



پیش تغلیظ مقادیر ناچیز لورازپام در نمونه‌های آبی بوسیله عامل دار شدن گرافن اکساید با ۲-آمینو پیریدین

علی مقیمی^{۱*}، میلاد آب نیکی^۲

^۱ دانشکده علوم پایه، دانشکده شیمی دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران پزشکی

^۲ دکتری تخصصی شیمی تجزیه، گروه پژوهشی رزین و افزودنی‌ها، پژوهشگاه رنگ

تاریخ ثبت اولیه: ۱۴۰۲/۰۲/۰۳، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۴۰۲/۰۶/۰۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۴۰۲/۰۶/۱۱

چکیده

این تحقیق به منظور پیش‌تغلیظ داروی لورازپام در نمونه‌های آبی استفاده شده است. این مطالعه سعی بر ارائه روش نوین استخراج فاز جامد بخشی مقادیر ناچیز پساب‌های دارویی به عنوان شاخص داروی لورازپام در نمونه‌های آبی بوسیله گرافن اکساید با ۲-آمینو پیریدین و اندازه‌گیری آن با طیف سنجی مرئی و فرابنفش در نمونه‌های حقیقی داشته است. این روش شامل یک سیستم دو فازی می‌باشد که در آن فاز دهنده نمونه‌ی آبی حاوی لورازپام بوده و فاز گیرنده گرافن اکساید عامل دار شده می‌باشد. آزمایشات در دو مرحله استخراج از نمونه‌های آبی شامل واجذب داروی لورازپام با استفاده از حلال آمونیاک انجام شد و نمونه‌های واجذب شده به دستگاه اسپکتروفتومتری UV-Vis برای آنالیز بیشتر ارائه شدند. این روش ارزان، ساده و سریع بوده همچنین روشی حساس و مطمئن برای استخراج و پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری مقادیر ناچیز لورازپام می‌باشد. پارامترهای مؤثر بر استخراج دارو که عبارتند از: اثر pH، مقدار و نوع حلال شوینده و زمان استخراج بررسی شده است. فاکتور تغلیظ ۱۹، مقدار حد تشخیص روش $1/1 \mu\text{g/L}$ و انحراف استاندارد نسبی ۲/۱۷٪ بدست آمده است.

واژه های کلیدی: گرافن اکساید، ۲-آمینو پیریدین، اسپکتروفتومتری مرئی و ماورابنفش، داروی لورازپام.

۱. مقدمه

یکی از روش‌های نوین استخراج، روش میکرواستخراج فاز جامد بخشی می‌باشد که با عنوان استخراج فاز جامد بخشی عنوان می‌شود. این روش کارآمد با بازدهی بهتر و همچنین عدم استفاده از حلال‌های سمی و گرانیقیمت همراه می‌باشد. همچنین این روش

*عهده دار مکاتبات: علی مقیمی

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

تلفن: ۰۲۱۷۷۴۱۳۸۰۱ پست الکترونیک: Ali.Moghimi@iaups.ac.ir; alimoghimi@iauvaramin.ac.ir

بر اساس پخش جاذب جامد در محلول آبی به منظور استخراج آنالیت عمل می‌کند. روش استخراج فاز جامد پخشی دارای مزایایی همچون سرعت بالا، سادگی، ایمنی و بازدهی بیشتر می‌باشد. اخیراً استفاده از جاذب موثر در روش استخراج فاز جامد پخشی به عنوان یک چالش مهم مطرح می‌شود. محققین در سال‌های اخیر به این نتیجه رسیده‌اند که استفاده از ترکیبات آلی می‌تواند به عنوان جامد جاذب در روش استخراج فاز جامد پخشی بسیار مفید باشد. از میان ترکیبات آلی مورد مطالعه، گرافن اکساید بسیار چشم‌گیر بوده است. گرافن اکساید با توجه به ساختار ویژه خود در صنایع مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به خواص منحصر به فرد الکتریکی، حرارتی و مکانیکی این ماده سبب کاربرد بسیار شده است. ساختار گرافن اکساید به صورت صفحات دو بعدی گرافنی هستند که روی صفحاتش گروه‌های اکسیژنی وجود دارد. با توجه به خواص الکتریکی، مکانیکی و بدلیل وجود گروه‌های اکسیژنی، توانایی برهمکنش بهتری با آلاینده‌های شیمیایی از نظر آنیونی، کاتیونی، آلی و معدنی شده است.

لورازپام که با نام تجاری اتیوان به فروش می‌رسد، یک دارو از گروه داروهای بنزودیازپین است. این دارو برای درمان اختلالات اضطرابی، بی‌خوابی، تشنج فعال از جمله صرع، ترک الکل و تهوع و استفراغ ناشی از شیمی درمانی استفاده می‌شود. همچنین در طول عمل جراحی برای ایجاد اختلال در حافظه و اثر آرام بخشی برای مصرف‌کنندگان که با تنفس مکانیکی نفس میکشند، داده می‌شود. در حالی که می‌توان از لورازپام برای درمان بی‌قراری شدید هم استفاده کرد اما معمولاً در این مورد میدازولام ترجیح داده می‌شود. مصرف دارو به شکل خوراکی یا به صورت تزریق به عضله یا رگ صورت می‌گیرد. در شیوه‌ی مصرف تزریقی، مدت شروع اثر دارو بین یک تا سی دقیقه است و تاثیرات آن تا یک روز ادامه دارد.

امروزه پساب‌های دارویی و باقیمانده آنها در محیط زیست یک مشکل بزرگ برای جوامع بشری ایجاد کرده است. لورازپام یکی از پرمصرف‌ترین داروها در سراسر جهان می‌باشد. لورازپام عضو گروه داروهای بنزودیازپین می‌باشد، این دارو بر روی مواد شیمیایی مغز، که ممکن است بر اثر اضطراب نامیزان شده باشند، تاثیر می‌گذارد. بنابراین، از این دارو در درمان اضطراب استفاده می‌شود. مصرف داروهای همچون لورازپام تمایل بالایی برای عبور از طریق تصفیه فاضلاب سنتی را دارند و این یک مشکل جدی در تصفیه خانه‌های سنتی به منظور حذف هزاران دارو با ساختارهای گوناگون می‌باشد. همه روزه با افزایش مصرف داروهای قانونی و غیرقانونی و وارد شدن این ترکیبات در آب‌های محیطی و عبور از فاضلاب‌ها، سبب آلودگی محیط زیست خواهند شد. مطالعات گسترده‌ای در زمینه حذف آلاینده‌های دارویی با استفاده از روش‌های نوین انجام گرفته است. فیلتر سنکال و همکارانش بر روی سنتز جاذب پلیمری جدید و استفاده از آن در پیش‌تغلیظ لورازپام و فلز سنگین در نمونه‌های آبی کار کردند. در این کار، رزین تیواوره سولفون آمید، سنتز شناسایی شد و به عنوان یک ماده جذبی جدید برای اندازه‌گیری‌های فلز سنگین و دیازپام در نمونه آب مورد استفاده قرار گرفت. بهینه‌سازی شرایط تجربی مانند: pH، مقدار رزین، زمان تماس، حجم نمونه اول و حجم شوینده نهایی انجام شد. طیف سنجی جذب اتمی شعله‌ای برای اندازه‌گیری مقادیر ناچیزی از فلز سنگین استفاده شد. در نتیجه بازیابی‌های ۶۰۰ و ۳۶۰ بدست آمد و روش پیشنهادی برای فلزهای سنگین ارائه شد [۵-۱]. جذب آتورواستاتین از پلاسماي 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. در این تحقیق با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، روش استخراج فاز جامد مغناطیسی به عنوان یک روش استخراج ساده، سریع و کارآمد برای تغلیظ آتورواستاتین استفاده شده است [۶-۲۰]. در تحقیقی دیگر با استفاده از کروماتوگرافی مایع که در سال ۲۰۲۲ انجام گرفته است با استفاده از روش استخراج، اندازه گیری داروی دیازپام در نمونه پلاسما خون مورد مطالعه قرار گرفته شده است. در این مطالعه با توجه به خواص ویژه نانولوله‌های کربنی عامل دار شده کربوکسیله به منظور حذف آلاینده‌های شیمیایی، با استفاده از روش استخراج فاز جامد پخشی برای پیش تغلیظ داروی دیازپام در نمونه‌های آب و نمونه‌های ادرار و پلاسما مورد مطالعه قرار گرفته شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد مورد نیاز

گرافیت، Graphite Flake با خلوص ۹۹/۵۵٪ (تهیه شده از شرکت Sigma)، پتاسیم کلرات (تهیه شده از شرکت Merck)، پتاسیم دی هیدروژن فسفات (تهیه شده از شرکت Merck)، تمامی اسیدهای مورد استفاده (اسید نیتریک، اسید سولفوریک، اسید استیک) از شرکت مرک و دارای درجه خلوص تجزیه ای بودند.

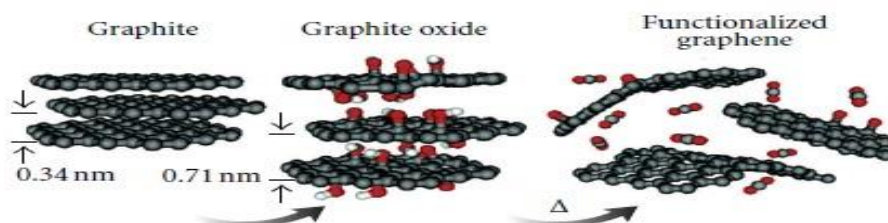
۲-۲. دستگاه‌ها

نام و نوع دستگاه	ساخت و مدل دستگاه
هیتراسیرر و همزن مغناطیسی	AREX
ترازوی دیجیتالی با دقت ۳ رقم اعشار	مدل 360CY از شرکت CITIZEN ساخت کشور لهستان
دستگاه سانتریفیوژ	Hettich و مدل A ۳۲ TOFIX
دستگاه pH متر	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	ساخت شرکت KYKY و مدل 3200EM
اسپکترومتر FT-IR	Broker Tensor
دستگاه طیف سنجی جذب مرئی و فرابنفش	Shimadza
دستگاه طیف سنجی پراش پرتو اشعه ایکس (XRD)	مدل 1800

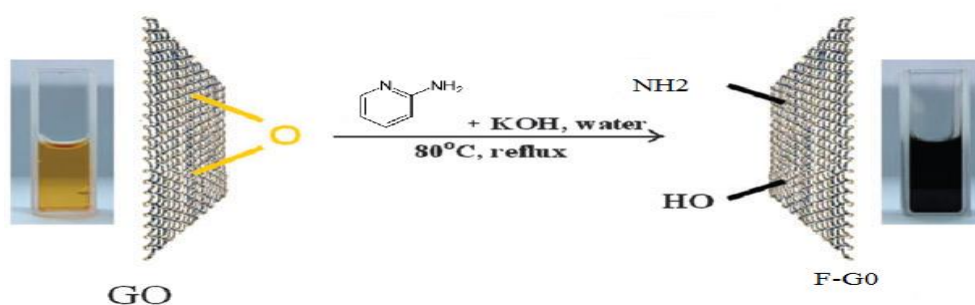
۲-۳. عامل دار کردن گرافن اکساید

۰/۱ گرم از نانو گرافن اکساید را توسط ترازو توزین کرده و داخل بشر ۲۵۰ mL ریخته شده سپس ۰/۲g از لیگاند ۲-آمینو پیریدین توسط ترازو توزین شده و داخل بشر ریخته شده و به مواد، ۲۰۰ mL آب دیونیزه اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰

دور در دقیقه در هموژنایزر قرار داده سپس $0.2g$ KOH توسط ترازو توزین شده و به مواد هموژن شده اضافه شده و مواد به مدت ۳۰ دقیقه تحت امواج التراسونیک با توان ۱۴۰ وات قرار گرفت. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای $80^{\circ}C$ رفلکس شد و توسط آب و اتانول شسته و خشک شد [۲۰].



شکل ۱. عامل دار شدن گرافن اکساید



شکل ۲. عامل دار شدن گرافن اکساید با ۲-آمینو پیریدین

۴-۲. پارامترهای مؤثر بر استخراج و بازیابی لورازپام

برای یافتن شرایط بهینه دستیابی به بیشترین راندمان استخراج و بازیابی، اثر عوامل مختلف از جمله اثر pH محلول، محلول شستشوی مناسب، حجم محلول شستشو، زمان استخراج و..... بررسی شدند. روش کار بدین صورت بود که یک پارامتر متغیر و سایر پارامترها ثابت در نظر گرفته شد [۲۱-۲۳].

۵-۲. اثر pH بر روی استخراج و بازیابی لورازپام

برای بررسی اثر pH بر روی جذب لورازپام، ابتدا تعدادی محلول $2/0$ ppm به حجم 50 mL) نسبت به لورازپام تهیه گردید که اثر محلول آبی روی بازیابی لورازپام در محدوده pH $2/5$ تا 9 مورد بررسی قرار گرفت. برای تنظیم pH از محلول اسید نیتریک $1/0$ M و آمونیاک $1/0$ M استفاده گردید. روشی که برای تنظیم pH محلول بکار رفت بدین صورت بود که محلول های 2 ppm را داخل بشر ریخته و الکتروود pH متر را در آن شناور نموده و با افزودن حجم های بسیار کم از اسید نیتریک $1/0$ M و آمونیاک $1/0$ M توسط پیپت، pH را در مقدار مورد نظر ($2/5$ ، 3 ، $3/5$ ، 4 ، 5 ، 6 ، 7 ، 8 و 9) تنظیم می‌نماییم. پس از تنظیم pH محلول، به هر یک از محلول ها 0.10 g از جاذب اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه داخل شیکر گذاشته و سپس مخلوط فوق را سانتریفیوژ نموده و محلول بالای لوله آزمایش را کنار گذاشته و غلظت لورازپام در آن را به وسیله اسپکترومتری مرئی و ماورابنفش تعیین نمودیم [۲۴-۲۵].

۲-۶. اثر مقدار جاذب جهت بازیابی لورازپام

ابتدا پنج محلول ۲/۰ ppm به حجم (۵۰ mL) نسبت به لورازپام درست کرده و داخل پنج ارلن ریخته و محلول‌ها را در pH ۷ (بهینه) تنظیم کرده و مقدار متفاوت جاذب (۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵، ۰/۰۱) بر حسب گرم اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه داخل شیکر قرار داده و سپس مخلوط‌های فوق را سانتریفیوژ نموده و محلول بالای لوله آزمایش را به وسیله اسپکترومتری مرئی و ماورابنفش تعیین نمودیم.

۲-۷. اثر نوع شوینده‌های مختلف جهت بازیابی لورازپام

پنج محلول ۲/۰ ppm به حجم ۵۰ mL نسبت به لورازپام تهیه کرده و داخل پنج ارلن ریخته و محلول‌ها را در pH برابر ۷ (بهینه) تنظیم کرده و مقدار ۰/۰۵ گرم از جاذب اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه داخل شیکر قرار داده و سپس مخلوط‌های فوق را سانتریفیوژ نموده و رسوب بدست آمده را داخل ارلن‌ها ریخته و به آن‌ها ۷ mL از شوینده‌های زیر را اضافه کرده (HNO₃ (۱M)، HNO₃ (۰/۱M)، HNO₃ (۰/۰۱M)، NaOH (۰/۱M)، H₂SO₄ (۰/۱M) و سپس داخل دستگاه شیکر به مدت ۲۰ دقیقه قرار می‌دهیم، سپس مخلوط به دست آمده را سانتریفیوژ نموده و غلظت لورازپام محلول بالای لوله آزمایش را به وسیله اسپکترومتری مرئی و ماورابنفش تعیین نمودیم [۲۶-۲۸].

۲-۸. گستره خطی و نمودار کالیبراسیون

برای تعیین گستره خطی ابتدا به داخل هفت عدد ارلن مایر مقدار ۲۵۰ میلی‌لیتر از محلول‌های (۲۰۰، ۶۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۵۰، ۱۰) نسبت به لورازپام در pH برابر ۷ تنظیم شده و ریخته شد، و به هر کدام ۰/۰۵g از جاذب اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه داخل شیکر همزده شد و سپس مخلوط را سانتریفیوژ نموده و در نهایت با اسیدنیتریک ۰/۱M شسته و به مدت ۱۰ دقیقه مجدداً داخل شیکر قرار داده شد در آخر مخلوط را سانتریفیوژ نموده و جذب لورازپام در محلول بالای لوله سانتریفیوژ را به وسیله اسپکترومتری مرئی و ماورابنفش تعیین گردید.

۲-۹. تعیین دقت و تکرار پذیری روش (RSD%)

برای تعیین دقت ابتدا داخل ۵ بشر ۵۰ mL از محلول ۲/۰ ppm نسبت به لورازپام که در pH برابر ۷ تنظیم شده ریخته و به هر کدام ۰/۰۵ گرم از جاذب اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه داخل شیکر همزده شد و مخلوط را سانتریفیوژ نموده و در نهایت با اسید نیتریک ۰/۱M شسته و به مدت ۱۰ دقیقه مجدداً داخل شیکر قرار داده شد در آخر پس از سانتریفیوژ نمودن مخلوط، غلظت لورازپام در محلول زیرصافی به وسیله اسپکترومتری مرئی و ماورابنفش تعیین گردید [۲۹-۳۴].

۲-۱۰. کاربرد روی نمونه‌های حقیقی

۲-۱۰-۱. آماده سازی نمونه پلاسما برای اندازه‌گیری لورازپام

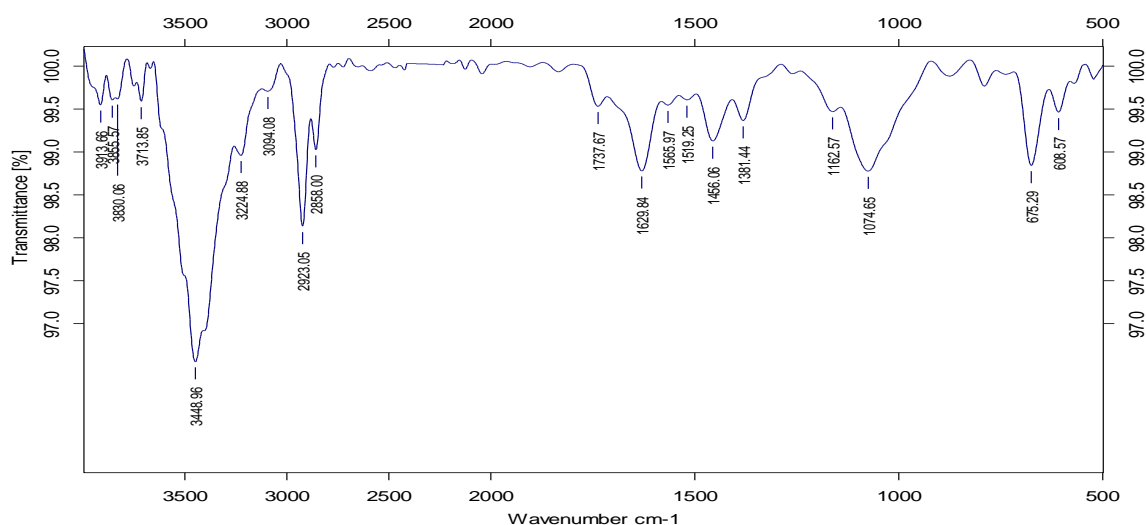
نمونه خون گرفته شده از انسان در داخل تیوب‌های حاوی EDTA به حجم ۲/۵ میلی لیتر ریخته شد. نمونه‌ها حدود ۲۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول زرد رنگ بالای تیوب، پلاسما است که برداشته شده و برای اطمینان از اینکه پروتئینی در پلاسما وجود نداشته باشد مقدار ۱۰ میلی لیتر استون را در ۱۰ میلی لیتر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

۳. نتایج و بحث

۳-۱. شناسایی و بررسی ترکیب گرافن اکساید عامل دار شده

۳-۱-۱. طیف FT-IR گرافن اکساید عامل دار شده

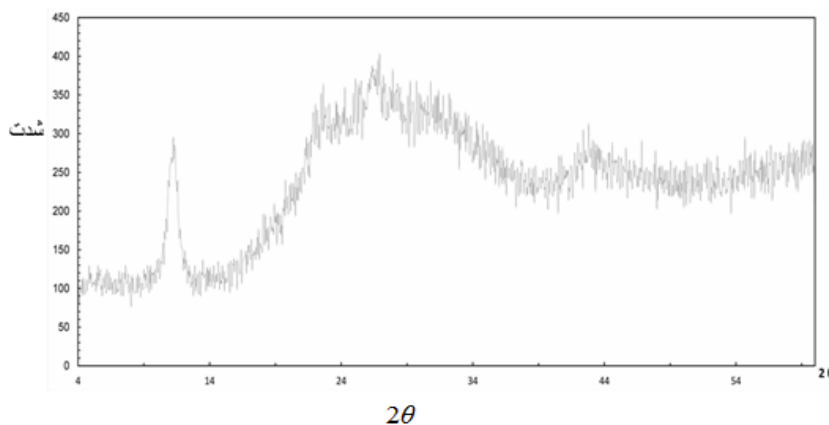
در شکل ۳ طیف FT-IR نمونه گرافن اکساید عامل دار شده آورده شده است. در طیف FT-IR این نمونه نوار شاخص cm^{-1} ۳۴۴۸، مربوط به گروه OH گرافن اکساید است و پیک های cm^{-1} ۲۸۵۸ و cm^{-1} ۲۹۲۳ مربوط به گروه های متقارن و نامتقارن CH_2 است که در گرافن اکساید عامل دار شده پیوند زده شده است و پیک cm^{-1} ۱۱۶۲ مربوط به اضافه شدن گروه آمینی به گرافن اکساید است. همچنین شدت C-O در cm^{-1} ۱۰۷۴ کاهش یافته است نسبت به طیف FT-IR گرافن اکساید، ترکیب ۲-آمینو پیریدین روی گرافن اکساید سنتز شده باند شده است پیوند C=N حلقه در ناحیه cm^{-1} ۱۶۲۹ قرار گرفته است و پیوند N-H به خوبی در ناحیه cm^{-1} ۳۴۴۴ قرار گرفته است و پیوند C=C در ناحیه cm^{-1} ۱۵۵۵/۹۷ قرار گرفته است و با توجه به نتایج به دست آمده مشخص است که این ترکیب به خوبی با گرافن اکساید باند شده است



شکل ۳. طیف FT-IR گرافن اکسید عامل دار شده

۳-۱-۲. پراش اشعه ایکس XRD گرافن اکساید عامل دار شده

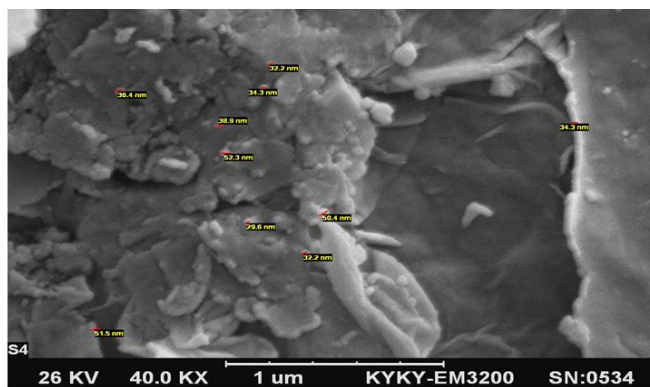
طیف XRD این ترکیب در شکل ۴ نشان داده شده است. در طیف XRD پیک مشاهده شده، با پیک های مربوط به فاز ترکیب گرافن اکساید به طور کامل همخوانی دارد و با توجه به عامل دار شدن گرافن اکساید باید انتظار پیک کوتاه را داشته باشیم که این مساله به خوبی در این طیف وجود دارد و این به دلیل قرار گرفتن گروه های آمینی روی گرافن اکساید است.



شکل ۴. الگوی پراش اشعه ایکس گرافن اکساید عامل دار شده

۳-۱-۳. تصویر SEM گرافن اکساید عامل دار شده

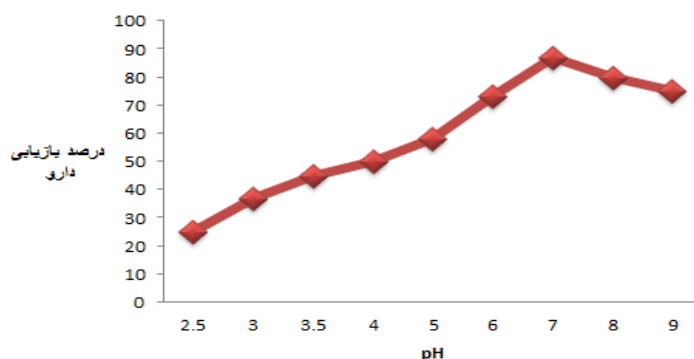
نتایج حاصل از تصویر SEM نمونه، نشان می دهد که گرافن اکساید بر روی سطح ساختار لایه یکنواخت و ورقه ورقه ای دارد و گروه عاملی روی گرافن اکساید در بزرگنمایی ۲۰۰۰، ۱۰۰۰ و ۴۰۰۰ برابر نشان داده شده است. دارای شکل کروی با میانگین اندازه ذرات در حدود ۲۹ تا ۵۱ نانومتر مشاهده شد. تصویر SEM این ترکیب در شکل ۵ آورده شده است.



شکل ۵. تصویر میکروسکوپ الکترونی جاذب گرافن اکساید عامل دار شده با ۲-آمینو پیریدین

۳-۲. بررسی اثر pH بر استخراج و بازیابی لورازپام

نتایج این بررسی در شکل ۶ نمایش داده شد، همانطور که نتایج جدول نشان می دهد در $\text{pH} = 7$ درصد جذب و استخراج بیشترین مقدار بوده در مقادیر $\text{pH} > 7$ می تواند توسط جاذب کاهش یابد و در $\text{pH} < 7$ بازداري دارو به طور کامل نمی تواند انجام گیرد.

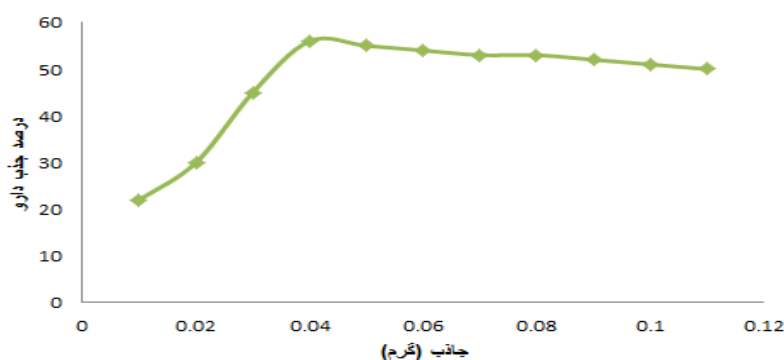


شکل ۶. منحنی تغییرات درصد بازیابی لورازپام نسبت به pH

۳-۳. اثر مقدار جاذب

پارامتر مهم دیگری که شدت جذب را تحت تاثیر قرار می دهد مقدار جاذب می باشد که برای لورازپام مقدار ۰/۰۴۰ گرم 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 گردید.

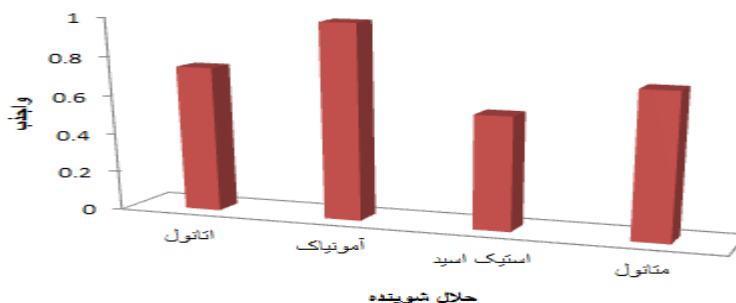
این نمودار حاکی از آن است که در مقدارهای کمتر جاذب، امکان وارد شدن ترکیباتی درون محلول می باشد که می توانند در طول موج ماکزیمم دارو جذب داشته باشند. مقدار جاذب برای لورازپام مقدار ۰/۰۴۰ گرم انتخاب گردید.



شکل ۷. جذب لورازپام بر روی میلی گرم جاذب

۳-۴. تاثیر نوع حلال شوینده

از پارامترهای تاثیر گذار مهم دیگر بر سیستم استخراج، نوع حلال شوینده می باشد که تاثیر فراوانی در سیستم استخراج دارد. در این تحقیق برای داروی لورازپام، 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 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.

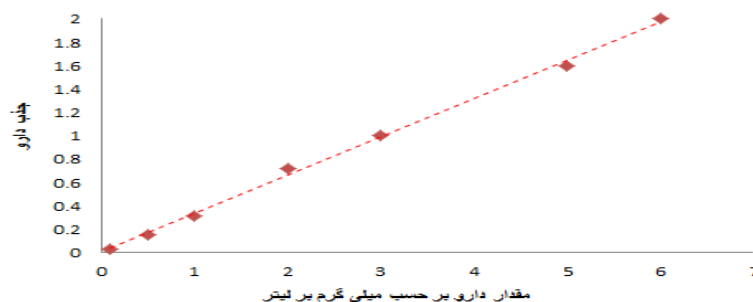


شکل ۸. واجذب لورازپام بر روی میلی گرم جاذب با حلالهای واجذب مختلف

این شکل 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 لورازپام متانول اسیدی انتخاب شد.

۳-۵. گستره خطی و نمودار کالیبراسیون روش

برای محاسبه گستره خطی در تجزیه لازم است یک منحنی کالیبراسیون رسم شود این نمودار در تمامی غلظت ها خطی نیست و عوامل متعددی سبب می شوند که نمودار کالیبراسیون در محدوده خطی باشد و از قانون بیر پیروی کند. معادله خط بدست آمده از منحنی کالیبراسیون $Y = 0.34X - 0.03$ و $R^2 = 0.998$ با توجه به شکل ۹ به صورت زیر می باشد.



شکل ۹. منحنی کالیبراسیون روش ارائه شده

۳-۶. تعیین حد تشخیص روش

کمترین غلظت یا وزنی از نمونه که با حد اطمینان معین قابل اندازه گیری باشد را حد تشخیص می نامند. حد آشکارسازی یک روش، غلظتی از نمونه آزمایشی است که پاسخ دستگاهی مربوط به آن به طور معنی داری با پاسخ نمونه شاهد متفاوت باشد که به صورت زیر تعریف می شود. غلظتی از نمونه آزمایشی که سیگنال آن معادل با سیگنال بلانک به علاوه سه برابر انحراف استاندارد حاصل از محلول باشد.

۳-۷. بررسی نتایج بدست آمده بر روی نمونه های حقیقی

نمونه ادرار گرفته شده از انسان و فیلتر شده در ظرف شیشه ای سیاه رنگی نگهداری و برای اندازه گیری با روش پیشنهادی استفاده گردید. حجم معینی از ادرار برداشته شد و اندازه گیری انجام گرفت. (جدول ۱).

۳-۸. مقایسه بین روش ارائه شده و روش‌های دیگر

مقایسه روش پیشنهادی با روش‌های زیر نشان می‌دهد که روش پیشنهادی به دلیل این که دارای مقدار حد تشخیص و انحراف استاندارد نسبی کمتری نسبت به دیگر روش‌ها است روش دقیق، ساده‌تر و سریع‌تر می‌باشد. روش پیشنهاد شده یکی از بهترین سیستم‌ها برای اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم لورازپام در نمونه‌های آبی می‌باشد. (جدول ۲).

جدول ۱. نتایج اندازه‌گیری لورازپام در نمونه‌های حقیقی

نمونه	میکروگرم لورازپام اضافه شده	مقدار اندازه‌گیری شده جذب در طول موج ۲۲۹ nm توسط جاذب
آب مقطر	۰/۰۰	الف N.D
	۲۰/۰۰	ب ۲۰/۰۲(۳/۲)
ادرار	۰/۰۰	۲۲/۰۷(۱/۰)
	۲۰/۰۰	۴۲/۰۲(۱/۹)
پلاسمای خون	۰/۰۰	۱۳/۰۲(۲/۶)
	۲۰/۰۰	۳۳/۰۴(۲/۶)

الف) Not Detect (قابل تشخیص نیست).

ب) RSD مربوط به سه بار تکرار آزمایش است.

جدول ۲. مقایسه‌ای بین روش ارائه شده و روش‌های دیگر

مرجع	حد تشخیص $\mu\text{g.L}^{-1}$	انحراف استاندارد نسبی	محدوده خطی بودن بر حسب ppm	دارو	روش
[۲۹]	۲۰/۴۲	۳/۱۹	۱۰-۱۰۰۰	دiazepam	On-line Solvent extraction-
[۳۰]	۵۰	۱۰	۰/۲-۱۰	لورازپام	Cellulose Paper Sorptive Extraction Combined with GC-MS
[۳۱]	۰/۷۸	۵/۴۵	-	لورازپام	High-Pressure Liquid Chromatography
روش پیشنهادی	۱/۱	۲/۱۷	۰/۳۱-۰۱/۸۵	لورازپام	DSPE-UV-Vis

۴. نتیجه گیری

روش مطالعه شده نسبت به روش هایی که قبلا برای جداسازی و اندازه گیری داروهایی با ساختار مشابه گزارش شده بود دارای مزایای قابل توجهی دارد که این مزایا عبارتند از سادگی، سرعت و ارزان بودن روش می باشد. در ضمن استفاده از حلال آلی، سمی و گران قیمت را به حداقل می رساند. همچنین طراحی و توسعه این روش برای پیش تغلیظ، جداسازی و اندازه گیری لورازپام با توجه به اهمیت آن در پساب کارخانه های داروسازی و کم بودن غلظت این دارو یک نیاز اساسی است. پژوهش اخیر نشان داد که اندازه گیری لورازپام در حد قابل قبولی بدون دخالت گونه مزاحم دیگری صورت می گیرد و بنابراین روش ارائه شده می تواند به سهولت در اندازه گیری مقدار لورازپام در نمونه های آبی بکار رود.

۵. مراجع

- [1] Salehi, N., Moghimi, A., & Shahbazi, H. (2022). Preparation of cross-linked magnetic chitosan with methionine-glutaraldehyde for removal of heavy metals from aqueous solutions. *International journal of environmental analytical chemistry*, 102(10), 2305-23
- [2] Moghimi, A. (2013). Detection of trace amounts of pb (II) by schiff base-chitosan-grafted multiwalled carbon nanotubes. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 87(7), 1203-1209.
۳. مقیمی علی، آبنیکی م، یاری م. (۲۰۲۰) حذف موثریون های جیوه (II) از نمونه های آبی زیست محیطی با استفاده از نانوتیوب های کربنی کربوکسیله بوسیله روش استخراج فاز-جامد پخشی. *فصلنامه زمین شناسی محیط زیست* ۱۴ ۱۵-۲۲
۴. مقیمی علی، آبنیکی میلاد. (۲۰۱۹) 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 ۶۱-۶۸.
۵. مقیمی علی، (۲۰۱۹) استخراج فاز جامد برای اندازه گیری مقادیر ناچیز کادمیوم (II) در پسابهای صنعتی توسط عامل دار شدن نانوگرافن اکساید ۲- آمینو پیریدین با طیف سنجی جذب اتمی شعله ای. *شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی*، ۲۴ ۵۲-۷۱.
- [6] Abniki M, Moghimi A., (2021). Synthesis of chitosan functionalized magnetic carbon nanotubes for dispersive solid-phase extraction of bromocresol green. *Micro & Nano Letters* 16, 455-62
- [7] Moghimi A, Abniki M., (2021) Dispersive Solid-Phase Extraction for Bromocresol Green Removal with β -Cyclodextrin Functionalized Magnetic Nanotubes. *Russian Journal of Physical Chemistry B* 15 S130-S9
- [8] Karimnezhad, K., Moghimi, A., Adnan, R., and Abniki, M., (2022). 'An Alternative Method of Dispersive Solid-Phase Extracting Hg (Ii) from Environmental Aqueous Solutions Using Carboxylic Functionalized Carbon Nanotubes', *Micro & Nano Letters*, 18, e12150
- [9] Ghammamy, S., Khorsandtabar, S., Moghimi, A. and Sahebalzamani, H., (2009). Oxidation of Some Organic Diols with Trialkylammonium Fluorochromates (VI), $R_3NH [CrO_3F]$, (R= CH₃, C₂H₅, C₃H₇ and C₄H₉) at Room Temperature and Under Microwave Condition. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 53(2), 41-43.
- [10] Moghimi A, Abniki M., (2021). The Dispersive Solid-Phase Extraction of Fluoxetine Drug from Biological Samples by the Amine-Functionalized Carbon Nanotubes with HPLC Method. *Chemical Methodologies* 5, 250-8.
- [11] Soylak, M., Ahmed, H.E.H., & Khan, M. (2023). Switchable hydrophilicity solvent based microextraction of mercury from water, fish and hair samples before its spectrophotometric detection. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 32, 101006.

- [12] Abniki M, Moghimi A, Azizinejad F., (2020). Fabrication of bionanocomposite based on LDH using biopolymer of gum arabic and chitosan-coating for sustained drug-release. *J Serb Chem Soc* 85 1223-35
- [13] Parsayi Arvand, M., Moghimi, A., and Abniki, M., (2022). Extraction of Alprazolam in Biological Samples Using the Dispersive Solid-Phase Method with Nanographene Oxide Grafted with A-Pyridylamine', *IET Nanobiotechnology*,
- [14] Moghimi A, Qomi M, Yari M, Abniki M., (2019). Solid phase extraction of Hg (II) in water samples by nano-Fe. *Int J Bio-Inorg Hybr Nanomater* 8, 163-72
- [15] Moghimi A, Abniki M., (2021). Preconcentration and Separation of Ultra-Trace Cu (II) with Disks of Octadecyl Silica Membrane Modified Nano-Fe₃O₄-Encapsulated-Dioctyl Phthalate and Linked-Diethylenetriamine. *Advanced Journal of Chemistry-Section A*, 4, 78-86
- [16] Moghimi A, Abniki M, Khalaj M, Qomi M., (2021) Construction of modified nanotube carbon carboxyl by new method and application in dispersive solid phase extraction for preconcentration of Ni (2+). *Rev Roum Chim* 66 493-507.
۱۷. مقیمی، آبنیکی، میلاد، قمی. (۲۰۲۰) 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 ۴۸-۲
۱۸. مقیمی، شجاعی، آبنیکی، میلاد. (۲۰۲۱) استخراج فاز جامد پخشی برای پیش تغلیظ داروی آملودیپین در نمونه های آبی با استفاده از نانو مغناطیسی اصلاح شده با بتاسیکلودکسترین. *شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی*، ۱۱ ۵۵-۴۳
- [19] Moghimi, A., (2012). Preconcentration of Zn (II) from Sample Water by Phenyl-iminodiacetic Acid Grafted Multiwalled Carbon Nanotubes., *Journal of Chemical Health Risks*, 2(3) 28-41.
- [20] Abniki, M. and Moghimi, A., (2022). 'Removal of Cd (Ii) Ions from Water Solutions Using Dispersive Solid-Phase Extraction Method with 2-Aminopyridine/Graphene Oxide Nano-Plates', *Current Analytical Chemistry*, 18, 1070-1085
- [21] Moghimi, A., Poursharifi, M.J., (2011). Perconcentration of Trace Cr (III) using Octadecyl Silica Membrane Modified N, N-Disalicylideneethylenediamine, *Asian Journal of Chemistry*, 23 (9), 3870-3877.
- [22] Tajodini, N. and Moghimi, A., (2011). Spectrophotometric Study of W (VI)-G Lycinamide Complex Formation. *Asian Journal of Chemistry*, 23(9), 4186.
- [23] Behrouzinia, S., Zand, M., Namdar, A., Rahimi, H., Moghimi, A., (2011). 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), 67-72.
- [24] Karimnezhad, K., Moghimi, A., Adnan, R., and Abniki, M., (2022). 'An Alternative Method of Dispersive Solid-Phase Extracting Hg (Ii) from Environmental Aqueous Solutions Using Carboxylic Functionalized Carbon Nanotubes', *Micro & Nano Letters*, 18, e12150
- [25] Ghamamy, S., Khorsandtabar, S., Moghimi, A. and Sahebalzamani, H., (2009). Oxidation of Some Organic Diols with Trialkylammonium Fluorochromates (VI), R₃NH [CrO₃F], (R= CH₃, C₂H₅, C₃H₇ and C₄H₉) at Room Temperature and Under Microwave Condition. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 53(2), 41-43.
- [26] Moghimi, A., (2011). Solid Phase Extraction of Cr (III) from Natural Water by Modified Nano Polyacrylonitrile Fiber. *World Applied Sciences Journal*, 12(12), 2252-2259.
- [27] Makipour, P., Moghimi, A. and GHIASI, R., (2010). 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), 797.
- [28] Abniki, M., Azizi, Z., Poorebrahim, S., & Moniri, E. (2023). Development of p-amino acetanilide functionalized multi-walled carbon nanotubes as an effective carrier for lansoprazole release. *Biomedical Physics & Engineering Express*

- [29] Uzcan, F., Gumus, Z.P., & Soylak, M. (2023). Separation and preconcentration of atrazine on magnetic multiwalled carbon nanotubes before determination in food and water samples by high-performance liquid chromatography with diode array detection (hplc-dad). *Analytical Letters*, 1-11.
- [30] Awni, W., & Bakker, L. (1989). Antipyrine, indocyanine green, and lorazepam determined in plasma by high-pressure liquid chromatography. *Clinical chemistry*, 35(10), 2124-2126.
- [31] Jain, B., Jain, R., Kabir, A., Ghosh, A., Zughaihi, T., Chauhan, V . . . ,Sharma, S. (2023). Cellulose paper sorptive extraction (cpse) combined with gas chromatography–mass spectrometry (gc–ms) for facile determination of lorazepam residues in food samples involved in drug facilitated crimes. *Separations*, 10(5), 28 .
- [32] Ahmed, H.E.H., Ozalp, O., & Soylak, M. (2023). Magnetic solid phase extraction of lead(ii) from food and water samples on magnetic mwcnts/mgal2o4/tio2. *Journal of Food Composition and Analysis*, 118, 105163.
- [33] Akyol, E., Ulusoy, H.İ., Yilmaz, E., Polat, Ü., & Soylak, M. (2023). Application of magnetic solid-phase extraction for sensitive determination of anticancer drugs in urine by means of diamino benzidine tetrachlorohydrate modified magnetic nanoparticles. *Pharmacological Reports* (Impress).
- [34] Yengin, C., Gumus, Z.P., Ilktac, R., Elci, A., & Soylak, M. (2023). Vortex-assisted solid phase extraction on mil-101(cr) of parabens in waters and cosmetics by hplc–dad. *Journal of the Iranian Chemical Society* (Impress).

Preconcentration of trace amounts of lorazepam in aqueous samples by functionalizing graphene oxide with 2-aminopyridine

Ali Moghimi^{1*}, Milad Abniki²

¹Department of Chemistry, Faculty of pharmaceutical Chemistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²PhD in Analytical Chemistry, Department of Resins and Additives, Institute for Color Science and Technology

Submitted: 23 April 2023, Revised: 27 August 2023, Accepted: 02 September 2023

Abstract

In this study, an approach was used to preconcentrate lorazepam in water samples. This study has tried to present a new method of solid phase diffusion extraction of small amounts of pharmaceutical effluents as an indicator of Lorazepam drug in aqueous samples by graphene oxide with 2-aminopyridine and its measurement by visible and ultraviolet spectroscopy in real samples. This method includes a two-phase system in which the donor phase of the aqueous sample contains lorazepam and the acceptor phase is functionalized graphene oxide. Experiments were performed in two stages of extracting water samples including lorazepam drug desorption using ammonia solvent and the desorbed samples were submitted to UV-Vis spectrophotometer for further analysis. This method is cheap, simple and fast, and it is also a sensitive and reliable method for extracting, preconcentrating and measuring small amounts of lorazepam. The effective parameters on drug extraction, which include: the effect of pH, the amount and type of detergent solvent, and the extraction time, have been investigated. The concentration factor is 19, the detection limit of the method is 1.1 µg/L, and the relative standard deviation is 2.17%.

Keywords: Graphene oxide, 2-aminopyridine, UV-Vis spectrophotometry, Lorazepam drug.

*Corresponding author : Ali Moghimi

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

Tel: 02177413801

E-mail: alimoghimi@iauvaramin.ac.ir, kamran9537@yahoo.com, ali.moghimi@iaups.ac.ir