

Sianipar, et al, Optimasi Konsentrasi Span 80 dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Microspheres.....

Optimasi Konsentrasi Span 80 dan Lama Pengadukan dalam Preparasi *Microspheres* Metformin Hidroklorida-kitosan (Optimization of Span 80 Concentration and Stiring Time on The Preparation of Metformin Hydrochloride-Chitosan Microspheres)

Christyn Novyta S, Lusia Oktora Ruma Kumala Sari, Eka Deddy Irawan
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail korespondensi: oktora@unej.ac.id

Abstract

Metformin hydrochloride (MH) has been used as first line for type 2 diabetes mellitus treatment. However, it has relatively low bioavailability, short half-life and could cause gastrointestinal side effects, therefore it is appropriately prepared as microspheres. Microspheres is micro particle which is between 1-1,000 μm in size. Many factors affected the result of microspheres preparation, such as surfactant concentration and stirring time. This research was aimed to find the best composition of span 80 concentration and stirring time to produce MH-chitosan (CH) microspheres with the highest entrapment efficiency (EE) using factorial design optimization. MH was used as active substance, CH as polymer, span 80 as surfactant and non-aqueous solvent evaporation method was chosen for microspheres preparation technique. The optimized formula 2 % span 80 and 2 hours stirring time gained 86.803 ± 0.544 % EE, 24.571 ± 0.157 % drug loading, and 88.220 ± 0.137 % yield. The microspheres had a relatively smooth, bright surface, and spherical structure. The average particle's size was 161.2 ± 1.743 μm . FTIR analysis indicated that there were no changes in the spesific functional clusters of MH as an active substance.

Keywords: *metfomin-hydrochloride-chitosan microspheres, non-aquoeous solvent evaporation, factorial design, span 80 concentration, stirring time.*

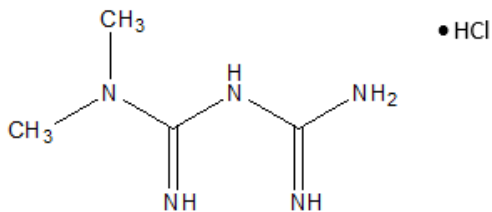
Abstrak

Metformin hidroklorida (MH) merupakan lini pertama untuk terapi diabetes melitus tipe 2, namun memiliki bioavailabilitas yang relatif rendah, waktu paruh yang singkat dan dapat menimbulkan efek samping pada saluran pencernaan sehingga MH tepat dipreparasi menjadi sediaan *microspheres*. *Microspheres* merupakan mikropartikel memiliki rentang ukuran 1-1.000 μm . Banyak faktor yang mempengaruhi hasil preparasi *microspheres* di antaranya adalah konsentrasi Surfaktan (span 80) dan lama pengadukan yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi terbaik konsentrasi span 80 dan lama pengadukan yang dapat menghasilkan *microspheres* MH-CH dengan *entrapment efficiency* (EE) tertinggi menggunakan optimasi desain faktorial. MH digunakan sebagai bahan aktif, kitosan digunakan sebagai polimer, dan span 80 sebagai surfaktan serta *non-aqueous solvent evaporation method* sebagai teknik yang dipilih dalam preparasi *microspheres*. Hasilnya *microspheres* yang menggunakan konsentrasi span 80 2 % dan lama pengadukan selama 2 jam menghasilkan EE sebesar $86,803 \pm 0,544$ %, *drug loading* sebesar $24,571 \pm 0,157$ % dan *yield* sebesar $88,220 \pm 0,137$ %. *Microspheres* memiliki permukaan yang relatif halus,cerah, dan berbentuk sferis serta rata-rata ukuran partikel sebesar $161,2 \pm 1,743$ μm . Hasil analisis FTIR menunjukkan bahwa tidak ada perubahan gugus fungsi spesifik pada MH sebagai bahan aktif.

Kata kunci: *microspheres metformin hidroklorida-kitosan, non-aquoeous solvent evaporation, desain faktorial, konsentrasi span 80, lama pengadukan*

Pendahuluan

Metformin hidroklorida (MH) merupakan adalah lini pertama terapi diabetes mellitus tipe 2 [1]. Rumus molekul MH adalah $C_4H_{11}N_5 \cdot HCl$ [2]. Dosis MH pada sediaan konvensional yang digunakan umumnya sebesar 500 mg untuk pemakaian 2-3 kali sehari atau 850 mg untuk pemakaian sekali atau dua kali sehari dengan bioavailabilitas sebesar 50-60 % dan waktu paruh yang pendek yaitu 1,5-4,5 jam [3].



Gambar 1. Struktur MH mengandung gugus biguanida yang tersubstitusi dua gugus metil.

Penggunaan MH dengan dosis yang besar dan secara berulang memungkinkan terjadinya gangguan gastrointestinal yang menimbulkan efek samping seperti perut terasa tidak nyaman, mual dan diare [4]. Pengembangan sistem pelepasan obat terkendali obat memiliki potensi besar untuk mengatasi permasalahan tersebut dengan melepaskan obat secara perlahan pada saluran gastrointestinal dan mempertahankan konsentrasi obat di sirkulasi sistemik dalam waktu yang lama [5].

Microspheres merupakan salah satu teknologi farmasi dalam sistem penghantaran obat terkendali yang menggunakan bahan polimer sebagai pembawa [6]. *Microspheres* merupakan mikropartikel yang bersifat homogen dan molinitik dengan ukuran 1-1.000 μm [7].

Metode *solvent evaporation* banyak digunakan dan lebih disukai dalam pembuatan *microspheres* untuk sistem penghantaran obat terkendali karena kemudahannya dengan menggunakan alat-alat laboratorium umum dan tanpa menurunkan aktivitas dari bahan aktif [8]. Salah satu tipe dari metode *solvent evaporation* adalah *non-aqueous solvent evaporation*. Metode ini tidak menggunakan air sebagai pelarut sehingga cocok digunakan sebagai metode pembuatan *microspheres* dengan bahan obat yang bersifat larut air. Preparasi *microspheres* dengan teknik

non aqueous solvent evaporation menggunakan MH sebagai bahan aktif, CH sebagai bahan polimer [9] dan span 80 sebagai surfaktan [10].

Span 80 digunakan sebagai *emulsifying agent* yang akan menghasilkan emulsi air dalam minyak yang stabil dan mikroemulsi [11]. Span 80 dapat mempertahankan *droplet-droplet* yang telah terbentuk agar tidak menyatu lagi menjadi polimer [12].

Entrapment efficiency (EE) merupakan salah satu faktor keberhasilan suatu preparasi *microspheres*. Nilai EE digunakan untuk menunjukkan seberapa besar jumlah obat yang terperangkap di dalam partikel *microspheres*. Banyak faktor yang mempengaruhi nilai EE. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Maji et al. [10] dan Garud & Garud [9] terdapat hubungan antara konsentrasi span 80 dan lama pengadukan yang digunakan terhadap nilai EE pada *microspheres* yang dihasilkan. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan optimasi konsentrasi span 80 dan lama pengadukan untuk memperoleh respon EE tertinggi.

Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium yang dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Sediaan Solida Bagian Farmasetika dan Laboratorium Kimia Analisis Bagian Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah MH sebagai bahan aktif (Zenith Pharmaceutical), CH sebagai polimer (Lawsim Zecha), span 80 sebagai surfaktan (Brataco Chemika), metanol sebagai fase internal (Brataco Chemika), aseton sebagai fase internal (Smart Lab. Indonesia), parafin cair sebagai fase eksternal (Brataco Chemika), dan petroleum eter sebagai agen pencuci (Brataco Chemika).

Penentuan jumlah formula yang akan dipreparasi dalam penelitian dilakukan menggunakan desain faktorial dua faktor dua level. Tiap formula memiliki jumlah bahan aktif yang sama, yang membedakan konsentrasi span 80 yang digunakan dan lama pengadukan *four blades propeller* dalam preparasi *microspheres* MH. Pemilihan level rendah dan level tinggi pada masing-masing faktor ditentukan berdasarkan hasil penelitian sebelumnya. Preparasi *microspheres* MH-CH untuk masing-masing formula dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Preparasi *microspheres* metformin-CH

| F | MH (mg) | CH (mg) | Span 80 (%) | Lama pengadukan (jam) |
|----|---------|---------|-------------|-----------------------|
| 1 | 750 | 2250 | 2 | 2 |
| A | 750 | 2250 | 6 | 2 |
| B | 750 | 2250 | 2 | 4 |
| AB | 750 | 2250 | 6 | 4 |

Preparasi *microspheres* dengan metode *non-aqueous solvent evaporation* dilakukan dengan mencampurkan dispersi MH dalam 5 ml metanol dengan larutan CH dalam 24 ml aseton. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam 50 ml parafin cair yang mengandung span 80 2 % v/v dan 6 % v/v, kemudian dilakukan pengadukan menggunakan *four blades propeller* kecepatan 400 rpm pada suhu ruang. *Microspheres* yang terbentuk disaring dengan menggunakan penyaring vakum dilengkapi kertas *Whatman* no 1. Serbuk *microspheres* yang terbentuk dicuci menggunakan petroleum eter suhu 30°C kemudian dikeringkan dalam oven suhu 60°C sampai didapatkan berat *microspheres* yang konstan.

Sejumlah *microspheres* yang ekuivalen dengan 5 mg MH dibilas menggunakan akuades untuk menghilangkan MH bebas. *Microspheres* kemudian dihancurkan dalam mortir, dilarutkan dengan akuades sampai dengan 100 ml dan disaring. Filtrat selanjutnya diencerkan 10 kali dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 233 nm untuk menentukan konsentrasi obat. Cara penentuan EE yaitu dengan membandingkan konsentrasi obat sebenarnya dengan konsentrasi obat teoritis lalu dikali 100%.

Nilai EE yang diperoleh dari masing-masing formula dinyatakan sebagai respon yang diamati pada penelitian ini. Respon kemudian dimasukkan dalam *software design expert* 10.0.2 versi *trial* untuk mendapatkan formula optimum. Berdasarkan hasil pengolahan data dapat diketahui efek faktor serta interaksinya terhadap respon, kemudian untuk mengetahui komposisi optimum kombinasi konsentrasi span 80 dan lama pengadukan yang menghasilkan nilai EE tertinggi dapat diketahui melalui *contour plot* dan *overlay plot*.

Formula optimum *microspheres* MH yang dihasilkan berdasarkan *software design expert* 10.0.2 versi *trial* selanjutnya dibuat. Verifikasi

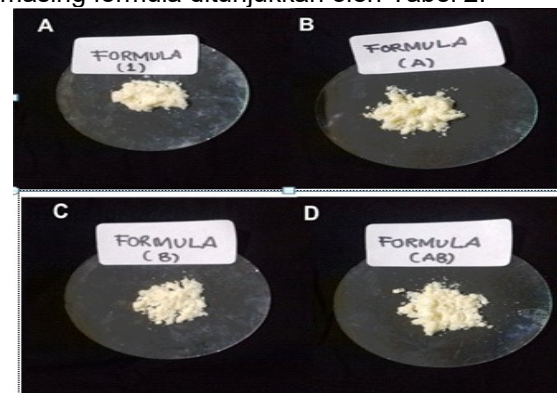
EE kemudian dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kemiripan EE hasil prediksi dengan hasil percobaan. Formula optimum selanjutnya dilakukan karakterisasi meliputi *drug loading* (DL), *yield*, analisis *fourier transform infrared* (FTIR), dan *scanning electron microscopy* (SEM). Perhitungan DL yaitu dengan cara EE dikali berat MH sebenarnya dibagi dengan berat *microspheres* yang didapat lalu dikali 100 %. Nilai *yield* didapat dengan cara membagi berat *microspheres* yang didapat dari hasil preparasi dengan berat *microspheres* teoritis lalu dikali 100 %.

Analisis FTIR dilakukan dengan membandingkan pola spektrum *microspheres* dengan standar metformin hidroklorida dan kitosan. Spektrum FTIR dari *microspheres*, metformin hidroklorida dan kitosan diukur pada bilangan gelombang antara 4000-500 cm⁻¹.

SEM dilakukan dengan meletakkan sejumlah *microspheres* disebarkan dan ditempelkan menggunakan selotip karbon pada bagian stub lalu ditempatkan di *scanning electron chamber*. Pemindaian dilakukan pada pembesaran yang berbeda-beda.

Hasil Penelitian

Hasil pembuatan empat formula *microspheres* MH-CH dapat dilihat pada Gambar 2. Keempat formula tersebut memiliki penampakan yang hampir sama yaitu serbuk putih agak kekuningan. Hasil uji EE masing-masing formula ditunjukkan oleh Tabel 2.



Gambar 2. Hasil pembuatan empat formula *microspheres* MH-CH: (A) konsentrasi span 80 2 % dan pengadukan 2 jam; (B) konsentrasi span 80 6 % dan pengadukan 2 jam; (C) konsentrasi span 80 6 % dan pengadukan 4 jam; (D) konsentrasi span 80 6 % dan pengadukan 4 jam.

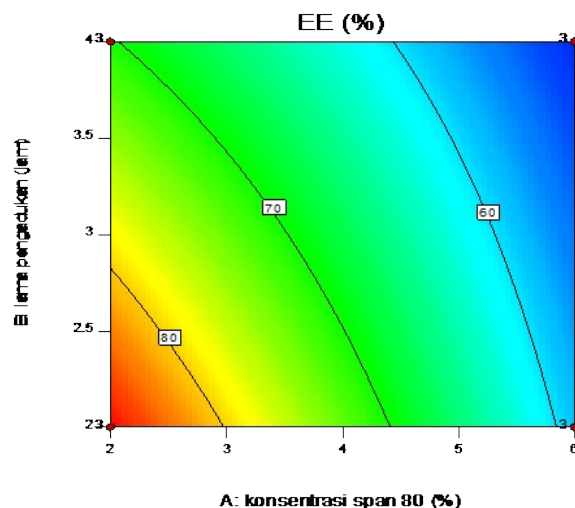
Nilai EE dari masing-masing formula selanjutnya dimasukkan dalam *software design*

expert 10.0.2 versi *trial* sehingga didapatkan Persamaan 1. *Software design expert* 10.0.2 versi *trial* juga dapat memberikan *contour plot* dan *overlay plot*. Gambar *contour plot* dapat dilihat pada Gambar 3. *Contour plot* menggambarkan efek konsentrasi span 80 dan lama pengadukan terhadap EE. Daerah yang berwarna biru memiliki EE prediksi yang paling rendah sedangkan daerah berwarna merah memiliki EE prediksi yang paling tinggi. Semakin rendah konsentrasi span 80 dan semakin rendah lama pengadukan yang digunakan maka akan meningkatkan nilai EE.

Tabel 2. Hasil pengujian EE tiap formula

| F | MH (mg) | CH (mg) | Span 80 (%) |
|----|---------|---------|----------------|
| 1 | 2 | 2 | 87,143 ± 0,085 |
| A | 6 | 2 | 58,898 ± 1,172 |
| B | 2 | 4 | 70,229 ± 1,408 |
| AB | 6 | 4 | 53,388 ± 1,203 |

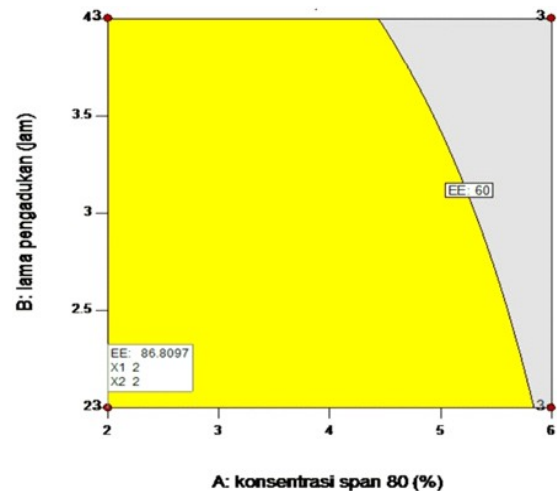
*data disajikan dalam rerata ± SD (n=3)



Gambar 3. *Contour plot* konsentrasi span 80 dan lama pengadukan terhadap EE

Grafik *overlay plot* digunakan untuk menentukan daerah optimum respon EE yang ditunjukkan oleh daerah berwarna abu-abu dan kuning. Respon EE di atas 60 % didapatkan pada daerah berwarna kuning, sedangkan pada daerah berwarna abu-abu didapatkan respon EE di bawah 60 %. Pada daerah warna kuning dapat dibuat *flag* di sembarang titik yang akan menampilkan konsentrasi span 80 dan lama

pengadukan beserta respon yang dihasilkan pada titik tersebut. Gambar *overlay plot* dapat dilihat pada Gambar 4.

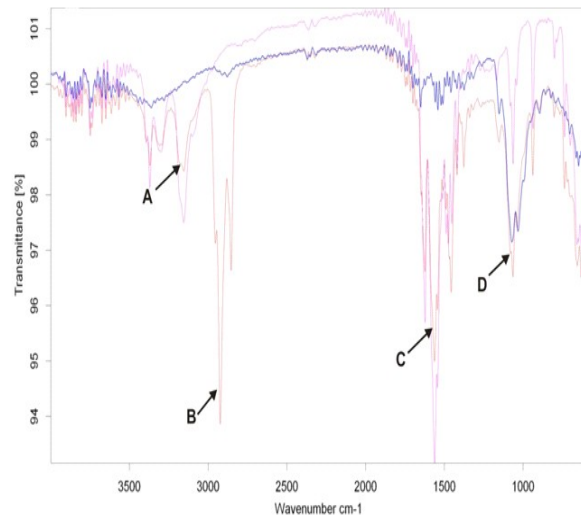


Gambar 4. *Overlay plot* respon EE.

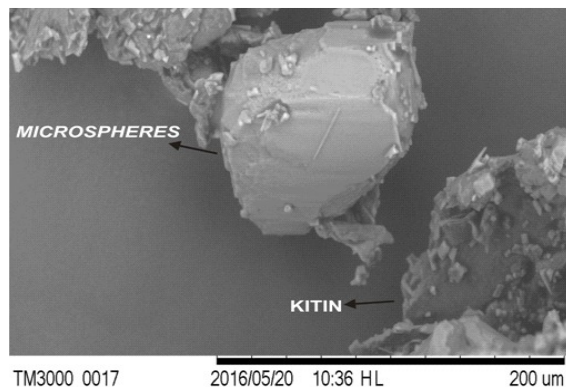
Hasil pengujian EE formula optimum terpilih yaitu menggunakan span 80 konsentrasi 2 % dan lama pengadukan 2 jam yaitu sebesar 87,143 ± 0,085 %, sedangkan EE hasil prediksi *software design expert* 10.0.2 versi *trial* adalah sebesar 86,803 %. Hasil verifikasi EE memberikan kemiripan sebesar 99,609 %. Hasil karakterisasi formula optimum menunjukkan bahwa *microspheres* MH memiliki nilai DL dan *yield* masing-masing sebesar 24,571 ± 0,157 % dan 88,220 ± 0,137 %.

Hasil analisis FTIR menunjukkan bahwa tidak ada perubahan gugus fungsi pada *microspheres* MH-CH ditandai dengan adanya kesamaan puncak yang khas MH murni yaitu N-H primer pada bilangan gelombang gelombang 3.154 cm⁻¹, N-H tekuk dari amino primer pada bilangan gelombang 1.562 cm⁻¹, dan C-N pada bilangan gelombang 1064 cm⁻¹. Hasil analisis FTIR *microspheres* MH-CH ditampilkan dalam Gambar 5.

Hasil karakterisasi ukuran partikel, bentuk dan morfologi *microspheres* MH-CH menggunakan SEM didapat *microspheres* berbentuk serbuk halus, berwarna putih kekuningan dengan rerata ukuran partikel sebesar 161,2 ± 1,743 μm. Morfologi *microspheres* MH-CH memiliki bentuk sferis, permukaan yang relatif halus, dan berwarna cerah. Morfologi *microspheres* dapat dilihat pada Gambar 6 dengan pembesaran 600x.



Gambar 5. Hasil spektra FTIR MH (ungu), CH (biru) dan microspheres MH-CH (merah) menunjukkan adanya gugus fungsi yang khas pada MH yaitu: (A) N-H primer pada 3.154 cm-1; (B) C-O asam karboksilat 2.992 cm-1; (C) N-H tekuk primer pada 1.562 cm-1; (D) C-N pada 1.064 cm-1.



Gambar 6. Hasil analisis SEM dengan perbesaran 600x

Pembahasan

Hasil analisis *software design expert* 10.0.2 versi *trial* menunjukkan bahwa konsentrasi span 80 dan lama pengadukan serta interaksi keduanya memiliki pengaruh yang signifikan terhadap respon EE yang didapatkan. Hal ini ditunjukkan dari persamaan yang dihasilkan dan *contour plot* yang menggambarkan semakin tinggi konsentrasi span 80 dan semakin lama pengadukan yang dilakukan maka terjadi pergeseran ke arah berwarna biru, yang menunjukkan daerah dengan respon EE paling rendah.

Konsentrasi span 80 dapat mempengaruhi nilai EE yang dihasilkan. Semakin tinggi konsentrasi span 80 digunakan akan menyebabkan penurunan nilai EE. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi span 80 yang digunakan akan menyebabkan *crowded* yang akan menyebabkan *droplet* yang terbentuk tidak stabil dan pecah. Span 80 berfungsi sebagai penstabil *droplet* sehingga tidak menyatu lagi [12]. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maji *et al* [10] dan Mohanty & Panigrahi [13] bahwa peningkatan konsentrasi span 80 dapat menyebabkan penurunan nilai EE.

Lama pengadukan juga mempengaruhi EE yang dihasilkan oleh suatu *microspheres*. Pengadukan yang terlalu singkat menyebabkan proses emulsi untuk pembentukan *microspheres* belum sepenuhnya terjadi dan bahan aktif belum sepenuhnya terjerap dalam partikel *microspheres*. Sebaliknya, proses pengadukan yang terlalu lama dapat menyebabkan penurunan EE karena adanya penurunan ukuran partikel *microspheres* yang diperoleh. Penurunan ukuran partikel menyebabkan penurunan kemampuan *microspheres* dalam menjerap bahan aktif sehingga akan menurunkan nilai EE. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rathod *et al.* bahwa peningkatan lama pengadukan yang dilakukan dapat menurunkan nilai EE [15].

Formula optimum terpilih yaitu formula dengan EE prediksi tertinggi. Berdasarkan Gambar 5. Dipilih formula optimum dengan faktor konsentrasi span 80 2 % (*level* rendah) dan faktor lama pengadukan 2 jam (*level* rendah) yang diprediksi menghasilkan EE sebesar 87,143 %. Hasil verifikasi EE formula optimum didapatkan hasil bahwa EE hasil percobaan memiliki nilai yang berdekatan dengan EE hasil prediksi.

Karakterisasi DL digunakan untuk menunjukkan seberapa efisien formula yang digunakan. DL yang didapatkan dari formula optimum memiliki nilai yang berdekatan dengan penelitian yang dilakukan oleh Baddha *et al* [15].

Nilai *yield* membantu menentukan metode yang tepat karena dapat menunjukkan seberapa efisien metode yang digunakan untuk menghasilkan *microspheres* yang maksimum [7]. *Yield* yang mendekati 100 % menunjukkan bahwa metode *non-aqueous solvent evaporation* yang digunakan dalam preparasi *microspheres* MH-CH menghasilkan jumlah *microspheres* yang maksimal dengan efisien.

Analisis FTIR pada Gambar 5 menunjukkan tidak adanya perubahan gugus fungsi yang khas pada MH sehingga preparasi *microspheres* tidak mengganggu gugus spesifik dari MH. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Maji *et al* [10] bahwa preparasi *microspheres* MH-CH menggunakan span 80 menunjukkan tidak adanya interaksi yang terbentuk antara obat, polimer dan bahan tambahan lainnya.

Hasil penentuan ukuran partikel didapatkan bahwa *microspheres* MH-CH memiliki rata-rata ukuran partikel $161,2 \pm 1,73$ μm . Hal ini sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan bahwa *microspheres* adalah partikel dengan rentang ukuran 1-1.000 μm [7].

Berdasarkan hasil karakterisasi tersebut maka preparasi *microspheres* MH-CH dengan metode *non-aqueous solvent evaporation* dapat dikatakan berhasil. Namun keberhasilan suatu preparasi *microspheres* juga perlu diikuti dengan pengujian bioavailabilitas *in vivo* dan *in vitro* untuk mengetahui keberhasilan *microspheres* sebagai sistem penghantaran obat terkendali. Selain itu juga perlu dilakukan pengujian mutu sediaan untuk mengetahui stabilitas sediaan *microspheres*.

Simpulan dan Saran

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi span 80 dan lama pengadukan terbukti memiliki pengaruh yang signifikan pada nilai EE *microspheres* MH-CH yang dihasilkan. Kombinasi optimum antara konsentrasi span 80 dan lama pengadukan untuk memperoleh nilai EE maksimum adalah 2 % selama 2 jam.

Penelitian yang perlu dikembangkan selanjutnya adalah pengujian disolusi, bioavailabilitas dan stabilitas untuk mengetahui profil pelepasan, profil bioavailabilitas serta mutu sediaan *microspheres*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT. Zenith Pharmaceutical, Semarang, Indonesia yang telah memberikan bantuan bahan aktif metformin hidroklorida.

Daftar Pustaka

[1] Nathan DM, Buse JB, Davidson MB. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus statement from the american diabetes association and

- the european association for the study of diabetes. *Diab Care*. 2009; 32: 193.
- [2] Sweetman SC. *Martindale 36th ed*. USA: Pharm Press; 2009.
- [3] Pandit V, Pai RS, Yadav V, Devi K, Surekha B B, Inamdar MN, Suresh S. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of floating microspheres of metformin hydrochloride. *Drug Dev Indian Pharm*. 2013; 39(1): 117–27.
- [4] Pilmore HL. Review: Metformin: Potential benefits and use in chronic kidney disease. *Asian Sos Neph*. 2010; 15: 412-418.
- [5] Streubel A, Siepmann J, Bodmeier R. Drug delivery to the upper small intestine window using gastroretentive technologies. *Sci Dir*. 2006; 6(5): 501-508.
- [6] Hire, Derle. Microsphere as drug carrier: a review. *Int. J. Adv.Res*. 2014; 2(3), 901–913.
- [7] Wise DL. *Handbook of pharmaceutical controlled release technology*. New York: Marcel Dekker Inc; 2000.
- [8] Herrmann J, Bodmeier R. Biodegradable, somatostatin acetate containing microspheres prepared by various aqueous and non-aqueous solvent evaporation methods. *Europ. J. Pharm. Biopharm*. 1998;45(1), 75–82.
- [9] Garud N, Garud A. Preparation and *in vitro* evaluation of metformin microspheres using non-aqueous solvent. *Topic J Pharm Res*. 2012 August; 11(May): 577–583.
- [10] Maji R, Ray S, Das B, Nayak. Ethyl cellulose microparticles containing metformin hydrochloride by emulsification-solvent evaporation technique: effect of formulation variables. *Int Sci*. 2012; 1-7.
- [11] Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. *Handbook of pharmaceutical excipient 6th ed*. London: Pharm Press And American Pharm; 2009.
- [12] Pauchau L, Sarkar S, Mazumder, B. The study of the effect of surfactants on ethylcellulose microspheres containing salbutamol sulphate. *Schol. Res. Lib*. 2009; 1 (1):65-74
- [13] Mohanty S, Panigrahi AK. Preparation of 5-floroucil microspheres for colonic drug delivery. *Int J Pharm* .2014; 4(3): 283-296
- [14] Rathod UC, Patel AK, Shah DA. Statistical evaluation and optimization of

influence of stirring speed and polymer concentration on hollow microspheres of diltiazem hydrochloride. *Schol Res Lib.* 2012; 4(3): 972–978.

[15] Badhana S, Garud N, Garud A. Colon specific drug delivery of mesalamine

using eudragit S100-coated chitosan microspheres for the treatment of ulcerative colitis. *Int. Curr. J. Pharm.* 2013, 2(3): 42-48