

## صياغة وتقييم أنظمه معينه للعين تحتوي على جزيئات نانومتريه لاحد المضادات الحيويه

ان العلاج الموضعي لأمراض العين هوأحد أكثر الطرق المفضله لعلاج هذه الأمراض. ولكن الإتاحة الحيويه لأدويه العين غالبا ما تكون ضعيفه جدا وذلك لتعرضها للإزالة من العين بشكل سريع نتيجة وجود اليات دفاع طبيعيه بالعين مثل ومض العين, إفراز الدموع اللاإرادي, تصريف جزء من الجرعه عن طريق الأنف, وغيرها من الأليات والتي تتخلص من الدواء باعتباره جسم غريب مما يترتب عليه قلة زمن بقاء الدواء بالعين وضعف الإتاحة الحيويه له.

بالإضافه الي ما سبق فإن التركيب التشريحي والفيولوجي للعين وطبيعة القرنيه كحاجز للحماية تقلل من قدرة العين علي إمتصاص الأدوية. ويترتب علي ذلك ضرورة زيادة عدد مرات إستخدام الدواء للمحافظة علي المستوي العلاجي المطلوب للدواء. كما أن تكرار استخدام الدواء بصوره كبيره قد ينتج عنه بعض الآثار الجانبيه السامه مصحوبه بتضرر انسجة العين .

ولزيادة كمية الدواء التي تصل للأنسجه المستهدفه اولزيادة التأثير الموضعي للدواء فإن زيادة زمن بقاء الدواء بالعين يعتبر امر ضروري. كما أن إنتاج صياغات صيدليه يتم استخدامها بعدد مرات أقل يصل لمره واحده في اليوم يساعد علي زيادة التزام المريض بنظام العلاج.

بناء علي ما تقدم فإنه كان من الضروري الإتيان باستراتيجيات جديده لزيادة الإتاحة الحيويه لأدويه العين. من هذه الإستراتيجيات تحميل الأدوية المطلوبه علي جزيئات نانومتريه او إدراجها في حويصلات نانومتريه لحمايتها من اليات دفاع العين ولزيادة قدرتها علي إختراق أنسجة العين وزيادة زمن بقاءها في العين حيث ان هذه الأنظمه لها القدره علي التفاعل مع طبقة الميوسين لزيادة التصاق الدواء بأنسجة العين وكذلك لها القدره علي حماية الدواء من إنزيمات الأيض الموجوده بالعين.

إن المضادات الحيويه المنتمية لعائلة الفلوروكينولونز معروفه باتساع نطاق نشاطها ضد البكتريا سالبة الجرام والتي تسبب عدوي خطيره للعين مثل نوع ال *pseudomonas* . ولكن العقارات الأحدث من نفس العائله لها نطاق نشاط متسع ضد البكتريا بنوعيهها موجبة الجرام وسالبة الجرام.

يعتبر عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد احد عقارات الجيل الرابع من عائله الفلوروكينولونز والذي يتميز باتساع نشاطه ضد انواع البكتريا المختلفه وقدرته علي علاج الأمراض الخطيره الناشئه عنها ولكنها متاح فقط في صورة قطرة للعين مما يترتب عليه تعرضه لكافة أشكال المقاومه بالعين كما يتم التخلص منه بسهوله عن طريق أليات دفاع العين السابق ذكرها مما يترتب عليه ضعف اتاحته الحيويه وانخفاض قدرته علي اختراق طبقات العين للوصول للأنسجه المستهدفه.

من هذا المنطلق فإن عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد يعتبر مرشح جيد للتحميل علي انظمه نانومتريه ناقله ومن الأنظمة المرشح إستخدامها الجزيئات البوليمريه النانومتريه والنيوزومات. الجزيئات البوليمريه هي جزيئات غرويه نانومتريه تتكون من مجموعه من البوليميرات الطبيعيه او الصناعيه وتتميز بصغر حجمها الذي يتراوح بين 1-1000 نانومتر وقدرتها الكبيره علي الوصول بشكل انتقائي للأنسجه المستهدفه , أما النيوزومات فهي حويصلات تتكون عن طريق إماهة الطبقة الرقيقه التي تتكون من خافضات التوتر السطحي الصناعيه الغير متأيئه ويدخل في تركيبها بعض الدهون مثل الكوليستيرول.

هذه الأنظمة لها القدره على زيادة فاعلية الأدوية التي تعطى عن طريق سطح العين وذلك من خلال زيادة قدرة العقار علي إختراق طبقات أنسجة العين المختلفه وذلك لصغر حجمها والذي يساعد علي زيادة مساحة السطح المتاحه للانطلاق والامتصاص. كما أن الطبيعه الدهنيه للنيوزومات تجعلها قادرة بشكل أكبر علي إختراق أنسجة العين وكذلك فان الجزيئات البوليمريه النانومتريه لها قدره كبيره علي اختراق أنسجة العين نتيجة قدرتها علي النفاذ من خلال المسام الموجوده بين الخلايا مما يعظم من دورهم في إيصال الدواء للأنسجه المستهدفه بشكل انتقائي. وينقسم العمل في هذه الدراسه الى اربعة فصول رئيسيه كالآتي:

**الفصل الأول** صياغة وتقييم النيوزومات المحتويه على عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد..

**الفصل الثاني**: صياغة وتقييم وانتقاء الصياغه المثلي من بين الجزيئات البوليمريه النانومتريه المحمله بعقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد.

**الفصل الثالث**: إدراج الصياغه المنتقاه من الفصل الأول وكذلك مسحوق عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد في قواعد حساسه للحراره مكونه للهلام في الموقع.

**الفصل الرابع**: تقييم الصياغه الهلامييه المنتقاه من الفصل الثالث وكذلك الصياغه المثلي المنتقاه من الفصل الثاني في صورة معلق نانومتري لاختبار تأثيرهما الحيوي علي الأرانب وكذلك اختبار قدرتهما المضادة للبكتريا مقارنة بالتركيبه التجاريه المتاحه من العقار.

## الفصل الأول

### صياغة وتقييم النيوزومات المحتوية على عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد

يشتمل هذا الفصل على دراسة الخواص الكيميائية والطبيعية لعقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد ثم تقييم هذا العقار من حيث أقصى ذوبان يمكن الحصول عليه في الأوساط المختلفة المستخدمة في تجارب الإنطلاق والنفاذية وبذلك يتأكد تحقيق حالات الانغماس (sink conditions)

يتناول الفصل دراسة تفاعل عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد مع مكونات النيوزومات عن طريق المسح التفاضلي الحراري والتحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت الحمراء.

ويتناول الفصل أيضاً صياغة النيوزومات المحتوية على عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد باستخدام مادة دهنية وهي الكوليستيرون وماده صناعية غير متآينة خافضه للتوتر السطحي وهي السبان 60 أو السبان 20 أو السبان 80 بنسب مولية مختلفة بين الكوليستيرون والسبان 60 أو السبان 20 والسبان 80 وتم تصنيع النيوزومات بطريقة إمهاة الطبقة الرقيقة التي تتكون من السبان 60 أو السبان 20 أو سبان 80 والكوليستيرون بمحلول الفوسفات الملحي المعادل للاس الهيدروجيني الذي يحتوى على عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد وقد تم استخدام طريقة المعامل الفاكثوري في تصميم التجربة .

وتم تقييم النيوزومات التي تم إنتاجها بإجراء الإختبارات الآتية:

- 1-قياس المحتوى الكمي للجزيئات من اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد: وذلك طريق ازالة الدهون ثم قياس كمية الفلورويوراسيل في المحلول باستخدام جهاز التحليل الضوئي عند 282 نانومتر.
- 2-قياس حجم الجزيئات باستخدام جهاز التحليل الطيفي فوتوني الارتباط
- 3-قياس شحنة الجزيئات باستخدام تقنية فرق الجهد زيتا (Zeta potential)
- 4-تقييم شكل الجزيئات عن طريق تصويرها باستخدام مجهر الإختراق الإلكتروني.
- 5- دراسة قدرة الجزيئات على النفاذ من أغشية القرنيه.

في هذه التجربة يتم استخدام اغشية القرنيه التي تم الحصول عليها من عيون البقر

**أولاً:** الجهاز المستخدم في هذه التجربة عباره عن أنبوبة مفتوحة الطرفين بقطر 5 سم<sup>2</sup> وهذه هي المساحة التي يتم من خلالها نفاذ العقار. الوسط المستقبل هو عبارة عن محلول كريبس رينجر بكميه 50 مل ودرجة حرارة 37<sup>0</sup> م ويتم تقايبه بواسطة مغناطيس مغطى بمادة التيفلون بمعدل 100 لفة في الدقيقة. بينما يترك الجزء المعطى معرض لدرجة حرارة الغرفة. تسحب العينات بكمية 1 مل من الوسط المستقبل بعد فترات زمنية معينه وتخفيفها

بنسبة 1:10 بالوسط المستخدم فى التجربة وتم التحليل الطيفى عند 282 نانوميتر باستخدام مقياس الطيف فوق البنفسجى(UV spectrophotometer) لقياس اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد.

**ثانياً:** استكمالاً لدراسة نفاذية اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد من الجزيئات المختلفه تم رسم علاقه بين كمية العقار النافذه من وحدة مساحة غشاء القرنيه وبين الزمن . هناك ثلاث ثوابت تحدد نفاذية العقار من الجزيئات وهى:

- فترات الإنتظار التى تحدد عند تقاطع المنحنيات مع العمود X (الزمن)
- معامل النفاذيه وينتج من عملية قسمة ميل الخط المستقيم على كمية العقار الأوليه التى وضعت فى الجزيئات.

- كمية العقار المتراكمه فى الوسط المستقبل بعد انقضاء 24 ساعه
- ثم تم قياس نسبة إماهة القرنيه فى الأغشيه التى تم استخدامها فى تجربة النفاذيه وذلك بعد انتهاء تجربة النفاذيه حيث تم فصل غشاء الرنيه بشكل حذر من النسجه المحيطه وتم وزنه ثم تم تجفيفه عند درجة حراره  $100^{\circ}\text{C}$  لمدة 6 ساعات ثم اعاده وزنها مرة أخرى ثم تم حساب الفرق فى الوزن ومقارنته بوزنه الأصلي قبل التجفيف. والغرض من قياس هذه النسبة هو التنبأ بمدى

6-مقارنة كمية اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد المنطلقه من الجزيئات المختلفه بواسطة جهاز معدل الإذابه الأمريكى رقم 1 الخاص بدستور الأدوية الأمريكى فقد تم حقن معلق النيوزومات فى أنبويه زجاجيه مفتوحة الطرفين مغطاه فى جزئها الأسفل بأكياس الفرز(dialysis bags)التي تم بعد ذلك إيصالها بجهاز الإذابه ثم تم غمرها داخل جهاز الإذابه عند درجة حراره  $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  م ويدار البديل بسرعة 50 لفه فى الدقيقه حيث تؤخذ العينات (5 مل) بعد فترات معينه وتم التحليل الطيفى عند 282 نانوميتر لقياس اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد.

7-تم دراسة الثبات للصياغه رقم 2 والمكونه من 55 مج كوليستيرون و100 مج من السبان 20 وذلك بقياس حجم الجزيئات وكفاءة الإحتواء وكذلك شحنة الجزيئات لهذه الصياغه عندما تم تحضيرها مباشرة ثم قياس ذه الخواص مرة أخرى بعد تخزينها لمدة ثلاثة أشهر والمقارنه بين النتائج فى الحالتين .

وتم تقييم النتائج احصائياً ورياضياً وكيناتيكيًا باستعمال الحاسب الآلى لإجراء المقارنات بين النيوزومات المختلفه وبعضها وبين النيوزومات المختلفه وعقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد .

**وقد تم التوصل الى النتائج الآتية:**

1- أشارت النتائج الى أن عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد يتمتع بذوبانيه عاليه فى الوسط المستخدم فى النفاذيه وهو محلول كريبس رينجر وكذلك فى الوسط المستخدم فى تجارب الإنطلاق وهو ال محلول المحاكى للسائل الدمعي وعليه فأن الأحجام المستخدمه من هذه الاوساط فى تجارب النفاذيه والانطلاق سوف تحقق حالات الانغماس

- 1- أثبتت النتائج ان عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد لا يتفاعل مع أى من مكونات النيوزومات.
- 2- تم إحتواء عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد بنجاح داخل النيوزومات بكفاءة إحتواء تصل إلى 78.1 %
- 3- اكتسبت النيوزومات حجما يتراوح من 109.4 إلى 457.5 نانومتر ومؤشر تشتت متعدد يتراوح من 0.106 إلى 0.519 مما يدل على أن النيوزومات المتكونه تعتبر إلى حد ما أحادية التشتت. كما أن النيوزومات قد أكتسبت شحنات سالبه تتراوح من -26.4 إلى -43.6 وهذه النتائج تشير إلى ثبات النيوزومات التي تم تحضيرها.
- 4- أظهر تصوير الجزيئات باستخدام مجهر الإختراق الإلكترونى أن النيوزومات المتكونه مستديرة الشكل بعضها ذات جدار احادى الطبقة وبعضها ذات جدار متعدد الطبقات كما أن لها حجماً أصغر إلى حد ما من الحجم الذى تم الحصول عليه باستخدام جهاز التحليل الطيفى فوتونى الإرتباط.
- 5- أثبتت نتائج تجارب النفاذيه أن كل صياغات النيوزومات التي تم إنتاجها لها قدره على إختراق أغشيه القرنيه أكثر من عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد وذلك كونها مواد دهنيه قادره على اختراق الأغشيه الكارهه للماء وكذلك فإن ماده الخافضه للتوتر السطحى المستخدمه فى التحضير لها خواص إسراع النفاذيه. وكانت الصياغه رقم 9 صاحبة أعلى معامل نفاذيه وأعلى كمية عقار مترامه فى الوسط المستقبلى وأقل زمن إنتظار وذلك لأن لها أصغر حجم للجزيئات مما ساعد على زيادة مساحة السطح المتاحه للنفاذ. كما ثبت أيضا من قياس نسبة اماهة غشاء القرنيه والتي تراوحت بين 76.1 % و 79.82% مما يدل على ان هذه الصياغات غير مسببه لتلف القرنيه وتعتبر امنه للاستخدام حيث ان النسب التي تم الحصول عليها تقع ضمن النسبه المقبوله لمستوي اماهة القرنيه وهي 76%-80%
- 8- أثبتت نتائج تجارب الإنطلاق أن كل النيوزومات أكتسبت نسبة إنطلاق أقل من اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد. وكانت الصياغه رقم 9 هى صاحبة اعلى نسبة إنطلاق وهذا يعود إلى صغر حجم الجزيئات فى هذه الصياغه مما يزيد من مساحة السطح المتاحه للإنطلاق. كما أثبتت النتائج أن إنطلاق العقار من النيوزومات يتبع نظام معادلات هيجوتشى للإنتشار.
- 9- أوضحت تجربه الثبات أن الصياغه رقم 2 تعتبر ثابتة من حيث كفاءة الإحتواء وحجم الجزيئات وكذلك شحنات الجزيئات حتى فترة ثلاثة أشهر من فترة التخزين حيث أن النقص فى كفاءة الإحتواء والزيادة فى حجم الجزيئات وكذلك النقص فى شحنة الجزيئات التي حدثت على مدى ثلاثة أشهر كانت غير جوهريه .  
بناء على ما تقدم فإنه تم إختيار الصياغه رقم 2 كى يتم إدخالها فى قواعد حساسه للحراره مكونه للهلام فى الموقع .

## الفصل الثاني

صياغة وتقييم واختيار الصياغة المثلى من بين الجزئيات البوليميرية النانومترية المحملة بعقار اللوميفلوكساسين

### هيدروكلورايد

يتناول الفصل دراسة تفاعل عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد مع مكونات الجزئيات البوليميرية النانومترية عن طريق المسح التفاضلي الحراري والتحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت الحمراء.

ويتناول الفصل أيضاً صياغة الجزئيات البوليميرية النانومترية المحملة بعقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد باستخدام مواد بوليميرية وهي الكيتوزان و صوديوم ترائي بولي فوسفيت وكذلك الجينات الصوديوم . وقد تم تحضير هذه الجزئيات باستخدام طريقة التماسك الأيوني والتي تعتمد علي تكوين جزئيات نانومترية عن طريق التجاذب بين الشحنات الموجبه الموجوده علي سطح جزئيات الكيتوزان والشحنات السالبه الموجوده علي الموجوده علي سطح صوديوم ترائي بولي فوسفيت و الجينات الصوديوم .

وقد تم استخدام برنامج التصميم الاحصائي

(ANNs)-Genetic algorithm software package (INForm V3.6, Intelligensys Ltd., UK)

وتم تقييم الجزئيات البوليميرية النانومترية التي تم إنتاجها بإجراء الإختبارات الآتية:

1-قياس المحتوى الكمي للجزئيات من اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد : وذلك طريق استخدام اسلوب الطرد المركزي ثم قياس كمية العقار في الجزء السائل الغير محتوي علي راسب باستخدام جهاز التحليل الضوئي عند 282 نانومتر.

2-قياس حجم الجزئيات باستخدام جهاز التحليل الطيفي فوتوني الإرتباط

3-قياس شحنة الجزئيات باستخدام تقنية فرق الجهد زيتا

4-تقييم شكل الجزئيات عن طريق تصويرها باستخدام مجهر الإختراق الإلكتروني.

5- دراسة قدرة الجزئيات على النفاذ من أغشية القرنيه التي تم الحصول عليها من عيون البقر. تم تحديد كمية العقار التي تخرج من الجزئيات وتخرق الغشاء باستخدام جهاز مقياس الطيف فوق البنفسجي وقد تم تنفيذ هذه التجربه بذات الطريقه المتبعه في الفصل الأول وتم قياس نفس الثوابت لقياس قدرة الجزئيات على النفاذ من أغشية القرنيه مقارنة بعقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد.

6- مقارنة كمية اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد المنطلقه من الجزئيات المختلفه بواسطة جهاز معدل الإذابه الأمريكي رقم 1 الخاص بدستور الأدوية الأمريكي فقد تم حقن معلق الجزئيات في أنبويه زجاجيه مفتوحة

الطرفين مغطاه في جزئها الأسفل بأكياس الفرز التي تم بعد ذلك إبدالها بجهاز الإذابة ثم تم غمرها داخل جهاز الإذابة عند درجة حراره  $37 \pm 0.5$  م ويدر البدال بسرعه 50 لفه في الدقيقه حيث تؤخذ العينات (5 مل) بعد فترات معينه وتم التحليل الطيفي عند 282 نانومتر لقياس اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد.

7- تم إدخال النتائج التي تم الحصول عليها الي البرنامج الاحصائي السابق ذكره وذلك بهدف تقييم النتائج احصائيا والحصول علي تركيب الصياغه المثلي للجزيئات البوليميريه النانومتريه.  
وتم تقييم النتائج احصائيا ورياضيا وكيناتيكيبا باستعمال الحاسب الآلي لإجراء المقارنات بين الجزيئات المختلفه وبعضها وبين الجزيئات المختلفه وعقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد .

### وقد تم التوصل الى النتائج الآتيه:

1- اثبتت النتائج ان عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد لا يتفاعل مع أى من مكونات الجزيئات البوليميريه النانومتريه.

2- تم تحميل عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد بنجاح علي الجزيئات بكفاءه تصل إلى 80.03 %

3- اكتسبت الجزيئات حجما يتراوح من 57.03 إلى 520 نانومتر ومؤشر تشتت متعدد يتراوح من 0.016 إلى 0.568. كما أن الجزيئات قد أكتسبت شحنات موجبه تتراوح من 8.33 إلى 40.

4- أظهر تصوير الجزيئات باستخدام مجهر الإختراق الإلكتروني أن الجزيئات المتكونه مستديرة الشكل ذات سطح أملس أحيانا توجد منفردة وأحيانا في تجمعات كما أن لها حجماً أصغر إلى حد ما من الحجم الذي تم الحصول عليه باستخدام جهاز التحليل الطيفي فوتوني الإرتباط.

5- أثبتت نتائج تجارب النفاذيه أن كل صياغات الجزيئات البوليميريه النانومتريه التي تم إنتاجها لها قدره علي إختراق أغشية القرنيه أكثر من عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد وذلك لقدرة هذه الجزيئات علي النفاذ من خلال المسام البينيه الموجوده بين الخلايا وذلك نظرا لما تحتويه من ماده الكيتوزان والتي لها قدره أيضا علي العمل كمحسن نفاذيه وهو أيضا بوليمر له القدره علي الالتصاق بغشاء القرنيه لمدته أطول مما يزيد من فرص اختراقه لغشاء القرنيه . وكانت الصياغه رقم 1 صاحبة أعلى معامل نفاذيه وأعلى كميّة عقار متراكمه في الوسط المستقبل وأقل زمن إنتظار وذلك لأن لها أصغر حجم للجزيئات مما ساعد علي زيادة مساحة السطح المتاحه للنفاذ. كما ثبت أيضا من قياس نسبة اماهة غشاء القرنيه والتي تراوحت بين 76 % و 79 % مما يدل علي ان هذه الصياغات غير مسببه لتلف القرنيه وتعتبر امنه للاستخدام حيث ان النسب التي تم الحصول عليها تقع ضمن النسبه المقبوله لمستوي اماهة القرنيه وهي 76%-80%

8- أثبتت نتائج تجارب الإنطلاق أن كل الجزيئات أكتسبت نسبة إنطلاق أقل من اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد. وكانت الصياغة رقم 1 هي صاحبة اعلى نسبة إنطلاق وهذا يعود إلى صغر حجم الجزيئات في هذه الصياغة مما يزيد من مساحة السطح المتاحة للإنطلاق. كما أثبتت النتائج أن إنطلاق العقار من كل صياغات الجزيئات يتبع نظام معادلات هيجوتشى للإننتشار.

9- قام البرنامج الاحصائي المستخدم بالتنبؤ بتركيب الصياغة المثلي للجزيئات البوليميرية النانومتريه واتضح انها يجب ان تتكون من : 11% من اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد و 0.1 % من الكيتوزان و 0.5 % من ألجينات الصوديوم.

10- تم التأكد من أن النتائج المعملية لتقييم هذه الصياغة تقترب لدرجة كبيره من النتائج التي تم التنبأ بها عن طريق البرنامج الاحصائي وان الفروق بينهما – النتائج المعملية والنتائج التنبأيه- ليست ذات أهمية احصائية.

بناء على ما تقدم فإنه تم إختيار الصياغة المثلي بها التي تم التنبأ كى يتم إستخدامها في صورة معلق نانومتري للعين واختبارها ميكروبيولوجيا وكذلك اختبار خواصها الديناميكية الدوائية علي الارانب.

### الفصل الثالث

إدراج الصياغة المنتقاه من الفصل الأول وكذلك مسحوق عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد في قواعد حساسه

#### للحراره مكونه للهلام في الموقع.

يتناول الفصل دراسة تفاعل عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد مع البوليمرات المستخدمه في صياغة القواعد الحساسه للحراره المكونه للهلام في الموقع. عن طريق المسح التفاضلى الحرارى والتحليل الطيفى باستخدام الأشعه تحت الحمراء. كما يتناول هذا الفصل إدراج الصياغة رقم 2 من النيوزومات وما يكافئ محتواها من مسحوق عقار اللوميفلوكساسين هيدروكلورايد في قاعدة هلاميه تتكون من بوليمر حساس للحراره (بولوكسامر 410 و 188 بنسبة 20%: 10% علي التوالي) وتحتوي علي ثلاث أنواع من البوليمرات لها القدره علي الالتصاق بالاغشيه المخاطيه وهي هيدروكسى بروبيل ميثيل سيليلوز بتركيز 1% و كيتوزان ذو وزن جزيئى منخفض بتركيز 0.5% و كاربوبول 941 بتركيز 0.2% وقد تم تحضير أنواع الهلام المختلفه بنثر البوليمرات المختلفه في محلول من النيوزومات المحمله بالعقار وكذلك محلول من مسحوق العقار وقد تم استخدام ماده البنزاكونيوم كلورايد كماده حافظه بتركيز 0.01% ثم تم تغليبها بمغناطيس من التيفلون حتى يصبح الهلام المتكون شفاف وبدون فقائيع هواء. كانت الصياغات المحضره ذات تركيز 0.3% من العقار سواء في صورة مسحوق أو محملا في النيوزومات. كما تم تحضير صياغات خاليه تماما من العقار ومن النيوزومات الحامله للعقار.

وقد تم تقييم الصياغات المتكونه باستخدام الإختبارات الآتية:

- 1- إجراء فحص بصري للصياغات المحضره لفحص لونها وقوامها ودرجة شفافيتها
  - 2- إجراء إختبار التجانس للصياغات المحضره بسحب عينات من مواضع مختلفه من العينات وفحص محتواها من العقار.
  - 3- إجراء إختبار القدره على الإنتشار للعينات المحضره بوضع وزن معين من العينه بين زجاجتي ساعه وضغطهما حتى لا يحدث مزيد من الإنتشار ثم قياس قطر الدائره المتكونه.
  - 4- فحص الخواص الفيزييه للصياغات المحضره باستخدام جهاز فحص اللزوجه المتكون من مخروط وطبق قبل وبعد عملية تحول الصياغات من الصوره السائله الي صورة الهلام.
  - 5- تم تعيين قيم الاس الهيدروجيني للصياغات المحضره وكذلك إختبار مدي تساوي التوتر بين الصياغات المحضره وخلايا الدم الحمراء
  - 6- كما تم قياس درجات الحراره التي تتحول عندها الصياغات من الحاله السائله الي الحاله الهلاميه وكذلك قياس مدي قوة التصاق الصياغات المحضره بالاغشيه المخاطيه.
  - 7- إجراء إختبار النفاذيه للعقار من الصياغات المحضره حيث تؤخذ أوزان محتويه على نفس الكميه من العقار من جميع الصياغات المحضره وتم إجراء التجربه بنفس الطريقه المتبعه في الفصل الأول.
  - 8- إجراء تجارب الإنطلاق للعقار من الصياغات المحضره بواسطة جهاز معدل الإذابه رقم 2 الخاص بدستور الدواء الأمريكى بنفس الطريقه المتبعه في الفصلين الاول والثاني
- تم تقييم النتائج إحصائياً ورياضياً و كينياتيكياً لإجراء المقارنات بين الصياغات المختلفه ومقارنه سرعة الإنطلاق الدوائى من تلك الصياغات.

**وقد تم التوصل الى النتائج الآتية**

- 1- لا يوجد اي تفاعل بين العقار والبوليمرات المستخدمه في تحضير الصياغات
- 2- كانت كل الهلاميات المحضره جيده الشكل وكانت الصياغات الغير محتويه على العقار والمحتويه على مسحوق العقار شفافه أما تلك المحتويه على النيوزومات المحمله بالعقار فكانت معتمه ولم يلاحظ وجود أى فقائيع هوائيه.
- 3- أوضحت النتائج أن الهلاميات المحتويه على العقار سواء فى صورة مسحوق أو محملا على نظام نقل الدواء المستخدم تتمتع بنسب تجانس جيده تتراوح من 96 إلى 99% من العقار.

4- الهلاميات المحتويه على النيوزومات المحمله بالعقار كانت لها قدرة على الإنتشار أكثر من تلك المحتويه على مسحوق العقار وتلك الخاليه من العقار.

5- جميع الهلاميات تتبع نظام المرونه الزائفه المصحوب بتغير في الانسيابيه التدفقى (pseudoplastic with thixotropy).

6- كانت قيم اللزوجه للصياغات منخفضه عند درجة حرارة الغرفه وحدث لها ارتفاع واضح عند اختبارها عند درجة حرارة الجسم مما يدل علي تحول بوليمر البولكسامر للصوره الهلاميه بارتفاع الحراره ووصولها لدرجة حرارة الجسم.

7- كانت قيم الاس الهيدروجيني للصياغات تتراوح من 6.2 الي 7.8 كما وجد ان جميع الصياغات المحضرة تتساوي في درجة التوتر مع الدم.

8- تراوحت درجات الحراره التي تحولت عندها الصياغات من الحالة السائله الي الحاله الهلاميه من 31 الي

39 درجه مئوية كما تراوحت قدرة الصياغات علي الالتصاق بالاغشيه المخاطيه من  $180 \pm 1960$  الي

$181 \pm 8820$  dyne/cm<sup>2</sup>

5- أظهرت النتائج ان الهلاميات المحتويه على النيوزومات الناقله للعقار المحمله بعقار الفلورويوراسيل لها قدرة على النفاذ من أغشية العين أعلى من قدرة الصياغات المحتويه على مسحوق العقار وذلك لكون هذه الأنظمة مكونه من مواد دهنيه فهى قادره على إختراق الأغشيه الكارهه للماء كما أنها تترك قواعد الهلام بسهولة للتنافر بينها وبين تلك القواعد المحبه للماء. كما اتضح أن الصياغه المكونه من بوليمر البولوكسامر وبوليمر الهيدروكس بروبيل ميثيل سيليلوزوتحتوي على النيوزومات المحمله بالعقار لها أفضل معامل نفاذيه وأعلى كمية عقار متراكمه فى الوسط المستقبل, وقد يعود هذا الي قدرته الفائقه علي الالتصاق بالاغشيه المخاطيه مما يتيح قدرة اكبر للعقار علي النفاذ خلال اغشيه العين.

6- كما أثبتت تجارب الإنطلاق أن الهلاميات المحتويه علي النيوزومات المحمله بالعقار لها نسبة إنطلاق أقل من تلك المحتويه على مسحوق العقار. وكانت الصياغه رقم 6 هى صاحبة أعلى نسبة إنطلاق وقد يعود هذا الي التنافر بين العقار ذو الشحنات الموجبه والكيوتوزان ذو الشحنات الموجبه ايضا مما يؤدي الي زيادة نسبة انطلاق العقار من الصياغه. كما تبين أن كل الصياغات المحضره تتبع نظام معادلات هيجوتشى للإنتشار.

بناءً على ما تقدم فقد تم إختيار الصياغه رقم 11 ليتم اختبار تأثيرها الحيوي علي اعين الارانب وكذلك اختبار قدرتها المضادة للبكتريا مقارنة بالصياغه التجاريه من العقار.

## الفصل الرابع

تقييم الصياغة الهلامية المنتقاة من الفصل الثالث وكذلك الصياغة المثلي المنتقاة من الفصل الثاني في صورة معلق نانومتري لاختبار تأثيرهما الحيوي علي الأرنب وكذلك اختبار قدرتهما المضادة للبكتريا مقارنة بالتركيبه التجاربه

### المتاحه من العقار.

تمت هذه الدراسه لمقارنة قدرة الهلاميات المحتويه على النيوزومات المحمله بالعقار بقدرة الصياغه التجاربه من العقار على الوصول لانسجة وسوائل العين. وقد تم اولا دراسه مدي قدرة الصياغات المحضره علي احداث تهيج بالعين وذلك عن طريق اعطائها لمجموعه من الارانب النيوزيلنديه قسمت في اربعة مجموعات كالآتي:

**المجموعه الأولى:** تلقت معلق الصياغه المثلي من جزيئات الكيتوزان النانومتريه محمله بالعقار

**المجموعه الثانيه:** تلقت معلق الصياغه المثلي من جزيئات الكيتوزان النانومتريه غير محمله بالعقار.

**المجموعه الثالثه:** تلقت الصياغه رقم 11 من الصياغات الهلاميه الحساسه للحراره المحمله بالنيوزومات المحتويه علي العقار

**المجموعه الرابعه:** تلقت الصياغه رقم 11 من الصياغات الهلاميه الحساسه للحراره المحمله بالنيوزومات غير المحتويه علي العقار

استمرت الدراسه لمدة اسبوع تلقت فيه الارانب العلاج مرتين يوميا وبنهاية المده تم ذبح الارانب والحصول علي العيون والاجفان وتجهيزها وصبغها لفحصها تشريحيا باستخدام مجهر ذو كاميرا اليكترونيه.

ثم تم دراسه قدرة الصياغات المحمله بالعقار علي الوصول لانسجة العين وسوائلها المختلفه ومقارنتها بقدرة الصياغه التجاربه من العقار علي عدد من الارانب تم تقسيمها في مجموعات كالتالي:

**المجموعه الأولى:** تلقت الصياغه التجاربه من العقار (اوركاسين 0.3%)

**المجموعه الثانيه:** تلقت معلق الصياغه المثلي من جزيئات الكيتوزان النانومتريه محمله بالعقار (0.3%).

**المجموعه الثالثه:** تلقت الصياغه رقم 11 من الصياغات الهلاميه الحساسه للحراره المحمله بالنيوزومات المحتويه علي العقار(0.3%)

تلقت الحيوانات في كل مجموعه جرعه مقدارها 200 ميكروليتر من الصياغه الخاصه بالمجموعه كل 15 دقيقه لمدة 60 دقيقه في كل عين ثم تم ذبح الحيوانات والحصول علي السائل المائي والسائل الزجاجي والقرنيه والملتحمه من كل حيوان وحفظها عند درجة حراره -80 درجة مئوية حتي وقت قياس تركيز العقار بها.

تم قياس مستوي العقار بالسوائل والانسحه المذكوره باستخدام تقنية الكروماتوجرافيا السائله ذات الكفاءة العاليه .

واخيرا تم اختبار القدرة المضادة للبكتريا للصياعات المحضرة مقارنة بمحلول مسحوق العقار ثم تم تعيين أقل تركيز مطلوب لوقف نمو البكتريا وكذلك اقل تركيز مطلوب لقتل البكتريا في كل حاله .  
وقد تم التوصل للنتائج الآتية:

- 1- اثبت اختبار التهيج ان الصياعات المحضره لا تسبب اي تهيج للعين.
- 2- اثبتت الدراسه ان مستوي العقار في سوائل وانسجة عيون الارانب التي تلقت الصياعات المحضره اعلي بكثير من مستواه في تلك التي تلقت الصياغه التجاريه من العقار. حيث تبين ان مستوي العقار في السائل المائي للعين  $0.2186 \pm 1.895$  و  $0.1529 \pm 9.892$  و  $0.4547 \pm 10.360$  في المجموعات التي تلقت تلقت الصياغه التجاريه من العقار و معلق الصياغه المثلي من جزيئات الكيتوزان النانومتريه و الصياغه رقم 11 من الصياعات الهلاميه الحساسه للحراره المحمله بالنيوزومات علي التوالي
- 3- وكان تركيز العقار في السائل الزجاجي  $0.0227 \pm 1.661$  و  $0.1727 \pm 3.608$  و  $0.1572 \pm 5.503$  في المجموعات التي تلقت تلقت الصياغه التجاريه من العقار و معلق الصياغه المثلي من جزيئات الكيتوزان النانومتريه و الصياغه رقم 11 من الصياعات الهلاميه الحساسه للحراره المحمله بالنيوزومات علي التوالي.
- 4- اما تركيز العقار في القرنيه فكان  $0.0367 \pm 3.750$  و  $0.3480 \pm 8.943$  و  $0.1153 \pm 10.312$  في المجموعات التي تلقت تلقت الصياغه التجاريه من العقار و معلق الصياغه المثلي من جزيئات الكيتوزان النانومتريه و الصياغه رقم 11 من الصياعات الهلاميه الحساسه للحراره المحمله بالنيوزومات علي التوالي.
- 5- اما تركيز العقار في الملتحمه فكان  $0.0126 \pm 2.198$  و  $0.0315 \pm 3.763$  و  $0.0516 \pm 6.756$  في المجموعات التي تلقت تلقت الصياغه التجاريه من العقار و معلق الصياغه المثلي من جزيئات الكيتوزان النانومتريه و الصياغه رقم 11 من الصياعات الهلاميه الحساسه للحراره المحمله بالنيوزومات علي التوالي.
- 6- وقد تم تحليل النتائج احصائيا عند  $\alpha = 0.05$  حيث تبين وجود فروق معنويه بين الصيغ المختاره والصياغه التجاريه للعقار .
- 7- اثبتت النتائج ايضا ان اقل تركيزات مطلوبه من العقار لوقف نمو البكتريا وكذلك لقتل البكتريا كانت اقل بكثير في حالة الصياعات المنتقاها منها في حالة محلول مسحوق العقار. وقد ثبت احصائيا عند  $\alpha = 0.05$  وجود فروق معنويه بين النتائج التي تم الحصول عليها في حالة الصياعات المنتقاها مقارنة بمحلول مسحوق العقار.

وقد تبين من النتائج التي تم الحصول عليها خلال هذه الدراسة ان تحميل المضادات الحيوية الخاصه بالعين علي انظمه مثل النيوزومات والجزيئات البوليمريه النانومتريه قد ساعد علي بقاء هذه الادويه بالعين لمدته اطول وبالتالي ساعد علي اختراقها لطبقات العين ووصولها لطبقات الانسجه الداخليه لمعالجة العدوي العميقه بالعين كما اثبتت النتائج ايضا ان هذه الانظمه الناقله للعقار تستطيع زياده قدرة المضادات الحيوية ضد البكتريا وبالتالي تعظم الاستفادة من هذه العقاقير.