تقدير السيفالكسين في المستحضرات الصيدلانية: مقارنة بين طريقة DIC والطريقة المرجعية RP-HPLC

أسماء المدني، د. أحمد حلبي، د. وليد الأحمد

جامعة إدلب، كليّة العلوم، قسم الكيمياء

الملخص:

يهدف هذا البحث إلى إجراء مقارنة إحصائية دقيقة بين طريقة القياس اللوني الرقمي (Digital Image Colorimetry, DIC) المطوّرة لتقدير السيفالكسين في المستحضرات الصيدلانية، والطريقة المرجعية المعتمدة من الدستور البريطاني (HPLC). تمثل الطريقة المطوّرة نموذجًا بسيطًا وبيئيّاً لتحليل الأدوية دون الحاجة لاستعمال كميات كبيرة من المذيبات العضوية أو أجهزة كروماتوغرافية معقدة. حُللت عينتان دوائيتان (C1 وS1) إذ تشير C1 لعينة الكبسول (Cefalex)، و S1 لعينة الشراب (Cefalexin) بكلتا الطريقتين، مع دراسة تأثير زمن القياس بعد تشكل المعقد اللوني على دقة النتائج إذ كان 4min زمن القياس الأمثل لقراءة الكثافة اللونية.

حُللت النتائج الناتجة عن الطريقتين بالاختبارات الإحصائية (t وF) لتقييم مدى تطابق الدقة والتكرارية بينهما. أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية بين القيم المقاسة بواسطة الطريقتين عند مستوى دلالة $P > 0.05$، ما يؤكد إمكانية اعتماد الطريقة المطوّرة بديلاً صديقًا للبيئة وفعالًا من حيث الكلفة وزمن التحليل بالمقارنة مع الطريقة المرجعية.

كما أظهر تقييم خضرة الطريقة أن طريقة DIC أكثر توافقًا مع مبادئ الكيمياء الخضراء نتيجة لانخفاض استهلاك المذيبات والوقت والطاقة مقارنة بطريقة HPLC المرجعية إذ بلغ مجموع النقاط الجزائية للمقياس البيئي (PPs) للطريقة المطوّرة 6 نقاط فقط مقارنة بـ 26 نقطة لطريقة HPLC المرجعية، ما يؤكد تفوّقها من حيث الصداقة البيئية والاستدامة.

الكلمات المفتاحية:

CEF، HPLC، DIC، الكيمياء الخضراء،

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

Determination of Cefalexin in Pharmaceutical Formulations: A Comparative Study Between the Digital Image Colorimetry (DIC) Method and the Reference RP-HPLC Method

Asmaa Almadani, Dr. Ahmad Halabi, Waleed Alahmad

Idlib University, Faculty of Science, Department of Chemistry

Abstract:

This study aims to perform a precise statistical comparison between the developed Digital Image Colorimetry (DIC) method for the determination of cephalexin in pharmaceutical formulations and the reference method adopted by the British Pharmacopoeia (HPLC–BP). The developed method represents a simple and environmentally friendly analytical approach for drug analysis, without the need for large volumes of organic solvents or sophisticated chromatographic instrumentation.

Two pharmaceutical samples (C1 and S1) were analyzed using both methods, and the effect of measurement time after complex formation on result accuracy was investigated. A measurement time of 4 minutes was found to be optimal for recording the color intensity.

The results obtained from both methods were statistically analyzed using T and F tests to evaluate the agreement in terms of accuracy and precision. The findings showed no significant differences between the values obtained by the two methods at a significance level of $P > 0.05$, confirming that the developed method can be adopted as an environmentally friendly, cost-effective, and time-saving alternative to the reference method.

Moreover, the greenness assessment of the methods indicated that the DIC approach is more consistent with the principles of green chemistry, due to its lower consumption of solvents, time, and energy compared to the HPLC reference method. The total analytical eco-scale penalty points (PPs) for the developed method were only 6, in contrast to 26 points for the reference HPLC method, emphasizing its superiority in terms of environmental friendliness and sustainability.

Key Words:

Cefalexin, SPE, DIC, Green Chemistry

1. مقدمة: Introduction

سيفالكسين (CEF)، ((6R ،7-[(R)-2-amino-2phenylacetamido]-3-7،R)-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]-oct2-ene-2-carboxylic acid)، من الجيل الأول من المضادات الحيوية سيفالوسبورين بيتا لاكتام، الذي يُظهر أنشطة ممتازة في قتل البكتيريا موجبة الجرام وبعض البكتيريا سالبة الجرام. يُستعمل بشكل فعال في علاج الالتهابات التي تسببها البكتيريا، ومن ذلك التهابات الجلد والتهابات الجهاز التنفسي العلوي والتهابات العظام والتهابات المسالك البولية، مع خصائص طيف واسع مضاد للبكتيريا ونشاط قوي مضاد للبكتيريا وأقل عرضة للتسبب في ردود الفعل التحسسية[1]. يعمل عن طريق إعاقة الخطوة الأخيرة من تخليق الببتيدوجليكان Peptidoglycan، وهو مكون رئيس في تكوين جدار الخلية البكتيرية، ما يؤدي إلى موت الخلايا. يتوفر على شكل تركيبة فموية (PO) بجرعات مختلفة، مثل 250 mg و500 mg و1000 mg وفي شكل وريدي. يُصنف السيفاليكسين كدواء من الفئة الأولى في نظام تصنيف المستحضرات الصيدلانية الحيوية (BCS)، إذ يتمتع بنفاذية معوية عالية وقابلية ذوبان عالية. ويُظهر امتصاصًا سريعًا حتى في حالة التغذية، مع توفر حيوي مرتفع بنسبة 90% [2]. وقد أُجريت دراسات عدة لتحديد CEF في أنواع عدة من المستحضرات الدوائية إذ طُوِّرت طريقة كروماتوغرافيا سائلة فائقة السرعة، وطريقتان طيفيتان للأشعة فوق البنفسجية، لتحديد أحادي هيدرات السيفالكسين في أشكال صيدلانية[3]. كما استُعملت مطيافية الأشعة المرئية وفوق البنفسجية لتحديد CEF[4] [5]، وأيضاً طُورت طريقة كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء (RP-HPLC) لتحديد CEF[6] [7][8]،كما استُعملت الطرائق الالكتروكيميائية لتحديد CEF [9][10].

تُعدُّ عملية الاستخلاص بالطور الصلب (Solid Phase Extraction – SPE) باستخدام خراطيش C18 خطوةً أساسيةً في تحضير عينات الأدوية الصيدلانية قبل التحليل، وذلك لأنّ المستحضرات الدوائية تحتوي عادةً على مكونات مساعدة (سواغات) متعددة ومتداخلة يمكن أن تُؤثر على نتائج القياس والتحليل. يعمل الطور الصلب C18 على احتجاز المركب المستهدف (في هذه الحالة السيفالكسين) نظراً لتفاعلاته الكارهة للماء مع

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

السلاسل الكربونية الممتدة على سطح الطور الصلب، بينما تُزال السواغات المتداخلة التي تمتلك خصائص كيميائية مختلفة خلال مرحلة الغسل، مما يُنتج عينة أنظف وأكثر تركيزاً للمحلل. هذا التنقية تُساهم في تقليل التداخلات من السواغات في القياسات اللاحقة (مثل القياس اللوني الرقمي أو التحليل الكروماتوغرافي)، وتحسين دقة وموثوقية النتائج وتقليل تأثير المصفوفة على الاستجابة التحليلية. ومن بين الأهداف الرئيسية لتطبيق SPE قبل التحليل هو إزالة المركبات غير المرغوبة وتكوين بيئة تحليلية أنسب لدقة الفصل والكشف، مما يجعل SPE تقنية موثوقة لتحضير العينات الصيدلانية المعقدة قبل التقدير الكمي[11]. حيث تضمنت خطوات الفصل تهيئة الخرطوشة بمذيب قوي ثم موازنتها وتحميل العينة وفق خطوات وكميات مدروسة للمذيبات مرجعية[12].

تُعتمد طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) كوسيلة مرجعية دقيقة لتقدير CEF في المستحضرات الصيدلانية. تمتاز هذه الطريقة بدقتها وموثوقيتها العالية، وقدرتها على التمييز بين المادة الفعالة ونواتج التحلل أو الشوائب، إلا أنها تتطلب تجهيزات متقدمة، وكميات كبيرة من المذيبات العضوية، ووقت تحليل أطول، ما يحد من ملاءمتها للتطبيقات السريعة أو البيئية.

من جهة أخرى، تمثل الطرق اللونية (Colorimetric methods) — بما في ذلك القياس الطيفي المرئي أو القياس اللوني الرقمي (Digital Image Colorimetry, DIC) — بدائل واعدة لكونها بسيطة، منخفضة الكلفة، وتتوافق مع مبادئ الكيمياء الخضراء. تعتمد هذه الطرق على تكوين معقّد ملوّن مع السيفالكسين يمكن قياس شدته طيفيًا أو رقمياً باستخدام تقنيات التصوير والتحليل اللوني الرقمي[13].

لقد أظهرت الدراسات الحديثة أن الهواتف الذكية يمكن استخدامها كأجهزة تحليل لوني في البحث العلمي، حيث تُلتقط صور لعينات ملونة وتحلل باستخدام برامج معالجة الصور مثل ImageJ للحصول على قياسات كمية دقيقة[14] كما أن تطبيقات جاهزة على الهواتف الذكية تُستخدم لاستخلاص قيم RGB من الصور وتحويلها إلى بيانات كمية يمكن استخدامها في تقدير تركيزات المواد الكيميائية[15] .هذه الأدلة تشير إلى إمكانية تطوير تطبيق جوّال مخصّص لتحليل التغيرات اللونية في تفاعل السيفالكسين مع كاشف فهلنغ.

تُبرز المقارنة بين الطريقتين الحاجة المتزايدة إلى تطوير طرائق تحليلية أسرع وأكثر استدامة بيئيًا، تجمع بين دقة وكفاءة الطريقة الكروماتوغرافية ومرونة وبساطة الطرق اللونية. إن الاتجاه نحو التحليل الأخضر (Green Analytical Chemistry) يسعى لتقليل استهلاك المذيبات السامة والطاقة والوقت دون المساس بجودة النتائج التحليلية، ما يجعل تطوير طرائق بديلة مثل DIC خطوة إستراتيجية نحو تعزيز التحليل الصيدلاني المستدام والفعال.

2. القسم العملي: Experimental section

1.2. الأجهزة والأدوات: Apparatuses and Tools

استُعملت خراطيش SPE من KromX SpeXtract ™, (ODS,C18,RP18) معبأة بسيليكا أوكتاديسيل سيلان معدلة، حجم الخرطوش :3ml كمية التعبئة:200 mg، حجم الحبيبات 45 um ،شكل الحبيبات مسامية بالكامل(FPP) كما هو مُوَضّح بالجدول رقم (2)، وميزان تحليلي حساس دقّته ±0.0001g إنتاج شركة (DENSI) التركية، وجهاز الأمواج فوق الصوتية Ultra Sonic إنتاج شركة (ALEX.MACHIN) التركية، وماصات حجمية آلية متغيرة الحجم (micropipette) من شركة (JONALAB) بحجوم متغيرة ضمن المجال µL(10-1000)، ودوارق حجمية مختلفة السعة وأدوات مخبرية زجاجية مختلفة، أقلام تحديد حبر دائم أسود مضادة للماء، ورق ترشيح Quantitative Filter Paper، خلاط كهربائي مغناطيسي مع سخان، صندوق صور بأبعاد 22 ×25 ×30cm مع ضوء لد (1A, V12) والذي يستعمل لإنتاج الصور، التُقطت الصور على خلفية بيضاء موحدة، كاميرا 50MP من جهاز محمول Samsung Galaxy A36 ومزود بتطبيق ImageJ.

2.2. المواد الكيميائية: Materials

سيفالكسين مونوهيدرات نقاوته (99 <) من إنتاج شركة Zhejiang الصينية، أسيتونتريل، ميتانول، إيتانول، خاصة بالـ HPLC ذات نقاوة عالية 99%< جميعها من إنتاج شركة (Merck)، وماء مقطر مخصص لـ HPLC، هيدروكسيد الصوديوم نقاوته

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

(99 %)، طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم نقاوته (99.0-102.0%) إنتاج شركة BLUECHEMIA التركية، كبريتات النحاس نقاوته (98.5-101.0%) إنتاج شركة EKA، وهيدروكسيد البوتاسيوم نقاوته (85.5) إنتاج شركة EKA. وجُمعت عينات الدواء من السوق المحلية ومن مصادر مختلفة.

3.2. تحضير المحاليل: Preparation of Solutions

- تحضير محلول CEF العياري:

حُضِّر محلول عياري أم من CEF بتركيز 1 mg/mL وذلك بوزن 11.078 mg وذلك بعد مراعاة الرطوبة، ثم نقله لدورق حجمي سعة 10 mL وإذابته بالماء المقطر ثم إتمام الحجم حتى الدائرة العيارية بالماء المقطر فنحصل على محلول عياري لـ CEF تركيزه 1mg/mL .

- تحضير المحاليل العيارية من السيفالكسين:

حُضرت سلسلة من المحاليل العيارية لـ CEF بتراكيز ppm (16-12-8-4-1) كما هو موضح بالجدول وذلك بأخذ حجم مناسب لكل منها من المحلول الأم لـ CEF ذي التركيز 1mg/mL، ومن ثم نقلها إلى دوارق حجمية سعة 10mL وإتمام الحجم حتى الدائرة العيارية بالماء المقطر.

- تحضير محلول فهلنغ

يحضر محلول فهلنغ عند كل قياس وذلك عن طريق مزج حجمين متساويين من محلول فهلنغ A ومحلول فهلنغ B

- تحضير محلول فهلنغ A

حُضِّر بوزن 7g من كبريتات النحاس المائية CuSO4.5H2O ونُقِلَ إلى دورق حجمي سعة 100ml وإذابته بكمية من الماء المقطر أُتِمّ الحجم حتى الدائرة العيارية

- تحضير محلول فهلنغ B

وذلك بوزن 24g من هيدروكسيد البوتاسيوم KOH و34.6 g من طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم ثم نقله إلى دورق حجمي سعته 100ml وإذابته بكمية من الماء المقطر حتى الانحلال ثم الإتمام بالماء المقطر حتى الدائرة العيارية.

4.2 تحضير العينات للقياس اللوني:

Samples Preparation for Digital Image Colorimetry

1.4-2 تحضير محاليل الكبسولات الحاوية على CEF

وُزِنَ محتوى 20 كبسولة من كل صنف دوائي بدقة ثم وزن منه ما يكافئ 100 mg من CEF ونُقِلت إلى دورق حجمي سعة 100 mL ثم إذابته بكمية من الماء المقطر ونتمم الحجم حتى الدائرة العياريّة، نضع الدورق لمدة 10 min على جهاز الأمواج فوق الصوتية حتى تمام الانحلال ثم نرشح العينة بمرشحات ميكرونية 45 µm، ونُجري على الرشاحة الشفافة التمديدات المناسبة للحصول على تركيز قدره 8 $\mu g.mL^{-1}$ وبذلك يكون محلول العينة قد أصبح جاهزاً للقياس.

2.4-2 تحضير محاليل الشراب الجاف الحاوية على CEF

حُضِّر المعلق الدوائي وفق التعليمات المرفقة من الشركة المصنعة، وذلك بإضافة الماء المقطر إلى عبوة الشراب الجاف حتى العلامة المرسومة لتكوين حجم كلي مقداره 60mL بتركيز مصرح به 250mg/5 mL. بعد الرج الجيد للحصول على تجانس كامل، أُخِذَ حجم 5mL من الشراب ونقله إلى دورق حجمي سعة 250mL، ثم أُتمم الحجم إلى الدائرة العيارية بالماء المقطر بعد ضمان ذوبان كامل. وبذلك نحصل على محلول بتركيز نهائي 1mg/mL.

لاحقاً، نأخذ حجم 80µL من هذا المحلول إلى دورق حجمي سعة 10mL، وأُتمم الحجم بالماء المقطر، لنحصل على محلول ممدد بتركيز نهائي مقداره 8µg/mL وبذلك يكون المحلول أصبح جاهزاً للقياس.

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

4.2. طرائق العمل:

1.4.2 مرحلة فصل CEF بخراطيش SPE

1. تُنَشَّط الخرطوشة ب 3ml من الميتانول ثم تُوازن ب 3ml من الماء المقطر.
2. تُمرر 10ml من محلول CEF على الخرطوشة.
3. يُستخلص CEF المحتجز ضمن الطور الساكن في خرطوشة SPE بمذيب الميتانول
4. يُستقبل محلول الاستخلاص في بيشر ثم تبخير هذا المحلول على سخان كهربائي حتى يجف ويتبقى آثار من CEF على شكل راسب في قعر البيشر.
5. يضاف 100 µl من هيدروكسيد الصوديوم إلى البيشر بعد التبخير وتحريكه بشكل جيد حتى ينحل CEF بشكل كامل.

وبذلك يصبح المحلول جاهز للتلوين في الخطوة اللاحقة.

2.4.2 مرحلة تشكيل المعقد الملون

1. تُرسم دوائر هيدروفوبية بالقلم المخصص قطرها 12mm على وجهي ورق الترشيح ثم تُقص هذه الدوائر وعزل أحد الوجوه باللاصق.

2. تُضاف 10 µL من محلول فهلنغ المحضر مباشرة وفق الفقرة 3-2. على ورقة الترشيح ويجفف بفرن عند الدرجة 50°C لمدة 2 min.

3. تُضاف 10µL من محلول CEF الذي حُصل عليه من خطوة الفصل السابقة.

يُنتظر مدة 4min حتى يتشكل معقد بلون أخضر زيتوني وبذلك تكون الشريحة جاهزة للنقل للخطوة التالية وهي خطوة القياس.

3.4.2 القياسات اللونية الرقمية

1. تنقل الشريحة التي تم تشكيل معقد لوني عليها في الخطوة السابقة إلى صندوق التصوير المخصص وتُثبت بشكل أفقي تماماً.
2. تُلتقط الصورة عن طريق الهاتف من فتحة الصندوق المخصصة.
3. تُعالج الصور عن طريق برنامج Image J ومن ثم قراءة الكثافة اللونية إذ أظهر هذا البرنامج أن التدرج اللوني الناتج عن تفاعل CEF مع كاشف فهلنغ يتغير تدريجياً من الأزرق إلى الأخضر بازدياد التركيز، وأوضحت القياسات الرقمية لشدة الألوان والكثافة اللونية أن هذا التغير اللوني يترافق مع انخفاض تدريجي في قيمة الكثافة اللونية بازدياد التركيز إذ أن تناقص الكثافة اللونية في القناة الخضراء عند التراكيز العالية يشير إلى أن المحلول أصبح أكثر امتصاصاً وأقل نفاذية للضوء الأخضر.

4.4.2 القياسات الكروماتوغرافية

1.4.4.2 تحضير محاليل السلسلة العيارية

حُضِّرت سلسلة من المحاليل العيارية لـ CEF بتراكيز ppm (12-8-4) بنفس طريقة التحضير الواردة في الفقرة 2.3

2.4.4.2 تحضير محاليل العينات

حُضِّرت نفس العينات المذكورة للقياس الكروماتوغرافي بطريقة تحضير المحاليل بطريقة DIC التي وردت في الفقرة 2.4

3.4.4-2 الشروط الكروماتوغرافية

قيس تركيز CEF بتقانة RP-HPLC وفقاً للدستور البريطاني B.P 2015 إذ تضمنت طريقة التحليل ما يأتي:

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

1.3.4.4-2 تحضير محاليل العينات:

محلول العينة (Test solution): تم أُذيب 50.0 mg من المادة في ماء مقطر (water R)، ثم مُدِّدَ إلى 100 mL بنفس المذيب.

المحلول العياري (Reference solution): أُذيبَ 50.0 mg من سيفالكسين مونوهيدرات (Cefalexin monohydrate CRS) في ماء مقطر (water R)، ثم مُددت إلى 100 mL بنفس المذيب.

الشروط الكروماتوغرافية:

- العمود الكروماتوغرافي: C_{18} (4.6×250) mm, 5µm-120A°
- الطور المتحرك (Mobile phase): خليط من: ميثانول (methanol R)، أسيتونيتريل (acetonitrile R)، محلول13.6 g/L من فوسفات ثنائي الهيدروجين البوتاسيوم (potassium dihydrogen phosphate R) وماء مقطر (water R) بنسبة (v/v/v/v ,83:10:5:2).
- معدل التدفق(Flow rate) :1.5 mL/min .
- طول موجة الكاشف: عند طول موجي254 nm بكاشف طيفي (UV spectrophotometer).
- حجم الحقن (Injection volume): 20 µL.

تم اعتماد طريقة المنحني العياري في حساب تركيز العينات بطريقة RP-HPLC.

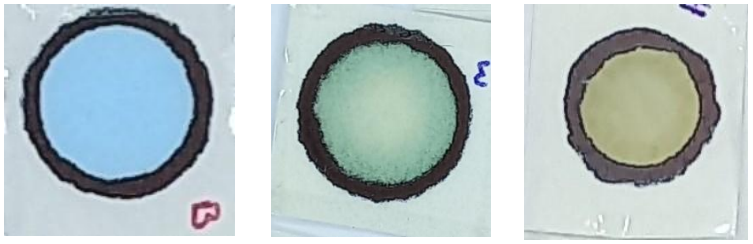
3. النتائج والمناقشة: Results and Discussion

1.3. نتائج قياسات الطريقة اللونية:

Results of Digital Colorimetric Method

يظهر الشكل (2-b و2-c) المعقد اللوني الناتج عن تفاعل CEF بعد عملية الاستخلاص مع محلول فهلنغ ضمن الدائرة الهيدروفوبية التي رُسِمَت على ورق الترشيح حيث التركيز يكون أعلى في (2-c)، إذ نلاحظ أن اللون (الأخضر) دلالة على حصول التفاعل بين

CEF وكلما زاد تركيز محلول CEF يتحول اللون إلى الأخضر الغامق أي تقل الكثافة اللونية، كما نلاحظ أن لون البقع عند إضافة الكاشف (محلول فهلنغ فقط) لونها أزرق في الشكل (2-a).



(a) (b) (c)

الشكل (1): البقع اللونية للكاشف وللمعقد

حيث: (1-a) محلول فهلنغ، (1-b) المعقد الناتج عن تفاعل CEF مع فهلنغ (تركيز منخفض نسبياً) و (1-c) المعقد الناتج عن تفاعل CEF مع فهلنغ (تركيز مرتفع نسبياً)

وعليه سوف تُعتمد كثافة البقع اللونية الناتجة عن تفاعل CEF مع محلول فهلنغ في الدراسات اللاحقة.

5.3.3 التطبيق العمل: Method Application

1.4 تحديد السيفالكسين في المستحضرات الصيدلانية بالطريقة اللونية:

بعد أن دُرِست الشروط الأفضل لتحديد CEF في العينات الدوائية، ومن ثم تطبيق خطوات تأكيد المصداقية التحليلية للطريقة المتبعة، استُعملت الطريقة المقترحة في التحديد الكمي للسيفالكسين في العينات، والتي جُمعت من الصيدليات في الأحياء السكنية في سوريا.

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

الجدول (1): التحديد الكمي لعينات الدواء بطريقة DIC

اسم العينة	n	كميةCEF وفق ما هو مصرح (mg/Cap)	كمية CEF المُحددة (mg/Cap)	±SD	RSD%
C1	1	250	249.08	1.48	0.59
	2		247.83		
	3		250.78		
	$\bar{n}$		249.23		
S1	1	250	248.44	0.53	0.21
	2		249.38		
	3		249.34		
	$\bar{n}$		249.05		

تُبيّن النتائج الواردة في الجدول (1) أن طريقة DIC أظهرت دقةً وتكراريةً عاليتين في التقدير الكمي لمحتوى السيفالكسين في كلٍّ من عينات الكبسول والشراب، إذ تراوحت قيم الانحراف المعياري النسبي (RSD%) بين 0.61-0.62% وهي أقل من نظيراتها في الطريقة المرجعية HPLC، ما يدل على استقرار وموثوقية أعلى للطريقة المقترحة.

كما أن القيم المقاسة من CEF كانت متقاربة جدًا مع القيم المصرح بها من الشركة المنتجة، إذ بلغت نسب الاسترجاع أكثر من 98% في جميع العينات، ما يؤكد أن الطريقة المقترحة

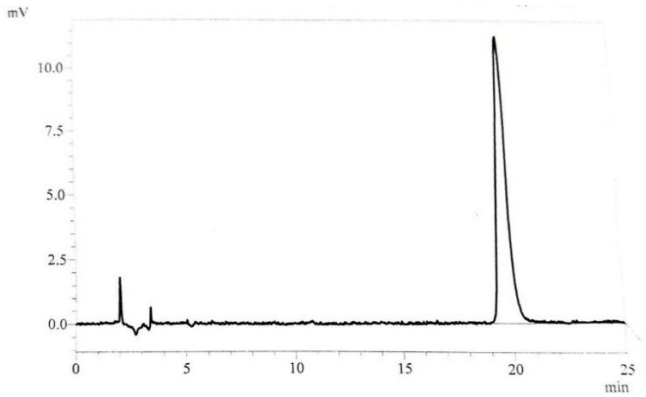
(DIC) تتميز بدقة ممتازة، وكفاءة عالية في التقدير الكمي للسيفالكسين دون الحاجة إلى خطوات فصل معقدة.

2.4 نتائج القياسات الكروماتوغرافية:

Chromatographic Measurement Results

بهدف مقارنة النتائج التي وُصِلَ إليها لتحديد CEF بطريقة DIC في المستحضرات الصيدلانية للتأكد من مصداقيتها قِيس CEF بطريقة RP-HPLC بطريقة مرجعية دستورية وفق الفقرة 3.4.2-3

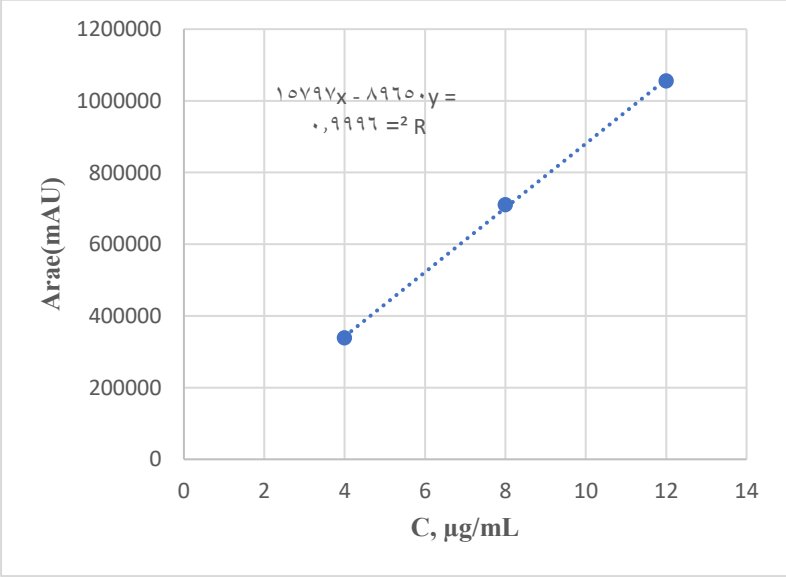
ويبين الشكل (2) الكروماتوغرام الموافق لمحلول CEF تركيزه 8 µg/mL بتطبيق الشروط الكروماتوغرافية المذكورة إذ نلاحظ أنه تظهر قمة كروماتوغرافية حادة ومتناظرة عند الزمن t_R= 20 min.



الشكل (2): الكروماتوغرام الموافق للمحلول العياري لـ CEF.

حُضِّرت سلسلة من المحاليل العيارية لـ CEF تتراوح تراكيزها بين µg/L (4-12) ومن ثُمَّ حُقنت المحاليل ضمن جهاز HPLC و رُسمت الكروماتوغرامات الموافقة ومن ثُمَّ حُسِبت مساحة القمة الكروماتوغرافية الموافقة لكل تركيز كما هو موضح بالجدول رقم (2):

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

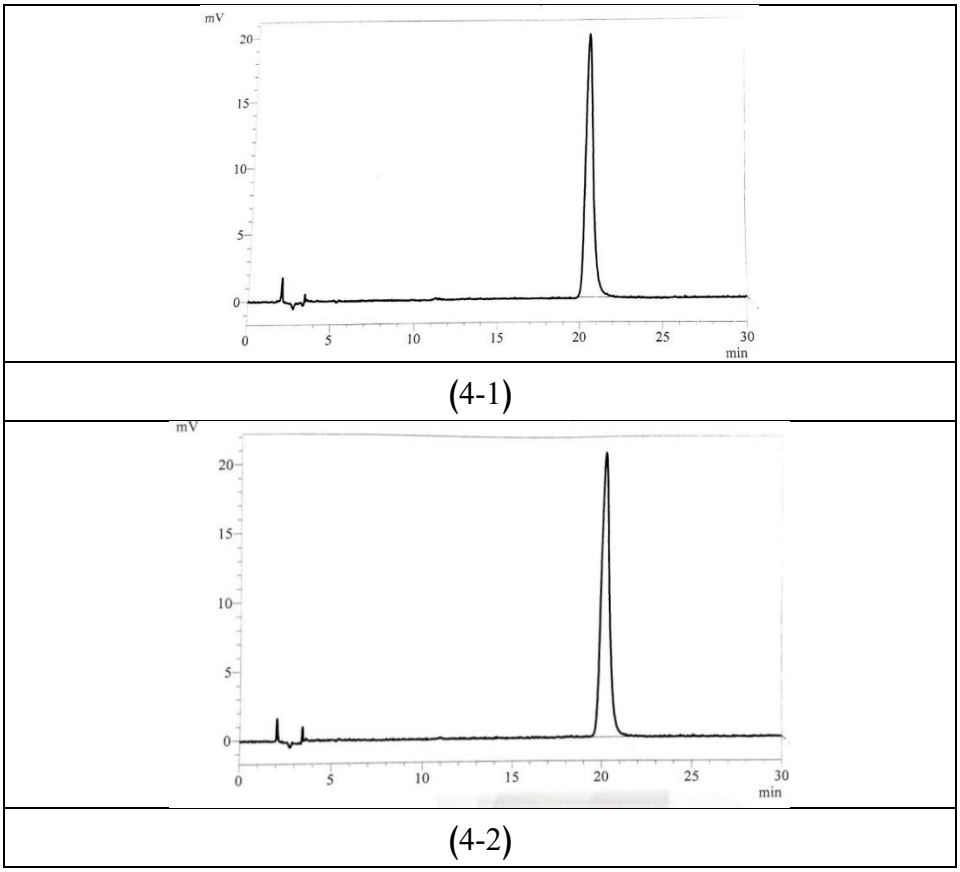


الشكل (3): المنحني الخطي للسلسلة العيارية

الجدول (2): نتائج التحديد الكمي لـ CEF بطريقة HPLC

%RSD	SD±	¯Area	Area n=3			التركيز µg/mL
			n_3	n_2	n_1	
4.2	1.4	338547	325447	336344	353851	4
1.1	7.9	709916	704225	719057	706468	8
0.7	7.5	1055747	1059611	1047031	1060600	12

1.2-4 تحديد السيفالكسين في المستحضرات الدوائية بتقانة RP-HPLC:



(4-1)

(4-2)

الشكل :(4) الكروماتوغرامات الموافقة للمستحضرات الدوائية الحاوية علىCEF.

إذ الكروماتوغرام(4-1) يعود لعينة الكبسول C1 و(4-2) لعينة الشراب S1

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

الجدول (3): التحديد الكمي لعينات الكبسول بطريقة HPLC

اسم العينة	n	كميةCEF وفق ما هو مصرح (mg/Cap)	كمية CEF المُحددة (mg/Cap)	±SD	RSD%
C1	1	250	228.13	9.3	3.9
	2		241.88		
	3		245.94		
	$\bar{n}$		238.7		
S1	1	250	225.94	3.7	1.5
	2		242.8		
	3		234.38		
	$\bar{n}$		234.37		

تُظهر النتائج الواردة في الجدول (3) أن طريقة HPLC أظهرت دقة جيدة في تقدير محتوى CEF في كلٍّ من عينات الكبسول والمعلّق، إذ تراوحت قيم الانحراف المعياري النسبي (RSD%) بين 1.5-1.56% ما يشير إلى تكرارية مقبولة ودقة عالية للطريقة المرجعية.

3.4 مقارنة نتائج الطريقة اللونية الرقمية DIC مع نتائج RP-HPLC

Comparative evaluation between the digital colorimetric (DIC) method and the HPLC method

بهدف التحقق من صحة النتائج التي وُصل إليها في الطريقة اللونية الرقمية تمَّت مقارنة نتائج تحديد CEF في المستحضرات الصيدلانية والتي حُصل عليها بتطبيق طريقة DIC مع نتائج تحديد CEF في نفس المستحضرات الصيدلانية بتطبيق تقانة RP-HPLC

الجدول (4): مقارنة بين طريقة DIC وHPLC

المستحضر الصيدلاني	المحتوى النظري mg/cap	المحتوى المُحدد بالطريقة المقترحة±SD	المحتوى المُحدد بالطريقة المرجعيّة	اختبار F	اختبار T
C1	250 mg-cap	249.24 ±1.48 mg/Cap	9.3 ±238.7 mg/Cap	1.04	9.06
S1	250 mg/5mL	249.05 ±0.53 mg/5mL	3.7 ±234.3 mg/5mL	48.7	6.8

تُبيّن البيانات الواردة في الجدول (4) أن قيم F المحسوبة لجميع العينات كانت أدنى من القيم الجدولية المرجعية عند درجات حرية (2) ومستوى دلالة (0.05). وبناءً على ذلك، يمكن الاستنتاج أن الفروق في التباينات بين الطريقة المقترحة والطريقة المرجعية ليست معنوية إحصائياً، ما يشير إلى أن الطريقتين متطابقتان من حيث الدقة (precision).

كما تُظهر نتائج اختبار t المبينة في الجدول (4) أن قيم t المحسوبة لجميع العينات كانت أدنى من القيم الجدولية المرجعية عند مستوى دلالة (0.05) ودرجات حرية (2). ويدل ذلك على عدم وجود فروق معنوية بين متوسطات القيم الناتجة من الطريقة المقترحة والطريقة

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

المرجعية، ما يؤكد أن الطريقتين متكافئتان من حيث الصحة والدقة الإحصائية (accuracy and precision).

4.4 تقييم الطريقة المقترحة وفق مبادئ الكيمياء الخضراء:

Evaluation of the Method According to Green Chemistry Principles

في السنوات الأخيرة ازداد التركيز بشكل ملحوظ على تطوير أساليب تحليلية تكون صديقة للبيئة، اعتمدت مجموعة من المقاييس الكمية لتقييم درجة «الخُضْرة» في التحليل الكيميائي. من بين هذه المقاييس، يُستعمل مقياس النقاط الجزائية (Penalty Points, PPs) ضمن الأداة المعروفة بـ Analytical Eco-Scale، إذ تُمنح نقاطًا جزائية لعوامل مثل طبيعة الكاشف، وكمية الاستعمال، والأجهزة المستعملة، واستهلاك الطاقة، وإنتاج النفايات. ثم يُطرح مجموع هذه النقاط من قيمة أساسها 100 لتحديد مدى صداقة الطريقة للبيئة؛ فإذا كانت النتيجة فوق 75 تعتبر «خضراء ممتازة»، وإذا كانت بين 50 و75 تُعتبر «مقبولة»، وأقل من 50 تُعدّ «غير مناسبة»[16]. وطُبّق هذا المقياس لتحديد اخضرار الطريقة الطيفية المُطوّرة من خلال تحديد مجموع النقاط الجزائية لجميع المَعلمات المُستعملة في هذا البحث كما هو مُوضّح في الجدول (5).

الجدول (5): تقييم تحليلي للمقياس البيئي (PPs) لخضرة الطريقة المطوّرة.

			PPs
الكواشف	الميتانول	<10ml	3
	الماء المقطر	-	
	هيدروكسيد الصوديوم	<100µL	
مجموع النقاط			3
الجهاز المستخدم	هاتف محمول للتصوير مصدر ضوء LED (1A,12V)	1	0
النفايات		≥10ml	1
الطاقة الكهربائية	تبخير المحلول فقط مصدر منخفض للطاقة	1	1
المخاطر المهنية	التعامل مع كمية صغيرة جداً من الميتانول فقط		1
المجموع النهائي			6

وفق دليل PPs:

0-10 الطريقة خضراء جداً

11-20 الطريقة خضراء جزئياً

>20 الطريقة تحتاج تحسين

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

الجدول (6): تقييم تحليلي للمقياس البيئي (PPs) لخضرة طريقة HPLC.

PPs			
10	>10ml	الميتانول	**الكواشف**
10	>10ml	الاسيتونتريل	
2		فوسفات أحادية البوتاسيوم	
22			**مجموع النقاط**
3	1	HPLC	**الجهاز المستخدم**
2	≥300ml		**النفايات**
2	1	UV جهاز مضخة وكمبيوتر ومصباح	**الطاقة الكهربائية**
2		التعامل مع مذيبات سامة وقابلة للاشتعال	**المخاطر المهنية**
31		**المجموع النهائي**	

مما سبق نستنتج أن الطريقة المقترحة باستعمال SPE وDIC تعد صديقة للبيئة بدرجة عالية نظراً لاستعمال مذيبات قليلة السمية وبكميات قليلة، وعدم الاعتماد على أجهزة تستهلك طاقة كبيرة أو تولد نفايات مؤذية.

الجدول (7): مقارنة الإيجابيات والسلبيات بين الطريقة المقترحة والطريقة المرجعية

	الطريقة المقترحة (القياس اللوني الرقمي)	الطريقة المرجعية (HPLC)
الإيجابيات	• طريقة خضراء صديقة للبيئة (استعمال كميات ضئيلة من المذيبات) • منخفضة الكلفة ولا تحتاج أجهزة متقدمة • سهلة التطبيق ومناسبة للتحليل الميداني • تستهلك طاقة كهربائية منخفضة جدًا • آمنة نسبيًا للعاملين بالمختبر	• دقة عالية جدًا في تحديد التركيزات • إمكانية تحليل عدة مركبات في وقت واحد • موثوقية عالية ومعايرة دقيقة • متوفرة في أغلب المختبرات المرجعية
السلبيات	• حساسية أقل قليلًا مقارنة بـ HPLC • تعتمد على دقة التصوير والتحليل اللوني الرقمي • تتطلب ضبطًا جيدًا للإضاءة وثبات اللون	• تستهلك كميات كبيرة من المذيبات العضوية (ميثانول + أسيتونتريل) • عالية الكلفة من حيث الأجهزة والصيانة • تولّد نفايات سامة وصعبة المعالجة • تستهلك طاقة كهربائية كبيرة • مخاطر مهنية أعلى بسبب المذيبات السامة

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

4. الخلاصة: Conclusion

هدفت هذه الدراسة إلى مقارنة إحصائية دقيقة بين طريقة القياس اللوني الرقمي (Digital Image Colorimetry, DIC) المطوّرة لتقدير السيفالكسين في المستحضرات الصيدلانية والطريقة المرجعية المعتمدة من الدستور البريطاني (HPLC–BP). أظهرت النتائج أن الطريقة المطوّرة تتميز بكونها بسيطة، خضراء، وفعّالة، إذ تعتمد على تحليل الصور الرقمية للمعقد الملوَّن المتشكل دون الحاجة إلى كميات كبيرة من المذيبات العضوية أو إلى أجهزة كروماتوغرافية متقدمة.

أظهرت دراسة تأثير زمن القياس أن أربع دقائق تمثل الزمن الأمثل لقياس الكثافة اللونية، بينما بيّنت الاختبارات الإحصائية (t وF) عدم وجود فروق معنوية بين نتائج الطريقتين عند مستوى دلالة $P > 0.05$، مما يدل على تطابق الدقة والتكرارية بينهما.

من الناحية البيئية، أظهر تقييم خضرة الطريقة تفوّق طريقة DIC بوضوح، إذ بلغت نقاط المقياس البيئي (PPS) للطريقة المطوّرة 6 نقاط فقط مقارنة بـ 31 نقطة للطريقة المرجعية HPLC، ما يؤكد استدامتها وتوافقها مع مبادئ الكيمياء الخضراء من خلال تقليل استهلاك المذيبات والوقت والطاقة.

تخلص الدراسة إلى أن طريقة القياس اللوني الرقمي تمثل بديلًا بيئيًا واعدًا للطريقة المرجعية التقليدية في تحليل المستحضرات الصيدلانية المحتوية على السيفالكسين، مع المحافظة على الدقة والكفاءة التحليلية.

5. المراجع: References

[1] X. N. Hua *et al.*, "Novel pharmaceutical salts of cephalexin with organic counterions: structural analysis and properties," *RSC Adv*, vol. 12, no. 54, pp. 34843–34850, Dec. 2022, doi: 10.1039/d2ra05565a.

[2] M. Pasha *et al.*, "A systematic review on the clinical pharmacokinetics of vildagliptin in healthy and disease populations," *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, vol. 19, no. 12, pp. 991–1003, 2023, doi: 10.1080/17425255.2023.2288252.

[3] S. S. Panda, B. V. V. Ravi Kumar, R. Dash, and G. Mohanta, "Determination of cephalexin monohydrate in pharmaceutical dosage form by stability-indicating RP-UFLC and UV spectroscopic methods," *Sci Pharm*, vol. 81, no. 4, pp. 1029–1041, 2013, doi: 10.3797/scipharm.1306-07.

[4] M. N. Khan, S. Kalsoom, R. Hussain, Z. Shah, and M. Saadiq, "Development of Indirect Spectrophotometric Method for Quantification of Cephalexin in Pure Form and Commercial Formulation Using Complexation Reaction," vol. 17, no. 2, pp. 118–123, 2016.

[5] C. V. Di Anibal, S. Rodríguez, L. Albertengo, and M. S. Rodríguez, "UV-Visible Spectroscopy and Multivariate Classification as a Screening Tool for Determining the Adulteration of Sauces," vol. 1253, 2016, doi: 10.1007/s12161-016-0485-7.

[6] B. Siddartha and C. K. Bharathi, "Simultaneous estimation and validation of bromhexine and cephalexin in bulk and pharmaceutical dosage form by RP-HPLC method," vol. 6, no. 6, pp. 315–321, 2014.

[7] A. Alfeen and B. Elias, "Determination of Some Cephalosporins in Pharmaceutical Dosage Forms by RP-HPLC Method," pp. 66–73, 2015.

[8] A. L. Rao, T. Prasanthi, and U. S. Spandana, "International Journal of Research in AYUSH and Pharmaceutical Sciences STABILITY INDICATING RP-HPLC METHOD DEVELOPMENT AND VALIDATION FOR THE ANALYSIS OF CEPHALEXIN AND BROMHEXINE IN PHARMACEUTICAL DOSAGE FORM," vol. 1, no. 3, pp. 137–147, 2017.

[9] A. Kassa and M. Enday, "Highly Specific Voltammetric Detection of Cephalexin in Tablet Formulations and Human Urine Samples Using a

تاريخ إيداع البحث :2025/11/19
تاريخ قبوله للنشر:2026/01/14

Poly (2 , 4 , 6-2 ′ , 4 ′ , 6 ′ - hexanitrodiphenylamine) -Modified Glassy Carbon Electrode," 2024, doi: 10.1021/acsomega.4c04730.

[10] A. Khosravi-Hamoleh and M. Cheraghizade, "Enhanced and selective electrochemical sensing of cephalexin using zeolite/CPE," *New Journal of Chemistry*, vol. 46, no. 34, pp. 16317–16324, Aug. 2022, doi: 10.1039/D2NJ00731B.

[11] S. A. Khatibi, S. Hamidi, and M. R. Siahi-Shadbad, "Current trends in sample preparation by solid-phase extraction techniques for the determination of antibiotic residues in foodstuffs: a review," *Crit Rev Food Sci Nutr*, vol. 61, no. 20, pp. 3361–3382, 2021.

[12] A. V. Tumskaia, I. V. Loginov, R. S. Tumskiy, and I. V. Kosyreva, "Simple and rapid determination of cephalexin by digital colorimetry using a laboratory-developed smartphone application," *Instrum Sci Technol*, vol. 50, no. 2, pp. 190–202, 2022, doi: 10.1080/10739149.2021.1980005.

[13] S. H. Elagamy, L. Adly, M. Ahmed, and A. Hamid, "Smartphone based colorimetric approach for quantitative determination of uric acid using Image J," *Sci Rep*, pp. 1–9, 2023, doi: 10.1038/s41598-023-48962-0.

[14] M. D. Permana *et al.*, "A Simple Methods for Determination of Methylene Blue using Smartphone-Based as Digital Image Colorimetry," *Trends in Sciences*, vol. 20, no. 4, 2023, doi: 10.48048/tis.2023.5149.

[15] M. Tobiszewski, "Metrics for green analytical chemistry," Apr. 21, 2016, *Royal Society of Chemistry*. doi: 10.1039/c6ay00478d.