الاستخلاص بالطور الصلب (SPE) والقياس اللوني الرقمي كنهج صديق للبيئة لفصل وتقدير Cephalexin في المستحضرات الدوائية

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

جامعة إدلب، كليّة العلوم، قسم الكيمياء

الملخص:

هدف هذا البحث إلى تطوير طريقة تحليلية بسيطة وخضراء لتقدير CEF Cephalexin اعتمادًا على الفصل بخراطيش الاستخلاص الصلب (SPE) متبوعًا بـ القياس اللوني الرقمي (Digital Image Colorimetry, DIC) بوصفهِ بديلاً بيئيّاً عن الطرائق الكروماتوغرافية التقليدية.

نُشِّطت في البداية خرطوشة C18 باستعمال 3mL من الميثانول ثم موازنتها بـ 3mL من الماء المقطر، وبعد تمرير 10mL من العينة المائية تم امتُلصت المادة الفعالة بكمية صغيرة (2mL) من الميثانول. بُخِّرَ المحلول وإعادة إذابة الراسب في 50µL من هيدروكسيد الصوديوم، ثم إجراء التفاعل اللوني على ورق الترشيح بإضافة 10µL من الكاشف و10µL من العينة، إذ سُجِّلَ اللون الناتج بضوء LED (1A, 12V) وصُوِّرَ بكاميرا الهاتف المحمول.

أظهرت النتائج أن الطريقة المطوّرة توفر تحليلاً دقيقًا وموثوقًا بمدى خطي مقبول إذ تراوح مجال الخطية بين 1-16µg/mL بمعاملات ارتباط جيدة (R^2> 0.9917) وقد كان حد الكشف (LOD) (0.027)، وحد التحديد الكمي (LOQ) (0.088) وتكرارية جيدة وكانت قيم الانحراف المعياري النسبي المئوي (RSD%) لدى حساب الدقة في يوم لم تتجاوز (0.56%) وفي أيام عدة لم تتجاوز (1.52%)، وتراوحت قيم الاسترجاعية في عينة الشراب Cefalex S2 % (101-100.16) وفي عينة الكبسول Cefalex C2 % (101.6-98.25) مع خفض واضح في استهلاك المذيبات العضوية والطاقة.

الكلمات المفتاحية:

CEF Cephalexin، SPE، DIC، الكيمياء الخضراء

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

Solid-phase Extraction (SPE) Combined with Digital Colorimetry as an Eco-friendly Method for the Separation and Quantification of Cephalexin in Pharmaceutical Preparations

Asmaa Almadani, Dr. Ahmad Halabi, Waleed Alahmad

Idlib University, Faculty of Science, Department of Chemistry

Abstract:

The aim of this study was to develop a simple and green analytical method for the determination of cephalexin, based on solid-phase extraction (SPE) followed by digital image colorimetry (DIC) as an environmentally friendly alternative to conventional chromatographic methods. Initially, a C18 cartridge was activated using 3 mL of methanol and then equilibrated with 3 mL of distilled water. After passing 10 mL of the aqueous sample through the cartridge, the active compound was eluted with a small volume (2 mL) of methanol. The eluate was evaporated and the residue was reconstituted in 50 µL of sodium hydroxide. The colorimetric reaction was then performed on filter paper by adding 10 µL of the reagent and 10 µL of the sample, and the resulting color was recorded using an LED light (1A, 12V.) and captured with a mobile phone camera

The results demonstrated that the developed method provides accurate and reliable analysis with an acceptable linear range of 1–16 µg/mL and good correlation coefficients ($R^2 > 0.9917$). The limit of detection (LOD) was 0.027 µg/mL, and the limit of quantification (LOQ) was 0.088 µg/mL. The method showed good precision, with relative standard deviation (RSD%) values not exceeding 0.56% for intra-day precision and 1.52% for inter-day precision. Recovery values ranged from 100.16–101% for the Cefalex S2 syrup sample and 98.25–101.6% for the Cefalex C2 capsule sample, with a notable reduction in organic solvent and energy consumption. The total penalty points (PPs) for the green assessment of the developed method were only 6, compared to 26 points for the reference HPLC method, confirming its superiority in terms of environmental friendliness and sustainability.

Key Words:

Cefalexin, SPE, DIC, Green Chemistry

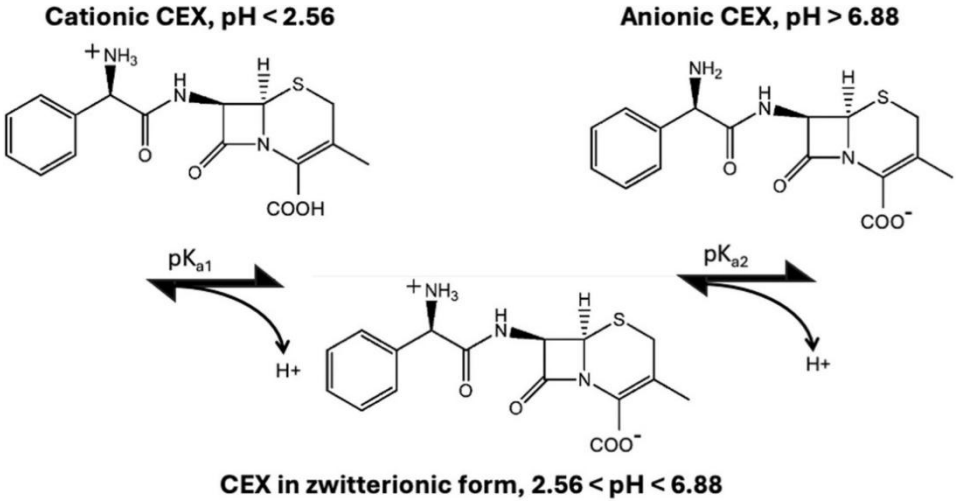
1. مقدمة: Introduction

السيفاليكسين هو مضاد حيوي من الجيل الأول من السيفالوسبورينات تم تقديمه في ستينيات القرن العشرين كمشتق شبه صناعي من السيفالوسبورين سي، وهو عامل مضاد للبكتيريا يمكن تناوله عن طريق الفم من مجموعة بيتا لاكتام ويُستعمل تجاريًا في شكل هيدرات. وفي حين أنه فعال بشكل خاص ضد عدوى المكورات العنقودية والعقدية، إلا أنه يتمتع بطيف ضيق نسبيًا من الفعالية [1]، إذْ يُستعمل لالتهابات المسالك البولية غير المعدية التي تسببها البكتيريا المعوية الحساسة والتي تعمل عن طريق تثبيط جدار الخلية البكتيرية، عن طريق منع المرحلة النهائية من تخليق الببتيدوجليكان، وهو مكون أساسي لجدران الخلايا البكتيرية، هذا المضاد الحيوي يعطل بنية الخلية البكتيرية، ما يؤدي في النهاية إلى موت الخلية. وهو متوفر بأشكال فموية لاحتياجات جرعات مختلفة، ويُبيّن الشكل رقم (1) الصيغ المنشورة للسيفالكسين [2]، ويُوضّح الجدول رقم (1) أهم الخصائص الفيزيائية والكيميائية للسيفالكسين. عموماً، تكون السيفالوسبورينات من الجيل الأول أكثر فعالية ضد البكتيريا إيجابية الغرام، ومع ذلك فهي تعمل أيضًا ضد بعض البكتيريا سلبية الغرام (على سبيل المثال، الإشريكية القولونية، الكلبسيلة الرئوية، بروتيوس ميرابيليس) [3]. كما أنه واسع الاستعمال يتمتع بطيف واسع من النشاط، ويظهر توافرًا حيويًا ممتازًا، إذ يفرز 90% من الدواء دون تغيير في البول. تنعكس شعبيته في مكانته كنوع في فئة السيفالوسبورين، ثاني أكثر مجموعة من المضادات الحيوية الموصوفة في أوروبا وقد قُدِّر استهلاك CFX بنحو 3000 طن سنويًا، حُدد CFX كمركب زويتيريون لأنه يحتوي على مجموعة حمضية وقاعدية[4]. وقد أُجريت دراسات عدة لتحديد CEF في أنواع عدة من المستحضرات الدوائية، منها التحليل الطيفي بالأشعة المرئية وفوق البنفسجية لتحديد CEF [6][5]، كما استُعملت مطيافية الأشعة تحت الحمراء مع تقنيات تحويل فوريه لتحديد CEF والبنسلين في الدواء [7]، كما طوّرَت طريقة تحليلية لتقدير CEF في الأشكال الصيدلانية الصلبة باستعمال مطيافية رامان مدعومة بأدوات كيمومترية [8]، وأيضاً طُورت طريقة كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء (RP-HPLC) لتحديد CEF [11][10][9] ،كما استُعملت الطرائق الإلكتروكيميائية لتحديد CEF إذ طوِّر مستشعر كهروكيميائي جديد للكشف عن

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

السيفاليكسين (CEF)، بالاعتماد على بوليمر مطبوع جزيئيًا (MIP) [12]، كما صُنِعَ مستشعر أحادي هيدرات السيفاليكسين من جسيمات نانوية من أكسيد السيريوم[13].

ومع ازدياد الحاجة لتطوير طرائق تحليلية تتميز بالحساسية والانتقائية العالية لتحديد CEF في العينات الدوائية، بإضافة إلى أن تكون هذه الطرائق سهلة التطبيق وبسيطة وأقل تكلفة اقتصادية والأهم من ذلك أنها صديقة للبيئة، نتيجة لذلك توجّه هذا البحث لتطبيق طريقة لونية فعّالة ودقيقة وسهلة التطبيق إضافة إلى أنها اقتصادية وصديقة للبيئة، من أجل تحديد CEF في عينات الدواء المحلية والمُستوردة في سوريا.



الشكل (1) البنية الكيميائية لـ CEF.

الجدول (1): الخصائص الفيزيائية والكيميائية للسيفالكسين.

Cephalexin monohydrate	Traditional Name
(6R,7R)-7-[[(2R)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid;hydrate	**الاسم النظامي IUPAC**
بلورات لونها أبيض أو مائل للبياض	**المظهر**
$C_{16}H_{19}N_3O_5S$	**الصيغة المُجملة**
358.842 g. mol^{-1}	**الوزن الجزيئي**
شحيح الذوبان في الماء، غير قابل للذوبان عملياً في الإيتانول.	**الذوبانية**

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 العمود: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، حجرة تصوير بأبعاد 22 ×25 ×30cm مع ضوء لد (V12 ,1A) الذي يستعمل لإنتاج الصور، التُقطت الصور على خلفية بيضاء موحدة، كاميرا 50MP من جهاز محمول Samsung Galaxy A36 ومزود بتطبيق ImageJ.

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

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 (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 عياري أم للسيفالكسين تركيزه 16 mg/ml:[14]

حُضِّرَ المحلول العياري الأم من CEF وذلك بوزن كمية تكافئ 320 mg من مسحوق CEF مونوهيدرات، ومن ثم نقلها إلى دورق حجمي سعة 20ml وإذابته في كمية كافية من هيدروكسيد الصوديوم 0.05N مع التحريك مدة كافية لإتمام الانحلال ثم إكمال الحجم بهيدروكسيد الصوديوم حتى الدائرة العيارية، وبذلك يُنتَج التركيز المطلوب، يحفظ المحلول في عبوة مغلقة عاتمة بعيداً عن الضوء، يُحَضّرُ يومياً.

- تحضير المحاليل العيارية من CEF لدراسة المتغيرات:

حُضِّرَت سلسلة من المحاليل العيارية للسيفالكسين بتراكيز (8-4-2-1-0.5) mg/ml وذلك بأخذ حجم مناسب لكل منها انطلاقاً من المحلول العياري الأم، ومن ثم نقلها إلى دوارق حجمية سعة 10 ml وإتمام الحجم حتى الدائرة العيارية بالماء المقطر

- تحضير محلول فهلنغ [15]

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

- تحضير محلول فهلنغ A

حُضِّرَ بوزن 7g من كبريتات النحاس المائية $CuSO_4.5H_2O$ ونقله إلى دورق حجمي سعة 100ml وإذابته بكمية من الماء المقطر ثم إتمام 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.

- تحضير محلول CEF العياري لدراسة الخطية

حُضِّرَ محلول عياري أم من CEF بتركيز 1mg/ml وذلك بوزن 11.078 mg وذلك بعد مراعاة الرطوبة والوزن الجزيئي، ثم نقله لدورق حجمي سعة 10ml وإذابته بالماء المقطر ثم إتمام الحجم حتى الدائرة العيارية بالماء المقطر.

- تحضير المحاليل العيارية من CEF لدراسة الخطية:

حُضِّرَت سلسلة من المحاليل العيارية للسيفالكسين بتراكيز (16-12-8-4-1) mg/mL وذلك بأخذ حجم مناسب لكل منها من المحلول الأم للسيفالكسين ذي التركيز 1mg/mL، ومن ثم نقلها إلى دوارق حجمية سعة 10ml وإتمام الحجم حتى الدائرة العيارية بالماء المقطر

- تحضير المحاليل لحساب الاسترجاعية:

وُزِنَ محتوى 20 كبسولة من مستحضر CEF ثم أخذ متوسط وزن الكبسولة الواحدة ثم وزن منه ما يكافئ 100 mg من CEF ونقلها إلى دورق حجمي سعة 100 ml ثم إذابته بكمية من الماء المقطر وأخيراً أكمل الحجم بالماء المقطر حتى الدائرة العيارية، أُخِذَ حجم ثابت (40µL) من كل محلول من المحاليل المحضرة ثم أضيف لكل منها حجم معين من المحلول العياري لـ CEF ذي التركيز 1mg/mL

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

تحضير محلول للعينة فقط بأخذ 40µl من المحلول الأم للعينة لدورق 10ml وإتمام الحجم للدائرة العيارية بحيث تكون عينة شاهدة.

4.2 تحضير العينات: Samples Preparation

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 ونقلها 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 باستعمال مرشحات 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

حُضِّرَ 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، تم أخذ 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.

4.2. طرائق العمل:

1.4.2 مرحلة فصل CEF بخراطيش SPE

1. تُنَشّط خرطوشة ب 3ml من الميتانول ثم موازنتها ب 3ml من الماء المقطر.
2. تُمَرر 10ml من محلول CEF على الخرطوشة.
3. يُمتلص CEF المحتجز ضمن الطور الساكن في خرطوشة SPE بمذيب الميتانول
4. يُستقبل محلول الامتلاص 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. أُضيف 10 µL من محلول فهلنغ المحضر مباشرة وفق الفقرة 3-4.1.2 على ورقة الترشيح ويجفف باستخدام فرن عند الدرجة 50°C لمدة 2 min.

3. أُضيف 10µL من محلول CEF الذي ينتج من خطوة الفصل السابقة.

4. 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 شُكِّل معقد لوني عليها في الخطوة السابقة إلى حجرة التصوير المخصص وتُثبت بشكل أفقي تماماً.
2. تُلتقَط الصورة عن طريق الهاتف من فتحة الصندوق المخصصة.

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

3. تُعالَج 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.

5.2. دراسة شروط الاستخلاص

1.5.2 دراسة تأثير نوع المذيب العضوي الأمثل لعملية الفصل

أُختبرت مُذيبات عدة لإذابة CEF وهي الإيتانول والميتانول والأسيتونتريل

2.5.2 دراسة تأثير حجم المذيب العضوي الأمثل لعملية الفصل

1. حُضِّرَت سلسلة عيارية من CEF ابتداءاً من محلول أم تركيزه 16mg/ml بهيدروكسيد الصوديوم وذلك بالتمديد بالماء المقطر للحصول على التراكيز التالية:

(500-1000-2000-4000-8000) mg/mL

2. حُضِّرَ محلول أم للسيفالكسين بالماء المقطر بتركيز 1mg/ml ثم مُدِّد بالماء المقطر للحصول على تركيز 20 mg/mL
3. تنشيط خرطوشة ب 3ml من الميتانول ثم موازنتها ب 3ml من الماء المقطر
4. إمرار محاليل عيارية من CEF حجم كلا منها 10ml المحضرة بالخطوة (2) على الخرطوشة ثم امتلاصها بالميتانول بأحجام مختلفة (3-2-1) مل
5. تبخير العينة ثم إذابتها بهيدروكسيد الصوديوم 100µl
6. وقياس المادة لونياً.

3.5.2 دراسة تأثير حجم هيدروكسيد الصوديوم الأمثل لعملية الإذابة

بعد تطبيق عملية الفصل المذكورة سابقاً في الفقرة 1.4.2 أُذيبت المادة بهيدروكسيد الصوديوم بأحجام µl (100-75-50-25) ثم يُطبق القياس اللوني بتطبيق نفس الخطوات السابقة

6.2. التحقق من مصداقية الطريقة التحليلية:

Validation of the analytical method

تتطلب الطرق التحليلية المبتكرة إجراء دراسة التحقق من صلاحيتها، وقد وُضعت قواعد ومتطلبات دراسة التحقق من صلاحية الطرق التحليلية من قبل المؤتمر الدولي للمواءمة (ICH) الذي يتحدث عن معايير التحقق الآتية:

- النوعية: Specificity/Selectivity
- منحني المعايرة ومدى الخطية: Linearity and Calibration Curve Range
- الصحة والاسترجاعية: Accuracy and Recovery
- الدقة: Precision
- حد الكشف: Limit Of Detection
- حد التحديد الكمي: Limit Of Quantitation

3.. النتائج والمناقشة: Results and Discussion

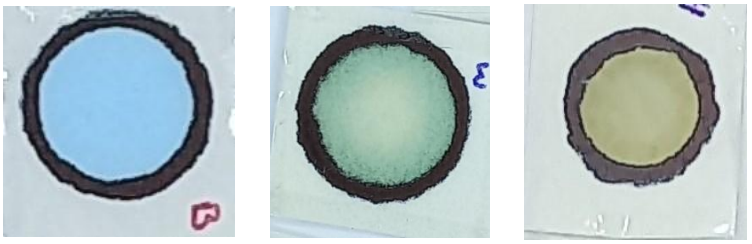
1.3. نتائج قياسات الطريقة اللونية:

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 رُسمت على ورق الترشيح إذ 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

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

اللونية، كما نلاحظ أن لون البقع عند إضافة الكاشف (محلول فهلنغ فقط) لونها أزرق في الشكل (2-a).



(a) (b) (c)

الشكل (2): البقع اللونية للكاشف وللمعقد

حيث: (2-a) محلول فهلنغ إذ كانت قيمة الكثافة اللونية D=215.722، (2-b) المعقد الناتج عن تفاعل CEF مع فهلنغ (تركيز منخفض نسبياً) D=202.29 و (2-c) المعقد الناتج عن تفاعل CEF مع فهلنغ (تركيز مرتفع نسبياً) D=189.106.

ومن ثُمَّ فإنَّه تُعتمد كثافة البقع اللونية الناتجة عن تفاعل CEF مع محلول فهلنغ في الدراسات اللاحقة.

إذ التفاعلات وفق المعادلات الآتية:

- معادلات تكوّن معقّد فهلنغ(Cu (II)–tartrate) :

$$[Cu(H_2O)_6]^{2+}{}_{(aq)} + [C_4H_4O_6]^{2-}{}_{(aq)} \rightarrow [Cu(H_2O)_4(C_4H_4O_6)]_{(aq)} + 2H_2O_{(l)}$$

$$[Cu(H_2O)_4(C_4H_4O_6)]_{(aq)} + 2OH^-_{(aq)} \rightarrow [Cu(H_2O)_2(OH)_2(C_4H_4O_6)]^{2-}_{(aq)} + 2H_2O_{(l)}$$

- تحلل قاعدي (فتح حلقة β-lactam):

$S\text{-}(\beta\text{-lactam}) + OH^- \rightarrow$ نواتج مفتوحة (أمينات/أميدات مفتوحة + حمض كاربوكسيلي أو أمين ثانوي).

(هنا تتشكل مجموعات $-NH_2$, $-COO^-$، ممكن إنولات/إنول–أيونات).

تكوين مواقع تعقد للنحاس (ligating sites):

النواتج المفتوحة تُوفّر مواقع تبرع إلكتروني (N, O) ← تتعقد مع Cu^{+2}

$R–NH_2 / R–COO^- + Cu^{2+} \rightarrow [Cu^{2+}–(ligand)]$ (معقّد ذي صبغة غالبًا أزرق/أخضر حسب هندسة التنسيق)

2.3 نتائج دراسة الشروط التجريبية لفصل وقياس CEF

Results of the study of the experimental conditions for the separation and determination of CEF

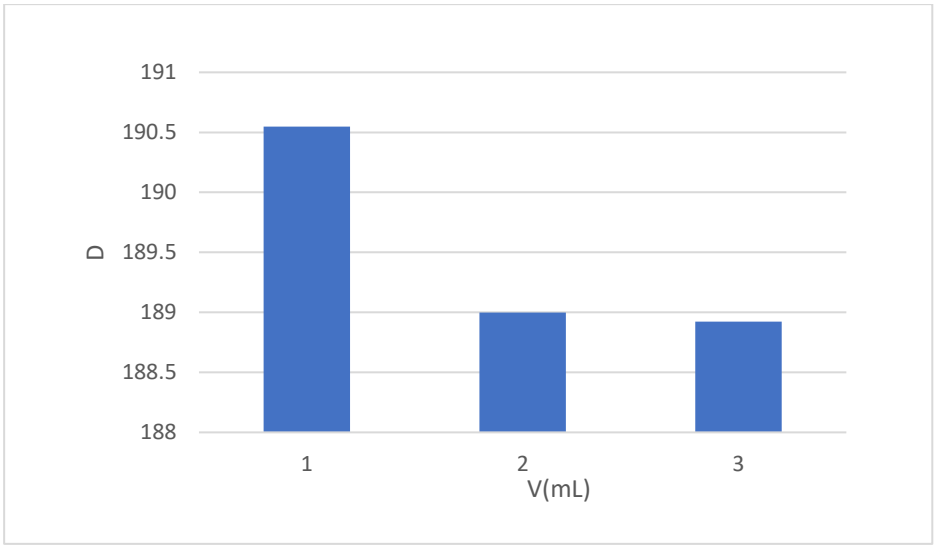
1.2. 3 تحديد نوع المذيب الأمثل لامتلاص CEF من خراطيش SPE:

بما أن الميتانول يتميز بقطبية عالية فقد كان المذيب الأمثل لإذابة CEF ذي القطبية العالية بناءً على تركيبه الكيميائي إذ يحوي على مجموعات وظيفية قطبية مثل الأمين ($-NH_2$) والكربوكسيل ($-COOH$) مقارنة بمذيبات أخرى مثل الإيتانول والأسيتونتريل إذ إنه لم تعطِ الاختبارات التي أُجريت بالإيتانول أو الأسيتونتريل كمُحل للامتلاص في حين أعطى الميتانول نتائج إيجابية وأبدى قدرة أكبر على امتلاص CEF.

2.2. 3 دراسة تأثير تغير حجم الميتانول:

لأجل دراسة تأثير حجم المذيب الأمثل (الميتانول) على امتلاص CEF وإيجاد الحجم الذي يعطي أفضل كفاءة فصل، رُسِمَ المنحني البياني الذي يمثل تغيرات الكثافة الضوئية D بدلالة حجم الميتانول كما هو موضح بالشكل (3)

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



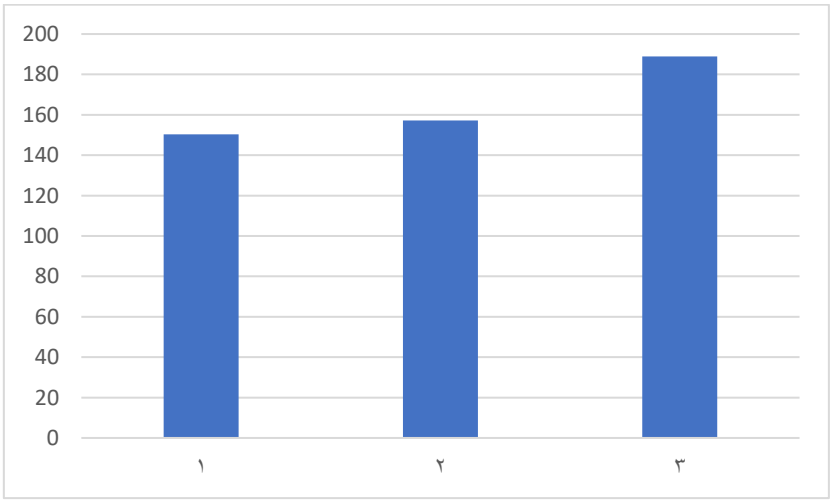
الشكل (3): تأثير تغير حجم الميتانول على الكثافة اللونية

نلاحظ من الشكل أن زيادة حجم الميتانول المستعمل لامتلاص CEF قد أدى لتناقص الكثافة اللونية وبالتالي زيادة مردود الاستخلاص وكان الحجم 2mL هو الأنسب كما تبين أن شدة الكثافة اللونية تبقى نفسها تقريباً عند استعمال الحجم 3mL من الميتانول، ولم يستعمل هذا الحجم كونه غير ناجع وسيطيل فترة تبخير المذيبات.

3.2. 3 دراسة تأثير حجم الإذابة بهيدروكسيد الصوديوم:

Study on the Effect of Dissolution Volume of Sodium Hydroxide

دُرست تغيرات الكثافة اللونية بعد الفصل بدلالة تغير حجم NaOH المستعمل لحل CEF، إذ استعملت أربعة حجوم من NaOH µl (25-50-75-100) لإذابة CEF بعد فصله وتبخير الميتانول ومن ثم تشكيل المعقد الملون وقياس كثافته الضوئية، يعرض الشكل التالي تغيرات الكثافة اللونية D بدلالة حجم NaOH.



الشكل (4): تأثير حجم هيدروكسيد الصوديوم على الكثافة اللونية

تبين النتائج أنه بازدياد حجم NaOH المستعمل للإذابة تزداد الكثافة اللونية ومن ثمَّ تنقص الحساسية لذلك سيعتمد الحجم 50 µl من NaOH اللازم لإذابة CEF في الدراسات اللاحقة.

لم تُعتمد حجوم لـ NaOH أقل من 50 µL لصعوبة التعامل معه في إذابة CEF أيضاً احتمال ازدياد الخطأ التجريبي.

خُلاصة دراسة الشروط التجريبية:

نعرض في الجدول (2) أهم الشروط التجريبية المؤثرة على عملية فصل CEF بخراطيش SPE ومن ثم قياسها بطريقة DIC.

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

الجدول (2): أهم الشروط التجريبية المؤثرة على عملية فصل CEF

البارامیترات	القيم
الخرطوشة المستعملة في الفصل	خرطوشة SPE معبأة بسيليكا مطعمة بأوكتاديسيل سيلان، حجم العمود :3mL كمية التعبئة:200 mg حجم الحبيبات :45 um
مذيب الامتلاص	الميتانول
حجم مذيب الامتلاص	2 mL
حجم NaOH اللازم لإذابة CEF بعد الفصل	50µl

6.3. التحقق من مصداقية الطريقة: Validation of the Method

اختُبرت مصداقية الطريقة التحليلية المطوّرة بتحقيق متطلبات المؤتمر الدولي للمواءمة (ICH) منها (النوعية– الخطية – الدقة – الاسترجاعية).

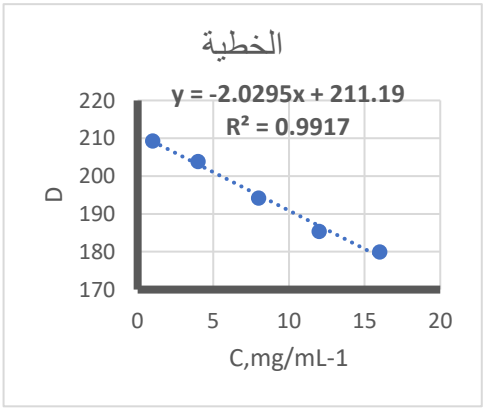
1.6.3 تحديد مجال الخطيّة وحد الكشف (LOD) وحد التحديد الكمي (LOQ):

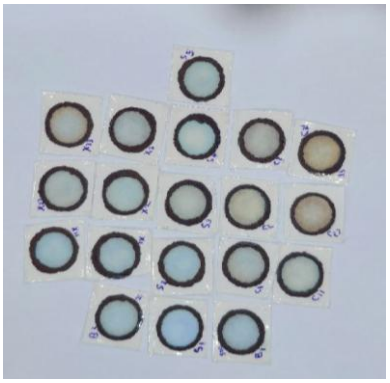
Determination of Linearity Range and Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantitation (LOQ):

لدراسة خطية الطريقة رُسِمَ المجال الخطي لمتغيرات الكثافة اللونية بدلالة تركيز CEF، إذ طُبقت خطوات الاستخلاص ثم تشكيل المعقد اللوني وقياس الكثافة اللونية لجميع محاليل السلسلة العيارية المحضرة وفق الفقرة 6.1.2-3، كُرار القياس لكل تركيز ثلاث مرات ومن ثم أُخذت متوسطات الكثافة لكل تركيز، ثم رُسمت العلاقة بين متوسطات الكثافة اللونية بدلالة تركيز CEF، ويوضح الجدول (3) نتائج التحديد الكمي لـ CEF.

الجدول (3): نتائج التحديد الكمي لـ CEF.

%RSD	SD±	$\overline{(D)}$	D n=3			التركيز mg/mL
			n_3	n_2	n_1	
0.82	1.73	209.285	207.659	211.101	209.094	1
0.67	1.42	203.889	202.696	203.518	205.453	4
1.1	2.32	194.209	193.8	192.123	196.705	8
0.56	1.19	185.365	184.727	184.635	186.732	12
1.23	2.60	179.97	178.19	178.761	182.958	16





(6-a) **(6-b)**

الشكل (6): السلسلة العيارية (a) وأشكال البقع الموافق للسلسلة العيارية (b).

نلاحظ من الشكل (6-a) أن الكثافة اللونية للمعقد الناتج تتناسب عكساً خطياً مع تركيز CEF ضمن المجال (1-16)$\mu g.mL^{-1}$ إذ كانت معادلة المستقيم $y = -2.0295x + 211.19$ حيث تمثل y شدة الكثافة اللونية للمعقد في حين تمثل x تركيز CEF مقدرة بوحدة $\mu g.mL^{-1}$، وكانت قيمة معامل الارتباط الخطي لنقاط المنحني 0.9917 التي تدل على وجود علاقة ارتباط قوية بين التركيز والكثافة اللونية للمعقد ما يثبت خطية الطريقة.

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

الجدول (4): المعاملات التحليلية لتحديد CEF بطريقة DIC

المعامل Parameter	القيمة المقاسة
مجال الخطيّة $\mu g.mL^{-1}$	1 – 16
حد الكشف (LOD) $\mu g.mL^{-1}$	0.027
حد التحديد الكمي (LOQ) $\mu g.mL^{-1}$	0.088
الانحراف العياري النسبي المئوي RSD %	0.96001
معادلة المنحني العياري $A = m.C + b^*$	y = -2.0295x + 211.19
معامل الارتباط R^2	0.9917
متوسط قيمة التقاطع مع محور y	b=211.1867

2.6.3 الدقة: Precision

قُيمت دقة الطريقة التحليلية المطورة من خلال حساب مستويين للدقة هما حساب التكرارية والدقة المتوسطة.

1.2.6.3 التكرارية: Repeatability

تُعبر التكرارية عن الدقة في نفس ظروف التشغيل على فترات فاصلة قصيرة من الزمن وتُحدد التكرارية بأخذ 3 قياسات على الأقل.

2.2.6.3 الدقة المتوسطة: Intermediate precision

الجدول (5): بيانات التكرارية لـ CEF

تركيز CEF $\mu g.mL^{1-}$	n	D	±SD	%RSD
4	1	206.443	2.25	1.10
	2	202.418		
	3	202.696		
	$\overline{n}$	203.852		
8	1	195.805	1.10	0.56
	2	194.023		
	3	193.8		
	$\overline{n}$	194.543		
12	1	182.632	1.05	0.57
	2	183.525		
	3	184.727		
	$\overline{n}$	183.628		

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

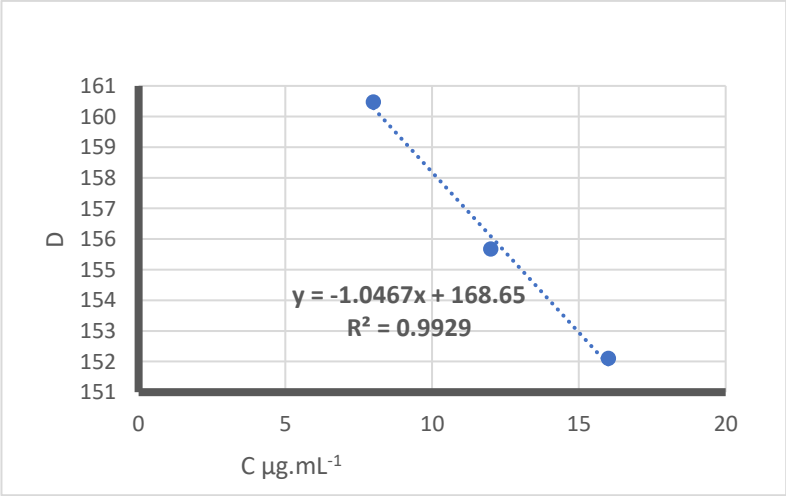
تُعبر الدقة المتوسطة عن مدى دقة الطريقة التحليلية المقترحة لاختلاف أيام الاختبار، المعدات، المخابر، ..... إلخ، وتتم بإجراء قياسات تغطي المجال التحليلي للطريقة (3 تراكيز كل منها 3 قياسات) وذلك خلال خمسة أيام متتالية.

الجدول (6): بيانات الدقة المتوسطة لـ CEF

تركيز CEF $\mu g.mL^{-1}$	n	D	±SD	RSD%
4	1	202.418	3.56	1.79
	2	198.148		
	3	195.342		
	$\overline{\mathbf{n}}$	198.637		
8	1	194.023	2.91	1.52
	2	192.733		
	3	188.46		
	$\overline{\mathbf{n}}$	191.739		
12	1	183.525	5.37	2.93
	2	188.477		
	3	177.741		
	$\overline{\mathbf{n}}$	183.248		

3.6.3 الاسترجاعية: Recovery

قُيِّمَ مدى قدرة طريقة DIC على استرداد CEF من المستحضرات الصيدلانية وتحديده، تم كُررت التجربة ثلاث مرات لكل تركيز ثم أخذت متوسطات الكثافة اللونية لكل محلول ومن ثم تم تعويض قيم المتوسطات للكثافة اللونية في معادلة المنحني الخطي ثم حساب تركيز CEF بعد الفصل، يبين الشكل (7) و(8) المنحني الخطي لمحاليل السلسلة العيارية الخاصة بدراسة الاسترجاعية لـ CEF في عينة الشراب Cefalex و في عينة الكبسول Cefalex،



ثم طُرِح تركيز CEF من تركيز CEF الذي حُسِب ومن ثمَّ حُسب تركيز CEF العياري الذي تمت إضافته لمحلول العينة.

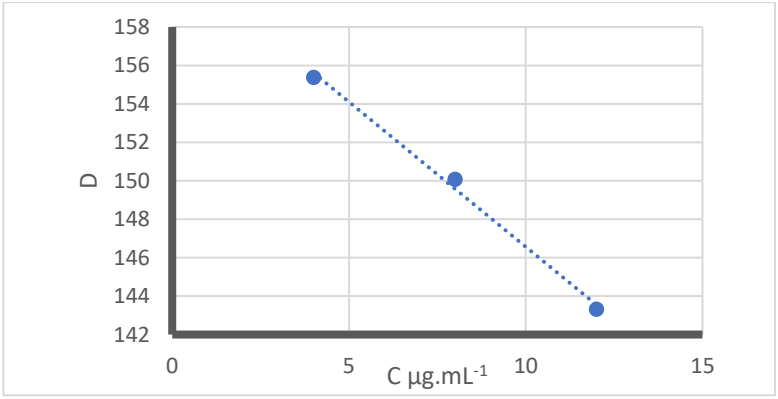
الشكل (7): المنحني الخطي لمحاليل السلسلة العيارية الخاصة بدراسة الاسترجاعية لـ CEF في عينة الكبسول C2

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

الجدول (7): حساب الاسترجاعية لـ CEF في عينات الشراب والكبسول

تركيز CEF في عينة S1 $C_{\circ}$,µg.mL^{-1}	العينة	التركيز المأخوذ من CEF µg.mL^{-1}	قيم الكثافة الضوئية D			متوسط الكثافة $\bar{D}$	التركيز الكلي المحدد لـCEF C', µg.mL^{-1}	تركيز CEF العياري المحدد C=c'-$c_{\circ}$	SD	RSD %	R%
			D1	D2	D3						
3.99	C_2	4	161.344	160.98	158.333	160.219	8.054	4.06	1.64	1.03	101.6
		8	156.856	156.188	155.697	156.247	11.85	7.86	0.58	0.37	98.25
		12	151.557	152.387	151.687	151.877	16.025	12.04	0.45	0.29	100.29
4.02	S2	4	148.697	150.453	149.386	149.512	8.044	4.024	0.88	0.59	100.6
		8	143.481	143.877	143.136	143.498	12.033	8.013	0.37	0.26	100.16
		12	138.531	136.645	136.742	137.306	16.14	12.12	1.06	0.77	101

يعرض الجدول (7) النتائج التحليلية التي وصل إليها البحث إذ تراوحت قيمة الاسترجاعية بين % (98.25-101.6) في عينة C2 و% (100.16-101) في عينة S2 مما يؤكد صحة الطريقة التحليلية في تحديد CEF في عينات الكبسول والشراب.



الشكل (8): المنحني الخطي لمحاليل السلسلة العيارية الخاصة بدراسة الاسترجاعية لـ CEF في عينة الشراب S2

يعرض الجدول (8) النتائج التحليلية التي وصل إليها البحث حيث تراوحت قيمة الاسترجاعية بين % (100.16-101) في عينة S2 ما يؤكد صحة الطريقة التحليلية في تحديد CEF في عينات الشراب.

من خلال دراسة معايير التحقق من مصدوقية طريقة الفصل والقياس اللوني الرقمي لـ CEF أظهرت أنها حققت جميع متطلبات المصدوقية التحليلية، وعليه يمكن أن تعتمد طريقة الفصل بخراطيش SPE وطريقة DIC في تحديد CEF في العينات الدوائية.

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

5.3.3 تطبيق الطريقة: Method Application

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

الجدول (9): التحديد الكمي لعينات الدواء بطريقة DIC

اسم العينة	n	كمية CEF وفق ما هو مصرح	كمية CEF المُحددة (mg/Cap)	±SD	RSD%
C2	1	500(mg/Cap)	496.88	0.72	0.14
	2		498.13		
	3		498.12		
	$\bar{n}$		497.71		
S2	1	250(mg/5mL)	250.63	1.01	0.40
	2		248.75		
	3		249.06		
	$\bar{n}$		249.48		

4.3 تقييم الخضرة للطريقة المُطوَّرة: Green Chemistry

زاد الاهتمام في السنوات الأخيرة بتطوير طرائق تحليلية تكون صديقة للبيئة وتُستعمل لهذا الغرض أساليب تحليلية عدّة، منها المقياس البيئي التحليلي (PPs)، الذي يعتمد على تعيين نقاط جزائية لكل مَعلمة تحليلية مثل نوع

الكاشـف، وكميتـه، الأدوات والأجهـزة[16]. وطُبّـق هـذا المقيـاس لتحديـد اخضـرار الطريقـة الطيفيـة المُطـوّرة مـن خـلال تحديـد مجمـوع النقـاط الجزائيـة لجميـع البنـود المُستعملة في هذا البحث كما هو مُوضّح في الجدول (10).

الجدول (10): 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

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.

4. الخلاصة: Conclusion

طَوَّرَ هذا البحث طريقة تحليلية بسيطة وفعّالة لتقدير دواء السيفالكسين في المستحضرات الصيدلانية بالاعتماد على تقنية الاستخلاص بخراطيش الطور الصلب (SPE) متبوعة بطريقة التحليل اللوني الرقمي (DIC).

جرى دراسة مختلف العوامل المؤثرة في عملية الفصل والتقدير، مثل نوع المذيب، وحجم الطور العضوي، وزمن التفاعل، حُصِلَ على ظروف مثالية أعطت أعلى امتصاصية وأفضل دقة.

تميزت الطريقة المقترحة بكونها خضراء وصديقة للبيئة نظرًا لاستهلاكها المنخفض للمذيبات وتقليل النفايات الكيميائية، إضافةً إلى سهولة تطبيقها وفعاليتها العالية في تحليل العينات الصيدلانية.

تُعد هذه الطريقة بديلاً مناسبًا ودقيقًا للطرائق التقليدية لتقدير السيفالكسين في المستحضرات الدوائية.

References .5 المراجع:

[1] G. F. Plöger *et al.*, “Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Cephalexin Monohydrate,” *J Pharm Sci*, vol. 109, no. 6, pp. 1846–1862, 2020, doi: 10.1016/j.xphs.2020.03.025.

[2] C. Sutherland, “Adsorption of cephalexin: A decade of progress in adsorbent development and mechanistic insights,” *Desalination Water Treat*, vol. 318, no. April, p. 100357, 2024, doi: 10.1016/j.dwt.2024.100357.

[3] 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.

[4] M. Kanan *et al.*, “A Systematic Review on the Clinical Pharmacokinetics of Cephalexin in Healthy and Diseased Populations,” Sep. 01, 2023, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/antibiotics12091402.

[5] M. N. Khan, J. Ahmad, M. N. Jan, H. Gulab, and M. Idrees, “Development and validation of a new spectrophotometric method for the determination of cephalexin monohydrate in pure form and pharmaceutical formulations,” *J Braz Chem Soc*, vol. 27, no. 5, pp. 912–918, 2016, doi: 10.5935/0103-5053.20150345.

[6] G. V. Prasad, S. Sravani, B. M. Ishaq, M. Madhu, S. Munna, and C. Gopinath, “Development and Validation of UV-Spectrophotometric Method for Determination of Cephalexin,” vol. 6, no. May, pp. 490–494, 2013.

[7] X. Thanh, T. Kim, T. Nguyen, T. Huyen, and S. Hung, “FTIR Combined with Chemometrics for Fast Simultaneous Determination of Penicillin and Cephalexin in Pharmaceutical Tablets,” vol. 4531, pp. 87–94.

[8] N. Ghafoor *et al.*, “Quantitative analysis of cephalexin in solid dosage form by Raman spectroscopy and chemometric tools,” *Drug Dev Ind Pharm*, vol. 50, no. 1, pp. 1–10, 2024, doi: 10.1080/03639045.2023.2290021;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER.

[9] K. K. Moparthy, V. N. Ratnakaram, B. Chandu, and G. P. Gorumutchu, “A New Green Analytical RP-HPLC Method Development and Validation for Simultaneous Estimation of Bromhexine and Cephalexin,”

Res J Pharm Technol, vol. 17, no. 12, pp. 5843–5850, 2024, doi: 10.52711/0974-360X.2024.00887.

[10] M. M. Hussein, A. M. Saeed, and T. K. Ibraheem, "RP -HPLC Developed Analytical Method for Cephalexin Determination in Pure and Pharmaceutical Preparations RP – HPLC Developed Analytical Method for Cephalexin Determination in Pure and Pharmaceutical Preparations," *RSC Adv*, no. August, p. 245, 2020.

[11] A. M. Saeed, M. J. Hamzah, and O. J. Mohammed, "Validation of Liquid Chromatographic Analytical Method for Determination of Cephalexin and Aspirin in Pure and Pharmaceutical Preparations Validation of Liquid Chromatographic Analytical Method for Determination of Cephalexin and Aspirin in Pure and Pharm," no. August, 2020, doi: 10.31838/ijpr/2020.SP1.250.

[12] B. Feier, A. Blidar, A. Pusta, P. Carciuc, and C. Cristea, "Electrochemical Sensor Based on Molecularly Imprinted Polymer for the Detection of Cefalexin," 2019, doi: 10.3390/bios9010031.

[13] C. Products, "Analytical &," vol. 16, no. 10, pp. 943–956, 2024.

[14] 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.

[15] Y. Zhang and Q. Chen, "Improving measurement of reducing sugar content in carbonated beverages using Fehling's reagent," *J Emerg Investig*, pp. 1–6, 2020, doi: 10.59720/20-009.

[16] A. Gałuszka, Z. M. Migaszewski, P. Konieczka, and J. Namieśnik, "Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures," *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 37, no. July, pp. 61–72, 2012, doi: 10.1016/j.trac.2012.03.013.