

تهیه و ارزیابی میکروپارتیکل های روده ای ناپروکسن به روش کریستالیزاسیون کروی

مریم مقصودی*، محمدرضا سیاهی، هادی ولیزاده، فرناز فحیمی رضایی

دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۱/۹، تاریخ پذیرش: ۸۷/۲/۲۲

Preparation and evaluation of enteric release naproxen microparticles by spherical crystallization technique

Maghsoodi M.* , Siahi M., Valizadeh H., Fakhimi rezaie F.

Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Science, Drug Applied Research Center Tabriz University of Medical Science

Received: 2008/1/29, Accepted: 2008/5/11

Objective: The objective of this study was to prepare and evaluate naproxen-loaded enteric microparticles produced by spherical crystallization method. **Methods:** The method relies on the precipitation of the enteric polymer hydroxypropyl methyl cellulose phthalate (HPMCP), when its solution in an aqueous alkaline media are dropped into an acidic environment. Various manufacturing parameters, including polymer/naproxen ratio, the initial difference in temperature between solvent and non solvent (ΔT) and concentration of acid in non solvent were altered during the microparticle production. The effects of these changes on the micromeritic characteristics of microparticles and encapsulation efficiency were examined. The microparticles were also characterized by scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimetry (DSC) and x-ray diffractometry analyses. Dissolution studies were finally carried out to verify if the microparticles possessed gastroresistant characteristics. **Results:** The growth of particle size and the spherical form of the agglomerates resulted in formation of products with good flow properties. Drug release studies showed that naproxen release from microparticles exhibited pH dependent profiles. Greater encapsulation efficiency was obtained by reduction the polymer/naproxen ratio and by increasing ΔT and concentration of acid in non solvent. **Conclusion:** The spherical crystallization technique used is simple and minimize the use of organic solvents, and can be useful tools in preparing naproxen enteric microparticles.

Key words: Spherical crystallization, naproxen, HPMCP, Enteric microparticles.

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه، تهیه و ارزیابی میکروپارتیکل های روده ای ناپروکسن به روش کریستالیزاسیون کروی است. **روش ها:** اساس این روش بر پایه رسوب هیدروکسی پروپیل متیل سلولز فتالات (HPMCP) با افزودن قطره قطره محلول بازی آن به محیط اسیدی می باشد. پارامترهای مختلف شامل نسبت پلیمر به دارو، اختلاف دمای اولیه ی بین حلال و ناحلال (ΔT) و غلظت اسید در محیط ناحلال در طی تهیه میکروپارتیکل ها تغییر داده شد و تاثیر این متغییرها روی خصوصیات میکرومیتیک میکروپارتیکل ها و بازده انکپسولاسیون مورد بررسی قرار گرفت. میکروپارتیکل ها همچنین با استفاده از SEM, DSC و دیفرانکتومتری x-ray مورد ارزیابی قرار گرفتند و در نهایت مطالعات انحلال جهت تعیین مقاومت میکروپارتیکل ها نسبت به اسید معده انجام گرفت. **یافته ها:** تصاویر SEM نشان دادند که میکروپارتیکل ها کاملاً کروی و یکسان بودند که در نتیجه قابلیت ریزش آنها نیز بهبود قابل توجهی را نشان داد. نتایج مطالعات انحلال نشان داد که رهش ناپروکسن از میکروپارتیکل ها وابسته به pH بود. افزایش بازده انکپسولاسیون با کاهش نسبت پلیمر به دارو و با افزایش (ΔT) و غلظت اسید در محیط ناحلال بدست آمد. **نتیجه گیری:** روش کریستالیزاسیون کروی بکار رفته ساده بوده و مصرف حلال های آلی در آن به حداقل رسیده است و روش مناسبی برای تهیه میکروپارتیکل های روده ای ناپروکسن میباشد.

واژه های کلیدی: کریستالیزاسیون کروی، ناپروکسن، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز، میکروپارتیکل های روده ای.

*Corresponding author: Dr Maryam Maghsoodi, Assistant Professor, Faculty of pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tel: 3392593, Fax: 0411- 3344798, Email : maghsoodim@tbzmed.ac.ir

*نویسنده مسئول: دکتر مریم مقصودی، استادیار دانشکده داروسازی،

دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تلفن: ۳۳۹۲۵۹۳، نمابر: ۳۳۴۴۷۹۸

۱- مقدمه

ناپروکسن یکی از داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی است که در درمان آرتريت روماتوئید، استئوآرتريت و به عنوان ضد تب و ضد درد استفاده میشود. اما محدودیت مصرف آن به علت عوارض گوارشی میباشد. یکی از راههای کاهش عوارض جانبی در دستگاه گوارش استفاده از فرم روده ای دارو میباشد. از مزایای دیگر فرم های روده ای میتوان به رهش دارو در محل جذب اشاره کرد.

از طرفی تهیه فرم های چند واحدی روده ای نسبت به فرمهای تک واحدی ارجحیت دارد چرا که یکی از مشکلات فرم های تک واحدی متغیر بودن زمان باقی ماندن فرم دارویی در معده و بالطبع، متغیر بودن فراهم زیستی دارو است. از سوی دیگر در فرم های روده ای چند واحدی به علت کوچک بودن ساین ذرات وابستگی شروع اثر دارو به تخلیه ی معده متغی شده و عملکرد دارو از تکرار پذیری کافی برخوردار خواهد بود (۱).

کریستالیزاسیون کروی یک تکنیک کارآمد طراحی ذرات می باشد که در آن مراحل مختلف کریستالیزاسیون، جداسازی و آگلومراسیون هم زمان در یک مرحله صورت می گیرد و بدین ترتیب با کاهش مراحل تهیه، سدر زمان و هزینه صرفه جویی بسیاری می شود (۲).

از این تکنیک بیشتر جهت بهبود خصوصیات کمپرس پذیری و ریزش پودر به منظور قرص سازی به روش کمپرسیون مستقیم استفاده می شود (۴،۳) ولی اخیراً با وارد کردن پلیمر به سیستم این تکنیک جهت تهیه ی فرم های دارویی چون میکروسفرها (۵)، میکروکپسولها (۶)، میکروبالن (۷) و نانوسفرهای قابل تجزیه در بدن (۸) نیز مورد استفاده قرار گرفته است. در این سیستم ها ذرات دارو و پلیمر هم زمان کریستالیزه شده و به شکل مجتمع های کروی آگلومره می شوند (۹).

به تازگی مطالعاتی در زمینه امکان استفاده از این تکنیک جهت تهیه آگلومره های حاوی دارو و اکسیپیانهای مختلف نیز انجام گرفته است که نتایج بدست آمده امیدوار کننده بوده و باعث گشودن مسیر جدیدی در زمینه کاهش مراحل گرانولاسیون شده است (۱۰،۱۱).

در کار تحقیقی حاضر هدف تهیه ی میکروپارتیکل های روده ای ناپروکسن با استفاده از پلیمر هیدروکسی پروپیل متیل سلولز فتالات (HPMCP) به روش کریستالیزاسیون کروی و سپس ارزیابی میکروپارتیکل های حاصل میباشد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

ناپروکسن - (Shasun Chemicals & Drugs, India)

هیدروکسی پروپیل متیل سلولز فتالات - (Sigma-Aldrich, USA)

اسید سیتریک - (Merck, Germany)

بی کربنات سدیم - (Merck, Germany)

هیدروکسی پروپیل سلولز - (Nisso, Japan)

استون - (Merck, Germany)

استنارات منیریم - (BDH-England)

۲-۲: تجهیزات

پمپ پرستالتیک (JMS-SP-500-Japan)

پمپ خلا (Edwards, England)

اسپکتروفتومتر UV-visible (Shimadzu UV-160, Japan)

دستگاه شماره انحلال USP (Calera, England)

دستگاه اندازه گیری دانسیته (طراحی شده در آزمایشگاه)

دستگاه آنالیز حرارتی DSC (Shimadzu DSC60, Japan)

دیفرانکتومتر اشعه ایکس XPD (Siemens, Germany)

میکروسکوپ الکترونی SEM (Leo440i, England)

دستگاه قرص زنی تک سمبه ای دستی (Riken, Japan)

دستگاه اندازه گیری سختی قرص (Erweka, Germany)

۲-۳: روش کار

۲-۳-۱: تهیه میکروپارتیکل ها

اساس تهیه میکروپارتیکل ها بر پایه تغییر محلولیت HPMCP و ناپروکسن بود. محلول HPMCP در بی کربنات سدیم ۲٪ (۲۵ میلی لیتر) و ناپروکسن (۱۰۰۰ میلی گرم) در استون (۴ میلی لیتر) در ۵۰ درجه سانتی گراد از طریق پمپ پرستالتیک با سرعت ۴ میلی لیتر در دقیقه در ظرف حاوی ۵۰ میلی لیتر محلول اسید سیتریک (حاوی ۲۵٪/۰) هیدروکسی پروپیل سلولز) تزریق شد در حالیکه محلول اسید سیتریک توسط هم زن با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه مرتب هم زده می شد. عمل هم زدن تا مدت زمان ۱۲۰ دقیقه ادامه پیدا کرد. در نهایت، ذرات حاصل توسط پمپ خلاء صاف گردید و بر روی کاغذ صافی در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا کاملاً خشک شود.

متغیرهایی که در تهیه میکروپارتیکل ها در نظر گرفته شد عبارت بودند از اختلاف دمای اولیه حلال و ناحلال (ΔT) که با تغییر دادن دمای ناحلال، (۲۵،۰) و ۳۵ درجه سانتی گراد) ایجاد می شد، نسبت پلیمر به دارو و غلظت اسید در محیط ناحلال که در جدول شماره (۱) به آنها اشاره شده است.

۲-۳-۲: تعیین کارایی انکپسولاسیون میکروپارتیکلها

جهت تعیین کارایی انکپسولاسیون ۲۰۰ میلی گرم از هر نمونه توزین و در ۱۰۰ میلی لیتر بافر فسفات (pH=۷/۴) حل

گردید. سپس بوسیله اسپکتروفتومتر UV در طول موج ۳۲۹/۴ نانومتر جذب محلول تعیین و با استفاده از منحنی کالیبراسیون ناپروکسن در محیط مذکور، غلظت ناپروکسن محاسبه شد. سپس کارائی انکپسولاسیون طبق معادله (۱) تعیین گردید.

معادله (۱)

$100 \times \text{وزن واقعی دارو در نمونه} = \text{کارائی انکپسولاسیون}$
وزن تئوریک دارو در نمونه

۷-۳-۲- تفرق اشعه ایکس (XRD)

حفره فلزی نگهدارنده پودر بانمونه که قبلاً بوسیله هاون نرم شده بود پر شد سپس بر روی پلیتی از جنس کوارتز جهت تابش اشعه ایکس (Cu Ka) با طول موج ۱/۵۴۱۰۶ آنگستروم قرار داده شد. دمای محیط ۲۵ درجه سانتی گراد و سرعت اسکن برابر با ۰/۰۶ درجه بر دقیقه، در محدوده ۲θ ۷۰-۵ بود.

۸-۳-۲: تست انحلال

۲۰۰ میلی گرم از میکروپارتیکل ها در ۹۰۰ میلی لیتر بافر اسیدی (pH=۱/۲) و بافر فسفات (pH=۷/۴) در دمای ۳۷±۰/۵ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه شماره ۱ (بسکت) USP و سرعت به هم زدن ۱۰۰ rpm به مدت به ترتیب ۱۲۰ و ۳۰۰ دقیقه مورد آزمایش قرار گرفت و از هر یک در زمانهای متوالی به وسیله سرنگ نمونه های ۵ میلی لیتری برداشته شد.

به منظور جایگزینی حجم برداشته شده به همان مقدار بافر مربوطه هم دما جانشین گردید. به منظور برقراری تعادل دمایی با محیط آزمایشگاه، نمونه ها مدت زمان مشخصی به حالت سکون در آزمایشگاه قرار گرفتند و سپس با اندازه گیری جذب نمونه ها در طول موج ۳۳۰/۴ نانومتر برای محیط بافر اسیدی و ۳۲۹/۴ نانومتر برای محیط بافر بازی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV و با استفاده از منحنی کالیبراسیون دارو در محیط مربوطه غلظت دارو تعیین گردید.

۹-۳-۲: آنالیز آماری

مقایسه آماری نتایج بدست آمده از نمونه ها به کمک نرم افزار spss (نسخه ۱۳) و با آنالیز واریانس ANOVA یک سویه با (α=۰/۰۵) انجام گرفت. برای مقایسه پروفایل انحلال ناپروکسن از نمونه های مختلف طبق معادله ۳ از فاکتور تشابه استفاده شد (۱۲).

معادله ۳

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

که در این رابطه f_2 : فاکتور تشابه، n: تعداد نمونه های اندازه گیری شده، R_i : درصد داروی آزاد شده از شکل دارویی فرانس و T_i : درصد داروی آزاد شده از شکل دارویی مورد آزمایش است. لازم به ذکر است پروفایل های انحلال با فاکتور تشابه بین ۵۰-۱۰۰ مشابه تلقی می شود.

۳-۳-۲: محاسبه شاخص کار (Carr Index)

در یک استوانه مدرج مقدار مشخص از نمونه ریخته شد و حجم اولیه قرائت گردید. سپس جهت بدست آوردن حجم نهائی توسط دستگاه مخصوص ضربه زننده، استوانه مدرج و محتویاتش تا جایی که دیگر تغییر حجمی مشاهده نشود تحت ضربه قرار گرفتند. شاخص کار با استفاده از معادله (۲) بدست آمد.

معادله (۲) شاخص کار = $\frac{\text{حجم اولیه} - \text{حجم نهائی}}{\text{حجم اولیه}} \times 100$

۴-۳-۲: تعیین اندازه ذره ای

برای تعیین اندازه ذره ای از روش میکروسکوپ استفاده شد. بدین ترتیب که قطر تصویری (قطر مارتین) حداقل ۶۰ ذره در هر نمونه به کمک نرم افزار Scion Imag اندازه گیری شد.

۵-۳-۲: تصویربرداری به کمک میکروسکوپ الکترونی (SEM)

شکل و خصوصیات سطحی نمونه ها توسط میکروسکوپ الکترونی بررسی شد. نمونه ها با استفاده از چسب دو طرفه روی یک پایه فلزی (slab) قرار گرفته، سپس پایه ها در اتاقک کوتینگ قرار داده شدند. اتاقک از هوا تخلیه شد و با آرگون مجدداً پر شد و نمونه ها با طلا روکش داده شدند. سپس نمونه های روکش داده شده در میکروسکوپ الکترونی و اتاقک خلاء آن قرار داده شدند. پس از ایجاد خلاء به میزان 10^{-4} torr و ولتاژ ۱۲ کیلوولت برای شتاب دادن به الکترون ها به وسیله تفنگ الکترونی، از نمونه ها در بزرگنمایی های مختلف تصویربرداری شد.

۶-۳-۲: آنالیز حرارتی (DSC)

به منظور بررسی خصوصیات حرارتی نمونه ها ۵ میلی گرم از نمونه مورد آزمایش پس از توزین دقیق داخل pan آلومینیومی دستگاه DSC قرار گرفته و پرچ گردید. pan مربوط به شاهد حاوی ۱۰ میلی گرم آلومین به همین ترتیب تهیه شد. نمونه ها از دمای محیط تا دمای ۲۰۰ درجه سانتی

۳- نتایج و بحث

۳-۱: خصوصیات میکرومتریک

شکل (۱) تصاویر SEM نمونه‌ها را نشان می‌دهد. ناپروکسن اولیه دارای کریستال‌های plate شکل و نامنظم بوده و در تصویر با بزرگنمایی بیشتر مشاهده می‌شود که سطح این کریستال‌ها فاقد پروزیتته‌ی مشخص می‌باشد. از سوی دیگر میکروپارتیکل‌ها تقریباً کروی و دارای سطح پروزیتته‌دار می‌باشند.

جدول (۲) میانگین و توزیع اندازه‌ی ذره‌ی ناپروکسن اولیه و میکروپارتیکل‌ها را نشان می‌دهد. همان طوری که در این جدول و تصاویر SEM دیده می‌شود اندازه‌ی ذره‌ی ناپروکسن اولیه نسبت به میکروپارتیکل‌ها بسیار کوچک‌تر می‌باشد. اکثر ذرات میکروپارتیکل‌ها در محدوده‌ی ۱۷۰۰-۱۰۰۰ میکرون می‌باشند در حالی که کریستال‌های ناپروکسن اولیه بیشتر در محدوده‌ی ۱۰-۲ میکرون واقع شده‌اند. اندازه‌ی نهایی میکروپارتیکل‌ها متأثر از عملکرد پیچیده‌ی متغیرهای مختلف از جمله سرعت تزریق حلال روی ناحلال، اندازه‌ی سر سوزن تزریق، شرایط خشک کردن، دما و غلظت مواد موجود در محیط کریستالیزاسیون می‌باشد (۱۳). که با ثابت نگهداشتن این شرایط سعی شد تا تأثیر متغیرهای ناخواسته روی اندازه میکروپارتیکل‌ها حذف شود.

طبق نتایج با افزایش نسبت پلیمر به دارو، ΔT و غلظت اسید در محیط ناحلال اندازه میکروپارتیکل‌ها افزایش پیدا می‌کند. با افزایش نسبت پلیمر به دارو ویسکوزیته‌ی محلول پلیمری افزایش پیدا می‌کند که در نتیجه موقع تزریق به فاز ناحلال قطرات و متعاقباً میکروپارتیکل‌های درشت‌تری را ایجاد خواهد کرد (۱۴).

همچنین تسریع سفت شدن غشا پلیمری در اطراف ذرات در اثر افزایش ΔT و درصد اسید در محیط ناحلال مانع از ریز شدن و شکستن ذرات در اثر نیروی هم‌زدن می‌شود که در نتیجه میکروپارتیکل‌های درشت به وجود می‌آید (۱۴). نتایج مربوط به دانسیته ظاهری و فشردگی نمونه‌ها در جدول (۲) آورده شده است.

تحقیقات نشان داده است که ذرات کوچک‌تر، غیر کروی‌تر با تضاريس سطحی بیشتر و دانسیته‌ی ذره‌ای کمتر باعث تماس و اصطکاک بین ذره‌ای بیشتر شده و در نتیجه دانسیته‌ی ظاهری و فشردگی کوچک‌تری را ایجاد می‌کنند (۱۵).

نتایج نشان می‌دهد که افزایش ΔT و درصد اسید در محیط ناحلال باعث افزایش دانسیته در میکروپارتیکل‌های حاصل شده است. علت این امر احتمالاً مربوط به تأثیر این متغیرها روی سفت شدن میکروپارتیکل‌ها است.

افزایش ΔT و درصد اسید در محیط ناحلال باعث تسریع تشکیل غشا پلیمری در اطراف ذرات شده و متعاقباً از دیفوزیون متقابل حلال و ناحلال و در نتیجه تشکیل پروزیتته در غشا میکروپارتیکل‌ها جلوگیری می‌کند. کاهش پروزیتته در غشا پلیمری باعث افزایش دانسیته‌ی ذره‌ای و در نتیجه دانسیته‌ی ظاهری و فشردگی پودر حاصل خواهد شد (۱۴).

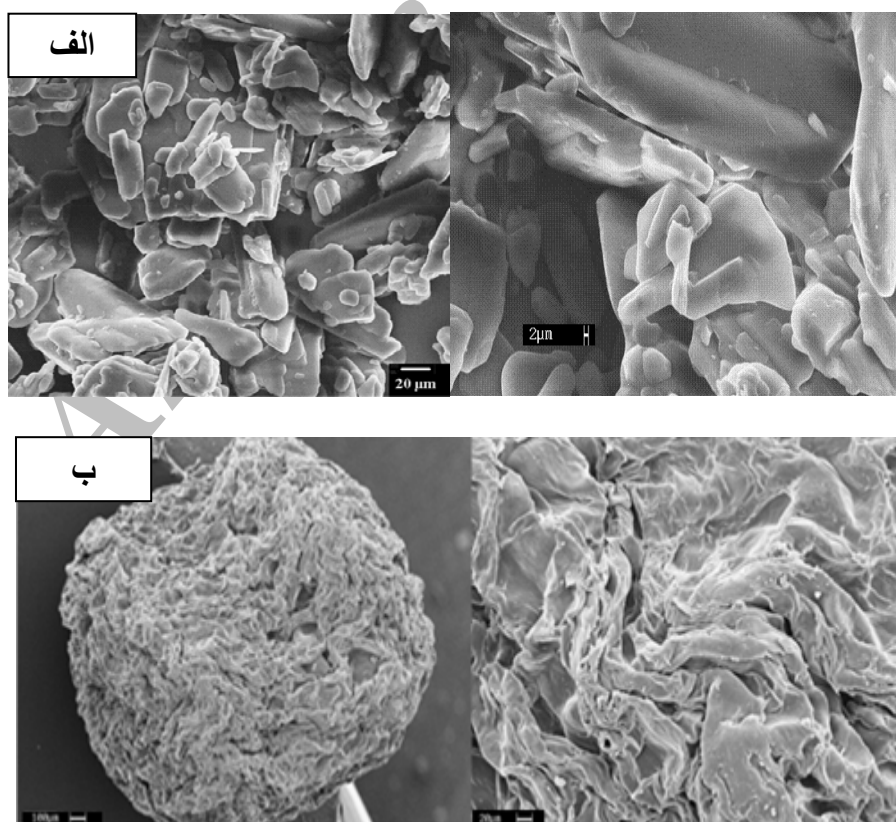
نتایج قابلیت ریزش نمونه‌ها که با پارامتر کار ایندکس مشخص شده است (جدول ۲) نشان می‌دهد که قابلیت ریزش میکروپارتیکل‌ها در مقایسه با ناپروکسن اولیه بهبود قابل ملاحظه‌ای یافته است. میکروپارتیکل‌ها با شکل کروی و اندازه‌ی ذره‌ای درشت‌تر نسبت به ذرات ناپروکسن اولیه با کریستال‌های مسطح، دارای نقاط تماس بین ذره‌ای کمتری در بستر پودر خود می‌باشند که در نتیجه کار ایندکس کوچک‌تر را ایجاد می‌کنند (۱۶).

جدول شماره ۱: مشخصات فرمولاسیون‌های مختلف

فرمولاسیون	نسبت پلیمر به دارو	دمای اولیه ناحلال (°C)	اختلاف دمای اولیه حلال و ناحلال (ΔT) (°C)	در صد اسید در محیط ناحلال (%)
A ₁	۲/۱	۰	۵۰	۱۰
B	۳/۱	۰	۵۰	۱۰
C	۴/۱	۰	۵۰	۱۰
D	۶/۱	۰	۵۰	۱۰
A ₂	۲/۱	۲۵	۲۵	۱۰
A ₃	۲/۱	۳۵	۱۵	۱۰
A ₄	۲/۱	۰	۵۰	۰/۱۲۵
A ₅	۲/۱	۰	۵۰	۱۴

جدول شماره ۲: نتایج مربوط به کارایی انکپسولاسیون، دانسیته، شاخص کار و اندازه ذره ای نمونه ها

فرمولاسیون	کارایی انکپسولاسیون	دانسیته ظاهری (g/cm3)	دانسیته فشرده‌گی (g/cm3)	شاخص کار (%)	dg ± σg(μm)
A1	۷۲/۵±۱/۲	۰/۳۹۴±۰/۰۰۲	۰/۴۹۸±۰/۰۰۵	۲۰/۸۳±۰/۰۳	۱۶۵۹±۴۴۳
B	۵۷/۰±۱/۲	۰/۶۶۹±۰/۰۰۱	۰/۷۴۳±۰/۰۰۳	۱۰/۰۰±۰/۰۵	۱۷۵۷±۴۶۴
C	۴۳/۶±۱/۳	۰/۶۲۵±۰/۰۰۳	۰/۷۱۲±۰/۰۰۲	۱۲/۲۴±۰/۰۶	۱۷۲۷±۴۵۲
D	۳۲/۸±۱/۲	۰/۳۹۴±۰/۰۰۲	۰/۴۹۸±۰/۰۰۲	۲۰/۸۳±۰/۰۷	۲۷۶۱±۴۵۳
A2	۶۳/۱±۱/۴	۰/۳۰۶±۰/۰۰۱	۰/۳۸۴±۰/۰۰۳	۲۰/۴۵±۰/۰۵	۹۶۷±۵۳۵
A3	۶۹/۷±۱/۳	۰/۱۳۱±۰/۰۰۱	۰/۱۷۴±۰/۰۰۲	۲۴/۳۹±۰/۰۱	۱۶۱۷±۴۳۲
A4	---	۰/۱۴۰±۰/۰۰۲	۰/۲۷۹±۰/۰۰۲	۵۰/۰۰±۰/۰۸	۶۹۹±۱۲۷
A5	۷۷/۳±۱/۴	۰/۴۶۴±۰/۰۰۲	۰/۵۶۲±۰/۰۰۲	۱۷/۳۹±۰/۰۶	۱۷۳۷±۴۵۸
ناپروکسن تریئد	-	۰/۳۴۴±۰/۰۰۳	۰/۷۱۴±۰/۰۰۲	۲۸/۲۰±۰/۰۵	۲۰±۴۸
ناپروکسن اولیه	-	۰/۱۶۱±۰/۰۰۲	۰/۲۲۴±۰/۰۰۳	۵۱/۷۲±۰/۰۹	۱۰±۵



شکل ۱: تصاویر میکروسکوب الکترونی (الف) ناپروکسن اولیه، (ب) میکروپارتیکل A1

۲-۳: کارائی انکپسولاسیون

نتایج مربوط به کارائی انکپسولاسیون نمونه ها در جدول (۲) آورده شده است. همان طوری که در این جدول مشاهده می شود، با کاهش نسبت پلیمر به دارو افزایش قابل توجهی در کارائی انکپسولاسیون دیده می شود. برای مثال وقتی نسبت پلیمر به دارو از ۶/۱ به ۲/۱ کاهش می یابد کارائی انکپسولاسیون در میکروپارتیکل ها از حدود ۳۲٪ به تقریباً ۷۲٪ می رسد. به عبارتی ترتیب کارائی انکپسولاسیون در میکروپارتیکل ها با نسبت های مختلف پلیمر به دارو به ترتیب ذیل $6/1 > 4/1 > 3/1 > 2/1$ می باشد. علت این امر ظاهراً ناشی از سفت شدن سریع قطرات فاز پراکنده (محلول پلیمر و دارو) در حضور نسبت کم پلیمر می باشد (۱۷ و ۱۸).

افزایش در نسبت پلیمر منجر به افزایش ویسکوزیته به یک حد بحرانی می شود که در بالاتر از آن انتقال از حالت لاستیکی به حالت شیشه ای در محلول پلیمر به تأخیر می افتد و میکروپارتیکل برای مدت طولانی تر نرم باقی می ماند. تأخیر در تبدیل از حالت ژل به شیشه ای باعث می شود که حلال بیشتری از قطرات فاز پراکنده به فاز ناحلال نفوذ پیدا کند و همراه خود داروی حل شده را به خارج (فاز ناحلال) حمل نماید.

در نتیجه زمان طولانی تر برای سفت شدن میکروپارتیکل ها منجر به عبور مقدار بیشتر دارو به فاز ناحلال و کاهش در کارائی انکپسولاسیون خواهد شد. در واقع می توان گفت کارائی انکپسولاسیون نتیجه رقابت بین فرار حلال حاوی دارو از قطرات فاز پراکنده و رسوب پلیمر در سطح این قطرات می باشد (۱۴).

همان طوری که نتایج نشان می دهد افزایش گرادیانت دما بین فاز حلال و ناحلال باعث افزایش در کارائی انکپسولاسیون میکروپارتیکل ها شده است. افزایش گرادیانت دما باعث افزایش سرعت سفت شدن میکروپارتیکل ها و در نتیجه تسریع در رسوب پلیمر و کریستالیزاسیون دارو می شود که متعاقباً نفوذ متقابل حلال و ناحلال و حمل داروی حل شده توسط حلال به فاز ناحلال کاهش می یابد (۱۹).

هم چنین نتایج نشان می دهد که افزایش درصد اسید در محیط ناحلال از ۱۰٪ به ۱۴٪ باعث افزایش کارائی انکپسولاسیون در میکروپارتیکل ها به علت افزایش سرعت رسوب پلیمر آنیونیک (HPMCP) و متعاقباً تسریع سفت شدن میکروپارتیکل ها می شود. از سوی دیگر کارائی انکپسولاسیون بالاتر از ۱۰۰٪ در نمونه A₄ بیانگر این مطلب است که حضور ۱۲۵٪ اسید در محیط ناحلال جهت رسوب کامل پلیمر کافی نبوده و در ذرات تشکیل شده

نسبت پلیمر به دارو خیلی کوچکتر از میزان تئوریک می باشد.

۳-۳: رهش دارو از میکروپارتیکل ها

شکل های (۲ تا ۴) پروفایل های رهش ناپروکسن از میکروپارتیکل ها در محیط های بافر اسیدی و بازی را نشان می دهد. در نمونه ی ناپروکسن اولیه نزدیک به ۲۲٪ از دارو در عرض ۱۲۰ دقیقه در محیط بافر اسیدی (pH=۱/۲) حل شده است در حالی که در بافر بازی (pH=۷/۴) انحلال ۱۰۰٪ دارو در عرض ۶۰ دقیقه کامل شده است. در نمونه ی ناپروکسن تریپتد دارو رهش کندتری در هر دو محیط انحلال نسبت به نمونه ی ناپروکسن اولیه نشان می دهد که اندازه ی ذره ای بزرگتر و در نتیجه سطح مخصوص کوچک تر نمونه ی ناپروکسن تریپتد در مقایسه با ناپروکسن اولیه می تواند توجیه کننده ی نتایج مذکور باشد (۲۰).

در میکروپارتیکلها به علت حضور پلیمر آنیونیک (HPMCP) انحلال محسوسی در بافر اسیدی (pH=۱/۲) مورد انتظار نمی باشد که نتایج به دست آمده نیز این مطلب را تأیید می کند و میکروپارتیکل ها به علت نامحلول بودن (HPMCP) در بافر اسیدی (pH=۱/۲) در این محیط اندکی متورم شده و در انتهای ۱۲۰ دقیقه در تمام نسبت های پلیمر به دارو تقریباً دست نخورده باقی می ماند. در حالی که چون (HPMCP) در محیط بافر بازی محلول می باشد (۲۱) رهش سریع دارو به علت تخریب میکروپارتیکل ها در محیط مذکور اتفاق می افتد و تقریباً ۱۰۰٪ دارو در عرض ۱۲۰ دقیقه رهش پیدا کرده و میکروپارتیکل ها ناپدید می شوند.

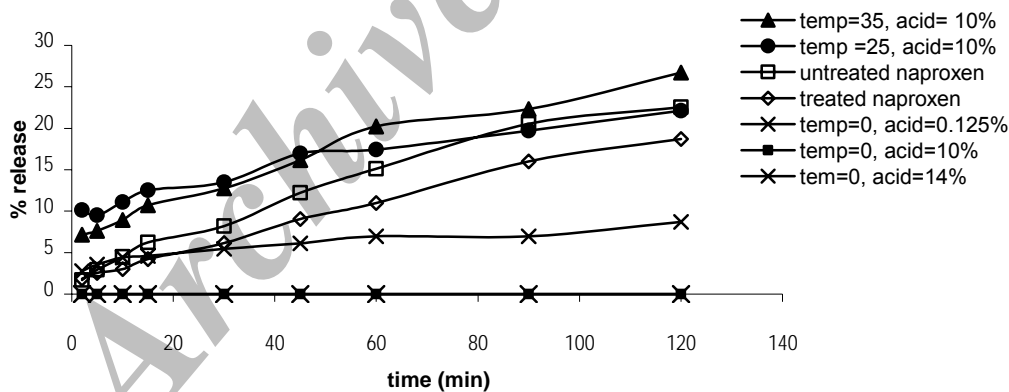
طبق نتایج رهش دارو در محیط بافر بازی از تمام میکروپارتیکل ها صرف نظر از ترکیب و شرایط ساختشان به طور بارزی نسبت به ناپروکسن اولیه آهسته تر می باشد.

نتایج نشان می دهد که (شکل ۳) با افزایش نسبت پلیمر به دارو سرعت رهش ناپروکسن از میکروپارتیکل ها در محیط بافر بازی کاهش پیدا میکند. البته لازم به ذکر است که تفاوت معنی داری بین پروفایل انحلال دارو در محیط مذکور وقتی نسبت پلیمر به دارو از ۳/۱ به ۶/۱ افزایش می یابد دیده نمی شود. ($f > 50$)

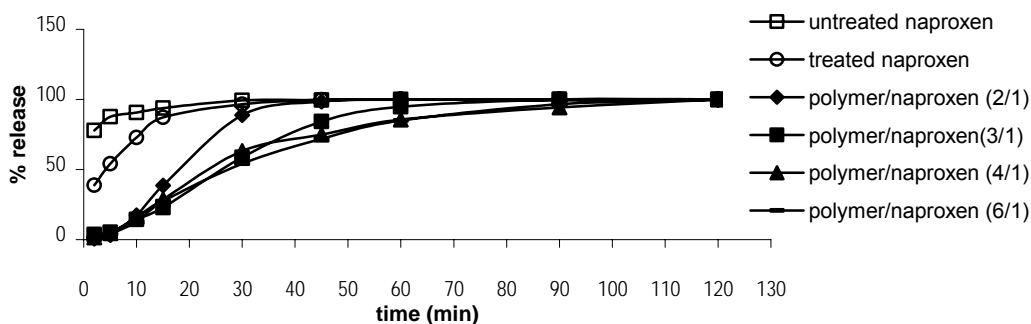
از سوی دیگر با توجه به اینکه رهش ناپروکسن از میکروپارتیکل های با نسبت های مختلف پلیمر به دارو در محیط بافر اسیدی تفاوت معنی داری نشان نمیدهد میتوان نتیجه گرفت که نسبت ۲/۱ پلیمر به دارو جهت تهیه میکروپارتیکل های روده ای ناپروکسن کافی می باشد.

طبق نتایج حضور ۰/۱۲۵٪ اسیدسیتریک در محیط ناحلال برای محافظت از رهش دارو در محیط اسیدی در میکروپارتیکل‌ها کافی نمی‌باشد. همان طوری که در شکل (۲) دیده می‌شود در میکروپارتیکل‌های تهیه شده در حضور ۰/۱۲۵٪ اسید سیتریک در محیط ناحلال رهش ناپروکسن در محیط بافر اسیدی (pH = ۱/۲) افزایش قابل توجهی نشان می‌دهد. در حالی که در محیط مذکور رهش ناپروکسن از میکروپارتیکل‌های تهیه شده در حضور ۰/۱۰٪ و ۰/۱۴٪ اسید سیتریک در محیط ناحلال در طی ۱۲۰ دقیقه نامحسوس می‌باشد. افزایش سرعت انحلال دارو در محیط بافر اسیدی (شکل ۲) و بافر بازی (شکل ۴) از میکروپارتیکل‌های تهیه شده در حضور ۰/۱۲۵٪ اسید سیتریک در محیط ناحلال و نزدیک شدن آن به سرعت انحلال دارو از نمونه ناپروکسن اولیه ظاهراً به علت کافی نبودن غلظت اسیدسیتریک در محیط ناحلال جهت رسوب و سفت شدن پلیمر (HPMCP) در تشکیل میکروپارتیکل‌ها می‌باشد. هم‌چنان که نتایج کارائی انکپسولاسیون (جدول ۲) نیز مطلب مذکور را تأیید می‌کند که در قسمت مربوطه مورد بحث قرار گرفته است.

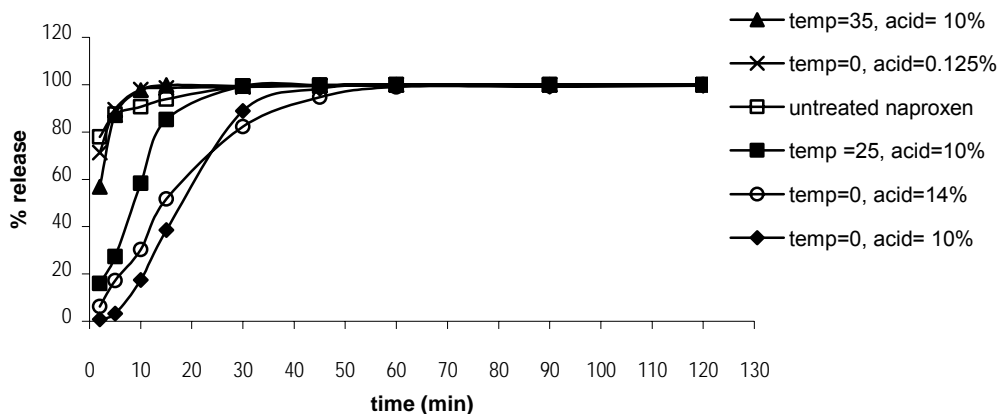
شکل (۴) پروفایل انحلال ناپروکسن از میکروپارتیکل‌های تهیه شده در دماهای مختلف ناحلال را نشان می‌دهند. همان طوری که از نتایج بر می‌آید دمای محیط ناحلال نیز در رهش دارو از میکروپارتیکل‌ها تأثیر گذار است. افزایش گرادینت دما بین فاز حلال و ناحلال باعث کاهش سرعت رهش دارو از میکروپارتیکل‌ها در نسبت ثابت ۲/۱ پلیمر به دارو شده است. نتایج به دست آمده احتمالاً ناشی از تأثیر گرادینت دما روی مرحله ی سفت شدن میکروپارتیکل‌ها می‌باشد. افزایش گرادینت دما بین فاز حلال و ناحلال باعث تسریع کریستالیزاسیون دارو و همچنین افزایش سرعت تشکیل سد پلیمری (HPMCP) می‌شود که خود این امر از نفوذ متقابل حلال و ناحلال در حین تشکیل میکروپارتیکل‌ها جلوگیری کرده و باعث کاهش تشکیل پروزیتته در میکروپارتیکل‌ها می‌شود. ماحصل کاهش پروزیتته در میکروپارتیکل‌ها، کاهش سرعت نفوذ محیط انحلال به داخل میکروپارتیکل‌ها و بالطبع کاهش سرعت انحلال دارو از میکروپارتیکل‌های حاصل خواهد بود (۲۱). کاهش سرعت انحلال دارو از میکروپارتیکل‌های مذکور هم‌چنین می‌تواند به افزایش اندازه ی ذره ای (جدول ۲) و در نتیجه کاهش سطح مخصوص ذرات با افزایش گرادینت دما بین فاز حلال و ناحلال مربوط باشد (۲۰).



شکل ۲: نمودار رهش دارو در محیط بافر اسیدی از میکروپارتیکل‌های تهیه شده در شرایط مختلف محیط ناحلال (درصد اسید و دمای مختلف).



شکل ۳: نمودار رهش دارو در محیط بافر بازی از میکروپارتیکل‌های تهیه شده بانسبت‌های مختلف پلیمر به دارو.



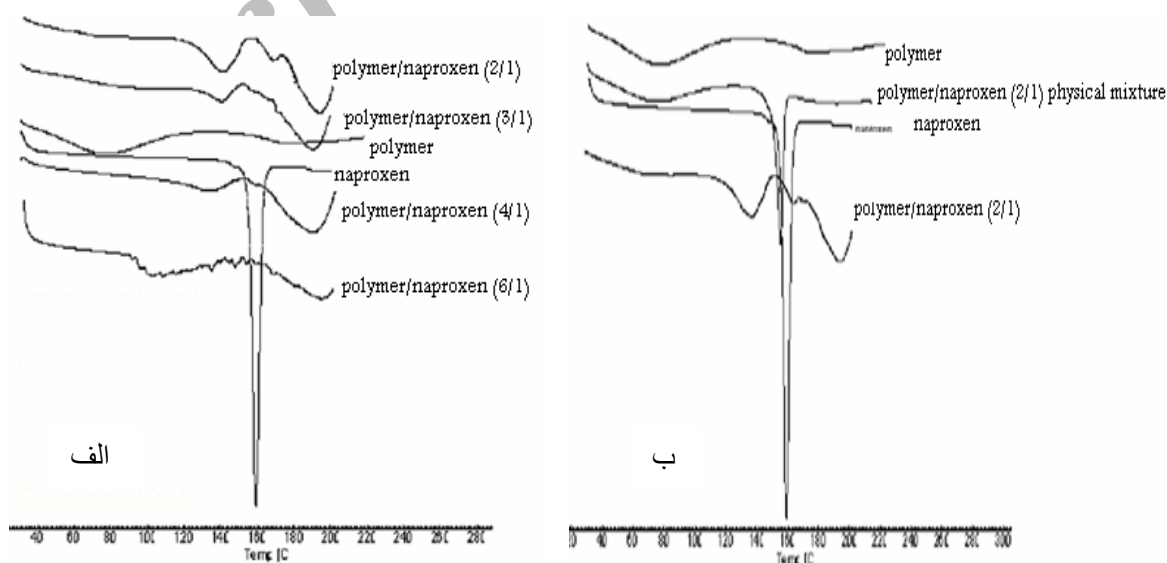
شکل ۴: نمودار رهش دارو در محیط بافر بازی از میکروپارتیکل های تهیه شده در شرایط مختلف محیط ناحلال (درصد اسید و دمای مختلف).

دهنده ی پخش مولکولی قسمتی از دارو در پلیمر می باشد به عبارتی بخشی از دارو در ماتریکس پلیمری حل شده است (۲۲). محو شدن پیک دارو در نسبت ۶/۱ پلیمر به دارو بیانگر این مطلب است که محلولیت ناپروکسن در HPMCP بیش از ۱۴٪ می باشد.

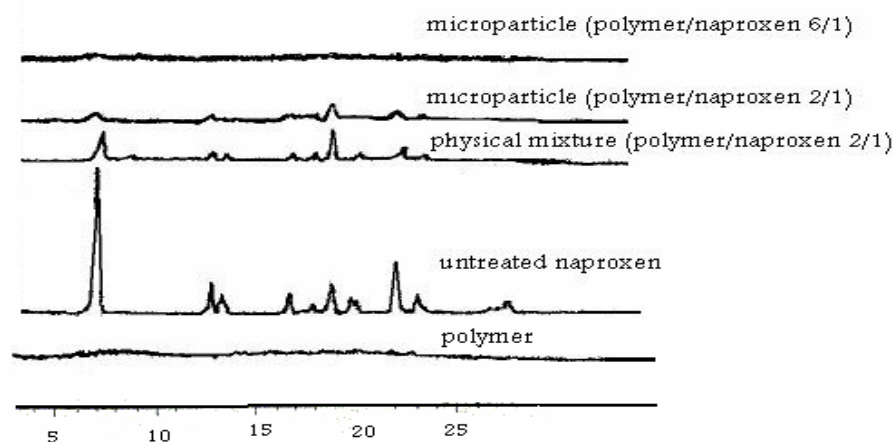
نتایج DSC توسط دیفرانکتوگرام های x-ray (شکل ۶) نیز تأیید می شود. از آن جایی که پلیمر مصرفی آمورف می باشد حضور پیکهای دارو و در نتیجه حضور دارو کریستالی در میکروپارتیکل ها به راحتی قابل شناسایی می باشد (۱۹).

۳-۴: آنالیز حرارتی (DSC) و تفرق اشعه ی ایکس (x-ray)

شکل (۵) طیف های DSC میکروپارتیکلهای HPCMP/naproxen و داروی خالص را نشان می دهند. پیک ذوب ناپروکسن که در ترموگرام داروی خالص به راحتی قابل مشاهده است با افزایش نسبت پلیمر به دارو به تدریج کاهش پیدا می کند تا این که در نسبت ۶/۱ پلیمر به دارو محو می شود. با مقایسه ی طیف DSC میکروپارتیکل های با نسبت ۲/۱ پلیمر به دارو با مخلوط فیزیکی آن مشاهده می شود که پیک ذوب دارو در میکروپارتیکل ها نسبت به مخلوط فیزیکی دارای شدت بسیار کمی است که نشان



شکل شماره ۵: ترموگرام های DSC (الف) میکروپارتیکل های با نسبت های مختلف پلیمر به دارو، (ب) میکروپارتیکل های با نسبت ۲/۱ پلیمر به دارو و مخلوط فیزیکی مربوطه.



شکل ۶- دیفراکتوگرام X-ray ناپروکسن اولیه، پلیمر، میکروپارتیکل با نسبت پلیمر به دارو (۲/۱ و ۶/۱) و مخلوط فیزیکی نسبت ۲/۱.

۴- نتیجه گیری

میکروپارتیکل های روده ای ناپروکسن با استفاده از پلیمر HPMCP به روش کریستالیزاسیون کروی با افزودن محلول دارو و پلیمر به محیط ناحلال با موفقیت انجام گرفت که در آن کریستالزاسیون و آگلومراسیون مواد به طور همزمان در یک مرحله انجام گرفت. نتایج مربوط به انحلال نشان میدهد که حضور نسبت کم پلیمر به دارو (۲/۱) برای ممانعت از رهش دارو در محیط اسیدی کافی بوده و همچنین رهش دارو از میکروپارتیکلهای مذکور در محیط بازی دارای سرعت مناسبی (انحلال ۱۰۰٪ دارو در عرض ۴۵ دقیقه) می باشد.

پس از آنکه میکروپارتیکل ها در کپسول با یکنواختی وزن مناسب بعلت بهبود قابلیت ریزش میکروپارتیکل ها امکان پذیر میباشد. کارائی انکپسولاسیون با کاهش نسبت پلیمر به دارو و افزایش گرادیانت دما بین حلال و ناحلال و در صد اسید در محیط ناحلال افزایش نشان میدهد. در نهایت میتوان گفت که کارائی انکپسولاسیون (در حدود ۸۰٪) بدست آمده نشان میدهد که روش حاضر روش مناسبی جهت تهیه میکروپارتیکل های روده ای از داروهای کم محلول مانند ناپروکسن میباشد.

5- References:

- Zaniboni HC, fell JT, Collett JH. Production and Characterisation of enteric beads. Pharm, 1995, 125: 151-155.
- Kawashima Y, Okumara M, Takenaka H. Spherical crystallization: direct spherical agglomeration salicylic acid crystals duing crystallization. Science, 1982, 216: 1127-1128.
- Nokhodchi A, Maghsoodi M, Hassan-Zadeh D, Barzegar-Jalali M. Preparation of agglomerated crystals for improving flowability and compactibility of poorly flowable and compactible drugs and excipients, Powder Technol, 2007, 175 : 73-81.
- Nokhodchi A, Maghsoodi M, Hassan-Zadeh D. An Improvement of Physicomechanical Properties of Carbamazepine Crystals. IJPR, 2007, 6 (2): 83-93.
- Cui FD, Kawashima Y, Okumara M, Takenaka H, Niwa T, Hino T. Preparation of controlled release acrylic polymer microspheres with sodium alginate in a polymeric spherical crystallization system. Chem, Pharm Bull, 1996, 44: 837-842.
- Niwa T, Takenaka H, Hino T, Itoh A, Kawashima Y, Kiuchi K. Preparation of agglomerated crystals for direct tableting and microencapsulation by spherical crystallization

-
- technique with a continuous system, *Pharm Res*, 1994, 11: 78-84.
7. Kawashima Y, Niwa T, Kiuchi K, Takenaka H, Hino T, Itoh A. Preparation of multiple unit hollow microspheres (microballons) with acrylic resin containing tranilast and their drug release characteristics (in vitro) and floating behavior (in vivo). *L Controlled release*, 1991, 16: 279-290.
 8. Niwa T, Takenaka H, Hino T, Kunou N, Kawashima Y. Preparation of biodegradable nanospheres of water soluble and insoluble drug with DL lactide/glicolide copolymer by a novel spontaneous emulsification solvent diffusion method and the drug release behavior. *J Controlled release*, 1993, 25: 89-98.
 9. Kawashima Y. Spherical crystallization as a novel particle design technique for oral drug delivery system. *Chin Pharm J*, 1989, 41: 163-172.
 10. Maghsoodi M, Taghizadeh O, Martin G, Nokhodchi A, Particle design of naproxen-disintegrant agglomerates for direct compression by a crystallo-co-agglomeration technique. *Int J Pharm.*, 2008, 351: 45-54.
 11. Nokhodchi A, Maghsoodi M, Preparation of Spherical Crystal Agglomerates of Naproxen Containing Disintegrant for Direct Tablet Making by Spherical Crystallization Technique. *AAPS PharmSciTech*, 2008 Vol. 9, No. 1.
 12. Moore JW, Flanner HH, Mathematical comparison of dissolution profiles. *Pharm. Tech.* 1996, 20: 64-74.
 13. Kawashima Y, Cui F, Takenaka H, Niwa T, Hino T, Kiuchi K. Improved static compression behaviors and tablettabilities of spherically agglomerated crystals produced by the spherical crystallization technique with a two-solvent system. *Pharm Res*, 1995, 12(7): 1040-1044.
 14. Ré MI, Biscans B. Preparation of microspheres of ketoprofen with acrylic polymers by a quasi-emulsion solvent diffusion method. *Powder Technology*, 1999, 101: 120-133.
 15. Kachrimanis K, Ktistis G, Malamataris S. Crystallization condition and physicochemical properties of ibuprofen-Eudragit S₁₀₀ spherical crystal agglomerates prepared by the solvent-change technique. *Int J Pharm*, 1998, 173: 61-74.
 16. Ribordiere A, Tchoreoff P, Couarraze G, Puiseux F. Modification of ketoprofen bead structure produced by the spherical crystallization technique with a two-solvent system. *Int J Pharm.* 1996, 144: 195-207.
 17. Bodmeier R, Chen H. Preparation and characterization of microspheres containing the anti-inflammatory agents indometacin, ibuprofen and ketoprofen. *J Contr Release*. 1989, 10: 167-175.
 18. Bodmeier R, Mc Ginity JW. Solvent selection in the preparation of poly(DL-lactate) microspheres prepared by the solvent evaporation method. *Int J Pharm*, 1988, 43: 179-186.
 19. Giovanni FP, Simona M, Piera DM, Sante M Polymers with pH-dependent solubility: Possibility of use in the formulation of gastroresistant and controlled-release matrix tablets. *Drug Dev Int Pharm*, 2000, 26(8): 837-854.
 20. Chaw CS, Yang YY, Lim IJ, Phan TT. Water-soluble betamethasone-loaded poly (lactide-co-glycolide) hollow microparticles as a sustained release dosage form. *J Microencapsulation*, 2003, 20(3): 349-359.
 21. Yang JF, Qiu LY, jin Y, Zhang JX. Thymosin-loaded enteric microspheres for oral administration: Preparation and in vitro release studies, *Int J Pharm*, 2005, 301: 41-47.
 22. Dubernet C. Thermoanalysis of microspheres. *Thermochim Acta* 1995, 248: 259-304.