การทดสอบการละลายของยากินในรูปของแข็ง

ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.ภก สมพล ประคองพันธ์
ราชบัณฑิต สำนักวิทยาศาสตร์ ราชบัณฑิตยสภา

อัตราการละลายของยากินเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของยาในร่างกาย เนื่องจากตัวยาสำคัญต้องเกิดการละลายหรือปลดปล่อยจากตำรับยาในทางเดินอาหารก่อนที่จะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย การทดสอบอัตราการละลายของยาจึงถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในขั้นตอนต่างๆในวงจรชีวิตของผลิตภัณฑ์ยานั้น นับตั้งแต่การพัฒนาตำรับยา การขึ้นทะเบียนยา การปรับปรุงสูตรตำรับ กรรมวิธีการผลิต การควบคุมคุณภาพ ตลอดจนการกำหนดอายุการใช้ของยา อัตราการละลายของยายังมีบทบาทสำคัญในการบ่งชี้ความจำเป็นที่ต้องทดสอบชีวสมมูลของยาเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงปรับปรุงการผลิตยา นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการเปรียบเทียบชีวสมมูลของยาหลายชนิดโดยไม่จำป็นต้องทดสอบในคน (biowaiver) โดยทั่วไปแล้ว ผลิตภัณฑ์ที่มีการละลายในร่างกาย (in vivo) เหมือนกันมักจะเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีชีวสมมูล บทความนี้จึงได้รวบรวมหลักเกณฑ์การประยุกต์ใช้การทดสอบการละลายของยาในกรณีต่างๆ

การศึกษาชีวสมมูลโดยทั่วไปมักจะเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์ยาในคน แต่เป็นวิธีที่ยุ่งยาก มีค่าใช้จ่ายสูง จึงมีความพยายามที่จะหาเครื่องมือหรือวิธีเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์โดยไม่ต้องทดสอบในคนแต่สามารถบ่งบอกถึงความเท่าเทียมกันของยาได้ การทดสอบการละลายของยาสามัญเป็นวิธีหนึ่งที่ทางการยอมรับให้ใช้แทนการทดสอบในคนได้สำหรับยาบางชนิด ช่วยลดการทดสอบยาในคนโดยไม่จำเป็น ดังนั้น ข้อมูลการศึกษาการละลายของยาจึงถูกนำมาใช้ในทุกขั้นตอนตลอดวงจรชีวิตของผลิตภัณฑ์ยา

หลักการจัดกลุ่มตัวยาตามสมบัติทางชีวเภสัชกรรม

สำหรับยาที่ละลายในน้ำได้ทันทีอัตราเร็วของการละลายและอัตราเร็วในการซึมผ่านผนังทางเดินอาหารเป็นตัวกำหนดอัตราเร็วและปริมาณของยาที่เข้าสู่ร่างกายซึ่งเรียกว่าชีวประสิทธิผลของยา หากอัตราการละลายของยาช้ากว่าอัตราการดูดซึมจะเกิดการดูดซึมน้อยลง การดูดซึมที่ช้าเนื่องจากการละลายช้าก็ทำให้ความเข้มข้นสูงสุดของยาในเลือดลดลงเช่นกัน ชีวประสิทธิผลของยากินจึงขึ้นกับค่าการละลาย สัมประสิทธิ์การซึมผ่านของตัวยา และอัตราการละลายของผลิตภัณฑ์ยา Amidon และคณะ (1) ได้จัดแบ่งกลุ่มตัวยาโดยพิจารณาค่าการละลายในน้ำและสัมประสิทธิ์การซึมผ่านหรือการดูดซึมของตัวยา เรียกว่าการจัดกลุ่มตัวยาตามสมบัติทางชีวเภสัชกรรม (Biopharmaceutics Classification System หรือ BCS) โดยแบ่งตัวยาเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1. BCS class I: การละลายดี การดูดซึมดี

กลุ่มที่ 2. BCS class II: การละลายไม่ดี การดูดซึมดี

กลุ่มที่ 3. BCS class III: การละลายดี การดูดซึมไม่ดี

กลุ่มที่ 4. BCS class IV: การละลายไม่ดี การดูดซึมไม่ดี

ในที่นี้ การละลายดี หมายความว่า ตัวยาในขนาดความแรงสูงสุดที่มีจำหน่ายหรือขนาดสูงสุดในรายการยาจำเป็นขององค์การอนามัยโลก ละลายได้หมดในน้ำ 1 แก้ว (ประมาณ 240-250 mL.) ที่ 37 $\pm$ 1 ^{o}C ในตัวทำละลายที่ pH 1.2, 4.5 และ 6.8 ตัวยามีการละลายดีจะมีค่า Dose/Solubility ratio ต่ำกว่า 250 ส่วนการดูดซึมดี หมายความว่า มีชีวประสิทธิผล (bioavailability) มากกว่า 85% ขึ้นไป หรือได้จากการคำนวณสมดุลของมวลยาที่ถูกดูดซึม หรือโดยการเปรียบเทียบการซึมผ่านผนังลำไส้ของคนหรือสัตว์ การซึมผ่าน Caco-2 cell หรือโดยวิธีที่เป็นทางเลือกอื่น เช่นสัมประสิทธิ์การซึมผ่าน (permeability coefficient) ในสัตว์ทดลอง หรือประมาณได้จากค่าสัมประสิทธิ์การแบ่งภาค (partition coefficient)

การจัดกลุ่มยาตามหลัก BCS นี้ มีประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ยา การพัฒนาวิธีทดสอบการละลายของยา และ ใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาชีวสมมูลโดยยกเว้นการศึกษาในคนได้ ในการพัฒนาตำรับยาต้องมีข้อมูล ค่าการละลายของยา ชีวประสิทธิผลของยา และ อัตราการละลายของผลิตภัณฑ์

ค่าการละลายหรือขีดการละลายของยา (solubility)

เมื่อใส่ของแข็งปริมาณมากเกินพอในตัวทำละลาย โมเลกุลของของแข็งจะหลุดจากผิวกลายเป็นสารละลาย และมีการละลายเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งถึงจุดสมดุลซึ่งก็คือจุดสารละลายอิ่มตัว ค่าการละลายของสารในตัวทำละลายที่อุณหภูมิหนึ่งๆก็คือความเข้มข้นของสารละลายอิ่มตัวที่อุณหภูมินั้น ค่าการละลายของตัวยาในตัวทำละลายต่างๆเป็นประโยชน์ในการเตรียมยา การพัฒนาสูตรตำรับ ยาที่มีค่าการละลาย (solubility)ในน้ำสูงจะเป็นยาที่มีอัตราการละลาย (dissolution rate) เร็ว จึงมีผลต่ออัตราเร็วและปริมาณที่ยาเข้าสู่ร่างกาย และส่งผลต่อประสิทธิภาพการแสดงฤทธิ์ของยาในร่างกาย

ค่าการละลายของตัวยาขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง อาทิเช่น คุณสมบัติการชอบน้ำหรือไขมันของตัวยา ขนาดโมเลกุล รูปผลึก ชนิดของเกลือ การแตกตัวเป็นไอออนของตัวยา ขนาดอนุภาคผงยา ชนิดของตัวทำละลาย ความหนืด อุณหภูมิ pH

วิธีวัดค่าการละลาย

การวัดค่าการละลายมีหลายวิธี เช่น Shake Flask method ทำโดยใส่ตัวทำละลายในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) แล้วเติมผงยาลงไปในปริมาณที่มากเกินพอ (ให้มีตะกอนเหลืออยู่) นำไป

เข้าเครื่องเขย่าที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 ± 1°C วัด pH ของผสม หาก pH เปลี่ยนไปให้ปรับ pH ในขวดรูปชมพู่ด้วยกรดหรือด่าง และเติมผงยาอีกถ้าจำเป็น (ให้มีตะกอนเหลืออยู่) นำไปเขย่าต่ออีก ปรับ pH ซ้ำจนคงที่ เก็บตัวอย่างสารละลายที่ 37 ± 1°C ที่เวลาต่างกัน โดยแยกเอาส่วนที่เป็นสารละลายออกโดยการกรองด้วยตัวกรองที่มีอุหภูมิสูงกว่าเล็กน้อย หรือปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 37°C นำตัวอย่างสารละลาย ที่ได้ไป วิเคราะห์ความเข้มข้น หากได้ความเข้มข้นคงที่ที่เวลาเขย่าต่างกันแสดงว่าเป็นสารละลายอิ่มตัวแล้ว ความเข้มข้นที่ได้คือค่าการละลาย ควรทำซ้ำ 3 ครั้ง

อัตราการละลายของยา

ทฤษฎีการละลายที่ใช้ในการสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์อธิบายการละลายของยาชนิดปลดปล่อย/ละลายยาทันทีและชนิดออกฤทธิ์นานมีหลายทฤษฎี กระบวนการละลายอย่างง่ายสามารถอธิบายได้โดยแบบจำลองการแพร่ (Diffusion layer model) ดังนี้ เมื่อผิวของผงยาสัมผัสกับตัวทำละลายจะเกิดฟิล์มของเหลวที่อยู่นิ่งติดกับผิวของแข็ง โมเลกุลที่ผิวของแข็งจะเกิดปฏิกิริยากับตัวทำละลาย (interfacial reaction) ละลายออกมา หากปฏิกิริยาเกิดเร็วจะเป็นสารละลายอิ่มตัวทันทีที่ผิวผงยา จากนั้นจะเกิดการแพร่ของโมเลกุลที่ละลายแล้วจากด้านที่มีความเข้มข้นสูง(คือค่าการละลาย)ที่ผิวของแข็งไปยังด้านที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า (มีความเข้มข้นเท่ากับสารละลายส่วนใหญ่) ในชั้นฟิล์มหรือชั้นที่เกิดการแพร่มีความลาดลงของความเข้มข้น (concentration gradient) ความหนาของชั้นฟิล์มนี้เรียกว่า diffusion layer thickness ถัดจากชั้นฟิล์มจะเป็นสารละลายส่วนใหญ่ที่เป็นเนื้อเดียวกันอยู่รอบๆ ความเข้มข้นของสารละลายจะเท่ากันทุกส่วนเมื่อมีการกวน

อัตราการละลายของของแข็งในตัวทำละลายเป็นกระบวนการทางจลนศาสตร์ซึ่งเสนอในเชิงปริมาณเป็นครั้งแรกโดย Noyes and Whitney (2) ในปี ค.ศ 1897 และได้มีการขยายความต่อมาโดยใช้กฎการแพร่ข้อแรกของฟิค (Fick's first law of diffusion) อาจเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$\frac{dM}{dt} = \frac{AD}{h}(C_s - C) \qquad (1)$$

หรือ

$$\frac{dC}{dt} = \frac{AD}{Vh}(C_s - C) \qquad (2)$$

ในที่นี้ M คือน้ำหนักของตัวถูกละลายที่ออกมาที่เวลา t, dM/dt คืออัตราการละลาย D คือสัมประสิทธิ์การแพร่ของตัวถูกละลายในสารละลาย A คือ พื้นที่ผิวของตัวถูกละลายที่สัมผัสกับตัวทำละลาย h คือความหนาของชั้นฟิล์มที่เกิดการแพร่ C_s คือ ค่าการละลายของของแข็ง C คือ ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในสารละลายส่วนใหญ่ที่เวลา t และ V คือ ปริมาตรของสารละลาย

จากสมการข้างต้น ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการละลายของยาได้แก่

1. สมบัติของยา

1.1. ค่าการละลายของยา ตัวยาที่มีค่าการละลายสูงจะละลายได้เร็วกว่ายาที่มีค่าการละลายต่ำ การเพิ่มค่าการละลายจึงเป็นวิธีเร่งให้ยาละลายเร็วขึ้น การเพิ่มค่าการละลายทำได้หลายวิธี อาทิ เช่น ใช้รูปผลึกที่เป็นพหุสัณฐานที่มีค่าการละลายสูง แต่ต้องติดตามเมื่อเก็บไว้นานอาจมีการเปลี่ยนรูปผลึกได้ การใช้อนุภาคละเอียดเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสที่นิยมใช้ หากใช้ในขนาดไมครอนหรือเล็กกว่าจะช่วยเพิ่มขีดการละลายได้อีกเล็กน้อยเนื่องจากอนุภาคขนาดจิ๋วมีความโค้งของผงยามากกว่าจึงมีพลังงานเพิ่มขึ้นจากแรงตึงผิว การใส่สารลดแรงตึงผิวในสูตรยา หากใช้ปริมาณมากพอยังช่วยเพิ่มค่าการละลายของยาที่ละลายน้ำได้น้อยโดยการเกิดไมเซล แต่ต้องเลือกชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิวให้เหมาะสมเพราะสารลดแรงตึงผิวหลายชนิดมีผลต่อการดูดซึมของยาด้วย

1.2. พื้นที่ผิวหรือขนาดอนุภาค อัตราการละลายแปรผันโดยตรงกับพื้นที่ผิวของผงยาที่สัมผัสตัวทำละลาย การใช้อนุภาคยาขนาดเล็กลงในระดับไมโครหรือนาโนเมตรเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการเพิ่มอัตราการละลาย เพราะนอกจากจะเพิ่มพื้นที่ผิวแล้วยังเพิ่มขีดการละลายได้อีกเล็กน้อย การใส่สารลดแรงตึงผิวจำนวนเล็กน้อยจะช่วยให้ผงยาเปียกน้ำได้ดีขึ้น เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวที่สัมผัสตัวทำละลาย

2. สมบัติของตัวทำละลาย

2.1. ความหนืด ความหนืดของตัวทำละลายมีผลต่อค่า D และ h ความหนืดที่เพิ่มขึ้นจะลดอัตราการละลาย ความหนืดของตัวทำละลายจะลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น

2.2. pH ของตัวทำละลายที่เลียนแบบทางเดินอาหารคือ pH 1.2, 4.5 และ 6.8 อาจมีผลต่อค่าการละลายของยาที่เป็นกรดอ่อนหรือเบสอ่อน หรือมีผลต่อความคงสภาพของยาบางชนิด ส่วนประกอบของตัวทำละลายควรใช้ตามฟาร์มาโคเปียกำหนดหรือใช้ตามคำแนะนำของ US FDA ไม่นิยมใช้น้ำเป็นตัวกลางทำละลายเนื่องจากไม่สามารถควบคุม pH ได้

2.3. ความเข้มข้นของยาที่ละลายแล้ว ในช่วงแรกของการละลายค่า C มีค่าน้อยกว่า C_s มาก เรียกว่าเป็น sink condition การละลายเป็นแบบปฏิกิริยาอันดับศูนย์ dM/dt มีค่าคงที่จนกระทั่งความเข้มข้นของยาที่ละลายแล้วสูงถึงประมาณ 15% ของค่าการละลายอัตราการละลายจะช้าลงเป็นแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ควรเลือกตัวกลางทำละลายที่เป็น sink condition ในทุกความแรง

2.4. สารลดแรงตึงผิว สำหรับยาที่ละลายน้ำได้น้อย อาจต้องเพิ่มสารลดแรงตึงผิวในตัวทำละลายเพื่อเพิ่มขีดการละลายของตัวยาให้การทดสอบอยู่ในช่วง sink condition แต่ต้องเลือกชนิดและปริมาณที่เหมาะสม เพื่อให้วิธีทดสอบสามารถแยกได้ว่ายานั้นดีหรือไม่ดี

3. วัตถุดิบ สูตรตำรับ กรรมวิธีการผลิต เครื่องมือที่ใช้ผลิต สถานที่ผลิต ขนาดรุ่นผลิต อาจมีผลต่ออัตราการละลายของยาได้

4. สภาวะการทดสอบ เครื่องทดสอบอัตราการละลายควรรักษาสภาวะการทดสอบให้คงที่ คืออุณหภูมิ ความเร็วรอบ มีการตรวจสอบความถูกต้องของเครื่องมือและวิธีทดสอบ วิธีวิเคราะห์ตามข้อกำหนดในฟาร์มาโคเปีย

การทดสอบอัตราการละลายของยากินในรูปของแข็ง

การทดสอบการละลายในฟาร์มาโคเปียมุ่งหวังที่จะใช้เป็นตัววัดความสม่ำเสมอของยาที่ผลิตแต่ละรุ่น ยาชนิดเดียวกันที่ผลิตต่างรุ่นหากมีลักษณะการละลายเหมือนกันก็น่าจะมีประสิทธิภาพในร่างกายคนเหมือนกัน ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะวิธีพื้นฐานที่กำหนดในฟาร์มาโคเปียสำหรับยาที่ละลายทันทีและยาออกฤทธิ์นานสำหรับรับประทาน วิธีทดสอบการละลายที่ดีควรสามารถบอกความแตกต่างของสูตรตำรับที่ต่างกันได้ และสามารถใช้กับยาที่มีหลายความแรงและสัมพันธ์กับการแสดงฤทธิ์ของยาในร่างกาย มีความทนต่อสภาวะการทดสอบ

เครื่องทดสอบการละลาย (Dissolution apparatus) เป็นเครื่องมือเลียนแบบทางเดินอาหารในร่างกายได้ระดับหนึ่ง เครื่องทดสอบการละลายตามฟาร์มาโคเปียกำหนดขึ้นเป็นครั้งแรกใน United States Pharmacopeia (USP) เล่มที่ 13 ในปี ค.ศ. 1970 (3) ปัจจุบันนี้มีความร่วมมือกันระหว่างประเทศกำหนดเป็นมาตรฐานเดียวกันทั่วโลก สำหรับข้อกำหนดของเครื่องมือและวิธีทดสอบการละลาย USP Apparatus 1 (Rotating basket) และ USP Apparatus 2 (Paddle) เป็นเครื่องมือทดสอบการละลายที่มีใช้ทั่วไป

ตัวกลางทำละลาย (medium) ควรเลียนแบบวภาวะในทางเดินอาหาร เวลาที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์มีความเหมาะสมเพื่อให้ได้กราฟการละลาย อย่างน้อยต้องมี 3-4 จุดเวลา (ไม่นับเวลา 0) ระยะห่างเท่าๆกัน สำหรับยาออกฤทธิ์นานต้องเพิ่มจุดเวลาเพื่อให้ได้กราฟการละลายที่มีลักษณะสมบูรณ์ ตารางที่ 1 เป็นตัวอย่างสภาวะการทดสอบและตัวกลางทำละลายที่นิยมใช้สำหรับยาที่ปลดปล่อยตัวยาได้ทันที (4)

ตารางที่ 1 สภาวะการทดสอบการละลายสำหรับยากินในรูปของแข็งที่ปลดปล่อยทันที

เครื่องมือทดสอบ (เลือกได้)	Paddle, 50, 75 หรือ rpm หรือ Basket, 100 rpm
ตัวกลางทำละลายที่ใช้ในการเปรียบเทียบกราฟการละลายมี 3 ชนิด	1. 0.1 N HCl หรือ buffer pH 1.2 หรือ simulated gastric fluid without enzymes 2. Buffer pH 4.5 3. Buffer pH 6.8 หรือ simulated intestinal fluid without enzymes
ปริมาตรตัวกลางทำละลาย	900 mL หรือน้อยกว่า
อุณหภูมิ	37°C ± 0.5°C
เวลาที่เก็บตัวอย่าง(ที่นิยมใช้)	10, 15, 20, 30, 45, (60, 120) min.
จำนวนหน่วยของยา (แต่ละภาชนะ)	12 สำหรับการศึกษาที่เป็นทางการ

การระบุอัตราการละลายของยา

การระบุอัตราการละลายอาจทำได้ 3 แบบ คือ การระบุค่าเดียว การระบุ 2 ค่า หรือการเสนอเป็นกราฟการละลาย การระบุค่าเดียว เช่น อัตราการละลายไม่น้อยกว่า 80% ในเวลา 15 นาที เป็นวิธีที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพการผลิตเป็นประจำ การระบุ 2 ค่า จะบ่งถึงคุณภาพและลักษณะการละลายว่าเร็วช้าเพียงใด เหมาะกับการควบคุมคุณภาพยาที่ละลายช้า การเสนอเป็นกราฟการละลายคือการพล๊อตกราฟระหว่างปริมาณยาที่ละลายคิดเป็น % ของปริมาณยาที่ระบุบนฉลากกับเวลา กราฟการละลายจะแสดงถึงอัตราเร็วและปริมาณที่ยาละลายออกมาซึ่งสะท้อนถึงประสิทธิภาพของยาในร่างกายได้ดี ดังนั้นข้อกำหนดการละลายที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพ (specification) ควรได้มาจากกราฟการละลายของรุ่นที่ใช้ศึกษาวิจัยทางคลินิกที่สำคัญ(pivotal clinical studies) หรือรุ่นที่ใช้ศึกษาชีวสมมูล (biobatch) ซึ่งนำมาใช้สนับสนุนข้อกำหนดมาตรฐานสำหรับการควบคุมคุณภาพ ทั้งนี้เพื่อให้มั่นใจว่ายาที่ผลิตรุ่นต่อมาจะมีประสิทธิภาพในร่างกายเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังใช้การเปรียบเทียบกราฟการละลายเพื่อขอยกเว้นการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์ สำหรับยากลุ่ม BCS และยาที่ขนาดความแรงต่างกัน ในกรณีที่ยาที่เคยมีผลการศึกษาชีวสมมูลในความแรงอื่นแล้วและใช้เปรียบเทียบเมื่อมีการปรับปรุงแก้ไขเปลี่ยนแปลงภายหลังจากได้รับทะเบียนยาแล้ว

การเปรียบเทียบอัตราการละลายของยา

อัตราการละลายของยาในเครื่องทดสอบการละลายอาจจัดได้เป็น 3 ระดับ ดังนี้

1) ยาที่ละลายได้เร็วมาก (very rapidly dissolving) หมายความว่าผลิตภัณฑ์ยามีการปล่อยตัวยาสำคัญในตัวทำละลายได้ 85% หรือมากกว่าภายในเวลา 15 นาที

2) ยาที่ละลายได้เร็ว (rapidly dissolving) หมายความว่าผลิตภัณฑ์ยามีการปล่อยตัวยาสำคัญในตัวทำละลายได้ 85% หรือมากกว่าภายในเวลา 30 นาที

3) ยาที่ละลายได้ช้า (slowly dissolving) หมายความว่าผลิตภัณฑ์ยามีการปล่อยตัวยาสำคัญในตัวทำละลายได้น้อยกว่า 85% ภายในเวลา 30 นาที

การพิจารณาความเหมือนกันของกราฟการละลายมีหลักดังนี้ (5,6,7,8)

1. ในกรณีที่ผลิตภัณฑ์ยาอ้างอิงและผลิตภัณฑ์ยาทดสอบละลายได้มากกว่า 85% ภายใน 15 นาที สามารถยอมรับว่ากราฟแสดงการละลายของผลิตภัณฑ์ยาทดสอบเหมือนกับผลิตภัณฑ์ยาอ้างอิง โดยไม่จำเป็นต้องประเมินค่าทางคณิตศาสตร์ ทั้งนี้เนื่องจากการละลายเร็วมากนี้ค่าชีวประสิทธิผลไม่ถูกจำกัดด้วยการละลาย แต่จะขึ้นกับระยะเวลาที่ยาอยู่ในกระเพาะอาหาร เวลาที่ยาอยู่ในกระเพาะอาหารประมาณ 15-20 นาทีจะลดปริมาณลงครึ่งหนึ่ง การที่ยาละลายได้เกิน 85% ใน 15 นาที จึงเสมือนกับการกินยาน้ำ ไม่มีผลต่อชีวประสิทธิผลของยา

2. ในการเปรียบเทียบกราฟแสดงการละลายให้คำนวณค่าความเหมือนกัน (similarity factor, f_2) ซึ่งคำนวณจากลอการิทึมของส่วนกลับของรากที่สองของผลรวมกำลังสองของค่าความคลาดเคลื่อน เป็นพารามิเตอร์ที่ใช้วัดความเหมือนในรูปเปอร์เซ็นต์การละลายระหว่างเส้นกราฟทั้งสองที่เปรียบเทียบกัน

$$f_2 = 50 \times \log\left[\left\{1 + \frac{1}{n}\sum_{t=1}^{n}(R_t - T_t)^2\right\}^{-\frac{1}{2}} \times 100\right] \qquad (3)$$

ในที่นี้ n หมายถึง จำนวนจุดที่สุ่มตัวอย่าง R_t คือ ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การละลายของยาต้นแบบที่เวลา t และ T_t คือ ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การละลายของยาทดสอบที่เวลา t หากกราฟการละลาย 2 เส้นเหมือนกันทุกเวลาจะได้ค่า f_2 = 100 ค่า f_2 อยู่ระหว่าง 50-100 แสดงว่ากราฟการละลายมีความแตกต่างกันโดยเฉลี่ยไม่เกิน 10% ถือได้ว่ากราฟการละลายของผลิตภัณฑ์ทั้งสองมีความเหมือนกันหรือไม่มีความแตกต่างกันนั่นเอง ในการใช้ข้อมูลเพื่อคำนวณ f_2 จะต้องอยู่ภายใต้เงื่อนไขดังนี้

- อย่างน้อยต้องมี 3 จุดเวลา (ไม่รวมเวลาที่ 0)
- จำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทั้งผลิตภัณฑ์ยาทดสอบและผลิตภัณฑ์ยาอ้างอิงอย่างละ 12 หน่วย (เม็ด แคปซูล หรืออื่นๆ) ทุกจุดเวลา
- ไม่ใช้ค่าเฉลี่ยของการละลายเกินหนึ่งค่าสำหรับการละลายที่มากกว่า 85% หรือเมื่อปริมาณยาที่ละลายคงที่ในแต่ละสูตรตำรับ
- เปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์การเบี่ยงเบน (%CV) ของการละลายในแต่ละผลิตภัณฑ์ จุดแรกต้องไม่เกิน 20% และตั้งแต่จุดเวลาที่ 2 ถึงจุดสุดท้ายต้องไม่เกิน 10%

ค่า f_2 คือ similarity factor มีค่าอยู่ในช่วง 50-100 แสดงว่ากราฟทั้งสองเส้นต่างกันไม่เกิน10 % จึงจะยอมรับว่ากราฟแสดงการละลายของผลิตภัณฑ์ยาทดสอบเหมือนกับผลิตภัณฑ์ยาอ้างอิง

การนำเสนอข้อมูลเปรียบเทียบอัตราการละลายควรทำเป็นตารางแสดงค่า % การละลาย ที่เวลาต่างๆสำหรับยา 12 หน่วย มีค่า Mean, %RSD ที่แต่ละจุดเวลา แล้วแสดงในรูปกราฟ หากมีการคำนวณค่า f_2 ให้ระบุจำนวนข้อมูลที่ใช้ด้วย แล้วสรุปว่าอัตราการละลายของผลิตภัณฑ์เหมือนกันหรือไม่

3. กรณีที่ค่า %CV ของการละลายที่เวลาเดียวกันมีค่าสูงเกินจากที่กำหนดในข้อ 2 แสดงว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีความแปรปรวนมาก อาจจะใช้วิธีทางสถิติที่เหมาะสม เช่น Multivariate confident region statistics (7)

การทดสอบการละลายเพื่อการควบคุมคุณภาพ

การทดสอบการละลายเป็นเครื่องมือในการควบคุมคุณภาพซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสม่ำเสมอในการผลิต เป็นหัวข้อที่กำหนดเป็นมาตรฐานในฟาร์มาโคเปียสำหรับยาบางชนิด โดยมีรายละเอียดเครื่องมือ วิธีการทดสอบ ชนิดของตัวกลางทำละลาย เวลาที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง ข้อกำหนดของยาในแต่ละมอโนกราฟ ผู้ใช้ต้องตรวจสอบความถูกต้องก่อน โดยทั่วไปจะกำหนดการเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ที่จุดเวลาเดียว เช่น กำหนดให้มีการละลายไม่น้อยกว่า 80% (Q) ที่เวลา 20 นาที

สำหรับยาที่ไม่มีในฟาร์มาโคเปีย ผู้ใช้ต้องพัฒนาวิธีทดสอบการละลายขึ้นมาเองโดยวิธีนั้นเป็นวิธีที่สามารถบอกความแตกต่างของยาที่มีมาตรฐานกับยาที่ไม่ได้มาตรฐาน ควรใช้ได้กับยาทุกความแรง ในการทดสอบการละลายควรมีการเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ แล้วนำไปวิเคราะห์โดยวิธีที่เหมาะสม เวลาที่เก็บตัวอย่าง ความถี่ในการเก็บตัวอย่างขึ้นกับชนิดของยาและอัตราการละลาย สำหรับยาที่ปลดปล่อยทันที ควรเก็บตัวอย่างที่เวลา 10, 15, 20, 30, 45, 60 นาที

สำหรับยาที่ละลายช้าอาจตั้งข้อกำหนดการละลายที่ 2 เวลา หรือกำหนดเป็นช่วงๆสำหรับยาออกฤทธิ์นาน เมื่อได้ข้อกำหนดการละลายแล้ว การทดสอบจริงควรอิงวิธีการทดสอบในฟาร์มาโคเปีย การทดสอบครั้งแรกใช้ 6 หน่วย หากยังไม่ผ่านการยอมรับให้ทดสอบครั้งที่ 2 อีก 6 หน่วย หากยังไม่ผ่านอีกให้ทดสอบครั้งที่ 3 อีก 12 หน่วย ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การแปลความข้อกำหนดการละลายที่บอกเป็นตัวเลข (Q) เช่น NLT 80% (Q) ของปริมาณที่ระบุบนฉลากที่ละลายออกมาภายใน 30 นาที

ระดับที่	จำนวนหน่วยที่ทดสอบ	เงื่อนไขการยอมรับ	ตัวอย่าง
S_1	6	แต่ละหน่วย $\geq$ Q+5	แต่ละหน่วย $\geq$ Q+5
S_2	6	ค่าเฉลี่ยของ 12 หน่วย $(S_1 + S_2) \geq Q$ ไม่มีหน่วยใด < Q-15%	ค่าเฉลี่ย > 80% ไม่มีหน่วยใด < 65%
S_3	12	ค่าเฉลี่ยของ 24 หน่วย $(S_1 + S_2 + S_3) \geq Q$ ไม่เกิน 2 หน่วย < Q-15% ไม่มีหน่วยใด < Q-25%	ค่าเฉลี่ย > 80% ไม่เกิน 2 หน่วย < 65% ไม่มีหน่วยใด < 55%

การทดสอบการละลายและการยกเว้นการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์

การทดสอบการละลายสามารถใช้ศึกษาชีวสมมูลโดยไม่ต้องทดสอบในคนได้สำหรับยาบางชนิดเรียกว่า การยกเว้นการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์ (biowaiver) ตามหลัก BCS (8) โดยพิจารณาจากสมบัติของตัวยาและสมบัติของผลิตภัณฑ์ในหัวข้อต่อไปนี้

- ตัวยาสำคัญจัดอยู่ในกลุ่ม BCS ใด
- อัตราเร็วและความเหมือนกันของกราฟการละลายของยาอ้างอิงและยาทดสอบในตัวกลางทำละลาย 3 pH ที่ 1.2, 4.5 และ 6.8
- สารปรุงแต่งยาต้องเป็นชนิดและปริมาณที่ใช้ทั่วไป ไม่มีผลต่อการดูดซึมยา และไม่มีอันตรกิริยาต่อเภสัชจลนศาสตร์ของตัวยาสำคัญ
- ไม่เป็นผลิตภัณฑ์ที่ออกแบบให้มีการดูดซึมในช่องปาก
- ไม่เป็นยาที่มีช่วงการรักษาแคบ
- ดุลระหว่างความเสี่ยงและประโยชน์ที่ได้รับจากากรยกเว้นการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์นั้นยอมรับได้หากยาที่เปรียบเทียบในเครื่องทดสอบไม่มีชีวสมมูล พิจารณาจากช่วงการรักษาและข้อบ่งชี้ของยา

องค์การอนามัยโลกแนะนำให้ยกเว้นการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์ในกรณีต่อไปนี้

1. ตัวยาอยู่ในกลุ่ม BCS Class I มีอัตราการละลายเร็วมาก (≥ 85% ใน 15นาที) หรือละลายเร็ว (≥ 85% ใน 30 นาที) ในตัวทำละลาย 3 ชนิด ที่ pH 1.2, 4.5 และ 6.8

2. ตัวยาอยู่ในกลุ่ม BCS Class II ที่เป็นกรดอ่อน มีอัตราการละลายเร็ว (≥ 85% ใน 30 นาที) ในตัวทำละลาย 3 ชนิด ที่ pH 1.2, 4.5 และ 6.8

3. ตัวยาอยู่ในกลุ่ม BCS Class III มีอัตราการละลายเร็วมาก (≥ 85% ใน 15 นาที) ในตัวทำละลาย 3 ชนิด ที่ pH 1.2, 4.5 และ 6.8

สหรัฐอเมริกาเป็นประเทศแรกที่ยอมรับการยกเว้นการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์ตามหลัก BCS (biowaiver) ในปี ค.ศ.2000 โดยรับเฉพาะยาในกลุ่ม BCS I (9) ต่อมามีผลงานวิจัยจำนวนมากสนันสนุนความเป็นไปได้ที่จะยกเว้นสำหรับยา BCS III (10) ด้วย ซึ่งเป็นที่ยอมรับขององค์กรยาของยุโรป (EMA) จึงได้ปรับปรุงหลักเกณฑ์การศึกษาชีวสมมูล[๖] มีผลบังคับใช้เมื่อเดือนสิงหาคม ค.ศ. 2010 โดยให้ยกเว้นการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์ตามเกณฑ์ข้อ 1 และ 3 ขององค์การอนามัยโลก ต่อมาในปี ค.ศ. 2015 สหรัฐอเมริกายกเว้นสำหรับยา BCS III ด้วย ส่วนของประเทศไทยยังคงให้ยกเว้นเฉพาะเกณฑ์ข้อ 1 ตาม ASEAN Guideline ล่าสุดในปี ค.ศ. 2015

องค์กรยาของสหรัฐอเมริกาได้ออกคำแนะนำในการทดสอบการละลายของยาเพื่อขอยกเว้นการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์สำหรับยากลุ่ม BCS I และ BCS III โดยกำหนดสภาวะการทดสอบมาตรฐาน (11) ดังนี้

A. Basket Method (USP apparatus 1)	B. Paddle Method (USP apparatus 2)
• Stirring rate = 100 RPM	• Stirring rate = 75 RPM
• 500 mL of 0.01M HCl aqueous media	• 500 mL of 0.01M HCl aqueous media
• No surfactant in media	• No surfactant in media
• 37±0.5°C	• 37±0.5°C

การทดสอบการละลายเพื่อขอยกเว้นการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์สำหรับยาต่างความแรง

ยาที่มีผลการศึกษาชีวประสิทธิผลหรือชีวสมมูลในความแรงหนึ่งแล้ว เมื่อจะขอขึ้นทะเบียนที่ความแรงต่างกันสามารถขอยกเว้นการศึกษาในมนุษย์ได้โดยใช้ผลการเปรียบเทียบกราฟการละลายประกอบภายใต้เงื่อนไขต่อไปนี้ (6)

- ผลิตภัณฑ์ยาต้องผลิตโดยผู้ผลิต/สถานที่ผลิต/กระบวนการผลิตเดียวกัน
- มีชนิดของส่วนประกอบในตำรับเหมือนกัน ยกเว้นกลิ่นและสีที่ใช้
- มีรูปแบบและสัดส่วนของสารออกฤทธิ์ต่อสารไม่ออกฤทธิ์ (active ingredient/inactive ingredient) เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ที่ได้เคยศึกษาชีวประสิทธิผลเปรียบเทียบกับยาต้นแบบมาแล้ว แต่มีความแรงต่างกัน เช่น ยาเม็ดความแรง 50 มิลลิกรัมมีส่วนประกอบอื่นๆในตำรับทุกตัวเป็นครึ่งหนึ่งของยาเม็ดความแรง 100 มิลลิกรัม เป็นต้น
  สำหรับผลิตภัณฑ์ยาที่มีปริมาณตัวยาสำคัญในตำรับต่ำมากๆ (< 5% ของน้ำหนักรวม) เป็นยาที่มีฤทธิ์แรง น้ำหนักรวมของยาทุกความแรง ควรมีค่าใกล้เคียงกันในหนึ่งหน่วย (อยู่ในช่วง $\pm$10% ของน้ำหนักรวม) โดยลดปริมาณสารเฉื่อยบางตัวเท่ากับปริมาณของตัวยาที่เพิ่มขึ้นในความแรงอื่น สัดส่วนของสารไม่ออกฤทธิ์ของความแรงต่างๆควรใกล้เคียงกัน
- มีข้อมูลการศึกษาชีวสมมูลของขนาดความแรงหนึ่ง
- เภสัชจลนศาสตร์ของตัวยา มีความสัมพันธ์โดยตรงกับขนาดของยา (linear pharmacokinetics) ตลอดช่วงขนาดที่ให้ผลการรักษา

- กราฟแสดงการละลายของยาที่ความแรงอื่นๆ เมื่อเทียบกับความแรงของรุ่นที่ใช้ในการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์เหมือนกันภายใต้สภาวะเดียวกัน (similarity $f_2 \geq 50$)

การทดสอบการละลายเพื่อขอยกเว้นการศึกษาในมนุษย์สำหรับยาที่มีการแก้ไขเปลี่ยนแปลงภายหลังการอนุมัติทะเบียน (variations)

ยาที่ผ่านการทดสอบชีวสมมูลแล้วจะถือว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีประสิทธิภาพในการรักษาเท่าเทียมกันระหว่างยาสามัญกับยาอ้างอิงที่นำมาเปรียบเทียบ เมื่อมีการผลิตยาเพื่อจำหน่ายรุ่นต่อๆมา ต้องมั่นใจได้ว่ายาทุกรุ่นผลิตมีชีวสมมูลเช่นกัน หากมีการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงวัตถุดิบ สูตรตำรับ ขนาดความแรง ขนาดรุ่นผลิต กรรมวิธีการผลิต เครื่องมือผลิต การย้ายสถานที่ผลิต หรือการจ้างผลิต ต้องแสดงความเท่าเทียมกันกับรุ่นที่ใช้ศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์ โดยสามารถเปรียบเทียบการละลาย/ปลดปล่อยตัวยาในเครื่องมือทดลองแทนการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์ได้ ในกรณีต่อไปนี้ (12)

1. ยาจากผู้ผลิตเดียวกัน ที่มีการเปลี่ยนแปลงสูตรตำรับเพียงเล็กน้อย เช่น เปลี่ยนสี กลิ่น รส หรือเปลี่ยนส่วนผสมของสารไม่ออกฤทธิ์บางตัว โดยมีข้อมูลแสดงความเท่าเทียมกันทางเภสัชกรรม (pharmaceutical equivalence) และความคงตัวของยาเหมือนกับสูตรตำรับเดิมที่ได้รับอนุมัติและมีข้อมูลการศึกษาชีวสมมูลแล้ว กรณีที่มีการใช้สารไม่ออกฤทธิ์ชนิดใหม่ หรือใช้ในปริมาณมาก ควรมีข้อมูลสนับสนุนพร้อมกับข้อมูลอื่นๆ เช่น หน้าที่ของสารดังกล่าวในสูตรตำรับ กระบวนการผลิต และรายการเครื่องมือเครื่องจักร อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต

2. ยาจากผู้ผลิตเดียวกันกับยาตำรับเดิมที่มีข้อมูลการศึกษาชีวสมมูลแล้ว แต่มีการเปลี่ยนแหล่งผลิตวัตถุดิบที่เป็นตัวยาสำคัญ โดยมีข้อมูลแสดงความเท่าเทียมกันทางเภสัชกรรม ความคงตัวของยา และกราฟแสดงการละลาย

3. กรณีย้ายสถานที่ผลิต ต้องอยู่ภายใต้เงื่อนไขต่อไปนี้

- วัตถุดิบ สูตรตำรับ และข้อกำหนดคุณภาพมาตรฐานเหมือนกับยาที่เคยได้รับอนุมัติแล้ว
- กระบวนการผลิตเหมือนเดิม และผ่านการตรวจสอบความถูกต้อง (process validation) แล้ว
- สถานที่ใหม่ผ่านการตรวจรับรองมาตรฐานการผลิตและควบคุมคุณภาพตามข้อกำหนด GMP แล้ว
- มีข้อมูลการศึกษาชีวสมมูลของยาตำรับเดิมที่ได้รับอนุมัติแล้ว

4. กรณีเปลี่ยนกระบวนการผลิต และ/หรือ เครื่องมือ/เครื่องจักรใหม่ ต้องอยู่ภายใต้เงื่อนไขต่อไปนี้:

- ยามีสูตรตำรับ สัดส่วน รูปแบบเหมือนเดิม และผู้ผลิตเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ยาที่ได้เคยศึกษาชีวประสิทธิผล (bioavailability) เปรียบเทียบมาแล้ว
- สถานที่ผลิตคงเดิม และกระบวนการผลิตหรือเครื่องมือ/เครื่องจักรใหม่นั้นได้ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องแล้ว
- ผลการศึกษากราฟแสดงการละลายเหมือนเดิม

5. เมื่อมีหลักฐานทางวิชาการที่น่าเชื่อถือได้ยืนยันว่า ผลการศึกษาการละลาย/ปลดปล่อยตัวยาในหลอดทดลองมีความสัมพันธ์กับผลการศึกษาชีวสมมูลในมนุษย์ (in vitro-in vivo correlation – IVIVC) สามารถใช้การศึกษาการละลาย/การปลดปล่อยตัวยาในหลอดทดลองแสดงถึงชีวสมมูลของยานั้นได้ (6, 13)

บทสรุป

การละลายของยามีความสำคัญต่อประสิทธิภาพของยาในร่างกาย การทดสอบการละลายจึงเป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์มากและมีการใช้ในระยะต่างๆตลอดวงจรชีวิตของยา เริ่มตั้งแต่การพัฒนายาใหม่ การพัฒนายาสามัญ การเลือกสารปรุงแต่ง การเปรียบเทียบสูตรตำรับ การพัฒนากระบวนการผลิต การทดสอบความคงสภาพ การขึ้นทะเบียนยา การควบคุมคุณภาพ การเปรียบเทียบกราฟการละลายระหว่างยาสามัญกับยาอ้างอิง ระหว่างยาที่ผลิตแบบเดิมกับเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงภายหลัง มีหลักเกณฑ์และเงื่อนไขในการทดสอบและการประยุกต์ใช้ในกรณีต่างๆซึ่งได้รวบรวมไว้ในที่นี้

เอกสารอ้างอิง

1. Amidon, GL, Lennernas, H, Shah, VP, Crison. JR. A. Theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the consideration of *in vitro* drug dissolution and *in vivo* bioavailability. Pharm Res 1995, 12(3), 413-20.
2. Noyes AA, Whitney WS. J Am Chem Soc. The rate of solution of solid substances in their own solutions. 1897, 19, 930-934.
3. *United States Pharmacopeia* (USP), U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville, MD.

4. Orange book: http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/ucm079068.htm#Therapeutic%20Equivalence-Related%20Terms Accessed 26 October 2014
5. กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2009). คู่มือการศึกษาชีวประสิทธิผลและชีวสมมูลของผลิตภัณฑ์ยา.
6. *Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms*, US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Rockville, Md, USA, 1997.
7. The European Medicines Agency, Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). (2010). Guidance on the investigation of bioequivalence.
8. Y. Zhang, M. Huo, J. Zhou et al., "DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles," *AAPS Journal*, vol. 12, no. 3, pp. 263–271, 2010.
9. Department of Health and Human Services, US Food and Drug Administration. (2000). HHS/FDA Guidance for Industry. Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. Rockville, MD.
10. Jantratid, E., Prakongpan, S., Amidon, G.L., Dressman, J.B. "Feasibility of biowaiver extension to biopharmaceutics classification system class III drug products: cimetidine." Clinical Pharmacokinetics 2006, 45(4): 385-99.
11. Dissolution Testing and Specification Criteria for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Containing Biopharmaceutics Classification System Class 1 and 3 Drugs Guidance for Industry. US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Rockville, Md, USA, August 2015 http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM456594.pdf Accessed on 15 November 2016
12. *Guidance for Industry: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Scale-Up and Post approval Changes: Chemistry, Manufacturing and Controls, In Vitro*

Dissolution Testing and In Vivo BE Documentation, US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Rockville, Md, USA, 1995.

13. Cardot JM, Beyssac E, Alric M. *In vitro–in vivo* correlation: importance of dissolution in IVIVC. Dissolution Technol. 2007, 14:15-19.