



کاربرد فناوری یک بار مصرف در صنایع بیوتکنولوژی

ترجمه: پروین بهیان

که نباید دوباره فعال شوند، افزایش یا جذب کردند. فراتر از ضروریات رسمی یا دیگر موارد ایمنی تشخیص قدرت کیفیت و خالص بودن محصول دارویی را نیز شامل گردد.

کار تشخیص مواد خالص پذیر در فرآیند مایعات ممکن است بسیار سخت و پیچیده باشد، به خصوص برای سیستم‌های پلیمری چند ترکیبی که شامل ظروف انعطاف پذیر، تیوب‌ها، فیلترهای کیسولی شکل هستند و دارای مواد گوناگونی می‌باشند.

با این حال، اطلاعات مفصل در مورد ترکیبات خالص پذیر را می‌توان با استفاده از تجهیزات آنالیزی پیچیده‌ای کشف کرد. به علاوه، پیشنهاد صنعتی اخیر، برای کمک به معتبر ساختن سیستم‌های ساخت موجود، انتشار یافته است. به طور مثال BPSA تنظیمات مفصلی را برای کمک به

ساخت بیوتکنولوژی سیستم‌ها و ترکیبات یک بار مصرف می‌تواند باعث امتیازات متمایزی گردد. با این وجود، تصمیم‌گیری برای رویکرد یک بار مصرف به عوامل بسیاری بستگی دارد. در بازنگری‌هایی که اخیراً از سازنده‌ها و کمپانی‌های بیوتک انجام گرفته خط تولید مواد خالص پذیر در محصولات دارویی در بالاترین حد می‌باشد که در شکل (۱) نشان داده شده است.

با در نظر گرفتن حجم پلیمر ارگانیک در ترکیبات موجود، جای تعجب نیست که بی‌تجربگی عمومی در برخورد با چنین مواد پلیمری، لزوم به ایمنی و تنظیم تجهیزات را مطالبه می‌کند. به عنوان مثال الزامات FDA و GMP برای فضای محصولات تولید شده دارویی باید به گونه‌ای باشند که سطح مرتبط با ترکیبات مواد در حال فرآیند یا محصولات دارویی

مصرف کننده در تشخیص خط محصولات خاص و سیستم های فرآیندی مانند برنامه های آزمایشی رایج کرده است.

این نظریات تفاوت میان آزمایش استخراجی و آزمایش خالص پذیری را نشان می دهند.

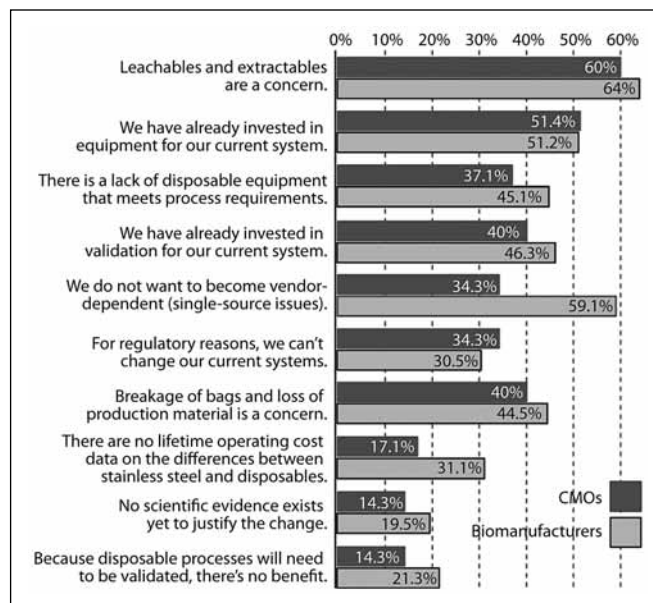
مواد استخراج شدنی، ترکیباتی هستند که تحت شرایط آزمایشی ویژه، می توانند از ماده درون حلال نمونه حرکت کنند. مواد خالص پذیر، موادی هستند که تحت شرایط فرآیند عادی برای حرکت درون محصول دارویی با ظروف تجویز شده نهایی نشان داده شده اند که به طور مشخص کمیت نسبی کوچکی از مجموع استخراج ها هستند.

مطالعه ها پتانسیل ماده را برای آزادسازی مواد خالص پذیر درون محصول دارویی یا فرآیند مایع

را نشان می دهد. چنین داده هایی، خط مشی را به وجود می آورد که براساس آن می توان با در نظر گرفتن نیاز یا حجم آزمایش مواد خالص پذیر در فرآیند مایع یا فرمول های دارویی نهایی و ظروف تجویز شده، تصمیمات را اخذ کرد.

■ سیستم ها و روش های آزمایشی

به طور ویژه برای این مطالعه ها، دو ترکیب یکبار مصرف با ویژگی های بسیار مختلف انتخاب شدند تا تفاوت های مواد استخراجی در کمیت و تشخیص اثبات گردند، همچنین این امر طیف وسیعی از روش های آنالیزی موجود را آشکار می سازد که امروزه تشخیص ترکیبات منحصر به فرد بودن را مقدور ساخته است.



شکل ۱

□ اتصال دهنده استریل

اتصال دهنده‌ها به دو قسمت، همراه با سیستم‌های موجود به کار می‌روند تا اتصال‌های استریل میان دو مسیر استریل به وجود آورند زمانی که اتصالی کامل شود، یک ماده (پلی کربن) که با فرآیند مایع در تماس می‌باشد و نیز تماس بسیار کمی با فضا داشته است (44cm^2).

■ فیلترهای کپسولی شکل

فیلترهای کپسولی شکلی که دارای درجه استریل و با غشا فیلترها قرار داده شده بود، همراه با ماده اصلی مورد آزمایش قرار گرفته است که اتصال با فرآیند مایع پلی پروفیلن برای فیلتر و پوسته کپسول و فلورید پلی وینیلیدن (PVDF) برای غشا که سطح اصلاح شده را با استفاده از کوپولیداکریلیت هیدروفلیک مورد استفاده قرار داده است. فیلتر، فضایی غشایی بسیار بالایی معادل 1500cm^2 داشت.

شکل (۲) سیستم آزمایشی برای مواد استخراج شده را نشان می‌دهد. جدول (۱) پارامترهای آزمایشی محصول را فهرست کرده، روی هر محصول دوباره آزمایش صورت گرفته است. حلال

نمونه برای محصول‌های مایع رقیق آب و اتانول بود اما برای اکثر کاربردها بیوتکنیکال بدترین شرایط آزمایش بود. همچنین از پرتوافکنی اشعه گاما (50kgy) محدوده وسیعی از مقدار پرتوافکنی نشان داده شد که برای تولید استریلیزه محصولات و سیستم‌های موجود به کار رفته بود، مطالعه کنترل منفی برای انواع محصولات و سیال‌ها با استفاده از سیستم گردش مجدد به وسیله پمپ PTFE و تیوب انجام شد ولی محصول مرتبطی وجود نداشت.

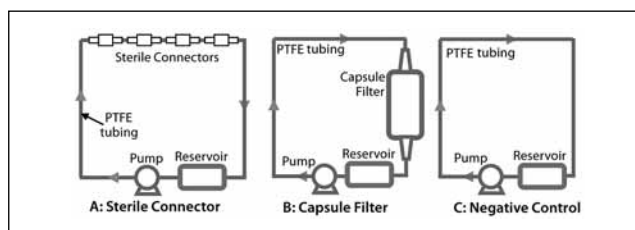
■ روش‌های آنالیزی

۱۳ روش مختلف آنالیزی را برای تشخیص کمیت و ماهیت گونه‌های شیمیایی مختلف به کار رفته که به ویژه با ترکیبات پلاستیکی مرتبط بودند. همان‌گونه که در جدول (۲) نشان داده شد، اکثر روش‌ها برای استخراج آب و اتانول کاربردی بودند اما چهار مورد برای استخراج مایع مشخص بودند.

■ نتایج

□ مطالعه‌ها در مورد اتصال‌های استریل

به دلیل اندازه کوچک و فضای تماس مایعی کمی که اتصال‌های استریل دارند، چهار مجموعه



شکل ۲

Table 1 - Product and test parameters for extractables studies

	Sterile Connector	Capsule Filter
Liquid contact materials	Polycarbonate	Membrane: PVDF surface-modified with hydrophilic acrylate copolymer Support an drainage: Nonwoven polypropylene Capsule shell/filter hardware: Polypropylene
Contact surface area	Approximately 44 cm ²	Membrane: 1,500 cm ² Filter hardware: 500 cm ²
Extraction volume	1.5 L	1.5 L
Extracting fluid	Deionized water at 21°C; 18 megohm-cm resistivity; ethanol at 21°C	
Extraction system	Pumped recirculating liquid; PTFE pump and tubing	
Extraction time	Deionized water for 24 hours; ethanol for four hours	
Product pretreatment	Gamma irradiation at 50 kGy	

در چرخه گردش مجدد ترکیب شدند تا از کشف ترکیب‌های استخراجی در محدوده‌های حساس روش‌شناسی اطمینان حاصل گردد. مطالعه‌ها دو مرتبه انجام شده به دلیل محدودیت فضا نتوانست در این‌جا مجموع نتایج را به تفصیل نشان دهد. اطلاعات درخواستی از طریق pall life science در جدول (۳) مهمترین نتایج را به اختصار و به طور ساده خلاصه کرده تا داده‌های کمی و کیفی را برای

Table 2 - Analytical methods used for assessing extractables

Analytical Method	Water Extract	Ethanol Extract
Total organic carbon (TOC) analysis	✓	
pH analysis	✓	
Conductivity analysis	✓	
Ion chromatography (IC)	✓	
Nonvolatile residue (NVR) analysis	✓	✓
Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy	✓	✓
Ultraviolet (UV) spectrometry	✓	✓
Direct-injection gas chromatography with mass spectrometric detection (GC/MS)	✓	✓
Headspace GC/MS	✓	✓
Derivatization GC/MS	✓	✓
High-performance liquid chromatography with ultraviolet detection (HPLC/UV)	✓	✓
Liquid chromatography with mass spectrometric detection (LC/MS and LC/MS/MS)	✓	✓
Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP/MS)	✓	✓

Table 3 - Results of extractables studies on sterile connectors
(NA=not applicable; DL=detection limit)

Analytical Test Method	Solvent: Water		Solvent: Ethanol	
	Sterile connector	Negative Control	Sterile connector	Negative Control
Nonvolatile residue analysis	<0.05 mg	<0.2 mg (DL)	≤0.05 mg	<0.2 mg (DL)
Total organic carbon analysis	0.039 ppm	0.07 ppm	NA	NA
pH analysis (from a set of four connectors)	5.9	5.8	NA	NA
Conductivity analysis (from a set of four connectors)	1.9 μS/cm	1.0 μS/cm	NA	NA
Ion chromatography				
Acetate	<7.5 ppb ¹	<7.5 ppb ¹	NA	NA
Formate	<4.0 ppb ¹	<4.0 ppb ¹	NA	NA
GC/MS				
Volatiles (headspace)	No peaks	No peaks	No peaks	No peaks
Semivolatiles (direct injection)	No peaks ²	No peaks	No peaks	No peaks
Derivatization (BF ₃ /1-Butanol)	Benzoic acid: 0.039 ppm	Benzoic acid: 1.011 ppm	Benzoic acid: 0.047 ppm	Benzoic acid: <0.001 ppm
HPLC/UV	No peaks ²	No peaks	No peaks ³	No peaks
ICP/MS				
15 elements ⁴	<DL	<DL	<DL	<DL
Boron	0.397 ppb	0.08 ppb	<DL	<DL
Calcium	<DL	8.938 ppb	1.028 ppb	4.316 ppb
Sodium	0.162 ppb	0.07 ppb	<DL	47.64 ppb
Zinc	0.050 ppb	0.01 ppb	<DL	<DL

¹ Limit of detection: 7.5 ppb for acetate and 4.0 ppb for formate

² Extract also concentrated 50-fold (no peaks)

³ Extract also concentrated 10-fold (no peaks)

⁴ Li, Mg, Al, K, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Ag, Sn, Ba, and Pb

مواد استخراجی آب و اتانول با استفاده از کروماتیک گرافی دقیق گاز برای مواد استخراجی فرار و نیمه فرار و کروماتیک گرافی مایع کارآمد بوده (HPLC) و مورد بررسی و تحلیل قرار گرفت اما اختلافی میان آزمایش و استخراج کنترل شده را حتی پس از بررسی ۱۰ تا ۵۰ نمونه نشان نداد و آنالیز ۱۹ عنصر که با جرم طیف سنجی پلاسما پیوستگی داشتند، نشان داد که ۱۵ فلز زیرمحدوده قابل بررسی بودند. تنها برم، کلسیم، ید و روی بالاتر از محدوده بررسی اما کمتر از ۱/۱ حد اتصال دهنده استریل بودند.

مواد استخراجی تحت شرایط آزمایشی خاص نشان دهد که نتایج آن شامل میزان pH، هدایت و سایر شاخص‌ها می‌باشد.

چهار نتیجه از مجموع اتصال‌ها حاصل شدند. جدول (۳) داده‌هایی را نشان می‌دهد که پس مانده‌های غیر فرار متعلق به چهار اتصال دهنده استریل تاکید می‌کنند که زیرمحدوده تعیین عناصر نتایج مشابه با کنترل‌های منفی را ارایه داد که در آن میزان TOC و تغییرات pH و هدایت حداقل بود. از طریق کروماتوگرافی یونی استخراج اتصال دهنده‌ای زیر محدوده بررسی به دست آمد.

□ بیسنپول - A

بلوک ساخت اولیه پلوکربن، به عنوان ماده‌ای خالص‌پذیر از برخی طبقه‌بندی‌های شیشه‌های پلی کربن است پس از این که در معرض گرما قرار می‌گیرند مانند جوش آمدن آب برای تشخیص امکان خالص‌پذیری این ماده از اتصالات ضد عفونی شده، مطالعه جداگانه اتانول را روی اتصال دهنده‌های ضد عفونی کننده انجام گرفت که دو مرتبه به مدت ۳۰ دقیقه در درجه ۱۳۵ سانتی گراد تحت فشار گرما قرار گرفت. بیسنپول A توسط GC/MS در استخراج ترکیبی دو اتصال پیدا شد.

در نتیجه داده‌های کمی و کیفی کامل نشان داد که پتانسیل این اتصال دهنده‌ها برای آزادسازی مواد خالص‌پذیر در محصول‌های دارویی بسیار پایین است. البته، باید در نظر داشت که شرایط گردشی ضعیف و کاهش دفعات تماس در اکثر فرآیندها با این شرایط آزمایشی استخراجی، مقایسه شده است. این نتیجه می‌تواند برای انجام آنالیز فرآیند خطر، دارای اهمیت باشد. در مواردی که آب یا اتانول به عنوان بدترین حلال معرفی می‌شوند داده‌ها استخراج گردیدند. در نتیجه، نشان می‌دهد

که مطالعه‌ها در مورد فرآیند خالص‌پذیری روی این اتصال دهنده‌ها بسیار کوچک یا حتی غیرضروری شمرده شده است. چنانچه کل داده‌های استخراج شده براساس مستندات آنالیزهای دارای خطر باشند این امر زمان و تلاش مفید را کاهش می‌دهد.

■ مطالعات در مورد فیلترهای کیسولی شکل

یک فیلتر کیسولی مورد بررسی قرار گرفت و این مطالعه دو مرتبه انجام شد. همان‌طور که در بالا شرح داده شد در این‌جا امکان گزارش تمام نتایج با جزییات کامل وجود ندارد. اطلاعات درخواستی از طریق PALL life sciences قابل دسترسی است. جداول (۴) و (۵) هم نتایج را به طور خلاصه و نمودار داده‌های استخراج‌ها به صورت کمی و کیفی نشان داده است. NVRs به دست آمده بسیار پایین بوده (به مقدار ۵/۵mg است) و همان‌طور که انتظار می‌رفت، استخراج‌های اتانول بیشتر بود (۵۶mg) که برای فیلترهایی در فضاهای بلند مناسب می‌باشد. آنالیز FTIR که در آن ویژگی‌های NVR اولیه‌مره‌های عمده کوپولسید اکریلیت شناسایی شدند برای اصلاح سطح غشا PVDE به کار رفته است.

آنالیزهای کروماتوگرافی عصاره اتانول برای شناسایی ترکیبات منحصر به فرد ترکیبات فرار و نیمه فرار (جدول ۵) اثر اکسیدهای چرب و آنتی‌اکسیدان‌ها مواد افزودنی فرمول رزین پلی‌پروپیلن و محصولات طبقه‌بندی شده کوپولید اکریلیت عامل غشایی هیدروپلاستیکی را در محدوده ۰/۱ppm تا ۳ppm نشان داد.

Table 4 - Nonvolatile residues (NVR) from capsule filters

Samples	NVR
Water extract	4.1–6.8 mg ¹
Ethanol extract	50.8–60.9 mg ²

¹ After subtraction of negative control (0.3 mg)

² After subtraction of negative control (0.6 mg)

Table 5 - Identity and quantities of some compounds in ethanol filter extracts

Test	Compounds Identified	Concentration	
GC/MS on ethanol extract	2-Ethylhexanoic acid	0.56 ppm	
	1,3-Di-tert-butyl-benzene	0.52 ppm	
	2,4-Di-tert-butyl-phenol	0.12 ppm	
	Lauryl acetate	0.13 ppm	
	Lauryl acrylate	0.64 ppm	
Test	Fatty Acid Derivatives Identified	Concentration	LOQ*
GC/MS on derivatized ethanol extract	Ethanedioic acid, dibutyl ester (Oxalic)	0.16 ppm	0.01 ppm
	Propanedioic acid, dibutyl ester (Malonic)	0.10 ppm	0.01 ppm
	Dodecanoic acid, butyl ester (Lauric)	0.23 ppm	0.025 ppm
	Butanedioic acid, butyl ester (Succinic)	0.17 ppm	0.01 ppm
	Tetradecanoic acid, butyl ester (Myristic)	0.09 ppm	0.025 ppm
	Hexadecanoic acid, butyl ester (Palmitic)	0.61 ppm	0.01 ppm
	Octadecanoic acid, butyl ester (Stearic)	1.23 ppm	0.05 ppm
	1,4-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	2.24 ppm	0.025 ppm
* Limit of quantification			
Test	Compounds Provisionally Identified	Molecular Weight	
LC/MS on ethanol extract	2-Ethylhexanoic acid	144.21	
	Lauric acid	200.32	
	Myristic acid	228.37	
	Palmitic acid	256.42	
	Stearic acid	284.48	

■ بحث

۱۵۰m² به بیش از ۱۰۰۰ مرتبه افزایش داد. به علاوه، پوسته فیلتر کپسولی شکل پلی پروپیلن و سخت افزار فضای تماسی تقریباً ۵۰۰cm² که ۱۰ بار بیشتر از اتصال دهنده استریل است را داشت. شناسایی ترکیب‌هایی که به دست آمد با ساختار مواد اساسی ترکیب‌ها و موادی که برای ایمنی بیولوژیک در طول معتبرسازی تعیین شده آزمایشات استاندارد صنعتی مانند رده‌بندی ایمنی بیولوژی آمریکا برای پلاستیک‌ها را مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین مواد این ساختار در پرونده اصلی هر محصولات دارویی وجود دارد که به FDA ارایه می‌شود.

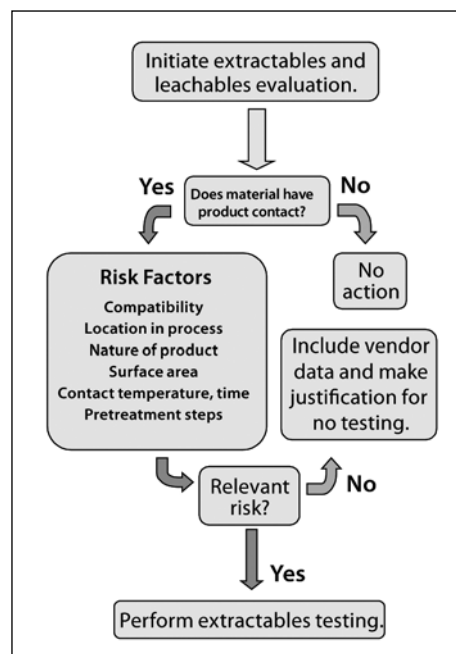
داده‌ها در مورد فیلترهای کپسولی شکل، سطح بسیار بالایی استخراج‌ها را از آنچه به وسیله اتصال دهنده استریل یافت شده بود را نشان داد. این اختلاف به دلیل حجم بیشتر محدوده موادی هیدروفلیک PVDF و تقویت پلی پروپیلن بدون بافت و لایه‌های زه‌کشی در این فیلترهای کپسول شکل، با فضای سطحی ۱/۵۰۰cm²، ۰/۱۵m² در حدود ۳۴* بیشتر از اتصال دهنده‌های استریل را داشت. ساختار ریز و پرمنفذ داخلی مربوط به غشاهای فیلتر فضای تماس خود را در مجموع فضای

■ خلاصه نتایج کلی

مطالعه‌های تکنیک‌های آنالیزی قوی و در دسترس روشن می‌سازد که امروزه برای شناسایی پایین آوردن اثر مواد استخراجی به سطح اجزایی در هر میلیارد باشد و هنگامی که در محصول دارویی نهایی به خالص‌پذیری به جای حلال‌های نمونه برسد، بر طبق تداخل عناصر فعال دارویی سورفاکتانت و دیگر ترکیبات غیرفرار بیشتر نگران‌کننده می‌شود. با این حال، نتایج آزمایشی مواد استخراجی به ارزیابی مواد خالص‌پذیر در محصولات دارویی کمک می‌کند که از تجهیزات فرآیند نشأت گرفته‌اند. داده‌های استخراجی حلال

نمونه مانند آن‌هایی که در این مطالعه تولید شده‌اند در صلاحیت و معتبرسازی فرآیند سیستم‌های یک‌بار مصرف نقش مهمی را ایفا می‌کنند. در تشخیص خطر مواد خالص‌پذیر، نتایج ترکیبات در رابطه با اتصال‌های استریل بسیار مهم می‌باشد به طوری که داده‌های موجود از همه ترکیب‌های یک سیستمی که دارای پایه علمی باشد می‌توان برنامه‌هایی جهت فرآیندها به وجود آورد. نمودار درختی تصمیم‌گیری برای رویکرد تشخیص خطا در شکل (۳) نشان داده شده است.

اگر داده‌های فرآیند دارای پایه علمی باشند، در نتیجه داده‌های استخراجی می‌تواند معتبر و قابل ثبت باشند. اگر حلال و یا شرایط توجیه ناپذیر باشد، در نتیجه مطالعه بدترین مورد روی سیستم بدون نقص می‌تواند برای فرآیند مایع، بدون نیاز به آزمایش یک به یک ترکیبات را ارائه دهد. داده‌های ترکیبی کتابخانه مهمی از اطلاعات در انتخاب و صلاحیت معتبرسازی سیستم‌های یک‌بار مصرف به مصرف‌کنندگان عرضه می‌کند.



شکل ۳

Decision tree for risk analysis of extractables and leachables

منبع

Ding W. Martin J. Implementation of single-use technology in Biopharmaceutical Manufacturing. Bio Process Int 2009 (May): 46-51.