



جامعة الإسكندرية
ALEXANDRIA
UNIVERSITY

معمدة بقرار رقم 155 بتاريخ 2016/6/27
من الهيئة القومية لضمان جودة التعليم والاعتماد

Faculty of Pharmacy
Department of Pharmaceutics

Development and evaluation of brain-targeted nano-delivery systems for management of multiple sclerosis

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

In

Pharmaceutical Sciences (Pharmaceutics)

Presented by

Lamiaa Ramadan Abdelalim Abdelarahman

B. Sc. Pharmaceutical Sciences,
Faculty of Pharmacy, Alexandria University, 2014

Masters' degree in Pharmaceutical sciences,
Faculty of Pharmacy, Alexandria University, 2019

2023

P.U.A. Library
Central Medical Library (B)
Faculty of :
Serial No 842
Classification : 615

الملخص العربي

الحوصلات المغلفة لها خصائص مضادة للاكسدة قوية. و أظهر التصوير الالكتروني شكل الحوصلات الكروي قبل التغليف و شكل الغلافين المتتاليين المحيطين بها بعد التغليف.

الفصل الثالث: تطوير و تقييم جسيمات نانومترية هجينة تحوي اكسيد السيريوم و عقار الكوبيتاسول معا
يتناول هذا الفصل محاولات عديدة للجمع بين عقار الكلوبيتاسول المحب للدهون و أكسيد السيريوم الماني في نظام واحد متعدد الوظائف لتحقيق فائدة علاجية مزدوجة. نجحت الدراسة في تحضير هذا النظام عن طريق ارتباط الكلوبيتاسول باللاكتوفيرين و من ثم استخامها لأحاطة أكسيد السيريوم اعتمادا علي تجاذب شحناتهم المختلفة. و بعد ذلك تم استخدام الكيتوزان لتغليفها و اضافة شحنة سطحية موجبه. انتجت الدراسة جسيمات نانومترية بحجم 413.3 نانوميتر و شحنة موجبة 39.3 و خواص مضادة للاكسدة.

الجزء الثاني: التقييم الحيوي لبعض الانظمة النانومترية المختارة باستخدام نموذجين مختلفين من حيوانات التجارب و يتكون من فصلين

الفصل الاول: تقييم جسيمات اكسيد السيريوم النانومترية المثبتة بأحد البوليمرات المختارة علي نموذج حيواني تجريبي لالتهاب الدماغ و النخاع المناعي الذاتي

يعتمد هذا الفصل استخدام الفئران لعمل نموذج التهاب الدماغ و النخاع الشوكي المناعي كواحد من اكثر النماذج الحيوانية شيوعا و مماثلة للتصلب المتعدد في اليات الخلل المناعي و زيادة الاكسده. تم استخدام هذا النموذج لتقييم النظام النانومتري المغلف من اكسيد السيريوم الذي تم دراسته و اختياره في الفصل الاول و كذلك النظام الهجين في الفصل الثالث من الجزء الاول بالرسالة. اعتمد التقييم علي تقدير الحالة الاكلينيكية للفئران قبل و بعد العلاج بالاضافة اختبار قدرتهم الحركية و الذهنيه عن طريق بعض التجارب السلوكية. بعد الانتهاء من العلاج تم أخذ الأنسجة للتحليل الهستولوجي و البيوكيميائي لتحديد مدي كفاءة العلاج بالانظمة النانومترية المبتكرة في الدراسة مقارنة بالفئران التي لم تعالج او عولجت بمعلق الدواء فقط. أظهرت النتائج تقليل الالتهاب في المخ و كذلك الاكسده و الشوارد الحرة في الفئران المعالجة بكتنا الانظمة النانومترية.

الفصل الثاني: تقييم لقدرة الأوليوسومات المحملة بالكلوبيتاسول ذات الغلاف المزدوج في إعادة تكوين الميلين باستخدام نموذج إزالة الميلين المستحث بالكوبريزون

تستخدم الدراسة في هذا الفصل طريقة تدمير الميلين عن طريق اعطاء الفئران جرعة يومية عن طريق الفم من الكوبريزون كعقار سام لاحداث المرض و من ثم البدء في علاج. تم تقييم اللاوليوسومات المغلفة المحملة لبالكلوبيتاسول و كذلك النظام النانومتري الهجين. بعد احداث المرض تم تقسيم الفئران الي 9 مجموعات بحيث تأخذ كل مجموعه نظام نانومتري بجرعة معينة. تم اختبار 3 جرعات من كل نظام نانومتري بالاضافة الي معلق من الكلوبيتاسول و مجموعة اخري لم تخضع للعلاج و مقرنتهم بالفئران الاصحاء. أظهرت النتائج قدرة هائلة في تحسين سمك الميلين و كثافته كما ظهر في نتائج الهستولوجي باستخدام صبغة خاصة بالميلين. ظهر التحسن في العلاج كعلاقة طردية مع جرعة الكلوبيتاسول بالنسبة للاوليوسومات المغلفة. بينما النظام الهجين اظهر تحسن ملحوظ بنسبة اعلي قليلا من الاوليوسومات المعطاة بنفس الجرعة و يدل ذلك علي ان اضافة اكسيد السيريوم تسهم بتقليل الاكسده مما يساعد تحسين كفاءة الخلايا لانتاج الميلين.

التصلب المتعدد هو مرض مناعي مزمن يصيب الجهاز العصبي المركزي حيث تهاجم الخلايا المناعية غشاء الميلين المحيط بالمحور العصبي للخلايا العصبية والمسئول عن حمايتها و سرعة توصيل الاشارات العصبية خلالها. يؤدي ذلك الي حدوث ارتفاع مستوي مؤشرات الالتهاب في المخ و الحبل الشوكي و تدمير المحاور العصبية و بالتالي ضعف او عدم انتقال الاشارات العصبية و الذي يؤثر بوضوح علي وظائف متعدده في جسم الانسان. علي عكس الامراض الاخرى التي تصيب الجهاز العصبي في عمر الشيخوخه ، فان التصلب المتعدد يصيب الانسان في منتصف العمر في الفترة من 20-40 سنة مما يؤثر بشده علي انتاجية الفرد و المجتمع.

يسبب مرض التصلب المتعدد أعراض مختلفة حسب المركز الذي تأثر بتدمير غشاء الميلين و المحاور العصبية. تتراوح الاعراض بين الاكتئاب و ضعف الادراك و الاجهاد المستمر الي ضعف او فقدان الرؤية في حالة اصابة العصب البصري بالإضافة الي مشاكل حسية بالاطراف و ضمور العضلات مما قد يؤدي الي فقدان الحركة. لم تجد الابحاث حتي الان سبب محدد للاصابة بالتصلب المتعدد و لكن تشير الدراسات الي تدخل بعض الاسباب في حدوث و تطور المرض منها اسباب مناعية و وراثية و بيئية بالإضافة الي بعض الامراض المعدية.

هنا يجب الإشارة انه لا يوجد علاج تام للتصلب المتعدد حاليا ، و لكن تشمل الادوية المستعملة مثبتات المناعة و أدوية لعلاج الاعراض الناجمة عن الاصابة. تشمل مثبتات المناعة المستعملة الانترفيرون-بيتا، جلاتيرامر أسيتات ، تريفلونوميدي ، ثنائي ميثيل فومارات و مثبتات الفوسفات سفينجوزين -1. يسبب استخدام مثبتات المناعة حدوث آثار جانبية خطيرة مثل فشل وظائف الكبد ، مشاكل الغدة الدرقية ، ظهور امراض مناعية ثانوية (الذئبة الحمامية) ، اضطرابات القلب و الأوعية الدموية ، ارتفاع ضغط الدم و سرطان الجلد.

ناقشت بعض الابحاث تحميل بعض مثبتات المناعة بناقلات نانومترية لتقليل الاعراض الجانبية و لكن هذا لا يؤدي الي توقف تطور المرض و لا الي استعادة وظائف الجسم التي تأثرت بالاصابه. تتمركز الابحاث الحديثة حول ايجاد حلول لايقاف تطور المرض و تثبيط الجهاز المناعي في المخ فقط بالإضافة الي تقليل معدلات الالتهابات و الاكسده للحفاظ علي خلايا و أنسجة المخ. أثبتت بعض الدراسات علي بعض المواد الطبيعية انها ذات خصائص مثبتة للمناعة أو مضاده للاكسده و الالتهاب مما قد يجعلها مناسبة لعلاج التصلب المتعدد.

يحتاج استخدام هذه المواد الي دمجها في نظام دوائي مصمم و موجه الي المخ لضمان وصولها بالتركيز الكافي للعلاج و تقليل الآثار الجانبية علي باقي اعضاء و أنسجة الجسم. هنا يظهر الدور الحيوي لتكنولوجيا النانو و التي قدمت طرق جديدة و عديده في مجال تصميم ناقلات الدواء تجمع مواد متعدده بخصائص مختلفه للحصول علي نتائج علاجية أفضل بأقل معدل لحدوث الاعراض الجانبية او السمية عن طريق امكانية توجيهها لعضو او خلايا معينة.

الجزء الأول : تطوير و تقييم انظمة نانومترية محمله باكسيد السيريوم او عقار الكلوبيتاسول او كلاهما كعلاج للتصلب المتعدد و يشتمل ثلاثة فصول

الفصل الاول: تطوير و توصيف أكسيد السيريوم في هيئة جسيمات نانومترية مثبتة بانواع مختلفة من الاصماغ و البكتين
يتضمن هذا الفصل تحضير جسيمات نانومترية من اكسيد السيريوم بطرق مختلفة كمضاد للاكسده لعلاج التصلب المتعدد و استخدمت الاصماغ و البكتين كمثبتات من كربوهيدرات طبيعية لفاعليتها كمضادة للاكسده و مساعدة لاستعادة التوازن المناعي. تم اختيار طريقتين للتحضير و وجد انه طريقة الترسيب القلوي تنتج جسيمات نانومترية اصغر حجما. و في هذه الطريقة تم دراسة عوامل عديدة لمعرفة تأثيرها علي خواص الجسيمات النانومترية الناتجة عنها. أسفرت التجارب عن تكوين جسيمات اكسيد السيريوم بحجم صغير 87.20 ± 3.43 نانوميتر و شحنة سالبة عالية 56.37 ± 2.39 . أيضا تمت احاطة الجسيمات السالبة بغلاف من اللاكتوفيرين و الكيتوزان و انتاج جسيمات موجبة 22.35 ± 1.10 بحجم 201.45 ± 6.12 . تم تصوير الجسيمات المغلفة و الغير مغلفة الكترونيا و اظهرت شكل دائري.

الفصل الثاني: تحضير و توصيف حويصلات دهنية معدلة و محملة بعقار الكلوبيتاسول و محاطة بغلافين من اللاكتوفيرين و الكيتوزان

يصف هذا الفصل تحضير حويصلات دهنية (أوليوسومات) و تحميلها بعقار الكلوبيتاسول كمضاد للالتهاب و مساعد في اعادة تكوين الميلين. تم تحضير الحويصلات و تحميلها بالدواء بتركيز 0.3 مل/مجم لتصل الي حجم 170.30 ± 2.27 نانوميتر و شحنة سالبة 30.00 ± 1.39 و كفاءة عالية في تحميل الدواء تصل الي 95.58 ± 1.03 %. أيضا تم احاطتها بغلاف ثنائي من اللاكتوفيرين و الكيتوزان ليصل الحجم الي 220.07 ± 0.77 و شحنة موجبة علي السطح 30.23 ± 0.41 . كذلك أوضحت النتائج ان هذه