



ساخت و طراحی سامانه دارویی آهسته رهش آسیکلوویر در مقیاس نانو

شاداب شهسواری^{*}، فرید عابدین درکوش^۲، ابراهیم واشقانی فراهانی^۳، مهدی ارجمند^۴

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین پیشوا- گروه مهندسی شیمی- استادیار.

۲- دانشگاه علوم پزشکی تهران- دانشکده داروسازی- گروه فارماسیوتیکس- دانشیار.

۳- دانشگاه تربیت مدرس- دانشکده مهندسی شیمی- گروه مهندسی شیمی- استاد.

۴- دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب- دانشکده فنی- گروه مهندسی شیمی- استادیار.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۵

چکیده

مقدمه: تحقیق حاضر به منظور توسعه سامانه‌های نوین آزادسازی دارو بر پایه نانو ذرات صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق با استفاده از پلیمر طبیعی کیتوزان، که به علت خاصیت زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری بالا یکی از مناسب‌ترین مواد برای استفاده در زمینه‌های دارورسانی می‌باشد، نسبت به تهیه ذرات در مقیاس نانومتر با استفاده از روش ژل شدن یونی اقدام شد. پارامترهای مطالعه شده در تعیین اندازه ذرات با استفاده از روش آماری دی اپتیمال، شامل غلظت دارو، نسبت غلظت کیتوزان به تری پلی فسفات و pH محلول دارو- پلیمر می‌باشند. جهت تعیین اندازه نانو ذرات حاصله از دستگاه پراکنش نور دینامیک، جهت بررسی شکل نانوذرات از میکروسکوپ الکترونی نگاره، برای بررسی ساختار تشکیل دهنده نانوذرات از طیف سنجی مادون قرمز و برای تعیین مقاومت حرارتی از آنالیز وزن سنجی حرارتی استفاده شد.

نتایج: نانوذره بهینه با مشخصات اندازه ذره $132 \pm 3/24$ نانومتر، پتانسیل زتای $32 \pm 17/2$ میکرو ولت، شاخص توزیع اندازه ذرات برابر با $0/159 \pm 0/05$ و میزان داروی بارگذاری شده $85 \pm 4/35$ درصد به دست آمد. همچنین مطالعه رهایش آسیکلوویر در محیط آزمایشگاه میزان $81/17\%$ در طول ۴۸ ساعت را نتیجه داد.

نتیجه‌گیری: نانوذرات آسیکلوویر تهیه شده در شرایط بهینه با اندازه کوچک و ساختار کروی شکل و همچنین پایداری حرارتی بالا، می‌توانند به عنوان حاملی مناسب برای مصارف دارو رسانی به کار روند.

واژه‌های کلیدی: آسیکلوویر، رهایش کنترل شده، ژل شدن یونی، طراحی آزمایش، کیتوزان، نانوذرات.

*نویسنده مسئول: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین پیشوا- گروه مهندسی شیمی، تلفن: ۰۹۱۲۲۷۷۵۰۹۳، شماره: ۰۲۱-۸۸۰۰۹۴۴۰، Email: Shadab.sh@gmail.com

ارجاع: شهسواری شاداب، عابدین درکوش فرید، واشقانی فراهانی ابراهیم، ارجمند مهدی. ساخت و طراحی سامانه دارویی آهسته رهش آسیکلوویر در مقیاس نانو. مجله دانش و تندرستی ۱۳۹۳؛ ۹(۴): ۶۰-۶۷.

مقدمه

هرپس سیمپلکس نوعی از عفونت پوستی است که به وسیله ویروس هرپس هومینیس ایجاد می‌شود و معمولاً به عنوان تاول تبخالی شناخته می‌شود. دو نوع مختلف ویروس هرپس سیمپلکس نوع ۱ و ۲، دو عضو خانواده هرپس ویروس‌ها هستند که انسان را آلوده می‌کنند. در حقیقت سیستم ایمنی ویروس را از پوست حذف می‌کند، اما ویروس خودش را در اعصاب مخفی کرده و ممکن است در آینده دوباره پدیدار گردد.

آسیکلوویر یک داروی ضد ویروسی با یک فعالیت قابل توجه و بسیار متمایز است که به بدن کمک می‌کند تا در یک روش مؤثر بر ضد عفونت بجنگد و ایمنی لازم را فراهم کند. آسیکلوویر به طور کامل بیماری هرپس را درمان نمی‌کند، اما مطمئناً در کاهش علائم و گسترش عفونت هرپس مؤثر می‌باشد. آسیکلوویر خوراکی عمدتاً به صورت قرص‌های ۲۰۰ میلی‌گرم، به دفعات ۴ بار در روز مصرف می‌شوند. به علاوه، تجویز طولانی مدت آسیکلوویر (۶ ماه یا بیشتر) در یک بیمار با نقص ایمنی با عفونت هرپس سیمپلکس مورد نیاز می‌باشد (۱).

در سال‌های اخیر نانوداروها برای فرمولاسیون آهسته رهش در سیستم‌های دارورسانی مورد توجه قرار گرفته‌اند و در این راستا انتخاب مناسب یک ماتریکس پلی‌مری برای توسعه یک سیستم دارورسانی نانوذره موفق ضروری می‌باشد که پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر در این زمینه بیشترین توجهات را در سال‌های اخیر به خود معطوف داشته‌اند (۲).

به طور کلی رهایش دارو از نانو ذرات به تخریب‌پذیری پلیمر بستگی دارد، که به وسیله طبیعت ترکیب پلیمری و وزن مولکولی کنترل می‌گردد، از میان پلیمرها، پلیمر کاتیونی کیتوزان به خاطر خصوصیتاتی مانند، زیست سازگارپذیری، زیست تخریب‌پذیری و توانایی برای افزایش انتقال دوره‌ای داروها قابل توجه است. کیتوزان یک پلیمر زیستی خطی است که توسط خرچنگ‌ها، میگوها، ماهی‌های مرکب و برخی مخمرها، ساخته می‌شود. کیتوزان دارای گروه‌های آمینو می‌باشد و یک بیوپلیمر چند کاتیونی در یک محلول آبی است. کیتوزان یک پلیمر زیست چسبناک است و توانایی باز کردن موقتی اتصالات محکم را دارد، که به وسیله آن به داروها اجازه می‌دهد تا از بین سدها عبور کنند (۳).

این تحقیق روی طراحی نانو ذرات زیست تخریب‌پذیر آسیکلوویر برای دارورسانی خوراکی متمرکز شده است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، از آسیکلوویر محصول شرکت شیمیایی دارویی ارسطو، کیتوزان با وزن ملکولی ۱۵۰ کیلودالتون و درجه استیلاسیون

۹۵٪ محصول شرکت پرایمکس ایسلند، تری‌پلی‌فسفات محصول شرکت فلوکا، سدیم هیدروکساید، هیدروکلریک اسید و استیک اسید همگی از شرکت مرک، کیسه دیالیز با سایز ۱۲ کیلودالتون از شرکت سیگما استفاده گردید.

تهیه نانو ذرات بارگذاری شده کیتوزان با آسیکلوویر نانوذرات کیتوزان بر طبق فرآیندی که اولین بار توسط کالوو و همکاران براساس روش ژل شدن یونی کیتوزان با سدیم یون‌های سدیم تری‌پلی‌فسفات گزارش شده است، تهیه شدند (۴).

بر این اساس، محلول کیتوزان و آسیکلوویر شامل ۱٪ اسید استیک و محلول ۰/۵٪ سدیم تری‌فسفات تهیه گردیدند. محلول تری‌پلی‌فسفات به شکل قطره قطره به ۵ میلی‌لیتر از محلول کیتوزان - آسیکلوویر در حضور توپین (برای جلوگیری از حالت توده شدگی) اضافه شده و با همزن مغناطیسی در دمای محیط برای مدت ۴۵ دقیقه جهت ایجاد پیوند هم زده شد. با پیشرفت فرآیند ژل شدن یونی یک محلول کلوتیدی حاصل می‌شود. سپس نانوسپانسیون‌های کلوتیدی برای مدت ۳۰ دقیقه با شتاب ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. ذرات جدا شده دارای ابعاد نانومتری می‌باشند که برای بررسی اندازه و شکل آنها، رسوب‌های به دست آمده را دوباره در آب به حالت سوسپانسیون درآورده و محلول نانو ذرات ایجاد شده با استفاده از روش خشک کردن انجمادی لیوفیلیزه شدند.

طراحی آزمایش (DOE)

بر اساس مطالعات صورت گرفته روش آماری چندین مزیت را نسبت به روش کلاسیک پیشنهاد می‌کند: سریع و مطمئن است، به فهم روابط بین پارامترها در مقادیرهای مختلف کمک می‌کند و همچنین تعداد کل آزمایشات را کاهش داده و موجب صرفه‌جویی در زمان، مواد شیمیایی و نیروی انسانی می‌شود (۵).

باتوجه به مطالعات گذشته (۷ و ۶) متغیرهایی مانند غلظت، pH محلول پلیمر، نسبت کیتوزان به تری‌پلی‌فسفات و وزن ملکولی کیتوزان بر روی اندازه ذرات تأثیر به‌سزایی دارند.

بدین جهت، طراحی آزمایش برای بررسی تأثیرات سه متغیر مستقل (عوامل) شامل غلظت دارو (x1)، نسبت غلظت تری‌پلی‌فسفات به پلیمر (x2) و pH محلول دارو - پلیمر (x3) بر روی متغیرهای وابسته (پاسخها) شامل اندازه ذرات (y1)، پتانسیل زتا (y2)، شاخص توزیع اندازه ذرات (y3) و درصد میزان داروی بارگذاری شده (y4) در سه سطح (جدول ۱) و براساس آرایه دی اپتیمال به کار رفت و بهینه‌سازی با روش سطح پاسخ به عنوان کاربرد اصلی طراحی آزمایش در آزمایشات دارویی مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه و پتانسیل زتای نانوذرات با استفاده از دستگاه پراکنش نور دینامیک اندازه گیری شد. نمونه‌ها در سلول آنالیز قرار گرفتند و

که به خاطر اکسیداسیون و یا دهیدراسیون از خود کاهش وزن نشان می‌دهند را تشخیص داد.

برای توصیف رهایش دارو در محیط آزمایشگاه، ۲/۶ میلی‌گرم از رسوب حاصل از نانوذرات پلیمر- دارو را در یک کیسه دیالیز ریخته و سپس کیسه دیالیز در حجم مشخصی از محلول بافر فسفات قرار داده شد.

بشر حاوی بافر فسفات و کیسه دیالیز را داخل انکوباتور با دمای $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ گذاشته و در فواصل معین (۱، ۲، ۴، ۶، ۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت) یک میلی‌لیتر از محلول محیط رهایش را به‌عنوان نمونه برداشته و با بافر تازه جانشین گردید. سپس نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر برای تعیین مقدار داروی رهایش یافته بررسی شدند. برای دقت کار، تمام آزمایشات تحت شرایط مشابه سه بار تکرار شدند.

نتایج

طراحی آزمایش

طرح آزمایش با آرایه دی‌اِپتیمال برای آزمودن کارایی مدل پیشنهاد شد و آزمایش‌ها براساس روش ارائه شده انجام گرفت. مقدار متغیرهای مطلق و داده‌های تجربی مربوطه در جدول ۲ گردآوری شده است.

برای نشان دادن ارتباط بین پاسخ‌ها و متغیرهای مستقل، منحنی‌های پاسخ سطح سه بعدی رسم شدند تا درک بهتری از برهم کنش سه متغیر مستقل روی عوامل وابسته فراهم آورد. نمودارهای سطح پاسخ در شکل ۱ نشان داده شده‌اند.

آنالیز آماری بر پایه روش سطح پاسخ دی‌اِپتیمال برای ایجاد مناسب‌ترین مدل برای پیش‌بینی اندازه ذرات مورد استفاده قرار گرفت. هر یک از آزمایش‌ها ۳ بار تکرار شدند و هر بار اندازه نانوذرات تعیین گردید که نتایج حاصل در جدول ۲ نمایش داده شده است.

مدل استخراج شده نشان می‌دهد که تمام عوامل اصلی (غلظت دارو، pH محلول پلیمر و نسبت غلظت کیتوزان- تری‌پلی‌فسفات) روی اندازه نانوذرها تأثیر می‌گذارند. منحنی سه بعدی سطح پاسخ اندازه ذرات، در شکل ۱-۱ نشان داده شد.

همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، با افزایش غلظت کیتوزان در یک pH ثابت، اندازه نانوذرات افزایش می‌یابد. این افزایش بدان علت است که با افزایش غلظت محلول کیتوزان، گرانشی محلول به‌طور ثابتی افزایش یافته و مقاومت فاز مایع در برابر پراکندگی افزایش می‌یابد و در نتیجه ذرات به یکدیگر متصل شده و ذرات بزرگتری تشکیل می‌شود. همچنین با افزایش غلظت، تعداد ذراتی که در تشکیل نانوذرات شرکت می‌کنند بیشتر شده و نانوذراتی با ابعاد بزرگتری تولید می‌نمایند. گان و همکاران (۱۰) و همچنین زانگ و

آزمایش در دمای 25°C با زاویه تشخیص 90° درجه انجام گرفت. هر یک از آزمایش‌ها سه بار تکرار و پاسخ هر آزمایش (اندازه نانوذرات) اندازه‌گیری شد و مقادارها به‌عنوان میانگین \pm انحراف استاندارد نشان داده شدند. همچنین میزان انتشار اندازه نانوذرات نیز به‌عنوان یک اندکس چند پراکنشی گزارش شد.

جدول ۱- سطوح متغیرهای فرآیند نانوذرات

متغیرهای مستقل (عوامل)	محدوده سطوح
X_1 = غلظت دارو	۰/۱ - ۰/۲
X_2 = نسبت غلظت تری‌پلی‌فسفات به پلیمر	۲ - ۶
X_3 = pH محلول دارو- پلیمر	۲ - ۵
متغیرهای وابسته (پاسخ‌ها)	حدود
Y_1 = اندازه ذرات (نانومتر)	حداقل
Y_2 = پتانسیل زتا (میکرو ولت)	$20 < Y_2 < 30$
Y_3 = شاخص توزیع اندازه ذرات	حداکثر
Y_4 = درصد میزان داروی بارگذاری شده	حداکثر

به‌طور کلی شاخص توزیع اندازه ذرات دارای محدوده از ۰ تا ۱ می‌باشد که مقدارهای نزدیک به صفر یک پراکنش یکنواخت و مقدارهای بزرگ‌تر از ۰/۵ بیانگر غیر یکنواختی بالایی می‌باشد.

درصد میزان داروی بارگذاری شده

پس از اینکه نانوسوسپانسیون برای مدت ۳۰ دقیقه با شتاب 15000 سانتریفیوژ شدند، مایع روی ذرات ته نشین شده به‌وسیله نمونه‌گیر برداشته شد و مقدار آسیکلوویر آزاد در آن توسط دستگاه طیف‌سنجی اشعه ماوراء بنفش (اسپکتروفوتومتر) در طول موج 253 نانومتر (طول موجی که دارو در آن بیشترین جذب را دارد) اندازه‌گیری شد.

جهت بررسی ساختار تشکیل دهنده نانوذرات از طیف‌سنجی مادون قرمز توسط دستگاه اسپکترومتر شرکت نیکولت استفاده گردید. قرص مورد استفاده در دستگاه به‌وسیله مخلوط کردن نمونه موردنظر با پتاسیم بروماید در فشار 500 اتمسفر آماده شد و اسکن شد. سپس طیف به‌دست آمده از نانوذرات با طیف پلیمر و طیف دارو به‌تنهایی مقایسه شد (۸ و ۹).

برای تشخیص شکل سطحی نانوذرات، دستگاه میکروسکوپ الکترونی هیتاچی ساخت کشور ژاپن مورد استفاده قرار گرفت. نانو ذرات با استفاده از نوار دو پهلو روی پایه فلزی مخصوصی قرار داده شده و با یک لایه نازک از طلا تحت شرایط خلأ پوشش داده شدند. در نتیجه، تصویر نانوذرات به‌وسیله ردیابی الکترون‌های ثانویه ساطع شده از نمونه گزارش شد.

برای تعیین ترکیب مواد و پیش‌بینی پایداری حرارتی نانوذرات به‌دست آمده، از آنالیز وزن سنجی حرارتی به‌وسیله یک مدل علمی ژئومتریک استفاده گردید. با استفاده از این تکنیک می‌توان موادی را

باتوجه به جدول ۲، میزان داروی بارگذاری شده محاسبه شده نانو ذرات آسیکلوویر در محدوده بین $75 \pm 3/39$ تا $92 \pm 3/26$ گزارش شد که این گستردگی محدوده وابسته به pH محلول پلیمر، غلظت دارو و نسبت غلظت تری پلی فسفات به پلیمر می باشد. نمودار سطح پاسخ سه بعدی درصد میزان داروی بارگذاری شده در شکل ۴-۱ نشان داده شده است.

همان طور که در شکل دیده می شود با افزایش نسبت غلظت کیتوزان- تری پلی فسفات از ۲ به ۶ در یک غلظت ثابت آسیکلوویر، میزان داروی بارگذاری شده به شدت کاهش می یابد. سیتربگ و همکاران نشان دادند که افزایش غلظت پلیمر ممکن است باعث سخت شدن پلیمر شده و در نتیجه باعث کاهش میزان آزادسازی داروی بارگذاری شده شود (۱۳).

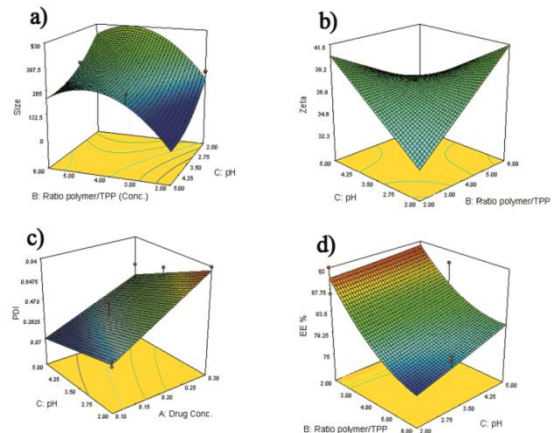
طیف مادون قرمز نانوذرات کیتوزان حاوی آسیکلوویر در شکل ۲ به تصویر کشیده شده است. باتوجه به شکل هیچ پیک جذبی از گروه آمینو کیتوزان در طیف های نانوذرات کیتوزان حاوی آسیکلوویر وجود نداشت و در عوض پیک جدید حاصل از اتصال بین گروه هیدروکسیل آسیکلوویر و گروه آمینو کیتوزان قابل رؤیت می باشد. تصویر میکروسکوپ الکترونی به دست آمده از نمونه بهینه شده نشان می دهد که نانوذرات کیتوزان حاوی آسیکلوویر دارای یک ساختار فشرده سخت با شکل کروی صاف می باشند (شکل ۳).

همچنین باتوجه به شکل و همان طور که در جدول ۲ گزارش شده است، اندازه ذرات به دست آمده در محدوده نانومتر می باشند و نشان می دهد که سطوح انتخاب شده برای بررسی اثر متغیرهای فرآیند مناسب است.

با استفاده از آنالیز وزن سنجی حرارتی، می توان رابطه بین کاهش وزن نمونه ها را در مقابل افزایش دما ارزیابی کرد. با استفاده از این آنالیز و با اندازه گیری وزن کل از دست رفته از نمونه می توان نشان داد که چه جرمی از ترکیب در نمونه وجود دارد. آنالیز وزن سنجی حرارتی نانوذرات کیتوزان حاوی آسیکلوویر در شکل ۴ به تصویر کشیده شده است.

باتوجه به شکل کاملا واضح است که با افزایش دما تا 100°C آب سطحی موجود در نمونه تبخیر می شود و باعث کاهش وزن نمونه می شود. به علاوه از 200°C تا 100°C این کاهش وزن افزایش یافته و پس از آن نیز در محدوده دمایی 400°C تا 200°C حرارت از لایه سطحی به لایه داخلی نانوذره نفوذ کرده و منجر به استخراج آب های متصل می شود.

نانوذرات آسیکلوویر در دمای بیش از 200°C نشان دهنده یک ساختار خوب از نانوذرات کیتوزان- آسیکلوویر می باشد.



شکل ۱- نمودار سطح پاسخ نشان دهنده تأثیرات متغیرهای مستقل بر متغیرهای وابسته: (۱) اندازه ذرات، (۲) پتانسیل زتا (۳) میزان پراکندگی ذرات و (۴) درصد داروی بارگذاری شده

همکاران (۱۱) نیز نشان داده اند که کاهش غلظت پلیمر منجر به کاهش سایز ذره می شود.

همچنین وقتی pH محلول کیتوزان افزایش می یابد، انحلال پذیری و همچنین مکانیسم های برهم کنش گروه های یونی بارهای مضاعف کاهش می یابد. بنابراین در مراحل اولیه تهیه نانوذرات شبکه ضعیفی شکل گرفته که نیروی حاصل از بهم زدن براحتی ذرات را به بخش های کوچکتری پراکنده می کند. مطالعه قبلی درباره کیتوزان نیز حاکی از آن است که اندازه ذرات می تواند با کاهش pH پلیمر افزایش یابد (۱۲).

پتانسیل زتا ثابت نانوسوسپانسیون های کلئیدی را تعیین می کند. به طور معمول در پتانسیل زتای بالا، ثابت نانو ساختارها به خاطر نیروهای دافعه الکتریکی قوی بین ذرات بالاتر می باشد.

همان طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، بهینه سازی پتانسیل زتا در محدوده ۲۰ تا ۳۰ میکرو ولت تعیین شد. علت تعیین این محدوده بدین جهت بود که نانو ذرات با پتانسیل زتای بیشتر از ۳۰ میکرو ولت ممکن است روی سلول های موکوئیدی ویژگی های سمیت از خود نشان دهند و همچنین ذرات با پتانسیل زتای کمتر از ۲۰ میکرو ولت نیز باعث ایجاد توده شده و پایدار نیستند.

منحنی سطح واکنش سه بعدی پتانسیل زتا نانوذرات در شکل ۲-۱ نشان داده شده است.

همان طور که در جدول ۲ آمده است، پتانسیل زتای ذرات تشکیل شده بین $25 \pm 2/5$ تا $57/8 \pm 2/07$ متغیر است. می توان نتیجه گرفت که با کاهش pH محلول پلیمر و همچنین نسبت غلظت تری پلی فسفات به پلیمر، مقدار پتانسیل زتا نیز به طور مشابه کاهش می یابد.

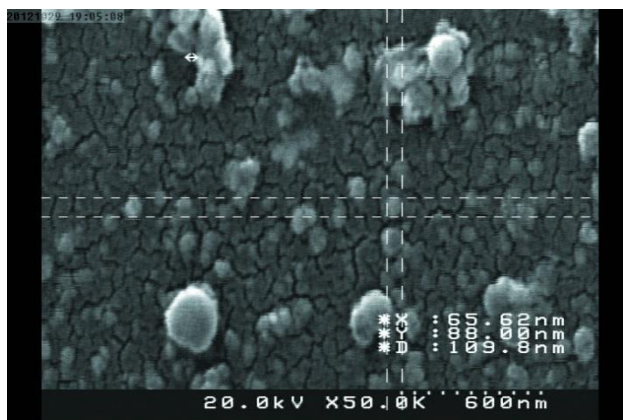
درصد میزان داروی بارگذاری شده

جدول ۲- طراحی آزمایش‌ها برای تهیه نانوذرات کیتوزان براساس آرایه دی ایتیمال

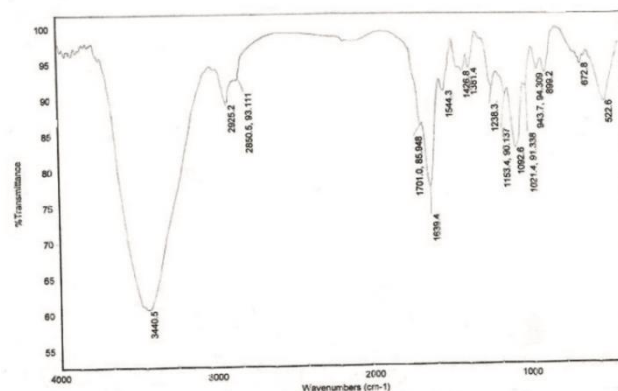
شماره آزمایش	متغیرهای وابسته (پاسخ‌ها)		
	Y_1 (نانومتر)	Y_2 (میکرو ولت)	Y_3 (%)
۱	۴۵۲±۲۵/۸۷	۲۶/۸±۱/۰۶	۷۵±۳/۳۹
۲	۳۵۶±۲۸/۶۰	۳۲/۴±۲/۴۸	۸۸/۵±۴/۳۰
۳	۱۴۱±۱۷/۲۱	۴۴/۲±۲/۲۶	۸۸/۶±۴/۳۷
۴	۳۷۱±۱۷/۸۲	۲۵/۲±۲/۵	۸۵±۲/۹۳
۵	۲۷۶±۲۱/۳۷	۳۱/۵±۱/۶۴	۹۲±۳/۲۶
۶	۴۲۵±۳۰/۵۴	۳۱/۵±۲/۹۲	۸۹±۳/۴۶
۷	۲۸۲±۲۱/۱۳	۵۶/۱±۲/۶۲	۸۷±۲/۶۵
۸	۱۴۳±۲۳/۹۱	۴۴/۱±۲/۸۱	۹۰±۲/۲۷
۹	۲۱۴±۳۵/۵۶	۳۴/۶±۱/۵۳	۸۹±۳/۹۲
۱۰	۵۵۲±۴۲/۱۰	۳۷/۱±۰/۸۷	۷۸±۳/۱۵
۱۱	۳۳۳±۳۴/۹۵	۳۸/۲±۲/۴۶	۷۹±۲/۱
۱۲	۳۳۴±۲۳	۳۶/۲±۲/۸۵	۸۰±۴/۸۳
۱۳	۴۸۵±۳۵/۰۱	۳۸/۸±۱/۵۶	۸۶±۳/۰۸
۱۴	۴۴۲±۲۶/۳۵	۳۲/۸±۰/۶۷	۹۱±۲/۸۲
۱۵	۲۹۱±۲۴/۸۳	۵۷/۸±۲/۰۷	۸۹/۵±۳/۳۵
۱۶	۳۴۷±۳۸/۵۷	۳۲/۱±۱/۲۹	۷۷±۱/۷۳
۱۷	۱۶۷±۲۷/۳۲	۴۵/۶±۲/۹۰	۸۵±۳/۴۳
۱۸	۳۶۴±۲۵/۱۸	۳۳/۶±۲/۲۸	۸۸±۲/۰۸
۱۹	۱۱۰±۱۷/۳۳	۴۶/۷±۰/۷۲	۸۲±۲/۹۵
۲۰	۲۱۳±۲۸/۳۴	۳۹/۵±۱/۰۹	۸۱±۱/۸۲

جدول ۳- نتایج داده‌های آزادسازی دارو در زمان‌های مختلف

زمان (ساعت)	۱	۲	۴	۶	۸	۲۴
میزان رهایش دارو (%)	۲۵/۵±۲/۲۸	۳۵/۱۲±۲/۳۵	۴۲/۶±۳/۳۲	۴۸/۵±۴/۵۲	۵۲/۸۴±۳/۰۹	۷۰/۷۸±۳/۴۵



شکل ۳- تصویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات کیتوزان حاوی داروی آسیکلوویر



شکل ۲- طیف سنجی مادون قرمز نانوذرات کیتوزان حاوی داروی آسیکلوویر

در نهایت بعد از ۴۸ ساعت، به دلیل برهم کنش بین ذرات کیتوزان و تری پلی فسفات و ایجاد یک شبکه پلیمری نیرومند، نانوذرات آسیکلوویر در این ماتریکس به دام افتاده و رهایش آسیکلوویر کاهش می یابد.

بحث

در این تحقیق، برای تهیه نانوذرات آسیکلوویر-کیتوزان از روش ژل شدن یونی به عنوان روش سریع و کارآمد استفاده شد و نانوذرات تهیه شده با استفاده از روش آماری دی ایتیمال بهینه شدند. ویژگی های نانوذرات از جمله اندازه ذرات، پتانسیل زتا، معیار پراکندگی ذرات و درصد میزان داروی بارگذاری شده مورد بررسی قرار گرفتند. باتوجه به مطالعات صورت گرفته مشخص گردید که همه نانوذرات دارای اندازه کمتر از ۵۰۰ نانومتر، با توزیع اندازه ذرات یکنواخت و پتانسیل زتای مثبت می باشند و همچنین نانوذرات تولید شده دارای درصد میزان داروی بارگذاری شده بالای ۷۵٪ می باشند.

شرایط بهینه نانوذرات به دست آمده عبارت است از: اندازه ذره $132 \pm 3/24$ نانومتر، پتانسیل زتای $32 \pm 87/2$ میکرو ولت، شاخص توزیع اندازه ذرات برابر با 0.159 ± 0.05 و میزان داروی بارگذاری شده $85 \pm 4/35$ درصد.

مطالعه ساختاری در مورد نانوذرات، نمایش دهنده شکل گیری نانوذرات کروی شکل غیرمترکم با سطوح صاف می باشد. همچنین مطالعه دمایی، پایداری نانوذرات را در دمای بالای ۲۰۰ درجه مشخص می کند.

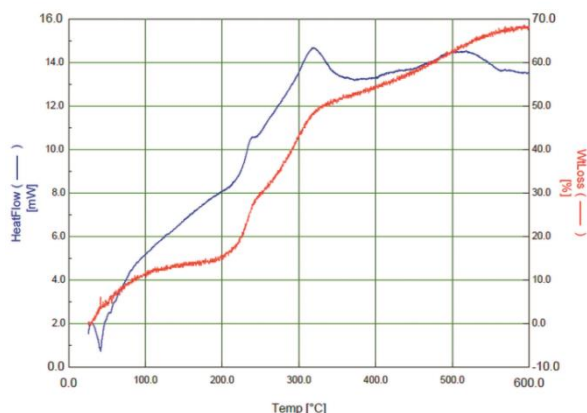
در ادامه مطالعه رهایش داروی آسیکلوویر روی نانوذرات انجام گرفت که عدم هرگونه رهایش انفجاری و سریع حاکی از برهم کنش ایده آل بین پلیمر کیتوزان و آسیکلوویر می باشد.

تشکر و قدردانی

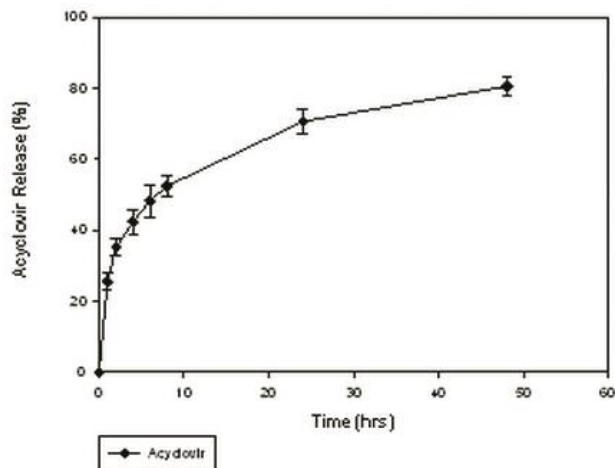
از مرکز رشد واحدهای فناوری فرآورده های دارویی دانشگاه علوم پزشکی تهران که با فراهم آوردن امکانات، از این پژوهش حمایت کردند، تشکر و قدردانی می شود.

References

- Emmert DH. Treatment of common cutaneous herpes simplex virus infections. *American Family Physician* 2000;61:1697-1704.
- Wagstaff AJ, Faulds D, Goa KL. Acyclovir: a reappraisal of its antiviral activity. *Pharmacokinetics Properties and Therapeutic Efficacy Drugs* 1994;47:153-205.
- Felt O, Furrer P, Mayer JM, Plazonet B, Buri P, Gurny R. Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention. *International Journal of Pharmaceutics* 1999;180:185-93.
- Calvo P, Remunan-Lopez C, Vila-Jata JL, Alonso MJ. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of Applied Polymer Science* 1997;63:125-132.
- Wold S, Sjöström M, Eriksson L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 2001;58:109-130.



شکل ۴- آنالیز وزن سنجی حرارتی نانوذرات کیتوزان حاوی داروی آسیکلوویر



شکل ۵- نمودار درصد آزادسازی دارو از نانوذرات نسبت به زمان

باتوجه به نمودار به دست آمده از آنالیز حرارتی، پایداری حرارتی رهایش داروی آسیکلوویر از نانوذرات بهینه شده در محلول بافر فسفات طی ۴۸ ساعت مورد مطالعه قرار گرفت و داده های آزادسازی دارو برای نانوذرات کیتوزان حاوی آسیکلوویر در شرایط بهینه، به عنوان میانگین \pm انحراف استاندارد گزارش شد (جدول ۳).

بدین ترتیب نمودار رهایش آسیکلوویر بر حسب درصد داروی آزاد شده نسبت به زمان رسم شد (شکل ۵).

همان طور که در شکل ۵ مشاهده می شود، در ۳۰ دقیقه ابتدای رهایش، میانگین رهایش آسیکلوویر از نانوذرات تهیه شده از کیتوزان میزان ۱۴٪ می باشد که عدم آزادسازی سریع دارو از نانوذرات نشان دهنده برهم کنش مناسب بین ذرات آسیکلوویر و کیتوزان می باشد. بر طبق شکل ۵، بیشترین رهایش آسیکلوویر از نانوذرات کیتوزان، ۸۱/۱۷٪ در ۴۸ ساعت بوده است و همچنین الگوی رهایش، یک رهایش بسیار آهسته دارو از نانوذرات را در هر نقطه زمانی نشان می دهد.

6. Katas H, Alpar HO. Development and characterization of chitosan nanoparticles for sirna delivery. *Journal of Control Release* 2006;115:216-225.
7. Gan Q, Wang T, Cochrane C, McCarron P. Modulation of surface charge, particles size and morphological properties of chitosan-tpp nanoparticles intended for gen delivery. *Journal of Colloidal Surface* 2005;44:65-73.
8. Silverstein RM, Frances X, Kiemle D. *Spectrometric identification of organic compounds*. 7th ed. New York: Wiley; 2005.
9. *Indian Pharmacopoeia*, New Delhi: Controller of Publication; 1996.
10. Gan Q, Wang T, Cochrane C, McCarron P. Modulation of surface charge, particle size and morphological properties of chitosan-tpp nanoparticles intended for gen delivery. *J Colloid and Surface Biointerface* 2005;44:65-73.
11. Zhang H, Oh M, Allen C, Kumacheva E. Mono disperse chitosan nanoparticles for mucosal drug delivery. *Biomacromolecules* 2004;5:2461-2468.
12. Dustgani A, Vasheghani-Farahani E, Imani M. Determination of optimum conditions for production of chitosan nanoparticles. *Iranian Journal of Polymer Science and Technology* 2007;20:457-464.
13. Jintapattanakit A, Junyaprasert VB, Mao S, Sitterberg J, Bakowsky U, Kissel T. Perioral delivery of insulin using chitosan derivatives: a comparative study of polyelectrolyte nanocomplexes and nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics* 2007;9:240-342.



Design of Nanoparticles Loaded Acyclovir for Controlled Delivery System

Shadab Shahsavari (Ph.D.)^{1*}, Farid Abedin Dorkoosh (Ph.D.)², Ebrahim Vasheghani Farahani (Ph.D.)³, Mehdi Arjmand (Ph.D.)⁴

1- Dept. of Chemical Engineering, Islamic Azad University, Varamin- Pishva Branch, Tehran, Iran.

2- Dept. of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Dept. of Chemical Engineering, School of Engineering, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

4- Dept. of Chemical Engineering, School of Graduate, Islamic Azad University, Tehran South Branch, Tehran, Iran.

Received: 13 August 2013, Accepted: 26 November 2013

Abstract:

Introduction: The aim of this research was to develop a new drug release systems based on Nanoparticles. In this study, the natural polymer chitosan was used for preparation of nanoparticles due to its unique properties, such as biocompatibility and biodegradability.

Methods: The polymeric nano-drug controlled release system has been designed with experimental design D-optimal response surface methodology, for varied variables such as the concentration of acyclovir, concentration ratio of chitosan/ TPP and pH using the ionic gelation method. The nanoparticles were characterized morphologically by scanning electron microscopy (SEM), particle size analyser (DLS) for determining size, zeta and Pdl, Fourier Transform Infra-Red (FTIR) Spectroscopy for determination of structure of nanoparticles and thermo gravimetric analysis (TGA) for studying thermal behavior. The optimized nanoparticles were characterized.

Results: The size of the particles was detected to be 132 ± 24.3 nm; zeta potential was 32 ± 2.87 mV; Pdl of particles was 0.159 ± 0.05 ; and calculated EE% was 85 ± 4.38 %. An in-vitro release study of the prepared nanoparticles illustrated that the percentage of acyclovir released from the nanoparticles was 80.17 ± 2.45 % within 48 hrs.

Conclusion: The optimized nanoparticles according to SEM image, exhibited segregated and non-aggregated nanoparticles with sub-spherical smooth morphology and also the high thermal stability of acyclovir nanoparticles at temperature up to 200°C due to TGA analysis, which indicated a well-established structure of nanoparticles.

Keywords: Acyclovir, Chitosan nanoparticles, Controlled release system, D-optimal response surface experimental design methodology, Ionic gelation.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: Sh. Shahsavari, Email: shadab.sh@gmail.com

Citation: Shahsavari Sh, Abedin Dorkoosh F, Vasheghani Farahani E, Arjmand M. Design of nanoparticles loaded acyclovir for controlled delivery system. Journal of Knowledge & Health 2015;9(4):60-67.