

The Design of Minoxidil Microemulsion Formulation and the Effects of Ingredients on the Permeability of Rat Skin and Its Physicochemical Properties

Anayatollah Salimi^{1,2},
Eskandar Moghimipour^{2,3},
Ali Talebpour Jahromi⁴,
Saeed Mohammad Soleymani⁵

¹ Associate Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

² Nanotechnology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

³ Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

⁴ Doctor of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

⁵ Resident in Clinical Pharmacy, School of Pharmacy Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received April 5, 2023 ; Accepted September 3, 2023)

Abstract

Background and purpose: Minoxidil is one of the agents that can treat hair growth disorders, including alopecia, by increasing the anagen period. Due to the nature of minoxidil, the permeability of the drug to the skin surface is negligible. Therefore, the purpose of this study was to design and evaluate microemulsion formulations in order to increase skin permeability of minoxidil.

Materials and methods: Microemulsions containing 2% minoxidil were prepared with an appropriate amount of oil phase, surfactant, and co-surfactant. The medicinal substance was dissolved in the oily phase. The physicochemical properties of the microemulsions, including particle size, viscosity, release, skin permeation through rat skin as well as the rate of drug permeation through rat skin, were evaluated using Franz cells.

Results: The particle size of microemulsions was in the range of 5.45-10.4 nm, viscosity was 113.2-199.2 centipoise. This study showed that the parameters of drug release percentage in the second hour, drug release percentage in the 24th hour, viscosity and Dapp were significantly related to independent variables ($P < 0.05$). Increasing the percentage of water and the percentage of oil has increased the amount of drug release in 24 hours. Increasing the percentage of oil and decreasing the percentage of water can lead to an increase in viscosity, and increasing the percentage of water can increase the amount of Dapp in microemulsions.

Conclusion: The prepared formulations were able to significantly increase the skin permeability of minoxidil.

Keywords: minoxidil, microemulsion, transdermal drug delivery, nano drug delivery system

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (226): 52-63 (Persian).

Corresponding Author: Saeed Mohammad Soleymani - School of Pharmacy, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (E-mail: mamsoloni@gmail.com)

طراحی فرمولاسیون میکروامولسیون ماینوکسیدیل و اثرات مواد تشکیل دهنده بر میزان عبورپذیری از پوست موش صحرایی و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن

عنایت الله سلیمی^{2و1}

اسکندر مقیمی پور^{3و2}

علی طالب پور جهرمی⁴

سعید محمد سلیمانی⁵

چکیده

سابقه و هدف: داروی ماینوکسیدیل از عواملی است که می تواند با افزایش دوره آناژن سبب درمان اختلالات رویش مو از جمله طاسی گردد. با توجه به ماهیت ماینوکسیدیل عبورپذیری دارو از سطح پوست ناچیز می باشد، هدف از این مطالعه طراحی و بررسی فرمولاسیون های میکروامولسیونی به منظور افزایش عبورپذیری ماینوکسیدیل از پوست موش صحرایی بود.

مواد و روش ها: میکروامولسیون های حاوی 2 درصد ماینوکسیدیل با مقدار مناسبی فاز روغنی (اولئیک اسید، ترانسکو تول پی) و سورفکتانت (توین 80 و اسپن 20) و کو سورفکتانت (پروپیلن گلیکول) تهیه شدند. ماده دارویی در فاز روغنی حل شد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی این میکروامولسیون ها مانند اندازه ذره ای، ویسکوزیته، آزادسازی، عبور پذیری پوستی میکروامولسیون از پوست موش صحرایی و هم چنین میزان عبورپذیری دارو با فرمولاسیون های ساخته شده از پوست موش صحرایی با استفاده از سلول های فرانز ارزیابی شدند.

یافته ها: اندازه ذره ای میکروامولسیون ها در محدوده 5/45 تا 10/40 نانومتر، ویسکوزیته 113/2 تا 199/2 سانتی پواز بود. در این مطالعه پارامترهای آزادسازی دارو، ویسکوزیته و D_{app} با متغیرهای مستقل ارتباط معنی دار داشتند ($P < 0/05$). افزایش درصد روغن سبب افزایش مقدار آزادسازی دارو در ساعت دوم شد. افزایش درصد آب و افزایش درصد روغن سبب افزایش میزان آزادسازی دارو در 24 ساعت شده است. افزایش درصد روغن و کاهش درصد آب می تواند منجر به افزایش ویسکوزیته و افزایش درصد آب موجب افزایش مقدار D_{app} در میکروامولسیون ها شود.

استنتاج: فرمولاسیون های ساخته شده توانستند میزان عبورپذیری پوستی ماینوکسیدیل را در موش صحرایی به میزان قابل توجهی افزایش دهند.

واژه های کلیدی: ماینوکسیدیل، میکروامولسیون، دارورسانی پوستی، سامانه دارورسانی نانو

مقدمه

موی سر علاوه بر نقش پوششی، اهمیت زیادی بیماری های روانی می گردد. ریزش موی آندروژنیک در زیبایی انسان ها دارد و ریزش آن، گاه موجب (Androgenic alopecia) یکی از علل اصلی ریزش

E-mail: mamsoloni@gmail.com

مؤلف مسئول: سعید محمد سلیمانی - تهران: دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده داروسازی

1. دانشیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، اهواز، ایران

2. مرکز تحقیقات نانوفناوری، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، اهواز، ایران

3. استاد، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، اهواز، ایران

4. دکتری عمومی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز، اهواز، ایران

5. دستیار تخصصی داروسازی بالینی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 1402/1/26 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1402/2/16 تاریخ تصویب: 1402/6/12

مو می باشد که در مردان و زنان مستعد به لحاظ ژنتیکی، سبب ریزش مو با الگوی مشخص می شود (1). ریزش موی آندروژنیک شایع ترین علت از دست دادن مو در 70 درصد آقایان و 40 درصد زنان است.

ماینوکسیدیل (Minoxidil) با نام شیمیایی 6-پیریدین-1-یل پیرمیدین-2-و4-دی آمین-3-اکساید به طور انحصاری به عنوان یک داروی خوراکی در درمان فشارخون بالا مورد استفاده قرار می گیرد که در سال 1996 کشف شد و به شکل موضعی دارای اثرات تحریکی بر روی فولیکول مو می باشد و به همین دلیل در درمان طاسی مردانه آندروژنیک به کار می رود (2). این دارو با گشاد کردن رگ های محیطی بر کاهش فشارخون اثر می گذارد و تأثیر آن بر درمان طاسی نیز احتمالاً به دلیل همین گشادی رگ های سطح پوست و افزایش جریان خون است که موجب تحریک فولیکول های مو شده و آن ها را از وضعیت استراحت به وضعیت رشد فعال درمی آورد. مقدار ناچیزی از ماینوکسیدیل موضعی از طریق پوست سالم جذب می شود (1). 1/6 تا 3/9 درصد از کل داروی استعمال شده به صورت سیستمیک جذب می شود و چنانچه دارو روی پوست ملتهب به کار رود، جذب افزایش می یابد. اثر دارو حداقل 4 ماه پس از شروع درمان دو بار در روز با داروی 2 درصد و 2 ماه برای داروی 5 درصد شروع شده و طی یک سال به حداکثر می رسد. به نظر می رسد 3-4 ماه پس از قطع درمان، موهای جدید حاصل از درمان شروع به ریزش نمایند و پیشرفت ریزش مو مجدداً از سر گرفته شود. تقریباً 95 درصد دارویی که به طور سیستمیک جذب شده است طی 4 روز از طریق کلیه ها دفع می شود (3). نفوذپذیری و حلالیت کم ماینوکسیدیل استفاده از آن را در درمان ریزش مو محدود کرده است. علاوه بر این استفاده موضعی از فرمولاسیون ماینوکسیدیل در پایه اتانولی عوارض جانبی شامل التهاب پوستی همراه با اریتم، خارش، پوسته ریزی و خشکی را در شروع درمان به دنبال دارد، که در

صورت استفاده از فرم کامپاند دارو با ترتینوئین بیش تر رخ می دهد. با تغییر پایه فرمولاسیون ماینوکسیدیل که شامل آب می باشد، عوارض جانبی کاهش و اثرات درمانی بهبود می یابد. در واقع با وارد کردن دارو در میکروامولسیون، اثربخشی دارو را در مقایسه با داروی آزاد افزایش می دهند و از نظر شیمیایی نیز پایدارتر است. به منظور افزایش میزان پذیرش بیمار، کاهش اثر عبور اول کبدی دارو و هم چنین کاهش بروز عوارض جانبی، تهیه فرم میکروامولسیون دارو، منطقی به نظر می رسد (4).

دارورسانی پوستی مزیت های زیادی در مقایسه با سایر روش های دارورسانی دارد که شامل حذف متابولیسم اول کبدی، راحتی استفاده و کنترل مناسب بر سرعت دارورسانی می باشد. به علاوه این روش امکان قطع سریع دارورسانی را در هنگام لزوم فراهم می آورد. ولی متأسفانه ساختار طبیعی پوست یک سد بزرگ در برابر عبور داروها فراهم کرده است (5,6). میکروامولسیون، شامل امولسیون آب در روغن یا روغن در آبی می باشد که تولید محصولی شفاف با اندازه ذره ای در حدود 150 نانومتر می کند که ذرات آن تمایلی به یکی شدن ندارند. میکروامولسیون شامل فاز روغنی، سورفکتانت، کوسورفکتانت و فاز آبی می باشد، براساس این تعریف میکروامولسیون سامانه ای از آب، روغن و مواد آملفی فیلک می باشد که از لحاظ نوری، ایزوتروپیک (Isotropic) و دارای پایداری ترمودینامیک می باشد. هم چنین این سامانه ها به سادگی تهیه شده و در دراز مدت پایدار می باشند. میکروامولسیون ها به دلیل داشتن ظرفیت محلول سازی بالا، شفافیت، پایداری ترمودینامیکی، سهولت تهیه، ویسکوزیته پایین و دامنه وسیع انتشار، حامل های قدرتمندی برای دارورسانی می باشند (6). لذا هدف این مطالعه، طراحی و دستیابی به فرمولاسیون مناسبی از میکروامولسیون است که ضمن داشتن ظرفیت بارگیری مناسب، سرعت مناسب آزادسازی و پایداری قابل قبول، سبب افزایش عبورپذیری دارو از پوست گردد.

مواد و روش ها

مواد

پودر داروی ماینوکسیدیل شرکت داروسازی پاک دارو (ایران) تهیه شد. توپین 80، اسپن 20، اولئیک اسید، پروپیلن گلیکول، سدیم دی هیدروژن فسفات، دی سدیم هیدروژن فسفات از شرکت مرک (آلمان)، ترانسکوتول پی از شرکت گنفوز (آلمان) و غشای سلولزی از شرکت ارمغان کالای جنوب (ایران) خریداری شد.

حیوانات

در این مطالعه تجربی از 8 موش های صحرایی نژاد ویستار نر بالغ با وزن 150-170 گرم و با سن 10-12 هفته استفاده شد. حیوانات با داروی کتامین /زایلازین (50 میلی گرم بر کیلوگرم) آسان کشی شدند. موهای سطح شکمی موش ها بدون آسیب رسیدن به پوست برداشته شد. چربی زیرپوستی در سطح پشتی پوست با استون خالص سرد پاک شد. ضخامت پوست با میکرومتر دیجیتالی اندازه گیری شد و تا زمان آزمایشات عبورپذیری پوست در فریزر نگهداری شد. قبل از استفاده، نمونه های پوست از فریز خارج شد و در دمای اتاق نگهداری شد تا به دمای اتاق برسد (5). این مطالعه دارای کد اخلاق (IR.AJUMS.REC.1394.727) از دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز بوده است.

اندازه گیری ماینوکسیدیل

روش اسپکتروفتومتر UV در طول موج 288 نانومتر جهت شناسایی و اندازه گیری میزان ماینوکسیدیل در فاز گیرنده سلول های فرانس استفاده شد. انتخاب طول موج مذکور بر اساس طیف جذب نوری ماینوکسیدیل در بافر فسفات pH=7 صورت گرفت که در این طول موج ماینوکسیدیل حداکثر جذب نوری را داشته و هیچ گونه تداخلی از سوی مواد دیگر مشاهده نشد (2).

طراحی مطالعه جهت ساخت میکروامولسیون ها و جدول متغیرها در فرمولاسیون میکروامولسیون ها، متغیرهای زیادی

وجود دارد که بر ویژگی های نهایی این فرمولاسیون ها تاثیر می گذارند. برای مطالعه چگونگی تاثیر این متغیرها که متغیرهای مستقل می باشند، از روش طراحی تمام فاکتوریول (Full-factorial design) با سه متغیر و در دو سطح استفاده شد. سطوح متغیرها براساس مطالعات صورت گرفته و محدودیت های موجود در ساخت میکروامولسیون ها و از منطقه تشکیل میکروامولسیون منحنی های سه گانه حاوی آب، روغن، سورفکتانت-کوسورفکتانت به دست آمد. در پایان، طبق نتایج حاصل از تیتراسیون سه گانه آب، روغن، سورفکتانت-کوسورفکتانت، نمودار سه گانه تیتراسیون رسم شد و از روی آن سطوح بالا و پایین متغیرها به دست آمد (7).

تهیه میکروامولسیون

پارامترهای مختلفی روی خواص نهایی میکروامولسیون ها تاثیر دارد. متغیرهای عمده که در خواص میکروامولسیون ها نقش داشتند شامل نسبت سورفکتانت به کوسورفکتانت، درصد روغن و درصد آب است. 8 فرمولاسیون با سطح بالا و پایین روغن (40 و 10 درصد)، آب (10 و 5 درصد)، نسبت سورفکتانت (اسپن به توپین 1 به 1 و 3 و 2 به 2 و 1:3) و ماینوکسیدیل (2درصد) تهیه شد. ماینوکسیدیل را به مخلوط روغن و سورفکتانت و کوسورفکتانت اضافه کرده و مقدار کافی از آب مقطر را قطره قطره به مخلوط اضافه کرده و با هم زدن در دمای مناسب میکروامولسیون حاوی ماینوکسیدیل حاصل می شود. میکروامولسیون ها در دمای مناسب نگهداری شدند (8).

بررسی محلولیت دارو در روغن، سورفکتانت و کوسورفکتانت های مختلف

ترانسکوتول و اولئیک اسید به عنوان روغن، توپین 80، اسپن 20، به عنوان سورفکتانت و پروپیلن گلیکول به عنوان کوسورفکتانت انتخاب و مقدار حلالیت ماینوکسیدیل در آنها تعیین شد. بدین صورت که 5

میلی لیتر از هر کدام از مواد درون بشر ریخته شد و مقدار اضافی از ماینوکسیدیل به هر کدام از آن‌ها اضافه کرده و به مدت 72 ساعت در دمای 25 درجه سانتی گراد بهم زده شد. سپس مخلوط حاصل برای مدت 15 دقیقه با سرعت 3000 دور در دقیقه سانتریفوژ شد و محلول و رسوب جدا گردید و میزان داروی حل شده در طول موج 288 نانومتر با اسپکتروفتومتری تعیین مقدار گردید (5).

بررسی اندازه ذره‌ای

از هر یک از فرمولاسیون‌ها توسط دستگاه بررسی اندازه ذره‌ای (particle size analyzer) مدل Scatterscop Qudix ساخت کشور کره مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین اندازه ذره‌ای و فاکتور پراکندگی (Polydispersity index) در دمای 25 درجه سانتی گراد و با تابش نور لیزر در طول موج 288 نانومتر و براساس تعیین شدت نور تفرق یافته در زاویه 90 درجه اندازه‌گیری گردید (5). هم‌چنین جهت تأیید اندازه ذره‌ای، از یکی از فرمولاسیون‌های میکروامولسیونی قبل از بارگیری دارو به وسیله میکروسکوپ الکترونیکی روبشی (Scanning Electron Microscope: SEM) مدل LEO 1455 VP ساخت کشور چین تصویربرداری شد (9).

بررسی ویسکوزیته نمونه های حاوی دارو

به این منظور، در دمای 25 درجه سانتی گراد و با دستگاه ویسکومتر مدل (DV-II, LV III) ساخت شرکت بروکفیلد کشور آمریکا در حجم 10 میلی لیتر در سرعت برشی 50 دور در دقیقه ویسکوزیته اندازه‌گیری شد (10).

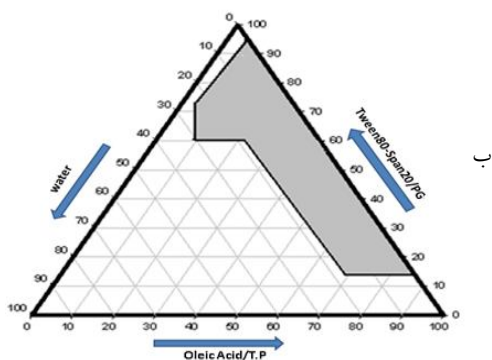
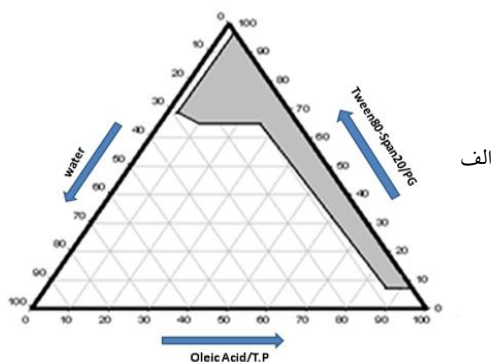
آزادسازی دارو از فرمولاسیون های میکروامولسیونی

برای بررسی آزادسازی دارو از فرمولاسیون‌های مختلف از محفظه انتشاری فرانس ایستاده با سطح مقطع 3/4618 سانتی متر مربع و غشای سلولزی با کات آف 12 کیلو دالتون استفاده شد. در این روش مخلوط بافر فسفات pH=7 به عنوان فاز گیرنده انتخاب شد و غشا مصنوعی سلولزی که 24 ساعت قبل از آزمایش در

آب دیونیزه خیسانده شده بود به عنوان مدل غشایی مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام آزمایش، محفظه گیرنده با 30 میلی لیتر از فاز گیرنده پر شد و روی دستگاه استیر در دمای $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ قرار داده شد و یک هسته مگنت داخل آن قرار گرفت. سپس میزان 4 گرم از هر فرمولاسیون توزین شده و روی غشا گسترده شد. تنظیم دمایی فاز گیرنده توسط دستگاه انجام گرفت. زمان صفر با روشن شدن مگنت و تماس فرمولاسیون با غشا شروع شد و در فواصل زمانی معین (0/5، 1، 2، 3، 4، 5، 6، 7، 8 و 24 ساعت) 2 میلی لیتر از محفظه گیرنده برداشته و 2 میلی لیتر محلول فاز گیرنده را جایگزین آن کرده و مقدار دارو با استفاده از روش اسپکتروفتومتری در طول موج 288 نانومتر تعیین شد. این مطالعه برای هر کدام از نمونه‌ها سه بار تکرار شد (11).

بررسی عبورپذیری ماینوکسیدیل از پوست موش صحرایی برای فرمولاسیون های میکروامولسیونی

پوست موش صحرایی پس از خروج از فریزر و ذوب یخ آن، به قطعات کوچک بریده شده و بر روی سلول‌های انتشار به صورتی که لایه شاخی پوست به سمت فاز دهنده قرار گرفته، بسته شده و در دمای 37 درجه به مدت یک روز بین فاز دهنده و گیرنده هیدراته شده، سپس فازها تخلیه شده و درون محفظه گیرنده با حجم 22 میلی لیتر، فاز گیرنده و درون محفظه دهنده 5 گرم از میکروامولسیون ماینوکسیدیل ریخته شده و آزمون عبور ماینوکسیدیل از پوست کامل رت انجام گرفت. ضخامت نمونه‌ها و میزان هیدراتاسیون پوست قبل و بعد از تماس اولیه با فاز دهنده و گیرنده اندازه‌گیری شد (11). برای بررسی اثر میکروامولسیون‌ها، پس از هیدراته نمودن و قرار دادن پوست روی سلول‌های فرانس، مقدار 4 گرم از فرمولاسیون میکروامولسیون بر روی پوست در فاز دهنده قرار گرفته و فاز گیرنده نیز با بافر فسفات (pH=7) به عنوان حلال دارو پر گردیده و روی استیر قرار داده می‌شود. فاز گیرنده با مگنت با دور 300 دور در دقیقه همزده شد. در زمان‌های تعیین شده (24، 3، 2، 1،



تصویر شماره 1: الف - دیاگرام فازي سه تایی با نسبت 2:1 از سورفکتانت غیر یونی (توین 80-اسپن 20) و کوسورفکتانت (پروپیلن گلیکول) و ب - دیاگرام فازي سه تایی با نسبت 3:1 از سورفکتانت غیر یونی (توین 80-اسپن 20) و کوسورفکتانت (پروپیلن گلیکول)

میزان آزادسازی دارو از فرمولاسیونهای میکروامولسیوني میزان و مکانیسم آزادسازی دارو از میکروامولسیونها در جدول شماره 2 نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که درصد آزادسازی دارو از میکروامولسیونهای مورد نظر در فرمولاسیونهای شماره 2 و 6 به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار می باشد.

نتایج تمامی فرمولاسیونها در معادلات سه نوع از مدل های کینتیکی درجه صفر، درجه یک و هیگوئیچی مورد فیت قرار گرفته اند و بیشترین مدل آزادسازی براساس بالاترین میزان R^2 برای هر میکروامولسیون انتخاب گردید که نتایج آن در جدول شماره 2 نمایش داده شده است. میزان آزاد سازی ماینوکسیدیل از میکروامولسیونها در تصویر شماره 3 نمایش داده شده است.

ساعت) نمونه برداری از فاز گیرنده صورت پذیرفته و 2 میلی لیتر از فاز گیرنده برداشته و بلافاصله با حجم مساوی از بافر فسفات تازه برای برقراری شرایط سینک جایگزین شده مقدار داروی عبور نموده به روش اسپکتروسکوپی UV در 288 نانومتر اندازه گیری شد. از فرمولاسیون میکروامولسیونی بدون دارو به عنوان کنترل استفاده شد (11).

روش های آماری تجزیه و تحلیل نتایج

تمام مطالعات انجام شده سه بار تکرار شد و مقادیر به صورت میانگین انحراف معیار بیان شده اند. جهت بررسی آماری نتایج از آزمون t-test دوطرفه و آنالیز واریانس استفاده شده است. برای طراحی آزمون full-factorial از نرم افزار مینی تب نسخه شماره 17 استفاده شد.

یافته ها

تعیین فرمولاسیون میکروامولسیونها با استفاده از نمودارهای فاز دیاگرام

جهت تعیین فرمولاسیون میکروامولسیونها از نمودارهای فاز دیاگرام تصویر شماره 1 استفاده شد. محتوای فرمولاسیونها در جدول شماره 1 درج شده است.

اندازه ذره ای و ویسکوزیته میکروامولسیونها

نتایج اندازه ذره ای میکروامولسیونها در جدول شماره 1 ارائه شده است. این نتایج نشان می دهد میکروامولسیون شماره 1 کمترین و میکروامولسیون شماره 8 بیشترین اندازه ذره ای را دارا می باشند. نتایج مربوط به ویسکوزیته میکروامولسیونهای دارویی در جدول شماره 1 ارائه شده است. نتایج نشان داده که میکروامولسیونهای شماره 1 و 2 به ترتیب دارای کمترین (177 سانتی پواز) و بیشترین ویسکوزیته (199/2 سانتی پواز) می باشد. تصاویر میکروسکوپ الکترونیکی روبشی میکروامولسیون شماره 8 قبل از بارگیری دارو در تصویر شماره 2 آمده است. این تصاویر صحت اندازه ذره ای اندازه گیری شده را تأیید می کند.

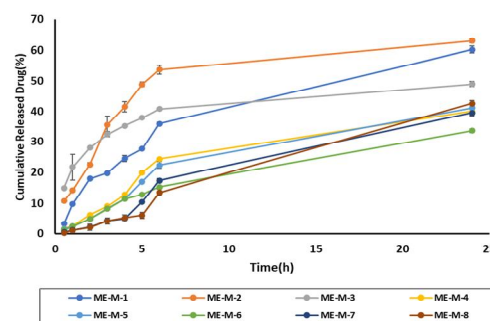
جدول شماره 1: اجزای موجود در فرمولاسیون میکروامولسیون، ویسکوزیته در سرعت برشی 50 دور در دقیقه و اندازه ذره‌های میکروامولسیون‌های ماینوکسیدیل (Mean±SD, n=3)

فرمولاسیون	Factorial	S/C	% Oil	% S + C	%W	اندازه ذره‌ای نمونه‌های با دارو (nm)	شاخص پراکندگی (PDI)	ویسکوزیته 50 rpm (cps)
ME-M-1	+++	3:1	40	50	10	5/45±0/30	0/30±0/01	1/4 ± 117
ME-M-2	++-	3:1	40	55	5	5/99±0/58	0/26±0/03	126/0±0/9
ME-M-3	++	3:1	10	80	10	9/13±0/42	0/39±0/02	199/2±1/2
ME-M-4	+ - -	3:1	10	85	5	9/97±0/15	0/37±0/01	194/4±0/2
ME-M-5	- - +	2:1	10	80	10	6/85±0/31	0/41±0/03	175/2±1/4
ME-M-6	- - -	2:1	10	85	5	7/52±0/41	0/45±0/02	165/6±0/6
ME-M-7	- + -	2:1	40	55	5	6/44±0/12	0/36±0/01	122/4±1/6
ME-M-8	- ++	2:1	40	50	10	10/40±0/30	0/37±0/03	113/2±1/8

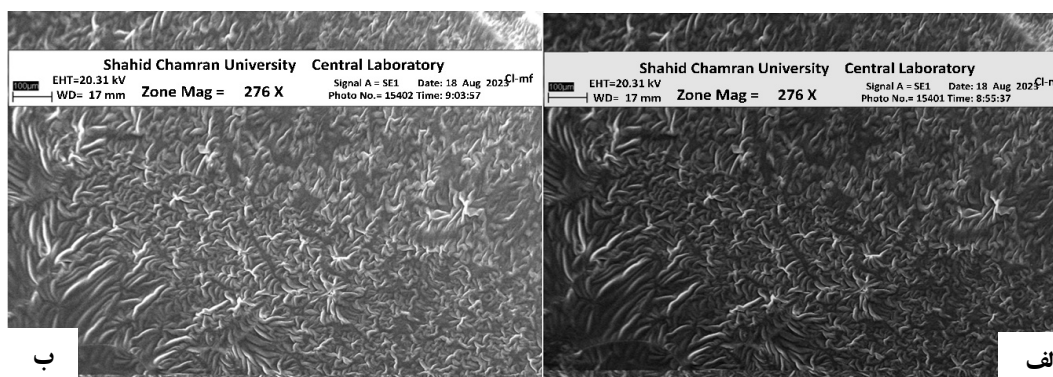
PDI : Poly Dispersity Index

جدول شماره 2: نتایج مربوط به مکانیسم آزادسازی دارو از فرمولاسیون‌های میکروامولسیونی طی 24 ساعت (Mean±SD, n=3)

فرمولاسیون	مدل کینتیکی	R ²	درصد آزاد سازی دارو در ساعت دوم	Q _{2h} (%)	درصد آزاد سازی دارو در ساعت 24م	Q _{24h} (%)
ME-M-1	Higuchi	0/974	17/935 ± 0/112	60/207 ± 1/110		
ME-M-2	Higuchi	0/685	22/511 ± 0/570	63/023 ± 0/682		
ME-M-3	Higuchi	0/736	28/043 ± 0/037	49/038 ± 0/655		
ME-M-4	Higuchi	0/93	6/260 ± 0/305	40/056 ± 3/348		
ME-M-5	Higuchi	0/969	4/896 ± 0/033	41/135 ± 1/203		
ME-M-6	Higuchi	0/996	4/876 ± 0/032	33/63 ± 0/548		
ME-M-7	First order	0/995	2/273 ± 0/069	39/572 ± 1/133		
ME-M-8	First order	0/984	0/078 ± 0/141	42/59 ± 1/301		



تصویر شماره 3: نمودار میزان آزادسازی تجمعی ماینوکسیدیل از فرمولاسیون میکروامولسیون‌ها



تصویر شماره 3: تصویر میکروسکوپ الکترونیکی رویشی؛ الف) مربوط به میکروامولسیون شماره 8 بدون دارو، ب) بدون دارو با ساختار Bicontinuous

ضریب عبورپذیری (p)، زمان کمون (T_{lag}) و ضریب انتشار ظاهری (D_{app}) و به ER_{flux} و ER_D و ER_p محاسبه گردید که نتایج حاصل از آن در جدول شماره 3 آورده شده است. به منظور محاسبه پارامترهای عبورپذیری نمودار مقدار تجمعی داروی عبور کرده از واحد سطح در برابر زمان رسم گردید. ضریب عبورپذیری (p) از

بررسی میزان عبورپذیری فرمولاسیون‌های میکروامولسیونی ماینوکسیدیل

در این مطالعه میزان عبورپذیری ماینوکسیدیل موجود از میکروامولسیون‌های دارویی از پوست کامل موش صحرائی مورد بررسی قرار گرفت و پارامترهای عبورپذیری مانند سرعت عبور در حالت تعادل (J_{ss})،

معادله ($J_{ss}=P.C$) محاسبه می شود که C غلظت دارو در فاز دهنده است. مقدار زمان کمون (T_{lag}) از امتداد خط تعادل به محور زمان در منحنی تجمعی دارو از پوست به دست می آید و مقدار D از معادله $D = \frac{h^2}{6T_{lag}}$ (11) محاسبه شد. به دلیل این که h نشان دهنده طول واقعی مسیر عبور کردن دارو نمی باشد، بنابراین D محاسبه شده از این فرمول نیز D ظاهری (Appearance) می باشد. چون تمام محاسبات براساس ناحیه Steady State نمودار تجمعی عبورپذیری دارو انجام گرفته است بنابراین برقراری شرایط سینک برای قابل استناد بودن این پارامترها الزامی است. در این پژوهش حداکثر غلظت ایجاد شده در فاز گیرنده کم تر از 10 درصد محلولیت اشباع دارو در فاز گیرنده بود و بنابراین گرادیان غلظتی ثابتی در طول زمان آزمایشات برقرار بوده و با این شرایط سرعت عبور ثابتی ایجاد شده است. سرعت عبور در حالت تعادل تمامی فرمول ها نسبت به کنترل اشباع دارو بیش تر می باشند. اثر میکروامولسیون ها بر عبور دارو از پوست رت در مقایسه با کنترل (سوسپانسیون 2 درصد دارو) با محاسبه ER_{Flux} ، ER_P و ER_D به دست آمده است. نتایج نشان داده است که تمامی فرمولاسیون های میکروامولسیونی باعث افزایش معنی دار در ER_P ، ER_{Flux} و ER_D شده است. لوسیون ماینوکسیدیل موجود در بازار (شرکت پاک

دارو) میزان ER_{Flux} را 1/336 و میزان ER_P را 1/336 و میزان ER_D را 22/893 برابر نسبت به محلول آبی 2 درصد ماینوکسیدیل افزایش داده است.

بحث

اندازه ذره ای میکروامولسیون ها در محدوده 5/45 تا 10/4 نانومتر بوده است که در محدوده میکروامولسیون، یعنی کم تر از 200 نانومتر می باشد. نتایج این مطالعه با نتایج تحقیقات Mueller و همکاران کاملاً مطابقت دارد (12). آنالیز روابط بین اجزای فرمولاسیون و اندازه ذره ای نشان می دهد رابطه بین فاز روغنی و آب اثر معنی داری بر اندازه ذره ای دارد. رابطه بین درصد روغن و درصد آب نیز معنی دار می باشد، به طوری که در سطح بالای روغن با افزایش درصد آب از 5 به 10 درصد اندازه ذره ای میکروامولسیون ها افزایش می یابد. ویسکوزیته میکروامولسیون های ساخته شده در محدوده 113/2 تا 199/2 سانتی پواز می باشد.

براساس آنالیز رگرسیون رابطه در میکروامولسیون ها مشخص گردید که بین نسبت S/C درصد آب، درصد روغن و ثابت معادله، با ویسکوزیته رابطه معنی دار می باشد. بدین ترتیب که افزایش درصد روغن و کاهش درصد آب نسبت S/C میزان ویسکوزیته در فرمولاسیون های مورد نظر افزایش می یابد. نتایج این تحقیق با نتایج

جدول شماره 3: نتایج مربوط به پارامترهای عبورپذیری میکروامولسیون های ماینوکسیدیل در مقایسه با کنترل اشباع دارو از پوست کامل موش صحرائی (Mean±SD, n=3)

فرمولاسیون	$J_{ss}(mg/cm^2.h)^7$	$D_{app}(cm^2/h)^6$	$P(cm/h)^5$	$T_{lag}(h)^4$	ER_{Flux}^3	ER_D^2	ER_P^1
Control	0/0095 ± 0/0001	0/059 ± 0/002	0/0001 ± 0	0/91 ± 0/037	-	-	-
Market lotion Minoxidil 2%	0/0127 ± 0	1/350 ± 0/016	0/00001 ± 0	0/043 ± 0/016	1/336 ± 0/001	22/893 ± 1/689	1/336 ± 0/002
ME-M-1	0/021 ± 0/0006	0/067 ± 0/012	0/00023 ± 0	0/813 ± 0/152	2/226 ± 0/066	1/1441 ± 0/26	2/226 ± 0/066
ME-M-2	0/047 ± 0/004	0/037 ± 0/006	0/0006 ± 0	1/484 ± 0/275	5/005 ± 0/439	0/626 ± 0/141	5/005 ± 0/439
ME-M-3	0/025 ± 0/003	0/025 ± 0/014	0/0003 ± 0	2/490 ± 0/370	0/678 ± 0/320	0/425 ± 0/219	0/678 ± 0/320
ME-M-4	0/024 ± 0/0002	0/109 ± 0/004	0/0003 ± 0	0/495 ± 0/021	2/536 ± 0/029	1/839 ± 0/003	2/536 ± 0/029
ME-M-5	0/043 ± 0/0003	0/066 ± 0/002	0/0005 ± 0	0/817 ± 0/030	4/615 ± 0/037	1/113 ± 0/003	4/615 ± 0/037
ME-M-6	0/032 ± 0/0006	0/044 ± 0/027	0/0004 ± 0	1/5 ± 0/934	3/405 ± 0/066	0/762 ± 0/499	3/405 ± 0/066
ME-M-7	0/018 ± 0/0001	0/417 ± 0/095	0/0002 ± 0	0/133 ± 0/030	1/894 ± 0/014	7/050 ± 1/887	± 1/894 ± 0/014
ME-M-8	0/049 ± 0/004	0/264 ± 0/053	0/0006 ± 0	0/209 ± 0/042	5/157 ± 0/476	4/425 ± 0/725	5/157 ± 0/476

1. ضریب عبور پذیری دارو نسبت به کنترل

3. سرعت عبور دارو نسبت به کنترل

5. ضریب عبور پذیری

7. سرعت عبور پذیری

2. ضریب انتشار دارو نسبت به کنترل

4. زمان کمون

6. ضریب انتشار

پژوهش Benigni در خصوص میکروامولسیون‌های حاوی اولبیک اسید، توین 80 و پروپیلن گلیکول تقریباً مطابقت دارند (13). تغییر در ریزساختارهای درونی میکروامولسیون‌ها بواسطه تغییر در اجزای میکروامولسیون‌ها یکی از دلایل تغییر ویسکوزیته در میکروامولسیون‌ها می‌باشد. نتایج ویسکوزیته در میکروامولسیون‌های ماینوکسیدیل نشان دهنده مناسب بودن ویسکوزیته آن‌ها برای کاربرد پوستی می‌باشد (14).

رهمش دارو از میکروامولسیون‌های ماینوکسیدیل از مکانیسم‌های مختلفی پیروی می‌کند. افزایش میزان روغن، باعث افزایش رهمش دارو پس از 2 ساعت شده است. از طرفی دیگر افزایش درصد آب و روغن، باعث افزایش رهمش دارو پس از 24 ساعت شده است. براساس آنالیز رگرسیون رابطه بین اجزای میکروامولسیون‌ها و آزادسازی دارو مشخص می‌گردد که رابطه درصد آزادسازی دارو از میکروامولسیون‌ها با درصد روغن معنی‌دار و با سایر متغیرها معنی‌دار نمی‌باشد، به‌طوری‌که با افزایش درصد روغن در میکروامولسیون‌ها درصد آزادسازی دارو در ساعت دوم افزایش می‌یابد. رابطه بین درصد آب و نسبت سورفکتانت معنی‌دار می‌باشد به‌طوری‌که در سطح بالای آب با افزایش نسبت کوسورفکتانت میزان آزادسازی دارو افزایش می‌یابد. فرمول‌های شماره 1 و 2 به ترتیب دارای درصد آزادسازی 60/207 و 63/023 می‌باشند که دارای بالاترین مقدار آزادسازی در بین فرمول‌های مورد مطالعه می‌باشند. مکانیسم آزادسازی دارو از بیش‌تر میکروامولسیون‌ها از مدل هیگوجی تبعیت کرده که این امر با ضریب بیش‌تر رگرسیون از فیت کرد نتایج ریلیز با سه مدل درجه صفر، درجه یک و هیگوجی به‌دست آمده است. ماینوکسیدیل دارویی از دسته داروهای کلاس 2 می‌باشد که دارای محلولیت کم و نفوذپذیری بالا می‌باشد. مخلوط سورفکتانت و کوسورفکتانت با روغن باعث افزایش انحلال دارو به‌صورت میسل می‌شوند. تشکیل میسل باعث کاهش کشش سطحی بین روغن و آب

شده و در نهایت باعث افزایش انحلال ماینوکسیدیل در روغن می‌شود. نتایج به دست آمده با مطالعات Kamath در خصوص گلی کلایزید که از کلاس 2 می‌باشد، مطابقت دارند (15). همچنین نتایج این تحقیق با نتایج پژوهش Špaglová و همکارانش در خصوص آزادسازی ماینوکسیدیل از ژل‌های میکروامولسیونی مطابقت دارند (16).

در مطالعه‌ای که توسط Sunitha بر روی میکروامولسیون‌های حاوی ماینوکسیدیل بر روی پوست رت انجام گرفت ثابت کردند که میزان فلاکس دارو ($70/11 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) و میزان P ($27/18 \text{cm}/\text{h}$) شده است. آن‌ها ثابت کردند که میزان عبورپذیری ماینوکسیدیل با افزایش میزان روغن و سورفکتانت افزایش یافته است (17). همان‌گونه که مشخص است تمامی فرمولاسیون‌های میکروامولسیونی دارای ER_{FLUX} و ER_P بیش‌تری نسبت به لوسیون میکروامولسیون بازار شده‌اند و میزان ER_D نمونه لوسیون ماینوکسیدیل بازار دارای افزایش قابل ملاحظه‌ای نسبت به محلول آب 2 درصد ماینوکسیدیل یعنی $22/393$ برابر شده است، به نظر می‌رسد که افزایش قابل ملاحظه میزان Dapp در لوسیون بازار ($1/35 \text{cm}^2/\text{h}$) به دلیل ترکیب درصد احتمالی حلال فراورده بدلیل ترکیب هیدرو الکلی می‌باشد. الکل و احتمالاً پروپیلن گلیکول موجود در لوسیون باعث افزایش میزان Dapp شده است، توزیع‌پذیری و انتشار دو فاکتور تعیین کننده، برای عبور دارو از پوست می‌باشند. سیستم حلال مورد نظر باعث افزایش میزان توزیع ماینوکسیدیل در بافت شاخی و افزایش Dapp می‌شود.

نتایج نشان می‌دهد که تاثیر ساختار میکروامولسیونی تاثیر بیش‌تری بر میزان فلاکس و ضریب عبورپذیری (P) داشته است که این امر عمدتاً به دلیل افزایش فاز روغنی و میزان سورفکتانت فرمولاسیون می‌باشد، افزایش میزان فلاکس و P در میکروامولسیون‌ها به احتمال زیاد به دلیل مایل شدن ماتریکس لیپیدی یا از بین رفتن ساختار لیپیدی بافت شاخی توسط اولبیک اسید و

سیستم سورفکتانتی فرمولاسیون می‌باشد. رابطه بین متغیرهای مستقل و میزان سرعت عبور در حالت تعادل (J_{ss}) در نمونه‌های حاوی دارو مورد بررسی قرار گرفت و آنالیز نشان می‌دهد رابطه بین J_{ss} با نسبت سورفکتانت به کوسورفکتانت، درصد روغن، درصد آب و ثابت معادله معنی‌دار نمی‌باشد. پس هیچ‌کدام از پارامترهای فوق هیچ اثری بر میزان J_{ss} ندارند. رابطه بین زمان کمون و متغیرهای مستقل در میکروامولسیون‌های دارویی شخص کرد ارتباط زمان کمون با نسبت سورفکتانت به کوسورفکتانت، درصد آب، ثابت معادله و درصد روغن ارتباط معنی‌دار ندارد. هم‌چنین براساس آنالیز رگرسیون رابطه اجزای میکروامولسیون‌های حاوی دارو مشخص کرد که تداخل بین آب و روغن، تداخل بین روغن و سورفکتانت به کوسورفکتانت و تداخل بین آب و سورفکتانت به کوسورفکتانت دارای اثر معنی‌داری بر T_{lag} می‌باشد.

با آنالیز رابطه بین متغیرهای مستقل و D_{app} در میکروامولسیون‌های حاوی دارو مشخص شد ارتباط D_{app} با نسبت سورفکتانت به کوسورفکتانت معنادار نیست، اما با درصد آب معنی‌دار می‌باشد، به‌طوری‌که D با افزایش درصد آب افزایش می‌یابد. روابط به‌دست آمده از آنالیز متغیرهای مستقل و پارامتر P نشان می‌دهد رابطه بین P با نسبت سورفکتانت به کوسورفکتانت و با درصد روغن ارتباط معنی‌دار ندارد اما با ثابت معادله رابطه معناداری دارد، پس با تغییر در مقدار سایر اجزا می‌تواند مقدار P را تغییر داد. هم‌چنین براساس آنالیز رگرسیون رابطه بین اجزای میکروامولسیون‌های حاوی دارو و P مشخص شد که تداخل بین آب و روغن و تداخل بین روغن و سورفکتانت به کوسورفکتانت و تداخل بین آب و سورفکتانت به کوسورفکتانت دارای اثر معنی‌داری بر P می‌باشد. مهم‌ترین و معنی‌دارترین تداخل بین P و متغیرهای مستقل تداخل بین درصد روغن و نسبت سورفکتانت به کوسورفکتانت می‌باشد،

به‌طوری‌که در سطح بالا با افزایش نسبت سورفکتانت به کوسورفکتانت از 2 به 3 میزان P افزایش یافته است. رابطه بین پارامترهای عبورپذیری از پوست و متغیرهای مستقل نشان داده است که پارامترهای T_{lag} و J_{ss} با متغیرهای مستقل در محدوده مورد مطالعه، معنی‌دار نمی‌باشد.

رابطه بین متغیرهای مستقل و ضریب انتشار ظاهری نشان می‌دهد که این پارامتر (D_{app})، درصد آب رابطه معنی‌داری داشته، به‌طوری‌که با افزایش درصد آب میزان D_{app} افزایش می‌یابد.

نتایج نشان داده است که تمامی فرمولاسیون‌های میکروامولسیونی اثرات افزایشی بیش‌تری در سرعت عبور دارو (فلاکس) نسبت به انتشار دارو (D_{app}) داشته‌اند. با توجه به نتایج مشخص گردید که میکروامولسیون شماره 8 با بیش‌ترین میزان سرعت عبور دارو (J_{ss})، (5/157) برابر بیش‌تر نسبت به گروه کنترل مناسب‌ترین فرمولاسیون جهت عبورپذیری از پوست رت می‌باشد. سرعت عبور در حالت تعادل تمامی فرمول‌ها نسبت به کنترل اشباع دارو بیش‌تر می‌باشند، اجزای موجود در میکروامولسیون‌ها از طریق اثر بر روی لایه شاخی پوست باعث افزایش میزان عبور مایو کسیدیل از پوست می‌شوند. اولییک اسید موجود در فرمولاسیون‌های میکروامولسیونی از طریق اختلال در لیپیدهای لایه شاخی باعث افزایش عبور بسیاری از داروها می‌شود. اسید اولییک از طریق تداخل با زنجیره‌های لیپیدی سرآمیدهای لایه شاخی باعث مایع شدن این لیپیدها می‌شود. اسید اولییک باعث افزایش عبور بسیاری از داروها مانند ویتامین ب 12 (9)، ناپروکسن (18)، اوکس کاربازپین (19)، لیدوکائین و کتوتیفن (20) و آداپالن (21) شده است.

ترانس‌کوتول پی موجود در فرمولاسیون میکروامولسیون‌های ترکیبی است که با آب و حلال‌های غیر قطبی قابل امتزاج می‌باشد و باعث افزایش انحلال داروهای آب دوست و آب گریز می‌شود. این ترکیب باعث افزایش نفوذ دارو به‌داخل پوست با کشیدن و انتشار دارو

و کمک حلال می باشد که باعث کمک به عبور داروها عمدتاً از طریق بهبود توزیع پذیری داروها در لایه شاخی از پوست می شود (21). اثر پروپیلن گلیکول بر روی عبور داروهای مانند ویتامین ب 12 (9) و ناپروکسن (18) پیش تر به اثبات رسیده است.

مطالعه حاضر نشان داد که هر تغییری در محتوا و ترکیب میکروامولسیون ها می تواند ویژگی های فیزیکی و شیمیایی و پارامترهای نفوذ پذیری دارو را از فرمولاسیون های میکروامولسیون در هنگام نفوذ در پوست موش صحرایی را تغییر دهد. تهیه میکروامولسیون های حاوی ماینوکسیدیل می تواند ویژگی های موضعی دارو را بهبود بخشد و دارورسانی پوستی را بهینه نماید.

به داخل پوست (pull effect) می شود (1). قبلاً هم این مکانیسم در رابطه با ماینوکسیدیل به اثبات رسیده بود (22). توین 80 و اسپن 20 موجود در فرمولاسیون های میکروامولسیونی ماینوکسیدیل از طریق دنا توره کردن پروتئین های موجود در لایه شاخی، اختلال در لیپیدهای بین سلولی لایه شاخی و اختلال در لایه لیپیدی اپیدرم باعث افزایش عبور ماینوکسیدیل از پوست می شوند. اثر سورفکتانت ها بر افزایش عبور پوستی بسیاری از داروها مانند ناپروکسن (18) و نالوکسان و دیازپام و دیلتیازم (20) و آملودیپین (22) شده است.

پروپیلن گلیکول موجود در فرمولاسیون های میکروامولسیونی ماینوکسیدیل به عنوان کوسورفکتانت

References

1. Sakr FM, Gado AM, Mohammed HR, Adam ANI. Preparation and evaluation of a multimodal minoxidil microemulsion versus minoxidil alone in the treatment of androgenic alopecia of mixed etiology: a pilot study. *Drug Des Devel Ther* 2013; 7: 413-423.
2. Salimi A, Moghimipour E, Kashani S, Soleymani SM. The Effect of Various Vehicles on the In Vitro Skin Permeability of Minoxidil. *J Kermanshah Univ Med Sci* 2022; 26(3): e128920 (Persian).
3. Buhl AE, Waldon DJ, Baker CA, Johnson GA. Minoxidil sulfate is the active metabolite that stimulates hair follicles. *J Invest Dermatol* 1990; 95(5): 553-557.
4. Weiss VC, West DP, Fu TS, Robinson LA, Cook B, Cohen RL, et al. Alopecia areata treated with topical minoxidil. *Arch Dermatol* 1984; 120(4): 457-463.
5. Salimi A, Mohammad Soleymani S, Moghimipour E, Mombeyni A. Tadalafil Transdermal Drug Delivery Using Microemulsion Formulation in Laboratory Model. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2023; 32(216): 34-48 (Persian).
6. Salimi A, Mohammad Soleymani S, Mohammad Soleymani H. The Use of Nano-carriers in Transdermal Drug delivery. *Jundishapur Scientific Medical Journal* 2020; 19(4): 435-464 (Persian).
7. Shah P, Swarnkar D, Parikh R. Development and characterization of microemulsion containing antihypertensive agent using factorial design. *J Pharm Bioallied Sci* 2012; 4(Suppl 1): S69-S70.
8. Salimi A, Moghimipour E, Tavakolbekhoda N. Transdermal delivery of celecoxib through rat skin from various microemulsions. *Int Res J Pharm App Sci* 2013; 3(4): 173-181.
9. Salimi A, Zadeh BSM, Moghimipour E. Preparation and characterization of cyanocobalamin (Vit B12) microemulsion properties and structure for topical and transdermal application. *Iran J Basic Med Sci* 2013; 16(7): 865-872 (Persian).

10. Crooks GE, Rees GD, Robinson BH, Svensson M, Stephenson GR. Comparison of hydrolysis and esterification behavior of Humicola lanuginosa and Rhizomucor miehei lipases in AOT-stabilized water-in-oil microemulsions: I. Effect of pH and water content on reaction kinetics. *Biotechnol Bioeng* 1995; 48(1): 78-88.
11. Soleymani SM, Salimi A. Enhancement of dermal delivery of finasteride using microemulsion systems. *Adv Pharm Bull* 2019; 9(4): 584-592.
12. Mueller B, Mueller R. Particle size distributions and particle size alterations in microemulsions. *J Pharm Sci* 1984; 73(7): 919-922.
13. Benigni M, Pescina S, Grimaudo MA, Padula C, Santi P, Nicoli S. Development of microemulsions of suitable viscosity for cyclosporine skin delivery. *Int J Pharm* 2018; 545(1-2): 197-205.
14. Shukla T, Upmanyu N, Agrawal M, Saraf S, Saraf S, Alexander A. Biomedical applications of microemulsion through dermal and transdermal route. *Biomed Pharmacother* 2018; 108: 1477-1494.
15. Kamath H, Sivakumar A. Microemulsion based formulation as drug delivery system for gliclazide. *Int J Pharm Edu Res* 2017; 51(4S): 571-579.
16. Špaglová M, Čuchorová M, Čierna M, Poništ S, Bauerová K. Microemulsions as solubilizers and penetration enhancers for minoxidil release from gels. *Gels* 2021; 7(1): 26.
17. Sunitha S, Jitendra W, Sujatha D, Santhosh Kumar M. Design and evaluation of hydrogel-thickened microemulsion for topical delivery of minoxidil. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2013; 9(4): 1-14 (Persian).
18. Salimi A, Hedayatipour N, Moghimipour E. The effect of various vehicles on the naproxen permeability through rat skin: a mechanistic study by DSC and FT-IR techniques. *Adv Pharm Bull* 2016; 6(1): 9-16.
19. Virani A, Puri V, Mohd H, Michniak-Kohn B. Effect of Penetration Enhancers on Transdermal Delivery of Oxcarbazepine, an Antiepileptic Drug Using Microemulsions. *Pharmaceutics* 2023; 15(1): 183.
20. Songkro S. An overview of skin penetration enhancers: penetration enhancing activity, skin irritation potential and mechanism of action. *Songklanakarin J Sci Technol* 2009; 31(3): 299-321.
21. Salimi A, Emam M, Mohammad Soleymani S. Increase adapalene delivery using chemical and herbal enhancers. *J Cosmet Dermatol* 2021; 20(9): 3011-3017.
22. Som I, Bhatia K, Yasir M. Status of surfactants as penetration enhancers in transdermal drug delivery. *J Pharm Bioallied Sci* 2012; 4(1): 2-9.