

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۱۲۸۲، ۲



دانشکده علوم

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

گرایش شیمی تجزیه

عنوان پایان نامه:

پیش تغلیظ، جداسازی و اندازه گیری متیل فنیدات (ریتالین) در نمونه های آبی توسط روش میکرواستخراج انتشاری فاز مایع همراه با طیف نورسنجی

(فرابنفش / مرئی - دکتور آرایه فتودایودی)

استاد راهنما:

دکتر زرین اسحاقی

استاد مشاور:

دکتر حسین توللی

۱۳۸۸/۱۰/۷

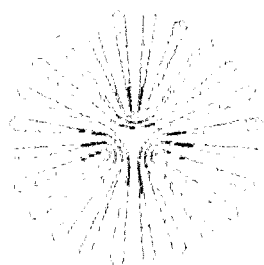
استاد محترم دکتر زرین اسحاقی
مستشار ارشد

محقق:

الناز حق نظر

تابستان ۸۸

۱۲۸۴۰۲



دانشگاه پیام نور

بسمه تعالی

تصویب پایان نامه کارشناسی ارشد

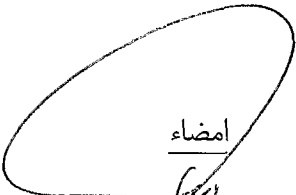



پایان نامه تحت عنوان : جداسازی و اندازه گیری داروی متیل فنیدات (ریتالین) در نمونه های آبی به روش میکرو استخراج فلز مایع انتشاری و بهینه سازی آن به روش طراحی آزمایش که توسط خانم الناز حق نظر در مرکز شیراز تهیه و به هیأت داوران ارائه گردیده است مورد تأیید می باشد.

درجه ارزشیابی : عالی

نمره: ۱۹/۳

تاریخ دفاع: ۸۸/۶/۲۶

اعضای هیأت داوران:

<u>امضاء</u>	<u>مرتبۀ علمی</u>	<u>هیأت داوران</u>	<u>نام و نام خانوادگی</u>
	استادیار	دکتر زرین اسحاقی	۱- استاد راهنما
	دانشیار	دکتر حسین توللی	۲- استاد مشاور
	استاد	دکتر عبدالکریم عباس پور	۳- استاد داور
	استادیار	دکتر سید احمد رضوی زاده	۴- نماینده تحصیلات تکمیلی

۱۳۸۸/۱۰/۷

تقدیم بہ روح والای پدر عزیزم:

اوکہ حضورش نور حیاتم، کردارش آموزگار زندگانی ام و گفتارش پشتوانہ راہم بود

و کنون یادش جلائی روحم و پرتو دعایش روشن کر راہم

و

دکنسٹیم بی پایان...

برای مادر عزیزم:

به پاس تعبیر عظیم و انسانی اش از کلمه اثار و از خودگذشتگی

به پاس محبت های بی دریغش که هرگز فروکش نمی کند

و به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودش که در این سردترین روزگار ان بهترین پشتیبان است.

تقدیر و شکر

پس پروردگار جهانیان را که نور هدایتش را در وجودم تجلی ساخت تا گام در این عرصه بگذارم و هر چه دارم از اوست.
در پایان راهی که پیموده ام لازم می‌دانم از تمامی کسانی که در پیمودن راه یاریم نموده اند شکر و قدردانی بنمایم.
شکر خالصانه از مادر بزرگ مهربانم، فرشته مهربان الهی، که وجودش تفسیر آیه محبت است و بی حضور و دگر می‌ایم نمودن این مسیر ممکن نبود.
شکر و سپاس صمیمانه از برای و دل‌سوزی برادر عزیزم که همیشه همراه و حامی ام بوده و هست و در لحظه لحظه زندگی بیچ‌گاه تنهایم نگذاشت.
استان قلبی خود را در والاترین جایگاه پاسکزاری به استاد عزیز و کرانقدر سرکار خانم دکتر اسحاقی تقدیم می‌دارم که بدون شک، انجام این پروژه جز در سایه حمایت‌های خالصانه و بزرگواران ایشان میسر نبود.
مراتب قدردانی از جناب آقای دکتر توتلی که در طول مدت این پروژه، مساعدت بزرگواران ایشان، همواره شامل حالم بوده است.
سپاس فراوان از مسئولین محترم، اساتید بزرگواردوستان نجوم در مرکز شیراز و مشهد که در طول این دوره لطفتان شامل حالم بوده و اگر نبود
حکام این بزرگواران در طی طریق مشکلات زیادی نمایان می‌گشت.
برای تمامی این بزرگواران و سایر عزیزانی که به نوعی مرا مورد لطف و محبت خود قرار داده اند از خدای متعال طلب اجر اخروی می‌نمایم.



متیل فنیدات	MPH
حد تشخیص	LOD
میلی لیتر	mL
میکرولیتر	μL
قسمت در میلیون	ppm
ضریب همبستگی	R
انحراف استاندارد نسبی	RSD
استخراج با فاز جامد	SPE
میکرواستخراج فاز جامد	SPME
میکرو استخراج از فاز مایع با قطره	SD-LPME
میکرواستخراج با قطره در فضای فوقانی	HS- SDME
دور بر دقیقه	rpm
میکروگرم بر میلی لیتر	$\mu\text{g.mL}^{-1}$
میکرو استخراج مستقیم با قطره معلق در محلول	DSDME
میکرواستخراج مایع - مایع پراکنده شده	DLLME
میکرواستخراج مایع با استفاده از فیبر توخالی	HF-LPME
میکرو استخراج فاز مایع انتشاری	DLPME

فهرست مطالب

فصل اول: کلیاتی در مورد ریتالین، داروی مورد اندازه گیری

- ۱-۱- متیل فنیدات (ریتالین)..... ۲
- ۲-۱- خواص فیزیکی..... ۲
- ۳-۱- نحوه عملکرد و جذب دارو در بدن..... ۴
- ۴-۱- موارد مصرف..... ۴
- ۵-۱- عوارض جانبی مصرف دارو ۶
- ۱-۵-۱- شایع ترین عوارض مصرف خودسرانه این دارو..... ۶
- ۶-۱- میزان مصرف..... ۸
- ۳-۲- ضرورت اندازه گیری بقایای داروها در آب..... ۸

فصل دوم: مروری بر روش های آماده سازی نمونه و استخراج

- ۲-۱- مقدمه..... ۱۱
- ۲-۲- استخراج..... ۱۳
- ۲-۲-۱- مراحل استخراج و نمونه برداری..... ۱۴
- ۲-۲-۱-۱- استخراج و اندازه گیری آنالیت ها در فاز گازی..... ۱۴
- ۲-۲-۱-۲- استخراج آنالیت ها از نمونه های جامد..... ۱۵
- ۲-۲-۱-۳- استخراج آنالیت ها از فاز محلول..... ۱۵
- ۲-۲-۱-۳-۱- روش استخراج با فاز جامد (SPE)..... ۱۶
- ۲-۲-۱-۳-۱-۱- مزایای استخراج با فاز جامد (SPE)..... ۱۷
- ۲-۳- تاریخچه استخراج مایع- مایع..... ۱۸

۱۹	۴-۲- اصول استخراج مایع- مایع.....
۱۹	۵-۲- اصطلاحات و تعاریف عمومی استخراج.....
۱۹	۲-۵-۱- ضریب توزیع.....
۲۰	۲-۵-۲- ضریب گزینش پذیری.....
۲۱	۲-۵-۳- درصد استخراج.....
۲۱	۲-۵-۴- فاکتور غنی سازی.....
۲۲	۲-۶- عوامل موثر در انتخاب حلال.....
۲۳	۲-۷- روش های میکرواستخراج.....
۲۳	۲-۷-۱- میکرواستخراج با فاز جامد (SPME).....
۲۵	۲-۷-۱-۱- مزایا و معایب میکرواستخراج با فاز جامد.....
۲۶	۲-۷-۲- روش های میکرواستخراج با فاز مایع (LPME).....
۲۸	۲-۷-۲-۱- انواع روش های میکرواستخراج فاز مایع بدون استفاده از غشاء.....
۲۸	۲-۷-۲-۱-۱- قطره در تماس با محلول (DI-SDME).....
۲۹	۲-۷-۲-۱-۲- سیستم های سه فازی.....
۳۱	۲-۷-۲-۱-۳- میکرواستخراج در فضای فوقانی (HS-SDME).....
۳۳	۲-۷-۲-۲- روش میکرواستخراج مایع-مایع پراکنده شده (DLLME).....
۳۵	۲-۷-۲-۳- میکرواستخراج مستقیم با قطره معلق در محلول (DSDME).....
۳۷	۲-۷-۲-۴- میکرواستخراج فاز مایع بوسیله فیبر توخالی.....
۳۹	۲-۷-۲-۴-۱- استخراج دینامیکی (DHF-LPME).....

فصل سوم: بخش تجربی و نتایج

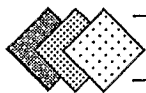
۴۳	۳-۱- دستگاه ها و وسایل مورد استفاده.....
۴۳	۳-۲- مواد شیمیایی.....
۴۴	۳-۳- تهیه محلول های استاندارد.....

- ۴-۳-۴- روش میکرواستخراج مایع- مایع انتشاری (DLPME)..... ۴۴
- ۳-۳-۵- بهینه سازی پارامترهای دستگاهی..... ۴۶
- ۳-۳-۵-۱- تعیین طول موج ماکزیمم متیل فنیدات (ریتالین) قبل و بعد از استخراج..... ۴۶
- ۳-۳-۶- بحث و بررسی نتایج..... ۴۸
- ۳-۳-۶-۱- بهینه نمودن شرایط میکرو استخراج..... ۴۸
- ۳-۳-۶-۱-۱- اثر pH فاز دهنده..... ۴۸
- ۳-۳-۶-۱-۲- اثر نوع و حجم حلال استخراج کننده..... ۵۱
- ۳-۳-۶-۱-۳- اثر نوع و حجم حلال انتشار دهنده..... ۵۳
- ۳-۳-۶-۱-۴- اثر سرعت و زمان سانتریفیوژ..... ۵۵
- ۳-۳-۶-۱-۵- تعیین محدوده خطی..... ۵۶
- ۳-۳-۶-۲- اندازه گیری های کمی..... ۵۷
- ۳-۳-۶-۲-۱- حد تشخیص (LOD)..... ۵۷
- ۳-۳-۶-۲-۲- دقت..... ۵۸
- ۳-۳-۶-۲-۳- محاسبه فاکتور غنی سازی..... ۵۹
- ۳-۳-۶-۳- تجزیه نمونه های حقیقی..... ۶۱
- ۳-۳-۶-۴- محاسبه بازیابی نسبی در نمونه های حقیقی..... ۶۱
- ۳-۳-۷- نتیجه گیری..... ۶۳

فصل چهارم: بهینه سازی میکرواستخراج فاز مایع انتشاری داروی متیل فنیدات از نمونه های آبی به روش طراحی آزمایش

- ۴-۱- مقدمه..... ۶۶
- ۴-۲- شیمی سنجی (کمومتریکس)..... ۶۷
- ۴-۳- هدف از پژوهش..... ۷۰

۷۱ طراحی آزمایش
۷۴ غربالگری
۷۵ طراحی فاکتوریل کامل
۸۰ طراحی فاکتوریل کاهش یافته
۸۰ طراحی فاکتوریل کسری
۸۳ بهینه سازی
۸۴ طراحی های همزمان
۸۵ طرح ریزی کمی
۸۵ بخش تجربی
۹۴ تعیین محدوده خطی
۹۵ تجزیه نمونه های حقیقی
۹۷ بحث و نتیجه گیری
۹۹ پیشنهادات
۱۰۰ مراجع



چکیده

در سالهای اخیر اندازه‌گیری بقایای داروهای پر مصرف در نمونه‌های آبی از اهمیت به سزایی برخوردار است، زیرا اثرات این مواد بر محیط زیست و نقش تعیین کننده آنها در تخریب‌های بیولوژیکی هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است. در این راستا اندازه‌گیری بقایای داروی متیل فنیدات (ریتالین) در نمونه‌های آبی هدف اصلی این تحقیق بوده است که این دارو در سالهای اخیر برای درمان کودکانی که دچار اختلال بیش فعالی همراه با نقص توجه هستند (ADHD¹) بسیار پر مصرف بوده است. در این تحقیق یک روش ساده و جدید میکرو استخراج فاز مایع برای پیش تغلیظ و استخراج این دارو از نمونه‌های آبی بکار گرفته شده است. به این منظور روش جدید میکرو استخراج فاز مایع انتشاری (DLPME²) همراه با روش طیف نور سنجی فرابنفش/ مرئی و دتکتور آرایه فتودایودی مورد استفاده واقع شده است. این روش که بر مبنای دو روش میکرو استخراج همگن و تفرقی پایه گذاری شده است، از چند میکرو لیتر حلال آلی استخراج کننده مناسب که دانسیته کمتری از آب دارد به عنوان عامل اصلی استخراج و از یک حلال آلی انتشار دهنده که قابلیت برهم کنش با هر دو حلال آلی و آبی را دارد (در حد میلی لیتر)، استفاده می‌نماید و این دو حلال پس از اختلاط به سرعت به محلول آبی نمونه افزوده می‌شوند و عمل استخراج انجام می‌شود. این روش ارزان، ساده، سریع و دارای فاکتور غنی‌سازی بالاست و با محدوده گسترده‌ای از مواد شیمیایی مهم و همچنین با بسیاری از روش‌های دستگاهی موجود نیز همخوانی دارد در این روش از یک سیستم سه جزئی مایع استفاده می‌شود که شامل یک حلال آلی غیر قابل امتزاج و سبک‌تر از آب (اکتانول) به عنوان حلال

1- Attention-deficit hyperactiviti

2- Diffusive liquid-liquid microextraction



استخراج کننده و یک حلال انتشاردهنده (استون) و نمونه آبی حاوی آنالیت می‌باشد. حلال آلی استخراج کننده و حلال انتشار دهنده با یکدیگر مخلوط شده و به سرعت به نمونه آبی افزوده می‌شوند. حلال استخراج کننده، اکتانول، به کمک حلال انتشاردهنده، استون، به سرعت داخل محلول آبی پخش شده و در نتیجه محلول کدر و ابری شکلی تشکیل می‌شود. پس از سانتریفیوژ کردن محلول، حلال استخراج کننده که حاوی آنالیت نیز می‌باشد به صورت یک قطره کوچک روی سطح محلول قرار گرفته و توسط میکرو سرنگ استخراج شده و پس از رقیق‌سازی به دستگاه طیف نور سنج فرابنفش / مرئی ارائه می‌شود و به این طریق داروی مذکور اندازه‌گیری شده است. پارامترهای مؤثر بر استخراج مانند pH، نوع حلال آلی استخراج کننده، حلال انتشاردهنده، حجم فازها، سرعت و زمان سانتریفیوژ کردن محلول حاوی آنالیت بهینه گردیده است. بهترین شرایط استخراج به دو روش سنتی یک متغیر در یک زمان^۱ و روش جدید آماری طراحی آزمایش^۲ مشخص گردید و سپس تحت شرایط بهینه حاصل شده، بررسی‌ها و اندازه‌گیری‌های کمی این دارو انجام شد. این روش از مزایای بسیاری مانند؛ زمان کوتاه استخراج، مصرف کم حلال‌های آلی و فاکتور غنی-سازی بالا برخوردار است. همچنین از تکرار پذیری خوبی برخوردار می‌باشد. نتایج گزارش شده به-ترتیب برای روش‌های یک متغیر در یک زمان و چند متغیر به‌طور هم‌زمان می‌باشد. فاکتورهای تغلیظ ۹۵/۲ و ۱۴۵/۰ بدست آمده است. انحراف استاندارد نسبی برای غلظت های $10/0-0/4 \mu\text{g.ml}^{-1}$ و $0/1-0/0$ متیل فنیدات در آب کمتر از ۵/۵ و ۴/۵ (n=۵) بوده است.

فصل اول

کلیاتی در مورد ریتالین، داروی مورد اندازه گیری



۱-۱- متیل فنیدات (ریتالین)^۱

متیل فنیدات (MPH) با نام تجاری «ریتالین» توسط کمپانی داروسازی نوارتیس^۲ در سال ۱۹۵۴ به بازار دارویی دنیا عرضه شد. در ابتدا قرار بود این دارو برای درمان افسردگی، خواب آلودگی در طول روز و سندرم خستگی مزمن استفاده شود. اما به تدریج با پیشرفت علم و تجربه‌های گوناگون مشخص شد می‌توان از این دارو در درمان کودکانی که دچار اختلال بیش‌فعالی همراه با نقص توجهی^۳ هستند (ADHD) نیز استفاده کرد [۱]. قرص «ریتالین» خواصی شبیه ترکیبات آمفتامین (که یکی از این مشتقات اکستازی می‌باشد) دارد و اولین موارد مصرف آن در کالج‌های آمریکا گزارش شده است که دانشجویان به دلیل تأثیر آن در درمان خواب آلودگی در طول روز، برای درس خواندن و غیره چند عدد از این قرص‌ها را مصرف می‌کردند [۲-۳].

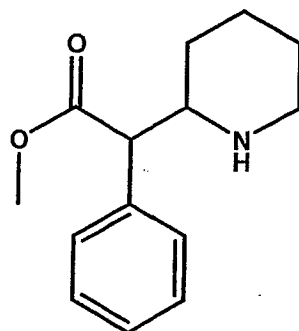
۱-۲- خواص فیزیکی

متیل فنیدات پودری کریستالی، سفید رنگ، بی بو و بدون طعم است. نقطه ذوب آن ۲۲۴ درجه سانتیگراد است و حلالیت آن در آب و متانول خیلی خوب و قابلیت حل شدن آن در کلروفرم و استون کم می‌باشد. مشخصات دیگر این ماده در جدول (۱-۱) بیان شده است [۴-۶]. ساختار مولکولی و سه بعدی متیل فنیدات به ترتیب در شکل‌های (۱-۱) و (۲-۱) نشان داده شده است [۵-۹].

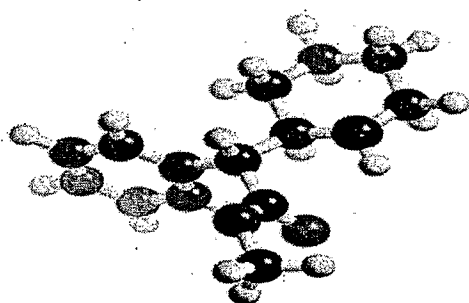
1-Methylphenidate (Ritalin)

2-Novartis

3-Attention-deficit hyperactivity disorder



شکل (۱-۱) ساختار مولکولی متیل فنیدات



شکل (۲-۱) ساختار سه بعدی متیل فنیدات

جدول (۱-۱) برخی از ویژگی های متیل فنیدات (ریتالین) [۸]

نقطه ذوب °C	جرم مولکولی g/mol	فرمول مولکولی	نام IUPAC	نام گونه
۲۲۴	۲۳۳/۲۷	C ₁₄ H ₁₉ NO ₂	methyl 2-phenyl-2-(2-piperidyl)acetate	متیل فنیدات (ریتالین)



۱-۳- نحوه عملکرد و جذب دارو در بدن

داروهایی مانند متیل فنیدات (MPH) و آمفتامین^۱ (AMP) میزان دوپامین^۲ خارج سلولی را در مغز افزایش می‌دهند و همچون کوکائین^۳ و متامفتامین^۴ جزء رایج‌ترین داروهایی هستند که در مصرف آنها استفاده سوء شده است. MPH دو مرکز کایرال دارد و به صورت یک مخلوط راسمیک می‌باشد [۱۰]. اگر چه مکانیسم واقعی عملکرد آن به طور کامل مشخص نشده است اما این گونه فرض شده است که متیل فنیدات (مانند کوکائین) دوپامین مغز را با انسداد انتقال دهنده‌های دوپامین و آمفتامین (مانند متامفتامین) افزایش می‌دهد و به همین دلیل این دارو برای بیماران بیش فعال با نقص توجه که از یک نقص در سیستم دوپامین رنج می‌برند، تجویز می‌شود [۱۱-۱۵].

۱-۴- موارد مصرف

قرص‌های ریتالین در وهله اول برای درمان یکی از انواع اختلالات روانی دوران کودکی به نام بیش‌فعالی همراه با نقص توجه استفاده می‌شوند، در مواقعی نیز توسط پزشکان برای درمان بیماران مبتلا به حمله خواب تجویز می‌شود. همچنین ریتالین به عنوان دارویی با اثر سریع در درمان افسردگی کاربرد دارد. ولی در سال‌های اخیر مصرف خود سرانه این دارو در کشورها رو به افزایش گذاشته

-
- 1- Amphetamine
 - 2- Dopamine
 - 3- Cocaine
 - 4- Metamphetamine



است که عدم آگاهی از عوارض این دارو می‌تواند نگران‌کننده باشد. کاربرد دیگر ریتالین برای افراد مسنی است که به علت کهولت، قسمت عمده شبانه‌روز را در خواب به سر می‌برند. آنها با مصرف این دارو در ابتدای روز هوشیاری خود را حفظ می‌کنند [۶-۸]. در سالهای اخیر گزارش‌های متعددی وجود دارد که برخی از شاغلین به تحصیل برای بیدار ماندن در شب‌های امتحان به جای مصرف قهوه و چای از قرص‌های ریتالین استفاده می‌کنند. شواهد متعدد حاکی از آن است که این افراد از این قرص‌ها استفاده می‌کنند تا بتوانند چندین ساعت متوالی بیدار بمانند و به شکل غیر طبیعی تمرکز خود را در مدت طولانی حفظ کنند [۷-۸].



۱-۵- عوارض جانبی مصرف دارو

ریتالین دارویی است که توسط پزشکان تجویز می‌شود، مصرف کنندگان تصور می‌کنند که این قرص‌ها بی‌خطرند و مضرات مواد مخدر را ندارند. در حالی که عوارض خودسرانه مصرف این قرص‌ها می‌تواند در حد مواد دیگر نظیر کوکائین و آمفتامین باشد. پزشکان و روانپزشکان با صراحت اعلام می‌کنند ترک کردن داروهای محرک آمفتامینی نظیر ریتالین و اکستازی، بسیار سخت‌تر و پیچیده‌تر از کراک، هروین و سایر مواد مخدر است. استفاده محدود و کنترل شده ریتالین حتی باعث عادت کردن بدن مصرف کننده به دوزهای پایین و در نتیجه ایجاد علاقه فرد به استفاده از دوزهای بالاتر حتی مصرف داروهای سنگین‌تر و خطرناک‌تر می‌شود.

۱-۵-۱- شایع ترین عوارض مصرف خودسرانه این دارو

- عصبی شدن و بی‌خوابی
- حالت تهوع و استفراغ
- تغییرات ضربان قلب و فشار خون (که معمولاً به صورت افزایش است ولی در مواردی نیز به شکل کاهش دیده می‌شود).
- خارش و جوش‌های پوستی
- دردهای شکمی، کاهش وزن و مشکلات معده
- مصرف دایمی و اعتیاد(وابستگی)
- بروز حالت‌های روان پریشی (جنون) و علایم وابستگی به ریتالین
- بروز افسردگی پس از قطع مصرف
- از دست دادن اشتها و سوء تغذیه



- لرزش و پرش عضلات
 - تب، تشنج و سردرد
 - نامنظم شدن ضربان قلب و تنفس که در مواردی می‌تواند به شکل خطرناکی ادامه پیدا کند.
 - تکرار حرکات و اعمال بی هدف
 - بروز حالت‌های پارانوئید (سوء ظن)، توهم و هذیان
 - احساس حرکت و جنبش حشرات در زیر پوست
 - مرگ (تاکنون در چند مورد سوء مصرف ریتالین منجر به مرگ شده است) [۱۶-۱۷].
- اکثر این عوارض پس از چند هفته از شروع درمان از بین می‌روند، ولی در صورت استمرار علائم می‌توان دوز دارو را کاهش داد. بسیار مهم است که به کودک، والدین و معلمین وی آموزش داده شود که گرچه با مصرف داروها علائم برطرف می‌شود اما این امر به معنی از بین رفتن بیماری نیست و کودک با وجود از بین رفتن علائم باید داروها را مصرف کند. هشتاد درصد کودکانی که دارو مصرف می‌کنند به ادامه دارو در دوره نوجوانی و پنجاه درصد به ادامه دارو در دوره بزرگسالی نیاز دارند. این داروها به کودک کمک می‌کنند تا بهتر تمرکز کند و وظایفش را کامل انجام دهد، اما نمی‌توانند اطلاعات مهارت‌های کودک را افزایش دهند. در واقع این داروها تنها به کودک کمک می‌کنند تا از مهارت‌هایش استفاده کند. با استفاده از روان‌درمانی در کنار مصرف این داروها می‌توانیم مهارت‌های کودک را برای حل مشکلات روزمره افزایش دهیم [۱۷].