ORIGINAL ARTICLE

Investigating the Effect of Mixed Surfactants with Different HLBs on the Properties of Solid Lipid Nanoparticle of Spironolactone

Zhila Imani[1],
Majid Saeedi[2,3],
Jafar Akbari[3,2],
Katayon Morteza Semnani[4],
Zahra Imani[5]

[1] Pharmacology Resident, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Pharmaceutical Sciences Research Center, Haemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Assistant Professor, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran

(Received March 12, 2018 ; Accepted May 29, 2018)

Abstract

Background and purpose: This study investigated the effect of different HLBs on these nanoparticles using spironolactone solid lipid nanoparticles.

Materials and methods: The spironolactone loaded SLN was prepared by emulsion/solvent evaporation technique followed by ultrasonication. In this study, Palmitic acid was used as carrier. Different weight ratio of drug, carrier, Span60 and Tween80 were selected. Different formulations were prepared with different HLBs. Nanoparticle properties like particle size, polydispersity index, zeta potential and entrapment efficiency were investigated. Optimum formulation was chosen for evaluation of drug release and other properties of nanoparticles by DSC and FT-IR spectroscopy.

Results: Increasing lipid concentration resulted in consequent increase entrapment efficiency and the size. Also, the F1-F9 formulations showed that Zeta potential was in an acceptable range, and only reduce in HLB in F4 was accompanied with decreasing Zeta potential. Spironolactone was found to have a higher drug release rate in the SLN form. Information from the FT-IR spectroscopy and the DSC thermogram indicated effective entrapment of drug in the carrier.

Conclusion: spironolactone-SLNs provide a controlled and increased drug release rates. Spironolacton-SLN would provide high drug levels at the site of action, therefore, this product could be useful in topical drug delivery.

Keywords: solid lipid nanoparticles, spironolactone, Tween 80, Palmitic acid, Span 60

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28 (162): 37-46 (Persian).

* **Corresponding Author: Zhila Imani -** Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (Email: vidashafipour@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۶۲ تیر سال ۱۳۹۷ (۴۶-۳۷)

بررسی تاثیر مخلوط سورفکتانت با HLB های مختلف، بر ویژگی‌های نانوذرات لیپیدی از داروی اسپیرونولاکتون

ژیلا ایمانی[۱]
مجید سعیدی[۲و۳]
جعفر اکبری[۳و۲]
کتایون مرتضی سمنانی[۴]
زهرا ایمانی[۵]

چکیده

سابقه و هدف: در این پژوهش با ساخت نانوذرات لیپیدی جامد از اسپیرونولاکتون، تاثیر HLB های مختلف بر روی ویژگی های این نانوذرات مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: برای تهیه نانو ذرات لیپیدی اسپیرونولاکتون از روش Solvent emulsification/evaporation به همراه ultrasonication استفاده شد. در این پژوهش از پالمیتیک اسید به عنوان حامل استفاده شد. نسبت‌های مختلف وزنی حامل و دارو، هم‌چنین نسبت‌های مختلف اسپان ۸۰ و توین ۶۰ انتخاب گردید. فرمولاسیون‌های مختلف با HLB متفاوت تهیه و ویژگی‌های نانوذرات مانند اندازه ذره‌ای، توزیع اندازه ذرات، پتانسیل زتا و بارگیری دارو مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت فرمولاسیون اپتیمم جهت بررسی میزان آزاد سازی دارو و ارزیابی خصوصیات نانوذرات توسط DSC و اسپکتروسکوپی FT-IR انتخاب شد.

یافته‌ها: با افزایش میزان چربی، میزان بارگیری دارو و اندازه‌ی نانو ذرات افزایش می‌یابد. بررسی فرمولاسیون‌های F_1-F_9 نشان می‌دهد که پتانسیل زتا در محدوده قابل قبول قرار دارد و تنها در F_4 کاهش HLB با کاهش پتانسیل زتا همراه است. هم‌چنین اسپیرونولاکتون در فرم SLN سرعت آزادسازی بالاتری دارد. اطلاعات به دست آمده از FT-IR و ترموگرام DSC نیز نشان از بارگیری موثر دارو در حامل دارد.

استنتاج: نانو ذرات لیپیدی جامد اسپیرونولاکتون باعث رهش کنترل شده و هم‌چنین افزایش میزان رهش دارو می‌شود. با به کارگیری آن در فراورده‌های موضعی، مقدار داروی بیش‌تری در محل اثر آزاد خواهد شد. بنابراین کاربرد آن در فراورده های موضعی مطلوب خواهد بود.

واژه های کلیدی: نانوذرات لیپیدی جامد، اسپیرونولاکتون، توین ۸۰، پالمیتیک اسید، اسپان ۶۰

مقدمه

داروی اسپیرونولاکتون (Spironolactone) یک آنتاگونیست آلدوسترون و یک آنتاگونیست رسپتورهای آندروژنی است(۱) که بیش از ۲۰ سال است که به طور موضعی در درمان هیرسوتیسم و آکنه مورد استفاده قرار گرفته می گیرد(۲). با وجود اثربخشی این دارو، حلالیت کم آن در آب و آزادسازی آهسته سبب

مولف مسئول: ژیلا ایمانی– ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم ، دانشکده داروسازی E-mail: jilaimani@protonmail.com
۱. دانشجوی دکتری حرفه ای داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. استاد، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. استاد، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. استادیار، گروه دندانپزشکی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۱۲/۲۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۷/۱/۱۸ تاریخ تصویب : ۱۳۹۷/۳/۸

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12]

کاهش فراهمی زیستی خوراکی این دارو شده است. یکی از راه های امیدوار کننده برای مدیریت این دارو استفاده از اشکال دارویی نانو است که می تواند سبب پایداری دارو و اثربخشی آن گردد(۳).

مطالعات نشان می دهد که کاهش اندازه ذرات دارو با زیاد کردن میزان سطح دارو، باعث افزایش آزادسازی دارو می شود. هم‌چنین با توجه به رابطه Noyes-Whitney سرعت آزادسازی دارو با سطحی از دارو که در تماس با محیط انحلال است، مرتبط می‌باشد(۴). مطالعات حاکی آن است که قرص های اسپیرونولاکتون که ذراتشان ۲۱/۲ میکرون است، نسبت به قرص هایی با اندازه ذره ای ۷۸/۸ میکرون، فراهمی زیستی بسیار بالاتری دارند(۵). با توجه به این موضوع، برای اطمینان خاطر از داشتن فراهمی زیستی بالای خوراکی، ۹۰ درصد ذرات دارو باید کم‌تر از ۱۰ میکرون باشند(۶). هم چنین روش‌هایی مثل کمپلکس با سیکلو دکسترین، لیوفیلیزه شدن و پراکندگی جامد، باعث افزایش انحلال پذیری اسپیرونولاکتون می‌شود(۷). در سال هاای اخیر، رساندن اندازه ذره دارویی در ابعاد تحت میکرون از اهمیت بالایی برخوردار گشته است. از دلایل این امر، فراهمی زیستی خوراکی بالاتر، سطح ذرات بالاتر در تماس با محیط انحلال، افزایش انحلال پذیری اشباع دارو و آزاد سازی دارو می باشد(۷). نانوذرات لیپیدی به دلیل داشتن چربی های فیزیولوژیک و تجزیه پذیر به عنوان سیستم‌های حامل با تحمل بالا برای مصارف پوستی مطرح می‌باشد. پتانسیل نانوذرات لیپیدی در هدفمند کردن پوستی، کنترل آزادسازی، عوارض پوستی کم و محافظت از ترکیبات فعال اثبات شده می‌باشد. نشان داده شده است که اندازه کوچک ذرات در نانوذرات لیپیدی، حضور نانوذرات را در تماس مستقیم با لایه شاخی بهبود و ورود عوامل انکپسوله به داخل سلول را تضمین می کند(۸).

هدف از این بررسی، ساخت نانوذرات لیپیدی جامد Solid Lipid Nanoparticles (SDL) از اسپیرونولاکتون و بررسی تاثیر HLB های مختلف بر روی این نانوذرات می‌باشد. بدین منظور، ۹ فرمولاسیون مختلف تهیه شده و تاثیر میزان چربی و HLB های مختلف بر روی بارگیری دارو، اندازه ذره‌ای و شاخص پراکندگی مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین در انتها، آزادسازی دارو توسط غشا دیالیز اندازه‌گیری شد.

مواد و روش ها

مواد مورد استفاده

پالمیتیک اسید و گلیسریل مونو استئارات از شرکت سیگما (Sigma, Germany) خریداری شد. پودر داروی اسپیرونولاکتون ساخت شرکت بهداشت کار ایران بود. توئین ۸۰ و اسپان ۶۰ از شرکت کره ای SAMSHUN PURE تهیه شد. هم‌چنین کلیه حلال‌ها از نوع آزمایشگاهی با خلوص بالا بودند.

ساخت نانوذرات لیپیدی جامد

برای تهیه نانو ذرات اسپیرونولاکتون از روش Solvent emulsification/evaporation استفاده شد. برای این منظور بر اساس مقادیر جدول شماره ۱، پالمیتیک اسید، اسپان ۶۰ و اسپیرونولاکتون در دی کلرومتان حل گردید. در مرحله بعد محلول حاصل به فاز آبی حاوی توئین ۸۰ در حین همزدن توسط هوژنایزر اضافه شد. به مدت پنج دقیقه مخلوط حاصل توسط اولترا هموژنایزر با دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه هموژن گردید. سوسپانسیون حاصل، ۵ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد با سونیکاتور پروب دار سونیکه و سپس به مدت ۲۴ ساعت، روی استیرر قرار داده شد تا حلال آلی از محیط خارج و نانو سوسپانسیون از ذرات دارو به دست آید(۹).

اندازه گیری پتانسیل زتا، اندازه و شاخص پراکندگی

اندازه ذرات، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتای نانو ذرات لیپیدی جامد اسپیرونولاکتون توسط

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12]

Dynamic Light Scattering (DLS) بـا اسـتفاده از دستگاه Zetasizer Nano ZS در دمای ۲۵ درجه سـانتی گراد و زاویه ۹۰ درجه اندازه گرفته شد. غلظت نمونه‌ها به گونه ای بود که در تمام نمونه‌هـا بـرای انـدازه‌گیـری پتانسیل زتا به ۴۰۰-۲۰ کیلو شمارش در هر ثانیـه دسـت یافته شد(۹).

اندازه گیری میزان داروی بارگیری شده

به این منظـور فـراورده مـایی از نـانو ذرات لیپیـدی جامد را با دور ۲۵۰۰۰rpm به مدت ۳۰ دقیقه، در دمـای ۴ درجه سـانتی گـراد در سـه اپنـدورف ۲ میلـی لیتـری، سانتریفیوژ گردید. بخش رویی را جداگانه جمع‌آوری و از فیلتر ۰/۲۲ نـانومتر عبـور داده شـد. ۵۰۰ میکرولیتـر از بخش رویی جمع آوری شده را در بالون ژوژه ۵۰ میلـی لیتری ریخته و به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد، جـذب نمونـه رقیـق شـده در طـول مـوج ۲۳۹/۸ نـانومتر قرائـت گردید و با قرار دادن عدد جذب در منحنـی اسـتاندارد، غلظت بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد. عـدد به دست آمده در ضریب رقت (۱۰۰) ضرب و با ضـرب غلظت واقعی در حجم سوپرناتانت میـزان داروی بـارگیری نشده محاسبه گردید و بـا کسـر آن از ۱۶۰ (مقـدار کـل داروی موجود در ۸۰ میلی لیتر فرآورده)، میـزان داروی بار گیری شده و درصد آن نیز به دست آمد(۹).

$$\text{Entrapment Efficiency} = \frac{Wtotal - Wfree}{Wtotal} \times 100\%$$

اسپکتروسکوپی FTIR

از دستگاه Perkin-Elmer spectrum one اسـتفاده شد. جهت تهیه دیسک های ۱۰ میلی لیتـری مـورد نیـاز برای انجام آزمایش، هر یک از نمونه ها به نسبت ۱:۵ بـا پتاسیم برماید مخلوط و به مدت ۱۵ ثانیه تحت فشـار ۳-۶ تن قـرار گرفـت. نیـروی لازم بـرای اعمـال ایـن فشـار توسط جـک هیـدرولیک بـر روی دسـتگاه پـرس تعبیـه شده، تامین شد. دقت اسکن $۰/۵cm^{-1}$ و محدوده اسـکن cm^{-1} ۴۰۰۰-۴۰۰ بوده است.

(DSC) Diffrential Scanning Calorimetry

بـرای دسـت‌یـابی بـه ترمـوگرام نمونـه‌هـای مـورد آزمایش از این روش استفاده شد. برای انجام این تست، ۵ میلی‌گرم از هـر نمونـه برداشـته و در داخـل پـن هـای آلومینیومی دستگاه قرار داده شد. نمونه‌ها بـا سـرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و در محدوده دمایی ۳۰۰-۳۰ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفتند.

خشک و منجمد کردن

در حـوزه داروسـازی جهـت تبـدیل محلـول‌هـا و سوسپانسیون‌ها به فرم جامد با پایداری قابل قبـول جهـت توزیع و نگه‌داری فریز درای کردن مـورد اسـتفاده قـرار می‌گیرد. آب منجمد از طریق تصـعید خـارج مـی‌شـود. برای تمامی ماتریکس‌هـای لیپیـدی مـورد مطالعـه، فریـز درای کردن در نتیجه پیوستن نانوذرات، منجر به تشکیل نانو ذرات لیپیدی جامد بزرگ تر با توزیع انـدازه ذره‌ای گسترده‌تر می‌شود. مقدار مناسبی از cryopercipitant ها می‌تواند از به هم پیوستن نانوذرات لیپیدی جامد در حین فریـز درای کـردن جلـوگیری کنـد(۱۰). پـس از تهیـه امولسیون نانوذرات لیپیـدی فرمولاسـیون منتخـب (F3)، آن را در ۱۲ اپندورف ریخته و به مدت نـیم سـاعت بـا دور ۲۵۰۰۰rpm و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سـانتریفیوژ، بخـش رویـی را دور ریختـه و بخـش رسـوب را بـا آب دیونیزه شسته و بـه مـدت ۱۵ دقیقـه سـانتریفیوژ گردیـد. رسـوب حاصـل مجـدداً بـا آب دیـونیزه شسـته شـد. اپندورف‌ها در دستگاه فریز درای قرار داده شدند.

بررسی رهش و آزادسازی دارو

در ایـن مرحلـه فرمولاسـیون منتخـب (فرمولاسـیون شماره ۳) برای سنجش میزان داروی آزاد شـده انتخـاب شـد و رهـش دارو در ۹۰۰ میلـی لیتـر بـافر فسـفات (pH= ۶/۶) و با استفاده از غشای دیالیز ۲۷ کیلو دالتـون (بیوژن، ایران) مورد بررسی قرار گرفت.

ابتدا غشای دیالیز به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطـر قرار داده شد. پس از بستن انتهای کیسـه هـای دیـالیز، ۵

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12]

سی‌سی دارو داخل آن‌ها ریخته و سر کیسه‌های دیالیز نیز بسته شد. کیسه‌های دیالیز به صورت افقی به بخش پارویی دستگاه تست انحلال متصل و آزادسازی در مدت ۲۴ ساعت با دور ۶۰rpm و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. نمونه‌گیری در ساعات ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۶، ۸، ۲۴ بعد از قرار دادن غشای دیالیز در محیط انحلال انجام گرفت. برای نمونه‌گیری، هر بار ۵ سی‌سی از محلول موجود در محیط انحلال برداشته، با فیلتر ۰/۲۲ میکرون صاف و جذب آن با اسپکتروفتومتر UV قرائت شد. اعداد حاصل از جذب در معادله جذب-غلظت اسپیرونولاکتون قرار داده و غلظت داروی آزاد شده محاسبه گردید. جهت ثابت ماندن محیط انحلال، بعد از هر بار نمونه‌گیری و برداشتن ۵ سی‌سی از محیط، ۵ سی سی بافر به محیط اضافه شد.

بررسی آماری داده ها

در این پژوهش نتایج به دست آمده با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و متعاقب آن جهت بررسی آزمون صفر در مورد مقایسه میانگین داده‌های موجود در هر بخش از آزمون آماری توکی استفاده گردید و ارزش $p < ۰/۰۵$ مبنای تفاوت معنی‌دار تلقی گردید.

یافته ها

برای تهیه نانو ذرات اسپیرونولاکتون از روش Solvent emulsification/evaporation استفاده شد. برای این منظور ابتدا ۹ فرمولاسیون مختلف دارو با نسبت‌های وزنی مختلف از حامل و دارو (جدول شماره ۱) انتخاب شد و پس از ساخت آن‌ها، تاثیر میزان چربی و HLBهای مختلف بر روی بارگیری دارو، اندازه ذره‌ای و شاخص پراکندگی مورد بررسی قرار گرفت.

بازده محبوس سازی و بارگذاری دارو

نمودار استاندارد محلول دارو در الکل در طول موج ۲۳۹/۸ رسم شد، فرمول استاندارد به صورت $abs = 0.0474con+0.0078,\ r^2= 0.999$ به دست آمد. میزان بازده محبوس‌سازی و بارگذاری دارو در ۹ فرمولاسیون مختلف ذکر شده مطابق جدول شماره ۱ به دست آمد. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد افزایش در میزان چربی باعث افزایش در میزان بارگیری دارو می‌شود. در فرمولاسیون‌های F_1-F_6، میزان چربی ۴ برابر میزان دارو و در فرمولاسیون‌های F_7-F_9، میزان چربی ۲ برابر میزان دارو می‌باشد. میانگین درصد بارگیری دارو در فرمولاسیون F_4 برابر ۱/۷۸±۸۵/۰۳۸، و در فرمولاسیون F_7 برابر ۰/۶۹۶ ± ۷۱/۴۰۸ محاسبه شد (جدول شماره ۱). از سوی دیگر نتایج نشان دهنده موثر بودن HLB بر میزان داروی بارگیری شده است. در فرمولاسیون F4 و F5 و F6 با کاهش HLB، میانگین درصد بارگیری دارو در بالاترین میزان قرار گرفت. میانگین درصد بارگیری دارو در فرمولاسیون F5 برابر ۵/۸۹۹ ± ۸۷/۰۹۶۶۷، در فرمولاسیون F4 برابر ۱/۷۸±۸۵/۰۳۸ و در فرمولاسیون F6 برابر ۳/۴۳۹ ± ۸۳/۲۹۳۳ محاسبه شد (جدول شماره ۱).

اندازهٔ متوسط ذرات و توزیع اندازهٔ ذرات

اندازهٔ متوسط نانوذرات ساخته شده در فرمولاسیون‌های مختلف در جدول شماره ۱ نمایش داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش میزان لیپید، اندازه نانوذرات نیز افزایش یافته است. به طوری که در فرمولاسیون F_5، میانگین قطر اندازه ذره ای برابر ۱۷۱/۵۶۵۴ ±۵۹۳/۹ و در فرمولاسیون F_8 برابر ۳۸/۴۸۳۱±۳۰۸/۸۶۶۷ نانو متر می‌باشد.

تاثیر تغییرات HLB بر پتانسیل زتا نانوذرات لیپیدی جامد

بار سطحی نانوذرات با اندازه‌گیری پتانسیل زتا تعیین می‌شود که در جدول شماره ۱ ارائه شده است. نتایج به دست آمده از F1-F9 نشان می‌دهد که پتانسیل زتا در محدوده قابل قبولی قرار دارد. این نتایج نشان می‌دهد که تنها در F4، کاهش HLB با کاهش پتانسیل

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12]

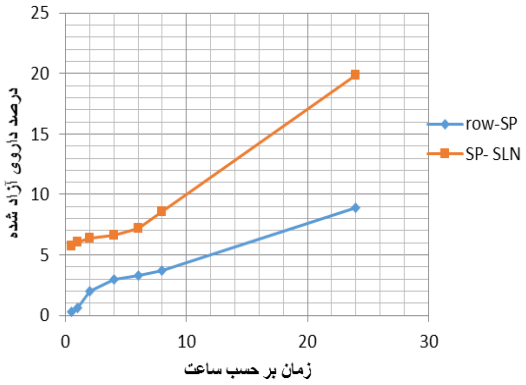
زتا همراه است و در بقیه فرمولاسیون‌ها، کاهش HLB تاثیری بر کاهش پتانسیل زتا نداشته است. هم‌چنین در F7 بر خلاف تصور، با وجود HLB بالا، میزان پتانسیل زتا کمی کاهش یافته است.

شاخص پراکندگی نانوذرات لیپیدی جامد

نتایج نشان می‌دهد که شاخص پراکندگی در محدوده قابل قبولی قرار دارد (جدول شماره ۱) و تغییرات HLB با تغییرات PI همراه نبوده است.

میزان داروی آزاد شده در محیط انحلال

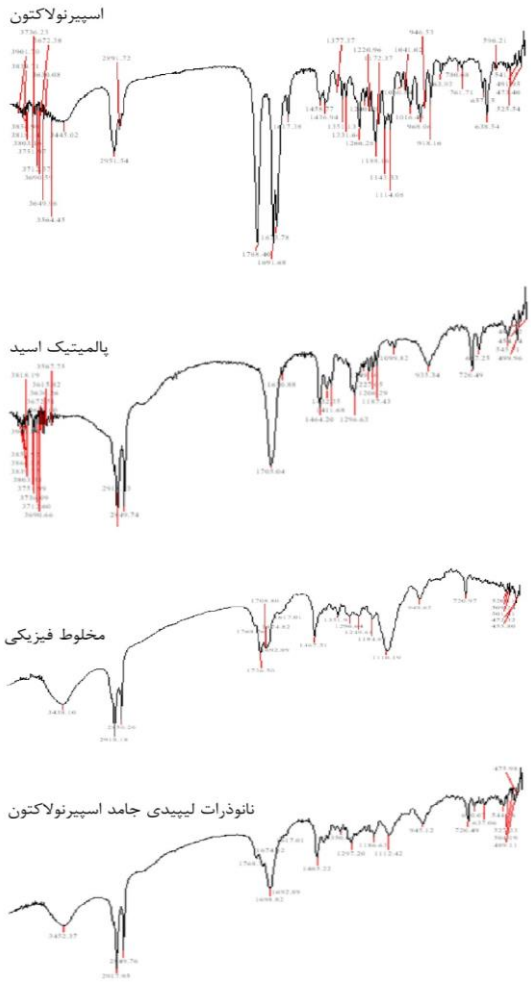
نتایج نشان داد که اسپیرونولاکتون در فرم SLN نسبت به پودر خالص دارو سریع‌تر آزاد می‌گردد (تصویر شماره ۱). پودر اسپیرونولاکتون به فرم کریستال بوده و سایز ذرات درشت است. در حالی که ذرات اسپیرونولاکتون در فرم SLN، به صورت آمورف بوده و بسیار ریزترند که این امر باعث افزایش سرعت آزادسازی دارو می‌شود.



تصویر شماره ۱: درصد داروی آزاد شده از فرمولاسیون F3 در محیط انحلال در مقایسه با پودر اسپیرونولاکتون

مطالعات Fourier-Transform IR

طیف‌های FT-IR برای شناسایی تداخلات و پیوندهای احتمالی بین حامل و دارو استفاده می‌شود. در بررسی طیف FT-IR نانوذرات لیپیدی جامد اسپیرونولاکتون، پیک‌های مربوط به گروه‌های عاملی اسپیرونولاکتون مشاهده شدند. تغییری در عدد موج پیک‌های گروه شاخص اسپیرونولاکتون مانند گروه‌های کربونیل تیو استیل و کربونیل لاکتونی و باند دوگانه مشاهده نشد، در نتیجه تداخل شیمیایی موثری را بین دارو و حامل نشان داده نشد (تصویر شماره ۲). طیف‌های FT-IR مربوط به مخلوط فیزیکی که شامل توین ۸۰، اسپان ۶۰، اسپیرونولاکتون و پالمیتیک اسید بود، جهت بررسی تداخلات مقایسه شدند. در نتایج به دست آمده، تغییری در عدد طول موج‌های گروه‌های شاخص ترکیبات به کار رفته دیده نشد، در نتیجه می‌توان گفت برهم کنش شیمیایی بین دارو و سایر اجزا در مخلوط فیزیکی وجود ندارد (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره ۲: طیف های FT-IR اسپیرونولاکتون، پالمیتیک اسید، مخلوط فیزیکی و نانوذرات لیپیدی جامد اسپیرونولاکتون

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12]

مطالعات Differential Scanning Calorimetry

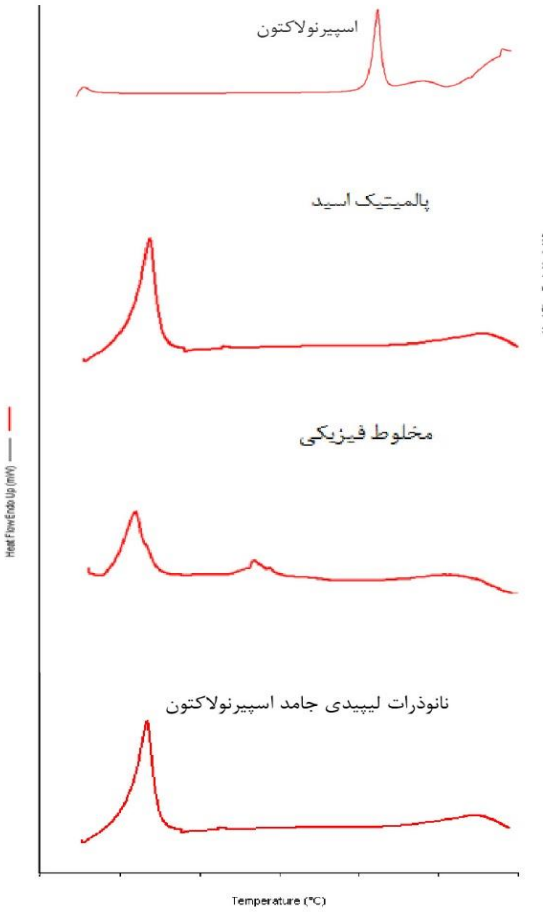
ترموگرام DSC اسپیرونولاکتون خالص پیک گرماگیر تیزی در ۲۱۲ درجه سانتی‌گراد نشان داد (تصویر شماره ۳) که وجود این پیک تیز در ترموگرام نشانگر این می‌باشد که اسپیرونولاکتون در پودر دارویی خود در حالت کریستال می‌باشد(۱۰). هم‌چنین ترموگرام DSC پالمیتیک اسید پیکی در محدوده۶۷/۲۶۴-۵۶/۵۰۳۵۹ درجه‌ی سانتی‌گراد را نشان می‌دهد (تصویر شماره ۳). ترموگرام‌های DSC نانوذرات لیپیدی جامد فاقد پیک در ۲۱۲ درجه سانتی‌گراد می‌باشند و تنها در ۶۴/۵۸۲۲۶ درجه سانتی گراد پیک ناشی از ذوب پالمیتیک اسید را نشان می‌دهند که نشان از بارگیری موثر دارو توسط حامل می‌باشد (تصویر شماره ۳).

در همه فرمولاسیون‌ها، مقادیر دارو ۱۶۰ میلی‌گرم، آب ۸۰ سی‌سی و دی کلرومتان ۱۶ سی‌سی می‌باشد.

بحث

در این مطالعه برای بررسی تاثیر HLB های مختلف بر نانوذرات لیپیدی جامد حاوی اسپیرنولاکتون، ۹ فرمولاسیون مختلف تهیه شده و تاثیر میزان چربی و HLB های مختلف بر روی بارگیری دارو، اندازه ذره‌ای و شاخص پراکندگی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان دهنده افزایش میزان بارگیری دارو در نانوذرات حاوی چربی بالاتر است. نتایج به دست آمده با نتایج سایر مطالعات انجام گرفته در این خصوص مطابقت دارد. Khalil و همکاران در مطالعه‌ای که بر روی نانوذرات لیپیدی جامد ملوکسیکام انجام دادند نشان دادند که وقتی غلظت چربی از ۵ درصد به۷/۵ درصد افزایش می‌یابد، بارگیری دارو به میزان موثری افزایش می‌یابد(۱۱).

نتایج مطالعه ما هم‌چنین نشان‌دهنده افزایش اندازه نانوذرات با افزایش میزان لیپید است. به طوری که در فرمولاسیون F5، میانگین قطر اندازه ذره ای برابر ۱۷۱/۵۶۵۴ ±۵۹۳/۹ و در فرمولاسیون F8، ۳۸/۴۸ ± ۳۰۸/۸۶ می باشد.



تصویر شماره ۳: ترموگرام DSC اسپیرونولاکتون ، پالمیتیک اسید، مخلوط فیزیکی و نانوذرات لیپیدی جامد اسپیرونولاکتون

جدول شماره ۱: مقدار حامل، سورفکتانت، HLB، اندازه ذره ای، PDI، پتانسیل زتا و درصد بارگیری دارو

فرمولاسیون	پالمیتیک اسید(mg)	توئین ۸۰(mg)	اسپان ۶۰(mg)	HLB	اندازه ذره ای	PDI	پتانسیل زتا	درصد بارگیری دارو
F1	۶۴۰	۱۰۷۸/۲	۳۵۲/۸	۱۲/۴۷	۴۳۸/۴۳۳	۰/۵۳	-۱۳/۵۹	۷۸/۱۵۸
F2	۶۴۰	۹۶۰	۴۸۰	۱۱/۵۶	۳۷۰/۹	۰/۵۰۷	-۲۱/۲۳	۸۱/۳۹
F3	۶۴۰	۸۴۰	۶۰۰	۱۰/۷۰	۳۳۵/۱	۰/۵۳۳	-۲۴/۴۳۳	۷۶/۸۹
F4	۶۴۰	۷۲۰	۷۲۰	۹/۸۵	۵۰۸/۸۳۳	۰/۵۵۷	-۱۲/۹۱۶	۵۸/۰۳۸
F5	۶۴۰	۶۱۲	۸۲۸	۹/۰۷۷	۵۹۳/۹	۰/۸۷۶	-۲۳/۴۶۶	۸۷/۰۹۶
F6	۶۴۰	۴۸۰	۹۶۰	۸/۱۳	۳۶۰/۷۳۳	۰/۶۶۷	-۲۲/۵۶۶	۸۳/۲۹۳
F7	۳۲۰	۱۳۲۸/۸	۴۳۱/۲	۱۲/۴۷	۳۵۶/۳۶۶	۰/۹۲	-۱۵/۳۳۳	۷۱/۴۰
F8	۳۲۰	۱۱۷۹/۲	۵۸۰/۸	۱۱/۶۰۱	۳۰۸/۸۶۶	۰/۶۶	-۲۲/۰۳۳	۷۸/۱۳
F9	۳۲۰	۱۰۲۲/۴	۷۳۰/۴	۱۰/۶۹	۳۵۰/۶۶۶	۰/۵۱	-۱۵/۹	۸۱/۴۷

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12]

در همین راستا Witorino و همکاران نشان دادند که میانگین اندازه ذره‌ای با غلظت لیپید در فاز آلی در ارتباط است. براین اساس، محتوای لیپیدی بالا باعث افزایش در میزان ویسکوزیته شده و در نتیجه باعث می‌شود نیروی کافی برای خرد کردن ذرات وجود نداشته و در نتیجه اندازه ذره‌ای افزایش بیابد(۱۲). هم‌چنین Rawia و همکاران در مطالعه‌ای که بر روی نانوذرات لیپیدی جامد ملوکسیکام انجام دادند، نشان دادند که وقتی غلظت چربی از ۵ درصد به ۷/۵ درصد افزایش می‌یابد، اندازه نانوذرات به‌طور موثر افزایش می‌یابد(۱۲). در بخشی دیگر از این مطالعه، تاثیر تغییرات HLBبر اندازه نانوذرات لیپیدی جامد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با کاهش میزانHLB در فرمولاسیون‌های F2-F5، اندازه نانوذرات افزایش می‌یابد. نتایج به دست آمده با شواهد علمی مبنی بر این‌که برای ساخت امولسیون روغن در آب HLB های مابین ۱۶-۸ مناسب است مطابقت دارد(۱۳). هم‌چنین افزایش میزان توئین ۸۰ با کاهش کشش بین سطح بین فاز مایی و لیپیدی منجر به تشکیل قطرات با اندازه کوچک‌تر می‌شود که این امر به‌طور موثری پایداری ذرات را با تشکیل یک سد فضایی بر روی سطح نانوذرات و محافظت آن‌ها از کواگوله شدن افزایش می دهد. به علاوه این افزایش در اندازه می‌تواند به این دلیل مناسب‌تر بودن سورفکتانت توئین ۸۰ جهت کاهش اندازه نانوذرات با حامل پالمیتیک اسید نسبت به اسپان ۶۰ باشد. به‌طوری‌که با افزایش نسبت توئین به اسپان، اندازه کاهش می‌یابد.

Samein نیز در مطالعه‌ای که بر روی تهیه و ارزیابی نانوذرات لیپیدی جامد نیستاتین با استفاده از گلیسریل مونو استئارات، توئین ۸۰ و اسپان ۶۰ برای دارورسانی موضعی با استفاده از طراحی Behnken Box انجام داد نشان داد که با افزایش غلظت اسپان ۶۰، اندازه نانوذرات کاهش می‌یابد(۱۴). نتایج تاثیر تغییرات HLB بر پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی نانوذرات لیپیدی جامد نیز نشان‌دهنده قرار گرفتن پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی در حد قابل قبول است. تنها در F4، کاهش HLB با کاهش پتانسیل زتا همراه بود و در بقیه فرمولاسیون ها، کاهش HLB تاثیری بر کاهش پتانسیل زتا نداشت. در F7 نیز بر خلاف تصور، با وجود HLB بالا، میزان پتانسیل زتا کمی کاهش یافته است. نتایج به دست آمده نشان دهنده میزان بارگیری بالای دارو در نانوذرات لیپیدی جامد نیز بود. Samein در مطالعه‌ای که بر روی تهیه و ارزیابی نانوذرات لیپیدی جامد نیستاتین با استفاده از گلیسریل مونو استئارات، توئین ۸۰ و اسپان ۶۰ برای دارورسانی موضعی با استفاده از طراحی Box Behnken انجام داد نشان داد که با افزایش غلظت اسپان ۶۰ میزان بارگیری دارو در نانوذرات افزایش می یابد(۱۴).

در مطالعه‌ای که کلیدری و همکاران انجام دادند، مشاهده شد که درصد داروی بارگیری شده در فرمولاسیون‌های حاوی اسپان ۶۰، نسبت به فرمولاسیون‌های حاوی اسپان ۸۰، بیش‌ترین درصد داروی بارگیری شده را داشتند. اسپان ۶۰ با داشتن بیش‌ترین دمای فاز انتقال، بیش ترین میزان داروی بارگیری شده را داشت(۳). بررسی میزان داروی آزاد شده در محیط انحلال نیز با نتایج جالبی همراه بود. نتایج نشان داد که اسپیرونولاکتون در فرم SLN نسبت به پودر خالص دارو سریع تر آزاد می‌گردد. پودر اسپیرونولاکتون به فرم کریستال بوده و سایز ذرات درشت است. در حالی که ذرات اسپیرونولاکتون در فرم SLN، به صورت آمورف بوده و بسیار ریزترند. بنابراین به نظر می‌رسد که این امر باعث افزایش سرعت آزادسازی دارو می‌شود. به علاوه Negi و همکاران نشان دادند که اسپیرونولاکتونی که در نانوذرات لیپیدی بارگیری شده بود، آزادسازی بیش‌تری نسبت به قرص‌های اسپیرونولاکتون موجود در بازار نشان دادند. آن‌ها این امر را مربوط به مساحت سطحی بالای نانوذرات اسپیرونولاکتون دانستند(۱۵).

در مطالعه‌ای دیگر که توسط کلیدری و همکارانش انجام شد، بعد از آزادسازی سریع دارو طی نیم ساعت اول، طی ۲۴-۱ ساعت، رهش آهسته و کندتری از دارو

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12]

مشاهده شد. رهش آهسته اسپیرونولاکتون می‌تواند به دلیل نفوذ آهسته محیط انحلال به داخل هسته نانوذرات، آب گریز بودن هسته لیپیدی و انتشارآهسته اسپیرونولاکتون به بیرون هسته باشد(۳). در این مطالعه برای شناسایی تداخلات و پیوندهای احتمالی بین حامل و دارو از طیف‌های FT-IR استفاده شد که در بررسی طیف‌های FT-IR نانوذرات لیپیدی جامد اسپیرونولاکتون، تغییری در عدد موج پیک‌های گروه شاخص اسپیرونولاکتون مانند گروه‌های کربونیل تیو استیل و کربونیل لاکتونی و باند دوگانه و هم‌چنین سورفکتانت‌ها مشاهده نشد. در نتیجه می توان گفت که برهم‌کنش شیمیایی بین دارو و حامل وجود ندارد. هم‌چنین نتایج ترموگرام DSC در تمام بررسی‌ها نشان دهنده بارگیری موثر دارو توسط حامل می‌باشد. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان دهنده میزان بارگیری بالای دارو و سرعت آزادسازی بالاتر در فرم SLN اسپیرونولاکتون است. با توجه به این‌که SLNها دارای چربی‌های غیر سمی و سازگار با بدن می‌باشند، استفاده از این نانوذرات سبب افزایش انحلال‌پذیری اشباع دارو، افزایش فراهمی زیستی خوراکی دارو و آزاد سازی بهتر دارو می گردد. بنابراین برای استفاده در سطح پوست‌های آسیب دیده و ملتهب مناسب می‌باشند(۷) و پیشنهاد می‌شود برای بررسی جذب پوستی فراورده، تست‌های لازم در این زمینه انجام شود.

References

1. Spritzer PM, Lisboa KO, Mattiello S, Lhullier F. Spironolactone as a single agent for long-term therapy of hirsute patients. Clin Endocrinol(Oxf) 2000; 52(5): 587-594.
2. Afzali BM, Yaghoobi E, Yaghoobi R, Bagherani N, Dabbagh MA. Comparison of the efficacy of 5% topical spironolactone gel and placebo in the treatment of mild and moderate acne vulgaris: a randomized controlled trial. J Dermatolog Treat 2012; 23(1): 21-25.
3. Kelidari HR, Akbari J, Saeedi M. Application and Characterization of Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers as Drug Delivery Systems. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 23(98): 387-403 (Persian).
4. Kesisoglou F, Panmai S, Wu Y. Nanosizing--oral formulation development and biopharmaceutical evaluation. Adv Drug Deliv Revi 2007; 30; 59(7): 631-644.
5. McInnes GT, Asbury MJ, Ramsay LE, Shelton JR, Harrison IR. Effect of micronization on the bioavailability and pharmacologic activity of spironolactone. J Clin Pharmacol 1982; 22(8-9): 410-417.
6. State Pharmacopoeia Commission of the PRC(Editor). Pharmacopoeia of the People's Republic of China. China: People's Medical Publishing House; 2005.
7. Dong Y, Ng WK, Shen S, Kim S, Tan RB. Preparation and characterization of spironolactone nanoparticles by antisolvent precipitation. Int J Pharm 2009; 375(1-2): 84-88.
8. Ghadiri M, Fatemi S, Vatanara A, Doroud D, Najafabadi AR, Darabi M, et al. Loading hydrophilic drug in solid lipid media as nanoparticles: Statistical modeling of entrapment efficiency and particle size. Int J Pharm 2012; 424(1): 128-137.
9. Akbari J, Saeedi M, Morteza-Semnani K, Rostamkalaei SS, Asadi M, Asare-Addo K, et al. The design of naproxen solid lipid nanoparticles to target skin layers. Colloids Surf B Biointerfaces 2016; 145: 626-633.
10. Zeng JS, Yin ZL, Chen WY. Trans. Nonferrous Met. Soc China 2015; 17(2007): S1172-S1176.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12]

11. Khalil RM, El-Bary AA, Kassem MA, Ghorab MM, Ahmed MB. Solid lipid nanoparticles for topical delivery of meloxicam: development and in vitro characterization. Europ Sci J (ESJ) 2013; 9(21).
12. Witorini M, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. Adv Drug Deliv Rev 2012; 64(Suppl): 83-101.
13. Olton M. Afrasiabi H, Tafagodi M, Sajadi SA. Design knowledge of Pharmaceutical forms. Mashhad: Ferdowsi University of Mashhad; 2006.
14. Samein LH. Preparation and Evaluation of Nystatin-Loaded Solid-Lipid-Nanoparticles for Topical Delivery. Int J Pharm Sci 2014; 6(2): 592-597.
15. Negi JS, Chattopadhyay P, Sharma AK, Ram V. Development of solid lipid nanoparticles (SLNs) of lopinavir using hot self nano-emulsification (SNE) technique. Eur J Pharm Sci 2013; 48(1-2): 231-239.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-10-12]