



الجمهورية العربية السورية

وزارة التعليم العالي

جامعة تشرين

كلية الصيدلة

قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية

دراسة تأثير التخزين على تحرر الدوكسيسكلين من الكبسولات الجيلاتينية الصلبة

دراسة أعدت لنيل درجة الماجستير في تصميم ومراقبة الدواء

إعداد الطالبة

هبة محمود فاضل

إشراف

المشرف الرئيسي

د. وهاد ابراهيم

المشرف المشارك

د. آيات عبود

اللاذقية 2014 - 2015

قدّمت هذه الدراسة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الماجستير في تصميم ومراقبة الدواء في قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين.

This thesis has been submitted as a partial fulfillment of requirement for the degree of master in Drug Design & Quality Control at Pharmaceutical Department- Faculty of Pharmacy- Tishreen University.

المرشحة:

هبة فاضل



نوقشت هذه الرسالة بتاريخ 2015/05/13 وأجيزت:

لجنة الحكم:

أ. د. تميم حماد

أستاذ مساعد في كلية الصيدلة، جامعة تشرين. اختصاص: صيدلة صناعية.



د. أسامة منصور

مدرس في كلية الصيدلة، جامعة تشرين. اختصاص: كيمياء صيدلانية.



د. وهاد ابراهيم

مدرسة في كلية الصيدلة، جامعة تشرين. اختصاص: صيدلة صناعية.



بعد الاطلاع وقيام الطالبة بالتصويبات المطلوبة:

لجنة الحكم:

أ. د. تميم حماد

أستاذ مساعد في كلية الصيدلة، جامعة تشرين. اختصاص: صيدلة صناعية.



د. أسامة منصور

مدرس في كلية الصيدلة، جامعة تشرين. اختصاص: كيمياء صيدلية.



د. وهاد ابراهيم

مدرسة في كلية الصيدلة، جامعة تشرين. اختصاص: صيدلة صناعية.



تصريح

أصرح بأن هذا البحث "دراسة تأثير التخزين على تحرر الدوكسيسكلين من الكبسولات الجيلاتينية الصلبة" لم يسبق أن قُبل للحصول على شهادة، ولا هو مقدم حالياً للحصول على أية شهادة أخرى.

المرشحة:

هبة فاضل



تاريخ: 13/5/2015

Declaration

This is to declare that, this work "Study the effect of storage on doxycycline release from hard gelatin capsules", has not been being submitted concurrently for any other degree.

Candidate

Hiba Fadel



Date: 13/5/2015

شهادة

نشهد بان البحث في هذه الأطروحة " دراسة تأثير التخزين على تحرر الدوكسيسكلين من الكبسولات الجيلاتينية الصلبة " هو نتيجة دراسة أجرتها طالبة الدراسات العليا (هبة محمود فاضل)، لصالح قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلية، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، لنيل درجة الماجستير اختصاص تصميم ومراقبة الدواء بإشراف الدكتورة وهاد ابراهيم كمشرف رئيسي (مدرسة باختصاص صيدلة صناعية في قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلية، جامعة تشرين)، والدكتورة آيات عبود كمشرف مشارك (مدرسة باختصاص مراقبة دوائية في قسم الكيمياء الصيدلية والمراقبة الدوائية، جامعة تشرين).

إن البحث لم يقدم سابقاً، وهو غير مقدم حالياً للحصول على أية شهادة أو درجة علمية أخرى. كما أن الرجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع موثق في النص.

المرشحة

هبة فاضل

الدكتور المشرف الرئيسي

د. وهاد ابراهيم

الدكتور المشرف المشارك

د. آيات عبود

كلمة الشكر

أتوجه بالشكر والعرفان إلى:

الجمهورية العربية السورية

وزارة التعليم العالي

جامعة تشرين

كلية الصيدلة ممثلة بكادرها الإداري والتدريسي

السادة الدكتوراة أعضاء لجنة الحكم على ملاحظاتهم القيمة

الدكتوراة وهاد ابراهيم والدكتوراة آيات عبود لجهودهما في إنجاح هذا البحث

عائلتي لدعمها لي في كل المراحل التي مررت بها

أصدقائي وزملائي

كما أتقدم بالشكر والامتنان لكل من ساندني ومدد لي يد العون، وأهدي هذا العمل إلى أرواح شهدائنا الأبرار ولبلدي الغالي ولقائدي

المرشحة

هبة فاضل



المحتويات

الموضوع	الصفحة
فهرس الجداول.....	13
فهرس الأشكال.....	14
جدول الاختصارات.....	16
ملخص البحث.....	17
مقدمة عامة.....	18
الدراسة النظرية.....	19
الفصل الأول.....	20
مراقبة جودة المحافظ.....	20
1.1 مقدمة.....	20
2.1 اختبارات المراقبة للمحافظ.....	22
1.2.1 اختبار تجانس الوزن.....	22
2.2.1 اختبار تجانس المحتوى.....	22
3.2.1 اختبار التفقت.....	22
4.2.1 اختبار الانحلال.....	23
5.2.1 اختبارات الثبات.....	26
الفصل الثاني.....	29
الجيلاتين.....	29
1.2 مقدمة.....	29

29	2.2 تعريف
30	3.2 أنماط الجيلاتين
30	4.2 خصائص الجيلاتين
31	5.2 تطبيقات واستعمالات الجيلاتين
32	الفصل الثالث
32	التصالبات في الجيلاتين و تغيرمعدل تحرر الدواء
32	1.3 مقدمة
32	2.3 الآلية الكيميائية لحدوث التصالبات
32	1.2.3 تفاعل نزع أمين تأكسدي
34	2.2.3 تفاعل المجموعات الأمينية في الليزيل lysyl مع ألدهيد خارجي
34	3.2.3 تفاعل إيمين شرجي مع مجموعات أمينية حرة
35	4.2.3 تفاعل السكاكر الألدوزية
36	3.3 أنماط التصالبات في الجيلاتين
37	4.3 العوامل التي تسبب التصالبات في الجيلاتين
37	1.4.3 المواد الكيميائية
38	2.4.3 الرطوبة
40	3.4.3 درجة الحرارة
41	4.4.3 الضوء
42	الفصل الرابع
42	الدوكسيسكلين Doxycycline

42	1.4 الخواص الدوائية للدوكسيسكلين
43	2.4 الحركات الدوائية
43	3.4 الاستطبابات والجرع الموصى بها لمحافظ الدوكسيسكلين
44	4.4 الآثار الجانبية ومضادات الاستطباب
44	5.4 الأشكال الصيدلانية للدوكسيسكلين الموجودة في السوق الدوائية
37	6.4 تحليل الدوكسيسكلين
45	7.4 ثباتية الدوكسيسكلين
46	الدراسة العملية
47	الفصل الأول
47	المواد والطرائق والأجهزة
47	1.1 المواد والأجهزة
47	1.1.1 المواد
47	2.1.1 الأجهزة والأدوات
48	2.1 الطرائق المستخدمة
48	1.2.1 تحضير وقاء من حمض كلور الماء 0.01N
48	2.2.1 تحضير السلسلة العيارية للدوكسيسكلين في حمض كلور الماء 0.01N
49	3.2.1 الاختبارات المجراة على المحافظ
51	4.2.1 ظروف التخزين
51	5.2.1 مقارنة سلوك الانحلال
52	الفصل الثاني

52.....	النتائج والمناقشة
52.....	1.2 الاختبارات المجرأة على محافظ الدوكسيسكلين الجيلاتينية الصلبة
52.....	1.1.2 اختبار المظهر الخارجي
52.....	2.1.2 اختبار تجانس الوزن
53.....	3.1.2 اختبار تجانس المحتوى
54.....	4.1.2 تحديد محتوى المحافظ من الدوكسيسكلين بعد التخزين
54.....	2.2 دراسة تأثير ظروف التخزين على التحرر
55.....	2.2.2 التخزين في الظروف (40 °C & 60% RH)
57.....	1.2.2 التخزين في الشروط (40 °C & 75% RH)
59.....	3.2.2 التخزين في الظروف (25 °C & 75% RH)
60.....	4.2.2 التخزين في الظروف (25 °C & 60% RH)
62.....	5.2.2 التخزين على الرف
64.....	3.2 مقارنة سلوك الانحلال باستخدام طريقة معامل التشابه
67.....	4.2 الاستنتاجات
68.....	5.2 التوصيات
69.....	6.2 المراجع
75.....	الملاحق
76.....	ملحق (1)
76.....	مخططات الانحلال بعد التخزين في الظروف (40 °C & 75%) و (40 °C & 60%)
77.....	ملحق (2)

النسبة المئوية المتحررة مع الزمن من محافظ الدوكسيسكلين الجيلاتينية الصلبة المخزنة77

في الظروف المختلفة.....77

فهرس الجداول

الصفحة	الجدول
28.....	الجدول (1) : درجات الحرارة والرطوبة النسبية الموافقة للمناطق المناخية
38.....	الجدول (2) : أهم المركبات الكيميائية التي تسبب التصالبات في الجيلاتين
51.....	الجدول (3) : شروط التخزين المختلفة والمدة الزمنية لكل منها
49.....	الجدول (4) : الاختلافات المسموح بها حسب دستور الأدوية الأوروبي
52.....	الجدول (5) : نتائج اختبار تجانس الوزن للمحافظ (عشرون كبسولة)
53.....	الجدول (6) : نتائج محتوى المحافظ من الدوكسيسكلين (عشرة محافظ)
	الجدول (7) : قيم معاملي الاختلاف والتشابه بين المحافظ قبل التخزين والمحافظ المخزنة في الظروف
64.....	المختلفة

فهرس الأشكال

الصفحة

الشكل

- الشكل 1 : أشكال مختلفة للمحافظ الجيلاتينية اللينة..... 21
- الشكل 2 : الشكل النموذجي للمحافظ الجيلاتينية الصلبة..... 21
- الشكل 3 : آلية حدوث التصلبات عن طريق نزع الأمين التأكسدي..... 33
- الشكل 4 : آلية حدوث التصلبات عن طريق تفاعل المجموعات الأمينية في الليزيل مع ألدهيد خارجي... 34
- الشكل 5 : آلية حدوث التصلبات عن طريق تفاعل إيمين شرجبي مع مجموعات أمينية حرة..... 35
- الشكل 6 : آلية حدوث التصلبات عن طريق تفاعل الساكار الألدوزية..... 35
- الشكل 7 : أنماط التصلبات في الجيلاتين..... 36
- الشكل 8 : تأثير الرطوبة على hexamethyl tetramine 39
- الشكل 9: الصيغة المفصلة للدوكسيسكلين هيكلات..... 42
- الشكل 10 : السلسلة العيارية للدوكسيسكلين في الحمض..... 48
- الشكل 11 : مخطط يوضح وسطي محتوى المحافظ من الدوكسيسكلين قبل وبعد التخزين..... 54
- الشكل 12 : كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ قبل التخزين..... 55
- الشكل 13 : مخطط الانحلال بعد التخزين في الظروف (40 C&75% RH) للمدة المذكورة..... 58
- الشكل 14 : مخطط يبين الكمية المتحررة من الدوكسيسكلين عند الدقيقة 60 وذلك في نهاية كل شهر من التخزين في الظروف (40 C&75%RH)..... 58
- الشكل 15 : مخطط الانحلال بعد التخزين في الظروف (40 C&60% RH) للمدة المذكورة..... 56
- الشكل 16 : مخطط يبين الكمية المتحررة من الدوكسيسكلين عند الدقيقة 60 وذلك في نهاية كل شهر من التخزين في الظروف (40 C&60%RH)..... 56
- الشكل 17 : مخطط الانحلال بعد التخزين في الظروف (25 C&75% RH) للمدة المذكورة..... 59

- الشكل 18 : مخطط يبين الكمية المتحررة من الدوكسيسكلين عند الدقيقة 60 وذلك في نهاية كل شهر من التخزين في الظروف (25 C&75%RH).....60
- الشكل 19 : مخطط الانحلال بعد التخزين في الظروف (25 C&60% RH) للمدة المذكورة.....61
- الشكل 20 : مخطط يبين الكمية المتحررة من الدوكسيسكلين عند الدقيقة 60 وذلك في نهاية كل شهر من التخزين في الظروف (25 C&60%RH).....61
- الشكل 21 : مخطط الانحلال بعد التخزين على الرف للمدة المذكورة.....62
- الشكل 22 : مخطط يبين الكمية المتحررة من الدوكسيسكلين عند الدقيقة 60 وذلك في نهاية كل شهر من التخزين على الرف.....63
- الشكل 23 : كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ عند الدقيقة 60 بعد ستة أشهر من التخزين في الظروف (40 C/75%RH, 40 C/60%RH, 25 C/75%RH).....64

جدول الاختصارات

شرح الاختصار	الاختصار
Acceptance Value	AV
Active Pharmaceutical Ingredient	API
Biopharmaceutics Classification System	BCS
Capillary Electrophoresis	CE
Difference Factor	F1
European Pharmacopeia	Eur. Ph.
Food and Drug Administration	FDA
Hard Gelatin Capsules	HGCs
High Performance Liquid Chromatography	HPLC
Hydroxy Propyl Methyl Cellulose	HPMC
In Vitro_ In Vivo Correlation	IVIVC
Poly Ethylene Glycole	PEG
Relative Humidity	RH
Similarity Factor	F2
Soft Gelatin Capsules	SGCs
Sugar Coated Tablets	SCTs

ملخص البحث

يهدف هذا البحث لدراسة تأثير درجات حرارة ورطوبة نسبية مختلفة (40 °C & 75%RH ، 40 °C & 60%RH ، 25 °C & 75%RH ، 25 °C & 60%RH) على كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ الجيلاتينية الصلبة. ومقارنة سلوك انحلال المحافظ المخزنة في الظروف المختلفة مع سلوك انحلال المحافظ قبل التخزين، بالاعتماد على طريقة معامل التشابه (Similarity factor)، وفقاً لمنظمة الغذاء والدواء الأمريكية Food and Drug Administration (FDA).

تم التأكد من ثباتية الدوكسيسكلين من خلال معايرة محتوى المحافظ قبل البدء بالتخزين وبعد انتهاء التخزين، فلم تتغير كمية المادة الدوائية بعد تعريضها لشروط التخزين المستخدمة في البحث. إلا أن كمية الدواء المتحررة من المحافظ انخفضت بمقدار (21%، 25%، 32%) بعد ستة أشهر من التخزين في الظروف (40 °C & 75%RH ، 40 °C & 60%RH ، 25 °C & 75%RH) على التوالي، وهذا يخالف متطلبات الانحلال الواردة في دستور الأدوية الأمريكي USP30-NF25 الذي يطلب تحرر ما لا يقل عن 85% خلال 60 دقيقة. تعرضت المحافظ المخزنة على الرف (حزيران_تشرين الثاني) لدرجات حرارة تراوحت بين (21-30 °C) ورطوبة نسبية تراوحت بين (30-78%) فلم يحدث إلا تغير بسيط في معدلات التحرر بعد ستة أشهر من التخزين، محققة بذلك شروط الانحلال المذكورة في الدستور. أما عند التخزين لمدة ثلاثة أشهر في الظروف (25 °C & 60%RH)، لم تتغير كمية الدواء المتحررة من المحافظ.

مقدمة عامة

تعتبر المحافظ الجيلاتينية الصلبة أشكال صيدلانية شائعة الاستخدام، ويعد الجيلاتين الخيار الأول لصناعة قشرة هذه المحافظ بسبب خصائصه المناسبة كالانحلالية في السوائل البيولوجية عند درجة حرارة الجسم وسهولة الانتباج وقدرته على حمل الأصبغة والمواد العاتمة. إلا أن أبرز السلبيات التي لوحظت على هذه الأشكال الصيدلانية هي مشكلة عدم الانحلال الكامل للقشرة، حيث لاحظت العديد من الدراسات عدم تحرر كامل كمية الدواء من المحافظ الجيلاتينية عندما يتم تخزينها في ظروف غير مثالية، وبالدراسة تبين بأن الجيلاتين هو المسؤول عن ذلك. إذ يحدث ما يسمى بالتصالب cross-linking وفيه ترتبط السلاسل الجيلاتينية مع بعضها بطريقة غير منتظمة ليتشكل غشاء منتفخ، مطاطي ومتمين أثناء الانحلال يعيق تحرر الدواء.

تأتي أهمية البحث من تقييم تأثير ظروف التخزين (الحرارة المرتفعة والرطوبة العالية) على تحرر الدوكسيسكلين من المحافظ الجيلاتينية الصلبة، بالإضافة للتنبؤ عن سلوك الدواء في الوسط الحيوي in vivo. حيث أن المادة الدوائية Doxycycline hyclate تنتمي للصف الأول class I بحسب نظام تصنيف الصيدلة الحيوية (BCS) Biopharmaceutics Classification System ، ووفقاً لمنظمة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) يتم الاعتماد على معطيات الانحلال في الزجاج دون الحاجة لإجراء دراسات التكافؤ الحيوي في الجسم الحي في الحالة التي يكون فيها الدواء المدروس عالي الانحلالية وعالي النفاذية (Class I).

يهدف هذا البحث لدراسة تحرر الدوكسيسكلين من المحافظ الجيلاتينية الصلبة المخزنة في ظروف مختلفة، ومقارنة سلوك انحلال المحافظ المخزنة في تلك الظروف مع سلوك انحلال المحافظ قبل التخزين بالاعتماد على طريقة معامل التشابه Similarity Factor.

الدراسة النظرية
Theoretical Study

الفصل الأول

مراقبة جودة المحافظ

Capsules quality control

1.1 مقدمة

يعود أصل كلمة كبسولة (محفظة) capsule إلى اللاتينية capsula والتي تعني علبه صغيرة^[1]. ويعرف دستور الأدوية الأوروبي (European Pharmacopeia (Eur. Ph.) الكبسولات كمايلي:

" الكبسولات (المحافظ) عبارة عن محضرات صلبة، ذات قشرة صلبة أو لينة، موجودة بأشكال وسعات مختلفة، تحتوي على جرعة واحدة (مفردة) من المادة الفعالة، توصف بغرض الإغطاء الفموي^[2].

يمكن أن يوضع بداخلها واحد أو أكثر من المكونات الدوائية الفعالة، وتكون مصنوعة عادةً من الجيلاتين^[3]. تؤخذ المحافظ عادةً فموياً ولكن هناك أيضاً محافظ تؤخذ استنشاقاً أو مهلبياً^[4] أو عن طريق المستقيم^[5]. وتمتلك المحافظ ميزات عديدة، فهي ذات مظهر جذاب وتقع الطعم والرائحة غير المرغوبة لبعض الأدوية، كما أنها تتطلب عدداً أقل من السواغات بالمقارنة مع المضغوطات^[1] وتعتبر أفضل منها في حالة المواد الفعالة ذات قابلية الانضغاط المنخفضة أو الانحلالية المنخفضة أو ذات الطعم المر^[6]، أما بالنسبة للقشرة الجيلاتينية فهي تهضم بسهولة وسرعة في الجهاز الهضمي.

هناك بالمقابل بعض المساوئ حيث من الممكن أن تمتص المواد الماصة للرطوبة الماء من قشرة المحافظ مما يجعلها هشّة وهذا يعني أن هذه المواد غير مناسبة لتماماً داخل المحافظ. بالإضافة إلى التصالبات التي قد تحدث في الجيلاتين (المكون الأساسي للقشرة) عند التخزين في شروط مسرعة^[1].

على الرغم من أن العديد من محافظ الهيدروكسي بروبيل ميثيل سيللوز hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) المخصصة من أجل النباتات الطبية المسحوقة والمكملات الغذائية أصبحت متوفرة في السنوات الأخيرة إلا أن معظم المحافظ الدوائية المتوفرة في السوق تكون مصنوعة من الجيلاتين^[7].

تقسم المحافظ الجيلاتينية إلى نوعين: المحافظ الصلبة والمحافظ اللينة^[1].

● المحافظ الجيلاتينية اللينة (Soft gelatin capsules(SGCs)^[3]

تعتبر الخيار الأنسب للمواد ذات القوام السائل أو نصف الصلب كما أنها تستخدم على نحو واسع بأشكال كروية وبيضوية من أجل مستحضرات الفيتامينات مثل زيت كبد السمك. تتكون قشرتها من الجيلاتين والماء، بالإضافة إلى الملدنات مثل الغليسيرول أو السوربيتول الذي يستخدم بنسبة تصل حتى 30% ليكسبها الليونة، وهي متوفرة بأشكال وسعات مختلفة، الشكل (1).

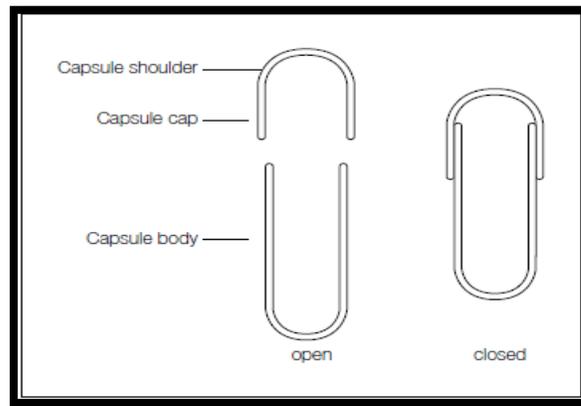


الشكل 1 : أشكال مختلفة للمحافظ الجيلاتينية اللينة

● المحافظ الجيلاتينية الصلبة (Hard gelatin capsules(HGCs)

تتألف الكبسولة من قشرتين إحداهما جسم الكبسولة capsule body والأخرى هي الغطاء capsule cap الذي ينزلق فوق النهاية المفتوحة لجسم الكبسولة ليتشكل شكل اسطواني مغلق^[8]، الشكل (2). يمكن أن تعبأ بمواد مختلفة القوام مثل المساحيق والحثيرات والمضغوظات والمعاجين والسوائل اللامائية^[3].

تتكون قشرة المحافظ الصلبة عادة من الجيلاتين (المستخدم بنسبة 30%) والماء (65%) بشكل أساسي. يمكن أن تحتوي أيضاً على ملدنات، أصبغة، ملونات، مطعومات وسكر^[9,3].



الشكل 2 : الشكل النموذجي للمحافظ الجيلاتينية الصلبة^[10]

2.1 اختبارات المراقبة للمحافظ Quality control tests of capsules

يجب أن تجرى على المحافظ مجموعة من الاختبارات لمراقبة جودتها. هذه الاختبارات هي:
اختبار تجانس الوزن، اختبار تجانس المحتوى، اختبار التففت، اختبار الانحلال^[1] واختبارات الثباتية.
بالإضافة للاختبارات السابقة يجب أن تجرى فحوص بصرية لمراقبة الشكل، القياس، اللون والتعبئة^[3].

1.2.1 اختبار تجانس الوزن Weight uniformity test

يفيد هذا الاختبار في التأكد من تجانس وزن محتوى المحافظ لأن اختلاف وزن محتوى المحافظ فيما بينها يؤثر في تجانس الوحدات الجرعية.

2.2.1 اختبار تجانس المحتوى Content uniformity test

يعبر مصطلح تجانس المحتوى عن مدى التجانس في كمية المادة الدوائية بين الوحدات الجرعية إذ يجب أن تحتوي كل كبسولة من الوجبة المحضرة على كمية من المادة الدوائية مكافئة تقريباً لكمية المادة الدوائية المصرح بها على الغلاف الخارجي.

3.2.1 اختبار التففت Disintegration test

يحدد اختبار التففت فيما إذا كانت المحافظ ستفتت خلال الوقت المحدد عندما توضع في وسط سائل بوجود شروط تجريبية محددة. ويعتبر هذا الاختبار محقق في حال عدم وجود أي بقايا على المنخل الخاص بالجهاز المستخدم لإجراء الاختبار، باستثناء الأجزاء المتبقية من قشرة المحافظ على المنخل^[2].

تتحل المحافظ بسرعة في الماء عند درجة حرارة 37°C . عندما تنخفض درجات الحرارة عن ذلك فإن معدلات الانحلال سوف تنخفض، مثلاً عند درجة حرارة حوالي 30°C تصبح المحافظ غير منحلة. وهذا عامل هام يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار عند إجراء فحوص التففت والانحلال. لذلك فإن معظم الدساتير تنص على أنه يجب أن تكون درجة حرارة الوسط الذي تنجز فيه تلك الاختبارات هي $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ ^[3].

4.2.1 اختبار الانحلال Dissolution test

يُفيد اختبار الانحلال في تحديد معدل انحلال المكونات الفعالة الموجودة في الأشكال الصيدلانية الصلبة مثل المضغوطات والمحافظ^[2]. لذلك يعتبر اختبار تحليلي مفتاحي للكشف عن التغيرات الفيزيائية التي من الممكن أن تحدث للمكونات الدوائية الفعالة (API) active pharmaceutical ingredient وللمنتج النهائي^[12].

وقد أصبح هذا الاختبار خلال السنوات الأخيرة أحد الاختبارات الهامة المعتمدة لتطوير الأشكال الصيدلانية، ومراقبة الدواء أثناء التصنيع، وتقييم جودة المنتجات، وفي بعض الحالات للتنبؤ عن مشاكل التوافر الحيوي الممكنة ولتقييم الحاجة إلى دراسات التكافؤ الحيوي^[13].

يتم إجراء اختبار الانحلال للأشكال الصيدلانية الصلبة الفموية غالباً بواسطة طريقة السلة basket (USP apparatus 1)، أو المجداف paddle (USP apparatus 2) باستخدام 500، 900 أو 1000 مل من وسط الانحلال يتحرك متوسط السرعة (100 دورة/دقيقة في حالة السلة، و50-75 دورة/دقيقة في حالة المجداف) في وسط وقاء بدرجات حموضة pH مجالها يتراوح بين (1.2-6.8)^[14].

تعرض المعلومات التي يتم جمعها خلال اختبارات الانحلال كمنحنيات، حيث توضع الكمية المتحررة بيانياً بدلالة الزمن. من الشائع عملياً أن تتم مراقبة تحرر الدواء عند عدة نقاط زمنية، أو يمكن متابعة التحرر حتى انحلال 100% من الجرعة، وعندئذٍ يمكن أن توضح منحنيات الانحلال بيانياً تحرر الدواء مع الزمن. لا تتطلب دساتير الأدوية عادةً تحديد منحنى الانحلال، ولكنها تذكر كمية محددة من الدواء يجب أن تتحل (أو لا تتحل في حالة المنتجات الملبسة معويًا) في زمن محدد^[15].

1.4.2.1 الانحلال المتعلق بقواعد منظمة الغذاء والدواء الأمريكية "FDA"

شجعت منظمة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) مؤخراً شركات الأدوية لتجري العلاقة بين توافر الدواء في الوسط الحيوي in vivo والانحلال في الزجاج in vitro. كما قامت بتطوير القواعد المتعلقة باختبار الانحلال نظراً لأهميته، والتي تقدم معطيات ومتطلبات لتطوير منهجية اختبار الانحلال، وسمات إجراءاته، والتطبيقات التشريعية له.

حيث نشرت في عام 1997 قواعد تتعلق باختبار الانحلال للأشكال الصيدلانية الفموية الصلبة آنية التحرر، وقواعد للأشكال الصيدلانية الفموية الصلبة مطولة التحرر تتضمن التطوير والتقييم والتطبيقات للعلاقة في الزجاج/داخل الجسم الحي. أما في عام 2000 فقد نشرت قواعد حول إسقاط دراسات التوافر

الحيوي والتكافؤ الحيوي داخل الجسم الحي للأشكال الصيدلانية الفموية الصلبة آنية التحرر بالاعتماد على نظام تصنيف الصيدلة الحيوية^[17,16,14].

يجب أن تتم دراسة سلوك منحنيات الانحلال لتمييز أداء المنتجات الدوائية آنية التحرر في الزجاج ، كما يجب أن تتم مقارنة سلوك منحنيات الانحلال dissolution profile comparison، لضمان تشابه المنتجات الدوائية بين قبل وبعد تغييرات التطوير التي تجرى على هذه المنتجات، ولكي يتم تقييم مقارنة سلوك منحنيات الانحلال بشكل موضوعي، فقد أقرت الـ FDA طريقة بسيطة لمقارنة سلوك منحنيات الانحلال تعرف بمعامل التشابه (F2) similarity factor، وقد قامت الصناعة الصيدلانية بالاعتماد على هذه الطريقة لضمان تشابه المنتج عند إجراء التغييرات في عملية التصنيع.

2.4.2.1 نظام تصنيف الصيدلة الحيوية (BCS) Biopharmaceutics Classification System

تعتبر الـ BCS هيئة علمية تقوم بتصنيف المواد الدوائية بالاعتماد على الانحلالية المائية والنفاذية المعوية، وتبرر الاعتماد على معطيات الانحلال في الزجاج في التوافر الحيوي من دون الحاجة لدراسة التكافؤ الحيوي داخل الجسم الحي في حالات محددة، والتي تبنى على الانحلالية المائية، والنفاذ المعوي للمادة الدوائية، وانحلال المنتج الدوائي، وعند الجمع مع معطيات الانحلال للمنتج الدوائي تتضمن قواعد الـ BCS ثلاثة عوامل رئيسية، والتي تؤثر على سرعة ومدة امتصاص الدواء من الأشكال الصيدلانية آنية التحرر، ألا وهي: معدل الانحلال dissolution rate، الانحلالية solubility، والنفاذ المعوي intestinal permeability^[16].

تصنف المواد الدوائية حسب الـ BCS إلى:

الصف 1: مرتفع الانحلالية/مرتفع النفاذ High Solubility/High Permeability

الصف 2: منخفض الانحلالية/مرتفع النفاذ Low Solubility/High Permeability

الصف 3: مرتفع الانحلالية/منخفض النفاذ High Solubility/Low Permeability

الصف 4: منخفض الانحلالية/منخفض النفاذ Low Solubility/Low Permeability

تستند القواعد الحالية للـ FDA في التنازل عن متطلبات التكافؤ الحيوي على المبادئ الواردة في نظام تصنيف الصيدلة الحيوية (BCS) Biopharmaceutics Classification System، الذي يقترح بأنه يمكن أن يتم توقع العلاقة في الزجاج _ داخل الجسم الحي (IVIVC) In Vitro-In Vivo Correlations بالنسبة

إلى الأدوية ذات الانحلالية المرتفعة والنفاذية المرتفعة، إذا كان معدل الانحلال أقل من معدل الإفراغ المعدي. في حالة الدواء ذي الانحلالية المنخفضة والنفاذية المرتفعة، يمكن أن تكون انحلالية الدواء الخطوة المحددة لمعدل امتصاص الدواء، ويمكن توقع علاقة ترابط بين الزجاج والجسم الحي، وفي حالة الدواء ذي الانحلالية المرتفعة والنفاذية المنخفضة، فالنفاذية هي الخطوة المحددة للمعدل، أما في حالة الدواء ذي الانحلالية المنخفضة والنفاذية المنخفضة، فمن المحتمل وجود صعوبات كبيرة في إيتاء الدواء فموياً^[14].

3.4.2.1 مقارنة سلوك الانحلال Dissolution profile comparision^[14]

أعطت ال FDA في السنوات الأخيرة أهمية خاصة لمقارنة سلوك الانحلال، ولاسيما في مجال التغييرات قبل التطوير، وللتخلي عن دراسات التكافؤ الحيوي داخل الجسم الحي. تقيم مقارنة سلوك الانحلال التشابه في أداء المُنتَج عند المقارنة بين المنتجات قبل التغيير pre-change (المرجعي reference)، وبعد التغيير post-change (المنتج المختبر test product).

يمكن أن تجرى مقارنة سلوك الانحلال إما باستخدام طرائق تعتمد على النماذج أو طرائق لا تعتمد على النماذج.

• الطريقة غير المعتمدة على النماذج باستخدام معامل التشابه (Similarity Factor)^[18-14]

تعتبر الطريقة الأبسط والأوسع تطبيقاً، حيث يعتمد هذا النموذج على استخدام معامل الاختلاف Difference Factor (F1)، ومعامل التشابه Similarity Factor (F2)، لمقارنة سلوك الانحلال (Moore 1996)

يحسب معامل الاختلاف (F1) النسبة المئوية للاختلاف بين كلا المنحنيين عند كل نقطة زمنية، وهو قياس للخطأ النسبي بين كلا المنحنيين:

$$f_1 = \left\{ \left[\sum_{t=1}^n |R_t - T_t| \right] / \left[\sum_{t=1}^n R_t \right] \right\} \cdot 100 \quad \text{العلاقة (1)}$$

حيث n عدد النقاط الزمنية، R_t قيمة الانحلال للمنتج المرجعي reference (قبل التغيير prechange) عند الزمن t ، و T_t قيمة الانحلال للمنتج المُختَبَر test (بعد التغيير postchange) عند الزمن t .

معامل التشابه similarity factor (F2) هو معامل لوغاريتمي لمقلوب الجذر التربيعي لمجموع مربع الخطأ، وهو قياس للتشابه بالنسبة المئوية للانحلال بين المنحنيين:

$$f_2 = 50 \cdot \log \{ [1 + (1/n) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2]^{-0.5} \cdot 100 \} \quad \text{العلاقة (2)}$$

هناك إجراءات محددة يتم اتباعها عند تحديد معاملي الاختلاف والتشابه:

1- تحديد منحنى الانحلال للمنتجين (12 وحدة لكل منهما): المُختَبَر (بعد التغيير postchange)، والمرجعي reference (قبل التغيير prechange).

2- باستخدام قيم متوسط الانحلال عند كل فاصل زمني، يتم حساب معاملي الاختلاف (F1) والتشابه (F2) من خلال المعادلات الموضحة أعلاه.

3- حتى تعتبر المنحنيات متشابهة يجب أن تكون قيمة معامل الاختلاف (F1) قريبة إلى الصفر، وقيمة معامل التشابه قريبة من 100، عموماً عندما تكون قيمة معامل الاختلاف (F1) بين (0-15) وقيمة معامل التشابه (F2) أكبر من 50 (50-100) تضمن التشابه sameness أو التكافؤ equivalence بين المنحنيين وبالتالي بين أداءى المنتجين: المُختَبَر والمرجعي.

تعتبر هذه الطريقة الرياضية المستقلة الأكثر ملاءمة لمقارنة سلوك الانحلال، عند وجود 3-4 نقط زمنية أو أكثر.

5.2.1 اختبارات الثبات Stability tests [20,19]

إن الهدف من اختبار الثباتية stability test هو تحديد التغيرات التي من الممكن أن تحدث في جودة المحتوى الدوائي الفعال أو المنتج الدوائي النهائي مع الوقت، وذلك تحت تأثير عوامل بيئية متنوعة مثل الحرارة والرطوبة والضوء. كما أنه يفيد في معرفة فترة التخزين المناسبة للمحتوى الدوائي الفعال أو عمر التخزين على الرف shelf life للمنتج الدوائي النهائي وشروط التخزين المناسبة.

هناك أهداف مختلفة لاختبارات الثبات يجب تحديدها قبل البدء بهذه التجارب:

1. اختيار صيغة صيدلانية مناسبة للتصنيع من بين مجموعة صيغ مقترحة، إضافة إلى اقتراح العبوة.
2. تعيين العمر على الرف shelf-life للدواء وشروط تخزينه المناسبة.
3. تأكيد العمر على الرف المقترح.
4. التحقق من عدم حصول تغيرات في الصيغة الصيدلانية المسوقة.

وبناءً على هذه الأهداف فإن نماذج الدراسة ستختلف، فهناك الاختبارات المسرعة accelerated tests التي تفيد في مرحلة صياغة المستحضر أو تطويره. وهناك الاختبارات طويلة الأمد long-term أو ما يعرف باختبارات الثبات الواقعية التي يجب أن تضمن في ملف تسجيل المستحضر لدى سلطات تنظيم شؤون الدواء، كما أنها مفيدة في مراقبة جودة المستحضر ما بعد التسويق.

1.5.2.1 اختبارات الإجهاد Stress Tests

تجرى هذه الاختبارات على مجموعة من الصيغ الصيدلانية لاقتراح الصيغة الأكثر ملاءمة للتصنيع من منطلق الثبات. تلاحظ تأثيرات الشروط الإجهادية على الخصائص الكيميائية والفيزيائية والمكروبيولوجية للصيغة الصيدلانية. من الشروط الإجهادية المطبقة: الحرارة المرتفعة، الضوء، والأكسجين بشكل مجتمع أو منفرد.

عند الوصول إلى الصيغة المناسبة، وطريقة تصنيعها المقترحة، يقوم قسم البحث والتطوير بمتابعة اختبارات الثبات المسرعة التي تؤدي بنهايتها إلى الوصول لتنبؤ العمر على الرف والشروط التخزينية المناسبة.

2.5.2.1 الاختبارات المسرعة Accelerated Tests

بعد اقتراح الصيغة المناسبة أو الأكثر ملاءمة من خلال اختبارات الإجهاد تبدأ الاختبارات المسرعة بدرجة حرارة مرتفعة نسبياً، مع إضافة عامل الرطوبة النسبية وأحياناً الضوء.

تجرى هذه الاختبارات بحسب برنامج زمني لا يتجاوز عادة ستة أشهر، حيث توضع عينات الاختبار ضمن حاضنات مخصصة لهذا الشأن ومبرمجة لعالمي الحرارة والرطوبة النسبية بشكل خاص، ثم يجرى اختبار ثباتها دورياً.

يتم اختيار درجة الحرارة 40 °C والرطوبة النسبية 75% لمعظم الأدوية، ويمكن اختيار شروط إضافية أشد أو أضعف قليلاً تبعاً للمعلومات المتوافرة عن ثبات المادة الدوائية أو المستحضر. تعد نتائج هذه الاختبارات أساساً للبدء بإجراءات تسجيل المستحضر لدى سلطات تنظيم شؤون الدواء.

3.5.2.1 الاختبارات طويلة الأمد أو اختبارات الثبات الواقعية Long-Term Tests

تجرى تحت تأثير شروط مشابهة لتلك المتوقع أن يواجهها المستحضر خلال تسويقه وتخزينه. هدف هذه الاختبارات تأكيد نتائج الاختبارات المسرعة بشروط طبيعية. تجرى أيضاً باستخدام حاضنات خاصة مضبوطة الحرارة والرطوبة النسبية.

تستخدم عادة مجموعة من الشروط المناخية المتوقع أن يسوق ويخزن فيها المستحضر ولفترات مختلفة تطول حتى تاريخ انتهاء الصلاحية المقترح.

قسم العالم مناخياً إلى أربع مناطق موضحة في الجدول (1) مع درجات الحرارة والرطوبة النسبية الموافقة.

الجدول (1): درجات الحرارة والرطوبة النسبية الموافقة للمناطق المناخية

المنطقة	الرطوبة	درجة الحرارة
(I) معتدل / Temperate	45%	21
(II) شبه استوائي / Subtropical	60%	25
(III) حار - جاف / Dry - Hot	35%	30
(IV) حار - رطب / Humid - Hot	70%	30

توضع العينات في الحاضنات التي تضبط فيها درجة الحرارة والرطوبة النسبية بحسب المنطقة التي سيسوق ويباع فيها الدواء. ثم يختبر ثباتها دورياً.

الفصل الثاني

الجيلاتين

Gelatin

1.2 مقدمة

تعتبر الصناعات الغذائية والدوائية والتصويرية المستخدم الأساسي للجيلاتين^[22,21] حيث تقدر نسبة الجيلاتين المستخدم في صناعة مختلف الأشكال الصيدلانية بما يقارب 17% من الجيلاتين الكلي المستهلك في جميع أنحاء العالم^[9]. يعود استخدام الجيلاتين في صناعة أشكال صيدلانية متنوعة إلى بداية القرن التاسع عشر. حالياً، تعتبر المحافظ الجيلاتينية الصلبة والمحافظ الجيلاتينية اللينة والمضغوطات الملبسة سكرياً من أكثر الأشكال الصيدلانية التي تستخدم الجيلاتين. فهو يعد الخيار الأول لصناعة قشرة المحافظ^[23] وذلك بسبب خصائصه المناسبة كالاتحالية في السوائل الحيوية عند درجة حرارة الجسم، سهولة الانتاج، قدرته على حمل الأصبغة والمواد العاتمة بالإضافة لأساسه المرن والقوي^[26,25,24].

2.2 تعريف

الجيلاتين هو عبارة عن مزيج من البروتينات المنحلة في الماء^[10] والمشتقة من الكولاجين بالحلمة^[27]. وتتألف أجزاء البروتين بمعظمها من الأحماض الأمينية amino acids، وهذه الأحماض الأمينية ترتبط مع بعضها بواسطة الرابطة الأميدية amide linkage لتشكيل بوليمير خطي يتراوح وزنه الجزيئي بين (15000– 250000 Mw)^[28].

بشكل عام، إن الأحماض الأمينية التي تدخل في تركيب الجيلاتين هي غليسين 25,5%، برولين 18%، هيدروكسي برولين 14,1%، غلوتاميك أسيد 11,4%، ألانين 8,5%، أرجينين 8,5%، أسبارتيك أسيد 6,6%، ليزين 4,1%، لوسين 3,2%، فالين 2,5%، فينيل آلانين 2,2%، تريونين 1,9%، إيزولوسين 1,4%، ميثيونين 1,0%، هيسثيدين 0,8%، ثيروزين 0,5%، سيرين 0,4%، سيستين وسيسثئين 0,1%^[9].

3.2 أنماط الجيلاتين Types of gelatin

يوجد نمطين للجيلاتين وكل نمط له صفات محددة حسب طريقة تصنيعه. النمط A من الجيلاتين (درجة حموضة محاليله بين 3.8-6.0، نقطة التعادل الكهربائي بين 6-8)، يتم الحصول عليه بالحلمهة الحمضية لجلود الحيوانات وهو يؤمن اللدونة والمرونة. النمط B من الجيلاتين (درجة حموضة محاليله بين 5.0-7.4، نقطة التعادل الكهربائي بين 4.7-5.0)، يتم الحصول عليه بالحلمهة القلوية لعظام وجلود الحيوانات وهو يؤمن قوة جيل عالية. إن الجيلاتين المستخدم في الصناعات الصيدلانية هو عبارة عن مزيج من هذين النمطين، على الرغم من أنه في بعض الحالات يستخدم النمط A لوحده أو النمط B لوحده .

هناك أنواع مختلفة من الجيلاتين بحبيبات مختلفة الحجم وأوزان جزيئية مختلفة تباع تجارياً على شكل صفائح شفافة أو حثيرات أو بودرة^[29,28,9,1].

4.2 خصائص الجيلاتين Properties of gelatin

الجيلاتين عملياً عديم الطعم والرائحة، غير منحل في الأسيتون والكلوروفورم والإيثانول (95%) والإيتر والميثانول. بينما ينحل في الغليسيرين والحموض والقلويات. على الرغم من ذلك فإن القلويات والحموض القوية تسبب ترسبه.

ينتج الجيلاتين ويلين في الماء ويمتص بشكل تدريجي حوالي 5-10 مرات وزنه من الماء بينما ينحل في الماء الساخن. يشكل الجيل في درجات حرارة بين (35-40 °C). أما في درجات حرارة أكثر من 40°C يشكل محلول. يتم الحصول على الجيل الذي يتمتع بلزوجة عالية في وسط قلوي.

يبيد الجيلاتين خصائص كيميائية حيث يتفاعل مع الحموض والأسس والألدهيدات والساكر الألدهيدية والبوليميرات الشرجبية والشرسبية والشوارد المعدنية والملدنات والمواد الحافظة^[30,28].

بشكل عام، عندما يتم استخدام الجيلاتين في الصيغ الفموية فإن الجيلاتين يصنف كمادة غير سامة. ولكن هناك عدد قليل من المقالات التي أشارت إلى ترافق إعطاء المحافظ الجيلاتينية مع تهيج موضعي لبطانة المري^[32,31].

5.2 تطبيقات واستعمالات الجيلاتين Applications and uses

يعتبر الجيلاتين ذا قيمة للصناعة الصيدلانية إذ يمكن أن يستخدم في العديد من الصيغ الصيدلانية. فهو المكون الأساسي المستخدم لتشكيل المحافظ الجيلاتينية الصلبة واللينة كما أنه يستعمل بشكل واسع في المضغوطات الملبسة سكرياً والمحاليل والشربات والمضغوطات والحللات وفي الحقن والمستحضرات الموضعية والمهبلية والسنية. تتضمن استخداماته الأخرى تحضير معاجين وأقراص مص وتحاميل بالإضافة لذلك يستخدم كعامل رابط وتليبس binder and coating agent في المضغوطات. حالياً يتم التأكد من إمكانية الجيلاتين ذو الوزن الجزيئي المنخفض من تحسين انحلالية الأدوية المعطاة فموياً.

يشكل الجيلاتين مقوصرات بسيطة simple coacervates في درجات حرارة أكثر من 40 °C وذلك بوجود عوامل مجففة مثل الإيتانول أو محلول سلفات الصوديوم 7%، وقد قام (Peters et al) بدراسة خصائص الجيلاتين من أجل استخدامه في عمليات القوصرة المعقدة^[33]. أيضاً يمكن أن يتم تليبس المحافظ الجيلاتينية من أجل استخدامات متنوعة^[34].

إن تصالب الجيلاتين Cross-linking of gelatin قبل أو بعد تجفيف المحافظ يسمح بالتححرر المطول للدواء^[35]. أيضاً يمكن استغلال تعريض الجيلاتين للفورم ألدهيد من أجل إنتاج محافظ معوية لينة وصلبة^[29]. تم استخدام الجيلاتين المتصالب كمادة بيولوجية في الأنسجة الحية من أجل تأمين التححرر المديد للدواء^[36].

ولكن من ناحية أخرى تعتبر التصالبات التي تحدث في القشرة الجيلاتينية للمحافظ ذات أثر سلبي على تححرر الدواء لأنها تسبب انخفاض معدلات تححرر الدواء من تلك المحافظ^[37].

الفصل الثالث

التصالبات في الجيلاتين و تغيرمعدل تحرر الدواء

cross-linking of gelatin and change in drug release rate

1.3 مقدمة

يعتبر انحلال قشرة المحافظ الجيلاتينية الصلبة شرطاً لتحرير محتواها، مما جعل هذا الموضوع مركز اهتمام العديد من الدراسات للتحرري عن الظروف المؤثرة على تحرر مختلف المواد الدوائية من محافظها. حيث أظهرت الدراسات أن التخزين في ظروف قاسية كالتخزين في درجات حرارة مرتفعة أو رطوبة مرتفعة أو التخزين لفترة طويلة^[40,39,38] يؤدي إلى انخفاض معدلات انحلال الأشكال الصيدلانية الحاوية على الجيلاتين في غلافها الخارجي وذلك بسبب التصالبات cross-linking التي يمكن أن تحدث في الجيلاتين^[41,37]. تسبب التصالبات تشكل غشاء منتفخ، رقيق جداً، قاسي وغير منحل في الماء يعرف باسم pellicle (القشرة) والتي تعمل كحاجز يعيق تحرر الدواء فهي لا تتمزق بسهولة بالتحفيز الخفيف مما يؤدي إلى انخفاض قيم الانحلال إلى درجة الرفض أحياناً^[44,43,42].

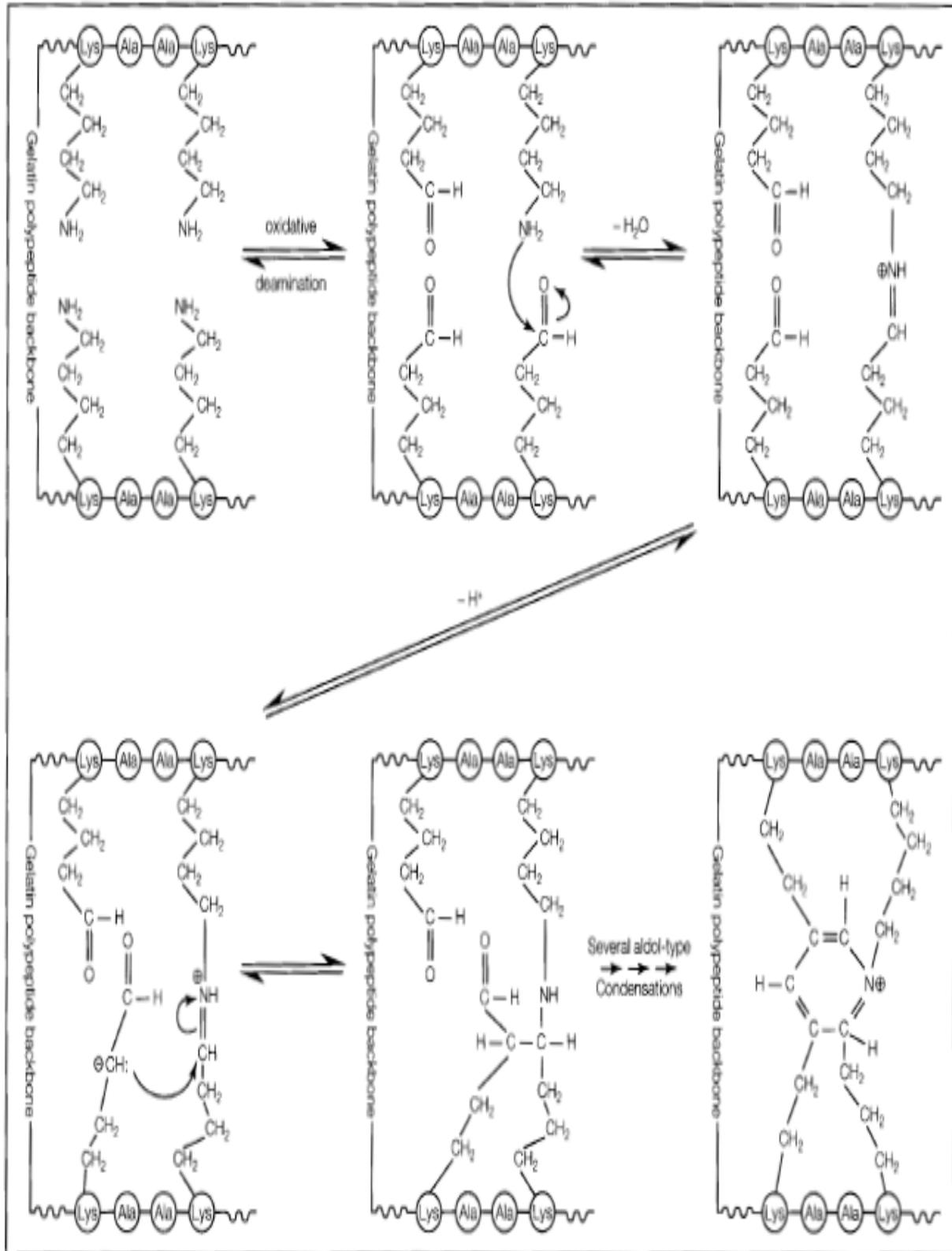
منذ القديم يوجد اهتمام كبير بموضوع عدم الانحلال الكامل لقشرة المحافظ في الزجاج. هذه المشكلة تم التحدث عنها أولاً في عام (1974) من أجل المحافظ الجيلاتينية الصلبة الحاوية على الكلورامفينيكول^[45] وفي عام (1977) من أجل المحافظ الجيلاتينية اللينة الحاوية على الديجوكسين^[46].

2.3 الآلية الكيميائية لحدوث التصالبات^[47,29,28,27]

تعتبر التصالبات التي تحدث في جزيئة الجيلاتين ظاهرة شائعة، يمكن أن تحدث عن طريق تفاعل كيميائي واحد أو أكثر. هذه التفاعلات هي:

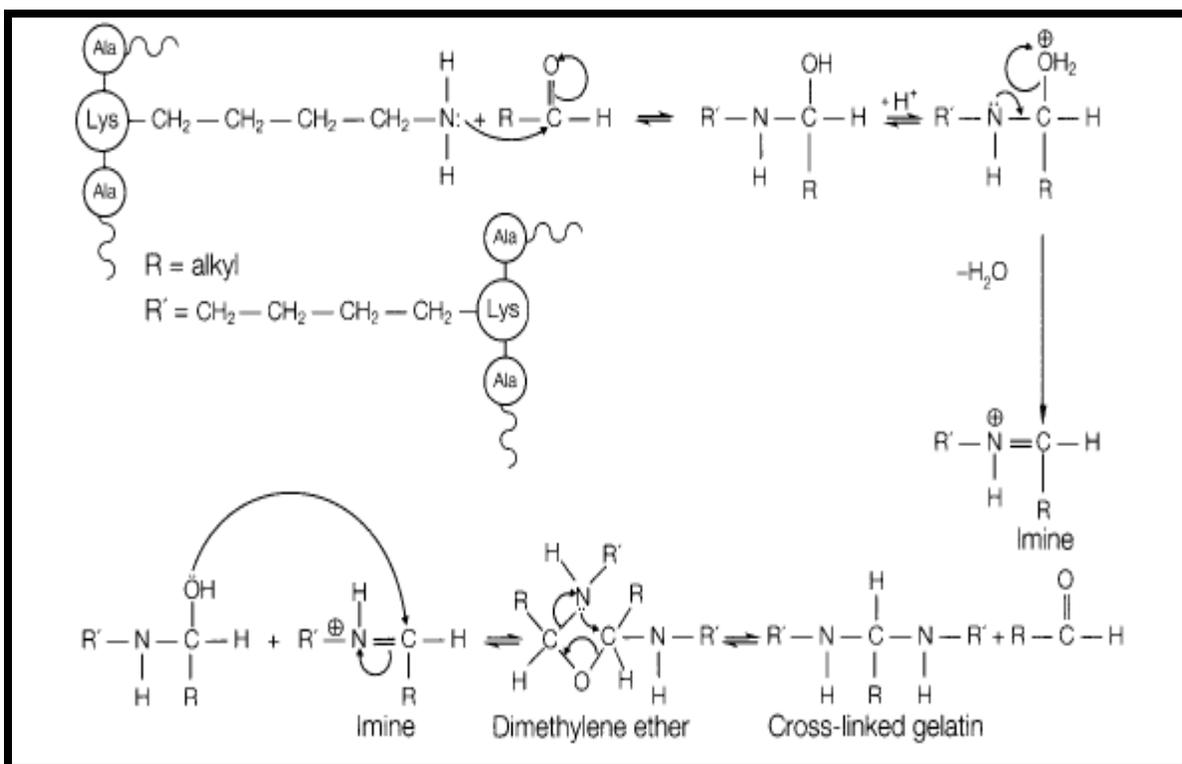
1.2.3 تفاعل نزع أمين تأكسدي oxidative deamination: يمكن أن تحدث عملية نزع أمين

تأكسدي لثمالات الليزين lysine residues التي تكون قريبة من بعضها البعض، الأمر الذي يؤدي إلى تشكل نهايات تحوي على مجموعات ألدهيدية. هذه المجموعات الألدهيدية تندمج مع مجموعة أمينية حرة تابعة للحمض الأميني الليزين المجاور ليتشكل إيمين imine والذي يخضع لاحقاً لسلسلة من تفاعلات التكاثف من النمط aldole-type لينتج عن ذلك منتج متصالب يحتوي على حلقات بيريدينيوم، الشكل (3).



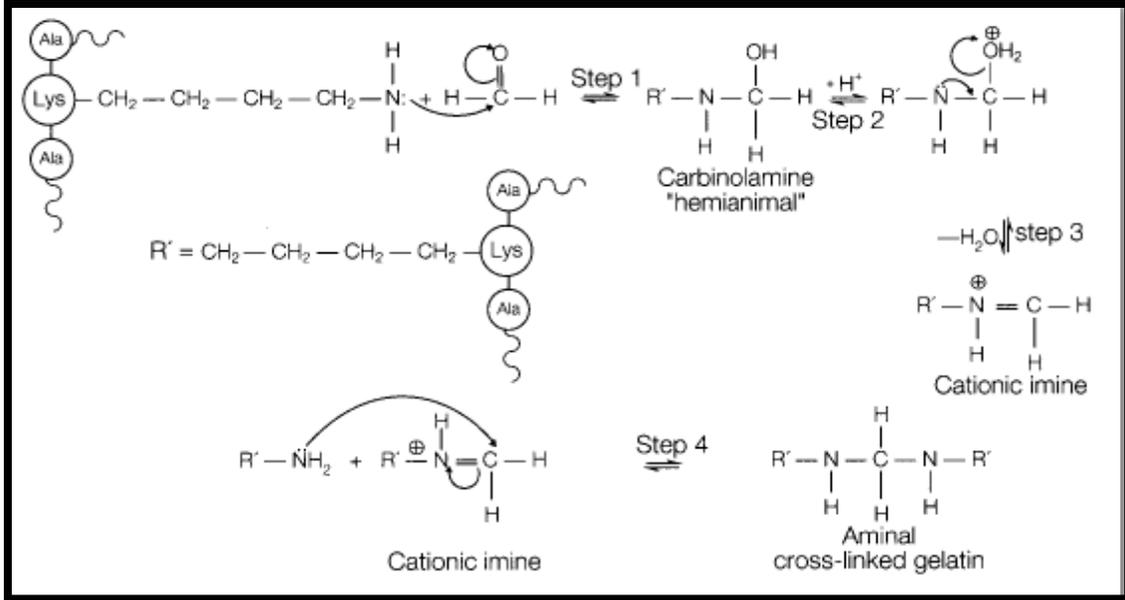
الشكل 3 : آلية حدوث التصالبات عن طريق نزع الأمين التأكسدي^[29]

2.2.3 تفاعل المجموعات الأمينية في الليزيل مع ألدهيد خارجي: والذي يكون متواجد في الصيغة كثنائية أو يتشكل في موقعه بسبب تعرض الصيغة لشروط بيئية سلبية، هذا التفاعل ينتج عنه المشتقات hydroxymethylamino والتي تخسر ماء ليتشكل إيمين شرجي cationic imine وهذا الأخير يتفاعل مع ثمالة hydroxymethylamino lysine ليتشكل ديميثيلين إيثر dimethylene ether ثم تخضع لإعادة ترتيب ليتشكل رابطة ميثيلين methylene link بين مجموعتين أمينيتين لليزين وهذا ينتج عنه حدوث التصالبات، الشكل (4).



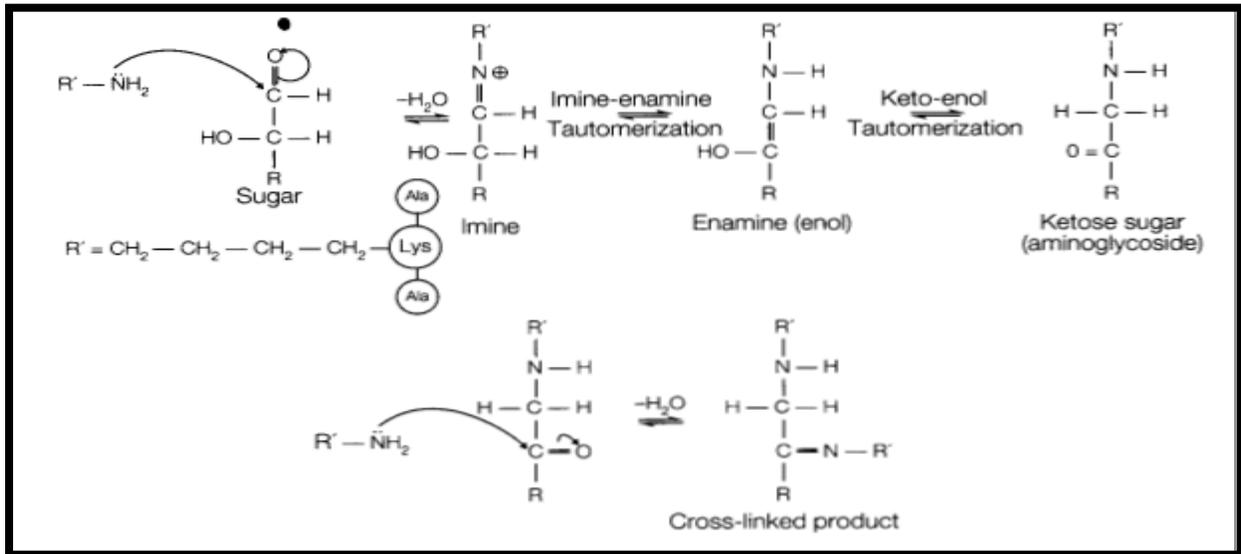
الشكل 4 : آلية حدوث التصالبات عن طريق تفاعل المجموعات الأمينية في الليزيل مع ألدهيد خارجي^[29]

3.2.3 تفاعل إيمين شرجي مع مجموعات أمينية حرة: يمكن أن تحدث التصالبات في الجيلاتين أيضاً بسبب تشكل aminal والذي ينتج من تفاعل إيمين شرجي مع مجموعات أمينية حرة. إن درجة حموضة الوسط (pH) تلعب دوراً هاماً في هذا النمط من التفاعل، الشكل (5).



الشكل 5 : آلية حدوث التصالبات عن طريق تفاعل إيمين شرجبي مع مجموعات أمينية حرة^[29]

4.2.3 تفاعل السكار الألدوزية: يمكن أن يحدث نمط مشابه من التفاعلات مع الغلوكوز أو غيره من السكار الألدوزية والتي تستخدم عادةً في الصيغ الصيدلانية. يتفاعل الإيمين المتشكل خلال تفاعل المجموعات الوظيفية الأدهيدية لهذه السكريات مع المجموعات الأمينية الحرة لينتج سكر كيتوزي، الشكل (6). يتفاعل السكر الكيتوزي بعدها مع أمين آخر من خلال وظيفته الكربونيلية ليشكل جيلاتين متصالب.

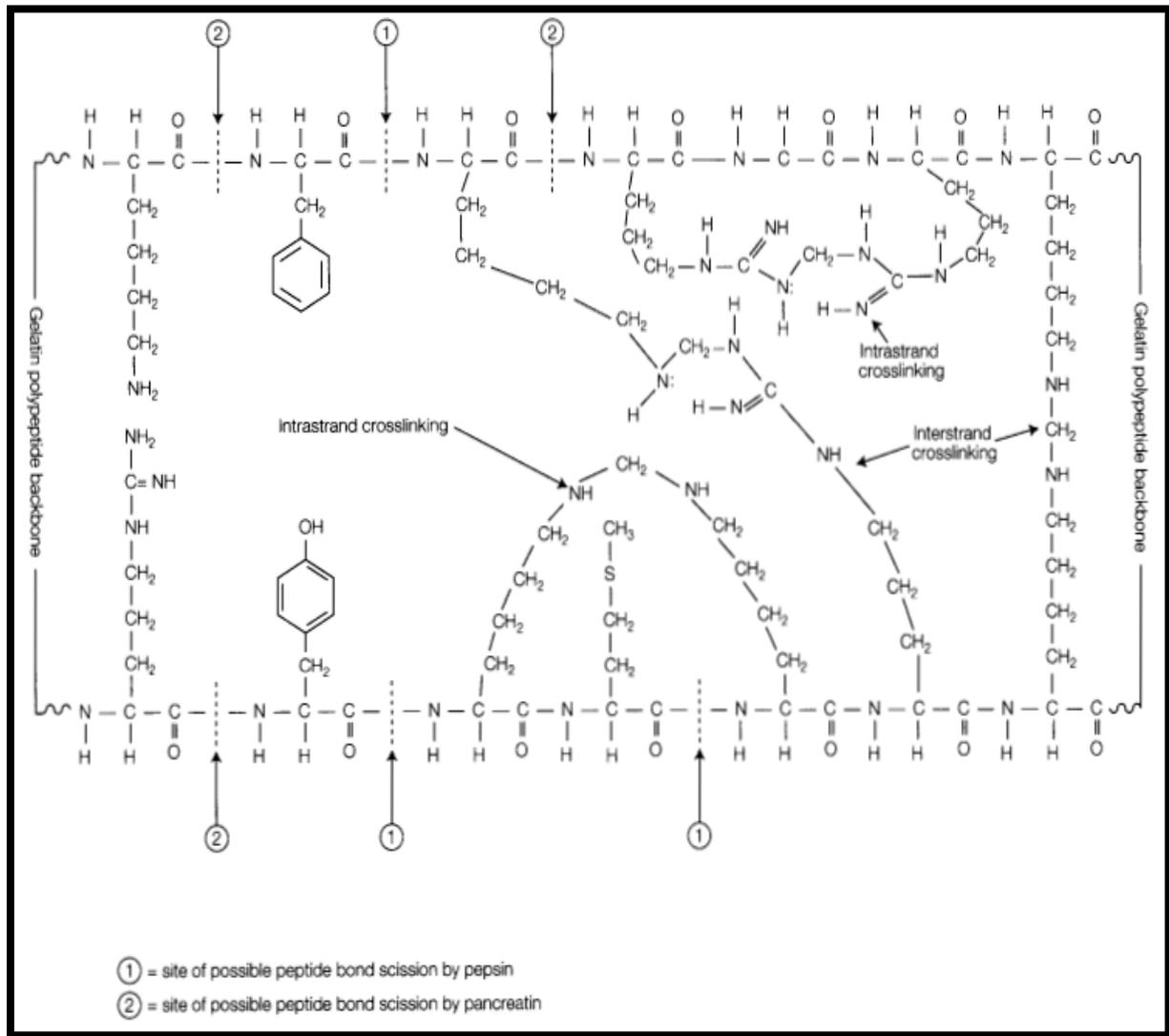


الشكل 6 : آلية حدوث التصالبات عن طريق تفاعل السكار الألدوزية^[29]

3.3 أنماط التصالبات في الجيلاتين

بشكل عام، إن التصالبات التي تحدث في السلاسل البولي ببتيدية الجيلاتينية ممكن أن تحدث بطريقتين، حيث يمكن أن تتشكل الجسور إما ضمن السلسلة البولي ببتيدية الواحدة - intrastrand cross-linking، أو أن تتشكل بين ثمالات الحموض الأمينية التابعة لسلسلتين ببتيديتين متجاورتين interstrand cross-linking، الشكل (7).

وكنتيجة للتصالبات تتم إزالة واستبدال الارتباطات المتشكلة في البنية الأصلية بارتباطات جديدة، وهذا يؤدي إلى نموذج تحرر في الزجاج مختلف عن النموذج الأصلي^[48].



الشكل 7 : أنماط التصالبات في الجيلاتين^[29]

4.3 العوامل التي تسبب التصالبات في الجيلاتين cross-linking

إن وجود المواد الكيميائية، الرطوبة العالية، الحرارة العالية والتعرض للضوء تبين أنها تلعب دور يحفز زيادة الوقت اللازم للانحلال في الزجاج بالنسبة للصيغ الحاوية على الجيلاتين في غلافها الخارجي [37,10].

1.4.3 المواد الكيميائية Chemicals

تعتبر بعض المواد الكيميائية من أهم العوامل التي تسبب حدوث التصالبات في الجيلاتين. يبين الجدول (2) المواد الكيميائية الأساسية التي تسبب حدوث تغيرات في بنية الجيلاتين [28]. حيث تمت دراسة تأثيرات الفورم ألدهيد formaldehyde على نطاق واسع مقارنة مع غيره من الكواشف الكيميائية.

يتحرر الفورم ألدهيد الموجود في الأشكال الصيدلانية من الملدنات والمواد الحافظة والدهون ومركبات البولي إيثيلين مثل Poly ethylene glycol (PEG) وإيترات الPEG والفينولات والكحولات الأليفاتية وجليسيريدات البولي إيثيلين والعوامل الفعالة سطحياً المعتدلة (بولي سوربات، أسترات الحموض الدسمة غير المشبعة) ونشاء الذرة الذي يحتوي على hexamethylene tetramine كعامل مثبت [51,50,49].

وفي هذا المجال، أنجزت الكثير من الدراسات لمعرفة العلاقة بين تركيز الفورم ألدهيد ومدى النقص في الانحلال في المحضرات التي يدخل الجيلاتين في تركيب غلافها الخارجي [54,53,52,37,24].

لكن هناك بعض الأبحاث التي قامت بالاستفادة من التصالبات التي يحدثها الفورم ألدهيد في الجيلاتين لإنتاج محافظ صلبة ولينة معوية [56,55].

تلعب الملونات أيضاً دور هام في تعديل الخصائص البنوية للجيلاتين وجعله غير منحل [58,57]. كذلك من الممكن أن تتفاعل الأصبغة مع الجيلاتين عن طريق تشكيل روابط كارهة للماء وأخرى هيدروجينية [57].

في دراسة أجراها (Murthy et al) [59] لاحظ حدوث نقص هام في معدل الانحلال في المحافظ الحاوية على إحدى أنواع الملونات وذلك عندما تم تخزينها في الضوء بوجود رطوبة نسبية مرتفعة.

أيضاً بينت الدراسة التي أجراها (Johnson and Jackson) التداخلات الحاصلة بين الجيلاتين وكربونات الكالسيوم ومركبات أخرى غير منحلة في الماء مثل سلفات الكالسيوم وكربونات المغنيزيوم [60].

الجدول (2): أهم المركبات الكيميائية التي تسبب التصلبات في الجيلاتين^[28]

Material
Aldehydes (furfural, acrolein, formaldehyde, glutaraldehyde, glyceryl aldehyde)
Imines
Ketones
Saccharides (glucose and aldose sugars)
Dyes
Calcium carbonate
Hydrogen peroxide
Sulfonic acids and p-toluene sulfonic acid
Benzene
Terephthaloyl chloride

2.4.3 الرطوبة Humidity

تحتوي المحافظ الفارغة على مقدار هام من الماء الذي يعمل كملدن للفيلم الجيلاتيني وهو أساسي من أجل وظيفة المحافظ ، حيث يجب أن تحوي قشرة المحافظ الجيلاتينية الصلبة Hard gelatin capsules (HGCs) على نسبة من الرطوبة تتراوح بين (13-16%). هذه النسبة ممكن أن تتغير حسب شروط التخزين التي تتعرض لها المحافظ وهذا يعني بأنه في حالة الرطوبة المنخفضة تخسر القشرة من رطوبتها وتصبح هشّة، وفي حالة الرطوبة المرتفعة تجذب القشرة الرطوبة وتصبح أكثر ليونة^[3].

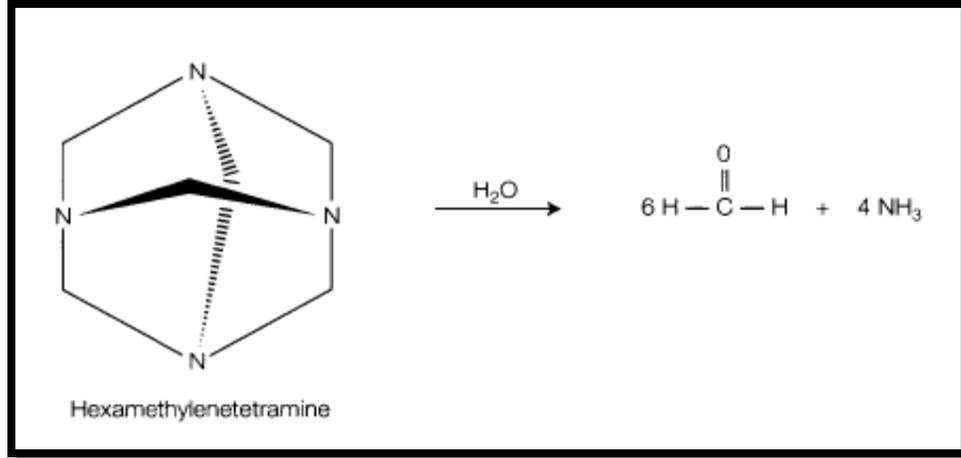
تعتبر درجات الرطوبة المرتفعة عامل رئيسي يحفز حدوث التصلبات في المحضرات الجيلاتينية^[23]، فهي تؤثر من خلال عدة آليات^[28] :

1- تحفز الرطوبة بشكل غير مباشر تشكل الإيمين، الذي يعتبر الوسيط الأول في جميع التفاعلات التي تسبب حدوث التصلبات.

2- تحفز الرطوبة تفكك السواغات لينتج عن ذلك تشكل منتجات تسبب حدوث التصلبات في الجيلاتين. مثلاً، إن نشاء الذرة في بعض الأحيان يحتوي على آثار زهيدة من هيكساميثيل تترامين hexamethyl tetramine الذي يتفكك في شروط رطبة ليتشكل أمونيا ammonia وفورم ألدهيد، الشكل (8)^[61].

3- تحفز زيادة معدل التصلبات من نوع أرجينين-أرجينين.

4- تؤمن ناقل يسبب تمسخ الجيلاتين.



الشكل 8 : تأثير الرطوبة على hexamethyl tetramine^[29]

يمكن أن تخزن المحافظ الجيلاتينية الصلبة (HGCs) بشكل آمن في درجات رطوبة نسبية Relative Humidity (RH) تتراوح بين (40-60% RH)، وإن سلوك الانحلال الذي تتبعه (HGCs) يتأثر بالدرجة الأولى بمحتوى القشرة من الرطوبة، والذي يعود بدوره إلى ظروف التخزين^[62]. أجريت دراسات عديدة لتقييم تأثير الرطوبة المرتفعة على كمية الدواء المتحررة وسلوك انحلال المحافظ الجيلاتينية الصلبة.

درس Khalil وزملاؤه تأثير التخزين على تفتت وانحلال محافظ الكلورامفينيكول الجيلاتينية الصلبة. تم تخزين المحافظ في درجة حرارة 25 °C بوجود شروط رطوبة متنوعة لمدة 32 أسبوع. فلاحظ عدم حدوث تغير في سلوك الانحلال في العينات التي تم تخزينها عند رطوبة نسبية 49% و 66%. ولكن المحافظ المعرضة لرطوبة نسبية 80% لم تحرر محتواها من الدواء قبل ساعة^[45].

في دراسة أخرى، تم تخزين محافظ التتراسكلين والكلورامفينيكول في درجة حرارة 30 °C ورطوبة نسبية 75% لمدة شهر، مما أدى إلى ببطء ملحوظ في تحرر الدواء في الزجاج *in vitro* مقارنة مع القيم البدئية لتحرر الدواء من المحافظ غير المخزنة. حيث لم تتمكن قشرة المحافظ من التفتت ضمن شروط الاختبار^[63]. أما Georgarakis فقد أجرى دراسة لمعرفة تأثير شروط التخزين على فعالية محافظ ampicillin trihydrate المخزنة في درجات رطوبة نسبية تراوحت بين 50-90%، فلاحظ انخفاض واضح في معدلات الانحلال. تم نسب ذلك إلى التكتل في محتوى المحافظ كنتيجة لانتقال الرطوبة من القشرة^[64].

قام Murthy وزملاؤه بتقييم تأثير شروط تخزين قاسية على خصائص انحلال قشرة المحافظ الصلبة مستخدماً ثلاثة أدوية كنماذج. في هذه الدراسة، تم تقييم تأثير الرطوبة، الضوء بالإضافة إلى دراسة تأثير

الرطوبة والضوء مع بعضهما باستخدام محافظ تحوي أصبغة متنوعة. لم يتحرر الدواء من المحافظ عندما تم تعريضها لمدة أسبوعين ل fluorescent light بوجود رطوبة 80%. كما أنه حدث نقص في كمية الدواء المتحررة بعد تعريض المحافظ لمدة يومين ل UV light ورطوبة 80%. إلا أن خصائص التفنت والانحلال لم تتأثر عندما تم وضع نفس الصيغ السابقة ضمن محافظ شفافة لا تحوي أصبغة. لذلك تم تفسير التغيرات الحاصلة في قشرة المحافظ بسبب وجود الأصبغة التي تم تعريضها للضوء والرطوبة العالية. وبالتالي تؤكد هذه الدراسة على ضرورة تجنب تخزين المحافظ في الضوء أو في الرطوبة العالية وتؤيد استخدام الحاويات المقاومة للضوء خلال فترة تخزين المحافظ الحاوية على أصبغة في قشرتها^[59].

كما قام Chafetz وزملاؤه بتخزين (Gemfibrozil HGCs) في درجة حرارة °C 37 ورطوبة نسبية 80% فلاحظوا انخفاض معدلات تحرر الدواء بعد شهر من التخزين^[38].

3.4.3 درجة الحرارة Temperature

تزيد درجات الحرارة المرتفعة من معدل حدوث التصالبات، ويفسر ذلك بحدوث عملية نزع أمين تأكسدي بين مجموعتين أمينيتين متجاورتين لثمالات الليزين ونتيجة لذلك يمكن أن يتشكل ألدهيد يؤدي لحدوث التصالبات وذلك خلال التعرض لدرجات حرارة مرتفعة^[29].

لقد وجد (Barrett and Fell) بأن تخزين المضغوطات الملبسة سكرياً (SCTs) sugar coated tablets في درجة حرارة °C 20 و °C 37 لم يؤثر على زمن التفنت، باستثناء تلك المخزنة لمدة 14 أسبوع في درجة حرارة °C 37. كما لاحظوا حدوث تغير هام في سلوك الانحلال عند تخزينها في درجة حرارة °C 50. حيث كان نموذج تخرب المضغوطات المخزنة لمدة خمس سنوات قريباً من نموذج تخرب المضغوطات المخزنة في درجة حرارة °C 50^[65].

كما أشار Khalil وزملاؤه في دراسة لهم إلى مشكلة نقص معدل الانحلال، حيث قاموا بتطوير نموذج لعزل النوى subcoating المعدة للتلبيس السكري والمحتوية أفلام الجيلاتين المصبوب cast gelatin films التي تضم السكروز والديكستروز والفركتوز وكربونات الكالسيوم، وتم تخزين الفلم بدرجات حرارة (°C 70, 80, 90, 110) لفواصل زمنية متعددة، وقد وجدت علاقة هامة بين زيادة درجة حرارة التخزين والسرعة التي تتحلل بها هذه الأفلام، وتتأثر خصائص التفنت والانحلال بشكل سيئ بزيادة هذه الحرارة^[67,66].

أجرى Chafetz وزملاؤه دراسة على المحافظ الجيلاتينية اللينة SGCS الحاوية على مادة gemfibrozil فوجد نقصاً في معدل الانحلال لها بعد تخزينها بدرجة حرارة °C 37 ورطوبة نسبية 80%،

حيث اختبر العينات بعد فواصل زمنية شهر، شهرين، وثلاثة أشهر، وقد أظهرت كل المحافظ الجيلاتينية التي احتوت polysorbate 80 تشكل فلم بعد شهر من التخزين في الظروف السابقة^[68]. وفي دراسة أجراها Hakata وزملاؤه لاحظ حدوث نقص ملحوظ في تقفت المحافظ الجيلاتينية اللينة وذلك عندما قام بتخزينها في درجات حرارة أعلى من 40 °C^[70,69]. كما أجرى SINGH وزملاؤه اختبار الانحلال أيضاً على المحافظ الجيلاتينية اللينة للنيميسوليد nimesolide المطروح في الأسواق بعد تخزينها بدرجة حرارة 40 °C ورطوبة نسبية 75% بوجود الضوء لفترات زمنية متعددة، ولوحظ وجود تغيرات في سلوك الانحلال لهذه المحافظ، حيث لم يتحرر الدواء من كل العينات^[71].

أشار Gouda وزملاؤه إلى حدوث نقص هام في معدلات الانحلال بعد تخزين محافظ جيلاتينية صلبة حاوية على مادة nitrofurantoin في درجة حرارة 40 °C ورطوبة نسبية 79% لمدة عشر أسابيع^[72].

4.4.3 الضوء Light

تبين الدراسات بأن الضوء أو الأشعة (UV-vis) تؤثر أيضاً على خصائص الانحلال للمحضرات الحاوية على الجيلاتين في غلافها الخارجي. حيث قام (Lengyel) بتعرض الجيلاتين لأشعة متشردة ionization radiation ثم قام باستخدام الجيلاتين كعامل رابط في المضغوطات والمحافظ فلاحظ حدوث تغيرات في ثباتية المضغوطات وخصائص المحافظ^[73].

أما (Murthy et al) فقد درس تأثير الأشعة (UV-vis) على التصالبات في الجيلاتين، حيث تم العمل على محافظ الهيدروكلوريتازيد الحاوية على أصبغة متعددة^[59]، وقد لاحظ بأن تعرض الجيلاتين لأشعة حادة من نوع (UV-vis) زادت نسبة حدوث تغيرات في المحافظ حيث أدت هذه الأشعة إلى نقصان معدلات الانحلال في الزجاج. كما لاحظ بأن هذه التأثيرات السلبية للضوء تتزايد عندما تتراقد هذه الأشعة مع الرطوبة العالية.

وفي دراسة أخرى، تم تخزين محافظ جيلاتينية صلبة حاوية على مادة ibuprofen في درجات حرارة عالية ورطوبة مرتفعة مرة بوجود الضوء وأخرى بدون تعريضها للضوء. كان النقص في كمية الدواء المتحررة أكبر عند وجود الضوء مع العوامل السابقة^[71].

اخرنا في بحثنا دراسة تأثير ظروف التخزين (الحرارة العالية والرطوبة المرتفعة) على معدل التحرر من المحافظ الجيلاتينية الصلبة الحاوية على الدوكسيسكلين.

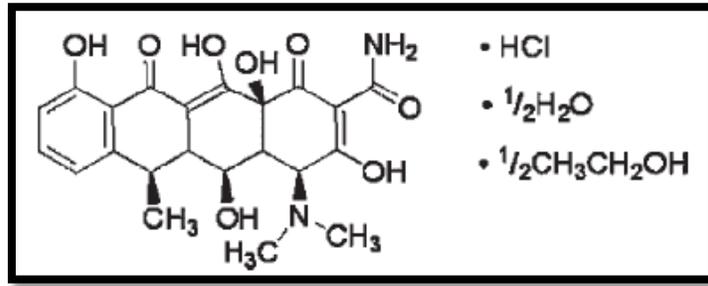
الفصل الرابع

الدوكسيسكلين Doxycycline

الدوكسيسكلين مضاد حيوي نصف صناعي واسع الطيف، مشتق من الأوكسي تتراسكلين^[75،74]. والدوكسيسكلين المستخدم في المحافظ هو الدوكسيسكلين هيكلات:

(4S,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-4-(Dimethylamino)3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotetracene-2-carboxamide monohydrate.

صيغته العامة $(C_{22}H_{25}ClN_2O_8)$ ، $\frac{1}{2}C_2H_6O$ ، $\frac{1}{2}H_2O$ وصيغته المفصلة موضحة بالشكل (9)^[15].



الشكل 9 : الصيغة المفصلة للدوكسيسكلين هيكلات

الدوكسيسكلين هيكلات مسحوق أصفر كريستالي، ينحل بسهولة في الماء والميتانول وبشكل خفيف في الإيثانول (96%). كما ينحل في محاليل الكربونات والهيدروكسيدات القلوية^[2].

1.4 الخواص الدوائية للدوكسيسكلين

يصنف الدوكسيسكلين حسب منظمة الصحة العالمية على أنه مضاد أولي antiprotozoal ومضاد بكتيريا antibacterial .

يستخدم الدوكسيسكلين لعلاج داء لايم lyme disease، والتهاب البروستات المزمن chronic prostatitis، والتهاب الجيوب sinusitis، والتهاب الحوض pelvic inflammatory^[76]، وحب الشباب الوردي rosacea^[77] وفي حالة الإصابة بالريكتيسيا rickettsial infection^[78]. كما يستخدم في الوقاية من الملاريا malaria^[79]، و لعلاج الملاريا بالمشاركة مع عوامل أخرى مثل الكينين quinine^[80].

2.4. الحركات الدوائية^[81]

يمتص الدوكسيسكلين بشكل كامل تقريباً مع توافر حيوي يزيد على 80%. يتم الامتصاص في الاثني عشر^[82] ويكون بطيء حيث يستغرق 2-3 ساعات بعد تطبيق الجرعة الفموية ليصل إلى قمة التراكيز البلاسمية.

حجم التوزع للدوكسيسكلين هو 0.7 لتر/كغ، ونسبة ارتباطه مع البروتينات هي 82-93% ولكن ربما تكون أقل من ذلك عند بعض المرضى^[83]، أما بالنسبة لتوزعه في الأنسجة فإن المعلومات النوعية المتوفرة حول هذا الموضوع قليلة. نحصل على تراكيز مرتفعة منه في الكبد والكلى والسبيل الهضمي أما توزعه في اللعاب قليل.

لا يوجد استقلاب هام للدوكسيسكلين ولم يتم إيجاد مستقلبات له في الإنسان^[82] ولكن هناك دراسات تقترح بأنه يمكن أن يكون هناك بعض الاستقلاب الكبدي له^[84].

يطرح بدون تبدل بواسطة الطريق الكلوي و الصفراء، حيث يطرح حوالي 35-60% منه في البول والباقي في البراز^[87,88,86,85]. نصف عمر الإطراح طويل يتراوح بين 12 إلى 25 ساعة.

3.4. الاستطبابات والجرع الموصى بها لمحافظ الدوكسيسكلين^[89]

الجرع المعتادة من الدوكسيسكلين لمعالجة الإصابات الحادة عند البالغين هي 200 ملغ في اليوم الأول مقسمة إلى جرعتين 100 ملغ كل 12 ساعة. ثم تخفض الجرعة إلى 100 ملغ يومياً كجرعة مفردة.

- في حالة حب الشباب: تعطى جرعة 50 ملغ يومياً لمدة 6 إلى 12 أسبوع.
- في حالة داء السيلان: تعطى جرعة 100 ملغ مرتين باليوم لمدة 7 أيام.
- في حالة التهاب البربخ والخصية الحاد المسبب بالنيسيريا البنية أو الترخوما: تعطى جرعة 100 ملغ مرتين باليوم لمدة 10 أيام على الأقل.
- في حالة داء السفلس البدئي والثانوي: تعطى جرعة 150 ملغ مرتين في اليوم لمدة أسبوعين.
- في حالة الإصابة بالمalaria: تعطى جرعة 100 ملغ يومياً لمدة 7 أيام على الأقل، وفي هذه الحالة يتم مشاركة الدوكسيسكلين مع الكينين.
- للوقاية من المalaria: تعطى جرعة 100 ملغ يومياً لدى البالغين والأطفال فوق 12 سنة. تبدأ الوقاية قبل يوم أو يومين من السفر، مع الاستمرار بأخذ الدواء يومياً خلال السفر ثم لمدة 4 أسابيع بعد مغادرة المسافر للمناطق التي تنتشر فيها المalaria.

4.4. الآثار الجانبية ومضادات الاستطباب

أكثر التأثيرات الجانبية شيوعاً تتضمن الغثيان والإقياء والإسهال والألم البطني بالإضافة إلى التحسس الضوئي والتهاب المهبل والطفح الجلدي الحماصي ومن الممكن حدوث التهاب وتقرحات في المريء^[90] وقصور كلوي^[91].

يعتبر الدوكسيسكلين مضاد استطباب لدى الأطفال دون سن الثامنة لأنه لوحظ بأن التتراسكلينات تسبب حدوث تغيير في لون الأسنان بشكل دائم^[92]. أيضاً تشكل التتراسكلينات معقدات مع الكالسيوم الذي سيشارك في عملية تكليس العظام والأسنان.

يعبر الدوكسيسكلين المشيمة ولوحظ بأنه يسبب تغيير لون الأسنان عندما يعطى في الثلث الثاني أو الثالث من الحمل^[93] لذلك يعتبر مضاد استطباب لدى المرأة الحامل ويصنف ضمن المجموعة D ضمن أدوية الحمل، كما أنه يمر عبر حليب الإرضاع لذلك يجب توقف المرأة عن الإرضاع عند المعالجة بالدوكسيسكلين^[94]. لا ينصح باستخدامه لعلاج أو منع الإصابة بالمalaria لدى المرأة الحامل^[95,96] كما أنه يعتبر مضاد استطباب لدى الأشخاص الذين لديهم سوابق تحسس للدواء أو أحد مشتقات مجموعة التتراسكلينات.

5.4 . الأشكال الصيدلانية للدوكسيسكلين الموجودة في السوق الدوائية^[15]

يتوفر الدوكسيسكلين بأشكال صيدلانية صلبة (مضغوطات، محافظ)، وأشكال سائلة (معلقات فموية، حقن عضلية، حقن داخل الوريد).

6.4 . تحليل الدوكسيسكلين

هناك طرق عديدة تستخدم من أجل تحليل الدوكسيسكلين، حيث أشار كل من الدستور الأميركي والأوروبي إلى إمكانية استخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء high performance liquid chromatography (HPLC)^[74]. أيضاً يمكن أن تستخدم طريقة الرحلان الكهربائي الشعري capillary electrophoresis (CE) لتحليل الدوكسيسكلين وفصله عن شوائبه^[97]. كما يستخدم مقياس الطيف الضوئي spectrophotometer حيث يتم القياس عند طول موجة 268 nm^[15].

7.4 ثباتية الدوكسيسكلين

بينت دراسات الثباتية طويلة الأمد (25 °C/ 60% RH) التي أجريت على مادة الدوكسيسكلين لمدة 48 شهر، أن هذه المادة الدوائية تبقى ثابتة عند التخزين في الشروط السابقة. كما أجريت دراسات الثباتية المسرعة (40 °C/ 75% RH) على مادة الدوكسيسكلين المغلفة بالأوعية المقترحة للتسويق. حيث أشارت النتائج إلى ثباتية الدوكسيسكلين عند التخزين في الظروف السابقة وبوجود الغلاف^[98].

وفي دراسة أخرى أجريت لمعرفة علاقة الحرارة بثباتية الدوكسيسكلين، تبين أن هذه المادة الدوائية تبقى ثابتة عند تعريض المحافظ الحاوية عليها لدرجة حرارة 40 °C ولمدة 90 يوم، وذلك عندما تتم حمايتها من الرطوبة والضوء^[74].

الدراسة العملية
Practical Study

الفصل الأول

المواد والطرائق والأجهزة

Materials, Methods and Equipment

1.1 المواد والأجهزة

1.1.1 المواد

- محافظ الدوكسيسكلين الجيلاتينية الصلبة المصنعة محلياً (100 mg)، والمأخوذة من شركة واحدة ومن نفس الطبخة
- الدوكسيسكلين هيكلات العياري (Sigma-Aldrich / Germany)
- كلوريد الصوديوم (Chem-Lab NV / Belgium)
- بروميد الصوديوم (Qualikems / India)
- حمض كور الماء (37%) (Merck / Germany)
- ماء مقطر حديثاً

2.1.1 الأجهزة والأدوات

- مرشح ميكرونية وزجاجيات مختلفة.
- ميزان حساس ذو حساسية 0.0001 (Precisa XB 220 A/ Germany).
- مقياس pH Hash, Sension 3
- مجففات (China) Desiccator
- أفران كهربائية (Carbolite/ England)
- مقياس الحرارة والرطوبة (China) Thermo-hygro meter
- جهاز الانحلال (Erweka DT 600/ Germany).
- مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer (Jasco V-530/ vis spectrophotometer/ Japan).

2.1 الطرائق المستخدمة

1.2.1 تحضير وقاء من حمض كلور الماء 0.01N

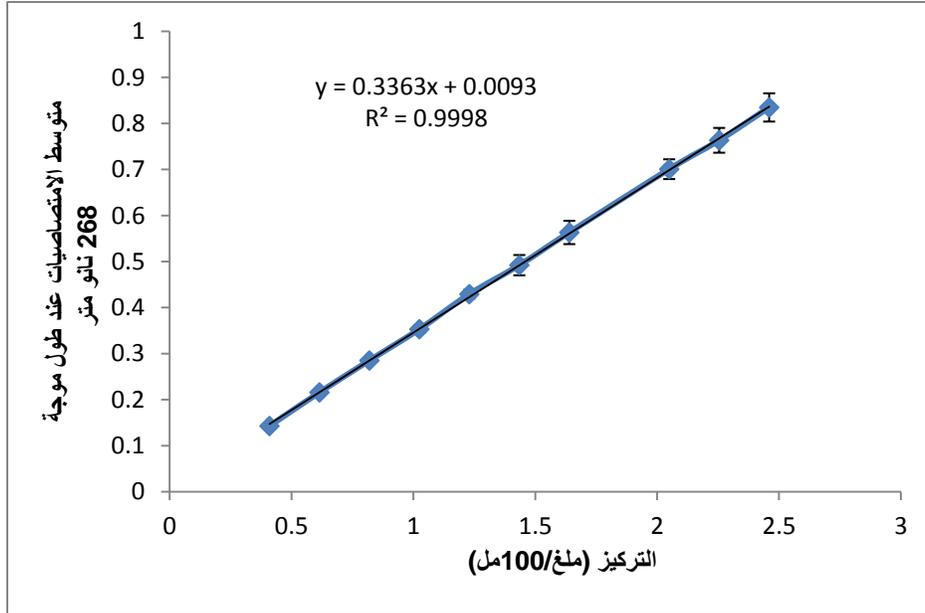
تم التحضير بإضافة 0.82 مل من حمض كلور الماء (تركيزه 37%, كثافته 1.19 غ/مل, وزنه الجزيئي 36.46 غ/مول) إلى بالون معايرة 1000 مل يحوي كمية من الماء المقطر ومزجه وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار ومن ثم ضبط ال pH بواسطة مقياس ال pH عند pH=1.2.

2.2.1 تحضير السلسلة العيارية للدوكسيسكلين في حمض كلور الماء 0.01N

تم تحضير محلول أم تركيزه 20.5 ملغ/100 مل ثم حضرت منه عدة تراكيز وقيست الامتصاصية عند طول موجة 268 نانومتر^[15]. حصلنا على الخط البياني للتراكيز بدلالة الامتصاصية (الشكل 10) وهو خط مستقيم معادلته:

$$y = 0.3363x + 0.0093 \quad (1)$$

$$r^2 = 0.9998$$



الشكل 10 : السلسلة العيارية للدوكسيسكلين في الحمض

3.2.1 الاختبارات المجراة على المحافظ

1.3.2.1 اختبار تجانس الوزن Weight Uniformity test

يفيد هذا الاختبار في التأكد من تجانس وزن محتوى المحافظ لأن اختلاف وزن محتوى المحافظ فيما بينها يؤثر في تجانس الوحدات الجرعية. أُجري هذا الاختبار بوزن 20 كبسولة بشكلٍ إفرادي ثم نزع محتوى كل كبسولة بشكل كامل ثم وزن القشرة الفارغة لكل كبسولة وحساب الوزن الصافي للمحتوى بطرح وزن القشرة من وزن الكبسولة لتحديد محتواها من المسحوق، ثم حساب الوزن الوسطي وحساب انحراف وزن كل محتوى عن الوزن الوسطي حيث يسمح دستور الأدوية الأوروبي^[2] بانحراف في وزن محتوى الكبسولة يختلف بحسب وزن محتوى الكبسولة (الجدول 4).

الجدول (4) : الاختلافات المسموح بها حسب دستور الأدوية الأوروبي

الوزن الوسطي لمحتوى الكبسولة (ملغ)	الاختلاف المسموح به (%)	العدد على الأقل	الاختلاف المسموح به (%)	العدد على الأكثر
أقل من 300	±10	18 كبسولة	±20	2 كبسولة
300 أو أكثر	±7.5	18كبسولة	±15	2 كبسولة

2.3.2.1 اختبار تجانس المحتوى Content Uniformity test

يعبر مصطلح تجانس المحتوى عن مدى التجانس في كمية المادة الدوائية بين الوحدات الجرعية إذ يجب أن تحتوي كل كبسولة من الوجبة المحضرة على كمية من المادة الدوائية مكافئة تقريباً لكمية المادة الدوائية المصرح بها على الغلاف الخارجي، أُجري هذا الاختبار وفق الدستور الأوربي^[2] بأخذ 10 محافظ بشكل عشوائي من كل العلب ومعايرة المادة الفعالة في كل منها (بحل محتوى كل كبسولة بحمض كلور الماء 0.01N وقياس الامتصاصية باستخدام مقياس الطيف الضوئي spectrophotometer عند طول موجة 268 نانومتر بعد إجراء التمديد المناسب) ثم حساب المحتوى الوسطي للكبسولة من المادة الفعالة. ثم تم حساب (AV) Acceptance Value بتطبيق العلاقة:

$$AV=|M-X|+ks$$

حيث أن X هو متوسط محتوى المحافظ التي تم فحصها، k هو ثابت القبول وتكون قيمته مساوية ل 2.4 عندما n=10، و 2.0 عندما n=30، s يعبر عن الانحراف المعياري للعينة، أما M فهي تمثل القيمة

المرجعية وتكون $M=X$ عندما يكون $(T \leq 101.5) \& (98.5 \leq X \leq 101.5)$ ، حيث أن T هي المحتوى المصرح على العبوة. ويشير الدستور إلى وجود تجانس في المحتوى عندما تكون قيمة AV أقل من القيمة 15.

3.3.2.1 تحديد محتوى المحافظ من الدوكسيسكلين بعد التخزين

تمت معايرة محتوى المحافظ من الدوكسيسكلين بعد انقضاء سبعة أشهر على تخزينها في الظروف (40 °C & 75% RH)، باستخدام مقياس الطيف الضوئي حيث تم القياس عند طول الموجة 268 nm. تهدف هذه التجربة لمعرفة فيما إذا كان الدوكسيسكلين يبقى ثابتاً عند تعريضه للظروف السابقة.

4.3.2.1 Dissolution test اختبار الانحلال

إن امتصاص الدواء من قبل العضوية وتوافره الحيوي يعتمد على كون المادة الفعالة بحالة منحلة، وإن خصائص الانحلال تعتبر خاصة هامة من أجل المحافظ وقبولها لذلك فإن اختبار الانحلال يعني قياس الزمن اللازم لانتقال المادة الفعالة من الكبسولة إلى المحلول في الزجاج *in vitro* والمقصود هو التزود بخطوة تجاه تقييم التوافر الحيوي للمادة الفعالة. إن عملية الانحلال هي إحدى الخطوات المهمة المحددة لسرعة الامتصاص، وتتأثر عادةً بخواص المادة الفعالة (الذوبانية) وبالشكل الصيدلي (طريقة التصنيع، السواغات...).

أُجري هذا الاختبار على ست محافظ وذلك خلال فترات زمنية متفاوتة لكل ظرف من الظروف التخزينية باستخدام جهاز الانحلال وفق الشروط التي يحددها الدستور الأمريكي لمحافظ الدوكسيسكلين^[15] وهي:

paddle :Apparatus 2

سرعة الدوران: 75 دورة/دقيقة.

درجة الحرارة: 05 ± 37 م°.

وسط الدراسة: 900 مل من حمض كلور الماء 0.01N.

كما تم استخدام أسلاك معدنية ذات شكل حلزوني، ووضعت المحافظ بداخلها لتجنب طفوها وذلك حسب التوصيات الواردة في دستور الأدوية الأمريكي. تم سحب عينات (5مل) بفواصل زمنية مختارة مع

التعويض ب 5 مل من الوسط النقي (حمض كلور الماء 0.01N) وترشيح العينات باستخدام مرشح ميكرونية ثم قياس امتصاصية العينات المسحوبة باستخدام مقياس الطيف الضوئي عند طول موجة 268 نانومتر وتطبيق المعادلة رقم (1) تم حساب الكمية المتحررة خلال الزمن.

4.2.1 ظروف التخزين

تم تخزين علب الأدوية الحاوية على محافظ الدوكسيسكلين ضمن المجففات المحكمة الإغلاق التي وضعت بدورها ضمن الأفران المضبوطة على درجة الحرارة المطلوبة. حيث تم التخزين في ظروف مختلفة من حيث الحرارة والرطوبة ولفترات زمنية مختلفة كما هو موضح في الجدول (3).

الجدول (3) : شروط التخزين المختلفة والمدة الزمنية لكل منها

مدة التخزين	شروط التخزين	
	حرارة (°C)	رطوبة (%)
7 أشهر	40	75
7 أشهر	40	60
6 أشهر	25	75
3 أشهر	25	60
6 أشهر	تخزين على الرف	

تم التخزين على الرف خلال الأشهر من حزيران إلى تشرين الثاني مع مراقبة دورية لدرجة الحرارة والرطوبة التي تتعرض لها المحافظ. للحصول على درجات الرطوبة المذكورة أعلاه، تم تحضير محلول مشبع من كلور الصوديوم وبروم الصوديوم في المجففات الزجاجية كل على حدة للوصول إلى الرطوبة 75% و60% على التوالي^[99].

5.2.1 مقارنة سلوك الانحلال Dissolution profile comparision

تمت مقارنة سلوك انحلال المحافظ بعد التخزين في الظروف المختلفة مع سلوك انحلال المحافظ قبل التخزين باستخدام طريقة معامل التشابه (Similarity factor)، حيث تم تطبيق العلاقتين (1) و (2) الواردتين في الفقرة (3.4.2.1). تعتبر هذه الطريقة أن هناك تشابه في سلوك الانحلال عندما تكون قيمة معامل التشابه F2 أكبر من 50 (بين 50-100) وقيمة معامل الاختلاف بين (0-15).

الفصل الثاني

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

1.2 الاختبارات المجراة على محافظ الدوكسيسكلين الجيلاتينية الصلبة

أجريت على المحافظ الفحوص المذكورة أدناه. وكما ذكرنا سابقاً تم أخذ جميع المحافظ من طبخة واحدة.

1.1.2 اختبار المظهر الخارجي

عند فحص المظهر الخارجي للمحافظ قبل التخزين، لوحظ عدم وجود أي اختلاف في السطح الخارجي أو تغيّر في اللون أو وجود تبقعات، وبالتالي فإن المحافظ مطابقة للدستور من ناحية المظهر الخارجي^[20]. أما بعد التخزين، فقد لوحظ أنها أصبحت لصوقة.

2.1.2 اختبار تجانس الوزن

يبين الجدول رقم (5) نتائج اختبار تجانس الوزن على 20 كبسولة مسحوبة عشوائياً، حيث كان الوزن الوسطي لمحتوى المحافظ 157.32 ملغ.

الجدول (5) : نتائج اختبار تجانس الوزن للمحافظ (عشرون كبسولة)

رقم الكبسولة	وزن محتوى الكبسولة (ملغ)	فرق وزن المضغوطة عن الوزن الوسطي	[فرق وزن المضغوطة عن الوزن الوسطي]/(الوزن الوسطي)*100(%)
1	157.5	0.18	0.11
2	162.4	5.08	3.22
3	161.5	4.18	2.65
4	154.9	2.42	1.53
5	158.4	1.08	0.68
6	159.2	1.88	1.19
7	158.5	1.18	0.75
8	151.3	6.02	3.82
9	163	5.68	3.61

1.63	2.58	159.9	10
4.11	6.48	163.8	11
1.51	2.38	159.7	12
2.59	4.08	161.4	13
0.87	1.38	158.7	14
4.97	7.82	149.5	15
4.08	6.42	150.9	16
5.73	9.02	148.3	17
4.37	6.88	164.2	18
2.49	3.92	153.4	19
4.65	7.32	150	20

كانت المحافظ مقبولة دستورياً من حيث تجانس الوزن حيث أن أكبر قيمة للنسبة المئوية لانحراف وزن محتوى المحافظ عن الوزن الوسطي مساوٍ إلى 5.73% أي أنها ضمن المجال المقبول والذي يحدده الدستور الأوروبي (>10%)^[2].

3.1.2 اختبار تجانس المحتوى

تمت معايرة محتوى عشر محافظ من الدوكسيسكلين. ويبين الجدول (6) نتائج المعايرة.

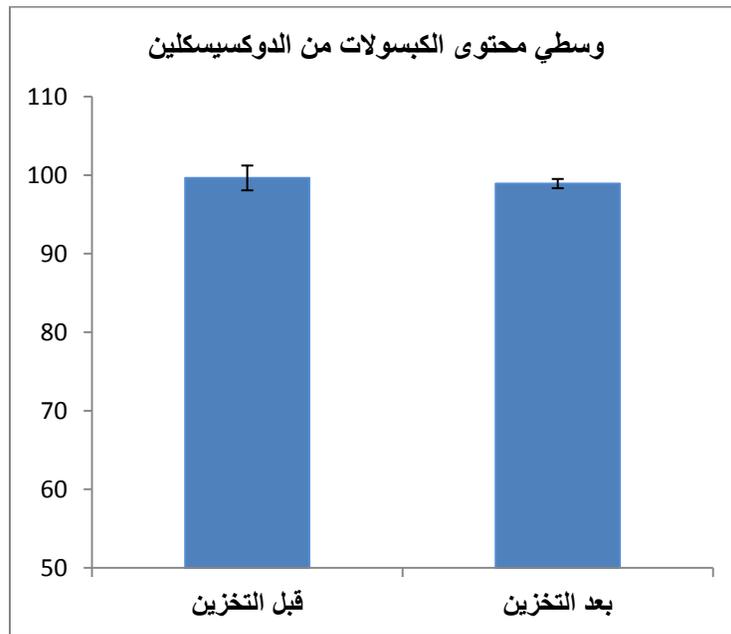
الجدول (6) : نتائج محتوى المحافظ من الدوكسيسكلين (عشرة محافظ)

رقم الكبسولة	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
المحتوى من الدوكسيسكلين (%)	102.2	99.3	97.8	101.5	98	98.2	100.5	99.6	98.4	101

وبحسب المعطيات الواردة في الفقرة (2.4.2.1) التابعة للدراسة العملية، تكون قيمة $AV=ks$ حيث $k=2.4$ و $s=1.57$ فتكون قيمة AV مساوية لـ 3.76 أي أقل من 15 وبالتالي المحافظ تحقق التجانس في المحتوى.

4.1.2 تحديد محتوى المحافظ من الدوكسيسكلين بعد التخزين

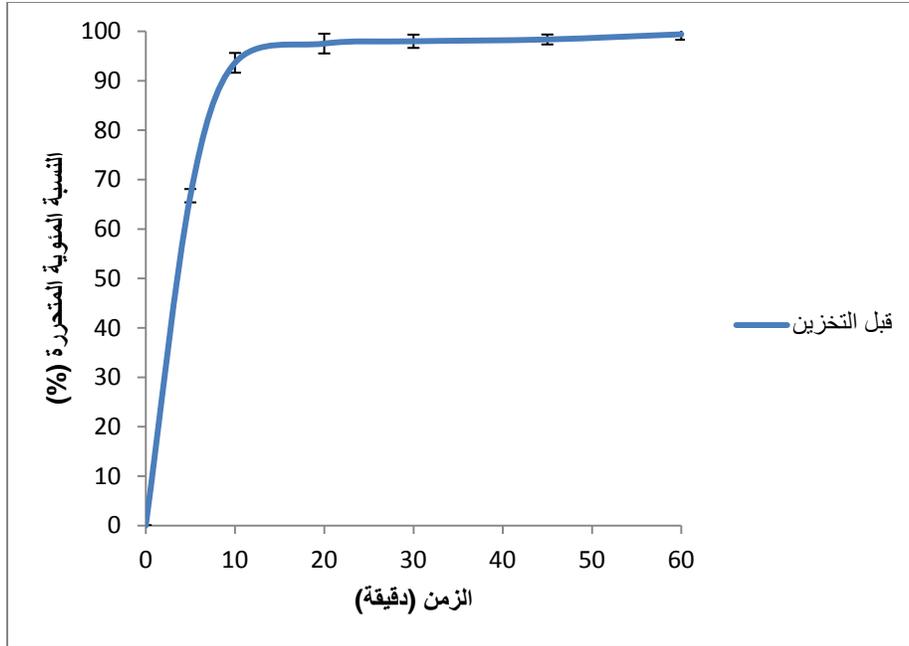
تمت معايرة الدوكسيسكلين في المحافظ قبل تخزينها فكان وسطي محتوى المحافظ من الدوكسيسكلين 99.65 % ، وعندما تمت المعايرة بعد التخزين لمدة سبعة أشهر في الظروف (40 °C & 75% RH) كان وسطي المحتوى 98.93% وهذا يبين أن الدوكسيسكلين لم يظهر أي تغير ملموس عندما تم تعريضه للظروف السابقة، الشكل (11). هذا يتناسب مع دراسة أجراها Rade Injac^[74] والتي تظهر أن تحرب الدوكسيسكلين في المحافظ يحصل وفق تفاعل من الرتبة الأولى حيث يبقى ثابتاً لمدة عامين تقريباً عند التخزين بدرجة حرارة 40 °C، وذلك عندما تتم حمايتها من الضوء والرطوبة.



الشكل 11 : مخطط يوضح وسطي محتوى المحافظ من الدوكسيسكلين قبل وبعد التخزين

2.2 دراسة تأثير ظروف التخزين على التحرر

تم تعريض محافظ الدوكسيسكلين الجيلاتينية الصلبة وهي مغلفة بالعلب الكرتونية لشروط مختلفة من حيث الحرارة والرطوبة لمعرفة تأثير هذه الظروف على تحرر الدوكسيسكلين من المحافظ الجيلاتينية. يوضح الشكل (12) مخطط تحرر الدوكسيسكلين من المحافظ قبل التخزين، حيث بلغت الكمية المتحررة حوالي 99.4% خلال 60 دقيقة.



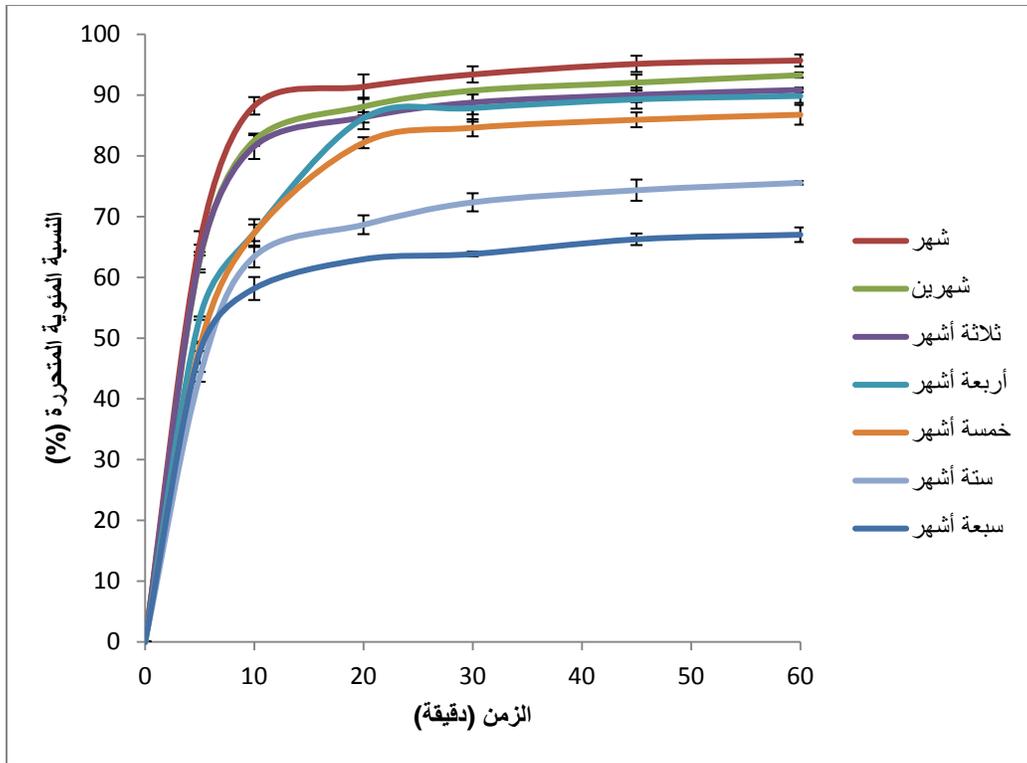
الشكل 12 : كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ قبل التخزين

كل شهر من التخزين في الظروف (40 C & 75% RH)

2.2.2 التخزين في الظروف (40 °C & 60% RH)

تم إجراء اختبار الانحلال على المحافظ المخزنة في الظروف السابقة كل 15 يوم لمدة 7 أشهر. يبين الشكل (15) نتائج اختبار الانحلال بعد انقضاء المدة المذكورة، ويوضح الملحق (1) نتائج باقي الاختبارات.

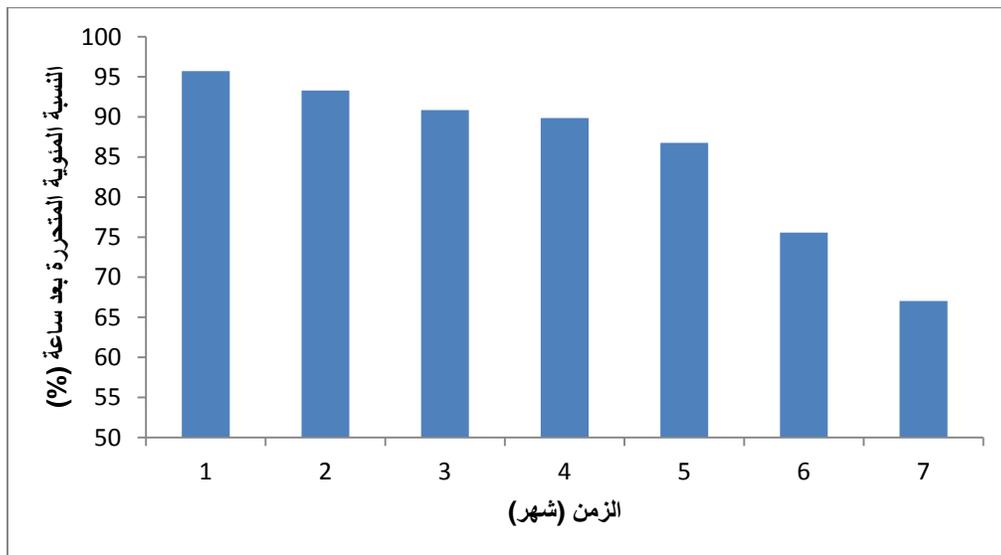
إن الانخفاض في الانحلال بدأ يتزايد بعد مرور 5 أشهر من التخزين في الظروف السابقة. حيث انخفضت كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ خلال 60 دقيقة إلى 75% بعد مرور 6 أشهر من التخزين، و 67% بعد مرور الشهر السابع. وهذا لا يتوافق مع شروط الانحلال الواردة في دستور الأدوية الأميركي^[15]. عزت المراجع هذا الانخفاض إلى احتمال حدوث عملية نزع أمين تأكسدي (بين مجموعتين أمينيتين متجاورتين لثمالات الليزين مما أدى إلى تشكل ألدهيد) سببت في النهاية حدوث التصالبات وذلك خلال التعرض لدرجات حرارة مرتفعة^[37]. وهذا يتفق مع دراسة قامت بها Aliaa عام 2009 حيث لاحظت انخفاض كمية الهيدروكلورثيازيد hydrochlorthiazide المتحررة من المحافظ بعد 4 أسابيع من التخزين في ظروف دراستنا نفسها^[100].



الشكل 13 : مخطط الانحلال بعد التخزين في الظروف (40 C&60% RH) للمدة المذكورة

يظهر الشكل (16) النسبة المئوية المتحررة من الدوكسيسكلين في نهاية كل شهر وذلك بعد مرور

60 دقيقة.



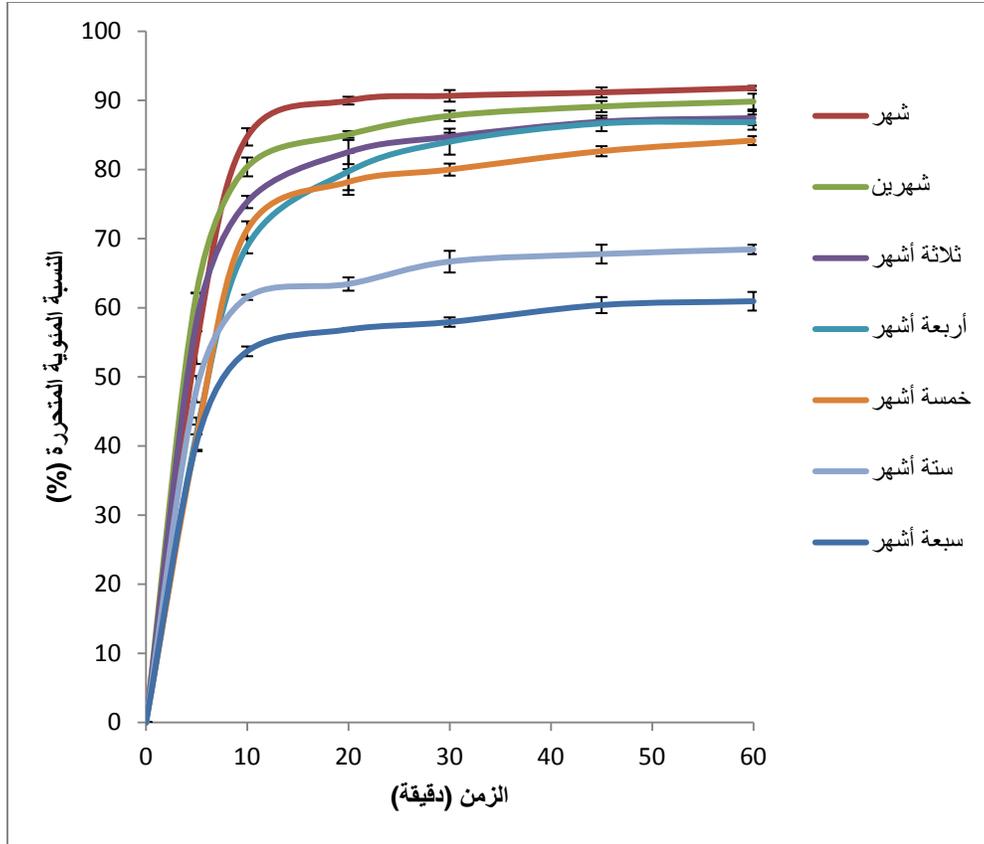
الشكل 14 : مخطط يبين الكمية المتحررة من الدوكسيسكلين عند الدقيقة 60 وذلك في نهاية

كل شهر من التخزين في الظروف (40 C&60% RH)

1.2.2 التخزين في الشروط (40 °C & 75% RH)

تم إجراء اختبار الانحلال على المحافظ المخزنة في الظروف السابقة كل 15 يوم لمدة 7 أشهر. يبين الشكل (13) نتائج اختبار الانحلال بعد انقضاء المدة المذكورة، ويوضح الملحق (1) نتائج باقي الاختبارات.

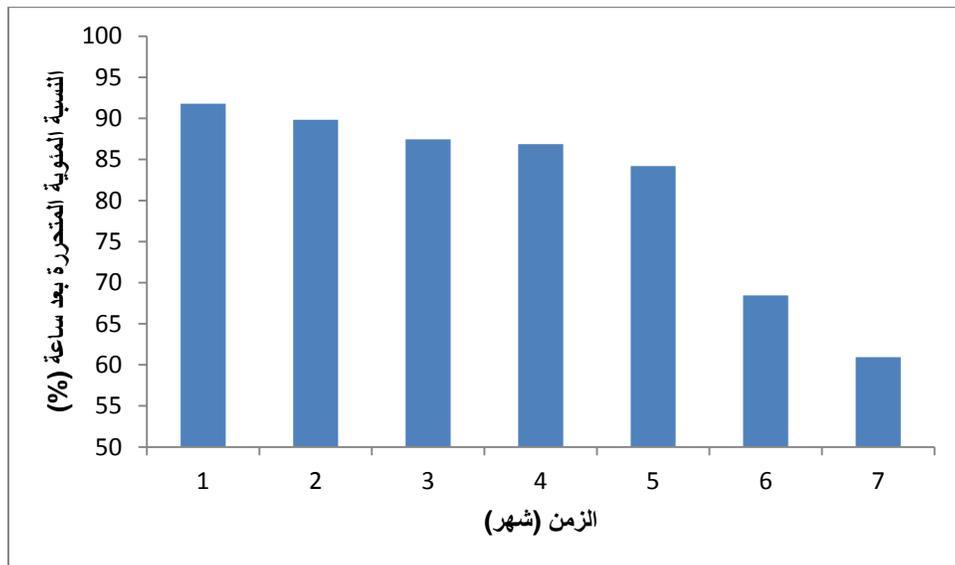
إن الانخفاض في الانحلال بدأ يتزايد بعد مرور 4 أشهر من التخزين في الظروف السابقة. حيث انخفضت كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ خلال 60 دقيقة لتصل إلى 68% بعد مرور 6 أشهر من التخزين، و60% بعد مرور الشهر السابع. وهذا لا يتوافق مع شروط الانحلال الواردة في دستور الأدوية الأميركي^[15] الذي ينص على أنه يجب أن يتحرر ما لا يقل عن 85% خلال 60 دقيقة. يمكن أن يفسر ذلك بحدوث التصالبات بنسبة هامة في القشرة الجيلاتينية للمحافظ مما أدى إلى انخفاض معدلات تحرر الدواء منها. حيث أن وجود المجموعات الأمينية، الكربوكسيلية وغيرها من المجموعات الأخرى في جزيئة الجيلاتين يزيد من احتمالية تصالب الجيلاتين وذلك عند التعرض لدرجات حرارة مرتفعة ورطوبة عالية. من الممكن أن تكون المجموعات الأمينية قد خضعت لعملية نزع أمين تأكسدي مما أدى لحدوث التصالبات^[101]. وهذا يتفق مع دراسة أجراها Dey^[102] حيث لاحظ حدوث انخفاض هام في معدلات تحرر مادة الإيتودولاك etodolac من المحافظ الجيلاتينية الصلبة وذلك بعد التخزين عند نفس الشروط المعتمدة في بحثنا لمدة 5 أشهر.



الشكل 15 : مخطط الانحلال بعد التخزين في الظروف (40 C&75% RH) للمدة المذكورة

هذا ويوضح الشكل (14) كمية الدوكسيسكولين المتحررة من المحافظ في نهاية كل شهر بعد مرور

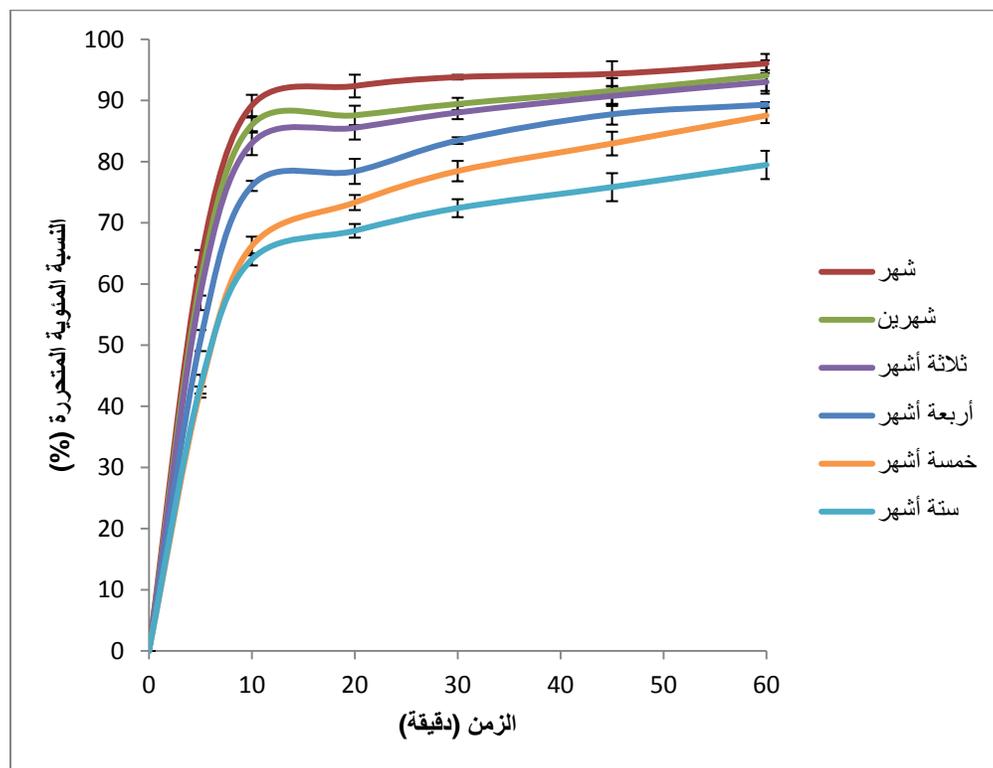
60 دقيقة.



الشكل 16 : مخطط يبين الكمية المتحررة من الدوكسيسكولين عند الدقيقة 60 وذلك في نهاية

3.2.2 التخزين في الظروف (25 °C & 75% RH)

تم إجراء اختبار الانحلال على المحافظ المخزنة في الظروف السابقة كل شهر لمدة ستة أشهر. يبين الشكل (17) نتائج اختبار الانحلال بعد انقضاء المدة المذكورة.

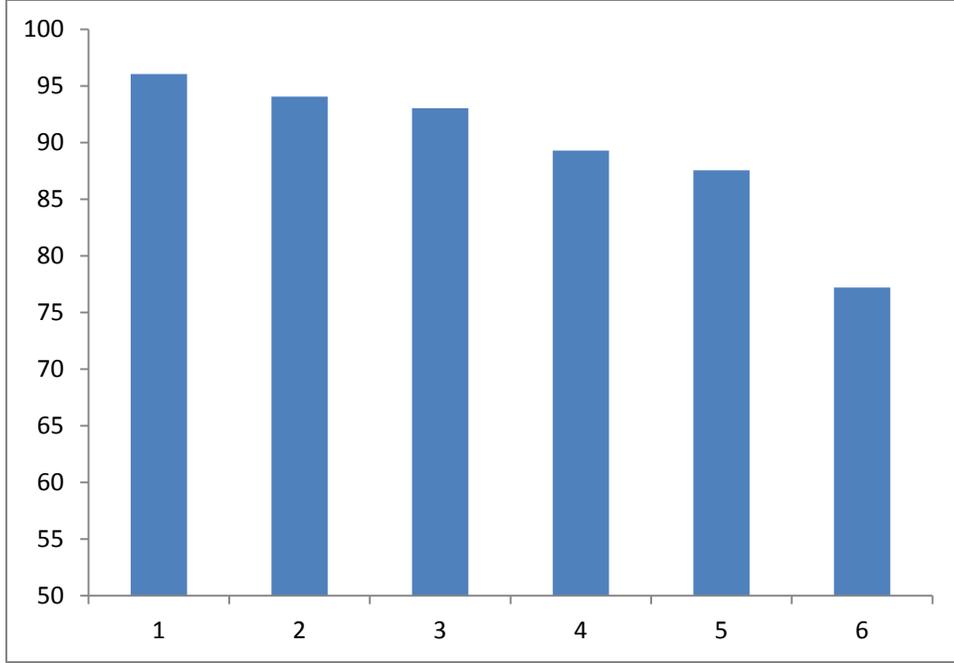


الشكل 17 : مخطط الانحلال بعد التخزين في الظروف (25 C&75% RH) للمدة المذكورة

كانت الكمية المتحررة من الدوكسيسكولين بحدود 77% وذلك بعد ستة أشهر من التخزين في الظروف السابقة وهذا لا يتوافق مع متطلبات الانحلال المذكورة في دستور الأدوية الأميركي^[15]. يمكن أن يفسر هذا الانخفاض في الكمية المتحررة بتشكيل القشرة pellicle نتيجة التصالبات التي سببتها الرطوبة المرتفعة في القشرة الجيلاتينية. حيث تحفز الرطوبة المرتفعة بشكل غير مباشر تشكل imine الذي يعتبر الوسيط الأول في كل تفاعلات التصالب^[29]. وهذا يتفق مع دراسة أجراها York حيث لاحظ تشكل القشرة pellicle عندما قام بتخزين محافظ التتراسكولين الجيلاتينية الصلبة في درجة حرارة 30 °C ورطوبة نسبية 75% بعد شهر من التخزين^[63].

يبين الشكل (18) كمية الدوكسيسكولين المتحررة من المحافظ في نهاية كل شهر بعد مرور 60

دقيقة.



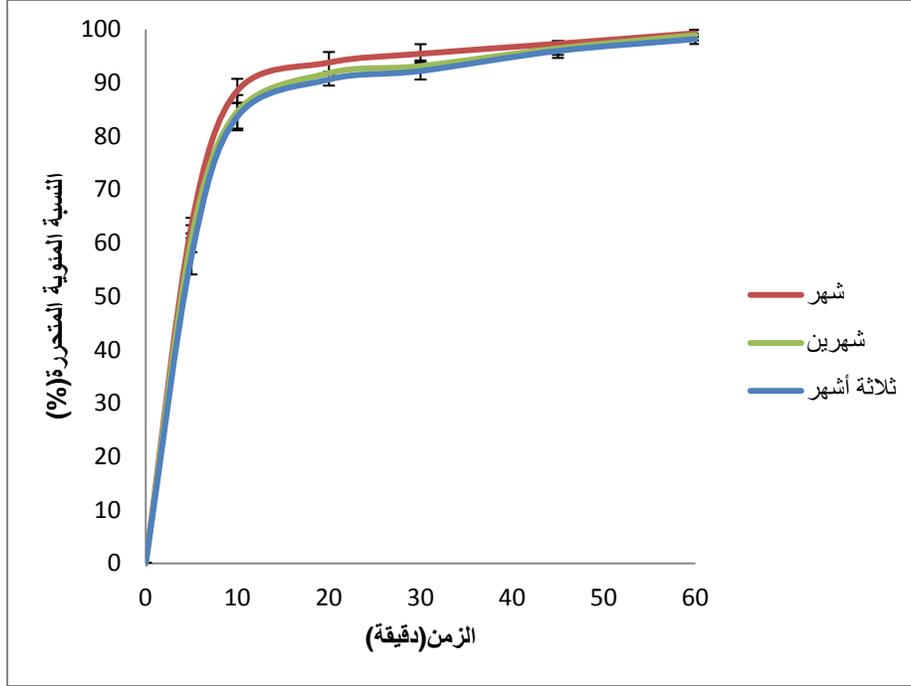
الشكل 18 : مخطط يبين الكمية المتحررة من الدوكسيسكلين عند الدقيقة 60 وذلك في نهاية

كل شهر من التخزين في الظروف (25 C & 75% RH)

4.2.2 التخزين في الظروف (25 °C & 60% RH)

تم تخزين المحافظ في الظروف السابقة لمدة ثلاثة أشهر. يبين الشكل (19) نتائج اختبار الانحلال بعد انقضاء المدة المذكورة.

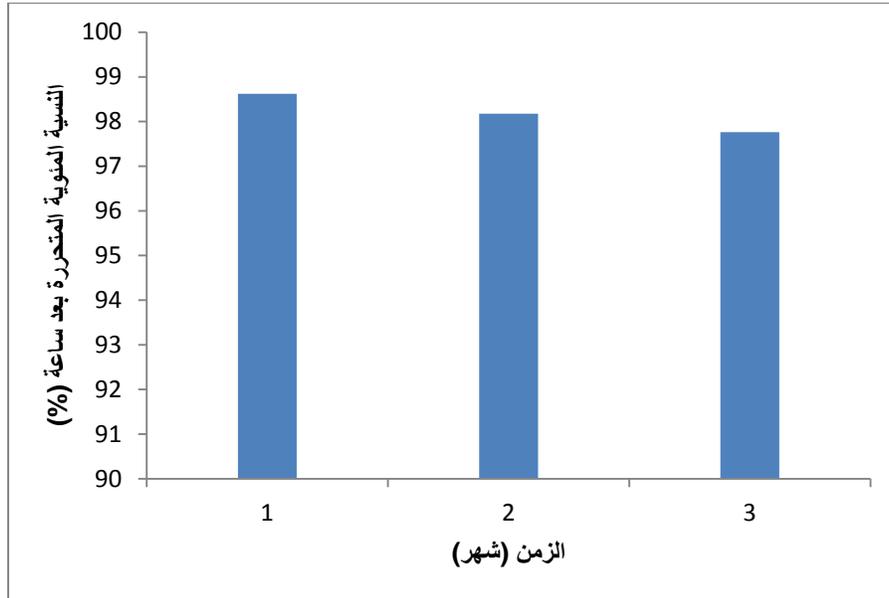
لم تتغير الكمية المتحررة من الدواء بعد ثلاثة أشهر من التخزين في الظروف السابقة عن كميته المتحررة قبل التخزين. وهذا يتفق مع دراسة أجراها Khalil حيث قام بتخزين محافظ الكلورامينيكول الجيلاتينية الصلبة في ظروف قريبة من الظروف السابقة وهي (25 °C & 66% RH) لمدة 8 أشهر فلاحظ عدم حدوث تغيرات في الانحلال^[45].



الشكل 19 : مخطط الانحلال بعد التخزين في الظروف (25 C&60% RH) للمدة المذكورة

يوضح الشكل (20) كمية الدواء المتحررة من المحافظ في نهاية كل شهر بعد مرور ساعة 60

دقيقة.

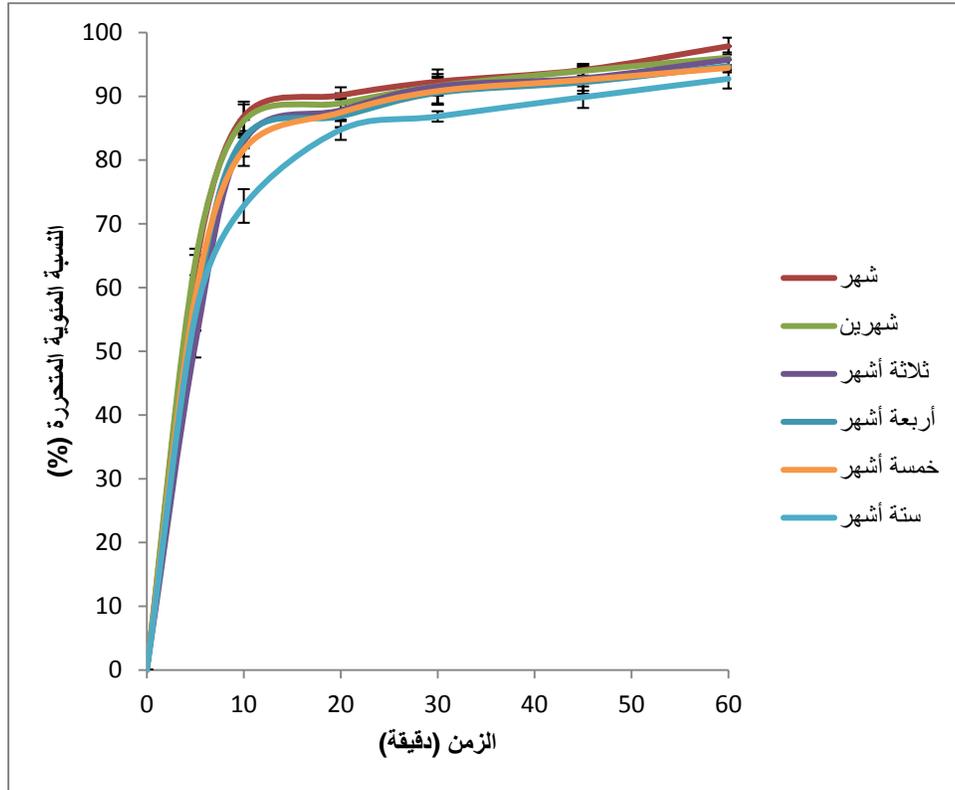


الشكل 20 : مخطط يبين الكمية المتحررة من الدوكسيسكلين عند الدقيقة 60 وذلك في نهاية

كل شهر من التخزين في الظروف (25 C&60% RH)

5.2.2 التخزين على الرف

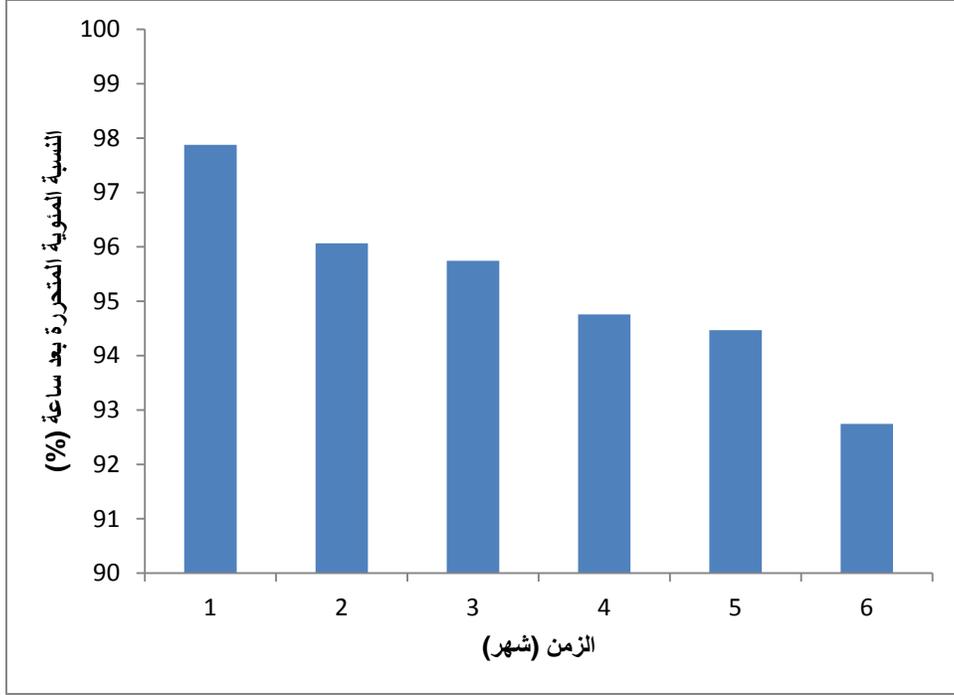
تم التخزين على الرف لمدة ستة أشهر من حزيران إلى تشرين الثاني، حيث تعرضت المحافظ خلال تلك الفترة لدرجات حرارة تراوحت بين (21-30 °C) ورطوبة نسبية تراوحت بين (30-78% RH) فكانت النتائج موضحة في الشكل (21).



الشكل 21 : مخطط الانحلال بعد التخزين على الرف للمدة المذكورة

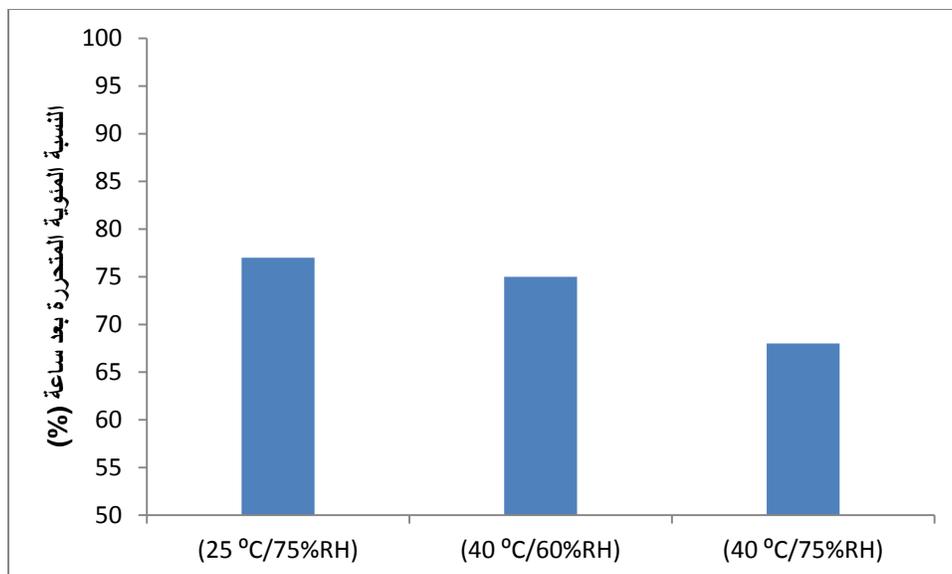
كانت الكمية المتحررة من الدوكسيسكلين بعد ساعة حوالي 92% وذلك بعد مرور 6 أشهر من التخزين في الظروف السابقة وهذا لا يخالف شروط الانحلال الواردة في دستور الأدوية الأميركي^[15]. نلاحظ بأن المحافظ لم تتعرض خلال الفترة السابقة لدرجات حرارة مرتفعة حيث لم تتجاوز درجات الحرارة 30 °C، أما بالنسبة للرطوبة فقد تفاوتت نسبتها بين 30-78% مما أدى إلى انخفاض بسيط في معدلات تحرر الدوكسيسكلين من المحافظ.

يبين الشكل (22) كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ في نهاية كل شهر وذلك بعد مرور 60 دقيقة.



الشكل 22 : مخطط يبين الكمية المتحللة من الدوكسيسكلين عند الدقيقة 60 وذلك في نهاية كل شهر من التخزين على الرف

عند إجراء مقارنة بين الظروف التخزينية (40 °C & 75% RH)، (40 °C % 60% RH)، (25 °C & 75% RH) لمعرفة كمية الدوكسيسكلين المتحللة من المحافظ الجيلاتينية بعد ستة أشهر عند الدقيقة 60، تبين أن نسبة الدواء المتحللة كانت 68% عند التخزين في الظروف (40 °C & 75% RH) بينما كانت هذه النسبة حوالي 75% عند تعرض المحافظ للظروف (40 °C % 60% RH) و 77% عند تخزينها في الشروط (25 °C & 75% RH) مما يدل على أن توافر وجود الحرارة العالية مع الرطوبة المرتفعة يؤدي إلى زيادة انخفاض الكمية المتحللة من الدوكسيسكلين مقارنة مع وجود الحرارة العالية لوحدها أو الرطوبة المرتفعة لوحدها، الشكل (23).



الشكل 23 : كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ عند الدقيقة 60 بعد ستة أشهر من التخزين في الظروف (40 °C/75%RH, 40 °C/60%RH, 25 °C/75%RH)

3.2 مقارنة سلوك الانحلال باستخدام طريقة معامل التشابه

أجريت مقارنة سلوك الانحلال للمحافظ الجيلاتينية الصلبة بعد التخزين في الظروف السابقة المختلفة، مع المحافظ نفسها ولكن قبل البدء بالتخزين بالاعتماد على معاملي التشابه والاختلاف، ويوضح الجدول (7) النتائج التي تم الحصول عليها.

الجدول (7) : قيم معاملي الاختلاف والتشابه بين المحافظ قبل التخزين والمحافظ المخزنة في الظروف المختلفة

قيمة F2	قيمة F1	المقارنة بين المحافظ قبل التخزين مع
المحافظ المخزنة في الظروف (40 °C & 75% RH)		
58.81	6.48	بعد 15 يوم
57.28	7.19	شهر
46.45	11.59	شهر ونصف
49.66	10.1	شهرين
43.1	13.53	شهرين ونصف
44.28	12.85	ثلاثة أشهر
42.45	13.98	ثلاثة أشهر ونصف

40.62	14.8	أربعة أشهر
37.24	17.68	أربعة أشهر ونصف
38.81	16.58	خمسة أشهر
31.31	23.43	خمسة أشهر ونصف
26.82	28.96	ستة أشهر
22.56	35.14	ستة أشهر ونصف
22.18	35.82	سبعة أشهر
المحافظ المخزنة في الظروف (40 °C & 60% RH)		
63.71	5.33	بعد 15 يوم
67.55	4.36	شهر
52.01	9.36	شهر ونصف
55.43	7.99	شهرين
51.77	9.52	شهرين ونصف
51.62	9.57	ثلاثة أشهر
44.78	13.51	ثلاثة أشهر ونصف
41.75	14.41	أربعة أشهر
37.55	18.23	أربعة أشهر ونصف
38.31	17.77	خمسة أشهر
33.78	22.54	خمسة أشهر ونصف
29.17	28.11	ستة أشهر
25.87	32.7	ستة أشهر ونصف
24.88	33.91	سبعة أشهر
المحافظ المخزنة في الظروف (25 °C & 75% RH)		
69.67	4.03	بعد شهر
57.09	7.13	شهرين
52.89	8.61	ثلاثة أشهر
43.34	13.22	أربعة أشهر
39.52	15.68	خمسة أشهر
30.84	23.98	ستة أشهر
المحافظ المخزنة في الظروف (25 °C & 60% RH)		
73.9	2.93	بعد شهر

62.82	5.08	شهرين
58.29	6.43	ثلاثة أشهر
المحافظ المخزنة على الرف		
63.57	5.29	بعد شهر
61.16	5.95	شهرين
51.05	9.34	ثلاثة أشهر
53.19	8.94	أربعة أشهر
53.67	8.7	خمسة أشهر
44.81	12.83	سنة أشهر

نجد من الجدول (7) أن المحافظ المخزنة في الظروف (40 °C & 75% RH) يتشابه سلوك تحرر الدوكسيسكلين منها بعد 15 يوم وبعد شهر من التخزين مع سلوك تحرر الدوكسيسكلين من المحافظ قبل التخزين، حيث إن قيمة F2 بعد 15 يوم من التخزين في الظروف السابقة هي 58.81، و 57.28 بعد شهر. أما سلوك تحرر الدوكسيسكلين من المحافظ بعد شهر ونصف من التخزين وحتى سبعة أشهر فهو يختلف عن سلوك تحرره من المحافظ قبل التخزين لأن قيمة معامل التشابه كانت دون ال 50.

توضح قيم معامل التشابه المذكورة في الجدول (7) أن سلوك الانحلال الذي تبديه المحافظ بعد 15 يوم من التخزين في الظروف (40 °C & 60% RH) وحتى ثلاثة أشهر يتشابه مع السلوك الذي تبديه المحافظ قبل التخزين، لأن قيمة معامل التشابه كانت بين 50-100، ولكن يختلف سلوك الانحلال بعد ثلاثة أشهر ونصف وحتى سبعة أشهر من التخزين حيث كانت قيمة F2 أقل من 50.

يتبين من الجدول (7) أن المحافظ المخزنة في الظروف (25 °C & 75% RH) كان لها سلوك انحلال مشابه لسلوك انحلال المحافظ قبل التخزين، وذلك منذ الشهر الأول وحتى الشهر الثالث حيث كانت قيمة معامل التشابه (أكبر من 50)، بينما اختلف سلوك انحلال المحافظ المخزنة في الظروف السابقة لمدة أربعة أشهر وحتى ستة أشهر عن سلوك انحلال المحافظ قبل التخزين.

أجريت مقارنة منحنى الانحلال للمحافظ المخزنة في الظروف (25 °C & 60% RH) لمدة شهر وشهرين وثلاثة أشهر، مع منحنى انحلال المحافظ قبل التخزين. كانت قيمة معامل التشابه أكبر من 50 كما هو موضح في الجدول (7)، مما يدل على التشابه في سلوك الانحلال الذي تبديه المحافظ المخزنة في هذه الشروط مع سلوك انحلال المحافظ قبل التخزين.

كان سلوك انحلال المحافظ المخزنة على الرف من شهر وحتى خمسة أشهر، مشابه لسلوك انحلال المحافظ قبل التخزين. حيث كانت قيم معامل التشابه أكبر من 50، بينما كان هناك اختلاف في سلوك انحلال المحافظ المخزنة على الرف لمدة ستة أشهر مقارنة مع سلوك انحلال المحافظ قبل التخزين حيث كانت قيمة F2 أقل من 50 كما هو موضح في الجدول (7).

4.2 الاستنتاجات

تم في هذا البحث دراسة تأثير ظروف التخزين (الحرارة العالية والرطوبة المرتفعة) على كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ الجيلاتينية الصلبة. حيث تم تخزين المحافظ في الشروط التالية:
(25 °C & 60% RH)، (25 °C & 75% RH)، (40 °C & 60% RH)، (40 °C & 75% RH)
كما تم التخزين على الرف وخلالها تعرضت المحافظ لدرجات حرارة تراوحت بين (21-30 °C) ورطوبة نسبية تراوحت بين (30-78%).

- انخفضت كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ الجيلاتينية الصلبة بمقدار 40% وذلك بعد التخزين لمدة 7 أشهر في الشروط (40 °C & 75% RH). وهذا لا يتوافق مع متطلبات الانحلال الواردة في دستور الأدوية الأميركي. يمكن أن يفسر ذلك بحدوث التصالبات بنسبة هامة في القشرة الجيلاتينية للمحافظ نتيجة تعرضها لتلك الشروط.
- انخفضت الكمية المتحررة من الدواء بمقدار 33% وذلك بعد التخزين لمدة 7 أشهر في الشروط (40 °C & 60% RH). وهذا أيضاً يخالف شروط الانحلال الواردة في دستور الأدوية الأميركي.
- كانت كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ حوالي 77% وذلك بعد ستة أشهر من التخزين في الظروف (25 °C & 75% RH). وبالتالي لم تتحقق شروط الانحلال المذكورة في الدستور الأميركي
- لم تتغير كمية الدواء المتحررة من المحافظ المخزنة لمدة ثلاثة أشهر في الظروف (25 °C & 60% RH) مقارنة مع المحافظ غير المخزنة.
- حدث انخفاض بسيط في كمية الدوكسيسكلين المتحررة من المحافظ الجيلاتينية الصلبة المخزنة على الرف بعد 6 أشهر، حيث تعرضت خلال تلك الفترة لدرجات حرارة تراوحت بين (21-30 °C) ورطوبة نسبية تراوحت بين (30-78%).

كما تمت مقارنة سلوك انحلال المحافظ المخزنة في الظروف السابقة المختلفة مع سلوك انحلال المحافظ قبل التخزين، فكانت أكبر قيمة لمعامل التشابه F2 هي 73.80 التي حصلنا عليها عند مقارنة سلوك انحلال المحافظ المخزنة في الظروف (25 ° C & 60% RH) لمدة شهر مع سلوك انحلال المحافظ قبل التخزين. أما أقل قيمة لمعامل التشابه كانت 22.18 والتي نتجت عن مقارنة سلوك انحلال المحافظ المخزنة لمدة سبعة أشهر في الظروف (40 ° C & 75% RH) مع سلوك انحلال المحافظ قبل التخزين.

5.2 التوصيات

- يوصى بالتشديد على عدم تخزين المحافظ الجيلاتينية الصلبة في درجات حرارة عالية أو رطوبة مرتفعة أو التخزين لفترات طويلة. حيث أن التخزين في شروط مناسبة هو أمر هام للحد من مشاكل الانحلال المتعلقة بالمحافظ الجيلاتينية الصلبة.
- متابعة الدراسة على الأشكال الصيدلانية الأخرى الحاوية على الجيلاتين في غلافها الخارجي.
- دراسة التحرر للمحافظ المخزنة في الظروف السابقة المختلفة في الجسم الحي *in vivo*.

6.2 المراجع

1. RABADIYA, B.; RABADIYA, P. *A review: capsule shell material from gelatin to non animal origin material*. IJPRBS, 2(3), 2013, 42-71.
2. European pharmacopeia, 7th edition.
3. BHATT, B.; AGRAWAL, S. S. *Capsules*. Pharmaceutical Tecnology. 2007
4. GELB, A. F.; TAYLOR, C. F.; CASSINO, C.; ZAMEL, N. *Tiotropium induced bronchodilation and protection from dynamic hyperinflation is independent of extent of emphysema in COPD*. Pulm Pharmacol Ther., 22, 2009, 237-242.
5. GOMES, M. F.; FAIS, M. A.; WHITE, N. J. *Pre-referral rectal artesunate to prevent death and disability in severe malaria: a placebo controlled trial*. Lancet, 373, 2009, 557-566.
6. GELB, A. F.; ZAMEL, N. *Tiotropium induced bronchodilation and protection from dynamic hyperinflation is independent of extent of emphysema in COPD*. Pulm Pharmacol Ther., 22, 2009, 237-242.
7. KU, M. S.; LI, W.; HUTCHISON, K. *Performance qualification of a new hypromellose capsule: Part I. Comparative evaluation of physical, mechanical and processability quality attributes of Vcaps Plus, Quali-v and gelatin capsules*. Int J Pharma, 386, 2010, 30-41.
8. FELTON, L. A.; TIMMINAS, G. S. *A nondestructive technique to determine the rate of oxygen permeation into solid dosage forms*. Pharm. Dev. Technol., 11, 2006, 141-147.
9. Gelatin Manufacturers Institute of America. *Gelatin Handbook*. 2012.
10. STEGEMANN, S. *Hard gelatin capsules today- and tomorrow*. Capsugel, 2002
11. TEJA, C. H.; PRAMODKUMAR, T. M. *Comparative study of in-process and finished products quality control tests of Indian pharmacopeia, british pharmacopeia & united states pharmacopeia for capsules and liquid orales*. International research journal of pharmacy, 2(9), 2011, 65-69.
12. WANG, Q.; FOTAKI, N. MAO, Y. *Biorelevant dissolution: methodology and application in drug development*. Dissolution Technologies, 16(3), 2009, 6-12.
13. JAMES, S. *Encyclopedia of pharmaceutical technology third edition*. 2007, 908-928.
14. Guidance for industry: Dissolution testing of immediate release solid oral dosage form. Aug. 1997
15. U.S. pharmacopeia, USP30-NF25, 2007.
16. Guidance for industry: Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. Aug. 2000.
17. Guidance for industry: Bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products-general consideration. Oct. 2000.
18. Costa, P.; Lobo, S. *Modeling and comparison of dissolution profiles*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 13, 2001, 123-133.
19. Southern african development community guideline for stability testing. Mar. 2004.

20. 2008، مارديني، محمد عامر، المراقبة الدوائية، منشورات جامعة دمشق، كلية الصيدلة،
21. BIGI, A.; COJAZZI, G.; RUBINI, K. *Stabilisation of gelatin films by crosslinking with genipin*. *Biomaterials*. 23, 2002, 4827-4832.
22. RAMA RAO, K. V.; PAKHALE. S. P.; SINGH, S. *A film approach for the stabilization of gelatin preparations against cross-linking*. *Pharmaceutical Technology*, 27(4), 2003, 54-62.
23. CHIWELE, I.; JONES, B. E.; PODCZECK, F. *The shell dissolution of various empty hard capsules*. *Chem.Pharm.Bull.*, 48(7), 2000, 951-956.
24. GOLD, T. B.; BUICE, R. G.; DIGENIS, G. A. *Determination of extent of formaldehyde-induced crosslinking in hard gelatin capsules by near-infrared spectrophotometry*. *Pharm. Res.*, 14, 1997, 1046-1050.
25. GOLD, T. B.; DIGENIS, G. A. *Influence of acid and pepsin on C13-formaldehyde induced gelatin crosslinks using carbon- 13 NMR*. 2004
26. CLAIR, M. J.; PURDIE, J.; MCGEOSH, P. *The effect of cross-linking on the in vitro disintegration of hard gelatin capsules*. *Encap Drug Delivery*.
27. SINGH, S.; PAKHALE, S. P. *Gelatin-containing formulations: changes in dissolution characteristics*. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Third Edition, 2006, 1861-1874.
28. SINGH, S.; RAMA RAO, K. V.; MANIKANDAN, R. *Alteration in dissolution characteristics of gelatin-containing formulations*. *Pharmaceutical Technology*, 26(4), 2002, 36-58.
29. DIGENIS, G. A.; GOLD, T. B.; SHAH, V. P. *Cross-linking of gelatin capsules and its relevance to their in vitro-in vivo performance*. *J. Pharm. Sci.*, 83(7), 1994, 915-921.
30. ROBINSON, J.; KELLAWAY, I. W.; MARRIOTT, C. *Effects of blending on the rheological properties of gelatin gels*. *J. Pharm. Pharmacol.*, 27, 1975, 188-824.
31. AL-DUJAILI, H.; FLORENCE, A. T.; SALOLE, E. G. *Adhesiveness of proprietary tablets and capsules to porcine esophageal tissue*. *Int. J. Pharm.*, 34, 1986, 75-79.
32. SWISHER, D. A.; SENDELBECK, S. L.; FARA, J. W. *Adherence of various oral dosage forms to the esophagus*. *Int. J. Pharm.*, 22, 1984, 219-228.
33. PETERS, H. J.; BOMMEL, E.; FOKKENS, J. G. *Effect of gelatin properties in complex coacervation processes*. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 18(1), 1992, 123-134.
34. NAIDOO, N. T. *Coating trends of solid dosage forms*. *S. A. Pharm. J.*, 59, 1992, 86-87.
35. GUYOT, M.; FAWAZ, F.; MAURY, M. *In vitro release of theophyllin from cross-linked gelatin capsules*. *Int. J. Pharm.*, 144, 1996, 209-216.
36. LOU, X.; CHIRILA, T. V. *Swelling behavior and mechanical properties of chemically cross-linked gelatin gels for biomedical use*. *J.Biomater. Appl.*, 14(2),1999, 184-191.
37. OFNER, C. M.; BOWMAN, B. J. *Crosslinking studies in gelatin capsules treated with formaldehyde and in capsules exposed to elevated temperature and humidity*. *J. Pharm. Sci.*, 90(1), 2001, 79-88.
38. CHAFETZ, L.; HONG, W.; PHILIP, J. *Decrease in the rate of capsule dissolution due to formaldehyde from polysorbate 80 auto-oxidation*. *J Pharm Sci.*, 8, 1984, 1186-1187.

39. MOHAMAD, H.; RENOUX, R.; KANTELIP, J. P. *Investigation of drug biopharmaceutical stability. Part :Study of ampicillin trihydrate capsules.* S.T.P. Pharma Pratiques, 2, 1986, 912-917.
40. DEY, M. *The dissolution and bioavailability of etodolac from capsules exposed to conditions of high relative humidity and temperatures.* Pharm. Res., 10(9), 1993, 1295-1300.
41. CARSTENSEN, J. T.; RHODES, C. T. *Pellicle formation in gelatin capsules.* Drug Dev. Ind. Pharm., 19(20), 1993, 2709-2712.
42. WELZ, M. M.; OFNER, C. M. *Examination of self-crosslinked gelatin as a hydrogel for controlled release.* J Pharm Sci., 81, 1992, 85-90.
43. MWANGI, J. W.; OFNER, C. M. *Modulation and evaluation of the degree of crosslinking in gelatin hydrogel matrices using a water soluble carbodi-imide.* Pharm Res., 12, 1995.
44. MARCHAIS, H.; ARNAUD, P. *Cross-linking of hard gelatin carbamazepine capsules: effect of dissolution conditions on invitro release.* Eur. J. Pharm. Sci., 19, 2003, 129-132.
45. KHALIL, S.; ALI, L.; ABDELKHALEK, M. *Effects of aging and relative humidity on drug release, Part 1: Chloramphenicol Capsules.* Pharmazie, 29(1), 1974, 36-37.
46. JOHNSON, B.; MCAULEY, P.; SMITH, P. *The effects of storage upon in vitro and in vivo characteristics of soft gelatin capsules containing digoxin.* J Pharm Pharmacol, 29, 1977, 576-578.
47. GEORGARAKIS, M.; HATZIPANTOU, P.; KOUNTOURELIS, J. E. *Effect of particle size, content in lubricant, mixing time and storage relative humidity on drug release from hard gelatin capsules.* Drug Dev. Ind. Pharm., 14(7), 1988, 915-923.
48. MURTHY, K. S.; GHEBRE-SEIASSIE, I. *Current perspectives on the dissolution stability of solid dosage forms.* J. Pharm. Sci., 82(2), 1993, 11-126.
49. MOHAMAD, H. *Investigation of drug biopharmaceutical stability: application to capsules of tetracycline hydrochloride, part 2: invivo study.* S.T.P. Pharma., 2, 1986, 630-635.
50. MOHAMAD, H. *Investigation of drug biopharmaceutical stability, part 3: study of ampicillin trihydrate capsules (in vitro–in vivo investigation).* S.T.P. Pharma., 2, 1986, 912-917.
51. DOELKER, E.; VIAL-BERNASCONI, A. C. *Shell-content interactions in gelatin capsules and a critical evaluation of their effects on drug availability.* S.T.P. Pharma., 4, 1988, 298-306.
52. GOLD, T. B.; BUICE, R. G.; DIGENIS, G. A. *Detection of formaldehyde-induced cross-linking in soft elastic gelatin capsules using near-infrared spectrometry.* Pharm. Dev. Technol., 3(2), 1998, 209-214.
53. TAYLOR, S. K.; DAVIDSON, F.; OVENALL, D. W. *Carbon 13–nuclear magnetic resonance studies on gelatin cross-linking by formaldehyd.* Photogr. Sci. Eng., 22, 1978, 134-138.
54. VENUGOPAL, K.; SINGH, S. *Evaluation of gelatins for cross-linking potential.* Pharm. Technol., 2001, 32-37.
55. CHEN, G. L.; HAO, W. H. *Factors affecting zero-order release kinetics of porous gelatin capsules.* Drug Dev. Ind. Pharm., 24(6), 1998, 557-562.

56. SCHWIER, J. R. *Rayon: source of furfural — a reactive aldehyde capable of insolubilizing gelatin capsules*. Pharm. Technol., 17, 1993, 78-80.
57. COOPER, J.; ANSEL, H. C.; CADWALLADER, D. E. *Liquid and solid interactions of primary certified colorants with pharmaceutical gelatins*. J. Pharm. Sci., 62(7), 1973, 1156-1164.
58. JONES, B. E. *Hard gelatin capsules*. Manuf. Chem. Aerosol News., 40, 1969, 22-24.
59. MURTHY, K. S.; ENDERS, N. A.; FAWZI, M. B. *Dissolution stability of hard-shell capsule products, part I: the effect of exaggerated storage conditions*. Pharm. Technol., 13(3), 1989, 72-84.
60. RAY-JHONSON, M. L.; JACKSON, I. M. *Temperature-related incompatibility between gelatin and calcium carbonate in sugar-coated tablets*. J. Pharm. Pharmacol., 28, 1976, 309-310.
61. MOHAMAD, H. *Investigation of drug biopharmaceutical stability: application to capsules of tetracycline hydrochloride, part 2: in vivo study*. S.T.P. Pharma., 1986, 630-635.
62. CHANG, R. K.; RAGHAVAN, K. S.; HUSSAIN, M. A. *A study on gelatin capsule brittleness: moisture transfer between the capsule shell and its content*. J. Pharm. Sci. 87(5), 1998, 556-558.
63. YORK, P. *The shelf life of some antibiotic preparations stored under tropical conditions*. Pharmazie., 32(2), 1977, 101-104.
64. GEORGARAKIS, M.; HATZIPANTOU, P.; KOUNTOURELIS, J. E. *Effect of particle size, content in lubricant, mixing time, and storage relative humidity on drug release from hard gelatin capsules*. Drug Dev. Ind. Pharm., 14(7), 1988, 915-923.
65. BARRETT, D.; FELL, J. T. *Effect of aging on physical properties of phenylbutazone tablets*. J. Pharm. Sci., 64(2), 1975, 335-337.
66. KHALIL, S.; BARAKAT, N.; BORAIE, N. *Insolubility of gelatin films in systems simulating the subcoat of sugar-coated tablets*. S.T.P. Pharm. Sci., 1(2), 1991
67. KHALIL, S.; BARACAT, N.; BORAIE, N. *Effect of aging on dissolution rates and bioavailability of riboflavin sugar-coated tablets*. S. T. P. Pharm. Sci., 1, 1991, 189-194.
68. CHAFETZ, L. *Decrease in the rate of capsule dissolution due to formaldehyde from polysorbate 80 autooxidation*. J. Pharm. Sci., 73(8), 1984, 1186-1187.
69. HAKATA, T. *Effect of storage temperature on disintegration time of soft gelatin capsules*. J. Pharm. Sci. Technol. Japan., 41, 1981, 276-281.
70. HAKATA, T. *Effect of storage temperature on the physicochemical properties of soft gelatin capsule shells*. Chem. Pharm. Bull., 42, 1994, 1496-1500.
71. SINGH, S.; MANIKANDAN, R. *Stability testing for gelatin based formulations: rapidly evaluating the possibility of a reduction in dissolution rates*. Pharm Technol., 24 (5), 2000, 58-72.
72. GOUDA, H. W.; MOUSTAF, M. A.; AL-SHORA, H. I. *Effect of storage on nitrofurantoin solid dosage forms*. Int. J. Pharm., 18, 1984, 213-215.
73. LENGYEL, J. *Investigation and evaluation of the utilization of gelatin treated with ionizing radiation in the pharmaceutical industry*. Gyogyszereszet., 20(1), 1976, 5-7.
74. INJAC, R.; SRDJENOVIC, B. *Thermostability testing and degradation profiles of doxycycline in bulk, tablets, and capsules by HPLC*. Journal of Chromatographic Science, 45, 2007, 623-628.

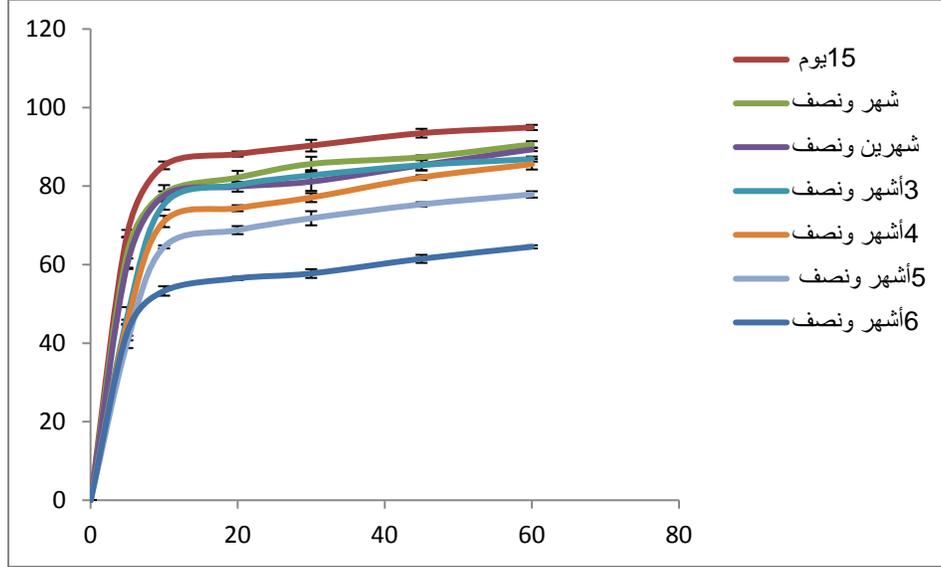
75. JOSHI, N.; MILLER, D. Q. *Doxycycline revisited*. Arch. Intern. Med., 157, 1997, 1421-1428.
76. SWEET, R. L.; SCHACHTER, J.; ROBBIE, M. *Treatment of hospitalized patients with acute pelvic inflammatory disease: comparison of cefotetan plus doxycycline and ana doxycycline*. Am. J. Obstet. Gynecol., 158, 1988, 736-741.
77. MATTA, M.; KARI, O.; TERVAHARTIALA, T. *Tear fluid levels of MMP-8 are elevated in ocular rosacea—treatment effect of oral doxycycline*. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 244(8), 2006, 957-962.
78. WALKER, D.; PADDOCK, C.; DUMLER, J. *Emerging and remerging tick-transmitted rickettsial and ehrlichial infections*. Med. Clin. North Am., 92(6), 2008, 1345-1361.
79. DAHL, E.; SHENAI, B.; ROSENTHAL, P. *Tetracyclines specifically target the apicoplast of the malaria parasite plasmodium falciparum*. Antimicrob. Agents Chemother, 50(9), 2006, 3124-3131.
80. LALLO, D.; SHNGADIA, D.; PASVOL, G. *UK malaria treatment guidelines*. J. Infect., 54(2), 2007, 111-121.
81. AGWUH, K. N.; MACGOWAN, A. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycylcyclins*. J. Antimicrob. Chemother, 58(2), 2006, 256-265.
82. SAIVIN, S.; HOUIN, G. *Clinical pharmacokinetics of doxycycline and minocycline*. Clin. Pharmacokinet., 15, 1988, 355-366.
83. HOUIN, G.; BRUNNER, F.; NEBOUT, T. *The effects of chronic renal insufficiency on the pharmacokinetics of doxycycline in man*. Br. J. Clin. Pharmacol, 16, 1983, 245-252.
84. GARRAFO, R.; DELLAMONICA, P.; FOURNIER, J. *Effect de la rifampicine sur la pharmacocinetique de la doxycycline*. Pathologie Biologie, 35, 1987, 746-749.
85. STEIGBIGEL, N.; REED, C. *Absorption and excretion of five tetracycline analogues in normal young men*. Am J Med Sci., 255, 1968, 296-312.
86. YLITALO, P.; HINKKA, H.; NEOUVONEN, P. *Effecy of exercise on the serum level and urinary excretion of tetracycline, doxycycline and sulphamethizole*. European J Clin Pharmacol., 12, 1977, 367-373.
87. CAMPISTORN, G.; COULAIS, Y.; CAILLARD, C. *Pharmacokinetics and bioavailability of doxycycline in humans*. Arzneimittelforschung., 36, 1986, 1705-1707.
88. HEANEY, D.; EKNOYAN, G. *Minocycline and doxycycline kinetics in renal failure*. Clin Pharmacol., 24, 1982, 233-239.
89. JANTRATID, E.; STRAUCH, S.; BARENDS, D. M. *Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: doxycycline hyclate*. Journal of Pharmaceutical Sciences, 99(4), 2010, 1639-1653.
90. TAN, K.; MAGILL, A.; ARGUIN, P. *Doxycycline for malaria chemoprphylaxis and treatment: report from the CDC expert meeting on malaria chemoprophylaxis*. Am. J. Trop. Med. Hyg., 84(4), 2011, 517-531.
91. DRENO, B.; BETTOLI, V.; DEGREEF, H. *European recommendations on the use of oral antibiotics for acne*. Eur. J. Dermatology., 14(6), 2004, 391-399.
92. CONCHIE, J.; MUNROE, J.; ANDERSON, D. *The incidence of staining of permanent teeth by the tetracyclines*. CMAJ., 103, 1970, 351 – 356.
93. GENOT, M.; GOLAN, H.; KASS, E. *Effect of administration of tetracycline in pregnancy on the primary dentition of the offspring*. J Oral Med., 25, 1970, 75-79.
94. MORGANYI. G.; CECCARELLI, G.; CIAFFI, G. *Comparative concentrations of a tetracycline antibiotic in serum and maternal milk*. Antibiotica., 6, 1968, 216 – 223.

95. NAHUM, G.; UHL, K.; KENNEDY, D. *Antibiotic use in pregnancy and lactation*. *Obstet Gynecol*, 107, 2006, 1120-1138.
96. CZEIZEL, A.; ROCKENBAUER, M. *Teratogenic study of doxycycline*. *Obstet Gynecol*, 89(4), 1997, 524-528.
97. CASTELLANOSGIL, E.; HOOGMARTEN, J. Analysis of doxycycline by capillary electrophoresis method development and validation. *J. Chromatogr. A.*, 895, 2000, 43-49.
98. Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency. *Doxycycline 50 mg capsules*.
99. WINSTON, P.; BATES, D. *Saturated solutions for the control of humidity in biological research*. *Ecology*, 41(1), 1960, 232-237.
100. ELMESHAD, A.; DARWISH, M. *Stability studies of the effect of crosslinking on hydrochlorthiazide release*. *Drug Discov Ther.*, 3(3), 2009, 136-142.
101. MARGARETH, C. *Use of enzymes in the dissolution testing of gelatin capsules*. American Pharmaceutical. 2012.
102. DEY, M. *The dissolution and bioavailability of etodolac from capsules exposed to conditions of high relative humidity and temperatures*. *Pharm. Res.*, 10(9), 1993, 1295-1300.

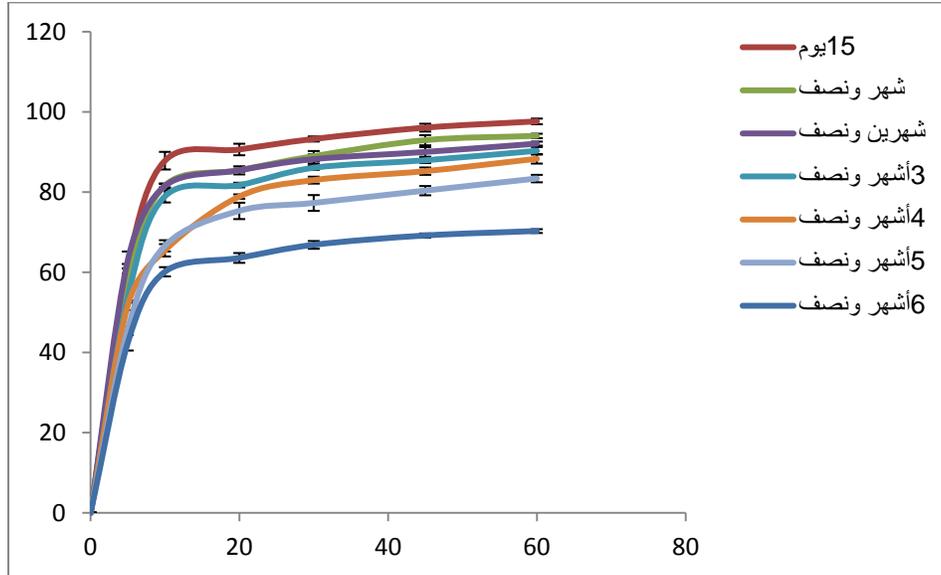
الملاحق

ملحق (1)

مخططات الانحلال بعد التخزين في الظروف (40 °C & 60%) و (40 °C & 75%)



الشكل (1): مخطط الانحلال بعد التخزين في الظروف (40 °C & 75%RH) للمدة المذكورة



الشكل (2): مخطط الانحلال بعد التخزين في الظروف (40 °C & 60%RH) للمدة المذكورة

ملحق (2)

النسبة المئوية المتحررة مع الزمن من محافظ الدوكسيسكلين الجيلاتينية الصلبة المخزنة في الظروف المختلفة

الجدول (1): التخزين في الظروف (40 °C & 75%RH)

النسبة المئوية المتحررة عند التخزين في الظروف (40 °C & 75%) بعد							الزمن (دقيقة)
ثلاثة أشهر ونصف	ثلاثة أشهر	شهرين ونصف	شهرين	شهر ونصف	شهر	15 يوم	
46.90 ± 2.26	58.02 ± 1.42	60.24 ± 1.38	62.14 ± 0.05	63.09 ± 2.85	54.64 ± 2.78	67.98 ± 0.98	5
75.43 ± 1.42	75.31 ± 0.89	77.54 ± 1.12	80.37 ± 1.36	78.17 ± 1.10	84.72 ± 1.25	85.28 ± 0.98	10
80.30 ± 0.73	82.53 ± 1.75	79.85 ± 1.25	85.08 ± 0.48	82.17 ± 1.75	89.97 ± 0.56	88.18 ± 0.66	20
82.74 ± 1.28	84.75 ± 0.57	81.14 ± 2.35	87.78 ± 0.76	85.65 ± 1.80	90.66 ± 0.84	90.32 ± 1.09	30
85.35 ± 1.31	86.92 ± 0.48	85.32 ± 1.32	89.11 ± 0.8	87.37 ± 0.48	91.16 ± 0.73	93.48 ± 1.14	45
86.89 ± 0.66	87.44 ± 1.00	89.35 ± 0.47	89.83 ± 1.15	90.61 ± 0.82	91.79 ± 0.32	94.95 ± 0.67	60

النسبة المئوية المتحررة عند التخزين في الظروف (40 °C & 75%) بعد							الزمن (دقيقة)
سبعة أشهر	سنة أشهر ونصف	سنة أشهر	خمسة أشهر ونصف	خمسة أشهر	أربعة أشهر ونصف	أربعة أشهر	
40.49 ± 1.19	42.84 ± 2.40	48.23 ± 1.90	40.34 ± 1.58	41.18 ± 1.91	45.38 ± 2.33	41.77 ± 2.26	5
53.69 ± 0.7	53.30 ± 1.19	61.50 ± 0.37	64.54 ± 0.36	71.29 ± 1.22	71.02 ± 1.04	68.91 ± 1.42	10
56.85 ± 0.22	56.50 ± 0.42	63.43 ± 0.96	68.80 ± 1.03	78.19 ± 1.86	74.38 ± 2.71	79.72 ± 0.73	20
57.93 ± 0.68	57.75 ± 1.11	66.67 ± 1.57	71.82 ± 0.80	79.99 ± 0.87	77.08 ± 1.88	84.03 ± 1.28	30
60.39 ± 1.16	61.48 ± 1.02	67.76 ± 1.36	75.35 ± 0.56	82.65 ± 0.73	82.18 ± 1.12	86.67 ± 1.31	45
60.94 ± 1.35	64.54 ± 0.40	68.44 ± 0.68	77.89 ± 0.80	84.18 ± 0.64	85.56 ± 1.1	86.86 ± 0.66	60

الجدول (2): التخزين في الظروف (40 °C & 60%RH)

النسبة المئوية المتحررة عند التخزين في الظروف (40 °C & 60%) بعد							الزمن (دقيقة)
ثلاثة أشهر ونصف	ثلاثة أشهر	شهرين ونصف	شهرين	شهر ونصف	شهر	15 يوم	
53.75±1.32	63.08±2.28	62.35±1.84	62.74±1.44	58.87±0.87	65.61±1.99	61.53±0.58	5
78.97±1.54	81.57±2.09	82.28±0.75	82.53±0.87	81.61±0.42	88.23±1.44	87.85±1.25	10
81.76±0.59	86.34±0.86	85.46±0.36	88.11±1.46	85.43±1.04	91.37±2.02	90.63±1.01	20
86.08±0.53	88.77±1.95	88.23±1.15	90.75±0.19	88.94±1.31	93.40±1.33	93.25±0.62	30
87.95±0.67	90.03±1.20	90.48±0.87	92.06±1.3	92.94±1.27	95.14±1.34	96.08±1.00	45
90.31±0.97	90.85±0.37	92.10±0.51	93.29±0.43	94.01±0.57	95.70±0.99	97.64±0.73	60

النسبة المئوية المتحررة عند التخزين في الظروف (40 °C & 60%) بعد							الزمن (دقيقة)
سبعة أشهر	ستة أشهر ونصف	ستة أشهر	خمسة أشهر ونصف	خمسة أشهر	أربعة أشهر ونصف	أربعة أشهر	
47.61±1.80	42.41±1.90	43.63±0.81	45.86±0.66	48.49±0.64	51.74±1.18	53.28±0.27	5
58.16±1.89	60.14±1.15	63.43±1.79	66.61±1.40	67.29±2.28	65.50±1.54	67.33±1.36	10
62.98±0.13	63.59±1.24	68.66±1.55	75.32±2.03	82.15±0.9	78.90±0.56	86.19±1.81	20
63.84±0.38	66.84±0.97	72.35±1.49	77.29±1.93	84.62±1.41	82.99±0.83	87.85±2.24	30
66.26±0.95	69.16±0.54	74.35±1.75	80.36±1.15	85.93±1.22	85.23±0.87	89.30±1.54	45
67.02±1.20	70.28±0.48	75.56±0.29	83.38±0.91	86.76±1.63	88.31±1.19	89.86±1.15	60

الجدول (3): التخزين في الظروف (25 °C & 75%RH)

النسبة المئوية المتحررة عند التخزين في الظروف (25 °C & 75%) بعد						الزمن (دقيقة)
ستة أشهر	خمسة أشهر	أربعة أشهر	ثلاثة أشهر	شهرين	شهر	
43.30 ± 1.87	42.65 ± 0.58	50.75 ± 1.73	58.43 ± 2.70	60.44 ± 2.33	63.48 ± 2.07	5
64.02 ± 0.99	66.21 ± 1.53	76.04 ± 0.83	83.03 ± 1.96	86.00 ± 1.23	89.19 ± 1.75	10
68.70 ± 1.12	73.32 ± 1.23	78.41 ± 2.05	85.54 ± 1.92	87.57 ± 1.59	92.37 ± 1.86	20
72.40 ± 1.47	78.46 ± 1.67	83.45 ± 0.55	88.05 ± 1.09	89.43 ± 1.02	93.83 ± 0.38	30
75.84 ± 2.29	82.97 ± 1.94	87.74 ± 1.68	90.76 ± 1.64	91.57 ± 2.11	94.36 ± 2.07	45
79.47 ± 2.31	87.55 ± 1.23	89.31 ± 0.45	93.05 ± 1.92	94.07 ± 2.50	96.06 ± 1.56	60

الجدول (4): التخزين في الظروف (25 °C & 60%RH)

النسبة المئوية المتحررة عند التخزين في الظروف (25 °C & 60%) بعد			الزمن (دقيقة)
ثلاثة أشهر	شهرين	شهر	
57.49 ± 3.40	60.79 ± 2.53	63.25 ± 1.44	5
83.63 ± 2.56	84.55 ± 3.14	88.48 ± 2.25	10
90.62 ± 1.16	91.79 ± 0.25	93.78 ± 1.98	20
92.21 ± 1.61	93.11 ± 1.04	95.42 ± 1.80	30
95.97 ± 1.33	96.42 ± 1.21	97.30 ± 0.53	45
98.18 ± 0.93	98.89 ± 0.97	99.27 ± 0.69	60

الجدول (5): التخزين على الرف

النسبة المئوية المتحررة عند التخزين على الرف بعد						الزمن (دقيقة)
شهر	شهرين	ثلاثة أشهر	أربعة أشهر	خمسة أشهر	ستة أشهر	
62.99 ± 2.10	64.01 ± 2.08	51.12 ± 2.1	56.28 ± 2.33	58.50 ± 0.24	55.62 ± 2.36	5
86.86 ± 2.30	86.13 ± 2.61	82.88 ± 1	83.42 ± 2.88	81.63 ± 2.55	72.79 ± 2.64	10
90.17 ± 1.24	88.91 ± 1.56	87.82 ± 1.71	86.88 ± 1.79	87.46 ± 2.29	84.74 ± 1.58	20
92.31 ± 1.18	91.60 ± 1.50	91.55 ± 2.66	90.55 ± 1.89	90.82 ± 2.09	86.84 ± 0.81	30
94.14 ± 0.89	93.98 ± 1.11	92.81 ± 1.95	92.22 ± 2.29	92.56 ± 2.16	89.86 ± 1.69	45
97.87 ± 1.32	96.06 ± 1.79	95.74 ± 1.14	94.75 ± 1	94.46 ± 0.41	92.74 ± 1.52	60

Abstract

The aim of this study is to evaluate the effect of high temperatures and relative humidities (40 °C & 75%RH, 40 °C & 60%RH, 25 °C & 75%RH, 25 °C & 60%RH, storage on the shelf) on the released amount of doxycycline from hard gelatin capsules. The dissolution profiles were compared using similarity factor approach according to the food and drug administration.

The results demonstrated about (32%, 25%, 21%) reduction in the released amount of doxycycline from capsules stored for 6 months under (40 °C & 75%RH, 40 °C & 60%RH, 25 °C & 75%RH) respectively. That means the capsules didn't meet the requirements of USP-dissolution test; as less than 85% of doxycycline was released within 60 minutes. When capsules were stored on the shelf, they exposed to temperatures ranged between (21-30 °C) and relative humidity ranged between (30-78%) for 6 months (June-November). A simple change in the release rates was observed. In this case, the capsules successfully passed the requirements of USP- dissolution test; as more than 85% of doxycycline was released within 60 minutes. The released amount of drug from capsules didn't change after 3 months of storage in the conditions of (25 °C & 60%RH).

The doxycycline in the capsules was assayed before and after storage. No changes were observed on the quantity of doxycycline after storage.

Syrian Arab Republic

Ministry of higher Education

Tishreen University

Faculty of Pharmacy

Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology



Study the Effect of Storage on Doxycycline Release from Hard Gelatin Capsules

Thesis is Prepared to Get Master's Degree in Drug Design and Control

Prepared by

Heba Mahmoud Fadel

Supervised by

Dr. Wehad Ibrahim

Dr. Ayat Abboud

Lattakia 2014 – 2015