



Extraction and Preconcentration of Doxorubicin by Solid Phase Extraction and its Determination by Uv-Vis Spectrophotometry

Saeid Nazari^{1*}, Abolfazl Darroudi², Shirin Delavar Devin³

¹Associate Professor, Faculty of Sciences, Department of Chemistry, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.

²Assistant Professor, Department of Chemistry, Technical and Vocational University, Tehran, Iran.

³MSc student, Faculty of Sciences, Department of Chemistry, Hakim Sabzevari University, Sabzevar, Iran.

ARTICLE INFO

Received: 01.23.2023

Revised: 03.17.2023

Accepted: 04.24.2023

Keyword:

Doxorubicin

Graphene oxide nano particles

Solid phase extraction

Preconcentration

Uv-Vis Spectrophotometry

***Corresponding Author:**

Saeid Nazari

Email:

saeidnazari721@gmail.com

ABSTRACT

Doxorubicin is an anticancer drug that prevents the growth and progression of cancer cells. Considering that in some samples the amount of doxorubicin is very low, choosing a preconcentrative method is very important and necessary. In this study, dispersive solid phase extraction, by using graphene oxide nano particles, was used as an efficient preconcentration method. Different effective parameters such as adsorption time, desorption time, amounts of adsorber, type and volume of organic solvent (desorbing solvent) and pH were investigated and optimized. After optimization of the experimental conditions, doxorubicin concentration was measured at a wavelength of 478.5 nm. The calibration curve was linear in the 0.06 to 6.5 mgL⁻¹ doxorubicin concentration range, and the detection limit (at an S/N ratio of 3) was 0.018 mgL⁻¹. Relative standard deviation (RSD%) for ten replicate measurements of doxorubicin solution was 2.8%. The enrichment factor and recovery of the extraction method were 58 and 78%, respectively. The proposed method was applied to the determination of doxorubicin in real samples with satisfactory analytical results.



EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Doxorubicin is an anti-cancer drug that prevents the growth and development of cancer cells. The cancer that interferes with the body fights for cancers such as breast cancer, bladder, ovary, stomach, bone, nerve tissues, muscles, joints and soft joints used. Doxorubicin is also used in the treatment of Hodgkin's lymphoma and certain types of leukemia. The main use of this drug is the chemotherapy of various cancers such as blood malignancies, carcinoma and soft tissue saroma. Measurement of this drug in patients' bodies is important for diagnosis of its effectiveness, but due to its low concentration in blood or urine, it is lower than the detection limit of the conventional analytical methods, so the use of a pre-condensation method before measurement is necessary.

Solid phase extraction (SPE) is one of the efficient methods for separation and extraction of analytes from the possible interferents in the sample by using an adsorbent. Common compounds used as adsorbents for solid phase extraction include organic chelating resins, activated carbon, activated alumina, micro-crystalline material, molecular mold materials or ion, porous compounds, materials with limited access, integrated materials, magnetic material and organic-metal frameworks, which perform well to extract unknown samples. In recent years, nanoparticles have been used as adsorbents in solid phase extraction. Graphene oxide has attracted a great deal of attention in analytical chemistry because of its very high absorption capacity compared to other recently reported adsorbents. Some of the special properties of graphene and its derivatives include high surface area and chemical purity, easy factorization, availability of non-settled electrons for easy solubility and bonding with molecules such as medicine, high absorption capacity of the drug for both sides of graphene plates, its fat-friendly nature to help penetrate the cell membrane barrier to transport the drug in place as well as from graphene and its derivatives for pharmaceutical carriers. Graphene has also been proposed in nonmedicated applications [22]. In addition, by applying hydro-fat-friendly properties, modified graphene interaction with the biological surface of the membrane increases and the drug is inserted into the cell for delivery [23]. Considering that in some samples the amount of analyte measured is very low, selecting a pre-condensation method is of great importance and necessity. In this study, solid phase extraction technique based on graphene oxide was used to extract and preconcentrate doxorubicin and to determine it by visible-ultraviolet spectrophotometry.

Experimental

Extraction procedure

The magnetic solid phase extraction procedure was carried out as follows: 25 mL of water was placed in a 50 mL vial and spiked at the appropriate concentration of the doxorubicin. Then, 50 mg of graphene oxide nanoparticles was added into the sample solution and stirred for 12 min. Subsequently, the adsorbents were collected and supernatants were discarded. In order for desorption of target analytes from the surface of the nanoparticles to occur, 300 μ L of methanol were added and stirred for 8 min. Finally,

nanoparticles were isolated again, and desorbed analyte was introduced into the microcell of UV-Vis spectrophotometer for determination of doxorubicin.

Results and discussion

To obtain a high preconcentration factor, high recovery and the best analytical performance, the effect of different parameters on the extraction of doxorubicin by graphene oxide such as pH, sorbent amount, desorption condition were examined and optimal conditions selected. The optimization was implemented using 25 mL of sample spiked with analyte at the concentration of 1 mg L^{-1} .

The weight of sorbent is an important factor on the extraction performance. Therefore, different amounts of graphene oxide in the range of 0.01- 0.07 mg were investigated. According to Figure (1), the extraction efficiency increased by enhancing the amount of adsorbent by up to 0.05 mg and leveling off at higher amounts. Therefore, 0.05 mg was selected for further experiments. Extraction was accomplished under the following conditions: extraction time of 12 min; stirring rate of 800 rpm; eluent, methanol; volume of eluent of 300 μl and desorption time of 8 min. The influence of pH on extraction of doxorubicin was studied in the range of 2.0-12.0 using a HCl solution of 0.1M or a NaOH solution of 0.1 M. The results indicated that the absorbance of doxorubicin was increased by increasing the pH by up to 6 and then decreased by further increasing of pH. Thus, the buffer solution of pH 6 was adapted.

Analytical performance

Under the optimized conditions, the analytical features of the proposed method were validated. The calibration graph was linear in the range of 0.06–6.5 mg L^{-1} with correlation coefficient of 0.995. The preconcentration factor (PF) was calculated to be 58 based on slope ratio of calibration graph after and before extraction and recovery was approximately 87%. The detection limit based on the $3S_b$ ($\text{LOD}=3S_b/\text{slope}$) criterion was 0.018 mg L^{-1} , and the limit of quantification (LOQ) based on $10S_b$ was $0.06 \mu\text{g L}^{-1}$. The precision (RSD) for ten replicate measurement of doxorubicin (0.5 mg L^{-1}) was 2.8%.

Conclusion

Solid phase extraction is a method for preconcentration and extraction of analytes. In the present research, graphene oxide was used as an adsorbent and simple devices and a small amount of organic solvent were used to extract doxorubicin. A visible-ultraviolet device was used to identify doxorubicin. The linear range of the method was between 0.06 and 6.5 mg/liter.



شاپای الکترونیک: ۲۵۳۸-۴۴۳۰

شاپای چاپی: ۲۳۸۲-۹۷۹۶



استخراج و پیش تغلیظ داروی دوکسوروبیسین با روش استخراج فاز جامد و اندازه‌گیری آن توسط طیف سنجی مرئی - فرابنفش

سعید نظری^{۱*}، ابوالفضل درودی^۲ ID، شیرین دلاور دین^۳

۱- دانشیار، گروه شیمی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران.

۲- استادیار، گروه شیمی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران.

۳- دانشجوی ارشد، گروه شیمی، دانشگاه حکیم سبزواری، سبزوار، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

دوکسوروبیسین یک داروی ضد سرطان است که از رشد و پیشرفت سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند. با توجه به این که در برخی نمونه‌ها مقدار دوکسوروبیسین بسیار کم است، بنابراین انتخاب یک روش پیش تغلیظ بسیار مهم و ضروری است. در این مطالعه، استخراج فاز جامد پراکنده، با استفاده از نانو ذرات اکسید گرافن به عنوان یک روش پیش تغلیظ مورد استفاده قرار گرفته است. پارامترهای مؤثر بر استخراج مانند زمان جذب، زمان واجذب، مقادیر جذب، نوع و حجم حلال آلی (حلال شویش) و pH مورد بررسی و بهینه‌سازی قرار گرفت. پس از بهینه‌سازی شرایط تجربی، غلظت دوکسوروبیسین در طول موج ۴۷۸.۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظت دوکسوروبیسین ۰/۰۶ تا ۶/۵ میلی گرم بر لیتر خطی و حد تشخیص ۰/۰۱۸ میلی گرم بر لیتر (LOD=3S_b/m) و انحراف استاندارد نسبی برای اندازه‌گیری محلول دوکسوروبیسین با ده بار تکرار مقدار ۲/۸ درصد محاسبه شد. عامل غنی سازی و بازیابی روش استخراج به ترتیب ۵۸ و ۷۸ درصد به دست می‌آید. روش پیشنهادی برای تعیین دوکسوروبیسین در نمونه های واقعی با نتایج تجزیه‌ای رضایت بخش همراه بود.

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۱/۰۳

بازنگری مقاله: ۱۴۰۱/۱۲/۲۶

پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۲/۰۴

کلید واژگان:

دوکسوروبیسین

نانو ذرات اکسید گرافن

استخراج با فاز جامد

پیش تغلیظ

طیف سنجی مرئی - فرابنفش

*نویسنده مسئول: سعید نظری

پست الکترونیک:

saeidnazari721@gmail.com



مقدمه

دوکسوروبیسین^۱ یک داروی ضد سرطان است که مانع رشد و پیشرفت سلول‌های سرطانی می‌شود. دوکسوروبیسین با نام تجاری آدریامایسین با رشد و گسترش سلول‌های سرطانی که در بدن تداخل دارد، مبارزه می‌کند. تحقیقات برای تولید ترکیبات ضد سرطانی از میکروارگانیزم‌های مبتنی بر خاک در دهه ۱۹۵۰ آغاز شد و سوپه جدیدی از باکتری‌ها از خاک جدا شدند و آنتی بیوتیکی از این باکتری‌ها تولید شد که مشخص شد فعالیت خوبی در برابر سلول‌های سرطانی دارد و تغییرات ژنتیکی ایجاد شده بر روی آن منجر به تولید داروی آدریامایسین گردید که بعدها دوکسوروبیسین نامیده شد [۱]. دوکسوروبیسین برای درمان انواع سرطان مانند سرطان پستان، مثانه، تخمدان، تیروئید، معده، ریه، استخوان، بافت‌های عصبی، عضلات، مفاصل و بافت نرم مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲]. دوکسوروبیسین همچنین در درمان بیماری هوجکین و انواع خاصی از سرطان خون استفاده می‌شود. کاربرد اصلی این دارو، شیمی درمانی سرطان‌های مختلف مانند بدخیمی‌های خونی، کارسینوما و سارکوم بافت نرم است [۳].

استخراج فاز جامد^۲ به‌عنوان یک روش آماده‌سازی نمونه، کاربرد وسیعی در تغلیظ و جداسازی آنالیت از سایر گونه‌های موجود در نمونه دارد. در این روش آنالیت موجود در محلول نمونه به وسیله یک جاذب و با جذب شدن بر سطح آن از محلول نمونه جدا می‌شود، سپس به کمک یک حلال شوینده آنالیت از سطح جاذب و اجذب و برای اندازه‌گیری به دستگاه مورد نظر منتقل می‌گردد [۴]. هدف از کاربرد روش استخراج با فاز جامد، پیش تغلیظ مقادیر اندک نمونه مجهول، تمیزسازی نمونه (ساده‌سازی بافت نمونه^۳) در نتیجه افزایش حساسیت اندازه‌گیری می‌باشد [۵]. SPE اولین بار به‌عنوان تکمیل‌کننده یا جایگزین برای استخراج مایع-مایع^۴ توسعه پیدا کرد. در حال حاضر SPE یکی از روش‌های متداول برای تکنیک‌های نمونه‌گیری در بسیاری از شاخه‌های شیمی از جمله محیط زیست، شیمی دارویی، پزشکی، شیمی غذایی و شیمی صنعتی می‌باشد. تا به امروز شکل‌های نمونه‌گیری و جاذب‌های زیادی برای پردازش مناسب و راحتی بخشیدن به این فرایندها از نمونه‌های مختلف توسعه پیدا کرده‌اند و دامنه روش گسترش پیدا کرده است [۶]. امروزه درجه بالایی از اتوماسیون با به‌کارگیری ربات‌ها یا روابط بر خط برای جداسازی و دستگاه‌های طیف سنجی ممکن شده است [۷]. ترکیب‌های متداول که به‌عنوان جاذب در روش استخراج فاز جامد مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل رزین‌های شلات‌کننده آلی [۸]، کربن فعال شده [۹]، آلومینای فعال شده [۱۰]، مواد میکرو کریستالی [۱۱]، مواد قالب مولکولی [۱۲؛ ۱۳] یا یونی [۱۴]، ترکیب‌های متخلخل [۱۵]، مواد با دسترسی محدود [۱۶]، مواد مغناطیسی [۱۷] و چارچوب‌های آلی-فلزی [۱۸] می‌باشند که عملکرد خوبی برای استخراج نمونه مجهول مورد علاقه دارند.

از زمانی که اولین آزمایش‌های اثبات خواص اکسید گرافن مانند مساحت سطح بسیار بزرگ، ۲۶۳۰ مترمربع بر گرم شروع شد [۱۹] این ترکیب به یکی از ترکیبات مورد علاقه برای مطالعه در چندین رشته تبدیل شده است [۲۰]. بعضی از خواص ویژه گرافن و اکسید گرافن مانند مساحت سطح زیاد، خلوص شیمیایی، عامل دار کردن آسان، در دسترس بودن الکترون‌های π غیر مستقر برای جذب آسان و پیوند با مولکول‌ها مانند دارو و ظرفیت جذب بالا، آنها را به جاذب‌های مناسبی برای کارهای استخراج تبدیل کرده و توجه زیادی در شیمی تجزیه را به خود جلب کرده‌اند [۲۱]؛ [۲۲]. گرافن و مشتقات آن به‌عنوان حامل‌های دارویی در کاربردهای نانوپزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲۳]. در ضمن با به‌کارگیری خاصیت آب دوستی-چربی دوستی گرافن اصلاح شده تعامل با سطح بیولوژیکی غشا افزایش یافته و دارو برای تحویل به داخل سلول وارد می‌شود [۲۴].

¹ Doxorubicin

² Solid phase extraction (SPE)

³ Matrix

⁴ Liquid-Liquid extraction (LLE)

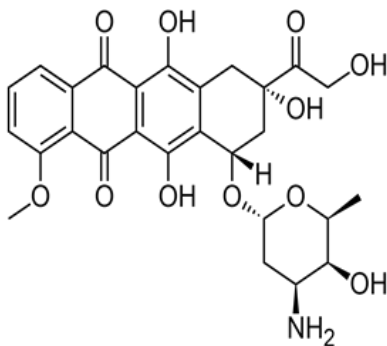
با توجه به این که در بعضی از نمونه‌ها مقدار نمونه مجهول مورد اندازه‌گیری بسیار کم می‌باشد بنابراین انتخاب یک روش پیش تغلیظ بسیار مهم و ضروری است. در این پژوهش از تکنیک استخراج فاز جامد بر پایه اکسید گرافن برای استخراج و پیش تغلیظ دوکسوروبیسین و اندازه‌گیری آن به روش طیف سنج مرئی-فرابنفش استفاده شده است.

وسایل مورد نیاز

اندازه‌گیری دارو با دستگاه طیف سنج مرئی-فرابنفش دو پرتویی مدل ۲۵۵۰ ساخت شرکت شیمادزو ژاپن انجام می‌شود. برای تنظیم pH از دستگاه pH متر مدل CO ARIYA PAAT ساخت کشور ایران استفاده شده است. میکرو سرنگ ۱۰۰ میکرولیتر هامیلتون سوئیس، گرمکن با همزن مغناطیسی مدل (VELP SCIENTIFICA ARE)، ساخت کشور ایتالیا برای همزدن محلول‌ها در فرآیند استخراج به کار برده شده است.

مواد شیمیایی

حلال‌ها و مواد مورد استفاده شامل متانول، اتانول، دی کلرو متان، کلروفرم، اسید استیک، سود، با نشان تجاری مرک ساخت کشور آلمان می‌باشند و کلیه حلال‌ها دارای درجه خلوص تجزیه‌ای بودند. داروی دوکسوروبیسین (با فرمول $C_{27}H_{29}NO_{11}$) به صورت شیشه ۱۰ میلی گرم از شرکت داروسازی ابدوکسو تهیه شده است. محلول مادر از دوکسوروبیسین با غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر در بافر ۶ تهیه می‌شود و محلول‌های روزانه با غلظت‌های دلخواه توسط رقیق نمودن از محلول مادر تهیه می‌شوند. ساختار مولکولی دوکسوروبیسین در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱. ساختار مولکولی دوکسوروبیسین

روش کار استخراج فاز جامد

در این روش ماده مورد اندازه‌گیری در بین دو فاز توزیع می‌شود: یکی فاز مایع (بافت نمونه یا حلال حاوی ماده مورد اندازه‌گیری) و دیگری فاز جامد (جاذب) می‌باشد. در جاذب‌های جامد، ضرایب نفوذ نسبت به فازهای مایعی که روی بسترهای جامد نگهدارنده پوشانده می‌شوند، کاهش می‌یابد و در زمان استخراج، جذب تنها روی سطوح متخلخل پوشش اتفاق می‌افتد که به آن جذب سطحی گفته می‌شود. در این حالت، ماده مورد اندازه‌گیری به دلیل نیروهای بین مولکولی مانند پیوند $\pi-\pi$ ، نیروی واندروالسنس، برهم‌کنش آب گریزی، نیروی جاذبه الکترواستاتیک و پیوند هیدروژنی و یا پیوندهای کووالانسی با فاز جامد برهم‌کنش دارد. در اثر این برهم‌کنش با سطح ممکن است ماده مورد اندازه‌گیری از روی سطح فاز جامد جذب یا واجذب (با تغییر حلال) شود.

برای انجام آزمایش‌های مربوط به استخراج، ابتدا حجم مشخصی از دارو با غلظت ۲۰ میلی گرم بر لیتر به جاذب با وزن ۰/۰۵ گرم اضافه می‌شود، بر روی همزن مغناطیسی با دور چرخش ۸۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۲ دقیقه همزده می‌شود تا عمل جذب انجام شود و آنالیت از فاز مایع به جامد منتقل گردد. بعد از زمان کوتاهی جاذب ته‌نشین می‌شود، سپس محلول بالایی را خارج کرده و به جاذب ۳۰۰ میکرولیتر حلال استخراج کننده (متانول) اضافه می‌شود و به مدت ۸ دقیقه با دور چرخش ۸۰۰ دور بر دقیقه همزده تا عمل واجذب انجام گیرد و دوکسوروبیسین از فاز جامد به فاز مایع منتقل شود سپس توسط یک میکروسرنگ هامیلتون محلول جمع‌آوری و برای آنالیز بعدی به سل^۱ دستگاه مرئی-فرابنفش انتقال داده می‌شود.

بهینه سازی پارامترهای دستگاهی

تعیین طول موج حداکثر دارو بعد از استخراج

در این مرحله یک محلول ۲۰ میلی گرم بر لیتر در محیط بافری به عنوان محلول مادر تهیه شده، و مراحل استخراج روی آن صورت می‌گیرد، سپس برای به‌دست آوردن طول موج حداکثر^۲ بعد از استخراج از این محلول استفاده می‌شود. طیف مربوط به دارو توسط دستگاه اندازه‌گیری شده و از روی طیف به‌دست آمده طول موج تجزیه‌ای مناسب برای اندازه‌گیری حاصل می‌شود. این طول موج، همان طول موج حداکثر می‌باشد که در اندازه‌گیری دوکسوروبیسین مورد استفاده قرار گرفت. حداکثر طول موج به‌دست آمده برابر با ۴۷۸/۵ نانومتر می‌باشد. طول موج حداکثر طول موجی است که ترکیب در آن بیشترین جذب و کمترین مزاحمت را دارد.

بهینه نمودن شرایط استخراج

در این تحقیق از استخراج با فاز جامد که با طیف سنج مرئی-فرابنفش ادغام شده، برای اندازه‌گیری داروی دوکسوروبیسین استفاده می‌شود. برای به‌دست آوردن فاکتور غنی سازی بالا، اثر پارامترهای مختلف از جمله pH محلول، نوع حلال استخراج کننده، زمان استخراج، دور چرخش همزن مغناطیسی، حجم حلال استخراج کننده و وزن جاذب بهینه شده است.

بررسی اثر pH

برای این که آنالیت از فاز آبی بر روی فاز جامد استخراج شود، باید برهم کنش‌های آب گریز بیشتر شود و همچنین هر گونه‌ای در حالت خنثی، بازیابی بیشتری نسبت به شکل یونی خود دارد. فرآیند یونیزه شدن به pH بستگی دارد، پس در نتیجه می‌توان نتیجه گرفت که pH اثر مهمی در جداسازی اجزای مخلوط پیچیده حاوی اسید و بازهای آلی مانند داروها دارد.

برای بررسی این اثر، محلول‌هایی با pH بین ۲-۱۲ تهیه شده و فرایند استخراج انجام می‌شود که در جذب دوکسوروبیسین در pH برابر ۶ بیشترین مقدار را دارد بنابراین این pH به عنوان pH بهینه انتخاب گردید و از بافر پتاسیم فسفات برای تنظیم pH محلول‌ها استفاده می‌شود.

دوکسوروبیسین به علت داشتن هردو گروه آمینی و هیدروژن اسیدی در ساختمان خود مانند اسید آمینه دارای نقطه ایزوالکتریک است در حلال‌های آبی OH⁻ نزدیک به گروه الکترون کشنده C=O کربونیل با از دست دادن یک پروتون

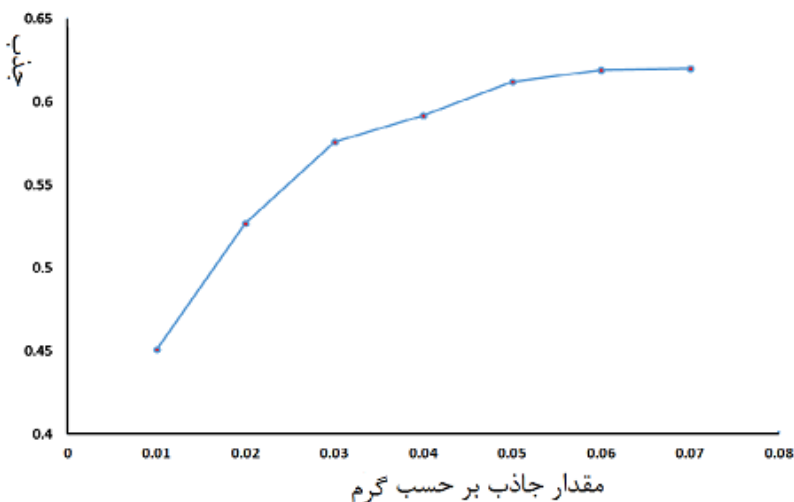
¹ Cell

² Maximum wavelength (λ_{Max})

به شکل منفی در می‌آید و نیتروزن آمینی با گرفتن یک پروتون به صورت باردار مثبت در می‌آید و مولکول دوکسوروبیسین به صورت یک مولکول دو یونی که یک سر آن مثبت و سر دیگر آن منفی است ایجاد می‌شود. در pH مساوی ۶ که نقطه ایزوالکتریک است بار کلی مولکول صفر است و مولکول خنثی است. در این pH کمترین حلالیت را در آب دارد و به فاز جامد استخراج می‌گردد. در pHهای بالای ۶ گروه آمینی پروتون خود را از دست می‌دهد و مولکول باردار منفی می‌شود و در pHهای پایین‌تر از ۶ گروه کربوکسیل یک پروتون می‌گیرد و مولکول باردار مثبت می‌شود و در هر دو حالت مولکول قطبی است و استخراج به فاز جامد کاهش می‌یابد.

بهینه‌سازی اثرمقدار جاذب

مقدار جاذب یک پارامتر بسیار مهم در افزایش ظرفیت استخراج می‌باشد. برای بررسی تأثیر مقدار جاذب در فرایند استخراج مقادیری از ۰/۰۱ تا ۰/۰۷ گرم از جاذب برای استخراج ۲۰ میلی لیتر از دارو با غلظت ۵ میلی گرم بر لیتر مورد استفاده قرار گرفت که بعد از انجام استخراج با وزن‌های مختلف جاذب مشخص شد مقدار ۰/۰۵ گرم از جاذب، بهترین نتیجه را نشان می‌دهد. چون استخراج این مقدار از آنالیت به کمک ۰/۰۵ گرم از جاذب کامل گردیده و دیگر آنالیتی در محلول موجود نمی‌باشد که برای استخراج آن به مقدار بیشتری جاذب نیاز داشته باشیم. لذا بیشتر کردن جاذب کمکی به میزان استخراج نمی‌کند. و مقادیر بیشتر از ۰/۰۵ گرم از جاذب، تأثیری بیشتر در کارایی استخراج ندارد. بنابراین وزن ۰/۰۵ گرم به عنوان وزن بهینه انتخاب شده و در ادامه تحقیق مورد استفاده قرار گرفته است. که نمودار آن در شکل ۲ نشان داده شده است.

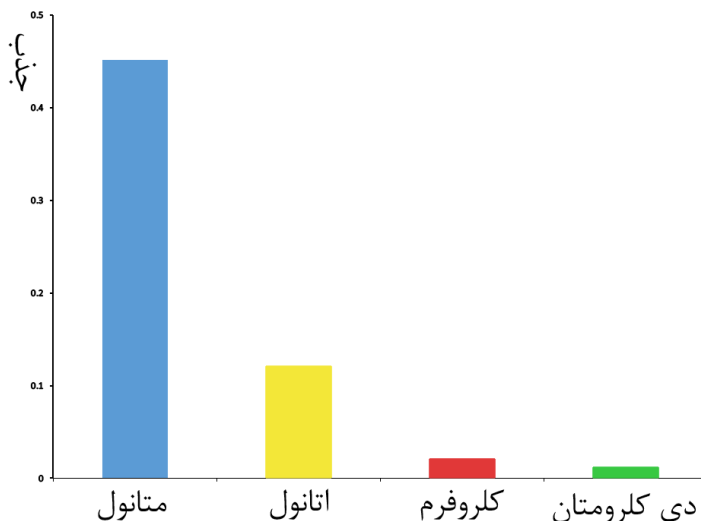


شکل ۲. بررسی تأثیر مقدار جاذب در فرایند استخراج

بهینه‌سازی حلال واجذبی

نوع حلال واجذبی در فرایند استخراج خیلی مهم است. برای استخراج دوکسوروبیسین از جاذب، حلال‌های مختلفی شامل اتانول، متانول، کلروفرم، دی کلرومتان استفاده شدند. نتایج در شکل ۳ نشان داده شده است که مشخص شد، متانول بیشترین کارایی در فرایند واجذب را دارد و به عنوان حلال استخراج کننده انتخاب می‌شود. آنالیت مورد نظر از محلول آبی بر روی سطح جاذب استخراج گردیده، بنابراین برای واجذب آنالیت از سطح جاذب از حلالی استفاده می‌شود

که آنالیت تمایل بیشتر به آن حلال نسبت به آب داشته باشد. بنابراین با مقادیر کمتری از این حلال نسبت به آب می‌توان آنالیت را از روی سطح جاذب شست و به فاکتور تغلیظ بیشتری دست یافت. بنابراین آب به عنوان حلال واجذب کننده مورد استفاده قرار نمی‌گیرد.



شکل ۳. اثر نوع حلال بر شدت جذب

اثر حجم حلال واجذب کننده

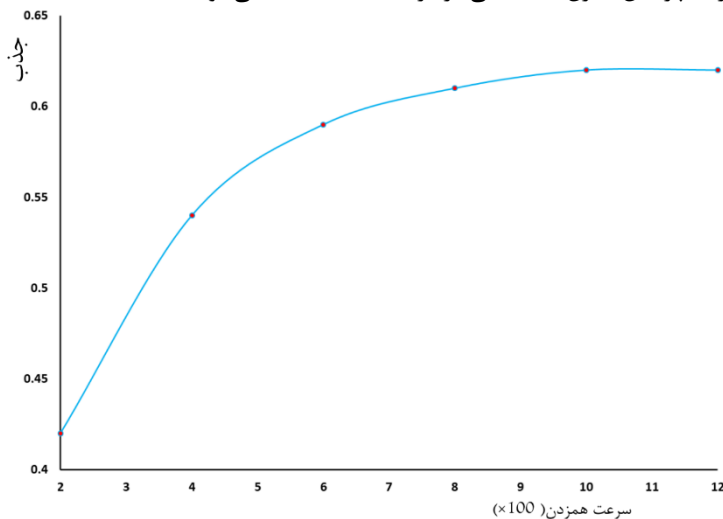
حجم حلال واجذب کننده بر حساسیت روش استخراج تأثیر گذار می‌باشد. از این لحاظ هرچه مقدار حلال مورد نیاز برای واجذب آنالیت‌ها کمتر باشد فاکتور تغلیظ بیشتر است، از طرف دیگر حجمی از حلال باید به کار گرفته شود که بتواند تمام آنالیت را واجذب کند. بر این اساس، حجم‌های ۱۰۰ تا ۶۰۰ میکرو لیتر از حلال متانول مورد آزمایش قرار گرفت که حجم ۳۰۰ میکرو لیتر برای واجذب دوکسوروبیسین کافی است و در حجم‌های بالاتر به دلیل رقیق شدن، کارایی استخراج کاهش پیدا می‌کند و در حجم کمتر از ۳۰۰ میکرو لیتر عمل واجذب و شویش به خوبی صورت نمی‌گیرد. بنابراین حجم ۳۰۰ میکرو لیتر به عنوان حجم حلال واجذب کننده انتخاب گردید.

اثر زمان جذب و واجذب دارو بر روی جاذب

عامل دیگر تأثیرگذار در فرآیند پیش تغلیظ زمان جذب است، یعنی مدت زمان لازم برای به تعادل رسیدن آنالیت و جاذب در داخل محلول می‌باشد. در این مرحله کوتاه‌ترین زمان ممکن برای جذب دوکسوروبیسین روی جاذب و اشباع شدن آن مورد بررسی قرار گرفت. زمان‌ها از ۲ دقیقه تا ۱۴ دقیقه بررسی شد و ۱۲ دقیقه زمان لازم برای جذب دارو از محلول بر روی جاذب به دست آمد و زمان بیشتر از آن تأثیری بر استخراج نداشت در واقع کوتاه بودن فواصل نفوذ در اثر پخش شدن نانوذرات جاذب در داخل محلول (به علت وجود همزن مغناطیسی) موجب کاهش لایه نفوذ و کاهش زمان جذب شده است. برای واجذب کامل دوکسوروبیسین از روی سطح جاذب باید زمان کافی به آن داده شود. برای بررسی زمان واجذب، زمان‌ها از ۲ تا ۱۲ دقیقه بررسی شد و زمان ۸ دقیقه برای به تعادل رسیدن آنالیت با حلال استخراجی (زمان واجذب بهینه) به دست آمد.

اثر سرعت همزن مغناطیسی در مرحله جذب و واجذب

از پارامترهای مؤثر بر تعادل آنالیت بین محلول و جاذب، سرعت بهم زدن محلول است. همزدن محلول باعث سرعت جذب آنالیت بر روی جاذب و افزایش کارایی استخراج می‌شود. همان‌طور که در شکل ۴ دیده می‌شود ۸۰۰ دور بر دقیقه سرعت مناسب برای چرخش همزن مغناطیسی در مرحله جذب انتخاب می‌شود.



شکل ۴. اثر سرعت همزن مغناطیسی در مرحله جذب

هنگامی که در مرحله واجذب آنالیت در تماس با حلال استخراج کننده قرار می‌گیرد، سرعت رسیدن حلال به سطح جاذب بفرآیند واجذب اثر می‌گذارد و زمان رسیدن به تعادل بین حلال و آنالیت را کوتاه می‌کند در این پژوهش تعداد دوره‌های ۲۰۰ دور در دقیقه تا ۱۰۰۰ دور در دقیقه بررسی گردید که تعداد ۸۰۰ دور بر دقیقه به عنوان بهترین سرعت در مرحله واجذب در نظر گرفته شد.

ارزیابی کمی روش و اندازه‌گیری پارامترهای تجزیه‌ای

پارامترهایی که می‌توان به کمک آنها روش‌های تجزیه‌ای را ارزیابی کرد ارقام شایستگی روش نامیده می‌شوند که شامل دقت، حد تشخیص، محدوده خطی، درصد بازیابی می‌باشند.

غلظت‌های مشخصی از دارو را از محلول مادر تهیه کرده و در شرایط بهینه شده استخراج را انجام داده و جذب مربوطه یادداشت می‌شود. همچنین یک نمونه بدون مجهول را به عنوان نمونه شاهد^۱ تهیه نموده و استخراج انجام می‌شود تا حد تشخیص^۲ به دست آید. نتایج به دست آمده از جذب دارو بر حسب غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد در محدوده ۰/۰۶ تا ۶/۵ میلی گرم بر لیتر خطی می‌باشد. معادله خطی به صورت $A = 0.12C - 0.0045$ که A میزان جذب و C مقدار غلظت دارو را مشخص می‌کند و ضریب همبستگی محدوده خطی ۰/۹۹۵ می‌باشد.

برای تعیین حد تشخیص روش، تعداد ۸ نمونه شاهد در شرایط استخراج یکسان تهیه شدند و روند استخراج در شرایط بهینه انجام و اندازه‌گیری جذب نمونه‌ها توسط دستگاه مرئی - فرابنفش صورت می‌گیرد. حد تشخیص از رابطه

¹ Blank

² Detection of limit (LOD)

سه برابر انحراف استاندارد شاهد تقسیم بر شیب منحنی کالیبراسیون ($LOD=3S_b/m$) به دست می‌آید. حد تشخیص روش ۰/۰۱۸ میلی گرم بر لیتر تعیین می‌شود.

برای محاسبه دقت روش، محلول‌هایی با غلظت ۰/۵ میلی گرم بر لیتر از دارو ۱۰ بار استخراج و مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. بعد از به دست آوردن انحراف استاندارد داده‌ها و تقسیم آن بر میانگین داده‌ها مقدار دقت روش به صورت درصد انحراف استاندارد نسبی برابر ۲/۸ درصد به دست می‌آید.

فاکتور تغلیظ و درصد بازیابی روش

فاکتور تغلیظ عبارتست از غلظت آنالیت بعد از استخراج به غلظت آن در فاز آبی. که میزان این فاکتور، میزان غلظت گونه مورد نظر را در طی استخراج نشان می‌دهد.

$$E_f = C_a / C_d$$

شیب منحنی کالیبراسیون قبل از استخراج / شیب منحنی کالیبراسیون بعد از استخراج = فاکتور تغلیظ مقدار فاکتور تغلیظ در این روش ۵۸ به دست می‌آید.

درصد بازیابی از نسبت مجموع تعداد مول‌های آنالیت پس از استخراج به تعداد مول‌های آنالیت قبل استخراج تعریف می‌شود. میزان بازیابی از فرمول زیر به دست می‌آید.

$$E_R = (V_{org} / V_{aq}) E_f \times 100$$

$$100 \times \text{فاکتور تغلیظ} \times (\text{حجم اولیه محلول} / \text{حجم نهایی محلول}) = \text{درصد بازیابی استخراج}$$

$$E_R = (0.3/20) \times 58 \times 100 = 87$$

بنابراین درصد بازیابی ۸۷ به دست می‌آید.

کاربرد تجزیه‌ای

چهار نمونه حقیقی شامل آب شهر سبزوار و ادرار به عنوان نمونه‌های حقیقی جهت ارزیابی کارایی روش، مورد آزمایش قرار داده می‌شود. مقدار مشخصی از دوکسوروبیسین به نمونه‌ها افزوده می‌شود و استخراج آن با اکسید گرافن انجام می‌شود و میزان دوکسوروبیسین در این محلول‌ها اندازه‌گیری می‌شود. با توجه به مقدار به دست آمده که در جدول ۱ نشان داده شده است مقدار بازیابی روش ۸۲ تا ۸۶ درصد محاسبه می‌شود.

جدول ۱. بررسی میزان بازیابی مقدار دوکسوروبیسین در آب شهر و ادرار

نمونه	دوکسوروبیسین افزوده شده (میلی گرم بر لیتر)	دوکسوروبیسین اندازه گیری شده (میلی گرم بر لیتر)	درصد بازیابی
آب شهر ۱	۲/۰	۱/۷۲	۸۶
آب شهر ۲	۵/۰	۴/۲۵	۸۵
ادرار ۱	۲/۰	۱/۶۷	۸۳/۵
ادرار ۲	۵/۰	۴/۱	۸۲

نتیجه گیری

استخراج با فاز جامد یک روش برای پیش تغلیظ و استخراج آنالیت‌ها می‌باشد. این روش از محبوب‌ترین تکنیک‌های ساده‌سازی بافت نمونه می‌باشد؛ به دلیل عواملی مانند راحتی، هزینه پایین، صرفه‌جویی در وقت و مصرف کم حلال، این روش در سال‌های اخیر از اهمیت زیادی برخوردار شده است. در حال حاضر انواع مختلفی از جاذب‌ها برای استخراج با فاز جامد وجود دارد. موادی را که توسط ذرات جامد استخراج می‌شوند می‌توان با شستشو توسط یک حلال مناسب جدا کرد. حجم حلال مورد نیاز برای شستشوی کامل آنالیت، بسیار کمتر از حجم نمونه اصلی می‌باشد و بدین ترتیب نمونه از آنالیت تغلیظ می‌شود. در این کار از اکسیدگرافن به عنوان جاذب استفاده شد و همچنین از وسایل ساده و مقدار کم حلال آلی برای استخراج دوکسوروبیسین و شناسایی آن با دستگاه مرئی-فرابنفش استفاده شده است که بهره‌زایی، صحت و تکرارپذیری خوبی دارد. محدوده خطی روش بین ۰/۰۶ تا ۶/۵ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. با توجه به این که طیف سنج مرئی-فرابنفش یک آشکارساز در اکثر روش‌های دیگر مانند سیستم اندازه‌گیری با کروماتوگرافی نظیر کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا می‌باشد اهمیت انجام این تحقیق را نشان می‌دهد.

References

- [1] Arcamone, F., Franceschi, G., Penco, S., & Selva, A. (1969). Adriamycin (14-hydroxydaunomycin), a novel antitumor antibiotic. *Tetrahedron Letters*, 10(13), 1007-1010. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)97723-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)97723-8)
- [2] Lien, C-Y., Jensen, B. T., Hydock, D. S., & Hayward, R. (2015). Short-term exercise training attenuates acute doxorubicin cardiotoxicity. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 71(4), 669-678. <https://doi.org/10.1007/s13105-015-0432-x>
- [3] Ascensão, A., Oliveira, P. J., & Magalhães, J. (2012). Exercise as a beneficial adjunct therapy during Doxorubicin treatment—Role of mitochondria in cardioprotection. *International Journal of Cardiology*, 156(1), 4-10. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2011.05.060>
- [4] Öztürk Er, E., Dalgıç Bozyiğit, G., Büyükpınar, Ç., & Bakırdere, S. (2022). Magnetic Nanoparticles Based Solid Phase Extraction Methods for the Determination of Trace Elements. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 52(2), 231-249. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1797465>
- [5] Wu, A., Zhao, X., Wang, J., Tang, Z., Zhao, T., Niu, L., Yu, W., Yang, C., Fang, M., Lv, H., Liu, S., & Wu, F. (2021). Application of solid-phase extraction based on magnetic nanoparticle adsorbents for the analysis of selected persistent organic pollutants in environmental water: A review of recent advances. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 51(1), 44-112. <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1720493>
- [6] Khatibi, S. A., Hamidi, S., & Siah-Shadbad, M. R. (2021). Current trends in sample preparation by solid-phase extraction techniques for the determination of antibiotic residues in foodstuffs: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(20), 3361-3382. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1798349>
- [7] Mousazadeh Moghaddam, I. (2018). Investigation of Zolof Drug Delivery between Solid and Liquid Phase and In vivo Study of Active Pharmaceutical Ingredient with Laboratory Technics. *Karafan Quarterly Scientific Journal*, 15(2), 27-36. https://karafan.tvu.ac.ir/article_100520.html?lang=en
- [8] Feist, B., & Sitko, R. (2019). Fast and sensitive determination of heavy metal ions as batophenanthroline chelates in food and water samples after dispersive micro-solid

- phase extraction using graphene oxide as sorbent. *Microchemical Journal*, 147, 30-36. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.03.013>
- [9] Wu, F.-C., Tseng, R.-L., & Juang, R.-S. (2005). Preparation of highly microporous carbons from fir wood by KOH activation for adsorption of dyes and phenols from water. *Separation and Purification Technology*, 47(1-2), 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2005.03.013>
- [10] Sun, L., Zhang, C., Chen, L., Liu, J., Jin, H., Xu, H., & Ding, L. (2009). Preparation of alumina-coated magnetite nanoparticle for extraction of trimethoprim from environmental water samples based on mixed hemimicelles solid-phase extraction. *Analytica Chimica Acta*, 638(2), 162-168. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.02.039>
- [11] Marzi Khosrowshahi, E., Limuie Khosrowshahi, B., Farajzadeh, M. A., Jouyban, A., Tuzen, M., Afshar Mogaddam, M. R., & Nemati, M. (2022). Application of microcrystalline cellulose as an efficient and cheap sorbent for the extraction of metoprolol from plasma and wastewater before HPLC-MS/MS determination. *Biomedical Chromatography*, 36(7), e5371. <https://doi.org/10.1002/bmc.5371>
- [12] Farhad-Gholami, N., Hashemi-Moghaddam, H., Shaabanzadeh, M., Zavareh, S., & Madanchi, H. (2023). Sustained doxorubicin delivery system to breast tumor cancer cell based on a novel cationic molecularly imprinted polymer. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 72(4), 335-344. <https://doi.org/10.1080/00914037.2021.2008392>
- [13] Shi, Y., Wang, Y., Zhu, J., Liu, W., Khan, M. Z. H., & Liu, X. (2020). Molecularly imprinting polymers (MIP) based on nitrogen doped carbon dots and mL-101 (Fe) for doxorubicin hydrochloride delivery. *Nanomaterials*, 10(9), 1655. <https://doi.org/10.3390/nano10091655>
- [14] Darroudi, A. (2022). Ultra-preconcentration technique for the determination of thallium (I) in water samples by a combination of thallium (I)-imprinted polymer and vortex-assisted liquid-liquid microextraction. *Microchemical Journal*, 179, 107527. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107527>
- [15] Prasad, G. K., Mahato, T. H., Pandey, P., Singh, B., Suryanarayana, M. V. S., Saxena, A., & Shekhar, K. (2007). Reactive sorbent based on manganese oxide nanotubes and nanosheets for the decontamination of 2-chloro-ethyl ethyl sulphide. *Microporous and Mesoporous Materials*, 106(1-3), 256-261. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2007.03.004>
- [16] Hu, B., He, M., & Chen, B. (2015). Nanometer-sized materials for solid-phase extraction of trace elements. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(10), 2685-2710. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8429-9>
- [17] Wierucka, M., & Biziuk, M. (2014). Application of magnetic nanoparticles for magnetic solid-phase extraction in preparing biological, environmental and food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 59(2), 50-58. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.04.007>
- [18] Farboudi, A., Mahboobnia, K., Chogan, F., Karimi, M., Askari, A., Banihashem, S., Davaran, S., & Irani, M. (2020). UiO-66 metal organic framework nanoparticles loaded carboxymethyl chitosan/poly ethylene oxide/polyurethane core-shell nanofibers for controlled release of doxorubicin and folic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 178-188. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.067>
- [19] Aunkor, M. T. H., Mahbulul, I. M., Saidur, R., & Metselaar, H. S. C. (2016). The green reduction of graphene oxide. *Royal Society of Chemistry Advances*, 6(33), 27807-27828. <https://doi.org/10.1039/C6RA03189G>

- [20] Nauman Javed, R. M., Al-Othman, A., Tawalbeh, M., & Olabi, A. G. (2022). Recent developments in graphene and graphene oxide materials for polymer electrolyte membrane fuel cells applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 168(9), 112836. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112836>
- [21] Darroudi, A., Nazari, S., Marashi, S. A., & Abad, M. K. N. (2022). Determination of simvastatin by voltammetry method at screen-printed electrode modified by graphene oxide nanosheets and sodium dodecyl sulfate. *Journal of The Electrochemical Society*, 169(2), 026501. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ac4b1d>
- [22] Yu, W., Sisi, L., Haiyan, Y., & Jie, L. (2020). Progress in the functional modification of graphene/graphene oxide: A review. *RSC Advances*, 10(26), 15328-15345. <https://doi.org/10.1039/D0RA01068E>
- [23] Joshi, D. J., Koduru, J. R., Malek, N. I., Hussain, C. M., & Kailasa, S. K. (2021). Surface modifications and analytical applications of graphene oxide: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 144, 116448. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116448>
- [24] Hoseini-Ghahfarokhi, M., Mirkiani, S., Mozaffari, N., Abdolahi Sadatlu, M. A., Ghasemi, A., Abbaspour, S., Akbarian, M., Farjadian, F., & Karimi, M. (2020). Applications of Graphene and Graphene Oxide in Smart Drug/Gene Delivery: Is the World Still Flat? *International Journal of Nanomedicine*, 15, 9469-9496. <https://doi.org/10.2147/IJN.S265876>