Archive of SID

پژوهشي

مجله دانشگاه علوم پزشكي مازندران
دوره پانزدهم شماره 50 بهمن و اسفند سال 1384 (34-27)

تعيين درجه داستيلاسيون كيتوسان تهيه شده از پوست ميگو

فرشته پورمراد(Ph.D.)*+ محمد علي ابراهيم زاده(Ph.D.)** سهيلا هنري (Ph.D.)***
پونه ابراهيمي(Ph.D.)**** معصومه اورنگيان(Ph.D.)*****

چكيده

سابقه و هدف : كيتين يك پلي ساكاريد طبيعي بوده كه به طور گسترده‌اي در پوست سخت پوستان مانند خرچنگ، ميگو و قارچ‌ها يافت مي‌شود. اين تركيب و مشتق ديگر آن كيتوسان، داراي كاربردهاي پزشكي متعددي از جمله استفاده در صنعت داروسازي در تكنيك آزاد سازي دارويي و اثرات بهبود زخم‌ها، كاهش كلسترول خون، ضد انعقاد خون و ضدتومور مي‌باشد. پيش‌بيني شده كه كايتوسان به عنوان پر مصرف‌ترين ماده كليدي سال 2005 ميلادي بوده كه 75 درصد اين مصارف در زمينه زيست- پزشكي خواهد بود.

مواد و روش‌ها : در اين مطالعه به تهيه كيتين و كيتوسان (مشتق داستيله كيتين) از پوست ميگو كه به ميزان فراوان در جنوب ايران و همچنين شمال كشور وجود دارد، پرداخته شده است. پوست ميگو به طور متوالي با اسيد و قليا مخلوط و پس ازصافكردن،كيتين ناخالص تهيه شد. پس ازشست‌وشو و خالص‌سازي آن را با سود مجاور نموده و كايتوسان حاصل گرديد. عمل شست و شو و رسوب‌گيري چندين بار تكرارشده تا كيتوسان خالص تهيه گردد. كيتوسان به دست آمده با بازده قابل قبولي تهيه گرديد.

يافته‌ها : الگوي الكتروفورز و IR (طيف مادون قرمز) آن با استاندارد مطابقت داشت. همچنين تهيه فيلم كيتوسان و بررسي طيف IR آن نشان داد كه كيتوسان به‌دست آمده داراي درجه داستيلاسيون 76 درصد مي‌باشد. بررسي طيف NMR (رزونانس مغناطيسي هسته‌اي) نيز تاييد كننده بوده است.

استنتاج : نظر به توليد ميگو در بخش هاي شمالي كشور، امكان راه اندازي خط توليد اين ماده بسيار پر بها امكان پذير مي‌باشد.

واژه‌هاي كليدي : كيتين، كيتوسان، پوست ميگو، درجه داستيلاسيون

مقدمه

اكيتين يك موكوپلي ساكاريد بوده كه به وفور در اسكلت خارجي بندپايان مانندميگو، خرچنگ وهمچنين گياهان پست از قبيل مخمرها يافت مي‌شود. اين تركيب براي اولين بار توسط براكونوت[1] در سال 1811 تشريح

1. Braconnot

E اين تحقيق طي شماره 41- 80 در شوراي پژوهشي دانشگاه ثبت شده و با حمايت مالي دانشگاه علوم پزشكي مازندران انجام شده است.

* متخصص شيمي داروئي، عضو هيأت علمي مركز تحقيقات علوم دارويي (دانشيار) دانشگاه علوم پزشكي مازندران + * ساري : كيلومتر 18 جاده خزرآباد، دانشكده داروسازي

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

** متخصص شيمي داروئي، عضو هيأت علمي (استاديار) دانشگاه علوم پزشكي مازندران *** متخصص فاماسيوتيكس، عضو هيأت علمي(استاديار) دانشگاه علوم پزشكي مازندران
**** دكتراي شيمي تجزيه، بخش آناليز دستگاهي، دانشكده داروسازي ساري ***** دكتر داروساز
Eتاريخ دريافت : 83/10/26 تاريخ ارجاع جهت اصلاحات : 84/2/4 تاريخ تصويب: 84/8/11

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

شد(1).كيتوسان يا 2-آمينو-2-داكسي- β- D -گلوكان با واحدهاي تكرار شونده (4→1) α مشتقي از كيتين است كه توسط روگت[1] در سال 1859 با عامل شناخته شده‌اي بروز نموده و بسيار شايع‌تر از نوع ثانويه مي‌باشد. جوشاندن كيتين در محلول پتاس با غلظت مشخص به دست آمد(2) (تصوير شماره 1).

البته روشهاي ديگر هم براي تهيه‌كيتين وكيتوسان طبق منابع ديگر داراي حق امتياز (patent) وجود دارد كه در واقع با تغيير شرايط كار مانند زمان واكنش و همزدن، غلظت اسيد و باز و تكرار دفعات استخراج، سعي در بهينه سازي روش تهيه داشته‌اند(4،3). اهميت كيتين در تهيه كيتوسان از آن جا است كه كيتوسان در فرآورده‌هاي باليني به دليل سازگاري زيستشناسي با بقيه مواد، قابليت هضم آسان، غير سمي بودن، قدرت جذب بالا، و در دسترس بودن به عنوان يك حامل داروئي به كار مي‌رود. از كيتوسان به عنوان يك حامل دارويي قرن‌بيست‌ويكم نام برده شده است(16). كيتوسان با درجه خلوص مناسب در سيستم‌هاي آزادسازي دارويي،هموديالیز، پوست مصنوعي، مشمع‌هاي دارويي، بي‌حركتي آنزيمي،لنزهاي تماسي،باندژچشم، ارتوپدي، نخ جراحي، دندان‌پزشكي، كشاورزي به‌كار رفته و علاوه بر آن اثراتي چون توانايي جذب چربي، كاهش گلوكز، كلسترول و تري گليسريد و ضد ميكروبي نيز از آن‌گزارش شده است(16، 7-5). حلاليت اندك كيتوسان باعث محدوديت‌هايي در كاربرد اين ماده ارزشمند شده است. كيتين در محلول يد 2 درصد و محلول‌هاي اسيدي غيرقابل حل بوده در حالي كه كيتوسان با درجه داستيلاسيون مناسب، قابل حل مي‌باشد. در بعضي موارد ديده شده كه مشتقات كيتوسان با وزن مولكولي پايين در محدوده وسيعي از pH حلاليت بالايي در آب دارند. در حالي كه مشتقات با وزن مولكولي بالا فقط در pH اسيدي حلاليت خوبي دارند و در pH تقريباً خنثي حلاليتشان‌كاهش مي‌يابد(6). يك پارامترمهم دركيتوسان درجه داستيلاسيون آن مي‌باشدكه با اندازه‌گيري نسبت واحدهاي 2- استاميد 2-داكسي D– گلوكوپيرانوز به 2- آمينو-2- داكسي D– گلوكوپيرانوز تعيين مي‌شود. اين نسبت اثر مستقيم بر ميزان حلاليت كيتين و خاصيت محلول حاصل دارد. كيتوسان يك مشتق N- داستيله

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

تصوير شماره 1 : کيتين (ساختار بالا) و کايتوسان (ساختار پائين)، کايتوسان مشتقي از کيتين بوده که از داستيلاسيون ناقص يا کامل آن در شرايط قليائي به دست مي آيد.

1. Rouget

نسبي يا کامل از کيتين مي‌باشد. درجه داستيلاسيون را با وسايل مختلف و روشهاي مختلف مي‌توان اندازه گرفت که شامل طيف سنجي مادون قرمز IR، طيف سنجي ماوراي بنفش (UV)، طيف سنجي پروتون(^{1}H-NMR)، طيف سنجي کربن 13 در حالت جامد (^{13}C-NMR)، آزمون نين هيدرين، عيارسنجي با اسيد بروميدريک، تعيين عيار پتانسيومتريک،کروماتوگرافي باکارکردعالي، کروماتوگرافي با ژل نافذ، آناليز حرارتي،کروماتوگرافي با گاز غيرقابل اشتعال، هيدروليز اسيدي و اخيراً روش اسپکتروسکوپي نزديک مادون قرمزمي‌باشد. براي تعيين وزن مولکولي کيتوسان مي‌توان از کروماتوگرافي با ژل نافذ استفاده نمود. همچنين مي‌توان از تعيين ميزان حساسيت اسمز غضا، روش افشاندن،کروماتوگرافي طرد ذرات و کروماتوگرافي انحصاري استفاده کرد(12- 8).

کيتوسان در بخشهاي مختلف صنعت داروسازي به اندازه‌اي اهميت دارد که پيش بيني شده در سال 2005 ميلادي يکي از پرفروشترين و مطرح ترين مواد اوليه توليد شده در جهان بوده و بازار جهاني را تحت الشعاع خود قرار دهد. 75 درصد کيتوسان تهيه شده کاربرد دارويي و بهداشتي خواهد داشت(16).

هدف اين مطالعه در گام نخست به دست آوردن مناسبترين روش استخراج کيتين از پوست ميگو (که به وفور در جنوب ايران و البته به طور پرورشي در شمال ايران وجود دارد) و سپس ارزيابي روشهاي تهيه کيتوسان از کيتين حاصله مي‌باشد. در مرحله بعد بازده توليد بررسي و در نهايت تعيين درجه داستيلاسيون آن با روشهاي طيف رزونانس مغناطيسي هسته‌اي HNMR [1] و FTIR [2] مي‌باشد.

مواد و روشها

ŭ ŭâF h ŭ hŬ

کليه مواد مورد استفاده از قبيل NaOH ، HCl و کيتوسان استاندارد از شرکت‌هاي معتبر مرک (آلمان) و فلوکا (سوئيس) خريداري شدند. طيف IR با استفاده از دستگاه اسپکتروگراف مدل پرکين المر پرگامون 781 روي فيلم تهيه شده از کيتوسان تهيه شد. الکترو فورز توسط دستگاه مدل HELENA انجام شد. جهت مقايسه الگوي الکتروفورز نمونه‌هاي تهيه شده با استاندارد انجام شد. جهت تهيه طيف NMR از دستگاه NMR (مدل Bruker FT-400) استفاده شد.

â HΘŭЧ F . Θh . Q̂

ميگو از جنوب ايران تهيه گرديد. پوست ميگو از بدن جدا و کاملاً شست و شو داده شد تا گل و لاي آن گرفته شد. سپس قسمت اضافي و زائد پوست ميگو

1. H-Nuclear Magnetic Resunce
2. Fourier Transform Infra-Red

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

هم گرفته شد و پس از شست و شوي كامل، در سايه و در حرارت معمولي اتاق خشك گرديد. جسم خشك شده را تا حد امكان به صورت پودر در آورده تا در مراحل بعدي تهيه كيتين و كيتوسان استفاده گردد.

*Ò*F *Q*

Ù Θ : 10 گرم پودر پوست ميگو در محلول اسيد كلريدريك 6 درصد به مدت 16 ساعت داخل يك بالن ته صاف هم زده شد ماده حاصله توسط قيف بوخنر صاف شد و سپس توسط آب كافي شست وشو تا خنثي‌سازي‌كامل انجام شد. سپس ماده حاصله درمحلول سود 10 درصد به مدت 120 دقيقه واكنش داده شد. ماده حاصل صاف شد و توسط آب كافي شسته شده تا خنثي‌سازي كامل انجام شود. سپس اين ماده در محلول اسيد كلريدريك 4درصد به مدت 12ساعت هم زده شد

پس از صاف شدن و شست و شو با آب تا خنثي‌سازي كامل، ماده حاصل در محلول سود 8 درصد به مدت 90 دقيقه واكنش داده شد. ماده حاصل با قيف بوخنر صاف و با آب كافي شست و شو داده شد. پس از خشك‌شدن كامل پودر صورتي رنگ استيل‌كيتين حاصل شد. سپس پودر استيل كتين در محلول سود40 درصد به مدت 60 دقيقه واكنش داده شد و سپس صاف و با آب كافي شست و شو داده شد. پس از خشك شدن كامل 2/2 گرم پودر كيتين (22 درصد) حاصل گرديد(16،3).

h Θ : 10 گرم پودر پوست ميگو در محلول سود 10 درصد به مدت يك ساعت هم زده شد سپس صاف و با آب كافي شست و شو داده شد. براي آهك زدايي كردن ماده حاصل، اين ماده به مدت 3 ساعت در محلول اسيد كلريدريك 15 درصد با دماي 80 درجه حرارت داده شد و سپس صاف و شست و شو داده شد. براي از بين بردن چربي ماده حاصل به مدت 5 ساعت در محلول سود 15 درصد و دماي 70 حرارت داده شده و سپس صاف شده و با آب كافي شست و شو و خشك شد و 5/8 گرم پودر كيتين(58 درصد) به دست آمد.

FU ¯ŭHΘh ŭ¯ ŭ F Q
: *F Ůh*

1/5 گرم از پودر كيتين حاصله به مدت 3-1 ساعت درمحلول سود30، 45 و60 درصد داده شد. پس ازصاف كردن با قيف بوخنر و شست و شو با آب فراوان تا خنثي شدن كامل به مدت 3 ساعت در گرمخانه قرار داده تا كاملاً آب خود را از دست داد. بازده در روشهاي مختلف از 60 تا 90 درصد به دست آمد.

ŭ F Q

مقدار 50 ميلي گرم كيتوسان تهيه شده در مراحل قبل، در شش ميلي ليتر محلول اسيد استيك دو درصد حل گرديد و بيست و چهار ساعت در بشر در بسته قرار داده شده تا حباب هواي موجود در محلول خارج و شفاف شود سپس اين محلول روي يك سطح تفلون و داخل واشرهاي پلاستيكي ريخته شد. پس از خشك كردن در دسيكاتور قرار داده شد واز اين فيلم‌ها طيف FT-IR تهيه شد(13).

يافته ها

با استفاده از روش اول پس از خشك شدن كامل

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

2/2 گرم پودر كيتين با بازده 22 درصد و با روش دوم پودر كيتين به ميزان 0/8 گرم و راندمان 8 درصد حاصل شد. در تهيه كيتوسان با درجات مختلف داستيلاسيون با كمك محلول سود 30 ، 45 و 60 درصد راندمان در روشهاي مختلف از 60 تا 90 درصد به دست آمد. استفاده از سود 30 درصد در زمان يك ساعت بالاترين بازده را توليد نمود. افزايش غلظت محلول سود به 60 درصد كيتوسان محلول در آب به دست آمد.

بحث

كيتوسان از نظر شيميايي شباهت به سلولز كه يك فيبرگياهي است دارد. برخلاف سلولز، توانايي اتصال آن به چربي‌ها فوق العاده است؛ به‌طوري‌كه به نام آهن‌رباي چربي‌ها نام گرفته است. اثرات عديده ديگر كايتوسان به عنوان يك تركيب كاملاً ايمن و بدون اثرات جانبي، ارزش آن را صد چندان نموده است(1، 7-5). مطالعات نشان مي‌دهد كه در تهيه كيتين به صورت خالص مشكلاتي وجود داشته است. معمول با تكرار فرايند مخلوط كردن پوسته سخت پوستان مورد نظر با اسيد و قلياي داغ و رنگ زدايي با محلول پرمنگنات پتاسيم در حرارت معمولي بوده است. به كارگيري اسيد فرميك غليظ ناخالصي‌هاي رنگي را كاملاً ازبين برده اما موجب داستيلاسيون كيتين در اين مرحله خواهد شد. سپس كيتوسان توسط پتاس غليظ در ظرف نيكلي و تحت گاز نيتروژن در حرارت 80 درجه تهيه شده است. به منظور تهيه نمك هيدرو كلرايد كيتوسان از اسيد كلريدريك در حرارت 50 درجه و سپس خالص سازي به كمك تكرار مراحل قبل و شست و شو با اتر و اتانل، استفاده شده است. همچنين جهت تهيه كيتين از منبع مربوطه ابتدا آهك زدايي در محلول اسيد كلريدريك رقيق و سپس پروتئين زدايي در محلول رقيق سود صورتگرفته است. بي‌رنگ كردن با پرمنگنات پتاسيم 0/5 درصد و محلول اگزاليك اسيد يا در معرض نور خورشيد قرار دادن نيز به كار گرفته شده است(3،14). در هر يك از روشها سعي در بهينه‌سازي روش شده است. در اين مطالعه علاوه بر تهيه كيتوسان و كمك در رسيدن به خود كفايي، جهت دستيابي به روش بهينه با تغيير غلظت و زمان آزمايش تلاش شده است. در اين مطالعه پس از تهيه پودر از پوست ميگو، جهت تهيه كيتين به دو روش اقدام شد. در روش اول پودر پوست ميگو توسط اسيد كلريدريك رقيق هم زده شد و سپس با سود رقيق واكنش دادخ شد و كيتين با بازده 22 درصد طي تكرار مراحل ضمن خالص سازي به دست آمد. در روش دوم ابتدا پودر در سود رقيق هم زده شد و سپس در اسيد كلريدريك رقيق واكنش داده شد. طي تكرار مراحل كيتين با بازده 58 درصد حاصل شد. ماده دكلره كننده به دليل رنگ زدايي در حين تكرار مراحل كار حذف گرديد. پس از آن با تغيير مدت زمان آزمايش و قدرت قلياييكيتوسان هايمتفاوتيتهيه شدكه يكي ازآنها داراي حلاليت مناسب به منظور تهيه فيلم و شناسايي (تهيه فيلم براي طيف مادون قرمز و تهيه طيف رزونانس مغناطيسي هسته‌اي) بود. كاربرد سود30 درصد و واكنش به مدت يكساعتكيتوسان با راندمان87/5 درصد را حاصلنمود. باكاربرد سود

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

غليظتر(60درصد) دستيابي به‌كيتوسان با قابليت حل شدن فراهم شد. جهت تاييد، مشاهده شد كه كيتين در محلول يد دو درصد و محلول‌هاي اسيدي غيرقابل حل بوده ازطرفي اين تركيب در حلال‌هاي آلي نيز نامحلول مي‌باشد كيتوسان داراي قابليت حل شدن، در محلول يد2 درصد، محلول‌هاي اسيدي و حلال‌هاي آلي محلول مي‌باشد.براي شناسايي‌كيتوسان از روش‌هاي مختلف از جمله الكتروفورز، FT-IR و ^{1}H-NMR و ^{13}C-NMR استفاده مي‌شود (4،8،9 ،11، 12، 15، 16).

به منظور تهيه گراف‌هاي الكتروفورز از نمونه‌هاي كيتوسان به دست آمده، كليه نمونه‌ها در اسيد استيك 2درصد حل شد. صرفاً نمونه حاصل از هيدروليز كيتين در محلول سود 60 درصد در اين حالت محلول گرديد. بنابراين به طور مقدماتي مشخص شد كه در اين نمونه عمل هيدروليز تا حدي صورت گرفته كه كيتوسان حاصل داراي حلاليت بالاتري بوده است. بررسي الگوي الكتروفورز اين محصول با كيتوسان‌هاي استاندارد با وزن مولكولي مختلف (پايين، متوسط، بالا) تاييد نمود كه تركيب حاصل كيتوسان مي‌باشد.

مقايسه طيف مادون قرمزكيتين وكيتوسان استاندارد با محصولات به دست آمده نيز تاييد ديگري مبني بر دستيابي به كيتين و كيتوسان مي‌باشد؛ به طوري كه در طيف كيتين به علت وجودگروه كربونيل مربوط به آميد گروه استيل، اوجي در موج 1651 نشان مي‌دهد كه پس از هيدروليز و حذف گروه استيل (در واقع تشكيل كيتوسان) به سمت حذف گروه كربونيل خواهد رفت. از مزاياي روش FT-IR اين است كه براي مقادير با درجه استيله پايين تر حساسيت بيش‌تري دارد(14). براي محاسبه درجه داستيلاسيون كيتوسان استاندارد با وزن مولكولي پايين با توجه به طيف FT-IR از فرمول زير استفاده گرديد(8،11،15).

$$DD = 100 - (A_{1657} / A_{3468}) \times 100 / 1.33$$

به طوري كه A_{1657} و A_{3468} ميزان جذب در موج 1657 (مربوط به گروه كربونيل آميد استيل) و 3468 (مربوط به گروه هيدروكسي به عنوان استاندارد داخلي) مي‌باشد.

مقدار عددي نسبت A_{1657} به A_{3468} براي كيتوسان كاملاً استيله شده مي‌باشد. درجه داستيلاسيون دو نمونه استاندارد از كيتوسان با وزن مولكولي پايين و متوسط با توجه به فرمول بالا 57 و 54 درصد محاسبه گرديد. در طيفFT-IR كيتوسان تهيه شده دراين مطالعه اوج گروه كربونيل تقريباً حذف شده و صرفاً يك برآمدگي كوچك دراين منطقه به‌طور ناچيز مشهود بود. با استفاده از فرمول زير درجه داستيلاسيون آن محاسبه مي‌شود.

$$DD = 100 - (A_{1675} / A_{3430}) \times 100/ 1.33$$

به طوري كه A_{1657} و A_{3430} ميزان جذب در موج 1657 (مربوط به گروه كربونيل آميد استيل) و 3430 (مربوط به باند گروه هيدروكسي به عنوان استاندارد داخلي) مي‌باشد. بنابراين درجه داستيلاسيون نمونه تهيه شده 76 درصد مي‌باشد.

$$DD=100-(0.38/1.19)*100/1.33$$

از ابزارهاي بسيارمناسب ديگر كه به‌منظور شناسايي به كار مي رود، استفاده از ^{13}C-

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

NMR مي‌باشد. اما از آن جا كه به علت نبود پروب دستگاه در داخل كشور تهيه طيف حالت جامد مقدور نبود، صرفا به اين نكته اشاره مي شود كه گروه متيل در نمونه كيتين درحدود 20 ppm اوجي ظاهر خواهد نمود كه پس از تبديل آن به كيتوسان حذف مي‌گردد(18-16).

در اين كار همچنين طيف پروتون NMR نشان داد كه پروتون‌هاي حلقه از H_1-H_6 در محدودة (3-5 ppm) ظاهر مي‌شوند. ازمجموع 11 پروتون موجود در هرواحد كيتوسان، 4 پروتون مربوط به گروه‌هاي هيدروكسي و آمين به علت جابه‌جا شدن با دوتريوم موجود در D_2O اوجي در طيف ^{1}H-NMR نخواهند داد و تنها اوج‌هاي مربوط به 7 پروتون باقيمانده مشاهده خواهند شد(12). در اين مطالعه از كيتوسان استاندارد با وزن مولكولي متوسط و كيتوسان به‌دست آمده با روش سود 60 درصد در حلال تري فلوورواستيك اسيد و D_2O طيف ^{1}H -NMR گرفته شد. در گام اول شباهت طيف NMR حاصل از كيتوسان به دست آمده از اين پژوهش با كيتوسان استاندارد، حاكي از قضاوت اوليه در تشكيل كيتوسان‌مي‌باشد.چون طيف درحضور تري‌فلوورواستيك اسيدگرفته شده، دو پروتون كه در محدودة 4/5 تا 5 ppm ظاهر مي‌شوند در زير اوج مربوط به HOD مخفي شده است. پس مي‌توان از محدودة 3 تا 4 ppm كه حاوي 5 پروتون به‌عنوان استاندارد داخلي است، استفاده نمود. در طيف كيتوسان با وزن ملكولي متوسط نشان داده شد كه 5 پروتون در محدودة 3 تا 4 ppm ظاهر شده و اوج گروه متيل در ناحيه 1/9 ppm بوده است.

انتگرال پنج هيدروژن حاصل حدود 70 بوده كه نشان مي‌دهد به ازاي هر يك هيدروژن، انتگرال 13/8 ظاهر مي‌شود. پس مي‌بايست هيدروژن گروه متيل سه برابر يعني با انتگرال 41/5 ظاهر شود. با يك تناسب ساده مي‌توان ميزان داستيلاسيون اين نوع كيتوسان استاندارد را 98/9 درصد محاسبه كرد.

در طيف كيتوسان با روش سود 60 درصد، پنج هيدروژن مربوطه در محدوده 3 تا 4 ppm و گروه متيل در ناحية 1/9 ppm اوج نشان مي‌دهد. انتگرال اين پنج هيدروژن 90/42 به دست آمد. پس از محاسبه انتگرال هر ئيدروژن، پروتون‌هاي گروه متيل با انتگرال 54/24 ظاهرمي‌شود.بنابراين ميزان داستيلاسيون اين‌نوع‌كيتوسان 76/9 درصد محاسبه مي‌شود كه دراين‌جا مي‌توان رابطه داستيلاسيون‌كيتوسان را باميزان حلاليت آن نتيجه‌گرفت. جهت بررسي بيشتر اين مقوله تهيه كيتوسان‌هاي با درجه استيلاسيون مختلف و تعيين اين ضريب، ضروري به نظر مي‌رسد. چنانچه ذكر شد ساير كيتوسان‌هاي به دست آمده از هيدروليز كيتين در اين مطالعه قابل حل در تري فلوورواستيك اسيد و D_2O نبوده و جهت بررسي ساختمان آنها نياز به تهيه طيف NMR جامد مي‌باشد كه مقدور نيست.

حلاليت كيتوسان، خود زمينه ديگري از كارهاي پژوهشي است كه توسط محققين اين مطالعه در دست

بررسي مي‌باشد. ناگفته نماند كه عدم دسترسي به بعضي از

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

دستگاه هاي پيشرفته محدوديت‌هايي را در ادامه تحقيق ايجاد خواهد كرد.

سپاسگزاري

بدين‌وسيله از معاون محترم پژوهشي دانشگاه علوم پزشكي مازندران كه هزينه انجام اين تحقيق را تامين نموده‌اند، تشكر و قدرداني مي‌گردد.

فهرست منابع

1. Paul W, Sharma C.P. Chitosan, a drug carrier for the 21st century (a review), S. T. P. ***Pharma sciences*** 2000; 10(1): 5- 22.
2. Rouget C. Des substances amylaces dans le tissu des animaux, Specialment Les Articules (Chitin) ***Comp- Rend;*** 1859; 48: 792- 795.
3. Horowitz S.T, Roseman S, Blumenthal H.J. The preparation of glucosamine oligosaccharides, ***Journal of American Chemical Society;*** 1957; 79: 5046-5049.
4. Teng W.T, Khor E, Tan T.K, Lim l.Y, Tan S.C. Concurrent production of chitin from shrimp shells and fungi. ***Carbohydrate Research;*** 2001; 332: 305-316.
5. Hillyard I.W, Doczi Y, Kierman P.B. Anti acid and antiulcer properties of polysacharise chitosan, Proc. ***Soc. Exp. Biol. Med.*** 1985; 115: 1108-1112.
6. Majeti N.V, Kumar R. A review of chitin and chitosan applications, Reactive and ***functional polymers;*** 2000; 46: 1-27.
7. Mccurdy J.D. FDA and the use of chitin and chitosan derivative. In: Advance in chitin and chitosan, London, ***Elsevier Apllied Science,*** 1992, 659- 662.
8. Domard A, Rinaudo M. Preparation and characterization of fully deacetylated chitosan, ***Int. J. Biol. Macromol;*** 1983; 5: 49-52.
9. Dunn D.F, Liberman M.H. Chitin in sea anemone shells, ***Science;*** 1983; 221: 157-159.
10. Kasaai M.R, Arul J, Charlet G. Intrinsic viscosity- molecular weight relationship for chitosan, ***Journal of polymer science, part B,*** Polymer Physics; 2000; 38: 2591-2598.
11. Khan T.A, Peh K.K, Ching H.S. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods, ***J. Pharm Pharmaceut. Sci;*** 2002; 5(3): 205- 212.
12. Kubota N, Tatsumoto N, Sano T, Toya K. A simple preparation of half N-acetylated chitosan highly soluble in water and aqueous organic solvents, ***Carbohydrate Research;*** 2000; 324: 268-274.
13. Chatelet C, Damour O, Domard A. Influence of the degree of acethlation on some biological properties of chitosan film, **Biomaterials;** 2001; 22: 261-268.
14. http://dalwoo.com/chitosan/preparation.htm, Accessed Dec. 25, 2004.
15. Miya M, Iwamoto R, Yoshikawa S, Mima S. IR spectroscopic determination of CONH content in highly deacylated

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

chitosan, Int. ***J. Biol.*** Macromol; 1980; 2: 323-325.

16. Zhao Z, Wang Z, Ye N, Wang S, A novel N. O-carboxymethyl amphoteric chitosan/poly (ethersulfone)composite MF membrane and its charged characteristics, ***Desalination;*** 2002; 144: 35-39.
17. http://dalwoo.com/chitosan/spectra.htm, Accessed Dec. 25, 2004.
18. Ottoy M, Varum K.M, Smidsrod O. Compositional heterogeneity of heterogeneously deacetylated chitosans, ***Carbohydrate Polymers;***1996;29(1):17-24.

www.SID.ir
PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com