

### ۳ - ۴ مرحله دوم: روش تهیه و بهینه سازی نانو ذرات:

تا به اینجا، مرحله اول پژوهش (تهیه و بهینه سازی چسب) انجام شد. در مرحله بعدی نانو ذرات لیپیدی جامد حاوی دارو بر پایه ویتامین E، تهیه و مشخصات آنها بررسی شد. برای بهینه سازی نانو ذرات، دو روش ساخت امولسیون، آب در روغن (W / O) و روغن در آب (O / W)، مورد بررسی قرار گرفتند و بهینه روش ساخت در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

### ۳ - ۴ - ۱ تهیه نانو ذرات با روش نانو امولسیون آب در روغن:

برای تهیه نانو ذرات از طریق تهیه امولسیون آب در روغن، ۲۰۰ میلی گرم  $\alpha$ -D - توکوفرول سوکسینات ( $\alpha$  - TOS) جامد، به عنوان فاز روغنی، تا دمای ذوب لیپید،  $76^{\circ}C$ ، ذوب شد. گرانیوی فاز پیوسته روغنی، با دستگاه گرانیوی سنج اندازه گیری شد. فاز آبی شامل ۱/۳۲ گرم ماده فعال کننده سطح توئین ۸۰، ۲۰ میلی گرم ماده کمک فعال کننده سطح لسیتین، ۲۰ میلی گرم نمک سدیم سترات، ۱ میلی لیتر آب دوبار تقطیر و داروی سفالکسین (مطابق مقادیر ارائه شده در جدول ۳-۱)، در دمای ذوب لیپید با یکدیگر مخلوط شده و توسط همزن مکانیکی با دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه همزده شدند تا مخلوط به ظاهر همگنی به دست آید. سپس، فاز آبی به فاز روغنی افزوده شده و در دمای ذوب لیپید به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه همزده شدند تا نانو امولسیون مورد نظر تهیه شود. در نهایت، ۱۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر با دمای  $8^{\circ}C$  به نانو امولسیون آماده اضافه شده و به مدت ۲۰ دقیقه با همان دور قبلی، آمیخته شدند. در این مرحله نانو تعلیق<sup>۱</sup> حاوی نانو ذرات لیپیدی جامد تهیه شد که برای جداسازی و تعیین مشخصات ذرات طبق بندهای ۳-۴-۳ و ۴-۴-۳ عمل شد [۷۰].

### ۳ - ۴ - ۲ تهیه نانو ذرات با روش نانو امولسیون روغن در آب:

در این روش، ابتدا فاز روغنی شامل ۲۰۰ میلی گرم لیپید، ۱/۳۲ گرم ماده فعال کننده سطح توئین ۸۰، ۲۰ میلی گرم ماده کمک فعال کننده سطح لسیتین و مقادیر مختلف دارو در نسبت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰٪ دارو به لیپید، با یکدیگر مخلوط شده در دمای ذوب لیپید به مدت ۱۰ دقیقه توسط همزن مکانیکی همزده شدند. فاز آبی شامل ۲۰ میلی گرم نمک سدیم سترات که در یک میلی لیتر آب دوبار تقطیر حل شده تا دمای ذوب لیپید گرمادهی شد و گرانیوی آن اندازه گیری شد. سپس، فاز روغنی به فاز آبی اضافه شده و در همان دما به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ دور بر دقیقه با یکدیگر مخلوط شدند تا نانو امولسیون مورد نظر حاصل شد. در پایان، ۱۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر با دمای  $8^{\circ}C$  به سامانه اضافه شده و به مدت ۲۰ دقیقه توسط همزن مکانیکی همزده شد تا نانو تعلیق نهایی به دست آمد. [۷۵].

نانو ذرات بدون دارو، با هر دو روش ساخته شده و به عنوان نمونه کنترل در آزمون‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. (نمونه‌های شماره ۹ و ۱۰ در جدول ۳-۷).

### جدول ۳ - ۷: ترکیب مواد و روش ساخت نانو ذرات در فرمول بندهای مختلف:

نمونه	روش ساخت	سفالکسین (mg)
۱	آب در روغن	۲۰
۲	آب در روغن	۴۰
۳	آب در روغن	۶۰

#### ۳ - ۴ - ۳ جداسازی نانو ذرات از نانو تعلیق:

نانو تعلیق‌های تهیه شده به هر دو روش (آب در روغن و روغن در آب)، از صافی  $0.22 \mu\text{m}$  عبور داده شدند تا ذرات با ابعاد بزرگتر جدا شوند. سپس، نانو تعلیق از صافی عبور داده شده و در سانتریفیوژ با دور  $9000 \text{ rpm}$  و دمای  $4^\circ \text{C}$  به مدت یک ساعت قرار داده شد. سپس، رومانده<sup>۱</sup> از نانو ذرات جدا شده و برای تعیین میزان داروی به دام افتاده با آنالیز HPLC ارزیابی شد. [۸۵].

نانو ذرات جدا شده نیز به منظور تعیین مشخصات و ارزیابی طبق فرآیندهای ارائه شده در مراحل بعد، ابتدا توسط خشک کننده انجمادی در دمای  $1^\circ \text{C} \pm 50^\circ \text{C}$  و تحت شرایط خلاء، خشک شده و سپس در یخچال در دمای  $4^\circ \text{C}$  برای مراحل بعدی نگهداری شدند. به منظور کاهش خطای آزمایش‌ها، تمامی نمونه‌ها با سه بار تکرار انجام شدند.

پایان.