Alexandria University
Faculty of Pharmacy
Department of Pharmaceutics

Nanoformulated Drug Delivery Systems for Ocular Route

A Thesis

Presented to the Graduate School
Faculty of pharmacy, University of Alexandria
In Partial Fulfillment of the
Requirements for the Degree

of

Master of Science

In

Pharmaceutical Sciences
(Pharmaceutics)

By
Passent Mohamed Ehab Gaafar
B. Pharm. Sci, University of Alexandria, 2008

2013

الملخص العربى

نظم توصيل العقار عن طريق العين بصياغته في صورة جسيمات النانو

يعتبر توصيل العقار للعين من أكبر التحديات التى تواجه علماء تطوير المستحضرات. و تعتبر القطرة الموضعية للعين أسهل طرق التعاطى التى تضمن إلتزام المريض ، خاصة لعلاج الجزء الخارجى من العين .و فى هذه الحالة يواجه العقار حواجز العين الثابتة و المتحركة التى تعوق توصيله للأنسجة المستهدفة بالإضافة إلى عدم توافر العقار لفترة زمنية كافية فى تلك الأنسجة. إتجهت أبحاث توصيل العقار للعين فى العقدين الماضيين نحو تحضير صياغات حديثة آمنة تستطيع مواجهة العوائق التى تواجه العقار فى العين و تضمن بقائه فى العين لفترة زمنية مناسبة. شهد علاج الجزء الأمامى من العين العديد من طرق توصيل العقار باستخدام جسيمات النانو ، حيث تحقق جسيمات النانو أعلى قدرة على الإلتصاق بالأغشية الحيوية و اختراق القرنية و بالتالى فإن جسيمات النانو تضمن فعالية العقار.

تعتبر نظم الحويصلات من أحدث نظم توصيل العقار بطريقة محكمة لتعزيز التوافر البيولوجى و لتحقيق المستوى العلاجى للعقار لفترة زمنية طويلة. و من أمثلة الحويصلات الرطبة هى النيوزومات و التى تحتوى على المواد ذات النشاط السطحى الغير أيونية بالإضافة الى الكوليسترول أو دهون أخرى لتوصيل العقار إلى المكان المستهدف. و تتميز النيوزومات بأن مكوناتها آمنة و إنتاجها غير مكلف و أنها تتمتع بالثبات لفترة زمنية أطول فى الظروف المختلفة مقارنة بالليبوزومات و على هذا الأساس فقد تم إختيار ***السبانلاستكس*** و هو بناء حويصلى ناقل و مرن فى صورة النانو كنظام لإحتواء و توصيل شكلين من أملاح عقار البريدنيزولون للعين و هما بريدنيزولون فوسفات الصوديوم و خلات البريدنيزولون لما تتمتع به هذه الحويصلات من قدرة على أختراق أغشية العين.
ويتصف عقار البريدنيزولون بقدرته الفائقة على علاج الإلتهابات. و ذلك عن طريق تثبيط عملية الأيض لحامض الأراكيدونك من الدهون الفوسفاتية و منع تصنيع و انطلاق الوسائط المسببة للإلتهاب و بذلك يستطيع هذا العقار وقف مراحل الإلتهابات المبكرة و المتأخرة التى قد تصيب أغشية العين. ولكن تعانى قطرات العين لأملاح هذا العقار من سرعة الانسياب من العين مما يتطلب تكرار عدد مرات التقطير و الذى بدوره يتسبب فى إرتفاع ضغط العين كعرض جانبي.

<u>الفصل الأول: تصنيع و توصيف السبانلاستكس المحتوية على أثنين من الاملاح المشتقة من البريدنيزولون.</u>
فى هذا الفصل تم صياغة الحويصلات المرنة (**السبانلاستكس أو الأيسونيوزومات**) بأستخدام سبان ٦٠ والكوليسترول في نسب جزيئية مختلفة (٤:٦:٣:٧:٨:٢:١:٩، ١٠:٠ و٥:٥) بأستخدام طريقتين مختلفتين للتحضير(طريقة حقن الكحول الإيثيلى و طريقة ترطيب الغشاء الرقيق). وتم تقييم تأثير نسبة الكوليسترول على كفاءة الصياغات عن طريق تعيين نسبة إنحباس العقار وحجم الجسيمات. هذا بجانب مقارنة سرعة انطلاق العقار من **السبانلاستكس** المحضرة و الصيغ التقليدية. كما تم قياس الشحنة الكهربائية على سطح الحويصلات (جهد الزيتا) ومرونة الحويصلات. هذا بالإضافة إلى دراسة اختبار الصياغات المحضرة بالميكروسكوب الالكترونى النافذ. تم أيضا دراسة تأثير فترة تخزين الصياغات المعدة لمدة شهرين عند كل من ٤ و ٢٥ درجة مئوية على حجم الجسيمات و قدرتها على حبس العقار بها.
وقد أسفرت النتائج عن الآتى:
أن زيادة تركيز الكوليسترول من ٣٠% الى ٥٠% جزء لجزء أدى إلى تحسين النسبة المئوية لكفاءة انحباس أملاح البريدنيزولون فى الحويصلات حيث أن نسبة انحباس العقار داخل الحويصلات زادت من ٨٤,٢ إلى ٩٧% و من

٢٥,١ إلى ٤٠,٢% لكل من خلات بريدنيزولون وبريدنيزولون فوسفات الصوديوم على التوالى عند تحضيرهما بطريقة حقن الكحول الإيثيلى. بينما زادت النسبة المئوية لانحباس العقار من ٩٠ إلى ٩٨% و من ٣٤,٢ الى ٤٦% لكل من خلات بريدنيزولون وبريدنيزولون فوسفات على التوالى عند تحضيرهما بطريقة ترطيب الغشاء الرقيق. و يرجع السبب فى زيادة النسبة المئوية لانحباس العقار فى **السبانلاستكس** المحضرة بطريقة ترطيب الغشاء الرقيق مقارنة بوسيلة حقن الكحول الإيثيلى إلى تكون طبقة رقيقة ذات مساحة سطح كبيرة أثناء التحضير بطريقة التبخير الدوارة و التي أدت إلى الترطيب الكامل للحويصلات. وعلاوة على ذلك، الحويصلات التى أعدت بواسطة طريقة ترطيب الغشاء الرقيق كانت أكبر حجما وأكثر قدرة على تحميل كمية أكبر من العقار من الحويصلات التى تم تحضيرها بطريقة حقن ا الكحول الإيثيلى.

أوضحت النتائج أن قطر الجسيمات المعدة المكونة من ٦٠ سبان بتركيزات مختلفة من الكوليسترول (٣٠٪ -٥٠٪ مول / مول) التى تم تحضيرها بطريقة ترطيب الغشاء الرقيق تراوحت من ٢٦٧ إلى ٣١١,٢ نانومتر. أما التى تم تحضيرها بطريقة حقن الكحول الإيثيلى فقد تراوحت من ١٨٠,٢ إلى ٢٧٩,٦ نانومتر.

كما أكدت نتائج كل من الميكروسكوب الضوئى و الميكروسكوب الإلكترونى أن حويصلات السبانلاستكس صغيرة في الحجم، مستديرة من حيث الشكل، ذات جدار دقيق واحد أو مزدوج أو متعدد الطبقات مع عدم وجود تجمعات.

أما جهد الزيتا المرصود من **السبانلاستكس** المحتوية على خلات البريدنيزولون وبريدنيزولون فوسفات الصوديوم كانت -٤١,٦ و- ٥٥ ميلليفولت على التوالي، وبالمقارنة **بالسبانلاستكس** الفارغة التي كانت -٣٨,٩ ميلليفولت و أكدت القيمة السلبية لجهد الزيتا إنخفاض مستوى التلاحم بين الحويصلات مما يؤكد إستقرارها.

كما أظهرت نتائج تقييم مرونة الحويصلات أن نسبة السبان:الكوليسترول (٧:٣) حققت أقل نسبة إنخفاض في متوسط حجم الجسيمات (٣,٩٤٪) بالمقارنة بالصياغات التى تحتوى على السبان: الكوليسترول (٥:٥) التى أظهرت أكبر نسبة إنخفاض في الحجم (٢٣,٣٥ ٪) و ذلك بعد إختبار مرورها من خلال غشاء قطر مسامه ٢٠٠ نانومتر.

أما بالنسبة لإنطلاق العقار من داخل **السبانلاستكس** المكونة من ثلاثة نسب مولية سبان ٦٠: الكوليسترول (٧:٣، ٦:٤ و ٥:٥) فكانت متوافقة مع نسبة كفاءة إحتباس العقار داخل السبانلاستكس، حيث أن تلك التى تحتوى على إما خلات البريدنيزولون أو بريدنيزولون فوسفات الصوديوم (سبان ٦٠: نسبة الكولسترول (٥:٥)) حصلت على أعلى كفاءة إحتباس (٩٨٪ و ٤٦٪) على التوالي وحققت فى نفس الوقت أقل نسبة إنطلاق للعقار بعد مرور٦ ساعات. وتشيرهذه النتائج إلى أن إنحباس العقار بداخل **السبانلاستكس** و انطلاقه التدريجى يمكن الصياغة من السيطرة على إنطلاق العقار لمدة أطول إما لخلات بريدنيزولون (غير قابلة للذوبان) أو لبريدنيزولون فوسفات الصوديوم (القابلة للذوبان)، مما يؤدي إلى إنخفاض عدد مرات تعاطى العقار ، وبالتالي زيادة إلتزام المريض بالجرعات.

كما أظهرت دراسة الثبات أن التخزين عند درجة حرارة الغرفة (٢٥ درجة مئوية) من المرجح أن يكون لها تأثير ملحوظ على استقرار **السبانلاستكس** ضد التجمع وتسرب العقارمن داخلها. بينما أظهرت النتائج أن التخزين عند ٤ درجات مئوية أدى الى تغيرات طفيفة فى كل من الحجم و تسرب العقار.

الفصل الثانى: مقارنة حيوية وتقييم فاعلية السبانلاستكس المحتوية على اثنين من املاح البريدنيزولون كمضاده للألتهاب

و بالإستناد إلى الدراسات المعملية السابقة ؛ فقد تم فى هذا الفصل إختيار **السبانلاستكس** المكونة من الكوليسترول و السبان في النسب المولية ٧:٣ و ذلك لصغر حجمها و مرونتها مقارنة بالصيغ الأخرى و علاوة على ذلك قدرتها على انحباس العقار بداخلها و أنطلاقه التدريجى من داخلها. و بناء على ذلك تم أختبار أحتمال تسببها فى إحداث تهيج لأنسجة العين باستخدام طريقة دريز لإختبار تهيج العين و أيضا الفحص المجهرى لأنسجة القرنية ، كما تم اختبار فاعليتها كصياغة مضادة للالتهاب بعد وضع زيت القرنفل المسبب للالتهاب فى أعين أرانب التجارب ومن ثم تقييم فاعليتها باستخدام إختبار دريز المعدل. وعلاوة على ذلك ، تم قياس الزيادة التراكمية في ضغط العين بعد العلاج **بالسبانلاستكس** و الصياغات التقليدية لمدة ستة أيام متتالية. و أيضا فى محاولة للتنبؤ بالفترة الزمنية المتاحة لفاعلية صياغة **السبانلاستكس** مقارنة بالصياغات التقليدية وهذا إستنادا للفترة الزمنية الفعلية التى يسبب فيها العقار إرتفاعا لضغط العين كعرض جانبى ، بعد أخذ جرعة واحدة من العقار.

أظهرت النتائج أن **السبانلاستكس** آمنة و خالية من أي إحتمال لإحداث تهيج فى العين، وتأكدت هذه النتيجة أيضا من الفحص المجهرى لأنسجة القرنية.

وعلاوة على ذلك أحدثت **السبانلاستكس** المختارة لكل من ملحى العقار خلات بريدنيزولون و بريدنيزولون فوسفات الصوديوم تأثيرا مضادا للإلتهابات أفضل من الصياغات التقليدية فى كل من حالات إلتهابات العين المتوسطة و الشديدة. و قد إستغرقت الفترة الزمنية اللازمة لعلاج حالة الإلتهاب المتوسط أو الشديد للعين بالسبانلاستكس المحتوية على بريدنيزولون فوسفات الصوديوم و خلات بريدنيزولون مدة ثلاثة أيام ، بينما إستغرقت الصياغات التقليدية لنفس ملحى العقار خمسة و ستة أيام على التوالى. و تطلبت الصياغات التقليدية فى حالات الإلتهاب المتوسط للملحين خمسة أيام.

كما أدت **السبانلاستكس** إلى نسبة إرتفاع أقل فى ضغط العين مقارنة بالصياغات التقليدية و هذا لأنها تسمح بخروج العقار بطريقة تدريجية مما يقلل الأثار الجانبية للعقار؛ فقد نتج عن استخدام السبانلاستكس المحتوية على بريدنيزولون فوسفات الصوديوم نسبة إرتفاع أقل فى ضغط العين مقارنة بالمحتوية على خلات البريدنيزولون ٠,٢٤ و ٠,٤٥ مم زئبق على التوالى. أما الصياغات التقليدية لكل من خلات البريدنيزولون و بريدنيزولون الصوديوم أدت إلى نسبة إرتفاع أكثر فى ضغط العين ١,٩٣ و ١,٦ مم زئبق على التوالى.

و قد امتدت الفترة الزمنية لإنطلاق ملحى العقار بريدنيزولون فوسفات الصوديوم و خلات بريدنيزولون من صياغات **السبانلاستكس** المختارة إلى ٧و٨ ساعات على التوالى ، في حين أن الصياغات التقليدية لكل من ملحى العقار إمتدت حتى ٤ و٥ ساعات على التوالى. أما بالنسبة للتوافر الحيوى النسبى للسبانلاستكس المحتوية على بريدنيزولون فوسفات الصوديوم و خلات البريدنيزولون فقد كانت ١,٧٥ و ١,٥٤ على التوالى مقارنة بالصياغات التقليدية.

مما سبق يمكن إستنباط الآتى: تعد **السبانلاستكس** من أفضل نظم توصيل العقار للعين و ذلك لمرونتها و حجمها المتناهى الصغر (حجم النانو) ؛ مما يساعدها على دخولها في مسام القرنية و يعزز من قدرة العقار على إختراق أنسجة العين. وعلاوة على ذلك فقد أدت **السبانلاستكس** إلى الإنطلاق التدريجى للعقار ، كما حققت كفاءة عالية مضادة للالتهابات و أقل نسبة فى إرتفاع ضغط العين مقارنة بالصياغات التقليدية. لذلك فإن **السبانلاستكس** تعد بمثابة نظام مميز لتوصيل العقار للعين حيث ساهمت الصياغة فى تحسين فاعلية العقار و إطالة الفترة الزمنية لأنطلاقه ، بالأضافة إلى تقليل الآثار الجانبية.