

Application and Characterization of Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers as Drug Delivery Systems

Hamid Reza Kelidari¹,
Jafar Akbari²,
Majid Saeedi²

¹ Ph.D. Student in Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 4, 2012 ; Accepted January 22, 2013)

Abstract

Nowadays solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) have been investigated as carrier systems for many applications. SLNs consist of pure solid lipids, while NLCs are made of a solid matrix that entraps liquid lipid nano-compartments. These systems revealed several advantages compared to other colloidal carrier systems. They provide a controlled drug release and an increase in chemical stability of the incorporated drugs. Moreover, they are safe carriers which can be produced easily in a large scale. This paper reviews the commonly used materials, production techniques, characterization, and physical stability of these systems.

Keywords: SLN, NLC, preparation, stability

J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(98): 387-403 (Persian).

کاربرد و خصوصیات نانو ذرات لیپیدی جامد و حامل های لیپیدی نانو ساختار به عنوان سیستم های حامل دارو

حمیدرضا کلیدری^۱جعفر اکبری^۲مجید سعیدی^۲

چکیده

امروزه نانو ذرات لیپیدی جامد و حامل های لیپیدی نانوساختار به عنوان سیستم های حامل برای کاربردهای زیادی مورد تحقیق قرار گرفته اند. SLN ها از چربی های خالص جامد تشکیل شده اند، در حالی که NLC ها از ماتریکس جامدی تشکیل شده اند که ذرات نانو چربی مایع را در خود جای داده اند. این سیستم ها در مقایسه با سایر سیستم های کلوئیدی مزیت های بیشتری را شامل می شود. از جمله می توان به کنترل آزاد سازی دارو و افزایش در پایداری شیمیایی داروهای وارد شده به آنها اشاره نمود. علاوه بر این حامل های ایمنی بوده که می توانند به راحتی در مقیاس بالا تولید شوند. در این مقاله، مروری بر مواد رایج در تولید، روش تولید، ویژگی ها و پایداری فیزیکی این سیستم ها صورت گرفته است.

واژه های کلیدی: نانو ذرات لیپیدی، حامل های لیپیدی نانو ساختار، روش های آماده سازی، پایداری

مقدمه

دارورسانی که به این مشکلات فائق آید ضروری به نظر می رسد. این سیستم های حامل باید غیر سمی بوده، ظرفیت پذیرش مقدار کافی دارو را داشته، و علاوه بر این امکان هدفمند کردن و کنترل آزادسازی دارو در آن ها وجود داشته باشد (۱).

Solid Lipid Nanoparticles (SLN) یا نانو ذرات لیپیدی و Nanostructured Lipid Carriers (NLC) یا حامل های لیپیدی نانو ساختار به عنوان سیستم های حامل برای کاربردهای بسیاری مورد تحقیق قرار گرفته اند. در SLNs حاوی چربی های جامد خالص هستند. در حالی که NLCs از ماتریکس جامدی که بخش های نانو در چربی های مایع در آن بدام افتاده اند، تشکیل شده

امروزه با تهیه نانو ذرات دارو، می توان به ویژگی های بی نظیری دست یافت که این امر منجر به افزایش عملکرد و تنوع در اشکال دارویی آن خواهد شد. فرمولاسیون دقیق این ذرات منجر به پایداری بیشتر آن ها شده و می تواند سرعت در انحلال و رسیدن به سطوح بیولوژیک را افزایش داده که نتیجه آن سرعت بخشی به اثر درمانی و بهبود قابلیت زیستی آن ها خواهد بود. نشان داده شده است که توسعه داروهای جدید نیز به تنهایی در درمان دارویی مؤثر نیست. حلالیت کم برخی از داروها در آب و کم بودن قابلیت زیستی مولکول های دارویی جدید یکی از مشکلات اساسی آن ها می باشد بدین منظور نیاز به توسعه سیستم های

E-mail: msaeedi@mazums.ac.ir

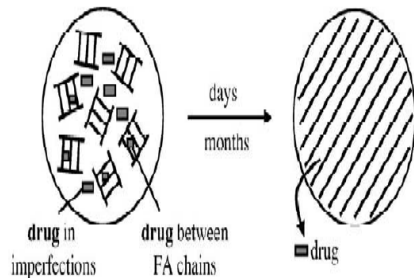
مؤلف مسئول: مجید سعیدی - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

۱. دانشجوی دکتری علوم دارویی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. گروه داروسازی صنعتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۱۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۱/۱۰/۱۰ تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۱۱/۳

می‌باشد (۸). مشکلاتی مانند محدودیت بارگذاری دارو، آزادسازی نامنظم دارو و دفع دارو طی نگهداری در تهیه SLNs، استفاده از آن‌ها را با محدودیت مواجه می‌سازند (۹).



تصویر شماره ۱: مکانیسم دفع دارو در طی ذخیره سازی از SLN: تغییر وضعیت به کریستال لیپیدی منظم

۲. حامل‌های لیپیدی نانو ساختار (NLC)

NLCs به علت توانایی بارگیری بالای دارو و پایداری مناسبشان در مقایسه با SLN ها، در اواخر سال ۱۹۹۰ معرفی گردیدند (۱۰). جهت تولید NLC سه روش پیشنهاد گردیده است:

در روش نخست چربی‌هایی مانند گلیسریدها که از اسیدهای چرب مختلفی تشکیل شده‌اند با هم مخلوط می‌شوند. استفاده از چربی‌های مختلف منجر به فاصله بیشتر بین زنجیره‌های اسید چرب گلیسریدها در کریستال شده و بنابراین فضای بیشتری برای ورود مولکول‌های مهمان ایجاد می‌نمایند. مخلوطی از چربی‌های جامد و مقدار کمی از چربی‌های مایع سبب افزایش توان ورود دارو به داخل ماتریکس خواهد شد. که به آن مدل ناقص NLC می‌گویند.

در روش دوم چنانچه مقدار بالایی از روغن با چربی جامد مخلوط شود انواع مختلفی از نانو ساختار قابل دستیابی به دست خواهد آمد. در این موارد حلالیت مولکول‌های روغن در چربی جامد افزایش یافته که منجر به جدا شدن فازها و شکل‌گیری نانو ساختارهای روغنی درون ماتریکس چربی جامد خواهد شد (۱۱). نشان داده شده است که خیلی از داروها حلالیت بیشتری

است (۲). بسیاری از داروها با کاربردهای گوناگون با موفقیت کامل در NLC و SLN جای داده شده‌اند. این سیستم‌های دارو رسانی باعث آزاد سازی کنترل شده داروها می‌شوند و پایداری شیمیایی داروهای بدام افتاده در خود را افزایش می‌دهند. به علاوه این سیستم‌ها جزء حامل‌های ایمن بوده که می‌توان به راحتی در مقیاس بالا آن‌ها را تولید نمود. علاوه بر روش‌های رایج برای طولانی اثر کردن و کنترل کردن رهش دارو، از SLNها نیز برای این امر استفاده می‌شود (۳-۵).

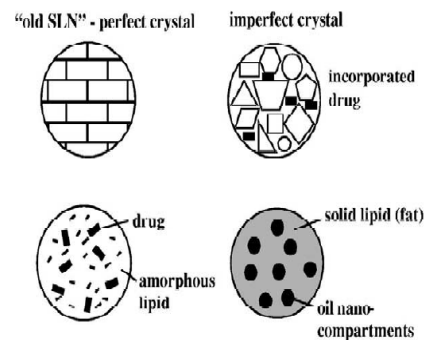
۱. نانو ذرات لیپیدی (SLN)

در اوایل سال ۱۹۹۰ میلادی، SLN به عنوان یک سیستم حامل متفاوت از امولسیون‌ها، لیپوزوم‌ها و نانو ذرات پلیمریک معرفی شد. در ابتدای راه، مطالعات به وسیله سه گروه از محققین به نام‌های مولر، کاسکو و وستسن توسعه یافت. SLN به عنوان یک حامل کننده کلژییدی جهت انتقال داروها با حلالیت محدود شناخته می‌شود (۶). این سیستم‌ها با جایگزینی فاز روغنی امولسیون O/W با یک روغن جامد یا مخلوطی از روغن‌های جامد، یعنی مخلوطی از ذرات ماتریکس لیپیدی که در دمای اتاق و در بدن جامد می‌باشند، تشکیل می‌شوند. SLN از ۱/۸ تا ۳۰ درصد چربی جامد که در فاز مایع پراکنده شده است تشکیل می‌شود و در صورت لزوم از ۵ تا ۵۰ درصد سورفکتانت نیز در تهیه آن استفاده می‌گردد. میانگین ذرات SLN محدوده‌ای بین ۴۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر را در بر می‌گیرد. مطالعات نشان داده که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و پایداری داروهایی که در SLN بارگیری شده‌اند وابسته به خواص داروها و اجزاء به کار رفته در آن می‌باشد (۷). انتخاب مناسب چربی‌ها، سورفکتانت‌ها، ترکیباتشان و مقدار آن‌ها می‌تواند اندازه ذرات، پایداری طولانی مدت طی ذخیره‌سازی، بارگیری دارو و رفتارهای آزادسازی را تحت تأثیر قرار داده و این بدان معنی است که برای هر دارو نیاز به فرمول خاصی برای SLN

نسبت‌های ۷۰ به ۳۰ تا ۹۹/۱ به ۰/۱ با چربی‌های مایع اختلاط می‌یابند. به خاطر حضور روغن در این ماتریکس‌ها، نقطه ذوب این ترکیبات نسبت به چربی‌های جامد خالص پایین‌تر می‌باشد. گرچه مخلوط حاصله در دمای اتاق و دمای بدن جامد خواهد بود محتوای جامد NLC می‌تواند تا بالای ۹۵ درصد افزایش یابد (۱۴). تری پالمیتین، تری گلیسریدی است که عموماً به عنوان چربی جامد در SLN ها و NLC ها جهت تسهیل امولسیفیکاسیون و تشکیل نانو ذرات جامد به کار می‌رود. به جهت سازگاری و پایداری آن فسفولیپیدهایی را که بشکل طبیعی از آن مشتق شده‌اند را به عنوان امولسیفایرهای اصلی در تهیه امولسیون‌های تزریقی به کار می‌برند (۱۵). گلو سیر (Gelucire) یک چربی افزودنی چند منظوره متشکل از مونو، دی و تری گلیسریدها و مونو، دی استرهای اسید چرب پلی اتیلن گلایکول می‌باشد (۱۶). گلو سیر یکی از چربی‌های افزودنی است که از اختلاط استرهای اسید چرب پلی اتیلن گلایکول و گلیسریدها به دست می‌آید. وجود ترکیب خاصی که با سورفکتانت‌ها، کمک سورفکتانت‌ها و فاز چربی برای تولید آن صورت گرفته است به عنوان امولسیفایر، افزایش دهنده حلالیت دارو و تشکیل گرانول مورد توجه قرار گرفته است. ورود آن‌ها به نانو ساختارهای چربی ممکن است در افزایش بارگیری دارو در اجزاء آبدوست مفید باشد (۱۷). از گلو سیر به عنوان سورفکتانت، کمک سورفکتانت و ماتریکس‌های لیپیدی در سیستم‌های دارورسانی می‌توان استفاده نمود (۱۸). ویتامین E (توکوفرول) به تازگی به عنوان عاملی برای انتقال داروها مطرح شده است (۱۹). در این مطالعات که روغن‌های سبزیجات به عنوان فاز داخلی و فسفولیپیدها به عنوان امولسیفایر در نانو ذرات چربی مورد استفاده قرار گرفته اند، ویتامین E به عنوان روغن مایع برای توسعه NLC ها مورد استفاده قرار گرفته است. مینگ و همکاران نشان دادند که با افزایش مقدار ویتامین E اندازه ذرات کاهش می‌یابد (۲۰).

در روغن‌ها نسبت به چربی‌های جامد دارند که این امر به حل شدن آن‌ها در روغن و جلوگیری از دفع آن توسط چربی‌های جامد اطراف آن کمک خواهد نمود. این مدل NLC چندگانه نام دارد و بسیار شبیه به امولسیون‌های w/o/w می‌باشد، چراکه در این جا هم پراکندگی روغن در جامد و هم چربی در آب رخ داده است. اضافه کردن چربی‌های مایع منجر به شکل‌گیری جمعیتی از ذرات کوچک خواهد شد که این امر به پویایی ماتریکس کمک خواهد نمود (۱۲، ۱۳).

در روش سوم که به نوع بی شکل SLN معروف است و در آن نیز از ذرات جامد استفاده می‌شود اما با اختلاط چربی‌های خاص (مانند هیدروکسی اکتا کوزانیل هیدروکسی استئارات و ایزوپروپیل مرستات) از ایجاد کریستال‌هایی که در اثر سرد شدن ایجاد می‌گردد جلوگیری می‌شود (۱۲).



تصویر شماره ۲: سه نوع NLC در مقایسه با ماتریکس منظم SLN (بالا سمت چپ)، انواع NLC: نوع ناقص (بالا سمت راست)، نوع بی نظم (پایین سمت چپ)، نوع چندگانه (پایین سمت راست)

۳. مواد رایج مورد استفاده در تولید SLN و NLC:

محدوده وسیعی از چربی‌ها شامل اسیدهای چرب، مونو- دی یا تری گلیسریدها، مخلوط‌های گلیسریدی یا موم‌ها می‌توانند در تهیه SLN ها به کار روند. چربی‌های جامدی که در تولید NLC ها به کار می‌روند عبارتند از: تری پالمیتین، گلیسریل بیهنات (کامپریتول)، گلیسریل دی استئارات (پرسیرول) و ستیل پالمیتات. جهت تهیه ماتریکس ذرات، چربی‌های جامد به

جدول شماره ۱: نمونه‌هایی از مواد چرب و امولسیون کننده‌های مورد استفاده در تهیه نانو ذرات لیپیدی جامد (۲۱)

لیپید	چربیهای سخت	امولسیون کننده
Lipids Literature	Witepsol® W 35	Soybean lecithin (Lipoid® S 75, Lipoid® S 100)
Triglycerides	Witepsol® H 35	Egg lecithin (Lipoid® E 80)
Tricaprin	Witepsol® H 42	Phosphatidylcholine (Epikuron® 170, Epikuron 200)
Trilaurin	Witepsol® E 85	Poloxamer 188
Trimyristin	Glyceryl monostearate (Imwitor® 900)	Poloxamer 182
Tripalmitin	Glyceryl behenate (Compritol® 888 ATO)	Poloxamer 407
Tristearin	Glyceryl palmitostearate (Precirol® ATO 5)	Poloxamine 908
Hydrogenated coco-glycerides	Cetyl palmitate	Tyloxapol
	Stearic acid	Polysorbate 20
	Palmitic acid	Polysorbate 60
	Decanoic acid	Polysorbate 80
	Behenic acid	Sodium cholate
	Acidan N12	Sodium glycocholate
		Taurocholic acid sodium salt
		Taurodeoxycholic acid sodium salt
		Butanol
		Butyric acid
		Diocetyl sodium sulfosuccinate
		Monoocetylphosphoric acid sodium

۴. روش‌های آماده سازی SLN و NLC

روش‌های بسیاری جهت آماده سازی نانو ذرات چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از جمله این روش‌ها، می‌توان به یکنواخت سازی با فشار بالا (High Pressure Homogenization) (۲۲)، روش میکروامولسیون (Microemulsion Technique) (۲۳)، روش امولسیون کننده‌گی - دیفوزیون حلال (Emulsification-Solvent Diffusion) (۲۴)، روش تزریق یا جایگزینی حلال (Solvent Injection or Solvent Displacement) (۲۵)، روش امولسیون مرکب (Multiple Emulsion Technique) (۲۶)، وارونگی فاز (Phase Inversion) (۲۷)، اولتراسونیکاسیون (Ultrasonication) (۱۱) و تکنیک تهیه با واسطه غشاء (Membrane Contractor Technique) (۲۸)، اشاره نمود.

پیش از آماده سازی فرمولاسیون NLC بایستی مطالعه‌ای دقیق جهت انتخاب فاز لیپیدی مناسب که توان بارگیری مواد را داخل خود داشته باشد انجام گیرد.

بدین منظور مقدار زیادی از مواد افزودنی را در چربی‌های جامد ذوب شده مختلف حل می‌کنند و حداکثر مقدار موادی که در هر چربی می‌تواند حل شود را تعیین می‌نمایند. بعد از انحلال، مخلوط چربی و ماده درون آن در دمای اتاق جهت منجمد شدن سرد می‌شوند. این مخلوط منجمد (اگر این مواد در دمای اتاق جامد باشند) جهت حضور یا عدم حضور کریستال‌های مواد بارگیری شده مورد بررسی قرار می‌گیرند. اگر مواد وارد شده به SLN روغن باشد، قابلیت اختلاط دو ماده بدون از دست دادن خواص آن (Miscibility) (چربی ذوب شده و روغن) مورد بررسی قرار می‌گیرد. بعد از سرد شدن مخلوط در دمای اتاق دوباره چربی جامد می‌شود و تداخل روغن در ماتریکس چرب جامد مورد بررسی قرار می‌گیرد. جهت بررسی مقداری از ماتریکس چرب را بر روی فیلتر کاغذی قرار داده و باقی ماندن یا عدم باقی ماندن لکه روغنی بر روی فیلتر بررسی می‌گردد. آنالیز کالریمتریک محلول جامد به دست آمده جهت بررسی حضور یا عدم حضور کریستال‌های مواد اضافه شده توسط Differential Scanning Calorimeter (DSC) می‌تواند انجام گیرد (۲۹).

۴-۱. روش یکنواخت سازی با فشار بالا

هموژنیزاسیون با فشار بالا با توجه به دارا بودن مزیت‌هایی مانند عدم استفاده از حلال‌های آلی، زمان کمتر جهت تولید و توان تولید در مقیاس بزرگ نسبت به سایر روش‌ها، از کارآیی بیشتری برخوردار می‌باشد. از این روش به‌طور وسیعی در صنایعی مانند صنایع غذایی (مانند شیر) و صنعت داروسازی استفاده می‌شود. هموژنیزاسیون پایداری محصول را افزایش داده، نیاز به مواد افزودنی را کم کرده و انعطاف در بارگذاری برخی داروها را بهبود می‌بخشد (۳۰). هموژنیزاسیون با فشار بالا، از ۱۹۵۰ برای تولید امولسیون‌های تزریقی مورد استفاده قرار گرفته است. اولین گزارش در رابطه با استفاده از این روش جهت تولید نانو ذرات چربی در مقیاس بالا

به حدود سال ۲۰۰۰ بر می گردد (۳۱). تولید نانوذرات چربی به ۲ روش هموژنیزاسیون سرد و هموژنیزاسیون گرم انجام می گیرد. در هر دو روش دارو در چربی ذوب شده در دمای حدود ۵ تا ۱۰ درجه سانتی گراد بالاتر از نقطه ذوب آن حل یا با آن اختلاط می یابد (۱).

۴-۱-۱. روش یکنواخت سازی در دمای بالا

در این روش دارو در چربی ذوب شده حل می شود، سپس درون فاز آبی داغ حاوی سورفکتانت پراکنده (امولسیون) می گردد. پراکنده کردن توسط یک همزن با سرعت بالا انجام می گیرد (مانند اولترا توراکس). ابتدا امولسیون اولیه دارای ذرات درشت تر تشکیل می شود و سپس توسط هموژنیزاسیون با فشار بالا، عمل هموژنیزه کردن با فشاری در محدوده ۱۰۰ تا ۱۵۰۰ بار انجام می گیرد. سرد کردن نانو امولسیون O/W به دست آمده در دمای اتاق یا پائین تر منجر به تبلور چربی و شکل گیری نانو ذرات لیپیدی می گردد. از این روش می توان برای داروهای چربی دوست و داروهای نامحلول استفاده نمود اما برای داروهای آب دوست مناسب نمی باشد. طی هموژنیزاسیون، جزء آب دوست دارو به فاز آبی تمایل می یابد و در نتیجه بازدهی به دام انداختن دارو کاهش می یابد. افزون بر آن، هموژنیزاسیون می تواند در دمایی به مقدار جزئی کمتر از نقطه ذوب چربی (به عنوان نمونه دمایی پایین تر از ۵ تا ۱۰ درجه سانتی گراد) انجام گیرد که به نظر می رسد منجر به نرم شدن چربی طی روند یک نواخت سازی برای داروهای آب دوست خواهد شد. دمای هموژنیزاسیون بایستی به دقت انتخاب گردد، زیرا ممکن است داروهای آب دوست در فاز آبی از دست بروند (۳۲).

۴-۱-۲. روش یکنواخت سازی در دمای پایین

این روش برای داروهای آب دوست بسیار سودمند است. بر اساس این روش، دارو به داخل چربی ذوب شده وارد می شود و چنانچه حلالیت داروی آب دوست

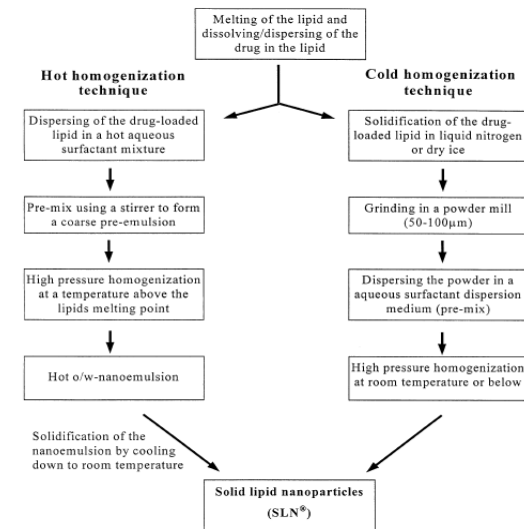
در چربی بسیار پایین باشد، می توان از سورفکتانت برای حل شدن دارو استفاده نمود. چربی ذوب شده حاوی دارو در نیتروژن مایع یا یخ خشک، برای افزایش شکنندگی چربی و سادگی در فرآیند آسیاب، قرار داده می شود. پس از آسیاب کردن (به عنوان نمونه با استفاده از هاون) میکروذراتی به دست می آیند (تقریباً ۵۰ تا ۱۰۰ میکرومتر) که درون محلول سورفکتانت آبی سرد پراکنده شده اند و این سوسپانسیون لیپیدی در دمای اتاق یا پایینتر هموژنیزه می شود (صفر درجه سانتی گراد). بسیاری از داروهای را که به گرما حساس هستند را می توان به وسیله این روش به داخل نانو ذرات لیپیدی وارد نمود، زیرا قرار گرفتن دارو در معرض گرما نسبتاً کوتاه می باشد. اغلب نانو ذرات تولید شده به وسیله هموژنیزاسیون داغ اندازه ذره ای زیر ۵۰۰ نانومتر داشته و محتوای میکرو ذرات آن کم می باشد. در مقابل، ذرات با سایز درشت تر با توزیع اندازه ذره ای بیشتر در SLNهایی دیده می شود که به وسیله هموژنیزاسیون سرد در مقایسه با هموژنیزاسیون گرم به دست می آیند (۳۳). همچنین، توزیع اندازه ذره ای پایین، تولید پایین میکروذرات، میزان پراکنندگی بالای ذرات لیپیدی، عدم استفاده از حلال های آلی از خصوصیات هموژنیزاسیون داغ می باشد. قابل قبول بودن تجهیزات هموژنیزاسیون توسط مؤسسات استاندارد (Uthorities Aregulatory) (حتی برای فرآورده های تزریقی)، امکان سنجش و ارزیابی و دسترسی به خط تولید هموژنیزاسیون در صنعت، از مزیت های تکنیک های هموژنیزاسیون با فشار بالا (گرم و سرد) نسبت به سایر روش ها می باشد. بسته به مقیاس تولید هموژنیزاسیون امکان تولید محدوده وسیعی از محصولات وجود دارد. افزایش درجه حرارت معمولاً ویسکوزیته چربی و فاز مایع را کاهش داده و بازده هموژنیزاسیون را افزایش می دهد. به عبارت دیگر

روش وجود محتوای بالای آب، مشکل خروج آب اضافی، و استفاده از سورفکتانت و کمک سورفکتانت در غلظت بالا می باشد (۳۵).

۴-۳. تبخیر یا انتشار حلال امولسیون شده

در روش تبخیر حلال بوسیله ته نشینی در امولسیون های O/W، چربی که در حلال آلی حل شده، در حمام آب زیر همزن، در فاز آبی حاوی سورفکتانت امولسیون می شود. عمل همزدن امولسیون روغن در آب ایجاد شده، تا تبخیر حلال تحت شرایط معین، ادامه می یابد. فرآیند تبخیر حلال می تواند تحت فشار پایین (خلأ) انجام شود. به محض تبخیر حلال، پراکندگی نانو ذرات لیپیدی به وسیله ته نشینی مواد لیپیدی در محیط آبی شکل می گیرد (۳۶). بسته به چربی جامد و سورفکتانت به کار رفته، ذرات ۳۰ تا ۱۰۰ نانومتر را می توان به دست آورد. اندازه ذره ای حدود ۳۰ نانومتر را می توان برای نانو ذرات کولستریل استات پایدار شده با مخلوطی از فسفاتیدیل کولین و سدیم گلیکوکولات به دست آورد. دوری از گرما طی روند آماده سازی، یکی از مزیت های مهم این روش می باشد. به علت عدم حل شدن کامل در فاز آلی در دمای اتاق، چربی در حمام آب در فاز آلی حل می شود. اضافه کردن آب به محلول آلی حاصله توسط همزن مکانیکی سبب شکل گیری نانو ذرات لیپیدی می شود. نانو ذرات لیپیدی پراکنده بدست آمده سپس به وسیله سانتریفیوژ، تبخیر حلال تحت خلأ یا به وسیله فیلتراسیون جدا می شوند. از مدل تزریقی نیز می توان برای تولید نانو ذرات لیپیدی استفاده نمود. پس از این که چربی در حلال قابل اختلاط با آب حل شد و به آن گرما داده شد تا دمای آن به نقطه ذوب خود برسد، به سرعت به وسیله یک سرنگ به فاز رقیق، همراه یا بدون سورفکتانت، روی همزن تزریق می شود. حاصل این پراکندگی بعداً از درون فیلتر کاغذی جهت خروج چربی های اضافی عبور داده می شود. نسبت حجمی امولسیون O/W به آب به منظور

افزایش درجه حرارت هموژنیزاسیون باعث کاهش اندازه ذره ای خواهد شد (۳۴).



تصویر شماره ۳: مقایسه شمای تولید SLN به دو روش حرارت بالا و پایین (۳۲)

۴-۲. میکرو امولسیون های روغن در آب (o/w)

در این روش که توسط کاسکو معرفی و توسعه یافت، نانو ذرات لیپیدی بوسیله پراکنده نمودن میکرو امولسیون گرم O/W در یک محیط آبی سرد زیر یک همزن مکانیکی تشکیل می شوند. چربی در دمای تعیین شده ذوب می شود و فاز آبی که شامل سورفکتانت یا سورفکتانت های کمکی می باشد تا دمای مشابه گرم شده و زیر همزن به چربی ذوب شده اضافه می گردد. این میکرو امولسیون گرم، سپس زیر همزن در آب سرد (۲ تا ۳ درجه سانتی گراد) پراکنده می شود که نتیجه آن ته نشینی ذرات با سایز کوچک می باشد. شاخصه نسبت حجمی میکرو امولسیون داغ به آب سرد در محدوده ۱ به ۲۵ تا ۱ به ۵۰ می باشد. تولید نانو ذرات لیپیدی از طریق میکرو امولسیون ها، به سرعت ایجاد قطرات چربی بسیار ریز و شکسته شدن میکرو امولسیون وابسته است. اسیدهای چرب دارای نقطه ذوب پایین (۵۰ تا ۷۰ درجه سانتی گراد) مانند اسید استئاریک، به اندازه لیپیدهای جامد برای این تکنیک مناسب می باشند. از معایب این

شکل دهی نانو ذرات لیپیدی در محدوده ۱ به ۵ تا ۱۰ قرار دارد (۲۵). در روش‌های انتشاری یا حلال‌های امولسیون-تبخیری، غلظت ذرات (بالای ۱۵ درصد) سوسپانسیون‌های نسبتاً رقیق به دست آمده که ناشی از محدودیت انحلال چربی‌ها در حلال‌های آلی به کار رفته می‌باشد، کمتر از میزانی است که توسط یکنواخت نمودن با فشار بالا، به دست می‌آید. پراکندگی ذرات با محتوای چربی بالای تقریباً ۸۰ درصد را می‌توان به وسیله هموژنیزاسیون با فشار بالا به دست آورد. از معایب این روش باقی ماندن حلال‌های آلی مورد استفاده در مسیر تولید در محصولات نهایی و سمیت احتمالی ناشی از آن‌ها را می‌توان نام برد (۲۴).

۴-۴. امولسیون مختلط w/o/w

این روش بر مبنای حلالیت دارو که در داخل فاز داخلی امولسیون مختلط w/o/w به دام افتاده است، می‌باشد. از پایدار کننده نیز جهت جلوگیری از ورود دارو به فاز خارجی در طی تبخیر حلال استفاده می‌شود. محلول آبی حاوی دارو به همراه پایدار کننده با استفاده از همزن با سرعت زیاد و در دمای بالا، امولسیون می‌شود. سپس نانو امولسیون w/o گرم در فاز آبی حاوی پایدار کننده به عنوان فاز خارجی امولسیون w/o/w در دمای ۲ تا ۳ درجه سانتی گراد در زیر همزن مکانیکی تا رسیدن به نانو ذرات لیپیدی پراکنده می‌شود. نانو ذرات لیپیدی سپس بوسیله دیافیلتراسیون خالص سازی می‌گردد (۳۷).

۴-۵. هموژنیزاسیون با عملکرد بالا (High shear homogenization) و/یا اولتراسونیک

کردن

هموژنیزاسیون با عملکرد بالا و روش اولتراسونیک دو تکنیک مجزا هستند که در آن‌ها از حلال‌های آلی، مقدار زیاد مواد افزودنی و سورفکتانت‌ها استفاده نمی‌شود. این تکنیک‌ها آسان بوده و نیازمند ابزاری

هستند که در اغلب آزمایشگاه‌ها یافت می‌شود. در این روش، چربی ذوب شده به فاز آبی حاوی سورفکتانت، تحت هموژنیزاسیون با عملکرد بالا یا اولتراسونیک افزوده یا پراکنده می‌شود. سپس امولسیون در دمای اتاق سرد می‌شود (۳۸). پایین بودن کیفیت پراکنده شدن عیب این روش‌ها می‌باشد. کیفیت پراکنش این نانوذرات لیپیدی که به وسیله این روش‌ها تولید می‌شود اغلب تحت تأثیر حضور میکروذرات قرار می‌گیرد که منجر به ناپایداری فیزیکی طی زمان نگهداری می‌گردد. در این روش، غلظت چربی پایین (کمتر از ۱ درصد) و غلظت سورفکتانت به طور نسبی بالا می‌باشد. آلودگی فلزی مشکل دیگری است که در استفاده از اولتراسونیک به وجود می‌آید (۲۲).

۵-۵. پایداری فیزیکی

۵-۱. اندازه ذره

تعیین اندازه ذرات، بهترین شناساگر ناپایداری می‌باشد و در ارزیابی محصولات مورد استفاده قرار می‌گیرد. میانگین اندازه ذره و توزیع آن اغلب یکی از مهم‌ترین پارامترهای مرتبط با کیفیت است که سایر خواص ماکروسکوپی مواد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سیستم‌هایی که به خوبی طراحی شده می‌بایست توزیع اندازه ذره‌ای باریکی را در زیر محدوده سایز میکرونی مثل لیپوزوم‌ها، اجسام کروی نانو (nanospheres) و نانو ذرات، مطابق با تعریف نانو ذرات کولوئیدی، که دارای اندازه زیر ۱ میکرومتر می‌باشد، نشان دهند (۳۹). ذرات بزرگ‌تر از ۱ میکرومتر و افزایش در تعدادشان طی زمان می‌تواند ناپایداری فیزیکی آن‌ها را نشان دهد. اندازه ذره‌ای نانوذرات لیپیدی به وسیله پارامترهای مختلفی مانند ترکیب فرمولاسیون (مانند نسبت سورفکتانت/مخلوط سورفکتانت، میزان اختلاط دارو و چربی)، روش‌های تولید و شرایط محیط (مانند زمان، حرارت، فشار، تعدادسیکل، تجهیزات، استریلیزاسیون و لیوفیلیزاسیون) تحت تأثیر قرار می‌گیرد. این پارامترها

دو مورد منجر به فراوانی برخورد ذرات می شود. شرایطی که طی فرایند لیوفلیزاسیون منجر به خروج آب می گردد، ممکن است باعث ایجاد تجمع بین نانو ذرات شود. مقدار کافی از اغلب ضد یخ های مناسب می تواند از SLN در طی فریز درآیننگ محافظت نماید (۳۶). استریلیزاسیون نانو ذرات برای کاربردهای تزریقی مناسب می باشد و اتوکلاو برای فرمولاسیون هایی که دارای داروهای مقاوم به دما می باشد کاربرد می باشد. مقدار داروی وارد شده نیز مهم می باشد. غلظت بالای دارو باعث افزایش اندازه نانو ذرات چربی می شود در حالی که غلظت پایین دارو تا ۱ درصد، مطابق با اندازه گیری های PCS و LD منجر به تغییر در اندازه ذرات نخواهد شد. کوچک ترین اندازه ذره ای برای نانو ذرات لیپیدی وقتی مشاهده می شود که مقدار چربی کم باشد (در نهایت ۵ درصد) همچنین با افزایش محتوای چربی بازدهی هموزنیاسیون به علت افزایش ویسکوزیته فاز پراکنده کاهش می یابد. در انتخاب چربی می بایست سرعت کریستاله شدن چربی، میزان آب دوستی آن (که بر روی امولسیون خودبخودی مؤثر می باشد) و شکل کریستال های چربی (و بنابراین سطح آن ها) مد نظر قرار گیرد. اندازه ذره ای وابستگی زیادی به ترکیب امولسیفایر دارد و با افزایش در مقدار سورفکتانت اندازه ذره ای کاهش می یابد، که این کاهش اندازه ذره ای تا ۲-۳ درصد وزنی / وزنی ادامه داشته و سپس دوباره افزایش می یابد. استفاده از مخلوطی از سورفکتانت در مقایسه با یک سورفکتانت از کارایی بیشتری برخوردار است. استفاده از سورفکتانت غیر یونی نیز در مقایسه با سورفکتانت یونی اندازه ذره ای را بیشتر کاهش می دهد. چربی ها بیشتر تمایل دارند به حالت تخت کریستاله شوند که این شکل بیشتر در نانو ذرات لیپیدی مشاهده می شود و ذرات دوار بیشتر در نانو امولسیون ها مشاهده می گردد. شکل تخت نسبت به شکل گرد دارای سطح بیشتری است که برای پایداری به میزان بیشتری سورفکتانت نیاز دارد. مایعات حاوی نانو ذرات لیپیدی

برای دستیابی به محصولی با کیفیت به وسیله ارزیابی داده های بدست آمده از اندازه گیری های اندازه ذره ای مورد بررسی قرار می گیرد. غلظت سورفکتانت / مخلوط سورفکتانت، به شکل بارزی بر روی اندازه ذرات نانو ذرات لیپیدی تأثیر دارد. در کل، کوچک ترین اندازه ذرات زمانی مشاهده می شود که نسبت بالای سورفکتانت به چربی انتخاب شود (۴۰). کاهش غلظت های سورفکتانت باعث افزایش اندازه ذرات در طی نگهداری می شود (۴۱). ذرات بزرگ تر در فرایندهای حرارتی پایین تر به دست می آید. هموزنیاسیون داغ در مقایسه با هموزنیاسیون سرد اندازه ذره ای کوچک تر، اغلب کمتر از ۵۰۰ نانومتر و یک توزیع اندازه ذره ای مناسب تر را ایجاد می نماید. علاوه بر آن، هنگامی که که هموزنیاسیون در زیر نقطه ذوب چربی جهت دستیابی به یک چربی نرم طی فرآیند هموزنیاسیون با داروهای آب دوست انجام می گیرد، چربی نرم شده به راحتی می تواند پراکنده شود که این امر منجر به یک نواختی بیشتر محصول از لحاظ اندازه ذرات کوچک در مقایسه با هموزنیاسیون سرد می شود. شرایط هموزنیاسیون اثرات بحرانی بر توزیع اندازه ذره ای دارد. کارایی هموزنیاسیون با فشار بالا افزایش می یابد. براساس گزارشات، میانگین اندازه ذره ای همانند شاخص های پراکندگی (PI) (polydispersity index values)، با افزایش فشار هموزنیاسیون بالای ۱۵۰۰ بار و تعداد دور (۳ تا ۷ دور)، کاهش می یابد. توزیع اندازه ذره ای مورد نیاز و میانگین اندازه ذره به وسیله ترکیبی از فشار هموزنیاسیون و تعداد دورهای هموزنیاسیون حاصل می گردد (۳۸).

براساس گزارشات، کاهش دمای فرآیند منجر به افزایش در اندازه ذره می شود که این امر منجر به افزایش ویسکوزیته چربی ذوب شده می گردد. اسپری درآیننگ و لیوفلیزاسیون برای دستیابی به پایداری طولانی مدت محصولاتی که حاوی داروهای قابل هیدرولیز شدن هستند یا محصولات مناسب برای مصارف تزریقی مورد نیاز می باشند افزایش انرژی جنبشی در هر

حالی که دارو در محل‌های دیگر نیز به هنگام تهیه قرار می‌گیرد که این مسئله به هنگام بیان نتایج یک مطالعه بایستی حتماً شرح داده شود. مشکل ژلاسیون باعث افزایش اندازه ذره‌ای و دفع دارو از حامل‌های لیپیدی مشکل اصلی در پایداری آن‌ها می‌باشد. همبستگی بالایی بین تغییرات چربی، ژلاسیون، تجمع ذرات و دفع دارو وجود دارد (۲۱).

۲-۵. بار الکتریکی ذرات و پتانسیل زتا

اندازه‌گیری پتانسیل زتا، پیش‌بینی پایداری پراکندگی کولوئیدها در شرایط نگهداری را امکان‌پذیر می‌سازد. به عبارتی دیگر، تجمع ذرات هنگامی که پتانسیل زتا یا بار الکتریکی ذرات بالاست، کمتر رخ خواهد داد. مطابق با گزارشات کاهش در پتانسیل زتا با کاهش پایداری فیزیکی مرتبط است. پتانسیل زتا بالاتر از منفی ۶۰ میلی‌ولت برای پایداری عالی و کمی بالاتر از منفی ۳۰ میلی‌ولت برای پایداری الکترواستاتیک خوب می‌باشد که منجر به پایداری فیزیکی خواهد شد. گرچه این قاعده برای سیستم‌هایی که حاوی پایدارکننده هستند صدق نخواهد کرد چراکه پایدارکننده‌ها با شیف‌ت به سمت صفحه برشی ذرات پتانسیل زتا را کاهش می‌دهند. بر طبق گزارشات پتانسیل زتا SLN بعد از اتوکلاو به‌خصوص در رابطه با نانوذرات متشکل از اسیدهای چرب کاهش می‌یابد (۳۲).

۳-۵. بلورسازی

ویژگی‌های درجه کریستالیزاسیون چربی نیز از جمله مواردی می‌باشند که باید مورد توجه ویژه قرار گیرند، زیرا در تعیین کیفیت محصول بسیار مؤثر می‌باشند. پراکندگی امولسیفه شده می‌بایست تا زیر درجه حرارت بحرانی کریستاله شدن چربی، جهت تبلور نانو ذرات در طی روند تولید خنک شود. چنانچه به این درجه حرارت بحرانی نرسد، ذرات در حالت مایع باقی خواهند ماند و قطرات مایعی که مطلوب روند تولید نمی‌باشد، به‌دست خواهد آمد. تغییر وضعیت

جامد بایستی طی ۱۲ تا ۳۶ ماه پایداری از خود نشان دهند. استفاده از ضد یخ به منظور کاهش تجمع نانو ذرات و پراکندگی مجدد بهتر نانو ذراتی که به صورت جامد درآمده‌اند (در اثر لیوفلیزاسیون) می‌تواند مفید باشد. سوربیتول، مانوز، تری‌هالوز گلوکز و پلی‌وینیل پیرولیدون به عنوان مواد محافظ مورد استفاده قرار می‌گیرند. بازدهی محافظتی محافظ‌ها به ترتیب عبارتند از: تری‌هالوز - ساکاروز - گلوکز و مالتوز. زمان اضافه کردن محافظ در کیفیت فرمولاسیون نیز مؤثر می‌باشد. بهترین نتیجه زمانی حاصل می‌شود که محافظ قبل از هموژنیزاسیون به نمونه اضافه شود. تری‌هالوز نسبت به سایر موارد در جلوگیری از تجمع ذرات در طی لیوفلیزاسیون و ایجاد ذرات ریزتر پس از ایجاد دوباره مؤثر تر واقع می‌شود، و مقدار پیشنهادی آن ۲ درصد می‌باشد. در طی تهیه نانو ذرات ممکن است حالت ژله‌ای شدن یعنی خروج نانو ذرات از بستر خود به علت عدم پوشش سطحی سورفکتانت رخ دهد که با استفاده از کمک سورفکتانت‌ها مثل گلیکوکولات قابل رفع می‌باشد. دمای بالا، در معرض نور قرار گرفتن و استرس مکانیکی ژلاسیون را در نانو ذرات تشویق می‌کند. نگهداری از ذرات در نور کم و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد از رشد ذرات جلوگیری می‌کند و چنانچه بر روی فرآورده به جای هوا نیتروژن باشد پایداری تر خواهد بود. مقدار بالای چربی و قدرت یونی بالا نیز ژلاسیون را تشویق می‌کند. پتانسیل زتا یک فاکتور اصلی در پیشگویی پدیده ژلاسیون می‌باشد. نمونه پایدار نمونه‌ای است که پتانسیل زتا آن در حدود منفی ۲۵ میلی‌ولت باشد. پتانسیل زتا منفی ۱۵ میلی‌ولت، شروع پدیده ژلاسیون را نشان می‌دهد. تبلور سریع چربی فرایند ژلاسیون را افزایش می‌دهد. بارگذاری دارو ممکن است باعث تغییر در خصوصیات نانو ذرات لیپیدی (توزیع اندازه ذره‌ای، پتانسیل زتا و تغییر و تحول چربی) شود. در بیشتر مطالعات بارگذاری دارو فقط در داخل ماتریکس چربی مد نظر قرار گرفته است در

در رابطه با مدل محلول جامد، دارو بصورت مولکولی هنگامی که ذرات به وسیله تکنیک هموزنیزاسیون سرد تولید می شود و هیچ گونه سورفکتانتی در آن استفاده نشده باشد در ماتریکس لیپیدی پراکنده می شود. دارو قویاً با چربی تداخل می یابد که این امر توسط رفتارهای ذوب ماتریکس لیپیدی قابل تعیین می باشد. با استفاده از ذرات لیپیدی جامد آزادسازی طولانی مدت دارو به مدت چند هفته قابل دستیابی خواهد بود. بر اساس نحوه ورود دارو به غشاء، دارو از فاز روغن مایع به فاز آبی در طی هموزنیزاسیون داغ انتقال می یابد. انتقال به داخل فاز خارجی به وسیله حالت مایع ذرات تسهیل می شود. مقدار داروی منتقل شده با حلالیت دارو در فاز آبی و با افزایش درجه حرارت افزایش می یابد. اشباع حلالیت دارو در فاز آبی در دمای بالا بیشتر خواهد بود. در طی خنک شدن نانو امولسیون O/W تولیدی حلالیت دارو در فاز آبی به طور پیوسته با کاهش دما، کاهش می یابد و ورود دوباره دارو به داخل فاز چربی رخ می دهد. هنگامی که به دمای تبلور دوباره چربی می رسد هسته چربی جامد شکل می گیرد. کاهش درجه حرارت پراکنندگی باعث فشار بیشتر بر روی دارو برای ورود بیشتر به داخل فاز چربی بخاطر کاهش حلالیت آن در آب می گردد (۱۰).

۷. بارگیری دارو و رهش کنترل شده آن

بارگیری دارو تأثیر بسزایی بر ویژگی های SLN (مانند توزیع اندازه ذره ای، پتانسیل زتا، تغییرات چربی و ...) دارد. جایگاه بارگیری دارو در این نانو ذرات بر رهش دارو و عملکرد این ذرات مؤثر می باشد. در بسیاری از نانوذرات تهیه شده به صورت SLN معمولاً یک رهش ابتدایی سریع مشاهده می گردد، و نکته جالب آن که تغییر فاکتورهای دخیل بر روند تولید، تأثیر مستقیمی بر آزادسازی دارد (۱). از جمله مهم ترین عوامل مؤثر بر رهش دارو می توان به موارد زیر اشاره نمود:

- رابطه معکوسی بین سرعت آزادسازی دارو و

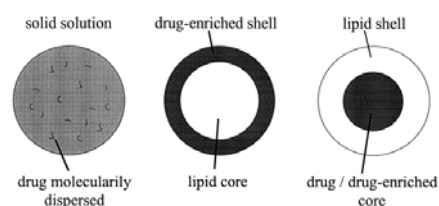
پلی مورفیک طی شکل گیری نانو ذرات جامد مهم می باشد. روش تولید، حضور سورفکتانت، نقطه ذوب چربی، غلظت چربی و اندازه ذرات از عواملی هستند که می توانند بر روی رفتارهای بلورسازی تأثیر گذار باشند. روش هموزنیزاسیون بر روی موقعیت پلی مورفیک سیستم نیز تأثیر گذار است. هنگامی که از هموزنیزاسیون سرد استفاده می شود چربی ذوب شده در نیتروژن مایع منجمد می گردد و در دمای اتاق یا پایین تر هموزنیزاسیون انجام می گیرد و در این زمان چربی حتماً در حالت جامد می باشد. نوع سورفکتانت/مخلوط سورفکتانت برای کینتیک پلی مورفیک چربی ها و درجه حرارت بلورسازی فاز پراکنده مؤثر می باشد. پایدار کننده ها علاوه بر اثر بر روی حالات کولوئیدی فاز پراکنده (مانند اندازه ذرات و پایداری) بر روی ساختار داخلی ذرات که پارامتر مهمی برای توسعه حامل ها بر مبنای نانو سوسپانسیون های لیپیدی هستند نیز اثر گذار می باشند (۴۲). غلظت چربی نیز بر حالت پلی مورفیک مؤثر است. غلظت پایین چربی مانند ۲/۵ درصد w/w باعث تخریب شکل گیری بلور می شود. بین نسبت آزادسازی و تداخل دارو و تبلور چربی ها همبستگی بالایی وجود دارد (۴۱).

۶- فاکتورهای مؤثر بر ورود دارو به داخل SLN و NLC

فاکتورهای مؤثر بر ظرفیت بارگیری دارو در چربی

عبارتند از:

- حلالیت دارو در چربی ذوب شده
 - قابلیت اختلاط دارو و چربی ذوب شده
 - ساختار فیزیکی و شیمیایی ماتریکس چربی جامد
 - حالات پلی مورفیک مواد لیپیدی (۱۵)
- مدل های ورود دارو به SLN در تصویر شماره ۴ مشاهده می شود:



تصویر شماره ۴: مدل ورود اجزاء فعال به درون SLN: ماتریکس هموزنیز شده محلول جامد (چپ)، داروی فاقد هسته با غشاء غنی شده دارو (وسط)، هسته داروی غنی شده با غشاء لیپیدی (راست)

و اندازه گیری اندازه این ذرات استفاده می شود (۲۹).

Atomic Force Microscopy (AFM)

نوعی از میکروسکوپ الکترونی می باشد که ساده از آن در تهیه نمونه عدم نیاز به خلا در طی تهیه، استفاده از آن را موجه می سازد. این دستگاه قادر به آنالیز آب یا حلال های موجود در نمونه می باشد. با استفاده از یک قطره از نمونه این دستگاه قادر به ارزیابی خواهد بود. این دستگاه قادر به ارزیابی نمونه حدود ۲۰ ثانیه در هر عکس و همچنین مشاهده فرآیند در محل می باشد. در تصویری که توسط این دستگاه به دست می آید هاله نرم اطراف نانو ذرات کریستالی نیز نمایش داده می شود. در مطالعه ای که بر روی نانو ذرات لیپیدی ستیل پالمیتات (پایدار شده به وسیله پلی گلیسرول متیل گلوکز دی استئارات) با میکروسکوپ الکترونی و AFM انجام گرفت نشان داده شد که ذرات در هر دو روش کروی شکل بودند و طی مطالعه ای دیگر که با استفاده از چربی کاملاً خالص مانند تری گلیسرید انجام پذیرفت، نانو ذرات مکعبی و مسطح با این دستگاه مشاهده شد (۴۳).

Field-Flow-Fractionation (FFF)

هم نوع خاصی از AFM می باشد که از وضوح تصویری بالاتری نسبت به سایر روش ها برخوردار می باشد. در این روش ذرات نیز از هم قابل جدا شدن می باشند که بیشتر می توان خصوصیات ذرات را مورد مطالعه قرار داد. رقیق سازی زیاد نمونه با این روش ممکن است از دیدگاه پتانسیل مشکل ایجاد کند، که این مشکل ممکن است خصوصیات نمونه را دچار خدشه نماید (برای مثال رقیق سازی نمونه ممکن است سبب خروج سورفکتانت از سطح ذرات شود) (۴۳).

Photon Correlation Spectroscopy (PCS)

تکنیکی است که در تعیین میانگین قطر اندازه ذرات، وسعت توزیع اندازه ذره ای (PI) و تعیین پتانسیل زتا استفاده می شود (۴۵).

ضریب ورود دارو به نانو ذرات وجود دارد. هرچه دارو بیشتر در سطح بارگیری شده باشد آزادسازی سریع تر و هرچه به داخل این ذرات نفوذ کرده باشد، سرعت رهش کمتر می گردد.

- افزایش سطح عامل مهم دیگری می باشد؛ هرچه اندازه ذرات کوچک تر باشد، آزادسازی دارو با سرعت بیشتری صورت می پذیرد.

- هموژنیزه نمودن داروی پراکنده شده در ماتریکس لیپیدی، آزاد سازی آهسته دارو را بدنبال خواهد داشت.

- تبلور کم حامل های لیپیدی و تحرک بالای مولکول های دارو منجر به آزادسازی سریع تر دارو خواهد شد. موارد ذکر شده اهمیت پارامترهای تولیدی در کنترل آزادسازی دارو را توضیح می دهد. هنگامی که هموژنیزاسیون سرد انجام می گیرد، دارویی که به فاز لیپیدی راه یافته است در طی مرحله تولید در وضعیت جامد باقی خواهد ماند. پویایی دارو کاهش می یابد و مقدار بالایی از دارو در مقایسه با هموژنیزاسیون داغ به دام می افتد یعنی ورود به داخل فاز آبی در حداقل قرار می گیرد، و در نتیجه آزادسازی دارو در مقایسه با روش هموژنیزاسیون داغ طولانی تر خواهد شد (۴۵).

۱- دستگاه های تشخیصی در روند تهیه NLCs و SLNs میکروسکوپ نوری و الکترونی

روش میکروسکوپی یک روش مستقیم در تعیین اندازه ذره ای بوده و به سایر فاکتورهایی که ممکن است بر روی اندازه گیری اثر بگذارند مانند حرارت و غیره وابسته نیست. برای اندازه گیری اندازه ذرات بصورت مستقیم از میکروسکوپ نوری و الکترونی استفاده می شود. استفاده از میکروسکوپ نوری کمک خواهد نمود که فرق بین ذرات بزرگ تشخیصی توسط تفرق لیزری و نانو ذراتی که به هم چسبیده اند مشخص گردد. از میکروسکوپ الکترونی (Scanning Electron Microscopy (SEM)) نیز برای مشخص کردن شکل ذرات ایجاد شده

با آب ممکن است سبب خروج مولکول‌های سورفکتانت از سطح ذرات شود که می‌تواند سبب تغییرات بیشتر شامل کریستالیزاسیون یا تغییر ساختار چربی شود. بنابراین نیاز به روشی است که بتواند انواع کولوئیدها را شناسایی کرده و نیاز به آماده سازی اولیه نداشته باشد. (NMR) Nuclear Magnetic Resonance و (ESR) Electron Spin Resonance روش‌هایی هستند که این خواسته را برآورده می‌سازند (۴۳).

High performance liquid chromatography (HPLC)

این روش، روشی مناسب و دقیق در تعیین مقدار مواد و/یا پایداری شیمیایی آن‌ها می‌باشد (۲۹).

۹- کاربرد سیستم‌های SLN و NLC

کاربرد تزریقی: SLN‌ها عموماً به داخل ورید، ماهیچه یا زیر جلدی تزریق می‌شوند. از آنجایی که اندازه ذرات کمتر از ۱ میکرومتر می‌باشد، از این سیستم‌ها می‌توان با داشتن حداقل خطر لخته‌گی خون که منجر به آمبولی خواهد شد استفاده نمود. اندازه ذرات جهت تزریق داخل وریدی برای جلوگیری از ایجاد آمبولی بایستی در زیر ۵ میکرومتر قرار داشته باشد. کاربرد خوراکی: استفاده از این سیستم‌ها به دلیل قابلیت آن‌ها در تنظیم آزادسازی دارو در حین عبور از قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش و همچنین محافظت در برابر تجزیه شیمیایی داروهایی که برای صفرآ تهیه شده‌اند مانند داروهای پپتیدی بسیار مؤثر می‌باشد. بر طبق گزارشات آزادسازی دارو در شرایط آزمایشگاهی از چند دقیقه تا ۷ هفته بوده است. تجزیه SLN که با ماتریکس موم تهیه شده است در مقایسه با ماتریکس‌های گلیسیریدی آهسته‌تر انجام می‌گیرد (۴۸). در مطالعه‌ای که توسط مولر و همکاران در سال ۲۰۰۶ به منظور بهبود فرمولاسیون خوراکی سیکلوسپورین A با استفاده از SLN در مقایسه با سندیم نئورال/اوپتورال تجاری انجام گرفت نشان داده شد طی ۲ ساعت میزان پیک پلاسمایی دارو در نوع تجاری دارو به حداکثر

Differential scanning calorimetry (DSC)

این تکنیک در تعیین خصوصیات ذراتی که تولید شده به کار می‌رود. از این تکنیک در تعیین وضعیت و درجه تبلور چربی‌های پراکنده، سیستم‌های شبه جامد، پلیمرها و لیپوزوم‌ها استفاده می‌شود. از این تکنیک در مطالعه رفتارهای ذوب و تبلور مواد بلوری مانند نانو ذرات لیپیدی نیز استفاده می‌گردد (۴۶). این تکنیک برای فهمیدن پراکندگی جامدات مانند محلول‌های جامد، NLC، تقابل بین دارو و چربی و مخلوط چربی‌های جامد و چربی‌های مایع (روغن‌ها) استفاده می‌شود. DSC اطلاعاتی در رابطه با رفتارهای ذوب و تبلور مواد بلوری مانند نانوذرات لیپیدی را مشخص می‌نماید (۴۷).

X-ray spectroscopy

این روش نوعی از اسپکتروسکوپی می‌باشد که به منظور آنالیزهای ابتدایی یا ویژگی‌های شیمیایی نمونه‌ها مانند پراکندگی مولکولی دارو در ذرات استفاده می‌شود (۱۰، ۲۹). پیشنهاد می‌شود که تنها از نانو ذرات لیپیدی X-ray گرفته شود چراکه ممکن است حلال خارج شده تغییراتی ایجاد نماید. حساسیت کم این روش و مدت زمان اندازه گیری طولانی از معایب آن می‌باشد (۴۳).

Laser Diffractometry (LD)

تکنیکی است که برای تعیین اندازه ذرات بین ۱۰ نانومتر تا ۲۰۰۰ میکرومتر به کار می‌رود (۴۴). مزیت LD نسبت به روش‌های دیگر این است که توانایی اندازه گیری ذرات از سایز نانو تا میلی‌متر را دارد که در روش اول این قدرت به میکرومتر ختم می‌شود (۴۳). DSC، X-ray و NMR به‌طور گسترده‌ای در بررسی رفتارهای ترمودینامیکی و حالات چربی استفاده می‌شوند (۴۱).

Raman spectroscopy و Infrared

این دو مورد نیز از روش‌های مؤثری برای مطالعه ساختار چربی‌ها می‌باشند. رقیق کردن نانو ذرات لیپیدی

داشته باشد گرچه هیچ گونه داده‌ای در این رابطه وجود ندارد. این که اثر لیپاز معده و پانکراس بر روی تجزیه داخل بدنی نانو ذرات چه خواهد بود، متاسفانه تاکنون مطالعات درون تنی کمی پیرامون آن صورت گرفته است (۲۱). کاربرد تنفسی: لیو و همکاران در سال ۲۰۰۸ توانستند با بارگذاری انسولین در SLN آنرا به عنوان حاملی برای استفاده تنفسی و انتقال سیستمیک پروتئین‌ها معرفی نمایند (۵۰).

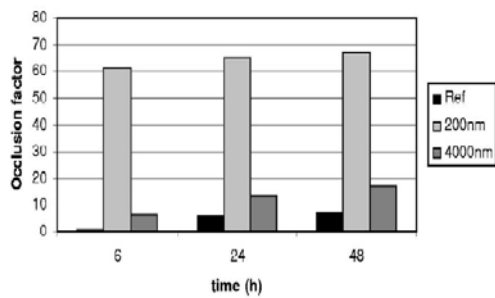
کاربرد موضعی: نانو ذرات لیپیدی (SLN) به علت داشتن چربی‌های فیزیولوژیک یا تجزیه پذیر به عنوان سیستم‌های حامل با تحمل بالا برای مصارف پوستی مطرح می‌باشند. پتانسیل نانو ذرات لیپیدی در هدفمند کردن پوستی، کنترل در آزادسازی، عوارض پوستی کم و محافظت از ترکیبات فعال اثبات شده می‌باشد. نشان داده شده است که اندازه کوچک ذرات در نانو ذرات

خود (۱۰۰۰ نانومتر) رسیده بود در حالی که استفاده از داروی بارگذاری شده در SLN حداقل پراکنش را دربرداشته است و پیشنهاد گردید با توجه به این که میزان غلظت دارو به بیشتر از ۱۰۰۰ نانومتر/ میلی لیتر نمی‌رسد استفاده از آن عوارضی را در بر نخواهد داشت. در این مطالعه نشان داده شد که استفاده از SLN به عنوان حامل دارو برای استفاده خوراکی حداقل پراکنش را در فراهمی زیستی دارو ایجاد کرده و به صورت خودبه‌خود از رسیدن به حداکثر پیک پلاسمایی که با خوردن دارو با فرمولاسیون قبلی ایجاد می‌شد جلوگیری به عمل می‌آید (۴۹).

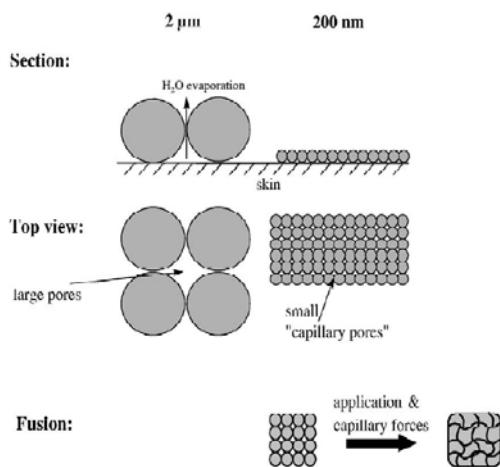
استفاده خوراکی نانو ذرات لیپیدی می‌تواند به اشکال قرص، پلت یا کپسول‌ها انجام شود. با توجه به شرایط معده یعنی وجود اسید و نیروی یونی قوی محیط مناسب برای تجمع ذرات خواهد بود. انتظار می‌رود که غذا نیز اثر بزرگی بر روی عملکرد نانو ذرات لیپیدی

جدول شماره ۲: نمونه ای از محصولات بهداشتی موجود در بازار حاوی نانو ذرات لیپیدی (۴۳)

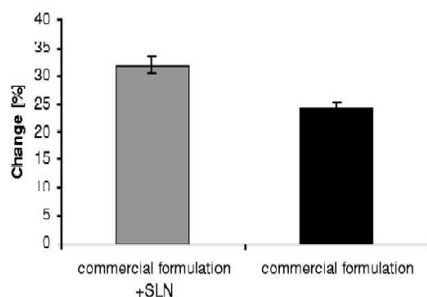
نام فرآورده	سازنده	زمان ارائه	مواد مشکله اصلی
Cutanova Cream Nano Repair Q10	Dr. Rimpler	10/2005	Q 10, polypeptide, hibiscus extract, ginger extract, Ketosugar
Intensive Serum NanoRepair Q10		10/2005	Q 10, polypeptide, mafane extract
Cutanova Cream NanoVital Q10		06/2006	Q 10, TiO ₂ , polypeptide, ursolic acid, oleanolic acid, sunflower seed extract
SURMER Crème Légère Nano-Protection	Isabelle Lancray	11/2006	Kukuinut oil, Monoi Tiare Tahiti®, pseudopeptide, Milk extract from coconut, wild indigo, nonixtract
SURMER Crème Riche Nano-Structurante			Kukuinut oil, Monoi Tiare Tahiti®, pseudopeptide, Milk extract from coconut, wild indigo, noni extract
SURMER Elixir du Beauté Nano-Vitalisant			Kukuinut oil, Monoi Tiare Tahiti®, pseudopeptide, Milk extract from coconut, wild indigo, nonixtract
SURMER Masque Crème Nano-Hydratant			Kukuinut oil, Monoi Tiare Tahiti®, pseudopeptide, Milk extract from coconut, wild indigo, noni extract
NanoLipid Restore CLR	Chemisches Laboratorium	04/2006	Black currant seed oil containing \square -3 and \square -6 Nsaturated fatty acids
Nanolipid Q10 CLR	Dr. Kurt Richter, (CLR)	07/2006	Coenzyme Q10 and black currant seed oil
Nanolipid Basic CLR		07/2006	Caprylic/capric triglycerides
NanoLipid Repair CLR		02/2007	Black currant seed oil and manuka oil
IOPE SuperVital Cream	Amore Pacific	09/2006	Coenzyme Q10, \square 3 and \square 6 unsaturated fatty acids
Serum	Beate Johnen	12/2006	Coenzyme Q10, highly active oligo saccharides
Eye cream			Q10, TiO ₂ , highly active oligo saccharides
Extra moist softener			Q10, acetyl hexapeptide-3, micronized plant collagen, high active oligosaccharides in polysaccharide matrix
Extra moist emulsion			
NLC Deep Effect Eye Serum			
NLC Deep Effect Repair Cream			
NLC Deep Effect Reconstruction Cream			
NLC Deep Effect Reconstruction Serum	Scholl	6/2007	Macadamia ternifolia seed oil, avocado oil, urea, black currant seed oil
Regenerationscreme Intensiv			
Swiss Cellular White Illuminating Eye Essence	La prairie	1/2007	Glycoprotiens, panax ginseng root extract, Equisetum arvense extract, Camellia sinensis leaf extract, viola tricolor extract
Swiss Cellular White Intensive Ampoules		1/2007	Glycoprotiens, panax ginseng root extract, Quisetum arvense extract, Camellia sinensis leaf extract, viola tricolor extract
SURMER Creme Contour Des Yeux Nano-Remodelante	Isabelle Lancray	03/2008	Kukuinut oil, Monoi Tiare Tahiti®, pseudopeptide, hydrolyzed wheat protein
Olivenl Anti Falten Pflegekonzentrat	Dr. Theiss	02/2008	Olea europaea oil, panthenol, acacia senegal, Tocopheryl acetate
Olivenl Augenpflegebalsam			Olea Europaea oil, prunus amygdalus dulcis oil, Hydrolyzed milk protein, tocopheryl acetate, rhodiola rosea root extract, caffeine



تصویر شماره ۶: قدرت پوشانندگی SLN ۲۰۰ نانومتری در مقابل ذرات لیپیدی ۴ میکرومتری (۱۰)



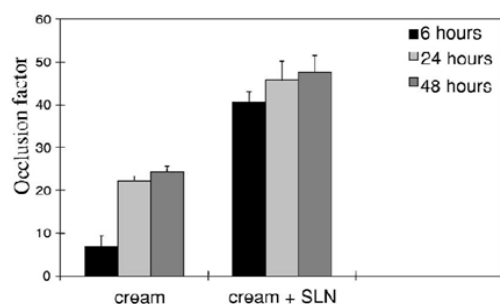
تصویر شماره ۷: نمونه ای از تشکیل فیلم روی پوست برای ذرات چربی ۲ میکرومتری و ذرات چربی ۲۰۰ نانومتری (بالا) نمای بالا (وسط) و مدل تازه آمیزش نانو ذرات به داخل خلل و فرج فیلم (پایین) (۱۰)



تصویر شماره ۸: رطوبت پوستی ناشی از فرمولاسیون تجاری (راست) و فرمولاسیون تجاری پس از اضافه کردن ۴ درصد SLN (چپ) (۱۰)

لیپیدی حضور نانو ذرات را در تماس مستقیم با لایه شاخی بهبود و ورود عوامل انکپسوله شده به داخل پوست را تضمین می‌نماید. جدول شماره ۲ نمونه‌ای از محصولات آرایشی موجود در بازار که بر پایه نانوذرات لیپیدی تهیه شده‌اند نشان می‌دهد (۵۱). SLN را می‌توان با اشکال تجاری موجود نیز آمیخت بدون آن که فرمولاسیون آن دچار تغییر گردد مثل کرم روز آرایشی که افزودن SLN سبب افزایش در قدرت پوشانندگی آن می‌شود. اولین مدل برای فرمولاسیون فیلم بر روی پوست به وسیله SLN توسط مولر و دینگنر معرفی گردید (۱۰).

تا سال ۲۰۰۲ هیچ گونه مطالعه‌ای در رابطه با اثر SLN بر روی رطوبت و کشسانی پوست انجام نگرفته بود گرچه مطالعاتی توسط برخی شرکت‌ها انجام گرفت اما نتایج گزارش نگردید. در مطالعه که توسط ویسینگ و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام گرفت نشان داد که که اضافه کردن SLN به فرمولاسیون تجاری پایدار شده سبب افزایش رطوبت پوستی به میزان ۳۲ درصد خواهد شد در حالی که فرمولاسیون تجاری خالص میزان رطوبت پوستی را به میزان ۲۴ درصد افزایش داده بود (۱۰).



تصویر شماره ۵: فاکتور پوشانندگی کرم O/W تجاری (چپ) و کرم با ۴ درصد NSL وارد شده (راست) (۱۰)

References

1. Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization

and applications. Adv Drug Del Rev 2001; 47(2-3): 165-96.

2. Hsu SH, Wen CJ, Al-Suwayeh SA, Chang HW, Yen TC, Fang JY. Physicochemical characterization and in vivo bioluminescence imaging of nanostructured lipid carriers (NLCs) for targeting the brain: apomorphine as a model drug. *Nanotechnol* 2010; 21: 405101 (abstract).
3. Akbari J, Enayatifard R, Saeedi M, Saghafi M. Influence of Hydroxypropyl Methylcellulose Molecular Weight Grade on Water Uptake, Erosion and Drug Release Properties of Diclofenac Sodium Matrix Tablets. *Trop J Pharm Res* 2011; 10(5): 535-541.
4. Akbari J, Nokhodchi A, Farid D, Adrangui M, Siah-Shadbad MR, Saeedi M. Development and evaluation of buccoadhesive propranolol hydrochloride tablet formulations: effect of fillers. *Il Farmaco* 2004; 59: 155-161.
5. Enayatifard R, Saeedi M, Akbari J, Haeri Tabatabaee Y. Effect of Hydroxypropyl Methylcellulose and Ethyl Cellulose Content on Release Profile and Kinetics of Diltiazem HCL from Matrices. *Trop J Pharm Res* 2009; 8(5): 425-432.
6. Müller RH. Lipid nanoparticles: recent advances, *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59(6): 375-376.
7. Lim SJ, Kim CK. Formulation parameters determining the physicochemical characteristics of solid lipid nanoparticles loaded with all-trans retinoic acid. *Int J Pharm* 2002; 243: 135-146.
8. Kim BD, Na K, Choi HK. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles (SLN) made of cacao butter and curdlan. *Eur J Pharm Sci* 2005; 24: 199-205.
9. Kheradmandnia S, Vashghani-Farahani E, Nosrati M, Atyabi F. Preparation and characterization of ketoprofen-loaded solid lipid nanoparticles made from beeswax and carnauba. *Nanomed Nanotechnol Biol Med* 2010; 6: 753-759.
10. Muller RH, Radtke M, Wissing SA. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Adv Drug Del Rev* 2002; 54 Suppl: 1 S131-S155.
11. Jennings V, Lippacher A, Gohla SH. Medium scale production of solid lipid nanoparticles (SLN) by high pressure homogenization, *J Microencapsul* 2002; 19: 1-10.
12. Fang JY, Fang CL, Liu CH, Su YH. Lipid nanoparticles as vehicles for topical psoralen delivery: solid lipid nanoparticles (SLN) versus nanostructured lipid carriers (NLC). *Eur J Pharm Biopharm* 2008; 70: 633-640.
13. Puglia C, Blasi P, Rizza L, Schoubben A, Bonina F, Rossi C, et al. Lipid nanoparticles for prolonged topical delivery: an in vitro and in vivo investigation. *Int J Pharm* 2008; 357: 295-304.
14. Müller RH, Mäder K, Gohla S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery- a review of the state of the art. *Eur J Pharm Biopharm* 2000; 50: 161-77.
15. Driscoll DF. Lipid injectable emulsions: pharmacopeial and safety issues. *Pharm Res* 2006; 23: 1959-1969.
16. Siepmann F, Muschert S, Flament MP, Leterme P, Gayot A, Siepmann J. Controlled drug release from Gelucire-based matrix pellets: experiment and theory. *Int J Pharm* 2006; 317: 136-143.
17. Chambin O, Jannin V. Interest of multifunctional lipid excipients: case of Gelucire® 44/14. *Drug Del Ind Pharm* 2005; 31: 527-534.
18. Shimpi SL, Mahadik KR, Paradkar AR. Study on mechanism for amorphous drug

-
- stabilization using Gelucire 50/13. *Chem Pharm Bull* 2009; 57: 937–942.
19. Constantinides PP, Tustian A, Kessler DR. Tocol emulsions for drug solubilization and parenteral delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56: 1243–1255.
 20. Ming-Jun T, Pao-Chu W, Yaw-Bin H, Jui-Sheng C, Chin-Lin L, Yi-Hung T, et al. Baicalein loaded in tocol nanostructured lipid carriers (tocol NLCs) for enhanced stability and brain targeting. *Int J Pharm* 2012; 423: 461–470.
 21. Wolfgang M, Karsten M. Solid lipid nanoparticles Production, characterization and applications. *Adv Drug Del Rev* 2012; 64: 83-101.
 22. Wissing SA, Kayser O, Müller RH. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery, *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56: 1257-1272.
 23. Priano L, Esposti D, Esposti R, Castagna G, De Medici C, Fraschini F, et al. Solid lipid nanoparticles incorporating melatonin as new model for sustained oral and transdermal delivery systems, *J Nanosci Nanotechnol* 2007; 7(10): 3596-601.
 24. Trotta M, Debernardi F, Caputo O. Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification–diffusion technique, *Int J Pharm* 2003; 257:153–160.
 25. Schubert MA, Müller-Goymann CC. Solvent injection as a new approach for manufacturing lipid nanoparticles-evaluation of the method and process parameters, *Eur J Pharm Biopharm* 2003; 55:125–131.
 26. Garcý-Fuentes M, Torres D, Alonso M. Design of lipid nanoparticles for the oral delivery of hydrophilic macromolecules, *Colloid Surface B* 2002; 27: 159-168.
 27. Heurtault B, Saulnier P, Pech B, Proust JE, Benoit JP. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials* 2003; 24: 4283–4300.
 28. El-Harati AA, Charcosset C, Fessi H. Influence of the formulation for solid lipid nanoparticles prepared with a membrane contactor, *Pharm Dev Technol* 2006;11(2): 153-157.
 29. Hommoss, A. Nanostructured Lipid Carriers (NLC) in dermal and personal care formulations. Department of Biology, Chemistry and Pharmacy Berlin, Freie Universität Berlin. PhD thesis: 2008; 202.
 30. Jinno J. Effect of particle size reduction on dissolution and oral absorption of a poorly water-soluble drug, cilostazol, in beagle dogs, *J Control Release* 2006; 111(1-2): 56-64.
 31. Müller RH, Gohla S, Dingler A, Schneppe T. Large scale production of solid lipid nanoparticles (SLNTM) and nanosuspensions (Disso Cubes TM). In: Wise DL (Ed.), *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology* 2000a; 359–376.
 32. Uner, M. Preparation, characterization and physico-chemical properties of Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC): Their benefits as colloidal drug carrier systems: *Pharmazie* 2005; 61: 375–386.
 33. Müller RH, Böhm BHL. Nanosuspensions, in *Emulsions and Nanosuspensions for the Formulation of Poorly Soluble Drugs*, Medpharm Scientific: Stuttgart 1998; 149-174.
 34. Lander R, Manger W, Scouloudis M, Ku A, Davis C, Lee A. Gaulin homogenization: a mechanistic study, *Biotechnol Prog* 2000; 16(1): 80-5.
 35. Shahgaldian P, Gualbert J, Aïssa K, Coleman AW. A study of the freeze-drying conditions of calixarene based solid lipid
-

- nanoparticles, *Eur J Pharm Biopharm* 2003; 55: 181–184.
36. Cortesi R, Esposito E, Luca G, Nastruzzi C. Production of lipospheres as carriers for bioactive compounds. *Biomaterials* 2002; 23: 2283–2294.
37. Mei Z, Chen H, Weng T, Yang Y, Yang X. Solid lipid nanoparticle and microemulsion for topical delivery of triptolide. *Eur J Pharm Biopharm* 2003; 56: 189–196.
38. Heurtault B, Saulnier P, Pech B, Proust JE, Benoit JP. A novel phase inversion-based process for the preparation of lipid nanocarriers. *Pharm Res* 2002; 19(6): 875-80.
39. Bunjes H, Koch MHJ, Westesen K. Influence of emulsifiers on the crystallization of solid lipid nanoparticles. *J Pharm Sci* 2003; 92: 1509–1520.
40. Lippacher A, Muller RH, Mader K. Semisolid SLNTM dispersions for topical application: influence of formulation and production parameters on viscoelastic properties. *Eur J Pharm Biopharm* 2002; 53: 155–160.
41. Patravale VB, Ambarkhane AV. Study of solid lipid nanoparticles with respect to particle size distribution and drug loading. *Pharmazie* 2003; 58: 392–395.
42. Venkateswarlu V, Manjunath K. Preparation, characterization and in vitro release kinetics of clozapine solid lipid nanoparticles. *J Control Release* 2004; 95: 627–638.
43. Pardeike J, Hommoss A, Müller RH. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *Int J Pharm* 2009; 366: 170–184.
44. Keck C. Cyclosporine nanosuspensions: Optimised size characterisation & oral formulations. PhD thesis. 2006, Free University of Berlin: Berlin.
45. Thode K, Müller RH, Kresse M. Two-time window and multi angle photon correlation spectroscopy size and zeta potential analysis-highly sensitive rapid assay for dispersion stability, *J Pharm Sci* 2000; 89(10): 1317-1324.
46. Unruh T, Bunjes H, Westesen K, Koch MHJ. Investigations on the melting behavior of triglyceride nanoparticles, *Colloid Polym Sci* 2001; 279(4): 398-403.
47. Freitas C, Müller RH. Correlation between long-term stability of solid lipid nanoparticles (SLN) and crystallinity of the lipid phase, *Eur J Pharm Biopharm*, 1999, 47(2): 125-132.
48. Olbrich C. Entwicklung optimierter Lipid carrier und ihre Untersuchung in biologischen Systemen. PhD thesis, Freie Universita^t Berlin 2002.
49. Müller RH, Rungea S, Ravelli V, Mehnert W, Th^uunemannc AF, Souto EB. Oral bioavailability of cyclosporine: Solid lipid nanoparticles (SLN[®]) versus drug nanocrystals *Int J Pharm* 2006; 317: 82–89.
50. Liu J, Gong T, Fu H, Wang C, Wang X, Chen Q, et al. Solid lipid nanoparticles for pulmonary delivery of insulin. *Int J Pharm* 2008; 356: 333–344.
51. Ghadiri M, Fatemi S, Vatanara A, Doroud D, Rouholamini Najafabadi A, Darabi M, Rahimi AA. Loading hydrophilic drug in solid lipid media as nanoparticles: Statistical modeling of entrapment efficiency and particle size. *Int J Pharm* 2012; 424: 128–137.