جامعة الإسكندرية
ALEXANDRIA
UNIVERSITY

Faculty of Pharmacy
Department of Pharmaceutics

Formulation and Optimization of some selected nano-sized drug delivery systems targeting brain disorders

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy

In

Pharmaceutical Sciences (Pharmaceutics)

Presented by

HussamElDin Youssry Mahmoud Mohamed Hussein Abokalila

B. Sc. Pharmaceutical sciences, Faculty of Pharmacy, University of Alexandria, 2008

M. Sc. Pharmaceutical sciences (Pharmaceutics), Faculty of Pharmacy, University of Alexandria, 2016

2022

P.U.A. Library
Central Medical Library (8)
Faculty of :
Serial No 801
Classification : 615

- كان الهدف من دمج حمض الهيالورونيك في تركيبة الأجسام المرنة زيادة لزوجة النظام ليناسب الاستخدام من الأنف إلى الدماغ دون تقطر من أنف الفئران إلى جانب الحفاظ على معدل إنطلاق الدايدزين الذي يمكن أن يحسن امتثال المريض وتقليل تكرار الجرعات.
- تم استخدام اللاكتوفيرين لتغليف فليكسيزومات الهيالوران المحملة بالدايدزين بهدف التفاعل مع مستقبلات الترانسفيرين الموجودة على الخلايا البطانية للحاجز الدموي الدماغي.
- تم إجراء دراسة معدل انطلاق الدواء لجميع تركيبات الدايدزين حيث وجد أن فليكسيزومات الهيالوران المغطاه باللاكتوفيرين أظهرت أقل معدل انطلاق للعقار مقارنةً بفليكسيزومات الهيالوران الغير مغطاه ومثيلتها الخالية من حمض الهيالورونيك.

الفصل الثاني: صياغة وتقويم فليكسيزومات الهيالوران المحملة بعقاري الايماتنيب والدايدزين و معدلة السطح باللاكتوفيرين كعلاج جديد لمرض باركنسون

تم ادراج عقار الايماتنيب في هذا الفصل بسبب آلية عمل مختلفة وهي تثبيط انزيمات التيروزين كيناز التي يمكن أن يكون لها دور مفيد في تقليل الإجهاد التأكسدي الناجم عن خلل الميتوكوندريا. بالإضافة إلي ذلك، فإن الجمع بين عقاري الدايدزين مع نصف كمية الايماتنيب في صيغة واحدة يعد اقتراحًا آخر في محاولة للاستفادة من كلا العقارين وتقليل الآثار الجانبية لعقار الايماتنيب.

تم صياغة فليكسيزومات الإيماتينيب ، و فليكسيزومات هيالوران محملة بالايماتنيب واخري باسطح مغطاه باللاكتوفيرين وفقًا للشروط المُحسَّنة للفصل الاول.

يستدل من نتائج هذا الفصل ما يلي:

- اشتمل التحميل التلقائي للإيماتنيب على العديد من التقنيات التي تختلف في استخدام وسائط ترطيب واحدة أو أكثر وتغيير حامضية الوسط من درجة حموضة 7.4 إلى 5 وتغيير طبيعة وسط الترطيب. أسفرت بعض تقنيات التحميل التلقائية عن نسبة عالية من انحباس العقار ، بينما تسببت تقنيات أخرى في انخفاض نسبة انحباس العقار إلي حوالي 30٪.
- تضمن طريقة التحميل النشط للعقار استخدام طريقة التدرج الأس الهيدروجيني عبر الغشاء باستخدام كبريتات الأمونيوم في ترطيب طبقة رقيقة من الدهون بهدف تحميض قلب حويصلات فليكسيزومات لتحويل الإيماتينيب إلى شكله المتأين لمنع انتشاره خارج النظام. أظهرت تقنية التحميل النشط نتائج إيجابية فيما يتعلق بحجم الحبيبات وإمكانات زيتا وكفاءة النسبة المئوية للاحتباس وكذلك معدل إطلاق الدواء في المختبر.

- تم إجراء تغطية لفليكسيزومات الايماتينيب و فليكسيزومات هيالوران المحملة بعقاري الدايدزين والايماتنيب وأظهرت النتائج أن غطاء اللاكتوفيرين كان كافيا كما ظهر في صور المجهر العالي الدقة بالإضافة الي تغيير شحنة السطح من سالب الي موجب. كما أظهرت نتائج اختبار الثبات عدم تغير في الخصائص الفيزيوكيميائية لفليكسيزومات هيالوران المغطاه بالاكتوفيرين عند تخزينها لمدة 6 اشهر عند درجة حرارة 4

الجزء الثاني: الفعالية المحتملة للتكوين النانومتري المُحسَّن والمحمل بعقاري الايماتنيب والدايدزين عن طريق الأنف في نموذج لمرض باركنسون بالجرذان

يهدف هذا الجزء إلى إحداث مرض باركنسون في الفئران من خلال حقن عقار الهالوبريدول ثم علاج بعض مجموعات الجرذان باستخدام دايدزين ، إيماتينيب ومزيج من مادة دايدزين / إيماتينيب المغطاه باللاكتوفيرين من خلال الأنف ثم تقييم الفعالية المحتملة للفليكسيزومات الثلاثة من خلال إجراء اختبارين سلوكيين ؛ يهدف اختبار متاهة "واي" إلى تقييم درجة التحسن في الذاكرة قصيرة المدى عند إعطاء الصيغ المرنة الثلاثة سواء كان العلاج الأحادي أو العلاج المركب. تم تطبيق اختبار روتارود أيضًا لتقييم التحسن الحركي للجرذان بعد العلاج ودرجة الاحتفاظ على قضيب الروتارود.

بالإضافة إلي الاختبارات السلوكية، فقد تم قياس مستويات ألفا سينوكلين في الدم ومستويات مادة الدوبامين والجلوتاثيون والمالونديلدهايد في المخ لتأكيد مستوياتها المصححة بشكل ملحوظ عند العلاج. كما تم إجراء دراسات نسيجية لتقييم خصائص سلامة الدايدزين والإيماتنيب على المخ والقلب والكبد للجرذان المعالجة مقارنة بالمجموعات الغير المعالجة.

يستدل من نتائج هذا الجزء ما يلي:

- أظهرت المجموعات التي عولجت بالفليكسيزومات الثلاثة تحسنًا ملحوظًا في نتائج الاختبارات السلوكية. في اختبار متاهة "واي" ، كما أظهرت جميع المجموعات المعالجة خاصةً المجموعة التي عولجت باستخدام عقاري دايدزين وايماتنيب معا زيادة في عدد إدخالات الذراع ونسبة التناوب التلقائي ، مما قد يعكس تحسنًا في الذاكرة قصيرة المدى.
- بالإضافة إلى الاختبارات السلوكية ، أظهرت جميع المجموعات المعالجة وخاصة المجموعة التي عولجت باستخدام عقاري دايدزين وايماتنيب معا انخفاضًا ملحوظا في مستويات ألفا سينوكلين في الدم ، ومستويات مرتفعة من الدوبامين في المخ ، ومستويات مرتفعة من الجلوتاثيون كمضاد للأكسدة ، وانخفاض المالونديلدهايد وهو مثال على المؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي.

يوجد العديد من اضطرابات وأمراض المخ ولها مسببات وآليات مختلفة. الأمراض التنكسية العصبية هي مجموعة من الاضطرابات التي تتميز بفقدان تدريجي في الخلايا العصبية التي بالتالي تؤثر على الحالة العقلية والجسدية للإنسان مثل الوظائف الحركية والادراكية والذاكرة.

يعد مرض باركنسون او الشلل الارتعاشي أحد أكثر الأمراض التنكسية بالجهاز العصبي المركزي ويصيب حوالي 2٪ من المرضى كبار السن.

لدي مرض الباركنسون العديد من المظاهر والاسباب ، من بينها تدمير الخلايا العصبية المفرزة لمادة الدوبامين وتراكم شوائب بروتينية داخل الخلايا العصبية تسمى "الفا-سينكيولين" بالإضافة إلي الخلل الوظيفي في الميتوكوندريا وما يترتب على ذلك من الإجهاد التأكسدي ويظهر ذلك من خلال ارتفاع مستوي العديد من المواد البيولوجية المؤشرة للأكسدة وانخفاض مستوى مادة الجلوتاثيون المضاد للأكسدة. يحدث خلل الميتوكوندريا حيث يتم استهلاك كل الأكسجين الجزيئي عن طريق تنفس الميتوكوندريا ويتم إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية كمنتج ثانوي مما يؤدي إلي إحداث تلف خلوي من خلال التفاعل مع الأحماض النووية والبروتينات والدهون وينتج عنه فسفرة البروتين التي تتوسطها العديد من كينازات البروتين. ولذلك فقد لوحظ أن الأدوية التي تعمل كمثبطات للكيناز مثل النيلوتنيب والايماتنيب قد يكون لها دور مفيد في معالجة الإجهاد التأكسدي الذي يعاني منه مريض الباركنسون.

تواجه اضطرابات المخ العديد من التحديات أثناء تصنيعها وتوسيع نطاقها وإدخالها إلى سوق الأدوية بالإضافة الي صعوبة اختراق العديد من الأدوية داخل المخ وذلك لوجود العديد من الحواجز الدماغية مثل الحاجز الدموي الدماغي وحاجز السائل النخاعي الدموي.

يتكون الحاجز الدموي الدماغي من خلايا بطانية شعيرية تنظم مرور الأيونات والجزيئات والخلايا بين المخ والدم ، وتسمح للعناصر الغذائية الأساسية بالمرور إلى المخ ، وتحافظ على مستوي الهرمونات والماء في المخ وتعيق مرور الأجسام الغريبة إلى داخل خلايا المخ. تمر الادوية والمركبات عبر الحاجز الدموي الدماغي عن طريق العديد من الاليات، منها المرور التلقائي او عبر قنوات او مستقبلات موجودة علي سطح خلايا الحاجز الدموي الدماغي

وبالتالي فإن هدف العمل هو الجمع بين مزايا العديد من المركبات التي قد تكون مفيدة في علاج أعراض مرض الباركنسون مثل الدايدزين والايماتنيب من خلال استخدام نظام التوصيل النانومتري الموجه الي المخ مع تقييم الفعالية المحتملة لنظام التوصيل المُصاغ في تحسين الخلل الحركي والادراكي المصحوب مع مرض الباركنسون.

الجزء الأول: تصميم وتقييم فليكسيزومات الهيالوران معدلة السطح كحاملات نانوية جديدة لاستهداف المخ

الفصل الأول: تطوير وتحسين فليكسيزومات الهيالوران المحملة بالدايدزين و معدلة السطح باللاكتوفيرين لتحسين علاج مرض باركنسون

تم صياغة العديد من الفليكسيزومات المحملة بعقار الدايدزين وتم إجراء تحسين الصيغ المختلفة عن طريق فحص المتغيرات في الخصائص االفيزيوكيميائية مثل حجم الجسيمات وشحنتها ونسبة كفاءة انحباس العقار داخل الجسيمات. بالإضافة إلي اخضاع جميع المركبات لاختبار المسح الضوئي التفاضلي الكالوري والاشعة تحت الحمراء ومجهر المسح الالكتروني لدراسة التفاعلات بين العقار والمواد المضافة

بالإضافة للفليكسيزومات ، تم ادراج حمض الهيالورنيك في تحضير أنظمة جديدة تستهدف إلي زيادة لزوجة المركبات لتعزز استخدامها عن طريق الأنف. و بعد اختيار فليكسيزومات الهيالوران المُحسَّنة ، تم اختبار تركيزات مختلفة من اللاكتوفيرين لتغطية سطح الفليكسيزومات من أجل استهداف المخ والارتباط بمستقبلات الترانسفيرين الموجودة على الخلايا البطانية للحاجز الدموي الدماغي. تم اختبار نسب اللاكتوفيرين (من 1: 1 إلى 1: 6) بناء علي تحويل شحنة السطح من سالبة إلى موجبة بالإضافة إلى وجود حجم جسيم مناسب لاستهداف المخ. وقد تم استخدام مجهر عالي الدقة لفحص تغطية اللاكتوفيرين الكاملة لطبقات الجسيمات. كانت الصيغة المفضلة للاختيار هي تلك التي تحتوي على أبطأ معدل إطلاق لعقار الدايدزين والذي يمكن أن يكون مناسبا لمرضي الباركنسون.

يستدل من نتائج هذا الفصل ما يلي:

- تم اختيار توين 80 في تركيبة الفليكسيزومات المحملة بالديدزين وذلك لاضافتها مرونة على الحويصلات إلى جانب تعطيل الحاجز الدموي الدماغي.
- تم اختبار نسبة الفسفوليبيد للتوين 80 كمتغير في صياغة الفليكسيزومات وفقًا للخصائص الفيزيائية والكيميائية المرغوبة) وكانت النسبة المختارة (85:15)
- لوحظ وجود بلورات ديدزين تحت المجهر الضوئي عند انخفاض كمية الفسفوليبيد مما يدل على عدم كفاية دمج الدايدزين مع طبقة ثنائية الفسفوليبيد.
- أظهرت الفليكسيزومات المحملة بالديدزين المُحسَّنة حجم جسيم مناسب (أقل من 200 نانومتر) وشحنات سطح مقبولة (أعلى من 25 مللي فولت) تضمن قوى تنافر كافية بين الحويصلات.