مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره پنجم، شماره نوزدهم - تابستان ۱۳۹۴

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی پارامترهای موثر در تهیه نانوذرات پلی بوتیل سیانوآکریلات به روش پلیمریزاسیون امولسیونی

حسن ابراهیمی شاهم آبادی[۱]، رحیمه رسولی[۲]، سید ابراهیم علوی[۲]، مائده کوهی مفتخری اصفهانی[۲]، عظیم اکبرزاده*[۳]

۱- دکتری، تهران، انستیتو پاستور ایران، بخش پایلوت بیوتکنولوژی

۲- کارشناس ارشد، تهران، انستیتو پاستور ایران، بخش پایلوت بیوتکنولوژی

۳- استاد ، تهران، انستیتو پاستور ایران، بخش پایلوت بیوتکنولوژی

چکیده

سابقه و هدف: در چند دهه اخیر به حامل های دارورسانی در مقیاس نانو بسیار توجه شده است. در طول دو دهه گذشته، نانوذرات سیانوآکریلات به میزان گسترده‌ای به عنوان حامل‌های دارورسان مورد مطالعه قرار گرفته اند. در این مطالعه تولید نانوذرات پلی بوتیل سیانوآکریلات (PBCA) به روش پلیمریزاسیون امولسیونی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: از روش پلیمریزاسیون امولسیونی و با استفاده از دکستران ۷۰ کیلودالتون به‌عنوان پایدارکننده، نانوذرات پلی بوتیل سیانوآکریلات ساخته شد. نانوذرات تولیدشده با استفاده از دستگاه‌های زتاسایزر، میکروسکوپ الکترونی روبشی و میکروسکوپ نوری توصیف شدند. اثر عوامل پلیمریزاسیون بر روی اندازه و توزیع اندازه، بررسی گردید. این عوامل شامل دکستران ۷۰ کیلودالتون، پلی سوربات-۸۰، غلظت یون H^+، زمان پلیمریزاسیون، درجه حرارت و سونیکاسیون بودند.

یافته ها: این بررسی نشان داد که غلظت معینی از پایدارکننده برای تولید بهینه نانوذرات، مورد نیاز است. این غلظت در این مطالعه ۲ درصد تشخیص داده شد. اثر یون H^+ تعیین کننده بود. بطوریکه در pH=۴ کاهش شدید بازده تولید اتفاق افتاد. همچنین اندازه و توزیع اندازه بالاتر نانوذرات، در دمای ^oC ۵۰ نسبت به دمای اتاق به دست آمد. نقش سورفاکتانت پلی سوربات-۸۰ در غلظت ۰/۰۰۱ درصد بر روی خواص نانوذرات مثبت ارزیابی شد. علاوه بر این، با افزایش زمان پلیمریزاسیون از ۵/۵ ساعت به ۱۸ ساعت، نانوذرات بهتر به دست آمد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دادند که خواص نانوذرات تحت تاثیر عوامل مختلف است که با دستکاری این عوامل می‌توان نانوذرات با خواص مطلوب به دست آورد.

نانوذرات PBCA تحت تاثیر عوامل مختلف است و با دستکاری صحیح آنها می‌توان نانوذراتی قابل قبول و مطلوب تهیه کرد.

کلمات کلیدی: نانو، پلی بوتیل سیانوآکریلات، دکستران، پلیمریزاسیون امولسیونی

مقدمه

از بزرگترین مشکلات سلامتی در نقاط مختلف جهان می‌توان به بیماری سرطان اشاره کرد. فناوری نانو، انقلابی را در تشخیص و درمان سرطان به وجود آورده است. حامل‌های درمانی مختلفی در مقیاس نانو برای استفاده بالینی مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از نانوحامل ها به منظور بهبود کارایی و الگوی سمیت داروهای ضد سرطان به نظر امیدبخش می‌رسد. یکی از موارد بحث برانگیز در نانودرمانی کاهش و یا حذف کامل عوارض جانبی می‌باشد. حامل‌های تزریقی در مقیاس نانو با هدف عبور از موانع زیستی، حفاظت از دارو و رها کردن دُز بهینه دارو استفاده می شود. نانوحامل‌ها باعث افزایش حلالیت دارو، کنترل رهایش دارو، کاهش عوارض جانبی و بهبود توزیع زیستی دارو می شوند.

در طول دو دهه گذشته، نانوذرات سیانوآکریلات به میزان گسترده‌ای به عنوان حامل‌های دارورسان مورد مطالعه قرار گرفته اند. اولین بار کوورئور و همکاران تولید این نانوذرات را در اندازه‌های کمتر از میکرون نشان دادند (۴). این عمل با انتشار مونومرهای آلکیل سیانوآکریلات در محلول آبی اسید کلریدریک و در حضور عامل امولسیون کننده صورت گرفت. برای این

نویسنده مسئول: تهران، انستیتو پاستور ایران، بخش پایلوت بیوتکنولوژی
پست الکترونیک : azimakbarzadeh1326@gmail.com
تاریخ دریافت :۱۳۹۱/۱۲/۰۵
تاریخ پذیرش :۱۳۹۲/۰۳/۱۲

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-15]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.2.4]

واکنش مکانیسم پلیمریزاسیون آنیونی مطرح شد (۲). در این مکانیسم آنیون هیدروکسیل عامل آغازکننده است. مطالعه‌ای دیگر بوسیله داگلاس و همکاران بر روی اثر متغیرهای واکنش بر روی خواص نانوذرات صورت گرفت (۵). آنها pH و غلظت مونومر را به عنوان موثرترین عوامل تشخیص دادند. همچنین متوجه شدند نانوذرات با وزن مولکولی کم (۲۰۰۰ دالتون)، اکثراً در محدوده pH بین ۳/۵ – ۲/۲۵ تشکیل می‌گردند. در این محدوده pH ، ذرات اندازه ای بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ نانومتر دارند. افزایش pH منجر به افزایش اندازه می‌شود. در pH بالاتر از ۵، پلیمریزاسیون سریع اتفاق می‌افتد. این امر منجر به تشکیل تجمعات بزرگ بی شکل پلیمر، با وزن‌های مولکولی مختلف می شود. غلظت‌های بالای آنیون هیدروکسیل در محیط واکنش، باعث پلیمریزاسیون مستقیم مونومر می‌گردد. در مطالعه ای دیگر تقریباً همین نتایج مشاهده شد (۱۲). اما به هرحال متوجه شدند وقتی از پایدارکننده‌ها و عوامل امولسیون کننده مختلف استفاده می‌شود، نانوذرات با وزن‌های مولکولی متفاوت تولید می‌شوند. در مطالعات مختلف، طیف گسترده‌ای از عوامل پایدارکننده برای تولید نانوذرات بکار گرفته شده است. این عوامل شامل سورفاکتانت‌های یونی و غیریونی، کوپلیمرها و عوامل امولسیون کننده می‌باشد (۶،۹،۱۱). در این راستا استفاده از دکستران نیز مورد بررسی قرار گرفته است (۵). در مطالعه‌ای مولر و همکاران، ساخت ذرات با اندازه متنوع را بررسی کردند. متغیر آنها تنها مونومرهایی بود که از شرکت‌های مختلف تهیه شده بود (۱۰). نیال بهان و همکاران شرایط بسیار مناسب برای تولید نانوذرات را نشان دادند. این شرایط شامل ۲pH/۵، حرارت ۶۵ درجه سانتیگراد و دکستران ۷۰ کیلودالتون به‌عنوان پایدارکننده بود (۲). روش پلیمریزاسیون امولسیونی مزایایی دارد. مزایا شامل نسبت بالای پلیمریزاسیون به همراه تولید پلیمرهای با وزن مولکولی بالا است. همچنین اندازه ذرات تولیدشده پایین خواهد بود (۳). به همین دلیل در این مطالعه تولید نانوذرات پلی بوتیل سیانوآکریلات (PBCA) به روش پلیمریزاسیون امولسیونی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

مونومر بوتیل سیانوآکریلات (BCA) از کمپانی Evo-bond®Tong Shen Enterprise (تایوان) تهیه شد. دکستران ۷۰ کیلودالتون، اسید کلریدریک و هیدروکسید سدیم از شرکت مرک (آلمان) خریداری شد. دیگر مواد شیمیایی مورد استفاده از درجه آنالیتیکال برخوردار بودند. آب استفاده شده در مطالعه آب مقطر بود.

ساخت و تعیین خواص نانوذرات

نانوذرات PBCA با روش پلیمریزاسیون آنیونی در pH کمتر از ۳ با تغییرات جزیی نسبت به روش مولر و همکارانش بدست آمدند (۶). به طور خلاصه مونومر ((V/V) ۱٪) BCA به صورت قطره قطره به داخل محلول ۰/۰۱ نرمال اسید کلریدریک اضافه شد. این محلول حاوی ۲ درصد دکستران ۷۰ کیلودالتون (تحت همزدن) بود. پس از ۴/۵ ساعت سوسپانسیون نانوذرات با هیدروکسید سدیم یک دهم نرمال خنثی شد. سپس هم زدن یک ساعت دیگر ادامه یافت. در مورد پلی سوربات-۸۰، اضافه شدن آن به محیط واکنش پلیمریزاسیون قبل از اضافه شدن مونومر صورت گرفت. غلظت سورفاکتانت استفاده شده برابر با ۰/۰۰۱ درصد بود. تکمه نانوذره PBCA پس از سانتریفوژ,GRX-۲۲۰) (TOMY, Saitama, Japan در ۲۱۵۰۰ rpm و دمای ۴ ºC درجه به مدت ۵۰ دقیقه به دست آمد. علاوه بر این اثر سونیکاسیون به مدت ۳۰ دقیقه، (Bandelin Sonorex Digitec, Germany) مورد بررسی قرار گرفت. این اثر در مورد نانوذراتی بود که از غلظت یک درصد دکستران در ساخت آنها استفاده شده بود. به تکمه ذرات هم وزن مونومر استفاده شده، مانیتول محلول (mg/ml۲۰۰) اضافه شد. سوسپانسیون های حاصل در ویال‌های ۲ میلی لیتری و در دمای C° ۴ ذخیره شدند. پودر نانوذرات PBCA، تحت لیوفیلیزاسیون (Edwards High Vacuum, Manor Royal, Crawley ، Sussex, England) به دست آمد. با توجه به جدول-۱، انواع مختلفی از شرایط اعمال شد و نانوذرات مختلفی تهیه گردید. قطر هیدرودینامیکی و توزیع اندازه ذرات (polydispersity index, PDI) به وسیله طیف سنجی ارتباط فوتونی (PCS) photon correlation spectroscopy و با استفاده از دستگاه زتاسایزر (nano-Zs Zen ۳۶۰۰, Malvern instru-ments UK) تعیین شد. از نظر شکل شناسی ذرات به دست آمده با استفاده از SEM (XL۳۰, PHilips, Net h erlands) بررسی شدند. همچنین از میکروسکوپ نوری (Eclipse E۲۰۰ Nikon) برای مشاهده چشمی فرآورده‌ها استفاده گردید.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-15]

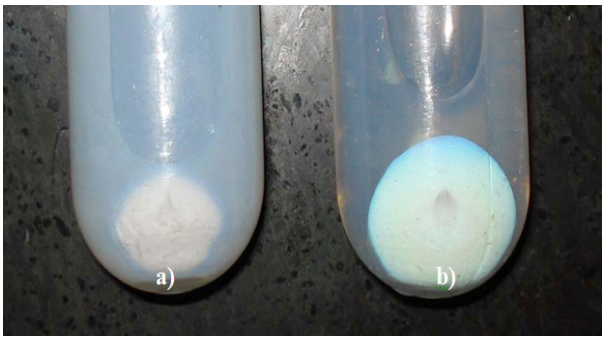
[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.2.4]

جدول-۱. شرایط مختلف مورد استفاده برای تولید نانوذرات

نمونه ها	پارامتر ها				
	غلظت دکستران	غلظت پلی سوربات-۸۰	زمان پلیمریزاسیون	pH	دما (سانتیگراد)
A1	۲ درصد	۰/۰۰۱ درصد	۵/۵ ساعت	۲	دمای اتاق
A2	۲ درصد	۰/۰۰۱ درصد	۱۸ ساعت	۲	دمای اتاق
A3	۲ درصد	صفر درصد	۱۸ ساعت	۲	دمای اتاق
A4	۲ درصد	۰/۰۰۱ درصد	۱۴ ساعت	۲	دمای اتاق
A5	۲ درصد	صفر درصد	۱۴ ساعت	۲	دمای اتاق
A6	۲ درصد	صفر درصد	۵/۵ ساعت	۲	۵۰
A7	۲ درصد	۰/۰۰۱ درصد	۵/۵ ساعت	۲	۵۰
A8	۰/۱ درصد	صفر درصد	۵/۵ ساعت	۲	دمای اتاق
A9	۲ درصد	۰/۰۰۱ درصد	۵/۵ ساعت	۴	دمای اتاق
A10	۱ درصد	۰/۰۰۱ درصد	۵/۵ ساعت	۲	دمای اتاق

یافته‌ها

نتایج به وضوح نشان داد که خواص ذرات به میزان قابل توجهی تحت تأثیر عوامل مختلف مورد بررسی در این مطالعه، قرار دارد (جدول-۲). نانوذرات PBCA در حضور دکستران ۷۰ کیلودالتون با روش پلیمریزاسیون آنیونی در محیط اسیدی با اضافه شدن قطره قطره مونومر به فاز آبی ساخته شدند. حدود ۱۰ دقیقه پس از شروع فرآیند، محیط بی رنگ واکنش به رنگ شیری تبدیل شد. در حضور پلی سوربات-۸۰، تکمه نانوذره بزرگتری تشکیل گردید. علاوه بر این در حضور این سورفاکتانت، سوپرناتانت (مایع رویی) شفاف‌تری پس از سانتریفوژ به دست آمد (شکل-۱).

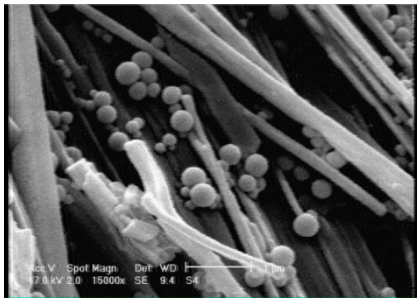


شکل-۱ تصویر دو تکمه و سوپرناتانت ذرات. نمونه A۲، سمت راست، دارای پلی‌سوربات-۸۰ و A۳ سمت چپ، فاقد پلی‌سوربات-۸۰. در غیاب پلی‌سوربات-۸۰ (a)، رنگ سوپرناتانت مات تر و تکمه تشکیل شده کوچک تر است.

اندازه و PDI نانوذرات در شرایط مطلوب (A۲) به ترتیب ۳۳۳ نانومتر و ۰/۲۱۴ محاسبه گشت (شکل-۲). نانوذرات PBCA تولید شده در غلظت ۱/۰ درصد دکستران، کلوئیدهای ناپایداری هستند و به سرعت به هم می‌چسبند (شکل-۳). هم‌چنین مشاهده شد که تغییرات در pH اثر اساسی بر خواص نانوذره دارد. بطوریکه در ۴pH تجمعی از پلیمرها تشکیل گردید. این تجمعات (A۹) بصورت قطعات بلوری در زیر میکروسکوپ نوری (شکل-۴) مشاهده شد. در مورد نانوذرات تهیه شده با دکستران ۱ درصد اتفاق جالبی رخ داد. نانوذرات تولید شده در این غلظت دکستران، بعد از انجماد (۲۰ ºC-) در فرآیند لیوفیلیزاسیون (A۱۰)، بصورت قطعات بی‌شکل بلوری مشاهده گردیدند (شکل-۵). سپس اثر امواج اولتراسوند بر روی این اشکال بررسی شد. مشاهده گردید سونیکاسیون سبب خرد شدن قطعات بلوری به ذرات کوچک‌تر می‌شود. از نظر ظاهری قطعات حاصل به طور محسوسی نسبت به اشکال اولیه خود متفاوت بودند (شکل-۶). همچنین در این مطالعه مشخص شد که خواص نانوذرات با افزایش زمان پلیمریزاسیون بهبود یافت. PDI به عنوان یکی از خواص اصلی، با افزایش زمان پلیمریزاسیون از ۵/۵ ساعت به ۱۸ ساعت، به طور قابل توجهی کاهش یافت. علاوه بر این، پلی سوربات-۸۰ اثر مثبتی بر روی کیفیت نانوذره تولیدی داشت. در تمام موارد در حضور این سورفاکتانت، اندازه و PDI به طور قابل توجهی کاهش یافت. علاوه بر این، دما باعث افزایش نسبی اندازه و PDI ذرات گردید.

جدول-۲ اندازه و PDI نانوذرات تولید شده تحت شرایط مختلف

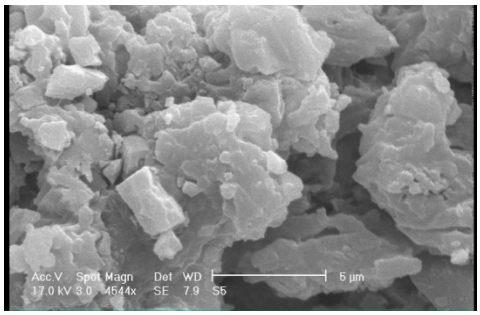
نمونه ها	اندازه (نانومتر)	(PDI)
A1	۳۴۵	۰/۲۳۴
A2	۳۳۳	۰/۲۱۴
A3	۳۷۴	۰/۲۵۵
A4	۳۴۰	۰/۲۳۳
A5	۳۷۸	۰/۲۷۰
A6	۳۸۰	۰/۳۱۸
A7	۳۴۰	۰/۲۸۰



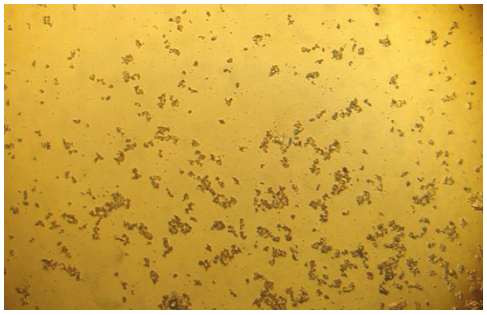
شکل-۲ تصویر SEM از نانوذره A۲ (بزرگنمایی ۱۵۰۰۰×)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-15]

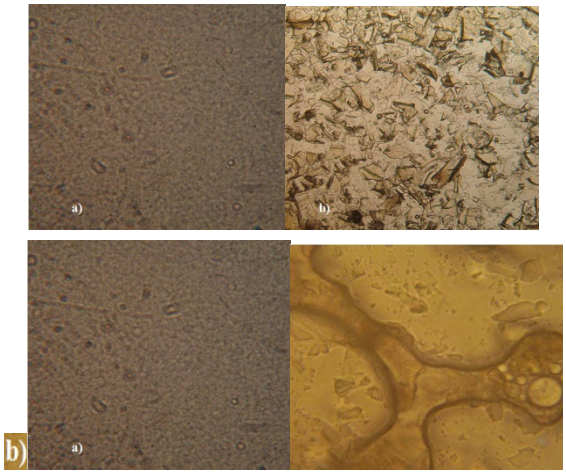
[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.2.4]



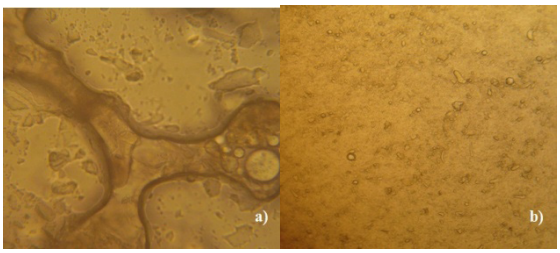
شکل-۳ تصویر SEM از نانوذره A۸. کاهش غلظت پایدارکننده به ۰/۱ درصد باعث تشکیل تجمعات پلیمری می شود (بزرگنمایی ۴۵۴۴ ×)



شکل-۴ اثر افزایش pH از ۲ به ۴ بر روی نانوذره تولید شده (A۹). همانطور که شکل میکروسکوپ نوری از این نانوذره نشان می‌دهد برخی اشکال کریستالی پلیمر در این pH تشکیل می شود (بزرگنمایی ۱۰۰×)



شکل- ۵ تصویر گرفته شده با میکروسکوپ نوری از نانوذرات تولید شده در غلظت ۱ درصد دکستران (A۱۰). کاهش نقطه انجماد تا ۲۰- جهت لیوفیلیزاسیون منجر به تغییر شکل نانوذره از حالت طبیعی (a) به اشکال کریستالی بی شکل (b) شده است (بزرگنمایی ۴۰۰ ×)



شکل-۶ شکل میکروسکوپ نوری از نانوذره تهیه شده در غلظت ۱ درصد دکستران. (a) نانوذرات پس از مرحله انجماد و (b) همان نانوذره پس از ۳۰ دقیقه سونیکاسیون (بزرگنمایی ۱۰۰×)

بحث

در طول ۲۵ سال گذشته، نانوذرات پلی آلکیل سیانوآکریلات (PACA) به میزان گسترده ای به منظور دارورسانی مورد مطالعه قرار گرفته اند. مزایای آنها شامل سمیت پایین و زیست تخریب پذیری می‌باشد (۱،۴). BCA به عنوان عضوی از خانواده ترکیبات آلکیل سیانوآکریلات، مونومری با واکنش پذیری بالا است. پلیمریزاسیون آنیونی یکی از سه مکانیسم پلیمریزاسیون است که به لحاظ نظری می‌تواند در مورد این ترکیب اتفاق افتد (۷). عوامل مختلفی بر روی اندازه و PDI نانوذرات PBCA موثر است. توزیع اندازه ذرات به صورت مقادیر PDI بیان می شود. دامنه این مقادیر عددی بین ۰ و ۱ می‌باشد. این مقادیر برای امولسیون‌های تک پراکنده (Monodisperse) کمتر از ۰/۲ می باشد. توزیع اندازه‌های بالا مقادیری بیش از ۰/۵ دارند (۱۳). نتایج حاصل از این مطالعه به وضوح نشان داد که شرایط تولید بر روی خواص نانوذرات اثر دارد. عوامل مختلفی در کیفیت نانوذرات PBCA نقش دارند. ما نشان دادیم که اثرات pH، دکستران ۷۰ کیلودالتون، پلی سوربات-۸۰، سونیکاسیون، دما، و زمان پلیمریزاسیون قابل ملاحظه می‌باشد. هرچند در غلظت یک درصد دکستران، نانوذرات تشکیل شدند اما انجماد آنها جهت لیوفیلیزاسیون منجر به تغییر پیکربندی نانوذرات و تشکیل کریستال های بی‌شکل گردید. تا آنجائیکه ما اطلاع داریم این پدیده برای اولین بار گزارش می شود. مولکول دکستران به عنوان یک تثبیت کننده فضایی در فرایند ساخت نانوذرات عمل می کند. این پدیده ممکن است نشان دهنده اثر ضدیخی این ترکیب باشد. در غیاب دکستران، نانوذرات تشکیل شده ناپایدار هستند و دوباره با هم تشکیل انبوهه می‌دهند (۱۰). همچنین تجمع نانوذرات و تشکیل انبوهه در غلظت ۰/۱ درصد دکستران مشاهده شد. این امر می‌تواند بر این موضوع دلالت کند که غلظت مشخصی از دکستران برای جلوگیری از تجمع و انبوهه شدن مورد نیاز است. تشکیل اشکال کریستالی در ۴pH نشان دهنده سرعت سریع پلیمریزاسیون است. در این pH، مونومر BCA وقت کافی ندارد تا منتشر شود، در نتیجه اشکال بی‌شکل بزرگ تشکیل می‌گردد. کاهش PDI و اندازه نانوذرات در حضور سورفاکتانت پلی سوربات-۸۰ نشان دهنده نقش مثبت این ماده در پلیمریزاسیون است. این امر ممکن است از فعالیت تقویتی این سورفاکتانت منشاء بگیرد. این اثر باعث افزایش تعداد مونومرهای فعال و میسل‌های هسته‌دار می‌گردد. در نتیجه این عمل وزن مولکولی پلیمرها و بالطبع اندازه ذرات کم می‌شود (۸). علاوه براین، مشخص شد دما اثر مطلوبی بر روند شکل‌گیری ذرات دارد. اثر دما ممکن است از طریق

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-15]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.2.4]

دکستران بر روی تثبیت نانوذرات اعمال شود. شعاع چرخشی کارآمد مولکول دکستران در دماهای بالاتر تقویت می‌شود. این امر منجر به افزایش خاصیت پایدارکنندگی فضایی دکستران می‌گردد (۱۰). زمان پلیمریزاسیون نیز به عنوان یک عامل موثر پلیمریزاسیون، منجر به تشکیل زنجیره‌های طولانی‌تر و به طور بالقوه ذرات بزرگتر می‌شود.

نتیجه‌گیری

در پایان می‌توان این گونه نتیجه گرفت که ویژگی‌های نانوذرات PBCA تحت تاثیر عوامل مختلف است و با دستکاری صحیح آنها می‌توان نانوذراتی قابل قبول و مطلوب تهیه کرد.

سپاسگزاری

این تحقیق به‌عنوان بخشی از پایان نامه دکتری در بخش پایلوت نانوبیوتکنولوژی انستیتو پاستور ایران انجام گرفته است. بدین وسیله از تمامی همکاران تشکر می‌گردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-15]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.2.4]

منابع

1. Al Khouri Fallouh N, Roblot-Treupel L, Fessi H, Devissaguet J Ph, Puisieux F. Development of a new process for the manufacture of polyisobutyl-cyanoacrylate nanocapsules. Int J Pharmaceut, 1986;28(2-3):125–132.
2. Behan N, Birkinshaw C, Clarke N. Poly n-butyl cyanoacrylate nanoparticles: a mechanistic study of polymerisation and particle formation. Biomaterials, 2001;22(11):1335-1344.
3. Bovey F A, Kolthoff I M, Medalia A I, Meehan E J. Emulsion polymerization, Interscience publishers, New York. 1955;1-22.
4. Couvreur P, Kante B, Roland M, Guiot P, Bauduin P, Speiser P. Polycyanoacrylate nanocapsules as potential lysosomotropic carriers: preparation, morphological and sorptive properties. J Pharm Pharmacol, 1979;31(5):331-332.
5. Douglas S J, Illum L, Davis S S, Kreuter J. Particle size and size distribution of poly(butyl-2-cyanoacrylate) nanoparticles: I. Influence of physicochemical factors. J Colloid Interface Sci, 1984;101(1):149-158.
6. EL-Egakey M A, Bentele V, Kreuter J. Molecular-weights of polycyanoacrylate nanoparticles. Int J Pharmaceut, 1983;13(3):349-352.
7. Gilbert R G. Emulsion polymerization: A mechanistic approach, London. Academic Press. 1995;30.
8. Guise V, Drovin J Y, Benoit J. Mahuteau P, Dumont P, Couvreur P. Vidarabine-loaded nanoparticles: a physicochemical study. Pharm Res, 1990;7(7):736-741.
9. Kreuter J, Mills S N, Davis S S, Wilson C G. Polybutyl-cyanoacrylate nanoparticles for the delivery of 75-SE-norcholestenol. Int J Pharmaceut, 1983;16(1):105-113.
10. Muller R H, Lherm C, Herbot J, Blunk T, Couvreur P. Alkylcyanoacrylate drug carriers: I. Physicochemical characterization of nanoparticles with different alkyl chain length. Int J Pharmaceut, 1992;84(1):1-11.
11. Seijo B, Fattal E, Roblot-Treupel L, Couvreur P. Design of nanoparticles of less than 50 nm diameter: preparation, characterization and drug loading. Int J Pharmaceut, 1990;62(1):1-7.
12. Vansnick Luc, Couvreur P, Christiaens-Leyh D, Roland M. Molecular weights of free and drug-loaded nanoparticles. Pharm Res, 1985;2(1):36-41.
13. Wu M, Dellacherie E, Durand A, Marie E. Poly(n-butyl cyanoacrylate) nanoparticles via miniemulsion polymerization (1): dextran-based surfactants, Colloids Surf B. Biointerfaces, 2009;69(1):141–146.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-15]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1394.5.19.2.4]