



## استخراج فاز جامد پخشی برای پیش تغلیظ داروی آملودیپین در نمونه های آبی با استفاده از نانولوله های کربنی مغناطیسی اصلاح شده با بتاسیکلودکستین و اندازه گیری آن با طیف سنجی مرئی-فرا بنفش

مصطفی شجاعی<sup>۱</sup>، علی مقیمی<sup>۱\*</sup>، میلاد آبنیکی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا

<sup>۲</sup> دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی

<sup>۳</sup> گروه پژوهشی رزین و افزودنی ها، پژوهشکده پوشش های سطح و فناوری های نوین، پژوهشگاه رنگ، تهران، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۴۰۰/۰۲/۲۶، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۴۰۰/۰۵/۱۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۴۰۰/۰۵/۲۷

### چکیده

در این تحقیق تکنیک استخراج فاز جامد پخشی از مقادیر ناچیز داروی آملودیپین در نمونه های آبی بوسیله نانولوله های کربنی مغناطیسی اصلاح شده با بتاسیکلودکستین و اندازه گیری آن با طیف سنجی مرئی-فرا بنفش به کار گرفته شد. این تکنیک یک سیستم دوفازی می باشد که در آن فاز دهنده داروی آملودیپین در نمونه های آبی است و فاز گیرنده نانولوله های کربنی مغناطیسی عامل دار شده با بتاسیکلودکستین می باشد. آزمایشات در دو مرحله استخراج از نمونه های آبی واجذب داروی آملودیپین با استفاده از حلال آمونیاک انجام شدند و نمونه های واجذب شده به دستگاه اسپکترو فتومتر UV-Vis برای آنالیز بیشتر ارائه شدند. 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 واجذب کننده، pH بهینه جذب داروی آملودیپین بر روی جذب، زمان استخراج، سرعت همزدن، حجم فاز دهنده بهینه شدند. بررسی ها و اندازه گیری های کمی تحت شرایط بهینه انجام شد. تکنیک ذکر شده از مزایای بسیاری مانند؛ زمان کوتاه استخراج، مصرف کم حلال های آلی، حد تشخیص پایین و فاکتور تغلیظ بالا برخوردار هستند. فاکتور تغلیظ و حد تشخیص برای داروی آملودیپین به ترتیب ۱۴/۵ و  $7/5 \mu\text{g L}^{-1}$  بدست آمده اند. دامنه خطی بین  $0/02-7/9 \text{ mg L}^{-1}$  و انحراف استاندارد نسبی برای آملودیپین ۱/۹٪ و  $R^2=0/9989$  بدست آمده است.

واژه های کلیدی: آملودیپین، استخراج فاز جامد، نانولوله کربنی مغناطیسی عامل دار شده با بتاسیکلودکستین.

### 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 سکته قلبی و مغزی

\*عهده دار مکاتبات: علی مقیمی

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

پست الکترونیک: E-mail: alimoghimi@iauvaramin.ac.ir

تلفن: ۰۲۱۳۶۷۲۵۰۱۱

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 بتاسیکلودکسترین دارند عبارتند از وزن مولکولی، درجه استیل زدایی و میزان بلورینگی هستند. 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 آن‌ها نیز تعیین می شود. به طور خلاصه در مراجع [۲] روش هایی برای تعیین خصوصیات کیتین و بتاسیکلودکسترین 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 بتاسیکلودکسترین مشخص می شود [۳].

جذب آتورواستاتین از پلاسمای 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 [۴]. 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<sub>18</sub> 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. از این روش توسعه یافته جدید نتیجه گرفته می شود که این فرایند یک روش سریع، ساده، کم هزینه و حساس را برای تعیین آتورواستاتین در پلاسمای انسان فراهم می کند.

در روش حاضر آملودپین در نمونه های حقیقی ادرار و پلاسمای 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. بخش تجربی

### ۲-۱. مواد مورد نیاز

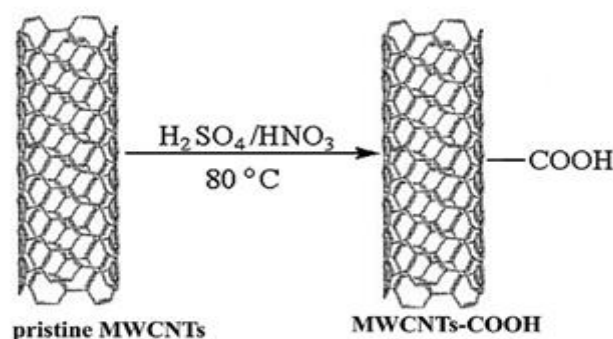
مواد شیمیایی از جمله تمامی اسید های مورد استفاده (اسید نیتریک، اسید سولفوریک، اسید استیک) و همچنین آمونیاک، متیل اورانژ و سود دارای خلوص تجزیه ای و شرکت مرک تهیه شد. در طول آزمایش از آب دو بار تقطیر استفاده گردید.

## ۲-۲. دستگاه های مورد استفاده

هیتراسیتر و همزن مغناطیسی مارک AREX، ترازوی دیجیتالی با دقت ۳ رقم اعشار مدل 360CY از شرکت CITIZEN ساخت کشور لهستان، دستگاه سانتریفیوژ مارک Hettich و مدل A-۳۲ TOFIX، دستگاه pH متر مارک HANNA و مدل 83141HI، دستگاه التراسونیک (Ultrasonic Cleaner) کمپانی ELMA آلمان، دستگاه آون خلاء مدل Memert ساخت کشور آلمان، شیکر مدل Fanazmagostar، دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM، مدل 3200EM و ساخت شرکت KYKY، اسپکتروفتومتر FT-IR مدل Broker Tensor، دستگاه طیف سنجی جذب مرئی و فرابنفش مارک Shinadza مورد استفاده قرار گرفت. دستگاه طیف سنجی پراش پرتو ایکس (XRD) مدل PW 1800 و ساخت کارخانه PHILIPS به همراه یک آهنربا ۱/۵ تسلا.

## ۲-۳. روش تهیه نانو لوله های عامل دار شده با بتاسیکلودکسترین

برای تهیه ی نانو لوله ی کربنی کربوکیسیده مقدار ۰/۱ g نانو لوله ی کربنی چند دیواره برداشته و با اسیدنیتریک و اسید سولفوریک در دمای ۸۰C به مدت ۳ ساعت رفلاکس می کنیم. مخلوط حاصل را سانتریفیوژ کرده و بعد از چندبار شست و شو خشک می کنیم [۶۵] به صورت شماتیک شکل (۱) عاملدار کردن نانو لوله کربوکیسیده نشان داده می شود.



شکل ۱. مکانیزم سنتز نانو لوله کربنی کربوکیسیده

۲-۴. مغناطیسی کردن نانولوله ی کربنی (MWCNT-COOH/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)

ابتدا درون یک ارلن، ۰/۰۸ گرم کلرید آهن (II) و ۰/۲۱۶ گرم کلرید آهن (III) به ۲۰ میلی آب بدون یون اضافه می کنیم. ۰/۴ گرم نانو لوله کربنی کربوکیسیده به محلول همگن اضافه کرده و حدود ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد درون بن ماری گرما گزاری شد. بعد از سرد شدن مخلوط سیاه رنگ به مدت ۲۰ دقیقه در اولتراسونیک پخش شد. ۱ میلی لیتر آمونیاک به محلول داخل اولتراسونیک اضافه کرده و به مدت ۱۰ دقیقه ی دیگر داخل اولتراسونیک قرار داده شد. سپس محلول به مدت ۴۰ دقیقه درون بن ماری در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. بعد از سرد شدن محلول سه بار شستشو شده و به وسیله ی آهنربای مغناطیسی محلول از رسوب جدا گردید.

## ۲-۵. عامل دار کردن نانولوله ی کربنی با بتاسیکلودکسترین (MWCNT-COOH/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>β cyclodextrin)

بعد از خشک شدن رسوب در مرحله اول درون آن به وسیله قاشقک آن را تراشیده و با ۵۰ میلی لیتر حجم محلول بتاسیکلودکسترین ۴ ppm مخلوط کرده و به مدت ۵ دقیقه در اولتراسونیک قرار میدهیم بشر به مدت ۳/۵ ساعت در بن ماری ۵۰ 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 بتاسیکلودکسترین در استخراج آملودیپین ابتدا مراحل زیر برای داروی آملودیپین انجام شد. برای هر ظرف، بافر در محدوده pH ۱۰-۲ مورد نظرافاضافه شده است، به دلیل اینکه هدف تعیین جاذب مناسب می باشد. کم ترین مقدار جذب به عنوان بهترین مقدار انتخاب شده است.

از داروی مورد نظر ۱ میلی لیتر (با غلظت ۱۰ ppm برای آملودیپین برداشته شد)، ۰/۰۱ گرم جاذب نانولوله کربنی مغناطیسی عامل دار شده با بتاسیکلودکسترین، ۱ میلی لیتر بافر در 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 آملودیپین انجام گرفت. همین کار در مورد جاذب نانولوله ی کربنی با بتاسیکلودکسترین هم انجام شد. اندازه گیری کمی محلول های فیلتر شده برای آملودیپین در طول موج ۲۰۰ تا ۸۰۰ به وسیله دستگاه UV-Vis دو پرتوی انجام گرفت. جاذب نانولوله ی کربنی با بتاسیکلودکسترین جذب بهتری داشته و همین جاذب برای استخراج داروی آملودیپین انتخاب شد.

## ۲-۶. بهینه کردن طول موج در استخراج آملودیپین

داروی مورد نظر به همراه جاذب نانولوله ی کربنی با بتاسیکلودکسترین 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 ۲۳۷ nm روی هم قرار گرفتند. مطابق شکل (۲) این کار طول موج بهینه هم جذبی مشخص شد.

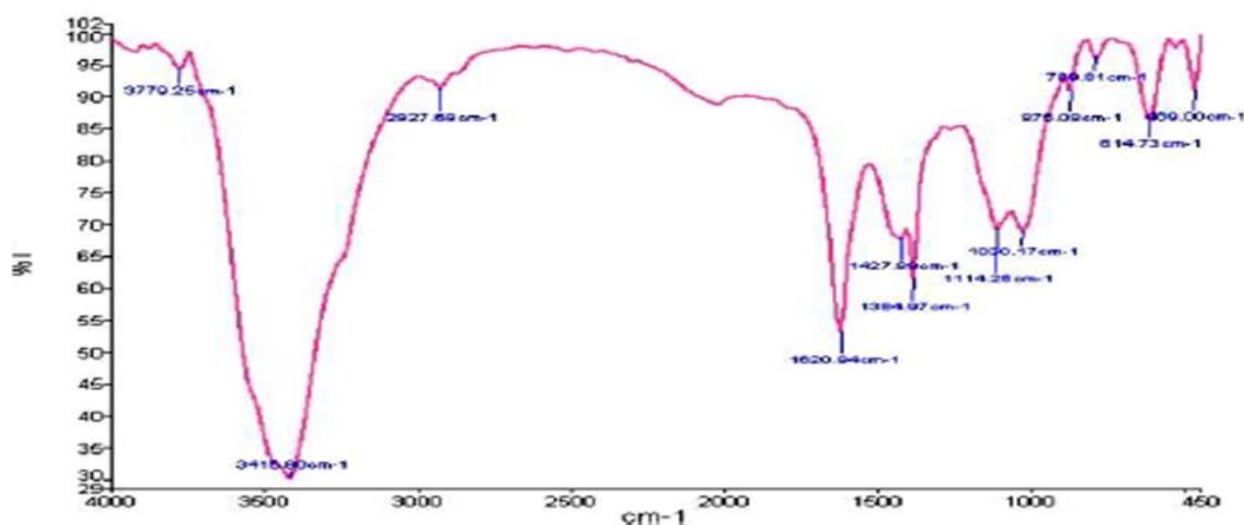


شکل ۲. نمودار تعیین طول موج بهینه هم جذبی و روش و دستگاه مورد استفاده

## ۳. نتایج و بحث

## ۳-۱. بررسی نتایج حاصل از طیف FT-IR

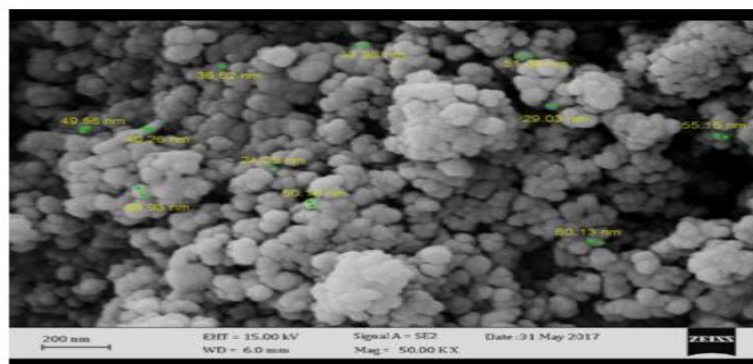
نتایج آنالیز FTIR برای نمونه عامل دار شده و با بتاسیکلودکسترین اصلاح شده در شکل (۳) مشاهده می شود. در این شکل، پیک تیز مشاهده شده در  $614/73 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به پیوند C-O خمشی می باشد. پیک مشاهده شده دیگر در  $3416/80 \text{ cm}^{-1}$  بیانگر حضور O-H می باشد. که موید این است که گروه بتاسیکلودکسترین بر روی نانولوله ایجاد شده است. همچنین پیک مشاهده شده در  $1031 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به باندهای خمشی C-H می باشد که تایید دیگری بر حضور گروه عاملی بتاسیکلودکسترین است. طبق شکل (۳) طیفهای  $1030$ ،  $2927$ ،  $1620$  و  $3416 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به نانولوله کربنی چند دیواره عامل دار شده با بتاسیکلودکسترین می باشد. در این نمودار طیف  $1030 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به پیوند C-O است. پیک مشاهده شده در  $1620 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به پیوند C=O کششی است. پیک مشاهده شده در  $2927 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به پیوند کششی C-H در شکل متقارن می باشد. پیک موجود در ناحیه  $3416 \text{ cm}^{-1}$  مربوط به OH در بتاسیکلودکسترین و با حالت ارتعاشی است [۳].



شکل ۳. طیف زیر قرمز نانولوله های کربنی عامل دار شده با بتاسیکلودکسترین بعد از جذب داروی آملودیپین

## ۳-۲. بررسی نتایج حاصل از طیف SEM

شکل ۶ طیف SEM ساختار نانولوله های کربنی عامل دار شده با بتاسیکلودکسترین پس از جذب داروی آملودیپین است. تغییر مورفولوژی در سطح نانولوله کربنی با بتاسیکلودکسترین نشان دهنده تغییر مورفولوژی از حالت کلی لوله ای شکل به حالت کروی می باشد. از شکل ۴ می توان نتیجه گرفت که ضخامت نانولوله کربنی بر طبق گزارشات قبلی بیشتر شده است. همانطور که در شکل دیده می شود گروه عاملی بتاسیکلودکسترین بر روی سطح نانولوله کربنی به صورت نقاط روشن تر مشخص شده است [۷-۲۵].

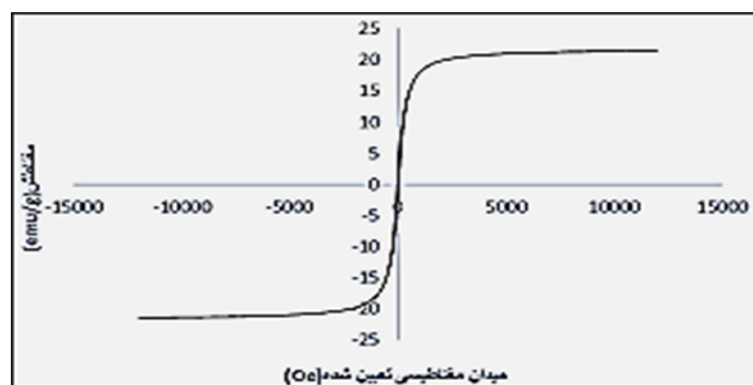


شکل ۴. طیف SEM نانولوله ی کربنی عاملدار شده با بتاسیکلودکسترن بعد از جذب داروی آملودپین

### ۳-۳. بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری خواص مغناطیسی جاذب (VSM)

تغییرات خواص مغناطیسی مواد در هنگام کاهش میدان، از رفتار قبلی خود تبعیت نمی کند، بلکه بخاطر ناهمسانگردی مغناطیسی در محیط، مقداری انرژی را در خود ذخیره می کنند. بنابراین وقتی میدان اعمالی در محیط صفر شود، مغناطیسش در ماده صفر نشده و دارای مقدار خاصی است که به آن مغناطیس پسماند گشتاور  $M_r$  گفته می شود. با کاهش بیشتر شدت میدان به سمت مقادیر منفی، خاصیت مغناطیسی القا شده به تدریج کاهش می یابد و با رسیدن شدت میدان به یک مقدار منفی خواص مغناطیسی ماده کاملاً از بین می رود. این میدان مغناطیس زدا را با HC نشان می دهند و به نیروی ضدپسماند (coercive force) و یا وادارندگی مغناطیسی معروف است. با کاهش بیشتر شدت میدان، القای مغناطیسی منفی می شود و در نهایت به مقادیر اشباع منفی خود، می تواند برسد. افزایش مجدد شدت میدان به سمت مقادیر مثبت، حلقه پسماند را مطابق شکل (۳) کامل می کند. مغناطیس های دائمی غالباً در ربع دوم حلقه پسماند خود، مورد استفاده قرار می گیرند [۲۵]. پسماند یا نیروی وادارنده عبارتست از میدان معکوسی که برای کاهش مغناطش به صفر نیازست.

شکل ۵ نشان می دهد که جاذب بدست آمده از نوع مغناطیسی نرم با اعمال میدان مغناطیسی کوچک براحتی مغناطیسی می شود و با قطع میدان سریعاً گشتاور مغناطیسی خود را از دست می دهند. به عبارتی این مواد دارای نیروی وادارندگی پایینی هستند. این مواد همچنین دارای اشباع مغناطیسی بالا  $M_s$  و گشتاور پسماند  $M_r$  پایین اند.



شکل ۵. نانولوله ی کربنی عاملدار فرومغناطیسی شده با بتاسیکلودکسترن

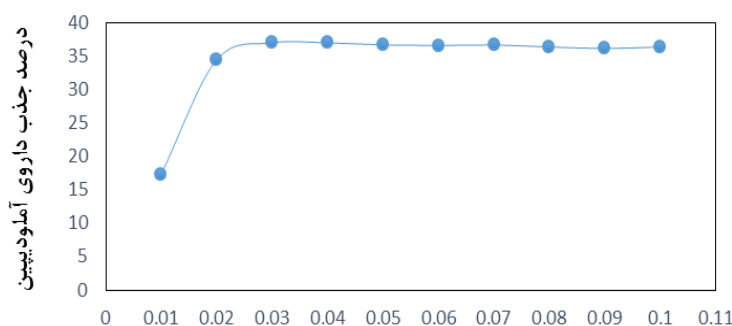
### ۳-۴. اثر pH در استخراج آملودیپین

به منظور بررسی اثر pH در استخراج آملودیپین مراحل زیر انجام گرفت. برای هر ظرف، بافر مورد نظراضافه شده است، به دلیل اینکه هدف تعیین pH مناسب می باشد. کم ترین مقدار جذب به عنوان بهترین مقدار انتخاب شده است. (به دلیل اینکه در pH مذکور جذب بهترین شرایط را برای جذب آملودیپین داراست. بنابراین غلظت داروی آملودیپین در نمونه کاهش می یابد، به همین دلیل این pH را انتخاب می کنیم. از داروی مورد نظر ۱ میلی لیتر (با غلظت ۱۰ ppm برای آملودیپین برداشته شد)، ۰/۰۱ گرم جذب سنتز شده، 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 اندازه گیری 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. این نمودار حاکی از آن است که با جذب در pH برابر ۶ برای آملودیپین، شرایط مناسب برای پرتونه شدن نانولوله ی کربنی با بتاسیکلودکستین مشاهده می شود که بیشترین جذب آملودیپین بر روی نانولوله ی کربنی با بتاسیکلودکستین می باشد و اینکه از نظر الکتروستاتیکی بهترین شرایط جذب و دارو برای جذب سطحی در pH برابر ۶ را داراست.

### ۳-۵. اثر مقدار جذب

پارامتر مهم دیگری که شدت جذب را تحت تاثیر قرار می دهد مقدار جذب 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 جذب بهینه و در طول موج بهینه طبق شرایط قبل استفاده شد و مقدارهای مختلف جذب استفاده شد (شکل ۶).



جذب (گرم)

شکل ۶. جذب آملودیپین بر روی گرم نانولوله ی کربنی با بتاسیکلودکستین

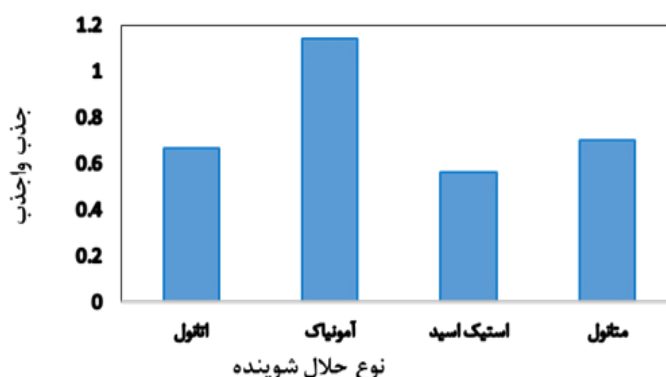
این نمودار حاکی از آن است که در مقدارهای کمتر جذب، امکان وارد شدن ترکیباتی درون محلول می باشد که می توانند در طول موج ماکزیمم دارو جذب داشته باشند. مقدار جذب برای آملودیپین مقدار ۰/۰۲۰ گرم انتخاب گردید.

### ۳-۷. اثر زمان جذب دارو در محلول

یکی دیگر از پارامترهای مهم بر روی 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 آن ها 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 نتایج 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 ۲۵ دقیقه انتخاب شد.

### ۳-۸. 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، استیک اسید، آمونیاک، اتانول) آزمایش شده و حلال بهینه برای دارو انتخاب گردید. ۷ بالن ۵۰ میلی لیتری برداشته شد. سپس بعد از عمل سانتریفیوژ، آب رویی هر ظرفی خارج و حلال ها به آن اضافه شد و سپس ۲۰ دقیقه آن ها را شیک کرده و ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و سپس فیلتر شد و جذب آن ها در طول موج ماکزیمم خوانده شد. در اینجا عمل واجذب انجام شد و به همین خاطر بایستی بیشترین جذب را انتخاب کنیم (شکل ۷).



شکل ۷. واجذب آملودیپین بر روی میلی گرم نانولوله ی کربنی با بتاسیکلودکسترین با حلالهای واجذب مختلف

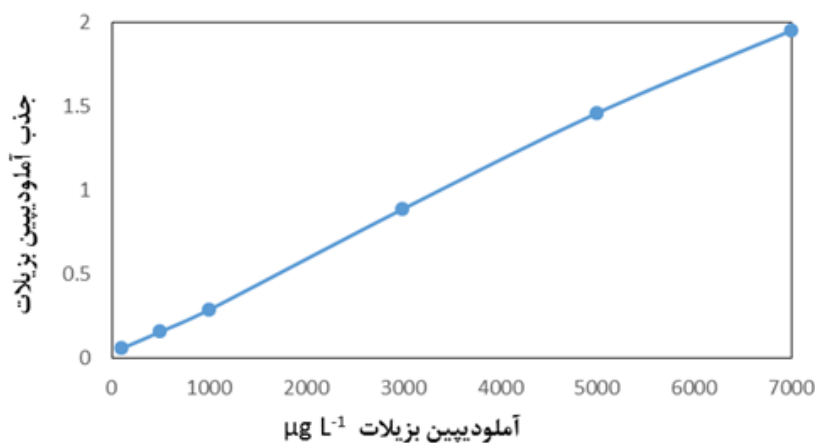
حاکی از آن است که در تعادل ایجاد شده بین جاذب و حلال شوینده بهترین شرایط را حلال های اسیدی نشان می دهند. با در نظر گرفتن بیشترین جذب برای انتخاب حلال بهینه، برای آملودیپین آمونیاک انتخاب شد.

### ۳-۹. 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 بتاسیکلودکسترین و  $\text{pH} = 6$  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  $0.02-7/9 \text{ mgL}^{-1}$  خطی می باشد (شکل ۸)



شکل ۸. منحنی کالیبراسیون جذب آملودیپین با حلالهای واجذب مختلف

### ۳-۱۰. آماده سازی نمونه پلاسما برای اندازه گیری آملودیپین

نمونه خون گرفته شده از انسان در داخل تیوب‌های حاوی EDTA به حجم  $2/5$  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 پروتئین‌های اضافی رسوب کنند. برای اندازه گیری با روش پیشنهادی نیز حجم معینی از پلاسما برداشته شده و مراحل اندازه گیری انجام گرفت.

### ۳-۱۱. نمونه ادرار برای اندازه گیری آملودیپین

نمونه ادرار گرفته شده از انسان و فیلتر شده در ظرف شیشه‌ای 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 بتاسیکلودکستین" و بار دیگر با "نانو لوله های کربنی مغناطیسی" مقایسه شدند. که در این مرحله نتیجه می گیریم مقدار داروی توسط "نانو لوله های کربنی مغناطیسی عامل دار شده با بتاسیکلودکستین" اضافه شده و مقدار داروی یافت شده در پلاسما و ادرار یکسان می باشد و این حاکی از این است که صحت روش توسط "نانو لوله های کربنی مغناطیسی عامل دار شده با بتاسیکلودکستین 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 ۲۳۷ nm توسط نانولوله های کربنی مغناطیسی عامل دار شده با بتاسیکلودکستین	مقدار اندازه گیری شده جذب در طول موج ۲۳۷ nm توسط نانولوله های کربنی مغناطیسی
آب مقطر	۰/۰۰	N.D <sup>الف</sup>	N.D <sup>الف</sup>
ادرار	۱۰/۰۰	۱۰/۰۳(۲/۱) <sup>ب</sup>	N.D <sup>الف</sup>
	۰/۰۰	۲۵/۰۴(۲/۰)	۱۵/۲۰(۲/۶)
	۱۰/۰۰	۳۵/۰۵(۲/۷)	۲۷/۲۵(۲/۷)
پلاسمای خون	۰/۰۰	۱۴/۰۶(۲/۲)	۱۳/۲۶(۲/۸)
	۱۰/۰۰	۲۲/۰۷(۱/۴)	۲۳/۱۴(۲/۹)

الف) Not Detect (قابل تشخیص نیست).

ب) RSD مربوط به سه بار تکرار آزمایش است.

در جدول ۲ به مقایسه روش های مختلف برای اندازه گیری آملودیپین در نمونه آبی به روش های متفاوت پرداخته ایم که نتیجه حد تشخیص روش ارایه شده نشان دهنده نتیجه مطلوب برای این مهم می باشد [۲۶-۲۷].

جدول ۲. مقایسه روش های مختلف برای اندازه گیری آملودیپین

روش	حد تشخیص	جاذب
automated online solid-phase extraction	۰/۱۰ ng/m	HySphere C8 EC-SE
Solid-Phase Extraction	۰/۲۵ µg/mL	Molecularly Imprinted Polymer
Dispersive solid-phase extraction (This work)	۷/۵ µg/mL	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @MWCNT- β cyclodextrin

#### ۴. نتیجه گیری

تکنیک استخراج فاز جامد پخشی 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. توسعه روش استخراج فاز جامد در سالیان اخیر، جاذبی با کارایی مناسب را به عنوان نیازی اساسی مطرح کرده است. از این رو در این کار تحقیقاتی از نانولوله ی کربنی با بتاسیکلودکستین به عنوان جاذبی مناسب در جهت افزایش راندمان استخراج آملودیپین استفاده شد. پارامترهای مؤثر بر استخراج از قبیل pH، نوع بافر، غلظت بافر، مقدار جاذب، 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  $0.02-7/9 \text{ mgL}^{-1}$  و فاکتور تغلیظ مناسب ۱۴ برای تعیین آملودیپین است، حد تشخیص  $\mu\text{gL}^{-1}$  ۷/۵ 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] Modo M, Hoehn M, Bulte JW. Cellular MR imaging. *Molecular imaging* 4 (2005)1154-1162.
- [3] Moghimi A, Yari M. Review of procedures involving separation and Solid Phase Extraction for the determination of cadmium using spectrometric techniques. *Journal of Chemical Reviews* 1 (2019) 1-18
- [4] Pawliszyn J. Solid phase microextraction: theory and practice: John Wiley & Sons; 1997.
- [5] Moghimi A. Detection of trace amounts of Pb (II) by schiff base-chitosan-grafted multiwalled carbon nanotubes. *Russ J Phys Chem A* 87 (2013) 1203-1209
- [۶]. مقیمی علی، آبنیکی میلاد. استخراج فاز جامد پخشی برای پیش تغلیظ پساب رنگی در نمونه های آبی با استفاده از نانولوله های کربنی -مغناطیسی اصلاح شده با کیتوسان، شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی، ۱۹(۲۰۱۹) ۶۱-۶۸.
- [۷]. مقیمی علی، استخراج فاز جامد برای اندازه گیری مقادیر ناچیز کادمیوم (II) در پسابهای صنعتی توسط عامل دار شدن نانولوله گرافن اکساید ۲- آمینو پیریدین با طیف سنجی جذب اتمی شعله ای. شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی، ۲۴(۲۰۱۹) ۵۲-۷۱.
- [8] Hutchinson DJ, Schilt AA. Investigation of the adsorption of ferriox-type ligands and metal chelates on activated carbons for applications in reagent purification and trace metal enrichment and determination. *Analytica chimica acta* 154 (1983) 159-71
- [9] Pourshamsi T, Amri F, Abniki M. A comprehensive review on application of the syringe in liquid- and solid-phase microextraction methods. *Journal of the Iranian Chemical Society* (2020)
- [10] Abniki M, Moghimi A. Synthesis of chitosan functionalized magnetic carbon nanotubes for dispersive solid-phase extraction of bromocresol green. *Micro & Nano Letters* 16 (2021) 455-62
- [11] 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* 85 (2020) 1223-35
- [12] Abniki M, Moghimi A, Azizinejad F. Synthesis of calcium-layered double hydroxide based nanohybrid for controlled release of an anti-inflammatory drug. *J Chin Chem Soc (Taipei, Taiwan)* 68 (2021) 343-52
- [13] Moghimi A, Abniki M. Preconcentration and Separation of Ultra-Trace Cu (II) with Disks of Octadecyl Silica Membrane Modified Nano-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Encapsulated-Dioctyl Phthalate and Linked-Diethylenetriamine. *Advanced Journal of Chemistry-Section A* (2021).
- [14] M. Abniki, A.Moghimi, F.Azizinejad, 2020. Fabrication of bionanocomposite based on LDH using biopolymer of gum arabic and chitosan-coating for sustained drug-release, *J. Serb. Chem. Soc.* 84 (0) pp.1-13.

- [۱۵]. مقیمی ع، آبنیکی م، یاری م. حذف موثریون‌های جیوه (II) از نمونه‌های آبی زیست محیطی با استفاده از نانوتیوب‌های کربنی کربوکسیله بوسیله روش استخراج فاز-جامد پختی. فصلنامه زمین شناسی محیط زیست ۱۴ (۲۰۲۰) ۱۵-۲۲
- [۱۶]. مقیمی ع، آبنیکی م، قمی م. حذف و تعیین سرب (II) با استفاده از دیسک‌های نانو مغناطیسی اصلاح شده اکتادسیل سیلیکا با دی اکتیل فتالات با روش اسپکتروسکوپی جذب اتمی. شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی ۱۰ (۲۰۲۰) ۴۸-۲
- [17] 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.
- [18] Moghimi, A., Preconcentration of trace Ni (II) using C<sub>18</sub> disks modified cyclodextrin-chitosan/nanographene oxide. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 7(7) (2013) 242-251.
- [19] 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.
- [20] Moghimi, A., Abdouss, M., Extraction of Co (II) by Isocyanate Treated Graphite Oxides (iGOs) Adsorbed on Surfactant Coated C<sub>18</sub> Before Determination by FAAS. *Int. J. Bio-Inorg. Hybd. Nanomat*, 2(1) (2013) 319-327.
- [21] 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.
- [22] moghimi a, Abniki M. Removal and measurement of bromocresol purple dye in aqueous samples by  $\beta$ -cyclodextrin-modified magnetic carbon nanotube with dispersive solid-phase extraction technique. *Journal of Color Science and Technology* (2021) - JCST-2012-1121
- [23] Abniki M, Moghimi A. Synthesis of chitosan functionalized magnetic carbon nanotubes for dispersive solid-phase extraction of bromocresol green. *Micro & Nano Letters* 16 (2021) 455-62
- [24] Moghimi A, Qomi M, Yari M, Abniki M. Solid phase extraction of Hg (II) in water samples by nano-Fe. *Int J Bio-Inorg Hybr Nanomater* 8 (2019) 163-72
- [25] Moghimi A, Abniki M. The Dispersive Solid-Phase Extraction of Fluoxetine Drug from Biological Samples by the Amine-Functionalized Carbon Nanotubes with HPLC Method. *Chemical Methodologies* 5 (2021) 250-8
- [26] Shentu J, Fu L, Zhou H, Hu XJ, Liu J, Chen J, et al. Determination of amlodipine in human plasma using automated online solid-phase extraction HPLC–tandem mass spectrometry: Application to a bioequivalence study of Chinese volunteers. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 70 (2012) 614-8
- [27] Luo K, Liu M, Fu Q, Amut E, Zeng A, Chang C. Solid-phase extraction of S-(-)-amlodipine from plasma with a uniformly sized molecularly imprinted polymer. *Journal of applied polymer science* 125 (2012) 3524-31

**Dispersive solid-phase extraction for preconcentration of Amlodipine in aqueous samples using Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@MWCNT- β cyclodextrin composite and determined by UV-Vis in biological samples**

**Mostafa Shojaei<sup>1</sup>, Ali Moghimi<sup>1,2\*</sup>, Milad Abniki<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Islamic Azad University, Varamin(Pishva) Branch, Varamin, Iran

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Islamic Azad University, Tehran Medical Branch, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Department of Resin and Additives, Institute for Color Science and Technology, Tehran, Iran

Submitted: 16 May 2021, Revised: 06 August 2021, Accepted: 18 August 2021

---

**Abstract**

In this study, a new technique of solid-phase extraction by Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@MWCNT- β cyclodextrin was used for small amounts of Amlodipine in aqueous samples and measured by UV-VIS spectroscopy. In this research, innovative techniques to exploit small amount of Amlodipine in solid phase in water sample through Multi Wall Nanotube- NH<sub>2</sub> its measurements by visible spectrophotometry and ultra violet in biological samples has been used. These techniques are di phasic system, which donor phases are watery samples and recipient phase is Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@MWCNT- β cyclodextrin. The experiments have been performed in two extraction stages of Amlodipine watery samples desorption by using Ammonia solvent and desorption samples were put to spectrophotometry device UV-Vis for analysis. This is quick and easy method and is consistent with many of available instrumental techniques. 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 14.5 - (LOD) 7.5 μgL<sup>-1</sup> respectively. Linear range.0.02-7.9 mgL<sup>-1</sup> and rational standard deviation for Amlodipine were % 1.9 and R<sup>2</sup>=0.9989.

**Keywords:** Amlodipine solid phase extraction, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@MWCNT-β cyclodextrin, spectrophotometry.

---

\*Corresponding author : Ali Moghimi

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

**Tel:** 02136725011

**E-mail:** [alimoghimi@iauvaramin.ac.ir](mailto:alimoghimi@iauvaramin.ac.ir)