

KITOSAN SEBAGAI EKSIPIEN DALAM SISTEM PENGHANTARAN OBAT BARU

Indah Pertiwi, Nadya Nurul Zaman, Hisban Hamid Arifki, Katarina Silalahi, Wenni H.P.P, Nasrul Wathoni

Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, 45363

Abstrak

Teknologi di bidang farmasi terus berkembang, salah satunya saat ini dikembangkan formulasi sediaan obat dengan teknologi *Novel Drug Delivery System* yang dapat memaksimalkan proses penghantaran obat. Tujuan pembuatan artikel *review* ini memberikan gambaran tentang kitosan sebagai eksipien alami yang digunakan dalam sistem penghantaran obat baru. Kitosan sebagai polimer alami memiliki sifat biokompatibilitas, biodegradabilitas, relatif murah, non-toksitas, alergenitas rendah sehingga banyak dipilih sebagai zat eksipien dalam sediaan NDDS. Metode yang telah banyak digunakan yaitu menjadikan kitosan dan zat aktif ke dalam bentuk *microsphere* dan *nanocomposites*, namun pemilihan metode sangat bergantung kepada sifat fisikokimia zat aktif yang digunakan. Saat ini, penggunaan kitosan sebagai eksipien NDDS sangat berperan penting dalam meningkatkan bioavailabilitas obat di dalam tubuh dalam periode tertentu agar tercapai efek terapi yang maksimal.

Kata kunci: NDDS, kitosan, *microspheres*, *nanocomposites*.

Abstract

Technology in the field of pharmaceutical continues to grow, one of which is currently developed a formulation of drug preparations with Novel Drug Delivery System technology that can maximize the process of drug delivery. The purpose of this review article to provide an overview of chitosan as a natural excipient which are used in novel drug delivery systems. Chitosan as a natural polymer has biocompatibility, biodegradability, relatively inexpensive, non-toxicity, low allergenicity properties and is therefore chosen as an excipient in NDDS preparations. A widely used method of making chitosan and active substances into microspheres and nanocomposites forms, but the choice of method depends on the physicochemical properties of the active substances used. Currently, the use of chitosan as an excipient NDDS plays an important role in improving the bioavailability of medicines in the body within a certain period in order to achieve maximum therapeutic effects.

Keywords: NDDS, chitosan, *microspheres*, *nanocomposites*.

Diserahkan: 30 Agustus 2018, Diterima 1 September 2018

Pendahuluan

Novel Drug Delivery System (NDDS) adalah sistem yang menawarkan berbagai solusi dalam pengiriman obat seperti: material dan sistem pengiriman obat oral, sistem pengiriman obat parenteral dan implan, pengiriman obat

trans-mukosal, dll. (1). Kelebihan dari NDDS adalah kemampuannya untuk mengubah farmakokinetik dan bio-distribusi obat (2). Nanoteknologi memiliki potensi untuk dapat meningkatkan penghantaran obat dan penargetan obat yang mengarah menuju peningkatan efektifitas dan mengurangi

toksisitas dari suatu obat, dan juga akan menciptakan peluang pasar baru (3). Pemberian obat dengan sistem ini berfokus pada memaksimalkan bioavailabilitas di tempat-tempat tertentu di tubuh dan selama periode waktu tertentu (4).

Penargetan pengiriman obat dengan sistem obat menuju ke situs target dipengaruhi oleh sistem pembawa obat seperti polimer, misel, mikrokapsul, liposom dan lipoprotein. Berbagai pembawa polimer memberikan efek yang berbeda pada pengiriman obat. Polimer sintetik biasanya non-biokompatibel, non-biodegradabel dan mahal. Oleh karena itu saat ini dikembangkan penggunaan polimer alami seperti salah satunya adalah kitosan yang tidak memiliki masalah tersebut (5). Oleh karena itu dilakukan pengembang perangkat struktur kitosan seperti mikrosfer/nanosfer dan mikrokapsul karena dianggap sebagai polimer alami yang menjanjikan untuk digunakan sebagai polimer untuk NDSS di Indonesia.

Pada tahun 1884, pertama kalinya diidentifikasi *Chitin*. *Chitin* merupakan polisakarida alami yang sangat penting yang tersusun dari poli (b- (1-4) -N-acetyl-D-glucosamine). Biopolimer Kitosan, dikenal sebagai *deinetylated chitin*, yaitu polisakarida polikationik polikation alami yang berasal dari deasetilasi parsial *chitin*. Polimer ini yang paling melimpah setelah

selulosa pada masanya. *Chitin* di alam adalah elemen membentuk komponen struktural didalam *exoskeleton arthropoda* atau dinding sel jamur dan ragi yang dapat digunakan untuk berbagai fungsi (6).

Kitosan tersusun dari β - (1-4) - dilengkapi d-glukosamin dan N-asetil-d-glukosamin yang didistribusikan secara acak di dalam polimer. Sifat kationosan kitosan agak istimewa, karena mayoritas polisakarida biasanya baik netral atau bermuatan negatif dalam lingkungan asam. Properti ini memungkinkan untuk membentuk kompleks elektrostatis atau struktur multilayer dengan polimer sintesis atau alami bermuatan negatif lainnya (7).

Kitosan memiliki karakteristik yang sangat menarik, yaitu seperti biokompatibilitas, non-toksisitas, alergenitas rendah dan biodegradabilitas yang memungkinkan untuk digunakan dalam berbagai aplikasi. (8) Selain itu, kitosan memiliki sifat biologis lainnya, yang dapat digunakan sebagai seperti antitumor (9) antimikroba. (10) dan aktivitas antioksidan. (11). Tingkat deasetilasi, atau persentase deasetilasi, dan berat molekul kitosan, ditemukan mempengaruhi sifat-sifat ini. (12). Ada beberapa metode untuk preparasi dan karakterisasi partikel-partikel tersebut bersama dengan peran mereka dalam sistem pengiriman obat. Namun, pemilihan metode tertentu untuk menyiapkan mikrosfer kitosan tergantung

pada sifat molekul obat aktif yang akan dienkapsulasi serta jenis perangkat pengirimannya.

Modifikasi Kimia pada Partikel Kitosan

Tujuan dari modifikasi kitosan secara kimia ialah untuk mengendalikan interaksi polimer dengan obat-obatan dan meningkatkan kemampuan pelepasan obat. Kitosan dimodifikasi secara kimia untuk meningkatkan sifat curahnya untuk mempersiapkan sistem pelepasan obat yang berkelanjutan. (13).

1. Kitosan N-(aminoalkyl)

Sistem enkapsulasi manik-manik kalsium alginat dengan *poly-L-lysine* (PLL) dan kitosan yang digunakan dalam sediaan vaksin oral. Dimana PLL memperpanjang spacer kationik di rantai utama kitosan. Dalam modifikasinya kitosan direaksikan dengan α - *bromoacylbromide* yang kemudian dikarakterisasi (14).

2. Kitosan Succinyl, Quateraminated, dan Octanoyl

Mikropheres kitosan berpori yang cocok untuk pengiriman antigen dengan metode inversi fase basah (15). Struktur kitosan dimodifikasi dengan perubahan nilai pH dari media koagulasi. Mikroperes kitosan dimodifikasi secara kimia dengan reagen untuk mengenali gugus karboksil, hidrofobik asil, dan kuarterner amonium. Umumnya digunakan untuk sediaan dengan zat aktif berupa antigen yang akan

dileaskan ke dalam haemoglobin darah. Lepas lambat antigen menggunakan polimer kitosan dimodifikasi dengan 3-kloro-2-hidroksipropiltrimetilamonium klorida.

3. Kitosan Mitocyn C Konjugasi N-Succinyl

N-succinyl memiliki sifat biokompatibilitas, toksisitas rendah, dan memiliki waktu retensi yang panjang dalam tubuh. Kitosan-N-Succinyl memiliki kelarutan yang baik dalam suasana basah (tingkat suksinilasi > 0,65) sehingga dapat bereaksi dengan mudah dengan berbagai jenis agen yang memiliki gugus NH_2 dan $COOH$ (16). Digunakan sebagai pembawa obat kanker MMC dengan (MW: $3,0 \times 10^5$; tingkat suksinilasi: 0,72 mol / unit gula) dan karbodiimida yang larut dalam air (EDC) yang dibuat dengan ukuran mikropartikel dengan konjugasi silang antara kitosan-succinil dengan MMC yang bergantung pada pH (17), (18), (19).

4. Kitosan N-Alkil Terasilasi

Kitosan dimodifikasi pada rantai hidrofobik untuk mengontrol kelarutan zat aktif yang dibawa (20), (21). Metodologi untuk persiapan N-lauryl-N-methylene phosphonic chitosan telah dikembangkan oleh Ramos dkk. (2003) pada kitosan fosfonik N-methylene larut air. Kehadiran gugus alkil dalam kitosan N-lauryl-N-methylene phosphonic

melemahkan hidrogen obligasi dan memberikan kelarutan yang baik dalam pelarut organik.

5. Kitosan Hidroklorida (Ch-HCl)

Efek dari kitosan hidroklorida pada pelepasan in-vivo diuraikan secara mukoadhesif. Kitosan hidroklorida dapat disintesis dari 4 jalur yaitu (a) konjugat kitosan-4-tio butilamidin, dan (b) konjugat asam chitosan-tioglikolik (22). Mikrosfer Ch-HCl yang dipakai adalah yang dibuat dengan spray-drying 0,5% larutan Ch-HCl yang mengandung konsentrasi ofloxacin yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan mikro-partikel Ch-HCl menjadi berbasis *polyethylene oxide* sisipan menghasilkan perubahan mikrostruktur yang mempercepat keduanya masuk ke erosi dan ofloxacin.

6. Kitosan Teredam

Modifikasi chitosan dengan 2-iminothiolane dipelajari oleh Schnurch, Hornof, dan Zoidl (2003) untuk meningkatkan khasiat chitosan sebagai eksipien dalam sistem pengiriman obat. Pembuatan *chitosan-2-iminothiolane* disiapkan dengan melarutkan 1 g kitosan dalam 700 ml asam asetat 1% selama 5 jam dan kemudian ke dalam larutan ditambahkan dengan jumlah yang berbeda dari 2-iminothiolane HCl ditambahkan dan pH disesuaikan dengan 5M NaOH. Modifikasi ini meningkatkan permeasi zat

aktif tiga kali lebih tinggi sifat mukoadesifnya dibandingkan dengan konjugatnya (23).

Microsphere Kitosan sebagai penghantar obat Paclitaxel (PTX)

Paclitaxel (PTX) adalah obat alami untuk antikanker yang bersifat hidrofobik. PTX telah ditemukan oleh *National Cancer Institute* sejak 1960 (24). PTX diperoleh dari ekstrak kulit pohon pasifik yew *Taxus brevifolia* (25). PTX merupakan obat yang sangat sitotoksik, akan tetapi PTX mempunyai aplikasi klinis yang terbatas karena kelarutannya yang rendah dalam air. Kelarutannya yang rendah dalam air dikarenakan sifat fisikokimia PTX sendiri. Struktur PTX terdiri dari sistem cincin yang menyatu dan banyak mengandung substituen hidrofobik dan tidak adanya gugus fungsional yang dapat terionisasi (26). Karena masalah kelarutan dan adanya efek toksik dari sediaan dengan formulasi PTX yang tersedia, maka para ilmuwan mencoba untuk merumuskannya dalam sistem penghantaran obat alternatif dan efektif seperti nanopartikel (27) dan *microsphere* (28). Dalam formulasi *microsphere*, PTX ditambahkan ke dalam beberapa bentuk formulasi sistem penghantaran basis kitosan. Teknik pembuatan PTX pada kitosan melibatkan pembentukan kompleks fisik daripada perubahan pembuatan obat dalam bentuk nanopartikel. Pendekatan ini

akan menyediakan sistem penghantaran obat yang paling selektif dan aman untuk PTX (29). *Microsphere* telah diteliti dapat meningkatkan kelarutan, kecepatan disolusi, dan bioavailabilitas PTX (28). Dari hasil penelitian yang telah dilakukan

sebelumnya didapat bahwa berat molekul menengah dari kitosan menunjukkan kecepatan disolusi PTX yang paling baik karena *microsphere* sangat larut dalam air, dimana 90% obat dapat dilepaskan dari nanosuspensinya.

Metode Formula Kitosan

Tabel 1. Kitosan berdasarkan formulasi yang disiapkan dengan berbagai metode (30).

Tipe Sistem	Metode Preparasi	Obat
Tablet	Matrix coating	Mesalamine, Glipizide
Kapsul	Capsule shell	5-ASA
Microsphere/Microparticles	Emulsion cross-linking	Clarithromycin
	Coacervation/precipitation	Interleukin-2
	Spray-Drying	Vitamin D-2
	Ionic gelation	Felodipine
Nanopartikel	Sieving method	Clozapine
	Emulsion-droplet coalescence	Gadopentetic acid
	Coacervation/ precipitation	Ovalbumin
	Ionic gelation	Ascorbic acid, Ampicillin, Insulin, Rivastigmine, Doxorubicin hydrochloride, Gemcitabine, 5-fluorouracil, Doxorubicin, Curcumin, Chloroquine, Thiocolchicoside, Docetaxel, Rizatriptan benzoate
		Temoxifen citrate
Beads	Reverse micellar method	Doxorubicin
	Coacervation/ precipitation	Insulin
Films	Solution casting	Ofloxacin
Gel	Cross-linking	Theophylline

Microsphere Kitosan-Methotrexate

Methotrexate (MTX) adalah obat anti kanker yang banyak digunakan, tetapi mempunyai efek sitotoksitas terhadap jaringan normal dan resistensi *multi-drug* (31); (32). Dalam mengatasi masalah

tersebut teknik *cross-linking* suspensi digunakan untuk produksi magnetik *microsphere* kitosan dengan menggunakan glutaraldehid sebagai *cross-linker* sehingga diperoleh gugus asam karboksil dari MTX akan terkonjugasi ke gugus amino dari

rantai kitosan (33). Sulitnya mengkuantifikasi berapa jumlah MTX yang berinteraksi dengan gugus amino pada permukaan magnetik *microsphere* kitosan, beberapa literatur menunjukkan skema gugus karboksil MTX yang terkonjugasi ke gugus amino rantai kitosan (34); (35).

Hasil yang diperoleh dari pembentukan magnetik *microsphere* kitosan-MTX ini adalah *controlled release* menunjukkan bahwa dengan memodifikasi permukaan *microsphere* kitosan secara magnetik melalui ikatan peptida, MTX tidak dilepaskan dari permukaan *microsphere* di bawah kondisi intravena, dan pemutusan ikatan amida sebagian besar terjadi dalam kondisi pH rendah dengan adanya keberadaan lisosim, lingkungan khas di dalam sel kanker dan menunjukkan efek penargetan (36).

Microsphere Kitosan Crosslinked-PEG

Penelitian ini menggunakan *microsphere* kitosan *crosslinked*-PEG dengan menggunakan teknik evaporasi solven. Digunakan MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide untuk mengkarakterisasi uji in vitro dan in vivo menggunakan tikus pada pertumbuhan sel kanker kolon pada manusia (HT-29) dengan menggunakan metode MTT Assay (37). Kanker kolon digunakan sebagai variabel dalam

penelitian ini karena memiliki prevalensi yang cukup tinggi pada penderita kanker didunia baik pria maupun wanita (38). Zat aktif yang digunakan yaitu Fluorouracil (5-FU) yaitu suatu *pyrimidine antimetabolite* yang berfungsi menghambat sintesis *thymidylate microsphere* dirancang berdasarkan penelitian yang sudah ada sebelumnya yaitu menggunakan metode yang digunakan oleh (37).

Mencampurkan CS dan PEG dengan cara dilarutkan dalam asam format (500mg/10mL) yang selanjutnya dicampur menggunakan *Mixer/Stirrer Magnetic* selama 15 menit. Setelah 15 menit tercapai selanjutnya ditambahkan dengan formaldehid untuk menyempurnakan pencampuran dengan *mixer* selama 2 jam pada suhu 45°C. Selanjutnya 30% w/w 5-FU ditambahkan kedalam campuran. Selanjutnya dicampurkan dengan 100 mL Paraffin cair yang mengandung 1% (w/w) tween 80 lalu di *mixing* selama 4 jam menggunakan *Overhead Stirrer* dengan kecepatan konstan yakni 1500 rpm pada suhu 45°C. *Microsphere* yang terbentuk akan tersentrifugasi, sehingga dapat dilakukan pembasuhan dengan menggunakan petroleum eter dilanjutkan dengan menggunakan aseton dan air bebas ion untuk menghilangkan sisa formaldehide yang tidak bereaksi.

Karakterisasi yang dilakukan menggunakan metode observasi

menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) (JEOL, JSM-840A *scanning electron microscope*, Tokyo, Japan) yang dilakukan setelah melakukan *Gold Sputtering* (Jeol, JFC-1100E sputter coater, Tokyo, Japan) pada *high vacuum evaporator* untuk melakukan studi morfologi partikel dan memprediksi ukuran partikel. Karakterisasi microsphere juga meliputi pengukuran efisiensi enkapsulasi, *Equilibrium Swelling*, dan pelepasan obat secara in vitro (selama 2 jam dalam media asam dan media basa pH 7.4 selama 24 jam) (37).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa digunakannya microsphere untuk sediaan 5-FU menunjukkan hasil yang cukup baik, dimana dalam studi in vitro didapat kesimpulan bahwa terjadi pemanjangan waktu pelepasan obat yang membuat efek sampingnya berkurang sampai (IC50) > 1000 µg/mL dimana merupakan kategori *weakly active* (39). Hasil studi farmakokinetik juga menunjukkan kenaikan nilai bioavailabilitas dibanding *Immediate release drug* 5-FU, namun tidak ada perubahan yang signifikan dari parameter biokimia setelah *treatment* yang dilakukan.

Mikrosfer kitosan–releasing doxorubicin

Penelitian yang dilakukan (Park et al, 2012) merupakan desain dan

karakterisasi sediaan doxorubicin-releasing kitosan microsphere. Menurutnya beberapa polimer dapat digunakan untuk digunakan sebagai material pembuatan embolic seperti lactide-co-glycolide (40) pati (41), dextran (42), trisacryl gelatin (43), Albumin dan salah satunya adalah kitosan (44). Studi menunjukkan bahwa kitosan memiliki sifat fisik yang telah termodifikasi yang memberikan karakteristik yang lebih elastis yang memungkinkan untuk digunakan sebagai eksipien dalam sediaan *embolic material*. Zat aktif yang digunakan adalah doxorubisin. Obat ini merupakan obat golongan anticancer agent yang sering digunakan untuk terapi berbagai macam kanker.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Kim et al, 2007) menyatakan bahwa pembentukan bentuk mikrosfer kitosan pada *transcatheter arterial chemoembolisation* tetap masih membutuhkan waktu lebih dari 6 jam untuk memperluas dosis obat (45). Namun pada dasarnya prosedur ini dipercaya tetap memiliki efek untuk mengurangi waktu obat tanpa harus mengurangi tingkat sterilitas obat yang tinggi, sehingga metode ini masih menjadi alternatif yang meyakinkan untuk dicoba. Karakterisasi yang dilakukan meliputi *Optical microscopy*, *Scanning Electron*

Microscopy, distribusi partikel dan ukuran partikel, dan *Swelling behaviour* (46).

Hasil dari penelitian yaitu dilakukan perbandingan perbesaran dari tumor yang telah di induksi. Hasil menunjukkan bahwa sediaan mikrosfer kitosan doxorubicin memberikan efek yang paling baik dibanding kontrol dan doxorubicin cair. Hal ini menunjukkan bahwa mikrosfer kitosan memberikan efek kontrol obat yang jauh lebih baik ketimbang pemberian secara biasa, Pelepasan obat menjadi sangat terpengaruh karena pembentukan mikrosfer dengan menggunakan kitosan.

Nanocomposites Kitosan –Alginat dan Cloisite 30 B

Kitosan diperoleh dari deasitulasi (47). ALG memiliki sifat *biodegradable*, mukoadhesif, dan biokompatibel dan dapat diaplikasikan dalam sistem penghantaran obat dan enkapsulasi sel (48).

Formulasi *nanocomposites novel drugs delivery system (NDDS)* dilakukan dengan cara menggabungkan *nanocomposites* kitosan-alginat (CS-ALG) *biodegradable* dengan lempung medis, Cloisite 30B disebut CS-ALG / C 30 B *nanocomposites*. *Nanocomposites* ini digunakan untuk kemoterapi oral . Hal ini disebabkan efek terapi terhadap kanker spektrum luas yang sangat baik, dengan menggunakan kurkumin sebagai obat

prototipe. Hal ini tak luput dari aktivitas antitumor yang dimiliki kitosan, karena mengandung zat antineoplastik yaitu zat pembawa yang menjanjikan untuk pengobatan kanker (49).

Metode karakterisasi yang bisa digunakan untuk kitosan – alginat adalah menggunakan spektrofotometer FTIR tipe FTIR-FTS-7PC. Jika terdapat konsentrasi yang berbeda pada campuran dari *nanocomposites* kitosan-alginat dianalisis menggunakan SEM (50).

Microsphere Kitosan Ranitidin Crosslinked Glutaraldehyde

Peran penting *cross-linking* dari polimer *biodegradable* adalah sangat berpotensi untuk mengendalikan swelling dan tingkat degradasi. Mikrosfer kitosan sangat memungkinkan untuk penghantaran obat khusus-perut karena dapat berada lebih lama di perut (51). Kelarutan merupakan kelemahan kitosan dalam penghantaran oral, hal ini dipengaruhi oleh pH kitosan yang merupakan fungsi dari gugus amino yang ada. Hubungan *cross linking irreversible* dapat mengatasi keadaan tidak stabil mikrosfer kitosan dalam cairan lambung. Mikrosfer kitosan terbentuk oleh interaksi elektrostatis antara *polion* dan *counterions* (52). Karakterisasi yang bisa dilakukan pada mikrosfer ranitidin - kitosan adalah menggunakan spektrum FTIR untuk menentukan perubahan struktural yang dialami oleh

obat atau polimer (53). Sedangkan *Scanning Election Microscopy (SEM)* digunakan untuk mengkarakterisasi morfologi permukaan mikrosfer (54).

Kesimpulan

Polimer kitosan merupakan polimer alami yang baik digunakan dalam sistem NDDS dengan berbagai bentuk sediaan dan direkomendasikan dalam pembuatan obat baru untuk terapi kanker dengan bentuk nanopartikel. Serta pemilihan kitosan yang telah dimodifikasi secara kimia disesuaikan dengan bentuk sediannya.

DAFTAR PUSTAKA

1. *Chemical modification of chitin and Chitosan*. In: Muzzarelli RA, Jeuniaux C, Gooday GW, editors. *Chitin in Nature and technology*. K, Kurita. 1986, Plenum, pp. 287-293.
2. *Smart and genetically engineered biomaterials and drug delivery systems*. Kopecek, J. 1, 2003, European Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 20, pp. 1–16.
3. *Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery*. Agnihotri SA, Mallikarjuna NN, Aminabhavi TM. 1, 2004, Journal of Control Release, Vol. 100, pp. 5–28.
4. *Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices*. Soppimath KS, Aminabhavi TM, Kulkarni AR, Rudzinski WE. 1-2, 2001, Journal of Control Release, Vol. 70, pp. 1–20. .
5. *Chitosan Microspheres in Novel Drug Delivery Systems*. . Mitra, A and Dey, B . 4, 2011, Indian Journal Pharmaceutical Science. , Vol. 73, pp. 355–366.
6. *Chitin and chitosan: Properties and applications*. . Rinaudo, M. 1, s.l. : Elsevier Ltd. All rights reserved. , 2006., Prog. Polym. Sci., Vol. 31, pp. 603–632. .
7. *Chitosan composites for bone tissue engineering—An overview*. Venkatesan J., and Kim S.K. 8, 2010, Journal Mar. Drugs. , Vol. 8, pp. 2252–2266.
8. *Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives*. . Kumar M.N., Muzzarelli R.A., Muzzarelli C., Sashiwa H., Domb A.J. 12, 2004., Chem. Rev. , Vol. 104 , pp. 6017–6084.
9. *Chapter Twelve—Anticancer effects of chitin and chitosan derivatives*. . Karagozlu M.Z., and Kim S.K. 3, s.l. : Elsevier Ltd. All rights reserved , 2014. , Advances in Food and Nutrition Research., Vol. 72, pp. 215–225.
10. *Antimicrobial activity of chitosan derivatives containing N-quaternized moieties in its backbone: a review*. . Martins A.F., Facchi S.P., Follmann H.D., Pereira A.G., Rubira A.F., Muniz E.C. 11, 2014. , International Journal Molecular Science , Vol. 15, pp. 20830-20832.
11. *Chapter Two—Antioxidant effects of chitin, chitosan, and their derivatives*. A. Ngo D.H., and Kim S.K. s.l. : Elsevier Ltd. All rights reserved , 2014., dvances in Food and Nutrition Research. , Vol. 73, pp. 15–31.
12. *Functional characterization of chitin and chitosan*. . Aranaz I., Mengibar M., Harris R., Paños I., Miralles B., Acosta N., Galed G., Heras Á.

- 2009., *Curr. Chem. Biol.*, Vol. 3, pp. 203–230.
13. *Chitosan-Based Particles as Controlled Drug Delivery Systems.* **Mano., Prabakaran M and J.F.** 1, 2005, *Drug Delivery*, Vol. 12, pp. 41-57.
14. *Synthesis of N-(aminoalkyl) chitosan for microcapsules.* **Dunn, E. J., Zang, X., Sun, D., and Goosen, M. F. A.** 1993, *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. 50, pp. 353-365.
15. *In vivo Biocompatibility and Degradability of a Novel Injectable-Chitosan-Based Implant.* **Mi, F. L., Tan, Y. C., Liang, H. F., and Sung, H. W.** 2002, *Vols. Biomaterials* 23:181–191.
16. *Preparation of partially N-succinylated chitosans and their cross-linked gels.* **Yamaguchi, R., Arai, Y., Itoh, T., and Hirano, S.** 1981., Vol. *Carbo. Res.* 15, pp. 172–175.
17. *Drug release and antitumor characteristics of N-succinyl chitosan-mitomycin C as an implant.* **Song, Y., Onishi, H., Machida, Y., and Nagai, T.** 1996., *J. Control. Rel.*, Vol. 42, pp. 93–100.
18. *Preparation and drug release characteristics of the conjugates of mitomycin C with glycol-chitosan and n-succinyl chitosan.* **Sato, M., Onishi, H., Machida, M., and Nagai, T.** 1996., *Biol. Pharm. Bull.* 19:241–245.
19. *A novel water-soluble N-succinyl chitosan-mitomycin C conjugate prepared by direct carbodiimide coupling: physicochemical properties, antitumor characteristics and systemic retention.* **Kato, Y., Onishi, H., and Machida, M.** 2000, *STP Pharm. Sci.* 10, pp. 133–142.
20. *Chitosan derivatives bearing C10 alkyl glycosides branches: A temperature induced gelling polysaccharide.* **Holme, K., and Hall, L.** 1991, Vol. 24, pp. 3828–3833.
21. *An efficient method for the synthesis of novel amphiphilic polysaccharide by region and thermo selective modifications of chitosan.* **Nishimura, S., Miyura, Y., Ren, L., Sato, M., Yamagishi, A., Nishi, N., Tokura, S., Kurita, K., and Ishii, S.** 1993., *Chemistry letters*, pp. 1623–1626.
22. *Effect of chitosan on in vitro release and ocular delivery of ofloxacin from erodible inserts based on poly(ethylene.* **Colo, G. D., Zambito, Y., Burgalassi, S., Serafini, A., and Saettone, M. F.** *Intl. J. Pharm.*, Vol. 248, pp. 115 – 122.
23. *Thiolated polymers-thiomers: synthesis and in vitro evaluation of chitosan-2-iminothiolane conjugates.* **Schnurch, A. B., Hornof, M., and Zoidl, T.** 2003, *Intl. J. Pharm.*, Vol. 260, pp. 229–237.
24. *Chitosan Nanoparticles based Drug Delivery:an Update.* **Agarwal Megal, et al.** 4, 2015, *International Journal of Advanced Multidisciplinary Research*, Vol. 2, pp. 1–13.
25. *Pharmaceutical aspects of paclitaxel.* **Panchagnula, R.** 1998, *Int J Pharm.*, Vol. 172, pp. 1-15.
26. *The discovery of camptothecin and taxol.* **Wani, M. C., Taylor, H. L., Wall, M. E., Coegggon, P., McPhail, A.T.** 9, 1971, *J Am Chem Soc.*, Vol. 93, pp. 2325-7.
27. *Chitosan Microsphere for the Delivery of Chemotherapeutic Agents: Paclitaxel as a Model.* **Al-Najjar, B.Y., Saad, A.H.** 6, 2017, *Asian Journal of Pharmaceutical and*

- Clinical Research., Vol. 10, pp. 15-19.
28. *Porous quaternized chitosan nanoparticles containing paclitaxel nanocrystals improved therapeutic efficacy in non-small-cell lung cancer after oral administration.* . **Lv, P.P., Wei, W., Yue, H., Wang, L.Y., Ma, G.H.** 12, 2011, *Biomacromolecules.* , Vol. 12, pp. 4230-4239.
 29. *Preparation and characterization of biodegradable paclitaxel loaded chitosan microparticles.* **Al-shdefat, R, Yassin, A.B., Anwer, K., Alsarra, I.** 3, 2012, *Dig J Nanomater Biostruct.*, Vol. 7, pp. 1139-1147.
 30. *Controlled release of paclitaxel from photo cross-linked chitosan hydrogels and its subsequent effect on subcutaneous tumor growth in mice.* **Obara, K., Ishihara, M., Ozeki, Y., Ishizuka, T., Hayashi, T., Nakamura, S.,** 1, 2005, *Journal Control Release*, Vol. 110, pp. 79-89.
 31. *Preparation and improvement of release behavior of chitosan microspheres containing insulin.* . **Wang, L.Y., Gu, Y.H., Su, Z.G., Ma, G.H.** 2006, *Int J Pharm*, Vol. 311, pp. 187-195.
 32. *Concurrent use of methotrexate and acitretin revisited.* . **Lowenthal, K. E., Horn, P. J., Kalb, R. E.** 2008., *J Dermatol.* , Vol. 19, pp. 22-26 .
 33. *A novel method to prepare magnetite chitosan microspheres conjugated with methotrexate (MTX) for the controlled release of MTX as a magnetic targeting drug delivery system.* . **Zhang, X., Fenghua, C., Jiazuan, N.** 5, 2009, *Drug Delivery.*, Vol. 16, pp. 280-288.
 34. *Immobilization of Pycnopus sanguineus laccase on magnetic chitosan microspheres.* **Jiang, D.S., Long, S.Y., Huang, J., Xiao, H.Y., Zhou, J.Y.** 2005, *biochem Eng. Journal*, Vol. 25, pp. 15-23.
 35. *Zhang, J., Zhang, S.T., Wang, Y.P., Gao, S.F.* 2007. *Synthesis and characterization of composite magnetic microspheres of Artemisia seed gum and chitosan.* *J Appl Polym Sci.* , Vol. 103, pp. 3045-3059.
 36. *Methotrexatemodified superparamagnetic nanoparticles and their intracellular uptake into human cancer cells.* . **Kohler, N., Sun, C., Wang, J., Zhang, M.Q.** 19, 2005, *Langmuir.* , Vol. 21, pp. 8858-8864.
 37. *Colon targeting of 5-fluorouracil using polyethylene glycol cross-linked chitosan microspheres enteric coated with cellulose acetate phthalate.* . **K, Ganguly, TM, Aminabhavi and A.R., Kulkarni.** 11, 2015, *Ind Eng Chem Res* , Vol. 50, pp. 797-807.
 38. *Global cancer statistics.* . **A, Jemal, F, Bray and MM, Center.** 2011, *CACancer J Clin* , Vol. 61, pp. 69-90.
 39. *In vitro screening for anthelmintic and antitumour activity of ethnomedicinal plants from Thailand.* **Atjanasuppat, W, Wongkham and P, Meepowpan.** 2008, *J Ethnopharmacol* , Vol. 23.
 40. *Control of the biodegradation rate of poly (DL-lactide) microparticles intended as chemoembolization materials.* **C, Grandfils, P, Flandroy and R., Jerome.** 1996, *Journal Control Release*, Vol. 38, pp. 109-122.
 41. *Preparation of crosslinked starch microspheres and their drug loading and releasing properties.* . **YY, Fang, et al., et al.** 2008;, *Carbohydr Polym.*, pp. 74-84.

42. *Dextran microsphere embolization: Experimental and clinical experience with radiologic-pathologic correlation – Work in progress.* . **JE, Dion, et al., et al.** 1986, *Radiology*, Vol. 21, pp. 160-717.
43. *Trisacrylgelatin microspheres for therapeutic embolization I: Development and in vitro evaluation.* . **A, Laurent, et al., et al.** 1996, *Am J Neuroradiol*, Vol. 17, pp. 533–540.
44. *Highly spherical and deformable chitosan microspheres for arterial embolization.* . **MJ, Kang, et al., et al.** 2010, *Chem Pharm Bull*, Vol. 58, pp. 288–292.
45. *Preparation of doxorubicin-containing chitosan microspheres for transcatheter arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma.* **JS, Kim, et al., et al.** 2007, *J Microencap*, Vol. 24, pp. 408–419.
46. *Design and characterisation of doxorubicin-releasing chitosan microspheres for anti-cancer chemoembolisation .* . **JM, Park, et al., et al.** 7, 2012, *Journal of Microencapsulation* , Vol. 29, pp. 695-705.
47. *Wetting of poly(L-lactic acid) and poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foams for tissue culture.* **A.G, Mikos, M.D, Lyman and R., Freed L.E & Langer.** 1, 1994., *Biomaterials*, Vol. 15, pp. 55-58.
48. *Application of chitin and chitosan derivatives in the pharmaceutical field,* . **.Y, Kato, H, Onishi. and & Machida Y.** 2003, *Current Pharmaceutical Biotechnology*, Vol. 4, pp. 303–309.
49. *Synthesis and antitumor activity of chitosan carrying 5-fluorocils.* **ouchi, T, T.Banba and S.Hamamoto, M.Fujimoto and.** 1989, *Makromol.Chem.*, Vol. 190, pp. 1817-1825.
50. *Chitosan-Sodium Alginate Nanocomposites Blended with Cloisite 30B As A Novel Drug Delivery System For Anticancer Drug Curcumin.* . **Nayak, P.L., Malesu, Vijay Kumar. and Sahoo, Debasish.** 3, 2011., *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, Vol. 2, pp. 157-164.
51. *Chitosan capsules for colon-specific drug delivery, improvement of insulin absorption from the rat colon.* . **Tozaki, H., et al., et al.** 1997, *J. Pharm. Sci.* , Vol. 86, pp. 1016–1021.
52. *Preparation and characterization of chitosan microspheres as drug carrier for prednisolone sodium phosphate as model for anti-inflammatory drugs.* . **Berthold, A., Cremer, K., and Kreuter, J.** 1998, *J. Control. Rel.* , Vol. 39, pp. 17–25.
53. *Development and Evaluation of Biodegradation Microspheres Loaded with Ranitidine and Cross Glutaraldehyde.* **Ramachandran, S.,Thirumurugan,G.,Dhanaraju,M .D.** 2, 2011, *American Journal of Drug Discovery and Development*, Vol. 1, pp. 105-120.
54. *Oral sustained release drug delivery systems using polycarbonate microspheres capable of floating on the gastric fluid.* **Thanoo, B.C.,M.C.Sunny and A.Jayakrishnan.** 1993, *J.Pharm.Pharmacol.*, Vol. 45, pp. 21-24.