



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

فرمولاسیون و کنترل فیزیکوشیمیایی نانوامولسیون موضعی روغن
سیاهدانه (*Nigella sativa L.*) با پتانسیل اثرات ضددرد و ضدالتهاب

توسط:

مریم بهمنی جهرمی

اساتید راهنما:

دکتر فریبا شریفی فر
دکتر غلامرضا دهقان

اساتید مشاور:

دکتر ندا محمدی
دکتر ماندانا اوحدی
دکتر سوده سالارپور



**Kerman University of Medical Sciences
Faculty of Pharmacy**

Pharm. D Thesis

Title:

Formulation and physicochemical characteristics of the topical nanoemulsion of black seed oil (*Nigella sativa L.*) with potential of anti nociception and anti inflammatory effect

By:

Maryam Bahmani Jahromi

Supervisors:

**Dr. Fariba Sharififar
Dr. Gholamreza Dehghan**

Advisors:

**Dr. Neda Mohammadi
Dr. Mandana Ohadi
Dr. Soodeh Salarpour**



دانشگاه علوم پزشکی گرمان

دانشگاه داروسازی

اظهار نامہ

اپنگانب: میرم بھجنی چ چھریں) با شماره دانشجویی: ۹۴۱۳۳۱۰۲۷ معهد می شوم

عنوان: موارد مذکور در این این پایان نامه تحت معرفه می‌شوند.

..... خردل (Nigella sativa) و لکترل فنردر سیبی ای و نانز اسید لیسیون صفتی عروج ز سیاهچهان (Lavender)
..... پیتا نسلنچ ای و رات (Ruta graveolens) و قریح (Coriander)

به راهنمایی: سرکار خانم دکتر اجنبات آقای دکتر غیر^{ایسرین} مصطفی..... حاصل فعالیت‌های پژوهشی خود برده و زیر نظر استادان (راهنما، همکار و مشاور) تهیه شده است و مسئولیت صحت داده‌ها و اطلاعات گزارش شده در این پایان‌نامه را به عهده می‌گیرم. کلیه مطالبی که از منابع دیگر در این پایان‌نامه مورد استفاده قرار گرفته، با ذکر مرجم مشخص شده است.

تمامی حقوق مادی و معنوی این پایان نامه (شامل فرمول ها، توابع کتابخانه ای، نرم افزارها، سخت افزارها و مواردی که قابلیت ثبت اختراع دارد) متعلق به دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان بوده و هرگونه استفاده تنها با کسب اجازه ممکن خواهد بود. همچنین کلیه حقوق مربوط به چاپ، تکثیر، نسخه برداری، ترجمه، اقتباس و نظائر آن در محیط های مختلف اعم از الکترونیکی، مجازی یا فیزیکی برای دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان محفوظ می باشد. استناد به مطالب و نتایج این پایان نامه در صورتی که به نحو مناسب، ارجاع داده شود، بلامان است.

بایان‌نامه اعمال گ دلده است.

دانشجویی

.....مزمزیجعفری

تاریخ و امضاء:

.....L.E.A.T., L.L., 17.....

نام استاد، اهنجما، اول:

一四一·一九八七

خلاصه

مقدمه: گیاهان همیشه حاوی منبع قابل توجهی از اجزای فعال طبیعی با خواص بیولوژیکی بوده‌اند.

روغن سیاهدانه در طب سنتی کاربردهای بالقوه‌ای همچون اثر ضدالتهاب و ضددرد دارد، اما

کاربردهای درمانی آن در قالب فرمول نانومولسیون گزینه خوبی برای اثربخشی بهتر و عوارض

جانبی کمتر خواهد بود. هدف از این پژوهش بررسی فرمولاسیون و کنترل فیزیکوشیمیایی

نانومولسیون موضعی روغن سیاهدانه با پتانسیل اثر ضددرد و ضدالتهاب است.

روش: روغن سیاهدانه از طریق پرس سرد تهیه شد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن مثل

شاخص‌های اندیس یدی، ضریب شکست روغن و پروفایل اسیدهای چرب روغن تعیین شد.

نانومولسیون روغن سیاهدانه با نسبت‌های مختلف سورفتانت و با استفاده از تکنیک فراصوت تهیه

شد. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانومولسیون‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. روند آزادسازی

روغن از فرمولاسیون منتخب با روش سلفرانز مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بازده استخراج روغن به روش پرس سرد از دانه سیاهدانه ۲۴ درصد بود. رنگ زرد، طعم

تلخ و بوی معطر از ویژگی‌های ظاهری روغن سیاهدانه می‌باشد. از بین فرمولاسیون‌های تهیه شده،

نانومولسیون با نسبت روغن و سورفتانت ۱:۳ بیشترین پایداری را داشت که به عنوان بهترین

فرمولاسیون در زمان فراصوت ۵ دقیقه با متوسط اندازه ذرات ۴/۷۳ نانومتر انتخاب شد. میزان

آزادسازی پس از گذشت ۲۴۰ دقیقه ۵۳/۰۳ درصد بود. ضریب آزادسازی در محدوده ضرایب پیاس

و برابر با ۰/۳۸۷ بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده، فرمولاسیون منتخب از روغن سیاهدانه دارای خواص

فیزیکوشیمیایی قابل قبول بوده و گزینه مناسبی برای مطالعات بیشتر می‌باشد. پیشنهاد می‌شود این

فرمولاسیون از نظر قدرت و سمیت مورد بررسی قرار گیرد و با روغن مقایسه شود تا برای ارزیابی

بالینی فرمولاسیون تصمیم‌گیری شود.

کلمات کلیدی: نانومولاسیون، روغن سیاهدانه، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی.

Abstract

Introduction: Plants have always been a significant source of natural active ingredients with biological properties. The black seed oil has potential applications in traditional medicine, such as anti-inflammatory and analgesic effects, but its therapeutic applications in the form of nanoemulsion formula would be a good option for the greatest effectiveness and less side effects. The aim of this study was to investigate the formulation and physicochemical control of topical nanoemulsion of black seed oil with the potential for analgesic and anti-inflammatory effects.

Methods: Oil was prepared from a black seed plant by cold expression method and physicochemical characteristics of the oil including fatty acid value, iodine value, oil refractive index, percentage of free acidity.

Nanoemulsion of black seed oil with different surfactant ratios was prepared using ultrasound technique. Physicochemical properties of nanoemulsions were analyzed. The process of oil release from the selected formulation was investigated by the Franz cell diffusion method.

Results: Oil extraction yield was 24% when cold press extraction method were used. Yellow color, bitter taste and aromatic smell are the characteristic features of black seed oil. Among the prepared formulations, nanoemulsion with oil and surfactant ratio of 3: 1 had the highest stability, which was selected as the best formulation at 5 minutes of ultrasound with an average particle size of 44.73 nm. The release rate after 240 minutes was 53.03%. The release coefficient was in the range of PEPPAS coefficients and was equal to 0.39.

Conclusion: According to the obtained results, the selected formulation of black seed oil has acceptable physicochemical properties and is a good option for further studies. In conclusion, it is suggested this formulation be examined for the potency and toxicity and compared with the oil to make decision for clinical evaluation of the formulation.

Keywords: Nanoemulsion, Black Seed Oil (*Nigella sativa* L), Physicochemical characteristics

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
I	خلاصه
III	Abstract
IV	فهرست مطالب
VIII	فهرست جداول
X	فهرست شکل‌ها
XI	فهرست نمودارها
	فصل اول: مقدمه
۲	۱-۱- پیشگفتار و هدف
۲	۲-۱- گیاه سیاهدانه
۳	۱-۲-۱- ترکیبات شیمیایی
۵	۱-۳-۱- کاربرد ستی گیاه
۵	۱-۴-۱- اثرات فارماکولوژیک سیاهدانه
۵	۱-۴-۱-۱- اثرات ضددرد و التهاب
۶	۱-۴-۱-۲- اثرات پوستی
۶	۱-۵- عوارض جانبی مصرف سیاهدانه
۶	۱-۶- فرآورده‌های سیاهدانه در بازار دارویی ایران
۷	۱-۷-۱- امولسیون‌ها
۸	۱-۷-۱-۱- نانومولسیون‌ها

فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها

۱۱	۱-۲- مواد مورد استفاده.....
۱۱	۲-۲- دستگاه‌های مورد استفاده.....
۱۲	۳-۲- روش کار.....
۱۲	۱-۳-۲- جمع آوری گیاه.....
۱۲	۲-۳-۲- آسیاب کردن گیاه.....
۱۲	۳-۳-۲- تهیه روغن سیاهدانه.....
۱۳	۴-۳-۲- آزمون تست خاکستر.....
۱۳	۳-۳-۲- فرمولاسیون نانوامولسیون.....
۱۴	۶-۳-۲- روش تعیین مقدار و رسم نمودار غلظت- جذب روغن سیاهدانه.....
۱۴	۴-۴-۲- آزمایشات بررسی فیزیکوشیمیایی فرمولاسیون.....
۱۵	۱-۴-۲- آزمون pH.....
۱۵	۴-۴-۲- آزمایش پایداری حرارتی.....
۱۵	Heating cooling cycle -۳-۴-۲
۱۵	Freeze thaw cycle -۴-۴-۲
۱۵	۴-۴-۲- آزمایش سانتریفیوژ.....
۱۶	۶-۴-۲- آزمایش میکروسکوپ الکترونی.....
۱۶	۷-۴-۲- آزمایش اندازه ذرهای.....
۱۶	۸-۴-۲- تعیین نمودار غلظت- جذب روغن سیاهدانه.....
۱۷	۹-۴-۲- اندازه گیری عبور دارو از غشاء سنتیک.....

فصل سوم: نتایج

- ۱۹ ۱-۳-۱- نتایج روغن گیری
- ۱۹ ۲-۳- ۲- کنترل کیفی روغن سیاهدانه
- ۲۰ ۳-۳- ۳- نتایج تهیه فرمولاسیون نانوامولسیون روغن سیاهدانه
- ۲۱ ۳-۳-۱- بررسی شفافیت
- ۲۲ ۳-۳-۲- اندازه گیری pH
- ۲۳ ۳-۳-۳- اندازه گیری میزان خاکستر کل و خاکستر نامحلول در اسید
- ۲۳ ۴-۳-۴- آزمایش سانتریفیوژ
- ۲۴ Heating cooling cycle -۵-۳-۳
- ۲۴ Freeze thaw cycle -۶-۳-۳
- ۲۴ ۷-۳-۳- نتایج آزمون اندازه ذرات
- ۲۵ ۸-۳-۳- نتایج آزمون میکروسکوپ الکترونی
- ۲۶ ۹-۳-۳- میزان عبور دارو از غشاء سنتیک
- ۲۶ ۱-۹-۳-۳- نمودار غلظت- جذب UV روغن سیاهدانه
- ۲۷ ۲-۹-۳-۳- نتایج جذب های به دست آمده از آزادسازی روغن و نانوامولسیون روغن سیاهدانه
- ۲۹ ۳-۹-۳-۳- بررسی مکانیسم انتشار نانوامولسیون روغن سیاهدانه

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

- ۳۱ ۴-۱- بحث و نتیجه گیری
- ۳۴ ۴-۲- پیشنهادات

منابع

٣٦ منابع

منابع

- [1] Goreja, W., Black seed: nature's miracle remedy. 2003: Karger Publishers.
- [2] Salehi Surmaghi, M., Herbal medicine and herbal therapy. 2008, Tehran: Donyay Taghziah Press.
- [3] Schleicher P, Saleh M. Black cumin: the magical Egyptian herb for allergies, asthma, and immune disorders. 2000: Inner Traditions/Bear & Co.
- [4] El-Dakhakhny M. Studies on the *Egyptian Nigella sativa* L. part IV: some pharmacological properties of the seed's active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer. *Arzneim. Forsch.*, 1965, 15:1227-1229.
- [5] Morikawa T. Nigellamines A3, A4, A5, and C, new dolabellane-type diterpene alkaloids, with lipid metabolism-promoting activities from the Egyptian medicinal food black cumin. **Chem Pharm Bull** 2004, 52(4):494-497.
- [6] Morikawa T. Novel Dolabellane-Type Diterpene Alkaloids with Lipid Metabolism Promoting Activities from the Seeds of *Nigella sativa*. **Organic Lett** 2004, 6(6):869-872.
- [7] Geng D, Zhang S, Lan J. Analysis on chemical components of volatile oil and determination of thymoquinone from seed of *Nigella glandulifera*. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi** 2009; 34(22):2887-90.
- [8] Ghosheh OA, Houdi AA, Crooks PA. High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.). **J Pharm Bio Anal** 1999, 19(5):757-762.
- [9] Al-Jassir MS. Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. **Food Chem** 1992, 45(4):239-242.
- [10] Ramadan MF, Mörsel JT. Characterization of phospholipid composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil. **Food Nahrung** 2002, 46(4):240-244.
- [11] El-Dakhakhny M. Effects of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. **J Ethnopharmacol** 2000, 72(1-2):299-304.
- [12] Malik S, Cun-Heng H, Clardy J. Isolation and structure determination of nigellicine, a novel alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. **Tetrahedron Lett** 1985, 26(23):2759-2762.
- [13] Malik S, Ahmad S, Chaudhary I. Nigellimine N-oxide-a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. **Heterocycles** 1985, 23(4):953-955.

- [14] Cheikh-Rouhou S. *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. **Food Chem** 2007, 101(2):673-681.
- [15] Al-Saleh IA, Billedo G, El-Doush I. Levels of selenium, dl- α -tocopherol, dl- γ -tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. **J Food Compos Anal** 2006, 19(2-3):167-175.
- [16] Venkatachallam SKT. Chemical composition of *Nigella sativa* L. seed extracts obtained by supercritical carbon dioxide. **J Food Sci Technol** 2010, 47(6):598-605.
- [17] Gharby S. Chemical investigation of *Nigella sativa* L. seed oil produced in Morocco. **J Saudi Society Agricultural Sci** 2015, 14(2):172-177.
- [18] Mouwakeh A. Chemical composition and antimicrobial activity of *Nigella sativa* crude and essential oil. **Acta Alimentaria** 2018, 47(3):379-386.
- [19] Randhawa MA, Alghamdi MS. Anticancer activity of *Nigella sativa* (black seed) a review. **Am J Chin Med** 2011, 39(06):1075-1091.
- [20] Dinagaran S, Sridhar S, Eganathan P. Chemical composition and antioxidant activities of black seed oil (*Nigella sativa* L.). **Int J Pharm Sci Res** 2016, 7(11):4473.
- [21] Mahboubi M. Natural therapeutic approach of *Nigella sativa* (Black seed) fixed oil in management of Sinusitis. **Int Med Res** 2018, 7(1):27-32.
- [22] Shanmugam M. Modulation of diverse oncogenic transcription factors by thymoquinone, an essential oil compound isolated from the seeds of *Nigella sativa* Linn. **Pharmacol Res** 2018, 129:357-364.
- [23] Randhawa MA. Black seed, *Nigella sativa*, deserves more attention. **J Ayub Med Coll Abbottabad** 2008, 20(2):1-2.
- [24] Ahmad MF. An updated knowledge of Black seed (*Nigella sativa* Linn): Review of phytochemical constituents and pharmacological properties. **J Herbal Med** 2020, 100404.
- [25] Dajani E, Shahwan T, Dajani N. Overview of the preclinical pharmacological properties of *Nigella sativa* (black seeds): a complementary drug with historical and clinical significance. **J Physiol Pharmacol** 2016, 67(6):801-817.
- [26] Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. **Int Immunopharmacol** 2005, 5(13-14):1749-1770.
- [27] Ali B, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. **Phytotherapy Res** 2003, 17(4):299-305.
- [28] Khanna T, Zaidi F, Dandiya P. CNS and analgesic studies on *Nigella sativa*. **Fitoterapia-Milano** 1993, 64:407-407.

[29] Abdel-Fattah A, Matsumoto FM, Watanabe H. Antinociceptive effects of *Nigella sativa* oil and its major component, thymoquinone, in mice. **Eur J Pharmacol** 2000, 400(1):89-97.

[30] Al-Ghamdi M. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. **J Ethnopharmacol** 2001, 76(1):45-48.

[31] Pise HN, Jadhav S. Evaluation of analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*: an experimental study. **National J Physiology** 2016, 6(4):291-295.

[32] Boskabady MH, Kiani S, Jandaghi P, Ziae T, Zarei A. Comparison of antitussive effect of *Nigella sativa* with codeine in guinea pig. **Iran J Med Sci** 2003, 28(3):5.

[33] Vahdati-Mashhadian N, Rakhshandeh H, Omidi A. An investigation on LD50 and subacute hepatic toxicity of *Nigella sativa* seed extracts in mice. **Die Pharm Int J Pharm Sci** 2005, 60(7):544-547.

[34] ضیایی، ت. محرری، ن. حسین زاده، ح. بررسی اثرات داروشناسی و سم شناسی سیاهدانه.

گیاهان دارویی ۱۳۹۱؛ ۴۲(۱۱):۴۲-۱۶.

[35] McClements DJ. **Food emulsions: principles, practices, and techniques**, USA: CRC press, 2004:21.

[36] Gutiérrez J. Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. **Curr Opin Coll Int Sci** 2008, 13(4):245-251.

[37] Jafari SM, He Y, Bhandari B. Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques. **J Food Eng** 2007, 82(4):478-488.

[38] McClements DJ. Emulsion stability. **Food Emulsions** 2015; 314-407.

[39] حسن زاده، ا. علیزاده خالدآباد، ح. رضازاده، م. باری، م. نانو-درون پوشانی عصاره سیر با

امولسیون آب در روغن: ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی. **علوم و صنایع غذایی ایران**

۳۳۷-۳۴۷؛ ۲۰۱۹.

[40] Baker JR, **Methods of inactivating bacteria including bacterial spores**. 2000, Google Patents.

[41] Jaiswal M, Dudhe R, Sharma P. Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. **3 Biotech** 2015, 5(2):123-127.

- [42] Rachmawati H, Budiputra DK, Mauludin R. Curcumin nanoemulsion for transdermal application: formulation and evaluation. **Drug Development Industrial Pharm** 2015, 41(4):560-566.
- [43] Solans C, Solé I. Nano-emulsions: formation by low-energy methods. **Curr Opin Coll Int Sci** 2012, 17(5):246-254.
- [44] Mashayekhi Sardoie N. Formulation and physicochemical properties of nano-emulsion of fenugreek extract (*Trigonella foenum-gaecum* L) and propolis for fluoride therapy. **[Ph.D.] Kerman:** Kerman, 1399, 1262:35-38
- [45] Sahu P. Nanoemulsion: A novel eon in cancer chemotherapy. **Mini Rev Med Chem** 2017, 17(18):1778-1792.
- [46] Nirmala M. Joyce, Latha Durai, Vineet Gopakumar, and Ramamurthy Nagarajan. Preparation of celery essential oil-based nanoemulsion by ultrasonication and evaluation of its potential anticancer and antibacterial activity. **Int J Nanomedicine** 2020, 7651.
- [47] Hosseinzadeh BH. Black cumin (*Nigella sativa*) and its active constituent, thymoquinone: an overview on the analgesic and anti-inflammatory effects. **Planta Med** 2016, 8-16.
- [48] Campolo, Orlando, Giulia Giunti, Maryne Laigle, Thomas Michel, Vincenzo Palmeri. Essential oil-based nano-emulsions: Effect of different surfactants, sonication and plant species on physicochemical characteristics. **Ind Crops Prod** 2020, 157:112935.
- [49] Usmani A, Anuradha M, Arshad M, Jafri A. Development and evaluation of doxorubicin self nanoemulsifying drug delivery system with *Nigella sativa* oil against human hepatocellular carcinoma. **Artif Cells Nanomed Biotechnol** 2019, 47(1):933-944.
- [50] Leão K, Reis L, Speranza P, Rodrigues A, Ribeiro A, Macedo J, Macedo G. Physicochemical characterization and antimicrobial activity in novel systems containing buriti oil and structured lipids nanoemulsions. **Biotechnol Rep** 2019, 24:e00365.
- [51] Mazaheri Y, Torbati M, Azadmard-Damirchi S, Geoffrey P. Savage. A comprehensive review of the physicochemical, quality and nutritional properties of *Nigella sativa* oil. **Food Rev Int** 2019, 35(4):342-362.
- [52] Periasamy, Vaiyapuri Subbarayan, Jegan Athinarayanan, Ali A. Alshatwi. Anticancer activity of an ultrasonic nanoemulsion formulation of *Nigella sativa* L. essential oil on human breast cancer cells. **Ultrason Sonochem** 2016, 31:449-455.

[53] Gharby S, Harhar H, Guillaume D, Roudani A, Boulbaroud S, Ibrahimi M, Ahmad M, Sultana S, Hadda TB, Chafchaouni-Moussaoui I, Charrouf Z. Chemical investigation of *Nigella sativa* L. seed oil produced in Morocco. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 2015 Jun 1;14(2):172-7.

[54] Ghosh, Vijayalakshmi, Amitava Mukherjee, Chandrasekaran N. Formulation and characterization of plant essential oil based nanoemulsion: evaluation of its larvicidal activity against *Aedes aegypti*. **Asian J Chem** 2013, 5:S321.

[۵۵] اصلانی، ا. امامی، م. قنادی، ع. اژدری، م. فرمولاسیون و ارزیابی فیزیکوشیمیایی پماد تهیه شده

از گیاهان شبکیه، سیاه دانه و بلوط برای درمان هموروئیدهای داخلی رکتوم. **علوم دارویی** ۱۳۸۷:

.۲۵۷-۲۴۷:۱۴

مسنون عالی

١٤٠٠/١٠/٢٧ : تاریخ

۱۴۰۰/۱۰/۱۰/۲۶۴۶ : ۷

بیوست : ندارد

وزارت آموزش و پرورش

دانشکده داروسازی

پیان نامه خانم مریم یغمی جهودی دانشجوی داروسازی ورودی ۹۶ به شماره ۱۳۱۹۵

تحت عنوان:

فرمولاسیون و کنترل فیزیکوشیمیایی نانوامولسیون موضعی روغن سیاهدانه (*L*) با بتانسل اثرات ضد درد و ضد التهاب

استاد (اساتید) و اهنجما:

دكتور سامي شريف

دكتور غلام صاحب دهقان

استاد (اساتید) مشاور:

دکتر ندا محمدی

دكتور ماندانة أوحدي

دکت سوده سالاری

هات محت م دا، او، اون

۱- دکتر میترا مهریانی

در تاریخ ۱۴۰۰/۱۰/۲۵ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۹۳/۱۸ (با حروف) هجده و نود و سه صدم به تصویب رسید.

دکتر میرا مهر بانی
معاون پژوهشی



دکتر باقر امیر عیلوری
وکیل دادگستری