

key words

Induction-Crystallisation

Amoxicillin

Induction Time

Nucleation Mechanism

Stabilizing Agent

Determination of Nucleation and Induction Time of Crystallization of Amoxicillin Nanoparticles in the Presence of Surface Active Agents

Paria Parvin¹, Mehrdad Manteghian^{2*}

1 Islamic Azad University, Science & Research Boushehr Branch,
Boushehr, Iran

2 Chemical Engineering Department, Tarbiat Modares University,
Tehran, Iran

Abstract

Research subject: The use of nanoparticles, especially nano-antibiotics, increases their efficacy. More uniform release of antibiotics is one of the benefits of their nano size. They can be made using ointment or banderol to be absorbed through the skin to the infection, thereby reducing its side effects. Amoxicillin is one of the most widely used antibiotics in the world which can prevent the use of other stronger antibiotics, provided that its efficacy is promoted in the form of nanoparticles. Determining the mechanism of nanoparticle formation of this drug is an important factor for its commercial production.

Research approach: The purpose of this study was to determine the nucleation mechanism and induction time of crystallization of amoxicillin nanoparticles in the presence of surface active agents 'CTAB' and 'SDS'. Therefore, the effect of amoxicillin concentration and stabilizing agent concentration on the crystallization process was investigated. In this project, a combination of inductive-reactive crystallization was used. In this method, amoxicillin sodium was produced with sodium hydroxide, which had a much higher solubility in water. Then, by adding hydrochloric acid, amoxicillin was recovered and supersaturated. SEM and DLS analyses were used to determine the properties of amoxicillin nanoparticles. All the experiments were repeated twice.

Main results: The results showed that particles with a mean size of 50 nm were formed and the particle stability was confirmed up to one week after formation. The results of the experiments showed that the nucleation mechanism was primary type with an average explanatory factor (R^2) equal to 0.9887 and adding a stabilizing agent had no effect on the nucleation mechanism.

*To whom correspondence should be addressed:
MANTEGHI@modares.ac.ir

تعیین سازوکار هسته‌زایی و زمان القای بلورینگی نانوذرات آموکسی‌سیلین در حضور مواد فعال سطحی

پریا پروین^۱، مهرداد منطقیان^{۲*}

۱ دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات بوشهر، دانشکده مهندسی شیمی، بوشهر، ایران.
۲ دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

چکیده

استفاده از نانوذاروها به‌خصوص نانوانتی‌بیوتیک‌ها موجب افزایش کارایی آنها می‌شود. آزادسازی یکنواخت‌تر آنتی‌بیوتیک یکی از مزایای نانو بودن آن است. همچنین با استفاده از تولید نانوذارو می‌توان آن‌ها را به صورت پماد یا برجسب تهیه کرد تا از طریق پوست جذب ناحیه دارای عفونت شود و بدین ترتیب عوارض جانبی آن کاهش یابد. آموکسی‌سیلین یکی از پرکاربردترین آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در جهان است که در صورت ارتقا به صورت نانوذرات، می‌توان از افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌های قوی دیگر جلوگیری کرد. تعیین سازوکار تشکیل نانوذرات این دارو عاملی مهم برای تولید تجاری آن است.

هدف از انجام این تحقیق، تعیین سازوکار هسته‌زایی و زمان القای بلورینگی نانوذرات آموکسی‌سیلین است. مواد فعال سطحی SDS و CTAB برای جلوگیری از کلوخه شدن نانوذرات مورد استفاده قرار گرفت و اثر غلظت آموکسی‌سیلین و غلظت پایدارکننده بر فرایند بلورینگی بررسی شد. در این پروژه، از روش ترکیبی بلورینگی القایی - واکنشی برای تولید نانوذرات آموکسی‌سیلین استفاده شد. در این روش توسط واکنش آموکسی‌سیلین با هیدروکسید سدیم، آموکسی‌سیلین سدیم تولید شد که انحلال‌پذیری آن در آب نسبت به آموکسی‌سیلین بسیار بالاتر است. سپس با افزودن هیدروکلریک‌اسید، آموکسی‌سیلین بازیابی شد و بلورهای آن در شرایط فوق‌اشباع ایجاد شد. تمامی آزمایشات دومرتبه تکرار شدند. برای تعیین ویژگی‌های نانوذرات آموکسی‌سیلین از آزمون‌های SEM و DLS استفاده شد.

نتایج نشان داد که ذرات با متوسط اندازه ۵۰ نانومتر تشکیل شدند و پایداری ذرات در برابر کلوخگی نیز تا یک هفته پس از تشکیل تأیید شد. نتایج حاصل از آزمایشات نشان داد که سازوکار هسته‌زایی از نوع اولیه با میانگین ضریب تبیین (R^2) برابر ۰/۹۸۸۷ بوده و افزودن ماده پایدارکننده تأثیری بر سازوکار هسته‌زایی نداشت.

فصلنامه علمی - پژوهشی بین‌رشته‌ای
سال چهارم، شماره ۱، نسخه ۱
بهار ۱۳۹۹، صفحه ۱۲-۳

کلمات کلیدی

بلورینگی القایی - واکنشی

آموکسی‌سیلین

زمان القا

سازوکار هسته‌زایی

پایدارکننده

*عهده دار مکاتبات:

MANTEGHI@modares.ac.ir

مقدمه

آموکسی‌سیلین یکی از داروهای خانواده پنی‌سیلین‌ها و از دسته بتالاکتام‌ها است. این دارو یکی از مهم‌ترین و پرمصرف‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های خوراکی است. این دارو باعث مهار ترانس‌پپتیدازها و موجب ممانعت از ساخت پپتیدوگلیکان‌های دیواره سلولی باکتری و در نتیجه، تخریب دیواره سلولی باکتریایی می‌شود. آموکسی‌سیلین به بتالاکتاماز حساس است. باکتری‌های تولیدکننده بتالاکتاماز در برابر آن مقاومند. از این دارو در درمان بسیاری از عفونت‌ها مانند عفونت گوش میانی، سینوزیت، گلودرد استرپتوکوکی، پنومونی، عفونت‌های پوستی، عفونت‌های مجرای ادراری، بیماری لایم و عفونت‌های کلامیدیایی استفاده می‌شود. همچنین از آموکسی‌سیلین برای پیشگیری از اندوکاردیت قبل از دستکاری‌های دندانپزشکی (به‌طور مثال جراحی یا کشیدن دندان) در افراد مستعد (مانند افراد مبتلا به نارسایی دریچه‌های قلبی)، جلوگیری از عفونت پنوموکوکی در افراد بدون طحال و پیشگیری و درمان سیاه‌زخم استفاده می‌شود [۱]. آموکسی‌سیلین بر بسیاری از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مؤثر است. آموکسی‌سیلین تری‌هیدرات به صورت کپسول، قرص، شربت و سوسپانسیون موجود است. همچنین نمک سدیم آن برای تجویز به صورت تزریق داخل رگی تولید شده است [۲]. برخی از گونه‌های باکتریایی با تولید بتالاکتاماز به آموکسی‌سیلین مقاوم می‌شوند. برای غلبه بر گونه‌های تولیدکننده بتالاکتاماز، از کوآموکسی‌کلاو استفاده می‌شود که همراه با آموکسی‌سیلین مصرف می‌شود.

امروزه با توجه به کاربردهای فراوان نانوذرات در علوم مختلف همچون نانوکاتالیزورها، صنایع دارویی، سرامیک‌ها و غیره، نیاز به تولید این مواد در اندازه نانو افزایش یافته است. اولین قدم در ورود به دنیای نانوتکنولوژی، تولید نانوذرات است. از این رو تولید نانوذرات به عنوان ذراتی با اندازه یکسان و مورفولوژی مناسب همواره مورد تحقیق بوده است [۳، ۴]. در نتیجه سعی می‌شود تا با استفاده از بلورینگی القایی، نانوذراتی همگن تولید کرد. استفاده از این روش در تولید نانوذرات نوآوری محسوب می‌شود. نانوذرات به روش‌های گوناگونی تولید می‌شوند که از بین آنها رسوب‌دهی از فاز مایع یکی از روش‌های بسیار مطلوب برای تولید آنهاست.

با ریز کردن اندازه دارو می‌توان آن را برای استفاده‌های ویژه نظیر استعمال روی پوست (به‌صورت پماد) آماده کرد. به این ترتیب از دخالت دارو در سایر اندام‌ها به نحو مؤثری اجتناب می‌شود و اثرگذاری نقطه‌ای آن افزایش می‌یابد. ضمناً با ساخت و استعمال نانودارو می‌توان مقایسه‌ای بین مقابله با مزاحمت‌های مختلف

موادی نظیر بتالاکتاماز در این حالت، با مصرف بلعی یا تزریقی دارو به عمل آورد. همچنین این نانوذرات می‌توانند به‌صورت پوشیده‌شده تزریقی یا بلعیده و با رهایش مدت‌دار استفاده شوند [۵].

هسته‌زایی یکی از مباحث مهم در تولید نانوذرات به روش رسوب‌دهی از فاز مایع است و شناخت و کنترل عوامل مؤثر بر هسته‌زایی نانوذرات از چالش‌های پیش روی محققین است [۶]. در این پژوهش نانوذرات آموکسی‌سیلین تولید و سپس هسته‌زایی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور اثر پارامترهای مختلف مانند غلظت اولیه محلول، نوع پایدارکننده و غلظت پایدارکننده بر زمان القا بررسی شد.

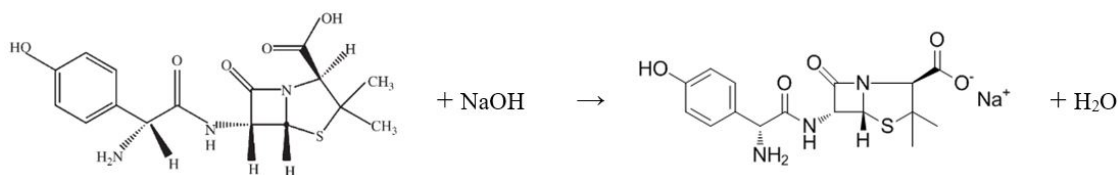
جونجو و همکاران [۷] توانستند نانوذرات نقره-آمی‌سیلین را در محلول آبی با استفاده از روشی ساده، با یکنواخت‌شدن نترات نقره به کمک آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین به عنوان عاملی کاهنده/محدودکننده و NaOH به عنوان کاتالیزگر برای افزایش بازده واکنش تولید کنند. مک‌دونالد و همکاران [۸] توانستند سینتیک فرایند بلورینگی پیوسته آنتی‌بیوتیک‌های بر پایه بتالاکتام کاتالیزشده توسط پنی‌سیلین را محاسبه کنند. آن‌ها در تحقیق خود از آموکسی‌سیلین به عنوان نمونه مورد محاسبه استفاده کردند. فرایند بلورینگی آن‌ها برپایه بلورینگی واکنشی بود. تیان و همکاران [۲] نیز موفق شدند با افزودن اسید کلریدریک به آموکسی‌سیلین سدیم، ذرات آموکسیسیلین را در سه مقیاس میکرو، نانو و به صورت ایفای تولید کنند. کاترتسون و همکاران [۹] در تحقیقی مدل‌سازی و بهینه‌سازی تولید آنزیمی آموکسی‌سیلین را در فرایندی ناپیوسته انجام دادند. گونچوم و همکاران [۱۰] نیز برای تولید نانوذرات آموکسی‌سیلین، آن را بر آلزینات سدیم و پلی(وینیل‌الکل) بارگذاری و تولید کردند و همچنین عبدلقانی و همکاران [۱۱] با روشی مشابه با استفاده از پلی(وینیل‌الکل) و آلزینات سدیم به همراه کیتوسان، رهایش نانوذرات آموکسیسیلین را بررسی کردند. تورجی و همکاران [۵] نیز از کیتوسان برای تهیه نانوذرات آموکسیسیلین استفاده و خواص دارویی آن را بررسی کردند.

مواد و روش‌ها

آموکسی‌سیلین با غلظت بالاتر از ۹۹٪ از شرکت داروسازی تهران شیمی تهیه شد. هیدروکسید سدیم (NaOH) از شرکت سیگما آلدریچ با خلوص بالاتر از ۹۸٪، اسید هیدروکلریک از شرکت مرک آلمان با غلظت یک مولار، ستیل‌تری‌متیل‌آمونیم برمید (CTAB) Cetyltrimethylammonium bromide با فرمول شیمیایی $(C_{16}H_{33})N(CH_3)_3Br$ و با خلوص بالاتر از ۹۹٪ از شرکت سیگما آلدریچ، سدیم دودسیل سولفات (Sodium

در دقیقه توسط هم‌زن مغناطیسی هم زده شد تا انحلال کامل صورت پذیرد و واکنش جانشینی سدیم با هیدروژن انجام و محلول شفاف شود. در مرحله اول، آزمایش بدون حضور پایدارکننده انجام شد. سپس اسید هیدروکلریک ۱ مولار درون بورت ریخته شد و به صورت قطره قطره به محلول افزوده شد. در زمان افزودن اسید به محلول، محلول با دور ۲۰۰ rpm هم زده شد تا اختلاط به خوبی صورت پذیرد. پس از افزودن هر قطره از اسید، زمان‌سنج شروع به کار کرده تا زمان کدر شدن محلول اندازه‌گیری شود. در صورت

dodecyl sulfate (SDS) با فرمول شیمیایی $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_3\text{Na}$ با خلوص بالاتر از ۹۸٪ از شرکت سیگما آلدیج آلمان تهیه شد. آب نیز به صورت دوبار تقطیرشده یون‌زوده تهیه شد. به‌منظور تعیین اندازه و مورفولوژی ذرات تشکیل‌شده از نمونه تصویر میکروسکوپی الکترونی پویشی Scanning electron microscopy or SEM (مدل VEGA ساخت شرکت TESCAN از کشور جمهوری چک) گرفته شد. برای تعیین اندازه و توزیع اندازه ذرات از آزمون پراکندگی نور پویا (Dynamic Light Scattering) (مدل Zetasizer Nano Zen ۳۶۰۰ ساخت شرکت



شکل (۱) واکنش مولکول آموکسی‌سیلین و هیدروکسید سدیم
Figure 1. Reaction of amoxicillin and NaOH

عدم تشکیل ذرات آموکسی‌سیلین پس از ۵ دقیقه، زمان‌سنج متوقف و یک قطره دیگر از اسید به ظرف اضافه شده و زمان اندازه‌گیری شد. این روند تا زمان کدر شدن محلول ادامه پیدا کرد و فاصله زمانی بین اضافه شدن آخرین قطره اسید تا کدر شدن محلول به عنوان زمان القا ثبت شد.

به منظور افزایش پایداری نانوذرات تشکیل‌شده، از دو پایدارکننده CTAB و SDS استفاده شد. برای تعیین اثر غلظت این پایدارکننده‌ها بر زمان القا و هسته‌زایی، از پایدارکننده با غلظت‌های ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۰/۸ میلی‌مولار استفاده شد و همان‌گونه که پیش‌تر گفته شد این پایدارکننده‌ها پس از انجام واکنش آموکسی‌سیلین با سود، به محلول افزوده شدند.

برای تعیین درجه فوق‌اشباع از رابطه زیر استفاده شد:

$$S = \frac{C}{C^*} \quad (2)$$

که در آن S، درجه فوق‌اشباع، C، غلظت آموکسی‌سیلین و C^* ، غلظت تعادلی آموکسی‌سیلین در آب در دمای آزمایش (۲۵ درجه سانتی‌گراد) است [۱۶، ۱۷].

همان‌طور که گفته شد غلظت تعادلی آموکسی‌سیلین در آب در دمای اتاق برابر با ۳/۴ mg/ml است [۱۳، ۱۴]. برای محاسبه غلظت آموکسی‌سیلین نیز به صورت زیر عمل شد: با توجه به غلظت بالای سود، فرض شد که واکنش آموکسی‌سیلین و سود به صورت کامل انجام پذیرفته و با توجه به استوکیومتری واکنش، به ازای هر مول آموکسی‌سیلین، یک مول آموکسی‌سیلین سدیم تولید شده است. با توجه به مقدار اسید اضافه‌شده در فرایند تولید نانوذرات و غلظت اسید و

Malvern Instruments از کشور انگلستان) استفاده شد. در این تحقیق، ابتدا با استفاده از محلول ۵ مولار هیدروکسید سدیم، آموکسی‌سیلین سدیم تولید و پودر آموکسی‌سیلین به آن اضافه شد و روی هم‌زن مغناطیسی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد هم زده شد. در این مرحله واکنش جایگزینی سدیم با یک هیدروژن آموکسی‌سیلین به صورت زیر انجام گرفت:

آموکسی‌سیلین سدیم تولیدشده در آب محلول است (۵۰ mg/ml) که نسبت به آموکسی‌سیلین (۳/۴ mg/ml) حلالیتی در حدود ۱۵ برابر دارد در نتیجه در اثر انحلال در آب محلولی شفاف تولید خواهد کرد [۱۲-۱۴]. در این مرحله پایدارکننده با وزن مشخص به محلول اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق هم زده شد. در ادامه با افزودن اسید هیدروکلریک و طی واکنش شرح داده شده در رابطه (۱)، سدیم از مولکول آموکسی‌سیلین سدیم جدا شده و هیدروژن جایگزین آن شد و مولکول آموکسی‌سیلین به‌دست آمد که با توجه به انحلال کم این ماده در آب، فوق‌اشباعیت حاصل شد [۲].



بنابراین با افزودن اسید به محلول، محلول کدر و نانوذرات آموکسی‌سیلین تشکیل شدند [۱۵]. برای این کار از اسید هیدروکلریک یک مولار استفاده شد.

به منظور تعیین سازوکار هسته‌زایی و محاسبه پارامترهای مؤثر بر آن، زمان القای تشکیل نانوذرات آموکسی‌سیلین اندازه‌گیری شد. در این روش مقادیر ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۵، ۰/۶ و ۰/۸ گرم آموکسی‌سیلین در ۱۵ میلی‌لیتر محلول ۵ مولار هیدروکسید سدیم ریخته شد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با دور ۵۰۰ دور

القاس نسبت به معکوس مجذور لگاریتم طبیعی درجه فوق‌اشباع به صورت خطی باشد، سازوکار هسته‌زایی از نوع همگن اولیه است و در صورتی که نمودار لگاریتم طبیعی زمان القاس نسبت به لگاریتم طبیعی درجه فوق‌اشباع به صورت خطی باشد، هسته‌زایی از نوع ثانویه خواهد بود. برای بررسی این موضوع هر دو نمودار رسم و تطابق داده‌ها با رابطه خطی بررسی شد. سازوکار هسته‌زایی با نموداری که تطابق بیشتری با خط داشت، تعیین شد. بنابراین پس از رسم نمودارهای مورد نظر، ضریب همبستگی (R^2) نمودارها با رابطه خطی آن‌ها محاسبه و مقایسه شد [۱۷-۱۵].

نتایج و بحث

پس از انجام آزمایش‌ها و محاسبات لازم، نمودارهای لگاریتم طبیعی زمان القاس نسبت به معکوس مجذور لگاریتم طبیعی درجه فوق‌اشباع و همچنین نسبت به لگاریتم طبیعی درجه فوق‌اشباع برای غلظت‌های مختلف آموکسی‌سیلین ترسیم و ضریب همبستگی این نمودارها مشخص شد. جدول (۱) مقدار فوق‌اشباعیت محاسبه‌شده و زمان القای اندازه‌گیری‌شده و شکل (۲) نمودارهای فوق برای نانواموکسی‌سیلین بدون حضور پایدارکننده را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود ضریب همبستگی برای لگاریتم طبیعی زمان القاس نسبت به معکوس مجذور لگاریتم طبیعی درجه فوق‌اشباع به حالت خطی نزدیک‌تر و در نتیجه سازوکار هسته‌زایی برای نانوذرات آموکسی‌سیلین بدون حضور پایدارکننده از نوع همگن اولیه بود.

جدول‌های (۲) و (۳) به ترتیب ضرایب همبستگی نمودارهای زمان القاس در غلظت‌های مختلف پایدارکننده‌های CTAB و SDS را نشان می‌دهند. با بررسی جدول‌های (۲) و (۳)، این نتیجه حاصل می‌شود که در حضور پایدارکننده‌های CTAB و SDS، سازوکار هسته‌زایی از نوع همگن اولیه بوده و حضور این پایدارکننده‌ها تأثیری در نوع سازوکار هسته‌زایی

همچنین استوکیومتری واکنش اسید و آموکسی‌سیلین سدیم، مقدار آموکسی‌سیلین بازیابی‌شده محاسبه شد. در نتیجه با مشخص بودن حجم محلول نهایی و مقدار آموکسی‌سیلین تولیدشده غلظت اولیه آن محاسبه شد. با فرض کامل بودن واکنش آموکسی‌سیلین با سود، به ازای جرم اولیه آموکسی‌سیلین، مقدار مول آموکسی‌سیلین سدیم تولیدشده به صورت زیر محاسبه شد:

$$M(g) \text{ Amoxicillin} \cdot \frac{1 \text{ mol Amoxicillin}}{365.4 \text{ g}} \cdot \frac{1 \text{ mol Amoxicillin Sodium}}{1 \text{ mol Amoxicillin}} = N \text{ mol Amoxicillin Sodium} \quad (3)$$

که در آن M ، جرم پودر آموکسی‌سیلین مورد استفاده در آزمایش و N ، تعداد مول آموکسی‌سیلین سدیم تولیدشده است.

از واکنش اسید هیدروکلریک با آموکسی‌سیلین سدیم، آموکسی‌سیلین تولید شد که مقدار آن از مقدار حجم اسید مصرف‌شده قابل محاسبه بود:

$$V \text{ ml HCl} \cdot \frac{1 \text{ mol HCl}}{1000 \text{ ml HCl}} \cdot \frac{1 \text{ mol Amoxicillin}}{1 \text{ mol HCl}} \cdot \frac{365.4 \text{ g Amoxicillin}}{1 \text{ mol Amoxicillin}} = M' \text{ g Amoxicillin} \quad (4)$$

که در آن V ، حجم اسید مصرف‌شده و M' ، وزن آموکسی‌سیلین آزادشده در واکنش با اسید است. با مشخص بودن حجم نهایی محلول (۱۵ میلی‌لیتر حجم اولیه محلول + حجم اسید افزوده‌شده)، غلظت اولیه محاسبه شد:

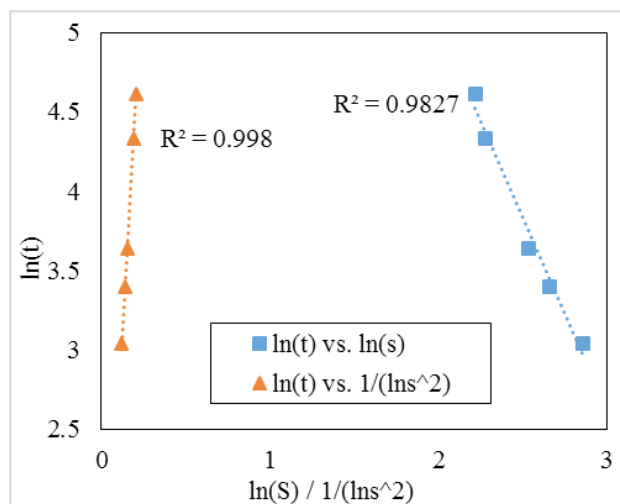
$$C \left(\frac{\text{g}}{\text{ml}} \right) = \frac{M' \text{ g}}{(15 + V) \text{ ml}} \quad (5)$$

بنابراین با دانستن حجم اسید اضافه‌شده غلظت اولیه آموکسی‌سیلین و درجه فوق‌اشباع قابل محاسبه بود. مطابق نظریه کلاسیک هسته‌زایی، با دانستن درجه فوق‌اشباع و زمان القاس می‌توان سازوکار هسته‌زایی را تعیین کرد. در صورتی که نمودار لگاریتم طبیعی زمان

جدول (۱) نتایج حاصل از آزمایش در غیاب پایدارکننده

Table 1. Results of experiments without stabilizing agent

No.	Amount of initial material (g)	Initial concentration (mg/ml)	Equilibrium concentration (mg/ml)	Supersaturation	Induction time (s)
1-1-1	0.2	31.19	3.4	9.17	101
2-1-1	0.3	33.21	3.4	9.77	76
3-1-1	0.4	42.98	3.4	12.64	38
4-1-1	0.5	48.57	3.4	14.28	30
5-1-1	0.6	59.19	3.4	17.41	21



شکل (۲) نمودار لگاریتم طبیعی زمان القا نسبت به معکوس مجذور لگاریتم طبیعی فوق اشباع و همچنین نسبت به لگاریتم طبیعی درجه فوق اشباع برای غلظت‌های مختلف آموکسی‌سیلین بدون حضور پایدارکننده

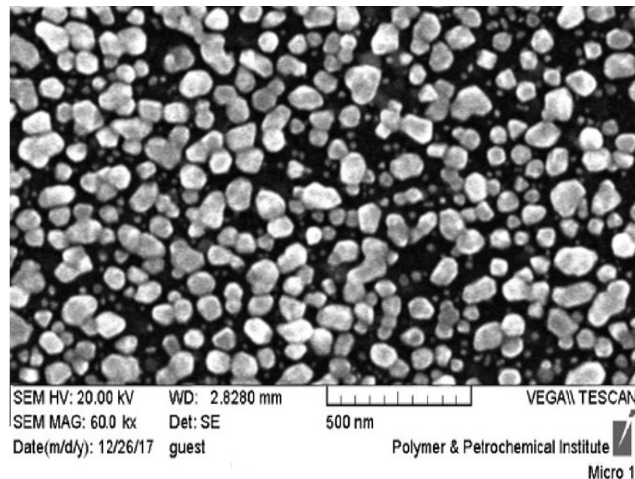
Figure 2. Diagram of natural logarithm of induction time versus inverse squared natural logarithm of supersaturation and also of natural logarithm of supersaturation for different concentrations of amoxicillin without stabilizing agent

جدول (۲) مقادیر R^2 بدست آمده برای نمودارهای زمان القا در غلظت‌های مختلف پایدارکننده CTAB
Table 2. R^2 values obtained for induction time graphs at different concentrations of CTAB stabilizing agent

Initial Stabilizer Concentration (mM)	The R2 value for the primary nuclear mechanism	The R2 value for the secondary nuclear mechanism
0.2	0.9933	0.9619
0.4	0.9989	0.9608
0.6	0.9913	0.9857
0.8	0.9836	0.9695

جدول (۳) مقادیر R^2 بدست آمده برای نمودارهای زمان القا در غلظت‌های مختلف پایدارکننده SDS
Table 3. R^2 values obtained for induction time graphs at different concentrations of SDS stabilizing agent

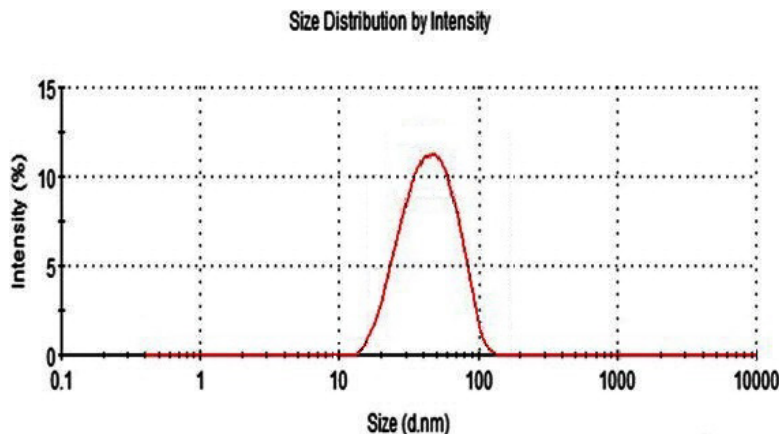
Initial Stabilizer Concentration (mM)	The R2 value for the primary nuclear mechanism	The R2 value for the secondary nuclear mechanism
0.2	0.9933	0.9736
0.4	0.9759	0.9596
0.6	0.9709	0.9652
0.8	0.9934	0.9789



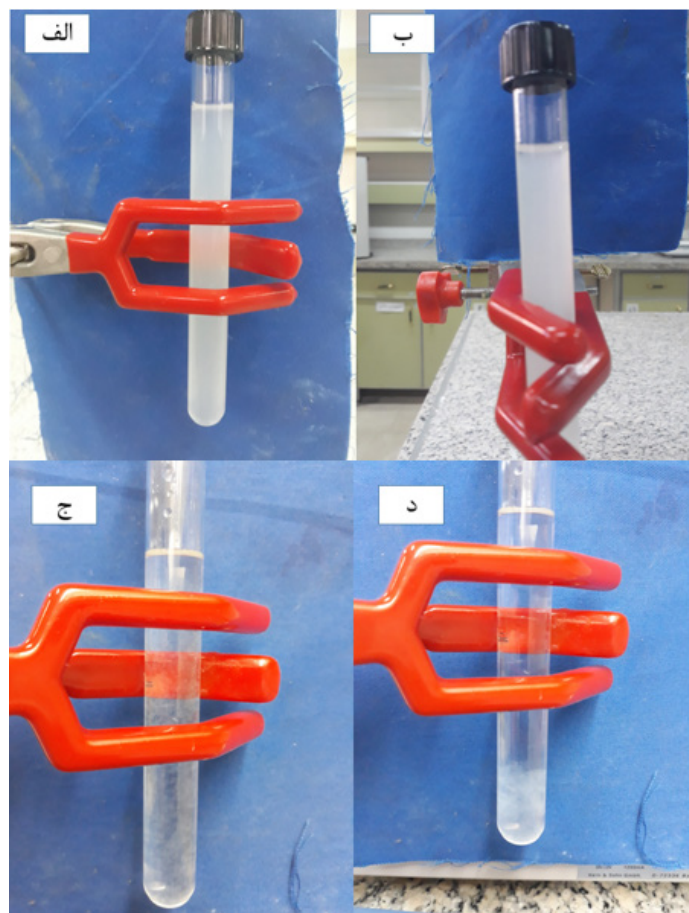
شکل (۳) تصویر SEM از نانوذرات آموکسی‌سیلین با بزرگنمایی ۶۰ هزار برابر
Figure 3. SEM image of amoxicillin nanoparticles with a magnification of 60,000 times

برای بررسی پایداری نانوذرات تشکیل‌شده و تأثیر حضور مواد فعال سطحی بر کلوخگی نانوذرات تشکیل‌شده، محلول‌های حاوی نانوذرات به مدت یک هفته در لوله آزمایش نگهداری شدند. نتایج این بررسی در شکل (۵) نشان داده شده است. مقدار آموکسی‌سیلین مورد استفاده در دو نمونه ۰/۵ گرم و غلظت ماده فعال سطحی (CTAB) برابر با ۰/۸ میلی‌مولار بود. شکل (۵) الف، ذرات تشکیل‌شده با استفاده از ماده فعال CTAB در روز اول و شکل (۵) ب، همان مخلوط در روز هفتم بود. همان‌طور که مشاهده می‌شود، پس از گذشت ۷ روز، همچنان اثر ظاهری از کلوخگی مشاهده نشد و به علت خاصیت امولسیون‌کنندگی CTAB، نانوذرات همچنان معلق مانده و تنها در سطح لوله آزمایش در تصویر ب، مقداری ته‌نشینی و کاهش کداری مشاهده شد. شکل (۵) ج، ذرات نانواموکسی‌سیلین تشکیل‌شده بدون استفاده از مواد فعال سطحی در روز اول و شکل (۵) د، همان مخلوط در روز هفتم را نشان می‌دهد.

نانوذرات آموکسی‌سیلین ندارد. برای بررسی مورفولوژی و تعیین اندازه نانوذرات تشکیل‌شده، از نمونه نانوذرات تشکیل‌شده با مقدار اولیه ۰/۶ گرم در حضور پایدارکننده CTAB با غلظت ۰/۸ میلی‌مولار، توسط میکروسکوپ الکترونی پویشی تصویربرداری شد. جدول‌های (۲) و (۳) به ترتیب ضرایب همبستگی نمودارهای زمان القا در غلظت‌های مختلف پایدارکننده‌های CTAB و SDS را نشان می‌دهند. همان‌طور که مشاهده می‌شود نانوذرات بدست آمده دارای ابعاد یکنواخت و در محدوده ۴۰-۵۰ نانومتر بود. برای تعیین توزیع اندازه ذرات آموکسی‌سیلین تولید شده آزمون DLS انجام شد. برای این آزمون از نمونه نانوذرات آموکسی‌سیلین تولیدشده با مقدار اولیه ۰/۶ گرم در حضور پایدارکننده CTAB با غلظت ۰/۸ میلی‌مولار استفاده شد. نتیجه این آزمون در شکل (۴) نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود توزیع اندازه نانوذرات تولیدشده یکنواخت و در محدوده ۵۰ نانومتر بود.



شکل (۴) توزیع اندازه ذرات در آزمون DLS
Figure 4. Particle Size Distribution in DLS Analysis



شکل (۵) بررسی پایداری نانوذرات پس از گذشت ۷ روز
Figure 5. Stability of nanoparticles after 7 days

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، نانوذرات آموکسی‌سیلین تولید شد و سپس با به‌کارگیری روش‌های مختلف، هسته‌زایی نانوذرات مورد بررسی قرار گرفت و روش مناسب برای تولید نانوذرات آموکسی‌سیلین انتخاب شد. سازوکار هسته‌زایی بدون حضور ماده پایدارکننده از نوع اولیه همگن بود. همچنین مشخص شد که حضور ماده پایدارکننده تأثیری بر سازوکار هسته‌زایی نداشت. نتایج حاصل از آزمون‌های SEM و DLS نشان‌دهنده تولید نانوذرات با ابعاد مناسب و یکنواخت بود که این موضوع موفقیت تولید نانوذرات آموکسی‌سیلین را تأیید کرد.

روش شرح داده شده در این پژوهش روشی مناسب و کارآمد برای تولید نانوذرات آموکسی‌سیلین است که در آن ذراتی با اندازه کوچک و همگن تولید می‌شوند. همچنین، استفاده از پایدارکننده در فرایند تولید نانوذرات آموکسی‌سیلین موجب افزایش پایداری ذرات تشکیل‌شده و عدم کلوخگی آن‌ها از ۴ ساعت (عدم حضور پایدارکننده) به یک هفته شد.

مراجع

- [1] Wexell, C.L., Ryberg, H., Andersson, W.S., Blomqvist, S., Colin, P., Van Bocxlaer, J., and Dahlén, G., Antimicrobial Effect of A Single Dose of Amoxicillin on The Oral Microbiota, *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 46: 277. 2017
- [2] Tian, X., Fei, J., Pi, Z., Yang, C., and Luo, D., Synthesis and Characterization of Amoxicillin Nanostructures, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 1(4): 323-325. 2005
- [3] Nowee, S.M., Abbas, A., and Romagnoli, J.A., Antisolvent Crystallization: Model Identification, Experimental Validation and Dynamic Simulation *Chemical Engineering Science*, 63(22): 5457-5467. 2008
- [4] Lai, S.C., Lazenby, R.A., Kirkman, P.M., and Unwin, P.R., Nucleation, Aggregative Growth and Detachment of Metal Nanoparticles During Electrodeposition at Electrode Surfaces, *Chemical Science*, 6(2): 1126-1138. 2015
- [5] Toraji A, Hadizadeh M, and F, N., The Effect of Nanoformulation of Amoxicillin on its Antibacterial Activity Against Common Bacterial Strains Involved in Hospital-Acquired Infections *Arak Medical University Journal* 21(130): 11-20. 2018
- [6] Kulkarni, A.M. and Zukoski, C.F., Nanoparticle Crystal Nucleation: Influence of Solution Conditions, *Langmuir*, 18(8): 3090-3099. 2002
- [7] Junejo, Y., Güner, A., and Baykal, A., Synthesis and Characterization of Amoxicillin Derived Silver Nanoparticles: Its Catalytic Effect on Degradation of Some Pharmaceutical Antibiotics *Applied Surface Science*, 317: 914-922. 2014
- [8] McDonald, M., Bommarius, A., Rousseau, R., and Grover, M., Continuous Reactive Crystallization of B-Lactam Antibiotics Catalyzed by Penicillin G Acylase. Part I: Model Development, *Computers Chemical Engineering*, 123: 331-343. 2019
- [9] Cuthbertson, A., Rodman, A., Diab, S., and Gerogiorgis, D., Dynamic Modelling and Optimisation of the Batch Enzymatic Synthesis of Amoxicillin, *Processes*, 7(6): 318. 2019
- [10] Güncüm, E., Bakırel, T., Anlaş, C., Ekici, H., and Işıklan, N., Novel Amoxicillin Nanoparticles Formulated as Sustained Release Delivery System for Poultry Use, *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 2018
- [11] Abdelghany, A., Meikhailb, M., and El-Banab, A., Characterization and Amoxicillin Release in Novel Chitosan/Poly (Vinyl Alcohol)/Sodium Alginate Tri-Polymer Matrices as Restorative-Spoiled Wound Dressings, *Global Journal of Physics*, 9(1): 821-831. 2019
- [12] TOKU-E. Amoxicillin Sodium Salt Product Data Sheet. <https://www.toku-e.com/ConvertHtmlToPdf.axd?product=124> Available in: 01/13/2018.
- [13] Zheng, F., Wang, S., Wen, S., Shen, M., and Shi, X., Amoxicillin-Loaded Electrospun Nano-Hydroxyapatite/Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) Composite Nanofibers: Preparation, Characterization and Antibacterial Activity, *Journal of Controlled Release*, 1(172): 30-31. 2013
- [14] Zheng, F., Wang, S., Wen, S., Shen, M., Zhu, M., and Shi, X., Characterization and Antibacterial Activity of Amoxicillin-Loaded Electrospun Nano-Hydroxyapatite/Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) Composite Nanofibers, *Biomaterials*, 34(4): 1402-1412. 2013
- [15] Tavakoli, F., Nosrati, M., and Manteghian, M., Determination of The Mechanism of Nucleation and Induction Time of Crystallization of Acetylsalicylic Acid (Aspirin) Nanoparticles in The Presence of Surfactants, *Third Scientific Conference on Process Engineering (Oil, Gas Refining and Petrochemicals)*. Tehran, 2014
- [16] Kim, S.H., Ahn, S.H., and Hirai, T., Crystallization Kinetics and Nucleation Activity of Silica Nanoparticle-Filled Poly (Ethylene 2, 6-Naphthalate), *Polymer*, 44(19): 5625-5634. 2003
- [17] Kim, Y.-R., Lai, S.C., McKelvey, K., Zhang, G., Perry, D., Miller, T.S., and Unwin, P.R., Nucleation and Aggregative Growth of Palladium Nanoparticles on Carbon Electrodes: Experiment and Kinetic Model, *The Journal of Physical Chemistry C*, 119(30): 17389-17397. 2015