

## بررسی و اندازه گیری داروی اسویکس توسط نانو میله‌های طلا به روش اسپکتروفوتومتری

فریده کاظمی نژاد، فرزانه مراحل\*

گروه شیمی، واحد امیدیه، دانشگاه آزاد  
اسلامی، امیدیه، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۱۱/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۳/۲

### چکیده

**زمینه و هدف:** داروی اسویکس برند داخلی پلاویکس می‌باشد که برای جلوگیری از انعقاد خون در بسیاری از بیماری‌های قلبی کاربرد دارد. هدف پژوهش حاضر اندازه گیری این دارو توسط نانومیله‌های طلا در شرایط بهینه و در نمونه‌های حقیقی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** نانومیله‌های طلا به روش دانه واسطه سنتز شدند. اندازه گیری داروی اسویکس توسط نانومیله‌های طلا با بهینه سازی فاکتورهای مهم در طول موج ماکزیمم ۶۵۰ نانومتر انجام گردید. میزان غلظت عوامل مزاحم و نیز اثر الکتروولیت بررسی شدند.

**یافته‌ها:** مقادیر بهینه با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر فرابنفش- مرئی در طول موج ۶۵۰ نانومتر برای فاکتورهای  $\text{pH}=8$ ، حجم نانوذرات ۱ میلی لیتر، حجم بافر ۲/۵ میلی لیتر، زمان ماند ۴۰ ثانیه محاسبه شدند و نیز نوع بافر، فسفات بدست آمد. منحنی کالیبراسیون در رنج غلظتی ppm ۱۰ - ۰/۲ خطی بود. غلظت دارو در نمونه‌های حقیقی اندازه گیری شد.

**نتیجه‌گیری:** حد تشخیص و حد کمی سازی روش به ترتیب ۰/۲۰۶ و ۰/۶۷۸ ppm محاسبه شد. این روش که سریع و ساده، با دقت و تکرار پذیری بالا و حد تشخیص مناسب است، روش پیشنهادی مطلوبی برای اندازه گیری داروی اسویکس می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** نانو میله‌های طلا، داروی اسویکس، نمونه‌های حقیقی، روش دانه واسطه.

### نویسنده مسئول:

گروه شیمی، واحد امیدیه، دانشگاه آزاد  
اسلامی، امیدیه، ایران

۰۹۱۶۷۶۰۹۶۹۲

E-mail: farzanehmarahel@yahoo.com

## مقدمه

## نانو ذرات طلا

جداسازی و تولید نانو ذرات طلا می‌باشد. نانو ذرات طلا در درمان بیماری‌های مزمن، رنگ دادن به شیشه، دستگاه‌های اپتیک و الکترونیک نانویی کاربرد دارند.<sup>۲</sup>

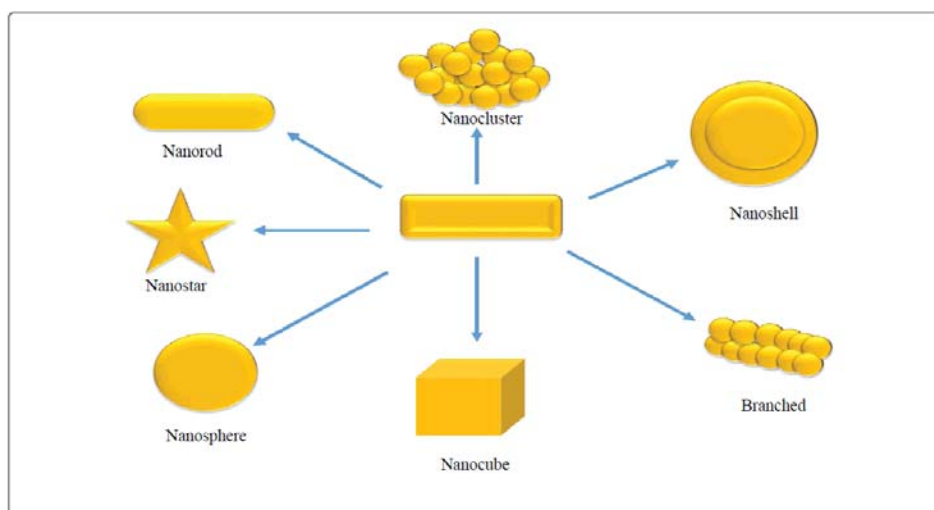
## نانومیله‌های طلا

موادی که در مقیاس نانو هستند، به دلیل خاصیت نوری منحصر به فرد الکتریکی و مغناطیسی مورد توجه بسیاری هستند. این خاصیت‌ها به اندازه و شکل ذرات به شدت وابسته هستند بنابراین بسیار مهم است که بتوانیم به طور دقیق مورفولوژی (ریخت شناسی: شکل ظاهری و ویژگی‌های ساختاری) نانو مواد را کنترل کنیم.

نانو سیم‌ها و نانو میله‌ها با استفاده از روش‌های مختلفی مانند قالب سازی، فتوشیمی، بذر و الکتروشیمیایی سنتز شده اند. سنتز الکتروشیمیایی نانو میله‌های طلا، میله‌هایی با یکنواختی نسبتا خوب و نسبت ابعاد کنترل شده را فراهم می‌کند اگر چه مکانیسم رشد آن ناپایدار است. برای رشد این نانومیله‌ها ذکر شده است که مقدار کمی اضافه کردن نقره برای تشکیل میله‌ها به جای ذرات کروی خیلی مهم است اما تحقیقات زیادی درباره نقش نقره انجام نشده است. یک دلیل این است که فرآیندهای الکتروشیمیایی بسیار پیچیده است و شامل تاثیرات مختلفی از قبیل فراصوت و میدان الکتریکی می‌شود و بررسی اثر نقره به تنهایی دشوار است.<sup>۳</sup>

در میان نانوذرات، نانوذرات طلا به خاطر خصوصیات عملکردی سطحی و توانایی ایجاد گرما به واسطه نور مورد توجه می‌باشند. نانوذرات طلا به دلیل پدیده رزونانس پلاسمون سطحی (حرکت جمعی الکترونها هدایتی)، به شدت نور را جذب کرده و آن را به انرژی حرارتی تبدیل می‌کنند. بنابراین زمانی که توده کوچکی از ذرات طلا توسط فرکانس مشخصی از لیزر تحریک می‌شوند، شروع به گرم کردن میدانی با شعاع هزار برابر بزرگتر از اندازه خود می‌کنند که این گرمای تولید شده باعث ضربه زدن به سلول‌های توموری و منهدم کردن آن‌ها می‌شود. از این خصوصیت نانوذرات طلا در از بین بردن سلول‌های سرطانی با روشی به نام فوتوترمال تراپی استفاده می‌شود.<sup>۱</sup>

محققان دانشگاه تگزاس، موضوع استخراج نانو ذرات کلئیدی طلا را توسط گیاهان مختلف بررسی کرده اند. آنها در تحقیقات خود متوجه گیاه یونجه شدند که به خوبی ذرات کلئیدی طلا را در خود جذب می‌کند. روش کنونی تولید نانو ذرات طلا با استفاده از نمک‌های طلا می‌باشد و بسیار وقت گیر و گران است و گاهی به تولید محصولات جانبی سمی نیز می‌انجامد، اما مشاهده شده است که گیاه یونجه به راحتی و بدون تولید هیچگونه آلودگی قادر به



شکل ۱: شکل‌های مختلفی از نانوذرات طلا

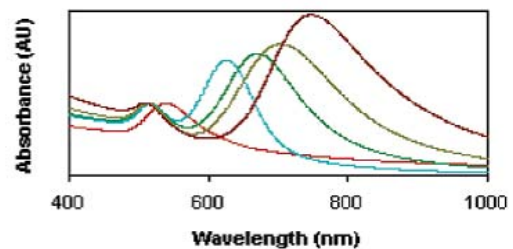
نانوذرات کروی طلا روی بسترهای مختلف به عنوان عوامل زیر کننده در پراکندگی ارتقا یافته سطحی رامان استفاده می‌شوند. باند پلاسمون سطح بسیار قوی تر و حساس تری برای نانو میله‌های طلا در مقایسه با ذرات کروی و قابلیت تشکیل مجموعه‌های دو بعدی (2D) باعث می‌شود که نانو میله‌های طلا بسترهای مناسبی در کاربردهای پراکندگی ارتقا یافته سطحی رامان و حسگرها باشند.<sup>۴</sup> ظاهر شدن باند پلاسمون سطح در انرژی‌های کمتر در نانو ذرات میله ای نسبت به ذرات کروی اولین تفاوت آن هاست. به طور کلی نانوذرات فلزی به شکل میله به دو صورت قالب سفت و سخت و یا در حضور سورفاکتانت‌ها ساخته می‌شوند. در حالت اول یون‌های فلزی در داخل منافذ استوانه ای اکسید یا غشاهای پلیمری کاهش می‌یابند. در روش دیگر سورفاکتانت‌های خنثی یا باردار برای رشد نانو ذرات استفاده می‌شوند.

در تهیه نانو میله‌های طلا و نقره با استفاده از سورفاکتانت دو روش متفاوت وجود دارد: روش‌های الکتروشیمیایی و رشد با واسطه دانه.<sup>۵</sup>

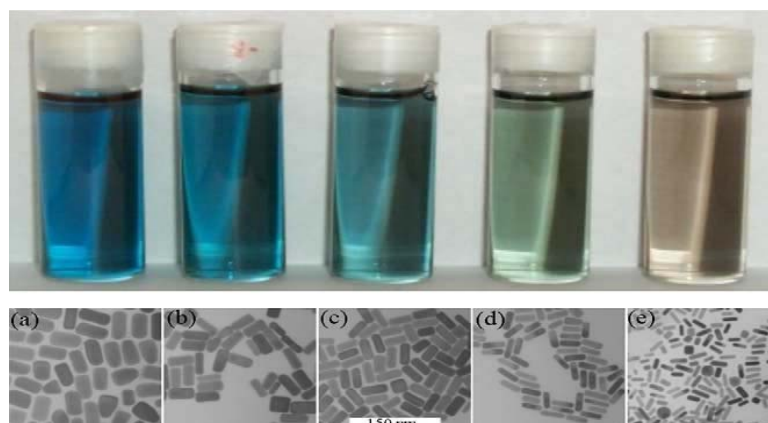
نانو میله‌های طلا وقتی در حلال‌های مختلف با ضریب شکست متفاوت قرار می‌گیرند دچار تغییر رنگ می‌شوند. مطابق شکل زیر در نانو میله‌های طلا، تغییرات رنگ برای تغییرات بسیار ناچیز در نسبت ابعاد (طول به عرض) رخ می‌دهد.<sup>۶</sup>



شکل ۲: نانوذرات طلا در رنگ‌های مختلف



شکل ۳: رنگ متناسب با طول موج نانو میله‌های طلا



شکل ۴: رنگ نانومیله‌های طلا و میکروگراف‌های مربوطه

اسید و عامل پوشاننده در کنترل نسبت ابعاد و همچنین در بازده نانو میله‌های طلا، نقش مهمی را بازی می‌کنند.<sup>۷</sup>

نانومیله طلا یکی از اشکال نانوذرات طلا می‌باشد. نانومیله‌های طلا مزایای زیادی جهت استفاده در درمان دارند. یکی از آن‌ها این است که دارای جذب نوری ۲۰ برابر یا بیشتر نسبت به سایر اشکال نانوذرات طلا می‌باشند. هم چنین دارای دو وجه رزونانس پلاسمون سطحی طولی و عرضی می‌باشند و توانایی بالاتری در جذب نور رزونانس پلاسمون طولی خود دارند. طول موجی از نور که در آن رزونانس طولی صورت می‌گیرد به وسیله نسبت طول به عرض (Aspect ratio) نانومیله‌ها کنترل می‌شود.

در درمان‌های رایجی که از لیزر استفاده می‌شود، با تابش مستقیم اشعه لیزر، بافت سرطانی را تخریب می‌کنند و به علت عدم کنترل گرما، حرارت ناشی از برخورد لیزر بافت سالم را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد. جهت دستیابی به ماندگاری طولانی در سیستم گردش موجود زنده، اندازه ذرات بایستی کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشد و به منظور اجتناب از حذف آن‌ها توسط ماکروفاژها، بایستی سطح آبدوست داشته باشند. یک روش مرسوم و موثر برای کاهش پاکسازی نانوذرات توسط سیستم ایمنی، استفاده از مشتقات پلی اتیلن گلیکول در سطح آن‌ها است. این مولکول یک لایه محافظتی آبدوست روی سطح نانوذرات ایجاد کرده و میانگین آن‌ها را با اجزای خون کاهش می‌دهد. به کمک نانوذرات طلای هدفمند شده، می‌توان درمان فوتوترمال انتخابی انجام داد.<sup>۱</sup>

### عوامل پوششی سطح

#### ستیل تری متیل آمونیوم برماید (CTAB)

نانوذرات فلزی با اشکال و اندازه‌های مختلف به ویژه طلا، نقره و مس مورد توجه جامعه معدنی، مواد و جسم قرار گرفته‌اند. برای ساخت نانوذرات در محلول، اثرات تجمع غیر قابل کنترل می‌تواند برای بسیاری از کاربردها مضر باشد. از تثبیت کننده‌های متداول مانند: پلیمرها، سورفاکتانت‌ها و دندریمرها برای افزایش پایداری نانوذرات استفاده می‌شود.

سنتز نانو ساختارها با استفاده از روش‌های ساده شیمیایی مرطوب یکی از مسیرهای مطلوب به سمت تولید مقرون به صرفه از مقیاس‌های بزرگ توده‌های ساختمانی نانو است. دستیابی به کنترل رشد نانو ساختارهایی منتهی به حدود ابعادی مناسب از طریق روش‌های شیمیایی مرطوب یک کار چالش برانگیز است. اخیراً پیشرفت‌های مهمی در کنترل اندازه و شکل نانوذرات با رشد محدود حاصل از معرفی قالب‌ها، عوامل پوششی سطح و سایر ابزارهای فیزیکی و شیمیایی صورت گرفته است.<sup>۷</sup>

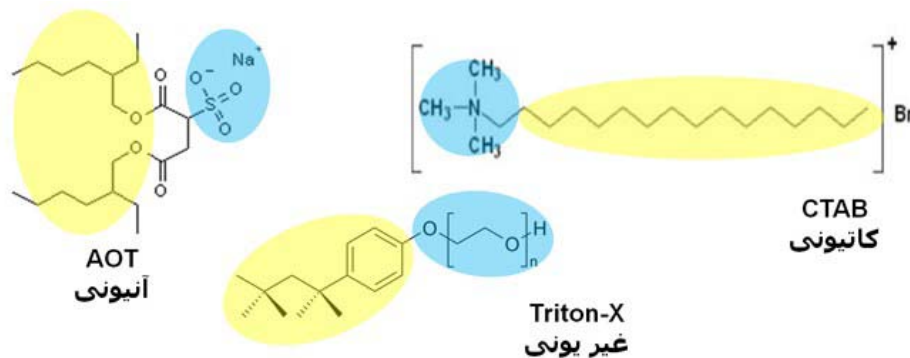
عوامل پوششی سطح مانند ستیل تری متیل آمونیوم برماید، بنزیدیل دی متیل هگزا دیسیل آمونیوم کلراید، تترائوکتیل فسفین اکسید، اولئیک اسید و غیره، با موفقیت برای ایجاد نانوذرات میله‌ای شکل مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

نسبت ابعاد کوتاه نانومیله‌های طلا به دلیل خاصیت نوری آن‌ها به طور ویژه جالب توجه هستند: آن‌ها باند پلاسمون عرضی و همچنین طولی شدید را در ناحیه مرئی طیف به نمایش می‌گذارند و موارد امیدوار کننده‌ای را برای کاربردهای سنجش و تصویربرداری باعث می‌شوند. به علاوه نانو میله‌های فلزی که در ابعاد ۱۰۰ نانومتر تا ۲۰۰ نانومتر هستند برای کاربردهای تحویل ژن مورد کاوش قرار گرفته‌اند. سنتز نانو میله‌ها و نانو سیم‌های طلا و نقره با نسبت ابعادی نسبتاً بالا با روش‌های رشد دانه و محلول دانه گزارش شده است. سنتز متکی به کاهش نمک فلز توسط یک ماده کاهش دهنده ضعیف در حضور ذرات دانه فلزی از پیش ساخته شده می‌باشد.

برای ساختن نانو میله‌های طلا نشان داده شده است که استفاده از نیترات نقره در روش سنتز از طریق دانه باعث بهبود بازده و همچنین تغییر شکل ظریف نانو میله‌های طلا می‌شود. مشاهدات مشابه، قبلاً در سنتز الکتروشیمیایی میله‌های طلا انجام شده بود.

نیکوبخت و ال سید میله‌های طلا با نسبت ابعاد مختلف در محلول با اضافه کردن میزان نیترات نقره متفاوت برای یک مقدار معینی از طلا بدست آوردند، آن‌ها یک بازده خیلی بالا از نانو میله‌های طلا را وقتی که سورفاکتانت پایدار کننده و دانه‌های طلا را استفاده کردند، گزارش دادند.

نشان داده شد که در اضافه کردن نسبت غلظت دانه‌های طلا به یون‌های طلای سه بار مثبت، عامل کاهش دهنده ال \_ آسکوربیک



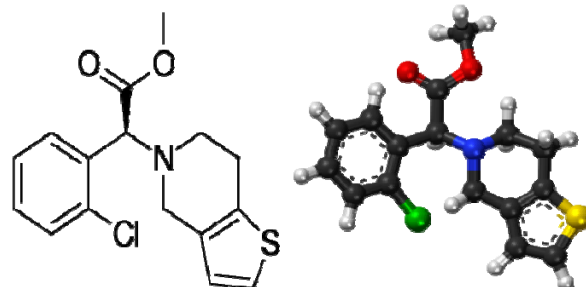
شکل ۵: انواع عوامل پوششی سطح

فسفین‌ها و آمین‌ها به عنوان تثبیت کننده در سنتز نانوذرات مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. سورفاکتانت‌های باردار همچنین به عنوان پایدار کننده و قالب برای رشد انواع نانوذرات نیمه رسانا و یا فلزی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

مخلوط های سورفاکتانت‌های کاتیونی به عنوان قالب برای آماده سازی نانوذرات نیمه رسانا و فلزی به شکل میله استفاده شده است. این مخلوط شامل ستیل تری متیل آمونیوم برماید به عنوان جزء اصلی و تترا اوکتیل آمونیوم برماید (TOAB) به عنوان جزء فرعی می‌باشد.

یک نکته مهم در زمینه مواد در مقیاس نانو، قابلیت توصیف ساختار عوامل پوششی روی سطح نانوذرات می‌باشد. تکنیک‌هایی مانند رزونانس مغناطیس هسته (NMR)، رامان (Raman) و طیف سنجی فوتون اشعه X، برای مطالعه ساختار و سازماندهی مواد پوششی مختلف بر روی سطح نانوذرات استفاده می‌شود.<sup>۴</sup>

کلوپیدوگرل (Clopidogrel) (اسویکس (Osvox))



شکل ۶: ساختار فضایی و شیمیایی کلوپیدوگرل

پوشش دادن نانوذرات توسط واکنش‌های پلیمریزاسیون در محل، یک روش جایگزین برای افزایش پایداری نانوذرات فراهم می‌کند. یکی از کاربردهای بالقوه نانوذرات پوشش داده شده برای ساخت پیش سازها برای نانوذرات تو خالی است.

نانوذرات تو خالی یک مورد جالب و به طور فزاینده مهم از مواد با کاربردهای متنوع، اعم از تحویل دارو، پیوند سلول و آنزیم، حذف زباله‌های آلوده و ژن درمانی است.<sup>۵</sup>

برخی از سورفاکتانت‌ها به عنوان تثبیت کننده سطح و یا قالب‌هایی در سنتز نانوذرات مورد استفاده قرار گرفته اند. این قسمت‌ها با اتصال به سطح نانوذرات باعث کاهش انرژی سطح، کنترل رشد و شکل ذرات می‌شوند و به عنوان یک تثبیت کننده در برابر انعقاد عمل می‌کنند.

وجود بخش بزرگی از اتم‌ها روی سطح نانوذرات باعث ایجاد یک خاصیت جدید و یا بهبود یافته می‌شود و همچنین باعث می‌شود که آن هادر کاتالیز، حسگرهای شیمیایی و نوری از اهمیت برخوردار باشند. سورفاکتانت‌های خنثی مانند آلکانوتیول‌ها، آلکیل

اسویکس (کلوپیدوگرل) از شرکت داروسازی اسوه خریداری شد. اسید آسکوربیک ( $C_6H_8O_6$ )، تترا کلرو اورات ( $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$ )، نیترات نقره ( $AgNO_3$ )، ستیل تری متیل آمونیوم برماید (CTAB)، سدیم بورهیدرید ( $NaBH_4$ )، سدیم سیترات، اسیدبوریک، اسیدفسفریک، اسیداستیک، نیترات فلزات مختلف، اسید کلریدریک، سدیم هیدروکسید، پتاسیم کلرید، سدیم نیترات، سدیم کلرید و سایر موادی که در قسمت عوامل مزاحم استفاده شدند. (تمامی مواد از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.)

### دستگاه‌ها

از دستگاه‌های اسپکتروفتومتر فابنش - مرئی (Perkin Elmer مدل 35 Lambd)، FT-IR (Perkin Elmer)، آون (Memmert مدل 400 UNE)، دستگاه TEM (شرکت LEO مدل E 906)، pH متر (Metrohm مدل 827 با یک الکتروکدباین شیشه‌ای)، هیتر استیر (شرکت IKA مدل RH Basic 2)، سانتریفیوژ (Alc International مدل 4232)، ترازوی دقیق دیجیتال (Sartorius مدل 2842 با دقت  $\pm 0.0001$  گرم) استفاده شد.

### روش سنتز نانو میله‌های طلا<sup>۷</sup>

#### الف - آماده سازی دانه‌های طلا

در یک لوله آزمایش ۲ ml از محلول نمک طلا ( $HAuCl_4$ ) (100ppm) به ۷/۵ ml محلول CTAB ۰/۱ مولار اضافه شد. محلول‌ها به آرامی توسط روش معکوس مخلوط شدند (هم زدن لوله آزمایش به شکل رفت و برگشتی). محلول آماده سازی شده به رنگ زرد پررنگ درآمد. سپس؛ ۰/۶ میلی لیتر محلول سدیم بور هیدرید (۰/۱M) به یکبار به لوله آزمایش اضافه شد، به مدت ۲ دقیقه به روش معکوس هم زده و مخلوط شد. محلول حاصل به رنگ قهوه ای روشن تغییر کرد. سپس لوله آزمایش حاوی محلول دانه‌های طلا در حمام آب در ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲ ساعت نگهداری شد (می تواند به مدت یک هفته استفاده شود).

این دارو در کاهش خطر سکته مغزی، حمله قلبی، سایر مشکلات گردش خون ناشی از تنگی و سخت شدن رگ‌ها، و یا برخی از مشکلات قلبی دیگر آنژین ناپایدار دارای کاربرد می باشد.<sup>۹</sup> از عوارض این دسته از داروها، خطر خونریزی بدلیل اثر ضدانعقادی آنها می باشد و در اقدامات جراحی وسیع ممکن است قطع آنها ضروری باشد، ولی مطالعات نشان داده است در اقدامات دندانپزشکی که خطر خونریزی زیادی ندارند، بدون قطع آنها و با اقدامات کنترل موضعی می توان همه اعمال دندانپزشکی را انجام داد.<sup>۹</sup>

مشتقات تینو پیریدین‌ها از قبیل Ticlopidine و clopidogrel از عوامل ضد پلاکت بوده و از تجمع پلاکت‌های مشتق شده از آدنوزین دی فسفات (ADP) که موجب خطر ایسکمی خواهد شد جلوگیری می کنند. در این زمینه استفاده از کلوپیدوگرل از عمومی ترین روش‌های درمان بیماری‌های عروق کرونر می باشد. کلوپیدوگرل به طور انتخابی از باند شدن ADP به گیرنده‌های پلاکتی و فعال سازی واسطه ADP کمپلکس a / III b / GPII در پی آن تجمع پلاکت‌ها جلوگیری می کند، به طریق تغییر غیر قابل برگشت گیرنده‌های ADP پلاکت‌ها وارد عمل می شود که بدین ترتیب پلاکت‌های تحت تاثیر کلوپیدوگرل برای باقی عمر خود به همین شکل باقی خواهند ماند. این دارو که به صورت خوراکی تجویز می شود به عنوان جایگزین آسپرین در بیماران با خطر حوادث ترومبوآمبولیک همچون سکته قلبی و مغزی و بیماری عروق محیطی و همچنین به همراه آسپرین در درمان آنژین ناپایدار استفاده می شود. از مهمترین استفاده‌های این دارو در بیمارانی است که تحت آنژیوپلاستی عروق کرونر قرار می گیرند. از عمده موارد منع مصرف این دارو می توان احتمال وجود خونریزی اینتراکرانیا، زخم گوارشی و آسیب شدید عملکرد کبدی را نام برد. به دلیل قیمت بالای داروی پلاویکس در ایران و وارداتی بودن آن، داروی ایرانی مشابه پلاویکس، با عنوان اسویکس توسط یک شرکت داروسازی ایرانی تولید شده است.<sup>۱۰</sup>

### مواد و روش‌ها

#### مواد آزمایشات

در تمام مراحل تحقیق از آب دوبار تقطیر استفاده شد. داروی

۳) رنگ: آبی,  $V_{AA}=0/05\text{ml}$ ,  $V_{AgNO_3}=0/1\text{ml}$ ,  $\lambda=650\text{nm}$ , پس، با اضافه کردن حجم بیشتری از محلول نیترات نقره و آرام تر اضافه کردن AA، اندازه میله‌های طلا درشت تر و به سمت طول موج‌های بالاتر می‌رود.

(قابل ذکر است که با این روش اندازه گیری نمونه خارجی دارو (پلاویکس) نیز انجام شد و جذب و پیک تقریباً مشابهی بدست آمد.)

شکل ۷. الف - نشان دهنده تصویر رنگ نانومیله‌های طلای سنتز شده در طول موج‌های مختلف در نتیجه تغییر حجم افزایشی در پروژ. ب- شماتیک سنتز نانو میله‌های طلا.

### آماده سازی محلول‌ها

اسید کلریدریک و سدیم هیدروکسید: محلول ۰/۱ مولار از اسیدکلریدریک و سدیم هیدروکسید برای مرحله ی تنظیم pH ساخته شدند.

بافر سیترات: ۱۰۰ میلی لیتر سیترات سدیم ۰/۱ مولار ساخته شده و سپس با دستگاه pH متر تحت نظر قرار گرفته شده و با استفاده از اسید کلریدریک pH به مقدار بهینه رسانده شد.

ب - سنتز نانومیله‌های طلا با استفاده از دانه‌های آماده سازی شده

سپس؛ ۴/۷۵ ml از محلول CTAB (ستیل تری متیل آمونیوم برماید) (0/1M)، ۲ ml محلول نمک طلا (100ppm) و حجمی از محلول نیترات نقره 0/01M، به ترتیب به درون یک لوله آزمایش اضافه شدند و به آرامی توسط روش معکوس هم زده و مخلوط شدند. محلول که در این مرحله به رنگ زرد بود با اضافه شدن حجمی از آسکوربیک اسید 0/1M به آن بی رنگ شد، سپس؛ ۰/۰۱ ml از محلول دانه به آن اضافه شد، و مخلوط واکنش به آرامی به مدت ۱۰ ثانیه توسط روش معکوس مخلوط شد و تا رسیدن به رنگ و جذب ثابت حداقل به مدت ۳ ساعت ماند و سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis بررسی شد. قابل ذکر است که با اضافه کردن حجم‌های زیر از محلول نیترات نقره (0/01M) و اسید آسکوربیک (۰/۱ مولار) در حین آزمایش (با حجم‌های ثابت گفته شده در روش سنتز برای باقی مواد واکنش)، نانو میله‌های طلا در رنگ‌ها و طول موج بیان شده سنتز شدند. (AA: آسکوربیک اسید)

۱) رنگ: صورتی مایل به بنفش,  $\lambda=538\text{nm}$ ,  $V_{AA}=0/05\text{ml}$ ,  $V_{AgNO_3}=0/03\text{ml}$   
 ۲) رنگ: بنفش,  $\lambda=580\text{nm}$ ,  $V_{AA}=0/04\text{ml}$ ,  $V_{AgNO_3}=0/05\text{ml}$



شکل ۷: الف - نانومیله‌های سنتز شده در این پژوهش در رنگ‌ها و طول موج‌های مختلف



شکل ۷: ب - شماتیک سنتز نانو میله های طلا در این پژوهش

به هم بخورد، بعد از حل شدن، حجم های محاسبه شده اسید استیک و فسفریک اسید را اضافه کرده و سپس pH روی مقدار بهینه تنظیم گردید.

### نتایج

#### تست های تاییدی سنتز

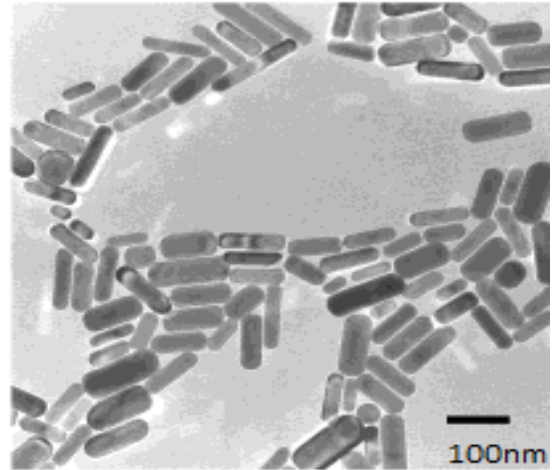
الف - TEM: در شکل ۸، تصویر TEM، نشان دهنده شکل و اندازه نانوذرات سنتز شده می باشد که اندازه تقریبی این نانوذرات ۱۰۰ nm و شکل آن ها میله ای بدست آمد .

**پافر فسفات:** با استفاده از فسفریک اسید غلیظ و آب دو بار تقطیر در بالن ۱۰۰ میلی لیتری فسفریک اسید ۰/۱ مولار ساخته و سپس توسط دستگاه pH متر بر روی استیر با استفاده از سدیم هیدروکسید و اسید کلریدریک، pH آن بر اساس مقدار بهینه تنظیم شد .

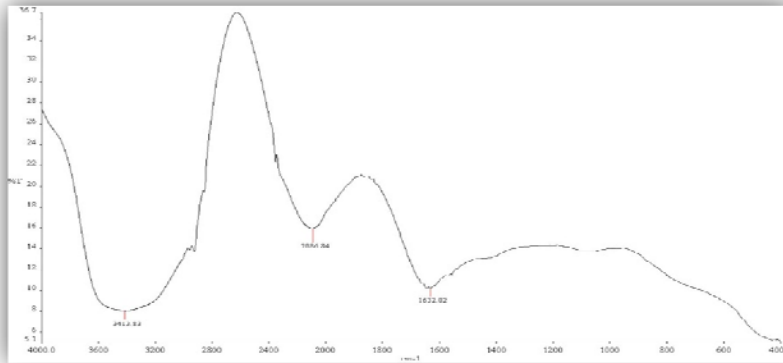
**بافر بریتون - رابینسون:** ابتدا با استفاده از محاسبات استوکیومتری حجم بالن را صد میلی لیتر و غلظت را ۰/۰۵ مولار در نظر گرفته و وزن (گرم) اسید بوریک و حجم اسید استیک و اسید فسفریک را محاسبه کرده، به مقدار محاسبه شده بوریک اسید ۴۰، میلی لیتر آب دو بار تقطیر اضافه کرده، روی استیر گذاشته تا



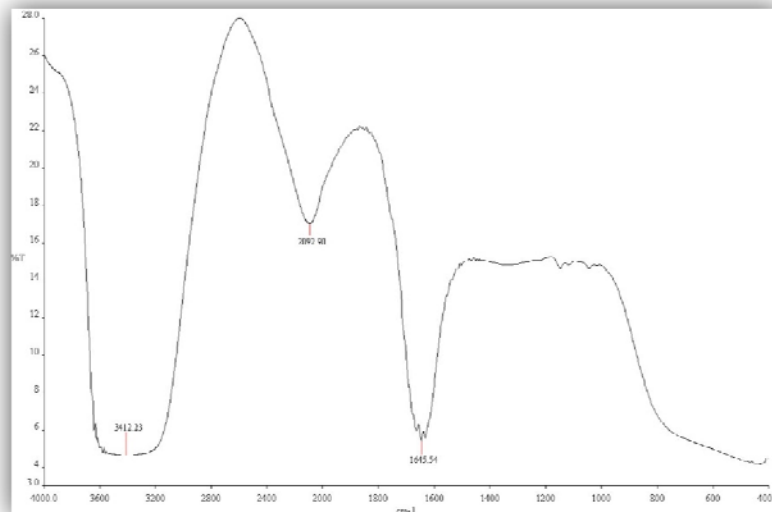
ب - طیف IR: از بین مواد شیمیایی که در سنتز نانو میله‌های طلا به کار رفته اند، آسکوربیک اسید دارای گروه عاملی برجسته تری است، بنابراین طیف آن برای تایید تغییرات ایجاد شده پس از سنتز، با طیف نانو میله طلای سنتز شده مقایسه شد، همان طور که از شکل ۹ (الف) و (ب) مشخص است تغییرات ایجاد شده در باند  $1632.02 \text{ cm}^{-1}$  در طیف نانومیله‌های طلا نسبت به طیف محلول آسکوربیک اسید، که مربوط به گروه عاملی کربونیل (C=O) می‌باشد، حائز اهمیت است.



شکل ۸: تصویر TEM نانومیله‌های طلا



شکل ۹: الف) تصویر IR نانومیله‌های طلای سنتز شده



شکل ۹: ب) تصویر IR آسکوربیک اسید (یکی از مواد اولیه سنتز نانو میله‌های طلا)

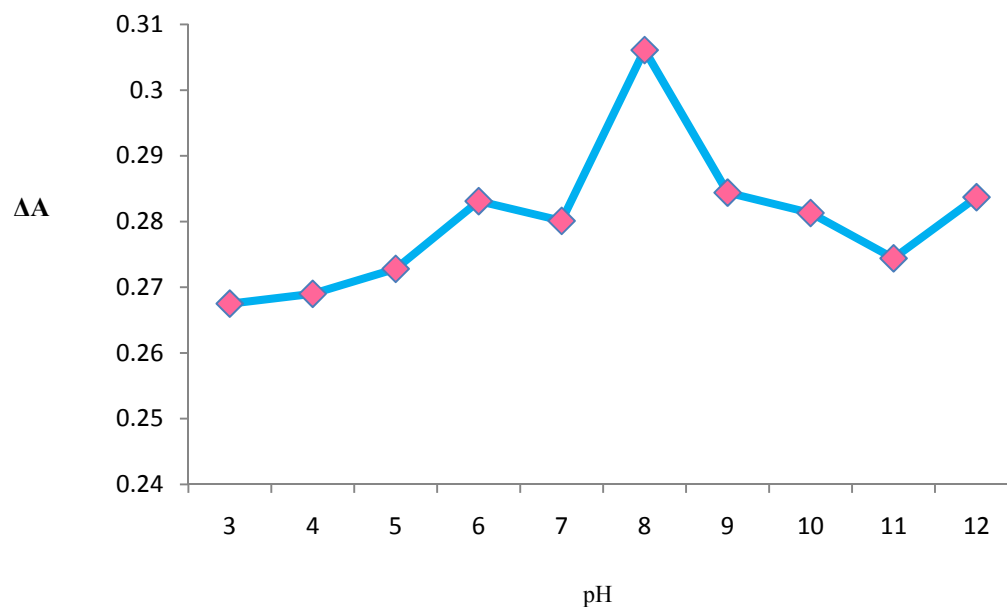
**بهینه‌سازی pH در اندازه‌گیری داروی اسویکس**

روش اندازه‌گیری pH بدین صورت است که؛ در یک بالن ۱۰ میلی‌لیتری ۳ میلی‌لیتر نانو میله طلا به علاوه ۱ میلی‌لیتر از محلول داروی اسویکس را ریخته و با آب دوبار تقطیر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر می‌رسانیم، سپس محلول ساخته شده را در یک بشر ریخته و بر روی استیور قرار داده و pH آن را با استفاده از دستگاه pH متر و با

توجه به pH اولیه محلول، با افزودن قطره قطره محلول‌های اسیدکلریدریک ۰/۱ مولار و سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار روی pH مورد نظر تنظیم می‌کنیم. جدول و نمودار شماره ۱ نشان دهنده تغییرات جذب در pH های مختلف می‌باشد که بر طبق نتایج،  $pH = 8$ ، کمترین جذب و بیشترین تغییرات جذب را نشان داده است.

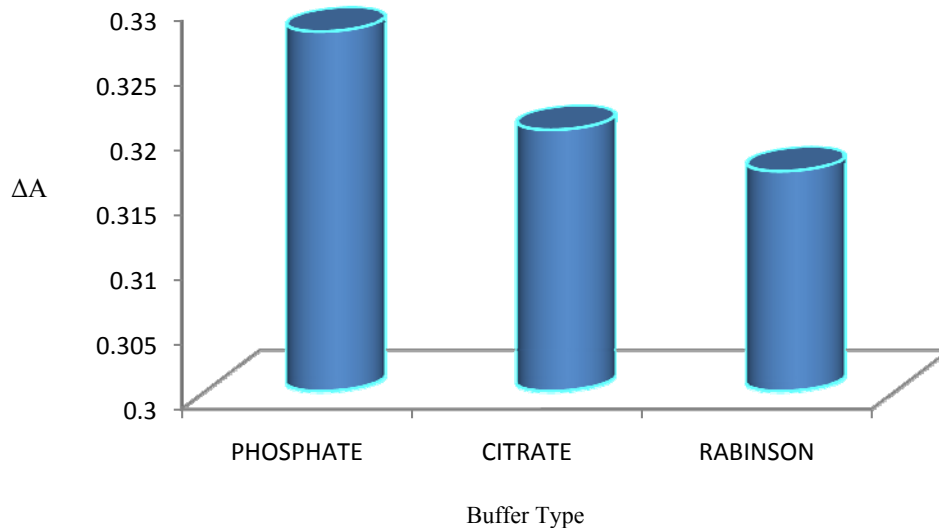
**جدول ۱: بهینه‌سازی PH برای اندازه‌گیری داروی اسویکس**

pH	$\Delta A$
۳	0.2675
۴	0.269
۵	0.2728
۶	0.2831
۷	0.2801
۸	0.3061
۹	0.2844
۱۰	0.2813
۱۱	0.2744
۱۲	0.2837

**نمودار ۱: بهینه‌سازی pH برای اندازه‌گیری داروی اسویکس**

جدول ۲: بررسی اثر نوع بافر بر روی اندازه‌گیری داروی اسویکس

Buffer Type	$\Delta A$
PHOSPHATE	0.3278
CITRATE	0.3202
BRITTON-RABINSON	0.317



نمودار ۲: بررسی اثر نوع بافر بر اندازه‌گیری داروی اسویکس

را نشان داد، به عنوان بافر بهینه تعیین شد.

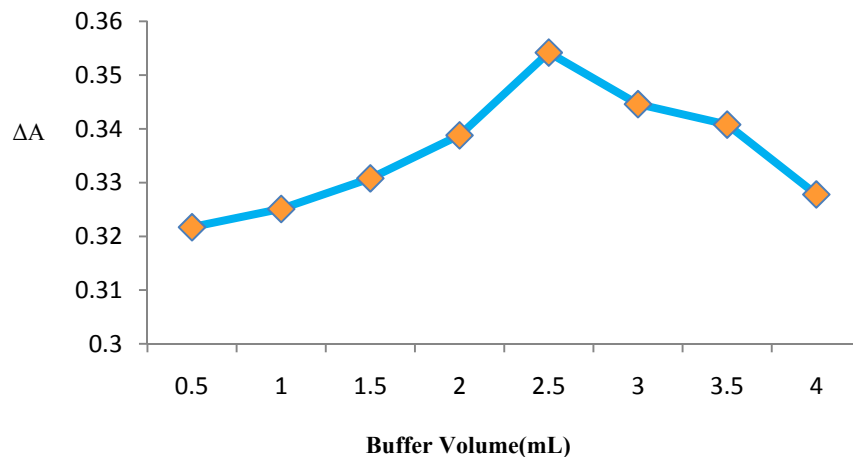
**بهینه‌سازی حجم بافر فسفات برای اندازه‌گیری داروی اسویکس**  
در این قسمت حجم‌های مختلف از بافر بهینه بدست آمده در قسمت قبل، مورد بررسی قرار گرفته است و همان طور که از جدول و نمودار ۳ مشخص است حجم ۲/۵ میلی لیتر از بافر فسفات، بیشترین تغییرات جذب را نشان داده است.

### تعیین نوع بافر برای اندازه‌گیری داروی اسویکس

در این قسمت سه نوع بافر بریتون - رابینسون، فسفات و سیترات در غلظت‌ها و حجم‌های ثابت ساخته و روی pH بهینه تنظیم شده اند. ۳ میلی لیتر نانومیل‌های طلا و ۱ میلی لیتر دارو و ۲ میلی لیتر بافر مورد نظر را در یک بالن ۱۰ میلی لیتری ریخته و با آب دو بار تقطیر به حجم رسانده شد، سپس جذب آن اندازه‌گیری شد. نتایج در نمودار و جدول ۲ آورده شده است که بر طبق نتایج بافر فسفات، که کمترین جذب و در نتیجه بیشترین تغییرات جذب

جدول ۳: بهینه‌سازی حجم بافر فسفات

Buffer Volume(mL)	$\Delta A$
0.5	0.3217
1	0.3251
1.5	0.3308
2	0.3388
2.5	0.3542
3	0.3446
3.5	0.3408
4	0.3278



نمودار ۳: بهینه سازی حجم بافر فسفات

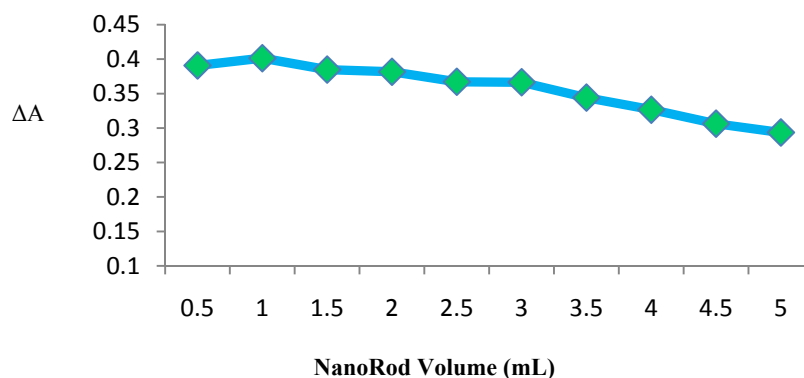
### بهینه‌سازی حجم نانو میله‌های طلا

در این قسمت حجم‌های مختلف از نانو میله‌های طلا و ۱ میلی لیتر داروی اسویکس و حجم بهینه شده بافر فسفات در یک بالن ۱۰ میلی لیتری به حجم رسانده شد و جذب آن‌ها اندازه گیری شد.

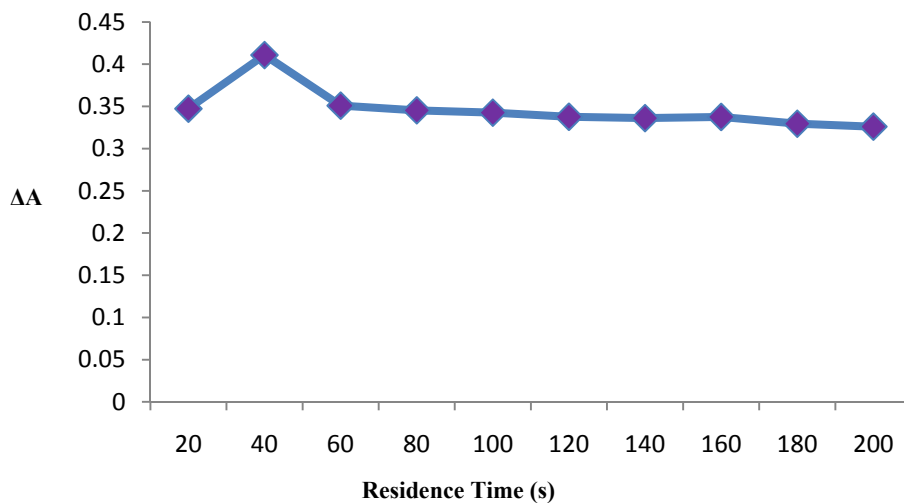
همانطور که از جدول و نمودار شماره ۴ مشخص است، حجم ۱ میلی لیتر از نانو میله‌های طلا بیشترین میزان تغییرات جذب را نشان داده است، بنابراین به عنوان حجم بهینه نانو میله‌ها تعیین شد.

جدول ۴: بهینه سازی حجم نانو میله‌های طلا برای اندازه گیری داروی اسویکس

NanoRod Volume (mL)	$\Delta A$
0.5	0.3908
1	0.4014
1.5	0.3848
2	0.3817
2.5	0.3671
3	0.3665
3.5	0.3442
4	0.3266
4.5	0.3063
5	0.2935



نمودار ۴: بهینه سازی حجم نانو میله‌های طلا برای اندازه گیری داروی اسویکس



نمودار ۵: زمان ماند برای اندازه گیری داروی اسویکس

منحنی کالیبراسیون در شرایط بهینه

در شرایط بهینه منحنی کالیبراسیون برای داروی اسویکس رسم شد، و نتایج در جدول و نمودار شماره ۶ آورده شده است.

جدول ۶: اطلاعات منحنی کالیبراسیون تحت شرایط بهینه

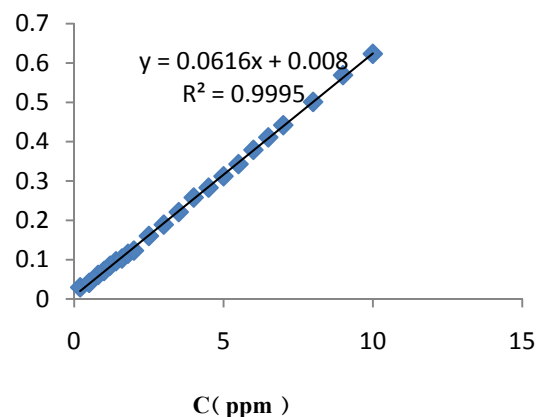
C (ppm)	A
0.2	0.0295
0.5	0.041
0.8	0.0611
1	0.071
1.2	0.0846
1.4	0.0959
1.6	0.1029
1.8	0.1149
2	0.1229
2.5	0.1601
3	0.1889
3.5	0.2209
4	0.2579
4.5	0.2829
5	0.3119
5.5	0.3429
6	0.3789
6.5	0.4109
7	0.4418
8	0.5009
9	0.5689
10	0.6232

جدول ۵: زمان ماند برای اندازه گیری داروی اسویکس

Residence Time (s)	ΔA
20	0.3473
40	0.4108
60	0.3509
80	0.3453
100	0.3426
120	0.3377
140	0.3361
160	0.3375
180	0.3295
200	0.326

زمان ماند

بررسی زمان ارتباط بین نانو ذرات و آنالیت در جدول و نمودار شماره ۵ آورده شده است.



نمودار ۱۲: منحنی کالیبراسیون داروی اسویکس تحت شرایط بهینه

جدول ۷: اثر عوامل مزاحم بر اندازه گیری داروی اسویکس

عوامل مزاحم	غلظت قابل تحمل ( ppm )
$Pb^{2+}$ , $Zn^{2+}$ , $Ni^{2+}$ , $OH^-$ , $SO_4^{2-}$ , $Fe^{2+}$ , $K^+$ , $Cr^{3+}$ , $CO_3^{2-}$ , $Ag^+$ $Fe^{3+}$	500
$NO_3^-$ , $Li^+$ , $Na^+$ , $Cu^{2+}$ , $Mg^{2+}$ , $Pd^{2+}$	۳۰۰
$NO_2^-$ , Glucoze, Tartarate Fructoze	۲۵۰
$Al^{3+}$ , $Ca^{2+}$ , $NO_2^-$ $Co^{2+}$	۲۴۰
$Cd^{2+}$ , $Cl^-$ , $Fe^{2+}$ , $Bi^{3+}$	۲۰۰
Aspirine	۱۵۰
	۱۰۰
	۴۰

مرحله قبل تفاوت زیادی ندارند، بنابراین تاثیرناپذیرند و نیازی به اضافه کردن آن‌ها در مرحله بعد نیست ( اگر تفاوت زیاد بود باید الکترولیتی که بیشترین تغییرات جذب را داشت در حجم‌های مختلف بررسی می‌شد و نتیجه بهینه در مرحله بعد افزوده می‌شد). نتایج در جدول ۸ و نمودار ۷ آورده شده است.

### بررسی اثر عوامل مزاحم

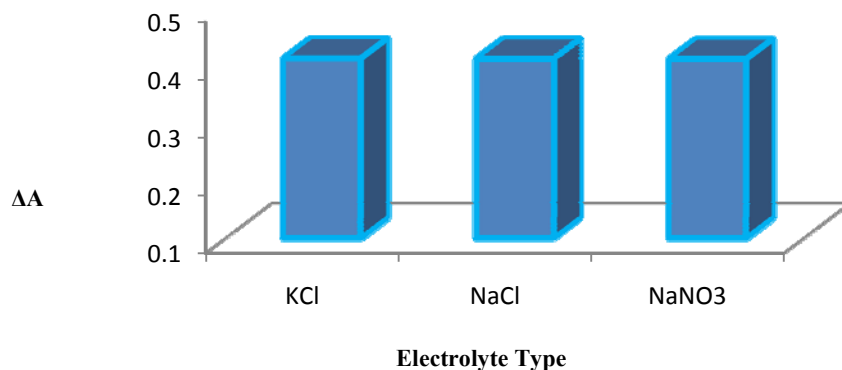
در این قسمت اثر چند یون و دارو بر تغییرات جذب مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در جدول شماره ۷ نشان داده شده است، یون‌ها و داروهای بررسی شده تا غلظت‌های نوشته شده هیچ گونه مزاحمتی برای اندازه گیری دارو توسط نانومیله‌های طلای سنتز شده در این پروژه نداشتند.

جدول ۸: اثر الکترولیت بر اندازه گیری داروی اسویکس

Electrolyte Type	$\Delta A$
KCl	0.4107
NaCl	0.4102
NaNO <sub>3</sub>	0.4098

### اثر الکترولیت بر اندازه گیری داروی اسویکس

در این بخش اثر قدرت یونی با افزودن الکترولیت مناسب برای به دست آوردن بالاترین میزان دارو ( آنالیت ) مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات جذب در اثر افزودن الکترولیت‌ها با تغییرات جذب



نمودار ۷: اثر الکترولیت بر اندازه گیری داروی اسویکس

جدول ۹: اثر تکرار پذیری نانو میله‌های طلا برای اندازه‌گیری داروی اسویکس

شماره	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	0.0659	0.0657	0.0657	0.0658	0.0659	0.0659	0.0657	0.0658	0.0659	0.0658
	X = 0.06581		SD = 8.7521 * 10 <sup>-5</sup>					RSD = 0.133		

جدول ۱۰: حد تشخیص اندازه گیری داروی اسویکس

شماره	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
A	0.0716	0.0793	0.0787	0.0821	0.0754	0.0701	0.0712	0.0779	0.0811	0.0765
	X = 0.07639		SD = 4.2335 * 10 <sup>-3</sup>		RSD = 5.5419		LOD = 0.206		LOQ = 0.687	

اندازه‌گیری داروی اسویکس در نمونه‌های حقیقی

به منظور تعیین کارایی روش ذکر شده بر اندازه گیری داروی اسویکس توسط نانو میله‌های طلا، نمونه‌های حقیقی مطابق با جدول شماره ی ۱۱ مورد بررسی قرار گرفت. (مقدار اضافه شده و مقدار یافت شده به صورت میانگین هستند). نمونه‌های حقیقی از کسانی که دارو را استفاده کرده‌اند تهیه و اندازه‌گیری شده است. روش هضم ادرار: ۳ میلی لیتر ادرار و ۳ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید را با هم ترکیب کرده به مدت ۱۰ دقیقه روی استیرر تکان داده شد، سپس ۳ بار سانتریفیوژ شد و مقداری از محلول رویی را برداشته و در مرحله اول بدون دارو و در مرحله‌های بعد با اسپایک کردن دارو اندازه گیری‌ها انجام داده شد. محلول پلاسما را نیز چند بار سانتریفیوژ نموده و بر روی آن اندازه گیری‌های لازم انجام داده شد.

اثر تکرارپذیری نانو میله‌های طلا برای اندازه گیری داروی

اسویکس

آزمایش ده بار در شرایط کاملا یکسان و براساس مقادیر بهینه شده انجام شد و نتایج در جدول ۹ نشان داده شده است.

بررسی حد تشخیص روش

بر طبق تعریف، کمترین غلظتی از آنالیت که می‌تواند سیگنالی بدهد که به طور معنی دار با سیگنال محلول شاهد متفاوت باشد را حد تشخیص گویند و حد کمی سازی شروع خطی بودن منحنی می‌باشد. حد تشخیص و حد کمی سازی در جدول ۱۰ نشان داده شده اند. حد تشخیص با توجه به جذب‌های اندازه گیری شده و بر طبق فرمول زیر بدست می‌آید:

$$LOD = K Sd / m \quad (LOD \text{ حد تشخیص روش، } k \text{ ثابت و برابر}$$

با ۳، Sd انحراف استاندارد جذب‌های اندازه گیری شده محلول شاهد، m شیب منحنی کالیبراسیون می‌باشد.)

جدول ۱۱: تهیه محلول‌های نمونه حقیقی جهت بررسی روش پیشنهادی

Sample	Added(ppm)	Found(ppm)	RSD
پلاسما	-	۱۵	-
پلاسما	۱	۱۵/۹	۴/۱
پلاسما	۳	۱۸/۱	۴/۳
ادرار	-	۱/۶	-
ادرار	۱	۲/۷	۱/۴
ادرار	۳	۴/۷	۱/۸
قرص اسویکس	-	۳۲	-
قرص اسویکس	۱	۳۴/۲	۲/۴
قرص اسویکس	۳	۳۵/۱	۲/۵

## نوآوری

شرایط اندازه گیری دارو را کنترل کند نکته ای حائز اهمیت است که کمک قابل توجهی برای تحقیقات آتی می‌باشد. همچنین تاثیر اندازه و غلظت برخی مواد در سنتز نانو میله‌های طلا به روش رشد دانه بررسی گردید، که رنگ‌ها و طول موج‌های مرئی مختلف بدست آمده در سنتز نانو میله‌ها نشان دهنده این تاثیرات می‌باشند که در مطالعات بعدی می‌توان اندازه گیری داروی اسویکس توسط این نانوحسگرهای پرکاربرد را در سایر طول موج‌های ماکزیمم بدست آمده در سایر سنتزهای این پروژه نیز، بررسی کرد و بهترین طول موج ماکزیمم را برای اندازه گیری داروی مذکور برگزید.

در این تحقیق از نمونه داخلی داروی کلوییدوگرل به نام اسویکس، که مقرون به صرفه می‌باشد، استفاده شده و نیز در مقایسه اندازه گیری این دارو با نمونه خارجی آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر فرابنفش - مرئی، پیک هر دو تقریباً به یک شکل و نزدیک به هم بدست آمد. اندازه گیری داروی اسویکس در نمونه‌های حقیقی ادرار، خون و قرص انجام شد.

## بحث

در این مطالعه انجام بهینه سازی فاکتورهای مهم که می‌تواند

## References

- Kalantari M, Parivar K, Salouti M, Hamidi M, Emadi S, Breast Cancer Phothothermal Therapy by Using Gold Nanorods and Tissue Distribution of Gold Nanoparticles in Mouse Model. Quarterly of Physiological Scientific-Research and Animal Development 1396; 4 (10) : 81-96. [In Persian]
- Ahmadi, Hojjat. Nanotechnology of publication the third millennium, Iran Industrial Education and Research Center Publications. 1386. [In Persian]
- kim F , Song J H , Yang p. Photochemical Synthesis of Gold Nanorods. J. AM .CHEM. SOC. 2002; 124(48) :14316-7.
- Nikobakht B, A. EL- Sayed M. Evidence for Bilayer Assembly of Cationic Surfactants on the Surface of Gold Nanorods. Langmuir 2001 ; 17 (20) : 6368-74.
- Nikobakht B, A. EL - Sayed M. Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed - Mediated Growth Method. Chem. Mater. 2003 ; 15 (10) : 1957-62.
- Perez-Juste J , Pastoriza-Santos I , Liz-Marzan LM, Mulvaney P. Gold nanorods Synthesis , characterization and applications. Coordination Chemistry Reviews 2005 ; 249 ( 17) : 1870 – 901.
- Sau Tk , Murphy C J. Seeded High Yield Synthesis of Short Au Nanorods in Aqueous Solution. langmuir 2004 ; 20(15) :6414-20.
- Obare S O, Jana N R, Murphy C J. Preparation of Polystyrene- and Silica-Coated Gold Nanorods and Their Use as Templates for the Synthesis of Hollow Nanotubes. Nano Letters 2001;1(11):601-3.
- Moeinipour AA, Qarchahi M, Sepehri Shamloo A, Safarie Soltanabad A, Hosseini Khah H . Examination of anticoagulants in Patients of need the dental considerati ons, Review of articles and review the latest guidelines . Journal of Dentistry Research 1394; 12(3) :149-55.
- Imeni B, Safi Arian B, Karam Pourian A, Qazi Khanlou Sani K, The effectiveness, side effects and acceptability of locally available brand of Clopidogrel (Osvix) as antiplatelet tablet in CABG patients, Tehran University Medical Journal 1393;72(4):207-14. [In Persian]



Farideh Kazeminezhad,  
Farzaneh Marahel

Department of Chemistry,  
Omidyeh Branch, Islamic  
Azad University, Omidyeh,  
Iran

## Investigation and Determination of Osvix by Gold Nanorods by Spectrophotometry

Received: 7 Feb. 2020; Accepted: 22 May 2020

### Abstract

**Background and Aims:** Osvix drug is an internal brand of Plavix, which is used to prevent blood coagulation in many heart diseases. The aim of the present study was to measure this drug by gold nanorods in optimum conditions and in real samples.

**Material and Methods:** Gold nanorods were synthesized by the seeded-mediated method. Measurement of Osvix drug by gold nanorods was performed by optimizing important factors at a maximum wavelength of 650 nm. The concentration of annoying agents and the effect of electrolyte were investigated .

**Results:** The optimum values were calculated using a Visible-Ultraviolet spectrophotometer at 650 nm for factors of pH=8, nanoparticles volume of 1 mL, buffer volume of 2.5 mL and residence time of 40 seconds, As well as the type of buffer, phosphate was obtained. The calibration curve was linear in the concentration range of 0.2 - 10 ppm. Drug concentration was measured in real samples.

**Conclusion:** The limit of detection and limit of quantification were 0.206 and 0.687 ppm, respectively. This method , which is rapid and simple, with high Precision and reproducibility and appropriate limit of detection , a desirable suggested method is for measuring of Osvix drug .

**Keywords:** Gold nanorods, Osvix drug, Real samples, Seeded-mediated method

\*Corresponding Author:  
Department of Chemistry,  
Omidyeh Branch, Islamic  
Azad university, Omidyeh,  
Iran

Tel: 09167609692  
E-mail: farzanehmarahel@yahoo.com