

Determination the Content Per Puff of developing formulations free off ethanol of Salbutamol Sulfate Metered Dose Inhalers (Accelerated Stability Study)

Dr. Mohammad Haroun*

Dr. Maarof Alkayer**

Dr. Wasim Abd Al-wahed***

Alaa Faysal Aldabet****

(Received 30 / 8 / 2021. Accepted 9 / 11 / 2021)

□ ABSTRACT □

Salbutamol sulfate metered dose inhaler (MDI) which is available as suspension is a drug of choice in treating acute asthma attack. Ethanol is considered the common co-solvent used in MDI formulation which has a lot of problems related to the performance of MDI. This research suggested PEG400 and Isopropyl Myreistate (IPM) as alternative co-solvent to ethanol. Different concentrations were used (1-3-5%). The initial results indicate that PEG400(1%) is a good probably alternative co-solvent to Ethanol depending on visual observation and content per puff by HPLC (n=10).

Suggested Formulation free off ethanol were prepared as following:

- S-PEG400 contains a fixed amount of salbutamol sulfate and PEG400(1%).
- S-PEG400-OA contains a fixed amount of salbutamol sulfate and PEG400(1%) plus oleic acid (0.01%) as surfactant.
- S-PEG400-PVP contains a fixed amount of salbutamol sulfate and PEG400(1%) plus PVP-K30(0.0001%) as suspending agent.

Accelerated Stability study was realized (40°C/75%RH) by determining content per puff of above formulations at (0-3-6 month) and the results were compared with control S-ETOH which contain ethanol(10%) (n=10). The results were statistically analyzed using t-student and the results demonstrated that formulation S-PEG400-PVP which is free off ethanol passed the accelerated stability test and there isn't any significant effect when comparing with control S-ETOH (p-value>0.05), So PEG400(1%) is a suitable alternative co-solvent to ethanol with addition of 0.0001% of PVPk30.

Key words: Salbutamol Sulfate, metered dose inhaler(MDI), co-solvent, ethanol, accelerated stability study.

* Assistant Professor-Quality control and Medicinal Chemistry Department-Faculty of Pharmacy-Tishreen University-Lattakia-Syria. mohammad_haroun@yahoo.fr.

**Professor-Analytical and Food Chemistry Department-Faculty of Pharmacy-Tishreen University-Lattakia-Syria. maroufalkhaer50@gmail.com.

*** Assistant Professor-Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology Department-Faculty of Pharmacy-Aleppo University-Aleppo-Syria.Email: wassimabed@yahoo.fr

****Postgraduate Student (PhD Candidate)-Quality control and Medicinal Chemistry Department-Faculty of Pharmacy-Tishreen University-Lattakia-Syria. alaa.aldabtet@tishreen.edu.sy

تحديد محتوى الجرعة المحررة من صيغ مطورة خالية من الايتانول لأشكال ارذاذية معايرة الجرعة حاوية على السالبوتامول سلفات (دراسة ثبات مسرع)

د. محمد هارون*

د. معروف الخير**

د. وسيم عبد الواحد***

علاء فيصل الضابط****

(تاريخ الإيداع 30 / 8 / 2021. قُبِلَ للنشر في 9 / 11 / 2021)

□ ملخص □

تعتبر الاشكال الارذاذية معايرة الجرعة الحاوية على السالبوتامول سلفات بشكل معلقات الخط العلاجي الأول في تدبير نوبات الربو الحادة، ويعتبر الايتانول المحل المساعد الأكثر استخداماً الذي تعزى إليه العديد من المشاكل المتعلقة بجودة عمل الشكل الارذاذي.

تم في هذا البحث استخدام PEG400 و Isopropyl Myreistate (IPM) كمحلات مساعدة مقترحة بديلة عن الايتانول بتراكيز (1-3-5%) وتم التوصل إلى أن (1% PEG400) هو المحل المساعد البديل المحتمل اعتماداً على نتائج الفحص العياني ومحتوى الجرعة المحررة باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (عدد العبوات = 10) كما تم تحضير الصيغ المقترحة التالية الخالية من الايتانول:

- S-PEG400 الحاوية على نسبة ثابتة من السالبوتامول سلفات و (1% PEG400).
- S-PEG400-OA الحاوية على نسبة ثابتة من السالبوتامول سلفات و (1% PEG400) وحمض الزيت (0.01%) كعامل فعال على السطح.
- S-PEG400-PVP الحاوية على نسبة ثابتة من السالبوتامول سلفات و (1% PEG400) و (0.0001% PVP-K30) كعامل معلق.

تم اجراء دراسة ثبات مسرع (40°C/75%RH) وتحديد محتوى الجرعة المحررة في النقاط (0-3-6) أشهر ومقارنة النتائج مع صيغة الشاهد الحاوية على الايتانول 10% S-ETOH (عدد العبوات = 10) وتم تحليل النتائج احصائياً باستخدام اختبار t-student حيث أظهرت النتائج ان الصيغة S-PEG400-PVP الخالية من الايتانول نجحت في اجتياز فحص الثبات المسرع ولا يوجد أي تأثير هام ذي دلالة إحصائية عند المقارنة مع الشاهد S-ETOH (p-value>0.05) وبالتالي فإن (1% PEG400) بديل جيد للايتانول بوجود (0.0001% PVPk30).

الكلمات المفتاحية : سالبوتامول سلفات، شكل ارذاذي معاير الجرعة، محل مساعد، ايتانول، دراسة ثبات مسرع.

* أستاذ مساعد - قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية-كلية الصيدلة-جامعة تشرين-اللاذقية-سورية mohammad_haroun@yahoo.fr

** أستاذ-قسم الكيمياء التحليلية و الغذائية-كلية الصيدلة-جامعة تشرين-اللاذقية-سورية maroufalkhaer50@gmail.com

*** أستاذ مساعد-قسم الصيدلانيات و التكنولوجيا الصيدلانية-كلية الصيدلة-جامعة حلب-سورية wassimabed@yahoo.fr

**** طالب دكتوراه-قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية-كلية الصيدلة-جامعة تشرين -اللاذقية-سورية alaa.aldabtet@tishreen.edu.sy

مقدمة

يعود استخدام السبيل التنفسي في علاج الأمراض لأكثر من 4000 سنة نظراً لما تتمتع به الرئة من مساحة كبيرة معدة للامتصاص (100م²) ، ومعدل تدفق دم مرتفع يصل إلى (5 لتر / دقيقة) مما جعل ايتاء الدواء عن طريق الرئة مرغوب به بشدة في علاج الأمراض التنفسية كونه يجنب الدواء المرور الكبدي الأول، ويساعد المرضى في الحصول على تأثير علاجي بأقل جرعة ممكنة وأقل تأثير جانبي ممكن. [1، 2]

إن أول استخدام للاشكال ايردانية معايرة الجرعة (Metered Dose Inhaler: MDI) يعود لعام 1956 حيث استخدمت لإيصال المواد الدوائية إلى الرئة في علاج الربو والداء الرئوي الانسدادي المزمن. [3، 4] يُعرف دستور الأدوية البريطاني الـMDI بأنها محاليل أو معلقات أو مستحلبات لمواد دوائية معبأة ضمن عبوات محكمة الإغلاق مزودة بصمام معاير الجرعة، تحوي في تركيبها على غازات دافعة (propellant)، يمكن لهذه الغازات أن تلعب دور محلات. يؤدي الضغط على الصمام إلى تحرير الجرعة نفسها من المادة الدوائية عند كل عملية استخدام. [5]

تتألف لـMDI من المكونات عديدة كل منها ضروري لجودة عمل الشكل ايرداني و هي :

- 1- الغاز الدافع (propellant).
- 2- الوعاء الحاوي (canister).
- 3-الصمام (valve).
- 4-المشغل (actuator, adaptor, mouthpiece).
- 5-الصيغة الصيدلانية (formulation). [6]

يعتبر الغاز الدافع المكون الأساسي للـMDI، ولقد تطور استخدامه تطوراً كبيراً حيث استخدمت في البداية غازات الفلوروكاربون ذات التأثير السام. [6، 7]

ثم تم الانتقال إلى استخدام غازات (chloro fluoro carbon: CFC) ، والتي تعرف بغازات الفريون (Freon) ، ذات التأثير الضار على طبقة الأوزون. [8، 9]

ونظراً لأهمية طبقة الأوزون، وضرورة حمايتها تمكن برنامج الأمم المتحدة البيئي

(United Nation of Environmental Program :UNEP) من إصدار بروتوكول Monterial في أيلول عام

1978، للتخفيف التدريجي من إنتاج CFCs وصولاً إلى سحبه كلياً في العام 2000. [10]

لذلك أصبح من الضروري البحث عن غاز بديل للـCFC تتوفر فيه الشروط التالية:

1. غاز سائل ثابت كيميائياً وغير قابل للاشتعال.
2. يمكن تقبله من قبل المرضى (ليس له رائحة).
3. يجتاز فحوص السمية، والثبات، والفحوص السريرية. [6]
4. وكننتيجة للبحوث المستمرة تم تحديد غازات (Hydro Fluoro Alkane: HFA-134 /HFA227) كغازات بديلة للـCFC [11].

إن الانتقال من CFC إلى HFA تطلب العديد من البحوث نتيجة الاختلاف في الخواص الفيزيوكيميائية لكل منهما، مما أدى إلى ضرورة اجراء بعض التغييرات في التصميم الهندسي للـMDI كالصمام و المشغل

(actuator)، وضرورة اجراء تعديل في الصياغة الصيدلانية والبحث عن سواغات جديدة ذوابية ضمن الغاز الدافع الجديد. [8]

تعتبر الاشكال الاراذنية معايرة الجرعة الحاوية على السالبتامول سلفات ناهض β_2 قصير الأمد (SABA: Short Acting β_2 Agonist) الخط العلاجي الأول (drug of choice) في تدبير نوبات الربو الحادة وتستطب بشكل اسعافي لعلاج التشنج القصبي الناجم عن الربو، وهي مسوقة بشكل معلقات^[12] تحوي في صيغتها على عوامل فعالة على السطح (Surfactants) التي تلعب دوراً هاماً في زيادة ثبات المعلق من خلال منع تشكل التكتلات (agglomerates)، ومنع ظاهرة النمو البلوري (crystal growth) من خلال انقاص الطاقة الحرة لسطح الجسيمات بالإضافة لدورها المزلق للصمام (lubricant)، حيث تمنع العوامل الفعالة على السطح التصاق الجسيمات بسطح العبوة و الصمام. [13، 14]

أكثر العوامل الفعالة على السطح شيوعاً في (MDI) هي sorbitan trioleate و oleic acid و lecithin، وهي ذات انحلالية منخفضة ضمن غازات (HFAs) مقارنة بـ (CFCs) وهذه الانحلالية المنخفضة غير قادرة على تأمين الثبات الفيزيوكيميائي للمعلق، ويمكن تحسين انحلالية العوامل الفعالة على السطح ضمن (HFAs) بإضافة محلات مساعدة (co-solvent) مثل الايتانول (Ethanol). [15]

الايثانول هو أكثر المحلات المساعدة المستخدمة شيوعاً في (MDI)، حيث تشير الدراسات إلى أن نسبة الايتانول في الصيغة يجب أن تكون مدروسة بدقة، و أن أي زيادة في تركيز الايتانول ينجم عنه نقصان في كثافة الصيغة وزيادة في معدل التبخر، مما يؤثر على الجرعة المحررة، كما يمكن لهذه الزيادة أن تسبب نقصان في ضغط بخار الصيغة الأمر الذي يؤثر على عملية الارذاد، و يؤدي لتشكّل قطيرات كبيرة الحجم، أي أن زيادة في تركيز الايتانول في الصيغة يسبب زيادة في أبعاد الجسيمات الأمر الذي يؤدي إلى زيادة في نسبة الجرعة المحررة المتوزعة في التجويف البلعومي الفموي ونقصان في الجرعة الواصلة إلى الرئة^[16]، كما يعتبر الايتانول المسؤول عن الطعم السيئ لـ (MDI)^[17]، وتعزى إليه مشكلة السعال عقب تناول الجرعة^[18]، و إيجابية فحص الكحول خلال (1-3) دقيقة من تناول الجرعة^[19].

يوجد آليتان معتمدتان عالمياً لتعبئة MDI وهما التعبئة على البارد (cold filling)، و التعبئة تحت الضغط (under pressure filling) أغلب الشركات تستخدم حالياً طريقة التعبئة تحت الضغط، و التي يمكن أن تكون إما أحادية المرحلة (single stage)، حيث يتم مزج المادة الفعالة و السواغات و الغاز الدافع معاً ضمن خلطات خاصة قادرة على تحمل الضغط، و يتم إضافة المزيج الكلي في آخر عملية التعبئة، علماً إن هذه الطريقة بحاجة لتجهيزات خاصة، و تتمتع بإنتاجية منخفضة مقارنة بطريقة التعبئة تحت الضغط ثنائية المراحل (double stage) التي يتم فيها مزج المادة الفعالة و السواغات فقط، وتعبئة المزيج ضمن عبوات MDI في بداية عملية التعبئة بينما يضاف الغاز الدافع في آخر عملية التعبئة، حيث تتمتع هذه الطريقة بإنتاجية مرتفعة، و بتكاليف أقل مقارنة بالتعبئة أحادية المراحل، و لقد تمكنت شركة GSK من تطوير صيغة جديدة لـ Ventolin خالية من الايتانول بحيث تحتوي على سالبوتامول سلفات معلق فقط ضمن HFA134a، وباستخدام تقنية ثنائية المراحل وهي محمية ببراءة اختراع^[20، 21] بينما عمدت الشركات الأخرى إلى حل مشكلة وجود الايتانول من خلال إعادة الصياغة باستخدام محلات مساعدة بديلة للايتانول، و تطوير عوامل فعالة على السطح ذات انحلالية جيدة ضمن (HFA134) أو استخدام عوامل مختلفة لزيادة ثباتية

المعلق، و لكن عدم كفاية المعلومات المتوفرة عن سمية هذه السواغات عند ايتائها بالطريق التنفسي حد بشكل كبير من استخدامها، واقتصر الاستخدام على السواغات المصنفة آمنة (GRAS: Generally Recognized As Safe).^[22] إن الدراسات المتوفرة عن تحضير MDI للسالبوتامول سلفات خالية من الايتانول قليلة جداً و محمية ببراءات اختراع، حيث تمكن *Da Rocha et al* من إعادة صياغة معلق سالبوتامول سلفات باستخدام عامل فعال على السطح LAM Eon LAM^[23]، كما تمكن *Fassberg et al* من الوصول إلى صيغة ثابتة لـ MDI حاوية على معلق السالبوتامول ضمن HFA134 باستخدام oleic acid و Miglyol840 و transcutool، و لكن أي من هذه الصيغ لم تسوق بعد^[24].

كما اتجه الباحثون الى هندسة الجزيئات حيث نجح *Arafa et al* من تحضير MDI حاوية على السالبوتامول سلفات بشكل niosomes معلقة ضمن الغاز الدافع^[25]، كما تمكن *Dellamary et al* من صياغة السالبوتامول بشكل معلقات حاوية على جسيمات مسامية محبة للدم (pulmosphere)، بحيث يمكن التحكم بكثافة ومسامية هذه الجسيمات لتكون أقرب ما يمكن إلى كثافة الغاز الدافع لزيادة ثباتية المعلق، ولكن هذه الجسيمات مازالت قيد التطوير، ولم تحصل على الموافقات اللازمة لطرحها في الاسواق^[26].

سيتم في هذه الدراسة تحضير صيغ لـ MDI باستخدام محلات مساعدة بديلة للايتانول مثل PEG400 و Isopropyl Myreistate (IPM)، و مراقبة جودة الصيغ المقترحة من حيث تحديد محتوى الجرعة ليتم اختيار المحل المساعد الأمثل لاستخدامه في تطوير صيغة جديدة خالية من الايتانول باستخدام استراتيجيات صياغة مختلفة كإضافة حمض الزيت كعامل فعال على السطح أو إضافة (PVP k-30) كعامل معلق، و اجراء دراسة ثبات مسرع (accelerated) ضمن الشروط التالية (40°C/75%RH)، و تحديد محتوى الجرعة المحررة خلال النقاط (0-3-6) أشهر و مقارنة النتائج مع صيغة الشاهد (control) الحاوية على ايتانول بنسبة (10%).

أهمية البحث وأهدافه

تكمن أهمية البحث في تطوير صيغة جديدة لـ (MDI) حاوية على السالبوتامول سلفات خالية من الايتانول للتخلص من تأثيراته غير المرغوب بها. وتتمثل أهداف البحث بما يلي:

تحضير (MDI) للسالبوتامول سلفات خالية من الايتانول باستخدام استراتيجيات صياغة مختلفة تعتمد في البداية على اختيار محل مساعد مناسب بديل للايتانول لاستخدامه في تطوير صيغة جديدة ثابتة قادرة على اجتياز دراسة الثبات المسرع (40°C/75%RH) من ناحية تحديد محتوى الجرعة المحررة.

طرائق البحث ومواده

المواد المستخدمة :

- سالبوتامول سلفات العياري (99.8%) BP302 صنع شركة Merck ألمانيا .
- سالبوتامول سلفات مادة أولية ذات أبعاد (4.31µm = 95%) صنع شركة Jayco (99.63%) رقم طبخة SS/161/17-18 الهند.
- PEG400 صنع SHANDONG رقم الطبخة 8734-37 الصين.

- Ethanol(99.9%) صنع SASOL CHEMICALS رقم الطبخة 92039194 جنوب إفريقيا.
- Oleic Acid صنع QUIMICA رقم الطبخة TQ0338 المكسيك.
- HFA134a صنع Zephex رقم الطبخة BR16442-8 المملكة المتحدة.
- عبوات المعدنية مصنوعة من الالمنيوم صنع PRESSPART رقم الطبخة PPB0021987 المملكة المتحدة.
- صمام معايير الجرعة سعة 50µL صنع CAOSTER رقم الطبخة 42091/002 ايطاليا.
- المشغل(الحاضنة) صنع COASTER رقم الطبخة 71298/001 ايطاليا.
- تم شراء عبوات PET vial-MRX002 صنع Merxin رقم الطبخة MR547 المملكة المتحدة.
- تم شراء عبوة Lichrosolv®(Methanol) صنع Merck (99.8%) ألمانيا.
- تم شراء عبوة Emsure® (Ammonium Acetate) صنع Merk (98.0%) ألمانيا.

الأجهزة المستخدمة:

تم في هذه الدراسة استخدام:

- جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء نوع MERCK-HITACHI LaChrom L-7000 series صنع المانيا.
- جهاز الأمواج فوق الصوتية sonicator صنع Liarre ايطاليا.
- حجرة ثبات نوع Memmert M-750 صنع المانيا.
- ميزان حساس (0.0001غ) نوع Precisa XB220A صنع سويسرا.

الطرائق:

الدراسة الاحصائية :

تم تحليل النتائج احصائياً باستخدام برنامج JMP 13.2 عند مستوى دلالة ($\alpha = 0.05$) وفق مايلي :

- One Way ANOVA
- Comparative each pair (t-Student)

الطريقة التحليلية المتبعة:

تمت المقايسة assay باستخدام طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) الواردة ضمن دستور الأدوية البريطاني (BP2013) وفق الشروط التالية:

- ❖ العمود المستخدم Lichrocart®100RP-18(5µm×10-cm).
- ❖ الطور المتحرك (Methanol: Amonium Acetate 0.1% W/ V) (800ml:225ml).
- ❖ معدل التدفق 2ml/minute.
- ❖ طول موجة الكشف 276 nm.
- ❖ حجم العينة 20µl.
- ❖ تركيز العياري 21.6 µg/ml.
- ❖ تركيز العينة 21.6 µg/ml.

طريقة العمل :

اختيار المحل المساعد والسواغات المناسبة:

- تحتوي صيغة الشاهد S-ETOH على سالبيوتامول سلفات و حمض الزيت و ايتانول و HFA134a.
- PEG400 و IPM هي المحلات المساعدة المقترحة كبديل عن الايتانول في صيغة الشاهد.
- تعبئة الصيغ المقترحة الحاوية على (5%-3-1) من المحلات المساعدة البديلة PEG400 و IPM و نسب ثابتة من السالبيوتامول سلفات و حمض الزيت (10 عبوات معدنية مصنوعة من الالمنيوم) و عبوتين مصنوعتين من (Polyethylene Terephthalate: PET).
- تعبئة صيغة الشاهد S-ETOH الحاوية على (10%) من الايتانول (10 عبوات معدنية و عبوتين (PET).
- كل الصيغ المعبأة تحرر (108mcg) بالجرعة الواحدة و كل عبوة تحتوي على 200 جرعة.
- استخدام بروتوكول الفحص العياني (visual observation) لاختيار النسبة المحتملة من المحل المساعد.
- تم استخدام عبوة جديدة لتحديد محتوى الجرعة المحررة للعبوات التي اجتازت الفحص العياني ليتم اختيار المحل المساعد الأمثل (عدد العبوات = 10).
- تعبئة الصيغ المقترحة التالية الحاوية على نسبة ثابتة من السالبيوتامول سلفات و المحل المساعد الجديد باستخدام عوامل تساعد على ثبات المعلق وفق الجدول (1).

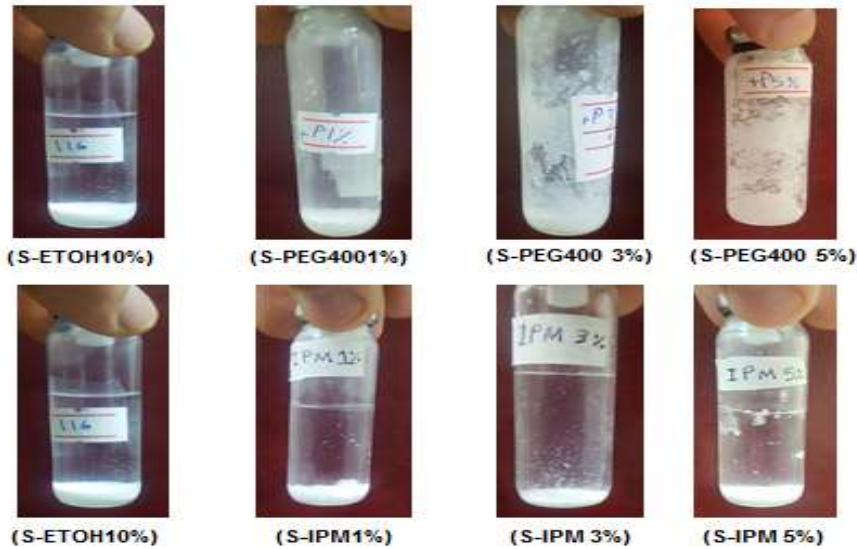
الجدول (1): يوضح الصيغ المقترحة الجديدة الحاوية على (1% PEG400) و نوع العامل المساعد على ثبات المعلق المستخدم

Formulation	Stabilizer Type	Percentage(%)
S-PEG400	None	None
S-PEG400-OA	Oleic Acid	0.01
S-PEG400-PVP	PVP-k30	0.0001

- اجراء دراسة ثبات مسرع (40°C/75%RH) و تحديد محتوى الجرعة المحررة من العبوات السابقة خلال النقاط التالية (0,3,6 أشهر) و مقارنتها مع صيغة الشاهد S-ETOH.
 - تحديد محتوى الجرعة المحررة (التحليل الكمي للسالبيوتامول سلفات) باستخدام HPLC:
 - اجراء عملية تحضير للعبوة (priming) من خلال تحرير أربع جرعات في الهواء.
 - اقتطاع عشر بخات من عبوة MDI باستخدام أداة اقتطاع العينة.
 - غسل القطعة الفموية و جوانب الارلنامير باستخدام 11.5ml من الوقاء و 10مل ميتانول.
 - وضع الارلنامير في جهاز الامواج فوق الصوتية لمدة عشر دقائق.
 - نقل العينة الى بالون معايرة سعة 50ml و ثم اكمال إلى خط العيار باستخدام الميتانول لنحصل على محلول تركيزه (0.0216 mg/ml).
 - وضع البالون في جهاز الامواج فوق الصوتية مدة خمس دقائق ثم نقل العينة إلى فيال الحقن مع العنونة.
 - حقن المحلول العياري ثلاث مرات لنحصل على ملاءمة الجهاز.
 - حقن 20 µl من العينة و حساب التركيز بناء على المعادلة التالية :
- التركيز المنوي = (مساحة قمة العينة / مساحة قمة العياري) x (تركيز العياري / تركيز العينة) x 100

النتائج و المناقشة

تم تحضير صيغة الشاهد S-ETOH والصيغ المقترحة الحاوية على PEG400 و IPM كمحلات مساعدة بديلة للايتانول من خلال تثبيت كافة مكونات الصيغة و استبدال الايتانول بتركيز متزايدة (1-3-5%) من PEG400 و IPM ، كما تم مراقبة عبوات PET المعبأة عيانياً ومقارنتها مع (S-ETOH(10%) لاستبعاد الصيغ الحاوية على تكتلات صعبة البعثة أو التصاقات بجران العبوة ، حيث تشير النتائج أن (S-PEG400(1%) و (S-IPM (1%) قد تكون محلات مساعدة بديلة للايتانول كما يظهر الشكل(1).



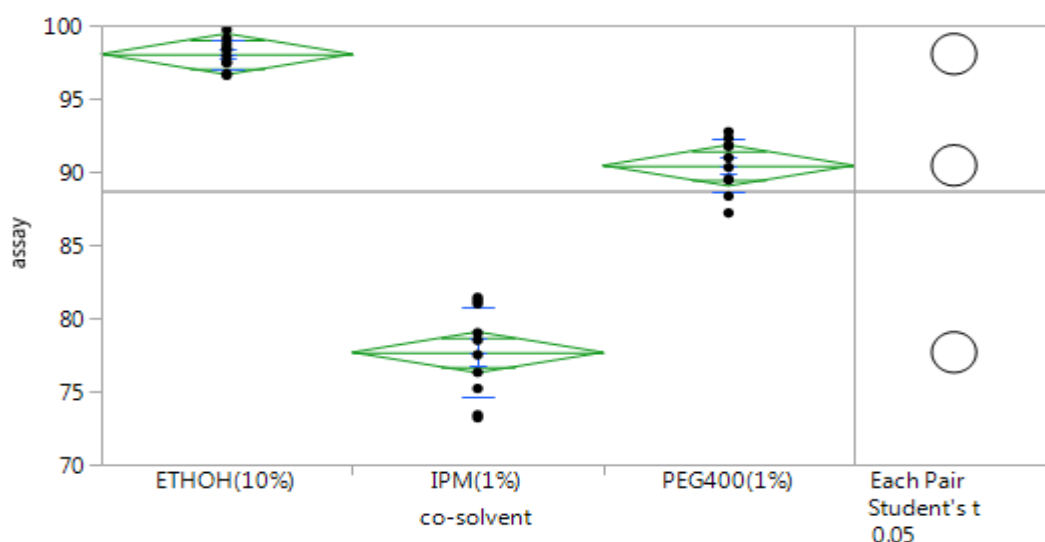
الشكل(1): الفحص العياني للصيغ الحاوية على تراكيز متزايدة من PEG400 و IPM و مقارنتها مع صيغة الشاهد تم تحديد محتوى الجرعة المحررة من الصيغ (S-ETOH(10%) و S-PEG400(1%) و S-IPM(1%) بعد تحرير 4 جرعات في الهواء و اقتطاع 10 جرعات باستخدام أداة اقتطاع العينة، و تحليل العينة المقتطعة باستخدام جهاز HPLC ، و تكرار العملية بالنسبة للعبوة التالية (عدد العبوات = 10). تم العمل وفق لمتطلبات دستور الأدوية البريطاني BP2013 عند طول موجة (276nm)، و النتائج التي حصلنا عليها موضحة في الجدول(2).

الجدول (2): نتائج تحديد محتوى الجرعة المحررة من (S-ETOH (10%) و S-PEG400(1%) و S-IPM(1%)

formulation	number	Mean of assay	Std Dev	Std Err Mean
S-ETOH(10%)	10	98.0430%	1.01218	0.32008
S-IPM(1%)	10	75.2150%	2.55343	0.80747
S-PEG400(1%)	10	90.4350%	1.80899	0.57205

إن محتوى الجرعة المحررة (S-IPM(1%) هي 75.251 ± 2.55 و هو خارج المجال (80-120%) المسموح به من قبل الدستور البريطاني ، بينما محتوى الجرعة المحررة من (S-ETOH(10%) و S-PEG400(1%) تقع ضمن المجال المسموح به دستورياً.

تشير الدراسة الإحصائية للنتائج السابقة باستخدام one way ANOVA أن قيمة (P-value < 0.05) أي أن لنوع المحل المساعد المستخدم تأثير هام ذو دلالة احصائية على محتوى الجرعة المحررة عند مستوى دلالة (α = 0.05)، كما تم أيضاً إجراء اختبار t-student للمقارنة بين تأثير المحل المساعد المستخدم PEG400 و IPM على الجرعة المحررة بالمقارنة مع الايتانول حيث أظهرت الدراسة إن قيمة (p-value < 0.05) وبالتالي فإن لنوع المحل المساعد المستخدم تأثير هام ذو دلالة احصائية على الجرعة المحررة عند مستوى دلالة (α = 0.05) كما يظهر الشكل (2).



الشكل (2): التمثيل البياني لاختبار t-student و ANOVA للصيغ المدروسة

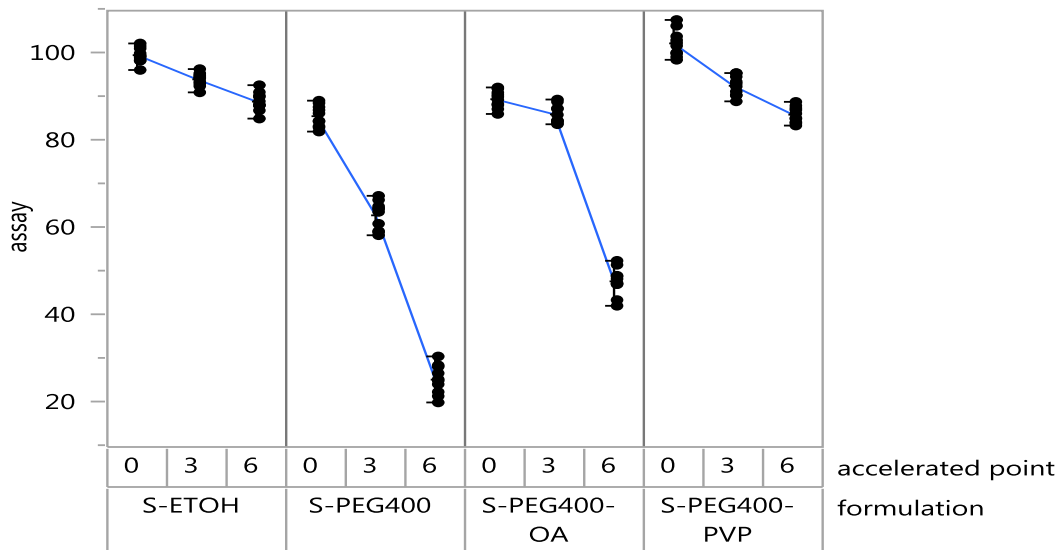
وبالتالي فإن (1%)PEG400 هو المحل المساعد الأمثل الذي سيتم استخدامه في تحضير الصيغ التالية الخالية من الايتانول ، كما تم أيضاً تعبئة الصيغ الجديدة الخالية من الايتانول و الحاوية على المحل المساعد البديل وفق الجدول (1)، و إجراء دراسة ثبات مسرع (40°C/75%RH) لتحديد محتوى الجرعات المحررة من الصيغ السابقة في النقاط (0-3-6) أشهر من خلال إجراء عملية تحضير للعبوة، و اقتطاع العينة المؤلفة من عشر جرعات و تحديد محتواها باستخدام جهاز HPLC (عدد العبوات=10) والنتائج التي حصلنا عليها موضحة في الجدول (3).

الجدول (3): نتائج دراسة الثبات المسرع من ناحية تحديد محتوى الجرعة المحررة للصيغ المقترحة.

Formulation	Accelerated point (month)	Std Err Mean	Std Dev	Mean (Assay)%	Maximum (%)	Minimum (%)
S-ETOH	0	0.5673	1.7940	99.809	102.49	96.41
S-ETOH	3	0.4893	1.5474	94.261	96.62	91.28
S-ETOH	6	0.6924	2.1896	89.172	92.93	85.27
S-PEG400	0	0.7846	2.4814	85.822	89.38	82.29
S-PEG400	3	1.0263	3.2456	63.098	67.57	58.53
S-PEG400	6	1.0588	3.3484	25.442	30.76	20.21
S-PEG400-OA	0	0.6350	2.0081	89.714	92.41	86.33
S-PEG400-OA	3	0.6597	2.0863	86.244	89.64	83.97
S-PEG400-OA	6	1.0030	3.1718	47.967	52.68	42.36
S-PEG400-PVP	0	0.9558	3.0229	102.50	107.88	98.74
S-PEG400-PVP	3	0.7165	2.2659	92.787	95.71	89.22
S-PEG400-PVP	6	0.5865	1.8549	86.163	89.11	83.67

تشير النتائج الواردة في الجدول السابق إلى أن جميع الصيغ المقترحة السابقة تمكنت من اجتياز نقطة الثبات الأولى (النقطة صفر) S-PEG400 و S-PEG400-OA و S-PEG400-PVP ، بينما لم تتمكن S-PEG400 من اجتياز نقطة الثبات الثانية، حيث أن محتوى الجرعة المحررة (63.098 ± 3.2456) خارج المجال المسموح به دستورياً، بينما تمكنت الصيغتين S-PEG400-OA (86.244±2.0081) و S-PEG400-PVP (92.7887±2.2659) من اجتياز نقطة الثبات الثانية بعد مضي ثلاثة أشهر في (40°C/75%RH)، بينما لم تتمكن الصيغة S-PEG400-OA من اجتياز نقطة الثبات الثالثة بعد مضي ستة أشهر في حجرة الثبات (47.967±3.1718).

كما تم أيضاً إجراء فحص الوزن الوسطي للجرعة المحررة لكل صيغة و عند كل نقطة ثبات ، حيث أظهرت النتائج أن الوزن الوسطي للجرعة المحررة (0.05g) ، مما يشير أن سبب انخفاض محتوى الجرعة في كلا الصيغتين S-PEG400 و S-PEG400-OA ليس عيباً في الصمام كون الصمام قادر على تحرير الوزن نفسه من الصيغة عند كل عملية استخدام، وإنما يعزى سبب انخفاض محتوى الجرعات إلى حدوث تكتلات صعبة البعثرة للسالبوتامول سلفات داخل العبوة ناتجة عن تشكل معلق غير متجمع ، و بالتالي فإن الصيغة S-PEG400-PVP تمكنت من اجتياز نقاط الثبات الثلاث حيث أن محتوى الجرعة المحررة يقع ضمن المجال المسموح به دستورياً في النقطة صفر (± 102.509 3.0229)، و بعد مضي ثلاثة أشهر (92.787±2.2659)، و بعد مضي ستة أشهر (86.163±1.8549)، و النتائج التي حصلنا عليها موضحة في الشكل(3).



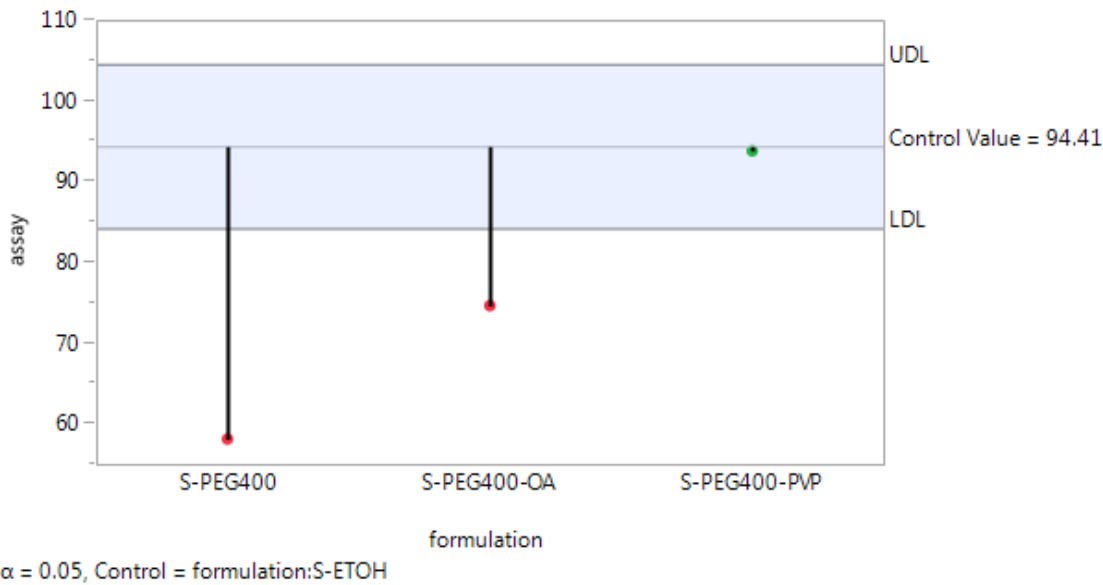
الشكل(3): مقارنة بين محتوى الجرعة المحررة للصيغ المقترحة و صيغة الشاهد في النقاط (0-3-6) من دراسة الثبات المسرع

كما تم إجراء دراسة إحصائية باستخدام اختبار t-Student للمقارنة بين محتوى الجرعة المحررة للصيغ التالية S-PEG400 و S-PEG400-OA و S-PEG400-PVP و مقارنة النتائج مع صيغة الشاهد S-ETOH عند مستوى دلالة ($\alpha=0.05$) و النتائج التي حصلنا عليها موضحة في الجدول(4).

الجدول(4): نتائج اختبار t-student للمقارنة بين الصيغ المحضرة و صيغة الشاهد.

Formulation	formulation	Difference	Std Error	t Ratio	p-value Prob> t
S-ETOH	S-PEG400	36.2933	2.534987	14.32	<.0001
S-ETOH	S-PEG400-OA	19.7723	2.534987	7.80	<.0001
S-ETOH	S-PEG400-PVP	0.5943	2.534987	0.23	0.8151
S-PEG400	S-PEG400-OA	-16.5210	2.534987	-6.52	<.0001
S-PEG400	S-PEG400-PVP	-35.6990	2.534987	-14.08	<.0001
S-PEG400-OA	S-PEG400-PVP	-19.1780	2.534987	-7.57	<.0001

حيث تشير النتائج وجود تأثير هام ذو دلالة إحصائية عند مقارنة محتوى الجرعة المحررة من S-PEG400 و S-PEG400-OA مع صيغة الشاهد S-ETOH حيث ان قيمة (p-value<0.05)، بينما تشير النتائج إلى عدم وجود تأثير هام ذو دلالة إحصائية عند مقارنة محتوى الجرعة المحررة من S-PEG400-PVP و صيغة الشاهد S-ETOH حيث أن قيمة (p-value>0.05) وهذا ما يظهره الشكل(4).



الشكل (4): رسم توضيحي لنتائج المقارنة بين الصيغ المحضرة و صيغة الشاهد.

الاستنتاجات والتوصيات

إن الصيغة الحاوية على (1%) PEG400 بوجود (0.0001%) PVP-k30 هي صيغة ثابتة خالية من الايتانول ، وبديل جيد لصيغة الشاهد الحاوية على ايتانول بنسبة (10%) من ناحية تحديد محتوى الجرعة المحررة. يجب أن تتبع هذه الدراسة بدراسة توزع أبعاد الجسيمات aerodynamic particle size distribution و استكمال الفحوص الدستورية الأخرى لضمان جودة عمل الشكل الارذاذي الخالي من الايتانول الحاوي على السالبيتامول سلفات

Reference

1. Abdo RW, Saadi N, Hijazi NI, Suleiman YA. *Quality Control And Testing Evaluation Of Pharmaceutical Aerosols*. Drug Delivery Systems: Elsevier; **2020**. p. 579-614.
2. Zheng C. *The Use Of Excipients To Stabilise Pressurised Metered Dose Inhalers*: Cardiff University; **2017**.
3. Sorino C, Negri S, Spanevello A, Visca D, Scichilone N. *Inhalation Therapy Devices For The Treatment Of Obstructive Lung Diseases: The History Of Inhalers Towards The Ideal Inhaler*. Eur J Intern Med **2020**; 75: 15-8. doi: 10.1016/j.ejim.2020.02.023.
4. Slowey A, Stein S, editors. *60 Years of the MDI—A History of Innovation*. Journal Of Aerosol Medicine And Pulmonary Drug Delivery; **2017**: Mary Ann Liebert, Inc 140 Huguenot Street, 3rd Fl, New Rochelle, Ny 10801 Usa.
5. British pharmacopoeia 2013
6. Aldabet A, AlKayer M. *Study of the Effect of Electrostatic Charge on the Delivered Dose of Metered Dose Inhaler*. Tishreen University Journal Health Sciences Series **2013**; 35.
7. Stein SW, Thiel CG. *The History of Therapeutic Aerosols: A Chronological Review*. Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery **2017**; 30: 20-41. doi: 10.1089/jamp.2016.1297.
8. Myrdal PB, Sheth P, Stein SW. *Advances in Metered Dose Inhaler Technology: Formulation Development*. AAPS PharmSciTech **2014**; 15: 434-55. doi: 10.1208/s12249-013-0-063x.
9. Noakes T, Corr SJDDtL. *The Future Of Propellants For Pmdis*. **2016**; 27: 61-4. doi :
10. Protocol MJW, DC: US Government Printing Office. *Montreal Protocol On Substances That Deplete The Ozone Layer*. **1987**; 26: 128-36. doi :
11. Toon R, Preedy E, Prokopovich P. *Formulating Drugs For Inhalers And Stability Issues*. Eurasian Chemico-Technological Journal **2012**; 14: 271-86.
12. Newman SPJRC. *Principles Of Metered-Dose Inhaler Design*. **2005**; 50: 1177-90.
13. Sou T, Bergström CA. *Contemporary Formulation Development For Inhaled Pharmaceuticals*. Journal of Pharmaceutical Sciences **2020**; 66-86. doi: 10.1016/j.xphs.2020.09.006.
14. Saleem IY, Smyth HDC. *Tuning Aerosol Particle Size Distribution of Metered Dose Inhalers Using Cosolvents and Surfactants*. BioMed Research International **2013**; 2013: 1-7. doi: 10.1155/2013/574310.
15. Morales JO, Peters JI, Williams RO. *Surfactants: Their Critical Role In Enhancing Drug Delivery To The Lungs*. Therapeutic Delivery **2011**; 2: 623-41. doi: 10.4155/tde.11.15.
16. Ivey JW, Vehring R, Finlay WH. *Understanding Pressurized Metered Dose Inhaler Performance*. Expert Opin Drug Deliv **2015**; 12: 901-16. doi: 10.1517/17425247.2015.984683.
17. Lavorini F, Fontana GA, Usmani OS. *New Inhaler Devices - The Good, The Bad And The Ugly*. Respiration **2014**; 88: 3-15. doi: 10.1159/000363390.
18. Sellers WFS. *Asthma Pressurised Metered Dose Inhaler Performance: Propellant Effect Studies In Delivery Systems*. Allergy Asthma Clin Immunol **2017**; 13: 30. doi: 10.1186/s13223-017-0202-0.
19. Self TH, Jones PJ, Sands CW. *False-Positive Breathalyser Tests And Use Of Metered-Dose Inhalers: D Oes Inhalation Technique Affect Test Results?.*J Respirology **2017**; 22: 1677.

20. Haswell S, editor. *An Approach To Process Development Of Pmdi's Using Cold Fill And Pressure Fill Technology*. Journal Of Aerosol Medicine And Pulmonary Drug Delivery; **2016**; Mary Ann Liebert, Inc 140 Huguenot Street, 3rd Fl, New Rochelle, Ny 10801 Usa.
21. Vallorz E, Sheth P, Myrdal P. *Pressurized Metered Dose Inhaler Technology: Manufacturing*. AAPS PharmSciTech **2019**; 20: 177. doi: 10.1208/s12249-019-1389-9.
22. Schroeter JD, Sheth P, Hickey AJ, Asgharian B, Price OT, Holt JT, *et al*. *Effects of Formulation Variables on Lung Dosimetry of Albuterol Sulfate Suspension and Beclomethasone Dipropionate Solution Metered Dose Inhalers*. AAPS PharmSciTech **2018**; 19: 2335-45. doi: 10.1208/s12249-018-1071-7.
23. Da Rocha SR, Wu L. *Co-Polymer Stabilizers For Hydrofluoroalkane Dispersions*. Google Patents; 2013.
24. Fassberg J, Sequeira JA ,Chaudry IA, Kopcha M. *Aerosol Formulations Of Albuterol And 1, 1, 1, 2-Tetrafluoroethane*. Google Patents; 2002.
25. Arafa M, Ayoub BM. *Nano-Vesicles Of Salbutamol Sulphate In Metered Dose Inhalers: Formulation, Characterization And In Vitro Evaluation*. **2017**
26. Dellamary LA, Tarara TE, Smith DJ, Woelk CH, Adractas A, Costello ML, *et al*. *Hollow Porous Particles In Metered Dose Inhalers*. **2000**; 17: 168-74. doi :