



جامعة حلب  
كلية الصيدلة  
قسم الكيمياء الصيدلانية والرقابة الدوائية

دراسة تأثير أبعاد الجسيمات على تجانس وتحرر بعض  
المضادات الحيوية في الأشكال الصيدلانية الصلبة باستخدام تقنية  
الأشعة تحت الحمراء القريبة

**Evaluation of the effect of particle sizes on  
homogeneity and release for some antibiotic agents in  
solid dosage forms using Near-Infrared technique**

رسالة قدمت لنيل درجة الماجستير في الرقابة الدوائية

إعداد الصيدلانية

ليانا شحّط

مشاركة

د. علي الرغبان

مدرس في قسم الصيدلانيات  
والเทคโนโลยيا الصيدلية  
كلية الصيدلة- جامعة حلب

إشراف

أ. د. مصطفى فواز شحنة

أستاذ في قسم الكيمياء الصيدلانية  
والرقابة الدوائية  
كلية الصيدلة- جامعة حلب

1432 هـ / 2011 م

## كلمة شكر

- ❖ بداية أتوجه بجزيل الشكر لرئيس قسم الكيمياء الصيدلية والرقابة الدوائية الأستاذ الدكتور مصطفى فواز شحنة الذي تفضل بالإشراف على هذا البحث، والذي كان له الدور الأكبر والأهم في المتابعة المستمرة والاهتمام الدائم، والحرص على تأمين كافة المستلزمات العلمية والعملية، وتقديم النصائح البناءة والهامة التي كان لها الدور الأكبر في إغناء هذا البحث ونشره في المجالات العالمية.
- ❖ وأتوجه بجزيل الشكر إلى لجنة الحكم الممثلة بالأستاذ الدكتور محمد عبد الحميد إسماعيل والأستاذ الدكتور عمار خياط الذين تفضلوا بقبول تحكيم هذه الرسالة.
- ❖ شكرأً لعمادة كلية الصيدلة في جامعة حلب ممثلة بالدكتور أحمد خليل.
- ❖ شكرأً للدكتور علي الرغبان الذي شارك في هذا البحث.
- ❖ شكرأً لجميع أعضاء الهيئة التدريسية الذين ساهموا بتقديم بعض النصائح العلمية لهذا البحث وأخص بالذكر الدكتورة هاديا المحلي، الدكتورة أمل الأشقر، الدكتور ضاهر وردة، الدكتور إسماعيل طكو، والدكتور وسيم عبد الواحد.
- ❖ شكرأً لشركة آسيا للصناعات الدوائية على دعمها للبحث العلمي.
- ❖ شكرأً لأسرة مخبر الأبحاث بكلية الصيدلة في جامعة حلب لما قدموه لي من دعم ومساعدات طيلة الفترة الماضية وأخص بالذكر المخبرية إيمان الحسن.
- ❖ شكرأً لمن ملؤوا حياتي حباً وأملأ وسعادة: أمي وأبي وأخوتي.
- ❖ شكرأً لأصدقائي الذين دفعوا الأمل في نفسي ووقفوا إلى جانبي بأسمى ما تحمله الصداقة من معنى، وخصوصاً رولا سفر.



جامعة حلب  
كلية الصيدلة  
قسم الكيمياء الصيدلية والرقابة الدوائية

## تصريح

أصرّح بأن هذا البحث بعنوان " دراسة تأثير أبعاد الجسيمات على تجانس وتحرر بعض المضادات الحيوية في الأشكال الصيدلانية الصلبة باستخدام تقنية الأشعة تحت الحمراء القريبة" لم يسبق أن قُبِل للحصول على أية شهادة، ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشحة

ليانا شحّط

## DECLARATION

I hereby certify that this work "**Evaluation of the effect of particle sizes on homogeneity and release for some antibiotic agents in solid dosage forms using Near-Infrared technique**" has not been accepted for any degree or it is not submitted to any other degree

Candidate

Liana Shahhet



جامعة حلب  
كلية الصيدلة  
قسم الكيمياء الصيدلية والرقابة الدوائية

### شهادة

أشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة هو نتاج بحث علمي قامت به المرشحة ليانا شحّط، تحت إشراف الأستاذ الدكتور مصطفى فواز شحنة في قسم الكيمياء الصيدلية والرقابة الدوائية من كلية الصيدلة في جامعة حلب ومشاركة الدكتور علي الرغبان في قسم الصيدلانيات من كلية الصيدلة في جامعة حلب.

وأيّ رجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع مُوثق في النص.

المرشحة  
المشرف الرئيس

ليانا شحّط      الأستاذ الدكتور مصطفى فواز شحنة

حلب في /.../ 2011

### TESTIMONY

We witness that the described work in this treatise is the result of scientific search conducted by the candidate Liana Shahhet under the supervision of Prof. Dr. Mustafa Fawaz Chehna professor at the department of pharmaceutical chemistry and quality control, Faculty of Pharmacy, University of Aleppo with the combination of Dr. Ali Al-Raghban assistant at the department of pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, University of Aleppo. Any other references mentioned in this work are documented in the text of the treatise.

**Candidate**

**Liana Shahhet**

**Main supervisor**

**Prof. Dr. Mustafa Fawaz Chehna**

## ملخص البحث Abstract

يهدف هذا البحث إلى التحري عن تأثير كل من البعد الجسيمي particle size والشكل البلوري crystal shape في معدل انحلال الأموكسيلين تري هيدرات وانسيابيتها، وتحسين الخواص الفيزيوكيميائية لهذه المادة من خلال إعادة بلورتها بأوساط مائية ذات درجات باهاء مختلفة. تم الحصول على الأموكسيلين تري هيدرات كمادة أولية من عدة مصادر دولية دستورية، ووجد أنها تختلف فيما بينها بنسب توزع البعد الجسيمي وأطوال البلورات والتي تم تحديدها باستخدام المناخل ومجهز الفلورة الماسح على الترتيب كطرق مرجعية. استخدمت مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة كتقنية حديثة لتحديد توزع أبعاد الجسيمات واختلاف الشكل البلوري في مساحيق الأموكسيلين تري هيدرات.

درس معدل الانحلال لعدة أبعاد جسيمية مختلفة من المادة الأولية التي تم فصلها باستخدام المناخل وتحضيرها بمحافظ جيلاتينية قاسية كجرعة فردية تعادل 250 ملغ باستخدام جهاز الانحلال (I)، وخللت العينات المأخوذة باستخدام مطيافية فوق البنفسجية عند طول موجة 272 نانومتر.

أوضحت الدراسة أن معدل انحلال الأموكسيلين تري هيدرات للمادة الأولية يزداد بتناقص البعد الجسيمي محققاً علاقة Noesys-whitney في مجال الأبعاد (1-0.063) مم ، ولاتحقق العلاقة في حال كان البعد الجسيمي أصغر من 0.063 مم، كما أظهرت النتائج لنفس مجال البعد الجسيمي ازيداد معدل انحلال الأموكسيلين تري هيدرات بزيادة طول بلورة المادة الأولية إبرية الشكل ما بين 2.2 ميكرومتر و 8.5 ميكرومتر.

تمت دراسة إعادة بلورة مادة الأموكسيلين تري هيدرات باستخدام محليل مائي عند درجات باهاء مختلفة (pH=11,9,7,4,2)، وأبدت مادة الأموكسيلين تري هيدرات معادة البلورة عند درجات باهاء (11, 9, 7, 4, 2) خواصاً فيزيوكيميائية تفوق ما هي عليه في عينات مادة الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية من حيث النقاوة، ازيداد طول البلورات الإبرية ، وزيادة معدل الانحلال. ولم يتحقق ذلك في العينات معادة البلورة عند درجات باهاء (4, 2) pH=2. كما أظهرت النتائج لعينات الأموكسيلين تري هيدرات معادة البلورة عند درجة باهاء (11) pH=11 انسبابية سيئة مقارنة بـ العينات الأخرى.

أكّدت الدراسة على أهمية دور باهاء محلول مادة الأموكسيلين تري هيدرات الأولية ذي التركيز (2 mg/ml) وارتباطه بطول البلورات وانحلاليتها ، فكلما زادت درجة باهاء محلول زاد طول البلورة وزادت انحلاليتها والعكس صحيح.

تؤثر درجة باهاء عملية البلورة أثناء تصنيع المادة الأولية في الخواص الفيزيوكيميائية للمادة الناتجة والتي تتضمن معدل الانحلال، طول البلورات، البعد الجسيمي، درجة الانصهار، النقاوة، الانسippالية ودرجة باهاء محلول المادة الناتجة. وهذا ما يؤدي إلى اختلاف الثباتية والتوافر الحيوي للمادة الدوائية المستخدمة وعدم الحصول على منتجات دوائية محققة للجودة المطلوبة إذا لم يتم ضبط درجة باهاء عملية البلورة من البداية، وهذا ما يبرز أهمية طريقة تصنيع المادة الأولية في الخواص الفيزيوكيميائية بشكل غير مطروق مسبقاً.

تم تطوير طريقة تحليلية جديدة لتحديد تغيرات كلٍ من بعد الجسيمي والشكل البلوري اعتماداً على مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة، وتم استخدام طرائق المعالجة الرياضية المعتمدة على تحليل المكون الأساسي Principal Component Analysis (PCA) والتي تتضمن معايرات Clusters.

مُررت العينات المأخوذة من ثمانية مصادر مختلفة عبر ثمانية مناخي وتم الحصول على تسعة مجالات من أبعاد الجسيمات، وتم إجراء السحب الطيفي لكل مجال 32 مرة فكان عدد عناصر المكتبة الطيفية المستخدمة في إنشاء معايرة تحديد أبعاد الجسيمات  $(8 \times 9 \times 32 = 2304)$ .

استخدم مجهر الفلورة الماسح في تحديد أطوال البلورات الناتجة عن عملية إعادة البلورة لثلاثة مصادر مختلفة، وتم إجراء السحب الطيفي لكل عينة 32 مرة فكان عدد عناصر المكتبة الطيفية المستخدمة في إنشاء معايرة تحديد أطوال البلورات المختلفة  $(5 \times 3 \times 32 = 480)$ .

استخدم التحويل وفقاً للتغير الطبيعي للمعياري Standard Normal Variate (SNV) والمشتقة الأول للطيف  $1^{\text{st}}$  derivative للتخلص من الاختلافات الطيفية الكاذبة الناتجة عن اختلافات الظروف المحيطة أثناء القياس، ولزيادة نسبة الإشارة إلى الضجيج ويتم إجراء هذه المعالجات الرياضية للأطيف قبل المعايرة.

استخدم معامل الارتباط Root Mean Square correlation coefficients، والخطأ النسبي بالتوقع Error of Cross Validation (RMSECV) للتحقق من صحة النتائج.

أظهرت نتائج المعايرة قيمًا مقبولة إحصائياً لمعايرة أبعاد الجسيمات ومعايرة أطوال البلورات اعتماداً على الخطأ النسبي بالتوقع RMSECV ومعامل الارتباط فقد أخذت القيم  $RMSECV=1.414$ ،  $r=0.9999$  في معايرة أطوال البلورات لذا يمكن الاعتماد على طريقة NIR في تحديد كلٍ من بعد الجسيمي والشكل البلوري. تشير معظم المراجع والأبحاث السابقة إلى استخدام تكنولوجيا الأشعة تحت الحمراء القريبة في دراسة الخواص الكيميائية للعينة ولا يوجد سوى القليل من الأبحاث المهمة بدراسة الخواص الفيزيائية للعينة على الرغم أنها لا تقل أهمية عن دراسة الخواص الكيميائية مما يعني أن الطريقة المطبقة هي من الأبحاث المستجدة ضمن هذا السياق.

يمكن اعتبار مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة كطريقة تحليلية مفيدة سريعة وغير مخربة للعينة تسمح بلختصار الكثير من الوقت والكلفة مقارنة بالطرق التقليدية الأخرى. وتعتبر هذه التقنية مفيدة عملياً للصناعة الدوائية وخصوصاً في المراحل الأولى من مراقبة المنتج وتطوير آلية المراقبة أثناء الإنتاج process analytical technology (PAT) والذى أقرته مؤخرًا منظمة الدواء والغذاء FDA في عام 2004.

# فهرس المحتويات

## LIST OF CONTENTS

	ملخص البحث
1	1- مقدمة
1	1-1- لمحـة عن بعض الخواص الفيزيوكيميـانية للمـواد الدـوـائـية
1	1-1-1- الشـكـل البـلـورـي للـمـادـة الدـوـائـية
1	1-1-1-1- الأـشـكـال البـلـورـيـة المتـعدـدة
3	1-2- الأـشـكـال البـلـورـيـة المتـعدـدة ومـعـدـل الانـحلـال
5	3-3-1-1- عملية إعادة البلورـة
10	4-4-1-1- تـشكـل ظـاهـرـة Co-crystal
11	5-5-1-1- صـفـات المـوـاد عـديـمة الشـكـل البـلـورـي
14	2-2-1-1- الـبعـد الجـسيـمي للـمـادـة الدـوـائـية
14	1-1-2-1- الـبعـد الجـسيـمي ومـعـدـل الانـحلـال
15	2-2-2-1- تحـديـد القـطـر المـكـافـئ للـجـسيـمة
16	3-3-2-1- تـوزـع أـبعـاد الجـسيـمات
18	4-4-2-1- طـرق تحـديـد أـبعـاد الجـسيـمات
20	5-5-2-1- طـرق تـصـغـير أـبعـاد الجـسيـمات
24	3-3-1-1- درـجـة وـمـجـال اـنـصـهـار المـادـة الدـوـائـية
25	1-1-3-1- تـأـثـير عمـلـيـة إـعادـة البلـورـة عـلـى درـجـة وـمـجـال اـنـصـهـار
25	1-2-3-1-1- المـعـدـل الزـرـمنـي لـلتـسـخـين لـحـدـوث اـنـصـهـار
28	1-2- لـمحـة عن التـقـنـات الحـدـيثـة المستـخدـمة فـي التـحـري عـن الخـواص الفـيـزـيـوكـيمـيـانـية للمـوـاد الدـوـائـية
28	1-2-1-1- مـطـيـافـيـة الأـشـعـة تحتـالـحـمـراء المـزوـدة بـتـحـوـيل فـورـيه
28	1-1-2-1- لـمحـة تـارـيـخـيـة
28	2-2-1-1- طـيف الإـشـاعـع الإـلـكـتـرـوـمـغـناـطـيـسي
30	3-3-2-1- التـفـاعـل بـيـن المـادـة وـالـإـشـاعـع الإـلـكـتـرـوـمـغـناـطـيـسي
30	4-4-1-2-1- نـظـرـيـة الـاهـتزـاز
31	5-5-1-2-1- التـذـبذـبات فـي منـطـقـة الأـشـعـة تحتـالـحـمـراء
35	6-6-1-2-1- أـجهـزة قـيـاس طـيف الأـشـعـة تحتـالـحـمـراء الوـسـطـى
38	2-2-1- مـطـيـافـيـة الأـشـعـة تحتـالـحـمـراء القـرـيبـة
38	1-1-2-2-1- لـمحـة عن مـطـيـافـيـة الأـشـعـة تحتـالـحـمـراء القـرـيبـة
41	2-2-2-1- تـطـبـيقـات تقـنيـة الأـشـعـة تحتـالـحـمـراء القـرـيبـة
50	3-3-2-2-1- المعـالـجـة الـرـياـضـيـة الإـحـصـائـيـة لـطـيف الأـشـعـة تحتـالـحـمـراء القـرـيبـة
63	3-3-1- لـمحـة عن المـضـادـات الـحـيـوـيـة الـتـي تـنـتـمـي لـزـمـرـة الـبـيـتاـلاـكتـام
63	1-3-1- الـبـيـنـسـلـيـنـات
63	1-1-3-1- آـلـيـة التـأـثـير
63	2-2-1-3-1- المـقاـومـة الـجـرـثـومـيـة
64	2-3-1- الـأـمـوـكـسـلـيـن
67	2- أـهمـيـة الـبـحـث وـأـهـدـافـه
68	3- الـطـرـائق وـالـمـوـاد

68	<b>1-3 الأجهزة والأدوات</b>
69	<b>2-3 المواد وال محلات</b>
70	<b>3-3 الطرائق</b>
70	<b>3-3-1 اختبار انسيابية المساحيق</b>
70	<b>3-3-2 طريقة تحديد توزع أبعاد الجسيمات</b>
70	<b>3-3-3 تحديد الشكل البلوري لمادة الأموكسيلين تري هيدرات</b>
71	<b>3-3-4 قياس الباهاء</b>
71	<b>3-3-5 تجهيز محافظ جيلاتينية قاسية وتحضيرها لفحص الانحلال</b>
72	<b>3-3-6 التحقق من صلاحية طريقة UV الطيفية المتبعة في تحليل العينات المأخوذة من فحص الانحلال</b>
74	<b>3-3-7 تحضير الوقاءات</b>
74	<b>3-3-8 عملية إعادة البلورة</b>
74	<b>3-3-9 معايرة الأموكسيلين تري هيدرات باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) والتحقق من صلاحية الطريقة التحليلية</b>
77	<b>3-3-10 تحليل عينات الأموكسيلين تري هيدرات بجهاز التفاضل الحراري (DSC)</b>
78	<b>4 النتائج والمناقشة</b>
78	<b>4-1 نتائج انسيابية المساحيق</b>
80	<b>4-2 نتائج دراسة توزع أبعاد الجسيمات</b>
84	<b>4-3 تحديد الشكل البلوري لعينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية ومعادة البلورة باستخدام مجهر الفلورة الماسح</b>
88	<b>4-4 تحديد البعد الجسيمي للأموكسيلين تري هيدرات باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة</b>
96	<b>4-5 دراسة أشكال بلورية مختلفة الأطوال للأموكسيلين تري هيدرات باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة</b>
103	<b>4-6 قياسات الباهاء لمحاليل الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية ومعادة البلورة</b>
104	<b>4-7 نتائج دراسة معدلات انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضرة من عينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية والعينات معادة البلورة</b>
110	<b>4-8 التحقق من صلاحية طريقة UV الطيفية المتبعة في تحليل العينات المأخوذة من فحص الانحلال</b>
116	<b>4-9 مقايسة الأموكسيلين تري هيدرات باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC والتحقق من صلاحية الطريقة التحليلية</b>
123	<b>4-10 قياس طيف الأشعة تحت الحمراء الوسطى</b>
125	<b>4-11 نتائج تحليل التفاضل الحراري لعينات الأموكسيلين تري هيدرات معادة البلورة</b>
129	<b>5 الاستنتاجات</b>
131	<b>6 التوصيات</b>
133	<b>7 المراجع</b>

## قائمة الأشكال

### LIST OF FIGURES

<p>2 الأشكال الصلبة التي يمكن أن توجد بها المادة الدوائية</p> <p>3 مقارنة معدل انحلال الإريترومايسين اللامائي مع الشكل أحادي الهيدرات وثنائي</p> <p>4 الهيدرات</p> <p>4 مقارنة معدل انحلال التيوفيلين اللامائي مع الشكل أحادي الهيدرات</p> <p>4 معدل انحلال الشكلين البلوريين I, III sulphamethoxydiazine لمادة sulphamethoxydiazine</p> <p>5 تركيز الكلورامفينيكول بالميارات بالمصل الدموي بعد إعطائه فموياً بنسب مختلفة من الشكلين البلوريين <math>\alpha, \beta</math></p> <p>6 صور المجهر الإلكتروني للإيبوبروفين معاد البلورة بأوساط مختلفة</p> <p>7 النمو على الأوجه البلورية 1,4 لتشكيل بلورة سداسية الأوجه</p> <p>8 المساحة السطحية لأشكال مختلفة من البلورات لها نفس الكتلة</p> <p>9 الصور المجهرية لعينات الكاربامازيبين معادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة</p> <p>9 تغير معدل انحلال الكاربامازيبين بتغير درجة باهاء وسط إعادة البلورة</p> <p>10 اختلاف قساوة مضغوطات الكاربامازيبين الناتجة عن العينات الأصلية والعينات معادة البلورة</p> <p>11 تشكل ظاهرة Co-crystal بين الأموكسيسلين تري هيدرات وكلافولات</p> <p>12 البوتاسيوم</p> <p>12 النسبة المئوية للرطوبة الممتصة من قبل بلورات اللاكتوز مونوهيدرات</p> <p>12 النسبة المئوية للرطوبة الممتصة من قبل جزيئات اللاكتوز عديمة الشكل البلوري</p> <p>13 النسبة المئوية من الشكل غير البلوري للاكتوز بزيادة ضغط الهواء بالمطحنة الهوائية</p> <p>14 طرق قياس الأقطار المكافئة للجسيمات</p> <p>15 حساب قطر Feret</p> <p>16 أمثلة عن مخططات توزع أبعاد الجسيمات</p> <p>17 التوزع التراكمي الصاعد لأبعاد الجسيمات</p> <p>18 عادة كولتر (النقطة الحساسة للتيار الكهربائي)</p> <p>19 التحول من نموذج التوزع الطبيعي إلى نموذج التوزع الثنائي</p> <p>20 تحول نموذج التوزع الثنائي إلى نموذج التوزع ذو الانحراف الإيجابي مع استمرار عمليات الطحن</p> <p>21 المطحنة ذات السكاكين</p> <p>22 المطحنة ذات المطارق</p> <p>22 المطحنة الهزازة</p> <p>23 المطحنة ذات الكرات</p> <p>23 مطحنة السرير الهوائية</p> <p>24 مطحنة الدبابيس</p> <p>25 درجات انصهار الشكلين I, III premafloxacin لعينات</p> <p>26 مخططات DSC للأشكال البلورية والأشكال غير البلورية الناتجة عن طحن عينات</p> <p>27 chenodexycholic acid</p> <p>28 طول موجة الإشعاع الإلكتروني-مغناطيسي</p> <p>29 مجالات الأطوال الموجية الخاصة بكل جزء من طيف الإشعاع الإلكتروني-مغناطيسي</p> <p>30 أنماط اهتزاز الروابط في طيف الأشعة تحت الحمراء</p> <p>31 الاهتزاز الامتحاطي لجزيئية مكونة من ذرتين مختلفتين</p> <p>32 تأثير قوة الرابطة على مكان ظهور قمة الامتصاص لطيف الأشعة تحت الحمراء</p> <p>32 تأثير كتلتي الذرتين المشكليتين للرابطة على مكان ظهور قمة الامتصاص لطيف الأشعة تحت الحمراء</p>	<p>الشكل رقم (1)</p> <p>الشكل رقم (2)</p> <p>الشكل رقم (3)</p> <p>الشكل رقم (4)</p> <p>الشكل رقم (5)</p> <p>الشكل رقم (6)</p> <p>الشكل رقم (7)</p> <p>الشكل رقم (8)</p> <p>الشكل رقم (9)</p> <p>الشكل رقم (10)</p> <p>الشكل رقم (11)</p> <p>الشكل رقم (12)</p> <p>الشكل رقم (13)</p> <p>الشكل رقم (14)</p> <p>الشكل رقم (15)</p> <p>الشكل رقم (16)</p> <p>الشكل رقم (17)</p> <p>الشكل رقم (18)</p> <p>الشكل رقم (19)</p> <p>الشكل رقم (20)</p> <p>الشكل رقم (21)</p> <p>الشكل رقم (22)</p> <p>الشكل رقم (23)</p> <p>الشكل رقم (24)</p> <p>الشكل رقم (25)</p> <p>الشكل رقم (26)</p> <p>الشكل رقم (27)</p> <p>الشكل رقم (28)</p> <p>الشكل رقم (29)</p> <p>الشكل رقم (30)</p> <p>الشكل رقم (31)</p> <p>الشكل رقم (32)</p> <p>الشكل رقم (33)</p> <p>الشكل رقم (34)</p> <p>الشكل رقم (35)</p> <p>الشكل رقم (36)</p>
--	--

33	ظاهرة الامتصاص وانتقال الجزيئه لمستوى اهتزاز أعلى في التذبذب المتناسق	الشكل رقم (37)
34	مخطط الطاقة بالنسبة لطول الرابطة في التذبذب غير المتناسق	الشكل رقم (38)
37	التداخل الضوئي في أجهزة قياس FT-IR	الشكل رقم (39)
37	تحويل إشارات التداخل الضوئي لطيف الأشعة تحت الحمراء	الشكل رقم (40)
39	الطيف المعبّر عن جزيئه الماء باستخدام تقنيتي NIR,MIR	الشكل رقم (41)
40	تقنيات القياس بطريقة NIR	الشكل رقم (42)
41	تحديد ذاتية المادة الأولية استناداً إلى مكتبة مرجعية في مطيافية NIR	الشكل رقم (43)
42	إنشاء منحني المعايرة للتحديد الكمي باستخدام NIR	الشكل رقم (44)
43	تأثير أبعاد الجسيمات على طيف NIR	الشكل رقم (45)
45	تحديد محتوى الرطوبة في منتج مجفف باستخدام NIR	الشكل رقم (46)
47	تحديد زمن الحصول على مزيج صيدلاني متجانس	الشكل رقم (47)
48	استخدام تقنية NIR لدراسة تجانس توزع المادة الفعالة ضمن المزيج الصيدلاني وضمن المضغوطة الناتجة	الشكل رقم (48)
49	الصور المأخوذة لمضغوطات من وجبات مختلفة بواسطة NIR المزود بكاميرا chemical imaging	الشكل رقم (49)
50	كشف غش المضغوطات المزورة باستخدام NIR	الشكل رقم (50)
52	المتمثيل الهندسي لـ PCA	الشكل رقم (51)
53	إعادة بناء الطيف باستخدام PCA	الشكل رقم (52)
54	طريقة التعبير عن كل طيف بالأحرار الخاصة به اعتماداً على 2PCs	الشكل رقم (53)
55	المعالجة الطبيعية لمجموع مربع الأحرار	الشكل رقم (54)
56	حساب مجال احتمال tolerance radii	الشكل رقم (55)
57	دوائر الاحتمال الناتجة عن حساب radius لكل طيف بالمعايرة	الشكل رقم (56)
57	اعتبار المسافة معياراً لقبول طيف المادة المجهولة في مطيافية NIR	الشكل رقم (57)
59	المعايرة بطريقة MLR	الشكل رقم (58)
60	المعايرة بطريقة PCR	الشكل رقم (59)
61	المعايرة بطريقة PLS	الشكل رقم (60)
62	قيمة Q-value لإحدى المعايرات	الشكل رقم (61)
64	البنية الجزيئية للأموكسيلين تري هيبرات	الشكل رقم (62)
65	البنية الجزيئية الفراغية للأموكسيلين تري هيبرات	الشكل رقم (63)
72	طيف الأشعة فوق البنفسجية لمادة الأموكسيلين تري هيبرات	الشكل رقم (64)
80	توزيع أبعاد جسيمات عينات الأموكسيلين الأصلية المأخوذة من المصادر المختلفة	الشكل رقم (65)
81	توزيع أبعاد جسيمات العينة الأصلية والعينات معادة البلورة للمصدر رقم 1	الشكل رقم (66)
82	توزيع أبعاد جسيمات العينة الأصلية والعينات معادة البلورة للمصدر رقم 2	الشكل رقم (67)
83	توزيع أبعاد جسيمات العينة الأصلية والعينات معادة البلورة للمصدر رقم 3	الشكل رقم (68)
85	الصور المجهرية لبلورات الأموكسيلين تري هيبرات معادة البلورة بمجهر الفلورة الماسح	الشكل رقم (69)
87	الصور المجهرية لبلورات الأموكسيلين تري هيبر المأخوذة من عدة مصادر بمجهر الفلورة الماسح	الشكل رقم (70)
89	طيف أشعة NIR لأبعاد جسيمية مختلفة للأموكسيلين تري هيبرات	الشكل رقم (71)
90	الشكل ثلاثي الأبعاد لأطيف أشعة NIR المعبّرة عن أبعاد جسيمية مختلفة	الشكل رقم (72)
90	أطيف أشعة NIR لأبعاد جسيمية مختلفة طبق عليها pretreatments	الشكل رقم (73)
91	العلاقة التي تربط عدد المكونات الأساسية مع متوسط الخطأ بالتوقع	الشكل رقم (74)
92	تداخل clusters في حال عدم تطبيق SNV ضمن pretreatments	الشكل رقم (75)
92	فصل clusters المعبّرة عن أبعاد جسيمات مختلفة وفقاً لـ 2PCs	الشكل رقم (76)
93	فصل clusters المعبّرة عن أبعاد جسيمات مختلفة وفقاً لـ 3PCs	الشكل رقم (77)
95	العلاقة التي تربط القيم المقاومة بطيف NIR بالقيم المرجعية لأبعاد الجسيمات	الشكل رقم (78)
97	طيف أشعة NIR لأطوال بلورية مختلفة للأموكسيلين تري هيبرات	الشكل رقم (79)
97	الشكل ثلاثي الأبعاد لأطيف أشعة NIR المعبّرة عن أطوال بلورية مختلفة	الشكل رقم (80)

98	أطيفات أشعة NIR لأطوال بلورية مختلفة طبق عليها pretreatments	الشكل رقم (81)
99	العلاقة التي تربط عدد المكونات الأساسية مع متوسط الخطأ بالتوقع	الشكل رقم (82)
99	فصل clusters المعتبرة عن أطوال بلورات مختلفة وفقاً لـ 2PCs	الشكل رقم (83)
100	فصل clusters المعتبرة عن أطوال بلورات مختلفة وفقاً لـ 3PCs	الشكل رقم (84)
102	العلاقة التي تربط القيم المقاومة بطيف NIR بالقيم المرجعية لأطوال البلورات	الشكل رقم (85)
104	معدل انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضررة من عينات الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من المصادر المختلفة	الشكل رقم (86)
105	معدل انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضررة من عدة أبعاد جسمية لعينات الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من المصدر 1	الشكل رقم (87)
106	معدل انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضررة لنفس مجال بعد الجسمي لعينات الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من المصادر المختلفة	الشكل رقم (88)
107	معدل انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضررة من عينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية ومعادة البلورة من المصدر 1	الشكل رقم (89)
107	معدل انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضررة من عينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية ومعادة البلورة من المصدر 2	الشكل رقم (90)
108	معدل انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضررة من عينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية ومعادة البلورة من المصدر 3	الشكل رقم (91)
108	معدل انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضررة من عينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية ومعادة البلورة عند pH=7 من المصدر 1	الشكل رقم (92)
109	معدل انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضررة من عينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية ومعادة البلورة عند pH=7 من المصدر 2	الشكل رقم (93)
109	معدل انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضررة من عينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية ومعادة البلورة عند pH=7 من المصدر 3	الشكل رقم (94)
110	منحنى السلسلة العيارية لحساب الخطية بطريقة UV الطيفية	الشكل رقم (95)
112	التكاريّة لمحاليل الأموكسيلين تري هيدرات (0.2mg/ml)	الشكل رقم (96)
112	حساب الصحة لطريقة UV الطيفية	الشكل رقم (97)
115	حسابات الحساسية لطريقة UV الطيفية	الشكل رقم (98)
116	كروماتوغرام تحديد قمة الأموكسيلين تري هيدرات باستخدام HPLC	الشكل رقم (99)
118	العلاقة الخطية التي تربط درجة باهاء محلول الأموكسيلين تري هيدرات مع النقاوة	الشكل رقم (100)
119	منحنى السلسلة العيارية لطريقة HPLC	الشكل رقم (101)
120	التكاريّة لمحاليل الأموكسيلين تري هيدرات (0.1 mg/ml)	الشكل رقم (102)
122	حسابات صحة طريقة HPLC	الشكل رقم (103)
123	حسابات الحساسية لطريقة HPLC	الشكل رقم (104)
123	مقارنة طيف الأشعة تحت الحمراء للعياري مع المصدر 1	الشكل رقم (105)
124	مقارنة طيف الأشعة تحت الحمراء للعينات معادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة	الشكل رقم (106)
124	طيف FT-IR للأموكسيلين تري هيدرات منسوباً إلى النفوذية	الشكل رقم (107)
125	مخطط DSC لعينة معادة البلورة عند pH=2	الشكل رقم (108)
126	مخطط DSC لعينة معادة البلورة عند pH=4	الشكل رقم (109)
126	مخطط DSC لعينة معادة البلورة عند pH=7	الشكل رقم (110)
127	مخطط DSC لعينة معادة البلورة عند pH=9	الشكل رقم (111)
127	مخطط DSC لعينة معادة البلورة عند pH=11	الشكل رقم (112)
128	مخطط DSC للعينة الأولية المأخوذة من المصدر 1	الشكل رقم (113)

## قائمة الجداول

### LIST OF TABLES

<p>13 ثباتية عينات sodium sephalothin تبعاً لمحتوها من الشكل غير البلوري</p> <p>66 معلومات عن الخلية البلورية للأموكسيلين تري هيدرات</p> <p>78 الحدود المسموح بها دستورياً لمنسوب الانضغاط ونسبة Hausner</p> <p>79 النتائج الحسابية لكل من منسوب الانضغاط ونسبة Hausner في العينات الأصلية ومعادة البلورة</p> <p>81 النسب المئوية لتوزع أبعاد الجسيمات في العينات الأصلية</p> <p>82 النسب المئوية لتوزع أبعاد الجسيمات في العينة الأصلية والعينات معادة البلورة من المصدر رقم 1</p> <p>83 النسب المئوية لتوزع أبعاد الجسيمات في العينة الأصلية والعينات معادة البلورة من المصدر رقم 2</p> <p>84 النسب المئوية لتوزع أبعاد الجسيمات في العينة الأصلية والعينات معادة البلورة من المصدر رقم 3</p> <p>93 متوسط قيم أبعاد الجسيمات المقاسة بمتلابافية NIR ومقارنتها بالقيم المرجعية</p> <p>94 حسابات الصحة والاختبارات الإحصائية لمعاييره أبعاد الجسيمات باستخدام تقنية NIR</p> <p>100 متوسط قيم أطوال البلورات المقاسة بمتلابافية NIR ومقارنتها بالقيم المرجعية</p> <p>101 حسابات الصحة والاختبارات الإحصائية لمعاييره أطوال البلورات باستخدام تقنية NIR</p> <p>103 قيم باهاء محاليل الأموكسيلين تري هيدرات ذات التركيز (2mg/ml)</p> <p>110 الامتصاصية الضوئية لمحاليل السلسلة العيارية</p> <p>111 حسابات التكرارية لمحاليل الأموكسيلين تري هيدرات (0.2mg/ml)</p> <p>113 حسابات الصحة لطريقة UV الطيفية</p> <p>114 حسابات الحساسية لطريقة UV الطيفية</p> <p>116 نتائج مقاييس عينات الأموكسيلين تري هيدرات باستخدام HPLC</p> <p>119 حسابات الخطية لطريقة HPLC</p> <p>120 حسابات التكرارية لمحاليل الأموكسيلين تري هيدرات (0.1 mg/ml)</p> <p>121 حسابات الصحة لطريقة HPLC</p> <p>122 حسابات الحساسية لطريقة HPLC</p> <p>128 نتائج DSC لعينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة</p>	<p>جدول رقم (1)</p> <p>جدول رقم (2)</p> <p>جدول رقم (3)</p> <p>جدول رقم (4)</p> <p>جدول رقم (5)</p> <p>جدول رقم (6)</p> <p>جدول رقم (7)</p> <p>جدول رقم (8)</p> <p>جدول رقم (9)</p> <p>جدول رقم (10)</p> <p>جدول رقم (11)</p> <p>جدول رقم (12)</p> <p>جدول رقم (13)</p> <p>جدول رقم (14)</p> <p>جدول رقم (15)</p> <p>جدول رقم (16)</p> <p>جدول رقم (17)</p> <p>جدول رقم (18)</p> <p>جدول رقم (19)</p> <p>جدول رقم (20)</p> <p>جدول رقم (21)</p> <p>جدول رقم (22)</p> <p>جدول رقم (23)</p>
--	---

## ١. المقدمة

## INTRODUCTION

#### **1-1- لمحة عن بعض الخواص الفيزيوكيميائية للمواد الدوائية.**

## An overview on some of the physicochemical properties of the active pharmaceutical ingredients

تظهر المواد الدوائية خواصاً فيزيوكيميائية مختلفة تؤثر على أداء المنتج الدوائي وفعاليته، وبناءً على ذلك أقرت منظمة الغذاء والدواء الأمريكية FDA الرقابة التحليلية للمواد الدوائية لـ Process Analytical Technology PAT [1]، والتي تتم إما In-line (بدون سحب للعينات)، أو On-line (يتم سحب العينات وتحليلها وإعادتها مباشرةً لخط الإنتاج)، At-line (يتم سحب العينات وتحليلها في Off-line (يتم سحب العينات وتحليلها خارج منطقة الإنتاج)، وتهدف لتطوير وتحسين نوعية المنتجات الدوائية من خلال مراقبة تأثير عمليات التصنيع على الخواص الفيزيائية والكيميائية للمواد الدوائية والتي تتضمن (البعد الجسيمي، توزع البعد الجسيمي، الشكل البلوري، النقاوة، ومعدل الانحلال)، وإنفاص الكلفة الميدولة والوقت المستهلك لتحليل العينات بالطرق التقليدية [2]، ومن الأجهزة المستخدمة في التحري عن خواص المواد الدوائية جهاز الأشعة تحت الحمراء القريبة (NIR)، جهاز الأشعة تحت الحمراء الوسطى المزود بتحويل فوريه (FT-IR)، جهاز التفاضل الحراري Scanning Fluorescence، مجهر الفلورة الماسح Differential Scanning Calorimetry(DSC) .Microscope(SFM)

### **1-1-1-الشكل البلوري للمادة الدوائية:**

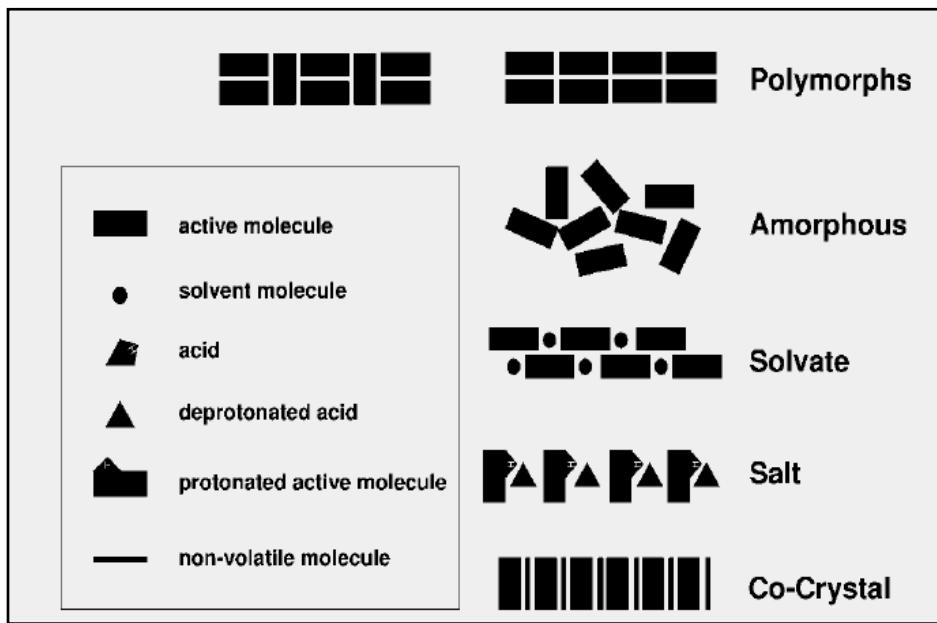
## The crystal shape of the active pharmaceutical ingredient.

تبدي العديد من المواد الدوائية (العضوية وغير العضوية) أشكالاً صلبة مختلفة ناتجة عن اختلاف القوى التي تربط بين جزيئاتها مثل قوى فاندر فالس والروابط الهيدروجينية، فيمكن لهذه المواد أن توجد بشكل غير بلوري، أو توجد بشكل متعدد البلورات polymorphous (الشكل 1).

تظهر بعض المواد الدوائية أشكالاً بلورية مختلفة، قد تكون حقيقة ناتجة عن جزيئات المادة الدوائية بحد ذاتها polymorphous، أو كاذبة ناتجة عن احتجاز جزيئات من محل بين جزيئات المادة الدوائية pseudopolymorphous وتدعى جزيئات المحل المحتجزة solvate، أو ناتجة عن تداخل فيزيائي ثابت بين نوعين من المواد وتدعى co-crystal، أو نتيجة لتشكل ملح مبلور لمادة دوائية ذات صفة حمضية ضعيفة أو قلوية ضعيفة<sup>[3]</sup>. ويؤثر اختلاف هذه الأشكال البلورية للمواد الدوائية على انسياحية المساحيق، قوى الضغط

المطبقة على هذه المساحيق، قساوة المضغوطات الناتجة، زمن التفتت، معدل الانحلال، التوافر الحيوي وثباتية هذه المواد الدوائية خلال فترة التخزين.<sup>[4]</sup>

تعرف البلورة على أنها ترتيب منتظم للجزئيات ضمن بنية محددة، ويتم تحديد البنية الداخلية للبلورة بقياس الحرارة اللازمة لانصهار مول واحد (الانتلبية  $\Delta H_f$ )، وتحدد البنية الخارجية للبلورة بوصف السطح الخارجي للبلورة مثل الطول، السماكة، الشكل، السطح الخارجي (أملس، خشن أو مسامي).<sup>[4, 5, 6]</sup>



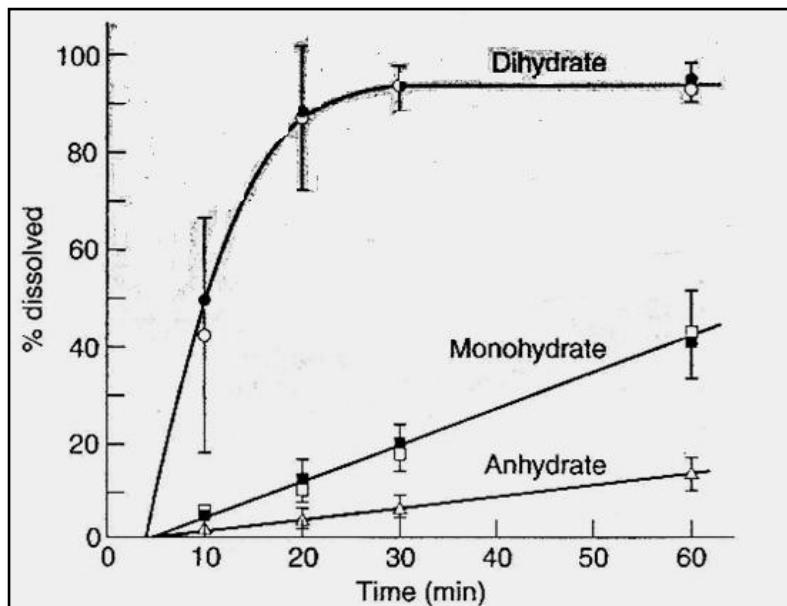
(الشكل 1): الأشكال الصلبة التي يمكن أن توجد بها المادة الدوائية

من الممكن أن تحتجز الجزيئات أثناء تبلورها جزيئاتٍ من محل المستخدم ضمن بنيتها البلورية، وإذا كان محل المستخدم هو الماء فإن جزيئات الماء المحتجزة ضمن البلورة تدعى بجزئيات ماء التبلور (hydrate) والتي تختلف عن ماء الرطوبة، ويتم احتجاز جزيئات الماء ضمن البلورة بنسب مولارية محددة، بعض الأدوية قد تحوي جزيئة ماء واحدة وتشكل 50% من الأدوية، بعضها تحوي جزيئتين من الماء وتشكل 20% من الأدوية، بعضها تحوي ثلاثة جزيئات من الماء وتشكل 8% من الأدوية، بعضها تحوي نصف جزيئة ماء (أي جزيئه ماء مقابل جزيئي مادة دوائية) وتشكل 8% من الأدوية، وتعتبر الأشكال الأخرى أقل شيوعاً.<sup>[3, 4]</sup>

تبدي المواد الدوائية متعددة الأشكال البلورية monotropic polymorphism شكلاً بلوريًا واحدًا ثابتًا، وتكون الأشكال الأخرى بحالة غير مستقرة metastable وتنبغي لفترة قصيرة من الزمن لاتتجاوز عدة أشهر حتى تتحول للشكل الأكثر ثباتاً، بينما تتحول المواد الدوائية متعددة الأشكال البلورية enantropic polymorphism من شكلٍ لأخرٍ تبعاً لظروف الحرارة والضغط والرطوبة المحيطة أي أنها قد تتحول لشكل آخر أقل ثباتاً. ويعرف الشكل الأكثر ثباتاً عادةً على أنه الشكل الذي يملك أعلى درجة انصهار مقارنة بالأشكال الأخرى.<sup>[4, 5]</sup>

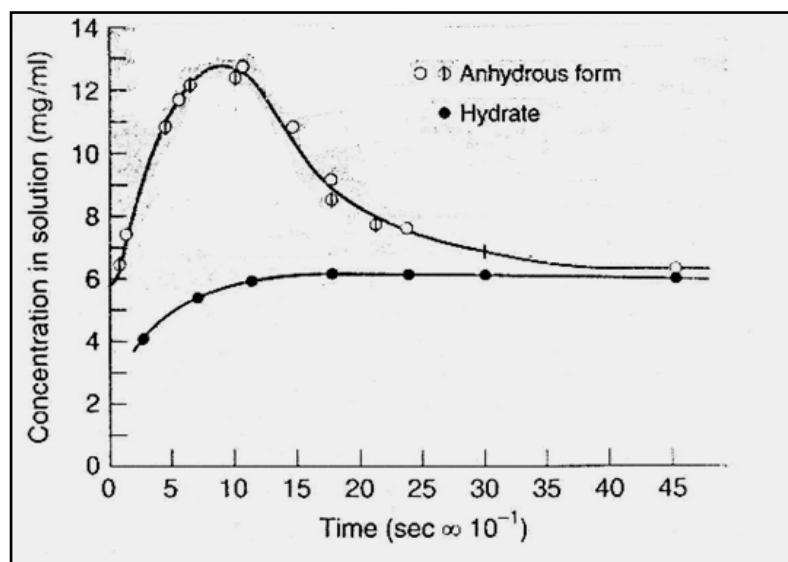
### 2-1-1-1-2- الأشكال البلورية المتعددة ومعدل الانحلال Polymorphism and dissolution rate

تملك الجزيئات التي تحتجز بين جزيئاتها جزيئاتٍ من الماء خواصاً تختلف عن المادة الأصلية، وقد يكون معدل الانحلال للشكل المائي أعلى أو أدنى من الشكل غير المائي، وتنظر الدراسة التي أجريت من قبل *Allen et.al* في عام 1978 معدل انحلال الإريترومايسين اللامائي ومقارنته مع الشكل أحادي الهيدرات وثنائي الهيدرات، ويوضح (الشكل 2) ازدياد معدل انحلال الإريترومايسين بزيادة عدد جزيئات ماء التبلور المرتبطة، ويظهر في هذا المثال أن جزيئات الماء قد لعبت دوراً إيجابياً في تسريع معدل الانحلال وإضعاف الروابط بين الجزيئات أثناء انحلالها. علمًا أن الشكل ثباني الهيدرات هو الشكل الأكثر ثباتاً.<sup>[7]</sup>



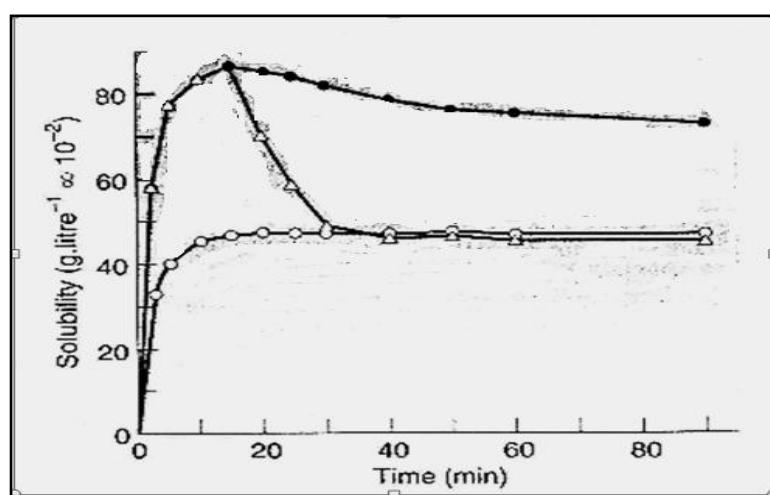
(الشكل2): مقارنة معدل انحلال الإريترومايسين اللامائي مع الشكل أحادي الهيدرات وثنائي الهيدرات<sup>[7]</sup>.

تظهر الدراسة التي أجريت من قبل *Shefter et. al* في عام 1963 ازدياداً في معدل انحلال الشكل غير المائي anhydrous للتيفيللين مقارنة بالشكل أحادي الهيدرات، وتفسر هذه الحالة بقيام جزيئات الماء بهذه الحالة بتشكيل روابط هيدروجينية أقوى ضمن البلورات مما أدى لزيادة ثباتيتها وبطء انحلالها.<sup>[8]</sup> يظهر (الشكل 3) ارتفاعاً في معدل انحلال الشكل غير المائي لتركيز أكبر من معدل انحلال الشكل أحادي الهيدرات ثم انخفاضه مع الزمن ليصبح بنفس التركيز المنحدل للشكل أحادي الهيدرات. ويمكن السبب في ذلك بتحقيق الشكل أحادي الهيدرات لانحلالية الحقيقة المترادفة للمادة في محلولها المائي، وتشكيل محلول مائي فوق مشبع بالشكل اللامائي والذي يعتبر محلولاً غير ثابتٍ من الناحية الترموديناميكية وسرعان ما يتتحول للشكل الأكثر ثباتاً، ويتراافق ذلك بتحول الشكل اللامائي للشكل أحادي الهيدرات الأكثر ثباتاً.<sup>[8]</sup>



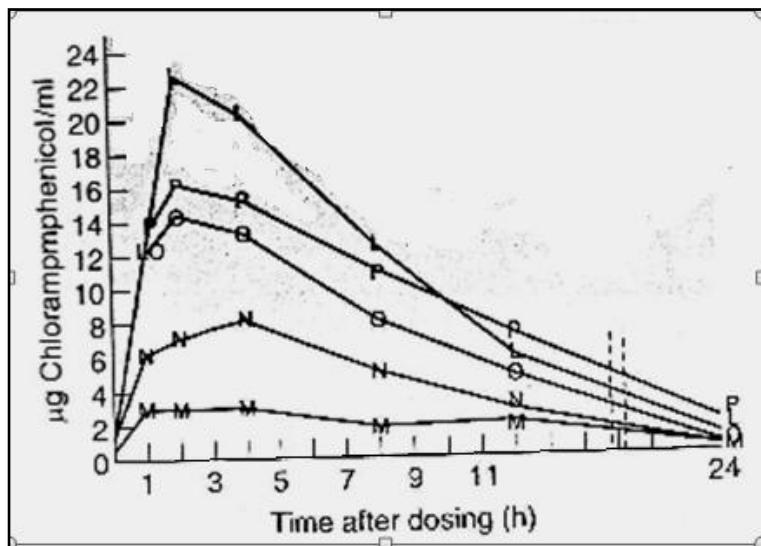
(الشكل 3): مقارنة معدل انحلال التيوفيليدين اللامائي مع الشكل أحادي الهيدرات [8].

يمكن زيادة التوافر الحيوي لبعض الأدوية بتحضيرها بالشكل البلوري غير الثابت metastable معدل انحلال أكبر ضمن محلول فوق مشبع يبقى لفترات طويلة مما يزيد التوافر الحيوي لبعض الأدوية [8, 9]. يوضح (الشكل 4) معدل الانحلال لشكليين بلوريين II, III مختلفين لمادة sulphamethoxydiazine والذي يظهر انحلالية أعلى للشكل II استمرت حتى 90 دقيقة وانخفاضها تدريجياً مع الزمن لتكون الشكل الأكثر ثباتاً، أما إذا أضيفت بلورات من النمط III لهذه البلورات فإن معدل انحلالها سينخفض مباشرةً لمعدل انحلال الشكل III لأنها تشكّل نوعاً تبلور للشكل III في محلول فوق مشبع وفقاً للدراسة التي أجريت من قبل Ebian et.al في عام 1973 [9].



(الشكل 4): معدل انحلال الشكليين البلوريين II, III لمادة sulphamethoxydiazine (تمثيل الدوائر المفتوحة معدل انحلال الشكل البلوري III ، تمثل الدوائر المغلقة معدل انحلال الشكل البلوري II ، وتمثل المثلثات المفتوحة تأثير إضافة الشكل البلوري III على معدل انحلال الشكل البلوري II) [9]

يمكن زيادة التوافر الحيوي لبعض الأدوية ضعيفة الانحلال بالماء مثل chloramphenicol palmitate وتحضيرها بأشكال بلورية مختلفة ضمن معلق فموي [10]. يوضح (الشكل 5) تركيز هذه المادة في مصل الدم بعد إعطائها فموياً بشكل معلق فموي. يعطي الشكل البلوري  $\alpha$  الأكثر ثباتاً تراكيز منخفضة بينما يعطي الشكل  $\beta$  غير الثابت تراكيز مرتفعة، لذا يجب التأكد منبقاء المادة الفعالة بشكلاها غير الثابت وعدم تحولها للشكل الأكثر ثباتاً قبل إعطائها للمريض. يمكن بهذه الحالة تثبيط تحول المادة للشكل الثابت بإضافة بعض الشوائب أثناء التصنيع، لذا يجب أن تتوافق طريقة التصنيع مع الغاية المرجوة من المادة الدوائية، ولا يمكن بعد الحصول على الشكل الثابت تحويله لشكل غير ثابت مرة أخرى [10,11].



(الشكل 5): تركيز الكلورامفينيكول بالمذيبات بالمصل الدموي بعد إعطائه فموياً بنسب مختلفة من الشكل  $\alpha$  الثابت والشكل  $\beta$  غير الثابت M وتمثل 100% من الشكل ( $\alpha$ )، N وتمثل 25:75% من الشكليين ( $\alpha$ : $\beta$ )، O وتمثل 50:50% من الشكليين ( $\alpha$ : $\beta$ )، P وتمثل 75:25% من الشكليين ( $\beta$ : $\alpha$ )، L وتمثل 100% من الشكل ( $\beta$ ). [10][11]

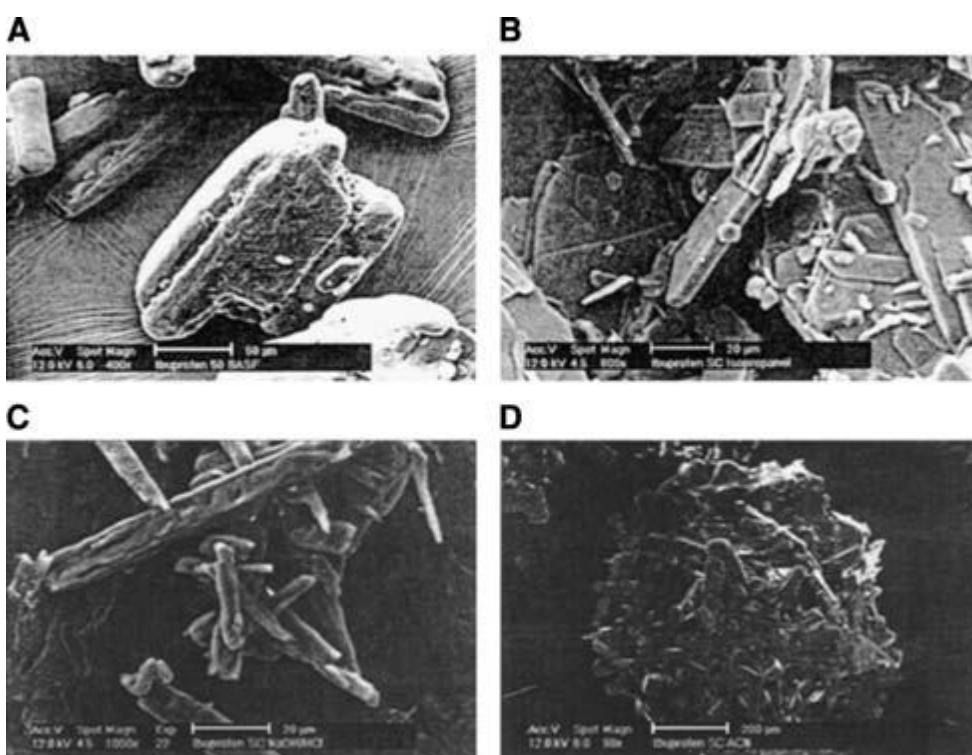
### 3-1-1-1. عملية إعادة البلورة Recrystallisation Procedure

تعتبر عملية إعادة البلورة بعد عملية التصنيع من النقاط الواجب التركيز عليها لما لها من أهمية بالغة في الحصول على النقاوة والشكل البلوري المميز. وما يجدر الإشارة إليه إلى أن هذه العملية معايرة لعملية الترسيب التي تعطي مسحوقاً غير بلوري يحوي ض منه الكثير من الشوائب [4,6].

تؤثر ظروف البلورة مثل نوع محل المستخدم، درجة الحرارة، سرعة التبريد، درجة فوق الإشباع، درجة حموضة محل، والطريقة المستخدمة في البلورة على خواص البلورات الناتجة. تدعى العملية التي تتم من خلالها تشكيل البلورة بالنمو البلوري (crystal growth)، والتي تتطلب وجود كتل صغيرة تعتبر نوى للنمو البلوري (nucleation site) يتجمع عليها عدد أكبر من جزيئات المادة المذابة، ولتحقيق النمو البلوري أثناء إعادة البلورة لابد من تحضير محلول بدرجة فوق الإشباع (supersaturated solution) والذي يحوي كمية من المادة المذابة أكبر من كمية الانحلالية الحقيقة لهذه المادة ضمن محل المستخدم، ويعتبر هذا محلول غير

ثبتت من الناحية الترموديناميكية، لذا فإنه يميل لتحقيق الانحلالية الحقيقة لهذه المادة ضمن محل المستخدم، و كنتيجةً لذلك فإن الكمية الفائضة من المادة المذابة ستتحول لشكلٍ غير منحل مشكلة نوى للنمو البلوري. يمكن تحرير عملية البلورة بحك الجدار الداخلي للبישر بقضيب زجاجي مؤدياً ذلك لتشكل جسيمات صغيرة تعمل كنوى للنمو البلوري [4,6].

ينتج الشكل الخارجي للبلورة وفقاً لنمط البنية الداخلية لها (internal packing)، ويترافق التغير في نمط ترتيب الجزيئات ضمن البلورة بتغير في السطح الخارجي لها، وينتج السطح الخارجي للبلورة عادةً من تتبع النمو البلوري على أوجه مختلفة [3]. ينتج تغير السطح الخارجي للبلورة من تغير ظروف عملية البلورة، ويظهر (الشكل 6) تغير شكل بلورات الإيبوبروفين بتغيير محل المستخدم في البلورة [12].

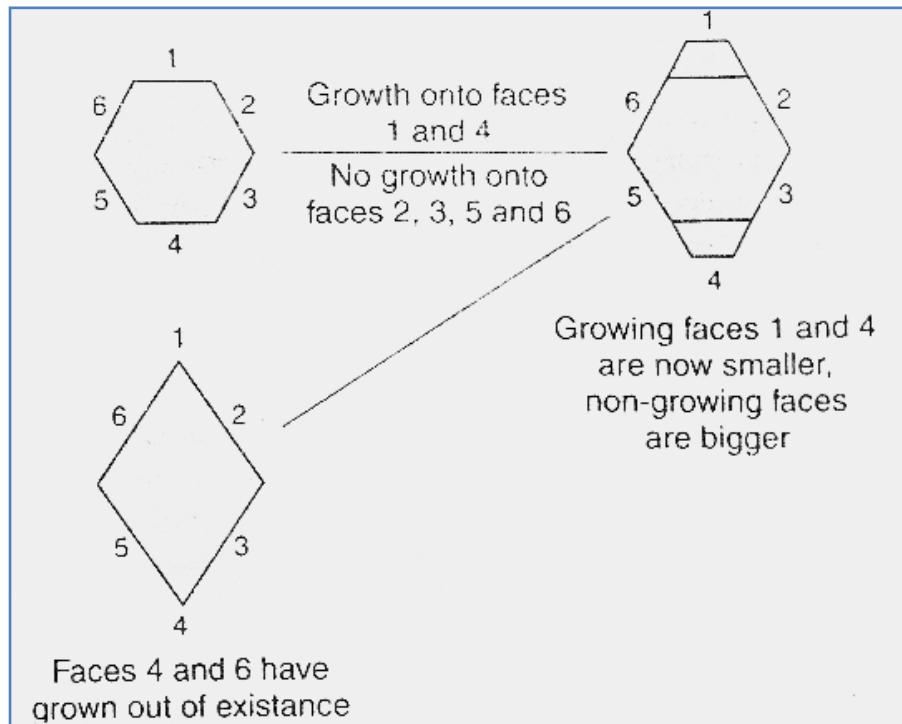


(الشكل 6): صور المجهر الإلكتروني للايبوبروفين معاد البلورة بأوساط مختلفة (A عينات تجارية، B مبلور باستخدام محل من الكحول الإيزوبروبيلي، C مبلور باستخدام هيدروكسيد الصوديوم، D مبلور باستخدام الأسيتونتريل) [12].

يعتمد النمو البلوري على ألفة المادة المذابة للمحل وللوجه البلوري الذي يتم عليه النمو. تحوي كل جزيئة العديد من المجموعات الوظيفية (بعضها قطبي والبعض الآخر غير قطبي)، واعتماداً على التوضع الهندسي (packing geometry) للجزيئه ضمن البلورة، فإن بعض الأوجه البلورية تظهر العديد من المجموعات القطبية، بينما تظهر الأوجه البلورية الأخرى المجموعات غير القطبية (الشكل 7)، فإذا كان نمو البلورة ضمن وسط مائي فإن جزيئات المادة الدوائية تمثل للتوضع على الأوجه غير القطبية لتجعل البلورة أكثر قطبية

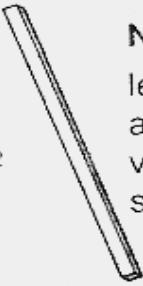
(سيكون نمو الأوجه غير القطبية أسرع فيضيق سطحها وتصبح الأوجه القطبية أكثر اتساعاً لعدم توضع جزيئات المادة الدوائية عليها)، والعكس صحيح في حال استخدام محل غير قطبي كوسط لعملية البلورة.

لذا يكون الوجه البلوري الأكبر في البلورات الإبرية عادةً هو الوجه الأقل سرعة في النمو لعدم توضع جزيئات المادة الدوائية عليه، فيصغر السطح الذي توضع عليه المادة الدوائية ويزداد السطح الآخر اتساعاً<sup>[6,11]</sup>.



(الشكل 7): النمو على الأوجه البلورية 1,4 لتشكيل بلورة سداسية الأوجه<sup>[6]</sup>.

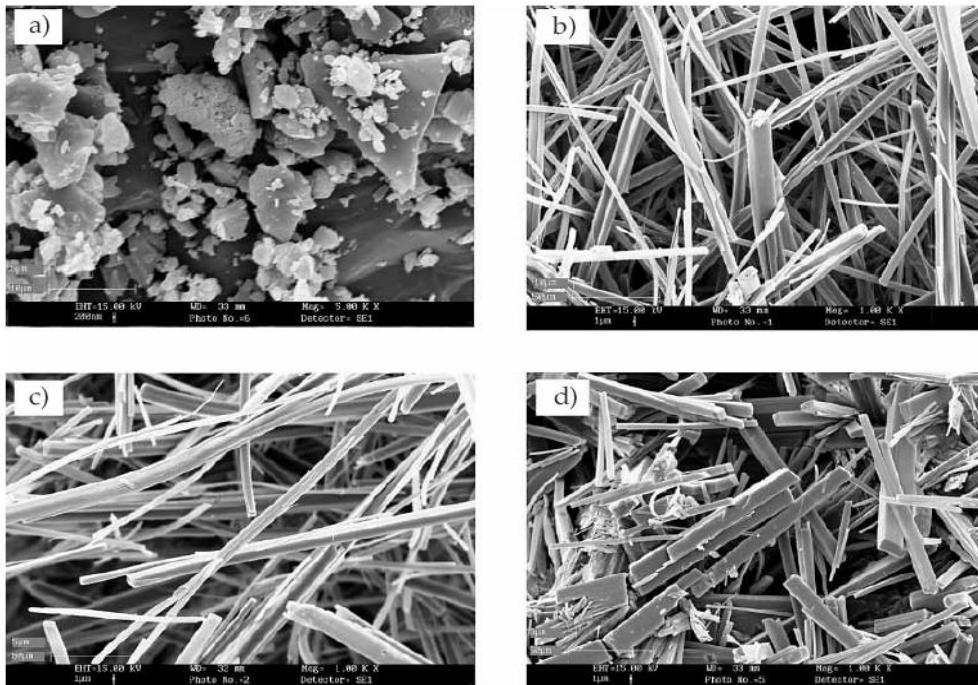
تتغير خواص المادة الدوائية مثل معدل الانحلال بتغير السطح الخارجي للبلورة الذي يترافق عادةً بتغير نسبة المساحة السطحية إلى الكتلة، ويظهر هذا الاختلاف جلياً بين البلورات الإبرية والكروية الشكل، حيث أن المساحة السطحية للبلورات الإبرية أكبر بحوالي 2.7 مرات من البلورات الكروية لنفس الكتلة، وبما أن معدل الانحلال يرتبط مباشرةً بالمساحة السطحية، فإن البلورات الإبرية ستحقق معدل انحلال أكبر من البلورات الكروية، ويظهر (الشكل 8) تغير المساحة السطحية للبلورات<sup>[4]</sup>.

 <b>Sphere:</b>	 <b>Needle:</b>
radius 20 $\mu\text{m}$	length 335 $\mu\text{m}$ , width
volume 33,515 $\mu\text{m}^3$	and thickness 10 $\mu\text{m}$
surface area 5,027 $\mu\text{m}^2$	volume 33,500 $\mu\text{m}^3$
	surface area 13,600 $\mu\text{m}^2$
 <b>Cube:</b>	
length, width and	
thickness 32.2 $\mu\text{m}$	
volume 33,386 $\mu\text{m}^3$	
surface area 6,221 $\mu\text{m}^2$	

(الشكل 8): المساحة السطحية لأشكال مختلفة من البلورات لها نفس الكتلة [4].

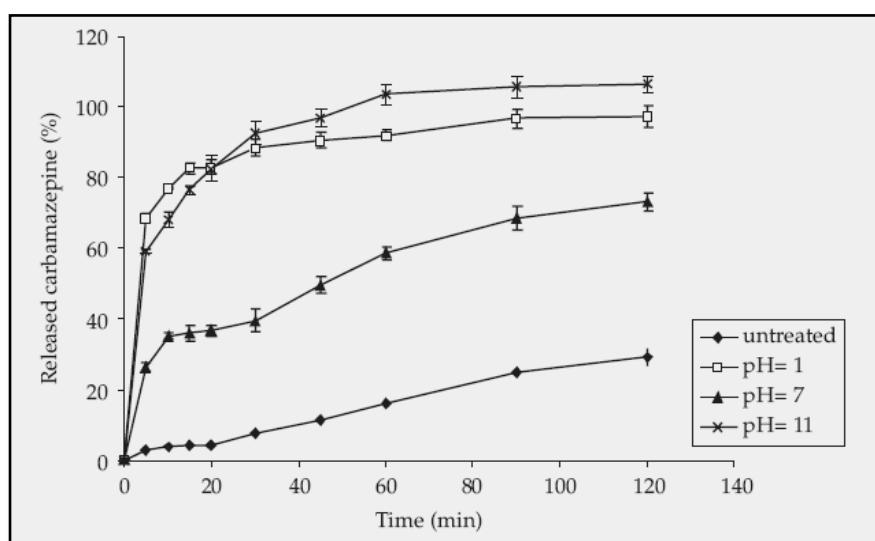
يتراافق عادةً تغيير شكل السطح الخارجي للبلورة مع تغيير انسيابية المساحيق، وتعتبر الانسيابية من العوامل الهامة لتحقيق تجانس المحتوى في الوحدات الجرعية، ويعتبر الشكل الإبري أسوأ الأشكال انسيابية مقارنة مع الأشكال البلورية الأخرى [6]. من الممكن إحداث تغيرات في السطح الخارجي للبلورة لتحسين انسيابية المساحيق من خلال التحكم بمعدل نمو الأوجه البلورية المختلفة للبلورة بالإضافة كميات صغيرة من الشوائب للمحلول، فتتدخل عادةً جزيئات الشوائب مع أحد الأوجه البلورية النامية وبذلك يتوقف النمو البلوري على هذا الوجه وتبقى الأوجه الأخرى أسرع نمواً ويتغير شكل السطح الخارجي للبلورة [13].

أشارت العديد من الدراسات إلى أن إعادة البلورة بوجود الشوائب ودرجات باهاء مختلفة تؤدي لاختلاف الأشكال البلورية الناتجة، مثلًا إعادة بلورة الكاربامازين في أوساط pH مختلفة كما يظهر (الشكل 9)، وتفسر هذه الظاهرة باختلاف انحلالية الشوائب بدرجات الباهاء المختلفة، مما يؤدي لوجود عدد أكبر من جزيئات الشوائب بشكل غير منحل في بعض الأوساط، ولا تستطيع الأوجه البلورية النامية التمييز بين جزيئية المادة الدوائية والجزيئية الشائبة بسبب التشابه الكيميائي بينهما مؤدياً بذلك لتغيير السطح الخارجي للبلورة [14, 6].



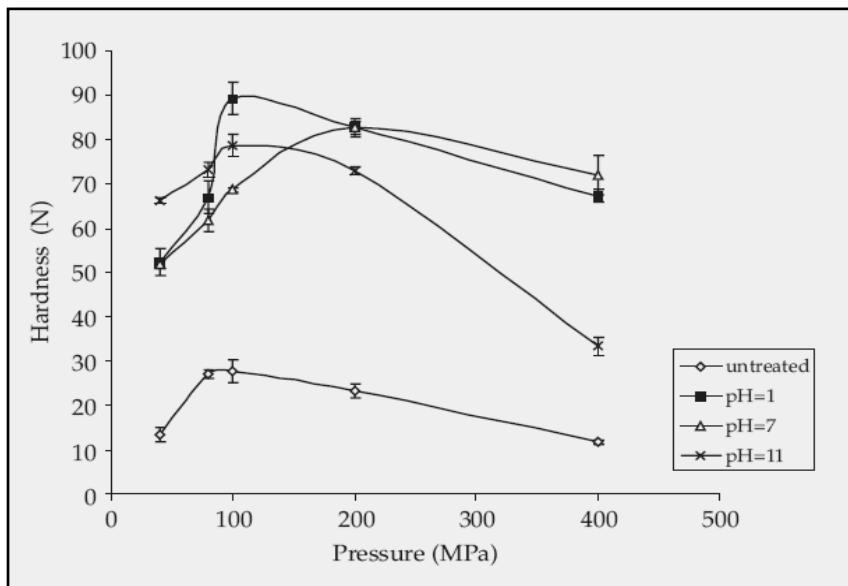
(الشكل 9 ) : الصور المجهرية لعينات الكاربامازيبين (a: العينات الأصلية، b: معادة البلورة عند  $\text{pH}=1$ ، c: معادة البلورة عند  $\text{pH}=7$ ، d: معادة البلورة عند  $\text{pH}=11$ ) .<sup>[14]</sup>

يظهر (الشكل10) اختلافاً واضحأً بمعدل الانحلال بين العينات الأصلية والعينات معادة البلورة للكاربامازيبين. حققت العينات معادة البلورة عند درجات باهاء ( $\text{pH}=1, 7, 11$ ) أعلى معدل انحلال مقارنة بالعينات الأصلية التي كان لها أدنى معدل انحلال، وهذا ينبع بالمساحة السطحية الأكبر التي يوفرها الشكل الإبري للعينات معادة البلورة مقارنة بالشكل الصفائي للعينات الأصلية.<sup>[14]</sup>



(الشكل 10): تغير معدل انحلال الكاربامازيبين بتغيير درجة باهاء وسط إعادة البلورة<sup>[14]</sup>.

لم يقتصر التغير على معدل الانحلال وإنما شمل قساوة المضغوطات الناتجة وقابلية المساحيق للانضغاط، وقد لوحظ أن الشكل الإبري للعينات معادة البلورة أكثر قابلية لانضغاط ويعطي مضغوطات أكثر قساوة من المادة الأصلية غير معادة البلورة.



(الشكل 11): اختلاف قساوة المضغوطات الكاربامازيبين الناتجة عن العينات الأصلية والعينات معادة البلورة.<sup>[14]</sup>

#### Co-crystal formation Co-crystal

أثبتت الدراسة التي أجريت من قبل Nugrahani et.al في عام 2007 وجود تداخلٍ فيزيائي بين الأموکسیلین تري هیدرات ذات الشكل البلوري وكلافولانات البوتاسيوم عديمة الشكل البلوري عند مزجهما بنسب مولارية قرها (5:5) مع السحق لمدة 5 دقائق، ويعود هذا التداخل لتشكل روابط هيدروجينية بين الزمرتين الوظيفيتين -C=O- و-NH- في كلافولانات البوتاسيوم مع جزيئات الماء في الأموکسیلین تري هیدرات. يمكن لهذا التداخل أن يؤثر على الخواص الفيزيوكيميائية للمادة مثل معدل الانحلال، التوافر الحيوي، الثباتية، قابلية الانضغاط وقساوة المضغوطات الناتجة ولا توجد دراسات حول هذه التأثيرات. يظهر (الشكل 12) تغطية بلورات الأموکسیلین تري هیدرات بجزيئات عديمة الشكل البلوري عند تشكيل ظاهرة co-crystal.<sup>[15]</sup>



(الشكل 12): نشكل ظاهرة co-crystal بين الأموكسيلين تري هيدرات وكلافولانات البوتاسيوم [15]

يمكن لهذه الظاهرة أن تتشكل بين المواد الدوائية والسواغات خلال مراحل التصنيع، وهذا ما يتدعي تطبيق الرقابة الدوائية أثناء الإنتاج للحصول على منتج دوائي فعال مطابق للمواصفات الدستورية [6, 15].

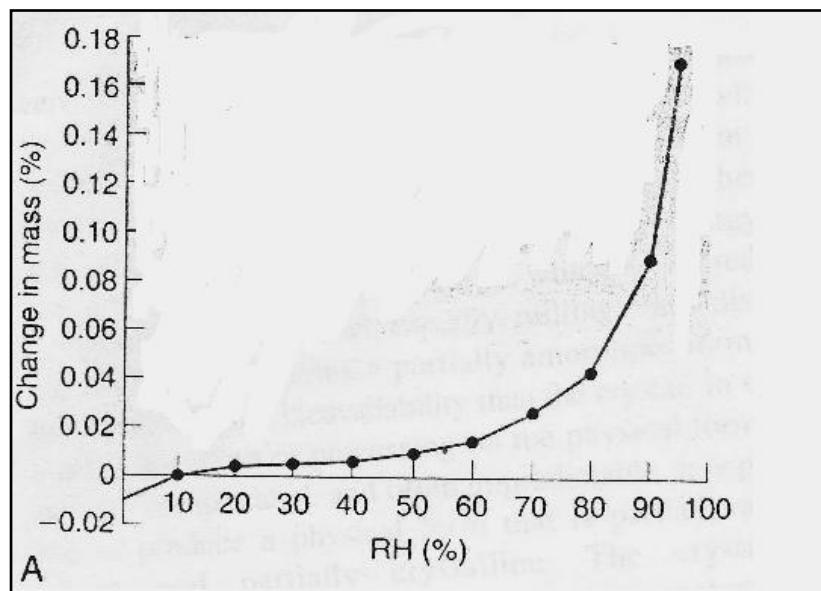
#### 5-1-1-1- صفات المواد عديمة الشكل البلوري Amorphous state properties

وهي المواد التي لا تكون فيها الجزيئات مرتبة بشكل منتظم، وتملك خواصاً مختلفة عن خواص الشكل البلوري لنفس المادة. لا يمكن للمواد البوليمرية (ذات الوزن الجزيئي الكبير) أن تشكل بلورات وإنما تتنظم أجزاء منها ضمن ترتيبٍ معين وتحاط بأجزاء أخرى غير منتظمة وتدعى هذه المواد semi-crystalline وتعتمد درجة تبلورها على طريقة التصنيع المتبعة، وهذا ما يؤثر على فعالية المنتج الذي تدخل في تركيبه هذه المادة [4]. أما بالنسبة للمواد صغيرة الوزن الجزيئي فإنها تتشكل بشكل غير بلوري عندما تكون عملية التصنيع سريعة لا تسمح بنمو البلورات مثل التجفيف بالإرذاذ spray dried، أو في حال تعرض بلوراتها لعمليات الطحن فإنها تتكسر وتتحول للشكل amorphous ولكنها سرعان ما تتحول للشكل البلوري الثابت ضمن فترة زمنية تطول أو تقصر حسب ماهية المادة الكيميائية المستخدمة. ومعرفة هذه الفترة الزمنية تحقق فائدة صيدلانية كبيرة أثناء تحضير الصيغة لأي شكل صيدلاني [4, 6].

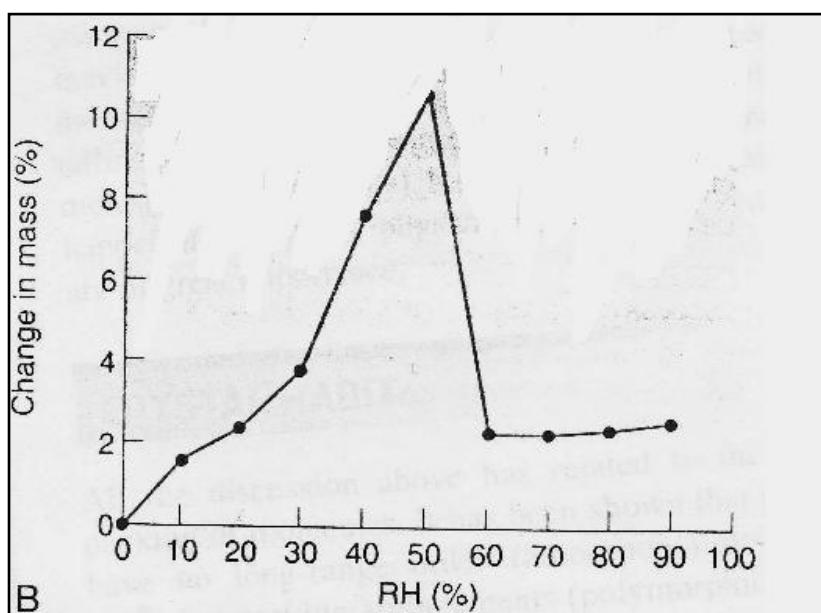
تملك المواد عديمة الشكل البلوري درجة حرارة هامة جداً يحصل عندها تغير بالخواص الفيزيائية وتدعى هذه الدرجة بدرجة التحول الزجاجي المطاطي glass transition temperature ( $T_g$ ) ، فإذا خزنت المادة بدرجة أقل من درجة  $T_g$  فإنها ستصبح هشة brittle أي زجاجية وتبقى فترة طويلة دون حدوث أي تغير في شكلها amorphous، وإذا خزنت بدرجة حرارة أعلى من  $T_g$  فإنها ستصبح مطاطية rubbery وهذه الحالة تسمح بحركة الجزيئات وتحول المادة تدريجياً مع الزمن للشكل البلوري الثابت. يمكن تخفيض هذه الدرجة بإضافة مواد ذات وزن جزيئي صغير تدعى ملدنات plasticizer مثل الماء والتي تندمج مع الجزيئات في الحالة الزجاجية وتعطيها حركة أكبر، وهذا ما يساعد على انخفاض درجة  $T_g$  [16, 4].

تمتص معظم المواد عديمة الشكل البلوري كميات كبيرة من الرطوبة مقارنة بالشكل البلوري لنفس المادة (الشكل 13)، يوضح (الشكل 14) ازدياد الرطوبة الممتصة من قبل المادة عديمة الشكل البلوري حتى (RH)

(50%) والذي أدى لزيادة كثافة المادة بنسبة 11% ثم انخفاضها بشكل مفاجئ مع زيادة نسبة الرطوبة المحيطة، ويفسر ذلك بحدوث ظاهرة التبلور للمادة التي ساعد وجود الماء على حدوثها، لأن الماء الممتص عمل ملذناً للمادة وساعد على انخفاض درجة  $T_g$  لما دون درجة حرارة الغرفة وسمح بحركة أكبر mobility للجزيئات ضمن المادة لتتحول للشكل البلوري الأكثر ثباتاً. ويفسر احتفاظ العينة لبعض جزيئات الماء بتشكيل اللاكتوز أحادي الهيدرات [17].



(الشكل 13): النسبة المئوية للرطوبة الممتصة من قبل بلورات اللاكتوز مونوهيدرات [17].



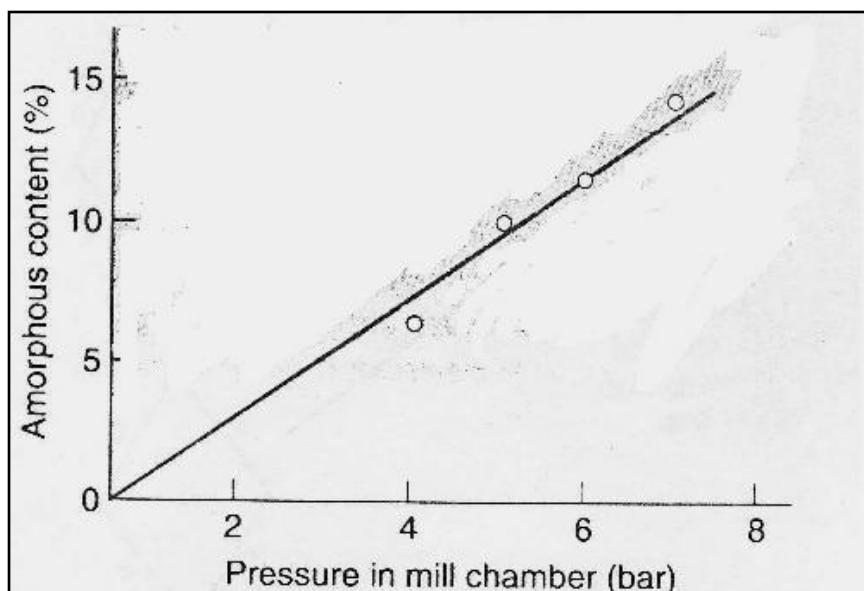
(الشكل 14): النسبة المئوية للرطوبة الممتصة من قبل جزيئات اللاكتوز عديمة الشكل البلوري [17].

تلعب الرطوبة الممتصة من قبل المواد عديمة الشكل البلوري دوراً هاماً في بعض المضادات الحيوية التي تتخرب بوجود الرطوبة (تحلله hydrolysis) إذا كانت بشكلاها غير البلوري amorphous، وتبقى ثابتة دون أي تغير إذا كانت بشكلاها البلوري، وتعتمد درجة الحلمة على نسبة المحتوى من كلا الشكليين البلوري وغير البلوري في العينة (الجدول 1)<sup>[18]</sup>.

(الجدول 1): ثباتية عينات sodium sephalothin تبعاً لمحتواها من الشكل غير البلوري<sup>[18]</sup>

العينة	الشكل غير البلوري %	الثبات% بعد التخزين بدرجة حرارة 50°C ورطوبة 31% لمدة 6 أشهر
مبورة	0	100
مجفدة	12	100
مجفدة	46	85
مجففة بالإرذاذ	53	44

تتأثر نسبة المحتوى من الشكل غير البلوري ضمن العينة بالظروف الفيزيائية التي تخضع لها العينة أثناء التصنيع، يظهر (الشكل 15) ازدياد نسبة الشكل غير البلوري لللاكتوز بزيادة ضغط الهواء المطبق عليه ضمن المطحنة الهوائية micronizer، ويجب تحديد الفترة الزمنية التي يبقى بها اللاكتوز بهذا الشكل قبل تحوله للشكل البلوري لتحديد الزمن اللازم لانتهاء فترة الصلاحية<sup>[19, 20]</sup>.



(الشكل 15): المحتوى من الشكل غير البلوري (%) لللاكتوز بزيادة ضغط الهواء بالمطحنة الهوائية<sup>[19]</sup>.

## 2-1-1- البعد الجسيمي للمادة الدوائية.

### The particle size of the active pharmaceutical ingredient.

يحدد عادةً البعد الجسيمي للمادة الدوائية الصلبة بعد مرحلة الاصطناع وأثناء الصياغة الصيدلانية لاعتباره معياراً هاماً بالخواص الفيزيوكيميائية المؤثرة على جودة المنتجات الدوائية وفعاليتها. تظهر المساحيق المختلفة في أبعاد جسيماتها اختلافاً في احلاليتها وانسيابيتها التي قد تؤدي إلى عدم تجانس المحتوى في المستحضر الدوائي [4,6].

### 1-1-2- البعد الجسيمي ومعدل الانحلال The particle size and the dissolution rate

يعتمد تحرر الدواء من الشكل الصيدلاني على عدة عوامل ومن أهمها المساحة السطحية المتعلقة بشكل كبير بالبعد الجسيمي للمادة الدوائية. تحدد سرعة الانحلال حسب Noyes-Whitney بالعلاقة التالية [21]:

$$\frac{dc}{dt} = DA(C_s - C)/h$$

حيث أن  $\frac{dc}{dt}$ : هو سرعة انحلال جسيمة الدواء، D: معامل انتشار الدواء في سوائل الأنوب الهضمي، A: المساحة السطحية الفعالة لجسيمات الدواء، H: سماكة طبقة الانتشار حول جسيمة الدواء،  $C_s$ : الانحلالية العظمى للدواء في الطبقة الانتشرارية، C: تركيز الدواء في السوائل الهضمية، ويتبين من العلاقة السابقة أن نقصان أبعاد الجسيمات الذي يزيد المساحة السطحية الفعالة للمادة الدوائية يزيد سرعة الانحلال.

أثبتت الدراسة التي أجريت من قبل Hbib et.al عام 2009 ازدياد معدل انحلال Monophenylbutazone بتصغير أبعاد جسيماتها حيث تم إجراء هذا الاختبار في وسط من حمض HCl (0.1N) [22]. كما أوضحت الدراسة التي تم إجراؤها على مستحضرين تجاريين لـ orthronic acid اختلافاً كبيراً بنمط توزع أبعاد الجسيمات بين العينتين. تم فصل أبعاد الجسيمات المختلفة بالمناخ للأجزاء التالية ( 710-500 $\mu\text{m}$ , 500- $\mu\text{m}$ , 350-250 $\mu\text{m}$ , 250-180 $\mu\text{m}$ , 180-125 $\mu\text{m}$ , 125-90 $\mu\text{m}$ ,

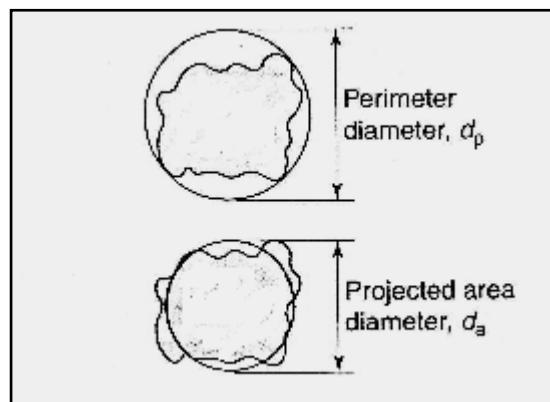
355 $\mu\text{m}$ , 90-0 $\mu\text{m}$  )، ولوحظ ازدياداً في معدل الانحلال بتناقص أبعاد الجسيمات لجسيمات التي تزيد أبعادها عن 90 $\mu\text{m}$ ، أما الجسيمات التي تقل أبعادها أو تساوي 90 $\mu\text{m}$  فلا تتطبق عليها علاقه Noyes-Whitney، كما لم

يلاحظ اختلافاً واضحاً لمعدل انحلال المستحضرين التجاريين لنفس مجال البعد الجسيمي [23]

أوضحت الدراسة التي أجريت من قبل Jinno et.al عام 2006 تأثير إنفصال أبعاد الجسيمات على زيادة التوافر الحيوي للمعلق الفموي cilostazol. حضرت ثلاثة أنواع من المعلقات التي تختلف عن بعضها البعض بنسب توزع البعد الجسيمي واستخدمت ثلاثة طرائق في تحضيرها hammer-milled, the jet-milled, NanoCrystal® prepared by spray-drying of the powder الانحلال بتناقص البعد الجسيمي الذي حققه الشكل NanoCrystal® ، وتم التنبؤ عن معدلات الانحلال بالوسط الحي باستخدام أوساط مشابهة للأوساط الحيوية. [24]

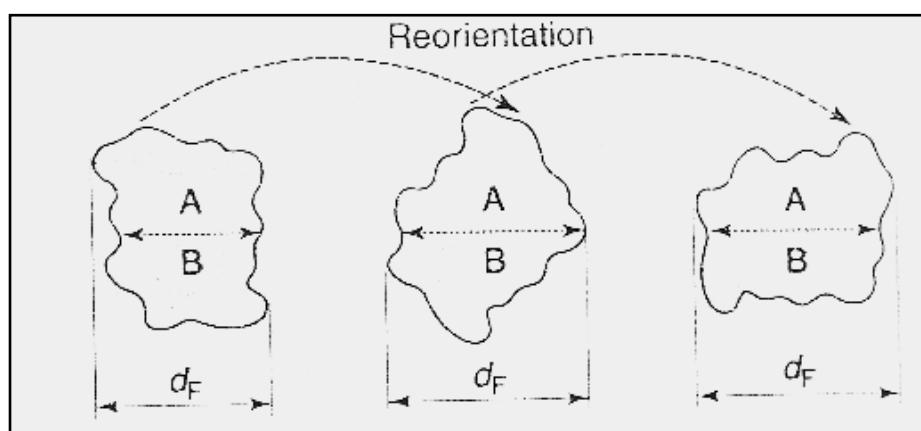
### 2-1-2-2- تحديد القطر المكافئ للجسيمة Determination of equivalent diameters

من الممكن تشكيل أكثر من كرية تكافىء شكل جسيمة غير منتظم، لذا يتم إسقاط الجسيمة على مستوى أفقى للحصول على صورة ثنائية الأبعاد تسمح بتحديد القطر المكافئ للجسيمة Equivalent diameter، ويمكن قياس Projected area diameter ويتم حسابه من الدائرة المعادلة في مساحتها لمساحة الجسيمة ( $d_a$ )، ويمكن قياس Perimeter diameter ويتم حسابه من الدائرة المعادلة في محيطها لمحيط الجسيمة ( $d_p$ )<sup>[4, 25]</sup>.



(الشكل 16) طرق قياس الأقطار المكافئة للجسيمات.

وباعتبار أن الجسيمة الصلبة غير منتاظرة في أبعادها الثلاثة، لذا فإن الأقطار السابقة تتغير مع طريقة توضع الجسيمة. أما بالنسبة لأقطار Matin Feret، فإنها تعتمد على طريقة توضع وشكل الجسيمة وهي أقطار إحصائية تعتمد على المتوسط الحسابي لعدة وضعيات، يتم تحديد قطر Feret اعتماداً على متوسط المسافة بين مماسين متوازيين لمسقط الجسيمة (الشكل 17)، ويتم تحديد قطر martin اعتماداً على متوسط طول الوتر الذي يفصل مسقط الجسيمة لقسمين متساوين في المساحة. يمكن أيضاً تحديد جسيمة مكافئة لجسيمة مدرستة اعتماداً على الحجم، المساحة، فتحة المنخل، سرعة التربب [25, 26].



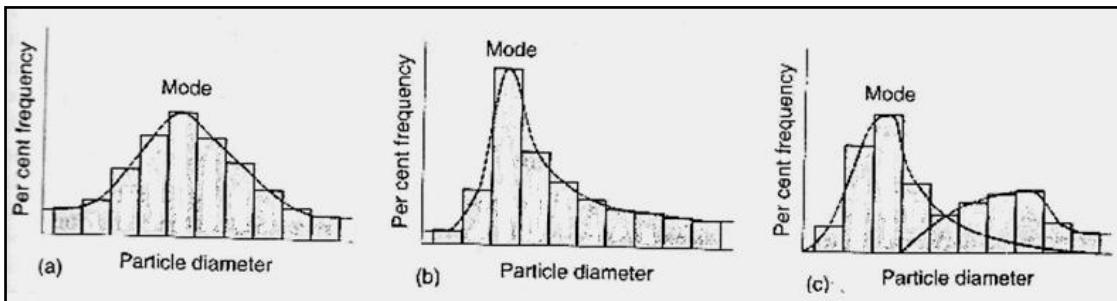
<sup>[25]</sup> (الشكل 17): حساب قطر Feret

### 3-2-1-1- توزع أبعاد الجسيمات Particle size distribution

يعتبر المسحوق الحاوي على جسيمات متساوية في قطرها المتكافئة مسحوقاً أحادي الأبعاد monosized، ومن النادر وجود هذا المسحوق فمعظم المساحيق تحوي جسيمات ضمن مجال محدد لأبعاد جسيماتها، ولتحديد توزع أبعاد الجسيمات ضمن مسحوق ومقارنة صفات مسحوقين يحويين جسيمات بأبعاد مختلفة، لا بد من تمثيل توزع أبعاد الجسيمات ضمن مجال مقسم لعدة أقسام في هيستوغرام يحسب النسبة المئوية لكل مجال من أبعاد الجسيمات، يوضح (الشكل 18,a) هيستوغرام يمثل توزع أبعاد الجسيمات لمسحوق بشكل منتظر

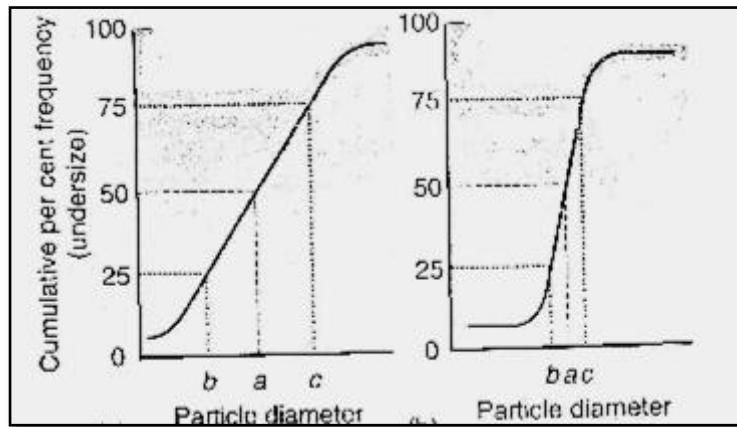
ويدعى هذا المخطط لتوزع أبعاد الجسيمات بالتوسيع الطبيعي (normal curve) [4,25].

لا تظهر كل المساحيق توزعاً منتاظراً لأبعاد جسيماتها، وتتمثل مخططات توزع أبعاد الجسيمات عادةً لإظهار انحرافات عن القيمة المركزية، يظهر (الشكل 18,b) توزعاً يحوي نسبة أكبر من أبعاد الجسيمات الأصغر، ويدعى هذا الانحراف بالإيجابي ويعرف هذا المخطط المخطط الذي يظهر انحراف يميل لأن يحوي نسبة أكبر من أبعاد الجسيمات الأكبر بالمخطط ذو الانحراف السلبي (negative skewed curve). يمكن لهذه التوزيعات أن يتم تمثيلها بشكل لوغارتمي log normal distributions. وقد تظهر المخططات أكثر من نموذج لتوزع أبعاد الجسيمات. يظهر في (الشكل 18,c) توزع لأبعاد الجسيمات ثانوي النموذج bimodal distribution والذي يوضح توزع أبعاد جسيمات مسحوق تعرض للطحن الجزئي [25, 26].



(الشكل 18): مخططات توزع أبعاد الجسيمات: a التوزع الطبيعي، b التوزع ذو الانحراف الإيجابي، c التوزع ثانوي النموذج.

ويمكن تمثيل الهيستوغرام بطرق أخرى مثل التوزع التراكمي لأبعاد الجسيمات والذي يتم بطريقتين: بالإضافة المتالية لنسب أبعاد الجسيمات الأصغر ويدعى بالتوزع التراكمي الصاعد cumulative percent frequency undersize، أو بالطرح المتالي لنسب أبعاد الجسيمات ويدعى بالتوزع التراكمي الهابط cumulative percent oversize [26].



(الشكل 19): التوزع التراكمي الصاعد لأبعاد الجسيمات: a: وسطي أبعاد الجسيمات، b: النقطة الرباعية الدنيا، C: النقطة الرباعية العليا [26].

ومن الطرق الإحصائية المستخدمة في تقييم توزع أبعاد الجسيمات التي تعتمد على تحديد الأربع لدرجة

انحراف نمط توزع أبعاد الجسيمات Interquartile Coefficient of Skewness (IQCS) وفقاً للمعادلة:

$$IQCS = \frac{(c-a)-(a-b)}{(c-a)+(a-b)}$$

حيث أن a: وسطي أبعاد الجسيمات، b: النقطة الرباعية الدنيا، c: النقطة الرباعية العليا، وتأخذ IQCS قيمًا من -1 إلى +1 ، وإذا أخذت القيمة (0) فإن ذلك يدل على توزع أبعاد الجسيمات بشكل منتظر حول القيمة المركزية، وتأخذ القيم السلبية في حال كان توزع أبعاد الجسيمات حاوياً على نسبة أكبر من أبعاد الجسيمات الكبيرة والعكس صحيح، ويطلب تطبيق IQCS بشكل دقيق وجود عدد كبير من مجالات أبعاد الجسيمات في المسحوق [26].

لتحديد درجة تناظر توزع البعد الجسيمي يتم تحديد القيمة kurtosis، يعتمد تناظر التوزع على حدة قمة التوزع الظاهرة. تعرف المنحنيات ذات القمم الحادة على أنها Leptokurtic، والمنحنيات ذات القمم المسطحة على أنها Platykurtic، وقمة التوزع الطبيعي Mesokurtic. تعطى درجة التناظر Kurtosis (K) بالعلاقة:

$$K = \{N \sum (d-x)^4 / [\sum (d-x)^2]^2\} - 3$$

حيث أن d: قطر أي جسيمة، x: القطر الوسطي للجسيمات، N: عدد الجسيمات. تأخذ K القيمة 0 في حال التوزع الطبيعي، والقيمة السلبية في حال المنحنيات التي تظهر قمم مسطحة، والقيمة الإيجابية للمنحنيات التي تظهر قمم حادة [25].

## 4-2-1-1 طرق تحديد أبعاد الجسيمات Particle size analysis methods

### طريقة المناخل Sieve method

يقيس أبعاد الجسيمات ضمن المجال ( 5-125000 ) ميكرومتر، يتكون المنخل عادةً من نسيج من خيوط ستانلس ستيل التي لاتصدأ، وتترك بينها فواصل أو فراغات مربعة تسمى فتحة المنخل، كل منخل يرمز له برقم يمثل فتحة المنخل بالميكرومتر، تثبت المناخل على جهاز ميكانيكي بحيث يكون المنخل ذو الفتحات الأكبر في الأعلى، والمنخل ذو الفتحات الأصغر في الأسفل، ويحدد الوقت اللازم لانتهاء عملية النخل بمجرد ثبات وزن المادة على المنخل، وعدم تغير وزنها بمقدار أكبر من 0.2% [4, 27].

### طريقة المجهر الضوئي Optical microscope

يقيس أبعاد الجسيمات ضمن المجال ( 1-1000 ) ميكرومتر، ويزود هذا المجهر بكاميرا موصولة إلى جهاز حاسوب يظهر صور أبعاد الجسيمات، يعتمد المجهر الضوئي في القياس على أشعة الضوء المرئية التي تمر عبر العينة، ويحوي المجهر مجموعة من العدسات التي تكبر الأجسام الصغيرة، ويعتبر مجهر الفلورة الماسح مجهرًا ضوئيًّا يسمح بدراسة أبعاد الجسيمات اعتمادًا على خاصية الفلورة لبعض المواد العضوية وغير العضوية، بالإضافة لتقنيات المجهر الضوئي الأساسية: الإنعكاس والامتصاص [27].

### طريقة المجهر الإلكتروني الماسح Scanning electronic microscope

يقيس أبعاد الجسيمات ضمن المجال ( 0.018 - 1000 ) ميكرومتر، ويعطي صورة ثلاثية الأبعاد للعينة، ويعتمد على تحرر الكترونات ثانوية بعد الاصطدام بالعينة يتم استقبالها على مونوغراف يظهر صورة العينة، ويُتصفح بتلبيس العينة بطبقة ناقلة مثل الذهب لظهور الصورة ثلاثية الأبعاد أكثر وضوحًا، وتكون شدة حزمة الإلكترونات أقل منها في المجهر الإلكتروني المعتمد على تقنية العبور [27].

### طريقة المجهر الإلكتروني المعتمد على تقنية العبور Transmission electronic microscope

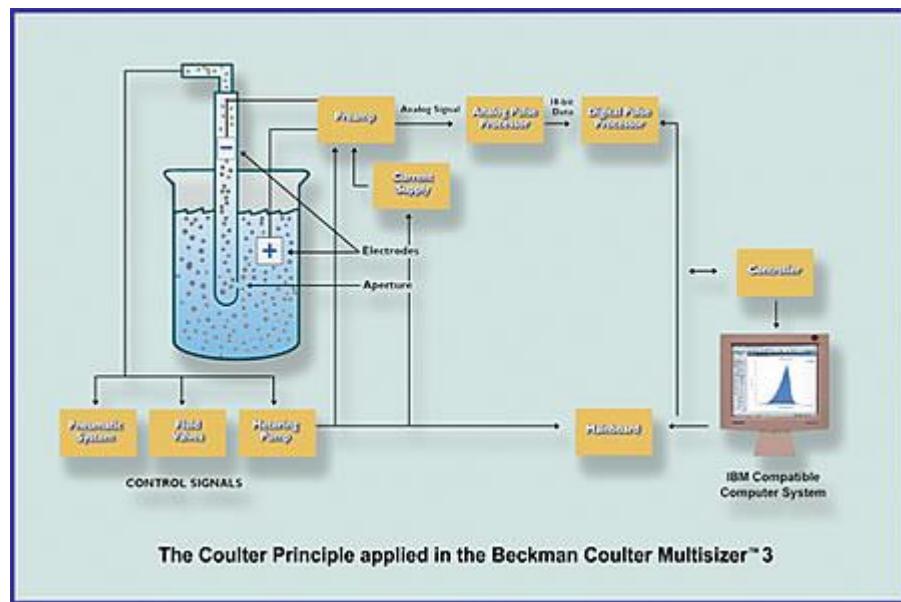
يقيس أبعاد الجسيمات ضمن المجال ( 0.018-1000 ) ميكرومتر، ويسمح برؤيه ما بداخل العينات، وتكون حزمة الإلكترونات ذات شدة أكبر منها في المجهر الإلكتروني الماسح حتى تسمح لها باختراق العينة، ويتم استقبال حزمة الإلكترونات على مونوغراف يعطي صورة ثنائية الأبعاد للعينة [27].

### عدادة كولتر (النقطة الحساسة للتيار الكهربائي)

#### Electrical stream sensing zone method (coulter counter)

يقيس أبعاد الجسيمات ضمن المجال ( 0.1-1000 ) ميكرومتر. توضع العينة ضمن محلول ناقل للتيار الكهربائي بشكل مدد، وتعرض للأمواج فوق الصوتية لتحطيم تكتلات الجسيمات قبل القياس، وتطبق تخلية في جزء محدد من محلول، ويقاس فرق الكمون باستخدام الكترودين مغموريين أحدهما في الجزء الذي طبقت عليه

التخلية والآخر في المحلول، ومن فرق الكمون يتم حساب أبعاد الجسيمات وعدها، ويوضح (الشكل 20) عادة كولتر [27].



(الشكل 20): عادة كولتر (النقطة الحساسة للتيار الكهربائي)

#### الطريقة المعتمدة على انحراف شعاع الليزر **Laser diffraction method**

يقيس أبعاد الجسيمات ضمن المجال (1-1000) ميكرومتر، ويستخدم لقياس أبعاد الجسيمات في العينات الجافة والمعلقة بسائل، يعتمد مبدأ القياس على تبدد الضوء بواسطة الجسيمات المعلقة. يتم الحصول على شعاع ليزر أحمر اللون قطره 18 ملم انطلاقاً من أنبوب غاز (هليوم- نيون)، تمدد الجسيمات التي ستتقاس أبعادها ثم تمرر داخل خلية مناسبة، تحرف الجسيمات المضاء شعاع الليزر عن محوره الأساسي، وتسمح كمية الضوء المنحرف ومقدار زاوية الانحراف بقياس أبعاد هذه الجسيمات بدقة، فالجسيمات الكبيرة تحرف كمية هامة من الضوء بزوايا انحراف صغيرة، أما الجسيمات الصغيرة فتحرف كميات قليلة من الضوء بزوايا انحراف أكبر، ويزود الجهاز بمعالج حاسوبي يرسم هيستوغرام يعبر عن أبعاد الجسيمات [27].

#### قياس مطيافية الفوتون **Photon correlation spectroscopy**

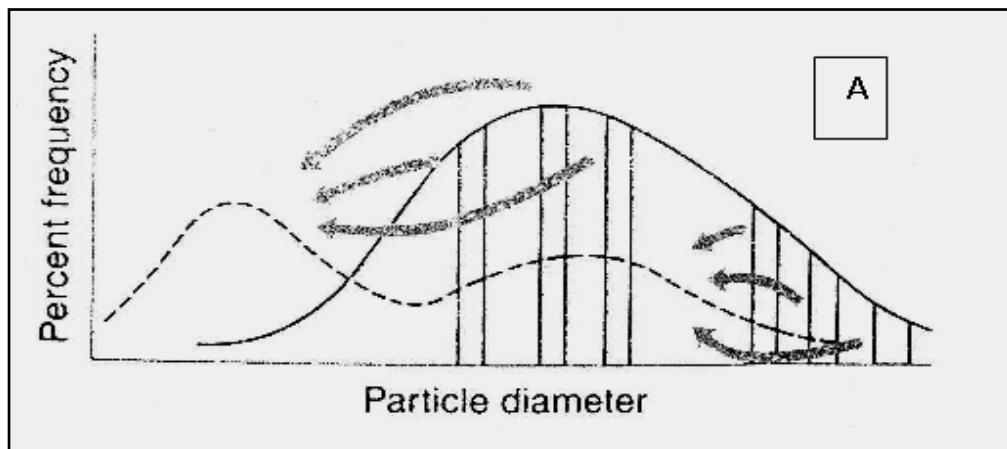
يقيس أبعاد الجسيمات ضمن المجال (6000-0.6) نانومتر، يعتمد مبدأ القياس بهذا الجهاز على الحركة البراونية التي تتحركها الجسيمات التي تقل أبعادها عن 1 ميكرومتر، تتحرك الجسيمات الكبيرة نسبياً بشكل أبطأ من الجسيمات الصغيرة، فيحدث تداخل بين حزمة الفوتونات الواردة وعدد الجسيمات، وتقاس شدة حزمة الفوتونات النافذة، وباعتبار أن الجسيمات الكبيرة حركتها أبطأ يكون توافر التغيرات صغير والعكس بالنسبة للجسيمات الصغيرة، يمكن بهذا الجهاز قياس الكمون زيتا في المعلقات، وقياس أبعاد الغروانيات والميسيلات [27].

### 5-2-1-1 طرق تصغير أبعاد الجسيمات Particle size reduction methods

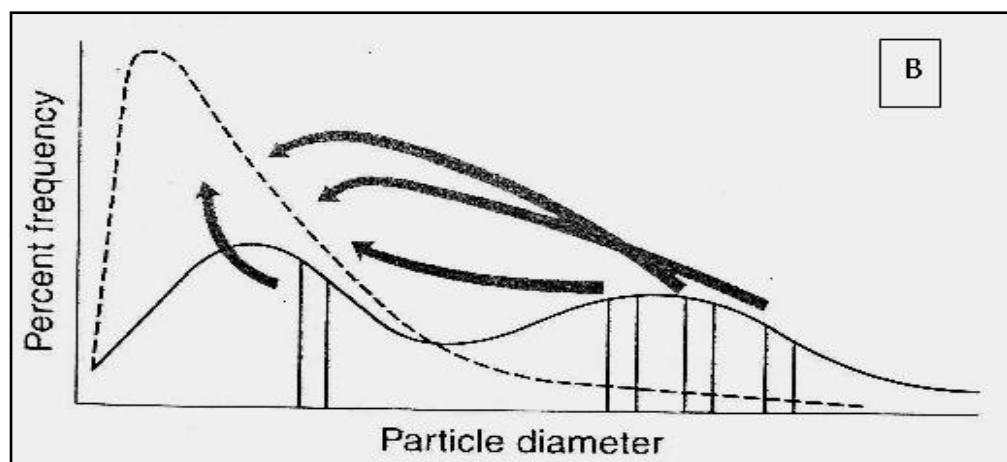
يُجَأ لتصغير أبعاد الجسيمات لتسهيل المزج أثناء تحضير الأشكال الصيدلانية الصلبة، ولزيادة التوافر الحيوي، ولزيادة ثبات المعلقات المحضررة.

#### تأثير تصغير أبعاد الجسيمات على توزعها ضمن المسحوق:

ينتج عن تصغير أبعاد الجسيمات تحطم جزئي لبعض جسيمات العينة، مما ينتج عنه اختلافاً في نمط توزع أبعاد الجسيمات من التوزع الطبيعي إلى النمط ثانوي التوزع (الشكل 21). وإذا استمرت عمليات الطحن يتشكل نمط أحادي القمة ذو انحراف إيجابي (الشكل 22). وإذا زادت الطاقة المقدمة عن حد معين يتشكل مسحوق تقل أبعاد جسيماته عن  $5\mu\text{m}$ ، والتي ينشأ بينها قوى سطحية تعمل على تكتل المساحيق والتصاقها ببعضها البعض agglomeration. وهذا ما يؤدي لنتيجة عكسية مع استمرار عمليات الطحن والتعيم مسبباً ذلك زيادة في أبعاد الجسيمات size enlargement. تعتمد الطريقة المتبعة في تصغير أبعاد الجسيمات على البعد المطلوب الحصول عليه، ونوعية المادة المدرورة [4,28].



(الشكل 21): التحول من نموذج التوزع الطبيعي إلى نموذج التوزع الثنائي.



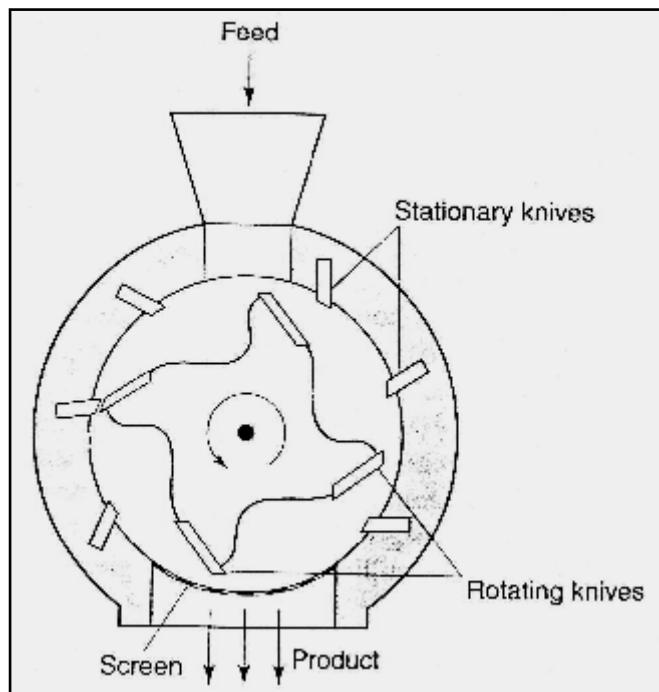
(الشكل 22): تحول نموذج التوزع الثنائي إلى نموذج التوزع ذو الانحراف الإيجابي مع استمرار عمليات الطحن.

### طرق تصغير أبعاد الجسيمات<sup>[28]</sup>:

#### **طرق القطع:** Cutting machines

##### **1- المطحنة ذات السكاكين:** cutter mills

تتألف من سلسلة من السكاكين الموصولة إلى محور أفقي دوار، يحدث إنفاص أبعاد الجسيمات أثناء الطحن عن طريق تكسير الجسيمات بين سطبي السكاكين، وتعطي أبعاداً للجسيمات تقدر بـ 100 ميكرومتر. يمكن الاستفادة من هذه المطحنة في الحصول على أجزاء خشنة نوعاً ما للحثيرات قبل عملية الضغط (الشكل 23).<sup>[28]</sup>



(الشكل 23): المطحنة ذات السكاكين.

#### **طرق الضغط:** Compression method

##### **1- الهاون والمدق:** mortar and pestle

يمكن تطبيق هذه الطريقة مخبرياً ولكنها طريقة غير دقيقة في الحصول على البعد المطلوب

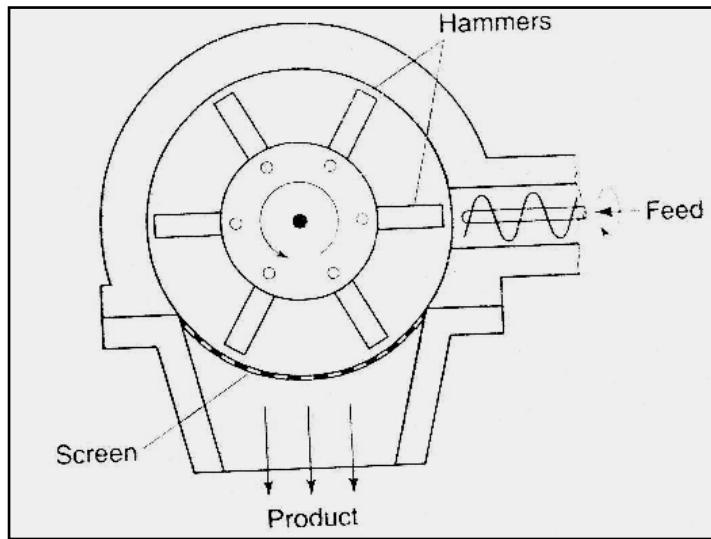
##### **2- مطحنة الاسطوانتين:** cylindrical rolls mills

تتألف من اسطوانتين مثبتتين أفقياً تدوران باتجاهين متعاكسين حول محورهما، تدور أحدهما آلباً بينما تدور الأخرى نتيجة لاحتكاك الناتج عن مرور المواد بالفتحة بين الاسطوانتين، وتعطي أبعاداً للجسيمات تقدر بـ 900 ميكرومتر.<sup>[28]</sup>

#### **طرق الطرق:** Impact methods

##### **1- المطحنة ذات المطارق:** Hammer mills

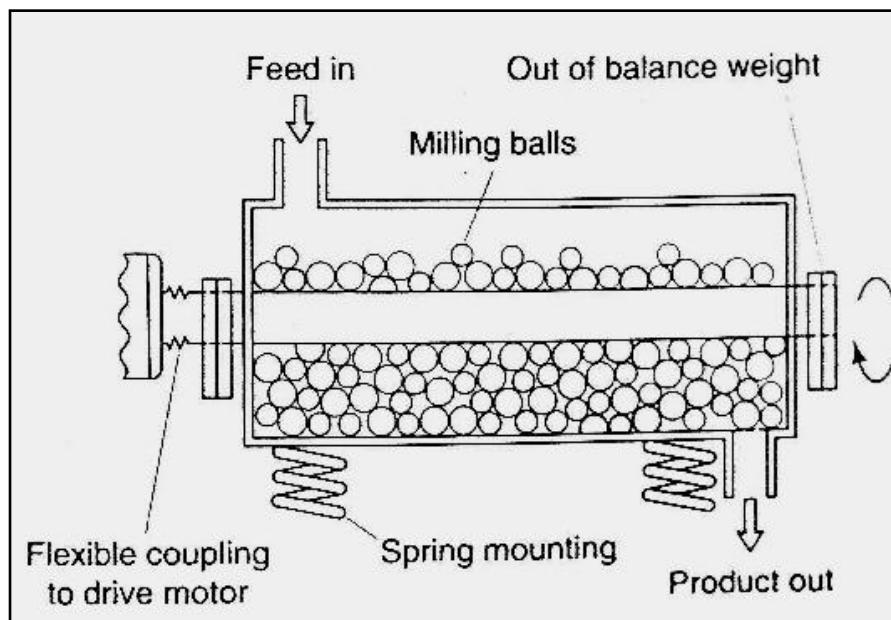
تتألف من ستة أو أكثر من المطارق المعلقة حول عمود مركزي موجود ضمن هيكل معدني متين، يؤدي الدوران المركزي للمطارق إلى تكسير التجمعات، وتعطي أبعاداً للجسيمات تقدر بـ 10 ميكرومتر (الشكل 24).<sup>[28]</sup>



(الشكل 24): المطحنة ذات المطارق.

**3- المطحنة الهزازة vibration mills**

يُملاً حوالي 80% من حجمها بواسطة كرات البورسلان أو الفولاذ. يتحرك خلال الطحن جسم المطحنة بأكمله وينقص أبعاد الجسيمات بتكرار عملية الطرق، وتعطي أبعاداً للجسيمات تقدر بـ 1 ميكرومتر (الشكل 25) [28].

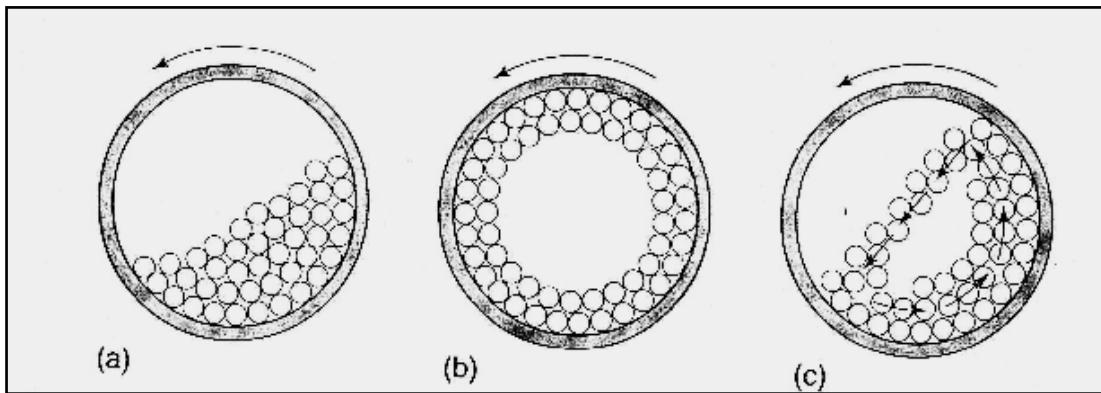


(الشكل 25): المطحنة الهزازة.

**طرق الطرق والاحتكاك attrition and impaction methods****1- المطحنة ذات الكرات ball mills**

تتألف من أسطوانة مجوفة يمكن لها الدوران حول محورها الأفقي. تحوي الأسطوانة على كرات من البورسلان أو الفولاذ تشغل 50-30% من الحجم الكلي، يعتمد حجم الكرات على حجم المطحنة وحجم التعبئة، ويمكن أن تحوي كرات بأحجام مختلفة، وهذا يساعد على تحسين عملية الطحن حيث تكسر الكرات الكبيرة الجسيمات

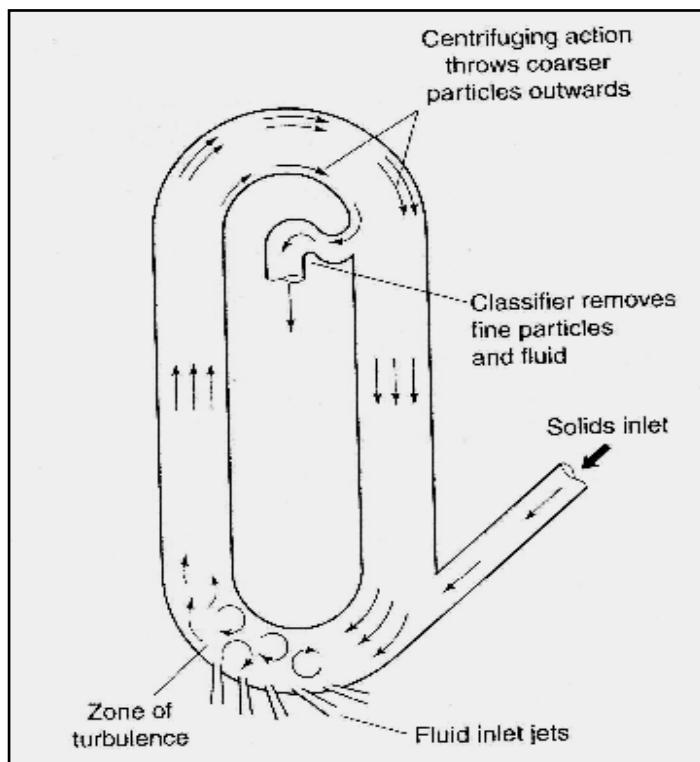
الكبيرة وتكسر الكرات الصغيرة الجسيمات الصغيرة، وتلعب كمية المادة وسرعة الدوران دوراً كبيراً بذلك، وتعطي ابعاداً للجسيمات تقدر بـ 1 ميكرومتر (الشكل 26).



(الشكل 26): المطحنة ذات الكرات (a): حركة ذات سرعة بطيئة، b، حركة ذات سرعة كبيرة، c: حركة ذات سرعة متوسطة [28].

## 2- مطحنة السرير الهوائي fluid energy mill

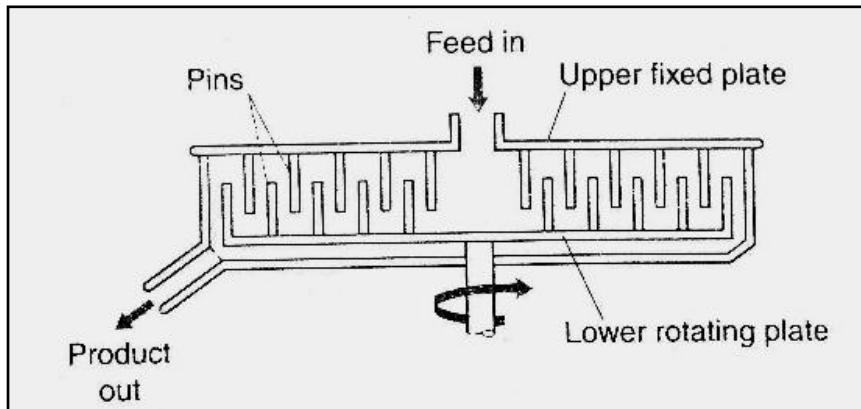
يتتألف من أنبوب مجوف بشكل عروة ذو قطر 200-200 ملم، يتم حقن مائع الهواء بضغط عالٍ من خلال صمامات أو فتحات دقيقة أسفل العروة، وتؤدي السرعة العالية للهواء لخلق مناطق مضطربة تكسب الجسيمات الصلبة طاقة حركة هائلة تؤدي إلى تصادمها مع بعضها البعض بشدة تكفي لتكسيرها، وتعطي ابعاداً للجسيمات تقدر بـ 1 ميكرومتر (الشكل 27) [28].



(الشكل 27): مطحنة السرير الهوائي.

### 3- مطحنة الدبابيس pin mills:

تتألف من قرصين يحوي كل منهما عدداً كبيراً من الدبابيس، ويدور القرصان حول بعضهما بسرعات عالية يتم من خلالها إنقاص أبعاد الجسيمات تبعاً لقوى الاحتكاك التي تخضع لها بين الدبابيس، وتبعاً للقوى النابذة التي تخضع لها الجسيمات نتيجة دوران القرصين حول بعضهما البعض، وتعطي أبعاداً تقدر بـ 1 ميكرومتر [28] (الشكل 28).



(الشكل 28): مطحنة الدبابيس.

يجب أن يتم تحديد البعد الجسيمي المطلوب بدقة ليتم اختيار الأداة المناسبة في تصغير تلك الأبعاد، وعدمأخذ هذا الموضوع بعين الاعتبار يؤدي لكففة مادية أكبر في تصغير الأبعاد والحصول على مسحوق فائق النعومة لا يمكن له أن يلبي متطلبات الصناعة الصيدلانية في بعض الحالات [28].

#### **3-1-1- درجة و مجال انصهار المادة الدوائية الفعالة**

##### **The melting point and range of the active pharmaceutical ingredient**

يعرف مجال الانصهار للمادة الدوائية النقيّة على أنه المجال الذي تأخذ درجات الحرارة من لحظة بدء الانصهار حتى الانصهار التام، والذي يحدث فيه توازناً للمادة بين حالتها الصلبة والسائلة، ويحدث الانصهار نتيجةً للطاقة المقدمة للمادة والتي يتم استهلاكها في تحطيم الروابط التي تربط بين جزيئات المادة في البنية البلورية، لا تحدث ظاهرة الانصهار فجأة لأن الجزيئات تمتص هذه الطاقة تدريجياً وتستخدمها في تحطيم الروابط الفيزيائية فيما بينها، وينصهر الوجه الخارجي للبلورة بشكل أسرع من داخليها لأن الطاقة الحرارية تحتاج لبعض الوقت لاختراق البلورات [29].

يعتبر مجال الانصهار من الخواص المميزة للمادة الدوائية، وتظهر معظم المواد الدوائية النقيّة مجالاً ضيقاً للانصهار حوالي  $1^{\circ}\text{C}$  ( $2^{\circ}\text{C}$ - $1^{\circ}\text{C}$ )، أما المواد غير النقيّة فتأخذ مجالاً للانصهار أكبر من درجة مؤدية واحدة  $1^{\circ}\text{C}$  ( $1^{\circ}\text{C}$ - $2^{\circ}\text{C}$ )، ويعتبر قياس مجال الانصهار للعينة هاماً من أجل:

- 1- التعرف على ذاتية العينات المجهولة (بمقارنة مجال انصهارها بمجال انصهار عينات معروفة).
- 2- التحقق من نقاوة العينات (بمقارنة مجال انصهارها بمجال انصهار العينات النقيّة)، ويؤدي وجود الشوائب في العينة إلى تأثيره على مجال الانصهار بطريقتين:

1- انخفاض درجة بدء الانصهار، والسبب في حدوث ذلك هو تأثير الشوائب على الترتيب الصحيح للجزئيات ضمن البنية البلورية مؤدياً ذلك لحدوث تغير في شكل البلورة، وإضعاف قوى الروابط بين الجزيئات ضمن البلورة، لذا يسهل تحطيم البلورة المشوبة بشكل أكبر من البلورة النقية، ويبعد الانصهار عند درجات حرارة أدنى.

2- اتساع مجال الانصهار (إذا كان مجال الانصهار أكبر من  $5^{\circ}\text{C}$  فهذا يؤكد وجود شوائب في العينة)، ومن أسباب اتساع مجال الانصهار عدم تجانس البنية البلورية للمادة، فتشير جزيئات المادة الفعالة بشكل أسرع من انصهار الشوائب مؤدياً ذلك لاتساع مجال الانصهار، تؤثر الشوائب المنحلبة فقط في اتساع مجال انصهار المادة لأنها تتدخل في بنيتها البلورية أما الشوائب غير المنحلبة فليس لها تأثير يذكر على مجال الانصهار لأنها لا تتدخل في البنية البلورية للمادة. لا يمكن لوجود الشوائب أن يزيد درجة بدء الانصهار للعينة، ويؤدي وجودها دائماً لانخفاض درجة بدء الانصهار، فإذا كان مجال الانصهار لعينة مجهولة مقارب لمجالي انصهار عينتين نقيتين معلومتين، نستبعد أن تكون العينة المجهولة مطابقة لعينة النقية ذات مجال الانصهار الأدنى من مجال انصهارها [29,5].

### 1-3-1-1- تأثير عملية إعادة البلورة على درجة ومجال الانصهار

#### The effect or recrystallization on melting point and range

عند إجراء عمليات تنقية وإعادة بلورة لعينة دوائية مشوبة، يحدث ارتفاع في درجة بدء انصهارها وتضيق في مجال الانصهار، وإذا لم يحدث ذلك فإن هذا يدل على نقاء العينة من الأصل. يجب تجفيف العينات بشكل جيد من محل المستخدم في عمليات إعادة البلورة لأن بقاء أثر منه في العينة يؤدي لانخفاض بدء الانصهار واتساع مجاله. حيث أن مزج مادتين مختلفتين في درجات انصهارهما يؤدي إلى مزيج ذي درجة انصهار أقل من درجتي انصهار المادتين (مثلاً: إذا كانت درجة انصهار المادة النقية  $130^{\circ}\text{C}$ ، ودرجة انصهار الشائبة الملوثة للمادة الفعالة بحالتها النقية  $200^{\circ}\text{C}$ ، تكون درجة انصهار المادة الفعالة المشوبة الناتجة أقل من  $130^{\circ}\text{C}$ ) [29,5].

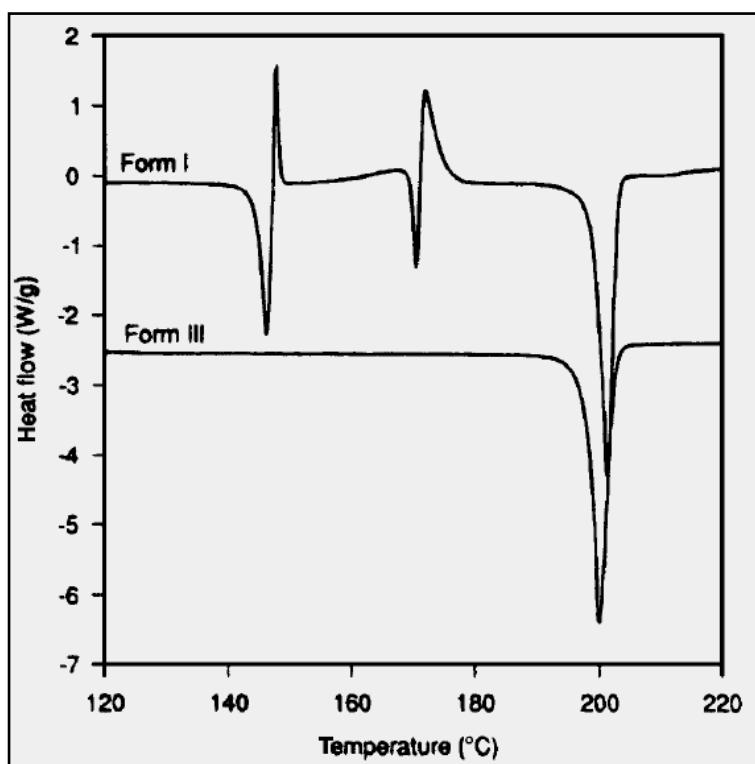
### 2-3-1-1- المعدل الزمني للتסخين لحدوث الانصهار The heating rate for melting

تأخذ البلورات فترةً من الزمن لاكتساب الطاقة الحرارية المقدمة لها للانصهار ولا تتصهر فجأة، وللحصول على دقة مقبولة في قياس مجال الانصهار، لابد من التسخين بمعدل درجة مئوية واحدة / دقيقة ( $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ). ويعتبر هذا المعدل الزمني للتسخين بطيء نسبياً وخصوصاً عند عدم معرفة درجة الانصهار الحقيقية للمادة، وعند التسخين السريع للعينة يصبح مجال الانصهار كبير نسبياً ويتسع في درجة نهاية الانصهار، فإذا كان مجال الانصهار لمادة نقية على سبيل المثال  $130^{\circ}\text{C}-131^{\circ}\text{C}$ ، فإن التسخين السريع لهذه المادة سيؤدي لبدء انصهارها عند الدرجة  $130^{\circ}\text{C}$ ، واتساع مجال انصهارها حتى  $136^{\circ}\text{C}$  أو أكثر. ويحدث ذلك لأن العينة ليس لديها الوقت الكافي لأخذ كل الطاقة الحرارية المقدمة لها في الدرجة  $130^{\circ}\text{C}$  وتحقيق الانصهار الكامل في الدرجة  $131^{\circ}\text{C}$ . يعتبر كل من اتساع مجال الانصهار لعينة وازدياد درجة نهاية الانصهار قيماً خاطئة في القياس. وفي حال كانت درجة انصهار المادة معلومة ويطلب التحقق من نقاوتها، يمكن إجراء التسخين السريع بمعدل

( $5-10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) لما قبل الوصول إلى درجة انصهار المادة بحوالي  $150^{\circ}\text{C}$ ، عندها يتم الرجوع للتسخين البطيء بمعدل ( $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) وذلك لضمان عدم حدوث التباس في الفياس [5,29].

يمكن تقليل مشاكل التسخين إذا طحنت العينة بشكل جيد قبل الفياس، أما إذا كانت المادة متكتلة على بعضها البعض، فإنها تحتجز فراغاتٍ هوائيةً ضمنها والتي بدورها تبطئ عملية نقل الحرارة للعينة مما يزيد مجال الانصهار. قد يحدث في بعض الأحيان حالات ارتخاء أو انكماش للبلورات قبل انصهارها، ولا تعتبر الدرجة التي تحدث فيها هذه التحولات في شكل البلورة درجة بداء الانصهار، وتسجل درجة بداء الانصهار فقط عند بدء ظهور الحالة السائلة [5,29].

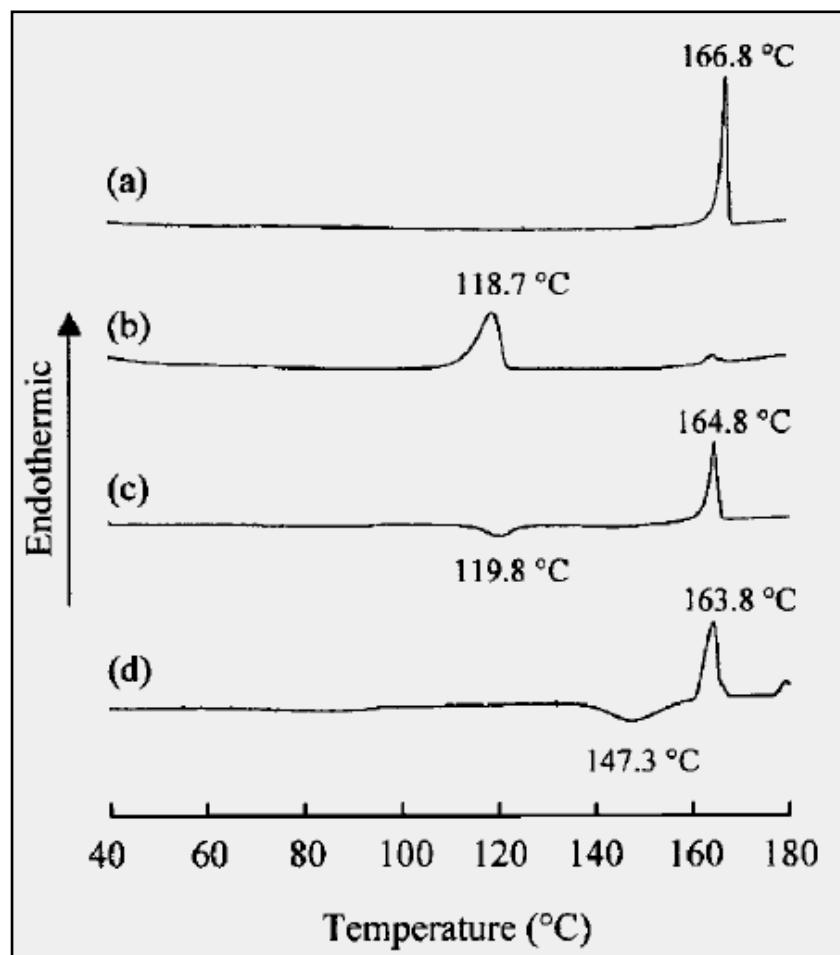
يمكن التعرف على الأشكال البلورية المختلفة لنفس المادة الفعالة بدراسة درجات الانصهار باستخدام جهاز القاضل الحراري، فتبدى الأشكال البلورية غير الثابتة metastable تغيراً في ترتيب جزيئاتها ضمن البلورات مؤدياً ذلك لاختلاف درجات انصهار البلورات المختلفة لنفس المادة الكيميائية. يظهر (الشكل 29) درجات انصهار الأشكال البلورية المختلفة III, I, لعينات premafloxacin، وتظهر مخططات DSC التحولات التي تطرأ على العينة أثناء تحولها للشكل البلوري الثابت، ويظهر (الشكل 29) سلسلة من التغييرات التي تطرأ على الشكل I أثناء تحوله للشكل II والشكل III فتظهر قمة انصهار تليها قمة تبلور تليها قمة انصهار للشكل III.



(الشكل 29): درجات انصهار الشكلين I, III لعينات premafloxacin [30]

تمت دراسة تأثير عمليات الطحن والتنعيم على تغيير الشكل البلوري لمادة chenodexychoic acid وتحولها من الشكلين البلوريين I, III لأشكال غير بلورية. تظهر مخططات DSC في (الشكل 30) اختلافاً واضحأً في درجات انصهارها. تظهر قمة بلورة للشكل غير البلوري الناتج عن طحن الشكل البلوري I عند درجة حرارة

$119.8^{\circ}\text{C}$  وينصهر عند الدرجة  $164.8^{\circ}\text{C}$  التي تتطابق مع درجة انصهار الشكل I، ويتبlocr الشكل غير البلوري الناتج عن الشكل البلوري III عند الدرجة  $147.3^{\circ}\text{C}$  مع درجة انصهار  $163.8^{\circ}\text{C}$  وهذه الدرجة تتوافق أيضاً مع درجة انصهار الشكل I مما يدل على أن الشكل البلوري I هو الشكل الأكثر ثباتاً<sup>[31]</sup>.



(الشكل 30): مخططات DSC للأشكال البلورية والأشكال غير البلورية الناتجة عن الطحن لعينات a: الشكل I البلوري، b: الشكل III البلوري، c: الشكل البلوري I بعد الطحن، d: الشكل البلوري III بعد الطحن<sup>[31]</sup>.

## 2- لمحة عن التقانات الحديثة المستخدمة في التحري عن الخواص الفيزيوكيميائية للمواد الدوائية.

### An overview on the advanced techniques used in the investigation of physicochemical properties of pharmaceutical ingredients.

يعتبر تطبيق الرقابة التحليلية أثناء الإنتاج PAT أمراً هاماً لضمان الحصول على منتج دوائي مطابق للمواصفات الدستورية. يتطلب تطبيق PAT استخدام التقانات الحديثة في الرقابة الدوائية مثل مطيافية تحت الحمراء القريبة، مطيافية تحت الحمراء الوسطى المزودة بتحويل فوريه لإنقاص الكلفة المبذولة على عمليات الرقابة، وزيادة السعة الإنتاجية. واستخدام هذه التقانات الحديثة يغني عن الطرق التقليدية في التحليل التي تستغرق وقتاً أطول وتستهلك كلفة أكبر بسبب استخدامها لكميات كبيرة من محلات [1,2].

#### 1-2-1- مطيافية الأشعة تحت الحمراء الوسطى المزودة بتحويل فوريه

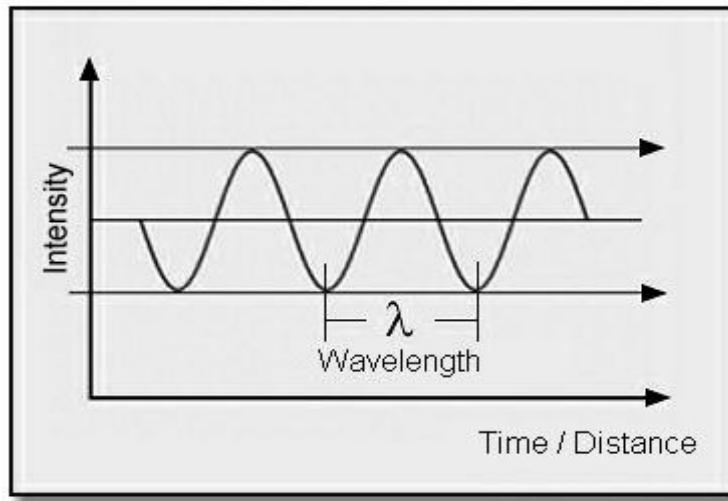
##### Fourier transformation- middle infrared spectroscopy

###### 1-1-2-1- لمحة تاريخية Historical development

تم اكتشاف مطيافية الأشعة تحت الحمراء من قبل العالم الفلكي Friedrich Herschel عام 1800 عندما قام بتحليل الطيف الناتج من ضوء الشمس من خلال توجيه ضوء الشمس عبر موشور زجاجي مكّنه من الحصول على عدة ألوان. قاس هرشل القدرة الحرارية لكل لون ولاحظ وجود أشعة غير مرئية لها قدرة حرارية أعلى من الكل، وهي ناتجة عن جزء الطيف الواقع تحت اللون الأحمر. وعندما وضع هرشل وعاءً من الماء بين الموشور والترمومتر لاحظ أن الحرارة المقاسة كانت أقل مما لو لم يكن الوعاء موجوداً، هذا يدل على وجود امتصاصية جزئية لهذا الشعاع، ومن هنا كانت بداية طيف الأشعة تحت الحمراء [32].

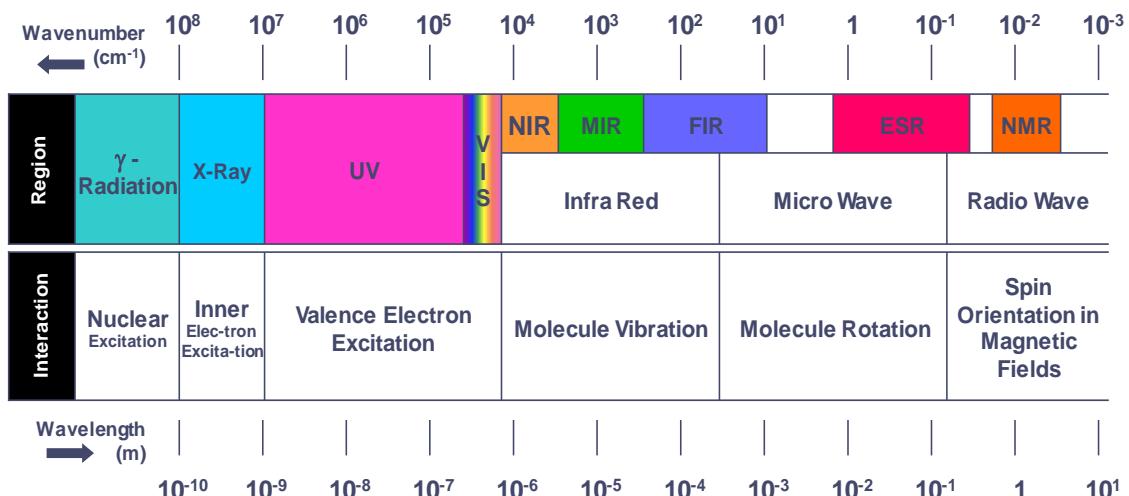
###### 1-2-1-2-1- طيف الإشعاع الإلكتروني-مغناطيسي Electromagnetic Radiation

يعتبر الضوء المرئي وطيف الأشعة تحت الحمراء نوعان من الإشعاع الإلكتروني-مغناطيسي لكن مع اختلافات في الأطوال الموجية والتواترات. يُعرف طول الموجة ( $\lambda$ ) على أنه المسافة بين قمتين موجيتين متتاليتين وتحدد بالنانومتر (الشكل 31)، يُعبر عن طيف الأشعة تحت الحمراء بالعدد الموجي بدلاً من طول الموجة لتحديد مجال الإشعاع الإلكتروني-مغناطيسي ويحدد بـ ( $\text{cm}^{-1}$ ) ويُعطى بالعلاقة ( $v=10^7/\lambda$ )، ويُعرف التواتر ( $\nu$ ) على أنه عدد الأطوال الموجية بكل وحدة زمنية، ويتعلق التواتر بطول الموجة بالعلاقة التالية:  $\nu=C/\lambda$  [32]



(الشكل 31): طول الموجة للإشعاع الإلكتروني-مغناطيسي

حيث أن (C) هي سرعة الضوء التي تنتقل بها الموجات الإلكترونومغناطيسية وتساوي  $2.998 \times 10^8 \text{ m.s}^{-1}$ . وتعبر العلاقة السابقة بقانون بلانك للإشعاع Planck's Radiation Law. يوضح (الشكل 32) مجالات الأطوال الموجية الخاصة بكل جزء من طيف الإشعاع الإلكتروني-مغناطيسي. تقع منطقة الأشعة تحت الحمراء المتوسطة في المجال  $(400-4000) \text{ cm}^{-1}$ ، وتقع منطقة الأشعة تحت الحمراء الفريبية في المجال  $(12500-4000) \text{ cm}^{-1}$ .



(الشكل 32): مجالات الأطوال الموجية الخاصة بكل جزء من طيف الإشعاع الإلكتروني-مغناطيسي.

### 3-1-2-3- التفاعل بين المادة والإشعاع الإلكترومغناطيسي

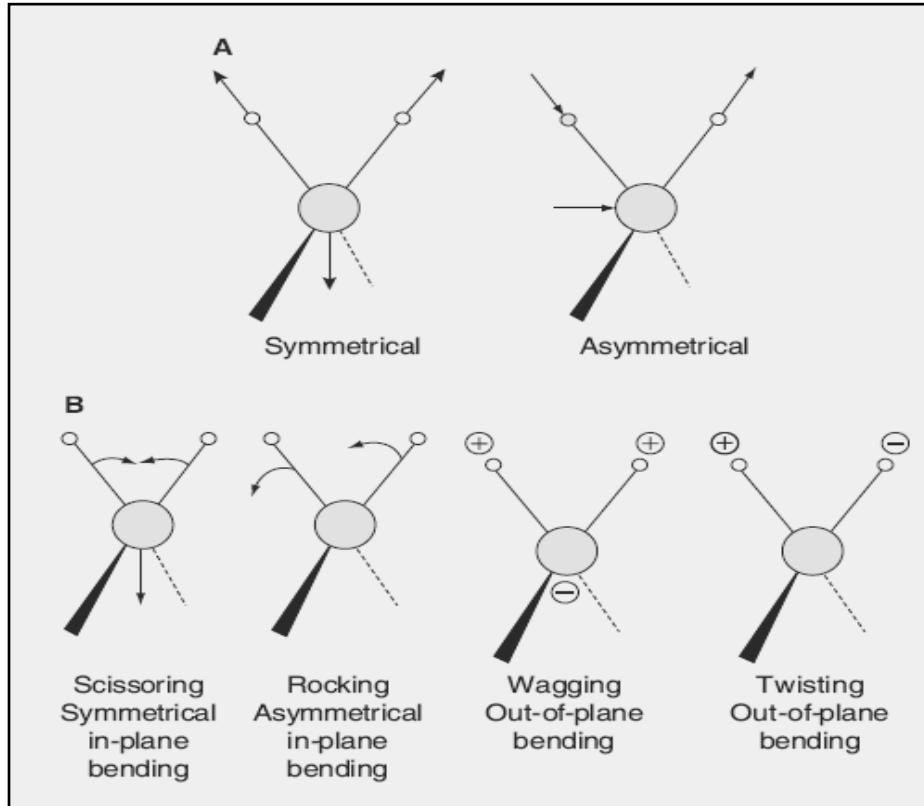
إذا تعرضت المادة للإشعاع الإلكترومغناطيسي، فيمكن أن يحدث للإشعاع إحدى الظواهر التالية:

- 1- الامتصاص absorption، 2- الانعكاس Reflection، 3- العبور Transmission، 4- التشتت Scattering.
- 5- ظهور اللمعان نتيجةً لامتصاص العينة المسبق للإشعاع photoluminescence.<sup>[33]</sup>

### 4-1-2-1 نظرية الاهتزاز vibration theory

ينتج عن خضوع جزيئات المادة للإشعاع الإلكترومغناطيسي في منطقة الأشعة تحت الحمراء اهتزاز روابط الجزيئات، ودورانها molecular vibration and rotation، ويعبر عن كل نوع من الاهتزازات بقمة خاصة تظهر في منطقة الأشعة تحت الحمراء، وتقسم اهتزازات روابط الجزيئات لستة أنواع من الاهتزازات:

- 1- اهتزاز متناظر Symmetric، 2- اهتزاز غير متناظر Asymmetric، 3- اهتزاز موجي Wagging، 4- اهتزاز تأرجحي Twisting، 5- اهتزاز دوراني Rocking، 6- اهتزاز بشكل مقص Scissoring، ويظهر (الشكل 33) أنماط اهتزاز الروابط<sup>[33]</sup>.



(الشكل 33): أنماط اهتزاز الروابط في طيف الأشعة تحت الحمراء.

وهكذا فإن الجزيئات المختلفة بكل لها وقوى روابطها توافق ترددات اهتزاز مختلفة، وبالتالي حزم امتصاص مختلفة ومميزة لكل جزيء وموزعة على سلم الطيف تحت الأحمر، وقد تُظهر المجموعة الوظيفية الواحدة عدة أشكال من الاهتزازات فتُظهر لها حزم امتصاص في مناطق متمايزة على سلم الطيف متناسبة في موقعها مع كمية الطاقة الممتصة، وتُظهر اهتزازات روابط الجزيئات بشكلين من الاهتزازات:

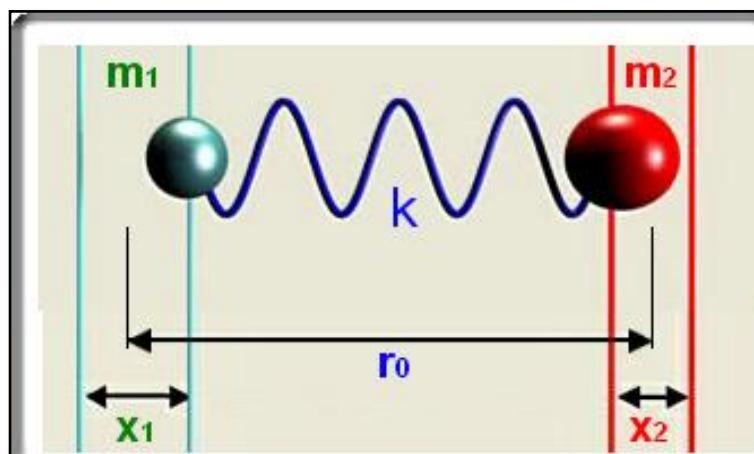
- 1- اهتزاز الامتطاط stretching vibration ويحدث هذا الاهتزاز بفعل الطاقة المطبقة وتعود الرابطة لوضعها الطبيعي عند زوال المؤثر محدثة هزةً بتواتر محدد
- 2- اهتزاز الشوه deformation vibration وتهتز في هذه الحالة الذرات بشكل عمودي على محور الرابطة مسبباً ذلك تغيراً في زاوية الترابط، وتحتاج اهتزازات الامتطاط عموماً لطاقة أكبر لذا تظهر في سلم الطيف عند الترددات الأكبر وتأتي بعدها اهتزازات الشوه [33].

#### 5-1-2-1. التذبذبات في منطقة الأشعة تحت الحمراء

يظهر الاهتزاز في منطقة الأشعة تحت الحمراء بنمطين من التذبذبات: التذبذب المتناسق harmonic oscillator، والتذبذب غير المتناسق anharmonic oscillator.

##### 1- التذبذب المتناسق

ويظهر في جزيئة مكونة من كتاني ذرتين معروفتين ومحددين  $m_1, m_2$ ، يربط الذرتين نابض spring في حالة التوازن ثابتًا وتكون المسافة بين الذرتين عندها ( $r_0$ )، أما في حال امتطاط الجزيئة يتحرك النابض حول نقطة التوازن، وتتغير المسافة بين الذرتين بمقدار ( $\Delta r = X_1 + X_2$ )، تنتج عندئذ قوة مرجعة ( $F$ ) restoring force تعمل على إعادة وضع التوازن، واعتماداً على قانون هوكي من أجل الانحرافات الصغيرة فإن القوة المرجعة ت العمل طرداً مع الانحراف  $\Delta r$ ، وتعطى بالعلاقة: ( $F = -K \cdot \Delta r$ )، وباعتبار أن القوة المرجعة تعمل باتجاه معاكس للانحراف فإن ثابت التناوب أو ثابت القوة يكون دائماً سالباً بالإشارة، ويعرف ثابت القوة ثابت النابض ( $k$ ) spring constant، ويعتبر ثابت القوة ضمن الجزيئة مقياساً لقوة الرابطة بين الذرات، ويظهر (الشكل 34) الاهتزاز الامتطاطي لجزيء مكونة من ذرتين مختلفتين.



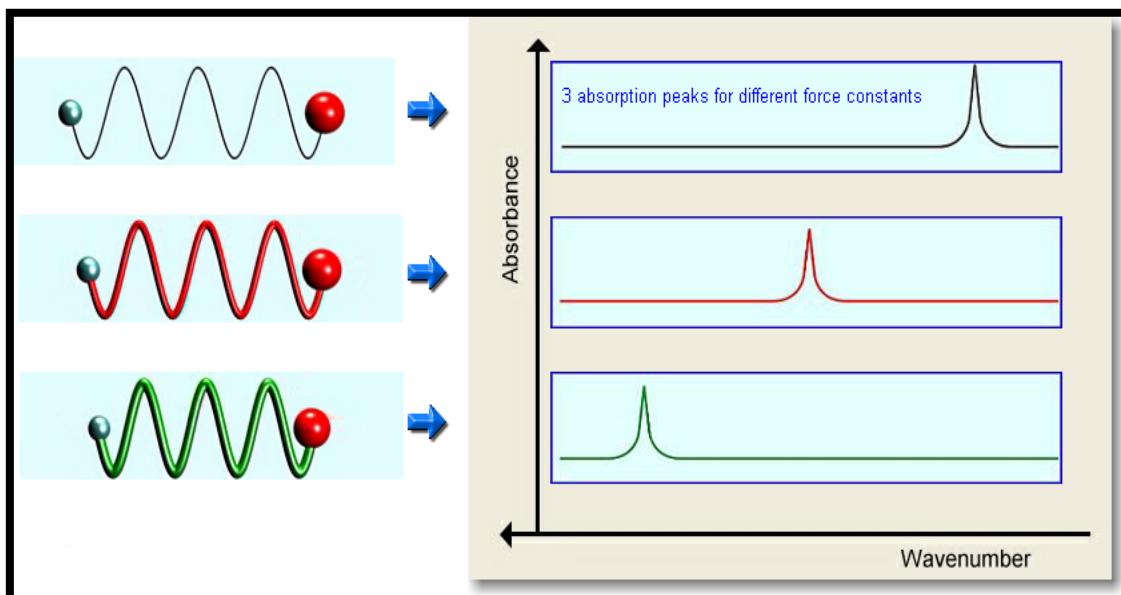
(الشكل 34): الاهتزاز الامتطاطي لجزيء مكونة من ذرتين مختلفتين.

يمكن حساب تواتر اهتزاز الرابطة في حالة التذبذب المتناسق لجزيء مكونة من ذرتين مختلفتين بالعلاقة:

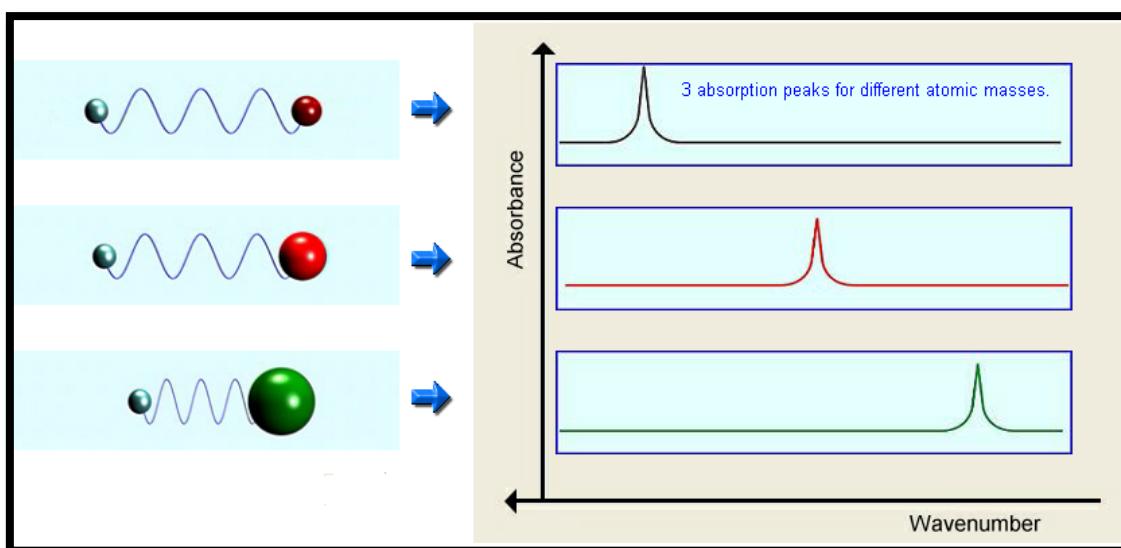
$$\theta = \frac{1}{2\pi} \sqrt{k/\mu}$$

حيث أن  $\mu$  هي الكتلة المتقابلة وتعطى بالعلاقة  $(\mu = m_1 \cdot m_2 / (m_1 + m_2))$ ،  $k$ : ثابت قوة الرابطة والذي يزداد من الرابطة الأحادية فالثنائية فالثلاثية،  $h$ : ثابت بلانك ويساوي  $6.626 \times 10^{-34} \text{ J.S}$ ،  $m_1, m_2$ : تعبير عن كتلتين الذرتين المشكالتين للرابطة.

وبناءً على المعادلة السابقة فإن زيادة ثابت قوة الرابطة يؤدي لتواتر اهتزاز أكبر، وظهور قمة الامتصاص عند طول موجة أصغر، وعند عدد موجي أكبر كما يظهر (الشكل 35) وكذلك الأمر فإن زيادة كتلتين الذرتين المشكالتين للرابطة يؤدي لتواتر اهتزاز أصغر، وظهور قمة الامتصاص عند طول موجة أكبر، وعدد موجي أصغر كما يظهر (الشكل 36).<sup>[33]</sup>



(الشكل 35): تأثير قوة الرابطة على مكان ظهور قمة الامتصاص لطيف الأشعة تحت الحمراء



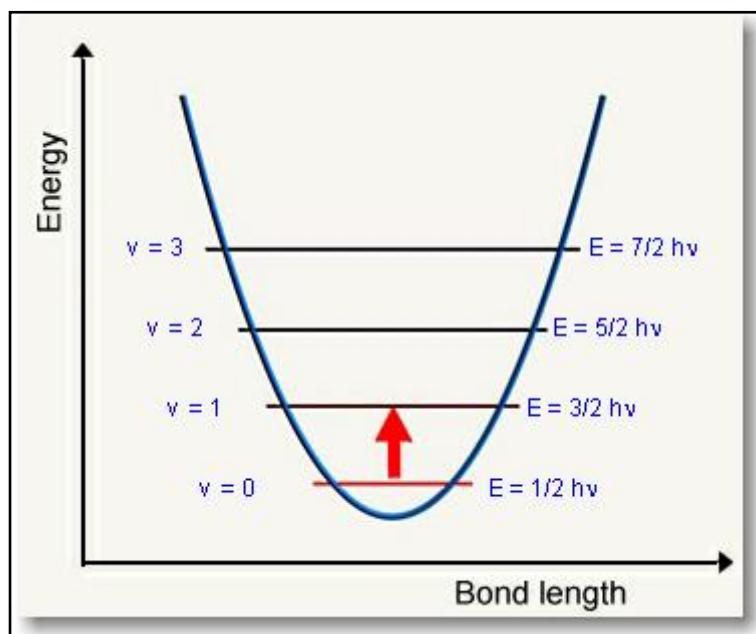
(الشكل 36): تأثير كتلتين الذرتين المشكالتين للرابطة على مكان ظهور قمة الامتصاص لطيف الأشعة تحت الحمراء.

يكون مخطط الطاقة بالنسبة لطول الرابطة متبايناً في نموذج التذبذب المتناسق، وحسب مبادئ النظرية الكوانطية يمكن أن تحدث الاهتزازات الجزيئية عند مستويات طاقة رئيسية متساوية المسافة عن بعضها البعض، وتعطى طاقة الاهتزاز عند مستويات الطاقة الرئيسية بالعلاقة:

$$E_v = (v+1/2)h\nu$$

حيث أن  $h$ : يعبر عن ثابت بلانك،  $v$ : العدد الكمومي الرئيسي الذي يأخذ الأرقام (0, 1, 2, 3, ..., 9)،  $\nu$ : تواتر الاهتزاز [32,33].

وفي حال ( $v=0$ ) تهتز الجزيئة بطاقة ( $E_0 = 1/2h\nu$ ) ويعرف بمستوى الاهتزاز الصفرى ground vibration level، وعندما يحدث الامتصاص فإن الجزيئة تكتسب مقداراً محدداً من طاقة الإشعاع الالكترومغناطيسي ( $E=h\nu$ )، وتنتقل لمستوى اهتزاز أعلى ( $\Delta v=+1$ )، وإذا تحركت الجزيئة لمستوى اهتزاز أدنى ( $\Delta v=-1$ ) يتم إصدار كمية من الطاقة على شكل إشعاع ويسمى ذلك بالإصدار emission، ويحدد الانتقال المسموح به في نموذج التذبذب المتناسق ضمن المجال ( $\Delta v=\pm 1$ ) فقط للأعلى وللأسفل، وهذا يشمل حالات الاهتزاز الأساسية fundamental vibrations التي تلاحظ في مطيافية الأشعة تحت الحمراء الوسطى، ويحدد (الشكل 37) نموذج التذبذب المتناسق لجزيئية ثنائية الذرة [32,33].



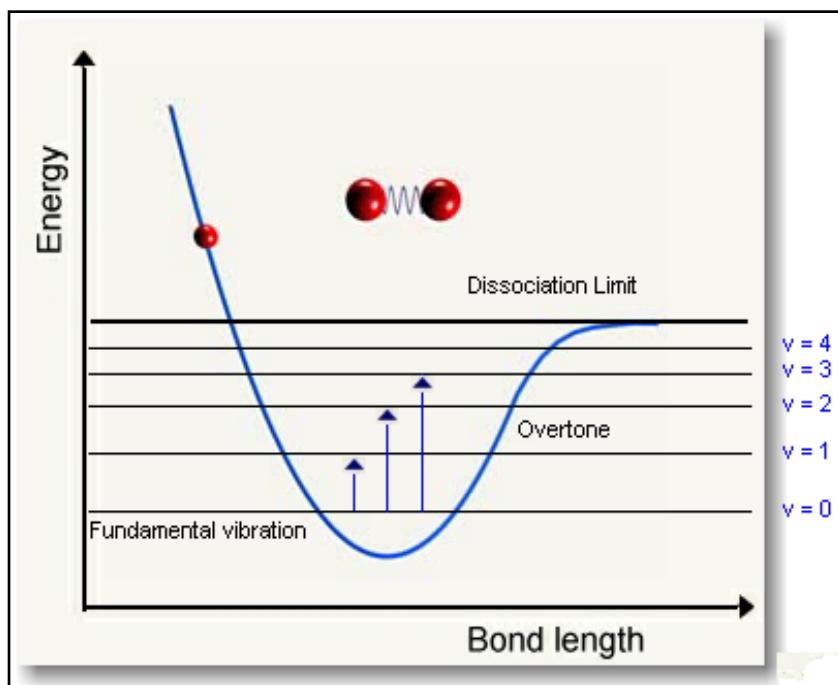
(الشكل 37): ظاهرة الامتصاص وانتقال الجزيئة لمستوى اهتزاز أعلى في التذبذب المتناسق

## 2-التبذبب غير المتناسق Anharmonic oscillator

تحسب الطاقة في نموذج التبذبب غير المتناسق من خلال معادلة Morse، ولا تظهر مخططات الطاقة بالنسبة لطول الرابطة شكلاً متاظراً، ولا تكون مستويات الطاقة على مسافات متساوية من بعضها البعض، وتعطى بالعلاقة:

$$E_v = (v+1/2)h\nu - (v+1/2)^2 X h\nu$$

حيث أن  $X$ : ثابت عدم التناسق anharmonicity constant يوضح نموذج التبذبب غير المتناسق موضوع التناهار بين الذرات repulsion الذي يزداد بسرعة عندما تقترب الذرتان من بعضهما البعض، فإذا وطلت طاقة اهتزازية كافية للجزيئة فإن الرابطة الجزيئية التي تربط الذرات مع بعضها البعض ستقطع dissociate وتدعى هذه الطاقة بالطاقة المقطعة dissociation energy. لا يتبع الانتقال الاهتزازي في نموذج التبذبب غير المتناسق ( $\Delta v = \pm 1, \pm 2, \dots$ ) وإنما يأخذ القيم ( $\Delta v = \pm 1, \pm 2, \dots$ ) وهذا يشمل حالات الاهتزاز فوق المستوى الأساسي overtones التي تلاحظ في مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة، ويوضح (الشكل 38) مخطط الطاقة بالنسبة لطول الرابطة في التبذبب غير المتناسق.



(الشكل 38): مخطط الطاقة بالنسبة لطول الرابطة في التبذبب غير المتناسق

ويعطي نموذج التبذبب غير المتناسق نموذجاً أكثر دقة للجزيئة لأنه يشمل حالات الاهتزاز الأساسية fundamental vibration ( $v=0 \rightarrow 1$ )، وعصابات الامتصاص الناتجة عن ( $v=1 \rightarrow 2, 2 \rightarrow 3, \dots$ ) ، وحالات الاهتزاز فوق المستوى الأساسي ( $\Delta v = \pm 1, \pm 2, \pm 3, \dots$ )، كما أنه يأخذ موضوع تنافر الذرات عن بعضها البعض بعين الاعتبار [33].

يتم امتصاص الأشعة تحت الحمراء من قبل الجزيئة إذا تغير عزم ثنائي القطب المغناطيسي اللحظي dipole moment لمجموعة محددة من الذرات خلال الاهتزاز، وكلما كان التغير أكبر كانت عصابة الامتصاص الناتجة أكبر، لا تترافق الاهتزازات بتغير في عزم ثنائي القطب المغناطيسي اللحظي في الجزيئات الثنائية متماثلة الذرات، لذا لا تعتبر هذه الجزيئات جزيئات فعالة في مطيافية الأشعة تحت الحمراء IR inactive على ذلك جزيئات الأكسجين والميدروجين ( $H_2O_2$ ) والتي لا تملك أي طيف في مجال الأشعة تحت الحمراء [33].

يحدث تشتت رaman إذا تغيرت قطبية الرابطة polarization خلال الاهتزاز، وتصبح في هذه الحالة الجزيئات الثنائية متماثلة الذرات فعالة في مطيافية رaman لذا لا يمكن الاستغناء في هذه الحالة عن مطيافية رaman [33]. تحدث عادةً الاهتزازات الأساسية fundamental vibrations في مطيافية الأشعة تحت الحمراء الوسطى، وتحدث الاهتزازات فوق المستوى الأساسي والاهتزازات المشتركة في مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة، وتحدث الاهتزازات الدورانية من نمط backbone vibrations والاهتزازات الأساسية للجزيئات التي تحوي ذرات ثقيلة في مطيافية الأشعة تحت الحمراء البعيدة [33,34].

#### **6-1-2-1- أجهزة قياس طيف الأشعة تحت الحمراء الوسطى Middle infrared spectrometer**

تعتمد هذه الأجهزة على مرور الأشعة تحت الحمراء عبر العينة فيتتص جزءاً منها ويعبر الجزء الآخر مسجلاً طيفاً يشبه بصمة الإصبع للمادة، لذا يستخدم طيف الأشعة تحت الحمراء في التعرف على ذاتية المركبات المجهولة، يظهر طيف الأشعة تحت الحمراء قمم امتصاص تتوافق مع توافر اهتزاز الروابط بين الذرات المشكّلة للجزيئات، وباعتبار أن كل جزيء يحوي مجموعة من الذرات تختلف عن الجزيء الآخر لذا فإنه من غير الممكن أن يكون طيف الأشعة تحت الحمراء لمادتين مختلفتين متطابقاً، وطالما أن طيف تحت الحمراء لجزيئ ما يعتبر ثابتاً فإن مطابقة أطياف المركبات المجهولة مع مركبات معلومة يعتبر أفضل وسيلة للتعرف على المركبات، وقبل إجراء قياس لطيف مادة ما يجب إجراء مسح طيفي للجهاز بدون عينة للحصول على background spectrum الذي يتم مقارنته مع طيف العينة لإلغاء تأثير الظروف المحيطة على طيف العينة المقاس [34].

#### **مصدر الإشعاع:**

هناك مصادران للإشعاع في مجال تحت الأحمر، الأول سلك نيرنست المتوج Nernest glower وهو عبارة عن أكسيد العناصر الفلوية الترابية المسخنة كهربائياً، والثاني هو سلك غلوبار Globar [34].

#### **خلايا القياس:**

يعتمد القياس على الحالة الفيزيائية للمادة، ففي حال استخدام المادة الصلبة يتم مزجها مع بروميد البوتاسيوم بنسبة 2-1% من المادة الصلبة، ويضغط المزيج بقوة 40 طن لكلإنش مربع، فيتم الحصول على قرص شفاف تقاس امتصاصيته بالأشعة تحت الحمراء، أما في حال المواد العضوية السائلة فتستخدم عادةً خلايا من كلوريد الصوديوم لشفافيتها لطيف تحت الأحمر، ويمكن حل المادة الصلبة أو تعليقها باستخدام محللات العضوية مثل زيت البارافين (Nujol) والكلوروفورم ورابع كلور الكربون، ولا يجوز أبداً استخدام محللات القطبية التي

تملك مجموعة OH- لامتلاكها قمة امتصاص شديدة في مجال تحت الأحمر. ويمكن كذلك قياس العينات الغازية وذلك باستخدام خلايا اسطوانية الشكل من الزجاج وطولها بحدود cm(5-10)، وتكون الخلية مغلقة، ويدخل الغاز من خلال صمامات وذلك بتطبيق ضغطاً جزئياً بحدود 50 مل م زئبقي [33,34].

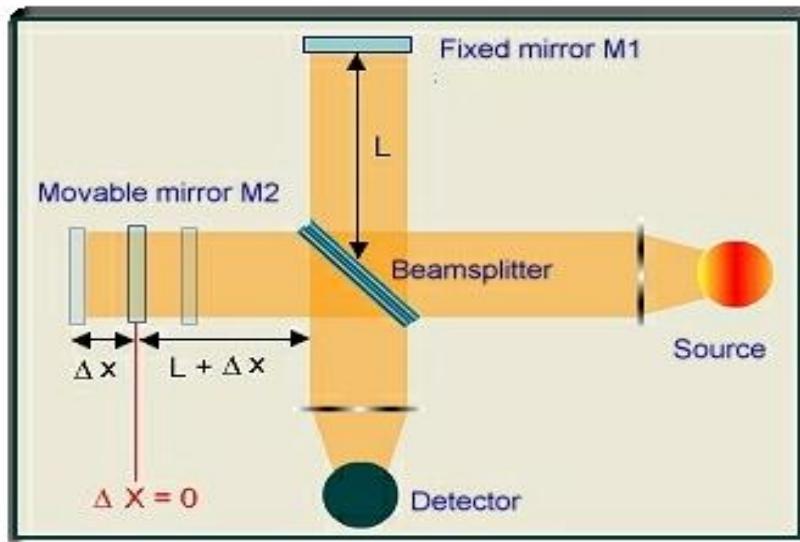
### **الكاشف:**

تعتمد الكاشف في المجال تحت الأحمر على دراسة تأثيرين الأول هو قياس تأثيرات درجات الحرارة ويستخدم في هذه الحالة المزدوجة الحرارية Thermocouple، أو كاشف L-alanine-doped DLATGS (L-alanine-doped deuterated triglycine sulfate) الذي يعتمد على قياس تغيرات التأثيرات الكهربائية الحرارية. والتأثير الثاني هو قياس الناقلة الضوئية ويستخدم عادةً النواقل الضوئية photo-conductors، يتضمن الجهاز أيضاً أداة تقوم بتضخيم الإشارة ومن ثم يتصل بمسجل يقوم برسم الطيف.

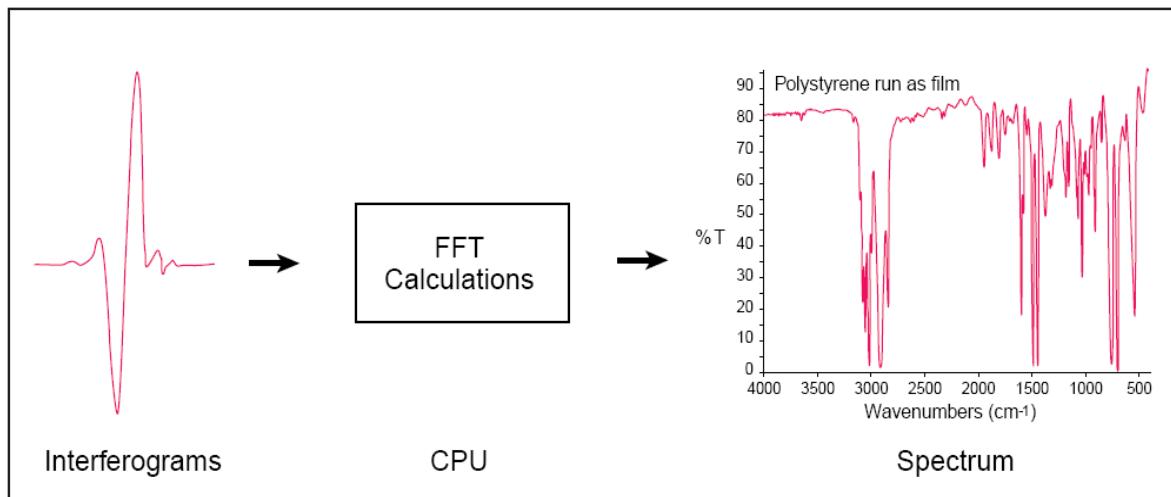
تعتمد أجهزة الأشعة تحت الحمراء الكلاسيكية على استخدام مبد الضوء grating الذي يفصل توافرات الأشعة تحت الحمراء القادمة من المصدر ويشبه في ذلك المنشور في الأشعة المرئية، وبقياس الكاشف كمية الطاقة عند كل توافر للأشعة تحت الحمراء، ويرسم الطيف المعبر عن الشدة مقابل التواتر [34]

طورت أجهزة الأشعة تحت الحمراء بتحويل فوري للتلعّب على الصعوبات التي تواجه الأجهزة الكلاسيكية التي تعتمد على تبعثر الضوء dispersive instruments، ومن أهم هذه الصعوبات البطل في مسح الطيف. وأصبح من الضروري قياس طيف الأشعة تحت الحمراء عند كل التواترات بنفس اللحظة وتم تحقيق ذلك بإضافة أداة بصرية تعتقد على التداخل الضوئي interferometer والذي يعطي نوعين من الإشارات يضمها توافرات الأشعة تحت الحمراء، ويمكن قياس هذه الإشارات بسرعة لتجاوز ثانية واحدة، ويتضمن جهاز التداخل الضوئي مجزأ للحزمة الضوئية beamsplitter والذي يأخذ الأشعة تحت الحمراء ويفقسها لحزمتين من الأشعة الضوئية، تتعكس إحدى هذه الحزمتين على مرآة مستوية مثبتة في مكان محدد وتعود لتصطدم بمجزأ الحزمة الضوئية بعد أن قطعت مسافة قدر بـ  $2L$ ، وتعكس الحزمة الأخرى على مرآة مستوية متحركة تتحرك ضمن مسافة محددة  $\Delta X$  وتعود هذه الحزمة أيضاً لتصطدم بمجزأ الحزمة الضوئية بعد أن قطعت المسافة  $\Delta X+2L$ ، تتعكس الحزمتين على المرأتين وتتحدان مرة أخرى عند مجزأ الحزمة الضوئية، وتظهر إشارة نتيجة لاتحاد الحزمتين الضوئيتين، وتدعى إشارة التداخل الضوئي interferogram والتي تتضمن معلومات عن توافرات الأشعة تحت الحمراء القادمة من المصدر، عندما تبتعد المرأتان مسافة واحدة من مجزأ الحزمة، يُقال بأن الحزمتين تداخلتا بشكل بناء، أما عندما تتحرك المرأة المتحركة بمقابل ربع موجة  $\lambda/4$ ، يقال عندئذٍ أن الحزمتين تداخلتا بشكل هدام. وعند استخدام ضوء وحيد طول الموجة، يسجل الكاشف حزمة تتغير شدتها كجيب الموجة أثناء تحرك المرأة، وعند استخدام ضوء متعدد الأطوال الموجية، يسجل الكاشف مجموع كل جيوب الأمواج. عندما تكون المرأتان على بعد نفسه من مجزأ الحزمة فإن جميع جيوب الأمواج تتدخل بشكل بناء، ونحصل على قمة مركزية شديدة تسجل بواسطة إشارات التداخل الضوئي interferograms، ويتم قياس كل توافرات الأشعة تحت الحمراء بنفس اللحظة الزمنية مما يؤدي لسرعة في القياس، ولا يمكن تفسير إشارات التداخل الضوئي interferograms بشكل مباشر، ويلجأ لوحدة

معالجة حاسوبية تقيس كل تواتر على حدٍ استناداً على معلومات إشارات التداخل الضوئي، ويوضح (الشكل 39) التداخل الضوئي في أجهزة قياس FT-IR، ويوضح (الشكل 40) تحويل إشارات التداخل الضوئي لطيف الأشعة تحت الحمراء [36,35].



(الشكل 39): التداخل الضوئي في أجهزة قياس FT-IR



(الشكل 40): تحويل إشارات التداخل الضوئي لطيف الأشعة تحت الحمراء.

#### مميزات مطافية تحت الحمراء بتحويل فوريه عن الأجهزة الكلاسيكية [35]:

- الحساسية العالية للقياس لأن جميع الترددات تسجل بأن واحد مما يعطي مقداراً أفضل بكثير لنسبة الإشارة إلى الضجيج S/N مما يضفي حساسية أفضل للجهاز.
- إمكانية استخدام حجم عينة صغير لإجراء القياس.
- دقة مرتفعة في تحديد العدد الموجي.

- دقة مرتفعة لتطابق الأطيف فوق بعضها.
  - سرعة مرتفعة للقياس بمعدل عشر مرات في الثانية.
  - مستوى أقل لتشتت الضوء وهو عملياً أقل من 0.02% فتحصل على دقة أكبر في القياسات الكمية.
- من المفروض أن تسمح مطيافية الأشعة تحت الأحمر بإجراء التحديد الكمي وذلك بقياس الامتصاص وفقاً لقانون بير-لامبرت كما هو الحال في المجالين فوق البنفسجي والمرئي ( $A = EIC$ ) بعد معرفة الثوابت الموافقة كسماكمة طبقة النفوذ، ومعامل الامتصاص الجزيئي، إلا أنه قليل الاستخدام مقارنة بالتحليل النوعي الهام جداً وذلك بسبب الدقة المنخفضة لعدم إمكانية تحديد طبقة النفوذ في القرص المشكل للتراكيز العيارية، ولعدم إمكانية تشكيل عينة متجانسة السماكة [37].

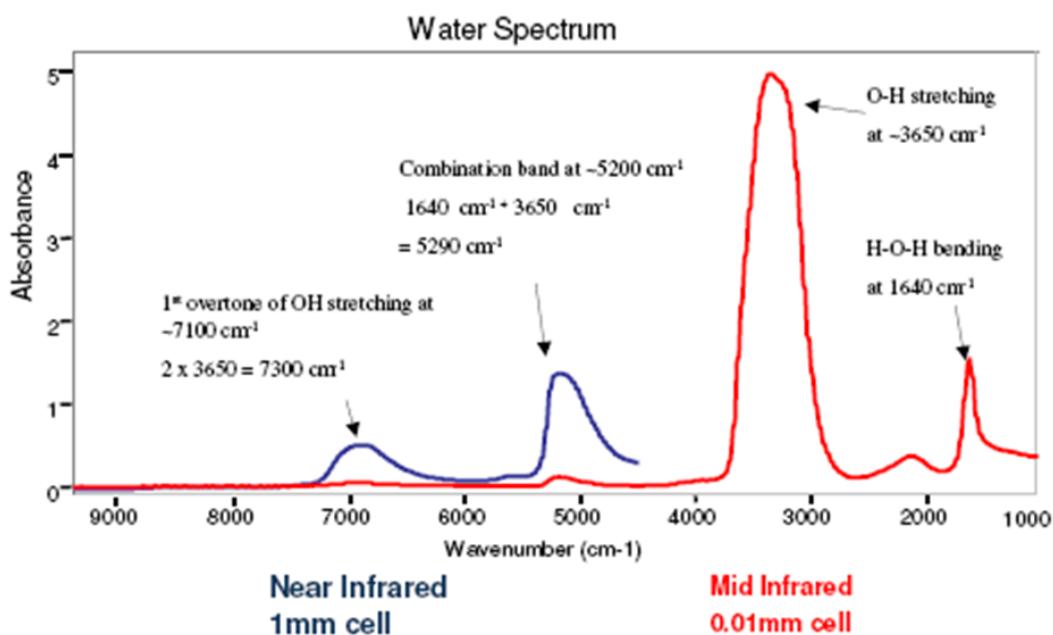
## 2-2-1- مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة (NIR)

تقع منطقة الأشعة تحت الحمراء القريبة في الطيف الإلكتروني-مغناطيسي ما بين 800nm إلى 2500nm، أو  $4000-12500\text{cm}^{-1}$  ويعرف الجزء ما بين 1100nm إلى 2500nm على أنه منطقة Herschel وهو الجزء الذي يستخدم عادةً لتحليل المركبات الصيدلانية [38].

### 1-2-2-1- لمحة عن طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة An overview of NIR spectra

تحوي مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة عصابات امتصاص مشتركة combination bands وعصابات امتصاص فوق المستوى الأساسي overtones، وتعود هذه العصابات بشكل أساسي إلى اهتزازات ذرات الهيدروجين (NH, OH, CH). تكون شدة هذه العصابات أضعف من شدة عصابات الاهتزاز الأساسية fundamental vibrations الموجودة في مطيافية الأشعة تحت الحمراء الوسطى، ولهذا فإن شدة الامتصاصية في مطيافية تحت الحمراء القريبة أصغر منها في مطيافية تحت الحمراء الوسطى (الشكل 41)، وتمكن هذه الامتصاصية الصغيرة الم محل من استخدام العينات دون الحاجة إلى تمديدها، بالإضافة لاختراق عينات صلبة ذات سماكة كبيرة نسبياً مثل المضغوطات مع نتائج جيدة، وهذا ما يزود الم محل بكل ضخم من المعلومات الطيفية عن العينة [38].

تُصمم الأجهزة المستخدمة في مطيافية تحت الحمراء القريبة اعتماداً على تقنية العبور transmission أو الانعكاس reflection (الشكل 42)، مع إمكانية التنقل بين هاتين التقنيتين. يعود الاختلاف الشكلي بين هذين الجهازين إلى مكان توضع العينة والكافش، تكون العينة بتقنية العبور متوضعة بين موحد الحزمة والكافش لذا يتم تجميع كل الإشعاع الذي يعبر العينة خلال القياس، وتنطلب تقنية العبور طاقة ذات تواتر أكبر وطول موجة ضمن المجال (1400-800nm)، وذلك لأن مسافة الاختراق تكون أكبر ضمن العينة. أما في تقنية الانعكاس فإن الضوء موحد الحزمة يشعّ مباشرةً على العينة ويتم تجميع الضوء المنعكس بكواشف تقع على زوايا  $45^0$  من العينة [38].



(الشكل 41): الطيف المعاير عن جزيئه الماء باستخدام تقنيتي NIR, MIR.

#### الحصول على المعلومات الطيفية : obtaining sample spectra

إن عملية مسح العينة الطيفي عبر جهاز NIR تعتبر عملية بسيطة جداً وسريعة للغاية. تنظف حوامل العينات وسطحها بشكل جيد ثم توضع العينة ضمن حامل العينة المناسب والذي يمكن أن يحمل شكل واحد أو عدة أشكال للعينة ثم يتم المسح الطيفي الذي يستغرق حوالي 40 ثانية، ويمكن إعادة قياس الطيف لها ثانية [38].

#### المعايير :calibration

يتم إجراء المعايرة لتحديد العلاقة بين الأطيف المأخوذة للمعايرة وبين القيم المحددة لصفة معينة ضمن تلك العينات، وتتضمن المعايرة أخذ أطيف لعدة عينات تختلف فيما بينها ضمن مجال تحدده الأجهزة وتقيسه وفقاً لعوامل محددة، وتتطلب المعالجة الرياضية القروية سحب طيف مئات إلىآلاف العينات وبكل الحالات الممكنة (ضمن أوضاع الحدود المسموحة)، ويتم تطبيق معالجة رياضية على هذه الأطيف المأخوذة pretreatment (مثلاً المشتق الثاني )، وذلك لتهيئة تلك المعلومات الطيفية لاستخدامها في حساب منحنى المعايرة واستنتاج المعادلة المستخدمة في التعبير عن هذا المنحنى، وباعتبار أن طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة هو مزيج من عصابات الامتصاص المشتركة وعصابات الامتصاص فوق المستوى الأساسي لذا ليس بالضرورة أن تكون شدة الامتصاص عند طول موجة محددة متاسبة خطياً مع التركيز ، وتكون عصابات الطيف المؤلفة من مزيج من عصابات الامتصاص مشوشة لأي علاقة خطية بين الشدة والتركيز ، ولهذا السبب فإن التطبيق البسيط لقانون بيبير-لامبرت لا يعطي معادلة مناسبة يمكن استخدامها في التحديد الكمي، لذا يتم تطبيق طرق رياضية وإحصائية على القياسات الكيميائية المأخوذة للعينات ويعبر عن هذا التطبيق بمصطلح chemometrics وهو

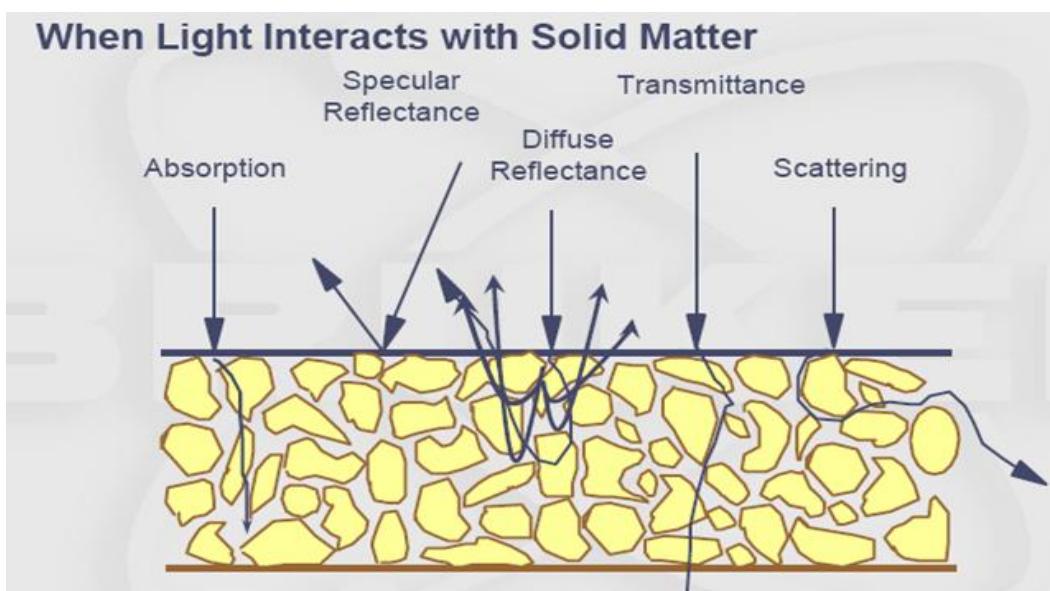
علم كيميائي إحصائي أخذ بالانتشار في الآونة الأخيرة وكان له دورٌ كبير في تفسير المعطيات التحليلية وتطور مطيافية الأشعة تحت الحمراء الفريبية [38].

ومن الطرق المتتبعة في المعايرة متعددة المتغيرات multivariate calibration: الانحدار الخطى المتعدد Principal Component Analysis، تحليل العنصر الأساسي Multiple Linear Regression (MLR) (PCA)، انحدار المربيع الأصغرى الجزئي Partial Least-Squares Regression (PLS)، ومن تقنيات المعالجة الرياضية الحديثة في مطيافية (NIR) [38] (BEAST) Boot strap Error Adjusted Single sample Technique.

تستخدم طرق التحديد النوعي في مطيافية (NIR) تقنيات الإثبات أو الاستدلال التي تمكّن الحاسوب من التعرّف على العينات المجهولة [39].

#### التحقق من صلاحية الطريقة validation:

بعض النظر عن الطرق الرياضية المستخدمة لتفسير طيف الـ NIR فلابد من التحقق من صلاحيتها وكفائتها، يزدود مصنعوا أجهزة NIR هذه الأجهزة ببرنامج حاسوبي يسمح بتوقع نتائج التحليل اعتماداً على المعلومات المخزنة وهذا يسمح بالتحقق من صحة المعايرة، إذا كانت الطريقة المرجعية تعطي قيمة خاطئة فإن ذلك سينعكس على النتائج المتوقعة، لذا لابد من التحقق من التكرارية repeatability من خلال تطبيق قياسات متكررة لنفس العينة عند نفس الظروف عبر فترة زمنية قصيرة نسبياً، ولا بد من التتحقق من تكرارية النتائج بأخذ قراءات متكررة لنفس العينة من حين لآخر ، فقد تحدث تغيرات طفيفة بسبب الإدخال المنكر للعينة ضمن الجهاز، أما الثباتية stability فتعود للتغيرات التي قد تحدث عبر فترة زمنية أطول [38]. كما تم اقتراح طرق للتحقق من صلاحية طريقة NIR وتحديد الإنقائية من قبل Norris and Ritchie في عام 2008 [40].

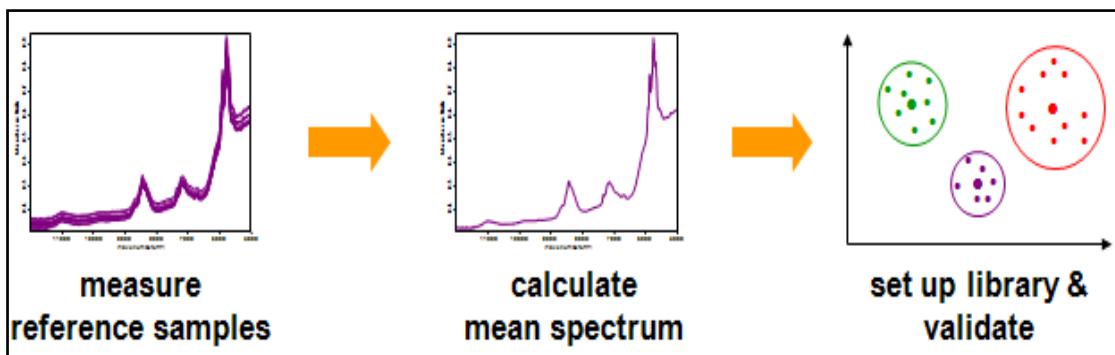


(الشكل 42): تقنيات القياس بطريقة NIR

## 2-2-2-1- تطبيقات تقنية الأشعة تحت الحمراء القريبة Applications of NIR technique

### التعرف على ذاتية المواد الأولية Raw material identification

تعتبر تقنية الـ NIR مفيدة في تحليл المواد الأولية والأسκال الصيدلانية النهائية. وتعد الاختلافات الكبيرة في المواد الفعالة والسواغات المنتجة تجاريًا إلى اختلاف المحتوى من الرطوبة وأبعاد الجسيمات والأسκال البلورية، ويمكن مراقبة هذه العوامل بواسطة الـ NIR بشكل سهل نسبياً [38]. يتضمن استخدام الـ NIR كطريقة مرجعية لتحديد الذاتية تأسيس مكتبة شاملة تحوي على الأقل 300 طيف لكل مادة محللة، يتم مسح العينة المجهولة طيفياً وتحديد ذاتيتها بإيجاد العنصر الأكثر تشابهاً مع هذه المادة الموجودة في المكتبة، وتم مقارنة طيف العينة المجهولة مع أطياف المكتبة المرجعية بواسطة الحسابات المجردة بالحاسوب وتحدد قيمة المقاربة الطيفية spectra match value (SMV) والتي تأخذ قيمًا ضمن المجال (-1,+1)، وتأخذ القيمة +1 عندما تتحقق العينة المجهولة التطابق التام مع العينة المرجعية، واستخدم كل من Plugge and Van Der Vlies قيمة SMV في عملهم المقاربة الطيفية (SMV) في التعرف على ذاتية الأمبيسلين تريهيدرات بتقنية NIR، وكانت SMV بقيمة 0.9980 كقيمة دنيا في التحديد الإيجاري لذاتي الأمبيسلين [41]، يتم أيضًا إجراء اختبار المطابقة من خلال مقارنة وسطي طيف الوجبة مع أطياف المكتبة المرجعية التي تحوي مجموعة من الأطياف ممثلة لوجبات مقبولة لنفس المادة كما في (الشكل 43) [39].



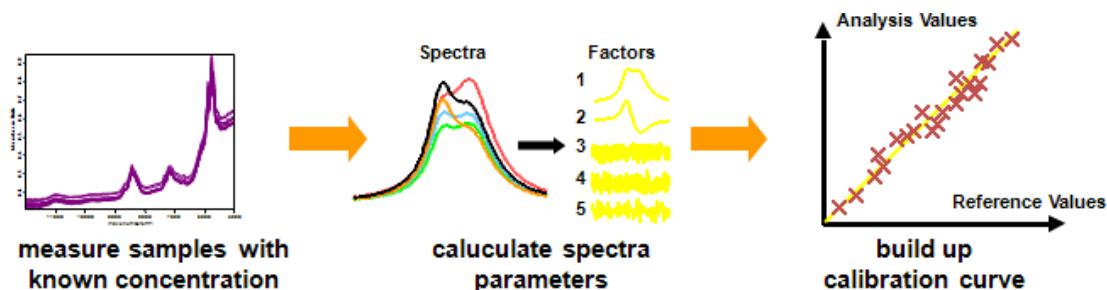
(الشكل 43): تحديد ذاتية المادة الأولية استناداً إلى مكتبة مرئية في مطیافية NIR [39]

### التحديد الكمي للمواد الدوائية quantitative calibration of drugs

تشاهد أطياف NIR على أنها بصمة أصابع وهي صفة مميزة للمادة المحددة، وعند التحري عن مزيج من المواد تكون عدة بصمات أصابع مطابقة لطيف المزيج، ولا يمكن تحديد نسبة تركيز المادة بالطيف بصرياً، ويتم تحديد تركيز المادة باستخدام معالجات حاسوبية تقوم بإنشاء منحنى المعايرة الكمي الذي يربط بين شادات القيم المقاسة وتركيز أحد المكونات ضمن المزيج، ولابد من وجود قياسات مرئية للعينات المقاسة ( 15 عينة على الأقل لكل تركيز)(الشكل 44)، ويجب أخذ الظروف الجوية مثل درجة الحرارة ونسبة الرطوبة بعين الاعتبار، وتكون الكمية المطلوبة من أجل المزائج المقعدة مثل المواد الغذائية كبيرة نوعاً ما.

يجب أن يتجاوز مجال خط المعايرة بطريقة NIR (20 مرة على الأقل) من مجال خط الطريقة المرجعية، فإذا كان مجال خط الطريقة المرجعية  $\pm 0.2\%$  فإن مجال خط القياس بطريقة NIR لا يجب أن يتجاوز المجال

$\pm 4\%$  حول القيمة المتوقعة وإن خطأ الطريقة المرجعية سيكون له تأثيراً كبيراً على نتائج معايرة طريقة NIR، ولتجنب أخطاء المعاير بطريقة NIR يتم اختيار مجال المعايرة calibration range ضمن مجال أكبر قليلاً من مجال العمل working range وهو مجال تركيز العامل المقاس ضمن المنتج، يجب أن يتم تغطية مجال المعايرة بـ( 60 عينة على الأقل) يؤخذ منها  $\frac{2}{3}$  لإجراء المعايرة calibration، و  $\frac{1}{3}$  للتحقق من صلاحية الطريقة validation. لا يتم قياس العينات المخصصة لإنشاء منحني المعايرة بتراكيز متزايدة أو متناقصة وإنما بشكل عشوائي لضمان عدم تأثير الظروف المحيطة على عملية القياس [38,42].



(الشكل 44): إنشاء منحني المعايرة للتحديد الكمي باستخدام NIR.

تم استخدام تقنية NIR من قبل Moes. J et.al عام 2008 لمراقبة تجانس المزيج الصيدلاني، تجانس محتوى المضغوطات من المادة الفعالة وسمكافة فلم التلبس. تم إجراء التحديد الكمي بنجاح ضمن مجال التراكيز (-9.25-2.98 %)، وتم الحصول على مزيج متتجانس بعد دقيقتين من المزج وبانحراف معياري نسبي لم يتجاوز 1% للمزيج الصيدلاني، وكانت قيمة الخطأ في تحديد كمية المادة الفعالة ضمن المضغوطات RMSEP=1.48% [43].

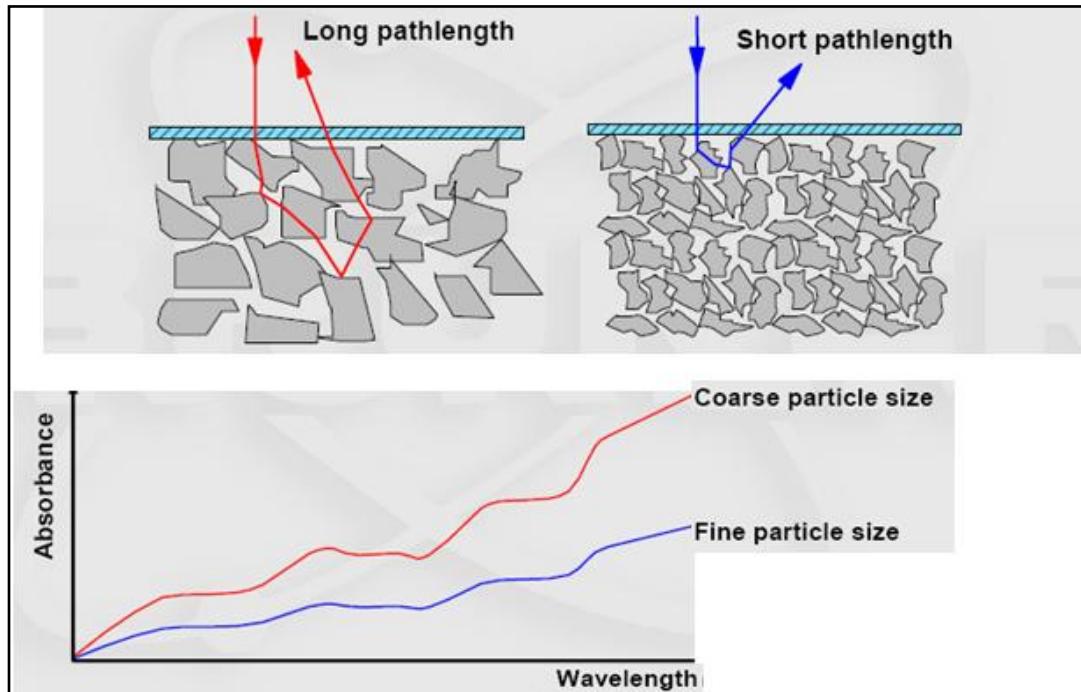
تمكن Dou et.al في عام 2005 من التحديد الكمي والمبادر لمادتي amantadine hydrochloride، paracetamol في المضغوطة الواحدة بتطبيق NIR [44].

#### تحديد البعد الجسيمي للمادة الدوائية

نشر Ciurzak وزملاؤه تقريراً عن طريقة تحديد أبعاد الجسيمات باستخدام مطيافية NIR لمواد دوائية نقية محضرة بشكل حثارات، وتعتمد الطريقة على نظرية انعكاس الضوء والذي يزداد بتناقص أبعاد الجسيمات، فقد لوحظ أن الجسيمات ذات الأبعاد الصغيرة تشتت الضوء بدرجة أكبر من الجسيمات الكبيرة وتظهر امتصاصية أطيفها عند شدت أصغر من الجسيمات الكبيرة. وكانت الطريقة المرجعية لتأسيس المكتبة الطيفية لأبعاد الجسيمات طريقة تشتت ضوء الليزر Law angle-Laser Light Scattering، ولاحظ Ciurzak وجود علاقة خطية لأبعاد الجسيمات التي تزيد عن 85 ميكرومتر مع شدة الامتصاص (كلما زاد البعد الجسيمي زادت شدة الامتصاص) وتكون النتائج أقل دقة للأبعاد الأصغر [45].

استخدم Frak ومساعدوه تقنية NIR لتحديد البعد الجسيمي لمادة اللاكتوز مونوهيدرات. تمت معالجة الأطيف المأخوذة باستخدام المشتق الثاني، وتمت معايرة المعلومات الطيفية باستخدام الحاسوب بتطبيق تقنيات MLR، PLS، ANN(Artificial Neural Network) وتم الحصول على نتائج أكثر دقة عند تطبيق تقنية PLS [46].

تمكن *O'Neil et. al* في عام 1999 من قياس توزع أبعاد الجسيمات التراكمي لمادة microcrystalline cellulose [47] باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة [48]. واستنتاج الباحثون وجود أكثر من طريقة لمعالجة المعلومات الطيفية لأبعاد الجسيمات، وتحقيق نموذج جيد لمنحنى المعايرة. وتم التأكيد على أن اشتراق المعلومات الطيفية لا يؤثر على البعد الجسيمي لمادة الدوائية، ويوضح (الشكل 45) تأثير أبعاد الجسيمات على طيف أشعة NIR بإزاحة الطيف إزاحة طفيفة عن الخط الأساسي baseline shift.



(الشكل 45): تأثير أبعاد الجسيمات على طيف NIR

#### دراسة تعدد الأشكال البلورية Study of the Polymorphism

استناداً إلى الدراسة النظرية لمبدأ مطيافية NIR، فمن المتوقع أن تبدي الأشكال البلورية المختلفة أطيفاً مختلفة، ويفسر ذلك باختلاف ترتيب الزمر الوظيفية ضمن الأشكال البلورية المختلفة وهذا ما يؤثر على اهتزازات الروابط الهيدروجينية والقطبية لجزيئه في منطقة الأشعة تحت الحمراء القريبة، ويعبر عن ذلك بأطيف مختلف [49].

من الطرق التقليدية في التعرف على الأشكال البلورية طريقة التقاضل الحراري Differential Scanning Calorimetry (DSC)، طريقة الأشعة السينية X-ray crystallography، طريقة المجهر الضوئي والإلكتروني وتعتبر هذه التقنيات مخربة للعينة، ولا يمكن إجراء عدة قياسات لنفس العينة.

تمكن *Worosila et. al* في عام 2005 من دراسة تحولات الأشكال البلورية للمواد الفعالة خلال عملية التحثير الرطب باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء الفريبية<sup>[50,51]</sup>.

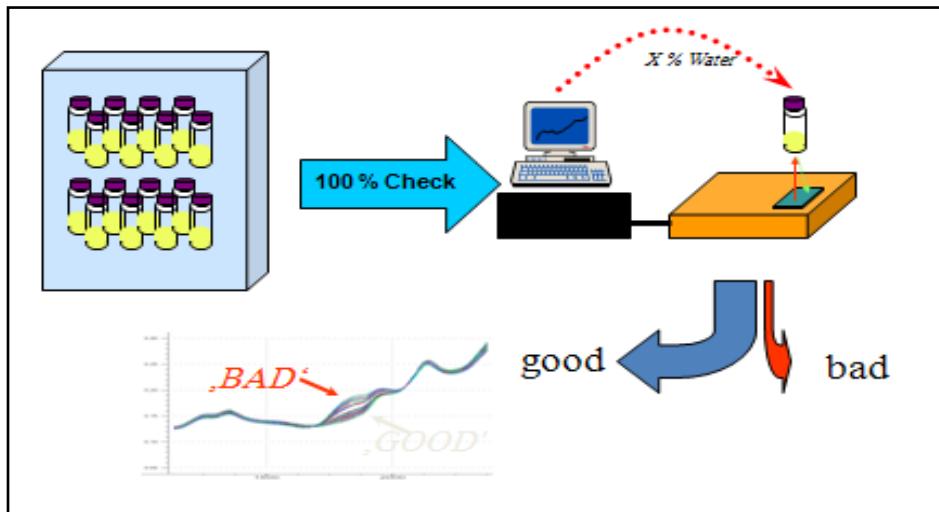
نشر *Ciurzack* مقالاً يوضح فيه استخدام تقنية NIR في التعرف على الأشكال البلورية المختلفة لـ *caffein* وحصل على نتيجة هامة لهذا العمل وتم التمييز بين شكلين بلوريين مختلفين للكافيين<sup>[52]</sup>، وتتابع كل من *Gimet, Luong* استخدام هذه التقنية في التحري عما إذا كانت عملية التحثير تؤدي إلى تشكل مزيج راسيمي <sup>[53]</sup> *racemization*.

تم التحري عن الشكلين البلوريين لمادة *ranitidine hydrochloride* وتحديدهما كمياً في عام 2006 باستخدام مطيافية رaman وانعراض الأشعة السينية كطرق مرجعية، واستخدمت تقنية NIR كتقنية حديثة وأعطت نتائج مقبولة في التحديد النوعي للأشكال البلورية ونتائج غير دقيقة في التحديد الكمي لمزاج هذين الشكلين البلوريين مقارنة بمطيافية رaman<sup>[54]</sup>.

### تحديد محتوى الرطوبة moisture content determination

وتعد الطرق التقليدية لتحديد محتوى الرطوبة معايرة كارل فيشر، وفقدان الماء بالتجفيف *Loss on drying*، ويتم التحري عن الرطوبة باستخدام NIR بوجود عصابات امتصاص عند الأطوال الموجية (1920-1950 nm)، وتعتمد الامتصاصية العظمى وشكل القمة على عدد الروابط الهيدروجينية والرطوبة المتشكلة من الظروف البيئية الرطبة، وكلما زادت قوة الروابط الهيدروجينية زاد طول الموجة والامتصاص الأعظمي، وتظهر عصابة امتصاص أخرى تعود لوجود الرطوبة وتظهر عند 1450nm<sup>[55]</sup>.

أخذ كل من *De Thomas, Von Bargen* براءة اختراع في عام 1994 لاستخدام مسبر بصري *fiber optic* لقياس الرطوبة في مكونات مزيج المساحيق، وتم تطبيق ذلك لتحديد محتوى الرطوبة بشكل مباشر على طول خط الإنتاج<sup>[56]</sup>. كما طور *Zhow* ومساعدوه بشركة *Eli lilly* طريقة لـ NIR لتحديد محتوى الرطوبة في منتج دوائي مجفف، وتم استخدام طريقة ال كروماتوغرافيا الغازية كطريقة مرجعية، وكان الخطأ المعياري المتوقع منخفض في الطريقة المرجعية 0.07% w/w، وكان الخطأ المعياري باستخدام طريقة NIR ضمن مجال (0.1-5.7)% من الرطوبة، وُجِد أن دقة الطريقة المرجعية كانت أكبر بالنسبة للمستويات المنخفضة من الرطوبة<sup>[57]</sup>. طور *corti* ومساعدوه طريقة NIR لتحديد محتوى الرطوبة لمضغوطات *ranitidinine chlorhydrate* ، واستخدموها طريقة كارل فيشر كطريقة مرجعية، ولوحظ أخطاء أكبر في القياس بطريقة NIR باستخدام عينات ذات محتوى رطوبة أقل من 1%<sup>[58]</sup>.



(الشكل 46): تحديد محتوى الرطوبة في منتج مجفف باستخدام NIR

ومن الدراسات الهامة لقياس NIR قياس رطوبة الجلد والتي تم نشرها من قبل Helene Curtis Martin في عام 1998 والتي تشير إلى وجود أربع أنواع من الرطوبة في الجلد، وتم التحديد التجاري لعصابات الامتصاص كما يلي:

- الطبقة الليبية المزدوجة 1875nm.
- جزيئات الماء الأساسية في مجموعات البروتين 1909nm.
- جزيئات الماء الثانوية في مجموعات البروتين 1923nm.
- الماء الموجود تحت الطبقة القرنية 1890nm.

أجريت الدراسات بالوسط الحي In-Vivo لمنطوعين اثنين، وأجرين الدراسة بالوسط الزجاجي In-Vitro باستخدام جلد الخنزير، ويعتبر هذا العمل مقدمة لإمكانية دراسة توزع الدواء عبر الجلد مثل اللصاقات، وإمكانية توقع اختراق المادة الدوائية لطبقات الجلد [59].

### قساوة المضغوطات

للحظ أن إشارات طيف الـ NIR تتغير عند تغيير قوة الضغط المطبقة، وذلك لأن التغيرات في قساوة المضغوطات تؤدي لتغير في طيف NIR للعينة، ونتيجة لزيادة قوة الضغط خلال عملية ضغط المضغوطات تصبح المضغوطات الناتجة ذات سطح أملس بشكل أكبر وأكثر قساوة، وهذا يسبب تشتت أقل للضوء مما يؤدي لامتصاصية أكبر وإنزياح الطيف baseline shift للأعلى [60].

يتم إنجاز اختبار قساوة المضغوطات بالـ NIR بنفس الوقت الذي يتم فيه تحديد العوامل الأخرى مثل الذاتية، محتوى الرطوبة، محتوى المادة الفعالة...

قام كلً من Kirsch, Drennen في عام 1999 بالتحري عن قساوة مضغوطات الثيوفيللين المحضره باستخدام صبغ صيدلانيه مختلفه بتطبيق مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة باستخدام طرق معالجه رياضيه مختلفه لإجراء calibration وتم التوصل لنتائج مقبولة في هذا المجال<sup>[60]</sup>.  
تمكن al Blanco et. al في عام 2006 من تحديد القساوه وتجانس المحتوى من المادة الفعالة في المضغوطات دون تحريرها بتطبيق مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة<sup>[61]</sup>.

### تبسيس المضغوطات

تم استخدام طريقة NIR لتحديد سماكة فلم تبسيس المضغوطات، وسماكة الطبقة الداخلية، حيث أن زيادة سماكة التبسيس تترافق مع زيادة الامتصاصية في مناطق معينة من الطيف<sup>[62]</sup>.

استطاع كل من Kisch et. al عام 1995 توقع سماكة فلم التبسيس لصيغتين مختلفتين من التبسيس عند نقاط زمنية مختلفة خلال عملية تبسيس مضغوطات الثيوفيللين، واستغرقت هذه العملية وقتاً قصيراً نسبياً بالمقارنة مع الطرق الأخرى، وتم تطوير نموذج معايرة لقياس قساوة المضغوطات، سماكة فلم التبسيس، توقع زمن الانحلال لـ 50% من المادة الفعالة بناءً على المعطيات السابقة، وتتوفر تقنية الـ NIR في هذا المجال وقتاً أسرع في التحليل وكلفة زمنية أقل مما تتطلب الطرق المرجعية الأخرى مثل HPLC<sup>[63]</sup>.

### تحديد نواتج التخرب

نشر كل من Lodder, Drenner عام 1990 مقالاً عن استخدام طريقة NIR غير المخرية لمراقبة تفكك الأسبرين، بالمقارنة مع طريقة HPLC في معايرة حمض الساليسيليك على عدة خطوات، وتضمنت طريقة NIR أخذ 90 مسح طيفي لمضغوطات الأسبرين غير المخرية وربط التغيرات الحاصلة بالطيف إلى كمية الماء المنتصنة وكمية حمض الساليسيليك المتشكلة<sup>[64]</sup>.

نشر Shimoyoma ومساعدوه مقالاً عن تحليل الـ poly methyl methacrylate NIR للتخرب الضوئي لمادة fiber optic وتعتبر هذه التقنية ضرورية لإمكانية تطبيقها في الأنظمة الصيدلانية<sup>[65]</sup>.

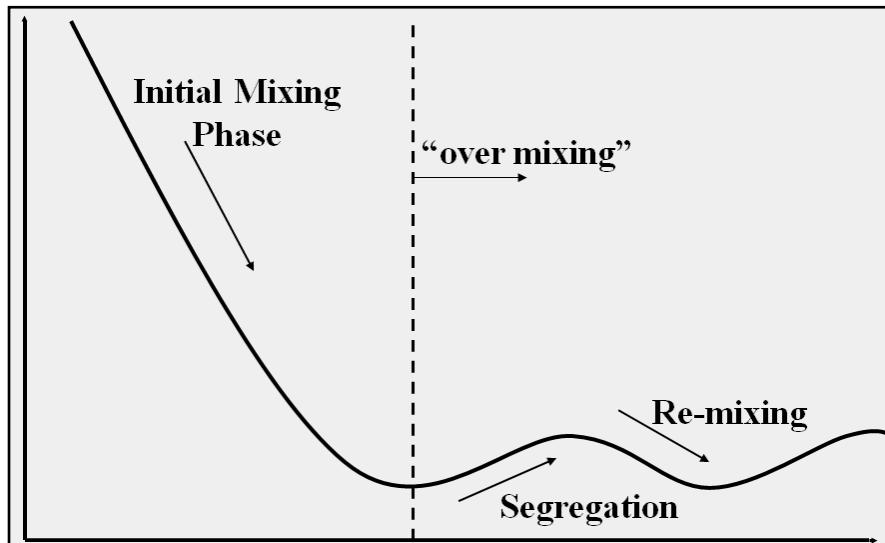
### تحديد مزج المساحيق وتجانس المزيج الصيدلاني

#### Characterization of powder blends and blend homogeneity

تعتبر عملية مزج المساحيق خطوةً أساسية من خطوات تصنيع المنتجات الصيدلانية، ومن المعلوم أن المزيج المتجانس فقط هو الذي يتم تقسيمه لوحداتٍ جرعيةٍ من المكونات الفعالة. تتطلب الطرق التقليدية لمراقبة تجانس المزيج الصيدلاني توقف عملية المزج عند نقاط زمنية محددة لأخذ عينات من المزيج. يتم تجميع العينات من مناطق مختلفة من المزيج المتوضع بالمازج باستخدام أداة الاعتيان sample thief، وترسل العينات بعدها إلى المخبر ويتم تحليلها باستخدام الطرق التقليدية مثل HPLC و UV للتأكد من أن المادة الفعالة ضمن الحدود

الدستورية للصيغة المطلوبة، وتتطلب هذه العملية وقتاً من الزمن وكادراً مخبرياً لا يستهان به، وقد يترتب عن ذلك بعض الأخطاء الناتجة عن طرق الاعتيان<sup>[4]</sup>.

وقد أظهرت العديد من الأبحاث أن تقنية NIR المتصلة مباشرةً بخط الإنتاج مفيدة لتقدير عملية المزج وتحديد تجانس مزيج المساحيق الصيدلاني بدقة أكبر من الطرق التقليدية (الشكل 47)، وقد تؤدي زيادة زمن المزج عن الزمن المطلوب إلى حصول تكتل للمساحيق وعدم الحصول على مزيج متجانس<sup>[66]</sup>.



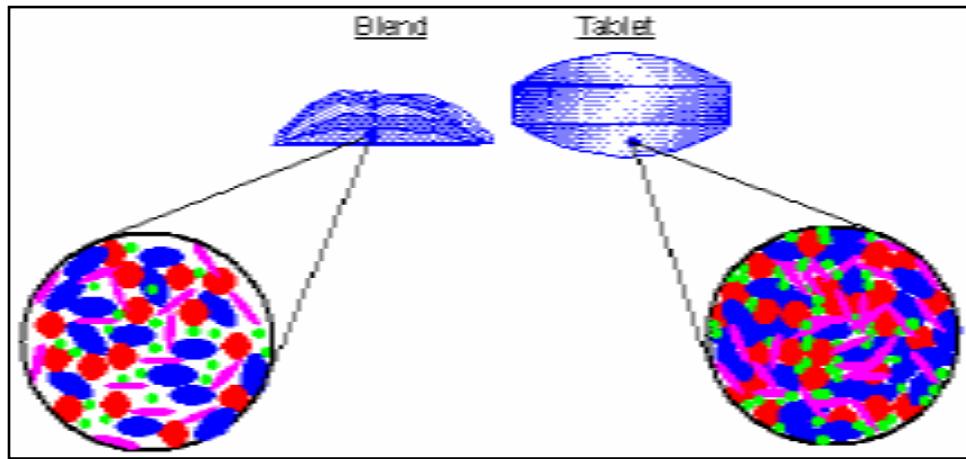
(الشكل 47): تحديد زمن الحصول على مزيج صيدلاني متجانس.

تم استخدام تقنية الـ NIR من قبل Johannes et.al في عام 2008 لدراسة تجانس المزيج الصيدلاني، وأعطت الدراسة نتائج دقيقة لتحديد الزمن الأمثل لتجانس المزيج الصيدلاني شرط أن لا يقل تركيز المادة الفعالة المدروسة ضمن المزيج عن 2.98% (w/w) وتم قياس سماكة فلم التالبيس للمضغوطات الناتجة ولم يتجاوز الخطأ بالتوقع (Root Mean Square Error of Cross Validation) RMSEP (1.94%)<sup>[67]</sup>. أثبتت الدراسة التي أجريت من قبل Alcala et.al في عام 2008 إمكانية زيادة حساسية طريقة NIR بإيقاف الحد الأعظمي للتراكيز العلية وتطبيق المعايرة المعتمدة على نموذج PLS وإمكانية الكشف عن تركيز من المادة الفعالة يصل إلى 0.5% (w/w)<sup>[68]</sup>.

من المرکز الأوروبي لبراءات الاختراع عام 1995 براءة اختراع لـ Dr. Paul K. Aldridge, Pfizer على خط الإنتاج Central Research, Groton, CT on-line. يتضمن هذا الجهاز المسير الضوئي الذي يعتمد على تقنية الانعكاس، والذي يتصل مباشرةً مع المازج-V. تم جمع الأطيف عند نقاط زمنية محددة وتحليل المعلومات باستخدام برنامج حاسوبية مجهزة، ولوحظت الاختلافات في أطيف NIR نتيجة لاختلاف الأرمنة التي تؤخذ فيها العينات. ووجد أن هذه الاختلافات تصل للحد الأدنى بسرعة أكبر مما تقتربه أرمنة مزج الطرق التقليدية، وتم تحديد النقطة التي يتم فيها الحصول على مزيج متجانس بدقة أكبر من الطرق التقليدية، وتم حساب معدل الانحراف المعياري بين الأطيف المأخوذة وبين طيف المزيج المثالي لمراقبة التغيرات التي تحدث في المزيج خلال عملية المزج<sup>[69]</sup>. يوضح (الشكل 48)

تجانس توزع المادة الفعالة ضمن المزيج الصيدلاني، وضمن المضغوطات باستخدام تقنية NIR المزودة بكاميرا .chemical imaging

رُشح بعض علماء شركة Merck لبراءة اختراع عام 1996 لقياس تجانس المضغوطات في محتواها من المادة الفعالة والسواغات أثناء تحضيرها خلال مراحل (مزج المساحيق، مزج الحثيرات، ضغط المضغوطات) [70].



(الشكل 48): استخدام تقنية NIR لدراسة تجانس توزع المادة الفعالة ضمن المزيج الصيدلاني وضمن المضغوطة الناتجة (يمثل اللون الأحمر: المادة الفعالة، الأزرق: المفكك، الأخضر: السواغات الأخرى، الوردي: المزلق) [70].

#### استخدام تقنية NIR في التنبؤ عن معدل انحلال المضغوطات

#### Prediction of tablet dissolution using NIR

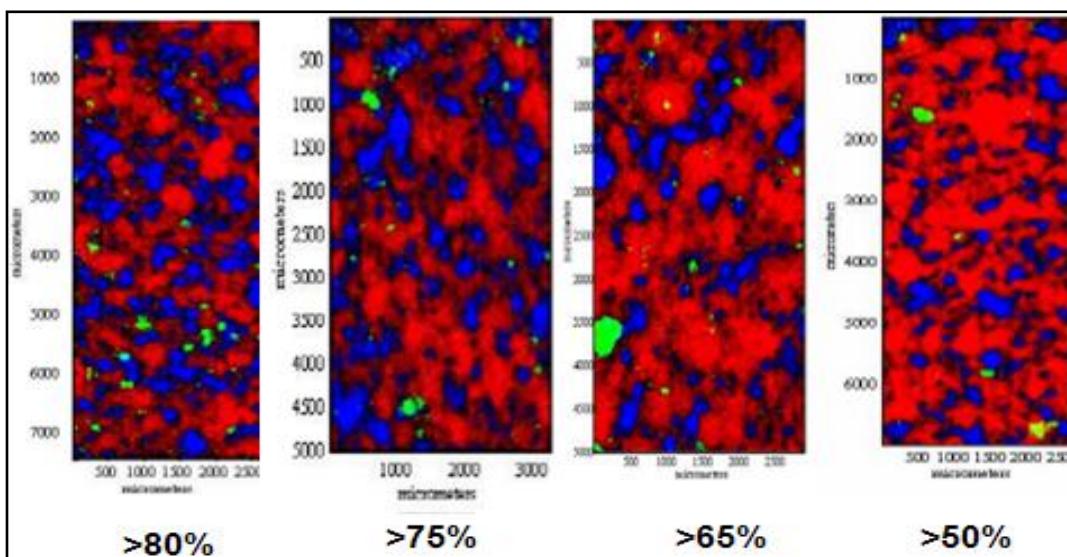
يعتبر فحص الانحلال من الفحوص الهامة التي تجريها مخابر البحث والتطوير أثناء تطوير أي صيغة صيدلانية لتحديد معدل انحلال المادة الدوائية، ويتم إجراء هذا الفحص باستخدام جهاز الانحلال، ويستغرق إجراء هذا الفحص وقتاً طويلاً نسبياً. تم بذل العديد من الجهد لاختصار الزمن والكلفة المقدمة لهذا الفحص والتوصيل لتقانات أخرى تعطي فكرة عن انحلال المضغوطات في الوسط الحي.

قام كل من Bauer وزملاؤه بالتحري عن مشاكل انحلال مضغوطات erythromycin dihydrate ، وكشفت لهم تقنية NIR عن نزع لجزيئي ماء في مرحلة الصياغة الصيدلانية، وتم عملية نزع جزيئي ماء تدريجياً بالارتباط ببيدروكسيد المغنيزيوم الموجود في سواغات المضغوطة والذي يعيق تحرر الإريتروميسين في الأوساط الزجاجية [71].

تم إجراء مقارنة من قبل Feritas. et.al. عام 2005 بين معدلات الانحلال باستخدام أجهزة الانحلال التقليدية ومطيافية NIR المنعكسة لمضغوطات clonazepam، وتم إنشاء مكتبة أطياف NIR باستخدام عدة صيغ لنفس المحتوى من المادة الفعالة مع سواغات مختلفة. وتم تحليل عينات فحص الانحلال عند 7 نقاط زمنية وفي ثلاثة أوساط انحلال مختلفة، واستخدم PLS في إنشاء المعايرة، وكان مربع معامل الارتباط بين النسبة المئوية لمعدل

الانحلال المأهود بالطرق التقليدية وبين القيم المتوقعة بتقنية NIR (0.92)، وهذا يدل على أن طريقة NIR يمكن أن تكون طريقة بديلة وغير مخربة لقياس معدل انحلال المضغوطات المختلفة [72].

نجحت تقنية الـ NIR المزودة بكاميرا chemical imaging في التبيؤ عن معدلات انحلال مضغوطات من وجبات مختلفة كما يظهر (الشكل 49)، فقد لوحظ اختلافاً في نسبة المفكك من وجبة لأخرى مما كان له أثرٌ بالغ الأهمية على معدل الانحلال حيث تراوح معدل الانحلال بين قيم أكبر من 50% وقيم أكبر من 80% ويعود سبب هذه الاختلافات لوجود نسبة أكبر من المفكك في المضغوطات ذات معدل الانحلال المرتفع، وتتناقص هذه النسبة في المضغوطات التي تتناقص معدلات انحلالها [72].



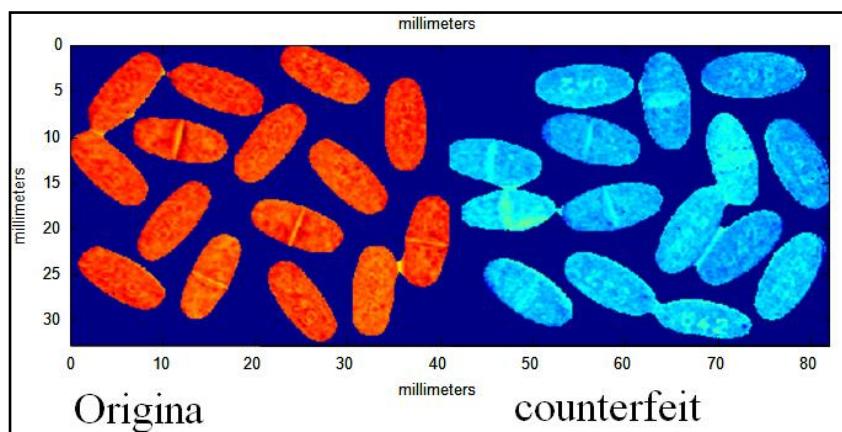
(الشكل 49): الصور المأخوذة لمضغوطات من وجبات مختلفة بواسطة NIR المزود بكاميرا chemical imaging (اللون الأحمر: المادة الفعالة، اللون الأزرق: المفكك، اللون الأخضر: السواغات الأخرى).

وفي تجارب أخرى استخدم طيف NIR الانعكاسي لتقدير معدل انحلال مضغوطات مختلفة القساوة وذلك بالاعتماد على مكتبة مرجعية محددة بالطرق التقليدية [73].

### NIR detection of adulteration



تمكن Lodder وزملاؤه من الكشف عن المحافظ المزورة باستخدام تقنية NIR<sup>[74]</sup>، والتي توفر طريقة سريعة وغير مخربة للعينة يتم من خلالها التحري عن المواد الغريبة الموجودة ضمن المضغوطة أو المحفظة، أما إذا كانت مكتبة المواد الدوائية الموجودة في NIR محدودة فيمكن عندها أن لا يتم التعرف على ذاتية المواد الغربية ويتم رفضها رغم أنها مادة دوائية مطلوبة (الشكل 50).



(الشكل 50): كشف غش المضغوطات باستخدام NIR المزود بكاميرا chemical imaging [74]

### 3-2-2-1. المعالجة الرياضية الإحصائية لأطیاف NIR (chemometrics)

نشرت العديد من الأبحاث العلمية في العقدين الأخيرين حول استخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء القرمزية تقنية حديثة في البحث العلمي بتطوير بعض الصيغ الصيدلانية، وكاداً تحليلية لمراقبة الجودة أثناء عمليات التصنيع.

اهتمت معظم الأبحاث السابقة باستخلاص المعلومات الكيميائية من أطیاف NIR للتحري عن الخواص الكيميائية مثل تجانس المزيج الصيدلاني، تحديد المحتوى من الرطوبة، تحديد تركيز المادة الفعالة في الأشكال الصيدلانية النهائية، دراسة الثباتية وتحديد نواتج التخرب [61-74].

نشرت القليل من الأبحاث التي قامت بدراسة الخواص الفيزيائية للعينة مثل البعد الجسيمي، توزع البعد الجسيمي، الأشكال البلورية للمواد الأولية والخواص الفيزيائية للأشكال الصيدلانية الناتجة [45-54]. ومن المعلوم أن طيف NIR يتضمن معلومات كيميائية وفيزيائية عن العينة، وتجرى عادةً العديد من التحويلات الرياضية لإلغاء تأثير الخواص الفيزيائية للعينة على طيف NIR لأنها قد تشوش أحياناً على المعايرات الكيميائية للعينة [75]. تؤثر الخواص الفيزيائية والكيميائية للعينات والظروف المحيطة أثناء القياس على الطيف المقاس، وتظهر هذه التغيرات كمشاكل أساسية في القياس لأنها تؤدي إلى تداخل قمم الامتصاص، عدم الخطية، تشتت الضوء، والضجيج العشوائي. ومن إحدى الطرق المستخدمة في التغلب على تلك المشكلة زيادة نسبة الإشارة إلى الضجيج بتطبيق معالجات رياضية للطيف تدعى pretreatments تعمل على تحسين نوعية الطيف، وتقليل التأثيرات غير المرغوبة الناتجة عن بعض الخواص الفيزيائية للعينة مثل البعد الجسيمي، الشكل البلوري، الرطوبة عند دراسة الخواص الكيميائية للعينة. ويجبأخذ الحيوطة أثناء تطبيق هذه التحويلات الرياضية عند دراسة الخواص الفيزيائية للعينة. يوفر software 34 إمكانية لـ pretreatment مقسمة لـ 6 مجموعات، وكل واحدة من هذه التحويلات الرياضية يمكن أن تشارك مع أخرى، وقد تكون هذه المشاركة ضرورية ويعتمد بعضها على مجال طول الموجة [76,77].

استخدمت المعالجة الرياضية Standard Normal Variate (SNV) لدراسة ابعاد جسيمات فوسفات الكالسيوم الثانية في البحث الذي تم إجراؤه من قبل *David. R. et.al* في عام 2008 على الرغم من استخدام بعض الدراسات السابقة لـ SNV في دراسة الخواص الكيميائية للأشكال الصيدلانية وإلغاء تأثير الخواص الفيزيائية على الأطيف [78,79].

طبقت الدراسة التي تم إجراؤها من قبل *Martens. et.al* في عام 2008 المعالجات الرياضية المعتمدة على Multiplicative Scatter Correction (MSC) في التخلص من تأثير الخواص الفيزيائية للعينة على الطيف عند دراسة الخواص الكيميائية وأعطت نتائج أكثر دقة من المعالجات الأخرى [80].

تتضمن طرق المعايرة متعددة المتغيرات المستخدمة لمعايرة أطيف المكون الأساسي NIR طريقة تحليل المكون الأساسي Principal Component Analysis (PCA) والتي يندرج تحتها طريقي Cluster Analysis (PCA) ، طريقة الانحدار الخطى لعدة ابعاد Soft Independent Modeling of Class Analog (SMICA), Principal Component ، طريقة انحدار المكون الأساسي Multiple Linear Regression (MLR) Partial Least Squares Regression ، طريقة انحدار المربيع الأصغرى الجزئي Regression (PCR) [76,77] (PLS).

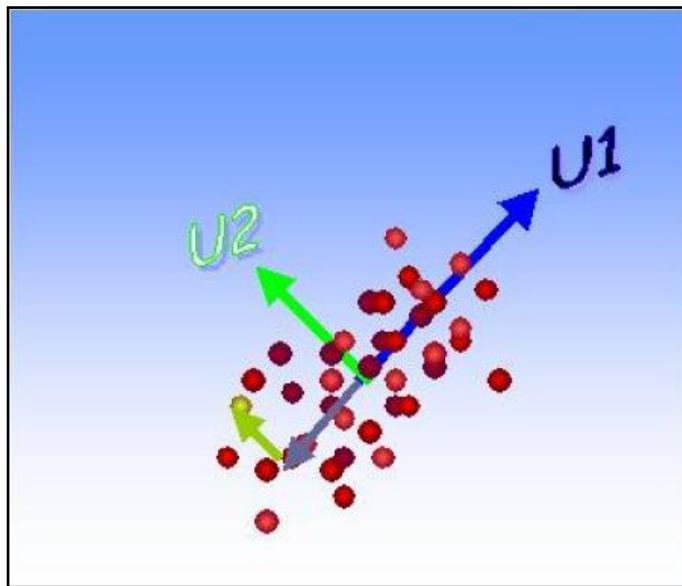
### طريقة تحليل المكون الأساسي PCA

وهي طريقة رياضية إحصائية لتحليل كمٌ كبير من المعلومات الكيميائية التي يتم الحصول عليها من أطيف NIR المقاسة، ويتم اللجوء إلى PCA لتقليل كمية المعلومات التي تم الحصول عليها دون فقدان أي معلومة هامة بتحديد عدد مناسب من المكونات الأساسية PCs. تستخدم لإيجاد تقدير الصفات الكمية والنوعية للطيف [81,82].

يتتألف كل طيف يتم قياسه بـ NIR Flex N-500 من 1501 نقطة معلومة تعود لقيم الشدة لـ 1501 نقطة على مجال طول الموجة المحدد، ويطلب الحصول على معايرة جيدة جمع عدد كبير من الأطيف، وفي حال الحصول على 100 طيف يتكون لدينا 150100 نقطة معلومات، يتم ضغط هذه المعلومات الطيفية باستخدام PCA بدون ضياع لأي معلومة هامة، ويتم تحديد المكونات الأساسية بواسطة PCA والتي تعتبر إحصائياً متعمدة ومستقلة عن بعضها البعض، وهي كافية لإعادة بناء الطيف الأساسي [81].

يتم إنشاء PCA عادةً بأطيف المعايرة calibration spectra set عند مجال طول موجة محدد، وبمعالجة مسبقة مناسبة pretreatment، ويوضح (الشكل 51) التمثيل الهندسي لـ PCA الذي يمثل كل طيف بنقطة بشكل ثلاثي الأبعاد، فمن غير الممكن أن يتم تخيل فراغ بـ 1501 بعد، كل بعد عند عدد موجي محدد وإنما يتم تمثيل ذلك بنقطة، ويعبر عن هذه النقطة رياضياً بأنها مكافئة لمتجهة ذات 1501 مكون، ووجود عدة أطيف في المعايرة ينتج عنه مجموعة من النقاط المشكلة (البقة Cloud) بشكل ثنائي الأبعاد، تكتل cluster بشكل ثلاثي

الأبعاد)، ومن أجل مجموعة من الأطيف الممثلة بنقاط في الفراغ الذي يملك 1501 بعد، يتم تحديد النقطة المركزية وسط تلك الأبعاد وتدعى mean centering وتدعى النقاط الواقعة على الاتجاهات الفراغية الجديدة بالمكونات الأساسية principal components وتقع على طول بعد الأقصى المسموح في الفراغ greatest variance ، ويتم الوصول لأي نقطة ضمن cluster بإضافة أو طرح PCs الموافق لها، وأي نقطة تقع خارج الحد المسموح تحوي فقط الضجيج ولا يمكن أن تحوي أي معلومة، لذا لا يمكن ضياع أي معلومة في هذا النموذج<sup>[81]</sup>.



(الشكل 51): التمثيل الهندسي لـ PCA الذي يمثل كل طيف بنقطة.

#### \* العناصر الأساسية في PCA

1- الطيف الوسطي mean spectrum  $I(K)$ : ويحسب بالمتوسط الحسابي لقيم شدة الامتصاص عند كل طول موجة، وتدعى النقطة الممثلة لهذا الطيف الوسطي mean centering، وتعطى بالعلاقة:

$$\langle I(k) \rangle = [I_1(k) + I_2(k) + \dots + I_N(k)] / N$$

2- المكونات الأساسية Principal Components  $U_i(K)$ : وتعرف على أنها الاتجاهات الجديدة ضمن منطقة cluster وتعبر عن أطيف افتراضية تختلف عن الطيف الوسطي، وأي معايرة يمكن أن تحوي PCs، ويعتبر كل من الطيف الوسطي، PCs ثوابت في كل معايرة.

3- الأحراز Scores ( $V_{in}$ ): وهي قيم حسابية يتم إضافتها أو طرحها للمكونات الأساسية، وتستخدم لإعادة بناء الطيف الأساسي، وكل طيف له  $i.scores$  يختلف من طيف لآخر.

**4- الباقي Residuum  $R_n(K)$ :** يعتبر الاختلاف بين الطيف قبل المعالجة والطيف الذي أعيد بناؤه بالطيف المتبقى residuum spectrum، وعندما يجمع الباقي على كل مجال الطول الموجي فإن الناتج يدعى بالبقية Residual، ويتغير من طيف لأخر.

**5- الإمكانيات Leverage:** وهي المسافة المباشرة للطيف عن مركز توضع النظام ضمن الأحراز [61,62].

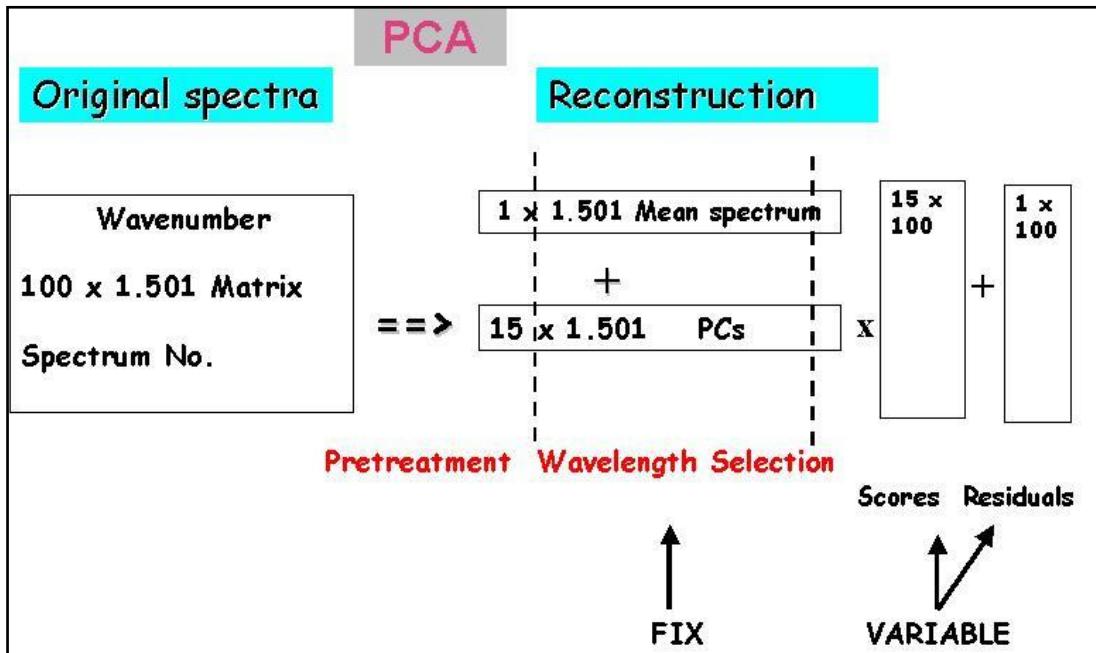
يتم تحديد المكونات الأساسية PCs التي تضع حدًا للضجيج المرافق للطيف، وتعتبر PCs مسؤولة عن الطيف المتبقى والبقية residuum spectrum and residual وكلما زاد عدد المكونات الأساسية نقص الطيف المتبقى residuum spectrum في المعايرة، وأصبحت المعايرة over fitted وفي هذه الحالة لا يتم التعرف إلا على عينات أطيف المعايرة، وقد تصبح أطيفات V-set خاطئة. أما إذا نقص عدد المكونات الأساسية فإن المعايرة تصبح under fitted أي غير انتقائية [82,81].

#### ❖ إعادة بناء الطيف Reconstruction of spectrum ❖

يمكن إعادة بناء الطيف من خلال مجموع حاصل ضرب الأحراز مع المكونات الأساسية مع إضافة الطيف الوسطي والطيف المتبقى بالعلاقة التالية:

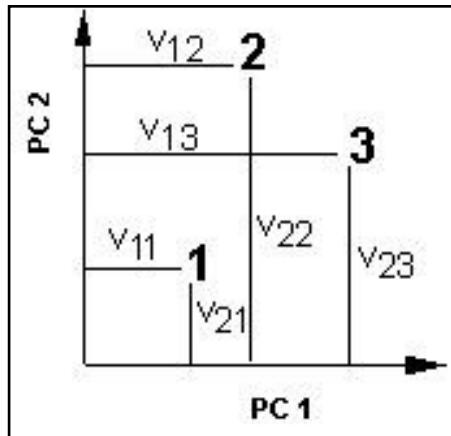
$$I_n(k) = \langle I(k) \rangle + \sum_{i=1}^{\max_i} v_{in} \bullet U_i(k) + R_n(k)$$

ومن الضروري حفظ الأحراز والباقي لكل طيف باعتبار أن الطيف الوسطي والمكونات الأساسية ثابتة لكل الأطيف ضمن المعايرة، ويظهر(الشكل 52) إعادة بناء الطيف لـ 100 طيف أساسيا باستخدام 15PCs كالتالي:



(الشكل 52): إعادة بناء الطيف باستخدام PCA

يمكن وصف PCA على أنها تحطيم لمصفوفة الطيف لمصفوفتين أصغر، وهذا يساعد على اختزال المعلومات دون فقدان أي معلومة هامة. يمكن الحصول على تمثيل ثانوي للأطيف باستخدام 2PCs، ويعبر عن كل طيف بالأحراز الخاصة به وفقاً لـ 2PCs بشكل ثانوي الأبعاد (الشكل 53)، و 3PCs بشكل ثلاثي الأبعاد. وكل طيف له 3PCs سيكون له 3 من الأحراز والأقرب لهذه النقطة هو الأكثر تشابهاً معها، لذا يمكن تفسير الطيف غير المعروف اعتماداً على 2PCs [81].



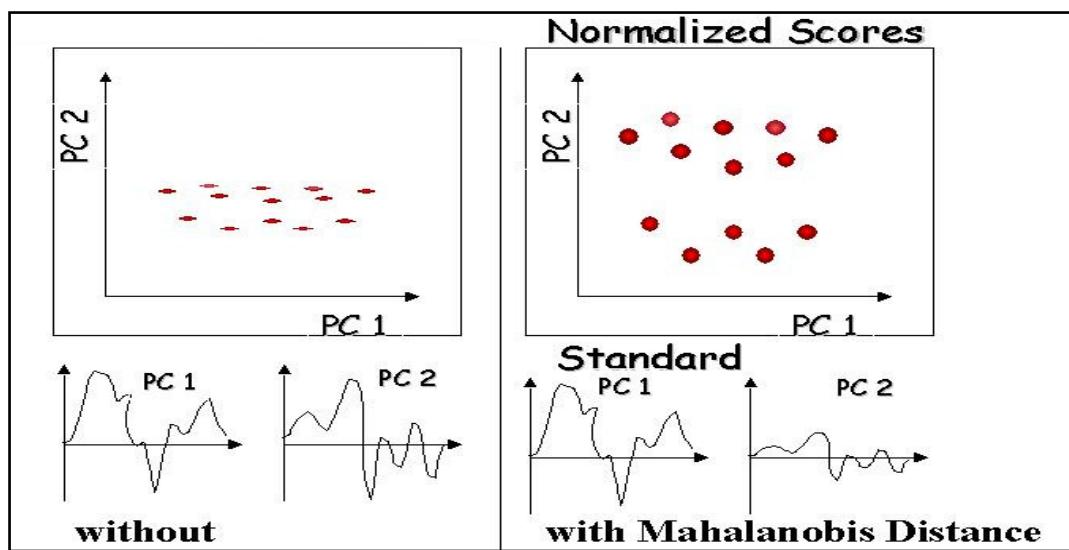
(الشكل 53): طريقة التعبير عن كل طيف بالأحراز الخاصة به اعتماداً على 2PCs

#### مسافة Mahalanobis distance

وهي مقياس صنعي للأحراز من خلال المعالجة الطبيعية لمجموع مربع الأحراز، ويوضح بالعلاقة:

$$\sum_{i=1}^{maxi} V_i n^2 = 1$$

وهذا يؤدي لامتطاط وضغط PCs حيث أن الطيف الذي نحصل عليه من الأحراز والمكونات الأساسية لا يتغير، والغاية من ذلك توضيح الخواص الفيزيائية والكيميائية والتي لها تأثير بسيط على الطيف التي تظهر بشكل أوضح عند استخدام PCs أكبر، ولهذا السبب تصبح النقاط موزعة بالتساوي بشكل ثانوي الأبعاد، ويكون للأحراز نفس عامل التضخيم. تتغير الأحراز بدون واحات وتتناسب بعضها البعض، ويمكن زيادة أو إنقاص PCs لزيادة الدقة بالتقدير (الشكل 54) [81].



(الشكل 54): المعالجة الطبيعية لمجموع مربع الأحراز

### ❖ طريقة Cluster

والغاية منها التعرف على مواد بخواص كيميائية مختلفة باستخدام PCA والحصول على مجموعات مفصولة بشكل جيد تتضمن أحراز الأطيف لكل مادة على حدى، يتم إيجاد cluster اعتماداً على قيم PCs الثانوية المختارة ضمن PCs الأساسية التي توضح فصلاً جيداً للمواد وتعطي تكرارية جيدة للأحراز، وتكون مسؤولة عن حساب tolerance radii.

#### A. الشروط الازمة لاختيار PCs الثانوية:

- يجب أن تكون أحراز كل الأطيف لنفس المادة متقاربة من بعضها البعض، ومنفصلة عن أحراز المواد الأخرى، ويظهر ذلك بتمثيل الأحراز مقابل الأطيف، وتظهر الأحراز ارتباطاً بـ PCs.
- تظهر Property Box Radii Plot تكرارية الأحراز لكل صفة، وتعطي بالعلاقة  $[(\max - \min) \text{scores} / 2]$ .

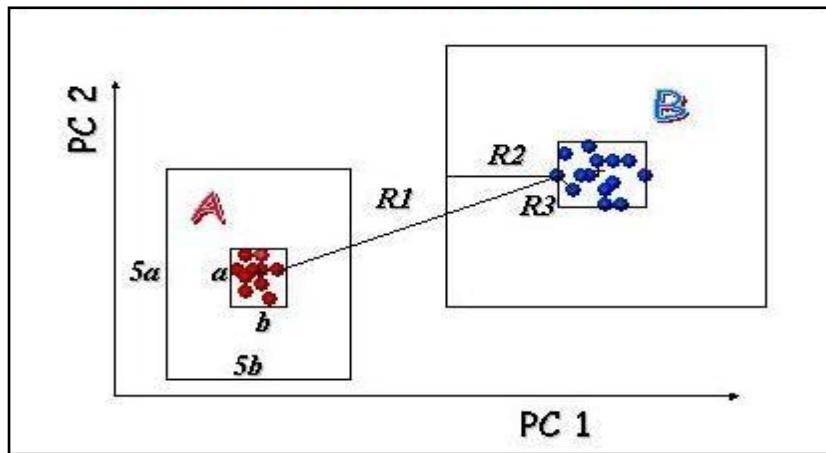
#### B. حساب Tolerance ring radii

يحدد Tolerance Ring Radii اعتماداً على قيم PCs الثانوية، ويتم بناء أصغر إمكانية لمستطيل بشكل ثنائي الأبعاد أو أصغر إمكانية لمكعب بشكل ثلاثي الأبعاد حول كل مجموعة من أطيف المعايرة الممثلة بـ نقاط، وتكون أطراف المستطيل موازية لمحور PCs كما يظهر في (الشكل 55)، وأقصر مسافة من مركز المستطيل لطرفه تدعى بمدى C-Set وتسمى Property Box Radii ويتم بناء المستطيل الفعلي بشكل أكبر 5 أضعاف من أصغر مستطيل يمكن بناؤه حول C-Set، يتم حساب المسافات التالية:

$R1$  وهي أصغر مسافة بين الطيف ذو الصفة  $B$  لأقرب طيف من صفة مختلفة  $A$ .

$R2$  وهي أصغر مسافة بين الطيف ذو الصفة  $B$  لطرف مستطيله الفعلى.

$R_3$  وهي أصغر مسافة بين الطيف ذو الصفة  $B$  لأقرب طيف من نفس الصفة  $B$ .  
 $R_4$  وهو متوسط المسافات السابقة لنفس الصفة.



(الشكل 55): حساب tolerance radii

وباستخدام هذه المسافات أصبح من الممكن حساب دوائر الاحتمال tolerance circles باستخدام radius®. كل طيف بالمعاييرة باستخدام الصيغ 1, 2, 3 [81].

$$\text{الصيغة 1: } \text{Min of } r = R1/2.f \text{ or } r = (R1+R2)/4.f$$

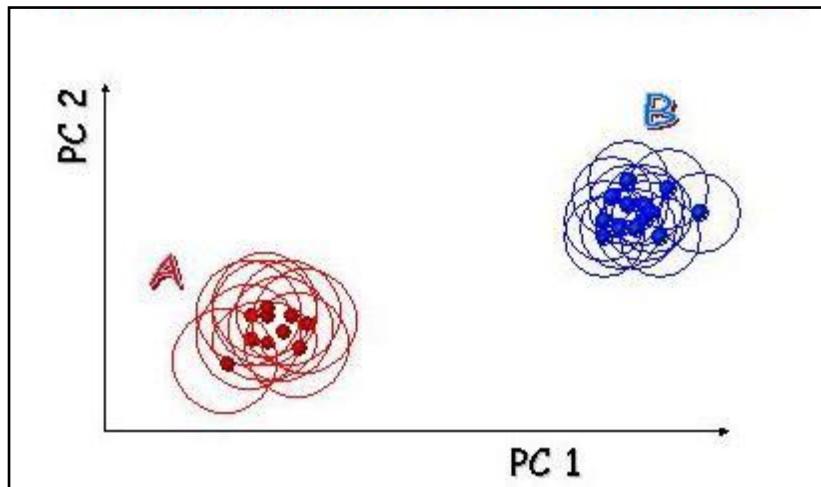
تستخدم أصغر قيمة تحققها إحدى المعادلتين، والقيمة الافتراضية لـ  $f$  هي 1، وبالاعتماد على مدى  $R_2$  cluster 2clusters تكون الدائريتين بتماس مع بعضهما دون أي تداخل عندما يكون ( $f=1$ )، ويسمح لـ  $f$  بعض الأحيان أن تأخذ القيم  $<1$  أو  $>1$  لزيادة حساسية المعايرة في الت hari عن بعض المواد الكيميائية [81].

$$\text{الصيغة 2: } \text{Min of } r = R1 * 0.499, r = R3 * \text{Pre Blow Up} * f \text{ or } r = R4 * 0.5 * \text{Pre Blow Up} * f$$

يتم اعتماد أصغر قيمة من هذه القيم  $\text{Pre Blow Up} = 5$  و هذه القيمة محددة تجريبياً،  $f=1$  افتراضياً ويمكن إيقاصها للحصول على مدارات متداخلة [81].

$$\text{الصيغة 3: } \text{Min of } r = R2 * 0.5, r = R3 * \text{Pre Blow Up} * f \text{ or } r = R4 * 0.5 * \text{Pre Blow Up} * f$$

وتستخدم في حال المعايرة بطريقة SMICA بحال وجود مادة واحدة فقط [81].

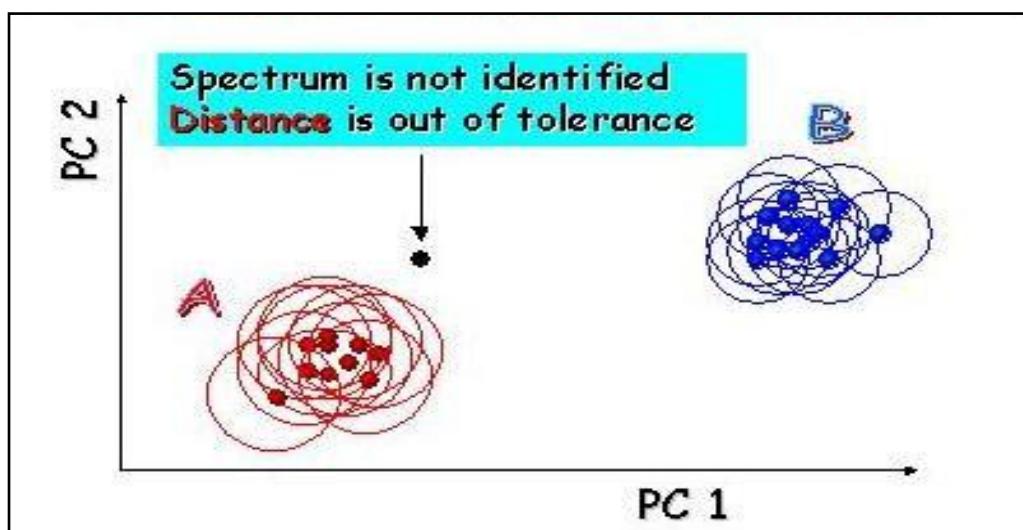


(الشكل 56): دوائر الاحتمال tolerance circles الناتجة عن حساب radius® لكل طيف بالمعايير

يظهر مجال الاحتمال فيما إذا كان حاصل قسمة Radii of one property=1 (cluster/property=1) وفي هذه الحالة يكون عدد PCs الثانوية صحيحاً، إذا كان الناتج أكبر من 1 فهذا يدل على عدد غير مثالي لـ PCs الثانوية وضرورة إجراء pretreatment للمعايرة [81].

#### C. الشروط الازمة لإنشاء المعايرة:

- Cluster per property تقبل القيمة (1) فقط، أما إذا كانت دوائر احتمال الصفات المختلفة متداخلة مع بعضها البعض، يتم عندها الاعتماد على المسافة في الأحرار.
- المسافة: يجب أن تكون المسافة بين أطیاف المعايرة أصغر من نصف قطر دائرة الاحتمال، وبهذه الحالة يحدد معيار المسافة القبول بالدرجة الأولى (الشكل 57).



(الشكل 57): اعتبار المسافة معياراً لقبول طيف المادة المجهولة

- Property Residuum و يجب أن تأخذ القيمة (0) وهذا يدل على أن الأطيف كلها ضمن التكتل cluster الصحيح، إذا كانت القيمة (+1) فهذا يعني أن الطيف خارج cluster غير معروف، وإذا كانت القيمة (-1) فهذا يدل على أن الطيف ضمن cluster لكنه خاطئ<sup>[81]</sup>.

### **SMICA (Soft Independent Modeling of Class Analogy)** ♦♦

و هي طريقة معايرة تستخدم الـ PCA لمعاييرة مادة كيميائية واحدة، ويمكن تحويل معايرة cluster لعدة معايرات SMICA وتعرف هذه المعايرة بـ ( +SMICA الصفة المعايرة)، وتتطلب معايرات SMICA اختيار أطيف C- pretreatments، اختيار مجال طول موجة محدد، تطبيق المعالجة مناسبة Set، V-Cet الوسطي بعد إجراء حسابات pretreatment، تحديد عدد PCs الأساسية والثانوية.

يجب أن تكون أحراز كل الأطيف لنفس المادة متقاربة من بعضها البعض، ومنفصلة عن أحراز المواد الأخرى، ويظهر ذلك بتمثيل الأحراز مقابل الأطيف، وتظهر الأحراز ارتباطاً بـ PCs.

تظهر Property Box Radii Plot تكرارية الأحراز لكل صفة، وتؤخذ العوامل الافتراضية التالية:

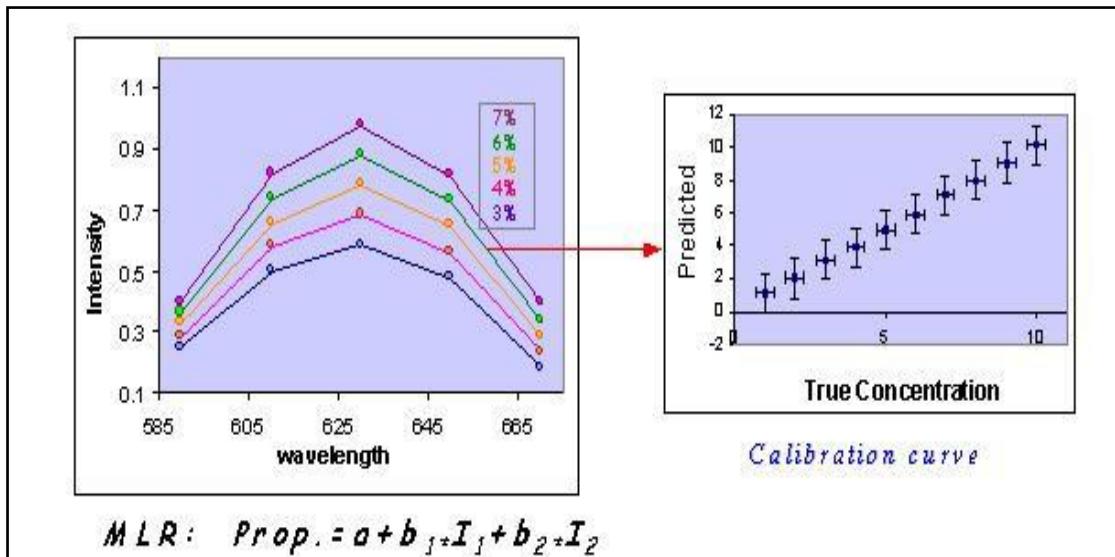
Pre Blow Up=5 , Scores Blow Radii Formula=3 , Radii Blow Up=1.05, لا تؤخذ قيمة Q-Value في SMICA قيمة تداخل الصفات property interference بعين الاعتبار لأنه يوجد نمط واحد للـ cluster في كل معايرة، ويعتبر هذه القيمة دائماً صفر، وهذا مايسبب ارتفاعاً في قيمة Q-Value مقارنة بمعاييرات Cluster في حال عدم وجود شذوذات outliers<sup>[83]</sup>.

### **- التحقق من صلاحية طريقة SMICA :**

تسمح هذه الطريقة بتدخل مساحات من المكونات الأساسية بسبب معايرة مادة كيميائية واحدة فقط، للتتحقق من إمكانية التداخل نستخدم prediction protocol. يقترب SMICA tolerance sheres أحياناً من مركز PC وقد تقع اطيف آخر في هذا المكان مما يؤدي لضياعها وعدم التعرف عليها، ويمكن الحد من ذلك بتقليل عدد PCs الأولية أو بزيادة Residual Blow Up limit، وحتى يتم التعرف على المادة يجب أن تتحقق المسافة Distance والباقي Residual المطلوبين<sup>[81,82]</sup>.

### **الانحدار الخطى لعدة أبعاد (MLR)** ■■■

يعتمد التحليل وفقاً لـ MLR على عدة أطوال موجية مختارة ولا يتطلب أي حسابات للـ PCA، ولهذا تحسب الصفات من خلال قيم الشدة ومعاملات الارتباط (الشكل 58).

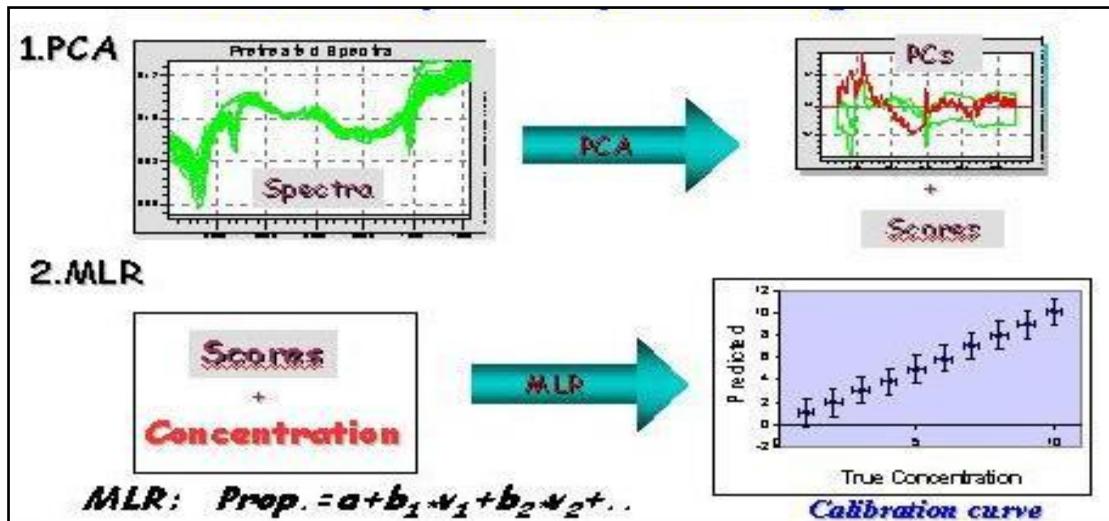


(الشكل 58): المعايرة بطريقة MLR

يجب أن تعود  $I_1, I_2$  لصفات غير مرتبطة *independant*، ونختار ثلات أطوال موجية على الأقل، وبسبب هذا العدد القليل وإهمال باقي النقاط المقاسة تعتبر الطريقة بسيطة وغير دقيقة بالقياس. لا يمكن استخدام البقية *residuals* للتحري عن *outliers* خلال التطبيق بسبب انخفاض عدد الأطوال الموجية المطبقة في المعايرة، وينصح غالباً بطريقتي PCR, PLS في المعايرات الكمية للصفات الكيميائية، وتستخدم هذه الطريقة في حال الاعتماد على أطوال موجية محددة *filter instruments* أما في حال الاعتماد على كامل مجال طول الموجة [83,84] PCR, PLS فيستخدم *interferometers* (full wavelength range).

### طريقة انحدار المكون الأساسي (PCR)

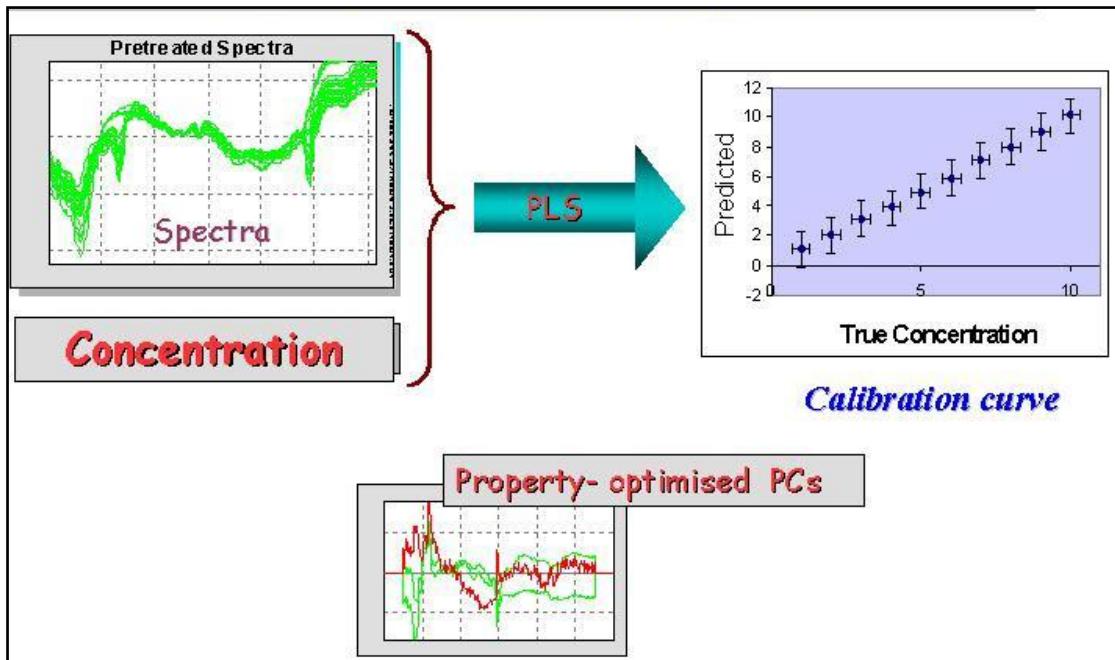
وتعرف على أنها PCA+MLR، يتم تحديد المكونات الأساسية والأحراز في المرحلة الأولى، ويتم استخدام كل من الأحراز والقيم الموافقة للصفات (ترانكيرز مثلاً) بـ MLR، يتم حساب PC من المعلومات الطيفية بشكل غير مرتبط بالحسابات في مرحلة MLR والتي تتضمن حساب معامل الارتباط للمعايرات الكمية، ويمكن إدخال أي عامل مباشر إلى PCR، وهذا يدل على أن استخدام PCs لتحديد الصفات لا يعني بالضرورة أنها المسئولة عن التغيرات الكبيرة بنتائج المعايرة (الشكل 59) [83].



(الشكل 59): المعايرة بطريقة PCR

### طريقة انحدار مربع الجزئي الأصغرى

تحسب المكونات الأساسية PCs بكل المراحل التي تتم فيها المعايرة معأخذ المعلومات الطيفية وقيم الصفات المدروسة بعين الاعتبار مباشرة، وهي طريقة متقدمة أكثر من PCR تحسب PCs, Scores و تكون القيم المرجعية الكمية مضمنة في حسابات المراحل التالية، تحوي كل القيم المحسوبة لـ PCs ضمن PLS معلومات عن قيم الصفات الأصلية (مثلا: التراكيز الحقيقية) للعينات بشكل مختلف عن PCR بحيث يظهر دائماً الارتباط الأصلي بين العامل المدروس والمعلومات الطيفية، أما إذا وُجد عاملين غير مرتبطين مع بعضهما بشكل منطقي فإن التقدير الرياضي من خلال PLS لا يمكن إجراؤه لكلا العاملين مع بعضهما، عندما تتم معايرة كل عامل على حدٍ باستخدام PLS الخاص، ولهذا السبب ينصح بحساب الصفات غير المرتبطة مع بعضها كل على حدٍ، مثل المحتوى من الإيتانول والأسيتون ضمن أي مزيج من محلات. لذا فإن PCR تقلل المعلومات الطيفية وتقتصر على أحراز الأطيف، أما PLS فإنه يأخذ كل المعلومات الطيفية بعين الاعتبار ضمن الحسابات (بشكل يحقق التطابق الأكبر بين القيم المتوقعة والقيم المرجعية).<sup>[83,85]</sup>



(الشكل 60): المعايرة بطريقة PLS

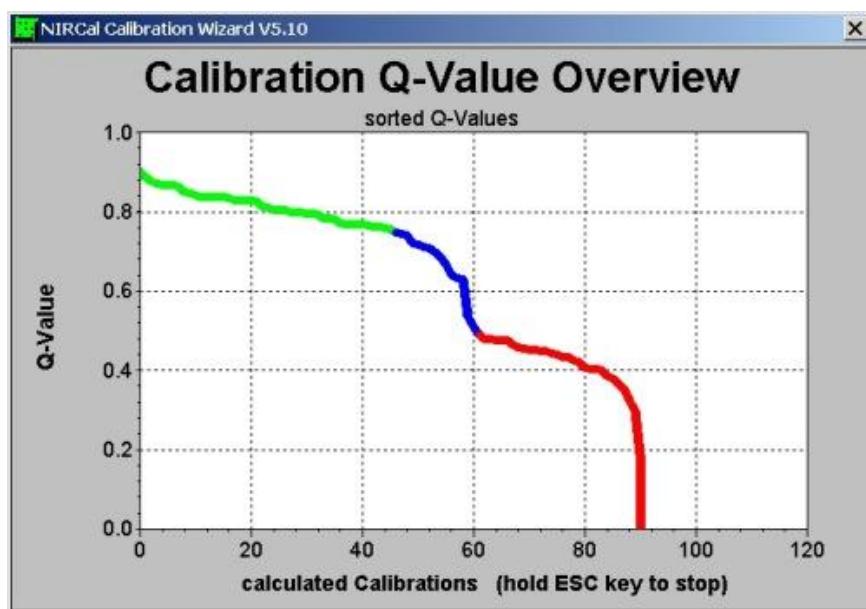
#### التحقق من صلاحية الطريقة المتبعة بالمعاييرة بتقنية NIR

Validation Set -1 (VS): تقسم الأطيفات المأخوذة بنسبة 2/3 لأطيفات المعايرة، وتؤخذ نسبة 1/3 من الأطيفات للتحقق من صلاحية الطريقة.

Cross Validation-2 (CV): بدلاً من تقسيم العينات لمجموعتين، تستخدم كل العينات لبناء المعايرة ويمكن إجراء عدة معايرات باستخدام كل العينات وهذا يوفر إيجابيات ودقة أكبر من الطريقة الأولى، ويتم اختبار هذه الطريقة اعتماداً على مجموعة صغيرة تتغير من محاولة لأخرى، وتحفظ نتائج كل محاولة وتقود لاستنتاج Standard Error of Cross Validation (RMSECV) ، والتي تقارن مع one leave cross validation تتضمن عينة واحدة (SEP) ، وفي حال اختيار مجموعة لـ prediction (out of Prediction) فإن الطريقة تدعى بـ full cross validation، ويمكن استخدام CV عندما يكون عدد العينات صغير (تقريباً أقل من 50 عينة)، أما إذا كان العدد أكبر من 50 يمكن استخدام طريقة validation set أو طريقة group index . يمكن إجراء CV لكل من PCA, PCR, PLS , فقط. ويحتاج إجراء CV لأربع أطيفات على الأقل بحيث يتم تعيني مجموعة CV على الأقل، يتم ضم كل طيف لمجموعات مختلفة، وعدد المجموعات والأطيف يمكن أن يتغير بشكل تبادلي، وتجمع الأطيف بشكل عشوائي. ويحدد group index لكل طيف والذي يبين لأي مجموعة ينتمي الطيف، فإذا كان group index=0 فهذا يعني أن الطيف لم يستخدم في بناء المعايرة ولا ضمن CV، وإذا كان group index>0 فيمكن للطيف أن يوجد في CV دون أن يكون موجوداً في بناء المعايرة وهذا يفيد في التحري عن القيم الشاذة outliers ، أو يوجد في بناء المعايرة بشكل دائم دون أن

يستخدم في CV ويدعى عندها Permanent c-Set، أو تكون هذه الأطيفات مختارة لبناء المعايرة ثم تمحف منها وتضم لـ CV-mutable V-Set وتدعى V-Set.

تعبر قيمة Q-value(quality value attribute) عموماً عن جودة المعايرات الكمية والنوعية، وتأخذ القيم من 0 إلى 1، ولا تتحقق القيمة 1 عملياً. إذا كانت قيمة Q-value أكبر من 0.75 تعتبر المعايرة مقبولة، إذا كانت قيمتها ضمن المجال (0.5-0.75) فالمعايرة يمكن استخدامها أو تطبيقها ولكنها غير دقيقة، وإذا كانت قيمتها أقل من 0.5 تكون المعايرة غير مقبولة ولا يمكن تطبيقها. ويلاحظ أن المعايرات النوعية تعطي قيمة Q-value أكبر من المعايرات الكمية، وتعتبر قيمة Q-value معياراً جيداً لمقارنة المعايرات المختلفة مع بعضها البعض، يوضح (الشكل 61) المنحنى البياني الذي يوضح قيمة Q-value<sup>[86]</sup>.



(الشكل 61): قيمة Q-value لإحدى المعايرات

### 3- لمحة عن مضادات الإنستان التي تتنمي لزمرة البيتاالاكتام antibiotics

تضم هذه الزمرة مضادات الإنستان penicillins, cephalosporins, carbapenems, monobactams وسميت هذه الزمرة بـبيتاالاكتام لأنها تتصرف بوجود الحلقة الرباعية في جميع أفرادها والتي تعتبر ضرورية من أجل فعاليتها<sup>[87]</sup>.

#### 1-3-1 Penicillins

وتعتبر من أهم مضادات الإنستان الفعالة وأقل الأدوية سمية، وتختلف عناصرها عن بعضها البعض بتبدل الجذر R المرتبط بحمض 6-aminopenicillinic، وبؤثر الجذر R على طيف المضاد الحيوي وثباته في المعدة والإماهة الأنزيمية ومصيرها الحيوي. تعتبر البنسلينات مركبات قطبية لاستقبال بشكل كبير، تطرح دون تبدل عن طريق الرشح الكبيبي والافراز الانبوبى ويتم تثبيط الأخيرة بالبروبنسيد، يطرح الأمبیسلین جزئياً عن طريق الصفراء. وتختلف أنصاف الأعمار الحيوية من نصف ساعة إلى ساعة . وغالبية البنسلينات تعبر الحاجز الدماغي الدموي عندما تكون السحايا ملتهبة [87]

#### 1-1-3-1 mechanism of action آلية التأثير

ترتبط البنسلينات بالعديد من البروتينات الرابطة للبنسلين penicillin binding proteins PBPs الموجودة في جدار الخلية الجرثومية التي تقوم بتركيب جدار الخلية، المحافظة على شكلها، وتحفيز تشكيل روابط متصلبة بين سلاسل البيتيودوغликان transpeptidation، لذا فإن تعرض الخلايا الجرثومية للبنسلينات يمنع تركيب جدار الخلية ويسبب تبدلات شكلية وانحلالاً بالجراثيم ويعمل تشكيل الروابط المتصلبة الأساسية لكمال جدار الخلية الجرثومية. لذا تعتبر هذه المضادات مبيدة للجراثيم التي تترك البيتيودوغликان في جدارها الخلوي ولا تعد فعالة ضد المفطورات والأوالي والفطور والفيروسات.

يحدد الطيف المضاد للجراثيم لمختلف البنسلينات من خلال قدرة عبورها للبيتيودوغликان في جدار الخلية الجرثومية والوصول إلى البروتينات الرابطة للبنسلين. وتحدد حساسية البروتينات الرابطة للبنسلين شحنة المضاد الحيوي وكراهيته للماء. تملك الجراثيم إيجابية الغرام جداراً خلويًا سهل العبور من قبل البنسلينات لذا تكون هذه الجراثيم في حال غياب المقاومة حساسة لهذه الأدوية. تملك الجراثيم سلبية الغرام جداراً خلويًا يحوي طبقة شحمية عديدة السكاريد تحيط بجدار الخلية تشكل حاجزاً أمام البنسلينات الذوابة بالماء ولكنها تحوي بروتينات تدعى البورينات تسمح بمرور البنسلينات [87].

#### 2-1-3-1 bacterial resistance المقاومة الجرثومية

تنجم المقاومة الجرثومية للبنسلينات عن الاماهة الأنزيمية لحلقة البيتاالاكتام بفعل البيتاالاكتاماز (البنسليناز) الذي يتشكل من قبل العقدويات والعديد من سلبيات الغرام والذي يؤدي لفقدان الفعالية المضادة للجراثيم ويتم تثبيط

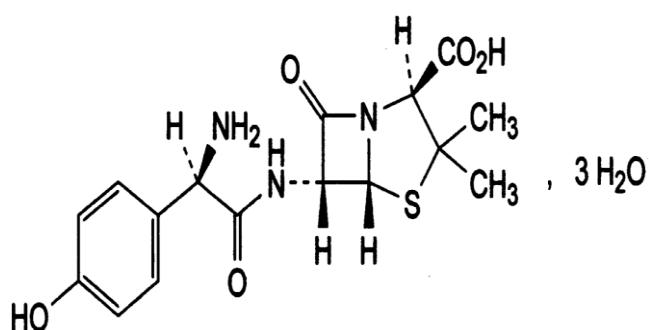
هذه الأنزيمات بواسطة clavulanic acid, sulbactam, tazobactam وتعتبر هذه الآلية هي الأكثر شيوعاً لحدوث المقاومة الجرثومية. يعتبر التبدل البنوي في البروتينات الرابطة للبنسلين من آليات مقاومة العنقديات تجاه الميتسيلين والمكورات الرئوية تجاه البنسلين G. وتساهم أيضاً التبدلات في بنية porins البروتينية في الغشاء الخارجي لبعض العصيات سلبية الغرام (مثل العصيات الزرق) في المقاومة من خلال إعاقة وصول البنسلينات إلى البروتينات الرابطة [87].

### 2-3-1- الأموكسيلين Amoxicillin

يعتبر الأموكسيلين مضاد إنفلونزا صناعي (يوجد بشكل أموكسيلين تري هيدرات وأموكسيلين صوديوم)، وهو مضاد حيوي مشابه للأمبيسين مشتق من نواة البنسلين الأساسية 6-أمينو بنسلينيك أسيد الذي تتم معالنته مع Dane enamine كوسيلط تفاعل وتدعى هذه الطريقة بالاصطناع p-hydroxy phenyl glycine [88,89]، والصيغة الجزيئية للأموكسيلين تري هيدرات  $C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$ ، ويعبر عنه كيميائياً:

(2S,5R,6R)-6-[ (R) - (-) - 2 - Amino - 2 - (p-hydroxyphenyl) acetamido]-3,3 dimethyl7-oxo- 4 - thia -1- azabicyclo [3.2.0] heptanes - 2 - carboxylic acid trihydrate

ويوضح (الشكل 62) البنية الجزيئية للأموكسيلين تري هيدرات:

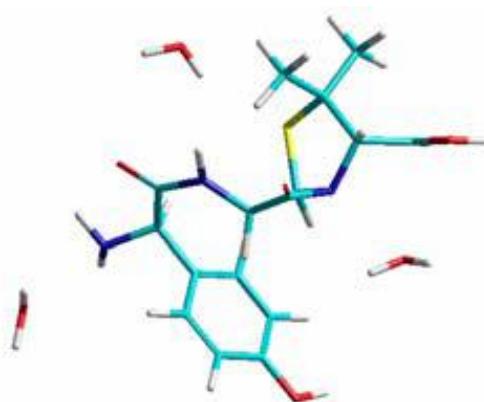


(الشكل 62): البنية الجزيئية للأموكسيلين تري هيدرات [90]

توجد عدة أشكال للأموكسيلين وتتضمن أحادي الهيدرات وثنائي الهيدرات التي تمت دراستها ومقارنتها مع ثلاثي الهيدرات ووجد أن الشكل ثلاثي الهيدرات هو الشكل الأكثر ثباتاً (الشكل 63) [91]

يمتلك الأموكسيلين طيفاً مصادراً للجراثيم إيجابية الغرام وهو أكثر فعالية من البنسلينات الأخرى ضد العصيات سلبية الغرام. يملك الأموكسيلين تري هيدرات توافراً حيوياً جيداً عند إعطائه فموياً، كما أنه لا يتآثر بوجود الطعام في المعدة، ويمكن زيادة فعالية الأموكسيلين تري هيدرات اتجاه الجراثيم المنتجة لأنزيمات  $\beta$ -lactamase بالإضافة لمركبات مثل الكلافولانيك أسيد، فقد أظهرت الدراسات أن هذه المشاركة تجعل الأموكسيلين تري هيدرات أكثر مقاومة للحلمة الأنزيمية التي تتم على الرابطة الأميدية في حلقة  $\beta$ -لاكتام.

عزلت العديد من أنماط الجراثيم متضمنة جراثيم منتجة لـ  $\beta$ -لاكتاماز من أوساطٍ بيطرية، وأثبتت هذه الجراثيم حساسيتها اتجاه مشاركة الأموكسيلين مع الكلافولانات في الوسط الزجاجي ولكن هذه الفعالية لم توثق بعد البعض أنواع الجراثيم في الوسط الحي. يتوفر الأموكسيلين تري هيدرات في الأسواق بعدة أشكال صيدلانية تتضمن محافظ، مضغوطات، معلقات، مستحضرات معدة للحقن، ويعتبر هذا المضاد المشارك مع الكلافونيك أسيد من أكثر المستحضرات استخداماً في أيامنا هذه [87].



(الشكل 63): البنية الجزيئية الفراغية للأموكسيلين تري هيدرات

يستخدم الأموكسيلين تري هيدرات في معالجة التهابات الطرق التنفسية السفلي، التهابات الأنف الوسطى، التهاب الجيوب، التهابات الجلد وملحقاته، التهابات الجهاز البولي.

تكون الآثار الجانبية عادةً خفيفة ومؤقتة وتشمل إسهال، غثيان، عسر هضم، إقياء، طفح جلدي، حكة، والتهاب مهبلي. لا يوصف لمن عندهم تحسس مفرط اتجاه مركبات البنسلين والسيفالوسبورين على اعتبار أن الأموكسيلين يملك الخواص السمية لمجموعة البنسلينات. وفي حال حدوث تفاعلات أرجية يوقف الدواء وتعطى المعالجة المناسبة بالإدرينالين كتسريحوريدي. قد يحدث التهاب كولون غشائي كاذب يتراوح من الخفيف إلى المهدد للحياة كون الأموكسيلين يغير الفلورا الطبيعية للكولون لذا يؤخذ هذا التشخيص بعين الاعتبار في حالة حدوث إسهال. يُستعمل عند الحاجة إذا دعت الضرورة (يعتبر من الفئة A) ويعطى بحذر عند الأمهات المرضعات كونه يطرح في حليب الأم [87].

يتوفر صيدلانياً على شكل محافظ بعيار 125mg/5ml و 250mg و 500mg ، وعلى شكل معلق بعيار 250mg/5ml و 500mg و 1000mg.

وبالمشاركة مع الكلافولانيك أسيد على شكل مضغوطات بعيار 250/125mg و 500/125mg و 400/57mg/5ml و 875/125mg و على شكل معلق 250/63.5mg/5ml و 125/31.25mg/5ml و 1000mg/200mg و 500mg/100mg.

الجرعة: للبالغين: 500mg مرتين باليوم في حال الأخفاج الخفيفة إلى المتوسطة، 500mg ثلث إلى أربع مرات باليوم بالأخفاج الشديدة وأخفاج الجهاز التنفسي.

للأطفال (عمر ثلات أشهر فما فوق): 25-40mg/kg مقسمة على ثلاثة جرعات باليوم [92].

-معلومات عن الخلية البلورية للأموكسيلين تري هيبرات.

(الجدول 2): معلومات عن الخلية البلورية للأموكسيلين تري هيبرات مأخوذة من Boles et al [93].

تبليور بشكل معين رباعي Orthorhombic	فئة التبليور Crystal class
P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>	التجمع الفراغي Space Group
a=15.622Å <sup>0</sup> b=18.785Å <sup>0</sup> c=6.645Å <sup>0</sup>	أطوال الخلية الواحدة Unit Cell length
α=β=γ=90°	زوايا الخلية الواحدة Unit cell angles
4	عدد الجزيئات في الخلية الواحدة Molecules in unit cell
1429.4Å <sup>03</sup>	حجم الخلية Cell volume
غير مذكور Not reported	الكثافة Density

## 2. أهمية البحث

### AIM OF STUDY

يهدف هذا البحث إلى دعم الصناعة الدوائية الوطنية بإعطاء دراسةٍ جديدةٍ عن الخواص الفيزيوكيميائية المؤثرة في فعالية المستحضرات الدوائية وأدائها. وباعتبار أن أبعاد الجسيمات تؤثر على تجانس المزج والتعبئة، وبالتالي تجانس توزع المادة الدوائية في الأشكال الجرعية الصلبة، توجهنا للتحري عن أبعاد جسيمات المواد الأولية المأخوذة من المصادر المختلفة قبل إجراء عملية التعبئة ودراسة مدى تأثير اختلاف تلك الأبعاد على تجانس وتحرر بعض المضادات الحيوية في الأشكال الصيدلانية الصلبة. كما تمت دراسة الأشكال البلورية لهذه المواد الأولية بهدف التحري عن مدى تأثير ظروف البلورة في الخواص الفيزيوكيميائية لهذه المادة والتي قد ينتج عنها اختلافاً بفعالية المنتجات الدوائية وأدائها في الوسط الحي<sup>[4]</sup>.

قمنا بدراسة إعادة البلورة للمادة الأولية المأخوذة بهدف تحسين خواص تلك المادة، وتحديد بعض الشروط الأمثل لتحضير بلورات المادة الأولية التي تساعده في الحصول على منتج دوائي موافقاً للمواصفات الدستورية ومحقاً لفعاليته الأكبر عند انحلاله في الأوساط الحية<sup>[14]</sup>.

وانطلاقاً من أهمية الخواص الفيزيوكيميائية للمواد الدوائية وتأثيرها على جودة المنتج الدوائي أقرت منظمة الغذاء والدواء الأمريكية Food and Drug Administration FDA الرقابة التحليلية للمواد الدوائية أثناء الإنتاج Process Analytical Technology PAT والتي تقضي مراقبة المواد الفعالة عند كل مرحلة من مراحل التصنيع بأجهزة وتقنيات حديثة تتخلص الكلفة المبذولة وتتوفر الوقت المستهلك في تحليل العينات بالطرق التقليدية<sup>[1,2]</sup>.

اقترحت مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة كتقنية حديثة لتحديد بعض الخواص الفيزيوكيميائية للمادة المدروسة كونها تحقق متطلبات PAT بسرعتها في القياس، عدم تخربها للعينات المقاومة، وتوفيرها للعديد من المحلات المكلفة والضارة، وتقليلها لعدد الأيدي العاملة التي تتطلبها الطرق التقليدية. ونشرت حديثاً العديد من المقالات التي توضح ارتفاع انتشار هذه التقنية وأهميتها في الصناعات الدوائية العالمية<sup>[38]</sup>.

وحرصاً منا على النهوض بالصناعة الدوائية المحلية ورفدها بأحدث الطرق التحليلية، قمنا بتطوير طريقة تحليلية جديدة لتحديد البعد الجسيمي والشكل البلوري للمادة المدروسة باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة، آملين أن يسهم هذا البحث بتقديم فكرة علمية جديدة في مجال الصناعة الدوائية.

### 3. الطرق والمواد

## METHODS AND MATERIALS

### 1-3- الأجهزة والأدوات:

استخدمنا في هذا البحث الأجهزة التالية:

- هزازة مناخل الكترومغناطيسية Electromagnetic sieve shaker مزودة بثمان مناخل أبعادها .(1mm, 850μm, 600μm, 500μm, 250μm, 125μm,63μm,45μm)
- (1-1mm, SS-316, Serial. No: 0500083, 2-850μm, SS-316, Serial. No: 0500298, 3-600μm, SS-316, Serial. No: 0500107, 4-500μm, SS-316, Serial. No: 02020126, 5-250μm, SS-316, Serial. No:0201981, 6-125μm, SS-316, Serial. No:02019652, 7-63μm, SS-316, Serial. No:02010043, 8-45μm, SS-316, Serial. No:02107007)
- جهاز قياس الكثافة الربيتية من شركة Campbell Electronics موديل C-TDA2 ، رقمه التسلسلي CTD-30
- جهاز التحليل بطيف الامتصاص الضوئي المرئي وما فوق البنفسجي UV-VIS Spectrophotometer من شركة JASCO موديل V-650 مزود بحاسوب وطابعة وخلايا قياس من الكوارتز أبعادها . 50 x 10 Mm
- مقياس الباهاء من شركة CRISON Instrument S.A Titromatric موديل GLP21 ورقمه التسلسلي: .00404
- جهاز الانحلال (I) USP من شركة pharma Test والذي يعرف بالسلة الدوارة.
- مجهر الفلورة الماسح BRUNEL Microscope Ltd ، موديل: SP-98-FL Inverted رقمية موصولة إلى جهاز حاسوب يستخدم لانتقاد صور البلورات.
- جهاز التقاضل الحراري من شركة Linseis ، موديل PI-10.
- جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC من شركة Shimadzu اليابانية موصول إلى جهاز حاسوب مزود بطابعة والعمود المستخدم: BDS Hypersil C18 من شركة Restek ، رقمه التسلسلي: 09070589M ، طوله: 250mm ، قطره: 4.6mm ، أبعاد الحبيبات ضمن العمود: 5μm ، أبعاد المسامات:  $A^0$  140 ، والكافش المستخدم: كافش الأشعة فوق البنفسجية SPD-10AV Shimadzu uv-
- Serial LC- 20AD Shimadzu Serial No.C20343302046 ، vis detector No.L20104405091AE
- جهاز قياس أشعة الطيف الإلكترومغناطيسية تحت الحمراء المزود بتحويل فوريه موصول إلى جهاز حاسوب مزود بطابعة من شركة Bruker الألمانية، موديل: Alpha، Serial No.100940
- جهاز قياس أشعة الطيف الإلكترومغناطيسية تحت الحمراء القريبة موصول إلى جهاز حاسوب مزود بطابعة من شركة Buchi السويسرية، موديل: N-5000

- جهاز الأمواج فوق الصوتية من شركة HWASHIN الكورية موديل Powersonic 405
- ميزان تحليلي من شركة Sartorius الألمانية موديل S BP 221 S حساسيته 0.1 mg
- ماصات ميكروية متبدلة الحجم نصف آلية من شركة Isolab الألمانية سعتها العظمى: 10 $\mu$ l ، 5ml ، 1000 $\mu$ l ، 100 $\mu$ l
- بالإضافة إلى دوارة حجمية مختلفة السعة وغيرها من الأدوات المخبرية.

### 2-3. المواد وال محلات:

تنتصف جميع المواد المستخدمة في هذا البحث بأنها من النوع عالي النقاوة:

- كلوريد البوتاسيوم KCl، حمض كلور الماء HCl، فوسفات البوتاسيوم الحامضية  $K_2HPO_4$  ، ماءات الصوديوم NaOH، كلوريد الصوديوم NaCl، ماءات البوتاسيوم KOH، فوسفات أحادية البوتاسيوم  $KH_2PO_4$ : درجة نقاوة تحليلية
- الأسيتونترييل والميتانول من شركة Panreac: درجة نقاوة HPLC
- ماء ثنائي التقطير منزوع الشوارد يستخدم في تحضير المحاليل المائية.
- أموكسيلين تري هيدرات عياري، نقاوته 99.99%， وزنه الجزيئي: 419.46
- ( U.S.P Reference Standard, Catalog number: 1031503 , RTECS Number: XH8310000)
- أموكسيلين تري هيدرات مأخوذ من ثمان مصادر
- 1- DSM anti-infectives Egypt S.A.E, batch. No: A403410 (compacted).
- 2 -Oman Chemicals, batch. No: 53-06090-0730A(compacted).
- 3- DSM Anti-Infectives India Limited, batch. No: M521414(compacted).
- 4 - Parabolic drugs, India, batch. No: FCCPD0986001(compacted).
- 5 - DSM anti-infectives Egypt S.A.E, batch. No: A449822(compacted).
- 6 - DSM anti-Infectives India Limited, batch. No: M552348(compacted).
- 7-Parabolic drugs, India, batch. No:FCCPD0902341 (powder).
- 8-DSM anti-Infectives India Limited, batch. No:M325677(powder).
- محافظ جيلاتينية قاسية (قياس: 4).

### 3-3- الطرانق Methods

#### 1-3-3- اختبار انسيابية المساحيق Powder flowability test

تم أخذ عينات من الأموكسيلين تري هيدرات من عدة مصادر مختلفة بكتلة (w) 100 غرام. وُضعت العينات في أنبوب مدرج سعته 250 مل مثبت على جهاز الكثافة، وتم قياس الحجم الظاهري بالمقاييس المدرج  $V_0$ ، ثم تم قياس الحجم بعد إجراء عملية الربت  $V_{tap}$  وهو الحجم الذي يثبت ولا يتغير مهما زاد عدد الرببات، تم أخذ المتوسط الحسابي لثلاث قياسات، وحسبت الكثافة الحجمية والكثافة الربتية بالعلاقات التالية:

$$\text{Bulk Density } [Db] = \frac{W}{V_0} \quad \text{الكثافة الحجمية}$$

$$\text{Tapped Density } [D_{tap}] = \frac{W}{V_{tap}} \quad \text{الكثافة الربتية}$$

استخدمت الكثافات السابقة لحساب منسوب الانضغاط compressibility index ونسبة Hausner وفقاً

للعلاقات التالية [94]:

$$1 \quad \text{Compressibility Index } (CI) = \frac{[D_{tap}] - [Db]}{[D_{tap}]} \times 100 \quad \text{العلاقة 1}$$

$$2 \quad \text{Hausner Ratio} = \frac{[D_{tap}]}{[Db]} \quad \text{العلاقة 2}$$

#### 2- طريقة تحديد توزيع أبعاد الجسيمات

#### Procedure for particle size distribution estimation

وُضعت عينات الأموكسيلين تري هيدرات ذات المصادر المختلفة على هزازة المناخل الإلكترومغناطيسية لمدة 10 دقائق، تم اختيار المناخل لتغطي كامل مجال أبعاد الجسيمات الموجودة في العينات من 45 ميكرومتر حتى 1 ملم. ينتهي اختبار تحليل الأبعاد عبر المناخل عندما يثبت وزن كل منخل من المناخل الاختبار، ولا يسمح بتغيير في الوزن يتجاوز 5 % من وزنه.

#### 3-3-3- تحديد الشكل البلوري لمادة الأموكسيلين تري هيدرات.

#### Crystal Shape determination of amoxicillin trihydrate

تم تحديد الشكل البلوري للمسحوق باستخدام التقنيات التالية :

#### - مجهر الفلورة الماسح Scanning Fluorescence Microscope

(BRUNEL Microscope Ltd) المزود بكاميرا رقمية موصولة إلى جهاز حاسوب يستخدم لتسجيل صور البلورات بعد توزيع مسحوق المادة الأولية على عدسات زجاجية.

- قياس طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة المنعكسة spectra Measurment of reflectance NIR

يتم قياس طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة المنعكسة عن العينة بعد وضعها في ست خلايا زجاجية اسطوانية الشكل على قرص دوار . تُعرض الخلايا على منبع الأشعة تحت الحمراء القريبة الموصول إلى جهاز حاسوب يظهر الطيف الخاص بكل مادة. تُجمع الأطيفات الخاصة بعينات الأموكسيلين تري هيدرات للأشكال البلورية والأبعاد الجسيمية المختلفة، وتنم معالجتها بطرق إحصائية خاصة للحصول على مدلولات تتعلق بتغير الشكل البلوري والبعد الجسيمي للمادة الأولية.

#### 4-3-3. pH Measurement

يُقاس الباهاء لمحلول الأموكسيلين تري هيدرات ذي التركيز (2 ملغم/مل) المأخوذ من عدة مصادر ، والمعاد بلورته عند درجات باهاء مختلفة. يُحضر المحلول باستخدام ماء ثنائي التقطير ، ويمكن الاستعانة بجهاز الأمواج فوق الصوتية لحل المادة الدوائية.

يستخدم مقياس الباهاء المعايير وفقاً لمحاليل عيارية ، والذي لا يسمح بتفاوت بين القراءات يتجاوز 0.02 من وحدات قياس الباهاء وفقاً لشروط دستور الأدوية الأمريكي [94].

#### 5-3-3. تحضير حافظ جيلاتينية قاسية و إجراء فحص الانحلال.

#### Preparation of hard gelatin capsules and dissolution testing

تم تحضير حافظ جيلاتينية قاسية لمادة الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من عدة مصادر ، وتم تحضير حافظ جيلاتينية قاسية لمادة الأموكسيلين تري هيدرات ذات الأبعاد الجسيمية المختلفة بعد أن تم فصلها بالمناخل. ثم حُضرت حافظ جيلاتينية قاسية لمادة الأموكسيلين تري هيدرات معادة البلورة وبعد جسمي واحد عند درجات باهاء مختلفة. وُضع في جميع المحافظ السابقة جرعة دوائية فردية قدرها 250 ملغم أموكسيلين تري هيدرات.

تم استخدام جهاز الانحلال I حسب دستور الأدوية الأمريكي USP 30 والذي يعرف بالسلة الدوارة ، وبوسط مائي بحجم 900 مل عند درجة حرارة  $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$  درجة مئوية وعدد دورات 100 دورة بالدقيقة [94]. تؤخذ العينات على فواصل زمنية 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90 دقيقة من المحلول السابق. قيس الامتصاص باستخدام مطيافية فوق البنفسجية عند طول موجة 272 نانومتر بعد الترشيح.

تم حساب الانحراف المعياري النسبي لثلاث قراءات متتالية لكل فاصل زمني.

F2 يقارن تحرر عينات الأموكسيلين تري هيدرات المختلفة في الوسط الزجاجي باستخدام عامل التشابه ويحسب بالمعادلة التالية:

$$F2=50.\log\left\{1+\frac{1}{n}\sum(Rt-Tt)^2\right\}^{-0.5} \cdot 100$$

n هو عدد النقاط الزمنية التي تحسب عندها نسبة المادة الدوائية المنحلة، Rt هي النسبة المئوية المنحلة من العينة عند النقطة الزمنية المحددة، Tt هي النسبة المئوية المنحلة من العينة المقارنة (المرجعية) عند نفس

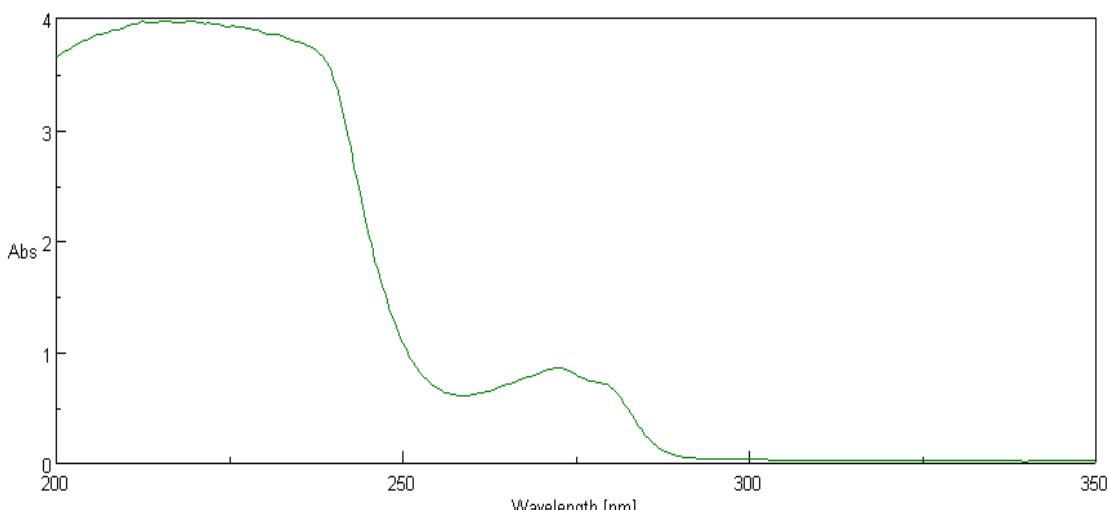
النقطة الزمنية. يأخذ عامل التشابه قيمًا تتراوح بين 0 و100، ويأخذ القيمة 100 عندما يكون تحرر العينة والعينة المرجعية متطابقاً تماماً، وتقترب من الصفر كلما زاد الاختلاف في تحرر العينة عن العينة المرجعية، وعندما يأخذ F2 قيمًا أعلى من 50 فإن هذا يدل على التشابه في تحرر العينتين.

#### 6-3-3- التحقق من صلاحية طريقة UV الطيفية المتبعة في تحليل العينات المأخوذة من فحص الانحلال.

##### Verification of UV spectrophotometric method using in analysis of the dissolution samples.

###### تحديد طول الموجة الأعظمي :

حضر محلول مائي من الأموكسيلين تري هيدرات العياري معلوم التركيز ( $0.3\text{mg/ml}$ )، أجري مسح طيفي لهذا محلول في مجال الأشعة فوق البنفسجية ابتداءً من طول الموجة  $200\text{nm}$  حتى طول الموجة  $350\text{nm}$  فتم الحصول على الطيف (الشكل 64).



(الشكل 64): طيف الأشعة فوق البنفسجية لمادة الأموكسيلين تري هيدرات الذي يبين طول الموجة الأعظمي عند  $272\text{nm}$ .

###### تحضير المحلول الأم :Stock solution

تم وزن  $250\text{mg}$  من الأموكسيلين تري هيدرات العياري، ونقلها لدورق حجمي سعته  $250\text{ml}$  ، أضفنا  $100\text{ml}$  من الماء المقطر، ثم وضعنا الدورق في جهاز الأمواج فوق الصوتية لمدة  $15$  دقيقة، أكملنا الحجم حتى  $250\text{ml}$  بالماء المقطر فحصلنا على محلول أم تركيزه ( $1\text{mg/ml}$ ) حيث تم تحضير السلسلة العيارية انطلاقاً منه.

###### تحضير السلسلة العيارية المستخدمة لحساب الخطية:

حضرت ستة محليلات بتركيزات مختلفة من الأموكسيلين تري هيدرات العياري ( $0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05\text{ mg/ml}$ ) كما يلي:

تم أخذ 5ml من محلول الأُم و مدد إلى 100ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.05mg/ml). تم أخذ 2.5ml من محلول الأُم و مدد إلى 25ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.1mg/ml). تم أخذ 5ml من محلول الأُم و مدد إلى 25ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.2mg/ml). تم أخذ 7.5ml من محلول الأُم و مدد إلى 25ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.3mg/ml). تم أخذ 10ml من محلول الأُم و مدد إلى 25ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.4mg/ml). تم أخذ 12.5ml من محلول الأُم و مدد إلى 25ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.5mg/ml).

#### **تحضير محليل حساب التكرارية:**

حضرت 10 محليل من الأموكسيلين تري هيدرات بنفس التركيز (0.2mg/ml).

#### **تحضير السلسلة العيارية المستخدمة لحساب الصحة:**

حضر خمسة عشر محلول بتركيزات مختلفة من الأموكسيلين تري هيدرات العياري (0.45, 0.35, 0.25, 0.15, 0.08 mg/ml) كل تركيز ثلاثة محليل كما يلي: تم أخذ 8ml من محلول الأُم و مدد إلى 100ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.08mg/ml). تم أخذ 7.5ml من محلول الأُم و مدد إلى 50ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.15mg/ml). تم أخذ 12.5ml من محلول الأُم و مدد إلى 50ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.25mg/ml). تم أخذ 17.5ml من محلول الأُم و مدد إلى 50ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.35mg/ml). تم أخذ 22.5ml من محلول الأُم و مدد إلى 50ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.45mg/ml).

#### **تحضير السلسلة العيارية المستخدمة لحساب (حساسية الطريقة) حد الكشف وحد التحديد الكمي:**

حضر 20 محلول بتركيزات مختلفة من الأموكسيلين تري هيدرات العياري (0.06, 0.04, 0.03, 0.02, 0.01mg/ml) كل تركيز 4 محليل كما يلي: تم أخذ 1ml من محلول الأُم و مدد إلى 100ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.01mg/ml). تم أخذ 2ml من محلول الأُم و مدد إلى 100ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.02mg/ml). تم أخذ 3ml من محلول الأُم و مدد إلى 100ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.03mg/ml). تم أخذ 4ml من محلول الأُم و مدد إلى 100ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.04mg/ml). تم أخذ 6ml من محلول الأُم و مدد إلى 100ml بالماء المقطر فتم الحصول على محلول بتركيز (0.06mg/ml).

### : Buffer preparation 7-3-3

تم استخدام كلوريد البوتاسيوم  $\text{KCl}$  وحمض كلور الماء  $\text{HCl}$  لتحضير وسط درجة باهاء  $\text{pH}=2$  واستخدمت فوسفات البوتاسيوم الحامضية  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  وماءات البوتاسيوم  $\text{KOH}$  لتحضير أوساط ذات درجات باهاء  $\text{pH}=4,7$ ، واستخدمت ماءات الصوديوم و كلوريد الصوديوم لتحضير أوساط ذات درجات باهاء  $\text{pH}=9,11$ .

### : Recrystallization Procedure 8-3-3

تمت إعادة بلورة الأموكسيلين تري هيذرات من أوساطٍ مائيةٍ عند درجات باهاء مختلفة  $\text{pH}=2,4,7,9,11$  من خلال حل 3 غرامات من الأموكسيلين تري هيذرات في 80ml من الوسط المناسب عند درجة حرارة 80 درجة مئوية (محاليل فوق مشبعة من الأموكسيلين تري هيذرات).

تم ترشيح المحاليل السابقة عبر فلاتر أبعاد مساماتها 0.45 ملي متر، وُضعت الرشاحات عند درجة حرارة 8 درجة مئوية لفترة زمنية تعادل 48 ساعة، تم ترشيح البلورات المترسبة ثم بُعثرت هذه البلورات على أطباق بتري وجفت في فرن مخلٍ من الهواء على درجة حرارة الغرفة ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) درجة مئوية لمدة يومين، تم حفظ البلورات في زجاجات خاصة في درجة حرارة الغرفة قبل الاستخدام.

### 9-3-3. معايرة الأموكسيلين تري هيذرات باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) والتحقق من صلاحية الطريقة التحليلية.

#### Assay of amoxicillin trihydrate using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and validation of the analytical method.

##### تحضير الوقاقي الفوسفاتي (0.05M):

تم وزن 3.4g من فوسفات أحادية البوتاسيوم  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ونقلها لدورق حجمي سعته 500ml أضفنا 250ml ماء مقطر معد  $\text{HPLC}$ ، ثم وضعنا الدورق في جهاز الأمواج فوق الصوتية لمدة 15 دقيقة، أكملنا الحجم حتى 500ml بالماء المقطر، وعدلنا pH المحلول الناتج بهيدروكسيد البوتاسيوم (45%) للوصول إلى درجة باهاء (5.0±0.1) ورشحنا الوقاقي الفوسفاتي الناتج عبر ورق ترشيح مع تطبيق ضغط منخفض.

##### تحضير الطور المتحرك:

يتم تحضيره باستخدام الوقاقي الفوسفاتي (0.05M)، الميتانول، الأسيتونتريل بنسب حجمية قدرها (20:20:60) على التسلسل، ويتم وضعه بجهاز الأمواج فوق الصوتية لمدة 15 دقيقة للتخلص من الفقاعات الهوائية.

### **تحضير المحلول العياري الرئيسي:**

تم وزن 250mg من الأموكسيلين تري هيبرات العياري، ونقلها لدورق حجمي سعة 250ml ، أضفنا 100ml من الوقاء الفوسفاتي (0.05M)، ثم وضعنا الدورق في جهاز الأمواج فوق الصوتية لمدة 15 دقيقة، أكملنا الحجم حتى 250ml بالوقاء الفوسفاتي فحصلنا على محلول أم تركيزه (1mg/ml) حيث تم تحضير السلسلة العيارية انطلاقاً منه.

### **تحضير السلسلة العيارية المستخدمة لحساب الخطية:**

حضرت ستة محلائل بتركيز مختلف من الأموكسيلين تري هيبرات العياري (40, 80, 90, 100, 130, 150 µg /ml) كما يلي:

تمأخذ 4ml من محلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (40µg /ml). تمأخذ 8ml من محلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (80µg /ml). تمأخذ 9ml من محلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (90µg /ml). تمأخذ 10ml من محلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (100µg /ml). تمأخذ 13ml من محلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول على محلول بتركيز (130µg /ml). تمأخذ 15ml من محلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول على محلول بتركيز (150µg /ml).

### **تحضير السلسلة العيارية المستخدمة لحساب الصحة:**

حضرت خمسة عشر محلول بتركيز مختلف من الأموكسيلين تري هيبرات العياري (50, 60, 70, 110, 140 µg /ml) كل تركيز ثلاثة محلائل كما يلي:

تمأخذ 5ml من محلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (50µg /ml). تمأخذ 6ml من محلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (60µg /ml). تمأخذ 7ml من محلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (70µg /ml). تمأخذ 11ml من محلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (110µg /ml). تمأخذ 14ml من محلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول على محلول بتركيز (140µg /ml).

### **تحضير السلسلة العيارية المستخدمة لحساب حد الكشف وحد التحديد الكمي:**

حضر 16 محلول بتركيز مختلف من الأموكسيلين تريهيبرات العياري (25, 15, 10, 5 µg /ml) كما يلي:

تم أخذ 2.5ml من المحلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (25 $\mu\text{g}$  /ml). تم أخذ 1.5ml من المحلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (15 $\mu\text{g}$  /ml). تم أخذ 1ml من المحلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (10 $\mu\text{g}$  /ml). تم أخذ 0.5ml من المحلول الأم ومدد إلى 100ml بالطور المتحرك فتم الحصول على محلول بتركيز (5 $\mu\text{g}$  /ml).

#### تحضير محليل حساب التكرارية:

حضرت 10 محليل من الأموكسيلين تري هيدرات بنفس التركيز (100 $\mu\text{g}$  /ml).

#### تحضير محليل التجربة:

حضرت محليل التجربة للأموكسيلين تري هيدرات المأخوذ من ثمان مصادر، والأموكسيلين تري هيدرات معاد البلورة عند درجات pH (2, 4, 7, 9, 11) بتركيز (100 $\mu\text{g}$  /ml).

ومُرر حجاً كافٍ من جميع محليلات المحضر عبر قرص ترشيح (Nylon Disk – 0.45 $\mu\text{m}$ ) ثم تم حقنه في جهاز HPLC.

#### الحسابات الإحصائية:

تم اعتماد المتوسط الحسابي لنتائج التجارب وتم حسابه من العلاقة :

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

والانحراف المعياري (Standard Deviation) من العلاقة:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

والانحراف المعياري النسبي المئوي (Percent Relative Standard Deviation) من العلاقة:

(RSD %)

$$RSD\% = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

وتم تحديد النسبة المئوية للإسترداد (Recovery %) من العلاقة:

$$Recovery\% = \frac{C_{found}}{C_{taken}} \times 100$$

### **10-3-3- تحليل عينات الأموكسيلين تري هيدرات بجهاز التفاضل الحراري (DSC)**

#### **Analysis of amoxicillin trihydrate samples using Differential Scanning Calorimetry (DSC)**

يتم تحديد الخواص الحرارية لعينات الأموكسيلين تري هيدرات باستخدام جهاز التفاضل الحراري بمعدل تسخين يصل إلى  $10^{\circ}\text{C}\backslash\text{min}^{-1}$  وصولاً إلى الدرجة  $250^{\circ}\text{C}$ ، يتم وزن العينات بدقة على الجزء السفلي من عبوة الألمنيوم بوزن يقدر بـ  $4\text{mg}$  لكل عينة، ويتم تغطية العينة بالجزء العلوي من عبوة الألمنيوم ويحكم إغلاقها بالضغط بمكبس خاص، توضع عبوة الألمنيوم فارغة (عينة مرجعية reference sample) بجانب العبوة التي تحتوي العينة في جو من غاز الآزوت، والغاية منها قياس الفرق بين الطاقة المقدمة للعينة والطاقة المقدمة للعينة المرجعية للكشف عن الظواهر التي تكتسب أو تنشر حرارة.

#### 4. النتائج والمناقشة

#### RESULTS AND DISCUSSION

حاولنا في دراستنا تحديد الخواص الفيزيوكيميائية للمواد الأولية ذات المصادر المختلفة والمستعملة محلياً في الصناعة. ثم عمدنا إلى تحسين هذه الخواص من خلال إعادة البلورة في درجات باهاء مختلفة بهدف زيادة معدل الانحلال الذي يؤدي إلى منتجات وطنية ذات فعالية دوائية جيدة.

#### 1-4- نتائج انسيابية المساحيق Results of powder flowability

تم اعتبار مناسب الانضغاط ونسبة Hausner كمقاييس غير مباشره لأبعاد الجسيمات، أشكالها والمساحة السطحية لها التي تؤثر تأثيراً كبيراً على انحلاليتها، وتم تحديد النتائج الحسابية لكلٍ من مناسب الانضغاط ونسبة Hausner اعتماداً على الكثافتين الحجمية والرباعية للمسحوق انطلاقاً من العلاقة 1.2. تم تقدير نمط الانسيابية المذكور في هذا الجدول مقارنة مع الحدود المسموح بها دستورياً (الجدول 3) [94].

(الجدول 3) : الحدود المسموح بها دستورياً لمناسب الانضغاط ونسبة Hausner

Hausner نسبة	نمط الانسيابية	مناسب الانضغاط % (CI)
1.00-1.11	ممتاز	<10
1.12-1.18	جيد جداً	11-15
1.19-1.25	جيد	16-20
1.26-1.34	مقبول	21-25
1.35-1.45	ضعيف	26-31
1.46-1.59	سيء	32-37
>1.60	سيء جداً	>38

(الجدول 4): النتائج الحسابية لكلٍ من نمط الانسيابية، منسٌب الانضغاط ونسبة Hausner في العينات الأصلية ومعادة البلورة

رقم المصدر	العينات	الكثافة الحجمية (mg/ml)	الكثافة الربتية (mg/ml)	منسٌب الانضغاط (CI)%	نسبة Hausner	نمط الانسيابية
No.1	العينات الأصلية	0.64	0.8	20	1.25	جيد
	pH=2*	0.63	0.78	19.2	1.23	جيد
	pH=4*	0.62	0.79	21.5	1.27	مقبول
	pH=7*	0.61	0.8	23.7	1.3	مقبول
	pH=9*	0.6	0.8	25	1.33	مقبول
	pH=11*	0.4	0.73	45.2	1.8	سيء جداً
No.2	العينات الأصلية	0.65	0.81	19.7	1.2	جيد
	pH=2**	0.63	0.79	20.25	1.25	جيد
	pH=4**	0.62	0.8	22.5	1.29	مقبول
	pH=7**	0.63	0.79	20.25	1.25	جيد
	pH=9**	0.6	0.79	24.05	1.31	مقبول
	pH=11**	0.39	0.72	45.8	1.84	سيء جداً
No.3	العينات الأصلية	0.63	0.79	20.25	1.25	جيد
	pH=2***	0.61	0.78	21.79	1.27	مقبول
	pH=4***	0.62	0.79	21.51	1.27	مقبول
	pH=7***	0.63	0.8	21.25	1.26	مقبول
	pH=9***	0.6	0.78	23.07	1.3	مقبول
	pH=11***	0.4	0.71	43.66	1.77	سيء جداً
No.4	العينات الأصلية	0.54	0.75	28	1.39	ضعيف
No.5	العينات الأصلية	0.63	0.82	23.2	1.3	مقبول
No.6	العينات الأصلية	0.67	0.79	15.18	1.18	جيد جداً
No.7	العينات الأصلية	0.4	0.73	45.2	1.82	سيء جداً
No.8	العينات الأصلية	0.43	0.71	39.43	1.65	سيء جداً

\*عينات الأموكسيلين تري هيورات المأخوذة من المصير رقم 1 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.

\*\*عينات الأموكسيلين تري هيورات المأخوذة من المصير رقم 2 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.

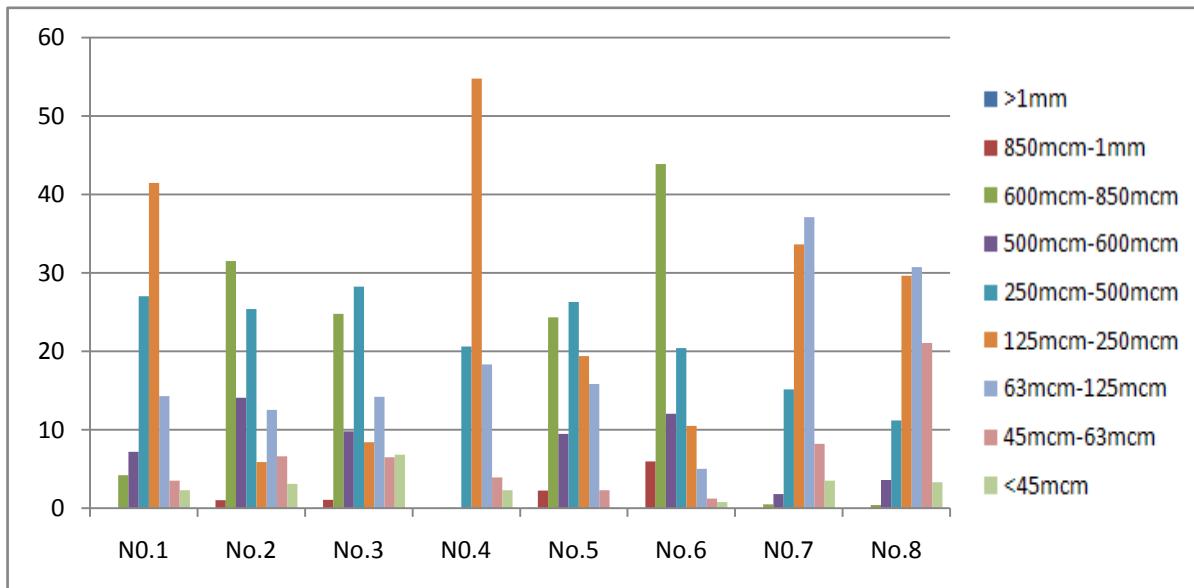
\*\*\*عينات الأموكسيلين تري هيورات المأخوذة من المصير رقم 3 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.

تظهر نتائج فحص الانسيابية في (الجدول 4) أن عينات الأموكسيلين تري هيورات معادلة البلورة عند درجات باهاء (pH=11) ذات انسيابية سيئة للمسحوق مقارنة مع عينات الأموكسيلين تري هيورات الأصلية والعينات معادة البلورة عند درجات باهاء (pH=9, 7, 4, 2). يمكن تعليل ذلك اعتماداً على القوى السطحية التي تحكم بانسيابية المسحوق منها: 1- قوى الاحتكاك، 2- قوى التوتر السطحي، 3- القوى الميكانيكية الناتجة عن تداخل الجسيمات ذات الأشكال غير المنتظمة، 4- قوى الكهرباء الساكنة، 5- قوى الالتصاق أو قوى فاندرفالس [95].

تؤثر جميع هذه القوى على انسيابية الأجسام الصلبة، وفي حال الجسيمات ذات الأبعاد الأصغر من أو المساوية لـ 125 ميكرومتر، تكون القوى المسيطرة هي قوى الاحتكاك وقوى فاندرفالس، أما في حال الجسيمات ذات الأبعاد الأكبر من 125 ميكرومتر، تكون قوى الاحتكاك أكبر من قوى فاندرفالس فكلما زادت أبعاد الجسيمات أصبحت انسيابية المساحيق جيدة (الجدول 4). لا توجد فروق هامة بقيمة الانسيابية بين المواد الأولية ومعادة البلورة عند درجات باهاء (pH=9,7,4,2) في حين تلاحظ قيمة سيئة للانسيابية للأموكسيلين تري هيدرات معاد البلورة عند درجة باهاء = 11 وربما يعود ذلك لاختلاف في نسب توزع أبعاد الجسيمات للمساحيق المدروسة والشكل البلوري لها.

#### 4-2- نتائج دراسة توزع أبعاد الجسيمات Results of particle size distribution study

أظهرت الحسابات والتقلبات المستخدمة في تحديد نسب توزع أبعاد جسيمات مساحيق المواد الأولية المستوردة والعينات معادة البلورة للمصادر رقم 1,2,3 عند درجات باهاء مختلفة (pH=2,4,7,9,11) اختلافاً بنسب توزع أبعاد الجسيمات ضمن المجال (0.045-1)مم (الشكل 65)، (الشكل 66)، (الشكل 67) و(الشكل 68)..



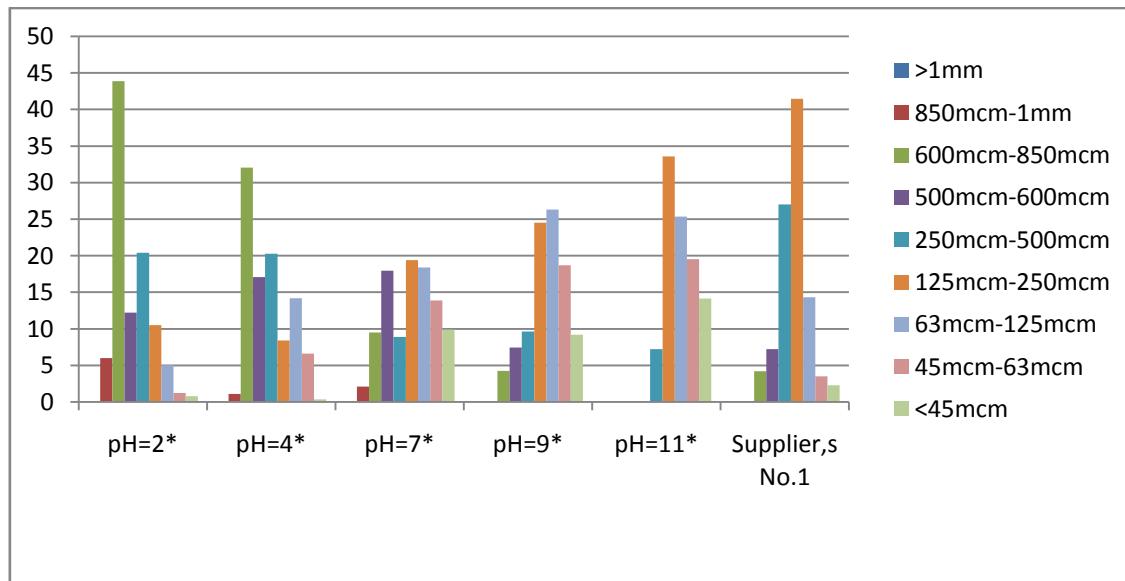
(الشكل 65): توزع أبعاد الجسيمات لعينات الأموكسيلين الأصلية المأخوذة من المصادر المختلفة.

أعطيت قيم النسبة المئوية لتوزيع البعد الجسيمي لمساحيق الأموكسيلين تري هيدرات التي تم الحصول عليها من عدة مصادر بالجدول التالي (الجدول 5).

(الجدول 5): النسب المئوية % لتوزع أبعاد الجسيمات في العينات الأصلية المأخوذة من المصادر المختلفة

<0.045 mm	0.045-0.063mm	0.063-0.125mm	0.125-0.25mm	0.25-0.5mm	0.5-0.6mm	0.6-0.85mm	0.85-1mm	>1mm	رقم المصدر
2.29	3.5	14.3	<b>41.48</b>	27.02	7.2	4.2	0.03	0	<b>No.1</b>
3.09	6.6	12.53	5.86	25.38	14.08	<b>31.49</b>	1.06	0	<b>No.2</b>
6.8	6.5	14.2	8.42	<b>28.26</b>	9.8	24.79	1.08	0.05	<b>No.3</b>
2.29	3.93	18.31	<b>54.78</b>	20.62	0.06	0.06	0.03	0	<b>No.4</b>
0.08	2.29	15.84	19.4	<b>26.29</b>	9.48	24.33	2.28	0.04	<b>No.5</b>
0.78	1.24	5.02	10.5	20.4	12.05	<b>43.89</b>	5.99	0.05	<b>No.6</b>
3.53	8.2	<b>37.11</b>	33.65	15.16	1.79	0.5	0.03	0	<b>No.7</b>
3.32	21.05	<b>30.74</b>	29.64	11.2	3.6	0.41	0.04	0	<b>No.8</b>

يظهر (الجدول 5) أن عينات الأموكسيلين تري هيورات المأخوذة من المصادر 7 و 8 تحوي أكبر نسبةً من الجسيمات التي تقل أبعادها عن  $125\mu\text{m}$  وتزيد عن أو تساوي  $63\mu\text{m}$  مقارنةً مع المصادر الأخرى (37.11%-30.74%)، وهذا يؤدي لزيادة القوى السطحية التي تتشاءم بين الجسيمات، مؤدياً ذلك إلى انسيابيةٍ سيئةٍ لهذه المساحيق، أما العينات المأخوذة من المصدر 4 فإنها تحوي أكبر نسبةٍ مئويةٍ من أبعاد الجسيمات التي تقل أبعادها عن  $250\mu\text{m}$  وتزيد عن أو تساوي  $125\mu\text{m}$  (%54.78) مما يؤدي إلى انسيابيةٍ ضعيفةٍ نسبياً مقارنةً بالعينات الأخرى. وقد أظهرت العينات المأخوذة من المصدر رقم 6 أكبر نسبةٍ مئويةٍ لأبعاد الجسيمات التي تقل أبعادها عن  $850\mu\text{m}$  وتزيد عن أو تساوي  $600\mu\text{m}$  (%43.89) مما أدى لانسيابيةٍ جيدةٍ جداً لها هذا المسحوق.



(الشكل 66): دراسة توزع أبعاد الجسيمات للعينة الأصلية والعينات معادة البلورة من المصدر رقم 1.

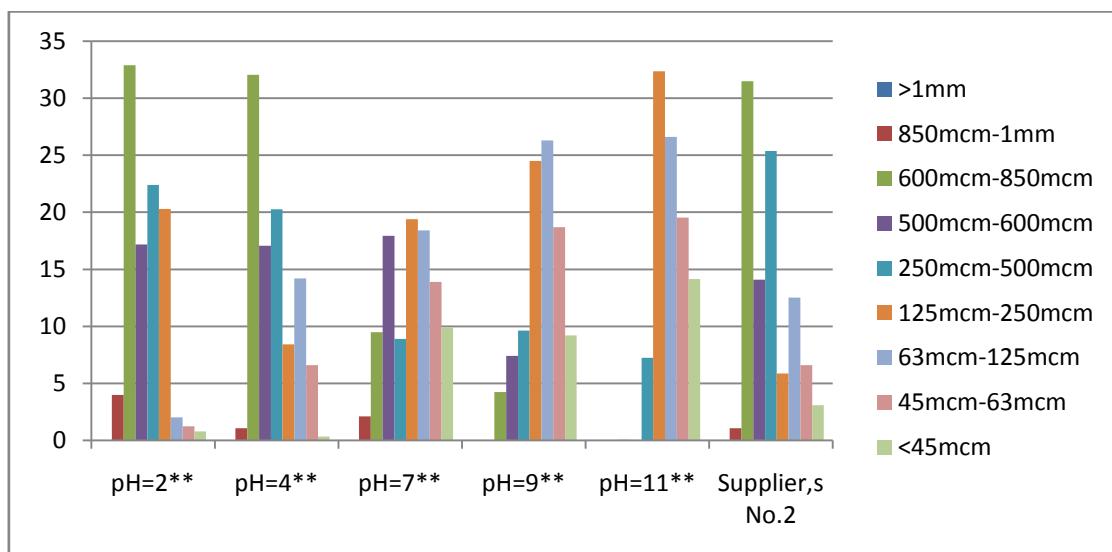
\*عينات الأموكسيلين تري هيورات المأخوذة من المصدر رقم 1 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.

أعطيت قيم النسب المئوية لتوزع البعد الجسيمي للمسحوق الأصلي ومعاد البلورة ذات المصدر رقم 1 بالجدول التالي (الجدول 6)

الجدول 6: النسب المئوية % لتوزع أبعاد الجسيمات في العينة الأصلية والعينات معادة البلورة من المصدر رقم 1

<0.045 mm	0.045-0.063mm	0.063-0.125mm	0.125-0.25mm	0.25-0.5 mm	0.5-0.6 mm	0.6-0.85 mm	0.85-1 mm	>1mm	العينات المأخوذة
0.78	1.24	5.02	10.5	20.4	12.18	<u>43.89</u>	5.99	0	pH=2*
0.34	6.6	14.2	8.42	20.27	17.05	32.04	1.08	0	pH=4*
9.9	13.89	18.4	19.4	8.89	17.93	9.48	2.11	0	pH=7*
9.2	18.7	26.31	24.5	9.62	7.41	4.24	0.03	0	pH=9*
14.15	19.54	25.37	<u>33.6</u>	7.24	0.02	0.05	0.03	0	pH=11*
2.29	3.5	14.3	41.48	27.02	7.2	4.2	0.03	0	Supplier,s No.1

\*عينات الأموكسيلين تري هيبرات المأخوذة من المصدر رقم 1 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.



\*عينات الأموكسيلين تري هيبرات المأخوذة من المصدر رقم 2 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.

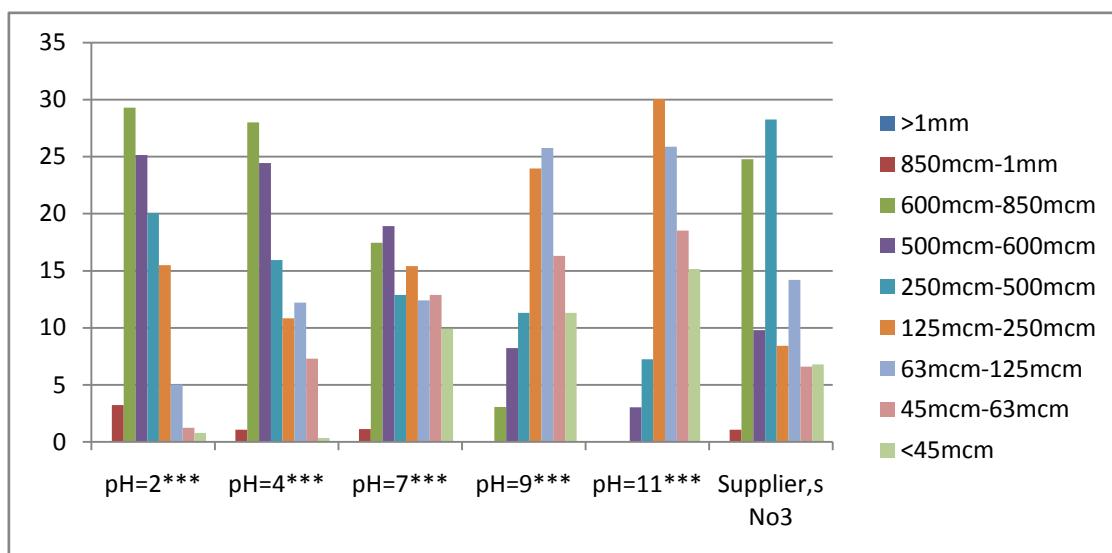
(الشكل 67): دراسة توزع أبعاد الجسيمات للعينة الأصلية والعينات معادة البلورة من المصدر رقم 2 .

أعطيت قيم النسب المئوية لتوزع أبعاد الجسيمات في العينة الأصلية ومعادة البلورة ذات المصدر رقم 2 بالجدول التالي (الجدول 7)

الجدول 7: النسب المئوية % لتوزع أبعاد الجسيمات في العينة الأصلية والعينات معادة البلورة من المصدر رقم 2

<b>&lt;0.045mm</b>	<b>0.045-0.063mm</b>	<b>0.063-0.125mm</b>	<b>0.125-0.25mm</b>	<b>0.25-0.5 mm</b>	<b>0.5-0.6 mm</b>	<b>0.6-0.85 mm</b>	<b>0.85-1 mm</b>	<b>&gt;1mm</b>	<b>العينات المأخوذة</b>
0.78	1.24	2.02	20.3	22.4	17.19	<b><u>32.88</u></b>	3.99	0	pH=2**
0.34	6.6	14.2	8.42	20.26	17.05	32.04	1.08	0	pH=4**
9.9	13.89	18.4	19.4	8.89	17.93	9.48	2.11	0	pH=7**
9.2	18.7	26.31	24.5	9.62	7.41	4.24	0.03	0	pH=9**
14.15	19.54	26.6	<b><u>32.37</u></b>	7.24	0.02	0.05	0.03	0	pH=11**
3.09	6.6	12.53	5.86	25.38	14.08	31.49	1.06	0	Supplier,s No.2

\* عينات الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من المصدر رقم 2 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.



\* عينات الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من المصدر رقم 3 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.

(الشكل 68): دراسة توزع أبعاد الجسيمات للعينة الأصلية والعينات معادة البلورة من المصدر رقم 3 .

3 أعطيت قيم النسب المئوية لتوزع البعد الجسيمي للمسحوق الأصلي ومعاد البلورة ذات المصدر رقم بالجدول التالي (الجدول 8)

الجدول 8: النسب المئوية % لتوزع أبعاد الجسيمات في العينة الأصلية والعينات معادة البلورة من المصدر رقم 3

<0.045mm	0.045-0.063mm	0.063-0.125mm	0.125-0.25mm	0.25-0.5 mm	0.5-0.6 mm	0.6-0.85 mm	0.85-1 mm	>1mm	العينات المأخوذة
0.78	1.24	5.02	15.5	20.05	25.14	<u>29.3</u>	3.23	0	pH=2***
0.34	7.3	12.2	10.38	15.94	24.45	28.02	1.08	0	pH=4***
1	12.88	12.3	15.5	12.88	18.94	17.45	1.11	0	pH=7***
11.32	16.32	25.76	23.98	11.32	8.23	3.05	0.03	0	pH=9***
15.15	18.53	25.87	<u>30.05</u>	7.26	3.02	0.05	0.03	0	pH=11***
6.8	6.6	14.2	8.42	28.26	9.8	24.79	1.08	0.05	Supplier,s No3

\*\*\* عينات الأموكسيلين تري هييدرات المأخوذة من المصدر رقم 3 ومعادة بلورة عند درجات باهاء مختلفة.

نستنتج من الجداول 6، 7، 8 أن إعادة البلورة في درجات باهاء pH=2 تعطي أعلى نسبة مئوية (29.3%) لبعد الجسيمي (0.6-0.85) مم للمصادر 1,2,3 على الترتيب، بينما تعطي إعادة البلورة عند درجة باهاء pH=11 أعلى نسبة مئوية (30.05%) لبعد الجسيمي (0.125-0.25) مم للمصادر 1,2,3.

بالنظر إلى الأشكال (66,67,68) نجد أن الأموكسيلين تري هييدرات معاد البلورة عند درجات باهاء pH=9,11 تحوي نسبة من الجسيمات الصغيرة أكبر منها في الأموكسيلين تري هييدرات معاد البلورة عند درجات باهاء (pH=2,4,7)، مما قد يعطي احتمالاً لأن تكون انحلالية العينات معادة البلورة عند (pH=11) مختلفة عن انحلالية العينات معادة البلورة عند (pH=2)، علمًا أن انسيابية العينات معادة البلورة عند (pH=11) كانت سيئة مقارنة بالعينات الأخرى الأمر الذي يفسر بزيادة نسبة الجسيمات ذات الأبعاد الأصغر (التي تزداد بينها القوى السطحية) مؤدياً بذلك لإعاقة انسيابية المساحيق.

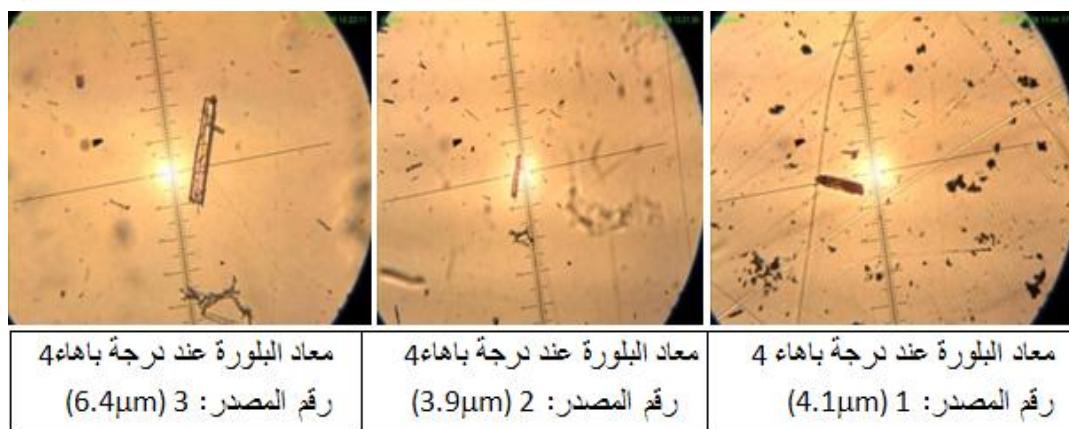
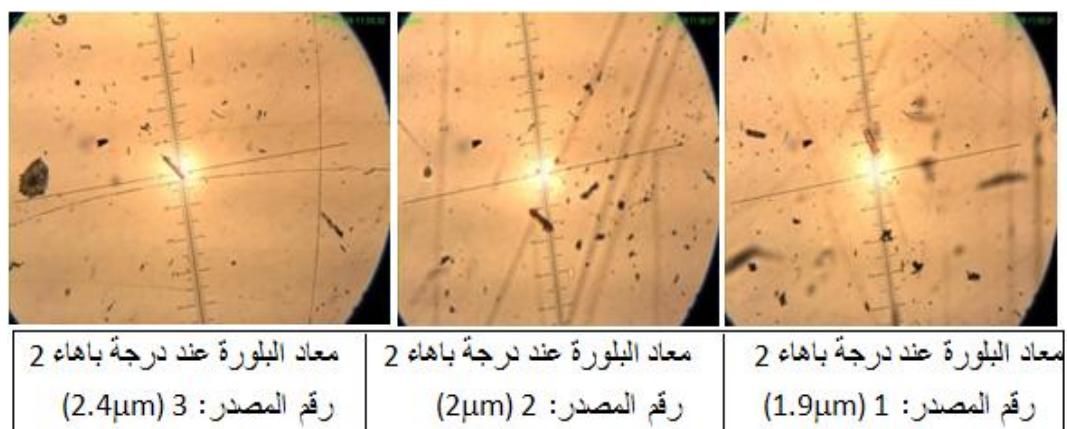
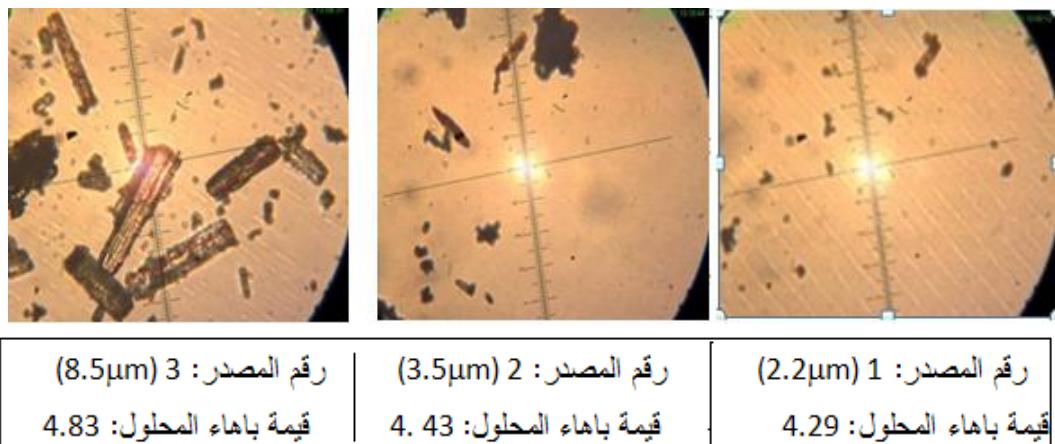
### 3-4- تحديد الشكل البلوري لعينات الأموكسيلين تري هييدرات الأصلية ومعادة البلورة باستخدام مجهر الفلورة الماسح

#### Determination of the crystal shape of untreated and recrystallized amoxicillin trihydrate samples using scanning fluorescence microscope.

تظهر الدراسة المجهرية للأموكسيلين تري هييدرات المستورد من عدة مصادر والمعادة البلورة اختلافاً كبيراً في أطوال البلورات (شكل 69).

تنتج عملية إعادة البلورة للأموكسيلين تري هيورات المدروس عند درجات باهاء مختلفة بلورات أموكسيلين تري هيورات ذات أطوال مختلفة عن المصدر الأساسي. وتظهر الدراسة أن درجة باهاء وسط البلورة لا تؤثر على شكل البلورة الناتجة وإنما تؤثر على أبعادها فقط.

تظهر الدراسة اختلافاً واضحاً في أبعاد البلورات معاادة البلورة عن البلورات الأصلية (شكل 69) ويعزى تغير أطوال البلورات غالباً إلى تغير درجات الباهاء وجود الشوائب في الوسط الذي تمت فيه عملية البلورة.

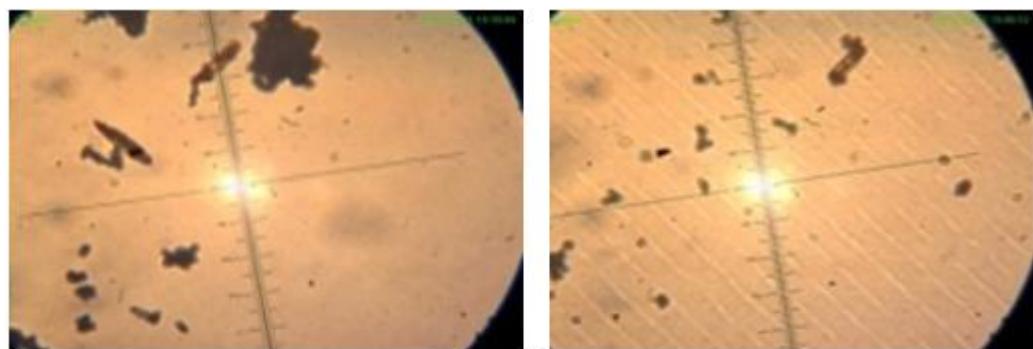




(الشكل 69): الصور المجهرية المأخوذة لبلورات الأموكسيلين تري هيدرات معادة البلورة بمجهر الفلورة الماسح.

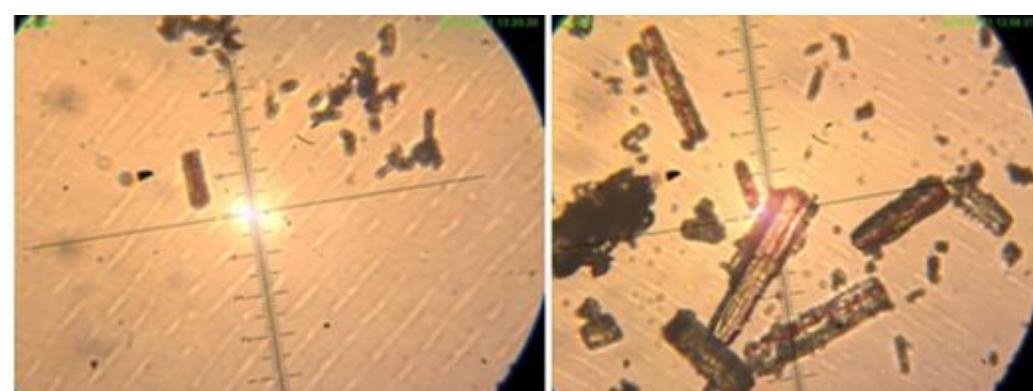
يمكن الاستنتاج من الصور المأخوذة عبر مجهر الفلورة (شكل 69) أن الأموكسيلين تري هيدرات معاد البلورة عند درجات باهاء ( $\text{pH}=11,9,7$ ) يملك أبعاد بلورات أكبر من أبعاد بلورات العينات الأصلية. كما يظهر الشكل السابق تغيراً في أطوال البلورات الأصلية من مصدر إلى آخر ويعزى سبب ذلك غالباً إلى تغيرات باهاء الوسط الذي تم فيه تصنيع المادة الأولية.

يظهر (الشكل 70) الصور المجهرية لعينات الأموكسيلين تري هيذر المأخوذة من عدة مصادر (غير معادة البلورة) باستخدام مجهر الفلورة الماسح.



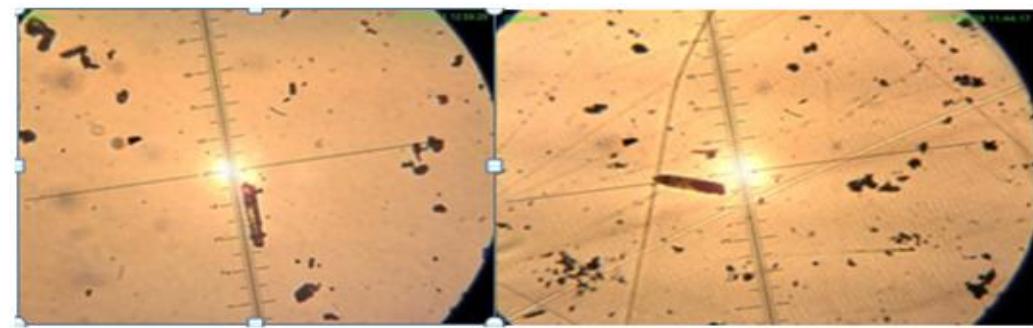
رقم المصدر: 2  
قيمة باهاء محلول: 4.43

رقم المصدر: 1  
قيمة باهاء محلول: 4.29



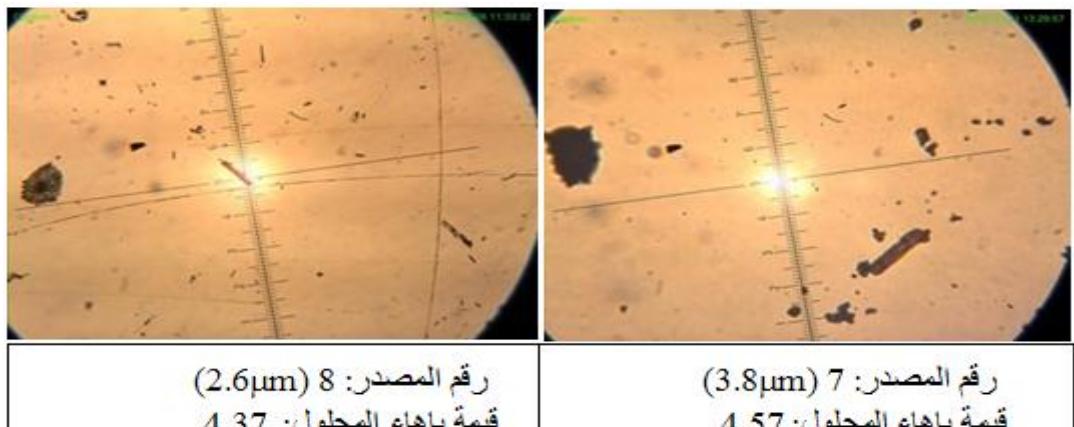
رقم المصدر: 4  
قيمة باهاء محلول: 4.38

رقم المصدر: 3  
قيمة باهاء محلول: 4.83



رقم المصدر: 6  
قيمة باهاء محلول: 4.68

رقم المصدر: 5  
قيمة باهاء محلول: 4.51



(الشكل 70): الصور المجهرية للبلورات الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذ من عدة مصادر بمجهر الفلورة الماسح.

يوضح مجهر الفلورة الماسح البنية البلورية للأموكسيلين تري هيدرات في العينات التي قيست درجة باهاء محاليلها، وعند مقارنة البلورات التي أخذت محاليلها أعلى درجة باهاء (4.83) مع البلورات التي أخذت محاليلها أقل درجة باهاء (4.29)، وجد أن زيادة درجة باهاء المحلول ترتبط بشكلٍ طردي مع زيادة أطوال البلورات، وكان هذا الازدياد واضحًا لوجبات الأموكسيلين تري هيدرات التي أخذت درجات باهاء محاليلها الترتيب التصاعدي (4.83,4.68,4.57,4.51,4.43,4.38,4.37,4.29) والتي كانت أطوال بلوراتها على التسلسل.

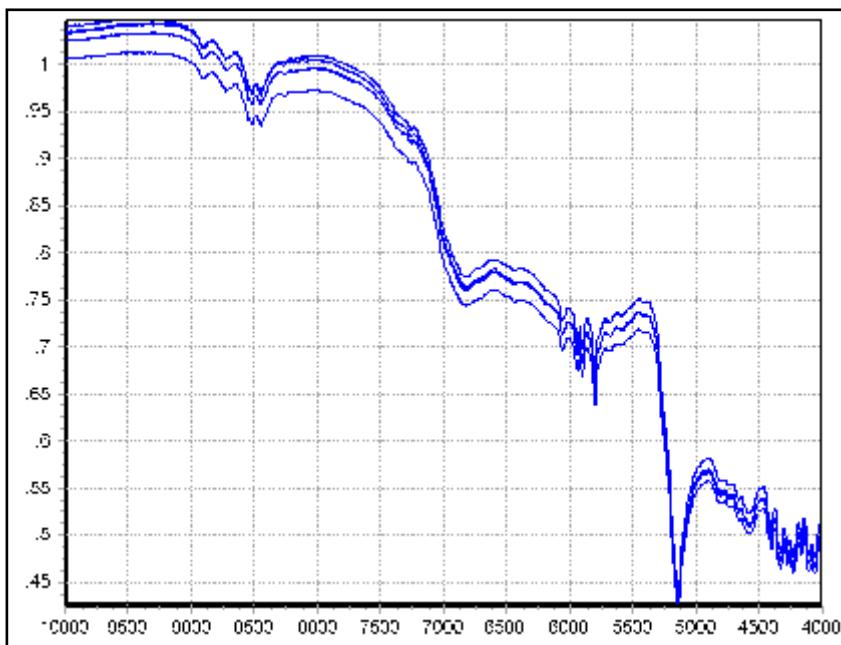
#### 4- تحديد البعد الجسيمي للأموكسيلين تري هيدرات باستخدام تقنية NIR

##### Determination of the particle size of amoxicillin trihydrate using NIR

تم قياس طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة لعينات الأموكسيلين تري هيدرات ذات الأبعاد الجسيمية المختلفة المفصولة بالمناخل باستخدام جهاز NIR-Flex 500، ( الكاشف: انعكاسي يتكون من كبريتيد الرصاص+سيليكون، عدد الأطیاف المخزنة ضمن المكتبة: 2304 وهي ناتجة عن عينات الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من المصادر الثمانية المختلفة والتي تم فصل كلٍ منها باستخدام المناخل إلى تسعه مجالات من أبعاد الجسيمات وتم إجراء السحب الطيفي لكل مجال من مجالات البعد الجسيمي 32 مرة فتكون عدد عناصر المكتبة الطيفية المخزنة في جهاز NIR ( $n=8 \times 7 \times 32 = 2304$ )، الفصل الطيفي Spectral Resolution  $\text{cm}^{-1}$ :  
 $4000\text{cm}^{-1}-10000\text{cm}^{-1}$ ، مجال طول الموجة المعيار:  $4700\text{cm}^{-1}$ - $9000\text{cm}^{-1}$ ، المجال طول الموجة المقاس:  $9000\text{cm}^{-1}-10000\text{cm}^{-1}$ ، المعالجة الرياضية للأطیاف قبل المعايرة: (المشتقة الأولى +1 التحويل وفقاً للمتغير الطبيعي المعياري Standard Normal Variate transformation SNV) والذي يُعطى وفقاً للعلاقة التالية:

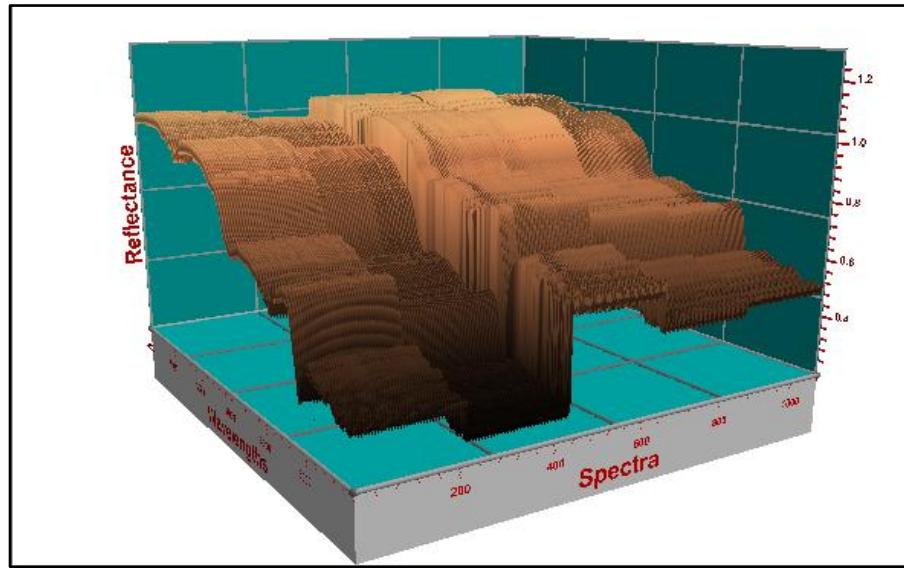
$$SNV_i = \frac{I_i - \bar{I}}{\sqrt{\sum_i^n (I_i - \bar{I})^2 / (n - 1)}}$$

البرنامج الحاسوبي المستخدم: BÜCHI NIR CAL 5.2 Software، الطريقة المتتبعة في المعايرة: تحليل المكون الأساسي Principal Component Analysis PCA-Clusters، الطريقة المتتبعة في التحقق من صلاحية Primary V-set validation، عدد المكونات الأساسية Cross-validation، طريقة طريقي Components PCs=4. يوضح (الشكل 71) تأثير اختلاف أبعاد الجسيمات في طيف NIR بازدياب الأطيف عمودياً عن بعضها البعض. لُوحظ وجود علاقة طردية لزيادة أبعاد الجسيمات مع شدة الامتصاص ويفسر ذلك بزيادة تشتت أشعة NIR بتناقص أبعاد الجسيمات مما يقلل شدة الامتصاص في حال أبعاد الجسيمات الأصغر.



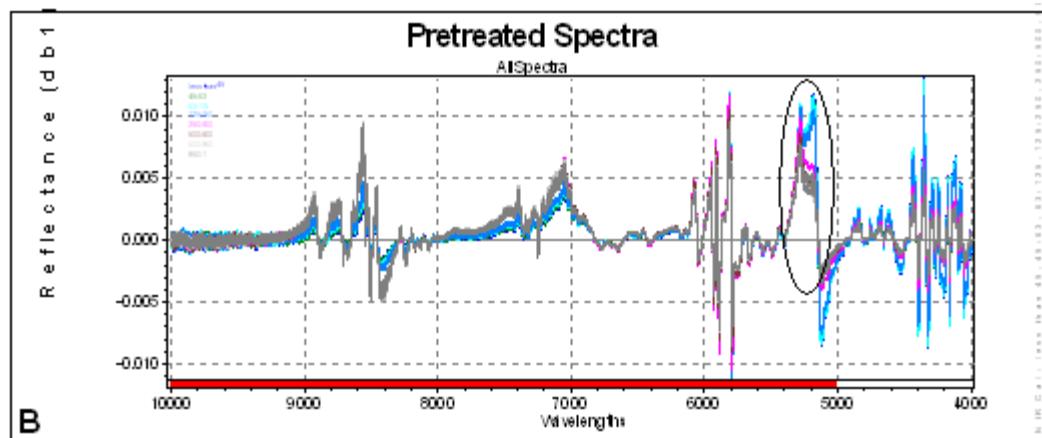
(الشكل 71): طيف أشعة NIR لأبعاد جسيمية مختلفة لأموكسيلين تري هيدرات المأخوذ من نفس المصدر 1

يُلاحظ من الأشكال (71, 72) أن القمم التي تحوي الضجيج تظهر عند العدد الموجي الأصغر من  $4700\text{cm}^{-1}$  لذا كان من الضروري استبعادها من المعايرة لأنها قد تحوي معلومات خاطئة تشوش على المعايرة، وينطبق الأمر ذاته على الأعداد الموجية الأكبر من  $9000\text{cm}^{-1}$  التي لا تظهر قمماً واضحة تخص المادة المعايرة، ويتم التتحقق من ذلك تجريبياً بأخذ مجالات مختلفة والتتحقق من الأفضل.



(الشكل 72): أطیاف أشعة NIR غير المعالجة لعينات الأموکسیلین تری هیدرات مختلفة الأبعاد الجسيمية المأخوذة من المصدر 1 (شكل ثالثي الأبعاد).

يتم تحديد المعالجات الرياضية pretreatments للأطیاف قبل المعايرة تجربیاً، بهدف التخلص من تأثير الظروف المحيطة التي تسبب اختلافات طيفية کاذبة تؤثر على عمليات القياس والمعايرة، ويتم تحديد المعالجة المناسبة التي لا تؤثر على المعلومات الطيفية المرتبطة بأبعاد الجسيمات والتي تحقق أعلى قيمة لمعامل لارتباط بين القيم المحللة والقيم المتزرعة، وأقل نسبة للخطأ بالترفع، وفصلاً جيداً لعينات عندما يتم تمثيلها وفقاً لـ 2PCs. أظهرت التجربة أن تطبيق SNV+  $1^{\text{st}}$  derivative قد حقق أفضل النتائج مقارنة بالمعالجات الرياضية الأخرى كما يظهر (الشكل 73)، وتوضح الدائرة الجزء الذي تظهر فيه المعلومات الطيفية المتعلقة بأبعاد الجسيمات في الطيف المعالج.

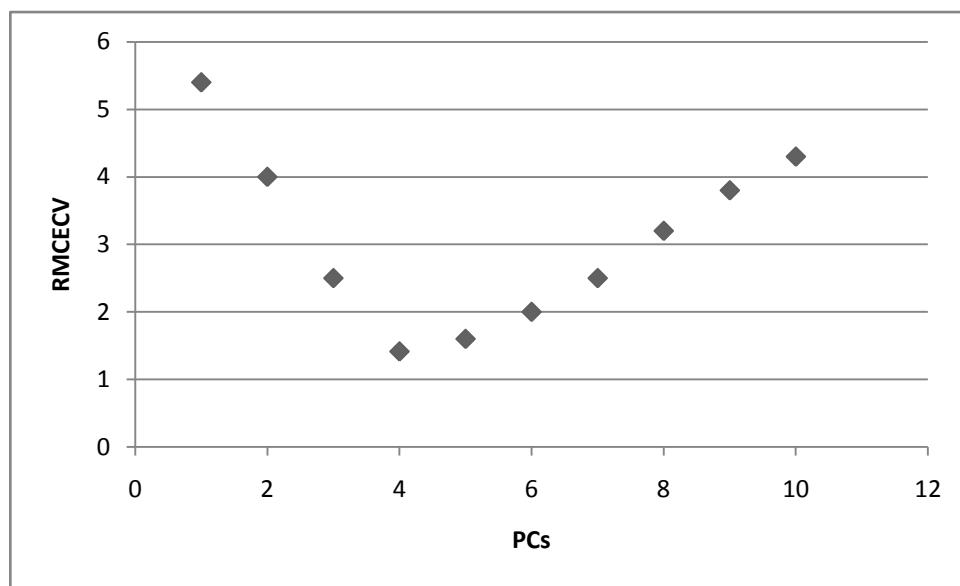


(الشكل 73): أطیاف الأشعة تحت الحمراء القریبة التي طبق عليها pretreatments لعينات الأموکسیلین تری هیدرات مختلفة الأبعاد الجسيمية.

تمت معايرة الأطيفات بتطبيق معالجات رياضية حاسوبية ضمن software تدعى بالـ chemometrics، وتم اتباع طريقة تحليل المكون الأساسي (PCA) في معايرة الأطيف العائدة لأبعاد جسيمية مختلفة. تعتبر المكونات الأساسية PCs إحصائياً مستقلة عن بعضها البعض ومتعمدة، ويجب أن تكون هذه المكونات الأساسية المختارة كافية لإعادة بناء الطيف الأساسي، ويتم اختيارها تجريبياً.

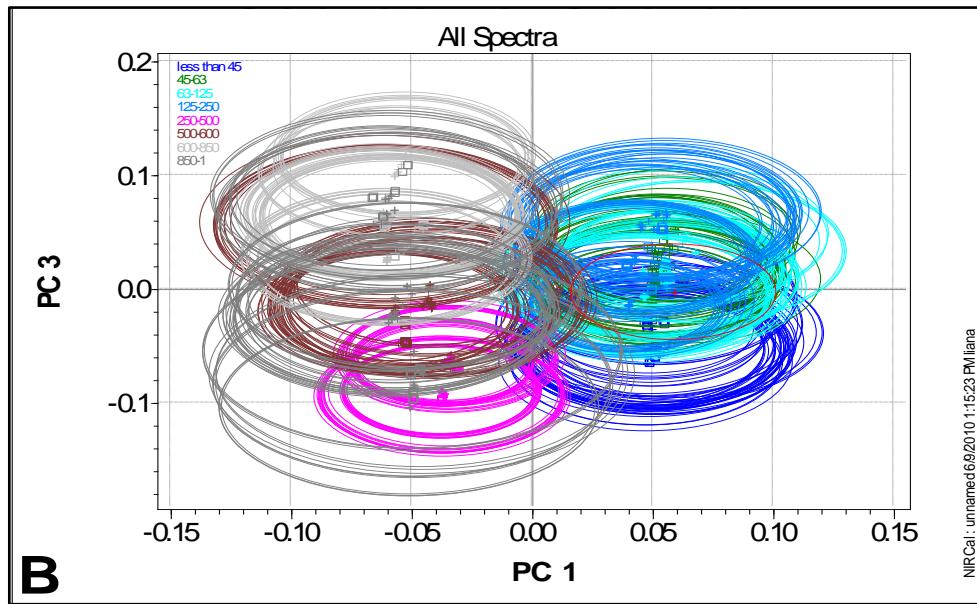
كلما زاد عدد المكونات الأساسية زادت المعلومات الطيفية وأصبحت النتائج أفضل، ولكن زيادة المكونات الأساسية مؤدياً ذلك إلى نتائج غير دقيقة overfitting. يتم اختيار عدد المكونات الأساسية الذي يحقق أعلى قيمة لمعامل الارتباط وأقل قيمة لمتوسط الخطأ بالتوقع (%) RMSECV ويتم التحري عن ذلك تجريبياً بالعلاقة التي تربط عدد المكونات الأساسية PCs مع متوسط الخطأ بالتوقع (RMSECV) كما يظهر في (الشكل 74)، ويتم اختيار PCs=4 التي تحقق أقل قيمة لمتوسط الخطأ بالتوقع

$$\text{RMSECV}=1.414$$

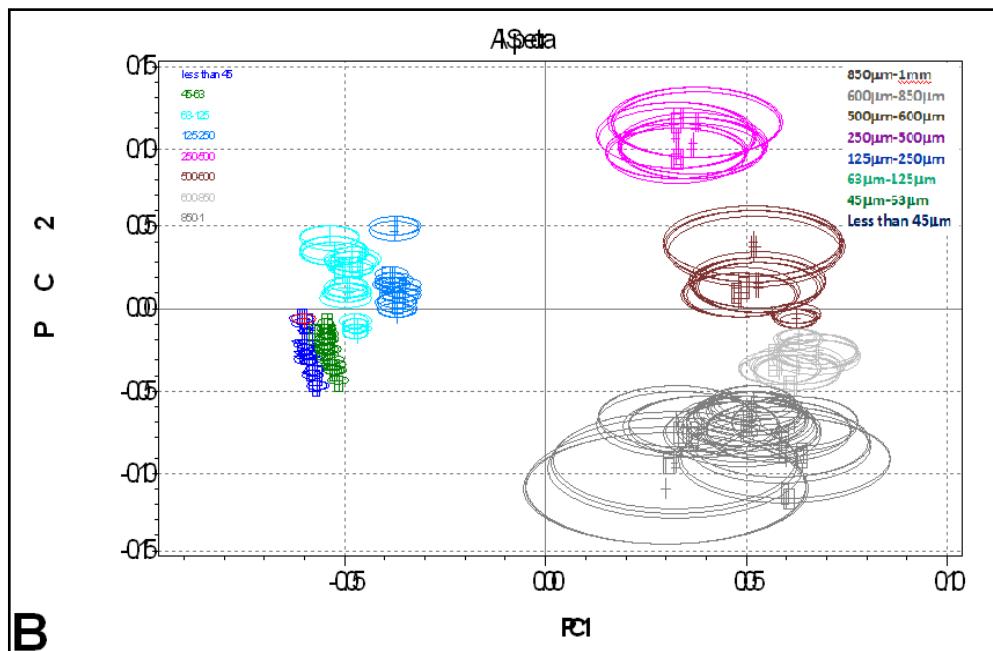


(الشكل 74): العلاقة التي تربط عدد المكونات الأساسية PCs مع متوسط الخطأ بالتوقع %RMSECV

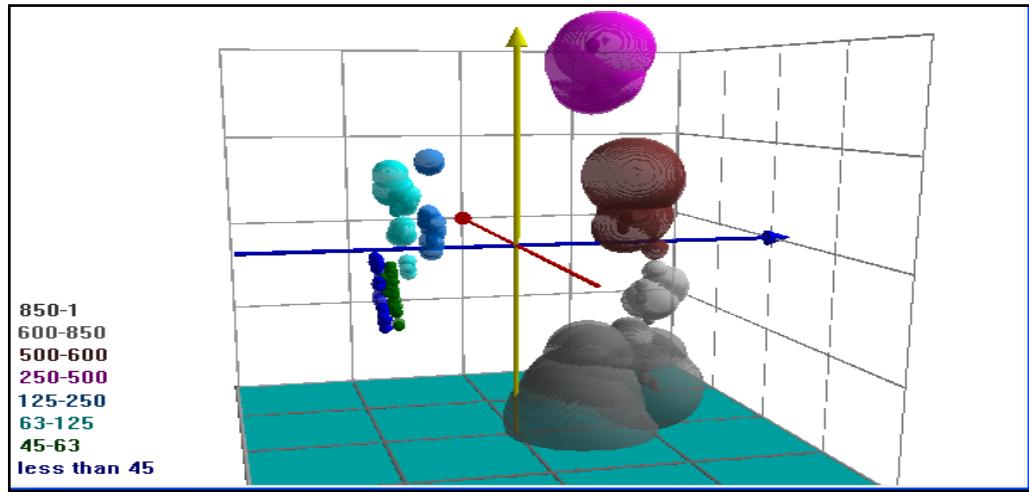
تم إنشاء PCA بأطيف المعايرة calibration spectra set وفقاً لطريقة Cluster. يوضح (الشكل 75) التمثيل الهندسي لـ PCA وفقاً لـ 2PCs لأبعاد جسيمية مختلفة مع تطبيق المشتق الأول فقط كمعالجة رياضية للأطيف قبل المعايرة (pretreatment=1<sup>st</sup>), ويلاحظ تداخل الدوائر المعتبرة عن أبعاد جسيمات مختلفة وعدم الحصول على نتائج مقبولة للمعايرة، ويوضح (الشكل 76) التمثيل الهندسي لـ PCA وفقاً لـ 3PCs، 2PCs للأبعاد جسيمية مختلفة مع تطبيق المشتق الأول والتحويل وفقاً للمتغير الطبيعي المعياري كمعالجات رياضية للأطيف قبل المعايرة (pretreatment=1<sup>st</sup>+SNV)، ويلاحظ الحصول على دوائر معتبرة عن دوائر معتبرة عن أبعاد جسيمات مختلفة مفصولة عن بعضها البعض ونتائج مقبولة للمعايرة.



(الشكل 75): تداخل clusters المعتبرة عن أبعاد الجسيمات عند تمثيلها وفقاً لـ PC1, PC3 في حال عدم تطبيق pretreatments ضمن SNV



(الشكل 76): فصل clusters المعتبرة عن أبعاد الجسيمات عند تمثيلها وفقاً لـ PC1, PC2 في حال تطبيق pretreatments ضمن SNV, 1 st derivative



(الشكل 77): التوزع الهندسي لـ clusters المعبأة عن أبعاد الجسيمات عند تمثيلها بشكل ثلاثي الأبعاد وفقاً

لـ .3PCs

يتم عادةً اختيار ثلثي العينات المقاسة لإنشاء منحني المعايرة وتدعى calibration spectra set، ويستخدم الثالث الآخر للتحقق من صلاحية الطريقة validation spectra set. تستخدم أطيفات التحقق من صلاحية الطريقة Cross validation (Specific quality attribute) Q-value المستخدمة في المعايرة حيث تأخذ القيم (من 0 إلى 1)، وتكون القيم المتوقعة مطابقة لقيم الحقيقة عندما تأخذ Q-value القيمة 1، أعطت الدراسة قيمة (Q-value = 0.99452).

(الجدول 9): متوسط قيم أبعاد الجسيمات المقاسة بمطيافية NIR ومقارنتها بالقيم المرجعية.

$(y_i - \bar{y}_p)^2$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(y_i - \bar{y})$	RSD	SD	متوسط القيم العملية *(μm)	متوسط القيم النظرية $y_i$ (μm)	مجالات أبعاد الجسيمات النظرية (μm)
0.078961	1	1	6.004625	1.290994	21.5	22.5	<b>0-45</b>
0.281961	0.5625	0.75	1.797985	0.957427	53.25	54	<b>45-63</b>
0.000961	1.5625	1.25	1.617251	1.5	92.75	94	<b>63-125</b>
0.078961	1	1	0.692222	1.290994	186.5	187.5	<b>125-250</b>
0.609961	0.25	0.5	0.344725	1.290994	374.5	375	<b>250-500</b>
0.938961	5.0625	2.25	0.456413	1.29	547.75	550	<b>500-600</b>
0.000961	1.5625	1.25	0.235969	1.707825	723.75	725	<b>600-850</b>
0.938961	5.0625	2.25	0.18508	1.707825	922.75	925	<b>850-1000</b>
2.929688	16.0625	10.25	<b>Sum</b>				

متوسط ست قراءات لقيم عملية

•

(الجدول 10): حسابات الصحة والاختبارات الإحصائية لمعاييرة أبعاد الجسيمات باستخدام تقنية NIR

* قيمة t الإحصائية	الاسترداد %	الانحراف المعياري	متوسط القيم العملية ( $\mu\text{m}$ )	متوسط القيم النظرية ( $\mu\text{m}$ )	مجالات أبعاد الجسيمات ( $\mu\text{m}$ )
0.3165	95.55556	1.290994	21.5	22.5	<b>0-45</b>
0.32	98.61111	0.957427	53.25	54	<b>45-63</b>
0.3402	98.67021	1.5	92.75	94	<b>63-125</b>
0.3165	99.46667	1.290994	186.5	187.5	<b>125-250</b>
0.1582	99.86667	1.290994	374.5	375	<b>250-500</b>
0.7	99.59091	1.29	547.75	550	<b>500-600</b>
0.3	99.82759	1.707825	723.75	725	<b>600-850</b>
0.54	99.75676	1.707825	922.75	925	<b>850-1000</b>
	98.91818	<b>AVR</b>			
	1.446487	<b>SD</b>			
	1.462307	<b>RSD</b>			

• قيمة t الجدولية عند درجة ثقة مقدارها 95% ولعدد درجات حرية = 5 حيث ( $n = 6$ ) هي 2.571.

كما يتضح من (الجدول 10) فإن متوسط النسبة المئوية للاسترداد 98.9 تقع ضمن المجال المسموح به (98-102) والانحراف المعياري النسبي أصغر من 2 وهو الحد المسموح، لذا تعتبر الطريقة محققة للصحة ضمن كل مجالات أبعاد الجسيمات ما عدا المجال  $(0-45) \mu\text{m}$  الذي لم تتحقق فيه شروط الاسترداد وتجاوزت الحد المسموح وكانت %.95.55.

عينت الدقة بواسطة تحديد التكرارية لأبعاد الجسيمات وذلك بحساب الانحراف المعياري النسبي  $\%RSD$  لست قراءات لها نفس مجال البعد الجسيمي وكان  $2 \leq RSD \leq 6$  لكل المجالات ما عدا المجال  $(0-45) \mu\text{m}$  الذي لم تتحقق فيه شروط التكرارية وكان  $RSD=6$ .

حددت الخطية ضمن مجال أبعاد الجسيمات  $(54-925) \mu\text{m}$  وقد أخذت  $R^2$  القيمة 0.999 وقد تم تحديد ذلك أثناء تطوير الطريقة وهذا ما يميز تقنية NIR، وتم استثناء المجال  $(0-45) \mu\text{m}$  من مجال الخطية لعدم تحقق الصحة والتكرارية.

تحدد قيمة كل من V-set Bias (والتي تعبر عن معدل انحراف القيم المتوقعة عن القيم الحقيقية) ، Standard Error of Prediction (SEP) ، الخطأ المعياري بالتوقع deviation of calibration والخطأ النسبي بالتوقع Root Mean Square Error of Cross Validation (RMSECV) من خلال القوانين التالية [86]:

$$V - set \ Bias = \sum_{i=1}^n Y(meas) - Y(Pred)/n$$

$$SEP = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n \{Y(meas) - Y(pred) - bias\}^2}$$

$$RMSECV = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n [Y(meas) - Y(pred)]^2}$$

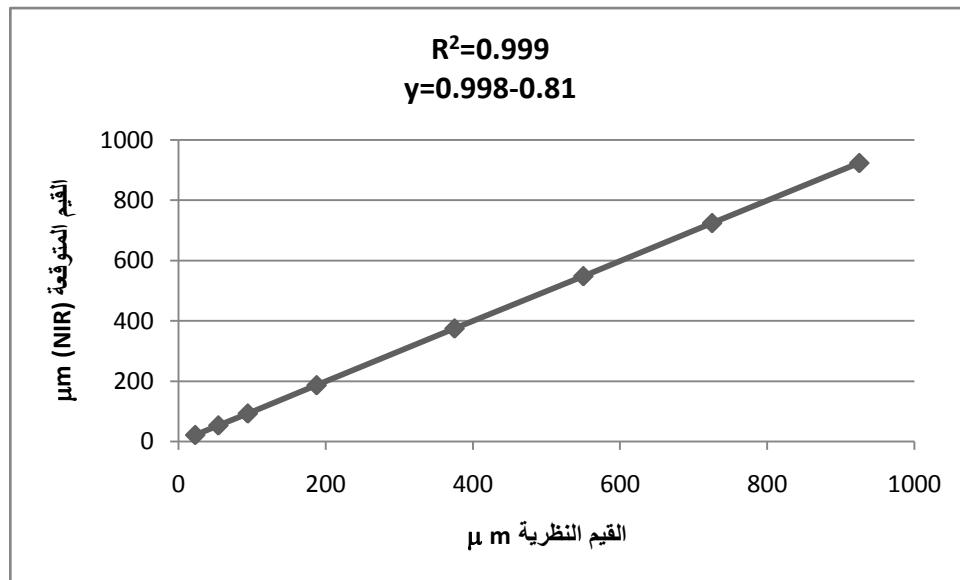
وبتطبيق القوانين السابقة استناداً إلى القيم التي تم الحصول عليها من (الجدول 9) يكون:

$$V-set \ Bias = 1.28$$

$$RMSECV = 1.414$$

$$SEP = 0.6469$$

وتعتبر المعايير السابقة كمتطلبات للمعايرة باستخدام الأشعة تحت الحمراء القريبة NIR.



(الشكل 78): العلاقة التي تربط القيم المقاسة بطيف NIR بالقيم المرجعية لأبعاد الجسيمات

استناداً إلى الخط المستقيم الذي تم الحصول عليه في (الشكل 78) كانت معادلة المستقيم:  $y = 0.998x - 0.81$  حيث:  $y$  تعبّر عن القيم المتوقعة لمتوسط أبعاد الجسيمات بمطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة، أما  $x$  فتعبر عن القيم النظرية المقاسة بالطرق المرجعية.

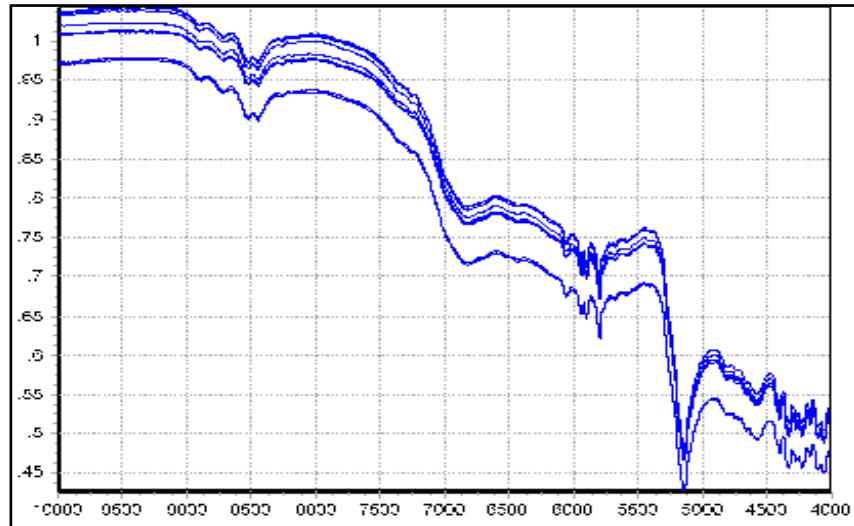
مُنثٰت العلاقة بين القيم المتوقعة بمطيافية NIR والقيم المرجعية فكان معامل الارتباط ( $R > 0.95$ ) أكبر من الحد المطلوب للمعايرة بمطيافية NIR.

وقد تمت مقارنة النتائج التي توصلنا إليها في كلا الطريقتين وفقاً لاختبار ستيفونس -t الإحصائي، حيث كانت القيم المحسوبة لـ  $t$  أصغر من قيمتها الجدولية، وذلك عند درجة ثقة 95% وعدد درجات حرية يساوي 5، مما يجعلنا نقبل فرضية العدم null hypothesis التي تقول أنه لا يوجد احصائياً اختلافاً مابين الطرق المرجعية وطريقة NIR في تحديد أبعاد الجسيمات.

#### 4- دراسة أشكال بلورية مختلفة الأطوال للأموكسيلين تري هيدرات عبر مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة

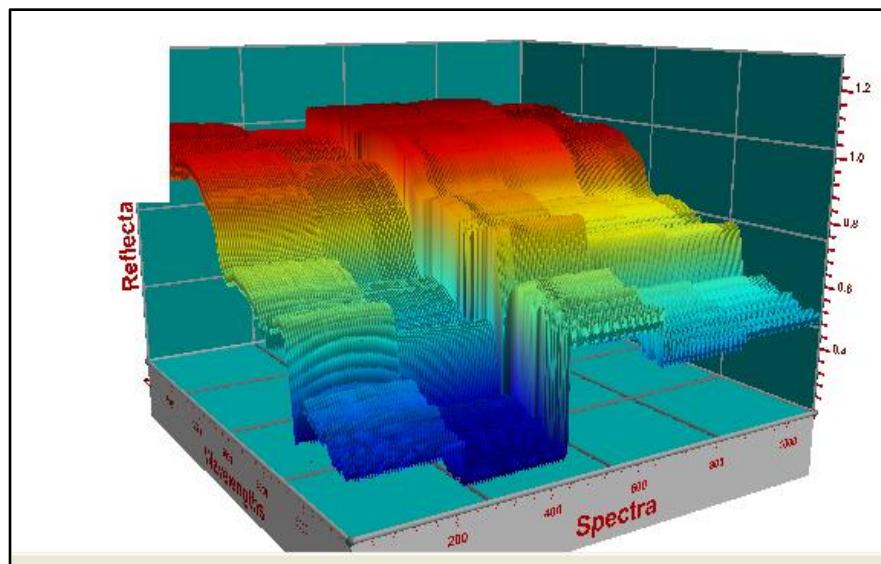
#### The study of different length crystals of amoxicillin trihydrate using Near Infrared spectroscopy(NIR)

تم قياس طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة لعينات الأموكسيلين تري هيدرات معايدة البلورة عند درجات باهاء مختلفة باستخدام NIR-Flex 500 ، مع تطبيق الشروط التالية ( الكاشف: انعكاسي يتكون من كبريتيد الرصاص+سيليكون، عدد الأطيف المخزنة ضمن المكتبة ( 480 ) وهي ناتجة عن عينات الأموكسيلين تري هيدرات معايدة البلورة عند 5 درجات باهاء مختلفة مأخوذة من 3 مصادر ويتم إجراء السحب الطيفي لكل عينة 32 مرة فتكون عدد عناصر المكتبة الطيفية المخزنة في جهاز NIR ( $n=5 \times 3 \times 32 = 480$ ) ، الفصل الطيفي:  $4500\text{cm}^{-1}$ - $8\text{cm}^{-1}$  ، مجال طول الموجة:  $4000\text{cm}^{-1}$ - $10000\text{cm}^{-1}$  ، المجال طول الموجة المعاير:  $9000\text{cm}^{-1}$ ، المعالجة الرياضية للأطيف: المشتق الأول 1st derivative ، التحويل وفقاً للتغير الطبيعي المعياري Standard Normal Variate transformation (SNV) ، البرنامج الحاسوبي المستخدم: Principal Component Analysis (PCA-Clusters) الطريقة المتبعة في المعايرة: تحليل المكون الأساسي (BÜCHI NIR CAL 5.2 Software) ، الطريقة المتبعة في التحقق من صلاحية الطريقة: طريقي ، يوضح (الشكل 79) تأثير اختلاف الأطوال البلورية في طيف NIR بانزياح الأطيف عمودياً عن بعضها البعض. يختلف طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة لعدة أشكال بلورية بسبب اختلاف ترتيب الزمر الوظيفية التي تؤثر على الروابط الهيدروجينية وقطبية الجزيئية، وتتناسب شدة الامتصاص طردياً مع طول البلورات [49].



(الشكل 79): أطیاف الأشعة تحت الحمراء القريبة غير المعالجة لعينات الأموکسیلین تری هیدرات معدادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.

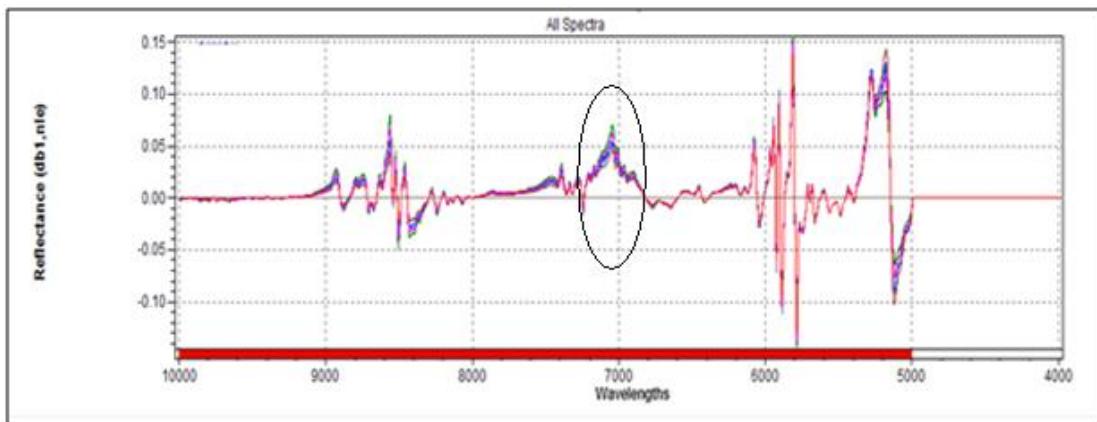
يُلاحظ من الأشكال (80) أن القمم التي تحوي الضجيج تظهر عند العدد الموجي الأصغر من  $4500\text{cm}^{-1}$  لذا كان من الضروري استبعادها من المعايرة لأنها قد تحوي معلومات خاطئة تشوش على المعايرة، وينطبق الأمر ذاته على الأعداد الموجية الأكبر من  $9000\text{cm}^{-1}$  التي لا تظهر قممًا واضحة تخص المادة المعايرة، ويتم التحقق من ذلك تجريبياً بأخذ مجالات مختلفة والتحقق من صحة الأفضل.



(الشكل 80): أطیاف الأشعة تحت الحمراء القريبة غير المعالجة لعينات الأموکسیلین تری هیدرات معدادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة (شكل ثلاثي الأبعاد).

يتم تحديد المعالجات الرياضية pretreatments للأطیاف قبل المعايرة تجريبياً، بهدف التخلص من تأثير الظروف المحيطة التي تسبب اختلافات طيفية كاذبة تؤثر على عمليات القياس والمعايرة، ويتم تحديد المعالجة

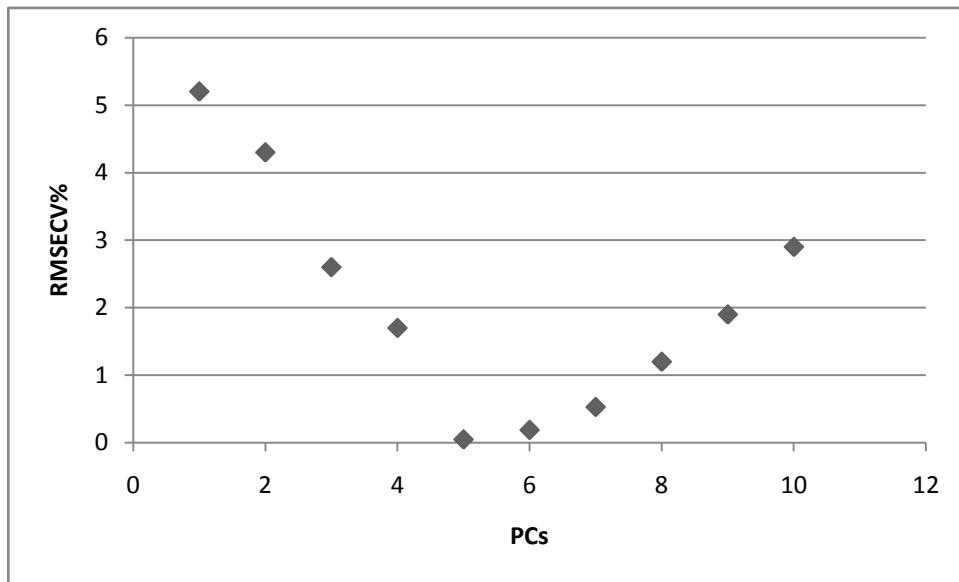
المناسبة التي لا تؤثر على المعلومات الطيفية المرتبطة بأطوال البثورات والتي تحقق أعلى قيمة لمعامل لارتباط بين القيم المحللة والقيم المتوقعة، وأقل نسبة للخطأ بالتوقع، وفصلًا جيداً للعينات عندما يتم تمثيلها وفقاً لـ 2PCs. أظهرت التجربة أن تطبيق SNV+ 1<sup>st</sup> derivative قد حقق أفضل النتائج مقارنة بالمعالجات الرياضية الأخرى كما يظهر في (الشكل 81)، وتوضح الدائرة الجزء الذي تظهر فيه المعلومات الطيفية المتعلقة بأطوال البثورات في الطيف المعالج.



(الشكل 81) : أطيف الأشعة تحت الحمراء القرمزية التي طبق عليها pretreatments لعينات الأموكسيلين تري هيبرات معادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.

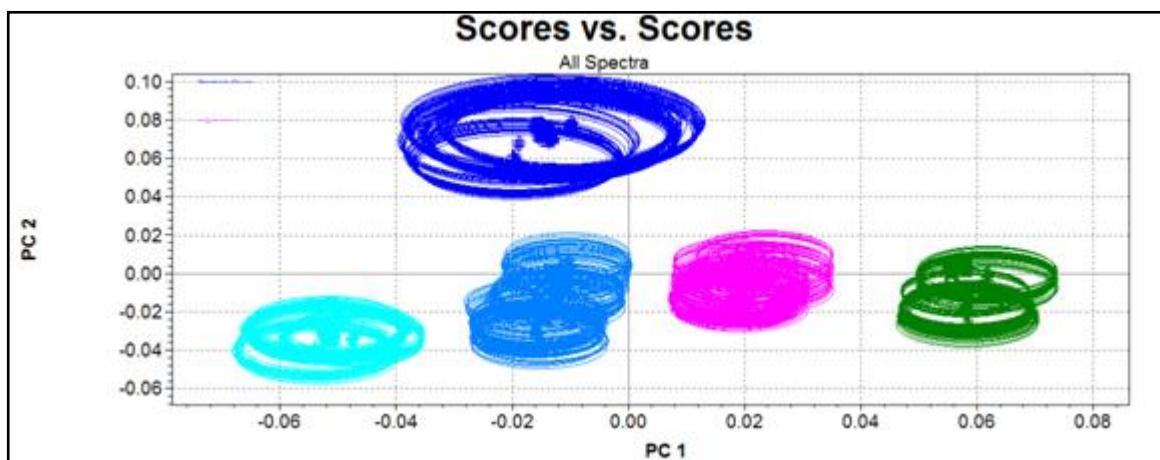
تمت معايرة الأطيف بتطبيق معالجات رياضية حاسوبية ضمن chemometrics software تدعى بالـ PCA، وتم اتباع طريقة تحليل المكون الأساسي (PCA) في معايرة الأطيف العائدة لأطوال بلورية مختلفة. تعتبر المكونات الأساسية PCs إحصائياً مستقلة عن بعضها البعض ومتعمدة، ويجب أن تكون هذه المكونات الأساسية المختارة كافية لإعادة بناء الطيف الأساسي، ويتم اختيارها تجريبياً.

يتم اختيار عدد المكونات الأساسية الذي يحقق أعلى قيمة لمعامل الارتباط وأقل قيمة لمتوسط الخطأ بالتوقع (RMSECV)% ويتم التحري عن ذلك تجريبياً بالعلاقة التي تربط عدد المكونات الأساسية PCs مع متوسط الخطأ بالتوقع (RMSECV)% كما يظهر في (الشكل 82)، ويتم اختيار  $PCs=5$  التي تحقق أقل قيمة لمتوسط الخطأ بالتوقع  $RMSECV=0.0351\%$

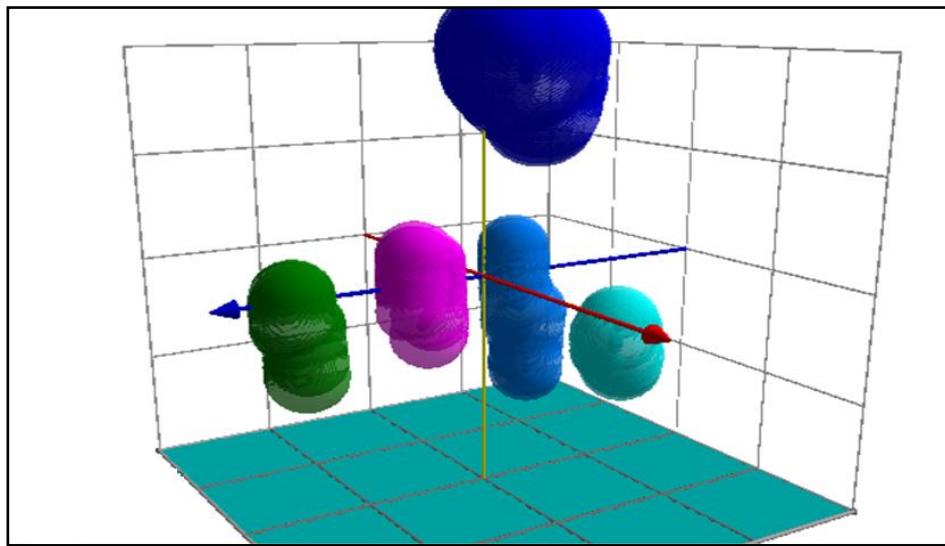


(الشكل 82): العلاقة التي تربط عدد المكونات الأساسية PCs مع متوسط الخطأ بالتوقع %RMSECV

تم إنشاء PCA بأطيف المعايرة calibration spectra set وفقاً لطريقة Cluster. ويوضح (الشكل 84,83) التمثيل الهندسي لـ PCA وفقاً لـ 3PCs، 2PCs، لأطوال بلورية مختلفة مع تطبيق المشتق الأول والتحويل وفقاً للمتغير الطبيعي المعياري (pretreatment=1<sup>st</sup>+SNV)، ويلاحظ الحصول على دوائر معتبرة عن أطوال بلورات مفصولة عن بعضها البعض ونتائج مقبولة للمعايرة.



الشكل 83: التوزع الهندسي لطريقة Cluster لعينات الأموكسيلين تري هيورات معادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة (■ معاد البلورة عند pH=11، ■ معاد البلورة عند درجة 9، ■ معاد البلورة عند درجة 7، ■ معاد البلورة عند درجة 4، ■ معاد البلورة عند درجة 2)



الشكل 84: يظهر التوزع الهندسي ثلاثي الأبعاد لطريقة Cluster لعينات الأموكسيلين تري هيدرات معادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة (■ معد البلورة عند pH=11، ■ معد البلورة عند درجة 9 pH، ■ معد البلورة عند درجة 7 pH، ■ معد البلورة عند درجة 4 pH، ■ معد البلورة عند درجة 2 pH)

يتم عادةً اختيار ثلثي العينات المقاسة لإنشاء منحني المعايرة وتدعى calibration spectra set، ويستخدم الثالث الآخر للتحقق من صلاحية الطريقة validation spectra set. تستخدم أطيفات التحقق من صلاحية الطريقة Cross validation لإنشاء Specific quality attribute (Q-value) والتي تعبر عن صلاحية الطريقة المستخدمة في المعايرة حيث تأخذ القيم (من 0 إلى 1)، وتكون القيم المتوقعة مطابقة لقيم الحقيقة عندما تأخذ Q-value القيمة 1، أعطت الدراسة قيمة Q-value = 0.99923.

(الجدول 11) متوسط قيم أطوال البلورات المقاسة بمطيافية NIR ومقارنتها بالقيم المرجعية.

$(yi - yp - bias)^2$	$(yi - yp)^2$	$(yi - yp)$	RSD	SD	متوسط القيمة العملية * $\mu\text{m}$	متوسط أطوال البلورات $\mu\text{m}$	مجال أطوال البلورات $\mu\text{m}$
0.002628	0.001344	0.036667	1.009942	0.023094	2.286667	2.25	1.9-2.6
0.004173	0.0025	0.05	1.923077	0.1	5.2	5.15	3.9-6.4
0.000826	0.001878	-0.04333	0.587687	0.060277	10.25667	10.3	9.2-11.4
0.000978	0.000278	0.016667	0.716992	0.104083	14.51667	14.5	13-16
0.00078	0.000178	0.013333	0.478642	0.110151	23.01333	23	18-28
0.009385	0.006178	0.073333	<b>Sum</b>				

(الجدول 12): حسابات الصحة والاختبارات الإحصائية لمعايرة الأطوال البلورية باستخدام NIR

* قيمة t الإحصائية	% الاسترداد	SD	متوسط القيم العملية ( $\mu\text{m}$ )	متوسط أطوال البلورات ( $\mu\text{m}$ )	مجال أطوال البلورات ( $\mu\text{m}$ )
0.6391	101.626	0.023094	2.286667	2.25	<b>1.9-2.6</b>
0.204	100.97	0.1	5.2	5.15	<b>3.9-6.4</b>
0.2984	99.514	0.060277	10.25667	10.3	<b>9.2-11.4</b>
0.455	100.11	0.104083	14.51667	14.5	<b>13-16</b>
0.049	100.056	0.110151	23.01333	23	<b>18-28</b>
	100.1636	<b>AVR</b>			
	0.433597	<b>SD</b>			
	0.432889	<b>RSD</b>			

• قيمة t الجدولية عند درجة ثقة مقدارها 95% ولعدد درجات حرية = 5 حيث ( $n = 6$ ) هي 2.571.

كما يتضح من (الجدول 12) فإن متوسط النسبة المئوية للاسترداد 100.163 تقع ضمن المجال المسموح به (98-102) والانحراف المعياري النسبي لكل تركيز أصغر من 2 وهو الحد المسموح، لذا تعتبر الطريقة محققة للصحة.

عُينت الدقة بواسطة تحديد التكرارية لأطوال البلورات وذلك بحساب الانحراف المعياري النسبي %RSD لست قراءات عملية لها أطوال بلورية تقع ضمن المجالات المحددة مسبقاً لأطوال البلورات وكان  $2 \leq \text{RSD} \leq 2$  لكل المجالات وهذا يدل على تحقق الدقة بقياس أطوال البلورات بمطيافية NIR.

حددت الخطية ضمن مجال لأطوال البلورات ( $\mu\text{m}$ ) (2.25-23) وقد أخذت  $R^2$  القيمة 0.9999.

تحدد قيمة كل من V-set Bias (والتي تعبر عن معدل انحراف القيم المتوقعة عن القيم الحقيقية) Systematic ، Standard Error of Prediction (SEP) ، الخطأ المعياري بالتوقع deviation of calibration والخطأ النسبي بالتوقع Root Mean Square Error of Cross Validation (RMSECV) من خلال القوانين السابقة:

وبتطبيق القوانين السابقة استناداً إلى القيم التي تم الحصول عليها من (الجدول 11) يكون:

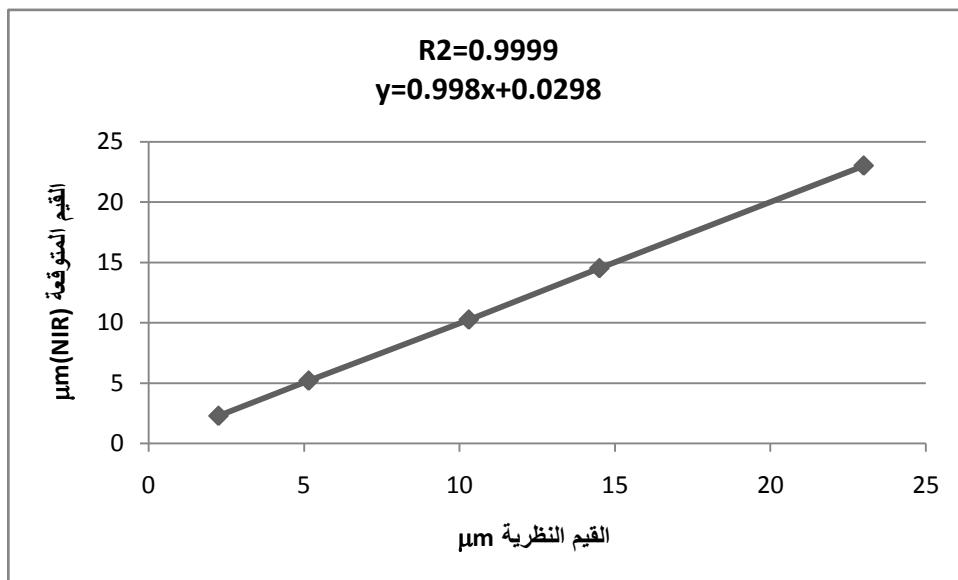
$$\text{V-set Bias} = 0.01466$$

$$\text{RMSECV} = 0.0351$$

$$\text{SEP} = 0.048$$

وتعتبر المعايير السابقة كافية كمتطلبات للمعايرة باستخدام الأشعة تحت الحمراء القريبة NIR.

مثلت العلاقة التي تربط بين القيم النظرية والقيم المتوقعة لأطوال البلورات بطييف NIR كالتالي:



(الشكل 85): العلاقة التي تربط القيم المقاسة بطييف NIR بالقيم المرجعية لأطوال البليورات

استناداً إلى الخط المستقيم الذي تم الحصول عليه في (الشكل 85) كانت معادلة المستقيم:  $y=0.998x+0.0298$  حيث:  $y$  تعبّر عن القيم المتوقعة لأطوال البليورات المقاسة بمطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة، أما  $x$  فتعبر عن القيم النظرية المقاسة بالطرق المرجعية.

مُثُلت العلاقة بين القيم المتوقعة بمطيافية NIR والقيم المرجعية فكان معامل الارتباط ( $R>0.95$ ) أكبر من الحد المطلوب للمعايرة بمطيافية NIR.

وقد تمت مقارنة النتائج التي توصلنا إليها في كلا الطريقيتين وفقاً لاختبار ستينورنست  $t$ -الإحصائي، حيث كانت القيم المحسوبة  $t$  أصغر من قيمتها الجدولية، وذلك عند درجة ثقة 95% وعدد درجات حرية يساوي 5، مما يجعلنا نقبل فرضية العدم *null hypothesis* التي تقول أنه لا يوجد احصائياً اختلاف مابين الطرق المرجعية وطريقة NIR في تحديد أطوال البليورات.

بالرجوع إلى القيم السابقة يمكن اعتبار مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة كطريقة تحليلية مفيدة سريعة وغير مخربة للعينة تسمح بمراقبة الأشكال البليورية وأبعاد الجسيمات للمواد الأولية. لقد تم إنشاء مكتبة أطيفات لجميع أبعاد البليورات المختلفة اعتماداً على طريقة مرجعية. وبمقارنة الأطيفات مع مواد أولية مجهمولة كانت النتائج مرضية بعد تطبيق كل المعالجات الرياضية السابقة. تعتبر هذه التقنية مفيدة عملياً للصناعة الدوائية وخصوصاً في المراحل الأولى من مراقبة المنتج وتطوير آلية المراقبة أثناء الإنتاج process analytical technology (PAT) والذي أقرته مؤخرًا منظمة الدواء والغذاء FDA.

#### 4-قياسات الباهاء لمحاليل الأموكسيلين تري هيورات الأصلية ومعادة البلورة

#### pH Measurements of untreated and recrystallized amoxicillin trihydrate solutions (2mg/ml)

يعتبر قياس باهاء محلول المادة الأولية للأموكسيلين تري هيورات من الفحوص الهامة في معرفة الخواص الفيزيوكيميائية للمادة الأولية ومعادة البلورة. يظهر (الجدول 13) أن المواد الأولية التي خضعت لهذه الدراسة ذات مجال ضيق بدرجات باهاء محلاليها (pH=4,83-4,29).

وعلى الرغم من أن دساتير الأدوية أعطت مجالاً واسعاً لدرجة باهاء محليل مادة الأموكسيلين إلا أن التغيرات البسيطة التي تحدث أثناء التصنيع تعطي خواصاً فيزيوكيميائية لاحقة مختلفة تؤثر على معدل احلال هذه المادة.

(الجدول 13): قيم باهاء محليل الأموكسيلين تري هيورات ذات التركيز (2mg/ml)

رقم المصدر	العينات المأخوذة	قيمة الباهاء
No.1	العينات الأصلية	4.29
	pH=2*	4.22
	pH=4*	4.31
	pH=7*	4.58
	pH=9*	4.75
	pH=11*	5.07
No.2	العينات الأصلية	4.43
	pH=2**	4.28
	pH=4**	4.38
	pH=7**	4.68
	pH=9**	4.86
	pH=11**	5.18
No.3	العينات الأصلية	4.83
	pH=2***	4.32
	pH=4***	4.43
	pH=7***	4.87
	pH=9***	4.98
	pH=11***	5.23
No.4	العينات الأصلية	4.38
No.5	العينات الأصلية	4.51
No.6	العينات الأصلية	4.68
No.7	العينات الأصلية	4.57
No.8	العينات الأصلية	4.37

\*عينات الأموكسيلين تري هيورات المأخوذة من المصدر رقم 1 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.

\*\*عينات الأموكسيلين تري هيورات المأخوذة من المصدر رقم 2 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.

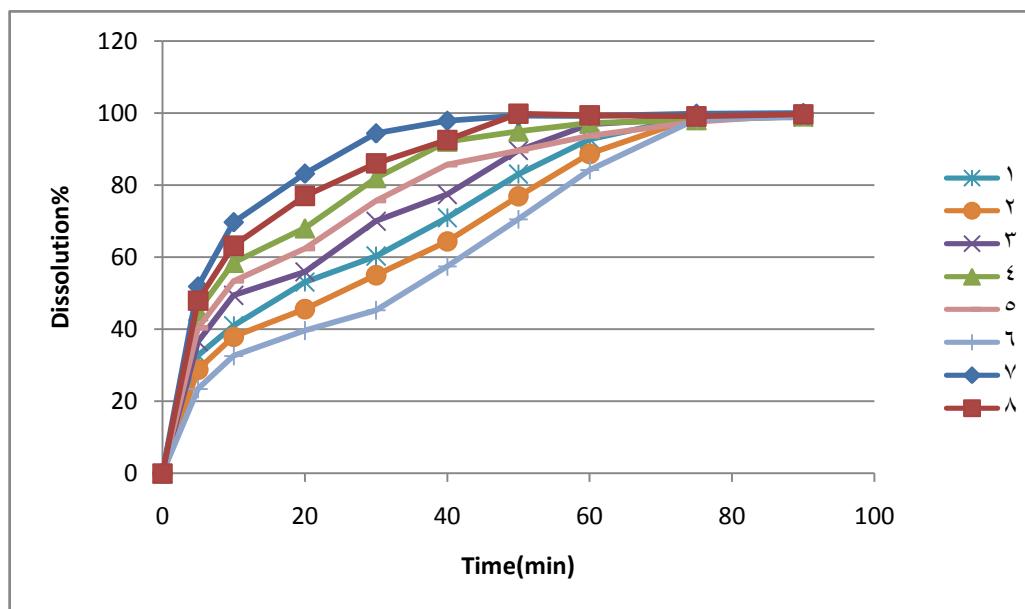
\*\*\*عينات الأموكسيلين تري هيورات المأخوذة من المصدر رقم 3 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة.

أظهرت عينات المواد الأولية التي تبدي محاليلها درجات باهاء أعلى أطوالاً بلورية أكبر، انسيابيةأسوء، توزع على أبعاد جسيماتها يحوي نسبة أكبر من الجسيمات الأصغر، مما يقود إلى اعتبار طريقة تصنيع ، وإعادة البلورة لهذه المادة الأولية ذات أهمية كبيرة مؤثرة على معدل الانحلال والبقاء.

#### 4-نتائج دراسة معدلات انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضر من عينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية والعينات معادة البلورة.

#### Results of dissolution rates of capsules prepared from untreated and recrystallized amoxicillin trihydrate

تم تحضير محافظ جيلاتينية قاسية تحوي الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذ من عدة مصادر. درس معدل انحلالها (شكل 86)، فوج أن معدل الانحلال كان أفضل ما يمكن في العينات التي تحمل الأرقام 4,7,8 وهي العينات التي تحوي أكبر نسبة مئوية من الجسيمات التي تقل أبعادها عن 0.25mm، وكان معدل الانحلال أضعف ما يمكن في العينة التي تحمل الرقم 6 التي تحوي أكبر نسبة مئوية (43.89%) من الجسيمات التي تقع أبعادها ضمن المجال (0.6-0.85) مم، ويدل ذلك على أن معدل الانحلال يتعلق بالبعد الجسيمي (بزداد بتناقصه) وهذا ما يتوافق مع علاقة Noyes Whitney المذكورة سابقاً.

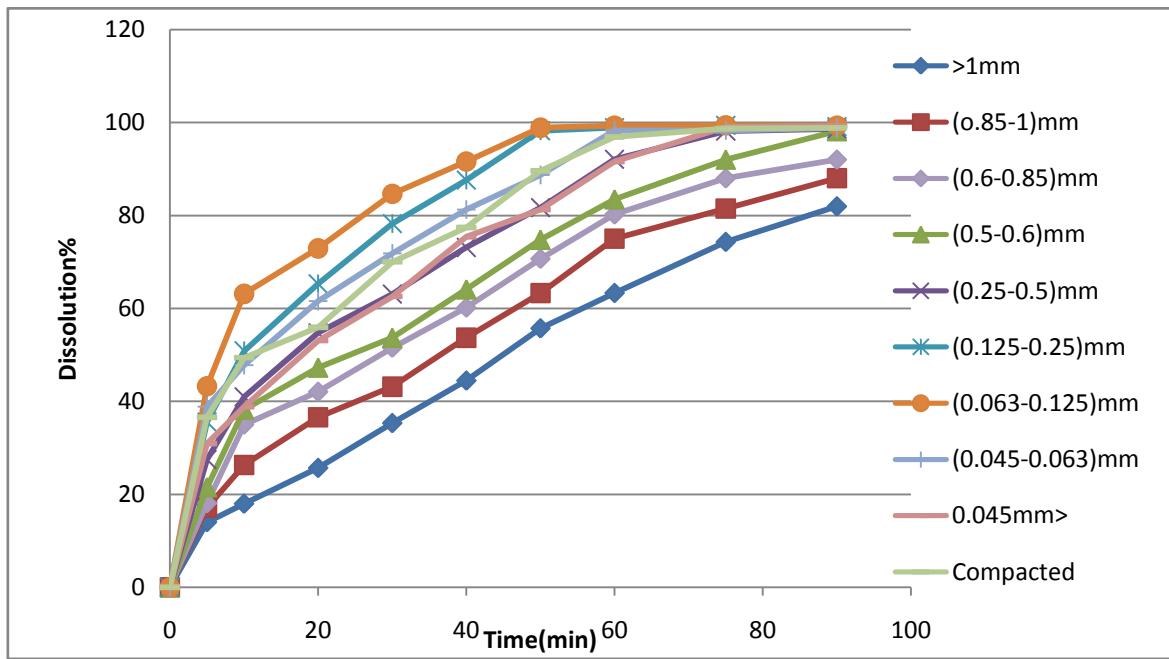


(الشكل 86): معدل انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضر من عينات الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من المصادر المختلفة.

يُلاحظ من الشكل السابق أن جميع معدلات الانحلال لجميع المصادر تحقق الشروط الدستورية بمعدل انحلالها (لا تقل النسبة المئوية المنحلة عن 80% بعد 60 دقيقة من بدء فحص الانحلال) [94]

تم تحضير محافظ جيلاتينية قاسية تحوي أبعاد جسيمات مختلفة من الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذ من المصدر رقم 1 بعد تعريضه لعملية النخل. درس معدل انحلال الجسيمات المختلفة في أبعادها (شكل 87)، فوج

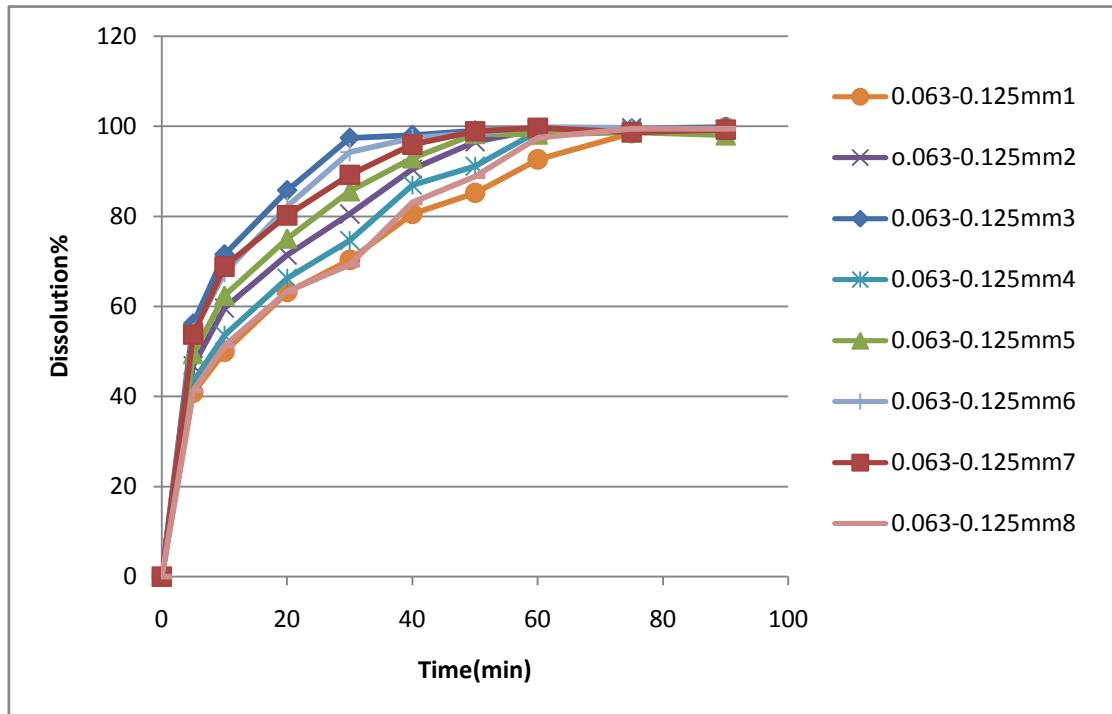
أن معدل الانحلال يزداد بتناقص أبعاد الجسيمات في المجال (1-0.063) مم محققاً لعلاقة Noyes-Whitney، أما الجسيمات ذات البعد الأصغر من  $63\mu\text{m}$  فلا تتطابق عليها علاقة Noyes-Whitney مما يؤدي إلى تناقص معدل انحلالها بسبب وجود قوى سطحية تجذب الجسيمات إلى بعضها البعض. تزداد هذه القوى بتناقص البعد الجسيمي لل المادة الدوائية فتعمل على إعاقة انحلال هذه المادة.



(الشكل 87): معدل الانحلال المحافظ الجيلاتينية المحضر من عدة أبعاد للجسيمات من عينات الأموكسيلين تري هيدرات من المصدر رقم 1.

تم تحضير محافظ جيلاتينية قاسية تحوي مادة الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من عدة مصادر والتي لها نفس مجال البعد الجسيمي (0.063-0.125)مم والذي حق أعلى معدل انحلال مقارنة بالمجالات الأخرى لأبعاد الجسيمات . درس معدل الانحلال ولوحظ تغيراً في معدلات الانحلال من وجية لأخرى لنفس المجال من البعد الجسيمي . يمكن تفسير ذلك بوجود اختلافات فيزيائية لنفس المادة الكيميائية المأخوذة من عدة مصادر تؤدي إلى تغير بالخواص الفيزيوكيميائية للمادة الدوائية، ومن ضمنها الانحلالية ومعدل الانحلال. وعند التحرى عن العلاقة بين معدلات الانحلال ودرجة باهاء محلول المادة الأولية بتراكيز ( 2mg/ml )، لوحظ وجود علاقة طردية بين درجة باهاء محلول ومعدل انحلال المادة الدوائية، حيث حق الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذ من المصدر رقم 3 أعلى معدل للانحلال مقارنةً بمعدلات الانحلال الأخرى التي تعود لوجباتٍ مختلفةٍ لها نفس مجال البعد الجسيمي، وكان لمحلول الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذ من المصدر رقم 3 ( 2mg/ml ) أعلى درجة باهاء، وهذا يدل على تغير واضح في الخواص الفيزيوكيميائية للأموكسيلين تري هيدرات المأخوذ من عدة وجبات ومصادر.

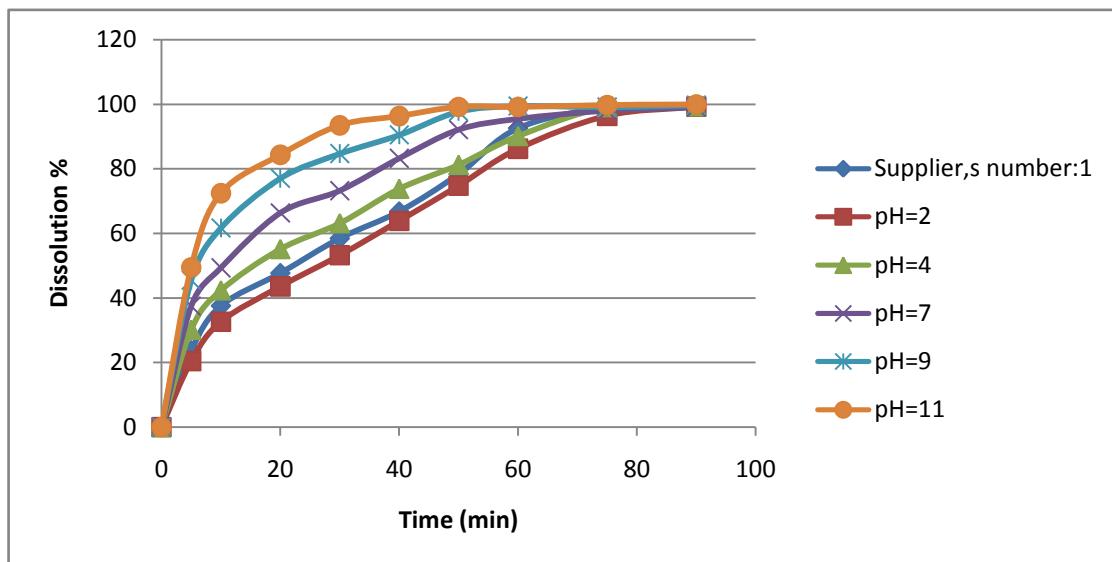
وبالرجوع إلى الصور المجهرية لبلورات الأموکسیلین ترى هيدرات المأخوذ من عدة وجبات ومصادر والتي حققت محاليلها درجات باهاء مختلفة، لوحظ وجود علاقة بين معدلات الانحلال والشكل البلوري للأموکسیلین ترى هيدرات، فقد حققت البلورات ذات الأطوال الأكبر معدلاً أكبر لانحلال وأعلى درجة لباهاء محلولها.



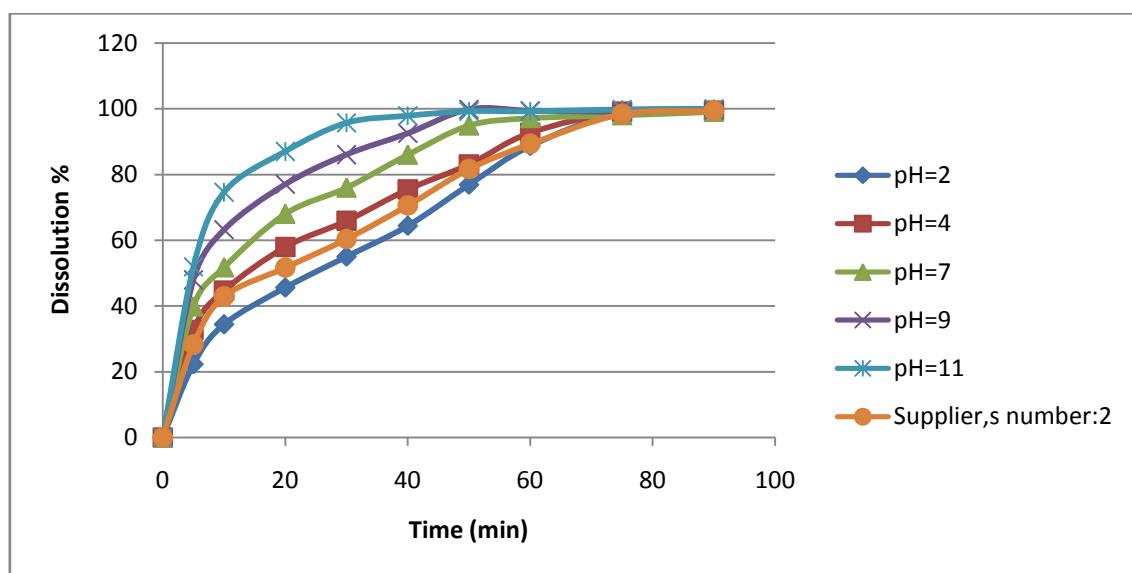
(الشكل 88): معدل انحلال المحافظ الجيلاتينية المحضر لنفس مجال البعد الجسيمي لعينات الأموکسیلین ترى هيدرات المأخوذة من المصادر المختلفة.

يمكن الاستنتاج مما سبق أن معدل انحلال الأموکسیلین ترى هيدرات يتعلق بكلٍ من البعد الجسيمي والشكل البلوري للمادة الدوائية والذي يمكن أن يتغير من مصدر لآخر، لذا لابدّ من دراسة معدلات انحلال الأموکسیلین ترى هيدرات معاد البلورة عند درجات باهاء مختلفة ومقارنة ذلك مع ما ذكر سابقاً.

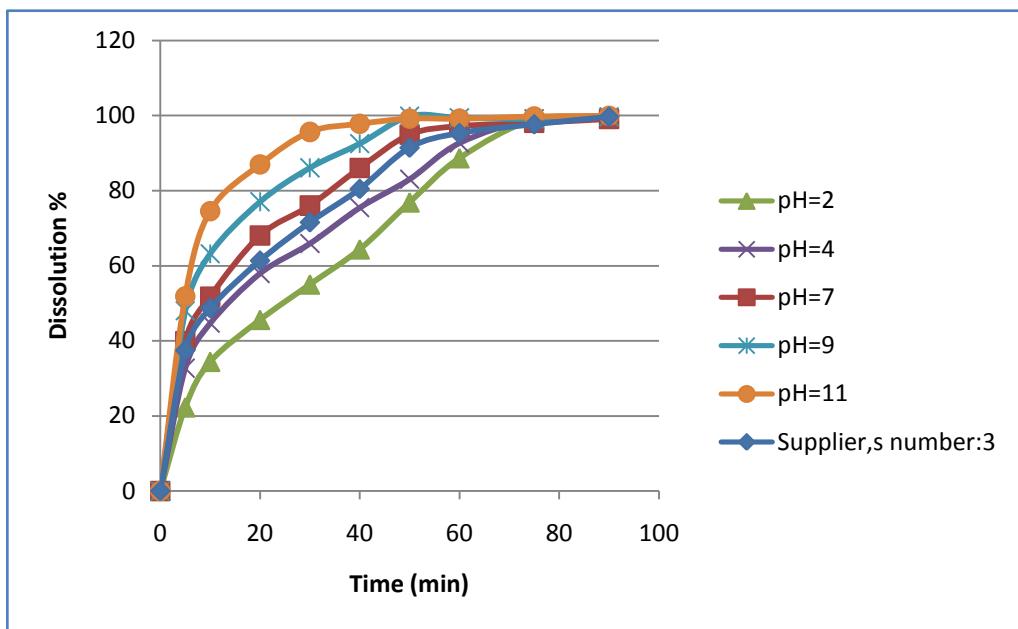
أظهرت دراسة معدل انحلال الأموکسیلین ترى هيدرات معاد البلورة لكل المواد الأولية المدروسة عند درجات باهاء مختلفة لنفس مجال البعد الجسيمي (0.5-0.25)مم ومقارنة ذلك بالعينات الأصلية، أن أعلى معدل لانحلال المادة الأولية كان للأموکسیلین ترى هيدرات معاد البلورة عند (pH=11)، وأنهى معدل انحلال كان للأموکسیلین ترى هيدرات معاد البلورة عند (pH=2)، وكان عامل التشابه بينهما ( $F_2 < 50$ ) . أشارت الدراسة أيضاً إلى أن معدل انحلال الأموکسیلین ترى هيدرات معاد البلورة عند (pH=7) أعلى من معدل انحلال المادة الأصلية في العينات المأخوذة من المصادر 1, 2 فقط فكان عامل التشابه لهما  $F_2=47.919$ ,  $F_2=43.28$  على الترتيب. ولم يتحقق ذلك في العينات المأخوذة من المصدر 3 فقد كان معدل انحلال العينات الأصلية  $F_2=71.68$  مشابهاً لمعدل انحلال العينات معادة البلورة عند (pH=7) . ويمكن أن يفسر ذلك بأن اختلاف طريقة التصنيع من مصدر لآخر يؤثر على الخواص الفيزيوكيميائية للمادة الناتجة ومعدل انحلالها.



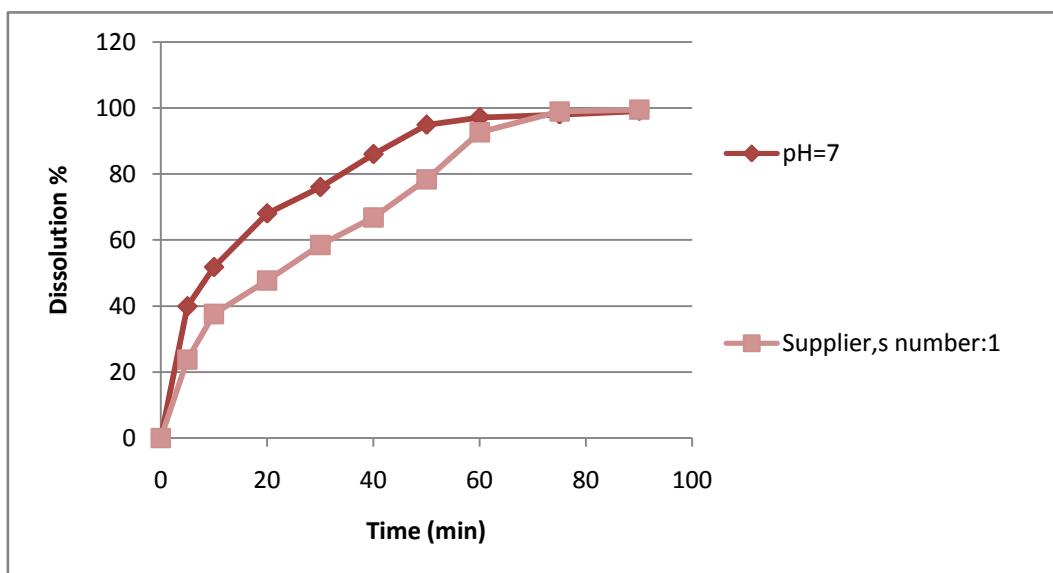
(الشكل 89) : معدل انحلال المحافظ المحضرة من عينات الأموكسيلين تري هيورات الأصلية و العينات معادة البلورة عند درجات باهاء (2, 4, 7, 9, 11) من المصدر رقم 1



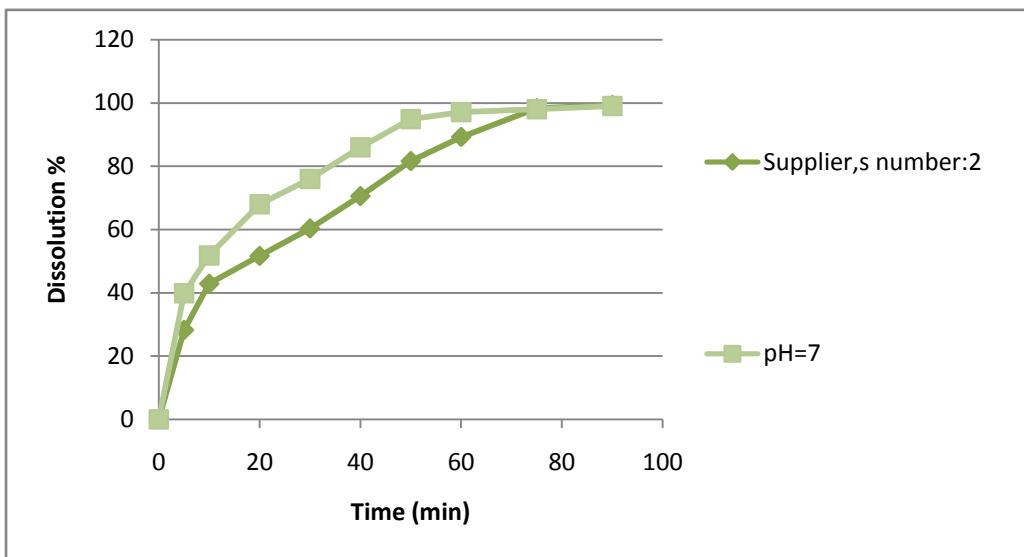
(الشكل 90): معدل انحلال المحافظ المحضرة من عينات الأموكسيلين تري هيورات الأصلية و العينات معادة البلورة عند درجات باهاء (2, 4, 7, 9, 11) من المصدر رقم 2



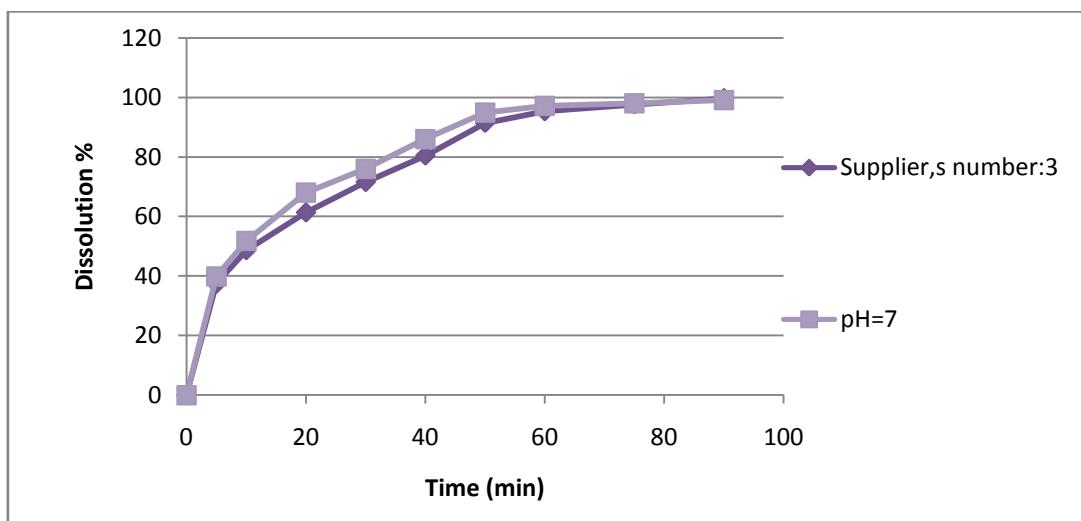
(الشكل 91): دراسة معدل انحلال المحافظ المحضر من عينات الأموكسيسلين تري هيورات الأصلية و العينات معادة البلورة عند درجات باهاء (11, 9, 7, 4, 2) من المصدر رقم 3



(الشكل 92): دراسة معدل انحلال المحافظ المحضر من عينات الأموكسيسلين تري هيورات الأصلية و العينات معادة البلورة عند درجة باهاء=7 من المصدر رقم (1)  
F2=43.28



(الشكل 93): دراسة معدل انحلال المحافظ المحضر من عينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية والعينات معادة البلورة عند درجة باهاء=7 من المصدر رقم (2).  $F_2=47.919$ .



(الشكل 94): دراسة معدل انحلال المحافظ المحضر من عينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية والعينات معادة البلورة عند درجة باهاء=7 من المصدر رقم (3).  $F_2=71.68$ .

تظهر النتائج في الأشكال السابقة تغيراً بمعدل انحلال المادة الأولية الذي يمكن تفسيره اعتماداً على المراجع بعدة عوامل منها التغيرات الشكلية للبلورات، وامتصاص الشوائب على سطح البلورة. وتدل الدراسات على أن وجود بعض الشوائب في فترة نمو البلورات في الوسط المائي يمكن أن يرتبط نمو الأماكن الأكثر نشاطاً من سطح البلورة مما يجعلها أقل فعالية في فحص الانحلال لأن مساحتها السطحية أقل من البلورات الأخرى [6].

تشير الدراسة أيضاً إلى أن طريقة تحضير الأموكسيلين تري هيدرات ودرجة باهاء عملية البلورة هي التي تحكم بشكل البلورات الناتجة ومعدل الانحلال.

**٨-٤. التحقق من صلاحية طريقة UV الطيفية المتبعة في تحليل العينات المأخوذة من فحص الانحلال.**

**Verification of UV spectrophotometric method using in analysis of the dissolution samples.**

**• حساب الخطية:**

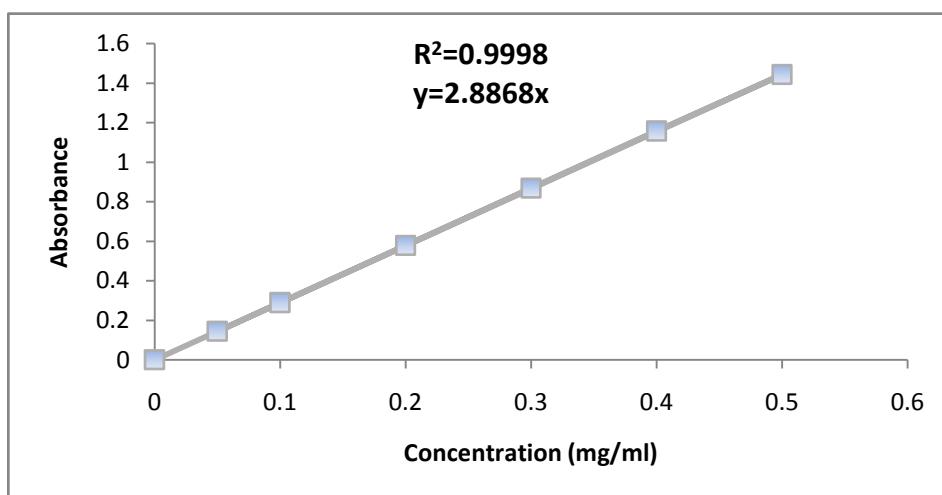
تعبر الخطية عن قدرة الطريقة التحليلية في إعطاء نتائج متناسبة خطياً مع تراكيز العينات المحسنة.

حضرت ستة تراكيز مختلفة من الأموكسیسلين تري هيدرات العياري (0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/ml)، وقيس الامتصاصية الضوئية لكل من هذه المحاليل 3 مرات ثم حسبت القيمة المتوسطة كما يظهر في (الجدول 14).

(الجدول 14): الامتصاصية الضوئية لمحاليل السلسلة العيارية

الانحراف المعياري النسبي (RSD)	الانحراف المعياري (SD)	متوسط الامتصاصية (AVR)	الامتصاصية (3)	الامتصاصية (2)	الامتصاصية (1)	التركيز (mg/ml)
0.138313	0.0002	0.1446	0.1446	0.1448	0.1444	<b>0.05</b>
0.08701	0.000252	0.289233	0.2895	0.289	0.2892	<b>0.1</b>
0.055573	0.000321	0.578433	0.5782	0.5783	0.5788	<b>0.2</b>
0.069502	0.000603	0.867267	0.8667	0.8672	0.8679	<b>0.3</b>
0.034942	0.000404	1.156633	1.157	1.1567	1.1562	<b>0.4</b>
0.174482	0.002517	1.442333	1.44	1.445	1.442	<b>0.5</b>

مثلت العلاقة بين الامتصاصية والتركيز بيانيًّا كما يلي:



(الشكل 95): منحنى السلسلة العيارية لحساب الخطية بطريقة UV الطيفية.

استناداً إلى الخط المستقيم الذي تم الحصول عليه في (الشكل 95) كانت معادلة المستقيم:  $y=2.8868x$  حيث:  $y$  تعبر عن الامتصاصية الضوئية، أما  $x$  فتعبر عن التركيز (mg/ml).

أما الخطية والتي يعبر عنه من خلال  $R^2$  فقد بلغت قيمتها 0.9998 وهي أكبر من الحد المسموح به 0.999، لذا يمكن اعتبار هذه الطريقة خطية.

#### • حساب التكرارية:

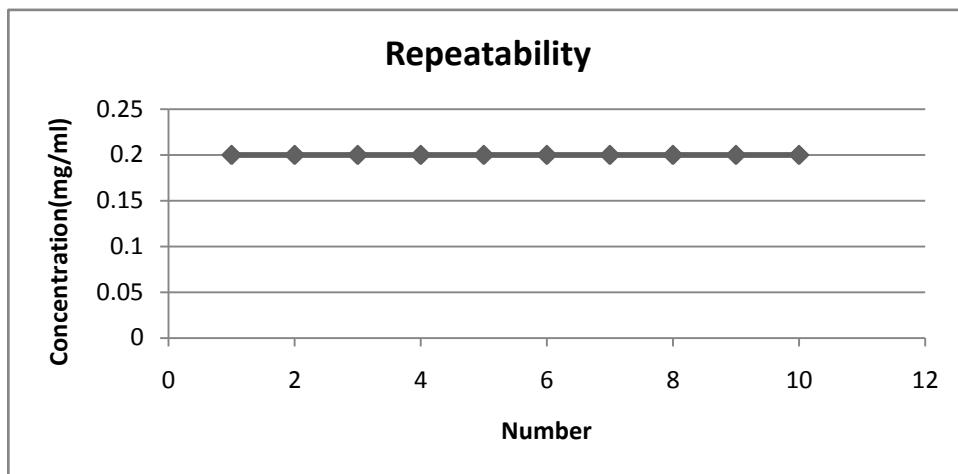
يعبر مصطلح تكرارية المعايرة عن إمكانية تطبيق هذه المعايرات على العينات المختلفة وعن مدى تكرارية النتائج التي يتم الحصول عليها لدى تطبيق هذه المعايرة على عددٍ من العينات المتتجانسة، ويتم التعبير عن التكرارية بالانحراف المعياري والانحراف المعياري النسبي.

حضرت 10 محليل مائية من الأموكسيلين تري هيدرات بنفس التركيز وقيمت الامتصاصية الضوئية لكل محلول 3 مرات ثم حُسبت القيمة المتوسطة، حُسب التركيز العملي للأموكسيلين تري هيدرات في كل مرة بتعويض قيم الامتصاصية في معادلة المستقيم التي تم الحصول عليها سابقاً وسجلت النتائج في (الجدول 15).

(الجدول 15): حسابات التكرارية لمحلول الأموكسيلين تري هيدرات (0.2mg/ml)

رقم العينة	الامتصاصية (1)	الامتصاصية (2)	الامتصاصية (3)	متوسط الامتصاصية	التركيز العملي (mg/ml)
1	0.578	0.5783	0.5788	0.578367	0.200349
2	0.5763	0.5766	0.5769	0.5766	0.199737
3	0.5821	0.5827	0.5828	0.582533	0.201792
4	0.5702	0.5709	0.5706	0.570567	0.197647
5	0.5762	0.5766	0.5767	0.5765	0.199702
6	0.5687	0.5694	0.5694	0.569167	0.197162
7	0.5876	0.5886	0.5889	0.588367	0.203813
8	0.5487	0.548	0.5492	0.548633	0.190049
9	0.5776	0.5781	0.5784	0.578033	0.200233
10	0.5687	0.568	0.5673	0.568	0.196758
			<b>AVR</b>		0.198724
			<b>SD</b>		0.003726
			<b>RSD</b>		1.874844

يتضح من الجدول أن الانحراف المعياري النسبي  $RSD=1.87$  أقل من (الحد المسموح به 2) لذا يمكن اعتبار هذه الطريقة ذات تكرارية جيدة.

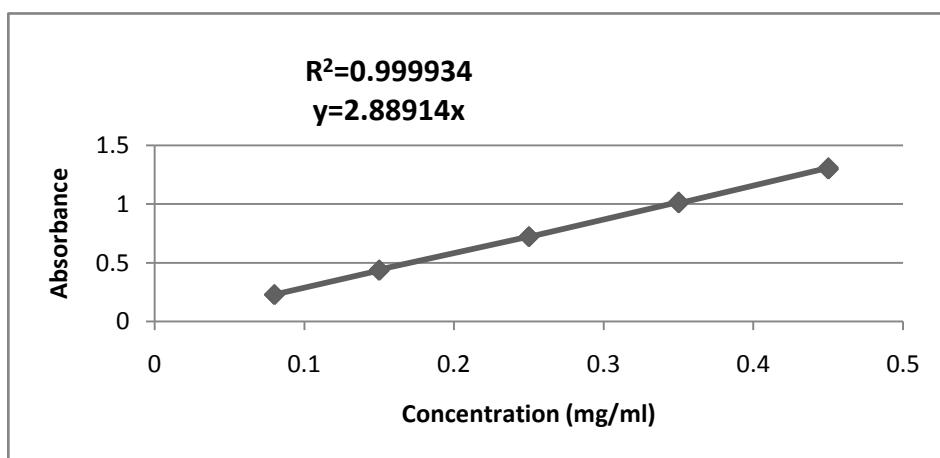


(الشكل 96): التكرارية لمحاليل الأموكسيلين تري هيبرات (0.2mg/ml).

#### • حسابات الصحة :Accuracy

يعبر مصطلح الصحة عن التقارب ما بين القيم الحقيقية والقيم التي يتم الحصول عليها من خلال إجراء هذه المعاير على عدد من العينات المختلفة.

حضر خمسة عشر محلول من الأموكسيلين تري هيبرات بتركيز (0.08, 0.15, 0.25, 0.35, 0.45) mg/ml، وقيمت الامتصاصية الضوئية لكل محلول 3 مرات ثم حسبت القيمة المتوسطة، وحسب التركيز العملي، وسجلت النتائج في الجدول 16.



(الشكل 97): حساب الصحة لطريقة UV الطيفية.

(الجدول 16): حسابات الصحة لطريقة UV الطيفية

الانحراف المعياري النسبي RSD	الانحراف المعياري SD	المتوسط الحسابي Average	النسبة المئوية للاسترداد % Recovery	التركيز العملي (mg/ml)	متوسط الامتصاصية	التركيز النظري (mg/ml)
0.56071	0.558443	99.59557	100.0805	0.080064	0.23113	0.08
			99.72114	0.079777	0.2303	0.08
			98.98504	0.079188	0.2286	0.08
0.893595	0.903115	101.0654	100.0647	0.150097	0.4333	0.15
			101.3117	0.151968	0.4387	0.15
			101.8198	0.15273	0.4409	0.15
0.145984	0.145984	100	100.0139	0.250035	0.7218	0.25
			100.1386	0.250346	0.7227	0.25
			99.84758	0.249619	0.7206	0.25
0.594634	0.596059	100.2395	100.8037	0.352813	1.0185	0.35
			100.2989	0.351046	1.0134	0.35
			99.61599	0.348656	1.0065	0.35
0.61462	0.615365	100.121	100.8191	0.453686	1.3097	0.45
			99.88761	0.449494	1.2976	0.45
			99.65667	0.448455	1.2946	0.45
		<b>AVR</b>	100.2043			
		<b>SD</b>	0.719684			
		<b>RSD</b>	0.718217			

كما يتضح من الجدول فإن متوسط النسبة المئوية للاسترداد 100.204 تقع ضمن المجال المسموح به (98-102) والانحراف المعياري النسبي لكل تركيز أصغر من 2 وهو الحد المسموح، لذا تعتبر الطريقة محققة للصحة.

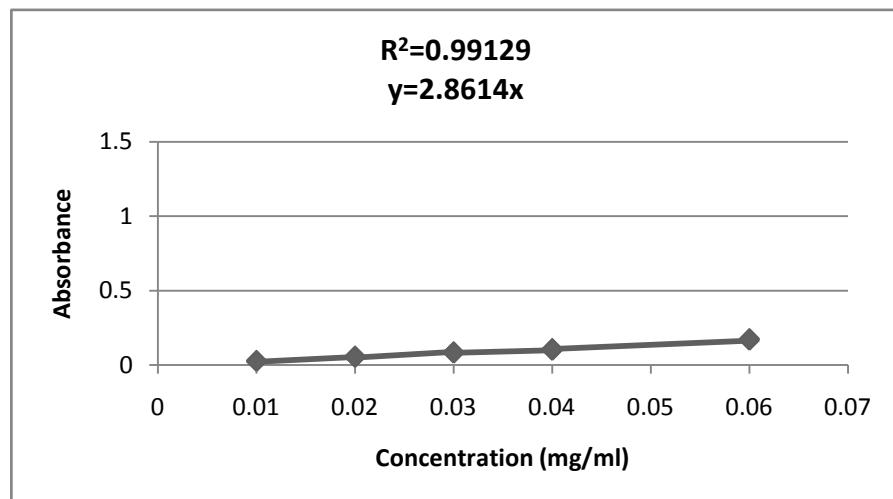
#### • حساب حساسية الطريقة:

ويعبر عنها بحد الكشف وحد المعايرة الكمي، ويعرف حد الكشف على أنه أقل كمية من المادة المعايرة يمكن كشفها ولا يمكن بالضرورة تحديدها كميأ، ويعرف حد المعايرة الكمي على أنه أقل كمية من المادة المعايرة يمكن كشفها بصحبة ودقة مناسبتين.

حضر 20 محلول للأموكسيلين تري هيدرات العياري بتركيز مختلف (0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 mg/ml)، وقيس الامتصاصية الضوئية لكل محلول 3 مرات، ثم حسبت القيمة المتوسطة كما في الجدول (17)

(الجدول 17): حسابات حد الكشف وحد التحديد الكمي لطريقة UV الطيفية

$(y_i - y_{ci})^2$	$y_i - y_{ci}$	الامتصاصية النظرية $y_{ci}$	متوسط الامتصاصية $y_i$	التركيز النظري (mg/ml)
$1.99656 \times 10^{-5}$	0.004468	0.028868	0.0244	0.01
$1.31893 \times 10^{-5}$	-0.00363	0.028868	0.0325	0.01
$3.22954 \times 10^{-7}$	0.000568	0.028868	0.0283	0.01
$3.80478 \times 10^{-5}$	0.006168	0.028868	0.0227	0.01
$5.45961 \times 10^{-6}$	0.002337	0.057737	0.0554	0.02
$3.20743 \times 10^{-5}$	-0.00566	0.057737	0.0634	0.02
$2.43698 \times 10^{-5}$	0.004937	0.057737	0.0528	0.02
$6.29893 \times 10^{-5}$	0.007937	0.057737	0.0498	0.02
$4.38957 \times 10^{-6}$	-0.0021	0.086605	0.0887	0.03
$2.11152 \times 10^{-5}$	-0.0046	0.086605	0.0912	0.03
$8.65806 \times 10^{-5}$	0.009305	0.086605	0.0773	0.03
$2.02939 \times 10^{-5}$	0.004505	0.086605	0.0821	0.03
0.000264816	0.016273	0.115473	0.0992	0.04
$1.07136 \times 10^{-5}$	0.003273	0.115473	0.1122	0.04
0.000352432	0.018773	0.115473	0.0967	0.04
$6.19866 \times 10^{-5}$	0.007873	0.115473	0.1076	0.04
$7.58596 \times 10^{-5}$	0.00871	0.17321	0.1645	0.06
$3.0143 \times 10^{-5}$	-0.00549	0.17321	0.1787	0.06
$3.71783 \times 10^{-7}$	0.00061	0.17321	0.1726	0.06
$1.18867 \times 10^{-6}$	-0.00109	0.17321	0.1743	0.06
0.001126308	<b>Sum</b>			



(الشكل 98): حساب حد الكشف وحد التحديد الكمي لطريقة UV الطيفية

تحدد قيمة كلٍ من حد الكشف LOD، وحد التحديد الكمي LOQ من خلال القوانين التالية:

$$SR^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (yi - yci)^2}{n-2}$$

$$SR = \sqrt{SR^2}$$

$$LOD = \frac{3.3 \times SR}{b}$$

$$LOQ = \frac{10 \times SR}{b}$$

حيث أن  $yi$ : قيمة الامتصاصية العملية،  $yci$ : قيمة الامتصاصية النظرية.

$N$ : عدد العينات،  $b$ : ميل الخط المستقيم.

وبتطبيق القوانين السابقة استناداً إلى القيم التي تم الحصول عليها من (الجدول 17) يكون:

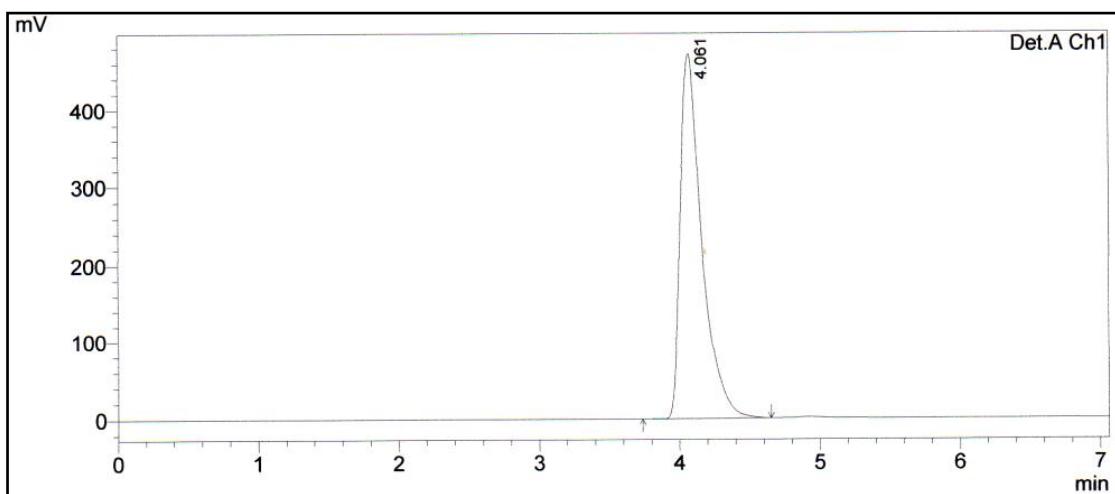
$$LOD = 0.009 \text{ mg/ml}, SR = 0.00791, SR^2 = 6.257 \times 10^{-5}$$

$$LOQ = 0.0276 \text{ mg/ml}$$

**9-4. مقاييس الأموكسيلين تري هيدرات باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) والتحقق من صلاحية الطريقة التحليلية.**

**Assay of amoxicillin trihydrate using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and validation of the analytical method.**

تم تحضير الطور المتحرك باستعمال (الوقاء الفوسفاتي: الميتانول: الأسيتونتريل) بالنسب (20:60:20) على التسلسل، فظهرت القمة بشكل حاد عند زمن احتباس 4.062 دقيقة كما يظهر (الشكل 99)، لذا تم اعتماد هذا الطور المتحرك.



(الشكل 99): كروماتوغرام تحديد قمة الأموكسيلين تري هيدرات باستخدام HPLC

تمت مقاييس عينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية ومعادة البلورة باستخدام HPLC للتأكد من نقاوة تلك العينات معادة البلورة ومقارنتها بالعينات الأصلية (جدول 18)

(الجدول 18) : نتائج معايرة عينات الأموكسيلين تري هيدرات باستخدام HPLC

رقم المصدر	العينات الماخوذة	متوسط المساحة تحت المنحني( $10^5 \times$ )	التركيز العملي (mg/ml)	النسبة المئوية %	درجة باهء محلول (2mg/ml)
No.1	العينات الأصلية	48.59429	0.096747	96.74719	4.29
	pH=2*	48.2855	0.096127	96.12692	4.22
	pH=4*	48.67766	0.096915	96.91466	4.31
	pH=7*	49.29595	0.098157	98.15667	4.58
	pH=9*	49.66474	0.098897	98.89748	4.75
	pH=11*	49.9973	0.099566	99.56552	5.07
	العينات الأصلية	48.98768	0.097537	97.53743	4.43

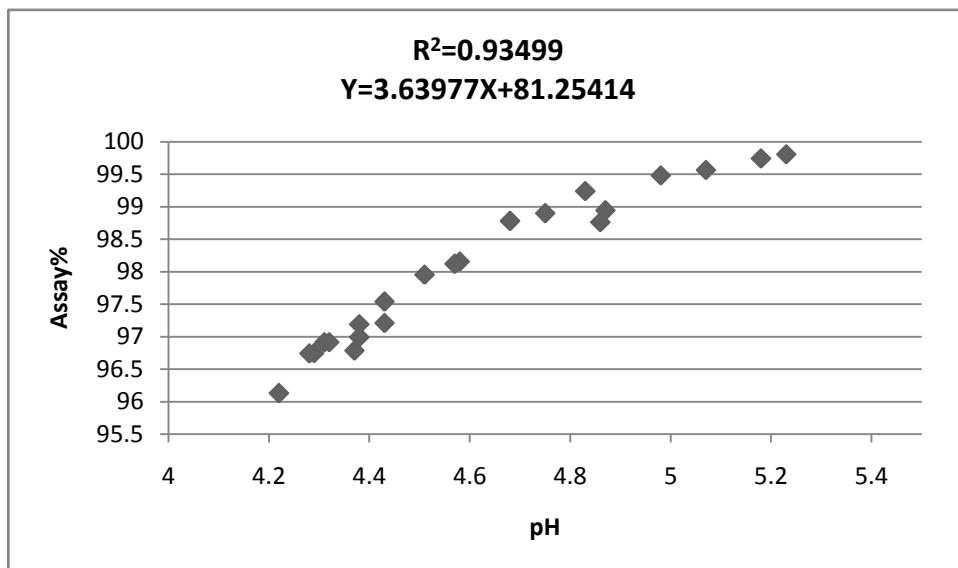
4.28	96.74087	0.096741	48.59114	pH=2**	No.2
4.38	97.1906	0.097191	48.81502	pH=4**	
4.68	98.78303	0.098783	49.60777	pH=7**	
4.86	98.7608	0.098761	49.5967	pH=9**	
5.18	99.74285	0.099743	50.08558	pH=11**	
4.83	99.24081	0.099241	49.83566	العينات الأصلية	No.3
4.32	96.91285	0.096913	48.67676	pH=2***	
4.43	97.20973	0.09721	48.82455	pH=4***	
4.87	98.94221	0.098942	49.68701	pH=7***	
4.98	99.48325	0.099483	49.95635	pH=9***	
5.23	99.80794	0.099808	50.11798	pH=11***	No.4
4.38	96.99369	0.096994	48.717	العينات الأصلية	
4.51	97.95235	0.097952	49.19424	العينات الأصلية	
4.68	98.78098	0.098781	49.60674	العينات الأصلية	
4.57	98.11842	0.098118	49.27691	العينات الأصلية	
4.37	96.78248	0.096782	48.61185	العينات الأصلية	No.8

\* عينات الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من المصدر رقم 1 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة

\*\* عينات الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من المصدر رقم 2 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة

\*\*\* عينات الأموكسيلين تري هيدرات المأخوذة من المصدر رقم 3 ومعادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة

أظهرت النتائج زيادةً في نقاوة المادة الأولية عند إعادة بلورتها في وسط فلوي ذي درجة باهاء مرتفعة، ونقاوة أقل عند إعادة بلورتها في وسط ذي درجة باهاء منخفضة. تؤكد دراسة النقاوة في جهاز HPLC صحة النتائج التي تم التوصل إليها سابقاً ما بين أبعاد البلورات وزيادة معدل الانحلال للمواد المعاد بلورتها في درجات باهاء مختلفة. مثلت العلاقة التي تربط درجة باهاء محلول (2 mg/ml) بنقاوة المادة الأولية (الشكل 100).



(الشكل 100): العلاقة الخطية التي تربط درجة باهاء محلول الأموكسيلين تري هييدرات مع النقاوة.

أظهرت النتائج وجود اختلاف في نقاوة عينات الأموكسيلين تري هييدرات ضمن مجال يتراوح بين (96.13-99.81)% والذي يقع ضمن الحدود الدستورية لنقاوة الأموكسيلين تري هييدرات وفقاً لدستور الأدوية البريطاني 2007 الذي حدد المجال المقبول بين (95-102)%، وحدد الدستور الشوائب المحتمل وجودها:

A (6-aminopenicillanic acid), B (L-amoxicillin), C (amoxicillin diketopiperazines), D (penicilloic acids of amoxicillin), E (penilloic acids of amoxicillin), F (3-(4-hydroxyphenyl) pyrazin-2-ol), G (4-hydroxyphenyl)glycylamoxicillin and H ( $\alpha$ -hydroxyphenylglycine).

للحظ وجود علاقة طردية بين درجة باهءة محلول ونقاء المادة الأولية، وكان معامل الارتباط أكبر من 0.9 ( $R^2=0.93$ )، مما يؤكد أهمية ظروف البلورة في إمكانية وجود الشوائب في المادة الأولية الناتجة وهذا ما يؤثر على خواص المادة الصلبة للأموكسيلين تري هييدرات.

أكّدت الدراسة أن الشائبة  $\alpha$ -hydroxyphenylglycine تزداد انحلاليتها بالماء كلما زادت درجة الباهء، ولهذا فإن زيادة درجة باهءة الوسط الذي يتم فيه تصنيع الأموكسيلين تري هييدرات يؤدي لوجود كمية أكبر من هذه الشائبة في حالة متشردة مما يقلل الكمية المترسبة منها مع بلورات الأموكسيلين تري هييدرات [88]، ويمكن أن يفسر ذلك أيضاً بتشكل شاردة الكربوكسيلات في جزيئات الأموكسيلين في الوسط القلوي وتشكل هذه الشوارد السالبة يؤدي لظروف بلورة أفضل ونقاوة أكثر للبلورات وتحسن نوعية بلورات الأموكسيلين تري هييدرات الناتجة، وتشكل الملح الصوديومي يفسر انحلال البلورات المعد تحضيرها عند pH 11 لأن البلورة تركيبها شاردي وانحلالها أفضل بكثير.

ويمكن تفسير ذلك بعدم قدرة الأوجه البلورية للمادة الأولية في بعض الأحيان- على التمييز بين جزيئات المضييف وجزيئات الشوائب مؤدياً ذلك إلى تسلسل متعاقب من اتحاد جزيئات الشوائب مع بلورات المادة الأولية وهذا ما يغير الخواص الفيزيائية والكيميائية للبلورات الناتجة<sup>[4]</sup>.

### التحقق من صلاحية طريقة HPLC المتبعة في مقاييس العينات

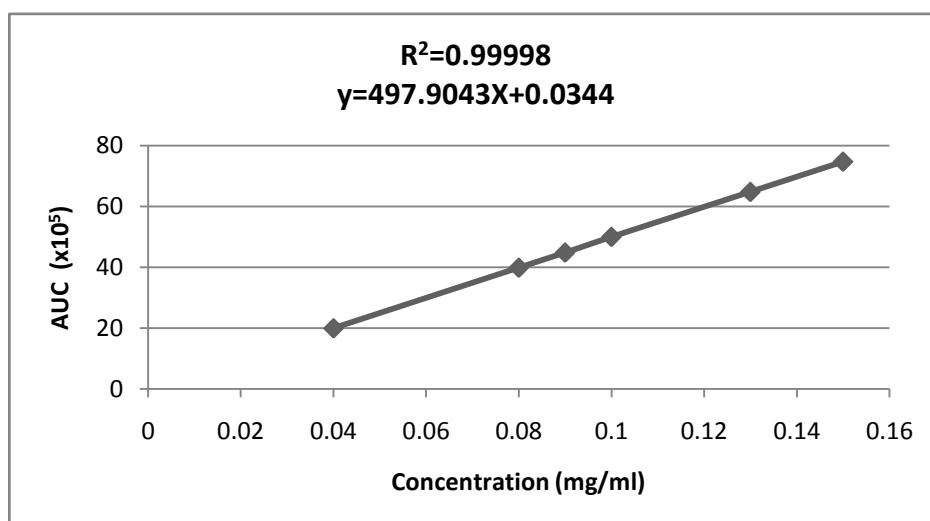
- حسابات الخطية:

حضرت ستة تراكيز مختلفة من الأموكسيلين تري هيدرات العياري (0.1, 0.13, 0.15, 0.04, 0.08, 0.09 mg/ml) وحقن كل تراكيز من التراكيز المحضرة 3 مرات ثم حسبت القيمة المتوسطة لمساحة تحت السطح كما يظهر في (الجدول 19).

(الجدول 19): حسابات الخطية لطريقة HPLC

الاتحراف المعياري النسبي RSD	الاتحراف المعياري SD	متوسط المساحة تحت السطح $\times 10^5$	المساحة تحت السطح (3) $\times 10^5$	المساحة تحت السطح (2) $\times 10^5$	المساحة تحت السطح (1) $\times 10^5$	التركيز (mg/ml)
0.007483	0.001491	19.92384	19.92232	19.9253	19.9239	0.04
0.024852	0.0099	39.8366	39.8267	39.8465	39.8366	0.08
0.022426	0.01005	44.81477	44.8248	44.8047	44.8148	0.09
0.019913	0.009951	49.97317	49.9633	49.9832	49.973	0.1
0.015208	0.009845	64.73753	64.74732	64.73763	64.72763	0.13
0.001157	0.000864	74.68435	74.68367	74.68532	74.68405	0.15

مثلت العلاقة بين المساحة تحت السطح والتركيز بيانيًّا كما يلي:



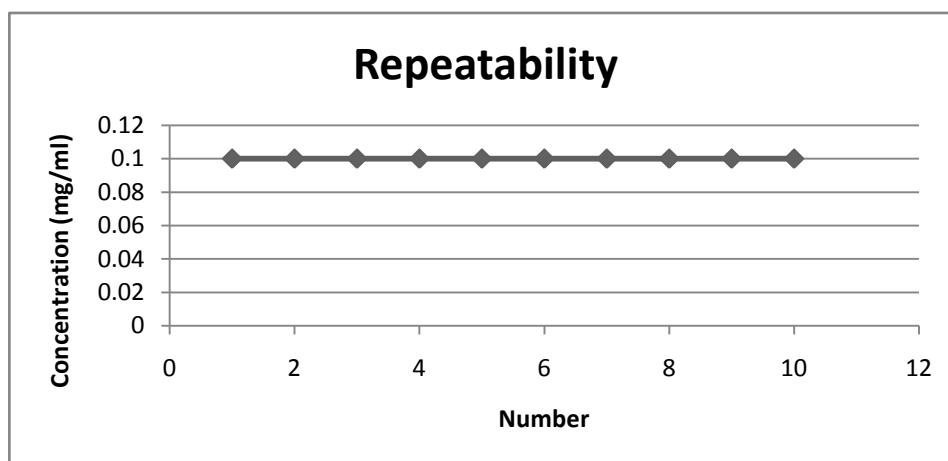
(الشكل 101): منحنى السلسلة العيارية لطريقة HPLC.

استناداً إلى الخط المستقيم الذي تم الحصول عليه في (الشكل 101) كانت معادلة المستقيم:

(y=497.9043X+ 0.0344)، أما الخطية والتي يعبر عنها من خلال  $R^2$  فقد بلغت قيمتها 0.99998 وهي أكبر من الحد المسموح به 0.999، لذا يمكن اعتبار هذه الطريقة خطية.

- حساب التكرارية:

حضرت 10 محليلات مائية من الأموكسيلين تري هيدرات بنفس التركيز (0.1mg/ml)، وأعيد حقن كل محلول 3 مرات ثم حُسبت القيمة المتوسطة، حُسب التركيز العملي للأموكسيلين تري هيدرات في كل مرة بتعويض المساحة تحت المنحني في معادلة المستقيم التي تم الحصول عليها سابقاً وسجلت النتائج في (الجدول 20).



(الشكل 102): التكرارية لمحلول الأموكسيلين تري هيدرات (0.1mg/ml)

(الجدول 20): حسابات التكرارية لمحلول الأموكسيلين تري هيدرات (0.1mg/ml)

رقم العينة	المساحة تحت السطح (1) ( $10^5$ *)	المساحة تحت السطح (2) ( $10^5$ *)	المساحة تحت السطح (3) ( $10^5$ *)	المتوسط المساحة تحت السطح ( $10^5$ *)	التركيز العملي (mg/ml)
1	49.56777	49.47658	49.45568	49.50001	0.098567
2	50.18754	50.25578	50.24543	50.22958	0.100032
3	50.45678	50.36657	50.5654	50.46292	0.100501
4	49.54367	49.4765	49.23453	49.41823	0.098402
5	49.76543	49.68876	49.21787	49.55735	0.098682
6	49.5435	49.44678	49.35678	49.44902	0.098464
7	49.66749	49.54337	49.2135	49.47479	0.098516
8	49.65467	49.2345	49.43235	49.44051	0.098447
9	50.66546	50.98765	50.8765	50.8432	0.101265
10	49.44387	49.54379	49.6566	49.54809	0.098663

0.099154	<b>AVR</b>				
0.001043	<b>SD</b>				
1.052248	<b>RSD</b>				

يتضح من الجدول أن الانحراف المعياري النسبي RSD=1.052248 أقل من (الحد المسموح به وهو 2) لذا يمكن اعتبار هذه الطريقة ذات تكرارية جيدة.

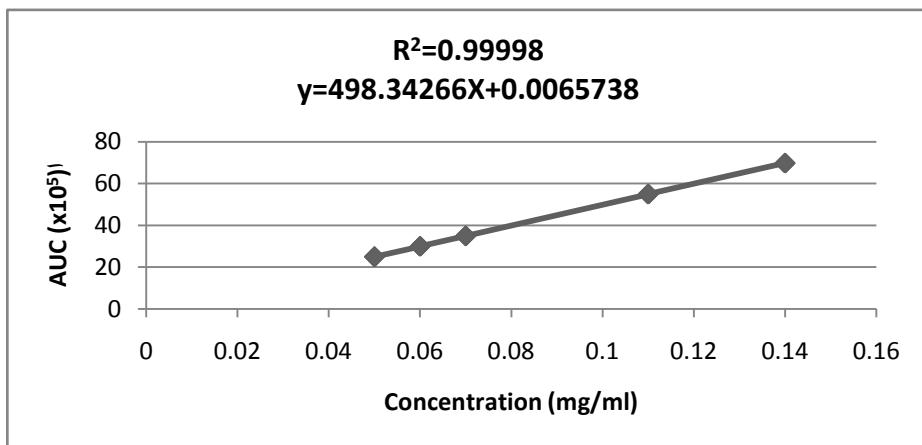
#### • حساب الصحة:

حضر خمسة عشر محلول من الأموكسيلين تري هيدرات بتراكيز (0.05, 0.14, 0.11, 0.07, 0.06 mg/ml)، وحقن كل محلول 3 مرات ثم حسبت القيمة المتوسطة، وحسب التركيز العملي، وسجلت النتائج في (الجدول 21).

(الجدول 21): حسابات صحة الطريقة

الانحراف المعياري النسبي	SD الانحراف المعياري	AVR المتوسط الحسابي	النسبة المئوية للاسترداد %	التركيز العملي (mg/ml)	متوسط المساحة تحت السطح $10^5$ *	التركيز (mg/ml)
0.003964	0.003964	99.99578	99.99998	0.05	24.92961	0.05
			99.99211	0.049996	24.92765	0.05
			99.99524	0.049998	24.92843	0.05
0.160942	0.160844	99.93853	99.75605	0.059854	29.83578	0.06
			99.99981	0.06	29.9086	0.06
			100.0597	0.060036	29.9265	0.06
0.034769	0.034756	99.96279	99.99942	0.07	34.8875	0.07
			99.93028	0.069951	34.8634	0.07
			99.95868	0.069971	34.8733	0.07
0.180236	0.180525	100.1601	100.0002	0.11	54.80397	0.11
			100.3558	0.110391	54.99876	0.11
			100.1242	0.110137	54.87187	0.11
0.064299	0.064293	99.99152	100.0003	0.14	69.74123	0.14
			99.92328	0.139893	69.68752	0.14
			100.051	0.140071	69.77652	0.14
		<b>AVR</b>	100.0097			
		<b>SD</b>	0.125021			
		<b>RSD</b>	0.125009			

كما يتضح من الجدول فإن متوسط النسبة المئوية للاسترداد 100.0097 تقع ضمن المجال المسموح به (98-102) والانحراف المعياري النسبي لكل تركيز أصغر من 2 وهو الحد المسموح، لذا تعتبر الطريقة محققة للصحة.



(الشكل 103): حساب الصحة لطريقة HPLC

• حساب حساسية الطريقة:

حضر 16 محلول للأموكسيلين تري هيبرات العياري بتركيزات مختلفة (0.005, 0.01, 0.015, 0.025 كل تركيز 4 محلائل، وحقن كل محلول 3 مرات، ثم حسبت القيمة المتوسطة كما في (الجدول 22) mg/ml

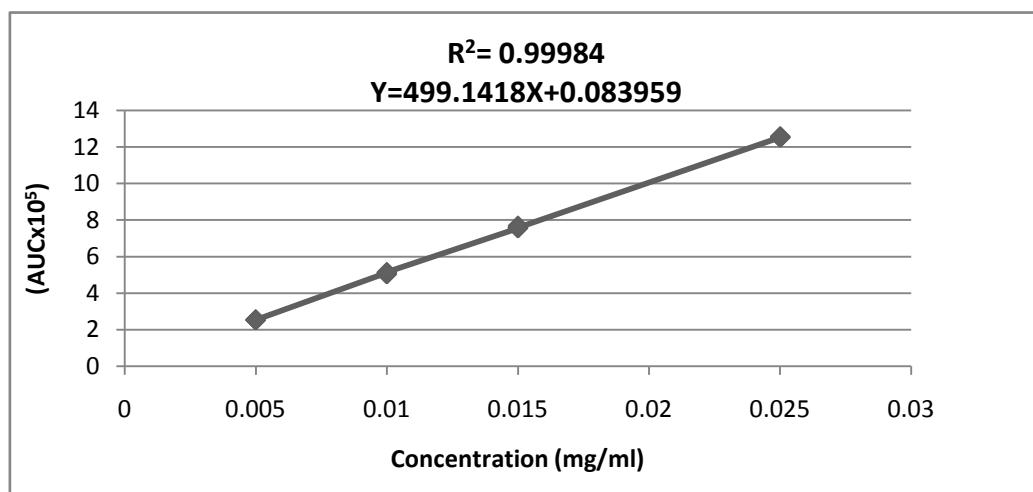
(الجدول 22): حسابات حد الكشف وحد التحديد الكمي لطريقة HPLC

$(y_i - \bar{y})^2$	$(y_i - \bar{y})$	المساحة النظرية تحت السطح $(\times 10^5)$	متوسط المساحة تحت السطح $(\times 10^5)$	التركيز النظري (mg/ml)
0.000159	0.012618	2.523922	2.53654	<b>0.005</b>
0.000473	0.021738	2.523922	2.54566	<b>0.005</b>
0.001912	0.043728	2.523922	2.56765	<b>0.005</b>
0.000159	0.012618	2.523922	2.53654	<b>0.005</b>
0.010629	0.103097	5.013443	5.11654	<b>0.01</b>
0.001023	0.031987	5.013443	5.04543	<b>0.01</b>
0.002819	0.053097	5.013443	5.06654	<b>0.01</b>
0.019323	0.139007	5.013443	5.15245	<b>0.01</b>
0.002871	0.053586	7.502965	7.55655	<b>0.015</b>
0.008965	0.094686	7.502965	7.59765	<b>0.015</b>
0.034609	0.186036	7.502965	7.689	<b>0.015</b>
0.006985	0.083576	7.502965	7.58654	<b>0.015</b>
0.00119	0.034493	12.48201	12.5165	<b>0.025</b>
0.003121	0.055862	12.48201	12.53787	<b>0.025</b>
0.001886	0.043423	12.48201	12.52543	<b>0.025</b>
0.009149	0.095652	12.48201	12.57766	<b>0.025</b>
0.105274	<b>Sum</b>			

وبتطبيق القوانين السابقة استناداً إلى القيم التي تم الحصول عليها من (الجدول 22) يكون:

$$\text{LOD} = 5.73 \times 10^{-4} \text{ mg/ml}, \text{SR} = 0.08671546, \text{SR}^2 = 0.00751957$$

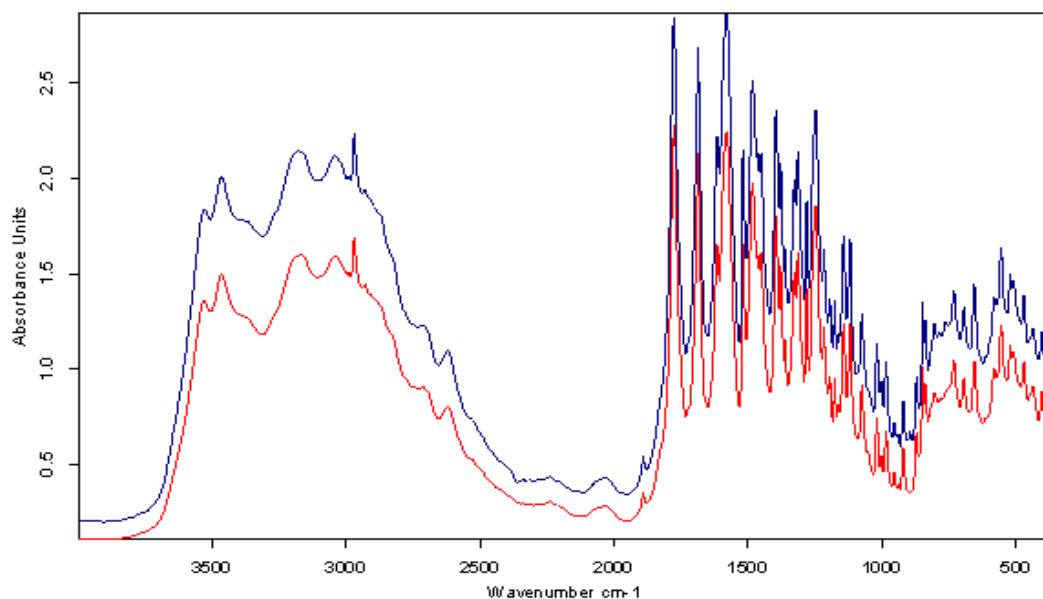
$$\text{LOQ} = 17.37 \times 10^{-4} \text{ mg/ml}$$



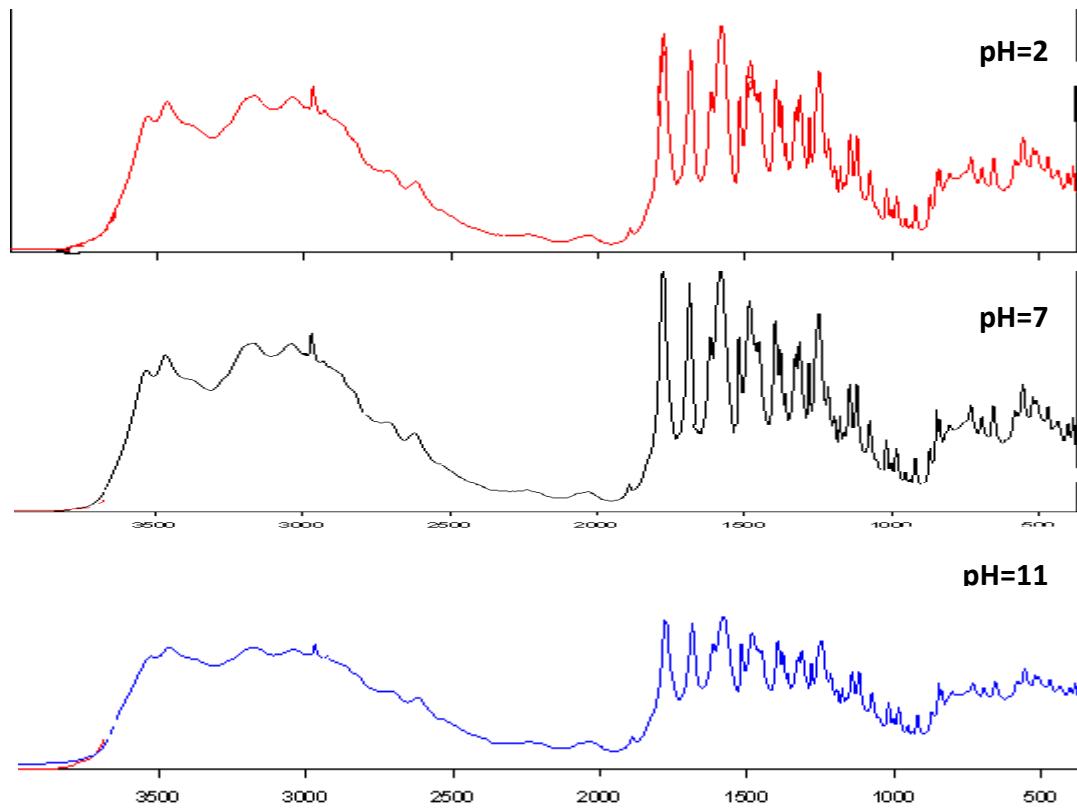
(الشكل 104): حسابات الحساسية لطريقة HPLC

#### 4-10- قياس طيف الأشعة تحت الحمراء الوسطى للأموكسيلين تري هيدرات المأخوذ من مصادر مختلفة.

تم قياس طيف الأشعة تحت الحمراء الوسطى للأموكسيلين تري هيدرات ومقارنة طيف العينات الأصلية مع طيف العياري، ومقارنة طيف العينات معادة البلوره عند درجات باهاء مختلفة مع طيف العينة الأصلية باستخدام جهاز Bruker بعامل فصل  $2\text{cm}^{-1}$ .

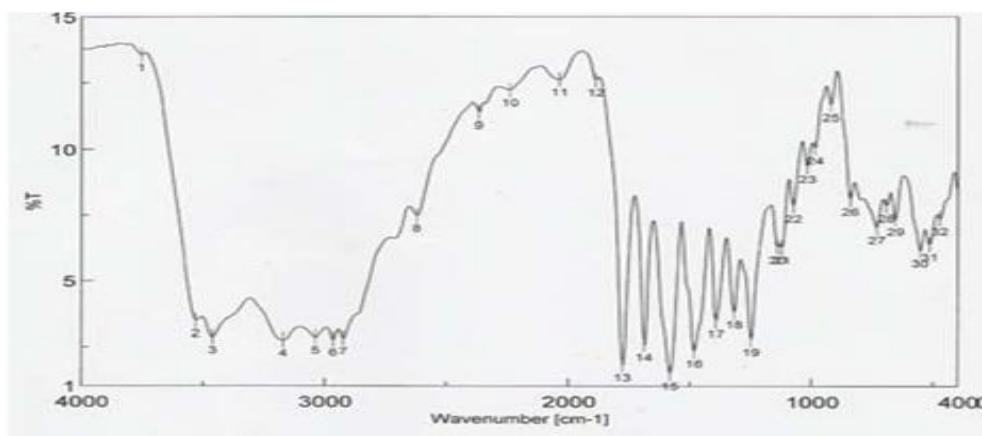


(الشكل 105): مقارنة طيف الأشعة تحت الحمراء للعياري \* مع العينة المأخوذة من المصدر 1\*



(الشكل 106): مقارنة طيف الأشعة تحت الحمراء للعينات معادة البلورة عند درجات باهاء مختلفة للمصدر 1.

لم تظهر الأطيف المقاسة للعينات المأخوذة أي تغير ملحوظ، وأبدت كل العينات طيفاً مماثلاً لطيف عينة الأموكسيلين تري هيدرات العباري مع عصابات امتصاص عند  $cm^{-1}$  (3550-3400) والتي تعبر عن اهتزاز روابط (b-lactam C=O) ( $cm^{-1}$ ) (1688)Cm<sup>-1</sup> والتي تعبر عن اهتزاز روابط (COO<sup>-</sup>) والتي تعبر عن اهتزاز روابط (Amide C=O) ( $cm^{-1}$ ) (1582) والتي تعبر عن اهتزاز روابط (COO<sup>-</sup>) (1519) $cm^{-1}$  والتي تعبر عن الحلقة العطرية، ويشير طيف FT-IR لعدم حدوث أي تغير على المستوى الجزيئي لل المادة.

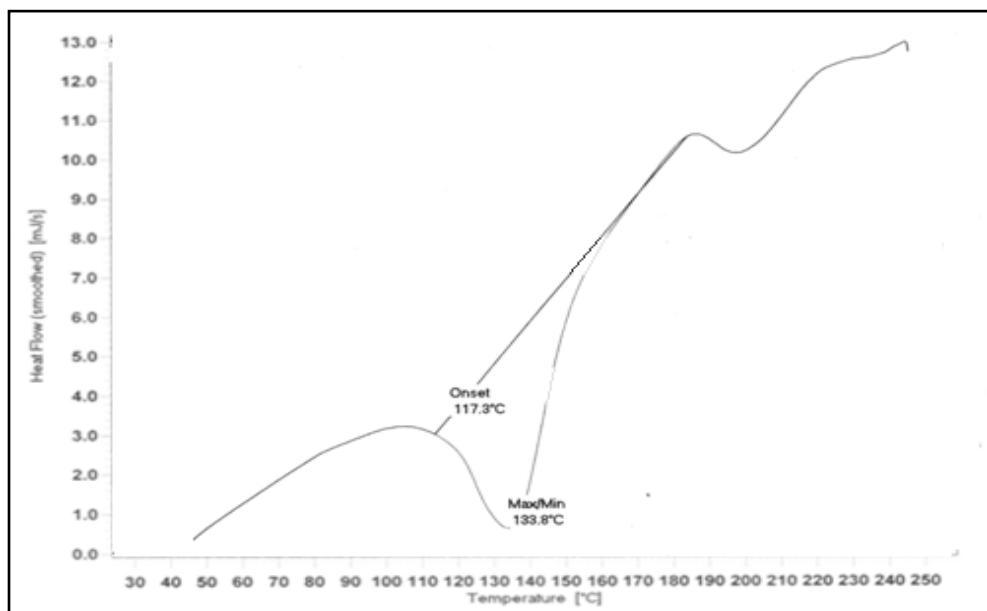


(الشكل 107): طيف FT-IR للأموكسيلين تري هيدرات منسوباً إلى التفودية.

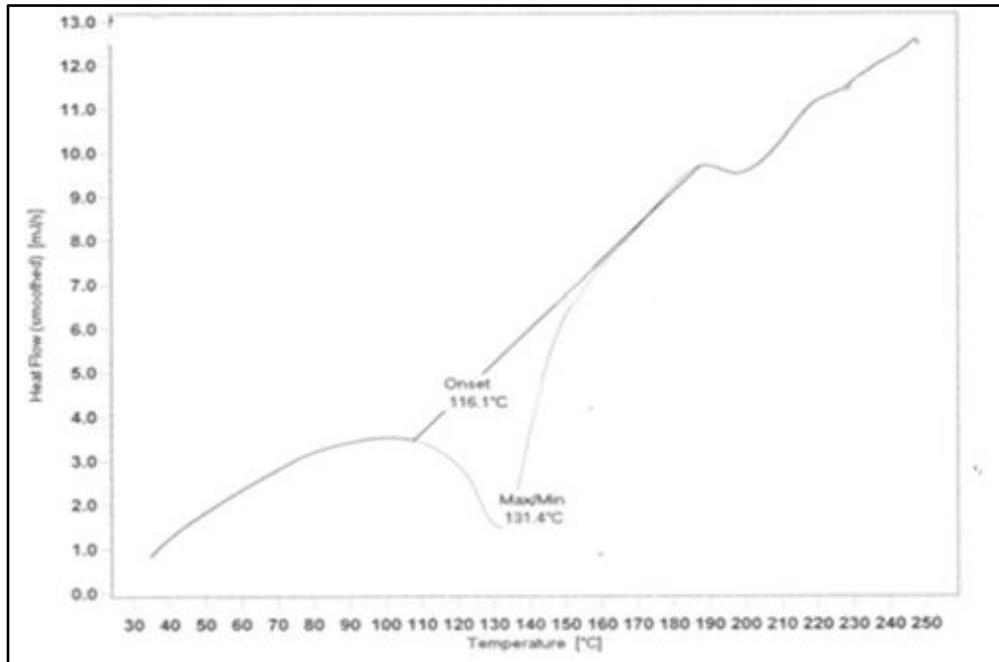
#### 4-11- نتائج تحليل التفاضل الحراري لعينات الأموكسيلين تري هيورات معادة البلورة

#### Results of Differential Scanning Calorimetry analysis of recrystallized amoxicillin trihydrate

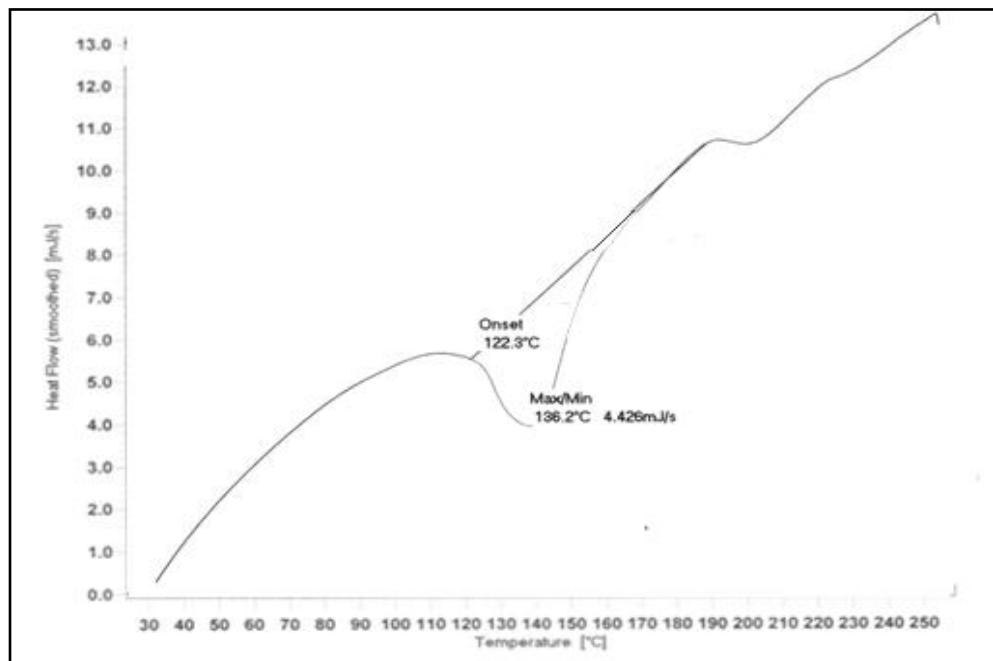
تظهر نتائج تحليل التفاضل الحراري لعينات الأموكسيلين تري هيورات معادة البلورة زيادة درجة بدء الانصهار (من  $^0\text{C}$  117.3 إلى  $^0\text{C}$  125.8)، وانخفاض مجال الانصهار (من  $^0\text{C}$  16.5 إلى  $^0\text{C}$  7.3) مع زيادة درجة باهاء وسط إعادة البلورة وزيادة طول البلورات الناتجة. وتؤكد نتائج DSC النتائج التي تم الحصول عليها بمجهز الفلورة الماسح، وتشير النتائج إلى زيادة الثباتية الحرارية للبلورات الأكثر طولاً من الأموكسيلين تري هيورات وقلة الثباتية الحرارية للبلورات الأقصر، ويمكن تفسير هذه الظاهرة بضعف الروابط الجزيئية في البلورات الأقل طولاً من عينات الأموكسيلين تري هيورات واحتاجتها لطاقة حرارية أصغر لتحطيم هذه الروابط وهذا ما يؤدي إلى سرعة تحطمها عند درجات حرارة أخفض. تتعلق درجة الانصهار بشكل عام بعدد الروابط الجزيئية في البلورة وبقية تلك الروابط والتي تزداد في البلورات الأكثر طولاً وتحفيظ في البلورات الأقصر، وهذا ما يؤكد أهمية وجود الشوائب في البنية البلورية للمادة الفعالة وقوة الروابط الجزيئية وعددتها في البلورة الواحدة، حيث وجد أنها تؤثر في الترتيب الصحيح للجزيئات ضمن البنية البلورية مؤدياً بذلك لحدوث تغير في شكل البلورة، وإضعاف قوى الروابط بين الجزيئات ضمن البلورة<sup>[96]</sup>.



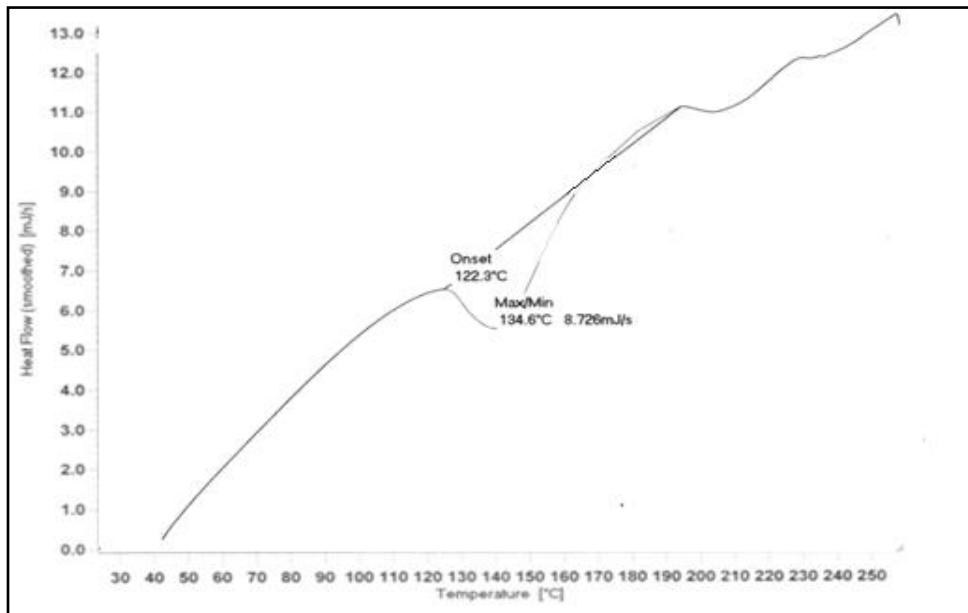
(الشكل 108): مخطط DSC لعينة الأموكسيلين تري هيورات معادة البلورة عند درجة باهاء=2 للمصدر 1.



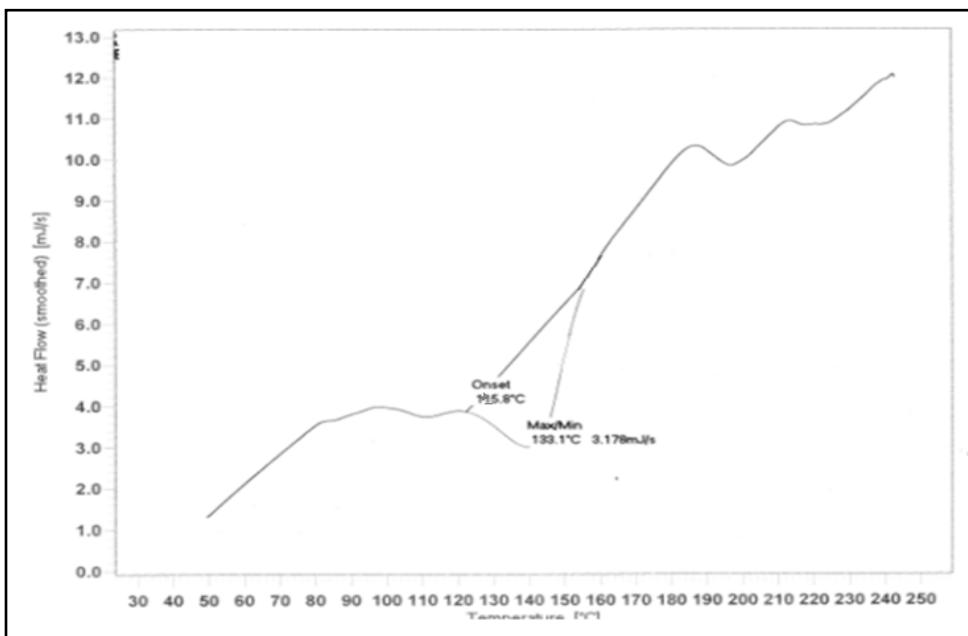
(الشكل 109): مخطط DSC لعينة الأموكسيلين تري هيدرات معادة البلورة عند درجة باهاء=4 للمصدر 1.



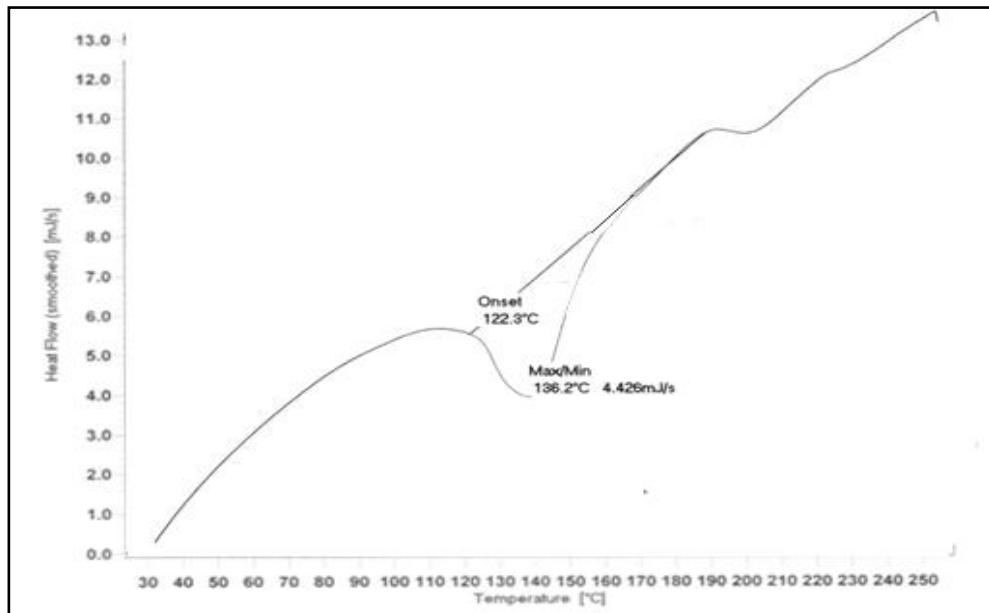
(الشكل 110): مخطط DSC لعينة الأموكسيلين تري هيدرات معادة البلورة عند درجة باهاء=7 للمصدر 1.



(الشكل 111): مخطط DSC لعينة الأموكسيلين تري هيدرات معادة البلورة عند درجة باهاء=9 للمصدر 1.



(الشكل 112): مخطط DSC لعينة الأموكسيلين تري هيدرات معادة البلورة عند درجة باهاء=11 للمصدر 1.



(الشكل 113): مخطط DSC لعينة الأموكسيلين تري هيدرات الأولية المأخوذة من المصدر 1.

(الجدول 23): نتائج DSC لعينات الأموكسيلين تري هيدرات الأصلية ومعاد البلورة عند درجات باهاء مختلفة لل المصدر 1

رقم المصدر	العينات المأخوذة	درجة بذء الانصهار °C	درجة قمة الانصهار °C	مجال الانصهار °C	الحرارة اللازمة للانصهار (J/g)
No.1	pH= 2	117.3	133.8	16.5	-76.8
	pH= 4	116.1	131.4	15.3	-88.4
	pH= 7	122.3	136.2	13.9	-93.5
	pH= 9	122.3	134.6	12.3	-99.7
	pH= 11	125.8	133.1	7.3	-108.3
	العينات الأصلية	122.3	136.2	13.9	-89.7

## 5- الاستنتاجات

### Conclusions

- تم التحري عن بعض الخواص الفيزيوكيميائية لمادة الأموكسيلين تري هيورات التي تلعب دوراً هاماً في معدل انحلالها، ووجد أن معدل الانحلال يتعلق بكل من البعد الجسيمي والشكل البلوري للمادة الأولية.
- يزداد معدل انحلال الأموكسيلين تري هيورات بتناقص أبعاد الجسيمات وصولاً إلى حد معين يتناقص بعده معدل الانحلال بسبب حدوث ظاهرة تكتل المساحيق وازدياد القوى السطحية التي تربط بينها.
- يختلف معدل انحلال مادة الأموكسيلين تري هيورات الأولية لنفس المجال من بعد الجسيمي المأخوذ من عدة مصادر تبعاً لأطوال بلوراتها التي تتأثر بطريقة التصنيع المتتبعة للمادة الأولية.
- أثبتت محاليل مادة الأموكسيلين تري هيورات الأولية المأخوذة من المصادر المختلفة اختلافاً ضئيلاً بدرجات باهاء محاليلها كان له مدلولاً كبيراً على اختلاف الخواص الفيزيوكيميائية لـ هذه المادة لم تتم دراسته سابقاً<sup>[4]</sup>.
- تم إجراء دراسات إعادة البلورة على جميع المواد الأولية المدروسة بدرجات باهاء مختلفة بهدف تحسين خواص تلك المادة، ولوحظ أن عينات الأموكسيلين تري هيورات معادة البلورة عند درجات باهاء (pH=11) تحوي نسبة من الجسيمات الصغيرة وأطوال بلورية أكبر منها في عينات الأموكسيلين تري هيورات معادة البلورة عند درجات باهاء (pH=2)<sup>[6,7]</sup>.
- أظهرت النتائج أن ازدياد درجة باهاء وسط عملية البلورة أدى إلى تحسن الخواص الفيزيوكيميائية للمادة الأولية من حيث التقاوه ومعدل الانحلال والثباتية الحرارية الأمر الذي قد يفسر بزيادة انحلال الشوائب بارتفاع درجة باهاء وسط البلورة، وهذا يدل على أهمية طريقة التصنيع في الخواص الفيزيوكيميائية للمادة الأولية الناتجة<sup>[14]</sup>.
- أظهرت إعادة البلورة عند درجة باهاء (pH=9) تحسناً واضحاً في معدل انحلال المواد الأولية المأخوذة من عدة مصادر دون تأثير سلبي على الانسيابية.
- أظهرت النتائج أن استخدام تقنية الأشعة تحت الحمراء القريبة كان ناجحاً بتحديد بعض الخواص الفيزيائية لمادة الأموكسيلين تري هيورات الأولية (الشكل البلوري، والبعد الجسيمي) وتعتبر هذه الطريقة مفيدة لتطبيق الرقابة أثناء الإنتاج PAT بشكل غير مسبوق في هذا السياق<sup>[45,51]</sup>.
- استخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة كتقنية حديثة، سريعة وغير مخربة للعينات في الرقابة الدوائية يضمن الحصول على منتج دوائي فعال مطابق للمواصفات الدستورية مع توفير العديد من الكلفة المادية المبذولة بالمقابل باستخدام الطرق التقليدية للحصول على نفس هذا المنتج.
- يتطلب القياس بمطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة تأسيس مكتبة طيفية لا تقل عن 200 عنصر لكل متغير حتى تشمل العناصر الطيفية كل التغيرات التي يمكن أن تطرأ على العينة المقاسة.

- لا يمكن تفسير طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة نظرياً ولا بدّ من الاستعانة ببرنامج حاسوبي متتطور يساعد على ربط المعلومات الطيفية بالمتغيرات المدروسة والحصول على نتائج مقبولة في المعايرة.
- تكمن صعوبة تطبيق مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة بضرورة تحديد شروط المعايرة المثلثيّة تجريبياً للحصول على نتائج مرضية، وضرورة جمع عدد كبير من العينات لتأسيس مكتبة طيفية مرجعية بطيف NIR<sup>[38]</sup>.

## 6-الوصيات

### Recommendation

- PAT ضرورة التزام الصناعة الدوائية المحلية بالرقابة التحليلية للمواد الدوائية أثناء الإنتاج • لضمان جودة المنتج الدوائي وفعاليته، وتلافي الأخطاء التي قد تحدث أثناء الإنتاج بشكل مباشر وسريع.
- دراسة الخواص الفيزيائية للمواد الأولية المستلمة لا تقل أهمية عن دراسة الخواص الكيميائية. •
- ضرورة مراقبة البعد الجسيمي للمواد الأولية المستلمة لما له من تأثير بالغ على انتسيابية تلك المواد وانحلاليتها. •
- ضرورة مراقبة الأشكال البلورية للمواد الأولية المستلمة التي تؤثر على الانحلالية والثباتية. •
- ضرورة التزام مصنعي المواد الأولية بضبط درجة باهاء التصنيع التي تضمن الحصول على المادة الأولية المثلث المحققة لأعلى معدل انحلال. •
- استكمال هذه البحث ودراسة الأموكسслиن تري هيدرات في المضغوطات بالمشاركة مع كلافولانات البوتاسيوم. •
- دراسة مدى تأثير اختلاف الأشكال البلورية على قابلية الانضغاط، وقساوة المضغوطات الناتجة. •
- التحري عن تشكل ظاهرة Co-crystal بين الأموكسслиن تري هيدرات وكلافولانات البوتاسيوم، ودراسة الظروف التي يمكن أن تؤدي لتشكل هذه الظاهرة. •
- دراسة معدل انحلال مضغوطات الأموكسслиن تري هيدرات المشارك مع كلافولانات البوتاسيوم، ومقارنة معدل انحلال هذه المضغوطات مع المضغوطات التي يتم فيها تشكيل ظاهرة Co-Crystal التحري عن تأثير السواغات المستخدمة في المضغوطات على معدل انحلال الأموكسслиن تري هيدرات. •
- إجراء دراسات ثباتية للمواد بلورة عند درجات باهاء مختلفة وتحديد الشكل البلوري الأكثر ثباتاً. •
- إجراء دراسات ثباتية للمضغوطات التي تتشكل فيها ظاهرة Co-Crystal. •
- إجراء دراسات حيوية تدعم فكرة هذا البحث وتدرس مدى تأثير العوامل المدروسة على التوافر الحيوي للمادة الفعالة. •
- إدخال مطيافية الأشعة تحت القرية للصناعة الدوائية المحلية لما لها من تطبيقات واسعة يمكن من خلالها الحصول على منتج دوائي أكثر جودة وأقل كلفة من الطرق المخبرية التقليدية. •
- تطبيق تقنية الأشعة تحت الحمراء القرية مباشرةً على طول خط الإنتاج On-line لكشف التداخلات والأخطاء التي قد تحدث خلال مرحلة التصنيع وتجنبها. •

- ضرورة تأسيس مكتبة طيفية لا تقل عن 200 عينة لكل متغير عند تطبيق مطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة.
- لا يمكن إجراء معايرة دقيقة لعدة متغيرات بأن واحد بمطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة، ولابد من إنشاء معايرة خاصة بكل متغير بمطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة للحصول على نتائج دقيقة.
- لا توجد قواعد نظرية لتحديد شروط المعايرة بمطيافية الأشعة تحت الحمراء القريبة، ولا بد من تحديدها تجريبياً و اختيار أفضل الشروط التي تعطي أدق النتائج.

## 7. المراجع

### REFERENCES

- 1- FDA, Food and Drug Administration (2004) Guidance for industry PAT – A framework for innovative pharmaceutical manufacturing and quality assurance. [www.fda.gov/CDER/guidance/6419fnl.pdf](http://www.fda.gov/CDER/guidance/6419fnl.pdf).
- 2-FDA, Food and Drug Administration (2004) Pharmaceutical cGMPs for the 21st century – risk based approach. [www.fda.gov/cder/gmp/gmp2004/GMP\\_final\\_report2004.htm](http://www.fda.gov/cder/gmp/gmp2004/GMP_final_report2004.htm).
- 3- Morris, K. R. (1999) In: Brittain, H.G. (editor) *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*. (pp. 125–181) Marcel Dekker, New York.
- 4- Staniforth, J. N., & Aulton, M. E. (2007). *Solid state properties*. In: Michael, E., & Aulton, M.E. (editors). *The Design and manufacture of medicines, Pharmaceutics* (3<sup>rd</sup> ed.) (pp. 111-133) Churchill Livingstone.
- 5- Westrum, E. F. Jr., & McCullough, J. P. (1963). *Thermodynamics of crystals*. In: Weissberger, A. (editor) *Physics and Chemistry of the Organic Solid State*. (pp. 3–178) John Wiley, New York.
- 6- Tiwary, A. K. (2004). *Crystal Habit Changes and Dosage Form Performance*. In: Swarbrick , Eds. J., & Boylan, J. C. (editors). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* ( 2<sup>nd</sup> ed.). (pp. 820–833). Informa Health Care, New York.
- 7- Allen, P. V., Rahan, P.D., Sarapu, A. C., & Vanderwielen, A.J. (1978). *Journal of pharmaceutical sciences*, 67, 1087-1093.
- 8- Shifter, E., & Higuchi, T. (1963). *Journal of pharmaceutical science*, (52) 781-791.
- 9- Ebian, A.R., Moustafa, M. A., Khalil, S.A., & Motawi, M.M. (1973). *Joural of pharmacy and pharmacology*, 25, 13-20.
- 10- Aguiar, A.J., Krc, J. R., Kincel, A. W., & Sanyn.J .C. (1967). *Journal of pharmaceutical science*, 56, 874-853.
- 11- Meenan, P. A., Anderson, S. R., & Klug, D. A. (2002). *The influence of impurities and solvents on crystallization*. In: Myerson, A. S. (editor). *Handbook of Industrial Crystallization*. (pp. 67-97). MA: Butterworth-Heinemann, Boston.
- 12- Rasenack, N., & Muller, B.W. (2002). Properties of ibuprofen crystallized under various conditions: a comparative study. *Drug Dev. Ind. Pharm*, 28 (9) 1077–1089.

- 13- Am Ende, D.J., & Brenek, S.J. (2004). Strategies to control particle size during crystallization processes. *Am. Pharm. Rev*, 7 (3), 98–104.
- 14-Javadzadeh, Y., Mohammad, A., Khoel, N. S., & Nokhodchi, A. (2009). Improvement of physicomechanical properties of carbamazepine by recrystallization at different pH values. *Acta Pharm*, 59, 187–197.
- 15- Nugrahani, I., Asyarie, S., Nurono, S., & Ibrahim, S. (2007). Solid state interaction between amoxicillin trihydrate and potassium clavulanate. *Malaysian journal of pharmaceutical science*, 5, 45-57.
- 16- Yoshioka, S., & Stella, V. J. (2002). *Physical stability of drug substances*. In: Stella, V. J. (editor). *Stability of drugs and dosage forms*. (pp.131-152). Kluwer Academic Publishers.
- 17- Stahly, G. P. (2003). *The American Chemical Society ProSpectives Polymorphism in Crystals*. In: Stahly, G. P. (editor). *Fundamentals, Predictions and Industrial Practice*. (pp. 23–26). Tampa.
- 18- Pikal, M. g., Lukes, A. L., Lang, G. E., & Gaine, K. (1978). *Journal of pharmaceutical science*, 67, 767-773.
- 19- Briggner, L. E., Buckton, G., Bystrom, K., & Darcy, P. (1994). *International journal of pharmaceutics*, 105, 125-135.
- 20- Florence, A.T., & Attwood, D. (1999). *Physicochemical principles of pharmacy* (4<sup>th</sup> ed). (pp. 775-810). Pharmaceutical press, London.
- 21- Noyes, A., & Whitney, W. R. (1987). The rate of solution of solid substances in their own solutions. *J. Am. Chem. Soc*, 19, 930–934.
- 22- Habib, F. S., & Attia, M. (2009). Effect of Particle Size on the Dissolution Rate of Monophenylbutazone Solid. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 11, 2009-2019.
- 23- Tromelin, A., Habillon, S., Andres, C., Pourcelot, Y., & Chillot, B. (1996). Relationship between particle size and dissolution rate of bulk powder and sieving characterized fractions of two qualities of Orthoboric acid. *Drug delivery*, 22, 977-986.
- 24- Jinno, J., Kamada, N., Miyaka, M., & Mukai, T. (2006). Effect of particle size reduction on dissolution and oral absorption of a-poorly water-soluble drug, cilostazol, in beagle dogs. *International journal of pharmaceutics*, 111, 56-64.
- 25- Rhodes, M. (1990). *Principals of powder technology*. John Wiley, New York.
- 26- Brittain, H.G. (1995). *Physical Characterization of Pharmaceutical Solids*. Marcel Dekker, New York.

- 27- Allen, T. (1992). *Particle Size Measurement* (5<sup>th</sup> ed). Vol 1 and 2. Chapman and Hall, London.
- 28- Voller, V. R. (1983). A note of energy-size reduction relationships in communication. *Powder Technology*, 36, 281-286.
- 29- Ford, J. L., & Timmins, P. (1989). *Pharmaceutical Thermal Analysis*, Ellis Horwood, Chichester.
- 30- Schinzer, W. C., Bergren, M. S., Aldrich, D. S., Chao, R. S., Dunn, M. J., Jeganathan, A., & Madden, L. M. (1997) *J. Pharm. Sci.*, 86, 1426–1431.
- 31- Oguchi, T., Sasaki, N., Hara, T., Tozuka, Y., & Yamamoto, K. (2003) *Int. J. Pharm.*, 2003, 253, 81–88.
- 32- Griffiths, P. R, & de Haseth, J.A. (1986). *Fourier transform infrared spectrometry*. In: Griffiths, P. R.(editor). *Chemical Analysis*. (pp. 83-105). John Wiley & Sons, Inc, New York.
- 33- Marilyn, D., & Durest, A. (2004). *Spectroscopic methods of analysis: Infrared spectroscopy*. In: Swarbrick, Eds. J., & Boylan, J. C. (editors). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (2<sup>nd</sup> ed). (pp. 2405-2420). Informa Health Care, New York.
- 34- Stewart, J. E. (1970). *Infrared Spectroscopy: Experimental Methods and Techniques*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- 35- Griffiths, P.R., & de Haseth, J.A. (1986). *Fourier transform infrared spectrometry*. In: Griffiths, P.R. (editor). *Chemical Analysis*. (pp. 83-95). John Wiley & Sons, Inc., New York.
- 36- Miller, R.G.J., & Stace, B.C. (1979). *Laboratory Methods in Infrared Spectroscopy* (2<sup>nd</sup> Ed). Heyden Press, New York.
- 37- Silverstein, R. M., Bassler, G. C., & Morrill, T.C. (1991). *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (5th Ed). John Wiley & Sons, New York.
- 38- Emil, W., & Ciurczak, E. W. (2004). *Spectroscopic methods of analysis: Near-Infrared spectroscopy*. In: Swarbrick , Eds. J., & Boylan, J. C. (editors). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. (2<sup>nd</sup> ed). (pp. 3434-3450). Informa Health Care, New York.
- 39- Blanco, M., Eustaquio, A., Gonzalez, J.M., & Serrano, D., (2000). Identification and quantitation assays for intact tablets of two related pharmaceutical preparations by reflectance near-infrared spectroscopy: validation of the procedure. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 22, 139–148.

- 40- Norris, K.H., & Ritchie, G.E. (2008). Assuring specificity for a multivariate near-infrared (NIR) calibration: the example of the Chambersburg Shoot-out 2002 data set. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 48, 1037–1041
- 41- Plugge, W., & Van Der Vlies, C. (1993). Near-infrared spectroscopy as an alternative to assess compliance of ampicillin trihydrate with compendial specifications. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 11 (6) 435–442.
- 42- Sekulic, S. S., Wakeman, J., Doherty, P., & Hailey, P.A. (1998). Automated system for the on-line monitoring of powder blending processes using near-infrared spectroscopy. Part II. Qualitative approaches to blend evaluation. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 17, 1285–1309.
- 43- Moes, J., Johannes, J., Ruijken, M., Gout, E., Frijlink, H., & Ugwoke, M. (2008). Application of process analytical technology in tablet process development using NIR spectroscopy: blend uniformity, content uniformity and coating thickness measurements. *International journal of pharmaceutics*, 357, 108-118.
- 44- Dou, Y., Sun, Y., Ren, Y. Q., Ju, P. & Ren, Y.L. (2005). Simultaneous non-destructive determination of two components of combined paracetamol and amantadin hydrochloride in tablets and powder by NIR spectroscopy and artificial neural networks. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 37, 543–549.
- 45- Ciurczak, E.W., Torlini, R. P., & Demkowicz, M. P. (1986). Determination of particle size of pharmaceutical raw materials using near-infrared reflectance analysis. *Spectroscopy. Analyst*, 1, 36–39.
- 46-Frake, P., Gill, I., Luscombe, C.N., Rudd, D.R., Waterhouse, J., & Jayasooriya, U.A. (1998). Near-infrared mass median particle size determination of lactose monohydrate, evaluating several chemometric approaches. *Analyst*, 123, 2043–2046.
- 47- O’Neil, A.J., Jee, R. D., & Moffat, A. C. (1999). Measurement of the cumulative particle size distribution of microcrystalline cellulose using near infrared reflectance spectroscopy. *Analyst*, 124, 33–36.
- 48- O’Neil, A.J., Jee, R.D., & Moffat, A.C. (1998). The application of multiple linear regression to the measurement of the median particle size of drugs and pharmaceutical excipients by near-infrared spectroscopy. *Analyst*, 123, 2297–2302.
- 49- Blanco, M., & Villar, A. (2003). Development and validation of a method for the polymorphic analysis of pharmaceutical preparations using near infrared spectroscopy. *J. Pharm. Sci.*, 92, 823–830
- 50- Worosila, W., Wang, G., & Mascaro, W. T. (2005). Determination of polymorph conversion of an active pharmaceutical ingredient in wet granulation using NIR calibration models generated from the premix blends. *J. Pharm. Sci.* 94, 2800–2806.

- 51- Aaltonen, J., Rantanen, S., Siiria, M., Karjalainen, A., Jorgensen, N., Laitinen, M., Savolainen, P., Seitaviuopio, M., Louhi-Kultanen, J., & Yliruusi, J. (2003). Polymorph screening using near-infrared spectroscopy. *Anal. Chem.*, 75, 5267–5273.
- 52- Ciurczak, E.W. (1985). *Pharm. Biomed. Anal.*, 2, 22-34.
- 53- Gimel, R., & Luong, A.T. (1987). *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 5, 205-214.
- 54-Goverin, M., Louise, C., Zeitler, J., & Strachan. C. (2006). Quantification of binary polymorphic mixtures of ranitidine hydrochloride using NIR spectroscopy. *vibrational spectroscopy*, 41, 225-231.
- 55- Parris, J., Airiau, C., Escott, R., Rydzak, J., & Crocombe, R. (2005). Monitoring API drying operations with NIR. *Spectroscopy*, 20, 34–42.
- 56- DeThomas, F.A., & VonBargen, K. P. (1994). System for Measuring the Moisture Content of Powder and Fiber Optic Probe Therefore. *US Patent* 931,783.
- 57- Zhou, X., Hines, P.A., White, K.C., & Borer, M.W. (1998). Gas chromatography as a reference method for moisture determination by near infrared spectroscopy. *Anal. Chem.*, 70, 390–394.
- 58- Corti, P., Dreassi, E., Corbini, G., Lonardi, S., Viviani, E., Mosconi, L., & Bernuzzi, M. (1990). Application of near infrared reflectance to the analytical control of pharmaceuticals: assay of ranitidine chlorhydrate and water content in tablets. *Pharm. Acta Helv.*, 65, 28–32.
- 59- Martin, K. (1998). In vivo measurements of water in skin by near infrared reflectance. *Appl. Spectrosc.*, 52, 1001–1007.
- 60-Kirsch, J. D., & Drennen, J. K. (1999). Non-destructive tablet hardness testing by near-infrared spectroscopy: a new and robust spectral best-fit algorithm. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 19, 351–362.
- 61- Blanco, M., & Alcala, M., (2006). Content uniformity and tablet hardness testing of intact pharmaceutical tablets by near infrared spectroscopy. A contribution to process analytical technologies. *Anal. Chim. Acta*, 557, 353–359.
- 62- Kirsch, J. D., & Drennen, J. K. (1996). Near-infrared spectroscopic monitoring of the film coating process. *Pharm. Res.*, 13, 234–237.
- 63- Kirsch, J. D., & Drennen, J. K. (1995). Determination of film-coated tablet parameters by near-infrared spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 13, 1273–1281.
- 64-Drennen, J. K., & Lodder, R. A. (1990). Non-destructive near-infrared analysis of intact tablets for determination of degradation products. *J. Pharm. Sci.*, 79, 622–627.

- 65- Shimoyama, M., Matsukawa, K., Inoue, H., Ninomiya T., & Ozaki, Y. (1999). Non-destructive analysis of photo-degradation of poly(methyl methacrylate) by near infrared light-fibre spectroscopy and chemometrics. *J. Near Infrared Spectrosc*, 7, 27–32.
- 66- Ely, D., Chamarthy, S., & Carvajal, M.T. (2006). An investigation into low dose blend uniformity and segregation determination using NIR spectroscopy. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 288, 71–76.
- 67- Johannes, J., Marco, M., Erik, G., & Frijlink, H. (2008). Application of process analytical technology in tablet process development using NIR spectroscopy: Blend uniformity, content uniformity and coating thickness measurements, *International Journal of Pharmaceutics*, 357, 108–118.
- 68- Alcala, M., Leon, J., Ropero, J., Blanco, M., & Romanach, R. (2008). Analysis of lowcontent drug tablets by transmission near infrared spectroscopy: selection of calibration rangers according to multivariate detection and quantitation limits of PLSmodels. *J. Pharm. Sci*, 97, 5318–5327.
- 69-Aldridge, P. K., & Pfizer, Inc. (1993). Apparatus for mixing and detecting on-line homogeneity. *European Patent Publication, A1*, 631–810.
- 70-Richmond, E.W., Buchanan, B. R., Baxter, M. A., Duff, A., Tully, O.M., & Thornton, S.A. (1996). Method and System for Determining the Homogeneity of Tablets. *US Patent*, 296,833.
- 71-Bauer, J. F., Dziki, W., & Quick, J. E. (1999). Role of an isomorphic desolvate in dissolution failures of an erythromycin tablet formulation. *J. Pharm. Sci*, 88 (11) 1222–1227.
- 72- Freitas, M., Sabadin, A., Silva, L., & Giannotti, F. (2005). Prediction of drug dissolution profiles from tablets using NIR diffuse reflectance spectroscopy: A rapid and non destructive method. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 39, 17–21.
- 73- Zannikosm, P., Li, W., Drennen, J., & Lodder, R. (1991). *Pharm. Res.* 8, 974–978.
- 74-Lodder, R.A., Selby, M., & Hieftje, G. M. (1987). Detection of capsule tampering by near-infrared reflectance analysis. *Anal. Chem.* 59, 1921–1930.
- 75- Heise, H. M., & Winzen, R. (2002). *Fundamental chemometric methods*. In: Siesler, H. W., Ozaki, Y., Kawata, S.H., & Heise, M. (editors). *Near-infrared Spectroscopy Principles, Instruments, Applications*. (pp. 125-158). Wiley–VCH, Germany.

- 76- Sharaf, M. A., Illman, D., & Kowalski, B. R. (1986). *Chemometrics* (Volume 82). In: Sharaf, M.A (editor). *Chemical Analysis:ASeries of Monographs on Analytical Chemistry and Its Applications.* (pp. 242-255). JohnWiley & Sons, New York.
- 77- Martens, H., & Naes, T. (1987). *Multivariate Calibration by Data Compression.* In: Williams, P., & Norris, K. (editors) *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries.* (pp. 57–87). Am. Assoc. Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- 78- David, R., Markus, T., & Carvajal, T. (2008). Analysis of the effect of particle size and densification on NIR spectra. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 331, 63–67
- 79- Barnes, R. J., Dhanoa, M. S., & Lister , S. J. (1989). Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Appl. Spectrosc*, 43, 772–777.
- 80- Martens, H., Jensen, S.A., & Geladi, P. (1983). *Proceedings of the Nordic Symposium on Applied Statistics.* (pp. 205–234). Stokkand Forlag Publishers, Stavanger.
- 81-Mark, H. (2008). *Data Analysis: Multilinear Regression and Principal Component Analysis.* In: Donald, A., & Ciurczak, E. W. (editors). *Hand book of Near-Infrared analysis* (3<sup>rd</sup> ed). (pp. 151-188). CRP Press.
- 82- Mark, H., & Workman, J. (1987). *The Effect of Principal Component Analysis in Regard to the Noise Sensitivity of Calibration Equations.* (pp. 30-64). Pittsburgh Conference and Exposition, Atlantic City.
- 83- Jerome, J., & Workman, Jr. (2008). *NIR spectroscopy calibration basics.* In: Donald, A., & Ciurczak, E. W. (editors). *Hand book of Near-Infrared analysis* (3<sup>rd</sup> ed). (pp. 123-150). CRP Press.
- 84- Roggo, Y., Chalus, P., Maurer, L., Lema-Martinez, C., Edmond, A., & Jent, N. (2007). A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *J. Pharm. Biomed. Anal*, 44, 683–700.
- 85-Savitzky, A., & Golay, M. J. E. (1964). Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Anal. Chem*, 36, 1627–1639.
- 86- Moffat, A.C., Trafford, A. D., Jee, R. D., & Graham, P. (2000). Meeting the International Conference on Harmonisation's guidelines on validation of analytical procedures: quantification as exemplified by a near-infrared reflectance assay of paracetamol in intact tablets. *The Analyst* 125, 1341–1351
- 87- Harvey, R. A., & Champ, P. C. (2004). *Pharmacology. Lippincott,s Illustrated Reviews.* (3<sup>rd</sup> ed). (pp. 353-372). Churchill Livingstone.

- 88- Henniger, P. W., Van Der Drift, J. K., & Van Veen, G. J. (**1979**). Process for the preparation of 6-D-alpha-amino- (p-hydroxyphenyl)-acetamido penicillanic acid. *EP patent*, 0001133.
- 89- Pranab, K., & Winifred, M. (**1972**). *Amoxicillin*. In: Florey, K., Brewer, G., & Olin, S. (editors). *Analytical Profiles of Drug Substances*. (vol. 7). (pp. 20-40). Academic Press, New York.
- 90- British Pharmacopeia (**2007**). (5<sup>th</sup> ed).
- 91- Han, J., & Suryanarayanan, R. A. (**1999**). Method for the rapid evaluation of the physical stability of pharmaceutical hydrates. *Thermochim Acta*, 329, 163-170.
- 92- Physicians' Desk Reference (**2010**). (64<sup>th</sup> ed). Physicians desk reference Inc.
- 93- Boles, M., Girven, R., & Gane, A. (**1978**). The structure of amoxycillin trihydrate and a comparison with the structure of ampicillin. *Acta Crystallogr*, 34, 461-466.
- 94- United States Pharmacopeia USP30-NF25 (**2007**).
- 95- Liu, L. X., Marziano, I., Bentham, A. C., Litster, J. D., White, E.T., & Howes, T. (**2008**). Effect of particle properties on the flowability of ibuprofen powders, *Int. J. Pharm*, 362, 109–117.
- 96- Van Dooren, A., Muller, B. W. (**1984**). Purity determination of drugs with differential scanning calorimetry (DSC): a critical review. *Int J Pharm*, 20:217-233.

## **Evaluation of the effect of particle sizes on homogeneity and release for some antibiotic agents in solid dosage forms using Near-Infrared technique**

### **Abstract**

The purpose of this research was to investigate and improve some physicochemical and solid-state properties of amoxicillin trihydrate. Amoxicillin trihydrate as a raw material with various particle sizes and crystal shapes were obtained from several suppliers. The particle size and crystal shape have been determined using eight sieves and scanning fluorescence microscope as reference methods.

Near Infrared Reflectance (NIR) Spectroscopy was used as an advanced technique for determining particle size distribution and crystal shape differentiation of amoxicillin trihydrate powder.

The drug was filled in hard gelatin capsules as a single dose of 250 mg. Drug dissolution was evaluated using dissolution tester (I). Samples were analyzed using U.V spectrophotometer at absorbance of about 272nm .

The study has shown that amoxicillin trihydrate obtained from several suppliers differed in particle size distribution (from less than 45  $\mu\text{m}$  to 1mm),

The results have shown that the dissolution rates of amoxicillin trihydrate increased as the particle size decreased for particles of sizes more than or equal to 63 $\mu\text{m}$  and decreased as the particle size decreased for particles of sizes less than 63 $\mu\text{m}$ . The results have also shown that the dissolution rate of amoxicillin trihydrate increased as the length of the raw material needle crystal increased from 2.2m to 8.5 $\mu\text{m}$ .

To improve the dissolution rates of amoxicillin trihydrate , it was recrystallized from aqueous solutions at different pH values (pH= 2, 4, 7, 9 and 11). Amoxicillin trihydrate samples recrystallized from aqueous solutions with pH values (pH=7, 9, 11) appear to have superior physicochemical properties to the original amoxicillin trihydrate samples in purity, crystal length and dissolution rate.

The results have also shown that amoxicillin trihydrate samples recrystallized at pH value (pH=11) appear to have superior mechanical properties and very bad powder flowability compared to other samples.

The results confirmed the importance role of amoxicillin trihydrate solution (2mg/ml) pH on the length of the crystals and it's solubility.

The pH of crystallization medium had a significant effect on the physicochemical properties of amoxicillin trihydrate powder which contain dissolution rate, crystal length, melting point, purity, flowability of the powder and the pH value of the resulting raw material solutions.

The crystallization technique can change the crystal habit form and particle size. The nature and extent of these changes depend on the crystallization conditions such as type of crystallization medium and the pH of crystallization.

Crystallization of amoxicillin trihydrate, like the other crystalline drugs, plays a critical role in controlling the crystal form, shape, size, and size distribution. Different solid forms of the same chemical compound can exhibit different physical and chemical properties including different solubility and dissolution profiles, which in turn affect the bioavailability and stability of the drug substance.

The influence of particle size and crystal shape on near infrared (NIR) spectra has been used to develop effective alternative methods to traditional ones in order to determine these parameters. In this work, we used the chemometrical technique principal component analysis (PCA) which contains Cluster calibrations (CLU) to simultaneously predict several variables to the rapid construction of particle size distribution and crystal shape calibrations.

Samples obtained from eight suppliers were passed through eight sieves of different sieve opening in order to separate several size fractions that were used to construct particle size distribution curves. The samples were recorded by NIR and their spectra were used with CLU to develop calibration models.

Amoxicillin trihydrate samples obtained from three suppliers and recrystallized at five pH values were used to construct types of crystal length curves. The samples were recorded by NIR and their spectra were used with CLU to develop calibration models.

The correlation coefficients and Root Mean Square Error of Cross Validation (RMSECV) have been used to assess the goodness or fit of the results.

Prediction of a validation set with particle sizes at different eight ranges ( $n=2304$ ) in the calibration set yielded an root mean square error of cross validation (RMSEP) of 1.414%.

prediction of a validation set with crystal lengths crystallized at five different pH values ( $n=480$ ) in the calibration set yielded a RMSEP of 0.0351%.

Performance of the models were influenced by several physical and chemical properties which could be reduced by spectral pre-processing.

The Standard Normal Variate (SNV) transformation with 1<sup>st</sup> derivative were used to remove slope variations between spectra by mean centering each spectrum and normalizing the standard deviation of the absorbance to one.

The calibration models studies provided statistically acceptable results based on RMSECV values. Therefore, the combined use of NIR spectroscopy and calibration models allow determining the particle size distributions and crystal length differentiations.

Near-infrared (NIR) spectroscopy is one of the techniques found to be suitable for a variety of PAT (Process Analytical Technology) applications, and is subject of many studies in the pharmaceutical and nutritional field. Major advantages of NIR spectroscopy are its non-destructive nature, its immediate (real time) delivery of results and simple sample preparation.

## الأبحاث المنشورة

1- International Journal of pharmacy and pharmaceutical Sciences

The article entitled "**IMPROVEMENT OF THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF AMOXICILLIN TRIHYDRATE POWDER BY RECRYSTALLIZATION AT DIFFERENT PH VALUES.**" authored by **SHAHHET L, D. ALRAGHBAN. A, PROF. D. CHEHNA. M. F.** has been accepted for publication in the Journal. Article is scheduled to be published in Vol 3, Issue 3, 2011.

2- مجلة الصيادلة العرب للعلوم الصيدلانية

تحديد الأبعاد البلورية لمسحوق الأمoxicillin تري هيدرات معاد البلورة عند درجات باهاء مختلفة باستخدام مجهر الفلورة والأشعة تحت الحمراء القريبة ودراسة تأثيرها على زيادة معدل الانحلال