Archive of SID

JARC

# سنتز و بهینه‌سازی نانوذرات کیتوسان به‌عنوان حامل داروی آنتی آلزایمر با استفاده از روش طراحی آزمایش

حمیده علمی زاده[۱و*] و محمد رضا خانمحمدی خرمی[۲]

۱- کارشناس ارشد شیمی تجزیه، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران
۲- دانشیار شیمی تجزیه، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

دریافت: آبان ۱۳۹۱، بازنگری: دی ۱۳۹۱، پذیرش: بهمن ۱۳۹۱

**چکیده:** نانوذرات کیتوسان می‌توانند به‌عنوان سامانه‌های حامل دارو به کار برده شوند. این پژوهش به منظور معرفی اثر عامل‌های مؤثر روی میانگین اندازه نانوذرات کیتوسان تولید شده به وسیله روش امولسیون‌سازی خود به خودی، انجام شد. روش سنتز نانوذرات کیتوسان به وسیله روش طراحی آزمایش ۳ عامل-۳ سطح باکس - بهنکن بهینه شد. این طراحی آماری به منظور دستیابی به کوچکترین اندازه و ریخت مناسب نانوذرات به کار برده شد. میکروسکوپ الکترونی روبشی از نوع گسیل میدانی (FE-SEM) برای تعیین اندازه ذرات و ریخت نانوذرات کیتوسان استفاده شد. نانوذرات سنتز شده، دارای میانگین اندازه ذرات از ۳۴ تا ۷۵ نانومتر هستند. بارگذاری دارو بر روی نانوذرات کیتوسان بر اساس روش بهینه انجام شده است و ظرفیت بارگذاری دارو با دستگاه طیف‌سنجی فرابنفش تعیین شد. هم‌چنین نانوذرات کیتوسان به‌عنوان سامانه‌های حامل دارو با طیف‌سنجی تبدیل فوریه زیر قرمز میانه مورد ارزشیابی واقع شدند.

**واژه‌های کلیدی:** نانوذرات کیتوسان، روش طراحی آزمایش، حامل دارو، طیف سنجی تبدیل فوریه زیر قرمز میانه

## مقدمه

نانوذرات در زمینه حامل‌های دارو بسیار با اهمیت هستند زیرا توانایی حمل انواع داروها را به قسمت‌های متفاوت بدن در زمان مناسب را دارند [۱]. پلیمرهای مورد استفاده در نانوذرات به دو صورت آب‌دوست و آب‌گریز هستند. نانوذرات برپایه پلیمرهای آب‌دوست مانند کیتوسان گزینه مناسبی برای سامانه‌های حامل دارو هستند زیرا ویژگی خون‌سازگاری دارند و از بین نمی‌روند [۲ و ۳]. نانوذرات پلیمری با اندازه ذرات کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر از پدیده اپسونیزیشن در بدن جلوگیری می‌کنند [۴]. کیتوسان یک پلی‌ساکارید خطی زیست سازگار است که از N- استیل زدایی کیتین به دست می‌آید. واحدهای سازنده کیتو سان پلی [β-(۱،۴)-۲-آمینو-۲-دِاُکسی-D-گلوکو پیرانوز] است. ساختار کیتوسان شبیه سلولز است. کیتوسان دارای ویژگی‌های شیمیایی و زیستی منحصر به‌فردی است که علت آن، وجود گروه‌های آمین و هیدروکسیل در ساختار آن است. از جمله خواص آن: غیرسمیّت، زیست سازگاری، زیست تخریب‌پذیری در حضور آنزیم‌های کیتیناز، کیتوساناز، لیزوزیم، قابلیت جذب سطحی روی سطوح باردار منفی به دلیل ماهیت پلی‌الکترولیتی کیتوسان در محیط‌های اسیدی، قابلیت تشکیل ژل، خون سازگاری، سازگاری با سلول و بافت و اثرات ضدقارچی و ضدباکتریایی است [۵]. نانو و میکرو

*عهده‌دار مکاتبات: k.elmizadeh@yahoo.com



www.SID.ir

Archive of SID



ذرات کیتوسان در پژوهش‌های پیشین به‌طور معمول به‌عنوان حامل داروهای آب‌گریز به کار برده شده‌اند [۶ و ۷].در این پژوهش روش سنتز نانوذرات کیتوسان به منظور دستیابی به کوچکترین اندازه ذرات با شکل کروی بر اساس روش طراحی آزمایش از نوع باکس – بهنکن بهینه شد. سپس داروی ضد آلزایمر تاکرین [۸]، براساس روش سنتز بهینه شده بر روی نانوذرات کیتوسان بارگذاری شد. بهینه‌سازی روش سنتز نانوذرات کیتوسان به‌صورت امولسیون‌سازی خود به خودی با استفاده از طراحی آماری با توجه به‌اندازه و ریخت معین ذرات برای نخستین بار در این پژوهش انجام شده است. انواع داروهای آب‌دوست را می‌توان بر نانوذرات کیتوسان ساخته شده بارگذاری کرد. از این‌رو، نانوذرات تهیه شده در صنایع داروسازی می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند.

## بخش تجربی

*مواد و دستگاه‌ها*

کیتوسان با درصد استیل زدایی ۹۹ متعلق به شرکت suvchem ساخت کشور هند، گلوترآلدهید ۵۰ درصد، سورفکتانت (Span 80)، روغن بزرک و داروی تاکرین ($C_{13}H_{14}N_2$ HCl $xH_2O$)– آمینو–۴،۳،۲،۱–تتراهیدروآکریدین هیدرو کلراید متعلق به شرکت سیگما (Sigma)، نمک سدیم کلرید (NaCl)، استیک اسید، استون، تولوئن، کلریدریک اسید، اتانول متعلق به شرکت مرک (Merck) بوده است. طیف‌سنج تبدیل فوریه زیر قرمز میانه (FTMIR) از شرکت 460Madison, WI, USA، دستگاه طیف‌سنجی فرابنفش–زیر قرمز از شرکت 350Cam Spec و میکروسکوپ الکترونی روبشی از نوع گسیل میدانی (FE-SEM)، مدل 54160، ساخت شرکت Hittach کشور ژاپن بوده است. نرم افزار طراحی آزمایش (Design-Expert software Version 7.0.0) نسخه ۷ ساخت کشور امریکا بوده است.

*سنتز نانوذرات کیتوسان براساس طراحی آزمایش باکس – بهنکن*

نانوذرات کیتوسان به روش امولسیون‌سازی W/O خودبه‌خودی سنتز شد. درصد نمک سدیم کلرید در فاز آبی به‌عنوان یک الکترولیت، درصد (حجمی/حجمی) span ۸۰ در فاز روغنی به‌عنوان یک سورفکتانت غیر یونی و حجم (میلی‌لیتر) عامل برقرار کننده‌ی پیوند عرضی، تولوئن اشباع با گلوترآلدهید (GST) به‌عنوان عامل‌های طراحی، در روش رویه سطح در نظر گرفته شدند. در جدول ۱ متغیر پاسخ y (اندازه ذرات) برحسب نانومتر است و سه متغییر بدون بعد $x_1$، $x_2$ و $x_3$ به ترتیب سورفکتانت مصرفی، نمک سدیم کلرید مصرفی که به‌عنوان الکترولیت به کار رفته است و مقدار تولوئن اشباع با گلوترآلدهید است. بازه‌ی تغییرات هریک از این عامل‌های مؤثر، برای درصد الکترولیت در فاز آبی به‌صورت ۰٫۵، ۱٫۵ و ۲٫۵، برای درصد سورفکتانت ۲، ۶ و ۱۰ و برای میلی‌لیتر تولوئن اشباع با گلوترآلدهید ۲، ۴ و ۶ انتخاب شدند. ۱۰ میلی‌لیتر روغن بزرک را که حاوی مقدار مورد نیاز از سورفکتانت (مطابق جدول ۱) است، در یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری قرار داده شد و سپس مقدار مورد نیاز از ژل کیتوسان (مطابق جدول ۱) را، به صورت قطره قطره به آرامی با میکروپیپت به فاز روغنی افزوده شد در صورتی که عمل همزدن با همزن مغناطیسی ملایم ادامه یافت. سپس ۵ میلی‌لیتر استون را به صورت قطره قطره با میکروپیپت افزوده شد. سپس حجم مورد نیاز از تولوئن اشباع با گلوترآلدهید (مطابق جدول۱)، را به صورت قطره قطره به کمک میکرو پیپت به سامانه فوق افزوده شد و عمل همزدن بدون استفاده از درپوش در مدت زمان کافی ادامه یافت. سوسپانسیون نانوذرات به‌وسیله دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه جدا شدند. در مرحله آخر عمل شست‌وشو با حلال‌های تولوئن و استون انجام شد.

*بارگذاری داروی تاکرین بر روی نانوذرات کیتوسان*

بارگذاری دارو در سامانه‌های میکرو و نانوذرات پلیمری می‌تواند به ۲ روش، یکی در حین تهیه نانوذرات (incorporation) و دیگری بعد از تشکیل ذرات (incubation) انجام شود، در این سامانه‌ها، دارو به طور فیزیکی درون بستر پلیمری قرار گرفته یا جذب سطحی می‌شود[۹]. در این مطالعه بار گذاری دارو در حین سنتز نانوذرات انجام شد. نخست داروی تاکرین با نسبت جرمی


www.SID.ir

Archive of SID



برابر، با پلیمر (۱:۱) در ۵ میلی‌لیتر ژل کیتوسان به کمک همزن مغناطیسی حل شد. سپس ژل کیتوسان حاوی دارو را قطره قطره به کمک میکروپیپت به یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری، که حاوی ۱۰ میلی‌لیتر روغن بزرک که حاوی مقدار بهینه از سورفکتانت بود، در شرایط همزن مغناطیسی با دور ملایم افزوده شد. سپس بقیه مراحل سنتز را مطابق بخش سنتز نانوذرات کیتوسان براساس طراحی آزمایش باکس- بهنکن، انجام شد.

## نتیجه‌ها و بحث

*بهینه‌سازی روش سنتز نانوذرات کیتوسان*

طراحی آزمایش به صورت آماری یک وسیله قدرتمند است که این امکان را فراهم کرده است که یک فرایند شیمیایی را با کمترین تعداد آزمایش‌های مورد تجزیه و تحلیل قرار داد و در نتیجه موجب صرفه‌جویی در زمان و هزینه‌های مربوط به انجام آزمایش‌ها شده است [۱۰]. هدف از بهینه کردن روش سنتز، دست‌یابی به نانوذرات کیتوسان با اندازه ذرات کوچکتر و ریخت‌شناسی مناسب بوده است. به همین منظور روش سنتز مورد استفاده با توجه به دامنه‌ی عامل‌های مؤثر با استفاده از روش باکس- بهنکن که یک طبقه از طراحی‌های درجه ۲ و چرخش پذیر را بر پایه طراحی‌های عاملی ۳ سطحی است، بهینه شد. براساس طراحی آزمایش، ۱۵ نمونه نانوذرات کیتوسان براساس روش ذکر شده براساس مقدارهای طراحی شده برای هر عامل سنتز شدند. سپس نانوذرات سنتزی از لحاظ ریخت‌شناسی و اندازه ذرات با میکروسکوپ الکترونی روبشی از نوع گسیل میدانی مورد تجزیه واقع شدند. میانگین اندازه نانوذرات سنتز شده به‌وسیله نرم‌افزار[1] به طور دقیق محاسبه شدند که نتیجه‌های به‌دست آمده

جدول۱ صورت مقدارهای متغیرهای مؤثر بدون بعد و پاسخ‌ها بر اساس طراحی آزمایش باکس- بهنکن

| نمونه‌ها | متغیرهای مستقل | | | متغیر وابسته Y= اندازه ذرات (nm) |
|---|---|---|---|---|
| | $X_1$ سورفکتانت (Span80) | $X_2$ الکترولیت (NaCl) | $X_3$ عامل برقرارکننده پیوندعرضی (GST) | |
| ۱ | ۰ | ۰ | ۰ | ۴۱٫۰۰ |
| ۲ | ۰ | ۱ | -۱ | ۷۴٫۸۷ |
| ۳ | -۱ | ۰ | -۱ | ۳۶٫۳۰ |
| ۴ | -۱ | -۱ | ۰ | ۴۲٫۲۵ |
| ۵ | ۱ | ۰ | -۱ | ۵۱٫۵۲ |
| ۶ | ۰ | -۱ | -۱ | ۳۷٫۶۰ |
| ۷ | ۱ | ۱ | ۰ | ۶۸٫۷۲ |
| ۸ | ۰ | ۱ | ۱ | ۷۳٫۳۳ |
| ۹ | -۱ | ۱ | ۰ | ۵۸٫۷۱ |
| ۱۰ | ۱ | -۱ | ۰ | ۳۳٫۶۴ |
| ۱۱ | ۱ | ۰ | ۱ | ۴۱٫۳۸ |
| ۱۲ | ۰ | ۰ | ۰ | ۳۸٫۵۰ |
| ۱۳ | ۰ | ۰ | ۰ | ۳۶٫۰۹ |
| ۱۴ | -۱ | ۰ | ۱ | ۶۵٫۳۰ |
| ۱۵ | ۰ | -۱ | ۱ | ۳۹٫۱۵ |

1. Microstructure measurement



www.SID.ir

Archive of SID



در جدول ۱ مشخص شده است. بهینه‌سازی شامل تخمین ضریب‌ها در مدل ریاضی و پیش‌بینی پاسخ و بررسی صحت مدل است. در انجام پژوهش طراحی باکس- بهنکن برای بررسی سنتز بهینه نانوذرات کیتوسان به کار گرفته شد که در آن متغیرهای ورودی شامل مقدار بدون بعد سورفکتانت مصرفی $X_1$، مقدار بدون بعد نمک سدیم کلرید مصرفی که به‌عنوان الکترولیت به کار رفته $X_2$ و مقدار بدون بعد تولوئن اشباع شده با گلوترآلدهید $X_3$ براساس تعریف‌های زیر هستند:

$$X_3 = (GST) \qquad X_2 = (NaCl) \qquad X_1 = (Spann\ 80)$$

در معادله‌ی فوق میانگین اندازه ذرات به‌عنوان پاسخ در نظر گرفته شده است و برای بررسی آن از معادله زیر استفاده شده است.

$$Y=\beta_0+\beta_1X_1+\beta_2X_2+\beta_3X_3+\beta_{12}X_1X_2+\beta_{13}X_1X_3+\beta_{23}X_2X_3 + \beta_{11}X_{21} + \beta_{22}X_{22} + \beta_{33}X_{23}$$

در این رابطه Y پاسخی است که مورد پیش بینی قرار دارد، $\beta_0$ مقدار ثابت بوده $X_1$، $X_2$ و $X_3$ مقدارهای غیر وابسته و $\beta_1$، $\beta_2$ و $\beta_3$ ضریب‌هایی هستند که مقدارهای خطی $X_1$، $X_2$ و $X_3$ را به ترتیب مشخص می‌کنند. ضرایب $\beta_{12}$، $\beta_{13}$ و $\beta_{23}$ بیان کننده برهمکنش‌های بین متغیرها بوده و ضرایب $\beta_{11}$، $\beta_{22}$ و $\beta_{33}$ ضرایبی هستند که تأثیرات درجه دوم متغیرهای $X_1$، $X_2$ و $X_3$ را بیان می‌کند. اساس نتیجه‌های آزمون و به وسیله برنامه شبیه‌سازی کامپیوتری با به کار بردن روش کمترین مجموع مربعات در Design-Expert تخمین زده می‌شوند. هم‌گرایی چند جمله ای بین متغیر پاسخ $Y_{particle\ size}$ (اندازه ذرات) و سه متغییر بدون بعد $X_1$، $X_2$ و $X_3$ به صورت زیراست:

$$Y_{particle\ size} = 38.53 - 0.912X_1 + 15.37X_2 + 2.358X_3 + 4.65X_1X_2 - 9.78X_1X_3 - 0.77X_2X_3 + 2.34X_1^2 + 9.95X_2^2 + 7.75X_3^2$$

ضریب‌ها نشان می‌دهند که عامل درصد الکترولیت و بعد از آن عامل حجم تولوئن اشباع با گلوترآلدهید مصرفی، دارای بیشترین اهمیت است. میزان انحراف استاندارد داده‌ها در مدل ۴٫۸۷ است. توانایی پیش بینی کلی مدل به‌طور معمول به وسیله اندازه‌گیری ضرایب ($R^2$) شرح داده می‌شود. و معیاری از میزان تطبیق پذیری مدل است. که درمورد مدل انتخاب شده در کار حاضر این مقدار۹۶٫۱۴٪ است، که بیانگر انطباق مدل انتخاب شده به این اندازه است (شکل ۱). اما ضریب $R^2$ به تنهایی برای تأیید صحت مدل کافی نیست. از این رو محاسبات تجزیه واریانس برای مدل انجام شد که نتیجه‌های آن در جدول ۲ درج شده است. اهمیت یک مدل ریاضی با استفاده از تجزیه واریانس صورت پذیرفته است. عدم انطباق معیاری از ناکارآمدی مدل در داده‌های موجود در دامنه آزمایش است. و بیانگر مقایسه بین خطای خالص و خطای باقی‌مانده در آزمایش‌ها تکراری است. در بررسی عدم انطباق اگر مقدار P-value در آن بیشتر ۰٫۰۵ باشد، نشان دهنده‌ی این است که داده‌ها با مدل تطبیق مناسبی دارند، یا به عبارت ساده میزان عدم انطباق مقدار با اهمیتی نبوده است. همان‌طور که در جدول ۲ مشخص است میزان P-valueی عدم انطباق ۰٫۱۴ است که بیشتر از ۰٫۰۵ بوده است و نشان دهنده‌ی انطباق مناسب داده‌ها با مدل است. هم‌چنین مناسب بودن مدل را می‌توان بر اساس بزرگ‌تر بودن عدد فیشر محاسبه شده که ۱۳٫۸۷ است، نسبت به عدد فیشر بحرانی که ۴٫۷۷ است، در درجه‌های آزادی یکسان مربوط به مدل و باقی‌مانده‌ها درسطح ریسک ۵٪ اثبات کرد.

نمودارهای رویه سطح نمودارهایی سه بعدی هستند که به‌عنوان تابعی از دو متغیر مستقل متفاوت در دامنه آزمایش‌ها، در حالی که متغیرهای دیگر در سطح ثابتی قرار دارند رسم می‌شوند. از آنجایی که مدل quadratic در مطالعه حاضر دارای سه متغیر مستقل است یک متغیر در سطح میانی ثابت در نظر گرفته می‌شود و در نتیجه در کل، سه نمودار برای پاسخ‌ها فراهم می‌شود که دو نمودار آن در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ۲ مشخص است، اندازه ذرات در صورت به کار بردن مقدار متوسطی از تولوئن اشباع با گلوترآلدهید و با کاهش درصد الکترولیت و با افزایش درصد سورفکتانت میانگین اندازه ذرات دارای مقدارهای کمینه می‌شوند. باتوجه به عامل‌های مؤثر در روش سنتز نانوذرات کیتوسان و گستره‌ی تغییر آن‌ها و با توجه به مدل انتخاب شده بهترین شرایط جهت سنتز نانوذرات کیتوسان بهینه از لحاظ اندازه ذرات (رسیدن به کوچکترین اندازه ذرات) عبارت‌اند از: ۰٫۵۱ درصد

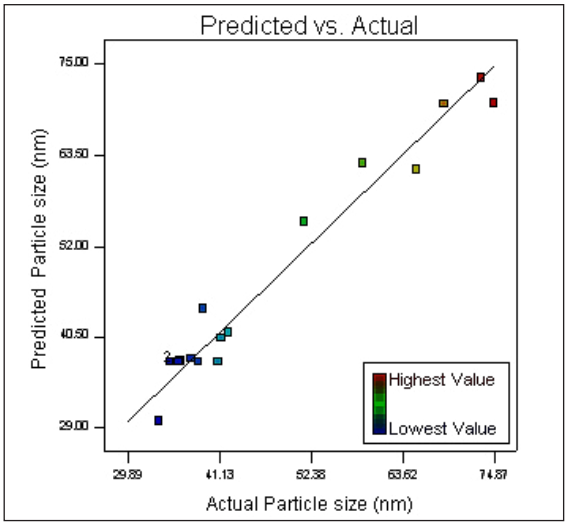

www.SID.ir

Archive of SID

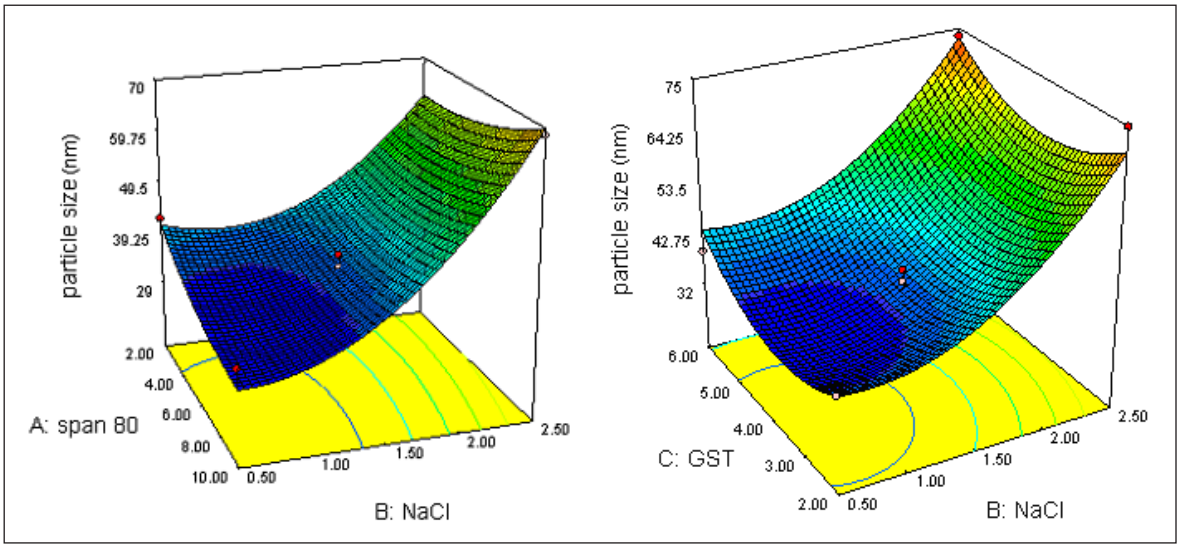


جدول ۲ تجزیه واریانس برای مدل اندازه ذرات

| منابع | درجه آزادی | مجموعه مربع‌های باقی‌مانده | F | P |
|---|---|---|---|---|
| مدل | ۹ | ۲۹۶۵٫۶۳ | ۱۳٫۸۷ | ۰٫۰۰۴ |
| $X_1$ | ۱ | ۶٫۶۶ | ۰٫۲۸ | ۰٫۶۰۰ |
| $X_2$ | ۱ | ۱۸۹۰٫۸۱ | ۷۹٫۵۹ | ۰٫۰۰۰ |
| $X_3$ | ۱ | ۴۴٫۵۰ | ۱٫۸۷ | ۰٫۲۰۰ |
| $X_1X_2$ | ۱ | ۸۶٫۶۷ | ۳٫۶۴ | ۰٫۱۱۰ |
| $X_1X_3$ | ۱ | ۳۸۲٫۹۸ | ۱۶٫۱۲ | ۰٫۰۱۰ |
| $X_2^2$ | ۱ | ۳۶۶٫۰۰ | ۱۵٫۴۰ | ۰٫۰۱۰ |
| $X_3^2$ | ۱ | ۲۲۱٫۸۴ | ۹٫۳۳ | ۰٫۰۲۰ |
| عدم انطباق | ۳ | ۱۰۶٫۱۷ | ۵٫۹۰ | ۰٫۱۴۰ |




شکل۱ نمودار اندازه ذرات پیش‌بینی شده به‌وسیله مدل، نسبت به‌اندازه ذرات واقعی




شکل ۲ نمودارهای سطح مربوط به متغیرهای مستقل

نمک سدیم کلرید به‌عنوان الکترولیت، ۱۰ درصد سورفکتانت و ۴٫۸۶ میلی‌لیتر تولوئن اشباع با گلوترآلدهید است. شرایط بهینه با استفاده از مقدارهای بهینه به دست آمده به‌وسیله مدل و روش سنتز به‌کارگرفته شده نانوذرات کیتوسان تعیین شد. میانگین نانوذرات کیتوسان مطابق شرایط بهینه، با استفاده از نرم افزار مقدار ۲۸٫۴۶ نانومتر پیش بینی شده است.

*ریخت‌شناسی نانوذرات کیتوسان*

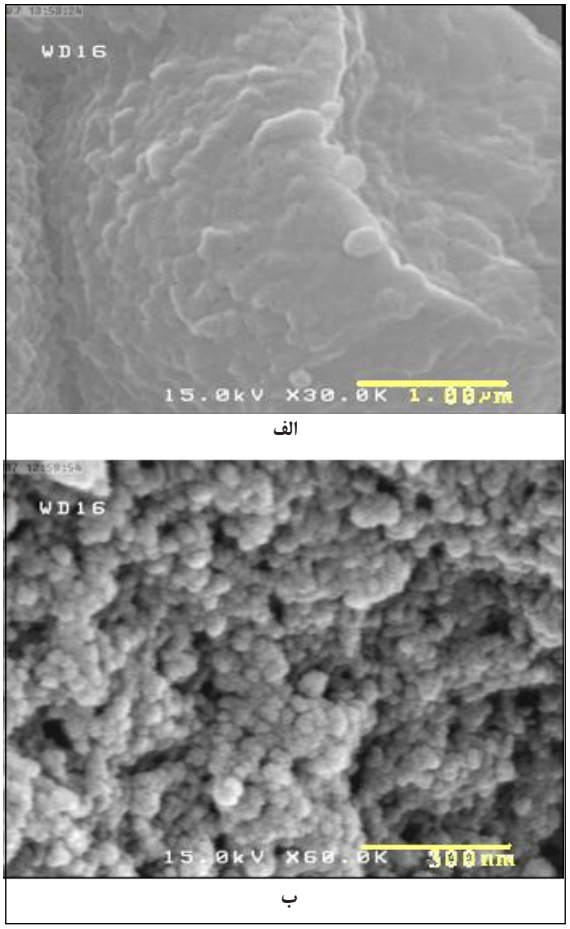
نانوذرات کیتوسان سنتزی بر اساس طراحی آزمایش باکس-بهنکن سنتز شدند و ریخت‌شناسی و اندازه نانوذرات به‌وسیله تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی از نوع گسیل میدانی بررسی شدند. سپس میانگین اندازه نانوذرات با نرم افزار محاسبه شدند. با باز کردن تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی


www.SID.ir

Archive of SID



در این نرم افزار و درجه‌بندی خط کش این نرم افزار با مقیاس داده شده در پایین هر تصویر می‌توان اندازه هر ذره را به طور دقیق محاسبه کرد و سپس میانگین اندازه ذرات را به طور دقیق گزارش کرد [۱۱]. شکل ۳ (الف) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نوع گسیل میدانی از کیتوسان قبل از تشکیل نانوذرات است و شکل ۳ (ب) تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نوع گسیل میدانی از نانوذرات کیتوسان سنتز شده است. همان‌طور که مشخص است نانوذرات سنتزی به‌طور کامل به شکل کروی هستند و میانگین اندازه ذرات ۳۲ نانومتر است.




شکل۳ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از نوع گسیل میدانی
الف) قبل از تشکیل نانو ذرات کیتوسان
ب) بعد از تشکیل نانوذرات کیتوسان

*تعیین ظرفیت بارگذاری دارو تاکرین در نانوذرات کیتوسان حاوی دارو با استفاده از طیف‌سنج فرابنفش*

۵۰ میلی‌گرم نانوذرات کیتوسان حاوی دارو را در ۲۰ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۰/۱ نرمال و اتانول مرک با نسبت حجمی برابر (۱:۱) تحت همزن مغناطیسی با دور ملایم به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد، سپس ذرات را با استفاده از سانتریفوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه جدا شد و محلول رویی را جدا وسپس از کاغذ وات من عبور داده شد و محتوای دارو را با استفاده از دستگاه طیف‌سنج فرابنفش در بیشترین طول موج دارو ۲۴۰ نانومتر در مقابل شاهد حقیقی بررسی شد که در شکل ۴ طیف محتوای واقعی دارو در نانوذرات کیتوسان حاوی داروی سنتزی نشان داده شده است. برای تهیه شاهد حقیقی ۵۰ میلی‌گرم از نانوذرات کیتوسان بدون دارو را در ۲۰ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۰/۱ نرمال و اتانول مرک با نسبت حجمی برابر (۱:۱) تحت همزن مغناطیسی با دور ملایم به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد، سپس ذرات را با استفاده از سانتریفوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه جدا شد و محلول رویی را جدا و سپس از کاغذ وات من عبور داده شد. با استفاده از فرمول ۱، ظرفیت بارگذاری دارو در نانوذرات کیتوسان به‌عنوان حامل دارو تعیین شده است [۱۲]. محتوای واقعی دارو (برحسب میلی‌گرم بر لیتر) را براساس روش ذکر شده و از روی بیشترین طول موج دارو در طیف‌سنج فرابنفش به کمک معادله درجه‌بندی محلول‌های استاندارد تهیه شده، تعیین شد و محتوای نظری دارو (برحسب میلی‌گرم بر لیتر) نیز براساس مقدار استفاده شده در روش سنتز مشخص شده است. درصد بارگذاری دارو ۱۳/۴ است.

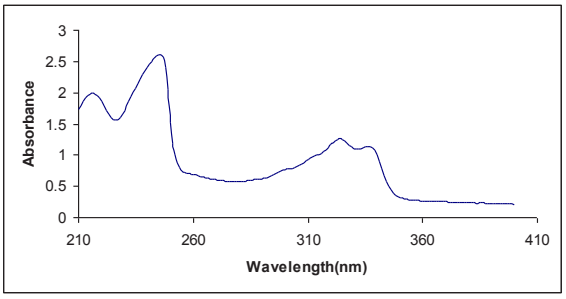
$$\text{درصد بارگذاری دارو} = \frac{\text{محتوای واقعی دارو}}{\text{محتوای نظری دارو}} \times ۱۰۰ \qquad (۱)$$

با استفاده از محلول‌های استاندارد منحنی درجه‌بندی رسم و غلظت واقعی دارو از روی معادله درجه‌بندی محاسبه شد. از حل کردن مقدارهای مشخص دارو در حجم‌های مشخص از شاهد حقیقی محلول‌های استاندارد تهیه شدند. مشخصات معادله درجه‌بندی برای تجزیه دارو در جدول ۳ ذکر شده است.


www.SID.ir

Archive of SID






شکل۴ طیف فرا بنفش مقدار داروی بارگذاری شده در نانوذرات کیتوسان حاوی دارو

جدول۳ معادله‌ی کالیبراسیون برای بررسی ظرفیت بارگذاری دارو در نانوذرات کیتوسان

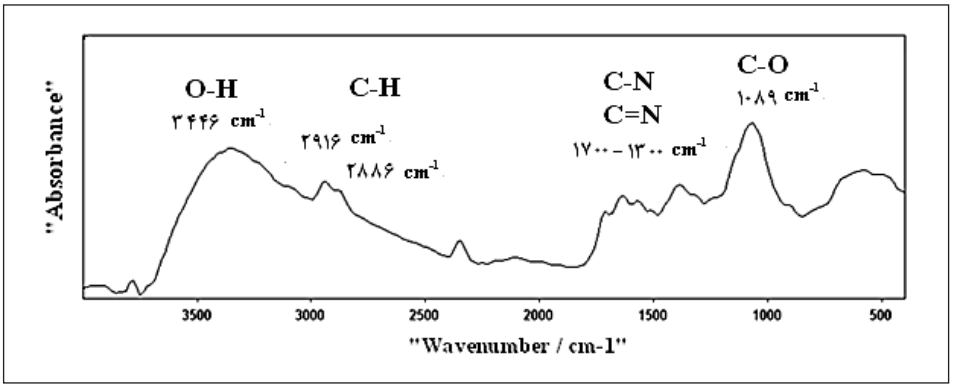
| آنالیت | معادله کالیبراسیون | $R^2$ | حد تشخیص (میلی گرم برلیتر) | درصد انحراف معیار نسبی |
|---|---|---|---|---|
| داروی تاکرین | Y =۰٫۰۳X + ۱٫۱۶ | ۰٫۹۸ | ۰٫۱۲ | ۰٫۲۰ |

*بررسی نانوذرات کیتوسان سنتز شده به‌عنوان حامل‌های دارو به‌وسیله طیف‌سنجی تبدیل فوریه زیر قرمز میانه*

شکل ۵ طیف نانوذرات کیتوسان است، که دارای گروه‌های عاملی آمین آزاد، هیدروکسیل و گروه‌های اتری است را تأیید می‌کند. جذب ناحیه‌ی حدود $cm^{-1}$ ۳۴۰۰ مربوط به آب موجود در ماده است. جذب موجود در ناحیه‌ی $cm^{-1}$ ۲۹۱۶ و $cm^{-1}$ ۲۸۸۶ مربوط به C–H است. پیک موجود در ناحیه‌ی $cm^{-1}$ ۱۰۸۹ مربوط به گروه‌های اتری است. پیک‌های موجود در ناحیه‌ی $cm^{-1}$ ۱۳۸۰ و $cm^{-1}$ ۱۴۲۳ مربوط به کشش گروه‌های C–O و گروه‌های الکلی هستند و گروه‌های آمینو در ناحیه $cm^{-1}$ ۱۳۰۰ تا $cm^{-1}$ ۱۷۰۰ واقع شدند. حضور گروه آزومتین که از واکنش بین کیتوسان و گلوتر آلدهید به‌دست می‌آید، می‌تواند به سادگی از پیک مربوط به پیوند C=N که در گستره‌ی $cm^{-1}$ ۱۶۲۰ تا $cm^{-1}$ ۱۶۸۰ واقع است.

## نتیجه گیری

براساس نتیجه‌های به‌دست آمده در این پژوهش، شرایط بهینه برای سنتز نانوذرات کیتوسان بهینه با استفاده از مدل آماری به‌صورت ۰٫۵۱ درصد نمک سدیم کلرید به‌عنوان الکترولیت، ۱۰ درصد سورفکتانت و ۴٫۸۶ میلی‌لیتر تولوئن اشباع با گلوتارآلدهید تعیین شد. میانگین اندازه نانوذرات کیتوسان مطابق شرایط بهینه، با استفاده از نرم افزار ۳۲ نانومتر به‌دست آمد که به مقدار پیش‌بینی شده با مدل نزدیک است. بارگذاری دارو در نانوذرات کیتوسان تهیه شده مطابق شرایط بهینه ۱۳٫۴ درصد به‌دست آمد که با توجه به محتوای واقعی و نظری دارو تعیین شده است.




شکل۵ طیف تبدیل فوریه زیر قرمز میانه نانوذرات کیتوسان


www.SID.ir

Archive of SID



## مراجع


[1] Hans, M.L.; Lowman, A.M.; Curr. Opin. Solid State Mater. Sci., 6, 319–327, 2002.

[2] Lee, E.; Lee, J.; Lee, I.H.; Yu, M.; Kim, H.; Chae, S.U.; Jon, S.; J. Med. Chem. 51, 6442–6449, 2008.

[3] Trapani,A.; Sitterberg, J.; Bakowsky, U.; Kissel, T.; Int. J. Pharm. 375, 97–106, 2009.

[4] Wilson, B.; Samanta, M.K.; Santhi, K.; Kumar, K.P.S.; Ramasamy, M.; Pharm, M.; Suresh, B.; Nanomedicine 6, 144–152, 2010.

[5] Boonsongrit, Y.; Mitrevej, A.; Mueller, B.W.; Eur. J. Pharm. Biopharm. 62, 267–274, 2006.

[6] Saboktakin. M.R.; Tabatabaee, R.; Maharramov, A.; Ramazanov, M.A.; Carbohydrate Polymers 82 ,466–471, 2010.

[7] Lee, E.; Lee, J.; Lee, I.H.; Yu, M.; Kim, H.; Chae, S.U.; Jon, S.; J. Med. Chem. 51, 6442–6449, 2008.

[8] Galisteo,M.:Rissel,M.;Sergent,O.;Chevanne, M.; Cillard, J.; Guillouzo, A.; Lagadic-Gossmann, D.; J. Pharmacol. Exp. Ther. 294, 160–167, 2000.

[9] Agnihotri, S.A.; Mallikarjuna, N.N.; Aminabhavi, T.M.; J. Control. Release, 100, 5–28, 2004.

[10] Ledolter, J.; Quality Technology & Quantitative Management, 8, 183-209, 2011.

[۱۱] زکیان، اسماعیل؛ نوید فامیلی، محمد حسین؛ آکو، محمد؛ مجله علوم و تکنولوژی پلیمر، ۵، ۳۹۳-۴۰۴، ۱۳۹۱.

[12] Dhanya, K.P.; Santhi, K.; Dhanaraj, S.A.; Sajeeth, C.I.; Pharm. Globale., 2, 1–5, 2011.




www.SID.ir