

Preparation of Ascorbic Acid-Loaded Niosomes Using the Thin-Layer Hydration Method for Enhanced Percutaneous Drug Delivery

Katayoun Morteza-Semnani¹,
Saghar Ahmadipour²,
Jafar Akbari³,
Seyyed Sohrab Rostamkalaei⁴,
Kimia Saeedi²,
Seyyed Mohammad Hasan Hashemi⁵,
Majid Saeedi⁶

¹ Professor, Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Pharmacy Student, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ PhD in Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Assistant Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar-Abbas, Iran

⁶ Professor, Department of Pharmaceutics, Pharmaceutical Sciences Research Center, Institute of Herbal Medicine and Metabolic Disorders, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 9, 2025; Accepted January 25, 2026)

Abstract

Background and purpose: Ascorbic acid is a crystalline, water-soluble powder that is used in topical preparations as an antioxidant, a skin lightener, a wound-healing agent, and an anti-wrinkle agent. However, skin penetration following topical administration is limited due to its hydrophilic characteristics and high-water solubility, and this challenge is further exacerbated by the vitamin's low chemical stability in aqueous solutions. In this study, a niosomal delivery system was employed to enhance the skin permeability of ascorbic acid.

Materials and methods: In this experimental study, ascorbic acid-loaded niosomes were prepared by the thin-layer hydration method, followed by sonication. The effects of the surfactant system and the sonication process on nanoparticle properties were investigated. An optimal formulation, based on particle size, polydispersity index (PDI), zeta potential (ZP), and entrapment efficiency (EE), was selected for evaluation of transdermal absorption and drug release across a dialysis membrane.

Results: The results showed that the optimal formulation had a mean particle size of 168.15 ± 7.3 nm, a PDI of 0.31 ± 0.06 , and an entrapment efficiency (EE) of $34.7 \pm 5.2\%$. Transmission electron microscopy (TEM) images demonstrated the homogeneity and morphology of the niosomes. Attenuated total reflectance–Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectra and differential scanning calorimetry (DSC) thermograms showed successful drug loading without any chemical interactions. Drug release studies demonstrated a slow and controlled release pattern from ascorbic acid-loaded niosomes compared with the drug solution. Percutaneous absorption studies using rat abdominal skin in Franz diffusion cells showed enhanced skin penetration and increased skin retention after 24 h for ascorbic acid-loaded nanoparticles.

Conclusion: These results indicate that the niosomal system is a suitable and stable delivery vehicle for the topical delivery of ascorbic acid.

Keywords: Niosome, ascorbic acid, thin film hydration, percutaneous delivery, nanoparticle

J Mazandaran Univ Med Sci 2026; 35 (253): 3-16 (Persian).

Corresponding Author: Majid Saeedi - Faculty of pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
(E-mail: msaeedi@mazums.ac.ir)

تهیه نانوذرات نیوزوم آسکوربیک اسید با روش هیدراسیون لایه نازک به منظور ارتقای دارو رسانی پوستی

کتایون مرتضی سمنانی^۱ساغر احمدی پور^۲جعفر اکبری^۳سید سهراب رستمکلائی^۴کیمیا سعیدی^۲سید محمد حسن هاشمی^۵مجید سعیدی^۶

چکیده

سابقه و هدف: آسکوربیک اسید پودر کریستالی محلول در آب می باشد که در فراورده های موضعی با اثرات آنتی اکسیدان، روشن کننده پوست، ترمیم کننده زخم و جوان کننده مورد استفاده قرار می گیرد. محلولیت آبی بالای این ماده سبب محدود شدن میزان نفوذ پوستی و عبور از سد لایه اپیدرم می گردد. هم چنین این ترکیب در محیط آبی دارای پایداری بالایی نمی باشد. در این پژوهش جهت ارتقای جذب پوستی این ویتامین، از سامانه نیوزوم برای دارو رسانی استفاده شده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی، جهت تهیه نیوزوم ها از روش هیدراسیون لایه نازک و به دنبال آن سونیکه کردن پراکندگی، استفاده شد. جهت دستیابی به نانوذرات مناسب، عوامل مؤثر بر ویژگی های نیوزوم مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج اندازه ذره ای، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا، بارگیری دارو، مورفولوژی ذرات و برهمکنش بین اجزاء، فرمولاسیون اپتیمم جهت بررسی آزاد سازی از غشای دیالیز میزان جذب پوستی انتخاب و مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: فرمولاسیون بهینه دارای اندازه ذره ای $168/15 \pm 7/3$ نانومتر، شاخص پراکندگی $0/31 \pm 0/06$ ، و میزان بارگیری $34/7 \pm 5/2$ درصد بود. بررسی طیف های ATR-FTIR و ترموگرام های DSC نشان دهنده عدم برهمکنش شیمیایی بین دارو و سایر اجزاء فرمولاسیون و همچنین بارگیری مؤثر دارو در حامل بود. نتایج آزاد سازی نشان داد که رهش دارو از سامانه نیوزوم در مقایسه با محلول دارو با روند آهسته تر و کنترل شده انجام می پذیرد. بررسی میزان آسکوربیک اسید نفوذ یافته از پوست و داروی باقیمانده در پوست در طی ۲۴ ساعت، نشان داد که میزان نفوذ دارو و مقدار داروی باقیمانده در پوست، در حامل نیوزوم به شکل معنی داری بیش تر از فراورده شاهد می باشد.

استنتاج: سامانه نیوزوم می تواند یک حامل مناسب برای دارورسانی پوستی آسکوربیک اسید، همراه با پایداری مناسب باشد.

واژه های کلیدی: آسکوربیک اسید، هیدراسیون لایه نازک، دارورسانی پوستی، نانوذرات

E-mail: msaeedi@mazums.ac.ir

مؤلف مسئول: مجید سعیدی- ساری، کیلومتر ۱۸ جاده خزر، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران،

۱. استاد گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. استاد گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. دکترای تخصصی فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. استادیار گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

۶. استاد گروه فارماسیوتیکس، مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده داروهای گیاهی و اختلالات متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۳/۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۴/۳/۷ تاریخ تصویب: ۱۴۰۴/۱۱/۱۲

مقدمه

آسکوربیک اسید یا ویتامین C، فراوان ترین ترکیب آنتی اکسیدان در پوست انسان می باشد (۱). فرایندهای اکسیداتیو ناشی از تابش اشعه نور خورشید، آلودگی های محیطی، استعمال دخانیات و عوامل دیگر در پوست انسان، سبب تخریب ساختار طبیعی پوست و بروز عوارضی مانند پیری زودرس پوست و مستعد شدن آن برای بروز بیماری های مختلف می گردد. این ویتامین با مداخله در چرخه اکسیداتیو از مسیرهای انتقال و اهدای الکترون، عملکرد آنتی اکسیدانی خود را اعمال می نماید. در حقیقت این ماده به سادگی اکسید می شود و با آزاد نمودن الکترون سبب حذف گونه های اکسیژن فعال (Reactive oxygen species, ROS) می گردد (۲). این ماده همچنین به عنوان یک کوفاکتور با یون های فلزی موجود در محل فعال آنزیم ها برهمکنش داده و سبب حذف عملکرد کاتالیزوری آن ها می شود. مکانیسم آنتی اکسیدانی و غیرفعال سازی یون های فلزی سبب اثرات روشن کنندگی پوست آسکوربیک اسید نیز می گردد (۴). برخلاف گیاهان و برخی حیوانات، انسان به علت نداشتن آنزیم آل-گلوکونو گاما لاکتون اکسیداز، قادر به بیوسنتز ویتامین ث نمی باشد و می بایست از طریق خوراکی این ماده را دریافت نماید. بررسی ها نشان داده است که حتی در مقادیر خوراکی با دوز بالا نیز، تنها مقادیر اندکی از آسکوربیک اسید فعال به پوست می رسد و زیست دست یابی این ویتامین در پوست، از مسیر خوراکی ناچیز می باشد (۵). همین امر سبب شده است تا برای اهداف درمانی و آرایشی در پوست، مسیر دارو رسانی پوستی مورد توجه قرار گیرد تا بتوان غلظت مناسبی از این ویتامین را در پوست دارو رسانی نمود (۶). آسکوربیک اسید یک ساختار باردار و هیدروفیل (محلول در آب) دارد که همین امر میزان نفوذ این ماده از سد لایه شاخی پوست را که ساختاری لیپوفیل دارد، به شدت محدود می سازد. ناپایدار بودن ویتامین ث نیز، مسئله دیگری است که بر محدودیت تجویز موضعی این

ماده می افزاید (۷). روش های مختلف برای افزایش میزان نفوذپذیری آسکوربیک اسید مورد بررسی قرار گرفته است که از آن جمله می توان به کاربرد مشتقات کم تر هیدروفیل مانند آسکوربیل پالمیتات و یا تغییر pH اشاره نمود. با توجه به این که ویتامین ث یک ترکیب اسیدی می باشد، با کاهش pH می توان گونه غیر یونیزه این ماده را افزایش داد. با توجه به ویژگی های لیپوفیل گونه غیر یونیزه، میزان نفوذ دارو افزایش می یابد. در یک مطالعه مشاهده شد که کاهش pH فرآورده موضعی به ۳/۵ سبب پایداری بیش تر فرآورده و افزایش نفوذپذیری دارو می گردد (۸). از جمله راهکارهای جدیدی که برای ارتقای نفوذپذیری داروها به پوست مورد استفاده قرار می گیرد، بارگیری نمودن دارو در نانوذرات مانند لیپوزوم ها، نیوزوم ها، اتوزوم ها، و نانوذرات لیپیدی می باشد. در این میان نیوزوم ها از جمله نانوذرات پر کاربرد در فرآورده های دارویی پوستی و آرایشی می باشند (۹).

نیوزوم ها وزیکول هایی هستند که عمدتاً حاوی سورفکتانت های غیر یونی و هیدراته هستند و همچنین در بسیاری از موارد شامل کلسترول یا مشتقات آن نیز می باشند. ساختار منحصر به فرد نیوزوم ها آن ها را قادر می سازد تا هر دو نوع مواد هیدروفیل و لیپوفیل را بتوانند حمل نمایند. تولید نیوزوم برای اولین بار از صنعت لوازم آرایشی و بهداشتی آغاز شد و سپس کاربردهای بالقوه نیوزوم در انتقال دارو بررسی شد (۱۰). بارگیری و انکپسوله نمودن مناسب همراه با کارایی این سامانه ها در افزایش نفوذپذیری داروها سبب شده است تا این نانوحامل ها مورد توجه قرار گیرند. همچنین این نانوذرات با بارگیری دارو در وزیکول خود می توانند سبب پایداری ماده دارویی نیز بشوند (۱۱).

با توجه به پایداری کم آسکوربیک اسید و نفوذ پوستی ناچیز آن، در این پژوهش به تهیه نانوذرات نیوزومی حاوی این ماده پرداخته شده است تا بتوان دارو رسانی پوستی را توسعه داد. بدین منظور نوع و مقدار سورفکتانت، به همراه پالس سونیکاتور بعنوان متغیرهای

تاثیر گذار بر نانوحامل های آسکوربیک اسید مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی، داروی آسکوربیک اسید، کلسترول و سدیم متابی سولفیت (شرکت مرک آلمان)، توئین ۶۰ (سامچان کره)، اسپان ۶۰، اسید کلریدریک و دی کلرومتان (شارلو اسپانیا) بعنوان مواد مورد نیاز برای تهیه نانوذرات مورد استفاده قرار گرفتند. آب خالص دیونیزه توسط دستگاه Human ساخت کره)، به صورت تازه تهیه شد.

جهت رسم منحنی استاندارد، ابتدا ۱۰۰ میلی گرم آسکوربیک اسید به همراه ۱۰۰ میلی گرم سدیم متابی سولفیت (به عنوان آنتی اکسیدان) در بافر با pH ۱/۵ حل کرده و در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری به حجم رسانده شد و برای دقایقی در حمام سونیکه قرار گرفت تا از حل شدن آن اطمینان کسب شود. سپس از محلول فوق برای تهیه استاندارد ۹ غلظت های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ میکروگرم بر میلی لیتر استفاده شد. سپس جذب نوری محلول های یاد شده با استفاده از اسپکتروفتومتر ماورای بنفش (جاسکو، ژاپن) در طول موج ۲۴۳ نانومتر خوانده شد. این امر در هر روز سه بار و برای سه روز تکرار گردید.

سنتر نیوزوم ها: در این پژوهش جهت ساخت نیوزوم از روش هیدراته کردن لایه نازک استفاده گردید. بدین منظور مشخصی از کلسترول، توئین ۶۰ و اسپان ۶۰ در بشر توزین شد به آن حلال آلی دی کلرومتان اضافه گردید (جدول شماره ۱). سپس این مخلوط به یک بالن ته گرد انتقال داده شد و توسط دستگاه روتاری (هایدولف آلمان) با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و دور ۱۰۰ حلال تبخیر شد به گونه ای که یک لایه نازک از کلسترول و سرفکتانت در جدار بالن تشکیل شد. سپس مقدار مشخصی از اسکوربیک اسید با بافر فسفات با pH ۱/۵ به بالن حاوی لایه نازک فوق

اضافه گردید و به مدت معین با دمای ۹۰ درجه سانتی گراد و دور ۲۰۰ توسط دستگاه روتاری فیلم حاصله هیدراته گردید. سپس فرمولاسیون در حمام آب یخ قرار داده شد و در نهایت بشر حاوی فرمولاسیون که در حمام آب یخ بود توسط سونیکاتور پروب دار (باندلین آلمان) با AM معادل ۲۵ درصد برای زمان ۵ دقیقه سونیکه گردید (۱۲).

تعیین اندازه ذره ای، پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی: میانگین اندازه ذرات، پتانسیل زتا و شاخص پراکندگی نانو ذرات نیوزوم آسکوربیک اسید توسط DLS (Dynamic Light Scattering) با استفاده از دستگاه Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, UK) در دمای ۲۵ سانتی گراد و با زاویه ی ۹۰ درجه سانتی گراد اندازه گرفته شد. غلظت نمونه ها به گونه ای بود که در تمام نمونه ها برای اندازه گیری پتانسیل زتا به ۴۰۰-۲۰ کیلو شمارش در هر ثانیه (Kilo Counts Per Second, KCPS) و برای اندازه گیری اندازه به شدت تفرق (Scattering Intensity) ۱۰۰۰۰۰ شمارش در ثانیه دست یافته شد (۱۳).

اندازه گیری میزان داروی بارگیری شده: جهت بررسی میزان بارگیری دارو، پراکندگی آبی نانوذرات نیوزوم، به مدت ۴۵ دقیقه با دور ۱۸۰۰ rpm در ۴ درجه ی سانتی گراد در ۴ اپندورف ۲ میلی لیتری ساترئیفیوژ و بخش فوقانی (سوپرناتانت) به صورت جداگانه جمع آوری شده و جذب نوری محلول پس از ۲۰۰ بار رقیق سازی در طول موج ۲۴۳ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. سپس با جای گذاری عدد جذب در منحنی استاندارد و محاسبه ی غلظت بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر، غلظت در ضریب رقت (۲۰۰) ضرب شد تا غلظت واقعی به دست آید. غلظت واقعی در حجم سوپرناتانت ضرب و مقدار داروی بارگیری نشده بر حسب میکروگرم در هر اپندورف محاسبه شد. میزان داروی بارگیری شده، به صورت غیر مستقیم از رابطه زیر محاسبه گردید (۱۳).

Entrapment

$$\text{Efficiency} = \frac{W_{\text{total}} - W_{\text{free}}}{W_{\text{total}}} \times 100\%$$

طیف سنجی ATR-FTIR: ارزیابی برهمکنش های شیمیایی احتمالی میان دارو و سایر اجزای فرمولاسیون یکی از نکات اساسی در مطالعه نانوذرات می باشد. یکی از این روش ها بررسی طیف های مادون قرمز مواد به صورت خالص و در نانوذره می باشد. جهت دست یابی به طیف های ATR-FTIR، از طیف سنج Agilent Cary 630 FTIR استفاده شد. طیف ها در محدوده $4000 - \text{cm}^{-1}$ و قدرت تفکیک 2 cm^{-1} ثبت گردید.

گرماسنجی روبشی افتراقی (DSC): جهت ارزیابی تغییرات ساختار کریستالی مواد می توان از آنالیزهای حرارتی استفاده نمود. برای دست یابی به ترموگرام نمونه های مورد آزمایش از دستگاه Perkin-Elmer Pyris 6 استفاده شد. برای انجام این تست، ۵ میلی گرم از هر نمونه برداشته و در داخل پن های آلومینیومی دستگاه قرار داده شد. دستگاه با سرعت ۱۰ درجه سانتی گراد بر دقیقه و در محدوده دمایی ۳۰-۳۰۰ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی تصویر میکروسکوپ الکترونی: جهت بررسی مورفولوژی، توزیع ذرات و شکل ساختار نیوزوم های تشکیل شده از میکروسکوپ الکترونی نگاره و یا میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) هیتاچی H-7500، ژاپن) استفاده شد و تصویربرداری در ۱۲۰ کیلو ولت انجام گرفت. به طور خلاصه، نمونه های نیوزوم ابتدا ۱۰ بار با آب مقطر رقیق شدند. یک قطره نمونه رقیق شده روی یک شبکه مسی قرار داده شد. جهت برطرف شدن هر گونه تجمع احتمالی ذرات تحت امواج اولتراسوند در حمام سونیکاتور گذاشته شد و سپس در آون خشک شد. در نهایت نمونه ها جهت تصویربرداری بهتر تحت تاثیر محلول اورانیل استات قرار گرفت و پس از خشک شدن تصویر میکروسکوپ الکترونی نانوذرات تهیه گردید (۱۴).

آزادسازی دارو از غشای دیالیز: جهت بررسی روند آزادسازی آسکوربیک اسید از وزیکول های نیوزوم از غشای سلولز استات با محدوده منافذ ۱۲۰۰۰ دالتون (cut off=12000 Da) استفاده شد. غشاء مورد نظر به مدت ۲۴ ساعت در آب دیونیزه قرار داده شد تا هیدراته شود. از سل هایی مشابه با immersion cell (دستگاه انحلال شماره ۴ فارماکوپه ایالات متحده) استفاده شد. مقدار مشخصی از نمونه (معادل ۵۰ میلی گرم دارو) درون سل قرار داده شد و بر روی سل ها، غشای سلولز استات قرار گرفت و محفظه مورد نظر بسته شد و سپس سل ها درون دستگاه انحلال فارماکوپه آمریکا قرار داده شد. به منظور اصلاح حجم محیط انحلال سل های دستگاه با بشر های ۲۰۰ میلی لیتری تعویض شدند و در هر بشر ۷۰ میلی لیتر بافر با $\text{pH} = 1/5$ به همراه سدیم متا بی سولفیت قرار گیری سل ها در محیط انحلال زمان صفر در نظر گرفته می شود. نمونه گیری در زمان های ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۳، ۴، ۶، ۸، ۲۴ ساعت پس از قرار دادن سل در محیط انحلال انجام گرفت. برای نمونه گیری، هر بار ۵ سی سی از محلول موجود در محیط انحلال برداشته، و میزان جذب نوری آن را با دستگاه اسپکتروفتومتر ماورای بنفش در طول موج ۲۴۳ نانومتر خوانده شد. اعداد حاصل در منحنی استاندارد جذب - غلظت آسکوربیک اسید قرار داده شد و غلظت دارو محاسبه گردید. جهت ثابت ماندن محیط انحلال، پس از هر بار نمونه گیری و برداشتن ۵ سی سی از محیط، ۵ سی سی بافر با $\text{pH} = 1/5$ به همراه سدیم متا بی سولفیت به محیط اضافه گردید. همچنین جهت مقایسه محلول آسکوربیک اسید با غلظت مشابه دارو در پراکندگی نیوزوم نیز مورد بررسی قرار گرفت. فرمولاسیون شاهد شامل ۵۰ میلی گرم آسکوربیک اسید و ۵۰ میلی گرم سدیم متا بی سولفیت و ۲۰ میلی لیتر بافر با $\text{pH} = 1/5$ بود (۱۳).

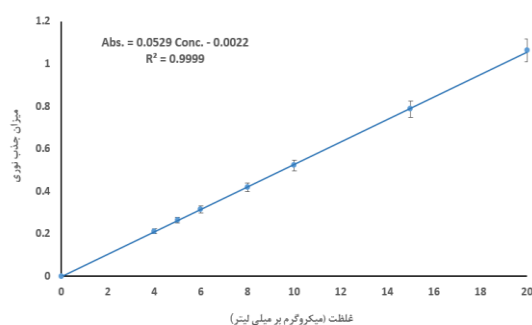
بررسی جذب پوستی دارو از فرمولاسیون اپتیم و نمونه ای استاندارد: قطعات پوستی مورد نیاز برای این آزمایش از ناحیه ی شکمی موش صحرایی به ترتیب زیر تهیه شدند. قطعات پوستی مورد نیاز برای این آزمایش از

بتوان محتوای دارو جمع شده در پوست محاسبه شود. با استفاده از یک قیچی، پوست‌ها را به قطعات کوچک خرد کرده، و در ۲۰ میلی‌لیتر محلول بافر با $\text{pH} = ۱/۵$ گذاشته پس از آن در ۳ سیکل ۲۰ دقیقه‌ای در حمام سونیکه با دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده و پس از آن محلول حاصل توسط کاغذ صافی صاف و محلول زیری جمع آوری و دوباره توسط فیلتر سرسرنگی با اندازه منافذ $۰/۲۲$ میکرومتر فیلتر شد. سپس جذب نمونه‌ها جهت تعیین مقدار با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۴۳ نانومتر قرائت گردید (۱۳).

آزمون مورد استفاده جهت بررسی آماری داده‌ها: در این پژوهش نتایج بدست آمده با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه و متعاقب آن جهت بررسی آزمون صفر در مورد مقایسه‌ی میانگین داده‌های موجود در هر بخش از آزمون آماری توکی استفاده گردید. تفاوت با $p < ۰/۰۵$ در هر نقطه از نظر آماری معنی دار اعلام شد.

یافته ها

جذب نوری غلظت‌های مشخص از آسکوربیک اسید در سه روز متوالی و در هر روز سه مرتبه در طول موج ۲۴۳ نانومتر قرائت گردید و منحنی استاندارد با استفاده از میانگین ۹ عدد بدست آمده برای هر غلظت رسم گردید که نتایج بیانگر بدست آمدن یک خط راست با ضریب همبستگی بسیار مناسب بود (تصویر شماره ۱).

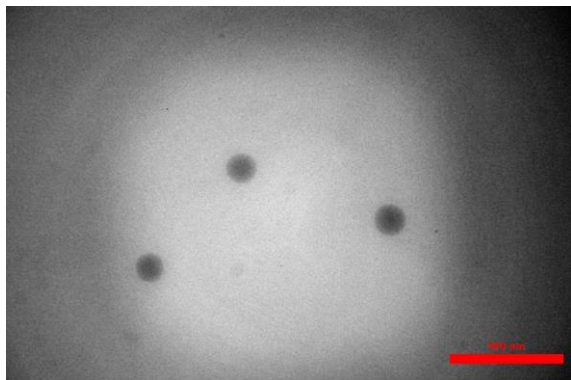


تصویر شماره ۱: منحنی استاندارد آسکوربیک اسید براساس جذب ماورای بنفش در طول موج ۲۴۳ نانومتر

موش صحرایی نر نژاد ویستار (با وزن‌های ۱۲۰ تا ۱۵۰ گرم) تهیه شد. از ۸۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کتامین و ۱۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن زایلازین برای بیهوشی موش‌های صحرایی استفاده شد. سپس، پوست‌های شکم آن‌ها توسط موبر برقی تراشیده شد. موش‌ها پس از ۴۸ ساعت با استنشاق گاز دی‌اکسید کربن کشته شدند و با جراحی، پوست شکم آن‌ها خارج شد. پس از آن، چربی‌های زیر جلدی با احتیاط از پوست تمیز شدند، و پوست‌ها قبل از شروع آزمایشات، در نرمال سالین در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. سپس پوست‌ها در سل فرانز (با مساحت انتشار $۳/۸$ سانتی‌متر مربع) قرار گرفتند. پوست‌های برداشته شده را بین گیرنده (۳۳ میلی‌لیتر حلال منحنی استاندارد) و محفظه اهدا کننده فیکس کرده و پوست‌ها با مایع مد نظر در تماس قرار گرفتند. سپس، محفظه گیرنده توسط آب بارگیری شد و سل در دمای $۳۲ \pm ۰/۵$ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند که این کنترل دما با کنترل ترموستاتیک و سیستم چرخش آب در اطراف سلول انجام شد. پس از آماده نمودن قطعات پوستی یک مگنت درون سل فرانز قرار داده که با قدرت چرخشی ۱۵۰ دور در دقیقه تنظیم شد. پراکندگی نیوزوم آسکوربیک اسید در مقایسه با محلول ساده دارو (فرمولاسیون شاهد شامل ۵۰ میلی‌گرم آسکوربیک اسید و ۵۰ میلی‌گرم سدیم متا بی سولفیت و ۲۰ میلی‌لیتر بافر با $\text{pH} = ۱/۵$ بود). در فواصل از پیش تعیین شده (۱، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۲۴ ساعت)، ۵ میلی‌لیتر از نمونه‌ها را از محیط گیرنده خارج کرده و به همان حجم آب تازه در مرحله گیرنده جایگزین شد. با استفاده از اسپکتروفتومتر UV در ۲۴۳ نانومتر، محتوای دارو در نمونه‌های گرفته شده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون‌ها ۳ بار تکرار شد و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شد. روش کار به تایید کمیته اخلاق دانشگاه رسیده (IR.MAZUMS.REC.1398.540).

پس از اتمام تست نفوذ، پوست‌ها را برش داده و ۳ بار با نرمال سالین شستشو داده شدند. سپس خشک شده تا

جهت بررسی مورفولوژی و شکل نیوزوم (F10) منتخب به دست آمده از TEM استفاده شد که تصویر میکروسکوپ الکترونی عبوری در تصویر شماره ۲، مشاهده می گردد.



تصویر شماره ۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره (TEM) نیوزوم F10 به عنوان فرمولاسیون منتخب

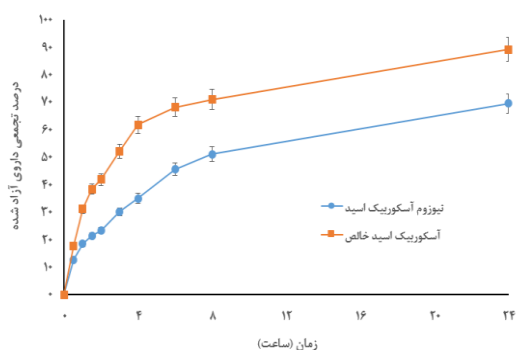
جهت بررسی برهمکنش احتمالی میان اجزای فرمولاسیون و آسکوربیک اسید در تهیه نیوزوم و ارزیابی نحوه بارگیری دارو و همچنین تغییرات احتمالی در ساختار فیزیکوشیمیایی و کریستالی آسکوربیک اسید طیف های ATR-FTIR و ترموگرام های DSC تهیه گردید که نتایج حاصل به ترتیب در تصاویر شماره ۳ و ۴، مشاهده می گردد.

جدول شماره ۱، بیانگر اجزای تشکیل دهنده ۱۱ فرمولاسیون مورد مطالعه می باشد. در تمامی فرمولاسیون های یاد شده مقادیر یکسان از آسکوربیک اسید (۵۰ میلی گرم)، سدیم متا بی سولفیت (۵۰ میلی گرم)، و کلسترو (۲۰۰ میلی گرم) استفاده شد. در تهیه لایه فاز آلی، در تمامی فرمولاسیون ها از مقادیر مشابه دی کلرومتان (۲۰ میلی لیتر) استفاده شد و در دمای مشابه ۶۰ درجه سانتی گراد، حلال آلی دی کلرومتان با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء چرخان (روتاری) تبخیر گردید. در مرحله هیدراسیون با فاز آبی در تمامی فرمولاسیون ها از دمای ۹۰ درجه سانتی گراد و دور ۲۰۰ در روتاری استفاده شد. نیوزوم های بدست آمده به مدت ۵ دقیقه تحت تاثیر امواج اولتراسوند با AM ۲۵ درصد قرار گرفتند، اما در برخی از فرمولاسیون ها از پالس های اعمال امواج اولتراسوند مختلف استفاده گردید. نتایج حاصل از بررسی میانگین ذره ای، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و میزان بارگیری دارو در جدول شماره ۱ نمایش داده شده است. تعداد تکرار در هر آزمون ۳ بار بوده است.

آسکوربیک اسید ۵۰ میلی گرم، سدیم متا بی سولفیت ۵۰ میلی گرم، کلسترو ۲۰۰ میلی گرم، دی کلرومتان ۲۰ میلی لیتر، دمای پراندن حلال ۶۰ درجه، دور روتاری ۱۰۰، دمای هیدراته کردن ۹۰ درجه، دور روتاری در مرحله هیدراته کردن ۲۰۰، AM سونیکاتور ۲۵ درصد، زمان سونیکاسیون ۵ دقیقه

جدول شماره ۱: اجزای نانوذرات مورد بررسی و ویژگی نانوذرات تهیه شده

اجزای فرمولاسیون (میلی گرم) و شرایط سونیکاتور				ویژگی نانوذرات مورد بررسی				
فرمولاسیون	توبین ۶۰	اسپان ۶۰	کلسترو	سطح معنی داری (نانیه)	اندازه ذره ای (نانومتر)	شاخص پراکندگی PDI	پتانسیل زتا (میلی ولت)	درصد بارگیری
F1	۱۰۰	۳۰۰	۲۰۰	۵-۵	۵۱۹/۷۸±۷/۴	۰/۵۶±۰/۰۶	۲/۹۵±۰/۱۲۷	۱۴/۱۰±۴/۷
F2	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰	۵-۵	۵۲۴/۸±۶/۸	۰/۵۲±۰/۰۲	۲/۸۹±۰/۱۱	۹/۰±۳/۹
F3	۳۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۵-۵	۳۰۶/۳۸±۳/۴	۰/۵۸±۰/۱۵	۱/۳۳±۰/۰۶۹	۱۷/۳±۸/۶
F4	۳۰۰	-	۲۰۰	۵-۵	۲۴۱/۴۱±۴/۱	۰/۵۶±۰/۱۸	۱/۷۷±۰/۰۹۹	۲۴/۴±۰/۰/۳
F5	۴۰۰	-	۲۰۰	۵-۵	۲۳۶/۳۰±۱/۵	۰/۵۴±۰/۱۲	۲/۶۲±۰/۱۲۷	۲۶/۴±۷/۲
F6	۵۰۰	-	۲۰۰	۵-۵	۲۱۷/۴۰±۸/۹	۰/۵۷±۰/۰۹	۱/۹۸±۰/۰۵۵	۲۵/۳±۷/۲
F7	۶۰۰	-	۲۰۰	۵-۵	۲۳۱/۶±۹/۹	۰/۶۱±۰/۱۶	۱/۴۰±۰/۰۴۲	۱۷/۲±۷/۱
F8	۴۰۰	-	۲۰۰	۱۰-۱۰	۲۲۶/۴۴±۹/۵	۰/۴۲±۰/۰۶	۲/۳۹±۰/۰۵۱	۲۷/۱±۴/۶
F9	۴۰۰	-	۲۰۰	۳۰-۳۰	۱۸۳/۲۱±۴/۵	۰/۳۸±۰/۰۹	۳/۲۸±۰/۰۶۳	۲۹/۵±۶/۴
F10	۴۰۰	-	۲۰۰	۶۰-۶۰	۱۶۸/۱۵±۷/۳	۰/۳۱±۰/۰۶	۴/۱۲±۰/۰۵۹	۳۴/۷±۵/۲
F11	۴۰۰	-	۲۰۰	۱۲۰-۱۲۰	۱۷۹/۳۱±۷/۸	۰/۳۹±۰/۰۸	۳/۱±۰/۰۶۵	۲۹/۱±۶/۸

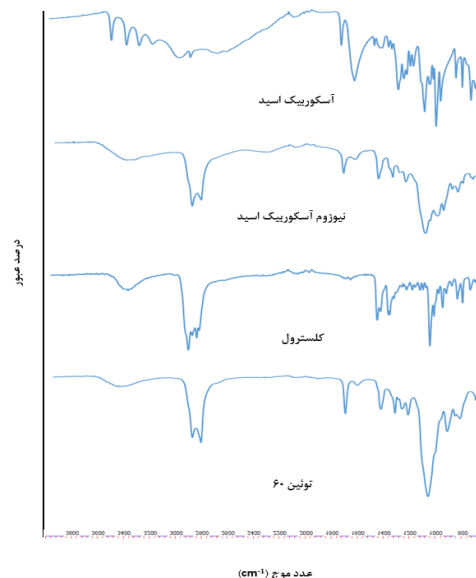


تصویر شماره ۵: روند آزادسازی آسکوربیک اسید از نیوزوم (F10) در مقایسه با محلول دارو از خلال غشاء نیمه تراوا

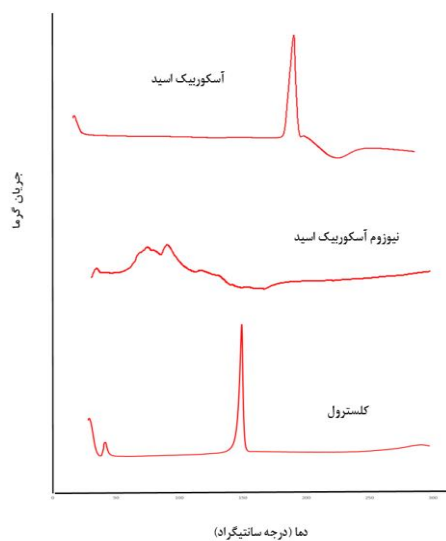
جهت بررسی روند جذب پوستی، از پوست ناحیه شکمی رت استفاده شد و با سلول فرانز، میزان جذب پوستی در فرمولاسیون منتخب با محلول ساده دارو مقایسه گردید. تصویر شماره ۶، روند جذب پوستی از فرمولاسیون نیوزوم آسکوربیک اسید در مقایسه با داروی آسکوربیک اسید را نشان می دهد. میزان داروی عبور کرده از پوست در فراورده نیوزوم F10 پس از ۲۴ ساعت ۳/۹۶ برابر نسبت به محلول آسکوربیک اسید می باشد (0.705 ± 15.541 درصد در نمونه نیوزوم پس از ۲۴ ساعت در مقایسه با 0.240 ± 3.923 درصد در محلول ساده دارو). این روند در خصوص میزان داروی باقیمانده در پوست، پس از پایان ۲۴ ساعت آزمون جذب پوستی مشاهده گردید. همان گونه که در شکل شماره ۷، مشاهده می گردد، میزان داروی باقیمانده در پوست در نمونه نیوزوم F10 حدود $2/51$ برابر نسبت به داروی آسکوربیک اسید می باشد ($0.459 + 5/443$ درصد در نمونه نیوزوم F10 و $0.213 + 2/170$ درصد در نمونه آسکوربیک اسید).

بحث

در این مطالعه متغیرهای سورفکتانت و فرایند سونیکاسیون در ویژگی های نانوذرات مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه حاکی از تشکیل نانوذرات نیوزومی با محدوده ذرات بین ۱۶۸ تا ۵۱۹ نانومتر بود.



تصویر شماره ۳: طیف های ATR-FTIR آسکوربیک اسید، نیوزوم آسکوربیک اسید (F10)، کلسترویل و توئین ۶۰



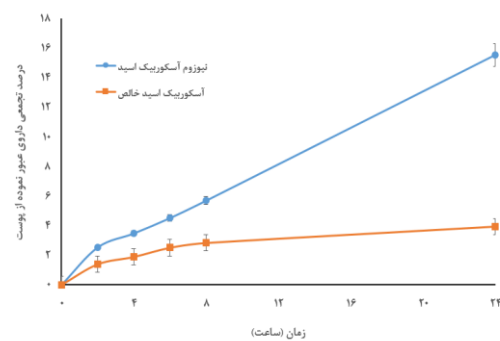
تصویر شماره ۴: ترموگرام های DSC آسکوربیک اسید، نیوزوم آسکوربیک اسید (F10) و کلسترویل

میزان رهش آسکوربیک اسید از نانوذرات نیوزوم فرمولاسیون منتخب در مقایسه با داروی خالص مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمون انحلال دارو از خلال غشاء در تصویر شماره ۵، نشان داده شده است. همان گونه که مشاهده می گردد، آسکوربیک اسید با سرعت آرامتری نسبت به داروی خالص آزاد شده است.

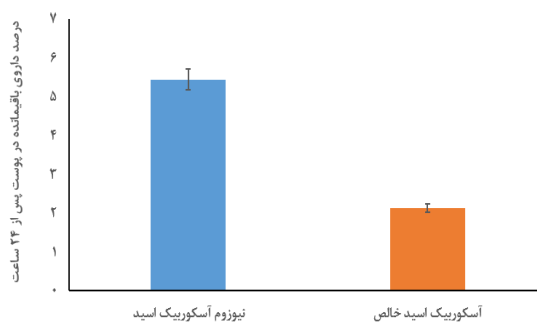
نسبت اسپان به توین بر سائز و بارگیری نانوذرات تأثیر دارد بصورتی که مقدار اسپان به توین در حالتی که به نسبت ۱:۹ بوده است میزان بارگیری و سائز بیش تری نسبت به حالتی که ۳:۲ بوده داشته است (۱۵). در مطالعه ی وجیهه اکبری و همکاران در سال ۲۰۱۵ با هدف بررسی آزادسازی سیروفلوکساسین بارگیری شده در سورفکتانت های غیریونی انجام گرفته بود به این نتیجه دست یافتند که با افزایش میزان سطح توین در فرمولاسیون میزان بارگیری دارو هم افزایش پیدا می کند؛ به گونه ای که در فرمولاسیون هایی که میزان توین از ۳/۵ به ۲/۵ کاهش یافته است که به دنبال آن میزان بارگیری دارو هم از ۷۴ درصد به ۶۳ درصد کاهش یافته است (۱۶). در این مطالعه نیز افزایش نسبی بارگیری دارو در F۳ مشاهده گردید، اگر چه این افزایش معنی دار نبود.

در فرمولاسیون های F۴ تا F۱۱ تنها از سورفکتانت توین ۶۰ استفاده شد. مقادیر افزایشی از توین ۶۰ از ۳۰۰ تا ۶۰۰ میلی گرم در فرمول های F۴ تا F۷ بیانگر عدم تغییر معنی دار در شاخص های نانوذرات بود ولی بیش ترین میزان بارگیری دارو در فرمولاسیون F۵ مشاهده گردید، به همین علت چهار فرمولاسیون بعدی (F۸ تا F۱۱) نیز با همین میزان سورفکتانت تهیه و تأثیر متغیر سونیکاسیون مورد ارزیابی قرار گرفت. در مطالعه Liang و همکاران از توین ۶۰ به تنهایی برای تهیه نیوزوم های اپی گلوکاتشین گالات استفاده شد. نتایج نشان داد نانوذرات حاصل دارای محدوده اندازه ذره ای مناسب و یکنواخت بوده و بارگیری مناسبی از دارو را به دنبال داشتند. هم چنین این مطالعه نشان داد در نسبت های خاص از توین ۶۰ به کلسترول، نتیجه مناسب تری مشاهده می شود. این نتایج با داده های بدست آمده از این مطالعه همخوانی داشت (۱۷).

یکی از روش های شناخته شده برای کاهش اندازه ذرات نیوزوم ها استفاده از امواج اولتراسوند در دستگاه پروب سونیکاتور می باشد. مدت زمان تأثیر امواج



تصویر شماره ۶: روند جذب پستی آسکوریک اسید از نیوزوم (F۱۰) در مقایسه با محلول دارو از خلال پوست ناحیه شکمی رت با استفاده از سلول فرانز



تصویر شماره ۷: میزان آسکوریک اسید باقیمانده در پوست از نیوزوم (F۱۰) در مقایسه با محلول دارو پس از پایان آزمون جذب پستی

همان گونه که در جدول شماره ۱ مشاهده می شود، در سه فرمولاسیون نخست (F۱-F۳) از مخلوط سورفکتانت های توین ۶۰ و اسپان ۶۰ استفاده شد. نتایج حاصل نشان داد که این تغییر تأثیر معنی داری بر شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و درصد بارگیری نداشت، اما افزایش نسبت توین ۶۰ در فرمولاسیون F۳ به شکل معنی داری اندازه ذره ای را کاهش داد ($P < 0.01$). در شکل گیری ساختارهای نیوزومی، سورفکتانت نقش کلیدی در تهیه نانوذرات دارد و تغییر نوع و نسبت آن ها در فرمولاسیون می تواند بر شاخص های نانوذره تأثیر گذار باشد. در مطالعه ی Nadzir و همکاران در سال ۲۰۱۷ که با موضوع بررسی اندازه و پایداری نیوزوم های کورکومین انجام گرفته بود نتایج نشان داد که میزان

اولتراسوند و اعمال امواج به صورت ضربانی در سیکل های مشخص از جمله عواملی می باشند که می توانند بر شاخص های نانوذرات تاثیر گذار باشند (۱۸). در فرمولاسیون های FV تا F11 نانوذرات تهیه شده در مدت زمان ۵ دقیقه با میزان پالس های داده شده به ترتیب ۵ ثانیه - ۵ ثانیه، ۱۰ ثانیه - ۱۰ ثانیه، ۳۰ ثانیه - ۳۰ ثانیه، ۶۰ ثانیه - ۶۰ ثانیه و ۱۲۰ ثانیه - ۱۲۰ ثانیه تحت امواج اولتراسونیک با AM ۲۵ درصد قرار داده شد. نتایج حاصل در جدول شماره ۱، بیانگر تغییر شاخص های نانوذرات با تغییر سیکل اعمال امواج اولتراسوند می باشد. براساس این نتایج، بهترین داده ها در پالس ۶۰-۶۰ یعنی نیوزوم های F10 مشاهده گردید. این فرمولاسیون با توجه به میانگین اندازه ذره ای، شاخص پراکندگی و درصد داروی بارگیری شده، به عنوان فرمولاسیون منتخب برگزیده شد و مطالعات تکمیلی بر روی این فرمولاسیون انجام پذیرفت. نتایج بررسی تصویر میکروسکوپ الکترونی TEM بر روی فرمولاسیون F10 نشان دهنده نانوذرات مدور با پراکندگی اندازه ذره ای مناسب و مطابق با نتایج DLS می باشد. لازم به ذکر است در تمامی فرمولاسیون های یاد شده، پتانسیل زتا تغییر چندانی نداشته و از مقدار مناسبی برخوردار نمی باشد، اگر چه نانوذرات تهیه شده دارای پایداری نسبی مناسبی بودند. Khan و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که استفاده از پروپ سونیکاتور سبب کاهش اندازه ذرات نیوزوم می گردد و این روش بدون دخالت حلال آلی می تواند به عنوان یک فرایند سبز مورد توجه قرار گیرد (۱۹). هم چنین مطالعات نشان می دهد روش سونیکاسیون برای بارگیری داروهای لیپوفیل در نیوزوم ها روش چندان موثری نیست در حالی که در مورد داروهای هیدروفیل نتایج بهتری را نشان می دهد (۲۰). این امر با نتایج به دست آمده از این مطالعه همخوانی دارد. فرمولاسیون F10 دارای بالاترین درصد بارگیری دارو در مقایسه با سایر فرمولاسیون های مورد مطالعه داشت. در سامانه های نیوزوم، دارو یا در

بین دو لایه پوسته نانوزیکول ها بارگیری می شود و یا در داخل این نانوذرات وارد می شود. این امر بستگی به ویژگی های فیزیکوشیمیایی دارو و مواد مورد استفاده در تهیه نیوزوم دارد (۲۱). در یک مطالعه تاثیر عوامل فرمولاسیون بر ویژگی های نیوزوم های پیلوکارپین در دارو رسانی چشمی بررسی گردید. نتایج مطالعه نشان داد استفاده از پروپ سونیکاتور و تغییر مدت زمان اعمال امواج اولتراسوند اثر معنی داری بر میزان بارگیری دارو دارد به گونه ای که میزان بارگیری از ۲۴/۵ درصد به ۴۲ درصد افزایش یافت (۲۲). این امر را می توان به تغییر در ابعاد و مورفولوژی نانوذرات نسبت داد که به شکل مستقیم بر بارگیری دارو موثر می باشند.

یکی از موارد مهم در تهیه نانوذرات، بررسی برهمکنش های شیمیایی احتمالی بین آسکوربیک اسید بارگیری شده و اجزای فرمولاسیون می باشد. بدین منظور و نیز برای شناسایی گروه های عاملی ترکیبات موجود در فراورده از طیف سنجی ATR-FTIR استفاده گردید. در همین راستا طیف های ATR-FTIR بدست آمده از نانوذرات نیوزوم آسکوربیک اسید (فرمولاسیون اپتیمم F10) با طیف آسکوربیک اسید خالص، کلسترو و توین ۶۰، جهت بررسی برهمکنش های شیمیایی مقایسه شدند (تصویر شماره ۳). براساس نتایج به دست آمده پیک های شاخص در طیف ATR-FTIR آسکوربیک اسید خالص شامل، 3208 cm^{-1} و 3311 cm^{-1} ، 3408 cm^{-1} ، 3525 cm^{-1} (گروه های O-H کششی)، 1752 cm^{-1} (C=O کششی) و 1652 cm^{-1} (C=C کششی) می باشد. پیک های شاخص در طیف ATR-FTIR کلسترو شامل، cm^{-1} ۳۴۰۲ (O-H کششی)، $3000-2850\text{ cm}^{-1}$ (C-H کششی) 1462 cm^{-1} و 1376 cm^{-1} (C-H خمشی) و 1055 cm^{-1} (C-O کششی) است. پیک های شاخص در طیف ATR-FTIR توین ۶۰ شامل، 3494 cm^{-1} (O-H کششی)، 2922 cm^{-1} (C-H مربوط به گروه $\text{-CH}_2\text{-}$ کششی نامتقارن)، 2856 cm^{-1} (C-H مربوط به گروه-

CH_2 - کششی متقارن) و 1736 cm^{-1} (C=O کششی)، می باشد.

بررسی طیف های ATR-FTIR فرآورده نشان می دهد که پیوند هیدروژنی بین آسکوربیک اسید و سایر اجزاء فرمولاسیون سبب پهن شدن و کاهش عدد موج پیک مربوط به گروه های هیدروکسی شده است (۲۳). عدم مشاهده پیک های شاخص دارو در طیف نیوزوم، می تواند بیانگر بارگیری دارو در داخل نانوذرات باشد (۲۱).

بررسی آنالیز حرارتی DSC آسکوربیک اسید خالص در مقایسه با کلسترول و نیوزوم $F10$ نشان می دهد که پودر آسکوربیک اسید دارای یک اندوترم قوی در محدوده 196 درجه سانتی گراد می باشد که مربوط به نقطه ذوب آن می باشد که در ترموگرام مربوطه نیز دیده می شود (۲۴). ترموگرام مربوط به کلسترول نیز در محدوده 149 درجه سانتی گراد یک اندوترم قوی را نشان می دهد که مربوط به نقطه ذوب این ماده می باشد. بررسی ترموگرام نیوزوم تهیه شده، هیچ یک از پیک های اندوترم فوق را نشان نمی دهد که حکایت از بارگیری دارو در نیوزوم و خروج دارو از حالت کریستالی به آمورف می باشد. هم چنین نشان می دهد کلسترول از حالت کریستال خارج شده و به صورت آمورف و انعطاف پذیر وارد ساختار دیواره نیوزوم شده است (۲۵).

نتایج حاصل از بررسی روند آزادسازی دارو در محیط انحلال در شکل شماره ۵، نشان داده شده است. این نمودار، نشان می دهد که در مورد نیوزوم $F10$ تا ۱ ساعت بعد از شروع آزمون، آزاد سازی از غشای دیالیز به طور قابل توجهی انجام نشده است ولی از زمان ۴ ساعت تا ۸ ساعت دارو به تدریج آزاد می شد و ۲۴ ساعت بعد دارو به مقدار قابل توجهی آزاد شده است. نمونه شاهد در نظر گرفته شده برای آزادسازی از غشای دیالیز، محلول اسیدی آسکوربیک اسید بود که در ساعت های اولیه میزان آزادسازی آن از فرمولاسیون بیش تر بوده است که با گذشت ۸ ساعت با یک شیب تند و معنی داری میزان

آزادسازی آن از فرمولاسیون زیادتر بوده است. با توجه به روند آزادسازی آسکوربیک اسید از نیوزوم یک روند آزادسازی آهسته نسبت به محلول دارو مشاهده می باشد. با توجه به این داده ها برداشت می شود که دارو در حالت نیوزوم پایدار بوده و یک آزادسازی کنترل شده را داشته است (۲۶).

نتایج حاصل از بررسی میزان نفوذ آسکوربیک اسید در طی ۲۴ ساعت از خلال پوست ناحیه شکمی رت در تصویر شماره ۶، مشاهده می گردد. پژوهش های مختلف نشان داده است که نیوزوم ها قادر به به افزایش جذب پوستی و میزان نفوذ دارو از خلال پوست می باشند. نتایج مشابهی در این مطالعه مشاهده شد. میزان عبور دارو از پوست از حامل نیوزوم بطور مؤثری از محلول آسکوربیک اسید بیش تر بود، به گونه ای که میانگین تجمعی درصد عبور دارو از پوست برای نیوزوم $F10$ برابر $15/541$ و برای نمونه های استاندارد بافر فسفات $3/9233$ می باشد ($P < 0/001$). Fang و همکاران در سال ۲۰۰۱، بر روی جذب پوستی نیوزوم و لیپوزوم انوکسازین مطالعات انجام دادند که طی آن عبور از پوست انوکسازین در فرم نیوزوم حتی بیش تر از سامانه لیپوزوم آن بود که این امر با داده های این مطالعه همخوانی دارد و نشان دهنده توانایی سامانه های دارو رسانی نیوزوم در افزایش نفوذ پذیری پوستی دارند (۲۷). Tavano و همکاران در سال ۲۰۱۱، بر روی دارو رسانی پوستی کاپسازین بارگیری شده در نیوزوم، میکرو امولسیون و محلول الکلی کاپسازین مطالعاتی انجام دادند. نتایج نشان داد نیوزوم کاپسازین بصورت معناداری از میکرو امولسیون و محلول شاهد الکلی کاپسازین به میزان بیش تری از پوست عبور کرده است (۲۸).

در ادامه بررسی میزان نفوذ دارو از خلال پوست، ارزیابی میزان تجمع آسکوربیک اسد در پایان ۲۴ ساعت آزمون جذب پوستی به انجام رسید. نتایج این بررسی در شکل شماره ۷، نشان می دهد که میزان داروی باقی مانده در پوست نسبت به نمونه های شاهد

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران (طرح شماره ۱۵۷۴) به انجام رسیده است و بخش عمده نتایج برگرفته از پایان نامه دوره دکترای حرفه ای داروسازی خانم ساغر احمدی پور می باشد.

به طور معناداری بیش تر است ($P < 0/01$). به گونه ای که میانگین مقدار تجمع دارو در پوست در فرمولاسیون حامل نیوزوم مساوی با ۵/۴۴ و در نمونه های شاهد محلول دارو معادل ۲/۱۷ می باشد. Fang و همکاران طی مطالعاتی که روی دارو رسانی موضعی انوکسازین انجام دادند به این نتیجه رسیدند که نیوزوم های انوکسازین نسبت به لیوزوم و گروه شاهد به طور مؤثری بیش تر در پوست تجمع می یابند (۲۷).

References

- Manela-Azulay M, Bagatin E. Cosmeceuticals vitamins. Clin Dermatol 2009; 27(5):469-474. PMID: 19695478.
- Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative stress: harms and benefits for human health. Oxid Med Cell Longev 2017; 2017: 8416763. PMID: 28819546.
- Njus D, Kelley PM, Tu YJ, Schlegel HB. Ascorbic acid: the chemistry underlying its antioxidant properties. Free Radic Biol Med 2020;159:37-43. PMID: 32738399.
- Vasta JD, Raines RT. Human collagen prolyl 4-hydroxylase is activated by ligands for its iron center. Biochemistry 2016; 55(23): 3224-3233. PMID: 27183028.
- Zetterström R. Nobel Prize 1937 to Albert von Szent-Györgyi: identification of vitamin C as the anti-scorbutic factor. Acta Paediatr 2009;98(5):915-919. PMID: 19236383.
- Al-Niaimi F, Chiang NYZ. Topical vitamin C and the skin: mechanisms of action and clinical applications. J Clin Aesthet Dermatol 2017;10(7):14-17. PMID: 29104718.
- Pinnell SR, Yang H, Omar M, Monteiro-Riviere N, DeBuys HV, Walker LC, et al. Topical L-ascorbic acid: percutaneous absorption studies. Dermatol Surg 2001; 27(2):137-142. PMID: 11207686.
- Lin FH, Lin JY, Gupta RD, Tournas JA, Burch JA, Selim MA, et al. Ferulic acid stabilizes a solution of vitamins C and E and doubles its photoprotection of skin. J Invest Dermatol 2005; 125(4): 826-832. PMID: 16185284.
- Khezri K, Saeedi M, Maleki Dizaj S. Application of nanoparticles in percutaneous delivery of active ingredients in cosmetic preparations. Biomed Pharmacother 2018; 106:1499-1505. PMID: 30119225.
- Antonara L, Trantafyllopoulou E, Chountoules M, Pippa N, Lagopati N, Dallas PP, et al. Recent advances in niosome-based transdermal drug delivery systems. Curr Opin Biomed Eng 2025;35:100603.
- Rezaïroshan A, Saeedi M, Morteza-Semnani K, Akbari J, Ghasemi M, Nokhodchi A. Development of trans-Ferulic acid niosome: an optimization and an in-vivo study. J Drug Deliv Sci Technol 2020;59:101854.

12. Thabet Y, Elsabahy M, Eissa NG. Methods for preparation of niosomes: a focus on thin-film hydration method. *Methods* 2022; 199:9-15. PMID: 34000392.
13. Akbari J, Saeedi M, Morteza-Semnani K, Sanaee A, Lotfi A, Rahimnia SM, et al. Green preparation, characterization, in vitro/in vivo safety assessment and in vivo pain management of nortriptyline HCl loaded in niosome (norosome) manufactured by ecofriendly green method. *J Dispers Sci Technol* 2024; 45(4):819-831.
14. Khezri K, Saeedi M, Morteza-Semnani K, Akbari J, Hedayatizadeh-Omran A. A promising and effective platform for delivering hydrophilic depigmenting agents in the treatment of cutaneous hyperpigmentation: kojic acid nanostructured lipid carrier. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2021;49(1):38-47. PMID: 33438443.
15. Nadzir MM, Fen T, Mohamed AR, Hisham SF. Size and stability of curcumin niosomes from combinations of tween 80 and span 80. *Sains Malays* 2017; 46(12):2455-2460.
16. Akbari V, Abedi D, Pardakhty A, Sadeghi-Aliabadi H. Release studies on ciprofloxacin loaded non-ionic surfactant vesicles. *Avicenna J Med Biotechnol* 2015; 7(2):69-75. PMID: 26140184.
17. Liang R, Liang C, Yokoyama W, Williams PA, Zhong F. Niosomes consisting of Tween-60 and cholesterol improve the chemical stability and antioxidant activity of (-)-epigallocatechin gallate under intestinal tract conditions. *J Agric Food Chem* 2016; 64(48): 9180-9188. PMID: 27931037.
18. Sezgin-Bayindir Z, Yuksel N. Investigation of formulation variables and excipient interaction on the production of niosomes. *AAPS PharmSciTech* 2012;13(3):826-835. PMID: 22736014.
19. Khan MI, Madni A, Hirvonen J, Peltonen L. Ultrasonic processing technique as a green preparation approach for diacerein-loaded niosomes. *AAPS PharmSciTech* 2017; 18(5):1554-1563. PMID: 27734290.
20. Gharbavi M, Amani J, Kheiri-Manjili H, Danafar H, Sharafi A. Niosome: a promising nanocarrier for natural drug delivery through blood-brain barrier. *Adv Pharmacol Sci* 2018; 2018:6847971. PMID: 30651728.
21. Amiri B, Ahmadvand H, Farhadi A, Najmafshar A, Chiani M, Norouzian D. Delivery of vinblastine-containing niosomes results in potent in vitro/in vivo cytotoxicity on tumor cells. *Drug Dev Ind Pharm* 2018; 4(8):1371-1376. PMID: 29532687.
22. Owodeha-Ashaka K, Ilomuanya MO, Iyire A. Evaluation of sonication on stability indicating properties of optimized pilocarpine hydrochloride loaded niosomes in ocular drug delivery. *Prog Biomater* 2021; 10(3): 207-220. PMID: 34455501.
23. Othayoth R, Mathi P, Bheemanapally K, Kakarla L, Botlagunta M. Characterization of vitamin-cisplatin-loaded chitosan nanoparticles for chemoprevention and cancer fatigue. *J Microencapsul* 2015; 32(6):578-588. PMID: 26218628.
24. Tian X, Tian D, Wang Z, Mo F. Synthesis and evaluation of chitosan-vitamin C complex. *Indian J Pharm Sci* 2009;71(4):371-376. PMID: 20502541.
25. Abootorabi S, Akbari J, Saeedi M, Seyedabadi M, Ranaee M, Asare-Addo K, et al. Atorvastatin entrapped niosome

- (Atrosome): green preparation approach for wound healing. AAPS PharmSciTech 2022; 3(3):81. PMID: 35080633.
26. Mokhtar M, Sammour OA, Hammad MA, Megrab NA. Effect of some formulation parameters on flurbiprofen encapsulation and release rates of niosomes prepared from proniosomes. Int J Pharm 2008;361(1-2):104-111. PMID: 18577437.
 27. Fang JY, Hong CT, Chiu WT, Wang YY. Effect of liposomes and niosomes on skin permeation of enoxacin. Int J Pharm 2001;219(1-2):61-72. PMID: 11337166.
 28. Tavano L, Alfano P, Muzzalupo R, de Cindio B. Niosomes vs microemulsions: new carriers for topical delivery of capsaicin. Colloids Surf B Biointerfaces 2011;87(2):333-339. PMID: 21684725.