



بررسی ساختار جاذب نوین سنتز شده با روش های مختلف اسپکتروسکوپی و کاربرد آن در استخراج میکرو فاز پراکندگی دارو های آملودیپین و نیفدیپین

عارف انصاری محسنی، محمود ابراهیمی*، صفرعلی بیرم آبادی

گروه شیمی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۴۰۳/۰۵/۱۴، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۴۰۳/۰۸/۲۰، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۴۰۳/۰۹/۱۲

چکیده

آملودیپین و نیفدیپین، مسدودکننده های کانال کلسیمی که به طور گسترده برای فشار خون و آنژین تجویز می شوند، به دلیل حضورشان در منابع آب سبب پیامدهای بالقوه زیست محیطی و نگرانی هایی برای سلامت انسان ایجاد کرده اند. این مقاله یک رویکرد تجزیه ای جدید را با استفاده از چارچوب های آلی فلزی (MOFs) در استخراج میکرو فاز جامد پراکنده (D μ SPE) معرفی می کند تا به طور موثر آملودیپین و نیفدیپین را از ماتریس های پیچیده، مانند نمونه های آب محیطی و ادرار انسان استخراج و تعیین کند. یک جاذب منحصر بفرد مبتنی بر MOF که از طریق رویکرد هیدروترمال سنتز می شود، با نانوذرات Fe₃O₄ با استفاده از روش سل-ژل برای افزایش کارایی جداسازی مغناطیسی شدند. این جاذب با روش های مختلف اسپکتروسکوپی از قبیل BET، FTIR، VSM و EDX مورد بررسی و آنالیز برای تعیین ساختار قرار گرفت. همچنین، آنالیز مقایسه ای جاذب های MOF مختلف سنتز شده از قبیل (MOF-8، Zn/Co ZIF-67، دو فلزی، Zn/Co ZIF-67@ZIF-8) دو فلزی) برای ارزیابی توانایی جاذب آماده شده برای استخراج آنالیت ها انجام شدند. روش طراحی آزمایش برای بهینه سازی روش D μ SPE به منظور کاهش زمان و هزینه آنالیز استفاده شد. محدوده خطی روش از غلظت ۰/۲-۳۵۶ نانوگرم بر میلی لیتر برای آملودیپین و ۰/۱-۳۴۲ نانوگرم بر میلی لیتر برای نیفدیپین در آب مقطر با R² بالاتر از ۰/۹۹۳۴ بود. حد تشخیص کیفی و حد تشخیص کمی روش به ترتیب ۰/۰۶ نانوگرم در میلی لیتر و ۰/۲ نانوگرم در میلی لیتر برای آملودیپین و ۰/۰۳ نانوگرم در میلی لیتر و ۰/۱ نانوگرم در میلی لیتر برای نیفدیپین تعیین شدند. فاکتورهای پیش تغلیظ برای تعیین آملودیپین و نیفدیپین به ترتیب ۳۵۶/۶ و ۳۷۴/۹ تعیین شد. انحراف استاندارد نسبی درون روز برای تعیین آملودیپین و نیفدیپین به ترتیب ۴/۲۶ و ۴/۱۹ درصد بود. بازیابی های نسبی در محدوده ۹۴/۲ تا ۹۷/۲ درصد برای این دارو ها در نمونه های حقیقی آب و ۹۱/۴ تا ۹۴/۵ درصد در نمونه های ادرار، با یک انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۶/۱۰ درصد بود. روش توسعه یافته اثربخشی قابل توجهی را در استخراج و کمی سازی آملودیپین و نیفدیپین در طیف متنوعی از نمونه های آب محیطی و ادرار انسان نشان می دهد.

واژه های کلیدی: آملودیپین؛ نیفدیپین؛ استخراج میکرو فاز جامد پراکنده؛ MOF های دو فلزی؛ روش سل-ژل؛ نمونه ادرار انسان

*عهده دار مکاتبات: محمود ابراهیمی

نشانی: گروه شیمی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

پست الکترونیک: E-mail: ebranchem2007@yahoo.com

تلفن: ۰۲۳۳۲۳۹۴۲۸۹

۱. مقدمه

آملودیپین و نیفدیپین، هر دو داروی مسدودکننده‌های برجسته کانال کلسیم اند که برای مدیریت فشار خون و آنژین صدری مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱]. اثربخشی آنها در بهبود سلامت قلب و کاهش فشار خون به خوبی ثابت شده است [۲-۳]. با این حال، یک نگرانی رو به رشد حضور این داروها در منابع آب و نمونه‌های بیولوژیکی به عنوان آلاینده است که پیامدهای بالقوه زیست محیطی و بهداشتی را به همراه دارد [۴]. علاوه بر مشکلات زیست محیطی، داروهای آملودیپین و نیفدیپین دارای عوارض جانبی از سرگیجه و تورم اندام‌ها تا سردرد در انسان از خود بروز می‌دهند [۵-۶]. چنین اثرات نامطلوبی می‌تواند بر کیفیت زندگی بیماران تأثیر منفی بگذارد و ممکن است با توجه نکردن به این عوارض، سلامت آنها را به خطر بیندازد. پس از مصرف خوراکی، هر دو دارو تحت متابولیسم کبدی گسترده‌ای قرار می‌گیرند، عمدتاً از طریق سیستم آنزیمی سیتوکروم P450، قبل از اینکه به شکل فعال خود برسند و متابولیت‌های مختلفی را که عمدتاً غیر فعال اند، تولید می‌کنند [۷]. آملودیپین مشخصات فارماکوکینتیک متمایز با نیمه عمر حذف طولانی مدت، تقریباً ۳۰ تا ۵۰ ساعت داشته و عمدتاً از طریق کلیه دفع می‌شود و ۶۰-۹۰ درصد از دوز آن به عنوان متابولیت‌ها از طریق ادرار دفع می‌شود [۲]. در حالی که نیفدیپین نیمه عمر حذف نسبتاً کوتاه‌تری را معمولاً ۲-۵ ساعت با سرعت دفع کلیوی ۶۰-۸۰ درصد عمدتاً به عنوان متابولیت از خود نشان می‌دهد [۸].

نگرانی رو به رشد در مورد پتانسیل آلودگی محیطی زیستی با داروهای آملودیپین و نیفدیپین در منابع آب ایجاد شده است. با توجه به استفاده گسترده جهانی از این داروها، وجود آنها در فاضلاب شهری، در نتیجه دفع ادرار، زنگ خطر را ایجاد می‌کند [۹-۱۰]. فرآیندهای متعارف تصفیه فاضلاب اغلب در از بین بردن کامل بقایای دارویی مانند آملودیپین و نیفدیپین ناکافی است و منجر به انتشار آنها در اکوسیستم‌های آبی و تهدید بالقوه حیات دریایی و زیستگاه‌ها می‌شود [۱۱-۱۲]. در نتیجه، پایش حضور آنها در منابع آب برای تعیین کمیت سطوح آلودگی و اجرای مداخلات لازم ضروری است. علاوه بر این، تعیین داروهای آملودیپین و نیفدیپین در نمونه‌های بیولوژیکی برای ارزیابی پیامدهای سلامتی بالقوه حیاتی است [۱۳]. همچنین ایجاد تعادل در محدوده درمانی برای مدیریت موثر فشار خون و آنژین ضروری است [۱۴-۱۵]. با این حال، حضور بیش از حد این داروها در بدن، چه به دلیل استفاده بیش از حد و چه به دلیل اختلال در دفع، می‌تواند باعث ایجاد عوارض جانبی مانند افت فشار خون، سرگیجه و تپش قلب شود [۱۶]. نظارت منظم بر سطوح دارو در نمونه‌های بیولوژیکی، از جمله خون یا ادرار، به ارائه‌دهندگان مراقبت‌های بهداشتی این امکان را می‌دهد تا اطمینان حاصل کنند که دارو در بدن بیماران در محدوده درمانی باقی می‌ماند و امکان تنظیم به موقع دوز دارو را برای جلوگیری از عوارض ناشی از آن فراهم می‌کند.

آماده‌سازی نمونه در شیمی تجزیه اهمیت بالایی دارد و به‌طور قابل توجهی بر دقت، صحت و محدودیت‌های تشخیص روش‌های تجزیه ای تأثیر می‌گذارد [۱۷]. در آنالیز ماتریس‌های پیچیده مانند نمونه‌های واقعی آب و ادرار، حذف موثر مواد مزاحم و پیش تغلیظ آنالیت‌های هدف ضروری است [۱۸]. علاوه بر این، آماده‌سازی نمونه برای کاهش اثرات ماتریس، افزایش حساسیت و تقویت

انتخاب‌پذیری روش تجزیه‌ای از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [۲۰-۱۹]. استخراج میکرو فاز جامد پراکنده (D μ SPE)، یک تکنیک آماده‌سازی نمونه سازگار با محیط‌زیست، به دلیل توانایی آن در استخراج و پیش‌تغلیظ آنالیت‌ها از نمونه‌های مایع، توجه قابل توجهی را به خود جلب کرده است [۲۲-۲۱]. این روش مبتنی بر پراکنده کردن یک جاذب استخراج فاز جامد، معمولاً مواد با اندازه نانو یا میکرو در محلول نمونه است [۲۴-۲۳]. جاذب به طور انتخابی آنالیت‌های هدف را جذب می‌کند و حذف مواد مزاحم و تغلیظ آنالیت‌های مورد نظر را تسهیل می‌کند [۲۵].

چارچوب‌های فلزی-آلی (MOFs) به عنوان یک دسته پیشرو از مواد متخلخل با پتانسیل استثنایی در حوزه‌های مختلف علمی و فناوری ظهور کرده‌اند [۲۶]. MOFها توجه قابل توجهی را در شیمی تجزیه به دلیل قدرت خود به عنوان جاذب در D μ SPE به خود جلب کرده‌اند [۲۷]. این مواد کریستالی شامل یون‌ها یا خوشه‌های فلزی هستند که با لیگاندهای آلی پیوند شده‌اند و ساختارهای بسیار متخلخل و منظمی را ایجاد می‌کنند [۲۸]. ویژگی‌های شیمیایی و ساختاری قابل تنظیم MOFها آنها را به عنوان نامزدهای همه‌کاره برای کاربردهای بی‌شماری، شامل ذخیره‌سازی گاز، کاتالیست، دارو رسانی و جاذب آلاینده‌ها از محیط زیست تبدیل می‌کند [۲۹-۳۱]. قابل ذکر است که MOFها به دلیل سطح و تخلخل خیلی زیاد، پایداری قابل توجه و قابلیت استفاده مجدد و همچنین ساختارهای قابل تنظیم و عملکرد مناسب شان نقشی محوری در D μ SPE دارند [۳۲-۳۳].

در این مطالعه، یک روش D μ SPE برای استخراج آملودیپین و نیفدیپین از نمونه‌های آب و ادرار انسان ارائه گردید. برای این منظور، یک جاذب جدید از طریق رشد یک MOF روی MOF با استفاده از یک رویکرد هیدروترمال سنتز شد. متعاقباً، جاذب تهیه شده را از طریق روش سل-ژل در حضور نانوذرات مغناطیسی Fe₃O₄ برای تسهیل جداسازی ساده‌تر و سریع‌تر جاذب از محلول نمونه مغناطیسی گردید. کارایی جاذب سنتز شده را با چندین ماده دیگر، از جمله MOF-8، Zn/Co ZIF-67، دو فلزی، Zn/Co ZIF-67@ZIF-8 و Fe₃O₄ برای استخراج این داروها مقایسه شد. با استفاده از تکنیک‌های طراحی آزمایش، تعداد اجراهای ضروری برای بهینه‌سازی روش D μ SPE به حداقل رسانده شد و در نتیجه هزینه‌ها و زمان این فرایند به طور معناداری کاهش یافت. متعاقباً روش توسعه یافته برای آنالیز آملودیپین و نیفدیپین در طیفی از نمونه‌های آب محیطی و ادرار انسان مورد استفاده قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. دستگاه‌ها و مواد

آملودیپین و نیفدیپین از شرکت زهراوی فارما (تبریز، ایران) تهیه شد. تترااتیل ارتو سیلیکات (خلوص بیشتر از ۹۹/۰ درصد)، روی نیترات شش‌آبه (خلوص ۹۸ درصد)، کبالت (III) نیترات شش‌آبه (خلوص ۹۸ درصد)، ۲-متیل ایمیدازول (خلوص ۹۹ درصد) هیدروکلریک اسید (خلوص ۳۷ درصد)، سدیم هیدروکسید (خلوص ۹۸ درصد) و تری اتیل آمین (خلوص بیشتر از ۹۹/۵ درصد) از شرکت سیکما-آلدریچ (آمریکا) خریداری گردید. حلال‌های متانول، اتانول، استونیتریل، هگزان و استون از شرکت مرک (آلمان) تهیه گردید.

آملودیپین و نیفدیپین در هر دو نمونه استاندارد و نمونه های بیولوژیکی و حقیقی آب با استفاده از یک سیستم HPLC Knauer از شرکت آژورا (آلمان) مجهز به آشکارساز UV/Vis و یک ستون پک تجزیه ای L1 (با قطر ستون ۴/۶ میلی متر، طول ستون ۲۵۰ میلی متر، قطر ذرات فاز ساکن ۵ میکرومتر) دارای یک فاز ثابت از سیلیس متخلخل که با سیلان اکتادسیل (C18) پیوند خورده، اندازه گیری شدند. فاز متحرک شامل مخلوطی از استونیتریل، آب و متانول به نسبت به ترتیب ۲۵:۵۰:۲۵ درصد بود که با سرعت ۱/۰ میلی لیتر در دقیقه درون ستون جریان داشت. آملودیپین و نیفدیپین در طول موج ۲۶۵ نانومتر شناسایی شدند. زمان ماندگاری داروهای آملودیپین و نیفدیپین به ترتیب ۱/۷۳۳ و ۱۱/۰۳۳ دقیقه در آنالیز با روش HPLC تعیین گردید. گروه های عاملی $\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8 @Fe}_3\text{O}_4\text{/SiO}_2$ مغناطیسی با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR) از شرکت بروکر، آلمان) مطالعه گردید. علاوه بر این، مورفولوژی جاذب از طریق آنالیز Brunauer-Emmett-Teller (BET) با استفاده از دستگاه BELSORP Mini II (ژاپن) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (Zeiss SIGMA VP) از آلمان مورد بررسی قرار گرفت. برای کنترل pH محلول نمونه، از یک pH متر ۷۸۰ مترمتر از شرکت Herisau، سوئیس استفاده شد.

۲-۲. سنتز جاذب

۲-۲-۱. سنتز $\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67}$

محلولی از روی نترات شش آبه (۰/۵۳۵ گرم، ۱/۸ میلی مول) و کبالت (II) نترات شش آبه (۰/۰۷۳ گرم، ۰/۰۴ میلی مول) با حل کردن نمک های مربوطه از هر کدام از این ترکیبات در ۲۵/۰ میلی لیتر متانول تهیه شد. به این محلول، محلولی از ۲-متیل ایمیدازول (۰/۶۵۷ گرم، ۸ میلی مول) در ۲۵/۰ میلی لیتر متانول تحت هم زدن مداوم به مدت ۱۰ دقیقه اضافه شد. مخلوط حاصل به اتوکلاو منتقل شد و در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت حرارت داده شد که منجر به تشکیل $\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67}$ شد. پس از آن رسوبات حاصل جدا شده و سپس دو بار با متانول شسته و سپس در خلاء در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شدند [۳۴].

۲-۲-۲. سنتز $\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$

در این روش، ۰/۲ گرم از رسوب مرحله قبل به ۲۵/۰ میلی لیتر از محلول آبی حاوی ۲-متیل ایمیدازول (۰/۴۱۰ گرم، ۵ میلی مول) و تری اتیل آمین (۰/۵۸ میلی لیتر) اضافه شد و سپس به مدت ۵ دقیقه تحت امواج فراصوت قرار داده شد. سپس سوسپانسیون به آرامی به صورت قطره ای به محلولی متشکل از آبی روی نترات شش آبه (۰/۳۸۷ گرم) حل شده در ۲۵/۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ ساعت به طور مداوم و یکنواخت هم زده شد. سپس محصول حاصل ($\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$) با سانتریفیوژ جدا شد، سه بار با آب دیونیزه شسته و متعاقباً در خلاء در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شد [۳۵].

۲-۲-۳. سنتز $\text{Magnetic Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$

در یک ویال مناسب، ۰/۳ میلی لیتر تترا اتیل ارتوسیلیکات و ۰/۵ میلی لیتر اتانول مخلوط شده و مخلوط به مدت ۵ دقیقه در دمای صفر درجه سانتیگراد هم زده شد. سپس در حین هم زدن به مدت ۱۴۰ دقیقه، ۰/۲ میلی لیتر HCl غلیظ به صورت قطره قطره به مخلوط با کنترل دما در ۲۵ درجه سانتیگراد اضافه شد تا مخلوط سل تشکیل شود. سپس، ۰/۳ گرم از نانوذرات Fe_3O_4 و ۰/۴ گرم Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8 به مخلوط سل اضافه شدند. مخلوط حاصل به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد هم زده شد. رسوب حاصل، $Fe_3O_4@SiO_2@Bimetallic\ Zn/Co\ ZIF-67@ZIF-8$ ، چندین بار با آب دیونیزه شستشو شد و متعاقباً در خلاء در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۲ ساعت خشک شد [۳۶].

۲-۳. روش انجام DuSPE

محلول نمونه (۱۵/۰ میلی لیتر) به یک ویال مناسب منتقل شد و pH آن با استفاده از محلول بافر فسفات به ۷/۰ تنظیم شد. سپس کلرید سدیم (۰/۱۸ گرم) به محلول اضافه شد و تا زمان حل شدن کامل هم زده شد. در مرحله بعد، ۲۶ میلی گرم جاذب به داخل ویال اضافه شد و سپس به مدت ۶/۶ دقیقه در دمای اتاق تحت امواج فراصوت قرار گرفت. جاذب متعاقباً با استفاده از یک آهنربا قوی جدا شد و محلول به دقت تخلیه گردید. برای واجذب داروهای آملودیپین و نیفدیپین از سطح جاذب، ۱۸۶ میکرولیتر متانول به جاذب اضافه شد و مخلوط به مدت ۸/۳ دقیقه تحت امواج فراصوت قرار گرفت. فاز متانول حاوی آملودیپین و نیفدیپین با استفاده از آهنربا از جاذب جدا گردید. سپس فاز متانول از فیلتر نوک سرنگ (Millex®-GV، ۰/۲۲ میکرومتر) عبور داده شد و مقدار ۲۰ میکرولیتری از آن به HPLC تزریق شد تا آملودیپین و نیفدیپین تعیین شود. بازیابی استخراج (ER%) با استفاده از معادله زیر محاسبه شد:

$$ER\% = \frac{C_a}{C_d} * \frac{V_a}{V_d} * 100$$

معادله ۱

در این معادله، C_d و C_a به ترتیب نشان دهنده غلظت آنالیت در فازهای متانول و آب (ادرار) هستند و V_d و V_a به ترتیب حجم فازهای متانول و آب (ادرار) هستند.

۲-۴. آماده سازی نمونه واقعی

آزمایش اسپایک با استفاده از نمونه‌های حقیقی آب و ادرار برای ارزیابی اثربخشی روش و تضمین کیفیت با تعیین درصد بازیابی انجام شد. نمونه های آب لوله کشی، آب رودخانه و آب چاه از آزمایشگاه تحقیقاتی تجزیه دانشگاه آزاد اسلامی در مشهد، ایران و همچنین از رودخانه مایان در طرهبه- شاندیز، ایران و چاهی واقع در حومه مشهد (ایران) تهیه شدند. نمونه آب واقعی (آب لوله کشی، آب رودخانه یا آب چاه) به صورت تصادفی با نمونه برداری نیم لیتری در هر ساعت جمع آوری شد که در نتیجه برای هر نمونه واقعی ۱۰ نمونه تهیه شد. سپس ده نمونه برای هر نوع نمونه واقعی جمع آوری شده و با هم مخلوط شدند. سپس نمونه مخلوط شده (پنج لیتر از هر نمونه) برای تعیین وجود آملودیپین و نیفدیپین مورد آنالیز قرار گرفت. نتایج نشان داد که غلظت این آنالیت ها در نمونه های واقعی آب کمتر از حد تشخیص روش بود.

نمونه ادرار از دو داوطلب سالم، یک مرد ۴۵ ساله و یک زن ۴۳ ساله که در ماه گذشته از هیچ دارویی استفاده نکرده بودند، گرفته شد. هدف از نمونه گیری برای آنها توضیح داده شد و قبل از جمع آوری نمونه ها رضایت آنها اخذ شد. حدود ۱۰۰ میلی لیتر نمونه ادرار از هر داوطلب در یک ویال استریل در یک آزمایشگاه تشخیص طبی (مشهد، ایران) جمع آوری شد. هر نمونه از فیلتر کاغذی واتمن ۰/۴۵ میکرومتری عبور داده شد و در دمای کمتر از ۴ درجه سانتیگراد برای آنالیز نگهداری شد.

۳. نتایج و بحث

۳-۱. مطالعه ساختار $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$

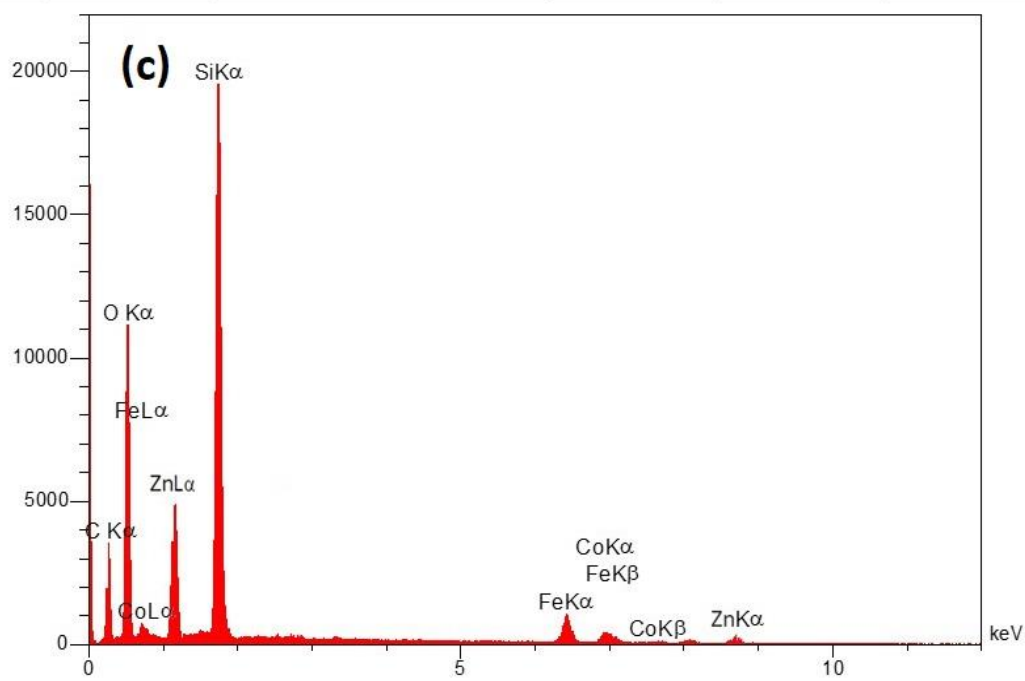
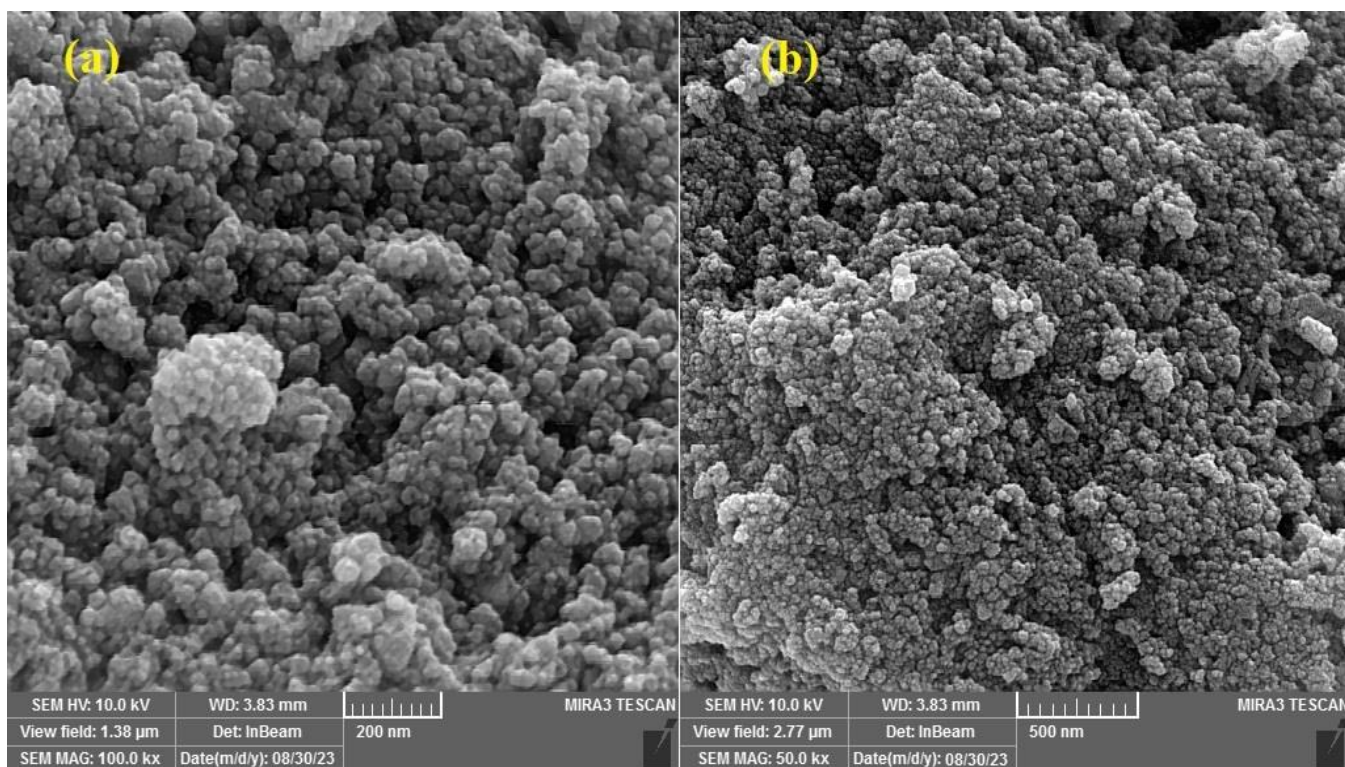
داده های ارائه شده تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی تصویر $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$ نشان می دهد که در شکل ۱ (الف و ب) نمایش داده شده است. این تصاویر مجموعه متنوعی از ذرات درون کامپوزیت را نشان می دهد که با ساختارهای نامنظم و ابعاد مختلف آن ها مشخص می شوند. این تصاویر تشکیل ذرات جاذب را نشان می دهند که اندازه هر کدام بیش از ۲ میکرومتر است که توسط ذرات کروی به صورت غیر یکنواخت پوشانده شده اند. قابل ذکر است که این ذرات اشکال کروی به صورت تجمع شده اند که به دلیل دلیل ویژگی های مغناطیسی ذرات جاذب می باشد. اندازه این ذرات کروی از ۳۰ تا ۸۰ نانومتر متغیر است و حتی در برخی از مناطق سطح جاذب ذراتی به بزرگی ۱۰۰ نانومتر را نشان می دهند. علاوه بر این، سطح جاذب دارای منافذ متعدد در اندازه های مختلف می باشد که نفوذ آلوده‌ی بین و نپفدیین را به عنوان آنالیت به صورت جذب فیزیکی تسهیل می کند.

در شکل ۱ (ج)، می توانیم الگوی EDX را برای $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$ به عنوان جاذب مشاهده کنیم. این الگو حضور چندین عنصر کلیدی از جمله آهن، روی، کبالت، نیتروژن، اکسیژن و کربن را به عنوان اجزای اصلی تشکیل دهنده جاذب نشان می دهد. قابل ذکر است، هیچ عنصر دیگری در ساختار جاذب شناسایی نشده است، که نشان دهنده عدم وجود گونه های تداخلی است. این مشاهدات بر خلوص بالای جاذب تهیه شده با توجه به ترکیب عنصری آن تأکید می کند.

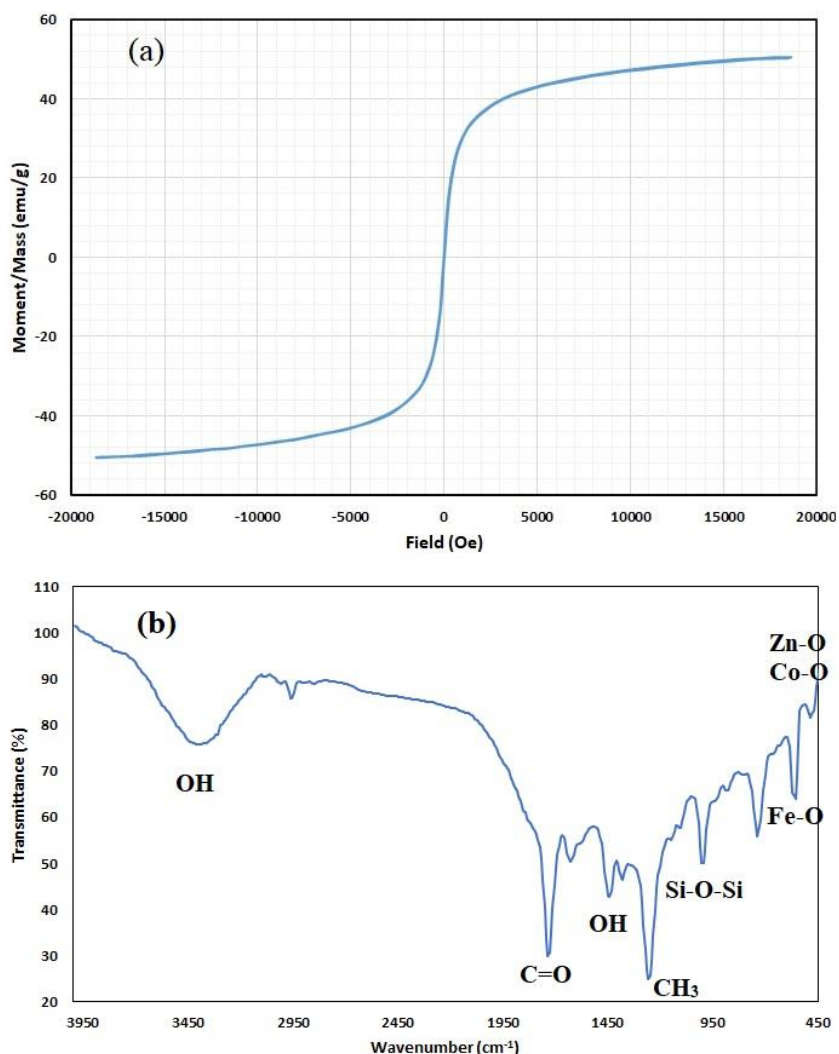
در شکل ۲ (الف)، تصویر VSM (مگنتومتری نمونه ارتعاشی) از $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$ ارائه می دهد. این جاذب خاص به دلیل ویژگی های مغناطیسی چشمگیرش، دارای ارزش مغناطیسی (Magnetization value) ۵۰/۵۴۳ emug^{-1} ، احتباس (Retentivity (Mr)) ۰/۸۳۲۳ emug^{-1} و سطح اجباری (Coercivity (Hci) level) ۱۳/۱۶۴ Oe است. این خواص مغناطیسی قابل توجه نقش اساسی در تسهیل جداسازی آن از محلول نمونه و حلال واجذب دارد که منجر به کاهش زمان جداسازی جاذب با اعمال میدان مغناطیسی خارجی می شود.

طیف FTIR جاذب $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$ در شکل ۲ (ب) نشان داده شده است. یک پیک در 3386 cm^{-1} را می توان به ارتعاش کششی گروه های OH در گروه های کربوکسیلیک اسید ترفتالیک نسبت داد. پیک در 1735 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی C=O در گروه های کربوکسیلیک اسید ترفتالیک است. خمش OH درون صفحه در گروه های

کربوکسیلیک اسید ترفتالیک در 1442 cm^{-1} مشاهده می شود. دو پیک در 1257 cm^{-1} و 995 cm^{-1} به ترتیب با تغییر شکل متقارن CH_3 در Si-CH_3 و ارتعاش کششی ضد متقارن گروه های Si-O-Si مرتبط هستند. تغییر شکل خارج از صفحه CH در حلقه بنزن اسید ترفتالیک در 740 cm^{-1} مشهود است. علاوه بر این، پیک در 555 cm^{-1} مربوط به ارتعاش کششی گروه های Fe-O است، در حالی که ارتعاش کششی گروه های Zn-O یا Co-O در 476 cm^{-1} مشاهده می شود.



شکل ۱. تصاویر SEM (a و b) و الگوی EDX (c) جاذب $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2@$ Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8



شکل ۲. تصویر VSM (الف) و طیف FTIR (ب) جاذب $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$

۳-۲. اثرات نوع جاذب

در $\text{D}\mu\text{SPE}$ ، انتخاب نوع جاذب مناسب نقش اساسی در موفقیت فرایند استخراج دارد و به طور قابل توجهی بر کارایی و قابلیت اطمینان روش تأثیر می‌گذارد. انتخاب جاذب معمولاً با ملاحظات زیادی مانند ویژگی آنالیت، سازگاری با ماتریس نمونه، مکانیسم استخراج مورد نظر و هزینه همراه است [۲۳]. در این مطالعه، چندین جاذب از جمله MOF-8 ، $\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67}$ ، $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$ و Fe_3O_4 ، $\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$ برای استخراج $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$ و Fe_3O_4 ، $\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$ با ارزیابی مقادیر بدست آمده درصد بازیابی مقایسه شدند (جدول ۱). در میان این جاذب‌ها، کمترین درصد بازیابی با استفاده از نانوذرات Fe_3O_4 به دست آمد که در درجه اول به دلیل عدم وجود گروه‌های عاملی مناسب روی این جاذب برای تعامل مؤثر با آنالیت‌ها بود. ما تغییراتی را در درصد بازیابی برای هر دو آنالیت هنگام استفاده از MOF-8 ، Zn/Co ZIF-67 ، $\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$ ، $\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$ به عنوان جاذب مشاهده کردیم. این تغییرات را می‌توان به احتمال زیاد به حضور گروه‌های آمینی و حلقه هتروسیکلیک آروماتیک ۲-متیل ایمیدازول در این جاذب‌ها نسبت داد، که تعامل با گروه‌های

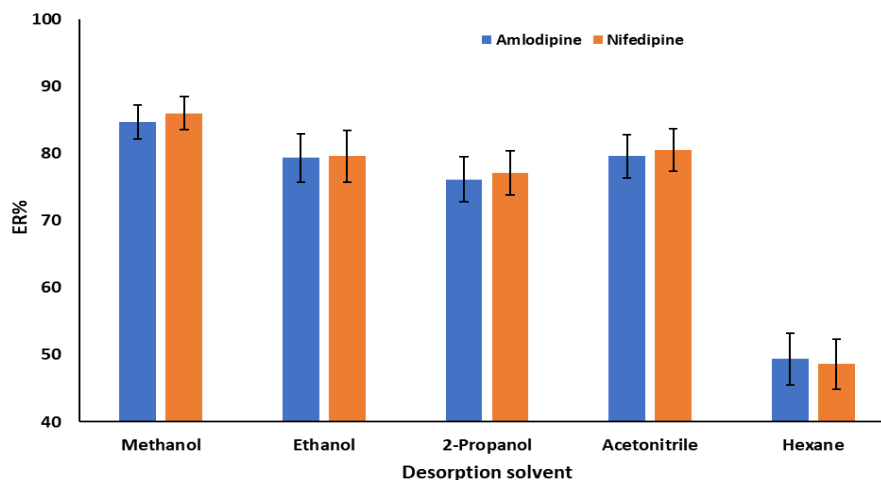
عاملی، از جمله حلقه های بنزن و گروه های عاملی اکسیژن دار در آنالیت ها را دارند. بنابراین، برهمکنش های کلیدی بین این جاذب ها و آنالیت ها شامل پیوند هیدروژنی و انباشتگی $\pi-\pi$ است. علاوه بر این، پیوند هیدروژنی بین گروه های آمین ۲-متیل ایمیدازول در این جاذب ها و آنالیت ها، یکی دیگر از تعاملات مهم است که استخراج آملودیپین و نیفدیپین را بر روی جاذب تسهیل می کند. تغییرات در مقادیر درصد بازیابی بین این جاذب ها را می توان به تفاوت های ساختاری نسبت داد، که می تواند بر مانع فضایی گروه های عاملی در سطح جاذب تأثیر بگذارد و بر تعامل آنها با آنالیت ها تأثیر بگذارد. علاوه بر این، رشد ZIF-8 بر روی Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8 برای تهیه Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8 منجر به تشکیل ذرات ZIF-8 با اندازه کوچکتر شد. این باعث افزایش سطح تماس بین جاذب و آنالیت شد که منجر به بهبود درصد بازیابی شد. در نهایت، خواص مغناطیسی $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8}$ مغناطیسی به عنوان جاذب، جداسازی بهتر و سریعتر از محلول نمونه را در مقایسه با جاذب های دیگر تسهیل می کند. این قابلیت جداسازی افزایش یافته به مقادیر درصد بازیابی بالاتر کمک می کند.

۳-۳. اثر نوع حلال واجذب

D μ SPE شامل یک مرحله مهم به نام واجذب است که در آن آنالیت ها از فاز جامد به یک حلال شسته می شوند. انتخاب حلال واجذب در D μ SPE به طور قابل توجهی بر راندمان استخراج، گزینش پذیری و حساسیت روش تأثیر می گذارد. هنگام انتخاب حلال واجذب مناسب باید چندین فاکتور از جمله قطبیت آن، برهمکنش با آنالیت ها، حلالیت جاذب و اثرات ماتریس در نظر گرفته شود. با این حال، قطبیت حلال و برهمکنش آن با آنالیت ها بیشترین تأثیر را بر راندمان استخراج آنالیت دارد. در این مطالعه، ما تأثیر حلال های واجذب مختلف، از جمله متانول، اتانول، ۲-پروپانول، استونیتریل و هگزان را بر بازیابی استخراج آملودیپین و نیفدیپین بررسی کردیم (شکل ۳). هگزان یک حلال غیر قطبی با برهمکنش ضعیف با آملودیپین و نیفدیپین است که منجر به فرآیند واجذب ضعیف و کمترین بازیابی استخراج می شود. سه الکل انتخابی به عنوان حلال واجذب (متانول، اتانول و ۲-پروپانول) می توانند با آملودیپین و نیفدیپین از طریق تشکیل پیوند هیدروژنی بین گروه های هیدروکسیل خود و گروه های حاوی نیتروژن و اکسیژن در آنالیت ها برهمکنش داشته باشند.

جدول ۱. اثرات نوع جاذب در استخراج داروهای آملودیپین و نیفدیپین

جاذب	ER%±S	
	آملودیپین	نیفدیپین
Fe ₃ O ₄ NPs	۴۵/۷۸ ± ۲/۷۶	۴۹/۱۱ ± ۲/۹۲
MOF-8	۷۱/۲۱ ± ۲/۶۷	۷۲/۹۵ ± ۲/۸۳
Bimetallic Zn/Co ZIF-67	۷۳/۳۱ ± ۲/۵۱	۷۵/۴۳ ± ۲/۷۵
Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8	۷۹/۲۹ ± ۲/۳۷	۸۲/۰۶ ± ۲/۴۱
Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8	۸۳/۳۹ ± ۲/۱۹	۸۸/۵۰ ± ۲/۲۷



شکل ۳. اثر نوع حلال واجذب در استخراج آملودیپین و نیفدیپین

این برهمکنش‌های قوی منجر به بازیابی استخراج مطلوب آملودیپین و نیفدیپین می‌شود، اما به دلیل قطبیت بالاتر گروه هیدروکسیل متانول در مقایسه با سایر الکل‌ها، متانول بالاترین بازیابی استخراج را ایجاد می‌کند. استونیتریل دارای قطبیت مناسب برای برهمکنش‌های واندروالس با آملودیپین و نیفدیپین است که امکان واجذب مناسب از سطح جاذب را فراهم می‌کند. با این حال، بالاترین درصد بازیابی استخراج با استفاده از متانول به دست آمد که باعث انتخاب آن برای مطالعات آینده شد.

۳-۴. مرحله غربالگری فاکتورها

طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری ابزارهای ضروری برای شناسایی عوامل کلیدی هستند که بر فرآیند $D_{\mu}SPE$ تأثیر می‌گذارند و در عین حال استفاده از منابع و زمان با ارزش را بهینه می‌کنند. در میان طرح‌های آزمایشی مختلف موجود، طراحی غربالگری قطعی (DSD) ثابت کرده است که یک روش قدرتمند و کارآمد برای غربالگری عوامل مهم است. طرح آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه، یک طرح رزولوشن IV است، که تضمین می‌کند که اثرات اصلی و تعاملات دو طرفه با یکدیگر آلیاس نیستند. این امر به ویژه سودمند است زیرا امکان درک روشنی از تأثیرات فردی عوامل تحت بررسی را فراهم می‌کند. علاوه بر این، این طراحی برای هر عامل از سه سطح شامل یک سطح حداکثر، یک سطح حداقل و یک نقطه مرکزی استفاده می‌کند. با ترکیب این سه سطح، طراحی امکان کاوش در طیف کامل عوامل و همچنین ارزیابی انحنای بالقوه در سطح پاسخ را فراهم می‌کند. تعداد آزمایش‌ها در این طرح با استفاده از $N = 2k + 3$ و $N = 2k + 1$ برای تعداد فرد و زوج محاسبه می‌شود که k نشان‌دهنده تعداد عوامل انتخابی است [۳۷]. یکی از مزایای اصلی استفاده از DSD توانایی آن در بررسی همزمان چندین عامل است که امکان شناسایی کارآمد آنهایی را که بیشترین تأثیر قابل توجه را بر فرآیند یا محصول دارند، می‌دهد. این مزیت همزمان زمان آزمایش را کاهش می‌دهد که با به حداقل رساندن تعداد آزمایش‌های مورد نیاز سبب مقرون به صرفه شدن روش غربالگری می‌گردد. علاوه بر این، DSD فرآیند تعیین اینکه کدام عوامل از نظر آماری مهم هستند را ساده می‌کند و وضوح و اطمینان را در نتایج به دست آمده ارائه می‌دهد. در این مطالعه، از یک DSD برای غربالگری عوامل مهم در روش $D_{\mu}SPE$ استفاده گردید. این طرح شامل ۱۷ آزمایش

بود که به صورت تصادفی برای کاهش تأثیر عوامل ناشناخته اجرا شد. جزئیات طراحی در جدول ۲ جمع آوری شده است و نتایج با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه در فاصله اطمینان ۹۵ درصد ارزیابی شدند [۳۸]. عوامل مهم در روش $D\mu SPE$ با تجزیه و تحلیل مقادیر p به دست آمده شناسایی شد (جدول ۳). عواملی مانند مقدار جاذب، حجم حلال واجذب و زمان واجذب تأثیر قابل توجهی بر فرآیند استخراج آملودیپین و نیفدیپین داشتند، زیرا مقادیر p آنها در فاصله اطمینان ۹۵ درصد به کمتر از ۰/۰۵ (سطح α) بودند. این عوامل برای مرحله بهینه‌سازی بعدی انتخاب شدند، در حالی که سایر عوامل بدون تأثیر قابل توجه بر استخراج آنالیت‌ها در مقادیر ثابت نگه داشته شدند. ما مقادیر عوامل غیرمعدار را بر اساس مدل خطی معنادار ارائه شده در طرح، با هدف به حداکثر رساندن درصد بازیابی نسبی تعیین کردیم. مقادیر ثابت برای حجم محلول نمونه، pH، زمان استخراج و درصد نمک اضافه شده به ترتیب ۱۵/۰ میلی لیتر، ۷/۰، ۶/۶ دقیقه و ۱/۲ درصد تعیین شد. در مرحله بهینه‌سازی مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۲. طرح غربالگری قطعی برای غربالگری عوامل موثر بر استخراج آملودیپین و نیفدیپین

Std	Run	A: حجم نمونه:	B: pH	C: مقدار جاذب:	D: زمان استخراج:	E: حجم حلال واجذب:	F: زمان واجذب:	G: درصد نمک:	ER%
		mL		mg	min	μL	min	w/v%	
۱۷	۱	۱۵	۶/۵	۲۵	۵/۵	۲۵۰	۵/۵	۲/۵	۸۵/۴۳
۸	۲	۱۰	۸	۳۰	۵/۵	۲۰۰	۴	۵	۸۱/۲۵
۱۵	۳	۲۰	۸	۳۰	۴	۳۰۰	۴	۰	۶۸/۴۳
۴	۴	۱۰	۶/۵	۲۰	۴	۳۰۰	۴	۵	۵۱/۱۴
۱۰	۵	۱۰	۵	۳۰	۷	۲۵۰	۴	۰	۷۱/۹۲
۶	۶	۱۰	۸	۲۵	۴	۲۰۰	۷	۰	۷۷/۹۱
۱۴	۷	۱۰	۵	۳۰	۴	۳۰۰	۷	۲/۵	۶۶/۹۷
۹	۸	۲۰	۸	۲۰	۴	۲۵۰	۷	۵	۷۰/۹۴
۲	۹	۱۵	۵	۲۰	۴	۲۰۰	۴	۰	۶۰/۶۱
۳	۱۰	۲۰	۶/۵	۳۰	۷	۲۰۰	۷	۰	۸۳/۷۲
۵	۱۱	۲۰	۵	۲۵	۷	۳۰۰	۴	۵	۶۳/۹۵
۱۳	۱۲	۲۰	۸	۲۰	۷	۲۰۰	۴	۲/۵	۷۵/۸۹
۱۶	۱۳	۱۰	۵	۲۰	۷	۲۰۰	۷	۵	۷۹/۴۳
۷	۱۴	۲۰	۵	۲۰	۵/۵	۳۰۰	۷	۰	۶۱/۵۹
۱	۱۵	۱۵	۸	۳۰	۷	۳۰۰	۷	۵	۸۱/۲۵
۱۱	۱۶	۲۰	۵	۳۰	۴	۲۰۰	۵/۵	۵	۸۰/۲۹
۱۲	۱۷	۱۰	۸	۲۰	۷	۳۰۰	۵/۵	۰	۶۲/۵۷

جدول ۳. آنالیز واریانس یک طرفه برای تعیین فاکتور ها با اثر با معنا در استخراج آملودیپین و نیفدیپین

منبع	Sum of Squares	df	Mean Square	F-مقدار	p-مقدار	
مدل	۱۲۸۵/۰۸	۷	۱۸۳/۵۸	۶/۷۸	۰/۰۰۵۳	اثر با معنا
A-حجم محلول	۱۳/۲۵	۱	۱۳/۲۵	۰/۴۸۹۰	۰/۵۰۲۰	اثر بی معنا
B-pH	۸۰/۰۷	۱	۸۰/۰۷	۲/۹۵	۰/۱۱۹۷	اثر بی معنا
C-مقدار جاذب	۳۶۶/۸۰	۱	۳۶۶/۸۰	۱۳/۵۴	۰/۰۰۵۱	اثر با معنا
D-زمان استخراج	۱۲۸/۶۵	۱	۱۲۸/۶۵	۴/۷۵	۰/۰۵۷۳	اثر بی معنا
E-حجم حلال واجذب	۴۹۴/۴۵	۱	۴۹۴/۴۵	۱۸/۲۵	۰/۰۰۲۱	اثر با معنا
F-زمان واجذب	۱۶۸/۸۵	۱	۱۶۸/۸۵	۶/۲۳	۰/۰۳۴۱	اثر با معنا
G-درصد نمک اضافه شده	۳۳/۰۲	۱	۳۳/۰۲	۱/۲۲	۰/۲۹۸۳	اثر بی معنا
Residual	۲۴۳/۸۷	۹	۲۷/۱۰			
Cor Total	۱۵۲۸/۹۵	۱۶				

۳-۵. مرحله بهینه سازی فاکتور ها

در حوزه تحقیقات تجربی و بهینه سازی فرآیند، طراحی باکس-بنکن (BBD) یک تکنیک آماری شناخته شده و قدرتمند است. هدف اصلی آن پالایش و بهبود فرآیندهای مختلف با دستکاری همزمان چندین عامل و در عین حال به حداقل رساندن تعداد تکرارهای آزمایشی مورد نیاز است. BBD هنگامی که برای فرآیندهایی که شامل طیف وسیعی از عوامل ورودی یا متغیرها هستند، بسیار مؤثر است. با تغییر سیستماتیک این عوامل تعیین شده در محدوده‌های از پیش تعیین شده، محققان می‌توانند کل فضای طراحی را بررسی کنند و شرایط بهینه را برای دستیابی به نتایج دلخواه شناسایی کنند. BBD به ویژه برای فاکتورهای پیوسته که می‌توانند در سطوح مختلف تنظیم شوند مفید است. در نتیجه، BBD برای بهینه سازی عوامل مهم شناسایی شده در مرحله غربالگری معرفی شد. این طراحی در جدول ۴ ارائه شده است. آزمایش ها به صورت تصادفی برای حذف تأثیر عوامل ناشناخته بر درصد بازیابی استخراج آنالیت ها انجام شد.

نتایج با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه با فاصله اطمینان ۹۵ درصد برای شناسایی عوامل مهم یا تعاملات دوتایی بر اساس مقادیر p مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (جدول ۵). سه عامل انتخابی از مرحله غربالگری به طور قابل توجهی بر استخراج آملودیپین و نیفدیپین تأثیر می‌گذارند، زیرا مقادیر p آنها کمتر از ۰/۰۵ (سطح α) است. علاوه بر این، برهمکنش دوتایی بین حجم حلال واجذب و زمان واجذب دارای مقدار p کمتر از ۰/۰۵ است که نشان دهنده تأثیر قابل توجهی این برهمکنش دوتایی بر استخراج آملودیپین و نیفدیپین است. سایر برهمکنش دوتایی اثرات غیر قابل توجهی بر استخراج این ترکیبات دارند.

جدول ۴. طراحی باکس-بنکن برای بهینه سازی فاکتور ها در استخراج آملودیپین و نیفدیپین

Std	Run	درصد بازده استخراج			
		A: مقدار جاذب: mg	B: حجم حلال واجذب: μ L	C: زمان واجذب: min	
۱۵	۱	۲۵	۲۰۰	۷/۵	۹۵/۴۳
۹	۲	۲۵	۱۵۰	۵	۷۲/۳۶
۵	۳	۲۰	۲۰۰	۵	۶۸/۵۱
۱۷	۴	۲۵	۲۰۰	۷/۵	۹۱/۸۷
۷	۵	۲۰	۲۰۰	۱۰	۷۱/۴۳
۸	۶	۳۰	۲۰۰	۱۰	۸۵/۶۷
۴	۷	۳۰	۲۵۰	۷/۵	۷۶/۳۲
۲	۸	۳۰	۱۵۰	۷/۵	۸۳/۷۸
۱۶	۹	۲۵	۲۰۰	۷/۵	۹۳/۲۶
۱۱	۱۰	۲۵	۱۵۰	۱۰	۸۸/۲۸
۱۳	۱۱	۲۵	۲۰۰	۷/۵	۹۰/۹۱
۶	۱۲	۳۰	۲۰۰	۵	۷۶/۱۱
۳	۱۳	۲۰	۲۵۰	۷/۵	۶۳/۰۸
۱۰	۱۴	۲۵	۲۵۰	۵	۶۹/۲۶
۱۲	۱۵	۲۵	۲۵۰	۱۰	۷۴/۸۲
۱۴	۱۶	۲۵	۲۰۰	۷/۵	۹۶/۱۷
۱	۱۷	۲۰	۱۵۰	۷/۵	۷۶/۸۶

علاوه بر این، اهمیت مدل تأیید می‌شود، زیرا پارامتر عدم برازش غیرمعنی دار است (مقدار p آن بالاتر از ۰/۰۵ است). مدل به دست آمده را می‌توان به طور موثر با استفاده از یک معادله درجه دوم توصیف کرد. معادله درجه دوم یک رابطه بین عوامل و تعامل آنها با ER درصد برقرار می‌کند. معادله درجه دوم استخراج آملودیپین و نیفدیپین به شرح زیر است:

$$ER\% = 93.528 + 5.25 * A - 4.725 * B + 4.245 * C + 1.58 * AB + 1.66 * AC - 2.59 * BC - 9.634 * A^2 - 8.884 * B^2 - 8.464 * C^2$$

معادله ۲

پارامترهای آماری شامل R^2 (۰/۹۸۱۱) و R^2 تعدیل شده (۰/۹۵۶۷) به دست آمده برای معادله نشان می‌دهد که معادله به خوبی با پاسخ‌ها مطابقت دارد و فیت شده است. همچنین، معادله می‌تواند پاسخ‌ها را به طور دقیق با تغییرات در مقادیر عامل پیش‌بینی کند، زیرا مقدار R^2 پیش‌بینی شده بالا (۰/۸۶۲۶) برای این معادله بدست آمده است. معادله نشان می‌دهد که مقدار جاذب و زمان واجذب دارای ضرایب مثبت هستند، در حالی که حجم حلال واجذب دارای ضریب منفی است. به عبارت ساده‌تر، افزایش مقدار جاذب یا زمان واجذب منجر به افزایش درصد ER آنالیت‌ها می‌شود، در حالی که افزایش حجم حلال واجذب منجر به ER کمتر می‌گردد.

جدول ۵. آنالیز واریانس یک طرفه برای مطالعه فاکتور ها و برهمکنش های دوتایی آنها

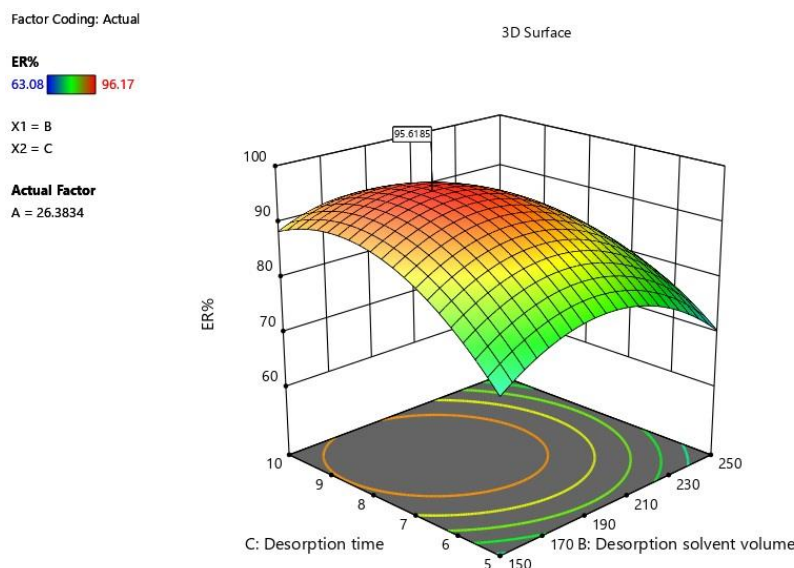
منبع	Sum of Squares	df	Mean Square	F-مقدار	p-مقدار	
مدل	۱۷۳۵/۹۲	۹	۱۹۲/۸۸	۴۰/۳۲	۰/۰۰۰۱ <	با معنا
A-مقدار جاذب	۲۲۰/۵۰	۱	۲۲۰/۵۰	۴۶/۰۹	۰/۰۰۰۳	با معنا
B-حجم حلال واجذب	۱۷۸/۶۱	۱	۱۷۸/۶۱	۳۷/۳۳	۰/۰۰۰۵	با معنا
C-زمان واجذب	۱۴۴/۱۶	۱	۱۴۴/۱۶	۳۰/۱۳	۰/۰۰۰۹	با معنا
AB	۹/۹۹	۱	۹/۹۹	۲/۰۹	۰/۱۹۱۸	بی معنا
AC	۱۱/۰۲	۱	۱۱/۰۲	۲/۳۰	۰/۱۷۲۸	بی معنا
BC	۲۶/۸۳	۱	۲۶/۸۳	۵/۶۱	۰/۰۴۹۷	با معنا
A ²	۳۹۰/۸۰	۱	۳۹۰/۸۰	۸۱/۶۹	۰/۰۰۰۱ <	با معنا
B ²	۳۳۲/۳۲	۱	۳۳۲/۳۲	۶۹/۴۶	۰/۰۰۰۱ <	با معنا
C ²	۳۰۱/۶۴	۱	۳۰۱/۶۴	۶۳/۰۵	۰/۰۰۰۱ <	با معنا
Residual	۳۳/۴۹	۷	۴/۷۸			با معنا
Lack of Fit	۱۳/۲۲	۳	۴/۴۱	۰/۸۶۹۲	۰/۵۲۷۰	بی معنا
Pure Error	۲۰/۲۷	۴	۵/۰۷			
Cor Total	۱۷۶۹/۴۱	۱۶				

این به این دلیل است که افزایش مقدار جاذب، مکان‌های فعال بیشتری را در سطح جاذب برای برهمکنش با آنالیت‌ها فراهم می‌کند و در نتیجه ER را افزایش می‌دهد. فرآیند واجذب وابسته به زمان و مبتنی بر تعادل است. دستیابی به حداکثر راندمان واجذب نیاز به حداقل زمان واجذب برای شستشوی آنالیت از سطح جاذب دارد، بنابراین درصد ER را با افزایش زمان واجذب تا رسیدن به تعادل افزایش می‌یابد. برعکس، افزایش حجم حلال واجذب منجر به کاهش درصد ER به دلیل رقیق شدن آنالیت واجذب شده از سطح جاذب می‌گردد. اثرات متقابل دوتایی قابل توجه در شکل ۴ نشان داده شده است، که نشان می‌دهد درصد ER با کاهش حجم حلال واجذب و افزایش زمان واجذب به طور همزمان افزایش می‌یابد.

مقادیر بهینه برای هر عامل با استفاده از مدل ارائه شده با حداکثر درصد ER به عنوان هدف تعیین شد. مقادیر بهینه برای مقدار جاذب، حجم حلال واجذب و زمان واجذب به ترتیب ۲۶ میلی‌گرم، ۱۸۶ میکرولیتر و ۸/۳ دقیقه بود. تحت این شرایط، مدل حداکثر درصد ER برابر با ۹۶/۱۷ درصد با مطلوبیت ۰/۹۸۳ را پیش‌بینی می‌کند.

۳-۶. ارقام شایستگی

برای بررسی روش تعیین آملودیپین و نیفدیپین، منحنی‌های کالیبراسیون با استفاده از محلول‌های استاندارد این آنالیت‌ها در هر دو نمونه آب مقطر و ادرار رسم شدند. غلظت آملودیپین و نیفدیپین مورد استفاده برای ساخت منحنی‌های کالیبراسیون از ۰/۰۰۱ تا ۱۰۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر بود.



شکل ۴. اثر برهمکنش دوتایی حجم حلال واجذب و زمان واجذب بر روی درصد بازده استخراج آملودپین و نیفدپین

نتایج منحنی های کالیبراسیون خطی را در محدوده غلظت ۰/۲ تا ۳۵۶ نانوگرم بر میلی لیتر برای آملودپین و ۰/۱ تا ۳۴۲ نانوگرم بر میلی لیتر برای نیفدپین در آب مقطر و همچنین ۰/۴ تا ۳۳۸ نانوگرم بر میلی لیتر برای آملودپین و ۰/۲ تا ۳۳۷ نانوگرم بر میلی لیتر برای نیفدپین در نمونه های ادرار بودند. مقادیر R^2 به دست آمده برای معادلات منحنی کالیبراسیون بیشتر از ۰/۹۹۳۸ در آب مقطر و ۰/۹۹۲۴ در نمونه ادرار بود. حدود تشخیص (LOD) و حد تشخیص کمی (LOQ) برای آملودپین و نیفدپین با استفاده از سه و ده برابر انحراف استاندارد نمونه های شاهد تقسیم بر شیب منحنی کالیبراسیون محاسبه شد. LOD و LOQ به ترتیب ۰/۰۶ نانوگرم در میلی لیتر و ۰/۲ نانوگرم در میلی لیتر برای آملودپین و ۰/۰۳ نانوگرم در میلی لیتر و ۰/۱ نانوگرم در میلی لیتر به ترتیب برای نیفدپین در نمونه های آب مقطر تعیین شد. علاوه بر این، LOD و LOQ کمتر از ۰/۱۳ نانوگرم در میلی لیتر و ۰/۴ نانوگرم در میلی لیتر برای هر دو آنالیت در نمونه ادرار بود.

فاکتور پیش تغلیظ (P_F) با استفاده از فرمول محاسبه شد:

$$P_F = V_d / V_a \times C_a / C_d$$

معادله ۳

در این معادله، C_d و C_a به ترتیب نشان دهنده غلظت آنالیت در فازهای متانول و آب یا ادرار هستند. در حالی که، V_d و V_a به ترتیب حجم فازهای متانول و آب یا ادرار می باشند. فاکتورهای پیش تغلیظ برای تعیین آملودپین و نیفدپین در غلظت ۲ نانوگرم در میلی لیتر به ترتیب در نمونه های آب مقطر ۳۵۶/۶ و ۳۷۴/۹ و در نمونه ادرار ۳۴۵/۶ و ۳۶۴/۱ تعیین شدند. انحراف استاندارد نسبی درون روز و بین روز (RSDs) طی یک و سه روز در غلظت ۲ نانوگرم در میلی لیتر ارزیابی شد. RSDs های درون روز برای تعیین آملودپین و نیفدپین به ترتیب در آب مقطر ۴/۲۶ درصد و ۴/۱۹ درصد و در نمونه ادرار ۴/۵۹ درصد و ۴/۳۷ درصد بودند. RSDs های بین روز به ترتیب ۴/۵۱ و ۴/۴۸ درصد در آب مقطر و ۴/۹۶ درصد و ۴/۹۳ درصد در نمونه های ادرار برای تعیین آملودپین و نیفدپین بودند (جدول ۶).

جدول ۶. ارقام شایستگی برای تعیین آلوده‌یپین و نیفدیپین

نیفدیپین	آلوده‌یپین	غلظت	نمونه	پارامتر
۳۴۲-۰/۱	۳۵۵-۰/۲		نمونه آب	محدوده خطی
۳۳۷-۰/۲	۳۳۸-۰/۴		نمونه ادرار	(ng mL ⁻¹)
۰/۹۹۵۱	۰/۹۹۳۸		نمونه آب	R ²
۰/۹۹۲۴	۰/۹۹۲۷		نمونه ادرار	
۰/۰۳	۰/۰۶		نمونه آب	LOD (ng mL ⁻¹)
۰/۰۷	۰/۱۳		نمونه ادرار	
۰/۱	۰/۲		نمونه آب	LOQ (ng mL ⁻¹)
۰/۲	۰/۴		نمونه ادرار	
۳۷۴/۹	۳۵۶/۶	۲/۰ (ng mL ⁻¹)	نمونه آب	فاکتور پیش تغلیظ
۳۶۴/۱	۳۴۵/۶	۲/۰ (ng mL ⁻¹)	نمونه ادرار	
۴/۱۹	۴/۲۶	۲/۰ (ng mL ⁻¹)	نمونه آب	Intra-day RSD
۴/۴۸	۴/۵۱	۲/۰ (ng mL ⁻¹)	نمونه ادرار	(n=۳)
۴/۳۷	۴/۵۹	۲/۰ (ng mL ⁻¹)	نمونه آب	Inter-day RSD
۴/۹۳	۴/۹۶	۲/۰ (ng mL ⁻¹)	نمونه ادرار	(n=۳)

۳-۷. آنالیز نمونه واقعی

برای ارزیابی بیشتر عملکرد روش، تمام نمونه‌ها، از جمله آب و ادرار، با محلول دارویی استاندارد برای دستیابی به غلظت نهایی آنالیت ۵ و ۲۰ نانوگرم در میلی‌لیتر اسپایک شدند. متعاقباً، نمونه‌های مشخص شده مجدداً برای تعیین غلظت آلوده‌یپین و نیفدیپین مورد آنالیز قرار گرفتند و بازیابی‌ها در جدول ۷ خلاصه شده‌اند. بازیابی‌های نسبی برای نمونه‌های واقعی آب در محدوده ۹۴/۲ درصد تا ۹۷/۲ درصد قرار گرفتند، با انحراف استاندارد نسبی در محدوده ۴/۶۳ درصد تا ۵/۵۰ درصد قابل ذکر است. بازیابی‌های نسبی برای تعیین آلوده‌یپین و نیفدیپین در نمونه‌های ادرار به دلیل ماتریس پیچیده‌تر از نمونه‌های آب واقعی، کمی کمتر بود. مقادیر بازیابی‌های نسبی در نمونه‌های ادرار از ۹۱/۴ درصد تا ۹۴/۵ درصد با انحراف استاندارد نسبی بین ۵/۰۸ تا ۶/۱۰ درصد بودند. این نتایج توانایی روش را برای تعیین دقیق غلظت آلوده‌یپین و نیفدیپین در هر دو نمونه آب و ادرار واقعی نشان می‌دهد (شکل ۵).

۳-۸. قابلیت استفاده مجدد جاذب

یکی از جنبه‌های مهم d-μSPE قابلیت استفاده مجدد جاذب است، زیرا مستقیماً بر مقرون به صرفه بودن و پایداری زیست محیطی فرآیند استخراج تأثیر می‌گذارد. با کاهش هزینه‌ها، به حداقل رساندن تولید ضایعات و ارتقای قابلیت تکرارپذیری، قابلیت استفاده مجدد جاذب کارایی و عملی بودن d-μSPE را به عنوان یک تکنیک استخراج افزایش می‌دهد.

جدول ۷. آنالیز نمونه های حقیقی آب و ادرار

نمونه	Spike (ng mL ⁻¹)	آملودیپین			نیفدیپین		
		تعیین شده (ng mL ⁻¹)±S	درصد بازیابی	RSD%	تعیین شده (ng mL ⁻¹)±S	درصد بازیابی	RSD%
آب شهری	۰/۰	ND ^۱	----	----	ND ^۱	----	----
	۵/۰	۰/۲۶±۴/۷۳	۹۴/۶	۵/۵۰	۰/۲۵±۴/۷۴	۹۴/۸	۵/۲۷
	۲۰/۰	۰/۹۳±۱۹/۲۱	۹۶/۰	۴/۸۴	۰/۹۱±۱۹/۳۲	۹۶/۶	۴/۷۱
آب رودخانه	۰/۰	ND ^۱	----	----	ND ^۱	----	----
	۵/۰	۰/۲۵±۴/۷۱	۹۴/۲	۵/۳۱	۰/۲۶±۴/۷۶	۹۵/۲	۵/۴۶
	۲۰/۰	۰/۹۷±۱۹/۱۹	۹۶/۰	۵/۰۵	۰/۹۰±۱۹/۴۴	۹۷/۲	۴/۶۳
آب چاه	۰/۰	ND ^۱	----	----	ND ^۱	----	----
	۵/۰	۰/۲۵±۴/۷۳	۹۴/۶	۵/۲۸	۰/۲۶±۴/۷۵	۹۵/۰	۵/۴۷
	۲۰/۰	۰/۹۸±۱۹/۳۷	۹۶/۸	۵/۰۶	۰/۹۵±۱۹/۲۸	۹۶/۴	۴/۹۳
ادرار ^۲	۰/۰	ND ^۱	----	----	ND ^۱	----	----
	۵/۰	۰/۲۸±۴/۵۹	۹۱/۸	۶/۱۰	۰/۲۶±۴/۶۱	۹۲/۲	۵/۶۴
	۲۰/۰	۰/۹۹±۱۸/۶۹	۹۳/۴	۵/۳۰	۰/۹۷±۱۸/۷۸	۹۳/۹	۵/۱۶
ادرار ^۳	۰/۰	ND ^۱	----	----	ND ^۱	----	----
	۵/۰	۰/۲۷±۴/۵۷	۹۱/۴	۵/۹۱	۰/۲۷±۴/۶۰	۹۲/۰	۵/۸۷
	۲۰/۰	۰/۹۷±۱۸/۸۳	۹۴/۱۵	۵/۱۵	۰/۹۶±۱۸/۹۰	۹۴/۵	۵/۰۸

^۱تشخیص داده نشد، ^۲مرد ۴۵ ساله، ^۳زن ۴۳ ساله

در این مطالعه، سه نمونه استاندارد با غلظت ۲۰ نانوگرم در میلی لیتر از هر آنالیت به صورت جداگانه با روش ارائه شده در بخش ۲،۴ تجزیه و تحلیل شدند. سپس جاذب مورد استفاده در هر نمونه به صورت جداگانه با استفاده از استونیتریل دو بار پس از فرآیند دفع شسته شد و سپس قبل از استفاده مجدد برای استخراج آملودیپین و نیفدیپین در هوا در دمای اتاق خشک شد. نتایج نشان داد که جاذب قابلیت استفاده مجدد را برای حداقل چهار بار بدون تغییر معنی دار در راندمان استخراج آنالیت ها دارد.

۹-۳. مقایسه با روش های دیگر

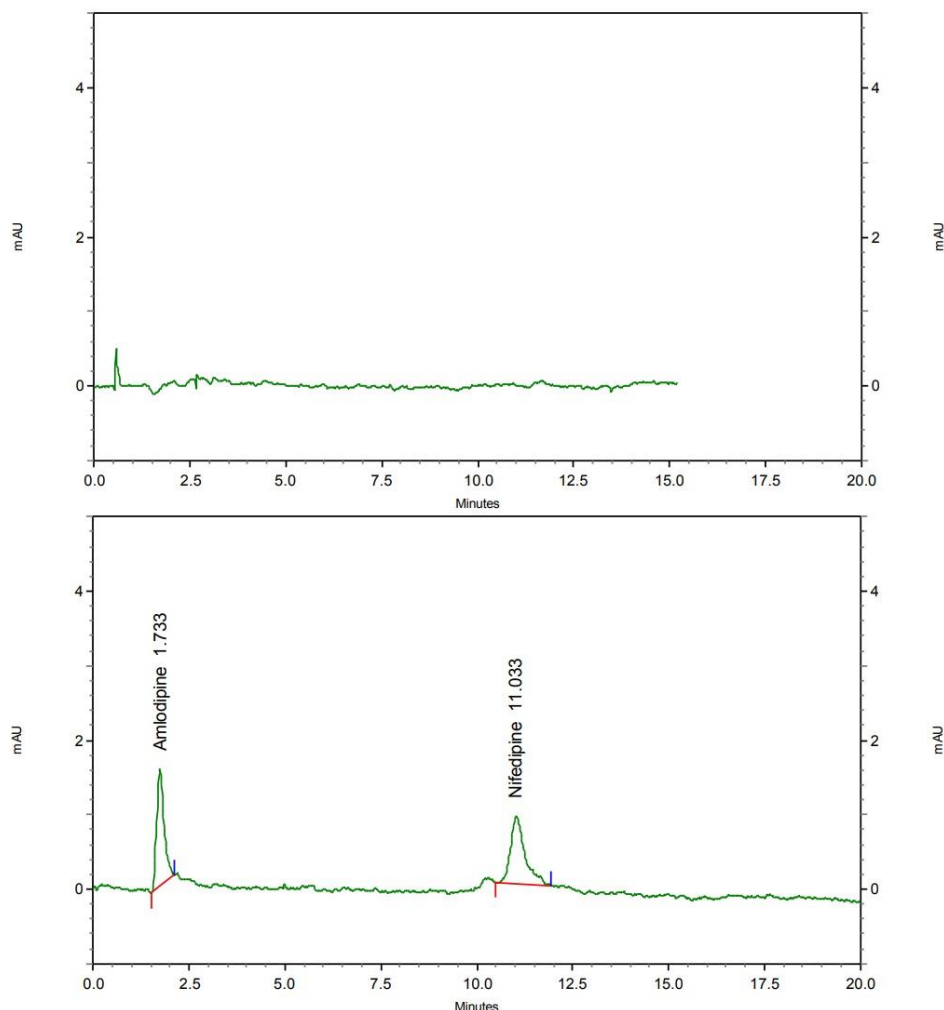
روش ارائه شده تحت مقایسه ای جامع با روش های دیگر قرار گرفت و پارامترهای عملکردی مختلف مانند محدوده خطی، نوع حلال یا جاذب استخراج، زمان استخراج، حد تشخیص، بازیابی نسبی و انحراف استاندارد نسبی را ارزیابی کرد.

جدول ۸. مقایسه روش ارائه شده با روش های دیگر

آنالیست	روش استخراج	روش تعیین	محدوده خطی (ng mL ⁻¹)	LOD (ng mL ⁻¹)	RSD%	درصد بازیابی	Ref.
نیفدپین	SPE	HPLC-UV	۲۰۰-۵/۰	۵/۰	۷/۲-۴/۴	---	[۴۰]
آملودیپین	IS-USAEME ^۱	HPLC-UV	۱۲۰۰-۲	۰/۱۷	۵/۲	۹۳/۶	[۴۱]
نیفدپین			۱۲۰۰-۲	۰/۱۵	۴/۴	۹۶/۰	
آملودیپین	M AALLM ^۲	HPLC-UV	۲۰۵ ^۳ -۰/۰۱	۰/۰۰۳ ^۳	۴/۶	۱۰۲-۹۷	[۳۹]
آملودیپین	LLE	HPLC-UV	۵۰۰۰-۲۵	---	۱۵/۶۱-۱۰/۲۸	۹۱/۰۲-۸۷/۵۴	[۴۲]
آملودیپین	HF-LPME ^۴	HPLC-UV	۵۰۰-۲/۵	۰/۸	۵/۲	۹۶/۸-۹۵/۳	[۴۳]
آملودیپین	MSPE ^۵	HPLC-UV	۴۵۰۰-۳	۰/۲۸	۳/۴	۹۶/۸۱-۹۵/۴۷	[۴۴]
آملودیپین	D μ SPE	HPLC-UV	۳۵۶-۰/۲	۰/۰۶	۴/۹۶-۴/۲۶	۹۶/۸-۹۱/۴	این مطالعه
نیفدپین			۳۴۲-۰/۱	۰/۰۳	۴/۹۳-۴/۱۹	۹۷/۲-۹۲/۰	

¹ In-syringe ultrasound-assisted emulsification-microextraction, ² Miniaturized air assisted liquid liquid microextraction, ³ $\mu\text{g mL}^{-1}$, ⁴ Hollow fiber liquid phase microextraction, ⁵ Magnetic solid phase extraction,

جدول ۸ یک نمای کلی از این مقایسه ای ارائه می دهد. قابل ذکر است، روش ارائه شده در مقایسه با روش های جایگزین، دارای محدوده خطی گسترده تر و حد تشخیص پایین تر است. در یک مطالعه واحد [۳۹]، مشخص شد که LOD روش مورد استفاده کمتر از روش ارائه شده در این مطالعه است. با این حال، توجه به این نکته مهم است که این روش به طور خاص برای تعیین آملودیپین ایجاد شده است و برای تعیین نیفدپین استفاده نشده است، که همچنین تمرکز مطالعه ما است. علاوه بر این، زمان استخراج روش مورد استفاده در این روش منطقی و برتر از بسیاری از روش های دیگر مورد بررسی قرار گرفت. وقتی از روش بر روی نمونه های واقعی اعمال می شود، روش ارائه شده به طور مداوم از نظر بازیابی نسبی از اکثر روش های دیگر بهتر است. علاوه بر این، انحراف استاندارد نسبی مرتبط با روش ارائه شده برای تعیین آملودیپین و نیفدپین به طور قابل توجهی کمتر از بسیاری از جایگزین ها است. علاوه بر این، در حالی که داده ها و هزینه های خاص زمان آماده سازی نمونه در جدول ۸ گنجانده نشده است، قابل توجه است که روش ارائه شده در این مطالعه، زمان و هزینه آماده سازی نمونه معقولی را ارائه می دهد. این نتایج در مجموع بر توانایی برجسته روش ارائه شده در تعیین آملودیپین و نیفدپین در نمونه های آب و ادرار واقعی در مقایسه با روش های قبلی تأکید می کنند.



شکل ۵. کروماتوگرام نمونه شاهد و نمونه اسپایک شده آب شهری

۴. نتیجه گیری

در این مطالعه، یک روش آماده‌سازی نمونه بسیار کارآمد مبتنی بر استخراج میکرو فاز جامد پراکنده (D μ SPE) برای استخراج آملودیپین و نیفدیپین از نمونه‌های حقیقی قبل از تعیین کمیت آنها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با دتکتور فرابنفش (HPLC-UV) توسعه داده شد. در این روش، یک کامپوزیت جدید، Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8، به عنوان جاذب سنتز شد و با استفاده از تکنیک سل-ژل در حضور نانوذرات Fe₃O₄ مغناطیسی گردید. مورفولوژی و ساختار جاذب سنتز شده با استفاده از تکنیک‌های مختلف مورد توصیف جامع قرار گرفت. کارایی جاذب سنتز شده در مقایسه با چندین جاذب دیگر، از جمله چندین جاذب از جمله MOF-8، Bimetallic Zn/Co ZIF-67، Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8، Fe₃O₄ و Fe₃O₄@SiO₂ برای استخراج آملودیپین و نیفدیپین مورد ارزیابی قرار گرفت. عوامل مختلف موثر بر فرآیند استخراج به طور سیستماتیک با استفاده از طراحی آزمایش و استراتژی‌های یک عامل در یک زمان بررسی و بهینه شدند. نتایج نشان داد که مقدار جاذب، حجم حلال واجذب و زمان واجذب به طور قابل توجهی بر استخراج آملودیپین و نیفدیپین تأثیر

گذاشتند. علاوه بر این، برهمکنش دوتایی بین حجم حلال واجذب و زمان واجذب تأثیر قابل توجهی بر استخراج این آنالیت‌ها دارد. این روش با موفقیت برای آنالیز طیف وسیعی از نمونه‌های آب واقعی، از جمله آب لوله کشی، آب رودخانه، آب چاه و نمونه ادرار انسان استفاده شد. نتایج بدست آمده کارایی مناسب روش اراده شده برای تعیین کمیت آملودیپین و نیفدیپین در این نمونه‌های واقعی نشان دادند. در مقایسه با سایر روش‌های تجزیه ای دیگر، رویکرد ارائه شده محدود خطی مناسب، حد تشخیص کم و بازیابی کارآمد را ارائه می‌کند در حالی که مقرون به صرفه است و زمان آنالیز معقولی را برای تعیین آملودیپین و نیفدیپین ارائه می‌دهد.

مراجع

- [1] I. Drapak, L. Perekhoda, T. Tsapko, N. Berezniakova, Y. Tsapko, Cardiovascular calcium channel blockers: historical overview, development and new approaches in design, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 54 (2017) 2117-2128.
- [2] K.G. Bulsara, M. Cassagnol, Amlodipine, StatPearls [Internet], StatPearls Publishing, 2023.
- [3] M.A. Ali, S. Rizvi, B.A. Syed, Trends in the market for antihypertensive drugs, *Nat Rev Drug Discov*, 16 (2017) 309-310.
- [4] G.N. Saari, W.C. Scott, B.W. Brooks, Global scanning assessment of calcium channel blockers in the environment: Review and analysis of occurrence, ecotoxicology and hazards in aquatic systems, *Chemosphere*, 189 (2017) 466-478.
- [5] K. Sanghavi, M. Someshwari, M. Rajanandh, P. Seenivasan, Amlodipine Induced Severe Pedal Edema: A Case Report from a Tertiary Care Hospital, *J Pharmacovigil*, 5 (2017).
- [6] J. Yin, Z. Mei, S. Shi, P. Du, S. Qin, Nifedipine or amlodipine? The choice for hypertension during pregnancy: a systematic review and meta-analysis, *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 306 (2022) 1891-1900.
- [7] N. Ikemura, S. Yamaori, C. Kobayashi, S. Kamijo, N. Murayama, H. Yamazaki, S. Ohmori, Inhibitory effects of antihypertensive drugs on human cytochrome P450 2J2 activity: Potent inhibition by azelnidipine and manidipine, *Chemico-Biological Interactions*, 306 (2019) 1-9.
- [8] K. Unnisa, S.A.A. Basha, S. Ahmed, Formulation, In-vitro evaluation and stability studies of bilayer floating tablets of Trandolapril and nifedipine combinations, *J. Pharm. Innov*, 7 (2018) 306-313.
- [9] H.W. Lee, C.C. Huang, H.B. Leu, Y.J. Lin, Comparative efficacy of generic nifedipine versus brand- name amlodipine for hypertension management in Taiwan, *The Journal of Clinical Hypertension*, 24 (2022) 870-877.
- [10] K. Zhang, Y. Zhao, K. Fent, Cardiovascular drugs and lipid regulating agents in surface waters at global scale: Occurrence, ecotoxicity and risk assessment, *Science of The Total Environment*, 729 (2020) 138770.
- [11] A. Jelic, M. Gros, A. Ginebreda, R. Cespedes-Sánchez, F. Ventura, M. Petrovic, D. Barcelo, Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment, *Water research*, 45 (2011) 1165-1176.
- [12] A.H. Birniwa, U. Ali, S.R.M. Kutty, A.H. Jagaba, A. Noor, Innovative and eco-friendly technologies for the upgradation of pharmaceutical wastewater treatment processes, *The Treatment of Pharmaceutical Wastewater*, Elsevier, 2023, pp. 367-398.
- [13] M. Arvand, M. Kaykhai, P. Ashrafi, S. Hemmati, An electrochemical interface for direct analysis of amlodipine in tablets and human blood samples, *Materials Science and Engineering: B*, 263 (2021) 114868.
- [14] P.K. Whelton, R.M. Carey, W.S. Aronow, D.E. Casey, K.J. Collins, C. Dennison Himmelfarb, S.M. DePalma, S. Gidding, K.A. Jamerson, D.W. Jones, 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines, *Journal of the American College of Cardiology*, 71 (2018) e127-e248.
- [15] S. Godo, A. Suda, J. Takahashi, S. Yasuda, H. Shimokawa, Coronary microvascular dysfunction, *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 41 (2021) 1625-1637.

- [16] F. Fahimi, G. Pourdowlat, N. Behzadnia, S.S. Mostofi, A.S. Forough, O. Parto, A. Esmaili, Clinical evaluation of nebulized verapamil in out-patients with pulmonary hypertension secondary to chronic obstructive pulmonary disease, *The Clinical Respiratory Journal*, 16 (2022) 802-811.
- [17] A.H. Mohamed, N.A. Noorhisham, N. Yahaya, S. Mohamad, S. Kamaruzzaman, H. Osman, H.Y. Aboul-Enein, Sampling and sample preparation techniques for the analysis of organophosphorus pesticides in soil matrices, *Critical reviews in analytical chemistry*, 53 (2023) 906-927.
- [18] A.A. Gavrilu, I.S. Dasteridis, A.A. Tzimas, T.G. Chatzimitakos, C.D. Stalikas, Benzophenones in the environment: occurrence, fate and sample preparation in the analysis, *Molecules*, 28 (2023) 1229.
- [19] M. Ghorbani, P. Mohammadi, M. Keshavarzi, A. Ziroohi, M. Mohammadi, M. Aghamohammadhasan, M. Pakseresht, Developments of Microextraction (Extraction) Procedures for Sample Preparation of Antidepressants in Biological and Water Samples, a Review, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 53 (2023) 1285-1312.
- [20] N. Ullah, M. Tuzen, A comprehensive review on recent developments and future perspectives of switchable solvents and their applications in sample preparation techniques, *Green Chemistry*, (2023).
- [21] M. Ghorbani, M. Aghamohammadhasan, M. Chamsaz, H. Akhlaghi, T. Pedramrad, Dispersive solid phase microextraction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118 (2019) 793-809.
- [22] X. Hai, F. Shi, Y. Zhu, L. Ma, L. Wang, J. Yin, X. Li, Z. Yang, M. Yuan, H. Xiong, Development of magnetic dispersive micro-solid phase extraction of four phenolic compounds from food samples based on magnetic chitosan nanoparticles and a deep eutectic supramolecular solvent, *Food Chemistry*, 410 (2023) 135338.
- [23] M. Ghorbani, M. Aghamohammadhasan, H. Ghorbani, A. Zabihi, Trends in sorbent development for dispersive micro-solid phase extraction, *Microchemical Journal*, 158 (2020) 105250.
- [24] N.N. Nia, M.R. Hadjmohammadi, Preparation of ferrofluid from adipic acid coated magnetic nanoparticles and hydrophobic deep eutectic solvent used in dispersive micro-solid-phase extraction: Application for the pre-concentration and determination of clozapine in biological samples, *Journal of Chromatographic Science*, 61 (2023) 569-578.
- [25] M. Ghorbani, M. Chamsaz, M. Aghamohammadhasan, A. Shams, Ultrasonic assisted magnetic dispersive solid phase microextraction for pre concentration of serotonin–norepinephrine reuptake inhibitor drugs, *Analytical biochemistry*, 551 (2018) 7-18.
- [26] M. Ghorbani, A. Saghafi, M. Pakseresht, A. Shams, M. Keshavarzi, S. Asghari, Crafting an Innovative Bimetallic MOF-on-MOF/TiO₂ Composite for Effective Removal of Imatinib Anticancer Agent through Adsorption and Photodegradation, *Separation and Purification Technology*, (2024) 126227.
- [27] A. Saghafi, M. Ghorbani, M. Pakseresht, A. Shams, Synthesis and development of novel magnetic polymeric sorbent to simultaneous extraction of three anti-cancers using dispersive micro solid phase extraction procedure in biological and water samples, *Microchemical Journal*, 183 (2022) 108047.
- [28] V.F. Yusuf, N.I. Malek, S.K. Kailasa, Review on Metal–Organic Framework Classification, Synthetic Approaches, and Influencing Factors: Applications in Energy, Drug Delivery, and Wastewater Treatment, *ACS omega*, 7 (2022) 44507-44531.
- [29] Z. Gordi, M. Ghorbani, M. Ahmadian Khakhiyani, Adsorptive removal of enrofloxacin with magnetic functionalized graphene oxide@ Metal-organic frameworks employing D- optimal mixture design, *Water Environment Research*, 92 (2020) 1935-1947.
- [30] Y. Peng, J. Xu, J. Xu, J. Ma, Y. Bai, S. Cao, S. Zhang, H. Pang, Metal-organic framework (MOF) composites as promising materials for energy storage applications, *Advances in Colloid and Interface Science*, 307 (2022) 102732.
- [31] H. Musarurwa, N.T. Tavengwa, Smart metal-organic framework (MOF) composites and their applications in environmental remediation, *Materials Today Communications*, (2022) 104823.
- [32] M. Ghorbani, M. Keshavarzi, M. Pakseresht, P. Mohammadi, A. Shams, A. Mehraban, A. Ismailzadeh, Optimization and synthesis of a novel sorbent composite based on magnetic chitosan-amine-functionalized bimetallic MOF for the simultaneous dispersive solid-phase microextraction of four aflatoxins in real water, herbal distillate, and food samples, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 415 (2023) 5681–5694.
- [33] P. Mohammadi, M. Ghorbani, M. Keshavarzi, A. Rastegar, M. Pakseresht, M. Mohammadi, Dispersive micro solid-phase extraction as a green procedure for extracting prostate anti-cancer drugs in real water and

- biological samples and optimization of sorbent composite with an optimal mixture design, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, (2022) 1-20.
- [34] C.S. Budi, J.R. Deka, W.-C. Hsu, D. Saikia, K.-T. Chen, H.-M. Kao, Y.-C. Yang, Bimetallic Co/Zn zeolitic imidazolate framework ZIF-67 supported Cu nanoparticles: An excellent catalyst for reduction of synthetic dyes and nitroarenes, *Journal of hazardous materials*, 407 (2021) 124392.
- [35] A. Gu, J. Chen, Q. Gao, M.M. Khan, P. Wang, Y. Jiao, Z. Zhang, Y. Liu, Y. Yang, The preparation of Ag/ZIF-8@ ZIF-67 core-shell composites as excellent catalyst for degradation of the nitroaromatic compounds, *Applied Surface Science*, 516 (2020) 146160.
- [36] M. Ghorbani, M. Chamsaz, G.H. Rounaghi, Glycine functionalized multiwall carbon nanotubes as a novel hollow fiber solid-phase microextraction sorbent for pre-concentration of venlafaxine and o-desmethylvenlafaxine in biological and water samples prior to determination by high-performance liquid chromatography, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 408 (2016) 4247-4256.
- [37] A.S. El-Shafie, A.W. Khashan, Y.H. Hussein, M. El-Azazy, Application of a definitive screening design for the synthesis of a charge-transfer complex of sparfloxacin with tetracyanoethylene: spectroscopic, thermodynamic, kinetics, and DFT computational studies, *RSC advances*, 9 (2019) 24722-24732.
- [38] M. Ghorbani, P. Mohammadi, M. Keshavarzi, M. Pakseresht, M.M. Fariman, M. Baburian, Investigation and Health Risk Assessment of Nitrate ion, Nitrite ion, and Phthalate Esters in Herbal Distillates Produced by Iranian Companies, *Fine Chemical Engineering*, (2024) 1-23.
- [39] A. Asghari, F. Khanalipoor, B. Barfi, M. Rajabi, Optimized miniaturized air-assisted liquid-liquid microextraction for determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in bio-fluid samples, *RSC advances*, 6 (2016) 109473-109484.
- [40] D. Zendelovska, S. Simeska, O. Sibinovska, E. Kostova, K. Miloševska, K. Jakovski, E. Jovanovska, I. Kikerkov, J. Trojačanec, D. Zafirov, Development of an HPLC method for the determination of nifedipine in human plasma by solid-phase extraction, *Journal of Chromatography B*, 839 (2006) 85-88.
- [41] H. Heidari, H. Razmi, A. Jouyban, Desirability function approach for the optimization of an in- syringe ultrasound- assisted emulsification- microextraction method for the simultaneous determination of amlodipine and nifedipine in plasma samples, *Journal of separation science*, 37 (2014) 1467-1474.
- [42] P.K. Porwal, G.S. Talele, Development of validated HPLC-UV method for simultaneous determination of metformin, amlodipine, glibenclamide and atorvastatin in human plasma and application to protein binding studies, *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 55 (2017) 129-139.
- [43] M. Rajabi, N. Ghassab, M. Hemmati, A. Asghari, Highly effective and safe intermediate based on deep eutectic medium for carrier less-three phase hollow fiber microextraction of antiarrhythmic agents in complex matrices, *Journal of Chromatography B*, 1104 (2019) 196-204.
- [44] H. Heidari, B. Limouei-Khosrowshahi, Magnetic solid phase extraction with carbon-coated Fe₃O₄ nanoparticles coupled to HPLC-UV for the simultaneous determination of losartan, carvedilol, and amlodipine besylate in plasma samples, *Journal of Chromatography B*, 1114 (2019) 24-30.

Investigation of the structure of a novel sorbent synthesized by different spectroscopic methods and its application in Dispersive Micro Solid-Phase Extraction of amlodipine and nifedipine drug

Aref Ansari Mohseni, Mahmoud Ebrahimi *, Safarali Beyramabadi

^a Department of Chemistry, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran.

Submitted: 04 August 2024, Revised: 10 November 2024, Accepted: 02 December 2024

Abstract

Amlodipine and Nifedipine, widely prescribed calcium channel blockers for hypertension and angina, have raised concerns due to their inadvertent presence in water sources and potential environmental and health implications. This manuscript introduces a novel analytical approach utilizing Metal-Organic Frameworks (MOFs) in Dispersive Micro Solid-Phase Extraction (D μ SPE) to efficiently extract and quantify Amlodipine and Nifedipine from complex matrices, such as environmental water and human urine samples. A unique MOF-based sorbent, synthesized through a hydrothermal approach, is magnetized with Fe₃O₄ nanoparticles using a sol-gel procedure to enhance separation efficiency. The prepared sorbent was studied and analyzed using various spectroscopic methods such as FTIR, VSM, BET and EDX to determine its structure. Comparative analysis with other MOF sorbents (MOF-8, Bimetallic Zn/Co ZIF-67, Bimetallic Zn/Co ZIF-67@ZIF-8) is conducted to evaluate the prepared sorbent's ability to extract the analytes. The experimental design technique was used to optimize the D μ SPE method, reducing both time and costs. The linearity of the method was within the concentration ranges of 0.2-356 ng mL⁻¹ for Amlodipine and 0.1-342 ng mL⁻¹ for Nifedipine in distilled water with a R² higher than 0.9934. The LODs and LOQs were determined to be 0.06 ng mL⁻¹ and 0.2 ng mL⁻¹ for Amlodipine, and 0.03 ng mL⁻¹ and 0.1 ng mL⁻¹ for Nifedipine, respectively. The preconcentration factors for the determination of Amlodipine and Nifedipine were determined to be 356.6 and 374.9, respectively. The intra-day RSDs for Amlodipine and Nifedipine determination were 4.26% and 4.19%. Relative recoveries fell within the ranges of 94.2% to 97.2% and 91.4% to 94.5% for the real water and urine samples, with a relative standard deviation ranging from 6.10%. The developed method demonstrates remarkable efficacy in extracting and quantifying Amlodipine and Nifedipine across a diverse range of environmental water and human urine samples.

Keywords: Amlodipine, Nifedipine, Dispersive Micro Solid-Phase Extraction, Bimetallic MOFs, Sol-gel procedure, Human urine samples