

## تهیه و خصوصیات نانوکپسول های PLGA حاوی دارو قابل حل در آب به روش

## الکترواسپری

## مهسا موسائی

دانشجو دانشکده فنی، دانشگاه گیلان  
[Mahsa\\_musaie@yahoo.com](mailto:Mahsa_musaie@yahoo.com)

## جواد مختاری

دانشیار دانشکده فنی، دانشگاه گیلان  
[J.mokhtari@quilan.ac.ir](mailto:J.mokhtari@quilan.ac.ir)

## مهدی نوری

دانشیار دانشکده فنی، دانشگاه گیلان  
[Mnouri69@quilan.ac.ir](mailto:Mnouri69@quilan.ac.ir)

## چکیده

فرموله کردن نانوکپسول ها به طور گسترده ای برای بهبود زیست سازگاری داروها به کار برده می شوند. الکترواسپری کردن به عنوان یک روش جدید برای تولید نانوکپسول های دارو مورد استفاده قرار می گیرد. در این تحقیق نانوکپسول های PLGA حاوی پروتئین های درمانی تهیه شدند. نانوکپسول ها در نرخ های متفاوت BSA/ PLGA به دست آمدند. تاثیر پارامترهای عملیاتی و محلول اسپری آزمایش شد. شکل شناسی و قطر نانوکپسول ها حاصل توسط میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) بررسی شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی پویشی نشان دهنده آن است که با افزایش ولتاژ و کاهش نرخ تغذیه، ابعاد نانوکپسول ها کاهش می یابد و منجر به تولید کپسول هایی در محدوده ۲۶۰-۸۵ نانومتر می گردد. نتایج آنالیز گرمایی (DSC) نشان دهنده پهن تر شدن پیک گرماگیر و انتقال آن به دمای پایین تر می باشد و دلالت بر حضور دارو می کند. رهاش بیش از ۹۰٪ دارو با استفاده از اسپکتروفتومتر UV و دمای ۳۷°C در بافر فسفات (pH=۷/۴) شناسایی شد.

**کلمات کلیدی:** نانوکپسول، الکترواسپری کردن، دارو، پلی لاکتیک کوگلایکولیک اسید، سرم آلبومین

## ۱. مقدمه

کپسوله کردن مواد دارویی توجه بسیاری را به خود معطوف نموده است چرا که می تواند: کارایی درمانی، زیست سازگاری و سرعت انحلال را افزایش دهد. روش های متفاوت کپسوله کردن، به منظور رسیدن به اندازه مورد نظر ذرات فعال که تا حد زیادی وابسته به نوع کاربرد است، به کار می رود. به طور کل اندازه متوسط ذرات در محدوده 100-300 nm برای آزاد سازی وریدی (سیاهرگ)<sup>1</sup>، 1-5  $\mu m$  برای آزاد سازی ریوی به صورت گرد و گاز<sup>2</sup> و 10-100  $\mu m$  برای مسیرهای خوراکی<sup>3</sup> لازم است [1]. روش های فراوانی برای تولید ذرات کوچک وجود دارند و بسیاری از آن ها در فرمولاسیون دارو به کار می روند، که متداول ترین روش های به کار گرفته شده عبارتند از: تبخیر حلال از امولسیون، روکش کردن بستر سیالی، رسوبی، خشک

<sup>1</sup> . intravenous

<sup>2</sup> . pulmonary

<sup>3</sup> . route

کردن پاششی و غیره اگر چه این روش های تولید ذره به طور موفقیت آمیزی به کار برده شدند، هر کدام از آن ها عیوب خود را دارند و نمی توانند برای ترکیبات و کاربردهای خاص مناسب باشند [2]. بسیاری از این روش ها معایبی مانند بازده کپسوله کردن پایین و یا روش جداسازی کُند ذرات از فاز آبی را دارا هستند [3]. اگر چه این روش های کوچک سازی برای مولکول هایی با ساختارهای کریستالی بسیار کارآمد هستند اما به دلیل پیچیدگی این تکنیک ها برای مولکول های بیولوژیکی ناپایدار مانند ذرات متخلخل<sup>4</sup> و توخالی<sup>5</sup>، ذرات غیر کروی، کامپوزیت ها نانو ذرات، مواد سطح دار (کپسوله شده) ناکارآمد می باشند [4]. پروتئین ها و پتیدها اهمیت بیشتر و بیشتری را به عنوان مواد دارویی به دست آوردند در اغلب موارد آن ها بی ثبات هستند و در نتیجه هنگامی که به صورت خوراکی داده می شوند موثر نمی باشند [5]. زیرا پروتئین ها در طول یک سری از مراحل فرمول بندی سخت، مستعد تغییر ماهیت دادن و یا تجزیه هستند. به خوبی مشخص است که ناپایداری پروتئین های مختلف شامل تجزیه شیمیایی، تجمع کووالانسی و یا غیر کووالانسی، عدم جذب خاص روی سطح پلیمر در مقادیر مختلف، در طول مراحل فرمول بندی و هم چنین دوره آزادسازی اتفاق می افتد. چنین مشکلات ناپایداری نامطلوبی نه تنها فعالیت های بیولوژیکی پروتئین های میکروکسوله شده را کاهش می دهد، بلکه مستقیماً روی پروفایل جنبشی آزادسازی آن ها از میکرو ذرات پلیمر نیز تاثیر می گذارد [6]. یک راه چاره خوب برای تولید نانو و یا میکرون ذرات از مولکول های بیولوژیکی فعال، ریزسازی الکترویهیدرودینامیکی است، فرایندی که در آن جت مایع تحت تاثیر نیروهای الکتریکی به قطرات شکسته می شود [4]. اولین کاربرد الکترواستاتیک در ریزسازی مایع به وسیله ویلیام گیلبرت شرح داده شده است. سپس، زلنی فرایند ریزسازی الکترواستاتیک را توضیح داد و اولین توصیف ریاضیاتی را تیلور منتشر کرد. در آن زمان، زمانی که نیروی الکترواستاتیک تنها نیروی محرک فرایند اسپری بود برای تشخیص پدیده ریزسازی نام ریزسازی الکترویهیدرودینامیکی مطرح شد [7]. پلیمرهای زیست سازگار و زیست تخریب پذیر به طور فزاینده ای راه خود را در کاربردهای پزشکی مانند آزادسازی طولانی مدت پتیدها یا درمان های پروتئینی و واکسن ها با استفاده از میکروکره ها ساخته شده از poly(lactic-co-glycolide) می یابند [8]. Poly-lactic-co-glycolic (PLGA) acide به طور وسیعی به عنوان ماده حامل در سیستم های ارسال دارو به دلیل زیست سازگاری آن به اسید گلایکولیک و اسید لاکتیک در میان بدن به کار می رود. PLGA در مقابل همراه با اسپری الکتریکی برای اهداف ارسال دارو با تولید موفق ذرات به کار رفته است [2].

به منظور به دست آوردن درک بهتر از پتانسیل الکترواسپری برای کپسوله کردن، هدف از این مطالعه بررسی اثر شرایط فرایند بر خواص ذرات کپسوله شده با تاکید بر اندازه ذرات و مورفولوژی می باشد. Bovine (BSA) Serum Albumin به عنوان داروی مدل انتخاب شد به دلیل دارا بودن وزن مولکولی بالا پروتئین کروی است که به خوبی متمایز می شود و در اب قابل حل است [9].

در این پژوهش BSA با PLGA با استفاده از تکنیک الکترواسپری کپسوله گردید که در آن میدان الکتریکی قوی برای غلبه بر کشش سطحی ذرات و تولید ذرات بسیار ریز به کار گرفته شد. تاثیر غلظت های محلول PLGA، ویسکوزیته محلول PLGA، PLGA/BSA، ولتاژ کاربردی و نرخ جریان بر مورفولوژی و اندازه ذرات بررسی گردید.

## ۲. فعالیت های تجربی

### ۲-۱. مواد

<sup>4</sup> . Porous

<sup>5</sup> . Hollow

به منظور تهیه محلول پلیمری برای الکترواسپری از کوپلیمر مصنوعی پلی لاکتیک- گلیکولیک اسید (PLGA) با نسبت لاکتیک اسید به گلیکولیک اسید ۵۰/۵۰ با وزن مولکولی متوسط عددی ۲۴-۳۸ kDa و سرم البومین (BSA) با وزن مولکولی متوسط عددی ۶۶ kDa از شرکت Aldrich تهیه شده است. حلال های مورد استفاده اتانول با خلوص بیش از ۹۹/۹٪، استن با خلوص ۹۹/۹٪ و اسید استیک با خلوص ۹۹/۹٪ از شرکت Merch خریداری شدند.

## ۲-۲. دستگاه ها

کلیه جهت تهیه نانوکپسول ها از دستگاه الکترواسپری شامل پمپ سرنگ مدل New Eva Pump System Inc ساخت کشور آمریکا و دستگاه ایجاد ولتاژ بالا مدل Gamma High Voltage Research ساخت کشور آمریکا استفاده گردید.

ویسکوزیته محلول ها توسط ویسکومتر مدل Brookfield DVII ساخت کشور آمریکا اندازه گیری شد.

قطر و مورفولوژی نانوکپسول ها تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) مدل XL30 ساخت شرکت Philips از کشور هلند بررسی شد.

رفتار حرارتی نانوکپسول ها توسط گرماسنج پویشی تفاضلی (DSC) مدل 302 Bahr Thermo analyzer ساخت کشور آمریکا مورد بررسی قرار گرفت.

به منظور بررسی میزان رهائش دارو از نانوکپسول ها از دستگاه طیف سنج فرابنفش مدل Cintra 10 استفاده شد.

## ۲-۳. روش ها

### ۲-۳-۱. تهیه و خصوصیات محلول ها

محلول های اسپری با افزودن PLGA به استن و BSA به اسید استیک/ اتانول با نرخ ۱ ml / ۲۴ تهیه شدند. چندین محلول اسپری با غلظت های مختلف PLGA و BSA ساخته شدند. (در جدول ۱ نشان داده شده است). محلول های تهیه شده فیلتر شده و تحت همزن مغناطیسی تا رسیدن به محلول های صاف برای الکترواسپری قرار گرفتند.

ویسکوزیته محلول های اسپری به وسیله ویسکومتر با سرعت اسپیندل ۳۰ rpm در دمای محیط اندازه گیری شد. ویسکومتر قبل از اندازه گیری با استفاده از اتانول یا اب مقطر که ارزش آنها شناخته شده است کالیبره شد.

### ۲-۳-۲. تهیه نانوکپسول ها

سیستم های اسپری کردن بر پایه منبع تولید ولتاژ، پمپ سرنگی و جمع کننده می باشد. محلول های حاوی پلیمر و دارو در سرنگ ۱ ml بارگذاری شد و آن را به کپسول های تولید شده اسپری کرد. کپسول های تولید شده از جت مایع بر روی ورقه الومینیومی جمع شد. فاکتور هایی که مورد بررسی قرار گرفته است شامل نرخ جریان ۰/۱ و ۰/۲  $\mu\text{l}/\text{min}$  و فاصله تا جمع کننده ۱۰، ۱۵، ۲۰ ولتاژ کاربردی ۱۰، ۱۵، ۲۰ kv و نسبت های ۰/۲۵/۰/۲۵، ۰/۴/۰/۱، ۰/۴۵/۰/۰۵ برای کنترل ساختمان کپسول ها می باشد.

### ۲-۳-۳. مورفولوژی، اندازه و خصوصیات نانوکپسول ها

اندازه و مورفولوژی نانوکپسول ها به وسیله میکروسکوپ الکترونی پویشی بررسی شد. برای هر نمونه اندازه کپسول ها در ولتاژ ۱۵ kv از تصاویر (SEM) اندازه گیری شد. قبل از تصویربرداری نمونه با لایه نازکی از طلا برای ۹۰ ثانیه پوشش داده شد.

### ۲-۳-۴. اسپکتروسکوپ UV

اسپکتروفتومتر UV برای اندازه گیری پیک جذب UV , BSA در 268 nm با استفاده از کالیبراسیون مناسب قبل از اندازه گیری به کار رفت. برای اندازه گیری نرخ رهائش دارو وزن مشخصی از نانوکپسول حاوی دارو در 10 ml محلول بافر فسفات (pH=7/4) و 37°C به مدت 24 ساعت تحت شرایط هم زدن مداوم قرار گرفت. محلول بافر فسفات در دمای 37°C ثابت نگه داشته شد. کپسول های رسوب کرده برداشته شد و دوباره در 10 ml محلول بافر فسفات تازه تحت همزن مغناطیسی قرار گرفت. در یک فاصله زمانی معین (1h) حجم مشخصی از کپسول ها در 4000 rpm به مدت 20 min سانتریفیوژ گردید ذرات رسوب کرده خارج شد و رهائش آن در 268 nm به وسیله اسپکتروفتومتر فرابنفش اندازه گیری شد.

### ۲-۳-۵. گرماسنجی پویشی تفاضلی

خواص حرارتی نمونه ها پودر پلیمر و دارو و محلول هایی از مخلوط این ها به وسیله دستگاه گرماسنج پویشی تفاضلی (DSC) اندازه گیری شد. 5 mg از نمونه ها در تاوله الومینیومی تحت پالایش نیتروژن خشک قرار گرفتند. نمونه ها از دمای محیط تا 250°C با نرخ اسکن 10°C/min گرما داده شدند. آنالیز ترموگرام تایید کننده ثابت ماندن نسبی مقدار نمونه ها می باشد که هیچ مقدار موثری از حلال در نمونه ها باقی نمانده است.

## ۳. نتایج و بحث

### ۳-۱. خصوصیات محلول های الکترواسپری

فاکتورهای بسیاری از جمله ولتاژ کاربردی نرخ جریان فاصله تا جمع کننده و خصوصیات محلول های پلیمری نقش اساسی را در الکترواسپری ایفا می کنند. نانوکپسول هایی با نسبت های مختلف PLGA و BSA تولید شدند تا بررسی شود که چه طور این نسبت ها می توانند بر خصوصیات کپسول ها تاثیر بگذارند.

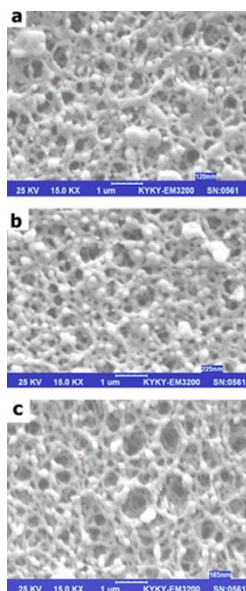
### ۳-۲. شکل گیری نانوکپسول ها

خصوصیات فیزیکی محلول ها در جدول ۱ نشان داده شده است. غلظت پلیمر قابلیت الکترواسپری محلول را مشخص میکند. در صورتی که محلول پلیمری بیش از اندازه غلیظ باشد ویسکوزیته افزایش یافته و امکان کنترل نرخ خروج محلول از نوک موئینه وجود نخواهد داشت چنانچه محلول خیلی رقیق باشد جت به دلیل اثر کشش سطحی به قطرات تبدیل می شود اگر غلظت بیش از اندازه زیاد یا کم باشد کپسول تشکیل نمی گردد. در نتیجه رسیدن به غلظت بهینه به منظور فراهم آوردن قابلیت الکترواسپری کردن حائز اهمیت است. همان طور که مشاهده می شود ویسکوزیته محلول ها به طور قابل توجهی بین بالاترین و پایین ترین مقدار متفاوت است. افزایش در مقدار PLGA افزوده شده سبب افزایش ویسکوزیته می شود. در حالی که مقدار BSA بر ویسکوزیته تا درجه یکسانی تأثیر چندانی نمی گذارد. غلظت پلیمری می تواند روی اندازه و شکل ذرات تأثیر گذارند اندازه ذرات می تواند با کاهش غلظت محلول پلیمری کاهش یابد وقتی غلظت محلول پلیمری در حال کاهش یافتن است سطح ذرات PLGA ممکن است از سطح صاف به سطح زبر تغییر کند. ذرات می توانند با کاهش غلظت محلول پلیمری از حالت کروی به مقعرالطرفین و بی نظم تبدیل شود.

جدول ۱: ویسکوزیته محلول های پلیمری

Samples	%BSA (w/v)	%PLGA (w/v)	Viscosity (cp)
S <sub>1</sub>	0/50	-	10
S <sub>2</sub>	0/25	0/25	20
S <sub>3</sub>	0/10	0/40	30
S <sub>4</sub>	0/05	0/45	35
S <sub>5</sub>	-	0/50	36

ویژگی های محلول اسپری همچنین می تواند بستگی به حلال به کار رفته داشته باشد. فراریت حلال نقش مهمی را در تشکیل نانوکپسول ها به وسیله فرایند جدایی فازها بازی می کند. ویسکوزیته محلول های پروتئینی بستگی به خصوصیات ذاتی آنها مانند وزن مولکولی، اندازه، حجم، شکل، بار سطحی و آسودگی تغییر شکل دارد. به علاوه ویسکوزیته تحت تأثیر فاکتورهای محیطی مانند pH، دما، قدرت یونی و نوع یون می باشد [10]. کپسول های در غلظت های مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. برای غلظت 0.25% w/v (شکل a ۱) کپسول ها قابل مشاهده نیستند زیرا به فرم کپسول در آمدن برای PLGA از محلول رقیق مشکل است. کپسول ها برای غلظت های 0.4% w/v (شکل b ۱) PLGA مشاهده می شد اما در هنگام تبخیر حلال تعدادی از کپسول ها دچار نقص شدند. کپسول های کامل در غلظت 0.45% w/v (شکل c ۱) PLGA تولید می شوند اما اندازه نانوکپسول ها از ۱۲۰ nm تا ۲۲۵ nm افزایش می یابد. افزایش در اندازه کره ها در نتیجه به احتمال حاصل از افزایش ویسکوزیته محلول اسپری است این نتیجه با آن چه که توسط جایاسینگ و ادیسینگ مشخص شد مطابق است [2].



شکل ۱: تصاویر میکروسکوپ الکترونی پوششی نانوکپسول های تولید شده

V=10 kv, D=10 cm, flow rate 0.2  $\mu$ l/ min

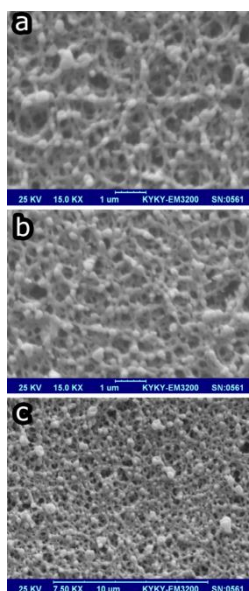
با غلظت های

PLGA/BSA: (a) 0.25/0.25 (b) 0.4/0.1 (c) 0.45/0.05

### ۳-۳. بررسی اثر تغییر در ولتاژ کاربردی و فاصله نازل تا جمع کننده

دینگ و همکارانش گزارش کردند که با نرخ جریان مایع مشابه و هندسه سیستم، تفاوت ولتاژ به کار رفته نازل اسپری و حلقه نقش اساسی را در تعیین الگوی اسپری ایفا میکند [۳]. ولتاژ کاربردی و فاصله از نازل به صفحه به طور اساسی تأثیر مشابه ای دارند، زیرا نیروی میدان الکتریکی با این پارامترها اندازه گیری می شود. ولتاژ اندازه و مورفولوژی کپسول ها را کنترل می کند.

سه ولتاژ (20, 15, 10 kv) انتخاب شدند و تأثیر آن ها بر مورفولوژی کپسول ها مورد بررسی قرار گرفت در حالی که نرخ جریان ثابت  $0.2 \mu$ l/min در نظر گرفته شد.



شکل ۲: تصاویر نانوکپسول های میکروسکوپ الکترونی پویشی تولید شده با نرخ تغذیه  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$

PLGA/BSA ratio, 0.25/0.25

(a)  $V=20\text{kV}$ ,  $D=20\text{cm}$

(b)  $V=15\text{kV}$ ,  $D=15\text{cm}$

(c)  $V=10\text{kV}$ ,  $D=10\text{cm}$

با توجه به (شکل ۲ c) نانوکپسول ها در ولتاژ از  $10\text{kV}$  مشاهده می شوند میانگین اندازه نانوکپسول های تولید شده  $185\text{ nm}$  می باشد و (شکل ۲ a) در ولتاژ  $20\text{ kV}$  را نشان می دهد که افزایش ولتاژ از  $10\text{kV}$  تا  $20$  باعث کاهش اندازه کپسول ها از  $185\text{ nm}$  تا  $85\text{ nm}$  می شود. اما در نهایت منجر به تشکیل لیف نیز می گردد. افزایش در ولتاژ کاربردی نیروی الکتروستاتیکی وارد شده بر جت سیال را افزایش می دهد و باعث کمتر شدن قطر می گردد. شدت میدان الکتریکی علاوه بر تاثیر بر اندازه کپسول ها می توانند حتی باعث به وجود آمدن نقص در تشکیل جت گردد. در مجموع محدوده مشخصی برای ولتاژ کاربردی تعریف شده است که اگر ولتاژ به کار رفته به مقدار بحرانی برسد حرکت جریان باردار سیال پلیمری به سمت جمع کننده آغاز می شود و اگر ولتاژ کاربردی خیلی بالاتر اعمال شود فقط بر روی بستر اسپری می گردد و کپسول تشکیل نمی شود.

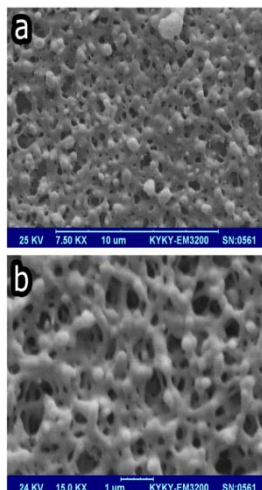
### ۳-۴. بررسی اثر تغییر در نرخ جریان

نرخ جریان پلیمر از نوک سرنگ یکی از پارامترهای مهمی است که بر سرعت جت نرخ انتقال محلول و در کل ساختار کپسول تاثیرگذار است. مشخص شده است که نرخ جریان هنگامی که ولتاژ تغییر می کند بر روند کاهش اندازه قطره تاثیر گذار است. به علاوه به نظر می رسد زمانی که سرعت جریان محلول پلیمری بالاست شکل ذره هموارتر گردد. بر اساس قانون مقیاس بندی، هارتمن و همکارانش<sup>1</sup> توضیح داد: اندازه قطره با کاهش سرعت جریان محلول پلیمری کاهش می یابد. اندازه کپسول ها با کاهش نرخ جریان کاهش یافته است اما کپسول ها به درستی تشکیل نشده اند. الکترواسپری محلول های پلیمری در دو نرخ جریان  $0.1$  and  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  (شکل ۳) انجام شد. همان طور که مشاهده می شود با تغییر نرخ جریان از  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$  (شکل ۳ b) به  $0.1 \mu\text{l}/\text{min}$  (شکل ۳ a) اندازه کپسول ها بهتر تطبیق می یابد.

شکل نشان می دهد که اندازه کپسول ها با کاهش نرخ جریان می توانند کاهش یابند علاوه بر آن غشاهای کپسول شکل نیافته و زبری نیز روی سطح جمع کننده مشاهده می شود که این امر به خاطر این است که برخی قطرات خشک نشده باعث می

<sup>1</sup>. Hartman et al

شوند کپسول های خشک از شکل خود خارج شوند. به طور کلی همان طور که قابل مشاهده است اندازه نانوکپسول ها با افزایش نرخ جریان در هر ولتاژی افزایش می یابد. این را می توان با این حقیقت توضیح داد که اسپری کردن نامتوازن محلول از نوک نازل که ناشی نرخ جریان زیاد می باشد کپسول های کنترل نشده بزرگ را حاصل می دهد اگرچه میزان افزایش متفاوتی در ولتاژهای مختلف مشاهده می شود. در مقادیر کم نرخ جریان حلال فرصت بیشتری برای تبخیر دارد.



شکل ۳: تصاویر میکروسکوپ الکترونی پویشی نانوکپسول های تولید شده در  $V=10\text{kv}$ ,  $D=10\text{cm}$

flow rate  $0.1 \mu\text{l}/\text{min}$ : (a) PLGA/BSA ratio, 0.4/0.1

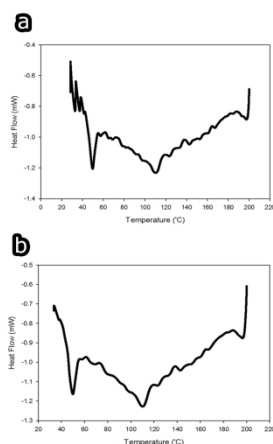
flow rate  $0.2 \mu\text{l}/\text{min}$ : (b) PLGA/BSA ratio, 0.4/0.1

### ۳-۵. اندازه گیری خواص حرارتی کپسول ها با استفاده از روش گرماسنجی پویشی تفاضلی (DSC)

گرماسنجی پویشی تفاضلی جهت بررسی خواص حرارتی، طبیعی و تقابلی درون مولکولی BSA کپسوله شده با PLGA به کار گرفته شد (شکل ۴). حالت فیزیکی BSA و PLGA می تواند بر روی پایداری و رهایش دارو از کپسول ها تاثیرگذار باشد. BSA می تواند به صورت کریستال و یا امورف در ماتریس PLGA کریستال و یا امورف وجود داشته باشد. واکنش های بین BSA و PLGA می تواند باعث تغییر در پیک حرارتی گردد.

نمونه  $\text{PLGA/BSA} = 0.25/0.25$  (شکل ۴a) پیک گرماگیر در  $47^\circ\text{C}$  نشان دهنده Tg برای PLGA و پیک دیگر مربوط به Tm BSA می باشد که به دمای پایین تر انتقال یافته است. نمونه  $\text{PLGA/BSA}$  در نرخ  $0.45/0.05$  (شکل ۴b) یک پیک گرماگیر در محدوده  $47^\circ\text{C}$  که مربوط به Tg پلیمر می باشد را نشان می دهد و پیک گرماگیر پهن تر شده و پیک مربوطه به دمای پایین تری منتقل شده که دلالت بر حضور دارو در ساختار و بر هم کنش بین آنها دارد. نقطه گرماگیر  $47^\circ\text{C}$  در هر دو مخلوط نشان دهنده Tg پلیمر است.





شکل ۴: ترموگرام DSC

(a) nanpcapsules of PLGA/BSA, 0.25/0.25

(b) nanocapsules of PLGA/BSA, 0.45/0.05

علاوه بر آن دمای انتقال شیشه ای پلیمر به کار رفته در کپسوله کردن BSA به طور مشخصی تحت تاثیر پروسه الکترواسپری قرار نگرفته است. برای نمونه های آنالیز حرارتی انجام شده کاهش قابل توجهی در جرم مشاهده نمی گردد که نشان می دهد نمونه ها در بر گیرنده مقادیر قابل توجهی حلال نمی باشند. دوبرنت گزارش کرده است که کاهش در Tg پلیمر و غیاب نقطه نهایی ذوب دارو زمانی رخ می دهند که یک دارو در محلول جامد در درون ماتریس پلیمر باشد. که با نتایج مربوط به BSA مطابقت دارد.

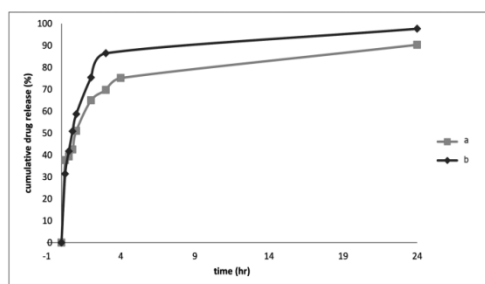
### ۳-۶. آزادسازی دارو

منحنی کالیبراسیون BSA مورد استفاده در اسپکتروسکوپی UV رسم شد. قابل استناد است که با افزایش غلظت دارو میزان جذب آن افزایش یافته است.

اندازه گیری میزان جذب UV نشان می دهد که BSA در کپسول های بسیار ریز حضور دارد و اینکه از طریق اسپری کردن تخریب نمی گردد. پینون- سگوند و همکارانش<sup>1</sup> نشان داده اند که با افزایش میزان دارو در ذرات با گونه های ماتریسی مشابه، رهایش سریع تر دارو مشاهده می گردد که به دلیل محتوای بالای تخلخلات به وجود آمده در ماتریس و کاهش ضخامت ماتریس می باشد که دارو باید از طریق آن عبور کند [2].

رهایش دارو از پلیمر زیست تخریب پذیر توسط سه مکانیزم صورت می گیرد: دفع دارو های سطحی انتشار دارو از ماتریس پلیمر و تخریب تدریجی ماتریس پلیمر. برای کپسول های PLGA دارو های سطحی منجر به رهایش اولیه سریع می گردند به دلیل سطح تماس گسترده کپسول ها و متعاقباً انتشار دارو و رهایش به وسیله تخریب پلیمر صورت می گردد. آزاد شدن ناگهانی دارو در دقایق اولیه را می توان مربوط به حضور مولکول های آزاد دارو در سطح، بدون اتصال دانست. روند آزادسازی با گذشت زمان آهسته تر شده و با توجه به نمودارها پس از گذشت ۲۴ ساعت در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  ۹۰٪ از کل دارو جذب شده در بافر فسفات آزاد می شود.

<sup>1</sup>. Pinon- Segundo et al



شکل ۵: منحنی رهائش دارو از نانوکپسول ها

بنابراین کل BSA باقی مانده در ماتریس پلیمر تا زمان تخریب کل PLGA به آرامی آزاد می گردد. کاهش شدید رهائش دارو مابین ۵۰-۴۰٪ برای هر دو نمونه نشان دهنده مقدار بالای پیوند BSA با نانوکپسول ها می باشد. متناوباً تمامی نمونه ها می توانند رهائش پیوسته BSA را تا زمان رهائش نهایی تمامی BSA تجربه کنند. نمونه ۰/۴۵ / ۰/۰۵ (a) سریع ترین و ۰/۴ / ۰/۱ (b) کندترین برای رسیدن به سطح رهائش نهایی می باشند. بدین معنی که ۱٪ داروی بارگذاری شده در کپسول های PLGA می توانند میزان آزادسازی اندکی سریع تری نسبت به ۰/۵٪ داشته باشند.

#### ۴. نتیجه گیری

در این تحقیق نانوکپسول های پلیمری با اندازه و مورفولوژی قابل کنترل به طور موفقیت آمیزی به وسیله تکنیک الکترواسپری با پارامترهای عملیاتی و خصوصیات فیزیکی مختلف تولید شد. ویسکوزیته محلول های اسپری با نسبت های متفاوت PLGA/BSA اندازه گیری شد. افزایش ویسکوزیته در اثر افزایش PLGA در مخلوط مشاهده شد.

تأثیر افزایش در غلظت PLGA بر قطر و مورفولوژی نانوکپسول ها تولید شده مورد بررسی قرار گرفت نتایج به دست آمده نشان دهنده افزایش قطر نانوکپسول ها تولید شده در اثر افزایش غلظت PLGA می باشد. همچنین کپسول ها با کاهش غلظت محلول پلیمری از حالت کروی به مقعرالطرفین و بی نظم تبدیل می شوند.

تغییر در ولتاژ کاربردی موجب تغییر در قطر و مورفولوژی نانوکپسول ها تولید شده می شود بررسی ها نشان داد که با افزایش ولتاژ در شرایطی که نرخ تغذیه ثابت است قطر نانوکپسول ها کاهش می یابد اما در نهایت موجب تولید لیف نیز می شود.

نرخ تغذیه از جمله پارامترهایی است که بر قطر و مورفولوژی نانوکپسول ها تأثیرگذار است هنگامی که نرخ تغذیه افزایش می یابد اندازه کپسول ها افزایش یافته در حالی شکل آنها هموارتر می گردد.

نمودارهای گرماسنجی پویسی تفاضلی نشان دهنده آن است که پیک گرمای پهن تر شده و به دمای پایین تر انتقال یافته است و دلالت بر حضور BSA در ساختار کپسول ها و برهم کنش بین BSA و PLGA می کند.

چگونگی آزادسازی دارو از نانوکپسول ها در بافر فسفات در دمای ۳۷°C مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات نشان دهنده رهائش بیش از ۹۰ درصد دارو ظرف مدت ۲۴ ساعت می باشد.

منابع و مراجع

[1] O. Celiktas, E. Vyanikgil, *In vitro release kinetics of polycaprolactone encapsulated plant extract fabricated by supercritical antisolvent process and solvent evaporation method*, J Supercrit fluid, vol. 62, Netherlands, 2012, pp.219-225.

- [2] A.Bohr, J. Kristensen, E. Stride, M. Days, M. Edirisinghe, Preparation of micro spheres containing low solubility drug compound by electrohydro dynamic spraying, *Int J Pharmaceut*, vol. 412, Netherlands, 2011, pp. 59-67.
- [3] J. Xie, J. Marijnissen, C. Wang, Microparticles developed by electrohydro dynamic atomization for the local delivery of anticancer drug to treat C6 glioma in vitro, *Biomaterials*, vol. 27, Netherlands, 2006, pp. 3321-3322.
- [4] M. Cardoso, M. Talebi, P. Soares, C. Yurteri, J. Ommen, Functionalization of lactose as a biological carrier for bovine serum albumin by electrospraying, *Int J Pharmaceut*, vol. 414, Netherlands, 2011, pp. 1-5.
- [5] G.E. Hildebrand, J.W. Tack, Microencapsulation of peptides and proteins, *Int J Pharmaceut*, vol. 196, Netherland, 2000, pp. 173-176.
- [6] H. Mok, T.G. Park, Water free microencapsulation of proteins within PLGA microparticles by spray drying using PEG-assisted protein solubilization technique in organic solvent, *Eur J Pharm Biopharm*, vol. 70, Netherlands, 2008, pp. 137-144.
- [7] T. Ciach, Microencapsulation of drugs by electrohydro dynamic atomization, *Int J Pharmaceut*, vol. 324, Netherlans, 2006, pp. 51-55.
- [8] P. Johansen, H. Merkle, B. Gander, Technological consideration related to the up- scaling of protein microencapsulation by spray- dryin, *Eur J Pharm Biopharm*, vol. 50, Netherlands, 2000, pp. 413-417.
- [9] Y. XU, M. Skotak, M. Hanna, Electrospray encapsulation of water-soluble protein with polylactide. I. Effects of formulations and process on morphology and partical size, *J Microencapsul*, vol. 23, London, 2006, pp. 69-78.
- [10] R. Pareta, M. Brindley, j. Edirisinghe, N. Jayasinghe, Electrohydrodynamic atomization of protein (bovine serum albumin), *J mater sci*, vol. 16, United States, 2005, pp. 919-925.

## Preparation and Characterization of Nanocapsules of PLGA Containing water-soluble drug by Electro spraying

Mahsa Musaie, Javad Mokhtari , Mehdi Nouri

Department of Chemistry Textile Eng, Faculty of Engineering, University of  
Guilan , Iran,Guilan, E-mail: Mahsa\_Musaie@yahoo.com

Department of Chemistry Textile Eng, Faculty of Engineering, University of  
Guilan, Iran,Guilan, E-mail: J.Mokhtari@guilan.ac.ir

Department of Chemistry Textile Eng, Faculty of Engineering, University of  
Guilan, Iran,Guilan, E-mail: Mnouri69@guilan.ac.ir

**Abstract.** Capsules formulations are widely used to improve the bioavailability of drugs. Electro spraying was used as a novel method to produced drug nanocapsules. In the present study PLGA (Poly-lactic Co-glycolic acid) nanocapsules containing therapeutic proteins were prepared. The nanocapsules of PLGA/BSA at different ratios were obtained. The effects of system operation parameters and formulation of spraying solution were tested. Morphology and diameter of nanocapsules were studied using Scanning electron microscope (SEM). The size of nanocapsules was reduced by increasing the voltage and decreasing the flow rate and led to producing the capsules in range of 85-260 nm Thermal analysis(DSC) results indicated that the endothermic peak was broader and shifted to lower temperature implying the presence of drug. More than 90% of drug of nanocapsules was detected in phosphate buffer (pH=7.4) and 37°C temperature using UV-Vis spectrophotometry.

**Keywords:** Nanocapsules, Electro-spraying, Drug, PLGA, BSA