● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست‌وسوم، شمارهٔ ۱، ص ۱۱۵-۱۰۶، ۱۳۹۴

مقالهٔ پژوهشی

بررسی امکان جذب آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین توسط نانوذرات سلولز کونژوگه شده با آمینوبنزیل پورین

حسین بلال‌زاده[۱]، سید علی یاسینی اردکانی[*۲]، سید حسین حکمتی مقدم[۳]

خلاصه

مقدمه: آنتی‌بیوتیک‌ها نه تنها منجر به مهار رشد میکروب‌ها می‌شوند، بلکه بعضی از آن‌ها موجبات رشد و نمو بیشتر دام و طیور را فراهم می‌نمایند. انروفلوکساسین یکی از آنتی‌بیوتیک‌های پرمصرف می‌باشد که از سمیت بالایی برخوردار است و اثر سوئی بر روی کلیه، مغز و کبد انسان دارد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی قابلیت جذب آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین توسط نانوذرات سلولز کونژوگه شده با آمینوبنزیل پورین بود.

روش: ابتدا نانوذرات سلولز سنتز گردید و در حضور کراس لینکر با آمینوبنزیل پورین کونژوگه شد. غلظت‌های سریال نانوذرات کونژوگه شده (۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به طور جداگانه با محلول آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مخلوط و در دماها، زمان‌ها و pHهای مختلف انکوبه گردید. بعد از اتمام انکوباسیون، تمام لوله‌ها با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ و میزان جذب نوری محلول رویی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تحت طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت درصد جذب مورد محاسبه قرار گرفت.

یافته‌ها: یافته‌های مطالعه نشان داد که تغییر غلظت نانوذرات سلولز کونژوگه شده و زمان و دمای انکوباسیون تأثیر چندانی بر میزان جذب نداشت، اما تغییر pH توانست تغییر معنی‌داری در میزان جذب داشته باشد؛ به طوری که حداکثر جذب در شرایط اسیدی برای غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر معادل ۸۲/۵ درصد مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: نانوذرات کونژوگه شده با آمینوبنزیل پورین جاذب مناسبی برای انروفلوکساسین می‌باشد و شاید بتوان آن را در داخل مواد غذایی و برای جذب بقایای این آنتی‌بیوتیک مورد استفاده قرار داد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات سلولز، آمینوبنزیل پورین، جذب، آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، یزد، ایران ۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران ۳- استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: a.yasini@iau.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۴/۱۰ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۴/۲/۲۳ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۲/۲۷

مقدمه

با کشف انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضد میکروبی، کاهش چشمگیری در بیماری‌های عفونی به وجود آمده است. تحقیقات گزارش کرده‌اند که استفاده از برخی آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت دامداری نه تنها باعث مهار عفونت‌ها می‌گردد، بلکه موجب رشد و نمو بیشتر دام و طیور را فراهم می‌سازد (۱). از جمله مواد ضد میکروبی که به فراوانی در صنعت دام و طیور مورد استفاده قرار می‌گیرد فلوئوروکینولون‌ها مانند اوفلوکساسین، انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین می‌باشد (۲). در میان موارد ذکر شده، انروفلوکساسین دارای شیوع مصرف بالاتری در ایران و جهان است. از طرف دیگر، مطالعات نشان داده‌اند که انروفلوکساسین اثرات سمی بر روی کلیه، مغز و کبد انسان دارد (۳).

از آن‌جایی که وجود انروفلوکساسین در مواد گوشتی ممکن است باعث ایجاد سمیت و مقاومت دارویی شود، راهکارهای متعددی برای رفع این مشکل پیشنهاد شده است که یک راه‌حل، عدم کشتار فوری دام و طیور بلافاصله بعد از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد؛ بدین معنی که باید قبل از کشتار دام و طیور فرصتی داده شود تا آنتی‌بیوتیک‌های موجود در بدن آن‌ها متابولیزه شود و از بین برود. راهکار دیگر این‌که از مواد جاذب آنتی‌بیوتیک استفاده گردد. تحقیقات نشان داده‌اند که سنگ‌های آذرین مانند بنتونیت، زئولیت و مونت موریلونیت، می‌توانند به انروفلوکساسین متصل گردند. مشکل استفاده از این سنگ‌ها، وجود ترکیبات سمی مانند اکسیدهای فلزی فعال می‌باشد که در عمل کاربرد آن را برای انسان محدود می‌نماید. از طرف دیگر، این ساختارها جذب غیر اختصاصی به آنتی‌بیوتیک دارند و می‌توانند توسط سایر مواد اشباع شوند (۶-۴).

با توجه به موارد ذکر شده، ضرورت طراحی یک جاذب غیر سمی و اختصاصی احساس می‌گردد. از نظر تئوریک، آمینوبنزیل پورین می‌تواند حداقل چهار پیوند هیدروژنی با انروفلوکساسین برقرار نماید و شاید گزینه خوبی برای جذب این ماده باشد. هدف مطالعه حاضر، سوار کردن ترکیب آمینوبنزیل پورین بر روی نانوذرات سلولز و در مرحله بعد، ارزیابی توانایی آن در جذب انروفلوکساسین بود. لازم به ذکر است که سلولز به دلیل ارزان، ساده و در دسترس بودن، مولکول مناسبی برای اتصال با مولکول پورین می‌باشد و شاید باعث افزایش خاصیت جذبی گردد.

روش بررسی

نخست ۰/۱ گرم پنبه خالص (شرکت مای‌بی‌بی، ایران) درون لوله آزمایش قرار داده شد و ۲ میلی‌لیتر محلول ۵ مولار NaOH (Merck، آلمان) به آن اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس، NaOH اضافه شده خارج گردید و روی آن آب مقطر ریخته شد و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. این کار دو بار صورت گرفت تا همه NaOH خارج گردد. در مرحله بعد، پنبه به مدت ۳۰ دقیقه با محلول ۱ مولار DMSO (Dimethyl sulfoxide) (Merck، آلمان) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. بعد از انکوباسیون، DMSO اضافه شده خارج گردید و روی آن آب مقطر ریخته شد و دوباره به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. در مرحله بعد، ۱ میلی‌لیتر اسید (مخلوط غلیظ شامل ۸۵ درصد اسید سولفوریک و ۵ درصد اسید نیتریک) (Merck، آلمان) با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به ۱ گرم پنبه شستشو داده شده اضافه گردید و به سرعت به هم زده شد تا هیدرولیز پنبه صورت گیرد. جهت خنثی کردن اسید موجود در لوله و رسوب نانوذرات، ۲ میلی‌لیتر محلول ۵ مولار NaOH به لوله اضافه شد و مخلوط به شدت به هم زده شد. برای تخلیص نانوذرات، ابتدا نانوذرات رسوب کرده به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و سپس دو بار با آب مقطر شستشو داده شد (۷).

برای کونژوگه نمودن آمینوبنزیل پورین (Sigma-Aldrich، آمریکا) به نانوذرات سلولز، نخست نانوذرات با گروه‌های کربوکسیل اصلاح شدند. بدین منظور تمام نانوذرات سنتز شده درون بشر قرار گرفتند و ۱ گرم اسید سیتریک (Merck، آلمان) به آن اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه با

شعله ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. بعد از اعمال حرارت، اسید سیتریک اضافی توسط سانتریفوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه جدا گردید و سپس با آب مقطر دو بار شستشو داده شد. لازم به ذکر است، چون واکنش کربوکسیلاسیون در فاز مایع انجام می‌گردد، اسید سیتریک اضافی را می‌توان به کمک سانتریفوژ جدا نمود (۷).

در مرحله بعد، نانوذرات اصلاح شده با اسید سیتریک در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و سپس یک میلی‌لیتر کراس لینکر کربومایِد (Sigma-Aldrich، آمریکا) به آن اضافه شد. مخلوط به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. بعد از پایان انکوباسیون، ۱۰ میلی‌لیتر آمینوبنزیل پورین با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به نانوذرات فعال شده افزوده شد و دوباره ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. در انتها نانوذرات کونژوگه شده سه بار با آب مقطر و با کمک سانتریفوژ شستشو شدند. بعد از خشک شدن نانوذرات در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۰/۱ گرم از آن توزین گردید و درون بشر قرار گرفت و سپس با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بدین ترتیب، غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات کونژوگه شده به دست آمد. لازم به ذکر است که جهت جلوگیری از ایجاد ذرات بزرگ‌تر، این مرحله در حضور گلوله‌های سرامیکی و به هم زدن شدید به مدت ۵ دقیقه انجام پذیرفت.

برای تعیین خصوصیات نانوذرات کونژوگه شده، از روش‌های تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی (Hitachi، S-2400) و اسپکتروفتومتری مادون قرمز تبدیل فوریه (Fourier transform infrared یا FTIR) (ELICO, India) استفاده گردید. برای تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی، نخست نمونه‌ها با دستگاه متالایزر و طلا پوشش داده شد و سپس با ولتاژ ۱۵ کیلوولت از نظر ساختار و مورفولوژی بررسی گردید. برای انجام اسپکتروفتومتری FTIR نیز به طور جداگانه دیسک دایره‌ای شکل از پتاسیم بروماید (KBr) و نمونه‌ها تهیه شد. سپس، دستگاه مربوط در طول موج ۴۰۰۰-۴۰۰ cm^{-1} نمونه‌ها را اسکن و طیف جذبی آن‌ها را ارایه نمود.

جذب آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین توسط نانوذرات کونژوگه شده با آمینوبنزیل پورین در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. برای ارزیابی زمان انکوباسیون بر میزان جذب، ۱۰۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های سریال نانوذرات کونژوگه شده (۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به طور جداگانه با ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین (کیمیاطب، ایران) در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مخلوط شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت انکوبه گردید. در ادامه همین مراحل دوباره انجام شد، اما به جای یک ساعت انکوباسیون، به طور جداگانه ۲ و ۳ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت.

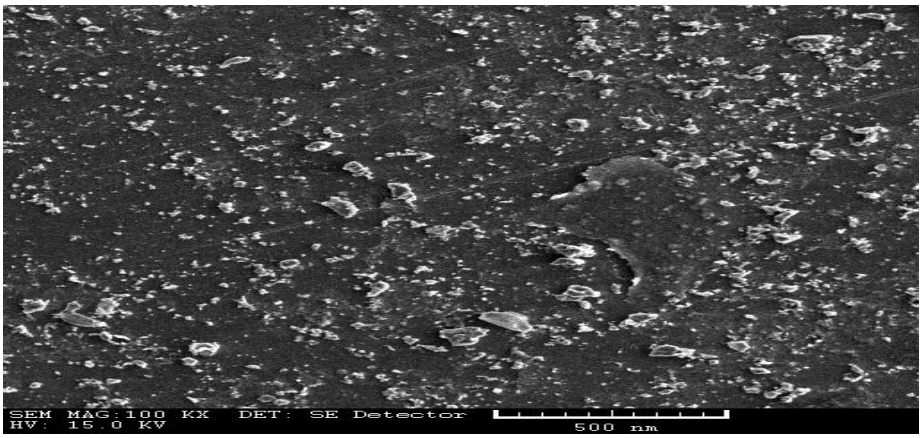
برای ارزیابی دما بر میزان جذب نیز ۱۰۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های سریال نانوذرات کونژوگه شده به طور جداگانه با ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول آنتی‌بیوتیک مخلوط و به مدت ۶۰ دقیقه و به طور مستقل در دماهای ۴، ۲۵ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. برای ارزیابی pH مانند مراحل بالا، ۱۰۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های سریال نانوذرات کونژوگه شده به طور جداگانه با ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول آنتی‌بیوتیک مخلوط و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. لازم به ذکر است که pH تمامی لوله‌ها به طور مستقل و جداگانه به کمک اندیکاتور pH سنج (بیونیک، انگلستان) روی اعداد ۵، ۷ و ۹ تنظیم شده بود. بعد از اتمام انکوباسیون، همه لوله‌ها با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شد و میزان جذب نوری محلول رویی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Clinic II (ساخت شرکت نوین‌گستر) تحت طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت گردید. درصد جذب با فرمول زیر محاسبه شد:

جذب نوری کنترل منفی/ ۱۰۰ × (جذب نوری کنترل منفی – جذب نوری لوله تست) = درصد جذب

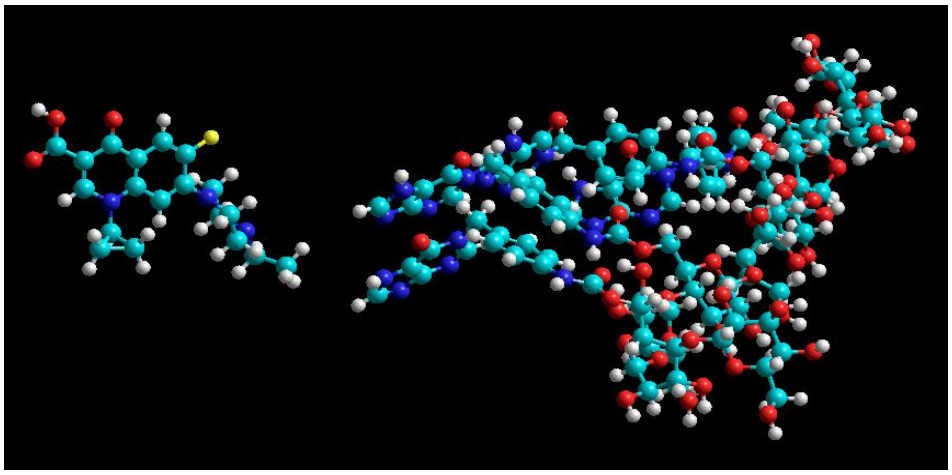
از آن‌جایی که در محلول رویی تنها انروفلوکساسین‌های جذب نشده وجود داشت و ماده مداخله کننده دیگری موجود نبود، می‌توان میزان انروفلوکساسین‌های جذب نشده را در این طول موج محاسبه نمود. به جای نانوذرات در لوله کنترل منفی، از یک ماده غیر جاذب (سلولز) استفاده گردید. در مطالعه حاضر همه تست‌ها با دو بار تکرار انجام شد و سپس میانگین و انحراف معیار آن‌ها ارایه گردید. برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار، آزمون t مورد استفاده قرار گرفت و $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

برای تعیین خصوصیات نانوذرات سلولز کونژوگه شده با آمینوبنزیل پورین از دو روش میکروسکوپ الکترونی روبشی و اسپکتروفتومتری FTIR استفاده گردید که نتایج آن به ترتیب در ادامه آمده است. شکل ۱ با میکروسکوپ الکترونی روبشی گرفته شد و نشان داد که نانوذرات سلولز کونژوگه شده در اندازه‌ها و اشکال مختلف سنتز شدند و گستره اندازه آن‌ها در بیشتر موارد بین بازه ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر بود. نمای شماتیک جذب آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین به وسیله نانوذرات سلولز کونژوگه شده در شکل ۲ نشان داده شده است. لازم به ذکر است که گستره اندازه از طریق بررسی حدود ۵ عکس میکروسکوپی استخراج گردید.

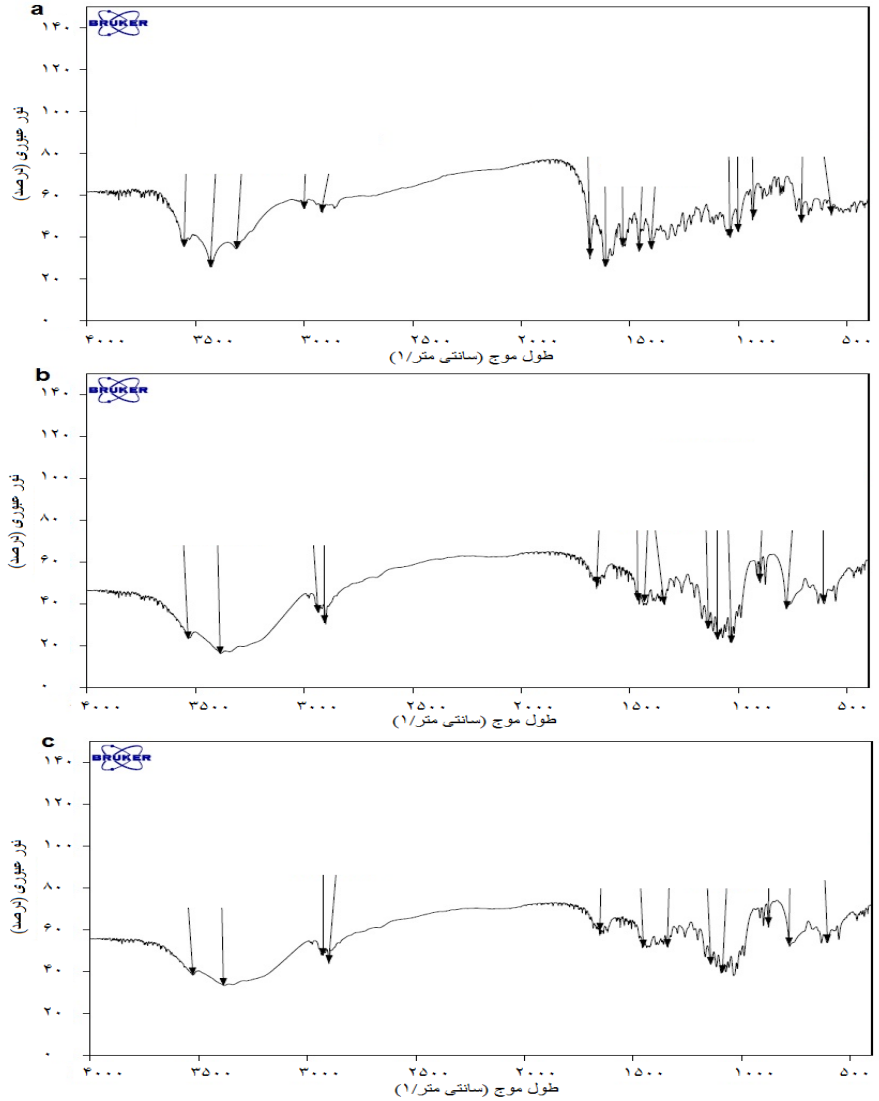


شکل ۱. *نانوذرات کونژوگه شده که توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی گرفته شده است (بزرگ‌نمایی صد هزار برابر)*



شکل ۲. *نمای شماتیک جذب انروفلوکساسین توسط نانوذرات سلولز کونژوگه شده*

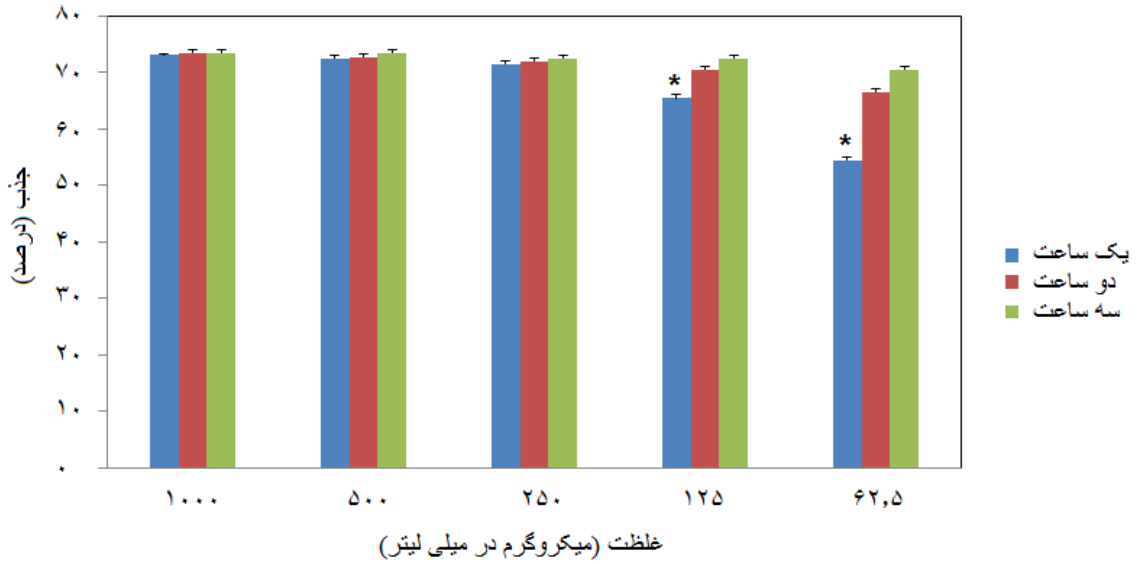
در شکل ۳ پیک‌های جذبی که توسط اسپکتروفتومتری FTIR گرفته شد، نشان داده شده است. در این شکل، پیک‌های جذبی سلولز، آمینوبنزیل پورین و نانوذرات سلولز کونژوگه شده با آمینوبنزیل پورین به ترتیب در قسمت‌های a و b و c ارایه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، پیک‌های جذبی نانوذرات سلولز کونژوگه شده، نزدیکی و شباهت زیادی با پیک‌های جذبی آمینوبنزیل پورین داشتند که تأییدی بر کونژوگاسیون بود.



شکل ۳. *پیک‌های جذبی نانوذرات سلولز (قسمت a)، آمینوبنزیل پورین (قسمت b) و نانوذرات کونژوگه شده (قسمت c) به دست آمده از اسپکتروفتومتری FTIR (fourier transform infrared)*

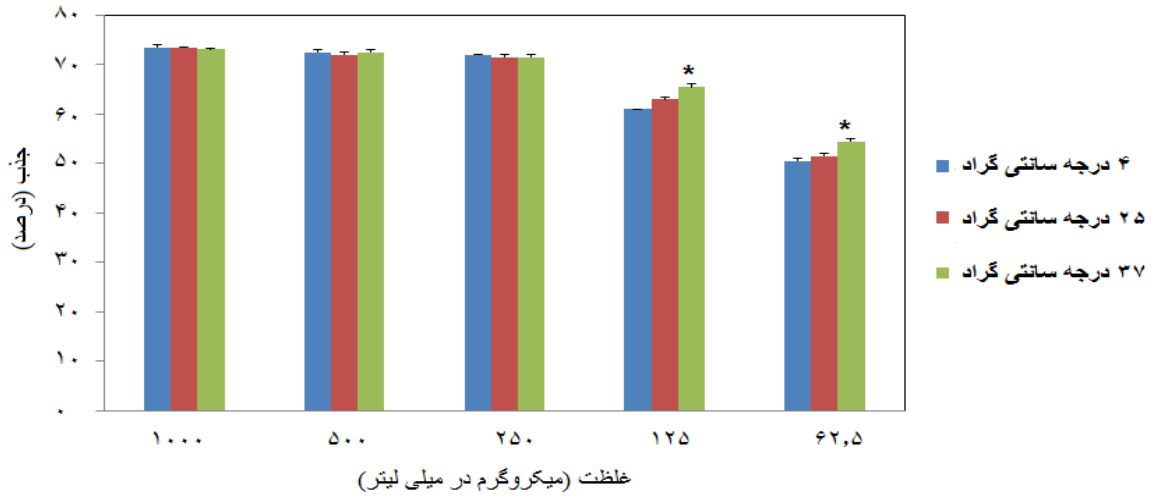
شکل ۴ میزان جذب انروفلوکساسین توسط نانوسلولز کونژوگه شده در غلظت‌های مختلف و در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ساعته را نشان می‌دهد. این شکل، چندین نکته را مشخص می‌سازد. نخست این‌که تغییر غلظت نانوذرات تأثیر چندانی بر میزان جذب نداشت؛ فقط در زمان ۱ و ۲ ساعت و با کاهش غلظت از ۲۵۰ به ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و

همچنین از ۱۲۵ به ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان جذب اندکی کاهش یافت. نکته بعدی، تأثیر زمان بر میزان جذب بود. این یافته را می‌توان بیان کرد که در سه غلظت ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و با افزایش زمان انکوباسیون، میزان جذب تأثیر چندانی نداشت، اما در دو غلظت انتهایی (۶۲/۵ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و با افزایش زمان انکوباسیون، مقدار جذب افزایش پیدا کرد. رابطه آماری معنی‌داری بین میزان جذب انروفلوکساسین در غلظت ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در زمان ۱ ساعت و میزان جذب در همین غلظت در ۲ و ۳ ساعت وجود داشت ($P < ۰/۰۵$). چنین رابطه معنی‌داری در غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز مشاهده گردید ($P < ۰/۰۵$).



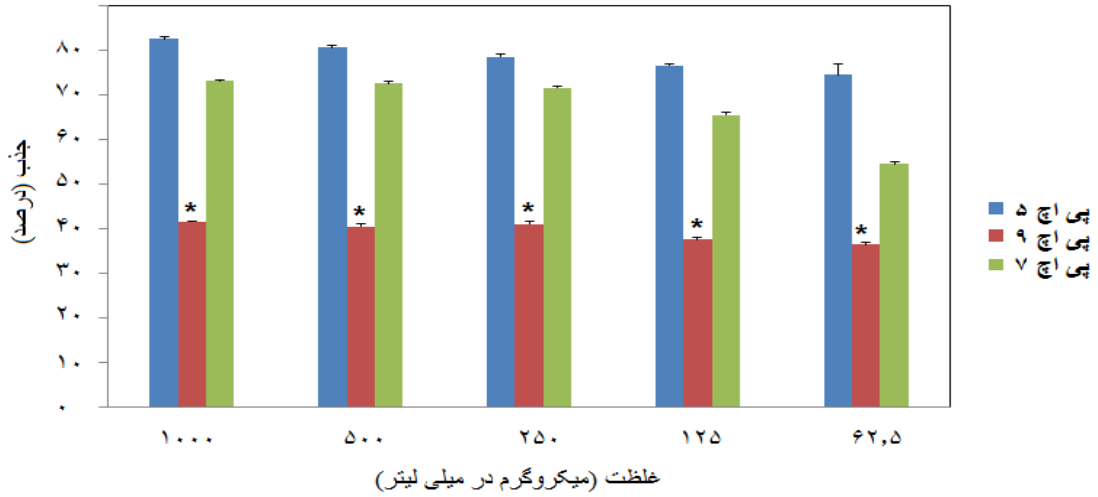
شکل ٤. *میزان جذب آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین توسط نانوذرات کونژوگه شده در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف*

شکل ۵ میزان جذب انروفلوکساسین توسط نانوذرات سلولز کونژوگه شده در غلظت‌های مختلف و در سه دمای ۳۷، ۲۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهد. این شکل، دو نکته مهم را مشخص ساخت. نخست این که کاهش غلظت از ۱۰۰۰ به ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و از ۵۰۰ به ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تأثیری بر میزان جذب نداشت، اما کاهش غلظت از ۲۵۰ به ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و از ۱۲۵ به ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر منجر به کاهش اندکی در میزان جذب شد. لازم به ذکر است که این یافته در هر سه دمای مورد مطالعه مشاهده گردید. نکته بعدی این که دمای انکوباسیون بر سه غلظت اول (۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تأثیرگذار نبود و اثری بر جذب نداشت، اما با افزایش دمای انکوباسیون در دو غلظت پایین (۱۲۵ و ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، میزان جذب افزایش اندکی را نشان داد. رابطه آماری معنی‌داری بین میزان جذب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و دماهای ۲۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد در دو غلظت ۱۲۵ و ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید ($P < ۰/۰۵$).



شکل ۵. *میزان جذب آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین توسط نانوذرات کونژوگه شده در غلظت‌ها و دماهای مختلف*

شکل ۶ اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات سلولز کونژوگه شده در سه pH اسیدی، بازی و خنثی را بر میزان جذب نشان می‌دهد. در این شکل، چند نکته وجود داشت. نخست این که کاهش غلظت در دو pH اسیدی و بازی نتوانست تأثیری بر میزان جذب داشته باشد، اما در pH خنثی و در دو غلظت انتهایی (۱۲۵ و ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) میزان جذب با کاهش غلظت، کاهش یافت. نکته مهم بعدی این که میزان جذب در تمام غلظت‌ها در شرایط اسیدی و پس از آن در شرایط خنثی در بالاترین رتبه قرار داشت. آنچه از این شکل قابل برداشت است، این که شرایط بازی بر میزان جذب اثر منفی داشت و میزان جذب در بیشتر موارد و در تمام غلظت‌ها حدود ۴۰ درصد بود؛ در حالی که حداکثر میزان جذب در شرایط اسیدی برای غلظت ۱۰۰۰ معادل ۸۲/۵ درصد مشاهده گردید. از نظر آماری رابطه معنی‌داری بین میزان جذب در شرایط اسیدی و خنثی با میزان جذب در شرایط بازی در تمامی غلظت‌ها وجود داشت ($p < ۰/۰۵$).



شکل ٦. *میزان جذب آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین توسط نانوذرات کونژوگه شده در غلظت‌ها و pHهای مختلف*

بحث

با وجود جاذب‌های مختلف برای جذب انواع آنتی‌بیوتیک‌ها، جاذب مناسبی که بتواند آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین را در انواع مواد غذایی به خصوص گوشت جذب و حذف نماید، وجود ندارد. آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین به راحتی با خوردن گوشت‌های آلوده وارد بدن می‌شود و مقاومت دارویی و آنتی‌بیوتیکی و تجمع در کبد را به همراه دارد. هدف از انجام مطالعه حاضر، طراحی یک جاذب مناسب برای حذف آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین بود. این جاذب باید حداقل ویژگی‌هایی همچون خودسمی نبودن، ارزان و در دسترس بودن و داشتن قابلیت سنتز و کونژوگاسیون داشته باشد.

بر اساس مطالعات مشابهی که پیش‌تر بر روی پاتولین، آفلاتوکسین و دیازینون در دانشگاه آزاد یزد صورت گرفته بود (۹)، نانوذرات سلولز انتخاب شدند که از جمله خواص منحصر به فرد آن‌ها، غیر سمی بودن، ارزان بودن و غیر قابل تجزیه بودن می‌باشد. برای طراحی گیرنده مناسبی که بتواند بر روی نانوسلولز سوار شود و نقش جاذب انروفلوکساسین را داشته باشد، مولکول‌های مختلفی از نظر تئوری مورد بررسی قرار گرفت. از آن‌جایی که آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین مولکولی پیچیده و دارای سه حلقه کربنی و چندین مولکول اکسیژن روی سطح می‌باشد، این اتم‌ها و چندین مولکول مکمل بر اساس منابع اطلاعاتی موجود در اینترنت، به عنوان هدف انتخاب گردید. مولکول‌هایی که به عنوان گزینه انتخاب شدند، از نظر تئوریک می‌توانستند حداکثر تعداد پیوند هیدروژنی را با مولکول انروفلوکساسین برقرار نمایند. در این بین سه مولکول Amino-1,7-dihydro-6H-purin-6-one، Aminobenzyl-1,7-dihydro-6H-purin-6-one و Aminoethyl-1,7-dihydro-6H-purin-6-one برگزیده شدند که به لحاظ تئوریک می‌توانستند حداقل چهار پیوند هیدروژنی با انروفلوکساسین برقرار کنند. لازم به ذکر است که در مورد انتخاب نهایی این مواد چندین معیار از جمله سمی نبودن، ارزان بودن و داشتن قابلیت کونژوگاسیون با سلولز مد نظر قرار گرفت. با ملاک قرار دادن همه شاخص‌های مذکور، مولکول Aminobenzyl-1,7-dihydro-6H-purin-6-one انتخاب گردید. جهت تأیید تئوری‌های مطرح شده، ترتیبی اتخاذ شد تا آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین خالص با نانوذرات سلولز کونژوگه شده در آزمایشگاه در معرض هم قرار گیرند و در نهایت، میزان جذب آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

مطالعات آزمایشگاهی انجام شده در تحقیق حاضر مشخص نمود که میزان جذب انروفلوکساسین توسط این نانوساختار وابستگی چندانی به غلظت ندارد. این یافته بدین معناست که تفاوت چشمگیری بین میزان جذب در غلظت‌های مختلف مشاهده نشد. همچنین، نشان می‌دهد که این نانوساختار حتی در غلظت‌های پایین نیز دارای قدرت جذب به نسبت بالایی است. وابستگی به دما و زمان انکوباسیون تنها در دو غلظت ۱۲۵ و ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید و این نکته بیان کرد که نانوساختار مذکور آنچنان در جذب قوی عمل می‌کند که متأثر از دما و زمان قرار نمی‌گیرد و تنها در غلظت‌های کم، شواهدی دال بر اثر دما و زمان مشاهده می‌گردد. در مورد pH، این نکته قابل فهم است که شرایط اسیدی قدرت و میزان جذب را افزایش می‌دهد و این امر شاید به علت تغییر در پیوندهای غیر کوالانسی است.

Zhang و Zhou در مطالعه خود گزارش کردند که انروفلوکساسین مایع به خوبی می‌تواند جذب بتونیت گردد. مطالعه آنان نشان داد که برای جذب بنتونیت و انروفلوکساسین حداقل یک ساعت زمان لازم است و دماهای بالاتر جذب بهتری را نشان می‌دهد (۴). نتایج تحقیق Yan و همکاران بیان کرد که انروفلوکساسین به خوبی می‌تواند جذب مونت موریلونیت شود. همچنین، مطالعه آنان مشخص نمود که با روش اسپکتوفتومتری FTIR می‌توان میزان جذب انروفلوکساسین را نشان داد. بر اساس مطالعه Yan و همکاران، مواد آلی حل شده در آب بر روی فرایند جذب انروفلوکساسین و مونت موریلونیت تأثیرگذار است (۵). Otker و Akmehmet-Balcioglu گزارش کردند که زئولیت طبیعی می‌تواند آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین را

جذب و تجزیه نماید. آن‌ها اثرات مختلف دما، pH و غلظت را ارزیابی نمودند. لازم به ذکر است که زئولیت طبیعی همراه با ازون، به خوبی انروفلوکساسین جذب شده را از بین می‌برد (۶). Dolar و همکاران بر این باور بودند که با کمک اسمز معکوس و غشای نانوفیلتر می‌توان به فتولیز انروفلوکساسین نایل شد تا منجر به حذف آن در محیط مایع گردد (۸).

با توجه به جستجو در همه بانک‌های اطلاعاتی موجود، مطالعه حاضر برای اولین بار در دنیا صورت گرفت و شروعی برای مطالعات گسترده و عمیق بعدی می‌باشد. در کل چنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نانوذرات سلولز کونژوگه شده با آمینوبنزیل پورین می‌تواند جاذب مناسبی برای انروفلوکساسین باشد، اما برای کاربردی شدن آن در مطالعات آینده باید مواردی مانند آزمایش این نانوساختار از نظر سمیت بر روی سلول‌های مختلف انسانی، کارایی این نانوذره در داخل بدن حیوان آزمایشگاهی یا انسان و ارزیابی دقیق میزان آزادسازی یا جذب انروفلوکساسین بعد از جذب توسط این نانوساختار مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر حاصل پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد می‌باشد. بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از پرسنل آزمایشگاه و تمام کسانی که در انجام این پروژه همکاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1. Lin J. Antibiotic growth promoters enhance animal production by targeting intestinal bile salt hydrolase and its producers. *Front Microbiol* 2014; 5: 33.
2. Oh CC, Ko HC, Lee HY, Safdar N, Maki DG, Chlebicki MP. Antibiotic prophylaxis for preventing recurrent cellulitis: a systematic review and meta-analysis. *J Infect* 2014; 69(1): 26-34.
3. Slana M, Dolenc MS. Environmental Risk Assessment of antimicrobials applied in veterinary medicine-A field study and laboratory approach. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013; 35(1): 131-41.
4. Zhang JX, Zhou QX, Li W. Adsorption of enrofloxacin from aqueous solution by bentonite. *Claymin* 2013; 48(4): 627-37.
5. Yan W, Zhang J, Jing C. Adsorption of Enrofloxacin on montmorillonite: two-dimensional correlation ATR/FTIR spectroscopy study. *J Colloid Interface Sci* 2013; 390(1): 196-203.
6. Otker HM, Akmehmet-Balcioglu I. Adsorption and degradation of enrofloxacin, a veterinary antibiotic on natural zeolite. *J Hazard Mater* 2005; 122(3): 251-8.
7. Jebali A, Hekmatimoghaddam S, Behzadi A, Rezapor I, Haji Mohammadi B, Jasemizad T, et al. Antimicrobial activity of nanocellulose conjugated with allicin and lysozyme. *Cellulose* 2013; 20(6): 2897-907.
8. Dolar D, Košutic K, Periša M, Babic S. Photolysis of enrofloxacin and removal of its photodegradation products from water by reverse osmosis and nanofiltration membranes. *Separation and Purification Technology* 2013; 115: 1-8.
9. Jebali A, Yasini Ardakani SA, Shahdadi H, et al. Modification of nanocellulose by poly-lysine can inhibit the effect of fumonisin B1 on mouse liver cells. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2015; 126: 437-43.

The Study of the Enrofloxacin Adsorption Capability of Cellulose Nanoparticles Conjugated with Aminobenzyl Purin

Hossein Balalzadeh, B.Sc.[1], Seyed Ali Yasini Ardakani, Ph.D.[2*], Seyed Hossein Hekmatimoghaddam, M.D.[3]

1. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, Yazd Science and Research Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran

2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, Yazd Science and Research Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran

3. Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

* Corresponding author; e-mail: a.yasini@iau.ac.ir

(Received: 1 July 2014 Accepted: 17 May 2015)

Abstract

Background & Aims: Most antibiotics not only inhibit microbial growth, but also can increase the growth of livestock. Although enrofloxacin is one of the most commonly used antibiotics, it has high toxicity on the kidney, liver, and brain. The aim of this study was to synthesize nanocellulose conjugated with aminobenzyl purin and to study its enrofloxacin adsorption capability.

Methods: Nanocellulose was first synthesized and conjugated with aminobenzyl purin in the presence of a crosslinker. Then, serial concentrations of conjugated nanocellulose (125, 250, 500, 1000, and 2000 µg/ml) were incubated with enrofloxacin solution of 1000 µg/ml concentration at different temperatures, incubation times, and pH. At the end of incubation, all tubes were centrifuged at the speed of 5000 RPM for 5 minutes and the optical density of the upper layer of solution was obtained using a spectrophotometer with 340 nm wavelength. Finally, the percentage of absorption was calculated.

Results: The adsorption tests showed that the variation in concentration of conjugated nanocellulose, and incubation temperature and time did not affect the adsorption, but the variation in pH caused a significant difference in the amount of adsorption. The maximum adsorption was 82.5 % and was observed in acidic conditions for the concentration of 1000 µg/ml.

Conclusion: Nanocellulose conjugated with aminobenzyl purin is an efficient adsorbent of enrofluxacin, and could possibly be used in food to adsorb this antibiotic.

Keywords: Nanocellulose, Aminobenzyl purin, Adsorption, Enrofloxacin

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2016; 23(1): 106-115