مقاله مروری

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره پانزدهم، شمارهٔ ۲، اسفند۱۳۹۱، صفحه ۸۷-۷۹

نانوسوسپانسیون ها: رویکردی نوین در دارورسانی

مهدی آقاجانی قرا (MSc)*[۱]، علی محمود پاشازاده(MSc) [۱]، امیر امانی(PhD)[۲]، سیدحسین مصطفوی(MSc)[۲]

۱- مرکز تحقیقات پزشکی هسته ای خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر
۲- گروه نانوتکنولوژی پزشکی، دانشکده فن آوریهای نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

دریافت: ۹۱/۱/۲۸، اصلاح: ۹۱/۴/۱۴، پذیرش: ۹۱/۶/۸

خلاصه

سابقه و هدف: تعداد زیادی از داروهای توسعه یافته جدید به طور ناچیزی در هر دو واسطه آلی و مائی قابل حل هستند که با روش های مرسوم فرمولاسیون، چنین ترکیباتی فراهمی زیستی پائینی از خود نشان خواهند داد. یک رویکرد نوید بخش برای حل این مشکل تولید نانو ذرات دارو (برای مثال نانوسوسپانسیون) است. افزایش حلالیت و فراهمی زیستی داروهای کم محلول یا نامحلول با کمک فن آوری نانوسوسپاسیون مورد بررسی قرار گرفتند. در فرمولاسیون نانو سوسپانسیون، ذرات دارویی در اندازه زیر میکرون در یک فاز مایع خارجی پراکنده و تثبیت شده اند. با توجه به مطالعات انجام گرفته در این زمینه و مرور آنها، از نانوسوسپانسیون ها برای فرمولاسیون مجدد ترکیبات دارویی موجود جهت بر طرف کردن سمیت و یا افزایش کارایی آنها استفاده شده است. مزیت های اصلی این فن آوری قابلیت اجرای عمومی آن برای اکثر داروها و نیز سادگی آن می باشد. در این مقاله روش های عمده تولید نانوسوسپانسیون ها، خصوصیات ویژه این مواد، مزایا، پتانسیل آنها برای کاربرد در داروسانی و نیز تکنیک های ارزیابی پایداری این فرمولاسیون آورده شده است. با در نظر گرفتن ویژگی های خاص نانوسوسپانسیون ها همچون افزایش سرعت انحلال و حلالیت اشباع، افزایش چسبندگی، سهولت فرآیند ساخت و افزایش به مقیاس صنعتی و نیز تنوع پذیری در اصلاح سطح، کاربردهای زیادی برای این فرمولاسیون در مسیر های مختلف دارورسانی وجود خواهد داشت.

واژه های کلیدی: نانوسوسپانسیون، داروهای با حلالیت پایین، قابلیت حلالیت، پایداری، بهینه سازی، زیست فراهمی، توزیع اندازه ذره ای، میکروفلویدیک، هسته زایی، شاخص پلی دیس پرسیتی.

مقدمه

ایجاد فرمولاسیون ترکیبات دارویی نامحلول یا کم محلول در آب مشکل چالش زایی را در صنعت دارویی ایجاد کرده است. فراهمی زیستی پایین و یا جذب نامنظم داروهای کم محلول، مشکلاتی هستند که در این دسته از ترکیبات دارویی مشاهده می شوند (۴-۱). از دلایل عدم موفقیت سیستم های معمول در دارورسانی برای داروهای کم محلول در محیط های آبی یا آلی مربوط به سرعت انحلال پایین و نیز حلالیت اشباع کم دارو است (۸-۵). استفاده از کمپلکس هایی مانند سیکلودکسترین و یا افزودن یک حلال آلی (نظیر الکل) به حلال مائی (نظیر آب) برای افزایش حلالیت اشباع پایین ترکیب دارویی ارائه شده اند، اما در عمل این روش ها موفقیت قابل قبولی را از خود نشان نداده اند. بخصوص در مواقعی که حلالیت ترکیب دارویی در هر دو محیط آبی یا آلی پایین باشد، ایجاد فرمولاسیون های معمولی از دارو برای افزایش حلالیت اشباع آن امری بیهوده خواهد بود (۱۰و۹). به تازگی کاهش اندازه ذره ای ماده دارویی در حد و اندازه نانومتری (Nanosizing) پتانسیلی را در جهت افزایش انحلال این داروها نشان داده است (۱۲و۱۱). مهندسی نانوذرات این امکان را فراهم می سازد تا داروهای با قابلیت انحلال ناچیز به عنوان نانوسوسپانسیون ها فرمولاسیون شوند. نانوسوسپانسیون ها می توانند برای فرمولاسیون ترکیباتی که در آب غیر قابل حل هستند و همچنین برای فرمولاسیون مجدد داروهای موجود (برای برطرف کردن سمیت یا بالا بردن کارایی) استفاده شوند. داروهای آبگریز مختلف، پیش از این به

* مسئول مقاله:
آدرس: بوشهر، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات پزشکی هسته ای خلیج فارس، تلفن: ۰۷۷۱-۲۵۲۰۳۶۱
e-mail: m.aghajani@bpums.ac.ir

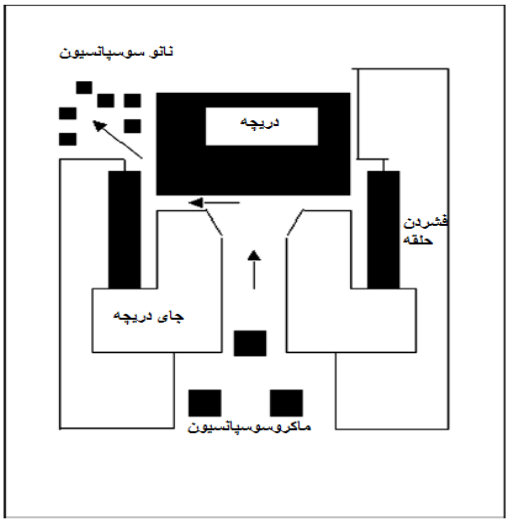
[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.10.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.79]

طور موفقیت آمیزی به این صورت فرمولاسیون شده اند، برای نمونه می توان به ناپروکسن، کلوفازمین، اومپرازول، آمفوتریسین، نیفدیپین، سیپرونولاکتون، میتوتان، بوپراواکون و نیمسولید اشاره کرد (۱۵-۱۳و۱۰)، همچنین اخیرا داروهای با قابلیت انحلال پایین در آب نظیر پردنیزولون، هیدروکورتیزون و استامینوفن به صورت فرمولاسیون نانوسوسپاسیون تهیه شدند (۱۸-۱۶). نانوسوسپانسیون ها، پراکندگی کلوئیدی زیر میکرون مربوط به ذرات دارویی خالص در یک فاز مایع خارجی هستند که توسط سورفکتانت ها تثبیت شده اند (۱۹). در فن آوری نانوسوسپانسیون، سعی می شود تا دارو در یک حالت کریستالی با کاهش اندازه ذره ای نگهداری شود که منجر به افزایش میزان حلالیت اشباع و بنابراین بهبود زیست فراهمی (Bioavailability) آن می شود (۲۰). هدف از این مطالعه شناخت فرمولاسیون نانوسوسپانسیون و ویژگی های خاص آن به عنوان روشی کارآمد برای افزایش کارایی داروهای کم محلول و یا نامحلول و نیز روش های تهیه و توسعه این فن آوری با کاربردهای آن در پزشکی و داروسازی می باشد.

مواد و روشها

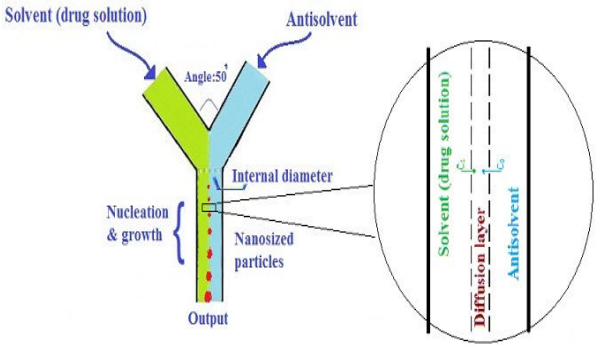
نگارش این مقاله مروری با توجه به مطالعات و کارهای انجام شده در زمینه فن آوری نانوسوسپانسیون ها در طی ۱۵ سال اخیر (۲۰۱۲-۱۹۹۸) انجام شده است. در این کار از سایت های معتبر Science Direct، Springer، WILEY و Google Scholar جهت جستجو و دستیابی به مقالات ارائه شده در این زمینه با توجه به کلید واژه های nanosuspension، low-soluble drugs، solubility، stability، drug delivery، optimization، production، characterization، Bioavailability، particle size distribution، milling، microfluidic، precipitation، nucleation، homogenization، nanoparticle، polydispersity index در عنوان و خلاصه مقاله ها استفاده شد.

تولید نانوذرات دارویی: تشکیل نانوذرات در این فن آوری توسط دو استراتژی عمده: آسیاب کردن (همگن سازی با نیروهای برشی بالا) و رسوب گذاری (هسته زایی) قابل توضیح می باشد. در روش آسیاب، ذرات بزرگتر توسط دستگاه ها و مکانیسم های متعدد (برای مثال همگن سازهای با فشار بالا (شکل ۱) به ذرات کوچک شکسته شده و همزمان ذرات تولید شده با استفاده از پلیمرها و سورفکتانت های مناسب پایدار می گردند (۲۲-۲۰). در روش هسته گذاری، ماده مورد نظر ابتدا در یک حلال تا حد فوق اشباع حل شده و سپس فرآیند رسوب دادن دارو در حلال با اضافه نمودن یک محرک (مثلاً مواد ضد حلال) آغاز می شود. مواد ضد حلال موادی هستند که حلالیت کمی برای ماده داروئی حل شده دارند و قابلیت اختلاط مناسبی با حلال اصلی از خود نشان می دهند. رسوب دارو بصورت هسته هایی بروز نموده و سپس هسته ها شروع به رشد می کنند. میزان این رشد با سورفکتانت ها کنترل شده و با توجه به پارامترهای مختلف در روش تولید و کنترل آنها می توان به اندازه ذره ای مناسب دست یافت (۲۳). به تازگی در مطالعات انجام شده (۱۸و۱۷) با استفاده از روش نانو رسوبگذاری با ابزار میکروفلویدیک فرمولاسیون های نانوسوسپانسیون از مواد دارویی تهیه شده است (شکل ۲).



شکل ۱. شماتیک نشاندهنده فرآیند همگن سازی با فشار بالا.

سوسپانسیون دارویی به طور ناگهانی از داخل یک سیلندر با قطر سه میلی متر به داخل یک شکاف خالی با قطر حدود ۳۵ میکرومتر وارد می شود که در اثر این عمل و تغییر در قطر باعث افزایش شتاب شده و در ادامه با کاهش فشار ایستایی سیال و پائین آمدن دمای جوش آب به پائینتر از دمای اتاق و جوشیدن، حباب های گاز تشکیل می شود. در هنگام خروج این حباب ها از شکاف، ذرات داروئی شکسته شده و نانوذرات تولید می شوند. همچنین کاهش بیشتر اندازه ذرات داروئی در اثر برخورد ذرات بایکدیگر با سرعت بسیار بالا حاصل می گردد.



شکل۲: نمای شماتیکی از فرآیند نانورسوبگذاری در ابزار میکروفلویدیک (قطر داخلی 1mm). ماده دارویی در یک حلال تا حد فوق اشباع حل شده و توسط اختلاط با یک ماده ضد حلال رسوب می کند. دو جریان حلال و ضدحلال تنها از طریق فرآیند انتشار با هم مخلوط می شوند. با آغاز فرآیند انتشار، ذرات حل شده در حلال در اثر محرک ضدحلال به صورت هسته هایی در اندازه نانو شروع به رسوب می کنند و در نهایت رشد هسته ها بوسیله سورفکتانت ها کنترل شده و نانوذرات دارویی جمع آوری می شوند (۱۸).

فرمولاسیون نانوسوسپانسیون ها

تثبیت کننده: عمل اصلی تثبیت نانوسوسپانسیون ها مرطوب کردن ذرات داروئی به طور کامل و همچنین جلوگیری از پدیده اسوالد و انباشتگی (Agglomeration) نانوذرات از طریق فراهم ساختن مانع یونی یا استریک می باشد. نوع و مقدار تثبیت کننده بر روی پایداری فیزیکی و رفتار درون تنی

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.10.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.79]

نانوسوسپانسیون تأثیر گذار است. تثبیت کننده هایی که تاکنون استفاده شدند عبارت از پلوکسومرها (Poloxomer)، پلی سوربات، سلولزها، پویدون ها (Povidone) و لسیتین ها هستند. جهت ایجاد یک نانوسوسپانسیون قابل اتوکلاو و قابل قبول برای تزریق، استفاده از لیسیتین برگزیده و مناسب می باشد (۲۵و۲۴). نسبت دارو به تثبیت کننده در فرمولاسیون می تواند از ۱:۲۰ تا ۲۰:۱ متغیر باشد (۲۶).

عامل اصلی برای تثبیت کردن ظاهر نانوسوسپانسیون ها در طبیعت سورفکتانت بوده و انتخاب آن برای دارو و روش فرمولاسیون بخصوص می باشد. در صورت وجود نداشتن مقدار کافی از سورفکتانت، نانوذرات تولید شده در اثر انرژی سطحی بالای خود تجمع می یابند. سورفکتانت را می توان با توجه به گروه های باردار موجود در سر هیدروفیل (آبدوست) آن به سورفکتانت یونی و غیر یونی تقسیم بندی کرد.

یک سورفکتانت غیر یونی، گروه های باردار در قسمت سر خود ندارد. اگر قسمت سر یک سورفکتانت یونی دارای بار منفی باشد به آن سورفکتانت آنیونی و اگر دارای بار مثبت باشد به آن سورفکتانت کاتیونی می گویند. سورفکتانتی که دارای بار مثبت و منفی باشد به آن آمفوتریک می گویند. سایر سورفکتانت ها شامل سورفکتانت های پلیمری و غیر پلیمری و غیره نیز وجود دارند. باید توجه داشت که تأثیرات دفع الکترواستاتیک (بخاطر افزودن سورفکتانت های آنیونی یا کاتیونی) و نیز غلظت بالاتر مربوط به تثبیت کننده های استریک (stric: وابسته به استقرار اتم ها در فضا)، به طور قابل توجه تحت تأثیر اندازه ذره ای نیستند (۲۶).

حلال آلی: در فرآیند تولید فرمولاسیون نانوسوسپانسیون یک ماده دارویی، باید نوع و میزان حلال آلی مورد استفاده و نیز پتانسیل سمیت زایی و سهولت خارج کردن آن از فرمولاسیون در نظر گرفته شود. مثال هایی از حلال های قابل قبول به لحاظ داروسازی شامل اتانول و ایزوپروپانول با قابلیت اختلاط با آب و نیز اتیل استات، اتیل فرمات، بوتیل استات، تری استین، پروپیلن کربونات و بنزیل الکل با قابلیت اختلاط کم با آب هستند (۲۷).

مزیت های نانوسوسپانسیون ها:

افزایش چسبندگی: افزایش سطح تماس برای نانوذرات معلق در نانوسوسپانسیون باعث افزایش نیروهای برهمکنشی بین ذرات می شود. برای داروهای کم محلول در مصرف خوراکی می توان فراهمی زیستی را با توجه به چسبندگی نانوذرات دارویی به مخاط ها بهبود بخشید (۲۷و۱۴).

سهولت ساخت و افزایش از مقیاس آزمایشگاهی به صنعتی (Scale-up): برخلاف حامل های بصورت نانوذرات مثل نانو ذرات پلیمری، نانوسوسپانسیون ها به آسانی قابل ساخت هستند. فرآیندهای تولید نانوسوسپانسیون ها به آسانی قابلیت افزایش جهت تولید تجاری را دارند. معرفی محصولات نانوسوسپانسیونی مثل راپامون (Rapamune) و کلوئید نانو کریستالی کتوپروفن (Ketoprofen) می توانند نمونه های بارز و شایسته برای آن باشند (۲۷).

بهبود کارایی بیولوژیکی: افزایش در سرعت انحلال و حلالیت اشباع دارو در فرم نانوسوسپانسیون (۲۸) باعث بهبود کارایی درون تنی دارو صرفنظر از مسیر استفاده می شود یعنی در تمام مسیرهای تجویز دارو مانند خوراکی، تزریقی، استنشاقی و موضعی این بهبود کارایی مشاهده شده است (۲۷).

تنوع پذیری: انعطاف پذیری ارائه شده در اصلاح ویژگی های سطحی و اندازه ذره و نیز سهولت فرآیند بعد از تولید نانو سوسپانسیون، آنها را قادر می سازد تا در فرم های مختلف مصرفی دارو مثل قرص ها، شیاف ها و هیدروژل ها برای مسیرهای مختلف تجویز دارو شرکت داشته باشند و بنابراین باعث تنوع و تطبیق پذیری آنها می شود (۳۰و۲۹و۲۷).

پایداری فیزیکی دراز مدت: سیستم های پراکنده شده به خاطر پدیده اسوالد (Ostwald ripening) که باعث رشد کریستال و تشکیل میکروذرات می شود، ناپایداری فیزیکی را نشان می دهند. پدیده اسوالد بعنوان تمایل یک پراکندگی ذره ای به رشد قطری در طول زمان تعریف می شود، بر طبق فرآیندی که در آن ذرات کوچکتر به سبب قابلیت حل شدگی بیشترشان با هم حل می شوند و به دنبال آن کریستالیزاسیون به سمت ذرات بزرگتر و تشکیل میکروذرات پیشروی می کند. پدیده اسوالد بخاطر تفاوت در سرعت انحلال یا حلالیت اشباع ذرات بزرگ و کوچک است. در نانوسوسپانسیون ها تمام ذرات اندازه یکنواختی دارند و بنابراین تفاوت کمی بین حلالیت اشباع ذرات وجود دارد. تفاوت در غلظت محلول های اشباع پیرامون یک ذره بزرگ و کوچک منجر به انتشار ماده حل شده از قسمت بیرونی ذرات بزرگ می شود. در نتیجه بعلت حالت فوق اشباع محلول در پیرامون ذرات بزرگ، کریستالیزاسیون دارو و رشد کریستالهای بزرگ یا میکروذرات رخ می دهد. پدیده اسوالد بطور کامل در نانوسوسپانسیون ها اتفاق نمی افتد، بخاطر اینکه می توان نانوسوسپانسیون ها را با اندازه ذره ای یکنواخت تولید کرد که باعث پایداری فیزیکی طولانی مدت آنها نیز می شود (۳۴-۳۱).

صفات اختصاصی نانوسوسپانسیون ها: صفات نانوسوسپانسیون ها در ظاهر، رنگ، بو، مزه، پتانسیل زتا، اندازه ذره ای، حالت کریستالی، مطالعات انحلالی و مطالعات درون تنی توصیف شده هستند. مهمترین تکنیک های توصیف مشخصات عبارتند از:

میانگین اندازه ذره ای و توزیع آن: میانگین اندازه ذره ای و گستره توزیع آن (یعنی شاخص پلی دیسپرسیتی (Polydispersity index) یا همان PDI) دو پارامتر مهم مشخصه نانوسوسپانسیون ها هستند، به سبب اینکه حلالیت اشباع، سرعت انحلال، پایداری فیزیکی و حتی رفتار درون تنی نانوسوسپانسیون ها را تحت تأثیر قرار می دهند (۳۵). Muler حلالیت اشباع و سرعت انحلال با تغییر در اندازه ذره ای دارو تغییرات قابل توجهی را متحمل می شود. در نانوسوسپانسیون ها توزیع اندازه ذره ای تعیین کننده رفتار فیزیکوشیمیایی آنها مثل حلالیت اشباع، سرعت انحلال، حلالیت فیزیکی و غیره می باشد. توزیع اندازه ذره ای را بسته به اندازه ذره ای (قطر هیدرودینامیکی) می توان توسط اسپکتروسکوپی هم بستگی فوتون (Photon correlation spectroscopy) (یا PCS)، پراش لیزری (Laser diffraction) (یا LD) و یا شمارنده کولتر (Coulter Counter) تعیین کرد. PCS حتی می تواند برای تعیین پهنای توزیع اندازه ذره ای (PDI) بکار رود (۲۰). PDI یا شاخص پلی دیسپرسیتی، پارامتری مهم می باشد که پایداری فیزیکی نانوسوسپانسیون ها را معین می کند و باید به قدری کم باشد تا اینکه پایداری درازمدت نانوسوسپانسیون ها را ممکن سازد. مقدار حدودی ۰/۱ تا ۰/۲۵ مربوط به PDI نشاندهنده توزیع خوب اندازه با پهنای کم است در حالی که مقدار PDI بیشتر از ۰/۵ نشان دهنده توزیع اندازه با پهنای زیاد می باشد (۱۴).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.10.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.79]

بار سطحی یا پتانسیل زتا: تعیین پتانسیل زتای نانوسوسپانسیون از آنجایی که نشان دهنده پایداری فیزیکی نانوسوسپانسیون است، ضروری می باشد (۱۹). پتانسیل زتا اطلاعات معینی را در رابطه با ویژگی های بار سطحی و بعلاوه پایداری فیزیکی درازمدت نانوسوسپانسیون ها می دهد. پتانسیل زتای نانوسوسپانسیون توسط هر دو عامل تثبیت کننده و خود ماده کنترل می شود. برای نانوسوسپانسیونی که تنها توسط دفع الکترواستاتیک پایدار شده است، حداقل پتانسیل زتای ۳۰± میلی ولت مورد نیاز می باشد در حالی که در مورد ترکیبی از این دو یعنی تثبیت کننده الکتروستاتیک و استریک پتانسیل زتای ۲۰± میلی ولت کافی خواهد بود (۳۶).

افزایش در حلالیت اشباع و سرعت انحلال دارو: انحلال دارو بخاطر افزایش منطقه سطح ذرات دارو در تبدیل از اندازه میکرومتر به نانومتر افزایش می یابد. با توجه به معادله Noyes – whitney (۳۷و۳۸)، سرعت انحلال بخاطر افزایش در منطقه سطح ذرات از اندازه میکرو به نانو افزایش می یابد (۳۹و۲۷).

$$dX/dt = ((D \times A)/h)\,(C_s - X/V) \qquad (۱)$$

که D ضریب انتشار، A منطقه سطح ذره، dx/dt سرعت انحلال، V حجم محیط انحلال، X غلظت در مایع اطراف و C_S حلالیت اشباع می باشد. برای ذرات کوچک فاصله انتشاری h با کاهش اندازه ذره کاهش یافته و باعث افزایش در حلالیت اشباع می شود و بنابراین منجر به افزایش در شیب (CS-/h) (CX) می شود و در نهایت سرعت انحلال افزایش می یابد (۴۰و۲۷).

باتوجه به معادله Ostwald – Freunddlich، کاهش در اندازه ذره ای (تا حدود زیر ۲۰۰ نانومتر) باعث افزایش درحلالیت اشباع می شود (۲۷).

$$\log(C_s/C_\alpha) = 2\sigma V/2.303RT\rho r \qquad (۲)$$

که C_s حلالیت اشباع یا حلالیت ظاهری می باشد، C_α حلالیت جامد شامل ذرات بزرگ، σ کشش سطحی، V حجم مولی مواد، R ثابت گازها، T دمای مطلق و r شعاع است (۲۴). مطابق با این رابطه در ذرات کروی حلالیت ماده با قطر آن رابطه معکوس دارد. در عمل میزان حلالیت با کاهش اندازه در حد میکرو و ماکرو ذرات تغییر چندانی ندارد و تنها زمانیکه اندازه ذره به ابعاد نانومتر (به مقادیر کمتر از ۲۰۰ نانومتر) برسد حلالیت آن افزایش می یابد (۴۱و۳۸).

ساختار داخلی نانوسوسپانسیون: ورود ذرات با فشار بالا به همگن ساز هنگام فرآیند از هم پاشیدگی (Disintegration) باعث ایجاد تغییرات ساختاری درون ذرات دارو می شود. هنگامیکه ذرات دارو در معرض فشار بالا قرار میگیرند، ذرات همگن از حالت کریستالی به حالت آمورف تغییر شکل پیدا می کنند. این تغییر در حالت کریستالی وابسته به سفتی دارو، تعداد سیکل های همگن سازی، طبیعت شیمیایی دارو و تراکم قدرت بکار رفته توسط همگن ساز است. به هم خوردن ساختار کریستالی نیز به نوبه خود باعث افزایش سرعت حلالیت دارو می شود (۴۰).

حالت کریستالی و مورفولوژی ذره: فرآیند های تولید نانوسوسپانسیون ها گاهی نانوذرات را به حالت بی شکل (آمورف) درآورده و گاهی شکل جدیدی از کریستال به نانوذرات می دهند (۲۸).

کاربرد نانوسوپانسیون ها در دارورسانی

دارورسانی خوراکی: مطلوبترین راه در بحث دارورسانی، راه خوراکی می باشد و به طور معمول وابسته به جذب دارو از مسیر گوارشی و نیز حلالیت دارو است. بعبارتی در مسیر خوراکی، داروئی با حلالیت کم دارای فراهمی زیستی پائینی بوده و در نتیجه جهت رسیدن به غلظت درمانی نیاز به استفاده از دوزهای مازاد می باشد که در نهایت باعث بالارفتن عوارض جانبی و نیز گران شدن فراورده نهایی می شود. در این موارد کاهش اندازه ذره ای دارو در ابعاد نانومتر باعث افزایش چشمگیری در جذب و فراهمی زیستی خوراکی آن می شود. افزایش حلالیت اشباع دارو در نانوسوسپانسیون ها باعث افزایش فراهمی زیستی شده و شیب غلظتی دارو بین مسیر گوارشی و خون زیاد می شود. همچنین از عوامل مهم دیگر در افزایش فراهمی زیستی نانوسوسپانسیون ها، افزایش چسبندگی و بالا رفتن سرعت انحلال ذرات داروئی است. بعلاوه، در مقایسه با فرمولاسیونهای متداول شروع اثر نانوسوسپانسیون ها سریعتر بوده و کمتر تحت تأثیر پر یا خالی بودن دستگاه گوارش قرار می گیرند (۴۳و۴۲و۱۲و۱۱و۲).

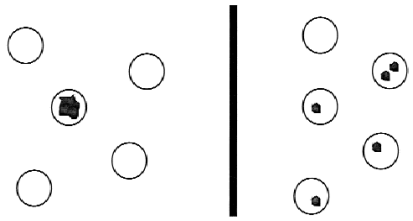
دارورسانی تزریقی: در مسیر تزریقی به روش های کلاسیک، عدم توانایی در انحلال مقادیر زیاد دارو و نیز سمیت احتمالی مواد جانبی از مشکلات اصلی است. به نظر می رسد که برای روش های فرمولاسیون کلاسیک، نانوسوسپانسیون ها جایگزین مناسبی بوده و تقریباً تمام پیش نیازها را برای یک سیستم ایده آل تزریق دارا هستند. از عواملی که باعث می شوند نانوسوسپانسیون ها کاندیدای مناسبی برای مصرف تزریقی باشند عبارت از: نبود حلال ها و کمک حلال های سمی و افزودنی های تأئید نشده در مصرف داروئی و نیز هزینه تولید پائین نانوسوسپانسیون ها می باشد.

بعلاوه فاگوسیتوز نانوسوسپانسیون ها توسط ماکروفاژهای تک هسته ای و سلول های کوفر در مسیر تزریقی باعث می شود تا دارو به صورت تدریجی از ماکروفاژها آزاد شود، همچنین با جذب نانوسوسپانسیون های آنتی بیوتیکی در ماکروفاژها می توان دارورسانی هدفمند به این قسمت انجام داد که محل تجمع باکتری ها و قارچ ها است (۴۵و۴۴و۲۷و۱۲و۱۱).

دارورسانی چشمی: دارورسانی داروهایی که حلالیت پائین در مایعات اشکی دارند را می توان توسط نانوسوسپانسیون ها (با توجه به توانائی ذاتی شان در افزایش حلالیت اشباع دارو) فرمولاسیون کرد. این فرمولاسیون ها بر خلاف محلول های دارویی باعث تغییر تونیسیته مایعات اشکی نشده و قابلیت ماندگاری آنها در چشم بالا است. همچنین طبیعت نانو ذره ای دارو امکان ماندگاری طولانی آنرا در قسمت کلدوساک (cul-de-sac) چشم فراهم می کند که منجر به رهش آهسته دارو در آنجا می شود. بعلاوه برای اینکه دارو در مدت زمان مورد نظر عمل کند می توان نانوسوسپانسیون پلیمری تهیه کرد که حاوی دارو باشد (۴۹-۴۶).

دارورسانی ریوی: افزایش چسبندگی نانوذرات دارویی در نانوسوسپانسیون ها باعث افزایش زمان اقامت آنها در ریه ها شده و نیز طبیعت نانوذره ای دارو باعث افزایش سرعت انتشار و انحلال آن در محل اثر می شود. در بسیاری از بیماریهای ریوی، پی آمد ترکیب این دو اثر یعنی افزایش طول اثر دارو و نیز تسریع شروع اثر آن بسیار مفید می باشد. همچنین به دلیل توزیع یکنواخت ذرات نانوسوسپانسیونها در قطرات آئروسولی (شکل ۳)، دارورسانی به ریه ها بطور یکنواخت انجام می شود (۵۳-۵۰و۳۲).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.10.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.79]



شکل ۳. سمت چپ، دارو بعنوان ذره ۳ میکرونی؛ سمت راست، بعنوان ذرات ۵۰۰ نانومتری که در قطره های بیشتری توزیع شده اند (۳۶).

تکنیک های ارزیابی پایداری نانوسوسپانسیون: انتخاب تکنیک های ارزیابی برای پایداری نانوسوسپانسیون داروئی وابسته به طبیعت نوع پایداری و فرم مصرفی دارو می باشد (۲۶).

تکنیک های متداول ارزیابی و کاراکتریزاسیون استفاده شده در رابطه با پایداری نانوذرات داروئی

اندازه ذره، توزیع اندازه ذره ای و مورفولوژی: اندازه ذره ای و توزیع اندازه ذره ای از پارامتر های مهم بکار رفته برای ارزیابی پایداری فیزیکی نانوذرات هستند. افزایش اندازه ذره ای متناسب با پایداری می باشد. تکنیک PCS/DLS به طور معمول برای اندازه گیری اندازه ذره ای و توزیع اندازه (شاخص پلی دیسپرسیتی) بکار می رود. PDI بزرگتر از ۰/۵ اشاره به توزیع اندازه ذره ای پهن یا عدم یکنواختی ذرات در سوسپانسیون می باشد و بنابر پدیده اسوالد این عدم یکنواختی موجب ناپایداری نانوسوسپانسیون ها می شود (۵۵و۵۴و۲۴).

ته نشینی یا رسوب (Sedimentation): روش مرسوم برای ارزیابی ته نشینی، مشاهده بصری بعد از یک دوره زمانی معین می باشد. با اندازه گیری حجم لایه ذره ای ته نشین شده در سوسپانسیون طی زمانی معین که به آن حجم ته نشینی و یا توده نیز می گویند، می توان به ارزیابی کمی پایداری سوسپانسیون پرداخت. حجم توده ای کمتر در یک زمان مشخص اشاره به پایداری بیشتر سوسپانسیون دارد. ساختار لایه ته نشین شده را به آسانی می توان توسط پراکنده کردن دوباره سوسپانسیون با تکان دادن دستی تعیین کرد یعنی اگر سوسپانسیون دوباره به آسانی پراکنده شود نشانه تجمع شل و سست حجم توده ته نشین شده است و شکسته شدن با تکان دادن دستی نشاندهنده سختی ساختار توده ته نشین شده است. روشهای دیگر برای ارزیابی ته نشینی شامل بک اسکتر لیزری (Laser backscattering) و انتقال مادون قرمز نزدیک (Near-infrared transmission) می باشد (۵۹-۵۶و۲۶).

بار سطحی ذره: الکتروفورز داپلر لیزری (Laser Doppler electrophoresis) به طور معمول برای اندازه گیری پتانسیل زتا بکار می رود. این تکنیک تحرک الکتروفورتیک ذرات معلق در محیط را ارزیابی می کند. قاعده عمومی و کلی این است که مقدار پتانسیل زتای بالای ۶۰ میلی ولت نشانه پایداری عالی است، در حالیکه ۲۰ تا ۳۰ پایداری کوتاه مدت و ۵ میلی ولت تجمع سریع ذره ای را می رساند. این قاعده برای وقتی معتبر است که سوسپانسیون فقط بصورت الکترواستاتیکی (یعنی توسط سورفکتانت های یونی) پایدار شده است و یا اینکه در ترکیب با سورفکتانت های با وزن مولکولی کم باشد، در غیر اینصورت برای وقتی که سورفکتانت های با وزن مولکولی بالا در سوسپانسیون وجود دارند، این قاعده معتبر نیست (۶۱و۶۰).

حالت کریستالی: Lindfors و همکارانش نشان دادند که پی آمد اصلی در نتیجه تغییر حالت کریستالی، انتقال بین حالت آمورف و کریستالی می باشد یعنی نانوذرات آمورف موجود در نانوسوسپانسیون در حضور مقادیر کم از ذرات کریستالی ناپایدار شده و باعث شروع فرآیند انتشار به سمت پدیده اسوالد و تبدیل سریع نانوذرات آمورف به حالت کریستالی و تجمع آنها میشود. تبلور یا کریستالی شدن ذرات داروئی بطور معمول توسط پراش اشعه X (X-Ray Diffraction) (XRD) و یا کالریمتری پویشی تفاضلی (Differential Scanning Calorimetry, DSC) تعیین می شود. در نمودارهای XRD ذرات کریستالی معمولاً پیک تیزتری دارند که در مواد آمورف وجود ندارد(۶۵-۶۲).

پایداری شیمیایی: متداولترین تکنیک بکار رفته برای ارزیابی پایداری شیمیایی HPLC می باشد که آنالیز کمی دقیق از ناخالصی های تخریب را فراهم می کند. غالباً طیف سنجی جرمی (Mass spectrometry, MS) بهمراه HPLC برای شناسایی ساختار مولکولی ناخالصی ها بکار می رود. تکنیک های دیگر نظیر FTIR و NMR نیز می توانند برای ارزیابی پایداری شیمیایی استفاده شوند اما دقت و حساسیت آنها به اندازه HPLC نیست (۶۶و۲۶).

نتیجه گیری

نانوسوسپانسیون ها رویکردی برای فرموله کردن ترکیبات دارویی کم محلول و افزایش زیست فراهمی برخی داروها می باشند. همچنین اصلاح فارماکوکینتیک دارو باعث افزایش ایمنی و اثر بخشی آن می شود. با توجه به ویژگی های منحصر به فرد نانوسوسپانسیون ها نظیر افزایش سرعت انحلال و حلالیت اشباع، افزایش چسبندگی، سهولت فرآیند ساخت و افزایش به مقیاس صنعتی و نیز تنوع پذیری در اصلاح سطح، کاربردهای زیادی برای این فرمولاسیون در مسیر های مختلف دارورسانی وجود دارد. استفاده از این سیستم های دارورسانی در مسیرهای خوراکی و تزریقی بخوبی ارزیابی شده است. همچنین کاربرد آنها در دارورسانی ریوی و چشمی در حال تحقق یافتن می باشد. با این وجود کاربردشان در دارورسانی موضعی و همچنین دارورسانی از راه دهان و بینی باید مورد مطالعه و بررسی بیشتر قرار گیرد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.10.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.79]

Nanosuspensions: a New Approach in Drug Delivery

M. Aghajani (MSc)[1×], A.M. Pashazadeh (MSc)[1], A. Amani (PhD)[2], S.H. Mostafavi (MSc)[2]

1.The Persian Gulf Nuclear Medicine Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

2.Department of Medical Nanotechnology, School of Advanced Medical Technologies, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

J BabolUniv Med Sci;15(2); Mar2013; pp: 79-87

Received: Apr 16th 2012, Revised: Jul 4th 2012, Accepted: Aug 29th 2012.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE:

A large number of new development drugs are soluble poorly in both organic and aqueous media which shows a low bioavailability using formulation traditional methods. A promising approach to solve this problem is the formation of nanosuspensions. Various articles about the increasing solubility and bioavailability of poorly soluble or insoluble drugs by nanosuspension were evaluated. In formulation of nanosuspensions, submicron-sized drug particles are dispersed in a liquid phase then they stabilize using surfactants. With respect to the studies in the subject, in order to eliminate the toxicity or to increase efficiency of drugs, nanosuspension formulation was used to formulate drug components. The main advantages of this approach are its application for the most drugs and doing it simply. In this work, common approaches of the preparation of nanosuspensions, its unique properties, advantages, potential applications and stability evaluation techniques, is mentioned. Considering the specific features of nanosuspensions such as, increasing saturation solubility and dissolution rate, increased adhesion, ease of manufacturing process and scale-up and versatility (flexibility offered in the modification of surface properties and particle size), there will be many applications for this formulation in different routes of drug delivery.

KEY WORDS: *Nanosuspension, Low-soluble drugs, Solubility, Stability, Optimization, Bioavailability, Particle size distribution, Microfluidic, Nucleation, Polydispersity index.*

[×]**Corresponding Author;**
Address: Department of Nanotechnology, The Persian Gulf Nuclear Medicine Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran.
Tel: +98 771 2520361
E-mail:m.aghajani@bpums.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.10.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.79]

References

1.Hu J, Johnston KP, Williams RO, 3rd. Nanoparticle engineering processes for enhancing the dissolution rates of poorly water soluble drugs. Drug Dev Ind Pharm 2004:30(3):233-45.

2.Merisko-Liversidge E, Liversidge GG, Cooper ER. Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. Eur J Pharm Sci 2003;18(2):113-20.

3.Hecq J, Deleers M, Fanara D, Vranckx H, Amighi K. Preparation and characterization of nanocrystals for solubility and dissolution rate enhancement of nifedipine. Int J Pharm 2005;299(1-2):167-77.

4.Merisko-Liversidge EM, Liversidge GG. Drug nanoparticles: formulating poorly water-soluble compounds. Toxicol Pathol 2008;36(1):43-8.

5.Nagarwal RC, Kumar R, Dhanawat M, Das N, Pandit JK. Nanocrystal technology in the delivery of poorly soluble drugs: an overview. Curr Drug Deliv 2011;8(4):398-406.

6.Junghanns JU, Muller RH. Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. Int J Nanomedicine 2008;3(3):295-309.

7.Jinno J, Kamada N, Miyake M, et al. 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.

8.Kesisoglou F, Panmai S, Wu Y. Nanosizing--oral formulation development and biopharmaceutical evaluation. Adv Drug Deliv Rev 2007;59(7):631-44.

9.Sharma A, Jain C. P, Techniques to enhance solubility of poorly soluble drugs: a review. J Global Pharm Technol 2010:2(2):18-28.

10.Jacobs C, Kayser O, Muller RH. Nanosuspensions as a new approach for the formulation for the poorly soluble drug tarazepide. Int J Pharm 2000;196(2):161-4.

11.Muller RH, Jacobs C, Kayser O. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy: Rationale for development and what we can expect for the future. Adv Drug Deliv Rev 2001;47(1):3-19.

12.Nayak S, Panda D, Sahoo J. Nanosuspension: A novel drug delivery system. J Pharm Res 2010;3(2):241-6.

13.Langguth P, Hanafy A, Frenzel D, et al. Nanosuspension formulations for low-soluble drugs: pharmacokinetic evaluation using spironolactone as model compound. Drug Dev Ind Pharm 2005;31(3):319-29.

14.Krishna KB, Prabhakar C. A review on nanosuspensions in drug delivery. Int J Pharma and Bio Sci 2011;2(1):549-58 .

15.Moschwitzer J, Achleitner G, Pomper H, Muller RH. Development of an intravenously injectable chemically stable aqueous omeprazole formulation using nanosuspension technology. Eur J Pharm Biopharm 2004;58(3):615-29.

16. Ali HS, Blagden N, York P, Amani A, Brook T. Artificial neural networks modelling the prednisolone nanoprecipitation in microfluidic reactors. Eur J Pharm Sci 2009;37(3-4):514-22.

17.Ali HS, York P, Blagden N. Preparation of hydrocortisone nanosuspension through a bottom-up nanoprecipitation technique using microfluidic reactors. Int J Pharm 2009;375(1-2):107-13.

18.Aghajani M, Shahverdi AR, Rezayat SM, Amini MA, Amani A. Preparation and optimization of acetaminophen nanosuspension through nanoprecipitation using microfluidic devices: an artificial neural networks study. Pharm Dev Technol 2012 Jan 19. [Epub ahead of print]

19.Koteshwara K, Reddy MS, Anup N, Madhavan N. Nanosuspensions: a novel drug delivery approach. Int J Res Ayurveda Pharmacy 2011;2(1)162-5.

20.Muller RH, Peters K. Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs I. Preparation by a size-reduction technique. Int J Pharm 1998;160(2):229-37.

21.Kocbek P, Baumgartner S, Kristl J. Preparation and evaluation of nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs. Int J Pharm 2006;312(1-2):179-86.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.10.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.79]

22.Ali HS, York P, Ali AM, Blagden N. Hydrocortisone nanosuspensions for ophthalmic delivery: A comparative study between microfluidic nanoprecipitation and wet milling. J Control Release 2011;149(2):175-81.
23.D'Addio SM, Prud'homme RK. Controlling drug nanoparticle formation by rapid precipitation. Adv Drug Deliv Rev 2011;63(6):417-26.
24.Venkatesha T, Kumar Reddy A, Uma Maheswaria J, Deena Dalith M, Ashok Kumar CK. Nanosuspensions: ideal approach for the drug delivery of poorly water soluble drugs. Der Pharmacia Lettre 2011;3(2):203-13 .
25.Wu L, Zhang J, Watanabe W. Physical and chemical stability of drug nanoparticles. Adv Drug Deliv Rev 2011;63(6):456-69.
26.Verma S, Kumar S, Gokhale R, Burgess DJ. Physical stability of nanosuspensions: investigation of the role of stabilizers on Ostwald ripening. Int J Pharm 2011;406(1-2):145-52.
27.Patravale VB, Date AA, Kulkarni RM. Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. J Pharm Pharmacol 2004;56(7):827-40.
28.Das S, Suresh PK. Nanosuspension: a new vehicle for the improvement of the delivery of drugs to the ocular surface. Application to amphotericin B. Nanomedicine 2011;7(2):242-7.
29.Rabinow BE. Nanosuspensions in drug delivery. Nat Rev Drug Discov 2004;3(9):785-96.
30.Ravichandran R. Nanotechnology-based drug delivery systems. NanoBiotechnology 2009;5(1-4):17-33.
31.Rao GC, Kumar MS, Mathivanan N, Rao ME. Nanosuspensions as the most promising approach in nanoparticulate drug delivery systems. Pharmazie 2004;59(1):5-9.
32.Arunkumar N, Deecaraman M, Rani C. Nanosuspension technology and its applications in drug delivery. Asian J Pharm 2009;3(3):168-75.
33.Shah T, Patel D, Hirani J, Amin AF. Nanosuspensions as a drug delivery systems- A comprehensive review. Drug Deliv Technol 2007;7:42-53.
34.Lindfors L, Skantze P, Skantze U, Rasmusson M, Zackrisson A, Olsson U. Amorphous drug nanosuspensions. 1. Inhibition of Ostwald ripening. Langmuir 2006;22(3):906-10.
35.Mauludin R, Muller RH, Keck CM. Kinetic solubility and dissolution velocity of rutin nanocrystals. Eur J Pharm Sci 2009;36(4-5):502-10.
36.Muller RH, Jacobs C. Production and characterization of a budesonide nanosuspension for pulmonary administration. Pharm Res 2002;19(2):189-94.
37.Dressman JB, Amidon GL, Reppas C, Shah VP. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug adsorption: immediate release dosage forms. Pharm Res 1998;15(1):11-22.
38.Horter D, Dressman JB. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. Adv Drug Deliv Rev 2001;46(1-3):75-87.
39.Van Eerdenbrugh B, Van den Mooter G, Augustijns P. Top-down production of drug nanocrystals: nanosuspension stabilization, miniaturization and transformation into solid products. Int J Pharm 2008;364(1):64-75.
40.Patil Sonal A. Nanosuspension: at a glance. Int J Pharm Sci 2011;3(1):947-60.
41.Dokoumetzidis A, Macheras P. A century of dissolution research: from Noyes and Whitney to the biopharmaceutics classification system. Int J Pharm 2006;321(1-2):1-11.
42.Kayser O, Olbrich C, Yardley V, Kiderlen AF, Croft SL. Formulation of amphotericin B as nanosuspension for oral administration. Int J Pharm 2003;254(1):73-5.
43.Muller RH, Jacobs C. Buparvaquone mucoadhesive nanosuspension: preparation, optimisation and long-term stability. Int J Pharm 2002;237(1-2):151-61.
44.Liu Y, Bacon ER, Ballinger K, et al. Pharmacokinetics and hepatic disposition of bis [1-(ethoxycarbonyl) propyl] 5-acetylamino-2, 4, 6-triiodoisophthalate in rats and isolated perfused rat livers. Drug Metab Dispos 2000;28(7):731-6 .

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.10.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.79]

45.Moghimi SM, Hunter AC, Murray JC. Longcirculating and target-specific nanoparticles: theory to practice. Pharmacol Rev 2001;53(2):283-18.
46.Pignatello R, Bucolo C, Ferrara P, Maltese A, Puleo A, Puglisi G. Eudragit RS100 nanosuspensions for the ophthalmic controlled delivery of ibuprofen. Eur J Pharm Sci 2002;16(1-2):53-61.
47.Nagarwal RC, Kant S, Singh PN, Maiti P, Pandit JK. Polymeric nanoparticulate system: a potential approach for ocular drug delivery. J Control Release 2009;136(1):2-13.
48.Kassem MA, Abdel Rahman AA, Ghorab MM, Ahmed MB, Khalil RM. Nanosuspension as an ophthalmic delivery system for certain glucocorticoid drugs. Int J Pharm 2007;340(1-2):126-33.
49.Sahoo SK, Dilnawaz F, Krishnakumar S. Nanotechnology in ocular drug delivery. Drug Discovery Today 2008;13(3-4):144-51.
50.Bailey MM, Berkland CJ. Nanoparticle formulations in pulmonary drug delivery. Med Res Rev 2009;29(1):196-212 .
51.Gao L, Zhang D, Chen M. Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system. J Nanopart Res 2008;10(5):845-62.
52.Chow AH, Tong HH, Chattopadhyay P, Shekunov B. Particle engineering for pulmonary drug delivery. Pharm Res 2007;24(3):411-37.
53.Johnson KA. Interfacial phenomena and phase behavior in metered dose inhaler formulations. Lung Biol Health Dis 2007;221:347-72.
54.Sung JC, Pulliam BL, Edwards DA. Nanoparticles for drug delivery to the lungs. Trends Biotechnol 2007;25(12):563-70.
55.Shekunov BY, Chattopadhyay P, Tong HH, Chow AH. Particle size analysis in pharmaceutics: principles, methods and applications. Pharm Res 2007;24(2):203-27.
56.Grau MJ, Kayser O, Müller RH. Nanosuspensions of poorly soluble drugs-reproducibility of small scale production. Int J Pharm 2000;196(2):155-9.
57.Kuentz M, Röthlisberger D. Rapid assessment of sedimentation stability in dispersions using near infrared transmission measurements during centrifugation and oscillatory rheology. Eur J Pharm Biopharm 2003;56(3):355-61.
58.Singh BP, Menchavez R, Takai C, Fuji M, Takahashi M. Stability of dispersions of colloidal alumina particles in aqueous suspensions. J Colloid Interface Sci 2005;291(1):181-6.
59.Sjöberg M, Bergström L, Larsson A, Sjöström E. The effect of polymer and surfactant adsorption on the colloidal stability and rheology of kaolin dispersions. Colloids Surf A Physicochem Eng Asp 1999;159(1):197-208.
60.Mishra PR, Shaal LA, Müller RH, Keck CM. Production and characterization of Hesperetin nanosuspensions for dermal delivery. Int J Pharm 2009;371(1):182-9.
61.Patel VR, Agrawal YK. Nanosuspension: an approach to enhance solubility of drugs. J Adv Pharm Technol Res 2011;2(2):81-9.
62.Lindfors L, Skantze P, Skantze U, Westergren J, Olsson U. Amorphous drug nanosuspensions. 3. Particle dissolution and crystal growth. Langmuir 2007;23(19):9866-74.
63.Lindfors L, Forssén S, Westergren J, Olsson U. Nucleation and crystal growth in supersaturated solutions of a model drug. J Colloid Interface Sci 2008;325(2):404-13.
64.Ressler T, Jentoft RE, Wienold J, Günter MM, Timpe O. In situ XAS and XRD studies on the formation of Mo suboxides during reduction of MoO3. J Phys Chem B 2000;104(27):6360-70.
65.Ensikat HJ, Boese M, Mader W, Barthlott W, Koch K. Crystallinity of plant epicuticular waxes: electron and X-ray diffraction studies. Chem Phys Lipids 2006;144(1):45-59.
66.Heurtault B, Saulnier P, Pech B, Proust JE, Benoit JP. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. Biomaterials 2003;24(23):4283-300.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1391.15.2.10.1]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.15.2.79]