DEVELOPMENT AND APPLICATION OF NON-PARAMETRIC AND ROBUST LINEAR REGRESSION METHODS FOR THE ANALYSIS OF SOME NUTRACEUTICALS AND DIETARY SUPPLEMENTS

A Thesis

presented to

Faculty of Pharmacy, University of Alexandria

In Partial fulfillment of the Requirements For the Degree

of

Doctor of Philosophy

In

Pharmaceutical Sciences

(Pharmaceutical Analytical Chemistry)

By

Miranda Fawzy Kamal Younis

B. Pharm. Sci., University of Alexandria, 2005

Master of Pharmaceutical Sciences (Pharmaceutical Analytical Chemistry), Alexandria University, 2011

Department of Pharmaceutical Analytical Chemistry

Faculty of Pharmacy, University of Alexandria

Egypt

2016

P.U.A. Library
Library C
Faculty of : Ph.D.M
Serial No. 178
Classification 615.1

الملخص العربي

تتناول الرسالة بصفة عامة استنباط طرق قياسية كيميائية (كيمومترية) حديثة ذات كفاءة عالية في ظروف تحليل غير مثالية و كيفية توظيف مثل هذه الطرق لتحليل بعض المغذيات الدوائية و المكملات الغذائية. فهى تشتمل علي استخدام طرق إحصائية مرنة لابارامترية للانحدار الخطي لتقييم نتائج التحاليل. كما تتناول الرسالة استخدام طرق الذكاء الاصطناعى و الشبكات العصبية الاصطناعية في التعيين الكمى لبعض المخاليط الصيدلية. تم توثيق المصداقية بالكامل للطرق المقترحة بالتوافق مع إرشادات مؤتمر التوافق الدولي وعناصر المصادقة التابعة لدستور الأدوية الأمريكي.

وتتكون الرسالة من ثلاثة أجزاء رئيسية:

الجزء الاول

وهذا الجزء أساسي للتمهيد لبداية الرسالة فهو يحتوي على مقدمة لشرح المعنى اللفظي لكلمة "المغذيات الدوائية" من تعريفه و تاريخ التسمية و بدء استخدام الغذاء كعلاج. كما يتناول تصنيف المغذيات الي المكملات الغذائية والأغذية الوظيفية و الأغذية الطبية و المغذيات الزراعية.

ويتضمن نبذة عن التركيب الكيميائى للمغذيات التى تم تناولها بالرسالة مع شرح لخواصها الفيزيائية و تأثيرها الأقربازيني. ويمتد هذا الشرح لذكر الطرق التقليدية و الكيمومترية المنشورة في التراث العلمي و التي تدور حول تحليل هذه المركبات في المستحضرات الصيدلية و السوائل البيولوجية.

الجزء الثانى

-الفصل الاول

يحتوي هذا الفصل على استنباط طرقيتين أحدهما ضوئية والأخري لصفية لتعيين عقار حامض الليبويك في صورته النقية و المستحضر الصيدلي (كبسولات). كما تم مصادقة هذه الطرق. الطريقة الأولى تعتمد علي تفاعل عقار حامض الليبويك مع كاشف الميربرومين (أو الميركيروكروم) حيث يمكن قياس ناتج التفاعل (مركب أحمر اللون) بطريقة طيفية مباشرة حيث تم قياس امتصاصه مباشرة عند طول موجة ٥٤٨ نم. ولقد تمت دراسة جميع العوامل المؤثرة في التفاعل السابق كل منها علي حدة. و ذكرت عناصر المصادقة بالتفصيل.

الطريقة الثانية تعتمد علي قياس التناقص اللصفي للميربرومين نتيجة لتفاعله مع عقار حامض الليبويك. حيث يتم قياس أطياف الاثارة و الانبعاث لمادة الميربرومين عند طول موجة ٢٩٥ و ٥١٦ نم علي التوالي. و قد تم حساب التناقص اللصفي بطرقيتين وهما Δ ف (ف°- ف) و نسبة ف (ف°/ ف) حيث أن ف° و ف هما القوة اللصفية للميربرومين قبل و بعد اضافة عقار حامض الليبويك علي التوالي. لقد تمت دراسة جميع العوامل المؤثرة في التفاعل السابق كل منها علي حدة و توافقت جميعها مع عوامل الطريقة الضوئية ما عدا تركيز كاشف الميربرومين المستخدم في كل طريقة منهما.

تم تقدير عقار حامض الليبويك في الكبسولات باستخدام الطريقيتين المقترحتين و الطريقة الرسمية المنشورة في دستور الأدوية الأمريكي و مقارنة نتائج التحليل بالطرق الثلاث و لم يكن هناك فرقا يؤخذ في الاعتبار بينهم.

-الفصل الثاني

و يتناول هذا الفصل طريقيتين مرنتين لابارامتريتين للانحدار الخطي و هما طريقة "أقل وسيط للتربيعات" و طريقة "أقل التربيعات المتكررة المعاد توازنها" وهما طريقيتان تعتمدان علي استخدام الوسيط الحسابي من حيث التعريفات و الأهداف و الحسابات الخاصة بهما و درجة ثباتهما و كل من المزايا و العيوب الناتجة عن تطبيقهما في مختلف المجالات عامة و في التحليل الدوائي خاصة. كما يحتوى علي برنامج الأداة بلغة "الماتلاب" الخاص بحساب كل منهما. ويمتد هذا التفصيل لعقد مقارنة بين كل من طريقة "أقل وسيط للتربيعات " و طريقة "أقل التربيعات" و التذكرة بأحدث الطرق المنشورة في التراث العلمي والتي تستخدم أي من الطرقيتين المقترحتين في التحليل الآلي أو معالجة البيانات الإحصائية.

و قد تم تطبيق هاتين الطريقتين المرنتين على نتائج التحليل اللصفي لعقار حامض الليبويك في حالتين خطيتين (مثالية و لا مثالية) ومقارنة النتائج مع نظيرتها بعد تطبيق طريقة " أقل التربيعات"(البارامترية) التي تعتمد في حسابتها علي الوسط الحسابي للانحدار الخطي. كما امتد هذا التطبيق ليشمل تحليل العقار في مستحضره الصيدلى. و قد أوضحت المقارنة تحسن هائل فى قيم معامل الارتباط و الحد الأدنى للكشف عن و تقدير العقار (حساسية الطريقة) و أيضا لوحظ تحسن كبير في عناصر تقويم الطريقة من حيث الدقة و الانضباط والنسب المئوية لتقدير العقار في الكبسولات.

وقد احتوى الجزء علي تمثيل بياني لتحليل النتائج باستخدام كل طريقة. كما تمت المقارنة بين الثلاث طرق المقترحة وأثبت التقييم الإحصائى وجود فرق خاصة في الحالة اللا مثالية. مما ترتب عليه تفضيل الطرق المرنة اللابارامترية للانحدار الخطي على الطريقة البارامترية المعتادة.

الجزء الثالث

-الفصل الاول

ويتناول هذا الجزء تقدير كلا من عقار الإيبيدكرنون (الإنزيم المساعد ك١٠) وعقار التوكوفيرول أسيتات (فيتامين ه) فى خليطهما الثنائى (المخاليط الصناعية و الأقراص) وقد تمثلت صعوبة تحليل هذا الخليط فى التشابه الكبير بينهما في التركيب الكيميائى و كل من الخواص الكيميائية و الفيزيائية و مما يترتب عليه من تشابه في السلوك الكروماتوجرافي. يعرض هذا الجزء طريقتين مختلفتين لتعيين هذا الخليط فى أقراصه وهما ؛

الطريقة الأولي: تعتمد على كروماتوجرافيا السائل ذات الكفاءة العالية لتعيين مخلوط ك١٠ و فيتامين ه . تم تحقيق الفصل الكروماتوجرافي بواسطة عمود الطور العكسي ك ١٨وقد تم تجربة أوساط متحركة مختلفة (وذلك بتغيير الجزء العضوي للجزء المائي في الوسط المتحرك) و اختيار أنسبهم (أسيتونيتريل و تتراهيدروفيوران و ماء مقطر بنسبة ٥٥:٤٠:٥ علي الترتيب) لفصل تلك المركبات كما تم تفسير عدم نجاح بعض الأوساط فى فصل المركبات المذكورة.

الطريقة الثانية : تعتمد على قياس الكثافة الضوئية للبقع المفصولة بطريقة كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة ذات الكفاءة العالية ، وقد أجريت دراسة معملية تفصيلية لاستنباط العوامل التى تؤثر فى فصل المركبات فى مخلوطها وتم اختيار أنسب وسط متحرك (بنزين و كلوروفورم بنسبة ٧:٣ علي الترتيب) لفصل تلك المركبات على طبقة ثابتة من السيليكا. كما تمت دراسة مدى نقاء البقع المفصولة (المنحنى الكروماتوجرافى) للمركبات المفصولة وذلك باستخدام منحنيات الامتصاص الطيفضوئية المستخلصة من المنحنى الكروماتوجرافى للبقع فى ثلاث نقاط وهى نقطة البداية ، أعلى ميل صاعد ، قمة الامتصاص، أعلى ميل هابط ونقطة نهاية الامتصا ص.

وقد تم تطبيق الطرق المقترحة في تحليل العقارين السابقين في عدد من المخاليط المعملية و في المستحضر الصيدلي. وجاءت النتائج مرضية و مشجعة و أظهرت أن الطرق المقترحة دقيقة و حساسة.

-الفصل الثاني

يبدأ هذا الفصل بتناول مصطلح جديد و هو " الاتجاه نحو الكيمياء الخضراء" من التعريف به وذكر أمثلة لتطبيقه في التحليل الكيميائى فيأتي بضرورة الاتجاه تدريجيا نحو الطرق القياسية الكيميائية الكيمومترية. ومن أحدث هذه الطرق ما تسمى بالشبكات العصبية الإصطناعية. و يتناول من التعريف بها و كيفية عملها و استخدامتها في مختلف المجالات. ثم يناقش استنباط طريقتين تعتمدان علي الطيف الضوئى لتقدير المركبين الإيبيدكرنون(الإنزيم المساعد ك١٠) و التوكوفيرول أسيتات (فيتامين ه) فى خليطهما الثنائى (المخاليط المعملية و الأقراص).

الطريقة الأولي: تضمن تقدير المركب الأول (الإنزيم المساعد ك١٠) عن طريق قياس دالة المشتق التفاضلى الأول عند طول موجة ٢٨٥ نم ، وهو التقاطع الصفري للمركب الثاني (فيتامين ه) ، وبالتبادل تم تقديرالمركب الثاني (فيتامين ه) بقياس دالة المشتق التفاضلى الأول عند طول موجة ٢٣٥ نم ، وهو التقاطع الصفري للمركب الأول (الإنزيم المساعد ك١٠)

الطريقة الثانية: تعتمد على تفصيل شبكة عصبية إصطناعية حديثة من أجل التعيين الكمى للعقارين (الإنزيم المساعد ك١٠ و فيتامين ه) فى المخاليط المعملية و المستحضر الصيدلي. وقد تم ذلك في ظروف غير مثالية للعقارين حيث نطاق تركيزات غير خطية ٠.١٠٠ و ٠.٥٥٦ لكل من ك١٠ و فيتامين ه علي الترتيب. وقد تم تكوين مجموعتين واحدة تضم مخاليط تدريبية مخلقة للشبكة الإصطناعية و هي تتكون من ٩٠ مخلوط أما المجموعة الأخري فهى تتكون من ٤٥ مخلوط و هي لمصادقة الشبكة. و عند تطبيق الطريقة الثانية أظهرت نتائج التحليل قدرة فائقة للشبكة من حيث الدقة و الانضباط إلي جانب السرعة الفائقة و كونها اقتصادية (غير مكلفة) و صديقة للبيئة.

وتنتهى الرسالة بتذييل يحتوى على الأجهزة المعملية والكواشف والمعايير الإحصائية ومعايير أداء كروماتوجرافيا السائل ذات الأداء العالي و المواد المستخدمة والمستحضرات الصيدلية فى مختلف أجزاء الرسالة. وكذلك تحتوى الرسالة على ملخص باللغة العربية وآخر بالإنجليزية وقائمة بالمراجع العلمية التى استخدمت فى البحث ، وتقع الرسالة فى ١٧٥صفحة وتحتوى على ٤٠ جدولاً و ٥٣ شكلاً و ١٠٠ مرجعاً .