

مجلة جامعة البعث

سلسلة العلوم الطبية و الصحية



مجلة علمية محكمة دورية

المجلد 45 . العدد 1

1444 هـ . 2023 م

الأستاذ الدكتور عبد الباسط الخطيب

رئيس جامعة البعث

المدير المسؤول عن المجلة

رئيس هيئة التحرير	أ. د. محمود حديد
رئيس التحرير	أ. د. درغام سلوم

مديرة مكتب مجلة جامعة البعث
بشرى مصطفى

عضو هيئة التحرير	د. محمد هلال
عضو هيئة التحرير	د. فهد شريباتي
عضو هيئة التحرير	د. معن سلامة
عضو هيئة التحرير	د. جمال العلي
عضو هيئة التحرير	د. عباد كاسوحة
عضو هيئة التحرير	د. محمود عامر
عضو هيئة التحرير	د. أحمد الحسن
عضو هيئة التحرير	د. سونيا عطية
عضو هيئة التحرير	د. ريم ديب
عضو هيئة التحرير	د. حسن مشرقي
عضو هيئة التحرير	د. هيثم حسن
عضو هيئة التحرير	د. نزار عبشي

تهدف المجلة إلى نشر البحوث العلمية الأصيلة، ويمكن للراغبين في طلبها

الاتصال بالعنوان التالي:

رئيس تحرير مجلة جامعة البعث

سورية . حمص . جامعة البعث . الإدارة المركزية . ص . ب (77)

. هاتف / فاكس : 2138071 31 963 ++

. موقع الإنترنت : www.albaath-univ.edu.sy

. البريد الإلكتروني : [magazine@ albaath-univ.edu.sy](mailto:magazine@albaath-univ.edu.sy)

ISSN: 1022-467X

شروط النشر في مجلة جامعة البعث

الأوراق المطلوبة:

- 2 نسخة ورقية من البحث بدون اسم الباحث / الكلية / الجامعة) + CD / word من البحث منسق حسب شروط المجلة.
 - طابع بحث علمي + طابع نقابة معلمين.
 - إذا كان الباحث طالب دراسات عليا:
يجب إرفاق قرار تسجيل الدكتوراه / ماجستير + كتاب من الدكتور المشرف بموافقة على النشر في المجلة.
 - إذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية:
يجب إرفاق قرار المجلس المختص بإنجاز البحث أو قرار قسم بالموافقة على اعتماده حسب الحال.
 - إذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية من خارج جامعة البعث :
يجب إحضار كتاب من عمادة كليته تثبت أنه عضو بالهيئة التدريسية و على رأس عمله حتى تاريخه.
 - إذا كان الباحث عضواً في الهيئة الفنية :
يجب إرفاق كتاب يحدد فيه مكان و زمان إجراء البحث , وما يثبت صفته وأنه على رأس عمله.
 - يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات (العلوم الطبية والهندسية والأساسية والتطبيقية):
عنوان البحث .. ملخص عربي و إنكليزي (كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).
- 1- مقدمة
 - 2- هدف البحث
 - 3- مواد وطرق البحث
 - 4- النتائج ومناقشتها .
 - 5- الاستنتاجات والتوصيات .
 - 6- المراجع.

- يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات (الآداب - الاقتصاد - التربية - الحقوق - السياحة - التربية الموسيقية وجميع العلوم الإنسانية):
- عنوان البحث .. ملخص عربي و إنكليزي (كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).
- 1. مقدمة.
- 2. مشكلة البحث وأهميته والجديد فيه.
- 3. أهداف البحث و أسئلته.
- 4. فرضيات البحث و حدوده.
- 5. مصطلحات البحث و تعريفاته الإجرائية.
- 6. الإطار النظري و الدراسات السابقة.
- 7. منهج البحث و إجراءاته.
- 8. عرض البحث و المناقشة والتحليل
- 9. نتائج البحث.
- 10. مقترحات البحث إن وجدت.
- 11. قائمة المصادر والمراجع.
- 7- يجب اعتماد الإعدادات الآتية أثناء طباعة البحث على الكمبيوتر:
 - أ- قياس الورق 25×17.5 B5.
 - ب- هوامش الصفحة: أعلى 2.54- أسفل 2.54 - يمين 2.5- يسار 2.5 سم
 - ت- رأس الصفحة 1.6 / تذييل الصفحة 1.8
 - ث- نوع الخط وقياسه: العنوان . Monotype Koufi قياس 20
- . كتابة النص Simplified Arabic قياس 13 عادي . العناوين الفرعية Simplified Arabic قياس 13 عريض.
- ج . يجب مراعاة أن يكون قياس الصور والجداول المدرجة في البحث لا يتعدى 12سم.
- 8- في حال عدم إجراء البحث وفقاً لما ورد أعلاه من إشارات فإن البحث سيهمل ولا يرد البحث إلى صاحبه.
- 9- تقديم أي بحث للنشر في المجلة يدل ضمناً على عدم نشره في أي مكان آخر ، وفي حال قبول البحث للنشر في مجلة جامعة البعث يجب عدم نشره في أي مجلة أخرى.
- 10- الناشر غير مسؤول عن محتوى ما ينشر من مادة الموضوعات التي تنشر في المجلة

11- تكتب المراجع ضمن النص على الشكل التالي: [1] ثم رقم الصفحة ويفضل استخدام التهميش الإلكتروني المعمول به في نظام وورد WORD حيث يشير الرقم إلى رقم المرجع الوارد في قائمة المراجع.

تكتب جميع المراجع باللغة الانكليزية (الأحرف الرومانية) وفق التالي:
آ . إذا كان المرجع أجنبياً:

الكنية بالأحرف الكبيرة . الحرف الأول من الاسم تتبعه فاصلة . سنة النشر . وتتبعها معترضة (-) عنوان الكتاب ويوضع تحته خط وتتبعه نقطة . دار النشر وتتبعها فاصلة . الطبعة (ثانية . ثالثة) . بلد النشر وتتبعها فاصلة . عدد صفحات الكتاب وتتبعها نقطة .
وفيما يلي مثال على ذلك:

-MAVRODEANUS, R1986- Flame Spectroscopy. Willy, New York, 373p.

ب . إذا كان المرجع بحثاً منشوراً في مجلة باللغة الأجنبية:

. بعد الكنية والاسم وسنة النشر يضاف عنوان البحث وتتبعه فاصلة, اسم المجلد ويوضع تحته خط وتتبعه فاصلة . المجلد والعدد (كتابة مختزلة) وبعدها فاصلة . أرقام الصفحات الخاصة بالبحث ضمن المجلة.
مثال على ذلك:

BUSSE,E 1980 Organic Brain Diseases Clinical Psychiatry News ,
Vol. 4. 20 – 60

ج . إذا كان المرجع أو البحث منشوراً باللغة العربية فيجب تحويله إلى اللغة الإنكليزية و
التقيد

بالبنود (أ و ب) ويكتب في نهاية المراجع العربية: (المراجع In Arabic)

رسوم النشر في مجلة جامعة البعث

- 1- دفع رسم نشر (20000) ل.س عشرون ألف ليرة سورية عن كل بحث لكل باحث يريد نشره في مجلة جامعة البعث.
- 2- دفع رسم نشر (50000) ل.س خمسون الف ليرة سورية عن كل بحث للباحثين من الجامعة الخاصة والافتراضية .
- 3- دفع رسم نشر (200) مئتا دولار أمريكي فقط للباحثين من خارج القطر العربي السوري .
- 4- دفع مبلغ (3000) ل.س ثلاثة آلاف ليرة سورية رسم موافقة على النشر من كافة الباحثين.

المحتوى

الصفحة	اسم الباحث	اسم البحث
40-11	سلوى سعد د. هيفاء العلي	تحضير وتقييم صيغة صيدلانية مديدة التحرر لحببيبات فالسارتان
66- 41	علا عاصي د. يوسف الأحمد د. مصطفى بيش	دراسة ثبات صيغة موضعية جديدة للدوكسيسكلين ومراقبتها
98-67	ماري هولاه د. هيفاء العلي	تقييم جودة تحاميل الكيتوبروفين المسوّقة محليا
114-99	معتز القرشي د. سليمان ديوب	تقييم دور غشاء الفيرين الغني بالصفائح في تخفيف الألم وتحسين الشفاء السريري في الجراحة حول السنية

تحضير وتقييم صيغة صيدلانية مديدة التحرر لحبيبات فالسارتان

طالبة الماجستير: سلوى سعد

الدكتور المشرف: أ.م.د. هيفاء العلي

قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية – كلية الصيدلة – جامعة البعث

ملخص البحث

فالسارتان أحد الأدوية الشائعة والمزمنة الموصوفة في تدبير ارتفاع الضغط الشرياني وال فشل القلبي. أجريت هذه الدراسة بهدف تعديل آلية تحرر دواء فالسارتان عن طريق تحضير حبيبات بوليميرية مللمترية الأبعاد بطريقة التهلم الأيوني من خلال مزجه مع بوليمير ألجينات الصوديوم (SA) ، حيث حققت حبيبات فالسارتان المحضرة نجاحاً في إمكانية تخفيض عدد جرعات الدواء اليومية وتقليل الآثار الجانبية الناتجة عن التحرر الفوري للفالسارتان من أشكاله التقليدية. درست حبيبات فالسارتان باستخدام تراكيز مختلفة من ألجينات الصوديوم وكلور الكالسيوم وتم اصطفاء الصيغة الأمثل. اختيرت الصيغة (ألجينات الصوديوم 3% ، كلور الكالسيوم 10%) بعد إجراء عدة اختبارات فيزيوكيميائية مثل الشكل والأبعاد ، الوزن، فعالية الاحتباس والمحتوى الدوائي، اختبار الذوبان في الزجاج، واختبار الأشعة تحت الحمراء. أظهر اختبار FTIR عدم جود أي ارتباط كيميائي بين فالسارتان والسواغات المستخدمة. إن رفع تركيز كل من المتماثر والعامل المصالب أدى إلى زيادة أبعاد ووزن الحبيبات الناتجة. تحسنت فعالية الاحتباس عند رفع تركيز العامل المصالب إلى 10% بالإضافة إلى إبطاء معدل التحرر حتى 10 ساعات.

كلمات مفتاحية: فالسارتان، حبيبات، بوليمير، فعالية الاحتباس، معدل التحرر.

Formulation and Evaluation of extended-release beads of Valsartan

Abstract

Valsartan is one of the most common drugs prescribed for chronic patients in the the management of high hypertension and heart failure. This present study was conducted with the aim of modifying the mechanism of release of Valsartan by preparing millimeter dimensions' polymeric beads using the ionotropic gelation technique by mixing it with Alginate Sodium (SA). Prepared valsartan beads succeeded in the possibility of decreasing dose administration and therefore, reduced immediate release side effects of conventional forms of Valsartan. Valsartan beads were studied using different concentrations of Sodium Alginate and Calcium Chloride in order to select the optimal formula. The formula (SA 3%, CaCl₂ 10%) was choose after conducting several physiochemical tests such as shape and dimensions, weight, encapsulation efficiency and drug loading, *in vitro* dissolution rate and FTIR. FTIR test showed no chemical bonding between Valsartan and other excipients. Raising the concentration of both the polymer and the crosslinking agent led to an increase in beads weight and dimensions. Encapsulation efficiency was improved when raising the concentration of the crosslinking agent (10%) and it also slowed drug release from beads to 10h.

Key words: Valsartan, beads, polymer, encapsulation efficiency, dissolution rate.

1. مقدمة Introduction :

يعتبر تطوير نظام ايتاء الدواء بشكل مناسب تقدماً كبيراً لحل كل من مشكلتي التحرر الفوري للدواء و ايصاله اللحظي لموقع التأثير، حيث قادت الأبحاث الحديثة في العقود الماضية إلى تطوير نظم ايتاء مستمرة ومضبوطة [1]. وأظهرت الدراسات المستجدة أن اكتشاف وتطوير أدوية جديدة فقط غير كافي أو مجدي لتحقيق الفعالية العلاجية المتكاملة خصوصاً فيما يتعلق بالأدوية ضعيفة الانحلالية بالماء. لذلك، تحصل الصيغ المطورة لأدوية متواجدة أصلاً في السوق الدوائية على اهتمام أكبر لما لها من فائدة مزدوجة للمرضى من جهة و المصانع الدوائية من جهة أخرى [2].

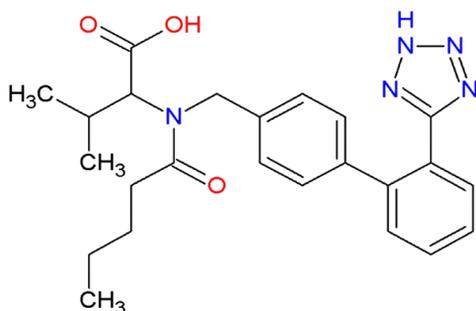
يعتبر تطوير الأدوية ضعيفة الانحلالية ضمن أشكالها الصيدلانية التقليدية ذات التوافر الحيوي الضعيف تحدياً كبيراً نسبياً .

فالسارتان أحد الأمثلة عن الأدوية ضعيفة الانحلالية بالماء والتي تستدعي تطوير نظام ايتائها، حيث يتواجد في السوق الدوائية إما بشكل مضغوطات ملبسة بالفيلم أو كبسولات فورية التحرر مع تحقيق توافر حيوي ضعيف نسبياً [3].

فالسارتان مشتق رباعي الأزول، مركب غير بيتيدي فعال فموياً [4]. هو مسحوق أبيض ناعم عديم الرائحة، يمتلك صيغة جزيئية $C_{24}H_{29}N_5O_3$ ويتمتع بوزن جزيئي منخفض 435,5188 غ/مول [5].

اسمه الكيميائي بحسب قواعد IUPAC [5] هو

S)-N-Valeryl-N-{{2'-(1H-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl}-
(methyl)-valine



الشكل (1): الصيغة الكيميائية التفصيلية للفالسارتان [5]

إن الفالسارتان مركب ذو طبيعة حمضية يملك قيمة $pka=4.37$ ، حيث يحوي على مجموعتين وظيفيتين، واحدة حمضية $pH=4.73$ واخرى كربوكسيلية $pH=3.9$ ومركز غير متناظر واحد كما هو موضح في الشكل (1). [6]

يصنف الفالسارتان على أنه حاصر لمستقبلات الأنجيوتنسين II من النمط I (AT1)، يسبب توسع بالشرايين وبالتالي ينظم ضغط الدم تلقائياً لذلك يوصف بشكل واسع لعلاج ارتفاع الضغط الشرياني و الفشل القلبي واعتلال العضلة القلبية لسنوات طويلة من قبل المريض، يترافق استخدامه بمجموعة من الآثار الجانبية الشائعة مثل: صداع، دوخة، تعب، انخفاض في الضغط، سعال جاف شديد وارتفاع بوتاسيوم الدم، ويوصف بجرعات مختلفة 40مغ، 80 مغ، 160 مغ، 320 مغ مرة واحدة أو مرتين في اليوم [7] [8].

عند دراسة تحرر الأشكال التقليدية منه، يبلغ التركيز البلازمي الأعظمي بعد 2-4 ساعة من تناوله ثم ينخفض هذا التركيز مع نصف عمر حيوي قصير نسبياً ضمن المجال 6-9 ساعة مما يجعله غير ملائم كعلاج ناجع لهذه الأمراض [9]. فموياً، يتم امتصاصه بشكل سريع عن طريق الانتشار السلبي مع اعطاء توافر حيوي

منخفض نسبياً 23% الذي قد يكون عائد إلى الانحلالية المحدودة في الماء ودرجة الحموضة العالية في المعدة [10].

يعتبر فالسارتان ضعيف الانحلالية بالماء 0,18 Springly soluble مغ/مول عند درجة حرارة 25 °م. يصنف ضمن الصف □□ في نظام التصنيف الصيدلاني الحيوي BCS أي يتمتع بانحلالية ضعيفة ونفاذية عالية [9][11].

بما أن الانحلالية و النفاذية هي الشروط المحددة لامتصاص الدواء في العضوية الحية (*in-vivo*)، ظهرت تقنيات عديدة تهدف إلى تحسين الانحلالية للأدوية ضعيفة الانحلالية وبالتالي التوافر الحيوي وخاصة أنظمة الإيتاء الفموية [12].

لذلك فإن تحسين انحلالية الفالسارتان من أهم التحديات لتحضير اشكال جرعية ذات توافر حيوي أفضل. لهذه الغاية تم اجراء تعديلات على صياغة اشكاله الصيدلانية الفموية وطريقة تحضيرها [10]. وفي هذا البحث سوف نتطرق إلى تحضير وتقييم حبيبات الفالسارتان.

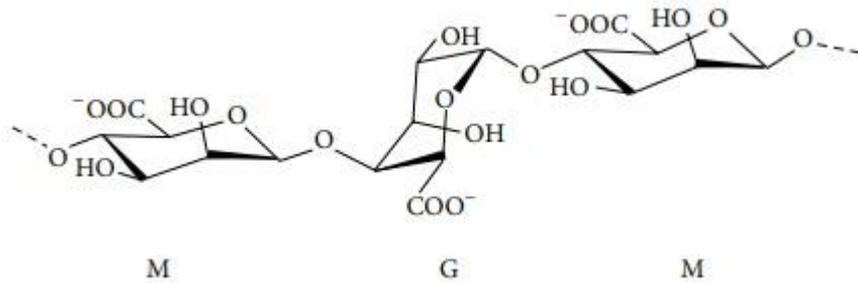
تعد الحبيبات الهلامية البوليميرية أحد أهم الأشكال المتبعة في تحضير صيغ مضبوطة التحرر، حيث تلعب دور حامل للمادة الدوائية يتم فيها كبسلة الدواء [13].

تعرف الحبيبات على أنها شبكات بوليميرية ثلاثية الأبعاد محبة للماء، تأخذ شكل جسيمات كروية صلبة مللمترية الأبعاد غير مترابطة مع بعضها، تتكون عادة من بوليميرات أحادية أو مشتركة تتخرب حيويًا بالمشاركة مع عامل مصالب [1] حيث تحقق تحرر مستمر للدواء وتؤمن توزيع متجانس للدواء ضمن السبيل المعدي المعوي، فعلى سبيل المثال، إذا فشلت مضغوظة تحوي على دواء معين في التفنت فسوف تفقد كل الفائدة العلاجية، أما إذا فشلت بعض الحبيبات في التفنت فإن فقد كمية صغيرة من الدواء لن يؤثر على الفعالية العلاجية بشكل عام. فهي إذًا

تحسن من التوافر الحيوي للأدوية [14]. بالإضافة إلى أنها جيدة الثباتية ولا يتطلب تحضيرها استخدامها مذيبيات عضوية وبالتالي فهي أشكال صيدلانية صديقة للبيئة [15].

تعتبر ألجينات الصوديوم SA أحد أشهر البوليمرات المستخدمة في تحضير الحبيبات، يتم الحصول عليها إما من البكتريا أو الطحالب البنية البحرية، حيث يستخلص حمض الألجينيك من الطحالب و يعالج لاحقاً بالحموض المعدنية ويتم تحويله إلى الشكل الملحي [16].

ألجينات الصوديوم عبارة عن بوليمير خطي يحوي اثنان من أحماض اليورونيك هما حمض الغلوكورونيك (G) وحمض المانيورونيك (M) يرتبطان برابط غليكوزيدي (1-4) بشكل متناوب مفرد أو ثنائي كما هو موضح في الشكل (2) [13].



الشكل (2) : بنية الألجينات [16]

يستخدم متمائر ألجينات الصوديوم لإطالة زمن تحرر الأدوية التي تتمتع بنصف عمر حيوي قصير [16]، حيث يتميز بقابليته على تشكيل هلام بوجود كاتيونات

متعددة التكافؤ ،مثل شوارد الكالسيوم أو الألمنيوم تبعاً لنوع الروابط المتشكلة في الأوساط المائية [17] .

تتميز الحبيبات الحاوية على ألبينات الصوديوم بأنها تبقى ثابتة و منكمشة في الوسط الحمضي، وتنتج في الوسط المعتدل و القلوي وتميل للتدرك و الانحلال تدريجياً وبالتالي إطالة زمن تحرر الدواء ، وتصنف على أنها مواد آمنة ومتوافقة بيولوجياً Biocompatible بحسب FDA . [16] .

2. هدف البحث :

تم اختيار الفالساتان كنموذج دوائي لإجراء هذا البحث لعدة أسباب:

- 1- شيوع استخدامه في تدبير ارتفاع الضغط الشرياني.
- 2- انتشار استخدامه بشكل كبير ضمن أشكاله الصيدلانية التقليدية.
- 3- ضعف انحلاليته في الأوساط المائية.
- 4- نصف العمر الحيوي القصير (6-9 سا) وبالتالي التوافر الحيوي الضعيف نسبياً (23%).

لذلك، فإن هذا البحث يهدف إلى تحضير حبيبات ألبينات الكالسيوم الحاوية على الفالساتان كنظام ايتاء فموي مستديم التحرر وغير المتوافر في السوق المحلية ، وتقييم جودة الحبيبات الناتجة عن طريق إجراء مجموعة من الاختبارات الميكانيكية والفيزيوكيميائية.

3. المواد والأجهزة : Materials

3-1 المواد المستخدمة:

اسم المادة	الشركة المصنعة و المنشأ
فالسارتان 98% valsartan	Medico labs
ألجينات الصوديوم 97% SA	BDH Chemicals Limited/ UK
كلور الكالسيوم 99.9% Cacl₂	Sigma–Aldrich/UK
حمض كلور الماء 37% HCL	Sigma/Germany
فوسفات ثنائية الصوديوم 85%	Fluka Steinheim/Germany
فوسفات بوتاسيوم ثنائية الهيدروجين 86%	Fluka Steinheim/Germany
بروميد البوتاسيوم 97% KBR (المعد لاختبار IR)	Jasco Co./Japan
ماء مقطر	الناقلية: 0.055 S μ /cm المقاومة: 18.2 meghom

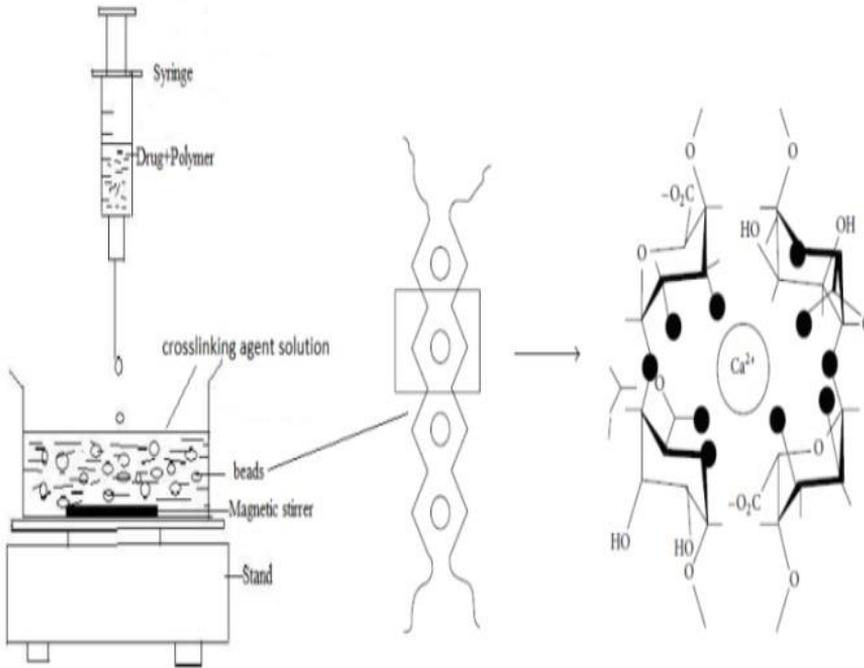
3-2 الأجهزة المستخدمة:

اسم الجهاز	الشركة المصنعة و المنشأ
ميزان حساس 0.000000 غرام	(Precisa/Switzerland)
جهاز تسخين مع محرك مغناطيسي	(Labinco/the Neitherlands)
مقياس الطيف الضوئي	(Optima/Japan)
مجفف هوائي	(Carbolite/England)
مقياس درجة الحموضة	(Sartorius/Germany)
جهاز مطيافية الأشعة تحت الحمراء-FTIR 8400-	(S/Shimadzu/Japan)
مجهر ضوئي	(Olympus/Japan)
جهاز قياس معدل الذوبان	(Erweka/Germany)

4. الطرائق Methods :

حُضِرَت الحبيبات باستخدام طريقة التهام الأيوني والتي تعتبر طريقة سهلة وسريعة، حيث ترتبط المركبات متعددة الشحنة الكهربائية بشكل متصالب عند تواجد مركبات ذات شاردة معاكسة لها بالشحنة. تتشكل الحبيبات بتنقيط محلول مائي لأنيون ما (ألجينات الصوديوم) إلى محلول مائي لكاتيون آخر (كلور الكالسيوم) [15].

تتجلى عملية تحضير الحبيبات بتشكيل القطيرات بدايةً ومن ثم تهليها. حيث يتم تحضير محلول مائي للبوليمير وإضافة الدواء له. ثم تقسيمه إلى قطيرات متعددة باستخدام الطريقة الأنسب (محقن، استحلاب، إرذاذ...)، ثم تتم مصالبة القطيرات البوليميرية المتشكلة بعامل مصالب مناسب كما هو مبين في الشكل (3) [18].



الشكل (3) : طريقة التهليم الأيوني لمحلول بوليمري، وآلية التصالب الأيوني الحاصل بين الألجينات والكالسيوم [19]

في هذا البحث، حُضرت عدة محاليل مائية لألجينات الصوديوم بتركيز مختلفة، تمت بعثرة 40 ملغ من مسحوق فالتسارتان في محلول الألجينات بشكل متجانس باستخدام المحرك المغناطيسي، ثم تم تنقيط المعلق المتشكل إلى محاليل مائية مختلفة التركيز لكور الكالسيوم باستخدام محقن (20 سم) مع الاستمرار بعملية

التحريك وذلك بمعدل 10-12 قطرة دقيقة من مسافة 5 سم [13]. تركت الحبيبات المتشكلة لمدة 30 دقيقة لضمان المعالجة الكاملة [9]، بعدها رُشحت باستخدام ورقة ترشيح وغسلت بالماء المقطر عدة مرات بهدف التخلص من بقايا كلور الكالسيوم غير المتصالبة ، ثم وضعت في المجفف الهوائي لمدة 48 ساعة بدرجة حرارة 45° م [19].

➤ يوضح الجدول التالي تراكيز المواد المستخدمة وشروط التحضير:

جدول (1): ملخص عن صيغ الحبيبات وشروط التجربة

رقم التحضير	تركيز ألجينات الصوديوم SA %	تركيز كلور الكالسيوم CaCl ₂ %	الفالساتان (مغ)	مسافة التنقيط (سم)	درجة حرارة تحضير الحبيبات (درجة مئوية)
F1	1	5	40	5	25
F2	2	5	40	5	25
F3	3	5	40	5	25
F4	4	5	40	5	25
F5	5	5	40	5	25
F6	3	10	40	5	25

حيث كما يتضح من الجدول (1)، حضرت حبيبات ذات تراكيز مختلفة من ألجينات الصوديوم (1-2-3-4-5) % ، مع تركيز (5) % من كلور الكالسيوم. بعد ذلك، حضرت حبيبات أخرى ذات تركيز (3) % من ألجينات الصوديوم مع تركيز (10) % من كلور الكالسيوم لأسباب تذكر لاحقاً، وأجريت اختبارات التقييم والمراقبة اللازمة عليها.

4-1 اختبارات مراقبة وتقييم الحبيبات : Quality control tests

4-1-1 شكل الحبيبات وأبعادها:

فحصت الحبيبات تحت المجهر الضوئي باستخدام تكبير $40\times$ وحُدِّدت أبعادها بدقة ،حيث قيست أقطار 10 حبيبات من كل تحضيرة باستخدام مسطرة هندسية مدرجة ، ثم حُسب القطر الوسطي للحبيبة الواحدة باستخدام العلاقة الرياضية التالية:

$$\frac{\text{مجموع أقطار 10 حبيبات}}{10} = \text{القطر الوسطي للحبيبة}$$

4-1-2 وزن الحبيبات:

وُزنت 50 حبيبة من كل تحضيرة وحُسب الوزن الوسطي للحبيبة الواحدة. تم تكرار القياس 3 مرات.

$$\frac{\text{وزن 50 حبيبة}}{50} = \text{الوزن الوسطي للحبيبة}$$

4-1-3 قياس فعالية الاحتباس والتحميل الدوائي:

تحسب فعالية احتباس دواء ما أو ما يسمى بكفاءة الكبسلة Encapsulation efficiency بالعلاقة التالية [20]:

$$\text{فعالية الاحتباس \%} = \frac{\text{وزن الدواء الموجود عملياً في الحبيبة الواحدة}}{\text{وزن الدواء الموجود نظرياً في الحبيبة الواحدة}} \times 100$$

وُزن 0,1 غ من كل صيغة محضرة من الحبيبات المذكورة في الجدول (1)، وتركت في 500 مل وقاء فوسفاتي (pH=6.8) لمدة 24 ساعة، بعد ذلك، تمت الاستعانة بالمحرك المغناطيسي وحرك المزيج لمدة 15 دقيقة حتى تمام الذوبان ورُشح باستخدام ورق ترشيح 0,45 مك. ثم أخذ 3 مل من كل محلول من المحاليل الناتجة وقيست امتصاصيته باستخدام جهاز مقياس الطيف الضوئي UV-visible spectrophotometer عند طول موجة 250 نانومتر وبعدها تم تحديد كمية الدواء المتحررة إلى الوسط و التي تعبر عن وزن الدواء الموجودة عملياً ضمن عدد الحبيبات المدروسة [9].

وللحصول على وزن الدواء العملي الموجود في الحبيبة الواحدة، تُقسم كمية الدواء الموجودة عملياً في الحبيبات على عدد الحبيبات الموزونة. أما بالنسبة لكمية الدواء الموجودة نظرياً فتحسب اعتماداً على كمية الدواء الموزونة المضافة في البداية إلى صيغة التحضير.

وبعدها حُسب محتوى الدواء أو مايعرف بالتحميل الدوائي drug loading بالعلاقة التالية [9]:

$$\frac{\text{وزن الدواء الموجود عملياً في الحبيبة الواحدة}}{\text{وزن الحبيبة الواحدة}} \times 100 = \% \text{ التحميل الدوائي}$$

حيث تمت إعادة كل تجربة 3 مرات.

4-1-4 دراسة تحرر الدواء في الزجاج:

دُرس تحرر الدواء من الحبيبات باستخدام جهاز المجداف paddle. حيث دُرس أولاً التحرر في وسط انحلال:

500 مل من 0,1 HCL مولاري (pH=1.2) لمدة ساعتين وبعدها أُخرجت الحبيبات وُغسلت بالماء المقطر وُدُرس التحرر بعدها في وسط انحلال آخر : 500 مل من وقاء فوسفاتي (pH=7.4) عند درجة حرارة 5 ± 37 م وبسرعة دوران 50 دورة/دقيقة. أُخذت عينات 3 مل خلال فواصل زمنية مختلفة وقيست امتصاصيتها باستخدام مقياس الطيف الضوئي uv-visible spectrophotometer عند طول موجة 250 نانومتر مع الأخذ بعين الاعتبار تعويض حجم المحلول المسحوب باستخدام نفس الكمية ونفس درجة الحرارة من وسط الانحلال المدروس للحفاظ على حجم ثابت لوسط الانحلال.

ت حسب النسبة المئوية المتحررة بالعلاقة:

$$\frac{\text{كمية الدواء المتحررة}}{\text{الكمية الكلية للدواء الموجودة عملياً في عدد الحبيبات المدروس}} \times 100$$

$$= \text{النسبة المئوية المتحررة } \%$$

تمت دراسة معدل التحرر على 6 وحدات جرعية (كمية حبيبات تحوي 40 مغ من فالسارتان) من كل صيغة من الحبيبات المحضرة ثم حُسب المتوسط الحسابي لها ومُثلت بيانياً [19].

4-1-5 اختبار الأشعة تحت الحمراء FTIR:

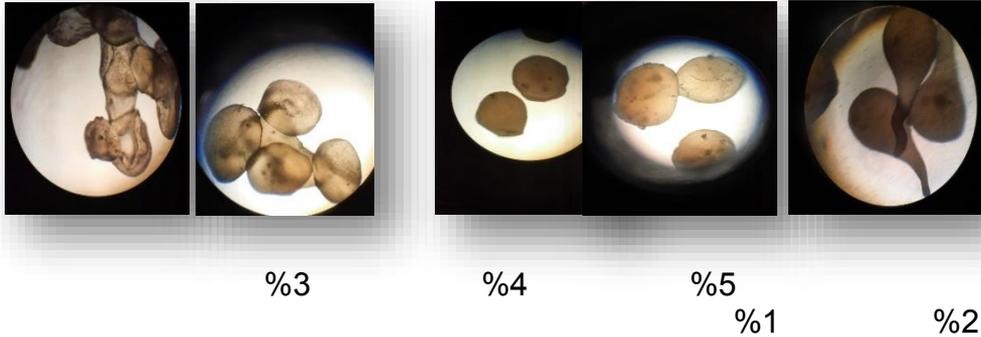
أجري اختبار الأشعة تحت الحمراء بطريقة قرص بروميد البوتاسيوم ضمن المجال 4000-400 سم-1 لتحديد ماهية الارتباط بين الفالسارتان و السواغات. حيث تم اجراء الاختبار على الفالسارتان النقي، وحبيبات ألجينات الكالسيوم المحملة بالفالسارتان.

يتم سحق العينة جيداً ثم تمزج مع بروميد البوتاسيوم 1% و يؤخذ جزء صغير ويضغط حتى يتشكل قرص شفاف و يوضع في الجهاز ويعرض للأشعة تحت الحمراء [1] [19].

5. النتائج والمناقشة Results and Discussion :

5-1 شكل الحبيبات:

يُظهر الشكل (4) الحبيبات المحضرة بتركيز مختلفة من ألجينات الصوديوم (1،2،3،4،5)% مع تركيز (5)% من كلور الكالسيوم على الترتيب:



الشكل (4) : أشكال حبيبات ألجينات الكالسيوم تحت المجهر الضوئي

أخذت الحبيبات المحضرة بتركيز 1% و 2% و 4% SA أشكالاً متعددة وكانت غير منتظمة أو كروية، وهذا أمر غير مرغوب من الناحية الصيدلانية لأن عدم

انتظام شكل الحبيبات سوف يعيق انسيابية الحبيبات أثناء إفراغها في الكبسولات، وبالتالي سوف يؤثر على امتصاصها في العضوية الحية لاحقاً.

أما تركيز 5% SA فقد تشكلت ذبول للحبيبة أثناء سقوطها في محلول كلور الكالسيوم والذي يعزى إلى لزوجة المحلول البوليميري الكبيرة المتشكلة وبالتالي، فإن شكل الحبيبة الناتجة أيضاً غير محبذ للأسباب السابقة نفسها.

في حين، كانت أشكال الحبيبات بتركيز 3% هي الأكثر كروية وانتظاماً. وبالتالي فهي الأكثر ملائمة. وهذا توافق مع دراسة أجرتها Caroline Santinon عام 2021 .

دُرس أيضاً تركيز ألجينات الصوديوم 3% من ألجينات الصوديوم مع تركيز 10% كلور الكالسيوم وكان شكلها كروياً ومنتظماً أيضاً.



الشكل (5) : حبيبات ألجينات الكالسيوم باستخدام تركيز 10% Cacl₂

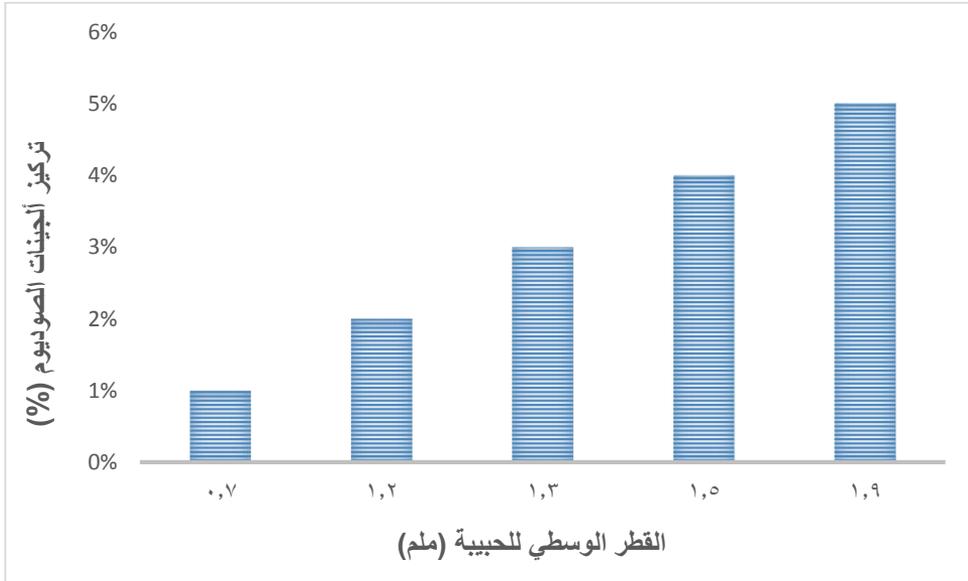
5-2 أبعاد الحبيبات:

نلاحظ ازدياد القطر الوسطي للحبيبات عند رفع تركيز ألجينات الصوديوم في الشكل (6). حيث يعزى ازدياد حجم الحبيبة إلى زيادة لزوجة المحلول

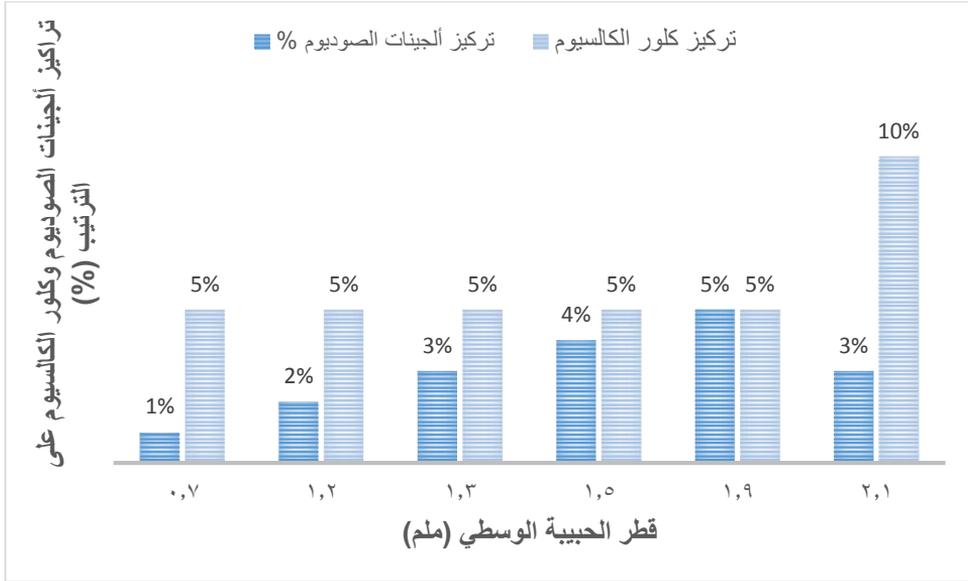
البوليميري عند رفع تركيز الألبينات والذي يسبب ازدياد حجم القطرة المتساقطة من فوهة السيرنج.

ونلاحظ ازدياد القطر الوسطي للحبيبات عند رفع تركيز العامل المصالب كلور الكالسيوم، حيث يُفسر ذلك بسبب زيادة محتوى الحبيبة من المواد الفعالة وبالنتيجة زيادة كتلة الحبيبة المتشكلة في الشكل (7).

وكانت النتيجة متوافقة مع بحث مشابه أجرته سلمى عطرة عام 2020 [19].



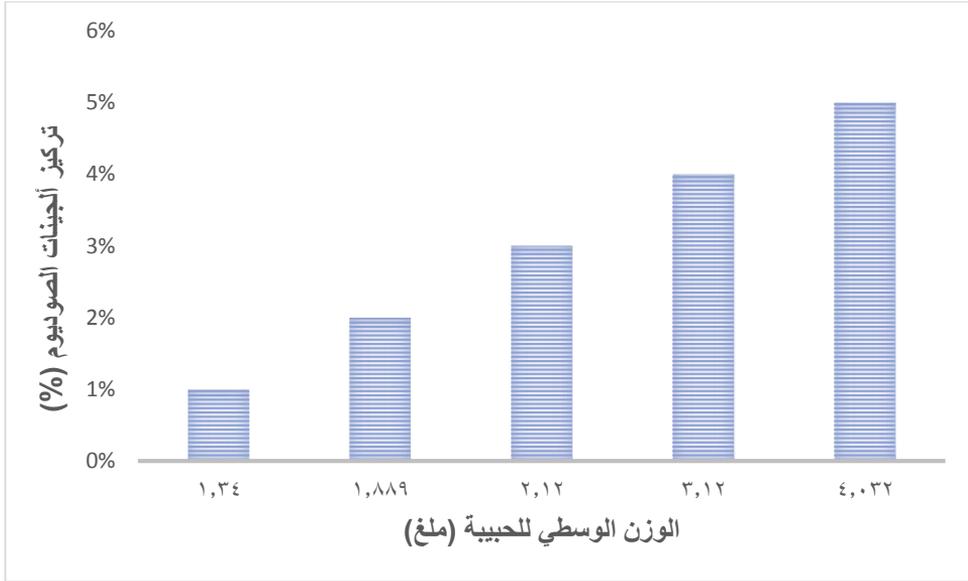
الشكل (6) : تأثير تركيز ألبينات الصوديوم على أبعاد الحبيبات



الشكل (7) : تأثير تركيز كلور الكالسيوم على أبعاد الحبيبات

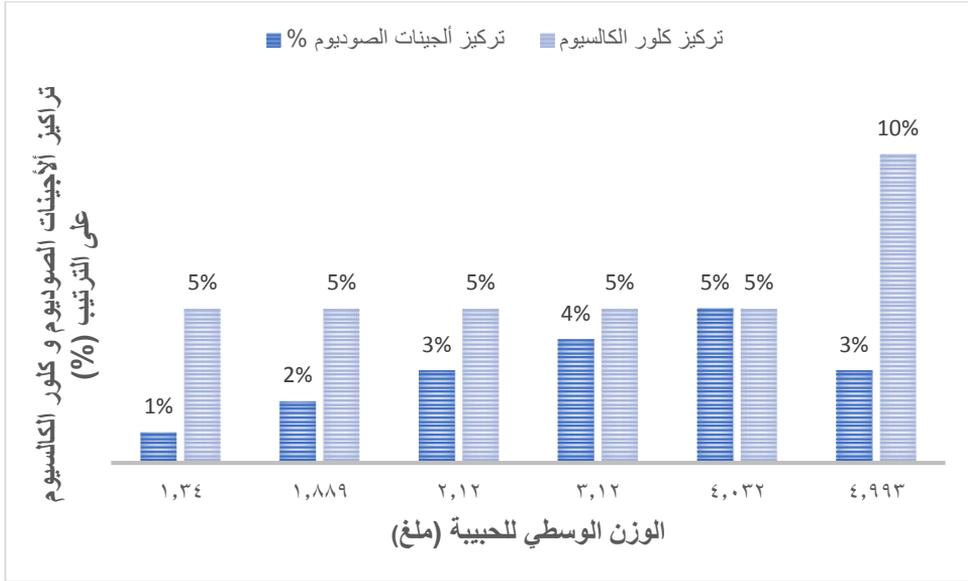
5-3 وزن الحبيبات:

نلاحظ ازدياد وزن الحبيبات بزيادة تركيز ألجينات الصوديوم كما هو موضح بالشكل (8)، والذي يعود إلى زيادة كثافة البوليمير وبالتالي زيادة حجم القطرة المتساقطة من فوهة السيرنج الذي يؤثر على زيادة حجم الحبيبة الناتجة، بالإضافة إلى زيادة محتوى الحبيبة من المواد الفعالة والذي يقود إلى زيادة وزن الحبيبة.



الشكل (8) : تأثير تركيز ألجينات الصوديوم على وزن الحبيبات

نلاحظ أيضاً في الشكل (9)، زيادة وزن الحبيبات عند رفع تركيز كلور الكالسيوم و الذي يعود للأسباب الأنفة الذكر نفسها، حيث أن زيادة تركيز العامل المصالب سوف تؤدي حتماً إلى زيادة كثافة الشبكة البوليميرية الذي ينعكس بدوره على وزن الحبيبة.



الشكل (9) : تأثير تركيز كلور الكالسيوم على وزن الحبيبات

5-4 قياس فعالية الاحتباس والتحميل الدوائي:

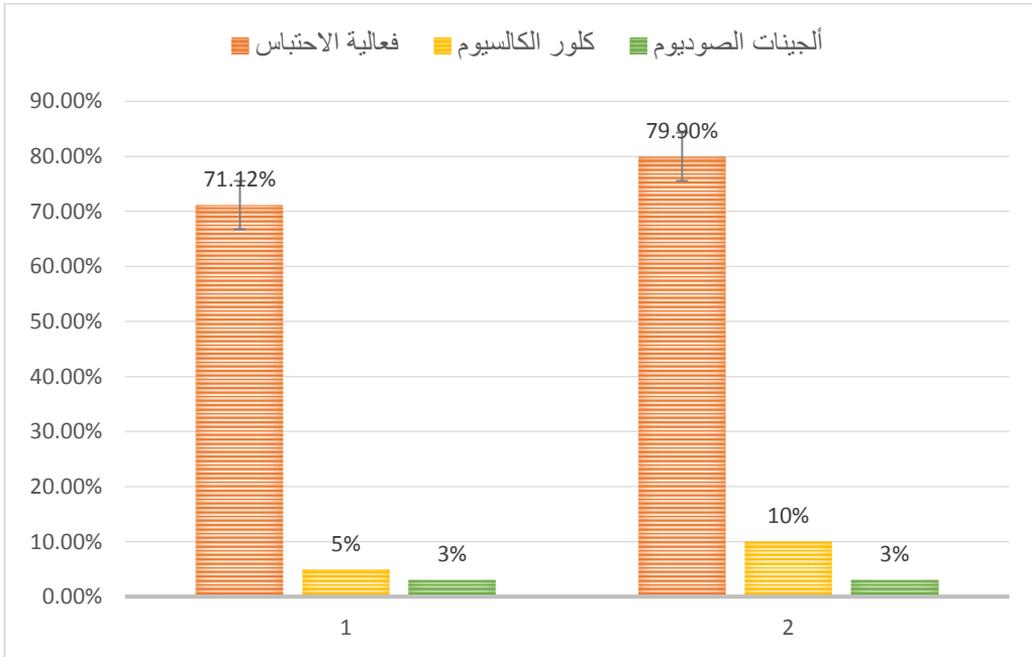
تم انتقاء التحضيرتين F3 و F6 لإجراء اختبار فعالية الاحتباس والتحميل الدوائي على اعتبار أن التحضيرات الأخرى غير مناسبة كصيغة صيدلانية بسبب شكلها غير المنتظم كما وُضح سابقاً في الشكل (4) والذي يؤثر على الانحلالية والامتصاصية في الجسم الحي.

في حين، تمت مقارنة فعالية الاحتباس والتحميل الدوائي بين تركيزين مختلفين من كلور الكالسيوم (5،10) % مع تثبيت تركيز ألجينات الصوديوم (3) % الذي أعطى حبيبات كروية ومنتظمة الشكل.

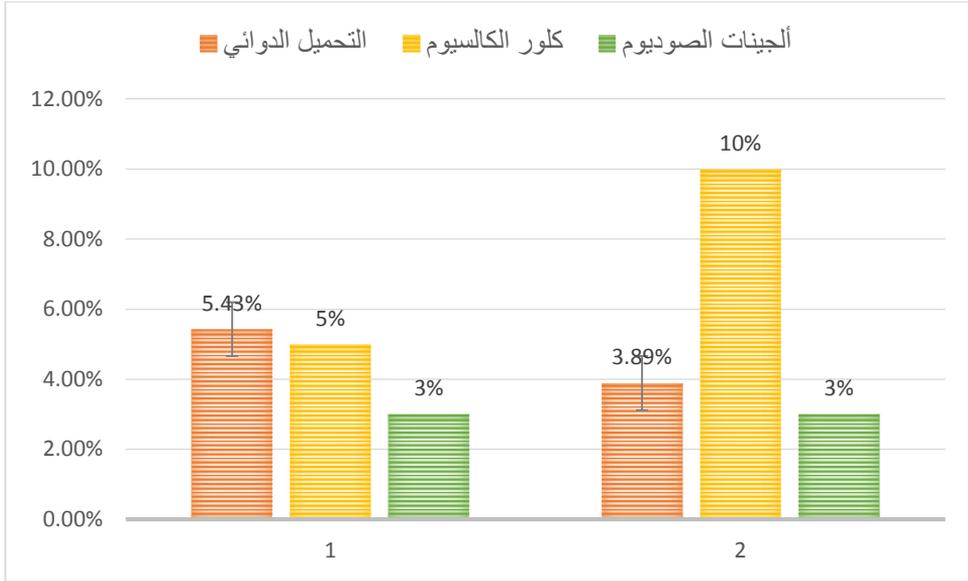
نلاحظ من خلال الشكل (10)، زيادة فعالية احتباس الفالسارتان عند رفع تركيز كلور الكالسيوم حيث أن زيادة كثافة الشبكة البوليميرية المتصلبة يعيق تسرب المادة الدوائية من الحبيبة أثناء عملية التحضير وبالتالي يحافظ على احتباس المادة الدوائية داخلها، على عكس التركيز الأخفض من العامل المصالب الذي ينتج عنه

بنية أقل تصالبا وبالتالي أكثر عرضة لتسرب الدواء وبالتالي انخفاض فعالية الاحتباس.

تجدر الإشارة أن دراسة فعالية الاحتباس تعطي فكرة عن العوامل التي من الممكن أن ينتج عنها حبيبات ذات مردود عالي من فالسارتان وبالتالي تقليل معدل الهدر الحاصل أثناء عملية التحضير.



الشكل (10) : تأثير التراكيز المختلفة من SA و $CaCl_2$ على فعالية الاحتباس



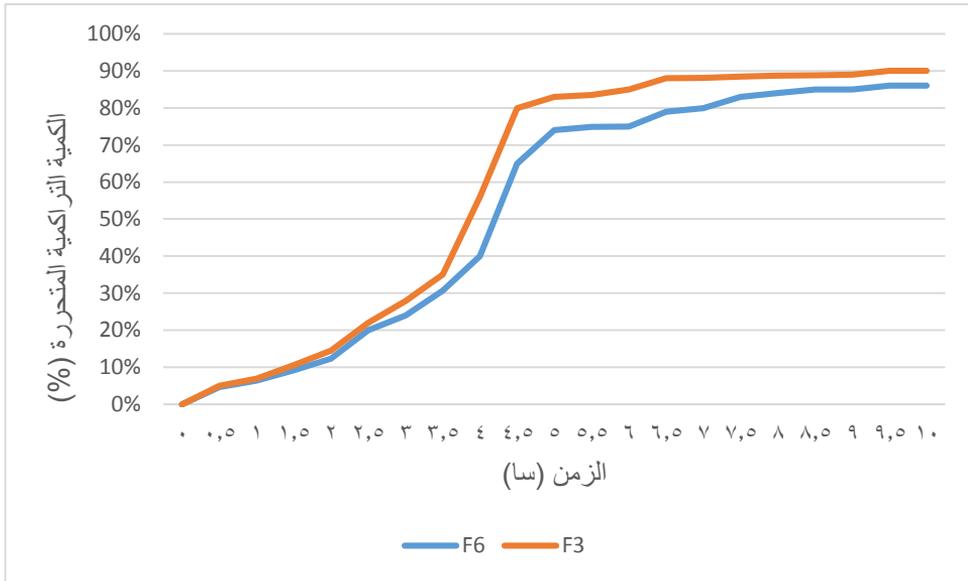
الشكل (11) : تأثير التراكيز المختلفة من SA و $CaCl_2$ على المحتوى الدوائي

نلاحظ من خلال الشكل (11)، انخفاض المحتوى الدوائي عند رفع تركيز العامل المصالب. حيث يعبر المحتوى الدوائي عن كمية الفالسارتان الموجودة ضمن الحبيبة.

بما أن التحميل الدوائي هو عبارة عن وزن الفالسارتان الموجود ضمن الحبيبة إلى وزن الحبيبة، فإن أي تغيير في وزن الحبيبة سوف يؤثر في كمية الفالسارتان ضمن الحبيبة وسوف يؤثر حتماً على التحميل الدوائي. فعند رفع تركيز كلور الكالسيوم زاد وزن الحبيبة كما ذكرنا سابقاً وشغلت حيزاً أكبر ضمن بنية الحبيبة على حساب زيادة كمية الفالسارتان ضمن الحبيبة وبالتالي انخفض المحتوى الدوائي.

في حين، أبدى التركيز الأخفض من كلور الكالسيوم حبيبات ذات تحميل دوائي أعلى وذلك لأن السواغات في هذه الحالة شغلت حيزاً أقل مع الحيز الذي يشغله الدواء بالمقارنة مع الحبيبات ذات التركيز الأعلى من كلور الكالسيوم.

5-5 دراسة تحرر الدواء في الزجاج:



الشكل (12) : تأثير تركيز CaCl_2 على معدل تحرر الفالسارتان

تم انتقاء التحضيرين F6 و F3 لحساب معدل التحرر للأسباب آنفة الذكر.

نلاحظ في الشكل (12) أنه عند رفع تركيز العامل المصالب انخفض معدل تحرر فالسارتان، حيث أن التراكيز المنخفضة من كلور الكالسيوم تشكل حبيبات أقل إحكاماً وبنية أقل تصالباً من تلك ذات التراكيز الأعلى وبالتالي فهي تشكل حاجزاً أقل قوة أثناء تسرب الدواء، على عكس التراكيز الأعلى التي تكون بنية حبيباتها

أكثر إحكاماً وكثافة وأبعاد المسامات ضمن الشبكة البوليميرية أصغر وبالتالي تؤخر تحرر الدواء و يبطئ معدل التحرر. وهي نتيجة مشابهة لبحث Kahina Benfattoum عام 2017 [21].

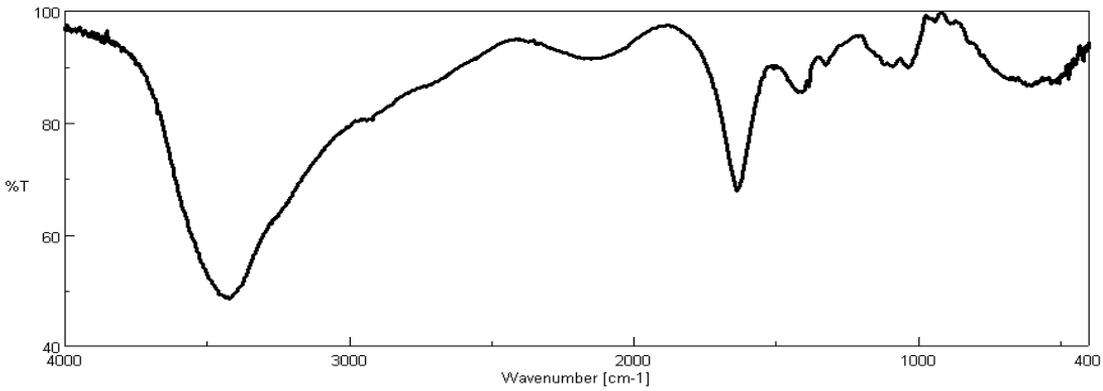
- تجدر الإشارة أنه تم التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية المستخدمة في المقال في عدة دراسات مرجعية منها الدراسة التي أجراها Gawai Mamata وزملائه عام 2016 [22]، حيث تم في بحثنا هذا التحقق من ملائمة نظام system suitability للطريقة المستخدمة من خلال حقن 6 حقنات من محلول عياري من فالسارتان حيث كانت $RSD < 2\%$ وبالتالي فإن الطريقة ملائمة.

5-6 اختبار الأشعة تحت الحمراء FTIR:

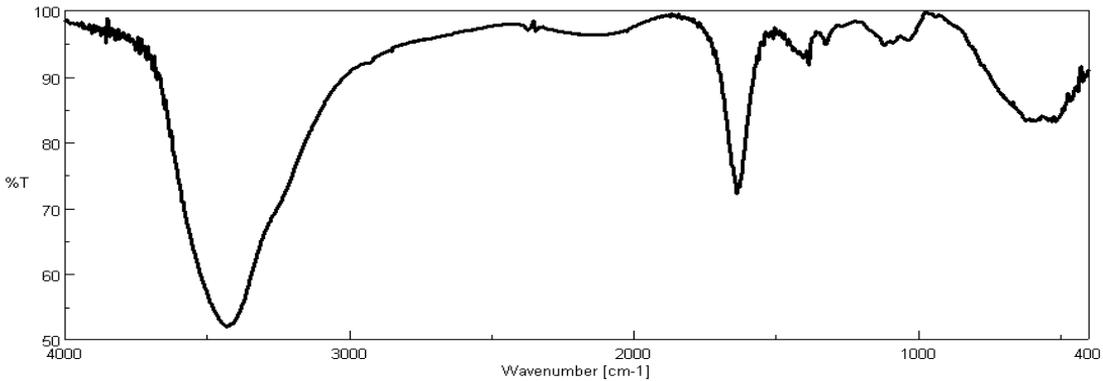
جدول (2): الأعداد الموجية التابعة للفسارتان باختلاف شكله الصيدلاني

العدد الموجي في طيف الفالسارتان ضمن الحبيبات F6 cm^{-1}	العدد الموجي في طيف الفالسارتان ضمن الحبيبات F3 cm^{-1}	العدد الموجي في طيف الفالسارتان النقي (المرجعي) cm^{-1}	نوع الزمرة
3430	3861	3035	O-H
2934	2942	2873-2927	C-H
1637	1636	1734-1602	C=O
1384	1510	1473-1448	C-OH
1120	1406	1390	C-O
516	601	995	C-N

بمقارنة العدد الموجي لطيف الفالسارتان النقي مع الأعداد الموجية لأطياف الحبيبات نلاحظ ظهور عصابات الامتصاص الخاصة بالفالسارتان كما هو موضح بالجدول (2) وبالتالي فإن الروابط المتشكلة بين الفالسارتان وألجينات الصوديوم وكلور الكالسيوم هي مجرد روابط فيزيائية ولا يوجد أي رابطة تشاركية فيما بينها. وهذا ما أكدته Caroline و زملائها في بحثهم عام 2021 [9]، وبالتالي فإن الارتباط لن يؤثر على فعالية المركب الدوائي.



الشكل (14): طيف الأشعة تحت الحمراء للتحضيرة F3



الشكل (15): طيف الأشعة تحت الحمراء للتحضيرة F6

6. الاستنتاجات و التوصيات و Conclusion and

:Recommendation

تم في هذا البحث، تحضير حبيبات ألجينات الكالسيوم المحملة بدواء فالسارتان بنجاح، وذلك باستخدام عدة تراكيز من ألجينات الصوديوم وكلور الكالسيوم، وتم تقييم وضبط جودة الحبيبات المحضرة والحصول على حبيبات ذات تحرر مديد تهدف إلى تحسين مطاوعة المريض. مما أدى بالنتيجة إلى تطوير نظام تجريع الفالسارتان.

أثر تركيز ألجينات الصوديوم على كل من شكل و أبعاد ووزن الحبيبات الناتجة، في حين لم يؤثر تغيير تركيز كلور الكالسيوم على شكل الحبيبة الناتجة.

كما أثر رفع تركيز كلور الكالسيوم على فعالية الاحتباس حيث زادت فعالية احتباس الفالسارتان، إضافة إلى إبطاء معدل التحرر وتشكل حبيبات ذات بنية متصالبة أكثر.

توصلنا في نهاية البحث إلى انتقاء الصيغة (ألجينات الصوديوم 3%، كلور الكالسيوم 10%) مع الالتزام بتطبيق شروط التحضير المتبعة (درجة حرارة 25° م، مسافة تنقيط 5 سم، محقن 20 سم). لأنها كانت الصيغة المثلى لإطالة معدل تحرر الفالسارتان وتخفيف تواتر الجرعات بالنسبة للمرضى المزمنين.

نوصي بتوسيع الدراسة لتشمل العضوية الحية *in vivo* للتأكد من نتائج معدل الذوبان المجراة في الزجاج *in vitro*، كما نوصي بمزج أكثر من بوليمير مع الألجينات أثناء التحضير بهدف تحسين صفات الصيغة المطورة وإطالة مدة تحرره أكثر كون الفالسارتان يتمتع بنصف عمر حيوي قصير نسبياً.

7. المراجع References :

- 1- Raja Rajeswari, K., Abbulu, K., Sudhakar, M., Karki, R., & Rajkumar, B. (2012). Development and characterization of valsartan loaded hydrogel beads. Der Pharmacia Lettre, 4(4).
- 2- Kalepu, S., & Nekkanti, V. (2015). Insoluble drug delivery strategies: Review of recent advances and business prospects. In Acta Pharmaceutica Sinica B (Vol. 5, Issue 5).
- 3- Shetiya, P., Vidyadhara, S., Ramu, A., Sasidhar, R. L., & Viswanadh, K. (2015). Development and characterization of a novel nanosuspension based drug delivery system of valsartan: A poorly soluble drug. Asian Journal of Pharmaceutics, 9(1).
- 4- Saydam, M., & Takka, S. (2007). Bioavailability file: Valsartan. In Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences (Vol. 32, Issue 4).
- 5- National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 60846, Valsartan.
- 6- Kimura, M., Mitani, H., & Isomura, Y. (2002). Preclinical and clinical profile of valsartan, a selective angiotensin II type-1 receptor blocker. In Folia Pharmacologica Japonica (Vol. 120, Issue 5).
- 7- Siddiqui, N., Husain, A., Chaudhry, L., Alam, S. S., Mitra, M., & Bhasin, P. S. (2011). Pharmacological and pharmaceutical profile of valsartan: A review. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 1(4).

- 8- Prasad, P. P., Yeh, C. M., Gurrieri, P., Glazer, R., & McLeod, J. (2002). Pharmacokinetics of multiple doses of valsartan in patients with heart failure. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 40(5).
- 9- Santinon, C., Borges, D., da Silva, M. G. C., & Vieira, M. G. A. (2021). Evaluation of different covalent crosslinking agents into valsartan-loaded sericin and alginate particles for modified release. Powder Technology, 390.
- 10- Yeom, D. W., Chae, B. R., Son, H. Y., Kim, J. H., Chae, J. S., Song, S. H., Oh, D., & Choi, Y. W. (2017). Enhanced oral bioavailability of valsartan using a polymer-based supersaturable selfmicroemulsifying drug delivery system. International Journal of Nanomedicine, 12.
- 11- Liu, W., Yan, T., Chen, K., Yang, L., Benet, L. Z., & Zhai, S. (2020). Predicting Interactions between Rifampin and Antihypertensive Drugs Using the Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System. Pharmacotherapy, 40(4).
- 12- A REVIEW ON SOLID DISPERSIONS. (2021). International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences, 10(3).
- 13- هيفاء العلي، 2020- تحضير ومراقبة جودة الحبيبات الحاوية على الكيتوبرفين. مجلة جامعة حماة. مجلد 3 عدد 8، 2020.
- 14- Kumar, R., Gupta, R. B., & Betageri, G. v. (2001). Formulation, characterization and in vitro release of glyburide from proliposomal beads. Drug Delivery: Journal of Delivery and Targeting of Therapeutic Agents, 8(1).

- 15- Patil, J. S., Kamalapur, M. v., Marapur, S. C., & Kadam, D. v. (2010). Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: The novel techniques to design hydrogel particulate sustained, modulated drug delivery system: A review. In Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures (Vol. 5, Issue 1).
- 16- Sosnik, A. (2014). Alginate Particles as Platform for Drug Delivery by the Oral Route: State-of-the-Art. ISRN Pharmaceutics, 2014.
- 17- Hoare, T. R., & Kohane, D. S. (2008). Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. In Polymer (Vol. 49, Issue 8).
- 18- McClements, D. J. (2017). Designing biopolymer microgels to encapsulate, protect and deliver bioactive components: Physicochemical aspects. In Advances in Colloid and Interface Science (Vol. 240).
- 19- سلمى عطره. 2020 - تحضير حبيبات ألومين البيض-عديد سكاريد ومراقبة تحرر بعض مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية منها. أطروحة ماجستير، جامعة البعث.
- 20- Patel, N., Lalwani, D., Gollmer, S., Injeti, E., Sari, Y., & Nesamony, J. (2016). Development and evaluation of a calcium alginate based oral ceftriaxone sodium formulation. Progress in Biomaterials, 5(2).
- 21- Benfattoum, K., Haddadine, N., Bouslah, N., Benaboura, A., Maincent, P., Barillé, R., Sapin-Minet, A., & El-Shall, M. S. (2018). Formulation characterization and in vitro evaluation of acacia gum–calcium alginate beads for oral

- drug delivery systems. *Polymers for Advanced Technologies*, 29(2).
- 22- Gawai, M. N., Aher, S. S., & Saudager, R. B. (2016). New UV – Spectrophotometric Method Development and Validation of Valsartan in Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 9(9).

دراسة ثبات صيغة موضعية جديدة للدوكسيسكلين ومراقبتها

طالبة الماجستير: علا عاصي كلية الصيدلة جامعة البعث

الأستاذ المشرف: أ. د. يوسف الأحمد

الأستاذ المشرف المساعد: د. مصطفى بيش

الملخص

الدوكسيسكلين هايكلات هو صاد حيوي واسع الطيف ينتمي لعائلة التتراسيكلينات، يستخدم بشكل واسع في معالجة العديد من الأمراض الالتهابية، ويعتبر الخط العلاجي الأول في تدبير الحالات المتوسطة إلى الشديدة من حب الشباب، نظراً لأهمية الدوكسيسكلين في الاستفاد من تأثيره موضعياً لمعالجة العديد من الأمراض الجلدية، وللتقليل من الآثار الجانبية الجهازية المزعجة للدوكسيسكلين، تم في هذا البحث تطوير أربع صيغ نصف صلبة للدوكسيسكلين F1, F2, F3, F4 وتقييمها في الزجاج ، من حيث خواصها الفيزيوكيميائية (درجة الحموضة وقيم اللزوجة) وتحديد محتواها من المادة الفعالة. تم تعريض الصيغ المحضرة إلى شروط إجهاد مختلفة من درجة الحرارة والرطوبة وحُدّد محتوى المادة الفعالة باستخدام طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء، وذلك بعد مضي فترة ثلاثة أشهر على بداية التحضير. أظهرت النتائج أفضلية الصيغ المرهية F3, F4 على الصيغ الهلامية F1, F2 من حيث ثبات المادة الفعالة، حيث بلغت النسبة المئوية المتبقية من الدوكسيسكلين 93% و 90% للصيغة F3, F4 على التوالي وذلك عند الحفظ بدرجة

حرارة الغرفة بعد شهر واحد من التحضير. بينما بلغت النسبة 90% و 65% للصيغ الهلامية F2,F1 عند نفس الشروط السابقة. تراوحت درجة الحموضة للصيغ الهلامية بين 5.5-6.5 وذلك خلال فترة الثبات المدروسة ولم تتجاوز المجال الفيزيولوجي للجلد السليم، لوحظ حدوث تغير لوني واضح في الصيغ الهلامية F1,F2 من دون وجود انفصال أو تغير في بنية الهلام المحضرة، في حين حققت الصيغة المرهمية F4 ثبات لوني أفضل من الصيغة F3 وذلك بسبب احتوائها على عامل مضاد أكسدة اضافي .

الكلمات المفتاحية: الدوكسيسكلين هايكلات، دراسة الثبات المسرع، أشكال صيدلانية نصف صلبة، مراقبة الجودة ، HPLC.

A Study of Stability and Quality Assessment of New Topical Formula Of Doxycycline Hyclate

Abstract

Doxycycline hyclate is a broad-spectrum antibiotic belonging to the tetracycline family, which inhibits protein synthesis by binding to the 30S ribosomal subunit. It has been widely used in the treatment of many inflammatory diseases, and is considered the first line in the management of moderate to severe cases of acne. due to the importance of doxycycline in apply it topically for the treatment of many skin diseases, and to reduce the undesirable systemic side effects, in this research, Doxycycline was formulated in four semi-solid formulas, their physicochemical properties (pH and viscosity values) and determination of drug content were *in-vitro* evaluated. The prepared formulas underwent to forced degradation conditions of high temperature and humidity, and the content of doxycycline was determined using high performance liquid chromatography method, after passing three months on the beginning of preparation. The results showed that the ointment formulas F3, F4 was more stable than gel formulas F1, F2, the drug percentage was 90%,93% at room temperature after one month of preparation for F3,F4 respectively. While it ranged

between 90%,65% for gel formulas (F1,F2) at the same previous conditions respectively. The pH of the gel formulas ranged between 6.5-5.5 and this isn't exceed the normal physiological range of skin pH. A color change was observed in the formulas F1, F2 more than the formulas F3,F4 without any separation or change in the texture of the formula. While the ointment formula F4 achieved better color stability than the formula F3, because it contained an additional antioxidant.

Key words: Doxycycline Hyclate, Accelerated degradation study, semi-solid formulas , quality control, HPLC.

1. المقدمة

الدوكسيسيسكلين هايكلات Doxycycline hyclate هو صاد حيوي واسع الطيف من أفراد الجيل الثاني لعائلة التتراسيكلينات، يثبط اصطناع البروتين Bacteriostatic عن طريق الارتباط بتحت الوحدة 30s ومنع ارتباط t-RNA بـ m-RNA في الموقع الريبوزومي، وبالتالي منع تشكل السلسلة الببتيدية للحموض الأمينية وإيقاف تصنيع البروتين [1-2]. تعتبر التتراسيكلينات الفموية (المينوسيكليين والدوكسيسيسكلين) الخط العلاجي الأول لتدبير الحالات المتوسطة إلى الشديدة من حب الشباب وذلك حسب توصيات الأكاديمية الأمريكية للأمراض الجلدية [3].

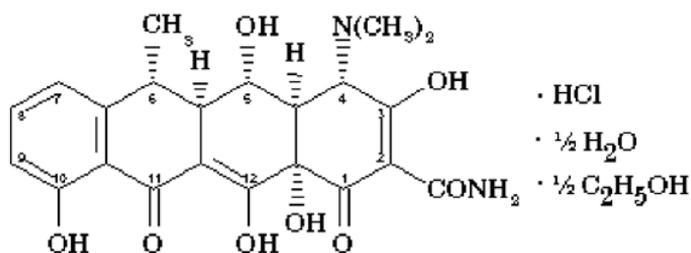
يعتبر الدوكسيسيسكلين أكثر أماناً من بقية أفراد التتراسيكلينات الأخرى، ويمتاز بفعالية أكبر تجاه الكثير من الأنواع الجرثومية إيجابية وسلبية الغرام كالإمعاثيات والزائفة الزنجارية والعنقوديات المذهبة [4]، و استخدم لأكثر من 40 عاماً بشكل شائع في علاج بعض أمراض الجهاز التنفسي والجلد والتهابات الجهاز البولي التناسلي، داء الأميبات المعوي ، الجمرة الخبيثة ،الحالات الشديدة من حب الشباب وكذلك في الوقاية من الملاريا [5-6]، ووفقاً لـ Borse وزملاؤه فإن قطر هالة التثبيط التي يحدثها الدوكسيسيسكلين تجاه العنقوديات المذهبة يتراوح بين 13.66 ± 1.69 mm و 32.00 ± 1.36 mm [7].

تم الاهتمام حديثاً بدور الدوكسيسيسكلين المضاد للالتهاب والمثبط لمطرس الميتالوبروتيناز Matrix Metaloprotinas Inhibitors (MMPs)، حيث أثبت أن لديه فعالية مضادة للكولاجيناز بتنشيطه لنشاط أنزيم collagenase وبالتالي التخفيف من الحدثة الالتهابية [8-9]. يتواجد الدوكسيسيسكلين بثلاثة أشكال ملحية، المونوهيدرات والهايكلات ، الهيدروكلورايد، يعتبر ملح الهايكلات هو الملح الأكثر انحلالية من بين أملاح الدوكسيسيسكلين وهو الملح المستخدم في دراستنا [10].

تكمن المخاطر الحقيقية لاستخدام المضادات الحيوية الجهازية في ظهور المقاومة الجرثومية للمضادات الحيوية. حيث استخدم الاريثرومايسين والكليندامايسين لعدة سنوات لعلاج حب الشباب ونتج عنها ظهور مقاومة جرثومية تجاه هذه المضادات [3]. تتمثل التأثيرات الجانبية للدوكسيسيكليين في حدوث الحساسية الضوئية والآثار الهضمية المزعجة مثل الألم البطني والانزعاج الهضمي [11-12]، إن الهدف من صياغة المستحضرات الموضعية لحب الشباب هو إيصال المادة الفعالة إلى الموقع المستهدف، والتخفيف من الآثار الجانبية الجهازية المزعجة للمريض، وتجنب المرور الكبدي الأول [13].

يتواجد الدوكسيسيكليين على شكل كبسولات فموية، مضغوطات، ومساحيق جافة معدة للحقن وللتعليق، لكنه لم يصرح بوجود أشكال سائلة أو أشكال نصف صلبة موضعية من الدوكسيسيكليين، يعود السبب في ذلك إلى ضعف ثباتية الدوكسيسيكليين في الأوساط المائية حيث يتعرض للحلمهة ولحدوث التصاوغ الصنوي الشكل (1) [14]، إلا أنه كان هناك محاولات لوضع الدوكسيسيكليين ضمن صيغ موضعية [7].

ونظراً للتشابه البنوي الكبير بين أفراد التتراسيكلينات ومنتجات التخرب الحاصلة، وانطلاقاً من أهمية دراسة الثبات واعتبارها معلم هام من معالم الجودة الصيدلانية، وبسبب الحاجة لتوافر شكل موضعي من الدوكسيسيكليين، تم في دراستنا تقييم ثبات أربعة صيغ نصف صلبة محضرة مخبرياً من الدوكسيسيكليين ومراقبة أهم التطورات الحاصلة خلال فترة الثبات المدروسة.



الشكل (1): الصيغة الجزيئية المنشورة للدوكسيسايكلين هايكلات

2. هدف البحث

- تطوير صيغ موضعية نصف صلبة فعالة وثابتة من الدوكسيسايكلين هايكلات.
- إجراء دراسات ثبات مسرعة للأشكال المطورة وذلك للتأكد من ثباتية المادة الفعالة وسرعة تحربه والتنبؤ بزمن صلاحية المستحضر.
- مراقبة هذه الأشكال وتقييم جودتها.

3. المواد والأجهزة والطرائق:

1.3 المواد والأدوات والأجهزة

دوكسيسايكلين هايكلات Doxycycline hyclate من شركة HEBEI (95%) ، كاربوبول 940 ، هيدروكسي بروبييل ميتيل سيللوز E6 (SHANDONG)، بروبييل بارابين، ميتيل بارابين، غليسيرين، بروبيلين غليكول (تقدمة معمل ميديكو للصناعات الدوائية)، ايتانول 96% ، فازلين، زيت بارافين، فيتامين E (BASF)، تري ايتانول أمين (MERCK)، حمض الفوسفور، Butylated Hydroxy Toluene (B.H.T). تم استخدام ميثانول إنتاج شركة Quimica Clinica

Aplicada S.A الاسبانية(99%)، وذلك لزوم تحضير العينات قبل إجراء التحليل بواسطة HPLC.

الجدول (1) يوضح الأجهزة المستخدمة

المواصفات	الجهاز
SHIMADZU	جهاز مطيافية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء
JENEK / PS – 80 A	جهاز الأمواج فوق الصوتية
SHIMADZUUV Spectrophotometer UV-1800	جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية
SHAKTI	طاحونة غروانية
S 5000, SARTOURIS / GERMANY	ميزان الكتروني حساس 0.0001 mg
Climacell	حاضنات الثبات المسرعة
Sartorius PT-10	جهاز مقياس pH
BROOKFIELD	جهاز مقياس اللزوجة

2.3 الطرائق Method

1.2.3.1 تحضير الصيغ نصف الصلبة Preparation and Formulation

تم اختيار أربع صيغ نصف صلبة مختلفة من ناحية القطبية والخصائص الفيزيوكيميائية (هلامة مائية Hydrogel، هلامة كحولية organo gel، مرهم كاره للماء)

hydrophobic ointment، مرهم كاره للماء حاوي على نسبة إضافية من مضاد الأكسدة)، يوضح الجدول 2 مكونات الصيغ الأربعة والنسبة المئوية لكل مكون.

الجدول(2): مكونات الصيغ الأربعة والنسبة المئوية لكل مكون

F ₄	F ₃	F ₂	F ₁	المكون
المرهم الكاره للماء W/W%	المرهم الكاره للماء W/W%	الهلام الكحولية W/W%	الهلام المائية W/W%	
0.1	0.1	0.1	0.1	دوكسيسيكليين هايكلات
--	--	1.25	0.5	كارببول 940
--	--	0.7	0.7	HPMC E ₆
--	--	0.2	0.2	ميتيل بارابين
--	--	0.5	0.5	بروبيل بارابين
--	--	2.5	15	غليسرين
--	--	7.5	15	بروبيلين غليكول
--	--	67.25	--	ايتانول 96%
--	--	19.5	67.35	ماء مقطر
--	--	0.45	0.65	TEA
0.9	--	--	--	فيتامين E
0.1	0.01	--	--	BHT
96	96.4	--	--	فازلين
3	3	--	--	زيت بارافين

2.2.3 دراسة الثبات المسرع للصيغ المحضرة FORCED DEGRADATION STUDY

بعد تعبئة الصيغ ضمن عبوات عاتمة تم توزيع عدد من الصيغ المحضرة ودراسة ثباتها في ثلاثة ظروف مختلفة:

- حجرة الثبات الأولى (درجة حرارة الغرفة): تم الحضانة في درجة حرارة 25° ورطوبة نسبية 40%.

- حجرة الثبات الثانية: تم الحضان في درجة حرارة 30 م° ورطوبة نسبية 60%.
 - حجرة الثبات الثالثة: تم الحضان في درجة حرارة 40 م° ورطوبة نسبية 75%.
- قيمت الصيغ مباشرة عند بداية الدراسة ، وتم تقييمها بعد مرور شهر واحد وثلاثة أشهر على التحضير وذلك من حيث اللون، المظهر، ودرجات الحموضة pH، واللزوجة، و تحديد محتوى المادة الفعالة.

3.2.3 قياس اللزوجة

تم قياس درجة اللزوجة بالاعتماد على ممانعة جسم الشكل الصيدلاني نصف الصلب لدوران كتلة معلقة بمحور (Spindle) عند درجة حرارة 25 م° [15-16] . حيث أجري على عينات بوزن 100 غ موضوعة ضمن بياشر زجاجية، وذلك بواسطة جهاز قياس لزوجة دوراني rotational viscometer (طريقة بروكفيلد Brookfield)، وبالشروط المناسبة لكل صيغة من حيث أنماط المغازل spindles وسرعات الدوران لكل صيغة والذي يختلف باختلاف قوام وسماكة كل صيغة (F1,F2: R7, 60 rpm;) (F4,F5: R6, 12 rpm). يعبر عن قيمة اللزوجة بواحدة السنتيبواز (cP).

4.2.3 قياس درجة الحموضة pH

قيست درجة الحموضة لكل صيغة بتمديدها 10 مرات بالماء المقطر (5 غ/50 مل) بواسطة مسرى جهاز قياس pH بعد التأكد من معايرته، كررت القراءة ثلاث مرات مع حساب قيمة الوسطي للقراءات الثلاثة.

5.2.3 مقايسة المادة الفعالة باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء

HPLC

1.5.2.3 تحضير الوقاء

يؤخذ 5 مل من تري ايتانول أمين TEA وينقل إلى بالون معايرة سعة 500 مل ويكمل الحجم حتى خط العيار بالماء المقطر، ثم تضبط قيمة pH باستخدام حمض الفوسفور حتى الوصول إلى درجة pH=3.5.

2.5.2.3 تحضير الطور المتحرك

نضيف 100 مل من الوقاء إلى 400 مل ميتانول في بالون معايرة سعة 500 مل وبذلك نحافظ على نسبة ميتانول/وقاء (20:80).

3.5.2.3 تحضير المحلول الشاهد

يوزن 20 ملغ من الدوكسيسكلين هايكلات وينقل إلى دورق معايرة سعة 100 مل ويكمل الحجم بحمض كلور الماء 0.1N حتى خط العلام، ثم ينقل إلى حوض الأمواج فوق الصوتية لضمان تمام الانحلال. يؤخذ 5 مل من المحلول السابق إلى دورق حجمي سعة 50 مل ويتمم بالطور المتحرك حتى خط العلام وبذلك نحصل على محلول ذو تركيز 20 µg/ml.

4.5.2.3 تحضير عينة الصيغ الهلامية للتحليل

يوزن 2 غرام من الصيغ الهلامية F1, F2 وينقل إلى بالون معايرة سعة 100 مل ويتمم الحجم بمحلول حمض كلور الماء 0.1N حتى خط العلام مع التحريك لمدة ربع ساعة على محرك مغناطيسي. ثم التثليل 6000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق ، ثم أخذ الجزء الطافي وترشيحه على مرشحة 0.45 ميكرون ويتم الحقن. التركيز هنا (20 µg/ml).

5.5.2.3 تحضير عينة الصيغة المرهمية للتحليل

يوزن 2 غرام من الصيغ المرهمية F3, F4 وينقل إلى قمع الاستخلاص مضافا إليه 30 مل هكسان و 100 مل حمض كلور الماء 0.1N، مع التحريك لمدة ربع ساعة على هزازة . ثم يتم التثليل 6000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق ، ثم أخذ الجزء الطافي وترشيحه على مرشحة 0.45 ميكرون ويتم الحقن. التركيز هنا (20 µg/ml) بعد تمام الفصل تؤخذ الخلاصة الحمضية ذات التركيز (20 µg/ml) وتحقن.

6.5.3.3 حقن العينات ضمن جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء

يتم حقن كل من محلول الشاهد ومحاليل الصيغ السابقة بعد الترشيح بالمرشاح الميكرونية ضمن جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء وفقاً للشروط التالية المتبعة في المعمل In House:

العمود C18 (4.6 × 250 ملم)، الطور المتحرك: مزيج من الميثانول/ وقاء (20:80) pH=3.5 معدل التدفق: 1.3 مل/دقيقة، الكاشف: UV بطول موجة 345 نانومتر، درجة الحرارة: 40 م°، حجم الحقنة: 20 ميكروليتر.

4. النتائج والمناقشة Result & Discussion

1.4 نتائج تقييم الخصائص الحسية والمظهر العام للصيغ المحضرة خلال فترة الثبات المدروسة

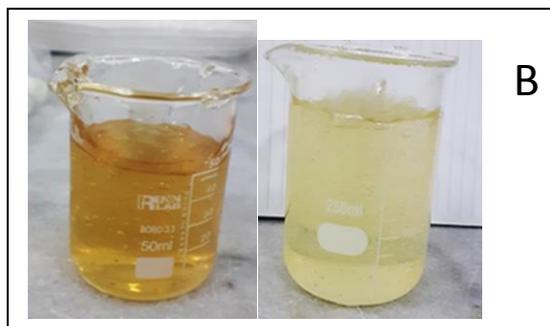
ينبغي تقييم الخصائص الفيزيوكيميائية للصيغ المحضرة من أجل الحصول على أشكال نصف صلبة ذات مقبولية acceptability وجودة عالية. كما تعتبر الاختبارات الحسية من الاختبارات الأولية التي تجرى على المستحضرات الصيدلانية حيث تكمن أهميته في إعطاء فكرة عن جودة المستحضر وثباته، ومقاومته للظروف التي تعرض لها، كما يعتبر الثبات الفيزيائي للمستحضر معلماً هاماً من معالم جودة المستحضر، وفشل هذه الاختبارات يؤدي إلى رفض التحضيرة وعدم إكمال بقية اختبارات المراقبة الدوائية.

يظهر من نتائج الفحص الحسي للصيغ الأربعة المحضرة أن الصيغ المرهمية F3, F4 هي الأكثر تقبلاً من الناحية الجمالية، وتمتعت بلمس دهني ورائحة نفضية مقبولة، تفوقت الصيغ الهلامية على الصيغ المرهمية في سهولة المد على الجلد وذلك بسبب طبيعة السواغات المستخدمة، أخذت جميع الصيغ المحضرة في بداية

التحضير اللون الأصفر والعائد إلى لون المادة الأولية (الدوكسيسيكليين) الصفراء اللون، تم ملاحظة التغير اللوني لجميع الصيغ المحضرة بعد مرور شهر واحد على التحضير وذلك مع ارتفاع درجة الحرارة في فترة الثبات المدروسة، حيث تدرجت من اللون الأصفر الفاتح مروراً باللون البرتقالي (F2,F1) وصولاً إلى اللون البني بعد مرور ثلاثة أشهر على التحضير، في حين كان التغير اللوني أخف شدة في الصيغة المرهمية F4 وذلك بسبب احتوائها على فيتامين E كمضاد أكسدة إضافة عن الصيغة F3. يعزى التغير اللوني الحاصل إلى التأثير السلبي لارتفاع درجة الحرارة ووجود الوسط المائي على الثبات الكيميائي للمجموعات الفينولية الموجودة في بنية الدوكسيسيكليين حيث قد تتعرض للأكسدة وتتحول إلى مركبات كينونية ملونة، وهذا ما يتوافق مع مواد مماثلة [17-18]، حيث ازداد تغير لون الصيغ المحفوظة بدرجات حرارة 45 °م و 37 °م.

الجدول (3): نتائج تقييم الفحص الحسي والعياني للصيغ المحضرة

الفحص الحسي (اللون والمظهر، الرائحة، التجانس الملمس، قابلية المد، الانتعاش)	الصيغة
أصفر شفاف، رائحة مميزة، متجانس، طري مائي، سهل المد، مرتفع	F1، هلامية مائية
أصفر شفاف، رائحة كحولية، متجانس، طري، سهل المد، مرتفع	F2 ، هلامية كحولية
أصفر لامع، رائحة نفطية، متجانس، دبق دهني، متوسط، لا يوجد	F3, F4، مرهم كاره للماء



الشكل (2): A. التغير اللوني الحاصل للصيغة F1 خلال فترة الثبات ، B. للصيغة F2 ، C. للصيغة F3

2.4. نتائج تقييم درجة الحموضة pH

لوحظ انخفاض تدريجي في درجة حموضة الصيغ الهلامية حيث تراوحت القيم بين 5.5-6.5 وذلك خلال فترة الثبات المدروسة، هذا المجال يدل على ملائمة الصيغ للتطبيق الجلدي حيث لم تتجاوز المجال الفيزيولوجي للجلد السليم (4.5-7.5). يمكن تفسير هذا الانخفاض الحاصل إلى احتمالية حدوث تصاوغ صنوي Epimerization في الموقع C4 والذي أدى إلى إضعاف الخاصية القلوية

للمركب، إضافة إلى احتمالية حدوث حملة للوظيفة الأميدية في الموقع C2 وتحولها إلى مجموعة كربوكسيلية ذات خواص حمضية [19].

3.4 نتائج تقييم اللزوجة

من المهم تقييم لزوجة المستحضرات نصف الصلبة باعتبارها تؤثر في عدة أمور، منها تحرر المادة الفعالة من الصيغ إضافة إلى قابلية المد على الجلد. تفوقت الصيغ المرهمية على الصيغ الهلامية بدرجة اللزوجة وذلك بسبب طبيعة المواد الدسمة الداخلة في التحضير ، قيمة اللزوجة المبدئية للصيغ المرهمية F3,F4 29800,30000 cP على التوالي ، بينما قيم اللزوجة للصيغ الهلامية F1,F2 11000,8000 cP على التوالي. وبما أن لزوجة الكحول أقل من لزوجة الماء كانت الصيغة F2 الهلامية أقل لزوجة من صيغة الهلامية F1.

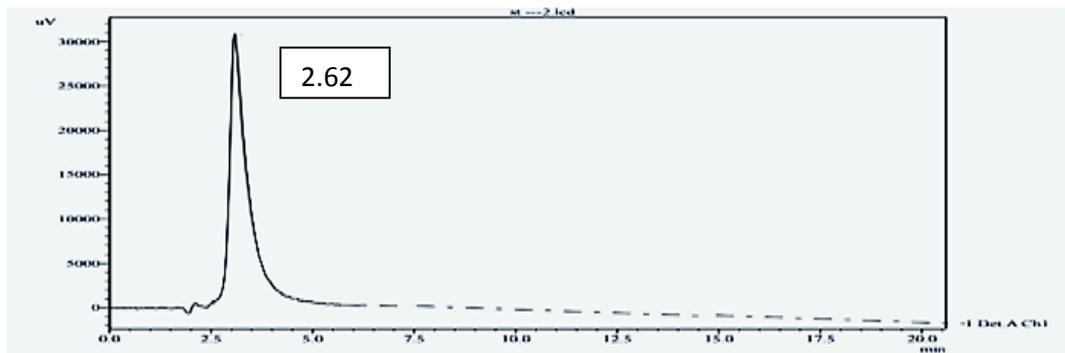
لم يلاحظ انخفاض كبير في لزوجة الصيغ المحفوظة في فترة دراسة الثبات المسرع حيث تراوح الانخفاض بين 10% للصيغ الهلامية وبين 3.3-3.7% للصيغ المرهمية. يمكننا تفسير انخفاض لزوجة المستحضرات الهلامية أثناء فترة الثبات إلى تغير pH الصيغ وبالتالي التأثير على لزوجة الكاربوبول والتي تتأثر بتغير قيمة pH الوسط.

4.4 نتائج مقايسة المادة الفعالة في الصيغ المحضرة خلال فترة الثبات المدروسة

1.4.4. نتائج حقن المحلول الشاهد

بعد حقن محلول الدوكسيسيكليين الشاهد ضمن جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء حصلنا على الكروماتوغرام التالي والذي تظهر فيه قمة الدوكسيسيكليين

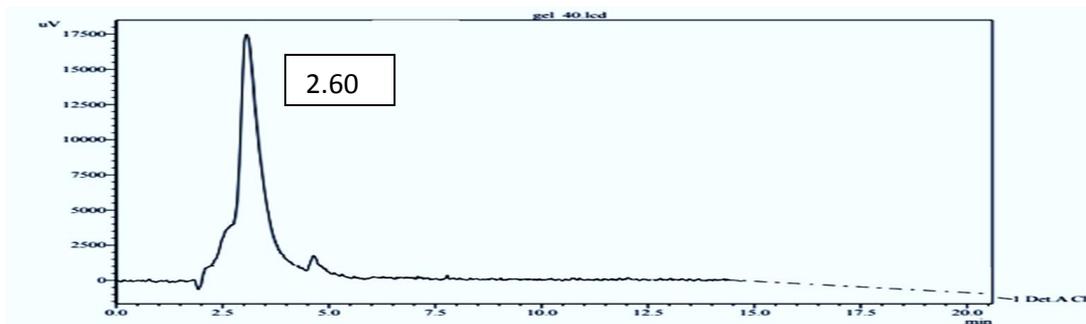
الوحيدة عند طول موجة 345 نانومتر ويزمن احتباس 2.62 دقيقة، المساحة تحت المنحني (AUC) 883512 كما هو موضح في الشكل (3).



الشكل (3): كروماتوغرام المحلول الشاهد

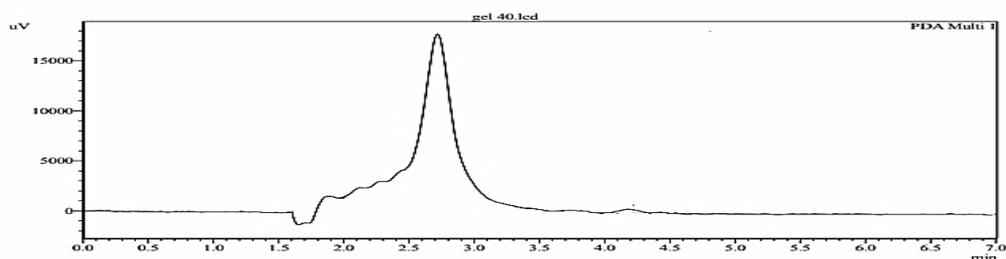
2.4.4. نتائج حقن محاليل الصيغ الهلامية F1, F2

بعد حقن الصيغ الهلامية المحفوظة في حاويات الثبات حصلنا على الكروماتوغرامات التالية كما هو موضح في الأشكال (4,5,6,7).

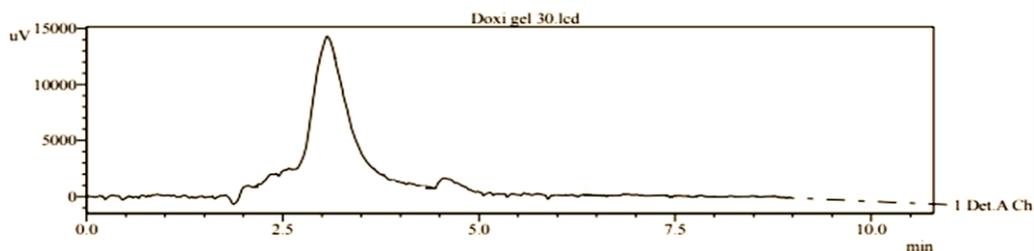


الشكل (4): كروماتوغرام الصيغة F1 بعد مرور شهر على التحضير عند الحفظ

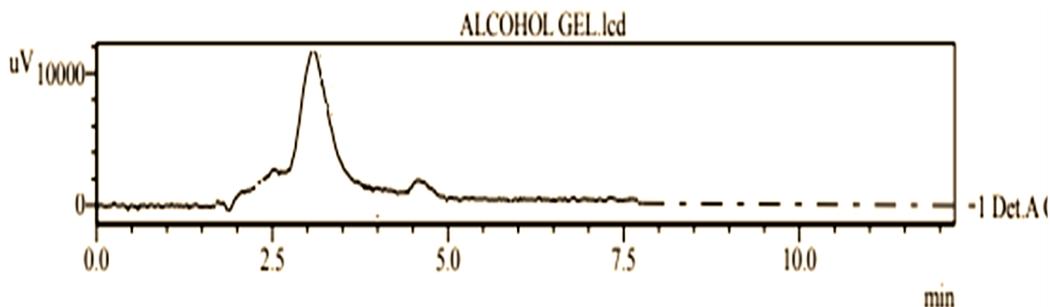
بدرجة حرارة 40°



الشكل (5): كروماتوغرام الصيغة F1 بعد مرور 3 أشهر على التحضير عند الحفظ بدرجة حرارة 40°



الشكل (6): كروماتوغرام الصيغة F2 بعد مرور شهر على التحضير عند الحفظ بدرجة حرارة 30°



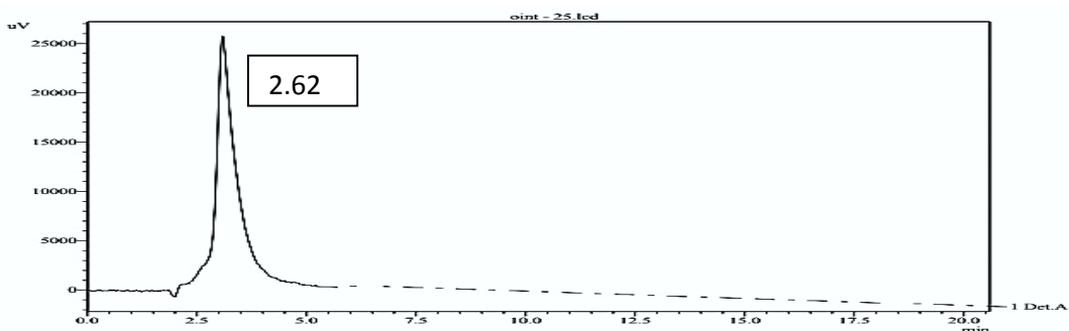
الشكل (7): كروماتوغرام الصيغة F2 بعد مرور شهر على التحضير وعند الحفظ بدرجة حرارة 40°

يظهر الجدول (5) قيم النسب المئوية المتبقية من المادة الفعالة في الصيغ باختلاف شروط الثبات المحفوظة وباختلاف الزمن.

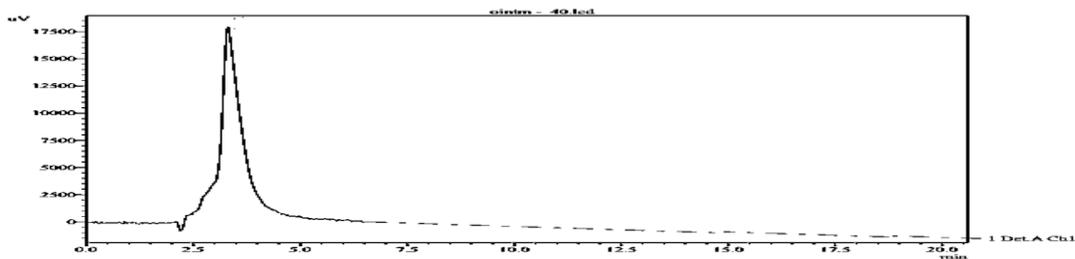
بعد مرور ثلاثة أشهر على بداية التحضير			بعد مرور شهر على بداية التحضير			لحظة البدء	
40	30	25	40	30	25	25	درجات الحرارة (°م)
23	50	71	71	88	92.2	99	F1
لم يتم إكمال التحليل بسبب تناقص التركيز عن 40%			35.5	50.2	65.2	94.4	F2

3.4.4. نتائج حقن محاليل الصيغ المرهمية F3,F4

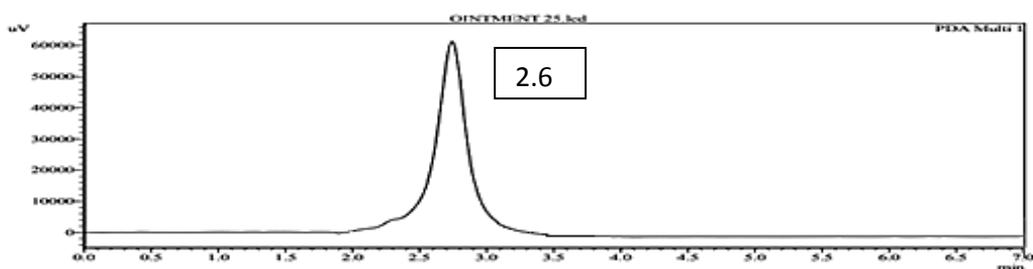
بعد حقن الصيغ المرهمية المحفوظة في حاضنات الثبات حصلنا على الكروماتوغرامات التالية كما هو موضح في الأشكال (8,9,10,11)



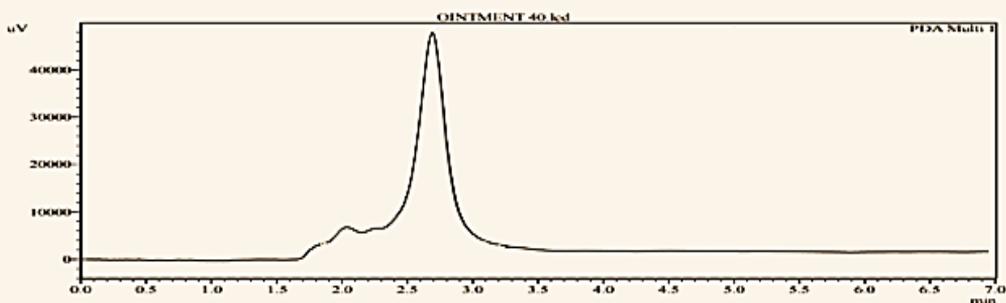
الشكل(8): كروماتوغرام الصيغة F3 بعد مرور شهر على التحضير وعند الحفظ بدرجة حرارة 25°



الشكل(9): كروماتوغرام الصيغة F3 بعد مرور شهر على التحضير وعند الحفظ بدرجة حرارة 40°



الشكل(10): كروماتوغرام الصيغة F4 بعد مرور 3 أشهر على التحضير وعند الحفظ بدرجة حرارة 25°



الشكل(11): كروماتوغرام الصيغة F4 بعد مرور 3 أشهر على التحضير وعند الحفظ بدرجة حرارة 40°

يظهر الجدول (6) قيم النسب المئوية المتبقية من المادة الفعالة في الصيغ باختلاف شروط الثبات المحفوظة وباختلاف الزمن.

بعد مرور ثلاثة أشهر على بداية التحضير			بعد مرور شهر على بداية التحضير			لحظة البدء	درجات الحرارة (°م)
40	30	25	40	30	25	25	F3
40	55	77	72	83	90.1	94.6	F4
55	66	80	77	88	93	95	

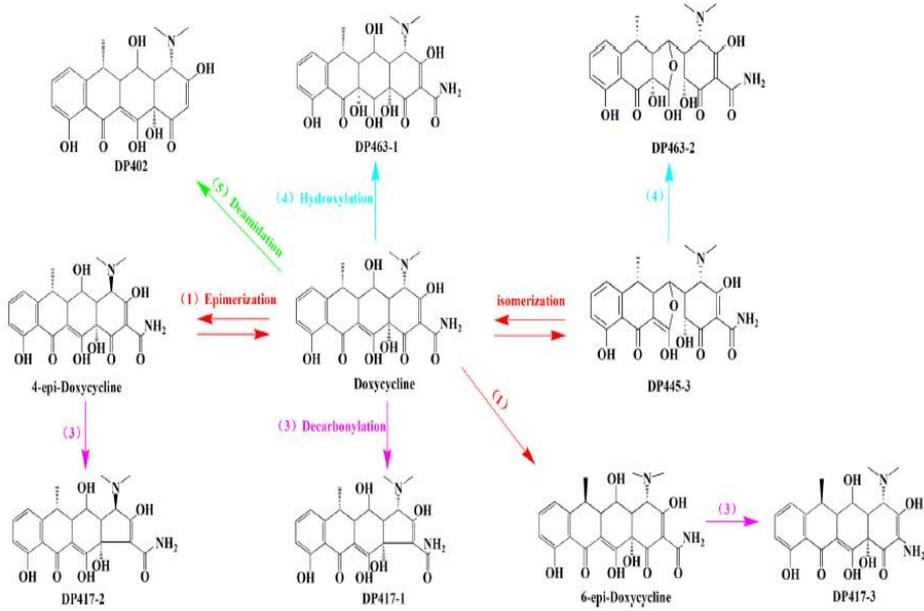
4.4.4. تفسير نتائج مقايسة المادة الفعالة في الصيغ المحضرة

أظهرت النتائج السابقة انخفاض في النسبة المئوية المتبقية للمادة الفعالة في الصيغ الأربعة المحضرة وذلك في شروط الثبات المحفوظة، بها حيث ترافق ازدياد درجة الحرارة مع زيادة في تحرب الدوكسيسكلين، تمتعت الصيغ المرهمية F3, F4 بثبات أفضل للمادة الفعالة من الصيغ الهلامية F1, F2 وذلك بسبب انعدام الوسط المائي وقلة عمليات الحلمة والتساوغ الصنوي الحاصل. بالمقارنة بين الصيغ المرهمية F3, F4 نلاحظ حدوث تحرب أقل للدوكسيسكلين في الصيغة F4 عن الصيغة F3 وذلك بسبب تأثير وجود مضاد الأكسدة (فيتامين E) الثاني و المضاف على الصيغة F3 الحاوية على مضاد أكسدة (BHT) وحيد وهذا ماعزز من ثبات الصيغة والتقليل من عمليات الأكسدة الحاصلة، حيث انخفضت إلى 80%, 93% بعد مرور شهر وثلاثة أشهر على التوالي عند الحفظ في درجة حرارة الغرفة، في حين بلغت النسبة المئوية للصيغة F3 77%, 90.1% بعد شهر وثلاثة أشهر عند الشروط الحفظ السابقة. بالانتقال إلى الصيغ الهلامية نلاحظ انخفاض أكبر في

القيم حيث انخفضت إلى 71%، 23% بعد مرور شهر وثلاثة أشهر على التوالي عند الحفظ في درجة الحرارة 40° وكما هو موضح في الجدول (5). قد يعود السبب في ذلك إلى وجود الوسط المائي وإمكانية حدوث التصاوغ السنوي Epimerization في الموقع الأميني C4 ليعطي ناتج التخرب 4-epi-doxycyclin، وفي الموقع C6 ليعطي 6-epi-doxycyclin، وهذا يتوافق مع مقال أجراه (Bin Yang) [19] درس فيه التغيرات والتخربات الحاصلة للدوكسيسيكليين بارتفاع درجة الحرارة، حيث وجد بأن ارتفاع درجة الحرارة من 25° إلى 50° أدى إلى تسريع التخرب بمقدار 10 درجات، كما أن هناك عدة فرضيات تفسر التخرب البنوي الحاصل للدوكسيسيكليين نتيجة الحلمة كحصول نزع أميد Diamidation في الموقع C2 واحتمالية حدوث Decarbonylation في الموقع C1 لنحصل على نواتج التخرب الموضحة في الشكل (12) المأخوذة من Bin Yang et al 2022 .

فشلت الصيغة الكحولية F2 في المحافظة على ثبات المادة الفعالة بالرغم من قلة توفر الوسط المائي، وكان هناك انخفاض غير مفسر في القيم حيث وصلت النسبة المئوية للمادة الفعالة إلى 35.5% بعد مرور شهر واحد على التحضير عند الحفظ في درجة حرارة 40°، لذلك لم يكن من الضروري متابعة اجراء باقي اختبارات هذه الصيغة بعد مرور ثلاثة أشهر على التحضير. ربما يعزى السبب في ذلك إلى انخفاض لزوجة الصيغ الكحولية والذي أدى إلى ضعف في تماسك الشبكة الهلامية وبالتالي ضعف احتباس المادة الفعالة فيها وتعرضها بشكل أكبر لعمليات التخرب والحلمة الحاصلة. كما أن انخفاض درجة pH المستحضرات الهلامية ساهم أيضاً في التأثير على الشبكة الهلامية (Carbopol) وبالتالي انخفاض لزوجتها [20]. بالنتيجة النهائية، لم نتمكن من الحصول على ثبات كاف لمادة

الدوكسيسيكليين ضمن الصيغ الهلامية وذلك بسبب التخرّب الفيزيائي والكيميائي الحاصل، لكننا في الصيغ المرهمية توصلنا إلى ثبات أعلى من الصيغ السابقة وأبدت تخرّب أقل للمادة الدوائية نتيجة لانعدام الوسط المائي ووجود مضادات الأكسدة.



الشكل (12): مسارات التخرّب بالحلمة للدوكسيسيكليين

5. التوصيات

1. محاولة تطوير صيغ موضعية ثابتة للدوكسيسيكليين بالجوء إلى تقنيات التمحفظ Encapsulation، والأجسام النانوية Nanopartiles وذلك باستخدام سواغات وأوساط تضمن المحافظة على ثبات الدوكسيسيكليين لفترات طويلة.
2. ضرورة دراسة نواتج التخرّب وفهم ظروف تخرّب الدوكسيسيكليين باستخدام تقنيات تحليلية مثل NMR و LC-MS.

6. المراجع

1. Chukwudi U, 2016, rRNA binding sites and the molecular mechanism of action of the tetracyclinesn. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**; 60(8), 4433–4441.
2. Pokhakar V, *et al*, 2015, Engineering of polymer–surfactant nanoparticles of doxycycline ehydrochloride for ocular drug delivery; **Informa healthcare**; 22(7): 955–968.
3. Kircik L, Weiss J, *et al*, 2020, Formulation and Profile of FMX101 4% Minocycline Topical Foam for the Treatment of Acne Vulgaris. **J Clin Aesthet Dermatol**; 13(4):14–21.
4. Finch, R., 1996, Antibiotic and Chemotherapy: Anti–infective Agents and their Use in Therapy, **Epidemiology and Infection**; 120: 469–477.
5. Vargas–Estrada D,*et al* , 2007,Pharmacokinetic study of an injectable long acting parenteral formulation of doxycycline hyclate in calves. **Res Vet Sci**; 84: 477–482.
6. Castro L, Sahagum A, *et al*, 2009, Pharmacokinetics of doxycycline in sheep after intravenous and oral administration. **Vet J.**; 180: 389–395.

7. Borse, V. A, 2020, Formulation and evaluation of antibacterial topical gel of doxycycline hyclate, neem oil and tea tree oil. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**; 54(1), 206–212.
8. Navarro F, Villaverde R, 2020, Doxycycline, an antibiotic or an anti-inflammatory agent? The Most Common uses in dermatology. **Actas Dermo-Sifiliográficas**; 111(7):561–566.
9. Mohammadi A, Pourmoslemi S, *et al*, 2016, Development and Validation of a Stability-Indicating RP-HPLC Method for Rapid Determination of Doxycycline in Pharmaceutical Bulk and Dosage Forms. **Pharmaceutical Sciences** ;22(2):96–104.
10. Kogawa A, Salgado A, 2012, Doxycycline hyclate: A review of properties, applications and analytical method. **International J life science & pharma research**; 2(4):11–25.
11. Gilbard E, Fieldson G, 2012. Therapeutic eye drop comprising doxycycline and a stabilizer, United States Patent Application Publication, Pub No.: US /0190653 A1.
12. Smith R, Russo J, 2020. Antibiotic delivery strategies to treat skin infections when innate antimicrobial defense fails. **Antibiotics**; 9(2), 56, 1–25.

13. Marco D, Giuffrida R, 2020, Topical antibiotics in the dermatological clinical practice: Indications, efficacy, and adverse effects. **Dermatologic Therapy**, 33(6).
14. Loftin, K.A, Surampalli R, 2008. Effects of ionic strength, temperature, and pH on degradation of selected antibiotics. **J. Environ. Qual.** 37, 378–386.
15. British pharmacopoeia,2015.
16. Maria J, Sousa V, 2017, determination of the stability of cosmetic formulations with incorporation of natural products instituto politecnico, 1–89.
17. Krongrawa W, Limmatvapirat S, Pongnimitprasert N, 2018. Formulation and evaluation of gels containing coconut kernel extract for topical application. **Asian J Pharm Sci**; 13(5),415–424.
18. Salas AL, Uriburu FMC, Zampini IC, *et al.* 2020, Hydroalcoholic gel with Argentine propolis: the potential for antimicrobial and antioxidant activities, stability evaluation, and in vitro phenolic release. **J Apic Res**;59(5),735–743.
19. Zhong S, Yang B,2022, Hydrolytic transformation mechanism of tetracycline antibiotics: Reaction kinetics, products identification

and determination in WWTPs, **Ecotoxicology and Environmental Safety**;229(1),113063

20. Maslii Y, Ruban O,2020, The Influence of pH Values on the Rheological, Textural and Release Properties of Carbomer Polacril® 40P–Based Dental Gel Formulation with Plant–Derived and Synthetic Active Components. **Molecules**; 25(21),5018.

تقييم جودة تحاميل الكيتوبروفين المسوّقة محلياً

تقديم : طالبة الماجستير ماري بديع هوليه

كلية الصيدلة - جامعة البعث

إشراف : أ.م.د. هيفاء العلي

الملخص بالعربية:

يعتبر الكيتوبروفين مضاد التهاب غير ستيروئيدي مستخدم لدى شريحة واسعة من المرضى ولاسيما بشكل تحاميل. قد تنتج عدة مشاكل تنعكس سلباً على جودة التحاميل نتيجة تأثر جودة التحاميل بعدة عوامل. تم في هذا البحث تقييم جودة تحاميل الكيتوبروفين المسوّقة محلياً لشركتين دوائيتين محليتين بإجراء الاختبارات الحسية والفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية، كما تم تطبيق طريقتين تحليليتين مختلفتين في مقايسة الكيتوبروفين بشكل تحاميل (طريقة حجمية وطريقة طيفية). تم تطوير الطريقة التحليلية الطيفية لمقايسة الكيتوبروفين بشكل تحاميل بعد الصهر والتبريد والترشيع في وسط من الإيثانول 96% وقياس الامتصاصية عند طول الموجة 255nm وتم التحقق من مصدوقيتها وفقاً لإرشادات المؤتمر الدولي للمواءمة وتمت المقارنة بين نتائج الطريقتين . بنتيجة البحث: تبين أنّ تحاميل الكيتوبروفين المسوّقة محلياً لكلا الشركتين A و B متوافقة مع معايير الجودة المطلوبة بنتيجة الاختبارات المطبقة، كما أن الطريقة الطيفية المطورة امتازت بالخطية على مجال التراكيز المدروسة ، الدقة، المضبوطية، النوعية، المتانة، السرعة ، البساطة ، قلة التكلفة. بالمقارنة بين الطريقتين التحليليتين: الطريقة الطيفية تمكّن من الكشف الكيفي والكمي عن الكيتوبروفين وتحتاج مادة واحدة فقط في الاختبار وأكثر دقة من الطريقة الحجمية ، بينما تحتاج الطريقة الحجمية ثلاث مواد ، تمكن من الكشف الكمي فقط وبدقة أقل من الطريقة الحجمية لتأثرها بعدة متغيرات.

الكلمات المفتاحية: تقييم، جودة ، تحاميل ، الكيتوبروفين ، تطوير طريقة تحليلية

Evaluating The Quality Of Locally Marketed Ketoprofen Suppositories

:Abstract

Ketoprofen is a non-steroidal anti-inflammatory used by a wide range of patients, especially in the form of suppositories. Several problems that negatively affect the quality of suppositories may result as the quality of suppositories is affected by several factors. In this research, the quality of locally marketed ketoprofen suppositories for two local pharmaceutical companies was evaluated by conducting sensory, physical, chemical and microbiological tests. Also, two different analytical methods were applied in the ketoprofen assay in suppository form (a volumetric method and a spectroscopic method). The spectral analytical method was developed for the assay of ketoprofen in the form of suppositories after melting, cooling and filtering in a medium of 96% ethanol and measuring the absorbance at wavelength 255 nm and its validity was verified according to the guidelines of the International Conference on Harmonization. The results of the two methods were compared. The result of the research: It was found that locally marketed ketoprofen suppositories for both companies A and B are compatible with the required quality standards as a result of the tests applied, and that the developed spectroscopic method was characterized by linearity over the range of studied concentrations, Precision, accuracy, Specificity, Robustness, speed, simplicity, and low cost. Comparison between the two analytical methods: the spectroscopic method enables qualitative and quantitative detection of ketoprofen and needs only one substance in the test and is more accurate than the volumetric method, while the volumetric method requires three substances, enabling quantitative detection only with less accuracy than the volumetric method because it is affected by several variables.

Key words: Quality Control, suppositories, ketoprofen, development of an analytical method

1- المقدمة Introduction

- المادة الدوائية التي تم اختيارها في البحث :

• مادة الكيتوبروفين **Ketoprofen**: [1]

الاسم الكيميائي: (2RS)-2-(3-Benzoyl Phenel) Propanoic Acid

الصيغة الجزيئية: $C_{16}H_{14}O_3$

المظهر **Appearance**: مسحوق كريستالي أبيض

الانحلالية **Solubility**: صعب الانحلال في الماء، منحل بحرية في الأسيتون

، الإيتانول 96%، كلوريد الميثيلين

درجة الانصهار **Melting Point**: $94-97^{\circ}C$ ، وله مجال امتصاص للأشعة فوق

البنفسجية **Spectra Range**[230-350]nm ، كما يمتلك طول موجة امتصاص

أعظمي في الإيتانول 96% للاستعراف حيث استفدنا من هذه الخاصية في تطوير

طريقة تحليلية لمقايسته بشكل تحاميل قواعد دسمة بعد إجراءات الاستخلاص.

دوائياً:

- مادة دوائية تنتمي إلى زمرة مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية

- استخدامه الواسع لتأثيراته: مضاد التهاب - مسكن ألم - خافض حرارة [3,4]

- حصل على موافقة FDA في علاج التهابات المفاصل الرثوية

- يتواجد بأشكال صيدلانية عديدة (حقن عضلية ، جل موضعي ، كبسولات ،

مضغوطات، تحاميل) [7].

الثباتية:

- مستقر في الوسط القلوي - يتحلل في ظروف الأوكسدة والوسط الحمضي

- وفقاً للدراسات المرجعية (بقي ثابت بالنسبة لدرجات الحرارة

المنخفضة [8] $80^{\circ}C/4^{\circ}C/25^{\circ}C$ والمرتفعة [9] $60^{\circ}C/+50^{\circ}C/+40^{\circ}C$ ، حساس

تجاه الضوء [3,11] Photolabile Drug.

مبررات البحث:

A. أهمية مراقبة جودة تحاميل الكيتوبروفين المسوّقة محلياً والتأكد من مطابقتها لمعايير الجودة كون:

- التحاميل شكل صيدلاني قد يعاني من مشاكل عديدة تؤثر سلباً على جودته وفقاً لما ورد في الدراسات المرجعية (التزهّر، اختلاف نتائج التحرر والانصهار والقساوة بالتأثر بظروف الحفظ والتخزين....)

- التحاميل شكل صيدلاني مستخدم لدى شريحة واسعة من المرضى (كبار السن والأطفال الذين يعانون من مشكلة ابتلاع الأشكال الصيدلانية الفموية ، حالات الإقياء...)

- قلة عدد الدراسات المتعلقة بتحاميل الكيتوبروفين (محلياً ، عالمياً)

- الكيتوبروفين مادة دوائية ضعيفة الثبات تجاه الأكسدة ، وبالمقابل تصنّع ضمن قواعد دسمة والتي بدورها قد تتعرض للأكسدة (التزنخ)

B. ضرورة تطوير طريقة تحليلية جديدة لمقايسة الكيتوبروفين بشكل تحاميل نظراً لأن:

- الطريقة المتبعة محلياً (حجمية) ، تعتبر أقل دقة من الطرائق الطيفية والكروماتوغرافية

- تركيز الدراسات المرجعية على تطوير طرائق تحليلية لمقايسة الكيتوبروفين بأشكاله الصيدلانية المختلفة ماعدا التحاميل / ونذكر منها الطرائق الطيفية [12-16]، الرحلان الكهربائي [17]، طرائق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء [18,19].

- عدم وجود دراسة تقارن بين طرائق تحليلية مختلفة في مقايسة الكيتوبروفين بشكل تحاميل

2- هدف البحث Research aim:

- تقييم جودة تحاميل الكيتوبروفين المسوّقة محلياً والتأكد من مطابقتها للمواصفات الدستورية من خلال إجراء الاختبارات الحسية والفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية

- تطوير طريقة تحليلية جديدة لمقايسة الكيتوبروفين بشكل تحاميل والتحقق من مصدوقيتها وفقاً لإرشادات المؤتمر الدولي للمواءمة ICH guideline والمعايير الدستورية
- تطبيق الطريقة التحليلية المطورة في اختبار مقايسة المستحضرات المدروسة ومقارنة نتائج الطريقة التحليلية مع نتائج طريقة تحليلية متبعة محلياً .

3- المواد والطرائق **Materials and Methods**

3-1- المواد والأدوات والأجهزة:

المواد: كيتوبروفين (شركة دوائية سورية) كمادة نقية مرجعية Working Standard ذات نقاوة %99.32، هيدروكسيد الصوديوم NaOH بشكل حبيبات بيضاء صلبة بكثافة 2.13g/cm^3 من شركة SIGMA-ALDRICH.Germany، مشعر الفينول فتالئين (شركة SIGMA-ALDRICH الألمانية) ، ماء مقطر (من جهاز تقطير) ، إيتانول %99.8 (شركة SIGMA-ALDRICH الألمانية) لنحضر منه الإيتانول %96، وسط زرع جرثومي Soybean Casein Digest Agar و وسط زرع فطري Sabourad Dextrose Agar (شركة SIGMA-ALDRICH الألمانية)، وقاء pH=7.0 ، بولي سوريات 80 (شركة SIGMA-ALDRICH الألمانية)، تحاميل كيتوبروفين عيار 100mg لشركتين دوائيتين محليتين A و B .

- الأجهزة والأدوات :

- ميزان إلكتروني حساس (Sartorius Basic $\pm 0.1\text{mg}$ B120S/Germany)
- جهاز قياس قساوة التحاميل (ERWEKA Type SBT2/Germany)
- جهاز قياس زمن انصهار التحاميل (ERWEKA Type SSP/Germany)
- جهاز قياس زمن النفاذ (ERWEKA Type PM30/Germany)
- جهاز قياس زمن التفتت (COPLEY,NE4-COPD:UK)
- جهاز الأشعة فوق البنفسجية (Shimadzu UV-1800UV/33.Japan)
- حوض الأمواج فوق الصوتية (Elma s 80H/Germany)
- حاضنة (WTB binder B28-3002807000000/Germany)

- حمام مائي (Grant XB2/England)
- محرك مغناطيسي (VELP SCIENTIFICA.Italy)، بوالين معايرة ، ممصات،
بياسر، أسطوانات مدرجة ، سحاحة ، مراشح .

3-2- الطرائق:

3-2-1- اختبارات تقييم جودة التحاميل :

أ) فحوص حسية (الفحوص العيانية):

صُنفت الصفات الملاحظة عياناً وفق القواعد الواردة في ضمان جودة التحاميل [20].

ب) فحوص فيزيائية :

ب.1. اختبار تجانس الوزن **Uniformity Of Weight**:

تم وزن عشرين تحميلة باستخدام ميزان حساس من نوع Sartorius Basic±0.1mg B120S ومن ثم حساب الانحراف النسبي عن متوسط الوزن .

شرط اجتياز الاختبار: 90% من التحاميل على الأكثر يسمح لها بانحراف بحدود ±5% و 10% من التحاميل على الأكثر يسمح لها بانحراف بحدود ±10% [21].

ب.2. اختبار القساوة **Hardness Test**:

تم باستخدام جهاز فحص قساوة التحاميل من نوع ERWEKA Type SBT2 في درجة حرارة الغرفة 25°C، يتضمن تطبيق أوزان 200 غ حتى التصدع وهو يكشف مدى تحمل التحميلة لظروف النقل والاستخدام ، تم إجراء الاختبار بثلاث مكررات وحساب المتوسط والانحراف المعياري

لاتوجد قيمة دستورية محددة لقساوة التحاميل إذ تختلف قساوة التحاميل باختلاف نوع السواغ المستخدم [21]، ولكن يجب أن تحقق قيمة قساوة على الأقل 1.8-2Kg حتى تكون مقاومة لظروف النقل والاستخدام [20].

ب.3. اختبار زمن الانصهار **Melting Time Test**:

تم باستخدام جهاز فحص زمن انصهار التحاميل من نوع ERWEKA Type SSP ، تم إجراء الاختبار بثلاث مكررات وحساب المتوسط والانحراف المعياري

شرط اجتياز الاختبار: عدم تجاوز 30 دقيقة لتحميل القواعد الدسمة في درجة الحرارة [21]37°C.

ب.4. اختبار زمن التفنت Disintegration Test:

تم إجراء اختبار التفنت باستخدام جهاز: COPLEY,NE4-COPD:UK ، يضم الجهاز حجرة معدنية تحتوي منخل ذو 39 ثقباً ومغمورة في وسط يحوي 4ليتر من الماء المقطر بدرجة حرارة 37°C، إذ تتوضع الحجرة تحت الماء مسافة 90ملم وتقلب كل عشرة دقائق أثناء الفحص دون إخراجها من الماء .

شرط اجتياز الاختبار : يجب ألا يتجاوز 30 دقيقة لتحميل القواعد الدسمة ، وعدم تجاوز 60 دقيقة لتحميل القواعد المائية [21] .

ب.5. اختبار زمن النفاذ Suppository Penetration Test:

تم باستخدام جهاز فحص زمن التلين ERWEKA Type PM30 وهو يقيس الزمن اللازم لتصبح التحميلة لينة لدرجة كافية لنفوذ عمود زجاجي على طول التحميلة بشكل شاقولي بعد وضع العمود والتحميل في حمام مائي 37°C ، وقد تم إجراء الاختبار بثلاث مكررات وحساب المتوسط والانحراف المعياري

شرط اجتياز الاختبار: عدم تجاوز 30 دقيقة عند درجة حرارة [20]37°C.

(ت) فحوص كيميائية :

ت.1. اختبار مقايسة المادة الفعالة Assay API:

تم اعتماد طريقة تحليلية متبعة في أحد المعامل الدوائية السورية(تم التحقق من مصدوقيتها مسبقاً) وهي طريقة حجمية في وسط من الإيثانول 96% والماء حيث تتم المقايسة باستخدام هيدروكسيد الصوديوم 0.1N والاستدلال على نقطة نهاية المقايسة بتحول لون المشعر (الفينول فتالئين) إلى اللون الوردي ، حيث تمت المقايسة على 10 تحاميل من كل طبخة (تحضيرية) دوائية مدروسة بمجال قبول % 90-110 .

ت.2. اختبار تجانس المحتوى Uniformity Of Content:

تم حساب متوسط محتوى 10 تحاميل من كل طبخة (تحضيرية) دوائية مدروسة ومن ثم حساب نسبة المحتوى من المحتوى الوسطي(%) وحساب الانحراف المعياري

والانحراف المعياري النسبي %RSD الذي يُشترط عدم تجاوزه %6.0 بحيث يقع محتوى جميع التحاميل بين [20]. 85-115%

(ث) فحوص ميكروبيولوجية Microbiological Tests:

- تم وزن 10 غ من كل طبخة دوائية (تحضيرة) لمنتج كل من الشركتين الدوائيتين A و B
- ثم تم صهر التحاميل المدروسة على حمام مائي عند درجة حرارة 44°C
- تمت إضافة بولي سوروبات 80 عقيم مع المزج الجيد حتى تمام الاستحلاب وبعد ذلك تم التمديد باستخدام وقاء pH=7.0 حتى 100 مل ومن ثم تم سحب مايقابل 1 غ من المنتج (10 مل) والترشيح باستخدام مرشح 0.45µm، تم بعد ذلك غسل المرشحة باستخدام نفس الوقاء ثلاث مرات ومن ثم تم نقل المرشحة إلى طبق بتري مناسب يحوي وسط مغذي مناسب .
- تم النقل إلى طبق بتري يحوي وسط تريبتون صويا آغار والحضن في درجة حرارة 30-35°C لمدة 5 أيام من أجل تعداد الجراثيم الهوائية الكلية TAMC
- تم النقل إلى طبق بتري يحوي وسط سابوردوديكستروزآغار والحضن في درجة حرارة 20-25°C لمدة 5 أيام من أجل تعداد الفطور والخمائر الكلية TYMC
- شرط القبول : العدد الإجمالي من الجراثيم الهوائية يجب ألا يتجاوز 10^3 وحدة جرثومية في غ أو مل واحد ، كما أن العدد الإجمالي من الفطور والخمائر يجب ألا يتجاوز 10^2 وحدة في غ أو مل واحد [22] .

3-2-2- تطوير طريقة تحليلية لمقايسة الكيتوبروفين بشكل تحاميل والتحقق من مصدقيتها [24-27] :

3-2-2-1 اختيار المُحل المستخدم في هذه الطريقة:

☑ المُحل المستخدم الإيتانول %96 كونه:

- في قائمة المُحلات الدستورية لمادة الكيتوبروفين
- الوسط المستخدم في المقايسة الحجمية لمادة الكيتوبروفين [1,2] .
- الوسط المُستخدم في المقايسة الحجمية للكيتوبروفين بشكل تحاميل (محلياً)

- محل متوافر ومستخدم في العديد من معامل الأدوية والمخابر
- نظراً لنتيجة المسح الطيفي

3-2-2-2 تحديد طول موجة الامتصاص الأعظمي :

- تم تحديد طول موجة الامتصاص الأعظمي بعد اقتراح المحل المستخدم في هذه الطريقة بإجراء مسح طيفي للمادة بين 200-400nm

3-2-2-3 الخطية Linearity :

- تم تحضير 6 محاليل ضمن مجال التراكيز $5-15 \mu\text{g/ml}$ ابتداءً من المحلول الأم (المحلول الرئيس) Stock Solution تركيزه $500 \mu\text{g/ml}$
- طريقة تحضير المحلول الأم (المحلول الرئيس) : تم وزن 50mg من الكيتوبروفين العياري Working Standard باستخدام ميزان حساس من نوع Sartorius Basic $\pm 0.1\text{mg}$ B120S/Germany ، وتم وضع الوزن في حوالة سعة 100ml ومن ثم تمت إضافة المحل (الإيتانول 96%) بالتدرج : في البداية تمت إضافة 50ml من الإيتانول 96% وتم إغلاق الحوالة مع الرج بشكل جيد ثم تمت متابعة إضافة 50ml إيتانول 96% حتى الوصول للخط المحدد للحجم 100ml وتم وضع الحوالة في جهاز التحريك بالأمواج فوق الصوتية لمدة ثلاث دقائق ثم رُفعت .

- تم قياس امتصاصية كل محلول من محاليل السلسلة العيارية لثلاث مكررات وتم أخذ المتوسط الحسابي وتمثيل العلاقة ما بين تراكيز محاليل السلسلة العيارية والاستجابة (الامتصاصية) لإيجاد مايلي:

• معادلة الخط البياني Regression Equation

• الميل Slope

• معامل الارتباط (R^2) Correlation Coefficient

3-2-2-4 المجال Range :

- تم قياس امتصاصية المحلول ذي التركيز الأدنى ست مكررات
- تم قياس امتصاصية المحلول ذي التركيز الأعلى ست مكررات

- تم حساب متوسط قيم الامتصاصيات Average والانحراف المعياري SD والانحراف المعياري النسبي %RSD الذي يجب ألا يتجاوز 2%.

3-2-2-5 تكرارية النظام :

- تم تحضير محلول بتركيز 10µg/ml الموافق للتركيز الهدف 100%
- ومن ثم تم تكرار قياس امتصاصية المحلول 6 مرات عند طول الموجة المحدد
- ومن ثم تم حساب المتوسط الحسابي لقيم الامتصاصيات Average والانحراف المعياري SD والانحراف المعياري النسبي %RSD الذي يجب ألا يتجاوز 2%

3-2-2-6 تكرارية الطريقة Repeatability :

- تم تحضير 6 محاليل بالتركيز الهدف 10 µg/ml الموافق للتركيز 100%
- وذلك بأخذ 2ml من المحلول الأم (الرئيس) إلى دورق حجمي سعة 100ml ومن ثم إتمام الحجم حتى خط العيار المحدد باستخدام الإيتانول 96%
- تم قياس امتصاصية كل محلول من المحاليل الستة المحضرة خلال فواصل زمنية متقاربة في نفس اليوم ونفس الشروط وحساب المتوسط الحسابي Average والانحراف المعياري SD والانحراف المعياري النسبي %RSD الذي يُشترط ألا يتجاوز 2%.

- ومن أجل دراسة الدقة الوسطى Intermediate Precision: تم تحضير ست محاليل بالتركيز الهدف 10 µg/ml الموافق للتركيز 100% ودراسة امتصاصية كل محلول وحساب المتوسط الحسابي Average والانحراف المعياري SD والانحراف المعياري النسبي %RSD الذي يُشترط ألا يتجاوز 2% وذلك في يوم آخر مع تغيير شرطين وهما نوع الجهاز المستخدم والمحلل .

3-2-2-7- المضبوطية Accuracy:

- تم تحضير تسع محاليل عيارية لثلاثة تراكيز % (75-100-125) من الكيتوبروفين العياري وذلك بأخذ (1.5ml-2ml-2.5ml) على الترتيب من المحلول الأم (الرئيس) ووضع كل حجم في دورق حجمي سعة 100ml وتمديد

الحجم حتى خط العيار باستخدام الإيتانول 96% للوصول إلى التراكيز 7.5-10-
 $12.5 \mu\text{g/ml}$ على الترتيب .

- تم قياس امتصاصية المحاليل المحضرة بثلاث مكررات لكل تركيز ومن ثم حساب المضبوطة على شكل استرداد نسبي % Recovery وحساب المتوسط للقياسات .
- ووفقاً لإرشادات المؤتمر الدولي للمواعة إن شرط نجاح الاختبار في أن تكون نتائج % Accuracy مساوية للقيمة 100 ± 2 بانحراف معياري نسبي لا يتجاوز 2%.

3-2-2-8- المانة Robustness:

- تم قياس امتصاصية المحلول ذي التركيز الهدف $10 \mu\text{g/ml}$ الموافق للتركيز 100% خمس مكررات وذلك على أطوال موجية مختلفة (253-255-257) nm ،
 علماً أنّ طول الموجة الموافق للامتصاص الأعظمي 255nm وذلك اعتماداً على المسح الطيفي .

- تم حساب المتوسط الحسابي للقياسات Average والانحراف المعياري SD والانحراف المعياري النسبي % RSD الذي يُشترط ألا يتجاوز 2%.

3-2-2-9- الحساسية Sensitivity:

- بعد التأكد من خطية العلاقة بين تراكيز محاليل السلسلة العيارية والاستجابة (الامتصاصية) وإيجاد قيمة ميل الخط الناتج Slope
- تم باستخدام برنامج Excel 2016 إيجاد قيمة Standard Error Of Intercept (Sdyx) : الخطأ القياسي وتم تعويض قيم Slope و Sdyx في العلاقات التالية لإيجاد قيمة حد الكشف (LOD(Limit Of Detection) و حد الكم (LOQ (Limit Of Quantification)

$$10 \times \left(\frac{SD}{Slope} \right) LOD = \text{حد الكشف يُحسب من العلاقة}$$

$$3.3 \times \left(\frac{SD}{Slope} \right) LOQ = \text{حد الكم يُحسب من العلاقة}$$

3-2-2-10- النوعية Specificity:

- تم تحضير محلول عياري من الكيتوبروفين بالتركيز الهدف الموافق للتركيز 100%

- تم تحضير عينة تحوي نفس التركيز ولكن مع وجود سواغات Placebo ضمن العينة

- تم قياس امتصاصية كل محلول بثلاث مكررات وملاحظة قيم الامتصاصيات وحساب متوسط قيم الامتصاصيات Average والانحراف المعياري SD والانحراف المعياري النسبي %RSD الذي يُشترط ألا يتجاوز 2%.

3-2-2-11- تكرارية الطريقة التحليلية - مستحضر (تحاميل كيتوبروفين ذات قواعد دسمة)

- تم ذلك بتحضير 6 محاليل بالتركيز الهدف ابتداءً من المستحضر الصيدلاني (التحاميل) المحلي

- وفي المقابل تم تحضير محلول شاهد بالتركيز الهدف وقياس امتصاصيته عند طول الموجة 255nm وتكرار قياس امتصاصيته ست مرات وحساب المتوسط الحسابي Average لقيم امتصاصياته

- تم قياس امتصاصية المحاليل المدروسة عند طول الموجة 255nm باستخدام جهاز مطيافية الأشعة فوق البنفسجية في أوقات متقاربة وفي نفس اليوم Intra-day

- تم تحديد كمية المادة الفعالة في كل محلول محضر كنسبة مئوية من الكمية المعينة في الشاهد المحضر وحساب المتوسط الحسابي Average والانحراف المعياري SD والانحراف المعياري النسبي %RSD الذي يُشترط ألا يتجاوز 2%

- تمت دراسة الدقة الوسطى للطريقة التحليلية - مستحضر وفق نفس خطوات دراسة تكرارية الطريقة - مستحضر ولكن في يوم آخر Inter-day ومن قبل محلل آخر وباستخدام جهاز آخر وتم حساب المتوسط الحسابي Average والانحراف المعياري SD والانحراف المعياري النسبي %RSD الذي يُشترط ألا يتجاوز 2%.

3-2-2-11- مضبوطة الطريقة - مستحضر (تحاميل كيتوبروفين ذات قواعد دسمة):

- تم في البداية تحضير بلاسيبو Placebo من السواغات الدخلة في صناعة تحاميل الكيتوبروفين من قبل الشركة المحلية A، ثم بعدها تمت إضافة Spike (كمية معلومة

من المادة العيارية (100mg) لنحقق الوزن 1.9168g لنحضر ابتداءً منها تسعة محاليل على طول مجال التراكيز % (75-125) وتم قياس امتصاصيات المحاليل المحضرة عند طول الموجة المستخدم 255nm باستخدام نفس المحل (الإيتانول 96%) وفي المقابل أيضاً تم تحضير محلول شاهد موافق لكل تركيز محضر وتم قياس امتصاصية محلول الشاهد ثلاث مرات متكررة وحساب متوسط قيم امتصاصياته وحساب النسبة المئوية للاستعادة (الاسترداد) % Recovery والانحراف المعياري SD والانحراف المعياري النسبي % RSD.

3-2-3- تطبيق الطريقة التحليلية المطورة في مقايسة الكيتوبروفين في التحاميل المسوّقة محلياً ومقارنة نتائج الطريقة المطوّرة مع نتائج طريقة تحليلية متبعة محلياً.
- تم تطبيق الطريقة التحليلية المطوّرة في مقايسة تحاميل الكيتوبروفين المسوّقة محلياً لشركتين دوائيتين A و B وقد تم اختيار التحاميل من كل طبخة دوائية (تحضير) مدروسة بشكل عشوائي

- تم تحضير محلول شاهد وقياس امتصاصيته عند طول الموجة 255nm
- تم صهر كل تحميلية في وسط من الإيتانول 96% ومن ثم التبريد في حمام ثلجي ومن ثم الترشيح، ثم تم سحب 1ml من الرشاحة ووضعها في دورق حجمي سعة 100ml والتمديد باستخدام نفس المذيب حتى الوصول إلى الحجم المحدد ووضعها في جهاز التحريك بالأمواج فوق الصوتية لمدة ثلاث دقائق ومن ثم قياس الامتصاصية عند طول الموجة 255nm.

4. النتائج والمناقشة Results and Discussion

4-1 نتائج الاختبارات الحسية: كانت التحاميل المدروسة لكلا الشركتين الدوائيتين ذات مواصفات حسية مقبولة من ناحية الشكل ، اللون ، الرائحة ، الملمس ، السطح ، قابلية

النزع من تغليفها وبما أنها اجتازت الاختبارات الحسية بنجاح ، انتقلنا لتطبيق الاختبارات التالية للاختبارات الحسية.

4-2 نتائج الاختبارات الفيزيائية :

4-2-1 نتائج اختبار تجانس الوزن :

- بنتيجة الاختبار وجدنا :

- متوسط أوزان تحاميل الشركة A للطبختين الدوائيتين A_1 و A_2 على الترتيب كالتالي
1.9485،1.9186g.

- متوسط أوزان تحاميل الشركة B للطبختين الدوائيتين B_1 و B_2 على الترتيب كالتالي
1.9510g،1.9458g.

- بما أنّ الانحراف النسبي للأوزان الفردية عن الوزن الوسطي في جميع العينات المدروسة لم يتجاوز $\pm 5\%$ فإنّ التحاميل المدروسة تعتبر مقبولة من ناحية نتائج اختبار تجانس الوزن و موافقة للشروط الدستورية التي تشترط :90% من التحاميل على الأكثر يسمح لها بانحراف بحدود $\pm 5\%$ و 10% من التحاميل على الأكثر يسمح لها بانحراف بحدود $\pm 10\%$ [21]. وبالتالي فإنّ التحاميل المدروسة قد اجتازت اختبار تجانس الوزن بنجاح .

4-2-2 نتائج اختبار قساوة التحاميل :

- بنتيجة الاختبار وجدنا :

- متوسط قساوة تحاميل الشركة A لكل من الطبختين A_1 و A_2 على الترتيب كالتالي
2.4666Kg،3.1Kg بانحراف معياري SD على الترتيب كالتالي :
0.3011،0.1095 .

- متوسط قساوة تحاميل الشركة B لكل من الطبختين B_1 و B_2 على الترتيب كالتالي :
2.7Kg،2.9Kg بانحراف معياري SD على الترتيب كالتالي : 0.2756،0.1095 .

-لا نستطيع النقيده بقيمة معينة للقساوة كونها تختلف باختلاف السواغ المستخدم ومن جهة أخرى لا توجد حدود دستورية خاصة بهذا الاختبار كونه ليس اختبار دستوري وإنما

مشار إليه في الدراسات المرجعية التي تشترط ألا تقل قيمة قساوة التحاميل عن 1.8-2kg، وهذا محقق بنتيجة بحثنا إذ أنّ متوسط قساوة التحاميل للشركتين الدوائيتين المحليتين A و B لم يقل عن 1.8-2kg وهذا يتوافق مع الشروط المرجعية [20]، وبالتالي فإنّ التحاميل المدروسة قد اجتازت اختبار القساوة بنجاح كونها ذات مقاومة جيدة ومقبولة لظروف النقل والتغليف والاستخدام.

4-2-3 نتائج اختبار زمن الانصهار:

- **بنتيجة الاختبار وجدنا :**
- متوسط زمن الانصهار لتحاميل الشركة A للطبختين الدوائيتين A_1 و A_2 على الترتيب كالتالي : 28.7383minute، 25.9616minute بانحراف معياري على الترتيب كالتالي: 0.4969، 0.3640.
- متوسط زمن الانصهار لتحاميل الشركة B للطبختين الدوائيتين B_1 و B_2 على الترتيب كالتالي : 27.795minute، 24.998minute بانحراف معياري على الترتيب كالتالي: 0.4229، 0.4062.
- على الرغم من بساطة هذا الاختبار إلا أن نتيجته مهمة جداً للتأكد من قدرة التحميلة على الانصهار في درجة حرارة الجسم 37°C خلال زمن محدد، حيث أنّ متوسط زمن الانصهار لتحاميل الشركتين الدوائيتين المحليتين A و B لم يتجاوز 30 دقيقة عند درجة حرارة 37°C وهذا يتوافق مع الشروط المطلوبة [21].

4-2-4 نتائج اختبار التففت :

- **بنتيجة الاختبار وجدنا :**
- متوسط زمن التففت لتحاميل الشركة A للطبختين الدوائيتين A_1 و A_2 على الترتيب كالتالي : 28.44minute، 25.0783minute بانحراف معياري على الترتيب كالتالي: 0.6193، 0.4862.

- متوسط زمن التفتت لتحاميل الشركة B للطبختين الدوائيتين B_1 و B_2 على الترتيب كالتالي : 25.92167minute ، 22.2minute بانحراف معياري على الترتيب كالتالي : 0.340025 ، 0.6524.
- بما أنّ التحاميل المدروسة ذات قواعد دسمة ، فنستطيع الاستغناء عن هذا الاختبار لأنّ الاختبار الأهم بالنسبة لها هو اختبار زمن الانصهار، إذ أن دستور الأدوية البريطاني يستخدم اختبار التفتت للتحاميل ذات القواعد المائية أو التي لاتنصهر بشكل متجانس ،ولكن يمكن استخدامه في التحاميل ذات القواعد الدسمة لغرض اختبار يماثل اختبار الانصهار أيضاً وبما أنّ متوسط زمن التفتت لتحاميل الشركتين A و B لم يتجاوز 30 دقيقة عند درجة حرارة 37°C فبذلك تعتبر نتيجة الاختبار مقبولة كونها تتفق مع الشروط الدستورية المطلوبة والتي تشترط زمن التفتت لكل تحميلة هو 30 دقيقة كحد أقصى للتحاميل ذات القواعد الدسمة ، وبأقل من 60 دقيقة بالنسبة إلى التحاميل ذات القواعد المائية[21]وتتفق مع النتائج التي توصل إليها الباحث/ Mosbah A.et al 2016/ عندما درس تفتت التحاميل بنوعين من السواغات (دسمة ومنحلة بالماء) حيث لم تتجاوز تحاميل القواعد الدسمة 30min.

4-2-5 نتائج اختبار زمن النفاذ :

- بنتيجة الاختبار وجدنا أنّ:
- متوسط زمن النفاذ لتحاميل الشركة A لكل من الطبختين A_1 و A_2 على الترتيب كالتالي : 18.8516 minute ، 14.4366 minute بانحراف معياري SD على الترتيب كالتالي : 0.5543 ، 0.6469.
- متوسط زمن النفاذ لتحاميل الشركة B لكل من الطبختين B_1 و B_2 على الترتيب كالتالي : 15.7716 minute ، 11.4766 minute بانحراف معياري SD على الترتيب كالتالي : 0.5565 ، 0.5672 .

- تكمن أهمية نتيجة هذا الاختبار بأنّها تعطينا فكرة عن زمن بدأ تلين التحميلة من خلال قياس الزمن اللازم لتصبح التحميلة لينة لدرجة كافية لنفوذ عمود زجاجي على طول

التحميلة بشكل شاقولي بعد وضع العمود والتحاميل في حمام مائي درجة حرارته: 37°C .

وبما أتمتوسط زمن النفاذ لتحاميل الشركتين A و B لم يتجاوز 30 دقيقة عند درجة الحرارة 37°C فهي تعتبر ذات زمن نفاذ مناسب كونها تتوافق مع الشروط المرجعية المطلوبة [20] ، وتتفق مع نتائج دراسة أجرتها الباحثة (YOUSFAN A. et al [23]).

3-4 نتائج الاختبارات الكيميائية

1-3-4 نتائج اختبار مقياسه المادة الفعالة

- **نتيجة الاختبار وجدنا أن:**
- متوسط قيمة المحتوى من المادة الفعالة لعشرة تحاميل من الشركة A لكل من الطبختين A_1 و A_2 على الترتيب كالتالي : 94.3438% ، 102.9886% بانحراف معياري SD على الترتيب كالتالي : 1.8781 ، 2.4546 .
- متوسط قيمة المحتوى من المادة الفعالة لعشرة تحاميل من الشركة B لكل من الطبختين الدوائيتين B_1 و B_2 على الترتيب كالتالي : 101.0843% ، 102.7483% بانحراف معياري SD على الترتيب كالتالي : 1.2828 ، 1.06447 .
- كان محتوى جميع التحاميل المدروسة محققاً للمجال المحدد $90-110\%$ وبالتالي تعتبر التحاميل المدروسة ذات محتوى مقبول من المادة الدوائية، ولكن من خلال مقارنة محتوى المادة الفعالة بين جميع التحضيرات الدوائية المدروسة نلاحظ أن محتوى تحاميل التحضيرة A_1 كان الأقل بين جميع التحضيرات ، يمكن أن نفسر هذا الانخفاض في المحتوى إلى أن تحاميل التحضيرة A_1 هي الأقدم من حيث تاريخ الإنتاج وقد كان متبقي على انتهاء تاريخ فترة صلاحيتها أربعة أشهر عند إجراء الدراسة عليها ونستبعد فكرة أن الأمر مقصود من قبل الشركة الدوائية المصنعة لأننا درسنا تحضيرة أخرى لنفس الشركة ولم نلاحظ انخفاض في قيمة المحتوى الفعال فقد كان متوسط المحتوى لتحضيرة من نفس الشركة A_2 : 102.9886% . بالرغم من انخفاض متوسط محتوى A_1 من

المادة الفعالة إلا أنها بقيت ضمن المجال المطلوب وبالتالي تعتبر مقبولة بنتيجة اختبار مقياسة المحتوى.

4-3-2 نتائج اختبار تجانس المحتوى :

- **بنتيجة الاختبار وجدنا أن:**
- المحتوى من المادة الفعالة في جميع التحاميل المدروسة بين %85-115 بالنسبة للمحتوى الوسطي
- إذ كانت قيمة %RSD في اختبار تجانس المحتوى لتحاميل الشركة A لكل من الطبختين الدوائيتين A₁ و A₂ على الترتيب كالتالي : %1.9907، %2.3834.
- وكانت قيمة %RSD في اختبار تجانس المحتوى لتحاميل الشركة B لكل من الطبختين الدوائيتين B₁ و B₂ على الترتيب كالتالي : %1.3477، %1.5350.
- بما أنّ المحتوى من المادة الفعالة لجميع التحاميل المدروسة بين %85-115 مع انحراف معياري نسبي %RSD لم يتجاوز %6.0فالتحاميل مقبولة بنتيجة اختبار تجانس المحتوى بما يتفق مع الشروط المرجعية [20] .

4-4 نتائج الاختبارات الميكروبيولوجية:

بنتيجة الاختبار وجدنا:

- لم تبد أي من العينات المدروسة نمواً فطرياً أو جرثومياً عند زرعها على الأطباق المخصصة (بالرغم أنها أشكال صيدلانية نظيفة) .
- عند الشك بصحة النتيجة تمت إعادة زرع عينات أخرى من نفس التحضيرات المدروسة وأيضاً لم تبد أي نمو ميكروبيولوجي . من المحتمل أن يعود السبب إلى درجة الحرارة المرتفعة أثناء الصب أو أنّ السواغ الدسم يعيق النمو الميكروبيولوجي، بما أننا لم نلاحظ نمو ميكروبيولوجي في العينات المدروسة نستطيع القول بأنّ التحاميل المدروسة ذات نقاوة ميكروبيولوجية مقبولة وقد اجتازت الاختبارات الميكروبيولوجية بنجاح إذ أن دستور

الأدوية البريطانية يصنف المعايير المطلوبة للنقاوة الميكروبيولوجية في المستحضرات الصيدلانية إلى عدة فئات وتصنف التحاميل ضمن الفئة الثالثة **Category 3**:

- العدد الإجمالي من الميكروبات الهوائية : ليس أكثر من (10^3) جراثيم في غرام واحد أو ميلي لتر واحد .
- وليس أكثر من (10^2) فطريات في غرام واحد أو ميلي لتر واحد .

4-5 نتائج التحقق من مصدوقية الطريقة التحليلية Validation

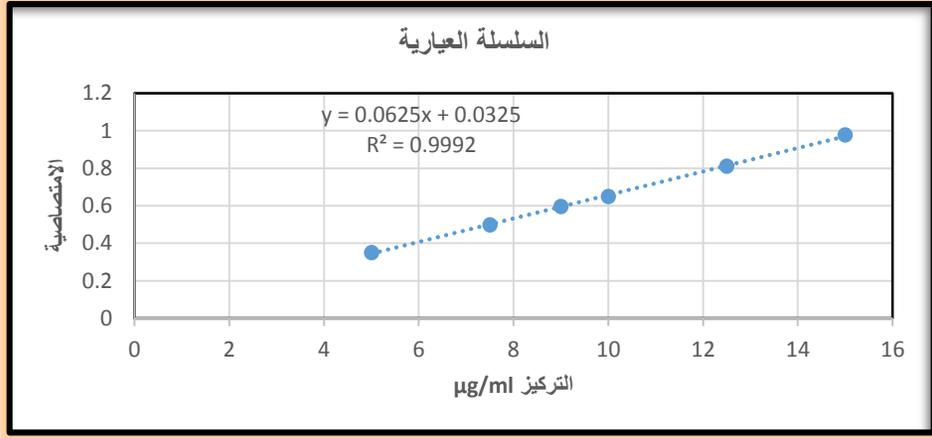
4-5-1 نتيجة المسح الطيفي :طول موجة الامتصاص الأعظمي 255nm بنتيجة المسح الطيفي بين 200-400nm لمحلل المادة العيانية .

4-5-2 نتائج دراسة الخطية:

- تم قياس امتصاصية كل محلل من محاليل السلسلة العيانية المحضرة
- النتيجة : نتج عن رسم علاقة تركيز - امتصاصية المحلول العياري (مساحة قمة للتركيز المحللة) ، خط مستقيم معادلته: $Y=0.0625X + 0.0325$ ، بمعامل ارتباط $R^2=0.9992$

- يتبين لنا أنّ الطريقة تتمتع بالخطية كون المعادلة الناتجة هي معادلة خط مستقيم وأيضاً لأننا حصلنا عند تمثيل العلاقة بين التركيز والامتصاصيات على رسم خط مستقيم ، كما أنه يوجد ارتباط طردي وقوي بين التركيز والاستجابة كون قيمة R^2 قريبة جداً من الواحد (تظهر المعادلة الناتجة وقيمة R^2 موضحة في الشكل رقم 1)

- تجاوز الاختبارين السابقين يؤكد أن الطريقة المقترحة خطية فيالمجال $[5-15]\mu\text{g/ml}$ ، ويدل ميل معادلة المستقيم الناتج (0.0625) على حساسية الطريقة المقترحة .



الشكل رقم (1) يوضح نتائج دراسة خطية الطريقة التحليلية على مجال التراكيز المدروس وقيمة R^2

4-5-3 نتيجة دراسة المجال (مجال التراكيز المحدد في الطريقة):

بنتيجة دراسة امتصاصية التركيز الأدنى من المجال بست مكررات كان متوسط القياسات بانحراف معياري 0.351186 بانحراف معياري 0.000669 وانحراف معياري نسبي %0.190453 لم يتجاوز %2، كما كانت نتيجة دراسة امتصاصية التركيز الأعلى من المجال المدروس بمتوسط قياسات 0.980865 بانحراف معياري 0.002136 وانحراف معياري نسبي %0.217742 لم يتجاوز %2 محققاً الشروط المطلوبة للقبول ومتوافقاً مع نتائج الدراسة المرجعية [14].

4-5-4 نتيجة دراسة تكرارية النظام :

- بنتيجة الاختبار وجدنا :

- متوسط قيم الامتصاصيات Average= 0.649038 والانحراف المعياري SD =0.000565 والانحراف المعياري النسبي RSD%=0.087088% وذلك للقياسات الخاصة بالمحلول ذي التركيز الهدف (ست مكررات) وبما أنّ الانحراف

المعياري النسبي لم يتجاوز 2% فهذا يدل على أن النظام التحليلي يتمتع بتكرارية مقبولة للنتائج عند تطبيق هذه الطريقة.

4-5-5 نتيجة دراسة تكرارية الطريقة - مادة عيارية :

- بنتيجة الاختبار وجدنا :

- متوسط الامتصاصيات $Average=0.648531$ بانحراف معياري $SD=0.000265$ وانحراف معياري نسبي $RSD\%=0.040858\%$ وذلك للقياسات الخاصة بست محاليل محضرة بالتركيز الهدف في نفس اليوم وبأوقات متقاربة وضمن نفس الشروط .

- نلاحظ بأن الانحراف المعياري النسبي لم يتجاوز 2% القيمة الموصى بها [24-28] ، أي إن هذه الطريقة تعطي نتائج متقاربة عند تطبيقها على المادة العيارية من قبل المحلل ذاته وبفواصل زمنية قصيرة وتتمتع بالتكرارية وتتفق مع النتائج التي توصل إليها الباحث (SHAHNAZ M.et al) عند تطوير طريقة تحليلية لمقايسة الكيتوروفين باستخدام المينانول عند طول موجة 256nm ، كما تتفق مع نتائج دراسة تكرارية الطريقة التي قام بتطويرها الباحث HASSAN A A. et al لمقايسة الكيتوروفين باستخدام $NaHCO_3(1M)$ عند طول الموجة [14,15] 260nm.

4-5-6 نتيجة دراسة الدقة الوسطى للطريقة - مادة عيارية :

- بنتيجة الاختبار وجدنا :

- المتوسط الحسابي $Average= 0.650547$ والانحراف المعياري $SD= 0.001229$ والانحراف المعياري النسبي $RSD\% = 0.188987\%$ وذلك للقياسات الخاصة بست محاليل محضرة بالتركيز الهدف في اليوم التالي لدراسة التكرارية ومن قبل محلل آخر .

- نلاحظ بأن قيمة الانحراف المعياري النسبي لم تتجاوز 2% (بتغيير المحلل-الجهاز) وهذا يتفق مع الشروط المطلوبة [24-28] ، ويتوافق مع نتائج دراسة الباحث 2020 SHAHNAZ M.et al و [14,15] HASSAN A A. et al 2019 ونستطيع القول بأن الطريقة الطيفية المطورة تتمتع بدقة وتكرار للنتائج حتى لو قمنا بإجراء تغيير (زمن ، محلل ، جهاز) أي يستطيع أي محلل آخر الحصول على نتائج مقارنة عند تطبيق نفس الشروط .

4-5-7 نتيجة دراسة مضبوتية الطريقة - مادة عيارية :

- بنتيجة الاختبار وجدنا :

- تم حساب المضبوتية على شكل استرداد نسبي $\text{Recovery}\% = 99.19908\%$ والانحراف المعياري $\text{SD} = 0.458329$ والانحراف المعياري النسبي لمساحات القمم وتبين أنه يساوي $\text{RSD}\% = 0.46203\%$.

- بما أن قيمة استرداد الطريقة التحليلية للمادة الفعالة 99.19908% فهي تقع ضمن المجال المطلوب $\% [98-102]$ وتحقق معيار القبول $[24-28]$ ، أي عند تطبيق هذه الطريقة على المادة العيارية فإنها ذات مضبوتية وتعطي قيم قريبة من القيمة الحقيقية ، كما تتوافق مع نتائج الاسترداد التي توصلت إليها الباحثة Mariana Ganea وزملاؤها بقيمة استرداد 99.25% عند استخدام الأستونتريل/2008/، والباحث Mohammad Shahnas وزملاؤه بقيمة استرداد 99.716% وذلك عند استخدام الميثانول/2020/،

4-5-8 نتيجة دراسة متانة الطريقة :

- نتيجة الاختبار :

- بنتيجة قياس امتصاصية المحلول ذو التركيز الهدف الموافق للتركيز 100% عند ثلاث أطوال موجية مختلفة كان متوسط القياسات Average على الترتيب 0.643806 ، 0.649139 ، 0.639490 ، بانحراف معياري على الترتيب 0.000239 ، 0.000567 ، 0.000346 ، بانحراف معياري نسبي $\text{RSD}\%$ على الترتيب 0.037064% ، 0.08738% ، 0.054091%

- بما أن متوسط قيم الانحراف المعياري 0.23246% لم يتجاوز 2% لجميع القياسات عند اختلاف الأطوال الموجية فهذا يدل على أن الطريقة التحليلية تتمتع بالمتانة إذ إنّ أغلب الدراسات المرجعية التي تحاول تطوير طريقة تحليلية للمقايسة تسعى لأن تحدث تغيير طفيف في أحد شروط الطريقة التحليلية مثل (درجة الحرارة ، درجة pH، طول الموجة ...) لتتأكد من مدى متانة الطريقة وعدم تأثرها بالتغيرات الطفيفة التي قد تطرأ عليها .وبما أننا قمنا بتطوير طريقة طيفية فقد استعنا بأحد الدراسات المرجعية التي اشتملت على تطوير طريقة تحليلية طيفية في مقايسة

الكيوبروفين في الميثانول في كيفية إجراء دراسة للمتانة وكان ذلك عن طريق قياس الامتصاصية عند أطوال موجية مختلفة مقارنة وحساب الانحراف المعياري للنتائج[14]وتبين لنا من خلال نتيجة الاختبار أن الطريقة الطيفية المطورة تتمتع بمتانة مقبولة .

4-5-9 نتيجة دراسة حساسية الطريقة التحليلية :

- بعد التأكد من خطية العلاقة بين تراكيز محاليل السلسلة العيارية والاستجابة (الامتصاصية) وإيجاد قيمة ميل الخط الناتج $Slope=0.0625$ ، تم باستخدام برنامج Excel2016 إيجاد قيمة $Standard Error Of Intercept=0.006913$ (Sdyx): الخطأ القياسي - وتم تعويض قيم $Slope$ و $Sdyx$ في العلاقات المحددة فكانت قيمة حد الكشف $LOD=0.3650064\mu g/ml$ ، وكانت قيمة حد الكم $LOQ=1.10608\mu g/ml$

4-5-10 نتيجة دراسة نوعية الطريقة :

- النتيجة :
- بنتيجة دراسة امتصاصية المحلول بالتركيز الهدف بثلاث مكررات بدون سواغات و ثلاث مكررات مع سواغات كان متوسط قيم القياسات $Average=0.637879$ بانحراف معياري 0.012052 وانحراف معياري نسبي $RSD\%=1.48972\%$.
- لاحظنا بأن انحراف قياسات امتصاصيات العينة مع وجود سواغات عن قياسات امتصاصيات العينة بدون وجود سواغاتلم يتجاوز 2% وهذا موافق لشرط القبول المحددة من قبل المؤتمر الدولي للمواءمة والشروط الدستورية[24-28]مما يدل على أن الطريقة تمتاز بالنوعية أي أنه عند تطبيق هذه الطريقة فلن يحدث تداخل بين امتصاصية المادة الفعالة والسواغات المستخدمة أي لن تؤثر السواغات المستخدمة في تحضير التحاميل المدروسة على القيم الحقيقية لنتائج الامتصاصيات عند إجراء اختبار المقايسة .

4-5-11 نتيجة دراسة تكرارية الطريقة التحليلية - مستحضر (تحاميل الكيتوبروفين بقواعد دسمة):

- تم قياس امتصاصية ست محاليل بالتركيز الهدف (نظرياً) محضرة ابتداءً من المستحضر الصيدلاني (في نفس اليوم وبأزمنة متقاربة) وحسبت كمية المادة الفعالة كنسبة مئوية من الشاهد وحسب متوسط هذه القياسات $Average=97.9351\%$ والانحراف المعياري $SD=0.038219$ والانحراف المعياري النسبي $RSD\%=0.039025\%$ أي لم يتجاوز القيمة الموصى بها ($>2\%$) [24-28] للمادة الفعالة في المستحضر الصيدلاني ، أي يمكن القول بأنّ هذه الطريقة دقيقة عند تطبيقها على المستحضر الصيدلاني .

4-5-12 نتيجة دراسة الدقة الوسطى للطريقة التحليلية - مستحضر :

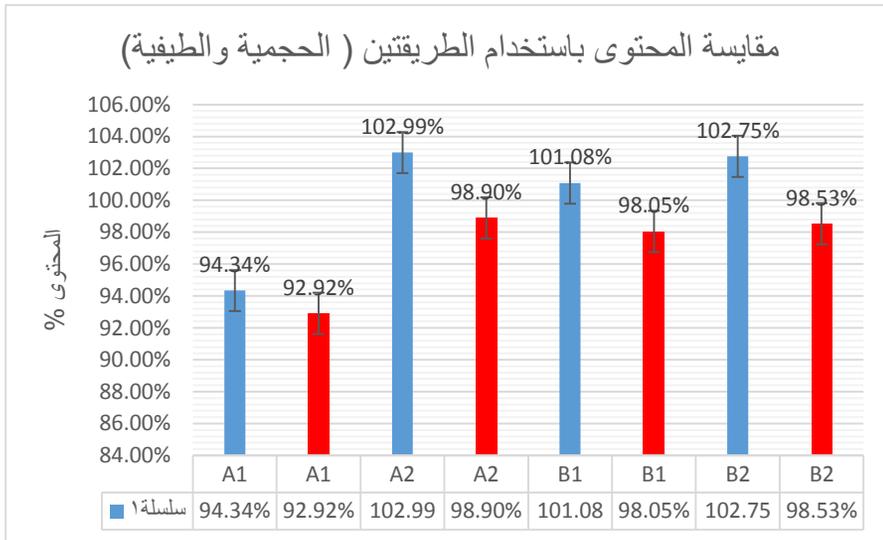
- تم قياس امتصاصية ست محاليل بالتركيز الهدف (نظرياً) محضرة ابتداءً من المستحضر الصيدلاني (في يوم آخر بعد دراسة تكرارية الطريقة على المستحضر الصيدلاني) وتم حساب كمية المادة الفعالة كنسبة مئوية من الشاهد وحساب متوسط هذه القياسات $Average =97.98782\%$ والانحراف المعياري $SD =0.041955$ والانحراف المعياري النسبي $RSD\%=0.042816\%$ ولم يتجاوز القيمة الموصى بها ($>2\%$) [24-28] للمادة الفعالة في المستحضر الصيدلاني.

4.5.13 نتيجة دراسة مضبوتية الطريقة التحليلية - مستحضر :

- تم في البداية تحضير بلاسيبو Placebo من السواغات الدخلة في صناعة تحاميل الكيتوبروفين من قبل الشركة المحلية A، ثم بعدها تمت إضافة Spike (كمية معلومة من المادة العيارية 100mg) لنحقق الوزن 1.9168g لنحضر ابتداءً منها تسعة محاليل على طول مجال التراكيز $(75-125)\%$ وتم قياس امتصاصيات المحاليل المحضرة عند طول الموجة المستخدم 255nm باستخدام نفس المحل (الإيتانول 96%) وفي المقابل أيضاً تم تحضير محلول شاهد موافق لكل تركيز محضر وتم قياس امتصاصية محلول الشاهد ثلاث مرات متكررة وحساب متوسط قيم امتصاصياته . كان متوسط نسبة الاستعادة 99.15714% وهذه النتيجة تتوافق مع

الشروط المطلوبة [24-28] بانحراف معياري $SD = 0.607302$ وانحراف معياري نسبي $RSD\% = 0.612464\%$.

4-6- نتائج تطبيق الطريقة التحليلية المطورة في مقايسة الكيتوبروفين في تحاميل الشركتين الدوائيتين A و B ومقارنتها مع نتائج طريقة تحليلية متبعة محلياً :



الشكل رقم 2) يوضح مقارنة بين نتائج الطريقتين التحليليتين (اللون الأزرق لنتائج الطريقة الحجمية واللون الأحمر لنتائج الطريقة الطيفية)

- نتيجة تطبيق الطريقتين التحليليتين في مقايسة تحاميل الكيتوبروفين: لاحظنا بأن قيمة متوسط المحتوى من الكيتوبروفين في التحاميل المدروسة عند تطبيق الطريقة التحليلية الحجمية للتحضيرات A_1, A_2, B_1, B_2 كانت على الترتيب كالتالي : $94.34\%, 102.99\%, 101.08\%, 102.75\%$ - بينما كانت قيمة متوسط المحتوى من الكيتوبروفين في التحاميل المدروسة عند تطبيق الطريقة التحليلية

الطيفية للتحضيرات A_1, A_2, B_1, B_2 على الترتيب كالتالي :
92.92%, 98.90%, 98.05%, 98.53%

- من خلال نتائج المقايسة التي توصلنا إليها عند تطبيق الطريقتين التحليليتين (الحجمية والطيفية) نلاحظ بأنّ نتائج مقايسة المحتوى متقاربة بين الطريقتين وهذا يدلنا على إمكانية استخدام أي من الطريقتين في المقايسة ، ولكن ماتمت ملاحظته أنّ القيم الناتجة مع الطريقة الطيفية كانت أقلّ بقليل من القيم الناتجة مع الطريقة الحجمية ومن المحتمل أن يعود السبب في القيم المرتفعة قليلاً مع الطريقة الحجمية إلى كون الطرائق الحجمية أقلّ دقة بشكل عام من الطرائق الطيفية كون الطريقة الحجمية تتأثر بمدى دقة الرؤية لدى المجرب وتحديدده لتغير اللون (انقلاب لون المشعر) والذي قد يكون بعد الوقت المطلوب ويؤدي إلى استهلاك كمية أكبر بقليل من المادة التي نعاير بها مما قد يؤثر على نتيجة المقايسة وقد يكون الاحتمال الآخر بأن الطريقة الطيفية تعطي نتائج أكثر دقة كونها تعتمد على قياس قيمة محددة للامتصاصية ومقارنتها مع امتصاصية محلول شاهد بنفس التركيز مقارنةً مع الطريقة الحجمية التي تتأثر بخبرة المحلل وملاحظته لتغير لون المشعر للاستدلال على نقطة نهاية المقايسة .

5-الاستنتاجات والتوصيات :Conclusions and Recommendations

-ملخص نتائج البحث والاستنتاجات :

تم في هذا البحث تقييم جودة تحاميل الكيتوبروفين المسوّقة محلياً بإجراء الاختبارات الحسية والفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية وتبين أنها تحقق معايير الجودة المطلوبة بنتيجة الاختبارات المجراة .

- تم تطوير طريقة تحليلية جديدة لمقايسة الكيتوبروفين بشكل تحاميل (في وسط من الإيثانول 96% وقياس الامتصاص عند طول الموجة 255nm بعد مراحل الصهر و التبريد والترشيح) وتم التحقق من مصدوقية هذه الطريقة وقد كانت تتمتع بالخطية

،الدقة، المضبوطية ، النوعية،المتانة، كما أنها طريقة تحليلية اقتصادية غير مكلفة إذ تتطلب استخدام مادة واحدة فقط في الاختبار (الإيتانول%96) و طريقة سهلة ، بسيطة وتساعد بالكشف الكيفي والكمي عن مادة الكيتوبروفين.

- تمت المقارنة بين الطريقتين التحليليتين (الحجمية المتبعة محلياً، والطيفية المطورة) وتبين بنتيجة المقارنة أنّ الطريقة الطيفية المطورة تتفوق على الطريقة الحجمية من ناحية الكشف ، إذ تساعد الطريقة الطيفية على الكشف الكيفي والكمي بينما لاتمكن الطريقة الحجمية المتبعة من الكشف الكيفي وإنما فقط الكمي - كما أنّ الطريقة الطيفية تتطلب مادة واحدة فقط في الاختبار وهذا يسهل إجراءات الاختبار(اختصار مراحل تحضيرمحلول المقياسيةوتعبئته ضمن السحاحة وإسدال المحلول المعايير به قطرة فقطرة حتى انقلاب لون المشعر) كما أن استخدام عدد مواد أقل يعتبر أفضل مقارنة مع استخدام العديد من المواد الكيميائية بالنسبة للبيئة ، بينما تتطلب الطريقة الحجمية ثلاث مواد كما أنّ الطريقة الطيفية تعتبر أفضل من ناحية الدقة كونها تعتمد على قياس قيمة محددة للامتصاصية ومقارنتها مع امتصاصية محلول شاهد بنفس التركيز مقارنةً مع الطريقة الحجمية التي تتأثر بخبرة المحلل وملاحظته لتغيّر لون المشعر للاستدلال على نقطة نهاية المقياسية. من ناحية أخرى إنّ نتيجة مقياسية الكيتوبروفين بكلا الطريقتين كانت متقاربة نوعاً ما وكانت أقل بقليل بنتيجة تطبيق الطريقة الطيفية .

- عند مقياسية الكيتوبروفين ضمن الشكل الصيدلاني (التحاميل) للمستحضرات المحلية المدروسة لوحظ أنّ كمية الكيتوبروفين قد وقعت ضمن المجال المقبول .

التوصيات :

- نوصي باستخدام الطريقة الطيفية المطوّرة في مقايسة الكيتوبروفين بشكل (مادة أولية ، تحاميل) في مخابر الرقابة الدوائية ومعامل الأدوية.
- نوصي بتخزين التحاميل ضمن شروط حفظ مناسبة كونها شكلاً صيدلانياً حساساً تجاه ظروف التخزين .
- نوصي بدراسة تحرر الكيتوبروفين من تحاميل القواعد الدسمة نظراً لأنّ أغلب الدراسات المرجعية تشير إلى مشاكل تحرر المواد الدوائية ضعيفة الانحلال في الماء من تحاميل القواعد الدسمة وتسعى لتحسين التحرر بعدة طرائق.
- نوصي بدراسة ثباتية تحاميل الكيتوبروفين ضمن شروط حفظ مختلفة وبتطوير طريقة كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء لمقايسة الكيتوبروفين بشكل تحاميل ودراسة نواتج التخرب الناتجة المرافقة للقيمة الأساسية وتحديد نوعها .

6-المراجع References:

1. British Pharmacopeia 2013.
2. European Pharmacopeia ,7th Edition 2011.
3. OKAI Tetty–Amlalo RN,(2005), In Vitro Release Of Ketoprofen From Proprietary and Extemporaneously Manufactured Gels,Rhodes university,A Thesis Of Master.
- 4 . Remington’s Pharmaceutical Sciences,(1990) ,Pensylvania,p1112.
- 5.WEDER JE.et al ,(2002), Copper Complex Of Non–Steroidal Anti–Inflammatory Drugs:An Opportunity Yet To Be Realized,Coordin Chem Rev 232:95–126.
- 6.HIROHATA M.et al,(2008) ,Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs Have Potent Anti–Fibrillogenic And Fibril–destabilizing Effects For A–Synuclein Fibrils In Vitro,Neuropharmacology,54:620–627
- 7.USTUNES L,(2011),RX–Media Pharma Interaktif Ilac Bilgi Kaynagi.
8. PICKLA KE.et al, (2007),Rapid Oline–SPE–MS/MS Method For Ketoprofen Determination In Dermal Interstitial Fluid Samples From Rats Obtained By Microdialysis Or Open–Flow Microperfsion, J Chromatogr B, 850(1):432–439.
- 9.ABD EL BARY A.et al, (1999),Soild State Stability Of Ketoprofen In Presence Of Different Excipients, Pharmazie, 54(3):202–206.

10. MEHANNA A , (2003), Nsaid:Chemistry And Parmacological Actions, Am J Pharm Educ, 67(2):article63.
11. MARIE L.et al, (2004), Bioequivalence Determination Of Topical Ketoprofen Using A Dermatopharmacokinetic Approach And Excised Skin Penetration, Int J Pharma, 284: 23–30.
12. ABDULHAMEED M.AZEEZ.et al, (2022), Determination Of Ketoprofen In Tablet Dosage Forms By Derivative IR Spectroscopy, EgyptianJournal Of Chemistry, 65:215–219.
13. KORMOSH Z.et al, (2009), Spectrophotometric Determination Of Ketoprofen And Its Application In Parmaceutical Analysis, Acta Polonae Pharmaceutica–Drug Research, 66: 3–9.
14. SHAHNAZ M.et al ,(2020), Analytical Method Development And Validation Of Ketoprofen Tablet By Uv Spectrophotometer, International Journal Of Parmaceutical Chemistry And Analysis, 7:39–50.
15. HASSAN A A. et al, (2019), Development And Validation Of UV–Visible Spectropotometric Method For Estimation Of Ketoprofen In Capsule And Dosage Forms, Indo American Journal Of Pharmaceutical Research, 8 (01).
16. BLANKO M.et al, (1997), UV–Spectrophotometric Determination Of Ketoprofen And Paraben In Gel Preparation By Partial Least–Squares Calibration, Frensenius’J Anal Che, 357: 967–972.

17. BLANKO M. et al, (1998), Chiral And Non Chiral Determination Of Ketoprofen In Pharmaceuticals By Capillary Zone Electrophoresis, J Chromatogr A, 799: 301–307.
18. WONG C. et al, (1992), High Performance Liquid Chromatographic Determination Of Ketoprofen In Pharmaceutical Dosage Forms And Plasma, J Liquid Chromatography, 15: 1215–1225.
19. TSVETKOVA B. et al, (2013), Hplc Determination Of Ketoprofen In Tablet Dosage Forms, Trakia Journal Of Sciences, 11: 55–59.
20. LOYD V, ALLEN J, (2008), Quality Control Of Suppositories. 1st Editio. Suppositories – UK: The Pharmaceutical Press ,139–158.
21. AL MARDENE MA, (2014), Quality control ,Damascus University, Syria, In Arabic, P: 207–215.
22. AL MARDENE MA, (2014), Quality control ,Damascus University, Syria, In Arabic, P: 670.
23. YOUSFAN A .et al, (2015), Preparation And Evaluation Of Levodropropizine, Journal Of Chemical And Pharmaceutical Research, 7: 274–282.
24. ICH, (1994), Text On Validation Of Analytical Procedures, Q2A. 25. ICH, (1996), Validation Of Analytical Procedures: Methodology, Q2B.

26.ICH,(2005),Validation Of Analytical Procedures Text And Methodology,Q2(R1).

27.United States Pharmacopeia,National Formulary 34 Rev ,Rockville,United States Pharmacopeial

Convention2011,1893.28.TAVERNIERS I.et al,(2004),Trends In Quality In The Analytical Laboratory.II.Analytical Method Validation And Quality Assurance,Trac Trends In Analytical Chemistry ,23(8):535–552.

تقييم دور غشاء الفبرين الغني بالصفائح في تخفيف الألم وتحسين الشفاء السريري في الجراحة حول السنية

معزز القرشي^{1*}، سليمان ديوب²

المستخلص باللغة العربية

المقدمة

يعتبر الفبرين الغني بالصفائح من مشتقات البلازما الهامة والتي تستخدم في الجراحات التجديدية حول السنية.

الهدف من البحث

تهدف هذه الدراسة لتقييم تقييم مشعرات الألم بعد العمل الجراحي والشفاء السريري لدى مقارنة الفبرين الغني بالصفائح مع الطعم الخلوي الضام في معالجة الانحسارات اللثوية وتعديل نمط اللثة الحيوي.

المواد والطرائق

ضمت عينة البحث 40 مريض يعانون من انحسارات لثوية (20 مريض) ونمط لثوي رقيق (20 مريض). تم توزيع المرضى عشوائياً، وتم إجراء العمليات الجراحية ومقارنة الفبرين الغني بالصفائح والطعم الخلوي الضام مع الشريحة المزاحة تاجياً في مجموعة الانحسار اللثوي ومع شريحة التنفيق في مجموعة تعديل نمط اللثة الحيوي. تم تقييم مشعر الألم والشفاء السريري بعد العمل الجراحي. أجريت الاختبارات الإحصائية عند مستوى دلالة 0.05.

النتائج

أظهرت النتائج أن 45% من المرضى شعروا بالمتوسط بعد العمل الجراحي في مجموعة الطعم الخلوي الضام مقابل 30% في مجموعة الفبرين الغني بالصفائح بعد أسبوع من الجراحة، وبعد أسبوعين لوحظ وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين الطعمين.

تقييم دور غشاء الفيرين الغني بالصفائح في تخفيف الألم وتحسين الشفاء السريري في
الجراحة حول السنينة

بالنسبة لمشعر الشفاء السريري فقد كانت درجة الشفاء جيد بنسبة 55% في مجموعة
الفيرين الغني بالصفائح مقابل 20% في مجموعة الطعم الضام بعد أسبوع من
الجراحة.

الاستنتاجات

ضمن حدود هذه الدراسة فإن استخدام الفيرين الغني بالصفائح يقلل من الألم بعد العمل
الجراحي ويزيد من درجة الشفاء السريري وخاصة خلال الأسبوع الأول من الجراحة مقارنة
مع الطعم الخلوي الضام.

كلمات مفتاحية: الفيرين الغني بالصفائح، الطعم الخلوي الضام، مشعر الشفاء، مشعر
الألم.

1. طالب دكتوراه في قسم علم النسيج حول السنينة - كلية طب الأسنان - جامعة

دمشق.

2. أستاذ دكتور في قسم علم النسيج حول السنينة-كلية طب الأسنان - جامعة دمشق

Email: mutazalqrashi@yahoo.com

Email: suleimandayoub@gmail.com

العنوان: دمشق - المزه

رقم الهاتف: 0945927791 / 0933248916 / 0116810025

Assessment the role of Platelet rich Fibrin in reducing the pain and improving the clinical healing in periodontal surgery

Moutaz Alqurashi^{1*}, Suleiman Dayoub²

Abstract

Introduction: Platelet-rich fibrin (PRF) is an important plasma derivative that is used in periodontal regenerative surgery.

Aim: The aim of this study was to evaluate postoperative pain index and clinical healing when comparing PRF with a connective tissue graft (CTG) in the treatment of gingival recessions and gingival biotype modification.

Material and methods: The research sample included 40 patients with gingival recession (20 patients) and thin gingival pattern (20 patients). Patients were randomly assigned, and surgical procedures were performed, and PRF and CTG were compared with the coronal advanced flap in the gingival recession group and with the tunnel flap in the gingival biotype modification group. Postoperative pain index and clinical healing were evaluated. Statistical tests were performed at a significance level of 0.05.

Results: The results showed that 45% of patients felt moderate pain after surgery in the CTG group compared to 30% in the PRF group one week after surgery, and after two weeks there were statistically significant differences between the two grafts. As for the clinical healing, the degree of healing was good by 55% in the PRF group compared to 20% in the CTG one week after surgery.

Conclusion: Within the limits of this study, the use of platelet-rich fibrin reduces postoperative pain and increases the degree of clinical healing, especially during the first week of surgery, compared with a connective tissue graft.

Key words: platelet-rich fibrin, connective tissue graft, healing index, pain index.

مقدمة

يعد تطوير المضافات الجراحية النشطة بيولوجيًا أحد التحديات الكبرى للبحوث السريرية التي تم استخدامها لتنظيم الالتهاب وزيادة سرعة عملية الشفاء [1]. في عام 1974، تم تقديم تقنية استخدام البلازما الغنية بالصفائح في عمليات التجديد النسيجي، وكان روس وآخرون، [2] أول من وصف عوامل النمو من الصفائح الدموية. بعد تنشيط الصفائح الدموية المحتجزة داخل مصفوفة الفيرين، يتم إطلاق عوامل النمو وتحفيز الانقسام الخلوي في سمحاق العظم أثناء التئام الجروح الطبيعي لإصلاح العظام [3]. استخدمت البلازما الغنية بعوامل النمو في تجديد الأنسجة في الجراحة التجميلية حول السنّية [4-6] حيث أثبتت الدراسات أن عوامل النمو في البلازما تحفّز على اصلاح وتجديد النسيج الرخوة والصلبة، كما انها تنقص من الالتهاب والألم اللاحق بعد الجراحة [7، 8].

يعتبر الفيرين الغني بالصفائح مادة سريعة التحضير، متوفرة ومفيدة وذات تكلفة قليلة، ويعد Choukroun وزملائه أول من استخدم بروتوكول الـ الفيرين الغني بالصفائح في سياق جراحة الوجه والفكين لتحسين شفاء العظم بعد الزرع السني [9، 10].

يختلف الفيرين الغني بالصفائح عن غيرها من عوامل النمو بعدة عوامل يمكن تلخيصها كالتالي سهولة تحضيرها وتنفيذها، وقت تحضيرها وكلفتها القليلة [9]، وبسبب تركيبها الليفي يحتفظ الفيرين الغني بالصفائح بعدد كبير من السيتوكينات وعوامل النمو في الشبكة الليفية ثلاثية الأبعاد الداعمة لهجره الخلايا، كما أن الفيرين الغني بالصفائح يذوب ببطء في النسيج مقارنة مع البلازما الغنية بالصفائح ويشكل مادة فيرينية صلبة يعاد تشكيلها ببطء في نمط الخثرة الطبيعية [11]. تبقى الصفائح والسيتوكينات فعالة وتحرر مع الوقت حيث تسمح شبكة الفيرين بتحرر مستمر ببطء لعوامل النمو والسيتوكينات خلال فتره تزيد عن ١٠ ايام مقارنةً مع البلازما الغنية بالصفائح التي تحرر عوامل النمو خلال اليوم الأول [11]

يستخدم الفيرين الغني بالصفائح بعد قلع الاسنان حيث اظهرت دراسة hauser أن الفيرين الغني بالصفائح يُنقص من التغيرات في أبعاد العظم السنخي عند المقارنة مع الشفاء الطبيعي [12] أجرى Ustaoglu وزملائه دراسة لتقييم تأثير غشاء الفيرين الغني بالصفائح المحضر بالتيتانيوم على شفاء الجروح في قبة الحنك وتقييم التغيرات في

ثخانة نسيج قبة الحنك نسيجياً حيث تمت المقارنة مع مجموعة شاهدة لم يطبق فيها طعم. أظهرت النتائج أن التماذج اللوني كان أفضل في مجموعة الفبرين الغني بالصفائح بعد 7 و 14 يوم من الجراحة. بالنسبة لشفاء الجروح والتبرعم البشري فكان أيضاً أعلى بكثير في مجموعة التجربة بعد 14 يوم من الجراحة. بالنسبة لثخانة النسيج الحنكي نسيجياً فقد تبين عدم وجود فروق إحصائية بين المجموعتين بعد 6 أشهر من العلاج [13]. كما أثبت Ibraheem في دراسته أن استخدام الفبرين الغني بالصفائح يعزز من شفاء الطعم اللثوي الحر وزيادة كمية النسيج المتقرن [14].

كما يستخدم الفبرين الغني بالصفائح بالمشاركة مع الطعوم العظمية في عمليات رفع الجيب الفكّي حيث يعزّز من الشفاء العظمي والكسب في العظم [15، 16]. أجرى (Jankovic et al. 2010) دراسة سريرية لمقارنة الفبرين الغني بالصفائح والشريحة المزاحة تاجياً مع مشتق القلب المينائي والشريحة المزاحة تاجياً لدى 20 حالة انحسار لثوي مع متابعة 12 أشهر. أظهرت النتائج أن الشفاء في مجموعة الفبرين الغني بالصفائح بعد الأسبوع الأول من الجراحة تفوق على مجموعة مشتق القلب المينائي أما بعد أسبوعين من الجراحة فكانت النتائج متساوية. بالنسبة لمشعر الألم فقد تبين أن المرضى في مجموعة الفبرين الغني بالصفائح أظهروا ألم أقل مقارنة مع مرضى المجموعة الثانية [17]. وأجريت دراسة في صربيا في اختبار فعالية الفبرين الغني بالصفائح مع الشريحة المزاحة تاجياً بالمقارنة مع الطعم الخلوي الضام والشريحة المزاحة تاجياً في معالجة الانحسارات اللثوية لدى 19 مريض مع متابعة 12 شهراً، وتبين بالنتائج الإحصائية أن الشفاء كان أفضل في مجموعة الفبرين الغني بالصفائح في الأسبوع الأول والثاني من الجراحة [18].

الهدف من البحث

يهدف هذا البحث الى تقييم مشعرات الألم بعد العمل الجراحي والشفاء السريري لدى مقارنة الفبرين الغني بالصفائح مع الطعم الخلوي الضام في معالجة الانحسارات اللثوية وتعديل نمط اللثة الحيوي.

المواد والطرائق

ضمت هذه الدراسة 40 مريض (18 ذكر و22 إناث) من المرضى المراجعين لقسم علم
النسج حول السنينة في جامعة دمشق في الفترة الممتدة بين شهر كانون الأول 2017
وشهر كانون الأول للعام 2018 وتم توزيعهم كالتالي:

- 20 مريضاً، تراوحت أعمارهم بين 20 - 45 سنة، يعانون من انحسارات لثوية
موضّعة بشكل متناظر ضمن الفك الواحد أو بشكل متقابل في الفكين
- 20 مريضاً، بأعمار تتراوح بين 18 - 35 سنة، لديهم نمط لثوي رقيق بثخانة
لثوية أقل من 1 ملم بشكل متناظر في الفك السفلي.

أُخذت موافقة مجلس البحث العلمي في جامعة دمشق /827/ص م تاريخ 2017/3/8
تم توزيع عينة البحث ضمن مجموعة الانحسار اللثوي، ومجموعة تعديل نمط اللثة
الحيوي بطريقة عشوائية منتظمة، بحيث أصبح لدينا 4 مجموعات:

❖ مجموعة التجربة 1: ضمت 20 انحساراً لثوياً، طبق فيها غشاء الفيرين الغني
بالصفائح مع الشريحة المزاحة تاجياً.

❖ المجموعة الشاهدة 1: ضمت 20 انحساراً لثوياً، طبق فيها الطعم الخلوي الضام
مع الشريحة المزاحة تاجياً.

في مجموعة تعديل نمط اللثة الحيوي تم توزيع المجموعات كالتالي:

❖ مجموعة التجربة 2: ضمت 20 موقعاً، وطبق فيها غشاء الفيرين الغني
بالصفائح مع شريحة النفق.

❖ المجموعة الشاهدة 2: ضمت 20 موقعاً، وطبق فيها الطعم الخلوي الضام مع
شريحة النفق.

تم إجراء العمليات الجراحية للمرضى بعد موافقتهم الخطية و تم تقييم مشعر الألم لدى
المرضى في مجموعة الانحسار اللثوي كالتالي:

تم تسجيل معيار الألم ضمن مجموعة الانحسار اللثوي اعتماداً على تدرج من 0 الى 10
حيث تم سؤال المرضى بعد الأسبوع الأول والثاني وبعد شهر من الجراحة عن درجة الألم
من خلال الإشارة إلى شعور المريض بالنظر الى الشكل (1).

رُتبت درجات مشعر الألم على الشكل التالي:

درجة (0): لا يوجد ألم، درجة (2): ألم بسيط، درجة (4): ألم متوسط، درجة (6): ألم يفوق المتوسط، درجة (8) ألم شديد، درجة (10): ألم لا يحتمل.

Wong-Baker FACES™ Pain Rating Scale



الشكل (1): مقياس الألم (Wong-Baker faces)

بالنسبة لمشعر الشفاء السريري فتمت دراسته في مجموعة نمط اللثة الحيوي كالتالي: تم تقييم مشعر شفاء الجروح في مجموعة تعديل نمط اللثة الحيوي في كلا الموقعين بعد أسبوع وأسبوعين من العمل الجراحي اعتماداً على مقياس Landrey الذي قدم 5 درجات شفاء [19] كالتالي:

☒ **درجة (1) شفاء ضعيف جداً:** لثة حمراء (أكثر من 50% من اللثة)، نازفة، وجود نسيج حبيبي، عدم تشكل البشرة على حواف الشق مع ضياع التبرعم البشري على جانبيه، وجود تقيح.

☒ **درجة (2) شفاء ضعيف:** لثة حمراء (أقل من 50% من اللثة)، نازفة، وجود نسيج حبيبي، عدم تشكل البشرة على حواف الشق مع انكشاف النسيج الضام.

☒ **درجة (3) شفاء جيد:** لثة حمراء (بين 25% و 50% من المواقع)، غير نازفة، عدم وجود نسيج حبيبي، لا يوجد انكشاف بالنسيج الضام.

☒ **درجة (4) شفاء جيد جداً:** أقل من 25% من اللثة حمراء، لا يوجد نزف أو نسيج حبيبي أو انكشاف بالنسيج الضام.

☒ **درجة (5) شفاء ممتاز:** لثة وردية اللون مع عدم وجود نزف أو نسيج حبيبي أو انكشاف بالنسيج الضام.

تم جمع البيانات ومعالجتها إحصائياً باستخدام برنامج (SPSS v 16) وتم وصف البيانات إحصائياً. للمقارنة بين المشعرات السريرية ضمن المجموعات التجريبية والشاهدة تم

تقييم دور غشاء الفيرين الغني بالصفائح في تخفيف الألم وتحسين الشفاء السريري في الجراحة حول السنوية

إجراء اختبار Mann Whitney للعينات. أُجريت الاختبارات الإحصائية عند مستوى ($p < 0.05$) ومعدل ثقة 95%.

النتائج:

شملت عينة البحث 80 موقع جراحي لدى 40 مريض. تم تقييم مشعر الألم في مجموعة الانحسار اللثوي باستخدام مقياس (Wong-Baker faces) بعد أسبوع، أسبوعين وشهر من الجراحة، ولدى دراسة الفروق بين الطعمين تبين وجود فروق ذات دلالة إحصائية في مشعر الألم بعد أسبوعين من العمل الجراحي. يوضح الجدول رقم (1) نتائج مشعر الألم في مجموعة الانحسار اللثوي.

جدول 1: نتائج الاستقصاء عن درجة الألم في عينة دراسة الانحسار اللثوي وفقاً لنوع الطعم المستخدم والفترة الزمنية المدروسة.

قيمة p	% النسبة المئوية		درجة الألم	الفترة الزمنية
	طعم ضام	الفيرين الغني بالصفائح		
0.20	0	0	لا يوجد ألم	بعد أسبوع واحد
	35	60	ألم بسيط	
	45	30	ألم متوسط	
	10	10	الم يفوق المتوسط	
	5	0	ألم شديد	
	0	0	ألم لا يحتمل	
0.001	25.0	100	لا يوجد ألم	بعد أسبوعين اثنين
	75.0	0	ألم بسيط	
	0	0	ألم متوسط	
	0	0	الم يفوق المتوسط	
	0	0	ألم شديد	
	0	0	ألم لا يحتمل	
1.00	100	100	لا يوجد ألم	بعد شهر واحد
	0	0	ألم بسيط	
	0	0	ألم متوسط	
	0	0	الم يفوق المتوسط	
	0	0	ألم شديد	
	0	0	ألم لا يحتمل	

بالنسبة لمشعر الشفاء فتمت دراسته في مجموعة تعديل نمط اللثة الحيوي، ويوضح الجدول رقم 2 نتائج مشعر الشفاء وفقاً لنوع الطعم المستخدم في عينة تعديل نمط اللثة الحيوي. ولدى المقارنة بين الطعمين تبين وجود فروق ذات دلالة إحصائية بين الطعمين في مشعر الشفاء بعد أسبوع واحد.

جدول 2: نتائج الاستقصاء عن درجات مشعر الشفاء السريري في عينة دراسة تعديل نمط اللثة الحيوي وفقاً لنوع الطعم المستخدم والفترة الزمنية المدروسة.

قيمة P	النسبة المئوية		درجة الشفاء	الفترة الزمنية
	طعم ضام	الفيرين الغني بالصفائح		
0.04	5	0	(1) شفاء ضعيف جداً	بعد أسبوع واحد
	75	45	(2) شفاء ضعيف	
	20	55	(3) شفاء جيد	
	0	0	(4) شفاء جيد جداً	
	0	0	(5) شفاء ممتاز	
0.10	0	0	(1) شفاء ضعيف جداً	بعد أسبوعين اثنين
	0	0	(2) شفاء ضعيف	
	50	25	(3) شفاء جيد	
	50	65	(4) شفاء جيد جداً	
	0	10	(5) شفاء ممتاز	

المناقشة

اختبر الباحثون مواد عديدة تساهم في تحفيز التجدد النسيجي وتحسين المشعرات السريرية وشفاء الجروح وأهمها حالياً والذي يستخدم مؤخراً في جراحات النسج الرخوة: مشتقات البلازما الغنية بعوامل النمو والتي تحفز من إصلاح وتجديد النسج الرخوة والصلبة، وتقلل من الألم والانزعاج المرافقين ومن هذه المشتقات الفيرين الغني بالصفائح والذي بفضل خصائص شبكته الطبيعية، تستطيع عوامل النمو المحافظة على نشاطها لفترة أطول وتحفز بفعالية هجرة الخلايا، شفاء الجروح وتجدد النسج الرخوة. تُعزى التأثيرات الإيجابية

للفيرين الغني بالصفائح الدموية إلى عوامل النمو المختلفة (وخاصة عامل النمو المشتق من الصفائح الدموية، عامل النمو البطاني الوعائي، عامل النمو المتحول) بالإضافة إلى السيبتوكينات، البروتينات السكرية الهيكلية وخاصة القلب الكثيف للفيرين، والذي يعزز من استقرار الجروح، تكوين الأوعية الدموية ويزيد من تركيب المادة خارج الخلوية [5، 9].

لفهم الآلية الحيوية لعمل الفيرين لابد من توضيح المراحل الاساسية لعملية الشفاء النسيجي التي يشارك فيها الفيرين. تمر عملية الشفاء بأربعة اطوار وتشمل:

❖ تولد الاوعية الدموية Angiogenesis

❖ السيطرة المناعية Immune Control

❖ استقدام الخلايا

❖ تشكل الغطاء البشري

1. تولد الاوعية الدموية:

يتضمن تولد الاوعية الدموية تشكل أوعية دموية جديدة ضمن الجرح وتتطلب هذه العملية قالب خارج خلوي للسماح بهجرة الخلايا البائية وانقسامها وحدوث التغيرات الشكلية، ولقد ثبت أن القالب الفبريني يلعب دوراً في ذلك ويعود ذلك الى البنية ثلاثية الابعاد التي يتميز بها والى تأثير السيبتوكينات المتواجدة في المنطقة، كما أن الخصائص البنيوية والميكانيكية للقالب الفبريني تعتبر عاملاً هاماً في التأثير على تشكل الاوعية الدموية نتيجة لاستجابة الخلايا البطانية لتحريض عوامل النمو [20].

2. دعم الفيرين لآلية الدفاع الطبيعية أثناء عملية الشفاء:

إن منتجات تفكك الفيرين والفبرينوجين تحرض هجرة العدلات وزيادة حساسية المستقبلات للغشاء الخلوي حيث تسمح هذه المستقبلات بالتصاق العدلات الى البطانة. تتأثر عملية البلعمة التي تقوم بها العدلات بمنتجات تفكك الفيرين والفبرينوجين، كما إن استعمار الجرح من قبل البالعات الكبيرة macrophages يتم ضبطها بواسطة الخصائص الفيزيائية والكيميائية للفيرين [21].

3. احتجاز الخلايا الجذعية

خلال عملية الشفاء تحتجز خثرة الفبرين الخلايا الجذعية المتواجدة في مكان الأصلية والمهاجرة إليها من أجل بدء عملية الشفاء ويعتبر قالب الفبرين كشبكة تجمع هذه الخلايا وهذا يساعد على تسريع تولد الاوعية الدموية [22].

4. تغطية الجرح

يوجه القالب الليفي تغطية النسيج المصاب وذلك من خلال تأثيره على استقطاب الخلايا الظهارية والخلايا المصورة للليف. حيث تفقد الخلايا الظهارية عند حواف الجرح قطبيتها القاعدية والذروية وتنتج امتدادات قاعدية وجانبية باتجاه حواف الجرح [23].

تم في دراستنا تقييم مشعر الألم لدى المرضى من خلال سؤال المرضى عن درجة الألم من 0 الى 10 والتي تعكس راحة المريض، الحس بالحرق والوخز، وعدم الراحة في الموقع المستقبلي، بعد أسبوع وأسبوعين وشهر من الجراحة، حيث تبين أن الألم كان أقل في مجموعة الفبرين الغني بالصفائح بعد أسبوع وأسبوعين من الجراحة وهذا يدل على أن الفبرين الغني بالصفائح يقلل من الألم والالتهاب اللاحقين بعد العمل الجراحي. وتتفق هذه النتائج مع نتائج دراسات (Jankovic et al. 2010, Öncü et al. 2017)

التي أظهرت أن الألم أخف في مجموعة الفبرين الغني بالصفائح [17، 24] كما تم تقييم الشفاء السريري في مواقع العمل الجراحي في الأسبوعين الأول والثاني من الجراحة حيث تم تسجيل درجات الشفاء اعتماداً على درجة الاحمرار، وجود نسيج حبيبي، نزف، تقيح وتشكل البشرة بتدرج من 1 الى 5 حيث درجة 1 شفاء ضعيف، ودرجة 5 شفاء ممتاز.

أظهرت نتائج دراستنا أن الشفاء السريري كان أفضل في الأسبوع الأول في مجموعة الفبرين الغني بالصفائح مقارنة مع الطعم الخلوي الضام حيث تم ملاحظة فروق إحصائية بين المجموعتين ($P < 0.05$) بينما بعد أسبوعين من العمل الجراحي لم تلاحظ أية فروق بين المجموعتين حيث كان الشفاء جيداً في أغلب الحالات السريرية.

يمكن تفسير الشفاء في مجموعة الفبرين الغني بالصفائح الى الكثافة العالية لألياف الفبرين والتي تؤمن زيادة الاستقرار للجرح وتعزز من تشكل الاوعية الدموية السريع وهذا التحسن يمكن أيضاً تفسيره بالعمل المشترك لعوامل النمو الموجودة في قالب الفبرين الغني

بالصفائح (عامل النمو المشتق من الصفائح الدموية، عامل النمو البطاني الوعائي، عامل النمو المتحول) حيث تعزز هذه العوامل من شفاء الأنسجة الرخوة وذلك بزيادة عملية التشكل الوعائي وزيادة التركيب الخلوي للمادة خارج الخلوية خلال فترة الشفاء [25]. اتفقت نتائج دراستنا مع نتائج (Jankovic et al. 2010, Aleksić et al.) (2010, Uzun et al. 2018) والتي سجلت شفاء أفضل في الأسبوعين الأول والثاني من الجراحة في مجموعة الفيرين الغني بالصفائح [17، 18، 26]

الخاتمة

ضمن حدود وإمكانيات هذه الدراسة أن الفيرين الغني بالصفائح يمكن أن يخدم كبديل عن الطعم الخلوي الضام في الجراحة حول السنية حيث يساهم في تخفيف الألم بعد العمل الجراحي كما يزيد من درجة الشفاء السريري وخاصة خلال الأسبوع الأول من الجراحة.

المراجع References

1. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;101:e37–44.
2. Ross R, Glomset J, Kariya B, Harker L. A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1974;71:1207–10.
3. Gassling V, Douglas T, Warnke PH, Açil Y, Wiltfang J, Becker ST. Platelet-rich fibrin membranes as scaffolds for periosteal tissue engineering. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21:543–9.
4. Petrungaro PS. Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery. *Compend Contin Educ Dent.* 2001 Sep;22(9):729-32, 734, 736 passim; quiz 746. PMID: 11692397.
5. Huang LH, Neiva RE, Soehren SE, Giannobile WV, Wang HL. The effect of platelet-rich plasma on the coronally advanced flap root coverage procedure: a pilot human trial. *J Periodontol.* 2005 Oct;76(10):1768-77. doi: 10.1902/jop.2005.76.10.1768. PMID: 16253100.
6. Aroca S, Keglevich T, Barbieri B, Gera I, Etienne D. Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a 6-month study. *J Periodontol.* 2009 Feb;80(2):244-52. doi: 10.1902/jop.2009.080253. PMID: 19186964.
7. Gruber R, Varga F, Fischer MB, Watzek G. Platelets stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes. *Clin Oral Implants Res.* 2002 Oct;13(5):529-35. doi: 10.1034/j.1600-0501.2002.130513.x. PMID: 12453131.

8. Alissa R, Esposito M, Horner K, Oliver R. The influence of platelet-rich plasma on the healing of extraction sockets: an explorative randomised clinical trial. *Eur J Oral Implantol*. 2010 Summer;3(2):121-34. PMID: 20623037.
9. Choukroun, J., et al., Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006. **101**(3): p. e56-60.
10. Choukroun J ،A.F., Schoeffler C, Vervelle A., Une opportunité en paro-implantologie. Le PRF. *Implantodontie*, 2001(42): p. 55-62.
11. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, Miron RJ. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Investig*. 2016 Dec;20(9):2353-2360. doi: 10.1007/s00784-016-1719-1. Epub 2016 Jan 25. PMID: 26809431.
12. Hauser F, Gaydarov N, Badoud I, Vazquez L, Bernard JP, Ammann P. Clinical and histological evaluation of postextraction platelet-rich fibrin socket filling: a prospective randomized controlled study. *Implant Dent*. 2013 Jun;22(3):295-303. doi: 10.1097/ID.0b013e3182906eb3. PMID: 23644909.
13. Ustaoğlu G, Ercan E, Tunali M. The role of titanium-prepared platelet-rich fibrin in palatal mucosal wound healing and histoconduction. *Acta Odontol Scand*. 2016 Oct;74(7):558-564. doi: 10.1080/00016357.2016.1219045. Epub 2016 Aug 19. PMID: 27538770.
14. Ibraheem W. Effect of Platelet-rich Fibrin and Free Gingival Graft in the Treatment of Soft Tissue Defect preceding Implant Placement. *J Contemp Dent Pract*. 2018 Jul 1;19(7):895-899. PMID: 30066697.
15. Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I. Evaluation of sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using

platelet-rich fibrin as sole grafting material. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013 Jan-Feb;28(1):77-83. doi: 10.11607/jomi.2613. PMID: 23377050.

16. Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Dohan Ehrenfest DM. Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months. *J Periodontol*. 2009 Dec;80(12):2056-64. doi: 10.1902/jop.2009.090252. PMID: 19961389.

17. Jankovic S, Aleksic Z, Milinkovic I, Dimitrijevic B. The coronally advanced flap in combination with platelet-rich fibrin (PRF) and enamel matrix derivative in the treatment of gingival recession: a comparative study. *Eur J Esthet Dent*. 2010 Autumn;5(3):260-73. PMID: 20820456.

18. Aleksić Z, Janković S, Dimitrijević B, Divnić-Resnik T, Milinković I, Leković V. [The use of platelet-rich fibrin membrane in gingival recession treatment]. *Srp Arh Celok Lek*. 2010 Jan-Feb;138(1-2):11-8. Serbian. doi: 10.2298/sarh1002011a. PMID: 20422907.

19. Landry RG, Turnbull RS, Howley T. Effectiveness of benzydamine HCl in the treatment of periodontal post-surgical patients. *ResClin Forums* 1988;10:105-18.

20. Nehls, V. and R. Herrmann, The configuration of fibrin clots determines capillary morphogenesis and endothelial cell migration. *Microvasc Res*, 1996. **51**(3): p. 347-64.

21. Loike, J.D., et al., CD11c/CD18 on neutrophils recognizes a domain at the N terminus of the A alpha chain of fibrinogen. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991. **88**(3): p. 1044-8.

22. Bucala, R., et al., Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. *Mol Med*, 1994. **1**(1): p. 71-81.

23. Gray, A.J., et al., A alpha and B beta chains of fibrinogen stimulate proliferation of human fibroblasts. *J Cell Sci*, 1993. **104** (Pt 2): p. 409-13 .
24. Öncü E. The Use of Platelet-Rich Fibrin Versus Subepithelial Connective Tissue Graft in Treatment of Multiple Gingival Recessions: A Randomized Clinical Trial. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2017 Mar/Apr;37(2):265-271. doi: 10.11607/prd.2741. PMID: 28196169.
25. Weng D, Hürzeler MB, Quiñones CR, Pechstädt B, Mota L, Caffesse RG. Healing patterns in recession defects treated with ePTFE membranes and with free connective tissue grafts. A histologic and histometric study in the beagle dog. *J Clin Periodontol*. 1998 Mar;25(3):238-45. doi: 10.1111/j.1600-051x.1998.tb02434.x. PMID: 9580329.
26. Uzun BC, Ercan E, Tunalı M. Effectiveness and predictability of titanium-prepared platelet-rich fibrin for the management of multiple gingival recessions. *Clin Oral Investig*. 2018 Apr;22(3):1345-1354. doi: 10.1007/s00784-017-2211-2. Epub 2017 Oct 8. PMID: 28990126.