التقانة الحيوية الصيدلانية والبروتينات الحيوية الصيدلانية

Special Topics in Protein

- *Preformulation / Formulation*
- *Delivery of Biopharmaceutics*

ما قبل الصياغة Preformulation

- تتضمّن العمليات التي تسبق صياغة الشكل الصيدلاني للبروتينات الدوائية (والتي تُجرى على المحضّر الخام للبروتين) الاهتمام بعوامل عدة منها: بنية ونقاوة البروتين، والعوامل التي تؤثّر على ثباتيته الفيزيائية والكيميائية، ووسائل تحقيق الثباتية. stability وتقييم الانحلالية.
- يتم إثبات مرتسم profile المكونات السكرية الأساسية للبروتين، ومرتسم انحلالية البروتين وثباتيته ونقطة التساوي الكهربي الخاصة به والتي تحدد درجة الباهاء التي يجب حفظه بها. كما تجري دراسة تأثير العديد من الوقاءات على الثباتية. وأخيراً، يجب أن تحدد الدراسات السابقة للصياغة الشوائب الموجودة في مستحضر البروتين الخام لأنها ستؤثر غالباً على ثباتية المنتج.
- وعلى الرغم من أن التطور في وسائل التقانة الحيوية أدّى إلى منتجات بروتينية نقيّة، فإن هذه البروتينات النقية غالباً ما تكون في الواقع أكثر عرضة للتخرّب وذلك بسبب كون هذه البروتينات لا تتواجد في بيئتها الطبيعية التي عادةً ما تساهم في ثباتها، حيث تضم هذه البيئة عادةً بروتينات أخرى وسكريات ودسم أو أملاحاً تساعد جميعها في ثبات البنية البروتينية.

مختصر الطرق التحليلية لاختبارات التخرب والنقاوة المستخدمة قبل صياغة الشكل الصيدلاني الفعّال

Table 4.3 Analytical Methods for Degradation/Purity Tests

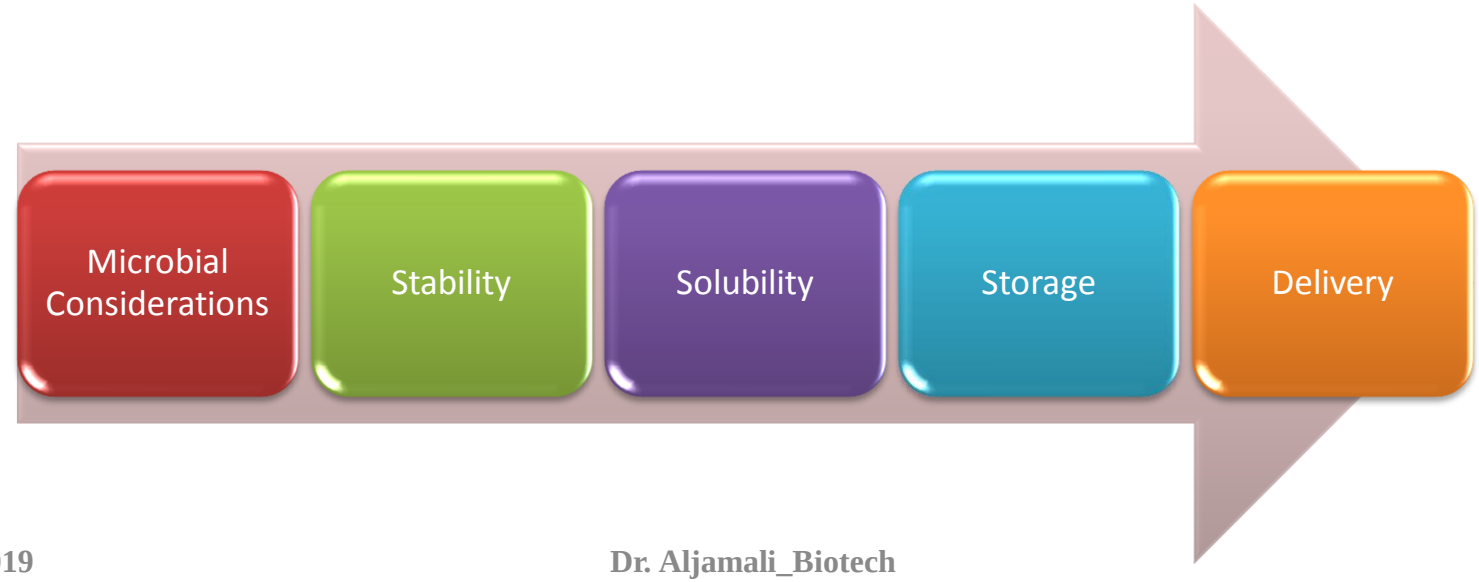
Degradation reaction	Analytical methods
Purity testing	SDS-PAGE (reducing and nonreducing), UV assay, SEC-HPLC, CEX-HPLC, LAL test, ECP enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Western blot, DNA hybridization
Deamidation	Isoelectric focusing, ion exchange chromatography
Oxidation	Reverse-phase HPLC, peptide analysis
Aggregation	Size exclusion chromatography, SDS-PAGE, light scattering, analytical ultracentrifugation

SPECIAL TOPICS IN BIOPHARMACEUTICALS

FORMULATION

يجب أن تتغلّب عمليات الصياغة formulation على العديد من التحديات التي تواجه تركيب الأدوية البروتينية

- لا يمكن استخدام نفس الصيغ الصيدلانية الخاصّة بالأدوية التقليدية بسبب أن معظم تلك الصيغ تخرّب البروتينات (مثال، عمليات الضغط والتحثير والرج agitation وتغيّرات درجة الحرارة والخلط شديد السرعة high shear mixing)
- بالنسبة للبروتينات، لا يتجاوز عمر التخزين shelf life أربعة أسابيع بعد حل المحضّر البروتيني (في غياب المضافات المناسبة)، ويُرجى من المحضّر الصيدلاني الأمثل المحافظة على ثباتية الدواء في الزجاج وفي العضوية



ولحل معظم المشاكل المتعلقة بصياغة البروتينات، يمكن استخدام المُضافات Additives

- من أهم المضافات:
  - وقاءات buffers
  - مادة تزيد الانحلالية solubility enhancer
  - مضاد للادمصاص anti-adsorption
  - مضاد للتكدّس anti-aggregation
  - مادة حافظة preservative
  - مضاد للأكسدة anti-oxidant
  - واقي من البرودة والتجفيد lyoprotectant/cryoprotectant
  - عوامل فعالة على السطح
  - عوامل خاصّة بمنظومة إيتاء الدواء delivery system

المواد الحافظة Preservatives

- أحد التحديات التي تواجه البروتينات في المحلول هو تلوثه بالأحياء الدقيقة. الأمر الذي ينطبق أيضاً على البروتينات المجفّدة بعد حلّها وحفظها لمدة أسابيع بعد ذلك.
- من المواد الحافظة الشائع استخدامها في محاليل البروتينات
  - Sodium bisulfite –
  - Thimerosal –
  - Benzyl alcohol –

الثباتية: الوقاءات Buffers واختيار درجة الباهاء

- إضافةً إلى دورها في ضبط الباهاء، يمكن للوقاءات أن تؤثر في انحلالية البروتين
- يفضّل استخدام وقاء ذو باهاء بعيدة عن نقطة تساوي التكهرب PI للبروتين
- يمكن أن يحدث تخرب البروتين عند pH معيّنة (مثلاً: إزالة الأمين deamidation والتي يمكن أن تحصل عند pH حمضية والأكسدة oxidation التي تحصل عادةً في pH قلوية)
- يمكن لدرجات الباهاء الحديّة pH أن تخرّش منطقة الحقن
- من أهم الوقاءات المستخدمة للببتيدات والبروتينات:
  - الفوسفات phosphate (pH 6.2 to 8.2)
  - الأسيتات acetate (pH 3.8 to 5.8)
  - السيترات citrate (pH 2.1 to 6.2)
  - السوكسينات succinate (pH 3.2 to 6.6)
  - تريإيتانول أمين triethanolamine (pH 7.0 to 9.0)
  - وقاءات الحموض الأمينية (الهستيدين، الغليسين، الأرجنين)

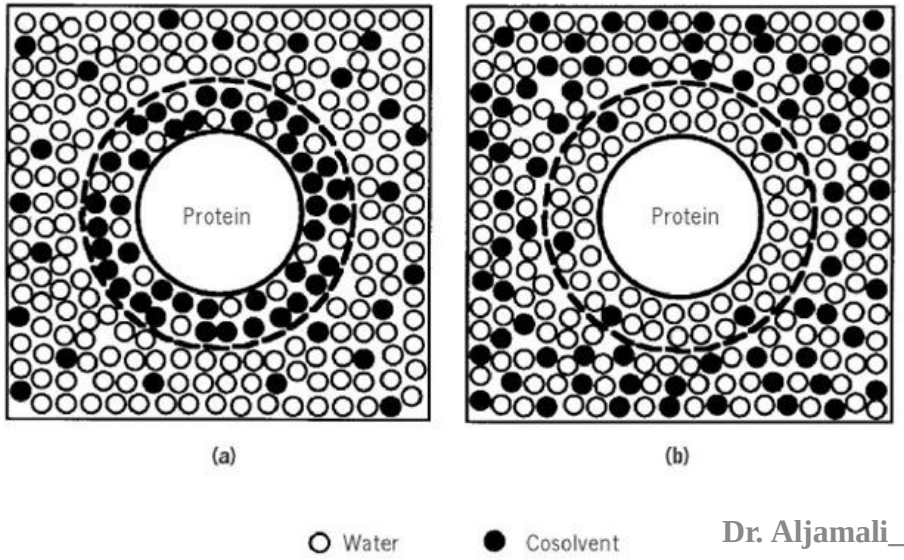
انحلالية البروتين Solubility

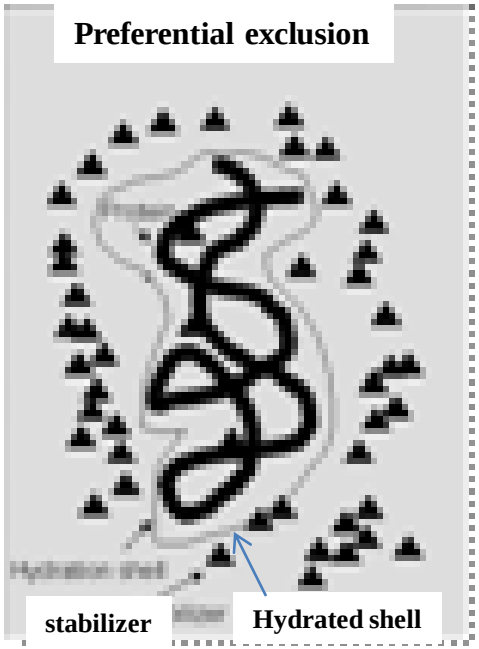
- تعدّ انحلالية البروتين من أشدّ التحديات التي تواجه صياغة الشكل الصيدلاني وأهمها بسبب أن التمسّخ الفيزيائي والتكدّس يسببان فقداناً في الانحلالية وربما فعالية البروتين.
- تعرّف انحلالية البروتين بأنها المقدار الأعظمي للبروتين الذي يمكن حلّه في ظروف معيّنة، وبحيث يكون المحلول رائقاً ولا يشكّل فيه البروتين هلامة أو راسباً.
- تكون انحلالية البروتين في حدّها الأدنى قرب نقطة PI له. كما تخفض المحلات العضوية من انحلالية البروتين.
- بشكل عام، تكون البروتينات ذات البنية الحلزونية helix-structure أكثر انحلالية من البروتينات ذات البنية الصفائحية b-sheet، كما تؤدي غلكزة البروتين إلى زيادة انحلاليته أيضاً.
- كثيراً ما يستخدم الترسيب بـ polyethylene glycol (PEG) 8000 لقياس انحلالية البروتين، حيث أن العلاقة بين انحلالية البروتين ومستويات PEG 8000 هي خطّية linear. يتم "استبعاد" جزيئات الـ PEG من سطح البروتين، بحيث يكون البروتين مركّزاً في حجم صغير ويترسّب عند تجاوزه لانحلاليته. وتسمّى هذه الآلية بالاستبعاد التفضيلي preferential exclusion.

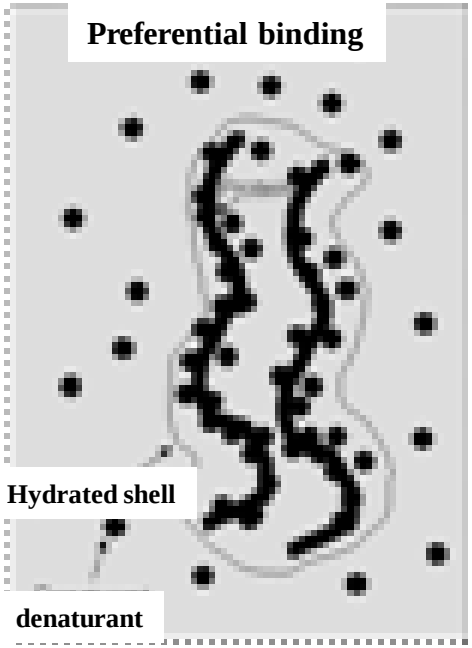
الاستبعاد التفضيلي Preferential Exclusion

- تتنافس جزيئات المواد المضافة عادة مع الماء للارتباط مع البروتين، لذلك يوصف الاستبعاد التفضيلي من البروتين (للمادة المضافة) أحيانا بالإماهة التفضيلية preferential hydration للبروتين، بحيث يكون تركيز المادة المضافة أقل في البيئة المحيطة بالبروتين من باقي أجزاء المحلول!
- هنالك آليتان يمكن أن توضح أياً منهما استبعاد المادة المضافة (أو السواغ excipient)

1. يمكن للاستبعاد أن يحدث فراغياً (بسبب الإعاقة الفراغية لجزيئات السواغ) حيث تأخذ جزيئات السواغ حجماً أكبر من جزيئات الماء حول البروتين فتحلّ مكانها جزيئات الماء ويجري استبعاد السواغ إلى أجزاء المحلول الأخرى.
2. يمكن للمادة المنحلّة (المادّة المثبّتة stabilizing agent في السواغ) أن ترتبط بالماء بشكل أفضل من ارتباطها بمواد منحلّة أخرى أو من ارتباط جزيئات الماء مع بعضها البعض.







يمكن أن يسهم الاستبعاد التفضيلي للمادة المثبّتة في السواغ في تثبيت الشكل المطوي (الفعال) والمنحل للبروتين

- يؤدّي استبعاد مادّة السواغ من سطح البروتين إلى خلق حالة غير مفضّلة ثرموديناميكياً بسبب أن الطاقة الحرة لكل من البروتين والسواغ تزداد، ويكون استبعاد السواغ من الشكل غير المطوي unfolded أكبر منه في الشكل المطوي folded بسبب زيادة سطح الشكل غير المطوي، مؤدّياً إلى زيادة عدم الثباتية الثرموديناميكية للشكل غير المطوي للبروتين. ونتيجة لذلك، يتم تثبيت الشكل المطوي للبروتين.
- وهكّذا، فإن تثبيت الشكل الفعال للبروتين (نتيجة استخدام السواغ المثبّت) ينتج عن عدم ثباتية الشكل غير المطوي للبروتين
- يمكن لمواد معيّنة (مثل اليوريا urea) أن ترتبط تفضيلياً preferential binding مع جزيئات البروتين، ويكون ذلك غالباً لجزيئات البروتين غير المطوي unfolded وبالتالي تزيد من تمسّخ البروتينات وتستخدم كمادّة ممسّخة denaturing agent ومرسّبة للبروتينات

بعض المضافات الشائعة في محاليل البروتينات:
الألبومين والحموض الأمينية

- بسبب ثباتيته وانحلاليته المتميزتين، استخدم الألبومين بشكل شائع كمادة مضافة (سواغ) في محاليل البروتينات الدوائية.
- تستخدم تراكيز بين 0.1 و 1.0 % كمواد مثبّتة ولمنع ادمصاص الببتيدات والبروتينات الدوائية على السطوح المختلفة للعبوات.
- إن أحد مساوئ استخدام الألبومين كسواغ في المحاليل البروتينية هو تداخله في العديد من التقنيات التحليلية لقياس كمية البروتين. إضافةً إلى ضرورة تجنّب تلوّث المستحضر الدوائي بشوائب (أو مواد بيولوجية) يمكن أن تأتي من تحضير الألبومين (علماً أن الألبومين المأشوب توفر حديثاً)
- استخدمت بعض الحموض الأمينية لخفض الادمصاص، وتثبيط التكدّس، وتثبيت البروتينات تجاه التمسّخ بالحرارة.
- من أفضل الحموض الأمينية في زيادة انحلالية البروتين هي (Gly, Asp, Glu, Arg, Lys, His).
- ويمكن لهذه الحموض الأمينية تثبيت الشكل الفعال من البروتين بآلية الاستبعاد التفضيلي.

بعض المضافات الشائعة في محاليل البروتينات:

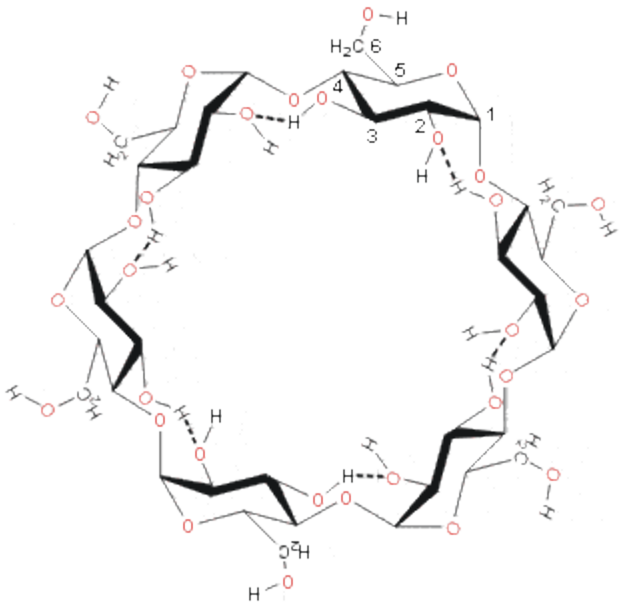
السكريات

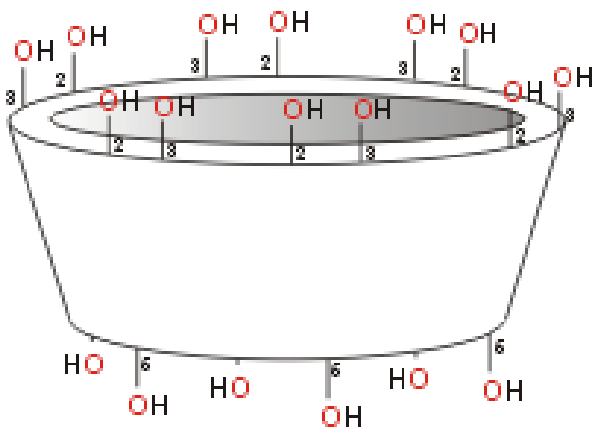
- يمكن استبعاد السكروز بشكل تفضيلي من سطوح البروتين نظراً للروابط القوية التي يبديها مع الماء والتي يزيد بها من قوى التوتر السطحي للماء. يفيد ذلك في تثبيت الشكل الفعال للبروتين.
- مع ذلك، يمكن أن يزيد السكروز من احتمال التلوث الجرثومي

المواد المستخلبة chelating والمرجعة reducing

- يمكن لبعض الشوارد الموجبة والسالبة أن ترتبط بالبروتين وتؤدّي إلى انخفاض في انحلاليته وثباته. تستخدم لأجل ذلك مواد مستخلبة مثل EDTA والتي أيضاً يمكن أن تخفض من عملية أكسدة البروتين بوجود بعض المعادن.
- تستخدم أحياناً مادة beta mercaptoethanol (بتراكيز محدّدة) لمنع تأكسد مجموعات السلفهيدريل في البروتينات (على ألّا ترجع الجسور ثنائية الكبريت والتي غالباً ما تتوضّع داخل البروتين)

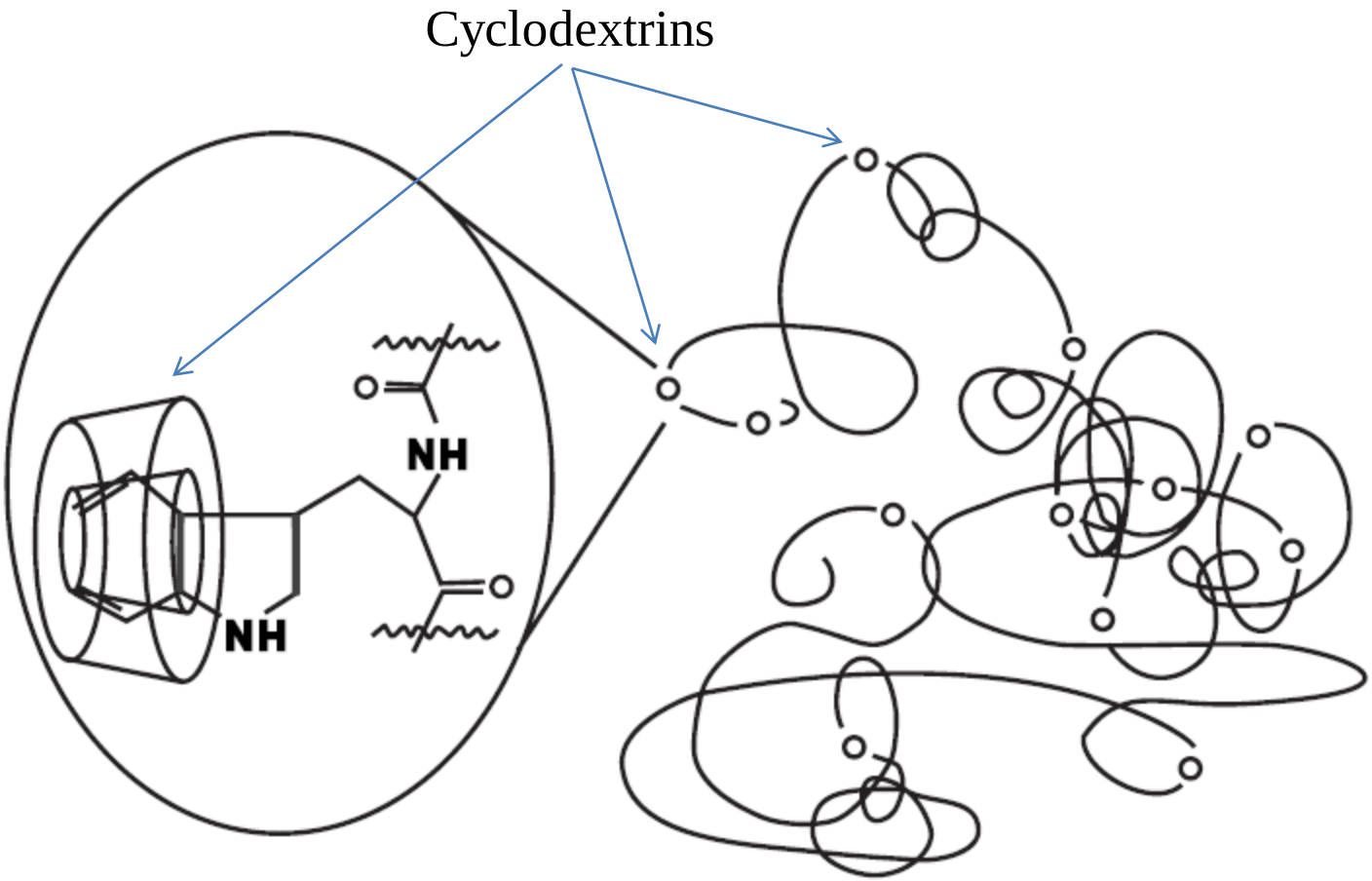
بعض المضافات الشائعة في محاليل البروتينات:
السيكلودكسترينات cyclodextrin





- السيكلودكسترنات هي سكريات تستخدم بشكل شائع في زيادة انحلالية وثباتية البروتينات في العبوات وخاصّة قبل إيتاء الدواء.
- يمكن أن تمنع السيكلوديكسترينات من تكدّس البروتينات، والذي ينجم عن تخرب طي البروتين إما نتيجة الادمصاص على السطح أو نتيجة رج الدواء قبل الاستعمال وما ينجم عنه من سطوح ماء–هواء air-water interfaces بحيث تنكشف الحوض الأمينية الكارهة للماء نحو طور الهواء وتؤدي إلى التكدس والتمسّخ.
- تتضمّن آلية الاستفادة من السيكلودكسترينات حجز أو انغراس inclusion الجزء المنكشف من البروتين ضمن الحلقة الفراغية لمركب السيكلودكستران، وبحيث يمنع ذلك تآثر أجزاء البروتين المنكشفة (الكارهة للماء) مع بعضها البعض وبالتالي تمنع تكدس البروتين.
  - يتم ذلك غالباً عبر انغراس المجموعات الوظيفية الجانبية للحموض الأمينية العطرية في حلقة السيكلودكستران.

آلية عمل السيكلودكسترينات



بعض المضافات الشائعة في محاليل البروتينات:

الكحولات عديدة الإماهة Polyhydric alcohols

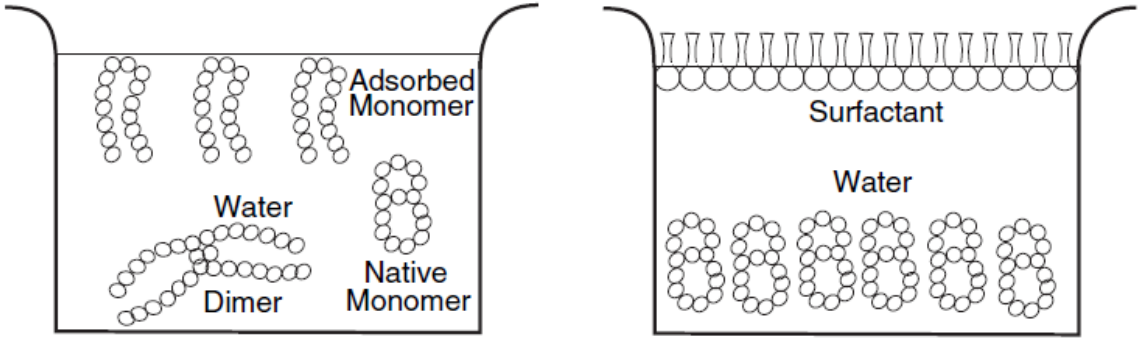
- وتتضمّن جزيئات مثل الغليسيرول والسوربيتول والمانيتول، وهذه الجزيئات على الرغم من إلفتها للارتباط مع المجموعات القطبية للبروتين إلا أن الاستبعاد التفضيلي لها هو السائد نتيجة روابطها القوية جداً مع جزيئات الماء
- يجب الانتباه إلى أن بعض هذه المواد يمكن أن يزيد احتمالية التلوث بالأحياء الدقيقة.

الأملاح Salts

- يتم استبعاد الأملاح من سطح البروتين– محل protein-solvent interface بسبب زيادة التوتر السطحي للبروتين المماه بالماء.
- وباستخدام تراكيز منخفضة من الأملاح، تكون البروتينات محاطةً بشوارد معاكسة لها بالشحنة وبالتالي تنقص من الطاقة الحرة الساكنة electrostatic free energy مما يؤدي إلى زيادة انحلالية البروتين.
- يتم استبعاد NaCl و Na_2SO_4 بشكل تفضيلي بينما يبدي $CaCl_2$ و $MgCl_2$ بعض الارتباط مع سطح البروتين.

العوامل الفعالة على السطح Surfactants

- يعدّ الـ Polysorbate 80 من أكثر العوامل الفعالة على السطح استخداماً في محاليل الأدوية البروتينية
- ويكون الهدف من استخدام تلك العوامل هو منع تآثر البروتين مع السطوح الهوائية التي تتشكّل خلال رج العبوات أو حل المسحوق البروتيني المجفّد، حيث تتجمع العوامل الفعالة على السطح عند تلك السطوح المتشكلة وتمنع إزالة طي البروتين وتكدسه وترسبه.
- من جهة أخرى، يمكن للعامل الفعال على السطح أن يرتبط مع البروتين ويخفض من تواجد المجموعات البروتينية الكارهة للماء والتي تتسبب عادة في تكدّس البروتين نتيجة التآثرات بين جزيئات البروتين فيما بينها



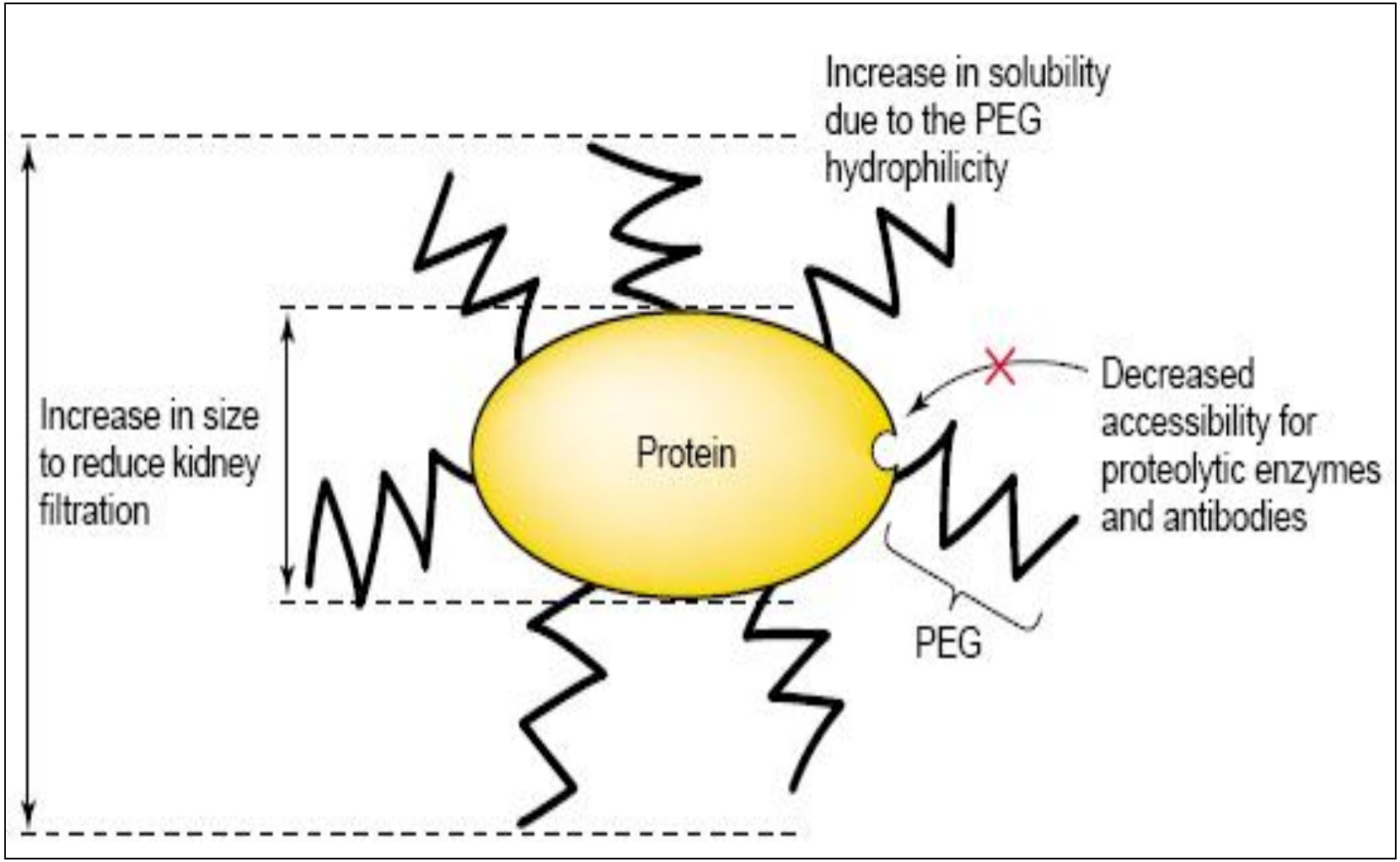
(a) (b)

الزجاج المستخدم في عبوة الدواء

- يجب استخدام زجاج رقيق من النمط الأول Type I glass فقط.
- كما يجب الانتباه إلى طبيعة المادة المطاطية المرنة التي تستخدم في إغلاق الفيالات بسبب أنواعها العديدة التي يمكن أن تضيف شوائب لمحاليل البروتينات قد تسبب ترسيب البروتينات أو تمسّخها على الأقل.
- يمكن استخدام سدادات مغطّاة بالتفلون

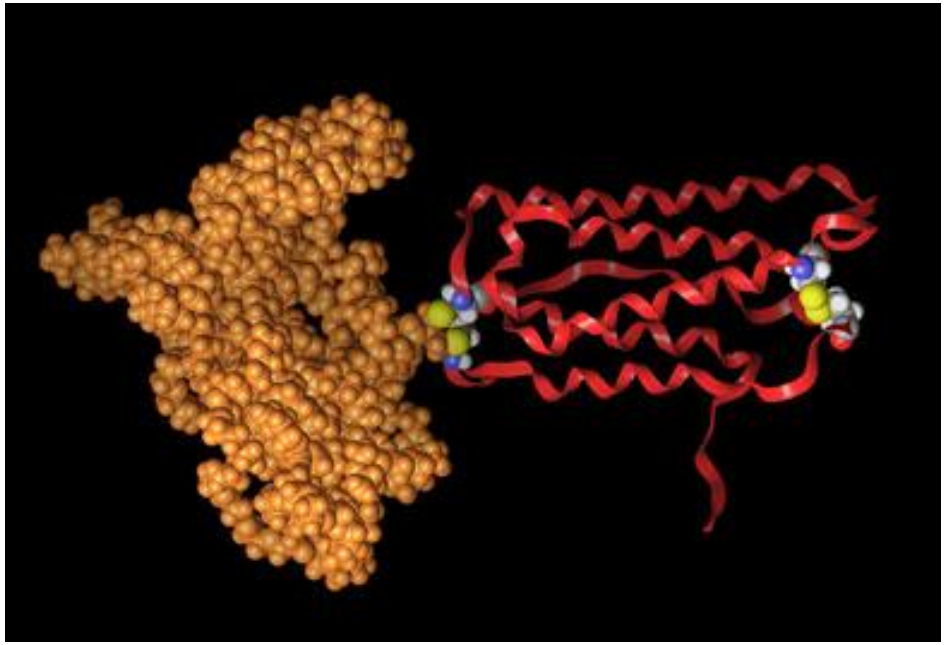
البولي إتيلين غليكول PEG

- يتم استبعاد PEG تفضيلياً من سطح البروتين بسبب حجمه الكبير نسبياً إلا أنه قد يسبب تمسّخ البروتين نظراً لخواصه الكارهة للماء وارتباطه ببعض البروتينات خاصّة عند درجات حرارة مرتفعة.
- مع ذلك، يمكن استخدام PEG كمانع لادمصاص البروتين على سطح العبوات الدوائية كما أن خواصه الكارهة للماء تضعف كثيراً في درجات حرارة منخفضة (صفر أو تحت الصفر) مما أدّى إلى استعماله كمثبّت للبروتين خلال التجميد نظراً لأن استبعاده في تلك الدرجات من سطح البروتين يكون أعظمياً.
- من جهة أخرى، يمكن ربط جزيئات PEG تساهمياً covalently (وهو ما يدعى بـ Pegylation) مع جزيئات البروتين ولذلك عدة تطبيقات من أهمها زيادة العمر النصفي للدواء البروتيني نتيجة خفض التصفية الكلوية أو منع الحلمهة بإنزيمات البروتياز نتيجة إعاقتها فراغياً

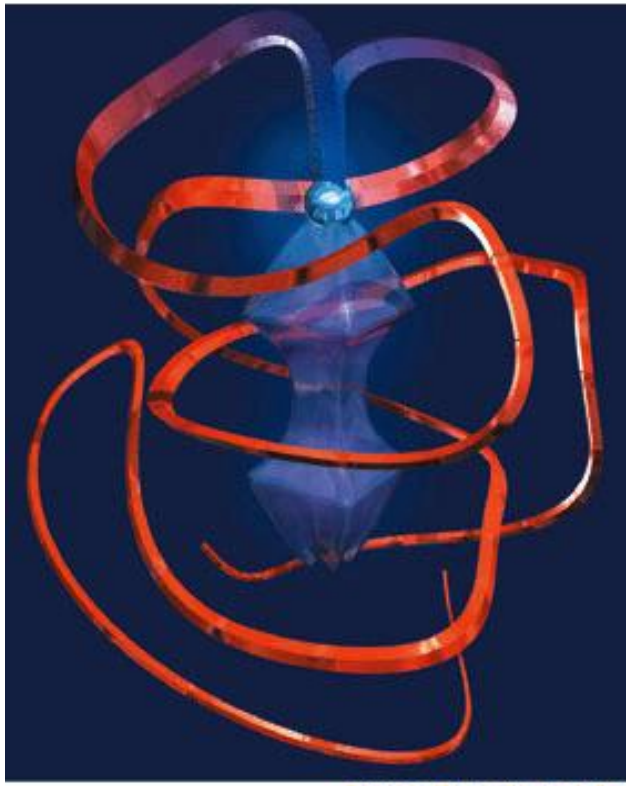

Increase in solubility due to the PEG hydrophilicity
Increase in size to reduce kidney filtration
Protein
Decreased accessibility for proteolytic enzymes and antibodies
PEG

PEGylation

- **Covalent attachment of PEG to another molecule such as protein.**



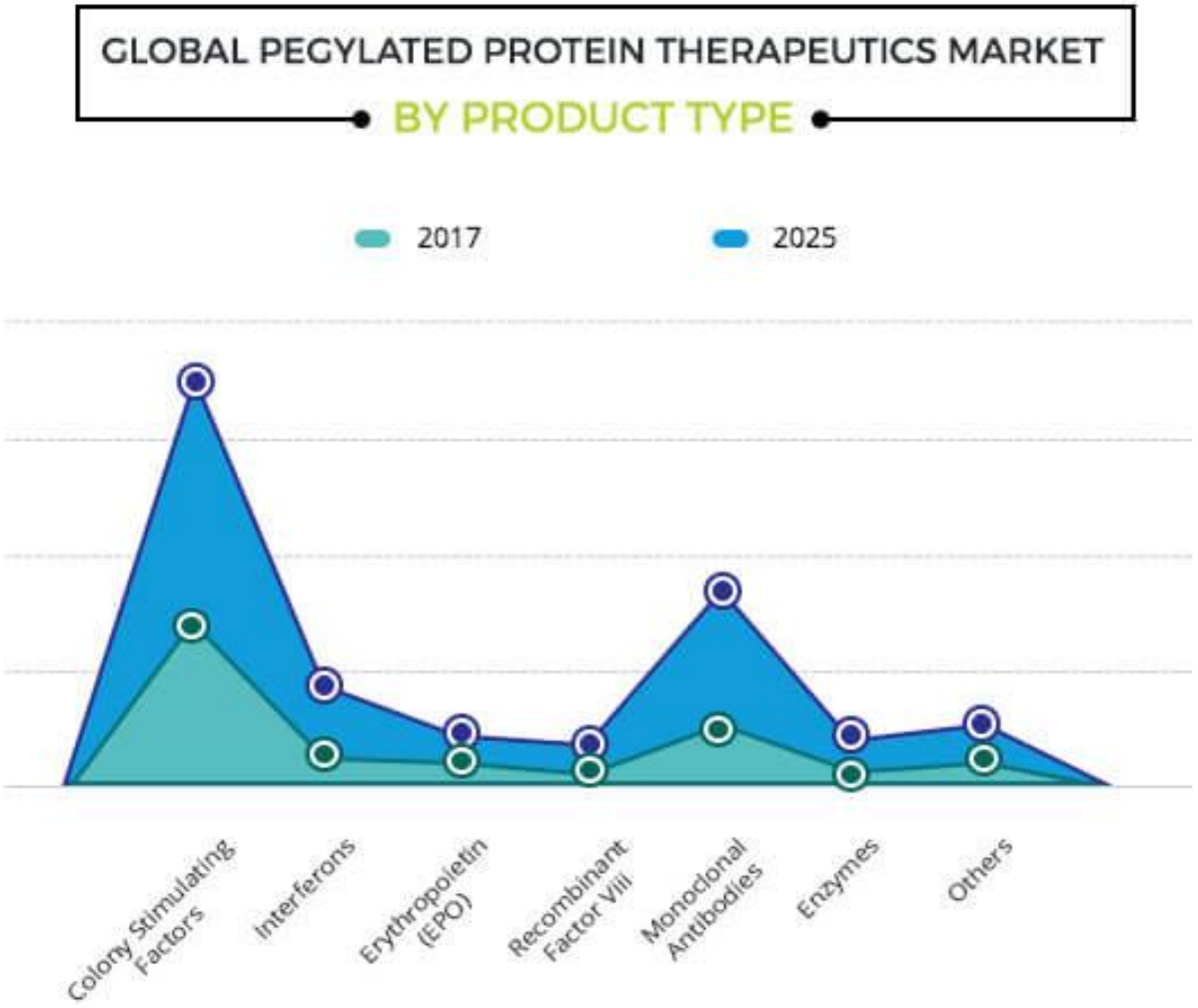
Interferon alfa is surrounded by a PEG chain.



Source: Hepatitis-care.de

PEGylated proteins in the market

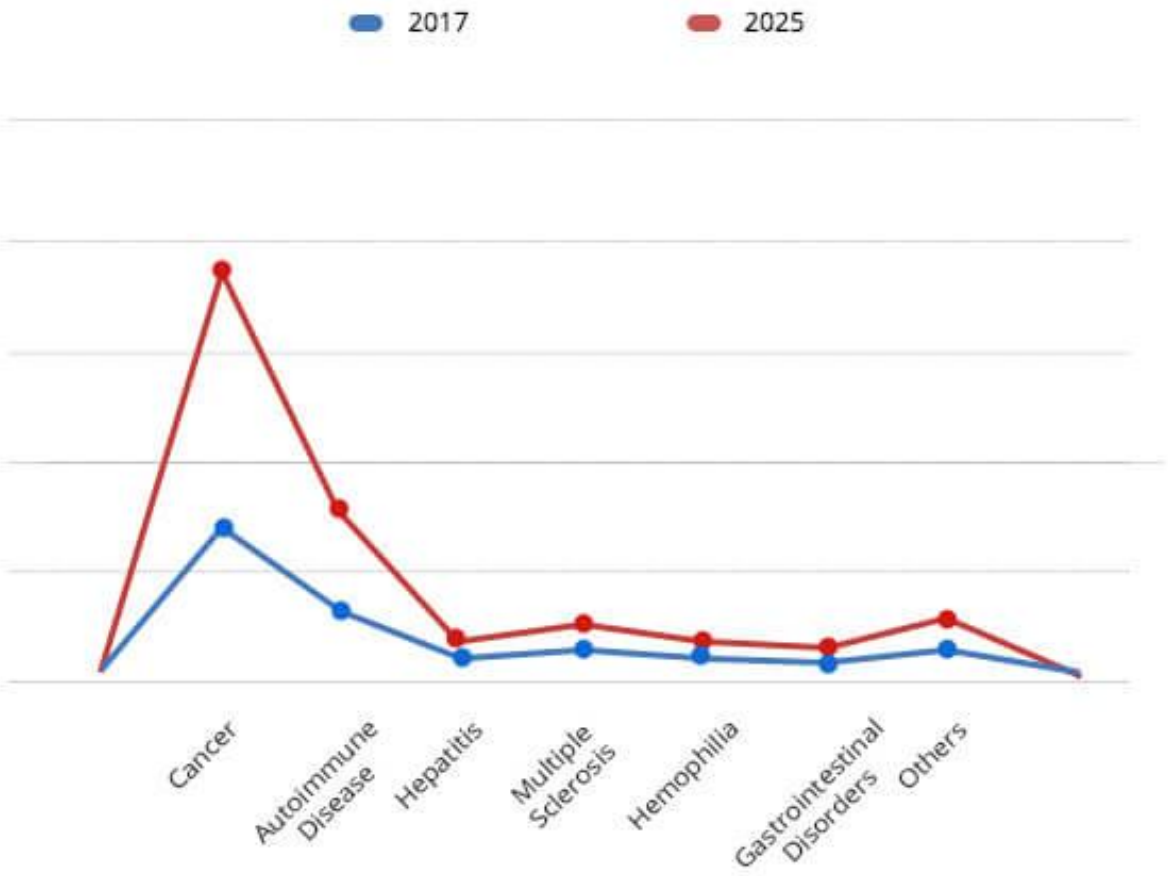
Brand Name	Drug name	Parent Drug	Indication	Approval Year
Adagen®	Pegadamase	Adenosine deaminase	Severe combined immunodeficiency disease (SCID)	1990
Oncaspar®	Pegaspargase	Asparaginase	Leukaemia	1994
PEG-INTRON®	Peginterferon-a2b	IFN-a2B	Hepatitis C	2000
PEGASYS®	Peginterferon-a2a	IFN-a2A	Hepatitis C	2001
Neulasta®	Pegfilgrastim	Granulocyte-colony stimulating factor (GCSF)	Neutropenia	2002
Somavert®	Pegvisomant	Growth Hormone antagonist	Acromegaly	2003
Macugen®	Pegaptanib	Anti-VEGFc aptamer	Age-related macular degeneration	2004
Mircera®	Epoetin beta-methoxy polyethylene glycol	Erythropoietin (EPO)	Anemia associate with Kidney disease	2007
Cimzia®	PEG-Certolizumab pegol	Anti-TNF Fab	Rheumatoid arthritis & Crohn's disease	2008



COLONY STIMULATING FACTOR segment holds a dominant position in 2017 and would continue to maintain the lead over the forecast period.

GLOBAL PEGYLATED PROTEIN THERAPEUTICS MARKET

BY APPLICATION



CANCER segment is projected as one of the most lucrative segments.

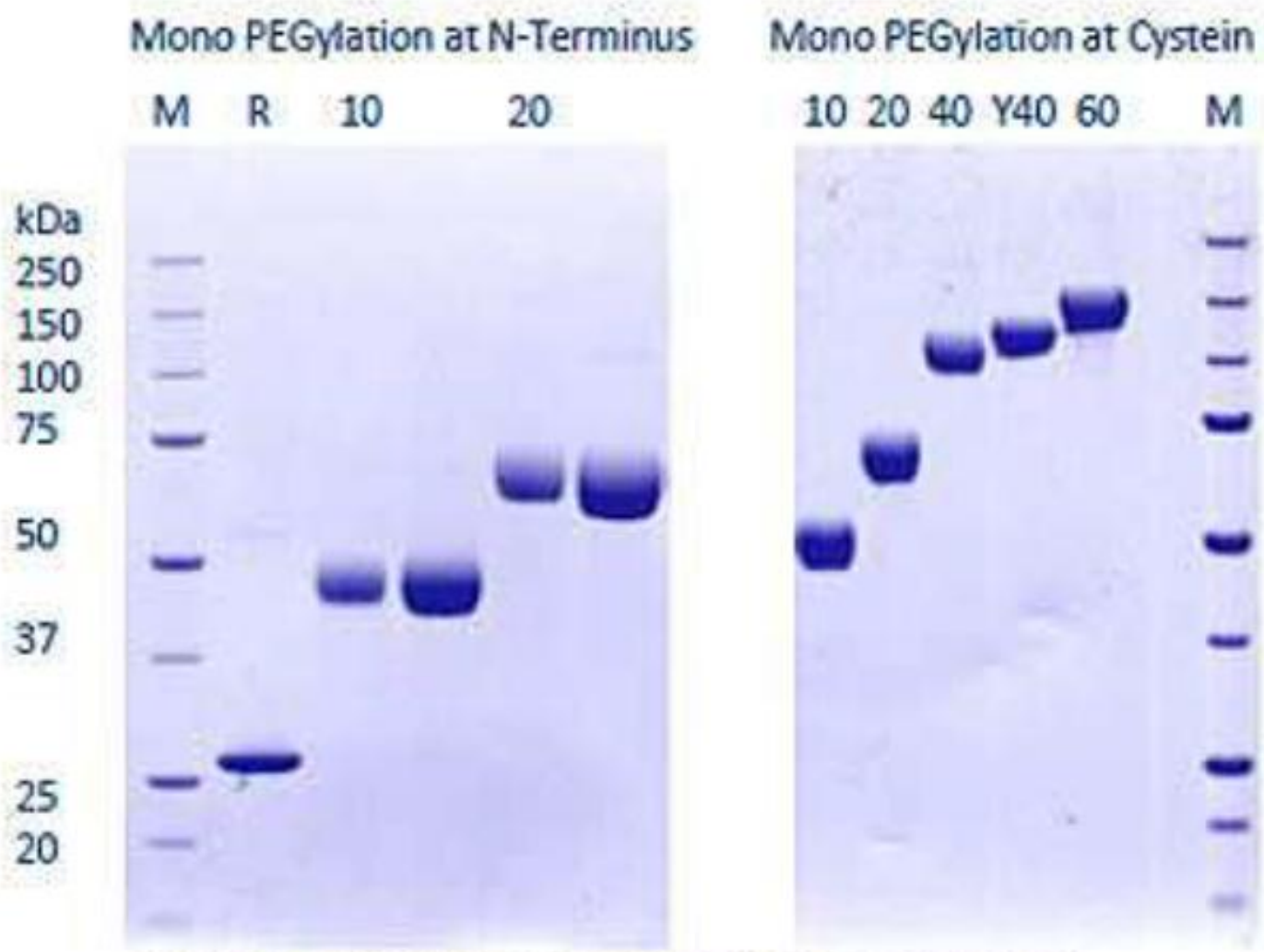


Figure 3: SDS-PAGE of Final PEG-drug conjugates
M = Marker; R= unmodified protein; Numbers indicate MW of PEG in kDa

SPECIAL TOPICS IN BIOPHARMACEUTICALS

STORAGE / LYOPHILIZATION

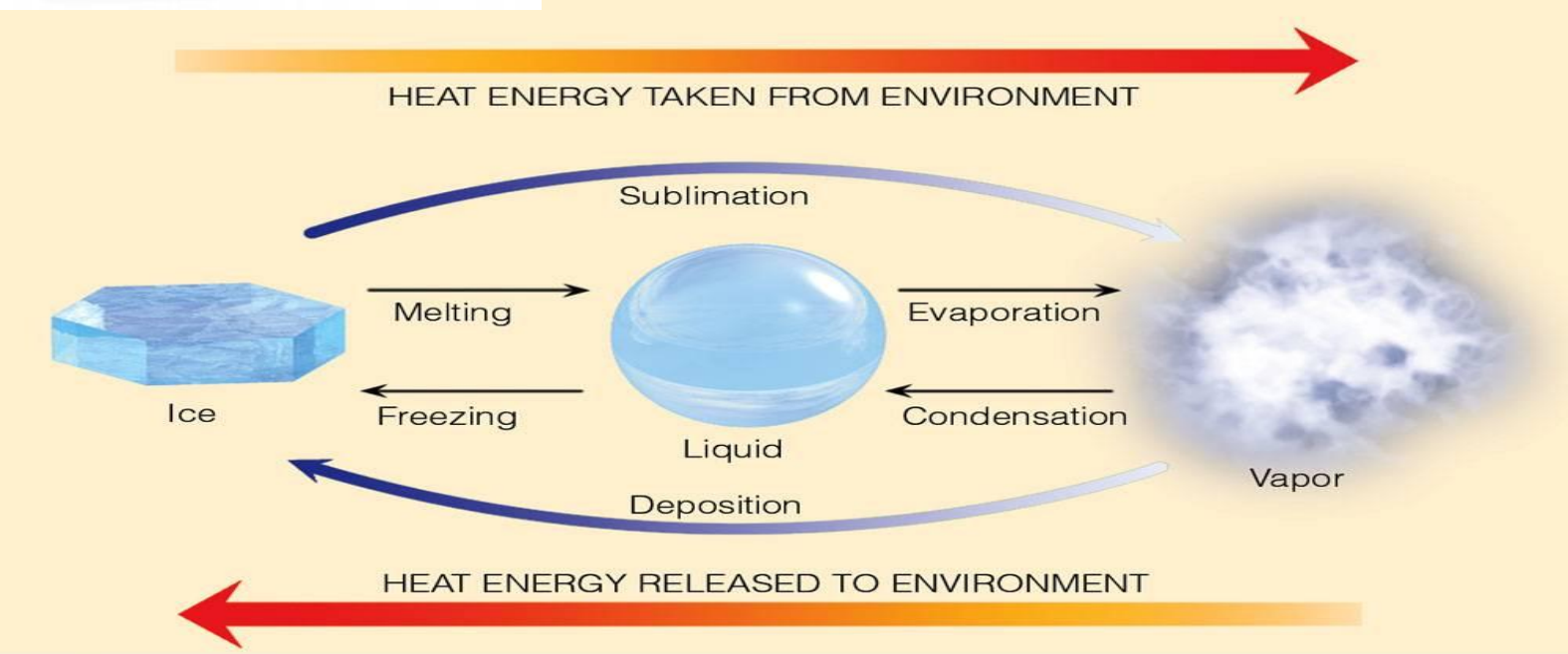
الحفظ Storage

تمكن صياغة الأشكال الصيدلانية للبروتين على شكل:

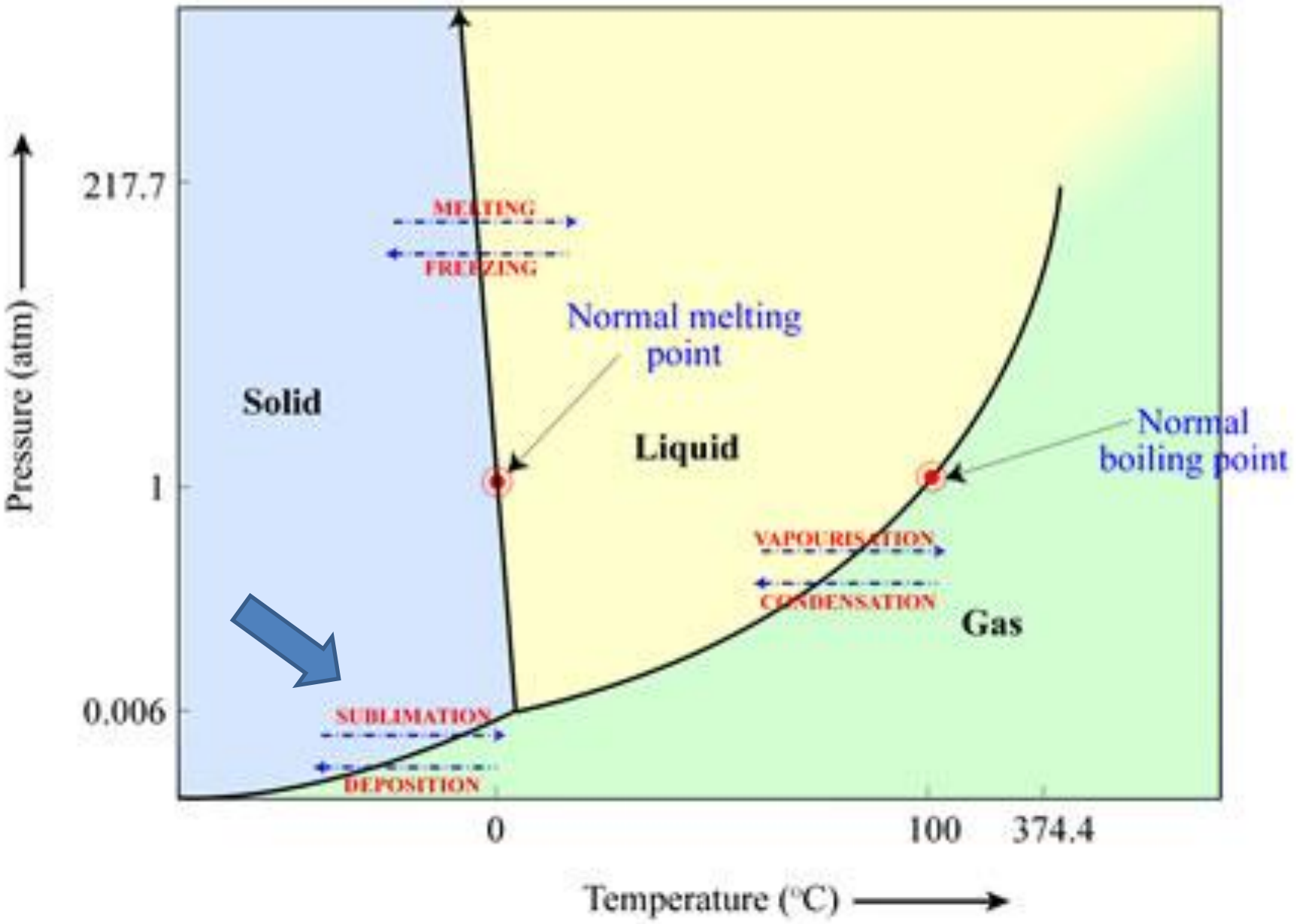
1. محاليل مائية aqueous solutions
    1. تعتمد ثباتية محاليل البروتينات على pH والقوة الشاردية ودرجة الحرارة والمثبّتات stabilizers المستخدمة
    2. يُستخدم زجاج رقيق وأملس (type I glass) لمنع الادمصاص.
    3. تستخدم أوعية محكمة الإغلاق air-tight container
    4. تستخدم أوعية عاتمة dark containers
2. أشكال مجفّدة lyophilized (freeze-dried) form
3. أشكال جافّة صلبة solid form (pills)

التجفيد Freeze-drying (lyophilization)

- يحرّض وجود الماء في محاليل البروتينات التخرب الكيميائي والفيزيائي، والذي ينقص من نصف عمر الدواء
- يزيل التجفيد الماء من خلال التصعّد وليس التبخّر



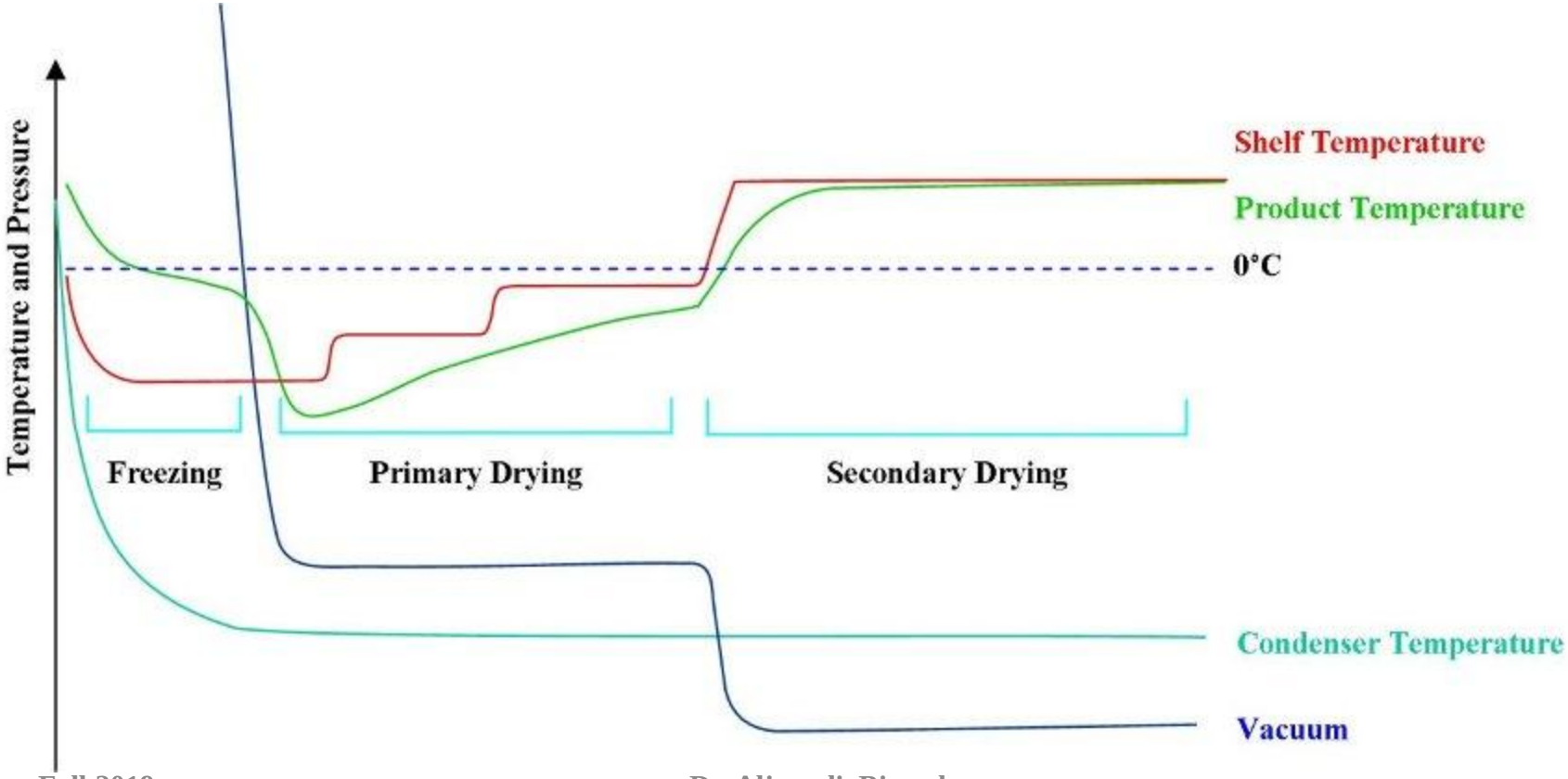
© 2007 Thomson Higher Education


Pressure (atm)
217.7
1
0.006
MELTING
FREEZING
Normal melting point
Solid
Liquid
Normal boiling point
VAPOURISATION
CONDENSATION
Gas
SUBLIMATION
DEPOSITION
0
100
374.4
Temperature (°C)

خطوات التجفيد

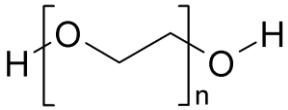
يتضمّن التجفيد ثلاث خطوات:

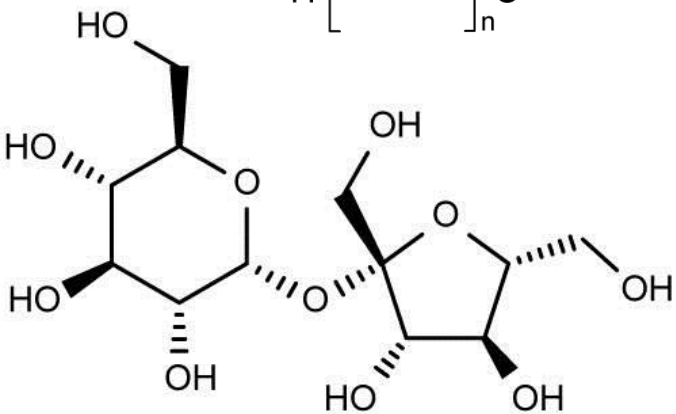
1. التجميد: تبلور جزيئات الماء (المرتبطة أو غير المرتبطة للبروتين أو السواغ)
2. التجفيف الأولي: إزالة الماء غير المرتبط بعملية التصعّد
3. التجفيف الثانوي: إزالة الماء المرتبط بالبروتين (أو بالسواغ) بعملية التصعّد



التجفيد

1. في غياب السواغ المناسب للتجفيد، يمكن أن يحصل تخرّب غير عكوس للبروتين
2. تمنع السواغات المستخدمة في التجفيد (والتي تدعى واقيات التجفيد lyoprotectants) التجفيف الزائد للبروتنيات خلال عملية التجفيد ومنها:
1. PEG: ويقوم بتغليف البروتين، غير أنه ليس مثبتاً جيداً
2. Sucrose: يجمّد جزيئات الماء حول البروتين (بالاستبعاد التفضيلي)، وهو أيضاً مادة حافظة بتراكيز أعلى من 60%.

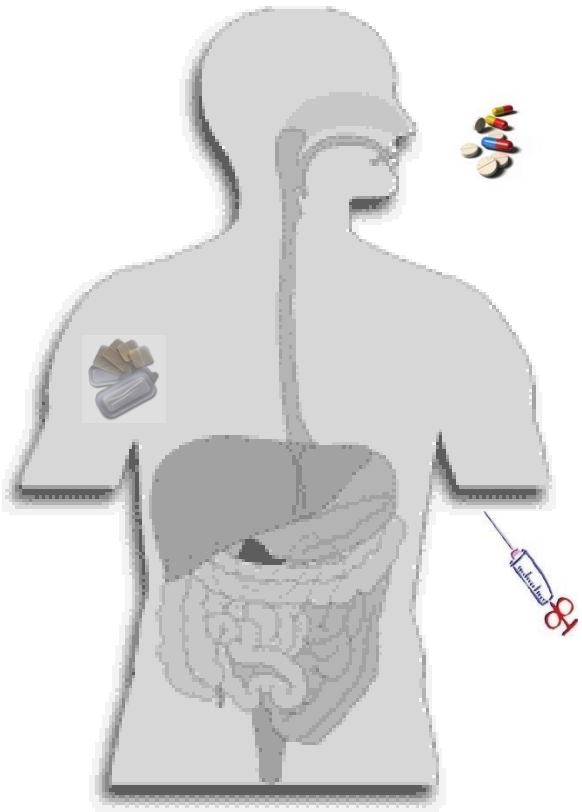




SPECIAL TOPICS IN BIOPHARMACEUTICALS

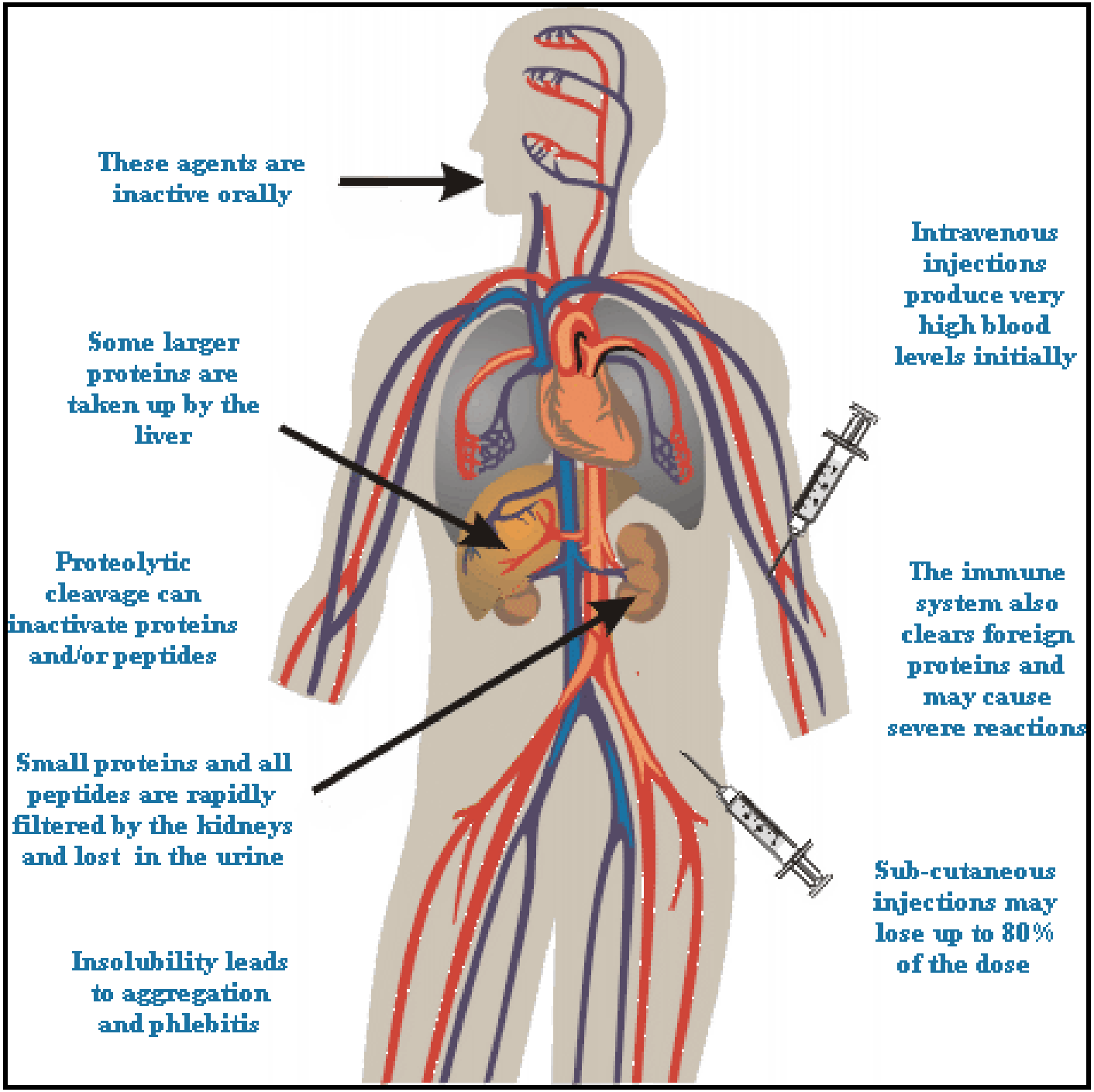
DELIVERY

طرق إيتاء البروتينات



1. الطريق الحشوي Parenteral Administration
2. الإعطاء الفموي Oral administration
3. الإعطاء الجلدي Transdermal
4. الاستنشاق Inhalation
5. طرق حديثة
   1. الليبوزومات Liposomes
   2. الكرات المكروية Microspheres والجسيمات النانوية Nanoparticles
   3. الكبسولات الحيوية Bio-capsules

بعض الحقائق حول إيتاء الدواء البروتيني



Protein administration

Oral		Parenteral		
Amylase & Mucosa	HCl & Proteases	Plasma Proteases	Albumin & Lipoproteins	Immune System
Deglyosylation, Adsorption & Denaturation	Denaturation & Degradation	Proteolysis	Adsorption & Clearance	Response

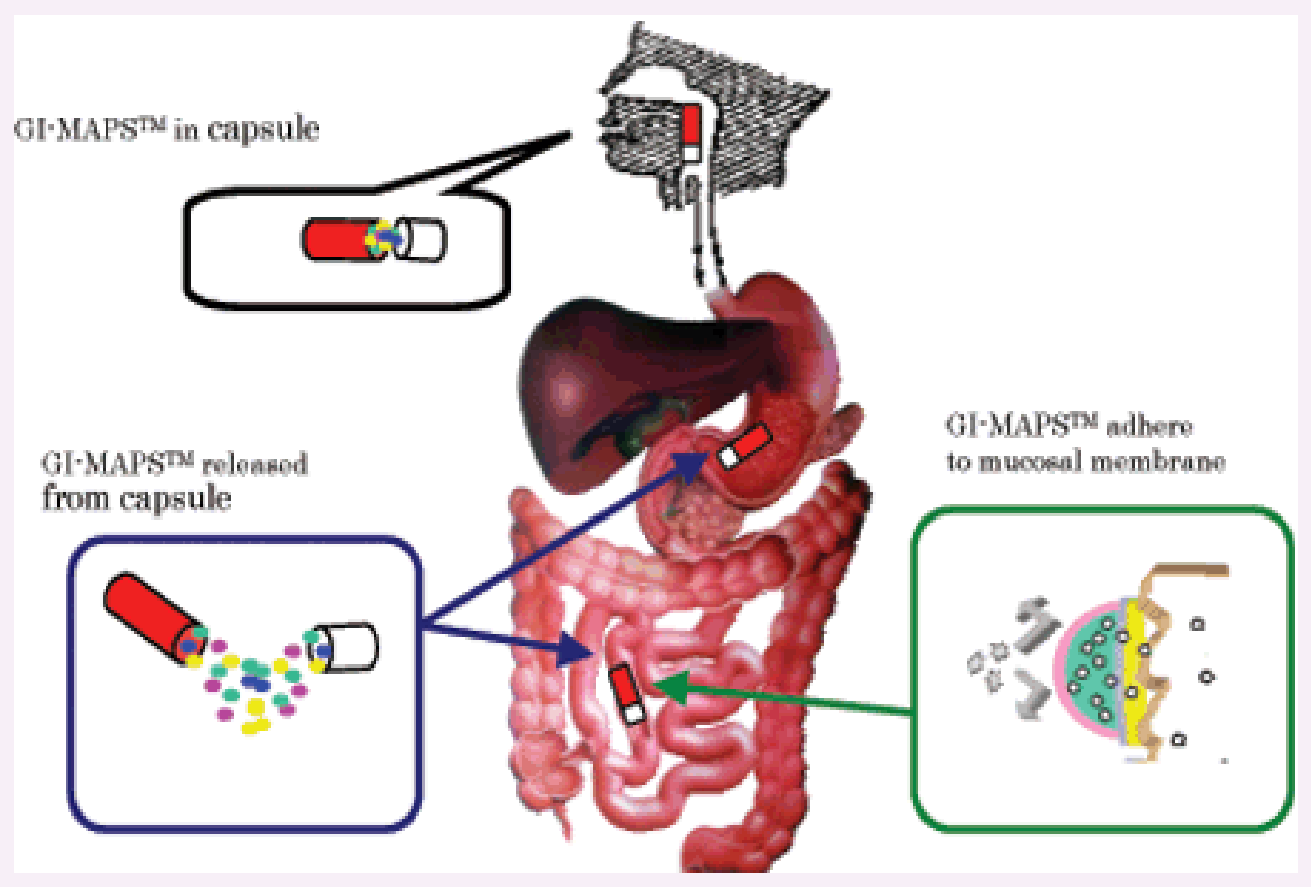
الإيتاء الحشوي
Parenteral Administration

1. يعدّ طريق الإيتاء لـ 95% من البروتينات الدوائية
2. يسمح بامتصاص سريع وكلّي
3. يسمح باستعمال جرعات صغيرة (من حيث حجم الجرعة الواحدة)
4. يتجنّب استقلاب المرور الأول first pass metabolism
5. يتجنّب المناطق التي عادةً تخرّب البروتين
6. لكن:
   1. هناك مشاكل مع الجرعات العالية: قد يحصل تموّت (نخر necrosis) لبعض الأنسجة
   2. يولّد أحيانا رد فعل نسيجي موضعي وتفاعلات فرط تحسسّ
   3. الطريق الحقني غير مرغوب

الإيتاء عن طريق الفم Oral Administration

- على الرغم من أن الطريق الفموي هو الأكثر رغبة بالنسبة للمرضى، إلا أن التحطم بالبروتيازات والاستقلاب الكبير بالمرور الأول وضعف الامتصاص بالأمعاء، جميعها عوامل تحدّ من استخدام هذا الطريق لإيتاء البروتينات.
- يبلغ التوافر الحيوي bioavailability لمعظم الببتيدات والبروتينات أقل من 1% عند إعطائها عن طريق الفم!
- مع ذلك، هنالك استثناءات مثل السيكلوسبورين، وهو ببتيد من 11 حمض أميني، حيث يبلغ التوافر الحيوية 50%
- وهنالك عدة وسائل لتحسين التوافر الحيوي للبروتينات المعطاة عن طريق الفم، منها:
  - الإيتاء النوعي في الموقع site-specific delivery
  - تعديلات كيميائية (ربط جزيئات تحسّن من امتصاص البروتينات وتمنع تخرّبها)
  - منظومات إيتاء حيوية ملتصقة bioadhesive delivery system مثل mucoadhesive polymer system (MAPS)
  - تحضير حلالات فموية Oral aerosols

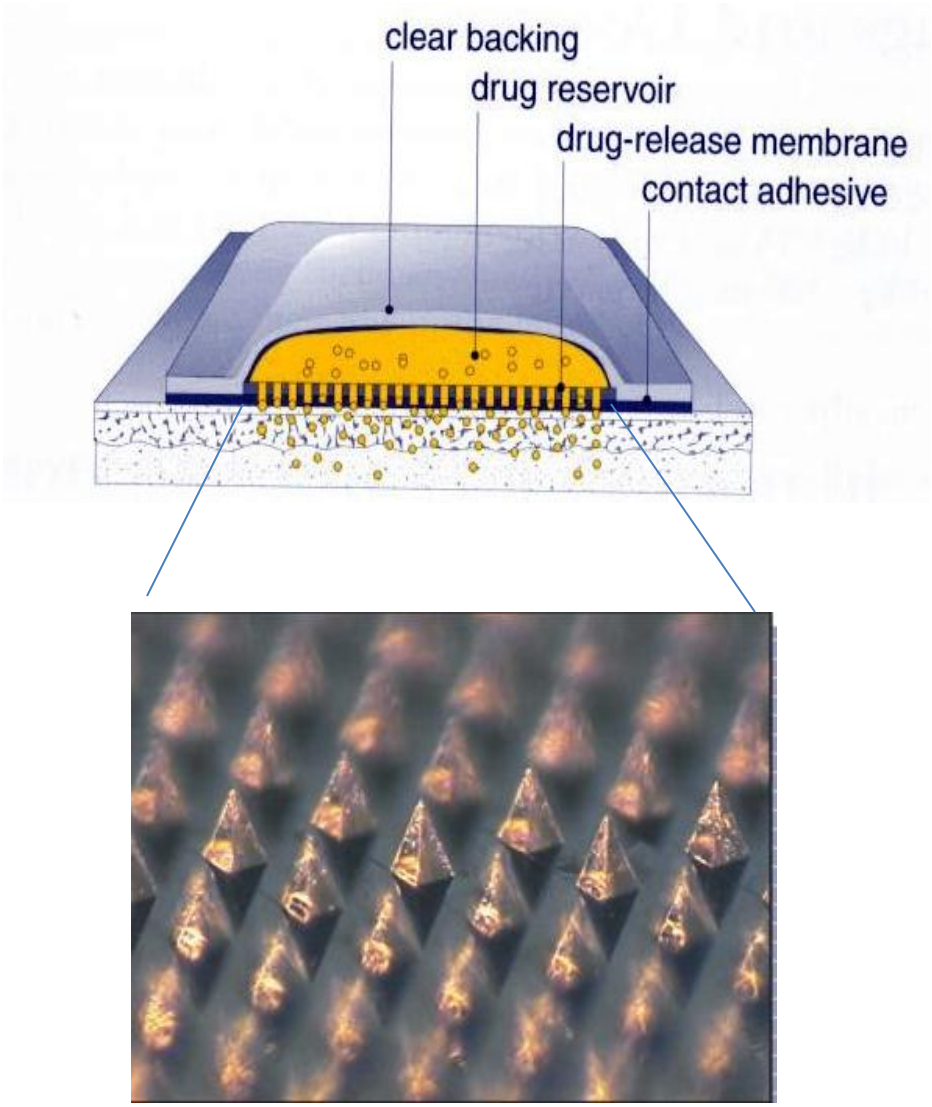
Oral (GI-MAPS®)


GI-MAPS™ in capsule
GI-MAPS™ released
from capsule
GI-MAPS™ adhere
to mucosal membrane

الإيتاء عن طريق الفم Oral Administration

- يمكن الإيتاء عن طريق تحضير الدواء في حلالات يتم امتصاص الدواء البروتيني منها عبر مخاطيات السبيل المعدي المعوي
- مثال: الإنسولين الفموي Oralin (وهو في الواقع شِدقي buccal وليس فموي oral) من شركة Generex، وهو مصادق للتوزيع في الهند والإكوادور. يُمتص الإنسولين عبر طبقات رقيقة في الفم والحنجرة. ويحضّر الإنسولين الفموي بإضافة بعض المواد والمثبّتات التي تمنع تمسّخه خلال تحضير الحلالات

Transdermal Administration الإيتاء عبر الجلد



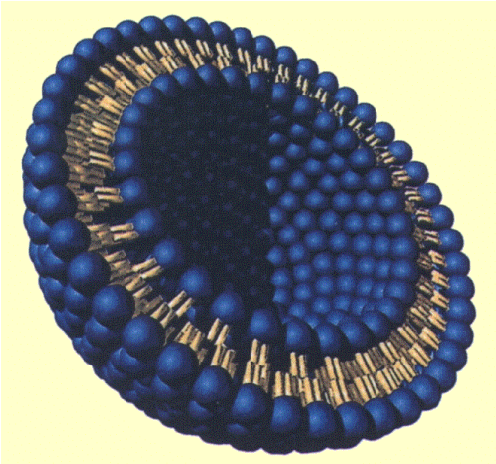
- تستخدم لذلك لصاقات جلدية transdermal patches بحيث تكون البروتينات متضمّنة داخل مطرس matrix (مخزن الدواء) مع بعض المضافات
- تغطّى اللصاقات بإبر صغيرة تخترق طبقة الجلد بحيث تنتشر البروتينات مباشرة إلى الدم عبر الأوعية الشعرية.
- وهذه الطريقة أقل ألماً من الحقن الوريدية

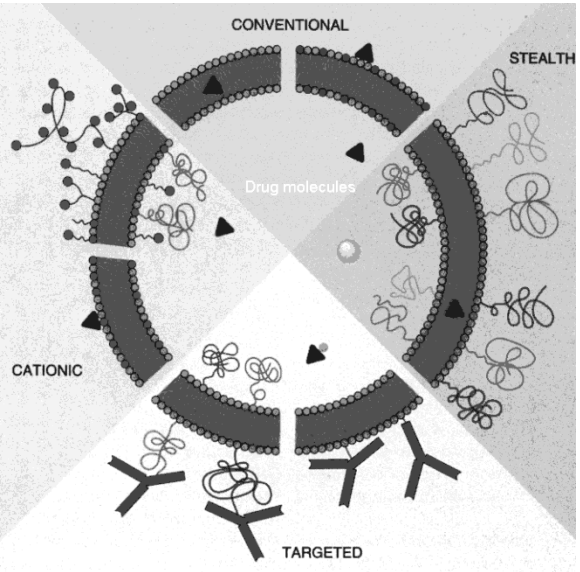
الإيتاء عبر الاستنشاق Inhalation

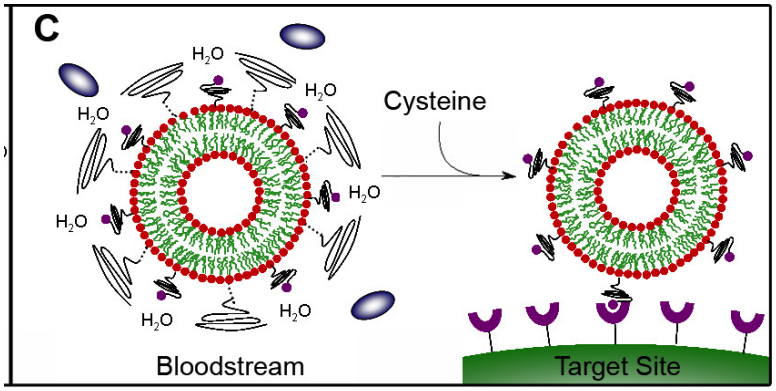
- مثال Exubera وهو إنسولين مستنشق inhaled insulin عبارة عن مسحوق جاف يمكن استنشاقه عبر الأنف وامتصاصه عبر المخاطية التنفسية.
- وقد حظي هذا المستحضر على رضى العديد من المرضى حيث أنه أدّى تأثيراً دوائياً مشابهاً لإنسولين الحقن.
- لكن ظهرت لدى حوالي خُمس المرضى أعراض سعال متوسطة، كما أن سعره الباهظ جداً مقارنة بالإنسولين سريع الفعالية short acting الحقني أدّى بالنهاية إلى سحب الدواء من السوق عام 2007 بصورة رئيسية بسبب ضعف المبيعات.

طرق أخرى: الليبوزومات Liposomes

- تحتوي الليبوزومات على طبقة (أو عدة طبقات) من ثنائيات الفوسفوليبيدات، وعلى لب محب للماء تتوزع فيه البروتينات.
- يبلغ قطرها من 80 إلى 100 نم.
- يمكنها أن تحتجز من قبل التوعية المسرّبة leaky-vasculature للخلايا السرطانية.
- يمكن أن تغطّى بجزيئات PEG لحمايتها من البلعمة من قبل البالعات الكبيرة.
- ويمكن أن تغطّى بأضداد (أو جزيئات موجّهة أخرى) في سبيل تطبيق المعالجات الموجّهة Targeted therapies.

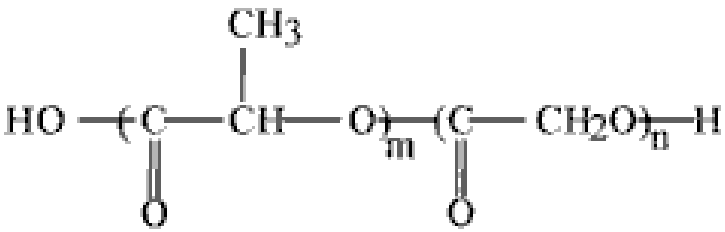




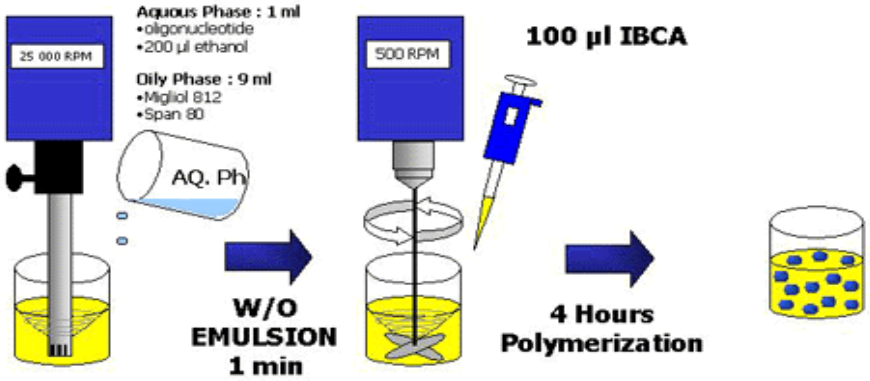


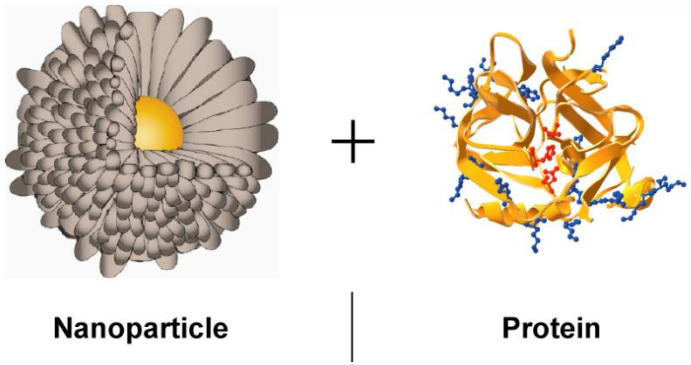
الكرات المِكرَوية Microspheres والجسيمات النانوية Nanoparticles

- تشبه هذه الجزيئات من حيث المبدأ الليبوزومات، حيث يتواجد البروتين في الطور الداخلي المحب للماء، إلا أنها تختلف عن الليبوزومات بأنها مغطاة ليس بطبقة من الفوسفوليبيدات بل بطبقة من متماثرات تتخرّب حيوياً biodegradable polymers لها أيضاً أقطاب محبة للماء وكارهة للماء، كما يمكن أن تكون الكرات ذات مسام نفوذة porous يتحرر منها البروتين بعد التقاط الكرات أو الجسيمات من قبل الخلايا المستهدَفة
- تختلف هذه الجزيئات بحسب أبعادها..

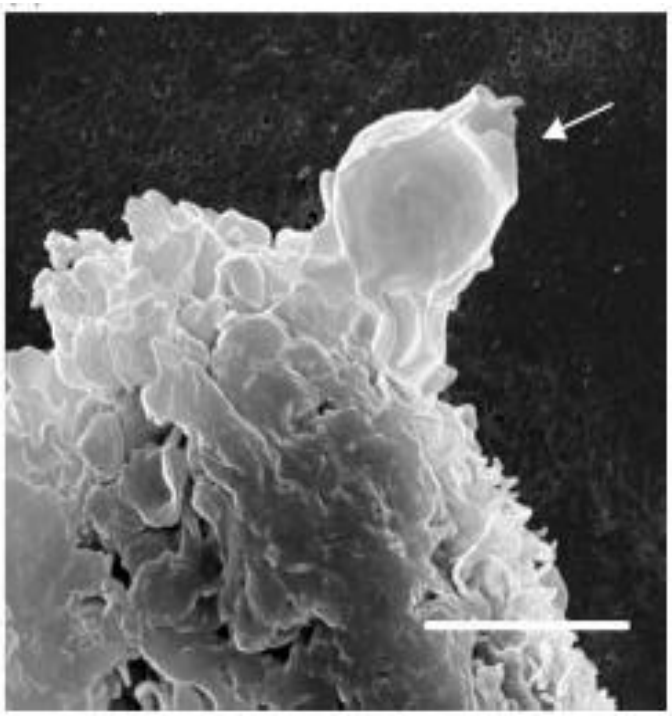


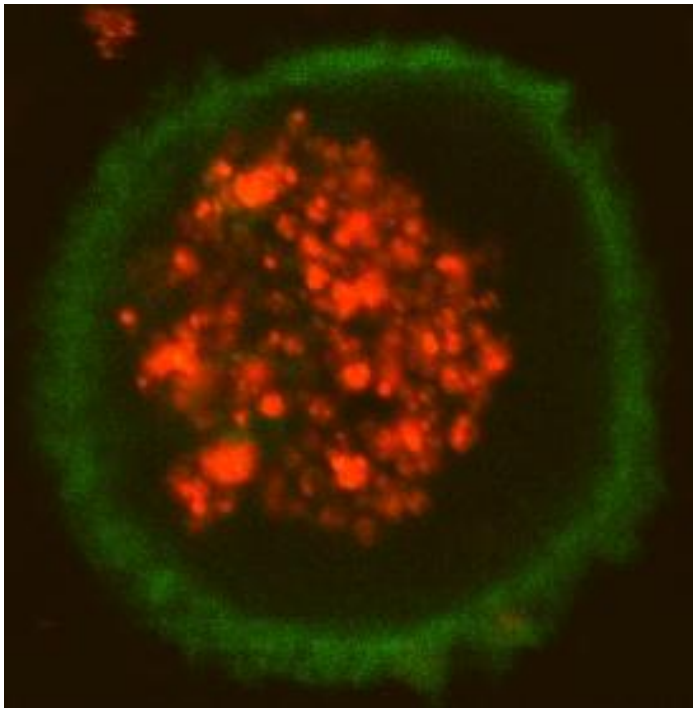
Chemical structure of PLGA polymer. The "m" component represents lactic acid and "n" component represents glycolic acid.



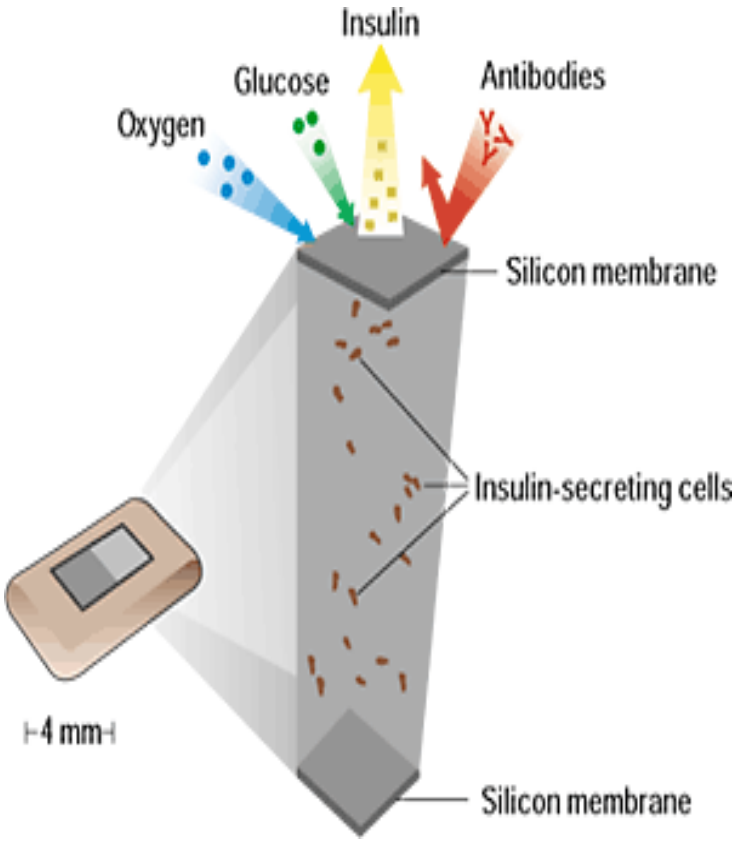
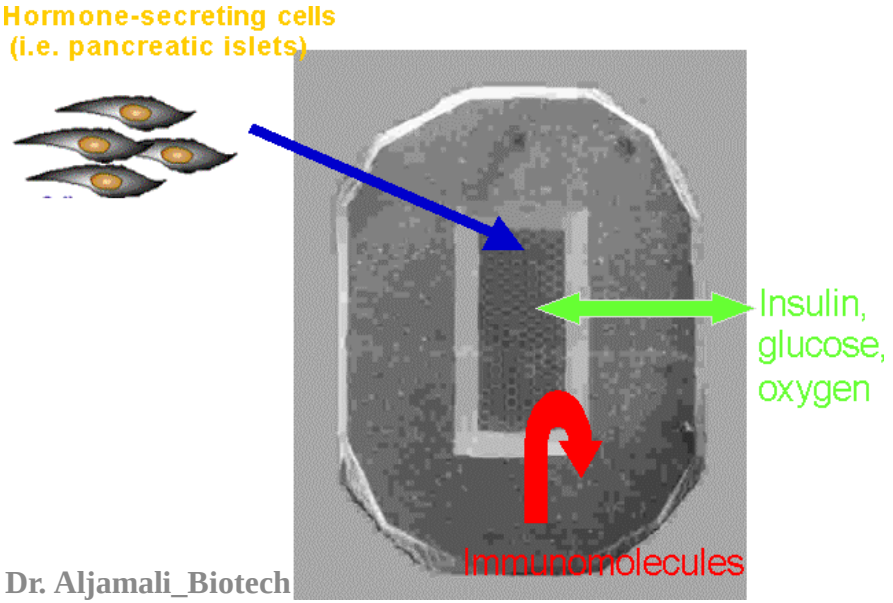


قبط uptake الجسيمات النانوية من قبل الخلايا المتغصّنة المناعية





الكبسولات الحيوية Biocapsules



- تضمّ الكبسولات الحيوية خلايا حية تنتج بروتيناً وتفرزه إلى الجسم. وتكون الخلايا محميّة من وصول الأضداد التي تستهدف الخلايا الغريبة عن الجسم.
- مثال عنها: الكبسولات المفرزة للإنسولين، وهي تحوي خلايا ورم عدّي منتجة للإنسولين insulinoma يصل إليها الغلوكوز بشكل حر من دم المريض ويحرّض بذلك إفراز الإنسولين في هذه الخلايا بحيث يتناسب مع كمية الغلوكوز الداخلة إلى الخلايا