المحاضرة الثانية

فحوص الانحلال في الزجاج

مقدمة

فحص الانحلال المناسب يجب أن يكون قادراً على كشف التغيرات في الصيغة، طريقة التحضير، والتغيرات الفيزيائية والكيميائية للدواء مثل حجم الأجزاء ومساحة السطح، تعدد الشكل...

يضع دستور الأدوية الأمريكي معايير الانحلال لمعظم الأدوية

كل طريقة انحلال هي نوعية للمنتج الدوائي وصيغته

-بشكل عام: فإن الفحص المثالي In Vitro هو الذي يعكس التوافر الحيوي للدواء في العضوية الحية In Vivo

أي يحقق: التوافق In vitro- In vivo Correlation IVIVC: In vitro- In vivo

بمعنى: تأسيس علاقة بين خاصية بيولوجية للدواء (مثل التأثير الدوائي أو التراكيز البلاسمية) وخاصية فيزيوكيميائية للمنتج الدوائي الحاوي على المادة الدوائية (مثل سرعة الانحلال)

-كفحص مراقبة جودة، يمكن استعمال فحص التحرر والانحلال من أجل:

•مراقبة تجانس تحرر الدواء من طبخة إلى أخرى: Batch-to-batch drug release uniformity

•الثباتية (ثبات الدواء): Stability

•نقل الإنتاج من مستوى مخبري إلى مستوى صناعي والتغيرات ما بعد الموافقة: Scale-up and post-approval changes SUPAC (التغيرات على مستوى حجم الطبخة، الآلات equipment ، process)

•التنبؤ بجودة أداء المنتج في العضوية الحية: Predicting in vivo performance

التعريف:

يُعرَّف فحص الانحلال بأنه دراسة معيارية لقياس سرعة تحرر المادة الفعالة من الشكل الصيدلاني.

أهمية فحص الانحلال:

تفيد فحوص الانحلال في كل ممايلي:

- التنبؤ بالفعالية العلاجية للدواء خلال مراحل تطوير و تصنيع الدواء و خلال دراسات الثباتية.
- ضمان جودة التصنيع من خلال ضمان التجانس بين التحضيرات المختلفة.
- ضمان التكافؤ الحيوي Bioequivalence بين الأدوية المختلفة.
- التنبؤ بالتوافر الحيوي داخل العضوية الحية Bioavailability.

شروط فحص الانحلال:

يتطلب فحص الانحلال توفر مايلي:

- الجهاز المناسب.
- وسط الانحلال المناسب تركيباً و كماً.
- شروط مناسبة لإتمام الفحص.
- مقومات عمل مقبولة.

الأجهزة المستعملة لفحص الانحلال وفقاً لبعض دساتير الأدوية:

الجدول: يبين نوع الأجهزة المستعملة في فحص الانحلال حسب دساتير الأدوية

الجهاز	USP 29	BP 2005
I	سلة	سلة
II	مجداف	مجداف
III	مخروط تبادلي	خلايا تسمح بالانتشار من خلالها
IV	خلايا تسمح بالانتشار من خلالها	خلايا تسمح بالانتشار من خلالها
V	مجداف	خلايا تسمح بالانتشار من خلالها
VI	مخروط	خلايا تسمح بالانتشار من خلالها
VII	حامل تبادلي	خلايا تسمح بالانتشار من خلالها

أوساط فحص الانحلال:

يمكن استعمال أحد الأوساط التالية لإتمام فحص الانحلال وفقاً للشكل الصيدلاني المفحوص:

- الماء.
- حمض كلور الماء الممدد.
- محاليل الوقاءات ذات درجات الحموضة بين 1.2-7.5
- الأوساط المشابهة للمعدة أو الأمعاء (مع أو بدون إنزيمات).
- العوامل الفعالة على السطح (مع أو بدون حموض أو وقاءات) مثل:
  - Polysorbate 80.
  - Sodium lauryl sulphate.
  - Bile salts.

شروط العمل:

قبل البدء بإجراء فحص الانحلال لابد من التحقق من معايرة الجهاز Calibration كمايلي:

- تاريخ التحقق من صلاحية الجهاز.
- مستوى الماء في الحمام المائي.
- درجة حرارة الحمام المائي و الأوعية.
- المسافة بين الجهاز و قعر الأوعية.
- سرعة الدوران ، عدد الدورات في الدقيقة(rpm).
- مكان وضع العينة.
- نظام الاعتيان الآلي.
- دراسة انحلالية عينات معيارية Standard Samples ، حيث يجب أن يكون مخطط الانحلال Dissolution Profile مقبولاً و أن تكون الكميات المتحررة مع الزمن مشابهة للكميات النظرية.

أهمية الأوساط المشابهة للأوساط الحيوية

Bio relevant dissolution media (BDM)

تُعطي دراسات الانحلال التي تُجرى في الأوساط المشابهة للأوساط الحيوية فكرة دقيقة عن حركية الدواء بالمقارنة مع تلك الدراسات التي تُجرى في الأوساط التي تعتمد فقط على تغيير درجة الحموضة بين الوسطين المعدي و المعوي.

لذلك اهتم العديد من الباحثين في إيجاد أوساط معدية و معوية تشبه الأوساط الحيوية في حالتي مع و بدون طعام و وضعوا العديد من الاحتمالات من أجل دراسة انحلالية و خواص مجموعات كثيرة من الأدوية تشمل كافة الزمر الدوائية بما فيها الأدوية القلوية ضعيفة الانحلال و الأدوية المحبة للدسم.

تفيد فحوص الانحلال التي تُجرى في مثل هذه الأوساط في إيجاد صيغ دوائية جديدة و دراسة تأثير الطعام على انحلالية و توافر هذه الأدوية عند إعطائها عن طريق الفم و بالتالي يمكن تحديد الجرعة الدقيقة لمثل هذه الأدوية و إجراء دراسات التكافؤ الحيوي بين مختلف الصيغ الدوائية.

<u>الأوساط المشابهة للأوساط الحيوية المقترحة من قبل بعض الباحثين</u>

تعتبر الأمعاء الوسط الذي يُمتص فيه الدواء. و يعتبر الوسط المعوي الخالي من الطعام مناسباً لامتصاص الأدوية قليلة الانحلال ذات الخواص الحمضية الخفيفة و ذات الخواص المنحلة بالدسم.

و قد وضعت الدكتورة Dressman D.Jennifer و زملاؤها من جامعة University, J.W.Goethe Germany سنة 1998 صيغتين لوسطين مشابهين للأمعاء مع و بدون الطعام.

<u>الوسط المشابه للأمعاء بدون طعام</u>

<u>Fasted State Simulated Intestinal Fluid (FaSSIF)</u>

يبين الجدول التالي تركيب و حجم الوسط المشابه للأمعاء في حالة الصيام.

الجدول: الوسط المشابه للأمعاء بدون طعام FaSSIF

المادة	الكمية
Sodium taurocholate	3 mM
Lecithin	0.75 mM
NaOH (pellets)	0.174 g
$NaH_2PO_4.H2O$	1.977 g
NaCl	3.093 g
Purified water qs.	500 mL

- **تحضير محلول وقاء FaSSIF:**

يُحل 1.74 غرام من حبيبات ماءات الصوديوم مع 19.77 غرام من فوسفات الصوديوم الهيدروجينية أحادية الماء $NaH_2PO_4.H_2O$ أو 17.19 من فوسفات الصوديوم الهيدروجينية اللامائية NaH_2PO_4 مع 30.93 غرام من كلوريد الصوديوم في 5 ليتر من الماء المقطر. يتم ضبط درجة الحموضة على القيمة 6.5 باستعمال محلول نظامي من ماءات الصوديوم أو حمض كلور الماء.

- **تحضير وسط FaSSIF الكامل:**

يُحل 3.3 غرام من Sodium taurocholate في 500 مل من محلول الوقاء، يتم بعدها إضافة 11.8 مل من مستحلب يحوي على 100 مغ/مل ليسيتين في المتيلين كلوريد.

يوصى باستعمال 500 مل من وسط FaSSIF في كل فحص انحلالية.

الوسط المشابه للأمعاء مع طعام

Fed State Simulated Intestinal Fluid (FeSSIF)

يبين الجدول التالي تركيب و حجم الوسط المشابه للأمعاء في حالة الطعام.

الجدول: الوسط المشابه للأمعاء مع طعام FeSSIF

المادة	الكمية
Sodium taurocholate	15 mM
Lecithin	3.75 mM
NaOH (pellets)	4.04 g
Glacial Acetic Acid	8.65 g
NaCl	11.874 g
Purified water qs.	1000 mL

- **تحضير محلول وقاء FeSSIF:**

يُحل 20.2 غرام من حبيبات ماءات الصوديوم مع 43.25 غرام من حمض الخل الثلجي و 59.37 غرام من كلوريد الصوديوم في 5 ليتر من الماء المقطر. ثم تُضبط درجة الحموضة على القيمة 5.00 باستعمال محلول نظامي من ماءات الصوديوم أو حمض كلور الماء.

- **تحضير وسط FeSSIF الكامل:**

يُحل 16.5 غرام من Sodium taurocholate في 500 مل من محلول الوقاء، يتم بعدها إضافة 59.08 مل من مستحلب يحوي على 100 مغ/مل ليسيتين في المتيلين كلوريد.

يوصى باستعمال 1000 مل من وسط FeSSIF في كل فحص انحلالية.

الخواص الفيزيائية و الكيميائية لوسطي FaSSIF و FeSSIF:

سمحت الأوساط المشابهة للأوساط الحيوية بالتنبؤ بحركية الدواء في العضوية الحية إلى حد كبير. و على الرغم من أن هذه الأوساط مثل FaSSIF و FeSSIF لا تشابه تماماً الوسط المعوي للإنسان، إلا أنها تماثلها إلى حد كبير في بعض المعايير كدرجة الحموضة و الضغط الحلولي و التوتر السطحي و القدرة على حل الدواء فهي تعطي فكرة جيدة عن تحرر الدواء في الوسط المعوي، حيث يبين الجدول الخواص الفيزيوكيميائية للأوساط المشابهة للأمعاء بحالتي الطعام و الصيام.

لذلك تضاعف استعمال هذه الأوساط في دراسات الانحلال في الزجاج عشر مرات خلال السنوات العشر الأخيرة.

الجدول: الخواص الفيزيوكيميائية لوسطي FaSSIF و FeSSIF.

الخواص الفيزيوكيميائية	FaSSIF	FeSSIF
التوتر السطحي (mN/m)	53±0.4	47.4±0.3
الضغط الحلولي (mOsmol/kg)	270±3	670±9
الكثافة (mg/cm^3)	1.00693±0.00004	1.01484±0.00015
درجة الحموضة	6.5	5.00

الأوساط المقترحة من قِبَل D.Vertzoni:

الأوساط المشابهة للمعدة:

تعتبر المعدة مكان العبور الأول للدواء في الطريق الهضمي. حيث يتم فيها التحرر المباشر لبعض الأشكال الدوائية التي تتفتت في المعدة، مما يسمح للمادة الفعالة بالانحلال قبل وصولها إلى موقع امتصاصها في الأمعاء الدقيقة. تبلغ درجة حموضة المعدة بدون طعام 1–3، لذلك تعتبر المعدة الخالية من الطعام الوسط الأكثر ملائمة لانحلال الأدوية القلوية ضعيفة الانحلال. اقترح الباحث Vertzoni سنة 2005 وسط مشابه للمعدة الفارغة Fasted State Simulated Gastric Fluid (FaSSGF) يضاف إلى مقدار كأس من الماء يُشرب عادة لبلع حبة الدواء.

الجدول: الوسط المشابه للمعدة بدون طعام FaSSGF

Sodium taurocholate 537.7	mμ80
Lecithin 677.92	mμ20
Pepsin	0.1 mg/ml
$NaH_2PO_4.H_2O$	1.977 g
NaCl	34.2 mM
HCl qs.	pH= 1.6

يُعطي هذا الوسط فكرة عن المعدة الخالية من الطعام لذلك كان لابد من التفكير بإضافة بعض المواد الغذائية إلى هذا الوسط للتعبير عن المعدة الممتلئة بالطعام. يُضاف الحليب كامل الدسم 3.5% المعالج حرارياً UHT إلى الوسط السابق ليعطي فكرة مناسبة عن المعدة الممتلئة بالطعام لأن محتواه من السكريات/بروتينات/دسم تشابه إلى حد كبير محتويات المعدة بعد تناول الطعام.

تم اقتراح ثلاثة أطوار (الطور المتقدم، الطور المتوسط، الطور المتأخر) تعبر عن اختلاف محتويات المعدة خلال 200 دقيقة بعد تناول الطعام.

الجدول: الوسط المشابه للمعدة مع طعام FeSSGF

التركيب	الطور المتقدم	الطور المتوسط	الطور المتأخر
Sodium chloride (mM)	148	237.02	122.6
Acetic acid (mM)	-	17.12	
Sodium acetate (Mm)	-	29.75	
Ortho-phosphoric acid (mM)	-		5.5
Sodium dihydrogen phosphate (mM)	-		32
Milk/buffer	1:0	1:1	1:3
Hydrochloric acid/Sodium hydroxide qs.	pH 6.4	pH 5	pH 3

يعتبر الطور المتوسط أكثر تعبيراً عن شروط المعدة الممتلئة بالطعام لذلك نادراً ما يُستعمل الوسطين المتقدم و المتأخر في الدراسات المختلفة بل يُكتفى باستعمال الطور المتوسط كوسط مشابه للمعدة الممتلئة بالطعام Fed State Simulated Gastric Fluid (FeSSGF).

الخواص الفيزيائية و الكيميائية لوسطي FaSSGF و FeSSGF:

إن الأوساط المقترحة FaSSGF و FeSSGF لا تشابه تماماً الوسط المعدي للإنسان، إلا أنها تماثلها إلى حد كبير في بعض المعايير كدرجة الحموضة و الضغط الحلولي و التوتر السطحي، حيث يبين الجدول الخواص الفيزيوكيميائية للأوساط المشابهة للمعدة بحالتي الطعام و الصيام.

الجدول: الخواص الفيزيوكيميائية لوسطي FaSSGF و FeSSGF.

الخواص الفيزيوكيميائية	FaSSGF	FeSSGF الطور المتقدم	FeSSGF الطور المتوسط	FeSSGF الطور المتأخر
التوتر السطحي (mN/m)	42.6	49.7±0.3	52.3±0.35	58.1±0.2
الضغط الحلولي (mOsmol/kg)	120.7±2.5	559	400	300
درجة الحموضة	1.6	6.4	5	3
قوة الوقاء (mmol/L/pH)	-	21.33	25	25

الأوساط المشابهة للأمعاء المعدلة:

تم تطوير الأوساط التي وضعتها الدكتورة D.Dressman سنة 1998 لتصبح أكثر مشابهة للوسط المعوي في حالتي مع و بدون طعام. سمي الوسط المعوي الجديد الخالي من الطعام FaSSIF-V_2 بحيث تم استبدال الوقاء الفوسفاتي بوقاء حمض التفاح.

الجدول: الوسط المعدل المشابه للأمعاء بدون طعام FaSSIF-V_2

Sodium taurocholate	3 mM
Lecithin	0.2 mM
Maleic acid	19.12 mM
NaOH	34.8 mM
NaCl	68.62 Mm

أما الوسط المعوي المليء بالطعام فقد أُعطي اسم $FeSSIF-V_2$. وكما في حالة الوسط المعدي فقد صمم الوسط المعوي ليعطي فكرة واضحة عن تغيرات درجة الحموضة و الضغط الحلولي و المحتوى من الصفراء خلال تناول الطعام.

يحوي طور $FeSSIF-V_2$ على كميات قليلة من الصفراء بالمقارنة مع طور FeSSIF، بينما تم تعويض ذلك بإضافة كميات من نواتج هضم الطعام التي تتضمن السكريات الأحادية و الحموض الدسمة الحرة و التي تساهم في زيادة انحلالية المركبات الدوائية ضعيفة الانحلال.

الجدول: الوسط المعدل المشابه للأمعاء مع طعام $FeSSIF-V_2$

التركيب	الطور المتقدم	الطور المتوسط	الطور المتأخر	الطور النهائي
Sodium taurocholate (mM)	10	7.5	4.5	10
Lecithin (mM)	3	2	0.5	2
Glyceryl monooleate (mM)	6.5	5	1	5
Sodium oleate (mM)	40	30	0.8	0.8
Maleic acid (mM)	28.6	44	58.09	55.02
Sodium hydroxide (mM)	52.5	65.3	72	81.65
Sodium chloride (mM)	145.2	122.8	51	125.5

كما أكد D.Vertzoni على أنه من أجل الحصول على توقع دقيق لانحلالية المواد الدوائية في العضوية الحية يجب عدم الاكتفاء بتحضير وسط حيوي جيد بل يجب أيضاً تحديد الحجم المستعمل منه بدقة، و يبين الجدول الحجم الواجب استعماله لدى إجراء فحص الانحلال في الأوساط المشابهة للمعدة و الأمعاء.

الجدول: الحجم المستعمل من كل وسط خلال فحص الانحلال.

الوسط المستعمل	الحجم (مل)
FaSSGF	300
FeSSGF	500 أو أكثر

$FaSSIF-V_2$	200
$FeSSIF-V_2$	1000

الخواص الفيزيائية و الكيميائية لوسطي $FaSSIF-V_2$ و $FeSSIF-V_2$:

يلخص الجدول التالي مجموعة الخواص الفيزيوكيميائية للأوساط المشابهة للأمعاء المعدلة

الجدول: الخواص الفيزيوكيميائية لوسطي $FaSSIF-V_2$ و $FeSSIF-V_2$. [41]

الخواص الفيزيوكيميائية	$FaSSIF-V_2$	$FeSSIF-V_2$ الطور المتقدم	$FeSSIF-V_2$ الطور المتوسط	$FeSSIF-V_2$ الطور المتأخر	$FeSSIF-V_2$ الطور المنهائي
التوتر السطحي (mN/m)	45.3	30.1±0.2	32.7±0.5	46.0±0.2	40.5±0.2
الضغط الحلولي (mOsmol/kg)	180±10	400±10	390±10	240±10	390±10
درجة الحموضة	6.5	6.5	5.8	5.4	5.8
قوة الوقاء (mmol/L/pH)	10	25	25	15	25