



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الصيدلة

قسم الصيدلانيات و التكنولوجيا الصيدلانية

التداخل الدوائي الغذائي بين عصير الليمون الهندي وال
إيبوبروفين

**Drug-Food interaction between
Grapefruit juice and ibuprofen**

دراسة لنيل درجة الماجستير في الصيدلة السريرية و صيدلة
المشافي

إعداد الصيدلانية : لمى نويلاتي

إشراف : أ.د. عبد الحكيم نتوف

عام ٢٠١٤ / ١٤٣٥ هـ

ابتدأ البحث منذ تاريخ 10 / 2011 وحتى تاريخ 5 / 2014 .

الأماكن التي أنجز فيها البحث :

- مشفى ابن النفيس .
- مخابر الرقابة والبحوث الدوائية في وزارة الصحة.

تاريخ مناقشة الرسالة: 13 / 8 / 2014.

أسماء أعضاء لجنة الحكم :

برئاسة أ . د . جمعة الزهوري .

الفاحص الأول : أ . د . عبد الحكيم نتوف .

الفاحص الثاني : أ . د . هند الزين .

الأهداء:

- إلى قدوتي الأولى، إلى من كرس حياته لأجلنا، إلى من أفرح ما حييت بانتمائي إليه.

أبي الغالي

- إلى اليد التي أخذت بيدي دائماً إلى العلا، إلى من رضاها أغلى ما أملك، إلى من كرس حياتها لنجاحنا وإسعادنا.

أمي الغالية

- حبيبي الأغلى..... توأم روحي..... ملاذي بعد الله.

زوجي هاني

- أشقاء قلبي وروحي..... فرحي وقوتي..... سندي في الحياة.

علاء، نور

- أملي في الحياة..... زهرة عمري..... سر نجاحي.

ابنتي ليان

- إلى من شاركني أحلامي وهمومي إلى من عشت معهم لحظات السعادة والحزن.

أصدقائي

الشكر :

- الحمد لله رب العالمين ، الذي أنعم علي ووفقتي ويسر لي إتمام هذا البحث .
- الشكر الجزيل ل أ. د . **جمعة الزهوري** لعطائه اللامحدود في إدارته لعمادة كلية الصيدلة مع عميق الامتنان له لتفضله بتحكيم هذا البحث.
- الشكر الجزيل لإدارة الكلية المتمثلة ب أ.د. **سحر الفاهوم** نائبة الكلية للشؤون العلمية و أ. د . **جمانة الصالح** نائبة الكلية للشؤون الإدارية.
- الشكر الجزيل ل أ. د . **عبد الحكيم نتوف** رئيس قسم الصيدلانيات والذي تفضل بالاشراف على هذا البحث والذي منحني الكثير من وقته وجهده ولم يبخل علي بتوجيهاته ونصائحه من أجل انجاز هذا العمل واخراجه بالصورة المطلوبة.
- كل الشكر ل أ.د **هند الزين** لتفضلها بالمشاركة في لجنة الحكم واغناء البحث بملاحظاتها القيمة ، ولكل ما قدمته لي خلال سنوات الدراسة من وقت وجهد...
- خالص شكري ل أ. د **وفاء حمود** حيث كانت دوماً خير سند في كل ما احتجته ولتفضلها بدعم هذا البحث منذ البداية.
- الى الشعلة المتوهجة في عالم العلم والمعرفة التي لا تنطفئ أبداً..... إلى من كانوا مشاعل النور في دربي لسنوات مضت.....أساتذة كلية الصيدلة المحترمين .
- كل الشكر والامتنان الى جميع اساتذتي في قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية.
- خالص الشكر لإدارة مخابر الرقابة الدوائية في وزارة الصحة وجميع المخبريين العاملين فيها لمساعدتي في هذا البحث .
- الشكر الجزيل لشركة يونيفارما للصناعات الدوائية على مساعدتي في هذا البحث .
- كل الشكر والامتنان للكادر الطبي والإداري في مشفى ابن النفيس .

لمحة عن الباحث:

ولدت في دمشق ٢٧ / ٥ / ١٩٨٦، حصلت على الشهادة الثانوية عام ٢٠٠٤ وبدرجة قدرها (٢٤٠/٢٣٢)، تخرجت من كلية الصيدلة - جامعة دمشق عام ٢٠٠٩ وبمعدل قدره ٧٤,٨٨%، أصبحت طالبة ماجيستر في الصيدلة السريرية عام ٢٠١٠.

تصريح:

الاسم الكامل: لمى بشير الدين نويلاتي .

مكان وتاريخ الولادة: دمشق ١٩٨٦ .

عنوان البحث: التداخل الدوائي الغذائي بين عصير الليمون الهندي وال ايبوبروفين.

لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم اقتباسه بالكامل من عمل علمي آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في جامعة دمشق أو أي معهد تعليمي داخل أو خارج القطر. لم يتم قبض أي مبلغ مادي أو مكافأة عينية سواء بشكل مباشر أو غير مباشر مقابل القيام بعمل يمس جوهر هذه الأطروحة أو نتائجها. أتعهد بانني لم أقل إلا الحقيقة ولم أخف شيئاً تحت طائلة المعاقبة والمحاسبة القانونية وعليه أوقع .

لمى بشير الدين نويلاتي

قائمة المحتويات:

17.....	Introduction	مقدمة
20.....	Theoretical Section	القسم النظري
21.....	Background	خلفية
22.....	الايوبروفين	2.2.1
22.....	مقدمة	1.2.2
23.....	Mechanism of Action	آلية التأثير
24.....	Absorption, Distribution, and Elimination	الامتصاص والتوزيع والاطراح
25.....	Metabolism	الاستقلاب
27.....	Therapeutic Uses	الاستخدامات العلاجية
27.....	Adverse Effects	الآثار الجانبية
28.....	Contraindications	مضادات الاستطباب
28.....	Pregnancy and Lactation	الحمل والإرضاع
29.....	Dosage and Administration	الجرعة وطريقة الاستخدام
29.....	Grapefruit	الليمون الهندي
29.....	Origin	المنشأ
30.....	Nutritional Uses	الاستخدامات الغذائية
32.....	Medicinal Uses	الاستخدامات الطبية
33.....	Side Effect	التأثيرات الجانبية غير المرغوبة
33.....	Pregnancy and Lactation	الحمل والإرضاع
33.....	Dosage	الجرعة
33.....	Drug Interaction	التداخل الدوائي
34.....	آلية عمل التداخل الدوائي	1.7.3.1

38.....	Chemical Structure	التركيب الكيميائي	8.3.II
40.....	Drug Interaction	التداخلات الدوائية	4.II
40.....	Definition	التعريف	1.4.II
40.....	Mechanisms of Drug Interaction	آليات التداخلات الدوائية	2.4.II
40.....	Pharmacokinetic Interaction	تداخلات الحرائك الدوائية	3.4.II
40.....	Absorption	الامتصاص	1.3.4.II
41.....	Distribution	التوزع	2.3.4.II
41.....	Metabolism	الاستقلاب	3.3.4.II
42.....	Hepatic Physiology	فيزيولوجية الكبد	1.3.3.4.II
42.....	Drug Metabolism	استقلاب الأدوية	2.3.3.4.II
42.....	Hepatic Drug Metabolism	الاستقلاب الكبدي للأدوية	3.3.3.4.II
43.....	Oxidation	الأكسدة	4.3.3.4.II
43.....	P450	لمحة موجزة عن أنزيمات	5.3.3.4.II
45.....	Conjugation	الانضمام	6.3.3.4.II
45.....	Glucuronidation	الانضمام الغلوكوروني	1.6.3.3.4.II
45.....	Elimination Interactions	تداخلات الإطراح	4.3.4.II
46.....	Pharmacodynamic Interactions	التداخلات الفارماكوديناميكية	4.4.II
47.....	Practical Section	القسم العملي	III
48.....	Aim of Study	هدف البحث	1.III
48.....	Methods	الطرائق	2.III
49.....	Study design	بروتوكول الدراسة	1.2.III
49.....	Entry Examination	فحص القبول	1. 1.2.III
50.....	Period I of the trial	المرحلة الأولى من الدراسة	2. 1.2.III

50.....	Wash out	فترة الغسيل	3. 1.2.III
51.....	Period II of the trial	المرحلة الثانية من الدراسة	4.1.2.III
51.....	Final Examination	الفحص الاخير	5. 1.2.III
51.....	Sampling	الاعتيان	6. 1.2.III
51.....	Assay Method of Ibuprofen	مقايسة الايبوبروفين	3.III
52.....	Chromatographic Conditions	شروط التفريق اللوني	1. 3.III
52.....	Reagent	المواد	2. 3.III
53.....		تحضير السلسلة العيارية	3. 3.III
53.....	Internal Standard	تحضير الشاهد الداخلي	4. 3.III
53.....	Quality Control (Q.C)	تحضير عينات في البلازما	5. 3.III
54.....	Sample preparation	تحضير العينات	6. 3. III
54.....	Data Analysis	تحليل البيانات	4. III
validation of		مصادقة الموثوقية لطريقة قياس الايبوبروفين في البلازما	5. III
55.....	Ibuprofen in plasma		
55.....	Accuracy and precision	المضبوطية والدقة	1. 5. III
56.....	Recovery	الاستردادية	2. 5. III
56.....	Linearity	الخطية	3.5. III
	Limit of detection and	حد الكشف والكم	4. 5. III
57.....	quantitation		
57.....	selectivity	الاصطفائية والنوعية	5. 5. III
57.....	Stability	الثباتية	6. 5. III
57.....	system suitability	ملائمة النظام	7. 5. III
58.....	Results and Discussion	النتائج والمناقشة	6.III

1.6.III	نتائج مصادقة الموثوقية لطريقة قياس الايبوبروفين في البلازما
58.....	validation of Ibuprofen in plasma
58.....	1.1.6.III المضبوطية والدقة Accuracy and Precision
62.....	2.1.6.III الاستردادية Recovery
63.....	3.1.6.III الخطية Linearity
Limit of detection and	4.1.6.III حد الكشف والكم
64.....	quantitation
65.....	5.1.6.III الاصطفائية والنوعية selectivity
65.....	6.1.6.III الثباتية Stability
68.....	7.1.6.III ملائمة النظام System suitability
69	2.6.III نتائج مقايسة الايبوبروفين
69.....	1.2.6.III التراكيز البلازمية للايبوبروفين لكل المتطوعين
80.....	2.2.6.III نتائج التراكيز البلازمية الاعظمية للدواء في البلازما (Cmax):
81.....	3.2.6.III نتائج ثابتة سرعة الاطراح K elimination (Ke)
Area Under the Curve (AUC)	4.2.6.III نتائج المساحة تحت المنحني
83.....	
87.....	3.6.III المناقشة
89.....	7.III الخلاصة
90.....	8.III التوصيات والمقترحات
91.....	9.III الملحق Appendix
95.....	10.III الملخص Summary
99.....	11.III المراجع References

قائمة الجداول :

الصفحة	العنوان	رقم الجدول
23	انحلالية الايبوبروفين في المحلات المختلفة	1
31	القيم الغذائية لكل من القشرة واللبن والعصير لثمرة الليمون الهندي	2
58	قيم المتوسط الحسابي والانحراف المعياري STD ومعامل التغير CV% لتراكيز QC الثلاثة لليوم الأول	3
59	قيم المتوسط الحسابي والانحراف المعياري STD ومعامل التغير CV% لتراكيز QC الثلاثة لليوم الثاني	4
61	قيم المتوسط الحسابي والانحراف المعياري STD ومعامل التغير CV% لتراكيز QC الثلاثة لليوم الثالث	5
62	قيم الدقة والمضبوطة لليوم الواحد وبين الأيام لتراكيز QC الثلاثة	6
62	قيم الاسترادية لكل من الايبوبروفين في البلازما والميتانول.	7
63	قيم ال Ratio مع التراكيز الموافقة من أجل 6 سلاسل عيارية	8
63	قيم الميل وتقاطع الخط المستقيم ومعامل الارتباط R^2 من أجل $n=6$	9
64	الاستجابة لدى حقن حد الكم 10 مرات متتالية مع الانحراف المعياري	10
65	زمن الاحتباس لدى حقن أدوية مختلفة متداولة	11
65	الثباتية طويلة الأمد لدى حفظ 1.5مكغ/ مل بشروط تخزين 28°C - لمدة شهر	12
66	الثباتية طويلة الأمد لدى حفظ 15مكغ/ مل بشروط تخزين 28°C - لمدة شهر	13
66	الثباتية طويلة الأمد لدى حفظ 25مكغ/ مل بشروط تخزين 28°C - لمدة شهر	14

66	الثباتية عبر ثلاث دورات تجميد واذابة من أجل 1.5 مكغ/مل.	15
67	الثباتية عبر ثلاث دورات تجميد واذابة من أجل 15 مكغ/مل.	16
67	الثباتية عبر ثلاث دورات تجميد واذابة من أجل 25 مكغ/مل.	17
78	التراكيز البلازمية للايبوبروفين بعد إعطاء جرعة بمقدار 400 مع الماء لدى 12 متطوع.	18
79	التراكيز البلازمية للايبوبروفين بعد إعطاء جرعة بمقدار 400 ملغ مع عصير الليمون الهندي لدى 12 متطوع.	19
80	T max و C max لكل المتطوعين بكلا المرحلتين	20
82	قيم Ke و t1/2 لكل المتطوعين بكلا المرحلتين	21
84	قيم AUC 0 -∞ و AUC 0 -t لكل المتطوعين في المرحلتين	22
85	القيم الوسطية لمتنابئات الحرائك الدوائية مع الماء ومع عصير الليمون الهندي	23
86	قيم CI 90% لمتوسط متنابئات الحرائك الدوائية .	24

قائمة الأشكال

الصفحة	العنوان	رقم الشكل
22	تأثير عصير الليمون الهندي المتعكس على كل من الأنزيمات ونواقل الدواء.	1
23	الصيغة الكيميائية للايوبروفين.	2
24	آلية عمل مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية.	3
26	استقلاب الايوبروفين.	4
27	كيفية تحويل R ايبوبروفين الى S ايبوبروفين.	5
30	شجرة الليمون الهندي مع الثمار والأوراق والأزهار.	6
37	آلية عمل كل من P-gp و OATP في الخلايا المعوية والكبدية	7
39	صيغ الفورانوكومارينات الموجودة في عصير الليمون الهندي.	8
64	الخطية من أجل $n = 6$.	9
68	المخطط الاستشرابي للبلازما الشاهدة.	10
68	المخطط الاستشرابي للبلازما المضاف لها ايبوبروفين بتركيز 0.5 مكغ/مل مع العياري الداخلي بتركيز 3 مكغ/مل .	11
69	المخطط الاستشرابي للميتانول.	12
70	تركيز الايوبروفين لدى المتطوع الأول عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	13
71	تركيز الايوبروفين لدى المتطوع الثاني عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	14
71	تركيز الايوبروفين لدى المتطوع الثالث عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	15
72	تركيز الايوبروفين لدى المتطوع الرابع عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	16

73	تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الخامس عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	17
73	تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع السادس عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	18
74	تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع السابع عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	19
75	تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الثامن عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	20
75	تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع التاسع عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	21
76	تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع العاشر عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	22
76	تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الحادي عشر عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	23
77	تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الثاني عشر عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.	24
77	متوسط التراكيز البلازمية مع الانحراف المعياري مقابل الزمن للايبوبروفين عندما يعطى مع الماء او عصير الليمون الهندي للمتطوعين ال 12.	25
78	متوسط التراكيز البلازمية مع الانحراف المعياري مقابل الزمن للايبوبروفين عندما يعطى مع الماء او عصير الليمون الهندي للمتطوعين ال 12.	26
81	مقارنة متوسط التراكيز البلازمية للايبوبروفين لدى 12متطوع مع الماء أو عصير الليمون الهندي.	27
82	مقارنة متوسط Ke للايبوبروفين لدى 12متطوع مع الماء أو عصير الليمون الهندي.	28
83	مقارنة متوسط قيم $t_{1/2}$ للايبوبروفين لدى 12متطوع مع الماء أو عصير الليمون الهندي.	29

84	مقارنة متوسط قيم AUC 0-t للايوبروفين لدى 12متطوع مع الماء أو عصير الليمون الهندي.	30
85	مقارنة متوسط قيم AUC 0-∞ للايوبروفين لدى 12متطوع مع الماء أو عصير الليمون الهندي.	31
87	تأثير الليمون الهندي على Cyp3A4 في الأمعاء.	32

قائمة الاختصارات:

ADR	Adverse Drug Reaction
AUC	Area Under Plasma Concentration-Time Curve
BMI	Body Mass Index
BP	Blood Pressure
CLR	Renal Clearance
Cmax	Maximal Plasma Drug Concentration
CNS	Central Nervous System
Cp	Concentration Point
GIT	Gastrointestinal Tract
Hr	Hour
HR	Heart Rate
P-gp	P- glycoprotein
ATP	Adenosine Triphosphate
OATP	O –Adenosine Triphosphate
GFJ	Grapefruit Juice
DHB	Dihydroxybergamottin

HB	Hemoglobin
COX	Cyclooxygenase
NSAIDs`	Non-steroidal Anti –inflammatory Drug
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
UGTs	UDP- glucuronosyl transferase
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
OTC	Over the Counter Drugs
USFDA	United state Food and Drug Administration
Kel	Elimination Rate Constant
PK	Pharmacokinetic Parameter
T	Time
T 1/2	Terminal Elimination Half –Life
Tmax	Time of Maximum Plasma Drug Concentration
Vd	Volume of Distribution
QC	Quiality control
CV	coefficient of variation
SD	Standard deviation
LLOQ	lower limit of quantification
LLOD	Lower limit of detection
IS	Internal Standarad
ICF	Informed consent form
UV	Ultra violet
90%CI	Nintey percent confidence intervals

١. مقدمة

تم توجيه الكثير من الاهتمام إلى تأثير محتويات الأغذية المتنوعة على استقلاب وفعالية الأدوية عند المرضى في السنوات الأخيرة. فمثلاً، أصبحت بعض الأغذية التي لا تُستخدم بشكل يومي كعصير الليمون الهندي موضوعاً للعديد من الدراسات المتناولة مؤخراً. يتداخل عصير الليمون الهندي Grapefruit Juice (الكريفون) أو الليمون الهندي الطازج مع فعل بعض الأدوية الموصوفة بالإضافة إلى القليل من الأدوية غير الموصوفة (Over the Counter Drugs "OTC Drugs") عندما يتم أخذه في نفس الوقت. بعض هذه التداخلات خطيرة. مثلاً، وُجد أن الليمون الهندي يؤثر على الأدوية التالية:

- Terfenadine (1, 2).
- Calcium Channel blockers (Dihydropyridine Derivatives eg: felodipine (3, 4), nifedipine, and nitredipine).
- Midazolam (5).
- Cyclosporine ، Statins.

مؤدياً إلى زيادة تراكيزها البلازمية والنواتج عن زيادة توافرها الحيوي. هذا التأثير هو نتيجة الفعالية المثبطة للمكونات الفعالة لعصير الليمون الهندي على الاستقلاب قبل الجهازى للأدوية pre-systemic metabolism متضمنة: نظم الأنزيمات المؤكسدة الموجودة في الكبد وجدار الأمعاء (7,6). حيث وُجد أن عصير الليمون الهندي يثبط الاستقلاب الأنزيمي قبل الجهازى لهذه الأدوية وبالتالي يزيد من شدة امتصاصها الذي ينعكس على توافرها الحيوي. تم إثبات هذا التأثير المثبط لعصير الليمون الهندي على أنزيمات محددة من السيتوكروم CYP450 (CYP 3A4) و (CYP 2D6) في العديد من الدراسات السريرية (7).

الآن، يتم تداول العديد من الدراسات من أجل إثبات تأثير عصير الليمون الهندي على أنزيم CYP450 كواحدة من أنزيمات (MFOS) Mixed Function Oxidase (System) وذلك بعد أخذ جرعة واحدة من عصير الليمون الهندي سويةً مع الدواء (9,8).

الهدف من هذا البحث هو دراسة التداخل الدوائي بين عصير الليمون الهندي (240 مل تُؤخذ مرة واحدة) مع مادة الايبوبروفين (مضغوطات ملبسة 400 ملغ) من شركة يونيفارما بترخيص من Abbot تُعطى فموياً ، وتقييم تأثيره على التوافر الحيوي للإيبوبروفين والذي يعتبر من مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية (NSAID) (Non-)

(steroidal Anti-inflammatory Drug) المستخدم فمويأ كخافض للحرارة ومسكن ألم ومضاد التهاب غير ستيروئيدي في علاج الألم الحاد والمزمن والفضال العظمي و التهاب المفاصل الروماتيدي وحالات أخرى.

II - القسم النظري

Theoretical section

1.1.1. خلفية (Background):

تم تسجيل التداخل الدوائي بين عصير الليمون الهندي والأدوية منذ سنوات عديدة وكانت النتيجة لهذا التداخل هو زيادة في التوافر الحيوي الفموي للعديد من الأدوية، لكن لم يتم تحديد ما هي الآلية المحددة لهذا التداخل والمكونات الأساسية في عصير الليمون الهندي المسؤولة عنه. تخضع العديد من الأدوية للاستقلاب قبل الجهازى بواسطة إنزيمات حيوية محددة معروفة باسم السيتوكروم P450 موجودة في الأمعاء الدقيقة والكبد . تثبط مركبات محددة موجودة في الليمون الهندي عمل هذه الإنزيمات وبالتالي تنقص من الاستقلاب قبل الجهازى لبعض الأدوية سامحةً لكمية أكبر من الجرعة المعطاة أن تصل الى الجريان الدموي وبالتالي الحصول على تراكيز بلازمية أعلى. نظراً لاختلاف كمية السيتوكروم من شخص لأخر ، فإن عصير الليمون الهندي يملك تأثيراً مختلفاً بين الأشخاص عندما يتم أخذه مع نفس الدواء(7,6).

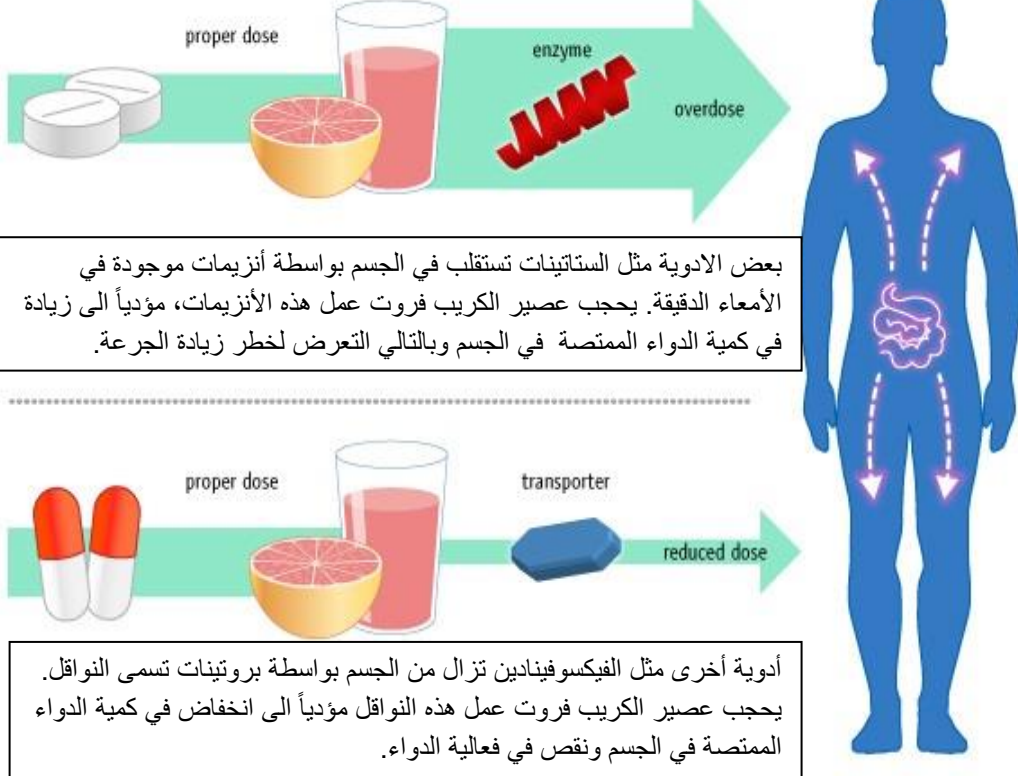
مبدئياً: اقترح الباحثون أنّ الفلافونويدات الموجودة في الليمون الهندي (نارنجين ونارنجينين) هي عبارة عن مثبطات كامنة. كما تم إظهار أنّ النارنجينين هو أكثر مثبط كامن للسيتوكروم CYP3A4 مقارنة بالنارنجين (10). **مؤخراً:** أشارت الدراسات في الزجاج (in vitro Studies) إلى أنّ مشتقات الفورانوكومارينات (دي هيدروكسي بيرغاموتين) يُحتمل أنها أكثر أهمية كمثبط مقارنة بالنارنجين والنارنجينين (11).

بالرغم من أن الباحثون قد وجدوا أن عصير الليمون الهندي يؤدي لمستويات سميّة عالية من أدوية محددة، إلا أنه وُجد في دراسات أخيرة أنّ هذا العصير يسبب تأثيراً معاكساً بالنسبة لأدوية أخرى . فمثلاً ، وُجد أنّ عصير الليمون الهندي ينقص من امتصاص الفيكسوفينادين مؤدياً إلى إنقاص فعاليته (12). يتوافر الفيكسوفينادين بكثرة في الأدوية الموصوفة وغير الموصوفة كدواء يُستخدم لإزالة أعراض التحسس الفصلي. يُمكن أن يُفسّر هذا التأثير في انخفاض التراكيز الدموية إلى حجب مكونات عصير الليمون الهندي لنواقل الدواء (وهي عبارة عن بروتينات موجودة في الأمعاء تعمل على ادخال الدواء للدورة الدموية من لمعة الأمعاء) مما يؤدي الى امتصاص كمية أقل من الدواء كما هو موضح في الشكل (1). لذلك تطلب منظمة الغذاء و الدواء الأمريكية (Food and Drug Administration – FDA) من بعض الأدوية الموصوفة أن تحمل لصاقات تحذر من استخدامها بالتزامن مع عصير الليمون الهندي أو الليمون الطازج.

How Grapefruit Juice Affects Some Medicines

عندما يؤخذ الدواء، ينحل في الجسم ويمتص عبر الخلايا في الأمعاء الدقيقة .

يتداخل عصير الكريب فروت مع هذه العملية مؤدياً الى كميات عالية او قليلة من الدواء لتتحرر في الجسم :



شكل (1): تأثير عصير الليمون الهندي المتعاكس على كل من الأنزيمات ونواقل الدواء(7٠6).

II. 2 . الايبوبروفين (ibuprofen):

II.1.2. مقدمة:

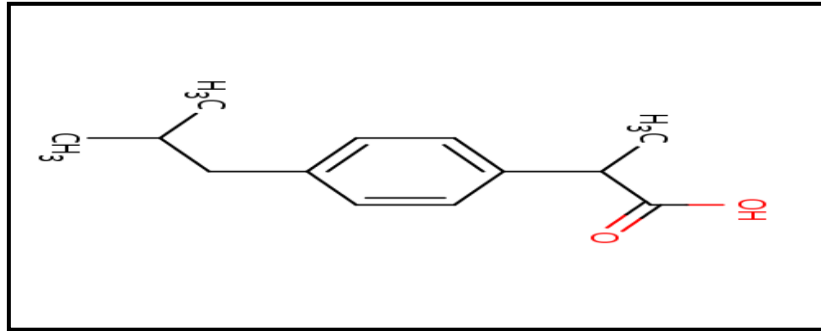
الايبوبروفين عبارة عن بلورات بيضاء إلى بيضاء مصفرة تتراوح نقطة انصهارها بين 75 و 78 م°. الاسم الكيميائي للايبوبروفين هو 2-(4-ميثيل بروبييل) فينيل حمض البروبيونيك [2-(4-methylpropyl)phenyl) propionic acid]. يحمل الايبوبروفين الصيغة الكيميائية (C₁₃H₁₈O₂) كما هو موضح في الشكل رقم 2، و يتكون من مزيج راسيمي من متماكبات S(+) و R(-) ويعتبر الشكل S هو الشكل الفعال فارماكولوجياً. يعادل الوزن الجزيئي 206.28 غ/مول و ثابتة تشرود (pKa) يساوي 4.35. (13).

يبين الجدول (1) انحلالية الايبوبروفين في عدد من المذيبات المختلفة (13) :

جدول رقم (1) : انحلالية الايبوبروفين في المحلات المختلفة (13).

المذيب (Solvent)	الانحلالية (Solubility)
الماء	غير ذوّاب عملياً (Practically Insoluble)
الأسيتون (Acetone) الكحول (Alcohol) الكلوروفورم (Chloroform) الميثانول (Methanol)	ذوّاب جداً (Very Soluble)
إيثيل أسيتات (Ethyl acetate)	ذوّاب (Soluble)

كما يظهر الشكل (2) الصيغة الكيميائية للايبوبروفين (13).

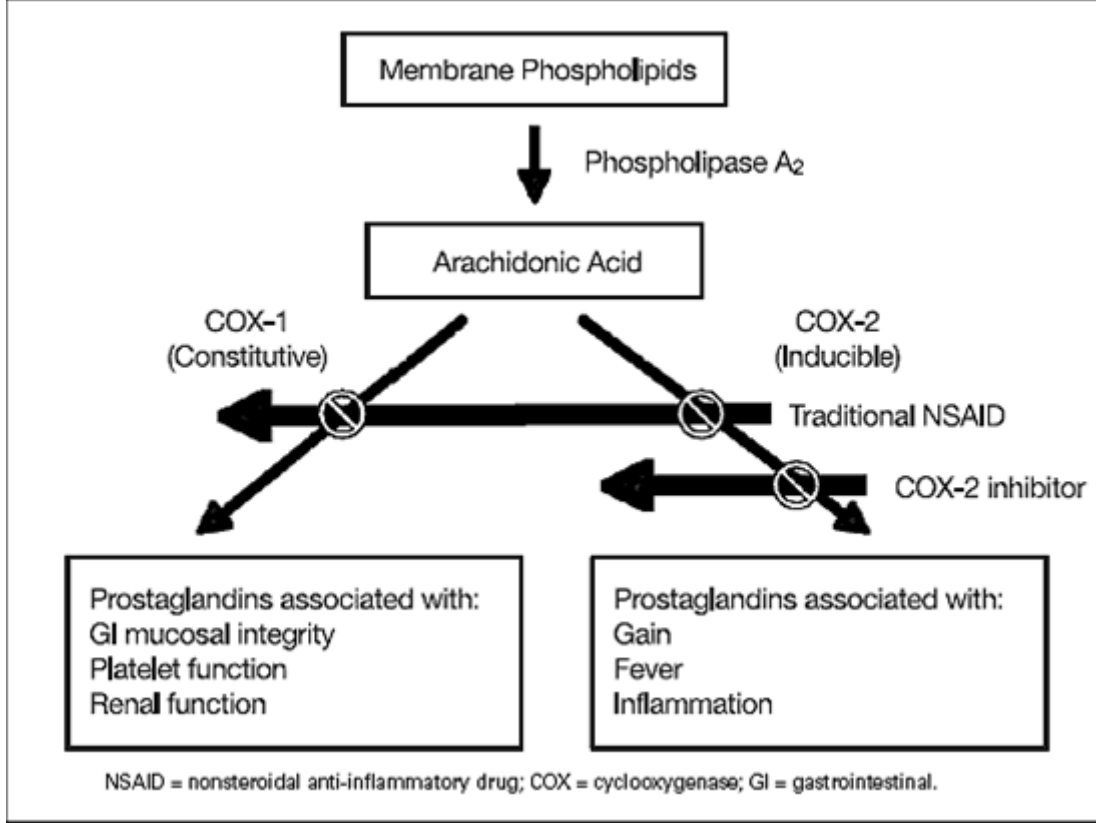


شكل رقم (2) : الصيغة الكيميائية للايبوبروفين (13) .

2.2.ii. آلية التأثير (Mechanism of Action):

يعتبر الايبوبروفين مضاد التهاب غير ستيرويدي (NSAID) (Non-steroidal Anti-inflammatory Drug) وهو يحتل المرتبة الأولى في صف الحموض البروبيونية من حيث القدرة على استخدامه بشكل واسع (15). يمتلك الايبوبروفين خواص مضادة للالتهاب و مسكنة للألم وخافضة للحرارة حيث يبدأ تأثيره الخافض للحرارة والمسكن للألم خلال 1 ساعة. كما يُغيّر الايبوبروفين من وظيفة الصفائح ويؤدي إلى إطالة زمن النزف (16,17). يعتبر الايبوبروفين مثبط غير انتقائي لإنزيم السيكلوواوكسجيناز (Cyclooxygenase- COX) حيث يثبط كلاً من COX₁ و COX₂. يعتبر هذا الإنزيم البروتيني مسؤولاً عن تحوّل الحموض الدسمة الأساسية إلى بروستاغلاندينات بعد سلسلة من المراحل كما هو موضح في الشكل (3). هذه البروستاغلاندينات تسبب زيادة في

الحساسية للحرارة والألم و زيادة في جريان الدم والالتهاب. وبالتالي يعمل الايبوبروفين على تخفيف أعراض الالتهاب من خلال تثبيط مرحلة البداية لتشكل البروستاغلاندينات (18، 19).



شكل رقم (3) : آلية عمل مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية NSAIDs.

3.2.11. الامتصاص والتوزع والاطراح:

(Absorption, Distribution, and Elimination)

* الامتصاص:

يُمتص الايبوبروفين بشكل شبه كامل وسريع بعد إعطائه الفموي ويصل إلى التركيز البلازمي الأعظمي خلال ساعة إلى ساعتين بعد تناوله مع توافر حيوي قيمته بين (0.8 – 0.9). يُمتص الايبوبروفين أيضاً عن طريق المستقيم، كما أنه يُمتص بشكل جزئي بعد التطبيق الموضعي على الجلد(20،21،22). يرجع الامتصاص شبه الكامل للأشكال المعطاة فموياً إلى الانحلالية العالية بالدم للشكل غير المتشرد. تتخفف سرعة الامتصاص عندما يُعطى مع الطعام مع عدم تأثير ذلك على شدة الامتصاص (مايسمي التوافر الحيوي) (23).

تشير الدراسات إلى أن المتماكب S هو الفعال فارماكولوجياً مقارنةً مع المتماكب R (24).
يبلغ التركيز البلازمي الذي تحدث عنده الفعالية 20 – 30 mg/l (25).

أثبتت دراسات الحرائك الدوائية وجود علاقة خطية بين (الاستجابة – الجرعة) للجرعات الدوائية بين 200–800 ملغ (26). وُجد كذلك ارتباط واضح بين مستويات الايبوبروفين البلازمية وبين درجة تسكين الألم وخاصة بعد ساعة واحدة من تناول الدواء (27).

* التوزع:

إن حجم التوزع (Volume of Distribution – V_d) لكلا المتماكبين للايبوبروفين صغير و هو يقارب 0.1 إلى 0.2 ل/كغ. يُعزى ذلك إلى ارتباط الايبوبروفين ببروتينات الدم بشكل أقوى من ارتباطه مع بروتينات الأنسجة حيث تصل إلى أكثر من 99% مما يجعل الايبوبروفين أكثر تواجداً في الدم منه في الأنسجة. لكن وبسبب الارتباط القابل للإشباع فإن حجم التوزع للمزيج الراسيمي يزداد تقريباً 5% بعد تناول جرعات تتزايد عن 400 ملغ إلى 1200 ملغ لدى الكبار (28).

* الاطراح:

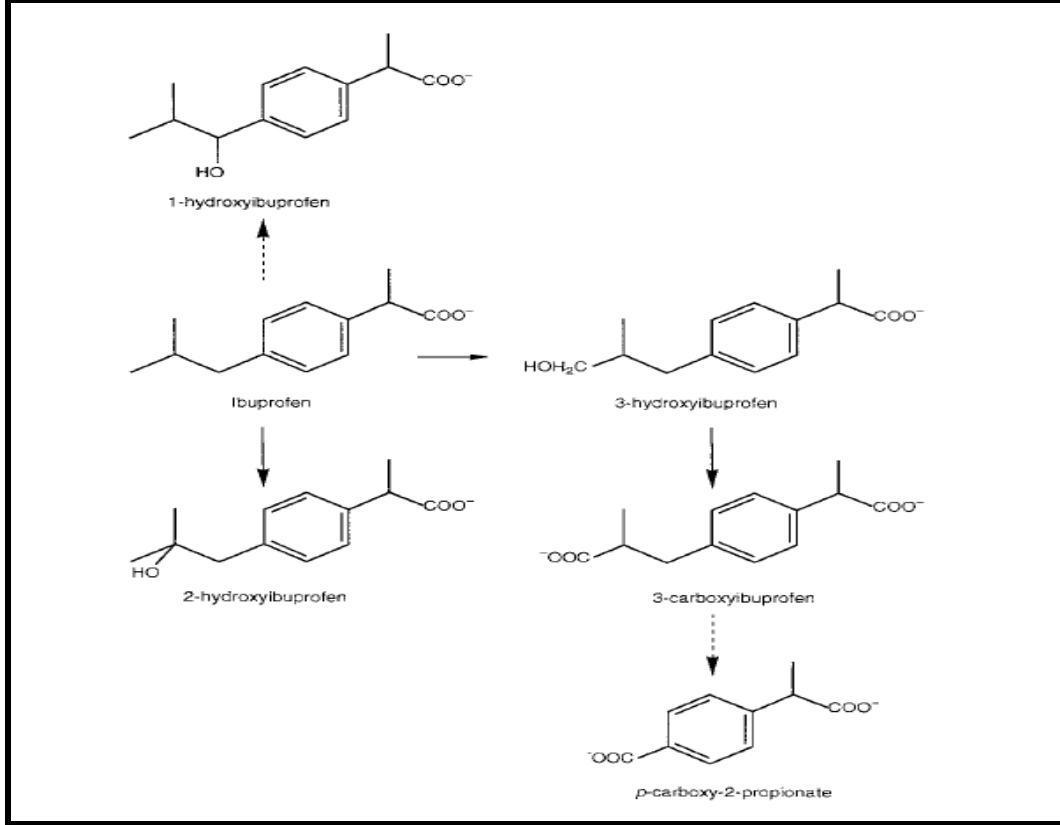
يُطرح الايبوبروفين بشكل أولي عن طريق الاستقلاب الكبدي متحولاً إلى مستقلبات تتم إزالتها بشكل تالي عن طريق الكلية. ما يقارب أكثر من 90% من الجرعة المتناولة يتم استقلابها كبدياً (Phase I) متحولة إلى مستقلبات هيدروكسيلية أو كربوكسيلية والتي تطرح فيما بعد عن طريق الكلية (29, 30). تقريباً، يطرح 1% من جرعة الايبوبروفين في البول بشكل غير متبدل و 14% بشكل مقترن. يبلغ العمر النصفى للايبوبروفين تقريباً ساعتين ولا يوجد أي اختلاف ملاحظ بين الأطفال والكبار (28).

يملك الايبوبروفين معامل استخلاص كبدي منخفض $E < 0.3$ (31).

4.2.ii. استقلاب الايبوبروفين (Metabolism of Ibuprofen):

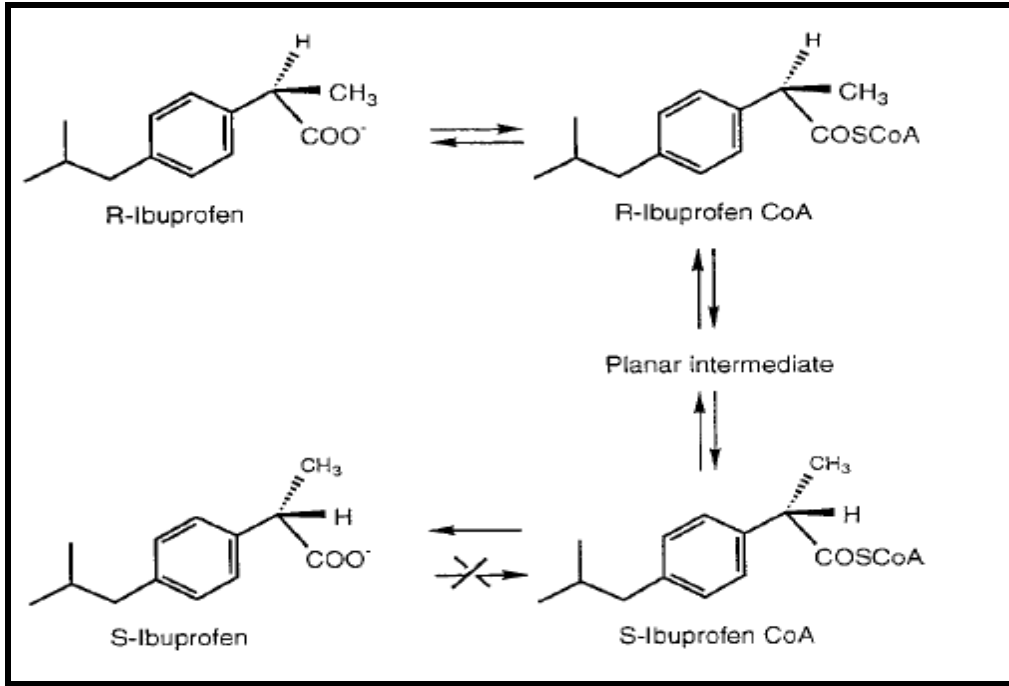
يخضع الايبوبروفين للاستقلاب الكبدي بواسطة فعالية السيتوكروم CYP2C8 وبشكل خاص السيتوكروم CYP2C9 والمستقلبات الناتجة هي عبارة عن مستقلبات حموض فينيل بروبيونية: هيدروكسيل (25%) و كربوكسي بروبييل (37%) كما هو موضح بالرسم أدناه (32, 33, 34). لا تملك هذه المستقلبات المؤكسدة أي فعالية مضادة للالتهاب وهي

تُطرح بشكل كامل خلال ٢٤ ساعة على شكل مركبات منضمة مع حمض الغلوكورونيك (glucuronic acid) (37,36,35). يُعتقد أن تصفية الايبوبروفين ربما تنخفض بواسطة تثبيط السيتوكروم CYP2C9 ، لكن لا يوجد أي دراسة (بحسب معلوماتنا) عن هذه التداخلات الكامنة. (38,37).



شكل رقم (4): استقلاب الايبوبروفين (35).

يتحول 60% من الكمية المتواجدة في جسم الانسان من المتماكب R الى المتماكب S (الفعال فارماكولوجياً) بواسطة مجموعة من الأنزيمات موجودة في الكبد بشكل أساسي وفي الكلى والطرق المعدية المعوية (35). حيث تُشير بعض الدراسات الى وجود تحول للمتماكب R الى S في مستوى المعدة والأمعاء ويزداد هذا التحول كلما بقيت مادة الايبوبروفين فترة أطول في الطريق المعدي المعوي (24,39).



شكل رقم (5) : كيفية تحويل R ايبوبروفين الى S ايبوبروفين بشكل أساسي في الكبد(35).

5.2.II. الاستخدامات العلاجية (Therapeutic Uses):

يستعمل الايبوبروفين كمسكن للألم (analgesic) ومضاد للالتهاب (anti-inflammatory) في معالجة الرثية المفصالية (rheumatoid arthritis) والالتهاب العظمي المفصلي (osteoarthritis) والاعتلالات المفصالية غير الرثوية (40). يستعمل كذلك لمعالجة الإصابات حول المفصالية (peri-articular conditions) مثل حالة الكتف المتجمد (frozen shoulder) والتهاب الجراب (bursitis) والتهاب الأوتار العظمية (tendinitis) والتهاب غمد الوتر (tenosynovitis) وآلام اسفل الظهر (41). إضافة إلى ذلك، يستعمل الايبوبروفين لتأثيراته المسكنة للألام الطفيفة والمعتدلة الشدة كما في حالات عسر الطمث (dysmenorrhia) وآلم الأسنان والآلم التالي للجراحة (dental and postoperative pain) وإزالة أعراض الصداع النصفي (migraine headache) (40،42،43،44).

6.2.II. التأثيرات الجانبية غير المرغوبة (Side Effects):

يسبب الايبوبروفين العديد من التأثيرات الجانبية غير المرغوبة ومن أهمها:

* اضطرابات هضمية: عسر هضم (dyspepsia)، غثيان (nausea)، إقياء (vomiting)، إسهال (diarrhoea)، ألم بطني (abdominal pain)، براز

أسود (melaena) ، قيئ دموي (haematemesis) كما يؤدي إلى نزف معدي معوي شديد أو قرحة هضمية (gastric ulcer) (40).

* اضطرابات عصبية: تتعلق بالجهاز العصبي المركزي (central nervous system – CNS) وتتضمن : ألم رأس headache ، عصبية nervousness ، دوام dizziness ، اكتئاب depression ، نعاس drowsiness ، أرق insomnia . كما يمكن أن تحدث تفاعلات تحسسية Hypersensitivity reactions متضمنة ارتفاع في درجة الحرارة fever والطفح الجلدي rashes (45).

* تأثيرات كلوية وكبدية ودموية: (43،42،41)

كلوية : قصور كلوي Renal insufficiency (بما في ذلك قلة البول oliguria) وارتفاع في مستويات الكرياتينين في المصل .

كبدية : ذكرت ردود فعل حادة مثل اليرقان jaundice ، التهاب كبد قاتل fatal hepatitis ، نخر الكبد liver necrosis وفشل كبدى hepatic failure.

دموية : حالات نادرة جداً من فقر الدم Anemia .

7.2.ii. مضادات الاستطباب (Contraindications):

يجب أن لا يُعطى الايبوبروفين وغيره من مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية للمرضى الذين لديهم تاريخ إصابة بالقرحة الهضمية أو الذين يعانون من قرحة هضمية فعّالة. لا يُعطى الايبوبروفين كذلك للمرضى الذين يعانون سابقاً من تفاعلات تحسسية مثل الربو (asthma) ، التهاب الأنف (rhinitis) و الشرى (urticaria) وكذلك الذين يعانون من ضعف كلوي Renal impairment (41،40).

8.2.ii. الحمل والإرضاع (Pregnancy and Lactation):

ينتمي الايبوبروفين للمجموعة C ، وبالنظر للتأثيرات المعروفة للأدوية المضادة للالتهاب غير الستيروئيدية على الجهاز القلبي الوعائي للجنين (انسداد القناة الشريانية (ductus arteriosus) فإن استعمالها في المراحل النهائية من الحمل يجب تجنبه (40). وفي الدراسات المحدودة المتوفرة يظهر الايبوبروفين في حليب الأم بتركيز قليلة جداً ولا يبدو أن هذه الكميات القليلة يمكن أن تؤثر على الرضيع (41،40).

9.2.ii. الجرعة وطريقة الاستخدام (Dosage and Administration) :

*** البالغون:** الجرعة الابتدائية الموصى بها من الايبوبروفين للبالغين هي 1200 إلى 1800 ملغ يومياً تُعطى على جرعات مقسمة. قد تكون جرعة مقدارها 600 إلى 1200 ملغ يومياً كافياً لبعض المرضى. في الحالات الشديدة أو الحادة ، قد يكون من المفيد زيادة الجرعة حتى ظهور معامل الاستجابة على ألا تتجاوز الجرعة اليومية 3200 ملغ مقسمة إلى عدة جرعات (46). تتراوح الجرعة المستخدمة من أجل التسكين من 400 إلى 800 ملغ ، في حين يجب استخدام جرعات تتراوح بين 1600 إلى 2400 ملغ من أجل الفعالية المضادة للالتهاب مقسمة إلى عدة جرعات (40).

*** الأطفال:** تُقدّر الجرعة اليومية من الايبوبروفين المعلق عند الأطفال 20 ملغ/كغ من وزن الجسم وهي تُعطى بجرعات مقسمة 3-4 مرات يومياً بالشكل التالي (40،41):

1- 2 سنة: 2.5 مل (50 ملغ) 3- 4 مرات يومياً.

3- 7 سنة: 5 مل (100 ملغ) 3 – 4 مرات يومياً.

8 – 12 سنة: 10 مل (200 ملغ) 3- 4 مرات يومياً.

*** المسنون:** لا يلزم أي تعديل خاص لجرعات الايبوبروفين عند الكبار من المرضى مقارنةً مع تلك المعطاة للبالغين، لكن يجب إعادة ضبط الجرعات الدوائية في حالة القصور الكلوي أو الكبدى حسب كل مريض شخصياً (40،41).

3.ii. الليمون الهندي (Grapefruit) :

1.3.ii. المنشأ (Origin) :

يُعتقد بأن الليمون الهندي (Grapefruit) الجديد نسبياً في فصيلة الحمضيات هو في الأصل نوع عفوي أو تلقائي من (pummelo). تم اكتشافه في الهند الغربي في بدايات العام 1700 حيث قام العالم جيمس ماك فايند في عام 1837 بفصل الليمون الهندي عن ال pummelo وأعطاه الاسم النباتي ليمون الجنة Citrus paradise.

بدأ خبراء الحمضيات عام 1948 بالإشارة إلى أن الليمون الهندي لايعتبر نوعاً من (pummelo) وإنما هو هجين عفوي بين (pummelo) والبرتقال. لذلك تم تغيير الاسم النباتي ليعكس وجهة النظر هذه وأصبح الآن معروفاً على أنه ليمون الجنة X أو

(47).Citrus paradise X

ظهرت في بدايات القرن العشرين السلالات الطافرة من الليمون الهندي الأبيض مع لون وردي مائل للاحمرار وأصبحت الأنماط الثلاثة الأساسية المتواجدة للليمون الهندي هي الأبيض و الأحمر أو الزهر والأحمر الغامق كما في الشكل رقم (6) (47).

- الاسم العلمي : ليمون الجنة أو الليمون الهندي Citrus paradise.

- الاسم الانجليزي : Grapefruit.

- الفصيلة : السذابية Rutaceae.



شكل رقم (6):شكل شجرة الليمون الهندي مع الثمار والأوراق والازهار(47).

II.3.2. الاستخدامات الغذائية (Nutritional Uses):

أظهر الليمون الهندي كغذاء جديد نسبياً تقدماً كبيراً خلال السنوات الـ45 الماضية. حيث أدى الترويج إلى استخدامه من خلال (حمية الكريفون) إلى ازدياد الاستهلاك بنسبة كبيرة.

- يعتبر الليمون الهندي فاكهة الفطور حيث تُبَرَّد وتُقَطَّع في المنتصف ويتم نزع القشرة الخارجية. يقوم البعض بتحلية الليمون الهندي بواسطة السكر الأبيض أو البني أو بقليل من العسل بينما يضيف البعض الآخر القرفة أو جوزة الطيب أو القرنفل.
- يمكن تغليب قشرة الليمون الهندي واستخدامها كمصدر هام للبكتين المستخدم كمادة حافظة من أجل الفواكه.

- غالباً ما يستخدم زيت قشرة الليمون الهندي سواء كان مقطراً أو طازجاً كمنكه في العصائر الغازية بعد إزالة 50 % من وحيادات التربين حيث يشكل النوكاتون (nookatone) المكون الأساسي في زيت القشرة الخارجية (47).
- يستخدم النارجين المستخلص من القشرة الداخلية (البياض) لإعطاء الطعم اللاذع في المشروبات المقوية و الشوكولا المرة والمتلجات. كما يمكن تحويله كيميائياً إلى محلي حيث تزيد حلاوته 1500 مرة عن السكر العادي (47).
- زيت بذرة الليمون الهندي هو زيت غامق وذو طعم مر ولكن يمكن تحسينه و يعتبر هذا الزيت مماثل في نكهته لزيت الزيتون ويمكن استخدامه بشكل مماثل (47).
يوضح الجدول 2 القيم الغذائية لكل من القشرة واللّب والعصير لثمرة الليمون الهندي .
جدول رقم (2): القيم الغذائية لكل من قشرة ولب وعصير ثمرة الليمون الهندي(47).

القيمة الغذائية لكل 100 غ من الجزء الصالح للأكل	اللّب	العصير	القشرة
السرعات الحرارية	34.4-46.4	37-42	316
الرطوبة	87.5-91.3 g	89.2-90.4 g	17.4 g
البروتين	0.5-1.0 g	0.4-0.5 g	0.4 g
الدهن	0.06-0.20 g	0.1 g	0.3 g
الكربوهيدرات	8.07-11.5 g	8.8-10.2 g	80.6 g
الألياف	0.14-0.77 g	trace	2.3 g
الكالسيوم	9.2-32.0 mg	9.0 mg	
الفوسفور	15-47.9 mg	15.0 mg	
الحديد	0.24-0.70 mg	0.2 mg	
الصوديوم	1.0 mg	1.0 mg	
البوتاسيوم	135 mg	162 mg	
فيتامين A (النوع الأبيض)	10. I.U.	10. I.U.	
فيتامين A (الأحمر / الوردى)	440 I.U.	440 I.U.	
التيامين	0.04-0.057 mg	0.04 mg	
الريبوفلافين	0.01-0.02 mg	0.02 mg	

النياسين	0.157-0.29 mg	0.2 mg	
فيتامين C	36-49.8 mg	36-40 mg	
تريبثوفان	2 mg		
ميثيونين	0-1 mg		
الليزين	12-14 mg		

3.3.ii. الاستخدامات الطبية (Medicinal Uses) :

* التأثيرات المضادة للجراثيم (Antimicrobial Effects):

وُجد بالفحص المخبري لخلاصات بذور الليمون الهندي فعالية مضادة للجراثيم السلبية والإيجابية الغرام (49,48). كما بينت بعض الأبحاث العلمية أنّ مضغ وبلع 5 ال 6 من بذور الليمون الهندي كل 8 ساعات يملك فعالية مضادة للكليسيلا (Klebsiella) والمكورات العنقودية الذهبية (aurous Staphylococcus) والاشريكية (Escherichia coli) المسببة لالتهاب المجاري البولية لكن ليس لها أي تأثير على سلالات الزائفة الزنجارية المقاومة (Pseudomonas aeruginosa-resistant strains) (50).

* التأثيرات القلبية الوعائية (Cardiovascular Effects):

أثبتت التجارب التي أُجريت على اثنين من مرضى التصلب الشرياني بعد خضوعهم لإجراء مفاغرة شريانية تحسّن في الملف الشحمي بعد استهلاكهم لكامل الثمرة أو عصيرها فقط (51,52). كما تحسنت القدرة المضادة للاكسدة لديهم ولم يتغير ضغط الدم الانقباضي والانبساطي لديهم طوال مدة الدراسة التي امتدت ثلاثين يوماً. على العكس من ذلك، أظهرت دراسة أخرى أُجريت على عصير الليمون الهندي انخفاضاً في الضغط الشرياني عند استهلاكه ويعود ذلك الى محتوى الليمون الهندي من الفلافونويدات (53,54).

* مكمل غذائي (Nutritional Supplement):

يملك الليمون الهندي قيمة كمكمل غذائي. أظهرت دراسة أُجريت على المرضى الذين يعانون من التهاب اللثة والذين تناولوا الليمون الهندي مرتين يومياً لمدة اسبوعين تحسناً واضحاً في مستوى فيتامين C والاقلال من النزيف الدموي لديهم (56)، كما لوحظ انخفاضاً في الوزن لدى البعض منهم (52، 55).

4.3.II . الآثار الجانبية (Adverse Effects):

تُعتبر التأثيرات الضارة التي تنتج عن استهلاك الليمون الهندي بمفرده محدودة جداً ويعود أغلبها إلى التداخل الدوائي مع الليمون الهندي. ارتبط استخدام الليمون الهندي بانخفاض في الضغط الشرياني وتشكل خثرة في الوريد العميق و يفترض أن ذلك يعود الى التداخل مع الايتينل استراديول (54,53). كما تشير إحدى الدراسات إلى حالة من التحسس للبكتين والربو المحدث به من خلال استخدام الليمون الهندي (58,57).

5.3.II . الحمل والارضاع (Pregnancy and Lactation):

أشارت الدراسات أن الليمون الهندي يبدو آمناً ، كطعام ، خلال الحمل والارضاع. لا توجد دراسات كافية حول فعاليته وأمانه إذا أخذ بكميات زائدة (59).

6.3. II . الجرعة Dosage:

إن التجارب السريرية النوعية والتي يمكن اعتبارها حجر الأساس لوضع توصيات للجرعات العلاجية الخاصة بالليمون الهندي محدودة جداً. فقد وُجد تحسن في الملف الشحمي (Lipid Profile) عند تناول قطعة واحدة من الليمون الهندي لمدة 30 يوم (52). كما أدى شرب 240 مل من عصير الليمون الهندي أو نصف ثمرة طازجة 3 مرات في اليوم قبل كل وجبة لمدة 12 أسبوعاً الى خسارة في الوزن (55). كذلك ، حسن استهلاك حبتين من الليمون الهندي يومياً ، كمكمل غذائي ، من مستوى فيتامين C لدى المرضى الذين يعانون من التهاب اللثة وذلك بعد اسبوعين (56).

7.3.II . التداخل الدوائي (Drug Interactions):

تم اكتشاف التداخل بين الليمون الهندي والأدوية بالصدفة عام 1989 في دراسة شاهد – غفل ثنائية التعمية Double blinded مصممة لتقييم التداخل بين الايتانول وحاصرات قناة الكالسيوم (فيلوديبين)، حيث استخدم الباحثون عصير الليمون الهندي لتقنيع طعم الايتانول (60). اقترحت النتائج أن عصير الليمون الهندي المستخدم لتقنيع طعم الايتانول أدى الى ارتفاع التركيز البلازمي للفيلوديبين . أثبتت الدراسة اللاحقة أن عصير الليمون الهندي سبب زيادة في التوافر الحيوي الجهازى كما زادت التأثيرات الخافضة لضغط الدم لحاصرات قناة الكالسيوم فيلوديبين ونيفيديبين.

في العقد الماضي، أظهرت الدراسات أن عصير الليمون الهندي يسبب زيادة كبيرة في المستويات البلازمية لأدوية محددة وبالتالي زيادة في التأثيرات الضارة أو السمية. يُعزى

ذلك إلى التثبيط الواضح لأنزيمات CYP 450 و (P-Glycoprotein) الموجودة في جدار الأمعاء الدقيقة (6,7).

أثبتت دراسة Lown et al أن تناول عصير الليمون الهندي يثبط السيتوكروم CYP3A4 في الأمعاء والمسؤول عن الاستقلاب قبل الجهازى للفيلوديبين وبالتالي زيادة في التوافر الحيوي الفموي له (3). أما تأثير عصير الليمون الهندي على P-gp و OATP فقد وُجد عدد محدود جداً من الدراسات عليه:

- أثبتت دراس Dahan et al التأثير المثبط لعصير الليمون الهندي على p-gp وبالتالي زيادة التوافر الحيوي للركازة (كولشيسين) (61).

- أما دراسة Dresser et al أظهرت ، على العكس من ذلك ، انخفاضاً في التوافر الحيوي للفيكسوفينادين نتيجة تثبيط OATP (62).

تُعتبر هذه التداخلات الدوائية الغذائية على درجة من الأهمية السريرية لكون عصير الليمون الهندي يستخدم تقريباً لدى نسبة كبيرة من الدول ، وخاصةً أن الدواء والعصير يُؤخذان متواقتان من قبل بعض المرضى عند الفطور.

1.7.3.1. آلية عمل التداخل الدوائي (Mechanism of Drug Interaction):

يؤثر عصير الليمون الهندي بثلاث آليات محتملة مختلفة:

1- الآلية الأولى والأساسية للتداخل الدوائي مع عصير الليمون الهندي تنتج عن تثبيط أنزيمات السيتوكروم الموجودة في جدار الأمعاء والكبد وهي أساسية جداً من أجل الادوية التي لها توافر حيوي فموي منخفض (63).

يحدث هذا التداخل خلال 30 دقيقة من تناول كأس واحدة من عصير الليمون الهندي ويستمر لمدة 3 أيام من آخر جرعة متناولة. تُعتبر CYP3A4 الموجودة في الكبد والأمعاء الأكثر تأثراً بعصير الليمون الهندي مقارنةً بحجم تثبيط أقل أهمية للأشكال الأخرى مثل CYP1A2 و CYP2C9 و CYP2C19. كما يظهر أيضاً أن هذا التداخل يؤثر على CYP3A4 الموجودة في جدار الأمعاء أكثر من تلك الموجودة في الكبد بالجرعات الطبيعية .

يحدث تثبيط نظام CYP من خلال آليتين اثنتين: الآلية الأولى وهي عبارة عن تثبيط تنافسي ينتج من التنافس بين المثبط والركازة لنفس السيتوكروم المسؤول عن استقلاب

الركازة واطراحها. وهذا التثبيط التنافسي يمكن ملاحظته بعد إعطاء أول جرعة من المثبط.

الآلية الثانية معروفة على أنها تثبيط معتمد على الآلية وهو الذي يحدث مع عصير الليمون الهندي حيث يرتبط المكون الأساسي للليمون الهندي والمسؤول عن هذا التثبيط المعتمد على الآلية بشكل غير عكوس مع CYP ويسبب تدرك سريع وغير عكوس للأنزيم مؤدياً الى نقص في مستويات CYP في الخلايا بنسبة 47% خلال الساعات الأربعة الأولى من تناوله وبالتالي زيادة التوافر الحيوي للمادة الدوائية لمدة 24 ساعة، كما لوحظ أن انخفاض CYP لم يترافق مع زيادة في mRNA وهذا مؤشر على غياب الية التثبيط الراجع السلبي للتعبير عن CYP وبالتالي فإن مدة التثبيط المعتمد على الآلية ربما تكون أطول من التثبيط التنافسي بسبب أن أنواع جديدة من CYP يتم اصطناعها من جديد من أجل تفعيلها. يتطلب هذا التصنيع الجديد من 48 الى 72 ساعة بعد آخر جرعة من العصير وهذا يفسر استمرار التأثير حتى 72 ساعة بعد شرب العصير (64،65). لذلك ، وبناءً على هذا التثبيط المعتمد على الآلية ، لا تُقلل المبادعة عدة ساعات بين إعطاء الدواء والعصير من هذه التداخلات ويتوجب على الصيدلاني نصح المريض بتجنب تناول عصير الليمون الهندي نهائياً إذا كان يأخذ أدوية تُعرف بأنها تتداخل بشكل واضح مع عصير الليمون الهندي.

تم تحديد كمية عصير الليمون الهندي أثناء دراسة هذه التداخلات، حيث أثبتت الدراسات أن الاستهلاك الطبيعي (كأس واحدة 240 مل) من عصير الليمون الهندي كافية لتثبيط CYP3A4 في الأمعاء بينما يزداد هذا التأثير المثبط مع زيادة وتكرار كمية العصير المتناولة ليشمل الأمعاء والكبد (63،66،67).

وهذا يظهر حقيقة أن معظم الأدوية المتضمنة في التداخل مع عصير الليمون الهندي تخضع للاستقلاب قبل الجهاز في المستوى المعدي المعوي والكبد بينما لا يؤثر على الحرائك الدوائية لهذه الأدوية عندما تعطى وريدياً مع العصير. كما نلاحظ بأنه عندما تزداد المساحة تحت المنحني (Area Under the Curve – AUC) فإنها لا تملك أي تأثير واضح على العمر النصف لاطراح الأدوية (63،66،67).

* تأثير المرور الأول First pass effect:

او ما يُسمى استقلاب المرور الأول First pass metabolism أو الاستقلاب قبل الجهازى Pre-systemic metabolism. وهي العملية التي يحدث فيها انخفاض في جزء الجرعة الدوائية التي ستصل الى الدورة الدموية ويمكن أن تحصل إما في الكبد أو جدار الأمعاء (الاثني عشري)⁽³¹⁾.

يُعرف معامل الاستخلاص الكبدي (Hepatic Extraction Ratio (E): بقدره الكبد على إزالة الدواء من مجرى الدم الوارد إليه و تتراوح نظرياً ما بين 0 الى 1. حيث تكون قيمة E قريبة من 1 بالنسبة للأدوية التي تملك High Extraction Ratio وهنا تكون قيمة التصفية Clearance حساسة للتدفق الدموي الكبدي وغير حساسة للارتباط ببروتينات البلازما ولا الى التصفية الباطنية Cl_{int} ، بينما تكون قريبة من 0 بالنسبة للأدوية التي تملك Low Extraction Ratio وبالتالي لا يؤثر أي تغير في جريان الدم على التصفية وانما تتأثر بالتصفية الباطنية وبإزاحة المادة الدوائية من بروتينات الدم بالاعتماد على القانون التالي⁽³¹⁾:

$$CL_H = Q \cdot E$$

$$\text{with } E = \frac{f_u \cdot Cl_{int}}{Q_H + f_u \cdot Cl_{int}}$$

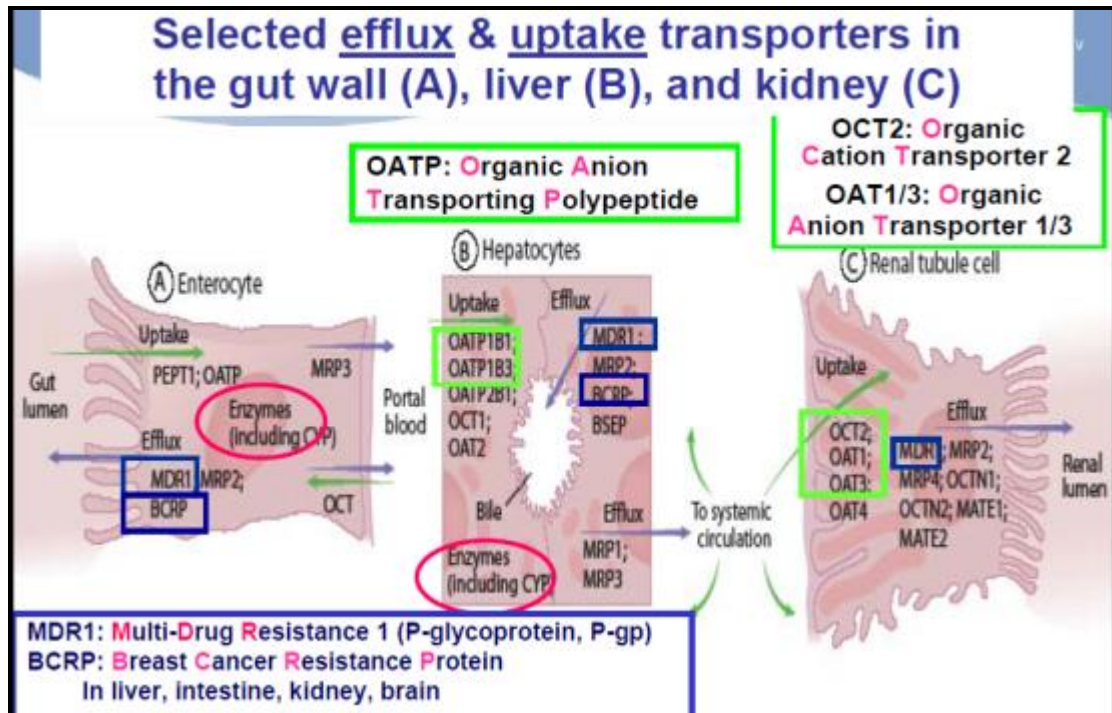
حيث Q هي عبارة عن التدفق الدموي الكبدي ، Cl_{int} هي عبارة عن التصفية الباطنية للكبد، f_u الأجزاء الحرة غير المرتبطة من الدواء.

2- أما الآلية الثانية والثالثة لتداخل الليمون الهندي مع الأدوية : فقد وُجد أن عصير الليمون الهندي يثبط نواقل الدواء (P-glycoprotein – Pgp) و (O - Adenosine Triphosphate – OATP). إن P-gp عبارة عن أغشية ناقلة تنتمي لعائلة من البروتينات تعمل كمضخة تقوم بإعادة المواد الى داخل لمعة الامعاء⁽⁶⁹⁾. يتواجد P-gp بتراكيز عالية جداً في الخلايا المعوية (تحديداً في الاثني عشري) وهو المكان المفضل لامتصاص الدواء المعطى فموياً، كما يتواجد في الطرق الصفراوية والخلايا الكبدية والخلايا البطانية التي تساهم في الحاجز الدماغي الدموي (BBB) وفي النبيب الكلوي الداني كما في الشكل(7)⁽⁶⁹⁾.

أثبتت عدة دراسات مجرة على عينات من خزعة الأمعاء أن تناول عصير الليمون الهندي لا يؤثر على mRNA ومستويات التعبير عن البروتين وبالتالي اقترحت أن تأثير هذا التداخل قصير الأجل وبالتالي يكفي المباشرة بينهم لمنع هذا التداخل الدوائي وكذلك الأمر مع OATP.

إن OATP عبارة عن أغشية ناقلة صودية مع ATP وهي نواقل مستقلة تتواجد في مخاطية الأمعاء وتحفز قبط الدواء الى داخل الخلايا المعوية كما يظهر الشكل (7)(69,68,65,62). لذلك فإن تثبيط عصير الليمون الهندي لل OATP يؤدي إلى انخفاض التراكيز البلازمية للدواء وهذا معاكس لتثبيط CYP و P-gp والذي يؤدي الى زيادة التراكيز البلازمية للدواء. مع ذلك ، فإن تأثير محتوى الليمون الهندي على OATP و P-gp يبقى غير واضح ويتطلب المزيد من الابحاث(71).

إن OATP هو عبارة عن أغشية ناقلة صودية مع ATP وهي نواقل مستقلة تتواجد في مخاطية الأمعاء وتحفز قبط الدواء الى داخل الخلايا المعوية كما يظهر في الشكل (7)(63,61,58,64). لذلك فإن تثبيط عصير الليمون الهندي لل OATP يؤدي إلى انخفاض التراكيز البلازمية للدواء وهذا معاكس لتثبيط CYP و P-gp و يؤدي الى زيادة التراكيز البلازمية للدواء. مع ذلك، فإن تأثير محتوى الليمون الهندي على OATP و P-gp يبقى غير واضح ويتطلب المزيد من الابحاث(89).



شكل رقم (7): آلية عمل كل من p-gp و OATP في الخلايا المعوية والكبدية.

3.11.8. التركيب الكيميائي (Chemical Structure):

كانت المرحلة الثانية ليجد فيها الباحثون الأجوبة عن هذه التداخلات هي تحديد المكونات الفعالة في الليمون الهندي والمسؤولة عن عمله على كل من نظام CYP و P-gp. لذلك تم تحديد محتوى عصير الليمون الهندي المسؤول عن التداخل الدوائي السريري وتصنيف المركبات التي يعتقد أنها مسؤولة عن هذا العمل الى قسمين وفقاً لما يلي:

١ – الفلافونويدات الغليكوزيدية flavonoid glycosides : تتضمن narirutin, naringin, naringenin, quercetin, kaemferol, hesperidin, neohesperidin, didymin, and poncirin (73,72,70).

٢ – الفورانوكومارينات furanocoumarins وهي تتضمن bergamottin :

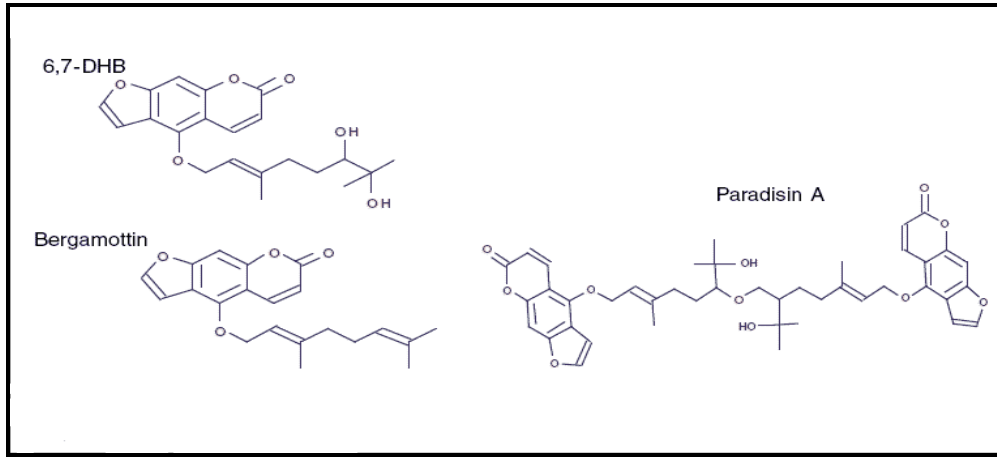
(6',7'-dihydroxybergamottin(DHB)) (77,76,75,74).

الفلافونويدات Flavonoids: مركبات متعددة الفينول مع خواص مضادة للأكسدة تتواجد في عصير الليمون الهندي على شكل غليكوزيد (حيث يشكل النارينجين الغالبية العظمى). عندما يحدث الهضم ، تتحول هذه الفلافونويدات إلى سكر وأغليكون (جزء لا سكري) بواسطة فعل الفلورا المعوية ونظراً لكون هذه المركبات غنية بالالكترول ومعددة الفينول فإنها نظرياً تثبط السيتوكروم CYP ، حيث وُجد أن الفالية التثبيطية مرتبطة بصيغته الجزئية ، فكلما زاد عدد مجموعات OH زادت الفالية التثبيطية ل CYP3A4 (70). يتواجد النارينجين بكميات كبيرة في عصير الليمون الهندي ولا يتواجد في عصير الحمضيات الأخرى، مما دفع للاعتقاد بأن النارينجين هو المكون الأساسي و المسؤول عن التداخلات الدوائية التي يبدئها. على أية حال، أظهرت الدراسات أن النارينجين هو مثبط ضعيف ل CYP3A4 (78,70). كما تم إثبات أن اعطاء نارنجين معزول للبشر بكميات متقاربة مع تلك الموجودة في العصير لا يسبب نفس الدرجة من التثبيط كما يفعله عصير الليمون الهندي كاملاً.

بالإضافة للفلافونويدات، ركّز الباحثون على الفورانوكومارينات الموجودة في العصير كمثبط ل CYP3A4 (80,79). وُجد أن الفورانوكومارينات الموجودة في العصير تُظهر التثبيط المعتمد على الآلية والمسؤول عن تشكيل المستقلب العكسي والذي يرتبط بشكل

تساهمي مع CYP3A4 مؤدياً إلي حدوث التثبيط. كما وُجد أن هذا التثبيط مرتبط بحلقة الفوران كما في الشكل 8.

يُسبب DHB تثبيطاً واضحاً ل CYP3A4 مقارنة بفعالية النارجين كمثبط . ولتأكيد ذلك قام الباحثون بحقن عصير البرتقال مع DHB صناعي (حيث أن عصير البرتقال لا يملك تأثيرات مثبطة ل CYP3A4). كانت النتيجة أنهم لم يلاحظو أي اختلافات واضحة في درجة التثبيط مع عصير الليمون الهندي والبرتقال. لذلك تم اعتبار أن مركب DHB في عصير الليمون الهندي مثبط كامن آخر ل CYP3A4 وهو أيضاً مسؤول عن هذا التداخل(79).



شكل رقم (8): صيغ الفورانوكومارينات الموجودة في عصير الليمون الهندي.

بالإضافة إلى هذين المكونين المسؤولين عن التداخل الدوائي ، فإن الليمون الهندي يتكون كغيره من الحمضيات من سكر- عديد السكاريد و حموض عضوية ومكونات نثروجينية و دهون و كاروتينات مسؤولة عن اللون و فيتامينات ومعادن و مكونات طيارة تسهم في الرائحة العطرية (78,70,83,82,81). يحتوي الليمون الهندي كذلك على نسبة عالية من الماء والألياف كما يحتوي على حمض الفوليك . كما تعتبر الثمرة ككل مصدراً جيداً للبتواسيوم و فيتامين C والبكتين. بالإضافة إلى ذلك ، فإن الليمون الهندي خالي من الدسم ومنخفض الصوديوم والسرعات الحرارية (78,79,84,85).

4. II. التداخلات الدوائية (Drug interaction) :

1.4. II. التعريف (Definition):

يُعرّف التداخل الدوائي بأنه تعديل في تأثير دواء ما بواسطة ايتاء دواء آخر سابق أو متواقت أو لاحق لهذا الدواء. يمكن أن تقود المشاركة العلاجية (Therapeutic Combination) إلى تغيير غير متوقع أو تعقيد (Complication) في حالة المريض والذي يمكن ملاحظته سريرياً. يوجد العديد من التأثيرات الدوائية والتي تنتسب في فوائد علاجية أكثر منها كأثار جانبية كإعطاء Carpidopa وهو مثبط للدوبا كاربوكسيلاز خارج الدماغية مع Levodopa لمنع استقلاله المحيطي إلى دوبامين. تحدث التأثيرات الدوائية بشكل أكبر عند مجموعات من المرضى تشمل كبار السن والمرضى ذوي الامراض الحرجة كقصور الكبد والقصور الكلوي وكذلك الخاضعين لاختلاطات العمل الجراحي. (86).

2.4. II. آليات التداخلات الدوائية (Mechanisms of Drug Interaction):

تُقسّم آليات التداخلات الدوائية إلى تداخلات الحرائكية الدوائية (Pharmacokinetics) وتداخلات فارماكوديناميكية (Pharmacodynamics) (86).

3.4. II. تداخلات الحرائك الدوائية (Pharmacokinetic Interactions):

تحدث تداخلات الحرائك الدوائية بواسطة عدد من الآليات وبذلك يمكن لدواء أن يغير من امتصاص (Absorption) أو توزع (Distribution) أو استقلاب (Metabolism) أو اطراح (Elimination) دواء آخر ومثل هذه التأثيرات الدوائية يمكن أن تتوقع (78).

1.3.4. II. الامتصاص (Absorption):

إن عملية امتصاص الأدوية المعطاة فمويّاً من السبيل المعدي المعوي هي عملية معقدة ومتنوعة وتجعل التنبؤ بحدوث التداخلات الدوائية من هذا النمط صعبة. من المهم أن نميّز أن غالبية هذه التداخلات تسبب تغيير في سرعة الامتصاص (Absorption Rate) وفي بعض الحالات يتأثر مدى الامتصاص (Extent of absorption) (الكمية الكلية الممتصة). إن الأدوية التي تعطى طول حياة المريض وبنظام الجرعات المتعددة (كخافضات الضغط ومضادات التخثر الفموية) تكون سرعة الامتصاص عادةً غير مهمة.

من ناحية أخرى، يملك تباطؤ الامتصاص تأثيرات سريرية واضحة خاصة مع الأدوية التي تملك عمر نصفي قصير (Half life) أو عند الحاجة للوصول لتراكيز بلازمية محددة بشكل سريع كما في حالة مسكنات الألم (Analgesic) أو المنومات (Hypnotic). يمكن أن تتجنب تداخلات امتصاص الأدوية إذا كان هناك فاصل زمني بين جرعات الأدوية المعطاة والتي يمكن أن يحصل بينها تداخل دوائي يتراوح بين ٢ - ٣ ساعات (86). من العوامل التي تتدخل في امتصاص المركبات الدوائية والتي تحصل أثناء التداخل الدوائي نذكر مايلي :

١ - التغيرات في ال pH المعدي المعوي.

٢ - آليات الامتزاز (Adsorption) والاستحلاب (Chelation).

٣ - التأثيرات على حركية الجهاز المعدي المعوي.

٤ - تأثيرات الأدوية على فلورا الجهاز المعدي المعوي.

2.3.4.ii. التوزيع (Distribution):

يتوزع الدواء أثناء الامتصاص إلى أنسجة الجسم المختلفة بما فيها مواقع التأثير خاصته وخلال هذه العملية يمكن أن يتداخل مع دواء آخر. تبين من خلال الممارسة أن الآلية الرئيسية التي تقف وراء هذه التداخلات هي الإزاحة من مواقع ارتباط البروتينات (النسجية والدموية) Displacement from protein – binding. وهو يُعرّف بأنه إنخفاض في مدى ارتباط بروتين البلازما بأحد الأدوية والنتيجة عن وجود دواء آخر والذي يتسبب في ازدياد الجزء الحر أو غير المرتبط للدواء المُستبدل. يعتبر الألبومين البروتين البلازمي الرئيسي والذي ترتبط به الأدوية الحمضية مثل الوارفارين (Warfarin) (78).

3.3.4.ii. الاستقلاب (Metabolism):

إن أكثر التداخلات ذات الأهمية السريرية هي تأثير دواء على استقلاب دواء آخر. ويشير الاستقلاب إلى العملية التي يُعدّل فيها الدواء والمركبات الأخرى تعديلاً كيميائياً حيويًا ليسهل تدركها وبالنتيجة نزاعها من الجسم (87).

1.3.3.4.II. فيزيولوجية الكبد (Hepatic Physiology):

يعتبر الكبد واحداً من أهم الأعضاء المسؤولة عن إخراج (elimination) المواد داخلية (endogenous) وخارجية (exogenous) المنشأ. يتميز الكبد كعضو إخراج بأنه يتلقى صبيب دموي مزدوج (حوالي 1.5 لتر/دقيقة عند الأشخاص الأصحاء) من الشريان الكبدي (حوالي 25 %) والوريد البابي Portal veins (حوالي 75 %) وهذا يؤمن دم شرياني عالي الأكسجة ودم وريدي غني بالمغذيات (87).

2.3.3.4.II. استقلاب الأدوية (Drug Metabolism):

تسهل الأنزيمات التفاعلات الكيميائية بما فيها التحول الحيوي (Biotransformation) للأدوية. تشمل عملية التحول الحيوي، بشكل عام، تحويل المركبات المحبة للدهن (Lipophilic) إلى مستقلبات منحلة بالماء تطرح بشكل رئيسي عن طريق الكلى. تُقسم تفاعلات التحول الحيوي إلى طورين : الطور الأول (Phase I) والطور الثاني (Phase II). تشمل تفاعلات التحول الحيوي في الطور الأول (غير تصنيعية - Non-synthetic): الأكسدة (Oxidation) والإرجاع (Reduction) والحلمهة (Hydrolysis). وهي تتسبب إما بنزع سمية المركبات خارجية المنشأ (Xenobiotic) أو تحفيز تشكل مستقلبات سامة أو مركبات فعالة (87).

تقوم تفاعلات التحول الحيوي في الطور الثاني (تفاعلات انضمامية) بربط إما جزيئة الدواء الأصلي أو منتج الاستقلاب في الطور الأول مع ركيزة داخلية المنشأ. وتشمل هذه العملية Glucuronidation و Sulfation و Acetylation و Methylation والاقتران مع الغلوتاتيون (Glutathione Conjugation) والاقتران مع الحموض الأمينية. وتزيد معظم تفاعلات التحول الحيوي في الطور الثاني (باستثناء Acetylation و Methylation) انحلالية المركبات بالماء (87).

3.3.3.4.II. الاستقلاب الكبدي للأدوية (Hepatic Drug Metabolism):

يعتبر نظام الأوكسيديز الصغروري ذو الوظائف المختلطة (Microsomal Mixed Function Oxidase System) المتوضع في الشبكة الهيولية الباطنية الملساء للخلايا الكبدية مسؤولاً عن الاستقلاب في الطور الأول Phase I. يتألف هذا النظام من

أنزيمين هما: السيتوكروم P450 و السيتوكروم P450 ريدوكتاز المعتمد على NADPH (87).

تلعب أنزيمات السيتوكروم P450 أدوار فيزيولوجية (Physiologic Roles) وأدوار إمرضية (Pathologic Roles) حيث تتدخل أنزيمات السيتوكروم ليس فقط في استقلاب المواد خارجية المنشأ (Xenobiotics) (كالأدوية والملوثات المحيطة) وإنما أيضاً في اصطناع وتقويض (Catabolism) الركازات الداخلية (endogenous) والستيروئيدات والحموض الصفراوية والحموض الدسمة والبروستاغلاندينات (Prostaglandins) والرتينويد (Retinoid) ومشتقات الفيتامين (D3) (88).

4.3.3.4. II. الاكسدة (Oxidation):

• نظام تسمية السيتوكروم P450:

السيتوكروم P450 عبارة عن بروتين مرتبط بالهيم والذي يتفاعل مع أحادي أكسيد الكربون ليشكل معقد والذي يملك امتصاص أعظمي عند طول موجة ٤٥٠ نانومتر. بالرغم من أن الكبد يحتوي الكمية العظمى من السيتوكروم P450 فإن الأنزيمات تتواجد نظرياً في كل أعضاء الجسم كالكلى والمعوي الدقيق والجلد والمخاطية الأنفية والعيون والرتنين والكظر والبنكرياس والقلب والدماغ والكريات الحمر والصفائح الدموية.

يُقدَّر عمر جين ال P450 بأكثر من 3 بليون سنة. حيث عُرفت أشكال متعددة من P450 (Isoenzymes) في الفطور والنباتات الطيبة والحشرات ويُرمز لكل إنزيم من P450 بواسطة جين منفصل. (87).

يُعرف حالياً 18 فصيلة و42 فصيلة من أنزيمات P450 عند البشر. من بينها CYP1 و CYP2 و CYP3 وهي فصيلات السيتوكروم P450 الرئيسية المسؤولة عن استقلاب الدواء، أما CYP 5،7،8،24،27،51 فهي الأنزيمات الرئيسية في الاصطناع الحيوي biosynthesis والبناء catabolism للمواد داخلية المنشأ (87).

5.3.3.4. II. لمحة موجزة عن أنزيمات P450 :

* فصيلة CYP 1 : وهي تتألف من CYP1A1 و CYP1A2 و CYP1B1 .

* فصيلة CYP2 :

تتدخل فصيلة CYP2 في الاصطناع الحيوي والبناء لمركبات الايكوسيانويد (eicosanoid) وحمض الأراشيدونيك (arachidonic acid) بالإضافة إلى استقلاب المركبات الغريبة (Xenobiotics). من بين 13 فصيلة (**subfamily**) من انزيمات CYP2 تعتبر 2E1 و 2D6 و 2C19 و 2C8 و CYP2B6 الأنزيمات الأساسية التي تستقلب المركبات الغريبة (Xenobiotics). تتألف فصيلة (**Subfamily**) CYP2C من CYP2C8 و 2C9 و 2C18 و 2C19.

انزيم CYP2C9 هو أنزيم CYP2C الرئيسي في كبد الإنسان وتستقلب المركبات داخلية المنشأ كحمض الأراشيدونيك بالإضافة إلى العديد من الأدوية ذات الأهمية السريرية كالفيوتوتئين (Phenytoin) والوارفارين (Warfarin) والتولبوتاميد (Tolbutamid) ومضادات الالتهاب غير الستيروئيدية كالديكلوفيناك (Diclofenac) والايوبروفين (Ibuprofen)^(90،85).

* فصيلة CYP3:

تتألف هذه الفصيلة من CYP3A4 و 3A5 و 3A7 و 3A3 وهي المسؤولة عن استقلاب القسم الأعظم من الأدوية كما أنها ذات أهمية كبيرة في التأثيرات الدوائية. تستقلب هذه الفصيلة أيضاً المركبات داخلية المنشأ مثل الستيروئيدات والحموض الصفراوية.

يعتبر أنزيم CYP3A4 من أكثر أنزيمات CYP وفرة عند البشر وهي مسؤولة عن استقلاب أكثر من 60% من الأدوية الموجودة في السوق والتي تنتمي إلى 38 مجموعة علاجية⁽⁸³⁾. حوالي 30% من بروتينات CYP الكبدية وحوالي 70% من بروتينات CYP المعوية هي عبارة عن CYP3A4. تشمل ركازات CYP3A4 المسكنات الأفيونية (Opioid analgesic) ومضادات اللانظميات (Antiarrhythmics) وضواد الكالسيوم (Calcium antagonist) ومضادات الهيستامين (Antihistamines) والبنزوديازيبينات (Benzodiazepines) والأدوية المضادة للجراثيم (Antimicrobial) والأدوية المضادة للفيروسات (Antiretroviral agents) ومثبطات المناعة (Immunosuppressants). تتدخل كذلك CYP3A4 في استقلاب الستيروئيدات داخلية المنشأ كالكورتيزول (Cortisol)

والتستوسترون (Testosterone) والاستراديول (Estradiol -17 β) والبروجيستيرون (Progesterone). (90،89).

6.3.3.4.ii: الانضمام (Conjugation):

تتوضع معظم أنزيمات الانضمام في العصارة الخلوية (Cytosol) والاستثناء الوحيد هو UDP-glucuronosyl transferases حيث يتواجد في غشاء الشبكة الهيولية الباطنية (Endoplasmic reticulum) (84).

1.6.3.3.4.ii: الانضمام الغلوكوروني Glucuronidation:

ينضم حمض الغلوكورونيك إلى معظم الأدوية التي تخضع لتفاعلات التحول الحيوي في طور الثاني. يعتبر الكبد العضو الرئيسي لتفاعلات الانضمام الغلوكوروني ويحفز انضمام حمض الغلوكورونيك بواسطة UDP-glucuronosyl transferases (UGTs) والمتوضعة على الحافة المعية للشبكة الهيولية الباطنية للكبد كما تتواجد بشكل كبير في أعضاء غير الكبد كالمعدة (Stomach) والمعوي الدقيق (Small intestine) والكولون (Colon) والكلية (Kidney) والبروستات (Prostate) (87،88).

4.3.4.ii: تداخلات الاطراح Elimination interaction:

تحدث معظم تداخلات الاطراح (Elimination) أو الاطراح دون تبدل (Excretion) في الكلى. يوجد عدد قليل من الأدوية التي تكون منحلة بشكل كافٍ في الماء وبالتالي يعتمد إطراحها دون تبدل على الكلى فقط وبدون أن يتطلب ذلك استقلاب سابق في الكبد. يمكن أن يغير أي تبدل في سرعة الترشيح الكبيبية (glomerular filtration rate) أو الإفراز النيببي (Tubular secretion) أو ال pH البولي أوتغيرات في التدفق الدموي الكلوي في إطراح بعض الأدوية. ويعتبر التداخل في الأطراح الكلوي الألية الرئيسية التي تقف وراء بعض التداخلات الدوائية كما في حالة الديجوكسين (Digoxin) والليثيوم (Lithium). (87).

4.4.ii. التداخلات الفارماكوديناميكية (Pharmacodynamic interaction):

تشمل التداخلات الفارماكوديناميكية عادةً التأثيرات التآزرية (Synergistic) أو التأثيرات التضادية (Antagonistic) للأدوية التي تعمل على نفس المستقبلات أو نفس الأجهزة الفيزيولوجية.

يمكن توقع التداخلات التضادية (Antagonistic interaction) بحيث يمكن لدواء ذو تأثير منبه (Agonist action) على نمط من المستقبلات أن يتداخل مع مضادات لذلك المستقبل. وكمثال عليها منبهات β_2 كالسالبوتامول ومضادات مستقبلات β الأدرينرجية - β -adrenoceptor antagonist. أما التداخلات التآزرية (Synergistic interaction) يتم ملاحظتها عادةً عندما يكون لدوائين نفس التأثيرات الفارماكولوجية فعندها نحصل على تأثيرات تجميعية (Additive) كما هو حال الأسبيرين مع الوارفارين

(91)

III- القسم العملي

Practical section

1.III. هدف البحث Aim of study:

معرفة التداخل الدوائي – الغذائي بين عصير الليمون الهندي والايوبروفين.
يعتبر الايوبروفين بجرعات تتراوح من 200 إلى 400 ملغ دواء غير موصوف (OTC) شائع الاستخدام جداً في سورية كمسكن ألم ومضاد التهاب ، كذلك الأمر بالنسبة لعصير الليمون الهندي. لذلك فإن السبب وراء هذا البحث هو ايجاد نمط التداخل بينهما .
تعتبر دراسة تداخل الايوبروفين مع عصير الليمون الهندي قليلة عند البشر ، فقد أشارت الدلائل الأولية إلى أن عصير الليمون الهندي يثبط استقلاب الايوبروفين ولكن لم يتم تسجيله لدى البشر، لذلك افترضنا في بداية بحثنا أن عصير الليمون الهندي يزيد من التوافر الحيوي للايوبروفين عندما يعطى فموياً ، وبالتالي وفي حال إثبات هذه النتيجة، فإن هذا يساعد الاشخاص في تقليل جرعة الدواء المتناولة ك OTC وتقليل الآثار الجانبية.

يمكن تلخيص هدف البحث بالنقاط التالية:

- إجراء دراسة سريرية استباقية معشاة randomized ، وحيدة الجرعة single dose ، ثنائية الفترة two periods ، بتصميم مقطعي متصلب Cross- over design على الأشخاص المتطوعين الأصحاء بعد إعطائهم جرعة وحيدة من الايوبروفين لمعرفة التداخل الدوائي بعد تناولها مع عصير الليمون الهندي ومقارنتها مع الماء.
- دراسة فعالية الدواء بالمشاركة مع عصير الليمون الهندي.
- دراسة الحرائك الدوائية للدواء لدى المتطوعين الاصحاء.

2.III. الطرائق Methods:

تمت الدراسة على مجموعة من المتطوعين الأصحاء الذكور تتراوح أعمارهم بين 18 و 40 سنة ، حيث تم اختيار المشتركين وقبولهم في الدراسة باستخدام المعايير الأتية على النحو التالي :

❖ معايير الاشتمال Inclusion Criteria:

- متطوعين أصحاء ، العمر بين 18 و 40 سنة . BMI يتراوح بين 18 و 30 كغ/م². قادرين على الصيام طوال الليل.
- غير مدخن ، لايتعاطى الكحول .

- أن يوافقوا على عدم أخذ أي من المواد المعروفة بتحفيز أو تنشيط أو تثبيط CYP على الأقل أسبوعين قبل الدراسة.

❖ معايير الاستبعاد Exclusion Criteria:

- النساء .
- قصة سابقة من سوء استخدام الكحول أو الدواء أكثر من 2 سنة.
- له تاريخ من الإصابة بالحساسية للدواء أو لأي مركب من NSAIDs.
- الأشخاص الذين يستعملون مواد معروفة أنها تثبط أو تنشط السيتوكروم p450 و/أو P-glycoprotein أو OATP لمدة 28 يوم قبل اعطاء الجرعة وخلال فترة الدراسة.
- المعالجة مؤخراً بأدوية تجريبية أو عشبية.
- تاريخ من النزف المعدي المعوي المتطلب تدخل جراحي طبي قبل 6 أسابيع.
- الإصابة بالربو، قصور القلب الاحتقاني، قرحات معدية معوية ، داء الامعاء الالتهابي ، أمراض كلوية أو كبدية.
- كان قد تلقى معالجة كاملة مضادة للتخثر.
- تلقى علاجاً بال Corticosteroides .

1.2.III. بروتوكول الدراسة Study design :

1.1.2.III . فحص القبول Entry Examination :

تم اجراء فحص القبول قبل البدء بالدراسة ب 14 يوم لكل المتطوعين الراغبين في المشاركة بالدراسة حيث تم فيه ما يلي:

- شرح مفصل من قبل الباحث عن الدراسة والأدوية التي تتضمنها.
- تسجيل تاريخ الفحص.
- الحصول على نموذج الموافقة الموضحة* Informed Consent Form موقعاً من قبل المشارك في الدراسة.
- بيانات عامة عن المتطوع : تاريخ الولادة – العرق – العمر - الطول - الوزن – BMI.
- معلومات أخرى تتضمن: حصول مرض خلال ال 4 أسابيع الأخيرة السابقة للدراسة، آخر مرة تم فيها المشاركة بأي تجربة سريرية، آخر مرة تم فيها التبرع بالدم، آخر مرة تم فيها أخذ دواء (ماعدا OTC أو الأدوية الموضعية).

- الإشارات الحيوية : درجة حرارة الجسم – قياس عدد ضربات القلب – ضغط الدم (الانقباضي – الانبساطي).
 - فحص فيزيائي للمتطوع Physical Examination.
 - فحص مخبري Laboratory Examination تشمل تحاليل دموية Blood Hematology والتأكد من وظائف الكبد SGPT ,SGOT والتأكد من عدم وجود التهاب الكبد B Hepatitis و C و HIV.
 - تحليل البول Urinanalysis : PH ، غلوكوز ، بروتين.
- بعد إجراء فحص القبول هذا والذي تم في مشفى ابن النفيس والحصول على النتائج، تم قبول 12 متطوع لإجراء الدراسة عليهم . حيث قمنا بتقسيمهم إلى مجموعتين بحيث يتم اختيارهم عشوائياً ضمن كل مجموعة.

2. 1.2.III. المرحلة الاولى من الدراسة Period I of the trial:

تم تركيب قثطرة وريدية في الساعد الأيمن لكل المتطوعين بمساعدة ممرض ومن ثم سحب 5 مل من الدم قبل البدء بإعطاء الدواء ويتم بعد ذلك قياس ضغط الدم لجميع المتطوعين.

يتم بعدها إعطاء الدواء على الشكل التالي:

- تُعطى المجموعة الاولى (المختارة عشوائياً) والمؤلفة من 6 متطوعين جرعة فموية وحيدة من الايبوبروفين 400 ملغ مع 240 مل من الماء بوضعية الجلوس.
- تُعطى المجموعة الثانية (المختارة عشوائياً) والمؤلفة من 6 متطوعين جرعة فموية وحيدة من الايبوبروفين 400 ملغ مع 240 مل من عصير الليمون الهندي الطازج بوضعية الجلوس .

يتم سحب عينات الدم بعد ذلك لكلا المجموعتين (5 مل في كل مرة) وفق الترتيب الزمني التالي: قبل اعطاء الدواء ، 0.25 ، 0.5 ، 0.45 ، 1 ، 1.25 ، 1.5 ، 2 ، 4 ، 6 ، 8 ، 10 ساعة . تم إعطاؤهم وجبة الافطار بعد 4 ساعات من تناول الدواء . تم تناول وجبة الغداء بعد أخر سحبة من الدم. يتم خروج المتطوعين من المشفى بعد 10 ساعات.

3. 1.2.III. فترة الغسيل Wash out : تستمر 7 أيام بعد اليوم الاول من بدء

الدراسة حيث يتم فيها التأكد من انطراح الدواء من الجسم وخلوه منه بشكل كامل.

4.1.2.III . المرحلة الثانية من الدراسة Period II of the trial :

وهي نفس المرحلة الأولى تماماً ولكن تم فيها اعطاء الدواء بشكل عكسي كما ذكر سابقاً.

- تُعطى المجموعة الأولى (المختارة عشوائياً) والمؤلفة من 6 متطوعين جرعة فموية وحيدة من الايبوبروفين 400 ملغ مع 240 مل من عصير الليمون الهندي الطازج بوضعية الجلوس .
- تُعطى المجموعة الثانية (المختارة عشوائياً) والمؤلفة من 6 متطوعين جرعة فموية وحيدة من الايبوبروفين 400 ملغ مع 240 مل من الماء بوضعية الجلوس.

5. 1.2.III . الفحص الاخير Final Examination :

تم إجراء الفحص الأخير بعد انتهاء المرحلة الثانية من الدراسة حيث تم فيه تسجيل ما يلي:

- تاريخ الفحص.
- فحص فيزيائي.
- الإشارات الحيوية.
- أي تأثيرات ضائرة Adverse Events حدثت خلال التجربة.

6. 1.2.III . الاعتيان Sampling :

تم سحب العينات الدموية على أنبوب جاف حاوي على الهيبارين ومن ثم تثقيبها لمدة 5 دقائق بسرعة 5000 دورة بالدقيقة للحصول على البلازما الطافية، ثم بعد ذلك تم وضع البلازما في أنابيب إبندروف 2.5 مل وحفظها في الدرجة - 20 C° حتى الفحص أي حوالي الشهر.

3. III . مقايسة الايبوبروفين Assay Method of Ibuprofen :

- تمت مقايسة عينات البلازما الحاوية على الايبوبروفين بجهاز HPLC-UV.
- تم تعديل الطريقة التحليلية المستخدمة لمعايرة الايبوبروفين من خلال تغيير قطبية الطور المتحرك وتغير طول الموجة والتأكد من مصداقيتها.
- تم الحصول على منحنيات تمثل متوسط تراكيز الايبوبروفين مقابل الزمن باستخدام برنامج Microsoft Excel لكلا طوري الدراسة .
- تم تحليل العينات في مخابر الرقابة والبحوث الدوائية في وزارة الصحة.

1. 3.III. شروط التفريق اللوني Chromatographic Conditions:

تمت المقايسة بجهاز التفريق اللوني عالي الأداء مع مكشاف الأشعة فوق البنفسجية
:HPLC

HPLC Hitachi (C3E15, Auto sampler L-2200, Pump L22130,
UV-VIS Detector L-2420, Germany).

- الطور الثابت Stationary phase : عمود من الستانلس ستيل BDS
Hypersil, C18، ذو أبعاد (250 * 4.6 mm).
- الطور المتحرك Mobile phase : مزيج من الاسيتونتريل 65%
Acetonitrel والماء 35% Water ، يضاف حمض الخل الثلجي Glacial
acetic acid للوصول الى درجة pH=4.35.
- معدل التدفق Flow Rate : 2 مل/ دقيقة .
- تمت المقايسة باستخدام مكشاف الأشعة فوق البنفسجية UV عند طول موجة 225
.nm
- تم تطبيق التحليل بدرجة حرارة الغرفة.
- بلغ الحجم المحقون : 30 ميكرو لتر.

2 . 3.III . المواد Reagent:

- الايبوبروفين 400 ملغ ، يونيفا رما بترخيص من شركة Abbot.
Ibuprofen B.P 400 mg tab
رقم الطبخة: 11 BR4T 100
تاريخ التصنيع: 2011 – 8 ، تاريخ الانتهاء : 2014 – 8.
- الميثانول Methanol والاسيتونتريل Acetonitrile من شركة Merck
(Darmstadt, Germany) KGaA.
- حمض الخل الثلجي Glacial acetic acid.
- الماء المعد للاستشراب السائل عالي الأداء HPLC Water من شركة
(NV, Belgium) Chem-lab.
- الماء منزوع الشوارد Deionized water بواسطة جهاز تقطير water
.purification system
- بلازما بشرية Human Plasma من متبرعين.

3.3.III . تحضير السلسلة العيارية :

تم تحضير 100 مل محلول أم من الايبوبروفين في الميثانول بتركيز 2 ملغ / مل . نأخذ 1 مل من هذا المحلول ونمددها الى 20 مل من البلازما فنحصل على المحلول ذي التركيز 100 مكغ/مل من الايبوبروفين (محلول A). ثم نأخذ من هذا المحلول التمديدات التالية :

- نأخذ 0.05 مل من المحلول A وتكمل إلى 10 مل بلازما فنحصل على محلول بتركيز 0.5 مكغ /مل.....STD1.
- نأخذ 0.10 مل من المحلول A وتكمل إلى 10 مل بلازما فنحصل على محلول بتركيز 1 مكغ/مل.....STD2.
- نأخذ 0.20 مل من المحلول A وتكمل إلى 10 مل بلازما فنحصل على محلول بتركيز 2 مكغ/مل.....STD3.
- نأخذ 0.5 مل من المحلول A مل وتكمل إلى 10 مل بلازما فنحصل على محلول بتركيز 5 مكغ/ مل.....STD4.
- نأخذ 1 مل من المحلول A مل وتكمل إلى 10 مل بلازما فنحصل على محلول بتركيز 10 مكغ/مل.....STD 5.
- نأخذ 2 مل من المحلول A مل وتكمل إلى 10 مل بلازما فنحصل على محلول بتركيز 20 مكغ/مل.....STD 6.
- نأخذ 3 مل من المحلول A مل وتكمل إلى 10 مل بلازما فنحصل على محلول بتركيز 30 مكغ/مل.....STD7.

4.3.III. تحضير الشاهد الداخلي Internal Standard:

تم تحضير 10 مل محلول أم بتركيز 1 ملغ/مل في الميثانول وذلك بأخذ 10 مكغ/مل من الشاهد الداخلي (Valerophenone) وحلها في 10 مل ميثانول ومنه نحصل على المحلول الأم بتركيز 1 ملغ / مل . نأخذ 0.3 مل من المحلول السابق وتمدد الى 100 مل في الميثانول فنحصل على محلول عمل بتركيز 3 مكغ /مل من الشاهد الداخلي.

5. 3.III. تحضير عينات Quality Control (Q.C) في البلازما:

من المحلول A ذي التركيز 100 مكغ/مل من الايبوبروفين نحصل على التمديدات التالية:

- نأخذ 0.3 مل وتكمل الى 20 مل بلازما فنحصل على محلول بتركيز 1.5 مكغ/مل (Q.C Low).
- نأخذ 3 مل وتكمل الى 20 مل بلازما فنحصل على محلول بتركيز 15 مكغ/مل (Q.C Mid).
- نأخذ 5 مل وتكمل الى 20 مل بلازما فنحصل على محلول بتركيز 25 مكغ/مل (Q.C High).

تحفظ عينات Q.C في الدرجة - 20 °C حتى التحليل في أنابيب ابندروف محكمة الاغلاق.

III. 6. 3 . تحضير العينات Sample preparation :

تم تحضير العينات باستخدام طريقة ترسيب البروتينات. حيث يتم أخذ 0.2 مل من البلازما وتضاف الى 0.35 مل من محلول العمل الحاوي على الشاهد الداخلي بتركيز 3 مكغ/مل في الميثانول وتوضع في أنابيب ابندروف محكمة الاغلاق . يتم خض المزيج لمدة 30 ثانية ثم يثقل لمدة 15 د بسرعة 14000 دورة في الدقيقة .

نأخذ 200 ميكرو لتر من الطبقة الطافية وتوضع في الفياالات الخاصة للحقن بجهاز HPLC.

III. 4 . تحليل البيانات Data Analysis :

- تم تحديد متثابرات الحرائك الدوائية Pharmacokinetic parameters باستخدام طريقة standard non-compartmental estimation وباستخدام برنامج Winnonlin V 5.2 وهي تتضمن المتثابرات التالية:

AUC: Area under the curve.

Cmax: Maximum concentration of drug in plasma.

Tmax: Time to achieve Cmax.

Kel: Elimination rate constant.

t 0.5: Half life.

تم أخذ قيم التراكيز البلازمية Cmax والزمن اللازم للوصول ل Cmax (Tmax) مباشرة من البيانات الملاحظة .

تم تحديد المساحة تحت المنحني باستخدام طريقة أشباه المنحرفات الخطية linear trapezoidal من الزمن 0 الى آخر تركيز ملاحظ t باستخدام العلاقة التالية:

$$AUC_{0-\infty} = \left\{ \sum \frac{Cp_1 + Cp_2}{2} \cdot (t_2 - t_1) \right\} + \frac{Cp_{last}}{kel}$$

تم تحديد Ke من خلال: least-square fitted terminal log-linear portion of the serum concentration-time profile.

اما نصف العمر $t_{1/2}$ فقد تم حسابها من العلاقة التالية :

$$t_{1/2} = 0.693/K$$

- تمت الدراسة الإحصائية بتطبيق توزيع ستودنت (students t -test) باستخدام برنامج Excel.
 - جرى التعبير عن القيم بالمتوسط الحسابي \pm الانحراف المعياري (mean \pm SD)
 - اعتبر أنه يوجد دلالة إحصائية اذا كانت $p < 0.05$.
 - المقاربات الإحصائية تم التعبير عنها باستخدام تحليل ANOVA.
 - تم حساب CI%90 لنسب متوسط العلاج المرجعي/ متوسط العلاج المختبر بالاعتماد على (log-transformed data).
- حيث يتم قبول أن التداخل الدوائي موجود اذا كانت قيم فاصل الموثوقية (90% CI) للنسب بين كل المتثابتات تقع خارج مجال 80-125%.
- هذه هي توصيات منظمة الغذاء والدواء الامريكية FDA من أجل اختبار التداخل والذي يعتمد على مبادئ التكافؤ الحيوي (92).

III. 5. مصادقة الموثوقية لطريقة قياس الايبوبروفين في البلازما validation of ibuprofen in plasma

III. 5. 1. المضبوطية والدقة Accuracy and precision

تعرف المضبوطية Accuracy بأنها دراسة لقابلية الطريقة على إعطاء قيم مطابقة للقيمة الحقيقية، أما الدقة Precision فهي دراسة لمدى تطابق نتائج قياس عدة عينات مقطوعة من عينة متجانسة عند تكرار الطريقة التحليلية المدروسة عليها بنفس الشروط (51،50،43).

تم تحضير ثلاث تراكيز من Quality Control (QC low, Med ,High) في البلازما على فترة ثلاثة أيام لتطبيق فحص المضبوطية والدقة لليوم الواحد intra- day وبين الأيام inter-day، تم عمل تحضيرية واحدة لكل تركيز في اليوم الأول والثاني

والثالث. تم حساب الدقة والمضبوطة لنفس اليوم intra- day وبين الأيام inter-day عن طريق حساب الانحراف المعياري SD ومعامل الاختلاف %C.V، وذلك وفقاً للمعادلات التالية:

$$\text{Accuracy \%} = \text{measured value} / \text{Theoretical value} * 100$$

$$\text{Precision} = \text{C.V\%} = \text{SD} / \text{Mean} * 100$$

تم تكرار حقن كل تحضيرة 10 مرات لكل تركيز في اليوم الأول والثاني والثالث ومن ثم حساب SD و %C.V.

III. 5. 2. الاستردادية Recovery:

تعرف الاستردادية على أنها استجابة الطريقة التحليلية على كشف كمية من المادة تضاف الى السوائل الحيوية وتستخلص ومقارنتها مع الاستجابة التي نحصل عليها من التركيز الحقيقي للمادة النقية (43، 50، 51).

تم تحضير نموذج من عينات Q.C في الميثانول بنفس التراكيز المحضرة في البلازما وقراءة كل تركيز مرتين ومن ثم حساب الاستردادية Recovery ، حيث يتم حساب مردود الترسيب وذلك بمقارنة نتائج حقن 3 تراكيز مختلفة من Q.C بجهاز الHPLC مباشرة مع نتائج حقن نفس التراكيز السابقة لكن بعد ترسيبها وذلك بتطبيق نفس الشروط الكروماتوغرافية السابقة وذلك وفقاً للمعادلة التالية:

$$\text{Recovery} = \text{D/A} * 100$$

حيث D: الاستجابة العملية للعينة practical response وهي ممثلة بالمساحة تحت المنحني AUC

A: الاستجابة النظرية Theoretical response.

III. 5. 3. الخطية Linearity:

وهي قابلية الطريقة التحليلية لإعطاء نتائج متناسبة طردياً مع تركيز المادة المفحوصة في العينة ضمن المجال المعطى (43، 50، 51). تم تحديد الخطية عبر تحضير 6 سلاسل عيارية تتألف كل سلسلة من 7 تراكيز متدرجة 0.5، 1، 2، 5، 10، 20، 30 مكغ/مل، يجب أن تكون الاستجابة التحليلية متناسبة طردياً مع التركيز. تم تحديد 6 منحنيات عيارية calibration curves ومن ثم تم استخراج معادلة الخط المستقيم

وتحديد كل من معامل الارتباط correlation factor ، الميل slope ، تقاطع الخط المستقيم مع محور العينات intercept.

III. 5. 4. حد الكشف والكم Limit of detection and quantitation:

يُعرّف حد الكشف على أنه الكمية الأقل التي يمكن كشفها من المادة المراد تحليلها ولكن ليس بالضرورة تحديدها كميًا ضمن الشروط التجريبية.

يُعرّف حد الكم على أنه الكمية الأقل من المادة المراد تحليلها في العينة والتي يمكن قياسها بدقة ومضبوطة مقبولتين ضمن الشروط التجريبية (51:50:43).

III. 5. 5. الاصطفائية والنوعية selectivity:

وهي قابلية الطريقة التحليلية لقياس وتمييز المواد المقاسة في حال وجود مركبات أخرى يتوقع وجودها وهذه تتضمن المستقلبات ، الشوائب، نواتج التخرب.

قمنا بحقن 6 عينات مختلفة من البلازما الشاهدة Blank plasma من 6 مصادر مختلفة لتقييم إذا كان هناك أي شوائب في البلازما تظهر عند وقت خروج الايبوبروفين ، كما قمنا بحقن أدوية متداولة عند الأشخاص (Common Drug) ويجب أن لا تظهر أي قمة لهذه الأدوية في نفس وقت خروج الايبوبروفين والعياري الداخلي .

III. 5. 6. الثباتية Stability:

تم قياس ثباتية الايبوبروفين بشروط تخزين -28 C° لمدة شهر Long- Term Stability وأيضا بعد مرور 3 دورات تجميد Freez –Thaw Stability ، وذلك بمقارنة التراكيز الثلاثة ل Q.C المحضرة في لحظة الصفر مع تراكيز خضعت لثلاث دورات تجميد وإذابة ، حيث يتم حساب ال Accuracy لكل من عينات الايبوبروفين المخزنة في الدرجة -28 C° لمدة شهر وعينات الايبوبروفين الذي خضع ل 3 دورات تجميد .

III. 5. 7. ملائمة النظام system suitability:

تم حقن المحلول العياري بتركيز 0.5 مكغ /مل عشر مرات وحساب الاستجابة response (المساحة تحت المنحني area) وحساب المتوسط والانحراف المعياري . Standard deviation

6.III. النتائج والمناقشة Results and Discussion :

1.6.III. نتائج مصادقة الموثوقية لطريقة قياس الايبوبروفين في البلازما

:validation of Ibuprofen in plasma

1.1.6.III.المضبوطية والدقة Accuracy and Precision

يتم تقييم الدقة والمضبوطية بالاعتماد على معايير وضعتها USFDA والتي تنص على ان precision (C.V%) لكل تركيز يجب أن لا يزيد عن 15% باستثناء حد الكشف (LLOD) يجب أن لا يزيد عن 20%.

وكذلك بالنسبة ل Accuracy يجب أن يكون ضمن مجال 85-115% لكل تركيز باستثناء اقل تركيز (LLOQ) يجب أن يكون ضمن مجال 80-120%.

فيما يلي الجداول (3،4،5،6) التي تذكر قيم المتوسط والانحراف المعياري واللذان يعبران عن المضبوطية والدقة بالترتيب:

الجدول (3) قيم المتوسط الحسابي والانحراف المعياري SD ومعامل التغير CV% لكل من تراكيز QC الثلاثة لليوم الأول (n=10):

Theo. Conc.	AUC Drug	AUC IS	Ratios	Measured Conc.	Precision %	Accuracy %
1.5 (µg/ml) Low	0.3515	4.3472	0.0809	1.543	3.36	102.9
	0.3461	4.3024	0.0804	1.535		102.3
	0.3423	4.5963	0.0745	1.425		95.0
	0.3528	4.4232	0.0798	1.523		101.5
	0.3425	4.3738	0.0783	1.495		99.7
	0.3542	4.3425	0.0816	1.556		103.7
	0.3644	4.3393	0.0840	1.601		106.7
	0.3509	4.3983	0.0798	1.523		101.5
	0.3558	4.6968	0.0758	1.449		96.6
	0.3513	4.4623	0.0787	1.504		100.3
Mean	0.351	4.428	0.079	1.515		101.0
SD	0.007	0.126	0.003	0.051		3.397
CV%	1.873	2.847	3.472	3.362		3.362
Min.	0.342	4.302	0.074	1.425		95.0
Max.	0.364	4.697	0.084	1.601		106.7
15	4.7992	4.8557	0.9884	15.332	2.18	101.8
	4.8028	4.6755	1.0272	16.051		105.8
	4.8132	4.6527	1.0345	16.185		106.6
	4.8268	4.8778	0.9896	15.354		102.0

(µg/ml) Medium	4.7922	4.8730	0.9834	15.241	0.72	101.3
	4.8447	4.8550	0.9979	15.508		102.8
	4.8553	4.8031	1.0109	15.748		104.2
	5.0942	4.9623	1.0266	15.039		105.8
	5.1534	4.9278	1.0458	16.394		107.7
	4.8449	4.7132	1.0279	16.064		105.9
Mean	4.883	4.820	1.013	15.792		104.4
SD	0.130	0.106	0.022	0.409		2.275
CV%	2.654	2.199	2.185	2.179		2.179
Min.	4.792	4.653	0.983	15.241		101.3
Max.	5.153	4.962	1.046	16.394		107.7
25 (µg/ml) High	5.9910	4.3781	1.3684	25.363	0.72	101.5
	5.9655	4.4121	1.3521	25.061		100.2
	6.0710	4.4739	1.3570	25.152		100.6
	5.9284	4.3920	1.3498	25.019		100.1
	6.1007	4.4882	1.3593	25.194		100.8
	5.9557	4.4168	1.3484	24.993		100.0
	5.9957	4.4866	1.3364	24.770		99.1
	5.9048	4.3960	1.3432	24.897		99.6
	6.0490	4.4773	1.3510	25.041		100.2
	5.9102	4.4178	1.3378	24.797		99.2
Mean	5.987	4.434	1.350	25.029	100.1	
SD	0.068	0.043	0.010	0.181	0.724	
CV%	1.134	0.967	0.724	0.723	0.723	
Min.	5.905	4.378	1.336	24.770	99.1	
Max.	6.101	4.488	1.368	25.363	101.5	

الجدول (4) قيم المتوسط الحسابي والانحراف المعياري SD ومعامل التغير CV% لكل من تراكيز QC الثلاثة لليوم الثاني (n=10):

Theo. Conc.	AUC Drug	AUC IS	Ratios	Measured Conc.	Precision %	Accuracy %
1.5 (µg/ml) Low	0.3188	4.7605	0.0670	1.305	8.17	87.0
	0.4186	4.9303	0.0849	1.642		109.5
	0.3413	4.7942	0.0712	1.384		92.3
	0.3347	4.7748	0.0701	1.364		90.9
	0.3520	4.6292	0.0760	1.475		98.3
	0.3602	4.5777	0.0787	1.525		101.7
	0.3446	4.9587	0.0695	1.352		90.1
	0.3461	5.0560	0.0685	1.333		88.9
	0.3355	4.9833	0.0673	1.311		87.4

	0.3224	4.8737	0.0662	1.289		85.9
Mean	0.347	4.834	0.072	1.398		93.2
SD	0.028	0.155	0.006	0.114		7.614
CV%	8.056	3.206	8.446	8.169		8.169
Min.	0.319	4.578	0.066	1.289		85.9
Max.	0.419	5.056	0.085	1.642		109.5
15 (µg/ml) Medium	4.7365	4.9944	0.9484	14.876	1.54	99.3
	4.7417	5.0530	0.9384	14.689		98.3
	4.9243	5.0903	0.9674	15.234		101.3
	4.7840	5.0426	0.9487	14.883		99.4
	4.8541	4.9248	0.9857	15.577		103.2
	4.8227	5.0185	0.9610	15.113		100.6
	4.7910	5.0391	0.9508	14.921		99.6
	4.9268	5.0863	0.9686	15.257		101.4
	4.8108	5.0913	0.9449	14.811		99.0
	4.8108	5.0913	0.9449	14.758		98.7
Mean	4.820	5.043	0.956	14.012		100.1
SD	0.066	0.054	0.014	0.277		1.540
CV%	1.363	1.062	1.515	1.539		1.539
Min.	4.736	4.925	0.938	14.689		98.3
Max.	4.927	5.091	0.986	15.577		103.2
25 (µg/ml) High	5.9878	4.3853	1.3654	25.717	1.00	102.9
	6.0003	4.4197	1.3576	25.571		102.3
	6.0823	4.5057	1.3499	25.425		101.7
	5.9081	4.3113	1.3704	25.810		103.2
	6.1178	4.5149	1.3550	25.522		102.1
	6.2505	4.5761	1.3659	25.726		102.9
	6.1251	4.4474	1.3772	25.939		103.8
	5.9028	4.2466	1.3900	26.179		104.7
	5.9656	4.3925	1.3581	25.580		102.3
	5.9185	4.4059	1.3433	25.301		101.2
Mean	6.026	4.421	1.363	25.677		102.7
SD	0.115	0.097	0.014	0.256		1.026
CV%	1.902	2.205	1.001	0.999		0.999
Min.	5.903	4.247	1.343	25.301		101.2
Max.	6.251	4.576	1.390	26.179		104.7

الجدول (5) قيم المتوسط الحسابي والانحراف المعياري SD ومعامل التغير CV% لكل من تراكيز QC الثلاثة لليوم الثالث (n=10) :

Theo. Conc.	AUC Drug	AUC IS	Ratios	Measured Conc.	Precision %	Accuracy %
1.5 (µg/ml) Low	0.3325	4.3606	0.0763	1.509	3.57	100.6
	0.3273	4.3415	0.0754	1.493		99.5
	0.3388	4.1485	0.0817	1.607		107.1
	0.3264	4.2799	0.0763	1.509		100.6
	0.3261	4.2315	0.0771	1.524		101.6
	0.3313	4.3611	0.0760	1.504		100.3
	0.3489	4.2335	0.0824	1.621		108.1
	0.3413	4.2112	0.0810	1.596		106.4
	0.3415	4.1614	0.0821	1.615		107.7
	0.3213	4.2699	0.0753	1.491		99.4
Mean	0.334	4.260	0.078	1.547		103.1
SD	0.009	0.077	0.003	0.055		3.680
CV%	2.616	1.810	3.872	3.568		3.568
Min.	0.321	4.148	0.075	1.491		99.4
Max.	0.349	4.361	0.082	1.621		108.1
15 (µg/ml) Medium	4.6496	4.5866	1.0137	15.544	1.85	103.0
	4.7258	4.8164	0.9812	14.952		99.7
	4.7460	4.7649	0.9960	15.222		101.2
	4.8207	4.7450	1.0159	15.584		103.2
	4.7506	4.6518	1.0212	15.680		103.8
	4.7709	4.8650	0.9807	14.943		99.7
	4.7370	4.7480	0.9977	15.252		101.4
	4.7800	4.8077	0.9942	15.189		101.1
	4.8617	4.6945	1.0356	15.942		105.2
	2.5076	2.4488	1.0240	15.730		104.1
Mean	4.535	4.513	1.006	15.404		102.2
SD	0.715	0.730	0.019	0.340		1.891
CV%	15.757	16.172	1.862	1.850		1.850
Min.	2.508	2.449	0.981	14.943		99.7
Max.	4.862	4.865	1.036	15.942		105.2
25 (µg/ml) High	5.6083	3.8880	1.4425	26.334	1.34	105.3
	5.7905	4.0362	1.4346	26.192		104.8
	5.9085	4.1118	1.4370	26.234		104.9
	5.8593	4.2281	1.3858	25.304		101.2
	5.9330	4.2394	1.3995	25.553		102.2
	6.0530	4.2891	1.4113	25.767		103.1
	5.7413	4.0848	1.4056	25.663		102.7

	5.9083	4.1385	1.4277	26.065		104.3
	6.4154	4.4665	1.4363	26.223		104.9
	6.0061	4.1994	1.4302	26.112		104.4
Mean	5.922	4.168	1.421	25.945		103.8
SD	0.216	0.156	0.019	0.348		1.393
CV%	3.649	3.752	1.348	1.342		1.3 42
Min.	5.608	3.888	1.386	25.304		101.2
Max.	6.415	4.466	1.442	26.334		105.3

جدول رقم (6): قيم الدقة والمضبوطة لليوم الواحد وبين الايام من أجل (n=30):

Theor. Conc.	1.500	15.000	25.000
Mean meas. Conc.	1.487	15.402	25.550
SD	0.073	0.342	0.262
Precision	5.033	1.856	1.021
Accuracy	99.118	102.236	102.201
Sample	30	30	30

حيث نجد مما سبق أن قيم Accuracy و Precision ضمن الحدود المقبولة بالاعتماد على USFDA⁽⁹²⁾.

2.1.6.III. الاستردادية Recovery:

فيما يلي الجداول رقم (7،8،9) التي تعبر عن قيمة الاستجابة العملية (AUC) لكل من الايبوبروفين والشاهد الداخلي عند تحضيره في الميتانول ومقارنتها مع نفس التراكيز محضرة في البلازما من أجل (n=6).

جدول رقم 7: قيم الاستردادية لكل من الايبوبروفين في البلازما والميتانول.

Concentration	Mean Plasma	Mean Methanol	Absolute Rcovery
1.50 µg/ml	0.359	0.335	107.102
Low			
15.00 µg/ml	4.426	4.507	98.193
Medium			
25.00 µg/ml	6.261	5.852	106.994
High			

III.3.1.6. Linearly الخطية:Linearity

يوضح الجدولان (8،9) : قيم ال Ratio مع التراكيز الموافقة ، مع ذكر قيم الميل slope ، تقاطع الخط المستقيم intercept، ومعامل الارتباط r^2 للخط المستقيم من أجل (n=6)

جدول رقم (8) : قيم ال Ratio مع التراكيز الموافقة من أجل 6 سلاسل عيارية.

Ratio for Standard Point							
Cal. Curve	0.50	1.00	2.00	5.00	10.00	20.00	30.00
1	0.023	0.050	0.154	0.247	0.557	1.083	1.602
2	0.024	0.048	0.148	0.249	0.543	1.078	1.573
3	0.030	0.058	0.165	0.253	0.533	1.095	1.653
4	0.027	0.054	0.160		0.626	1.200	1.807
5	0.037	0.064	0.200	0.321	0.623	1.115	1.850
6	0.030	0.063	0.182	0.258	0.535	1.125	1.717
Mean	0.029	0.056	0.168	0.266	0.569	1.116	1.700
SD	0.005	0.007	0.020	0.031	0.043	0.045	0.111
C.V%	17.066	11.994	11.694	11.806	7.620	4.023	6.549
Max	0.023	0.048	0.148	0.247	0.533	1.078	1.573
Min	0.037	0.064	0.200	0.321	0.626	1.200	1.850

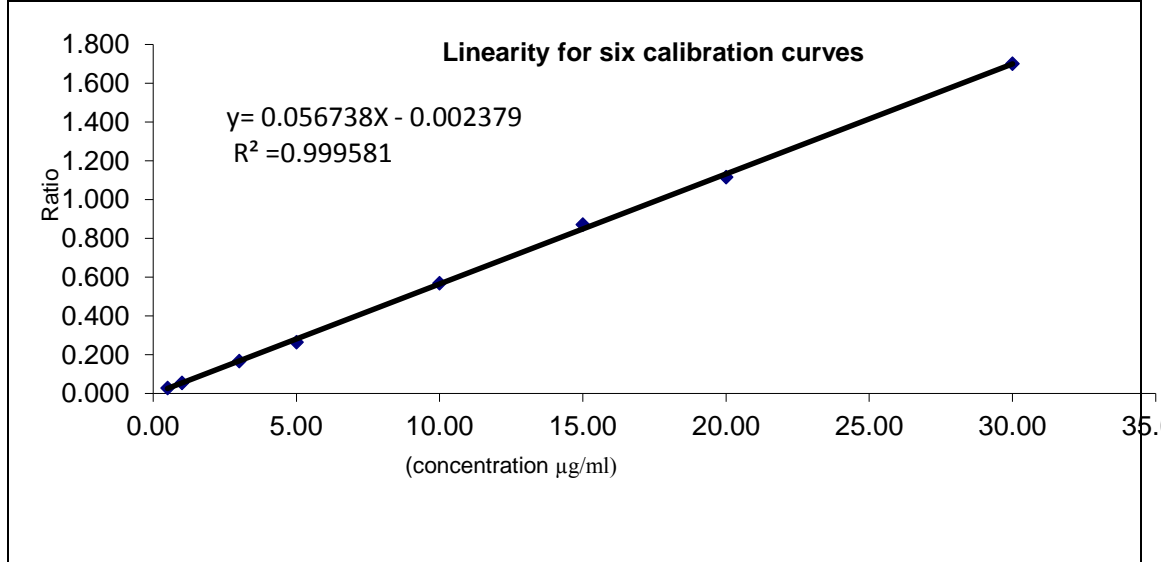
جدول رقم (9) : قيم الميل وتقاطع الخط المستقيم ومعامل الارتباط R^2 من أجل (n=6).

Calibration Curve #	R ²	Slope	Intercept
1	0.999271	0.054053	-0.002535
2	0.999344	0.053188	-0.002423
3	0.999680	0.055034	-0.006802
4	0.999531	0.060590	-0.003369
5	0.996020	0.059802	0.009202
6	0.996469	0.057515	-0.001518
Mean	0.998386	0.056697	-0.001241
SD	0.001671	0.003083	0.005434
CV%	0.167370	5.438165	-437.995322
Min	0.996020	0.053188	-0.006802
Max	0.999680	0.060590	0.009202

أظهر المنحني العياري خطية جيدة ضمن مجال التراكيز من 0.50 الى 30 µg/ml للايبوبروفين كما في الشكل رقم (9)، وقد سمحت النتائج المسجلة في الجدولين السابقين

والتي تعطي العلاقة ما بين التراكيز النظرية وال Ratio من حساب المعادلة الرياضية التالية :

$$Y = 0.056738X - 0.002379$$



شكل رقم (9): الخطية من أجل $n = 6$.

حد الكشف :Limit of detection and quantification

4.1.6.III. والكم

وجد أن التركيز الأدنى الذي تم قياسه LLOQ هو $0.5 \mu\text{g/ml}$. فيما يلي الجدول رقم (10): يوضح الاستجابة لدى حقن حد الكم ($0.5 \mu\text{g/ml}$) 10 مرات متتالية مع ذكر الانحراف المعياري:

جدول رقم (10): الاستجابة لدى حقن حد الكم 10 مرات متتالية مع الانحراف المعياري.

Sample No.	AUC Drug	AUC IS	Ratios	Measured Conc.	Precision %	Accuracy %
1	0.1318	4.7809	0.0276	0.557	3.590	111.4
2	0.1204	4.7782	0.0252	0.513		102.6
3	0.1258	4.8039	0.0262	0.531		106.2
4	0.1143	4.7748	0.0239	0.490		98.0
5	0.1196	4.9016	0.0244	0.498		99.6
6	0.1304	4.9738	0.0262	0.532		106.4
7	0.1190	4.7086	0.0253	0.514		102.8
8	0.1234	4.7738	0.0258	0.525		105.0
9	0.1241	4.8700	0.0255	0.518		103.6

10	0.1256	4.8893	0.0257	0.522	104.4
Mean	0.123	4.825	0.026	0.520	104.00
SD	0.005	0.080	0.001	0.019	3.73
CV%	4.334	1.656	3.952	3.590	3.59
Min.	0.114	4.709	0.024	0.490	98.00
Max.	0.132	4.974	0.028	0.557	111.40

III. 6.1.5. الإصطفائية والنوعية selectivity :

فيما يلي الجدول رقم (11) الذي يظهر حقن أدوية مختلفة متداولة لدى الأشخاص حيث نلاحظ إما عدم وجود قمة (NP) أو ظهور هذه القمة بغير وقت خروج قمة الأيبوبروفين:

جدول رقم (11): زمن الاحتباس لدى حقن أدوية مختلفة متداولة.

No.	Drug Name	RT (min)
1	salicylic acid	7
2	Paracetamol	NP
3	Ibuprofen	
4	Mefenamic acid	NP
5	Caffeine	NP
6	Nicotinamide	NP

III. 6.1.6. الثباتية Stability:

تبين الجداول (12،13،14) الثباتية طويلة الأمد Long-Term Stability لدى حفظ تراكيز الـ Q.C (1.5،15،25 µg/ml) بشروط تخزين 28°C - لمدة شهر: جدول رقم (12): الثباتية طويلة الأمد من أجل 1.5 مكغ/مل بشروط تخزين 28°C - لمدة شهر.

Time	AUC Drug	AUC IS	Ratios	Mean Ratios	Measured Conc.	Accuracy
0.0 Time	0.3613	4.3294	0.0835	0.080	1.615	107.7
	0.3321	4.3905	0.0756		1.468	97.9
Week I	0.3831	3.3597	0.1140	0.118	1.437	95.8
	0.4083	3.3517	0.1218		1.543	102.9
Week II	0.4083	4.5377	0.0900	0.089	1.541	102.7
	0.3862	4.3606	0.0886		1.517	101.1
Month I	0.3832	4.3652	0.0878	0.086	1.553	103.5
	0.3995	4.7782	0.0836		1.480	98.7

جدول رقم(13): الثباتية طويلة الأمد من أجل 15مكغ/مل بشروط تخزين 28 °C - لمدة شهر.

Time	AUC Drug	AUC IS	Ratio	Mean Ratios	Measured Conc	Accuracy
0.00 Time	4.5844	5.0073	0.9156	0.916	14.259	95.9
	4.5351	4.9477	0.9166		14.279	96.0
Week I	4.6416	3.3323	1.3929	1.385	15.949	105.3
	4.6330	3.3630	1.3776		15.740	104.1
Week II	5.0591	4.5234	1.1184	1.113	15.515	102.9
	4.5630	4.3903	1.1077		15.337	101.9
Month I	4.6861	4.2266	1.1088	1.112	16.305	107.3
	5.6981	5.1102	1.1151		16.414	107.9

جدول رقم (14): الثباتية طويلة الأمد من أجل 25 مكغ/مل بشروط تخزين 28 °C - لمدة شهر

Time	AUC Drug	AUC IS	Ratios	Mean Ratios	Measured Conc.	Accuracy
0.0 Time	7.2836	5.1538	1.4133	1.443	26.616	106.5
	8.0218	5.4451	1.4732		27.744	111.0
Week I	6.4822	3.9219	1.6528	1.649	22.508	90.0
	6.7044	4.0764	1.6447		22.397	89.6
Week II	7.2292	4.8144	1.5016	1.506	24.838	99.4
	6.9453	4.5963	1.5111		24.995	100.0
Month I	6.5587	4.1042	1.5980	1.622	27.811	111.2
	7.6105	4.6228	1.6463		28.650	114.6

كما تبين الجداول (15،16، 17) الثباتية عبر دورات التجميد Freez- Thaw Stability لدى اخضاع تراكيز الQ.C (1.5،15،25 µg /ml) لثلاث دورات تجميد وإذابة :
جدول رقم (15) : الثباتية عبر ثلاث دورات تجميد وإذابة من أجل التركيز 1.5 مكغ/مل.

Time	AUC Drug	AUC IS	Ratios	Mean Ratios	Measured Conc.	Accuracy
0.00 Hour	0.3697	4.3294	0.0854	0.081	1.627	108.5
	0.3343	4.3501	0.0769		1.469	97.9
24.00 Hour	0.3711	4.6989	0.0790	0.075	1.530	102.0

	0.3330	4.7411	0.0702		1.366	91.1
48.00 Hour	0.3326	4.0001	0.0831	0.081	1.634	108.9
	0.3412	4.3333	0.0787		1.554	103.6
72.00 Hour	0.3758	4.3060	0.0873	0.089	1.496	99.7
	0.3819	4.1676	0.0916		1.568	104.5

جدول رقم (16) : الثباتية عبر ثلاث دورات تجميد واذابة من أجل 15 مكغ/مل.

Time	AUC Drug	AUC IS	Ratios	Mean Ratios	Measured Conc.	Accuracy %
0.00 Hour	4.5844	4.6891	0.9777	0.976	15.134	100.7
	4.5351	4.6532	0.9746		15.078	100.4
24.00 Hour	4.7997	5.1932	0.9242	0.921	14.422	96.8
	4.7714	5.1998	0.9176		14.298	96.1
48.00 Hour	4.7864	4.7687	1.0037	1.002	15.362	102.0
	4.7545	4.7527	1.0004		15.301	101.7
72.00 Hour	4.8884	4.3326	1.1283	1.115	15.678	103.8
	4.6395	4.2128	1.1013		15.232	101.3

جدول (17): الثباتية عبر ثلاث دورات تجميد واذابة من أجل 25مكغ/مل.

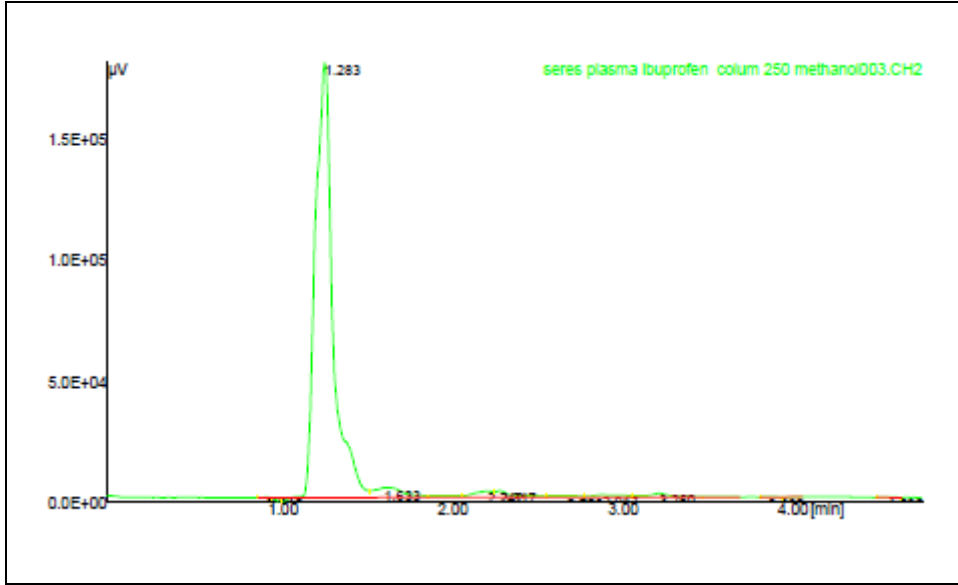
Time	AUC Drug	AUC IS	Ratios	Mean Ratios	Measured Conc.	Accuracy
0.00 Hour	5.9600	4.3905	1.3575	1.354	25.160	100.6
	5.9253	4.3901	1.3497		25.017	100.1
24.00 Hour	6.0139	4.4390	1.3548	1.359	25.517	102.1
	5.9823	4.3897	1.3628		25.668	102.7
48.00 Hour	6.1708	4.4580	1.3842	1.394	25.276	101.1
	6.2855	4.4776	1.4038		25.631	102.5
72.00 Hour	6.9868	4.6234	1.5112	1.529	24.997	100.0
	6.6150	4.2791	1.5459		25.570	102.3

III. 6.1.7. ملائمة النظام **System suitability** :

بلغ زمن الاحتباس للايبوبروفين retention time : 0.020 ± 3.225 دقيقة.

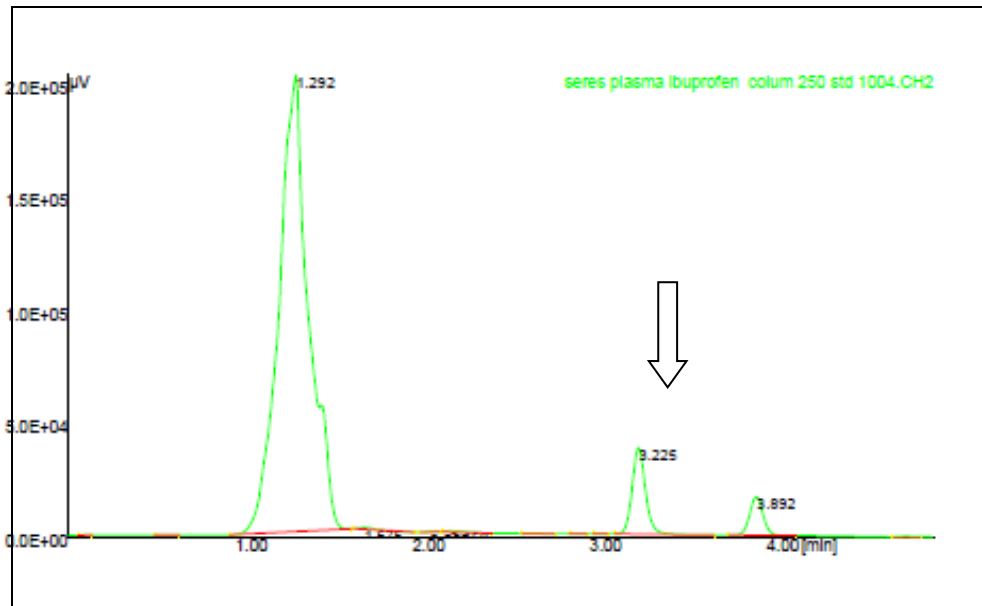
بلغ زمن الاحتباس للشاهد الداخلي retention time : 0.15 ± 3.892 دقيقة .

حيث يوضح الشكل رقم (10) المخطط الاستشرابي chromatogram للبلازما الشاهدة.



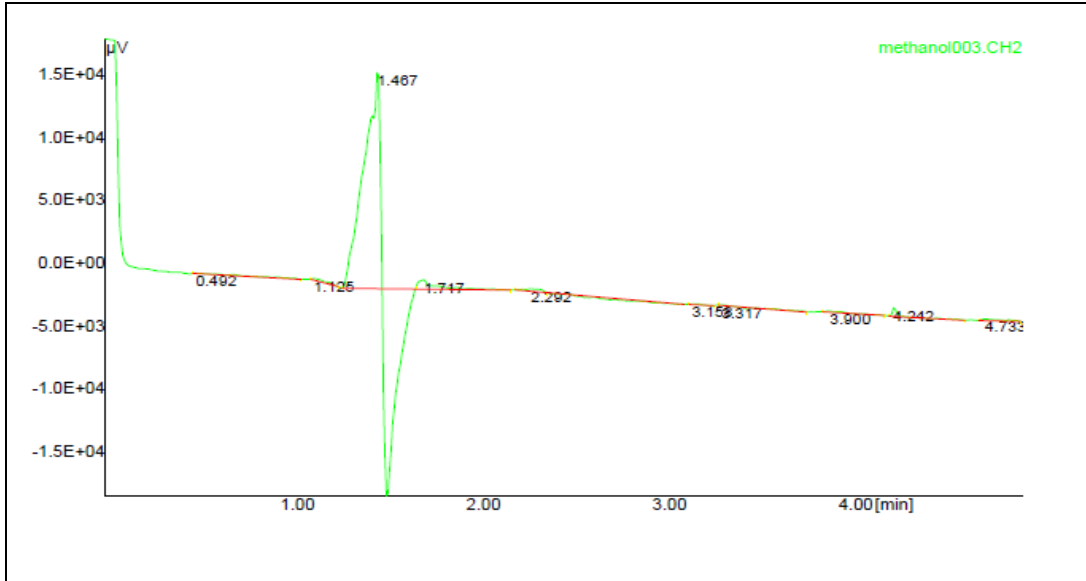
شكل رقم 10: المخطط الاستشرابي للبلازما الشاهدة

كما يوضح الشكل رقم (11) المخطط الاستشرابي chromatogram للبلازما المضاف لها Ibuprofen بتركيز 0.5 مكغ/مل والعياري الداخلي بتركيز 3 مكغ / مل.



شكل رقم (11) المخطط الاستشرابي للبلازما المضاف لها 0.5 مكغ/مل من الايبوبروفين مع العياري الداخلي بتركيز 3 مكغ /مل.

كما يوضح الشكل التالي المخطط الاستشرابي للميتانول المستخدم في ترسيب البروتينات حيث يظهر الشكل عدم وجود أي قمة وقت خروج الايبوبروفين والعياري الداخلي.



شكل رقم (12): المخطط الاستشرابي للميتانول

كما تم حساب المتوسط والانحراف المعياري SD بعد حقن المحلول العياري للايبوبروفين عشر مرات متتالية حيث نجد النتائج في الجدول رقم 10 المدرج سابقاً.

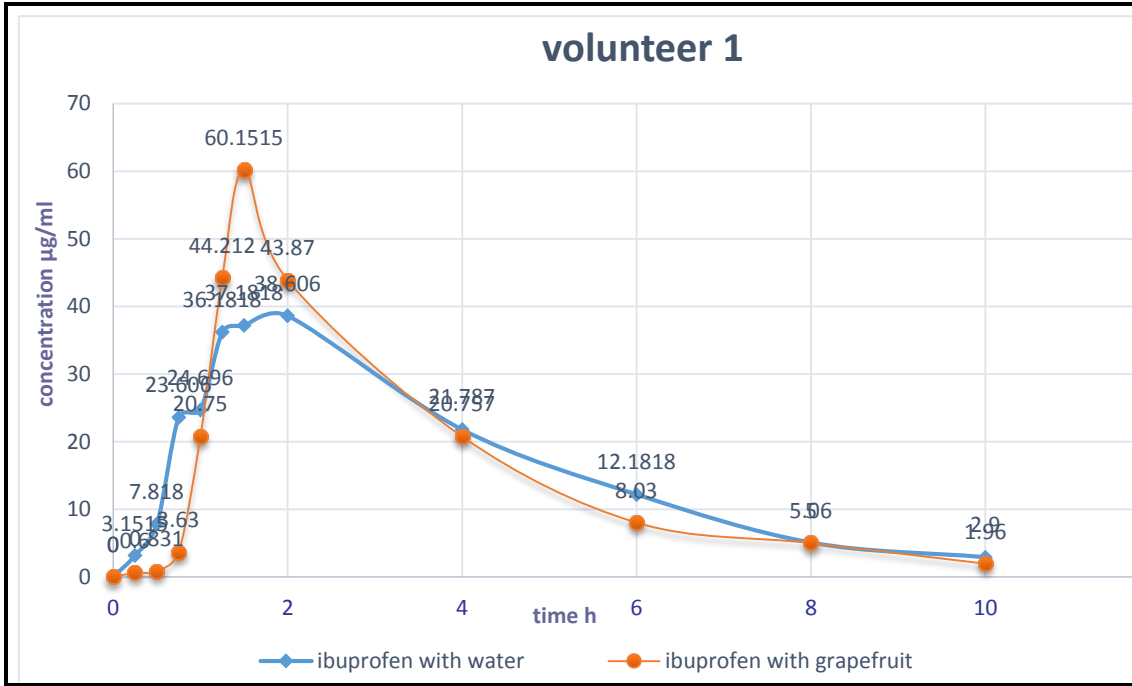
III. 2.6 . نتائج مقايسة الايبوبروفين:

بعد التأكد من صلاحية الطريقة التحليلية قمنا بحقن العينات الدموية بعد معالجتها بطريقة الترسيب سابقاً ووفقاً للأزمنة المذكورة أنفاً، تُبين الجداول التالية التراكيز البلازمية للمتطوعين خلال الازمنة الموافقة لسحب العينات كما يلي: حيث رُمز لإعطاء الايبوبروفين مع الماء بالرمز T1 ورُمز لإعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي بالرمز T2.

III. 1.2.6. التراكيز البلازمية للايبوبروفين لكل المتطوعين:

عند المتطوع الأول :

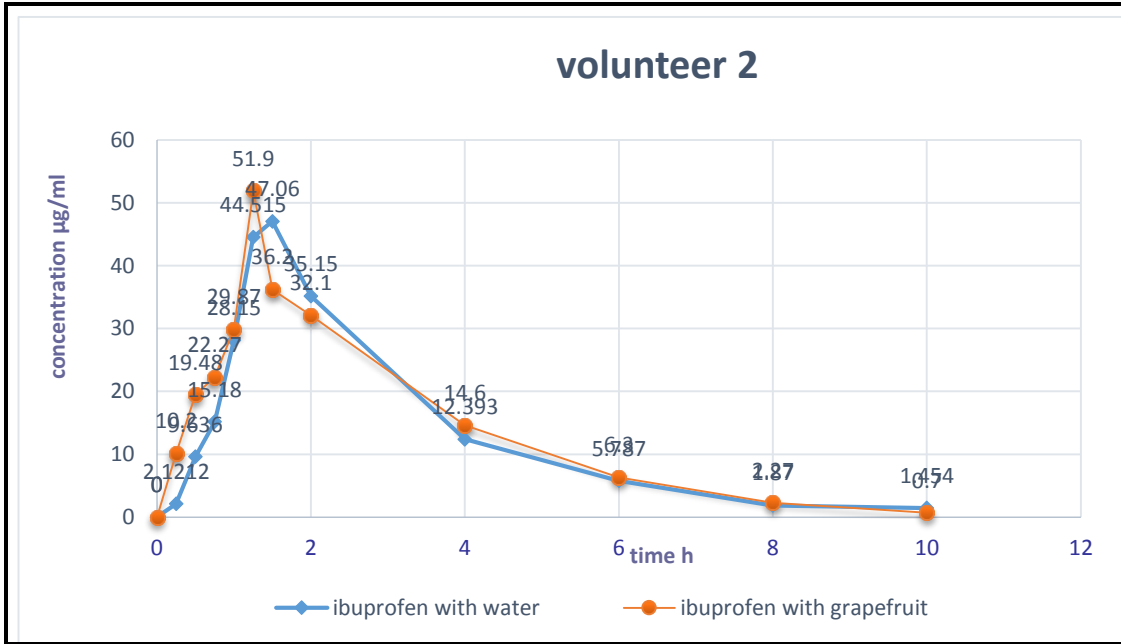
وجد أن Cmax كان أكبر لدى اعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي مقارنة بالماء (بلغ Cmax 60.15 مكغ /مل في T2 بينما بلغ Cmax 38.60 مكغ/مل في T1) كما وجد أن Tmax كان أعلى مع الماء مقارنة بعصير الليمون الهندي (بلغ Tmax 2 ساعة في T1 بينما بلغ Tmax 1.5 ساعة في T2) (شكل 13، جدول 18، جدول 19).



شكل (13) : تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الاول عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.

عند المتطوع الثاني :

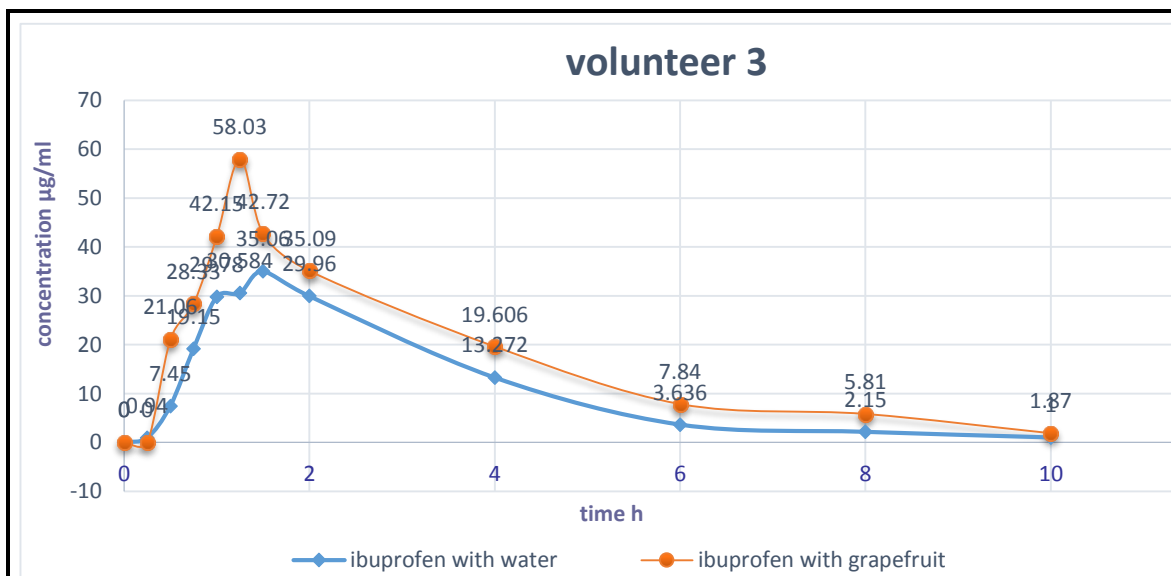
وجد أن C_{max} كان أكبر لدى اعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي مقارنة بالماء (بلغ C_{max} 51.9 مكغ /مل في T2 بينما بلغ C_{max} 47.06 مكغ/مل في T1) ، كما وجد أن T_{max} كان أعلى مع الماء مقارنة بعصير الليمون الهندي (بلغ T_{max} 1.5 ساعة في T1 بينما بلغ T_{max} 1.25 ساعة في T2) (شكل 14، جدول 18، جدول 19).



شكل (14): تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الثاني عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.

عند المتطوع الثالث:

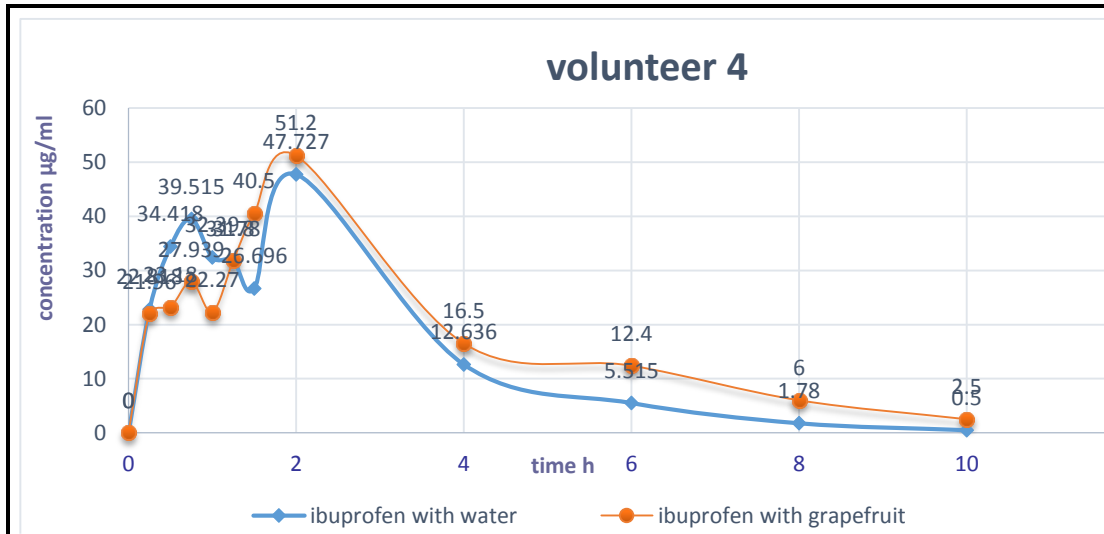
وجد أن C_{max} كان أكبر لدى اعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي مقارنة بالماء (بلغ C_{max} 58.03 مكغ /مل في T_2 بينما بلغ C_{max} 35.06 مكغ/مل في T_1) كما وجد أن T_{max} كان أعلى مع الماء مقارنة بعصير الليمون الهندي (بلغ T_{max} 1.5 ساعة في T_1 بينما بلغ T_{max} 1.25 ساعة في T_2) (شكل 15، جدول 18، جدول 19).



شكل (15): تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الثالث عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.

عند المتطوع الرابع:

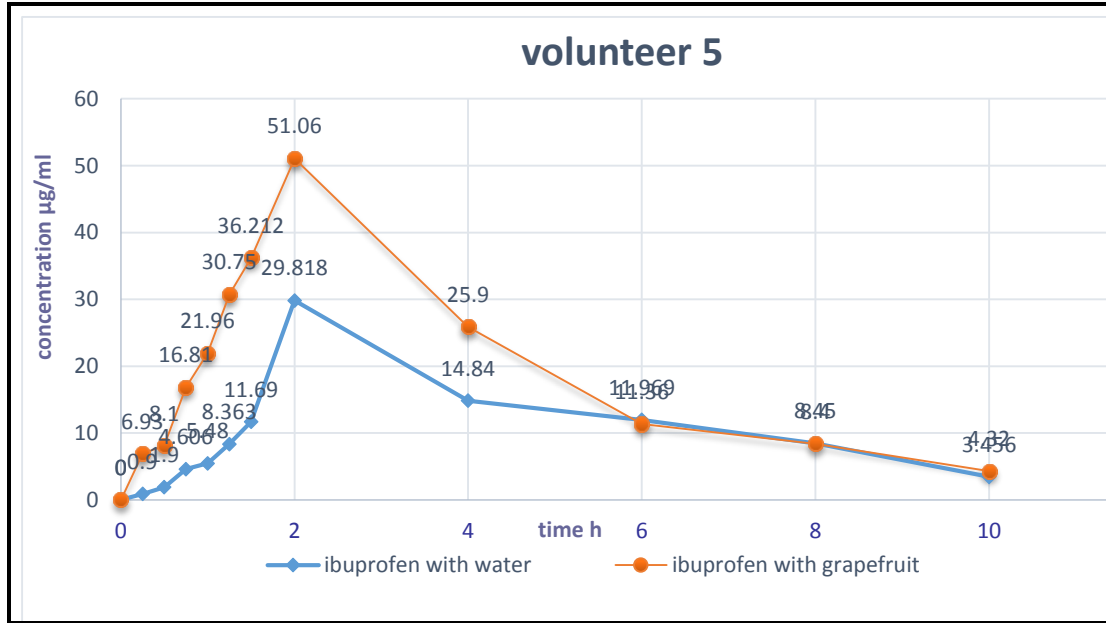
وجد أن C_{max} كان أكبر لدى اعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي مقارنة بالماء (بلغ C_{max} 51.2 مكغ /مل في T2 بينما بلغ C_{max} 47.72 مكغ/مل في T1) كما وجد أن T_{max} بقي نفسه في المرحلتين (بلغ T_{max} 2 ساعة في T1 و في T2) (شكل 16، جدول 18، جدول 19).



شكل (16): تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الرابع عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.

عند المتطوع الخامس:

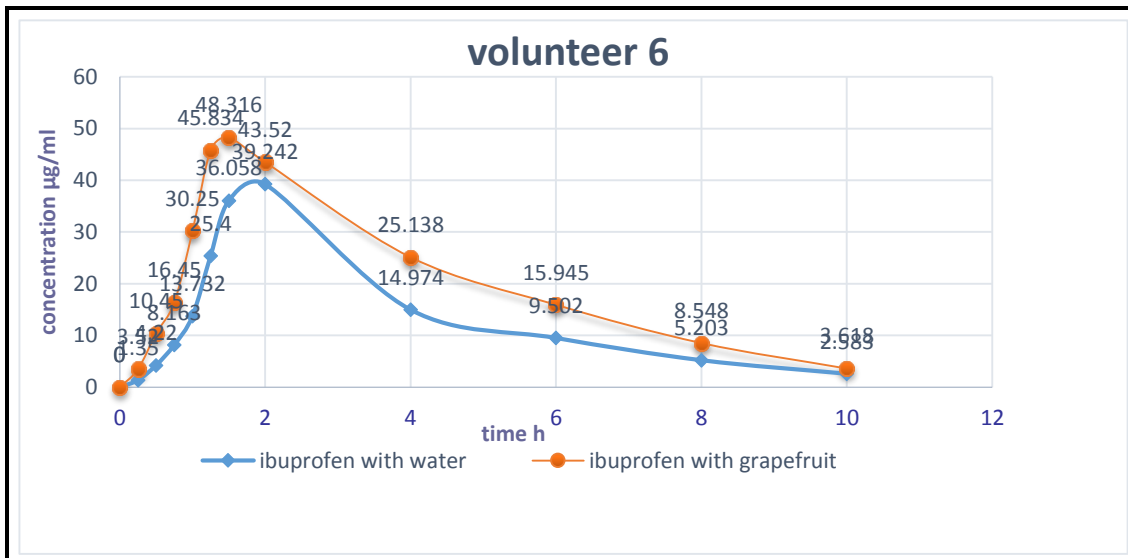
وجد أن C_{max} كان أكبر لدى اعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي مقارنة بالماء (بلغ C_{max} 51.06 مكغ /مل في T2 بينما بلغ C_{max} 29.81 مكغ/مل في T1) كما وجد أن T_{max} بقي نفسه في المرحلتين (بلغ T_{max} 2 ساعة في T1 و في T2) (شكل 17، جدول 18، جدول 19).



شكل (17): تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الخامس عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.

عند المتطوع السادس:

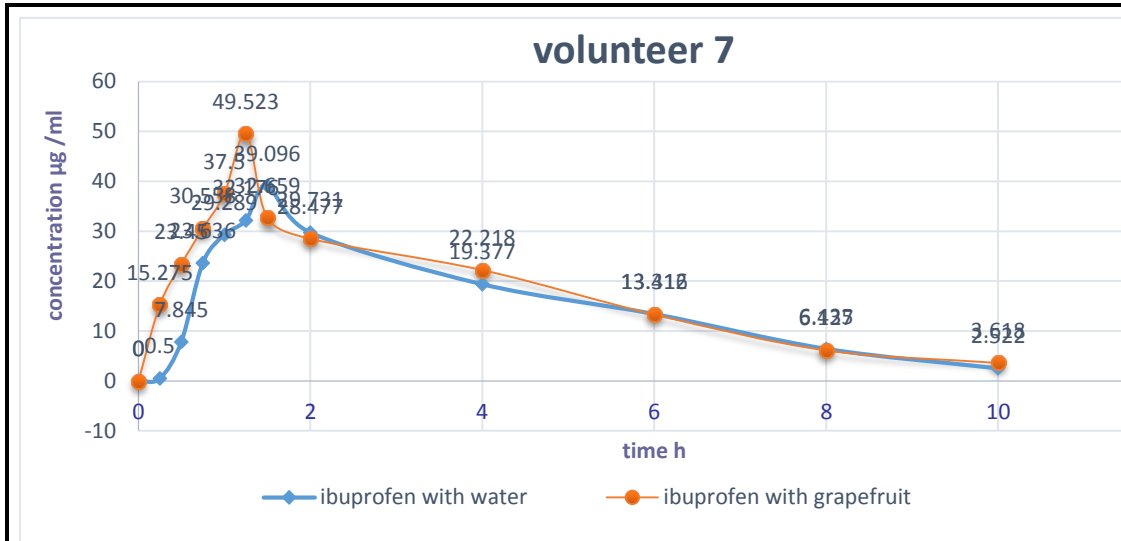
وجد أن C_{max} كان أكبر لدى اعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي مقارنة بالماء (بلغ C_{max} 48.31 مكغ /مل في T2 بينما بلغ C_{max} 39.24 مكغ/مل في T1) كما وجد أن T_{max} كان أعلى مع الماء مقارنة بعصير الليمون الهندي (بلغ T_{max} 2 ساعة في T1 بينما بلغ T_{max} 1.5 ساعة في T2) (شكل 18، جدول 18، جدول 19).



شكل (18): تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع السادس عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.

عند المتطوع السابع :

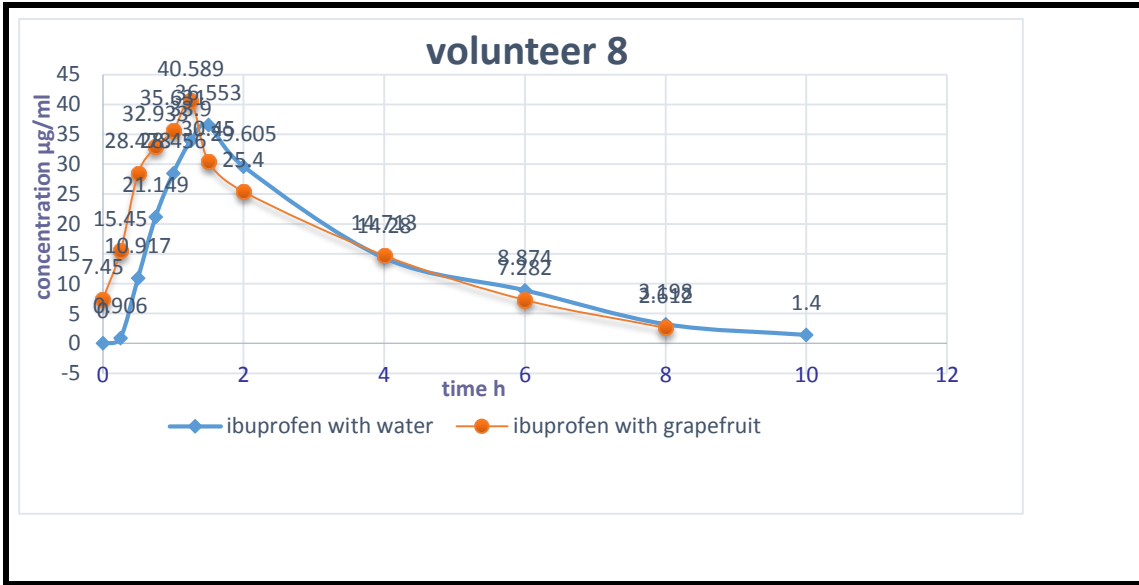
وجد أن C_{max} كان أكبر لدى اعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي مقارنة بالماء (بلغ C_{max} 49.52 مكغ /مل في T2 بينما بلغ C_{max} 39.09 مكغ/مل في T1) كما وجد أن T_{max} كان أعلى مع الماء مقارنة بعصير الليمون الهندي (بلغ T_{max} 1.5 ساعة في T1 بينما بلغ T_{max} 1.25 ساعة في T2) (شكل 19، جدول 18، جدول 19).



شكل (19): تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع السابع عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي .

عند المتطوع الثامن:

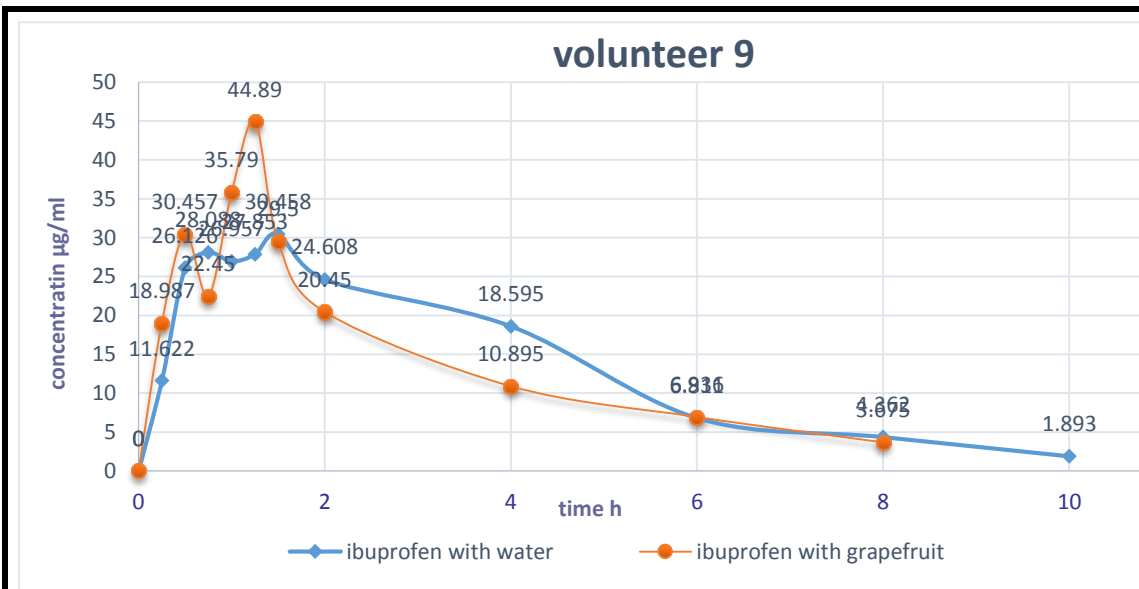
وجد أن C_{max} كان أكبر لدى اعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي مقارنة بالماء (بلغ C_{max} 40.58 مكغ /مل في T2 بينما بلغ C_{max} 36.55 مكغ/مل في T1) كما وجد أن T_{max} بقي نفسه في المرحلتين (بلغ T_{max} 1.5 ساعة في T1 و في T2) (شكل 20، جدول 18، جدول 19).



شكل (20): تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الثامن عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي .

عند المتطوع التاسع:

وجد أن C_{max} كان أكبر لدى اعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي مقارنة بالماء (بلغ C_{max} 44.89 مكغ /مل في T2 بينما بلغ C_{max} 30.458 مكغ/مل في T1) كما وجد أن T_{max} بقي نفسه في المرحلتين (بلغ T_{max} 1.5 ساعة في T1 و في T2) (شكل 21، جدول 18، جدول 19).

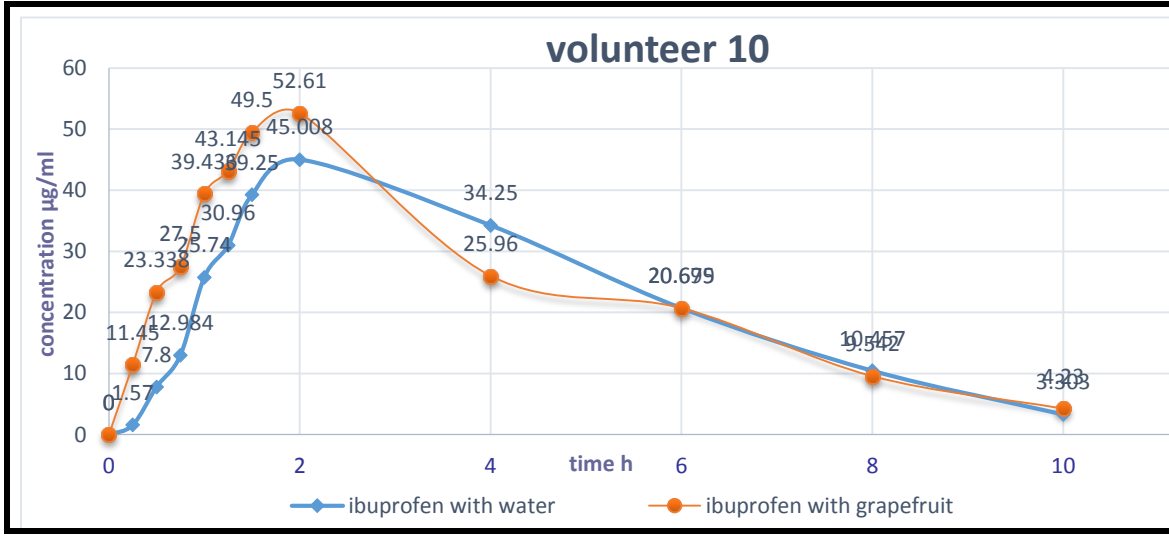


شكل (21): تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع التاسع عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.

عند المتطوع العاشر:

وجد ان C_{max} كان أكبر لدى اعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي مقارنة بالماء (بلغ C_{max} 52.61 مكغ /مل في T2 بينما بلغ C_{max} 45.08 مكغ/مل

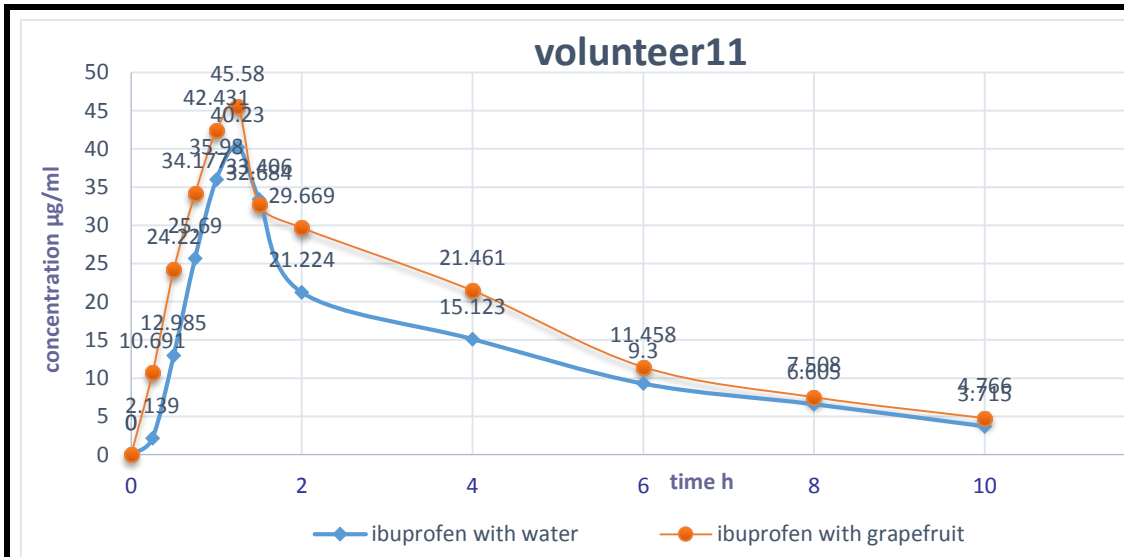
في T1) كما وجد أن Tmax بقي نفسه في المرحلتين (بلغ Tmax 2 ساعة في T1 و في T2) (شكل 22، جدول 18، جدول 19).



شكل(22): تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع العاشر عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي .

عند المتطوع الحادي عشر:

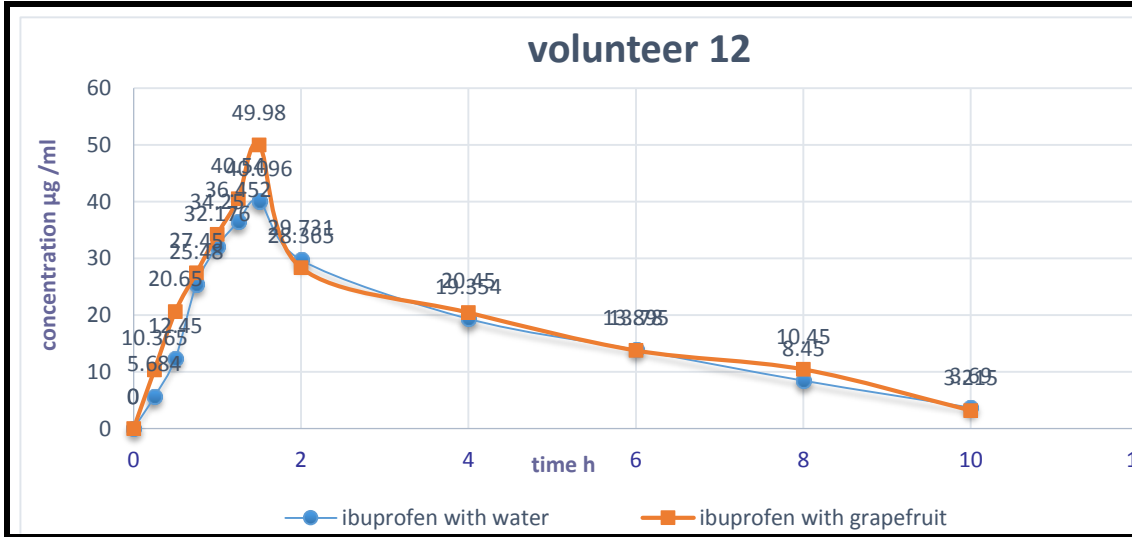
وجد ان Cmax كان أكبر لدى اعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي مقارنة بالماء (بلغ Cmax 45.58 مكغ /مل في T2 بينما بلغ Cmax 40.23 مكغ/مل في T1) كما وجد أن Tmax بقي نفسه في المرحلتين (بلغ Tmax 1.25 ساعة في T1 و في T2) (شكل 23، جدول 18، جدول 19).



شكل(23): تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الحادي عشر عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي.

عند المتطوع الثاني عشر:

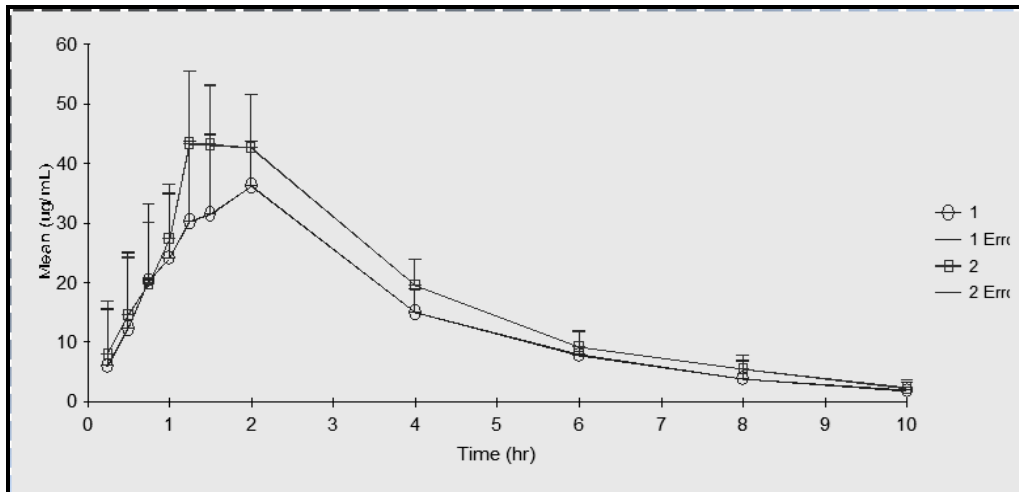
وجد أن C_{max} كان أكبر لدى إعطاء الايبوبروفين مع عصير الليمون الهندي الكريب فروت مقارنة بالماء (بلغ C_{max} 45.58 مكغ /مل في T2 بينما بلغ C_{max} 40.23 مكغ/مل في T1)، كما وجد أن T_{max} بقي نفسه في المرحلتين (بلغ 1.25 ساعة في T1 و في T2) (شكل 24، جدول 18، جدول 19).



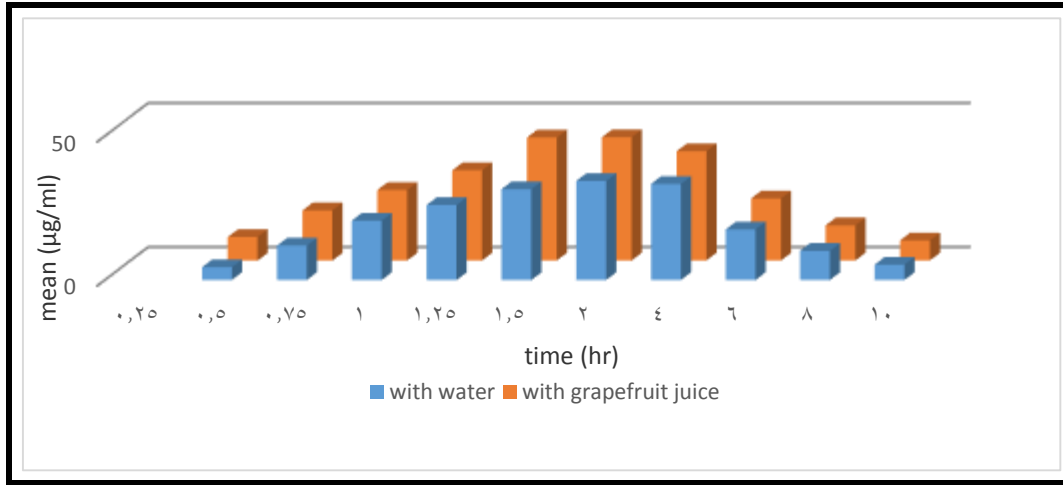
شكل (24): تركيز الايبوبروفين لدى المتطوع الثاني عشر عند تناوله مع الماء ومع عصير الليمون الهندي .

مما سبق نجد:

التراكيز البلازمية الوسطية للمتطوعين ال12 مع الماء ومع عصير الليمون الهندي حيث يُظهر لدينا الشكلين التاليين المنحني الذي يعبر عن متوسط التراكيز البلازمية للايبوبروفين مقابل الزمن بعد إعطاء جرعة 400 ملغ من الايبوبروفين للمتطوعين ال 12 الذكور مع الماء أو مع عصير الليمون الهندي.



شكل (25): متوسط التراكيز البلازمية مع الانحراف المعياري ($SD \pm$) مقابل الزمن للايبوبروفين عندما يعطى مع الماء أو عصير الليمون الهندي للمتطوعين ال 12.



شكل (26): متوسط التراكيز البلازمية مع الانحراف المعياري ($SD \pm$) مقابل الزمن للايبوبروفين عندما يعطى مع الماء أو عصير الليمون الهندي للمتطوعين ال 12.

• عند اعطاء الايبوبروفين مع الماء T1 :

يوضح الجدول (18) التراكيز البلازمية للايبوبروفين (مكغ/مل) بعد اعطاء جرعة فموية بمقدار 400 ملغ ل 12 متطوع مع 240 مل من الماء ، حيث يظهر التركيز الأعظمي Cmax لكل متطوع باللون الاصفر:

جدول رقم (18):التراكيز البلازمية للايبوبروفين بعد إعطاء جرعة بمقدار 400 ملغ مع الماء لدى 12متطوع.

time \ vol	0.25	0.5	0.75	1	1.25	1.5	2	4	6	8	10
Vol 1	3.15	7.8	23.6	24.6	36.1	37.1	38.6	21.7	12.1	5	2.9
Vol 2	2.12	9.6	15.1	28.1	44.5	47	35.1	12.3	5.7	1.8	1.4
Vol 3	0.94	7.4	19.1	29.7	30.5	35	29.9	13.2	3.6	2.1	1
Vol 4	22.8	34.4	39.5	32.3	31.7	26.6	47.7	12.6	5.51	1.78	0.5
Vol 5	0.9	1.9	4.6	5.4	8.3	11.6	29.8	14.8	11.9	8.4	3.4
Vol 6	1.3	4.2	8.1	13.7	25.4	36	39.2	14.9	9.5	5.2	2.5

Vol 7	0.5	7.8	23.6	29.2	32.1	39	29.7	19.3	1	6.4	2.2
									3.4		
Vol 8	0.9	10.9	21.1	28.4	13.9	36.5	29.6	14.2	8.8	3.1	1.4
Vol 9	11.6	26.1	28	26.9	27.8	30.45	24.6	18.5	6.8	4.3	1.8
Vol 10	1.5	7.8	12.9	25.7	30.9	39.2	45	34.2	20.6	10.4	3.3
Vol 11	2.1	12.9	25.6	35.9	40.2	33.4	21.2	15.1	9.3	6.6	3.7
Vol 12	5.6	12.4	25.4	32.1	36.4	40	29.7	19.3	13.8	8.4	3.6

• عند اعطاء الايوبروفين مع عصير الليمون الهندي T2 :

يوضح الجدول (19) التراكيز البلازمية للايوبروفين (مكغ/مل) بعد اعطاء جرعة فموية بمقدار 400 ملغ ل 12 متطوع مع عصير الليمون الهندي 240 مل ، حيث يطر التركيز الأعظمي C max لكل متطوع باللون الاصفر:

جدول رقم (19): التراكيز البلازمية للايوبروفين بعد إعطاء جرعة بمقدار 400 ملغ مع الماء لدى 12 متطوع.

Time \ Vol	0.25	0.5	0.75	1	1.25	1.5	2	4	6	8	10
Vol 1	0.6	0.8	3.6	20.7	44.2	60.1	43.8	20.7	8	5	1.9
Vol 2	10.2	19.4	22.2	29.8	51.9	36.2	32.1	14.6	6.3	2.2	0.7
Vol 3	0	21	28.3	42.1	58	42.7	35	19.6	7.8	5.8	1.8
Vol 4	21.9	23.1	27.9	22.2	31.8	40.5	51.2	16.5	12.4	6	2.5
Vol 5	6.9	8.1	16.8	21.9	30.7	36.2	51	25.9	11.3	8.4	4.3
Vol 6	3.5	10.4	16.4	30.2	45.8	48.3	43.5	25.1	15.9	8.5	3.6
Vol 7	15.2	23.4	30.5	37.5	49.5	32.6	28.4	22.3	13.3	6.12	3.6

Vol 8	7.4	15.4	28.4	32.9	35.6	40.5	30.4	25.4	14.7	7.2	2.6
Vol 9	0	18.9	30.4	22.4	35.7	44.8	29.5	20.45	10.8	6.9	3.6
Vol 10	11.4	23.3	27.5	39.4	43.1	49.5	52.6	25.9	20.6	9.5	4.2
Vol 11	10.6	24.2	34.4	42.4	45.5	32.6	29.6	21.4	11.4	7.5	4.7
Vol 12	10.3	20.6	27.45	34.2	40.5	49.9	28.3	20.4	13.7	10.4	3.2

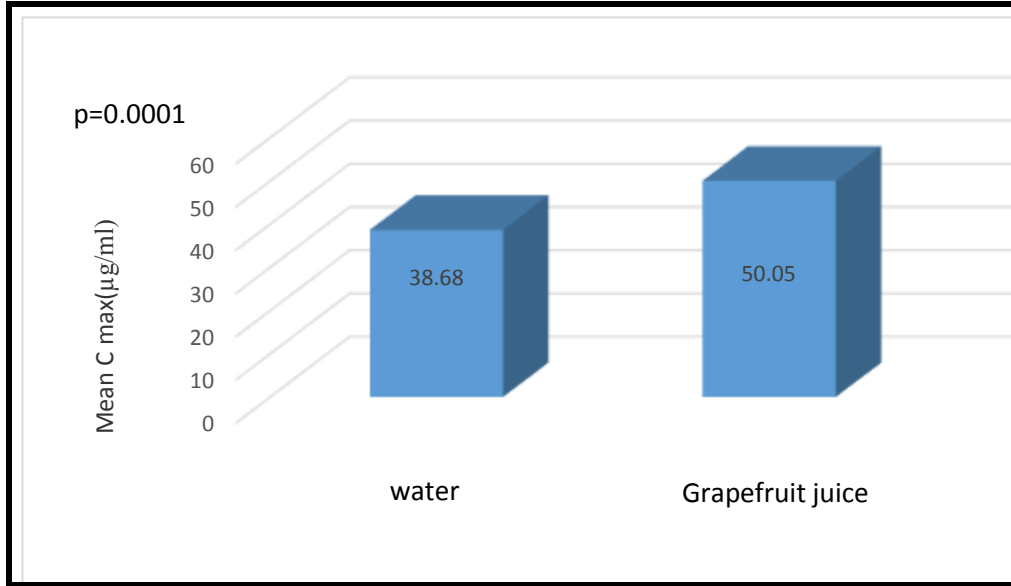
III. 2.2.6. نتائج التراكيز البلازمية الاعظمية للدواء في البلازما (Cmax):

يعرف C max على أنه التركيز البلازمي الأعظمي للدواء الذي يتم الوصول اليه في البلازما بعد جرعة وحيدة . بينما يعرف Tmax على أنه الوقت الذي يصل فيه الدواء الى التركيز البلازمي الأعظمي وتتساوى عنده سرعة الامتصاص مع سرعة الاطراح. حيث تظهر النتائج في الجدول (20) ، بينما يوضح الشكل رقم (27) المقارنة بين متوسط التراكيز البلازمية الاعظمية لكل المتطوعين ال 12 في المرحلتين :

جدول رقم (20) : قيم C max و T max لكل المتطوعين بكلا المرحلتين .

Period 1			Period 2		
Subject	Cmax($\mu\text{g/ml}$)	Tmax (hr)	subject	Cmax($\mu\text{g/ml}$)	Tmax (hr)
1	38.60	2	1	60.15	1.5
2	47.06	1.5	2	51.9	1.25
3	35.06	1.5	3	58.03	1.25
4	47.72	2	4	51.2	2
5	29.81	2	5	51.06	2
6	39.24	2	6	48.31	1.5
7	39.09	1.5	7	49.52	1.25
8	36.55	1.5	8	40.58	1.5
9	30.45	1.5	9	44.89	1.5
10	45	2	10	52.61	2
11	40.23	1.25	11	45.58	2

12	40.09	1.5	12	49.98	1.5
----	-------	-----	----	-------	-----



شكل رقم (27) : مقارنة متوسط التراكيز البلازمية للايوبروفين لدى ١٢ متطوع مع الماء او عصير الليمون الهندي .

III. 2.6. 3. نتائج ثابتة سرعة الاطراح K_{el} :

يعرف معدل الاطراح Elimination rate : على أنها السرعة التي تجري بها عملية ازالة الأدوية من الجسم. حيث يعبر عنها بثابتة سرعة الاطراح Elimination rate constant ويرمز لها بالرمز K وهي نسبة الدواء الذي تم التخلص منه الى الكمية الاجمالية الموجودة في الجسم خلال واحدة الزمن مفترضين على أن الاطراح من الرتبة الأولى.

كما يعرف نصف العمر Half life : على أنه الزمن اللازم لانخفاض التركيز البلازمي للدواء بمقدار النصف ويرمز له ب $t_{1/2}$ ويقودنا غالباً الى زمن اعطاء الجرعة التالية من الدواء . تربط العلاقة التالية بين نصف العمر الحيوي وثابتة سرعة الاطراح كما يلي:

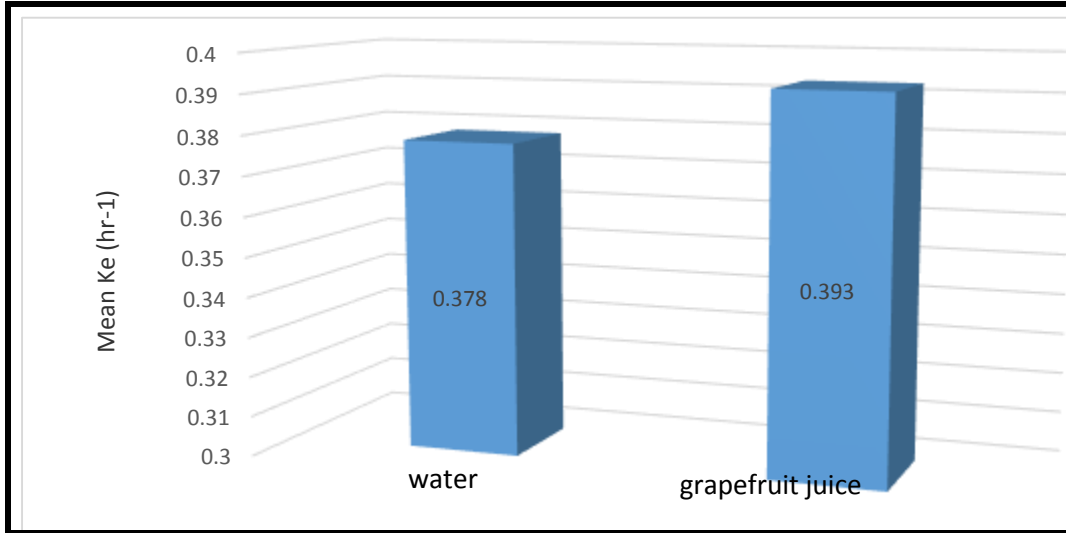
$$(hr) t_{1/2} = 0.693/K$$

حيث يظهر الجدول التالي نتائج K_{el} و $t_{1/2}$ لكل المتطوعين :

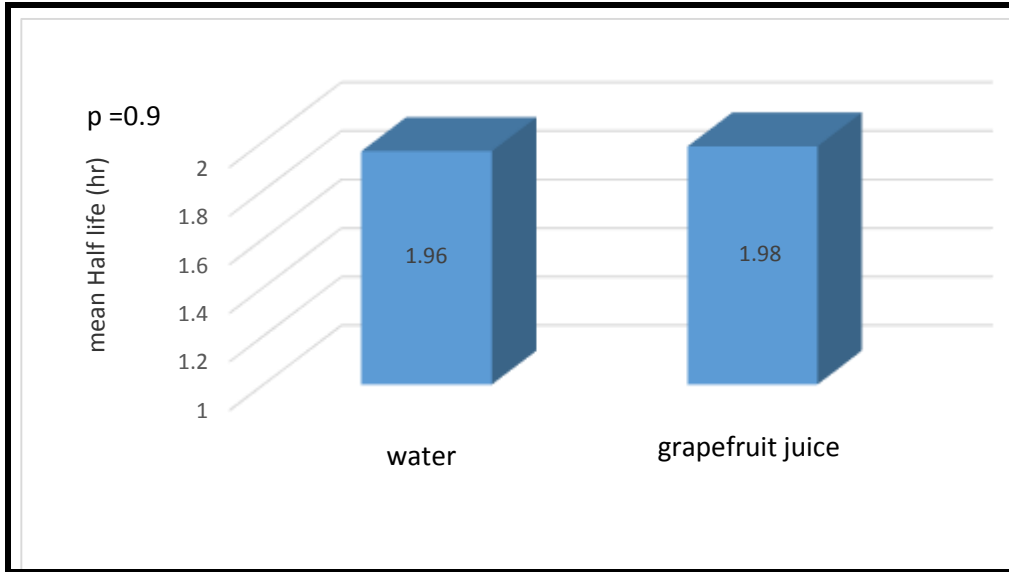
جدول رقم (21): قيم K_{el} و $t_{1/2}$ لكل المتطوعين بكلا المرحلتين.

period 1			Period 2		
subject	Ke(hr-1)	T1/2(hr)	Subject	Ke(hr-1)	T1/2(hr)
1	0.3217	2.1544	1	0.3936	1.761
2	0.2433	2.8493	2	0.5744	1.2067
3	0.3451	2.0083	3	0.4037	1.7169
4	0.6243	1.1102	4	0.4185	1.6563f
5	0.3512	1.9736	5	0.277	2.5026
6	0.3356	2.0653	6	0.3963	1.7492
7	0.4427	1.5657	7	0.2839	2.4419
8	0.4141	1.6738	8	0.4709	1.4719
9	0.349	1.9862	9	0.2813	2.4643
10	0.5147	1.3467	10	0.4018	1.7251
11	0.2354	2.9442	11	0.2216	3.1284
12	0.3617	1.9166	12	0.341	2.0329

كما يظهر الشكلين التاليين مقارنة متوسط Ke و t1/2 لكل المتطوعين بكلا المرحلتين:



شكل رقم (28) : مقارنة متوسط Ke للابوبروفين لدى 12 متطوع مع الماء أو عصير الليمون الهندي.



شكل (29) : مقارنة متوسط $t_{1/2}$ للبايوبروفين ل ١٢ متطوع مع الماء وعصير الليمون الهندي.

4. 2.6.III. نتائج المساحة تحت المنحني (AUC) : Area Under the Curve

وهي المساحة تحت منحنى التركيز - الزمن ويرمز لها AUC وهي قياس لمدى التوافر الحيوي ، إذ أنها تدل على سرعة ومقدار وصول الدواء إلى الدورة الدموية ولا تعتمد على طريقة تناول الدواء أو على عملية التخلص من الدواء طالما بقيت هذه العمليات ثابتة وتتناسب مع الجرعة . فإذا تضاعفت الجرعة تضاعفت المساحة تحت المنحني في حال بقيت الحرائك الدوائية خطية .

تم حساب المساحة تحت المنحني باستخدام طريقة أشباه المنحرفات الخطية linear trapezoidal من اللحظة 0 إلى آخر تركيز ملاحظ t .

حيث **AUC0-t** : عبارة عن المساحة تحت المنحني من اللحظة صفر حتى آخر تركيز ملاحظ عند $t = 10$ h .

بينما **AUC0-∞** : عبارة عن المساحة تحت المنحني من اللحظة صفر إلى اللانهاية وتحسب من العلاقة التالية:

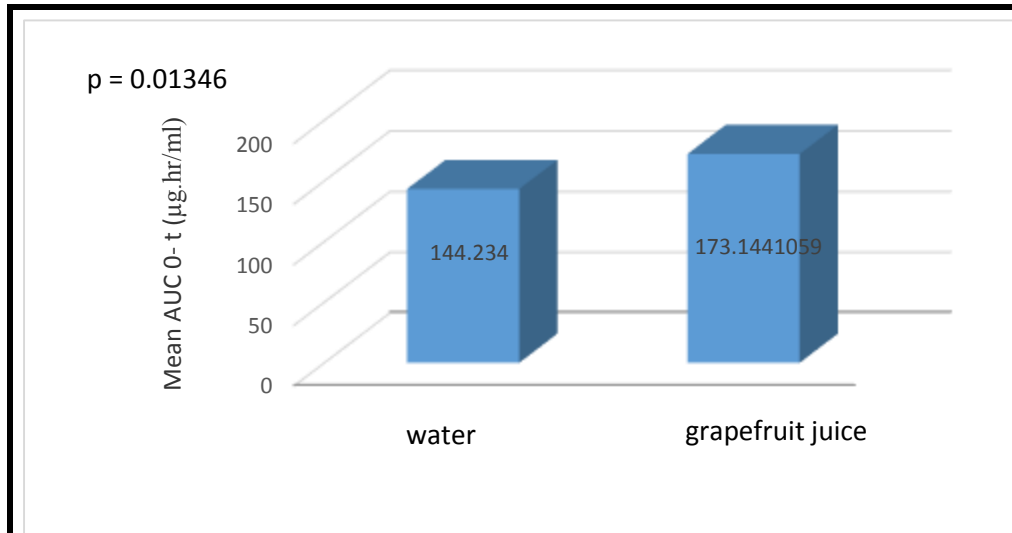
$$AUC_{0-\infty} = \left\{ \sum \frac{Cp_1 + Cp_2}{2} \cdot (t_2 - t_1) \right\} + \frac{Cp_{last}}{kel}$$

حيث يظهر الجدول (22) قيم ال **AUC0-t** و **AUC0-∞** لكل المتطوعين في المرحلتين:

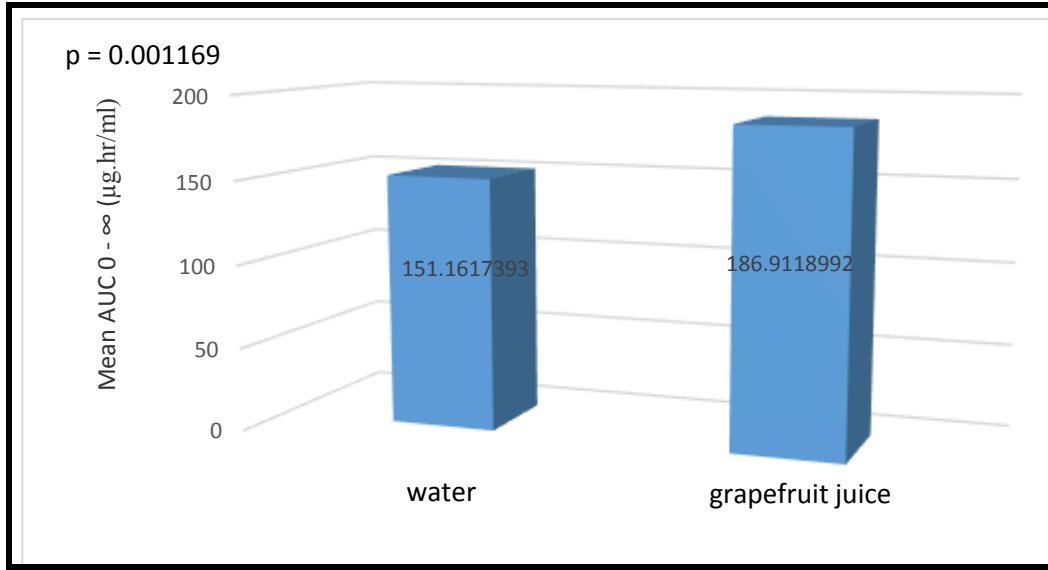
جدول رقم (22) : قيم t - AUC و $0-\infty$ AUC لكل المتطوعين في المرحلتين .

period 1			Period 2		
subject	AUC0-t	AUC0-∞	subject	AUC0-t	AUC0-∞
1	128.0396	134.17	1	164.4341	169.4135
2	167.0216	176.0351	2	134.17	135.3887
3	111.6895	114.5869	3	165.657	170.2889
4	150.262	151.0629	4	183.2748	189.2486
5	120.9425	130.7829	5	194.182	209.7794
6	137.7315	145.4277	6	202.0245	211.1547
7	156.1563	161.8529	7	173.8599	186.6058
8	128.6496	132.0302	8	180.6709	186.2176
9	133.7723	139.1967	9	160.8668	173.9324
10	224.8493	231.2667	10	174.2375	247.6619
11	134.0843	149.864	11	174.2375	195.7481
12	167.3483	177.5513	12	180.087	189.5166

كما يظهر الشكلان التاليان المقارنة بين متوسط قيم $AUC 0 - \infty$ و $AUC 0 - t$ لدى 12 متطوع مع الماء وعصير الليمون الهندي.



شكل (30): مقارنة متوسط قيم $AUC 0 - t$ لدى 12 متطوع مع الماء وعصير الليمون الهندي .



شكل (31) : مقارنة متوسط قيم $Auc\ 0-\infty$ لدى 12 متطوع مع الماء وعصير الليمون الهندي .

نستنتج مما سبق :

مما سبق وبعد مناقشة كل متناوبات الحرائك الدوائية والتي تعبر عن التوافر الحيوي الفموي بعد اعطاء جرعة وحيدة من الايبوبروفين 400 ملغ لكل المتطوعين بكلا المرحلتين نجد ان كل المتطوعين ال 12 قد أتموا الدراسة .

- إن القيم الوسطية لمتناوبات الحرائك الدوائية موضحة في الجدول التالي:

جدول(23): القيم الوسطية $\pm SD$ لمتناوبات الحرائك الدوائية مع الماء ومع عصير الليمون الهندي ل 12متطوع .

Parameter	Treatment	
	Water	grapefruit juice
Half life (h)	1.960 ± 0.64	1.98 ± 0.36
T max (h)	1.68 ± 0.27	1.60 ± 0.37
C max (µg/ml)	38.682 ± 7.72	50.05 ± 4.29
AUC0-t (µg.hr/ml)	144.234 ± 22.61	173.144 ± 22.80
AUC0-∞ (µg.hr/ml)	151.161 ± 23.25	186.911 ± 27.8
Vd/F (l)	7.731 ± 2.8	5.89 ± 0.54
Cl/F (l/hr)	2.887 ± 0.46	2.337 ± 0.38

نتائج الدراسة الإحصائية:

بعد تطبيق اختبار T-test الإحصائي ، أظهرت النتائج أن عصير الليمون الهندي قد أدى الى زيادة التوافر الحيوي للايبوبروفين ، حيث نلاحظ زيادة في C max (تشير الى زيادة في سرعة الامتصاص) وزيادة في كل من AUC0-∞ و AUC0-t (تشير الى امتداد الامتصاص) بينما لم نلاحظ أي تغير في t 1/2 .

ان الاختلاف بين متناهتات الحرائك الدوائية لكل من الايبوبروفين مع الماء أو مع عصير الليمون الهندي وجد أنها واضحة احصائياً (p < 0.05) لكل من Cmax ، AUC0-t ، AUC0-∞ . بينما غير واضحة احصائياً (p > 0.05) بالنسبة لباقي متناهتات الحرائك الدوائية .

حيث وجد أن :

- C mAx قد زادت بنسبة **29%** من 38.682 مكغ / مل الى 50.05 مكغ/مل ، p < 0.05 .
- AUC 0-∞ قد زادت بنسبة **24%** من 151.161 مكغ . سا / مل الى 186.911 مكغ . سا / مل ، p < 0.05 .
- AUC0 – t قد زادت بنسبة **20%** من 144.234 مكغ . سا / مل الى 173.144 مكغ . سا / مل ، p < 0.05 .
- أما بالنسبة ل t 1/2 فلم يلاحظ أي فارق احصائي يعتد به حيث (p = 0.9) .

كما أظهرت نتائج اختبار التكافؤ الحيوي أنه لم يبدي أي حد من المتناهتات المدروسة في الجدول أدناه قيماً ضمن حدود قبول التكافؤ الحيوي التي ذكرت سابقاً مما يثبت وجود التداخل الدوائي لدينا.

جدول رقم (24): قيم 90%CI لمتوسط متناهتات الحرائك الدوائية .

Parameter	Ratio (water/GJ)	Lower limit of the 90%CI	Upper limit of the 90%CI
C max	71.84	50.21	95.7
T Max	80.29	60.37	105.4
AUC 0-∞	80.16	59.48	103.6

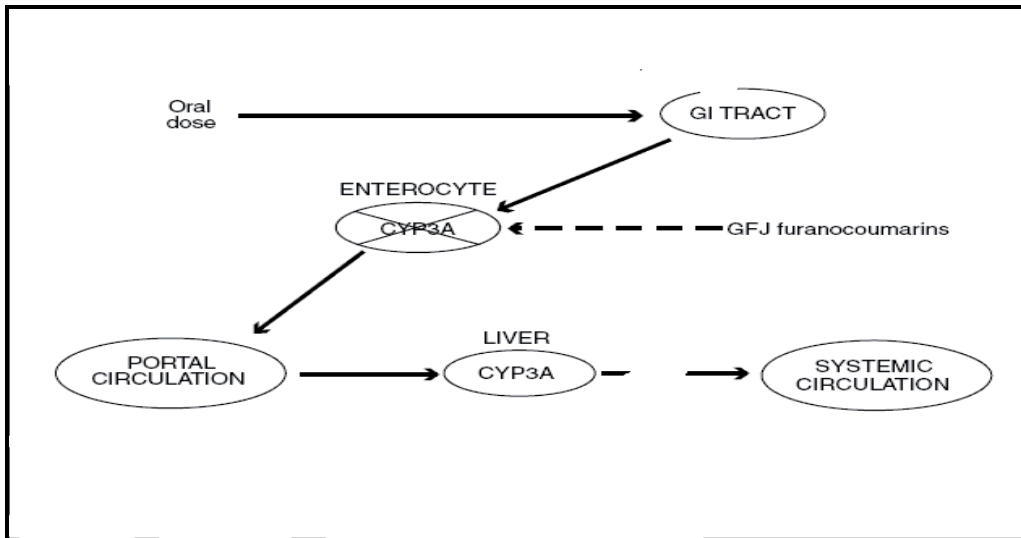
3.6.III. المناقشة :

تبين من خلال دراستنا أن عصير الليمون الهندي أدى الى زيادة في التوافر الحيوي للايبوبروفين بعد تناوله فمويماً من خلال زيادة معدل وشدة الامتصاص وذلك بمقارنة كل من AUC_{0-t} ، $AUC_{0-\infty}$ ، C_{max} . حيث ان الاختلاف بين متباينات الحرائك الدوائية لكل من الايبوبروفين مع الماء او مع عصير الليمون الهندي وجد انها واضحة احصائياً ($p < 0.05$) لكل من C_{Max} ، AUC_{0-t} ، $AUC_{0-\infty}$. بينما غير واضحة احصائياً ($p > 0.05$) بالنسبة لكل من V_d/F ، Cl/F ، $T_{1/2}$.

تم تفسير النتائج هذه على النحو التالي :

يؤثر الليمون الهندي على الامتصاص وبالتالي التوافر الحيوي للأدوية من خلال آليتين اثنتين وذلك حسب دراسة Lowen et al ودراسة Dahan et al:

- 1- يثبط الليمون الهندي بالجرعات الطبيعية المعتدلة الأنزيم الموجود في الأمعاء ، وهذا الأنزيم يكون مسؤولاً عن الاستقلاب قبل الجهازى للدواء وبالتالي تثبيطه يؤدي الى زيادة الامتصاص بدون التأثير على الاطراح وبالتالي زيادة التوافر الحيوي الفموي له كما في الشكل التالي :



شكل رقم (32) : تأثير الليمون الهندي على Cyp3A4 في الأمعاء.

- 2- هناك آلية أخرى P-gp:

وهي بروتينات سكرية تتوضع في الأغشية القمية ل *enterocytes* ، تقوم P-gp بنقل الجزيئات المحبة للدهن خارج الخلايا معيداً إيها الى لمعة الأمعاء ،

لذلك فإن الأدوية التي تملك خواص محبة للدم إما أن تُستقلب ب CYP أو تُزال ضمن الأمعاء بنواقل P-gp.

في بداية دراستنا، كان الاعتقاد بأن عصير الليمون الهندي يثبط الاستقلاب الكبدي للأيبوبروفين (حسب دراسات أولية). حيث وجدنا في دراسات سابقة أن النمط الغالب لألية تداخل الليمون الهندي مع الأدوية هو التأثير على السيتوكروم وهذا التنشيط يظهر بصورة كبيرة جداً للسيتوكروم CYP3A4 وأقل أهمية للأشكال الأخرى مثل CYP1A2، CYP2C9، CYP2C19.

كما وُجد أن هذا التنشيط بالجرعات الطبيعية يحدث على مستوى CYP3A4 الموجودة في الأمعاء أكثر من تلك الموجودة في الكبد، حيث أن نسبة CYP3A4 في الأمعاء 70% بينما في الكبد 30%. وقد تم التأكد من ذلك بحقن نفس الدواء وريدياً ولم تتغير الحرائك الدوائية له عندما يعطى مع عصير الليمون الهندي والدليل الآخر أيضاً أنه لم تتغير T1/2 للدواء في الحالتين عندما يعطى فمويّاً مع العصير أو بدونه (67،66،63).

وعندما أجرينا الدراسة لاحظنا زيادة في التوافر الحيوي على الرغم من عدم تحقق هذه الشروط.

بالنسبة لدواعنا: يخضع الايبوبروفين للاستقلاب قبل الجهازى بشكل قليل جداً (توافره الحيوي الفموي عالي) وأيضاً يستقلب كبدياً ب CYP2C9 وليس CYP3A4 وبالاعتماد على المعالم الإحصائية نجد أنه حصل زيادة في Cmax (تشير الى زيادة في سرعة الامتصاص) وزيادة في كل من AUC0-∞ و AUC0-t (تشير الى امتداد الامتصاص) بينما لم نلاحظ أي تغير يعتد به احصائياً في كل من t1/2 و Cl/F و Vd/F.

حيث بلغت قيمة t1/2 مع الماء 1.96 ساعة بينما ارتفعت قليلاً مع عصير الليمون الهندي لتصبح 1.98 ساعة. كانت قيمة p = 0.9 غير واضحة احصائياً.

بلغت قيمة متوسط حجم التوزع الظاهري Vd/F مع الماء 7.73 لتر، بينما انخفضت مع عصير الليمون الهندي لتصبح 5.59 لتر. وهي غير واضحة احصائياً من أجل p > 0.05. هذا الانخفاض هو نتيجة الزيادة في كل من AUC و Kel مع عصير الليمون الهندي بالاعتماد على العلاقة التالية:

$$V/F = \text{Dose} / \text{Kel} * \text{Auc } 0 - \infty$$

بلغت قيمة متوسط التصفية Clearance مع الماء 2.887 ل/سا، بينما انخفضت مع عصير الليمون الهندي لتصبح 2.337 ل/سا. وهي غير واضحة احصائياً من أجل $p > 0.05$. هذا الانخفاض الطفيف هو بسبب الانخفاض في V_d مع عصير الليمون الهندي بالاعتماد على العلاقة التالية:

$$Cl/F = V * \text{Kel} = \text{Dose} / \text{AUC } 0 - \infty$$

مما سبق نجد : استئثنا الألية الاولى وبقينا لدينا p-gp .

وقد أثبتت الدراسات على $Caco_2$ وهي خلايا تُؤخذ من الكولون أن الايبوبروفين هو ركازة ل p-gp.⁽⁹³⁾

النتيجة : أدى عصير الليمون الهندي الى زيادة التوافر الحيوي للايبوبروفين من خلال تثبيط p-gp وهذا يتوافق مع دراسة **Dahan et al** والتي أظهرت التأثير المثبط لعصير الليمون الهندي على **P-gp**.

7.iii. الخلاصة :

وُجد في دراستنا السريرية أن عصير الليمون الهندي أدى الى إعطاء نتيجة مشابهة للدراسة السابقة **Dahan et al** حيث تم استنتاج أنه يوجد تداخل دوائي واضح ($p < 0,05$) بين عصير الليمون الهندي مع الايبوبروفين حيث لوحظ زيادة في الامتصاص وبالتالي التوافر الحيوي له ولكن بألية مختلفة عن ما بدأناها في بداية بحثنا حيث وجد أن ألية التداخل في بحثنا هي تثبيط **P-gp** وليس السيتوكروم المعوي . وبما أن دراسات الحرائك الدوائية أثبتت وجود علاقة خطية بين (الاستجابة – الجرعة) للجرعات بين 200–800 ملغ في دراسة **Laska et al** ، لذلك يستطيع المرضى في هذه الحالة أخذ جرعة واحدة منخفضة مع العصير للحصول على فعالية أكبر وأثار جانبية أقل .

III. 8 . التوصيات والمقترحات :

التوصيات :

- ضرورة الأخذ بعين الاعتبار التأثير السريري الهام للتداخل بين عصير الليمون الهندي والأدوية غير الموصوفة وخاصة أن الدواء والعصير يؤخذان سوية على الفطور.
- ضرورة الأخذ بعين الاعتبار أن المباشرة بين الجرعات الدوائية وتناول عصير الليمون الهندي لا يمنع بالضرورة من هذا التداخل وذلك حسب الدواء والألية التي يتم فيها هذا التداخل.
- ضرورة الأخذ بعين الاعتبار الاختلاف في درجة الاستجابة بين الأشخاص ، وبالأخص الكبار في السن هم أكثر عرضة لهذا التداخل .
- يجب على الأطباء الاستفادة من هذا التأثير من أجل انقاص الجرعة المطلوبة للحصول على التأثير المطلوب.

المقترحات :

- متابعة الأبحاث حول آلية تأثير الليمون الهندي وتداخلاته مع الأدوية.
- متابعة الأبحاث حول تأثير الليمون الهندي على P-gp و OATP بسبب قلة الدراسات المجراة في العضوية الحية *In- vivo*.
- متابعة الدراسة باستخدام جرعات متكررة من عصير الليمون الهندي وليس جرعة وحيدة قبل إعطاء الدواء لتحري هل هناك تأثير للجرعات المختلفة على امتداد *extent* التداخل مع الايبوبروفين.
- اجراء دراسة مقارنة بفواصل زمنية 1 ساعة ، 2 ساعة عصير الليمون الهندي ثم الايبوبروفين .
- متابعة الدراسة باستخدام جرعات مختلفة من الايبوبروفين.
- اجراء دراسة مقارنة لتقييم تداخل الليمون الهندي مع كلاً من S و R ايبوبروفين على حدا.

نموذج الموافقة الموضحة

- انت مدعو لتشارك في دراسة بحثية بعنوان التداخل الدوائي –
الغذائي بين عصير الليمون الهندي والايوبروفين . قبل ان تقرر
اذا كنت ستشارك أم لا، من المهم بالنسبة لك ان تفهم لماذا وضع
هذا البحث ومن سوف يتضمنه.

من فضلك خذ وقتك لتقرأ المعلومات التالية ، كما يمكنك ان تتكلم
مع أي شخص تشعر معه بالراحة عن هذا البحث.

اذا لم تستطع أن تفهم أي معلومة أو كلمة : اسألني أو اذا كان
لديك اي اسئلة لاحقة يمكنك ان تسأل اي أحد (الفريق الطبي –
الطبيب المشرف).

-هدف البحث :

معرفة التداخل الدوائي - الغذائي بين عصير الليمون الهندي والايوبروفين.
الايوبروفين دواء شائع الاستخدام جدا في سورية كمسكن ومضاد التهاب ، كذلك الامر بالنسبة لعصير الليمون الهندي. لذلك فإن السبب وراء هذا البحث هو ايجاد نمط التداخل بينهما، حيث يعتقد بأن عصير الليمون الهندي يثبط استقلاب الايوبروفين ، وبالتالي هذا يساعد الاشخاص في تقليل جرعة الايوبروفين وتقليل الآثار الجانبية.

-اختيار المشتركين:

المتطوعين الاصحاء الذكور. العمر بين ١٨ و ٤٠ سنة . BMI بين ١٨ و ٣٠ كغ/م². قادرين على الصيام طوال الليل (١٠ ساعات).
غير مدخن. لايتعاطى الكحول. عدم أخذ أي أدوية تنشط أو تثبط السيوكروم على الاقل اسبوعين قبل الدراسة.

-علاج الدراسة :

ايوبروفين ٤٠٠ ملغ مضغوطات ملبسة (شركة يونيفارما بامتياز من Abbott).
عصير الليمون الهندي ٢٤٠ مل. ماء ٢٤٠ مل.

-اجراء الدراسة:

يتم تقسيم المرضى الى مجموعتين بحيث يتم اختيارهم عشوائيا:
المجموعة الاولى : ستأخذ ايبوبروفين ٤٠٠ ملغ مع الماء ٢٤٠ مل.
المجموعة الثانية ستأخذ ايبوبروفين ٤٠٠ ملغ مع عصير الليمون الهندي ٢٤٠ مل.
سوف يتم تركيب قنطرة وريدية في الساعد الأيمن بحيث تمكننا من أخذ ١٢ عينة من الدم (كمية صغيرة في كل مرة ٥مل) بحيث لا تتجاوز الكمية الاجمالية ٦٠ مل لكل شخص.
في الزيارة الاولى: يتم قياس وزن المريض، طوله ، عمره، ضغطه الانقباضي والانبساطي ، اجراء تحليل دم.
في الزيارة الثانية : سوف تأتي المجموعتان الساعة 7:00am بعد صيام طويل لمدة 10 ساعات (طوال الليل) وبعد عشاء متماثل لكلا المجموعتين ثم يتم توزيع الدواء كما ذكر سابقا لكل مجموعة على حدا ويتم التأكد من ذلك بفحص اليد والفم.

ونبدأ بسحب عينات الدم على الشكل التالي: قبل نصف ساعة
ثم في 0.25 0.5 , 0.45, 1, 1.25 , 1.5, 2 , 4, 6, 8, 10
ساعة.

لا يسمح بتناول اكثر من ٤ كاسات من القهوة. وكذلك لا يسمح
بتناول العلكة او الشاي او القهوة او المشروبات الغازية خلال
ايام الدراسة.

في الزيارة الثالثة : بعد ٧ ايام تقريبا تأتي المجموعتان ويتم
اعطاء العينات بشكل عكسي كما ذكر سابقا.

-مدة الدراسة:

يجب ان تنتهي فترة اخذ العينات خلال مدة اقصاها شهر.
يأتي المتطوعين خلالها ٣ مرات الى مركز الدراسة وتقريبا
تكون مدة الزيارتين الثانية والثالثة ١٠ ساعة.

-التأثيرات الجانبية:

تسبب جميع مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية اضطرابات
هضمية، غثيان، اقياء، تحسس، نعاس، واحيانا نزف وحدوث
قرحات. ضرر كبدي.

يملك الايبوبروفين النسبة الاقل لاحتمال حدوث التأثيرات
الجانبية.

كباقي اغلب الادوية المضادة للالتهاب الغير الستيروئيدية ، لا
يجوز اعطاء الايبوبروفين للمرضى المصابين بقرحة هضمية
ناشطة. كذلك لايجوز اعطاءه للمرضى الذي يسبب الاسبرين
وغيره من مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية لديهم اعراض
الربو .

-الثقة:

يجب ان يعلم كل المشتركين ان جميع المعلومات التي سوف
نجمعها منهم سوف تبقى سرية ومحفوظة بثقة.
كما ان كل مشترك سوف يسجل برقم عوضا عن الاسم ولن
يعرف الاسم سوى الباحثين في التجربة وبعدها يتم وضع
المعلومات في مكان مقفل .

-الحق في الرفض والانسحاب:

لست مضطرا ان تشترك في الدراسة اذا كنت لا تريد(دراسة
تطوعية)، كذلك يمكن لاي مشترك الانسحاب والتوقف عن

المشاركة في اي وقت يختاره. وكل حقوقه سوف يتم احترامها حتى لو اختار الانسحاب.

نموذج الموافقة:

أوقع على أنني:

- قرأت كل المعلومات المتوفرة عن الدراسة ، كما كان لي فرصة طرح الأسئلة وقد تم الاجابة عليها جميعاً.

- فهمت ان الاشتراك في هذه الدراسة تطوعي وانني حر في الانسحاب في أي وقت بدون أن أعطي أي سبب.

- أخذ دور للاشتراك في هذه الدراسة.

توقيع المشترك: _____

اسم المشترك: _____

التاريخ: / /

يوم / شهر / سنة.

توقيع الباحث: _____

اسم الباحث: _____

التاريخ: / /

يوم / شهر / سنة.

III. 10. الملخص Summary:

● مقدمة :

يُستهلك عصير الليمون الهندي بشكل واسع مؤخراً باعتباره يحمي من الأمراض القلبية الوعائية والسرطان. لكن وجد أن هذا العصير يثبط أنزيمات السيتوكروم CYP3A4 المعوية المسؤولة عن الاستقلاب قبل الجهازى للعديد من الأدوية. كما وجد أنه يملك أيضاً تأثيراً تثبيطياً على مضخة P-glycoprotein الموجودة في جدار الأمعاء والتي تنقل الكثير من ركازات السيتوكروم P3A4. وبالتالي، ومن خلال تثبيط هذه الأنظمة الأنزيمية فإن عصير الليمون الهندي يغير الحرائك الدوائية للعديد من الأدوية مؤدياً الى زيادة تراكيزها البلازمية .

● هدف البحث :

تحري تأثير عصير الليمون الهندي على الحرائك الدوائية للايبوبروفين ٤٠٠ ملغ بعد إعطائه فموياً.

● المواد والطرق :

تم إجراء دراسة سريرية استباقية معشاة ، ثنائية المرحلة ، وحيدة الجرعة بنظام مقطعي متصالب . شملت الدراسة ١٢ متطوع ذكر بعد صيام طويل مقارنة مع الماء كشاهد. تم اعطاؤهم ٤٠٠ ملغ من أقراص الايبوبروفين مع الماء أو عصير الليمون الهندي خلال فترتين مختلفتين بنظام مقطعي متصالب. بعد إعطاء الجرعات ، تم سحب عينات الدم لمدة ١٠ ساعات ثم تفيلها للحصول على البلازما الطافية والتي حفظت في انابيب ابندروف في الدرجة °C -20 من أجل التحليل .

قيست متثابتات الحرائك الدوائية باستخدام طريقة الاستشراب السائل عالي الأداء باستخدام مشكاف الاشعة فوق البنفسجية وبطول موجة ٢٢٥ نانومتر .

● النتائج :

أظهرت الدراسة أن عصير الليمون الهندي أدى الى زيادة في سرعة وامتداد التوافر الحيوي للايبوبروفين حوالي 30%: حيث زادت قيمة Cmax

من 38.682 مكغ/مل الى 50.05 مكغ/مل ، تراوحت قيم CI 90% بين (50.21-95.7) ، كمازادت المساحة تحت المنحني AUC_{0-∞} من 151.161 مكغ.سا/مل الى 186.911 مكغ. سا/مل ، CI 90% تراوحت بين (103.6 -59.48).

● الخلاصة :

أظهرت الدراسة وجود تداخل دوائي واضح احصائياً بين عصير الليمون الهندي والايوبروفين والذي أدى الى زيادة في التوافر الحيوي له بنسبة % 30. حيث لوحظ زيادة في الامتصاص وبالتالي زيادة في التوافر الحيوي وذلك من خلال تثبيط P-gp الموجودة في الأمعاء وليس السيتوكروم المعوي. لذلك يستطيع المرضى في هذه الحالة أخذ جرعة واحدة منخفضة من الدواء مع العصير للحصول على فعالية أكبر وأثار جانبية أقل .

● العنوان المختصر :التداخل الدوائي الغذائي بين عصير الليمون الهندي والايوبروفين.

● الكلمات المفتاحية: ايوبروفين . عصيرالليمون الهندي . حرائك دوائية . توافر حيوي. P-gp.

Abstract:

● Introduction:

Grapefruit juice is consumed widely in today's health conscious world as a protector against cardiovascular diseases and cancers. It has however, been found to be an inhibitor of the intestinal cytochrome P3A4 system, which is responsible for the first pass metabolism of many drugs. The P-glycoprotein pump, found in the brush border of the intestinal wall which transports many of these cytochrome

P3A4 substrates, has also been implicated to be inhibited by grapefruit juice. By inhibiting these enzyme systems, grapefruit juice alters the pharmacokinetics of a variety of medications, leading to elevation of their serum concentrations.

- **Aim of the study:**

The main purpose of this work was to investigate the effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics of ibuprofen 400 mg after oral administration.

- **Materials and Methods:**

This was a comparative, randomized, two-period, single dose, crossover study investigating the effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics of ibuprofen tablets (equivalent to 400 mg

ibuprofen) in healthy male participants under fasting conditions compared with water as a control. Twelve healthy normal adult males were administered 400 mg ibuprofen with grapefruit juice or water at two different periods in a crossover study. After dosing, blood samples were withdrawn for 10 hours and then centrifuged to obtain plasma, which kept frozen at -20 °C in an eppendorf tubes for analysis.

pharmacokinetics parameters were measured using the method of high performance liquid chromatography using an UV detector with wavelength of 225 nm.

- **Results :**

Study results showed that grapefruit juice increased the rate and extent of ibuprofen bioavailability to around 30% . maximum plasma concentration (C_{max}) increased; from 38.682µg/ml to 50.05µg/ml , 90% confidence interval (90% CI)

50.21-95.7 and area under the plasma concentration time curve from zero to infinity (AUC_{∞}); from 151.161 μ g.hr/ml to 186.911 μ g.hr/ml , 90% CI(59.48-103)

- **Conclusion:**

this study shows that there is a significant interaction between grapefruit juice and ibuprofen that increases the bioavailability by 30%. It was observed an increase in absorption and thus an increase in bioavailability through inhibition of P-gp in the intestine and not an intestinal cytochrome. So patients can in this case take one low dose of medicine with grapefruit juice for greater effectiveness and fewer side effects.

- **Running title** : Drug – food interaction between Grapefruit juice and Ibuprofen.
- **Key words** : Ibuprofen. Grapefruit juice . Pharmacokinetics . Bioavailability.P-gp.

REFERENCES

- 1 .Clifford, C.P., Adams, D.A., Murray, S., et al. The cardiac effects of terfenadine after inhibition of its metabolism by grapefruit juice. *Eur J Clin Pharmacol*, 1997; 52: 311-315.
2. Rau, S.E., Bend, J.R., Arnold, M.O., et al. Grapefruit juice-terfenadine single-dose interaction: magnitude, mechanism, and relevance. *Clin Pharmacol Ther*, 1997; 61(4): 401-409.
3. Lown, K.S., Biley, D.G., Fontana, R.J., et al. Grapefruit juice increases felodipine oral availability in humans by decreasing intestinal CYP3A protein expression. *J Clin Invest*, 1997; 99(10): 2545-2553.
4. Lundahl, J., Regardh, C.G., Edgar, B, Johnson, G. Effects of grapefruit juice ingestion – pharmacokinetics and haemodynamics of intravenously and orally administered felodipine in healthy men. *Eur J Clin Pharmacol*, 1997; 52: 139-145. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 261: 1195-1199
5. Kupferschmidt, H.H., Ziegler, W.H., et al. Interaction between grapefruit juice and midazolam in humans. *Clin Pharmacol Ther*, 1995; 58(1): 20-28.
6. Ducharme, M.P., Warbasse, L.H., Edwards, D.J. Disposition of intravenous and oral cyclosporine after administration with grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther*, 1995; 57(5): 485-491.
7. Gallo, J., Gall, E., Gillespie, W., Albert, K., and Perrier, D. Ibuprofen kinetics in plasma and synovial fluid of arthritic patients. *J Clin Pharmacol*, 1986; 26:65.
8. Miniscalco, A., Lundahl, J., Regardh, C.H., et al. Inhibition of dihydropyridine metabolism in rat and human liver microsomes by flavonoids found in grapefruit juice. *J Pharmacol Exp Ther*, 1992; 261:1195-1199

9. Runkel, M., Tegtmeier, M., Legrum, W. Metabolic and analytical interactions of grapefruit juice and 1,2-benzopyrone (coumarin) in man. *Eur J Clin Pharmacol*, 1996; 50:225-230.
10. Miniscalco, A., Lundahl, J., Regardh, C.G., Edgar, B., Eriksson, U.G. Inhibition of dihydropyridine metabolism in rat and human liver microsomes by flavonoids found in grapefruit juice. *J. Pharmacol Exp. Ther*, 1992; 261:1195–1199.
11. Ho, P.C., Wanwimolruk, S., and Saville, D.J. Inhibition of CYP3A4 in human liver microsomes by bioflavonoids and coumarin derivatives found in grapefruit juice. *Pharmacol Sci*, 1998; 1 (S38) Suppl.
12. Dresser GK, Bailey DG, Leake BF, Schwarz UI, Dawson PA, Freeman DJ, Kim RB: **Fruit juices inhibit organic anion transporting polypeptide-mediated drug uptake to decrease the oral availability of fexofenadine.** *Clin Pharmacol Ther* 2002, **71**:11-20
13. USP 34 NF 29. 2011.
14. Rowe, R.C., Sheskey, P.J., and Quinn, M.E. *Handbook of Pharmaceutical Excipient*. Pharmaceutical Press, 2009.
15. Brunton, L., Chabner, B., Knollman, B. Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics (12th ed.) New York: McGraw-Hill, 2010.
16. Department of Health. The British Pharmacopoeia (99th ed.) London, UK: Stationery Office Books, 1999.
17. Brunton, L., Lazo, J., and Parker, K. Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: McGraw Hill, 2005.
18. Mitchell, J.A., Akarasereenont, P., Thiemermann, C., Flower, R.J., and Vane, J.R. Selectivity of nonsteroidal

antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; 90:11693.

19. Tegeder, I., Pfeilschifter, J., and Geisslinger, G. Cyclooxygenase-independent actions of cyclooxygenase inhibitors. *FASEB J*, 2001; 15:2057.

20. Martin, W., Koselowske, G., Toberich, H., Kerkmann, T., Mangold, B. and Augustin, J. Pharmacokinetics and absolute bioavailability of ibuprofen after oral administration of ibuprofen lysine in man. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 1990; 11: 265-278.

21. Ceppi Monti, N., Gazzaniga, A., Giancesello, V., Stroppolo, F., and Lodola, E. Activity and pharmacokinetic of a new oral dosage form of soluble ibuprofen. *Arzneimittel-Forschung*, 1992; 42: 556-5.

22. Cheng, H., Rogers, J.D., Demetriades, J.L., Holland, S.D., Seibold, J.R. and Depuy, E. Pharmacokinetics and bioinversion of ibuprofen enantiomers in humans. *Pharmaceutical Research*, 1994; 11: 824-830.

23. Levine, M.A., Walker, S.E., and Paton, T.W. The effect of food or sucralfate on the bioavailability of S(-) and R(-) enantiomers of ibuprofen. *Journal of Clinical Pharmacology*, 1992; 32:1110-1114.

24. Jamali, F., Mehvar, R., Russell, A.S., Sattari, S., Yakimets, W.W., and Koo, J. Human pharmacokinetics of ibuprofen enantiomers following different doses and formulations: intestinal chiral inversion. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1992; 81:221-225

25. C. H. Kleinbloesem et al., *Arzneimittelforschung*; 1995, 45, 1117–1121.

26. Ibert KS, Gernaat CM: Pharmacokinetics of ibuprofen. *Am J Med* 1984, 77:40-46.
27. Laska EM, Sunshine A, Marrero I, Olson N, Siegel C, McCormick N: The correlation between blood levels of ibuprofen and clinical analgesic response. *Clin Pharmacol Ther* 1986, 40:1-7.
28. Geisslinger, G., Schuster, O., Stock, K.P., Loew, D., Bach, G.L., and Brune, K. Pharmacokinetics of S(-)- and R(-)-ibuprofen in volunteers and first clinical experience of S(-)-rheumatoid arthritis. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 1990; 38:493-497.
29. Heyman, E., Morag, I., Batash, D., Keidar, R., Baram, S., and Berkovitch M. Closure of patent ductus arteriosus with oral ibuprofen suspension in premature newborns: a pilot study. *Neoreviews*, 2003; (11):e354.
30. Olive, G. Analgesic/antipyretic treatment: ibuprofen or acetaminophen? *Therapie (French)*, 2006; 61:151-160.
31. Ritschel, W.A. and Kearns, G.L. 2004 Handbook of Basic Pharmacokinetics including Clinical Applications, 6th ed., American Pharmaceutical Association, Washington, DC ISBN 1-58212-054-4
32. Smith, D.A. and Jones, B.C. Speculations on the substrate structure-activity relationship (SSAR) of cytochrome P450 enzymes. *Biochemical Pharmacology*, 1992; 44:2089-2098.
33. Leemann, T.D., Transon, C., Bonnabry, P., and Dayer, P. A major role for cytochrome P450TB (CYP2C subfamily) in the actions of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Drugs under Experimental and Clinical Research*, 1993; 19:189-195.
34. Rudy, A.C., Knight, P.M., Brater, D.C., and Hall, S.D. Stereoselective metabolism of ibuprofen in humans: administration of R-, S- and racemic ibuprofen. *Journal of*

Pharmacology and Experimental Therapeutics, 1991; 259:1133-1139.

35. Adams, S.S., Cliffe, E.E., Lessel, B., and Nicholson, J.S. Some biological properties of 2-(4-isobutylphenyl)-propionic acid. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1967; 56:1686.

36. Pettersen, J.E., Ulsaker, G.A., and Jellum, E. Studies on the metabolism of 2,4-isobutylphenylpropionic acid (ibuprofen) by gas chromatography and mass spectrometry. Dialysis fluid, a convenient medium for studies on drug metabolism. *Journal of Chromatography*, 1978; 145:413-420.

37. Kirchheiner, J., Meineke, I., Freytag, G., Meisel, C., Roots, I., and Brockmoller, J. Enantiospecific effects of cytochrome P450 2C9 amino acid variants on ibuprofen pharmacokinetics and on the inhibition of cyclooxygenases 1 and 2. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2002; 72:62-75.

38. Adams, S.S., Bough, R.G., Cliffe, E.E., Lessel, B., and Mills, R.F.N. a, Absorption, distribution and toxicity of ibuprofen. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1969; 15:310-330.

39. Jamali, F., Singh, N.N., Pasutto, F.M., Russell, A.S., and Coutts, R.T. Pharmacokinetics of ibuprofen enantiomers in humans following oral administration of tablets with different absorption rates. *Pharmaceutical Research*, 1988; 5:40-43

40. Pharmacia & Upjohn Company. Motrin (ibuprofen tablets USP) prescribing information. Kalamazoo, MI; 2000 Apr.

41. McNeil, M. Ibuprofen (suspension, oral drops, chewable tablets, caplets) prescribing information. (dated 1994 Dec). In: Physicians' desk reference. 56th ed. Montvale, NJ: Medical Economics Company Inc; 2002; 2002-5.

42. Wyeth. Advil (ibuprofen) Children's chewable tablets labeling (2002). From Wyeth Consumer Healthcare web site.

43. Wyeth. Advil (ibuprofen) junior strength chewable tablets labeling (2002). From Wyeth Consumer Healthcare web site.

44. Matchar, D.B., Young, W.B., Rosenberg, J.H., et al. Evidence-based guidelines for migraine headache in the primary care setting: pharmacological management of acute attacks. St. Paul, MN, 2001; From the American Academy of Neurology web site.

45. Soll, A.H., Weinstein, W.M., Kurata, J. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and peptic ulcer disease. *Ann Intern Med*, 1991; 114:307-19.

46. Whitehall-Robins. Advil Liqui-Gels(ibuprofen) solubulized capsules prescribing information. El Paso, TX; 1998..

47. Morton, J. Grapefruit. In: Fruits of warm climates. Julia F. Morton, and Miami, F.L., 1987; 152-158.

48. Reagor, L., Gusman, J., McCoy, L., Carino, E., Heggors, J.P. The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: I. An in vitro agar assay. *J Altern Complement Med*, 2002; 8(3):325-332.

49. Heggors, J.P., Cottingham, J., Gusman, J., et al. The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: II. Mechanism of action and in vitro toxicity. *J Altern Complement Med*, 2002; 8(3):333-340.

50. Oyelami, O.A., Agbakwuru, E.A., Adeyemi, L.A., and Adedeji, G.B. The effectiveness of grapefruit (*Citrus paradisi*) seeds in treating urinary tract infections. *J Altern Complement Med*, 2005; 11(2):369-371.

51. Gorinstein, S., Caspi, A., Libman, I., Katrich, E., Lerner, H.T., Trakhtenberg S. Fresh israeli jaffa sweetie juice

consumption improves lipid metabolism and increases antioxidant capacity in hypercholesterolemic patients suffering from coronary artery disease: studies in vitro and in humans and positive changes in albumin and fibrinogen fractions. *J Agric Food Chem*, 2004; 52(16):5215-5222.

52. Gorinstein, S., Caspi, A., Libman, I., et al. Red grapefruit positively influences serum triglyceride level in patients suffering from coronary atherosclerosis: studies in vitro and in humans. *J Agric Food Chem*, 2006; 54(5):1887-1892.

53. Reshef, N., Hayari, Y., Goren, C., Boaz, M., Madar, Z., and Knobler, H. Antihypertensive effect of sweetie fruit in patients with stage I hypertension. *Am J Hypertens*, 2005; 18(10):1360-1363.

54. Nilsson, I. Grapefruit juice caused hypotension [in Swedish]. *Lakartidningen*, 1997; 94(3):112-113.

55. Fujioka, K., Greenway, F., Sheard, J., and Ying, Y. The effects of grapefruit on weight and insulin resistance: relationship to the metabolic syndrome. *J Med Food*, 2006; 9(1):49-54.

56. Staudte, H., Sigusch, B.W., and Glockmann, E. Grapefruit consumption improves vitamin C status in periodontitis patients. *Br Dent J* .2005; 199(4):213-217..

57. Grande, L.A., Mendez, R.D., Krug, R.T., and Verschuyt, E.J. Attention-grapefruit! *Lancet*, 2009; 373(9670):1222.

58. Ferdman, R.M., Ong, P.Y., and Church, J.A. Pectin anaphylaxis and possible association with cashew allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2006; 97(6):759-760.

59. Ernst, E. Herbal medicinal products during pregnancy: are they safe? *BJOG*, 2002; 109(3):227-235.

60. Bailey, D.G., Spence, J.D., Edgar, B., Bayliff, C.D., and Arnold, J.M. Ethanol enhances the hemodynamic effects of felodipine. *Clin Invest Med*, 1989; 12 (6): 357–62.
61. Dahan A., Amidon GL. Grapefruit juice and its Constituents augment colchicine intestinal absorption: potential hazardous interaction and the role of p-glycoprotein. *Pharm Res*. 2009 Apr; 26(4):883-92. doi: 10.1007/s11095-008-9789-7. Epub 2008 Dec 2.
62. Dresser, G.K., Bailey, D.G., Leake, B.F., Schwarz, U.I., Dawson, P.A., Freeman, D.J., and Kim, R.B. Fruit juices inhibit organic anion transporting polypeptide-mediated drug uptake to decrease the oral availability of fexofenadine. *Clin Pharmacol Ther*, 2002; 71:11-20.
63. Lundahl, J., Regardh, C.G., Edgar, B., and Johnsson, G. Effects of grapefruit juice ingestion-pharmacokinetics and hemodynamics of intravenously and orally administered felodipine in healthy men. *Eur J Clin Pharmacol*, 1997; 25:139-145.
64. Lundahl, J., Regardh, C.G., Edgar, B., and Johnsson, G. Relationship between time of intake of grapefruit juice and its effect on pharmacokinetics and pharmacodynamics of felodipine in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol*, 1995; 49:61-67.
65. Saito, M., Hirata-Koizumi, M., Matsumoto, M., Urano, T., and Hasegawa, R. Undesirable effects of citrus juice on the pharmacokinetics of drugs: focus on recent studies. *Drug Saf*, 2005; 28:677-94.
66. Kupferschmidt, H.H., Fattinger, K.E., Ha, H.R., Follath, F., Krahenbuhl, S. Grapefruit juice enhances the bioavailability of the HIV protease inhibitor saquinavir in man. *Br J Clin Pharmacol*, 1998, 45:355-359.

67. Greenblatt, D.J., von Moltke, L.L., Harmatz, J.S., Chen, G., Weemhoff, J.L., Jen, C., Kelley, C.J., LeDuc, B.W., Zinny, M.A. Time course of recovery of cytochrome p450 3A function after single doses of grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther*, 2003; 74:121-9.
68. Bailey, D.G., Dresser, G.K. Interaction between grapefruit juice and cardiovascular drugs. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2004; 4:281-297.
69. Dresser, G.K., Bailey, D.G. The effects of fruit juices on drug disposition: a new model for drug interactions. *Eur J Clin Invest*, 2003; 33(Suppl 2):10-6.
70. Reagor, L., Gusman, J., McCoy, L., Carino, E., Heggors, J.P. The effectiveness of processed grapefruit-seed extract as an antibacterial agent: I. An in vitro agar assay. *J Altern Complement Med*. 2002; 8(3):325-332.
71. Shirasaka Y1, Kuraoka E, Spahn-Langguth H, Nakanishi T, Langguth P, Tamai I. Species difference in the effect of grapefruit juice on intestinal absorption of talinolol between human and rat. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010 Jan;332(1):181-9. doi: 10.1124/jpet.109.159756. Epub 2009 Sep 24.
72. Ross, S.A., Ziska, D.S., Zhao, K., ElSohly, M.A. Variance of common flavonoids by brand of grapefruit juice. *Fitoterapia*, 2000; 71:154-61.
73. Ha, H.R., Chen, J., Leuenberger, P.M., Freiburghaus, A.U., and Follath, F. In vitro inhibition of midazolam and quinidine metabolism by flavanoids. *Eur J Clin Pharmacol*, 1995; 48:367-371.
74. Kupferschmidt, H.H., Ha, H.R., Ziegler, W.H., Meier, P.J., Krahenbuhl, S. Interaction between grapefruit juice and midazolam in humans. *Clin Pharmacol Ther*, 1995; 58:20-28.

75. Lohezic-Le Devehat, F., Marigny, K., Doucet, M., and Javaudin, L. Grapefruit juice and drugs: a hazardous combination? *Therapie*, 2000; 57:432-45.
76. Kakar, S.M., Paine, M.F., Stewart, P.W., Watkins, P.B. 6'7'-Dihydroxybergamottin contributes to the grapefruit juice effect. *Clin Pharmacol Ther*, 2004; 75:569-79.
77. Fukuda, K., Ohta, T., Oshima, Y., Ohashi, N., Yoshikawa, M., and Yamazoe, Y. Specific CYP 3 A4 inhibitors in grapefruit juice: furocoumarin dimmers as components of drug interaction. *Pharmacogenetics*, 1997; 7:391-396.
78. Giamperi, L., Fraternali, D., Bucchini, A., and Ricci, D. Antioxidant activity of Citrus paradisi seeds glyceric extract. *Fitoterapia*, 2004; 75(2):221-224.
79. Sun, J. D-Limonene: safety and clinical applications. *Altern Med Rev*, 2007; 12(3):259-264.
80. Kivisto, K.T., Lamberg, T.S., Kantola, T., and Neuvonen, P.J. Plasma buspirone concentrations are greatly increased by erythromycin and itraconazole. *Clin Pharmacol Ther*, 1997; 62:348-354.
81. Sakamoto, S., Sato, K., Maitani, T., and Yamada, T. Analysis of components in natural food additive "grapefruit seed extract" by HPLC and LC/MS [in Japanese]. *Eisei Shikenjo Hokoku*;1996;(114):38-42.
82. Ranganna, S., Govindarajan, V.S., and Ramana, K.V. Citrus fruits-varieties, chemistry, technology, and quality evaluation. Part II. Chemistry, technology, and quality evaluation. A. Chemistry. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1983; 18(4):313-386.
83. Ranganna, S., Govindarajan, V.S., and Ramana, K.V. Citrus fruits. Part II. Chemistry, technology, and quality evaluation. B. Technology. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1983; 19(1):1-98.

84. Ensminger, M.E., and Ensminger, A.H. Grapefruit. In: Foods & Nutrition Encyclopedia, Vol 1. (2nd ed.), 1993; Boca Raton, FL: CRC Press; 1097-1099.
85. Carper, J. Grapefruit. In: The Food Pharmacy: Dramatic New Evidence That Food is Your Best Medicine, 1988. New York, NY: Bantam Books,213-215.
86. Ashraf, M. and Lionel P, R. Handbook of drug interactions, 2004; Human Press. 10 :319-337.
87. Angela, D.M., Adam M., et al. Drug metabolism, transport and the influence of hepatic disease. Micheal, E.B., Leslie, M.S., et al. Applied pharmacokinetics and pharmacodynamics, 2006; 4:121-157.
88. Nebert, D.W. and Russell, D.W. Clinical importance of the cytochromes p450. Lancet, .2002; 360:1155-1162
- 89 .Rendic, S. Summary of information on human CYP enzymes: human p450 metabolism data. Drug Metab Rev, 2002; 34:83-448.
90. Michael, D.C. Human drug metabolism. John Wiley, 2005;2:24-36.
91. Chandra, P. and Brouwer, K.L.R. The complexities of hepatic drug transport: current knowledge and emerging concepts. *Pharm Res*, 2004; 21:719-735.
92. US Food and Drug Administration . Guidance for industry bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products. In: US Department of Health and Human Services; Center for Drug Evaluation and Research, editor. Rockville, MD: US Food and Drug Administration; 2003.
- 93 . L1UXiang-feng,LINa (Linyi Peoples Hospital ,Linyi ,276003); Development of Caco2 cell model in drug researches[J]; *Qilu Pharmaceutical Affairs* ; 2007-05.