

تأثیر متغیرهای فرمول‌بندی بر عبور پوستی میکرو امولسیون دسموپرسین استات

آرزو سروش‌نیا، فریا گنجی*+

تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده مهندسی شیمی، گروه بیوتکنولوژی

سید مجتبی تقی‌زاده

تهران، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، پژوهشکده علوم، گروه سامانه‌های نوین داروسازی

چکیده: سامانه‌های دارو رسانی تراپوستی در سال‌های اخیر به عنوان یک جایگزین مناسب برای سامانه‌های دارو رسانی خوراکی و تزریقی مورد توجه فراوان قرار گرفته‌اند. هدف از این پژوهش تهیه سامانه تراپوستی میکروامولسیونی دسموپرسین استات و بررسی تأثیر ترکیب فرمول‌بندی بر شدت عبور پوستی این دارو است. اجزای میکروامولسیون‌ها شامل: ترکیب تویین ۸۰ و اسپن ۸۰ به عنوان مواد فعال سطحی، ۱- دکانول به عنوان کمک فعال سطحی و ایزوپروپیل مایریستات به عنوان فاز روغنی هستند. با تعیین متغیرهای مستقل HLB بین ۷ تا ۹، S/Cs بین ۱ تا ۲:۱ و S_{mix}/Oil بین ۵:۱ تا ۷:۳، فرمول‌بندی‌های مورد نیاز توسط نرم افزار 7.0.0 Design-Expert مشخص شد و پایداری و عبور پوستی آن‌ها بررسی شد. نتیجه‌های آزمون عبور پوستی نشان داد که با کاهش S/Cs و S_{mix}/Oil مقدار شدت عبور پوستی و با افزایش HLB میزان شدت عبور پوستی افزایش می‌یابد. میکرو امولسیون بهینه ارایه شده توسط نرم افزار دارای HLB = ۸، S/Cs = ۳:۱ و S_{mix}/Oil = ۵:۴۶:۴:۵۴ است. سپس پایداری ترکیب بهینه، مقدار داروی آزاد شده و شدت عبور پوستی آن اندازه‌گیری شد. با توجه به نتیجه‌های این پژوهش با کاهش گرانی و افزایش قطبیت سامانه شدت عبور پوستی دارو از میکرو امولسیون‌ها افزایش می‌یابد. مطالعه‌های عبور پوستی نشان داد که میکرو امولسیون‌ها با داشتن ابعاد ریز و مواد تشکیل دهنده‌ای که به عنوان افزایش نفوذ پوستی عمل می‌نمایند عبور پوستی داروهای درشت مولکول را امکان‌پذیر می‌نمایند.

واژه‌های کلیدی: دارو رسانی تراپوستی، میکروامولسیون، دسموپرسین استات، رهایش، شدت عبور پوستی دارو، بهینه‌سازی.

KEY WORDS: Transdermal drug delivery, Microemulsion, Desmopressin acetate, Release, Drug skin flux, Optimization.

مقدمه

بیماری‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند. دارو رسانی بیشتر پیتیدها از طریق خوراکی و جذب مخاطی مناسب نمی‌باشد. در سال‌های اخیر،

با پیشرفت‌های اخیر در تهیه و ساخت مولکول‌های زیستی مانند پیتیدها این ترکیب‌ها به عنوان داروهای قوی و مؤثر برای درمان

*E-mail: fganji@modares.ac.ir

*عهده دار مکاتبات

بخش تجربی

مواد

در این پژوهش از آب یون زدوده به عنوان فاز آبی، داروی دسموپرسین استات (ساخت شرکت بیو فارما چین)، مواد فعال سطحی اسپن ۸۰ و توپین ۸۰ و فاز روغنی ایزوپروپیل مایریستات (ساخت شرکت سیگما آمریکا) و ۱-دکانول (ساخت شرکت مرک آلمان) به عنوان ماده کمک فعال سطحی استفاده شد.

شرح آزمایش

طراحی آزمون

در طراحی آزمون از روش پاسخ سطح^(۱) و طراحی مرکب مرکزی^(۸) استفاده شده است. طراحی در پنج سطح توسط نرم افزار Design-Expert 7.0.0 انجام گرفت. برای تعیین مدل مناسب از جدول تجزیه واریانس (ANOVA) استفاده شده است. مدل تعیین شده چند جمله‌ای درجه ۲ است. در این پژوهش تعادل آب دوستی و آب‌گریزی سامانه (HLB)، نسبت مجموع مواد فعال سطحی و مواد کمک‌فعال سطحی به فاز روغنی (S_{mix}/Oil) و نسبت مواد فعال سطحی به مواد کمک‌فعال سطحی (S/Cs) به‌عنوان متغیرهای مستقل و شدت عبور پوستی به‌عنوان پاسخ در نظر گرفته می‌شود. برای تهیه میکروامولسیون‌ها از بازه‌ی HLB بین ۹-۷ تا ۱:۵ تا ۵:۱) S/Cs و (۵:۵ تا ۳:۷) S_{mix}/Oil استفاده شد.

ساخت میکروامولسیون‌های دسموپرسین استات

در این پژوهش میکروامولسیون‌های آب در روغن دارای ۱۰٪ آب و ۲٪ داروی دسموپرسین استات تهیه شدند. برای ساخت آنها طبق جدول ۱، ابتدا اسپن ۸۰ و توپین ۸۰ با هم مخلوط می‌شوند. مخلوط هم‌زده می‌شود تا به طور کامل یکنواخت شود. سپس ۱-دکانول به عنوان ماده کمک‌فعال سطحی به مخلوط افزوده شده، سپس ایزوپروپیل مایریستات اضافه می‌شود. در آخر محلول آب و دارو به‌صورت قطره قطره به مخلوط اضافه و هم‌زده شد.

پایداری ظاهری

الف) پس از ساخته شدن میکروامولسیون‌ها، از هر کدام سه نمونه

دارورسانی تراپوستی برای ترکیب‌های پیتیدی با به‌کارگیری روش‌های یونتوفورسیس^(۱)، فراصوت^(۲)، حفره‌زایی الکتریکی^(۳) و میکروسوزن^(۴) مورد استفاده قرار گرفته‌است [۱]. البته این روش‌ها در بیشتر مواقع به پوست صدمه می‌زنند. افزایش‌دهنده‌های نفوذ شیمیایی نیز برای دارورسانی پوستی مورد استفاده قرار می‌گیرند، ولی بیشتر آنها برای مؤثر بودن به غلظتی نیاز دارند که سبب ایجاد حساسیت می‌شود [۳، ۲]. میکروامولسیون‌ها شفاف و اندازه ذره‌های آنها کوچک‌تر از ۱۵۰ نانومتر می‌باشد و برای داروهای آب‌دوست و آب‌گریز به‌کار می‌روند. میکروامولسیون‌ها به‌عنوان سامانه‌های مناسب برای دارورسانی شناخته شده‌اند [۴]. از برتری‌های آنها به‌عنوان سامانه‌های دارورسانی تراپوستی به این موارد می‌توان اشاره نمود. (۱) دارای توانایی حل کردن مقدار زیادی دارو می‌باشند. (۲) با تغییر فاز داخلی سرعت عبور پوستی افزایش می‌یابد. (۳) اجزای آن به‌عنوان افزایش‌دهنده نفوذ پوستی عمل می‌نمایند برای تهیه میکروامولسیون‌های آب در روغن از مواد فعال سطحی^(۵) و با تعادل آبدوستی و آب‌گریزی^(۶) زیر ۱۰ استفاده می‌شود [۵]. تعداد زیادی از میکروامولسیون‌ها به‌وسیله پژوهشگران گوناگون برای دارورسانی تراپوستی تهیه و مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. اما در زمینه عبور پوستی داروی دسموپرسین استات به‌وسیله میکروامولسیون‌ها گزارش‌های چندانی در دست نیست. داروی دسموپرسین یک مولکول پیتیدی آبدوست با وزن مولکولی ۱۸۳۴ دالتون می‌باشد که برای درمان هموفیلی، دیابت بی مزه، شب ادراری و آلزایمر کاربرد دارد [۲]. در این پژوهش تهیه سامانه میکروامولسیونی آب در روغن دسموپرسین استات و بررسی اثر متغیرهای فرمول‌بندی بر شدت عبور پوستی داروی دسموپرسین استات از سامانه فوق‌مورد توجه قرار گرفته‌است. برای این منظور میزان آبدوستی و آب‌گریزی مواد فعال سطحی (HLB)، نسبت مواد فعال سطحی به ماده کمک‌فعال سطحی (S/Cs) و نسبت مجموع مواد فعال سطحی و ماده کمک‌فعال سطحی به فاز روغنی (S_{mix}/Oil) به‌عنوان متغیرهای مستقل و شدت عبور پوستی دارو به‌عنوان متغیر وابسته بررسی شد. برای این منظور شدت عبور پوستی به کمک نرم افزار Design-Expert 7.0.0 مورد بررسی قرار گرفت و ترکیب بهینه توسط این نرم افزار مشخص شد.

(۱) Iontophoresis

(۲) Ultrasonic

(۳) Electroporation

(۴) Microneedle

(۵) Surfactant

(۶) Hydrophilicity hydrophobicity balance

(۷) Response Surface Methodology

(۸) Central Composite Design

جدول ۱- درصد مواد در فرمولبندی‌ها.

HLB	درصد مواد فعال سطحی			S _{mix} /Oil	درصد ایزوپروپیل مایریستات	S/Cs	درصد ۱-دکانول	فرمولبندی
	اسپین ۸۰	توین ۸۰	نسبت توین ۸۰ به اسپین ۸۰					
۸	۱۵٫۵	۲۵٫۴	۱٫۶۴	۶	۳۵	۳٫۵	۱۱٫۶۲	۱
۸٫۵۹	۱۱٫۳	۲۳٫۲	۲٫۰۵	۵٫۴۱	۴۰	۲٫۶۱	۱۳٫۰۳	۲
۷٫۴۱	۱۸٫۴	۲۳٫۳	۱٫۲۷	۶٫۵۹	۲۹٫۸	۲٫۶۱	۱۶٫۰۳	۳
۸	۱۸	۲۹٫۷	۱٫۶۵	۷	۲۶٫۳	۳٫۵	۱۳٫۵۳	۴
۷٫۴۱	۱۲٫۸	۲۱٫۶	۱٫۶۹	۶٫۵۹	۴۰٫۱	۲٫۶۱	۱۳٫۰۳	۵
۷٫۴۱	۲۳	۲۹٫۲	۱٫۲۷	۶٫۵۹	۲۹٫۸	۴٫۳۹	۵٫۵۱	۶
۸٫۵۹	۱۲٫۸	۲۵٫۸	۲٫۰۱	۵٫۴۱	۴۰٫۱	۴٫۳۹	۸٫۸۲	۷
۷٫۴۱	۱۱٫۳	۱۹٫۲	۱٫۷۰	۵٫۴۱	۴۰٫۱	۲٫۶۱	۱۶٫۹۴	۸
۸٫۵۹	۱۳٫۹	۲۸٫۲	۲٫۰۳	۶٫۵۹	۲۹٫۸	۲٫۶۱	۱۵٫۶۳	۹
۸	۱۵٫۵	۲۵٫۴	۱٫۶۴	۶	۳۵	۳٫۵	۱۱٫۶۲	۱۰
۸	۱۶٫۵	۲۷٫۲	۱٫۶۵	۶	۳۵	۵	۸٫۸۲	۱۱
۷	۲۶٫۶	۲۶٫۶	۱٫۰۰	۶	۳۵	۳٫۵	۱۱٫۶۲	۱۲
۸٫۵۹	۱۵٫۵	۳۱٫۵	۲٫۰۳	۶٫۵۹	۲۹٫۸	۴٫۳۹	۱۰٫۷۲	۱۳
۸	۱۳٫۳	۲۱٫۷	۱٫۶۳	۶	۳۵	۲	۱۷٫۵۴	۱۴
۸	۱۵٫۵	۲۵٫۴	۱٫۶۴	۶	۳۵	۳٫۵	۱۱٫۶۲	۱۵
۸	۱۵٫۵	۲۵٫۴	۱٫۶۴	۶	۳۵	۳٫۵	۱۱٫۶۲	۱۶
۸	۱۵٫۵	۲۵٫۴	۱٫۶۴	۶	۳۵	۳٫۵	۱۱٫۶۲	۱۷
۸	۱۵٫۵	۲۵٫۴	۱٫۶۴	۶	۳۵	۳٫۵	۱۱٫۶۲	۱۸
۹	۱۲	۲۸٫۹	۲٫۴۰	۶	۳۵	۳٫۵	۱۱٫۶۲	۱۹
۸	۱۳	۲۱٫۱	۱٫۶۲	۵	۴۳٫۷	۳٫۵	۹٫۷۲	۲۰

نتیجه‌ها و بحث

نتیجه‌ها

پایداری

پایداری نمونه‌ها مطابق روش ارزیابی شده در بخش تجربی مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌ها از نظر ظاهری، جدایش فازی و کدورت مورد بررسی قرار گرفتند و نتیجه‌ها بیانگر پایداری تمام نمونه‌ها بود.

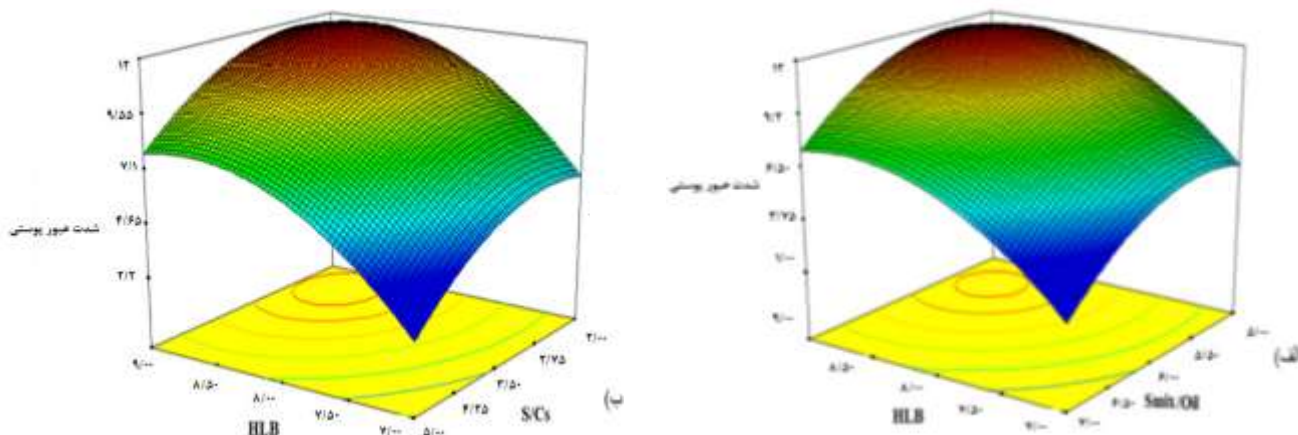
عبور پوستی

برای بررسی اثر متغیرهای HLB، S/Cs و S_{mix}/Oil بر شدت عبور پوستی دارو، ابتدا شدت عبور دارو از پوست در ۲۰ فرمولبندی توسط معادله (۲) محاسبه شد:

نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در سانتیفریوژ با دور ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه قرار داده شد و شفافیت و جدایش فازی آنها مورد بررسی قرار گرفت [۵].

عبور پوستی دارو از سامانه میکروامولسیون

برای تعیین سرعت عبور دارو از پوست موش‌های صحرایی نر نژاد اسپراگوداولی، سل نفوذ پذیری فرانس با قطر سطح مقطع ۲٫۵ سانتی‌متر و فسفات بافر pH= ۷٫۴ استفاده شد. مقدار میکروامولسیون‌ها ۲۴۰ میلی گرم و دمای دستگاه ۳۴°C بود. نمونه برداری در زمان‌های ۰٫۵ تا ۸ ساعت انجام گرفت و نمونه‌ها توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (Younglin, SDV30) با دتکتور UV در طول موج ۲۰۷ نانومتر تجزیه شدند [۶].



شکل ۱- نمودارهای سه بعدی سرعت نفوذ پوستی بر حسب الف) HLB و S_{mix}/Oil و ب) HLB و S/Cs.

بحث

همان گونه که در شکل ۱ دیده می‌شود با افزایش میزان HLB میزان شدت عبور پوستی و با کاهش میزان S/Cs و S_{mix}/Oil شدت عبور پوستی افزایش می‌یابد. فاصله یکسان بین نمودارها در شکل‌های کانتور نشان‌دهنده نبود برهم‌کنش بین متغیرها است. شدت عبور پوستی دارو از پوست را می‌توان توسط معادله (۲) نشان داد [۸].

$$J_{ss} = dM/dt = DPC_v/h \quad (3)$$

در این معادله، مقدار تجمع داروی عبوری از غشا بر واحد سطح در واحد زمان، D ضریب نفوذ، P ضریب توزیع دارو بین سامانه و غشا، C_v غلظت دارو در سامانه و h ضخامت غشا هستند. با افزایش میزان HLB شدت عبور پوستی در فرمول‌بندی‌ها افزایش و زمان تاخیر کاهش می‌یابد. افزایش HLB منجر به افزایش میزان توپین ۸۰ در فرمول‌بندی می‌شود. توپین ۸۰ جز مواد فعال سطحی قطبی به‌شمار می‌رود. داروهای آبدوست برای نفوذ در داخل لایه شاخی مسیرهای آبدوست را ترجیح می‌دهند که شامل مسیرهای درون‌سلولی و مسیرهای بین سرهای قطبی ساختار دو لایه‌ای لایه شاخی است [۹]. مواد فعال سطحی قطبی بر روی پروتئین‌ها و قسمت‌های آبدوست لایه شاخی تأثیر می‌گذارند و با تغییر دادن ماهیت آنها تقسیم‌پذیری مولکول‌های قطبی را در پوست آسان‌تر می‌نمایند. همچنین می‌توانند در قسمت دولایه چربی لایه شاخی ایجاد ناهنجاری نموده و با سرهای آبدوست این لایه برهم‌کنش ایجاد نمایند و میزان آب موجود در این ناحیه را افزایش دهند و از تبخیر آن جلوگیری نمایند. بدین وسیله حجم آب را افزایش داده و ساختار منظم آن را برهم می‌زنند

$$J_{ss} = (V/A)(dC/dt) \quad (1)$$

در این معادله، J_{ss} شدت عبور پوستی (میکروگرم/سانتی‌متر مربع. ساعت)، C غلظت تجمع دارو (میکروگرم/سانتیمتر مکعب) در زمان t، V حجم مخزن (سانتی‌متر مکعب) و A سطح موثر نفوذ (سانتی مترمربع) هستند [۷]. نتیجه‌های به دست آمده از این معادله به عنوان پاسخ به نرم افزار ارایه شده و پاسخ شدت عبور پوستی دارو توسط معادله درجه دوم (معادله (۱)) مدل شد. میزان ضریب همبستگی پیش‌بینی شده و ضریب همبستگی تعدیل شده به ترتیب ۰/۸۸ و ۰/۹۴ تعیین شد. در این معادله A، B، C، A²، B² و C² (به ترتیب معادل HLB، S_{mix}/Oil، S/Cs، HLB²، S_{mix}/Oil² و S/Cs²) با P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار هستند.

$$\text{Skin flux} = 10.47 + 1.8A - 1.56 \times B - 1.13 \times C - 0.68 \times A^2 - 0.78 \times B^2 - 0.56 \times C^2 \quad (2)$$

تعیین ترکیب بهینه و آزمون اعتبار سنجی مدل

برای تعیین ترکیب بهینه مقادیر متغیرهای مستقل را در بازه‌ی انتخاب شده قرار داده و برای پاسخ‌ها مقدار بیشینه انتخاب شد. پس از بهینه‌سازی توسط نرم افزار ترکیب بهینه با فرمول‌بندی: HLB=۸/۰۹، S/Cs=۳/۰۱ و S_{mix}/Oil=۴/۵۴±۵/۴۶ به دست آمد. مقادیرهای بیشتر و حداقل قابل قبول شدت عبور پوستی ترکیب بهینه با محدوده اطمینان ۹۵٪ به ترتیب برابر با ۱۱/۹۵ و ۱۰/۶۵ (میکروگرم/سانتیمتر مربع.ساعت) بودند. آزمون عبور پوستی برای تایید مقدار ارایه شده انجام شد. شدت عبور پوستی به دست آمده برابر با ۱۱/۱۲±۰/۲۷ (میکروگرم/سانتیمتر مربع.ساعت) است.

در این ناحیه شوند [۱۲]. عملکرد ایزوپروپیل مایریستات به قطبیت متوسط آن برمی‌گردد، که هم بر روی نواحی قطبی و هم غیر قطبی پوست تأثیر می‌گذارد. این ماده با سرهای آب‌دوست و آب‌گریز ساختار دو لایه‌ای لایه شاخی برهم‌کنش ایجاد می‌کند و ساختار این لایه را برهم می‌ریزد. ایزوپروپیل مایریستات به عنوان فاز روغنی (با گرانیوی ۵-۶ cP) دارای گرانیوی کمتری نسبت به توپین ۸۰ (با گرانیوی ۱۰۸۰-۹۷۰ cP)، اسپن ۸۰ (با گرانیوی ۴۲۵ cP) و ۱-دکانول (با گرانیوی ۱۱/۴۹ cP) است [۱۳]. با افزایش میزان ایزوپروپیل مایریستات گرانیوی فرمولبندی کاهش می‌یابد. در نتیجه افزایش تحرک و آزادی دارو در سامانه، داروی عبوری از پوست افزایش می‌یابد و با توجه به اینکه فاز خارجی میکروامولسیون را تشکیل می‌دهد و دارای گرانیوی کمتری نسبت به بقیه اجزا است، سریع‌تر به لایه شاخی نفوذ کرده و تأثیر بیشتری دارد. با افزایش فاز روغنی میزان مواد فعال سطحی و کمک فعال سطحی در میکروامولسیون کاهش می‌یابد، که این امر سبب کاهش مقاومت برای نفوذ دارو از فاز درونی به فاز خارجی می‌شود و فرایند نفوذ مستقیم دارو از قطره‌ها به پوست را نیز آسان می‌نماید [۱۵، ۱۴].

نتیجه گیری

در این پژوهش نتیجه‌های آزمون پایداری نشان داد که همه فرمولبندی‌ها پایدار هستند و هیچ‌گونه کدورت و جدایش فازی در آنها دیده نشد. با افزایش قطبیت (افزایش HLB)، کاهش گرانیوی (کاهش S_{mix}/Oil) و کاهش نسبت ماده فعال سطحی به کمک فعال سطحی (کاهش S/CS) شدت عبور پوستی افزایش می‌یابد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۳

و سبب افزایش نفوذ دارو و توزیع آن در این ناحیه می‌شوند. در مقابل اسپن ۸۰ یک ترکیب غیر قطبی است که بیشتر بر چربی‌های برون سلولی لایه شاخی تأثیر می‌گذارد و آنها را سیال‌تر می‌نماید. در نتیجه مسیرهای آب‌گریز را افزایش می‌دهد و بیشتر برای داروهای چربی‌دوست مناسب است [۱۱، ۱۰]. با توجه به دلایل یاد شده با افزایش HLB میزان D و P در معادله ۳ افزایش یافته و در نتیجه میزان عبور پوستی افزایش می‌یابد. با کاهش میزان S/CS در این فرمولبندی‌ها میزان شدت عبور پوستی افزایش یافت. با کاهش S/CS میزان ۱-دکانول در سامانه افزایش می‌یابد. ۱-دکانول یک الکل با زنجیره بلند هیدروکربنی و از خانواده الکل‌های چرب است. الکل‌های آب‌گریز به دلیل داشتن زنجیره هیدروکربنی بلند می‌توانند ساختار دولایه‌ای لایه شاخی را برهم بزنند، نفوذ دارو در پوست را افزایش دهند و با ورود به لایه شاخی و تغییر ترکیب آن و سیال نمودن چربی‌های لایه شاخی تقسیم‌پذیری دارو در پوست را افزایش دهند [۱۱]. همچنین با افزایش ۱-دکانول در ترکیب مواد فعال سطحی و کمک فعال سطحی انعطاف پذیری فیلم اطراف قطره‌ها بیشتر می‌شود که باعث افزایش نفوذ دارو به فاز خارجی شده و با کاهش زاویه تماس بین قطره‌ها و پوست سبب افزایش سطح تماس شده و نفوذ دارو به پوست را امکان‌پذیر می‌نماید. بنابراین این ماده هم می‌تواند بر روی D و هم بر روی P در معادله ۴ تأثیر گذارد و با افزایش همزمان این دو عامل، موجب افزایش شدت عبور پوستی دارو شود. با کاهش S_{mix}/Oil در این فرمولبندی‌ها شدت عبور پوستی افزایش یافت. با کاهش میزان S_{mix}/Oil میزان ایزوپروپیل مایریستات در سامانه افزایش می‌یابد. ایزو پروپیل مایریستات یک استر الیفاتیکی است. استرهای اسیدهای چرب می‌توانند وارد ساختار دولایه‌ای لایه شاخی شوند و با به هم ریختن آن یک حوزه جدید و جدایی را به وجود آورند و سبب افزایش نفوذ پذیری

مراجع

- [1] Prausnitz M.R., Langer R., Transdermal Drug Delivery, *Nature Biotechnology*, **26** (11): 1261-1268 (2008).
- [2] Melkamu G., Wohlrab J., Neubert, H.H.R. Dermal Delivery of Desmopressin Acetate Using Colloidal Carrier Systems, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **57**: 423-427 (2005).
- [3] Murthy S.N., Shivakumar H.N., "Topical and Transdermal Drug Delivery, Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems", Vitthal S. Kulkarni, 1st Ed, New York, Elsevier Inc, p. 26 (2010).

- [4] Grampurohit N., Ravikumar P., Mallya R., Microemulsions for Topical Use- A Review, *Indian Journal of Pharmaceutical Education Research*, **45**(1): 100-107 (2011).
- [5] Fana Q., Sirkar K.K., Wangb Y., Michniac B. In Vitro Delivery of Doxycycline Hydrochloride Based on a Porous Membrane-Based Aqueous-Organic Partitioning System, *Journal of Controlled Release*, **98**: 355-65 (2004).
- [6] Zhao X., Liu J.P., Zhang X., Li Y., Enhancement of Transdermal Delivery of Theophylline Using Microemulsion Vehicle, *International Journal of Pharmaceutics*, **327**: 58-64 (2006).
- [7] Karasulu H.Y., Microemulsions as Novel Drug carriers: the Formation, Stability, Applications and Toxicity, *Expert Opinion on Drug Delivery*, **5**(1): 119-35 (2008).
- [۸] عبدخدایی، محمد جعفر؛ کاربردهای مهندسی شیمی در پزشکی یا گرایش مهندسی پزشکی در مهندسی شیمی، *نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران*، **۱۸**(۱): ۶۶ - ۵۷ (۱۳۷۸).
- [9] Kogan, A., Garti, N. Microemulsions as Transdermal Drug Delivery Vehicles., *Advanced Colloid and Interface Science*, **123**(126): 369-385 (2006).
- [10] Patel M.R., Patel R.B., Parikh J.R., Solanki A.B., Patel B.G., Effect of Formulation Components on the in Vitro Permeation of Microemulsion Drug Delivery System of Fluconazole, *A.A.P.S. Pharmaceutical Scientist Technology*, **10**(3): 917-923 (2009).
- [11] Klanakar S., An Overview of Skin Penetration Enhancers: Penetration Enhancing Activity, Skin Irritation Potential and Mechanism of Action, *Journal of Science and Technology*, **31** (3): 299-321 2009.
- [12] Rao Y.S., Deepthi K.S., Chowdary K.P.R., Microemulsions: a Novel Drug Carrier System, *International Journal of Drug Delivery Technology*, **1**(2): 39-41 (2009).
- [13] Rasal A., Mahjan H.S., Shaikh H.T., Surana S.J., Development and Characterization of Nasalmu Coadhesive Microemulsion of Sumatriptansuccinate, *Indian Journal of Novel Drug Delivery*, **2**(3): 103-108 (2010).
- [14] Nahas H., Fakhry Gh., Ghamry H., Sabry Sh., Effect of Various Penetration Enhancers Concentrations on Diclofenac Sodium Release from Cellulose Acetate Phthalate Polymeric Film, *Asian Journal of Pharmaceutics*, **5**(1): 33-40 (2011).
- [15] Karande P., Mitragotri S., Enhancement of Transdermal Drug Delivery via Synergistic Action of Chemicals, *Biochemical and Biophysics Acta*, **1788**: 2362-2373 (2009).