

## تأثير العمليات التصنيعية المختلفة على الخصائص الفيزيوكيميائية لمادة الميروبينيم ثلاثي الماء Meropenem Trihydrate

ميس باش إمام<sup>1</sup>، أ. د. هند الزين<sup>2</sup>

1 قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية - كلية الصيدلة - جامعة دمشق.

E-mail: [mais.bashimam@damascusuniversity.edu.sy](mailto:mais.bashimam@damascusuniversity.edu.sy)

2 أستاذ مساعد - قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية - كلية الصيدلة - جامعة دمشق.

E-mail: [elzein@damascusuniversity.edu.sy](mailto:elzein@damascusuniversity.edu.sy)

### الملخص:

يعد الميروبينيم ثلاثي الماء meropenem trihydrate من الصادات الحيوية واسعة الطيف والتي ينحصر استعمالها ضمن المستشفيات في الإنتانات الجرثومية المعقدة على الصادات الحيوية الأخرى. ونتيجة لسرعة تخريبه بالحلمهة وحساسيته للضوء فإنه لا يتواجد تجارياً إلا بشكل مسحوق جاف معد للإيتاء الوريدي. وبما أن صياغة المادة الدوائية بأشكال صيدلانية مختلفة يعني تعريضها لعمليات تصنيعية متنوعة مثل الطحن والتذويب فإن عملنا يهدف إلى التركيز على مراقبة التغيرات في الخصائص الفيزيوكيميائية بعد تعريض مسحوق الميروبينيم إلى التذويب بمذيبات مختلفة والطحن وإعادة البلورة والتجفيد، وذلك من خلال تحري التغيرات العيانية، ودراسة الخصائص الحرارية باستخدام المسح الحراري التفاضلي DSC، ودراسة تغير الروابط الكيميائية والفيزيائية بمطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR، ومقارنة انعراج الأشعة السينية PXRD بين بلورات مسحوق الميروبينيم ثلاثي الماء العادي والمسحوق المعرض للطحن الجاف، إضافة إلى مقايسة المادة ودراسة ذوبانيتها في الماء المقطر بالحالة الأصلية للمسحوق وبعد الطحن. أظهرت النتائج أن عملية الطحن الجاف فقط هي الوحيدة التي لم تؤثر على البنية البلورية وحافظت على ثبات المادة الفعالة مقارنة بالطرق الأخرى إضافة إلى تحسين ذوبانيتها، وأن الطرق التي تحتوي على الماء أو المذيبات العضوية أو حتى التسخين أدت إلى تخرب في البنية الكيميائية للدواء وعدم ثباته، وبالتالي سيتحدد تطوير أي شكل صيدلاني جديد لهذه المادة بإمكانية تطبيق الطحن ضمن مراحل تصنيعه وتجنب استعمال المذيبات أو رفع الحرارة أثناءها.

الكلمات المفتاحية: الميروبينيم ثلاثي الماء؛ الطحن الجاف؛ الطحن بمساعدة السائل؛ تبخير المذيب؛ التجفيد؛ المسح الحراري التفاضلي؛ مطيافية الأشعة تحت الحمراء؛ انعراج الأشعة السينية؛ الاستشراب السائل عالي الأداء.

تاريخ القبول: 2022/8/10

تاريخ النشر: 2023/3/5



حقوق النشر: جامعة دمشق -  
سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق  
النشر بموجب CC BY-NC-SA

## The Effect of Different Manufacturing Processes on The Physicochemical Properties of Meropenem Trihydrate

Mais Bashimam<sup>1</sup>, Prof., Hind El-Zein<sup>2</sup>

1 Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Damascus University

E-mail: [mais.bashimam@damascusuniversity.edu.sy](mailto:mais.bashimam@damascusuniversity.edu.sy)

2 Asst. Prof. Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Damascus University.

E-mail: [elzein@damascusuniversity.edu.sy](mailto:elzein@damascusuniversity.edu.sy)

### Abstract:

Meropenem trihydrate is a broad-spectrum antibiotic that is only used in hospitals for antibiotic-resistant bacterial infections. It is only commercially available as a dry powder for intravenous administration as a result of rapid hydrolysis and sensitivity to light. Our work aims to focus on monitoring changes in the physicochemical properties after exposing Meropenem powder to dissolving with different solvents, grinding, recrystallization and lyophilization, which they make the major processes that can be used during new dosage forms development. This study applied many techniques to evaluate: macroscopic changes using polarized microscope, thermal properties using Differential Scanning Calorimetry (DSC), stability of chemical and physical bonds using Fourier Transformation Infra-Red spectroscopy (FTIR), crystallinity using Powder X-Ray Diffraction (PXRD), and solubility comparison in distilled water between the meropenem powder vs the grinded one by assaying the active ingredient using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The results showed that the dry milling process did not affect the crystal structure and it maintained the stability of the active substance compared to other methods, in addition to improving its solubility. All other methods containing water, organic solvents or heat led to crystal instability and destruction of the chemical structure. Therefore, the development of any new pharmaceutical dosage form of Meropenem trihydrate will be determined by the possibility of applying grinding within the stages of its manufacture and avoiding the use of any solvents or high temperature.

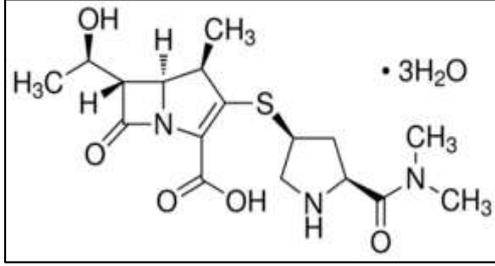
**Keywords:** Meropenem trihydrate; Dry Grinding; Liquid Assisted Grinding; Solvent evaporation; Lyophilization; DSC; FTIR; PXRD; HPLC

Accepted: 10/8/2022

Published: 5/3/2023



**Copyright:** Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA



الشكل 1: الصيغة التفصيلية للمركب

أما كيميائياً، فيظهر الشكل 1 الصيغة التفصيلية للمركب والتي تحوي حلقة الـ  $\beta$ -lactam السباعية، ورابطاً مضاعفاً في الموقع 2 يميز نواة البنسيلين، وفي الموقع 6 نجد جذر الهيدروكسي إينيل بتوضع *trans* مع ذرة الهيدروجين في الموقع نفسه، وهذا يخالف التوضع *cis* للجذور المرتبطة المشاهد لدى البنسيلينات والسيفالوسبورينات المعروفة. ويعتقد بأن هذا التوضع الفراغي *trans* هو الذي يمنح زمرة carbapenems ثباتاً تجاه أنزيمات البيتا لاكتاماز. أما مجموعة الميثيل في الموقع 4 فتعطي المركب ثباتاً ضد أنزيم الديهيدروبيبتيداز الكلوية، وكذلك فإن السلسلة الحاوية على الكبريت في الموقع 3 هي التي تقلل من إحداث الميروبيينيم ثلاثي الماء للاختلاجات الصرعية بعد الإيتاء الوريدي عند المقارنة مع الإيميبيينيم (Craig, 1997) imipenem.

الشكل 1: البنية الكيميائية لجزيئة الميروبيينيم ثلاثي الماء meropenem trihydrate.

حسب دستور الأدوية البريطاني لعام 2020 (المجلد 2): "يبلغ الوزن الجزيئي للميروبيينيم ثلاثي الماء  $(C_{17}H_{25}N_3O_5S, 3H_2O)$  437.5 غ/مول وهو مركب نصف صناعي، مسحوقه بلوري أبيض اللون أو أصفر خفيف، قليل الانحلال في الماء sparingly soluble in water، وغير منحل عملياً في الإيتانول (96%) وكلور الميثيلين".

## 1- المقدمة:

يصنّف الميروبيينيم ثلاثي الماء Meropenem trihydrate بأنه صاد حيوي واسع الطيف من زمرة البيتا لاكتام  $\beta$ -lactam، ذو فعالية مضادة لمعظم الجراثيم سلبية وإيجابية الغرام وتتعداها إلى السلالات المقاومة لصادات حيوية أخرى (Muneer et al., 2020; Pfaller and Jones, 1997)، وهو يتبع للزمرة الرابعة Class IV من نظام التصنيف الحيوي الصيدلاني Biopharmaceutical Classification System (BCS) لأنه قليل الذوبانية وقليل النفاذية (Chirumamilla et al., 2017). يتميز الميروبيينيم ثلاثي الماء بثباته تجاه أنزيمات البيتا لاكتاماز والديهيدروبيبتيداز-1، فالأولى تفرزها الجراثيم مما يكسبه طيفاً واسعاً، والثانية تفرزها الكلية مما يغني عن مشاركته مع مثبطات هذا الأنزيم مثل الـ cilastatin أثناء المعالجة (Craig, 1997).

وبما أنه ضعيف الامتصاص عبر الطريق الفموي بسبب قطبيته العالية (مساحة السطح القطبي polar surface area =  $135.48 \text{ \AA}^2$ ) (Breitkreutz, 1998) فإن الميروبيينيم ثلاثي الماء يتوافر تجارياً بشكل مسحوق جاف معد للتسريب الوريدي أو الحقن الوريدي أو العضلي ضمن فلاكونات بعيارين 0.5 و1 غ مع إضافة كربونات الصوديوم أو البوتاسيوم كسواغ يساعد على التذويب في الماء (Meropenem Trihydrate | PubChem - C17H31N3O8S)، وهو ذو نصف عمر قصير ( $\text{half-life} \approx 1$  ساعة) عند الإيتاء الوريدي نتيجة توزعه السريع الذي يسبق إطراحه الكلوي، أما إذا كان الحقن عضلياً فإن هناك تأخيراً في الوصول إلى التركيز الفعال قد يصل إلى ساعتين مع نصف عمر أطول قليلاً من الإيتاء الوريدي، إلا أن الطريقتين متكافئان حيويًا (Craig, 1997).

**2- المواد:**

تم الحصول على الميروبينيم ثلاثي الماء من Qilu Antibiotics Pharmaceutical Co., Ltd (Shandong, China). المذيبات الكيميائية المستعملة جميعها من الدرجة التحليلية أو الدرجة اللازمة لـ HPLC (Merck, USA).

**3- الطرائق والأجهزة المستخدمة:****3-1- التحضير بطريقة الطحن الجاف:**

تضمنت طريقة الطحن الجاف (DG) dry grinding استعمال مطحنة الكرات من نوع Tissue Lyser II (Qiagen, Germany) ووزن 0.2 ميلي مول من مسحوق ميروبينيم ثلاثي الماء ووضعها في أنبوب إندورف (2مل) مع كرتي تنغستين (Tungsten Carbide Beads, 3mm, Germany) بقطر 3 ملم، ثم تطبيق طحن لمدة 40 دقيقة بتواتر frequency=30 Hz وبفاصل راحة دقيقتين بين كل 10 دقائق كي نتجنب ارتفاع حرارة المسحوق نتيجة الاحتكاك (Saeed et al., 2021). يتم حفظ المسحوق في نفس أنبوب إندورف المستعمل وهو محكم الإغلاق من أجل القياسات اللاحقة.

**3-2- التحضير بطريقة الطحن الجاف بالتبريد:**

تضمنت طريقة الطحن الجاف بالتبريد (CrG) cryogenic grinding وزن 0.2 ميلي مول مسحوق ميروبينيم ثلاثي الماء ووضعها في هاون من البورسلان، ثم إضافة قطرات من الآزوت السائل طيلة فترة الطحن اليدوي لمدة 15 دقيقة بقوة وسرعة ثابتتين تقريباً (Rahman et al., 2011). في النهاية جُمع المسحوق الملتصق على جدران الهاون بسحبه بالسباتولا المعدنية (الملوق) وجمعه في أنبوب إندورف محكم الإغلاق من أجل القياسات اللاحقة.

لوحظ في الأدبيات المنشورة وجود محاولات عديدة لصياغة الميروبينيم ثلاثي الماء في أشكال صيدلانية مختلفة مثل تذويب مكونات الفلاكون المعد للحقن واستعماله كقطرة عينية في علاج التهابات القرنية المععدة (Bozkurt et al., 2021; Pande & Bhailume, 2014)، أو صياغته بشكل معلق نانوي nanosuspension solid lipid nanoparticles (Chirumamilla et al., 2017)، أو بشكل جسيمات نانوية شحمية صلبة (Mhango et al., 2016) بغرض تحسين الذوبانية والامتصاص، كما قام باحثون باستهداف التهابات الطرق التنفسية عن طريق محاولة صياغته بشكل مسحوق إنشاقى (Muneer et al., 2020). كانت مشاهدات الباحثين تُسجّل فيما يخص الانحلالية والثبات والفعالية الجرثومية للشكل النهائي دون التطرق إلى أثر العمليات التصنيعية على الخصائص الفيزيائية للميروبينيم ثلاثي الماء في حد ذاته.

في هذا العمل ستم مقارنة التغيرات الحاصلة للمسحوق بعد طحنه بشكل جاف، وطحنه مع قطرات من الميثانول بالحرارة العادية والتبريد، وتذويبه بالميثانول (مذيب للمادة) والأسيتون والبروبانول والإيزوبروبانول (مذيبات جزئية للمادة) والإيثانول وكلور الميثيلين DCM (لا يذيبان المادة) بشكل جاف بدرجة الحرارة العادية والتبريد، إضافة إلى إخضاعه لعملية التجفيد. وسيتم رصد التغيرات عيانياً وتقنياً باستعمال المجهر الضوئي الاستقطابي ومقياس درجة الانصهار، وأيضاً تسجيل مطيافية الأشعة تحت الحمراء وانعراج الأشعة السينية، إضافة إلى دراسة الخصائص الحرارية بجهاز المسح الحراري التفاضلي DSC، ومقياس الذوبانية باستخدام HPLC. وبناء عليه سيتم اقتراح العمليات المناسبة استعمالها لتطوير أشكال صيدلانية مختلفة للميروبينيم ثلاثي الماء على المستوى الصناعي وتوفيرها تجارياً إلى جانب الشكل الحقني المعروف.

**3-3- التحضير بطريقة الطحن بمساعدة السائل:**

تضمنت طريقة الطحن بمساعدة السائل liquid-assisted grinding (LAG) وزن 0.2 ميلي مول من مسحوق ميروبينيم ثلاثي الماء ووضعه في هاون من البورسلان، ثم إضافة (1-2) نقطة من الميثانول (مذيب)، يتلو ذلك تطبيق طحن يدوي لمدة 15 إلى 20 دقيقة بقوة وسرعة ثابتتين تقريباً (Hossain Mithu et al., 2021). في النهاية يتم جمع المسحوق الملصق على جدران الهاون بسحجه مستعينين بالسباتولا المعدنية (الملوق) وجمعه في أنبوب إندورف محكم الإغلاق.

**3-4- التحضير بطريقة الطحن بمساعدة السائل بالتبريد:**

تضمنت طريقة الطحن بمساعدة السائل cryogenic liquid-assisted grinding (CrLAG) وزن 0.2 ميلي مول من مسحوق ميروبينيم ثلاثي الماء ووضعه في هاون من البورسلان، ثم إضافة (1-2) نقطة من الميثانول. بعد ذلك تضاف قطرات من الأزوت السائل طيلة فترة الطحن اليدوي لمدة 15 دقيقة بقوة وسرعة ثابتتين تقريباً. في النهاية يُجمع المسحوق الملصق على جدران الهاون بسحجه مستعينين بالسباتولا المعدنية (الملوق) وجمعه في أنبوب إندورف محكم الإغلاق من أجل القياسات اللاحقة.

**3-5- التحضير بطريقة تبخير المذيب ببطء:**

تضمنت طريقة تبخير المذيب ببطء slow solvent evaporation (sSE) وزن 0.01 ميلي مول من مسحوق ميروبينيم ثلاثي الماء ووضعه في علبة بتري زجاجية صغيرة (قطر 5سم) مع إضافة (2-3) مل من مذيب (ميثانول، الأسيتون، الإيثانول، أو DMC). بعد تحريك يدوي بسيط لضمان الذوبان يتم وضع علبة بتري السابقة في الهواء الطلق بدرجة حرارة الغرفة لمدة 24-36 ساعة، ثم سحج المسحوق الملصق بالملوق وجمعه في أنبوب إندورف محكم الإغلاق من أجل القياسات اللاحقة.

**3-6- التحضير بطريقة التجفيد:**

تم تحضير محلول للتجفيد Lyophilization (Lyo) من فلاكون تجاري يحوي ميروبينيم ثلاثي الماء فرنسي المصدر (ميروبينيم ثلاثي الماء، Meropenem Panpharma, France, 1g) بإذابة محتوى الفلاكون بـ 20 مل ماء منزوع الشوارد رباعي التقطير، وأخذ 1 مل من المحلول السابق.

أيضاً، تم وزن 4 ملغ من مسحوق ميروبينيم ثلاثي الماء في أنبوب زجاجي، وإضافة 1 مل من مزيج (ماء:بروبانول 1) بنسبة (37%).

تم العمل على جهاز Freeze dry System/ Freezone 4.5, (Labconco, USA). حيث توزن الفيالات الفارغة التي سوف تجفد فيها العينات، ثم توضع العينات في الفيالات وتوزن. توضع الفيالات في المجمدة -85° م ثم تحفظ لمدة 24 ساعة في الدرجة -50° مئوية وضغط أقل من 1000/133 ميلي بار وفي النهاية توزن الفيالات مع العينات بعد التجفيد.

**3-7- الفحص العياني:**

تم تسجيل المشاهدات العيانية مثل اللون والرائحة والملمس بعد كل إجراء من الإجراءات السابقة. إضافة إلى فحص المسحوق باستخدام المجهر الاستقطابي Polarized microscope (Olympus BX53-P (Germany)، لتوصيف الأجزاء وتحديد بنيته البلورية.

**3-8- قياس درجة الانصهار:**

تم تحديد درجة انصهار المادة باستعمال جهاز Buchi Melting Point Unit (Germany)، حيث يطحن المسحوق بالهاون بلطف لمجانسة الأبعاد، ثم يؤخذ منه كمية كافية لتعبئة الأنبوب الشعري الزجاجي إلى ارتفاع 4-6 ملم، ثم الريت أو النقر بشكل عمودي على سطح صلب لتسوية سطح المسحوق وضغطه ما أمكن. تُضبط إعدادات الجهاز كالتالي: Set point 270°، Gradient: 10°C/min، Max point 30°، تحضر 3 أنابيب شعرية لنفس المادة ويؤخذ المتوسط الحسابي للقراءات

### 3-12- انعراج الأشعة السينية ( Powder X-Ray ) PXRD (Diffraction):

سُجّلت مخططات انعراج الأشعة السينية باستعمال جهاز (STOE, Darmstadt, Germany) STOE STADI P باستعمال أشعة  $\text{Cu-K}\alpha$  ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ) وتسجيل أنماط الانعراج ضمن مجال  $2\theta$  بين  $5^\circ$  و  $90^\circ$  بفاصل  $0.2^\circ$ .

### 3-13- مقايسة الميروبيينيم ثلاثي الماء باستخدام الاستشراب السائل عالي الأداء HPLC (High Performance Liquid Chromatography):

أجريت المقايسة باستخدام جهاز Sykam HPLC, Germany، المزود بمتحري امتصاص الأشعة فوق البنفسجية (S3240 UV/VIS Multichannel detector, Germany) وبحاقن آلي (S5200 Sample injector, Germany). وياتباع طريقة Mowafy وزملائه (2012, Mowafy et al.)، حيث يتكون الطور المتحرك من الميثانول:الماء (50:50)، ومعدل تدفق 1 مل/د. تم الفصل باستخدام عمود (InertSustain C8) C8 HPLC Column, 5  $\mu\text{m}$ , 250 x 4.6 mm, GL Science, Japan، بحرارة  $25^\circ\text{C}$  على طول موجة 300 nm (للمادة الفعالة) وطول موجة 210 nm (لنواتج التخرب).

حُضِرَ المحلول الأم stock solution بتركيز 0.2 ملغ/مل بإذابة 2.00 ملغ من ميروبيينيم ثلاثي الماء في الماء رباعي التقطير ضمن بالون معاير 10 مل، وتحضير سلسلة عيارية بتركيز متناقصة من ميروبيينيم ثلاثي الماء عن طريق إجراء التمديد بالماء من المحلول الأم. التراكيز هي: (125، 62.5، 31.25، 15.6، 7.8 مكغ/مل).

الثلاثة، كما يتم تسجيل المشاهدة العيانية لعملية الانصهار أو الاحتراق، إضافة إلى تغير اللون.

### 3-9- معايرة محتوى الماء بطريقة كارل فيشر Karl-Fischer titration:

تم وزن 0.03 غ بدقة من كل من مسحوق Mer ومن Mer DG وإجراء معايرة كارل فيشر باستخدام جهاز Mettler Toledo DL3 (USA) لتحديد محتوى المسحوق من الرطوبة باستخدام Hydranal Coulomat AG كمذيب وبدرجة حرارة الغرفة وإجراء الحسابات المناسبة.

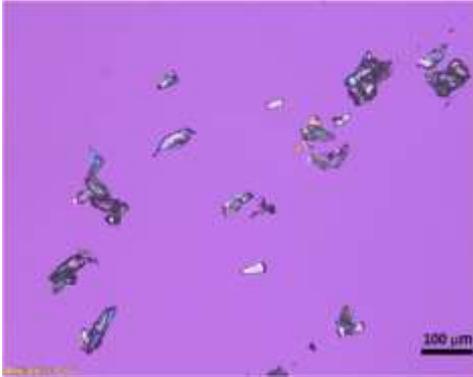
### 3-10- المسح الحراري التفاضلي DSC (Differential Scanning Calorimetry):

سُجّلت المخططات الحرارية لجميع المساحيق الناتجة عن الإجراءات السابقة باستعمال جهاز DSC-60 plus, Shimadzu, Japan، ضمن بوتقة من الألمنيوم مع ضبط متتابعات البرنامج الحراري ليكون معدل التسخين  $10^\circ\text{C}/\text{d}$ ، بين الدرجتين  $25 - 200^\circ\text{C}$ ، مع ضخ لغاز الآزوت بسرعة 50 مل/د. عولجت البيانات باستخدام GraphPad Prism 9.1.1.

### 3-11- مطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR (Fourier Transformation Infra-Red):

سُجّلت مطيافية الأشعة تحت الحمراء باستعمال جهاز Shimadzu IR Spirit spectrometer with QATR-S accessory installed (Japan)، حيث توضع العينة مباشرة دون الحاجة لضغطها مع ملح KBr - على سطح موشور من الألماس diamond prism attenuated total reflectance (ATR). وإجراء تسجيل للطيف 10 مرات لكل عينة بدقة resolution (4 سم<sup>-1</sup>) في مجال أطوال موجة بين 4000-400 سم<sup>-1</sup>. عولجت البيانات باستخدام برمجية Essential FTIR v3.50.204.

وفي النهاية أصبح اللون بنياً محترقاً (عند 221°) مع رائحة احتراق واخزة وظاهرة تشبه التكرمل ثم الاحتراق والتفحم دون أن يحدث انصهار إلى الحالة السائلة. كما أن الفحص بالمجهر الاستقطابي أكد البنية البلورية لمسحوق الميروبيينيم ثلاثي الماء فأجزاؤه ذات شكل موشوري وبأبعاد تتراوح بين 50-100 ميكرون كما يظهر في الشكل (2).



الشكل (2): صورة بالمجهر الاستقطابي لمسحوق الميروبيينيم ثلاثي الماء تظهر بنيته البلورية.

كان محتوى الماء حسب معايرة كارل فيشر لكل من مسحوق ميروبيينيم ثلاثي الماء (Mer) ومسحوق Mer DG (المحضر بالطنح الجاف) هو 12.9665% و 9.3345% على الترتيب مقارنة بالقيمة المفترضة لمحتوى الماء والمساوية لـ 12.35%، أي أن عملية الطحن ساعدت على تحرير جزء من الماء المرتبط ارتباطاً ضعيفاً مع بلورات الـ Mer، كما كان مشاهداً لدى طحن حمض الأديبي adipic acid، حيث انخفض محتوى الماء في المسحوق بعد الطحن من 9% إلى 7.5% (Ng et al., 2010) وقد وردت طريقة الطحن بالهاون كأحدى الوسائل للتخلص من الماء المرتبط ببلورات حمض الأديبي (Zhang and Grant, 2005).

يبين الجدول 1 الصفات العيانية الملاحظة على عينات ميروبيينيم ثلاثي الماء، وبقية المساحيق الناتجة عن العمليات التصنيعية، حيث أدى استعمال المذيب في LAG و sSE إلى قوام هلامي مع تغير باللون يشير إلى التخرب الكيميائي لذلك

### 3-14- اختبار الذوبانية باستخدام الاستشراب السائل عالي الأداء (HPLC High Performance Liquid Chromatography):

لدراسة ذوبانية الميروبيينيم ثلاثي الماء في الماء المقطر ومقارنتها بذوبانية Mer DG اتُبعت طريقة الدورق الهزاز shake-flask method حيث وُزِنَ 10 ملغ من كل من مسحوق الميروبيينيم ثلاثي الماء (Mer) و Mer DG في أنبوب إيندورف وإضافة 0.5 مل من الماء رباعي التقطير بحيث نحقق تركيزاً فوق الإشباع ويبقى راسب من المادة في الأنبوب (3 عينات لكل من المسحوقين)، ووضعت الأنبوب في جهاز هزاز Heidolph, Unimax 2010 (Germany) (200 Hz) لمدة 24 ساعة ضمن حرارة  $20 \pm 1^\circ \text{C}$ . ثم طُبِّقَ تثقيب باستعمال مثقلة MPW 260R (Poland) بسرعة 15000 دورة/د (21000 G) لمدة 15 د وبعدها أُخذ السائل الطافي وحُقِنَ عبر مرشحة  $0.45 \mu\text{m}$  في أنبوب إيندورف جديد لكل عينة (de Almeida et al., 2020). أُجِرِيَ التمديد المناسب بأخذ 50  $\mu\text{l}$  من كل أنبوب والتمديد 20 ضعفاً بالماء إلى 1 مل.

### 4- النتائج والمناقشة:

#### 4-1- التقييم العياني وتحديد درجة الانصهار ومحتوى الماء:

يوصف الميروبيينيم ثلاثي الماء بأنه مسحوق بلوري على الرغم من عدم إمكانية رصد نقطة انصهار حقيقية له، حيث أنه يبدأ بالتفكك decomposed عند الدرجة  $192^\circ \text{C}$  (Meropenem) (Trihydrate Safety Data Sheet - Version 5.0, 2021)، وهذا ما شوهد عند إجراء تحليل درجة الانصهار لمسحوق الميروبيينيم ثلاثي الماء، حيث بقي المسحوق في الأنبوب الشعري على حاله حتى الوصول إلى الدرجة  $130^\circ \text{C}$  ثم بدأ بالاصفرار واللينة مع خروج الماء البلوري وتفكك شبكته البلورية إلى أن تغير اللون إلى البرتقالي بالوصول إلى  $190^\circ \text{C}$ .

الأشكال اللابلورية amorphous أو التحول من شكل بلوري إلى شكل بلوري آخر (Craig, 2007). أما عملية التجفيد فقد غابت في مخططيها قمة التبخر وذلك يدل على قدرة عملية التجفيد على التخلص من جزيئات المذيبات المستعملة (Aulton, Michael E.; Taylor, 2013). يمكن تفسير زيادة عرض قمة التبخر بأن عملية الطحن قد قدّمت طاقة كافية للروابط بين الجزيئات وأيضاً لروابط بعض جزيئات الماء البلوري جعلتها أكثر قابلية للتطم بالحرارة المقدمة من جهاز DSC ومكنتها من مغادرة الشبكة البلورية بسرعة أكبر فتبدأ بالتبخر منذ الدرجة 85° وتسبق ارتخاء شكل القمة كما أشار لذلك فنج وزملاؤه في دراستهم للغريوزفولفين (Feng et al., 2008). كما أن نيومان أشار إلى تأثير العمليات التصنيعية من إعادة بلورة وطحن على نقطة بدء درجة الانصهار onset للمادة لما لها من تأثير على درجة تبلور المادة والتي تؤدي إلى لعب الجزء غير المتبلور دور "الشائبة" وبالتالي يخفض من نقطة بدء درجة الانصهار (Craig, 2007).

أما في حالة الطحن بالتبريد فيمكن القول بأن بعض جزيئات الماء البلوري تحررت من روابطها في الشبكة البلورية بفعل طاقة الطحن ثم تجمدت في موضع جديد عند ضخ كمية من الأزوت السائل بشكل متناوب أثناء التحضير، مما قد يؤدي إلى تداخل الشبكة البلورية وبالتالي تبخر جزيئات الماء على مدى طويل من درجة 78° وحتى 133°. نلاحظ من الشكل 3 أيضاً أن الطحن العادي سرّع من تفكك المادة بعد الدرجة 150° (القمة الناشئة للحرارة) أما الطحن بالتبريد فحافظ على بنية المادة أكثر حتى بداية التفكك 175° وهذا يوافق المشاهدة العيانية من بطء اصفرار المسحوق المبرد خلال الزمن مقارنة بالمسحوق المطحون عادياً.

لم تتم متابعة التحاليل عليه، وكان المسحوق الناتج عن التجفيد Lyo شراً بشدة لرطوبة الجو عند فتح العبوة مما جعل متابعة التحاليل عليه غير مجدية، أما الطحن بالتبريد CrG فكانت طريقة صعبة الضبط والتطبيق على كميات أكبر. مما دعانا إلى اعتماد طريقة الطحن الجاف لما تتميز به من سهولة وأمان للبشر والبيئة على حد سواء إضافة لكلفتها المادية القليلة.

#### 4-2- المسح الحراري التفاضلي DSC:

يظهر الشكل 3 نتائج تحليل الـ DSC لجميع العينات المحضرة. بدايةً، كان لعملية الطحن تأثير واضح على الماء البلوري في أجزاء الميروبينيم ثلاثي الماء، فالقمة الماصة للحرارة الناجمة عن تبخر الماء البلوري بقيت حوالي 127° والموافقة لما تم نشره سابقاً في الأدبيات (Chirumamilla et al., 2017; Kilinska et al., 2018; Muneer et al., 2020) الجدول 1: يبين الصفات العيانية لمسحوق الميروبينيم ثلاثي الماء (Mer) والمساحيق الناتجة عن العمليات التصنيعية المختلفة

الاسم	اللون	القوام	الحالة البلورية
<b>Mer</b>	أبيض خفيف الصفرة	صلب	بلوري *
<b>DG</b>	أبيض خفيف الصفرة	صلب	بلوري *
<b>CrG</b>	أبيض خفيف الصفرة	صلب	بلوري **
<b>LAG</b>	برتقالي	هلامي	--
<b>CrLAG</b>	أبيض خفيف الصفرة	صلب	بلوري **
<b>sSE</b>	بني غامق	هلامي	--
<b>Lyo</b>	أبيض خفيف الصفرة	صلب	بلوري **

\*: حسب نتائج انعراج الأشعة السينية

\*\* حسب المجهر الاستقطابي

DG: طحن جاف، CrG: طحن جاف بالتبريد، LAG: طحن بمساعدة السائل، CrLAG: طحن بمساعدة السائل بالتبريد، sSE: تبخير المذيب ببطء، Lyo: التجفيد

ولكن نقطة بدء القمة onset قد انخفضت من 98° إلى 85° في DG، وإلى 78° في CrG، مع حدوث حالة ارتخاء relaxation في القمة. وقد حافظ الطحن بالحرارة العادية وكذلك بالتبريد على الحالة البلورية للمادة فلم تظهر أية قمة تدل على التحول الزجاجي glass transition للمادة والتي تتميز

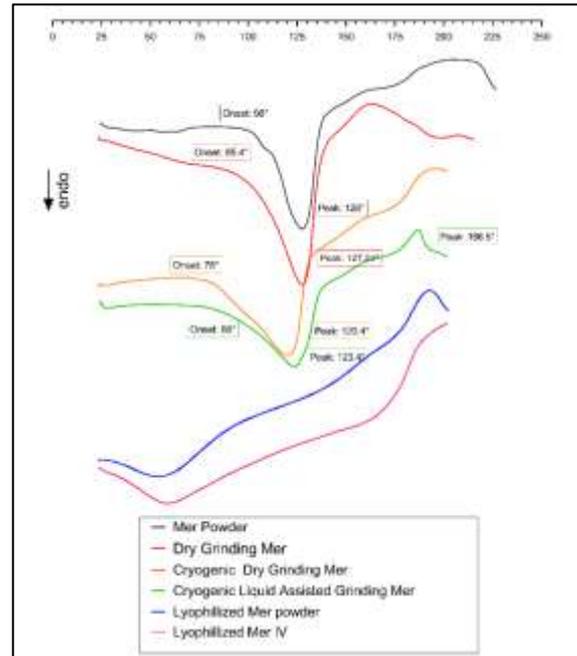
أما بالنسبة لاستعمال قطرات من الميثانول في الطحن بالتبريد بالـ CrLAG فإن القمة الأولى الماصة للحرارة تعود لتبخر الماء والميثانول التي ارتبطت على بنية بلورات الميروبينيوم ثلاثي الماء، كما أن العملية سرعت أيضاً من عملية التفكك والتخرب حيث أعطى المنحني قمة ناشرة للحرارة واضحة ( $186.5^\circ$ ) تدل على التأكسد وهي تشابه ما يظهر في مخططي عيني التجميد.

#### 4-3- مطيافية الأشعة تحت الحمراء FTIR:

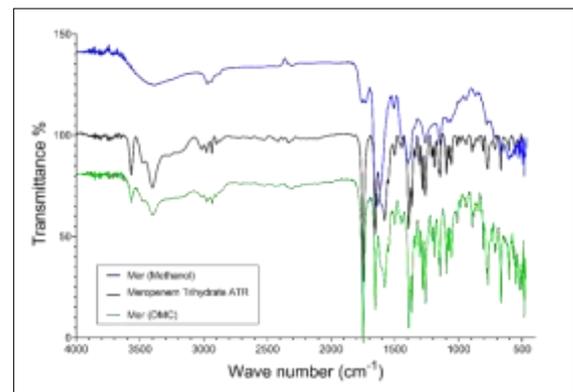
لدى مقارنة طيف مسحوق الميروبينيوم ثلاثي الماء مع طيف المسحوق الناتج عن إذابة الميروبينيوم ثلاثي الماء بالميثانول وتجفيفه (الشكل 4) نجد اختلافاً جوهرياً يدل على حدوث تغيرات كيميائية وتخرب في بنية المركب، وهذا يتوافق مع المشاهدة العيانية التي أظهرت البنية الهلامية لناتج التجفيف واللون الأصفر الغامق والذي يزداد عمقه مع الزمن، إضافة إلى الرائحة الكبريتية الواضحة، أما عند استعمال DMC كمذيب فلم يحصل أي تغير على البنية بعد جفاف المذيب لأن الميروبينيوم ثلاثي الماء لا ينحل فيه.

فالعصابات المميزة للميروبينيوم ثلاثي الماء وهي  $667.7 \text{ سم}^{-1}$  (-CN- stretching في حلقة البيتا لاكتام)،  $770 \text{ سم}^{-1}$  (-CO- vibration في الأمين الثانوي)،  $1750 \text{ سم}^{-1}$  (-OH- stretching في حلقة البيتا لاكتام)،  $3567.3 \text{ سم}^{-1}$  (-OH- stretching المجموعة الغولية الحرة) هذه العصابات إما أزيحت أو اختفت أو تغير شكلها، إضافة إلى ظهور عصابة عريضة بين  $3000-3600 \text{ سم}^{-1}$  يمكن تفسيرها بتشكيل روابط هيدروجينية جديدة. لذلك كان التوجه إلى استعمال الطرق الجافة في التحضير بعيداً عن الميثانول والأغوال عموماً، (حيث لوحظت نفس المشاهدات العيانية في تجارب إضافية مع الإبتانول وبشكل أقل مع البروبانول-1، والبروبانول-2).

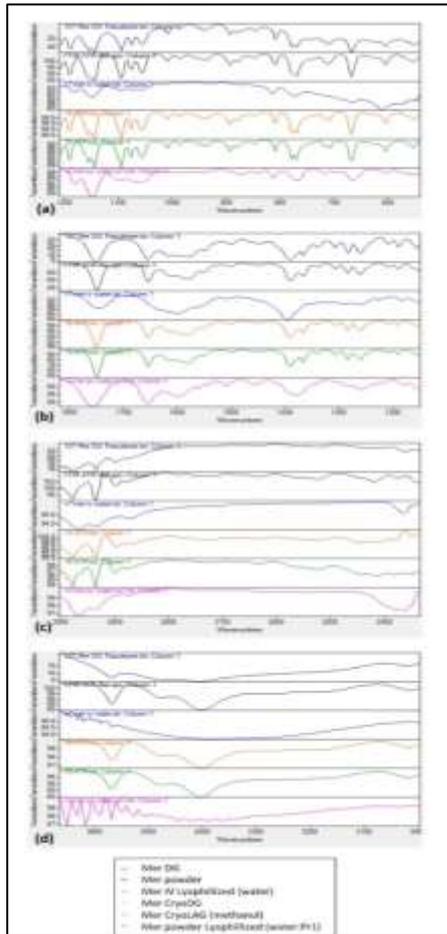
لدى التدقيق في الشكل 5 والذي يظهر مقارنة بين الأطياف المسجلة لكل مسحوق ناتج عن عمليات التحضير، مقسمة لمجالات من أطوال الأمواج a، b، c، و d، بغرض تسهيل



الشكل 3 : مخططات الـ DSC لكل من: مسحوق الميروبينيوم ثلاثي الماء (الأسود)، المسحوق الناتج عن الطحن الجاف العادي (الأحمر)، المسحوق الناتج عن الطحن الجاف بالتبريد (البرتقالي)، المسحوق الناتج عن الطحن بمساعدة السائل بالتبريد (الأخضر)، مسحوق الميروبينيوم ثلاثي الماء بعد التجميد (الأزرق)، ومسحوق الفلاكون التجاري المعد للحقن الوريدي بعد التجميد (الزهرى).



الشكل 4: تحليل FTIR لمسحوق الميروبينيوم ثلاثي الماء (الأسود)، ومسحوق الميروبينيوم ثلاثي الماء المبلور من الميثانول (الأزرق)، ومسحوق الميروبينيوم ثلاثي الماء المبلور من DMC (الأخضر).



الشكل 5: مقارنة أطياف الـ FTIR لمساحيق الـ Mer: العادي والمحضر بطرق الطحن العادي وبالترديد، والمحضر بالتجفيد. (a) مجال طول الموجة 1200-600 سم<sup>-1</sup> (b) مجال طول الموجة 1800-1200 سم<sup>-1</sup> (c) مجال طول الموجة 3000-2000 سم<sup>-1</sup> (d) مجال طول الموجة 3700-3000 سم<sup>-1</sup>

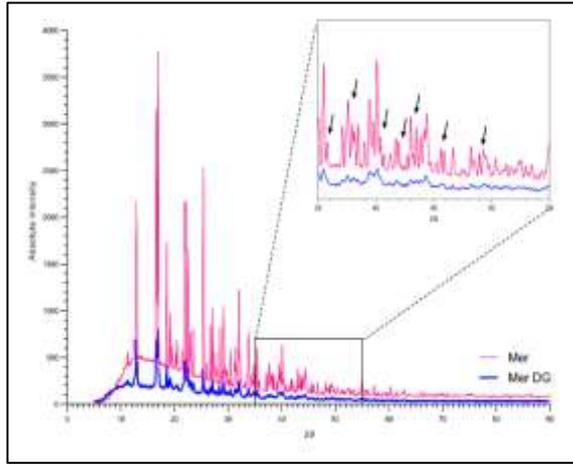
المقارنة، نجد في a أن عملية الطحن حافظت على حلقة البيتا لاكتام حيث أن العصابتين 667.7 و 770 سم<sup>-1</sup> بقيتا في نفس مواقعهما، أما نفس العصابتين في عينات التجفيد فقد اختلف شكلهما بصورة واضحة. كذلك الأمر عند تتبع الأطياف في القسم b من الشكل 5 وأهمها عصابة 1746 سم<sup>-1</sup> التي بقيت في موقعها إلا أن الشدة القليلة وعرض العصابة المتسع في عينات التجفيد يدل على حدوث تغير كيميائي. في القسم c يشير الموقع 2900-3000 سم<sup>-1</sup> إلى تمطط المجموعة -OH في الوظيفة الكربوكسيلية، وذلك

في عينات الطحن المختلفة، أما مخطط عينتا التجفيد فقد اندمجت فيه العصابات لتعطي قمة متداخلة عريضة توحي بحدوث رابط هيدروجيني عند هذه الزمرة. وأخيراً فإن القسم d يشير إلى اختفاء عصابة الوظيفة الغولية الحرة عند 3580 سم<sup>-1</sup> في عينات التجفيد ووجودها مع اختلاف قليل في الشدة في عينات الطحن، إضافة إلى العصابة العريضة بين 3000 و 3500 سم<sup>-1</sup> التي تؤكد تشكل روابط هيدروجينية بين الجزيئات. بالتالي لا توجد تغيرات جوهرية بين عمليات الطحن على نوعية الروابط المتشكلة إلا أن عملية التجفيد ضمن الشروط المطبقة تسبب بشكل كبير تغيراً كيميائياً في بنية المركب.

**4-4- انعراج الأشعة السينية PXRD:**

أو اختفائها بين الزاويتين 39° و 50° قد يرتبط بصغر أبعاد الأجزاء بعد الطحن وباختلاف كمية الميروبيينيم ثلاثي الماء بين العينتين المفحوصتين (Muneer et al., 2020). لم يتم فحص بقية العينات المحضرة ببقية الطرق وذلك لكفاية نتائج المجهر الاستقطابي وتحديد درجة الانصهار إضافة إلى عدم الجدوى الصناعية لبقية طرق التحضير.

تؤكد نتائج انعراج الأشعة السينية البنية البلورية الواضحة لمسحوق الميروبيينيم ثلاثي الماء كما يظهر في الشكل (6)، حيث أن عملية الطحن الجاف بحرارة الغرفة أدت إلى تغير طفيف لا يعتد به في البنية البلورية حيث حافظت القمم الأساسية على مواقعها إلا أن نقصان الشدة واندماج بعض القمم



الشكل (6): مخططا انعراج الأشعة السينية لمسحوق الميروبيينيم ثلاثي الماء ومسحوق الميروبيينيم ثلاثي الماء المطحون طحناً جافاً بالحرارة العادية (Mer DG).

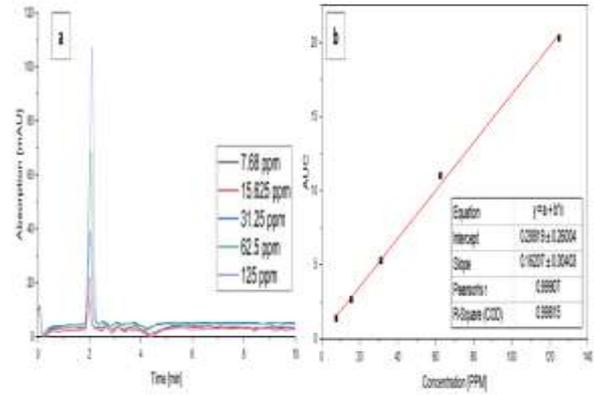
**4-5- مقارنة الميروبيينيم ثلاثي الماء باستخدام****الاستشراب السائل عالي الأداء (HPLC High )****(Performance Liquid Chromatography):**

اعتماد الطور المتحرك المذكور في فقرة الطرائق (3-13). لدى تحري زمن احتباس الميروبيينيم ثلاثي الماء (Rt) كانت القمة النوعية للميروبيينيم ثلاثي الماء تظهر عند زمن احتباس  $2.036 (\pm 0.047)$  دقيقة، كما يظهر في الشكل (7a)، وعند رسم الخط البياني الممثل لطبيعة العلاقة بين تزايد التركيز والمساحة تحت قمة الامتصاص AUC، كانت العلاقة خطية في المجال المدروس حيث بلغت قيمة  $R^2 (0.998)$ ، الشكل (7b).

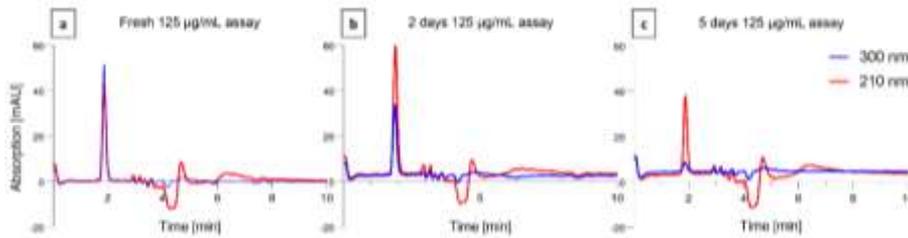
تم اختيار تحليل الـ HPLC بمتحري مطيافية الأشعة فوق البنفسجية كطريقة سريعة ودقيقة للفصل بين المادة الدوائية ونواتج تحريها إن وجدت، كما يمكن أن تتحسس للكميات القليلة من المادة في المحلول، لكن لدى تطبيق الطريقة الدستورية المذكورة في USP 41 و British Pharmacopeia 2020، والتي تعتمد على طور متحرك مائي بمعظمه مع محاليل دائرية وبدرجات pH مختلفة وعمود فصل C18، كانت الطريقة غير تكرارية وتفتقر إلى الخطية والحساسية عند استعمال عمود C8 المتوفر في هذه الدراسة. وبعد العديد من التجارب تم

#### 4-6- اختبار الذوبانية باستخدام الاستشراب السائل عالي الأداء (HPLC) (Chromatography):

في بداية تطبيق اختبار الذوبانية كان الزمن المحدد 48 ساعة ولكن لوحظ اصفرار السائل الطافي تدريجياً بعد مرور 24 ساعة، كما أن مقايسة عينات من العياري بتركيز 125 مكغ/مل (عينة حديثة التحضير، وعينة مضى عليها 48 ساعة بحرارة الغرفة، وعينة مضى عليها 120 ساعة (5 أيام) بحرارة الغرفة) أظهرت تناقص ارتفاع القمة الدالة على الميروبيينيم ثلاثي الماء بطول موجة 300 nm وبقاء القمة في طول موجة 210 nm التي تظهر فيها المادة مع نواتج التخرب (الشكل 8) لذا تم اعتماد زمن 24 ساعة في اختبار الذوبانية المطبق على مسحوق الميروبيينيم ثلاثي الماء Mer ومسحوق Mer DG المطحون.



الشكل (7): (a) يوضح الكروماتوغرام (المخطط الاستشرابي) للسلسلة العياري لمادة الميروبيينيم ثلاثي الماء وزمن الاحتباس  $2.036 \pm$  دقيقة. (b) يوضح خطية العلاقة بين المساحة تحت القمم وتراكيز السلسلة العياري ضمن مجال التركيز المدروس (من 7.8 إلى 125 مكغ/مل)

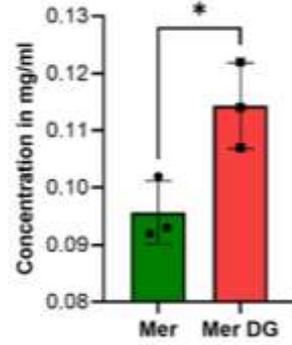


الشكل (8): نتائج مقايسة عينات من العياري 125 مكغ/مل من الميروبيينيم ثلاثي الماء بواسطة HPLC-UV بطولي موجة 300 nm (الخط الأزرق، ويدل على المادة الفعالة) و 210 nm (الخط الأحمر، ويدل على المادة مع نواتج التخرب). (a) عينة حديثة من العياري. (b) عينة من العياري مضى عليها 48 ساعة بحرارة الغرفة. (c) عينة من العياري مضى عليها 5 أيام بحرارة الغرفة.

تطبيق اختبار Student's t-test حيث كانت  $P$  value = 0.03 كما في  $(0.05 >)$  باستعمال برمجية GraphPad Software (v. 9.3.0, San Diego, California USA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)). أي أن عملية الطحن ساعدت في تحسين ذوبانية الميروبيينيم ثلاثي الماء خلال 24 ساعة نتيجة تصغير أبعاد الجسيمات وزيادة مساحة السطح النوعي.

وعند تطبيق اختبار الذوبانية في الماء المقطر كما هو مذكور في فقرة الطرائق على ثلاث مكررات ومقايسة المادة الفعالة بعد مرور 24 ساعة وإسقاط المساحة تحت قمم الامتصاص العائدة لها على الخط البياني التابع للسلسلة العياري، نجد أن متوسط الذوبانية قد بلغ لمسحوق الميروبيينيم ثلاثي الماء (Mer)  $0.0957 \pm 0.0043$  ملغ/مل، ولا Mer DG  $0.1143 \pm 0.0058$  ملغ/مل، مع وجود فارق إحصائي يعتد به لدي

الماء وبالتالي أدت إلى تشكيل منذاب solvate من الدواء والميتانول (Wei et al., 2013)، وسرّعت من حلمهة حلقة البيتا لاكتام. أما عملية التجفيد ضمن الشروط المطبقة فلم تكن ذات جدوى لأن المادة المجفدة صارت شرهة لرتوية الجو، وبمجرد فتح غطاء العبوة ارتبطت ببخار الماء المحمول في الهواء وأعطت مسحوقاً رطباً بلون أبيض مصفر يصعب متابعة التصنيع عليه، إضافة إلى أن نتائج الـ FTIR أثبتت حدوث التغير الكيميائي بعد عملية التجفيد. وبذلك يكون اللجوء إلى طحن مسحوق الميروبينيوم ثلاثي الماء بشكل جاف - دون أية مذيبات عضوية أو تعريض لحرارة أعلى من درجة حرارة الغرفة - أكثر الطرق ملاءمة بهدف تعديل بعض الخصائص الفيزيوكيميائية له دون التأثير سلباً على ثباته، فالطحن طريقة آمنة للبيئة ومناسبة اقتصادياً لا تتضمن استهلاك مذيبات عضوية غالية الثمن أو ضارة بالبيئة وسهلة التطبيق على المستوى الصناعي، وبالتالي يمكن الاستفادة من المسحوق الناتج في صياغته كمرهم جلدي يطبق موضعياً على الجروح أو داخل العين، ويمكن أن يحضر بعد ضبط الشروط التصنيعية بأبعاد مناسبة للأشكال الإنشاقية inhalers الموجهة في علاج التهابات الطرق التنفسية المعقدة.



الشكل 9: اختبار الذوبانية solubility test لكل من مسحوق الميروبينيوم ثلاثي الماء Mer ومسحوق Mer DG في الماء المقطر بعد 24 ساعة حيث تم تمثيل البيانات باستخدام المتوسط الحسابي  $\pm$  الانحراف المعياري لثلاثة مكررات مستقلة (P value < 0.05).

(Allen and Ansel, 2014).

### الاستنتاجات:

كانت للعمليات التصنيعية المطبقة على الميروبينيوم ثلاثي الماء تأثيرات فيزيوكيميائية متفاوتة، حيث بقيت البنية البلورية بعد الطحن ثابتة ضمن درجة حرارة الغرفة وازدادت ذوبانيتها في الماء المقطر، أما التبخير البطيء والتجفيد فقد أديا إلى اختلاف جوهري في بنية المركب وسرّعا من التفكك الكيميائي. كان لاستعمال المذيبات العضوية مع الحرارة دور سلبى على ثبات المادة الدوائية، سواء كقطرة في عملية الطحن أو عدة ميلترات في التبخير البطيء، حيث نافست جزيئات الميتانول الماء على مواقع الروابط الهيدروجينية في الميروبينيوم ثلاثي

### References:

1. Allen, L. V, Ansel, H.C., 2014. Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 10th ed. Lippincott Williams & Wilkins.
2. Aulton, Michael E.; Taylor, K.M.G. (Ed.), 2013. Aulton's Pharmaceutics The Design and Manufacture of Medicines, fourth. ed. Churchill Livingstone Elsevier.
3. Bozkurt, E., Muhafiz, E., Kepenek, H.S., Bozlak, Ç.E.B., Koç Saltan, S., Bingol, S.A., 2021. A New Treatment Experience in Pseudomonas Keratitis: Topical Meropenem and Cefepime. *Eye Contact Lens* 47, 174–179. <https://doi.org/10.1097/ICL.0000000000000745>
4. Breitung, J., 1998. Prediction of intestinal drug absorption properties by three-dimensional solubility parameters. *Pharm. Res.* 15, 1370–1375. <https://doi.org/10.1023/A:1011941319327>
5. Chirumamilla, S.K., Padasala, U.D., Aravally, H., Vuppalapati, L., Cherukuri, S., 2017. Solubility and dissolution enhancement of meropenem by nano suspension approach. *J. Young Pharm.* 9, 429–435. <https://doi.org/10.5530/jyp.2017.9.84>
6. Craig, D.Q.M., 2007. Thermal analysis of Pharmaceutics, in: Craig, D.Q.M., Reading, M. (Eds.), CRC Press. CRC Press: Taylor & Francis Group, BocaRaton, pp. 53–54, 69, 229.
7. Craig, W.A., 1997. The Pharmacology of Meropenem, A New Carbapenem Antibiotic. *Clin. Infect. Dis.* 24, S266–S275. [https://doi.org/10.1093/clinids/24.Supplement\\_2.S266](https://doi.org/10.1093/clinids/24.Supplement_2.S266)
8. de Almeida, A.C., Torquetti, C., Ferreira, P.O., Fernandes, R.P., dos Santos, E.C., Kogawa, A.C., Caires, F.J., 2020. Cocrystals of ciprofloxacin with nicotinic and isonicotinic acids: Mechanochemical synthesis, characterization, thermal and solubility study. *Thermochim. Acta* 685, 178346. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2019.178346>
9. Feng, T., Pinal, R., Carvajal, M.T., 2008. Process induced disorder in crystalline materials: differentiating defective crystals from the amorphous form of griseofulvin. *J. Pharm. Sci.* 97, 3207–3221. <https://doi.org/10.1002/JPS.21219>
10. Hossain Mithu, M.S., Ross, S.A., Hurt, A.P., Douroumis, D., 2021. Effect of mechanochemical grinding conditions on the formation of pharmaceutical cocrystals and co-amorphous solid forms of ketoconazole – Dicarboxylic acid. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 63, 102508. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102508>
11. Kilinska, K., Cielecka-Piontek, J., Skibinski, R., Szymanowska, D., Miklaszewski, A., Bednarski, W., Tykarska, E., Stasiłowicz, A., Zalewski, P., 2018. The radiostability of meropenem trihydrate in solid state. *Molecules* 23, 2738. <https://doi.org/10.3390/molecules23112738>
12. Meropenem trihydrate | C17H31N3O8S - PubChem [WWW Document], n.d. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/441129> (accessed 10.8.21).
13. Meropenem Trihydrate Safety Data Sheet - Version 5 . 0 [WWW Document], 2021. . Toronto Res. Chem. URL <https://www.trc-canada.com/product-detail/?M225640> (accessed 8.10.21).
14. Mhango, E.K.G., Kalhapure, R.S., Jadhav, M., Sonawane, S.J., Mocktar, C., Vepuri, S., Soliman, M., Govender, T., 2016. Preparation and Optimization of Meropenem-Loaded Solid Lipid Nanoparticles: In Vitro Evaluation and Molecular Modeling. *AAPS PharmSciTech* 2016 186 18, 2011–2025. <https://doi.org/10.1208/S12249-016-0675-Z>
15. Mowafy, H.A., Alanazi, F.K., El Maghraby, G.M., 2012. Development and validation of an HPLC–UV method for the quantification of carbamazepine in rabbit plasma. *Saudi Pharm. J.* 20, 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2011.04.003>
16. Muneer, S., Wang, T., Rintoul, L., Ayoko, G.A., Islam, N., Izake, E.L., 2020. Development and characterization of meropenem dry powder inhaler formulation for pulmonary drug delivery. *Int. J. Pharm.* 587, 119684. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119684>
17. Ng, W.K., Kwek, J.W., Yuen, A., Tan, C.L., Tan, R., 2010. Effect of Milling on DSC Thermogram of Excipient Adipic Acid. *AAPS PharmSciTech* 11, 159. <https://doi.org/10.1208/S12249-009-9372-5>

18. Pande, R., Bhailume, P., 2014. Use of topical meropenem in management of hospital acquired Pseudomonas ocular infections. *J. Clin. Ophthalmol. Res.* 2, 23. <https://doi.org/10.4103/2320-3897.122637>
19. Pfaller, M.A., Jones, R.N., 1997. A review of the in vitro activity of meropenem and comparative antimicrobial agents tested against 30,254 aerobic and anaerobic pathogens isolated world wide. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 28, 157–163. [https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(97\)00065-5](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(97)00065-5)
20. Rahman, Z., Agarabi, C., Zidan, A.S., Khan, S.R., Khan, M.A., 2011. Physico-mechanical and stability evaluation of carbamazepine cocrystal with nicotinamide. *AAPS PharmSciTech* 12, 693–704. <https://doi.org/10.1208/s12249-011-9603-4>
21. Saeed, Z.M., Dhokale, B., Shunnar, A.F., Awad, W.M., Hernandez, H.H., Naumov, P., Mohamed, S., 2021. Crystal Engineering of Binary Organic Eutectics: Significant Improvement in the Physicochemical Properties of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons via the Computational and Mechanochemical Discovery of Composite Materials. *Cryst. Growth Des.* 21, 4151–4161. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.1c00420>
22. Wei, Y., Zhang, X.Y., Dang, L.P., Wei, H.Y., 2013. Solubility and pseudopolymorphic transitions in mixed solvent: Meropenem in methanol-water solution. *Fluid Phase Equilib.* 349, 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2013.03.028>
23. Zhang, G.G.Z., Grant, D.J.W., 2005. Formation of Liquid Inclusions in Adipic Acid Crystals during Recrystallization from Aqueous Solutions. *Cryst. Growth Des.* 5, 319–324. <https://doi.org/10.1021/cg049868h>

