جامعة حلب
كلية الصيدلة
قسم الكيمياء الصيدلية والمراقبة الدوائية

دراسات الثبات لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الأشكال الصيدلانية السائلة

Stability Studies of Levocetirizine and Pseudoephedrine Combination in Liquid Dosage Forms

رسالة أُعدّت لنيل درجة الماجستير في المراقبة الدوائية

إعداد الصيدلانية:

ميرفت عبدو مراد

2014م

1435هـ

جامعة حلب
كلية الصيدلة
قسم الكيمياء الصيدلية والمراقبة الدوائية

دراسات الثبات لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الأشكال الصيدلانية السائلة

Stability Studies of Levocetirizine and Pseudoephedrine Combination in Liquid Dosage Forms

رسالة أُعدّت لنيل درجة الماجستير في المراقبة الدوائية

إعداد الصيدلانية:

ميرفت عبدو مراد

بإشراف:

الدكتور ياسر بيطار

المدرس في قسم

الكيمياء الصيدلية والمراقبة الدوائية

كلية الصيدلة–جامعة حلب

2014م

1435هـ

جامعة حلب
كلية الصيدلة
قسم الكيمياء الصيدلية والمراقبة الدوائية

تصريح

أصرح بأن هذا البحث بعنوان **(دراسات الثبات لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الأشكال الصيدلانية السائلة)** لم يسبق أن قبل للحصول على أية شهادة، ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشحة

ميرفت مراد

Declaration

I hereby certify that this work (**Stability Studies of Levocetirizine and Pseudoephedrine Combination in Liquid Dosage Forms)** has not been accepted for any degree or it is not submitted to any other degree.

Candidate
Mirvat Mourad

جامعة حلب
كلية الصيدلة
قسم الكيمياء الصيدلية والمراقبة الدوائية

شهادة

نشهد بأن العمل المقدم في هذه الرسالة هو نتيجة بحث علمي قامت به المرشحة **ميرفت مراد** بإشراف الدكتور **ياسر بيطار** (المشرف الرئيسي) **المدرس** في قسم **الكيمياء الصيدلية والمراقبة الدوائية** من كلية **الصيدلة** جامعة **حلب**.

إن أية مراجع أخرى ذكرت في هذا العمل موثقة في نص الرسالة وحسب ورودها في النص.

المرشح	المشرف الرئيسي
ميرفت مراد	**الدكتور: ياسر بيطار**

Testimony

We witness that the described work in this treatise is the result of scientific search conducted by the candidate **Mirvat Mourad** under the supervision of doctor **Yaser Bitar** (main supervisor) teacher at the department of **Pharmaceutical Chemistry and Quality Control**, Faculty of **Pharmacy**, University of **Aleppo**.

Any other references mentioned in this work are documented in the text of the treatise.

Candidate	Main supervisor
Mirvat Mourad	**Dr.Yaser Bitar**

الإهداء

إلى أبي العظيم الغالي... إلى روحه الطاهرة...
إلى من تمنيت طوالاً أن يشاركني هذه اللحظات ولكنه حاضر رغم غيابه...
إلى مثلي الأعلى بحب العلم واحترام المبادئ والقيم وبكل شيء ....
إلى من دعمني بكل ما يملك ليوصلني إلى درب النجاح.....
إلى فخري وتاج رأسي...

أبي الغالي

إلى الإنسانة العظيمة التي أكملت المشوار.....
إلى الطيبة والحنان.....إلى الشمعة المضيئة لدرب حياتي...
إلى من كان لها الفضل في وصولي إلى هذه اللحظة....
إلى ملاكي الطاهر وبسمة قلبي...
إلى من كتب قلبي لها هذه الأسطر....

أمي الغالية

إلى من بدأنا معاً طريق والدَينا الرائعين ورسالتهما السامية
إلى رفاق الدرب والطفولة وشركاء الحياة والذكريات الجميلة
إلى من عرفت معهم الأخوة الصادقة والمحبة الحقيقية

أخوتي الأحباء

إهداء خاص

إلى وطني الحبيب سوريا...سنضمد جراحاتك....سنوقف نزفك... سنعمرك

باستمرارنا

بنجاحاتنا

بأبحاثنا

وستبقى..... **وطننا الحبيب سوريا**

كلمة شكر..

أولاً أشكر الله عز وجل الذي وفقني في إنجاز هذا البحث ويسر إتمامه على أكمل وجه، الحمدلله وأتمنى أن يكون هذا البحث مرجعية يستفيد منها طالبو العلم من بعدي.

أتقدّم بجزيل الشكر وفائق التقدير والإحترام لجهود الدكتور **ياسر بيطار** الذي تكرم بالإشراف على هذا البحث وقدم لي كل التوجيهات والنصائح المفيدة للبحث ومنحني من وقته وجهده الكثير.....

أشكر الأستاذ الدكتور وريد خياطة والدكتور صالح طريفي لتكرمهم بمشاركتهم بتحكيم هذه الأطروحة ولتوجيهاتهم وملاحظاتهم القيمة والمُغنية للبحث.

أشكر كلية الصيدلة بجامعة حلب كادرَها التدريسي والإداري على تعاونهم وتقديمهم كل ما يلزم لإنجاز هذا البحث، وأخص بالشكر الآنسة إيمان الحسن والآنسة رفاه الفرا على مساعدتهن بتقديم كل المساعدات لإتمام البحث.

أشكر إدارة المجلة العربية للعلوم الصيدلية وإدارة مجلة بحوث جامعة حلب على تقديرهم للمقالات المأخوذة من هذا البحث ونشرهم لها.

أشكر إدارة معمل (آسيا للصناعات الدوائية) على تزويدي بالمواد الأولية اللازمة لإجراء هذا البحث وتقديم كل الجهود اللازمة لإنجاح هذا البحث.

أشكر كل من قدم لي العون وكل من ساعدني وأخص بالشكر أصدقاء والدي الذين شجعوني ودعموني لإنجاح هذا البحث.

أشكر زميلاتي وزملائي طلاب الدراسات العليا على تعاونهم معي ومحبتهم وإخلاصهم لي ودعواتهم من أجلي.

شكراً لكم جميعاً، شكراً لمحبتكم.....

فهرس المحتويات

الفقرة	رقم الصفحة
الدراسة النظرية	1
مقدمة نظرية	1
1- معلومات عن الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	3
1-1- ليفوسيتيريزين	3
1-1-1- ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد	3
1-2- بسودوإفدرين	4
1-2-1- بسودوإفدرين سلفات	4
1-2-2- بسودوإفدرين هيدروكلورايد	6
2- أدوية المشاركة الدوائية	7
2-1- مشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين من وجهة نظر الكيمياء العضوية	7
2-2- الإستخدام الدوائي للمشاركة الدوائية للّيفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	7
3- المستحضرات الفموية السائلة	8
3-1- إيتاء الدواء بشكل محلول فموي	8
3-2- ميزات المحاليل الفموية	8
4- تطوير طريقة تحليلية	8
4-1- تطوير طريقة تحليلية بتطبيق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC	9
4-2- تقنية الزوج الشاردي	10
4-3- تطوير طريقة تحليلية محددة للثباتية	10
4-3-1- دراسات التخريب القسري	11
4-3-2- التخريب القسري لأدوية المشاركة الدوائية	12
5- دراسة التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية	12
5-1- النوعية	13
5-2- الخطية	14
5-3- المجال	14
5-4- الضبط	14
5-5- الدقة	15
5-6- حد الكشف وحد التحديد الكمي	16

5-7- المتانة	17
5-8- اختبار ملاءمة النظام	17
6- العوامل المؤثرة على الثباتية الكيميائية للمواد الدوائية	19
7– حركيات تخرب المواد الدوائية	21
8– دراسات ما قبل الصياغة للمحاليل	21
8-1- الإنحلالية	21
8-1-1- العوامل المؤثرة على الإنحلالية	21
8-1-2- تحديد الإنحلالية	22
8-1-3- مخطط pH–انحلالية	23
8-2- الثباتية في الحالة السائلة	23
8-2-1- تأثير الـ pH	23
8-2-2- تأثير نوع الوقاء وتركيزه	24
8-2-3- تأثير المشاركة الدوائية (تداخلات مادة دوائية–مادة دوائية)	24
8-2-4- تأثير توافق المواد الدوائية مع السواغات (تداخلات مادة دوائية–سواغ)	24
8-2-5- تأثير الضوء	24
8-2-6- تأثير الحرارة	25
8-2-7- تأثير الأكسدة	25
9- صياغة الأشكال السائلة الفموية	25
9-1- مكونات وإضافات الأشكال السائلة الفموية	26
9-1-1- المواد الحافظة	26
9-1-2- المواد المُحلية	26
9-1-3- الوقاءات	26
9-1-4- مضادات الأكسدة	27
9-1-5- المواد المُطَعِّمة	27
9-1-6- الملونات	27
9-2- طرق تحسين الثباتية للمستحضرات الفموية السائلة	27
10- تحضير المستحضرات الفموية السائلة	28
10-1- تحضير المستحضرات الفموية السائلة على مستوى مخبري	28
10-2- تحضير المستحضرات الفموية السائلة على مستوى صناعي	28
11- المراقبة الدوائية النوعية للمستحضرات الفموية السائلة	29

11-1- الفحوص الحسية	29
11-2- حجم التعبئة	29
11-3- pH	30
11-4- الكثافة النوعية	30
11-5- اللزوجة	30
11-6- الذاتية	31
11-7- المعايرة	31
11-8- تجانس توزع وحدات الجرعة	31
11-9- التلوث الميكروبيولوجي	31
12- ثباتية المستحضرات الفموية السائلة	32
12-1- الثباتية الكيميائية	33
12-2- الثباتية الفيزيائية	33
12-3- دراسات الثبات على المستحضرات الدوائية	33
12-3-1- اختيار الوجبات	34
12-3-2- نظام التعبئة	34
12-3-3- المواصفة	34
12-3-4- تكرار الإختبار	34
12-3-5- ظروف التخزين	34
أهمية البحث وأهدافه	36
أهمية البحث	36
أهداف البحث	36
القسم العملي	37
1- الأجهزة والأدوات	38
2- المواد والكواشف	38
3- طرائق العمل	40
3-1- تطوير طريقة تحليلية كروماتوغرافية محددة للثباتية من أجل معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس الوقت في الأشكال السائلة	40
3-1-1- دراسة الخواص الفيزيوكيميائية للمواد الدوائية	40
3-1-2- طيوف الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية UV للمواد الدوائية	40
3-1-3- تحضير صيغة مبدئية مقترحة للسائل الفموي	41
3-1-4- تحديد طول موجة الكشف	41
3-1-5- المحلول العياري ومحلول المعايرة	41

3-1-5-1- محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد العياري الأصلي	41
3-1-5-2- المحلول العياري	42
3-1-5-3- محلول المعايرة	42
3-1-6- تطوير الطريقة التحليلية	42
3-1-6-1- الطور المتحرك البدئي	42
3-1-6-2- مراحل تطوير الطريقة التحليلية	43
3-1-6-3- طريقة تحضير الطور المتحرك الأمثل	46
3-1-7- دراسات التخريب القسري	46
3-1-7-1- التخريب بالأكسدة	46
3-1-7-2- التخريب الضوئي	47
3-1-7-3- التخريب الحراري	47
3-2- دراسة التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية	47
3-2-1- النوعية	47
3-2-2- الخطية	48
3-2-3- المجال	49
3-2-4- الضبط	49
3-2-5- الدقة	50
3-3- دراسات ما قبل الصياغة	50
3-3-1- دراسة الإنحلالية للمواد الدوائية	50
3-3-1-1- ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد	50
3-3-1-2- بسودوإفدرين سلفات وبسودوإفدرين هيدروكلورايد	50
3-3-2- دراسات الثباتية في الحالة السائلة	51
3-3-2-1- دراسة تأثير الـ pH	51
3-3-2-2- دراسة تأثير نوع وتركيز الوقاء	52
3-3-2-3- دراسة تأثير المشاركة الدوائية (تداخلات مادة دوائية–مادة دوائية)	54
3-3-2-4- دراسة التوافق مع السواغات (تداخلات مادة دوائية–سواغ)	55
3-3-2-5- دراسة تأثير الضوء	57
3-3-2-6- دراسة تأثير الحرارة	57
3-3-2-7- دراسة تأثير إضافة إديتات ثنائية الصوديوم	58
3-4- دراسة الصياغة	58

3-4-1- تحديد تركيز المواد الدوائية في الشكل السائل	58
3-4-2- إضافة نسبة إضافية من المواد الدوائية	58
3-4-3- نقاوة المواد الدوائية	59
3-4-4- انحلالية المواد الدوائية	59
3-4-5- اختيار السواغ السائل	59
3-4-6- الصيغة المطورة النهائية للشكل السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	59
3-4-7- تحضير الصيغة المطورة النهائية للشكل السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	59
3-5- المراقبة الدوائية للشكل الفموي السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	60
3-5-1- الفحوص الحسية	60
3-5-2- حجم التعبئة	60
3-5-3- pH	61
3-5-4- الكثافة النوعية	61
3-5-5- اللزوجة	61
3-5-6- الذاتية	61
3-5-7- المعايرة	61
3-5-8- تجانس توزع وحدات الجرعة	62
3-5-9- التلوث الميكروبيولوجي	62
3-6- دراسة الثبات على الرف	63
3-6-1- تحضير عينات الثبات	63
3-6-2- شروط التخزين	63
3-6-3- الإختبارات المطبقة	64
3-6-4- طرق التقييم	64
3-6-4-1- التقييم الفيزيائي	64
3-6-4-2- التقييم الكيميائي	64
3-6-4-3- التقييم الميكروبيولوجي	64
النتائج والمناقشة	65
1- تطوير طريقة تحليلية من أجل معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس الوقت في الأشكال السائلة	65
1-1- دراسة الخواص الفيزيوكيميائية للمواد الدوائية	65
1-1-1-البنية الكيميائية	65
1-1-2- الإنحلالية في المحلات المختلفة	65
1-1-3- pK_a	66

1-2- طيوف الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية UV	66
1-3- تحديد طول موجة الكشف	66
1-4- نتائج تطوير الطريقة التحليلية وصولاً إلى الشروط المثلى للطريقة المطورة	67
1-5- دراسات التخريب القسري	72
2- دراسة التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية	74
2-1- النوعية	74
2-2- الخطية	76
2-3- المجال	78
2-4- الضبط	78
2-5- الدقة	80
3- دراسات ما قبل الصياغة	81
3-1- دراسة الإنحلالية للمواد الدوائية	81
3-1-1- ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد	81
3-1-2- بسودوإفدرين سلفات	82
3-1-3- بسودوإفدرين هيدروكلورايد	82
3-2- دراسات الثباتية في الحالة السائلة	82
3-2-1- دراسة العوامل المؤثرة على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة	82
3-2-1-1- دراسة تأثير الـ pH	82
3-2-1-2- دراسة تأثير نوع وتركيز الوقاء	85
3-2-1-3- دراسة تأثير المشاركة الدوائية (تداخلات مادة دوائية–مادة دوائية)	86
3-2-1-4- دراسة التوافق مع السواغات (تداخلات مادة دوائية–سواغ)	88
3-2-1-5- دراسة تأثير الضوء	90
3-2-1-6- دراسة تاثير الحرارة	91
3-2-1-7- دراسة تأثير إضافة العامل المخلب (إديتات ثنائية الصوديوم)	92
3-2-2- النسب المئوية لتخرب الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة وفقاً للتأثير المدروس	93
3-2-3- خلاصة نتائج دراسات ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة	94
4- دراسة الصياغة	94
4-1- تركيز المواد الدوائية (الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين) في الشكل السائل	94
4-2- النسبة المئوية المضافة من المواد الدوائية (الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين)	94
4-3- نقاوة المواد الدوائية (الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين)	95

4-4- انحلالية المواد الدوائية	95
4-5- الثباتية الفيزيائية والكيميائية	95
4-6- كيفية حفظ المستحضر من النمو الجرثومي	95
4-7- اختيار السواغات	96
4-8- الصيغة النهائية المطورة للشكل الصيدلاني السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	97
5- المراقبة الدوائية للشكل الصيدلاني الفموي السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	98
6- دراسات الثبات على الرف للشكل الصيدلاني السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	99
6-1- نتائج دراسات الثبات على الرف	99
6-2- تقييم نتائج دراسات الثبات	100
الإستنتاجات	103
التوصيات والمقترحات	104
الأبحاث المنشورة	105
المراجع	106

فهرس الأشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
1	البنية الفراغية لـ (*R*)–ليفوسيتيريزين والـ (*S*)–دكستروسيتريزين	1
2	البنية الفراغية للدياستيريوميرات: البسودوإفدرين والإفدرين	2
3	صور المستحضرات العالمية لكل من المحلول الفموي لليفوسيتيريزين (Xyzal) والمحلول الفموي للبسودوإفدرين (Sudafed)	2
4	البنية الكيميائية لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد	4
5	البنية الكيميائية للبسودوإفدرين سلفات	5
6	البنية الكيميائية للبسودوإفدرين هيدروكلورايد	6
7	البنية الكيميائية لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	7
8	الأشكال البسيطة لمخططات pH–ثباتية لتخرب المواد الفعالة	24
9	تحضير المستحضرات الفموية السائلة على مستوى مخبري	28
10	مخطط التصنيع الآلي للمستحضرات الفموية السائلة	29
11	جهاز قياس الإمتصاصية للأشعة فوق البنفسجية والمرئية	40
12	جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC	42
13	جهاز قياس الـ pH	53
14	تحضير الشكل الفموي السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	62
15	البنية الكيميائية لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد	70
16	طيوف الإمتصاصUV المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات وطيوف الإمتصاص UV المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد	71
17	المخطط الكروماتوغرافي النموذجي للشكل الفموي السائل لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات	76
18	المخطط الكروماتوغرافي النموذجي للشكل الفموي السائل لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد	76
19	المخططات الكروماتوغرافية المسجلة الممثلة للمستحضر وللبلاسيبو	79
20	المنحنيات المسجلة لنقاوة قمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين لكلا المشاركتين	80
21	نتائج ومنحنيات خطية الطريقة التحليلية	82
22	مخطط pH–انحلالية لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد	86

23	مخططات (pH–ثباتية) المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات	89
24	مخططات (pH–ثباتية) المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد	89
25	مخططات العلاقة بين النسبة المئوية للتخرب لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد وبين نوع وتركيز الوقاء المستعمل	91
26	مخططات الدرجة الاولى لتخرب الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الشكل الصيدلاني السائل	107

فهرس الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	رقم الصفحة
1	البروتوكول العام لإجراء دراسات التخريب القسري للمواد والمستحضرات الدوائية	11
2	المعايير المطلوبة لدراسة التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية وفقاً للإختبار التحليلي المراد دراسته	13
3	الحدود المقبولة لنتائج معايير التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية	18
4	مصطلحات الـ USP التي تصف الإنحلالية	22
5	شروط التخزين لدراسات الثبات المطولة والمسرعة والمتوسطة في حالة المستحضرات الدوائية المعبأة في عبوات نصف نفوذة	35
6	الأطوار المتحركة والأعمدة المستعملة من أجل الوصول إلى الشروط الكروماتوغرافية المثلى	44
7	المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير الـ pH على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة	53
8	المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير نوع وتركيز الوقاء على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة	55
9	المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير المشاركة الدوائية على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة	56
10	المحاليل المحضرة من أجل دراسة توافق الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين مع السواغات، في الحالة السائلة	57
11	المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير الضوء على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة	58
12	المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير الحرارة على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة	58
13	المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير إضافة إديتات ثنائية الصوديوم على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة	59
14	تقييم نتائج اختبارات القمة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين وفقاً للشروط المطبقة	74
15	نتائج اختبارات القمة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بتطبيق الشروط المثلى	77
16	نتائج اختبارات القمة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بعد إجراء التخريب القسري	78

17	نتائج معايير نوعية الطريقة التحليلية من حيث إشابة القمة والتباين لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	80
18	نتائج معايير خطية الطريقة التحليلية	81
19	نتائج معايير ضبط الطريقة التحليلية	84
20	نتائج معايير دقة الطريقة التحليلية	85
21	نتائج انحلالية الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وفقاً لـ pH الوقاء السيتراتي	86
22	نتائج دراسة تأثير pH المحلول على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، في الظلام، ولمدة 30 يوماً	88
23	نتائج تأثير نوع وتركيز الوقاء على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، في الظلام، ولمدة 30 يوماً	90
24	نتائج تأثير المشاركة الدوائية على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، في الظلام، ولمدة 30 يوماً	92
25	نتائج تأثير التوافق مع السواغات على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، في الظلام، ولمدة 30 يوماً	93
26	نتائج دراسة تأثير الضوء على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، ولمدة 30 يوماً	95
27	نتائج دراسة تأثير الحرارة على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات في الظلام، ولمدة 30 يوماً	96
28	نتائج دراسة تأثير إضافة إديتات ثنائية الصوديوم على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، في الظلام، ولمدة 30 يوماً	97

29	نتائج النسبة المئوية للتخرب في الحالة السائلة لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) وفقاً للتأثير المدروس لدى تخزين العينات لمدة 30 يوماً	98
30	الصيغة النهائية المطورة للشكل الصيدلاني السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين	102
31	نتائج اختبارات المراقبة الدوائية للشكل السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين لكل من المشاركتين	103
32	نتائج دراسة الثبات على الرف للشكل الفموي السائل للمشاركة الدوائية (ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل وبسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل)	104
33	نتائج دراسة الثبات على الرف للشكل الفموي السائل للمشاركة الدوائية (ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5ملغ/مل وبسودوإفدرين هيدروكلورايد 6ملغ/مل)	104
34	نتائج اللوغاريتم النيبري للنسبة المئوية المتبقية من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين خلال فترة الـ 24 شهراً في كل من المشاركتين	106

مقدمة

– انطلاقاً من أهمية تطوير الصناعة الدوائية المحلية في وطننا الحبيب سوريا ومن أهمية دعم هذه الصناعة بالمستحضرات الدوائية النوعية التي لم يتم تطويرها بعد، وُلدت فكرة هذا البحث.

– وانطلاقاً من أهمية مشاركة الليفوسيتيريزين كمضاد هيستامين من الجيل الثالث لا يسبب النعاس والبسودوإفدرين كمضاد احتقان للأنف وللجيوب، وأهمية تآزر هاتين المادتين الدوائيتين من أجل معالجة التهاب الأنف التحسسي والإحتقان الأنفي كانت هذه المشاركة الدوائية محط الإهتمام في هذا البحث.

– ونظراً لعدم وجود أبحاث تتحدث عن ثباتية هاتين المادتين عند تواجدهما معاً في وسط سائل ولأهمية دعم البحث العلمي بأبحاث جديدة ولأهمية الثباتية كعامل أساسي في فعالية المواد الدوائية، تم الإهتمام بدراسات الثباتية لهاتين المادتين الدوائيتين في الحالة السائلة.

– ونظراً لعدم وجود بدائل بأشكال صيدلانية سائلة معدة للإستخدام عند الأطفال تتضمن هذه المشاركة الدوائية (ليفوسيتيريزين وبسودوإفدرين) ولاقتصار الأبحاث السابقة عن هذه المشاركة فقط بأشكال صيدلانية صلبة فموية معدة للإستخدام عند البالغين برزت أهمية دعم الطفولة البريئة بهذه المشاركة الدوائية في شكل صيدلاني سائل.

ونظراً لأهمية المحاليل الفموية في تحسين التوافر الحيوي للمواد الدوائية وفي كونها طريقة إيتاء الدواء الأكثر قبولاً بالنسبة للأطفال ، تم الإهتمام بتطوير صيغة محلول فموي لهذه المشاركة لأول مرة ووضعه في خدمة الطفولة.

لأجل كل ما سبق.....أبصر هذا البحث النور.....

ملخص البحث

إن هدف البحث هو تقييم ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين عندما تتواجدان معاً في شكل صيدلاني سائل حيث توجد هذه المشاركة فقط بشكل صيدلاني صلب معد للبالغين ولا توجد لها بدائل سائلة معدة للأطفال.

تم في البداية تطوير طريقة تحليلية كروماتوغرافية محددة للثباتية من أجل معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس الوقت في الأشكال السائلة وهي طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ذات الطور المعكوس باستخدام تقنية الزوج الشاردي، وقد تم إجراء دراسة التحقق من صلاحية هذه الطريقة المطورة استناداً إلى قواعد مؤتمر التوافق العالمي ICH وبينت نتائج هذه الدراسة بأن الطريقة التحليلية المطورة: نوعية، خطية، صحيحة، دقيقة.

ثم تم إجراء دراسة ما قبل الصياغة ودراسة ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة من خلال دراسة تأثير العوامل المؤثرة على ثباتية المادتين الفعالتين في الشكل السائل وهي: pH، نوع الوقاء وتركيزه، المشاركة الدوائية، التوافق مع السواغات، الضوء، الحرارة، استخدام مادة مخلبة. حيث بينت الدراسة أن pH الثبات الأعظمي للمادتين الفعالتين في الشكل السائل هي 5.0 وأنه لا تأثير للمشاركة الدوائية على ثباتية الليفوسيتيريزين أو البسودوإفدرين وأن استخدام إديتات ثنائية الصوديوم كمضاد أكسدة غير مباشر (مادة مخلبة) قد حسن من ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الشكل السائل وأن هذا السائل يجب أن يحفظ في أوعية زجاجية عاتمة بعيداً عن الضوء لأن المادتين حساستين للضوء وللأكسدة، وذلك سواء تمت مشاركة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد مع البسودوإفدرين سلفات أو البسودوإفدرين هيدروكلورايد.

ثم تم إجراء دراسة الصياغة وتم تطوير وتحضير صيغة صيدلانية جديدة لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في شكل صيدلاني سائل بشكل مشاركتين (تحتوي الأولى على ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل وبسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل وتحتوي الثانية على ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل وبسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل) وتم إجراء اختبارات المراقبة الدوائية النوعية على الشكل السائل للمشاركتين، وبينت نتائج هذه الإختبارات أن المستحضر السائل للمشاركتين مطابق للمواصفات والحدود المقبولة.

ثم تم إجراء دراسة الثباتية على الرف لكل من المشاركتين عند درجة حرارة الغرفة والرطوبة النسبية للغرفة لمدة 24 شهراً، وكان تخرب الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في المشاركتين بطيئاً ومحدوداً وضمن الحدود المسموحة ولكن كان تخربهما في المشاركة الثانية أسرع قليلاً من المشاركة الأولى ولم تُسجل تغيرات ذات أهمية في المشاركتين.

إذاً، يمكن صياغة شكل صيدلاني سائل فموي لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين باستعمال نوعين من ملح البسودوإفدرين، ويمكن أن يبقى المحلول ثابتاً لمدة سنتين على الأقل عندما يخزن في مكان جاف عند درجة حرارة الغرفة وبعيداً عن الضوء.

الدراسة النظرية

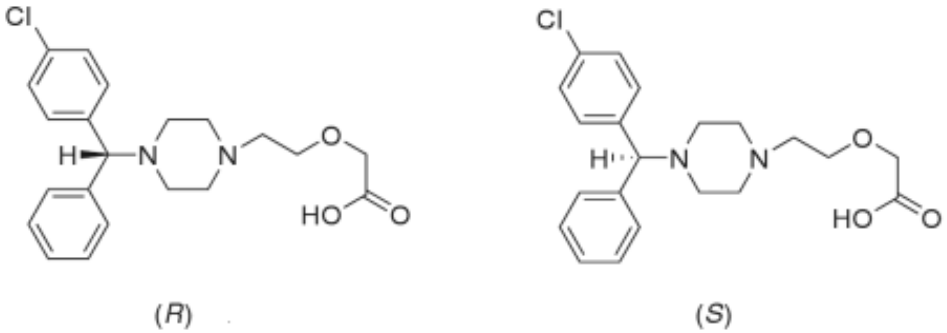
مقدمة نظرية:

ليفوسيتيريزين– المادة الدوائية الأولى في المشاركة الدوائية المدروسة– تصنف ضمن مضادات الهيستامين التي لا تسبب نعاساً، وتستعمل عند البالغين والأطفال الذين أعمارهم فوق 6 سنوات [1].

ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد هي مضاد لمستقبلات الهيستامين H_1 فعال فموياً، ويتم توسط تأثيراتها الاساسية عن طريق التثبيط الإنتقائي لمستقبلات الهيستامين H_1 [2].

يستعمل الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد بشكل مشابه للسيتيريزين هيدروكلورايد من أجل الإرتياح من أعراض الحالات التحسسية المتضمنة التهاب الانف والشرى المزمن [3].

ليفوسيتيريزين هي المماكب الضوئي الفعال R للسيتيريزين، حيث أن السيتيريزين هو مزيج راسيمي (R)– و (S)–دكستروسيتيريزين، وقد تبين أن الليفوسيتيريزين ذو إلفة لمستقبلات الهيستامين H_1 أكبر مرتين من السيتيريزين وأكبر بـ 30 ضعف من الدكستروسيتيريزين. وتشير جميع الدلائل إلى أن الليفوسيتيريزين أكثر فعالية من الدكستروسيتيريزين وتعطي مدة تأثير أطول [4].



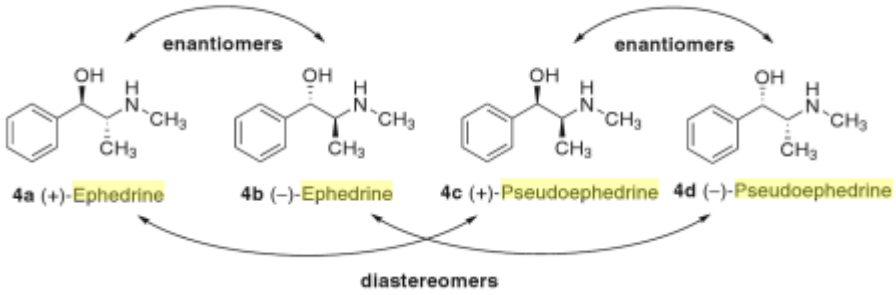
الشكل (1): البنية الفراغية لـ (*R*)–ليفوسيتيريزين والـ (*S*)–دكستروسيتيريزين

يمكن أن يعطى الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد للأطفال من أجل الإرتياح من أعراض التهاب الأنف التحسسي والشري المزمن غير معروف السبب، بالرغم من أن الجرعات المسموحة تتباين بين البلدان. في المملكة المتحدة قد يعطى الأطفال الذين تتراوح أعمارهم بين 2 سنة و6 سنوات جرعة 2.5 ملغ يومياً على جرعتين مجزأتين، وقد يعطى الأطفال الذين أعمارهم أكثر من 6 سنوات جرعة البالغين التي تساوي 5 ملغ يومياً. ولكن، في الولايات المتحدة الأميركية، لا ينصح باللليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد بالنسبة للأطفال الذين أعمارهم أقل من 6 سنوات. أما الأطفال الذين تتراوح أعمارهم بين 6 سنوات و11 سنة فقد تعطى جرعة 2.5 ملغ مرة يومياً في المساء وتعطى جرعة البالغين التي تساوي 5 ملغ يومياً فقط للأطفال الذين أعمارهم 12 سنة فما فوق.

تم قبول المعلومات الخاصة بالمستحضر Xyzal المصنع من شركة UCB INC الذي يحتوي على الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد بشكل محلول فموي، من قبل منظمة الغذاء والدواء FDA بتاريخ 2008/01/28.

بسودوإفدرين –المادة الدوائية الثانية في المشاركة الدوائية المدروسة، هو قلويد نباتي يتم الحصول عليه من أنواع الإيفيدرا *Ephedra* spp وهو مقلد للودي ثنائي التأثير أي يؤثر بشكل مباشر أو غير مباشر، والبسودوإفدرين هو من مركبات البنزن ميتانول، يعطى البسودوإفدرين وأملاحه فموياً من أجل الإرتياح العرضي من الإحتقان الأنفي [3, 5].

بسودوإفدرين هو المماكب الضوئي الفراغي (دياستيريومير) للإيفيدرين وله تأثير مشابه له [3, 4].



الشكل (2): البنية الفراغية للدياستيريوميرات: البسودوإفدرين والإفدرين

تم اقتراح الجرعات الفموية التالية من البسودوإفدرين هيدروكلورايد للأطفال من أجل السيطرة على الإحتقان المخاطي للقناة التنفسية العلوية.

– الأطفال الذين تتراوح أعمارهم بين 2 سنة و6 سنوات: 15 ملغ 3 أو 4 مرات يومياً.

– الأطفال الذين تتراوح أعمارهم بين 6 سنوات و12 سنة: 30 ملغ 3 أو 4 مرات يومياً.

الشكل (3): صور المستحضرات العالمية لكل من

المحلول الفموي لليفوسيتيريزين (Xyzal) والمحلول الفموي للبسودوإفدرين (Sudafed)

إن العديد من الأصناف التجارية الموجودة في الأسواق العالمية تزود بالمشاركة الدوائية (ليفوسيتيريزين وبسودوإفدرين) بأشكال صيدلانية صلبة (مضغوطات وكبسول) أي أن هذه المشاركة موجودة فقط بأشكال صيدلانية صلبة ولا توجد لها بدائل بأشكال صيدلانية سائلة. ولكن لا ينصح باستعمال هذه الأشكال الصيدلانية الصلبة عند الأطفال الذين أعمارهم أقل من 12 سنة بسبب الكمية الكبيرة نسبياً من البسودوإفدرين وبسبب ضرورة تعديل الجرعة المعدة للأطفال لأن الجرعة الخاصة بالأطفال قليلة نسبياً بالمقارنة مع الجرعة الأكبر الموجودة في صيغة المضغوطات أو الكبسول وبالتالي من الصعب تحقيق جرعة الاطفال باستعمال صيغة شكل صلب.
وعلاوة على ذلك، ولأن هذه المشاركة الدوائية لا تعطى عن طريق الحقن، يعد تطوير صيغة محلول فموي لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين من أجل المرضى الأطفال هو خيار مفيد وتحدٍ مهم،

ولذلك: إن الشكل الصيدلاني الفموي السائل للمشاركة الدوائية (ليفوسيتيريزين وبسودوإفدرين) المرشَح للدراسة في بحثنا هو المحلول الفموي.

1- معلومات عن الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين:

1-1- ليفوسيتيريزين Levocetirizine

ملاحظة: تم في هذا البحث استعمال ملح الهيدروكلورايد للّيفوسيتيريزين وهو: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد.

1-1-1- ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد Levocetirizine Dihydrochloride:

الإسم الكيميائي Chemical Name:

(R)-[2-[4-[(4-chlorophenyl) phenylmethyl]-1-piperazinyl] ethoxy] acetic acid dihydrochloride.

الأسماء المرادفة:

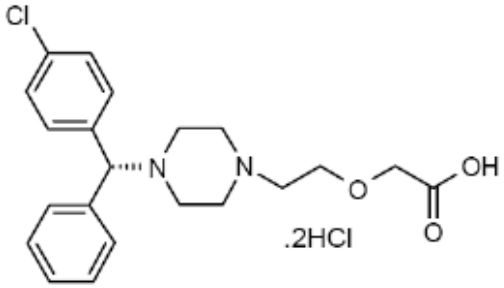
- Hidrocloruro de levocetirizina
- Lévocétirizine, Chlorhydrate de
- Levocetirizine Dihydrochloride *(USAN)*
- Levocetirizini Hydrochloridum;
- UCB-28556
- Левоцетиризина Гидрохлорид

رقم الـ CAS CAS.NO: [*130018-87-0*].

الصيغة المجملة Empirical Formula: $C_{21}H_{25}ClN_2O_3.2HCl$

الوزن الجزيئي Molecular Weight: 461.82.

الصيغة المفصلة (البنية الكيميائية) Structural Formula (Chemical Structure):



الشكل (4): البنية الكيميائية لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد

المراجع الدستورية Pharmacopoeias:دستور الأدوية الهندي *IP* ودستور الأدوية الأوروبي*Eur.Ph* [7,6].

الخواص الفيزيائية Physical Properties:

الوصف: مسحوق بلوري أبيض اللون.

الإنحلالية: المادة منحلة بسهولة في الماء.

درجة الإنصهار: 215 ºم – 220 ºم.

الثباتية Stability: إن المادة ثابتة عند درجة الحرارة 40ºم ويجب تخزينها عند درجة حرارة تتراوح بين 15ºم و30ºم، وهي حساسة للضوء.

التخزين Storage: يجب أن تخزن المادة بعيداً عن الضوء، عند درجة حرارة تتراوح بين 15ºم و 30ºم.

1-2- بسودوإفدرين Pseudoephedrine:

تم في هذا البحث استعمال ملحين صنعيين للبسودوإفدرين هما: بسودوإفدرين سلفات وبسودوإفدرين هيدروكلورايد.

1-2-1- بسودوإفدرين سلفات Pseudoephedrine Sulfate:

الإسم الكيميائي Chemical Name:

α-[1-(methylamino) ethyl]-,[*S*-(*R**,*R**)]-, sulfate (2:1)(salt).

الأسماء المرادفة:

- ❖ Pseudoéphédrine, Sulfate de
- ❖ Pseudoephedrine Sulphate *(BANM)*
- ❖ Pseudoephedrini Sulfas

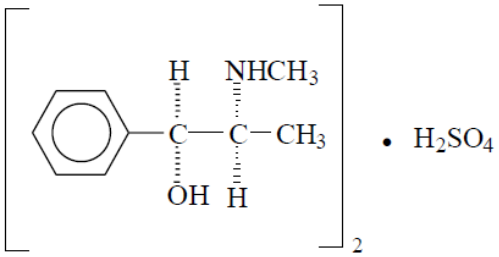
- ❖ Sch-4855
- ❖ Sulfato de pseudoefedrina.
- ❖ Псевдоэфедрина Сульфат

رقم الـ CAS CAS.NO: [*7460-12-0*].

الصيغة المجملة Empirical Formula: $(C_{10}H_{15}NO)_2,H_2SO_4$

الوزن الجزيئي Molecular Weight: 428.54.

الصيغة المفصلة (البنية الكيميائية) Structural Formula (Chemical Structure):



الشكل (5): البنية الكيميائية للبسودوإفدرين سلفات

المراجع الدستورية Pharmacopoeias: دستور الأدوية الأميركي USP [8].

الخواص الفيزيائية Physical Properties:

الوصف: بلورات عديمة اللون ماصة للرطوبة أو مسحوق بلوري أبيض اللون ماص للرطوبة، عديمة الرائحة.

الإنحلالية: إن المادة منحلة بسهولة في الكحول.

مجال الإنصهار: 174ºم – 179ºم.

pH: تتراوح pH محلول المادة ذو التركيز 5% بين 5.0 و 6.5.

الدوران النوعي: 56.0º – 59.0º، وذلك لمحلول المادة في الماء ذو التركيز 50 ملغ/مل.

الفقدان بعد التجفيف: لا يزيد عن 2.0%، لدى تجفيف المادة عند درجة الحرارة 105ºم لمدة ساعتين.

البقية بعد الترميد: لا تزيد عن 0.1%.

الكلورايد: لا يزيد عن 0.14%.

الثباتية Stability: إن المادة حساسة للهواء وللضوء.

تخزين المادة Storage: يجب أن تخزن المادة في أوعية محكمة الإغلاق ضد الهواء، بعيداً عن الضوء.

2-2-1- بسودوإفدرين هيدروكلورايد Pseudoephedrine Hydrochloride

الإسم الكيميائي Chemical Name: α-[1-(methylamino)ethyl]-, [*S*-(*R**,*R**)] hydrochloride.

الأسماء المرادفة:

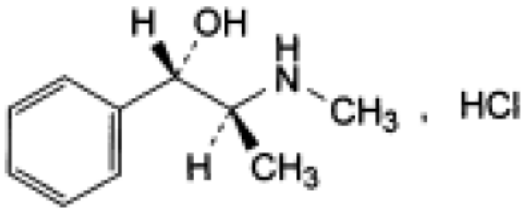
- ❖ Hidrocloruro de pseudoefedrina
- ❖ Pseudoefedriinihydrokloridi
- ❖ Pseudoefedrin-hydrochlorid
- ❖ Pseudoefedrinhydroklorid
- ❖ Pseudoefedrino hidrochloridas
- ❖ Pseudoéphédrine, chlorhydrate de
- ❖ Pseudoephedrini hydrochloridum
- ❖ Psödoefedrin Hidroklorür
- ❖ Pszeudoefedrin-hidroklorid
- ❖ Псевдоэфедрина Гидрохлорид

رقم الـ CAS CAS.NO: [*345-78-8*].

الصيغة المجملة Empirical Formula: $C_{10}H_{15}NO,HCl$

الوزن الجزيئي Molecular Weight: 201.69.

الصيغة المفصلة (البنية الكيميائية) Structural Formula (Chemical Structure):



الشكل (6): البنية الكيميائية للبسودوإفدرين هيدروكلورايد

المراجع الدستورية Pharmacopoeias: دستور الأدوية الأوروبي *Eur.Ph* ودستور الأدوية الأميركي *USP* [8,7]

الخواص الفيزيائية Physical Properties: تكون المادة بشكل مسحوق بلوري ناعم أبيض اللون إلى أبيض عاجي اللون أو بلورات عديمة اللون، ذات رائحة خفيفة مميزة، منحلة بسهولة في الماء بنسبة 1 في 0.5 وفي الكحول بنسبة 1 في 3.6، وفي الكلوروفورم بنسبة 1 في 91 وفي الإيتر بنسبة 1 في 7000 ومنحلة بشكل خفيف في ثنائي كلورو ميتان. تتراوح pH محلول المادة في الماء ذو التركيز 5% بين 4.6 و 6.0.

الثباتية Stability: إن المادة حساسة للضوء وللهواء، وتتنافر مع المؤكسدات القوية.

التخزين Storage: يجب أن تخزن المادة بعيداً عن الضوء في أوعية محكمة الإغلاق ضد الهواء.

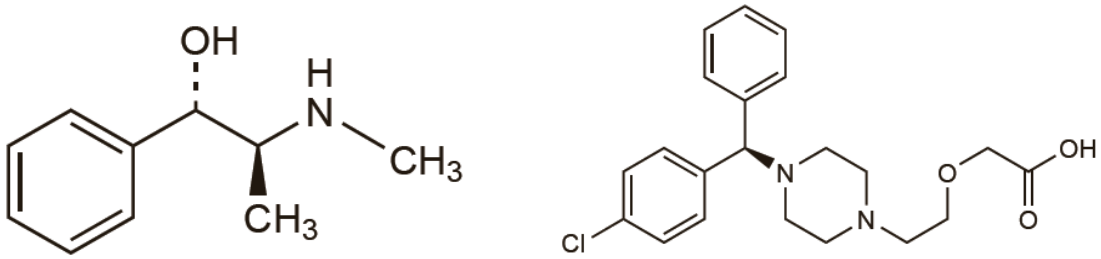
2- أدوية المشاركة الدوائية:

أدوية المشاركة الدوائية Combination Drugs هي المستحضرات الدوائية التي تحتوي على أكثر من مادة فعالة واحدة.

2-1- مشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين من وجهة نظر الكيمياء العضوية:

لدى دراسة البنية والزمر الوظيفية لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) والموضحة في الشكل (7) تبين أن:

- ❖ الليفوسيتيريزين يتضمن في بنيته الكيميائية: زمرتين أمينيتين ثالثيتين 3^{o} وزمرة حمضية وزمرتي بنزيل وزمرة إيترية.
- ❖ البسودوإفدرين يتضمن في بنيته الكيميائية: زمرة أمينية ثانوية 2^{o} وزمرة غولية وزمرة بنزيل.



بسودوإفدرين ليفوسيتيريزين

الشكل (7): البنية الكيميائية لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين

وبما أن طريق التخرب للزمر الأمينية الثانوية والثالثية والزمرة الغولية والزمر البنزيلية والزمرة الإيترية هو الأكسدة [9]، فإن الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين تتخربان عن طريق الأكسدة وهذا يتطابق أيضاً مع ما تنص عليه بعض منشورات الـ Safety Material Data Sheets للمادتين والتي تؤكد أنهما يتنافران مع المؤكسدات القوية.

2-2- الإستخدام الدوائي للمشاركة الدوائية للّيفوسيتيريزين والبسودوإفدرين:

تحدثت العديد من المراجع عن الإستخدام الدوائي للّيفوسيتيريزين والبسودوإفدرين، حيث يستخدم الليفوسيتيريزين من أجل الإرتياح العرضي من الحالات التحسسية بما فيها التهاب الأنف كما يستخدم البسودوإفدرين من أجل الإرتياح العرضي من الإحتقان الأنفي، وهنا تتجلى الأهمية السريرية لاستعمال المشاركة الدوائية الفموية لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين من أجل الإرتياح من التهاب الأنف التحسسي [3].

3- المستحضرات الفموية السائلة Liquid Oral Preparations [10]:

تم إدراج أنماط مختلفة من الصيغ تحت المصطلح ‹‹المستحضرات الفموية السائلة›› متضمنة المحاليل والمعلقات والمستحلبات، وفي البداية طبقت هذه الصيغ من أجل تحسين التوافر الحيوي الفموي للمادة الدوائية ولإلغاء حاجة مريض لبلع مضغوطة أو كبسولة. بالمقارنة مع الأشكال الصيدلانية التجارية الموجودة بالحالة الصلبة، هناك حاجة لمجموعة من الإعتبارات خلال صياغة المحاليل الفموية: يجب أن تكون المادة الدوائية منحلة وقد تحتاج إلى استعمال إضافات مسرعة للإنحلالية. وحالما تنحل، يجب أخذ الحذر من أجل الحد من الحساسية المرتفعة للمادة الدوائية المنحلة للتخرب ولمنع النمو الجرثومي في الصيغة المائية. بالإضافة إلى ذلك، تضاف مكونات معينة لإعطاء الطعم الجيد.

3-1- إيتاء الدواء بشكل محلول فموي:

تعرف المحاليل الفموية Oral Solutions على أنها ‹‹مستحضرات سائلة تحتوي على مادة كيميائية أو أكثر منحلة في محل مناسب وهو عادة الماء أو في مزيج من المحلات المزوجة مع بعضها ولا تندرج تحت مجموعة أخرى من المستحضرات››

3-2- ميزات المحاليل الفموية:

- ✓ تسريع امتصاص المادة الدوائية من القناة الهضمية وزيادة فعاليتها بالمقارنة مع الشكل الصلب مثل المضغوطات أو الكبسول وبالنتيجة زيادة التوافر الحيوي.
- ✓ إن المحلول الفموي هو الشكل الصيدلاني الأكثر قبولاً وسهولة بالنسبة للمرضى الأطفال اليافعين والمسنين الذين لديهم صعوبات في بلع المضغوطات أو الكبسول.
- ✓ لأن المحاليل هي مزائج متجانسة، فالجرعة العلاجية موزعة بشكل متجانس في المستحضر.
- ✓ يمكن تعديل الجرعة بتمديدها لتتفق مع حاجات المرضى.
- ✓ قد تكون بعض المواد الدوائية والتي لا يتم تحملها بشكل مركز أقل إحداثاً للتهيج عند حلها في سائل.
- ✓ من الصعب تحقيق جرعة الأطفال من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين باستعمال صيغة شكل صيدلاني صلب بسبب الكمية الكبيرة نسبياً من البسودوإفدرين وبسبب ضرورة تعديل الجرعة للوصول لجرعة الأطفال.

4- تطوير طريقة تحليلية [11]:

عند تطوير مستحضر جديد، لا بد في البداية من تطوير طريقة تحليلية لمعايرة المادة/المواد الفعالة في هذا المستحضر حيث يطبق اختبار المعايرة في:

- دراسات الثبات.
- المراقبة الدوائية المستحضر.
- اختبار تجانس المحتوى من المادة/المواد الفعالة.

1-4- تطوير طريقة تحليلية بتطبيق الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC:

يجب الإهتمام بالإعتبارات التالية كنقطة بداية لتطوير الطريقة التحليلية بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC:

– الخواص الفيزيوكيميائية للمادة/المواد الفعالة مثل: البنية، الإنحلالية والثباتية في المحلات المختلفة، قيمة الـ pK_a، طيوف الإمتصاص مثل طيف الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية UV (وفي حالة أدوية المشاركة الدوائية يجب تسجيل طيوف الإمتصاص المتقاطعة من أجل التحري عن طول موجة الإمتصاص المتساوي Isobestic Wavelength)، عدم التناظر المرآتي Chirality.

– معرفة الفعالية المطلوبة والطرق التصنيعية المطبقة في إنتاج المادة (من أجل معرفة الشوائب الصنعية) ووأي معلومات عن الصيغ المعطاة.

– أخذ معلومات من الأبحاث المنشورة التي توثق طرق تحليل المادة والمركبات المشابهة.

ويتم تقييم الشروط الكروماتوغرافية المستخدمة في تطوير الطريقة التحليلية بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC اعتماداً على ثلاثة معايير أساسية:

– إشابة القمة Peak Impurity: يجب ألا يتم كشف أي إشابة للقمة.

– تباين القمة عن القمة الأقرب إليها Resolution to the closest peak: يجب ألا يقل عن 2.0%.

– عامل تذيل القمة Tailing Factor: يجب ألا يزيد عن 2.0%، ويسمح الدستور الأميركي بألا يزيد عامل تذيل قمة البسودوإفدرين عن 2.5 [8].

بشكل عام تعتبر الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ذات الطور المعكوس RP-HPLC هي الإختيار الأول من بين الطرق المستخدمة في تحليل عينات معدة من أجل تطوير الطريقة التحليلية، حيث تتم 75% من طرق الـ HPLC باستعمال أعمدة الطور المعكوس.

يتألف نظام الكروماتوغرافيا السائلة ذات الطور المعكوس من:

– طور متحرك قطبي نسبياً، يتألف من الماء أو الوقاء كمحل ضعيف ومن الأسيتونتريل أو الميتانول أو إلى حد ضعيف رباعي هيدروفوران كمحل قوي.

– طور ساكن لاقطبي: وهو عادة أطوار السيليكا أو الديول أو الأمينو.

ويعتمد احتفاظ وفصل المواد المحللة على تجزئتها ما بين الطورين. يعتبر الطور المتحرك عند قيمة pH حمضية 2.5 - 3.0 نقطة بداية جيدة لمعظم التطبيقات الصيدلانية لأنها تحقق تشرداً أفضل للمواد الحمضية المراد تحليلها مثل الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد وتزيد من زمن احتفاظ هذه المواد، كما أنها تقلل من التداخلات بين المواد المحللة القلوية مع مجموعات السيلانول السطحية الموجودة على السيليكا (لأن مجموعات السيلانول غير متشردة عند هذه القيمة من الـ pH).

تتميز الأطوار المتحركة في الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ذات الطور المعكوس بانخفاض قيمة طول موجة انقطاع الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية UV cut-off Wavelength، حيث تبلغ هذه القيمة للأسيتونتريل 190 نانومتر.

4-2- تقنية الزوج الشاردي Ion-pairing Technology:

يعتمد مبدأ تقنية الزوج الشاردي على إضافة كواشف الزوج الشاردي Ion-pairing Reagents إلى الطور المتحرك، حيث يتألف كاشف الزوج الشاردي من سلسلة ألكيلية كارهة للماء وجزء أيوني ذو شحنة معاكسة للمادة المحللة القطبية حيث يتم ادمصاص واحتفاظ كاشف الزوج الشاردي على الطور الساكن بفضل السلسلة الألكيلية الكارهة للماء ويرتبط الجزء الأيوني المتبقي بالمواد المحلَّلة التي لها شحنة معاكسة له ويقلل من قطبيتها ويجعلها معتدلة وبالتالي يزيد من احتفاظها.

تتميز المواد القطبية مثل الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد بأنها لا تحتفظ على الأطوار المعكوسة بسبب قطبيتها العالية، ولذلك تستعمل تقنية الزوج الشاردي لزيادة احتفاظها.

وبالتالي فإن تقنية الزوج الشاردي تفيد في:

- زيادة زمن الإحتفاظ Retention Time للمادة المحللة المعاكسة بالشحنة.
- زيادة الإنتقائية Selectivity.
- تحسين تباين المواد المحلَّلة Resolution عن المكونات الأخرى في العينة.

من كواشف الزوج الشاردي المستخدمة من أجل المواد المحللة القلوية: مركبات الألكيل سلفونات طويلة السلسلة مثل صوديوم دوديسيل سلفات والملح الصودي لـ حمض 1-هبتان سلفونيك. وتضاف عادة المعدِّلات الأمينية مثل التري إتيل أمين إلى الطور المتحرك من أجل إنقاص تذيل القمة الناتج عن التداخل القوي للمواد المحلَّلة القلوية مع مجموعات السيلانول السطحي الحمضي التي تحتويها تعبئة السيليكا في الطور الساكن [11].

ومن كواشف الزوج الشاردي المستخدمة من أجل المواد المحللة الحمضية: أملاح رباعي ألكيل أمونيوم.

-ولكي تكون الطريقة التحليلية قابلة للتطبيق في دراسات الثبات أو ما شابه من الدراسات التي تتطلب فصل الشوائب ونواتج التخرب يجب أن تكون محددة للثباتية.....

4-3- تطوير طريقة تحليلية محددة للثباتية Development of Stability-indicating Analytical Method:

يعتمد تقييم دراسات الثباتية الكيميائية للمواد الصيدلانية على توفر طريقة معايرة كروماتوغرافية أو أي طريقة فصل أخرى قادرة على فصل الشوائب ونواتج التخرب.

ولأن هدف دراسات الثبات هو مراقبة تغيرات مستحضر خلال الزمن وعند شروط تخزين مختلفة، يجب أن تكون كل الطرق التحليلية في الدراسة محددة للثباتية Stability-indicating.

تعرَّف الطريقة المحددة للثباتية stability-indicating method بأنها الطريقة المستعملة (وهي عادة طريقة كروماتوغرافية) لاكتشاف التخرب الكيميائي لمادة دوائية أو مستحضر دوائي.

إن التحدي الأساسي في تطوير طريقة تحليلية محددة للثباتية هو الوصول إلى عينات مخرَّبة تساعد في تطوير الطريقة (دراسات التخريب القسري)، وقد تم التزويد بتوجيهات عملية من أجل تطوير بروتوكولات التخريب القسري. وهناك اعتبارات لحالات خاصة مثل مستحضرات المشاركات الدوائية [9].

1-3-4- دراسات التخريب القسري Forced Degradation Studies [9]:

تتضمن دراسات التخريب القسري تعريض عينات معبِّرة من المادة الفعالة او المنتج النهائي إلى ظروف قاسية من الضوء والحرارة والرطوبة والحلمهة حمض/أساس والأكسدة. وتلعب هذه التجارب دوراً هاماً في عملية تطوير الدواء، كما أن نتائج دراسات التخريب القسري قد تسهل تطوير طريقة تحليلية محددة للثباتية Stability-indicating method وتصميم صيغة الدواء واختيار ظروف التخزين والتعبئة وتعطي فهماً أفضل للتغيرات المحتملة لكيمياء الجزيئة الدوائية وتحل المشاكل المتعلقة بالثباتية.

يبين البروتوكول العام لإجراء دراسات التخريب القسري المبين في الجدول (1) أن أنماط التخريب المطلوبة للمستحضرات الدوائية السائلة الموقاة هي: تخريب بالحلمهة (حمض، اساس، حرارة)، تخريب بالأكسدة، تخريب ضوئي، تخريب حراري، ولكن التخريب بالحلمهة بالحمض أو الأساس غير مطلوب بالنسبة للصيغ الموقاة (مثلاً: المحلول الفموي الذي يحتوي على وقاء).

الجدول (1): البروتوكول العام لإجراء دراسات التخريب القسري للمواد والمستحضرات الدوائية

Stress condition	Drug substance		Drug product	
	As neat solid	As solution or suspension	Solid dosage form[a]	Liquid[b]
Hydrolysis (Acid, Base, and Thermal)		√		√[c]
Oxidative		√		√
Photo-degradation	√	√	√	√
Thermal	√		√	√
Thermal/Humidity	√		√	

[a]For tablets, capsules or powder blend. Stress intact dosage form; do not grind or put into solution.
[b]For oral solutions, oral suspensions, or parenterals.
[c]Not required for buffered formulations.

إن نسبة التخريب المطلوبة هي 5- 20% تقريباً، ويتم تحقيق هذه النسبة عن طريق تغيير شروط التخريب مثل زمن التعرض أو الحرارة أو تركيز المادة المخربة (حمض، أساس، مؤكسد، الخ). قد يؤثر تركيز الدواء في محلول العينة المعرضة للتخريب على الحد المطلوب من التخريب، حيث أن تركيز العينة الأكثر تمديداً يعطي تخرباً أكبر من المحلول الأكثر تركيزاً، وعادة يستخدم تركيز للعينة يساوي 1 ملغ/مل.

-التخريب بالأكسدة Oxidative Degradation:

لتحقيق هذا النوع من التخريب، يعد الماء الأوكسيجيني هو المؤكسد الاكثر استعمالاً، حيث يستعمل بتراكيز تصل إلى 3% حيث يتم التحكم بتركيز الماء الأوكسيجيني لتحقيق نسبة تخرب 5- 20%، ويتم إيقاف الفحص بعد تحقيق هذه النسبة أو بعد فترة تمتد من عدة ساعات إلى 7 أيام، ويتم تطبيق التخريب بمحلول الماء الأكسجيني عند درجة حرارة الغرفة وبحيث تكون العينة محمية من الضوء. ملاحظة: يجب أن يتم التخريب بالأكسدة عند درجة حرارة الغرفة لأن الحرارة العالية تسبب تغير في آلية التخرب ويجب أيضاً ألا يتجاوز تركيز الماء الأكسجيني 3% لأن تركيزه العالي يسبب تشكل نواتج تخرب صنعية [12].

-التخريب الضوئي Photo-Degradation:
يتم التخريب الضوئي بتعريض محلول العينة للضوء المفلور وما فوق البنفسجي (الخيار الأول أو الثاني من توجيهات الـ ICH) لمدة أكثر من المنصوص عليها في الـ ICH بمرتين.

–التخريب بالحرارة Thermal Degradation:
يتم هذا النوع من التخريب بتعريض محلول العينة لدرجة الحرارة 70°م ضمن فرن لمدة تصل إلى أسبوعين.

-التخريب بالحلمهة بالحمض والأساس Acid and Base Hydrolysis:
إن هذا النمط من التخريب غير مطلوب بالنسبة للصيغ الموقاة. بشكل عام، يجرى التخريب بالحلمهة باستعمال محلول حمض كلور الماء HCl ومحلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH، حيث يستعمل كل منهما بتركيز 0.1N وقد تصل التراكيز إلى 1N وإذا كان المركب ضعيف الإنحلال بالماء تستعمل المواد العضوية المساعدة على الإنحلال بالمشاركة مع الحمض أو الأساس، وعادة يستخدم تركيز للعينة يساوي 1 ملغ/مل، يبدأ التخريب في البداية عند درجة حرارة الغرفة وإذا لم يحدث أي تخرب ترفع درجة الحرارة إلى 50° - 70°م، ويتراوح زمن التعرض للتخريب من يوم واحد إلى 7 أيام ويجب ألا يتجاوز الـ 7 أيام.

4-3-2- التخريب القسري لأدوية المشاركة الدوائية:
يجب أن تخضع مستحضرات المشاركة الدوائية والتي تحتوي على أكثر من مادة فعالة للتخريب القسري ويجب أن تقيَّم من حيث نواتج التخرب الناتجة عن تداخلات مادة دوائية- مادة دوائية ومادة دوائية–سواغ. وقد لا نحتاج إلى تكرار التخريب القسري لكل مادة فعالة على حدى. بالإضافة لفحص الإجهاد على المنتج الدوائي، يجرى فحص الإجهاد على البلاسيبو للتمييز بين نواتج التخرب المتعلقة بالمادة الدوائية ونواتج التخرب غير المتعلقة بالمادة الدوائية الناتجة من السواغات أو المحلات.

5– دراسة التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية Analytical Method Validation :
تتطلب الطرق التحليلية المستخدمة في فحص عينات الثباتية إجراء دراسة التحقق من صلاحيتها، وعادة تطبق نفس الطرق التحليلية من أجل تحرير الوجبة ومن أجل دراسات الثبات مما يسهل التحقق من صلاحيتها، وقد وضعت قواعد ومتطلبات دراسة التحقق من صلاحية الطرق التحليلية من قبل المؤتمر الدولي للتوافق International Conference on Harmonisation (ICH) الذي تحدث عن معايير التحقق التالية: النوعية، الخطية، الضبط، الدقة، المجال، حد الكشف، حد التحديد الكمي، ويوضح الجدول (2) المعايير المطلوبة لدراسة التحقق وفقاً للإختبار التحليلي المراد دراسته، فمثلاً إذا كان المطلوب هو دراسة التحقق من صلاحية اختبار المعايرة فإن معايير التحقق المطلوبة هي: الضبط، الدقة (التكرارية والدقة المتوسطة)، النوعية، الخطية، المجال، أما حد الكشف وحد التحديد الكمي فهما غير مطلوبين لاختبار المعايرة.

الجدول (2): المعايير المطلوبة لدراسة التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية وفقاً للإختبار التحليلي المراد دراسته

Type of analytical procedure characteristics	IDENTIFICATION	TESTING FOR IMPURITIES quantitat.	 limit	ASSAY - dissolution (measurement only) - content/potency
Accuracy	-	+	-	+
Precision				
Repeatability	-	+	-	+
Interm.Precision	-	+ (1)	-	+ (1)
Specificity (2)	+	+	+	+
Detection Limit	-	- (3)	+	-
Quantitation Limit	-	+	-	-
Linearity	-	+	-	+
Range	-	+	-	+

- signifies that this characteristic is not normally evaluated

+ signifies that this characteristic is normally evaluated

(1) in cases where reproducibility (see glossary) has been performed, intermediate precision is not needed

(2) lack of specificity of one analytical procedure could be compensated by other supporting analytical procedure(s)

(3) may be needed in some cases

وسيتم فيما يلي شرح معايير التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية للمستحضر الدوائي:

5-1- النوعية Specifity:

نوعية الطريقة التحليلية هي قدرة هذه الطريقة على قياس المادة المحللة بوجود المكونات المتوقع وجودها والتي تكون عادة الشوائب أو نواتج التخرب أو السواغات أو غيرها.

بالنسبة للطرق الكروماتوغرافية، يتم التحقق من نوعية الطريقة التحليلية للمستحضر الدوائي بالإجراءات التالية:

– يجب أن تستعمل المخططات الكروماتوغرافية من أجل إظهار نوعية الطريقة ويجب عنونة قمم المواد المحللة وحساب التباين بين هذه القمم والقمم الأقرب إليها حيث يجب ألا يقل عن 2.0%، ويفيد أيضاً مقارنة المخطط الكروماتوغرافي الناتج عن المستحضر بالمخطط الكروماتوغرافي الناتج عن البلاسيبو من أجل رصد أي تداخل بين قمم المواد الفعالة والسواغات.

– تعتبر اختبارات نقاوة القمة مفيدة في إثبات أن القمة الكروماتوغرافية للمادة المحلَّلة لا تعود إلى أكثر من مكون واحد كأن يتم ذلك مثلاً باستعمال كاشف الصمام الضوئي الثنائي Photodiode Array Detector (PDA)، ومن المفيد تسجيل منحني النقاوة وقيم قرينة نقاوة القمة Peak purity index وعتبة النقطة المفردة Single-point threshold.

– تجرى أيضاً دراسات التخريب القسري على المواد الفعالة والمستحضرات الدوائية من أجل تقديم دليل إضافي على نوعية الطريقة، حيث يتم تعريض العينة للتخريب لشروط: الأكسدة، الحرارة، حمض/أساس، الضوء.

5-2- الخطية Linearity:

إن خطية الطريقة التحليلية هي قدرة هذه الطريقة على الحصول على نتائج اختبار متناسبة مع تركيز أو كمية المادة المحللة في العينة، خلال مجال معين.

يتم إجراء اختبار الخطية بتحضير ما لا يقل عن 5 تراكيز من المادة الدوائية المراد تحليلها وذلك عن طريق تمديد محلول عياري أساسي لتحقيق هذه التراكيز.

يتم تحديد وتقييم الخطية بالخطوات التالية:

– رسم الخط البياني بين القياسات (مساحات أو ارتفاعات القمة) وبين تراكيز المادة المحللة أو المحتوى منها.

– إن معايير الخطية المطلوب حسابها هي معامل الإرتباط Correlation Coefficient حيث يجب أن يكون أكبر من 0.99 [9]، ونقطة التقاطع مع محور y (y-intercept) حيث يجب أن تكون قريبة من الصفر وميل خط الإرتباط ومجموع المربعات (البواقي) Residual Sum of Squares [13,9].

– تحليل التغير للنقاط المقاسة عن خط الإرتباط (تحليل التباين).

ملاحظة: يستخدم ميل خط الإرتباط ونقطة تقاطعه مع المحور y في تحديد معادلة الإرتباط.

5-3- المجال Range:

مجال الطريقة التحليلية هو الفاصل بين التركيز أو الكميات الأعلى والأدنى للمادة المحللة في العينة والذي تكون فيه الطريقة التحليلية ذات حد مقبول من الدقة والضبط والخطية.

يتم استنتاج المجال من دراسة الخطية، وهو يعتمد على التطبيق المطلوب للإختبار، ويتم إثباته بالتأكد من أن الطريقة التحليلية تعطي درجة مقبولة من الخطية والضبط والدقة عند تطبيقها على عينات تحتوي على كميات من المادة المحللة ضمن أو عند حدود المجال الموصوف للطريقة التحليلية.

ويجب أن يكون الحد الأدنى للمجال الموصوف من أجل معايرة مادة فعالة أو مستحضر دوائي نهائي هو 80 – 120 % من تركيز الإختبار.

5-4- الضبط Accuracy:

ضبط الطريقة التحليلية تعبر عن مدى قرب القيمة الحقيقية من القيمة المقبولة لنتيجة الإختبار، ويتم تحديد ضبط الطريقة التحليلية للمستحضر الدوائي بعدة طرق:

– تطبيق الطريقة التحليلية على مزائج صنعية من مكونات المستحضر الدوائي أضيفت لها كميات معلومة من المادة الدوائية المراد تحليلها.

– عند صعوبة الحصول على كل مكونات المستحضر الدوائي، يمكن إضافة كميات معلومة من المادة المحللة إلى المستحضر أو مقارنة النتائج التي تم الحصول عليها مع طريقة موصوفة بشكل جيد ومضبوطيتها معلومة.
– ملاحظة: إذا تم إثبات دقة وخطية ونوعية الطريقة التحليلية يمكن استنتاج ضبط الطريقة.
يتم تحديد ضبط الطريقة التحليلية بإجراء 9 قياسات كحد أدنى على 3 تراكيز كحد أدنى تغطي المجال الموصوف (مثلاً 3 تراكيز/3 تكرارات تجرى على كل واحدة كل الطريقة التحليلية).
تسجل نتائج الضبط على شكل مردود نسبي Percent Recovery ويتم حسابه بمعايرة مقدار مضاف معلوم من المادة المحللة في العينة وقسمة القيمة المقاسة على القيمة المعلومة المضافة وضربها بـ 100 أو على شكل الفرق بين القيمة المتوسطة والقيمة الحقيقية المقبولة، مع حساب حدود الثقة Confidence Intervals، أي أنه من المفيد لإنشاء جدول نتائج الضبط حساب ما يلي: المردود النسبي لكل قياس، متوسط المردود النسبي لكل تركيز، متوسط المردود النسبي لكل القياسات، الفارق بين القيمة المتوسطة للمردود النسبي والقيمة الحقيقية المقبولة له وهي غالباً 100، الإنحراف النسبي المئوي للمردودات النسبية لكل تركيز، الإنحراف النسبي المئوي لكل القياسات، حدود الثقة لمتوسطات المردود النسبي، حدود الثقة للمردود النسبي لكل تركيز.

5-5- الدقة Precision:

دقة الطريقة التحليلية هي مدى قرب سلسلة من القياسات الناتجة من السحب المتكرر للعينات من نفس العينة المتجانسة. وهناك ثلاث مستويات أو أنماط للدقة: التكرارية، الدقة المتوسطة، التكرارية الشمولية.

–التكرارية Repeatability: وهي تعبر عن الدقة في نفس ظروف التشغيل على فترات فاصلة قصيرة من الزمن، يتم تحديد التكرارية بأحد الطريقتين التاليتين:

– إما بإجراء 6 قياسات على الأقل عند 100% من تركيز الإختبار.

– أو بإجراء 9 قياسات كحد أدنى تغطي المجال الموصوف للتحليل (مثلاً 3 تراكيز/كل منها 3 تكرارات).

– الدقة المتوسطة Intermediate precision: وهي تعبر عن التغيرات ضمن المخابر: أيام مختلفة، محللين مختلفين، معدات مختلفة،.....الخ، حيث تدرس هذه التغيرات وليس من الضروري دراسة كل من هذه التأثيرات بمفرده. وغالباً تتم دراسة الدقة في يومين مختلفين اليوم الأول واليوم الثاني.

– التكرارية الشاملة Reproducibility: وهي تعبر عن الدقة بين المخابر،وتحدد بإجراء التجارب في مخبر آخر ولذلك تعتبر مهمة في دراسات التعاون المطبقة من أجل اعتماد طريقة مرجعية أو في إدراج الطريقة في الدساتير.

لتحديد دقة الطريقة التحليلية يجب حساب الإنحراف المعياري والإنحراف المعياري النسبي (معامل التباين) وحدود الثقة لكل مستوى أو نمط من الدقة.

6-5- حد الكشف Detection Limit وحد التحديد الكمي Quantitation Limit:

حد الكشف لطريقة تحليلية هو أقل كمية من المادة المحللة يمكن كشفها في عينة ولكن ليس بالضرورة تحديد كميتها بدقة، وحد التحديد الكمي لطريقة تحليلية هو أقل كمية من المادة المحللة في عينة يمكن تحديد كميتها بدقة وضبط مناسبين. وهو معيار يدرس في المعايرات الكمية لتراكيز متدنية من المركبات في العينة، وهو يستعمل بشكل خاص من أجل قياس الشوائب و/أو نواتج التخرب.

توجد عدة طرق لتحديد حد الكشف وحد التحديد الكمي وتختلف عن بعضها البعض بكون طُرقها تستعمل الاجهزة أو لا تستعمل الأجهزة:

1- بناء على التقييم المرئي: يستخدم التقييم المرئي من أجل الطرق التي لا تستعمل الأجهزة ويمكن استخدامه أيضاً من أجل الطرق التي تستعمل الأجهزة، حيث يتم تحديد حد الكشف هنا عن طريق تحليل عينات ذات تراكيز معروفة من المادة المحللة وإثبات الحد الأدنى الذي يمكن عنده كشف المادة المحللة ويتم تحديد حد التحديد الكمي عن طريق تحليل عينات ذات تراكيز معروفة من المادة المحللة وإثبات الحد الأدنى الذي يمكن عنده تحديد المادة المحللة كمياً بدرجة مقبولة من الضبط والدقة.

2- بناء على نسبة إشارة–إلى–ضجيج: يمكن تطبيق ذلك على الطرق التحليلية التي تبدي ضجيجاً عند الخط الأساسي Baseline. يتم تحديد نسبة إشارة–إلى–ضجيج بمقارنة الإشارات المقاسة من عينات ذات تراكيز قليلة من المادة المحللة مع الإشارات المقاسة من عينات البلانك وإثبات التركيز الأدنى الذي يمكن كشف المادة المحللة عنده وهو حد الكشف وإثبات التركيز الأدنى الذي يمكن عنده التحديد الكمي للمادة المحللة عنده وهو حد التحديد الكمي، بشكل عام تعتبر قيمة إشارة–إلى–ضجيج المساوية 3 أو 1:2 مقبولة من أجل تقدير حد الكشف و قيمة إشارة–إلى–ضجيج المساوية 1:10 قيمة نموذجية من أجل حد التحديد الكمي.

3- بناء على الإنحراف المعياري للإستجابة والميل: حيث يتم التعبير عن حد الكشف DL بالعلاقة:

$$DL = \frac{3.3\ \sigma}{S}$$

ويتم التعبير عن حد التحديد الكمي QL بالعلاقة:

$$QL = \frac{10\ \sigma}{S}$$

حيث: σ هو الإنحراف المعياري للإستجابة، S هو ميل منحني المعايرة Calibration Curve.
يمكن أن يحسب الميل S من منحني المعايرة للمادة المحلَّلة، ويحسب الإنحراف المعياري للإستجابة σ بعدة طرق مشروحة بالتفصيل في قواعد الـ ICH [13].

5-7- المتانة Robustness:

متانة طريقة تحليلية هي قياس لقدرة الطريقة على بقائها غير متأثرة بتغييرات صغيرة ولكنها مقصودة في معايير الطريقة التحليلية، وهي تدل على مدى موثوقية الطريقة أثناء الإستعمال العادي لها.

يتم تقييم متانة الطريقة التحليلية أثناء مرحلة تطوير الطريقة، وفي حال تبين أن الطريقة التحليلية غير متينة يجب ضبطها أو وضع عبارة تحذيرية ضمن الإجراء التحليلي.

أمثلة عن التغييرات النموذجية بشكل عام: ثباتية المحاليل التحليلية، زمن الإستخلاص.

أمثلة عن التغييرات النموذجية في حالة الكروماتوغرافيا السائلة: تأثير تغيرات الـ pH في الطور المتحرك، تأثير التغيرات في تركيب الطور المتحرك، أعمدة مختلفة (وجبات مختلفة و/أو مصدرين مختلفين)، درجة الحرارة، معدل التدفق.

5-8- اختبار ملاءمة النظام System Suitability Testing:

اختبار ملاءمة النظام هو جزء متمم للعديد من الإجراءات التحليلية. هذه الإختبارات مبنية على فكرة أن الجهاز والإلكترونيات وعمليات التشغيل التحليلية والعينات المراد تحليلها تشكل نظاماً متكاملاً يمكن تقييمه بحد ذاته. تعتمد معايير اختبار ملاءمة النظام التي يجب تعيينها من أجل تحليل معين على نمط التحليل المراد التأكد من صلاحيته وتعطي الدساتير معلومات إضافية عن هذا الموضوع.

ملاحظة: إن حد الكشف وحد التحديد الكمي واختبار ملاءمة النظام هي معايير غير مطلوبة عند إجراء دراسة التحقق من صلاحية طريقة المعايرة كما هو مبين في الجدول (2).

يبين الجدول (3) الحدود المقبولة لنتائج معايير التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية [9،13، 14].

الجدول (3): الحدود المقبولة لنتائج معايير التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية

المعيار المدروس	القيمة المحسوبة	المواصفة المقبولة
النوعية	التباين Resolution نقاوة القمة Peak purity	أكثر أو يساوي 2% يجب ألا يتم كشف إشابة للقمة يجب أن تكون قرينة نقاوة القمة أكبر من عتبة النقطة المفردة
الخطية	معامل الإرتباط نقطة التقاطع مع المحور y	أكبر من 0.99 يجب أن تكون قريبة من الصفر
المجال	الحد الأدنى من المجال	المعايرة: 80 – 120% من تركيز الإختبار تجانس المحتوى: 70 – 130% من تركيز الإختبار الإنحلالية: ± 20% فوق المجال الموصوف الشوائب: مستوى الشائبة[1] – 120% من المواصفة الشوائب الخطرة: يجب أن يكون حدي الكشف والتحديد الكمي متلائمين مع المستوى الذي سيتم فيه مراقبة الشوائب المعايرة والشوائب (باختبار واحد وبشرط استعمال عياري 100%): مستوى الشائبة[1] – 120% من مواصفة المعايرة
الضبط	متوسط المردود النسبي المردود النسبي لكل قياس 95% حدود ثقة لمتوسط المردود النسبي 95% حدود ثقة للمردود النسبي لكل قياس	المعايرة (مستحضر نهائي): 98 – 102% الشوائب: 90/80 – 120/110% المعايرة (مستحضر نهائي): 97 – 103% الشوائب: 70 – 130% يجب أن تتضمن 100% ضمن المجال 96 – 104%
الدقة التكرارية الدقة المتوسطة/ التكرارية الشاملة	الإنحراف المعياري النسبي التكرارية لكل القياسات الدقة المتوسطة/ التكرارية الشاملة	المعايرة: أقل أو يساوي 2% الشوائب: 10 – 25% عند التركيز 0.1% 3 – 5% عند التركيز 1% المعايرة: أقل أو تساوي 1.5*الإنحراف المعياري المطلوب المعايرة: أقل أو تساوي 3–4*الإنحراف المعياري المطلوب

6- العوامل المؤثرة على الثباتية الكيميائية للمواد الدوائية [15]:

تتضمن العوامل التي تحدد الثباتية الكيميائية للمواد الدوائية:

– عوامل جوهرية: البنية الجزيئية للمادة الفعالة.

– عوامل بيئية: الحرارة، pH، أنواع الوقاء، القوة الشاردية، الضوء، الأوكسيجن، الرطوبة، الإضافات، السواغات.

1- البنية الجزيئية: تحدد البنية الجزيئية للمادة الفعالة آليات وطرق تخربها، وتؤثر المتبادلات حول مركز التفاعل بشكل قوي على فعاليتها، كما تعد العوامل الفراغية مهمة من أجل العديد من التفاعلات الكيميائية.

2- الحرارة: تعد الحرارة إحدى العوامل الأساسية التي تؤثر على ثباتية الدواء، ويعبر عن العلاقة بين ثابت سرعة التفاعل ودرجة الحرارة بعلاقة أرينيوس:

$$k = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right)$$

حيث E_a هي طاقة التنشيط، A هو معامل التكرار، T هي درجة الحرارة، R هو ثابت أرينيوس أو ثابت الغازات. حيث تعد الحرارة عاملاً مهماً بشكل ملاحظ لأن أغلب التفاعلات الكيميائية مثل الأكسدة والإرجاع والحلمهة تكون أسرع عند درجات الحرارة العالية منها عند درجات الحرارة الأكثر انخفاضاً، وبالتالي تسرع درجات الحرارة العالية من تخرب الدواء.

3- pH: وهو المتغير الثاني الأكثر أهمية بعد الحرارة والذي يؤثر على تخرب المادة الفعالة، حيث تتأثر سرعة التخرب للمادة الفعالة بقيمة الـ pH لأن معظم طرق التخرب تتوسطها أيونات الهيدرونيوم H_3O^+ و/أو أيونات الهيدروكسيد، ويعبر عن تخرب الدواء في هذه الحالة بمخطط pH–ثباتية pH-Stability Profile الذي يُمثل العلاقة بين تخرب الدواء والـ pH ومن الضروري إنشاء هذا المخطط من أجل صياغة المادة الدوائية في محلول.

4- أنواع الوقاء: إن أنواع الوقاء ذات تأثير على ثباتية المواد الفعالة وهي تساهم في تفاعلات التخرب الكيميائية وتلعب دور الوسيط لها، حيث تتوسط هذه التفاعلات كما هو الحال بالنسبة لشاردة الهيدرونيوم وأيون الهيدروكسيد وتسمى هذه الأنواع الوسيطة الوسطاء العامون حمض–أساس وفي هذا النوع من الوساطة يلعب الوقاء دور المستقبل للبروتون او مانح للبروتون (حمض وأساس برونشتد)، وقد تم استعمال الفوسفات كأنواع وقاء للوساطة العامة حمض–أساس ولوحظ أن مختلف أنواع الفوسفات الأربعة تحفز تخرب مواد دوائية مختلفة. يوجد نوع آخر من الوساطة يسلك الوقاء فيها آليات نيوكليوفيلية او إلكتروفيلية أي مانحة أو جاذبة للإلكترونات (حمض وأساس لويس).

5- القوة الشاردية: بالنسبة لتخرب الدواء الذي يتطلب تفاعلات مع الأنواع الشاردية أو تفاعلات فيما بينها، تتأثر سرعة التخرب بوجود أنواع شاردية أخرى كالأملاح مثل كلوريد الصوديوم، حيث أن القوة الشاردية تزيد ثابت سرعة التخرب وبالتالي تزيد التخرب. عند زيادة القوة الشاردية، تنقص سرعة التفاعل بين الأيونات ذات الشحنات المتعاكسة وتزداد بين الأيونات ذات الشحنات المتماثلة.

6- ثابت العزل الكهربائي للمحلات: تعتمد سرعات التخرب بين الأيونات وثنائيات الأقطاب في المحاليل على خواص المحل وأهمها ثابت العزل الكهربائي، حيث أن تغير قيمة ثابت العزل الكهربائي للمحل تؤدي إلى تغير ثوابت سرعة التخرب، ولذلك تلعب المواد المعدلة للمحل دوراً في التفاعلات حيث تقوم هذه المواد بتغيير خواص

المحل ومنها ثابت العزل الكهربائي مثل إضافة الكحول أو الغليكول أو مواد أخرى مساعدة على الإنحلال إلى الماء حيث أنها تغير من قيمة ثابت العزل الكهربائي للماء.

7- الأكسيجن: يمكن أن تتأثر حركيات أكسدة المواد الدوائية بتواجد الأكسيجن، كما تتضمن أيضاً بعض تفاعلات التخرب الضوئي آليات تأكسد ضوئي تعتمد على تركيز الأوكسيجن، وقد تبين أن الأكسيجن يغير سرعة التخرب كما أن لتركيز الأوكسيجن في الهواء وفي المحاليل المحتلفة تأثير مهم هلى تخرب المواد الدوائية.

8- الضوء: يؤثر عدد وطول موجة الفوتونات العَرَضية على سرعة التخرب الضوئي للأدوية، وعادة يتم فقط دراسة نوعية للتخرب الضوئي للأدوية لأنه ليس من السهل إجراء دراسة كمية لتأثير الضوء. ويعتمد التخرب الضوئي للمواد الدوائية بشكل كبير على الخواص الطيفية للمادة الدوائية وعلى التوزيع الطيفي لمصدر الضوء، فقد يتغير مثلاً درجة تلون مادة بين تعرضها للمبة الأشعة فوق البنفسجية وبين تعرضها للمبة الفلورة.

9- الحالة البلورية وتعدد الأشكال في الأدوية الصلبة: تتأثر الثباتية الكيميائية للأدوية الصلبة بالحالة البلورية للمادة الدوائية، فالأدوية في الحالة البلورية تكون قابلية تفاعلها أبطأ. بشكل عام، ثباتية المواد الدوائية عند وجودها بشكل غير متبلور أقل من ثباتيتها بشكلها البلوري بسبب ارتفاع سوية الطاقة الحرة للشكل غير البلوري. يحدث نقصان في الثباتية الكيميائية للأدوية الصلبة بتطبيق ظروف ميكانيكية قاسية مثل الطحن ويعزى ذلك إلى حدوث تغير في الحالة البلورية، كما أن الثباتية الكيميائية للمواد الدوائية الصلبة تتأثر أيضاً بالحالة البلورية للمادة الدوائية من خلال اختلافات في المساحة السطحية. بالنسبة للتفاعلات التي تحدث على السطح الصلب للمادة الدوائية، قد تسبب الزيادة في المساحة السطحية زيادة في كمية المادة الدوائية المساهمة في التفاعل.

10- الرطوبة في المواد الدوائية الصلبة ونصف الصلبة: يتأثر تخرب المادة الدوائية في الحالة الصلبة ونصف الصلبة بالرطوبة، حيث تلعب الرطوبة دورين أساسيين: يتمثل الدور الأول في أن الماء ذاته يساهم في عملية التخرب الدوائي كمادة متفاعلة مؤدياً إلى حدوث الحلمهة أو الإماهة أو التماكب أو تفاعلات أخرى، ويتمثل الدور الثاني في أن الماء يدمص على سطح المادة الدوائية وتتشكل طبقة رطوبة تنحل فيها المادة الدوائية وتتخرب.

11- السواغات: قد تؤثر السواغات على الثباتية الدوائية عن طريق آليات مختلفة، والآليات الأكثر ملاحظة هي تلك التي تساهم فيها السواغات مباشرة في التخرب كمواد متفاعلة مثل تفاعلات الإضافة مع المواد الدوائية. قد تبدي السواغات أيضاً تأثيرات وسيطية تتجه نحو تخريب الدواء، أما الآليات الأخرى فتتضمن تأثير الرطوبة الموجودة في السواغات وتأثير تغيرات الـ pH الناتجة عن السواغات وتأثيرات أخرى مثلها.

12- الأشكال الصيدلانية: إن الأشكال الصيدلانية الصلبة أكثر ثباتاً من الأشكال الصيدلانية السائلة بسبب وجود الماء في الأشكال السائلة.

13- التركيز: إن نسبة الجزء المتخرب إلى الكمية الكلية من المادة الدوائية هي أكبر في المحلول الممدد منها في المحلول المركز.

14-عوامل مختلفة:

– يؤثر إشعاع غاما المستخدم في تعقيم بعض المستحضرات الصيدلانية على ثباتية المواد الدوائية حيث ينقص الفعالية، كما يسبب تغييرات في نواتج التخرب.

– يؤثر التيار الكهربائي على ثباتية بعض المواد الدوائية ويؤدي إلى تخربها.

7- حركيات تخرب المواد الدوائية Kinetics of Drug Degradation:

توجد ثلاث مراتب أساسية لتفاعل التخرب [16]:

1- التفاعل من المرتبة صفر: معادلة التفاعل

$$-\frac{dc}{dt} = k$$

2- التفاعل من المرتبة الأولى: معادلة التفاعل

$$-\frac{dc}{dt} = kc$$

3- التفاعل من المرتبة الثانية: معادلة التفاعل:

$a=b=C0$

$$-\frac{dc}{dt} = kc^2$$

$a \neq b$

$$-\frac{dc}{dt} = kc_a c_b$$

ويتم تحديد مرتبة التفاعل برسم مخطط للنتائج وتحديد مرتبة التفاعل اعتماداً على معادلات كل مرتبة من مراتب التفاعل واعتماداً على خطية المخطط المرسوم، وإن تخرب المواد الدوائية في معظم المستحضرات التي تكون فيها المواد الدوائية منحلة ضمن محلول مائي يتبع حركيات التفاعل من المرتبة الأولى [17].

8- دراسات ما قبل الصياغة للمحاليل Preformulation Studies of Solutions:

تعرّف دراسة ما قبل الصياغة بأنها دراسة الخواص الفيزيائية والكيميائية للمكونات الدوائية قبل عملية تركيب الصيغة. إن الهدف من هذه الدراسة هو فهم طبيعة وخواص كل مكون واختيار الشروط الأفضل لتصنيع الشكل الصيدلاني [18].

إن العوامل الأكثر أهمية في مرحلة ما قبل الصياغة للأشكال السائلة الفموية هي [19, 20, 21]:

- ❖ انحلالية المادة الدوائية بالتركيز المطلوب (ومنها الإنحلالية المعتمدة على الـ pH).
- ❖ ثباتية المادة الدوائية في المحلول (الثباتية في الحالة السائلة).

وتعتبر السواغات الأفضل استعمالاً هي السواغات التي تسمح للمصيغين بتجاوز هذه التحديات [21].

8-1- الإنحلالية Solubility:

تعتبر الإنحلالية هي الخاصية الأهم عند تطوير المحاليل الفموية.

8-1-1- العوامل المؤثرة على الإنحلالية [10]:

1-تأثير الـ pH: تبدي المواد ذات الوظائف الحمضية أو الأساسية تغيرات في خواص الإنحلالية مع حدوث تغيرات في pH المحلول حسب ثوابت تشردها. هذه التغيرات هي غالباً كبيرة ومهمة في تحقيق التراكيز المطلوبة في الصيغة. يمكن إنشاء مخططات انحلالية-pH بإجراء تجارب انحلالية التوازن التي تغطي المجال 3-4 وحدات pH على جانبي الـ pK_a أو pK_b، وتمثل النتائج على شكل تابع انحلالية-pH. تعرَّف العلاقة بين انحلالية دواء حمضي والـ pH مع أخذ الـ pK_a بعين الإعتبار بالمعادلة التالية:

$$\mathrm{pH} = \mathrm{p}K_a + \log\frac{[C_s]}{[C_a]}$$

2- تأثير الحرارة: إن الإنحلالية معتمدة على الحرارة بالنسبة لأغلب المواد الصلبة، حيث تزداد الإنحلالية مع ارتفاع درجة الحرارة.

3- تأثير قطبية المحل: تعود الإنحلالية بشكل كبير إلى قطبية المحل المتعلقة بثابت العزل الكهربائي. المحلات ذات ثوابت العزل الكهربائي العالية تحل المركبات المتشردة (الأدوية القطبية)، والمحلات ذات ثوابت العزل الكهربائي المنخفضة تحل المواد الكارهة للماء (الأدوية غير القطبية). تصنف المحلات الأولى كمحلات قطبية مثل الماء والغليسيرين، والثانية كمحلات غير قطبية مثل الزيوت. إن ثوابت العزل الكهربائي للماء والغليسيرين عند درجة الحرارة 25°م هي 78.5 و 40.1 على الترتيب.

4- تأثير البنية الجزيئية: قد تؤثر التغيرات في طاقات التشكل بين الأشكال البلورية وغير البلورية على الإنحلالية.

8-1-2- تحديد الإنحلالية:

يتم تحديد انحلالية مادة دوائية باتباع الطريقة التالية [20]:

يوضع عن طريق الماصة حجم معروف من المحل سواء كان الماء أو الوقاء ضمن فيالة بحل كمية معينة من المادة الدوائية في كمية الماء أو الوقاء المطلوب ضمن فيالة، ثم تضاف المادة الدوائية المدروسة وتحل فيه حتى نبدأ بملاحظة الإشباع، ثم يحرك المحلول أو يخض لمدة ساعة واحدة تقريباً عند درجة الحرارة المطلوبة. إذا انحلت المادة، تضاف كمية جديدة منها وتعاد التجربة. وينصح بمتابعة التجربة طوال الليل على الأقل، وينصح بفترات أطول للمواد ذات الإنحلالية القليلة جداً، وبعد التحريك أو الخض يتم فصل المحلول من المعلق عن طريق التثفيل أو الترشيح، ثم تعاير الرشاحة بطريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC وهي الطريقة المفضلة أو طريقة مطيافية الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية والمرئية وبالتالي يتم تحديد الإنحلالية.

يبين الجدول (4) تصنيف الـ USP للمواد وفقاً لإنحلاليتها (وفقاً لكمية المحل المطلوبة من أجل حل جزء واحد من المادة المنحلة).

الجدول (4): مصطلحات الـ USP التي تصف الإنحلالية

Descriptive terms	Part of solvent required to dissolve 1 part of solute
Very soluble	<1
Freely soluble	1–10
Soluble	10–30
Sparingly soluble	30–100
Slightly soluble	100–1000
Very slightly soluble	1000–10,000
Practically insoluble, or insoluble	>10,000

8-1-3- مخطط pH–انحلالية:

يتم تحديد الإنحلالية للمادة الدوائية في الوقاء مقدرة بالـ (ملغ/مل) عند قيم مختلفة للـ pH وفق الإجراء السابق، وتسجل البيانات بشكل مخطط pH–انحلالية وهو مخطط بياني لـ الإنحلالية كتابع للـ pH، ومن الضروري إنشاء هذا المخطط من أجل صياغة المادة الدوائية في محلول حيث يفيد هذا المخطط في الوصول إلى pH الإنحلالية الأفضل للمادة الدوائية وفي حالة مستحضرات المشاركة الدوائية يجرى مخطط pH–انحلالية لكل مادة دوائية ويتم استنتاج مجال الـ pH الذي يحقق أفضل انحلالية للمادتين الدوائيتين معاً.

8-2-الثباتية في الحالة السائلة Liquid-State Stability:

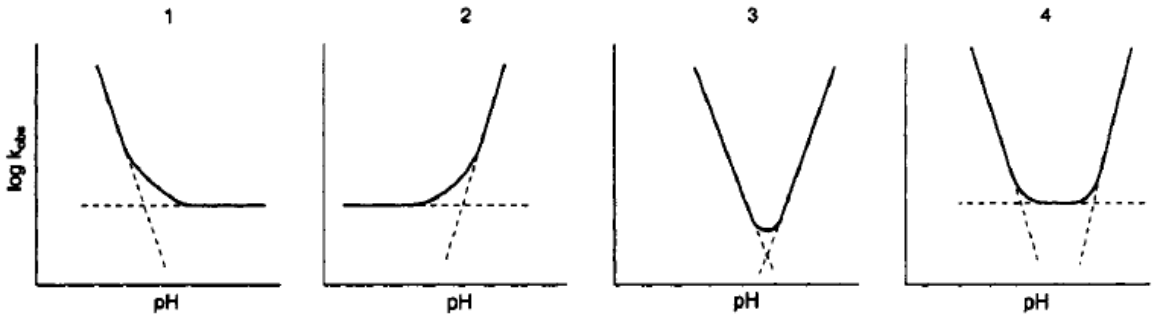
تجرى في مرحلة تطوير المستحضر فحوص ثباتية مسرعة كجزء من عملية الوصول إلى الشروط المثلى للثباتية (مثل الـ pH، الوسط، اختيار السواغات، التغليف) وأيضاً من أجل تحديد شروط التخزين وللحصول على زمن الصلاحية المؤقت للمستحضر [22].

إن الهدف الأساسي لدراسات ثباتية المواد الدوائية في الحالة السائلة هو تعيين الشروط الضرورية من أجل تشكيل محلول ثابت، وتتضمن هذه الدراسات تأثيرات: pH، أنواع الوقاء وتراكيزها، تداخلات مادة دوائية–مادة دوائية، التوافق مادة دوائية –سواغ، الأكسدة، القوة الشاردية، الحرارة، الضوء، المواد المساعدة على الإنحلال. حيث تحضر محاليل بتراكيز من المادة الفعالة مشابهة للتراكيز الموجودة في الصيغة المقترحة للمستحضر مع افتراض الإنحلالية الكاملة وتتم دراسة هذه التأثيرات عليها.

8-2-1- تأثير الـ pH:

يتم تحضير محاليل للمادة أو المواد الدوائية في وقاء مناسب بنفس تركيزها المعتمدة في صيغة المستحضر بحيث تكون هذه المحاليل ذات قيم مختلفة للـ pH حيث يتم اختيار المجال الذي نتوقع فيه ثباتيةً أفضل للمادة أو المواد الدوائية، ويحسب تخرب كل محلول بعد فترة من الزمن تتراوح في أغلب الأبحاث بين 7 أيام وشهر، ثم يتم إنشاء مخطط pH–ثباتية وهو مخطط بياني للتخرب كتابع للـ pH ومن الضروري إنشاء هذا المخطط من أجل صياغة المادة الدوائية في محلول حيث يفيد هذا المخطط في الوصول إلى pH الثبات الأعظمي للمادة الدوائية وفي حالة مستحضرات المشاركة الدوائية يجرى مخطط pH–ثباتية لكل مادة فعالة ويتم استنتاج مجال الـ pH الذي يحقق أفضل ثباتية للمادتين الفعالتين معاً.

وفي الحالة التي تكون فيها المادة الفعالة معتدلة في مجال الـ pH المدروس أي عندما لا يؤخذ تشرد المادة الفعالة بالحسبان تأخذ هذا المخططات الأشكال التالية البسيطة نسبياً، أما المواد الدوائية التي لها قدرة على التشرد فتعطي مخططات أكثر تعقيداً.



الشكل (8): الأشكال البسيطة لمخططات pH–ثباتية لتخرب المواد الفعالة

8-2-2- تأثير نوع الوقاء وتركيزه:

يتأثر تخرب بعض المواد مثل السبيرونولاكتون بتغيير نوع الوقاء وتركيزه ولا يؤثر الوقاء على تخرب بعضها الآخر مثل الأسيتازولاميد [23, 24].

8-2-3- تأثير المشاركة الدوائية (تداخلات مادة دوائية–مادة دوائية):

بالنسبة للمستحضرات التي تحتوي على أكثر من مادة دوائية واحدة (أدوية المشاركة الدوائية)، يجب دراسة التوافق بين المواد الدوائية كل منها مع بعضها البعض [25]. تتم هذه الدراسة بمقارنة نتائج تخرب محلول كل مادة دوائية وحدها مع نتائج تخرب محلول يحتوي على المادتين الدوائيتين المكونتين للمشاركة الدوائية معاً وذلك عند درجة حرارة معينة (وهي غالباً 25º).

8–2–4- تأثير توافق المواد الدوائية مع السواغات (تداخلات مادة دوائية–سواغ):

لا تفيد دراسة التوافق بين المادة الدوائية والسواغ في الحالة الصلبة في استنتاج التوافق بين المادة الدوائية والسواغ في الحالة السائلة [21]. لذلك تتم دراسة التوافق بين المادة الدوائية والسواغات في الحالة السائلة بوضع المادة الدوائية في محلول السواغات وتعبئتها في زجاجات عاتمة، وبالنسبة للمحاليل الفموية يدرس عادة التوافق مع: الغليسيرين، السكر، المواد الحافظة، الوقاءات [26].

8–2–5- تأثير الضوء (الثباتية الضوئية للمادة الدوائية) [27]:

تتم دراسة الثباتية الضوئية لمحلول المادة الدوائية بوضعه ضمن عبوات شفافة وخاملة كيميائياً ثم تعريضه للضوء لفترة زمنية محددة، حيث يوجد خيارين لمصادر الضوء المستخدم في هذه الدراسة:

– الخَيار 1: أي مصدر للضوء يعطي نتاجاً ضوئياً مشابهاً لعياري الإصدار D65/ID65 [D65 هو العياري المكافئ لضوء النهار الخارجي (خارج الغرفة) و ID65 هو العياري المكافئ لضوء النهار الداخلي (داخل الغرفة)]

مثل لمبة فلورة صنعية لضوء النهار تجمع النتاجات الضوئية المرئية وما فوق البنفسجية أو الكزينون أو لمبة هاليد معدني.

– الخَيار 2: حيث يتم تعريض نفس العينة للمبة فلورة بيضاء باردة تعطي نتاجاً ضوئياً مشابهاً لضوء النهار الخارجي (خارج الغرفة) ولمبة قرب ما فوق البنفسجي معاً ذات توزيع طيفي من 320 نانومتر إلى 400 نانومتر مع إصدار طاقة أعظمي من 350 نانومتر إلى 370 نانومتر ويجب أن تكون حصة مهمة من الـ UV على حزمتين من 320 نانومتر إلى 360 نانومتر ومن 360 نانومتر إلى 400 نانومتر.

ويتم في نفس الشروط تحضير عينة محمية من الضوء عن طريق تغطيتها بورق من الألمنيوم من أجل مقارنة النتائج بين العينة المعرضة للضوء والعينة المحمية من الضوء ومن أجل إلغاء تأثير تغيرات الحرارة الموضعية.

عند انتهاء فترة التعرض للضوء، يتم إجراء الإختبارات الفيزيائية مثل المظهر الخارجي أو رواق أو لون المحلول كما تجرى المعايرة للمادة أو المواد الفعالة، حيث تجرى التحاليل في نفس الوقت للعينة المعرضة للضوء والعينة المحمية من الضوء، وتجدر الإشارة إلى أنه يجب أن تكون الطرق التحليلية المستخدمة لإجراء هذه الإختبارات قد تمت دراسة التحقق من صلاحيتها.

بالنسبة للأشكال السائلة، ينصح بوضع العينة ضمن عبوة شفافة أو عبوة ذات غطاء شفاف ثم تعريضها للضوء، ويجب أن توضع جميع العينات بطريقة يكون فيها التعرض للضوء أعظمياً [28].

8-2-6- تأثير الحرارة:

حيث تتم دراسة تخرب المواد الدوائية في الحالة السائلة عند درجات مختلفة من الحرارة، ويمكن دراسة تأثير الضوء والحرارة مجتمعين كما هو الحال في دراسة ثباتية الميترونيدازول والتتراسيكين هيدروكلورايد والفاموتيدين في الحالة السائلة [29].

8-2-7- تأثير الأكسدة:

تتم دراسة تأثير إضافة مادة مخلبة مثل EDTA على ثباتية المواد الدوائية في الحالة السائلة كما هو الحال في دراسة تطوير محلول فموي للمورفين [30].

9- صياغة الأشكال السائلة الفموية Formulation of Oral Liquid Forms:

تتطلب صياغة الأشكال السائلة الفموية عدة اعتبارات: تركيز المواد الفعالة، نقاوة المواد الفعالة، النسبة الإضافية من المواد الفعالة، انحلالية المواد الفعالة، اختيار السواغ السائل، الثباتية الفيزيائية والكيميائية، حفظ المستحضر من النمو الميكروبيولوجي، إضافات مناسبة للمكونات مثل الوقاءات والمواد المُحلية والمواد المتحكِّمة باللزوجة والمطعمات.

1-9- مكونات وإضافات الأشكال الفموية السائلة Components and Additives of Oral Liquids [10]:

1-1-9- المواد الحافظة Preservative Agents:

تستعمل هذه المواد من أجل حفظ المستحضر من التلوث الميكروبيولوجي وخاصة المستحضرات السائلة لأنها تحتوي على الماء وهو الوسط المفضل لنمو الجراثيم والفطريات، من المواد الحافظة البارابينات وأهمها ميتيل بارابين وبروبيل بارابين اللذان يستعملان معاً في أغلب المستحضرات السائلة واللذان يتميزان بتأثيراتهما التآزرية حيث يتم تحسين الفعالية المضادة للجراثيم باستعمال مشاركة لمركبين من البارابينات نظراً لحدوث تأثيرات تآزرية بينها [31].

2-1-9- المواد المُحلية Sweetening Agents:

المحليات هي من مكونات العديد من الأشكال الصيدلانية الفموية السائلة، وخاصة التي تحتوي على طعم مر (مثل الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد) أو أي طعم آخر غير مقبول. تصنف المحليات عادة إلى محليات مغذية (حرارية) وغير مغذية (غير حرارية). تُفضل المحليات الغير حرارية بالنسبة لمرضى السكري. وتتضمن بعض المحليات الأكثر استعمالاً وشيوعاً: سكروز، سوربيتول، مانيتول، الغلوكوز السائل، دبس العسل، سكرين، أسبارتام، سوكرالوز، أسيسولفام–بوتاسيوم [10].

إن سكرين صوديوم أكثر انحلالاً في الماء من السكرين بشكل جدير بالإهتمام، وهو يستعمل بشكل أكثر منه في الصيغ الصيدلانية. وقدرته المُحلية هي 300-600 مرة من مثيلتها في السكروز. يحفز سكرين صوديوم أنظمة المطعمات وقد يستعمل لإخفاء بعض خواص الطعم غير المُستحبة.

يستعمل السوربيتول في المستحضرات السائلة كسواغ مذيب في الصيغ الخالية من السكر وكمثبت للمادة الدوائية. للسوربيتول طعم مستَحب مبرد حلو وله 50-60% تقريباً من حلاوة السكروز [31].

3-1-9- الوقاءات:

قد تحدث تغيرات في pH مستحضر خلال فترة التخزين بسبب تخرب المستحضر أو التداخلات مع مكونات العبوة أو انحلالية الغازات والأبخرة. لتجنب هذه المشاكل، تضاف الوقاءات لتثبت قيم الـ pH. ويستعمل نظام وقاء مناسب ذو قدرة وقاء كافية للحفاظ على مستوى pH للمستحضر خلال فترة التخزين يمكن اعتمادها بناء على مخطط الـ pH للدواء في المحلول.

إن أنظمة الوقاء المستعملة الأكثر شيوعاً هي: الوقاء الخلاتي (الأسيتاتي)، الوقاء الليموني (السيتراتي)، الوقاء الفوسفاتي، الوقاء الغلوتاماتي. يعطي الوقاء السيتراتي (حمض الليمون وملحه) مجال pH قدره 2.5 - 6 وعادة يستعمل بتركيز 1 – 3%.

ونظراً لأن أنظمة الوقاء قد تؤثر سلباً على خواص أخرى مثل الإنحلالية والحركيات وتخرب الدواء وثباتيته، فإنه يجب دراسة تأثير أنواع الوقاء قبل اختيار نظام الوقاء المستعمل.

9-1-4- مضادات الأكسدة Antioxidants:

إن العديد من المواد الفعالة الموجودة في محلول هي معرضة للتخرب عن طريق الأكسدة. وتعرف الأكسدة بأنها فقدان الإلكترونات من مركب مما ينتج عنه تغيراً في عدد الأكسدة للجزيئة. ويتم توسط مثل هذه التفاعلات بالراديكالات الحرة أو الأكسيجن الجزيئي، وغالباً ما تلعب الشوارد المعدنية دور الوسيط في مثل هذه التفاعلات. وعلاوة على ذلك، فإن الأكسدة تتضمن غالباً إضافة الأكسيجن (أو ذرات أخرى سلبية الإلكترون مثل الهالوجينات) أو انتزاع الهيدروجن. إن الأدوية التي تملك إمكانية أكسدة مفضلة هي حساسة بشكل خاص للتخرب. وتسمى المواد ذات إمكانية التأكسد الأقل من المادة الدوائية مضادات الأكسدة. تضاف مضادات الأكسدة إلى المحاليل وحدها أو بالمشاركة مع مادة مخلبة أو مضادات الأكسدة الأخرى.

كثيراً ما تستخدم المواد المخلبة مثل مشتقات حمض الإدتيك (EDTA) في الصيغ التي تحتوي على كميات ضئيلة من المعادن الثقيلة وإلا ستكون المعادن الثقيلة وسيطاً لتفاعلات الأكسدة. إذاً يمكن التقليل من تأثير المعادن الموجودة بكميات ضئيلة عن طريق استعمال المواد المخلبة.

وقد تبين أن مركبات محددة مثل حمض الأسكوربيك وحمض الليمون تعمل كمواد مؤازرة وتزيد من فعالية مضادات الأكسدة [10].

9-1-5- المواد المُطَعِّمة Flavoring Agents:

إن إضافة المطعمات للمواد الصيدلانية ذات أهمية كبيرة في الأشكال الصيدلانية السائلة الفموية لأنها تخفي الطعم الغير مقبول للمواد الدوائية [10]. من المطعمات الشائعة مطعم الفريز ذو الطعم المستحب.

9-1-6- الملونات Colorants:

يعتمد مظهر المستحضرات السائلة الرائقة على لون المحلول. تستعمل الصبغات بأقل تركيز يعطي اللون المطلوب. وإن تراكيزها في المستحضرات السائلة أقل من 0.001 %. إن الكثير من المحاليل الفموية العالمية خالية من الملونات مثل المستحضر Xyzal وهو المحلول الفموي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد الذي لا يحتوي في تركيبه على الملونات [2]. وقد ترافقت الدراسات المهتَمّة بأمان استعمال الملونات في المنتجات الغذائية والصيدلانية مع تقارير من فرط الحساسية والنشاط الفرط حركي وخاصة عند الأطفال [31]. وقد تحرض الصبغات عملية الأكسدة والتخرب الضوئي بإنتاج الأوكسيجن المفرد الذي يساهم في التفاعلات المتسلسلة.

9-2- طرق تحسين الثباتية للمستحضرات الفموية السائلة من خلال إجراء التغييرات في الصيغة: Stabilisation of Oral Liquid Forms by changes in formulation:

1- ضبط قيمة pH المستحضر الفموي السائل على قيمة pH الثباتية الأعظمية للمادة/المواد الدوائية الموجودة في هذا المستحضر باستعمال وقاء في تركيب المستحضر يحقق هذه القيمة.

2- إضافة مادة مخلبة مثل إديتات ثنائية الصوديوم وحمض الليمون إلى المستحضر الفموي السائل من أجل تعطيل تفاعلات التخرب بالأكسدة. تقوم إديتات ثنائية الصوديوم بتشكيل معقدات منحلة بالماء (نواتج التخلب) عن طريق الإرتباط بأيونات المعادن القلوية الترابية والمعادن الثقيلة التي تحفز الأكسدة، كما يستعمل حمض

الليمون كمضاد أكسدة في الصيغ الصيدلانية المائية بالإضافة إلى دوره كمادة مساعدة في ضبط pH السوائل الفموية [31].

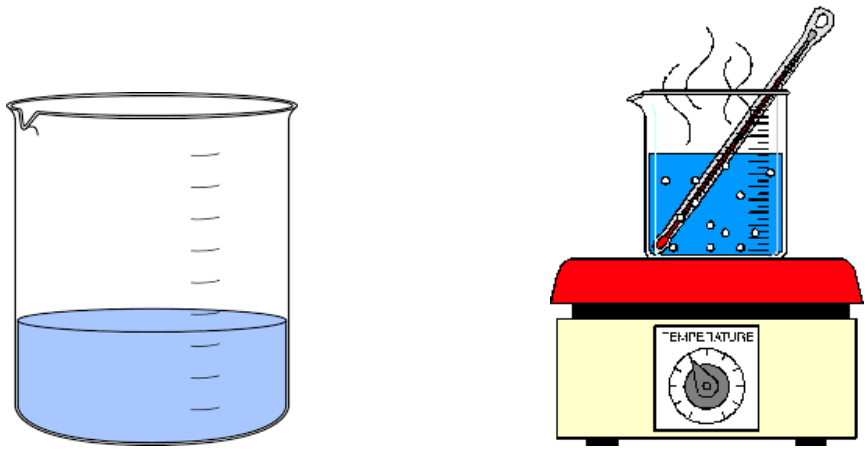
3- إضافة المواد الحافظة المناسبة حيث تحد هذه المواد من التلوث الجرثومي وبالتالي تحسن الثباتية الفيزيائية للشكل السائل، ولعل من أكثرها استعمالاً في الأشكال السائلة هي البارابينات التي تتمتع عند مشاركة مادتين منها بتاثير تآزري في فعاليتها المضادة للنمو الجرثومي مثل المتيل بارابن والبروبيل بارابن.

4- حفظ الشكل السائل في ظروف مناسبة من حيث الحرارة والضوء إذا كانت المادة/المواد الفعالة في هذا الشكل تتأثر بهذين العاملين.

10- تحضير المستحضرات الفموية السائلة:

10-1- تحضير المستحضرات الفموية السائلة على مستوى مخبري:

يتم التحضير كما هو مبين في الشكل (9) باستعمال بيشر سعة 1000مل، حيث يتم حل المواد التي تحتاج إلى التسخين مثل الميتيل بارابن والبروبيل بارابن ضمن البيشر في الماء المنقى Purified Water المسخن إلى درجة الحرارة المطلوبة ويستعمل ميزان الحرارة الزئبقي لمراقبة درجة الحرارة ثم يتم التبريد وتضاف محاليل بقية المواد تباعاً إلى البيشر مع المزج المستمر بواسطة خلاط مغناطيسي وتضاف في النهاية محاليل المادة/المواد الدوائية ثم يضاف المطعم والملون، وينقل المحلول إلى دورق حجمي سعة 1000مل. يكمل الحجم بالماء المنقى حتى الحجم المطلوب ويتم المزج حتى التجانس. تتم مراقبة وتسجيل قيمة الـ pH.

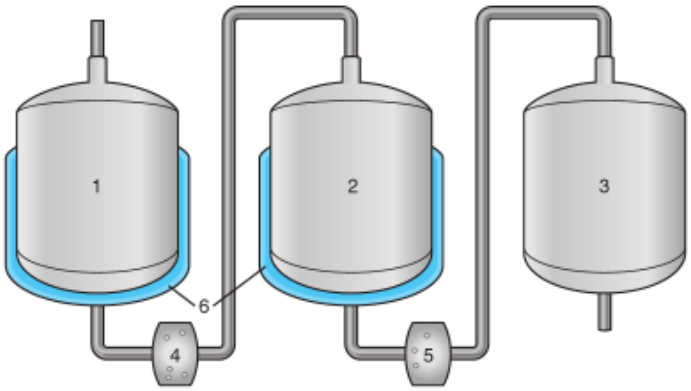


الشكل (9): تحضير المستحضرات الفموية السائلة على مستوى مخبري

10-2- تصنيع المستحضرات الفموية السائلة على مستوى صناعي:

يتم التحضير باستعمال خزانات ذات جدار مضاعف، حيث يتم حل المواد التي تحتاج إلى التسخين في الماء المنقى Purified Water ضمن الخزانات المجهزة بجدار التسخين 6 مثل الخزانات 1 و2 ثم تضخ محاليلها بعد تبريدها عبر المراشح 4 و 5 إلى خزان التجميع 3 كما تضاف محاليل بقية المواد تباعاً إلى خزان التجميع 3 مع التحريك المستمر كما هو مبين في الشكل (10) وتضاف في النهاية محاليل المادة/المواد الدوائية ثم يضاف

المطعم والملون، ويكمل الحجم بالماء المنقى حتى الحجم المطلوب ويتم المزج حتى التجانس، ثم تتم مراقبة وتسجيل قيمة الـ pH.



الشكل (10): مخطط التصنيع الآلي للمستحضرات الفموية السائلة

11-المراقبة الدوائية للمستحضرات الفموية السائلة:

Quality Control of Oral Liquid Preparations:

تجرى على الأشكال الصيدلانية السائلة الفموية فحوص المراقبة التالية:

11-1- الفحوص الحسية:

وهي تشمل:

- اللون: وهو فحص حسي (بالعين المجردة).
- الطعم: وهو فحص حسي (بالتذوق).
- الرائحة: وهو فحص حسي (بالشم).
- الرواق: يتم اختبار الرواق مخبرياً بفحص المستحضر على خلفية سوداء.

11-2- حجم التعبئة Deliverable Volume [8]:

يتم هذا الإختبار حسب الفقرة ‹698› في دستور الأدوية الأميركي USP 36 من أجل التأكد من أنه عند تفريغ السوائل الفموية من العبوة الأصلية سوف تعطي الحجم المصرح عنه الموجود على لصاقة العبوة. يجرى هذا الإختبار على المستحضرات التي لا يزيد فيها حجم التعبئة المصرح عنه عن 250 مل.

يتم الإختبار بأن تؤخذ 10 عبوات من المستحضر الذي يحتوي على المحلول الفموي وتخض كل عبوة منها ثم يعبأ محتواها بلطف في مقياس مدرج سعته تساوي مرتين ونصف من الحجم المعنون للمحلول الفموي ويتم الإنتظار 30 دقيقة لينتهي التنقيط، ويقاس الحجم المعبأ لكل عبوة.

الحدود المقبولة لحجم التعبئة: يجب ألا يكون متوسط الحجم للسائل المأخوذ من الـ 10 عبوات أقل من 100% من الحجم المصرح عنه على اللصاقة و ألا يكون حجم محتوى أي عبوة أقل من 95% من الحجم المصرح عنه على اللصاقة. وإذا كان متوسط الحجم للسائل المأخوذ من الـ 10 عبوات أقل من 100% من الحجم المصرح عنه على اللصاقة ولكن لا توجد أي عبوة حجم تعبئتها أقل من 95% من الحجم المصرح عنه على اللصاقة أو إذا كان متوسط الحجم للسائل المأخوذ من الـ 10 عبوات ليس أقل من 100% من الحجم المصرح عنه على اللصاقة ولكن ليس أكثر من عبوة واحدة حجم تعبئتها أقل من 95% ولكنه لا يقل عن 90% من الحجم المصرح عنه على اللصاقة، يجرى الإختبار على 20 عبوة إضافية من المستحضر ويجب ألا يقل متوسط الحجم للسائل المأخوذ من الـ 30 عبوة عن 100% من الحجم المصرح عنه على اللصاقة وأن يكون الحجم الناتج من ما لا يزيد عن عبوة واحدة من الثلاثين عبوة أقل من 95% من الحجم المصرح عنه على اللصاقة ولكنه لا يقل عن 90% من الحجم المصرح عنه على اللصاقة.

11-3- pH [8]:

تعرف الـ pH بأنها القيمة المعطاة من قبل جهاز كموني أو جهاز لقياس الـ pH قادر على إعطاء هذه قيم الـ pH ثانية حتى 0.02 وحدة pH باستعمال إلكترود مشعر حساس لنشاط أيونات الهيدروجن وهو الإلكترود الزجاجي وإلكترود مرجعي مناسب. يتم قياس pH الشكل السائل باستعمال جهاز قياس الـ pH بحيث يكون هذا الجهاز معاير بالوقاءات العيارية المناسبة (وقاءين pH=4.0 و pH=7.0) وتسجل قيمة الـ pH المقاسة حيث يجب أن تكون ضمن مجال الـ pH المقبول للمستحضر. تكمن الأهمية الأساسية في قياس الـ pH للمستحضرات السائلة في التأكد من ثباتية المستحضر لأن الإنحراف الكبير عن pH الثبات الأعظمي للمادة أو المواد الفعالة يؤدي إلى تخرب المستحضر.

11-4- الكثافة النوعية [8]:

يطبق هذا الإختبار على السوائل وتعرف الكثافة النوعية بانها النسبة بين وزن حجم معين من المستحضر السائل في الهواء عند درجة الحرارة 25°م إلى وزن نفس الحجم من الماء عند نفس درجة الحرارة. على نطاق مخبري يمكن أن يتم هذا الإختبار بأن يُصَفَّر الميزان على مقياس مدرج مناسب، ثم يصب بحذر حجم معين من المستحضر السائل ضمن المقياس المدرج، ثم يوزن المقياس المعبأ بالسائل ويسجل الوزن، تكرر العملية مع استبدال السائل بالماء ويسجل وزن الماء لنفس الحجم ثم تحسب الكثافة النوعية للشكل السائل بتقسيم الوزن الأول على الوزن الثاني.

11-5- اللزوجة [8]:

اللزوجة هي خاصية للسوائل متعلقة بمقاومة الإنسياب، وتعتمد الطريقة العامة لقياس اللزوجة حسب الفقرة ‹911› في دستور الأدوية الأميركي USP 36 على تحديد الزمن اللازم لينساب حجم معين من السائل من خلال أنبوب شعري، ويتم قياس لزوجة الشكل السائل باستعمال جهاز قياس اللزوجة وتقدر بالسنتيبواز.

11-6- الذاتية:

يتم هذا الإختبار من أجل التأكد من وجود المادة أو المواد الفعالة في المستحضر وتعتبر طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء هي الطريقة الأوسع استعمالاً لتحديد الذاتية حيث يتم تحديد الذاتية اعتماداً على مقارنة أزمان الإحتفاظ للمواد الفعالة في المخطط الكروماتوغرافي للمحلول العياري مع مثيلتها في محلول المعايرة.

11-7- المعايرة:

وهي من أهم اختبارات المراقبة لجميع الأشكال الصيدلانية وتمثل المعايرة تحديد المحتوى الكمي من المادة أو المواد الفعالة في المستحضر، ولعل من أهم طرق المعايرة المطبقة حديثاً هي طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء التي يكون فيها الطور الساكن صلباً والطور المتحرك سائلاً وهذه الطريقة مفيدة بشكل خاص بالنسبة للمستحضرات الفموية السائلة لأنها تحتوي على مواد فعالة وغير فعالة عديدة وبالتالي يجب استخدام طريقة فصل ناجعة لفصل المادة أو المواد الفعالة ومعايرتها، حيث يعتمد التحديد الكمي في هذه الطريقة على أن مساحات القمة وارتفاعات القمة عادة متناسبة طرداً مع كمية المادة المراد معايرتها.

11-8- تجانس توزع وحدات الجرعة [8]:

يجرى هذا الإختبار للتأكد من أن كل وحدة في التحضيرة ذات محتوى من المادة الفعالة يقع ضمن مجال ضيق حول الكمية المصرح عنها. يجرى هذا الإختبار بإحدى طريقتين: تجانس المحتوى، تغير الوزن. وحسب الجدول 1 الموجود في الفقرة ‹905› في دستور الأدوية الأميركي USP 36 تجرى طريقة تغير الوزن على المحاليل الموجودة في عبوات وحيدة الجرعة بينما تجرى طريقة تجانس المحتوى على المحاليل الموجودة في عبوات متعددة الجرعة. وبما أن مستحضرنا المدروس معبأ في عبوات متعددة الجرعة فتجرى عليه طريقة تجانس المحتوى بأن تتم معايرة 10 عبوات من المستحضر إفرادياً باستعمال طريقة تحليلية مناسبة وهي نفس طريقة المعايرة، حيث تفرغ كل عبوة من العبوات العشرة من محتوياتها وتمزج المحتويات جيداً ثم تعاير المادة الفعالة فيها. يتم حساب قيمة القبول Acceptance Value باستعمال الصيغة: $|M - \bar{X}| + ks$ ويتم التعرف على الرموز الموجودة في هذه الصيغة بالرجوع إلى الجدول 2 الموجود في نفس الفقرة ‹905› في دستور الأدوية الأميركي USP 36.

11-9- التلوث الميكروبيولوجي Microbiological Contamination [7, 8]:

يعد هذا الإختبار اختباراً أساسياً في المستحضرات السائلة وخاصة أن الشكل السائل هو الوسط المفَضَّل لنمو الجراثيم والفطريات، حيث يطبق هذا الإختبار من أجل التأكد من أن تعداد الجراثيم والفطور في المستحضر السائل هو ضمن الحدود المقبولة التالية التي ينص عيها دستور الأدوية الأوروربي 7.0 ودستور الأدوية الأميركي USP 36، وتكون الحدود المقبولة كما يلي:

1-التعداد الجرثومي الهوائي الكلي: لا يزيد عن 10^2cfu (التعداد الأعظمي المقبول: 200).

2- التعداد الكلي للخمائر والفطور: لا يزيد عن 10^1cfu (التعداد الأعظمي المقبول: 20).

3- عدم وجود جراثيم العصيات الكولونية (إيشيريشيا كولاي).

ويتم إجراء اختبار التلوث الميكروبيولوجي بتطبيق أحد الطرق الدستورية الثلاث التالية: طريقة الترشيح الغشائي، طرق تعداد الطبق (طريقة طبق الصب وطريقة الإنتشار على السطح)، طريقة العدد الأكثر احتمالاً. وبالنسبة للمستحضرات السائلة الفموية غالباً ما تستعمل طريقة طبق الصب Pour-plate method وهي تجرى دستورياً كما يلي:

يحل المستحضر السائل الفموي المراد فحصه في الوقاء الفوسفاتي pH=7.2 بنسبة تمديد (1 في 10) وتعدل الـ pH عند الضرورة وتضبط في المجال pH=6-8، يضاف 1 مل من العينة المحضرة و 15– 20 مل من الآغار إلى طبق بتري قطره 9 سم عند درجة حرارة لا تتجاوز 45ºم. إذا تم استعمال أطباق بتري أكبر يجب زيادة وسط الآغار بنفس النسبة. ويستعمل طبقين بتري على الأقل من أجل كل اختبار للمتعضيات الدقيقة. تحضن الأطباق وفق الشروط التالية:

– التعداد الجرثومي: الوسط: آغار مغذي، درجة حرارة الحضن: 30 – 35ºم، زمن الحضن: ≥ 3 أيام.

– التعداد الفطري: الوسط: آغار سابورود–دكستروز ، درجة حرارة الحضن: 20 – 25ºم، زمن الحضن: ≥ 5 أيام

بعد انتهاء فترة الحضن، يتم عد المستعمرات في الوسط ويؤخذ المتوسط الحسابي للتعدادات في الطبقين ويحسب عدد المستعمرات في الحجم الأساسي.

التحري عن وجود جراثيم (إيشيريشيا كولاي Escherichia Coli): يتم إجراء الإختبار بأن يحل المستحضر السائل الفموي المراد فحصه في الوقاء الفوسفاتي pH=7.2 بنسبة تمديد (1 في 10)، يضاف 1 مل من العينة المحضرة و 20 مل من آغار ماكونكي MacConkey agar إلى طبق بتري، يحضن الطبق عند درجة حرارة 30 – 35ºم لمدة 18– 72 ساعة. يكون المستحضر خالي من عصيات الإيشيريشيا كولاي إذا لم تتشكل مستعمرات بلون أحمر بريك تدل على وجودها.

12– ثباتية المستحضرات الفموية السائلة Stability of Liquid Oral Preparations :

إن العديد من المواد الدوائية تكون أكثر ثباتاً في الحالة الصلبة منها في الحالة السائلة وخاصة الأوساط المائية [32]. إن وجود الماء أو المحلات الأخرى في هذه الأشكال الصيدلانية يسرع كل تفاعلات التخرب، ولأن السوائل قد تحتوي على كمية محددة من الأكسيجن فإن ذلك سيؤدي أيضاً إلى تسريع تفاعلات الأكسدة [33]. وكشكل من الصيغ تعتبر السوائل الفموية أكثر تعقيداً في تركيبها من الأشكال المعدة للحقن، وقد تحدث تداخلات أكثر تؤثر على ثباتية المستحضر. وليس فقط من الضروري الأخذ بعين الإعتبار ثباتية المواد الدوائية بل أيضاً ثباتية وتوافق السواغات مثل الملونات والمطعمات والمواد الحافظة والمواد المساعدة على الإنحلال والمواد الرافعة للزوجة والمواد المحلية [10]. ومن المشكلات التي تواجهنا أيضاً في المستحضرات السائلة الفموية هو فقدان الماء من العبوة والناتج عن تعبئة هذه المستحضرات في عبوات نصف نفوذة Semi-premeable Containers والذي يؤدي إلى ارتفاع تركيز المادة الدوائية فيها. ولأجل كل ما سبق يجب أن يتم ما يلي:

– وضع المواصفة المقبولة بدقة من أجل التحديد الكمي للمادة أو المواد الفعالة في هذه المستحضرات السائلة وتطوير الطرق المناسبة لهذا التحديد الكمي والتحقق من صلاحيتها.

– إجراء دراسات الثبات من أجل مراقبة المستحضر السائل أثناء تخزينه والتوصل إلى الشروط الأفضل لهذا المستحضر.

– من الضروري الحفاظ على ثباتية المحاليل والمعلقات والمستحلبات التي تحتوي على الماء وحفظها من النمو الجرثومي بنجاح.

12-1-الثباتية الكيميائية Chemical Stability:

تم تعريف تقنيات التنبؤ عن الثباتية الكيميائية لأنظمة الدواء المتجانسة. إن الصيدلاني المصيغ يجب أن يأخذ بعين الإعتبار مخطط pH–انحلالية ومخطط pH–ثباتية عند اختيار الـ pH المثلى لصياغة الشكل الصيدلاني الفموي السائل، وعادة تعطى الأولوية لـ pH الثبات الأعظمي بالمقارنة مع pH الإنحلالية المثلى.

12-2- الثباتية الفيزيائية Physical Stability:

إن المنتجات السائلة الثابتة فيزيائياً يجب ان تحتفظ بلونها ولزوجيتها ورواقها وطعمها ورائحتها خلال زمن التخزين على الرف. ولكن، إن حدود المواصفات للإختبارات الفيزيائية هي غالباً مرنة لتسمح بوضع الحدود المقبولة للتقييم المادي المشمولة غالباً ومن أجل التغيرات الحتمية واللاسببية في الخواص الفيزيائية لهذه المستحضرات. بشكل نموذجي، يستعمل مستحضر محضر حديثاً كعياري مرجعي، وكبديل لهذه الخطوة تطور العديد من الشركات حدود تقييم أكثر علاقة بالهدف المقصود تستخدم فيها تقييماً باستعمال الأجهزة بدلا من التقييم الشخصي.

تتضمن الثباتية الفيزيائية للصيغ السائلة: تشكل الرواسب، تعدد الأشكال الأقل انحلالاً، ادمصاص المواد الفعالة على سطوح العبوات، التلوث الجرثومي، تغيرات في مظهر المستحضر. إن تقييم قبول المستحضر هو شخصي ويتضمن خواص مثل اللون والرائحة والطعم والرواق.

وكما هو الحال في الثباتية الكيميائية، فإن الثباتية الفيزيائية يمكن أن تتغير بشكل كبير بنمط وتصميم التعبئة، ولذلك فإن دراسة الثبات يجب أن تتم على المستحضر وهو ضمن عبوته النهائية.

12-3- دراسات الثبات على المستحضرات الدوائية Stability Studies on Drug Products:

تعتبر دراسة الثبات للمستحضر الدوائي هي الطريق الأنجح لتقييم مدى ثبات المستحضر وسرعة تخربه وللتنبؤ عن زمن صلاحية المستحضر. يتم اعتماد زمن صلاحية للمنتجات الصيدلانية وهو الزمن الذي يعتبر المستحضر خلاله آمناً وفعالاً عند ظروف التخزين المطبقة، وهناك عدة عوامل تستعمل من أجل تحديد زمن الصلاحية، ومن بين هذه العوامل الثباتية الكيميائية للمواد الفعالة في الشكل الصيدلاني وبالإضافة إلى ذلك، فإن أي عوامل تؤثر على التوافر الحيوي للمواد الفعالة يمكنها أيضاً أن تحدد زمن الصلاحية. وهذه العوامل لا تشمل فقط نقصان فعالية المواد الفعالة الناتج عن التخرب وإنما تشمل أيضاً نقصان الفعالية الناتج عن ترسب المواد الفعالة بالنسبة للأشكال الصيدلانية السائلة [9]. وتعتبر دراسة الثبات طويل الأمد هي الدراسة الأقرب إلى الواقع مقارنة مع دراسة الثبات المسرع من حيث ظروف التخزين الحقيقية التي تتضمن درجة الحرارة والرطوبة النسبية وبالتالي فهي تسمح بإعطاء تنبؤات أكثر ضبطاً ودقة.

إن المعايير التي يتم اختبارها أثناء دراسة ثبات المحاليل إضافةً إلى معايرة المحتوى من المواد الفعالة والفحص الميكروبيولوجي هي: الرواق، اللون، الطعم والرائحة، تغيرات الـ pH [34].
تتضمن توجيهات مؤتمر التوافق الدولي(ICH) المتعلقة بدراسة ثباتية المواد والمستحضرات الدوائية ما يلي [35]:

12-3-1- اختيار الوجبات:

يجب أن تتم دراسة الثبات على ثلاث وجبات أولية على الأقل من المستحضر الدوائي، حيث يجب أن تكون هذه الوجبات الأولية من نفس الصيغة ومعبأة بنفس نظام التعبئة، ويجب أن تكون اثنتان على الأقل من الوجبات من الـ pilot scale (وهو يمثل $\frac{1}{10}$ من حجم الإنتاج) والوجبة الثالثة يمكن أن تكون أصغر من ذلك، وتصنع الوجبات باستعمال وجبات مختلفة من المادة الدوائية إذا كان ذلك ممكناً.

12-3-3- نظام التعبئة:

يجب أن يجرى اختبار الثبات على الشكل الصيدلاني المعبأ في نظام التعبئة المعتمد (متضمناً التعبئة الثانوية ولصاقة العبوة).

12-3-4- المواصفة:

وهي قائمة بالإختبارات ومرجعية الإجراءات التحليلية والحدود المقبولة المقترحة.

12-3-5- تكرار الإختبار:

دراسات الثبات المطولة: بالنسبة للمستحضرات التي زمن صلاحيتها المقترح يساوي 12 شهراً على الأقل، يجب أن يكون تكرار الفحص كل 3 أشهر في السنة الأولى وكل 6 أشهر في السنة الثانية وكل سنة فيما بعد، خلال زمن الصلاحية المقترح.
دراسات الثبات المسرعة: يُنصَح بإجراء ثلاث نقاط زمنية على الأقل متضمنة النقاط الزمنية البدئية والنهائية لدراسة 6 أشهر (مثلاً: 0، 3، 6 شهراً)، وإذا تم توقع حدوث تغير هام أثناء الدراسة تتم زيادة الفحص إما بإضافة عينات عند النقطة الزمنية النهائية أو بإضافة نقطة زمنية رابعة إلى تصميم الدراسة.
إذا تم الإختبار عند ظروف التخزين المتوسطة كنتيجة لوجود تغير هام لدى إجراء دراسة الثبات المسرعة، يُنصَح بإجراء أربع نقاط زمنية على الأقل متضمنة النقاط الزمنية البدئية والنهائية لدراسة 12 أشهر (مثلاً: 0، 6، 9، 12 شهراً).

12-3-6- شروط التخزين:

يقصد بشروط التخزين الظروف التي تتم عندها دراسة الثبات من حيث درجة الحرارة والرطوبة النسبية.

– في حالة المستحضرات الدوائية المعبأة في عبوات نصف نفوذة: مثل المحاليل الفموية المعبأة في عبوات نصف نفوذة، تتم الدراسة عند قيم منخفضة للرطوبة النسبية كما هو مبين في الجدول (5)، ويجب إجراء اختبار فقدان الماء في هذه الحالة من المستحضرات.

الجدول (5): شروط التخزين لدراسات الثبات المطولة والمسرعة والمتوسطة في حالة المستحضرات الدوائية المعبأة في عبوات نصف نفوذة

الدراسة	ظروف التخزين	أقل فترة زمنية
دراسة الثبات المطولة	درجة الحرارة 25 ± 2°م/الرطوبة النسبية 40 ± 5% أو: درجة الحرارة 30 ± 2°م/الرطوبة النسبية 35 ± 5% (يعود للدارس اختيار أحد الشرطين)	12 شهراً
دراسة الثبات المتوسطة	درجة الحرارة 30 ± 2°م/الرطوبة النسبية 35 ± 5% (إذا تم اختيار هذا الشرط في دراسة الثبات المطولة لا داعي لدراسة الثبات المتوسطة)	6 أشهر
دراسة الثبات المسرعة	درجة الحرارة 40 ± 2°م/الرطوبة النسبية لا تزيد عن 25%	6 أشهر

التغير الهام: يعرف التغير الهام "Significant Change" لمستحضر دوائي على أنه:

1- تغير في المعايرة بمقدار 5% عن القيمة البدئية، أو الفشل في التوافق مع المواصفة المسموحة للفعالية عند استخدام الإجراءات البيولوجية والمناعية.

2- تجاوز أي ناتج تخرب لحدوده المسموحة.

3- الفشل في التوافق مع الحدود المسموحة لـ: المظهر الخارجي، الخواص الفيزيائية، اختبار الوظيفية (مثل: اللون، انفصال الطور، إعادة التعليق، تشكيل كتلة متراصة، القساوة، مقدار تحرير الدواء في الدفعة الواحدة).

4- الفشل في التوافق مع الحدود المسموحة للـ pH.

5- الفشل في التوافق مع الحدود المسموحة لاختبار الإنحلالية Dissolution لـ 12 وحدة جرعة.

أهمية البحث وأهدافه Importance and Purposes of the Research

أهمية البحث:

- ❖ دعم صحة الطفولة من خلال تطوير شكل صيدلاني فموي سائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين معد للإستعمال عند الأطفال في معالجة التحسس المترافق باحتقان أنفي.
- ❖ التنبؤ عن سلوك المادتين الفعالتين عندما تتواجدان معاً في وسط سائل.
- ❖ تقديم الدعم العلمي للشركات الدوائية المحلية في ترخيص صيغة صيدلانية جديدة.

أهداف البحث:

- ❖ دراسة تأثير العوامل المؤثرة على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين عندما تتواجدان معاً في شكل صيدلاني سائل، ووضع الصيغة الأساسية للشكل السائل لهذه المشاركة الدوائية بناء على نتائج هذه الدراسة وتحضير محلولين فمويين لهذه الصيغة بناء على نتائج الدراسة السابقة يختلفان بنوع ملح البسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) من أجل دراسة ثباتيتهما.
- ❖ إجراء دراسات الثبات على الرف للشكل الفموي السائل لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين واستخدام نتائج دراسات الثبات في تقييم ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في هذا الشكل السائل، واقتراح زمن الصلاحية لهذا الشكل السائل بناء على هذه النتائج.

الدراسة العملية

تتألف الدراسة العملية من المحاور الأساسية التالية:

1- تطوير طريقة تحليلية كروماتوغرافية محددة للثباتية من أجل معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس الوقت في الأشكال السائلة.

2- دراسة التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية المُطَوَّرة.

3- دراسات ما قبل الصياغة لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة.

4- دراسة الصياغة للشكل الصيدلاني السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين.

5- اختبارات المراقبة الدوائية للشكل الصيدلاني السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين.

6- دراسات الثبات على الرف (المطولة) للشكل الصيدلاني السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين.

1- الأجهزة والأدوات Apparatus and Equipments:

- ميزان إلكتروني حساس (Sartorius، ألمانيا) دقته (حساسيته) تساوي 10^{-4} غ.
- بياشر ودوارق حجمية ومقاييس مدرجة، ذات سعات مختلفة.
- خلاطات مغناطيسية.
- أوراق ترشيح مصنوعة من النايلون أبعاد فتحاتها 0.45 مكم.
- مجموعة الترشيح وهي عبارة عن أرلنماير يعلوه قمع الترشيح ويتصل الأرلنماير بالمخلية بأنبوب مطاطي.
- سيرنغات سعة 1 مل.
- مراشح بلاستيكية تحتوي على ورق ترشيح مصنوع من النايلون أبعاد فتحاته 0.45 مكم (Cromtech، الهند).
- ميزان حرارة زئبقي.
- شريط من ورق الألمنيوم.
- صفيحة سوداء.
- جهاز التحريك والتسخين الكهربائي.
- جهاز الخض باستخدام الأمواج فوق الصوتية (WiseClean، كوريا).
- حمام مائي.
- فرن يمكن التحكم بدرجة حرارته (Selecta، إسبانيا).
- حجرة الثبات الضوئي.
- جهاز قياس اللزوجة.
- جهاز قياس الـ pH، وهو جهاز إلكتروني معد للإستعمال في المعايرات Titromatic مصنع من شركة (Crison، إسبانيا) والجهاز مزود بإلكترود خاص من نفس الشركة (Crison، إسبانيا)، يستعمل هذا الجهاز لقياس pH المحاليل بعد معايرته باستخدام محلولي الوقاءين العياريين (pH=4.0 و pH=7.0).
- جهاز الإمتصاصية للأشعة فوق البنفسجية والمرئية (Shimadzu LC-20AT، اليابان).
- عمود (150 ملم × 4.6 ملم) يحتوي على طور معكوس C18 بتعبئة 5 ميكرومتر (Agilent، الولايات المتحدة الأميريكية USA).
- عمود (250 ملم × 4.6 ملم) يحتوي على طور معكوس C18 بتعبئة 5 ميكرومتر (Agilent، الولايات المتحدة الأميريكية USA).
- جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC (Shimadzu LC-20AT، اليابان).
- أطباق بتري.
- حاضنة الإختبارات الميكروبيولوجية.

2- المواد والكواشف Materials and Reagents:

- ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (Auctus pharma Limited، الهند).
- بسودوإفدرين سلفات (Cheng Fong Chemical CO., LTD.)، حيث تم التزويد بها من معمل آسيا للصناعات الدوائية، حلب، سوريا.

❖ بسودوإفدرين هيدروكلورايد (Cheng Fong Chemical CO., LTD.)، حيث تم التزويد بها من معمل آسيا للصناعات الدوائية، حلب، سوريا.
❖ متيل بارابين (Basf، ألمانيا).
❖ بروبيل بارابين (Basf، ألمانيا).
❖ سكرين صوديوم (Basf، ألمانيا).
❖ حمض الليمون مونوهيدرات (Solvay- Acompany of the solvay group، فرنسا).
❖ ليمونات الصوديوم الثلاثية ديهيدرات (معمل آسيا للصناعات الدوائية، حلب، سوريا).
❖ حمض الخل الثلجي (needham market-Suffolk، إنكلترا).
❖ خلات الصوديوم تريهيدرات (BDH Laboratory Supplies، إنكلترا).
❖ إديتات ثنائية الصوديوم (Basf، ألمانيا).
❖ غليسيرين (Sigma Aldrich، ألمانيا).
❖ محلول السوربيتول 70% (Sorbitonic 16205 ^{TM} sorbide C*، ألمانيا).
❖ طعم الفريز (معمل آسيا للصناعات الدوائية، حلب، سوريا).
❖ ماء منقى (جامعة حلب، حلب، سوريا).
❖ عبوات زجاجية شفافة عاتمة بنية اللون سعة 100 مل: (معمل الزجاج، حلب، سوريا).
❖ أغطية مصنوعة من الألمنيوم: (معمل الزجاج، حلب، سوريا).
❖ فوسفات البوتاسيوم أحادية الاساس (Sigma Aldrich، ألمانيا).
❖ حمض الفوسفور (جامعة حلب).
❖ تري إتيل أمين هيدوكلورايد (Sigma Aldrich، ألمانيا).
❖ صوديوم دوديسيل سلفات (ميرك Merck، ألمانيا).
❖ الملح الصودي لحمض 1-هبتان سلفونيك.
❖ ميتانول معد للإستعمال في الكروماتوغرافيا السائلة HPLC (Sigma Aldrich، ألمانيا).
❖ أسيتونتريل معد للإستعمال في الكروماتوغرافيا السائلة HPLC (ميرك Merck، ألمانيا).
❖ ماء معد للإستعمال في الكروماتوغرافيا السائلة HPLC (جهاز التزويد بالماء المعد للإستعمال في الكروماتوغرافيا السائلة HPLC، جامعة حلب، سوريا).
❖ محلول الماء الأكسجيني 20% (صيدلية الفيلات، حلب، سوريا).
❖ آغار مغذي.
❖ آغار سابورود-دكستروز.
❖ مرق ماكونكي.
❖ آغار ماكونكي.
❖ محلول الوقاء الفوسفاتي المعد للإختبارات الميكروبيولوجية.

3- طرائق العمل Methods:

3-1- تطوير طريقة تحليلية كروماتوغرافية محددة للثباتية من أجل معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس الوقت في الأشكال السائلة:

وهي المرحلة الأولى من هذا البحث لأنه قبل إجراء أي دراسة تتضمن معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس الوقت لا بد من تطوير طريقة تحليلية لهذه المعايرة.

3-1-1- دراسة الخواص الفيزيوكيميائية للمواد الفعالة:

تمت الإستعانة بالمراجع المختلفة من أجل التوصل إلى البنية الكيميائية والإنحلالية في المحلات المختلفة وقيم الـ pK_a لكل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين.

3-1-2- طيوف الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية UV:

تم تحضير محاليل لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد في الماء بحيث تكون تراكيزها: 0.1 ملغ/مل، 1.2 ملغ/مل، 2.4 ملغ/مل على الترتيب وبحيث تحتوي كل منها على الميتانول بتركيز 20% وهي نفس تراكيز العينات التي سيتم حقنها في جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC، حيث تم اعتماد هذه التراكيز بناءً على المقالة [36]. تم تسجيل طيوف الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية UV لهذه المحاليل باستعمال مطياف الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية والمرئية.

الشكل (11): جهاز قياس الإمتصاصية للأشعة فوق البنفسجية والمرئية

3-1-3- تحضير صيغة مبدئية مقترحة للسائل الفموي:

تم اقتراح صيغة مبدئية للشكل السائل الفموي لكي تتم عليها عملية تطوير الطريقة التحليلية بحيث تحتوي الصيغة على جميع المواد المتوقع أن يحتويها الشكل السائل قبل إجراء دراسات ما قبل الصياغة، ونظراً لأنه سيتم استعمال ملحين للبسودوإفدرين في البحث فقد تم تحضير الصيغة المبدئية المقترحة على شكل محلولين فمويين يختلفان بنوع ملح البسودوإفدرين (بسودوإفدرين سلفات أو بسودوإفدرين هيدروكلورايد)، حيث تتضمن الصيغة المبدئية المواد التالية:

❖ المواد الفعالة: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل، بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل أو بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل.

❖ المواد غير الفعالة (السواغات): ميتيل بارابين، بروبيل بارابين، سكرين صوديوم، حمض الليمون مونوهيدرات، ليمونات الصوديوم الثلاثية ديهيدرات، إديتات ثنائية الصوديوم، غليسيرين، محلول السوربيتول 70%، طعم الفريز، ماء منقى.

حيث تم تحضير المحلولين بحل المتيل بارابين والبروبيل بارابين في 30% من الماء المنقى والمسخن حتى درجة حرارة 90 °م – 95 °م والتحريك ثم التبريد حتى الدرجة 40 °م، ثم تمت إضافة بقية المواد (ليمونات الصوديوم وحمض الليمون وسكرين صوديوم وإديتات ثنائية الصوديوم) إلى محلول المواد الحافظة مع استمرار المزج، ثم إضافة محلول السوربيتول 70% والغليسيرين إلى المرحلة السابقة ثم إضافة محلول المادتين الفعالتين في 30% أخرى من الماء المنقى ثم إضافة طعم الفريز إلى المحلول ثم إكمال الحجم بالماء المنقى حتى الحجم المطلوب والمزج حتى التجانس، ثم تمت مراقبة وتسجيل قيمة الـ pH.

– أخذ معلومات من الأبحاث المنشورة التي توثق طرق تحليل المادة والمركبات المشابهة.

4-1-3- تحديد طول موجة الكشف:

من أجل التحري عن طول الموجة المناسب من أجل معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس الوقت، وباستعمال مطياف الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية UV تم تسجيل الطيوف المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات بالنسبة للمشاركة الأولى والطيوف المتقاطعة المسجلة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد بالنسبة للمشاركة الثانية في المجال الموجي 200 – 400 نانومتر، ومن هذه الطيوف تم اعتماد طول موجة الكشف المناسبة وهي طول الموجة التي تحقق امتصاصية متساوية للمادتين Isobestic Wavelength (نقطة تقاطع طيفي المادتين).

5-1-3- المحلول العياري ومحلول المعايرة:

1-5-1-3- محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد العياري الأصلي:

توزن 50 ملغ من مادة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد، وتنقل إلى دورق حجمي سعة 100 مل وتحل بالماء ويمدد المحلول بالماء حتى الحجم، يُحرك المحلول لمدة 10 دقائق باستعمال خلاط مغناطيسي.

3-1-5-2- المحلول العياري:

تم نقل 120 ملغ موزونة بدقة من مادة البسودوإفدرين سلفات العيارية (للمشاركة الأولى) أو 60 ملغ من مادة البسودوإفدرين هيدروكلورايد العيارية) (للمشاركة الثانية) إلى دورق حجمي سعة 50 مل وتم حلها بالماء، ثم أضيف 10 مل من محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد العياري الأصلي و10 مل من الميتانول، يمدد المحلول بالماء حتى الحجم، يحرك المحلول لمدة 10 دقائق باستعمال خلاط مغناطيسي، فنحصل على محلول عياري يحتوي على الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد بتركيز يساوي 0.1 ملغ/مل وعلى البسودوإفدرين سلفات بتركيز يساوي 2.4 ملغ/مل للمشاركة الأولى أو يحتوي على الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد بتركيز يساوي 0.1 ملغ/مل وعلى البسودوإفدرين هيدروكلورايد بتركيز يساوي 1.2 ملغ/مل للمشاركة الثانية.

3-1-5-3- محلول المعايرة:

تم نقل 10 مل مقاسة بدقة من المحلول الفموي المدروس إلى دورق حجمي سعة 50 مل، أضيف 10 مل من الميتانول، تم التمديد بالماء حتى الحجم، تم تحريك المحلول لمدة 10 دقائق باستعمال خلاط مغناطيسي.

3-1-6- تطوير الطريقة التحليلية:

3-1-6-1- الطور المتحرك البدئي:

تألف الطور المتحرك الذي تم البدء بالعمل به من:

– محلول الوقاء الفوسفاتي 0.05M الذي تم تحضيره بحل 1.7غ من فوسفات البوتاسيوم وحيدة الأساس في حوالي 480 مل من الماء المعد للكروماتوغرافيا ثم وضع الإلكترود الزجاجي لجهاز قياس الـ pH وإضافة حمض الفوسفور 85% تدريجياً حتى تصبح pH المحلول تساوي pH=3.5.

– أسيتونتريل. قد يسبب الطور المتحرك الذي يحتوي على الميتانول خط أساس غير ثابت، لذلك تم استعمال الأسيتونتريل بدلاً من الميتانول [37].

تم تحضير الطور المتحرك الأول بمزج الطور المائي مع الطور العضوي بالنسبة الحجمية (50:50) وترشيحه باستعمال ورق ترشيح مصنوع من النايلون أبعاده 0.45 مكم ثم تم طرد الغازات منه.

تم تحضير المحلول العياري ومحلول المعايرة وحقنها مباشرة من أجل تحليلها باستخدام الـ HPLC وتم تسجيل مساحات القمم عند طول موجة الكشف المعتمدة 242 نانومتر.

الشكل (12): جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC

3-1-6-2- مراحل تطوير الطريقة التحليلية:

❖ لأن نتائج الطور المتحرك البدئي بينت زمن احتفاظ قليل جداً للبسودوإفدرين، لذلك تم اخذ القرار باستعمال تقنية الزوج الشاردي وخاصة وأن قلويدات الإفيدرا قد تم فصلها بطريقة الكروماتوغرافيا ذات الطور المعكوس باستخدام تقنية الزوج الشاردي [37, 38].

❖ لأن البسودوإفدرين هو مادة قلوية، تم استعمال كواشف الزوج الشاردي الخاصة بالمواد القلوية مثل صوديوم دوديسيل سلفات والملح الصودي لحمض 1–هبتان سلفونيك من أجل زيادة زمن احتفاظ البسودوإفدرين وزيادة تباين البسودوإفدرين عن الليفوسيتيريزين في العينة.

وتم اختيار الملح الصودي لحمض 1–هبتان سلفونيك ككاشف زوج شادري والأسيتونتريل كمحل عضوي ومحلول الوقاء الفوسفاتي 0.05M كطور مائي استناداً إلى المقالة [36].

وقد تمت إضافة ثلاثي إيتيل أمين هيدروكلورايد إلى الطور المتحرك كمادة أمينية معدلة من أجل إنقاص تذيل القمة الناتج عن التداخل القوي للبسودوإفدرين مع مجموعات السيلانول السطحية الحمضية المحتواة في تعبئة السيليكا في الطور الساكن.

تم إجراء عدة تجارب باستعمال عدة تراكيب للطور المتحرك ومن أجل كل طور تم تقييم الفصل واختبارات القمة لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين وهي: التباين بين القمة والقمة الأقرب لها Resolution to the closest peak

وتذيل القمة Peak Tailing وإشابة القمة Peak Impurity وتمت معالجة أي خلل في الفصل أو اختبارات القمة لطور متحرك ما بإجراء تغييرات تحسن الفصل حيث تم إجراء التغييرات في:

- ❖ تركيز كاشف الزوج الشاردي.
- ❖ pH الطور المتحرك.
- ❖ النسبة الحجمية المئوية (%) للمحل العضوي (الأسيتونتريل أو الميتانول).
- ❖ نوع كاشف الزوج الشاردي (صوديوم دوديسيل سلفات أو الملح الصودي لحمض 1-هبتان سلفونيك).
- ❖ نوع المحل العضوي (أسيتونتريل أو ميتانول أو الأسيتونتريل والميتانول معاً).
- ❖ نوع العمود.

والإنتقال من طور إلى آخر أفضل وهكذا حتى الوصول للطور المتحرك الأمثل Optimized Mobile Phase.

يبين الجدول (6) الأطوار المتحركة والأعمدة المستعملة تباعاً في مرحلة التطوير من أجل التوصل إلى الشروط المثلى للطريقة التحليلية، حيث تم الإنتقال من طور متحرك إلى طور تالٍ له بناء على النتائج الموضحة في فقرة (النتائج والمناقشة).

الجدول (6): الأطوار المتحركة والأعمدة المستعملة من أجل الوصول إلى الشروط الكروماتوغرافية المثلى

الطور المتحرك	تركيب الأطوار المتحركة ونسبها الحجمية	pH	كاشف الزوج الشاردي وتركيزه	خافض التذيل وتركيزه	العمود C18 ودرجة حرارته
1	أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي50mM (50:50)	3.5	–	–	(150ملم× 4.6ملم) 40°م
2	أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي50mM (50:50)	3.5	الملح الصودي لحمض 1–هبتان سلفونيك 1.1 غ/ل	–	(150ملم× 4.6ملم) 40°م
3	أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (60:40)	3.5	الملح الصودي لحمض 1–هبتان سلفونيك 1.1 غ/ل	–	(150ملم× 4.6ملم) 40°م
4	أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (40:60)	3.5	صوديوم دوديسيل سلفات 2.5 غ/ل	تري إتيل أمين هيدروكلورايد 1.5 غ/ل	(150ملم× 4.6ملم) 40°م
5	أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (40:60)	3.5	صوديوم دوديسيل سلفات 2.5 غ/ل	تري إتيل أمين هيدروكلورايد 1.5 غ/ل	(250ملم× 4.6ملم) درجة حرارة الغرفة
6	ميتانول/وقاء فوسفاتي 50mM (40:60)	3.5	صوديوم دوديسيل سلفات 2.5 غ/ل	تري إتيل أمين هيدروكلورايد 1.5 غ/ل	(250ملم× 4.6ملم) درجة حرارة الغرفة
7	ميتانول/وقاء فوسفاتي 50mM (40:60)	3.5	صوديوم دوديسيل سلفات 1.5 غ/ل	تري إتيل أمين هيدروكلورايد 2.0 غ/ل	250ملم× 4.6ملم) درجة حرارة الغرفة
8	ميتانول/وقاء فوسفاتي 50mM (40:60)	3.0	صوديوم دوديسيل سلفات 2.0 غ/ل	تري إتيل أمين هيدروكلورايد 2.0 غ/ل	250ملم× 4.6ملم) درجة حرارة الغرفة
9	ميتانول/أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (30:15:45)	3.0	صوديوم دوديسيل سلفات 1.75 غ/ل	تري إتيل أمين هيدروكلورايد 2.25 غ/ل	250ملم× 4.6ملم) درجة حرارة الغرفة
10 الظروف الأمثل	**ميتانول/أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (30:15:45)**	**3.0**	**صوديوم دوديسيل سلفات 1.7 غ/ل**	**تري إتيل أمين هيدروكلورايد 2.5 غ/ل**	**250ملم× 4.6ملم) درجة حرارة الغرفة**

3-1-6-3- طريقة تحضير الطور المتحرك الأمثل:

محلول الوقاء الفوسفاتي 0.05M: تم نقل 1.7 غ موزونة بدقة من فوسفات البوتاسيوم وحيدة الأساس إلى بيشر سعة 250 مل وحلها في 200 مل من الماء المعد للكروماتوغرافيا، أضيف 0.5 مل من حمض الفوسفور 85%، تم حل 1.875 غ موزونة بدقة من ثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد في المحلول الناتج والتحريك حتى تمام الإنحلال، تم نقل المحلول الناتج إلى دورق حجمي سعة 250 مل وتمديده بالماء حتى 250 مل.

الطور المتحرك: تم نقل الـ 250 مل من محلول الوقاء الفوسفاتي 0.05M إلى بيشر سعة 1000 مل، وإضافة 375 مل من الميتانول إلى البيشر، وتم المزج حتى تجانس المحلول، ثم تم حل 1.3125 غ موزونة بدقة من صوديوم دوديسيل سلفات في المزيج السابق مع استمرار التحريك حتى تمام الإنحلال، يضاف 125 مل من الأسيتونتريل مع استمرار المزج حتى التجانس الكامل للمحلول، تم ترشيح الطور المتحرك من خلال مرشحة 0.45 ميكرومتر، ثم تم طرد الغازات منه باستعمال جهاز طرد الغازات باستخدام الأمواج فوق الصوتية.

3-1-7- دراسات التخريب القسري Forced Degradation Studies:

تم إجراء دراسات التخريب القسري على المستحضر الدوائي لكل من المشاركتين وعلى البلاسيبو من أجل إثبات القدرة المحددة للثباتية stability-indicating والنوعية للطريقة التحليلية المطورة.

في البداية تم تحضير المحاليل الثلاثة التالية بموجب طريقة التحضير المشروحة في تحضير الصيغة المبدئية:

- ❖ المستحضر السائل الفموي لليفوسيتريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات.
- ❖ المستحضر السائل الفموي لليفوسيتريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد.
- ❖ محلول السواغات (البلاسيبو).

ثم تم تعريض هذه المحاليل الثلاثة إلى ثلاثة أنواع من التخريب: التخريب بالأكسدة، التخريب بالضوء، التخريب بالحرارة. ولم يتم إجراء التخريب بالحلمهة نظراً لأن المحاليل الفموية السابقة هي صيغ تحتوي على وقاءات [9]، وخاصة أن الليفوسيتريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد لا تتحلمه في الوسط الحمضي الذي يؤمنه الوقاء السيتراتي (pH=2.5-6.0) لكونها أملاح لحموض قوية وأسس ضعيفة.

3-1-7-1- التخريب بالأكسدة:

من كل من المحاليل الثلاثة تم سحب 10 مل مقاسة بدقة وتم نقلها إلى دورق حجمي سعة 50 مل، ثم تمت إضافة محلول الماء الأوكسجيني 3.0%، ثم تم حفظ المحاليل في حجرة مظلمة بعيداً عن الضوء عند درجة حرارة الغرفة لمدة يومين، وبعد انقضاء اليومين تمت إضافة 10 مل من الميتانول إلى كل من المحاليل ومن ثم تم تمديد هذه المحاليل بالماء حتى الحجم وتحريك المحلول لمدة 10 دقائق باستعمال خلاط مغناطيسي، ومن ثم ترشيح المحاليل الناتجة من خلال مراشح مصنوعة من النايلون أبعادها 0.45 ميكرومتر.

3-1-7-2- التخريب الضوئي Photo-degradation:

من كل من المحاليل الثلاثة تم سحب 10 مل مقاسة بدقة وتم نقلها إلى بيشر حجمي سعة 50 مل، ثم تم حفظ المحاليل في حجرة الثبات الضوئي لمدة يومين، وبعد انقضاء اليومين تمت إضافة 20 مل من الماء ثم 10 مل من الميتانول إلى كل من المحاليل ومن ثم تم تمديد هذه المحاليل بالماء حتى الحجم وتحريك المحلول لمدة 10 دقائق باستعمال خلاط مغناطيسي، ومن ثم ترشيح المحاليل الناتجة من خلال مراشح مصنوعة من النايلون أبعادها 0.45 ميكرومتر.

3-1-7-3- التخريب الحراري Thermal degradation:

من كل من المحاليل الثلاثة تم سحب 10 مل مقاسة بدقة وتم نقلها إلى دورق حجمي سعة 50 مل مسدود بورق الألمنيوم (لكي لا يتم انصهار السدادة البلاستيكية نتيجة الحرارة)، ثم تم حفظ المحاليل في الفرن عند درجة الحرارة 70°م لمدة يومين، وبعد انقضاء اليومين تمت إضافة 10 مل من الميتانول إلى كل من المحاليل ومن ثم تم تمديد هذه المحاليل بالماء حتى الحجم وتحريك المحلول لمدة 10 دقائق باستعمال خلاط مغناطيسي، ومن ثم ترشيح المحاليل الناتجة من خلال مراشح مصنوعة من النايلون أبعادها 0.45 ميكرومتر.

3-2- دراسة التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية Method Validation Study:

إن المعايير المطلوب دراستها من أجل التحقق من صلاحية طريقة المعايرة حسب قواعد مؤتمر التوافق الدولي ICH هي: النوعية، الخطية، الضبط، الدقة. حيث تم إجراء دراسة التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية المطورة حسب الـ ICH.

3-2-1- النوعية Specificity:

تم تحضير محلول العينة للشكل الصيدلاني السائل لكل من المشاركتين ومحلول العينة للبلاسيبو ومحلول العينة لعينات التخريب القسري وفق الإجراء التحليلي في الطريقة التحليلية المطورة أي تم تحضير محاليل العينات كما يلي:

محلول العينة: تم نقل 10 مل مقاسة بدقة من الشكل السائل الفموي أو البلاسيبو أو عينات التخريب القسري إلى دورق حجمي سعة 50 مل، أُضيف 10 مل من الميتانول. تم التمديد بالماء حتى الحجم، تم مزج المحلول لمدة 10 دقائق باستعمال خلاط مغناطيسي.

ثم تم تسجيل المخططات الكروماتوغرافية لهذه المحاليل (محاليل العينة للمستحضر السائل والبلاسيبو وعينات التخريب القسري) بحيث تتم عنونة قمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين على هذه المخططات وتم التقييم المباشر لنوعية الطريقة التحليلية المطورة عن طريق تطبيق الكشف بكاشف الصمام الثنائي PDA، وتم إثبات النوعية بتسجيل قيم التباين لقمم كل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين عن القمة الأقرب إليهما وذلك بالنسبة لمحاليل الشكل السائل ومحلول البلاسيبو وتقييم الفصل لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بوجود سواغات الشكل السائل حيث يجب ألا تقل قيم التباين عن 2.0% وتقييم ورصد وجود أي تداخل بين قمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين

وقمم السواغات عند أزمنة احتفاظ الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في المخططات الكروماتوغرافية لمحاليل العينة للشكل السائل بالمقارنة مع المخطط الكروماتوغرافي لمحلول العينة لمحلول البلاسيبو.

تم أيضاً تسجيل اختبارات نقاوة القمة وتسجيل منحني النقاوة وقيم قرينة نقاوة القمة وعتبة النقطة المُفرَدة Single point threshold بهدف إثبات أن القمة الكروماتوغرافية للمادة المحلَّلة لا تعود إلى أكثر من مكون واحد وذلك باستعمال كاشف الصمام الضوئي الثنائي Photodiode Array Detector (PDA).

تم أيضاً إجراء دراسات التخريب القسري على المستحضر الدوائي السائل لكل مشاركة وعلى البلاسيبو من أجل تقديم دليل إضافي على نوعية الطريقة، حيث تم إثبات النوعية بمقارنة نتائج الإختبارات لعينات الشكل السائل وعينات البلاسيبو المخزنة عند ظروف التخريب: أكسدة، ضوء، حرارة.

3-2-2- الخطية Linearity:

تمت دراسة خطية الطريقة التحليلية المطورة على كل من المواد الدوائية: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وبسودوإفدرين سلفات وبسودوإفدرين هيدروكلورايد، حيث تم تحضير محلولاً عيارياً أساسياً من كل من هذه المواد الثلاث في الماء بالتراكيز التالية:

محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد الأساسي: محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد بالماء بتركيز 1ملغ/مل

محلول البسودوإفدرين سلفات الأساسي: هو محلول البسودوإفدرين سلفات في الماء بتركيز 24 ملغ/مل.

محلول البسودوإفدرين هيدروكلورايد الأساسي: هو محلول البسودوإفدرين هيدروكلورايد في الماء بتركيز 12ملغ/مل.

ثم تم تمديد هذه المحاليل الأساسية بسحب (0.5 مل، 1 مل، 2 مل، 3 مل، 4 مل، 5 مل، 6 مل، 7 مل، 8 مل، 9 مل، 10 مل) من كل محلول أساسي ونقلها إلى دورق حجمي سعة 50 مل ثم إضافة 10 مل من الميتانول إلى كل دورق حجمي، والتمديد بالماء حتى الحجم، وتحريك المحلول لمدة 10 دقائق باستعمال خلاط مغناطيسي، فنحصل بذلك على 11 محلولاً من كل مادة يوافق 11 تركيزاً منها ضمن المجال 10 – 200% من تركيز الإختبار (10%، 20%، 40%، 60%، 80%، 100%، 120%، 140%، 160%، 180%، 200%) حيث أن تركيز الإختبار هو 100 مكغ/مل لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد و2400 مكغ/مل للبسودوإفدرين سلفات و1200 مكغ/مل للبسودوإفدرين هيدروكلورايد.

تم تسجيل المخططات الكروماتوغرافية لجميع المحاليل المحضرة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد وتم تسجيل مساحات قمم كل مادة في كل محلول، ثم تم تقييم خطية الطريقة التحليلية من خلال رسم الخط البياني الممثل للعلاقة مساحة القمة–تركيز المادة، وتحديد معادلة الإرتباط باستخدام ميل خط الإرتباط ونقطة تقاطعه مع المحور y لكل مادة وتم تقييم العلاقة الخطية بين مساحة القمة وتركيز كل مادة من هذه المواد الثلاث على طول مجال الإجراء التحليلي من خلال حساب معايير الخطية وهي معامل الإرتباط Correlation Coefficient حيث يجب أن يكون أكبر من 0.99 وحساب نقطة التقاطع مع محور y y-intercept حيث يجب أن تكون قريبة من الصفر وميل خط الإرتباط والمجموع المتبقي من المربعات Residual Sum of Squares، ومن خلال إجراء تحليل التغير للنقاط المقاسة عن خط الإرتباط (تحليل التباين).

3-2-3- المجال Range:

تم تحديد واستنتاج المجال من دراسة الخطية وتم إثبات ضبط هذا المجال بأن تحقق الطريقة التحليلية ضمن هذا المجال بما فيه حدوده درجة مقبولة من الخطية والضبط والدقة عندما تطبق على عينات تحتوي على كميات من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين ضمن أو عند حدود المجال الموصوف للطريقة التحليلية وبحيث يكون ضمن الحد الأدنى للمجال المحدد من الـ ICH في حالة معايرة مستحضر دوائي نهائي وهو 80 – 120 % من تركيز الإختبار، وبحيث يكون مناسباً من أجل معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين معاً في دراسات الثبات وفي تطبيقات أخرى.

3-2-4- الضبط Accuracy:

تمت دراسة ضبط الطريقة التحليلية المطورة على طول المجال الموصوف للإجراء التحليلي (10 – 200% من تركيز الإختبار)، حيث تم في البداية تحضير محاليل أساسية لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد في الماء بالتراكيز التالية:

محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد الأساسي: محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد بالماء بتركيز 5ملغ/مل

محلول البسودوإفدرين سلفات الأساسي: هو محلول البسودوإفدرين سلفات في الماء بتركيز 120 ملغ/مل.

محلول البسودوإفدرين هيدروكلورايد الأساسي: هو محلول البسودوإفدرين هيدروكلورايد في الماء بتركيز 60ملغ/مل.

ثم تم تشكيل مزائج صنعية بين المحاليل الأساسية لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين ومحلول البلاسيبو بسحب حجوم متساوية من كل من المحلول الأساسي لليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والمحلول الأساسي للبسودوإفدرين (سلفات أو هيدروكلورايد حسب نوع المشاركة) وهذه الحجوم هي (0.5 مل، 5 مل، 10 مل) وهي توافق التراكيز (10%، 100%، 200%) وتمت إضافة كل ثنائية من هذه الحجوم من محاليل المادتين إلى 10 مل من محلول البلاسيبو ضمن دورق حجمي سعة 50 مل ثم التمديد بالماء حتى الحجم ثم تم تحضير محاليل العينة وفق الإجراء التحليلي في الطريقة التحليلية المطورة وذلك بسحب 10 مل من كل محلول ونقلها إلى دورق حجمي سعة 50 مل وإضافة 10 مل من الميتانول إلى كل دورق حجمي، والتمديد بالماء حتى الحجم، وتحريك المحلول لمدة 10 دقائق باستعمال خلاط مغناطيسي، فنحصل بذلك على 9 قياسات إجمالية لكل مشاركة دوائية أي 3 تراكيز/3 تكرارات لكل مشاركة دوائية.

ثم تم حساب: المردودات النسبية (المردود النسبي لكل قيمة إفرادية، متوسط المردود النسبي لكل تركيز، متوسط المردود النسبي لكل القيم) وحساب الفرق بين متوسط المردود النسبي لكل القيم والقيمة الحقيقية المطلوبة له وهي 100% وحساب حدود الثقة 95% (حدود الثقة لمتوسط المردود النسبي، حدود الثقة للمردودات النسبية عند كل تركيز) وحساب الإنحراف النسبي المعياري المئوي (الإنحراف النسبي المئوي للمردودات النسبية لكل تركيز، الإنحراف النسبي المئوي لكل القياسات)، ومقارنة النتائج مع الحدود المسموحة من أجل تقييم ضبط الطريقة التحليلية المطورة.

3-2-5- الدقة Precision:

تم التحري عن دقة الطريقة التحليلية المطورة على طول المجال الموصوف للإجراء التحليلي (10 – 200% من تركيز الإختبار)، حيث تمت دراسة التكرارية باستعمال 6 قياسات لكل من المشاركتين عند 100% من تركيز الإختبار لكل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين حيث تم أخذ الشكل السائل وتحضير محلول العينة للشكل الفموي السائل لكل مشاركة 6 مرات بنفس الإجراء التحليلي في الطريقة التحليلية المطورة، وتمت دراسة تغير النتائج بتغير الأيام من أجل إثبات الدقة المتوسطة للطريقة التحليلية المطورة وذلك بإعادة نفس الإجراء التحليلي في اليوم الثاني. ومن أجل تحديد دقة الطريقة التحليلية تم حساب الإنحراف المعياري والإنحراف المعياري النسبي (معامل التباين) وحدود الثقة لكل من المشاركتين ولنوعي الدقة: التكرارية والدقة المتوسطة.

3-3- دراسات ما قبل الصياغة Preformulation Studies:

3-3-1- دراسة الإنحلالية للمواد الدوائية Solubility Studies of drugs:

3-3-1-1- ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد:

تم تحديد انحلالية الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد في الوقاء السيتراتي 0.05M بقيم مختلفة لـ pH كما يلي:
تم سحب 10 مل من محلول الوقاء السيتراتي 0.05M (pH=3.0) باستعمال الماصة وتفريغها ضمن فيالة، ثم أضيفت الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وتم حلها رويداً رويداً في كمية الوقاء السيتراتي حتى تمت ملاحظة الإشباع، ثم تم تحريك المحلول لمدة ساعة تقريباً عند درجة حرارة الغرفة، وكلما انحلت المادة، تمت إضافة كمية جديدة منها وهكذا حتى تمام الإشباع. وبعد التحريك أو الخض تم ترشيح المعلق الناتج، ثم تمت مُعايرة الرشاحة بتطبيق طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC المطورة، وتم حساب الإنحلالية.
تمت إعادة نفس الإجراء ولكن باستعمال قيم مختلفة لـ pH الوقاء السيتراتي وهي: 3.5 – 4.0 – 4.5 – 5.0 – 5.5 – 6.0، وبذلك نحصل على 7 عينات لدراسة انحلالية الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد.
تم تحديد انحلالية الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد في الوقاء السيتراتي مقدرة بالـ (ملغ/مل) عند قيم مختلفة لـ pH وفق الإجراء السابق، وتم إعداد مخطط pH–انحلالية وهو مخطط بياني لانحلالية الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد كتابع لـ pH الوقاء السيتراتي، وتم تحديد القيمة المثلى لـ pH الإنحلالية لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد.

3-3-1-2- بسودوإفدرين سلفات وبسودوإفدرين هيدروكلورايد:

لم تتم دراسة انحلالية البسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد لأنه بالنسبة للمادتين تكون الإنحلالية المنصوص عليها في المراجع (تحليل كلارك للأدوية والسموم بالنسبة للبسودوإفدرين سلفات و USP 36 بالنسبة للبسودوإفدرين هيدروكلورايد) أكبر من التركيز المعتمد للمادة في المحلول الفموي مما يؤكد أنها ستكون منحلة بالتركيز المعتمد، بالإضافة إلى أن انحلالية المادتين في الوسط الحمضي (pH=3.0-6.0) أكبر من انحلاليتهما في الماء لأنهما أملاح لحموض قوية (حمض الكبريت، حمض كلور الماء) وأساس ضعيف (بسودوإفدرين)، كما أن معظم الصيغ السائلة للبسودوإفدرين سلفات وبسودوإفدرين هيدروكلورايد تحتوي على المادتين بشكل منحل في الوقاء السيتراتي.

3-3-2- دراسات الثباتية في الحالة السائلة:

تم تحضير جميع المحاليل بتمديد محاليل أساسية لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد في الماء تراكيزها 1.25 ملغ/مل، 30 ملغ/مل، 15 ملغ/مل على الترتيب بمحلول الوقاء الموافق. إن المحاليل النهائية (بعد التمديد) تحتوي على تراكيز من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد مماثلة لتراكيزها المعتمدة في الصيغة المقترحة أي: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل، بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل، بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل.

3-3-2-1- دراسة تأثير الـ pH:

تم تحضير المحاليل بتمديد محاليل أساسية لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد في الماء تراكيزها 1.25 ملغ/مل، 30 ملغ/مل، 15 ملغ/مل على الترتيب بمحلول الوقاء السيتراتي بحيث نحصل على محاليل نهائية لهذه المواد في الوقاء السيتراتي بنفس تراكيزها المعتمدة في صيغة الشكل السائل أي: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل، بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل، بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل، وبحيث يحقق هذا الوقاء 7 قيم مختلفة لـ pH المحلول تقع في المجال pH 3.0 – 6.0 = (وهو يمثل المجال المتوقع لثبات هذا الشكل السائل وقد تم تحديده من خلال الدراسة النظرية لقيم المجال المسموح لـ pH السوائل الفموية المتوفرة تجارياً لكل مادة فعالة على حدى) وقد تم اختيار الوقاء السيتراتي لأنه يحقق هذا المجال وإن قيم الـ pH السبعة التي تمت عندها الدراسة هي (3.0 ، 3.5 ، 4.0 ، 4.5 ، 5.0 ، 5.5، 6.0)، وإن جميع المحاليل المحضرة مبينة في الجدول (7).

ولتحقيق القيم السبعة لـ pH تم مزج مكونات الوقاء السيتراتي بنسب مختلفة أي تم مزج محلول حمض الليمون مونوهيدرات مع محلول ليمونات الصوديوم الثلاثية ديهيدرات بالنسبة الحجمية التي تعطي قيمة الـ pH المطلوبة حسب جداول الوقاءات الصادرة من شركة Sigma-Aldrich.

الشكل (13): جهاز قياس الـ pH

الجدول (7): المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير الـ pH على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة

العينة	pH=3.0	pH=3.5	pH=4.0	pH=4.5	pH=5.0	pH=5.5	pH=6.0	ضوء	ظلام	37°م	25°م	نوع الوقاء وتركيزه
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل												
1	+								+		+	سيتراتي 0.05M
2		+							+		+	سيتراتي 0.05M
3			+						+		+	سيتراتي 0.05M
4				+					+		+	سيتراتي 0.05M
5					+				+		+	سيتراتي 0.05M
6						+			+		+	سيتراتي 0.05M
7							+		+		+	سيتراتي 0.05M
بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل												
1	+								+		+	سيتراتي 0.05M
2		+							+		+	سيتراتي 0.05M
3			+						+		+	سيتراتي 0.05M
4				+					+		+	سيتراتي 0.05M
5					+				+		+	سيتراتي 0.05M
6						+			+		+	سيتراتي 0.05M
7							+		+		+	سيتراتي 0.05M
بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل												
1	+								+		+	سيتراتي 0.05M
2		+							+		+	سيتراتي 0.05M
3			+						+		+	سيتراتي 0.05M
4				+					+		+	سيتراتي 0.05M
5					+				+		+	سيتراتي 0.05M
6						+			+		+	سيتراتي 0.05M
7							+		+		+	سيتراتي 0.05M

وبعد تحضير جميع المحاليل تم حفظها ضمن عبوات زجاجية عاتمة بنية اللون عند درجة الحرارة 25°م بعيداً عن الضوء (لإلغاء تأثير التخرب الضوئي)، وبعد انقضاء 60 يوماً تم تسجيل النتائج وحساب النسبة المتخربة لكل مادة في كل محلول مقابل الـ pH وتم رسم مخططات (pH–ثباتية) المتقاطعة ومناقشتها للتوصل إلى قيمة pH الثبات الأعظمي لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة.

3-3-2-2- دراسة تأثير نوع وتركيز الوقاء:

تمت في هذه المرحلة دراسة تأثير اختلاف أنواع الوقاء واختلاف تركيز الوقاء الواحد على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة. تم اختيار الوقاء السيتراتي والوقاء الخلاتي لإجراء هذه الدراسة لأن الوقاء المستعمل في صيغة المحلول الفموي لليفوسيتيريزين هو الوقاء الأسيتاتي (حمض الخل وخلات الصوديوم تريهيدرات) والوقاء المستعمل في صيغة شراب البسودوإفدرين هو الوقاء السيتراتي (حمض الليمون وحيد الماء وسيترات الصوديوم الثلاثية ديهيدرات). حيث تم تمديد محاليل أساسية لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد في الماء بنوعين من محلول الوقاء: الوقاء السيتراتي والوقاء الأسيتاتي بحيث نحصل على محاليل نهائية لهذه المواد في الوقاء السيتراتي بنفس تراكيزها المعتمدة في صيغة

الشكل السائل، وبحيث يحقق كل وقاء 3 تراكيز مختلفة للوقاء أي وقاءين بثلاث تراكيز لكل وقاء أي 6 محاليل لكل مادة وبحيث تكون pH محاليل الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات تساوي pH=5.0 (pH الثبات الأعظمي لهذه المواد) وpH محاليل البسودوإفدرين هيدروكلورايد تساوي pH=5.5 (pH الثبات الأعظمي لهذه المادة)، وإن جميع المحاليل المحضرة لهذه الدراسة مبينة في الجدول (8).

ولتحقيق قيم الـ pH المطلوبة تم مزج المكون الحمضي للوقاء مع المكون الملحي له بنسبة معينة توافق قيمة الـ pH المطلوبة حسب جداول Sigma-Aldrich.

وبعد تحضير جميع المحاليل تم حفظها ضمن عبوات زجاجية عاتمة بنية اللون عند درجة الحرارة 25ºم بعيداً عن الضوء (لإلغاء تأثير التخرب الضوئي)، وبعد انقضاء 90 يوماً تم تسجيل النتائج وحساب النسبة المتخربة لكل مادة في كل وقاء مقابل تركيز الوقاء وتم رسم مخططات كل مادة ومناقشتها من أجل اختيار الوقاء الأفضل لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة واعتماد التركيز الأفضل لهذا الوقاء.

الجدول (8): المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير نوع وتركيز الوقاء على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة

العينة	pH=5.0	pH=5.5	ضوء	ظلام	37ºم	25ºم	نوع الوقاء وتركيزه
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل							
1	+			+		+	سيتراتي 0.05M
2	+			+		+	سيتراتي 0.1M
3	+			+		+	سيتراتي 0.2M
4	+			+		+	أسيتاتي 0.05M
5	+			+		+	أسيتاتي 0.1M
6	+			+		+	أسيتاتي 0.2M
بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل							
1	+			+		+	سيتراتي 0.05M
2	+			+		+	سيتراتي 0.1M
3	+			+		+	سيتراتي 0.2M
4	+			+		+	أسيتاتي 0.05M
5	+			+		+	أسيتاتي 0.1M
6	+			+		+	أسيتاتي 0.2M
بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل							
1	+			+		+	سيتراتي 0.05M
2	+			+		+	سيتراتي 0.1M
3	+			+		+	سيتراتي 0.2M
4	+			+		+	أسيتاتي 0.05M
5	+			+		+	أسيتاتي 0.1M
6	+			+		+	أسيتاتي 0.2M

3-3-2-3- دراسة تأثير المشاركة الدوائية (تداخلات مادة دوائية–مادة دوائية):

تمت دراسة تأثير التداخلات بين الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين على ثباتية كل منهما في الشكل الصيدلاني السائل، حيث تم حل كلاً من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد في محلول الوقاء السيتراتي 0.05 M بنفس تراكيزها المعتمدة في الشكل الصيدلاني السائل. كما تم تحضير محلول يتضمن مشاركة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات في الوقاء السيتراتي 0.05 M ومحلول يتضمن مشاركة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد في الوقاء السيتراتي 0.05M من أجل التحري عن تأثير مشاركة المادتين على الثباتية الكيميائية لكل منهما عن طريق مقارنة نتائج هذه المشاركات مع محاليل كل مادة وحدها. وقد تم تحضير كل المحاليل بحيث يحقق هذا الوقاء قيمة الـ pH المعتمدة من دراسة تأثير الـ pH (مخطط (pH–ثباتية)) وهي pH=5.0 ، ويبين الجدول (9) المحاليل المحضرة في دراسة تأثير المشاركة الدوائية.

الجدول (9): المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير المشاركة الدوائية على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة

العينة	pH=5.0	ضوء	ظلام	37°م	25°م	نوع الوقاء وتركيزه
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل						
1	+		+		+	سيتراتي 0.05M
بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل						
2	+		+		+	سيتراتي 0.05M
بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل						
3	+		+		+	سيتراتي 0.05M
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل						
4	+		+		+	سيتراتي 0.05M
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل						
5	+		+		+	سيتراتي 0.05M

وبعد تحضير المحاليل تم حفظها ضمن عبوات زجاجية عاتمة بنية اللون عند درجة الحرارة 25°م بعيداً عن الضوء (لإلغاء تأثير التخرب الضوئي) لمدة 30 يوماً وبعد انقضاء المدة تمت معايرة المواد الفعالة في كل محلول ومقارنة النتائج بين المحاليل التي تحتوي على مادة فعالة واحدة والمحاليل التي تحتوي على مشاركة دوائية من جهة وبين المحلول الذي يحتوي على مشاركة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والمحلول الذي يحتوي على مشاركة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد من جهة أخرى.

3-3-2-4- دراسة التوافق مع السواغات (تداخلات مادة دوائية–سواغ):

تم في هذه الدراسة تحضير نوعين من المحاليل:

– محاليل تحتوي على المادة الفعالة وحدها: تم تحضير هذه المحاليل بتمديد محاليل أساسية لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد في الماء تراكيزها 1.25 ملغ/مل، 30 ملغ/مل، 15 ملغ/مل على الترتيب بمحلول الوقاء السيتراتي 0.05 M بحيث نحصل على محاليل نهائية لهذه المواد بنفس تراكيزها المعتمدة في صيغة الشكل السائل أي: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5ملغ/مل، بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل، بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل، وبحيث يحقق الوقاء قيم pH تساوي pH=5.0 .

– محاليل تحتوي على مزائج ثنائية (مادة فعالة–سواغ): وهي محاليل لثنائيات من كل من المواد الدوائية (ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وبسودوإفدرين سلفات وبسودوإفدرين هيدروكلورايد) مع كل من السواغات (غليسيرين، ميتيل بارابين وبروبيل بارابين، محلول السوربيتول 70%، سكرين صوديوم) في محلول الوقاء السيتراتي 0.05M بنفس التراكيز المعتمدة للمواد الفعالة والسواغات في الصيغة المبدئية المقترحة.

ملاحظة: لم تتم دراسة التوافق بين كل من المواد الفعالة والمطعم نظراً لصغر كمية المطعم.

وبعد تحضير المحاليل تم حفظها ضمن عبوات زجاجية عاتمة بنية اللون عند درجة الحرارة 37°م لمدة شهر واحد وبعد انتهاء المدة تم تسجيل متوسط مساحة القمة وزمن الإحتفاظ لكل من المواد الدوائية في كل محلول وحساب النسبة المئوية المتبقية ونسبة التخرب المئوية لكل منها ومراقبة وجود أي قمم إضافية ناتجة عن نواتج تخرب للمواد الدوائية والسواغات، وتم إعداد جدول يتضمن هذه النتائج. إن المحاليل المحضرة مبينة في الجدول (10).

الجدول (10): المحاليل المحضرة من أجل دراسة توافق

الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين مع السواغات، في الحالة السائلة

العينة	pH=5.0	pH=5.5	ضوء	ظلام	37ºم	25ºم	نوع الوقاء وتركيزه
دراسة التوافق ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد-سواغ							
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل							
1	+		+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + غليسيرين 235.2 ملغ/مل							
2	+		+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + ميتيل بارابين 1 ملغ/مل وبروبيل بارابين 0.3 ملغ/مل							
3	+		+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + محلول السوربيتول 70% 500 ملغ/مل							
4	+		+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + سكرين صوديوم 0.5 ملغ/مل							
5	+		+		+		سيتراتي 0.05M
العينة	**pH=5.0**	**pH=5.5**	**ضوء**	**ظلام**	**37ºم**	**25ºم**	
دراسة التوافق بسودوإفدرين سلفات-سواغ							
بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل							
1	+		+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل + غليسيرين 235.2 ملغ/مل							
2	+		+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل + ميتيل بارابين 1 ملغ/مل وبروبيل بارابين 0.3 ملغ/مل							
3	+		+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل + محلول السوربيتول 70% 500 ملغ/مل							
4	+		+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل + سكرين صوديوم 0.5 ملغ/مل							
5	+		+		+		سيتراتي 0.05M
دراسة التوافق بسودوإفدرين هيدروكلورايد-سواغ							
بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل							
1		+	+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل + غليسيرين 235.2 ملغ/مل							
2		+	+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل + ميتيل بارابين 1 ملغ/مل وبروبيل بارابين 0.3 ملغ/مل							
3		+	+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل + محلول السوربيتول 70% 500 ملغ/مل							
4		+	+		+		سيتراتي 0.05M
المزيج: بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل + سكرين صوديوم 0.5 ملغ/مل							
5		+	+		+		سيتراتي 0.05M

3-3-2-5- دراسة تأثير الضوء:

تم تحضير محلولين لكل مشاركة دوائية بحيث تحتوي هذه المحاليل على الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) بنفس تركيزهما المعتمد في الشكل الصيدلاني السائل، وبحيث يحقق هذا الوقاء قيمة pH=5.0، أحد هذه المحاليل تم تعريضه للضوء والمحلول الآخر محمي من الضوء أي نحصل في النهاية على أربعة محاليل. تم استعمال لمبة الفلورة الموجودة في حجرة الثبات الضوئي للحصول على حالة التعرض للضوء، وتم تغليف المحاليل المحمية من الضوء بورق رقيق من الألمنيوم وورق بني اللون ثم وضعها في حجرة مظلمة للحصول على بيئة مظلمة، وتم حفظ المحاليل لمدة 30 يوماً، والمحاليل الأربعة المحضرة مُوضحة في الجدول (11):

الجدول (11): المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير الضوء على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة

العينة	pH=5.0	ضوء	ظلام	37ºم	25ºم	نوع الوقاء وتركيزه
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل						
1	+	+			+	سيتراتي 0.05M
2	+		+		+	سيتراتي 0.05M
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل						
3	+	+			+	سيتراتي 0.05M
4	+		+		+	سيتراتي 0.05M

3-3-2-6- دراسة تأثير الحرارة:

تم تحضير محلولين لكل مشاركة دوائية بحيث تحتوي هذه المحاليل على الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) بنفس تركيزهما المعتمد في الشكل الصيدلاني السائل، وبحيث يحقق هذا الوقاء قيمة pH=5.0، أحد هذه المحاليل تم حفظه عند درجة الحرارة 25ºم والمحلول الآخر عند درجة الحرارة 37ºم بحيث يكون كلاهما بعيداً عن الضوء لإلغاء تأثير التخرب الضوئي أي نحصل في النهاية على أربعة محاليل، تم استعمال الحمام المائي للحصول على درجة الحرارة المطلوبة، وتم حفظ المحاليل الأربعة لمدة 30 يوماً، والمحاليل الأربعة المحضرة مُوضحة في الجدول (12):

الجدول (12): المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير الحرارة على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة

العينة	pH=5.0	ضوء	ظلام	37ºم	25ºم	نوع الوقاء وتركيزه
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل						
1	+		+		+	سيتراتي 0.05M
2	+		+	+		سيتراتي 0.05M
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل						
3	+		+		+	سيتراتي 0.05M
4	+		+	+		سيتراتي 0.05M

3-3-2-7- دراسة تأثير إضافة إديتات ثنائية الصوديوم:

تم تحضير محلولين لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد في الوقاء السيتراتي أحدهما يحتوي على إديتات ثنائية الصوديوم بتركيز 1 ملغ/مل وهي مادة مخلبة والآخر لا يحتوي عليها، بحيث تحتوي هذه المحاليل على الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس تركيزهما المعتمد في الشكل الفموي السائل، بحيث يحقق هذا الوقاء قيمة pH=5.0 والمحاليل الأربعة المحضرة مبينة في الجدول (13):

الجدول (13): المحاليل المحضرة من أجل دراسة تأثير إضافة إديتات ثنائية الصوديوم على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة

العينة	pH=5.0	ضوء	ظلام	37ºم	25ºم	نوع الوقاء وتركيزه
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + بسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل + إديتات ثنائية الصوديوم 1 ملغ/مل						
1	+		+		+	سيتراتي 0.05M
2	+		+		+	سيتراتي 0.05M
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل + بسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل + إديتات ثنائية الصوديوم 1 ملغ/مل						
3	+	+			+	سيتراتي 0.05M
4	+		+		+	سيتراتي 0.05M

وبعد تحضير المحاليل تم حفظها ضمن عبوات زجاجية عاتمة بنية اللون بعيداً عن الضوء عند درجة الحرارة 25ºم لمدة شهر واحد وبعد انتهاء المدة تم حساب النسبة المئوية المتبقية والنسبة المئوية للتخرب لكل مادة فعالة، وتم إعداد جدول يتضمن هذه النتائج وتمت مقارنة نتائج العينات التي تحتوي على إديتات ثنائية الصوديوم بتركيز 1 ملغ/مل مع العينات التي لا تحتوي على هذه المادة.

3-4- دراسة الصياغة Formulation Study

3-4-1- تحديد تركيز المواد الدوائية (الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين) في الشكل السائل:

ينص المرجع الدوائي العالمي Martindale الطبعة السادسة والثلاثون على أن الجرعة الفموية اليومية المعتمدة من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد للأطفال الذين تتراوح اعمارهم بين 6 سنوات و11 سنة هي 2.5 ملغ مرة واحدة في اليوم، والجرعة الفموية اليومية المعتمدة من البسودوإفدرين هيدروكلورايد عند الأطفال الذين تتراوح أعمارهم بين 6 سنوات و 12 سنة هي 30 ملغ 3 أو 4 مرات يومياً [3].

واستناداً إلى ما نص عليه هذا المرجع تم اعتماد التراكيز النهائية لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الشكل الفموي السائل وهي مبينة في فقرة (النتائج والمناقشة).

3-4-2- إضافة نسبة إضافية من المواد الدوائية (الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين):

تمت إضافة نسبة إضافية Overage من كل من المواد الفعالة (الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين) وهي 3.0% من أجل تعويض التخرب الطارئ على هاتين المادتين الفعالتين.

3-4-3- نقاوة المواد الدوائية (الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين):

تم أخذ نقاوة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بعين الإعتبار من أجل حساب تركيزهما في الشكل السائل بإجراء التصحيح المناسب للتركيز النظري المعتمد.

3-4-4- انحلالية المواد الدوائية:

بالرجوع إلى المراجع العلمية تمت دراسة انحلالية كلاً من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سواء سلفات أو هيدروكلورايد) في الماء.

إن الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد مواد منحلة في الماء وفق ما تنص عليه المراجع العلمية (نشرة المعلومات الدوائية للمستحضر العالمي (Xyzal) ودستور الأدوية الأميركي USP 36 والمرجع الدوائي (تحليل كلارك للأدوية والسموم)) [2, 8, 39]، وكان ذلك الإنحلال واضحاً لدى تحضير الشكل الصيدلاني والمحاليل العيارية اللازمة للتحليل، ولذلك لا توجد حاجة لإضافة مواد مساعدة على الإنحلال.

3-4-5- اختيار السواغ السائل:

تم اختيار السواغات بحيث تكون متوافقة مع المواد الفعالة وغير الفعالة الموجودة في تركيب المحلول الفموي وغير متنافرة معها وقد تم التأكد من التوافق بالرجوع إلى المراجع التي تتحدث عن ذلك مثل المرجع الصيدلاني: مرجع السواغات الصيدلانية، النسخة السادسة Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th Ed [31]، وبحيث تكون سواغات مشتركة بين السواغات الداخلة في تركيب المحلول الفموي لليفوسيتيريزين وحده والسواغات الداخلة في تركيب المحلول الفموي للبسودوإفدرين وحده وقد تم تحديد السواغات المشتركة بالرجوع إلى تركيب المحلول الفموي لكل مادة فعالة لوحدها.

3-4-6- الصيغة المطورة النهائية للشكل السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين:

بناء على نتائج دراسة ما قبل الصياغة (دراسات انحلالية وثباتية المواد الدوائية في الحالة السائلة) ونتائج دراسة الصياغة (مثل تراكيز ونقاوة وانحلالية المواد الدوائية والنسبة المئوية المضافة منها والسواغات المستعملة)، تم وضع الصيغة المطورة النهائية للشكل الصيدلاني السائل.

يلخص الجدول (30) الصيغة المحضرة بناء على دراسات ما قبل الصياغة والصياغة.

3-4-7- تحضير الصيغة المطورة النهائية للشكل السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين:

تم أخذ 30% من كمية الماء المنقى وتم تسخينها على حمام مائي حتى درجة حرارة تتراوح بين 90 °م و95 °م وتمت إضافة المتيل بارابن والبروبيل بارابن عند هذه الدرجة ويتم التحريك حتى تمام الإنحلال ثم يتم التبريد حتى الدرجة 40 °م. تمت إضافة ليمونات الصوديوم ديهيدرات وحمض الليمون مونوهيدرات وسكرين صوديوم وإديتات ثنائية الصوديوم إلى محلول المواد الحافظة ويتم المزج حتى الإنحلال. تمت إضافة محلول السوربيتول 70%

والغليسيرين إلى المرحلة السابقة ويتم المزج حتى التجانس. تم حل الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات أو البسودوإفدرين هيدروكلورايد في 30% من كمية الماء المنقى في وعاء منفصل ثم تمت إضافة إلى المحلول السابق. تمت إضافة المطعم إلى المحلول مع المزج. أكمِل الحجم بالماء المنقى حتى الحجم المطلوب ويتم المزج حتى التجانس. تمت مراقبة وتسجيل قيمة الـ pH وتعدل عند الحاجة بمحلول حمض الليمون 10% أو محلول ليمونات الصوديوم 10%. تمت تعبئة المحلول الفموي في عبوات زجاجية شفافة عاتمة بنية اللون سعة 100 مل.

الشكل (14): تحضير الشكل الفموي السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين

3-5- المراقبة الدوائية للشكل الفموي السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين:

تم إجراء اختبارات المراقبة التالية على المحلول الفموي السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين لكل من المشاركتين:

3-5-1- الفحوص الحسية:

- اللون: تم فحص لون المستحضر بالعين المجردة وتسجيل اللون الناتج.
- الطعم: تم فحص طعم المستحضر بتذوقه وتسجيل الطعم الناتج.
- الرائحة: تم فحص طعم المستحضر بشم رائحته وتسجيل الرائحة الناتجة.
- الرواق: تم اختبار الرواق مخبرياً بفحص المستحضر على خلفية سوداء.

3-5-2- حجم التعبئة:

تم أخذ 10 عبوات من المستحضر وتم خض كل عبوة منها ثم تم تفريغها بلطف في مقياس مدرج سعة 250 مل، وتم الإنتظار 30 دقيقة لينتهي تنقيط العبوة، وتم تسجيل الحجم المعبأ الذي تشير إليه تدريجات المقياس لكل من العشر عبوات.

3-5-3- pH:

تم في البداية معايرة Calibration جهاز قياس الـ pH باستعمال الوقاءين pH=4.0 و pH=7.0، ثم تم قياس pH الشكل الصيدلاني السائل باستعمال جهاز قياس الـ pH المؤلف من إلكترود زجاجي وإلكترود مرجعي مناسب وهو جهاز إلكتروني معد للإستعمال في المعايرات Titromatic، وتم تسجيل قيمة الـ pH الناتجة وتقارن مع الحدود المقبولة لها.

3-5-4- الكثافة النوعية:

في البداية تم وضع المكيف في مخبر الأبحاث على درجة الحرارة 25ºم لمدة ساعة حتى يتوازن جو المخبر عند هذه الدرجة من الحرارة، ثم تم هذا الإختبار بتصفير الميزان على مقياس مدرج سعة 100 مل، وبعد تصفيره تم بحذر صب 80 مل من المستحضر السائل ضمن المقياس المدرج، ثم تم تسجيل وزن المقياس المعبأ بالسائل على الميزان، ثم تم تكرار العملية مع استبدال السائل الفموي بالماء وتسجيل وزن المقياس المعبأ بالماء، ثم تم حساب الكثافة النوعية للشكل السائل بتقسيم الوزن الأول (وزن السائل المدروس) على الوزن الثاني (وزن الماء).

3-5-5- اللزوجة:

تم قياس لزوجة الشكل السائل باستعمال جهاز قياس اللزوجة وتسجيل القيمة بالسنتيبواز.

3-5-6- الذاتية:

تم تحديد ذاتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين اعتماداً على مقارنة أزمان احتفاظ قمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في المخطط الكروماتوغرافي التابع لمحلول العينة مع مثيلتها في المحلول العياري، لدى إجراء المعايرة بطريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء كما هو مبين لاحقاً في المعايرة.

3-5-7- المعايرة:

تم إجراء معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس الوقت في الشكل السائل لكل من المشاركتين بتطبيق الطريقة التحليلية المطورة المحددة للثباتية وهي طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ذات الطور المعكوس باستخدام تقنية الزوج الشاردي (IP-RP-HPLC) والتي شرحت سابقاً بالتفصيل والمطبقة باستخدام الشروط الكروماتوغرافية التالية:

- ❖ الجهاز المستعمل: جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC (Shimadzu LC-20AT، اليابان).
- ❖ الطور المتحرك: هو مزيج مرشح ومنزوع الغازات من الميتانول والأسيتونتريل ومحلول الوقاء الفوسفاتي (0.05 M، pH=3.0) بنسبة (30:15:45 حجم/حجم/حجم على الترتيب) يحتوي على 2.5 غ من تري إتيل أمين هيدروكلورايد و 1.75 غ من صوديوم دوديسيل سلفات في الـ 1000 مل من المحلول. تم تحضير الطور المتحرك كما يلي:

تُنقل 1.7 غ موزونة بدقة من فوسفات البوتاسيوم وحيدة الأساس إلى بيشر سعة 250 مل وتُحَل في 200 مل من الماء المعد للكروماتوغرافيا، يضاف 0.5 مل من حمض الفوسفور 85%، تحل 1.875 غ موزونة بدقة من تري إتيل أمين هيدروكلورايد في المحلول الناتج ويتم التحريك حتى تمام الإنحلال، ينقل المحلول الناتج إلى دورق حجمي سعة 250 مل ويمدد بالماء المعد للكروماتوغرافيا حتى 250 مل، فنحصل على محلول الوقاء الفوسفاتي. يؤخذ محلول الوقاء الفوسفاتي وينقل إلى بيشر سعة 1000 مل، ويضاف له 375 مل من الميتانول المعد للكروماتوغرافيا ويتم التحريك حتى تجانس المحلول، تُحل 1.3125 غ موزونة بدقة من صوديوم دوديسيل سلفات في المزيج السابق مع استمرار التحريك حتى تمام الإنحلال، يضاف 125 مل من الأسيتونتريل المعد للكروماتوغرافيا إلى المزيج السابق مع استمرار التحريك حتى التجانس الكامل للمحلول، ينقل المحلول إلى جهاز الترشيح حيث يرشح من خلال مرشحة أبعادها 0.45 ميكرومتر، ثم تطرد منه الغازات باستعمال جهاز طرد الغازات باستخدام الأمواج فوق الصوتية.

- ❖ العمود: Agilent C18, 250 x 4.6 mm, 5 µm
- ❖ طول موجة الكشف: 242 نانومتر.
- ❖ معدل التدفق: 1 مل في الدقيقة.
- ❖ درجة حرارة العمود: وهي درجة حرارة الغرفة.
- ❖ حجم الحقنة: 20 ميكروليتر.
- ❖ زمن التحليل: 20 دقيقة.

ثم تم حساب النسبة المئوية للمادة الفعالة (ليفوسيتيريزين أو بسودوإفدرين) باستعمال العلاقة:

نسبة المادة الفعالة(%) = (مساحة قمة المادة في محلول المعايرة/ مساحة قمة المادة في المحلول العياري)x100

3-5-8- تجانس توزع وحدات الجرعة:

تم إجراء الإختبار بإفراغ محتوى 10 عبوات من المستحضر بشكل إفرادي ومزج محتويات كل عبوة جيداً ثم معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في محتويات كل عبوة باستعمال طريقة المعايرة المطورة المشروحة أعلاه.

3-5-9- التلوث الميكروبيولوجي:

تم إجراء التعداد الميكروبيولوجي في المستحضر السائل باستعمال طريقة طبق الصب Pour-plate method من أجل اختبار التلوث الميكروبيولوجي.

–التلوث الجرثومي: تم نقل 10 مل من المستحضر السائل الفموي لكل مشاركة إلى دورق حجمي سعة 100 مل تحت حجرة Laminar Air Flow باستعمال أدوات وظروف عقيمة وتمديدها بـ 90 مل من الوقاء الفوسفاتي pH=7.2 حتى الحجم بحيث يتم تحقيق نسبة التمديد 10:1 وهي نسبة دستورية تحقق إزالة فعالية المواد الحافظة ثم مزجت جيداً، ثم تم تعديل الـ pH عند الضرورة وضبطها لتكون في المجال pH=6-8، ثم تم إضافة 1 مل من محلول العينة الممدد وصب 20 مل من الآغار المغذي soybean-casein digest في طبق بتري عقيم

مع الإنتباه ألا تتجاوز درجة حرارة المخبر 45ºم، وتم تكرار نفس العملية في طبق بتري آخر بحيث يكون لكل اختبار طبقي بتري، ثم تم حضن الأطباق في الحاضنة عند درجة الحرارة 35ºم لمدة 48 ساعة.

–التلوث الفطري: تم نقل 10 مل من المستحضر السائل الفموي لكل مشاركة إلى دورق حجمي سعة 100 مل تحت حجرة Laminar Air Flow باستعمال أدوات وظروف عقيمة وتمديدها بـ 90 مل من الوقاء الفوسفاتي pH=7.2 حتى الحجم بحيث يتم تحقيق نسبة التمديد 10:1 ومزجت جيداً، ثم تم تعديل الـ pH عند الضرورة وضبطها لتكون في المجال pH=6-8، ثم تم إضافة 1 مل من محلول العينة الممدد وصب 20 مل من الآغار سابورود–دكستروز في طبق بتري عقيم مع الإنتباه ألا تتجاوز درجة حرارة المخبر 45ºم، وتم تكرار نفس العملية في طبق بتري آخر بحيث يكون لكل اختبار طبقي بتري، ثم تم حضن الأطباق في الحاضنة عند درجة الحرارة 25ºم لمدة 5 أيام.

بعد انتهاء فترة الحضن، تم فحص النمو الميكروبيولوجي (الجرثومي أو الفطري) في الأطباق حيث تم عد المستعمرات وحساب المتوسط الحسابي للتعدادات في الطبقين على شكل عدد المستعمرات في الميليليتر الواحد من العينة وحساب عدد المستعمرات في الحجم الأساسي للشكل الصيدلاني السائل.

–التحري عن وجود جراثيم (إيشيريشيا كولاي Escherichia Coli): تم إجراء الإختبار بمزج عينة المستحضر الفموي السائل لكل مشاركة والمحضرة وفق طريقة الدستور الأميركي مع مرق ماكونكي MacConkey Broth بنسبة تمديد (1 في 10)، وتم الحضن عند درجة حرارة 35ºم لمدة 48 ساعة، ثم تم إجراء عروة من هذا الوسط المحضون فوق سطح وسط آغار ماكونكي MacConkey Agar Medium الموجود في طبق بتري، وتم حضن الطبق عند درجة حرارة 35ºم لمدة 24 ساعة، ثم تمت مراقبة وجود او عدم وجود مستعمرات بلون أحمر بريك الممثلة لجراثيم الإيشيريشيا كولاي.

3-6- دراسة الثبات على الرف Shelf Stability Study

تم إجراء دراسة الثبات على الرف وفقاً لقواعد مؤتمر التوافق العالمي ICH [35].

3-6-1- تحضير عينات الثبات:

تم تحضير 3 تحضيرات من كل مشاركة دوائية لعينات الشكل الفموي السائل المطلوبة لدراسة الثبات وفق الصيغة النهائية المعتمدة وطريقة التحضير المعتمدة، ثم تم تقسيم العينات بالتساوي وتعبئتها ضمن عبوات زجاجية شفافة عاتمة بنية اللون سعة 100 مل (عددها=3) بحيث تحتوي الزجاجة الواحدة على 100 مل من السائل الفموي وتغطيتها بأغطية مصنوعة من الألمنيوم وذلك لكل من المشاركتين الدوائيتين.

3-6-2- شروط التخزين:

تم تخزين عينات المشاركتين الدوائيتين عند درجة حرارة الغرفة والرطوبة النسبية للغرفة.

3-6-3- الإختبارات المطبقة:

تم اختبار لون ورائحة وطعم ورواق محاليل العينات قبل تعبئتها وتم تسجيل قيمة الـ pH كما تم سحب عبوة كاملة من أجل اختبار المعايرة حيث تمت هذه الإجراءات بهدف إجراء الإختبارات في نقطة البداية (النقطة الزمنية 0)، كما تم سحب عينات المستحضرات لإجراء الإختبارات عند النقط الزمنية التالية: 0، 3، 6، 9، 12، 18، 24 شهراً وعند كل نقطة زمنية تم إجراء اختبارات اللون والرائحة والطعم والرواق (تشكل البلورات) والـ pH والمعايرة والإختبارات الميكروبيولوجية وتم تسجيل النتائج من أجل تقييم ثباتية المحلول الفموي لكل من المشاركتين.

3-6-4- طرق التقييم:

3-6-4-1- التقييم الفيزيائي:

تمت مراقبة المظهر العام (مراقبة الترسب) ومراقبة لون ورائحة وطعم ورواق كل عينة وتم قياس قيمة الـ pH وتسجيلها، عند النقط الزمنية التالية: 0، 3، 6، 9، 12، 18، 24 شهراً.

3-6-4-2- التقييم الكيميائي:

تم إجراء اختبار المعايرة للمادتين الفعالتين وتحديد محتوى المستحضر منهما بتطبيق طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ذات الطور المعكوس باستعمال تقنية الزوج الشاردي (IP-RP-HPLC).

تحضير محلول العينة: تم عند كل نقطة زمنية نقل 10 مل من المحلول المدروس إلى دورق حجمي سعة 50 مل ثم إضافة 10 مل من الميتانول ثم تمديد المحلول بالماء حتى الحجم (50 مل) ثم تحريك المحلول لمدة 10 دقائق باستعمال خلاط مغناطيسي، تم تمرير محلول العينة من خلال مرشحة أبعادها 0.45 ميكرومتر ليتم استقباله في الفيالة الخاصة به.

الجملة الكروماتوغرافية: هي نفس الجملة الكروماتوغرافية للطريقة التحليلية المطورة.

3-6-4-3- التقييم الميكروبيولوجي:

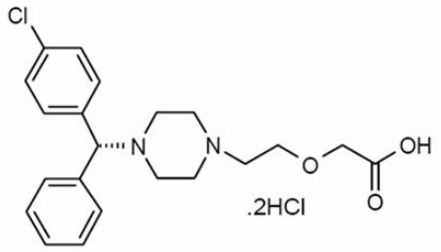
تم استعمال طريقة التعداد الكلي في هذه التجربة من أجل التحري عن التلوث الميكروبيولوجي، حيث تم إجراء التعداد الكلي عند كل نقطة زمنية للتحري عن التلوث الميكروبيولوجي للمستحضر خلال فترة تخزينه، كما تم إجراء الإختبار الدستوري المراقبة الإيجابية Positive Control للتحري عن وجود جراثيم الإيشيريشيا كولاي. تم تطبيق هذه الإختبارات باستعمال أطباق بيتري التي تحوي الآغار، حيث تم الإختبار بتمديد 5 مل من المستحضر بـ 45 مل من الوقاء الفوسفاتي (pH=7.2) ضمن حجرة الـ Laminar Flow ثم مزج المحلول الناتج مع الآغار ومن ثم حضن الأطباق عند درجة حرارة تتراوح بين 30°م و35°م لمدة تتراوح بين 3 أيام و5 أيام من أجل الفحص الجرثومي وعند درجة حرارة تتراوح بين 20°م و25°م لمدة تتراوح بين 5 أيام و7 أيام من أجل الفحص الفطري.

النتائج والمناقشة Results and Discussion

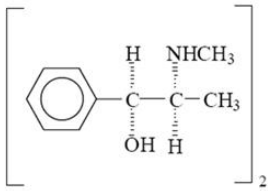
1- تطوير طريقة تحليلية من أجل معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس الوقت في الأشكال السائلة:

1-1- دراسة الخواص الفيزيوكيميائية للمواد الدوائية:

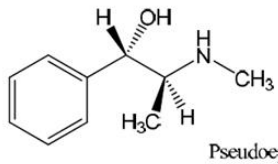
1-1-1- البنية الكيميائية:



Levocetirizine dihydrochloride
$C_{21}H_{25}ClN_2O_3.2HCl$
Molecular Weight is 461.82



Pseudoephedrine Sulfate
$(C_{10}H_{15}NO)_2 \bullet H_2SO_4$
Molecular Weight = 428.54



Pseudoephedrine Hydrochloride
$C_{10}H_{15}NO \bullet HCl$
Molecular weight = 201.69

الشكل (15): البنية الكيميائية لكل من
الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد

لدى دراسة البنية لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد، تبين أن طريق التخرب لهاتين المادتين هو الأكسدة لأن الليفوسيتيريزين يملك زمرتي أمين ثالثي وزمرتي بنزيل والبسودوإفدرين يملك زمرة أمين ثانوي وزمرة غولية وزمرة بنزيل وهذه الزمر الوظيفية تتخرب عن طريق الأكسدة [9].

1-1-2- الإنحلالية في المحلات المختلفة:

بينت المراجع الصيدلانية المختلفة ما يلي:

- ✓ ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد مادة منحلة بالماء والميتانول [36, 2].
- ✓ بسودوإفدرين سلفات مادة منحلة في الماء [39] وفي الميتانول [36].

✓ بسودوإفدرين هيدروكلورايد مادة منحلة جداً في الماء بنسبة 1 غ في 0.5 مل وفي الميتانول، ومنحلة في الإيتانول بنسبة 1 غ في 3.6 مل، وفي الكلوروفورم بنسبة 1 غ في 91 مل، ومنحلة بشكل خفيف جداً في الإيتر بنسبة 1 غ في 7000 مل [8، 36، 39].

1-1-3- pK_a:

ليفوسيتيريزين: 7.9. بسودوإفدرين: 9.8 [39، 40].

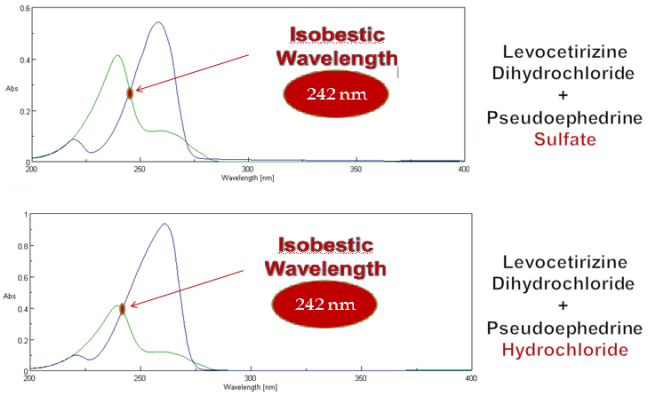
1-2- طيوف الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية UV:

أبدت طيوف الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية UV لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين والمبينة في الشكل (16) أن الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد يبدي امتصاصاً أعظمياً عند طول الموجة 231 نانومتر وأن البسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد يبدي امتصاصاً أعظمياً عند طول الموجة 257 نانومتر.

1-3- تحديد طول موجة الكشف:

أظهرت طيوف الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية UV المسجلة المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات وطيوف الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية UV المسجلة المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد والمبينة في الشكل (16) امتصاصية للمادتين الدوائيتين عند طول الموجة 242 نانومتر وهي تسمى طول موجة الإمتصاص المتساوي Isobestic Wavelength، وبالتالي تم اختيار طول الموجة هذا ليكون طول موجة الكشف من أجل التحليل الكروماتوغرافي لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين الدوائية بشكليها: سواء مشاركة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد مع البسودوإفدرين سلفات أو مشاركة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد مع البسودوإفدرين هيدروكلورايد.

وقد لوحظ أيضاً عدم وجود أي تداخل من الطور المتحرك أو تشويش في الخط الأساسي عند طول الموجة 242 نانومتر مما يعطينا سبباً إضافياً لاعتماد طول الموجة 242 نانومتر كطول موجة كشف مناسبة من أجل تحليل المادتين المحللتين الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بحساسية مناسبة.



الشكل(16):طيوف الإمتصاصUVالمتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات(الشكل العلوي) وطيوف الإمتصاص UV المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد(الشكل السفلي)

4-1- نتائج تطوير الطريقة التحليلية وصولاً إلى الشروط الكروماتوغرافية المثلى:

ملاحظة: ينطبق المخطط التالي على كلا المشاركتين المختلفتين فقط بنوع ملح البسودوإفدرين المستعمل.

العمود C18 (150 ملم × 4.6 ملم)، درجة حرارته 40°م، طول موجة الكشف 242 نانومتر

مزيج أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (1:1)، pH=3.5

النتيجة: زمن احتفاظ قليل جداً للبسودوإفدرين

وُجِد أن البسودوإفدرين امتلص eluted بحجم مهمل void volume وكذلك الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد ولكن بزمن احتباس أعلى وكان احتباس البسودوإفدرين قليل جداً. لذلك قررنا العمل بإضافة كاشف الزوج الشاردي (الملح الصودي لحمض 1–هبتان سلفونيك) إلى الطور المتحرك.

↓

إضافة مادة الزوج الشاردي

مزيج أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (1:1)، pH=3.5 يحتوي على حمض 1–هبتان سلفونيك 1.1 غ/ل

النتيجة: فصل غير كافٍ وزمن احتفاظ قليل للبسودوإفدرين

↓

إنقاص النسبة الحجمية (%) للأسيتونتريل

مزيج أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (3:2)، pH=3.5 يحتوي على حمض 1–هبتان سلفونيك 1.1 غ/ل

النتيجة: فصل غير كافٍ وتذيل قمة البسودوإفدرين

↓

تعديل مادة الزوج الشاردي والنسبة الحجمية (%) للأسيتونتريل وإضافة ثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد

مزيج أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (2:3)، pH=3.5

يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات 2.5 غ/ل و وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد TEA.HCl 1.5 غ/ل

النتيجة: فصل أفضل ولكنه غير كافٍ وتحسن تذيل قمة البسودوإفدرين ولكنه ما زال غير مقبول

↓

تعديل نوع العمود إلى C18 (250 ملم × 4.6 ملم) ودرجة حرارته إلى درجة حرارة الغرفة لتحسين الفصل

النتيجة: فصل أفضل ولكنه غير كافٍ

↓

تعديل المحل العضوي إلى الميتانول

مزيج ميتانول/وقاء فوسفاتي50mM (2:3)، pH=3.5

يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات بتركيز 2.5 غ/ل وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد بتركيز 1.5 غ/ل

النتيجة: ارتفاع زمن احتفاظ الليفوسيتيريزين (> 20 دقيقة) وتذيل وعدم نقاوة قمة البسودوإفدرين

↓

إنقاص تركيز مادة الزوج الشاردي وزيادة ثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد
مزيج ميتانول/وقاء فوسفاتي50mM (2:3)، pH=3.5
يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات بتركيز 1.5 غ/ل وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد بتركيز 2.0 غ/ل
النتيجة: فصل أفضل ولكنه غير كافٍ وتحسن تذيل قمة البسودوإفدرين ولكنها غير نقية

↓

زيادة مادة الزوج الشاردي وإنقاص pH الطور المتحرك، أي: ميتانول/وقاء فوسفاتي50mM (2:3)، pH=3.0
يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات بتركيز 2.0 غ/ل وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد بتركيز 2.0 غ/ل
النتيجة: فصل أفضل ولكنه غير كافٍ وتذيل وعدم نقاوة قمة البسودوإفدرين

↓

استخدام الميتانول والأسيتونتريل معاً وإنقاص تركيز مادة الزوج الشاردي وزيادة ثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد
ميتانول/أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (2:1:3)، pH=3.0
يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات تركيز 1.75 غ/ل وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد بتركيز 2.25 غ/ل
النتيجة: فصل أفضل وتحسن تذيل قمة البسودوإفدرين ولكنها غير نقية

↓

إنقاص تركيز مادة الزوج الشاردي وزيادة ثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد
مزيج ميتانول/أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي50mM (2:1:3)، pH=3.0
يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات بتركيز 1.7 غ/ل وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد بتركيز 2.5 غ/ل
النتيجة: فصل ممتاز ونقاوة ممتازة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين وانخفاض تذيل قمة البشودوإفدرين (الطور المتحرك الأمثل)

بينت النتائج أنه:

– عند زيادة تركيز مادة الزوج الشاردي (صوديوم دوديسيل سلفات) في الطور المتحرك ازدادت أزمان احتفاظ قمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين وكان التركيز الامثل لمادة الزوج الشاردي (صوديوم دوديسيل سلفات) هو 1.7 غ/ل (5.9 mM).

– عند زيادة نسبة الأسيتونتريل في الطور المتحرك تناقصت أزمان احتفاظ الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين.

– إن القيم المنخفضة لـ pH الطور المتحرك هي أفضل للتحليل من حيث أزمان احتفاظ ومواقع قمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين وكانت القيمة المثلى لـ pH الطور المتحرك هي pH=3.0.

يبين الجدول (14) تقييم نتائج اختبارات القمة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين وفقاً الشروط الكروماتوغرافية المختلفة المطبقة من حيث استعمال الأطوار المتحركة المختلفة عن بعضها البعض بالنسب الحجمية لأطوارها وبنوع وتركيز كاشف الزوج الشاردي وpH الطور المتحرك واستعمال الأعمدة المختلفة وصولاً إلى الطور النهائي الأمثل وذلك اعتماداً على ثلاثة معايير لاختبارات القمة: إشابة القمة Peak Impurity، التباين بين القمة والقمة

الأقرب إليها Resolution، عامل تذيل القمة Tailing Factor، وتجدر الإشارة إلى أن هذا التقييم ينطبق على كل من المشاركتين.

الجدول (14): تقييم نتائج اختبارات القمة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين وفقاً للشروط المطبقة

الطور المتحرك	إشابة القمة		التباين مع القمة الأقرب		عامل تذيل القمة	
	ليفو	بسودو	ليفو	بسودو	ليفو	بسودو
مزيج أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (1:1)، pH=3.5	−	−	−	−	+	−
مزيج أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (1:1)، pH=3.5 يحتوي على حمض 1−هبتان سلفونيك 1.1 غ/ل	+	−	−	−	+	−
مزيج أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (3:2)، pH=3.5 يحتوي على حمض 1−هبتان سلفونيك 1.1 غ/ل	+	−	+	−	+	−
مزيج أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي 50mM (2:3)، pH=3.5 يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات 2.5 غ/ل وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد TEA.HCl 1.5 غ/ل	+	−	+	−	+	−
نفس الطور السابق مع تعديل نوع العمود إلى C18 (250 ملم × 4.6 ملم) ودرجة حرارته إلى درجة حرارة الغرفة	+	−	+	−	+	−
مزيج ميتانول/وقاء فوسفاتي50mM (2:3)، pH=3.5 يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات بتركيز 2.5 غ/ل وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد بتركيز 1.5 غ/ل	+	−	+	+	+	−
مزيج ميتانول/وقاء فوسفاتي50mM (2:3)، pH=3.5 يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات بتركيز 1.5 غ/ل وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد بتركيز 2.0 غ/ل	+	−	+	+	+	−
ميتانول/وقاء فوسفاتي50mM (2:3)، pH=3.0 يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات بتركيز 2.0 غ/ل وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد بتركيز 2.0 غ/ل	+	−	+	+	+	−
ميتانول/أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي50mM (2:1:3)، pH=3.0 يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات تركيز 1.75 غ/ل وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد بتركيز 2.25 غ/ل	+	−	+	+	+	+
ميتانول/أسيتونتريل/وقاء فوسفاتي50mM (2:1:3)، pH=3.0 يحتوي على صوديوم دوديسيل سلفات بتركيز 1.7 غ/ل وثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد بتركيز 2.5 غ/ل، نوع العمود C18 (250 ملم × 4.6 ملم) ودرجة حرارته هي درجة حرارة الغرفة **(الشروط الكروماتوغرافية المثلى)**	+	+	+	+	+	+

(+) نتيجة اختبار القمة موافقة للحدود المقبولة. (−) نتيجة اختبار القمة غير موافقة للحدود المقبولة.

وبالتالي فإن الطور المتحرك الأمثل هو:

مزيج مرشح ومنزوع الغازات من الميتانول والأسيتونتريل ومحلول الوقاء الفوسفاتي (تركيزه 0.05M، pH=3.0) بنسبة (30:15:45 حجم/حجم/حجم على الترتيب) يحتوي على 1.75 غ من صوديوم دوديسيل سلفات و 2.5 غ من ثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد في الـ 1000 مل من المحلول.

مما سبق تم اعتماد الشروط الكروماتوغرافية المثلى وهي:

❖ الجهاز: جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC (Shimadzu LC-20AT، اليابان)، وهو مؤلف من كاشف الصمام الضوئي الثنائي Photodiode Array Detector (PDA)، ومضخة رباعية للتزويد بالمحل تستعمِل نظام الضخ الرباعي تعطي تدفقاً وضغطاً ثابتَين، ونازع غازات، وحاقن آلي ذاتي الحركة (أوتوماتيكي)، وحجرة العمود المجهزة بفرن يتحكم بدرجة الحرارة، وهو أيضاً مجهَّز بالبرنامج Shimadzu LCsolution المعد من أجل التحكم بالجهاز وهذا البرنامج هو إصدار 2004 وقد تم تطويره من قبل شركة Shimadzu اليابانية.

❖ نظام الفصل: الفصل الإيزوكراتي Isocratic elution.

❖ الطور المتحرك: مزيج مرشح ومنزوع الغازات مؤلف من الميتانول والأسيتونتريل ومحلول الوقاء الفوسفاتي 50mM (pH=3.0) بنسبة (30:15:45 حجم/حجم/حجم على الترتيب) يحتوي على 2.5 غ من ثلاثي إتيل أمين هيدروكلورايد و 1.75 غ من صوديوم دوديسيل سلفات في الـ 1000 مل من المحلول.

❖ العمود: (250 ملم × 4.6 ملم) يحتوي على طور معكوس C18 (Agilent، الولايات المتحدة الأميريكية USA، 5 ميكرومتر)، درجة حرارة العمود هي درجة حرارة الغرفة.

❖ معدل تدفق الطور المُتَحَرِّك: قدره 1 مل/دقيقة.

❖ طول موجة الكشف: 242 نانومتر باستعمال كاشف الصمام الضوئي الثنائي Photodiode Array Detector (PDA).

❖ حجم الحقنة: 20 ميكروليتر.

❖ زمن التحليل: 20 دقيقة.

بينت المخططات الكروماتوغرافية المسجلة بالشروط الكروماتوغرافية المعتمدة النهائية عند طول الموجة 242 نانومتر تبايناً كاملاً لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين، حيث أعطت النسب الحجمية وتركيب الطور المتحرك الأفضل تبايناً جيداً أكبر من 2.0 ومعايير مقبولة للقمة لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بالنسبة لكلا المشاركتين حيث نتج لدينا قمماً رفيعة ومتناظرة لكلا المادتين وخاصة قمة الليفوسيتيريزين.

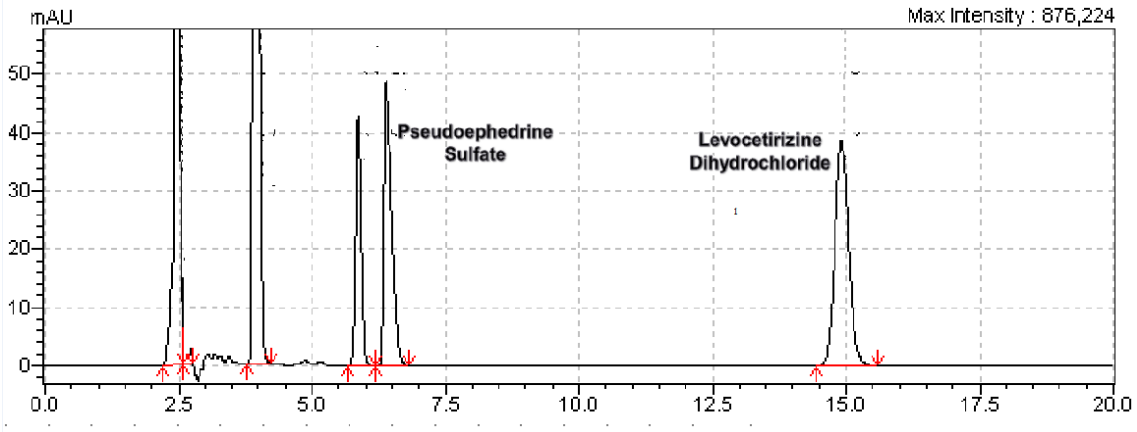
وقد أعطت إضافة ثلاثي إيتيل أمين هيدروكلورايد إلى تركيب الطور المتحرك بتركيز 2.5 غ/ل قمماً أقل تذيلاً وخاصة قمة البسودوإفدرين حيث كان عامل التذيل أقل من 2.0، وبالتالي باستعمال الطور المتحرك الأفضل تم الحصول على الفصل الأفضل والحساسية الأفضل ومعايير أفضل للقمة.

وقد أعطى معدل التدفق 1 مل/دقيقة نسبة إشارة إلى ضجيج ممتازة مع زمن فصل معقول.

في المشاركة الأولى (المحلول الفموي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات) كانت أزمان الإحتفاظ لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين 14.9 دقيقة و 6.4 دقيقة على الترتيب، وفي المشاركة الثانية (المحلول الفموي

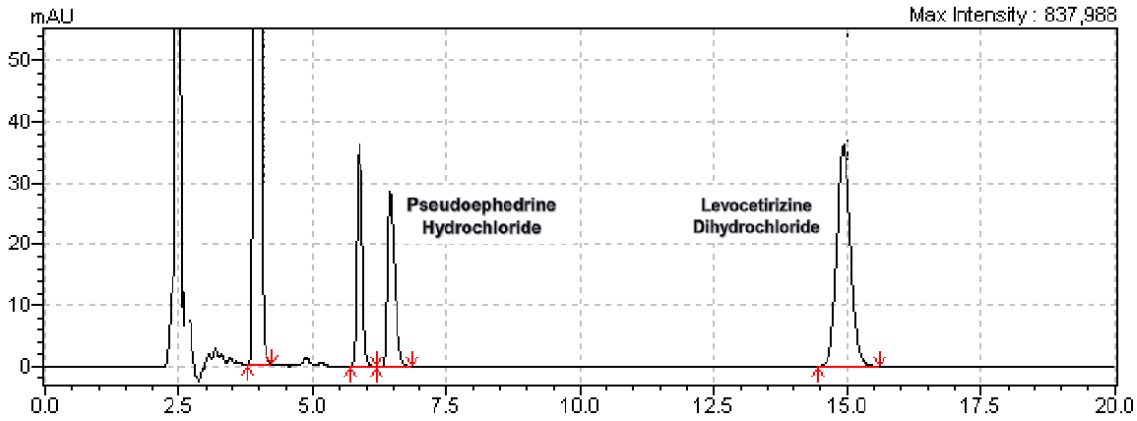
لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد) كانت أزمان الإحتفاظ لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين 14.9 دقيقة و 6.6 دقيقة على الترتيب.

تبين الأشكال (17) و(18) المخططات الكروماتوغرافية المسجلة لكلا المشاركتين.



الشكل (17): المخطط الكروماتوغرافي النموذجي

للشكل الفموي السائل لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات



الشكل (18): المخطط الكروماتوغرافي النموذجي

للشكل الفموي السائل لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد

بالنسبة للمشاركتين، تبين ما يلي:

- لم يتم كشف أي إشابة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين (تبين أن القمم نقية).
- كان التباين بين الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين أكبر من 2.0 (وهي القيمة الدنيا المقبولة للتباين بين قمتين).
- كان عامل التذيل لقمة البسودوإفدرين أقل من 2.5 (وهي القيمة العظمى المقبولة بالنسبة لقمة البسودوإفدرين حسب الـ USP).
- كان الإنحراف العياري النسبي لحقنتين متتاليتين أقل من 2.0%.

يبين الجدول (15) نتائج نقاوة القمة والتباين بين قمة المادة الفعالة المحللة والقمة الأقرب إليها وعامل تذيل القمة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في كل من المشاركتين.

الجدول (15): نتائج اختبارات القمة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بتطبيق الشروط المثلى

Peak Parameter	Levocetirizine dihydrochloride & Pseudoephedrine sulfate Oral Solution		Levocetirizine dihydrochloride & Pseudoephedrine hydrochloride Oral Solution	
	Levocet.2HCl	**Pseudo.sulfate**	**Levocet.2HCl**	**Pseudo.HCl**
Peak Impurity	Not Detected	Not Detected	Not Detected	Not Detected
Resolution				
to the closest left peak	22.0	2.1	23.1	2.5
to the closest right peak	-	22.0	-	23.1
Tailing Factor	1.119	2.006	1.118	1.698

1-5- دراسات التخريب القسري Forced Degradation Studies:

سهلت نتائج دراسات التخريب القسري تقييم القدرة المحددة للثباتية الطريقة التحليلية ، ومن خلال نتائج نقاوة القمة والتباين بين قمة المادة الفعالة المحللة والقمة الأقرب إليها وعامل تذيل القمة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في كل من المشاركتين بعد إجراء دراسات التخريب القسري (التخريب بالأكسدة، التخريب الضوئي، التخريب الحراري) نستطيع أن نستنتج أن الطريقة التحليلية المطورة محددة للثباتية stability-indicating، لأن هذه النتائج كانت ضمن الحدود المقبولة حيث تبين بالنسبة للمشاركتين، ما يلي:

- ❖ لم يتم كشف أي إشابة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين (تبين أن القمم نقية).
- ❖ كان التباين بين الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين أكبر من 2.0.
- ❖ كان عامل التذيل لقمة البسودو إفدرين أقل من 2.5.
- ❖ كان الإنحراف العياري النسبي لحقنتين متتاليتين أقل من 2.0%.

يبين الجدول (16) نتائج نقاوة القمة والتباين بين قمة المادة الفعالة المحللة والقمة الأقرب إليها وعامل تذيل القمة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في كل من المشاركتين وذلك بعد إجراء دراسات التخريب القسري.

الجدول (16): نتائج اختبارات القمة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بعد إجراء التخريب القسري

Oxidative Degradation				
Peak Parameter	**Levocetirizine dihydrochloride & Pseudoephedrine Sulfate Oral Solution**		**Levocetirizine dihydrochloride & Pseudoephedrine Hydrochloride Oral Solution**	
	Levocet.2HCl	**Pseudo.Sulfate**	**Levocet.2HCl**	**Pseudo.HCl**
Impurity	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected
Resolution				
to the closest left peak	12.8	2.1	12.9	2.5
to the closest right peak	-	2.1	-	1.9
Tailing Factor	1.121	1.982	1.121	1.696
Photo-degradation				
Peak Parameter	**Levocetirizine dihydrochloride & Pseudoephedrine sulfate Oral Solution**		**Levocetirizine dihydrochloride & Pseudoephedrine Hydrochloride Oral Solution**	
	Levocet.2HCl	**Pseudo.Sulfate**	**Levocet.2HCl**	**Pseudo.HCl**
Impurity	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected
Resolution				
to the closest left peak	17.5	2.1	18.0	2.5
to the closest right peak	-	1.9	-	1.9
Tailing Factor	1.115	1.989	1.118	1.690
Thermal Degradation				
Peak Parameter	**Levocetirizine dihydrochloride & Pseudoephedrine sulfate Oral Solution**		**Levocetirizine dihydrochloride & Pseudoephedrine Hydrochloride Oral Solution**	
	Levocet.2HCl	**Pseudo.sulfate**	**Levocet.2HCl**	**Pseudo.HCl**
Impurity	Not detected	Not detected	Not detected	Not detected
Resolution				
to the closest left peak	12.2	2.1	12.3	2.5
to the closest right peak	-	2.0	-	1.8
Tailing Factor	1.117	1.982	1.119	1.693

إذاً، تم تطوير طريقة معايرة كروماتوغرافية محددة للثباتية stability-indicating لمعايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس الوقت في الشكل الصيدلاني السائل، وهي طريقة الكروماتوغرافيا السائلة مرتفعة الإنجاز ذات الطور المعكوس باستعمال تقنية الزوج الشاردي (IP-RP-HPLC).

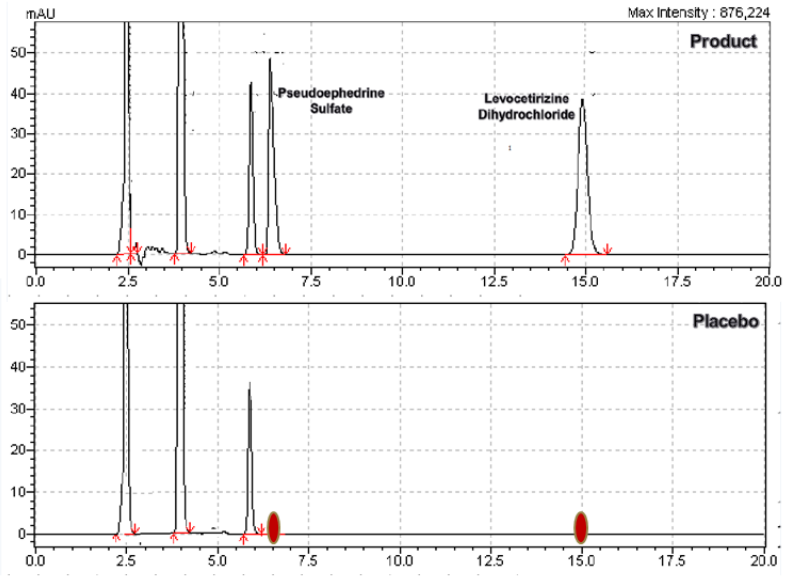
2- دراسة التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية Analytical Method Validation

كما هو مبين في توجيهات ICH [13]، تم التأكد من معايير دراسة التحقق من الطريقة وهي: النوعية، الخطية، الضبط، الدقة.

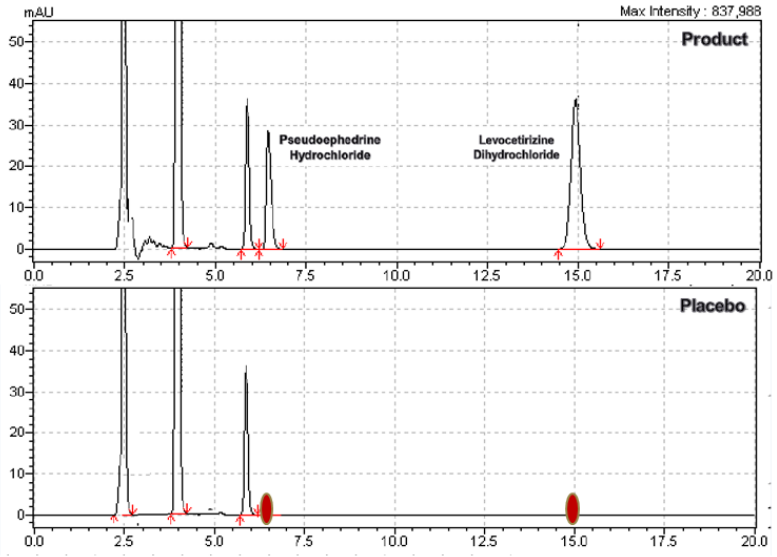
2-1- النوعية Specifity:

تم إثبات نوعية الطريقة التحليلية المطورة من خلال ما يلي:

1- تم تسجيل المخططات الكروماتوغرافية الممثلة للمستحضر لكل مشاركة وللبلاسيبو كما في الشكل (19):



(أ)



(ب)

الشكل (19): المخططات الكروماتوغرافية المسجلة الممثلة للمستحضر وللبلاسيبو

(أ) الشكل السائل الفموي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات

(ب) الشكل السائل الفموي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد

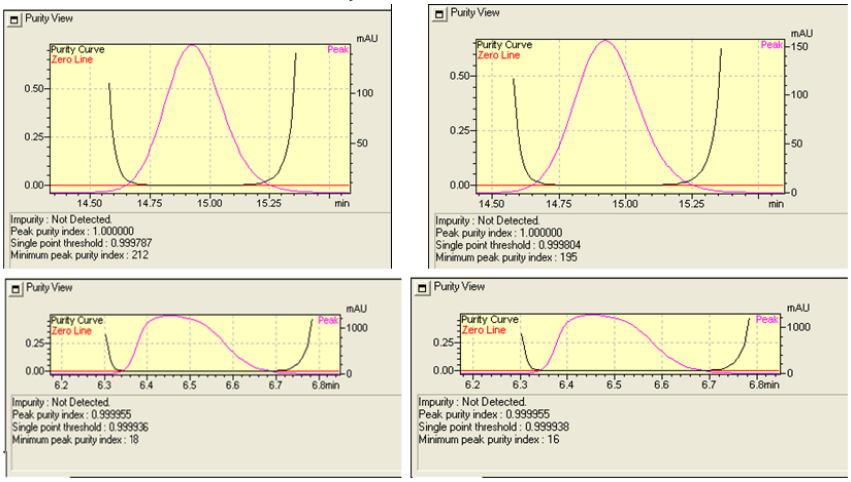
حيث نرى من هذه المخططات أنه تم تحقيق الفصل الكامل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بوجود سواغات الشكل الصيدلاني السائل، وأنه لا يوجد أي تداخل مع السواغات عند ازمنة احتفاظ قمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في المخططات الكروماتوغرافية لمحاليل العينة للشكل السائل بالمقارنة مع المخطط الكروماتوغرافي لمحلول العينة لمحلول البلاسيبو، وكانت قيم التباين بين قمة كل مادة فعالة والقمة الأقرب إليها أكبر من 2.0 كما هو مبين في الجدول (17) مما يعني وجود فصل مقبول لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين:

الجدول (17): نتائج معايير نوعية الطريقة التحليلية

من حيث إشابة القمة والتباين لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين

Peak Parameter	**Levocetirizine Dihydrochloride & Pseudoephedrine Sulfate Oral Solution**		**Levocetirizine dihydrochloride & Pseudoephedrine Hydrochloride Oral Solution**	
	Levocetirizine Dihydrochloride	**Pseudoephedrine Sulfate**	**Levocetirizine Dihydrochloride**	**Pseudoephedrine Hydrochloride**
Peak Impurity	Not Detected	Not Detected	Not Detected	Not Detected
Resolution				
To the closest left peak	22.0	2.1	23.1	2.5
To the closest left right	-	22.0	-	23.1

2- اختبار نقاوة القمة: باستخدام كاشف الصمام الثنائي Photo Diode Array (PDA) بين اختبار نقاوة القمة لكل من قمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين أنه لم يتم كشف أي إشابة لهذه القمم كما هو مبين في الجدول (17) حيث كانت عتبة النقطة المفردة Single Point Threshold أقل من قرينة نقاوة القمة Peak Purity Index أي أن هذه القمم نقية، وبالتالي بين اختبار نقاوة قمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين أن هذه القمم لا تعود إلى أكثر من مكون واحد مما يدل على قدرة الطريقة التحليلية على تحديد الثباتية Stability-indicating. يبين الشكل (20) منحنيات النقاوة المسجلة لقمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في المشاركتين.



(أ) (ب)

الشكل (20): المنحنيات المسجلة لنقاوة قمم الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين لكلا المشاركتين.

(أ) الشكل السائل الفموي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات

(ب) الشكل السائل الفموي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد

(في الأعلى: ليفوسيتيريزين، في الأسفل: بسودوإفدرين)

– أيضاً قدمت دراسات التخريب القسري على المستحضر السائل دليلاً إضافياً على نوعية الطريقة، كما هو مبين في الجدول (16).

2-2- الخطية Linearity:

تم تقييم خطية الطريقة التحليلية المطورة من خلال ما يلي:

1- تبين أن هناك علاقة خطية بين مساحة القمة والتركيز بالنسبة لليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) على طول مجال الإجراء التحليلي، وتم تقييم نتائج الإختبار باستعمال طرق إحصائية مناسبة وتم رسم خط الإرتباط بطريقة المربعات الصغرى كما هو مبين في الشكل (21). تم الحصول على المعلومات من خط الإرتباط نفسه (تحليل الإرتباط) وقد أعطت تقديرات رياضية مثل معامل الإرتباط وأظهرت هذه التقديرات درجة عالية من الخطية.

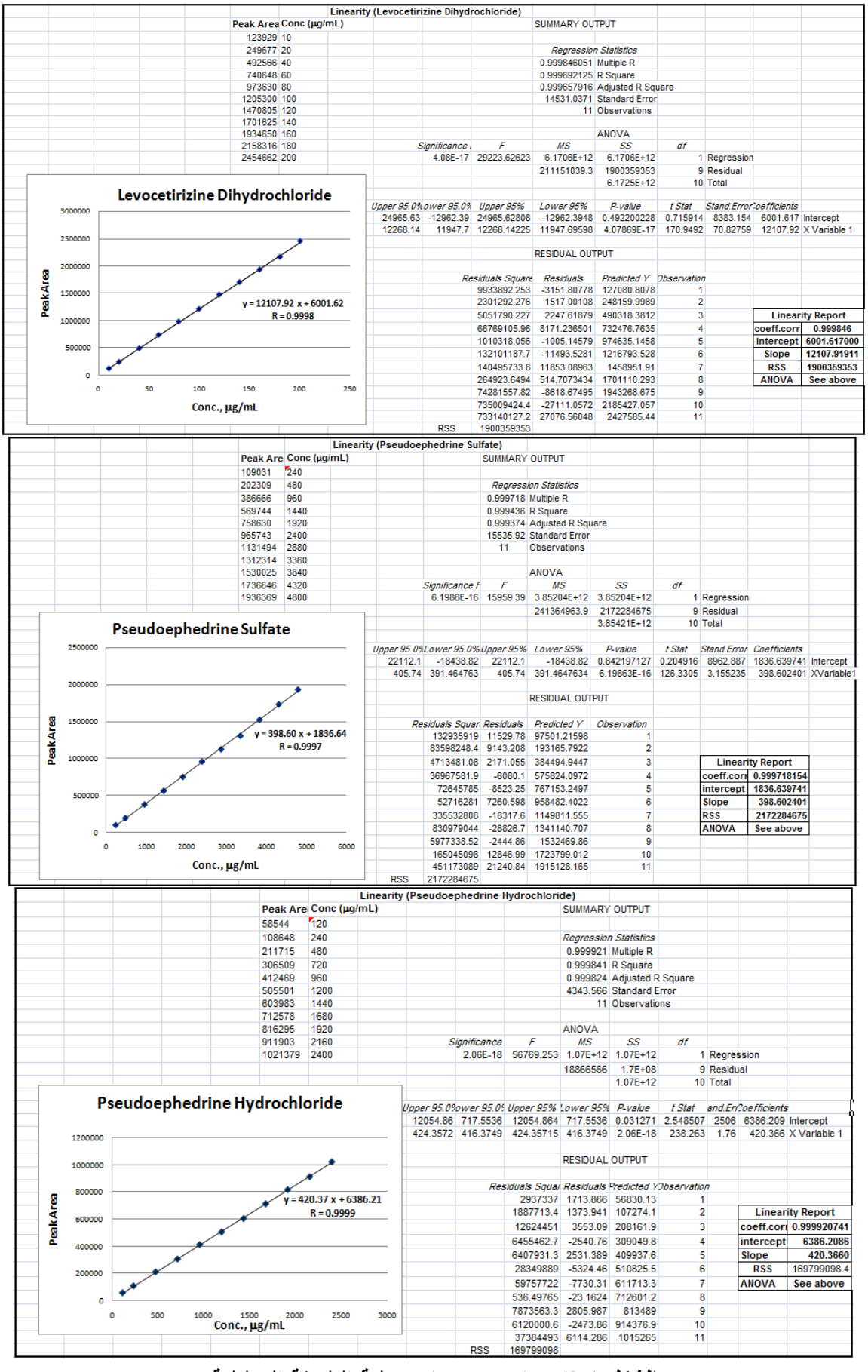
إن نتائج: معامل الإرتباط ونقطة تقاطع خط الإرتباط مع المحور y وميل خط الإرتباط والمجموع المتبقي للمربعات والخطأ المعياري ومعادلة خط الإرتباط بالنسبة لليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) موضحة في الجدول (18)، حيث تبين أن معاملات الإرتباط أكبر من 0.99 مما يدل على ارتباط قوي بين التركيز ومساحة القمة للمواد الثلاثة.

الجدول (18): نتائج معايير خطية الطريقة التحليلية

Parameter	Levocetirizine Dihydrochloride	Pseudoephedrine Sulfate	Pseudoephedrine Hydrochloride
Correlation Coefficient (R)	0.9998	0.9997	0.9999
y-intercept	6001.62	1836.64	6386.21
Slope	12107.92	398.60	420.37
Residual Sum of Squares	1900359353	2172284675	169799098
Standard Error	14531.04	15535.92	4343.57
Regression Line Equation	y = 12107.92x+6001.62	y = 398.60x+1836.64	y= 420.37 x+6386.21

2- تحليل التباين Analysis of Variation (ANOVA): تم أيضاً إجراء تحليل التباين للنقاط الحقيقية لكل مادة عن خط الإرتباط من أجل تقييم الخطية، حيث تبين أن تحليل التباين مطابق كما هو مبين في الشكل (21) الذي يمثل مخططات لمساحات قمة كل مادة كتابع لتركيز هذه المادة مع تحليل الإرتباط الموافق.

3- حدود الثقة confidence interval لنقطة التقاطع مع المحور y: تضمنت حدود الثقة لنقطة التقاطع مع المحور y لكل مادة فعالة القيمة صفر.



الشكل (21): نتائج ومنحنيات خطية الطريقة التحليلية

3-2- المجال Range:

تم اشتقاق مجال الطريقة التحليلية من دراسة الخطية وكان المجال المعتمد 10 – 200% من تركيز الإختبار، وقد تم اختيار هذا المجال للأسباب التالية:

1- ضمن هذا المجال أو عند حدوده حقق الإجراء التحليلي درجة مقبولة من الخطية والضبط والدقة للطريقة التحليلية عندما يطبق الإجراء التحليلي على عينات تحتوي على كميات من المواد ضمن هذا المجال أو عند حدود هذا المجال الموصوف للإجراء التحليلي.

2- غطى هذا المجال الحد الأدنى للمجال الموصوف والمحدد من الـ ICH لمعايرة المنتج الدوائي النهائي وهو 80 – 120% من تركيز الإختبار.

3- إن هذا المجال مناسب من أجل المعايرة في دراسات الثبات لأنه يتضمن القيمة الصغرى (10%) ومن أجل المعايرة في دراسة تجانس المحتوى لأنه يتضمن القيمة الكبرى (200%).

4-2- الضبط Accuracy:

تم تقييم ضبط الطريقة التحليلية المطورة كما هو مبين في الجدول (19) من خلال حساب ما يلي:

1- المردود النسبي Percent Recovery: تم حساب ما يلي بالنسبة لكل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين ولكل من المشاركتين:

– تم حساب المردود النسبي لكل قيمة إفرادية كما يلي:

المردود النسبي = القيمة العملية لنتيجة المعايرة/القيمة النظرية لنتيجة المعايرة x 100

ثم تمت مقارنة نتيجة المردود النسبي مع المجال المسموح له وكانت جميعها ضمن الحدود المقبولة.

– تم حساب متوسط المردود النسبي لكل تركيز ومتوسط المردود النسبي لكل القيم وكانا ضمن المجال: 98 – 102% مما يدل على أن الطريقة التحليلية المطورة صحيحة.

2- الفرق بين متوسط المردود النسبي لكل القيم والقيمة الحقيقية المطلوبة له وهي 100%: تم حساب هذا الفرق بالنسبة لكل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين وفي المشاركتين لأخذ فكرة عن مدى ضبط الطريقة التحليلية وتبين أن هذا الفرق في قيمته الدنيا بالنسبة للمشاركتين.

3- حدود الثقة 95% Confidence Intervals 95%: تم حساب ما يلي بالنسبة لكل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين وفي المشاركتين:

– تم حساب حدود الثقة لمتوسط المردود النسبي لكل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في المشاركتين فتبين أنها تتضمن 100%.

– تم حساب حدود الثقة للمردودات النسبية عند كل تركيز لكل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في المشاركتين فتبين أنها ضمن المجال: 96 – 104%.

4- الإنحراف النسبي المعياري المئوي Percent Relative Standard Deviation: تم حساب الإنحرافات النسبية المعيارية المئوية لكل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين وفي المشاركتين وتبين أنها أقل من 2.0%.

الجدول (19): نتائج معايير ضبط الطريقة التحليلية

Percent Recovery (%) of API(s) in Levocetirizine Dihydrochloride and Pseudoephedrine Sulfate Oral Solution								
Sample No.	Acceptance Criteria	Levocetirizine Dihydrochloride			Pseudoephedrine Sulfate		
		10%	100%	200%	10%	100%	200%
1	97 –103%	98.35	98.67	100.42	98.56	101.76	101.58
2	97 –103%	98.05	98.83	100.51	99.42	101.96	101.76
3	97 –103%	97.76	99.85	100.58	99.35	102.13	101.85
Mean	98 –102%	98.05	99.12	100.50	99.11	101.95	101.73
Overall	98 –102%	99.22			100.93		
Difference between mean and accepted value		0.78			0.93		
%RSD	< = 2%	0.301	0.646	0.079	0.482	0.182	0.135
Overall	< = 2%	1.130284049			1.380938105		
95% CI of mean	It includes 100%	98.36237 to 100.0865			99.85865to 102.0014		
95% CI at each level	within 96 –104%						
	Lower	97.32	97.53	100.3	97.92	101.49	101.39
	Upper	98.79	100.71	100.7	100.3	102.41	102.07

Percent Recovery (%) of API(s) in Levocetirizine Dihydrochloride and Pseudoephedrine Hydrochloride Oral Solution							
Sample No.	Acceptance Criteria	Levocetirizine Dihydrochloride			Pseudoephedrine Hydrochloride		
		10%	100%	200%	10%	100%	200%
1	97 –103%	100.36	100.58	101.02	98.64	101.47	101.77
2	97 –103%	99.09	100.57	101.09	99.04	101.24	101.7
3	97 –103%	99.64	100.48	101.19	98.06	101.31	102.28
Mean	98 –102%	99.70	100.54	101.1	98.58	101.34	101.92
Overall	98 –102%	100.45			100.61		
Difference between mean and accepted value		0.45			0.61		
%RSD	< = 2%	0.639	0.055	0.084	0.499	0.116	0.311
Overall	< = 2%	0.688660925			1.563535897		
95% CI of mean	It includes 100%	99.91495 to 100.9784			99.4030242 to 101.82142		
95% CI at each level	within 96–104%						
	Lower	98.11	100.41	100.89	97.36	101.05	101.13
	Upper	101.28	100.68	101.31	99.80	101.63	102.70

حيث بينت النتائج السابقة لمعايير الضبط درجة عالية من الضبط للطريقة التحليلية المطورة.

2-5- الدقة Precision:

تم تقييم دقة الطريقة التحليلية المطورة من خلال حساب ما يلي بالنسبة لنوعي الدقة المدروسَين وهما التكرارية والدقة المتوسطة لكل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في المشاركتين:

1- الإنحراف المعياري Standard Deviation.

2- الإنحراف المعياري النسبي (معامل التغير) Relative Standard Deviation (Coefficient of Variation).

3- حدود الثقة 95% Confidence Intervals 95%.

إن نتائج معايير دقة الطريقة التحليلية موضحة بالتفصيل في الجدول (20)، حيث كانت قيم الإنحرافات المعيارية النسبية المئوية لكل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في المشاركتين أقل من 2.0% بالنسبة للتكرارية والدقة المتوسطة وتدل القيم المنخفضة للإنحرافات المعيارية النسبية المئوية على الدرجة العالية من الدقة للطريقة التحليلية المطورة.

الجدول (20): نتائج معايير دقة الطريقة التحليلية

	Repeatability day 1				**Intermediate Precision day 2**			
	Levocet.2HCl & Pseudo.Sul Oral Solution		**Levocet.2HCl & Pseudo.HCl Oral Solution**		**Levocet.2HCl & Pseudo.Sul Oral Solution**		**Levocet.2HCl & Pseudo.HCl Oral Solution**	
	Levocet. 2HCl	Pseudo. Sul	Levocet. 2HCl	Pseudo. HCl	Levocet. 2HCl	Pseudo. Sul	Levocet 2HCl	Pseudo. HCl
	101.07	103.29	100.47	103.19	101.76	103.25	101.05	103.88
	102.51	103.27	99.96	102.38	102.57	103.94	100.56	103.13
	101.61	103.55	99.07	100.93	101.77	103.01	99.21	101.84
	100.32	102.56	101.91	102.41	100.34	101.71	102.16	103.07
	101.66	103.18	98.05	99.45	101.88	103.30	97.89	100.56
	99.91	101.33	100.37	102.59	100.17	101.47	100.59	103.42
Mean	101.18	102.86	99.97	101.82	101.42	102.78	100.24	102.65
SD	0.95	0.82	1.32	1.38	0.95	0.98	1.49	1.23
%RSD	0.94	0.80	1.32	1.36	0.94	0.95	1.49	1.20
Confidence Intervals (CI)								
95%CI	0.76	0.66	1.05	1.11	0.76	0.78	1.20	0.98
Lower CI	100.42	102.21	98.91	100.72	100.66	102.00	99.05	101.67
Upper CI	101.94	103.52	101.02	102.93	102.18	103.56	101.44	103.63

إذاً: إن الطريقة التحليلية المطورة (طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ذات الطور المعكوس باستخدام تقنية الزوج الشاردي) هي مناسبة من أجل معايرة الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في نفس الوقت في الأشكال الصيدلانية السائلة وهي: محددة للثباتية، نوعية، خطية، صحيحة، دقيقة. حيث كانت نتائج دراسة معايير التحقق من صلاحية الطريقة التحليلية مقبولة وبالتالي يمكن استخدام هذه الطريقة في المراقبة الدوائية الروتينية ودراسات الثبات للشكل الصيدلاني السائل الذي يحتوي في تركيبه على هذه المشاركة الدوائية (ليفوسيتيريزين وبسودوإفدرين).

3- دراسات ما قبل الصياغة Preformulation Studies:

3-1- دراسة الإنحلالية (بالإعتماد على الـ pH):

بينت المراجع الصيدلانية المعتمدة سهولة انحلال كلاً من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات ووالبسودوإفدرين هيدروكلورايد في الماء، حيث بينت نشرة المعلومات الدوائية للمستحضر العالمي (Xyzal) الذي يحوي الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد كمادة فعالة (وهذه النشرة مقبولة من منظمة الغذاء والدواء العالمية FDA) أن الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد مادة منحلة بالماء، وبيَّن دستور الأدوية الأميركي USP 36 أن البسودوإفدرين هيدروكلورايد مادة منحلة جداً بالماء (بنسبة 0.5 في 1)، كما بين المرجع الدوائي (تحليل كلارك للأدوية والسموم) أن البسودوإفدرين سلفات مادة منحلة بالماء [2، 8، 39].

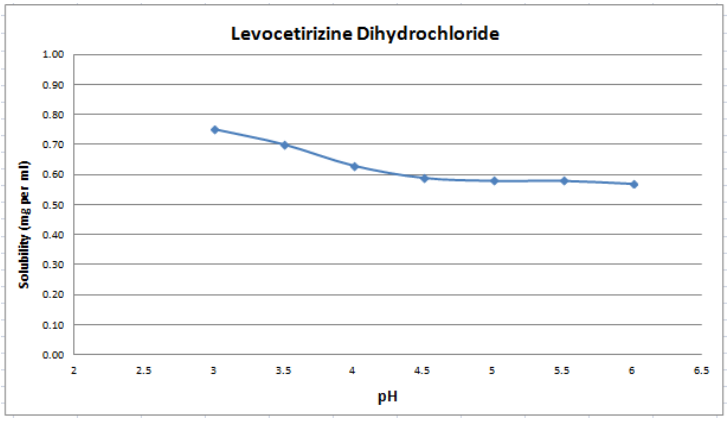
وبما أنه ستتم صياغة هذه المواد ضمن محلول موقى وليس ضمن الماء وحده، تم تحديد انحلاليتها في الوقاء.

3-1-1- ليفوسيتيزين ديهيدروكلورايد:

يبين الجدول (21) قيم انحلالية الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وفقاً لـ pH الوقاء السيتراتي وقد تم رسم مخطط pH–انحلالية pH-Solubility Profile لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد المبين في الشكل (22) وهو يمثل العلاقة بين انحلالية الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد مقدرة بـ ملغ/مل و pH الوقاء السيتراتي.

الجدول (21): نتائج انحلالية الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وفقاً لـ pH الوقاء السيتراتي

Solubility (mg/mL)	pH
0.75	3
0.70	3.5
0.63	4
0.59	4.5
0.58	5
0.58	5.5
0.57	6



الشكل (22): مخطط pH–انحلالية لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد

حيث بين هذا المخطط ما يلي:

❖ إن pH الإنحلالية المثلى لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد هي pH=3.0 حيث بلغت الإنحلالية 0.75 ملغ/مل عند هذه القيمة من الـ pH.

❖ إن جميع قيم الإنحلالية عند قيم الـ pH المختلفة للوقاء السيتراتي هي أكبر من التركيز المعتمد لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد في الشكل السائل وهو 0.50 ملغ/مل مما يعني أن الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد منحلة في مجال الـ pH الذي يساوي pH=3.0 -6.0.

3-1-2- بسودوإفدرين سلفات: نص المرجع (تحليل كلارك للأدوية والسموم) على أن البسودوإفدرين سلفات منحل في الماء Soluble in water [39]. وحسب الجدول (4) المعتمد للإنحلالية تعادل كلمة Soluble انحلالية تساوي 1 غ في 10 – 30 مل من المحل أي وسطياً 40 ملغ/مل وهي قيمة أكبر من التركيز المعتمد للبسودوإفدرين سلفات في الشكل السائل وهو 12 ملغ/مل.

بالإضافة إلى أن البسودوإفدرين سلفات ينحل في الوسط الحمضي المدروس (pH=3.0 -6.0) بشكل أكبر من الماء لأنه ملح لحمض قوي وأساس ضعيف أي أن انحلاليته في الوسط الحمضي المدروس ستفوق 40 ملغ/مل مما يعني أن البسودوإفدرين سلفات منحلة في مجال الـ pH الذي يساوي pH=3.0 -6.0.

3-1-3- بسودوإفدرين هيدروكلورايد: نص دستور الأدوية الأميركي USP 36 على أن البسودوإفدرين هيدروكلورايد ينحل في الماء بنسبة 1 غ/0.5 مل [8]. القيمة 1 غ/0.5 مل تعادل 2000 ملغ/مل وهي قيمة كبيرة بالنسبة للتركيز المعتمد للبسودوإفدرين هيدروكلورايد في الشكل السائل وهو 6 ملغ/مل بالإضافة إلى أن البسودوإفدرين هيدروكلورايد ينحل في الوسط الحمضي المدروس (pH=3.0 -6.0) بشكل أكبر من الماء لأنه ملح لحمض قوي وأساس ضعيف أي أن انحلاليته في الوسط الحمضي المدروس ستفوق 2000 ملغ/مل مما يعني أن البسودوإفدرين هيدروكلورايد منحلة في مجال الـ pH الذي يساوي pH=3.0 -6.0.

3-2- دراسات الثباتية في الحالة السائلة Liquid-State Stability:

3-2-1- دراسة العوامل المؤثرة على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة:

3-2-1-1- دراسة تأثير الـ pH:

يبين الجدول (22) نتائج تأثير pH المحلول على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة.

الجدول (22): نتائج دراسة تأثير pH المحلول على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، في الظلام، ولمدة 30 يوماً

	نسبة التخرب (%) بعد 30 يوماً		
pH	ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد	بسودوإفدرين سلفات	بسودوإفدرين هيدروكلورايد
3	1.801997	1.548940	3.171120
3.5	2.282427	2.535310	2.208270
4	2.569511	2.013900	1.364760
4.5	1.189828	1.709647	2.178671
5	0.020910	0.623100	0.701783
5.5	2.191092	1.498763	0.009095
6	5.034675	3.545400	0.897263

ثم تم رسم مخططات pH–ثباتية pH-Stability Profiles للمواد الفعالة: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وبسودوإفدرين سلفات وبسودوإفدرين هيدروكلورايد، حيث تمثل هذه المخططات العلاقة بين النسبة المتخربة من المادة الفعالة (%) Degradation والـ pH الموافقة، وذلك من أجل تحديد قيمة pH الثبات الأعظمي لكل مادة دوائية. بينت هذه المخططات أن:

– قيمة pH الثبات الأعظمي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد هي pH=5.

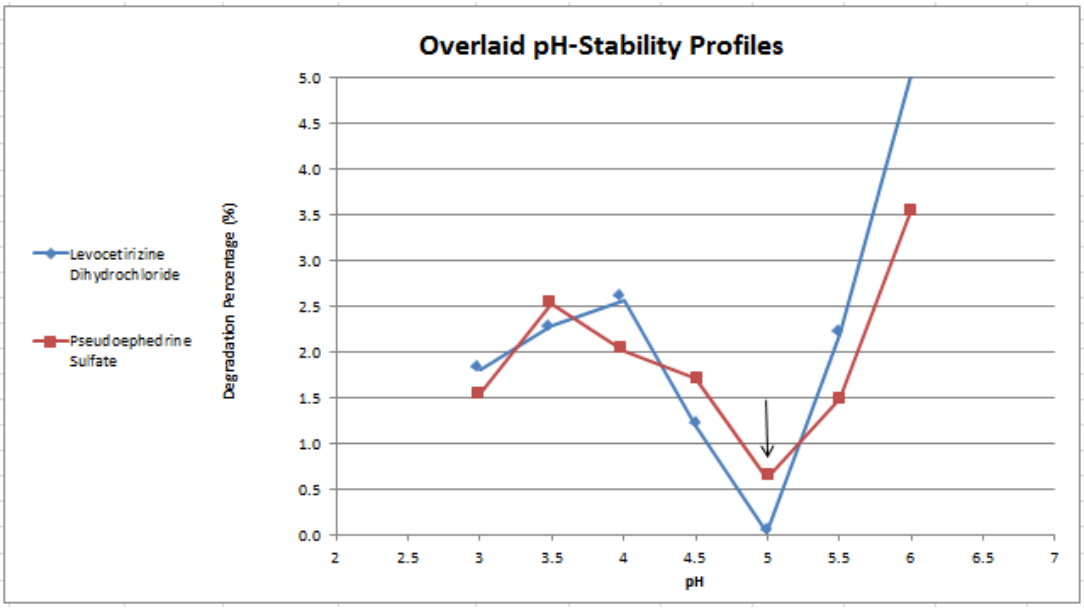
– قيمة pH الثبات الأعظمي للبسودوإفدرين سلفات هي pH=5.

– قيمة pH الثبات الأعظمي للبسودوإفدرين هيدروكلورايد هي pH=5.5.

وبما أن دراستنا تتضمن مشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين فقد تم إعداد مخططات (pH–ثباتية) المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات ومخططات (pH–ثباتية) المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد كما هو مبين في الشكل (23) والشكل (24)، من أجل تحديد واعتماد قيمة pH الثبات الأعظمي للشكل الصيدلاني السائل لكل مشاركة وذلك باعتماد قيمة الـ pH التي تحقق ثباتاً أعظمياً للمادتين الدوائيتين: ليفوسيتيريزين وبسودوإفدرين.

مخططات (pH–ثباتية) المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات:

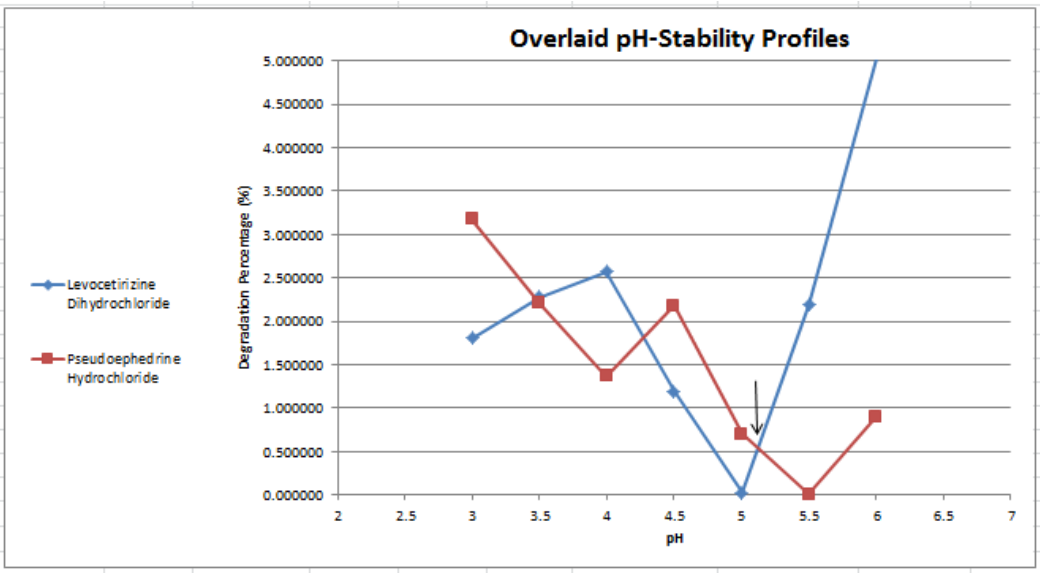
من النتائج المفيدة جداً والناتجة عن دراسة هذه المخططات أن قيمتي pH الثبات الأعظمي لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات متساويتين وتساوي في الحالتين pH=5، وبالتالي فإن الـ pH المفضلة للشكل الصيدلاني السائل الذي يتضمن المشاركة الدوائية (ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وبسودوإفدرين سلفات) هي pH الثبات المشتركة للمادتين الدوائيتين أي pH=5.0.



الشكل (23): مخططات (pH–ثباتية) المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات

مخططات (pH–ثباتية) المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد:

بينت هذه المخططات أن قيمة pH الثبات الأعظمي للبسودوإفدرين هيدروكلورايد هي pH=5.5 وهي مختلفة قليلاً عن قيمة pH الثبات الأعظمي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (pH=5.0). ولكن الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد لا يبدي ثباتاً مقبولاً عند pH=5.5 (نسبة التخرب تفوق 2.0%) بينما يبدي البسودوإفدرين هيدروكلورايد ثباتاً مقبولاً عند القيمة pH=5.0 (نسبة التخرب لا تزيد عن 1.0%) كما أن نقطة تقاطع الخطين البيانيين التابعين لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وبسودوإفدرين هيدروكلورايد والتي تعطي ثباتاً مقبولاً تقع عند القيمة pH=5.1 وهي قيمة قريبة جداً من القيمة pH=5.0، وبالتالي فإن pH الثبات المثلى للشكل الصيدلاني السائل الذي يحتوي على المشاركة الدوائية (ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وبسودوإفدرين هيدروكلورايد) هي pH=5.0.



الشكل (24): مخططات (pH–ثباتية) المتقاطعة لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد

نتيجة: بينت دراسة تأثير الـ pH على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة أن قيمة الـ pH المثلى للشكل السائل الذي يتضمن المشاركة الدوائية لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين هي pH=5.0 أياً كان نوع ملح البسودوإفدرين المستعمل، وأن ملح البسودوإفدرين الأفضل لتحقيق هذه القيمة هو بسودوإفدرين سلفات.

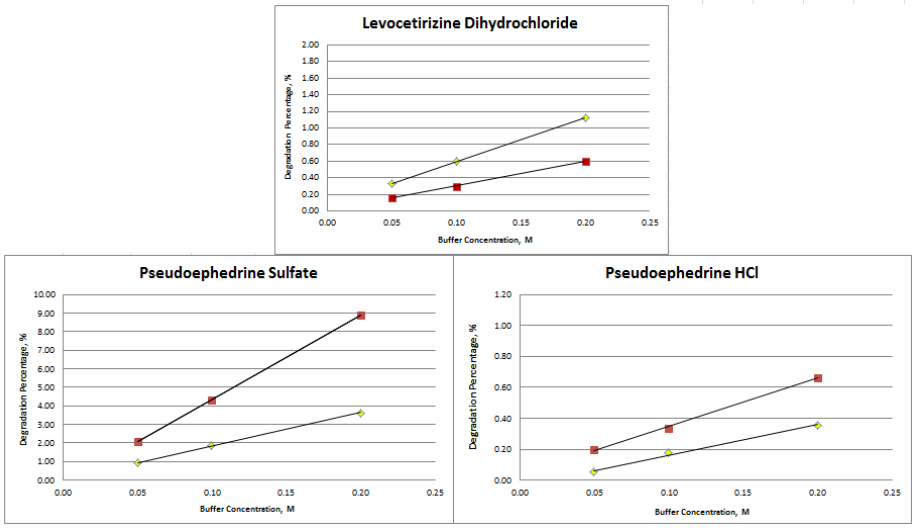
3-2-1-2- دراسة تأثير نوع وتركيز الوقاء:

إن نتائج دراسة تأثير اختلاف أنواع الوقاءات واختلاف تركيز الوقاء مبينة في الجدول (23) حيث تم حساب النسبة المئوية للتخرب لكل مادة في كل محلول مقابل نوع وتركيز الوقاء المستعمل.

الجدول (23): نتائج تأثير نوع وتركيز الوقاء على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، في الظلام، ولمدة 30 يوماً

Effect of buffer species on the degradation percentage (%) of Levocetirizine Dihydrochloride		
Degradation Percentage (%) in Acetate Buffer	**Degradation Percentage (%) in Citrate Buffer**	**C_{buf} (M) of Acetate and Citrate Buffers**
0.1592269	0.332363	0.05
0.2965899	0.595657168	0.10
0.5989650	1.1265698	0.20
Effect of buffer species on the degradation percentage (%) of Pseudoephedrine Sulfate		
Degradation Percentage (%) in Acetate Buffer	**Degradation Percentage (%) in Citrate Buffer**	**C_{buf} (M) of Acetate and Citrate Buffers**
2.0909895	0.9331925	0.05
4.290682	1.8573803	0.10
8.90918328	3.6108435	0.20
Effect of buffer species on the degradation percentage (%) of Pseudoephedrine Hydrochloride		
Degradation Percentage (%) in Acetate Buffer	**Degradation Percentage (%) in Citrate Buffer**	**C_{buf} (M) of Acetate and Citrate Buffers**
0.1989967	0.0499421	0.05
0.3358017	0.1759564	0.10
0.6644876	0.3549935	0.20

ثم تم رسم مخططات تمثل العلاقة بين النسبة المئوية للتخرب لكل مادة فعالة ونوع وتركيز الوقاء المستعمل كما هو مبين في الشكل (25).



الشكل (25): مخططات العلاقة بين النسبة المئوية للتخرب لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد وبين نوع وتركيز الوقاء المستعمل

حيث بينت هذه المخططات ما يلي:

تأثير نوع الوقاء:

✓ الوقاء الأسيتاتي: يحقق هذا الوقاء ثباتاً ممتازاً لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد ونفسر ذلك بأن قيمة الـ pK_a للمكون الحمضي لهذا الوقاء وهو حمض الخل (pK_a=4.76) قريبة من قيمة pH الثبات الأعظمي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (pH=5.0)، ويزيد هذا الوقاء من تخرب البسودوإفدرين سلفات بشكل ملحوظ ويزيد بشكل أقل من تخرب البسودوإفدرين هيدروكلورايد.

✓ الوقاء السيتراتي: يحقق هذا الوقاء ثباتاً جيداً ومقبولاً لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد.

النتيجة: الوقاء السيتراتي هو الوقاء الأفضل لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في شكل صيدلاني سائل.

تأثير تركيز الوقاء:

عند زيادة تركيز كل من الوقاءين الأسيتاتي والسيتراتي يزداد تخرب الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد.

النتيجة: إن التركيز المفضل لكل من الوقاءين والذي يعطي ثباتاً أعظمياً لهذه المواد الدوائية هو C_{Buf}=0.05M.

3-1-2-3- دراسة تأثير المشاركة الدوائية (تداخلات مادة دوائية–مادة دوائية):

بينت نتائج دراسة تأثير المشاركة الدوائية على ثباتية المستحضر والموضحة في الجدول (24) أنه لا يوجد تأثير ذو أهمية للمشاركة الدوائية سواء كانت (ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وبسودوإفدرين سلفات) أو (ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وبسودوإفدرين هيدروكلورايد) على ثباتية كل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بالمقارنة مع استخدام كل مادة لوحدها، ولم تتجاوز نسبة التخرب الناتجة عن أي مشاركة دوائية القيمة 0.50%، أي أنه يُمكن تصنيع مشاركة دوائية لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بشكل صيدلاني سائل.

كما بينت النتائج أن مشاركة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد مع البسودوإفدرين هيدروكلورايد أفضل من مشاركة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد مع البسودوإفدرين سلفات من حيث ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين ونفسر ذلك بما يلي:

إن القوة الشاردية للبسودوإفدرين سلفات أكبر من القوة الشاردية للبسودوإفدرين هيدروكلورايد حيث تزداد القوة الشاردية بزيادة تركيز وشحنة أيونات المادة حسب العلاقة:

$$\mu = \frac{1}{2} \sum_i C_i Z_i^2$$

حيث: μ هي القوة الشاردية، C_i هو تركيز الأنواع الشاردية *i*، Z_i هي الشحنة الكهربائية. وبما أن شحنة وتركيز البسودوإفدرين سلفات أكبر من مثيلتها للبسودوإفدرين هيدروكلورايد فإن القوة الشاردية للبسودوإفدرين سلفات أكبر من القوة الشاردية للبسودوإفدين هيدروكلورايد.

الجدول (24): نتائج تأثير المشاركة الدوائية على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، في الظلام، ولمدة 30 يوماً

	النسبة المتبقية من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (%)		**نسبة التخرب الناتج عن المشاركة الدوائية (%)**
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وحده	100.0	98.56	
محلول المشاركة مع البسودوإفدرين سلفات	-	98.24	0.32
محلول المشاركة مع البسودوإفدرين هيدروكلورايد	-	98.41	0.15
	النسبة المتبقية من البسودوإفدرين سلفات (%)		**نسبة التخرب الناتج عن المشاركة الدوائية (%)**
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول البسودوإفدرين سلفات وحده	100.0	99.07	
محلول المشاركة مع الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد		98.93	0.14
	النسبة المتبقية من البسودوإفدرين هيدروكلورايد (%)		**نسبة التخرب الناتج عن المشاركة الدوائية (%)**
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول البسودوإفدرين هيدروكلورايد وحده	100.0	99.20	
محلول المشاركة مع الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد		99.09	0.11

وبما أن زيادة القوة الشاردية تؤدي إلى زيادة ثابت سرعة التخرب حسب العلاقة:

$$\log k = \log k_0 + 2QZ_AZ_B\sqrt{\mu}$$

حيث: Z_A هي الشحنة الكهربائية للمادة A (وهي في حالتنا الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد) وZ_B هي الشحنة الكهربائية للمادة B (وهي في حالتنا البسودوإفدرين سلفات أو البسودوإفدرين هيدروكلورايد)، k ثابت سرعة التخرب، k_0 ثابت سرعة التخرب عندما $\mu=0$، 2Q هي قيمة تابعة لثابت العزل الكهربائي والكثافة والحرارة، μ هي القوة الشاردية، فإن البسودوإفدرين هيدروكلورايد هو الملح الأقل تخرباً عند مشاركته مع الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد.

نتيجة:

✓ من ناحية تأثير الـ pH على ثباتية مشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في شكل صيدلاني سائل:
كان ملح البسودوإفدرين سلفات هو الأفضل لهذه المشاركة الدوائية.

✓ من ناحية تأثير المشاركة الدوائية على ثباتية مشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في شكل صيدلاني سائل:
كان ملح البسودوإفدرين هيدروكلورايد هو الأفضل لهذه المشاركة الدوائية.

3-2-1-4- دراسة التوافق مع السواغات (تداخلات مادة دوائية–سواغ):

إن نتائج التحليل بطريقة الـ HPLC لمحاليل المواد الدوائية مبينة في الجداول (25) و(26) و(27).

الجدول (25): نتائج تأثير التوافق مع السواغات على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، في الظلام، ولمدة 30 يوماً

العينة	متوسط المساحة ± الإنحراف المعياري	النسبة المتبقية ±الإنحراف المعياري (%)	نسبة التخرب (%)	وجود قمم إضافية لنواتج تخرب	زمن الإحتفاظ (دقيقة)	النتيجة
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (الزمن البدئي)	4010.0 ± 1214238.3	–	–	–	14.80	–
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (بعد شهر واحد)	6453.8± 1210742.9	0.53 ± 99.71	0.29	–	14.78	–
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد + غليسيرين	5124.7 ± 1209725.0	0.42 ± 99.63	0.37	لا يوجد	14.81	متوافقة (لا يوجد تغير)
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد + ميتيل بارابين وبروبيل بارابين	8998.8 ± 1211738.9	0.74 ± 99.79	0.18	لا يوجد	14.79	متوافقة (لا يوجد تغير)
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد + محلول السوربيتول 70%	6089.9 ± 1206271.0	0.50 ± 99.34	0.66	لا يوجد	14.78	متوافقة (لا يوجد تغير)
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد + سكرين صوديوم	7472.8 ± 1209290	0.61± 99.59	0.41	لا يوجد	14.81	متوافقة (لا يوجد تغير)

العينة	متوسط المساحة ± الإنحراف المعياري	النسبة المتبقية ±الإنحراف المعياري (%)	نسبة التخرب (%)	وجود قمم إضافية لنواتج تخرب	زمن الإحتفاظ (دقيقة)	النتيجة
بسودوإفدرين سلفات (الزمن البدئي)	3216.52 ± 946170.02	–	–	–	6.41	–
بسودوإفدرين سلفات (بعد شهر واحد)	5823.74 ± 940983.68	0.61±99.45	0.55	–	6.43	–
بسودوإفدرين سلفات + غليسيرين	3998.67 ± 939751.68	0.42 ± 99.32	0.68	لا يوجد	6.40	متوافقة (لا يوجد تغير)
بسودوإفدرين سلفات + ميتيل بارابين وبروبيل بارابين	4583.83 ± 940375.11	0.48 ± 99.39	0.61	لا يوجد	6.39	متوافقة (لا يوجد تغير)
بسودوإفدرين سلفات + محلول السوربيتول 70%	5372.22 ± 937914.78	0.57 ± 99.13	0.87	لا يوجد	6.42	متوافقة (لا يوجد تغير)
بسودوإفدرين سلفات + سكرين صوديوم	4634.44 ± 939094.66	0.49 ± 99.25	0.75	لا يوجد	6.42	متوافقة (لا يوجد تغير)
العينة	**متوسط المساحة ± الإنحراف المعياري**	**النسبة المتبقية ±الإنحراف المعياري (%)**	**نسبة التخرب (%)**	**وجود قمم إضافية لنواتج تخرب**	**زمن الإحتفاظ (دقيقة)**	**النتيجة**
بسودوإفدرين هيدروكلورايد (الزمن البدئي)	1765.90 ± 508417.38	–	–	–	6.60	–
بسودوإفدرين هيدروكلورايد (بعد شهر واحد)	2177.76 ± 506898.15	0.43±99.70	0.30	–	6.61	–
بسودوإفدرين هيدروكلورايد + غليسيرين	1873.99 ± 505083.59	0.37 ± 99.34	0.66	لا يوجد	6.61	متوافقة (لا يوجد تغير)
بسودوإفدرين هيدروكلورايد + ميتيل بارابين وبروبيل بارابين	1676.92 ± 506745.4	0.33 ± 99.67	0.33	لا يوجد	6.62	متوافقة (لا يوجد تغير)
بسودوإفدرين هيدروكلورايد + محلول السوربيتول 70%	2095.36 ± 505815.55	0.41 ± 99.49	0.51	لا يوجد	6.63	متوافقة (لا يوجد تغير)
بسودوإفدرين هيدروكلورايد + سكرين صوديوم	1854.73 ± 506313.04	0.36 ± 99.59	0.41	لا يوجد	6.61	متوافقة (لا يوجد تغير)

حيث بينت هذه النتائج أن:

– الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين ثابتتين سواء كانت بشكلها النقي أو على شكل مزائج ثنائية مع السواغات.

– لا يوجد تغير في مساحة القمة أو زمن الإحتفاظ أو شكل القمة لهاتين المادتين ولم يتجاوز التغير في النسبة المتبقية 0.5% ولا توجد قمم إضافية تعود إلى نواتج تخرب المادتين أو السواغات، سواء كانت نقية أو على شكل مزيج مع سواغ.

نتيجة: إن السواغات المدروسة متوافقة مع كل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد، وإن ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وبسودوإفدرين سلفات وبسودوإفدرين هيدروكلورايد ثابتة سواء كانت بشكلها النقي أو على شكل مزائج ثنائية مع السواغات.

3-2-1-5- دراسة تأثير الضوء:

تمت دراسة تأثير الضوء على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة بتحليل العينات المخزنة والمحضرة في الوقاء السيتراتي pH=5.0. إن نتائج النسبة المتبقية من كل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد بعد انتهاء زمن التخزين موضحة في الجدول (28).

الجدول (26): نتائج دراسة تأثير الضوء على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، ولمدة 30 يوماً

عينات الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد			
	النسبة المتبقية من ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد(%)		نسبة التخرب الناتج عن الضوء (%)
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (في الظلام)	100.0	95.35	53.09
محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (في الضوء)	–	44.73	
عينات البسودوإفدرين سلفات			
	النسبة المتبقية من بسودوإفدرين سلفات (%)		**نسبة التخرب الناتج عن الضوء (%)**
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول البسودوإفدرين سلفات (في الظلام)	100.0	94.99	63.89
محلول البسودوإفدرين سلفات (في الضوء)	-	34.30	
عينات البسودوإفدرين هيدروكلورايد			
	النسبة المتبقية من بسودوإفدرين هيدروكلورايد(%)		نسبة التخرب الناتج عن الضوء (%)
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول البسودوإفدرين هيدروكلورايد (في الظلام)	100.0	95.09	62.90
محلول البسودوإفدرين هيدروكلورايد (في الضوء)	-	35.28	

نلاحظ من خلال دراسة النتائج أن تخرب الليفوسيتيريزين في العينات الحاوية على الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وتخرب البسودوإفدرين في العينات الحاوية على البسودوإفدرين سلفات والعينات الحاوية على البسودوإفدرين

هيدروكلورايد معتمِد على الضوء ويتسرع به، حيث كان تخرب الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في العينات المعرضة للضوء أسرع منه في العينات المحمية من الضوء.

3-2-1-6- دراسة تأثير الحرارة:

تمت دراسة تأثير الحرارة على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة بتحليل العينات المخزنة والمحضرة في الوقاء السيتراتي pH=5.0. إن نتائج النسبة المتبقية لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد بعد انتهاء زمن التخزين موضحة في الجدول (27).

الجدول (27): نتائج دراسة تأثير الحرارة على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات في الظلام، ولمدة 30 يوماً

عينات الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد			
	النسبة المتبقية من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد(%)		نسبة التخرب الناتج عن الحرارة (%)
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (عند الدرجة 25°م)	100.0	94.89	1.34
محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (عند الدرجة 37°م)	-	93.62	
عينات البسودوإفدرين سلفات			
	النسبة المتبقية من بسودوإفدرين سلفات (%)		نسبة التخرب الناتج عن الحرارة (%)
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول البسودوإفدرين سلفات (عند الدرجة 25°م)	100.0	95.37	3.77
محلول البسودوإفدرين سلفات (عند الدرجة 37°م)	-	91.77	
عينات البسودوإفدرين هيدروكلورايد			
	النسبة المتبقية من بسودوإفدرين هيدروكلورايد(%)		نسبة التخرب الناتج عن الحرارة (%)
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول البسودوإفدرين هيدروكلورايد (عند الدرجة 25°م)	100.0	96.08	3.45
محلول البسودوإفدرين هيدروكلورايد (عند الدرجة 37°م)	-	92.76	

نلاحظ من خلال دراسة النتائج أن تخرب الليفوسيتيريزين في العينات الحاوية على الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد غير معتمد على الحرارة فلا يوجد فارق كبير بين تخرب الليفوسيتيريزين عند درجة الحرارة 25°م وتخرب الليفوسيتيريزين عند درجة الحرارة 37°م، كما لوحظ أن تخرب البسودوإفدرين في العينات الحاوية على البسودوإفدرين سلفات والعينات الحاوية على البسودوإفدرين هيدروكلورايد يتسرع عند زيادة درجة الحرارة من 25°م إلى 37°م حيث كان تخرب البسودوإفدرين في العينات المخزنة عند درجة الحرارة 37°م أسرع منه في العينات المخزنة عند درجة الحرارة 25°م.

3-2-1-7- دراسة تأثير إضافة العامل المخلب (إديتات ثنائية الصوديوم):

تمت دراسة تأثير إضافة العامل المخلب إديتات ثنائية الصوديوم على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة عن طريق تحليل العينات المخزنة والمحضرة في الوقاء السيتراتي pH=5.0. إن نتائج النسبة المتبقية من كل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد بعد انتهاء زمن التخزين موضحة في الجدول (30).

الجدول (28): نتائج دراسة تأثير إضافة إديتات ثنائية الصوديوم على النسبة المئوية للتخرب لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) في الحالة السائلة لدى تخزين العينات عند درجة حرارة الغرفة، في الظلام، ولمدة 30 يوماً

عينات الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد			
	النسبة المتبقية من ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد(%)		**نسبة التخرب الناتج عن عدم وجود مضاد أكسدة (%)**
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (مع إضافة إديتات ثنائية الصوديوم)		99.69	5.47
محلول الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد (بدون إضافة إديتات ثنائية الصوديوم)		94.24	
عينات البسودوإفدرين سلفات			
	النسبة المتبقية من بسودوإفدرين سلفات (%)		**نسبة التخرب الناتج عن عدم وجود مضاد أكسدة (%)**
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول البسودوإفدرين سلفات (مع إضافة إديتات ثنائية الصوديوم)	100.0	99.92	6.86
محلول البسودوإفدرين سلفات (بدون إضافة إديتات ثنائية الصوديوم)	-	93.06	
عينات البسودوإفدرين هيدروكلورايد			
	النسبة المتبقية من بسودوإفدرين هيدروكلورايد(%)		**نسبة التخرب الناتج عن عدم وجود مضاد أكسدة (%)**
	في اللحظة الزمنية 0	بعد انتهاء فترة التخزين	
محلول البسودوإفدرين هيدروكلورايد (مع إضافة إديتات ثنائية الصوديوم)	100.0	99.59	6.05
محلول البسودوإفدرين هيدروكلورايد (بدون إضافة إديتات ثنائية الصوديوم)	-	93.56	

بينت نتائج هذه الدراسة والموضحة في الجدول (30) أن الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين كانتا أكثر ثباتاً بوجود إديتات ثنائية الصوديوم بالمقارنة مع عدم وجودها، ولذلك يُنصَح بإضافة إديتات ثنائية الصوديوم إلى صيغة الشكل السائل الفموي لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين.

3-2-2- النسب المئوية لتخرب لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة وفق التأثير المدروس:

يبين الجدول (29) نتائج النسبة المئوية للتخرب في الحالة السائلة لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) وفقاً للتأثير المدروس.

الجدول (29): نتائج النسبة المئوية للتخرب في الحالة السائلة لكل من الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) وفقاً للتأثير المدروس

	نسبة التخرب (%) بعد 30 يوماً		
التأثير المدروس	**ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد**	**بسودوإفدرين سلفات**	**بسودوإفدرين هيدروكلورايد**
pH			
pH=3.0	1.80	1.55	3.17
pH=3.5	2.28	2.53	2.21
pH=4.0	2.57	2.01	1.36
pH=4.5	1.19	1.71	2.18
pH=5.0	0.02	0.62	0.70
pH=5.5	2.19	1.50	0.01
pH=6.0	5.03	3.54	0.90
نوع الوقاء وتركيزه			
الوقاء السيتراتي 0.05M	0.33	0.93	0.05
الوقاء السيتراتي 0.10M	0.60	1.86	0.18
الوقاء السيتراتي 0.20M	1.13	3.61	0.35
الوقاء الأسيتاتي 0.05M	0.16	2.09	0.20
الوقاء الأسيتاتي 0.10M	0.30	4.29	0.34
الوقاء الأسيتاتي 0.20M	0.60	8.91	0.66
المشاركة الدوائية	0.32 مع بسودوإفدرين سلفات 0.15 مع بسودوإفدرين هيدروكلورايد	0.14	0.11
التوافق مع السواغات			
غليسيرين	0.37	0.68	0.66
متيل بارابن وبروبيل بارابن	0.18	0.61	0.33
محلول السوربيتول 70%	0.66	0.87	0.51
سكرين صوديوم	0.41	0.75	0.41
الضوء	53.09	63.89	62.90
الحرارة	1.34	3.77	3.45
عدم وجود مضاد أكسدة	5.47	6.86	6.05

تبين النتائج السابقة أن العاملين الأكثر أهمية الذين يساهمان في تخرب كلاً من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة هما الضوء والأكسدة، وخاصة أن الأكسدة هي أحد آليات التخرب الضوئي.

3-2-3- خلاصة نتائج دراسات ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة:

- ✓ تأثير الـ pH: إن pH الثبات الأعظمي للشكل السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين هي pH=5.0.
- ✓ تاثير نوع وتركيز الوقاء: إن الوقاء الأفضل للإستعمال في الصيغة هو الوقاء السيتراتي بتركيز 0.05M.
- ✓ تأثير المشاركة الدوائية: لا يوجد تأثير مهم لهذه المشاركة الدوائية على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين، ويمكن صياغة هذه المشاركة الدوائية في شكل صيدلاني سائل.
- ✓ تأثير التوافق مع السواغات: إن الغليسيرين والميتيل بارابين والبروبيل بارابين ومحلول السوربيتول 70% وسكرين صوديوم سواغات متوافقة مع كل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين.
- ✓ تأثير الضوء: إن تخرب الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة مُعتَمد على الضوء ويجب حفظ المستحضر الذي يحتوي على هذه المشاركة في شكل سائل في عبوات عاتمة بنية اللون بعيداً عن الضوء.
- ✓ تأثير الحرارة: إن تخرب الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة غير مُعتَمد على الحرارة.
- ✓ تأثير إضافة مضاد أكسدة: إن الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين أكثر ثباتاً في الحالة السائلة بوجود إديتات ثنائية الصوديوم، لذلك ينصح بإضافة إديتات ثنائية الصوديوم بتركيز 1 ملغ/مل إلى صيغة الشكل السائل لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين.

ومن هذه النتائج تبينت ملامح صيغة الشكل الصيدلاني السائل لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين.

4- دراسة الصياغة Formulation Study:

4-1- تركيز المواد الدوائية (الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين) في الشكل السائل:

استناداً إلى ما نص عليه المرجع الدوائي العالمي Martindale الطبعة السادسة والثلاثون [3] تم اعتماد التراكيز النهائية لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في صيغة الشكل الفموي السائل.

2.5 ملغ/5 مل = 0.5 ملغ/مل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد

60 ملغ/5 مل=12 ملغ/مل من بسودوإفدرين سلفات أو 30 ملغ/5 مل=6 ملغ/مل من بسودوإفدرين هيدروكلورايد

4-2- النسبة المئوية المضافة من المواد الدوائية (الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين):

تمت إضافة نسبة إضافية Overage هي 3.0% من كل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين حيث تم تحديد هذه النسبة بناء على النسبة المضافة للبسودوإفدرين في شراب البسودوإفدرين (3.0%) والنسبة المضافة للسيتيريزين في شراب السيتيريزين (3.0%).

4-3- نقاوة المواد الدوائية (الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين):

كانت نتائج نقاوة الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) كما يلي:

- ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 98.554256%.
- بسودوإفدرين سلفات 98.671243%.
- بسودوإفدرين هيدروكلورايد 99.619928%.

4-4- انحلالية المواد الدوائية:

إن الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سواء سلفات أو هيدروكلورايد) هي مواد منحلة في الماء وفق ما تنص عليه المراجع العلمية (نشرة المعلومات الدوائية للمستحضر العالمي (Xyzal) ودستور الأدوية الأميركي USP 36 والمرجع الدوائي (تحليل كلارك للأدوية والسموم)) [2، 8، 39]، وكان ذلك الإنحلال واضحاً لدى تحضير الشكل الصيدلاني والمحاليل العيارية اللازمة للتحليل، ولذلك لا توجد حاجة لإضافة مواد مساعدة على الإنحلال.

4-5- الثباتية الفيزيائية والكيميائية:

تم تحقيق الثباتية الفيزيائية من خلال عدم تغير لون وطعم المحلول الفموي وذلك باستعمال مواد حافظة من النمو الجرثومي وهي المتيل بارابين والبروبيل بارابين ومن خلال الحفاظ على عدم تشكل بلورات أو رواسب في المستحضر وتم تحقيق الثباتية الكيميائية لكلا المادتين الدوائيتين في المحلول الفموي عن طريق الحفاظ على قيمة pH الثبات الأعظمي باستعمال الوقاء السيتراتي المؤلف من حمض الليمون مونوهيدرات وليمونات ثلاثية الصوديوم ديهيدرات (تم الوصول إلى هذه القيمة من خلال دراسة مخطط (pH–ثباتية)) وعن طريق منع حدوث عمليات الأكسدة باضافة مادة إديتات ثنائية الصوديوم كمضاد أكسدة (غير مباشر) وعن طريق حفظ الدواء في عبوات زجاجية عاتمة للحماية من تأثير الضوء، وبالمحصلة منع تخرب المادتين الفعالتين أو احداهما عند تواجدهما معاً في المحلول الفموي.

4-6- كيفية حفظ المستحضر من النمو الجرثومي:

تم تحقيق الفعالية المضادة للجراثيم باستعمال مشاركة لمركبين من البارابينات نظراً لحدوث تأثيرات تآزرية بينها، ولذلك تم استعمال الميتيل بارابين والبروبيل بارابين معاً من أجل حفظ المستحضر من النمو الجرثومي [31].
إضافةً إلى كونها سواغات مشتركة بين السواغات الداخلة في تركيب المحلول الفموي لليفوسيتيريزين وحدها وفي تركيب المحلول الفموي للبسودوإفدرين وحدها.

4-7- اختيار السواغات:

الوقاء:

تم اختيار الوقاء السيتراتي بتركيز 0.05M المؤلف من حمض الليمون وسيترات الصوديوم لكونه يحقق مجال الـ pH المطلوب (pH= 3.0 – 6.0) الذي يحقق الثبات الأفضل والإنحلالية الفضلى لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين ولكونه حقق ثباتاً أكبر لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بالمقارنة مع الوقاء الأسيتاتي كما رأينا في نتائج دراسة تأثير نوع الوقاء في مرحلة ما قبل الصياغة كما أن هذا الوقاء ذو طعم مستحب في الأشكال السائلة المعدة للأطفال.

المادة المُحلية:

نظراً للطعم المر لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد تمت إضافة سكرين صوديوم ومحلول السوربيتول 70% إلى صيغة المحلول الفموي من أجل تحليته.

المادة الرافعة للزوجة:

تمت إضافة الغليسيرين بكمية مناسبة إلى صيغة الشكل السائل بحيث تحقق اللزوجة المطلوبة لهذا الشكل.

المادة المُخلِّبة (المُضادّة للأكسدة):

إن إديتات ثنائية الصوديوم تمنع تفاعل أكسدة العديد من المركبات لقدرتها على الإرتباط بالشوارد ذات الدور الكبير في تسريع تفاعل الأكسدة ولذلك تمت دراسة إمكانية استعمالها وتمت إضافتها إلى الصيغة.

الملونات:

لم يتم استعمال ملونات في صيغة الشكل الفموي السائل نظراً لأنه قد ترافقت الدراسات المهتَمّة بأمان استعمال الملونات في المنتجات الغذائية والصيدلانية مع تقارير من فرط الحساسية والنشاط الفرط حركي وخاصة عند الأطفال [31]. كما أن المحلول الفموي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد وشراب السيتيريزين هيدروكلورايد والشرابات المحتوية على البسودوإفدرين هيدروكلورايد لا تحتوي في تركيبها على الملونات فهي عديمة اللون.

المطعمات:

تم استعمال مطعم الفريز نظراً لقدرته العالية على تغطية الطعم المر للمواد الفعالة ولطعمه المستحب والمفضل عند الأطفال.

4-8- الصيغة النهائية المطورة للشكل الصيدلاني السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين:

بناء على نتائج دراسة ما قبل الصياغة (نتائج دراسة انحلالية وثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة) ونتائج دراسة الصياغة (مثل تراكيز وانحلالية المواد الفعالة والسواغات المستعملة)، تم وضع الصيغة المطورة النهائية للشكل الصيدلاني الفموي السائل والمبينة في الجدول (30)، وهي مشتركة لكل من المشاركتين، حيث تحتوي المشاركة الأولى على ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل وبسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل وتحتوي المشاركة الثانية على ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل وبسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل.

الجدول (30): الصيغة النهائية المطورة للشكل الصيدلاني السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين

المادة	الكمية النظرية (ملغ/مل)	الزيادة (%)	الكمية الفعلية (ملغ/مل)	دور المادة
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد	0.50	3.0	0.515	مادة فعالة
بسودوإفدرين سلفات أو بسودوإفدرين هيدروكلورايد	12.00 6.00	3.0 3.0	12.36 6.18	مادة فعالة
متيل بارابن	1.00	0	1.00	مواد حافظة
بروبيل بارابن	0.30	0	0.30	
سكرين صوديوم	0.50	0	0.50	مادة مُحَلِّية
إديتات ثنائية الصوديوم	1.00	0	1.00	مادة مثبتة
حمض الليمون مونوهيدرات	3.65	0	3.65	وقاء من أجل الحفاظ على قيمة pH ثابتة
سيترات الصوديوم ديهيدرات	9.49	0	9.49	
محلول السوربيتول (70%)	500.00	0	500.00	مادة محلية
غليسيرين	235.20	0	235.20	مادة رافعة للزوجة
طعم الفريز	0.15	0	0.15	مادة مطعمة
ماء منقى	م.ك حتى 1 مل	0	م.ك حتى 1 مل	محل

5- المراقبة الدوائية للشكل الصيدلاني الفموي السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين:

يبين الجدول (31) نتائج اختبارات المراقبة الدوائية للشكل الصيدلاني السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين:

الجدول (31): نتائج اختبارات المراقبة الدوائية للشكل السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين لكل من المشاركتين (تحتوي المشاركة الأولى على ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل وبسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل وتحتوي المشاركة الثانية على ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل وبسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل)

الإختِبار	المواصفة	طريقة الإختبار	النتائج	
			المشاركة الأولى	المشاركة الثانية
الوصف	محلول رائق،عديم اللون	اختبار عياني(بالعين المجردة)	محلول رائق،عديم اللون	محلول رائق،عديم اللون
الطعم	المحلول بطعم الفريز	اختبار حسي (بالتذوق)	المحلول بطعم الفريز	المحلول بطعم الفريز
الرائحة	المحلول برائحة الفريز	اختبار حسي (بالشم)	المحلول برائحة الفريز	المحلول برائحة الفريز
حجم التعبئة	يجب ألا يكون متوسط الحجم للسائل المأخوذ من الـ 10 عبوات أقل من 100 مل ولا توجد أي عبوة حجم محتواها أقل من 95 مل	باستعمال مقياس مدرج سعة 250 مل	متوسط الحجم 100.0 مل ولا توجد أي عبوة حجم محتواها أقل من 95 مل	متوسط الحجم 99.0 مل ولا توجد أي عبوة حجم محتواها أقل من 95 مل
pH	5.4 – 4.6	باستعمال جهاز قياس pH	4.95	4.92
الكثافة النوعية	1.20 – 1.00	بقسمة وزن حجم معين من السائل على وزن نفس الحجم من الماء	1.14	1.18
التسريب	العبوات غير قابلة للتسريب	USP 36	موافق	موافق
الإغلاق	الإغلاق جيد، محكم، غير متشقق	اختبار حسي	موافق	موافق
الذاتية	يجب أن يحقق الإختبار إيجابية وجود كل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات أو هيدروكلورايد في المستحضر	HPLC يتم تحديد الذاتية اعتماداً على مقارنة أزمان الإحتفاظ للمواد الفعالة في المحلول العياري ومحلول المعايرة	أزمان الإحتفاظ: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 14.8 دقيقة بسودوإفدرين سلفات 6.5 دقيقة	أزمان الإحتفاظ: ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 14.8 دقيقة بسودوإفدرين سلفات 6.6 دقيقة
المعايرة	90.0 % – 110.0 % من الكمية المصرح عنها من كل من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في المستحضر	HPLC	ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد %102.89 بسودوإفدرين سلفات %102.78	ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد %103.09 بسودوإفدرين هيدروكلورايد %102.90
تجانس توزع المواد الفعالة	تم حساب قيمة القبول حسب الجدول 2 الموجود في فقرة تجانس وحدات الجرعة (905) في الـ USP 36	USP 36، تم الإختبار بمعايرة المادتين الفعالتين في 10 عبوات إفرادياً بتطبيق طريقة المعايرة على مقدار مأخوذ من كل عبوة فردية وحساب المحتوى في 5 مل	موافق للـ USP 36	موافق للـ USP 36
التلوث الميكروبيولوجي	1–التعداد الجرثومي الهوائي الكلي لا يزيد عن 10^2(200) مستعمرة/مل 2– التعداد الكلي للخمائر والفطور لا يزيد عن 10^1(20) مستعمرة/مل 3– عدم وجود إيشيريشيا كولاي	USP 36 ،Ph Eur (طريقة طبق الآغار)	موافق للـ USP 36 سلبي (< 10^2 مستعمرة/مل) سلبي (< 10^1 مستعمرة/مل) سلبي (لا توجد)	موافق للـ USP 36 سلبي (< 10^2 مستعمرة/مل) سلبي (< 10^1 مستعمرة/مل) سلبي (لا توجد)

6- دراسات الثبات على الرف للشكل الصيدلاني السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين:

6-1- نتائج دراسات الثبات على الرف:

تبين الجداول (32) و(33) نتائج دراسة الثباتية على الرف للشكل الصيدلاني السائل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين للمشاركتين خلال 24 شهراً من تخزين عينات الشكل السائل:

الجدول (32): نتائج دراسة الثبات على الرف للشكل الفموي السائل للمشاركة الدوائية (ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل وبسودوإفدرين سلفات 12 ملغ/مل)

الزمن (شهر)	0	3	6	9	12	18	24
اللون	عديم اللون	عديم اللون	عديم اللون	عديم اللون	عديم اللون	عديم اللون	عديم اللون
الرائحة	رائحة الفريز	رائحة الفريز	رائحة الفريز	رائحة الفريز	رائحة الفريز	رائحة الفريز	رائحة الفريز
الطعم	بطعم الفريز	بطعم الفريز	بطعم الفريز	بطعم الفريز	بطعم الفريز	بطعم الفريز	بطعم الفريز
الرواق	رائق	رائق	رائق	رائق	رائق	رائق	رائق
pH	5.02	4.95	4.97	4.93	4.90	4.92	4.88
المعايرة (%)							
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد	103.08	102.25	101.19	100.65	100.09	99.58	99.07
بسودوإفدرين سلفات	102.77	102.09	101.55	101.05	100.34	99.85	99.22
التلوث الميكروبيولوجي	مطابق	مطابق	مطابق	مطابق	مطابق	مطابق	مطابق

الجدول (33): نتائج دراسة الثبات على الرف للشكل الفموي السائل للمشاركة الدوائية (ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد 0.5 ملغ/مل وبسودوإفدرين هيدروكلورايد 6 ملغ/مل)

الزمن (شهر)	0	3	6	9	12	18	24
اللون	عديم اللون	عديم اللون	عديم اللون	عديم اللون	عديم اللون	عديم اللون	عديم اللون
الرائحة	رائحة الفريز	رائحة الفريز	رائحة الفريز	رائحة الفريز	رائحة الفريز	رائحة الفريز	رائحة الفريز
الطعم	بطعم الفريز	بطعم الفريز	بطعم الفريز	بطعم الفريز	بطعم الفريز	بطعم الفريز	بطعم الفريز
الرواق	رائق	رائق	رائق	رائق	رائق	رائق	رائق
pH	5.04	5.00	4.99	4.92	4.92	4.90	4.89
المعايرة (%)							
ليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد	102.98	101.99	100.89	100.01	99.07	100.03	98.56
بسودوإفدرين هيدروكلورايد	102.48	101.76	101.18	100.48	99.86	99.24	98.61
التلوث الميكروبيولوجي	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد

6-2- تقييم نتائج دراسات الثبات على الرف:

تم تقييم نتائج دراسة الثباتية على الرف فيزيائياً وكيميائياً وميكروبيولوجياً وفق الـ ICH [41].

التقييم الفيزيائي والكيميائي:

اللون: لم يلاحظ أي تغير في لون المحلول الفموي في أي من العينات المدروسة لكلا المشاركتين.

الرائحة: كانت الرائحة هي رائحة الفريز طوال فترة التخزين بالرغم من أنه تناقصت شدة الرائحة مع الزمن.

الطعم: كان الطعم نفسه عملياً طوال فترة الدراسة لجميع العينات المدروسة لكلا المشاركتين وهو طعم الفريز ولم يلاحظ أي تناقص في شدة الطعم مما يدل على أن كمية المطعم المضافة كانت كافية لإعطاء نفس الطعم طوال فترة الدراسة.

الترسب (تشكل البلورات): لم يلاحظ أي ترسب أو تشكل بلورات في أي من العينات المدروسة.

pH: تراوحت الـ pH الإبتدائية لكل عينات المشاركتين الدوائيتين بين 4.95 و 5.05 وتراوحت الـ pH النهائية لكل عينات المشاركتين الدوائيتين بين 4.80 و 5.00 (وهذه القيم تقع ضمن مجال الـ pH الموصوف وهو: 4.60 – 5.40) ولوحظ تناقص طفيف في قيمة الـ pH في كل العينات ولكنه لم يتجاوز 0.2، ولذلك يمكن الإستنتاج بأن المواد المكونة للوقاء (حمض الليمون مونوهيدرات وليمونات الصوديوم ديهيدرات) كانت قادرة على التحكم بقيمة pH المحلول الفموي. وبالإضافة إلى ذلك فإن قيمة الـ pH الثابتة تقريباً والتي تساوي 5 تقريباً كان لها علاقة واضحة بثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين نظراً لعدم هبوط قيمة تركيز المادة الفعالة لكل من الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات أو هيدروكلورايد عن 97% من الكمية المصرح عنها لكل مادة فعالة.

المعايرة: كانت تراكيز المواد الفعالة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات في المشاركة الأولى وتراكيز المواد الفعالة الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد في المشاركة الثانية أكبر من 98% من الكمية المصرح عنها لكل مادة فعالة، ولم تُلاحظ أي فروقات بين عينات المشاركتين وإن قيمة متوسط لـ pH كانت كفيلة بإنقاص تخرب كل من المواد الفعالة بسبب قربها من قيمة pH الثبات الأعظمي للمواد الفعالة المكونة لكلا المشاركتين. وإن الإختلاف في نوع ملح البسودوإفدرين بين المشاركتين (بسودوإفدرين سلفات في المشاركة الأولى وبسودوإفدرين هيدروكلورايد في المشاركة الثانية) لم يؤثر بشكل كبيرعلى ثباتية المواد الفعالة ولكن المشاركة الأولى والتي تحتوي على البسودوإفدرين سلفات كملح للبسودوإفدرين أعطت نتائجاً أفضل من حيث ثبات المواد الفعالة من نتائج المشاركة الثانية والتي تحتوي على البسودوإفدرين هيدروكلوارايد كملح للبسودوإفدرين، وذلك كما هو مبين في الجداول 6 و 7 و 2. إن المواد المكونة للوقاء (حمض الليمون مونوهيدرات وسيترات الصوديوم الثلاثية ديهيدرات) لم تتنافر مع المادتين الفعالتين بل على العكس كان لها الدور الكبير في المحافظة على قيمة pH ثابتة قريبة جداً من pH الثبات الأعظمي للمواد الفعالة المكونة لكلا المشاركتين بالإضافة إلى أنه تبين بالتجربة أن لها دور في تحسين الطعم أيضاً.

كانت نتائج اللوغاريتم النيبري للنسبة المئوية المتبقية من الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين خلال فترة الـ 24 شهراً في كل من المشاركتين كما هو مبين في الجدول (34):

الجدول (34): نتائج اللوغاريتم النيبري للنسبة المئوية المتبقية من

الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين خلال فترة الـ 24 شهراً في كل من المشاركتين

Levocetirizine Dihydrochloride and Pseudoephedrine sulfate Oral Solution				
Time (Month)	Levocetirizine Dihydrochloride		Pseudoephedrine Sulfate	
	Remaining Concentration (%)	Ln Remaining Concentration (%)	Remaining Concentration (%)	Ln Remaining Concentration (%)
0	100.00	4.60517	100.00	4.60517
3	99.45	4.599655	99.63	4.601457
6	98.95	4.594615	99.16	4.596748
9	98.55	4.590564	98.80	4.593102
12	98.04	4.585376	98.15	4.586467
18	97.46	4.579442	97.16	4.576381
24	96.54	4.569957	96.42	4.568723
K Corr.Coeff	K $1.423x10^{-3}month^{-1}$	Corr.Coeff -0.99661	K $1.573x10^{-3}month^{-1}$	Corr.Coeff -0.99783
Levocetirizine Dihydrochloride and Pseudoephedrine Hydrochloride Oral Solution				
Time (Month)	Levocetirizine Dihydrochloride		Pseudoephedrine Hydrochloride	
	Remaining Concentration (%)	Ln Remaining Concentration (%)	Remaining Concentration (%)	Ln Remaining Concentration (%)
0	100.00	4.60517	100.00	4.60517
3	99.36	4.598719	99.38	4.598901
6	99.14	4.596559	98.81	4.593185
9	98.78	4.592916	98.34	4.588429
12	98.38	4.588863	97.87	4.583651
18	97.55	4.580409	96.91	4.573825
24	96.78	4.572488	96.30	4.567456
K Corr.Coeff	K $1.322x10^{-3}month^{-1}$	Corr.Coeff -0.99744	K $1.577x10^{-3}month^{-1}$	Corr.Coeff -0.99532

❖ بينت حركيات التخرب أن تخرب الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد) هو من المرتبة الأولى لوجود ارتباط خطي بين اللوغاريتم النيبري للنسبة المتبقية من المادة والزمن حسب معادلة التفاعلات من المرتبة الأولى [42]:

$$\ln \frac{C_A}{C_A^0} = -kt$$

حيث:

C_A: تركيز المادة A في اللحظة t. C^0_A: التركيز البدئي للمادة A.

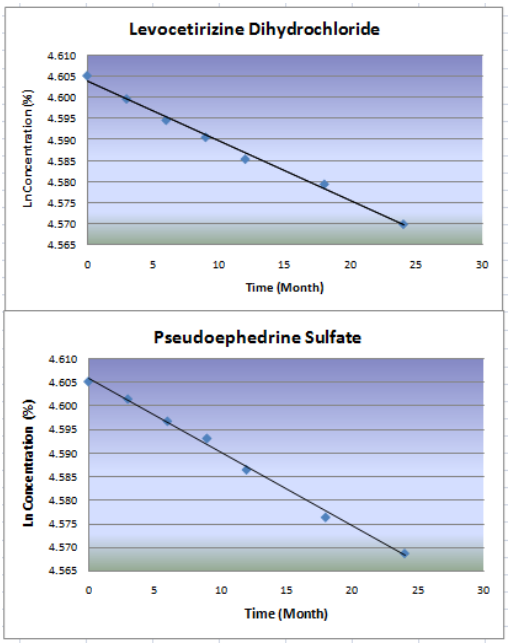
k: ثابت سرعة التفاعل. t: الزمن.

وأكدت قيم معاملات الإرتباط (معامل الإرتباط أكبر من 0.99) أن هذا الإرتباط قوي مما يؤكد أن تخرب المادتين تفاعل من المرتبة الأولى.

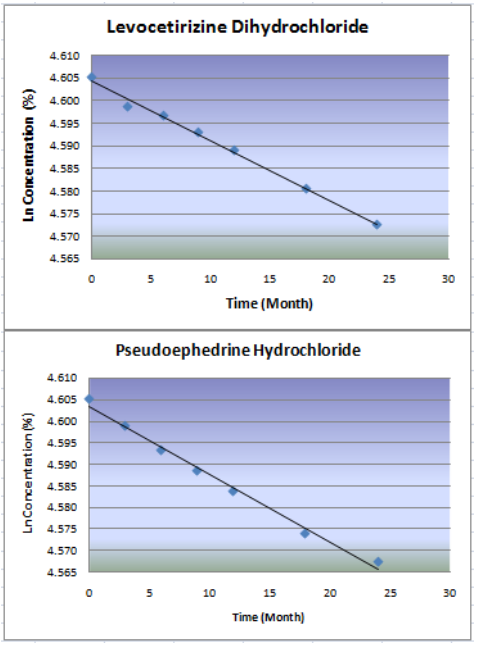
❖ بينت نتائج ثوابت التخرب أن الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد تتخرب بسرعة أكبر عند مشاركتها مع البسودوإفدرين سلفات من تخربها عند مشاركتها مع البسودوإفدرين هيدروكلورايد لأن ثابت التخرب في الحالة الأولى أكبر من مثيله في الحالة الثانية كما أكدت أنه لا يوجد فارق ذو أهمية بين تخرب البسودوإفدرين سلفات وبين تخرب البسودوإفدرين هيدروكلورايد لدى مشاركتهما مع الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد لتساوي ثوابت التخرب في الحالتين.

يمثل الشكل (26) مخططات الدرجة الاولى لتخرب الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الشكل الصيدلاني السائل في كل من المشاركتين.

A



B



الشكل (26): مخططات الدرجة الاولى لتخرب الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الشكل الصيدلاني السائل
A: المحلول الفموي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين سلفات
B: المحلول الفموي لليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد والبسودوإفدرين هيدروكلورايد

التقييم الميكروبيولوجي:

خلال الـ 24 شهراً من الدراسة، لم يلاحظ أي تلوث جرثومي ذو قيمة مهمة في جميع العينات ضمن ظروف التخزين، وكانت النتائج ضمن الحدود المسموحة التي نص عليها دستور الأدوية الأوروبي ودستور الأدوية الأميركي والمبينة في الجدول (31).

من خلال هذا التقييم لدراسة الثبات على الرف لعينات المشاركتين تم الإستنتاج بأن الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين ثابتتان عند مشاركتهما في شكل صيدلاني سائل ويمكن أن يبقى هذا الشكل السائل ثابتاً لمدة 24 شهراً على الأقل عندما يخزن على الرف (نظراً لأنه حافظ على ثباته على الرف طوال مدة التخزين وهي 24 شهراً).

الإستنتاجات Conclusions

❖ يمكن مُشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في شكل صيدلاني سائل بحيث تكون هاتين المادتين الدوائيتين ثابتتين خلال فترة تخزين هذا الشكل الصيدلاني السائل على الرف ويمكن استعمال أحد نوعين لملح البسودوإفدرين في هذه المشاركة هما: بسودوإفدرين سلفات، بسودوإفدرين هيدروكلورايد.

❖ تم التوصل إلى صيغة مثلى للمحلول الفموي لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين تحقق ثباتية جيدة لهاتين المادتين الدوائيتين، ويمكن أن يبقى المحلول الفموي المحضر وفق هذه الصيغة ثابتاً عند تخزينه على الرف عند درجة حرارة الغرفة لمدة 24 شهراً على الأقل.

❖ إن pH الثبات الأعظمي لهذا الشكل السائل هي pH=5.0 سواء تم استعمال ملح البسودوإفدرين سلفات أو البسودوإفدرين هيدروكلورايد.

❖ إن الوقاء الأفضل لتحقيق هذه القيمة من الـ pH وتحقيق الثباتية الأفضل لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين هو الوقاء السيتراتي بتركيز 0.05M وإن نتائج استعمال الوقاء السيتراتي أفضل من نتائج استعمال الوقاء الأسيتاتي.

❖ تفيد إضافة إديتات ثنائية الصوديوم كمضاد أكسدة غير مباشر (مادة مخلبة) بتركيز إلى صيغة المحلول الفموي لليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات أو هيدروكلورايد) في تحسين ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين.

❖ إن تخرب الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين هو تفاعل من المرتبة الأولى وهو معتمد على الضوء ويتسرع به وإن طريق التخرب الرئيسي لكل من هاتين المادتين الدوائيتين هو الأكسدة.

❖ إن تقارب قيم ثوابت تخرب البسودوإفدرين سلفات والبسودوإفدرين هيدروكلورايد لدى مشاركة كل منهما مع الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد يؤكد تعادل أفضلية استخدام البسودوإفدرين سلفات من حيث تأثير الـ pH مع أفضلية استخدام البسودوإفدرين هيدروكلورايد من حيث تأثير المشاركة الدوائية.

❖ إن الطريقة المُطَوَّرة للمعايرة محددة للثباتية وصالحة من أجل معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الأشكال الصيدلانية السائلة ويمكن استخدامها في المراقبة الدوائية الروتينية وفي دراسات الثبات.

التوصيات والمقترحات Recommendations and Suggestions

❖ يوصى بإجراء الدراسات السريرية والفارماكولوجية اللازمة للمحلول الفموي الذي يحتوي على المشاركة الدوائية (ليفوسيتيريزين وبسودوإفدرين) من أجل استكمال جميع الدراسات اللازمة لطلب ترخيص هذا المستحضر.

❖ يوصى إلى وزارة الصحة السورية بطلب ترخيص هذه الصيغة من منظمة الدواء والغذاء العالمية FDA بعد استكمال جميع الدراسات السريرية والفارماكولوجية اللازمة وخاصة وأنه حسب توصيات الـ FDA لا يحتاج المحلول الفموي إلى دراسة توافر حيوي.

❖ يوصى بالإستفادة من الصيغة الصيدلانية المطورة في تصنيع المشاركة الدوائية لليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بشكل محلول فموي.

❖ يوصى بعدم استعمال الملونات في صيغ المستحضرات السائلة الفموية المعدة للإستعمال عند الأطفال.

❖ يوصى بدراسة تأثير إضافة مواد أخرى مثبطة للأكسدة عدا مادة إديتات ثنائية الصوديوم، على ثباتية الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين في الحالة السائلة.

❖ يوصى بتحضير الشكل الفموي السائل لمشاركة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بشكل مستحضر سائل وحيد الجرعة نظراً لأهمية المستحضرات الوحيدة الجرعة في تقليل التلوث الميكروبيولوجي وفي تحقيق التجانس في وحدات الجرعة.

❖ يوصى بتعبئة المحاليل والشرابات الفموية الحاوية على الليفوسيتيريزين أو البسودوإفدرين في عبوات زجاجية عاتمة محكمة الإغلاق بعيداً عن الضوء نظراً لشدة حساسية هاتين المادتين الدوائيتين للضوء و للأكسدة.

❖ يوصى باعتماد زمن صلاحية لجميع المستحضرات الحاوية على الليفوسيتيريزين ديهيدروكلورايد لا يتجاوز 24 شهراً.

❖ يوصى بالإستفادة من الطريقة التحليلية المطورة في معايرة الليفوسيتيريزين والبسودوإفدرين بنفس الوقت في الأشكال الصيدلانية السائلة، من أجل الإستفادة منها في اختبارات مراقبة النوعية ودراسات الثبات.

❖ يوصى باستخدام تقنية الزوج الشاردي كتقنية ناجعة في تحليل المواد القطبية ومنها الليفوسيتيريزين (ديهيدروكلورايد) والبسودوإفدرين (سلفات، هيدروكلورايد).

الأبحاث المنشورة

1) Bitar Y. & Mourad M. (2014). Formulation Development and Stability Study of Oral Solution of Levocetirizine and Pseudoephedrine Combination. *Arab Journal of Pharmaceutical Sciences.* (Accepted 21.08.2014)

2) Bitar, Y. & Mourad M. (2014). Development and Validation of A Stability-indicating LC-Method for the simultaneous determination of Levocetirizine and Pseudoephedrine in Liquid Preparations. *Research journal of Aleppo University, Medical science series*. (Accepted 17.11.2014)

References المراجع

1. Joint Formulary Committee. *British National Formulary 67, 67th Edition*, Pharmaceutical Press, **2014**, 201-205.

2. FDA (US Food and Drug Administration.). *label (Prescribing Information) approved on 11/07/2013 for XYZAL*, NDA no. 022157**.** Reference ID: 3403399, (USA), **2013**.

3. Sweetman S.C. *Martindale, The Complete Drug Reference 36th Edition*, Pharmaceutical Press, London (UK), **2009**, p583-1572-2823.

4. Lin G-Q. ; You Q-D. ; Cheng J-F. *Chiral Drugs: Chemistry and Biological Action*, John Wiley & Sons, **2011**, 18-21.

5. Clark M.A. ; Harvey R.A. ; Finkel R. ; Rey J.A. ; Whalen K. *Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology, 5th Edition*, Lippincott Williams & Wilkins, **2011**, 83-85.

6. Ministry of Health and Family Welfare. *Indian Pharmacopoeia, Vol. II., 5th Edition*, Indian Pharmacopoeia Commission, New Delhi (India), **2007**, p 1290.

7. Council of Europe, *European Pharmacopoeia Commission. European Pharmacopoeia, 7.0, 7th Edition*, Council of Europe, Stranbourg (France), **2011**.

8. U. S. Pharmacopeial Convention, *United States Pharmacopeia 36, National Formulary 31, 36th Edition*, Rockville, MD, USA, **2013**.

9. Huynh-Ba K. *Handbook of Stability Testing in Pharmaceutical Development 1st Edition*, Springer Science+Business Media, LLC 2009, New York (USA), **2009**, 139-159.

10. Swarbrick, J., *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology 3rd Edition*, Informa Healthcare USA, Inc.,New York (USA), **2007**, 2216-2230.

11. Ahuja, S. & Dong, M.W., *Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC, vol 6. 1st Edition*, Elsevier: Academic Press. New York, USA, **2005**, 37-38.

12. Li M. *Organic Chemistry of Drug Degradation*, *Chapter 8*, Royal Society of Chemistry, **2012**, 240-245.

13. ICH Q2(R1), *Validation Of Analytical Procedures: Methodology*, International Conference on Harmonisation.; Geneva, Switzerland, November **2005**, 6-10.

14. Ermer J, Miller J H, *Method validation in pharmaceutical analysis*, *1st Edition*. Wiley-VCH Pub., Germany, **2005**, 15-19.

15. Yoshioka, S.; Stella, V.; *Stability of Drugs and Dosage Forms*, Kluwer Academic Plenum Publishers: New York, **2002**.

16. Banker G.S., Siepmann J., Rhodes C. *Modern Pharmaceutics, 4th Edition*, CRC Press, **2002**, 227-231.

17. Florence A.T, Attwood D. *Physicochemical Principles of Pharmacy 5th Edition*, Pharmaceutical Press, **2011**, 89-140.

18. Ahuja S, Scypinski S, *Handbook of Modern Pharmaceutical Analysis, Vol.3*, Separation Science and Technology, Academic press, San Diego (USA), 180-181, **2001**.

19. Niazi S.K.; *Handbook of Preformulation-Chemical, Biological, and Botanical Drugs*, Informa Healthcare USA, Inc., New York (USA), **2007**.

20. Gibson M; *Pharmaceutical Preformulation and Formulation, 2nd Edition*. Informa Healthcare USA, Inc., New York, USA, **2009**.

21. Katdare A. ; Chaubal M V., *Excipient Development for Pharmaceutical, Biotechnology, and Drug Delivery Systems*, Informa Healthcare USA, Inc., New York, USA, **2006**, 155-180.

22. Loftsson T. *Drug Stability for Pharmaceutical Scientists, Chapter 7*, Academic Press, **2014**, 121-126.

23. Pramar, Y.; Gupta, V.D. *Preformulation studies of spironolactone: effect of pH, two buffer species, ionic strength, and temperature on its stability.* J. Pharm. Sci. **1991**, 80, 551–553.

24. Parasrampuria, J.; Gupta, V.D. *Preformulation studies of acetazolamide: effect of pH, two buffer species, ionic strength, and temperature on its stability*. J. Pharm, Sci. **1989**, 78, 855–857.

25. ICH Q8(R2), *Pharmaceutical Development*, International Conference on Harmonisation.; August **2009**.

26. Sowjanya D. S ; Rajsekhar D. ; Samyuktharani B.; Laxman Rao B. ; Prasanthi M.; Venkatesh A. *Various Aspects of Pharmaceutical Preformulation: A Review*, An International Journal of Advances in Pharmaceutical Sciences, **2013,** 4(2), 171-190.

27. ICH Q1B, *Stability Testing: Photostability Testing Of New Drug Substances And Products*, International Conference on Harmonisation.; Geneva, Switzerland, November **1996**, 1-5.

28. Tonnesen, H.H., *Photostability of Drugs and Drug Formulations*, 2nd Ed., CRC Press, Boca Raton, FL, Chap. 6, **2004**, 141-145.

29. Wu Y. ; Fassihi R., *Stability of metronidazole, tetracycline HCl and famotidine alone and in combination*, International Journal of Pharmaceutics, **2005**, 290, 1–13.

30. Preechagoon D.; Sumyai V. ; Tontisirin K. ; Aumpon S. ; Pongjanyakul T. *Formulation Development and Stability Testing of Oral Morphine Solution Utilizing Preformulation Approach*. J. Pharm. Pharmaceut. Sci. **2005**, 8(2), 362-369.

31. C Rowe R., J Sheskey P. and E Quinn M. *Handbook of Pharmaceutical Excipients 6. 6th Edition*, the Pharmaceutical Press., Washington, USA, **2007**, p 442.

32. Mitra A.K. , Kwatra D. , Vadlapudi A.D. *Drug Delivery*, Jones & Bartlett Publishers, **2014**, 212-213.

33. Niazi S.K.; *Handbook of Pharmaceutical manufacturing formulations: Liquid Products, Vol. 3., 2nd Edition*, Informa Healthcare USA, Inc., New York, USA, **2009**, 1-4.

34. Troy D. *Remington: The Science and Practice of Pharmacy 21ST Edition*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, **2005**, p1028.

35. ICH Q1A(R2), *Stability Testing of New Drug Substances and Products*, International Conference on Harmonization, Geneva, Switzerland, February **2003**.

36. Shaikh A. and Patil A.T. *A Stability-indicating LC Method for the Simultaneous Determination of Levocetirizine Dihydrochloride and Pseudoephedrine Sulfate in Tablet Dosage Forms*, International Journal of ChemTech Research, **2010**, 2(1), 454-461.

37. Sheu S-J. and Huang M-H. *Separation of the Ephedra Alkaloids by RPLC*, Journal of Food and Drug Analysis, , 8(4), 337-341, **2000**.

38. Brossi A. *The Alkaloids: Chemistry and Pharmacology*, *Volume 32*, Academic Press, **1988**, 23-29.

39. Moffat A. C., Osselton M. D., Widdop B. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons. 3rd Edition*, Pharmaceutical Press, London, **2003**.

40. Hernandez M.A. ; Rathinavelu.A. *Basic Pharmacology: Understanding Drug Actions and Reactions*, CRC Press, **2006**, 37-60.

41. International Conference on Harmonisation. *Evaluation for Stability Data Q1E*, ICH Harmonised Tripartite Guideline; Geneva, Switzerland, February **2003**, 1-5.

42. K. A. Connors, *Chemical Kinetics: The Study of Reaction Rates in Solution*, 1st ed., VCH Publishers, New York, 1990, 17-59.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the stability of Levocetirizine and Pseudoephedrine when they are combined in liquid dosage form. This combination is only available as solid dosage form for adults and there is no liquid alternatives for children.

Initially, a stability-indicating chromatographic analytical method was developed for the simultaneous determination of levocetirizine and pseudoephedrine in liquid forms, Ion-pairing Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography, and validated according to International Conference on Harmonization (ICH). The validation study showed that the developed analytical method is: specific, linear, accurate, and precise.

Then, preformulation study and liquid-state stability study of levocetirizine and Pseudoephedrine was performed via performing the study of the effects of factors affecting the stability of the two drugs in the liquid form. These factors are: pH, buffer species and buffer concentration, drug combination, drug-excipient compatibilities, light, heat, and adding of chelating agent. This study showed that: the pH of maximum stability of the two drugs in liquid form is 5.0, there is no effect of drug combination on the stability of Levocetirizine or Pseudoephedrine, the use of disodium edetate as indirect antioxidant (chelating agent) improved the stability of Levocetirizine and Pseudoephedrine in liquid form, and this liquid form should be stored in an amber glass bottles protected from light because the two drugs are sensitive to light and oxidation, whether levocetirizine dihydrochloride is combined with pseudoephedrine sulfate or pseudoephedrine hydrochloride.

Then, formulation study was performed and a novel pharmaceutical formulation of levocetirizine and pseudoephedrine in liquid dosage form was developed and prepared as two combinations (The first combination contains Levocetirizine dihydrochloride 0.5 mg/ml and pseudoephedrine sulfate 12 mg/ml, the second contains levocetirizine dihydrochloride 0.5 mg/ml and pseudoephedrine hydrochloride 6 mg/ml). Quality control tests was performed on the liquid form of the two combinations. These tests showed that the liquid preparation was complied with the accepted specifications and limits.

The long-term stability study of the two combinations was performed at 25 ± 2°C temperature and 60 ± 5% relative humidity. The degradation of levocetirizine and pseudoephedrine in the two combinations was slow, limited and within the accepted limits but the degradation of them in the second combination was little faster than the first one and no significant changes were reported in the two combinations.

So, liquid dosage form of Levocetirizine and Pseudoephedrine combination could be formulated by using two types of pseudoephedrine salts and can remain stable for at least 2 years when is stored in dry place at 25°C temperature and protected from light

University of Aleppo
Faculty of Pharmacy
Department of
Pharmaceutical Chemistry &
Quality Control

Stability Studies of Levocetirizine and Pseudoephedrine Combination in Liquid Dosage Forms

A thesis submitted in partial fulfillment for
the requirements for the degree of
Master of Science in Quality Control

Mirvat Abdo Mourad

Supervised by
Dr. Yaser Bitar
Department of Quality Control
Faculty of Pharmacy
University of Aleppo

2014م

1435هـ

University of Aleppo
Faculty of Pharmacy
Department of
Pharmaceutical Chemistry &
Quality Control

Stability Studies of Levocetirizine and Pseudoephedrine Combination in Liquid Dosage Forms

A thesis submitted in partial fulfillment for
the requirements for the degree of
Master of Science in Quality Control

Mirvat Abdo Mourad

2014م

1435هـ