Pharmaceutical study on Ocular Nano Delivery systems of a certain drug"

Presented by

Mona Gamal Nasr Sakr Ibrahim

Demonstrator of Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology

(Faculty of Pharmacy, Pharos University in Alexandria)

Orcid ID. 0009-0003-0590-0948

A thesis presented for the partial fulfillment of the requirements

for the Master degree in Pharmaceutics and Industrial pharmacy

Under the supervision of

Prof. Dr. Dalia Mahmoud Mohamed Ghorab

Professor of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy

Faculty of Pharmacy, Cairo University

Associate Prof. Dr.:Sally Ahmed Fouad El-Zahaby

Associate Professor of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy

PharmD Program, Egypt-Japan University of Science Technology (E-JUST),

Alexandria, Egypt

Department of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy

Faculty of Pharmacy, Cairo University

(2023)

CamScanner

Abstract

Glaucoma is one of the most common eye diseases, affecting over 70 million people worldwide. Topical administration of conventional eye drops is commonly used to treat glaucoma, but it is limited by poor corneal permeability due to many drawbacks and ocular constraints that impair eye drops bioavailability. Betaxolol hydrochloride (BH), an antiglaucoma drug commercially available under the name (Epitaxol®) used to treat glaucoma. This work aimed to improve the poor ocular permeability and the low bioavailability of BH, along with evaluating its intraocular pressure (IOP) lowering efficacy for glaucoma management, using two different drug delivery systems.

As for BH-loaded reverse micelles based cationic double $W_1/O/W_2$ nanoemulsions (RM-CDNEs), they were prepared by two-step emulsification, employing homogenization and sonication. RM-CDNEs have successfully entrapped the hydrophilic drug by acting as a reservoir structure with a hydrophilic core, offering their potential as a nanoplatform for hydrophilic drug delivery. RM-CDNEs were demonstrated to have a small nanoscale range with high entrapment efficacy of BH up to 97.8% ± 0.68. RM-CDNEs were evaluated in terms of droplet size (DS), polydispersity index (PDI), zeta potential (ZP), % entrapment efficiency (%EE) in order to determine the optimized formulation. The optimal formula was then imaged for morphology with transmission electron microscopy (TEM), investigated for components interactions using Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), and assessed for their stability, *in vitro* drug-release, *ex vivo* behaviors, and *in* vivo efficacy. The *ex vivo* permeation study on corneal albino rabbits proved the superiority of the permeability characteristics of BH from the optimal formula with a 2.5-fold enhancement in BH permeation compared to the commercially available BH eye drop.

CamScanner

Furthermore, the optimal RM-CDNEs demonstrated their potential for enhancing drug delivery to the corneal tissue and prolonging IOP-lowering efficacy for 24 hours. In the same study, the marketed eye drop form of BH was administered twice daily and maintained the IOP at a normal level for only 4 hours. As for BH loaded into highly permeable ocular bilosomes (HPOBs) as drug carriers have recently gained a lot of attention because of the advantages they have over traditional eye drop delivery. HPOBs were prepared using a modified ethanol injection technique. HPOBs were evaluated in terms of vesicle size (VS), zeta potential (ZP), polydispersity index (PDI) % entrapment efficiency (%EE), % drug content (% DC) in order to select the optimized formulation. The optimal formula was visualized under TEM, detected using FT-IR, screened for their stability, *in vitro* drug-release, *ex vivo*, and *in vivo* behaviors. *Ex vivo* permeation study on corneal albino rabbits was demonstrated the superior permeability characteristics of BH from the optimal formula with a 2.2-fold enhancement in BH permeation compared to the commercially available BH eye drop. *In vivo* studies were also conducted using a male albino rabbit as an animal model and proved superior IOP lowering efficacy and elicited a more prolonged effect over the marketed BH eye drop.

Keywords:

Betaxolol hydrochloride; Bilosomes; *Ex vivo* permemation; Glaucoma; hydrophilic drug; Intraocular pressure; Double Nano-emulsion; Ocular delivery system; Reverse micelle.

CamScanner

" دراسة صيدلية عن أنظمة التوصيل النانوية لعَقَار معين للعين "

رسالة مقدمة من

منى جمال نصر صقر إبراهيم

بكالوريوس العلوم الصيدلانية والصيدلة الصناعية ، كلية الصيدلة جامعة فاروس بالإسكندرية (2016)

معيد بقسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية – كلية الصيدلة جامعة فاروس بالاسكندرية

رسالة مقدمة كمتطلب للحصول على درجة الماجستير في العلوم الصيدلية

تحت إشراف

أ.د. داليا محمود محمد غراب

أستاذ الصيدلانيات والصيدلة الصناعية

كلية الصيدلة جامعة القاهرة

أ.م.د. سالي احمد فؤاد الذهبي

أستاذ مساعد الصيدلانيات والصيدلة الصناعية

برنامج فارم دي ، الجامعة المصرية اليابانية للعلوم والتكنولوجيا

قسم الصيدلانيات والصيدلة الصناعية

كلية الصيدلة جامعة القاهرة

(٢٠٢٤)

CamScanner

الملخص العربي

تعد قطرة العين التقليدية طريقة غير فعالة لعلاج الجلوكوما، وذلك نظرا لوجود العديد من القيود الدفاعية والديناميكية في التركيب التشريحي للعين والقرنية حيث تعمل هذه القيود على سرعة التخلص من السوائل الزائدة والتي بدورها تحد من اختراق الأدوية للعين وتؤدي إلى تكرار تناول جرعات الدواء للوصول إلى تركيز علاجي مقبول وفعال. في السنوات الأخيرة، قد تم توجيه اهتمام ملحوظ لاستخدام أنظمة التوصيل النانوية كوسيلة لتوصيل الأدوية الموضعية إلى العين. تتمتع هذه الأنظمة بالعديد من المزايا في توصيل العقار إلى مكان تأثيره المحدد بصورة مستديمة مع إمكانية تحسين الإتاحة الحيوية للعقار والسماح ببقائه على سطح العين لفترة أطول. يعد استخدام المستحضرات النانوية للعين في التوجيه الدوائي لعلاج الجلوكوما علاجا موضعيا فعالا في التوصيل العيني الناجح، حيث إنها لا تؤثر في التركيب التشريحي للعين، ولا تؤثر في الخواص الكيميائية للدواء.

يعتبر بيتاكسولول هيدروكلوريد (BH)أحد حاسرات بيتا الانتقائية التي تمتلك العديد من الإمكانات العلاجية في علاج الجلوكوما. يستخدم بيتاكسولول هيدروكلوريد على نطاق علاجي واسع في كثير من الأمراض، لما له من تأثيرات مضادة لضغط الدم المرتفع، ومضادة للجلوكوما. حيث إنه يقلل من مخاطر تلف العصب البصري والعمى التدريجي لدى المرضى الذين يعانون من ضغط العين المرتفع. تمت الموافقة على استخدامه في علاج الجلوكوما من قبل منظمة الدواء والغذاء الأمريكية عام 1985. يمتلك بيتاكسولول هيدروكلوريد تأثيرات علاجية فعالة ومضادة لمرض الجلوكوما. يعمل بتاكسولول هيدروكلوريد عن طريق تقليل إنتاج الماء بالعين وتحسين تصريفه. وعلى الرغم من تلك المزايا العديدة التي يتمتع بها بيتاكسولول هيدروكلوريد فإنه دواء مثير للاهتمام البحثي حيث يعاني العقار من انخفاض وضعف نفاذيته للقرنية، مما يعيق من استخدامه والتطبيق الإكلينيكي له في علاج الجلوكوما وهي الأسباب الرئيسية وراء توافر عدد قليل فقط من المنتجات لعقار بيتاكسولول هيدروكلوريد. ولذلك فكرة الرسالة الحالية تتضمن تصميما وتقييم ناقلات نانوية حديثة ومبتكرة محملةبعقار بيتاكسولول هيدروكلوريد للاستخدام الموضعي في العين كعلاج نموذجي وفعال للجلوكوما، والمقصد من هذه الناقلات النانوية المحملة بالعقار هو تعزيز نفاذية العقار عبرالقرنية والحصول على مفعول علاجي ممتد للعقار في علاج الجوكوما المستحدثة تجريبيا في عيون الأرانب. وينقسم العمل في هذه الرسالة إلى فصليين:

يتمثل الهدف من الفصل الأول في تحضير القطرات نانوية لنظام الميسيل العكسي القائم على نظام مستحلب $W_1/O/W_2$مزدوج (RM-CDNEs) لتوصيل وتحسين نفاذية عَقَّار بيتاكسولول هيدروكلوريد عبر العين باستخدام تقنية الاستحلاب ذات الخطوتين خلال استخدام المزج بالخلط عالي السرعة والتجانس باستخدام الموجات فوق الصوتية. تم صياغة RM-CDNEs باستخدام مستحلبين دهنيين مختلفين:سوربيتان أحادي ستارات (Span 60) وبروميد سيتيل ترايميثيل الأمونيو (CTAB) بنسب مختلفة وهما المستحلبان الرئيسيين

لخطوة الاستحلاب الأولى. وتمت أيضا إضافة بولي سوربات ٢٠ (Tween 20) كمستحلب ماني لـ خطوة الاستحلاب الثانية ، وكذلك إيزوبروبيل ميريستات (IPM) كمذيب زيتي والإيثانول كمستحلب مساعد لزيادة ثبات الصياغة تم إضافة Pluronic® F127 إلى المرحلة المائية الداخلية ، حيث يعمل Pluronic® F127 على تحسين استقرار الصياغة ويساعد في تكوين المذيلات العكسية ذاتية التجمع ، وبالتالي يمكن لقطرات RM-CDNEs المطورة أن تحبس كمية كبيرة من الأدوية المحبة للماء بداخلها. تم استخدام برنامج Design Expert لتصميم فنوي عاملي 2^4 لتقييم تأثير العوامل المختلفة على مستويين مختلفين واقتراح الصيغة المثلى. أظهرت جميع الصياغات تناسق في حجم القطرات يتراوح ما بين (4.04± 39.2) إلي (4.51±197.5) نانومتر. لقد أظهر النظام المبتكر توزيعًا متجانسًا للقطرات حيث تباينت قيم مؤشر التشتت المتعدد PDI بين (0.01 ± 0.123) إلي (0.02± 0.747). كما أظهرت قياسات زيتا أن النظام المبتكر يمتلك شحنة موجبة بسبب المجموعات الوظيفية ذات الشحنة الموجبة في مركب الأمونيوم الرباعي الموجود في CTAB ، حيث تراوحت قيمتها بين (1.12 ±19.7) إلي (4.50± 42.3) ملل فولت.أظهر أيضا النظام النانوي المبتكر فعالية عالية في تحميل العَقَار المحب للماء بقيم كفاءة احتواء تراوحت من (2.81 ± 86%) إلى (0.68 ± 97.8%) مما يتيح استخدامها كنظام ناجح لتوصيل الأدوية المحبة للماء. النظام المبتكر حقق انطلاق متحكم للعقار (0.61 ±90.77%) بعد سبع ساعات مقارنة بمحلول العين للعقار المتاح تجاريًا. هذا الانطلاق المستدام يساعد على إطالة وقت بقاء العَقَار داخل العين وتحقيق مفعول علاجي مستدام .أثبتت الصورة الملتقطة من خلال الميكروسكوب TEM للصيغة المختارة أنها كروية الشكل ذات سطح أملس نسبيًا ودون ظهور أي تكتلات. أظهرت الصيغة المختارة درجة عالية من الثبات الفيزيائي عن طريق ثبات جميع القياسات السابق ذكرها. أيضا أثبتت دراسة النفاذية خلال قرنية الأرانب المفصولة تحسنًا كبيرًا في نفاذية العين للعَقَار المحب للماء عبر غشاء القرنية من الصيغة المختارة مع تعزيز 2.5 ضعف في نفاذية العَقَار مقارنة بمحلول العَقَار المتاح تجاريًا .علاوة على ذلك ، أظهرت الدراسة الديناميكية الدوائية للصيغة المختارة قدرتها الفائقة على تعزيز توصيل العَقَار وإطالة فعاليته في خفض ضغط العين لمدة 24 ساعة مقارنة بمحلول العَقَار المتاح تجاريًا عند اختبارها باستخدام الارانب . أظهر النظام المبتكر توافقًا حيويًا جيدًا وفعالية عالية في علاج الجلوكوما , مما يؤدي إلى تقليل معدل تناول جرعات العَقَار وتحسين امتثال المريض للعلاج بشكل كبير. تم التأكد من ملاءمة الصيغة المبتكرة للعين من خلال الفحص التشريحي لأنسجة العين .حيث لم يتم العثور على علامات تهيج أو التهاب في أنسجة العين. ختامًا ، أظهرات القطرات النانوية للنظام المبتكر قدرة كبيرة على تعزيز نفاذية القرنية لـ بيتاكسولول هيدروكلوريد وزيادة فعاليته الدوائية في إدارة الجلوكوما. نظرًا لبنيته الفريدة وخصائصه وامتيازاته الجيدة في زيادة التوافر البيولوجي للعَقَار وتحسين ونفاذيته عبر القرنية .

CamScanner

بالفصل الثاني تم التغلب على قيود بيتاكسولول هيدروكلوريد عن طريق تحميله في حويصلات البيلوزومات عالية النفاذية للتوصيل العيني (HPOBs). HPOBs هي حوامل نانوية حويصليّة ثنائية الطبقة قادرة على حبس العَقَّار داخل مصفوفاتها وعلى تحسين نفاذيته وزياده فعاليته العلاجية. تم تطوير البيلوزومات عالية النفاذية المحملة بـالعقار بنجاح بواسطة طريقة حقن الإيثانول المعدلة وباستخدام الموجات فوق الصوتية. تم تطبيق تصميم فئوي عاملي 2^3 باستخدام برنامج Design Expert لدراسة تأثير العوامل المختلفة على مستويين مختلفين واقتراح الصيغة المثلى. تعتبر طريقة حقن الإيثانول هي تقنية بسيطة للغاية يمكن استخدامها لتكوين حويصلات صغيرة أحادية الطبقة متميزة ذات كفاءة تحميل عالية, بالإضافة إلى سهولة تحضيرها على نطاق واسع بطريقة غير مكلفة. تمت صياغة البيلوزومات عالية النفاذية المحملة بالعقار باستخدام منشط الحافة للأملاح الصفراوية في طبقات الدهون الثنائية للحويصلات التقليدية التي تتكون من معامل السطح غير الأيوني (span 60) ومزيج من الكوليسترول مع (SPC) كمحتوى دهني. تم استخدام SPC بسبب توافقه الحيوي وقابليته للتحلل الحيوي إلى منتجات ثانوية غير سامة. تمتازSPC بقدرة جيدة على تثبيت الهيكل الحويصلي. كانت لإضافة الأملاح الصفراوية تأثير معزز في امتصاص العَقَّار من حويصلات البيلوزومات عالية النفاذية حيث تقوم الأملاح الصفراوية بتقليل التوتر السطحي للطبقة الثنائية الحويصلة الدهنية والسماح لمزيد من العَقَّار بالتغلغل في طبقات العين. في حين تم اختيار الكوليسترول نظرًا لقدرته على الاحتفاظ بالعَقَّار داخل الحويصلات المتكونة. تم أيضا إضافة منشط الحافة (Cremophor EL) لما له من تأثير فعال على خصائص النفاذية للحويصلات المطورة . أظهرت جميع الصياغات حجم حويصلات صغير يتراوح ما بين(4.58 ± 156.6) إلي (2.26 ±94.32) نانومتر . تباينت قيم مؤشر التشتت المتعدد PDI بين (0.05 ±0.179) إلي (0.04±0.298). النظام المبتكر له شحنة سلبية ذو قيم مرتفعة , وذلك بسبب الطبيعة الأيونية سالبة الشحنة في الأملاح الصفراوية.أظهر أيضا النظام النانوي المبتكر فعالية عالية في تحميل العَقَّار المحب للماء تتراوح من (1.63 ± 61.35%) إلى (2.19 ± 76.46%) .أظهرت نتائج الدراسات المعملية أن انطلاق العقار استمر الى 95.65% في 24 ساعة .أثبتت الصّورة الملتقطة من خلال الميكروسكوب TEM للصيغة المختارة أن الحويصلات المطورة كروية الشكل ذات سطح أملس ومنتشرة دون أي تجمعات . أظهرت الصيغة المطورة درجة عالية من الثبات الفيزيائي عن طريق ثبات جميع القياسات السابق ذكرها. أثبتت دراسة النفاذية خارج الجسم الحي على قرنية الأرانب المفصولة تحسنًا كبيرًا في نفاذية للعَقَّاربالعين مع تعزيز 2.2 ضعف في نفاذية العَقَّار مقارنة بمحلول العَقَّار المتاح تجاريًا .علاوة على ذلك ، في الدراسة الديناميكية الدوائية، أظهرت الصيغة المختارة للنظام المطور قدرتها على تعزيز توصيل العَقَّار إلى أنسجة القرنية وإطالة فعاليته في خفض ضغط العين لمدة 24 ساعة مقارنة بمحلول العَقَّار المتاح تجاريًا . أظهر النظام المطور توافقًا حيويًا جيدًا وفعالية ممتازة في علاج الجلوكوما من خلال اختبار تهيج العين والفحص التشريحي المرضي لأنسجة العين . حيث لم يتم العثور على علامات تهيج أو التهاب في أنسجة العين في العين .

CamScanner

سلطتْ هذهِ الأطروحةِ الضوءُ على الإمكانياتِ التي توفرها أنظمةُ التوصيل المطورة كناقلاتٍ للأدوية الموضعيةَ إلي العين ، حيثُ تعتبر علاج موضعي فعال في توصيل بيتاكسولولْ هيدروكلوريدَ للعين لعلاج الجلوكوما وتمهد الطريق لاستخدامهم في لتجارب السريرية .

المستخلص العربي

تعد الجلوكوما أحد أكثر أمراض العيون شيوعًا ، حيث تصيب أكثر من 70 مليون شخص في جميع أنحاء العالم. تزداد نسبة حدوث الجلوكوما في البالغين والأكبر سنا و تعرف الجلوكوما باسم "اللص الصامت للرؤية". تعتبر الجلوكوما مفتوحة الزاوية هو النوع الأكثر انتشارًا. تسبب الجلوكوما تلف العصب البصري الذي يؤدي إلى ارتفاع الضغط داخل العين وذلك نتيجة لتراكم السائل الذي يتدفق داخل العين. إن الهدف الرئيسي في علاج الجلوكوما هو التحكم في مستويات ضغط العين لمنع تلف العصب البصري .أظهرت الدراسات الحديثة الحاجة إلي ابتكار ناقلات نانوية آمنة لها القدرة على علاج الجلوكوما بشكل سريع وفعال. هذا العمل يهدف إلى التغلب على سلبيات بيتاكسولول هيدروكلوريد من خلال تصميم وتطوير نظامين مختلفين لتوصيل العقّار..

تعتبر نظام الميسيل العكسي القائم على نظام مستحلب $W_1/O/W_2$ مزدوج (RM-DNE) المحاولة الأولى للتغلب على سلبيات بيتاكسولول هيدروكلوريد, فقد تم تحضير وتطوير القطرات النانوية لتوصيل بيتاكسولول هيدروكلوريد بواسطة تقنية الاستحلاب ذات الخطوتين بتطبيق المزج بالخلط عالي السرعة (HSH) والتجانس باستخدام الموجات فوق الصوتية. تم إجراء تقييم وتوصيف كامل لجميع صيغ RM-CDNEs من حيث حجم القطرات (R_1; nm) وحجم ومؤشر التشتت المتعدد (R_2) وجهد الزيتا (R_3; mv) والنسبة المئوية لكفاءة تحميل العقار (R_4, EE%). تم اختيار الصيغة المحسنة بناءا على تقنية التحسين العددي باستخدام نهج الاستحسان في Design Expert .حيث تم اختيارها بناءا على تحقيق الحد الأدنى لقيمة حجم القطرات وحجم ومؤشر التشتت المتعدد والحد الأقصى للجهد الزيتا مع قيمة احتباس عالية للدواء داخل قطرات النانوية المطورة. تم تقييم سلوك إطلاق العقّار للصيغ المحسنة بدقة. تم أيضاً فحصها بواسطة (TEM). كذلك تم تقييم مدى تحمل أعين الأرانب للنظام وتم إجراء دراسة هيستولوجية لأعين الأرانب المعالجة بالصيغ المختارة .

أما بالنسبة للبيلوزومات عالية النفاذية المحملة بعقار بيتاكسولول هيدروكلوريد (HPOBs), فقد تم تحضيرها باستخدام طريقة حقن الإيثانول المعدلة و باستخدام الموجات فوق الصوتية . تم قياس حجم الحويصلات (Y_1; nm) و حجم ومؤشر التشتت المتعدد (Y_2,) وجهد الزيتا (R_3; mv) والنسبة المئوية لكفاءة احتباس العقار (R_4, EE%) المحضرة. تم فحص انطلاق العقار من الصيغة المحسنة. تم أيضاً الفحص باستخدام ميكروسكوب (TEM) .

تم اختبار نفاذية العقّار من النظامين المطورين عبر القرنية خارج الجسم الحيوي. أجريت الدراسة الحركية الديناميكية لفعالية العقّار على ذكور الأرانب النيوزيلندية البيضاء لتقييم الفعالية الخافضة لضغط العين لصيغ

CamScanner

النظامين المحملين بالعَقَار مقارنة بمنتج العَقَار المتواجد بالسوق. تم أيضا تقييم التوافق الحيوي للعين ومدى تحمل أعين الأرانب لصيغ النظامين المطورين من خلال اختبار تهيج العين والفحص التشريحي في دراسة هيستولوجية لأنسجة أعين الأرانب المعالجة بالصيغ المختارة وذلك للكشف عن أي تغييرات في قرنية أعين الأرانب . استخدام النظامين HPOBs , وRM-CDNEs لأول مرة يعد نمط واعد لتحسين نتائج علاج الجلوكوما.

الكلمات الدالة: البيلوزومات ، الميسيل العكسي ، مستحلب نانوي ، التوصيل العيني ، بيتاكسولول هيدروكلوريد دواء محب للماء ،دواء محب للماء ،الجلوكوما ، ضغط العين ، دراسة نفاذية القرنية ، دراسات ديناميكا دوائية في الجسم الحي .

CamScanner