

تحضير ميكروسفيرات الألبينات الحاوية على الأموكسيسيلين بطريقة الاستحلاب/ التهلم الداخلي

الدكتورة: فاتن مدني*
الدكتورة: لمى الهوشي**
سوسن أحمد***

تاريخ الإيداع 18 / 4 / 2012. قُبل للنشر في 17 / 5 / 2012

□ ملخص □

يهدف هذا البحث إلى تحضير شكل صيدلاني حديث متناهٍ في الصغر يسمى كريات دقيقة microspheres غير محضّر حتى الآن على مستوى الصناعة الصيدلانية المحلية، باستخدام متماثر ألبينات الصوديوم، ليكون التطبيق الأول لتقانة التمحفظ الدقيق microencapsulation.

تم اختيار مادة الأموكسيسيلين ثلاثي المئات كنموذج للمادة الدوائية المراد تحضير كريات دقيقة منها، وتم تطبيق طريقة التهلم الداخلي enternal gelation لكبسلة الأموكسيسيلين. وبطبيق هذه الطريقة وتحت شروط معينة تم الحصول على كريات دقيقة للأموكسيسيلين بشكل كروي وأبعاد وسطية بين 19.06 و 26.06 ميكرون. ووصلت نسبة الكبسلة حتى 61.05%. تمت دراسة تأثيرات متغيرات الصياغة وشروط العمل على أبعاد الكريات الدقيقة وعلى نسبة الكبسلة، إذ ازدادت الأبعاد بزيادة كمية المتماثر المستخدم، ولم تتأثر بتغيير كمية الأموكسيسيلين أو العامل المشبك (Ca^{2+}) وتناقصت بزيادة سرعة التحريك. أما نسبة الكبسلة فازدادت بزيادة كمية ألبينات الصوديوم، وزيادة كمية المادة الفعالة (إلى حدّ معين) وتناقصت بزيادة كمية العامل المشبك (Ca^{2+}) وكذلك بزيادة سرعة التحريك.

الكلمات المفتاحية: التمحفظ الدقيق، كريات دقيقة، ألبينات الصوديوم، التهلم الداخلي.

*مدرسة - قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية
**مدرسة - قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.
***طالبة دراسات عليا (ماجستير) - قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

Preparing Of Alginate Microspheres Containing Amoxicilline Using Emulsification/ Enternal Gelation Method

Dr. Faten madani *
Dr. Lama alhaushy **
Sawsan ahmad ***

(Received 18 / 4 / 2012. Accepted 17 / 5 / 2012)

□ ABSTRACT □

the aim of this study is to prepare a new and very tiny pharmaceutical dosage form (microsphere) which has not been prepared till now by the local pharmaceutical industry. the microspheres are prepared using sodium alginate, to be the first in microencapsulation technology application. amoxicilline trihydrate was chosen as a model drug for preparing alginate microspheres. the internal gelation method was applied to prepare alginate microspheres containing amoxicilline trihydrate. amoxicilline microspheres with spherical shape and mean diameter ranging between 19 and 26 micron have been obtained, and encapsulation efficiency reached 61.05%. the effect of formulation and operation paramteres on both the size of microspheres and encapsulation efficiency (ee%) has been studied. the mean diameter increased with increasing sodium alginate quantity, and not affected by amoxicilline and crosslinking agent (ca^{2+}) quantities. the size decreased with increasing speed agitation. the encapsulation efficiency increased continuously with sodium alginate quantity, but it increased just to a certain limit with increasing amoxicilline quantity, whereas it decreased with increasing the crosslinking agent (ca^{2+}) quantity and speed agitation.

key words: microencapsulation, microspheres, sodium alginate, internal gelation.

* Assistant Professor,Pharmaceutical Department, Faculty of Pharmacy,Tishreen University,Lattakia,Syria

** Assistant Professor,Pharmaceutical Department, Faculty of Pharmacy,Tishreen University,Lattakia,Syria

*** Postgraduate Student,Pharmaceutical Department,Faculty of Pharmacy,Tishreen University, Lattakia, Syria.

مقدمة

يعود مبدأ التمحفظ الدقيق microencapsulation إلى الثلاثينيات من القرن الماضي حيث يعدّ ورق النسخ اللاكروني المحضّر بتقانة التمحفظ الدقيق بطريقة القوصرة coacervation أول منتج مسوق عالمياً من منتجات التمحفظ الدقيق [3]. وزاد الاهتمام مؤخراً (خلال القرن الماضي والحالي) بهذه التقانة لما تمثله من طريقة ثورية في تصميم أنظمة إيتاء الدواء، فضلاً عن تطبيقات أخرى في مجال المداواة وتشخيص الأمراض [18]. يعني التمحفظ الدقيق كقنّانة عملية تحضير جسيمات بأبعاد ميكرونية (1-5000 ميكرون) إما أن تكون مؤلفة من قشرة أو فلم يحيط بمحتوى سائل أو صلب أوغاز (microcapsules) أوأن يتوزع المحتوى بشكل متجانس ضمن هيكل أو شبكة الجسيم (microspheres) [3,23]. تستخدم المتماثرات (polymers) الطبيعية أو الصناعية في تحضير الجسيمات الميكروية والتي توظف ويستفاد من ميزاتهما في مجالات مختلفة صيدلانية وغير صيدلانية [2]. إلا أنه تفضل المتماثرات الطبيعية خصوصاً للتطبيقات الطبية والصيدلانية نظراً لكونها دروكة حيويّاً (biodegradable) وغير سامة ومتوافقة مع العديد من المواد المراد كبسلتها [18]. من المتماثرات الطبيعية والتي تستخدم على نطاق واسع في كبسلة مواد متنوعة ضمن الأوساط المائية: ألجينات الصوديوم (Alg^-Na^+) [17] [18]. تتدرج ألجينات الصوديوم ضمن عديدات السكاريد الطبيعية، حيث تتوافر في العديد من المصادر الطبيعية وبشكل أساسي في أشنة البحر البنية marine brown alge، وهي من عديدات السكاريد الخيطية التي يعتمد بناؤها على وحدات ثنائية السكر، أي أنّ الوحدة الأساسية في بناء متماثر الألبينات مكونة من ارتباط حمضين سكريين برابط غليكوزيدي 1→4 هما α -L-guluronic acid و β -D-mannuronic acid [6]. تتميز الألبينات بقدرتها على التهام ضمن الشروط المعتدلة بوجود الشوارد الموجبة عديدة التكافؤ وخصوصاً الثنائية منها مثل Ca^{+2} و Mg^{2+} [6] [17] [21] وبفضل هذه الخصائص الفريدة للألبينات استخدمت في كبسلة العديد من المواد الدوائية ومنتجات التقانة الحيوية، فعلى سبيل المثال تمّ استخدام كريات الألبينات الدقيقة بهدف زيادة ثبات بعض الجزيئات الفعالة مثل: الأنسولين [16]، لقاح ال BCG [8]، الهيموغلوبين [20]، بعض الأنزيمات مثل السويتليزير subtilisin المستخدم في تركيب بعض المنظفات [4]، والغلوكوز أوكسيداز [24] واستخدمت ميكروسفيرات الألبينات أيضاً في إيصال الأدوية هدفيّاً للكولون مثل: إيصال 5-أمينوساليسيليك أسيد [12] أولتحسين ثبات وزيادة توافر العوامل العلاجية في موقع التأثير مثل: خميرة السكارومايسيز saccharomyces boulardiiby [9] وفي الحصول على تحرر مستديم لبعض الأدوية مثل: العامل المحرض على نمو البطانة الوعائية vascular endothelial growth factor (VEGF) [11]، النفيديبين [14] أسكلوفير الصوديوم [13] وقد وجدت تطبيقات أخرى لها في إمكانية الإدخال الفموي للأنسولين [2] وأيضاً لتقنيع الطعم الكريه لبعض الجزيئات الدوائية مثل: الفاموتيدين [25].

أهمية البحث وأهدافه

يعتبر هذا البحث من البحوث السباقّة في مجال الصناعة الصيدلانية المحلية ونأمل من خلاله أن نتمكن من فتح آفاق حديثة للصناعة الصيدلانية الدوائية المحلية، والتوصّل لوضع هذا الشكل الصيدلاني الحديث موضع التطبيق

باستخدام تقانات تصنيعية بسيطة، والاستفادة من ميزاته واستخدامه في تصنيع بعض المواد الدوائية المحلية ذات الاستخدام المتكرر بهدف تحسين خصائصها العلاجية وزيادة قبول المريض لها وذلك من خلال:

- (1) تحضير شكل صيدلاني حديث متناه في الصغر (الميكروسفيرات).
- (2) كبسلة المادة الدوائية (الأموكسيسيلين) ضمن الميكروسفيرات المحضرة.

طرائق البحث و مواد

المواد

ألبينات الصوديوم عالية اللزوجة S0309 (Sisco research laboratories Mumbai India)

الأموكسيسيلين تري هيدرات (الانحلالية بالماء 1 غ /370 مل وبالإيتانول 1 غ /2000 مل وينحل بالمحاليل الحمضية والقلوية الممددة، pH نقطة التعادل الكهربائي =4.7) (مقدم من شركة دوائية وطنية) كربونات الكالسيوم فائقة النعومة (Qualikerms NewDelhi-110006 India) ومواد أخرى من درجة النقاوة المخبرية: سبان 80، زيت البارافين، حمض الخلّ الثلجي، إيتري إيتيلي، ماء منزوع الشوارد.

الطرق

تحضير الميكروسفيرات

تم استخدام طريقة A.J.Rebeiro وزملائه 2006 للتهلم الداخلي (مع تعديل)، لتحضير ميكروسفيرات الأموكسيسيلين. تم تحضير محلول ألبينات الصوديوم (1%، 1.5%، 2%) (w/w) باستخدام الماء منزوع الشوارد بدرجة الحرارة العادية باستخدام محرك ميكانيكي (HeidolphRZR2012) وبعد ترك المحلول للراحة لمدة ساعتين للتخلص من فقاعات الهواء الناتجة عن التحريك تمت بعثرة كمية من الأموكسيسيلين (0.25، 0.5، 1) غ ضمن محلول الألبينات باستخدام المحرك الميكانيكي نفسه ثم تمت إضافة حجم محدد (3.6، 7.2، 10، 14.4) مل من معلق كربونات الكالسيوم 5% (w/v) لمبعثر الألبينات والأموكسيسيلين بحيث تكون النسبة الوزنية $\frac{Ca^{2+}}{Alg-Na^{+}}$ مساوية لـ (0.12، 0.24، 0.33، 0.48) على الترتيب، وبعد التحريك حتى تمام التجانس تم استحلاب المزيج ضمن زيت البارافين المتضمن سبان 80 بنسبة 1% (v/v) (مستحلب م/ز ونسبة الطور الداخلي إلى الخارجي 30:70) وبعد 15 دقيقة من الاستحلاب بوساطة المحرك الميكانيكي بسرعة (200، 400، 800 دورة/د) تمت إضافة 20 مل من زيت البارافين المبعثر ضمنها حمض الخلّ الثلجي إلى المستحلب الخاضع للتحريك بحيث تكون النسبة المولية $\frac{Acetic.ac}{Ca^{2+}}$ في الوسط ثابتة دائماً وتساوي 3.5. إن pH المستحلب (microprocessor pH meter pH211) يساوي 4.2. استمر التحريك لمدة ساعة للسماح بالانحلال الجيد لكربونات الكالسيوم وبعد تهلم الألبينات وتشكيل الميكروسفيرات تم فصل الميكروسفيرات عن الوسط بالترشيح باستخدام مراشح عادية (Belgium paper zelpa) (ثخانتها 0.33 ملم) ومن ثم الغسيل باستخدام الإيتري الإيتيلي (والذي يعتبر أيضاً من العوامل المصلبة للألبينات) واستمر الغسل حتى التأكد من عدم وجود القطرات الزيتية في الساحة المجهرية وتم ذلك بفحص عينات باستخدام المجهر الضوئي (olympusCH₂).

دراسة خصائص الميكروسفيرات المحضرة

فحص المظهر العام للمحضّر

تم بواسطة المجهر الضوئي (OlympusCH₂) بقوة التكبير 20× فحص المظهر العام للمحضّر (شكل الجسيمات ووجود شوائب) كما استخدم المجهر الضوئي (wet zlar BX 300) بقوة التكبير 20× لقياس أبعاد كريات الأموكسيسيلين الدقيقة بعد تحضيرها وذلك بقياس أبعاد 300 جسيمة ومن ثم رسم منحني توزع الأبعاد وبالتالي تحديد البعد الوسطي لكل تحضيرة.

تحديد نسبة الكبسلة Encapsulation Efficiency

تم تحديد نسبة الكبسلة عن طريق تحرير كامل كمية الأموكسيسيلين (المكبسلة والمدمصة على السطح) من وزن محدد (100 ملغ) من الميكروسفيرات وذلك بوضع هذه الميكروسفيرات مع التحريك في حجم محدد من محلول هيدروكسيد الصوديوم (pH = 10) لمدة ساعتين وبعد تمام التحرر يتم ترشيح الوسط باستخدام مرشح عادية (Belgium paper zelpa) كزّر باستخدام مرشح ميكرونية (whatman® 0.45 Micron)، وتم قياس تركيز الأموكسيسيلين باستخدام السيكتروفوتومتر (PGinstrument.ltd) عند طول الموجة 247 نانومتر باستخدام المعادلة $(y = 16.07x + 0.037, r^2 = 0.993)$ وتم حساب نسبة الكبسلة من العلاقة :

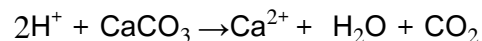
$$\text{نسبة الكبسلة \% EE} = \frac{\text{كمية الأموكسيسيلين الفعلية ضمن الوزن المأخوذ من الميكروسفيرات}}{\text{كمية الأموكسيسيلين النظرية ضمن الوزن المأخوذ من الميكروسفيرات نفسه}} * 100$$

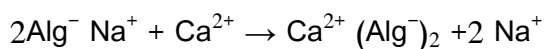
وقد أجريت القياسات ثلاث مرات لكل تجربة (n=3).

النتائج والمناقشة

تحضير ميكروسفيرات الألبينات

يمكن شرح آلية تشكّل ميكروسفيرات الألبينات التي تعتمد بشكل رئيسي على الميل القوي للألبينات للتهلم بوجود الشوارد الموجبة عديدة التكافؤ ($\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}, \text{Ba}^{2+}, \text{Al}^{3+}$) وبشكل نوعي لشوارد الكالسيوم: فعند وجود ألبينات الصوديوم في وسط يحوي شوارد الكالسيوم تتبادل شوارد الصوديوم في بنية الألبينات مع شوارد الكالسيوم في الوسط مسببة فقد جزء من ماء الألبينات، ومن خلال التأثير الكهربائي ما بين مجموعات الكربوكسيل المشحونة سلباً COO^- العائدة لوحداث الغولورونيك (G-G) من بنية الألبينات والتي تتوضع فراغياً بحيث تشكل تجايف سالبة الشحنة. تؤدي هذه التجايف دوراً مخلصاً لشوارد الكالسيوم Ca^{2+} بحيث ينتج عن هذا التأثير ما بين شوارد الكالسيوم ومجموعات الكربوكسيل تشبيك crosslinking سلاسل الألبينات وتشكيل بنية فراغية تدعى الـ egg box والتي تكون فضلاً عن فقد الماء من الألبينات مسؤولة عن تهلم الألبينات وتصلبها وبالتالي حجز جزيئات المادة الفعالة ضمن هيكل الميكروسفيرات. يسهم خفض pH المستحلب في طريقة الاستحلاب/ التهلم الداخلي بإضافة كمية من حمض الخلّ الثلجي المبعثر في زيت البارافين (في دراستنا كانت قيمة الـ pH = 4.2) في تحرير شوارد الكالسيوم من كربونات الكالسيوم المعلقة في الطور المائي والتي تصبح عندها قادرة على التأثير مع مجموعات الكربوكسيل السالبة العائدة للألبينات وبالتالي تصلب القطيرات بشكل ميكروسفيرات. يمكن تمثيل ذلك وفقاً للمعادلات الآتية: [6] [16] [17] [20]



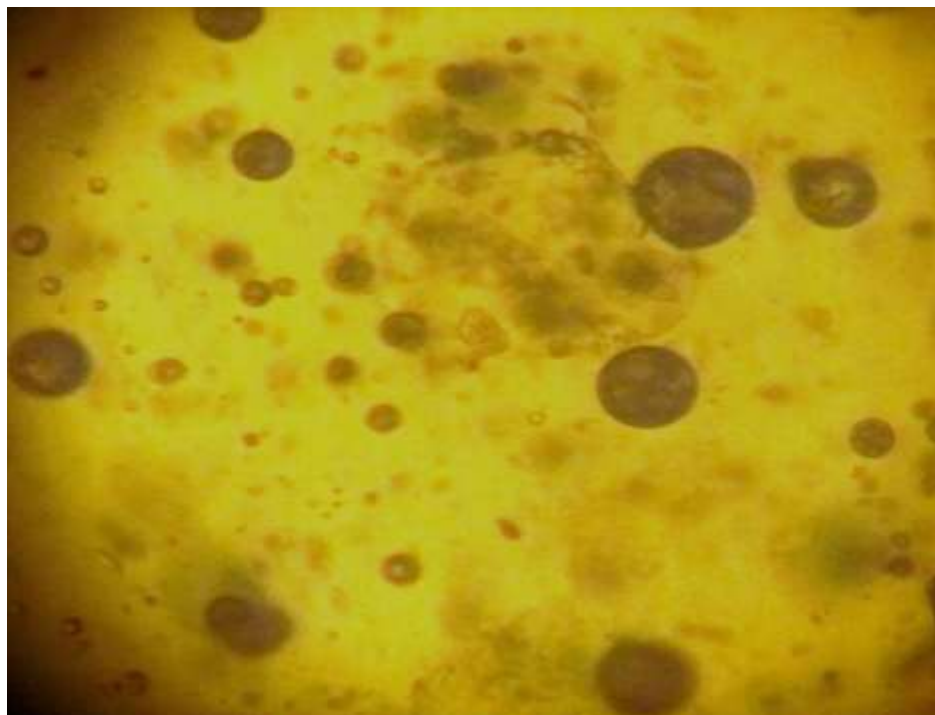


درسنا ضمن دراستنا تأثير كل من كمية الألجينات، كمية الأموكسيسيلين، كمية العامل المشبك Ca^{2+} ، فضلاً عن

سرعة التحريك خصائص الميكروسفيرات الناتجة فكان لدينا الجدول 1 الآتي:

المتغير	نموذج الصياغة	الألجينات % (w/v)	الأموكسيسيلين (غ)	معلق CaCO_3 5% (مل)	سرعة التحريك (دورة/د)	نسبة الكبسلة % (M±SD)	البعد الوسطي (ميكرون)
تأثير كمية الألجينات	A ₁	%1	0.5	7.2	400	0.53±17.48	20.83
	A ₂	%1.5	0.5	7.2	400	2.3±34.20	22.9
	A ₃	%2	0.5	7.2	400	0.89±47.15	24.61
تأثير كمية الأموكسيسيلين	B ₁	%2	0.25	7.2	400	2.02±33.97	24.2
	B ₂	%2	0.5	7.2	400	0.89±47.15	23.03
	B ₃	%2	1	7.2	400	0.08±31.56	23.31
تأثير كمية المشبك	C ₁	%2	0.5	3.6	400	1.03±41.23	23.31
	C ₂	%2	0.5	7.2	400	0.89±47.15	24.61
	C ₃	%2	0.5	10	400	0.85±20.14	24.4
	C ₄	%2	0.5	14.4	400	0.65±5.47	23.45
تأثير سرعة التحريك	D ₁	%2	0.5	7.2	200	1.37±61.05	26.06
	D ₂	%2	0.5	7.2	400	0.89±47.15	24.61
	D ₃	%2	0.5	7.2	800	1.32±37.94	19.06

الجدول-1- تأثير تغيير بعض عوامل الصياغة وطريقة العمل في أبعاد الميكروسفيرات ونسبة الكبسلة



الشكل-1- صورة ملتقطة بالمجهر الضوئي (OlympusCH₂) بقوة التكبير 20× لميكروسفيرات الأموكسيسيلين المحضرة وفقاً للصيغة A₃

دراسة خصائص ميكروسفيرات الأموكسيسيلين

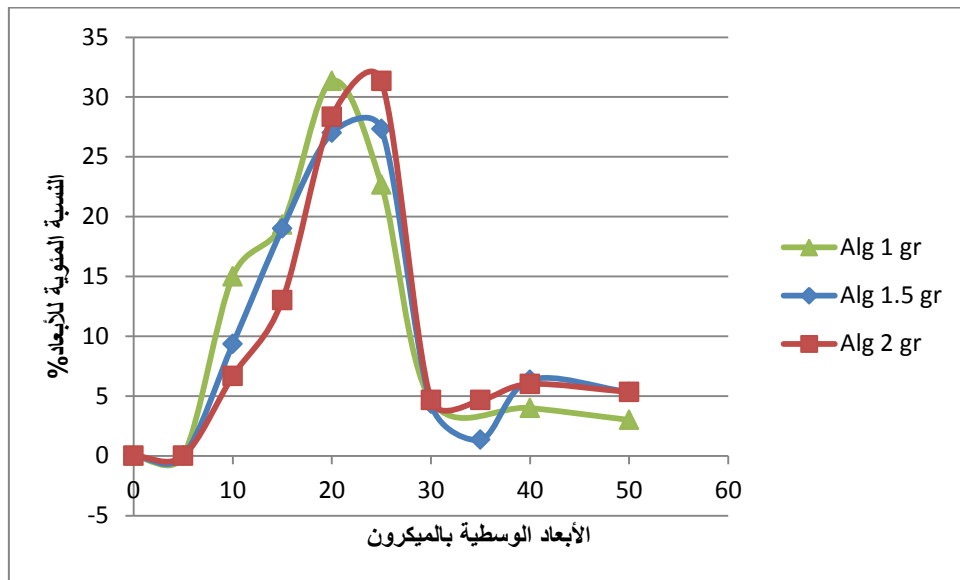
دراسة المظهر العام للتحضيرات

تمّ الحصول على ميكروسفيرات بطريقة ناجحة بواسطة طريقة التهلم الداخلي للألجينات، وقد تمّ فحصها بواسطة المجهر الضوئي (OlympusCH₂) بقوة التكبير 20× حيث كانت هذه الجسيمات كروية الشكل ولم يلاحظ وجود شوائب ضمن الساحة المجهرية (ميكروسفيرات منكسرة قطع من الألجينات....) مما يؤكد عدم وجود ضياع كمية من الألجينات أو عدم اشتراكها في تشكيل الميكروسفيرات (الشكل رقم 1)، وقد استطعنا عبر تغيير مجموعة من العوامل (الجدول 1) أن نحصل على تحضيرات من الميكروسفيرات بالنوعية السابقة نفسها (ميكروسفيرات كروية الشكل من دون وجود شوائب ضمن الساحة المجهرية) وقد درسنا تأثير هذه العوامل المختلفة في الأبعاد (الجدول رقم 1) فكان لدينا ما يأتي:

دراسة تأثير كمية الألجينات المستخدمة في أبعاد الميكروسفيرات المحضرة

بالرجوع للجدول 1 نلاحظ ازدياد أبعاد الميكروسفيرات من 20.83 إلى 24.61 ميكرون من دون أهمية إحصائية عند زيادة كمية الألجينات المستخدمة في تحضير ميكروسفيرات الأموكسيسيلين (A₁←A₃) (الجدول 1) وتتفق هذه النتيجة مع حقيقة أنه مع كمية الألجينات الكبيرة نسبياً المستخدمة في الصيغة A₃ الأساسية تزداد لزوجة الطور الداخلي للمستحلب مما يؤدي لزيادة مقاومة هذا الطور للتبعثر وبالتالي لازدياد أبعاد القطيرات وبالنتيجة زيادة أبعاد الميكروسفيرات [1] [16] [22] كانت منحنيات توزيع الأبعاد وحيدة القمة، ولم تظهر اختلافات واضحة في توزيع أبعاد الميكروسفيرات المحضرة باستخدام محاليل الألجينات 1.5% أو 2% (w/v) بينما طرأ اتساع من دون تبدل في شكل المنحنى عند نقص تركيز

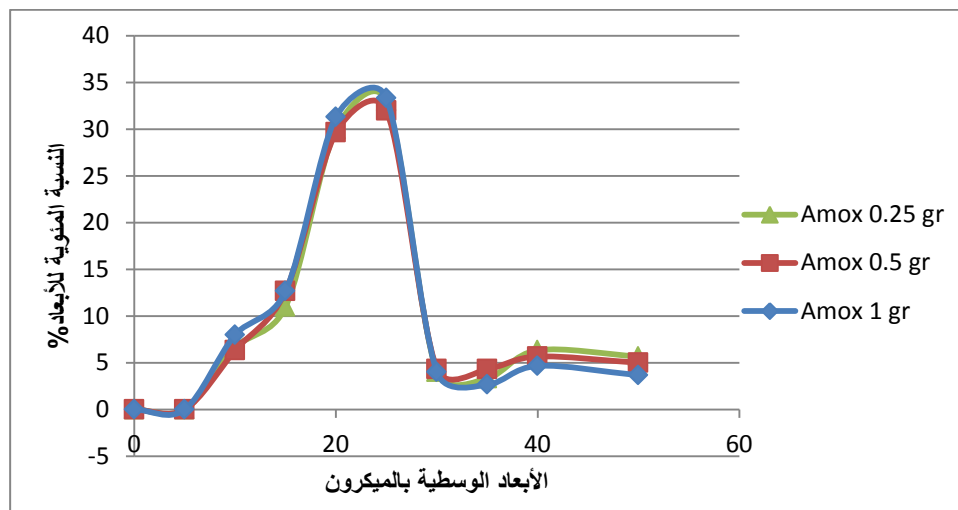
محلول الألبينات إلى 1% مما يعبر عن عدم تجانس في توزيع أبعاد الميكروسفيرات (الشكل 2) يمكن تفسيره هذا بأنه حين تتم بعثرة طور الألبينات بفعل قوة الشطر التي تمارسها شفرات الذراع المازج، تكون قوة الشطر أكبر ما يمكن بجوار شفرات المحرك وبالتالي يكون ميل القطيرات المجاورة للشفرات الدوارة للاندماج أقل ما يمكن على عكس القطيرات المتوضعة على مسافة أبعد من الشفرات (في المركز). إن تناقص كمية الألبينات المستخدمة، والتي تنعكس على تناقص لزوجة الطور الداخلي، تسهم بشكل واضح في إظهار هذا التباين في توزيع قوى الشطر المبعثرة، بمعنى آخر من الممكن اعتبار أن زيادة كمية الألبينات المستخدمة (1.5-2%) تسهم في زيادة المقاومة للبعثرة نتيجة زيادة لزوجة الطور الداخلي لدرجة يمكن معها اعتبار القطيرات الناتجة عن الشطر "متصلبة" وبالتالي مقاومة للتقسيم أيًا كان توضعها قرب الشفرات أو بجوار محور الذراع المازج [17].



الشكل 2 توزيع أبعاد ميكروسفيرات الأموكسيسيلين (n=300) المحضرة باستخدام كميات مختلفة من ألبينات الصوديوم

دراسة تأثير كمية الأموكسيسيلين في أبعاد الميكروسفيرات المحضرة

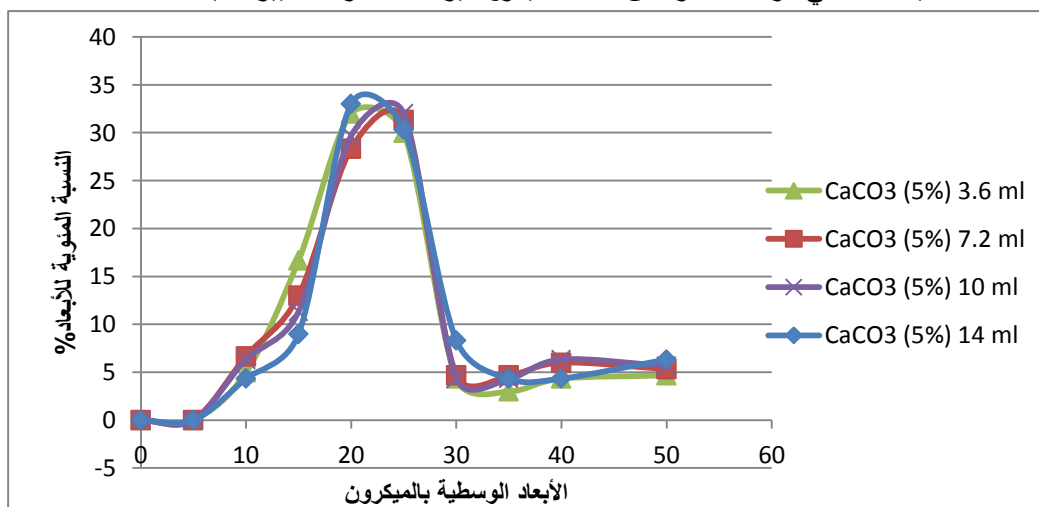
لم تبد الأبعاد الوسطية لميكروسفيرات الأموكسيسيلين تغييرات مهمة ($p > 0.05$) عند زيادة كمية الأموكسيسيلين ($B_3 \leftarrow B_1$) (الجدول 1) ولم يبد منحنى توزع الأبعاد تغييرات ذات أهمية (الشكل 3) وقد يكون هذا عائداً لعدم مساهمة زيادة كمية الأموكسيسيلين في تغيير لزوجة الطور المبعثر لدرجة يمكن أن تؤثر فيها في أبعاد الميكروسفيرات [22].



الشكل 3: توزع أبعاد الميكروسفيرات (n=300) المحضرة باستخدام كميات مختلفة من الأموكسيسيلين

دراسة تأثير كمية العامل المشبك في أبعاد الميكروسفيرات

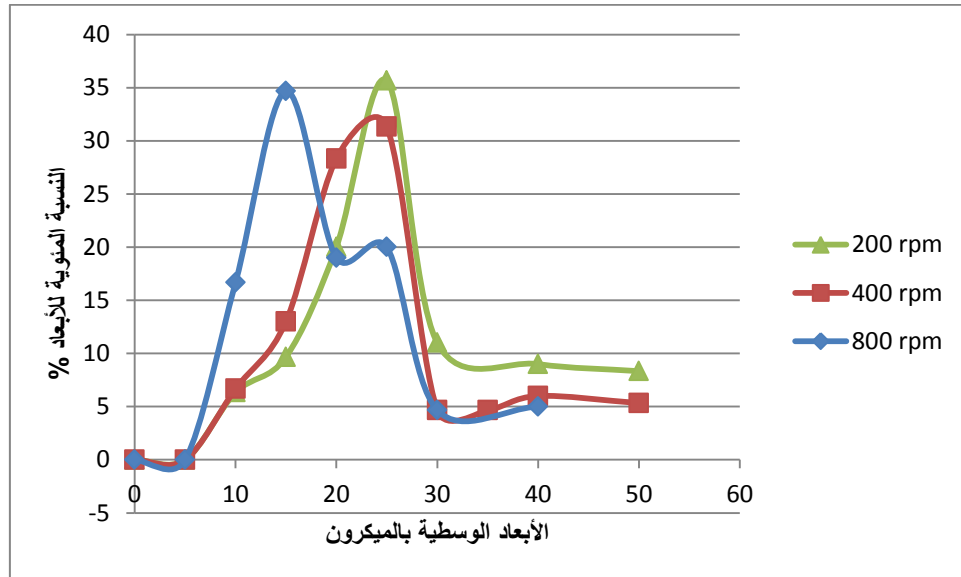
لم تبد الأبعاد الوسطية لميكروسفيرات الأموكسيسيلين وكذلك منحنيات توزع الأبعاد تغييرات مهمة عند تغيير كمية العامل المشبك (Ca^{2+}) مع بقاء النسبة المولية $\frac{Acetic.ac}{Ca^{2+}}$ ثابتة (الصيغ C_1 إلى C_4) (الجدول 1 والشكل 4) ويمكن تفسير ذلك بالاستناد إلى الآلية التي تتعلم وتتصلب وفقها الألبينات في طريقة الاستحلاب/التعلم الداخلي، حيث تكون كربونات الكالسيوم معلقة بشكل متجانس ضمن الطور الداخلي (الألبينات) وعند تحرير شوارد الكالسيوم منها عبر خفض pH المستحلب تتوزع تدريجياً وتتأثر مع الألبينات بشكل متجانس خلافاً لما يحدث خلال عملية التعلم الخارجي والتي يكون فيها سطح القطيرة محاطاً بشوارد الكالسيوم مما يسبب تعلم السطح وتصلبها آنياً وبقاء داخل القطرة في الحالة السائلة، وعندها تكون كمية شوارد الكالسيوم في الوسط وزمن التماس معها عاملين مؤثرين في تحديد درجة صلابة الميكروسفيرات وأبعادها [16] [22] بينما نجد في دراسات أخرى أن أبعاد الميكروسفيرات قد تأثرت بتغيير كمية العامل المشبك [19].



الشكل 4: توزع أبعاد الميكروسفيرات (n=300) المحضرة باستخدام كميات مختلفة من $CaCO_3$ (5%)

دراسة تأثير سرعة دوران المحرك في أبعاد الميكروسفيرات المحضرة:

تتاقصت أبعاد ميكروسفيرات الأموكسيسيلين من 26.06 إلى 19.06 ميكرون ولكن من دون أهمية إحصائية عند زيادة سرعة دوران المحرك في مرحلة الاستحلاب ($D_3 \leftarrow D_1$) (الجدول 1)، وعند ربط زيادة سرعة التحريك بلزوجة المستحلب فإنه من الواضح أن لزوجة المستحلب تتناقص بزيادة سرعة التحريك وبالتالي تنقص مقاومة القطيرات للتبعثر الأمر الذي ينعكس على أبعاد قطيرات المستحلب مما يؤدي لتناقص أبعاد الميكروسفيرات المحضرة [1] [16] تترافق زيادة سرعة دوران المحرك مع تباين في شكل منحنى توزيع أبعاد الميكروسفيرات (الشكل 5)، حيث يبدي المنحنى مع السرعة (800 دورة/د) ميلاً واضحاً للاتساع مع وجود قمتين مما يشير بوضوح إلى عدم التجانس في أبعاد الميكروسفيرات، بينما يميل منحنى السرعة (400 دورة/د) لبعض الاتساع مع إبداء قمة وحيدة. أما منحنى السرعة (200 دورة/د) فيبدي قمة وحيدة ضيقة الاتساع بالمقارنة مع ما سبق، ويمكن تفسير ذلك بتباين توزيع قوى الشطر (البعثرة) الناتجة عن دوران شفرات المحرك حيث كما سبق وأوضحنا تكون هذه القوة أعلى ما يمكن عند نهاية الشفرات وأقل ما يمكن عند مركز الشفرات، ولذلك فمن المنطقي أن تكون أبعاد القطيرات المجاورة لحواف الشفرات صغيرة، وأن يكون ميلها للاندماج أقل ما يمكن، وذلك على العكس من القطيرات المتوضعة في المركز والبعيدة عن نهايات الشفرات المبعثرة. ويظهر هذا التباين في توزيع القدرة المبعثرة الناتجة عن دوران شفرات المحرك بوضوح عند زيادة سرعة الدوران إلى 800 دورة/د حيث ينعكس ذلك على تجانس توزيع أبعاد الميكروسفيرات الناتجة [16] [17] ولكن من دون دلالة إحصائية على البعد الوسطي وإنما يمكن تفسير القمم واتساع المنحنيات كما سبق.



الشكل 5: توزيع أبعاد الميكروسفيرات (n=300) المحضرة باستخدام سرعات دوران مختلفة

نسبة الكبسلة:

إنّ المادة الفعالة في هذه الدراسة هي الأموكسيسيلين الذي يصل إلى نقطة تعادله الكهربائية عند $pH=4.7$ [10] وعند إضافة حمض الخلّ لتحرير شوارد الكالسيوم من كربونات الكالسيوم ينخفض pH المستحلب إلى 4.2 وهذا يعني أنّ الأموكسيسيلين الذي يسلك سلوكاً أمفوتيرياً يكون مشحوناً بشحنة موجبة عند قيمة الـ pH هذه ولا بدّ أن ذلك سيكون له نتائج على التداخل مع متمائر الألبينات المستخدم في الكبسلة من خلال تأثير عوامل عدة في الوسط (كمية الألبينات،

كمية الأموكسيسيلين، كمية العامل المشبك، سرعة التحريك) فكانت نتائج دراسة تأثير كل عامل من هذه العوامل بشكل مستقل في نسبة كبسلة الأموكسيسيلين على النحو الآتي:

تأثير كمية ألجينات الصوديوم عفي نسبة الكبسلة:

تناقصت نسبة الكبسلة من $0.89 \pm 47.15\%$ إلى $0.53 \pm 17.48\%$ ($P < 0.05$) عند تناقص كمية ألجينات المستخدمة ($A_1 \leftarrow A_3$) ويمكن تفسير ذلك كما يأتي: تتأثر النسبة الوزنية $\frac{Ca^{2+}}{Alg-Na^+}$ حيث تزداد عند تناقص كمية ألجينات مع بقاء كمية شوارد الكالسيوم ثابتة في الوسط، إذ تكون المواقع الفعالة في سلسلة المتماثر (الألجينات) المتاحة للتأثر قليلة في الصيغة A_1 فنلاحظ أنّ نسبة التأثير ما بين الألجينات والعامل المشبك (Ca^{2+}) تكون قليلة بشكل عام وكذلك نسبة التأثير بين الألجينات والأموكسيسيلين (موجب الشحنة) بشكل خاص مما يؤدي إلى نقص ارتباط الأموكسيسيلين أي انخفاض نسبة كبسلته، ومن جهة ثانية تتناقص لزوجة قطيرات الطور المبعثر مع تناقص كمية ألجينات الأمر الذي يزيد من إمكانية هجرة الأموكسيسيلين خارج هذه القطيرات نتيجة زيادة حركيته في الوسط الأقل لزوجة وبالتالي نقص احتباسه ضمنها مما يؤدي إلى نقص نسبة الكبسلة [15] [16] بينما لم تتأثر نسبة الكبسلة بزيادة كمية ألجينات في الدراسة [1].

تأثير كمية الأموكسيسيلين في نسبة الكبسلة:

ازدادت نسبة الكبسلة من $2.02 \pm 33.97\%$ إلى $0.89 \pm 47.15\%$ ($P < 0.05$) بزيادة كمية الأموكسيسيلين ($B_2 \leftarrow B_1$) وباستمرار زيادة كمية الأموكسيسيلين تناقصت نسبة الكبسلة إلى $0.08 \pm 31.56\%$ ($P < 0.05$) في الصيغة (B_3) ويمكن تفسير الزيادة الأولية بأن زيادة توافر الأموكسيسيلين في الوسط يزيد من إمكانية تأثره مع الألجينات، مما يزيد من معدل الكبسلة، بتسريع التجاذب ما بين الأموكسيسيلين الموجب الشحنة والألجينات السالبة بزيادة إضافية للكمية البدئية من الأموكسيسيلين. أما عند الاستمرار في زيادة كمية الأموكسيسيلين، مع بقاء كمية ألجينات ثابتة، تصبح كمية البوليمير غير كافية للتأثر مع كامل كمية الأموكسيسيلين المتوفرة في الوسط [15] [22] (أخذين بعين الاعتبار أنّ هناك توازناً بين الأموكسيسيلين الموجب و Ca^{2+} في التنافس على مواقع الألجينات السالبة مما يرجح نقص تشكّل البنية الصلبة بين الألجينات والكالسيوم إذ إنّ كمية الأموكسيسيلين الزائدة تنافست مع الكالسيوم على مواقع الألجينات).

تأثير كمية العامل المشبك في نسبة الكبسلة:

ازدادت نسبة الكبسلة من $1.03 \pm 41.23\%$ إلى $0.89 \pm 47.15\%$ ($P < 0.05$) عند زيادة كمية العامل المشبك (Ca^{2+}) ($C_2 \leftarrow C_1$) بينما تناقصت نسبة الكبسلة من $0.89 \pm 47.15\%$ إلى $0.65 \pm 5.47\%$ ($P < 0.05$) عند الاستمرار بزيادة كمية العامل المشبك ($C_4 \leftarrow C_2$) يمكن تفسير هذه النتائج بالآتي: تتحدد خصائص ميكروسفيرات الألجينات بالأسلوب الذي تتم فيه عملية التهلم وكذلك بالحرائك التي تتم وفقها [5] ويتحدد التأثير ما بين شوارد الكالسيوم والألجينات بالنسبة الوزنية $\frac{Ca^{2+}}{Alg}$ التي تحدد بشكل رئيسي تهلم وتصلب ميكروسفيرات الألجينات [15] وتبعاً لذلك لم تستخدم كمية كافية من شوارد الكالسيوم في الصيغة C_1 بحيث نصل إلى النسبة المناسبة للتأثر ما بين الألجينات وشوارد الكالسيوم والتي تعد مسؤولة عن تشكّل بنية كاملة ومتهلمة ثابتة للميكروسفيرات مما قد يؤدي لتسرب الأموكسيسيلين من الميكروسفيرات ناقصة التشبك. أما عند زيادة كمية شوارد الكالسيوم في الصيغة C_2 مع بقاء كمية ألجينات المستخدمة ثابتة فقد وصلت النسبة إلى القيمة المناسبة لتشكيل ميكروسفيرات ثابتة، أما تناقص نسبة الكبسلة الواضح والمرافق لزيادة كمية العامل المشبك في الصياغات (C_3 و C_4) فيمكن تفسيره بزيادة تشكّل المسام *pores* في بنية الميكروسفيرات (لا يمكن رؤيتها إلا بالمجهر

الالكتروني) عند زيادة كمية شوارد الكالسيوم، حيث تتشكل مسامات في هيكل ميكروسفيرات الألبينات عند تحضيرها وفقاً لطريقة الاستحلاب/التهلم الداخلي وتزداد هذه المسام نتيجة الانطلاق المتزايد لغاز CO_2 بدءاً من $CaCO_3$ بتأثير الحمض لتسمح هذه البنية المسامية للميكروسفيرات بنفاذ المادة الفعالة من داخل الميكروسفيرات إلى الوسط الخارجي بشكل خاص إذا كان وزنها الجزيئي صغيراً كما في الأموكسيسيلين (الوزن الجزيئي للأموكسيسيلين 419.4 غ/مول) وذلك في أثناء تشكل الميكروسفيرات وخلال فصلها. يزداد عدد هذه المسام وتتأثر أبعادها أيضاً عند زيادة كمية شوارد الكالسيوم في الوسط، إلى جانب ذلك يمكن أن يزداد التأثير Ca^{2+} -Alg⁻ على حساب $Amox^+$ -Alg⁻ نتيجة انزياح التوازن والفعل التنافسي لشوارد الكالسيوم مع الأموكسيسيلين على الهيكل السالب لمتماثر الألبينات حين تزداد كمية شوارد الكالسيوم في الوسط كما في الصيغ (C₃ و C₄) [5] [15] [16] [19].

تأثير سرعة دوران المحرك في نسبة الكبسلة:

ازدادت نسبة الكبسلة من 1.32±%37.94 إلى 1.37±%61.05 ($P<0.05$) عند إنقاص سرعة دوران المحرك من 800 دورة/د إلى 200 دورة/د ($D_1 \leftarrow D_3$) ويمكن تفسير ذلك بنقص قابلية الألبينات للبعثر نتيجة أن لزوجة الألبينات تكون أكبر عند السرعة 200 دورة/د بالمقارنة مع 800 دورة/د وزيادة اللزوجة عند نقص سرعة الدوران يؤدي لتشكيل قطيرات أبعادها كبيرة ولزوجتها عالية مما يحد بالتالي من هجرة الأموكسيسيلين خارج القطيرات، فضلاً عن ذلك فإن نقص مساحة سطح الفصل المتاح للتبادل بين الطورين ينقص تحرر شوارد الكالسيوم بسبب النفاذ المحدود لحمض الخل من الوسط الخارجي (الزيت) إلى الطور المبعثر (الألبينات) الحاوي كربونات الكالسيوم فتكون النتيجة تعزيز إمكانية التأثير ما بين الألبينات والأموكسيسيلين مما يسمح بكبسلة كمية أكبر من الأموكسيسيلين [1] [5].

الاستنتاجات والتوصيات:

يبين هذا البحث أنه من الممكن باستخدام ألبينات الصوديوم وتطبيق طريقة التهلم الداخلي تحضير ميكروسفيرات الأموكسيسيلين كروية الشكل وضمن محضرات خالية من الشوائب وقد تراوحت الأبعاد الوسطية بين (19.06 و 26.06) ميكرون، وبنسبة كبسلة وصلت إلى 61.05%. تأثرت أبعاد الميكروسفيرات ونسبة الكبسلة عند تغيير عوامل الصياغة وطريقة العمل: كمية الألبينات، كمية المادة الفعالة، كمية العامل المشبك وسرعة التحريك، إذ ازدادت نسبة الكبسلة عند زيادة كمية الألبينات وكذلك كمية المادة الفعالة إلى حد معين، وتناقصت بزيادة كمية شوارد الكالسيوم بعد حد معين وعند زيادة سرعة التحريك، أما الأبعاد فازدادت بزيادة كمية الألبينات وتناقصت بزيادة سرعة التحريك ولم تتأثر بتغيير كمية الأموكسيسيلين أو شوارد الكالسيوم. ويمكن من خلال دراسة تأثير كل عامل من العوامل السابقة بشكل مستقل في نسبة الكبسلة وتوزع أبعاد الميكروسفيرات اقتراح أن تكون الصيغة D_1 (الجدول 1) هي الأفضل من ناحية نسبة الكبسلة حيث وصلت نسبة الكبسلة باستخدام هذه الصياغة إلى 61.5%، وبأبعاد مناسبة، وبما أنه في دراستنا لم يحدد ضمن الشروط المطبقة في أثناء الدراسة عامل ينقص الأبعاد، فإننا نرى أن زيادة سرعة التحريك تعد مؤشراً هاماً لإنقاص الأبعاد فيما لو تجاوزت الحد الأقصى المطلوب (المستخدم في عملنا).

المراجع:

1. Al-Kassas.R S, Al-Gohary. M.N.O, Al-Faadhel. M.M. Controlling of systemic absorption of gliclazide through incorporation into alginate beads. *International Journal of Pharmaceutics* 341 (2007) 230–237.
2. Builders.P.F, Kunle O.O , Okpaku.LC, Builders.M.I, Attama A.A, Adikwu.M.U. Preparation and evaluation of mucinated sodium alginate microparticles for oral delivery of insulin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 70 (2008) 777–783.
3. Beneta.s. *Microencapsulation. Methods and industrial applications*. first edition 1996, Marcel Dekker, Inc. 270 Madison Avenue. pp1-20.
4. Chana W.J.A, Mazeaud.I, Becker.T, Neufeld. R. J. Granulation of subtilisin by internal gelation of alginate microspheres for application in detergent formulation. *enzyme and microbial technology* 38 (2006) 265–272.
5. Chan. LW, Lee. H Y, Heng. P.W.S . Mechanisms of external and internal gelation and their impact on the functions of alginate as a coat and delivery system. *Carbohydrate Polymers* 63 (2006) 176–187.
6. Draget.I.K, Smidsrod.O, Skjak-break.G, *Alginate from algae, polysaccharides and polyamides in the food industry, properties, production and patents*. wiely-VCH Verlag GmbH and Co KGaA Weinheim 2005. pp13-15
7. E.Popovskif, J.P.Benoit, K.Goracinova. 5-ASA loaded chitosan–Ca–alginate microparticles: Preparation and physicochemical characterization. *International Journal of Pharmaceutics* 345 (2007) 59–69.
8. Esquisabela, Hernandez R.M, Igartua.M, Gascon.A.R, Calvo.B, Pedraz.J.L. Production of BCG alginate-PLL microcapsules by emulsification/internal gelation. *J. Microencapsulation*, VOL. 14, NO. 5, 1997, 627-638
9. Graff.S, Hussain.S, Chaumeil.J-C, Charrueau.C. Increased Intestinal Delivery of Viabl *Saccharomyces boulardii* by Encapsulation in Microspheres. *Pharmaceutical Research*, Vol. 25, No. 6, June 2008. 1290-1296
10. Grossman.J.H, Hardcastle.G.A, Production of amoxicilline. United states patent, 3.980.637 Sept. 14.1976
11. Gu.F, A. Brian, N. Ronald. Sustained delivery of vascular endothelial growth factor with alginate beads. *Journal of Controlled Release* 96 (2004) 463– 472.
12. K. Mladenovska ,O.Cruaud, P.Richomme, E.Belamie, R.S.Raicki, M.C Venier-Julienne, 5-ASA loaded chitosan–Ca–alginate microparticles: Preparation and physicochemical characterization. *International Journal of Pharmaceutics* 345 (2007) 59–69
13. Kaza.R, Pravallika.P, Venkata.T Reddy.R, Naga Priya.K.R, Jaya Bai.B, Asha Jyothi.P. Formulation and Evaluation of Controlled Release Microspheres of Acyclovir Sodium. *International Journal of Innovative Pharmaceutical Research*. 2011 ,98-101.
14. Ramesh Babu.V, Sairam.M, Hosamani.K.M, Aminabhavi.M.T. Preparation of sodium alginate– methylcellulose blend microspheres for controlled release of nifedipine. *Carbohydrate Polymers* 69 (2007) 241–250.

15. Malayk.Das and Prakash C. Senpati. Evaluation of Furosemide-Loaded alginate microspheres prepared BY Ionotropic External Gelation Technique. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, Vol. 64, No. 3, 2007 pp. 253-262.
16. M. S. Catarina, Ribeiro. J. A, Figueiredo.V.I, Goncalves.R.A, Veiga. F. Alginate microspheres prepared by internal gelation: Development and effect on insulin stability. *International Journal of Pharmaceutics* 311 (2006) 1–10
17. Poncelet.D, Lenkie.R, Beaulieu.C, HalLe.J.P, Neufeld.J.R, Fournier.A. production of alginate beads by emulsification/enternal gelation. *Applied microbiology biotechnology* 1992, 39-45
18. Racovita.S, Vasiliu.S, Popa.M, Luca.C, Polysaccharides based on micro-nanoparticles obtained by ionic gelation and their applications as drug delivery systems. *Revue Roumaine de Chimie*, 2009, 709–718
19. Rahman.Z, Kohli.k, Khar.K.R, Ali.M, Charoo.A.N, Shamsheer.A. Characterization of 5-Fluorouracil Microspheres for Colonic Delivery. *AAPS Pharmaceutical science and technology* 2006. Article 47.
20. Ribeiro. J.A , Silva.C, Ferreira.D, Veiga.F. Chitosan-reinforced alginate microspheres obtained through theemulsification/internal gelation technique. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 25 (2005) 31–40.
21. Reis.p.c, Neufeld.J.R, Vilela.S, Rebeiro.J.A, Veiga.F. Review and current status of emulsion/dispersion technology using an internal gelation process for the design of alginate particles. *J. Microencapsulation*, May 2006, 245–257.
22. Shukla.S, Jain.D, Verma.K , Verma .S. Formulation and in vitro characterization of alginat microspheres loaded with diloxanide furoate for colon- specific drug delivery. *Asian journal of pharmaceutics*, 2010 199-204.
23. Wiley. J & Sons, *Encyclopedia of Polymer Sceince and Technology*,2005,pp1-4.
24. Wang. X, Zhu .K, Zhou .H-M. Immobilization of Glucose Oxidase in Alginate-Chitosan Microcapsules. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011, 3042-3054.
25. Xua.J, Bovetb.L, Zhaoa.K. Taste masking microspheres for orally disintegrating tablets. *International Journal of Pharmaceutics* 359 (2008) 63–69.