



**Alexandria University**  
**Faculty of Pharmacy**  
**Department of Pharmaceutics**

**FORMULATION AND EVALUATION OF CONTROLLED  
RELEASE DRUG DELIVERY SYSTEM FOR ERADICATION OF  
*HELICOBACTER PYLORI***

**Thesis submitted to Department of Pharmaceutics**

**Faculty of Pharmacy**

**Alexandria University**

**In partial fulfillment of the requirements for the degree of**

**Master of Pharmaceutical Sciences**

**In**

**Pharmaceutics**

**By**

**Sally Ahmed Fouad El-Zahaby**

**B. Pharm. Sc, Alexandria University, 2004**

**2013**

## الملخص العربي



## صياغة و تقويم نظام توصيل الدواء محكم الانطلاق للقضاء على الهليكوباكتر بيلورى

الهليكوباكتر بيلورى هي بكتيريا حلزونية سلبية الجرام، تسبب عدوى طويلة الأمد، وتنتشر في جميع أنحاء العالم. تسبب هذه البكتيريا العديد من الأمراض في منطقة المعدة والإثني عشر، مثل التهاب المعدة المزمن النشط، قرحة الإثني عشر والمعدة، علاوة على خطورة الإصابة بمرض السرطان.

على الرغم من الأبحاث المكثفة على مدى الخمسة وعشرين سنة الماضية، فإن علاج الإصابة بالهليكوباكتر بيلورى يمثل مشكلة صعبة الحل. أنتشار استخدام المضادات الحيوية أدى إلى زيادة مقاومة الميكروب لها و إنخفاض معدل القضاء عليه. الليفوفلوكساسين هو عقار آمن وفعال يستخدم في المرحلة الأولى والثانية والثالثة للقضاء على الهليكوباكتر بيلورى. وقد حقق هذا العقار معدل إبادة لهذا الميكروب بنسبة تصل إلى ٩٠%. إن استخدام الأقراص أو الكبسولات التقليدية في العلاج قد يفشل نتيجة عدم كفاية الوقت المتاح لها في المعدة للقضاء على الميكروب.

لاقت أنظمة الاحتباس في المعدة لعلاج الهليكوباكتر بيلورى مؤخرًا اهتمامًا خاصًا. إطالة توافر العقار المضاد للبكتيريا في المعدة يمثل عاملاً مهماً لزيادة فعالية العلاج من خلال تركيز الدواء بنسبة عالية في الغشاء المخاطي في المعدة مما يؤدي إلى القضاء على الميكروب بشكل أفضل.

يمكن تحقيق الاحتفاظ بنظم توصيل الدواء بالمعدة عن طريق استخدام النظم العائمة، والتي تقوم إما على مواد لها كثافة منخفضة بطبيعتها أو على استخدام الفوران. يمكن أيضاً تحقيق ذلك عن طريق النظم ذات الحجم المتزايد التي تتحول إلى حجم أكبر من فتحة البواب عند وصولها المعدة.

تهدف هذه الدراسة إلى صياغة الليفوفلوكساسين في نظم الاحتفاظ بالأدوية في المعدة للقضاء على بكتيريا الهليكوباكتر بيلورى. كما يهدف لدراسة إمكانية استخدام التوت البري المضاد لإلتصاق الميكروب على الغشاء المخاطي المبطن للمعدة كعلاج مساعد للقضاء على البكتيريا.

وينقسم العمل إلى ثلاثة فصول :

**الفصل الأول: أقراص صغيرة الحجم معينة في كبسولة كنظام عاتم محكم الانطلاق للقضاء علي الهليكوباكتر بيلورى.**

تم تحضير أقراص مختلفة الصياغات صغيرة الحجم قطرها (٤ مم) فوارة أو غير فوارة تحتوي علي ٢٥٠ ميليغرام ليفوفلوكساسين إما عن طريق الكبس المباشر أو باستخدام طريقة تكوين الحبيبات الرطبة.

تم استخدام مجموعة من البلمرات إما منفردة أو بالإضافة إلى غيرها : هيدروكسي بروبيل ميثيل سيليلوز E١٥ و K١٠٠M منفردين أو مع كربوبول ٩٤٠P.

كما أعدت تركيبات تحتوي على الكيتوزان مع ألجينات الصوديوم بنسب ١ : ١ و ١ : ٢. وقد أضيف خليط من بيكربونات الصوديوم وحمض الستريك بنسبة ٢ : ١ إلى الصياغات الفوارة.

تم قياس خصائص ما قبل الكبس وما بعده، كما تم قياس الوقت الذي تستغرقه الأقراص لكي تطفو وكذلك مدة الطفو علي السطح. أجريت دراسات انطلاق العقار لكل الصياغات وكذلك انتفاخ الأقراص في حمض الهيدروكلوريك عياري ٠.١.

وقد تم اختيار الصياغة المثلى من بين جميع الأقراص المعدة اعتماداً على نتائج انطلاق العقار وكذلك قدرته علي الطفو. كما تم تعريف الصياغة المثلى لاختبار الأشعة تحت الحمراء وكذلك الماسح السعري النفاضلي للتحقق من عدم وجود تداخلات بين عقار الليفوفلوكساسين والإضافات الأخرى. كما أجريت أيضاً الدراسة السريرية للصياغة المثلى على متطوعين أصحاء.



كشفت نتائج هذا الفصل ما يلي:

الصياغات التي تحتوي على بلمر هيدروكسي بروبيل ميثيل سيليلوز E15 لم تعط المعدل الممتد المطلوب لإطلاق العقار لذلك استخدم بلمر هيدروكسي بروبيل ميثيل سيليلوز K100M ذو اللزوجة الأعلى منفردا أو مضافا إليه بلمر الكربوبول 940P لإعداد الصياغات F4-F8 بواسطة طريقة الحبيبات الرطبة.

إضافة البلمر المسالب الشحنة كربوبول 940P قلل من معدل انطلاق العقار في الوسط الحمضي عن طريق تكوين حاجز غير قابل للذوبان يعوق انتشار العقار من خلاله مما أدى إلى تقليل كمية العقار المنطلقة في المراحل الأولى من الاختبار كما حدث في الصياغة المحتوية على هيدروكسي بروبيل ميثيل سيليلوز K100M.

انطلق 80% من الليوفولوكساسين من الأقراص الفوارة F4 عند 8 ساعات بينما انطلق 96% من كل من الأقراص الفوارة F6 و F8 عند نفس الوقت. استغرقت الأقراص الفوارة F4 أقل من ثانية واحدة للتطو على السطح واستمرت طافية على السطح أكثر من 24 ساعة.

أظهرت نتائج دراسة الانتفاخ أن F4 حققت أعلى نسبة من بين كل الصياغات المحتوية على هيدروكسي بروبيل ميثيل سيليلوز K100M حيث كانت النسبة المئوية لمعامل الانتفاخ بعد 4 ساعات 24.057%. ويرجع السبب في ذلك لوجود مجموعة الهيدروكسي بروبوكسيل المحبة للماء بدرجة عالية في تكوين هيدروكسي بروبيل ميثيل سيليلوز K100M.

تم الحصول على أبطأ معدل انطلاق للعقار من الصياغات الغير فوارة F5 و F7 المحتوية على كربوبول 940P: هيدروكسي بروبيل ميثيل سيليلوز K100M (1:1) و (2:1) على التوالي. على الرغم من ذلك لا يمكن اعتبار F5 و F7 صياغات ناجحة وذلك لأنها استغرقت فترة زمنية طويلة للوصول للسطح: 20،30 دقيقة على التوالي.

تم اختبار صياغات فوارة و غير فوارة تحتوي على بلمر الكيتوزان و ألجينات الصوديوم في نسب مختلفة أعدت إما عن طريق استخدام طريقة الكبس المباشر أو تكوين الحبيبات الرطبة.

في محاولة لدراسة تأثير إضافة الخليط المسبب للفوران لصياغات الأقراص، تم تحضير أقراص تحتوي على الكيتوزان: ألجينات الصوديوم بنسبة 1:1 بدون خليط فوار (F9) و بخلط فوار (F11) بطريقة الحبيبات الرطبة.

الصياغة (F9) الغير فوارة أسفرت عن انطلاق 5% من الليوفولوكساسين في أول 10 دقائق، بينما أطلقت الصياغة الفوارة (F11) 40% من الليوفولوكساسين في نفس الفترة. ويرجع السبب في ذلك لأن الخليط الفوار تسبب في تكون مسام في البلمر مما أدى إلى سرعة معدل انطلاق الدواء.

من أجل دراسة تأثير طريقة التحضير على انطلاق الليوفولوكساسين تم إعداد أقراص صغيرة الحجم فوارة تحتوي على الكيتوزان: ألجينات الصوديوم بنسبة 1:1 بطريقة الكبس المباشر (F10) و الحبيبات الرطبة (F11).

أثرت طريقة التحضير بشكل كبير على معدل انطلاق العقار من الصياغات المعدة حيث انطلق 90% من الليوفولوكساسين من الصياغة F10 و 72% من F11 في 4 ساعات.

إن تباطؤ انطلاق الليوفولوكساسين من الصياغة F11 يمكن أن يعزى إلى التفتت البطيء للأقراص نتيجة وجود البولي فينيل بيريوليدين المذاب في كحول الأيزوبروبيل، والذي تم استخدامه كمادة مزيده لتماسك مكونات الصياغات أثناء التحضير بطريقة الحبيبات الرطبة.

في محاولة لدراسة تأثير نسب البلمرات المختلفة على انطلاق الليوفولوكساسين من المستحضرات المعدة؛ فقد تم تحضير أقراص صغيرة الحجم معدة بطريقة الحبيبات الرطبة تحتوي على الكيتوزان: ألجينات الصوديوم بنسبة 1:1 (F11) و مقارنتها بأقراص تحتوي على نفس المكونات بنسبة 1:2 (F12).

أدت زيادة نسبة ألجينات الصوديوم إلى بطء انطلاق الليوفولوكساسين ( $P \leq 0.0001$ ). ويرجع السبب في ذلك إلى اللزوجة العالية لبلمر ألجينات الصوديوم.



استنادا إلى النتائج المذكورة أعلاه فقد تم اختيار F٤ كصياغة ناجحة و تم إجراء إختبارات أخرى عليها. أظهرت نتائج دراسات الأشعة تحت الحمراء وكذلك الماسح السعري التفاضلي التوافق بين الليوفولوكساسين والمواد المضافة الأخرى في صياغة F٤. كما أثبتت نتائج الأشعة السينية بقاء أقراص F٤ في المعدة لأكثر من ٤ ساعات.

**الفصل الثآني: النظام المترآيد الحجم لتوصيل الدواء للقضاء على بكتيريا الهليكوبآكتر بيلوري.**

يعد النظام المترآيد الحجم لتوصيل الدواء واحد من الطرق المستخدمة للاحتفاظ بالدواء في المعدة لفترة زمنية طويلة. يبلغ قطر فتحة البواب للمعدة في جسم الإنسان حوالي ١٢.٨ ± ٧ مم و هي بمثابة غربال يعوق مرور الجزيئات الكبيرة الحجم. لا تستطيع الأنظمة المترآيدة الحجم الخروج من المعدة إذا كان قطرها أكبر من قطر فتحة البواب.

في محاولة لصياغة نظام التوصيل المترآيد الحجم لعقار الليوفولوكساسين للقضاء على بكتيريا الهليكوبآكتر بيلوري ، تم استخدام بعض البلمرات: الصمغ الجيلاني ، أأچينات الصوديوم، البكتين والصمغ الزانتاني،بالإضافة إلى سترات المغنيسيوم كمانع للإحتكاك، اللاكتوز المجفف وأفيسل كحشو أو استخدام رابط مثل كلوريد الكالسيوم ثنائي الماء والألومنيوم سداسي الماء ودايتاب.

تم تحضير الأقراص بطريقة الكبس المباشر بحيث يكون قطر القرص ١٢ مم و يكون محتواه من عقار الليوفولوكساسين ٢٥٠ مجم.بالإضافة لهذه الطريقة ، تم استخدام كل من القرص داخل القرص و الصب الغشائي كطريقتين أآرتين لتحضير الصياغة المحتوية علي بلمر أأچينات الصوديوم.

أجريت الدراسات لتقييم خصائص ما قبل الكبس و بعده. كما أجريت دراسة قدرة الأقراص على الانتفاخ و معدل انطلاق العقار منها في حمض الهيدروكلوريك ٠.١ عياري.

تم إجراء دراسات أآري للصياغة المنتقاها و التي حققت الفترة الأطول في انطلاق عقار الليوفولوكساسين و هي إختبارات الأشعة تحت الحمراء و الماسح السعري التفاضلي و كذلك الإنتفاخ الطري.

أظهرت نتائج هذا الفصل أن استخدام الكالسيوم كرابط مع الصمغ الجيلاني في صياغة (G١) قد أدى إلي مد فترة انطلاق الدواء من الأقراص لفترات طويلة تصل إلى ٨ ساعات (٨٢٪). و توافقت هذه النتائج مع نتائج تجارب تعيين معامل الإنتفاخ في حمض الهيدروكلوريك ٠.١ عياري ، حيث سجلت G١ أعلى معامل انتفاخ (٧٤٪) بعد ٤ ساعات. كانت آلية انطلاق الدواء من G١ هي الانتشار اللافيكي الغير منتظم.

تمت إضافة إما كلوريد الكالسيوم ثنائي الماء أو الألومنيوم سداسي الماء أو دايتاب أو اللاكتوز المجفف إلى أقراص أأچينات الصوديوم وذلك لإختبار تأثيرها على معدل انطلاق الليوفولوكساسين .

الصياغة المحتوية علي دايتاب (A٤) كانت الأكثر قدرة علي مد فترة انطلاق الدواء حيث أنها أطلقت ٢٢.٩٢٪ و ٧٦٪ من الليوفولوكساسين في ١ و ٨ ساعات على التوالي. إن دايتاب (فوسفات ثنائي الكالسيوم ثنائي الماء) الغير قابل للذوبان في الماء (٠.٠٢ ملجم / ١٠٠ مل من الماء) أدى إلى بطء انطلاق العقار من هذه الصياغة.

تم إختبار تأثير طريقة إعداد أقراص أأچينات الصوديوم المحتوية علي كلوريد الكالسيوم ثنائي الماء على انطلاق الليوفولوكساسين. أظهرت النتائج أن طريقة القرص داخل القرص (A٦) أدت إلى انطلاق سريع للدواء وصلت إلى ٧٠٪ في الساعة الأولى. يرجع ذلك إلي التفتت السريع للقرص مما عرض مساحة كبيرة منه للذوبان في الوسط المحيط. من ناحية أآرى وجود اللاكتوز المجفف القابل للذوبان في نفس الصياغة قد تسبب أيضا في الانطلاق السريع للدواء. في حين أن أقراص أأچينات الصوديوم المحتوية علي كلوريد الكالسيوم ثنائي الماء و المعدة بطريقة الصب الغشائي (A٧) أطلقت ٣٣٪ و ٨٧٪ من الليوفولوكساسين بعد ساعة و ٨ ساعات علي التوالي؛ نتيجة إحتباس الليوفولوكساسين في أأچينات الكالسيوم المتكون أثناء إعداد الأقراص بهذه الطريقة.

كما تم استخدام البكتين نظرا لقدرته على تكوين الهلام عند إضافته للوسط المائي، و من ثم تم استخدامه لإطالة فترة انطلاق الليوفولوكساسين. إن انطلاق الليوفولوكساسين من الأقراص المحتوية علي البكتين (P٦) و البكتين/ أفيسل (P٥) قد أطيل



لمدة ٨ ساعات (حوالي ٨٠%). ويرجع ذلك إلى التكون السريع لطبقة هلامية عالية اللزوجة حول الأقراص في الوسط الحمضي المستخدم (معامل الأس الهيدروجيني ١.٢). تكونت المادة الهلامية نتيجة الرابطة الهيدروجينية بين مجموعات الكربوكسيل الحرة على جزيئات البكتين وكذلك بين مجموعات الهيدروكسيل من الجزيئات المجاورة.

من أجل دراسة تأثير نوع الرابط على انطلاق الليفوفلوكساسين، تم إضافة كلوريد الكالسيوم ثنائي الماء أو الألومنيوم سداسي الماء إلى أقراص البكتين: P٢ و P١ ، علي التوالي.

إنطلق الدواء كله من أقراص الصياغة (P١) التي تحتوي على أيونات الكالسيوم في ٣٠ دقيقة فقط ، بينما أطالت أيونات الألومنيوم فترة انطلاقه من الصياغة (P٢) حتي ٣ ساعات. ويمكن تفسير ذلك بأن بكتينات الكالسيوم لم تتكون بسبب عدم كفاية المجموعات الحمضية التي لها القدرة علي تكوين الهلام أو تكوين راسب مع أيونات الكالسيوم في حين أن الألومنيوم له القدرة علي تكوين راسب.

لاختبار تأثير الصواعات المختلفة على انطلاق الدواء من أقراص البكتين ، تم استخدام اللاكتوز المجفف (P٣) أو دايتاب (P٤) لتحضير الأقراص. كلاهما خفض معدل انطلاق الدواء بنفس القدر. انطلق حوالي ٦٧% و ٦٥% من الليفوفلوكساسين عند ٨ ساعات من P٣ و P٤ ، علي التوالي. في حالة الصياغة P٣ قد ترجع النتيجة السابقة إلي الروابط الهيدروجينية التي يمكن أن تتكون بين مجموعات الهيدروكسيد الموجودة في اللاكتوز المجفف و كلا من مجموعات الكاربوكسيل و الأמיד الموجودة في تكوين البكتين. أما في حالة P٤ فقد يرجع السبب إلى أن دايتاب يذوب في الوسط الحمضي مما يجعله مصدر لتوافر أيونات الكالسيوم الذي يمكن أن يتفاعل مع البكتين لتكوين هلام قوي. دايتاب كونه أقل ذوباناً من كلوريد الكالسيوم ثنائي الماء فقد أدى ذلك إلى تكوين هيكل أكثر تماسكاً مما تحكم في انطلاق الليفوفلوكساسين بشكل كبير.

بشأن الصياغات المحتوية علي الصمغ الزانتاني ، تم الحصول على النتائج التالية:

لوحظ أن النسبة المنطلقة من العقار في الساعة الأولى للصياغات: X٢ ، X١ ، X٥ ، X٤ و X٣ هي ٢٧.٨ ، ٢١.٠٧ ، ١٥.٩٥ ، ١٢.٩ و ٨.٥% ، علي التوالي. يرجع السبب في هذا الانطلاق البطيء لعقار الليفوفلوكساسين إلي قدرة بلمر الصمغ الزانتاني علي تكوين مادة هلامية لزجة بسرعة. تراوحت النسبة المنطلقة من الليفوفلوكساسين بعد ٨ ساعات من جميع صياغات الصمغ الزانتاني بين ٥٧-٦٢%. ما عدا الصمغ الزانتاني مع كلوريد الكالسيوم ثنائي الماء (X١) و التي أظهرت انطلاق أسرع لعقار الليفوفلوكساسين (٧٩% في ٨ ساعات).

قد تم اختيار الأقراص التي تحتوي على الصمغ الزانتاني منفرداً (X٥) كأفضل صياغة و كان تفسير تأخر انطلاق العقار هو تكون هيكل هلامي سميك حول القرص. هذا بالإضافة إلي احتفاظ X٥ ببيكلها سليم مع زيادة القطر مع مرور الوقت. زاد قطر القرص إلى قيمة (١٧مم) أكبر من قطر فتحة البواب للمعدة مما جعل X٥ تعمل كنظام توصيل دوائي من النوع السداد. أكدت دراسات الأشعة تحت الحمراء وكذلك الماسح السعري التفاضلي أنه لا يوجد تداخلات بين الليفوفلوكساسين و بلمر الصمغ الزانتاني.

**الفصل الثالث: التحقق من قدرة التوت البري المضادة للالتصاق كوسيلة تكميلية واعدة للسيطرة على الإصابة بالهليكوباكتر بيلورى.**

أكدت الدراسات أن التوت البري يمنع التصاق ميكروب الإشرشيا كولاى المسببة للأمراض البولية على الأغشية المخاطية ، كما أنه يمنع اللاصق الخاص بميكروب الهليكوباكتر بيلورى (حمض السيليك) من الالتصاق بالغشاء المخاطي للمعدة البشرية وهذا الالتصاق هو سبب رئيسي لحدوث قرحة المعدة.

تم تعيين قدرة التوت البري على منع تكوين الغشاء الحيوي باستخدام طريقة لتقدير حجم تكوين الغشاء الحيوي معتمداً على اختبار لوحة معيارية قياسية. تهدف هذه الدراسة إلى التحقق من آثار التركيزات التحت- المثبطة لمستخلص التوت البري المتوفر تجارياً ضد إحدى سلالات الإشرشيا كولاى المسببة للأمراض البولية.



وجد أن التوت البري له فاعلية في منع التصاق الإشريشيا كولاي بجدران فتحات اللوحة المستخدمة معتمدا على درجة التركيز. كما أنه حد من قدرة البكتيريا على تكوين غشاء حيوي. ظهر انخفاض في كتلة الغشاء الحيوي المتكون كما اتضح من قيم الكثافة البصرية المقاسة عند طول موجى 630 نانومتر مع زيادة تركيز التوت البري.

ويمكن أن يعزى هذا إلى تثبيط تكوين ب. فيمبيريا و حدوث خلل في أغشية البكتيريا و من ثم فإن المواد المضادة للتصاق يمكن أن تكون وسيلة فعالة لمنع أو علاج الإصابة بالبكتيريا.

مما سبق يتضح أن الجمع بين المضادات الحيوية و صياغات التوت البري فى العلاج يمكن أن تساهم في إيادة الهليكوباكتر بيلورى من المعدة.