



پیش تغلیظ آملودیپین در نمونه های بیولوژیکی توسط نانو کامپوزیت مغناطیسی اصلاح شده با کیتوسان و اندازه گیری توسط طیف سنجی مرئی-فراابنفش

نیلوفر تاجدینی، علی مقیمی*، محمد یاری^۳

دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا
دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی
دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اسلامشهر

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۹۷/۱۱/۰۵، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۹۸/۰۱/۲۲، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۹۸/۰۲/۳۰

چکیده

روش حاضر جهت پیش تغلیظ و اندازه گیری و حذف مقادیر اندک پسابهای دارویی در نمونه های آبی اختصاص دارد که به عنوان شاخص از آملودیپین استفاده شد. در این تحقیق تکنیک های جدید استخراج فاز جامد پختی مقادیر ناچیز پساب های دارویی به عنوان شاخص داروی آملودیپین در نمونه های آبی بوسیله نانو لوله های کربنی اصلاح شده مغناطیسی با کیتوسان و اندازه گیری آن با طیف سنجی مرئی و فراابنفش در نمونه های حقیقی به کار گرفته شد. این روش ارزان، ساده و سریع بوده و با بسیاری از روش های دستگاهی موجود نیز همخوانی دارند. پارامترهای استخراج از قبیل اثر حلال آلی و جذب کننده، pH بهینه جذب داروی آملودیپین بر روی جاذب که در این آزمایش $pH = 7$ به عنوان pH بهینه بدست آمد. زمان استخراج، سرعت همزدن، حجم فاز دهنده بهینه شدند و بررسی ها و اندازه گیری های کمی تحت شرایط بهینه انجام شد. تکنیک های ذکر شده از مزایای بسیاری مانند زمان کوتاه استخراج، مصرف کم حلالهای آلی، حد تشخیص پایین و فاکتور تغلیظ بالا برخوردار هستند. فاکتور تغلیظ و حد تشخیص برای داروی آملودیپین به ترتیب $12/5$ و $3/5 \mu gL^{-1}$ بدست آمده اند. دامنه خطی بین $7-0.01 mgL^{-1}$ و انحراف استاندارد نسبی برای آملودیپین $1/5\%$ و $R^2 = 0.9981$ بدست آمده است.

واژه های کلیدی: آملودیپین، استخراج فاز جامد، نانو لوله کربنی مغناطیسی عامل دار شده با کیتوسان اسپکتروفتومتری مرئی، ماوراءبنفش.

۱. مقدمه

آملودیپین جزء داروهای بلوک کننده کانال کلسیم است. به زبان ساده این دارو بر روی عروق خون و عضله قلب اثر خود را اعمال می کند. آملودیپین فشار خون را کاهش می دهد و اثر محافظت بر قلب، مغز و کلیه دارد. این دارو احتمال سگته قلبی و مغزی

*عهده دار مکاتبات: علی مقیمی

نشانی: دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی

تلفن: ۰۹۱۲۲۱۳۰۱۲۴ پست الکترونیک: alimoghimi@iauvaramin.ac.ir

را کاهش می دهد البته در موارد بروز حمله قلبی نباید از این دارو استفاده کرد در چنین مواردی باید از داروهایی مانند نیتروگلسیرین و یا ایزوسورباید زیر زبانی استفاده شود. [۱].

اصلی ترین پارامترهایی که تاثیر مستقیم بر خواص کیتین و کیتوسان دارند عبارتند از وزن مولکولی، درجه استیل زدایی و میزان بلورینگی. اما برای کاربردهای انسانی از جمله صنایع غذایی و پزشکی علاوه بر موارد بالا درصد خلوص (محتوای خاکستر تولید شده)، میزان رطوبت، محتوای فلزات سنگین و میزان پروتئین آن ها نیز تعیین می شود. به طور خلاصه در رفرنسهای [۲] روش هایی برای تعیین خصوصیات کیتین و کیتوسان آورده شده است. باید به این نکته توجه داشت که کاربرد روش های متفاوت باعث بروز نتایج متفاوتی می شود، بنابراین مشخص کردن روش شناسایی از اهمیت زیادی برخوردار است. امروزه در بازار، معمولاً درجه استیل زدایی و وزن مولکولی کیتین و کیتوسان مشخص می شود. جذب آتورواستاتین از پلاسماهای انسانی توسط نانو کامپوزیت حاوی نانوذرات مغناطیسی توسط استخراج فاز جامد مغناطیسی با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا یک روش تحلیلی ساده و حساس توسعه یافته است. روش استخراج فاز جامد مغناطیسی به عنوان یک روش استخراج ساده، سریع و کارآمد برای تغلیظ نمونه استفاده شده است [۳۲-۳۳] از یک ماده نانو کامپوزیت جامد حاوی نانوذرات مگنتیت، به عنوان جاذب مغناطیسی استفاده شده و در این مطالعه روند جذب بهینه شده است. ستون C_{18} با فاز متحرک متشکل از استونیتریل - اسید ارتو فسفریک با شستشو ایزوکراتیک با سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. تشخیص فلوریمتری توسط طول موج القاء در ۲۸۲ نانومتر و طول موج نشر در ۴۰۰ نانومتر استفاده شد. مشخص شد که منحنی کالیبراسیون خطی در ۳۰-۱۵۰ نانوگرم در میلی لیتر بود. حد تشخیص و حد تعیین کمی به ترتیب ۱۰ و ۳۰ نانوگرم در میلی لیتر بود. مقادیر انحراف معیار نسبی کمتر از ۲۷/۵ درصد بود. نتیجه گرفته شده است که روش توسعه یافته جدید روش سریع، ساده، کم هزینه و حساس را برای تعیین آتورواستاتین در پلاسما انسان فراهم می کند [۳۳].

در روش حاضر آلوده‌یپین در نمونه های حقیقی ادرار و پلاسما بوسیله برهمکنش بین نانو جاذب و دارو پیش تغلیظ شد و به روش اسپکتروفتومتر $UV-Vis$ اندازه گیری گردید. اساس روش بر پایه برهمکنش بین دارو و نانو جاذب می باشد. پارامترهای موثر برای این برهمکنش و پارامترهای موثر بر اندازه گیری بررسی شد.

۲. مواد و روش ها

۲-۱. مواد مورد نیاز

تمامی اسید های مورد استفاده شامل اسید نیتریک، اسید سولفوریک و اسید استیک از شرکت مرک بوده و دارای درجه خلوص تجزیه ای می باشند. همچنین نانو لوله کربنی چنددیواره، پتاسیم کلرات و تری اتیلن تترا آمین نیز از شرکت Merck تهیه گردید.

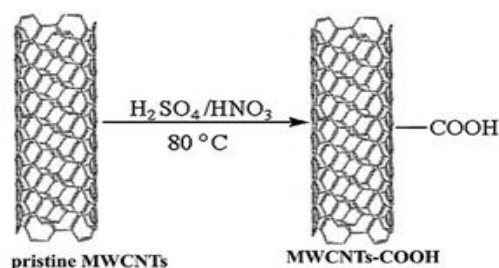
۲-۲. دستگاهها

هیتراسیتر و همزن مغناطیسی مارک AREX، ترازوی دیجیتالی با دقت ۳ رقم اعشار مدل 360CY ساخت کشور لهستان، دستگاه سانتریفیوژ مارک Hettich و مدل A ۳۲ TOFIX، دستگاه pH متر مارک HANNA و مدل HI83141، دستگاه التراسونیک

Fanazmagostar (Ultrasonic Cleaner) کمپانی ELMA آلمان، دستگاه آون خلاء مدل Memert ساخت کشور آلمان، شیکر مدل Broker دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM، مدل 3200EM و ساخت شرکت KYKY، اسپکتروفتومتر FT-IR مدل Tensor، دستگاه طیف سنجی جذب مرئی و فرابنفش مارک Shimadza و همچنین دستگاه طیف سنجی پراش پرتو اشعه ایکس (XRD) مدل PW 1800 و ساخت کارخانه PHILIPS آلمان مورد استفاده قرار گرفت.

۳-۲. روش تهیه نانولوله‌های عامل دار شده کربو کسبل

برای تهیه ی نانولوله ی کربنی کربو کسبله مقدار $g/1$ نانولوله ی کربنی چند دیواره برداشته وبا اسیدنیتریک و اسید سولفوریک در دمای $80^{\circ}C$ به مدت ۳ ساعت رفلاکس می کنیم. مخلوط حاصل را سانتریفیوژ کرده و بعد از چندبار شست و شو خشک می کنیم [۳۴].



شکل ۱. مکانیزم سنتز نانولوله کربنی کربو کسبله

۴-۲. مغناطیسی کردن نانولوله‌ی کربنی ($MWCNT-COOH/Fe_3O_4$)

ابتدا درون یک ارلن $0.8/0$ گرم کلرید آهن (II) و $0.216/0$ گرم کلرید آهن (III) به 20 میلی آب بدون یون اضافه میکنیم. 0.4 گرم نانولوله کربنی کربو کسبله به محلول همگن خود اضافه کرده و حدود 20 دقیقه در دمای 50 درجه سانتی گراد درون بن ماری گرما گزاری شد. بعد از سرد شدن مخلوط سیاه رنگ به مدت 20 دقیقه در اولتراسونیک پخش شد. 1 میلی لیتر آمونیاک به محلول داخل اولتراسونیک اضافه کرده و به مدت 10 دقیقه ی دیگر داخل اولتراسونیک قرارداد شد. سپس 40 دقیقه بر روی گرمکن گرما گزاری انجام شد. بعد از سرد شدن محلول سه بار شستشو شده و به وسیله ی آهنربای مغناطیسی محلول از رسوب جدا گردید.

۵-۲. عامل دار کردن نانولوله ی کربنی با کیتوسان ($MWCNT-COOH/Fe_3O_4/chitosan$)

بعد از خشک شدن رسوب در مرحله اول درون آون به وسیله قاشقک آن را تراشیده و با 50 میلی لیتر حجم محلول کیتوسان ppm 4 مخلوط کرده و به مدت 5 دقیقه در اولتراسونیک قرار میدهم بشر به مدت $3/5$ ساعت در بن ماری 50 درجه سانتی گراد قرار گرفت و بعد از رسوب کردن محتوی رسوب را با میدان مغناطیسی جدا می کنیم. به منظور بررسی اثر جاذب نانولوله ی کربنی با کیتوسان در استخراج آملودیین ابتدا مراحل زیر برای داروی آملودیین انجام شد. برای هر ظرف، بافر در محدوده $pH 2-10$ مورد

نظرافزافه شده است، به دلیل اینکه هدف تعیین جاذب مناسب می‌باشد. کم‌ترین مقدار جذب به عنوان بهترین مقدار انتخاب شده است.

از داروی مورد نظر ۱ میلی لیتر (با غلظت 10 ppm برای آلودیپین برداشته شد)، 0.01 گرم جاذب نانولوله کربنی مغناطیسی عامل دار شده با کیتوسان، ۱ میلی لیتر بافر pH (در محدوده ۱۰-۲) برداشته در بالن ۵۰ میلی لیتری ریخته و با آب مقطر بی یون به حجم رسانده شد. سپس عمل شیک به مدت ۱۵ دقیقه انجام گرفت، سپس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و از فیلترهای سرنگی عبور داده و صاف کرده و در نهایت اندازه گیری کمی آلودیپین انجام گرفت. همین کار در مورد جاذب نانولوله ی کربنی با کیتوسان هم انجام شد. اندازه گیری کمی محلول های فیلتر شده برای آلودیپین در طول موج 200 تا 800 nm به وسیله دستگاه $UV-Vis$ دو پرتوی انجام گرفت. جاذب نانولوله ی کربنی با کیتوسان جذب بهتری داشته و همین جاذب برای استخراج داروی آلودیپین انتخاب شد.

۲-۶. بهینه کردن طول موج در استخراج آلودیپین

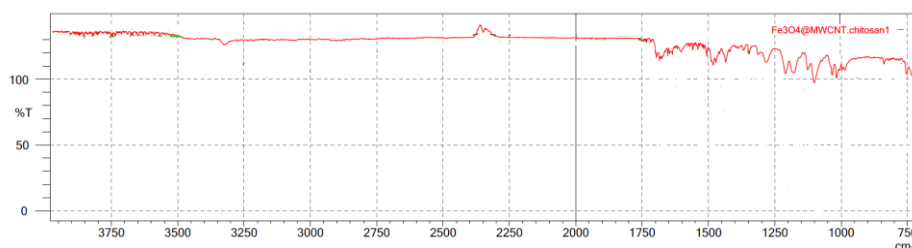
داروی مورد نظر به همراه جاذب نانولوله ی کربنی با کیتوسان و محدوده بافر pH از ۲ تا ۱۰ بعد از شیک و سانتریفیوژ، اندازه گیری کمی آن به وسیله دستگاه $UV-Vis$ صورت گرفت. که تمام طیف ها در طول موج 237 nm روی هم قرار گرفتند. با این کار طول موج بهینه هم جذبی مشخص شد.

۳. نتایج و بحث

۳-۱. بررسی طیف های FT-IR و SEM

۳-۱-۱. بررسی نتایج حاصل از طیف FT-IR

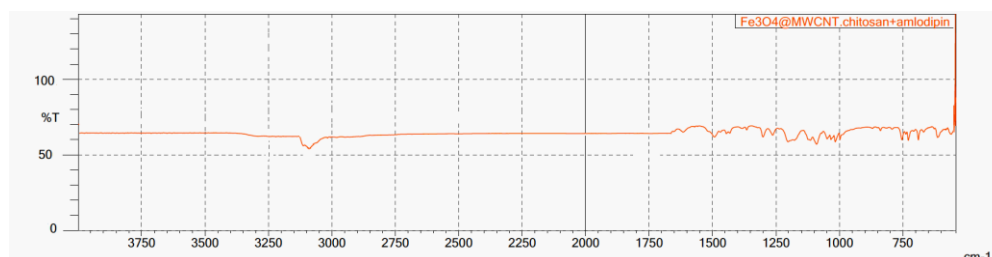
نانولوله های کربنی عامل دار شده با کیتوسان قبل از جذب داروی آلودیپین



شکل ۳. طیف زیر قرمز نانولوله های کربنی عامل دار شده با کیتوسان قبل از جذب داروی آلودیپین

در شکل ۳ طیف 1030 cm^{-1} مربوط به پیوند C-O است. پیک مشاهده شده در 1620 cm^{-1} مربوط به پیوند C=O کششی است. پیک مشاهده شده در 2390 cm^{-1} مربوط به پیوند کششی C-H شکل متقارن می‌باشد و در شکل ۴ در نانولوله جاذب مغناطیسی عامل دار شده با کیتوسان با توجه

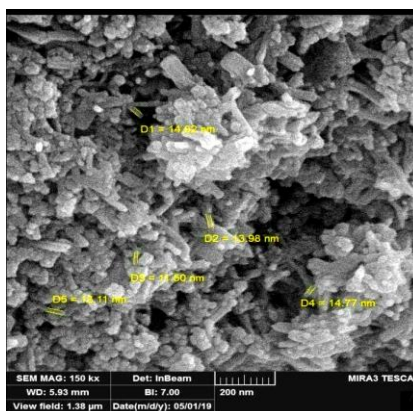
به طیف IR موجود اثبات می شود که کربوکسیلیک اسید با NH_2 واکنش داده و تبدیل به آمید شده که در ناحیه cm^{-1} ۱۶۳۳ این پیک مشاهده می شود و NH و OH که همدیگر را پوشش داده اند پیکشان در ناحیه cm^{-1} ۳۱۵۷ مشاهده می شود



شکل ۴: طیف زیر قرمز نانو لوله های کربنی عامل دار شده با کیتوسان بعد از جذب داروی آملودیپین

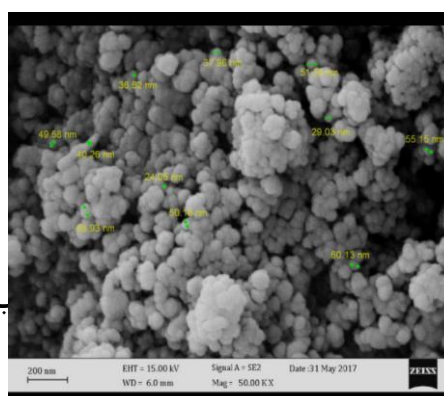
۳-۱-۲. بررسی نتایج حاصل از طیف SEM

شکل ۵ طیف SEM ساختار نانولوله های کربنی عاملدار شده با کیتوسان قبل از جذب داروی آملودیپین است. گوی های سفید مشاهده شده بر روی نانولوله نشان دهنده ی Fe_3O_4 موجود برای مغناطیسی شدن می باشد. نقاط سفید رنگ روی SEM مربوط به مغناطیسی شدن نانو لوله کربنی می باشد که توسط کیتوسان عامل دار شده است.



شکل ۵. طیف SEM نانولوله ی کربنی عاملدار شده با کیتوسان قبل از جذب داروی آملودیپین

شکل ۶ طیف SEM ساختار نانولوله های کربنی عاملدار شده با کیتوسان پس از جذب داروی آملودیپین است. تغییرات در سطح نانولوله کربن کیتوسان نشان دهنده دارو می باشد و باعث افزایش ابعاد نانولوله کربنی کیتوسان می باشد. از شکل ۶ پس از جذب داروی آملودیپین می توان نتیجه گرفت که ضخامت نانولوله کربنی بیشتر شده است. همانطور که در شکل دیده می شود گروه عاملی کیتوسان بر روی سطح نانولوله کربنی به صورت نقاط روشن تر مشخص است و این امر نشان دهنده و تأیید کننده جذب داروی آملودیپین می باشد.

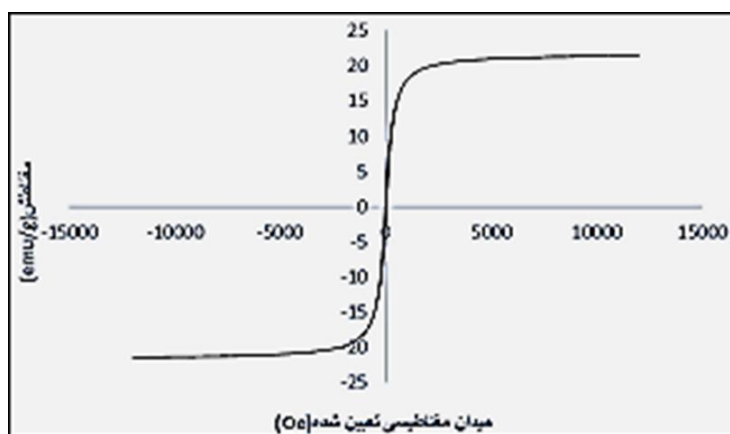


شکل ۶. طیف SEM ساختار نانولوله های کربنی عاملدار شده با کیتوسان پس از جذب داروی آملودیپین

۳-۱-۳. بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری خواص مغناطیسی جاذب (VSM)

تغییرات خواص مغناطیسی مواد در هنگام کاهش میدان، از رفتار قبلی خود تبعیت نمی‌کند؛ بلکه بخاطر ناهمسانگردی مغناطیسی در محیط، مقداری انرژی را در خود ذخیره می‌کنند. بنابراین وقتی میدان اعمالی در محیط صفر شود؛ مغناطش در ماده صفر نشده و دارای مقدار خاصی است که به آن مغناطش پسماند گشتاور پسماند M_r گفته می‌شود. با کاهش بیشتر شدت میدان به سمت مقادیر منفی، خاصیت مغناطیسی القا شده به تدریج کاهش می‌یابد و با رسیدن شدت میدان به یک مقدار منفی خواص مغناطیسی ماده کاملاً از بین می‌رود. این میدان مغناطیس زدا را با HC نشان می‌دهند و به نیروی ضدپسماند (coercive force) و یا وادارندگی مغناطیسی معروف است. با کاهش بیشتر شدت میدان، القای مغناطیسی منفی می‌شود و در نهایت به مقادیر اشباع منفی خود، می‌تواند برسد. افزایش مجدد شدت میدان به سمت مقادیر مثبت، حلقه پسماند را مطابق شکل (۳) کامل می‌کند. مغناطیس‌های دائمی غالباً در ربع دوم حلقه پسماند خود، مورد استفاده قرار می‌گیرند [۳۴]. پسماند یا نیروی وادارنده عبارتست از میدان معکوسی که برای کاهش مغناطش به صفر نیازست.

شکل ۷ نشان می‌دهد که جاذب بدست آمده از نوع مغناطیسی نرم با اعمال میدان مغناطیسی کوچک براحتی مغناطیده می‌شود و با قطع میدان سریعاً گشتاور مغناطیسی خود را از دست می‌دهند. به عبارتی این مواد دارای نیروی وادارندگی پایینی هستند. این مواد همچنین دارای اشباع مغناطیسی بالا M_s و گشتاور پسماند M_r پایین‌اند.



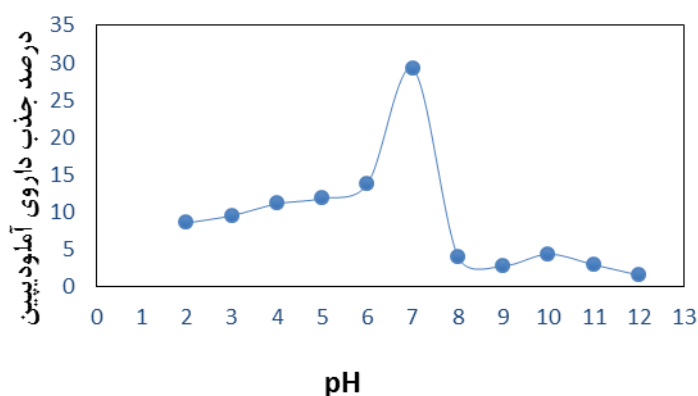
شکل ۷. نانولوله ی کربنی عاملدار شده با کیتوسان حلقه پسماند در مواد فرومغناطیسی نرم جاذب

۳-۲. اثر pH در استخراج آملودیپین

به منظور بررسی اثر pH در استخراج آملودیپین مراحل زیر انجام گرفت. برای هر ظرف، تامپون مورد نظراضافه شده است، به دلیل اینکه هدف تعیین pH مناسب می‌باشد. کمترین مقدار جذب به عنوان بهترین مقدار انتخاب شده است. (به دلیل اینکه در pH مذکور جاذب بهترین شرایط را برای جذب آملودیپین داراست. بنابراین غلظت داروی آملودیپین در نمونه کاهش می‌یابد، به همین دلیل این pH را انتخاب می‌کنیم. از داروی مورد نظر ۱ میلی لیتر (با غلظت ۱۰ ppm برای آملودیپین برداشته شد)، ۰/۰۱ گرم جاذب آمین، ۱ میلی لیتر بافر pH (در محدوده ۱۰-۲) برداشته در بالن ۵۰ میلی لیتری ریخته و با آب مقطر بی یون به حجم رسانده شد. سپس عمل شیک به مدت ۱۵ دقیقه انجام گرفت، سپس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ کرده و از فیلترهای سرنگی عبور داده و صاف کرده و در نهایت اندازه‌گیری کمی آملودیپین انجام گرفت.

اندازه گیری کمی محلول های فیلتر شده برای آملودیپین در طول موج ماکزیمم ۲۳۷ nm به وسیله دستگاه UV-Vis دو پرتوی انجام گرفته است (شکل ۸).

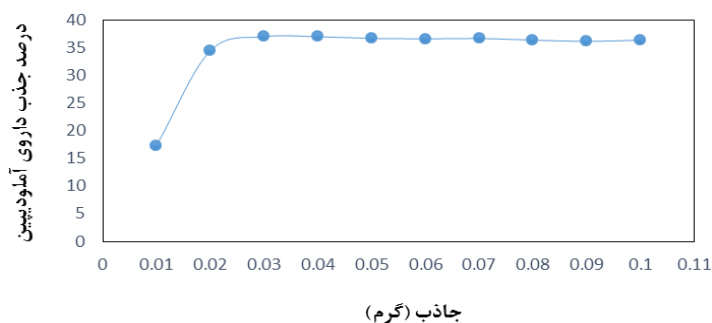
این نمودار حاکی از آن است که با جذب در pH برابر ۷ برای آملودیپین، شرایط مناسب برای پروتونه شدن نانولوله ی کربنی با کیتوسان مشاهده می شود که بیشترین جذب آملودیپین بر روی نانولوله ی کربنی با کیتوسان می باشد و اینکه از نظر الکتروستاتیکی بهترین شرایط جاذب و دارو برای جذب سطحی در pH برابر ۷ را داراست.



شکل ۸. جذب آملودیپین بر روی نانولوله ی کربنی با کیتوسان

۳-۳. اثر مقدار جاذب

پارامتر مهم دیگری که شدت جذب را تحت تاثیر قرار می دهد مقدار جاذب می باشد که برای آملودیپین مقدار ۰/۰۲۰ گرم برای آملودیپین انتخاب شد. در این مرحله از آزمایش با توجه به مراحل قبل، از pH بهینه و جاذب بهینه و در طول موج بهینه طبق شرایط قبل استفاده شد و مقدارهای مختلف جاذب استفاده شد (شکل ۹).

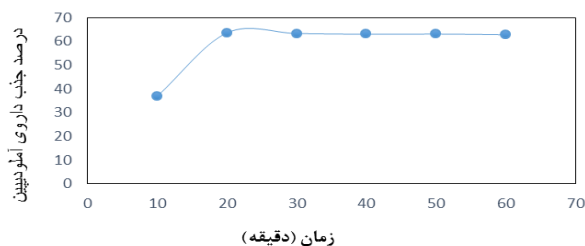


شکل ۹. جذب آملودیپین بر روی میلی گرم نانولوله ی کربنی با کیتوسان

این نمودار حاکی از آن است که در مقدارهای کمتر جاذب، امکان وارد شدن ترکیباتی درون محلول می باشد که می توانند در طول موج ماکزیمم دارو جذب داشته باشند. مقدار جاذب برای آملودیپین مقدار ۰/۰۲۰ گرم انتخاب گردید.

۳-۴. اثر زمان جذب دارو در محلول

یکی دیگر از پارامترهای مهم پروری سیستم جذب و اندازه گیری دارو بر اساس استخراج آنها، سرعت واکنش می باشد. ۷. محلول در شرایط بهینه تهیه شد و در زمان های متفاوت، عمل شیک کردن را بر روی آنها انجام شد. سپس سانتریفیوژ و همانند مراحل قبل محلول ها توسط فیلتر صاف گردید و سپس جذب آن ها در طول موج ماکزیمم خوانده شد (شکل ۱۰).

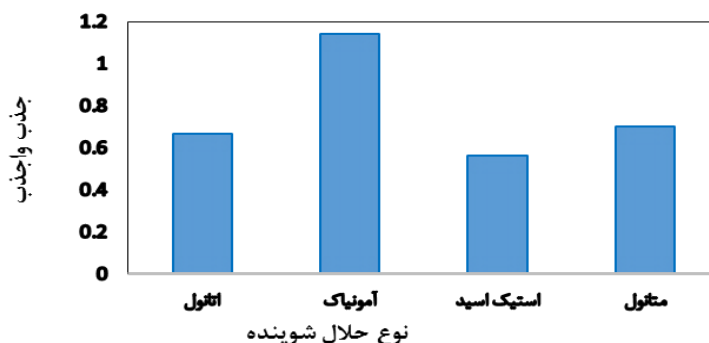


شکل ۱۰. جذب آملودیپین بر روی میلی گرم نانولوله ی کربنی با کیتوسان در زمانهای مختلف

شکل ۱۰ نشان می دهد که هرچه زمان تماس بین جاذب و دارو افزایش یابد شرایط رسیدن به تعادل بهتر شده و بعد از آن تغییری در غلظت دارو در محلول ایجاد نمی گردد. برای آملودیپین بهینه زمان واکنش برای داشتن مناسب ترین جذب ۲۸ دقیقه انتخاب شد.

۳-۵. تاثیر نوع حلال شوینده

از پارامترهای تاثیر گذار روی سیستم جذب، نوع حلال شوینده از مهم ترین پارامترها می باشد که تاثیر فراوانی در سیستم جذب دارد. در این تحقیق برای داروی آملودیپین، حلال های (متانول، اتانول، استونیتریل، متانول اسیدی و بازی، اتانول اسیدی و بازی) آزمایش شده و حلال بهینه برای دارو انتخاب گردید. (بعد از انتخاب حلال بهینه، اسیدی یا بازی بودن حلال هم بررسی شد). ۷. بالن ۵۰ میلی لیتری برداشته شد. سپس بعد از عمل سانتریفیوژ، آب رویی هر طرفی خارج و حلال ها به آن اضافه شد و سپس ۲۰ دقیقه آنها را شیک کرده و ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سپس فیلتر شد و جذب آنها در طول موج ماکزیمم خوانده شد. در اینجا عمل واجذب انجام شد و به همین خاطر بایستی بیشترین جذب را انتخاب کنیم (شکل ۱۱).

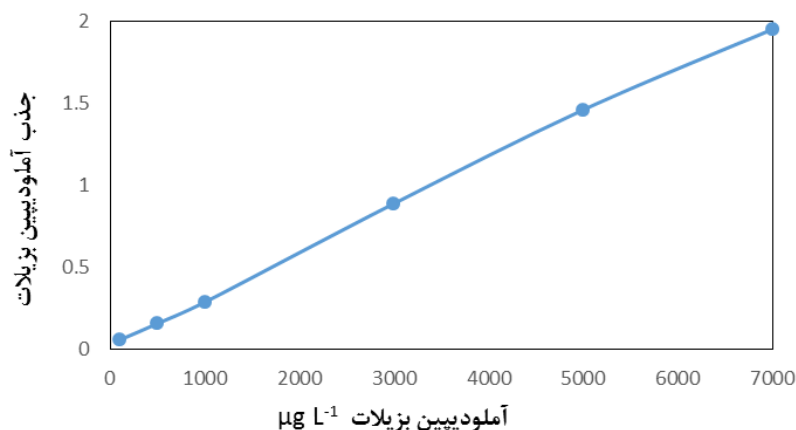


شکل ۱۱. واجذب آملودیپین بر روی میلی گرم نانولوله ی کربنی با کیتوسان با حلالهای واجذب مختلف

حاکمی از آن است که در تعادل ایجاد شده بین جاذب و حلال شوینده بهترین شرایط را حلال های اسیدی نشان می دهند. با در نظر گرفتن بیشترین جذب برای انتخاب حلال بهینه، برای آملودیپین متانول اسیدی انتخاب شد.

۳-۶. رسم منحنی کالیبراسیون روش داروی آملودیپین

پس از بهینه سازی تمام پارامترهای موثر در شدت جذب، اقدام به رسم نمودار کالیبراسیون گردید. برای این منظور در بالن ژوژه های ۵۰ میلی لیتری غلظت های متفاوتی از دارو اضافه شد. سپس نمک سدیم کلرید به صورت درصدی به مقدار ۰/۰۲ گرم به آملودیپین اضافه گردید و ۰/۰۲ گرم جاذب نانولوله ی کربنی با کیتوسان و $\text{pH}=7$ به هر کدام از بالن ها اضافه شد و با اضافه نمودن آب مقطر بی یون به حجم رسانده شدند. سپس مراحل شویش و... انجام گرفت، پس از آن شدت جذب این محلول ها در دمای آزمایشگاه برای دارو خوانده شد و منحنی کالیبراسیون رسم گردید. براساس نتایج بدست آمده در شرایط بهینه، شدت جذب و غلظت دارو در محدوده غلظتی برای آملودیپین در محدوده $7-0.01 \text{ mgL}^{-1}$ خطی می باشد (شکل ۱۲).



شکل ۱۲. منحنی کالیبراسیون جذب آملودیپین با حلال های واجذب مختلف

۳-۷. آماده سازی نمونه پلاسما برای اندازه گیری آملودیپین

نمونه خون گرفته شده از انسان در داخل تیوب های حاوی EDTA به حجم ۲/۵ میلی لیتر ریخته شد. نمونه ها حدود ۲۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول زرد رنگ بالای تیوب، پلاسما است که برداشته شده و برای اطمینان از اینکه پروتئینی در پلاسما وجود نداشته باشد مقدار ۱۰ میلی لیتر استون را در ۱۰ میلی لیتر پلاسما ریخته و به مدت ۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ می کنیم تا پروتئین های اضافی رسوب کنند. برای اندازه گیری با روش پیشنهادی نیز حجم معینی از پلاسما برداشته شده و مراحل اندازه گیری انجام گرفت.

۳-۸. نمونه ادرار برای اندازه گیری آملودیپین

نمونه ادرار گرفته شده از انسان و فیلتر شده در ظرف شیشه ای سیاه رنگی نگهداری شد و برای اندازه گیری با روش پیشنهادی نیز حجم معینی از ادرار برداشته شد و اندازه گیری انجام گرفت. که یک بار با "نانو لوله های کربنی مغناطیسی عامل دار شده با کیتوسان" و بار دیگر با "نانو لوله های کربنی مغناطیسی" مقایسه شدند.

که در این مرحله نتیجه می‌گیریم مقدار داروی توسط نانو لوله های کربنی مغناطیسی عامل دار شده با کیتوسان اضافه شده و مقدار داروی یافت شده در پلاسما و ادرار یکسان می‌باشد و این حاکی از این است که صحت روش توسط نانو لوله های کربنی مغناطیسی عامل دار شده با کیتوسان قابل قبول است (جدول ۱).

جدول ۱. نتایج اندازه گیری آملودیپین در نمونه های حقیقی

نمونه	میکروگرم آملودیپین اضافه شده	مقدار اندازه گیری شده جذب در طول موج $237nm$ توسط نانو لوله های کربنی مغناطیسی عامل دار شده با کیتوسان	مقدار اندازه گیری شده جذب در طول موج $237nm$ توسط نانو لوله های کربنی مغناطیسی
آب مقطر	۰/۰۰	N.D ^{الف}	N.D ^{الف}
ادرار	۱۰/۰۰	۱۰/۰۳(۲/۱) ^ب	N.D ^{الف}
	۰/۰۰	۲۶/۰۴(۲/۰)	۳۰/۱۰(۳/۰)
	۱۰/۰۰	۳۵/۰۵(۲/۳)	۳۸/۲۵(۳/۱)
پلاسمای خون	۰/۰۰	۱۲/۰۶(۲/۲)	۱۳/۲۶(۳/۲)
	۱۰/۰۰	۲۲/۰۷(۱/۴)	۲۳/۱۲(۲/۹)

الف) Not Detect (قابل تشخیص نیست).

ب) RSD مربوط به سه بار تکرار آزمایش است.

۴. نتیجه گیری

تکنیک استخراج فاز جامد پخش برای مقادیر ناچیز آملودیپین در نمونه های آبی و بیولوژیکی ارایه شد. اندازه گیری بوسیله دستگاه طیف سنجی مرئی-فرابنفش انجام شد. هدف این تحقیق ابداع یک روش کارا، گزینش پذیر، ارزان و ساده برای ارزیابی مقدار آملودیپین در نمونه های بیولوژیکی بود. توسعهی روش استخراج فاز جامد در سالیان اخیر، جذبی با کارایی مناسب را به عنوان نیازی اساسی مطرح کرده است. از این رو در این کار تحقیقاتی از نانولوله ی کربنی با کیتوسان به عنوان جذبی مناسب در جهت افزایش راندمان استخراج آملودیپین استفاده شد. پارامتر های مؤثر بر استخراج از قبیل pH، نوع بافر، غلظت بافر، مقدار جذب، نوع و حجم حلال شوینده، سرعت (زمان) انجام واکنش و اثر نمک مورد بررسی قرار گرفت. این روش دارای تکرار پذیری خوب و رنج خطی وسیع بین $7-0.1 \text{ mgL}^{-1}$ و فاکتور تغلیظ مناسب ۱۲ برای تعیین آملودیپین است، حد تشخیص $1 \mu\text{gL}^{-1}$ ۳/۵ بدست آمد و تکرار پذیری بالا با RSD ۲/۵ درصد از ویژگی های این روش می باشد.

۵. مراجع

- [۱] مرتضی رفیعی تهرانی، (۱۳۸۹)، فارماکوپه ایران، انتشارات مرکز نشر صدا، صفحه ۱۳۱-۱۲۳
- [2] Dixit, V., Nguyen, H., Dixit, V. M., Varian Sample Preparation Products, Harbor City, CA 90710, *J Chromatogr.*, 563(2) (1991) 379-84.

- [3] Ana Ribeiro, R., Alexandra Maia, S., Irina Moreira, S., Carlos, M., Afonso, M.L., Paula Castro, E. *Maria Tiritan Chemosphere*, 95 (2014) 589-596.
- [4] Salehi, N., Moghimi, A., Shahbazi, H., Preparation of cross-linked magnetic chitosan with methionine-glutaraldehyde for removal of heavy metals from aqueous solutions, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* (2020) Published online: 27 Apr 2020.
- [5] Motalebi, R., Moghimi, A., Shahbazi, H., Faraji, H., the efficiency of Fe@Mg-Al layered double hydroxide for Cadmium removal from water samples, *Revue Roumaine de Chimie*, 65(3) (2020) 293-305.
- [6] Moghimi, A., Preconcentration of trace Ni (II) using C18 disks modified cyclodextrinchitosan/nano graphene oxide. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 7(7) (2013) 242-251.
- [7] Moghimi, A., Detection of trace amounts of Pb (II) by schiff base-chitosan-grafted multiwalled carbon nanotubes. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 87(7) (2013) 1203-1209.
- [8] Moghimi, A., Abdouss, M., Extraction of Co (II) by Isocyanate Treated Graphite Oxides (iGOs) Adsorbed on Surfactant Coated C 18 Before Determination by FAAS. *Int. J. Bio-Inorg. Hybd. Nanomat*, 2(1) (2013) 319-327.
- [9] Moghimi, A., Abdouss, M., Extraction of Co (II) by Isocyanate Treated Graphite Oxides (iGOs) Adsorbed on Surfactant Coated C 18 Before Determination by FAAS. *Int. J. Bio-Inorg. Hybd. Nanomat*, 2(1) (2013) 319-327.
- [10] Moghimi, A., Esfanjani, S. Mazloomifar, H. Extraction and Perconcentration of Lead (II) using Octadecyl Bonded Silica Cartridge and Its Determination by Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Asian Journal of Chemistry*, 24(10) (2012) 4697-4705.
- [11] Poursharifi, M.J., Moghimi, A., Determination of Cadmium (II) Using Cd (II)-Imprinted Nano Diazoaminobenzene-Vinylpyridine Copolymers. *Asian Journal of Chemistry*, 24(10) (2012) 4563-4575.
- [12] Moghimi, A., Extraction of Ultra Trace Amounts Bismuth in Water Samples Using Cloud Point Extraction with 2-Amino-Cyclopentene-1-Dithiocarboxylic Acid. *Journal of Chemical Health Risks*, 2(1) (2012) 147-156.
- [13] Moghimi, A., Perconcentration of Mercury (II) from Natural Water by Activated Charcol-loaded Schiff's Base 2-Propylpiperidine-1-Carbodithioate (PPCD) Phases. *Journal of Chemical Health Risks*, 1(2) (2012) 101-112.
- [۱۴] کتاب سفید - انتشارات تیمور زاده - نشر طیب - سال ۱۳۸۷ - صفحه ۲۶۸.
- [۱۵] درسنامه جامع داروهای رسمی ایران ۱۳۸۱، دکتر سعید شهباز، دکتر طاهره غازیانی، جاویدان نژاد، حاجی بابایی، اطلاعات دارویی بالینی (داروهای ژنریک ایران)، نشر علوم دانشگاهی، ویراست چهارم، چاپ اول.
- [۱۶] ر، خدام، راهنمای جیبی کاربرد داروهای ژنریک ایران، نشر دیباج، ویراست سوم، چاپ ششم ۱۳۸۴
- [17] Poursharifi, M. J., Moghimi, A., Cloud-Point Method of Extraction Co (II) and Determination by FAAS. *Oriental Journal of Chemistry*, 28(1) (2012) 379-386.
- [18] Moghimi A., Poursharifi, M.J., Extraction of Copper (II) and Lead (II) using by Nano and Micron size Sorbents Poly (Dimethylsiloxane) Microchannels. *Oriental Journal of Chemistry*, 28(1) (2012) 203-212.
- [19] Moghimi, A., Preconcentration of Zn (II) from Sample Water by Phenyl-iminodiacetic Acid Grafted Multiwalled Carbon Nanotubes. *Journal of Chemical Health Risks*, 2(3) (2012) 28-41.
- [20] Moghimi, A., Ghiasi, R., Behrouzinia, S., Extraction Cd (II) by (Z)-Furan-2-carbaldehyde Thiosemicarbazone adsorbed on surfactant coated alumina before determination by FAAS, *International Journal of Fundamental Physical Sciences*, 1(4) (2011) 112-118.
- [21] Moghimi, A., Poursharifi, M.J., Perconcentration of Trace Cr (III) using Octadecyl Silica Membrane Modified N, N-Disalicylideneethylenediamine, *Asian Journal of Chemistry*, 23(9) (2011) 3870-3877.

- [22] Tajodini, N., Moghimi, A., Spectrophotometric Study of W (VI)-G Lycinamide Complex Formation. *Asian Journal of Chemistry*, 23(9) (2011) 4186.
- [23] Behrouzina, S., Zand, M., Namdar A., Rahimi, H., Moghimi, A., The effect of operational parameters on the output power of copper vapor laser with small-bore tube, *International Journal of Fundamental Physical Sciences*, 1(3) (2011) 67-72.
- [24] Ghiasi, R., Moghimi, A., A theoretical study of the interaction between $[HB\equiv CH]^-$, $[H_2B=CH_2]^-$, and boratabenzene anions with alkali and alkaline earth metals: properties and structures. *Journal of Structural Chemistry*, 52(4) (2011) 683-689.
- [25] Moghimi, A., Preconcentration Ultra Trace of Cd (II) in Water Samples Using Dispersive Liquid-Liquid Microextraction with Salen (N, N'-Bis (Salicylidene)-Ethylenediamine) and Determination Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 55(2) (2008) 369-376.
- [26] Moghimi, A., Solid Phase Extraction of Cr (III) from Natural Water by Modified Nano Polyacrylonitrile Fiber. *World Applied Sciences Journal*, 12(12) (2011) 2252-2259.
- [27] Makipour, P., Moghimi, A., Ghiasi, R., Preconcentration and spectrophotometric determination of copper (II) using octadecyl silica membrane disks modified by 1-nitroso-2-naphthol-3, 6-disulfonic acid. *Oriental Journal of Chemistry*, 26(3) (2010) 797-809.
- [28] Ghammamy, S., Khorsandtabar, S., Moghimi, A., Sahebalzamani H., Oxidation of Some Organic Diols with Trialkylammonium Fluorochromates (VI), $R_3NH [CrO_3F]$, ($R= CH_3, C_2H_5, C_3H_7$ and C_4H_9) at Room Temperature and Under Microwave Condition. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 53(2) (2009) 41-43.
- [29] Moghimi, A., Gazal, A., Solid-phase extraction derivative aromatic compounds in water samples and determination of using GC-FID, *Oriental Journal of Chemistry*, 24 (2) (2008) 397-403.
- [30] Aref-Azar, H., Moghimi, A., Selective pre-concentration and solid phase extraction of mercury (II) from natural water by alumina-loaded 2-amino-cyclopentene-1-dithiocarboxylic acid phases, *Oriental Journal of Chemistry*, 23(2) (2007) 437-442.
- [31] Ghammamy, S., Mehrani, K., Javanshir, Z., Moghimi, A., Shabaani, F., Malekia, S., Synthesis and characterization of two new triphenylphosphonium halochromates, $(C_6H_5)_3PH [CrO_3X]$, ($X= F, Br$). *ARKIVOC*, 15 (2007) 61-65.
- [32] Abniki, M., Moghimi, A., Azizinejad, F., Fabrication of bionanocomposite based on LDH using biopolymer of gum arabic and chitosan-coating for sustained drug-release, *J. Serb. Chem. Soc.* 84(0) (2020) 1-13.
- [33] Tazen, M., Saygi, Q., Soylak, M., Solid phase extraction of heavy metal ions in environmental samples on multiwalled carbon nanotubes, *J. Hazardous Mat.* 24 (2008) 632-639.
- [34] Moghimi, A., Solid phase extraction of trace amount of Cu(II) using functionalized-graphene., *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 87(11) (2013) 1851-1858.

Preconcentration of Amlodipine using $Fe_3O_4@MWCNT$ -chitosan composite and determined by UV-Vis in biological samples

Nilofar Tajodini¹, Ali Moghimi^{2*}, Mohammad Yari³

¹Department of Chemistry, Varamin(Pishva) Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

²Department of Chemistry, Islamic Azad University, Tehran Medical Branch, Tehran, Iran

³Department of Chemistry, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran

Submitted: 25 January 2019, Revised: 11 April 2019, Accepted: 20 May 2019

Abstract

Drug consuming is increasing these days, which will lead to more environmental pollution. In this reesearch, technique is drug supervising which is used by many laboratories. This technique is about finding a way to determine small amount of Amlodipine in water and biological sample. In this study, innovative techniques to exploit small amount of Amlodipine in solid phase in water sample through Multi Wall Nanotube- NH_2 its measurements by visible spectrophotometry and ultra violet in biological samples has been used. Exploitation parameters such as, desorption organic solvent, donor and recipient pH, extraction time, desorption time, stirring time, donor phase volume and surfactant effect were optimized and quantitative evaluation and measurements were performed in optimal conditions. The mentioned techniques have many advantages such as: short extraction time, consumption of organic solvent, deleting previous experiments effect, low diagnosis level and high-condensed factors and diagnosis level for Amlodipine are 12.5 - (LOD) 3.5 μgL^{-1} respectively. Linear range.0.01-7 mgL^{-1} and rational standard deviation for Amlodipine were % 1.5 and $R^2=0.9981$.

Keywords: Amlodipine solid phase extraction, $Fe_3O_4@MWCNT$ -chitosan, spectrophotometry.

*Corresponding author : Ali Moghimi

Adress: Department of Chemistry, Islamic Azad University, Tehran Medical Branch, Tehran, Iran

Tel: 09122130124

E-mail: alimoghimi@iauvaramin.ac.ir