
- استخدام كمية أقل من الجرعة المطلوبة.
- إنقاص الفروقات العلاجية في حال أخذ الدواء قبل الطعام (حالة الصيام)/بعد الطعام.
- إنقاص فروقات الجرعة من مريض لآخر.

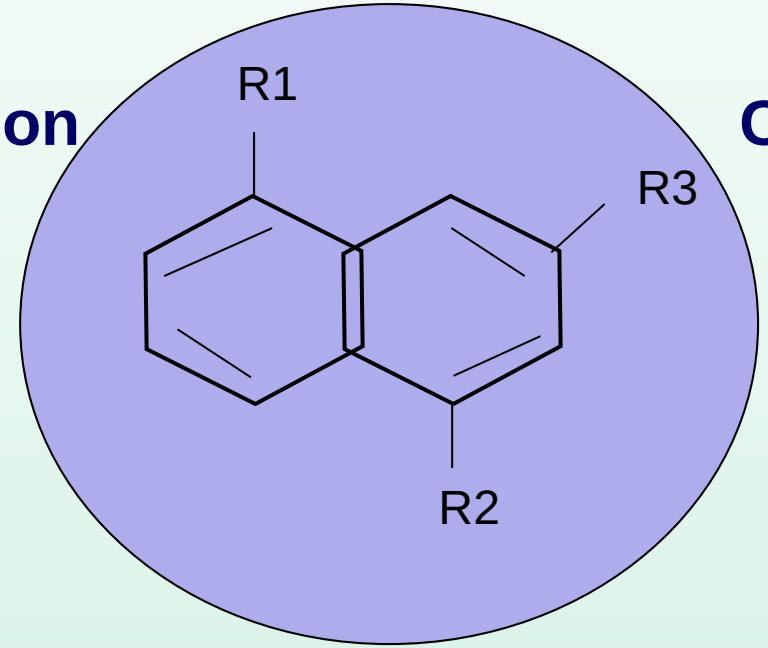
Nanoparticles offer unique properties as compared to micro- or macroparticles. Salient features include the following:

- Small size.
- High surface area.
- Easy to suspend in liquids.
- Deep access to cells and organelles.
- Variable optical and magnetic properties.
- Particles smaller than 200 nm can be easily sterilized by filtration with a 0.22-μm filter.

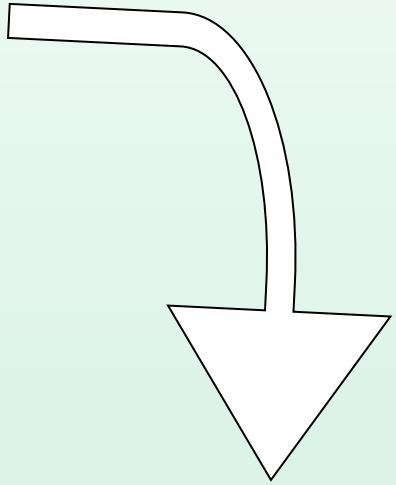
PRINCIPALES OF TARGETTING

Chemical modification





Carrier utilisation



pKa
Lipophilicity
Fixation to proteines → Distribution
Elimination

Size
Lipophilicity
Charge
Stability → Distribution
Elimination

PHARMACEUTICAL NANOCARRIERS

النواقل النانومترية

soluble polymers البلمرات المنحلة cyclodextrines السيكلودكسترينات

microcapsules المحافظ الميكرونية dendrimers البلمرات المتغصنة

microparticles الجسيمات الميكرونية

carbon nanotubes الأنابيب النانومترية للكربون

cells الخلايا fullerenes الفوليرن

cell ghosts خَلايا شَبَحِيَّة drug nanocrystals البلورات النانومترية للدواء

liposomes الليبوزومات

gold nanoparticles جسيمات الذهب النانومترية

micelles المذيلات Ca phosphate

niosomes النيوزوم silica nanoparticles الجسيمات النانومترية للسيليكا

solid lipid particles الجسيمات الشحمية الصلبة lipoproteins الليبوبروتينات

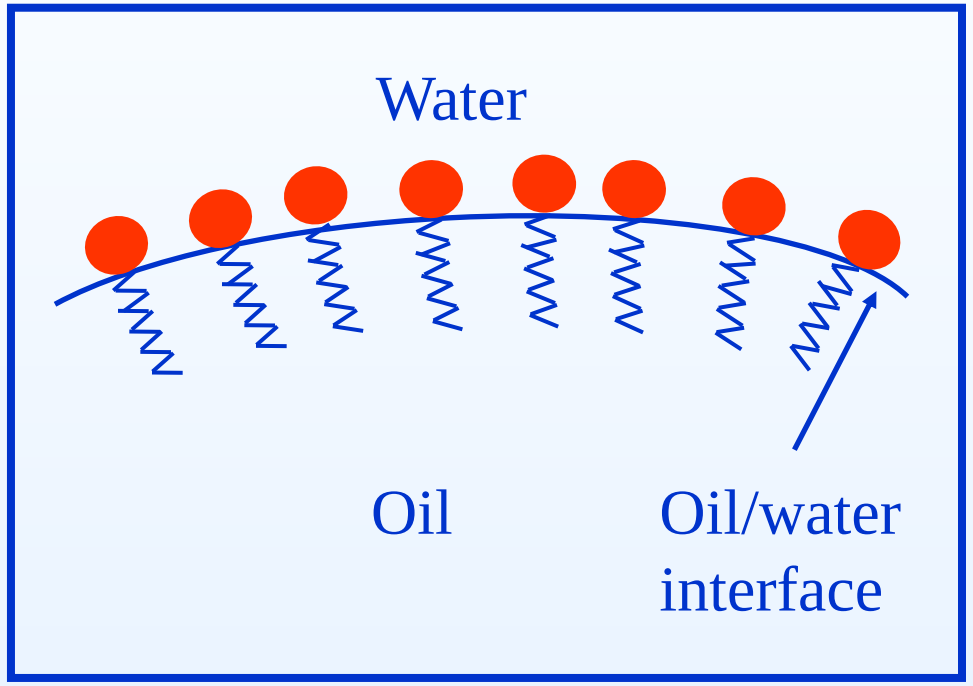
Factors affecting the solubility of solids in liquids

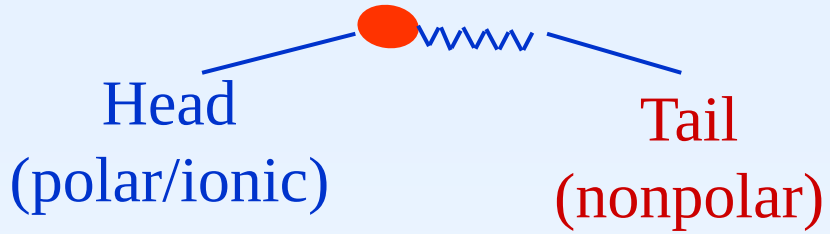
Solubilizing agents – surfactants

- By the addition of a **surface-active agent which forms micelles**. In aqueous systems, **non-polar molecules will dissolve in the interior of the micelle**, which consists of the lipophilic hydrocarbon moiety.
- The **amount of surfactant** to be used for this purpose must be **carefully controlled**. A large excess is undesirable because of **cost and possible toxicity**. An insufficient amount of surfactant may not solubilize all the drug, or may lead to precipitation either on storage or on dilution of the product.

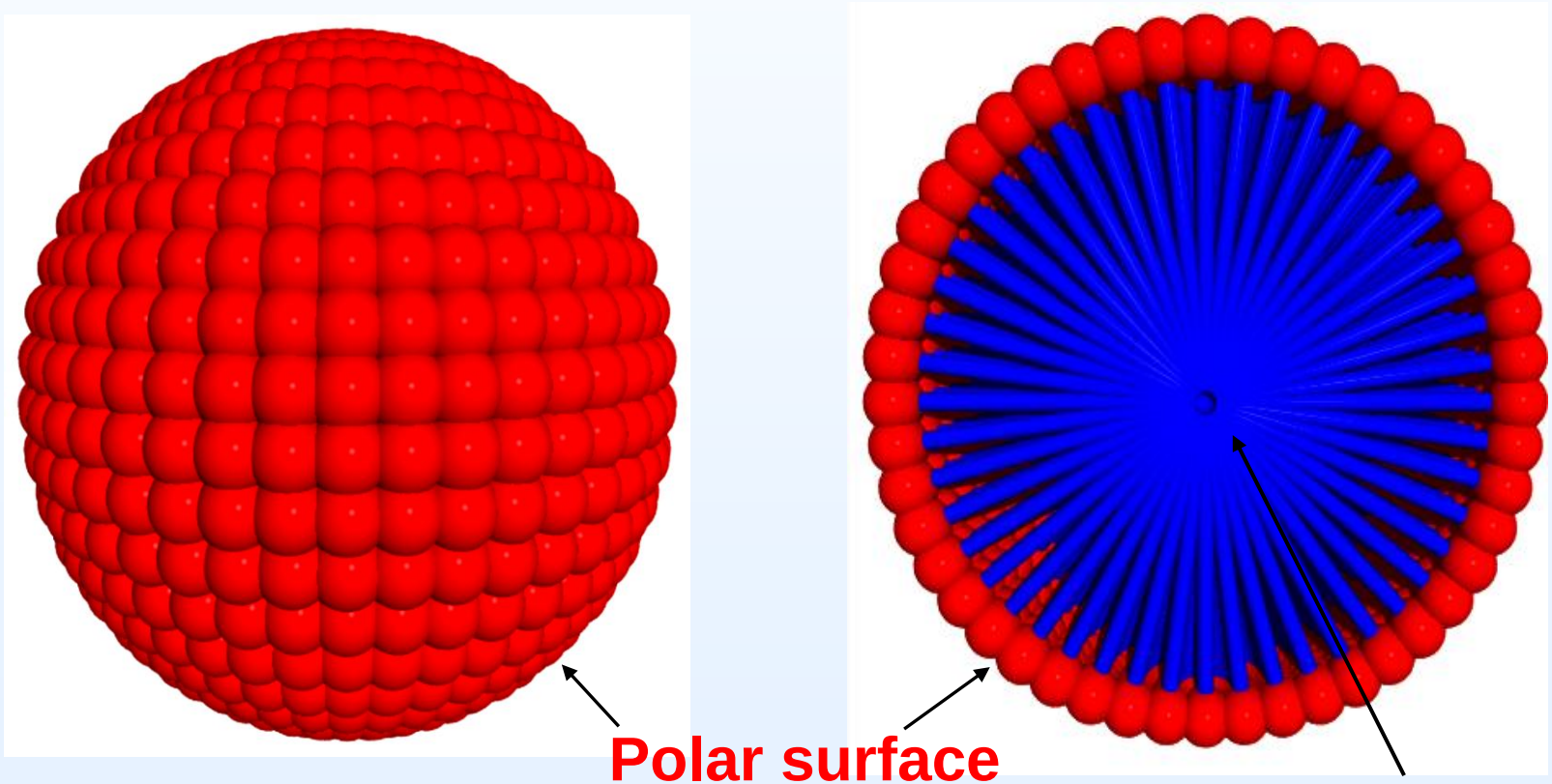
Surfactants

Surface-active agents commonly known as surfactants are a group of substances that, when present at a low concentration in a system, adsorb onto the surfaces or interfaces of the system and reduce to a marked degree the surface or interface tension.





Micelles



Polar surface (hydrophilic)

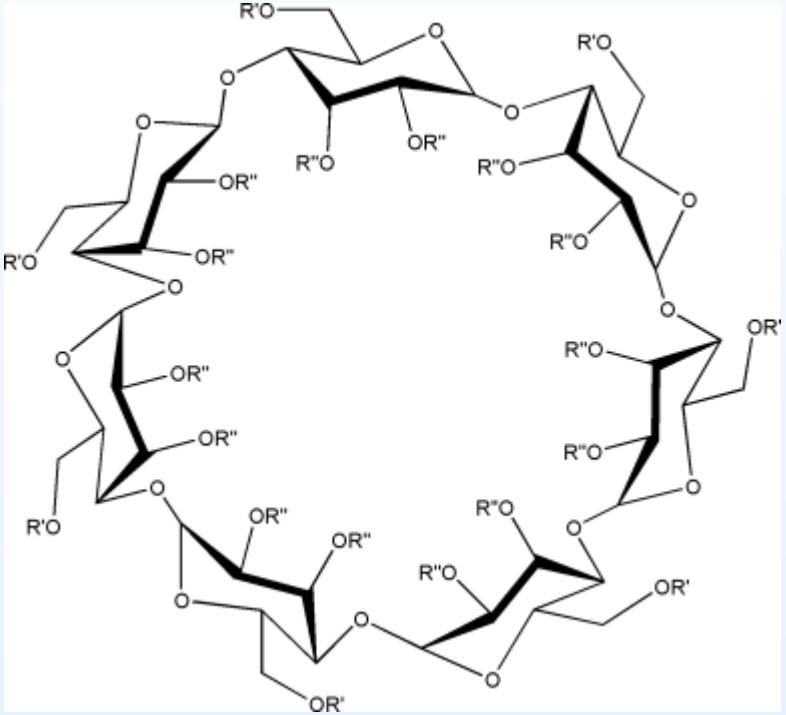
Non-polar centre (hydrophobic)

Micelle diameter is about **5 nm**

Factors affecting the solubility of solids in liquids

Solubilizing agents – Cyclodextrins

- Cyclodextrins are **manufactured by the enzymatic degradation of starch using specialized bacteria**.
- There are three natural cyclodextrins, the α, β (structure to the right) and γ forms, the ring structures of which are composed of 6, 7 and 8 **glucose units**, respectively, as well as an expanding series of derivatives.

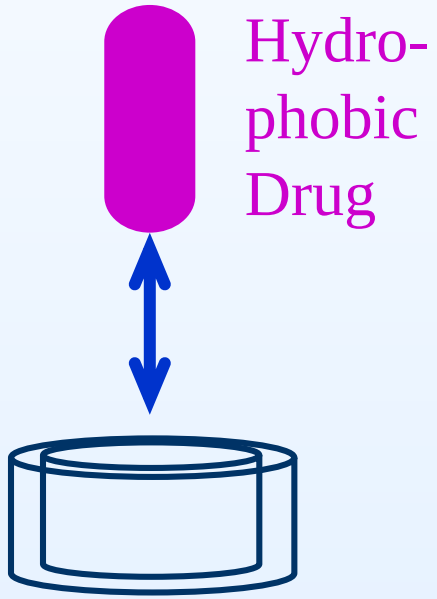


β Cyclodextrin (R'=R"= H)

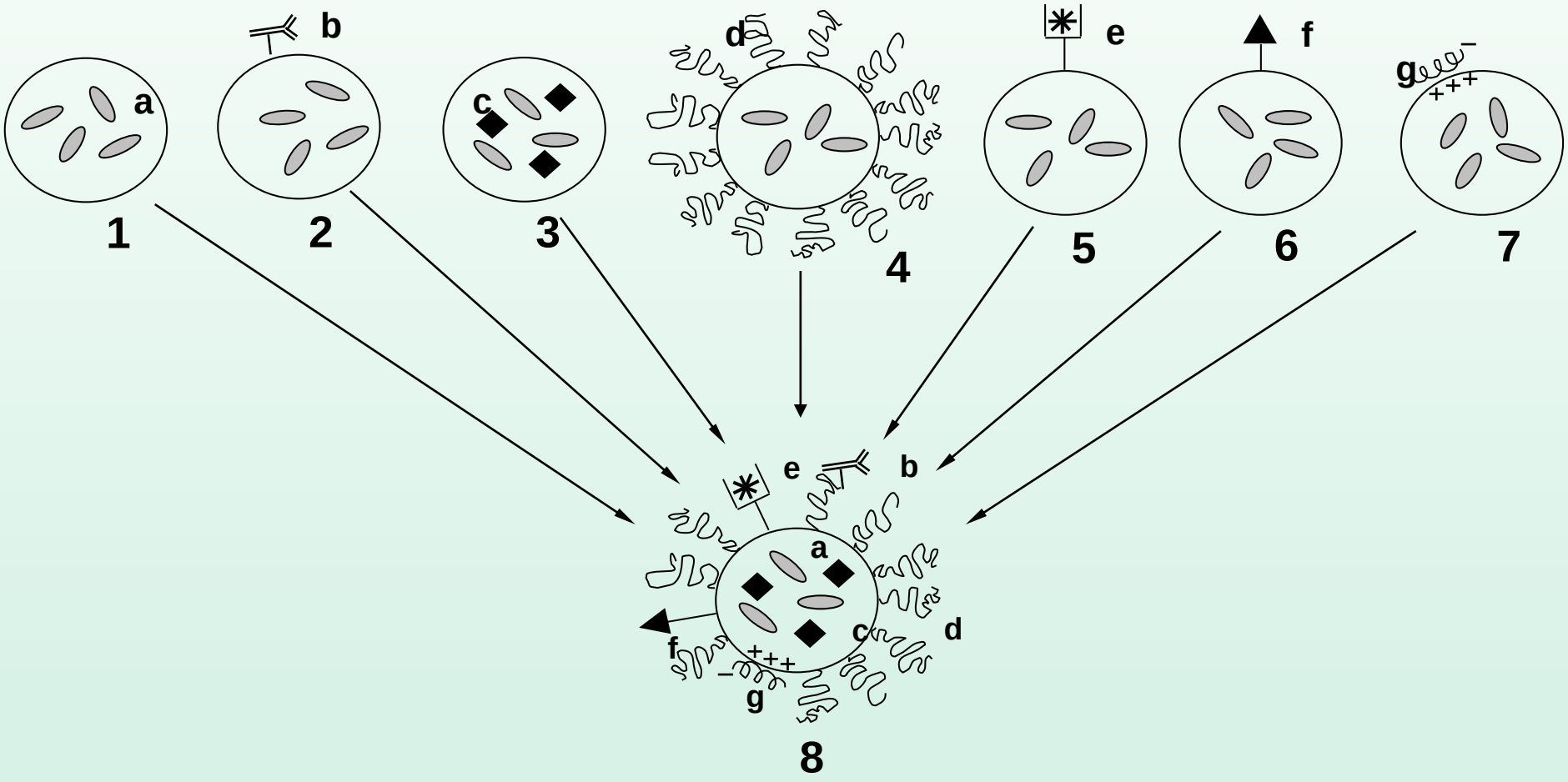
Factors affecting the solubility of solids in liquids

- Cyclodextrins **form cyclic structures**, **resembling hollow cylinders**. As the **inside surface of the ring is hydrophobic**, owing to the presence of -CH groups, drugs that are poorly soluble in water can be accommodated here. **The outer part of the structure is hydrophilic** and therefore freely soluble in water.

- **Poorly soluble drugs of appropriate size enter into the interior of these structures**, forming soluble complexes, usually with one 'host' molecule per cyclodextrin molecule.



Cyclodextrin


a
1
b
2
c
3
d
4
e
5
f
6
g
7
e
b
a
c
d
f
g
8

COMMERCIALLY AVAILABLE NANOPARTICLES

الجسيمات النانومترية المتوفرة تجارياً

• **Abraxane® Paclitaxel-loaded albumin NP**	**Abraxis Oncology, Los Angeles, USA**

COMMERCIALLY AVAILABLE NANOPARTICLES (Diagnostics)

الجسيمات النانومترية المتوفرة تجارياً (المستخدمة في التشخيص)

• **Nanocol®** **Albumin-NP for ^{99m}Tc-labelling**	**Amersham** **Amersham, UK**
• **Quantison®** **Air-filled albumin NP**	**Andaris**
• **Albunex®** **Air-filled albumin NP**	**Mallinckrodt,** **St. Louis, USA**
• **Optison®** **Perfluorocarbon-filled albumin NP**	**Mallinckrodt,** **St. Louis, USA**

COMMERCIALLY AVAILABLE NANOPARTICLES (Diagnostics)

الجسيمات النانومترية المتوفرة تجارياً (المستخدمة في التشخيص)

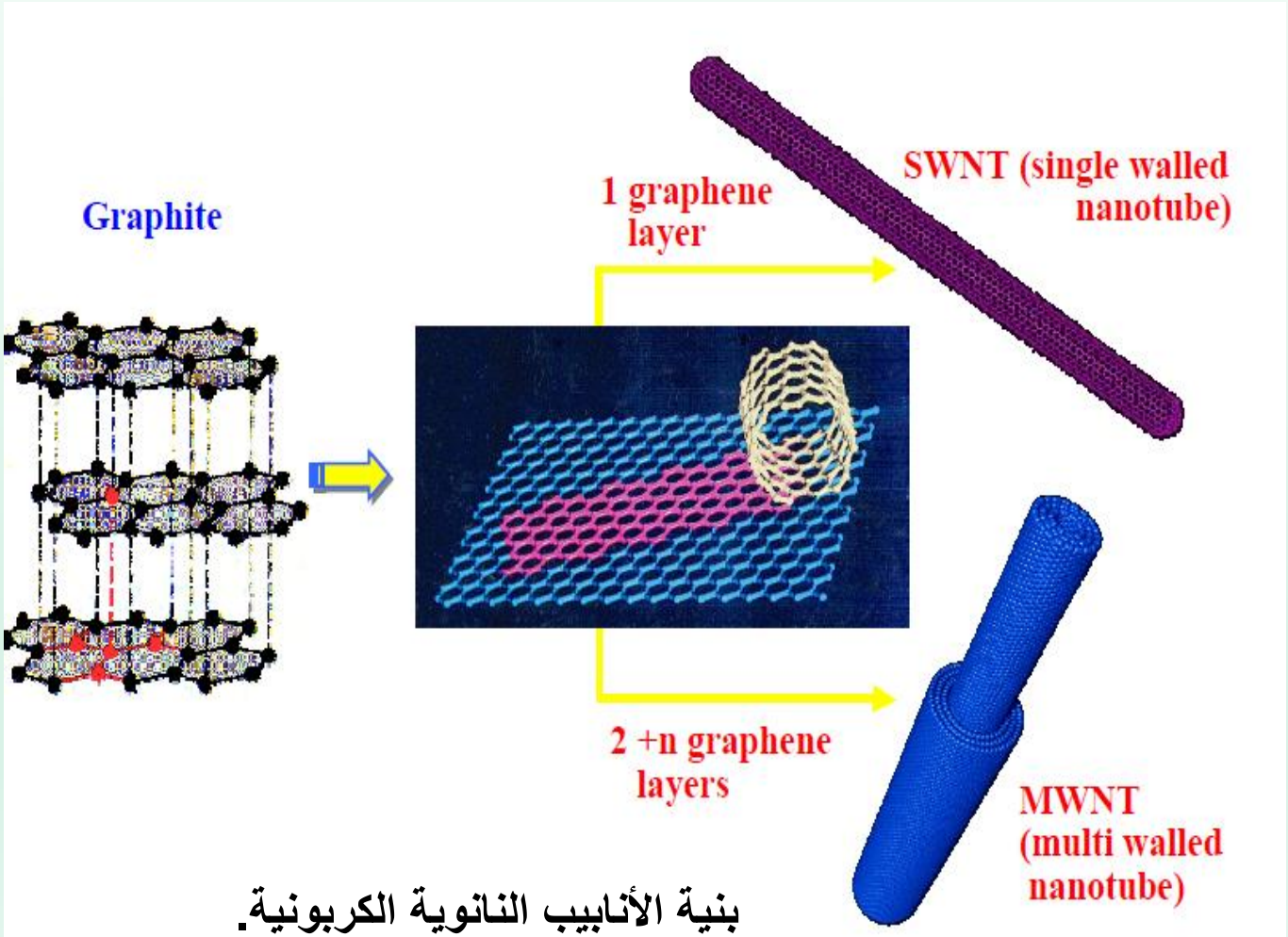
Table 1. Nanoparticle-based drugs that have been approved or are being tested in the clinic.

Commercial name	Platform	Targeting ligand	Active pharmaceutical ingradient	Indication	Status
Nanoparticle systems without targeting ligands					
DaunoXome	liposomes		daunorubicin	Kaposi's sarcoma	approved
Myocet	liposomes		doxorubicin	combinational therapy of recurrent breast, ovarian cancer	approved
Doxil/Caelyx	PEG-liposomes		doxorubicin	refractory Kaposi's sarcoma, recurrent breast, ovarian cancer	approved
Onco TCS	liposomes		vincristine	relapsed aggressive non-Hodgkin's lymphoma	approved
Abraxane	albumin-bound paclitaxel nanoparticles		paclitaxel	metastatic breast cancer	approved
Genexol-PM*	PLA-PEG micelle		paclitaxel	metastatic breast cancer	approved

1- الأنابيب النانوية الكربونية Carbon nanotubes (CNT):

هي شبكات سداسية مؤلفة من ذرات كربون، يمكن اعتبارها كطبقة من الغرانيت مطوية على شكل اسطوانة قطرها 1نانومتر وطولها يتراوح بين 1-100 نانومتر.

هناك نوعان من الأنابيب النانوية: أنابيب نانوية أحادية الجدار(SWNTs) وأنابيب نانوية متعددة الجدار(MWNTs)



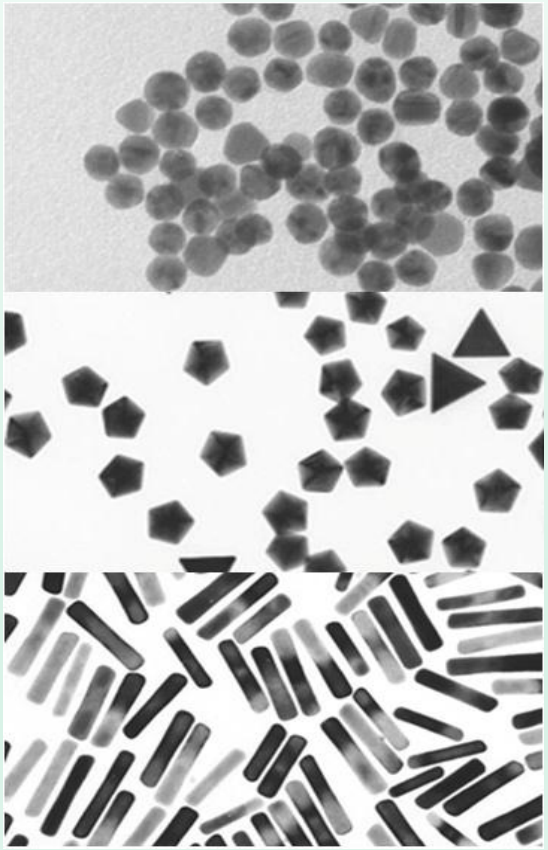
بنية الأنابيب النانوية الكربونية.

1- الأنابيب النانوية الكربونية Carbon nanotubes (CNT):

وهي جزيئات كبروية صغيرة small macromolecules تتمتع بخصائصها فريدة من حيث الحجم، الشكل، فضلاً عن امتلاكها لخواص فيزيائية مميزة. تملك الأنابيب النانوية ميزات بارزة بالمقارنة مع نظم إيتاء الدواء و النظم التشخيصية الأخرى ويعود ذلك لامتلاكها خواصاً فيزيوكيميائية مثيرة للاهتمام كالبنية المنتظمة، الوزن الخفيف جداً، والقوة الميكانيكية العالية، والناقلية العالية للكهرباء، والناقلية العالية للحرارة، والسلوك المعدني أو نصف المعدني إضافة للمساحة السطحية الكبيرة.

2) الجسيمات النانوية المعدنية metallic nanoparticles:

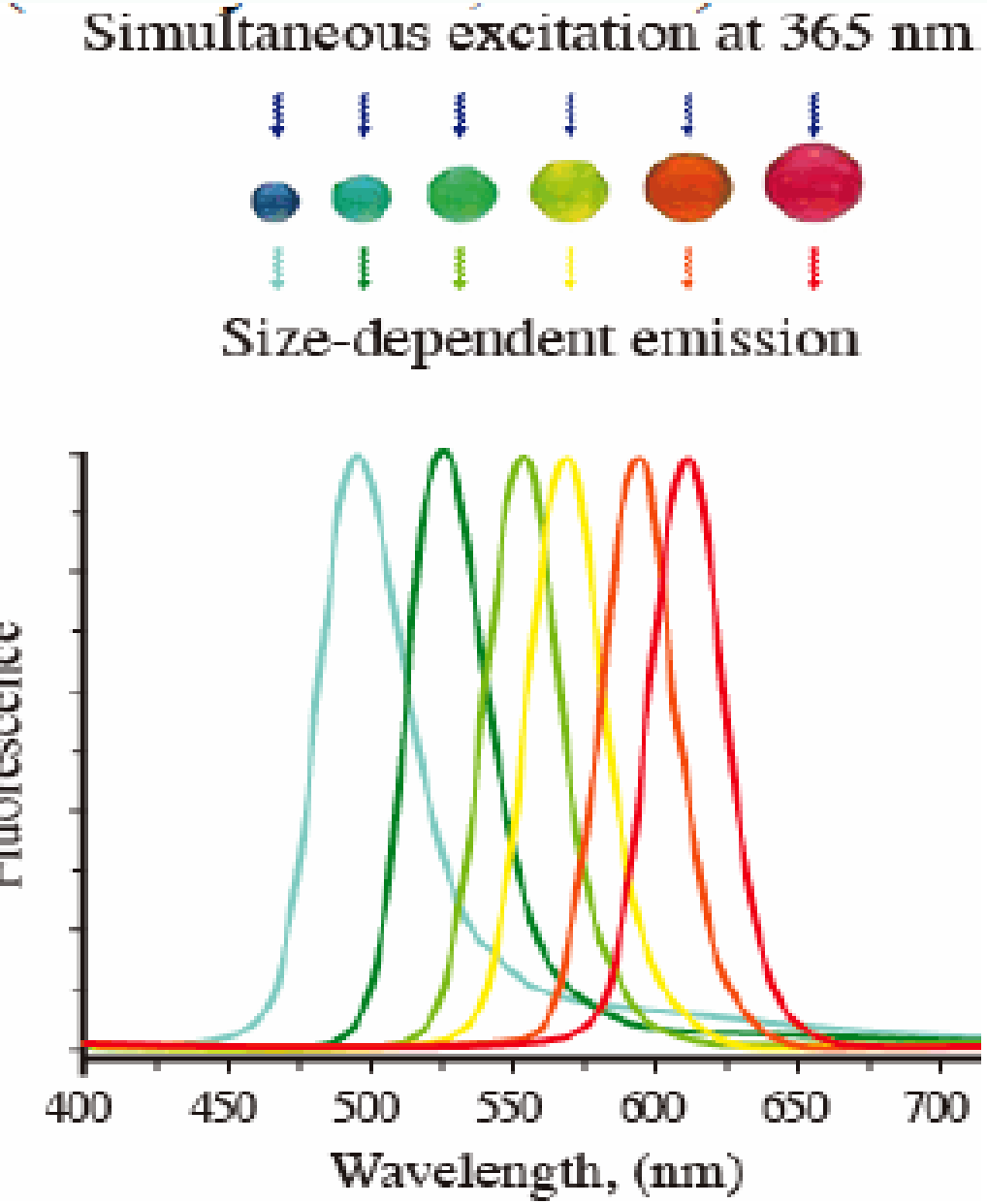
تعتبر الجسيمات المعدنية النانوية كحامل جيد لإيصال الأدوية و الحساسات البيولوجية biosensor. و رغم تصنيع جسيمات نانوية للعديد من المعادن، تبقى الجسيمات النانوية للذهب و الفضة حتى الآن الأكثر الأهمية في الاستعمال الطبي البيولوجي

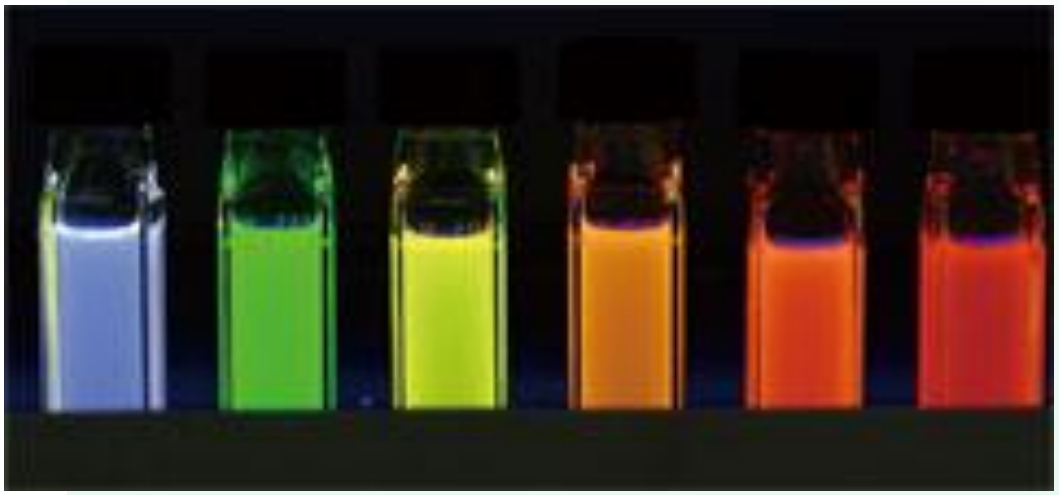


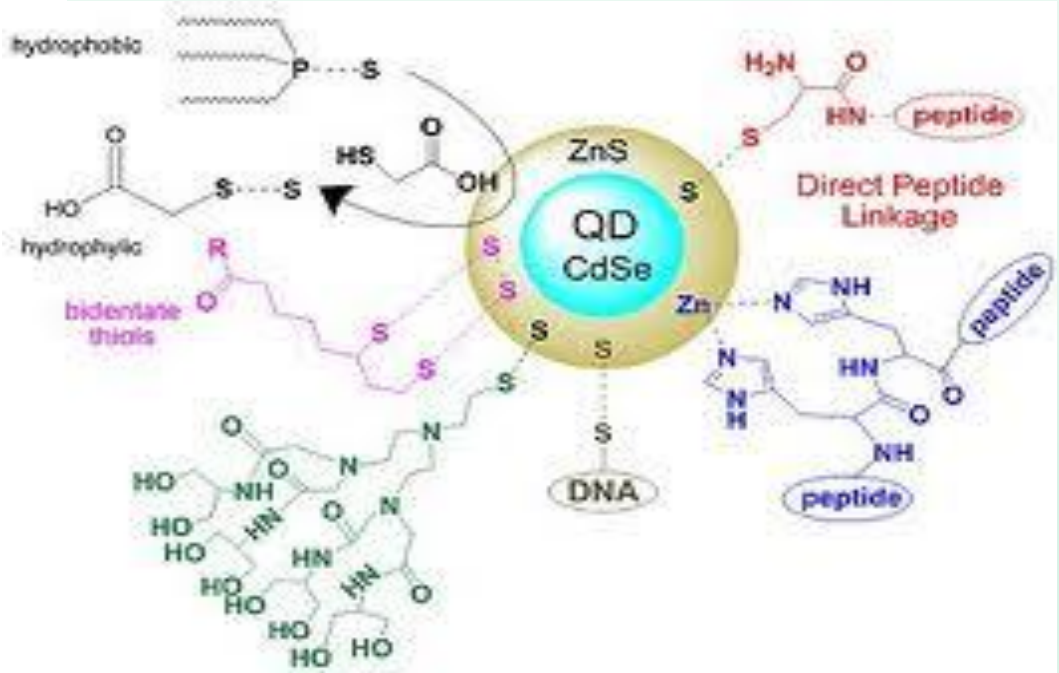
صور مأخوذة بالمجهر الإلكتروني الانتقالي لجسيمات نانوية معدنية ذات بنى متنوعة

3) النقط الكوانتومية quantum dots:

النقط الكوانتومية (المتناهية الصغر) هي جسيمات غرويدية صغيرة (عادة قطرها بين 1 و 12 نانومتر) من مواد نصف ناقلة semi-conducting (cdte : نواة من الكادميوم و التيلوريوم)، مغلفة بقشرة ZnSe) : زنك و سيلينيوم) لتحسين الخواص البصرية، و يمكن إضافة غطاء على السطح لتحسين الذوبانية في الوقاءات المائية. تتعلق خصائص النقط الكوانتومية بحجمها الفيزيائي .



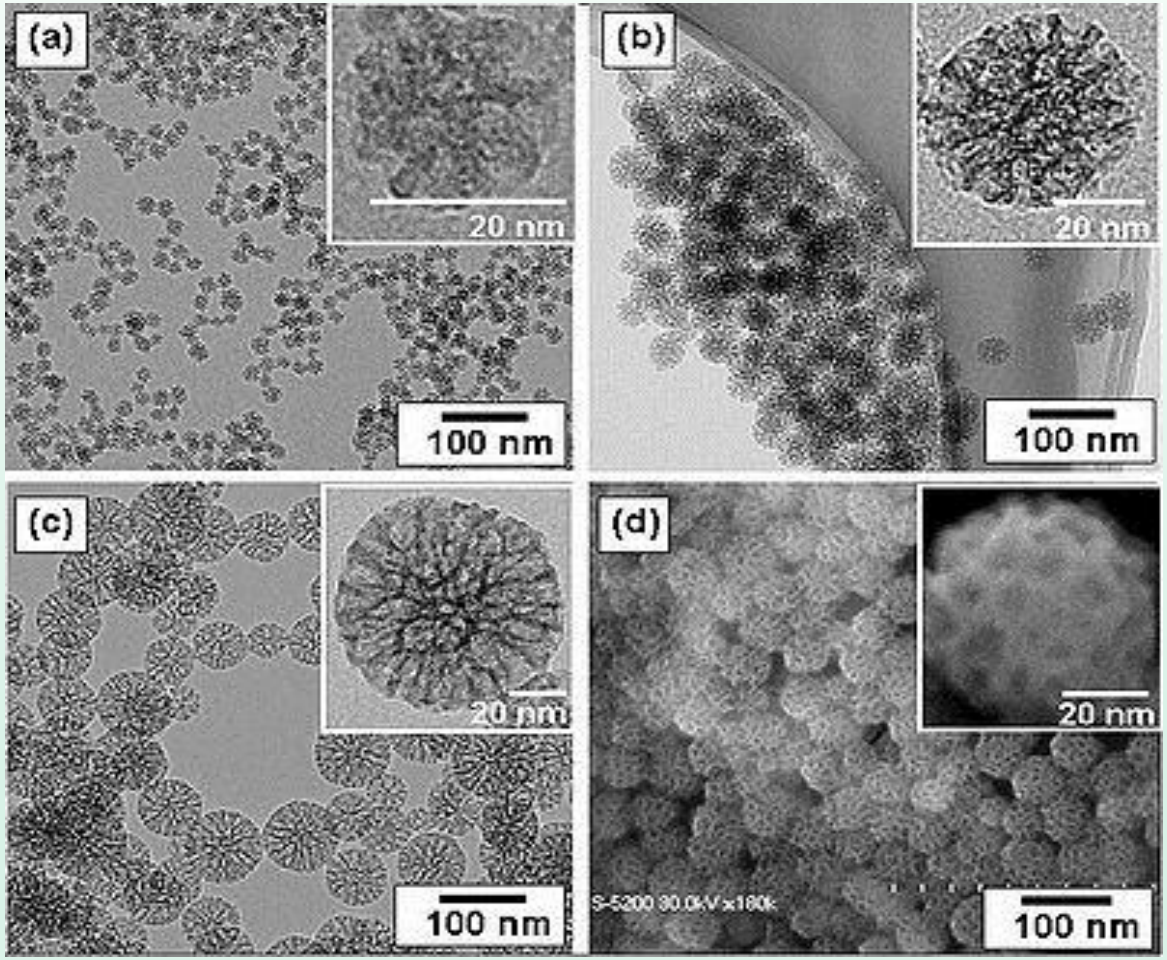




التألق الصادر عن النقاط الكوانتومية

4) جسيمات السيليكا النانوية (SN) silica nanoparticles:

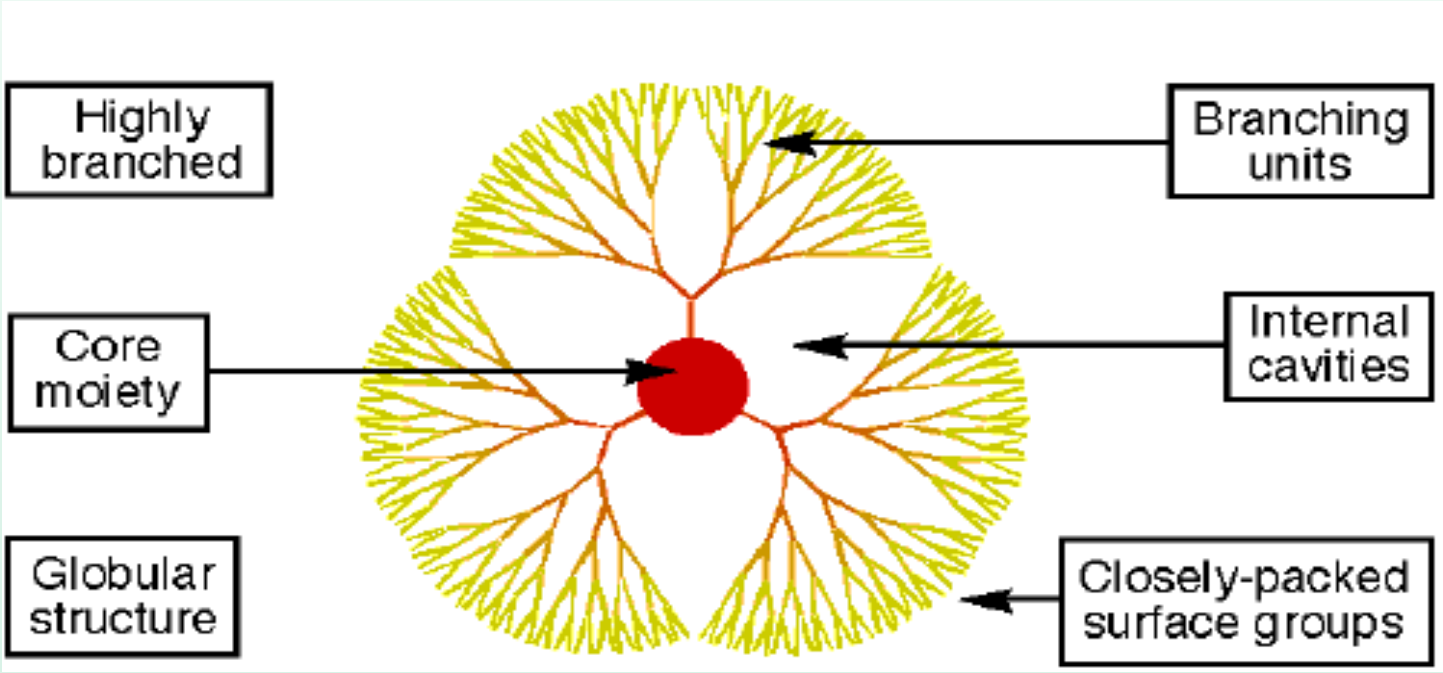
تمتلك جسيمات السيليكا النانوية تطبيقات بيولوجية طبية في إيتاء الدواء و التصوير. تسمح بنية هذه الجسيمات بأن يتم تعبئة الدواء أو الأصباغ المتألقة ضمنها و التي لا يمكن لها أن تمر من خلال الجدر الخلوية في الحالة العادية.



صور مأخوذة بالمجهر الإلكتروني الانتقالي لجسيمات السيليكا النانوية.

5) الدندريميرات Dendrimers:

الدندريميرات (مشتقة من الكلمتين اليونانيتينdendron و تعني شجرة، وmaros و تعني جزء) جزيئات ضخمة ذات بنى شجرية الشكل، عالية التنظيم، متفرعة، أحادية التوزع monodisperse (متسقة من حيث الوزن الجزيئي والأبعاد). تحتوي الدندريميرات على ثلاث مناطق متمايزة: لب، و فروع، و سطح.

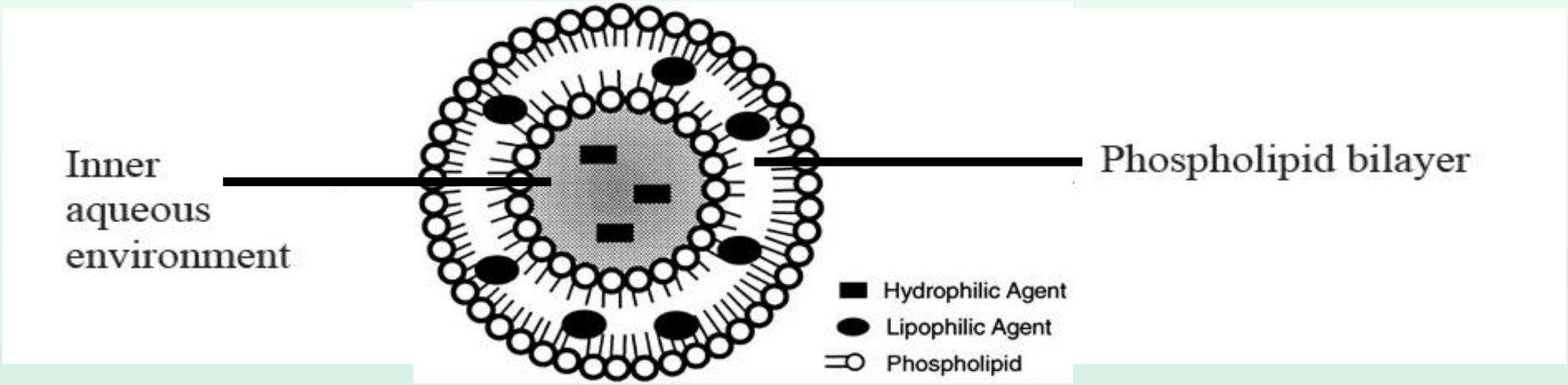


بنية الدندريمير المؤلفة من اللب، الفروع، والسطح.

6) الجسيمات الشحمية liposomes:

تم دراسة الجسيمات الشحمية على نحو واسع و استخدامها في تطوير حملة نانوية nanocarriers للإيتاء المهدف للأدوية.

تتشكل هذه الحويصلات المغلقة عندما يتم وضع الفوسفولبيدات الجافة في وسط مائي



بنية الجسيمات الشحمية.

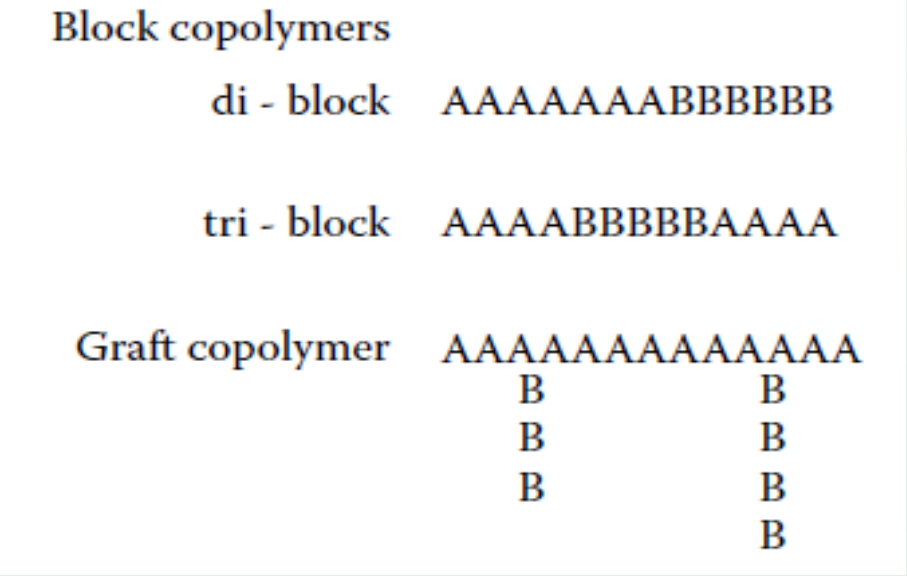
7- النيوزومات niosomes أو الحويصلات vesicles الفعالة على السطح غير المتأينة

من الناحية البنيوية فإن النيوزومات مشابهة للجسيمات الشحمية من حيث أن جدارها مكون من طبقة مضاعفة أيضاً. إلا أن الطبقة المضاعفة في النيوزومات تتكون من عوامل فعالة على السطح غير متأينة بدلاً من الفوسفوليبيدات المستخدمة في تحضير الجسيمات الشحمية. تعطي معظم العوامل الفعالة على السطح عندما تغمر في الماء بنى مذيلية. في حين أن بعض العوامل السطحية يمكن أن تشكل حويصلات ذات طبقة مضاعفة، وهي ما يعرف بالنيوزومات .

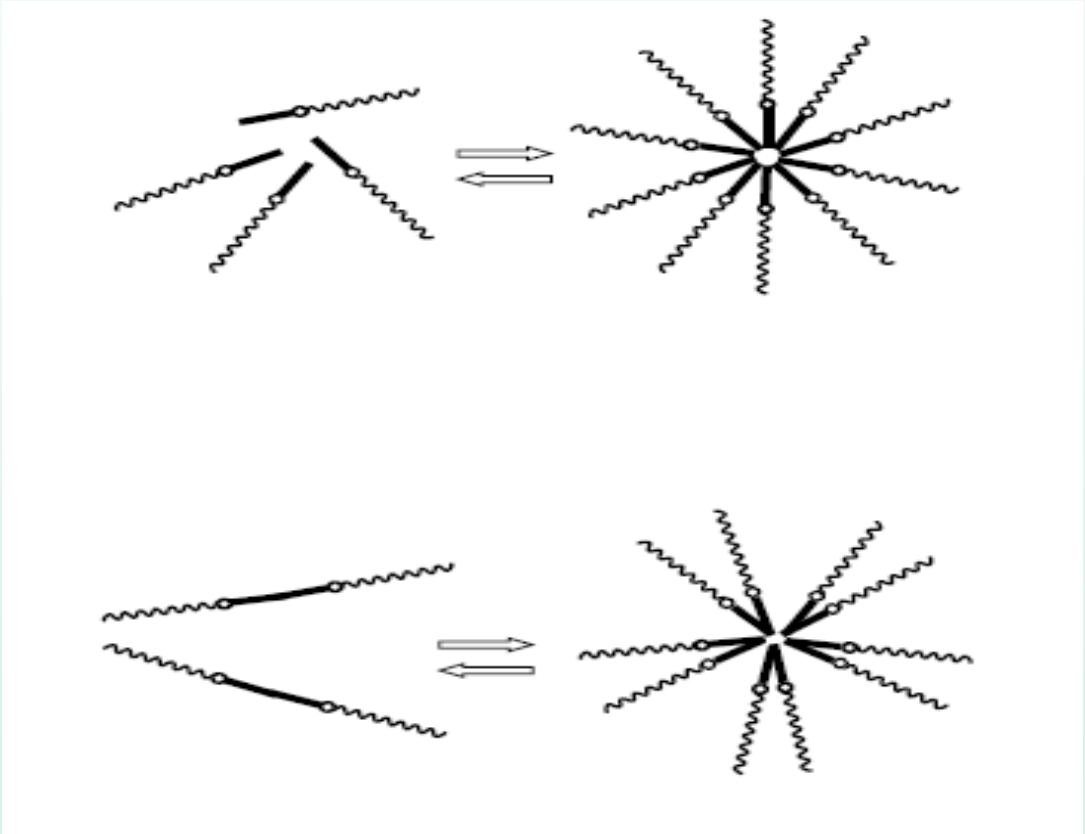
8- المذيلات البلمرية Polymeric micelles:

تتجمع البلمرات المشتركة الكتلية المذبذبة (ثنائية الميل) Amphiphilic block copolymers لتعطى بنى نانوية فوق جزيئية (مؤلفة من العديد من الجزئيات) مؤلفة من لب-قشرة تعرف باسم المذيلات البلمرية.

يكون قطر المذيلات البلمرية عادة أقل من 100 نانومتر، كما أن سطحها المحب للماء يحميها من القبط غير النوعي من قبل الجملة الشبكية البطانية.



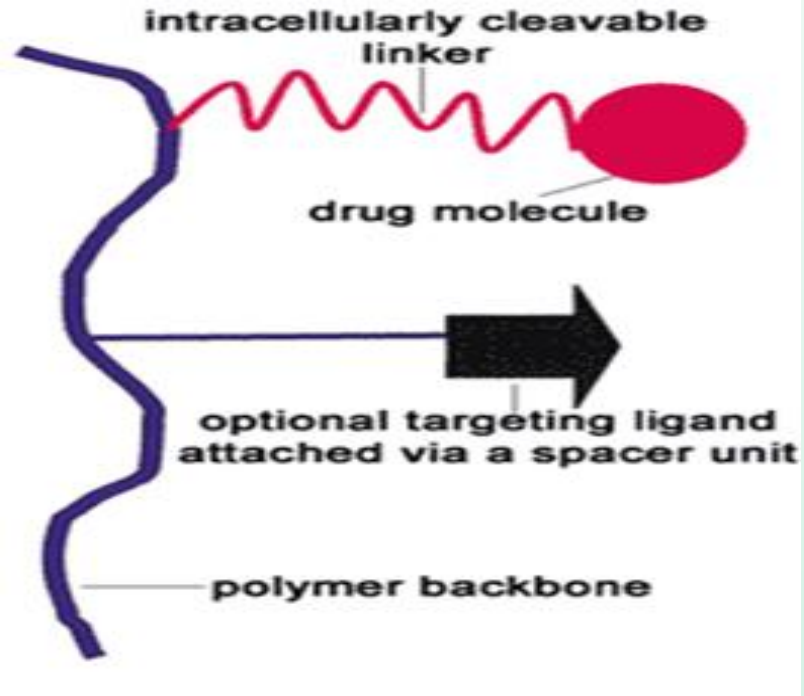
بنى المكاثير المشتركة المشكلة للمذيلاتA .: وحدة محبة للماء B .: وحدة كارهة للماء.



بنية المذيلات المحضرة من مكاثير مشتركة كتلية block copolymer.

9- مقترن بلمر– دواء Polymer drug conjugate:

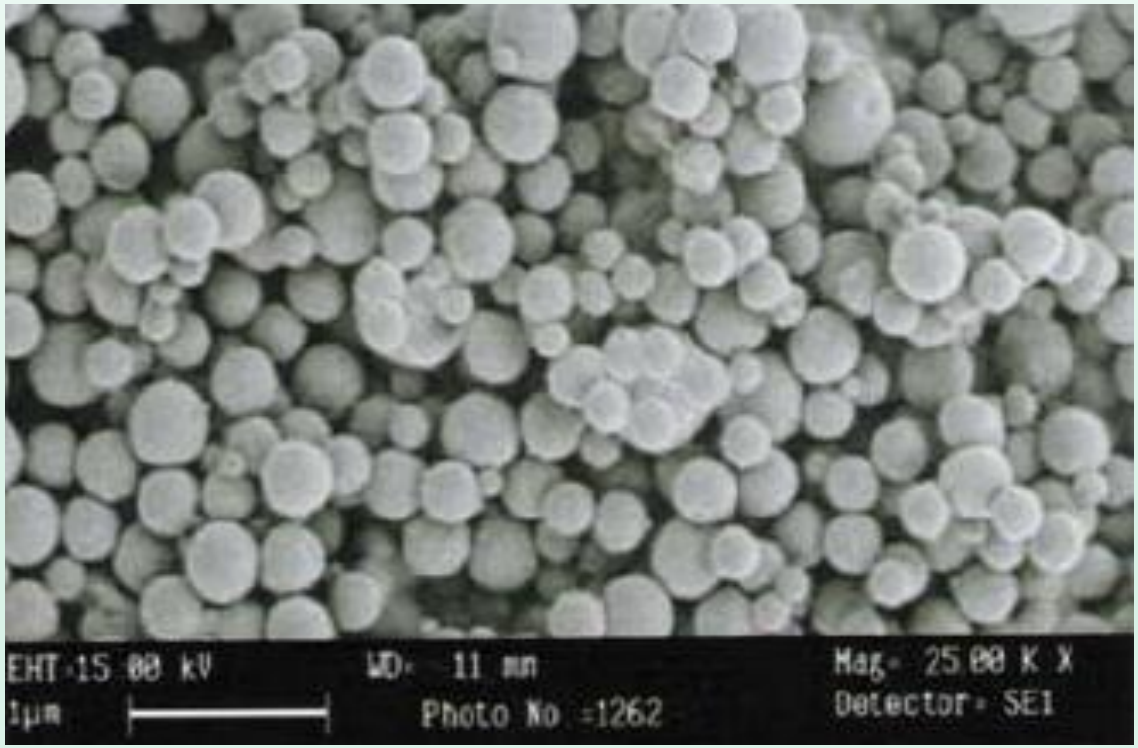
إن اقتران الأدوية منخفضة الوزن الجزيئي مع البلمرات يسبب تبدلاً جذرياً في حرائكها الدوائية في كامل الجسم و على المستوى الخلوي. ومن هنا صممت مقترنات بلمر– دواء لكي تزيد الوزن الجزيئي الكلي، و الذي يسمح باحتباسها في الخلايا السرطانية.



مقترن بلمر–دواء.

10- الجسيمات النانوية البلمرية Polymeric nanoparticles:

تشكل الجسيمات النانوية البلمرية أنظمة نانوية واعدة نظراً لبعض الصفات المتأصلة فيها مثل التوافق البيولوجي، عدم إحداثها للاستمناع nonimmunogenicity، عدم السمية، وقابلية التدرك البيولوجي. إن هذه الجسيمات عبارة عن جمل غرويدية تتميز بحجومها التي تتراوح بين 10 – 100 نانومتر مكونة من بلمرات صنعية أو طبيعية. إن الجسيمات النانوية البلمرية عبارة عن مجموعة واسعة تشمل كلاً من المحافظ النانوية و الكريات النانوية .



صورة مأخوذة بالمجهر الإلكتروني الماسح لجسيمات نانوية بلمرية .

البلمرات المستخدمة لتحضير الجسيمات النانوية المستخدمة في إيتاء الدواء في الأحياء in vivo:

ينبغي على البلمرات المناسبة أن تحقق المتطلبات التالية:

- أن تكون قابلة للتدرك البيولوجي أو على الأقل قابلة للطرح بشكل كامل خارج الجسم خلال فترة زمنية قصيرة مما يسمح بإعادة الاستعمال دون خطورة التراكم غير المنظم للدواء.
- أن تكون غير سامة وغير محفزة للمناعة. وأن تكون نواتج تدركها، إن وجدت، غير سامة وغير محفزة للمناعة.
- أن تعطي جسيمات نانوية بلمرية ذات خواص مناسبة فيما يتعلق بالهدف الذي صممت لأجله هذه الجسيمات.

MANUFACTURING METHODS FOR NANOPARTICLES

مبادئ الطرق المتبعة في تحضير الجسيمات النانوية

- **Emulsion polymerisation** البلمرة للمستحلب
- **Interfacial polymerisation** البلمرة بَينَ السُّطوح
- **Desolvation** تحفيز ترسب البلمر عبر إزالة المذيب

- **Denaturation of emulsion droplets** تَمَسُّخ قطرات المستحلب
- **Solvent evaporation** تبخير المذيب
- **Solvent deposition** تَرْسيب النانومتري بالمحلات

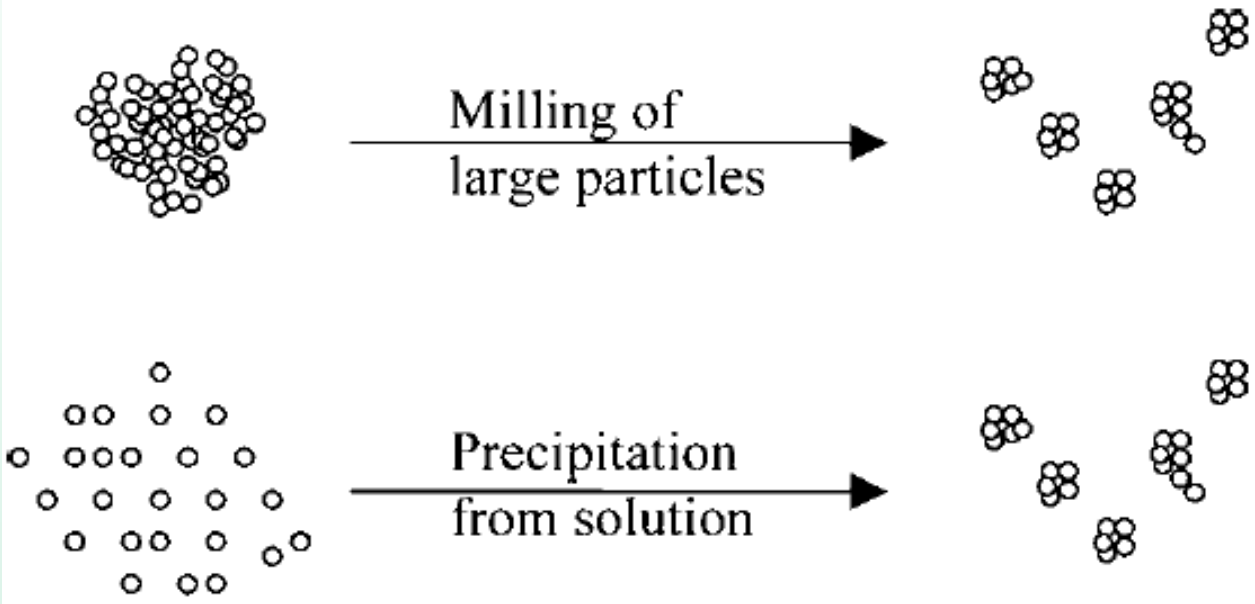


Figure 1 Schematic of the two general nanoparticle production techniques.

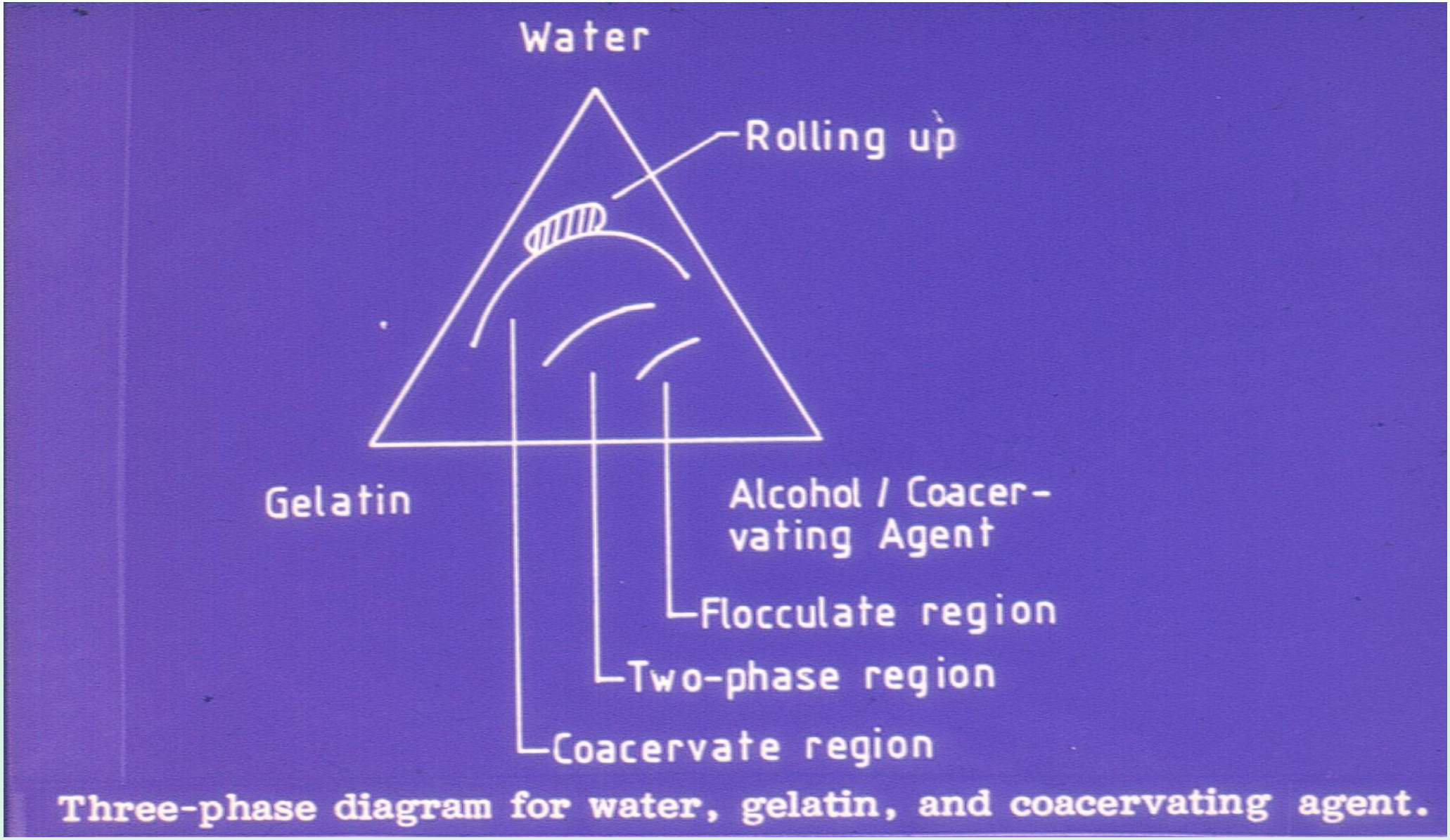
MATERIALS FOR NANOPARTICLES
المواد المستخدمة في الجسيمات النانومترية

- **POLY(BUTYL CYANOACRYLATE)**
- **POLYLACTIC ACID and POLY(LACTIC-CO-GLYCOLIC) ACID**
- **ALBUMIN**
- **GELATIN**
- **FATS (SOLID LIPID NANOPARTICLES, SLN)**
- **POLY(METHYL METHACRYLATE)**

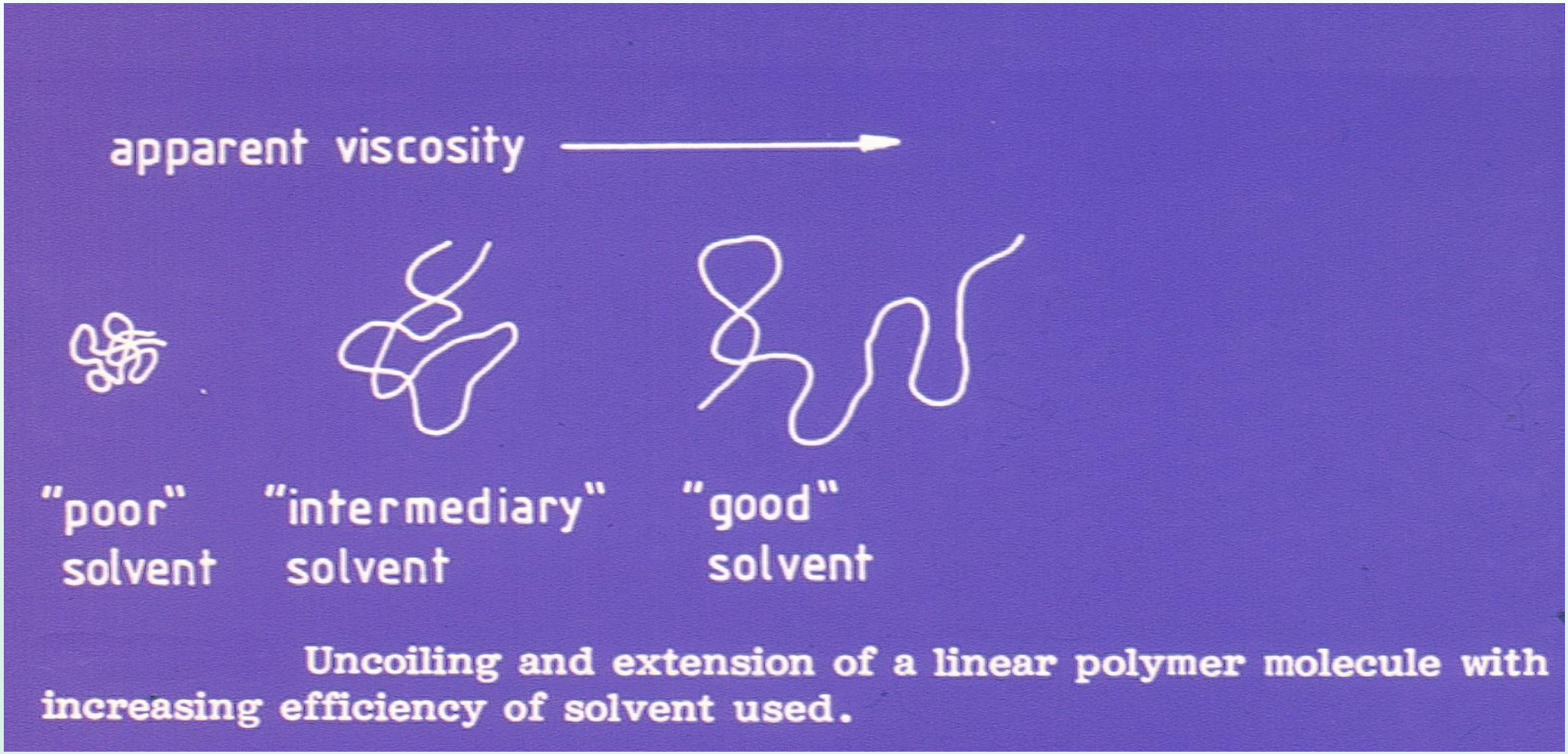
POLYMER MATERIALS FOR NANOPARTICLES

Desolvation

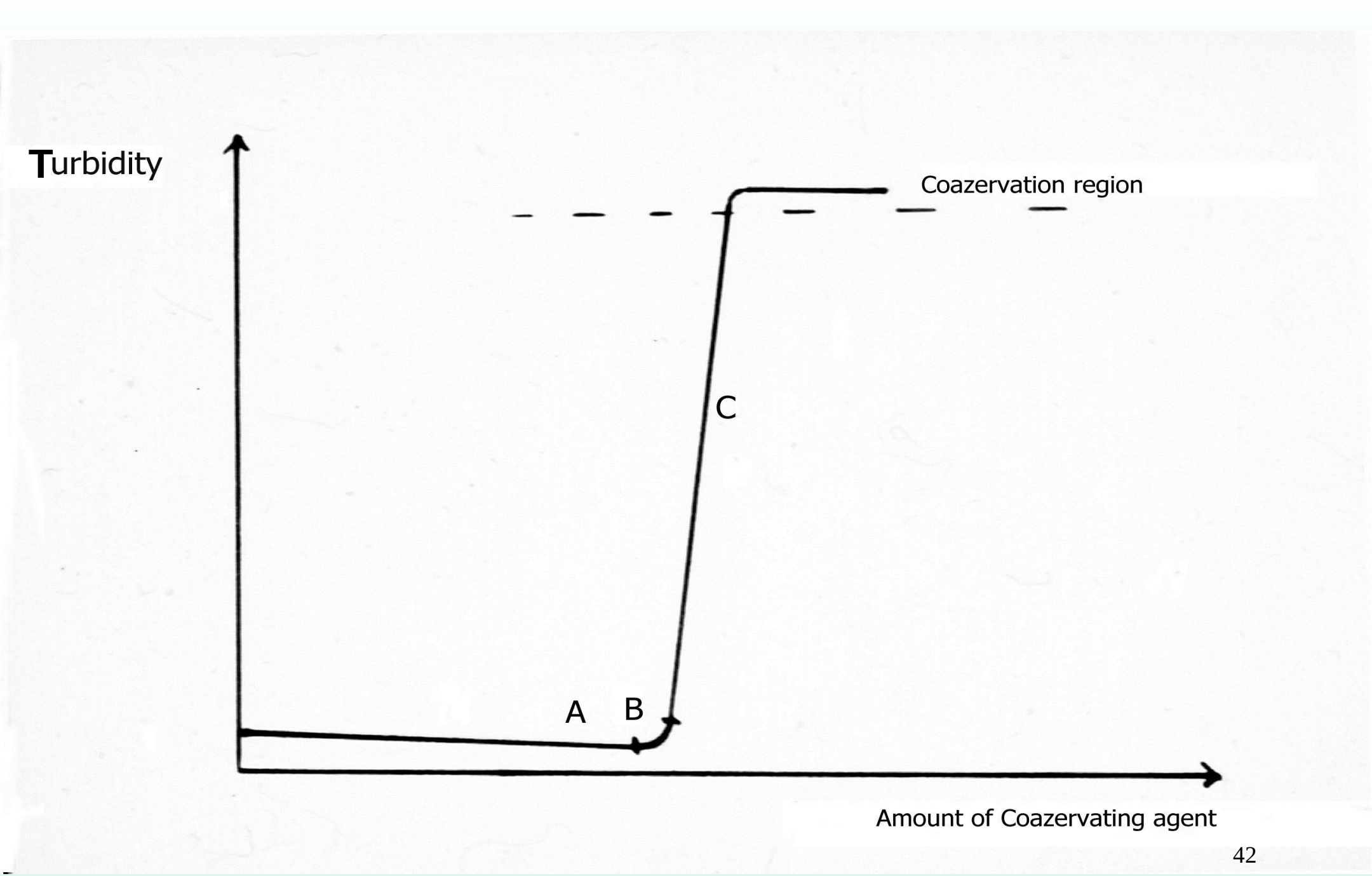
- **Albumin**
- **Gelatine**
- **Cellulose derivatives**



Three-phase diagram for water, gelatin, and coacervating agent.



Uncoiling and extension of a linear polymer molecule with increasing efficiency of solvent used.

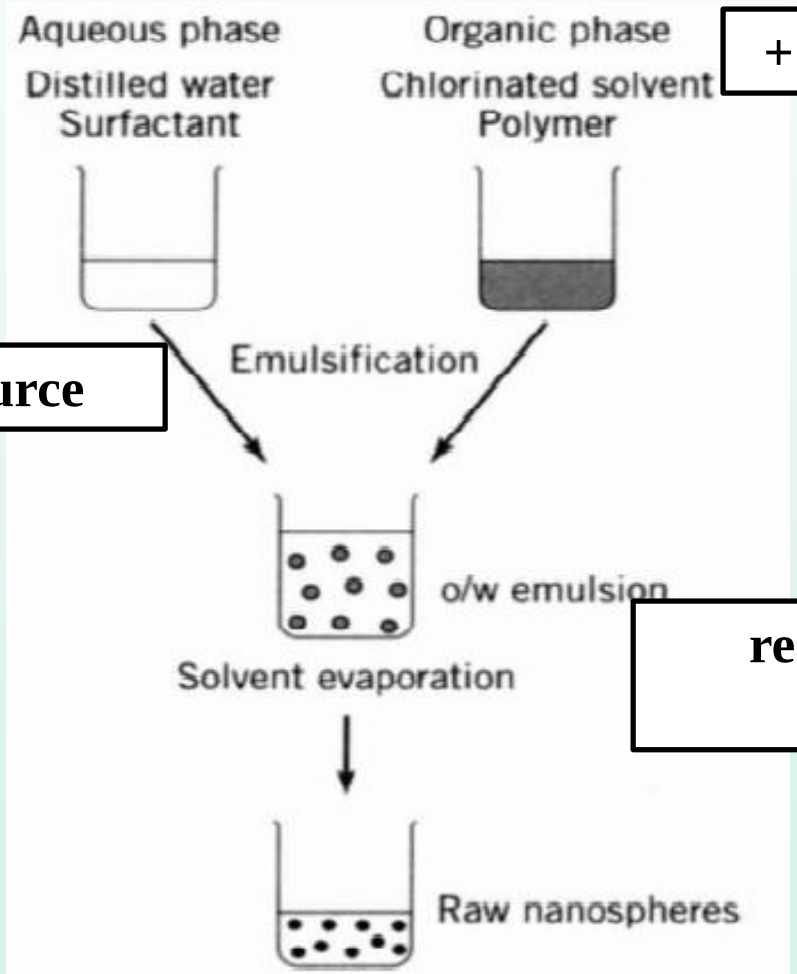

Turbidity
Coazervation region
C
A
B
Amount of Coazervating agent

POLYMER MATERIALS FOR NANOPARTICLES

Solvent Evaporation

- **Polylactic Acid**
- **Polylactic Acid copolymers**

Emulsion-Solvent Evaporation



+ water insoluble drug

high-energy source

reduced pressure or vacuum

Centrifugation, Washing (remove residual stabilizer) Freeze draying (possible)

Solvent Evaporation

ADVANTAGES:

- **Large experience exists with polylactic acid and with co-glycolide copolymers**
- **PEG-chains can be attached covalently to significantly prolong blood circulaltion times after i.v. injection**

Solvent Evaporation

DISADVANTAGES:

- **Requires considerable amounts of organic solvents**
- **Organic solvents sometimes difficult to remove**
- **Some substances are not stable enough to withstand the multistep homogenisation**
- **Used mostly for lipophilic drugs, however hydrophilic drugs can be incorporated using the double emulsion technique**

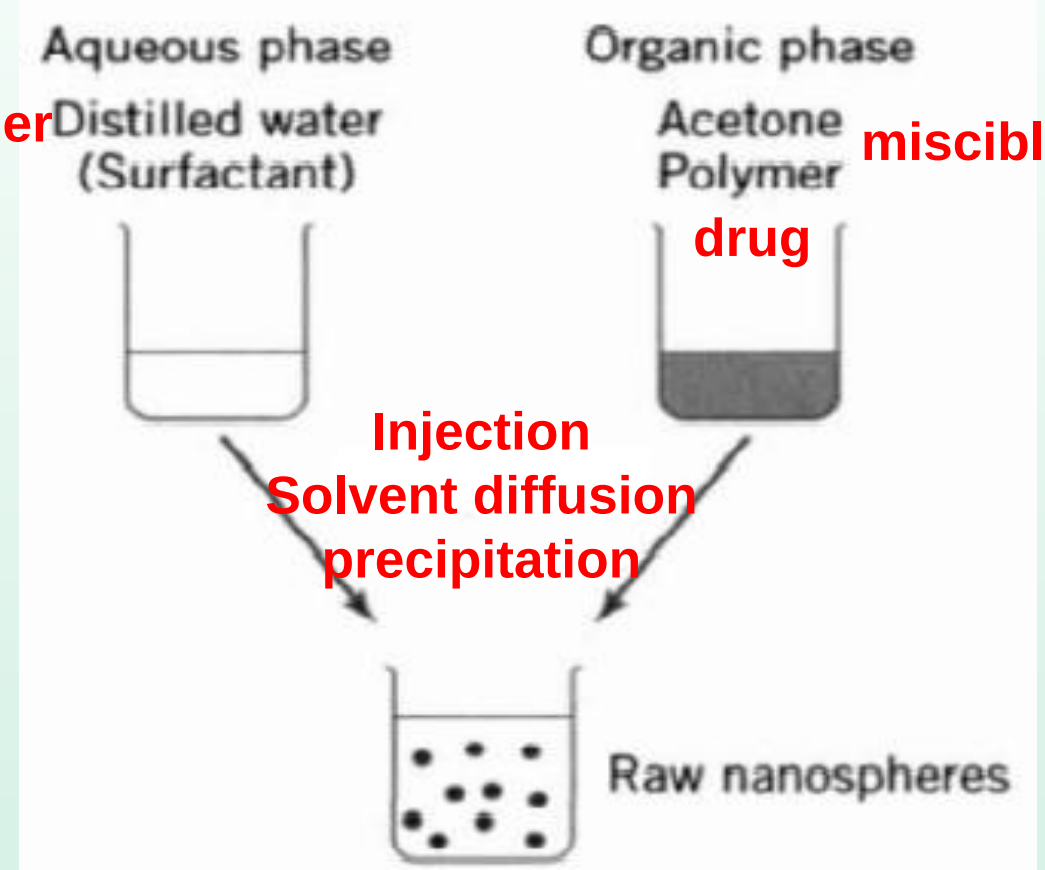
POLYMER MATERIALS FOR NANOPARTICLES

Solvent Deposition

- **Polylactic acid**
- **Polylactic acid copolymers**
- **Poly(alkyl cyanocrylates)**

Solvent Diffusion (Nanoprecipitation)

non-solvent for drug and polymer



miscible with water

- **The velocity of solvent removal is the key to obtain particles in the nanometer range instead of agglomerates**

Solvent Deposition

- **Two solvents or solvent systems that are misciple are required**
- **Drug and polymer must be soluble in the first system (the solvent) but not in the second one (the non-solvent)**

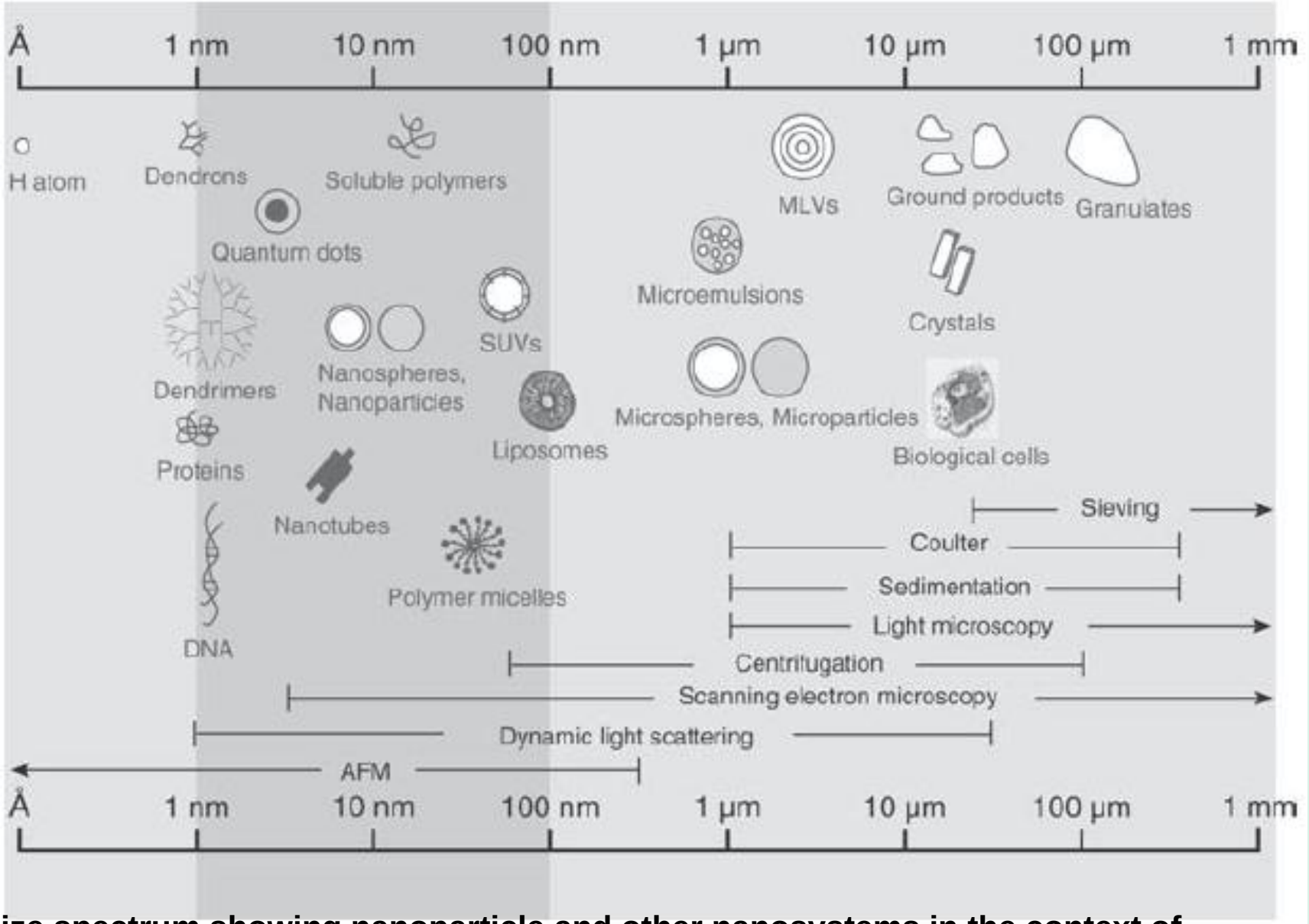
Solvent Deposition

- **Solvent deposition and nanoprecipitation occurs when the polymer solution is added to the second solvent system**

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISATION OF NANOPARTICLES

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISATION OF NANOPARTICLES

- PHOTON CORRELATION SPECTROSCOPY
- ELECTRON MICROSCOPY
- ZETA-POTENTIAL ANALYSIS
- GEL PERMEATION CHROMATOGRAPHY
- HPLC
- OTHER STANDARD ANALYTICAL METHODS
- ANALYTICAL ULTRACENTIFUGE



The size spectrum showing nanoparticle and other nanosystems in the context of microparticulates and macrosystems. Also shown are the methods employed to measure the particle size and size distribution of this range of materials. *Abbreviations: MLV, multilamellar vesicle;* SUV*, single unilamellar vesicles.*

Characterization and Analysis of Nano-Systems

1. Particle Size Measurement

- Sedimentation or creaming tendencies can be minimized by changing the particle size of the system.
- The stability of systems can be monitored by measuring changes in particle size and size distribution.
- The biofate of some dispersed system dosage forms is dependent on their particle size distribution.

Approximate Size Range of Methods for Particle Size Analysis

Particle sizing method	Size range (μm)	Comments
Optical microscopy (transmitted, reflected, polarized light, fluorescence, and confocal)	~0.5–600	Important tool for assessing particle size, shape, flocculation, aggregation, and coalescence, etc. Results are subjective and affected by sampling technique
Electron microscopy (transmission and scanning)	~0.01–10	High magnification and direct observation of particle size and shape. Samples need to be dry, coated, or frozen which can affect stability and size. Instrument is relatively expensive and difficult to operate
Electrical sensing zone (Coulter counter)	~0.5–500	Accurate but requires samples containing electrolyte to conduct current
Sedimentation	~1–500	Based on Stokes' law and applied to particles that settle in the dispersion medium by gravity without causing turbulence
Ultracentrifugation	~0.01–5	Based on Stokes' law and applied to particles that can be separated in the dispersion medium under centrifugal force
Sieving	~50–5000	No practical significance for colloidal dispersed systems
Dynamic light scattering (Malvern, Nicomp, Brookhaven)	~0.01–3	Commonly used particle size method for injectable dispersed systems. Upper size limit 3 μm
Static light scattering	~0.02–2000	Commonly used particle size method for injectable dispersed systems
X-ray and neutron scattering	~0.005–10	Similar to light scattering techniques but with better resolution
Size exclusive chromatography or field-flow fractionation	~0.05–20	Particles are separated according to size by interacting with the stationary phase or field force applied to samples (electric, magnetic, or thermal). Requires sample be stable under separating conditions
Optical sensing zone (HIAC, AccuSizer)	~0.5–500	Based on the principle of light blockage and is the commonly used method for coarse-dispersed systems

Characterization and Analysis of Nano-Systems

2. Zeta Potential

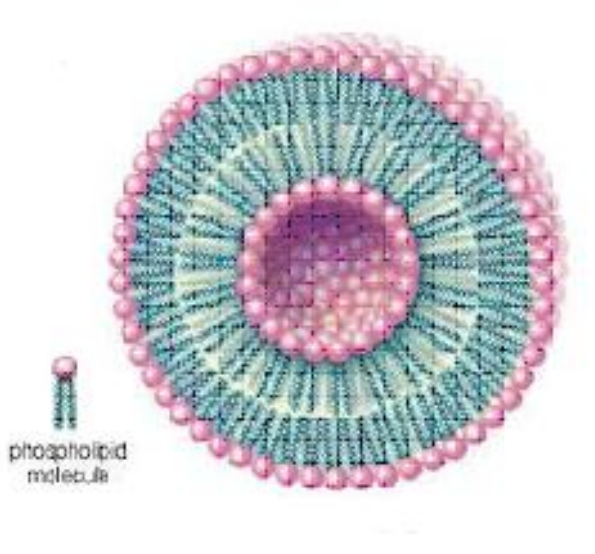
- Solids acquire a surface charge when placed in polar liquids.
- Zeta potential measurements provide information on particle surface charge.
- Charge shielding by PEG or other hydrophilic groups can be used to predict the effectiveness against opsonization in vivo.
- Zeta potential can be used to determine whether the drug is encapsulated inside the particle or simply adsorbed on the particle surface.

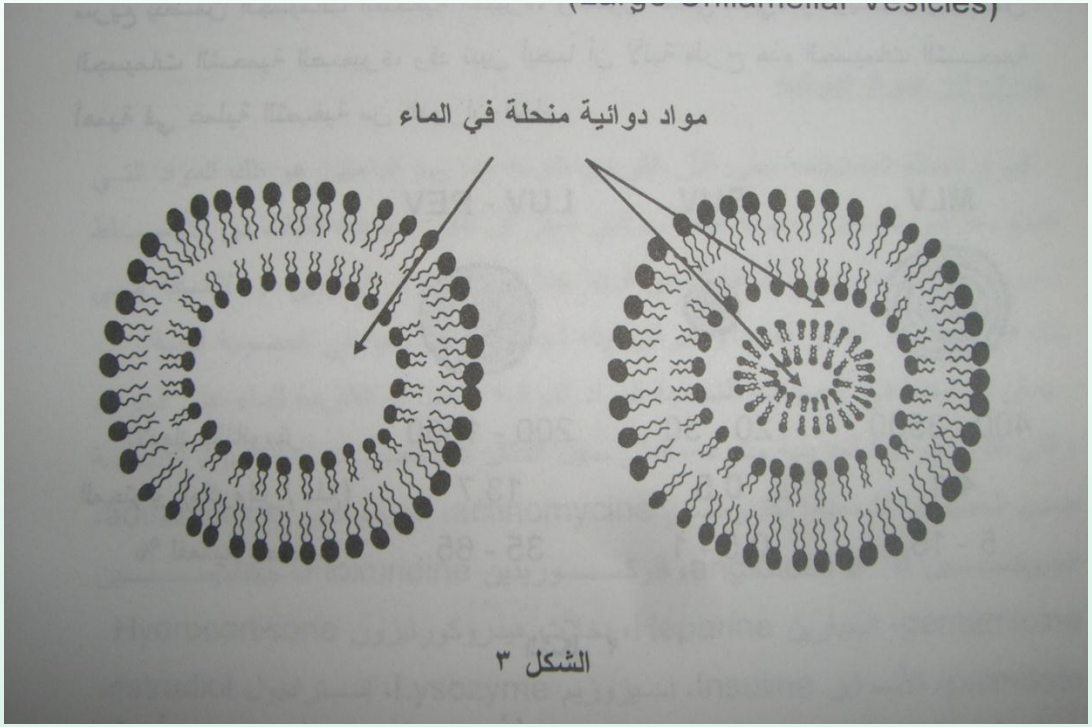
APPLICATION OF NANOPARTICLES

Most Active Areas of Application of Nanoparticles

- **DRUG TARGETING**
- **NUCLEIC ACID AND GENE DELIVERY**
- **ENHANCEMENT OF BIOAVAILABILITY**
- **ENHANCEMENT OF PHARMACOLOGICAL OR IMMUNOBIOLOGICAL EFFECTS**

الجسيمات الشحمية Liposomes

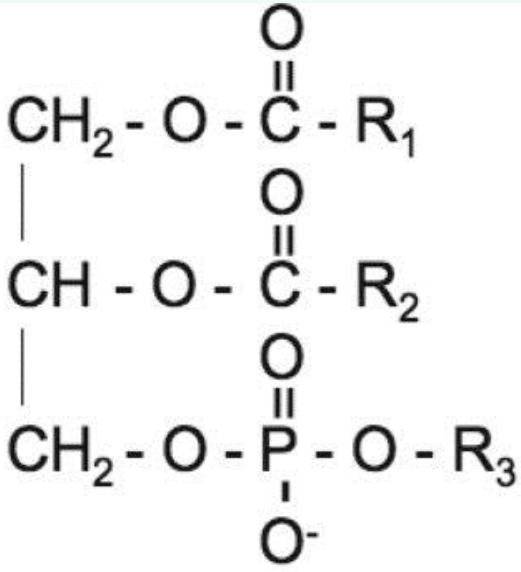


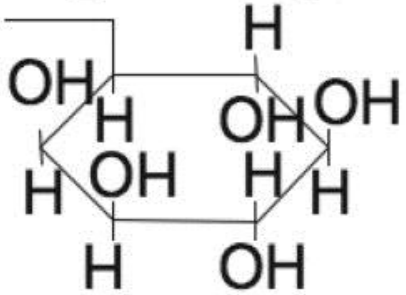


ميزات الجسيمات الشحمية:

- **تحمل المواد الدوائية المحبة و/أو الكارهة للماء**
- **جرعات صغيرة بعيدة عن التأثير السمي**
- **طرائق معالجة مختلفة**
- **استهداف خلايا معينة**
- **نقل المركبات الفعالة لتنشيط البلاعم ← ↑ مقاومة العضوية ضد الطفيليات و الأورام**

الشحميات الفسفورية



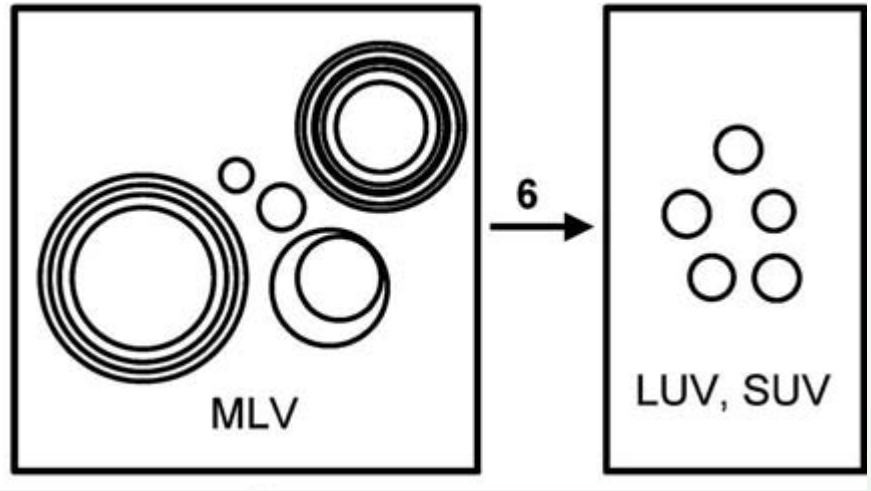
Formula for R_3	Phospholipid Name
$-CH_2CH_2NH_3^+$	Phosphatidylethanolamine
$-CH_2CH_2N(CH_3)_3^+$	Phosphatidylcholine
$-CH_2CH(OH)CH_2OH$	Phosphatidylglycerol
$-CH_2CH(NH_3^+)COO^-$	Phosphatidylserine
	Phosphatidylinositol

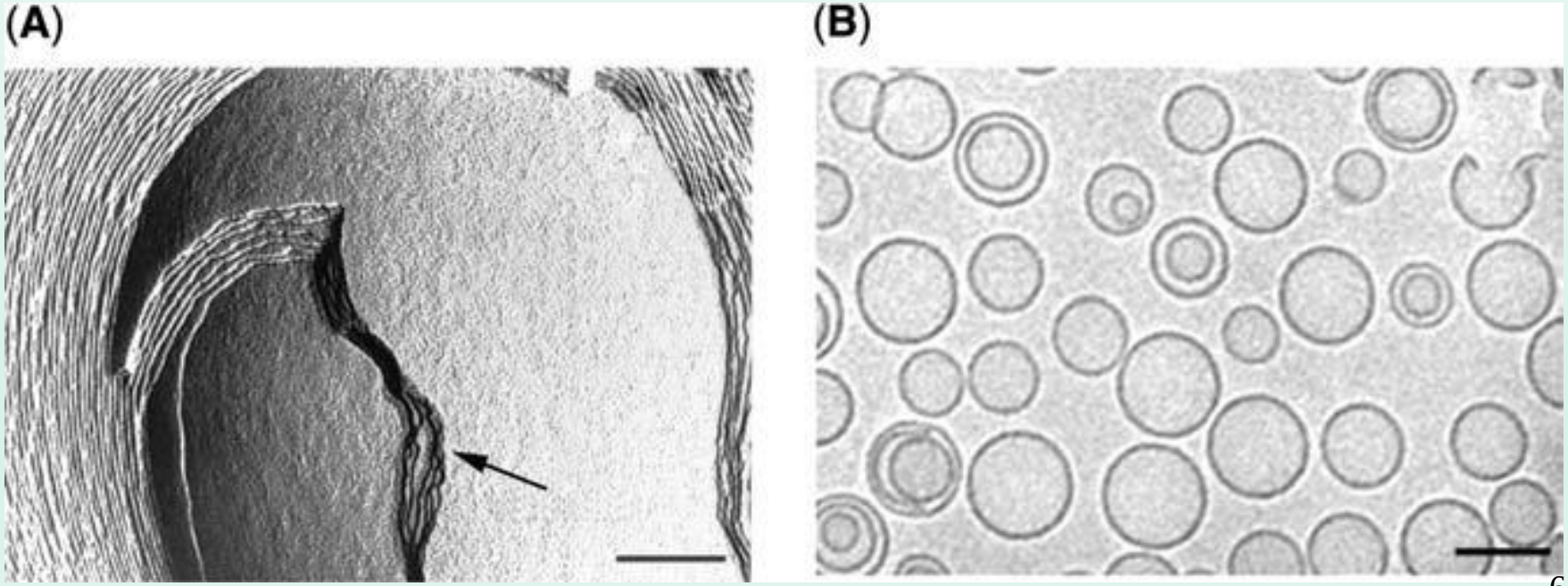
R_1, R_2 = hydrocarbon chains of fatty acids

R_3 = head group

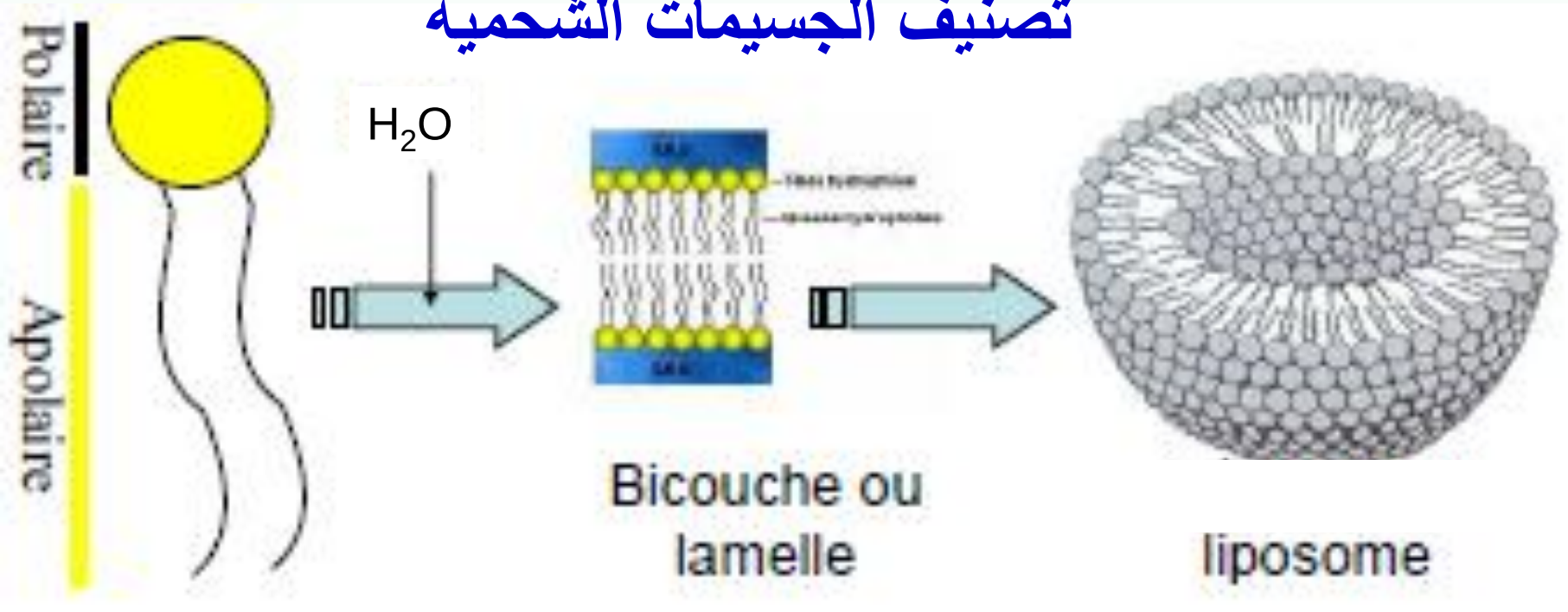
Structures of common phospholipids used in making liposomes

تصنيف الجسيمات الشحمية





تصنيف الجسيمات الشحمية



	LUV	MLV	SUV
Diameter nm	200-1000	400-3500	20-50

مراقبة الجسيمات الشحمية

1- أبعاد الجسيمات الشحمية

2- بنية الجسيمات الشحمية

3- ثبات الجسيمات الشحمية (الثبات الكيميائي للشحميات، أبعاد الجسيمات، بنية الحويصلات، نسبة حفظ المواد الدوائية، تأثير السوائل الحيوية)

آ) الثبات في الزجاج

ب) الثبات في الأوساط الحيوية