به نام خداوند جان و خرد

دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکدهٔ شیمی

کاربرد پلیمرهای حکاکی شدهٔ مولکولی (MIPs) به عنوان فاز جامد جهت استخراج، پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری داروهای پیروکسیکام و هیدروکلروتیازید

پایان نامهٔ کارشناسی ارشد شیمی تجزیه

امید رحمانیان

استاد راهنما

دکتر بهزاد رضایی

اسفند ۱۳۸٦

سپاس پروردگارم

دید و پوشید شنید و بازگو نکرد

حسنم را بزرگ انگارید و خطایم کوچک

نعمتت را سپاس و دریغت را صدها سپاس که جرمم کاستی

سپاس که مرا پاک به سوی خود خواهی خواند

سپاس

پدرم سرورم

مادرم هستی ام

کویر زندگی ام با گل وجودتان بهار شد

بهار عمرتان در آفتاب تموز کویرم پرمرد

پر پروازم بودید در آسمان هستی

اوجم از شما و سقوطم از کاهلی

سپاس به وسعت هستی

سپاس

آموزگاران استادان دوستان و هر آن کس که حرفی آموختم

که زندگی بی نور معرفت همچو شام بی ماهتاب دهشتناک است

کلیهٔ حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوریهای ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به:

چشمه‌های جوشان محبت زندگیم،

پدر و مادر عزیزم،

آنانکه چون ترنج زیبای عشق،

در فرش دلم تا ابد جای دارند.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فهرست مطالب	هشت
فهرست اشکال	یازده
فهرست جداول	دوازده
چکیده	۱
فصل اول: اهمیت‌های داروهای اندازه‌گیری شده و کارهای انجام شده در این زمینه	
۱-۱- مقدمه‌ای درباره‌ی پیروکسیکام	۲
۱-۲- برخی از کارهای انجام شده برای اندازه‌گیری پیروکسیکام	۳
۱-۳- مقدمه‌ای درباره‌ی هیدروکلروتیازید	۵
۱-٤- برخی از کارهای انجام شده برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید	٦
فصل دوم: استخراج فاز جامد	
۲-۱- مقدمه	۱۱
۲-۲- استخراج فاز جامد	۱۲
۲-۳- تاریخچه‌ی استخراج فاز جامد	۱۳
۲-٤- انواع SPE	۱٤
۲-۵- مراحل استخراج فاز جامد	۱٤
۲-۵-۱- آماده سازی	۱٤
۲-۵-۲- بازداری یا بارگذاری	۱۵
۲-۵-۳- شستن گونه های مزاحم	۱٦
۲-۵-٤- شویش آنالیت	۱٦
۲-٦- اَشکال SPE	۱٦
۲-۷- انواع مختلف جاذب‌های SPE	۱۷
۲-۸- مقایسه SPE با استخراج مایع- مایع	۲۱
۲-۹- مزایای استخراج فاز جامد	۲۳
۲-۱۰- مقایسه بین SPE و HPLC	۲٤
۲-۱۱- کاربردهای استخراج فاز جامد	۲٦
۲-۱۱-۱- کاربردهای دیگر	۲٦
۲-۱۲- عیب‌یابی و بهینه‌سازی یک روش SPE	۲۷
۲-۱۲-۱- شستشوی ناکامل	۲۸
۲-۱۲-۲- رسوخ آنالیت هشت	۲۸
۲-۱۲-۳- گونه‌های مزاحم	۲۹
۲-۱۳- فناوری‌های جدید در استخراج فاز جامد	۲۹
۲-۱۳-۱- میکرواستخراج فاز جامد	۳۰

۲-۱٤- تئوری قفل و کلید ۳۲
۲-۱۵- تاریخچه‌ی حکاکی مولکولی ۳۳
۲-۱٦-MIPها ۳۳
۲-۱۷- اصول MIP ۳٤
۲-۱۸- روش‌های حکاکی مولکول ۳٦
۲-۱۹- روش حکاکی مولکولی غیرکووالانسی ۳۷
۲-۲۰- روش های پلیمریزاسیون ٤۱
۲-۲۱- بررسی نقش عوامل مؤثر در حکاکی مولکولی ٤۲
۲-۲۱-۱- تأثیر مولکول الگو برکیفیت حکاکی مولکولی ٤۲
۲-۲۱-۲- تأثیر پروژن بر کیفیت حکاکی مولکول ٤۳
۲-۲۱-۳- تأثیر مونومرها بر کیفیت حکاکی مولکولی ٤۳
۲-۲۱-٤- تأثیر اتصال دهنده عرضی بر کیفیت حکاکی مولکولی ٤٤
۲-۲۱-۵- تأثیر شروع کننده و دمای واکنش ٤٤
۲-۲۱-٦- تأثیر زمان ٤۵
۲-۲۲- حکاکی مولکولی برای استخراج فاز جامد (MISPE) ٤٦
۲-۲۳- جذب گزینشی ٤۷
۲-۲٤- واجذب گزینشی ٤۸
۲-۲۵- نشت مولکول الگو ٤۹
۲-۲٦- دیگر تکنیک‌های مورد استفاده با MIP ۵۰
۲-۲٦-۱- سنسورها ۵۰
۲-۲٦-۲- غشاها ۵۰
۲-۲٦-۳- کاتالیز ۵۰
۲-۲٦-٤- کروماتوگرافی ۵۱

فصل سوم: بخش تجربی

۳-۱- موادشیمیائی و محلول‌های استفاده شده ۵۲
۳-۲- دستگاه‌های مورد استفاده ۵۳
۳-۳- کاربرد MIP در جداسازی و پیش‌تغلیظ پیروکسیکام ۵٤
۳-۳-۱- دامنه‌ی خطی و حد تشخیص ۵۵
۳-۳-۲- روش تهیه‌ی پلیمر حکاکی شده با پیروکسیکام جهت تهیه‌ی MIP و NIP ۵۵
۳-۳-۳- بهینه‌سازی نسبت حلال و زمان شویش پلیمر پیروکسیکام ۵٦
۳-۳-٤- آماده سازی ستون ۵۷
نه
۳-۳-۵- بهینه‌سازی اثر pH ۵۸
۳-۳-٦- بهینه‌سازی اثر سرعت جریان ۵۹
۳-۳-۷- بررسی پر شدن حفره‌های پلیمر ٦۰

۳-۳-۸- تعیین ظرفیت جاذب ٦٠
۳-۳-۹- حجم رسوخ ٦١
۳-۳-۱۰- انتخابگری ٦٢
۳-۳-۱۱- تکرارپذیری ٦٣
۳-۳-۱۲- آنالیز نمونه حقیقی ٦٣
۳-٤- کاربرد MIP در استخراج و پیش‌تغلیظ هیدروکلروتیازید ٦٥
۳-٤-۱- بررسی اثر pH در اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید ٦٥
۳-٤-۲- دامنه‌ی خطی منحنی کالیبراسیون در اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید ٦٦
۳-٤-۳- حد تشخیص ٦٧
۳-٤-٤- دقت روش اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید ٦٧
۳-٤-٥- روش تهیه‌ی پلیمر حکاکی شده با هیدروکلروتیازید جهت تهیه‌ی MIP و NIP ٦٨
۳-٤-٦- بهینه‌سازی نسبت حلال و زمان شویش پلیمر هیدروکلروتیازید ٦٩
۳-٤-۷- آماده‌سازی ستون ۷۰
۳-٤-۸- بهینه‌سازی اثر pH ۷۰
۳-٤-۹- بهینه‌سازی اثر سرعت جریان ۷۱
۳-٤-۱۰- ظرفیت جاذب برای هیدروکلروتیازید ۷۲
۳-٤-۱۱- حجم رسوخ ۷۳
۳-٤-۱۲- انتخابگری ۷٤
۳-٤-۱۳- تکرارپذیری ۷٥
۳-٤-۱٤- آنالیز نمونه حقیقی ۷٥
فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری
۴-۱- مقدمه ۷۷
۴-۲- عوامل موثر بر پیش‌تغلیظ پیروکسیکام و هیدروکلروتیازید ۷۸
آینده‌نگری ۸۲
مراجع ۸۳
چکیده‌ی انگلیسی ۹۹

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

فصل دوم: استخراج فاز جامد

۲-۱: مراحل مختلف استخراج فاز جامد ۱۵
۲-۲: نمایشی از سطح بستر سیلیکای فاز پیوند شده ۱۸
۲-۳: ساختار شیمیایی جاذب MAX، یک تعویض‌گر آنیونی مدترکیبی ۲۲
۲-٤: نمایش سطح کربن گرافیتی حفره‌دار ۲۲
۲-۵: نمایی از ابزار میکرواستخراج فاز جامد ۳۱
۲-٦: طرح شماتیک از اصول حکاکی مولکولی ۳۷
۲-۷: ساختار مونومرهای استفاده شده در حکاکی مولکولی ۳۸
۲-۸: ساختار اتصال دهنده‌های استفاده شده در حکاکی مولکولی ۴۰
۲-۹: شکلی شماتیک از روش حکاکی برای MIP استفاده شده در کار اول ۴۱
۲-۱۰: نمایشی از دو روش استفاده شده در MISPE ۴۸

فصل سوم: بخش تجربی

۳-۱: طرحی شماتیک از پمپ پریستالتیک ۵۳
۳-۲: شمایی از دستگاه سوکسله ۵۴
۳-۳: بهینه‌سازی نسبت حلال و زمان شویش برای پیروکسیکام ۵۷
۳-٤: اثر pH در بازداری پیروکسیکام روی ستون ۵۸
۳-۵ اثر سرعت جریان نمونه روی بازداری پیروکسیکام در ستون ٦۰
۳-٦: بدست آوردن pH بهینه در مرحله‌ی اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید ۶۵
۳-۷: منحنی کالیبراسیون برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید ۶۷
۳-۸ بهینه‌سازی نسبت حلال و زمان شویش برای هیدروکلروتیازید ۶۹
۳-۹: اثر pH در درصد بازیابی هیدروکلروتیازید روی جاذب ۷۱
۳-۱۰: بررسی اثر سرعت جریان بر روی بازداری هیدروکلروتیازید روی جاذب ۷۲

فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

٤-۱: ساختارهای پیروکسیکام، دیبوکائین و دسیپرامین ۸۰
٤-۲: طرح شماتیک از گیر افتادن پیروکسیکام در حفره‌ی MIP ۸۰
٤-۳: ساختارهای هیدروکلروتیازید و ایزوکسیکام ۸۱
٤-٤: طرح شماتیک از گیر افتادن هیدروکلروتیازید در حفره‌ی MIP ۸۱

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

فصل دوم: استخراج فاز جامد

۲-۱: جاذب‌های معمول بر پایه‌ی سیلیکا برای SPE ۱۹

۲-۲: مقایسه استخراج مایع- مایع، SPE و کروماتوگرافی مایع ۲۶

۲-۳: مثال‌هایی از مطالعاتی که MISPE برای نمونه‌ی محیطی به کار رفته اند ٤٦

۲-٤: مثال‌هایی از مطالعاتی که MISPE برای نمونه‌های بیولوژیکی به کار رفته‌اند ٤٧

فصل سوم: بخش تجربی

۳-۱: شرایط بهینه‌ی اندازه‌گیری پیروکسیکام ۵۵

۳-۲: بهینه‌سازی نسبت حلال و زمان شویش برای پیروکسیکام ۵٦

۳-۳: اثر pH در بازداری پیروکسیکام روی ستون ۵۹

۳-٤: اثر سرعت جریان نمونه روی بازداری پیروکسیکام در ستون ۵۹

۳-۵: بدست آوردن ظرفیت جاذب پیروکسیکام ٦۱

۳-٦: بدست آوردن حجم رسوخ برای محلول پیروکسیکام ۰/۲ µg/ml ٦۲

۳-۷ تکرارپذیری در ٤ بار تکرار نمونه برای پیروکسیکام ٦۳

۳-۸: آنالیز نمونه حقیقی پیروکسیکام ٦٤

۳-۹: بدست آوردن pH بهینه در مرحله‌ی اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید ٦٦

۳-۱۰: منحنی کالیبراسیون برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید ٦٦

۳-۱۱: درصد انحراف استاندارد نسبی برای چهار اندازه‌گیری تکراری ٦۸

۳-۱۲: بهینه‌سازی نسبت حلال و زمان شویش برای هیدروکلروتیازید ۷۰

۳-۱۳: اثر pH در درصد بازیابی هیدروکلروتیازید روی جاذب ۷۱

۳-۱٤: بررسی اثر سرعت جریان بر روی بازداری هیدروکلروتیازید روی جاذب ۷۲

۳-۱۵: بدست آوردن ظرفیت جاذب هیدروکلروتیازید ۷۳

۳-۱٦: بدست آوردن حجم رسوخ برای محلول هیدروکلروتیازید ۰/۲ µg/ml ۷٤

۳-۱۷: تکرارپذیری در ٤ بار تکرار نمونه برای هیدروکلروتیازید ۷۵

۳-۱۸: آنالیز نمونه حقیقی هیدروکلروتیازید ۷٦

دوازده

چکیده

در این پایان نامه، یک روش جدید آماده‌سازی نمونه با استفاده از پلیمرهای حکاکی شده‌ی مولکولی (MIP) به عنوان ماده‌ی استخراج فاز جامد برای پیش‌تغلیظ و اندازه‌گیری پیروکسیکام و هیدروکلروتیازید در نمونه‌های داروئی ارائه شده است. شرایط عملکردی MIP به عنوان جاذب گزینشی برای پیش‌تغلیظ این داروها مطالعه شده‌اند. MIP بوسیله‌ی روش غیرکووالانسی با پیروکسیکام و هیدروکلروتیازید به عنوان مولکول الگو، متااکریلیک‌اسید به عنوان مونومر عاملی و اتیلن گلیکول دی‌متااکریلات به عنوان مونومر اتصال‌دهنده در حضور دی‌متیل‌فرمامید به عنوان حلال سنتز شد. تحت شرایط بهینه، پیروکسیکام و هیدروکلروتیازید در نمونه‌های آبی بوسیله‌ی ستون ۱۰۰۰ برابر جداسازی و پیش‌تغلیظ شدند. حد تشخیص برای پیروکسیکام و هیدروکلروتیازید بترتیب ۰/۰۷۵ ng/ml و ۰/۰۷۳ بود.

فصل اول
اهمیت‌های داروهای اندازه‌گیری شده و کارهای انجام شده در این زمینه

۱-۱- مقدمه‌ای درباره‌ی پیروکسیکام[1]

پیروکسیکام متعلق به یک طبقه از داروهای غیر استروئیدی است ودر گروه اکسیکام[2] که یک طبقه از انولیک[3] اسیدهاست دسته‌بندی می‌شود. این دارو دارای خواص ضد التهاب است که در درمان درد مفاصل و آرتریت[4] مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تهیه‌ی بعضی از داروها از قبیل ویتامینهای ب کمپلکس[5] (B12,B6,B1) ترکیب می‌کنند [۱۷].

از اثرات جانبی شدید این دارو می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- خونریزی معده‌ای و روده‌ای
- زخم معده و روده

از اثرات جانبی دیگر این دارو می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- مسمومیت معده‌ای و روده‌ای
- شنیدن صدا در گوش
- حالت سرگیجی
- سردرد

---

[1] Piroxicam
[2] Oxicam
[3] Enolic
[4] Arthritis
[5] B Complex

- جوش و تحریک پوست
- خارش [۱۷]

با توجه به موارد ذکر شده ارائه‌ی روش‌های ساده، ارزان و سریع با دقت و صحت مناسب برای اندازه‌گیری پیروکسیکام حائز اهمیت می‌باشد. در ذیل به برخی روش‌های ارائه شده برای اندازه‌گیری این ترکیب اشاره می‌گردد.

۱-۲- برخی از کارهای انجام شده برای اندازه‌گیری پیروکسیکام

در سال ۱۹۹۷ امانلو[1] و همکارش یک روش سریع برای اندازه‌گیری پیروکسیکام در پلاسمای موش با استفاده از HPLC ارائه داده‌اند. حد تشخیص در این روش ۰/۰۲-۲۰ µg/ml گزارش شده است [۱۸].

در سال ۱۹۹۸ دمیانی[2] و همکارانش از یک روش اسپکتروفلورومتریک[3] برای اندازه‌گیری پیروکسیکام استفاده کردند. این اندازه‌گیری شامل برانگیختگی در طول موج ۳۳۰ نانومتر یک محلول اسیدی و اندازه‌گیری فلورسانس آن در ۴۴۰ نانومتر گزارش شده است. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب ۰/۰۱-۱/۲۵ µg/ml و ۰/۰۱۲ گزارش شده است [۱۹].

در سال ۱۹۹۸ کلوپس[4] و همکارانش با استفاده از مشتق اول اسپکتروفتومتری برای اندازه‌گیری پیروکسیکام و متابولیت‌های مهم آن در پلاسمای انسان ارائه کرده‌اند. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب ۰/۵-۱۲ µg/ml و ۰/۲۹ گزارش شده است [۲۰].

در سال ۱۹۹۹ دجاگر[5] و همکارانش یک روش اندازه‌گیری پیروکسیکام توسط HPLC با آشکارساز آمپرومتریک در پلاسما و بافت‌های انسان ارائه کرده‌اند. حد تشخیص در این روش ۰/۷۲ ng/ml گزارش شده است [۲۱].

در سال ۲۰۰۱ دولیوا[6] و همکارانش یک روش کروماتوگرافی مایع برای اندازه‌گیری پیروکسیکام ارائه کرده‌اند. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب ۰/۰۵-۹ µg/ml و ۰/۰۲۵ گزارش شده است [۲۲].

در سال ۲۰۰۱ باسن[1] و همکارانش اندازه‌گیری کمی پیروکسیکام در یک فرمولبندی جدید بوسیله‌ی روش اسپکتروفتومتریک جدید و HPLC انجام داده‌اند. دامنه‌ی خطی روش ۵-۲۰ µg/ml گزارش شده است [۲۳].

---

[1] Amanlou
[2] Damiani
[3] Spectrofluorometric
[4] Klopas
[5] De Jager
[6] Doliwa

در سال ۲۰۰۲ امین[۲] اندازه‌گیری اسپکتروفتومتریک پیروکسیکام و تنوکسیکام[۳] در اشکال داروئی با استفاده از آلیزارین یلو جی[۴] انجام داده است. این روش بر اساس واکنش بین پیروکسیکام و آلیزارین یلو جی است که تشکیل کمپلکس‌های جفت یون می‌کند. دامنه‌ی خطی روش µg/ml ۰/۱۲-۲/۲۵ و انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۱/۲٪ گزارش شده است [۲۴].

در سال ۲۰۰۲ پاسکوال-رگوئرا[۵] و همکارانش یک روش تزریق در جریان اسپکتروفتومتری فرابنفش برای اندازه‌گیری پیروکسیکام ارائه کرده‌اند. روش براساس بازداری گذرا و غلظت روی ذره‌های ژل تعویض یون سفادکس دی ای ای-ای-۲۵[۶] پر شده در جریان سل و آشکارسازی جذب در ۳۵۴ نانومتر است. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب µg/ml ۰/۵-۱۰ و ۰/۱ و انحراف استاندارد نسبی ۱/۸٪ گزارش شده است [۲۵].

در سال ۲۰۰۲ داداش‌زاده[۷] و همکارانش یک روش اندازه‌گیری پیروکسیکام با استفاده از کروماتوگرافی مایع در پلاسمای انسان ارائه کرده‌اند. در این کار دامنه‌ی خطی و حدتشخیص روش به ترتیب µg/ml ۰/۱-۶ و ۰/۰۲ و انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۱۰٪ را گزارش داده‌اند [۲۶].

در سال ۲۰۰۴ الکیندی[۸] و همکارانش یک روش لومینسانس برای اندازه‌گیری پیروکسیکام در اشکال داروئی ارائه داده‌اند. روش براساس لومینسانس حساس شده با اروپیوم بوسیله‌ی تشکیل کمپلکس با پیروکسیکام می‌باشد. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب ng/ml ۱۰۰-۱۰۰۰ و ۲۳/۰ و انحراف استاندارد نسبی ۲-۳٪ گزارش شده است [۲۷].

در سال ۲۰۰۴ کرسلیوس[۹] و همکارانش یک روش اسپکترومتری جرمی کروماتوگرافی لایه‌ی نازک (TLC)-واجذب لیزی به کمک ماتریکس[۱۰] برای اندازه‌گیری کمی پیروکسیکام ارائه داده‌اند. دامنه‌ی خطی ng ۴۰۰-۸۰۰ و انحراف استاندارد ۱-۹٪ گزارش شده است [۲۸].

در سال ۲۰۰۵ یانگ جی[۱۱] و همکارانش یک روش کروماتوگرافی مایع-اسپکترومتری جرمی تاندوم برای اندازه‌گیری همزمان پیروکسیکام، ملوکسیکام[۱۲] و تنوکسیکام در پلاسمای انسان ارائه داده‌اند. دامنه‌ی

---

[1] Basan
[2] Amin
[3] Tenoxicam
[4] Alizarin Yellow G
[5] Pascual-Reguera
[6] Sephadex DEAE-A-25
[7] Dadashzadeh
[8] Al-Kindy
[9] Crecelius
[10] Matrix assisted laser desorption ionisation
[11] Young Ji
[12] Meloxicam

خطی ng/ml ۰/۵–۲۰۰ و خطای نسبی ۱/۰–۵/۵٪ گزارش شده است. حد کمی برای پیروکسیکام ng/ml ۰/۵ گزارش شده است [۲۹].

در سال ۲۰۰۷ الکیندی و همکارانش یک روش براساس حساس‌سازی لومینسانس اروپیوم بوسیله‌ی تشکیل کمپلکس سه‌تایی با پیروکسیکام در حضور تری‌اکتیل‌فسفین‌اکسید و توین ۸۰[1] به عنوان سورفکتانت ارائه کرده‌اند. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب pg/ml ۲۰۰–۱۰۰۰ و ۲۹ و انحراف استاندارد نسبی بین ۰/۵–۳/۹٪ گزارش شده است [۳۰].

در سال ۲۰۰۷ عباس‌پور[2] و همکارش پیروکسیکام را بوسیله‌ی آشکارسازی الکتروشیمیایی در اشکال متفاوت داروئی با الکترود خمیر نانوتیوب‌های کربن چند دیواره[3] اندازه‌گیری کرده‌اند. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب µg/ml ۰/۱۵–۵ و ۰/۱ و انحراف استاندارد نسبی ۱/۸۳٪ گزارش شده است [۳۱].

علاوه بر موارد اندازه‌گیری ذکر شده در بالا، چندین روش تجزیه‌ای برای اندازه‌گیری پیروکسیکام شامل کروماتوگرافی لایه نازک [۳۲–۳۵]، الکتروفورز لوله موئین [۳۶]، اسپکترومتری مشتقی[4] [۳۷] و HPLC [۳۸] و همچنین جهت اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید شامل HPLC; [۳۹–۴۲]، الکتروفورز لوله موئین [۴۳]، اسپکتروفتومتری [۴۴] و تکنیک‌های کمومتریکس [۴۵و۴۶] تاکنون ارائه شده‌اند.

۱–۳– مقدمه‌ای درباره‌ی هیدروکلروتیازید

هیدروکلروتیازید[5] یک داروی عمومی افزایش ادرار است که بوسیله‌ی جلوگیری از توانایی کلیه‌ها برای حفظ آب عمل می‌کند. این دارو حجم خون را کاهش می‌دهد و باعث می‌شود تا خونی که به قلب برمی‌گردد کاهش یابد و بنابراین حجم خونی که از قلب پمپ می‌شود کاهش می‌یابد. هیدروکلروتیازید هم به عنوان داروی عمومی و هم تعدادی نام‌ها شامل آپو–هیدرو[6]، آکوازید اچ[7]، دی‌کلوتیرد[8]، هیدرودی اوریل[9]، هیدروسالوریک[10]، میکروزید[11] و اورتیک[12] به فروش می‌رسد [۱].

---

[1] Tween-80
[2] Abbaspour
[3] Multi-walled carbon nanotube
[4] Derivative spectrometry
[5] Hydrochlorothiazide
[6] Apo-Hydro
[7] Aquazide H
[8] Dichlotride
[9] Hydrodiuril
[10] Hydrosaluric
[11] Microzide
[12] Oretic

هیدروکلروتیازید به طبقه‌ی تیازیدها[1] متعلق است که روی کلیه‌ها با کاهش بازجذب سدیم در قسمتی قسمتی که مسئول تنظیم سدیم، کلسیم و پتاسیم است عمل می‌کند. عمل این دارو سبب کاهش فشار اسمزی در کلیه‌ها می‌شود و باعث می‌شود تا آبی که بوسیله‌ی لوله‌های جمع‌آوری بازجذب می‌شود کاهش یابد. نهایت این اعمال افزایش مقدار ادرار است. به همین دلایل این دارو در مواردی که فشار خون به طور شدیدی افزایش پیدا می‌کند مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین این دارو در درمان عدم خون‌رسانی مناسب قلب و سنگ کلیه‌ها استفاده می‌شود [۱].

از اثرات جانبی این دارو می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

- اثرات ناشی از کمبود پتاسیم و منیزیم در بدن
- قند خون بالا
- کلسترول بالا
- سردرد
- مشکلات و ناتوانایی‌های جنسی
- ناراحتی‌های معدوی و حالت تهوع
- بیماری‌های ناشی از افزایش اوریک اسید [۱].

با توجه به موارد ذکر شده ارائه‌ی روش‌های ساده، ارزان و سریع با دقت و صحت مناسب برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید حائز اهمیت می‌باشد. در ذیل به برخی روش‌های ارائه شده در اندازه‌گیری این ترکیب اشاره می‌گردد.

۱-۴- برخی از کارهای انجام شده برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید

در سال ۱۹۹۸ توسط اویانگ[2] و همکارانش یک روش تجزیه‌ای تزریق در جریان برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید ارائه شده است. این روش بر اساس واکنش لومینسانس شیمیایی[3] هیدروکلروتیازید با سریم سریم (IV) در سولفوریک اسید است که با رودامین 6G[4] حساس شده است.دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب µmol/l ۱۳۰-۰/۳۳ و ۰/۱۵ میکرو مولار بر لیتر و انحراف استاندارد نسبی ۲/۴ ٪ گزارش شده است [۲].

در سال ۱۹۹۸ توسط فارتینگ[5] و همکارانش یک روش ساده HPLC[1] با استفاده از کروماتوگرافی حفره باریک برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید در اوره انسان گزارش شده است که در آن از ستون C18

---

[1] Thiazide
[2] Ouyang
[3] Chemiluminescence
[4] Rodamin 6G
[5] Farthing

با آشکارسازی فرابنفش استفاده شده است. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب۲-۵۰ µg/ml و ۱ گزارش شده است [۳].

در سال ۱۹۹۹ پاندری[۲] یک روش اسپکتروفتومتری مشتق مرتبه‌ی دوم برای اندازه‌گیری همزمان هیدروکلروتیازید و بنازپریل[۳] گزارش کرده است. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب ۱۸/۵-۴۲/۲ µg/ml و ۱/۵۷ و انحراف استاندارد روش کمتر از ۱/۴۳٪ گزارش شده است [۴].

در سال ۱۹۹۹ اویانگ و همکارانش با استفاده از کروماتوگرافی مایع حفره باریک که به آشکارساز لومینسانس شیمیایی جفت شده بود برای اندازه‌گیری همزمان هیدروکلروتیازید و کپتوپریل[۴] استفاده کردند. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب ۰/۶-۲۰۰ µmol/l و ۵ pmol/l و تکرارپذیری آن ۱/۸٪ گزارش شده است [۵].

در سال ۲۰۰۰ کارلوسی[۵] و همکارانش یک روش برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید بر اساس استفاده از HPLC فاز معکوس[۶] با دامنه‌ی خطی و حد تشخیص به ترتیب ۰/۵-۲ µg/ml و ۰/۰۵ گزارش داده است [۶].

در سال ۲۰۰۲ کواگلیا[۷] و همکارانش یک روش الکتروفورز لوله موئین و الکتروکروماتوگرافی لوله موئین برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید و لوسرتان[۸] گزارش داده‌اند. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب ۰/۱۰۸-۰/۰۲۴۴ µg/ml و ۰/۰۴ ng و انحراف استاندارد نسبی ۲/۲٪ گزارش کرده‌اند [۷].

در سال ۲۰۰۲ ارک[۹] و همکارانش با استفاده از اسپکتروفتومتری مشتق دوم برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید و فوسینوپریل[۱۰] گزارش داده‌اند. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب ۲-۱۴ µg/ml و ۰/۱۲ گزارش شده است [۸].

در سال ۲۰۰۲ فرارو[۱۱] و همکارانش با استفاده از روش اسپکتروفتومتری برای تجزیه همزمان نمونه‌های سنتزی و قرص‌های تجاری تهیه شده شامل هیدروکلروتیازید و آمیلورید[۱۲] گزارش داده‌اند. دامنه‌ی خطی روش ۲۱/۷-۳۰/۴ µg/ml گزارش شده است [۹].

---

[1] High Performance Liquid Chromatography
[2] Panderi
[3] Benazepril
[4] Captopril
[5] Carlucci
[6] Reverse phase
[7] Quaglia
[8] Losartan
[9] Erk
[10] Fosinopril
[11] Ferraro
[12] Amiloride

در سال ۲۰۰۲ دینک[1] و همکارانش چهار روش کمومتریکس[2] برای اندازه‌گیری همزمان هیدروکلروتیازید و سیلازاپریل[3] در قرص گزارش داده‌اند. در این کار از روش اسپکتروفتومتری برای اندازه-اندازه‌گیری جذب استفاده شده است. دامنه‌ی خطی روش µg/ml ۲ گزارش شده است [۱۰].

در سال ۲۰۰۳ ونگ[4] و همکارانش با استفاده از الکتروفورز ناحیه‌ی لوله موئین با آشکارساز آمپرومتری برای اندازه‌گیری همزمان روتین[5] و هیدروکلروتیازید گیاهان داروئی چین و نمونه‌های ادرار انسان بکار برده‌اند. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب µg/ml ۰/۵۹۵-۲۹/۷۷ و ۰/۱۴۸ گزارش شده است [۱۱].

در سال ۲۰۰۳ ارتورک[6] و همکارانش یک روش کروماتوگرافی فاز معکوس ایزوکراتیک برای اندازه‌گیری همزمان هیدروکلروتیازید و موکسیپریل[7] در نمونه‌های قرص گزارش داده‌اند. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب µg/ml ۰/۵-۱۲ و ۰/۰۰۵ گزارش شده است [۱۲].

در سال ۲۰۰۴ پولاگرین[8] و همکارانش یک روش لومینسانس شیمیایی برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید بر اساس واکنش بین سریم (IV) در محیط اسیدی در حضور رودامین 6G به عنوان حساس کننده گزارش داده‌اند. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب µg/ml ۰/۵-۳۰ و ۰/۱۶ و انحراف استاندارد روش کمتر از ۲٪ گزارش شده است [۱۳].

در سال ۲۰۰۵ وتوسچی[9] و همکارانش با استفاده از طیف مشتق مرتبه‌ی چهارم نمونه‌ی الکلی توانستند توانستند هیدروکلروتیازید و ایربسارتان[10] را در نمونه‌های داروئی اندازه‌گیری کنند. برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید از طیف ناحیه‌ی ۳۳۰-۳۴۰ نانومتر و برای اندازه‌گیری ایربسارتان از طیف ناحیه‌ی ۲۵۰-۳۱۰ نانومتر استفاده شده است [۱۴].

در سال ۲۰۰۶ هوانگ[11] و همکارانش با استفاده از یک ستون HPLC-C18 برای اندازه‌گیری همزمان هیدروکلروتیازید و کپتوپریل در پلاسمای انسان گزارش کرده‌اند. دامنه‌ی خطی و حد تشخیص روش به ترتیب pg/ml ۱۰-۱۲۰۰ و ۷ گزارش شده است. انحراف استاندارد نسبی روش کمتر از ۱۰٪ گزارش شده است [۱۵].

---

[1] Dinc
[2] Chemometric
[3] Cilazapril
[4] Wang
[5] Rutin
[6] Erturk
[7] Moexipril
[8] Pulgarin
[9] Vetuschi
[10] Irbesartan
[11] Huang

در سال ۲۰۰۷ لئو[1] و همکارانش یک روش کروماتوگرافی مایع/اسپکترومتری جرمی تاندم برای اندازه‌گیری هیدروکلروتیازید در پلاسمای انسان ارائه داده‌اند. آنالیت و ایربسارتان از پلاسما با استفاده از متانول استخراج شده است. دامنه‌ی خطی روش ۰/۷۸ ng/ml-۲۰۰ گزارش شده است [۱۶].

با توجه به اهمیت داروهای ذکر شده در بالا و کاربرد آن‌ها در موارد مختلف داروئی و درمانی نیاز به یک روش اندازه‌گیری این داروها در مقادیر پایین بیش از پیش محسوس می‌باشد. در این میان یک روش پیش‌تغلیظ[2] بسیار کارا به‌نظر می‌رسد. از میان این داروها هیچ روش پیش‌تغلیظی برای هیدروکلروتیازید ارائه نشده است و برای پیروکسیکام تنها یک روش پیش‌تغلیظ ارائه شده است که روش پیشنهادی مزایای جالبی نسبت به آن ارائه می‌دهد.

گرچه بسیاری از پیشرفت‌های مهم در دستگاهوری‌های تجزیه‌ای ایجاد گردیده است ولی تهیه‌ی نمونه[3] هنوز مرحله‌ی تعیین‌کننده‌ی سرعت است و اغلب موارد، مستعد بیشترین خطا در روش‌های تجزیه‌ای می‌باشد. از لحاظ تاریخی، استخراج مایع-مایع[4] تکنیک مورد توجه برای پاکسازی[5] نمونه‌های بیولوژیکی و داروئی بوده است [۴۷]. در این تکنیک استخراج‌هایی نسبتا تمیز با بازیابی خوب حاصل می‌شود ولی این روش وقت‌گیر است، حلال‌های مصرفی از لحاظ زیست‌محیطی مضر می‌باشد و مقادیر بالایی از حلال‌ها مصرف می‌شود. در این اندازه‌گیری‌ها، سطوح غلظتی پایین آنالیت و مقادیر بالای اثرات بافت مشکلات اصلی می‌باشد. برای حل این مشکلات، بطورکلی استخراج فاز جامد[6] (SPE) که یکی از روش‌های مهم پیش‌تغلیظ است به‌دلیل سادگی و صحت آن استفاده می‌شود. بطور مختصر SPE ارزان، ساده و سریع است که بازیابی‌های بالایی می‌دهد و به‌راحتی خودکار می‌شود.

در در دهه‌ی اخیر یک روش جدید و بسیار گزینش‌پذیر استخراج فاز جامد برپایه‌ی استفاده از پلیمرهای حکاکی شده‌ی مولکولی[7] (MIP) ارائه شده است [۴۸و۴۹]. استفاده از MIP در SPE دارای مزایای فراوانی است خصوصا هنگامی که یک استخراج گزینشی باید انجام پذیرد و معمولا جاذب‌های استفاده شده در SPE فاقد این گزینش‌پذیری هستند. گزینش‌پذیری[8] و تمایل[9] بسیار بالا به آنالیت و همچنین همچنین سرعت گزینش‌پذیری جاذب به مشکلات جداسازی، MIP را به‌عنوان یک جاذب استخراج تجاری

---

[1] Liu
[2] Preconcentration
[3] Sample preparation
[4] Liquid liquid extraction
[5] Clean-up
[6] Solid-Phase Extraction
[7] Molecularly Imprinted Polymer
[8] Selectivity
[9] Affinity

مقرون به صرفه و جذاب درآورده است. MIPها مزایایی از قبیل پیش‌اندازه‌گیری گزینشی و پایداری شیمیایی در بسیاری ازمحیط‌های تجزیه‌ای نشان می‌دهد [۵۰و۵۱]. کاربرد MIP در SPE نشان داده است که MIPها کارائی بسیار زیادی برای پاکسازی نمونه‌های پیچیده دارند خصوصا هنگامی‌که آنالیت و ناخالصی‌ها خواص مشابه دارند [۵۲-۵۸].