

Original Article

## Preparation and Evaluation of Glutathione Semisolid Formulation as a Candidate for Anti-wrinkle and Skin-Lightening

Mohammad-Mehdi Khazaei<sup>1</sup>, PharmD;<sup>ORCID</sup> Negin Mozafari<sup>2</sup>, PhD;<sup>ORCID</sup> Soliman Mohammadi-Samani<sup>3,4</sup>, PhD;<sup>ORCID</sup> Hajar Ashrafi<sup>5</sup>, PhD;<sup>ORCID</sup> Amir Azadi<sup>4,5\*</sup>, PhD<sup>ORCID</sup>

<sup>1</sup>Student Research Committee, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

<sup>2</sup>Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

<sup>3</sup>Professor, Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

<sup>4</sup>Pharmaceutical Sciences Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

<sup>5</sup>Associate Professor, Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

### Article Information

#### Article History:

Received: June 29, 2024

Accepted: Aug. 24, 2024

#### \*Corresponding Author:

Amir Azadi, PhD;

Associate Professor, Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Email: aazadi@sums.ac.ir

### Abstract

**Introduction:** In recent years, there has been a growth in the demand for skincare services and products. In this study, a topical formulation composed of glutathione loaded into niosomes was developed, and its physical, chemical, and microbial characteristics were evaluated.

**Methods:** Span 60 was used to prepare niosomes, and glutathione was added to the formulation using the incorporation method. Drug assays were performed using high-performance liquid chromatography (HPLC). The physicochemical characteristics of the prepared niosomes and their drug-release properties were investigated. Carbomer and sodium carboxymethyl cellulose were used to form gels, and stability tests were performed.

**Results:** HPLC demonstrated a linear relationship in the concentration range of 10-100 µg/mL. Morphological studies showed that niosomes had spherical structures. The majority of the medication was released through polymer degradation, and a small amount was released through the diffusion mechanism. Rheological analysis revealed that the fabricated gels had thixotropic and pseudoplastic properties. None of the samples showed changes in color or odor during this period. The formulation underwent microbiological analysis, and no specific microorganisms were found.

**Conclusion:** The developed formulation exhibited acceptable properties in vitro. Therefore, further in vivo research should be conducted to determine the efficacy of the formulation.

**Keywords:** Carbomer, Gel, Glutathione, Niosomes, Topical administration, Skin lightening preparations

#### Please cite this article as:

Khazaei MM, Mozafari N, Mohammadi-Samani S, Ashrafi H, Azadi A. Preparation and Evaluation of Glutathione Semisolid Formulation as a Candidate for Anti-wrinkle and Skin-Lightening. Sadra Med. Sci. J. 2024; 12(4): 599-611.



## مقاله پژوهشی

## تهیه و ارزیابی فرمولاسیون نیمه جامد حاوی گلوکاتایون به عنوان یک کاندید ضدچروک و روشن کننده پوست

محمد مهدی خزاعی<sup>۱</sup>، نگین مظفری<sup>۲</sup>، سلیمان محمدی سامانی<sup>۳</sup>، هاجر اشرافی<sup>۴</sup>، امیر آزادی<sup>۵\*</sup>

<sup>۱</sup> کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران  
<sup>۲</sup> گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران  
<sup>۳</sup> استاد، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران  
<sup>۴</sup> مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران  
<sup>۵</sup> دانشیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

## چکیده

## اطلاعات مقاله

## تاریخچه مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۳

## نویسنده مسئول:

امیر آزادی

دانشیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه

علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

پست الکترونیکی: aazadi@sums.ac.ir

**مقدمه:** خدمات حفظ و نگهداری پوست و فرآورده‌های مرتبط با آن در سال‌های اخیر رو به افزایش گذاشته است. در این مطالعه، فرمولاسیون موضعی ژل گلوکاتایون بارگذاری شده در نیوزوم طراحی، و خصوصیات مختلف فیزیکی، شیمیایی و میکروبی آن بررسی شده است.

**مواد و روش‌ها:** جهت ساخت نیوزوم از اسپن ۶۰ استفاده شد و برای بارگذاری گلوکاتایون در فرمولاسیون از روش اینکوپوریشن (ادغام) استفاده شد. میزان دارو با تکنیک کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ارزیابی و خصوصیات فیزیکوشیمیایی نیوزوم‌های ساخته شده و همچنین میزان آزادسازی دارو بررسی شد. در نهایت برای تهیه ژل از کربومر و کربوکسی متیل سلولز استفاده گردید و تست‌های پایداری آن بررسی شد.

**یافته‌ها:** تکنیک کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا برای تعیین مقدار گلوکاتایون در محدوده غلظت‌های ۱۰-۱۰۰ µg/mL رابطه‌ای خطی داشت. بررسی‌های ریخت‌شناسی نشان داد که نیوزوم‌ها ساختار کروی دارند. غالب آزادسازی دارو از طریق مکانیسم‌های فرسایش و تخریب پلیمر و به میزان کمتری انتشار اتفاق افتاده است. آزمون ارزیابی جریان‌پذیری نشان داد که ژل‌های ساخته شده خواص تیکسوتروپیک و شبه پلاستیک دارند. هیچ کدام از نمونه‌ها طی این مدت تغییری از لحاظ رنگ و بو از خود نشان ندادند. مطالعات کنترل میکروبی ژل ساخته شده بیانگر عدم وجود آلودگی در نمونه بود.

**نتیجه‌گیری:** فرمولاسیون ژل طراحی شده خصوصیات قابل قبولی در مطالعات برون تن از خود نشان داد، بنابراین می‌توان اثربخشی این فرمولاسیون را در محیط درون تن نیز بررسی کرد.

**کلمات کلیدی:** کربومر، ژل، گلوکاتایون، نیوزوم، تجویز موضعی، تهیه روشن کننده پوست

لطفاً این مقاله را به این صورت استناد کنید:

خزاعی م، مظفری ن، محمدی سامانی س، اشرافی ه، آزادی ا. تهیه و ارزیابی فرمولاسیون نیمه جامد حاوی گلوکاتایون به عنوان یک کاندید ضدچروک و روشن کننده پوست. مجله علوم پزشکی صدرا. دوره ۱۲، شماره ۴، پاییز ۱۴۰۳، صفحات ۵۹۹-۶۱۱.

ژل‌ها<sup>۱۵</sup> فرمولاسیون‌های موضعی نیمه‌جامدی هستند که سیستم پراکنده‌ای از مولکول‌های کوچک و بزرگ در یک حامل آبی را تشکیل می‌دهند که به‌وسیله یک عامل ژل‌ساز<sup>۱۶</sup> ساختار ژل را ایجاد کرده‌اند (۱۵). کربومر<sup>۱۷</sup> ۹۳۴ پلیمری سنتزی<sup>۱۸</sup> است که پایداری مناسب در گرانیروی<sup>۱۹</sup> و دمای بالا دارد و در فرمولاسیون‌ها به‌عنوان قوام‌دهنده<sup>۲۰</sup>، افزایش نفوذپذیری و جریان‌پذیری عمل می‌کند (۱۶). سدیم کربوکسی متیل سلولز<sup>۲۱</sup> پلیمری نیمه سنتزی است که به‌دلیل ویژگی‌های مناسب مانند قوام‌دهندگی، گرانیروی بالا، چسباننده و سوسپانسیون‌کننده<sup>۲۲</sup> کاربردهای مختلفی در فرمولاسیون‌های موضعی و صنایع آرایشی بهداشتی دارد (۱۷).

با پیرشدن جمعیت، نیاز به فرآورده‌های پوستی به‌ویژه فرآورده‌های ضد چروک به‌طور قابل ملاحظه‌ای رو به افزایش است. همچنین، با گسترش رسانه‌ها، ایجاد تبلیغات متنوع و صرف هزینه‌های کلان در این زمینه، و توجه و تمرکز بیشتر مردم بر مسئله کیفیت زندگی، تقاضای بازار برای فرآورده‌های آرایشی بهداشتی رو به افزایش گذاشته است، به همین دلیل هدف از این مطالعه، تهیه و بهینه‌سازی فرمولاسیون نیمه‌جامد حاوی نیوزوم‌های بارگذاری شده با گلوکوتائین به‌عنوان یک فرآورده پوستی روشن‌کننده و ضد چروک بود.

## مواد و روش‌ها

### مواد

استونیتریل<sup>۲۳</sup> از شرکت دایجونگ<sup>۲۴</sup> (کره جنوبی)، کربومر ۹۳۴ از شرکت بی اف گودریچ<sup>۲۵</sup> (آمریکا)، و کلروفورم<sup>۲۶</sup> و سایر مواد از شرکت مرک<sup>۲۷</sup> (آلمان) تهیه شدند.

### روش‌ها

#### سنجش کمی دارو

جهت سنجش کمی داروی گلوکوتائین، روش

پیری در پوست به نازک شدن، کاهش کشسانی<sup>۱</sup> و کاهش فعالیت متابولیکی<sup>۲</sup> پوست اطلاق می‌گردد (۱، ۲). مهم‌ترین عامل نشان‌دهنده پیری پوست، چروک است. مکانیسم دقیق چروک پوست هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است، اما کاهش ویژگی کشسانی پوست و افزایش استرس اکسیداتیو<sup>۳</sup> به دلایل مختلف از علل انکارناپذیر آن هستند (۳، ۴). تیره‌شدن پوست زمانی اتفاق می‌افتد که ملانین<sup>۴</sup> به‌صورت اضافی در سطح پوست ذخیره گردد (۵). روشن کردن پوست به معنی هرگونه فعالیت در جهت روشن تر کردن یا بهبود دادن رنگ سطح پوست با کمک مواد شیمیایی یا دیگر فرآورده‌هایی است که خاصیت دپیگمنته<sup>۵</sup> کردن دارند و از طریق کمتر کردن میزان ملانین و در نتیجه کاهش میزان پیگمنتاسیون فیزیولوژیک<sup>۶</sup> در سطح پوست عمل می‌کنند (۶، ۷). گلوکوتائین<sup>۷</sup> از جمله موادی است که در فرآورده‌های آرایشی-بهداشتی جهت بهبود خواص ضد چروک و روشن‌کنندگی پوست می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (۸). از جمله عملکردهای گلوکوتائین، اثرات روشن‌کنندگی پوست به علت متوقف ساختن آنزیم‌های ملانوتیک<sup>۸</sup> است (۹-۱۱).

تاکنون فرآورده‌های خوراکی، تزریقی و موضعی از گلوکوتائین با عملکرد روشن‌کنندگی پوست تولید شده و هیچ عارضه قابل توجهی از آن‌ها گزارش نشده است (۱۲). سیستم‌های دارو رسانی<sup>۹</sup> در ابعاد نانو توانایی رساندن داروهای کوچک و بزرگ و دیگر موارد فعال زیستی به محل مشخصی از بدن را، تحت زمانی تعیین شده دارند. این سیستم‌ها باعث بهبود فراهمی زیستی<sup>۱۰</sup>، افزایش پایداری، و افزایش میزان دارو در محل اثر، به‌ویژه با افزایش نفوذ دارو به پوست می‌شوند (۱۳). نیوزوم‌ها<sup>۱۱</sup>، ویکول‌هایی<sup>۱۲</sup> با پایه سورفکتانتی<sup>۱۳</sup> و غیر یونی<sup>۱۴</sup> هستند. از مهم‌ترین مزایای نیوزوم‌ها ثبات شیمیایی زیاد، خلوص بالا، و ذخیره‌سازی مناسب دارو است (۱۴).

15. Gel

16. Gelling agent

17. Carbomer 934

18. Synthetic polymer

19. Viscosity

20. Thickening agent

21. Sodium Carboxymethyl Cellulose

22. Suspending agent

23. Acetonitrile

24. Daejung company

25. BF Good Rich company

26. Chloroform

27. Merck company

1. Elasticity

2. Metabolic activity

3. Oxidative Stress

4. Melanin

5. Depigmentation

6. Physiologic pigmentation

7. Glutathione

8. Melanogenic

9. Drug Delivery Systems

10. Bioavailability

11. Niosomes

12. Vesicles

13. Surfactant

14. Non-ionic

اینکوپوریشن<sup>۴۱</sup> (ادغام) و اینکوبیشن<sup>۴۲</sup> استفاده شد (۲۰). در روش اینکوپوریشن در مرحله‌ای که آب دیونیزه به مخلوط کلسترول و اسپن اضافه می‌شود، محلول آبی گلوکوتایون با دو غلظت متفاوت ۰/۵ mg/mL و ۱ mg/mL به مخلوط کلسترول و اسپن اضافه شد. در روش اینکوبیشن ابتدا نیوزوم طبق روش گفته شده ساخته شد و پس از شکل‌گیری نیوزوم، محلول آبی گلوکوتایون با هر دو غلظت به مخلوط اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت توسط همزن مغناطیسی با دور ۸۰۰ rpm مخلوط گردید.

### تعیین مشخصات نیوزوم‌های ساخته شده

برای بررسی اندازه ذره‌ای و توزیع اندازه ذره‌ای از دستگاه پراکندگی نور دینامیک<sup>۴۳</sup> (DLS-SZ-100) استفاده گردید. جهت بررسی ریخت‌شناسی<sup>۴۴</sup> و اندازه ذره‌ای نانو ذرات از دستگاه میکروسکوپ نیروی اتمی<sup>۴۵</sup> (TESCAN-Vega 3) استفاده گردید.

برای اندازه‌گیری مقدار داروی بارگذاری شده درون نیوزوم‌ها از روش غیرمستقیم استفاده شد، بدین صورت که ۳ فرمولاسیون ساخته شده با مقدار داروی برابر و نسبت‌های متفاوت اسپن ۶۰ به کلسترول به داخل سرنگ کشیده و از فیلتر ۰,۲۲ میکرون عبور داده شد و میزان داروی آزاد توسط دستگاه HPLC<sup>۴۶</sup> محاسبه گردید، سپس درصد بازده بارگذاری دارو و درصد انباشتگی دارو با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد بارگذاری دارو} = \frac{100 \times \text{مقدار داروی بارگذاری شده}}{\text{مقدار اولیه دارو}}$$

$$\text{درصد انباشتگی دارو} = \frac{100 \times \text{مقدار داروی بارگذاری شده}}{(\text{مقدار داروی بارگذاری شده} + \text{میزان اولیه حامل})}$$

### بررسی آزادسازی دارو از نیوزوم و کینتیک آزادسازی دارو<sup>۴۷</sup>

برای بررسی آزادسازی دارو، ۳ mL از هر نمونه حاوی محلول نیوزوم با مقدار گلوکوتایون بارگذاری شده ۵ mg/mL به‌عنوان فاز دهنده<sup>۴۸</sup> درون کیسه دیالیز<sup>۴۹</sup> قرار گرفت و کیسه دیالیز درون ۱۰۰ mL

کروماتوگرافی مایع با فاز معکوس با کارایی بالا<sup>۲۸</sup> مجهز به پمپ کنترل‌کننده سرعت جریان فاز متحرک، تزریق‌کننده و شناساگر ماوراءبنفش (۲۰۶nm) انتخاب شد. ستون C18 (150mm×4 mm) به‌عنوان فاز ثابت و مخلوط بافر فسفات<sup>۲۹</sup> (pH=3.5) و استونیتریل با نسبت ۹۶:۴ با سرعت جریان<sup>۳۰</sup> ۱,۲ mL/min به‌عنوان فاز متحرک انتخاب شدند. آنالیز کروماتوگرام‌ها با نرم‌افزار EZChrome Elite 7.4.2 (Germany) انجام شد و روش مورد استفاده با اندازه‌گیری دقت، صحت و خطی بودن، اعتبارسنجی شد.

### ساخت نیوزوم

برای ساخت نیوزوم‌ها از روش تبخیر فاز معکوس اصلاح شده<sup>۳۱</sup> استفاده شد (۱۹) و به‌منظور به دست آوردن اندازه ذره‌ای<sup>۳۲</sup> و توزیع اندازه ذره‌ای<sup>۳۳</sup> بهینه، از دو سورفاکتانت اسپن<sup>۳۴</sup> ۸۵ و اسپن ۶۰ استفاده گردید و بعد از انتخاب اسپن مورد استفاده، نیوزوم‌های مختلف با نسبت اسپن به کلسترول<sup>۳۵</sup> ۱:۱، ۱:۲ و ۱:۴ ساخته و اندازه و توزیع اندازه ذره‌ای آن‌ها بررسی گردید. به این صورت که کلسترول و اسپن به مخلوط دی اتیل اتر<sup>۳۶</sup> و کلروفرم (۱:۲۵) اضافه گردید. سپس آب دیونیزه<sup>۳۷</sup> اضافه شده و مخلوط دو فاز حاصل به مدت ۳ دقیقه در دمای ۴-۵°C توسط دستگاه هموژنایز<sup>۳۸</sup>، همگن شد. سپس به مخلوط حاصل بافر فسفات سالین<sup>۳۹</sup> اضافه گردید و به مدت ۲ دقیقه دیگر با دستگاه هموژنایز همگن شد. به‌منظور تبخیر کلروفرم و به دست آوردن نیوزوم، سوسپانسیون حاصل به مدت ۳۵-۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۵۰-۶۰°C قرار گرفت. به‌منظور کاهش اندازه ذره‌ای و بهبود توزیع اندازه ذره‌ای، نیوزوم‌های ساخته شده تحت سیکل‌های متفاوتی از دستگاه پروب سونیکاتور<sup>۴۰</sup> شامل ۱ سیکل ۳۰ ثانیه‌ای، ۲ سیکل ۳۰ ثانیه‌ای، و یا ۶ سیکل ۳۰ ثانیه قرار گرفتند.

### بارگذاری دارو در نیوزوم

برای بارگذاری دارو در نیوزوم از دو روش مختلف

28. Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)
29. Phosphate buffer
30. Flow rate
31. Modified reverse phase evaporation
32. Particle size
33. Particle size distribution
34. Span
35. Cholesterol
36. Diethyl ether
37. Deionized water
38. Homogenizer
39. Phosphate saline buffer
40. Probe sonicator

41. Incorporation

42. Incubation

43. Dynamic Light Scattering (DLS)

44. Morphology

45. Atomic Force Microscopy (AFM)

46. High-performance liquid chromatography

47. Drug Release Kinetic

48. Donor phase

49. Dialysis bag

رئومتر<sup>۶۰</sup> (Brookfield, r/s plus, S.Nr303217, Germany) با استفاده از روش مخروط و صفحه<sup>۶۱</sup> ارزیابی شد.

### آزمایش گسترش پذیری<sup>۶۲</sup>

جهت انجام آزمایش گسترش پذیری، مقدار ۰/۵ g از ۳ ژل حاوی نیوزوم تحت شرایط استاندارد میان دو صفحه شیشه‌ای قرار داده شد (۲۲) و بعد نیروی وزن ناشی از وزنه‌های ۴۲، ۲۴۲ و ۵۴۲ گرم به مدت ۳ دقیقه به صفحه‌ها وارد گردید. پس از اتمام اعمال نیرو، سطوح پوشیده شده توسط ژل بر حسب میلی‌متر مربع اندازه‌گیری شد.

### آزمون کنترل میکروبی

آزمایشات کنترل میکروبی شامل تعیین تعداد کل میکروب‌ها، کپک‌ها، و مخمرها است. همچنین حضور یا عدم حضور دو میکروارگانیسم استافیلوکوکوس اورئوس<sup>۶۳</sup> و سودوموناس آئروژنوزا<sup>۶۴</sup> بررسی گردید. قبل از انجام آزمایش میکروبی، تمامی وسایل و ظروف مورد نیاز اتوکلاو، و توسط الکل ضد عفونی شدند و مراحل کار طبق استاندارد ملی ایران و زیر هود لامینار<sup>۶۵</sup> انجام شد. نمونه ژل حاوی نیوزوم بارگذاری با گلوکوتائین مطابق روش‌های گفته شده در قسمت‌های قبل، ساخته شد و جهت ارزیابی میکروبی به آزمایشگاه کنترل مواد غذایی، بهداشتی و آرایشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز ارسال گردید.

### ملاحظات اخلاقی

این پژوهش به صورت برون تن و با مجوز دانشگاه علوم پزشکی شیراز با کد اخلاق IR.SUMS.REC.1399.317 انجام شده است.

### یافته‌ها

#### سنجش کمی دارو

در این مطالعه حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری<sup>۶۶</sup> ۱۰ µg/mL و حداقل مقدار قابل تشخیص<sup>۶۷</sup> ۳ µg/mL به دست آمد. در محدوده غلظت‌های ۱۰-۱۰۰ µg/mL رابطه‌ای خطی با  $R^2=0.999$ ،  $P<0.05$  برای متغیر X و  $P>0.05$  برای عرض از مبدأ مشاهده شد (شکل ۱).

60. Rheometer

61. Cone & Plate

62. Spreadability test

63. Staphylococcus aureus

64. Pseudomonas aeruginosa

65. Laminar air flow hood

66. Limit of quantification (LOQ)

67. Limit of detection (LOD)

محلول فسفات بافر سالین به‌عنوان فاز گیرنده<sup>۵۰</sup> نهاده شد، سپس در زمان‌های مختلف از فاز گیرنده نمونه‌برداری و برای ثابت ماندن شرایط سینک<sup>۵۱</sup>، بعد از هر بار نمونه‌گیری حجم مساوی محلول فسفات بافر سالین به فاز گیرنده اضافه شد. برای بررسی اثر احتمالی غشای دیالیز بر آزادسازی دارو، برای محلول حاوی داروی آزاد در شرایط مشابه نیز آزمایش گرفت؛ برای به دست آوردن نتایج قابل تکرار، آزمایش سه بار انجام شد. برای تعیین مقدار داروی آزاد شده از دستگاه HPLC استفاده گردید. کینتیک آزادسازی دارو از نانو ذرات<sup>۵۲</sup> تهیه شد و با انطباق داده‌های حاصل از آزادسازی دارو بر مدل‌های کینتیک درجه صفر<sup>۵۳</sup>، درجه یک<sup>۵۴</sup>، هیگوجی<sup>۵۵</sup>، ویبال<sup>۵۶</sup>، و کورسمایر پیاس<sup>۵۷</sup> و با استفاده از آزمون رگرسیون غیر خطی<sup>۵۸</sup> انجام شد. (۲۱)

### تهیه فرمولاسیون نیمه جامد گلوکوتائین

برای ساخت ژل از نیوزوم حاوی ۰/۵ mg/mL گلوکوتائین با نسبت‌های اسپن به کلسترول ۱:۱، ۱:۲، و ۱:۴، آب دیونیزه، و ۲ g مخلوط سدیم کربوکسی متیل سلولز و کربومر ۹۳۴ با نسبت ۱:۴:۱ استفاده گردید. ابتدا نیوزوم حاوی دارو به مخلوط سدیم کربوکسی متیل سلولز و کربومر ۹۳۴ به صورت آهسته اضافه و سپس آب دیونیزه اضافه شد. ترکیب حاصل به کمک هموژنایزر به مدت زمان ۲۲۰ ثانیه به طور کامل هموژن گردید.

### آزمون‌های کنترل کیفیت فرآورده

برای تعیین pH ژل‌های ساخته شده و اندازه‌گیری هدایت پذیری جریان الکتریکی<sup>۵۹</sup> و برای بررسی رنگ و بوی ژل‌ها، رنگ و بوی هرکدام از ۳ ژل ساخته شده به صورت جداگانه با آب دیونیزه با نسبت مشخص رقیق شد و پس از هموژن شدن pH، تا ماه سوم توسط دستگاه pH متر اندازه‌گیری شد. در طول زمان انجام آزمایش نمونه‌ها در دمای ۲-۸°C نگهداری شدند.

### مطالعه گرانی و جریان پذیری فرمولاسیون

خواص جریان پذیری و رئولوژیک ژل‌ها توسط دستگاه

50. Receptor phase

51. Sink condition

52. Nanoparticles

53. Zero order

54. First order

55. Higuchi

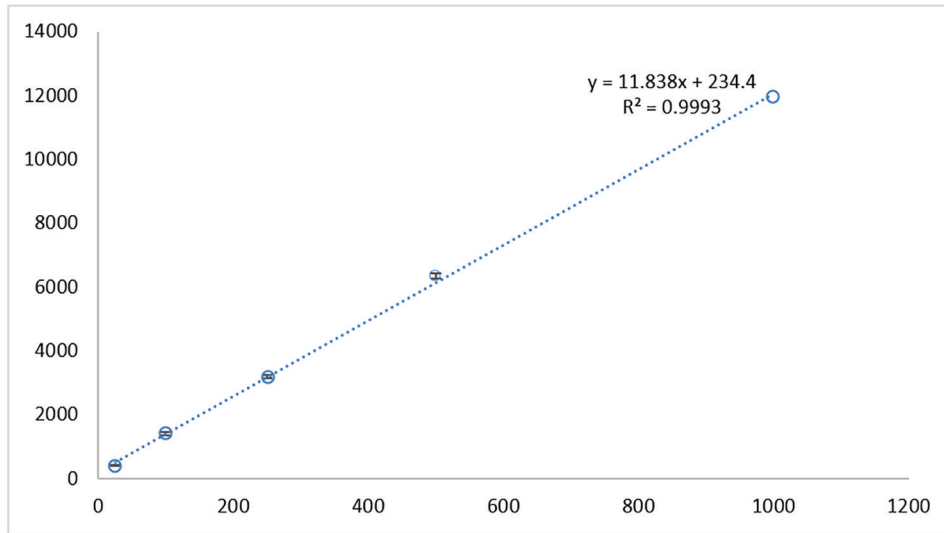
56. Weibull

57. Korsmeyer-Peppas

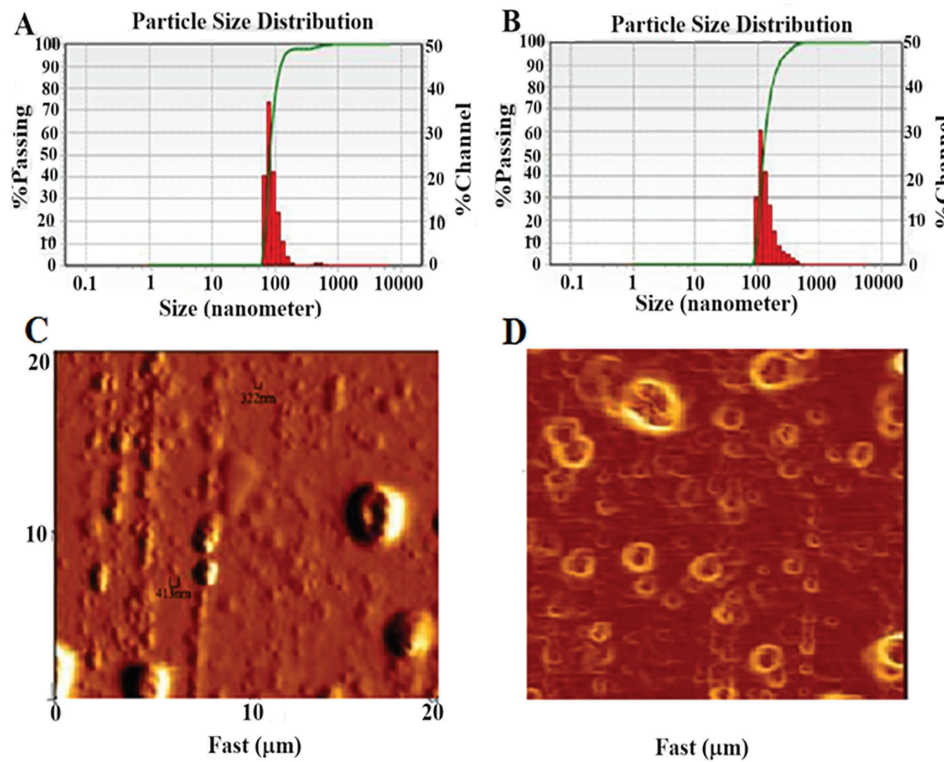
58. Non-linear regression

59. Electrical conduction





شکل ۱. منحنی استاندارد گلوکوتایون



شکل ۲. توزیع اندازه ذره ای مربوط به (A) نیوزوم بدون دارو تحت ۲ سیکل ۳۰ ثانیه ای دستگاه Probe sonicator (B) نیوزوم بارگذاری شده با دارو به روش (C,D)

بهبود توزیع اندازه ذره‌ای داشته است (شکل ۲). نیوزوم‌هایی که تحت ۶ سیکل ۳۰ ثانیه‌ای قرار گرفتند اندازه ذره‌ای بسیار پایین (۹/۰ nm) داشتند که نشان‌دهنده تخریب ساختار نیوزوم‌ها در اثر قرارگیری طولانی‌مدت آن‌ها در معرض امواج صوتی است. نیوزوم‌هایی که تحت ۱ سیکل ۳۰ ثانیه‌ای دستگاه قرار گرفته بودند اندازه ذره‌ای بزرگ (۵۵۰-۴۵۰ nm) اما توزیع اندازه ذره‌ای بهتر از حالت بدون اعمال سونیکیشن<sup>۶۸</sup> از خود نشان دادند (۰/۳). در نهایت ۲ سیکل ۳۰ ثانیه‌ای سونیکیشن به‌عنوان حالت بهینه برای ادامه مراحل در نظر گرفته شد.

### ساخت نیوزوم

نیوزوم‌های ساخته‌شده با اسپن ۶۰، اندازه ذره‌ای کمتر، توزیع اندازه ذره‌ای بهتر و عدد شاخص پراکندگی<sup>۶۸</sup> کوچک‌تری (۳/۰ ± ۵۵۲ nm) نسبت به نیوزوم‌های ساخته‌شده با اسپن ۸۵ داشتند (۸/۰ ± ۱۹۱۴ nm)، به همین دلیل، اسپن ۶۰ برای ادامه مراحل انتخاب شد. نتایج بررسی اندازه ذره‌ای نیوزوم‌های بدون دارو توسط دستگاه DLS نشان داد که دستگاه پروب سونیکاتور<sup>۶۹</sup> اثر قابل توجهی در کاهش اندازه ذره‌ای و شاخص پراکندگی و

68. Polydispersity index (PDI)

69. Sonicator probe

70. Sonication

جدول ۱. اندازه ذره‌ای بارگذاری شده با دارو با دو روش متفاوت بارگذاری

روش بارگذاری دارو	اندازه ذره‌ای (nm)	شاخص پراکندگی ذرات
اینکوپوریشن	۱۲۵	۰/۱۰
	۱۵۳	۰/۲۰
اینکوبیشن	۲۵۴	۰/۰۷
	۳۴۱	۰/۳۰

جدول ۲. درصد بازده بارگذاری دارو و درصد انباشتگی دارو فرمولاسیون‌های نیوزوم ساخته شده

درصد بازده بارگذاری دارو	درصد انباشتگی دارو	اسپن: کلسترول
۴/۹۳±۰/۰۱	۸۷/۰۵±۲/۷۴	۱:۱
۴/۰۸±۰/۰۷	۸۵/۱۶±۱/۵۵	۱:۲
۲/۸۵±۰/۱۰	۷۸/۴۶±۳/۱۰	۱:۴

درصد انباشتگی دارو نشان می‌دهد که بارگذاری دارو به روش اینکوپوریشن در نیوزوم‌های ساخته شده با سه نسبت مختلف، مقدار درصد بازده بارگذاری دارو و درصد انباشتگی داروی قابل قبولی بودند (جدول ۲).

#### بررسی آزادسازی دارو از فرمولاسیون نیوزوم و کینتیک آزادسازی دارو

نتایج حاصل از بررسی آزادسازی داروی گلوکوتاتیون از غشای دیالیزی در محیط بافر فسفات سالین با سه مرتبه تکرار در (شکل ۳) نشان داده شده است و (جدول ۳) نتایج مربوط به انطباق مدل‌های ریاضی رایج بر داده‌های آزادسازی دارو از نیوزوم را نشان می‌دهد. طبق نتایج این جدول، آزادسازی گلوکوتاتیون از نیوزوم از معادله کورسمایر-پیپاس<sup>۷۱</sup> پیروی می‌کند. مقدار توان آزادسازی (n) برابر با ۰/۸۲ است.

#### تهیه فرمولاسیون نیمه جامد گلوکوتاتیون آزمون‌های کنترل کیفیت فرآورده

ژل‌های ساخته شده حاوی نیوزوم‌های با نسبت اسپن ۶۰ به کلسترول ۱:۱، ۱:۲ و ۱:۴، از نظر pH و هدایت‌پذیری جریان الکتریکی تا سه ماه بررسی شدند (شکل ۴). نمونه‌های برداشته شده از ژل‌های ساخته شده در این مطالعه با میانگین pH ۴/۷۱ بودند که متناسب با pH پوست است، همچنین رنگ و بوی این ژل‌ها طی سه ماه بررسی و با نتایج روز اول مقایسه شد که تغییر قابل ملاحظه‌ای مشاهده نگردید.

71. Korsmeier-Peppas

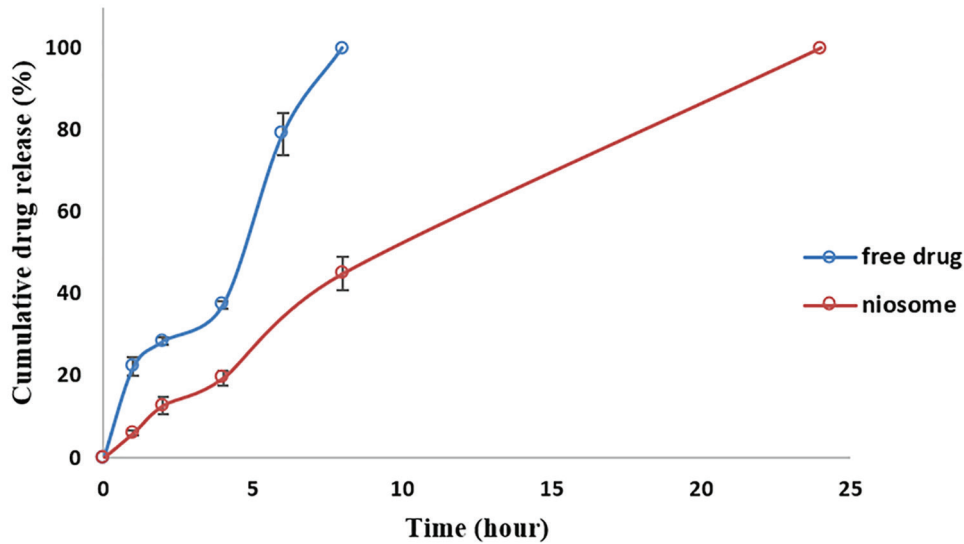
تمام نسبت‌های اسپن به کلسترول شاخص پراکندگی قابل قبول و توزیع اندازه ذره‌ای مناسب داشتند. نیوزوم ساخته شده با نسبت اسپن ۶۰ به کلسترول ۱:۱ اندازه ذره‌ای کمتر از دو نسبت دیگر داشت (۹۸±۰/۰۳ nm در مقابل ۱۳۸±۰/۰۷ nm و ۱۳۱±۰/۰۲ nm).

#### تعیین مشخصات نیوزوم‌های ساخته شده

با توجه به نتایج به دست آمده (شکل ۲، جدول ۱) نیوزوم‌هایی که دارو در آن‌ها از طریق روش اینکوپوریشن بارگذاری شده بود نسبت به نیوزوم‌هایی که دارو در آن‌ها از طریق روش اینکوبیشن بارگذاری گردیده بود، اندازه ذره‌ای و شاخص پراکندگی ذرات مناسب‌تری داشتند و در نتیجه به صورت بالقوه می‌توانند نفوذپذیری و دارورسانی بهتری به پوست داشته باشند. تصویر AFM (شکل ۲) نیوزوم حاوی گلوکوتاتیون نشان می‌دهد که نیوزوم‌ها دارای ساختار کروی‌اند و توزیع اندازه ذره‌ای آن‌ها نیز بین ۱۰۰-۱۰۰۰ nm است.

#### اندازه‌گیری مقدار داروی بارگذاری شده و درصد انباشتگی دارو در نیوزوم

برای بررسی میزان بارگذاری دارو در نیوزوم‌ها سه فرمولاسیون نیوزوم متفاوت با مقدار داروی برابر که نسبت اسپن ۶۰ به کلسترول آن‌ها به ترتیب ۱:۴، ۱:۲ و ۱:۱ بود ساخته شد. درصد بازده بارگذاری دارو و

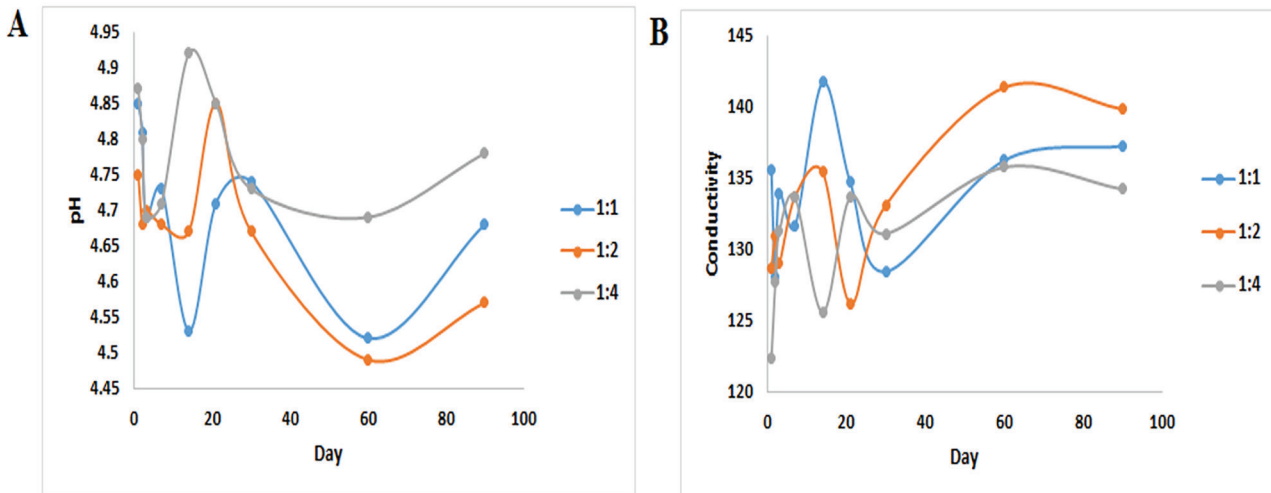


شکل ۳. نتایج آزادسازی گلوکوناتیون طی ۲۴ ساعت

جدول ۳. محاسبات بررسی کینتیک آزادسازی دارو از نیوزوم (E): درصد خطا، NE<5%: مقدار درصد خطاهای کمتر از 5%، NE<10%: مقدار درصد خطاهای کمتر از 10%، NE<12%: مقدار درصد خطاهای کمتر از 12%، NE<20%: مقدار درصد خطاهای کمتر از 20%، AIC: Akaike Information Criterion، 20%: مقدار درصد خطاهای کمتر از 20%.

مدل	E%	NE<5%	NE<10%	NE<12%	NE<20%	AIC
درجه صفر	۱۸/۱۹	۰	۲۰	۴۰	۴۰	-۱۷/۰۹
درجه یک	۱۷/۴۷	۰	۲۰	۲۰	۴۰	-۱۳/۷۹
هیگوچی	۷۰/۲۶	۰	۲۰	۲۰	۴۰	-۹/۰۴
کورسمیر-پپاس	۶/۴۵	۴۰	۶۰	۶۰	۸۰	-۲۲/۶۷

E: درصد خطا، NE<5%: مقدار درصد خطای کمتر از 5%، NE<10%: مقدار درصد خطای کمتر از 10%، NE<12%: مقدار درصد خطای کمتر از 12%، NE<20%: مقدار درصد خطای کمتر از 20%، AIC: شاخص اطلاعات آکائیک



شکل ۴. (A) تغییرات pH و (B) هدایت پذیری جریان الکتریکی ژل های حاوی نیوزوم با نسبت های مختلف اسپن ۶۰ به کلسترول طی ۳ ماه

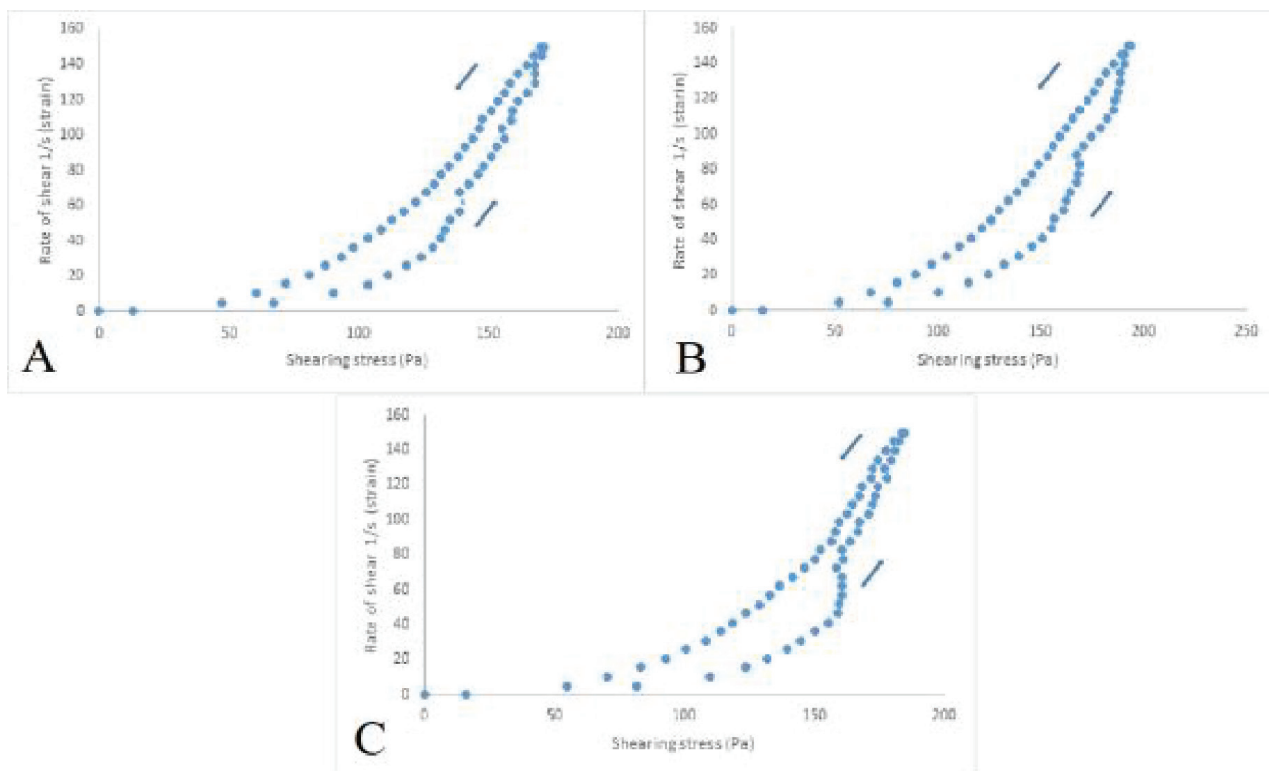
### آزمایش گسترش پذیری

مساحت هاله ایجاد شده از هر یک از ۳ ژل پس از قرارگیری تحت نیروهای ناشی از وزن های مختلف ارزیابی شد (جدول ۴).

### مطالعه گرانی و جریان پذیری فرمولاسیون

نتایج مربوط به ارزیابی ویسکوزیته و جریان پذیری ۳ فرمولاسیون متفاوت از ژل های حاوی نیوزوم های با نسبت اسپن ۶۰ به کلسترول ۱ به ۱، ۱ به ۲، و ۱ به ۴ در (شکل ۵) ارائه شده است.





شکل ۵. (A) جریان پذیری ژل حاوی نیوزوم با نسبت اسپن ۶۰ (۱) به کلسترول (۲)، (B) جریان پذیری ژل حاوی نیوزوم با نسبت اسپن ۶۰ (۱) به کلسترول (۴)، (C) جریان پذیری ژل حاوی نیوزوم با نسبت اسپن ۶۰ (۱) به کلسترول (۱)

جدول ۴. نتایج ارزیابی گسترش پذیری ژل ها

وزن (g)			اسپن: کلسترول
۵۴۲	۲۴۲	۴۲	
(mm <sup>2</sup> ) ۱۸۶۴/۱۱	(mm <sup>2</sup> ) ۱۲۳۶/۳۷	(mm <sup>2</sup> ) ۶۹۲/۱۰	۱:۴
(mm <sup>2</sup> ) ۱۶۳۸/۲۹	(mm <sup>2</sup> ) ۱۱۰۳/۱۸	(mm <sup>2</sup> ) ۵۸۷/۷۰	۱:۲
(mm <sup>2</sup> ) ۱۵۷۱/۵۷	(mm <sup>2</sup> ) ۱۱۲۹/۶۱	(mm <sup>2</sup> ) ۷۵۵/۹۵	۱:۱

جدول ۵. ارزیابی میکروبی فرمولاسیون

نتیجه	بازه قابل قبول	روش سنجش	مرجع	آزمایش
<۱۰	≤۱۰۰	Cultivation and (enumeration) Cfu/g	USP	شمارش میکرواورگانیسیمها
<۱۰	≤۱۰۰	Cfu/g (Spread plate)	USP	شمارش کپکها
<۱۰	≤۱۰۰	Cfu/g (Spread plate)	Mold and yeast 11169	شمارش مخمر
منفی	منفی	Enrichment	E. coli 9933	تشخیص E. coli
منفی	منفی	Enrichment	USP	تشخیص S. aureus
منفی	منفی	Enrichment	USP	تشخیص Candida albicans
منفی	منفی	Enrichment	USP	تشخیص S. aeruginosa

USP: فارماکوپه ایالات متحده آمریکا؛ Cfu/g: واحدهای کلونی ایجاد شده در هر گرم؛ Cultivation and enumeration: روش کشت و شمارش؛ Spread plate: روش پخش کردن در سطح پلیت؛ Enrichment: غنی سازی؛ Mold and yeast 11169: دستورالعمل شماره ۱۱۱۶۹ در خصوص مخمرها؛ E. coli ۹۹۳۳: دستورالعمل شماره ۹۹۳۳ در خصوص ای کولی

مدل کورسمایر-پپاس یک مدل نیمه تجربی است که بیان کننده رابطه نمایی بین زمان و مقدار آزادسازی است. این مدل به طور خاص بیان کننده آزادسازی از ماتریکس های پلیمری مانند هیدروژل ها<sup>۷۹</sup> است (۲۷). مقدار توان آزادسازی (n) در این مدل مشخص کننده آزادسازی دارو است که برابر با ۰/۸۲ است. پپاس مقدار عددی n را برای مشخص کردن مکانیسم های مختلف آزادسازی به کار برد و چنین بیان کرد که  $n \leq 0.5$  نماینده انتشار فیکسی<sup>۸۰</sup> و مقادیر بالاتر بین ۰/۵ و ۱ یا  $n=1$  برای انتقال ماده از طریق مدل غیر فیکسی است (۲۷). با توجه به مقدار n مربوط به فرمولاسیون طراحی شده، آزادسازی دارو ترکیبی از انتشار و فرسایش است به این صورت که احتمال آزادسازی دارو از مکانیسم های فرسایش و تخریب پلیمر بیشتر از انتشار است. این نتیجه گیری با توجه به مقادیر کمتر AIC و %E صورت گرفت. با توجه به مقدار توان آزادسازی، الگوی آزادسازی و انتقال می تواند بر اساس قوانین فیکسی و یا غیر فیکسی باشد و انتقال ذرات می تواند بر اساس انتشار، تورم، فرسایش، و ترکیبی از آنها پیش بینی شود.

فرمولاسیون های ژل معمولاً نسبت به پماد و محلول و کرم ها، پایداری بیشتر و کاربرد آسان تر دارند. ژل می تواند جهت دارورسانی موضعی به نقاط مختلف بدن مورد استفاده قرار گیرد (۲۸). با بررسی فرمولاسیون های آرایشی-بهداشتی با پایه ژل موجود در بازار، پلیمرهای سدیم کربوکسی متیل سلولز و کربومر ۹۳۴ برای ساخت ژل فرمولاسیون انتخاب گردیدند. در مطالعه ای، گوهان<sup>۸۱</sup> و همکارانش ژل پوستی از نیوزوم را برای داروی بنزوئیل پروکساید<sup>۸۲</sup> ساخته و طراحی کردند. در این پژوهش مشخص شد که فرمولاسیون ژل پوستی از نیوزوم طراحی شده به طور بهینه ای می تواند نفوذپذیری پوستی را افزایش دهد و همچنین التهاب و قرمزی را نیز در مقایسه با داروی آزاد بیشتر کاهش دهد (۲۹).

به طور کلی pH پوست انسان اسیدی و به طور میانگین بین ۴/۵ تا ۵/۵ است (۳۰). تغییر در میزان هدایت پذیری جریان الکتریکی می تواند ناشی از تداخلات احتمالی در اجزای فرمولاسیون باشد. رنگ و بوی فرآورده دارویی نباید در طول زمان عمر مفید خود تغییر زیادی از خود نشان دهد. تغییر بو می تواند ناشی از تغییرات میکروبیولوژی، اکسیداسیون مواد معطر و

تعداد میکروب ها، کپک ها، و مخمرها، حضور و یا عدم حضور استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس ائروژنوزا در فرمولاسیون مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۵).

## بحث

یکی از تکنیک های دقیق و کارآمد برای تعیین مقدار گلوکوتیون روش HPLC است. طبق نتایج حاصل از ارزیابی های اعتبارسنجی<sup>۷۳</sup> از جمله اثبات خطی بودن<sup>۷۴</sup>، دقت<sup>۷۴</sup>، صحت<sup>۷۵</sup> و اختصاصی بودن<sup>۷۶</sup> روش مورد استفاده برای آنالیز کمی داروی گلوکوتیون با دستگاه HPLC معتبر است.

در بسیاری از موارد برای تهیه نیوزوم از کلسترول و مشتقات آن استفاده می شود که تجمع سورفکتانت های غیر یونی در محیط آبی وزیکول های دولایه<sup>۷۷</sup> هم مرکز را تشکیل می دهد (۲۳). نمونه های مختلف از نیوزوم هایی که تحت ۲ سیکل ۳۰ ثانیه ای قرار گرفتند، توزیع اندازه ذره ای یکنواخت تر و اندازه ذره ای در محدوده ۱۶۰-۸۰ nm داشتند، در نتیجه به صورت بالقوه می توانند نفوذپذیری و دارورسانی بهتری به پوست داشته باشند. نانوذرات با اندازه ذره ای حدود ۱۰۰ nm بیشترین نفوذپذیری را به درون پوست دارند، و انتخابی ترین حامل ها برای دارورسانی پوستی هستند و از پوست جذب سیستمیک<sup>۷۸</sup> ندارند (۲۴، ۲۵). در نتیجه می تواند نفوذپذیری و دارورسانی بهتری به پوست داشته باشند. دلیل این اندازه ذره ای کمتر نیوزوم می تواند مربوط به بهتر بودن عملکرد کلسترول در افزایش انعطاف پذیری غشاء نیوزوم ها و همچنین ایجاد نیوزوم هایی پایدارتر در این نسبت باشد. به همین دلیل، این نسبت جهت ادامه مراحل انتخاب شد (۲۶).

از بین فرمولاسیون های مختلف ساخته شده، نیوزوم با نسبت اسپن ۶۰ به کلسترول ۱:۱، مقدار درصد انباشتگی دارو و درصد بارگذاری دارو بیشتری دارد که می تواند مربوط به نسبت اسپن ۶۰ به کلسترول خصوصیات فیزیکوشیمیایی مانند آب دوست و چربی دوست بودن بهتری باشد که برای نگه داری دارو در ساختار خود دارد.

72. Validation
73. Linearity
74. Precision
75. Accuracy
76. Specificity
77. Bilayer vesicles
78. Systemic absorption

79. Hydrogels

80. Fickian diffusion

81. Chauhan G et al.

82. Benzoyl peroxide

کمتر از ۱۰ جرم غیرپاتوژن در گرم دارند. همچنین هیچ کدام از ژل‌های ساخته شده پنج میکروپاتوژن را ندارند.

### محدودیت‌های پژوهش

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به بررسی سمیت سلولی فرمولاسیون ساخته شده، بررسی میزان اثر فرمولاسیون بر استرس اکسیداتیو و بررسی میزان نفوذ دارو از فرمولاسیون به لایه‌های مختلف پوست نام برد.

### پیشنهادات پژوهش

با توجه به محدودیت‌های این پژوهش، پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی موارد پایداری شیمیایی گلوکاتینون در فرمولاسیون، امکان فراهم آوردن داده‌های کامل‌تر در مطالعات حیوانی، بررسی اثرات روشن‌کنندگی و ضدچروک فرمولاسیون طراحی شده در مدل‌های حیوانی و بررسی اثرات روشن‌کنندگی و ضدچروک فرمولاسیون طراحی شده در بالین بررسی شوند.

### نتیجه‌گیری

نتایج ارزیابی خصوصیات فرمولاسیون ژل ساخته شده از جمله رنگ، بو، pH، هدایت‌پذیری جریان الکتریکی، گسترش‌پذیری، و آزمایش‌های میکروبیولوژی همگی مطلوب بودند، این یعنی فرمولاسیون ساخته شده شرایط لازم جهت بررسی‌های بعدی و ورود به بالین را دارد.

### تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پژوهش پایان‌نامه دوره دکتری حرفه ای داروسازی آقای محمدمهدی خزاعی با شماره طرح پژوهشی ۱۹۷۴۸ دانشگاه علوم پزشکی شیراز است.

### تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

یا واکنش ماده مؤثره با سایر مواد باشد. مقایسه رنگ و بوی ژل‌های حاوی نیوزوم‌های منتخب طی سه ماه با نتایج روز اول نشان داد که تغییر قابل ملاحظه‌ای ایجاد نشده است.

رئومتر<sup>۸۳</sup> جهت اندازه‌گیری پارامترهایی همچون گرانیوی دینامیک<sup>۸۴</sup>، جریان‌پذیری و تغییر شکل مواد استفاده می‌شود (۳۱). در مواد شبه پلاستیک آستانه تسلیم<sup>۸۵</sup> وجود ندارد یا در صورت وجود ناچیز است. نمودار این موارد غالباً از مبدأ مختصات عبور می‌کند و در هیچ جا نمودار آن‌ها خطی نمی‌شود. بنابراین گرانیوی سیالات شبه پلاستیک یک مقدار مشخص ندارد (۳۲). در هر سه نمودار مربوط به جریان‌پذیری ژل‌های ساخته شده، در ابتدا مقاومتی در مقابل تنش برشی<sup>۸۶</sup> وارد شده وجود داشته، اما به تدریج با افزایش میزان تنش برشی، میزان نرخ برش<sup>۸۷</sup> نیز افزایش یافته است که نشان‌دهنده خاصیت شبه پلاستیک در هر سه ژل است (۳۲). نمودار برگشتی مربوط به هر سه ژل بالای نمودار رفت آن قرار گرفته است که این بیان‌کننده رفتار غیر نیوتونی<sup>۸۸</sup>، گرانیوی کمتر مسیر برگشتی، و در نتیجه خاصیت تیکسوتروپیک<sup>۸۹</sup> ژل‌های ساخته شده است. همان‌گونه که در رئوگرام هر سه ژل مشاهده می‌شود، در لوپ هیسترسیس<sup>۹۰</sup> آن‌ها در قسمت بالارونده، ساختار برآمده<sup>۹۱</sup> مشاهده می‌شود که ظاهری شکم مانند ایجاد کرده است، گمان می‌رود که در ساختار برآمده، صفحات کریستالی ژل ساختار صفحات کاردتی<sup>۹۲</sup> را ایجاد می‌کنند که سبب تورم آن می‌شود و باعث می‌گردد که در نقطه‌ای میزان نرخ برش نسبت به تنش برشی به‌طور ناگهانی افزایش و سپس کاهش بیابد (۳۲).

شرایط مطلوب سطح پوشیده شده توسط ژل زمانی است که مساحت صفحات تحت نیروهای ۴۲، ۲۴۲ و ۵۴۲ به ترتیب از ۳۰۰، ۷۰۰ و ۱۰۰۰ mm<sup>2</sup> بیشتر باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، هر سه ژل ساخته شده ویژگی‌های لازم مطلوب را دارند.

در آزمون میکروبیولوژی، ژل نباید بیش از ۱۰۰ جرم غیر پاتوژن در گرم داشته باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، فرمولاسیون‌های ژل ساخته شده همگی

83. Rheometer
84. Dynamic viscosity
85. Yield point
86. Shear stress
87. Shear rate
88. Non-newtonian behaviour
89. Thixotropic property
90. Hysteresis loop
91. Bulge-shape
92. House of cards structure

## منابع

1. Wollina U, Payne CR. Aging well--the role of minimally invasive aesthetic dermatological procedures in women over 65. *J Cosmet Dermatol*. 2010;9(1):50-8.
2. de Araújo R, Lôbo M, Trindade K, Silva DF, Pereira N. Fibroblast growth factors: a controlling mechanism of skin aging. *Skin pharmacology and physiology*. 2019;32(5):275-82.
3. Imokawa G. Epithelial-mesenchymal interaction mechanisms leading to the over-expression of neprilysin are involved in the UVB-induced formation of wrinkles in the skin. *Exp Dermatol*. 2016;25 Suppl 3:2-13.
4. Ige S, Akhigbe R, Akinsanya A. The role of hyperglycemia in skin wrinkle formation: Mediation of advanced glycation end-products. *Research Journal of Medical Sciences*. 2010;4(5):324-9.
5. Desai SR. Hyperpigmentation therapy: a review. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*. 2014;7(8):13.
6. Alanzi ME, Alghamdi RA, Alsharif OM, Alghamdi KS, El Sayed SM. Health Knowledge, Cosmetic Interests, Attitude, and the Need for Health Education Regarding the Use of Topical Bleaching Agents Among Women in West Saudi Arabia: A Cross-Sectional Study. *J Cosmet Sci*. 2018;69(2):101-20.
7. Olumide YM. Use of skin lightening creams. *British Medical Journal Publishing Group*; 2010.
8. Wang W, Ballatori N. Endogenous glutathione conjugates: occurrence and biological functions. *Pharmacol Rev*. 1998;50(3):335-56.
9. Dilokthornsakul W, Dhippayom T, Dilokthornsakul P. The clinical effect of glutathione on skin color and other related skin conditions: A systematic review. *J Cosmet Dermatol*. 2019;18(3):728-37.
10. Malathi M, Thappa DM. Systemic skin whitening/lightening agents: what is the evidence? *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 2013;79:842.
11. Nakajima H, Nagata T, Koga S, Imokawa G. Reduced glutathione disrupts the intracellular trafficking of tyrosinase and tyrosinase-related protein-1 but not dopachrome tautomerase and Pmel17 to melanosomes, which results in the attenuation of melanization. *Arch Dermatol Res*. 2014;306(1):37-49.
12. Kovacs-Nolan J, Rupa P, Matsui T, Tanaka M, Konishi T, Sauchi Y, et al. In vitro and ex vivo uptake of glutathione (GSH) across the intestinal epithelium and fate of oral GSH after in vivo supplementation. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2014;62(39):9499-506.
13. Kingsley JD, Dou H, Morehead J, Rabinow B, Gendelman HE, Destache CJ. Nanotechnology: a focus on nanoparticles as a drug delivery system. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2006;1(3):340-50.
14. Kavussi HR, Miresmaeili SM, Lotfabadi NN. Niosomes from Preparation to Application in Drug Delivery. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2020.
15. Allen L, Ansel HC. *Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
16. Kaur G, Grewal J, Jyoti K, Jain UK, Chandra R, Madan J. Oral controlled and sustained drug delivery systems: Concepts, advances, preclinical, and clinical status. *Drug targeting and stimuli sensitive drug delivery systems*: Elsevier; 2018. p. 567-626.
17. Behra JS, Mattsson J, Cayre OJ, Robles ES, Tang H, Hunter TN. Characterization of sodium carboxymethyl cellulose aqueous solutions to support complex product formulation: A rheology and light scattering study. *ACS Applied Polymer Materials*. 2019;1(3):344-58.
18. Alanazi AM, Mostafa GA, Al-Badr AA. Glutathione. *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol*. 2015;40:43-158.
19. Ahuja N, Saini V, Bishnoi VK, Garg A, Hisoria M, Sharma J, et al. Formulation and evaluation of lansoprazole niosome. *Rasayan J Chem*. 2008;1(3):561-3.
20. Ourani-Pourdasthi S, Mirzaei E, Heidari R, Ashrafi H, Azadi A. Preparation and evaluation of niosomal chitosan-based in situ gel formulation for direct nose-to-brain methotrexate delivery. *Int J Biol Macromol*. 2022;213:1115-26.
21. Jahanbekam S, Mozafari N, Bagheri-Alamooti

- A, Mohammadi-Samani S, Daneshamouz S, Heidari R, et al. Ultrasound-responsive hyaluronic acid hydrogel of hydrocortisone to treat osteoarthritis. *Int J Biol Macromol*. 2023;240:124449.
22. Ijaz N, Durrani AI, Rubab S, Bahadur S. Formulation and characterization of Aloe vera gel and tomato powder containing cream. *Acta Ecologica Sinica*. 2022;42(2):34-42.
  23. Yeo PL, Lim CL, Chye SM, Ling APK, Koh RY. Niosomes: a review of their structure, properties, methods of preparation, and medical applications. *Asian Biomedicine*. 2017;11(4):301-14.
  24. Choi MJ, Maibach HI. Liposomes and niosomes as topical drug delivery systems. *Skin Pharmacol Physiol*. 2005;18(5):209-19.
  25. Ghasemiyeh P, Azadi A, Daneshamouz S, Heidari R, Azarpira N, Mohammadi-Samani S. Cyproterone acetate-loaded nanostructured lipid carriers: effect of particle size on skin penetration and follicular targeting. *Pharm Dev Technol*. 2019;24(7):812-23.
  26. Ruwizhi N, Aderibigbe BA. The Efficacy of Cholesterol-Based Carriers in Drug Delivery. *Molecules*. 2020;25(18).
  27. Elmas A, Akyüz G, Bergal A, Andaç M, Andaç Ö. Mathematical modelling of drug release. *Research on Engineering Structures and Materials*. 2020;6(4).
  28. Kaur LP. Topical gel: a recent approach for novel drug delivery. *Asian journal of biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2013;3(17):1.
  29. Goyal G, Garg T, Malik B, Chauhan G, Rath G, Goyal AK. Development and characterization of niosomal gel for topical delivery of benzoyl peroxide. *Drug Deliv*. 2015;22(8):1027-42.
  30. Schmid-Wendtner MH, Korting HC. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. *Skin Pharmacol Physiol*. 2006;19(6):296-302.
  31. Macosko CW. *Rheology principles. Measurements and Applications*. 1994.
  32. Sinko PJ. *Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences: Lippincott Williams & Wilkins*; 2023.