روش جدیدی برای اندازه‌گیری غلظت آمیودارون در سرم بر پایه استخراج حلال پخشی با کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا به روش تجربی

محمدرضا وردست*[1]، ناصر رنجکش زاده[2]

تاریخ دریافت ۱۳۹۸/۰۷/۰۶ تاریخ پذیرش ۱۳۹۸/۱۲/۰۲

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: آمیودارون (Amiodarone) یک داروی ضدآریتمی نوع (III) است که برای درمان انواع آریتمی‌های قلبی مورد مصرف قرار می‌گیرد. تعیین غلظت این دارو در خون بیماران برای تجویز این دارو و برهمکنش آن با سایر داروها (به دلیل برهمکنش زیاد این دارو با سایر داروها) از اهمیت بالایی برخوردار است. لذا لازم است در اندازه‌گیری این دارو از دستگاه‌های دقیق همچون HPLC با دتکتورهای گران‌قیمت استفاده شود ولی زمان آنالیز اکثراً وقت‌گیر بوده و روش‌های استخراج مشکل و هزینه بالایی دارند، بنابراین از روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی برای اندازه‌گیری سریع و دقیق این دارو در سرم خون استفاده شده است.

مواد و روش کار: روش میکرواستخراج مایع – مایع پخشی با انواع حلال‌های استخراج‌کننده و انواع حلال‌های پخش‌کننده مورداستفاده قرار گرفت و پس از انتخاب حلال‌های مناسب و بهینه‌سازی پارامترهای تجربی مختلف، این متد برای استخراج و اندازه‌گیری غلظت آمیودارون در سرم خون مورداستفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد که تتراکلریدکربن به‌عنوان حلال استخراج‌کننده و استونیتریل به‌عنوان حلال پخش‌کننده مناسب بوده و حجم بهینه آن‌ها به ترتیب ۷۵ و ۲۰۰ میکرولیتر بوده و حجم بهینه سرم ۱۰۰ میکرو لیتر و pH های مناسب در دو مرحله استخراج ۱ و ۶ است. در ضمن منحنی کالیبراسیون آمیودارون در سرم در محدوده ۰/۰۵ – ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر خطی بوده و دارای انحراف استاندارد نسبی ۳/۷۹ درصد می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج حاصل نشان‌دهنده کارایی مناسب این روش در اندازه‌گیری آمیودارون در سرم خون بوده و زمان آنالیز و هزینه آنالیز را در حد قابل قبولی کاهش داده و از تکرارپذیری مناسبی برخوردارمی باشد. با این روش می‌توان به‌راحتی و با کاهش اثرات بافت سرم در اندازه‌گیری آمیودارون اقدام به اندازه‌گیری این دارو کرد.

کلیدواژه‌ها: آمیودارون، میکرواستخراج حلال پخشی، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و یکم، شماره اول، ص ۱۴-۷، فروردین ۱۳۹۹

آدرس مکاتبه: ارومیه، پردیس نازلو، دانشکده داروسازی، گروه شیمی دارویی، تلفن: ۰۹۱۴۳۹۲۲۹۵۶

Email: mrvardast@gmail.com

مقدمه

آمیودارون (Amiodarone) یک داروی ضدآریتمی نوع (III) می‌باشد که برای درمان انواع آریتمی‌های قلبی مورد مصرف قرار می‌گیرد. این دارو از مشتقات بنزوفوران و یکی از آنالوگ‌های ساختاری هورمون تیروئید است که به دلیل خاصیت اتساع عروق سیستمیک و کرونری، در گذشته به‌عنوان داروی ضد آنژین مصرف می‌شد. آمیودارون تمامی ویژگی‌های داروهای ضد آریتمی (۴ دسته) را دارا می‌باشد و به همین علت برای موارد مختلفی از انواع آریتمی (بطنی و فوق بطنی) و همچنین آریتمی‌های خطرناک مقاوم به سایر داروها، مورداستفاده قرار می‌گیرد. این دارو ممکن است فقط در درمان آریتمی‌های قلبی، زمانی که سایر داروها مؤثر نبوده و یا منع مصرف داشته باشند، به کار رود (۱).

بنابراین اندازه‌گیری میزان آمیودارون موجود در خون بیماران تحت درمان با این دارو، خواهد توانست نتایجی مفید و بسیار ارزشمند جهت بررسی تأثیرات دوز دارو و همچنین اثرات تداخلی با سایر داروها را به دست دهد. در این راستا توسعه ابزار و فن‌هایی که بتواند مقدار دقیق دارو در نمونه‌های دارویی و

[1] استادیار، شیمی تجزیه،دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده داروسازی، گروه شیمی دارویی (نویسنده مسئول)

[2] کارشناسی ارشد، شیمی تجزیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده داروسازی، آزمایشگاه مرکزی دانشکده داروسازی

محیط‌های بیولوژیکی را تعیین کند، بسیار ارزشمند و ضروری است. ولی بررسی نتایج نشان‌دهنده آن است که اندازه‌گیری این دارو در سرم خون بیماران چرخه‌ای نسبتاً طولانی و وقت‌گیر بوده و از حساسیت و تکرارپذیری خیلی بالایی برخوردار نبوده و یا نیازمند دتکتورهای گران‌قیمتی همچون دتکتور MS می‌باشد. در ضمن زمان آماده‌سازی تا تزریق به دستگاه گاهی ساعت‌ها زمان‌برده و فرایندی طولانی محسوب می‌شود. لذا به نظر می‌رسد با ارائه متدی برای اندازه‌گیری سریع و راحت این دارو بتوان زمان و حساسیت اندازه‌گیری را کاهش داده و حتی‌الامکان اندازه‌گیری این دارو را حتی با تجهیزات بسیار رایج و معمولی و در حداقل زمان انجام داد.

بنابراین به نظر می‌رسد با استفاده از تکنیک استخراج حلال پخشی که در سال ۲۰۰۶ توسط دکتر اسدی و همکارانش در دانشگاه علم و صنعت ارائه‌شده و امروزه هم کاربردهای مختلفی یافته است (۱۲-۱۰)، بتوان در زمینه دارویی برای اندازه‌گیری آمیودارون هم مورداستفاده قرار گیرد. چون متد حلال پخشی ساده بوده و نیاز به حلال را کاهش داده و زمان تهیه نمونه و حساسیت روش را بهبود می‌بخشد می‌توان با استفاده از این روش به تمام اهداف موردنظر دست‌یافت (۸-۶).

مواد و روش کار

مواد مورداستفاده:

ترکیبات بکار رفته در این پژوهش از مواد خالص با درجه خلوص در حد کروماتوگرافی بودند که عبارت‌اند از: آمیو دارون از شرکت سیگما- آلدریچ (Sigma-Aldrich) تهیه گردید. کلروفرم، تتراکلرید کربن، دی کلرومتان، استون، استونیتریل، متانول، اتانول و آمونیاک همگی از شرکت مرک (Merck) تهیه گردید. و استو نیتریل و ایزو پروپانول و متانول با درجه خلوص درحد کروماتوگرافی هم از شرکت مرک (Merck) تهیه گردید.

مواد شیمیایی و دستگاه‌ها: مواد بکار رفته در این آزمایش با درجه خلوص تجزیه‌ای بودند که عبارت‌اند از: کلروفرم، دی کلرومتان، تترکلرید کربن، استون، استونیتریل، اتانول، متانول و سدیم کلراید که همگی از شرکت مرک (Merck) تهیه شده‌اند. متانول و استو نیتریل با درجه خلوص در حد کروماتوگرافی هم از شرکت مرک ((Merck تهیه گردید.

تجهیزات آزمایشگاهی:

دستگاه HPLC ساخت شرکت CE UV detector 4300، CECIL Chromatography system manager CE 4900

ترازوی دیجیتال ساخت شرکت ACCULAB (مدل ALC) با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم

همزن مغناطیسی ساخت شرکت Pars Azma Co مدل ST۰۴

شیکر ساخت شرکت GFL Co مدل 3031

شیکر ساخت شرکت Bioer Co مدل Mixing block MB-102

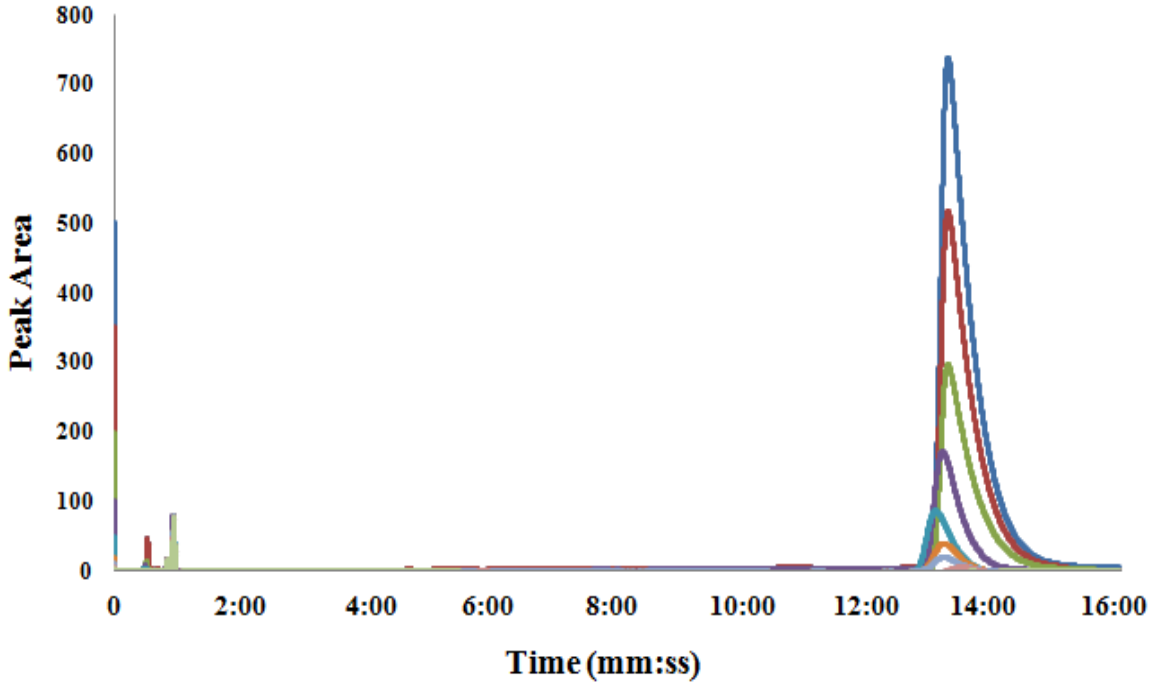
سانترفیوژ ساخت شرکت Eppendorf Co مدل 5810

دستگاه آب دیونیزه کننده ساخت شرکت ELGA مجهز به فیلتر LC 136

دستگاه pH متر ساخت شرکت Metrohm مدل pH۸۲۷ lab

در این مطالعه تجربی برای استخراج آمیودارون از سرم خون از روش حلال پخشی پس از انتخاب حلال مناسب برای پخش و استخراج با تست انواع متفاوت حلال‌ها انتخاب گردید. حلال پخش‌کننده استو نیتریل و حلال استخراج‌کننده تتراکلریدکربن انتخاب گردید. لذا ۱۰۰ میکرو لیتر از نمونه سرم برداشته و سپس ۵۰ میکرولیتر بافر گلایسن با pH=1 به نمونه سرم اضافه شد و با اضافه کردن ۲۰۰ میکرولیتر استونیتریل به محلول فوق و پس از هموژناسیون نمونه، مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ کرده و سپس محلول رویی را برداشته و حدود ۵۰ میکرولیتر بافر گلایسن با pH=6 به آن اضافه می‌گردد و سپس با افزودن ۷۵ میکرولیتر تتراکلرید کربن محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفوژ و محلول زیرین برداشته‌شده و پس از خشک شدن در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و با افزودن ۱۰۰ میکرو لیتر از فاز متحرک حل‌شده و پس از ۲ دقیقه اولتراسونیک شدن به HPLC تزریق گردید. جهت تشخیص و اندازه‌گیری مقادیر آمیودارون از دتکتور UV با طول‌موج ۲۴۲ نانومتر استفاده گردید (جدول ۱). زمان بازداری (Retention Time) برای آمیو دارون ۱۴ دقیقه به دست آمد. محدوده خطی، ضریب همبستگی، حد تشخیص و سایر پارامترهای روش در جدول زیر آمده است. فاز متحرک: مخلوطی از استونیتریل ۸۰ میلی‌لیتر، ایزوپروپانل ۱۰ میلی‌لیتر و ۱۰ میلی‌لیتر آب دی یونیزه حاوی ۰/۰۲۵ مولار آمونیم استفاده شد. سیستیم HPLC شامل یک

پمپ گرادیانت ساخت کارخانه CECEL و ستون از نوع C18 به طول ۱۵ سانتیمتر و قطر ۴/۶ میلی‌متر و محافظ ستون از کارخانه Hichrom آلمان بود. سرعت جریان موبایل فاز ۱/۵ میلی‌متر در دقیقه تنظیم گردید.



شکل (۱): کروماتوگرم‌های منحنی کالیبراسیون آمیودارون در محلول استاندارد

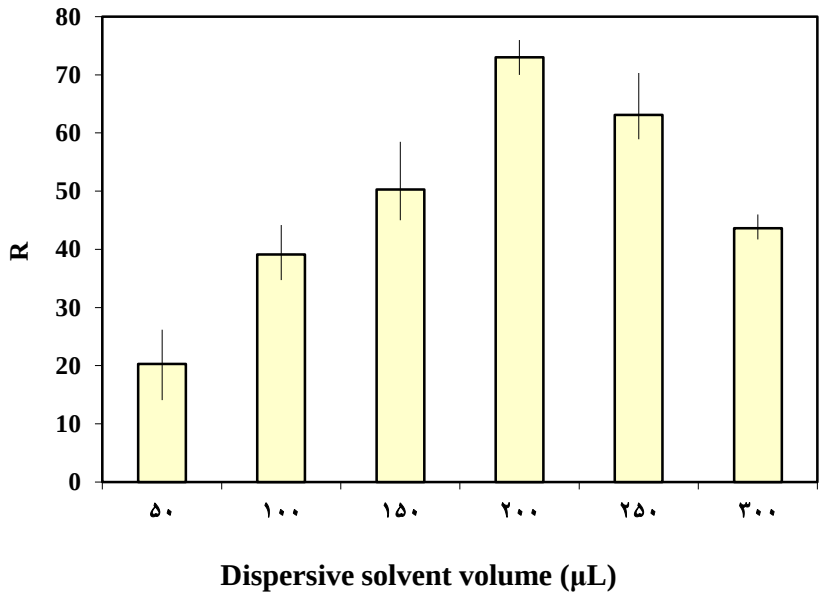
جدول (۱): شرایط آزمایشی بکار رفته با دستگاه HPLC

پارامتر	شرایط انتخابی
فاز ساکن	اکتا دسیل سیلان C18
طول ستون	۱۵ سانتی‌متر
فاز متحرک	استونیتریل ۸۰: ایزوپروپانل ۱۰: آب دیونیزه (۰/۰۲۵ آمونیم) ۱۰
سرعت جریان فاز متحرک	۱/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه
دمای ستون	۲۵ درجه سانتی‌گراد
طول‌موج‌های جذب و نشر	طول‌موج جذبی ۲۴۲ نانومتر
حجم نمونه تزریقی	۲۰ میکرولیتر

یافته‌ها

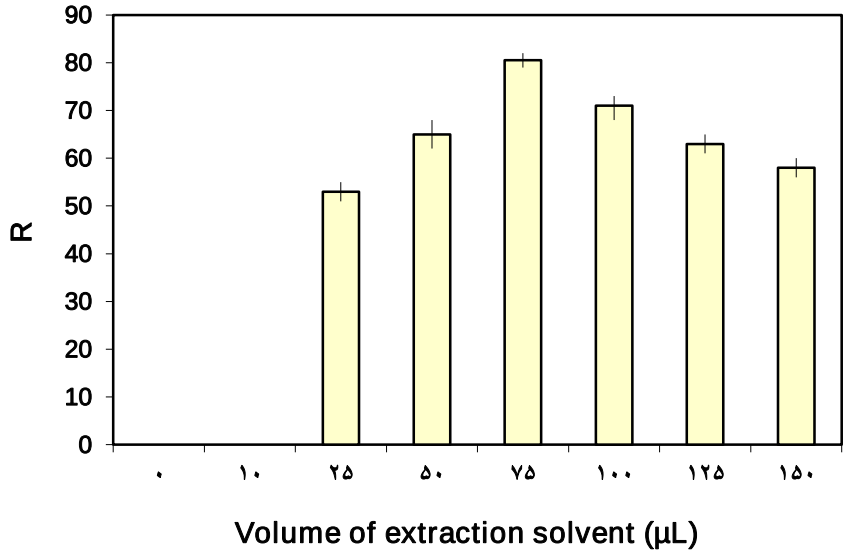
بررسی حجم‌های حلال پخش‌کننده، حلال استخراج‌کننده و نمونه سرم:

برای این منظور حجم حلال پخش‌کننده از ۵۰ میکرولیتر تا ۳۰۰ میکرولیتر با فواصل ۵۰ میکرولیتری تغییر داده شد و فاکتور تغلیظ، راندمان استخراج بر اساس حجم ته‌نشین شده محاسبه گردید. و نتیجه حاصل در شکل ۲ آورده شده است.



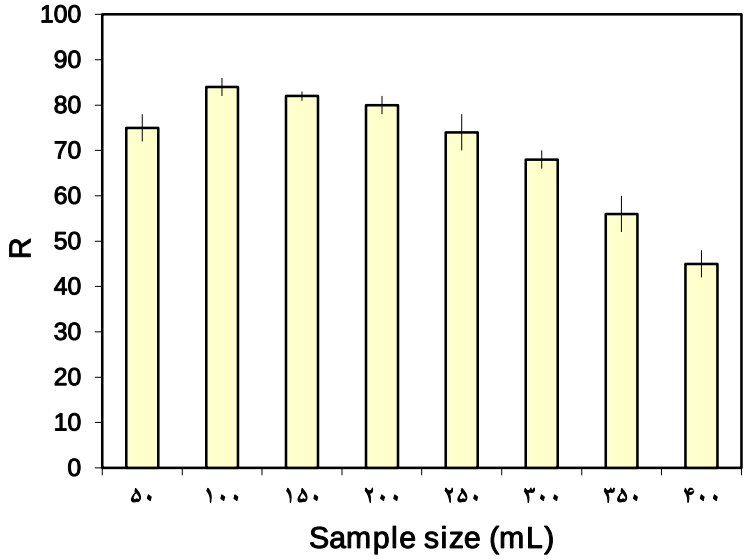
شکل (۲). بررسی حجم حلال پخش‌کننده

برای تعیین حجم حلال استخراج‌کننده، حجم حلال استخراج‌کننده از ۰ میکرولیتر تا ۱۵۰ میکرولیتر با فواصل ۲۵ میکرولیتری تغییر داده شد و فاکتور تغلیظ، راندمان استخراج بر اساس حجم ته‌نشین شده محاسبه گردید. نتایج حاصل برای راندمان استخراج در شکل ۳ آورده شده است.



شکل (۳). بررسی حجم حلال استخراج‌کننده

در بهینه‌سازی حجم سرم، نمونه سرم با حجم متفاوت از ۵۰ میکرولیتر تا ۴۰۰ میکرولیتر انتخاب شد که نتایج نشان داد حجم ۱۰۰ میکرولیتری سرم نتایج بهتری را حاصل می‌کند (شکل ۴). در خصوص بافر هم از محلول‌های بافری با pH های مختلف از ۱ تا ۱۲ موردبررسی قرار گرفت که pH=1 برای مرحله اول و pH=6 برای مرحله دوم استخراج، بهترین نتیجه را به دست داد.



شکل (۴). بررسی حجم سرم موردمطالعه

منحنی کالیبراسیون و پارامترهای مختلف در نمونه‌های استاندارد و سرم خون:

محدوده خطی این دارو در محلول استاندارد و نمونه سرم موردانداز‌ه‌گیری قرار گرفت و حد تشخیص، حد اندازه‌گیری، نمودار کالیبراسیون و انحراف استاندارد در هر دو محلول صورت گرفت و نتایج زیر حاصل شد (جدول ۲).

جدول (۲). نمودار کالیبراسیون و محدوده خطی و سایر پارامترها در نمونه استاندارد و سرم

درصد انحراف استاندارد نسبی	محدوده خطی	حد تشخیص	ضریب همبستگی	معادله منحنی	نوع محلول
۵/۵۳	۰/۰۰۵-۲۰۰	۰/۰۰۱	۰/۹۹۹	PA=65.17C+33.97	محلول استاندارد
۳/۷۹	۰/۰۵-۱۰۰	۰/۰۱	۰/۹۹۹	PA=37.74C+37.99	محلول سرم

بررسی تغییرات Intra-day و Inter-day:

به‌منظور پایش تغییرات درون روزی و بین روزی سه غلظت ۲، ۵ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از سرم حاوی آمیودارون موردبررسی قرار گرفت و هر غلظت با ۵ تکرار اندازه‌گیری شد و درصد بازیافت، انحراف استاندارد، صحت و دقت روش محاسبه گردید و نتایج در جدول ۳ آورده شده است.

جدول (۳). نتایج ارزیابی صحت روش بر اساس بازیافت و بررسی دقت در چند روز و بین روز، داروی آمیودارون در سرم انسانی

	درون روز			بین روز		راندمان بازیافت	نمونه
(٪) صحت (n=5)	دقت (٪)	میانگین ±انحراف استاندارد	(٪) صحت (n=5)	دقت (٪)	میانگین ±انحراف استاندارد	(٪)	غلظت(µg/mL)
-۶/۶۷	۶/۳۹	۲/۰۴±۰/۰۹	-۳/۹۴	۴/۹۸	۲/۱۳±۰/۱۴	۱۰۶/۷±۶/۸۲	۲/۰
-۰/۷۷	۴/۷۸	۵/۰۸±۰/۰۸	-۱/۵۲	۱/۵۵	۵/۰۴±۰/۲۴	۱۰۰/۸±۴/۸۲	۵/۰
۶/۳۹	۱/۳۰	۹/۵۶±۰/۲۳	۴/۳۸	۲/۴۳	۹/۳۶±۰/۱۲	۹۳/۶±۱/۲۲	۱۰/۰

بحث و نتیجه گیری

متدهای اندازه‌گیری مختلفی برای تعیین آمیودارون در نمونه-های بیولوژیکی ارائه شده است و از این میان کروماتوگرافی از گزینش پذیری بالا و حد تشخیص بهتری برخوردار بوده است. ولی مراحل استخراج و تهیه نمونه‌های آماده آنالیز بسیار زمان‌بر بوده که در زیر به برخی متدهای ارائه شده برای آمیودارون و سایر داروها اشاره شده است.

- در سال ۱۹۸۹، Pena Arranz و همکارش روش HPLC را برای اندازه‌گیری مقدار آمیودارون در سرم انسان بسط دادند. در این آزمایش، از ستون کروماوگرافی C18 و دتکتور در ناحیه موجی ۲۴۲ نانومتر استفاده شد. فاز متحرک شامل مخلوط متانول و آمونیوم هیدروکسید (نسبت حجمی ۰/۷: ۳/ ۹۹ درصد) و سرعت جریان ۲ میلی‌لیتر در دقیقه بود. منحنی کالیبراسیون حاصل از آنالیز به‌صورت خط راست با ضریب رگرسیون ۳ درصد/۹۹ حاصل شده بود. درصد بازیافت و محدوده خطی ۲۰۰۰-۵۰۰ میکروگرم بر لیتر بود (۱).

- در سال ۲۰۱۰، Jakson Kuhn و همکارانش با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع -اسپکتروسکوپی جرمی، مقدار آمیودارون و متابولیت حاصل از آن (دستیل آمیودارون) را درون سرم و پلاسما اندازه‌گیری نمودند. منحنی کالیبراسیون حاصل از آنالیز بطور خط راست با ضریب رگرسیون ۹۹/۹ درصد حاصل شده بود. درصد بازیافت درصد ۹۹ و محدوده خطی ۰/۰۱- ۴۰/۰ میلی گرم بر لیتر بود. حد تشخیص روش ۲/۷ و ۱/۹ میکروگرم بر لیتر با درصد بازیافت ۹۰/۲ و ۹۹/۶ درصد به ترتیب برای آمیودارون و دستیل آمیودارون بود. این آزمایش با دتکتور اسپکتروفتومتر UV و محلول فازمتحرک حاوی مخلوط آب/متانول بود (۵).

- در سال ۲۰۱۳، Hian Kee Lee و همکارانش با استفاده از حلال پخشی بر اساس مایع یونی ترکیب شده با میکرو استخراج فاز جامد متدی برای اندازه‌گیری برخی داروها با استفاده از دستگاه HPLC ارائه دادند. که در این متد از حلال پخش‌کننده و استخراج‌کننده مناسب به همراه زئولیت به‌عنوان فاز ساکن SPE استفاده شد و نتایج بسیار خوبی بدست آمد (۶).

- در سال ۲۰۱۳، Nusret Ertaş و همکارانش متدی برای اندازه‌گیری برخی داروهای غیر استروئیدی بر اساس استخراج حلال پخشی با الکتروفورز کاپیلاری در شیر و سایر فراورده‌های لبنی ارائه دادند. این متد دارای محدوده خطی مناسب و حد تشخیص ۳ تا ۱۳/۱ میکروگرم بر گرم بوده و از انحراف استاندار ۰/۶ تا ۶/۲ درصد برخوردار بوده است (۷).

- در سال ۲۰۱۳، Jinlan Ruan و همکارانش از روش حلال پخشی برای اندازه‌گیری برخی داروها در نمونه‌های ادرار با استفاده از HPLC با دتکتورUV استفاده نمودند و اندازه‌گیری در ۲۳۸ نانومتر با ستون C18 و فاز متحرک استات – استونیتریل ۶۰:۴۰ با pH، ۵/۵ صورت گرفته است و حد اندازه‌گیری روش حاصل ۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر حاصل شده است (۸).

- در سال ۲۰۰۹، Robert W. Bolderman و همکارانش با استفاده از درونوداروں که یکی از آنالوگ‌های ساختاری آمیودارون است، با کمک تکنیک HPLC در محیط پلاسما بیماران تحت درمان اندازه‌گیری نمودند. ستون کروماتوگرافی C18 با آشکارساز UV و فاز متحرک شامل مخلوطی از استونیتریل/ایزوپروپانول/آب/آمونیاک با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه انتخاب شده بود. منحنی استاندارد حاصل در محدوده ۵-۰/۰۱ به‌صورت خطی با حد تشخیص ۰/۰۴ و میکرولیتر بر میلی‌لیتر مشاهده گردید. مقدار دقت و صحت روش نیز به ترتیب ۱۸ درصد و ۹۷/۵-۱۰۹/۷ درصد حاصل گردید. نتایج نشان می‌دهد که این روش، یک تکنیک مناسب برای اندازه‌گیری آمیودارون است (۹).

مطالعات انجام گرفته در این روش نشان‌دهنده کارایی بالای این روش در اندازه‌گیری آمیودارون در سرم و کاهش بسیار خوب زمان آنالیز نمونه‌ها بوده و از تکرارپذیری و حد تشخیص مناسب این روش حکایت دارد. این روش در نمونه استاندارد و نمونه سرم به ترتیب در محدوده غلظتی ۰/۰۰۵-۲۰۰ میلی گرم بر لیتر و ۰/۰۵-۱۰۰ میلی گرم بر لیتر و حد تشخیص ۰/۰۰۱ و ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر می-باشد. از جمله محدودیتهای این طرح می‌توان به آلودگی زیست محیطی حلال‌های کلره اشاره نمود که با جایگزینی حلال‌های اتکتیک می‌توان این مشکل را تا حدود زیادی کم کرد.

تشکر و قدردانی

تشکر ویژه از اساتید بزرگوار پروفسور قوام، پروفسور انصاری و پروفسور حضرتی تپه و دکتر امیر حیدری بخاطر حمایت بسیار در ضمینه تهیه نمونه سرم و سایر کمک‌هایشان دارم. این کار پژوهشی در قالب طرح به شماره ثبت ۹۲-۰۱-۳۶-۱۲۰۲ با اعتبارات پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه صورت گرفته است.

References:

1. Pena Arranz M.I, Moro C. Amiodarone Determination by high performance liquid chromatography. J Pharm Biomed Anal 1989; 7: 1909-13.

2. James J, Heger MD, Elizabeth B, Solow MS. Plasma and Red Blood Cell Concentrations of Amiodarone during Chronic Therapy. Am J Cardiol 1984; 53: 912-17.
3. Eskes S.A, Wiersinga W.M. Amiodarone and thyroid. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2009; 23: 735–51.
4. Pérez-Ruiz T, Martinez-Lozano C, Martín J. Simultaneous determination of amiodarone and its metabolite desethylamiodarone by high-performance liquid chromatography with chemiluminescent detection. Anal Chim Acta 2008; 623: 89–95.
5. Kuhn J, Tting C, Kleesiek K. Simultaneous measurement of amiodarone and desethylamiodarone in human plasma and serum by stable isotope dilution liquid chromatography–tandem mass spectrometry assay. J Pharm Biomed Anal 2010; 51: 210–6.
6. Ge D, Kee Lee H. Ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction coupled with micro-solid phase extraction of antidepressant drugs from environmental water samples. J Chromatogr A2013; 1317: 217– 22.
7. Usama A, Nilgun G, Gog˘er N.E. Dispersive liquid–liquid microextraction combined with field-amplified sample stacking in capillary electrophoresis for the determination of non-steroidal anti- inflammatory drugs in milk and dairy products. Food Chem 2013; 138: 890–7.
8. Chaomei X, Jinlan R, Yaling C, Ying T. Extraction and determination of some psychotropic drugs in urine samples using dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid Chromatography. J Pharm Biomed Anal 2009; 49: 572–8.
9. Bolderman R.W, Hermans J.J.R, Maessen J.G. Determination of the class III antiarrhythmic drugs dronedarone and amiodarone, and their principal metabolites in plasma and myocardium by HPLC and UV detection. J Chromatogr B 2009; 877(18-19):1727-31.
10. Rezaee M, Assadi Y. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. J Chromatogr A 2006; 1116: 1–9.
11. Berijani S, Assadi Y. Dispersive liquid–liquid microextraction combined with gas chromatography-flame photometric detection Very simple, rapid and sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in water. J Chromatogr A 2006; 1123: 1–9.
12. Fattahi N, Samadi S, Assadi Y. Solid-phase extraction combined with dispersive liquid–liquid Microextraction-ultra preconcentration of chlorophenols in aqueous samples. J Chromatogr A 2007; 1169: 63–9.

Original Article

NEW METHOD FOR DETERMINATION OF AMIODARONE IN SERUM WITH DISPERSIVE LIQUID-LIQUID MICROEXTRACTION BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH EXPERIMENTAL METHOD

*Mohammad Reza Vardast [*1], Nasser Ranjkeshzadeh [2]*

Received: 07 Oct, 2019; Accepted: 21 Feb, 2020

Abstract

Background & Aims: Amiodarone is an anti-arthritis drug (III) used to treat various types of arrhythmias. Determining the concentration of this drug in the blood of patients is important for the administration of this drug and its interaction with other drugs (due to its high interaction with other drugs). It is necessary to use precision instruments such as HPLC with expensive detectors, but the analysis is often time-consuming and the methods of extraction have a high cost. Therefore, the liquid-liquid extraction method for rapid and accurate measurement of this medication was used in serum.

Materials & Methods: The liquid-liquid extraction method was used with a variety of solvent extraction and different types of solvent. After selecting suitable solvents and optimizing various experimental parameters, this method was used to extract and measure the concentration of amiodarone in Blood serum.

Results: The results showed that carbon tetrachloride is suitable as a solvent extraction and acetonitrile is suitable as a solvent, and their optimal volume is 75 and 200 µl, respectively, and the optimal volume of the serum is 100 µl and the appropriate pH is in the two extraction steps 1 and 6. Mean calibration curve of Amiodarone is linear in the range of 0.05-0.0 µg / ml and has a relative standard deviation of 3.79%.

***Conclusion*:** The results indicate that this method is suitable for measuring amiodarone in blood serum and reduces the time and cost of the analysis to a satisfactory level and has a good repeatability. With this method, it is easy to measure the effect of serum tissue in measuring amiodarone.

Keyword: Amiodarone, Dispersive liquid-liquid microextraction, High-performance liquid chromatography

Address: Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.
Tel: (+98)9143922956
Email: mrvardast@gmail.com, vardast_m@umsu.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2020: 31(01): 14 ISSN: 2717-008X

[1] Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran (Corresponding Author)
[2] Central Laboratory, School of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran