

تحضير أنظمة إيتاء فموية للأسيكلوفير بشكل مستحلبات ميكروية لتدبير الإنتانات الفيروسية وتقييمها في الزجاج Preparation and *in vitro* Evaluation of Oral Delivery Systems Micro-Emulsions of Acyclovir for Viral Infections Management

إيمان العلي ومحمد عثمان

Eman Alali and Mohammad Othman

قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية، كلية الصيدلة، جامعة دمشق

Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Industry, Faculty of Pharmacy, Damascus University

الملخص Abstract:

الهدف من هذه الدراسة تطوير مستحلبات ميكروية من الأسيكلوفير والتي يمكن إيتاؤها فموياً وتطبيقها موضعياً، تمت دراسة انحلالية (solubility) الأسيكلوفير في عدد من السواغات، التي استُخدمت في تحضير المستحلبات الدقيقة، ثم تم دراسة تأثير نسبة العوامل الاستحلابية على حجم قطيرات الطور الداخلي وتحديد النسب الفضلى منها للوصول إلى الأبعاد الميكروية، ثم تم تحميل الأسيكلوفير على الصيغ المحضرة ودراسة قدرة كل صيغة على حل الأسيكلوفير. تم تحديد حجم قطيرات الطور الداخلي باستخدام جهاز Mastersizer وجهاز Nanosizer ودراسة نفاذية ودرجة باهاء الصيغ المحضرة وثباتيتها تحت الطرد المركزي، حيث تم التوصل إلى صيغة بأبعاد حوالي 14 نانومتر وتحرر ما يزيد عن 90% من الدواء وذلك بدراسة التحرر باستخدام خلية فرانز. تبين أن قطيرات الطور الداخلي كروية باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح SEM. كما ثبت باستخدام المسح بالأشعة تحت الحمراء FTIR والمسح الحراري التفاضلي DSC قلة التداخلات بين الأسيكلوفير والسواغات المستخدمة.

The objective of this study was to development microemulsions of Acyclovir that could be administered orally and applied topically. The solubility of acyclovir has been studied in a number of excipients, which have been used in the preparation of microemulsions. Then the effect of increasing the ratio of the surfactants on the size of the internal phase droplets was evaluated, and determining the required ratios of surfactants to get micro size. Then acyclovir was loaded into the prepared formulas, the ability of each formula to dissolve acyclovir was evaluated. Droplet size was determined by using a Mastersizer and a Nanosizer, transparency, pH and stability of the formulas upon centrifugation were measured, droplet size about 14 nm was obtained, more than 90% of the drug was released through 0.45 membrane by using a Franz cell. It was found that, the droplets were smooth and spherical by using scanning electron microscope (SEM). Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and Differential scanning calorimetry (DSC) confirmed that limited interactions between Acyclovir and the used excipients.

الكلمات المفتاح Key words:

المستحلبات الميكروية، الأسيكلوفير، فيروسات الحلا، العوامل الفعالة على السطح

Microemulsions, Acyclovir, Herpes virus, Surfactant

المقدمة Introduction

من بين أكثر من مئة فيروس من فيروسات الهربس المعروفة، فقط ثمانية فيروسات تصيب الإنسان، وهي: فيروس الهربس البسيط بنمطيه الأول والثاني (herpes simplex types 1 and 2)، فيروس الحماق النطاقي (varicella-zoster)، الفيروس المضخم للخلايا (cytomegalovirus)، فيروس إيشتاين بار (Epstein-Barr)، فيروس الهربس البشري 6 (human herpes 6)، فيروس الهربس البشري 7 (herpes 7)، وفيروس كابوزي ساركوما أو فيروس الهربس البشري 8 (Kaposi's sarcoma virus). يمكن لجميع فيروسات الهربس أن تشكل عدوى كامنة داخل أنسجة معينة، والتي تعتبر مميزة لكل فيروس. من أهم الأدوية المضادة للفيروسات والتي تؤثر في فيروسات الهربس الأسيكلوفير حيث يعتبر فعالاً ضد فيروس الحماق البسيط بنمطيه الأول، والثاني، وفيروس الحماق النطاقي. هذه الفعالية تتطلب تحويل الأسيكلوفير بواسطة الأنزيم الفيروسي تيميدين كيناز إلى الشكل أحادي الفوسفات، مما يؤمن الفعالية تجاه الخلايا المصابة فقط، ثم يتحول بعد ذلك بواسطة الأنزيمات الخلوية إلى ثنائي الفوسفات ثم إلى الشكل ثلاثي الفوسفات (الشكل الفعّال)، هذا الشكل الفعّال يشبّط تركيب DNA الفيروسي ويثبّط التضاعف عن طريق تثبيط أنزيم DNA بوليميراز الفيروسي. يمتص الأسيكلوفير بشكل سيئ من القناة الهضمية بعد الجرعات الفموية، إذ يبلغ التوافر الحيوي للأسيكلوفير الفموي حوالي 10 إلى 20٪، يرتبط بالبروتين حوالي (9-33٪)، يتم اطرّاح الأسيكلوفير في البول بدون تغيير بشكل كبير عن طريق الترشيح الكبيبي والافرازات الأنبوبية، مع حوالي (14٪) من المستقلبات غير الفعّالة التي تظهر في البول. عند المرضى الذين لديهم وظائف الكلية طبيعية، يكون نصف العمر الحيوي حوالي 2 إلى 3 ساعات. صنف نظام التصنيف الصيدلاني الحيوي (BCS) الأسيكلوفير تحت الصف الثالث Class III وذلك في الجرعة الفموية التي تصل لحد 400 ملغ وكذلك تم تصنيفه تحت الصف الرابع Class IV وذلك عندما يعطى بجرعة 800 ملغ، وُجد أن امتصاص الأسيكلوفير بطيء ومتغير وغير مكتمل مع انخفاض التوافر الحيوي عن الطريق الفموي^{1,2,3}، مع ذلك فإن العلاج عن طريق الفم لهذا الدواء يتطلب تناول جرعات عالية وتكرارها، مما يؤدي إلى آثار ضارة جهازية محتملة مثل فشل الكلوي الحاد والسمية العصبية⁴. يعود ضعف كفاءة الأسيكلوفير في العلاج عن طريق الفم بشكل

أساسي إلى قابلية ذوبانه المائية المحدودة ونفاذه المنخفض^{2,6,7,8}. كذلك العلاج الموضعي بالأسيكلوفير قليل الفعالية بسبب النفاذية الجلدية المنخفضة⁸.

دُرست المستحلبات الدقيقة على نطاق واسع لتعزيز التوافر الحيوي للأدوية ضعيفة الذوبان، حيث أنّ للمستحلبات الدقيقة توتر سطحي منخفض جداً وحجم قطرات صغير مما يؤدي إلى امتصاص واختراق عاليين. يتزايد الاهتمام بهذه النواقل متعددة الاستخدامات، وتتوعد تطبيقاتها إلى طرائق إعطاء مختلفة بالإضافة إلى الطريق الفموي. يمكن أن يعزى ذلك إلى خصائصها الفريدة في الذوبان والثبات الترموديناميكي الذي لفت الانتباه لاستخدامها كوسيلة جديدة لإيلاء الأدوية، إذ كانت النتائج التي تم الحصول عليها واعدة للغاية.

إنّ صياغة مستحلبات ميكروية للأسيكلوفير قد تحسّن التوافر الحيوي وتؤدي إلى إنقاص الجرعة المعطاة فموياً.

المواد والطرائق Materials and Methods

جرى الحصول على الأسيكلوفير من مختبرات ميدكو للصناعات الدوائية (India، AMRI)، التوين 80 والتوين 60 والسبان 80 من (Germany) Riedel-De haen، البروبيلين غليكول والبولي إيثيلين غليكول 200 والغليسرين من Hutong Global (China)، زيت الخروع وحمض الزيت من Panreac corp (Spain)، زيت دوار الشمس من (India) Croda.

1- دراسة ذوبانية الأسيكلوفير في سواغات نقية:

تم ذلك أولاً من خلال تحضير سلاسل عيارية في (الميتانول، الماء المقطر، الغليسرين، PEG200، البروبيلين غليكول)، وذلك للتأكد من عدم تداخل قمم الامتصاص العظمى، ثم ثانياً تم دراسة ذوبانية الأسيكلوفير في السواغات بطريقة الدورق الهزاز (Shake flask method) حيث أضيف مقدار 25 ملغ من الأسيكلوفير إلى (2 مل) من الطور الزيتي (حمض الزيت، زيت الخروع، زيت دوار الشمس)، أو العوامل الاستحلابية (توين 80، توين 60)، أو المذيبات المشاركة (غليسرين، بروبيلين غليكول، بولي إيثيلين غليكول 200) في أنابيب تثقيب ومزج بالأمواج فوق الصوتية لمدة 30 دقيقة بالدرجة 37° درجة مئوية لتسريع الانحلال، ثم تم إخضاع العينات للاهتزاز ضمن جهاز مزج (Shaker) لمدة 48 ساعة بدرجة حرارة 25 م° للوصول إلى التوازن، ثقلت بعدها بسرعة (3000) دورة بالدقيقة بواسطة مثقلة

2- تحضير المستحلبات الأولية (ز/م) ودراسة تأثيرات نسب العوامل الاستحلابية على أبعاد قطيرات الطور الداخلي:

تم تحضير 18 صيغة بنمط استحلابي (ز/م) منها (9) صيغ أساس من زيت دوار الشمس و (9) صيغ أساس من زيت الخروع بالإضافة إلى التوين 80 والسبان 80 (عوامل استحلابية) والماء المقطر. في جميع الصيغ، تم تثبيت كميات الزيت والماء PEG₂₀₀ وتغيير نسب السبان 80 والتوين 80 وفق الجدولين (1،2) التاليين:

(Germany, Hermle Z200A) لمدة 10 دقائق⁹. أخذ عينة (1مل) من الطافي ومُدد بالميتانول في بالون معايرة سعة 10 مل إلى خط العيار، وتم مقايضة الامتصاص بجهاز الطيف الضوئي (Genove Life science 6300)، (China, Jenway) عند طول موجة 253 نانومتر، وتم التمديد بالميتانول عند اللزوم. استُخدم الميتانول كمنصاع، تم تكرار التجربة ثلاث مرات وحساب الانحراف المعياري. ووفقاً للنتائج تم اختيار زيت دوار الشمس وزيت الخروع كأطوار زيتية، التوين 80 كعامل استحلابي رئيسي، PEG₂₀₀ كمذيب مساعد، وتم إضافة السبان 80 كعامل استحلابي مثبت معاكس.

الجدول (1): المستحلبات الأولية أساس من زيت دوار الشمس

زيت دوار الشمس (غ)	ماء مقطر (غ)	PEG ₂₀₀ (غ)	التوين 80 (غ)	السبان 80 (غ)	نسبة العوامل الاستحلابية (وزن/وزن) %	
10	110	10	0.75	0.25	0.76	FS1
10	110	10	3.75	1.25	3.7	FS2
10	110	10	7.5	2.5	7.1	FS3
10	110	10	11.25	3.75	10.3	FS4
10	110	10	15	5	13.3	FS5
10	110	10	45	15	31.5	FS6
10	110	10	52.5	17.5	35	FS7
10	110	10	60	20	38	FS8
10	110	10	67.5	22.5	40.9	FS9

الجدول (2): المستحلبات الأولية أساس من زيت الخروع

زيت الخروع (غ)	ماء مقطر (غ)	PEG ₂₀₀ (غ)	التوين 80 (غ)	السبان 80 (غ)	نسبة العوامل الاستحلابية (وزن/وزن) %	
10	110	10	0.9	0.1	0.76	FC1
10	110	10	4.5	0.5	3.7	FC2
10	110	10	9	1	7.1	FC3
10	110	10	13.5	1.5	10.3	FC4
10	110	10	18	2	13.3	FC5
10	110	10	54	6	31.5	FC6
10	110	10	63	7	35	FC7
10	110	10	72	8	38	FC8
10	110	10	81	9	40.9	FC9

هناك ارتباط بين أبعاد القطيرات وشفافية ونفاذية الضوء عبر المستحلبات، حيث تتجاوز نفاذية الضوء المرئي للمستحلبات الرائقة 98%، لاحتوائها على أبعاد ميكروية ونانوية، في حين أن المستحلبات العكرة تمتص وتبعثر كمية أكبر من الضوء، مما يؤدي إلى الحصول على قيم نفاذية أقل¹⁰.

2- تحديد درجة حموضة المستحلبات (pH):

تم تحديد درجة الحموضة باستخدام جهاز pH 211، HANNA (Italy)، عند الدرجة 25°م مع إجراء القياس ثلاث مرات وحساب الانحراف المعياري.

3- دراسة توزيع أبعاد القطيرات باستخدام الـ MasterSizer:

حُدّد حجم القطيرات ذوات الأبعاد أكبر من 0.1 ميكرومتر، من خلال تشتت الضوء الديناميكي، باستخدام جهاز الـ Master Sizer (Master-sizer 3000، Malvern instruments، UK، Corp)، أُجري التحليل عند زاوية تشتت 90°، درجة الحرارة 25°م، حيث تم القياس بعد التمديد بالماء المقطر. ثم حُدّد متوسط حجم القطيرات (mean particle size) (3.2) D، وتوزع الحجم (size distribution)، وتجانس توزيع الحجم من خلال size uniformity، إذ أنّه كلّما انخفضت قيم توزيع الحجم هذين المعاملين يكون المستحلب ذو أبعاد قطيرات مقاربة الحجم و معامل تشتت منخفض^{11,12}

4- تحديد حجم القطيرات (Determination of droplet size) باستخدام الـ Nanosizer:

قيس حجم القطيرات باستخدام مقياس تشتت الضوء الديناميكي (Dynamic Light Scattering)، بعد تمديد المستحلب باستخدام (UK، Malvern، Nanosizer) ضمن المجال 0.3 نانومتر -5 ميكرومتر.

5- دراسات ثبات المستحلبات الدقيقة تحت تأثير الطرد المركزي Stability studies of microemulsion by centrifugation

تمّ باستخدام المثقلة (HERMLE Z 200A, Germany) بأخذ 10 مل من الصيغ المدروسة، 3500 دورة في الدقيقة لمدة نصف ساعة¹⁴.

6- دراسات التحرر في الزجاج In vitro drug release):

في البداية تم وزن الكميات بدقة باستخدام ميزان حساس، تمّ إضافة العوامل الاستحلابية إلى الزيت وتم المزج باستخدام مزج مغناطيسي على سخان كهربائي لمدة 15 دقيقة بدرجة حرارة 40°م درجة مئوية، بعد ذلك نُقِلَ المزيج إلى حمام الأمواج فوق الصوتية وتم تستيل الماء قطرة قطرة مع التحريك بدرجة حرارة 40°م درجة مئوية لمدة 15 دقيقة ثانية.

تم تقييم أنماط المستحلبات الناتجة وتقييم تأثير نسب العوامل الاستحلابية على حجم القطيرات باستخدام المجهر الاستقطابي و المجهر الضوئي مع التمديدات اللازمة للعينات وتلوينها بأزرق الميتيلين وباستعمال عداة نيوبار. تم اختيار الصيغ متماثلة الخواص isotropic التي اختفت فيها قطيرات الطور الداخلي تحت المجهر الاستقطابي.

دراسة تحميل الأسيكولفير في الصيغ المقترحة:

حققت الصيغ من F6 إلى F9 أساساً من زيت دوار الشمس أو زيت الخروع، الخواص المنشودة، وهي التي تم اختيارها لتحميل الأسيكولفير وتحديد عتبة الإشباع في الصيغة، تم تحميل الصيغ المقترحة بالأسيكولفير، حيث تراوحت تراكيز الأسيكولفير بين 3ملغ/غ مستحلب إلى 20ملغ/غ مستحلب، حضرت جميع الصيغ بمزج الدواء (بتراكيز مختلفة) مع الطور المائي بدرجة حرارة 40°م لمدة 15 دقيقة بالاستعانة بجهاز الأمواج فوق الصوتية، ومُزِجَت العوامل الاستحلابية ضمن الطور الزيتي بدرجة حرارة 40°م ثم تمّ إضافة الطور الخارجي إلى الطور الداخلي بالتدريج وذلك في حمام الأمواج فوق الصوتية، ثم تمّ إخضاع الصيغ إلى عملية الرج باستخدام جهازهز (shaker) لمدة 72 ساعة بدرجة حرارة 25°م وتم تقييم الخواص الفيزيوكيميائية.

3- تحري بلورات في الصيغ المحضرة باستعمال المجهر الاستقطابي:

تم تحري بلورات الدواء في الصيغ المحضرة: من FS6 إلى FS9 أساساً من زيت دوار الشمس من FC6 إلى FC9 أساساً من زيت الخروع وذلك للتأكد من تمام انحلال الأسيكولفير في المستحلبات. دراسة خصائص المستحلبات:

1- تعيين النفاذية الضوئية Transmittance عند طول موجة 650 نانومتر:

الجدول (3): ذوبانية الأسيكولوفير في مكونات الصيغ النقية (زيوت، العوامل الاستحلابية، المذيبات المساعدة)

السواغ	الذوبانية \pm SD (ملغ/مل)
زيت دوار الشمس	2.15 \pm 8.5
زيت الخروع	1.3 \pm 3.5
حمض الزيت	0.34 \pm 1.5
التوين 80	2.07 \pm 6.2
التوين 60	0.56 \pm 1.4
الجليسيرين	1.65 \pm 2.5
البروبيلين غليكول	0.91 \pm 1.5
البولي إيثيلين غليكول 200	1.98 \pm 6.5

تم اختيار السواغات التي أبدت قدرة أكبر على حل الأسيكولوفير (زيت الخروع، زيت دوار الشمس، البولي إيثيلين غليكول 200، التوين 80) وتم إضافة السبان 80 كعامل استحلابي مثبت معاكس.

نتائج تحضير المستحلبات الأولية وتأثير زيادة نسبة العوامل الاستحلابية على حجم القطيرات:

درست الصيغ باستخدام المجهر الاستقطابي والمجهر الضوئي، حيث تم الفحص باستخدام عدّاة نيوبار. لوحظ صغر أبعاد القطيرات عند زيادة نسب العوامل الاستحلابية في الصيغ، وكذلك تجانس أكبر في الأبعاد، حيث أبدت FS4+FS5 و FC4+FC5 أصغر أبعاد للقطيرات الملاحظة بالمجهر الضوئي. في الصيغ من (FS6-FS9) وكذلك من (FC6-FC9) اختفى ظهور القطيرات بشكل كامل من ساحات المجهر الضوئي، وبفحصها بالمجهر الاستقطابي كانت المستحلبات متماثلة الخواص isotropic، هذا يدل على الحصول على بنية مستحلبات دقيقة أبعادها أقل من 500 nm، حيث احتوت هذه الصيغ على نسب عوامل استحلابية تتجاوز 30%. بناء عليه تم اختيار FS6-FS9 و FC6-FC9 لمتابعة الدراسة حيث أن F6s+F6c تحويان على العوامل الاستحلابية بنسبة 31.5% والصيغ FS7+F7c بنسبة 35% والصيغ FS8+FC8 بنسبة 38% والصيغ FS9+FC9 بنسبة 40.9%، مع كميات ثابتة لبقية المكونات.

نتائج دراسة ذوبان الأسيكولوفير في المستحلبات:

أجريت دراسات التحرر في الزجاج من خلال أغشية نصف نفوذة من أسيتات السيلولوز (0.45 مك)، باستخدام خلايا فرانز Franz cell محلية الصنع، تم استخدام دائرة الفوسفات (PH=6.4) كوسط استقبال

7- المجهر الإلكتروني الماسح:

تم استخدام Czech ، VEGA، TESCAN، SEM (Republic) لفحص شكل وخواص سطح وحجم قطيرات الطور الداخلي، وذلك بالنسبة للصيغ الأمثل (FS9،FS8).

8- دراسة التأثيرات بين الأسيكولوفير والسواغات

المستخدمة Drug – excipient interactions

1-8- المسح الحراري التفاضلي Differential Scanning Calorimetry

تم إجراء المسح الحراري التفاضلي باستخدام جهاز (SETARAM،DSC131) حيث تم وزن عينات (4-5 ميلي غرام) بشكل دقيق مع وضعها ضمن بوتقة خاصة من الألمنيوم وتم احكام اغلاقها جيدا بواسطة مكبس خاص. أجري الاختبار مع استخدام بوتقة ثانية فارغة من الألمنيوم كشاهد، وذلك بتعرض العينات إلى حرارة بمعدل متزايد 10°م درجة مئوية / دقيقة. تم إجراء الاختبار على المساحيق النقية للأسيكولوفير والسواغات، من ثم على المزائج الفيزيائية للمادة الفعالة مع كل سواغ وذلك بنسب (1:1) ^{16,15}

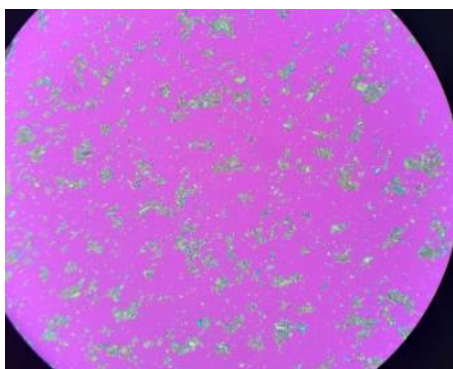
2-8- المسح الطيفي بالأشعة تحت الحمراء FTIR Spectroscopy

تم القيام بالمسح بالأشعة تحت الحمراء لكل من الأسيكولوفير ومن ثم على المزيج الفيزيائي للمادة الفعالة مع كل سواغ مُستخدَم، بنسب (1:1). وذلك بهدف التحري عن إمكانية حدوث أي تداخل بين الدواء والسواغات في الصيغ. ¹⁷

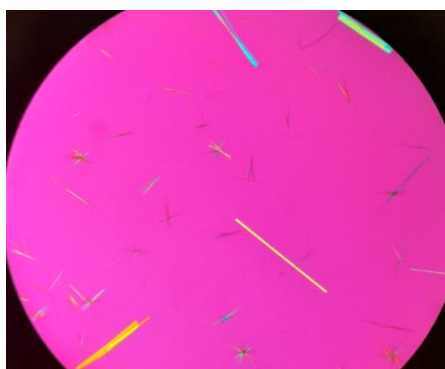
النتائج والمناقشة Results and Discussion

ذوبانية (solubility) الأسيكولوفير في السواغات:

بعد الحصول على السلاسل العيارية للأسيكولوفير، ومقاييسه تراكيز الأشباع للدواء ضمن المُحَلَّات تم الحصول على القيم المدرجة في الجدول (3).



الشكل (1): بلورات مادة الأسيكولوفير ضمن الصيغة FC7
تحت المجهر الاستقطابي بتكبير 20



الشكل (2): بلورات مادة الأسيكولوفير ضمن الصيغة FS7
بالمجهر الاستقطابي بتكبير 20

نتائج دراسة خصائص المستحلبات الدقيقة:

النفذية الضوئية عند طول موجة 650 nm:

تراوحت قيم النفذية للصيغ المحضرة بين 85.3 إلى 98.9%، حيث كانت أعلاها في FS9. يبين الجدول (4) التالي قيم النفذية لبعض الصيغ.

الجدول (4): قيم النفذية للصيغ المحضرة

Formulation	Transmittance%
FS9	98.9
FS8	98.1
FC9	95.2
FC8	94.7
FS7	93.5
FS6	91.9
FC7	91.6
FC6	90.1

من خلال تحضير كل صيغة من الصيغ الثمانية السابقة، واستخدام تراكيز من الأسيكولوفيرين 3ملغ/غ-20ملغ/غ مستحلب، وحضنها في جهاز هزاز (shaker)، تم مراقبة الخواص البصرية Optical properties، وقياس النفذية transmittance بمقياس الطيف الضوئي، إن استخدام تراكيز تتراوح بين 3-4 ملغ / غ مستحلب لم يؤثر على النفذية الضوئية للمستحلبات الدقيقة حيث كانت مشابهة لنفذية المستحلبات الدقيقة دون إضافة الأسيكولوفير، وذلك وفقاً لنوع الزيت المستخدم ونسبة العوامل الفعالة على السطح، حيث تم تحميل الصيغة (FS9) ب 4 ملغ / مستحلب دون تغيير في نفاديتها، وكذلك الصيغ (FS7، FC8، FC9، FS8) تم تحميلها ب 3 ملغ / غ مستحلب دون تغيير في نفاديتها، أما بالنسبة للصيغتين (FC7، FC6) قد تم تحميلهما ب 2ملغ/غ دون تغيير في النفذية. كان المقدار الذي يمكن تحميله من الأسيكولوفير في كل صيغة مختلفاً باختلاف نوع الزيت ونسبة العوامل الاستحلابية، حيث كانت أفضل النتائج مع زيت دوار الشمس والنسبة الأعلى من مزيج العوامل الاستحلابية (43% تقريباً) كما في الصيغة FS9، حيث يتوزع الأسيكولوفير بين الطورين المائي والزيتي بصورة أفضل بارتفاع نسبة العوامل الاستحلابية، وبوجود زيت دوار الشمس حيث كانت الانحلالية البدئية للأسيكولوفير فيه أعلى من زيت الخروع، لوحظ الترسيب عياناً ضمن الصيغ عند زيادة كمية الدواء.

تحري بلورات الأسيكولوفير في المستحلبات الدقيقة باستعمال المجهر الاستقطابي

تبين بدراسة الصيغ السابقة :

اختفاء بلورات الأسيكولوفير من الساحات المجهرية، مما يتوافق مع نتائج فحص النفذية، حيث حافظت هذه الصيغ الحاوية على الأسيكولوفير على نفاديتها مقارنة مع الصيغ الشاهدة.

يبين الشكلين التاليين (1-2) بلورات الأسيكولوفير في صيغ زيت دوار الشمس وزيت الخروع وذلك عند تراكيز لم يكن الدواء منحل فيها بشكل كامل.

دراسة أبعاد قطيرات المستحلبات بالـ Mastersizer:

يعتبر حجم الجسيمات من أهم الاختبارات في تقييم المستحلبات الدقيقة، حيث أنه يؤثر بشكل مباشر على ثبات و تحرر الدواء. تم تحليل الصيغ الثمانية.

الجدول (5): قيم درجات الحموضة للصيغ المحضرة

Formulation	PH
FS9	0.2±5.8
FS8	0.6±5.6
FS7	0.2±5.5
FS6	0.12±6.2
FC9	0.5±6.3
FC8	0.6±5.9
FC7	0.2±6.1
FC6	0.4±5.8

يبين الشكل التالي مظهر الصيغة FS9 والتي كانت الأعلى نفاذية للضوء:

**الشكل (3): مظهر الصيغة FS9 ذات النفاذية الأعلى****درجة الحموضة PH:**

تم تحديد متوسط حجم القطيرات Mean particle size، وتوزع الحجم Size distribution، وتجانس توزع الحجم Uniformity كما هو مبين في الجدول (6). تراوحت أبعاد القطيرات (Mean particle size) بين 1-3 µm مكم بتجانس توزع Uniformity تراوح بين 0.2-0.7، حيث بينت النتائج عبر Mastersizer أن الصيغ FS9 و FS8 كانت الأصغر من حيث الأبعاد. لذلك تم قياس أبعاد القطيرات بجهاز Nanosizer.

باستخدام جهاز قياس درجة الحموضة (HANNA، PH 211)، Italy في درجة حرارة 25 درجة مئوية أبدت الصيغ قيمة درجات حموضة من (5.5) إلى (6.3) كما هو مبين في الجدول (5)، وهي مقبولة من الناحية الفيزيولوجية ومناسبة للتطبيق الموضعي وللتطبيق عبر الجلد وذلك لأن قيمة PH الجلد تكون ضمن المجال التالي (5.5-7.0) (11)، وكذلك ملائمة للإعطاء الفموي حيث تتراوح درجة ال PH المناسبة للإعطاء الفموي من 5 إلى 8.¹⁸

الجدول (6): نتائج قياس حجم قطيرات المستحلبات بـ Mastersizer

	d (0.1 µm)	D (0.5µm)	d (0.9µm)	Mean particle size (µm)	Uniformity	Specific surface area(m ² /g)	SPAN
FC6	1.9	88.6	152.8	9.23	0.4	0.6	1.7
FC7	0.4	5.8	14.8	1.4	0.7	4.2	2.4
FC8	1.9	3.4	6.8	3.3	0.4	1.5	1.3
FC9	1.9	4.2	10.6	3.7	0.5	1.5	1.8
FS6	1.7	3.3	6.3	3.0	0.4	2	1.3
FS7	0.2	3.3	8.4	1.0	0.7	1.9	2.4
FS8	0.6	1.3	2.3	1.6	0.4	1.6	1.2
FS9	1.1	1.7	2.6	1.0	0.2	1.8	1.0

في نهاية عملية الطرد المركزي ب 3500 دورة في الدقيقة لمدة نصف ساعة باستعمال المثقلة (HERMLE Z Germany, 200A) لم يشاهد أي فصل في الأطوار ولا ترسب الدواء، مما يشير إلى ثبات المستحلبات الدقيقة فيزيائياً.

نتائج دراسات التحرر في الزجاج:

تمت دراسة التحرر في الزجاج باستخدام خلية فرانز على الصيغ السابقة. تبين أن الصيغتين FS8, FS9 هي أفضل الصيغ حيث تحرر أكثر من 90% من المادة الدوائية، تلاها الصيغتين FC9, FC8 حيث تحرر أكثر من 80% من المادة الدوائية بينما حررت FS7 ما يقارب 73% وحررت FS6 ما يقارب 65% وذلك خلال 20 دقيقة، ومن خلال الدراسة الاحصائية (ANOVA one way) على الصيغ المشتركة بنوع الزيت والمختلفة بنسبة العوامل الاستحلابية تبين وجود فرق جوهري ($n=3, P<0.05$) في التحرر عند كل نقطة زمنية من هذه الصيغ مما يبين أثر زيادة نسبة العوامل الاستحلابية في تحسين التحرر، وبالمقارنة بين الصيغ المشتركة بنسبة العوامل الاستحلابية والمختلفة بنوع الزيت باستخدام اختبار Student's t-test فإن التحرر أفضل بوجود زيت دوار الشمس مقارنة مع زيت الخروع وهذا يتوافق مع أبعاد قطيرات هذه الصيغ حيث بوجود زيت دوار الشمس كانت أبعاد القطيرات نانوية وكان التحرر أفضل. يبين الجدول (8) النسبة المئوية المتحررة من الأسكلوفير من المستحلبات الدقيقة.

دراسة أبعاد قطيرات المستحلبات بـ Nanosizer:

يقيس جهاز mastersizer أبعاد القطيرات بأبعاد أكبر من (0.1) ميكرون، تم استخدام جهاز Nanosizer لقياس أبعاد القطيرات الأصغر من (100) نانومتر. يشير مقياس التشتت ($PDI < 1$) إلى تقارب حجم القطيرات، حيث أنه كلما قل التشتت كانت القطيرات أكثر تجانساً. أظهر قياس الكمون زيت للصيغ FS8 و FS9 قيم قريبة من الصفر وهذا يتوافق مع بنيتها المكونة من عوامل استحلابية غير متأينة (السبان والتوين) وأبعادها 175 – 14 نانومتر على الترتيب. أما بقية الصيغ كانت كبيرة الحجم تتجاوز الـ 5 ميكرون. الجدول (7).

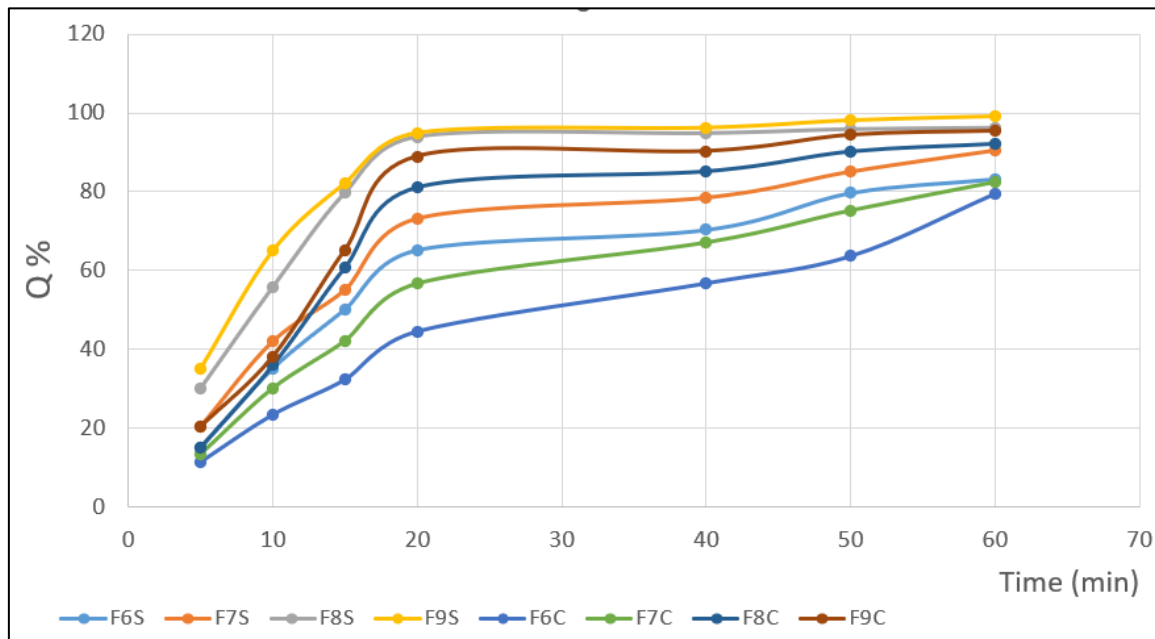
الجدول (7): نتائج قياس حجم قطيرات الصيغتين FS8 و FS9 باستخدام Nanosizer

رمز العينة	Size nm	PDI	Zeta potential mV
FS8	175	0.86	0.16
FS9	14.6	0.27	1.4

دراسات الثبات لأنظمة المستحلبات الدقيقة تحت الطرد المركزي:

الجدول (8): النسبة المئوية المتحررة للأسكلوفير من المستحلبات الدقيقة لكل صيغة

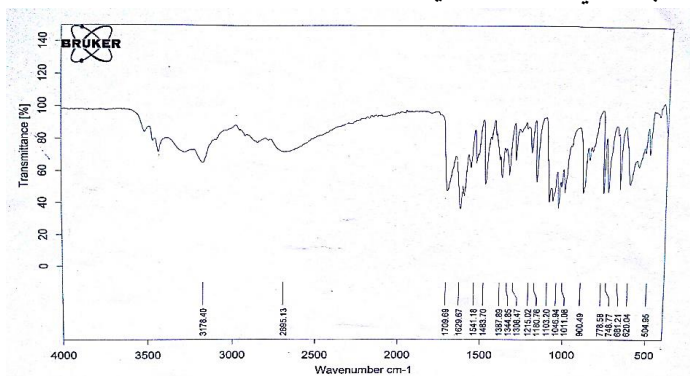
	F6S	F7S	F8S	F9S	F6C	F7C	F8C	F9C
Time (min)	Qave%±S.D.	Qave%±S.D.	Qave%±S.D.	Qave%±S.D.	Qave%±S.D.	Qave%±S.D.	Qave%±S.D.	Qave%±S.D.
5	5.25±0.15	1.5±0.20	3.21±1.30	3.35±0	2.5±0.11	2.5±0.13	5.21±0.15	2.5±1.20
10	5.26±0.35	3.1±0.42	2.85±1.55	9.65±0	2.5±0.23	2.2±0.30	4.36±1	3.22±0.38
15	8.25±0.50	1.2±0.55	5.75±0.79	4.21±0.82	1.4±0.32	1.2±1.42	2.8±0.60	8.26±0.65
20	6.25±0.65	5.3±0.73	2.95±1.93	7.95±1	1.6±0.44	5.7±1.56	3.12±0.81	1.95±0.88
40	6.36±0.70	9.6±0.78	6.58±1.49	5.33±1.96	2.8±0.56	5.1±1.67	4.19±1.85	2.25±0.90
50	3.69±1.79	6.2±0.85	1.86±1.95	1.22±0.98	1.7±0.63	1.2±0.75	5.21±1.90	5.35±0.94
60	6.22±1.83	9.6±0.90	9.21±0.96	1.23±0.99	2.5±0.79	2.4±0.82	2.15±0.92	3.36±0.95



الشكل (4): النسبة المئوية المتحررة للأسيكولوفير

التأثيرات الخفيفة عند أعداد موجة 1800-1000 حيث لوحظ تأثر بين الأسيكولوفير وزيت الخروع، زيت دوار الشمس، السبان 80 والتوين 80 عند 1709، 1483 وعند 1180 سم⁻¹ وفي المجال من 3300-2900 لوحظت التاثرات لذلك عند 3306، 2928 سم⁻¹ وذلك قد يعزى إلى تشكل روابط هيدروجينية بين الأسيكولوفير وال PEG₂₀₀، التوين 80 والسبان 80.

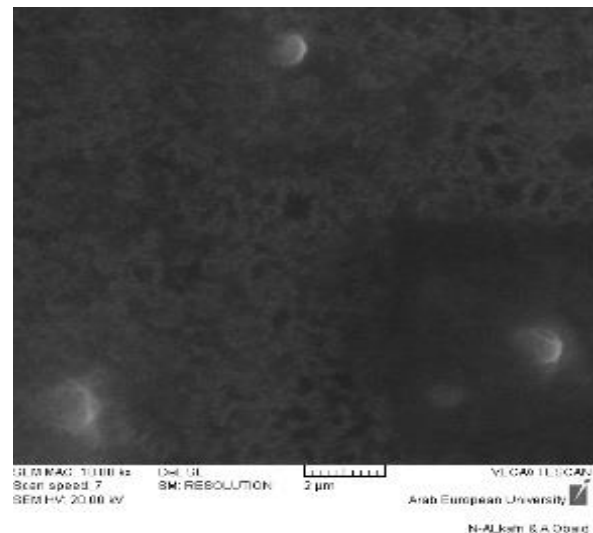
يبين الشكل (7) طيف الأشعة تحت الحمراء للأسيكولوفير حيث تظهر قمة عند (3500) سم⁻¹ موافقة لامتطاط (O-H)، وقمة عند (3400) تعود لامتطاط الأمين الأولي، وقمة عند (2937) توافق الامتطاط المتماثل C-H الأليفاتية وعند (2854) توافق الامتطاط غير المتماثل C-H الأليفاتية، وقمة عند (1709) تعود لامتطاط الكربونيل، وقمة (1103) تعود لامتطاط C-O، وقمة مميزة (1483) تعود لامتطاط الرابطة المضاعفة الكربونية في الحلقة العطرية.



الشكل (6): طيف المسح بالأشعة تحت الحمراء للأسيكولوفير

نتائج المجهر الالكتروني الماسح (SEM):

أظهر المجهر الالكتروني الماسح أن سطح قطيرات الطور الداخلي للصبغ الأمثل (FS9, FS8) أنها قطيرات كروية ملساء. الشكل (5)

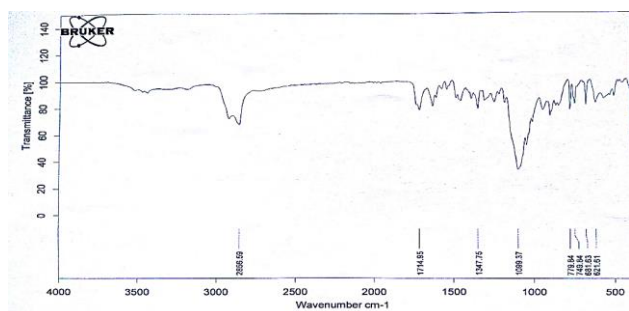


الشكل (5): صور المجهر الالكتروني الماسح (SEM)

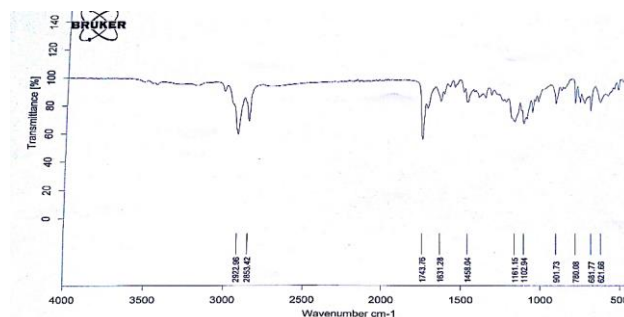
للصبغة F9S

1- دراسة مخططات طيف الأشعة تحت الحمراء IR:

تم استخدام FTIR BUKER و فحص المواد النقية والأمزجة الفيزيائية لها وبنسبة وزنية تساوي 50/50 % (w/w)، أبدى طيف الأشعة تحت الحمراء الناتج عن مزج الأسيكولوفير مع السواغ المدروس انخفاض في شدة بعض القمم المميزة للأسيكولوفير النقي بسبب التأثير الممدد للسواغ، ووجد بعض



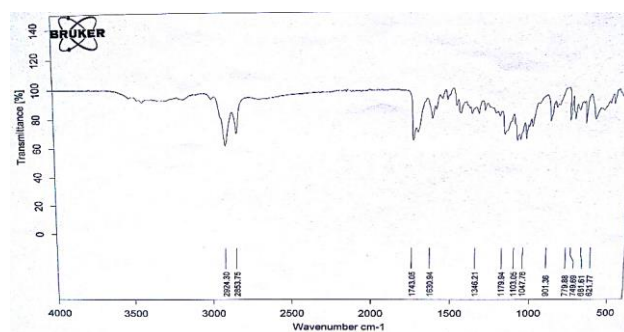
الشكل (9): طيف المسح بالأشعة تحت الحمراء للمزيج الفيزيائي الفيزيائي للأسيكلوفير والتوين 80



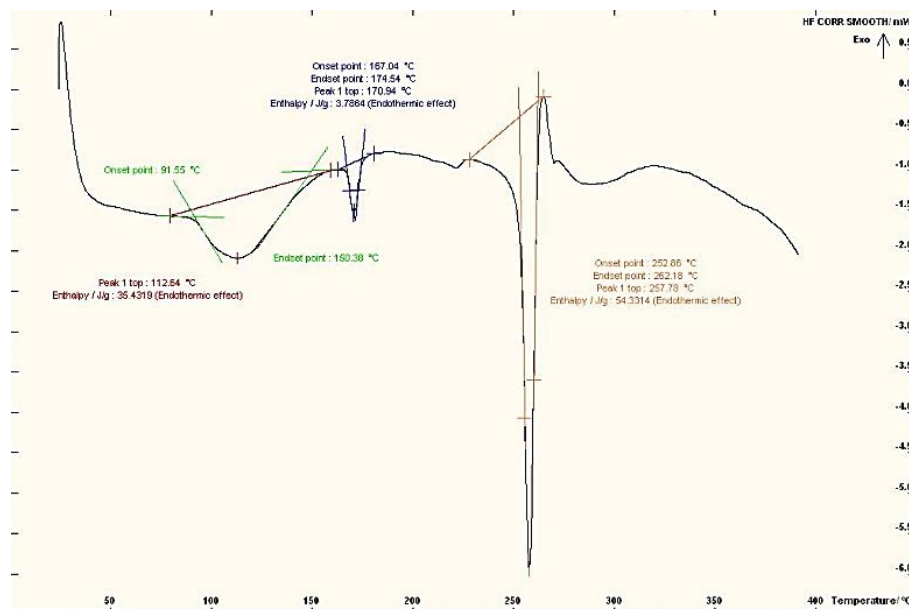
الشكل (7): طيف المسح بالأشعة تحت الحمراء للمزيج الفيزيائي لمادة الأسيكلوفير وزيت دوار الشمس

المسح الحراري التفاضلي DSC:

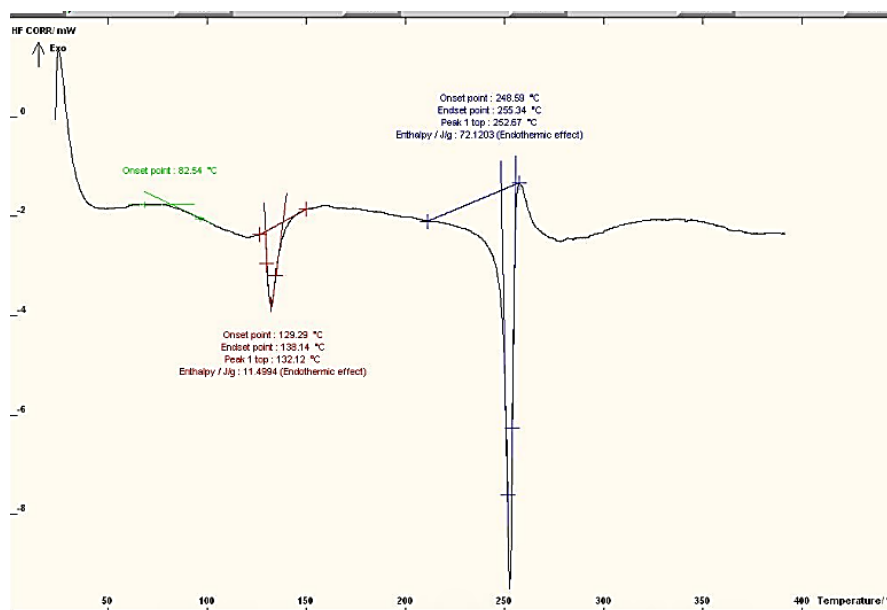
تم اجراء المسح الحراري التفاضلي باستخدام (DSC131، SETARAM)، توضح الأشكال التالية (11,12,13,14) مخطط المسح الحراري التفاضلي (thermo gram) DSC لكل من الأسيكلوفير وعينات من المزائج الفيزيائية لمادة الأسيكلوفير مع السواغات المدروسة بنسب (1:1)، حيث كانت مقارنة فيما بينها فقد أبدت جميعها قمة حادة ماصة للحرارة Endothermic تعزى الى انصهار الأسيكلوفير، والذي يظهر حالتها البلورية crystal structure، والتي ذروتها عند 257.78 م°، مما يؤكد هوية المادة. مع انزياحات بمقادير ضئيلة في بعض المزائج.



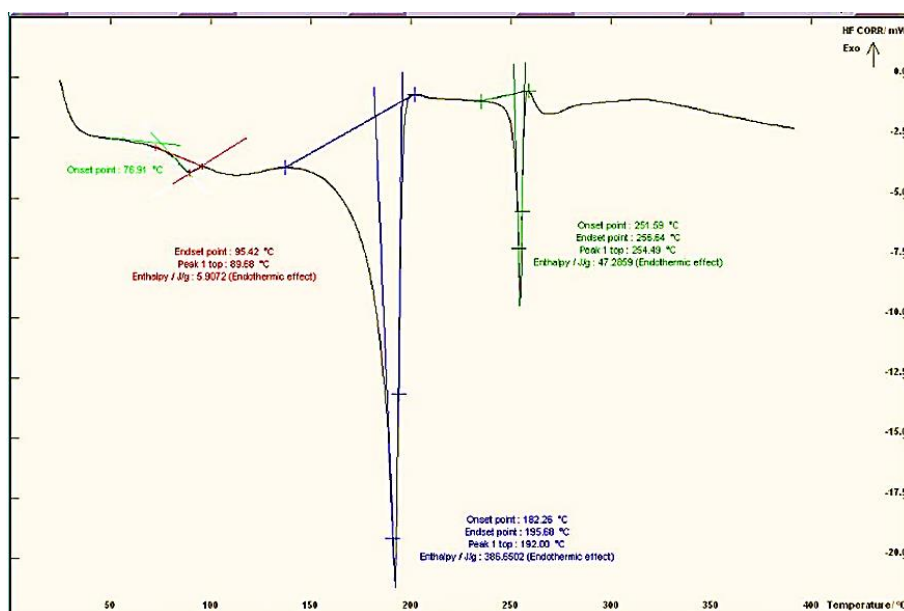
الشكل (8): طيف المسح بالأشعة تحت الحمراء للمزيج الفيزيائي للأسيكلوفير وزيت الخروع



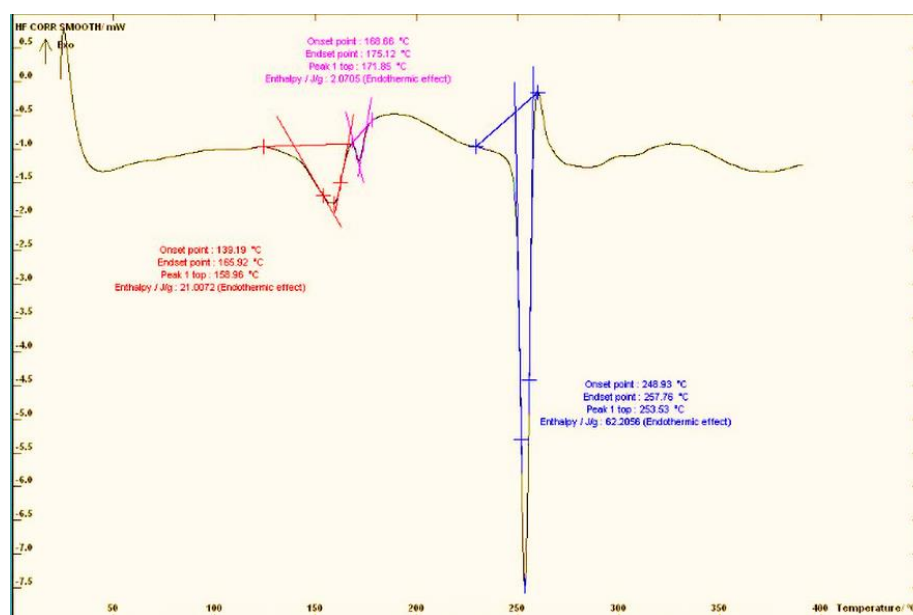
الشكل (10): مخطط ال DSC للأسيكلوفير



الشكل (11): مخطط الـ DSC للمزيج الفيزيائي الأسيكلوفير والسبان 80



الشكل (12): مخطط الـ DSC للمزيج الفيزيائي الأسيكلوفير والتون 80



الشكل (13): مخطط الـ DSC للمزيج الفيزيائي الأسكلوفير و PEG200

- Friedrichsen GM. et al. Synthesis of analogs of L-valaciclovir and determination of their substrate activity for the oligopeptide transporter in Caco-2 cells. *Eur J Pharm Sci* 16: 1–13. 2002
- Bergstrom CA. et al. Absorption classification of oral drugs based on molecular surface properties. *J Med Chem* 46:558–70. 2003
- Spruance SL. et al. Acyclovir cream for treatment of herpes simplex labialis: results of two randomized 'double-blind' vehicle-controlled multicenter clinical trials. *Antimicrob Agents Chemother* 46:2238–43. 2002
- Prajapat MD. Patel NJ. Bariya A. and Patel SS. Formulation and evaluation of self-emulsifying drug delivery system for nimodipine, a BSC Class II drug. *J Drug Deliv Sci Technol*. 39:59-68. 2017
- Singh B. Bandopadhyay S. Kapil R. Singh R. and Katare O. Self Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS): Formulation Development 'Characterzation 'And Applications. *Crit Rev Ther Drug Carr Syst*. 26(5):427-451. 2009
- Wang J. Lu C. Liu Y. Wang C. and Chu F. Preparation and characterization of natural rosin stabilized nanoparticles via miniemulsion polymerization and their pressure-sensitive adhesive applications.

الاستنتاجات Conclusions

- تم الحصول على مستحلبات دقيقة ثابتة فيزيائياً وقادرة على حل الاسكلوفير و تحريره.
- كانت الصيغة FS8 , FS9 ذوات أبعاد نانوية حررت الأسكلوفير أكثر من 90% خلال 20 دقيقة.
- كان التركيز و نسبة العوامل الفعالة سطحياً و PEG200 تأثير واضح على الخواص الفيزيوكيميائية للمستحلبات، وعلى التحرر.

المراجع References

- Arnal J. et al. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: aciclovir. *J Pharm Sci* 97:5061–73. 2008
- Fletcher C. and Bean B. Evaluation of oral acyclovir therapy. *Drug Intell Clin Pharm* 19:518–24. 1985
- Laskin OL. Clinical pharmacokinetics of acyclovir. *Clin Pharmacokinet* 8:187–201. 1983
- Johnson GL. Limon L. Trikha G. and Wall H. Acute renal failure and neurotoxicity following oral acyclovir. *Ann Pharmacother* 28:460–3. 1994
- Wagstaff AJ. Faulds D. and Goa KL. Acyclovir: a reappraisal of its antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 47:153–205. 1994

- Industrial Crops and Products, 124, 244-253. 2018
12. Du Y. Chen H. Chen R. and Xu N. Synthesis of p-aminophenol from p-nitrophenol over nano-sized nickel catalysts. *Applied Catalysis A: General*, 277(1-2), 259-264. 2004
 13. Ghosh P. K. Majithiya R. J. Umrethia M. L. and Murthy R. S. Design and development of microemulsion drug delivery system of acyclovir for improvement of oral bioavailability. *AAPS*. 2006
 14. Roland I. Piel G. Delattre L. and Evrard B. Systematic characterization of oil-in-water emulsions for formulation design. *International journal of pharmaceutics*, 263(1-2), 85-94. 2003
 15. Preeti.K et al. Evaluation and characterization of different polymers based drug theophylline in pulsatile drug delivery system. *The pharma innovation*. 1(7): 105-112. 2012
 16. Reddy.M. and Srinivas.N. Preparation and evaluation of immediate release celecoxib tablets. *International journal of innovative pharmaceutical sciences and research*. 2(10): 2272-2282. 2014
 17. Pavithra R. Sangeetha M. Senthilnathan B. and RavichandiranV. Formulation and evaluation of chronopharmaceutical drug delivery system. *Int.J.PharmTech Res*; 6(3): 1124-1130. 2014
 18. Maleki Dizaj S. Preparation and study of vitamin A palmitate microemulsion drug delivery system and investigation of co-surfactant effect. *Journal of nanostructure in chemistry*, 3(1), 1-6. 2013
 19. Kumar B. Jain S. K. Prajapati S. K. Mahor A. and Kumar A. Development and characterization of transdermal microemulsion gel for an antiviral drug. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(6), 57-74. 2010