مجلة جامعة البعث

سلسلة العلوم الطبية والصحية

مجلة علمية محكمة دورية

المجلد 46 . العدد 4

1446 هـ - 2024 م

الأستاذ الدكتور **عبد الباسط الخطيب**
رئيس جامعة البعث
المدير المسؤول عن المجلة

أ. د. محمود حديد	**رئيس هيئة التحرير**
أ. د. درغام سلوم	**رئيس التحرير**

د. محمد هلال	عضو هيئة التحرير
د. فهد شريباتي	عضو هيئة التحرير
د. معن سلامة	عضو هيئة التحرير
د. جمال العلي	عضو هيئة التحرير
د. عباد كاسوحة	عضو هيئة التحرير
د. محمود عامر	عضو هيئة التحرير
د. أحمد الحسن	عضو هيئة التحرير
د. سونيا عطية	عضو هيئة التحرير
د. ريم ديب	عضو هيئة التحرير
د. حسن مشرقي	عضو هيئة التحرير
د. هيثم حسن	عضو هيئة التحرير
د. نزار عبشي	عضو هيئة التحرير

تهدف المجلة إلى نشر البحوث العلمية الأصيلة، ويمكن للراغبين في طلبها الاتصال بالعنوان التالي:

رئيس تحرير مجلة جامعة البعث

سورية . حمص . جامعة البعث . الإدارة المركزية . ص . ب (77)

. هاتف / فاكس : 2138071 31 963 ++

. موقع الإنترنت : www.albaath-univ.edu.sy

. البريد الالكتروني : magazine@ albaath-univ.edu.sy

ISSN: 1022-467X

شروط النشر في مجلة جامعة البعث

الأوراق المطلوبة:

- 2 نسخة ورقية من البحث بدون اسم الباحث / الكلية / الجامعة) + CD / word من البحث منسق حسب شروط المجلة.
- طابع بحث علمي + طابع نقابة معلمين.
- **اذا كان الباحث طالب دراسات عليا:**

يجب إرفاق قرار تسجيل الدكتوراه / ماجستير + كتاب من الدكتور المشرف بموافقته على النشر في المجلة.

- **اذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية:**

يجب إرفاق قرار المجلس المختص بإنجاز البحث أو قرار قسم بالموافقة على اعتماده حسب الحال.

- **اذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية من خارج جامعة البعث :**

يجب إحضار كتاب من عمادة كليته تثبت أنه عضو بالهيئة التدريسية و على رأس عمله حتى تاريخه.

- **اذا كان الباحث عضواً في الهيئة الفنية :**

يجب إرفاق كتاب يحدد فيه مكان و زمان إجراء البحث ، وما يثبت صفته وأنه على رأس عمله.

- **يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات (العلوم الطبية والهندسية والأساسية والتطبيقية):**

عنوان البحث . . ملخص عربي و إنكليزي (كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).

1- مقدمة

2- هدف البحث

3- مواد وطرق البحث

4- النتائج ومناقشتها .

5- الاستنتاجات والتوصيات .

6- المراجع.

- **يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات (الآداب – الاقتصاد– التربية – الحقوق – السياحة – التربية الموسيقية وجميع العلوم الإنسانية):**
- عنوان البحث . . ملخص عربي و إنكليزي (كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).

1. مقدمة.
2. مشكلة البحث وأهميته والجديد فيه.
3. أهداف البحث و أسئلته.
4. فرضيات البحث و حدوده.
5. مصطلحات البحث و تعريفاته الإجرائية.
6. الإطار النظري و الدراسات السابقة.
7. منهج البحث و إجراءاته.
8. عرض البحث و المناقشة والتحليل
9. نتائج البحث.
10. مقترحات البحث إن وجدت.
11. قائمة المصادر والمراجع.

7- يجب اعتماد الإعدادات الآتية أثناء طباعة البحث على الكمبيوتر:

أ- قياس الورق 17.5×25 B5.

ب- هوامش الصفحة: أعلى 2.54- أسفل 2.54 – يمين 2.5- يسار 2.5 سم

ت- رأس الصفحة 1.6 / تذييل الصفحة 1.8

ث- نوع الخط وقياسه: العنوان . Monotype Koufi قياس 20

. كتابة النص Simplified Arabic قياس 13 عادي . العناوين الفرعية Simplified Arabic قياس 13 عريض.

ج . يجب مراعاة أن يكون قياس الصور والجداول المدرجة في البحث لا يتعدى 12سم.

8- في حال عدم إجراء البحث وفقاً لما ورد أعلاه من إشارات فإن البحث سيهمل ولا يرد البحث إلى صاحبه.

9- تقديم أي بحث للنشر في المجلة يدل ضمناً على عدم نشره في أي مكان آخر، وفي حال قبول البحث للنشر في مجلة جامعة البعث يجب عدم نشره في أي مجلة أخرى.

10- الناشر غير مسؤول عن محتوى ما ينشر من مادة الموضوعات التي تنشر في المجلة

11- تكتب المراجع ضمن النص على الشكل التالي: [1] ثم رقم الصفحة ويفضل استخدام التهميش الإلكتروني المعمول به في نظام وورد WORD حيث يشير الرقم إلى رقم المرجع الوارد في قائمة المراجع.

تكتب جميع المراجع باللغة الانكليزية (الأحرف الرومانية) وفق التالي:

آ . إذا كان المرجع أجنبياً:

الكنية بالأحرف الكبيرة . الحرف الأول من الاسم تتبعه فاصلة . سنة النشر . وتتبعها معترضة (–) عنوان الكتاب ويوضع تحته خط وتتبعه نقطة . دار النشر وتتبعها فاصلة . الطبعة (ثانية . ثالثة) . بلد النشر وتتبعها فاصلة . عدد صفحات الكتاب وتتبعها نقطة.

وفيما يلي مثال على ذلك:

–MAVRODEANUS, R1986– **Flame Spectroscopy**. Willy, New York, 373p.

ب . إذا كان المرجع بحثاً منشوراً في مجلة باللغة الأجنبية:

. بعد الكنية والاسم وسنة النشر يضاف عنوان البحث وتتبعه فاصلة، اسم المجلد ويوضع تحته خط وتتبعه فاصلة . المجلد والعدد (كتابة مختزلة) وبعدها فاصلة . أرقام الصفحات الخاصة بالبحث ضمن المجلة.

مثال على ذلك:

BUSSE,E 1980 Organic Brain Diseases **Clinical Psychiatry News** , Vol. 4. 20 – 60

ج. إذا كان المرجع أو البحث منشوراً باللغة العربية فيجب تحويله إلى اللغة الإنكليزية و التقيد

بالبنود (أ و ب) ويكتب في نهاية المراجع العربية: (المراجع In Arabic)

رسوم النشر في مجلة جامعة البعث

1- دفع رسم نشر (40000) ل.س أربعون ألف ليرة سورية عن كل بحث لكل باحث يريد نشره في مجلة جامعة البعث.

2- دفع رسم نشر (100000) ل.س مئة الف ليرة سورية عن كل بحث للباحثين من الجامعة الخاصة والافتراضية .

3- دفع رسم نشر (200) مئتا دولار أمريكي فقط للباحثين من خارج القطر العربي السوري .

4- دفع مبلغ (6000) ل.س ستة آلاف ليرة سورية رسم موافقة على النشر من كافة الباحثين.

المحتوى

اسم البحث	اسم الباحث	الصفحة
(تقييم الفعالية المضادة للإشريكية القولونية Escherichia coli للخلاصة الزيتية لبذور نبات الشبت Anethum graveolens)	تولاي عريس د. أميمة ناصر د. ديما محمد	30-11
(تحري الفعالية المضادة للمكورات العنقودية الذهبية لخلاصات نبات الشيح الأبيض المنتشر محلياً)	زينب علوش د. أميمة ناصر د. ديما محمد	48- 31
دراسة مقارنة بين جودة مستحضرات المشاركة الثلاثية (املودبين وهيدروكلوتيازيد وفالسارتان) المسوقة محلياً والمستحضر العالمي	لما شماس د. عماد حداد	78-49
تقييم ثبات مستحضرات مسوقّة محلياً من مسحوق سيفيكسيم المعدّ للتعليق خلال فترة الاستخدام عند درجتي حرارة تخزين مختلفتين	حنان برهان السيّد د. يوسف الأحمد	110-79
تقييم أهمية الكرياتينين اللعابي في تشخيص الأمراض الكلوية المزمنة	علي جبلاوي د. فيصل رضوان د. سميره زريقي	134-111
دراسة مقارنة جودة وثباتية شرابات السعال العشبية وغير العشبية	جودي بحوري د. عماد حداد	174-135

(تقييم الفعالية المضادة للإشريكية القولونية *Escherichia coli* للخلاصة الزيتية لبذور نبات الشبت *Anethum graveolens*)

إعداد الطالبة الصيدلانية:

تولاي هيثم عريس

المشرف الرئيس: أ.د. أميمة ناصر **المشرف المشارك: د. ديما محمد**

المعهد العالي لبحوث البيئة **كلية الصيدلة**

الملخص:

أجريت هذه الدراسة في الفترة الزمنية بين 2022 – 2023 فقد تم شراء ثمار نبات الشبت *Anethum graveolens* من متجر محلي في مدينة اللاذقية وإجراء استخلاص كليفنجر Clevenger للحصول على الزيت الأساسي وتحضير عدة تمديدات منه لدراسة فعاليتها المضادة للجراثيم تجاه الإشريكية القولونية *Escherichia coli* على وسط مولر هينتون آغار Mueller–Hinton agar بطريقة الأقراص، حيث أظهرت نتائج البحث امتلاك الزيت الأساسي لنبات الشبت فعالية هامة مضادة للإشريكية القولونية عائدة للتراكيز المختلفة المحضرة من الزيت، إذ أعطى التركيز (25)% قطر هالة تثبيط 8 (±3.464) mm والتركيز (50)% قطر هالة تثبيط (±5.291) mm 10 والتركيز (75)% قطر هالة تثبيط (±3.464) mm 10، وتمت مقارنة النتائج مع الصاد الحيوي (Augmentin) حيث أعطى قطر هالة تثبيط mm 16. لم يلاحظ وجود أي فرق دال إحصائياً عند التراكيز المختلفة للزيت الأساسي المدروس، حيث ترافقت جميع التراكيز مع وجود فعالية وتساوت التراكيز (50) و (75) % بأقطار الهالات التثبيطية الناتجة.

الكلمات المفتاحية: الشبت – الزيت الأساسي – الإشريكية القولونية – التأثير المضاد للجراثيم– قطر هالة التثبيط – الصاد الحيوي.

(Evaluation of the antimicrobial activity against *Escherichia coli* for the oil extract of *Anethum graveolens seeds*)

Abstract:

This research was conducted during the years 2022 – 2023, where the seeds of *Anethum graveolens* were purchaised from a local market in Lattakia city, oil extraction was conducted by clevenger apparatus and different concentrations from the essential oil were prepared to evaluate its antimicrobial activity against *Escherichia coli* on Mueller–Hinton agar plates using disc diffusion method. The results showed an inhibition zone of 8 mm (±3.464) for the concentration (25)%, 10 mm (±5.291) for the concentration (50)% and 10 mm (±3.464) for the concentration (75)%, with an inhibition zone for the antibiotic (Augmentin) 16 mm. For the T student test, no statistically significant difference between the concentrations was noticed, recording the same zone of inhibition for the concentrations (50), (75) %.

Keywords: *Anethum graveolens* – Essential oil – *Escherichia coli* – Antimicrobial activity – Inhibition Zone – Antibiotic.

المقدمة :

تعد جراثيم الإشريكية القولونية *Escherichia coli* جراثيم سلبية غرام، لاهوائية اختيارية وغير متبوغة، متحركة بواسطة سوط قطبي التوضع، تمتلك بعض السلالات محفظة دقيقة تكسبها اللزوجة عند زرعها على الوسط المغذي المناسب وتمتلك أهداباً تساعدها على الالتصاق بخلايا المضيف تختلف من حيث التركيب حسب سلالة *E. coli* [5].

يمكن لبعض سلالات الإشريكية القولونية مثل *E. coli* O157:H7 أن تسبب أمراضاً خطيرة منقولة بالأغذية، تنتقل إلى البشر بالدرجة الأولى عن طريق استهلاك الأغذية الملوثة، وقد تكون هذه السلالة السبب الأكثر شيوعاً للإسهال عند الأطفال والرضع حول العالم الذي يترافق مع العديد من المتلازمات السريرية المميزة لعدوى *E. coli* ، مثل التهاب القولون النزفي، الإسهال المستمر والإسهال المائي وهي قادرة على إحداث التهاب السحايا والجهاز الهضمي والجهاز البولي الحاد والمزمن [2,4,11,17].

تبدأ الجراثيم بتطوير مقاومة تجاه الصادات مع الاستخدام المتكرر والمزمن والعشوائي لها، وهذا ما بين للباحثين أهمية إيجاد بدائل للصادات بشكل مستمر تكون فعالة تجاه الجراثيم الممرضة.

تم التعرف على الخصائص المضادة للجراثيم للزيوت الأساسية أثناء عملية البحث عن بدائل للمواد الحافظة الصناعية وتطوير مواد جديدة، وتم اعتبارها مواد آمنة لأنها من منشأ طبيعي، قليلة الآثار الجانبية السامة، قابلة للتحلل، فعالة بكميات قليلة وتملك طيف واسع مضاد للجراثيم [7].

تعود أهمية وفعالية الزيوت الأساسية في هذا المجال إلى أنها ذات تركيب كيميائي متنوع جداً ومتغير بين الأنواع النباتية حسب موسم الحصاد (الجمع)، المناخ، الموقع الجغرافي وحتى في النبات نفسه من عضو لآخر مما يعيق تشكيل المقاومة الجرثومية تجاهها بشكل سريع لذا تم انتخابها ودراستها كمواد بديلة عن الصادات [3,8].

يعد نبات الشبت (عين الجرة) *Anethum graveolens* L. والموضح في الشكل (1,2) أحد هذه النباتات العطرية المنتشرة محلياً في سوريا، ينتمي للفصيلة الخيمية (Umbelliferae) Apiaceae وهو غني بالزيوت العطرية والمتركزة خاصة في الأوراق والثمار، نبات عشبي عطري سنوي موطنه الأصلي شرق منطقة المتوسط وغرب آسيا لكن تمت زراعته في مختلف أنحاء العالم (أوروبا وأمريكا الشمالية والجنوبية)، ينمو بطول 120-40 سم ذو ساق اسطوانية رفيعة قليلة الأغصان، أوراقه ناعمة متشعبة إبرية غضة يزهر في منتصف الصيف بأزهار صفراء صغيرة تتجمع لتأخذ شكل مظلة، ثماره بنية اللون من ثنائيات الفلقة [10]، بينت الدراسات أن كل أجزاء النبات تحتوي على الزيت العطري لكن الثمار تحتوي نسبة أكبر من الأوراق بمكونات تختلف نسبها (حسب عدة عوامل سابقة الذكر)، أهمها: كارفون، ليمونين، ديهيدروكارفون، كارفاكرون، ρ- cymin، α- phillandrine وأبيول الشبت [6].

كانت تستخدم ثمار نبات الشبت في البداية لعلاج آلام المعدة والكولون، مشاكل الهضم والقضاء على رائحة الفم الكريهة، ومع تقدم الدراسات تم إدخال الزيت العطري للثمار في الشرابات المضادة للمغص والتشنج عند الأطفال الرضع بالإضافة إلى استخدامه كعامل مساعد في إدرار الحليب عند الأمهات المرضعات، ومع تزايد الدراسات تم اكتشاف العديد من الخصائص الطبية للنبات

والزيت العطري المستخلص منه، مثل علاج مشاكل الجهاز الهضمي والبولي، اضطرابات النوم، فقدان الشهية، مشاكل الكبد والمرارة، انتانات المجاري التنفسية ونزلات البرد [10]، بالإضافة إلى ما سبق، فإنه لايزال يستخدم أيضاً كعامل منكه للغذاء بشكل واسع (صلصات، لحوم، مخللات، حلوى) ومادة حافظة للأغذية [13,16] كما بينت العديد من الدراسات وجود فعالية مضادة للجراثيم والفطريات للزيت الأساسي لنبات الشبت بالمقارنة مع شواهد إيجابية من الصادات [1,16].

الشكل (1). أوراق نبات الشبت *A. graveolens*

الشكل (2). أزهار نبات الشبت *A. graveolens*

مبررات وأهداف البحث:

أدى الاستخدام العشوائي والمزمن للصادات خاصة خلال السنوات القليلة الماضية إلى تطور المقاومة الجرثومية بشكل واضح تجاهها بما تحمله من آثار سلبية على قدرة الجسم على الشفاء من المرض، مما دفع العلماء إلى البحث عن بدائل للصادات.

ترافق تنامي الوعي بأهمية الصناعة الخضراء واستثمار مكونات البيئة المحلية بما يخدم متطلبات السكان مع الاتجاه إلى تقييم دور النباتات العطرية المحلية في الجانب الطبي والصحي بالإضافة إلى دورها الغذائي.

اعتماداً على ماسبق تتدرج أهمية البحث الحالي في دراسة إمكانية استثمار نبات طبيعي من البيئة المحلية ودراسة الفعالية المضادة للجراثيم لخلاصات محضرة من نبات *A. graveolens*، لذا هدف هذا البحث إلى تقييم فعالية تراكيز مختلفة من الزيت الأساسي المحضر من ثمار نبات الشبت بعد شراءها من متجر محلي في مدينة اللاذقية تجاه جراثيم الإشريكية القولونية.

مواد وطرائق البحث:

وزن 300 g من ثمار نبات الشبت *A. graveolens* بعد شراءها من متجر محلي كما هي موضحة في الشكل (3) ووضعت مع 3 L ماء في حوجلة التسخين واستخدم جهاز Clevenger من أجل استخلاص الزيت الأساسي. قطّر المزيج السابق عند درجة غليان المحل لمدة 4.5 ساعة حتى توقفت قطرات الزيت عن التجمع في الجهاز، جمع 3 ml زيت في فلاكونة زجاجية جافة تماماً غلفت وحفظت بالبراد لحين الاستخدام. مدد الزيت باستخدام محل ثنائي ميتيل سلفاكسيد Dimethyl sulfoxide (DMSO) قبل الاستخدام مباشرة من أجل الحصول على تراكيز (75 –50–25) % من الزيت.

عقمت كافة الأوساط الجرثومية المحضرة بجهاز الأوتوكلاف Autoclave ووضعت في حاضنة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة للتأكد من عقامتها قبل الزرع، استخدمت طريقة الزرع بالأقراص حيث أضيف 10 µl من كل تركيز للزيت إلى الأقراص

وتركت لتجف بحرارة الغرفة لمدة 5 دقائق قبل تطبيقها على الجراثيم، حضرت 3 مكررات لكل تركيز لتطبيقها على وسط مولر هينتون آغار Mueller–Hinton agar.

جمعت عينات من مستعمرات *E.coli* من سلالات نقية تم الحصول عليها من مخبر الأحياء الدقيقة في مستشفى تشرين الجامعي، وحضرت لإجراء الدراسة الحيوية، زرعت العينات الجرثومية على وسط الآغار السائل Nutrient broth وتركت لمدة 48 ساعة في الحاضنة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لضمان نموها وفق الشروط الأمثل وثم زرعت على وسط الآغار المغذي Nutrient agar لمدة 48 ساعة في الحاضنة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية ونقلت عينات من المستعمرات الناتجة إلى وسط مولر هينتون السائل Mueller–Hinton broth وحضنت لمدة 48 ساعة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية ثم زرع 80 µl من المستعمرات الناتجة على أطباق Mueller–Hinton agar وطبقت عليها الأقراص المشبعة بالزيت الأساسي، تركت لمدة 10 دقائق بحرارة الغرفة ثم وضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية وقرأت النتائج عند 24 ساعة.

اعتمد على الأقراص الجاهزة للصاد Augmentin كشاهد إيجابي للتجربة، حيث طبق على طبق مولر هينتون آغار بعد زرع 80 µl من مستعمرات *E.coli*، ترك لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة ثم وضع في الحاضنة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية وقرأت النتائج بعد 24 ساعة.

الشكل (3). ثمار نبات *A. graveolens* المدروسة

النتائج والمناقشة:

تم الحصول على الزيت الأساسي من ثمار نبات الشبت المتوافر محلياً بنسبة 1% بعد الاستخلاص بجهاز Clevenger، وكان الزيت ذو لون أصفر باهت ورائحة عطرية نفاذة تشبه رائحة اليانسون وقوام زيتي – مائي كما هو موضح في الشكل (4)، وهو يتناسب مع دراسة [1].

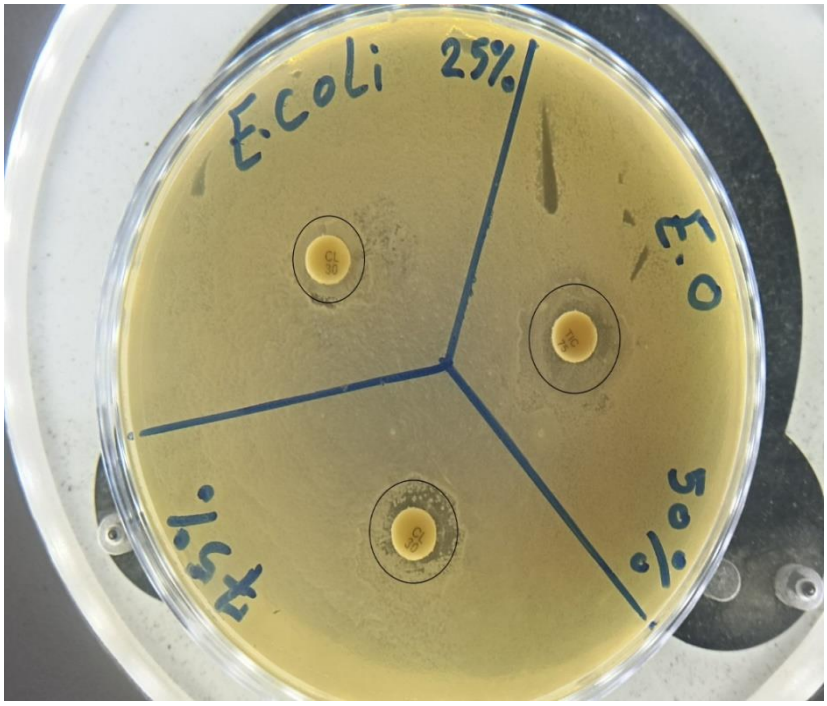
أعطت التراكيز المدروسة من الزيت أقطار هالات تثبيطية مختلفة تجاه جراثيم *E. coli* اعتماداً على طريقة الأقراص، أخذت 3 مكررات لكل تركيز من الزيت وقيست أقطار هالات التثبيط باستخدام اوراق ميلليمترية بعد مرور 24 ساعة من الزرع على وسط Mueller–Hinton Agar وأخذ المتوسط الحسابي للأقطار لكل تركيز من الزيت، فكان متوسط قطر الهالة 8 mm عند التركيز 25% و 10 mm عند التركيز 50% و 10 mm عند التركيز 75% بعد مرور 24 ساعة كما هو موضح في الشكل (5) والجدول (1).

أعطى الصاد المستخدم كشاهد إيجابي للتجربة (Augmentin) قطر هالة تثبيط 16 mm بعد مرور 24 ساعة.

الشكل (4). الزيت الأساسي المستخلص من ثمار نبات *A. graveolens*

جدول (1). أقطار الهالات التثبيطية للتراكيز المدروسة من الزيت الأساسي لنبات الشبت على *E. coli*

قطر هالة التثبيط (ملم) / تركيز الزيت	الطبق الأول	الطبق الثاني	الطبق الثالث	$\overline{X}$ (SD ±)		
(25) %		12	6	6	8 (± 3.464)	
(50) %			16	6	8	10 (± 5.291)
(75) %			14	8	8	10 (± 3.464)



الشكل (5). هالات التثبيط العائدة للزيت الأساسي لثمار نبات الشبت بتراكيز (25- 50 - 75)% على مستعمرات *E. coli* بعد 24 ساعة من الزرع

أعطى الصاد المستخدم Augmentin قطر هالة تثبيط (16 MM) تجاه جراثيم *E. coli* أكبر من أقطار هالات تثبيط الزيت الأساسي لثمار الشبت والممدد ب DMSO، حيث تم تسجيل الأقطار (±3.464) 8 mm، (±5.291) 10 mm، (±3.464) 10 mm عند التراكيز %(25) و %(50) و %(75) على التوالي، وهذا قد يكون عائداً إلى التركيز المستخدم من الزيت أو التركيب الكيميائي المتنوع للزيت وكيفية التداخل فيما بين المواد المختلفة، إذ يحتوي الزيت المحضر عدة مركبات كيميائية تتداخل آليات تأثيرها، منها ما هو مضاد للجراثيم، ويختلف تركيز هذه المركبات في الزيت حسب طريقة استخلاص الزيت وموسم جمع النبات وتتغير انحلاليتها حسب نوع المذيب المستخدم.

ينتمي الصاد المستخدم إلى مجموعة البنسيلينات (Amoxicillin) بالمشاركة مع مثبطات بيتا لاكتاماز (Clavulanic acid) حيث يعطي طيف تأثير واسع مقارنة بالبنسيلينات لوحدها والتي تكون قابلة للتحلل بأنزيمات بيتا لاكتاماز المنتجة من قبل الجراثيم كآلية دفاعية تجاه الصاد لتعطي سلالات مقاومة مع الزمن. تكون آلية تأثير Clavulanic acid من خلال ارتباطه بشكل غير عكوس بأنزيمات البيتا لاكتاماز مما يترك الجراثيم معرضة للصاد الأساسي Amoxicillin وبالتالي يعطي طيف تأثير أوسع [9].

أتت نتائج الصاد في الدراسة الحالية متوافقة مع نتائج دراسة [14] حيث عزلت 126 سلالة من جراثيم *E. coli* من مرضى التهابات المجاري البولية في مستشفى في فرنسا واستخدمت أقراص الصاد Augmentin لإجراء مقارنة فيما بين السلالات المعزولة، فكانت السلالات حساسة تجاه الصاد المدروس وأعطت أقطار هالات تثبيطية تتراوح بين 22–31 mm، وهو ما أكدته الدراسة الحالية حيث أن Augmentin لا يزال يستخدم في العديد من التهابات المجاري البولية.

كانت نتائج الدراسة الحالية غير متوافقة مع نتائج دراسة [9] فيما يتعلق بالصاد المستخدم حيث عزلت 40 سلالة من جراثيم *E. coli* من مخبر الأحياء الدقيقة من مستشفى في الباكستان واستخدمت 8 أنواع صادات لمقارنة الفعالية فيما بينها تجاه الإشريكية القولونية، فكانت الجراثيم مقاومة للصاد Augmentin بينما أظهرت حساسية واضحة تجاه الصاد Tazocin وقد يعود ذلك إلى الاستخدام الشائع والعشوائي والمزمن للصاد Augmentin في منطقة الدراسة السابقة مقارنة بالدراسة الحالية.

أتت نتائج الدراسة الحالية مخالفة لنتائج دراسة [15] حول الفعالية المضادة للجراثيم لزيت ثمار الشبت، حيث قام الباحثون بدراسة تأثير 179 عينة من الزيوت الأساسية المنتشرة في أنحاء ألمانيا والمستخلصة من 86 نوع نباتي تجاه جراثيم منقولة بالغذاء *Staphylococcus aureus* و *Escherishia coli* وكان زيت ثمار الشبت والأجزاء الهوائية منه أحد الزيوت التي لم تعط أي فعالية تجاه الجراثيم، حيث لم تسجل أي هالة تثبيط عند تطبيقه على جراثيم *E. coli*، وهو مخالف لما ورد في نتائج هذه الدراسة، وقد يكون ذلك عائد إلى الاختلاف في موسم الجني والموقع الجغرافي بين الدراستين حيث تعد هذه العوامل من أهم المؤثرات على تراكيز ومكونات الزيت الأساسي من المركبات الكيميائية المتنوعة.

قام [12] بشراء ثمار نبات الشبت في الهند (Gorakhpur) خلال شهر آذار من أجل تحضير الزيت الأساسي باستخدام جهاز Clevenger ودراسة الفعالية المضادة للفطريات تجاه عدة أنواع من فطريات *Aspergillus* و *Fusarium* و *Penicillium* بالإضافة إلى عدة سلالات جرثومية منها *Escherishia coli* و *Staphylococcus aureus* وغيرها، وأبدى الزيت الأساسي فعالية تجاه جميع السلالات المدروسة ماعدا *Salmonella typhi*، حيث تم تحضير التراكيز التالية (0.2, 0.4, 0.6 %) عند التمديد بالمحل DMSO وكانت أقطار هالات التثبيط عند اعتماد طريقة الآبار تجاه *E.*

coli أكبر من (±0.4) 12.3 mm مع قطر تثبيط أعظمي على جراثيم *E. coli* (±2.3) 18.5 mm عائد للتركيز % 0.6 من الزيت، وهو ما أظهر نتائج أعلى من نتائج الدراسة الحالية، وهذا قد يكون بسبب الاختلاف في الموقع الجغرافي وما يرافقه من تغير في تركيب وتراكيز المركبات الكيميائية في الزيت عند الاستخلاص أو الاختلاف في طريقة تحديد قطر هالة التثبيط بين الدراستين حيث قد يختلف انتشار الزيت في الوسط المغذي بين طريقتي الأقراص والآبار.

بينما قام [1] بعد استخلاص الزيت الأساسي من ثمار نبات الشبت والتي تم الحصول عليها من متجر محلي في الباكستان باستخدام طريقة التقطير بالبخار المعدلة حيث تم تحضير عدة تراكيز من الزيت (1:10, 1:50, 1:100, 1:200) باستخدام مزيج من الماء المقطر و10% من العوامل الاستحلابية (سبان 80 وتوين 80) ثم دراسة الفعالية المضادة للجراثيم تجاه الإشريكية القولونية *E. coli* والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* و*السالمونيلا التيفية Salmonella typhi* و *Bacillus subtilis* وهو ما أكد وجود فعالية للزيت بالمقارنة مع أقراص الصادات كشواهد إيجابية، حيث أعطى الزيت لوحده قطر هالة تثبيط (8 mm) تجاه *E. coli* وهو مساوي لقطر هالة تثبيط الصاد الشاهد (Oxytetracycline) بينما أعطت التمديدات التالية من الزيت 1:10 و 1:50 و 1:100 و 1:200 أقطار هالات تثبيطية 0, 4, 6, 7 mm على التوالي وهي نتائج أقل من نتائج هذه الدراسة، قد تكون بسبب الاختلاف في المحل المستخدم عند التمديد أو الاختلاف في التراكيز المستخدمة من الزيت بين الدراستين.

تم إجراء اختبار T student لتقدير وجود فرق دال إحصائياً بين التأثير المثبط المشاهد مع كل من التراكيز الثلاثة بالإضافة إلى التأثير المشاهد مع دراسة [1] و [12] والجدول (2) يوضح القيم الناتجة، حيث لم تتم ملاحظة وجود أي فروق دالة إحصائياً بين التأثير المثبط للزيت الأساسي لنبات الشبت عند التركيز (50)% والزيت الأساسي عند التركيز

(75)% بدرجة موثوقية 99% ($t = 0, p = 1 > 0.05, \alpha = 99\ \%$) وكان التأثير العائد للتركيزين السابقين متساوي، أما عند المقارنة بين الدراسة الحالية والدراسات المشابهة لم يلاحظ وجود أي فرق ذو دلالة إحصائية بين العينات المأخوذة في هذه الدراسة وعينات دراسة [1] مما يؤكد فعالية جميع التراكيز الحالية المدروسة وامتلاكها لتأثيرات هامة، وكذلك لم تظهر أي فروق دالة إحصائياً عند مستوى الثقة 99.9% عند التركيز 25% من الزيت الأساسي المدروس مقارنة مع نتائج دراسة [12] ($t = 1.749,$ $p = 0.068, \alpha = 99.932$) ولم تظهر كذلك فروق دالة إحصائياً عند التراكيز المتبقية من زيت الشبت بالمقارنة مع دراسة [12].

جدول (2). نتائج اختبار T student للمقارنة بين تأثير الزيت الأساسي لنبات الشبت المنتشر محلياً بتركيز %(75)، %(50)، %(25) والزيت الأساسي من نبات الشبت في الهند والباكستان

المتغير المدروس	قيمة ت المحسوبة T – Student	الاحتمالية P	الموثوقية α	الدلالة
الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(25) * الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(50)	0.387	0.613	99.387	لا يوجد دلالة
الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(25) * الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(75)	0.500	0.518	99.482	لا يوجد دلالة
الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(50) * الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(75)	0	1	99	لا يوجد دلالة

(تقييم الفعالية المضادة للإشريكية القولونية *Escherichia coli* للخلاصة الزيتية لبذور نبات الشبت *Anethum graveolens*)

الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(25) * قطر التثبيط في دراسة Singh وزملاؤه	1.749	0.068	99.932	لا يوجد دلالة
الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(50) * قطر التثبيط في دراسة Singh وزملاؤه	0.945	0.252	99.748	لا يوجد دلالة
الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(75) * قطر التثبيط في دراسة Singh وزملاؤه	1.235	0.155	99.845	لا يوجد دلالة
الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(25) * قطر التثبيط في دراسة Badar وزملاؤه	0.755	0.345	99.655	لا يوجد دلالة
الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(50) * قطر التثبيط في دراسة Badar وزملاؤه	0.966	0.244	99.756	لا يوجد دلالة
الدراسة الحالية وقطر التثبيط عند التركيز %(75) * قطر التثبيط في دراسة Badar وزملاؤه	1.404	0.118	99.882	لا يوجد دلالة

يتبين مما سبق أن ثمار نبات الشبت المتوفرة محلياً تملك فعالية هامة تجاه الإشريكية القولونية مما يشجع على متابعة الدراسات حول إمكانية استثمار هذا النبات كمصدر هام للعلاجات النباتية تجاه الإشريكية القولونية.

الاستنتاجات:

1. يمتلك الزيت الأساسي لثمار نبات الشبت *A. graveolens* والممدد بـ DMSO تأثيراً مثبطاً للإشريكية القولونية عند التراكيز (25, 50, 75) %

2. يمتلك الزيت الأساسي لثمار نبات الشبت بتركيز (75) % تأثيراً مثبطاً للإشريكية القولونية مساوياً لتأثير الزيت الأساسي بتركيز (50) %

التوصيات:

1- متابعة الدراسات حول فعالية الخلاصات المحضرة من أجزاء مختلفة من نبات الشبت المتوفر محلياً تجاه جراثيم الإشريكية القولونية.

2- توجيه الدراسات لمقارنة فعالية خلاصة ثمار نبات الشبت تجاه سلالات جرثومية متنوعة.

3- دراسة إمكانية تطوير أشكال صيدلانية موجهة على الإشريكية القولونية اعتماداً على الزيت الأساسي لثمار نبات الشبت.

المراجع:

1- BADAR, N, ARSHAD, M, FAROOQ, U, 2008 Characteristics of Anethum graveolens (Umbelliferae) seed oil: extraction, composition and antimicrobial activity International Journal of Agriculture and Biology, vol. 10,3. 329-332.

2- CALLAWAY, T, ELDER, R, KEEN, J, ANDERSON, R, NISBET, D, 2003 Forage feeding to reduce preharvest *Escherichia coli* populations in cattle, a review Journal of dairy science, vol. 86,3. 852-860.

3- COSENTINO, S, TUBEROSO, C, PISANO, B, SATTA, M, MASCIA, V, ARZEDI, E, PALMAS, F, 1999 In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils Letters in applied microbiology, vol. 29,2. 130-135.

4- DASH, S, CHAKRABORTY, S, MANADAL, D, ROY, S, 2012 Isolation and Characterization of Multi Drug Resistant Uropathogenic Escherichia coli from Urine Sample of Urinary Tract Infected Patients International Journal of life Science and Pharma Research, vol. 2,1. 25-39.

5- DARNTON, N, TUMER, L, ROJEVSKY, S, BERG, H, 2007 On torque and tumbling in swimming *Escherichia coli* Journal of bacteriology, vol. 189,5. 1756-1764.

6- DIMOV, M, DOBREVA, K, STOYANOVA, A, 2019 Chemical composition of the dill essential oils (Anethum graveolens L.)

from Bulgaria Bulgarian Chemical Communications, vol. 51,Special Issue D. 214-216.

7- ERKAN, N, AYRANCI, G, AYRANCI, E, 2008 Antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) extract, blackseed (Nigella sativa L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol Food Chemistry, vol. 110,1. 76-82.

8- GOMEZ-ESTACA, J, LOPEZ DE LACEY, A, LOPEZ-CABALLERO, M, GOMEZ-GUILLEN, C, MONTERO, P, 2010 Biodegradable gelatinechitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation Food Microbiology, vol. 27,7. 889-896.

9- JAFRI, S, A, QASIM, M, MASOUD, M, UR-RAHMAN, M, IZHAR, M, KAZMI, S, 2014 Antibiotic resistance of *E.coli* isolates from urine samples of Urinary Tract Infection (UTI) patients in Pakistan Bioinformation, vol. 10,7. 419-422.

10- NAJARAN, Z, HASSANZADEH, M, NASERY, M, EMAMI, S, 2016- Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Academic Press, 1st edition. USA. 930p.

11- NATARO, J, KAPER, J, 1998 Diarrheagenic *Escherichia coli* Clinical microbiology *revie*w*s*, vol. 11,1. 142-201.

12- SINGH, G, MAURYA, S, LAMPASONA, M, CATALAN, C, 2005 Chemical Constituents, Antimicrobial Investigations, and Antioxidative Potentials of Anethum graveolens L. Essential

Oil and Acetone Extract: Part 52 Journal of Food Scienc, vol. 70,4. 208-215.

13- SMALL, E, DEUTSCH, G, 2001- Culinary Herbs for Short-season Gardeners. National Research Council of Canada & Ismant Peony Press, Canada, 182p.

14- SOARES, A, PESTEL-CARON, M, LEYSOUR DE ROHELLO, F, BOURGOIN, G, BOYER, S, CARON, F, 2020 Area of technical uncertainty for susceptibility testing of amoxicillin/clavulanate against *Escherichia coli* :analysis of automated system, Etest and disc diffusion mathods compared to the broth microdilution reference Clinical Microbiology and Infection, vol. 26. 1685.e1-1685.e6.

15- THIELMANN, J, MURANYI, P, KAZMAN, P, 2019 Screening essential oils for their antimicrobial activities against the foodborne pathogenic bacteria Escherichia coli and Staphylococcus aureus Heliyon, 5,6. 1-6.

16- TIAN, J, BAN, X, ZENG, H, HUANG, B, HE, J, WANG, Y, 2011 In vitro and in vivo activity of essential oil from dill (Anethum graveolens L.) against fungal spoilage of cherry tomatoes Food Control, vol. 22,12. 1992-1999.

17- WHO. (2012). The evolving threat of Antimicrobial Resistance Options for action. World Health Organization, 1-125.

(تحري الفعالية المضادة للمكورات العنقودية الذهبية لخلاصات نبات الشيح الأبيض المنتشر محلياً)

إعداد الطالبة الصيدلانية:

زينب محمد علوش

المشرف الرئيس: أ.د. أميمة ناصر **المشرف المشارك: د. ديما محمد**

المعهد العالي لبحوث البيئة **كلية الصيدلة**

الملخص:

تم إجراء البحث في الفترة الزمنية الممتدة ما بين الـ 2022 – 2023 في مختبرات المعهد العالي لبحوث البيئة وكلية الصيدلة في جامعة تشرين حيث تم جمع النباتات من جبال حمص ومن ثم استخدام وسط آغار مولر هنتون من أجل تقييم الفعالية المضادة للجراثيم للزيت العطري لنبات الشيح الأبيض *Artemisia herba-alba Asso* وذلك على المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*وبعد إجراء استخلاص كليفنجر ومن أجل تمديدات مختلفة، وقد أظهرت نتائج البحث امتلاك الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض لفعالية هامة مضادة للميكروبات وفي تمديدات مختلفة مع هالة تثبيط بقطر 13.35 (±0.923) ميللي متر عند تركيز (25)%، ومع هالة تثبيط بقطر 11.66 (±1.154) ميللي متر عند تركيز (50)%، ومع هالة تثبيط بقطر 15.64 (±0.314) ميللي متر عند تركيز(75)%. لوحظ أيضًا وجود فرق دال إحصائيًا بين التأثير المثبط للزيت العطري لنبات الشيح الأبيض بتركيز (50)% والزيت العطري بتركيز (75)% بثقة (95)% ($t = -5.480,\ p = 0.032 < 0.05,\ CI: -6.521$ to −0784) حيث كان الزيت العطري بتركيز (75)% هو الأكثر فعالية

الكلمات المفتاحية: الشيح الأبيض – الزيت العطري – المكورات العنقودية الذهبية– التأثير المضاد للجراثيم .

(Evaluation of the antimicrobial activity of local spread Artemisia herba-alba)

Abstract

This research was conducted during the years 2022-2023 in the laboratory of Higher Institute for Environmental Research and Faculty of Pharmacy in Tishreen University, where the natural plant are collected from the mounts of Homs and then tested using Mueller-Hinton agar media to evaluate the antimicrobial activity of Artemisia herba-alba's essential oil extraction on Staphylococcus aureus after appropriate Clevenger extraction and within difference concentration. Results of the research showed important inhibition and antimicrobial activity of Artemisia herba-alba's essential oil upon difference dilution with 13.35 (±0.923) mm inhibiting zone using Artemisia herba-alba's essential oil with a concentration of (25)%, 11.66 (±1.154) mm with a concentration of (50)% and 15.64 (±0.314) inhibiting zone using a concentration of (75)%. Furthermore, Results of the research showed that there was a statistically significant difference between the inhibitory effect of the essential oil of *Artemisia herba-alba Asso* at a concentration of (50)% and the essential oil at a concentration of (75)% with a confidence of (95)% (t = −5.480, p = 0.032 < 0.05, CI: −6.521 to −0784), where The essential oil at a concentration of 75% was the most effective

Keywords: Artemisia herba-alba – Essential Oil – Staphylococcus aureus – antimicrobial effect

المقدمة:

المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وهي عبارة عن جراثيم كروية الشكل إيجابية الغرام ويمكن أن تميز بحسب لون مستعمراتها إلى المذهبة *S. Aureus* أو البيضاء *S. Albus* [1] وتعد المكورات العنقودية المذهبة أحد المسببات الرئيسة للأمراض البشرية وتمثل عبئاً متزايداً على الصحة العامة بسبب ظهور السلالات المقاومة للصادات الحيوية وانتشارها، وخاصة داخل بيئة المشفى تعد سبباً مهماً لأخماج الجلد والأنسجة الرخوة، والالتهابات داخل الأوعية الدموية، والالتهاب الرئوي، والتهاب المفاصل والشغاف، والتهاب العظم والنقي [3,2] كما تسبب هذه الجراثيم التسمم الغذائي حيث تفرز الذيفان المعوي Enterotoxin، وتفرز العديد من الأنزيمات الخارجية والذيفانات التي تساعدها على إحداث إصابات مختلفة تؤثر على الجهاز المناعي تسبب الحمى وانخفاض ضغط الدم والفشل متعدد الأعضاء [5,4] وقد أخذت المكورات العنقودية الذهبية بالانتشار المتزايد بصورة هامة منذ القدم، فعلى سبيل المثال تشير الدراسات إلى ازدياد الإصابات المسجلة بالمكورات العنقودية الذهبية بنسبة 283% في المشافي التعليمية الكبيرة، وبنسبة 176% في المشافي التعليمية المتوسطة وصغيرة السعة بين عامي 1980 – 1989 [6] لتأخذ المقاومة على الصادات الحيوية بالتزايد المضطرد أيضًا حيث تفيد الدراسات بوفاة أكثر من 100000 شخص بنتيجة المقاومة على الصادات الحيوية في عام 2019 حيث كانت أغلب الوفيات ناجمة عن المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين ، وتركزت أغلب الحالات في قارة آسيا وتحديدًا في جنوب آسيا[7].

دفع هذا التفشي والتزايد في انتشار الجراثيم المقاومة على الصادات الحيوية المتنوعة الباحثون إلى التحري عن مصادر غير تقليدية مع تأثير مضاد للجراثيم الممرضة وبشكل خاص من المصدر النباتي [8]، هذا وقد قامت منظمة الصحة العالمية World Health

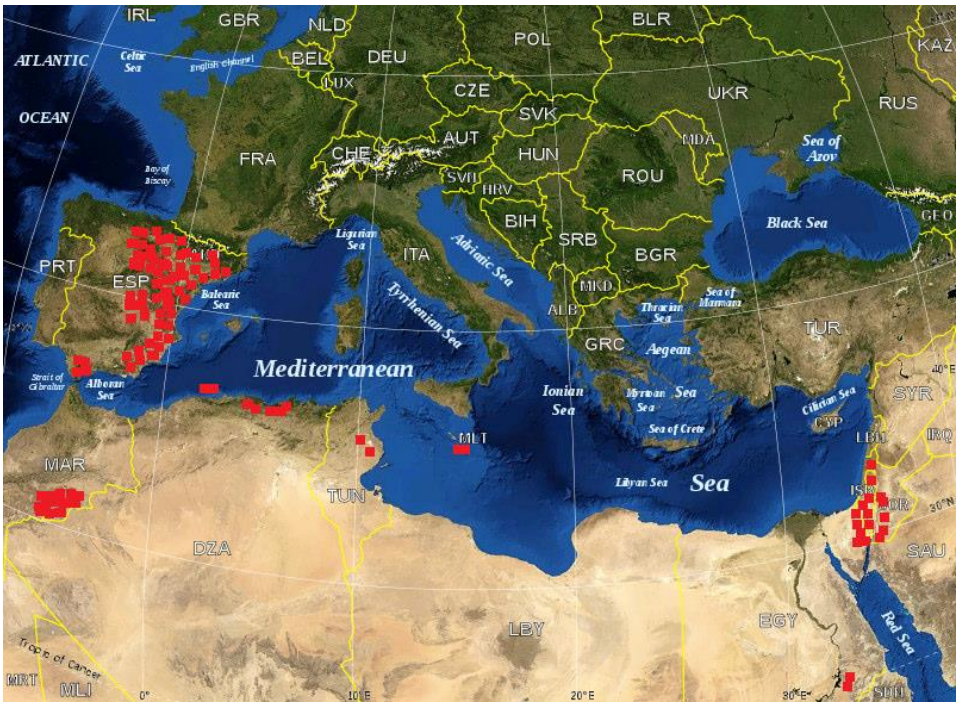
Organization (WHO) بمنح عملية إيجاد الصادات الحيوية الفعالة تجاه المكورات العنقودية الذهبية المقاومة الميثيسيلين أولوية عالية[9].

لم يكن الشيح الأبيض Artemisia herba-alba الموضح في الشكل (1) بعيدًا عن اهتمام الباحثين أيضًا وبالفعل فقد ثبت امتلاك الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض لفعالية مضادة للجراثيم وفعالية مضادة للأكسدة وفعالية مضادة للأورام وفعالية مضادة للداء السكري، كما ويستخدم من أجل الحصول على تأثير مضاد للصرع وتأثير مهدئ في الطب التقليدي[10].

الشكل (1). نبات الشيح الأبيض المنتشر في جبال حمص

ينتمي الشيح الأبيض إلى جنس الشيح Artemisia الذي ينتمي إلى العائلة النجمية Asteraceae وتحديدًا من قبيلة الأربياناويات Anthemideae، وهو عبارة عن شجيرة

قزمة طبية وعطرية تنمو بريًا في المناطق القاحلة في حوض البحر الأبيض المتوسط ويمتد إلى جبال الهيمالايا وإسبانيا على الطبقات التحتية الغنية بالنيتروفيل والجبس nitrofilous and gypsum–rich substrata إلا أن دراسته في بلادنا لم تتم بشكل موسع قبل العام 2010 كما هو موضح في الشكل (2)[11]؛ ليبدأ الإهتمام به مع مطلع العام 2012 حيث قام مهنا وزملائه بدراسة التباين الوراثي لعينات مأخوذة من نبات الشيح الأبيض من مناطق مختلفة من القلمون وفقًا لدراسة أفادت بتنوع وراثي وتباين هام بين عينات الشيح الأبيض المأخوذة من مناطق مختلفة كما وأرست هذه الدراسة قاعدة تشير إلى احتمالية التفاوت في تركيب وتأثير الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض وترشحه كنبات واعد نظراً لاستخداماته الطبية المتنوعة وامكانية الحصول عليه من المصادر البرية او استزراعه هذا وبالإضافة إلى امتلاكه القدرة على التغير بصورة مرنة للغاية من أجل التأقلم مع الظروف المناخية المختلفة [12].



الشكل (2). توزع الشيح الأبيض وفقًا لدراسة تم نشرها في عام 2010

مبررات البحث وأهدافه

انطلاقًا من ما تحمله المكورات العنقودية الذهبية من الخطورة ومع تزايد التوجه نحو المصادر الدوائية النباتية، ومع تزايد الاهتمام بنبات الشيح الأبيض وانتشاره بريًا وخصائصه الطبية الواسعة؛ فإن هذا البحث يهدف إلى التحري عن فعالية الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض والمجموع من جبال حمص على المكورات العنقودية المذهبة وبتراكيز مختلفة.

مواد وطرق البحث:

جمعت العينات من مستعمرات المكورات العنقودية الذهبية من مستشفى تشرين الجامعي، ومن ثم زرعت العينات الجرثومية على وسط المرق المغذي nitrate broth وتركها 48 ساعة في الحاضنة بدرجة حرارة37 درجة مئوية ومن ثم زرعت على وسط الآغار المغذي nitrate agar وتركت 48 ساعة في الحاضنة بدرجة حرارة37 درجة مئوية ومن ثم زرعت على وسط مولر هنتون اغار Mueller–Hinton agar و تم تطبيق الزيت العطري بطريقة الأقراص على المستعمرات المزروعه على الوسط وتركت لمدة 48 ساعة في الحاضنة بدرجة حرارة37درجة مئوية ومن ولقد تم تعقيم كل الأوساط بجهاز الأتوكلاف عند درجة حرارة 121 درجة مئوية وضغط 1 ولمدة 20 دقيقة قبل الصب بالاطباق البترية وزراعة الجراثيم عليها وحفظت في البراد طول فترة الاختبارات بدرجة حرراة 20 درجة مئوية

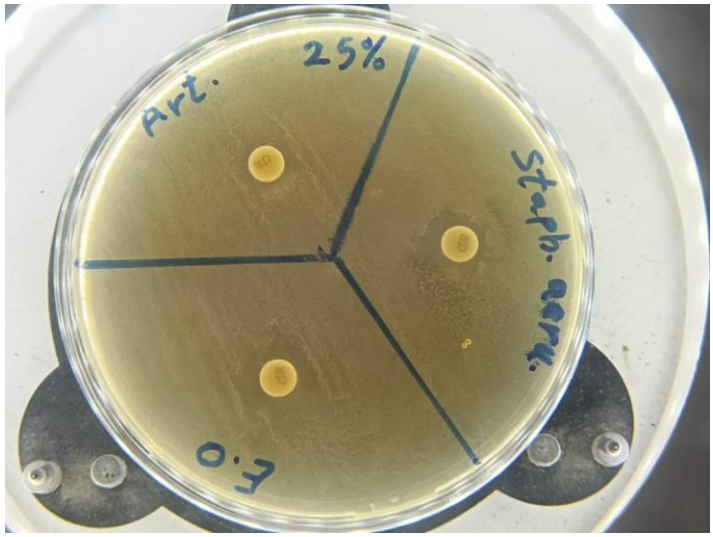
استخدمت طريقة الزرع بالأقراص عند تطبيق الزيت العطري حيث أشبعت الأقراص بالزيت العطري و تم إجراء 3 مكررات لكل تركيز على وسط المولر هنتون اغار وتم القياس بتركيز (25)% و (50)% و (75)% للزيت العطري

استخلص الزيت العطري بوساطة جهاز كليفنجر حيث تم وضع الأجزاء الهوائية للنبات في حوجلة الاستخلاص وغمرها بالماء بمقدار ثلثي حجم الحوجلة لتجنب فوران الخليط وتم وضعها بدرجة غليان المحل ولمدة 4 ساعات وبعد اخراج الزيت العطري مدد بمحل ثنائي ميتيل سلفاوكسيد Dimethyl sulfoxide (DMSO) وطبق على الجراثيم عن طريق الاقراص المشبعة به وتركه 16–24 ساعة في الحاضنة بدرجة37 درجة مئوية ومن ثم قراءة النتائج تمت قرادة النتائج عند 16 ساعة وعند 24 ساعة.

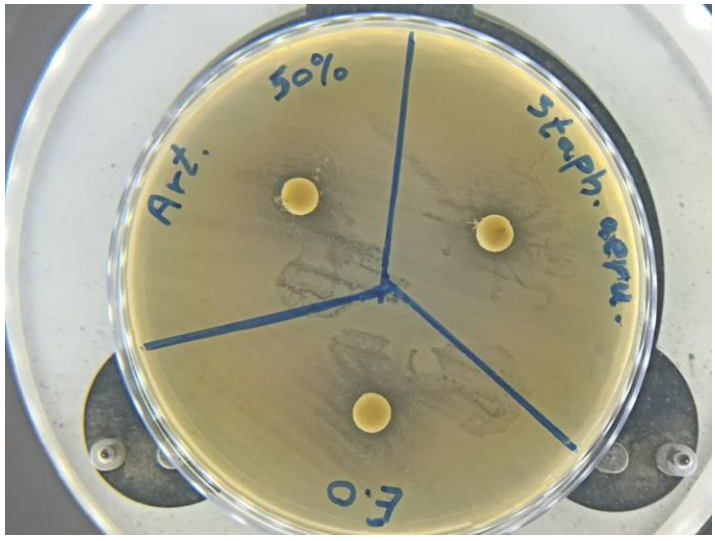
اجريت التحاليل الإحصائية بواسطة برنامج التحليل الإحصائي SPSS

النتائج والمناقشة:

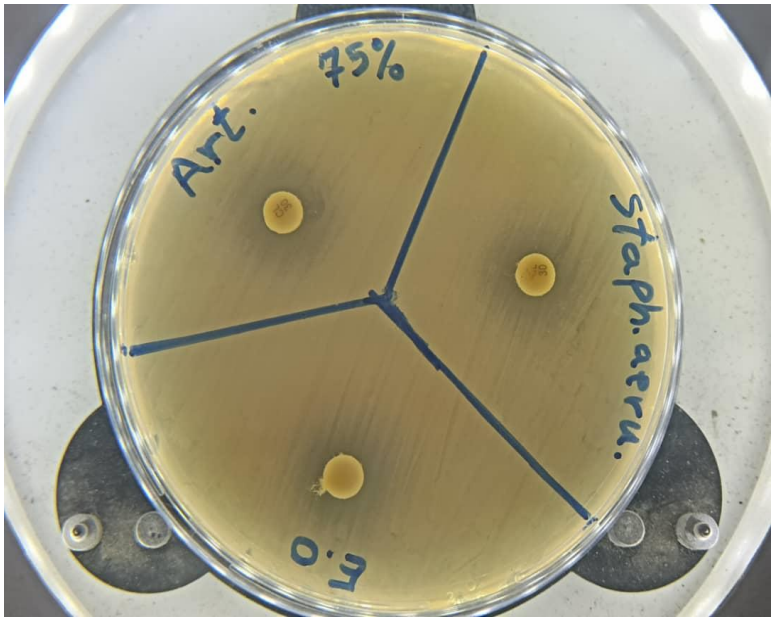
ابدى الزيت العطري كما هو موضح في الجدول 1 تأثيراً على المكورات العنقودية الذهبية حيت لوحظ وجود هالة تثبيط قدرها 13.35 (±0.923) ميللي متر عند تركيز (25)% كما هو موضح في الشكل (3)، ولوحظ جود هالة تثبيط قدرها 11.66 (±1.154) ميللي متر عند تركيز (50)% كما هو موضح في الشكل (4)، ولوحظ وجود هالة تثبيط قدرها 15.64 (±0.314) ميللي متر عند تركيز(75)% كما هو موضح في الشكل (5).



الشكل (3). الهالة التثبيطية للزيت العطري لنبات الشيح الأبيض بعد تطبيقه على مستعمرات المكورات العنقودية الذهبية بتركيز 25%



الشكل (4). الهالة التثبيطية للزيت العطري لنبات الشيح الأبيض بعد تطبيقه على مستعمرات المكورات العنقودية الذهبية بتركيز 50%



الشكل (5). الهالة التثبيطية للزيت العطري لنبات الشيح الأبيض بعد تطبيقه على مستعمرات المكورات العنقودية الذهبية بتركيز 75%

جدول (1). تأثير الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض على المكورات العنقودية الذهبية

التركيز	قطر هالة التثبيط /ملم من أجل المكرر الأول	قطر هالة التثبيط /ملم من أجل المكرر الثاني	قطر هالة التثبيط /ملم من أجل المكرر الثالث	$\overline{X}(SD)$
%(25)	13	13	14.6	13.53 (±0.923)
%(50)	11	11	13	11.66 (±1.154)
%(75)	15.6	16	15.32	15.64 (±0.314)

تشير الدراسة الحالية إلى امتلاك الشيح الأبيض لتأثير مضاد للجراثيم مع فعالية على المكورات العنقودية الذهبية مع هالة تثبيط بقطر 13.35 (±0.923) ميللي متر عند تركيز (25)%، وبقطر 11.66 (±1.154) ميللي متر عند تركيز (50)%، وبقطر 15.64 (±0.314) ميللي متر من أجل الزيت العطري الممدد بثنائي ميتيل سلفاوكسيد، هذا وتشير الدراسات السابقة بشكل عام إلى امتلاك الزيت العطري المجموع من الأجزاء الهوائية لنبات الشيح الأبيض فعالية مضادة للجراثيم حيث أشار Juteau وزملاءه [13] إلى امتلاك الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض المجموع من ضفاف نهر Huveaune في فرنسا لفعالية مضادة للمعوية الإمعائية Enterococcus hirae وفطر خميرة الجعة Saccharomyces cerevisiae والمبيضات البيض Candida albicans إلا أن دراسة Juteau وزملاءه تشير إلى عدم تأثير الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض على المكورات العنقودية المذهبة والإشريكية القولونية Escherichia coli مختلفة بذلك مع ما جاء في هذه الدراسة التي تمكنت من إثبات تأثير الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض بتركيز (75)% و (25)% على المكورات العنقودية الذهبية.

ومن ناحية أخرى تشير دراسة ez zoubi وزملائه [14] والتي تم إجراؤها على الأجزاء الهوائية لنبات الشيح الأبيض المجموع من المغرب إلى امتلاك الزيت العطري للنبات لفعالية مضادة للجراثيم مع تأثير هام على المكورات العنقودية الذهبية مع هالة تثبيط بمقدار 12.2 (±0.6) ميللي متر من أجل 10 ميكرو ليتر لكل طبق؛ وبالتالي مع فعالية أقل من الفعالية التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة.

هذا وقد أشارت دراسة Bertella وزملاءه [15] والتي تضمنت دراسة التأثيرات المضادة للجراثيم للزيت العطري لنبات الشيح الأبيض المجموع من شرق الجزائر إلى امتلاك الزيت العطري للنبات لفعالية مضادة للجراثيم مع تأثير هام على المكورات العنقودية الذهبية مع هالة تثبيط تتراوح بين الـ 16.3 (±0.5) ميللي متر من أجل المكورات العنقودية الذهبية

الحساسة على الميتسللين (MSSA) *S. Aureus* Methicillin-Susceptible وتصل إلى الـ الـ 28.0 (±1) ميللي متر مع المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميتسللين (MRSA) *S. Aureus* Methicillin-Resistance من أجل 6 ميكرو ليتر لكل طبق؛ وبالتالي مع فعالية أكثر من الفعالية التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة.

تاليًا أجري اختبار ت ستيودنت لمعرفة ما إن كان هنالك فرق دال إحصائيًا بين التأثير المثبط المشاهد مع كل من التراكيز الثلاثة بالإضافة إلى التأثير المشاهد في دراسة zoubi ez وزملائه وفي دراسة Bertella وزملائه كما هو موضح في الجدول (2)، ولوحظ على مستوى التراكيز الثلاثة المستخدمة في هذه الدراسة بأنه يوجد فرق دال إحصائيًا بين التأثير المثبط للزيت العطري لنبات الشيح الأبيض بتركيز (50)% والزيت العطري بتركيز (75)% بثقة (95)% (t = −5.480, p = 0.032 < 0.05, CI: −6.521 to −0784) حيث كان الزيت العطري بتركيز (75)% هو الأكثر فعالية، بينما لم يتم ملاحظة أي فرق دال إحصائيًا بين الزيت العطري بتركيز (25)% والزيت العطري بتركيز (75)%،

أما بالمقارنة بين الدراسة الحالية والدراسات المشابهة فقد لوحظ تفوق الزيت العطري من الجزائر وفقًا لدراسة Bertella وزملائه على الزيت العطري المستخدم في هذه الدراسة بشكل عام؛ إلا أن الزيت العطري بتركيز (75)% كان مع فعالية عالية ارتقت إلى درجة عدم وجود فرق دال إحصائيًا بين الفعالية المثبطة في حالة التركيز (75) % وبين الفعالية المثبطة في دراسة Bertella وزملاءه ومع الـ MRSA (t = −3.345, p = 0.189 > 0.05, CI: −1.509 to 0.189). هذا وقد لوحظ عدم وجود فرق دال إحصائيًا بين التأثير المثبط للجراثيم للزيت العطري لنبات الشيح الأبيض في سورية بالتركيز (25)% والتركيز (50)% وبين فعالية الزيت العطري من

المغرب وفقًا لدراسة ez zoubi وزملاءه بشكل عام؛ إلا أن تفوق الزيت العطري بتركيز (75)% كان مع فعالية ارتقت إلى درجة وجود فرق دال إحصائيًا عند مستوى ثقة 99% (t = 17.434, p = 0.003 < 0.01, CI: 2.591 to 4.289).

جدول (2). نتائج اختبار ت ستيودنت للمقارنة بين تأثير الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض المنتشر محليًا بتركيز (25)% و (50)% و (75)%، والزيت العطري من نبات الشيح الأبيض في المغرب والجزائر.

المتغير المدروس	قيمة ت المحسوبة	الاحتمالية P	حدود الثقةCI		الدلالة
			الحد الأدنى	الحد الأعلى	
A.	3.513	0.072	−0.421	4.168	لا يوجد دلالة
B.	−3.350	0.079	−4.081	0.508	لا يوجد دلالة
C.	−5.480	0.032*	−6.521	−0.784	**يوجد دلالة**
D.	2.500	0.130	−0.961	3.628	لا يوجد دلالة
E.	−5.188	0.035*	−5.061	−0.471	**يوجد دلالة**
F.	−27.125	0.01**	−16.761	−12.171	**يوجد دلالة**
G.	−0.800	0.508	−3.401	2.335	لا يوجد دلالة
H.	−6.950	0.020*	−7.501	−1.764	**يوجد دلالة**
I.	−24.500	0.002**	−19.201	−13.464	**يوجد دلالة**
J.	17.434	0.003**	2.591	4.289	**يوجد دلالة**
المتغير المدروس	قيمة ت المحسوبة	الاحتمالية P	حدود الثقةCI		الدلالة
			الحد الأدنى	الحد الأعلى	
K.	−3.345	0.189	−1.509	0.189	لا يوجد دلالة
L.	−62.641	0.000**	−13.209	−11.511	**يوجد دلالة**

***: يوجد فرق دال إحصائيًا عند مستوى ثقة (95)%،**: يوجد فرق دال إحصائيًا عند مستوى ثقة (99)%،A: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (25)% * الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (50)%، B: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (25)% * الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (75)%، C: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (50)% * الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (75)%،D: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (25)% * قطر التثبيط في دراسة ez zoubi وزملاءه، E: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (25)% * قطر التثبيط في دراسة Bertella وزملائه ومع الـ MSSA، F: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (25)% * قطر التثبيط في دراسة Bertella وزملاءه ومع الـ MRSA، G: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (50)% * قطر التثبيط في دراسة ez zoubi وزملائه، H: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (50)% * قطر التثبيط في دراسة Bertella وزملائه ومع الـ MSSA، I: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (50)% * قطر التثبيط في دراسة Bertella وزملائه ومع الـ MRSA، J: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (75)% * قطر التثبيط في دراسة ez zoubi وزملائه، K: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (75)% * قطر التثبيط في دراسة Bertella وزملائه ومع الـ MSSA، L: الدراسة الحالية وقطر التثبيط في حالة التركيز (75)% * قطر التثبيط في دراسة Bertella وزملائه ومع الـ MRSA**

وعليه فيمكن القول بأن الأجزاء الهوائية لنبات الشيح الأبيض المنتشر في جبال حمص تمتلك موقعًا وسطًا ومع تأثيرٍ هامٍ على المكورات العنقودية الذهبية وبصورة تستحق المزيد من الدراسة والتتبع وترشحه ليكون مصدرًا هامًا لخطوط علاجية نباتية جديدة تجاه المكورات العنقودية الذهبية

الاستنتاجات:

1. يمتلك الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض والممدد بال DMSO تأثيرًا مضادًا للمكورات العنقودية الذهبية عند التركيز (25)%
2. يمتلك الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض والممدد بال DMSO تأثيرًا مضادًا للمكورات العنقودية ا الذهبية عند التركيز (50)%
3. يمتلك الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض والممدد بال DMSO تأثيرًا مضادًا للمكورات العنقودية الذهبية عند التركيز (75)%
4. يمتلك الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض بتركيز (75)% تأثيرًا مضادًا للمكورات العنقودية الذهبية أكبر من تأثير الزيت العطري عند التركيز (50)%

التوصيات:

1. توجيه الدراسات المستقبلية باتجاه التحري على المكونات الفعالة في الزيت العطري لنبات الشيح الابيض والعوامل المؤثرة على التفاوت في تركيب الزيت العطري.
2. توجيه الدراسات المستقبلية باتجاه دراسة احتمالية التحسين من الصنف المنتشر بريًا وزيادة الزيت العطري المتاح للاستخلاص من الأجزاء الهوائية.
3. إجراء المزيد من الدراسات للتعرف على التفاوت في التأثير والتركيب الكيميائي للزيت العطري لنبات الشيح الأبيض من بقاع مختلفة من الجمهورية العربية السورية.
4. دراسة إمكانية صياغة أشكال صيدلانية موجهة تجاه المكورات العنقودية الذهبية ومعتمدة على الزيت العطري لنبات الشيح الأبيض.

قائمة المصادر والمراجع

1) LICITRA, G. (2013). Etymologies: Staphylococcus. Emerging Infectious Diseases, 19 (9): 1553.

2) DAVID, Z. and DAUM, R. (2010). Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. Clinical microbiology reviews. 23 (3): 616-687.

3) KRAKAUER, T., and STILES, B. (2013). The staphylococcal enterotoxin (SE) family: SEB and siblings. Virulence, 4(8): 759-773.

4) MARTIN, M., PAUL, D., ORWIN, M., and SCHLIEVERT, P. (2000). Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clin Microbiol Rev, 13(1): 16–34.

5) SINGH, G., BOPANNA, B., RINDHE, G. (2014). Molecular characterization of Staphylococcus aureus – human pathogen from clinical samples by RAPD markers. Int.J. Curr. Microbiol. App. Sci, 3 (2): 349-354.

6) EL ATROUNI, W., KNOLL, B., LAHR, B., ECKEL-PASSOW, J., SIA, I., and BADDOUR, L. (2009). Temporal trends in the incidence of Staphylococcus aureus

bacteremia in Olmsted County, Minnesota, 1998 to 2005: a population-based study. Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 49(12): e130-e138.

7) HASMUKHARAY, K., NGOI, S., SAEDON, N., TAN, K., KHOR, H., CHAIN, A., MAW, M., KAMARULZAMAN, A., IDRIS, N., NIEK, W., TEH, C., KAMARUZZAMAN, S. (2023). Ponnampalavanar, S. L. Evaluation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) bacteremia: Epidemiology, clinical characteristics, and outcomes in the older patients in a tertiary teaching hospital in Malaysia. BMC Infectious Diseases, 23 (241): 1-11.

8) TAYEL, A., SHABAN, S., MOUSSA, S., ELGUINDY, N., DIAB, A., MAZROU, K., and EL SABBAGH, S. (2018). Bioactivity and application of plant seeds' extracts to fight resistant strains of Staphylococcus aureus. Annals of Agricultural Sciences, 63(1): 47-53.

9) JUNG, I., JEONG, J., YUM, S., HWANG, Y. (2022). Inhibitory Effects of Selected Medicinal Plants on Bacterial Growth of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus, Molecules, 27: 7780.

10) AMOR, G., CAPUTO, L., LA STORIA, A., DE FEO, V., MAURIELLO, G., FECHTALI, T. (2019). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Artemisia herba-alba and Origanum majorana Essential Oils from Morocco, Molecules. 24: 4021.

11) MOHAMED, H., EL SAYED, M., HEGAZY, M., HELALY, S., ESMAIL, A., MOHAMED, N. (2010). Chemical Constituents and Biological Activities ofArtemisia herba-alba. Rec. Nat. Prod, 4:1: 1-25

12) MOUHANNA, A., BADOLCY, S., HAMD, F., AL ABRAS, N. (2012). Study of Genetic Diversity of Artemisia herba-alba Asso. using RAPD Markers and its Distribution in Qalamoun Region- Syria. Arab Journal of Pharmaceutical Sciences, 4 (8): 35-47.

13) JUTEAU, F., MASOTTI, V., BESSIÈRE, J., DHERBOMEZ, M., and VIANO, J. (2002). Antibacterial and antioxidant activities of Artemisia annua essential oil. Fitoterapia, 73(6), 2002: 532–535.

14) EZ ZOUBI, Y., LAIRINI, S., FARAH, A., TAGHZOUTI, K., EL OUALI, L. (2018). Antioxidant and Antibacterial Activities

of Artemisia herba-alba Asso Essential Oil from Middle Atlas, Morocco. Phytotherapie: 1-7

15) BERTELLA, A., BENLAHCEN, K., ABOUAMAMA, S., PINTO, A., MAAMAR, K., KIHAL, M.,and SILVA, A. (2018). Artemisia herba-alba Asso. Essential oil antibacterial activity and acute toxicity. Industrial Crops and Products, 116: 137-143.

دراسة مقارنة بين جودة مستحضرات المشاركة الثلاثية(املودبين وهيدروكلوتيازيد وفالسارتان) المسوقة محلياً والمستحضر العالمي

اعداد طالبة الماجستير: لما شماس

قسم المراقبة الدوائية-كلية الصيدلة- جامعة البعث

اشراف: أ.د. عماد حداد

ملخص البحث

تعتبر مضغوطات المشاركة (املودبين، فالسارتان وهيدروكلورتيازيد) حديثة الدخول نسبياً في السّوق السّورية ،وتم انتاجها من قبل عدة شركات محلية، وإن اختلاف المصنعيّن يعني اختلافاً في مصادر المادة الأولية والسواغات وطرق التحضير مما يؤدي إلى اختلاف في الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمستحضرات الناتجة .

تمثل هذه الدراسة تقييم جودة مستحضرات المشاركة الدوائية (املودبين ، فالسارتان وهيدروكلورتيازيد) المصنعة محلياً وذلك بأخذ ثلاث طبخات من ثلاث شركات ومقارنتها مع المستحضر العالمي ®Exforge HCT المصنّع من قبل شركة نوفارتس العالمية .

تم اجراء الاختبارات الدستورية مثل فحص تجانس الوزن، الهشاشية، القساوة، التفتت، تجانس الوحدات الجرعية وسرعة الانحلال.

حققت جميع العينات المعايير الدستورية لاختبار تجانس الوزن (<±5%) ، الهشاشية (<1%) ، تجانس المحتوى % [92.5–107.5] ، معايير القساوة وتفتت جميع المضغوطات قبل مضي 15 دقيقة ، كذلك حررت جميع العينات المدروسة أكثر من 75% من القيم المعنونة للاملودبين وأكبر من 80% بالنسبة للفالسارتان وهيدروكلورتيازيد خلال نصف ساعة .

تمتعت جميع العينات المدروسة بمعايير الجودة الدستورية مما يدل على جودة المستحضر المحلي وإمكانية استخدامه كبديل جيد وأقل ثمناً من المستحضر العالمي، إلا أن اثبات التكافؤ الحيوي يحتاج إلى دراسات سريرية ضمن الجسم الحي.

كلمات مفتاحية: المشاركة الدوائية، املودبين، فالسارتان، هيدروكلورتيازيد، مراقبة الجودة.

A comparative study on the quality of combination products of Amlodipine, Hydrochlorothiazide, Valsartan in the local and the international pharmaceutical product.

Abstract

The combination tablets of amlodipine, valsartan and hydrochlorothiazide has been newly introduced to the Syrian drug market. And has been already manufactured by some Syrian pharmaceutical companies. Different producers consequently mean different source of raw materials, different excipients and formulations. This may lead to differences in the physio-chemicals properties of the final products. This study is an attempt to evaluate the quality of local products of this triple combination (amlodipine, valsartan and hydrochlorothiazide) manufactured by three Syrian pharmaceutical companies by taking three batches from each one and comparing them to the international pharmaceutical product Ex forge HCT® Novartis. The quality of products was assessed through the evaluation of standardized tests such as uniformity of weight, friability, hardness, uniformity of content disintegration test and dissolution test.

All the studied samples have met the standardized criteria for the above mentioned tests: uniformity of weight (<±5%), friability (<1%), uniformity of contents [92.5-107.5]%, standard of hardness and all tablet disintegrate within 15 minutes. All the tablets from all batches released more than 75% of the labeled quantity of amlodipine and 80% of the labeled quantity of valsartan and hydrochlorothiazide during half hour.

All the studied samples met the pharmacopeia quality requirements, this indicates the quality of the local products and its potential use as adequate and cost-effective to the international products.

Key words: combination products, valsartan, amlodipine, hydrochlorothiazide, quality control.

1- مقدمة:

يحدث ارتفاع ضغط الدم عندما يكون الضغط في الأوعية الدموية مرتفعا جداً (90/140 مليمتر زئبق أو أكثر). وهو مرض شائع، ولكنه يمكن أن يكون خطيراً إذا تُرك دون علاج.

ولأن ارتفاع ضغط الدم يتأثر بعدة عوامل فإن معظم المرضى يحتاجون الى دوائين للوصول إلى الضغط الهدف والعديد منهم يحتاجون لثلاث أدوية أو أكثر، مما يزيد من عدم التزام المرضى ومطاوعتهم للعلاج، لذلك فإن دمج هذه الأدوية في شكل صيدلاني واحد يحسن مطاوعة المريض [1]

دواء المشاركة الثلاثية (فالسارتان واملودبين وهيدروكلورتيازيد) هو مضغوطات ملبسة بالفلم، معدة للايتاء الفموي تتوافر بالسوق المحلية بخمس جرعات موضحة في الجدول 1.

الجدول 1 جرعات المشاركة الثلاثية (فالسارتان، املودبين، هيدروكلورتيازيد)

المشاركة الدوائية	الجرعات				
Valsartan	160	160	160	160	320
Amlodipine	5	10	5	10	10
Hydrochlortiazide	12.5	12.5	25	25	25

ينتمي فالسارتان إلى عائلة حاصرات مستقبلات الأنجيوتنسين، والتي تم ادراجها ضمن أدوية الخط الأول لعلاج ارتفاع ضغط الدم الأساسي وذلك حسب توجيهات منظمة

الصحة العالمية (1999) WHO هو مشتق رباعي الآزول، مركب غير بيتيدي فعال فموياً[2].

الاملودبين من حاصرات قنوات الكالسيوم طويلة الأمد الأكثر انتقائية للعضلات الملساء في الأوعية الدموية من عضلة القلب ينتمي إلى مجموعة الديهيدروبيريدين الجيل الثالث [3].

الهيدروكلورتيازيد من مدرات البول التيازيدية. تؤثر التيازيدات على آلية الأنبوب الكلوي في إعادة امتصاص الشوارد تزيد طرح الصوديوم والكلور بكميات متكافئة تقريباً.[4]

حصلت Novartis,Swizerland على موافقة FDA لانتاجه باسم Exforge ®HCT عام 2009 [5]ودخلت هذه المشاركة السوق السورية خلال السنوات الأخيرة. وتم تصنيعها من قبل العديد من الشركات، لذلك تم اعداد هذا البحث لمراقبة جودة المستحضرات الصيدلانية الحاوية على هذه المشاركة من خلال اجراء الفحوص الدستورية الخاصة بالمضغوطات وتقسم هذه الفحوص إلى فحوص فيزيائية مثل فحص القساوة والهشاشية وتجانس الوزن، وأخرى كيميائية مثل فحص تجانس الوحدات الجرعية وسرعة الانحلالية.

وتأتي أهمية مراقبة جودة الأدوية المسوقة حالياً في سورية نتيجة للظروف الراهنة والانقطاع في انتاج بعض المعامل والزيادة في انتاج الأدوية الجنيسة وذلك لتأكيد تمتعها بمعايير الجودة المطلوبة وإمكانية التبديل بين مستحضرات الشركات المختلفة ولاسيما أدوية الأمراض المزمنة مثل أدوية الضغط والسكري[6,7] .

2-الهدف:

تقييم جودة مضغوطات المشاركة الدوائية (املودبين، فالسارتان، هيدروكلورتيازيد) المصنعة من قبل شركات دوائية محلية مختلفة ومقارنتها مع المستحضر العالمي، ودراسة إمكانية التبديل بين الشركات.

تم اختيار هذه المشاركة الدوائية نظراً لحداثة دخولها إلى السوق السورية وانتشار استخدامها وتصنيعها من قبل العديد من الشركات الدوائية المحلية.

3-المواد والأجهزة والطرق:

1.3 المواد:

مضغوطات المشاركة الدوائية (فالسارتان160mg ، املودبين 5mg، هيدروكلورتيازيد25 mg) من المستحضر المرجعي ®Ex-forge HCT ويرمز له ب D.البدائل الصيدلانية للمشاركة الثلاثية (فالسارتان، املودبين، هيدروكلورتيازيد) المأخوذة من السوق المحلية لثلاث شركات دوائية مختلفة (يرمز لها A,B,C) حيث تم العمل على ثلاث تحضيرات مختلفة من كل شركة يرمز لها (1،2،3) يوضح الجدول 2 السواغات المستخدمة في تحضير مضغوطات الشركات المحلية الثلاثة والدواء المرجعي استناداً إلى النشرة الداخلية المرفقة مع المستحضرات.

الجدول 2 السواغات المستخدمة في تحضير المستحضرات المدروسة

A	B	C	D
لاكتوز	سللوز دقيق التبلور	سللوز دقيق التبلور	سيللوز دقيق التبلور
كروس بوفيدون، كروس كارميلوز الصوديوم	كروس بوفيدون	كروس بوفيدون	كروس بوفيدون
ايروزيل	تالك	تالك	تالك
شمعات مغنيزيوم	شمعات مغنيزيوم	شمعات المغنزيوم	شمعات المغنيويوم
ثاني أوكسيد التيتانيوم	ثاني أوكسيد التيتانيوم	ثاني أوكسيد التيتانيوم	أوكسيد التيتانيوم
هيدروكسي بروبيل ميتيل سيللوز	هيدروكسي بروبيل ميتيل سيللوز	هيدروكسي بروبيل ميتيل سيللوز	هيدروكسي بروبيل ميتيل سيللوز
بولي ايتيلين غليكول 4000	بولي ايتيلين غليكول 4000	بولي ايتيلين غليكول 6000	بولي ايتلين غليكول 4000
أكسيد الحديد	أكسيد الحديد	أكسيد الحديد	أكسيد الحديد
بولي فنيل الكحول	ثاني أوكسيد السيليكون الغرواني	ثاني أوكسيد السيليكون	Colloidal anhydrous sillica
توين 80 و كحول			

واستخدمت أيضاً المواد والمحاليل التالية

مسحوق الفالسارتان العياري 99.6% من HAMA Pharma، مسحوق الاملودبين بيسيلات العياري 98.7% من HAMA Pharma، مسحوق هيدروكلورتيازيد العياري 99.3% من HAMAPharma، فوسفات البوتاسيوم أحادية الأساس KH_2PO_4، حمض الفوسفور، ميتانول خاص بالكروموتوغرافيا مقدم من معمل النورس للصناعات الدوائية

ماء مقطر، ماء خاص بالكروموتوغرافيا.

2.3 الأجهزة:

ميزان حساس ذو حساسية 0.0001 , AY220,Shimadzu) Analytical Balance (Japan) ، جهاز قياس القساوة (INDEA , veego) Hardness tester ، جهاز قياس الهشاشية (Indea , veego) Friability tester ، جهاز التفتت Disintegration tester (Veguard Pharmaceutical Machinery) ، جهاز قياس الرطوبة (SartoriusMA – 150/Germany) ، جهاز الانحلالية (Panomex/Indea) ، جهاز حمام الأمواج فوق الصوتية (Jeken–China) ، مقياس درجة الحموضة (Martint/Italy)، جهاز الكروموتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC (Shimadzu Prominence_i LC–2030C plus CORP 10954)، مراشح ميكرونية و زجاجات مختلفة (بياشر، أسطوانات مدرجة ، أنابيب زجاجية ، بوالين معايرة) .

3.3 الطرائق:

1.3.3اختبار المظهر الخارجيApperance Testتم إجراء فحص عياني على المستحضرات الفموية المدروسة بأخذ 20 مضغوطة من كل تحضيرة وفحص المظهر الخارجي من حيث الشكل واللون ووجود تبقعات وملاحظة العلامات المميزة المعتمدة عند الترخيص [8]

2.3.3اختبار تجانس الوزن Homogenity of weight Test

تم اجراء الاختبار على 20 عينة من كل تحضيره مدروسة وذلك بوزن المضغوطات بشكل افرادي على ميزان حساس وحساب الوزن الوسطي لل 20 مضغوطة. ثم نحسب انحراف وزن كل مضغوطة عن الوزن الوسطي من خلال العلاقة التالية

الانحراف عن الوزن الوسطي%= [| (الوزن الافرادي للعينة – الوزن الوسطي)|/ الوزن الوسطي]* 100

يسمح دستور الأدوية لمضغوطتين من أصل 20 بتجاوز الحد المسموح به على ألا تتجاوز مقدار الضعف

ونسبة الانحراف المسموح بها بالنسبة للمضغوطات المدروسة 5% [8,9]

3.3.3المقاومة الميكانيكية Mechanical Strength Test

1.3.3.3اختبار القساوة :يتم تحديد القساوة ل 10 مضغوطات من كل عينة بشكل إفرادي لتحديد قدرتها على تحمل الضغط أثناء التصنيع أو التعبئة أو النقل باستخدام جهاز قياس القساوة

Hardness tester (veego , INDEA)، ثم حساب المتوسط والانحراف المعياري لكل

عينة[8]

2.3.3الهشاشية Frability test الهشاشية هي كتلة المادة أو النسبة المئوية لهذه الكتلة التي يخسرها القرص، وهي تعبر عن مقاومة القرص لعمليات الصدم والتحريك وغيرها التي يمكن أن تسبب خسارة لأجزاء منه.

يتم اجراء الاختبار على عينة من المضغوطات المختارة عشوائياً بحيث يكون وزنها يساوي 6.5 غ. توزن الأقراص قبل الوضع بالجهاز بدقة و ثم توضع بجهاز الهشاشية Friability tester (veego,Indea) يشغل الجهاز لعدد معين من الدوارات (100 دورة مثلاً) بسرعة 25 دورة/د، ثم تخرج الأقراص و توزن بعد أن يزال عنها الغبار، يجب

التأكد قبل الوزن من عدم تحطم أو تفلع أو تصدع المضغوطات.يعبر عن الهشاشة كنسبة مئوية تحسب بالعلاقة:

$(W_1-W_2/W_1).100\%$

W_1 وزن المضغوطات قبل الاختبار

W_2 وزن المضغوطات بعد الاختبار

تحدد دساتير الأدوية البريطاني والأميركي نسبة الهشاشية المئوية كحد أعظمي 1% [9]

4.3.3اختبار التفتت Disintegration Test

تم اجراء فحص التفتت باستخدام جهاز السلة الهزازة Disintegration tester (Veguard Pharmaceutical Machinery)

يحدد زمن التفتت للمضغوطات الملبسة بحيث لا تتجاوز ال 30 دقيقة في درجة حرارة 0.5±37 مْ، وفي حال لم تتفتت عينة واحدة يعاد الاختبار على 6 مضغوطات أخرى، وهنا يجب أن تتفتت جميعها. أي يسمح لمضغوطة واحدة من أصل 12 ألا تتفتت[9]

5.3.3اختبار تجانس المحتوىUniformatiy of Cntent

يهدف هذا الاختبار للتأكد من احتواء المستحضر الصيدلاني على كمية المادة الفعالة المعنونة على العبوة، حسب دستور الأدوية الأميركي 2016 نعتبر مضغوطات المشاركة الثلاثية مقبولة إذا احتوت على مواد فعالة ضمن الحدود % [92.5-107.5][10]

تم في هذا البحث العمل باستخدام طريقة HPLC معتمدة من قبل المعمل.[12] ويوضح الجدول 3 شروط HPLC المطبقة في المقايسة

الجدول 3شروط HPLC المقايسة [10,12,14]

العمود المستخدم	C_8, 3 µm, 150 mm x 4.6 mm
الطور المتحرك	من ميتانول / وقاء بنسبة 70/ 30
معدل التدفق	1mL/min
طول الموجة	254nm UV Detector
حجم الحقنة	50µL
درجة الحرارة	40°
زمن الاحتباس	املودبين 4.34 min، فالسارتان5.54 min، هيدروكلورتيازيد 2.92 min

ملائمة النظام System Suitability

عند إجراء ملائمة النظام لطريقة ما باستخدام الكروموتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC يتم تعيين الباراميترات التالية: الميز Resolution، زمن الاحتباس Retention time، عامل السعة Capacity Factor، عامل التذييل Tailing factor، عدد الصفائح النظرية Number of plates [13]

تحضير الطور المتحرك المستخدم أثناء المقايسة ب HPLC:

يتألف الطور المتحرك من مزيج مرشح ومنزوع الغاز من الميتانول 700 مل و300 مل من الوقاء الفوسفاتي.

تم تحضير الوقاء الفوسفاتي المستخدم من خلال وزن 0.816 غ من مادة فوسفات البوتاسيوم أحادية الأساس وحلها في 300 مل من الماء المقطر ونضع البيشر في حمام مائي وجهاز ال pH ونضبط ال pH=3باستخدام حمض الفوسفور10%.

نمزج الوقاء مع الميتانول وفق النسب المحددة ثم نضع الطور المتحرك في حمام الأمواج فوق الصوتية لمدة 15 د.

تحضير المحلول الرئيسي Stock solution

تم وزن 0.4 فالسارتان عياري و0.0624 هيدروكلورتيازيد عياري و0.0174 غ املودبين عياري ونقلت الى بالون معايرة سعة100 مل وأكمل الحجم بالميتانول حتى خط العيار ونضع الدورق في حمام الأمواج الصوتية مدة 3 دقائق.

تحضير المحلول العياري stander solution

نأخذ 1 مل من المحلول الرئيسي ونمدد بالطور المتحرك حتى 25 مل فأصبح تركيز

Valsartan =160 µg/ml

Amlodipine besylate=6.93µ/ml

Hydrochlorothiazide=25 µg/ml

تحضير العينة المفحوصة:

نأخذ 10 مضغوطات من كل عينة مفحوصة ونطحن كل مضغوطة جيداً ونضعها في دورق سعة 100 مل ونتمم الحجم المطلوب بالميتانول ثم نضع الدورق في حمام الأمواج الصوتية لمدة 15 دقيقة.

تترك العينة حتى ترقد بشكل تام ثم نأخذ من الدورق مقدار 1 مل ونضعه في دورق حجمي سعة 10 مل ونتم بالحجم المطلوب بالطور المتحرك ونرج جيداً فنحصل على محلول يكون تراكيز المواد المدروسة نظرياً: الاملوديبين 6.93µ/ml وهيدروكلورتيازيد 25 µg/ml و فالسارتان160µg/ml.

6.3.3فحص سرعة الانحلال Dissolution test

يجرى فحص الانحلالية حسب دستور الأدوية الأميركي على 6 مضغوطات من كل عينة مدروسة باستخدام جهاز المجداف Apparatus II paddle الذّي يتحرك بسرعة محددة دستورياً (50 دورة في الدقيقة) عند درجة الحرارة 37±0.5 C° يوضح الجدول (4) شروط اختبار سرعة الانحلال.

الجدول 4شروط اختبار سرعة الانحلال

	Media	Time points	Q%	RPM
Amlodipine	Buffer 900ml	30 min	75%	50
Valsartan		30 min	80%	50
Hydrochlorothiazide		30 min	80%	50

تسحب العينات خلال فواصل زمنية معينة ويعوّض بحجم مناسب من وسط الانحلال للمحافظة على ثبات الحجم. ومن ثم ترشح العينات باستخدام مراشح ميكرونية 0.45µ ونحسب التركيز في الوسط عند زمن السحب (30 دقيقة)[6]

$$Q\% = (C1*V*100)/L$$

حيث C تركيز المادة الفعالة عند السحب

Vحجم وسط الانحلال

L محتوى المضغوطة من المادة الفعالة

تحضير وسط الانحلال Dissolution media

الوقاء: نحل 6.805 غ فوسفات أحادية البوتاسيوم و0.896 من هيدروكسيد الصوديوم في 1000 مل ماء ونعدل pH 6.8 باستخدام 0.2N هيدروكسيد الصوديوم أو 1M فوسفوريك أسيد

وسط الانحلالية: وقاء 900 مل [10]

4.النتائج والمناقشة:

4.1نتائج الاختبار العياني:Appearance Test results

لم يلاحظ أي اختلاف في السطح الخارجي للمضغوطات المدروسة حيث أن جميع المضغوطات- شكلها اهليلجي مع حواف مشطوفة وملبسة بالفلم و ملونة أصفر أو أحمر حسب كل شركة. سطح جميع المضغوطات كان أملس دون تشققات أو تغير في اللون أو تبقعات فجميع العينات من كل الشركات كانت مقبولة كما هو موضح في الشكل1.لا يوجد علامات مميزة على مضغوطات الشركات المحلية أما الدواء المرجعي فعليه رمز NVRعلى جانب وVEL على الجانب الآخر تشير هذه الرموز أن هذه نسخة معدلة من الدواء.[16]

D	A	B	C

الشكل 1المظهر الخارجي للمضغوطات المدروسة

2.4نتائج اختبار تجانس الوزن :Homogeneity of weight Test results

يبين الجدول (5) ملخص لنتائج اختبار تجانس الوزن لعينات الشركات المحلية والدواء المرجعي.

كان متوسط الوزن لجميع العينات يتراوح بين 405 و610 وفقاً لدستور الأدوية الأميركي فإن الحد المسموح به للانحراف عن الوزن الوسطي±5%

الجدول 5نتائج اختبار تجانس الوزن

التحضيرة	الوزن الوسطي±SD N=20	أكبر قيمة للنسبة المئوية عن الانحراف الوسطي	أصغر قيمة للنسبة المئوية عن الانحراف الوسطي
D	610±1.1	0.6	−1.1
A1	408.5±2.9	1	−1
A2	409.9±2.2	0.87	−0.79
A3	405.9±2.5	1.61	−0.97
B1	497.3±5	2	−2
B2	496±5	2	−2
B3	496.8±6	2	−2
C1	438.46±2.4	1	−1
C2	439±2	1	−1
C3	438.8±2.2	1	−1

كان الانحراف في وزن جميع المضغوطات ضمن المجال المسموح فيه دستورياً ومتفاوت أي أعلى وأخفض وليس باتجاه واحد، مما يعني أن هناك اتساق في انسيابية المساحيق أدت إلى تعبئة موحدة للقوالب.

نلاحظ اختلاف في وزن المضغوطات للشركات الثلاث على الرغم من تطابق السواغات المعنونة مما يدل على اختلاف النسب الموضوعة من كل سواغ. فكان أكبر وزن مضغوطة هي للدواء المرجعي وأقل وزن كان لمضغوطات الشركة A.

3.4نتائج اختبار المقاومة الميكانيكية Mechanical Strength Test results

يوضح الجدول (6) نتائج اختبار القساوة، اجتازت جميع العينات الاختبار وكانت اعلى قساوة للشركة Aيوضح الجدول وجود اختلاف واضح في قيم قساوة الشركة A عن قساوة الدواء المرجعي

الجدول 6 نتائج اختبار القساوة

الشركة	القساوة Kg/cm^3 الطبخة1	الطبخة2	الطبخة 3
A	8.2±1.4	8.7±2	8.3±1.7
B	5.2±0.6	5.8±1	5.6±0.8
C	4.7±0.5	4.9±0.4	4.5±0.7
D	6.3±0.8		

أما بالنسبة لاختبار الهشاشية كانت قيم الهشاشة لجميع العينات أقل من 0.5% وهذا يتوافق مع متطلبات USP والجدول (7) يوضح نتائج اختبار الهشاشة.

الجدول 7نتائج اختبار التفتت

الشركة	التفتتmin (37°C) الطبخة1	الطبخة2	الطبخة3
A	5.95	6.1	6.4
B	4.4	4.5	4.4
C	2.3	2.3	2.3
D	2.05		

عند اجراء تحليل احصائي لدراسة وجود علاقة بين نتائج اختبار التفتت و نتائج اختبار القساوة على عينة من 57 مضغوطة (6 مضغوطات من كل طبخة لكل شركة محلية و 6 مضغوطات من الدواء المرجعي) باستخدام اختبار بيرسون تبين وجود علاقة ارتباط عكسية ضعيفة بين قساوة المضغوطة و سرعة التفتت حيث كانت قيم sig=0.048<0.05عند مستوى الدلالة 0.05 وكان معامل الارتباط بيرسون −0.387

4.4اختبار التفتتDisintegration test results

تفتت المضغوطات شرط أساسي للانحلال والحصول على التأثير الدوائي المطلوب، كما هو موضح في الجدول 8، لقد اجتازت جميع العينات المدروسة الاختبار وكانت أعلى قيمة للعينة Aحوالي 6.4 دقيقة، ولكنها بقت ضمن الحدود المقبولة. وكان زمن التفتت للشركة C قريب من زمن تفتت الدواء المرجعي.

اختلاف السواغات المستخدمة يؤدي إلى اختلاف في زمن التفتت.

الجدول 8نتائج اختبار الهشاشية

الشركة	FRIABILITY% Patch :1	Patch :2	Patch :3
A	0.19	0.21	0.17
B	0.31	0.28	0.33
C	0.41	0.47	0.43
D	0.04		

5.4نتائج التحقق من ملاءمة النظام

تم حقن المحلول العياري 6 مرات كان عدد الصفائح النظرية للمواد الدوائية الثلاث أكبر من 2000 ومعامل التذييل للقمم الثلاث أقل من 2 والميز أكبر من 1.5 و كانت RSD لمساحة القمة و زمن الاحتباس أقل من 2% كما هو موضح في الجداول11،10،9 و يوضح الشكل 2 كروموتوغرام المحلول العياري.

الجدول 9 نتائج التحقق من ملاءمة النظام

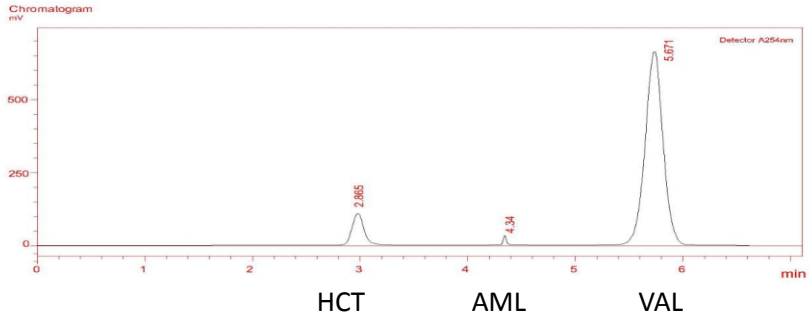
Number of املودبين injection	الصفائح النظرية	عامل التذيّيل	المساحة تحت المنحني	زمن الاحتباس
1	3937	1.1	410549	4.362
2	3847	1	413056	4.343
3	3780	1	412178	4.341
4	3820	1.2	410985	4.31
5	3924	1.3	412325	4.36
6	3792	1.1	410083	4.35
average	3850	1.11	411529	4.34
RSD	1.7	0.1	0.002	0.4

الجدول 10نتائج التحقق من ملائمة النظام بالنسبة للفالسارتان

فالسارتان	الصفائح النظرية	عامل التذيّيل	المساحة تحت المنحني	زمن الاحتباس
1	4972	0.9	16912010	5.56
2	4938	1	17202216	5.53
3	4882	1.1	16993851	5.57
4	4895	0.9	16838963	5.52
5	4871	0.92	16902962	5.54
6	4953	1	16802962	5.57
average	4918.5	0.97	16942160.7	5.54
RSD	0.8			0.3

الجدول 11 نتائج التحقق من ملائمة النظام للهيدروكلورتيازيد

زمن الاحتباس	المساحة تحت المنحني	عامل التذيّيل	الصفائح النظرية	هيدروكلورتيازيد
2.91	1997539	0.8	2754	1
2.91	1975490	0.72	2768	2
2.93	1977819	0.7	2762	3
2.92	1984518	0.75	2828	4
2.91	1985176	0.71	2831	5
2.94	1994329	0.69	2753	6
2.92	1985811.833	0.72	2782.667	average
0.4			1.3	RSD



الشكل2كروموتوغرام المحلول العياري

6.4نتائج اختبار تجانس المحتوى Uniformity of Content

يظهر الجدول 12 نتائج اختبار تجانس المحتوى للشركات المحلية والدواء المرجعي كانت جميع القيم ضمن الحدود الدستورية % (92.5-107.5)وRSD<2 ما يدل على تجانس محتوى و اتساق الطبخات المدروسة للشركات المدروسة

جدول 12 نتائج تجانس المحتوى

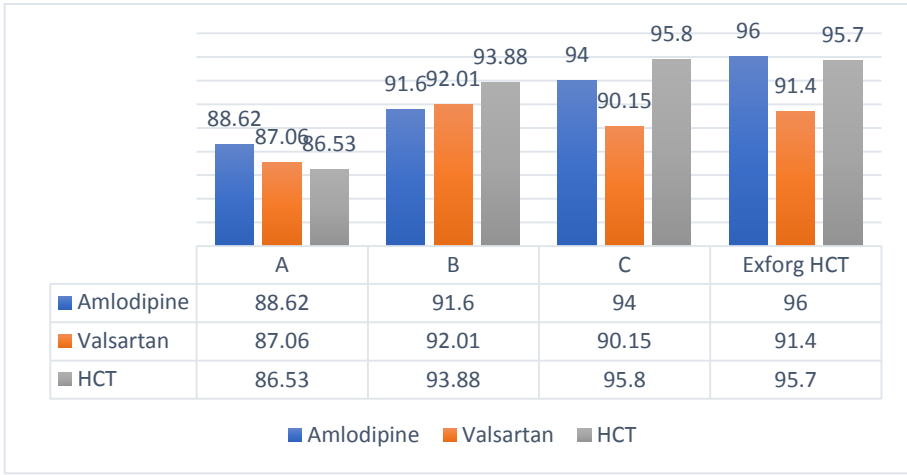
الشركات	املوديبين	فالسارتان	هيدروكلورتيازيد
A1	97.5-100.2	98.51-99.9	101-105.2
A2	97.4-101.9	99.7-100.6	100-103
A3	97.8-100.6	99.2-100.6	99.2-101.2
B1	98.8-101	99.5-101	99-101.8
B2	98.6-100.3	99.5-100	99.7-100.4
B3	98.4-100.7	99.4-102	99.6-101.7
C1	102.4-98.5	99.2-101	99-101.7
C2	98.4-102	99.8-100.9	97.7-101.2
C3	98.8-101.9	99.5-101	98.6-102
D	99.4-102.4	99.9-100.3	100.3-102

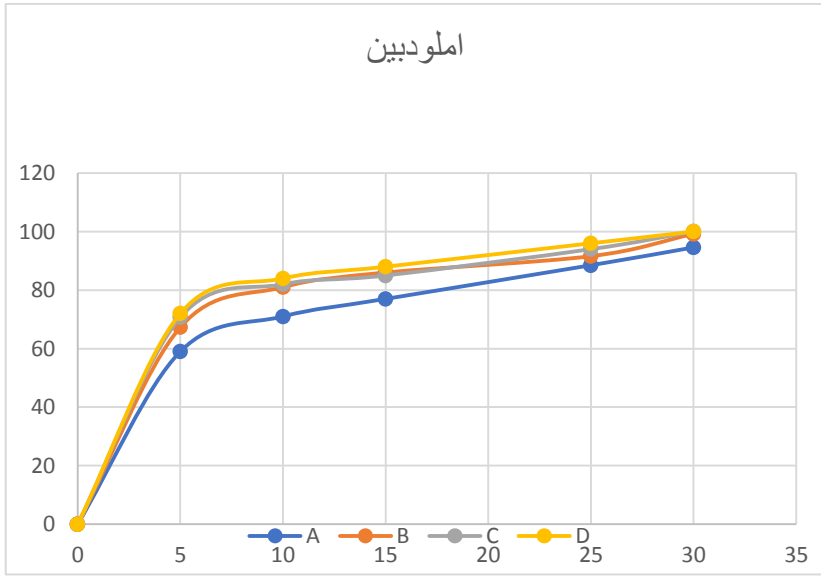
7.4نتائج اختبار سرعة الانحلال Dissolution tests

بحسب الدستور الأميركي يجب أن يتحرر خلال نصف ساعة ما لا يقل عن 75% من الكمية المعنونة للاملودبين و80% من الفالسارتان و80% من الهيدروكلورتيازيد [10]، لقد كانت جميع العينات لجميع الشركات ضمن الحدود الدستورية.

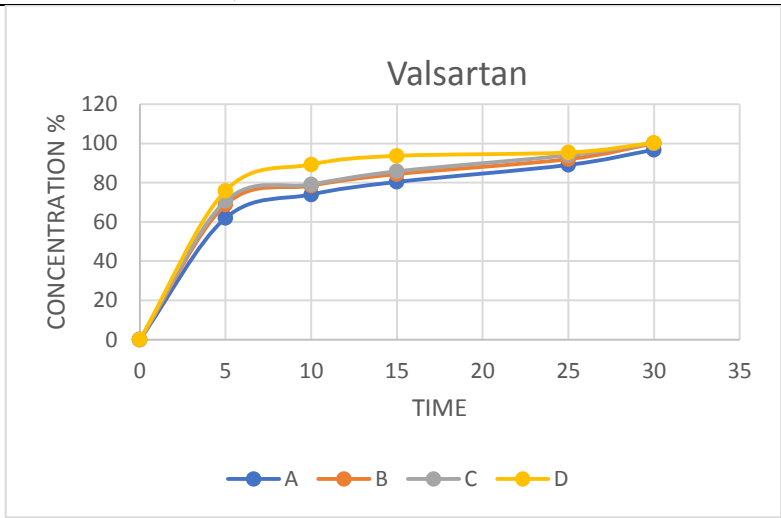
ونوضح بالشكل 3مقارنة بين سرعة انحلال الشركات المحلية الثلاثة والمستحضر العالمي المرجعي حيث نلاحظ أن الشركة Aأقل سرعة انحلال مقارنةً بالشركات Bو C والمستحضر العالمي المرجعي D.

الشكل3 مقارنة سرعة انحلال الشركات الثلاثة والدواء المرجعي

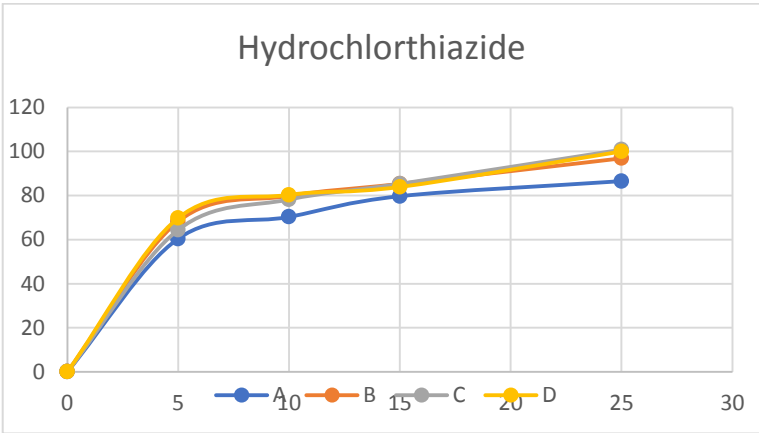




الشكل 4 مقارنة سرعة انحلال الاملودبين للشركات المحلية مع المستحضر العالمي



الشكل 5 مقارنة سرعة انحلال الفالسارتان للشركات المحلية مع المستحضر العالمي



الشكل 6مقارنة سرعة انحلال الهيدروكلورتيازيد للشركات المحلية مع المستحضر العالمي

يبين الشكل 4 والشكل 5 والشكل 6 مقارنة سرعة انحلال الاملودبين وال فالسارتان و الهيدروكلورتيازيد على الترتيب للشركات المحلية الثلاثة مع المستحضر المرجعي.

تم حساب معامل التشابهSimilarity factor f2 ومعامل الاختلاف f1different factor اللذان يسمحان بالمقارنة بين منحنيات الانحلال لمستحضرين دوائيين بالاعتماد على متوسط النسبة المئوية المنحلة عند كل نقطة زمنية للمستحضر المرجعي والمستحضر المدروس .

$$F1 = \left\{\left[\sum_{t=1}^{n}|Rt - Tt|\right] / \sum_{t=1}^{n} Rt\right\} \times 100$$

$$F2 = 50.log\left\{[1 + \frac{1}{n}\sum_{t=1}^{n}(Rt - Tt)^2]^{-0.5}\right\} \times 100$$

حيث R_t هي النسبة المئوية التراكمية المتحررة عند كل زمن من المستحضر المرجعي

T_t هي النسبة المئوية التراكمية المتحررة عند كل زمن من المستحضر المحلي

n عدد أزمنة سحب العينات

و بحسب FDA يكون المستحضران متشابهان عندما تكون قيمة F1 بين(0−15) و قيمة F2 بين (50−100)

يوضح الجدول 13 ملخص نتائج معامل التشابه والاختلاف للشركات الثلاث مع الدواء المرجعي

جدول 13 نتائج معامل التشابه والاختلاف

	A			B			C		
	AML	VAL	HCT	AML	VAL	HCT	AML	VAL	HCT
F1	15.3	16	15.1	4	10	2	2.5	9.3	3.9
F2	48.9	46	49.3	73	56	91	76.7	59.8	77.1

نلاحظ اختلاف في سلوك سرعة انحلال الشركة A عن المستحضر المرجعي (F1>15 و F2<50) بالنسبة للمواد الدوائية الثلاثة ، و تشابه سلوك انحلال الشركات B و C مع المستحضر المرجعي .

5.الاستنتاجاتConclusions

- قمنا في هذه الدراسة بمراقبة جودة مضغوطات المشاركة الثلاثية (املودبين5، فالسارتان160، هيدروكلورتيازيد25) المصنعة محلياً في سوريا وذلك بأخذ عينة من ثلاث شركات دوائية وقمنا بأخذ 3 طبخات من كل شركة وأيضاً أخذنا عينة من الدواء العالمي Ex forge HCTالمصّنع من قبل شركة.Novartis
- تمتعت جميع المستحضرات المحلية المدروسة بمواصفات مقبولة من حيث المظهر الخارجي.
- في فحص تجانس الوزن، كانت انحرافات جميع المضغوطات المدروسة ضمن المجال الدستوري مع ملاحظة اختلاف في الوزن الوسطي بسبب اختلاف السواغات المستخدمة.وعند اجراء فحص المقاومة الميكانيكية كانت جميع العينات مقبولة وكانت مضغوطات الشركة A الأكثر قساوة والأقل هشاشية.
- عند اجراء فحص التفتت كان تفتت المضغوطات من الشركة C هو الأسرع حيث تفتت خلال دقيقتين أما مضغوطات الشركة Aفكانت الأبطأ حيث تفتت خلال 7 دقائق يرجع ذلك الى اختلاف السواغات المستخدمة أو بسبب عوامل تتعلق بالتصنيع.
- كانت جميع العينات مقبولة دستورياً من حيث فحص تجانس المحتوى.

- كانت الانحلالية لجميع العينات ضمن الحدود الدستورية وكانت عينات الشركة Aأقل معدل انحلالية، وتشابهت العينات B,C مع الدواء المرجعي D في معدل الانحلالية.
- حققت العينات المحلية المدروسة معايير الجودة المطلوبة وشابهت المستحضر العالمي.

6.التوصيات والمقترحات Suggestions and Recommendations

- يفضل اجراء دراسة In vivo لتقييم مدى التكافؤ الحيوي للمستحضرات
- نقترح دراسة تأثير السواغات على معدل التحرر لمضغوطات المشاركة الثلاثية

المراجع:

1. https://www.who.int/ar/news-room/fact-sheets/detail/hypertension Accessed Nov 2023
2. Guidelines Subcommi ee of the World Health Organiza on-International Society of Hypertension (WHO-ISH).(1999) J Hypertens 17:151-183
3. NORVASC® (amlodipine besylate) Tablets for oral administration Initial U.S. Approval: 1987.
4. Beermann, Groschinsky-Grind, and Rosen1975 , Clinical Pharmacology and Therapeutics Supported by the Swedish Medical Research Council (Grant No. B 75-04X-227-11B) and Ciba-Geigy Ltd., Basel. Switzerland.
5. Exforge HCT (amlodipine, valsartan, hydrochlorothiazide) Label (fda.gov) Accessed Nov 2023
6. TEO K. K., DOKAINISH H, 2017 The Emerging Epidemic of Cardiovascular Risk Factors and Atherosclerotic Disease in Developing Countries, **Canadian Journal of Cardiology**, vol. 33 (3), 358-365.

7. KOHLER J.C, PAVIGNANI E, MICHAEL M, OVTCHARENKO N, MURRU M, HILL P.S, 2012 An examination of pharmaceutical systems in severely disrupted countries, **BMC International Health and Human Rights**, 12:34-11.
8. Ansel's Pharmaceutical Dosage forms 13th Edition.
9. European Pharmacopeia, 7th edition.
10. United states Pharmacopeia Coven on -2016. United States Pharmacopeia 38 Na onal Formulary 33, Sta onery O ce, USA.
11. European Pharmacopeia, 7th edition.
12. 7 Key Differences in the Use of Methanol and Acetonitrile : SHIMADZU (Shimadzu Corporation) Reached in Oct 2023
13. International Conference on Harmonization (ICH). Validation Of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). 2005;17.
14. Shaikh j, Raut s, Abdul A, Pathan M,2020 High performance liquid chromatographic assay of amlodipine, valsartanand hydrochlorothiazide simultaneously and its

application to pharmaceuticals, urine and plasma analysis .Joulnar of chromatography B

15. British Pharmacopeia Commission-2013 Bri sh Pharmacopeia, 13th Edition, Stationery Office, Great Britain.

16. Exforge HCT | European Medicines Agency (europa.eu) Accessed Nov 2023

تقييم ثبات مستحضرات مسوّقة محلياً من مسحوق سيفيكسيم المعدّ للتعليق خلال فترة الاستخدام عند درجتي حرارة تخزين مختلفتين

طالبة الماجستير: حنان برهان السيّد

قسم الكيمياء الصيدلية والمراقبة الدوائية – كلية الصيدلة– جامعة البعث

إشراف: أ.م.د. يوسف الأحمد

ملخص البحث:

تُعرّف الثباتيّة الدوائيّة على أنها بقاء صيغة معينة موضوعة ضمن نظام حاوية/غالقة معين container/closer system موافقة لمواصفاتها المحددة الفيزيائية والكيميائية والمكروبيولوجية والسمية وذلك خلال عمر الرف والاستخدام الخاصين بها، أما ثبات الدواء خلال فترة استخدامه فيتم تقييمه من خلال محاكاة استخدام المنتج الدوائي من قبل المريض تحت ظروف الحياة الواقعية لمعرفة مدى ثباته الفيزيائي والكيميائي والمكروبيولوجي مما يساعد في تحديد فترة الاستخدام المناسبة التي يبقى ضمنها هذا المنتج ثابتاً بعد فتح العبوة. وبناءً عليه، تم في هذه الدراسة تقييم مدى ثبات وتأثّر معالم الجودة لعينات من طبختين لثلاث شركات مسوّقة محلياً من مستحضر مسحوق السيفيكسيم المعدّ للتعليق أثناء استخدامها وذلك خلال 14 يوم من فتحها وتعليقها، تم خلالها تقسيم هذه العينات إلى قسمين خضع كل قسم منهما إلى درجة حرارة تخزين مختلفة عن القسم الآخر (درجة حرارة الغرفة، درجة حرارة البراد). شملت فحوص الجودة المطبقة الفحص الحسّي والمظهر العام، تحديد درجة الحموضة، الفحوص

المكروبيولوجية ومقايسة المحتوى من السيفيكسيم في العينات المدروسة، حيث تم تطبيق هذه الفحوص عند ثلاث نقاط زمنية (عند اليوم 0 واليوم 7 واليوم 14 من الفتح والتعليق)، ومن ثم جمع النتائج والبيانات وتحليلها إحصائياً بالطرق الإحصائية المناسبة وأخيراً مناقشة النتائج وتفسيرها. أظهرت نتائج الفحص الحسّي والمظهر العام عدم تأثُّر كل من اللون والرائحة للعينات المدروسة باختلاف شروط التخزين خلال فترة الدراسة بينما شهد الطعم ومظهر المعلق لبعض العينات تغيُّراً واضحاً مع استمرار التخزين. تبيَّن بالتحليل الإحصائي حدوث انخفاض معنوي (P-value<0.05) لدرجة حموضة أغلب العينات المدروسة لكنها بقيت ضمن الحدود الدستورية، في حين كانت جميع العينات موافقة للمواصفات المكروبيولوجية المحدّدة خلال فترة الدراسة. بقي المحتوى من المادة الفعالة في عينات طبختي شركتين من الشركات المدروسة ضمن حدود القبول في حين أن محتوى الشركة الأخيرة بطبختيها كان دون الحد الأدنى المقبول منذ بداية الدراسة واستمر محتوى أغلب العينات بالانخفاض مع استمرار التخزين علماً أن هذا الانخفاض لم يكن معنوياً (P-value>0.05)، وبالتالي بيّنت هذه الدراسة وجود بعض الفروق بين درجتي حرارة التخزين من حيث تأثيرها على بعض معالم جودة معلق السيفيكسيم.

الكلمات المفتاحية: ثباتية الأدوية، فحوص تقييم الجودة، سيفيكسيم، مسحوق معدّ للتعليق، فترة الاستخدام، شروط التخزين.

In-use stability evaluation of locally marketed products of cefixime powder for oral suspension under two different storage temperatures

Abstract:

Drug stability could be described as the ability of a drug formulation contained within a specific container/closure system to retain its physical, chemical, microbiological and toxicological properties during its specified shelf life and in-use periods. In-use stability of a drug may be assessed through simulation of real-life usage conditions to determine its physical, chemical and microbiological stability. This in turn may help to decide the period during which this drug can maintain its stability after opening its container. In this study, samples of two batches of three locally marketed products of cefixime powder for oral suspension were evaluated for their stability and quality maintenance within their usage period which consisted of 14 days after reconstitution. These samples were divided into two groups and each group was exposed to a different storage temperature (room temperature or refrigeration) from the other group.

Samples' organoleptic properties, pH, microbiological properties and Cefixime content were evaluated periodically at three different

points of time (day 0, day 7 and day 14 after reconstitution) and results were collected to be statistically analyzed, discussed and interpreted. Through assessment of organoleptic properties, the color and smell of all reconstituted samples appeared to be unaffected by storage conditions throughout the storage period while the taste and appearance of some samples changed noticeably during storage. Cefixime content in samples of two of the three studied products (both batches) remained within specifications throughout the study period while the content of both batches of the remaining product was below the minimum allowed content since the beginning of the study. The content of most of the studied samples continued to drop as the study continued although this drop was deemed to be statistically insignificant (P-value<0.05). In conclusion, some differences between the two applied storage temperatures regarding their effect on some of the quality aspects of the studied samples were observed in this study.

Keywords: drug stability, quality evaluation tests, Cefixime, powder for oral suspension, usage period, storage conditions.

1. مقدمة نظرية Introduction:

تُعرَّف الثباتيّة الدوائيّة على أنها بقاء صيغة معينة موضوعة ضمن نظام حاوية/غالقة معين container/closure system موافقة لمواصفاتها المحددة الفيزيائية والكيميائية والمكروبيولوجية والسمية وذلك خلال عمر الرف والاستخدام الخاصين بها، حيث يجب تقييم الثبات الدوائي بشكل دوري بهدف ضمان جودة الدواء وأمانه وفعاليته [1]. أما ثبات الدواء خلال فترة استخدامه فيتم تقييمه من خلال محاكاة استخدام المنتج الدوائي من قبل المريض تحت ظروف الحياة الواقعية لمعرفة مدى ثباته الفيزيائي والكيميائي والمكروبيولوجي مما يساعد في تحديد فترة الاستخدام المناسبة التي يبقى ضمنها هذا المنتج ثابتاً بعد فتح العبوة [2]. السيفيكسيم هو صاد حيوي نصف صنعي، فعال فموياً، ينتمي إلى الجيل الثالث من السيفالوسبورينات ويتمتع بطيف تأثير جرثومي واسع وهو مستخدم بشكل كبير في الممارسة السريرية لعلاج السيلان، التهاب الأذن الوسطى، التهاب البلعوم، التهاب القصبات وإنتانات السبيل البولي [3]، وقد تم تصنيفه وفقاً لتصنيف منظمة الصحة العالمية للصادات الحيوية 2023

(WHO AWaRe (Access، Watch، Reserve) classification of antibiotics)

ضمن قائمة الأدوية الأساسية للأطفال دون عمر 12 سنة حيث ينتمي إلى مجموعة الصادات الحيوية المراقبة (Watch group) وهي الصادات الحيوية التي تعتبر ذات أهمية بالغة للطبّ البشري والتي تمتلك احتمالية كبيرة لحدوث مقاومة عليها من قبل الأحياء الممرضة [4]. إن فعالية السيفيكسيم المضادة للجراثيم تعزى إلى حلقة البيتالالكتام المرتبطة مع حلقة سداسية في صيغته حيث أن احتواء السيفيكسيم في صيغته على حلقة البيتالاكتام بالإضافة إلى مجموعة الأميد يجعله عرضة للحلمهة

الحمضيّة أو القلويّة مما ينجم عنه فقدان لفعالية هذا الصاد الحيوي [5,6]. إن قلة الثبات هذه قد تفسِّر صياغة السيفيكسيم كمسحوق معدّ للتعليق عند إيتائه للأطفال. يتم تخزين مسحوق السيفكسيم المعدً للتعليق ما قبل تعليقه في درجة حرارة الغرفة (20–25°مئوية)، أما ما بعد التعليق فيتم تخزينه في درجة حرارة الغرفة أو تحت التبريد، ويُخضّ بشكل جيد قبل الاستخدام علماً أنه يجدر التخلص من الكمية المتبقية دون استخدام بعد مضي 14 يوم من فتح العبوة والتعليق، وينبغي حفظه ضمن أوعية محكمة الإغلاق [7]. قد يصبح المستحضر المتعدّد الجرعة خلال فترة استخدامه عرضة لزيادة الحمل المكروبي والتي قد تؤدي في حالة مستحضر السيفيكسيم إلى انخفاض محتواه ضمن العبوة وبالتالي انخفاض في الفعالية المرجوة من المستحضر المتناول [2]. علاوة على ذلك فإن قلة الثبات الكيميائي للسيفيكسيم المذكورة سابقاً قد تجعله عرضة لفقدان الفعالية ضمن مستحضراته عند تعرضه لعوامل مثل الماء، والحرارة، والأوكسجين أثناء استخدام هذه المستحضرات. وبناء عليه كان لا بد من التأكُّد من مدى مصداقية عمر الاستخدام المحدد لمستحضر مسحوق السيفيكسيم المعدّ للتعليق بأخذ عينات لطبختين من ثلاث شركات مسوَّقة محلّياً ودراسة مدى ثباتها ومدى تأثّر معالم الجودة لها بعد الفتح والتعليق بالإضافة إلى دراسة تأثير اختلاف درجة حرارة التخزين على فعالية وثبات المنتجات المدروسة.

2. هدف البحث The aim of the study:

يهدف هذا البحث إلى تقييم ثبات مستحضرات سيفيكسيم المعدّة للتعليق والمسوّقة محلياً خلال عمر الاستخدام عبر إخضاعها لفحوص الجودة الفيزيوكيميائية والمكروبيولوجية خلال 14 يوم من فتحها وتعليقها وعند ثلاث نقاط زمنية (عند اليوم 0 واليوم 7 واليوم

14 من الفتح والتعليق) وذلك أثناء حفظها عند درجتي حرارة مختلفتين هما درجة حرارة البراد (2–8° مئوية) ودرجة حرارة الغرفة (20–25° مئوية) مع المحاكاة الواقعية لاستخدام الدواء من قبل المرضى.

3. مواد وطرائق البحث Materials and methods:

3.1. المواد المستخدمة Materials:

تمّت الدراسة على عينات من مسحوق السيفيكسيم المعدّ للتعليق بتركيز 5 ملغ/100 مل حيث اختيرت العينات لثلاث شركات محلّية بطبختين لكل شركة تم اقتناؤها من الصيدليات أو المستودعات الدوائية وذلك حسب المتوفّر في السوق، ويبيّن الجدول (1) ترميز الشركات والطبخات المدروسة مع ذكر تاريخ الإنتاج وانتهاء الصلاحية لكل طبخة، حيث تم تعليق العينات المدروسة باستخدام الماء المقطر وفقاً للتعليمات المدوّنة على عبوة كل منتج.

تم كذلك الحصول على مسحوق السيفيكسيم العياري والكواشف والمواد الأخرى المستخدمة في الدراسة والمشار إليها في الجدول (2) مع التنويه إلى مصادر هذه المواد علماً أن جميعها كانت ذات نقاوة مخبرية.

الجدول 1. رموز الشركات والطبخات لمستحضر مسحوق السيفيكسيم المعدّ للتعليق المستخدمة في الدراسة.

التعداد	رمز الشركة	رمز الطبخة	التركيز	تاريخ الإنتاج	تاريخ انتهاء الصلاحية
1	A	A1	5 ملغ/100 سيفيسكيم	2022/9	2025/9
		A2	5 ملغ/100 سيفيسكيم	2022/9	2025/9
2	B	B1	5 ملغ/100 سيفيسكيم	2021/9	2024/8
		B2	5 ملغ/100 سيفيسكيم	2021/9	2024/8
3	C	C1	5 ملغ/100 سيفيسكيم	2022/8	2025/7
		C2	5 ملغ/100 سيفيسكيم	2022/8	2025/7

الجدول 2. المواد المستخدمة في الدراسة مع مصادرها.

المواد المستخدمة في الدراسة	المصدر
مسحوق عياري من سيفيكسيم تري هيدرات ذو نقاوة 99.1% يحتوي على ما لا يقل عن 86.65% من سيفيكسيم	Aurobindo Pharma Limited/India
تري إتيل أمين ذو تركيز 99.5%	Loba Chemie Pvt.Ltd/India
حمض الفوسفور المركز ذو تركيز 85%	Merck/Germany
ميتانول ذو نقاوة مخبرية مناسبة للـ HPLC	Honeywell Riedel-de Haën/Germany
سابورود ديسكتروز آغار Sabouraud Dextrose Agar (SDA)	HiMedia /India
تريبتون صويا آغار Tryptone Soya Agar (TSA)	HiMedia /India
مرق تريبتون صويا Tryptone Soya Broth (TSB)	HiMedia /India
ماكونكي آغار MacConkey Agar (MA)	HiMedia /India
مرق ماكونكي MacConkey Broth (MB)	HiMedia /India

3.2. الطرائق المستخدمة Methods:

3.2.1. الفحص الحسّي والمظهر العام:

تم توصيف اللّون والرائحة والطعم لكل العينات المدروسة بعد تعليقها وذلك بشكل دوري عند النقاط الزمنية الثلاثة للدراسة بالإضافة لتقييم المعلّق الناتج من حيث القوام وقابلية التعليق في بداية الدراسة بعد الفتح والتعليق ومراقبة حصول أي تغيرات في مظهر المعلق خلال فترة الدراسة.

3.2.2. تحديد درجة الحموضة:

تم استخدام جهاز قياس درجة الحموضة pH meter لقياس درجة حموضة العينات المدروسة وذلك بعد إخضاعه للمعايرة (Calibration) وغسل المسرى بالماء المقطر وتجفيفه جيداً. تم القياس بغمس مسرى الجهاز في المستحضر مباشرةً بعد تعليقه ومجانسة المعلّق بالرج الجيّد. يتم أخذ القيمة بعد ثباتها على الجهاز حيث أُخذت ثلاث قياسات متتالية وتم اعتماد المتوسّط الحسابي لهذه القياسات كدرجة الحموضة للعينة المدروسة. يقع مجال القبول لدرجة حموضة مستحضر مسحوق السيفيكسيم المعدّ للتعليق حسب دستور الأدوية الأمريكي ضمن المجال (2.5-4.5) [8].

3.2.3. الفحوص المكروبيولوجية:

تم تقييم النقاوة المكروبيولوجية للمستحضرات المدروسة بإجراء اختبارين هما:

- اختبار التعداد المكروبيMICROBIAL ENUMERATION TEST
- اختبار التحري عن أحياء دقيقة معينة TEST FOR SPECIFIED MICROORGNISMS

حيث يُحدِّد دستور الأدوية الأمريكي معايير الجودة المكروبيولوجية للمستحضرات المائية المعدّة للاستخدام بالطريق الفموي كما هو موضح في الجدول (3) [9].

الجدول 3. معايير الجودة المكروبيولوجية للمستحضرات المائية المعدّة للاستخدام بالطريق الفموي وفقاً لدستور الأدوية الأمريكي.

طريق الإعطاء	التعداد الكلّي للمكروبات الهوائية (TAMC) (وحدة مكونة لمستعمرة (CFU)/ مل)	التعداد الكلي لمجموع الخمائر/العفنات (TYMC) (وحدة مكونة لمستعمرة (CFU)/ مل)	أحياء دقيقة معينة
المستحضرات المائية المعدّة للاستخدام بالطريق الفموي	10^2	10^1	غياب الإشريكية القولونية *Escherichia coli* (1 غرام أو 1 مل)

3.2.3.1. تحضير العينات للفحوص المكروبيولوجية:

لإجراء الاختبارين المذكورين أعلاه كان لا بد من إلغاء فعالية كل من الصاد الحيوي السيفيكسيم والمواد الحافظة المضافة إلى المستحضر قبل البدء بالعمل، وقد تم ذلك باستخدام تقنية الترشيح الغشائي membrane filtration technique التي استخدمت فيها مرشحة مكرونية ذات قطر مسام 0.45 µm بالإضافة إلى تطبيق التمديد بالوقاء المستخدم في تحضير العينة للاختبار. تم بداية تعقيم جهاز الترشيح بوضعه في فرن جاف مع تطبيق درجة حرارة 180° مئوية ولمدة 30 دقيقة وتركه ليبرد. أُخِذت المرشحة المكرونية بواسطة ملقط عقيم ووُضِعت على قمع الترشيح الموضوع على الوعاء المخروطي الذي يوصل إلى المضخة. تم تحضير العينة للدراسة بأخذ 10 مل من

مستحضر السيفيكسيم تري هيدرات بعد تعليقه باستخدام الماء المقطر المعقم في أرلينة عقيمة وتمديدها باستخدام وقاء فوسفاتي ذو pH=7 حتى الوصول إلى 100 مل حيث كان معامل التمديد 10:1. تم تلهيب فوهة الأرلينة الحاوية على العينة ومن ثم أخذ 2 مل من العينة الممددة إلى المرشحة المكرونية وغسلها بالوقاء الفوسفاتي السابق، وأخيراً تم وضع كأس الترشيح فوق المرشحة وتشغيل المضخة لتطبيق ضغط سلبي وتُركت العينة لتترشح بشكل كامل. أُخذت بعدها المرشحة باستخدام ملقط عقيم ووُضعت على سطح الوسط الزرعي الذي تم صبُّه مسبقاً في الطبق البتري [10].

3.2.3.2. اختبار التعداد المكروبي (MICROBIAL ENUMERATION TEST):

يسمح هذا الاختبار بالتعداد الكمّي للجراثيم والفطور الميزوفيلية (الأليفة للحرارة المعتدلة) والتي تنمو تحت ظروف هوائية. استُخدم في هذا الاختبار وسط (TSA) ذو pH=7.3 لتحديد التعداد الكلي للمكروبات الهوائية (TAMC)، وبالمقابل استخدم وسط (SDA) ذو pH=5.6 من أجل تحديد التعداد الكلي لمجموع الخمائر/العفنات (TYMC).

بعد تحضير العينة للفحص أخذت المرشحة بواسطة ملقط عقيم إلى طبق بتري حاوي على وسط (TSA) وتم الحضن بدرجة حرارة 30–35° مئوية لمدة 3–5 أيام، ومنه تم تحديد (TAMC) على ألا تتجاوز قيمته 10^2 CFU/mL أي ما يعادل 200 CFU/mL.

كُرّرت العملية السابقة مع نقل المرشحة إلى طبق بتري حاوي على وسط (SDA) ومن ثم الحضن بدرجة حرارة 20–25° مئوية لمدة 5–7 أيام، ومنه تم تحديد (TYMC) على ألا تتجاوز قيمته 10^1 CFU/mL أي ما يعادل 20 CFU/mL [10].

3.2.3.3. اختبار التحري عن أحياء دقيقة معينة (TESTS FOR SPECIFIED MICROORGNISMS):

يسمح هذا الاختبار بالتحري عن غياب أحياء دقيقة معينة والتي قد تتواجد تحت ظروف معينة. استخدمت في هذا الاختبار الأوساط (TSB)، (MB) و (MA).

بعد تحضير العينة للفحص تم نقل المرشحة الناتجة إلى وسط (TSB) والحضن بدرجة حرارة 30–35° مئوية لمدة 18–24 ساعة، تم بعدها خضّ الوسط ونقل 1 مل منه إلى 100 مل من وسط (MB) الذي حُضن بدرجة حرارة 42–44° مئوية لمدة 24–48 ساعة وأخيراً تم زرع الوسط السابق على وسط (MA) والحضن بدرجة حرارة 30–35° مئوية لمدة 18–72 ساعة. يدلّ ظهور مستعمرات حمراء قرمزية على وسط (MA) على احتواء العينة المدروسة على الـ *Escherichia coli (E. coli)* وبالتالي تُرفض العينة، أما في حال عدم ظهور المستعمرات السابقة فهذا يدل على خلو العينة من الـ *E. coli* وبالتالي مطابقتها للمعايير المكروبيولوجية المطلوبة [11].

3.2.4.مقايسة المحتوى من السيفيكسيم:

تمت المقايسة باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء-الطور العكوس ذات نمط شطف isocratic (Isocratic RP-HPLC) والمطورة In–house في معمل ميديكو للصناعات الدوائيّة وهي خاضعة للتحقُّق من المصداقية validation حيث كانت المعايير الكروماتوغرافية المطبّقة كما هو موضح في الجدول (4).

الجدول (4). المعايير الكروماتوغرافية المطبقة في المقايسة.

المعيار parameter	الطريقة المطبقة
العمود المستخدم Column	C18 (250×4.6) mm
الطور المتحرك Mobile Phase	ميتانول: وقاء ذو pH=7 بنسبة 80:20 تركيب الوقاء: 5ml تري إيتيل أمين مضافة إلى 500ml ماء مع إضافة حمض الفوسفوريك المركّز حتى الوصول إلى pH=7.
معدل التدفق Flow Rate	1.5 ml/min
طول موجة الكشف Wavelength Detector	254 nm
حجم الحقنة injection volume	20µl
زمن الاحتباس Retention time	4 min
درجة حرارة الفرن Temperature	40°C
نوع الشطف Elution	Isocratic elution

وهنا كان لا بد من إجراء اختبار ملاءمة النظام system suitability قبل البدء بمقايسة العينات، حيث تم فيه حقن المحلول العياري 5–6 حقنات متتالية وتحديد كل من زمن الاحتباس Retention time (RT) والمساحة تحت المنحني Area under

(AUC) curve للقمم الناتجة ومن ثم حساب الانحراف المعياري النسبي (RSD%) لهذه القيم، بالإضافة تم حساب معامل التذييل Tailing Factor (T) وعدد الصفائح النظرية Theoretical Plates (N) حيث يوضح الجدول (5) قيم المعايير السابقة التي يجب تحقيقها ليكون النظام ملائم [8].

الجدول (5). قيم القبول لمعايير ملاءمة النظام.

المعيار Parameter	قيم القبول
زمن الاحتباس Retention time (RT)	الانحراف المعياري النسبي (RSD%) أقل من 2%
المساحة تحت المنحني للقمم الناتجة Area under curve (AUC)	الانحراف المعياري النسبي (RSD%) أقل من 2%
معامل التذييل Tailing Factor (T)	لا يقل عن 0.9 ولا يزيد عن 2
عدد الصفائح النظرية Theoretical Plates (N)	أكثر من 4000 صفيحة نظرية

3.2.4.1. تحضير محلول الشاهد:

تم تحضير محلول الشاهد بوزن 22.4 ملغ من عياري السيفيكسيم ونقلها إلى دورق حجمي ذو سعة 100 مل ومن ثم حلها في المذيب الذي هو عبارة عن الوقاء المستخدم في تحضير الطور المتحرّك، وبعدها يُكمّل حجم محلول الشاهد في الدورق الحجمي حتى الخط العياري بالمذيب ثم يتم ترشيحه مكرونياً ويؤخذ للحقن.

3.2.4.2. تحضير محاليل العينات:

يتم تحضير محلول العينة بإضافة الماء المقطّر إلى عبوة الشراب مع التقيّد بالإرشادات المدوّنة على عبوة الدواء حسب كل مستحضر ومن ثم يتم مجانسة المحتوى وضبط الحجم حتى الخط العياري للعبوة. يُنقل 5 مل من المعلق بعد مجانسته بالرجّ الجيّد إلى دورق حجمي ذو سعة 100 مل ويُكمَّل الحجم بالمذيب حتى الخط العياري. يوضع الدورق في جهاز الأمواج فوق الصوتية مدة خمس دقائق ويتم وضع الدورق على محرّك وتحريكه لمدة خمس دقائق، ينقل بعدها 10 مل من المحلول السابق إلى دورق حجمي سعته 50 مل ويكمل الحجم بالمذيب حتى الخط العياري ثم يرشح مكرونياً وتؤخذ العينة للحقن.

3.2.5. تحضير العينات للدراسة:

تم تعليق العينات المدروسة بالماء منزوع الشوارد المعدّ للتعليق وقُسّمت إلى مجموعتين احتوت كل مجموعة منها على 6 عبوات، تم حفظ المجموعة الأولى في درجة حرارة الغرفة (20–25°) مئوية في حين حفظت المجموعة الثانية في البراد (2– 8°) مئوية واستمرت فترة الحفظ 14 يوم منذ الفتح والتعليق كما هو مذكور على العبوات. تم مراقبة جودة العينات المدروسة بإجراء الفحوصات المذكورة سابقاً عند ثلاث نقاط زمنية (عند اليوم 0 واليوم 7 واليوم 14 من الفتح والتعليق) وتم جمع النتائج وتفسيرها.

3.2.6. الدراسة الإحصائية:

تم استخدام برنامج IBM SPSS statistics 23 لإجراء التحليل الإحصائي للنتائج حيث طُبِّق اختبار Two-way analysis of variance (Two-way ANOVA) بوجود مصدري تباين هما درجة حرارة التخزين والزمن تم من خلاله دراسة وجود فرق

معنوي لمتوسطات قيم كل من درجة الحموضة والمحتوى لكل طبخة على حدا ما بين درجتي حرارة التخزين وما بين الفترات الزمنية المختلفة من التخزين. استخدم كذلك اختبار LSD (Least significant difference) بتطبيق المقارنات الزوجية ما بين متوسطات درجة الحموضة والمحتوى لطبخات الشركات المدروسة عند الأزمنة المختلفة حيث سمح هذا الاختبار بتحديد الفترات الزمنية التي حدث عندها تغير معنوي في هذه المواصفات.

4. النتائج والمناقشة:

4.1. الفحص الحسّي والمظهر العام:

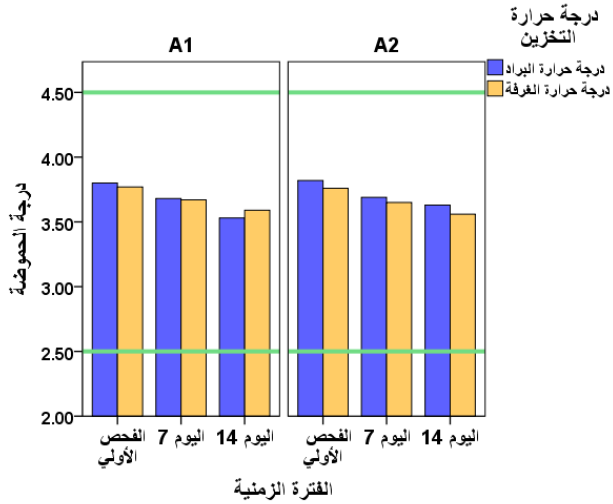
عند تعليق العينات في بداية الدراسة أبدى معلق كل من طبختي الشركة A لوناً زهرياً في حين أن لون معلقي كل من طبختي الشركتين B و C كان أبيضاً وقد أعطت معلقات طبخات جميع الشركات المدروسة رائحة فواكه جيدة ولم يلاحظ أي تغير في لون ورائحة معلقات أي من طبخات الشركات المدروسة سواء المخزنة في درجة حرارة الغرفة أو البراد خلال فترة الدراسة. أما بالنسبة للطعم ففي بداية الدراسة كان الطعم حلواً مستساغاً بالنسبة لطبختي الشركة A وحلواً مع ظهور طعم مرّ خفيف بالنسبة لطبختي الشركتين B و C، ولكن مع استمرار التخزين في درجة حرارة الغرفة لوحظ حدوث تغيّر في الطعم و ظهور الطعم المر الخفيف بالنسبة لعينات طبختي الشركة A في حين أن طعم عينات كلتا طبختي الشركتين B و C أصبح مراً غير مستساغاً مع زوال الطعم الحلو وهذا ما تم ملاحظته منذ اليوم 7 من التخزين حيث أن هذا التدهور في الطعم بالنسبة للعينات المخزنة في درجة حرارة الغرفة قد يعزى إلى حدوث تحطّم في مكونات الصيغة للعينات المدروسة وظهور نواتج تحطّم اتسّمت بالطعم المرّ وهذا ما نوه إليه Naser Zaid A

وزملاؤه في مقالة لهم نشرت عام 2022 [12]، بالإضافة إلى احتمال حدوث تحطّم وانخفاض في محتوى العينات من كل من العاملين المحلّي والمنكّه المسؤولين عن إخفاء الطعم المر للسيفيكسيم خلال فترة تخزين هذه العينات، أما بالنسبة للعينات المخزّنة في درجة حرارة البراد فقد شهدت تغيّراً في الطعم كان أخف بالمقارنة مع العينات المخزّنة في درجة حرارة الغرفة، وقد تجلّى هذا التغيّر بظهور طعم مرّ خفيف في طبختي الشركة A وبقائه كما هو في طبختي الشركة B في حين ظهر الطعم المرّ الواضح مع زوال الطعم الحلو في طبختي الشركة C وقد لوحظت هذه التغيرّات بشكل خاص عند اليوم 14 من التخزين حيث أن هذا التغير قد يُعزى إلى حدوث انخفاض في انحلالية كل من العاملين المحلي والمنكّه المضافين إلى صيغة هذه العينات مع انخفاض درجة حرارة التخزين، الأمر الذي أدى إلى صعوبة في إخفاء الطعم المرّ للسيفيكسيم وظهوره بشكل أوضح مع استمرار التخزين [12]. ولا بد هنا من التنويه إلى التأثير الكبير للخصائص الحسية للمنتجات الصيدلانية التي يتم إيتاؤها فموياً وخاصة الطعم على مطاوعة المريض الطفل وتقبُّله للدواء مما قد يؤثّر بدوره على الفعالية العلاجية للمنتج الدوائي [13]. أما بالنسبة لمظهر المعلق الناتج، فقد لوحظ تشكل كميّة رغوة واضحة عند تعليق كل من طبختي الشركة C مع بقاء هذه الرغوة ثابتة أكثر من 15 دقيقة وقد يعزى ظهور هذه الرغوة الثابتة إلى احتواء الصيغة على سواغين هما صمغ الكزانتان وصمغ الأكاسيا اللذين عادة ما يتم إضافتهما إلى صياغة المعلقات كعوامل معلّقة وقد تم الإشارة إلى دورهما في تحسين تشكل الرغوة و تثبيتها و ذلك في دراسة تم نشرها من قبل Dawa Q وزملائه عام 2014 حيث تم فيها استخدام هذين السواغين لتحسين خصائص تشكل الرغوة للخلاصة البروتينية لبذور القرع [14]. إن تشكُّل هذه الرغوة وبقاءَها ثابتةً قد يخلُق أخطاءً في التجريع سواء زيادةً أو نقصاناً نظراً لعدم قدرة المريض على الالتزام بخط التجريع الظاهر على العبوة [15]، ومن ناحية أخرى لوحظ بالنسبة للطبختين A1 و C2

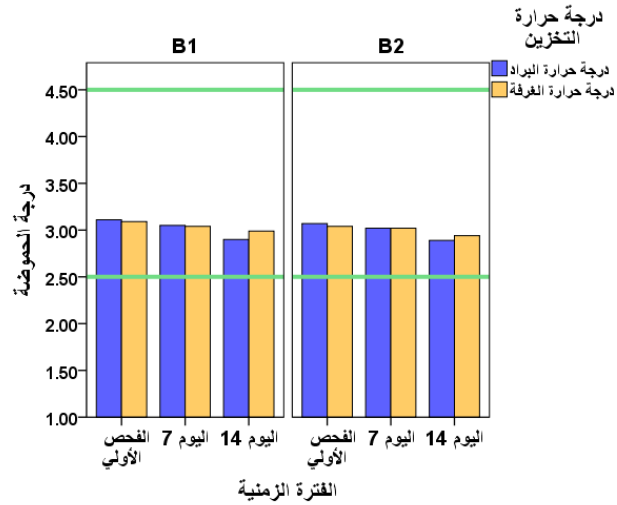
ظهور بلورات في المعلق أثناء تخزينها في درجة حرارة البراد سببت مشاكل عند مجانسة المستحضر وأخذ العينة للمقايسة حيث قد يُفسَّر ظهور هذه البلورات بحدوث انخفاض في الانحلالية لبعض مكونات الصيغة نتيجة لدرجة الحرارة المنخفضة التي تعرض لها المستحضر أثناء الدراسة، كما أن تَعرُّض المستحضر لاختلاف في درجة الحرارة ما بين درجة حرارة البراد و الغرفة أثناء محاكاة إعطاء الجرعة تسبب غالباً بحدوث ظاهرة تدعى Ostwald ripening وهي ظاهرة مُشاهدة في المعلّقات والمستحلبات، وتتمثل هذه الظاهرة في المعلّقات بحدوث انحلال للجزيئات الصغيرة من الطور الصلب المُعلّق وترسّبها على الجزيئات الأكبر وذلك عند تعرّض المعلق لتفاوت بدرجات الحرارة وهذا ما يؤدي إلى حدوث تبلور وتشكل رسابة غير قابلة لإعادة البعثرة [16].

4.2. تحديد درجة الحموضة:

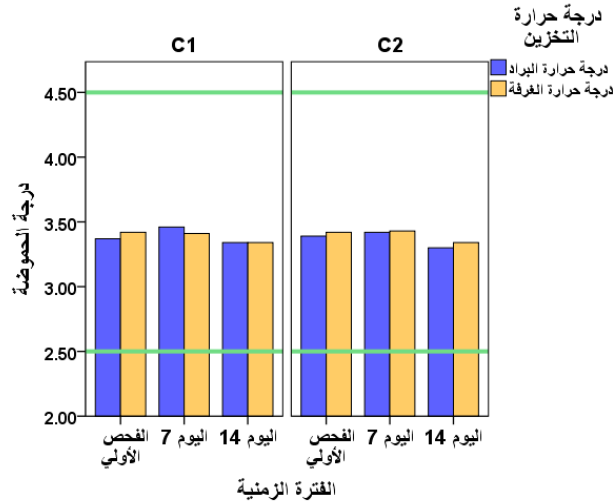
تُبين الأشكال (1 و 2 و 3) نتائج قياس درجة حموضة طبختي كل من الشركات A و B و C على التوالي وذلك خلال فترة حفظها عند درجتي حرارة البراد والغرفة حيث بين اختبار Two-way ANOVA حدوث انخفاض معنوي في قيم درجة حموضة أغلب طبخات الشركات المدروسة (P-value<0.05) باستثناء الطبختين B1 و C1 (P-value>0.05) خلال فترة تخزينها سواء في درجة حرارة البراد أو الغرفة مع بقائها ضمن حدود القبول (2.5-4.5)، في حين أظهر هذا الاختبار عدم وجود فرق معنوي بين متوسطات قيم درجة الحموضة لطبخات الشركات المدروسة ما بين درجتي حرارة الحفظ باستثناء الطبخة A2 التي أبدت انخفاضاً أكبر لدرجة الحموضة عند حفظها في درجة حرارة الغرفة بالمقارنة مع العينة التي حفظت في درجة حرارة البراد. ومن ناحية أخرى، بينت نتائج اختبار LSD أن الانخفاض كان معنوياً بشكل خاص عند اليومين 7 و14 بالنسبة للطبخة A1 وعند اليوم 14 بالنسبة لباقي الطبخات المدروسة منذ بداية الفتح والتعليق.



الشكل (1). نتائج قياس درجة حموضة طبختي الشركة A أثناء التخزين عند درجتي حرارة البراد والغرفة.



الشكل (2). نتائج قياس درجة حموضة طبختي الشركة B أثناء التخزين عند درجتي حرارة البراد والغرفة.



الشكل (3). نتائج قياس درجة حموضة طبختي الشركة C أثناء التخزين عند درجتي حرارة البراد والغرفة.

قد يُعزى هذا الانخفاض المعنوي الحاصل في درجة حموضة أغلب الطبخات المدروسة إلى انقلاب السكروز المضاف كمحلي إلى جميع صيغ الشركات المدروسة إلى سكري الغلوكوز والفركتوز حيث أن زيادة تركيز كلا هذين السكرين تتناسب طرداً مع حدوث انخفاض في درجة حموضة المعلق علماً أن السكروز معرّض للخضوع لهذا الانقلاب عند تعرّضه لأخف الأوساط حموضةً. كما أن هذه السكاكر المتشكلة قد تخضع للتحطّم مؤدية إلى إلغاء دور المحلّي في الصيغة (وهذا ما شوهد في الفحص الحسي للعينات المدروسة) معطيةً بهذا التحطّم العديد من النواتج الثانوية التي من ضمنها بعض الحموض التي تساهم بدورها في تخفيض درجة حموضة الوسط لهذه العينات [17]، لكن بقاء حموضة عينات هذه الطبخات ضمن الحدود المقبولة دستورياً بالرغم من الانخفاض المعنوي الحاصل فيها قد يُفسَّر باحتواء صيغة هذه الطبخات على وقاء كان له الدور في

التقليل من وطأة التغيرات الطارئة على درجة حموضتها. إن الانخفاض الأكبر الملاحظ بالنسبة لعينة الطبخة A2 المحفوظة في درجة حرارة الغرفة بالمقارنة مع تلك المحفوظة في درجة حرارة البراد قد يفسَّر بارتفاع درجة حرارة التخزين والتي يترافق ارتفاعها غالباً مع زيادة في سرعة أغلب تفاعلات التحطّم وبالتالي من المحتمل أن هذا الارتفاع قد ساهم في زيادة سرعة تحطم السكاكر والذي أدى بدوره إلى التشكل الأكبر لنواتج التحطّم المحمِّضة للوسط [18].

4.3. الفحوص المكروبيولوجية:

4.3.1. اختبار التعداد المكروبي (MICROBIAL ENUMERATION TEST):

تم إجراء هذا الاختبار عند أول يوم من الفتح وبعد مرور 14 يوم من الفتح والتعليق لكل العينات حيث لم يظهر أي نمو لمستعمرات سواء جرثومية أو فطرية على أطباق الزرع الحاوية على الأوساط المناسبة للعينات المحفوظة في درجة حرارة الغرفة و البراد سواءً خلال فترة الدراسة، حيث قد يُعزى عدم حدوث نمو جرثومي في العينات المدروسة إلى الفعالية المضادة للجراثيم للصاد الحيوي السيفيكسيم بالإضافة إلى فعالية المواد الحافظة المضافة إلى الصيغة، أما انعدام النمو الفطري فقد يُفسر بامتلاك بعض مكونات الصيغة فعالية مضادة للفطور بالإضافة إلى أن درجة حموضة معلّق السيفيكسيم (2.5–4.5) تميل إلى الحموضة ولوحظ سابقاً تعرُّض أغلب الطبخات المدروسة لانخفاض معنوي في درجة الحموضة خلال فترة الدراسة حيث أن درجة الحموضة هذه ربما كانت غير مناسبة لنمو الفطور (yeasts) التي يفضِّل معظمها وسطاً ذو درجة حموضة تتراوح ما بين (4.5–6.5) في حين أشارت إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) إلى قدرة الفطور والخمائر (yeasts and molds) على النمو عند مجال واسع من درجة الحموضة (2–9) ولكن ذكرت أيضاً أن غالبيتها تحتاج الهواء لتنمو أي أنها هوائية مجبرة وبالتالي

فإن إحكام إغلاق العبوة ربما قد أعاق حصولها على الأوكسجين الضروري لنموِّها [19,20]. إضافة لما سبق فإنه من المرجّح أن اتباع قواعد التصنيع الجيد (GMP) ربما قد ساهم في تقليل كلاً من الحملين المكروبي والفطري البدئيين للطبخات المدروسة مما خفف من العبء على نظام الحفظ خلال فترة استخدام المنتجات المدروسة التي تعتبر قصيرة نسبياً (14 يوم).

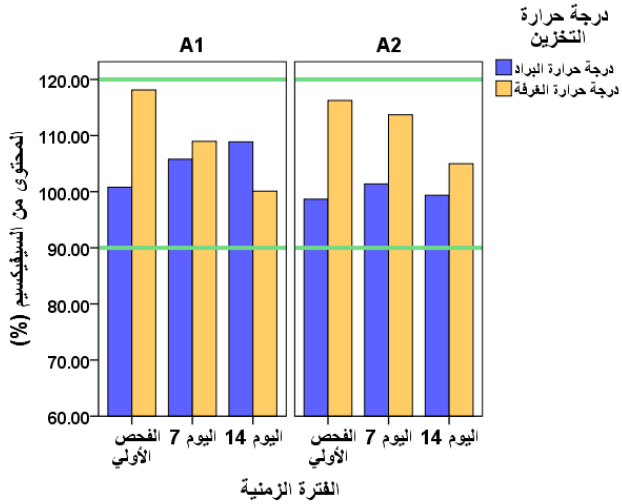
4.3.2. اختبار التحري عن أحياء دقيقة معينة (TESTS FOR SPECIFIED MICROORGNISMS):

تم إجراء هذا الاختبار عند أول يوم من الفتح وبعد مرور 14 يوم من الفتح والتعليق لكل العينات حيث لم يُشاهد أي نمو لمستعمرات حمراء قرمزية على وسط (MA) في كل العينات المدروسة خلال فترة الدراسة مما يشير إلى غياب الـ *E. coli* من جميع العينات خلال فترة الدراسة. قد يُفسَّر عدم ظهور نمو لـ *E. coli* باتباع (GMP) من قبل المصانع بالإضافة إلى استخدام الماء المقطر في تعليق العينات المدروسة.

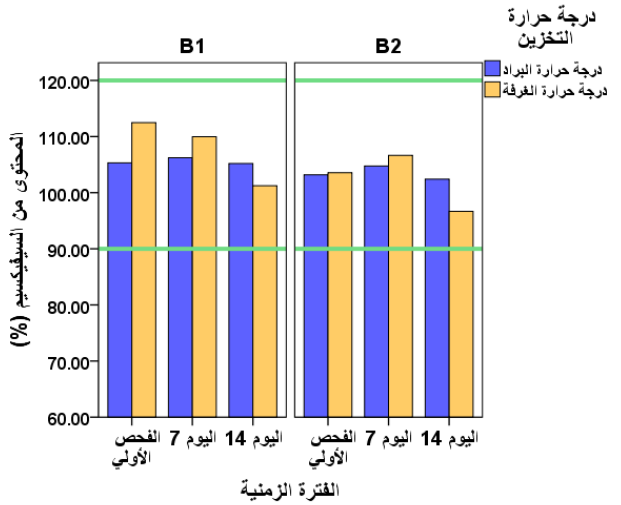
وبالتالي فقد كانت العينات موافقة للمعايير المكروبيولوجية المطلوبة منذ بداية الدراسة وبقيت كذلك خلال فترة الدراسة.

4.4. مقايسة المحتوى من السيفيكسيم:

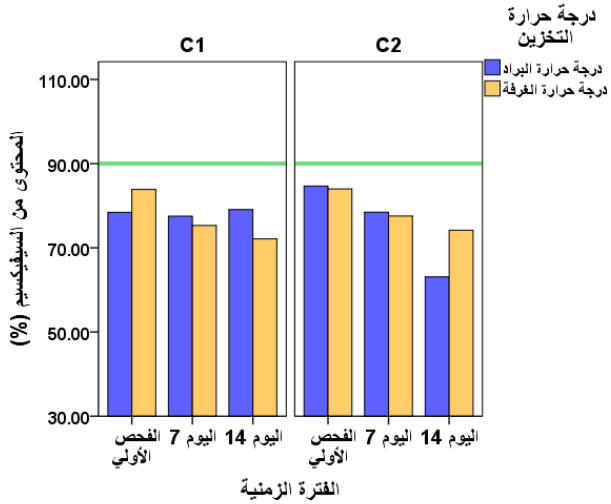
تم إجراء المقايسة لمحتوى العينات من السيفيكسيم عند ثلاث نقاط زمنية (اليوم 0، اليوم 7، اليوم 14). تلخِّص كل من المخططات (4 و5 و6) نتائج مقايسة المحتوى من السيفيكسيم لطبختي كل من الشركات A وB وC على التوالي وذلك خلال فترة حفظها عند درجتي حرارة البراد والغرفة.



الشكل (4). نتائج مقايسة المحتوى من السيفيكسيم في طبختي الشركة A أثناء التخزين عند درجتي حرارة البراد والغرفة.



الشكل (5). نتائج مقايسة المحتوى من السيفيكسيم في طبختي الشركة B أثناء التخزين عند درجتي حرارة البراد والغرفة.



الشكل (6). نتائج مقايسة المحتوى من السيفيكسيم في طبختي الشركة C أثناء التخزين عند درجتي حرارة البراد والغرفة.

لم تُظهر نتائج كل من اختباري Two-way ANOVA و LSD فروق معنوية ما بين متوسطات قيم المحتوى من السيفيكسيم لطبخات الشركات المدروسة ما بين درجتي حرارة التخزين وما بين الفترات الزمنية المختلفة للدراسة، وقد بقيت طبختي كلتا الشركتين A و B المخزنة في كلتا درجتي حرارة البراد والغرفة ضمن حدود القبول (90–120 %) خلال فترة الدراسة، في حين أن المحتوى من السيفيكسيم في الشركة C بطبختيها المخزّنة في كلتا درجتي حرارة البراد والغرفة كان دون الحد الأدنى المقبول منذ بداية الدراسة والذي قد يعزى إلى انخفاض في المحتوى البدئي المضاف من المادة الفعالة إلى المنتج عند التصنيع أو قد يفسّر بحدوث تحطّم للمادة الفعالة نتيجة شروط التخزين غير المناسبة التي تعرَّض لها المنتج خلال عمر الرف، وقد لوحظ استمرار انخفاض المحتوى مع استمرار التخزين حيث كان هذا الانخفاض الأكبر بالنسبة لعينة الطبخة C2 المخزّنة في

البراد (انخفاض بنسبة 20% عن التركيز البدئي)، وقد يفسَّر هذا الانخفاض الكبير في محتوى هذه العينة من السيفيكسيم بحدوث ظاهرة Ostwald ripening التي تظاهرت بتشكل البلورات التي لوحظت سابقاً في الفحص الحسي لمعلق هذه العينة والتي أدت بدورها إلى تشكل رسابة غير قابلة للتعليق مما نجم عنه انخفاض في المحتوى من السيفكيسم في معلق هذه العينة. ومن ناحية أخرى، بالنظر إلى الشكل (4) نلاحظ أن المحتوى من السيفيكسيم في عينة الطبخة A1 المخزّنة في البراد قد شهد ارتفاعاً مع استمرار التخزين (ارتفاع بنسبة 8% عن التركيز البدئي). هذه النتيجة تتوافق مع نتيجة لدراسة تم نشرها من قبل Alzomor A K وزملائه عام 2016 تمت فيها دراسة ثبات معلق مركب الكو–أموكسيكلاف والذي ينتمي أيضاً إلى زمرة صادات البيتالاكتام حيث لوحظ فيها حدوث ارتفاع لمحتوى إحدى الطبخات المدروسة عند نهاية فترة تخزينها في البراد ترافق مع حدوث ترسب وتشكّل تكتلات في المعلّق [21]، وبالمثل قد تُفسَّر هذه النتيجة بانخفاض انحلالية السيفيكسيم مع انخفاض درجة حرارة التخزين وبحدوث ظاهرة Ostwald ripening وتشكل البلورات الملاحظة سابقاً في الفحص الحسي للعينة ولكن ما اختلف هنا عن الحالة المشاهدة في الطبخة C2 هو أنه عند رج العبوة و أخذ العينة للتحليل ربما تم أخذ جزء من الرسابة المتشكّلة للتحليل والتي احتوت على تركيز عالي من السيفيكسيم ومع تحضير العينة أُعيد حلّ هذه الكمية من السيفيسكيم وبالتحليل أعطت هذا التركيز المرتفع من السيفيكسيم، وبالتالي فإن تعرّض معلق السيفيكسيم المحفوظ في درجة حرارة البراد لهذه الظاهرة قد يخلق أخطاء في الجرعة المعطاة للمريض سواء زيادة أو نقصاناً مما يؤثر بدوره على سلامته ونجاعة العلاج. لوحظ كذلك حدوث تغيّرات طفيفة في المحتوى بالنسبة لعينة الطبخة B1 المخزنة في البراد وعينتي الطبخة B2 المخزنتين في البراد وفي درجة حرارة الغرفة يمكن اعتبارها مهملة ولكن قد تُفسَّر بالخطأ البشري أثناء أخذ العينات للتحليل.

وأخيراً فإن الانخفاض الملاحظ بالنسبة لعينات طبختي الشركات الثلاثة المخزنة في درجة حرارة الغرفة قد يعزى إلى تواجد السيفيكسيم بتماس مع الماء طيل فترة الدراسة الأمر الذي جعله عرضة للحلمهة نظراً لاحتوائه على حلقة البيتالاكتام الغير مستقرة [6]، كما أنه من المعروف أن درجة حرارة التخزين هي من العوامل التي تؤثر بشكل كبير على جودة المنتج الدوائي وأن ارتفاعها يقود في أغلب الحالات إلى تسريع تحطّم المادة الفعالة وانخفاض فعالية المنتج الدوائي [18].

5. الاستنتاجات:

نستنتج من هذا البحث:

- تأثُّر المواصفات الحسّية لمعلق السيفيكسيم بزيادة درجة حرارة التخزين.
- تأثُّر بعض معالم جودة المعلق بانخفاض درجة حرارة التخزين والذي تظاهر بتشكّل بلورات في معلق كل من عينتي الطبختين A1 و C2 المخزّنة في البراد خلال فترة الدراسة.
- التأثّر الأكبر لدرجة حموضة معلق السيفيكسيم مع ارتفاع درجة حرارة التخزين.
- بقاء جميع العينات المدروسة موافقة للمعايير المكروبيولوجية المطلوبة منذ بداية الدراسة وطيلة فترة الدراسة مما يشير إلى اتباع (GMP) أثناء التصنيع والذي ساهم في تقليل الحمل المكروبيولوجي البدئي للعينات المدروسة ومنع تلوثها بالأحياء الدقيقة الممرضة.

- خروج المحتوى من السيفيكسيم في عينات كلتا طبختي الشركة C عن الحدود المقبولة منذ بداية الدراسة الأمر الذي قد يشير إلى عدم الالتزام بالمحتوى المطلوب إضافته من المادة الفعالة من قبل الشركة المصنعة أو قد يبين عدم الالتزام بشروط الحفظ والتخزين المناسبة خلال عمر الرف الخاص بالمنتج مما ساهم في انخفاض جودته.

- التأثّر السلبي لثبات بعض عينات المعلق (A1 وC2) وجودتها بانخفاض درجة حرارة التخزين.

- إمكانية إطالة عمر الاستخدام لمعلق السيفيكسيم نظراً لحفاظه على محتوى مقبول من المادة الفعالة طيلة فترة التخزين (باستثناء الشركة C الخارجة عن مجال القبول منذ بداية الدراسة) وبقاء درجة حموضته ضمن حدود القبول بالإضافة إلى بقائها موافقة للمعايير المروبيولوجية المحددة خلال فترة الدراسة.

- أن التخزين في درجة حرارة الغرفة يعتبر الأنسب لهذا المستحضر نظراً لعدم إحداثها لاختلاف كبير من حيث محتوى المادة الفعالة بالمقارنة مع التخزين في درجة حرارة البراد والذي يعتبر عامل الجودة الأهم الذي يضمن فعالية العلاج باستخدام هذا المستحضر، ولكن لا بدّ من التنويه إلى إمكانية تأثّر مطاوعة المريض سلباً في حال تخزين المستحضر في درجة حرارة الغرفة نظراً لتأثيرها الأكبر على طعم المستحضر بالمقارنة مع درجة حرارة البراد.

6. التوصيات:

- نوصي بمتابعة دراسة الثبات الدوائي لمستحضر السيفيكسيم المعدَ للتعليق ما بعد عمر الاستخدام المحدَّد بـ 14 يوم بعد الفتح والتعليق للتحقق من إمكانية إطالة عمر الاستخدام لهذا المستحضر.
- نوصي بتطبيق دراسة لثبات مستحضر مسحوق السيفيكسيم المعدّ للتعليق خلال عمر الرفّ.
- نوصي بتخزين هذا المستحضر خلال فترة استخدامه في درجة حرارة الغرفة (20–25° مئوية) حيث أن التغيرات الحاصلة في المحتوى من المادة الفعالة ومعالم جودة المعلق للعينات التي خُزنت في درجة حرارة الغرفة كانت أقل حدّة بالمقارنة مع العينات المخزنة في درجة حرارة البراد بالرغم من تأثّر طعم العينات المدروسة بارتفاع درجة الحرارة وما لذلك من تأثير على مطاوعة المريض لتناول الدواء.
- نوصي بتطبيق صرامة أكبر على الشركات الدوائية المحلِّية لضمان فعالية المنتجات الدوائية المصنعة والمطروحة في السوق واحتواءها على المحتوى المناسب والفعّال من المادة الفعالة المضافة، بالإضافة إلى ضرورة التأكيد على التزام المستودعات الدوائية والصيدليات بشروط الحفظ والتخزين المدوّنة على عبوة الدواء لما لها من تأثير كبير على جودة المنتج الدوائي وفعاليته.

المراجع:

[1]. POKHARANA M *et al*, 2018- Stability testing guidelines of pharmaceutical products, Journal of Drug Delivery and Therapeutics, Vol. 8. 169 – 175.

[2]. CHAVDA H, 2021- In-use stability studies: guidelines and challenges, Drug Development and Industrial Pharmacy, Vol. 47. 1373 – 1391.

[3]. PUBCHEM, 2024- PubChem Compound Summary for CID 5362065, Cefixime, National Center for Biotechnology Information, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cefixime Retrieved May 9, 2024 from PubChem.

[4]. WHO (World Health Organization), 2023- WHO AWaRe (access, watch, reserve) classification of antibiotics, World Health Organization, https://aware.essentialmeds.org/list?query=cefixime.

[5]. WANG L *et al*, 2018- Insight into the degradation mechanism of cefixime under crystallization condition, Chinese Journal of Chemical Engineering, Vol. 26. 1458 – 1467.

[6]. GANDHI SP *et al*, 2009- Study of degradation profile and development of stability indicating methods for cefixime trihydrate, Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 71. 438 – 442.

[7]. DAILYMED, 2023- Cefixime powder for suspension, The National Library of Medicine, https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=60d391ad-c7c2-4a6c-9b5c-c7a4da839caa.

[8]. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA 44–NATIONAL FORMULARY 39 (USP 44 - NF 39), 2021. Cefixime for oral suspension.

[9]. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA 44–NATIONAL FORMULARY 39 (USP 44 - NF 39), 2021. <1111> Microbiological examination of nonsterile products: Acceptance criteria for pharmaceutical preparations and substances for pharmaceutical use.

[10]. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA 44–NATIONAL FORMULARY 39 (USP 44 - NF 39), 2021. <61> Microbiological examination of nonsterile products: Microbiological enumeration tests.

[11]. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA 44–NATIONAL FORMULARY 39 (USP 44 - NF 39), 2021. <62> Microbiological examination of nonsterile products: Tests for specified microorganisms.

[12]. NASER ZAID A *et al*, 2022- Following drug degradation and consequent taste deterioration of an oral reconstituted paediatric suspension during dosing interval via electronic tongue, Saudi Pharmaceutical Journal, Vol. 30. 555 – 561.

[13]. THAKKER P *et* al, 2022- Taste masking of pharmaceutical formulations: Review on technologies, recent trends and patents, International Journal of Life Science and Pharma Research, Vol.10. 88 – 96.

[14]. DAWA Q *et al*, 2013- Effect of Xanthan and Arabic Gums on Foaming Properties of Pumpkin (Cucurbita pepo) Seed Protein Isolate, Journal of Food Research, Vol. 3. 87 – 95.

[15]. BERTHE-AUCEJO A *et al*, 2016- Evaluation of frequency of paediatric oral liquid medication dosing errors by caregivers: amoxicillin and josamycin, Archives of disease in childhood, Vol. 101. 359 – 364.

[16]. OSTWALD W, 1900- Über die vermeintliche Isomerie des roten und gelben Quecksilberoxyds und die Oberflächenspannung fester Körper, Zeitschrift für Physikalische Chemie, Vol. 34U. 495 – 503.

[17]. ANDREWS L S *et al*, 2002- Sucrose Degradation Under Model Processing Conditions, journal of food science, Vol. 67. 1621 – 1624.

[18]. TEMBHARE E *et al*, 2019- An Approach to Drug Stability Studies and Shelf-life Determination, Archives of Current Research International, Vol. 19. 1 – 20.

[19]. HAWARY H *et al*, 2024- Kinetic modeling and optimization of ethanol fermentation by the marine yeast Wickerhamomyces subpelliculosus ZE75, World Journal of Microbiology and Biotechnology, Vol. 40. 1 – 13.

[20]. DE LA ROSA-MILLAN J, 2023- Assessment and Relationship between Chemical Composition and Microbial Load in Corn Tortillas Sampled from Different Vending Points in Two Regions of Mexico, Journal of Food Processing and Preservation, Vol. 2023. 1 – 11.

[21]. ALZOMOR A K *et al*, 2016- Stability Study for Three Brands Co-Amoxiclav Oral Suspension (312.5/5ml) after Reconstitution at Refrigerator (2-8 OC), European Journal of Biomedical, Vol. 3. 203 – 209.

تقييم أهمية الكرياتينين اللعابي في تشخيص الأمراض الكلوية المزمنة

*د. سميره زريقي **أ.د. فيصل رضوان ***علي جبلاوي

الملخص:

المقدمة: لوحظ زيادة في معدل الاصابة بالأمراض الكلوية المزمنة في جميع انحاء العالم ما يؤدي بدوره إلى رفع العبء الصحي فيما يتعلق بإمراض الشيخوخة و الأمراض غير السارية . حيث يعاني هؤلاء المرضى من تراكم النواتج الاستقلابية في الدم نتيجة تدهور في وظيفة الكلية مما يؤدي إلى مضاعفات الاستقلاب الغذائي المختلفة . إن اخذ العينات الدموية لإجراء تحليل المصل يعتبر من الإجراءات الجراحية الغازية و إن أي بديل غير جراحي سوف يكون مفيداً للمرضى و للكادر الصحي على حد سواء .

أهداف الدراسة: هدفت الدراسة إلى مقارنة مستويات الكرياتينين في كل من اللعاب و الدم و تقييم أهمية الكرياتينين اللعابي في تشخيص الأمراض الكلوية المزمنة .

المواد والطرائق: تم جمع عينات الدم و اللعاب من 50 شخص سليم و من 50 مريضاً بالأمراض الكلوية المزمنة متطابقين بالعمر و الجنس . تم تقدير تركيز الكرياتينين في الدم و اللعاب باستخدام نظام التحليل الالي.

* مدرسة- قسم طب الفم- كلية طب الأسنان- جامعة تشرين- اللاذقية- سوريا
samirazriki@tischreen.edu.sy :

** أستاذ – قسم الطب المخبري – كلية الطب البشري – جامعة تشرين – اللاذقية – سوريا

***طالب ماجستير- قسم طب الفم- كلية طب الأسنان- جامعة تشرين- اللاذقية- سوريا
ali.jeblawi@tischreen.edu.sy

التحليل الاحصائي : تم مقارنة تركيز الكرياتينين في المصل و اللعاب بين العينة الشاهدة و المرضى باستخدام اختبار t.test . تم الحصول على العلاقة بين الكرياتينين في الدم و اللعاب بين المرضى و الأشخاص السليمين باستخدام معامل الارتباط سبيرمان . تم اجراء تحليل خصائص تشغيل المتلقي لتقييم الاهمية التشخيصية للكرياتينين اللعابي كما تم تحديد القيمة الحدية للكرياتينين اللعابي.

النتائج: كانت مستويات تركيز الكرياتينين اللعابي و المصلي أعلى بكثير مما هو عليه عند الاشخاص السليمين . تم الحصول على علاقة ارتباط إيجابية قوية بين الكرياتينين في المصل والكرياتينين في اللعاب حيث (r=0.817) . و لقد وجدنا ان مساحة المنطقة تحت منحنى الكرياتينين اللعابي بلغت (0.997) . تم تحديد القيمة الحدية للكرياتينين اللعابي في هذه الدراسة 0.25 ملغ / ديسيلتر عند قيمة حساسية قدرها 96% و نوعية 96% .

الخلاصة: يملك الكرياتينين اللعابي قدرة عالية على تقدير الكرياتينين في الدم. يمكن استخدام تحليل الكرياتينين اللعابي كأداة منخفضة التكلفة و سهلة الجمع و غير جراحية في تشخيص الأمراض الكلوية المزمنة.

الكلمات المفتاحية :الأمراض الكلوية المزمنة ، تحليل منحى خاصية تشغيل المتلقي ، الكرياتينين اللعابي

Evaluation of salivary creatinine in diagnosis of chronic kidney diseases.

***Dr. Samira Zraiki- **Dr.faisal Radwan ***Ali Jeblawi**

ABSTRACT

Introduction An increase in the incidence of chronic kidney disease (CKD) is seen worldwide due to increased burden of noncommunicable diseases and ageing. There is accumulation of several waste products in these patients due to kidney impairment, leading to various metabolic complications. Sampling blood for serum analysis is an invasive procedure. A noninvasive alternative would be beneficial to patients and health care professionals. **Study Objectives**: The study aimed to compare creatinine levels in both saliva and blood and evaluate the effectiveness of salivary creatinine in diagnosing chronic kidney disease. **Materials And Methods**: Blood and saliva samples were collected from 50 healthy individuals and 50 chronic kidney disease patients matched in age and sex . Serum and salivary creatinine levels were estimated using automatic analyser. *Statistical Analysis*. The serum and salivary creatinine levels between controls and cases were compared using *t*-test. Correlation between serum and salivary creatinine was obtained in controls and cases using Spearman's correlation coefficient. Receiver operating characteristic analysis was done to assess the diagnostic performance of salivary creatinine. Cut-off values were established for salivary creatinine.

*Professor-Department of oral medicine-Faculty of Dentistry-Tishreen
: samirazriki@tischreen.edu.sy . University-Lattakia-Syria
** Professor - Department of Laboratory Medicine- Faculty of medicine-Tishreen University-Lattakia-Syria
***Masters Student- Department of oral medicine -Faculty of Dentistry-Tishreen University-Lattakia-Syria : ali.jeblawi@tischreen.edu.sy

Results: Serum and salivary creatinine levels were significantly higher in CKD patients than controls. The positive correlation was significantly found between salivary and serum creatinine (r = 0.817). Area under the curve for salivary creatinine was found to be 0.997. A cut-off value of 0.25 mg/dL gave a sensitivity of 96% and specificity of 96%. **Conclusion** salivary creatinine have a high capacity for serum creatinine estimation. Salivary creatinine tests can be used as low-cost, easily accessible and noninvasive tools for diagnosing of chronic kidney disease.

Keywords Chronic kidney disease, Receiver-operating characteristic curve analysis.

مقدمة:

الأمراض الكلوية المزمنة ((Chronic kidney disease (CKD) هي عبارة عن تدهور مزمن متدرج في النفرونات الكلوية . [1]

تعد الأسباب الرئيسية لحدوثها : الداء السكري – ارتفاع الضغط الشرياني – بعض المواد السامة – أمراض المناعة الذاتية ، و التي تؤدي بدورها إلى انخفاض تدريجي في وظائف الكلى خاصة التنظيم و الاطراح . [2]

يعاني من الأمراض الكلوية المزمنة حوالي 11 % إلى 13 % من سكان العالم و يعد هو السبب الثامن للوفاة عالمياً . [3]

حيث تؤدي الأمراض الكلوية المزمنة إلى انخفاض غير ردود في معدل الترشيح الكبيبي(GFR) . [1] مسبباً زيادة المواد السامة في الدم و كذلك نقص في الغلوبولينات المناعية مثل (IgA, IgM, IgG) . [4]

ترافق الأمراض الكلوية المزمنة العديد من التغيرات الفموية : مثل جفاف الفم – و رائحة فموية كريهة [5]– و ارتفاع خطر الإصابة بالأمراض اللثوية – بالإضافة إلى التغير في كمية افراز و PH وتركيب اللعاب .[6]

كما اظهرت العديد من الدراسات تغيرات كمية في مكونات اللعاب لدى مرضى (CKD) مثل الكالسيوم و الفوسفور و اليوريا و البوتاسيوم و الكرياتينين و ذلك بالارتباط مع تغييرات في نفس الجزيئات في دم المريض . [7][8][9]

حيث أن زادت تركيزات اليوريا في اللعاب بشكل أسرع من تركيزات الكرياتينين أثناء تطور الداء الكلوي المزمن .

و لكن أظهرت الأبحاث السابقة أنه على الرغم من كونها أكثر حساسية، إلا أن اليوريا اللعابية أقل تحديداً وقد تتأثر بعوامل أخرى غير الوظائف الكلوية، على سبيل المثال الحالة الصحية للثة. [10]

يعتبر قياس تركيز الكرياتينين هي اكثر الوسائل فعالية في تقييم وظيفة الترشيح الكبيبي الكلوي حيث يعتبر مشعر الكرياتينين في الدم هو العلامة الرئيسية لتقييمه. [11]

يحتاج مرضى الأمراض الكلوية المزمنة إلى تكرار تحاليل الدم باستمرار في مرحلة تشخيص المرض و تتبع سيره و مراقبة العلاج . [12]

و لعل مزايا اللعاب كسائل تشخيصي بالمقارنة مع الدم، أن اللعاب له العديد من المزايا العملية. حيث لا يتطلب جمع العينات أي مواد أو إبر محددة أو مضادات التخثر.

يكفي وجود أنبوب تجميع نظيف يمكن إغلاقه. كما يمكن للمرضى أو المتطوعين جمع العينة في المنزل دون الحاجة إلى موظفين مدربين أو إشراف طبي.[13]

على الرغم من أن أخذ الدم ليس خطيراً، إلا أنه لا يزال مرتبطاً بخطر بسيط لحدوث مضاعفات ،كما أن بعض المرضى لا يتحملون إجراء سحب الدم . إن جمع اللعاب غير جراحي ومناسب بشكل خاص للأطفال والمرضى المسنين[14].

و علاوة على ذلك يسبب البذل الوريدي المتكرر رفع فرص الإصابة بالعدوى و هذا ما يفسر ارتفاع خطر الإصابة بالتهاب الكبد B و C عند مرضى (CKD) .[15].

على مدى السنوات السابقة اصبح اللعاب خيار لرصد المؤشرات البيولوجية في العديد من الامراض . [16][17].

حيث تم اثبات أن اللعاب مفيد في الكشف عن الأنواع المختلفة من الأمراض الموضعية مثل سرطان الفم و الرأس و العنق [18] و كذلك في الأمراض الجهازية مثل سرطان الرئة و البنكرياس و الثدي و في تشخيص و مراقبة مرض السكري من النمط 2 [20][19].

أهمية البحث وأهدافه:

أهمية البحث:

- يتميز اللعاب عن المصل بسهولة جمع عينته دون أن يسبب أي قلق او ألم عند المريض مهما كان عمره.
- سهولة جمع و حفظ عينات اللعاب حتى لو كان عدد المرضى كبير و بتكلفة أقل .
- يعد أقل خطر في احتمالية نقل العدوى من البذل الوريدي و بالتالي رفع مستوى الأمان للمريض و للكادر الطبي .
- إمكانية أخذ العينة بسهولة عند مرضى الناعور و الامراض الدموية الأخرى .

أهداف البحث:

1. مقارنة مستويات تركيز الكرياتينين في اللعاب و المصل .
2. تقييم فعالية مستوى تركيز الكرياتينين في اللعاب في تشخيص الأمراض الكلوية المزمنة .

طرائق البحث ومواده:

حجم العينة:

تم اخذ العينات من 100 شخص حيث أن 50 شخص منهم يعاني من الأمراض الكلوية المزمنة و 50 شخص سليم كعينة شاهدة .

اختيار العينة:

تم اختيار العينة بشكل عشوائي من المرضى المراجعين لقسم الكلية في مشفى تشرين الجامعي اللاذقية ممن تم تشخيصهم بشكل مسبق على انهم يعانون من الأمراض الكلوية المزمنة بالمرحلة الرابعة أو الخامسة ، من اشخاص سليمين مرافقين للمرضى .

و تتراوح أعمار المشاركين بين 20 إلى 65 عاماً .

أما معايير الاستبعاد فشملت:

1- المرضى الذين يعانون من اضطرابات في الغدد اللعابية (التهاب – اورام – متلازمة سيجوغرين – ...)

2- المرضى الذين خضعوا للعلاج الشعاعي في الرأس و العنق .

3- المرضى الذين يتناولون أدوية تؤثر على تركيز الكرياتينين في البلازما [21]

(cimetidine, trimethoprim, corticosteroids, pyrimethamine, phenacemide)

أدوات ومواد البحث:

1 استمارة تشخيصية

2 أدوات الفحص السريري الفموية التقليدية (مسبر، مرآة، ملقط ، مسبر وليم)

3 قفازات وكمامات نبوذة .

4 ماء مقطر

5 عبوات بلاستيكية لجمع عينات اللعاب

6 محاقن لسحب الدم وريدياً

7 أنابيب مخبرية لمعايرة العينات الدموية

8 عبوات لحفظ العينات اللعابية و الدموية

طرائق البحث:

الاعتبارات الأخلاقية:

تم الحصول على موافقة إدارة مشفى تشرين الجامعي لتسهيل مهمة الدخول إلى قسم الكلية لأخذ العينات و المخبر المركزي لتحليل العينات وإجراء البحث بما لا يتعارض مع حسن سير العملية الصحية و العلاجية، وبما لا يترتب على المشاركين أي التزامات مادية أو معنوية. (قرار رقم /4093/ بتاريخ 2021/9/21)

منهج البحث: هذه الدراسة ترتكز على المنهج التحليلي و مقارنة النتائج .

جمع العينات اللعابية :

- قمنا بتوزيع الموافقات المستنيرة على الأشخاص المشاركين و التي تتضمن شرح مفصل لآلية إجراء البحث .
- تم الحصول على عينات اللعاب غير المحفز و ذلك بين الساعة 9:00 و الساعة 11:00 صباحاً و ذلك لتقليل الاختلاف النهاري .
- تم الحصول على 2 مل من اللعاب و ذلك تحت ظروف مريحة و طلب من المرضى عدم تناول الطعام قبل 90 دقيقة من اخذ العينة و طلب أيضا شطف الفم بالماء المقطر بشكل جيد .
- طلب من المرضى الجلوس بشكل قائم مع إمالة الرأس نحو الأسفل و ذلك لتجنب حركات البلع أثناء جمع العينة .
- تم البصق كل 60 ثانية حتى الحصول على الكمية المطلوبة .
- تم اجراء عملية الطرد المركزي للعينات عند 3000 دورة / الدقيقة لمدة 10 دقائق و ذلك لإزالة الشوائب قبل إجراء التحليل .
- تم حفظ العينات اللعابية في درجة حرارة −20 إلى حين إجراء التحليل .

جمع العينات الدموية :

- تم سحب 2 مل من الدم وريدياً و ذلك تحت ظروف عقيمة بنفس وقت أخذ العينات اللعابية .

- تم وضع العينات الدموية في انابيب مخبرية ملائمة لتحليل الكرياتينين و هي انابيب الليثيوم هيبارين .
- تم إجراء عملية الطرد المركزي للعينات الدموية للحصول على البلازما .
- تم تجميد البلازما بدرجة حرارة −20 درجة و ذلك لضمان حفظها ريثما يتم نقلها إلى جهاز التحليل ليتم اجراء التحاليل .

تحليل العينات :

تم تحليل عينات اللعاب و الدم بالطريقة الآلية باستخدام جهاز Mindray – BS −380 وفق كيت (BIOSYSTEMS – CREATININE– JAFFE–SPAIN) .[22]

تعتمد طريقة جافي للكرياتينين على البكريت القلوي . عند درجة PH القلوية يتفاعل الكرياتينين الموجود في العينة مع البيكرات ليشكل مركب الكرياتينين– بيكرات . إن معدل الزيادة في الامتصاص عند 500 نانومتر بسبب تكوين المركب يتناسب طردياً مع تركيز الكرياتينين في العينة. [22]

تم وضع العينات المصلية و اللعابية على التوالي في جهاز التحليل و ضبط الجهاز لإجراء تحليل الكرياتينين .

و من ثم تم إعادة تحليل عينتين لعابيتين و عينتين مصليتين بشكل عشوائي من كل مجموعة مؤلفة من عشرة اشخاص للتأكد من موثوقية جهاز التحليل .

النتائج والمناقشة:

المقارنة بين العينة الشاهدة و عينة المرضى حسب متوسط تركيز الكرياتينين اللعابي و المصلي: للتَّحقُّقِ فيما إذا كان هناك فروق ذات دلالة إحصائية عند مستوى دلالة (0.01) بين مرضى CKD والأشخاص السليمين في تركيز الكرياتينين اللعابي و الدموي ، تم حساب المتوسِّطاتِ الحسابيَّةِ والانحرافاتِ المعياريَّةِ، وتم استخدامُ اختبار (t test –) للعينات المستقلة لمعرفةِ دلالةِ الفروقِ، كما هو مبين في الجدول (1).

جدول (1) المتوسِّطات الحسابيَّة والانحرافات المعياريَّة

واختبار (t) للفروق بين المرضى و الأشخاص السليمين

Parameters	CKD Patients (N=50)	Controls (N=50)	P-value
Salivary Creatinine الكرياتينين اللعابي	ملغ /ديسيلتر 1.70±1.23	ملغ /ديسيلتر 0.11±0.07	<0.01
Serum Creatinine الكرياتينين المصلي	ملغ /ديسيلتر 9.47±3.04	ملغ /ديسيلتر 0.95±0.2	<0.01

يبين الجدول رقم (1) أن المقارنة بين متوسطات تركيز الكرياتينين اللعابي بلغ عند المرضىCKD 1.70±1.23 ملغ /ديسيلتر و قدره عند العينة شاهد 0.11±0.07 ملغ /ديسيلتر و كذلك الامر تركيز الكرياتينين في المصل عند المرضى CKD 9.47±3.04 و عند العينة شاهد 0.95±0.2 .

تبين نتائج اختبار t.test للفرق بين المجموعتين أن قيمة احتمال الدالة اقل من مستو الدلالة $P<0.01$ و بالتالي نستنتج أن هناك فروق دالة احصائياً لصالح مجموعة المرضى في كل من الكرياتينين اللعابي و المصلي .

- **دراسة العلاقة بين الكرياتينين اللعابي و الكرياتينين المصلي.**

لحساب العلاقة الارتباطية بين الكرياتينين اللعابي ، و الكرياتينين المصلي استخدم معامل الارتباط سبيرمان، وجاءت النتائج كما هو مبين في الجدول (2).

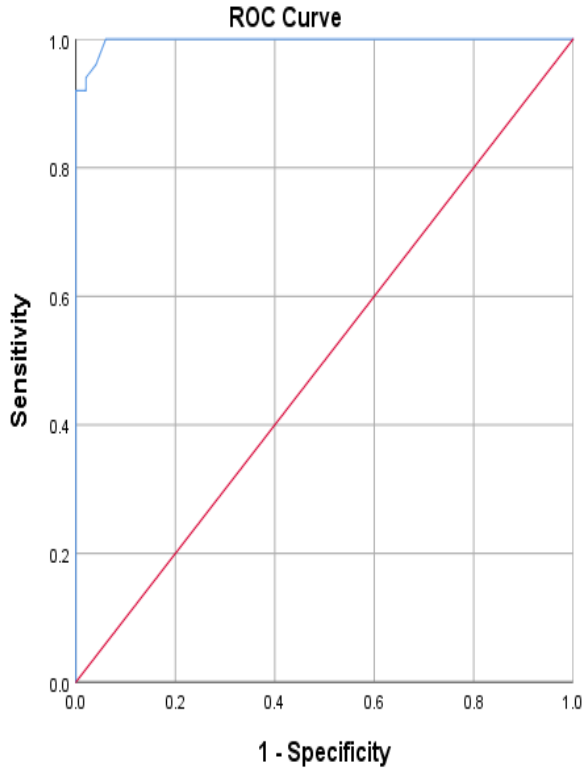
جدول (2): معامل الارتباط سبيرمان ودلالته بين الكرياتينين اللعابي و المصلي .

Spearman's correlation معامل ارتباط سبيرمان	r-value	P-value
Salivary Creatinine vs Serum Creatinnine الكرياتينين اللعابي / الكرياتينين المصلي	0.817	<0.01

يتبيَّن من خلال قراءة الجدول (2) أنه يوجد علاقة إيجابية طردية قوية بين تركيز الكرياتينين بالمصل و اللعاب حيث أن ($r = 0.817$) أي أنه يزيد تركيز الكرياتينين في اللعاب كلما ازداد تركيزه في المصل و بما أن ($p<0.01$) فان النتيجة ذات قيمة إحصائية .

- تقييم الفعالية التشخيصية للكرياتينين اللعابي في تشخيص الأمراض الكلوية المزمنة :

لتقييم القيمة التشخيصية للكرياتينين اللعابي تم اجراء اختبار منحى خصائص تشغيل المستقبل ROC Curve .



ROC curve of salivary creatinine levels

الشكل البياني رقم (1) اختبار ROC Curve للقيمة التشخيصية للكرياتينين اللعابي .

يظهر الشكل البياني رقم (1) المنطقة الواقعة تحت المنحنى (AUC) التي تم الحصول عليها للكرياتينين اللعابي مع فاصل الثقة قدره 95 %.

الجدول رقم (3) يبن قيمة المنطقة الواقعة تحت المنحنى وفاصل الثقة

Test result variable	AUC	Std E	95% Confidence Interval	P-value
Salivary Creatinine الكرياتينين اللعابي	0.997	0.003	0.992-1000	<0.01

يظهر الجدول رقم (3) أن مساحة المنطقة تحت المنحنى AUC بلغت 0.997 عند خطأ معياري قدره 0.003 مستوى ثقة 0.992% و أن قيمة احتمال الدلالة اصغر من مستوى الدلالة (p<0.01) و بالتالي فأن النتيجة دالة احصائياً و أنه يمكن استخدام الكرياتينين اللعابي في تشخيص الامراض الكلوية المزمنة .

الجدول رقم (4) يبين القيمة الحدية للكرياتينين اللعابي و مقدار الحساسية و النوعية .

	Cut-off value القيمة الحدية	Sensitivity % الحساسية	Specificity % النوعية
Salivary Creatinine الكرياتينين اللعابي	0.25 ملغ /ديسيلتر	96%	96%

يظهر الجدول رقم (4) القيمة الحدية للكرياتينين اللعابي و قدرها 0.25 ملغ /ديسيلتر عند حساسية قدرها 96% و نوعية قدرها 96% .

و من الملاحظ أن قيمة احتمال الدلالة أصغر من مستو الدلالة ($p<0.01$) و بالتالي النتيجة ذو قيمة دالة إحصائياً .

المناقشة:

- مقارنة نسبة الكرياتينين في اللعاب و المصل:

أظهرت النتائج أن متوسط تركيز الكرياتينين اللعابي عند المرضىCKD 1.23±1.70 ملغ /ديسيلتر و متوسطها عند العينة شاهد 0.7±0.11 ملغ /ديسيلتر و كذلك الامر متوسط مستوى الكرياتينين في المصل عند المرضى CKD 3.04±9.47 ملغ /ديسيلتر و عند العينة الشاهدة 0.2±0.95 ملغ /ديسيلتر. و بالتالي أظهرت النتائج ارتفاع نسبة الكرياتينين في اللعاب كما هو في المصل عند المرضى مقارنة بالعينة شاهد .

اتفقت دراستنا مع دراسة Padwal et all 2022 في حيث لاحظ زيادة في تركيز الكرياتينين في اللعاب، والكرياتينين في الدم لدى مرضى الامراض الكلوية المزمنة بالمقارنة مع مجموعة السيطرة عند متوسط تركيز الكرياتينين اللعابي عند المرضى و الأشخاص السليمين حيث كان متوسط تركيز الكرياتينين اللعابي عند مرضى CKD و المجموعة الشاهدة 0.71 ± 0.88 ملغ /ديسيلتر و 0.03 ± 0.10 ملغ /ديسيلتر على التوالي و الكرياتينين بالدم 2.29 ± 4.34 و 0.21 ± 0.81 ملغ /ديسيلتر على التوالي [23] .

وأيضا اتفقت مع دراسة Pham 2017 حيث لاحظ ارتفاع تركيز الكرياتينين اللعابي عند مرضى CKDمقارنة مع العينة الشاهدة.

و كان متوسط تركيز الكرياتينين اللعابي و المصلي مرضى CKD 23.60 mmol/L و 0.40 mg/dL, و عند الاشخاص السليمين 13.89 mmol/L و 0.14 mg/dLعلى التوالي .[24]

وكما اختلفت دراستنا مع دراسة Temilola et alفي جنوب افريقيا عام 2019، قام بإجراء التجربة حيث اختلفت قيم متوسطات الكرياتينين المصلي و اللعابي بشكل ملحوظ في عينته عند مرضى CKD حيث كانت القيم 46-1581ميكرومول/لتر و 400-3ميكرومول/لتر، على التوالي.[25]

و يعود تفسير ذلك إلى أن عينته شملت عدد اكبر من المرضى في جميع مراحل CKD الخمس حيث كانت العينة تضم 50 مريض من كل مرحلة بينما كانت العينات في دراستنا تقتصر على المرحلة الرابعة و الخامسة من الأمراض الكلوية المزمنة .

الارتباط بين الكرياتينين المصلي و اللعابي:

في دراستنا نجد أنه يوجد علاقة إيجابية طردية قوية بين تركيز الكرياتينين بالمصل و اللعاب حيث أن ($r = 0.817$) أي أنه يزيد تركيز الكرياتينين في اللعاب كلما ازداد تركيزه في المصل و بما أن ($p<0.01$) فان النتيجة ذات قيمة إحصائية .

اتفقت دراستنا مع دراسة Padwal et all في الهند عام 2022 حيث وجد انه يوجد ارتباط إيجابي قوي بين الكرياتينين العابي و الكرياتينين المصلي و كانت قيمة معامل الارتباط ($r= 0.95$) عند كل من المرضى و العينة الشاهدة .

و قد اختلف دراستا مع كل من venkatapathy et all في الهند عام 2014 [26] و lasisi et all عام 2016 [27] في نيجيريا حيث لم يجدو أن هناك ارتباط بين قيم الكرياتينين في اللعاب و المصل عند العينة الشاهدة .

بينما وجدوها عند مرضى CKD و قد تكون هذه الاختلافات بسبب وجود عوامل مثل داء السكري وارتفاع ضغط الدم وأمراض الغدد اللعابية، والتي يمكن أن تؤثر على انتشار الكرياتينين من المصل إلى الغدد اللعابية[28],[29].

تقييم الفعالية التشخيصية للكرياتينين اللعابي في تشخيص الأمراض الكلوية المزمنة :

أظهرت نتائج دراستنا أن مساحة المنطقة حت المنحنى AUC بلغت 0.997 عند مستوى ثقة 0.992 و أن قيمة احتمال الدلالة اصغر من مستوى الدلالة ($p<0.01$) و بالتالي فأن النتيجة دالة احصائياً و انه يمكن استخدام الكرياتينين اللعابي في تشخيص الأمراض الكلوية المزمنة .

لقد تم تحديد القيمة الحدية في دراستنا للكرياتينين اللعابي وقدرها 0.25 ملغ /ديسيلتر . و ذلك عند قيم حساسية و نوعية واعدة بلغت 96 % و 96% على التوالي أي أنه يمكن الاعتماد على الكرياتينين اللعابي للتعبير عن قيم الكرياتينين في الدم .

اتفقت دراستنا مع كل من Padwal et all في الهند عام 2022 عند مساحة منطقة تحت المنحنى AUC قدرها 1.000 أي أنه يمكن الاعتماد على الكرياتينين اللعابي في تشخيص الامراض الكلوية المزمنة .[23]

اتفقت أيضا مع Temilola et alفي جنوب افريقيا عام 2019 عند مساحة منطقة تحت المنحنى AUC قدرها (0.839) .[25].

حيث جميعهم حصلوا على نتيجة مفادها أنه يمكن استخدام الكرياتينين اللعابي في تشخيص القصور الكلوي المزمن .

و يمكن تفسير ذلك أن جميعهم حصلوا على مساحة AUC كبيرة عند اجرائهم اختبار منحى خصائص تشغيل المستقبل (ROC Curve) .

الاستنتاجات:

1. يوجد علاقة ارتباط طردية قوية بين الكرياتينين العابي و الكرياتينين المصلي أي انه يزداد الكرياتينين اللعابي كلما زاد الكرياتينين المصلي .
2. يمكن استخدام الكرياتينين اللعابي في تشخيص الأمراض الكلوية المزمنة .
3. من لديهم مستوى كرياتينين في اللعاب أعلى من 0.25ملغرام/ ديسيلتر هم أكثر عرضة للمعاناة من الأمراض الكلوية المزمنة ويجب أن يخضعوا لمزيد من التقييم الطبي.

التوصيات :

نقترح اجراء دارسات على عينة اكبر من المرضى بحيث تشمل جميع مراحل المرض الخمس .

References:

1. Alamo SM, Esteve CG, Perez MGS (2011) Dental considerations for the patient with renal disease. J Clin Exp Dent 3:112–119. https://doi.org/10.4317/jced.3.e1122. Abdulla HI, Al-Kotany MY, Mahdi KA (2012) Assessment of oral manifestations of patients with renal failure undergoing hemodialysis by serum and salivary biomarker

2. Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, Hobbs
FD (2016) Global prevalence of chronic kidney disease- a systematic review and meta-analysis. PLoS One 11:e0158765. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158765

3. Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, Hobbs FD (2016) Global prevalence of chronic kidney disease- a systematic review and meta-analysis.

4.Pallos D, LeãoMV, Togeiro FC,Alegre L, Ricardo LH, Perozini C, Ruivo GF (2015) Salivary markers in patients with chronic renal failure.

5.Anuradha BR, Katta S, Kode VS, Praveena C, Sathe N, Sandeep N, Penumarty S (2015) Oral and salivary changes in patients with chronic kidney disease: a clinical and biochemical study

6.Deschamps-Lenhardt S, Martin-Cabezas R, Hannedouche T, Huck O (2019) Association between periodontitis and chronic kidney disease: systematic review and meta-analysis.

7. Tomás I,Marinho JS, Limeres J, SantosMJ, Araújo L,Diz P (2008) Changes in salivary composition in patients with renal failure.

8. Rodrigues VP, Franco MM, Marques CP, de Carvalho RC, Leite SA, Pereira AL, Benatti BB (2016) Salivary levels of calcium, phosphorus, potassium, albumin and correlation with serum biomarkers in hemodialysis patients.

9. Cardoso EM, Arregger AL, Tumilasci OR, Elbert A, Contreras LN (2009) Assessment of salivary urea as a less invasive alternative to serum determinations.

10. Ga Kovalčkov, A. *et al.* Urea and creatinine levels in saliva of patients with and without periodontitis. *Eur. J. Oral Sci.* **127**,417–424 (2019)

11.Cockcroft DW, GaultMH (1976) Prediction of creatinine clearance from serum creatinine .

12.Kaushik A, Reddy SS, Umesh L et al (2013) Oral and salivary changes among renal patients undergoing hemodialysis: a crosssectional study .

13. J.M. Yoshizawa, C.A. Schafer, J.J. Schafer, J.J. Farrell, B.J. Paster, D.T. Wong, Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities, Clin. Microbiol. Rev. 26 (2013) 781–791.

14. T. Pfaffe, J. Cooper-White, P. Beyerlein, K. Kostner, C. Punyadeera, Diagnostic potential of saliva: current state and future applications, Clin. Chem. 57 (2011) 675–687.

15. Edey M, Barraclough K, Johnson DW (2010) Review article: hepatitis B and dialysis. Nephrology (Carlton) 15:137–145. https://doi. org/10.1111/j.1440-1797.2009.01268.x

16. Satish BN, Srikala P, Maharudrappa B, Awanti SM, Kumar P, HugarD (2014) Saliva: a tool in assessing glucose levels in diabetes mellitus.

17..Du X, Wang F, Hu Z et al (2017) The diagnostic value of pepsin detection in saliva for gastro-esophageal reflux disease: a preliminary study from China

18. JohnMA, Li Y, Zhou X, Denny P, Ho CM,Montemagno C, et al. Interleukin 6 and interleukin 8 as potential biomarkers for oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma.

19. Nandan RK, Sivapathasundharam B, Sivakumar G (2005) Oral manifestations and analysis of salivary and blood urea levels of patients undergoing haemodialysis and kidney transplant.

20. Kher V, Jha PKKK (2015) Nephrology. In: Munjal YP (ed) API textbook of medicine, 10th edn. The Association of Physicians of India, Mumbai, pp 1750–1756.

21. E Andreev · 1999 · Cited by 162 A rise in plasma creatinine that is not a sign of renal failure .. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov › ...

22.Slot C. Plasma creatinine determination. A new and specific Jaffe reaction method. Scandinavian J Clin Lab Invest. 1965;17:381–7

23. Padwal MK, Momin AA, Diwan A, *et al*. Efficacy of Salivary Creatinine and Urea and their Association with Serum Creatinine and Urea Levels in Severe Chronic Kidney Disease Patients. Indian J Med Biochem 2022;26(1):15–19.

24. Pham TA. Validation of the salivary urea and creatinine tests as screening methods of chronic kidney disease in Vietnamese patients. Acta Odontol Scand 2017;75(8):551–556. DOI: 10.1080/00016357.2017.1356467

25. Temilola et al. BMC Nephrology (2019) 20:387https://doi.org/10.1186/s12882-019-1546-0 .

26. Venkatapathy R, Govindarajan V, Oza N, et al. Salivary creatinine estimation as an alternative to serum creatinine in

chronic kidney disease patients. Int J Nephrol 2014;2014:742724. DOI: 10.1155/2014/742724.

27. Lasisi TJ, Fasanmade AA. Salivary flow and composition in diabetic and non-diabetic patients. Niger J Physiol Sci 2012;27(1):79–82. PMID: 23235312.

28. . Ladgotra A, Verma P, Raj SS. Estimation of salivary and serum biomarkers in

diabetic and non diabetic patients-a comparative study. J Clin Diagn Res.

2016;10(6):ZC56–61.

29. . Briet M, Collin C, Karras A, Laurent S, Bozec E, Jacquot C, et al. Arterial remodeling associates with CKD progression. J Am Soc Nephrol. 2011;22(5):967–74.

دراسة مقارنة جودة وثباتية شرابات السعال العشبية وغير العشبية

ص: جودي بحوري، أ.د. عماد الحدَاد

جامعة البعث –كلية الصيدلة – قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية

ملَخص

تعتبر ادوية السعال من أكثر الأدوية التي تعطى بدون وصفة طبية تداولا عند جميع الاعمار وتقسم الى فئتين: الادوية العشبية–الادوية غير العشبية، ان الشرابات هي أحد أدوية السعال المستخدمة بشكل كبير وخاصة عند الأطفال حيث تعتبر اشكال صيدلانية نظيفة متعددة الجرعات مما يجعلها عرضة للعوامل الخارجية التي تؤثر على الثبات خاصة في حال التخزين في ظروف حفظ غير مناسبة.

تم في هذا البحث دراسة مركبين صنعيين هما البرومكسين والغوافينزين بالإضافة الى أحد المركبات الدوائية الطبيعية وهو التيمول الموجود في الزيت العطري لنبات الزعتر، حيث تم جمع عينات من الشرابات العشبية وغير العشبية المسوقة محليا من خلال اختيار شركتين دوائيتين لكل مادة مع اخذ ثلاث طبخات لكل شركة وتم ترميز الشرابات الصنعية ب A–B–C–D اما الشرابات العشبية رمزت ب Y–E

اجريت الاختبارات عند فتح العبوات وتمت اعادتها بعد ٣ أشهر من الفتح، تم اجراء: الفحوص التكنولوجية لجميع الشرابات وهي (الفحوص العيانية –درجة الحموضة–

الكثافة–اللزوجة) واجتازت جميع الشرابات هذه الاختبارات بنجاح، ايضا تمت مقايسة المادة الفعالة باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC بالنسبة للغوافنزين والبرومكسين اما التيمول فقد تمت مقايسته باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية GC، ثم تم حساب النسبة المئوية من المحتوى المعنون.

كانت جميع الشرابات الصنعية ضمن الحدود الدستورية المسموح بها وهي (90%–110%) باستثناء الشركة B التي كانت نسبة المادة الفعالة فيها منخفضة، اما الشرابات العشبية فقد خرجت عن الحدود الدستورية المسموح بها بعد ٣ أشهر من الفتح، تم اجراء تعداد عام للجراثيم والفطور واظهرت جميع الشرابات نتائج مقبولة.

الكلمات المفتاحية: ثباتية، تيمول، مقايسة، برومكسين، غوايفنزين

Comparative study of stability and quality of herbal and non-herbal cough syrups

Ph.joudy bahouri, prof.Emad Alhaddad

Albaath University – Faculty of Pharmacy – The Department of Medicinal Chemistry and Quality Control

Abstract

Cough medicines are considered one of the most widely used non-prescription medicines for all ages and are divided into two categories: herbal medicines and non-herbal medicines. Syrups are one of the most widely used cough medicines, especially in children, as they are considered clean, multi-dose pharmaceutical forms, which makes them vulnerable to external factors. Which affects stability, especially if stored under inappropriate preservation conditions.

In this research, two synthetic compounds were studied: bromhexine and guaifenesin, in addition to one of the natural pharmaceutical compounds, which is Thymol, which is found in the aromatic oil of the thyme plant. Samples were collected from locally marketed herbal and non-herbal syrups by selecting two

pharmaceutical companies for each substance, and taking three preparations for each company. synthetic syrups were denoted by A-B-C-D, while herbal syrups were denoted by Y-E.

Tests were conducted when the packages were opened and they were repeated 3 months after opening. Technological tests were conducted for all syrups, which are (macroscopic tests - pH - density - viscosity). All syrups passed these tests successfully. The active ingredient of guaifenesin and bromhexine was measured using high-performance liquid chromatography (HPLC). And Thymol was measured using gas chromatography (GC), and then the percentage of the labeled content was calculated.

All synthetic syrups were within the permissible constitutional limits, which are (90%-110%) except of Company B, which had a low percentage of the active ingredient. As for the herbal syrups, they fell outside the permissible constitutional limits after 3 months of opening. A general count of germs and fungi was conducted and all the samples showed acceptable results.

Keywords: stability, thymol, assay, bromhexine, guaifenesin.

المقدِمة introduction:

تعتبر الشرابات مستحضرات مائية لزجة تحتوي على كمية كبيرة من السكر معدة للاستعمال الداخلي عن طريق الفم، تعتبر من الاشكال صيدلانية غير العقيمة وتعد من أكثر الاشكال الصيدلانية المناسبة للأطفال والرضع وكبار السن. [1]

الجودة Quality : تّم تعريف جودة الدواء في وثيقة FDA–ICH (المؤتمر الدولي للمواءمة لهيئة الغذاء والدواء) كما يلي: "ملاءمة مادة دوائية أو منتج دوائي للاستخدام المقصود منه".

أي أن جودة الدواء تعني توافر العوامل التي تساهم بشكل مباشر أو غير مباشر في فعاليته ومأمونيته، أي أن يحتوي الدواء على المقدار المطلوب من المادة الفّعالة وأن يكون خاليًا من الشوائب والملّوثات وثابتًا فيزيائيًا وكيميائيًا خلال فترة صلاحيته. [2]

الثبات خلال عمر الاستخدام:

تحدد شركات الأدوية تاريخ صلاحية المستحضر خلال عمر الرف وتدونه على العبوة دون الاهتمام بتاريخ انتهاء الصلاحية بعد فتح المستحضر، كما أن احتفاظ المرضى بالدواء بعد فتحه لاستخدامه حين الحاجة اليه لاحقا قد يزيد من احتمالية تعرضه للتخرب أو للتلوث مما يقلل من الفعالية ويجعله غير صالح للاستخدام، ولا يبدي الكثير من الأشخاص الاهتمام لعمر الاستخدام خاصة في حال عدم تدوين التاريخ الذي تم فيه فتح العبوة، كما أن بعض المرضى يستمرون باستخدام العبوة بعد فتحها بناء على تاريخ الصلاحية المدون عليها، وليس بناء على تاريخ البدء من استخدامها، لذلك تعد دراسات الثبات خلال عمر الاستخدام عاملا مهما في تحديد المدة القصوى لإمكانية استخدام الدواء بعد الفتح.

ان الغرض من اختبار الثبات خلال عمر الاستخدام هو تحديد المدة الزمنية التي يبقى فيها المستحضر الدوائي الموجود ضمن عبوات متعددة الجرعات صالحا للاستخدام بحيث يبقى محافظا على جودته ضمن المواصفات المقبولة بمجرد فتح العبوة.

يجب أن يحاكي الاختبار ظروف استخدام الشكل الصيدلاني من قبل المريض في المنزل، أيضا يفضل اجراء الاختبار في نقاط زمنية متوسطة وفي نهاية فترة الصلاحية المقترحة لعمر الاستخدام على مدار الفترة المقترحة لعمر الاستخدام.[3]

وتعتبر المستحضرات الفموية السائلة أقل ثبات من المستحضرات السائلة حيث أنها تعتبر أشكال نظيفة متعددة الفتح والاغلاق وبالتالي من الضروري مراقبتها.

هدف الدراسة the purpose of study: تهدف الدراسة الى تقييم جودة وثبات شرابات السعال والتحقق من مطابقتها للشروط الدستورية، وذلك خلال 3 أشهر، ومن ثم مقارنة النتائج الخاصة بالشرابات ذات المكونات العشبية مع الشرابات الصنعية.

مواد وطرائق البحث Materials and Methods:

تم اختيار مادتين من الادوية غير العشبية وهما الغوافينزين والبرومكسين ومادة من الادوية العشبية وهي الزعتر.

تم جمع عينات من السوق المحلية، حيث تم اختيار شركتين لكل مادة دوائية مع مراعاة اخذ ٣ طبخات لكل شركة.

A –B شرابات البرومكسين

C – D شرابات الغوافينزين

Y – E شرابات الزعتر

وتم العمل على جمع الطبخات المختلفة المتوفرة في السوق السورية، مع ترميز رقم الطبخة بجانب الحرف.

الجدول (1): العينات التي تم جمعها من السوق المحلية

الشركة	A	B	C	D	Y	E
الطبخات الدوائية	A1-A2-A3	B1-B2-B3	C1-C2-C3	D1-D2-D3	Y1-Y2-Y3	E1-E2-E3

تم اجراء الاختبارات التكنولوجية وهي: الفحوص العيانية-درجة الحموضة-الكثافة-اللزوجة، بالإضافة الى الاختبارات الميكروبيولوجية ومقايسة المادة الفعالة.

أجريت الفحوص التكنولوجية والميكروبيولوجية على العينات عند فتحها ومن ثم تم حفظها في درجة حرارة الغرفة حيث تمت محاكاة ظروف الاستخدام لدى المريض مع تكرار فتح واغلاق العبوات واعيدت الاختبارات بعد ثلاثة أشهر من الفتح.

- تم اجراء الفحوص الحسية كما يلي: [4]

-**اللون:** تم فحص اللون بالعين المجردة على خلفية بيضاء وتسجيل اللون الناتج.

-**الطعم:** تم فحص طعم الشراب بتذوق دون بلع وتسجيل الطعم الناتج.

-5 مل في أنبوب اختبار وفحص الشراب بشم رائحته وتسجيل الرائحة المستنشقة.
الرائحة: تم وضع

-**الرواق:** تم 5 مل في أنبوب واختبار الرواق مخبريا بفحص الشراب على خلفية سوداء.
وضع

- اما بالنسبة لاختبار الحموضة فقد تم اجراؤه من خلال وضع المسرى المخصص للقياس في كمية مناسبة من السائل تؤمن غمره وتم تسجيل رقم pH الناتج ومقارنته بالحدود الدستورية الخاصة بكل مادة دوائية.

- بالنسبة لقياس اللزوجة تم استخدام جهاز Viscometer بدرجة حرارة +-25 وبسرعة 40 دورة في الدقيقة وتسجيل القيمة بالسنتيبواز.
- ايضا اجري اختبار الكثافة على الشرابات من خلال وزن 10مل من السائل باستخدام ميزان الكتروني حساس ومن ثم تقسيم الوزن الناتج على 10.

لا يوجد لاختبارات الكثافة واللزوجة متطلبات دستورية محددة اذ تختلف قيمتها حسب المادة الفعالة والسواغات المستخدمة، لكن يجب ان يكون هناك تقارب في لزوجة وكثافة شرابات الشركة الواحدة.

- تمت مقايسة العينات الصنعية (برومكسين-غوايفنزين) باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء أما التيمول فقد تمت مقايسته باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازية الموجود في معمل ميديكو.

تمت مقايسة المواد الصنعية اعتمادا على الطريقة المتبعة في معمل ميديكو والمأخوذة من الدستور الأمريكي USP42: [4]

1-البرومكسين:

- العمود: m250 x 4.6:C18
- طول الموجة: 248nm
- التدفق: 1.2

- الطور المتحرك: هو مزيج مرشح ومنزع الغازات من الوقاء والاسيتونتريل بنسبة (40:60) على الترتيب وتم تحضير الطور المتحرك كما يلي:

تحضير الوقاء: تم استخدام وقاء من تري ايتيل امين 1% حيث تم اخذ 2.4 ملغ من تري ايتيل امين الى بيشر سعة 250 مل وحلها في 200 مل من الماء المعد للكروماتوغرافيا يضاف 0.5 مل من حمض الفوسفور 85% لضبط درجة الحموضة ل 3.5 ويمدد بالماء المعد للكروماتوغرافيا حتى 240 مل فنحصل على محلول الوقاء.

يضاف 160 مل من الاسيتونتريل المعد للكروماتوغرافيا الى المحلول السابق مع استمرار التحريك حتى التجانس الكامل للمحلول، ينقل المحلول الى جهاز الترشيح حيث يرشح من خلال مرشحة أبعادها 0.45 ميكرومتر، ثم تطرد منه الغازات باستعمال جهاز طرد الغازات باستخدام الأمواج فوق الصوتية.

- المذيب: وقاء – اسيتونتريل (40:60)
- زمن الاحتباس: 7min

2-الغوافنزين:

- العمود: ODS-3 (4.6x250) nm
- طول الموجة: 210nm
- التدفق: 1.2
- الطور المتحرك: هو مزيج مرشح ومنزوع الغازات من الوقاء والاسيتونتريل بنسبة (40:60) على الترتيب وتم تحضير الطور المتحرك كما يلي:

- تم أخذ 400mg من التكسابون الموزونة بدقة الى بيشر سعة 250 مل وحلها في 200 مل من الماء المعد للكروماتوغرافيا، يضاف 0.5 مل من حمض الفوسفور 85% لضبط درجة الحموضة حتى 2.5، ينقل المحلول الناتج الى دورق حجمي سعة 250 مل ويمدد بالماء المعد للكروماتوغرافيا حتى 250 مل فنحصل على الوقاء الفوسفاتي.
- يضاف 120 مل من الاسيتونتريل المعد للكروماتوغرافيا الى المحلول السابق مع استمرار التحريك حتى التجانس الكامل للمحلول، يوضع المحلول في جهاز طرد الغازات باستخدام الأمواج فوق الصوتية (التراسونيك) لكي يتم طرد الغازات منه.
- المذيب: (ماء: اسيتونتريل) – (40:60)
- زمن الاحتباس: 6min

3-الزعتر:

تم تطبيق الطريقة المتبعة في مختبرات ميديكو باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC المأخوذة من دراسة مرجعية أجريت في حلب، حيث اخذ لكل اختبار عبوة شراب كاملة ثم تم اجراء استخلاص باستخدام 10مل كلوروفورم، ثم فصلت الطبقة العضوية وأعيد الاستخلاص مرة أخرى بنفس حجم الكلوروفورم المستخدم في المرة الأولى، ثم اخذت الطبقة العضوية وتم تركها للراحة حتى تمام الفصل للتخلص من بقايا الطور المائي، بعد مرور فترة زمنية تم فصل الطور العضوي وتم الحقن في جهاز الكروماتوغرافيا الغازية. [5]

- **اختبارات التعداد الميكروبيولوجي:**

تم اجراء اختبار التعداد الميكروبيولوجي في المستحضر السائل باستعمال طريقة الفرش على السطح من أجل اختبار التلوث الميكروبيولوجي وفق الخطوات التالية [4]:

اختبار التعداد الكلي للجراثيم الهوائية:

1. يتم نقل 10 مل من الشراب المدروس الى دورق حجمي سعة 100 مل تحت حجرة Laminar Air Flowباستعمال أدوات وظروف عقيمة.
2. تمدد ب 90 مل من الوقاء الفوسفاتي PH=7.2 بحيث يتم تحقيق نسبة التمديد 10:1 وهي نسبة دستورية تحقق ابطال فعالية المواد الحافظة ثم تمزج جيدا.
3. يتم تعديل ال عند الضرورة وضبطها لتكون في المجال pH =6-8.
4. يؤخذ بعدها 0.5مل من كل عينة وتزرع باستعمال طريقة الفرش على السطح في أطباق بتري Soybean-Casein Digest Agar المحضرة، ويتم تكرار نفس العملية في طبق بتري اخر بحيث يكون لكل اختبار طبق بتري.
5. ويتم حضن الأطباق لمدة 24-48 ساعة عند درجة حرارة 37C̊ من أجل اختبار التعداد الجرثومي.
6. بعد انتهاء فترة الحضن، يتم فحص النمو الجرثومي في الأطباق حيث يتم عد المستعمرات وحساب المتوسط الحسابي للتعدادات في كل طبقين على شكل عدد المستعمرات في الميليلتر الواحد من العينة.

اختبار التعداد الكلي للخمائر والفطور:

1. يتم نقل 10مل من الشراب المدروس الى دورق حجمي سعة 100مل تحت حجرة Laminar Air Flowباستعمال أدوات وظروف عقيمة.

2. تمدد ب 90مل من الوقاء الفوسفاتي PH=7.2بحيث يتم تحقيق نسبة التمديد 10:1 وهي نسبة دستورية تحقق ابطال فعالية المواد الحافظة ثم تمزج جيدا.
3. يتم تعديل ال pH عند الضرورة وضبطها لتكون في المجال PH=6-8.
4. يؤخذ بعدها 0.5مل من كل عينة وتزرع باستعمال طريقة الفرش على السطح في أطباق بتري من الآغار سابورود-دكستروز Sabouraud Dextrose Agar المحضرة، ويتم تكرار نفس العملية في طبق بتري آخر بحيث يكون لكل اختبار طبق بتري.
5. ويتم حضن الأطباق لمدة 48-72 ساعة عند درجة حرارة 25c لاختبار التعداد الفطري.

النتائج والمناقشة:

1- الفحوص الحسية:

الجدول:(2) نتائج الفحوص الحسية لشرابات البرومكسين

رمز العينة	اللون	الرائحة	الطعم	الرواق
A1	**اصفر فاتح**	**رائحة الفراولة**	**مر**	**رائق**
A2	**اصفر فاتح**	**رائحة الفراولة**	**مر**	**رائق**
A3	**اخضر فاتح**	**سكرية**	**حلو**	**رائق**
B1	**أخضر فاتح**	**سكرية**	**حلو**	**رائق**
B2	**شفاف**	**رائحة الليمون**	**حلو**	**رائق**
B3	**شفاف**	**رائحة الليمون**	**حلو**	**رائق**

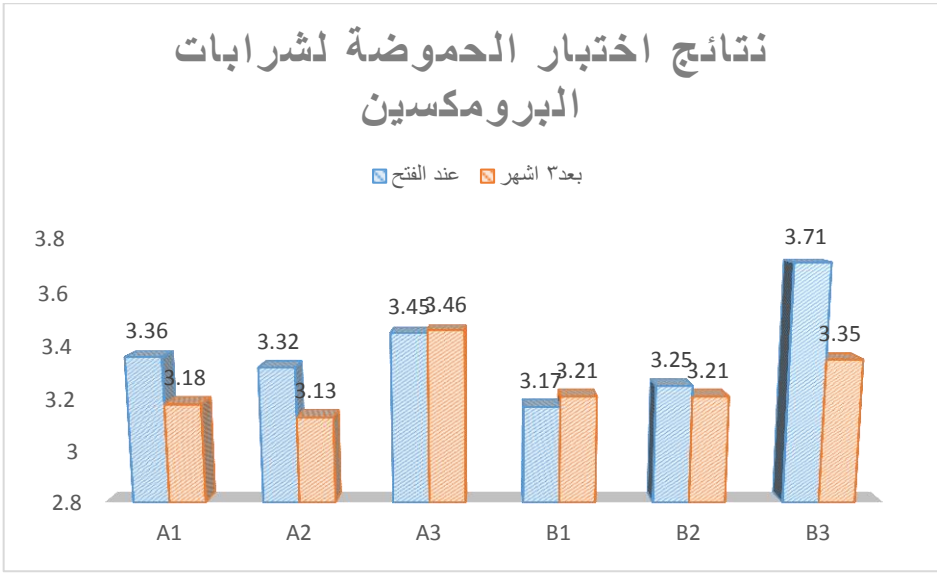
الجدول(3) : نتائج الفحوص الحسية لشرابات الغوافينزين

رمز العينة	اللون	الرائحة	الطعم	الرواق
C1	**شفاف**	**سكرية**	**حلو**	**عكر بسيط**
C2	**شفاف**	**سكرية**	**حلو**	**رائق**
C3	**اخضر**	**منتول/نعناع**	**نعناع**	**رائق**
D1	**اخضر**	**منتول/نعناع**	**نعناع**	**رائق**
D2	**اصفر**	**سكرية**	**حلو**	**رائق**
D3	**اصفر**	**سكرية**	**حلو**	**رائق**

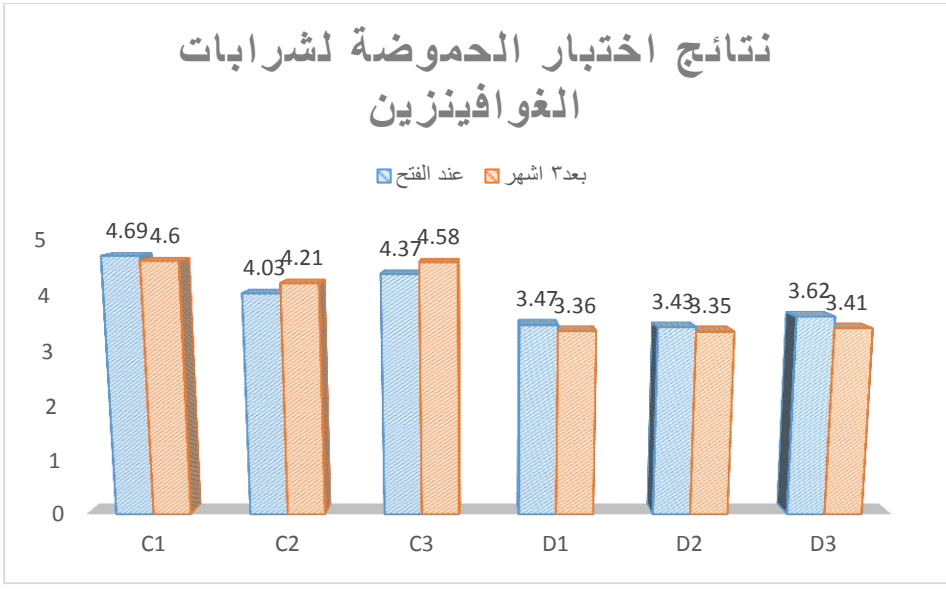
الجدول(4) : نتائج الفحوص الحسية لشرابات الزعتر

رمز العينة	اللون	الرائحة	الطعم	الرواق
Y1	**اصفر**	**زعتر**	**لاذع**	رائق
Y2	**اصفر**	**زعتر**	**لاذع**	رائق
Y3	**اصفر**	**زعتر**	**لاذع**	رائق
E1	**بني**	**زعتر**	**حلو**	رائق
E2	**بني**	**زعتر**	**حلو**	رائق
E3	**بني**	**زعتر**	**حلو**	رائق

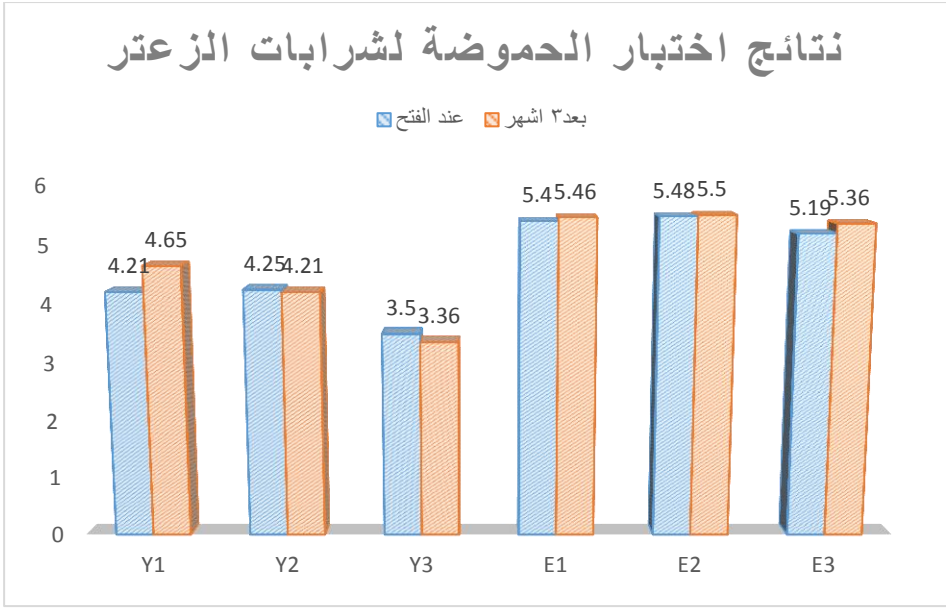
2- درجة الحموضة:



الشكل1: نتائج اختبار الحموضة لشرابات البرومكسين

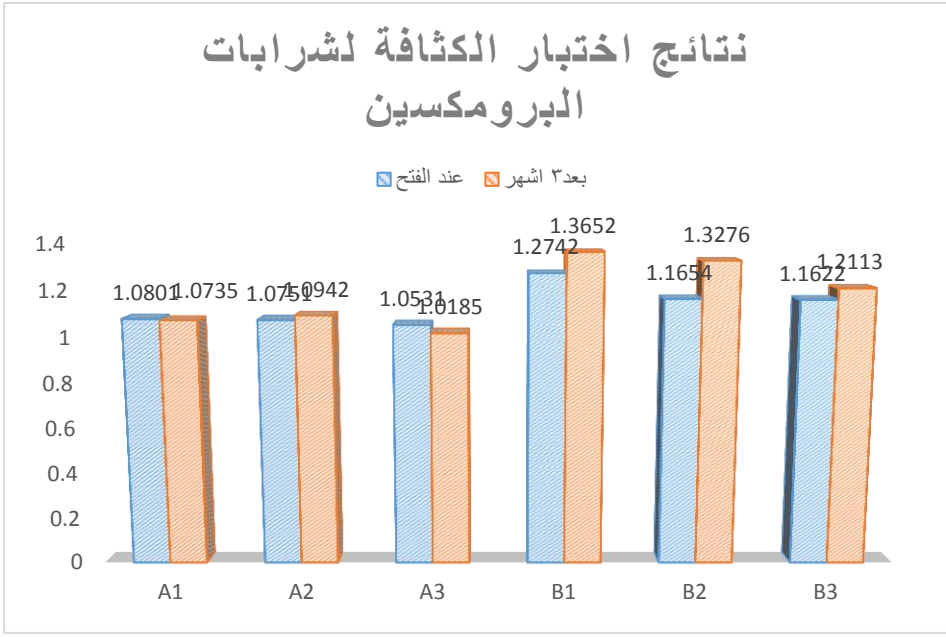


الشكل2: نتائج اختبار الحموضة لشرابات الغوافينزين

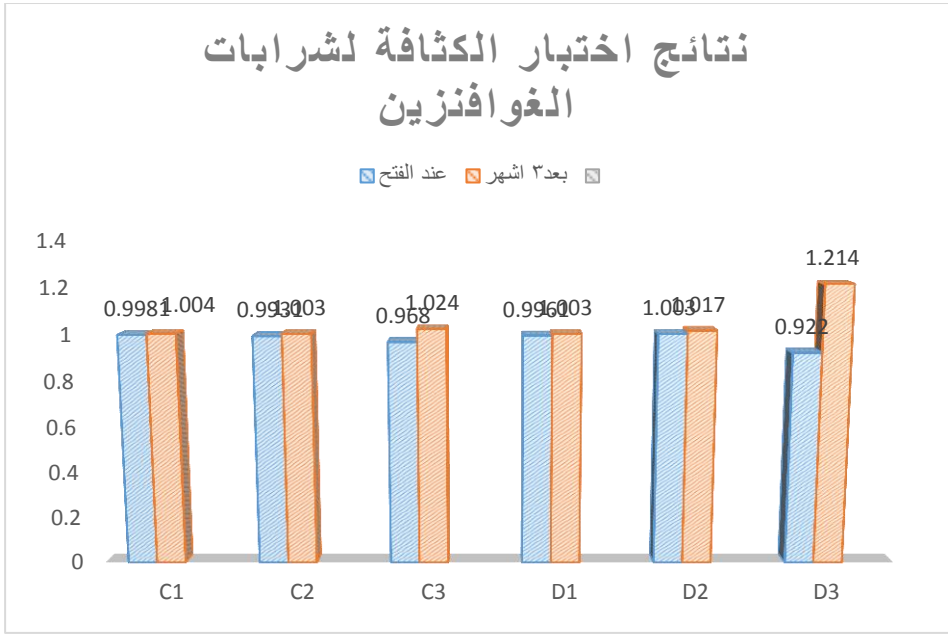


الشكل3: نتائج اختبار الحموضة لشرابات الزعتر

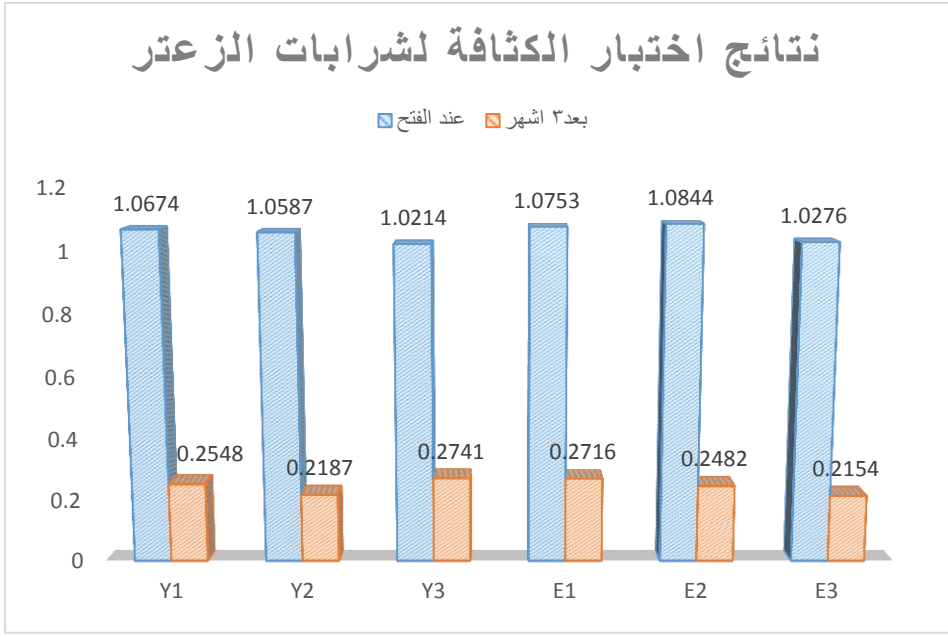
3- اختبار الكثافة:



الشكل4: نتائج اختبار الكثافة لشرابات البرومكسين

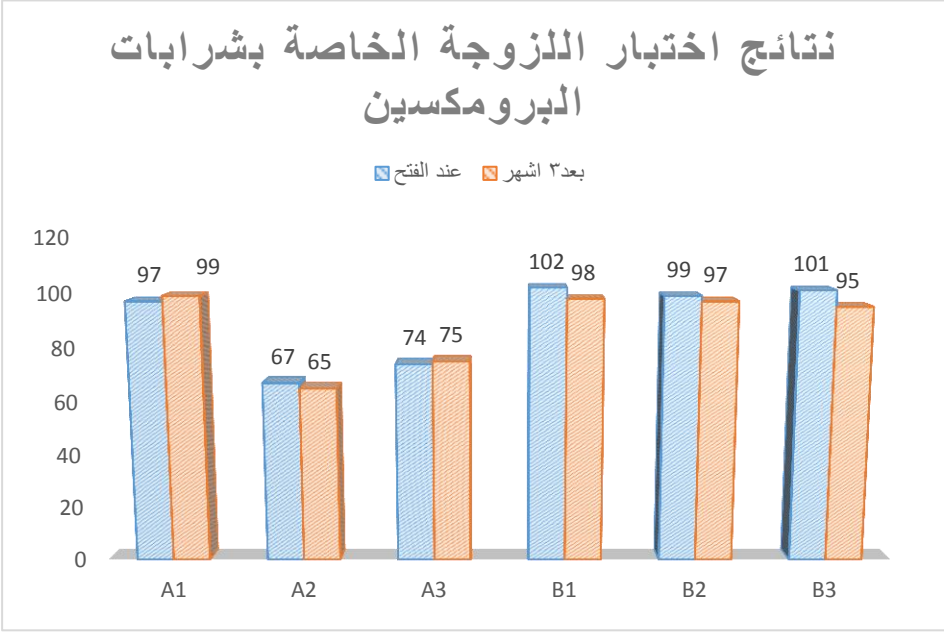


الشكل5: نتائج اختبار الكثافة لشرابات الغوافينزين

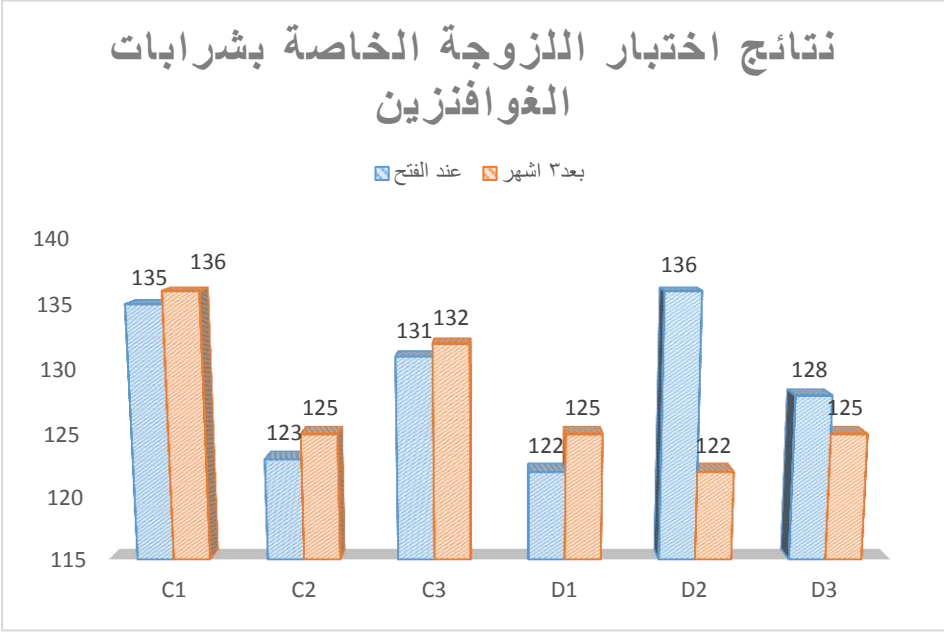


الشكل6: نتائج اختبار الكثافة لشرابات الزعتر

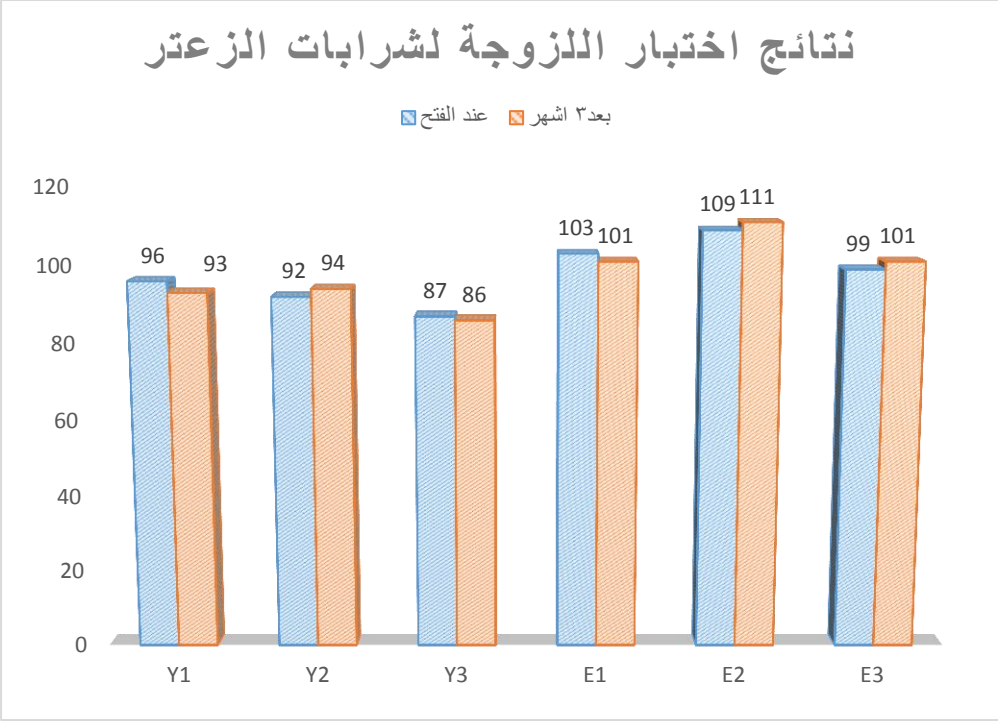
4- اختبار اللزوجة:



الشكل7: نتائج اختبار اللزوجة لشرابات البرومكسين



الشكل8: نتائج اختبار اللزوجة لشرابات الغوافينزين



الشكل9: نتائج اختبار اللزوجة لشرابات الزعتر

5- الاختبارات الميكروبيولوجية:

الشرابات الصنعية:

تعداد الجراثيم العام:

Sample	عند الفتح	بعد 3 اشهر
A1	0	0
A2	0	0
A3	0	0
B1	0	0
B2	0	0
B3	0	0
C1	0	0
C2	0	0
C3	0	0
D1	0	0
D2	0	0
D3	0	0

الجدول 5: نتائج التعداد العام للجراثيم للشرابات الصنعية

تعداد الفطور العام:

Sample	عند الفتح	بعد 3 اشهر
A1	0	0
A2	0	0
A3	0	0
B1	0	0
B2	0	0
B3	0	0
C1	0	0
C2	0	0
C3	0	0
D1	0	0
D2	0	0
D3	0	0

الجدول6: نتائج التعداد العام للفطور للشرابات الصنعية

الشرابات العشبية:

تعداد الجراثيم العام:

Sample	عند الفتح	بعد 3 اشهر
Y1	0	0
Y2	0	0
Y3	0	0
E1	0	0
E2	0	0
E3	0	0

الجدول7: نتائج التعداد العام للجراثيم للشرابات العشبية

تعداد الفطور العام:

Sample	عند الفتح	بعد 3 اشهر
Y1	0	0
Y2	0	0
Y3	0	0
E1	0	0
E2	0	2
E3	0	3

الجدول8: نتائج التعداد العام للفطور للشرابات العشبية

6- نتائج مقايسة المادة الفعالة:

الطرق المستخدمة Validated مسبقا لذلك تم اجراء ملائمة للنظام فقط.

تم تكرار الحقن ثلاثة مرات وحساب الانحراف المعياري النسبي لتكرارية الحقن.

يجب ألا يكون الانحراف المعياري النسبي لتكرارية الحقن أقل من 2%.

تم حقن العينات وحساب المساحة تحت القمة في كل تكرار ومن ثم حساب متوسط هذه المساحات واجراء الحسابات اللازمة، فكانت النتائج كما يلي:

مقايسة البرومكسين:

الجدول9: نتائج اختبار ملائمة النظام باستخدام عياري البرومكسين

العياري	AUC	زمن الاحتباس
1	4559730	4.996
2	4559813	4.960
3	4562018	4.966
المتوسط	**4560520.3**	**4.974**
Std.Dev	**1297.6811**	**0.019287**
RSD%	**0.028**	**0.387756**

الجدول (10): نتائج مقايسة شرابات البرومكسين

العينة	عند الفتح	بعد3أشهر
A1	105.91%	104.21%
A2	106.06%	104.75%
A3	105.34%	103.21%
B1	84.81%	83.55%
B2	85.42%	83.7%
B3	88.17%	85.26%

مقايسة الغوافينزين:

الجدول 11: نتائج اختبار ملائمة النظام باستخدام عياري الغوافينزين

العياري	AUC	زمن الاحتباس
1	3538575	3.279
2	3547353	3.280
3	3529545	3.278
المتوسط	**3538491**	**3.279**
Std.Dev	**8904.2972**	**0.001**
RSD%	**0.252**	**0.030497**

الجدول (12): نتائج مقايسة شرابات الغوافينزين

العينة	عند الفتح	بعد3اشهر
C1	101.03%	100.2%
C2	101.41%	101.6%
C3	102.11%	101.5%
D1	99.77%	96.69%
D2	99.9%	97.48%
D3	98.94%	96.54%

مقايسة الزعتر:

الجدول 13: نتائج اختبار ملائمة النظام باستخدام عياري التيمول

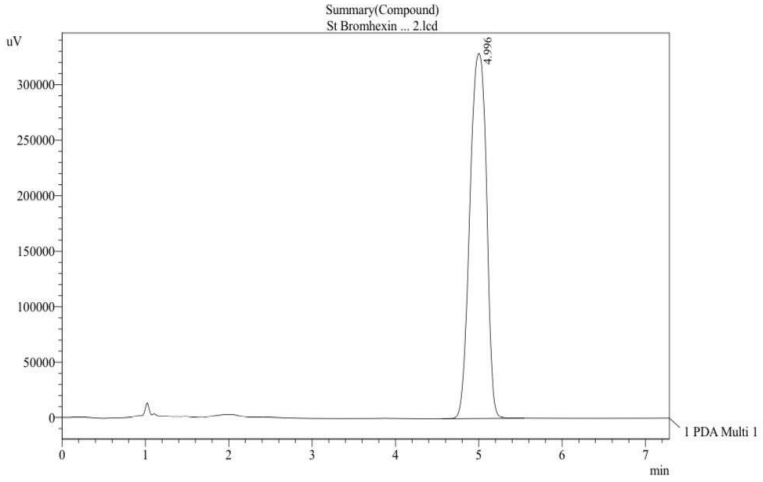
العياري	AUC	زمن الاحتباس
1	6183760	12.869
2	6210335	12.868
3	6129545	12.870
المتوسط	**6174546.6**	**12.869**
Std.Dev	**41175.48**	**0.001**
RSD%	**0.66685**	**0.007771**

الجدول (14): نتائج مقايسة شرابات التيمول

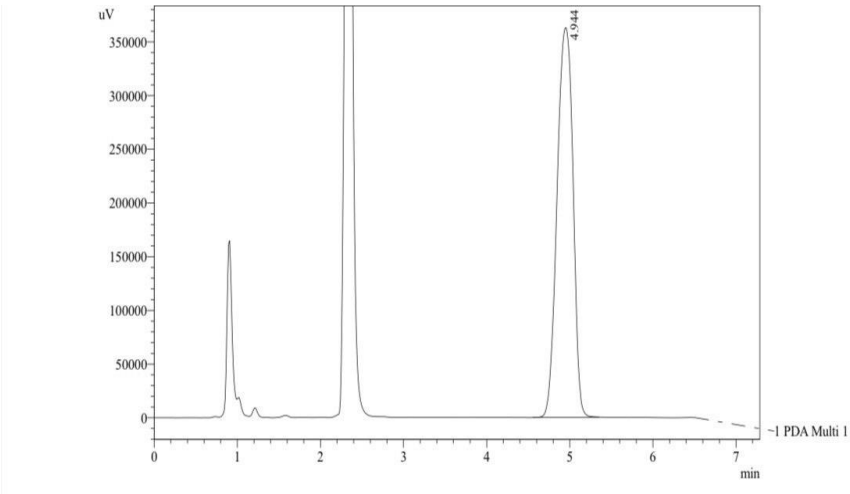
العينة	عند الفتح	بعد3اشهر
Y1	95.99%	89.32%
Y2	96.98%	89.14%
Y3	95.98%	90.12%
E1	91.49%	89.59%
E2	90.14%	75.18%
E3	90.21%	88.36%

وفيما يلي بعض الكروماتوغرامات الناتجة:

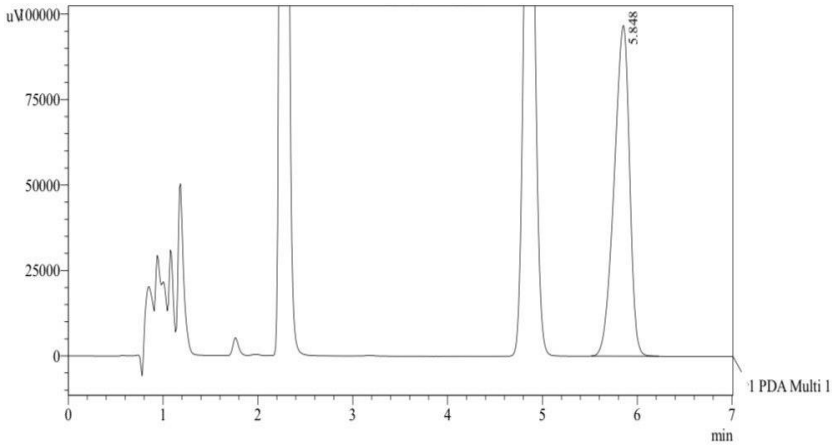
الشكل 10: أحد كروماتوغرامات الشاهد الخاص بالبرومكسين STD:



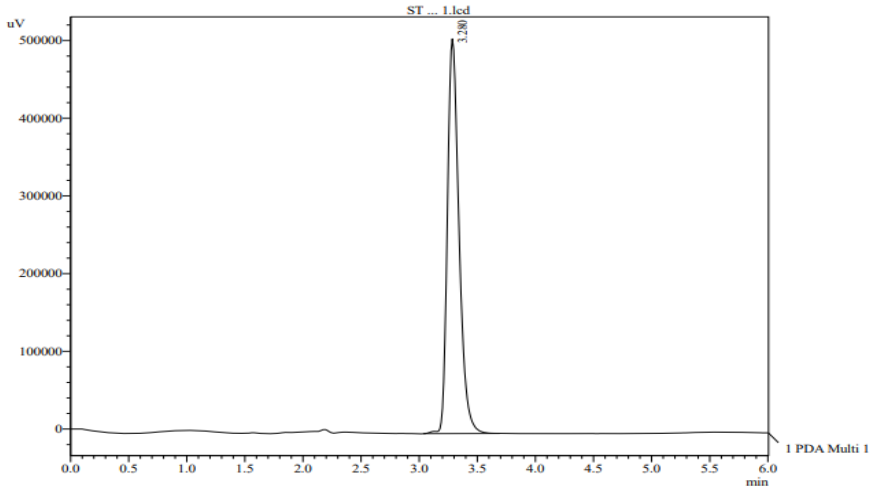
الشكل 11: كروماتوغرام العينة A1



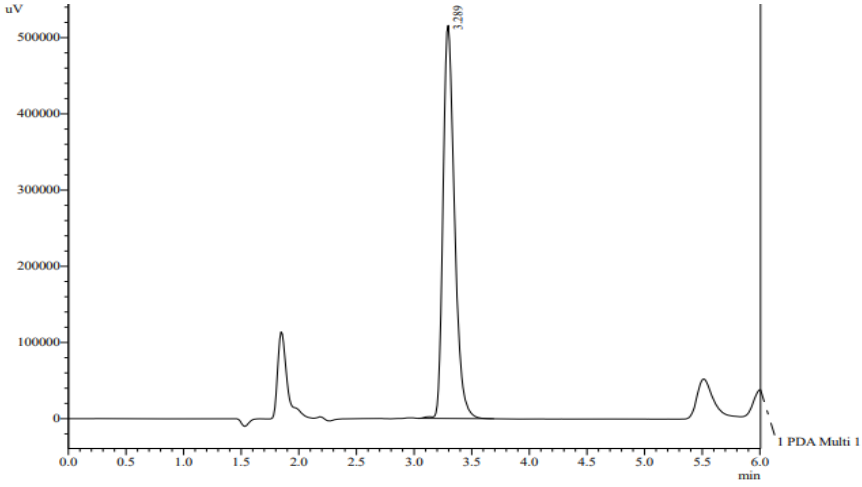
الشكل 12: كروماتوغرام العينة B1



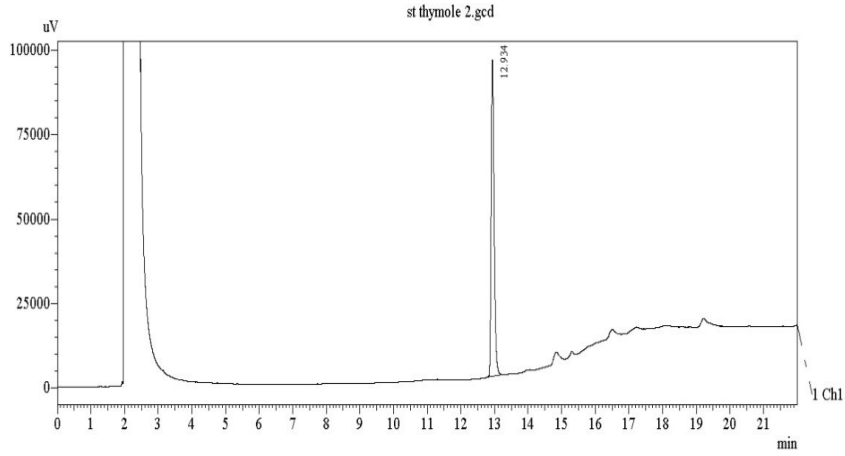
الشكل13: أحد كروماتوغرامات الشاهد الخاص بالغوافنزين STD:



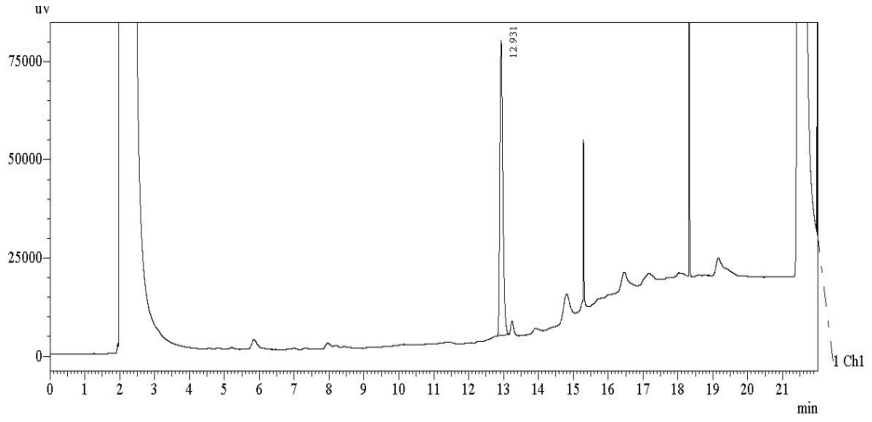
الشكل 14: كروماتوغرام العينة D1



الشكل 15: أحد كروماتوغرامات الشاهد الخاص بالتيمول STD:



الشكل 16: كروماتوغرام العينة E1



مناقشة النتائج:

- **الفحوص الحسية:** لوحظ وجود عكر بسيط في العينة C1 وتفاوت في اللون بين طبخات الشركة D لكن جميع الشرابات الأخرى كانت ذات فحوص عيانية جيدة وهذا يتوافق مع دراسة اجراها Ali G. Al-Kaf1 وزملاؤه عام 2015 عل بعض شرابات السعال لتقييم الفحوص الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية وكانت النتائج مقبولة لجميع العينات مما يدل على التزام الشركات بممارسات التصنيع الجيد.[6]
- **اختبار الحموضة:** جميع العينات كانت ضمن الحدود الدستورية المسموح بها واجتازت الاختبار بنجاح وبقيت كذلك حتى 3 أشهر.

ان قيم الpH الخاصة بالعينات المدروسة عند الفتح وبعد 3 أشهر متقاربة وضمن الحدود الدستورية وذلك حسب الدراسة التي اجراها Bamise C.T. 1 وزملاؤه على بعض شرابات السعال في نيجيريا حيث تراوحت قيم الpH بين (3.06-8.4)،[7]

أما بالنسبة الى الحدود الدستورية الخاصة بالبرومكسين فهي بين (3-5) وذلك حسب دستور الأدوية الياباني،[8]

أيضا نذكر الحدود الدستورية الخاصة بالغوافينزين فهي (2.3-3) وذلك في حال الشرابات الخاصة بالغوافنزين[9] لكن في دراستنا كانت العينات المستخدمة تحتوي على مشاركة دوائية بين الغوافنزين والسالبوتامول، ان افضل وسط للحفاظ على ثبات السالبوتامول هو عند درجة حموضة حوالي 4.5.[10] وبالتالي الشرابات المدروسة كانت ضمن الحدود الدستورية.

بالنسبة الى التيمول فلم يذكر أي دستور درجة الحموضة المحددة لكن باعتبار التيمول يصنف كحمض ضعيف فمن المرجح ثباته ضمن الأوساط الحمضية وبالتالي يمكن اعتبار pH الشرابات المدروسة مقبولا. تعتبر درجة الحموضة من المعايير الأساسية

لجودة الشرابات الصيدلانية لما له من دور مهم في انحلالية المستحضرات الصيدلانية السائلة عامة والشرابات خاصة بالإضافة لدورها على الثباتية الميكروبيولوجية وذلك وحسب دراسة أجريت بهدف تحديد درجة حموضة مجموعة من المستحضرات الفموية السائلة كمعيار جودة هام بالنسبة لهذه الأشكال.[11]

- **اختبار الكثافة:** لا توجد متطلبات دستورية محددة لاختبار الكثافة اذ تختلف قيمتها حسب المادة الفعالة والسواغات المستعملة لكن يجب ان يكون هناك تقارب في قيم كثافة طبخات الشركة الواحدة وبالتالي جميع الشرابات تجاوزت الاختبار بنجاح.

لوحظ انخفاض في كثافة الشرابات العشبية بعد 3 أشهر من الفتح ويرجح ذلك الى انخفاض تركيز المادة الفعالة وخروجها عن الحدود الدستورية المسموح بها وهذا ما يتوافق مع دراسة أجريت في جامعة فلوريدا حيث تم اجراء اختبار على الماء الحاوي على ملح كلوريد الصوديوم وتبين في نهاية الدراسة وجود علاقة طردية بين الكثافة والتركيز.[12]

وللتأكد من وجود علاقة بين الكثافة والتركيز تم اجراء دراسة إحصائية باستخدام معامل الارتباط بيرسون person باستخدام برنامج SPSS ووجدت نتائج الاختبار وجود ارتباط ذو دلالة إحصائية معنوية بين الكثافة والمقايسة بالنسبة لجميع المستحضرات المدروسة.

- **اختبار اللزوجة:** لا توجد متطلبات دستورية محددة لاختبار اللزوجة اذ تختلف قيمتها حسب المادة الفعالة والسواغات المستعملة لكن يجب ان يكون هناك تقارب في قيم لزوجة طبخات الشركة الواحدة بالنسبة للدراسة الحالية وبالمقارنة بين لزوجة شرابات الشركات المدروسة عند الفتح نلاحظ ان هناك انخفاض في لزوجة العينة A2 بالمقارنة A1 و A3 العائدتين الى مادة البرومكسين، أيضا لوحظ وجود تفاوت في

قيم لزوجة شرابات الغوافينزين حيث كانت العينة C2 تملك قيم لزوجة أقل من الطبخات الأخرى وكانت العينة D2 ذات لزوجة أعلى من طبخات الشركة D وتم تأكيد ذلك بالدراسة الإحصائية حيث كانت Sig<0.05 للعينات المدروسة وبالتالي الفروق معنوية، يمكن تفسير التغير في لزوجة أصناف الشركة الواحدة قد يكون نتيجة اختلافات أثناء التحضير مثل تفاوت درجة تنعيم المواد الأولية قبل استعمالها في عملية تحضير الشراب وبالتالي حجم جزيئات أكبر وبالتالي لزوجة أعلى، أو بسبب تفاوت في درجة الحرارة أثناء تحضير كل طبخة دوائية مما يؤدي الى اختلاف في اللزوجة.[13]

أيضا وجدت اختلافات بين شرابات الشركات المتخلفة لنفس المادة الدوائية حيث كانت العينة D2 تملك قيم اللزوجة الأعلى في شرابات الغوافينزين بينما كانت العينة C2 تملك قيم لزوجة منخفضة وهذا الفرق معنوي تم تأكيده احصائيا، أيضا شرابات التيمول امتلكت العينة E2 قيمة اللزوجة الأعلى بينما كانت العينة Y3 ذات اللزوجة الأقل.

يمكن تفسير تفاوت اللزوجة بين مستحضرات الشركات المختلفة لنفس المادة الفعالة عند الفتح باختلاف تركيز المادة الفعالة والسواغات المستخدمة بين عينات كل شركة [14]، وظهر هذا الاختلاف عند مقايسة المواد الفعالة في العينات المدروسة حيث ظهرت في الكروماتوغرامات قمما مختلفة بين الشركات تدل على اختلاف السواغات المستخدمة.

أما بالنظر لقيم اللزوجة أثناء عمر الاستخدام وبعد 3 أشهر من الحفظ في درجة حرارة الغرفة فقد لوحظ أن الشرابات أبدت انخفاض طفيف في اللزوجة قد يعزى هذا الانخفاض الى ارتفاع درجة حرارة الجو المحيط والانتقال من فصل الشتاء الى فصل الربيع حيث أن اللزوجة تتأثر بعدة عوامل ومن بينها ارتفاع درجة الحرارة الذي يؤدي الى زيادة الطاقة

الحركية للجزيئات والتغلب على قوى الجذب فيما بينها مما يسبب ارتفاع معدل التدفق وبالتالي انخفاض اللزوجة.[21]

- **الاختبارات الميكروبيولوجية:**

  - الشربات العشبية: كانت العينات خالية من النمو الفطري والجرثومي عند الفتح وبعد 3 أشهر لم يلاحظ أي نمو ميكروبي حيث ان جميع العينات بقيت محافظة على النتائج مع ظهور نمو فطري في عينات الشركة E لكن ضمن الحدود الدستورية المسموح بها.

ان وجود حمل ميكروبي ضمن الحدود الدستورية في الشرابات العشبية قد يعود الى طبيعة المادة الفعالة المضادة للميكروبات حيث بين العديد من الدراسات أن لوجود التيمول والمنتول دور هام في التقليل من حدوث نمو فطري أو جرثومي.[15]

حيث ذكرت دراسة مرجعية أن التيمول يعتبر إضافة هامة كعامل مضاد للبكتريا وأنه يمكن أن يعمل بشكل تآزري من المضادات الحيوية إضافة الى استخدامه في طب الأسنان.[16]

- الشرابات الصنعية: جميع العينات كانت خالية من النمو الفطري والجرثومي عند الفتح وبعد 3 أشهر لم يلاحظ أي نمو ميكروبي حيث ان جميع العينات بقيت محافظة على النتائج.

يمكن تفسير غياب النمو الميكروبي في الشرابات الصنعية بـ:

- فعالية المادة الحافظة وجودتها الجيدة إضافة الى نظام حفظ فعال.
- اعتماد ممارسات التصنيع الجيد GMP من قبل الشركات المصنعة وتطبيق أنظمة فعالة لمراقبة الجودة وهذا يتوافق مع دراسة أجريت في نيجيريا حيث كان

التعـداد الميكروبــي للمستحضـرات الفمويــة الســائلة المدروســة ضــمن الحــدود الدستورية بالإضافة الى خلوها من الجراثيم الممرضة.[17]

- **اختبارات المقايسة:**

نلاحظ أن قيمة RSD (Relative Standard Deviation) الناتجة أقل من 2%.

الحدود الدستورية للمادة الفعالة ضمن الشرابات هي (90–110%)

- **الشرابات الصنعية:**

الشركة A: جميع العينات ضمن الحدود الدستورية.

الشركة B: جميع العينات خارج الحدود الدستورية.

الشركة C: جميع العينات ضمن الحدود الدستورية.

الشركة D: جميع العينات ضمن الحدود الدستورية.

ان انخفاض تركيز الشركة B عند الفتح يشير الى عدم التزام الشركة المصنعة بالتراكيز المسموح بها لتحقيق الفعالية المطلوبة أو ان المادة الفعالة قد تخربت أساسا قبل الفتح.

ان البرومكسين وحسب دستور الأدوية الأوروبي [18] يجب أن يحفظ بعيدا عن الضوء وبالتالي من الممكن ان يكون قد تعرض لظروف تخزين غير مناسبة أثناء عمر الرف أو النقل والتخزين، وهنا نذكر الظروف المثلى لتخزين الشرابات الدوائية حيث يجب أن حفظها ضمن زجاجات مغلقة بشكل جيد في مكان بارد ومظلم وبدرجة حرارة لاتتجاوز 25 درجة مئوية.[19]

- **الشرابات العشبية:**

الشركة Y: جميع العينات ضمن الحدود الدستورية عند الفتح لكنها خرجت عنها بعد 3 أشهر باستثناء العينة Y3 حيث اصبحت في الحدود الدنيا.

الشركة E: جميع العينات ضمن الحدود الدستورية عند الفتح وجميعها خرجت عنها بعد 3 أشهر.

قد يعود انخفاض تركيز التيمول وخروجه عن الحدود الدستورية في الشهر الثالث الى حفظ الشرابات بعد الفتح في درجة حرارة الغرفة مما أدى الى تخرب التيمول، وهذا يتوافق مع دراسة مرجعية في ايران قام باجراؤها Seyedeh Fariba Mohammadian Yasuj1 وزملائه على الزيوت المستخلصة من الزعتر ومن بينها التيمول، حيث تمت دراسة ثباتية هذه الزيوت في ظروف جوية مختلفة على مدى 3 أشهر، بالنسبة للتيمول فقد كان ثابتا في الشهرين الأول والثاني أما في الشهر الثالث فقد حدث انخفاض ملحوظ في التركيز في جميع الظروف الحرارية لكن الانخفاض الأكبر كان عند حفظه في درجة حرارة الغرفة أما أفضل شرط للحفظ فهو في الثلاجة.[20]

أيضا في تسعينيات القرن الماضي بيَن Boccardi, G وزملائه أن معظم المستحضرات الصيدلانية تتعرض للاكسدة الذاتية حيث أن الضوء والمعادن مثل الحديد والنحاس موجود في كل مكان ولا يمكن ازالتها بشكل تام أثناء او بعد اصطناع الدواء والسواغات وبالتالي فعملية الأكسدة متوقعة في معظم التراكيب الدوائية[21]، وهذا يتوافق مع شروط حفظ التيمول حيث يجب أن يحفظ في عبوات عاتمة وبعيدا عن الضوء وبالتالي يمكن القول أن التيمول قد تعرض للاكسدة بفعل الضوء.[22]

الخلاصة والتوصيات conclusion and Recomendations:

يمكن استخدام شرابات السعال الصنعية لأكثر من ثلاثة أشهر، أما الشرابات العشبية فلا يجب استخدامها أكثر من ثلاث أشهر كحد أقصى.

نوصي بتوسيع دراسات الثبات والأبحاث على شرابات عشبية أخرى، كما نوصي بزيادة المراقبة الدوائية على المستحضرات العشبية وغير العشبية.

المراجع References:

1-Ali G. Al-Kaf*, Saeed M. Alghalibi, Wadhah H. Edrees , (2015) Evaluation of microbial and physico-chemical qualities of some cough syrups marketed in sana,a city, Yemen, Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 3 (4), 92-99.

أ.د.محمد عام ارلماردیني ،2014- المراقبة الدوائية- **منشورات جامعة دمشق كلية الصيدلة-2**

3-The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Note For Guidance On In-Use Stability Testing Of Human Medicinal Products [Internet]. COMMITTEE FOR PROPRIETARY MEDICINAL PRODUCTS (CPMP); 2001.

4-USP 42 - NF 37 The United States Pharmacopeia and National Formulary (2019).

5-Raghad Helaliy1, Fadi Alrouh2, Saleh Trefi1, Yaser Bitar1, Determination Thymol in Thyme extract and its Pharmaceutical forms by using Gas Chromatography method, Research J. Pharm. and Tech 2020; 13(9):4055-4060.

6- Ali G. Al-Kaf1 *, Saeed M. Alghalibi2 , Wadhah H. Edrees2,(2015) Evaluation of microbial and physico-chemical qualities of some cough syrups marketed in Sana'a city, Yemen, 5 Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 3 (4), 92-99.

7- Bamise C.T. , Esan T.A., Oziegbe E.O., Alo I.F. pH and Titratable Acidity of different Cough Syrups in Nigeria. Tanz Dent J 2014, 18(2): 49 – 55

8- *"業務のご案内 2012-2013" (PDF). Pharmaceuticals and Medical Devices Agency.*

9- **United States Pharmacopeia**.,2015- National Formulary and its supplements, USP39

10- World intellectual property organization,international publication date 10 march 2011,oral liquid formulation comprising salbutamol and guaifenesin.

11- Vàzquez – Blanco S., Gonzàlez– Freire ., 2018. pH determination as a quality stander for the elaboration of oral liquid compounding Formula

12- University of Florida Chemistry Outreach Program Liquid Density Lab.

13- Niazi S. Handbook of Pharmaceutical manufacturing formulations: Liquid Products. Informa Healthcare. New York, USA; 2009

14- Rowe R, Sheskey P, Quinn M. Handbook of Pharmaceutical Excipients. The Pharmaceutical Press. The Pharmaceutical Press. 6th Edition. Washington, USA; 2007. 442p.

15- Fatema Nour Jazmati a,*, Saleh Trefi a, Ali Ibrahim b, Yaser Bitar a.Microbial evaluation of some syrups in Syrian pharmacies. Heliyon 8 (2022) e09366.

16- A. Marchese, I.E. Orhan, M. Daglia, R. Barbieri, A. Di Lorenzo, S.F. Nabavi,

O. Gortzi, M. Izadi, S.M. Nabavi, Antibacterial and antifungal activities of

thymol: a brief review of the literature, Food Chem. 210 (2016 Nov 1)402–414.

17- Osungunna M. Evaluation Of Microbial Quality Of Selected Blister-Packed Paracetamol Tablets And Paracetamol Syrups Marketed In Nigeria. 17th ed. 2016;151-8.

18- European Pharmacopeia, 8th Edition, 2013. Strasbourg: Council of Europe.

19- Kausar Shafaat, Brajesh Kumar, AN OVERVIEW: STORAGE OF PHARMACEUTICAL PRODUCTS, Article in World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences · October 2013.

20- Seyedeh Fariba Mohammadian Yasuj1, Sharareh Najafian2* and Mehdi Hosseinifarahi1,3,Investigating the Storage Conditions of the Essential Oil Compounds of Garden Thyme, Journal of Medicinal Plants and By-products (2024) 1: 87-94

21-Intermolecular Forces In Action- Surface Tension, Viscosity, and Capillary Action. 2019; Available from: https://chem.libretexts.org/@go/page/161426

21- Boccardi, G.; Deleuze, C.; Gachon, M.; Palmisano, G.; Vergnaud, J.P. Autoxidation of Tetrazepam in Tablets: Prediction of Degradation Impurities from the Oxidative Behavior in Solution. J. Pharm. Sci. 1992, 81, 183–185.

22-Sweetman SC. Martindale: The Complete Drug Reference. 33th ed. London: Pharmaceutical Press; 2002.