

## تهیه نانوذره‌های لیپیدی جامد حامل کورکومین استخراج شده از گیاه ریوند (*Rheum ribes* L.)

مرضیه شهبازی، الهام رستمی\*

گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

مریم کلاهی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

علیرضا کیاست

گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

**چکیده:** کورکومین، پلی فنولی است که ویژگی‌های دارویی بسیاری دارد. با وجود اثرهای برجسته دارویی و اثرهای زیستی، حلالیت کم در آب و از بین رفتن سریع، کاربردهای درمانی آن را محدود می‌کند، بنابراین استفاده از نانوذره‌های لیپیدی جامد (SLNs) یا نانوحامل‌های لیپیدی جامد به عنوان یک سامانه دارورسان با ویژگی‌های عالی مانند اندازه ذره‌های کوچک، زیست سازگاری، پایداری شیمیایی و فیزیکی و قابلیت کاربرد آسان، برای این پژوهش مناسب در نظر گرفته شد. هدف از تهیه نانوذره‌های لیپیدی جامد دارای کورکومین، تهیه یک سامانه نانوحامل نوین و کارآمد برای اثربخشی بیش‌تر کورکومین استخراج و تخلیص شده از گیاه ریوند بود. در این پژوهش از ماسراسیون به کمک دو حلال (هگزان نرمال و اتانول) برای عصاره‌گیری از گیاه ریوند و به منظور خالص‌سازی کورکومین موجود در این عصاره از روش استخراج مایع - مایع، استفاده شد و از روش میکروتعلیق برای تهیه نانوذره‌های لیپیدی جامد دارای کورکومین استفاده شد. مقدار کورکومین موجود در عصاره ریوند و کورکومین خالص سازی شده به ترتیب ۳۹/۸٪ و ۸۱/۷٪ در مقایسه با کورکومین استاندارد به دست آمد و نانوذره‌های تولید شده دارای کورکومین اندازه، شاخص بس‌پاشیدگی و پتانسیل زتای دلخواه و اشکال کروی را نشان داد. همچنین پایداری نانوذره‌های لیپیدی جامد در محیط اسیدی بررسی شد که نتیجه‌ها به نسبت مناسبی به دست آمد. همچنین پایداری نانوذره‌های لیپیدی جامد در طول مدت ۹ ماه بررسی شد، که پس از گذشت ۹ ماه، افزایش اندازه ذره حدوداً ۲۳ نانومتر می‌باشد که نسبت به کارهای همانند مقدار مناسبی می‌باشد. سپس رهش کورکومین از نانوذره‌های لیپیدی جامد، بررسی شد. یافته‌های پژوهش نشان داد سامانه نانوحامل لیپیدی یک فرمولاسیون مناسب و سازوکار محرک درونی برای ترشح کنترل‌شده دارو دارد. بنابراین می‌توان گفت یک نانوحامل لیپیدی بهینه و قابل کنترل برای اثرهای درمانی کورکومین استخراجی تولید شد.

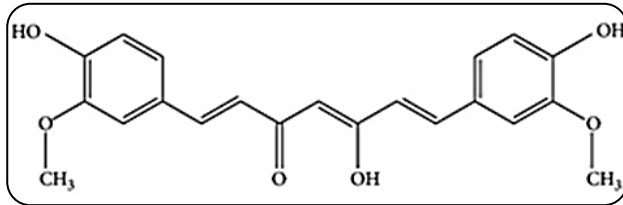
## واژگان کلیدی: ریوند؛ کورکومین؛ عصاره؛ خالص سازی؛ نانوذره های لیپیدی جامد

KEYWORDS: Plant; Rivand; Curcumin; extracted; Solid Lipid Nanoparticles.

## مقدمه

ریوند<sup>۱</sup> از رده میخک‌سانان است [۱] برای اولین بار نوری و همکاران طی مطالعه‌های پژوهش‌های خود ترکیب‌های کورکومینویدی را از ریشه گیاه ریوند استخراج کردند [۲]. کورکومین (شکل ۱)، پلی فنولی است که ویژگی‌های دارویی بسیاری دارد. کورکومین نسبت به التهاب، سندرم متابولیک، درد و کنترل التهاب و مشکل‌های چشم و کلیه‌ها و ... خاصیت درمانی نشان داده است [۳]، باوجود اثرهای برجسته دارویی و اثرهای زیستی کورکومین، حالیت کم در آب و از بین رفتن سریع، کاربردهای درمانی آن را محدود می‌کند. بررسی‌ها نشان داده که کورکومین دارای جذب روده‌ای کم و متابولیسم سریع در کبد و واجد بیش از حد به روش مدفوع است، در نتیجه حالیت کم در آب و متابولیسم سریع در روده، منجر به فراهمی زیستی خوراکی پایین کورکومین و محدود کردن اثرها دارویی آن می‌شود [۴]. چنین دسترسی فراهمی زیستی کم، سودمندی آن را محدود می‌کند و از این رو منجر به معرفی آن به محیط بالینی می‌شود [۵]، برای رفع این مشکل سامانه‌های دارورسانی طراحی شده‌اند که از دارو در برابر تخریب یا ترشح سریع محافظت می‌کند و باعث افزایش غلظت دارو در بافت‌های هدف می‌شود، بنابراین به دوزهای بالای دارو نیاز نیست [۶-۱۰].

با پیشرفت علم، مهندسان و پژوهشگران حوزه سلامت به نتیجه‌های بسیار خوبی در مورد مصرف داروها رسیده‌اند. در حالت عادی پس از استفاده دارو، دوز زیادی از مواد دارویی وارد بدن شده که پس از گذشت چند ساعت میزان آن کاهش می‌یابد و فرد مجبور می‌شود مجدداً مقدار زیادی دارو را یکبار مصرف کند تا ظرف چند ساعت آینده مقدار آن کاهش یابد و این چرخه ادامه دارد. با پیشرفت تکنولوژی روش‌های نوینی برای حل این مشکل ابداع شده است. در این روش بیمار پس از مصرف دارو، دوز بالایی از دارو را دریافت نمی‌کند. در واقع پس از مصرف دارو، سامانه رهایش دارو شروع به تراوش دوز تعریف شده‌ای می‌کند و این مقدار در طول مدت، ثابت باقی می‌ماند [۱۱-۱۳]. یکی از این سامانه‌ها نانوذره‌های لیپیدی جامد (SLNs)<sup>۲</sup>



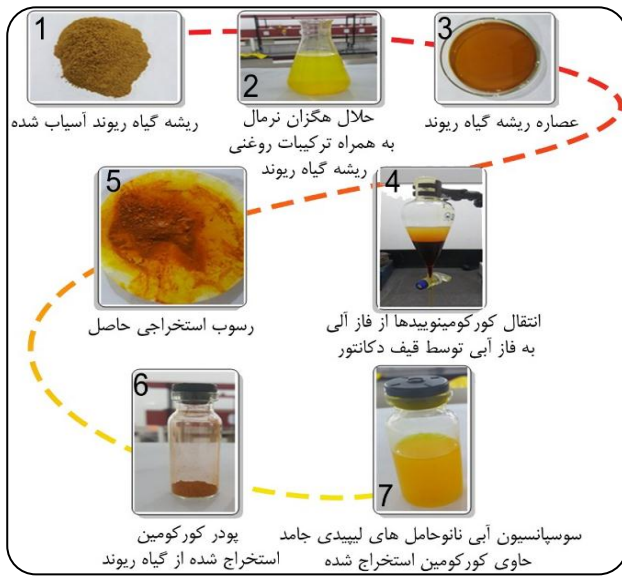
شکل ۱ - ساختار شیمیایی کورکومین

که سامانه‌های دارورسان مبتنی بر لیپید هستند [۶]. از بین انواع گوناگون سامانه‌های دارورسان، نانوذره‌های لیپیدی جامد بیش‌ترین سرعت در توسعه فناوری نانو با چندین کاربرد در زمینه دارویی، پزشکی، پژوهش‌های بالینی و سایر علوم را دارا هستند [۷]. SLNها با اندازه ذره‌های ۲۰۰-۱۲۰ نانومتر نسبت به سایر سامانه‌های دارورسان از برتری‌های بسیاری از جمله گذر از طحال و کبد، سمیت مزمن یا حاد پایین‌تر به دلیل استفاده از لیپیدهای فیزیولوژیکی، استفاده کم‌تر از حلال‌های آلی در تهیه، افزایش فراهمی زیستی و بهره‌وری از دارو، محافظت از ترکیب‌های زیست فعال یا داروها و توانایی دارورسانی هر دو ترکیب آب‌دوست و آب‌گریز برخوردارند، علاوه بر این SLNها را با لیپیدهای بسیار تجزیه‌پذیر می‌توان ساخت، از این‌رو از نظر سامانه زیستی ایمن هستند و امکان تولید در مقیاس بزرگ، استریلیزه آسان و ثبات در مدت‌زمان طولانی ذخیره‌سازی را فراهم می‌آورند [۸]، این در حالی است که مواد اولیه و هزینه‌های تولید به نسبت کم است [۹]. این برتری‌ها باعث می‌شود SLNها برای دارورسانی خوراکی ترکیب‌های گوناگون طبیعی، مانند کورکومین، رسوراترول<sup>۳</sup>، کورستین و سایر پلی‌فنول‌ها برای درمان انواع بیماری‌های مزمن مناسب باشند [۱۰]. ساختار بلوری ماتریس لیپید آن‌ها یک ویژگی مهم برای به دست آوردن فرمولاسیون SLN با کیفیت بالا است [۱۴]، این ویژگی وابسته به انتخاب و مقدار نسبی اجزاء تشکیل‌دهنده ماتریس لیپیدی و همچنین روش آماده‌سازی آن‌ها است، از آن‌جا که ترکیب نانوذره‌ها تأثیر زیادی در کیفیت و ویژگی‌های SLNها دارد، باید برای هر مورد خاص ترکیب مناسب انتخاب شود، برای انجام این کار اجزای ماتریس لیپید باید با دقت و در نظر گرفتن ماهیت دارو انتخاب شود

(۱) *Rheum ribes* L

(۳) Resveratrol

(۲) Solid Lipid Nanoparticles



شکل ۲ - دیاگرام عصاره‌گیری

به پودر به دست آمده، ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ افزوده شد. پودر گیاه به مدت ۴۸ ساعت در تماس با حلال بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت، سپس حلال دارای عصاره صاف و با تبخیرکننده دوار، حلال تبخیر و جدا شد. به منظور خلوص بیشتر، عصاره به دست آمده با ۴۰ میلی‌لیتر دی اتیل اتر به خوبی شستشو داده شد [۲]، پس از خشک شدن به منظور جداسازی کورکومینوئیدها از سایر ترکیب‌ها موجود در عصاره، پودر عصاره در حلال تولوئن حل شد و توسط محلول یک درصد سدیم هیدروکسید، این ترکیب‌ها از فاز آلی به فاز آبی انتقال یافت، سپس توسط دکانتور دو فاز از یکدیگر جدا شدند. عصاره قلبایی شده، با محلول یک درصد هیدروکلریک اسید خنثی شد و به صورت رسوب در ته ظرف ته‌نشین شد. رسوب‌ها از کاغذ صافی عبور داده شد و پس از ۲۴ ساعت به صورت پودر جمع‌آوری شد (شکل ۲).

برای تهیه نانوحامل‌های لیپیدی جامد دارای کورکومین استخراج شده از گیاه ریوند از فناوری میکروتعلیق استفاده شد. نخست برای ایجاد فاز چربی، با نسبت ۲ به ۱ به ترتیب، گلیسرول تری پالمیتات و پالمیتیک اسید وزن شد و با استفاده از حمام آب گرم تا دمای ۸۰ درجه سلسیوس گرم شد و ۲۵ میلی‌گرم کورکومین استخراجی به لیپید ذوب‌شده اضافه شد، پس از آن ۱ میلی‌لیتر

زیرا دارو باید در ماتریس لیپیدها حل شود تا از این روش راندمان بارگذاری<sup>۱</sup> خوبی در بستر داشته باشد [۱۵].

از روش‌های گوناگون استخراج کورکومین از عصاره گیاهان می‌توان روش سوکسله، فراصوت و ماسراسیون را نام برد. روش سوکسله به دلیل استفاده از گرما ممکن است منجر به تخریب کورکومین شود [۲]. در این پژوهش از ماسراسیون به کمک دو حلال (هگزان نرمال و اتانول) برای عصاره‌گیری از گیاه ریوند و به منظور خالص‌سازی کورکومین موجود در این عصاره از روش استخراج مایع - مایع، استفاده شد و از روش میکروتعلیق برای تهیه نانوذره‌های لیپیدی جامد دارای کورکومین استفاده شد. هدف از این پژوهش، تهیه نانوذره‌های لیپیدی که به عنوان حامل مناسبی برای کورکومین استخراجی از گیاه ریوند عمل کند و در محیط اسیدی به طور نسبی پایدار باشد. همچنین امکان رهش کنترل شده کورکومین بارگذاری شده را در مدت زمان مناسب داشته باشد.

## بخش تجربی

### مواد و روش‌های عصاره‌گیری و سنتز نانوذره‌های لیپیدی جامد

کورکومین استاندارد با خلوص بالا از شرکت آکراس<sup>۲</sup> بلژیک خریداری شد. گلیسرول تری پالمیتات<sup>۳</sup> از آلفا ایسر<sup>۴</sup> آلمان، پالمیتیک اسید<sup>۵</sup> و پلی اتیلن گلیکول مونو استئرات<sup>۶</sup> از سیگما-آلدریج<sup>۷</sup> آمریکا، ساکاروز و توئین ۲۰<sup>۸</sup> از مرک آلمان با خلوص آزمایشگاهی تهیه شد. پس از تهیه ریشه گیاه ریوند از بخش گیاه شناسی دانشکده کشاورزی و شناسایی آن توسط گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز، نمونه با آب مقطر به خوبی شست‌وشو داده و در سایه در دمای محیط خشک شد، سپس به طور کامل آسیاب شد.

از آن جا که در ساختار ریوند مواد روغنی و چربی وجود دارد، برای کاهش چربی موجود که به عنوان ناخالصی به همراه ماده مؤثره در نظر گرفته می‌شود، نخست ۲۲ گرم از پودر ریوند وزن کرده و به آن ۳۰۰ میلی‌لیتر هگزان نرمال افزوده شد. پودر گیاه به مدت ۲۴ ساعت در تماس با حلال بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت، پس از آن پودر باقی‌مانده از صافی رد شد. پس از چربی‌گیری، پودر به دست آمده به مدت ۱ ساعت برای خشک کردن در آون با دمای ۴۵ درجه سلسیوس قرار داده شد.

(۱) Loading Efficiency

(۳) Glycerol Tripalmitate

(۵) Palmitic Acid

(۷) Sigma-Aldrich

(۲) Acros

(۴) Alpha Acer

(۶) Ethylene Glycol Monostearate

(۸) Tween 20

بارگذاری دارو<sup>۴</sup> (DL) به صورت میزان کورکومین کپسوله شده به میزان لیپید مصرفی و کارایی کپسوله کردن<sup>۵</sup> (EE) به صورت نسبت کورکومین به دام افتاده در ماتریس لیپیدی به میزان کورکومین اولیه مصرفی تعریف می‌شود [۸].

برای تعیین میزان کورکومین کپسوله شده در نانوحامل، پس از تهیه نانوحامل‌های لیپیدی جامد این نانوسوسپانسیون‌ها به منظور ته‌نشینی نانوذره‌هایشان به مدت ۵۰ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند و با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر طول موج آن‌ها اندازه‌گیری شد و در ادامه با استفاده از معادله خط استاندارد کورکومین استخراجی غلظت و سرانجام وزن به دست آمد و با استفاده از معادله‌های (۲) و (۳) کارایی کپسوله کردن و ظرفیت بارگذاری تعیین شد [۱۷].

$$\%EE = \frac{W_a - W_s}{W_a} \times 100 \quad (2)$$

$$\%DL = \frac{W_a - W_s}{W_a - W_s + W_l} \times 100 \quad (3)$$

در این معادله‌ها  $W_a$  و  $W_s$  و  $W_l$ ، به ترتیب هرکدام، وزن کورکومین استخراجی مصرفی، مقدار کورکومین استخراجی کپسوله نشده و وزن لیپید مصرفی می‌باشند [۲۱].

### طیف‌سنجی انتقال فوریه فروسرخ

به منظور بررسی تغییرهای احتمالی بین اجزای سازنده نانوحامل‌ها در هنگام تولید، از طیف‌سنجی انتقال فوریه فروسرخ استفاده شد.

### آنالیز گرمایی

برای انجام آنالیز گرمایی یا کالریمتری روشی افتراقی از نمونه‌های خشک شده به کمک انجام استفاده شد. این آنالیز در دامنه دمایی ۰ تا ۳۰۰ درجه سلسیوس با نرخ دمایی ۱۰ درجه سلسیوس بر دقیقه و در حضور گاز نیتروژن با سرعت جریان ۱۰ میلی‌لیتر در دقیقه انجام شد [۱۷].

### بررسی رهائش کورکومین از نانوحامل‌ها

برای بررسی رهائش کورکومین از نانوحامل‌های لیپیدی جامد ۲ میلی‌لیتر از نانوسوسپانسیون دارای کورکومین درون کیسه دیالیز قرار داده شد، سپس به ۵۰ میلی‌لیتر از بافر فسفات (pH=۷/۴) و اتانول

تویین ۲۰ به عنوان تعلیق‌کننده به همراه ۴ میلی‌لیتر بوتانول به عنوان کمک تعلیق‌کننده به فاز لیپید تزریق شد. فاز آبی در حمام یخ با دمای ۲ تا ۳ درجه سلسیوس قرار داده شد و در نهایت فاز چربی به آن تزریق شد. به منظور خشک کردن نانوسوسپانسیون، از محلول آبی ساکارز به عنوان محافظت‌کننده با غلظت ۳ درصد وزنی استفاده شد [۲۱].

### بررسی کورکومین با کمک اسپکتروفتومتر

به منظور بررسی کمی کورکومین با استفاده از روش اسپکتروفتومتر در کورکومین استخراجی ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول کورکومین استخراجی از ریوند تهیه شد و از آن غلظت‌های ۸ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد؛ پس از اندازه‌گیری جذب، با استفاده از معادله خط به دست آمده از منحنی استاندارد کورکومین به صورت  $y = 0.279x + 0.1421$  و  $R^2 = 0.9973$  مقدار کورکومین به دست آمد [۲].

### بررسی کورکومین با کمک HPLC

برای بررسی کمی کورکومین با دقت بالاتر در کورکومین استخراجی، نمونه‌های با غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کورکومین استاندارد، عصاره و کورکومین استخراج شده از ریوند در حلال متانول با درجه خلوص HPLC ساخته و به دستگاه تزریق شد. فاز متحرک A (THF) با نسبت ۵ درصد و فاز متحرک B (آب دارای سیتریک اسید ۱ درصد حجمی-حجمی بافری شده در pH=۳ با پتاس) با نسبت ۹۵ درصد انتخاب شد. سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه و طول موج آشکارساز ۴۲۵ نانومتر انتخاب شد [۱۶].

برای تعیین بهترین راندمان عصاره‌گیری و راندمان پودر استخراجی فرمول زیر مورد استفاده قرار گرفت.

$$= \text{راندمان عصاره‌گیری} \quad (1)$$

$$= 100 \times (\text{وزن پودر خشک گیاه} / \text{وزن عصاره به دست آمده})$$

### بررسی نانوذره‌های لیپیدی جامد پس از تهیه

اندازه و شاخص بس‌پاشیدگی نانوحامل‌ها و پتانسیل زتای آن‌ها بی‌درنگ پس از ساخت توسط دستگاه اندازه‌گیری اندازه ذره‌ها<sup>۱</sup> مورد ارزیابی قرار گرفت، همچنین ریخت‌شناسی نانوحامل‌های موجود در سوسپانسیون توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۲</sup> و عبوری<sup>۳</sup> بررسی شد.

(۱) Particle Size Analyzer (PSA)

(۲) Scanning Electron Microscope

(۳) Transmission Electron Microscopy

(۴) Drug Loading (DL)

جدول ۱ - جذب‌های پودر استخراجی از گیاه ریوند در غلظت‌های مختلف

جذب	غلظت (µg/ml)
۰/۷۳۰	۶
۰/۹۹۴	۸
۱/۲۳۱	۱۰

$$\text{کدورت نسبی} = \frac{\text{جذب پس از انکوباسیون}}{\text{جذب قبل از انکوباسیون}} \quad (۴)$$

### بررسی پایداری نانوحامل‌ها در محیط

به‌منظور بررسی پایداری فیزیکی و شیمیایی نانوحامل‌های تولیدی، دیسپرسیون دارای نانوحامل‌های کورکومین طی دو دوره ۳ و ۹ ماهه، در دمای محیط ( $25 \pm 2$  درجه سلسیوس) و به‌دور از نور نگهداری شد [۲۳].

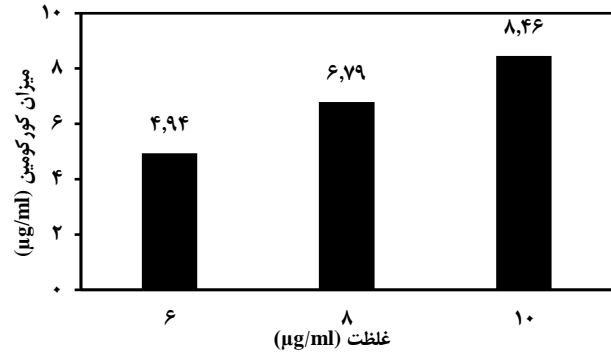
### نتیجه‌ها و بحث

#### نتیجه‌های اسپکتروفتومتر

از غلظت‌های ۶، ۸ و ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کورکومین استخراجی به ترتیب جذب‌های ۰/۷۳۰، ۰/۹۹۴ و ۱/۲۳۱ نانومتر با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر طبق جدول ۱ اندازه‌گیری شد و با استفاده از معادله خط به‌دست آمده از منحنی استاندارد کورکومین طبق نمودار ۱ مقدار کورکومین در کورکومین استخراجی به‌دست آمد.

#### نتیجه‌های HPLC

نتیجه‌های آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا برای عصاره و کورکومین استخراج شده سه پیک در زمان‌های بازداری مشخص نشان داد (شکل ۳)، پیک مربوط به کورکومین موجود در نمونه‌های عصاره و کورکومین استخراج شده به ترتیب در زمان‌های بازداری ۱۶ و ۱۹ دقیقه می‌باشد. در بررسی مساحت این پیک‌ها میزان کورکومین خالص موجود در عصاره ۳۹/۸٪ و کورکومین موجود در کورکومین استخراجی ۸۱/۷٪ تخمین زده شد، نتیجه‌های این آنالیز نشان دهنده ۴۲٪ افزایش خلوص کورکومین استخراجی نسبت به عصاره به‌دست آمده بود. همچنین راندمان عصاره‌گیری معادل  $71.2 \pm 5.2$ ٪ طبق معادله (۱) محاسبه شد که با توجه به کارهای همسان راندمان ۱۲٪ افزایش داشته است [۱۰].



نمودار ۱ - مقدار کورکومین موجود در پودر استخراجی از گیاه ریوند

با نسبت حجمی ۵۰ : ۵۰ با دمای ۳۷ درجه سلسیوس اضافه شد. سرانجام در زمان‌های مشخص (۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۶، ... و ۶۵ ساعت) ۲ میلی‌لیتر از محیط رهایش برداشته و معادل آن بافر فسفات - اتانول تازه با دمای ۳۷ درجه سلسیوس به آن اضافه شد. سرانجام میزان کورکومین آزاد شده از نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۹].

#### مدل‌سازی سینتیک رهایش کورکومین از SLNs

مدل‌سازی سینتیک به منظور درک سازوکار و سینتیک آزادسازی کورکومین، نتیجه‌های مطالعه رهایش کورکومین در شرایط آزمایشگاهی معادله‌های گوناگون سینتیک، مانند درجه صفر، درجه یک و مدل هیگچی قرار داده شد. ضریب همبستگی و ثابت سرعت آزادسازی در منحنی خطی، از تجزیه و تحلیل مقدار نمودارهای یاد شده به دست آمد [۲۱].

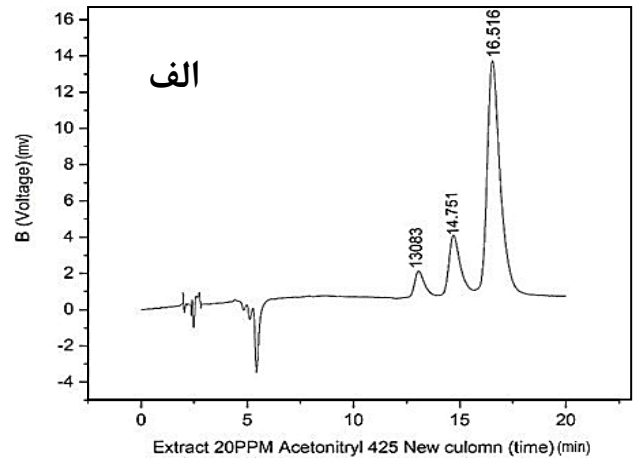
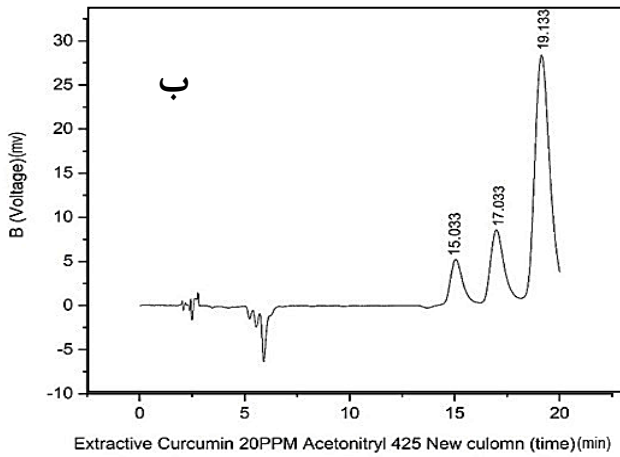
#### بررسی پایداری نانوحامل‌ها در محیط اسیدی

به‌منظور بررسی پایداری نانوسوسپانسیون لیپیدی جامد دارای کورکومین در محیط با  $pH = 1/2$ ، نخست ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون در یک بالون ژوزه دارای ۳۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک، ۰/۰۶۵ مولار ریخته شد و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. در زمان ۰ و ۱ ساعت، بالن مورد نظر به سانتریفیوژ انتقال یافت و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه جداسازی شد، و آنالیزهای مربوطه انجام شد همچنین با استفاده از معادله کدورت نسبی (معادله ۴) به عنوان نشانه‌ای از انباشتگی ذره‌های کدورت آن‌ها اندازه‌گیری شد [۲۱].

کدورت نسبی، نسبت بین جذب پس از ۱ ساعت انکوباسیون در محیط اسیدی و پیش از انکوباسیون است [۲۲].

جدول ۲ - ویژگی‌های نانوحامل‌های تازه تهیه شده با کورکومین و بدون کورکومین

نانوحامل	اندازه ذره‌ها (nm)	شاخص بس پاشیدگی	پتانسیل زتا (mV)	درصد ظرفیت بارگذاری	درصد کارایی کپسوله کردن
لیپیدی جامد با کورکومین	۱۵۳/۴	۰/۱۸۲	-۴۰	۲۹/۱٪	۹۹/۶٪
لیپیدی جامد بدون کورکومین	۱۳۱	۰/۱۷۸	-۳۹	-	-



شکل ۳ - کروماتوگرام به دست آمده از آنالیز کورکومین با فناوری HPLC الف - عصاره ب - کورکومین استخراجی



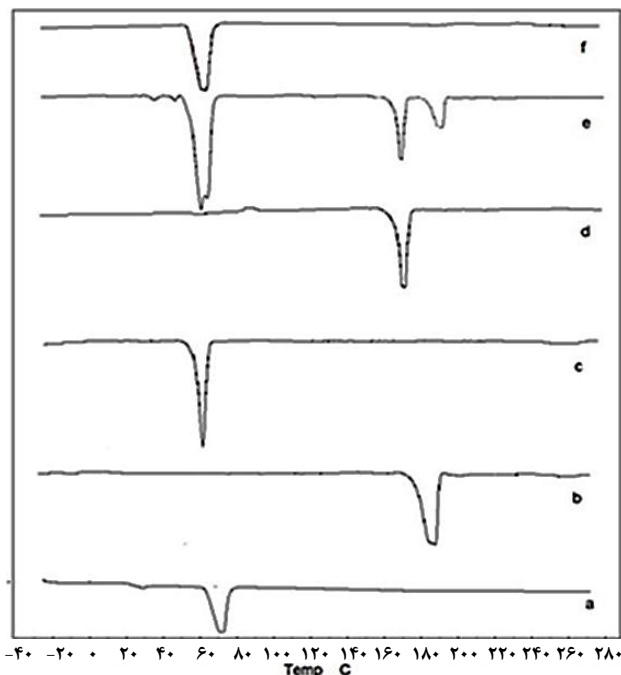
شکل ۴ - الف) کورکومین استخراج شده در آب ب) سوسپانسیون آبی نانوحامل‌های لیپیدی جامد دارای کورکومین استخراج شده

می‌باشد (جدول ۲). پتانسیل زتا تغییر چندانی نداشته که نشان می‌دهد کورکومین در درون ماتریکس نانوذره بارگذاری شده است. همچنین مقایسه طیف IR دو نانوذره، حضور کورکومین را در نانوذره‌های که بارگذاری انجام شده است نشان می‌دهد. همچنین بررسی ریخت‌شناسی سطحی نانوذره‌ها با و بدون کورکومین تفاوت خاصی در سطح نانوذره‌ها نشان نمی‌دهد.

از بررسی ریخت‌شناسی نانوحامل‌های لیپیدی جامد دارای کورکومین استخراجی، به کمک دستگاه SEM و TEM تصویرهای موجود در شکل ۵ به دست آمد که وجود نانوحامل‌ها به شکل کروی و به خوبی پراکنده و از هم جدا شده را تأیید می‌کنند [۲۱].

### نتیجه‌های بررسی اولیه نانوحامل‌ها

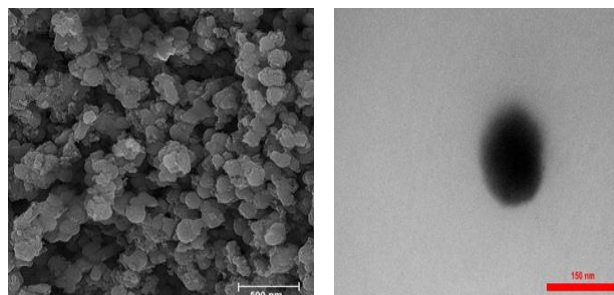
در جدول ۲، میانگین اندازه حامل‌ها و شاخص بس پاشیدگی ذره‌ها نشان داده شد، این اندازه برای دارورسانی به بافت‌ها مناسب می‌باشد [۱۰]، و با توجه به مقدار کم شاخص بس پاشیدگی نتیجه‌های این آنالیز دلخواه است [۱۷]. پتانسیل زتا نمونه منفی است که دلیل منفی بودن بار سطحی نانوحامل‌ها، مربوط به تری پالمیتین گلیسرول و پالمیتیک اسید است. با استفاده از فرمول کارایی کپسوله کردن و ظرفیت بارگذاری دارو میانگین نتیجه‌های به دست آمده، ۹۹٪ کپسوله شدن و ۲۹٪ بارگذاری کورکومین از ۲۵ میلی‌گرم کورکومین مورد استفاده در فرمولاسیون نانوحامل‌های لیپیدی جامد را نشان داد. میزان بارگذاری کورکومین در کارهایی که برای نانوذره لیپوزومی انجام شده است، برای کپسوله کردن ۹۰٪ و برای بارگذاری کورکومین ۲۵٪ گزارش شده است، که البته شایان ذکر است که نانوذره‌های لیپوزومی به دلیل ساختار به‌طور نسبی ناپایدار و نشت سریع کورکومین بارگذاری شده، به‌طور نسبی ناپایدار عمل می‌کنند. مقایسه شکل ظاهری پودر کورکومین استخراجی در آب و SLNs (شکل ۴) نشان می‌دهد که SLNs از پایداری و ظاهر به‌طور نسبی یکنواختی برخوردار هستند [۱۶]. مقایسه اندازه این دو نانوذره نشان می‌دهد که پس از بارگذاری کورکومین اندازه نانوذره‌ها از ۱۳۱ نانومتر به ۱۵۳/۴ نانومتر افزایش یافته است که این به معنای بارگذاری کورکومین در نانوذره‌ها



شکل ۶- ترموگرام‌های کالریمتری روبشی افتراقی (a) پالمیتیک اسید (b) ساکاروز (c) گلیسرول تری پالمیتات (d) کورکومین استخراجی (e) بستر فیزیکی (f) نانوحامل لیپیدی جامد دارای کورکومین

قابل انطباق بودن طیف IR نمونه استاندارد کورکومین و کورکومین استخراجی تأییدکننده وجود کورکومین در پودر استخراج شده از ریوند است. پیک‌های  $2915$  و  $2849$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش‌های کششی CH آلکانی، پیک در ناحیه  $1702$   $\text{cm}^{-1}$  به ارتعاش‌های کششی C=O اختصاص دارد. پیک در ناحیه  $1293$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش‌های خمشی درون صفحه‌ای گروه OH، پیک  $940$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش‌های خمشی خارج از صفحه گروه OH پالمیتیک اسید و به طور کلی بازه  $3400$  تا  $2400$   $\text{cm}^{-1}$  نشان‌دهنده ارتعاش‌های کششی OH اسیدی است [۲۷].

وجود پیک‌های مهم (شکل ۷) در بازه  $3400$   $\text{cm}^{-1}$  نشان دهنده ارتعاش‌های کششی فنولی OH، وجود پیک در بازه  $1700$   $\text{cm}^{-1}$  که مربوط به گروه عاملی C=O و پیک موجود در  $1100$   $\text{cm}^{-1}$  ارتعاش‌های کششی C-O و همچنین پیک موجود در  $1430$   $\text{cm}^{-1}$  و  $1510$  نشان‌دهنده ارتعاش‌های خمشی C=C در حلقه آروماتیک است، به‌طور کلی پیک نوینی در طیف FT-IR نانوحامل‌های دارای کورکومین (شکل شماره ۶ - D) ایجاد نشده، بنابراین عدم ایجاد واکنش شیمیایی بین کورکومین و سایر ترکیب‌ها فرمولاسیون نانوحامل را نشان می‌دهد، همچنین تأییدکننده این موضوع است که عدم وجود پیک کورکومین در ترموگرام‌های کالریمتری روبشی



شکل ۵ - الف) تصویر TEM و ب) تصویر SEM از نانوحامل‌های لیپیدی دارای کورکومین استخراجی

### نتیجه‌های آنالیز گرمایی

در بررسی رفتار گرمایی، ترموگرام کورکومین استخراجی یک پیک گرماگیر (شکل ۶ - d) را در دمای حدود  $169$  درجه سلسیوس نشان می‌دهد که مربوط به نقطه ذوب این ترکیب است. داده‌های کالریمتری روبشی افتراقی نانوحامل‌ها (شکل ۶ - f) پیک مربوط به نقطه ذوب کورکومین را نشان نداد، این درحالی است که پیک مربوط به نقطه ذوب کورکومین در بستر فیزیکی (شکل ۶ - e) مشاهده شد. دلیل حذف پیک در ترموگرام نانوحامل‌های لیپیدی جامد، حل شدن کامل و غیر بلوری بودن ترکیب ماده فعال در ماتریس لیپیدی است [۲۵]، بنابراین می‌توان امکان وجود کورکومین در یک حالت بی‌نظم و غیر بلوری را نتیجه گرفت. چنین حالت بی‌شکل به حالیت بیش‌تر کورکومین در آب و افزایش فراهمی زیستی آن کمک می‌کند [۲۵]، علاوه بر آن نقطه ذوب لیپیدهای پالمیتیک اسید و گلیسرول تری پالمیتات به صورت مجزا به ترتیب  $72$  و  $64$  درجه سلسیوس است اما نانوحامل دارای کورکومین نقطه ذوب پایین‌تر در مقایسه با لیپیدهای خالص نشان داد که این کاهش می‌تواند به دلیل تغییر در ساختار لیپید باشد [۲۶]، همچنین می‌توان اطمینان یافت که این لیپیدها در نانوحامل به صورت جامد هستند.

### نتیجه‌های طیف‌سنجی انتقال فوری به فروسرخ

در نتیجه بررسی صورت گرفته بر روی طیف FT-IR کورکومین استاندارد و پودر استخراج شده؛ وجود پیک در بازه  $3413$   $\text{cm}^{-1}$  نشان‌دهنده ارتعاش‌های کششی فنولی OH، پیک در ناحیه  $1628$   $\text{cm}^{-1}$  مربوط به ارتعاش‌های کششی C=O و در بازه  $1603$   $\text{cm}^{-1}$  ارتعاش‌های خمشی C-H اولفینی، همچنین پیک موجود در  $1430$  و  $1510$  نشان‌دهنده ارتعاش‌های خمشی C=C در حلقه آروماتیک است و پیک موجود در  $1282$   $\text{cm}^{-1}$  ارتعاش‌های کششی C-O تفسیر شده است (شکل ۶).

جدول شماره ۳ - بررسی سنتیک رهش کورکومین

معادله شیمیایی	معادله درجه صفر	معادله درجه یک	معادله هیگوجی
ضریب همبستگی	$0.928/0.053$	$0.9643/0.045$	$0.999/0.031$
ثابت سرعت آزادسازی	$0.0546/0.31$	$0.0939/0.21$	$0.01/0.1$



شکل ۷ - الف) نانوسوسپانسیون تازه تهیه شده ب) نانوسوسپانسیون پس از گذشت ۹ ماه

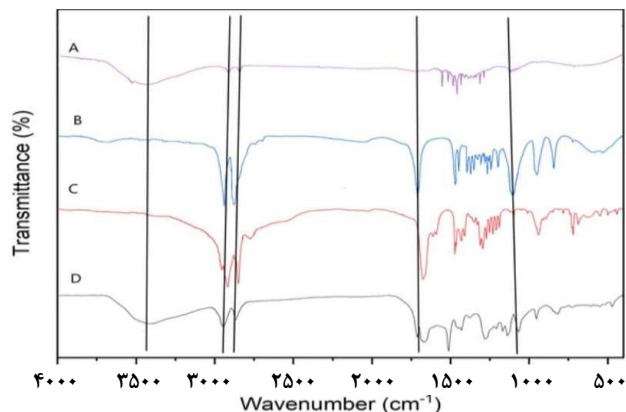
مکانسیم احتمالی رهش نشان می‌دهد که رهش کورکومین بر اساس پدیده نفوذ می‌باشد.

### نتیجه‌ها پایداری در محیط اسیدی

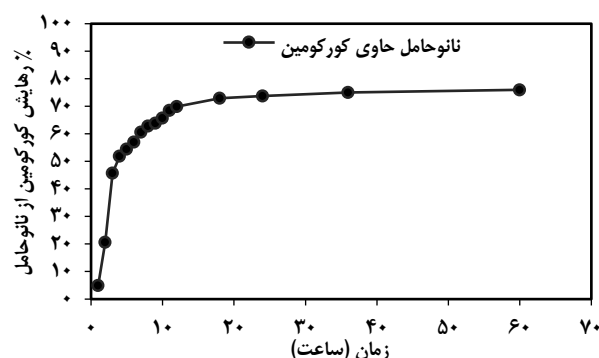
همان‌گونه که در جدول ۴ نشان داده‌شد، در محیط اسیدی نانوحامل‌ها افزایش اندازه داشته، شاخص بس‌پاشیدگی و پتانسیل زتا برای نانوحامل تغییرهای کمی داشته که طبیعی در نظر گرفته می‌شود و پتانسیل زتای آن ثابت باقی‌مانده است. به‌طور کلی نتیجه‌های پایداری نانوحامل‌ها در محیط اسیدی نشان می‌دهد که pH پایین تا حدودی مسئول انباشتگی و تخریب نانوحامل‌های لیپیدی و در نتیجه افزایش کدورت نسبی است که نسبت به تخریب سریع سیستمیک کورکومین در حالت آزاد، پایداری کورکومین را افزایش داده‌است [۴].

### نتیجه‌های به‌دست آمده از پایداری نانوحامل در محیط

طبق جدول ۵ نتیجه‌های به‌دست آمده از پایداری نانوحامل در محیط، افزایش اندازه و تغییرهای شاخص بس‌پاشیدگی نانوحامل در طی این دوره را نشان داد که طبیعی در نظر گرفته می‌شود، همچنین ظاهر یکنواخت و غیر ژلی سوسپانسیون تایید کننده این موضوع است که بار ذره‌ها به گونه‌ای است که تمایل به جذب یکدیگر ندارند و پایدار می‌مانند.



شکل ۷ - طیف FT-IR (A) کورکومین (B) گلیسرول تری پالمیتات (C) پالمیتیک اسید (D) نانوحامل لیپیدی جامد دارای کورکومین



نمودار ۲ - رهائش کورکومین از نانوحامل‌های لیپیدی جامد

افتراقی به علت واکنش شیمیایی کورکومین با سایر اجزای نانوحامل نبوده، بلکه کورکومین در ساختار بستر لیپیدی به دام افتاده است که این فرمولاسیون را به عنوان یک فرمولاسیون دارویی سازگار نشان می‌دهد [۲۸،۲۷].

### نتیجه‌های رهائش کورکومین از نانوحامل‌ها

درصد رهائش کورکومین از نانوحامل‌های لیپیدی جامد در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است، رهائش آهسته کورکومین از نانوحامل‌ها به دلیل ایجاد اثر پوششی در اطراف کورکومین می‌باشد.

### بررسی سنتیک رهش کورکومین

بررسی داده‌های سنتیک رهش کورکومین از نانوذره‌های لیپیدی جامد، نشان می‌دهد که مقدار ضریب همبستگی در حالتی که نمودار رهش با مدل هیگوجی فیت شده است به‌طور تقریبی نزدیک ۱ می‌باشد. و این نشان می‌دهد که سنتیک رهش کورکومین از نانوذره‌های لیپیدی جامد بر اساس مدل هیگوجی است. بررسی



جدول ۴ - پایداری نانوحامل‌ها در محیط اسیدی

نانوحامل	اندازه ذره‌ها (nm)	شاخص بس پاشیدگی	پتانسیل زتا (mV)	کدورت نسبی
پیش از محیط اسیدی	۱۵۳/۴	۰/۱۸۲	-۴۰	۰/۹۷
پس از محیط اسیدی	۲۱۹	۰/۱۱۹	-۴۰	۱/۴

همکاران، مطالعه پایداری برای نانوحامل‌های لیپیدی جامد را در دو شرایط دمایی (اتاق و یخچال) انجام دادند. آن‌ها داده‌های به دست آمده از نانوحامل‌ها در پایان دوره ۳ ماهه را در بازه نانومتر و دلخواه گزارش دادند. نانوحامل‌های ذخیره شده در دمای اتاق روند رشد گسترده اندازه با اختلاف به نسبت زیاد از نمونه‌های تازه تهیه شده، افزایش شاخص بس پاشیدگی ذره‌ها، کاهش پتانسیل زتا و ۶٪ کاهش کارایی کپسوله کردن را نشان دادند، همچنین در بررسی ظاهری نانوسوسپانسیون تمایل به ژل شدن را نشان داد، نانوحامل‌های نگهداری شده در ۴ درجه سلسیوس هیچ تغییر بارزی را در پارامترهای اندازه‌گیری شده نشان نداد، بنابراین آن‌ها دمای ۴ درجه سلسیوس را به عنوان دمای ذخیره-سازی دلخواه برای نانوحامل‌ها گزارش دادند [۳۱]. از سویی هنگامی که لیپید موجود در نانوحامل به فرم  $\alpha$  تشکیل شود و در مدت زمان ذخیره‌سازی به همان فرم باقی بماند، یک نانوحامل لیپیدی بهینه و قابل کنترل تولید می‌شود. در این صورت نانوحامل لیپیدی با داشتن یک سازوکار محرک درونی برای آغاز تغییر از فرم‌های  $\alpha$  به  $\beta$  و در نتیجه ترشح کنترل شده دارو، به یک سامانه دارورسان هوشمند تبدیل می‌شود [۳۲]، ۱۰٪ کاهش کارایی کپسوله کردن برای نانوحامل‌های مطالعه حاضر در مدت زمان نگهداری گویای این مطلب است.

### نتیجه‌گیری

بررسی‌ها نشان داد خالص سازی عصاره استخراج شده به کمک دو حلال هگزان نرمال و اتانول از ریوند، که برای اولین بار انجام شده مؤثر بوده و مقدار کورکومین آن قابل مقایسه با کورکومین استاندارد است. نانوحامل‌های تهیه شده، اندازه و پتانسیل زتای مناسب برای ورود به جریان خون و شاخص بس-پاشیدگی مناسب برای حفظ پایداری نانوحامل در طولانی مدت را نشان داد. رهایش دارو در محیط آزمایشگاهی، در مدت زمان طولانی انتشار یافت و به‌طور تقریبی در محیط اسیدی پایداری

جدول ۵ - پایداری نانوحامل در محیط طی دو دوره ۳ و ۹ ماهه در دمای  $25 \pm 2$ 

نانوحامل	اندازه ذره‌ها (nm)	شاخص بس پاشیدگی	درصد کپسوله کردن
تازه تهیه شده	۱۵۳/۴	۰/۱۸۲	۹۹/۶
پس از ۳ ماه	۱۵۶/۸	۰/۲۲۵	۹۵/۳
پس از ۹ ماه	۱۷۶/۲	۰/۳۳۲	۸۹/۱

### نتیجه‌ها و بحث

نتیجه‌های آنالیز اسپکتروفوتومتر به ازای هر ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر کورکومین را نشان داد و داده‌های HPLC با دقت بالاتر این نتیجه‌ها را تایید کرد و خالص‌سازی در حدود ۸۱/۷٪ را نشان داد. در حالی که واکت<sup>۱</sup> و همکاران جداسازی کورکومین در عصاره متانولی زردچوبه را بر اساس کروماتوگرافی سیال بالا بحرانی با خلوص ۹۷/۹ به دست آوردند [۲۸]. واری<sup>۲</sup> و همکاران میانگین اندازه و شاخص بس پاشیدگی نانوحامل‌های لیپیدی تهیه شده به روش میکروتعلیق را در شرایط بهینه‌سازی، با اندازه متوسط ۴۵۰ نانومتر و شاخص بس پاشیدگی ۰/۴ و شکل کروی برای نانوحامل‌ها گزارش دادند [۲۹]، در پژوهش حاضر اندازه در حدود ۱۵۳ نانومتر و شاخص بس پاشیدگی ۰/۱ به دست آمد که این نتیجه دلخواه‌تر است.

آدریل<sup>۳</sup> و همکاران کارایی کپسوله کردن را به عنوان یکی از مهم‌ترین برتری‌های نانوحامل‌های لیپیدی، ۸۰٪ و ظرفیت بارگذاری دارو را ۲۲/۵٪ برای نانوحامل‌های لیپیدی جامد گزارش کردند در حالی که در پژوهش حاضر میزان بارگذاری ۱۹٪ بیش‌تر بوده‌است. رهایش کورکومین از نانوحامل‌ها آهسته بوده که منجر به رهایش ۷۵٪ کورکومین در مدت ۶۵ ساعت شده‌است. در مقاله‌ای همانند از جورقانیان و همکاران آزادسازی کورکومین را پس از ۳۶ و ۴۸ ساعت به ترتیب ۸۰٪ و ۹۲٪ درصد از کورکومین بارگیری شده گزارش دادند، این در حالی است که بیش از ۹۵٪ از رهایش کورکومین آزاد را در یک ساعت اول گزارش دادند [۳۰].

نتیجه‌های پایداری حامل‌ها در محیط با دمای  $25 \pm 2$  درجه سلسیوس دلخواه در نظر گرفته شد، پیش از آن الباوی<sup>۴</sup> و

(۱) Wakte

(۳) Adriel

(۲) Waree

(۴) Elbahawy

### قدردانی

نویسندگان این مقاله از دانشگاه شهید چمران برای تامین هزینه با گرنت به شماره Grant No.: SCU.SC98.31316 قدرانی می‌نمایند. همچنین کد اخلاق این پروپزال EE/1400.3.02.38292/scu.ac.ir می‌باشد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۱۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۳

نشان دادند. در مدت‌زمان ذخیره‌سازی نانوحامل‌ها، کپسوله کردن حامل‌ها کمی کاهش داشت که این نشان می‌دهد سامانه نانوحامل لیپیدی یک سازوکار محرک درونی برای ترشح کنترل‌شده دارو دارد. بنابراین می‌توان گفت یک نانوحامل لیپیدی بهینه و قابل کنترل تولید شد. این درحالی است که از روش میکروتعلیق برای تولید این نانوحامل‌ها استفاده شده که یک روش کم انرژی، آسان و کم هزینه است.

### مراجع

- [1] Tartik M., Darendelioglu E., Aykutoglu G., Baydas G., [The Various Biological Activities of Rheum Ribes Extract on Different Types of Cell](#), *Türk Doğa Ve Fen Dergisi*, **4**: 1-7 (2015).
- [2] Noori S., Kiyasat A.R., Kolahi M., Mirzajani R., Seydnejad M., [Phytochemical Study and Recognition of Curcuminoids of Turmeric \(Curcuma longa L.\) Extract and Comparison of the Flavonoid and Flavanol Content Utilizing Different Extraction](#), *scientific journal of ilam university of medical sciences*, **26**: 86-98 (2019).
- [3] Hewlings S.J., Kalman D.S., [Curcumin: A Review of its' Effects on Human Health](#), *Foods*, **6**: 92-103 (2017).
- [4] Oyarce P., De Meester B., Fonseca F., de Vries L., Goeminne G., Pallidis A., [Introducing Curcumin Biosynthesis in Arabidopsis Enhances Lignocellulosic Biomass Processing](#), *Nature Plants*, **5**: 225-37 (2019).
- [5] Shelat P., Mandowara V.K., Gupta D.G., Patel S., [Formulation of Curcuminoid Loaded Solid Lipid Nanoparticles in Order to Improve oral Bioavailability](#), *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **7**: 278-82 (2015).
- [6] Mehnert W., Mäder K., [Solid Lipid Nanoparticles: Production, Characterization and Applications](#), *Advanced Drug Delivery Reviews*, **64**: 83-101 (2012).
- [7] Bagul U.S., Pisal V.V., Solanki N.V., Karnavat A., [Current Status of Solid Lipid Nanoparticles: A Review](#), *Modern Applications of Bioequivalence & Bioavailability*, **3**: 1-2 (2018).
- [8] Battaglia L., Ugazio E., [Lipid Nano-and Microparticles: An Overview of Patent-Related Research](#), *Journal of Nanomaterials*, **2019**: 1-22 (2019).
- [9] Ganesan P., Ramalingam P., Karthivashan G., Ko Y.T., Choi D.K., [Recent Developments in Solid Lipid Nanoparticle and Surface-Modified Solid Lipid Nanoparticle Delivery Systems for Oral Delivery of Phyto-Bioactive Compounds in Various Chronic Diseases](#), *International Journal of Nanomedicine*, **13**: 1569-1583 (2018).
- [10] Ghaffari S., Jourghanian P., Arjmand M., Mohammadnejad M., [Sustained Release Curcumin Loaded Solid Lipid Nanoparticles](#), *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, **6**: 17-21 (2016).

- [11] Mirzababaei M., Larijani K., Hashemi-Moghaddam H., Mirjafary Z., Madanchi H., In Vitro Targeting of NL2 Peptide Bounded on Poly L-DOPA Coated Graphene Quantum Dot, *Journal of Fluorescence*, **31**: 279-288 (2021).
- [12] Mahmoudi M., Saeidian H., Mirjafary Z., mokhtari J., Preparation and Characterization of Memantine Loaded Polycaprolactone Nanocapsules for Alzheimer's Disease, *Journal of Porous Materials*, **28**: 1-8 (2021).
- [13] Babaei Shekardasht M., Givianrad M.H., Gharbani P., Mirjafary Z., Mehrizad A., Preparation of a Novel Z-Scheme g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/RGO/Bi<sub>2</sub>Fe<sub>4</sub>O<sub>9</sub> Nanophotocatalyst for Degradation of Congo Red Dye under Visible Light, *Diamond and Related Materials*, **109**: 108008 (2020).
- [14] Geszke-Moritz M., Moritz M., Solid Lipid Nanoparticles as Attractive Drug Vehicles: Composition, Properties and Therapeutic Strategies, *Materials Science and Engineering: C*, **68**: 982-994 (2016).
- [15] Westesen K., Bunjes H., Do Nanoparticles Prepared from Lipids Solid at Room Temperature always Possess a Solid Lipid Matrix, *International Journal of Pharmaceutics*, **115**: 129-31 (1995).
- [16] Feng T., Wei Y., Lee R.J., Zhao L., Liposomal Curcumin and its Application in Cancer, *International Journal of Nanomedicine*, **12**: 6027-6044 (2017).
- [17] Bolourian S., "Production of Lipid Nanocarriers Containing Curcumin and Study of Physicochemical Properties and its Release, Ph.D Thesis, Ferdowsi University, Mashhad, Iran (2016).
- [18] Hu F.Q., Jiang S.P., Du Y.Z., Yuan H., Ye Y.Q., Zeng S., Preparation and Characterization of Stearic Acid Nanostructured Lipid Carriers by Solvent Diffusion Method in an Aqueous System, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **45**: 167-73 (2005).
- [19] Zhang N., Ping Q.N., Huang G.H, Xu W.F., Investigation of Lectin-Modified Insulin Liposomes as Carriers for Oral Administration, *International Journal of Pharmaceutics*, **294**: 247-59 (2005).
- [20] Madureira A.R., Campos D.A., Oliveira A., Sarmiento B., Pintado M.M., Gomes A.M., Insights into the Protective Role of Solid Lipid Nanoparticles on Rosmarinic Acid Bioactivity during Exposure to Simulated Gastrointestinal Conditions, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **139**: 277-284 (2016).
- [21] Kashanian S., Rostami E., PEG-Stearate Coated Solid Lipid Nanoparticles as Levothyroxine Carriers for Oral Administration, *Journal of Nanoparticle Research*, **16**: 1-10 (2014).
- [22] Garcia-Fuentes M., Torres D., Alonso M., Design of Lipid Nanoparticles for the Oral Delivery of Hydrophilic Macromolecules, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **27**: 159-68 (2003).
- [23] Tamjidi F., Shahedi M., Varshosaz J., Nasirpour A., Nanostructured Lipid Carriers (NLC): A Potential Delivery System for Bioactive Food Molecules, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **19**: 29-43 (2013).
- [24] Lai F., Sinico C., De Logu A., Zaru M., Müller R.H., Fadda A.M., SLN as a Topical Delivery System for Artemisia Arborescens Essential Oil: in Vitro Antiviral Activity and Skin Permeation Study, *International Journal of Nanomedicine*, **2**: 419-425 (2007).

- [25] Abdelbary G., Fahmy R.H., [Diazepam-Loaded Solid Lipid Nanoparticles: Design and Characterization](#), *Aaps Pharmscitech*, **10**: 211-219 (2009).
- [26] Fathi M., Varshosaz J., Mohebbi M., Shahidi F., [Hesperetin-Loaded Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructure Lipid Carriers for Food Fortification: Preparation, Characterization, and Modeling](#), *Food and Bioprocess Technology*, **6**: 1464-1475 (2013).
- [27] Ramalingam P., Ko Y.T., [Enhanced Oral Delivery of Curcumin from N-Trimethyl Chitosan Surface-Modified Solid Lipid Nanoparticles: Pharmacokinetic and Brain Distribution Evaluations](#), *Pharmaceutical Research*, **32**: 389-402 (2015).
- [28] Song W., Qiao X., Liang W.f., Ji S., Yang L., Wang Y., [Efficient Separation of Curcumin, Demethoxycurcumin, and Bisdemethoxycurcumin from Turmeric using Supercritical Fluid Chromatography: from Analytical to Preparative Scale](#), *Journal of Separation Science*, **38**: 3450-3453 (2015).
- [29] Tiyaboonchai W., Tunpradit W., Plianbangchang P., [Formulation and Characterization of Curcuminoids Loaded Solid Lipid Nanoparticles](#), *International Journal of Pharmaceutics*, **337**: 299-306 (2007).
- [30] Jourghanian P., Ghaffari S., Ardjmand M., Haghighat S., Mohammadnejad M., [Sustained Release Curcumin Loaded Solid Lipid Nanoparticles](#), *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, **6**: 1-17 (2016).
- [31] Elbahwy I.A., Ibrahim H.M., Ismael H.R., Kasem A.A., [Enhancing Bioavailability and Controlling the Release of Glibenclamide from Optimized Solid Lipid Nanoparticles](#), *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **38**: 78-89 (2017).
- [32] Müller R.H., Mäder K., Gohla S., [Solid Lipid Nanoparticles \(SLN\) for Controlled Drug Delivery a Review of the State of the Art](#), *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **50**: 161-177 (2000).