



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

توسعه فرمولاسیون نیوزومی انسولین جهت دارورسانی چشمی

توسط:

محمدرضا فدائی

اساتید راهنما:

دکتر عباس پرداختی

دکتر حمید فروتن فر

دکتر سعید احمدزاده



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

Pharm. D Thesis

Title:

**Development of niosomal formulation of insulin for ocular drug
delivery**

By:

Mohammad Reza Fadaei

Supervisors:

**Dr. Abbas Pardakhty
Dr. Hamid Forootanfar
Dr. Saeid Ahmadzadeh**

خلاصه

مقدمه: دیابت نوع ۱ معمولاً با علائم بالینی ناگهانی کمبود انسولین و نیاز به انسولین تزریقی در طول زندگی شناخته می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد شیوع دیابت نوع ۱ در دهه‌های گذشته افزایش داشته و برای مدت‌ها تزریق زیر جلدی، تنها راه تأمین انسولین برای بیماران دیابتی بوده است. در ادامه مطالعاتی بر روی دیگر راه‌های تجویز سیستمیک انسولین مانند تجویز پوستی، خوراکی، استنشاقی و... صورت گرفته اما هر کدام از این مسیرها با مشکلاتی همچون جذب پایین، نبود حامل مناسب و فراهمی زیستی متغیر روبه‌رو شد. در این مطالعه، به بررسی و ساخت فرمولاسیون‌های مناسب جهت دارورسانی چشمی به کمک حامل‌هایی بر پایه سورفکتانت‌های غیریونی (نیوزوم) پرداخته شده است. از آنجا که اندازه ذره‌ای نیوزوم اهمیت بالایی در فرمولاسیون‌های چشمی دارد، مدلی ریاضی جهت تهیه فرمولاسیون‌ها بر پایه اندازه ذره‌ای تهیه و جهت ساخت بهترین فرمولاسیون بکار گرفته شد.

روش‌ها: برای تهیه نیوزوم‌ها پس از طراحی آزمایش توسط نرم‌افزار Design of Expert با کمک روش Thin Film Hydration و از سورفکتانت‌های غیر یونی از خانواده استرهای سوربیتان (Span®) و مشتقات پلی‌اکسی اتیلنه آن (Tween®) و کلسترول در نسبت‌های مولی متفاوت استفاده شده است. پس از ساخت نیوزوم‌ها، کیفیت شکل‌گیری آن‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی گردید. همچنین توزیع اندازه ذره‌ای توسط دستگاه مالورن با تکنیک پراش پرتو لیزر، یک روز، یک هفته، یک ماه و هفت ماه پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ تا ۸ درجه سانتیگراد بررسی شد.

سپس مدلی ریاضی بر پایه نرم‌افزار طراحی آزمایش، تهیه و با توجه به نتایج آن فرمولاسیون منتخب انتخاب گردید. درصد محبوس سازی پس از جداسازی داروی آزاد از داروی محبوس شده در

ساختار نیوزومی با استفاده از سانتیفریوژ در دور ۱۴۰۰۰ و تعیین مقدار به روش الکتروشیمیایی محاسبه و میزان آزادسازی نیز با استفاده از سلول انتشار فرانس بررسی شد.

نتایج: فرمولاسیون‌های با کلسترویل ۴۰ و ۵۰ درصد بهترین پایداری‌های اندازه ذره‌ای را داشته و طی ۷ ماه تغییرات اندکی در نمودارهای اندازه ذره‌ای آن‌ها مشاهده شده است. همچنین طبق مدل طراحی شده که با آزمون‌های نهایی به تأیید رسیده است. فاکتورهای درصد کلسترویل، غلظت انسولین و زمان سونیکیشن نقش مهم و معناداری را در تغییرات اندازه ذره‌ای نیوزوم‌ها داشته است.

نتیجه‌گیری: با توجه به بررسی‌ها پایداری‌های اندازه ذره‌ای و آزادسازی، فرمولاسیون‌های نیوزومال انسولین تهیه شده از نظر تئوری، قابلیت بررسی به عنوان یک فرمولاسیون چشمی مناسب را دارا می‌باشد.

کلمات کلیدی: نیوزوم، انسولین، دیابت، طراحی آزمایش

Abstract

Introduction: Type 1 diabetes is commonly associated with sudden clinical symptoms of insulin deficiency and the need for injectable insulin throughout life. Also, researches show that the prevalence of type 1 diabetes has increased over the past decades and for a long time subcutaneous injection has been the only way to provide insulin for diabetic patients. In the following, studies have been conducted on other methods of systemic administration of insulin such as skin, oral, inhaled, etc. However, each of these routes faced problems such as low absorption, lack of proper carrier and variable bioavailability. In this study, we investigated on development of suitable formulations for ocular drug delivery using carriers based on non-ionic surfactants (niosome). Since the particle size of niosomes is of great importance in ocular formulations, a mathematical model was prepared to prepare the formulations based on particle size and was used to make the best formulations.

Methods: After designing the experiment by Design of Expert software, non-ionic surfactants from Span® family and its polyoxyethylene derivatives (Tween®) and cholesterol were used in different molar ratios to prepare niosomes assisted by thin film hydration method. After making niosomes, the quality of niosome formation was investigated using light microscopy. Also, particle size distribution was investigated by Malvern's device with laser light scattering technique one day, one week, one month and seven months after construction and storage at 4-8 °C. A mathematical model was designed based on experimental design software and according to its results, the best formulation was selected. The percentage of entrapped drug was calculated after separation of free drugs from drugs entrapped in niosome structure by centrifuging at 14000 rpm for 10 minutes.

methods. The release rate was assessed using Franz diffusion cell

Results: formulations with Cholesterol range between 40% and 50% had the best particle size stability and have been observed little changes in their particle size diagrams during 7 months. According to the model that has been approved with final tests. Cholesterol percentage, insulin concentration and sonication time had a significant role in particle size of niosomes.

Conclusion: According to the studies and by investigation of particle size stability and release data, the prepared niosomal insulin formulations have theoretically been able to be used as a suitable ocular formulation.

Keywords: Niosome, Insulin, Diabetes, Experimental Design

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
I.....	خلاصه
IV.....	Abstract
VI.....	فهرست مطالب
VIII	فهرست جدول‌ها
IX.....	فهرست شکل‌ها
۱۰.....	فهرست نمودارها

فصل اول: مقدمه

Error! Bookmark not defined.	۱-۱- پیشگفتار و هدف
Error! Bookmark not defined.	۱-۲- انسولین انسانی و خصوصیات فیزیکوشیمیایی
Error! Bookmark not defined.	۱-۳- دارورسانی چشمی
Error! Bookmark not defined.....	۱-۳-۱- روش‌های تجویز
Error! Bookmark not defined.....	۱-۳-۲- آناتومی چشم
Error! Bookmark not defined.....	۱-۳-۳- مسیر تجویز موضعی در چشم
Error! Bookmark not defined.....	۱-۳-۴- دارورسانی چشمی پتیدها و پروتئین‌ها
Error! Bookmark not defined.....	۱-۴-۳-۱- مزایا و معایب
Error! Bookmark not defined.....	۱-۳-۴-۲- دارورسانی سیستمیک انسولین از مسیر چشمی
	defined.
Error! Bookmark not defined.	۱-۴-۱- نیوزوم‌ها
Error! Bookmark not defined.....	۱-۴-۱- تعریف
Error! Bookmark not defined.....	۱-۴-۲- انواع نیوزوم
Error! Bookmark not defined.....	۱-۴-۳- نیوزوم جهت دارورسانی چشمی
Error! Bookmark not defined.....	۱-۴-۴- مثال‌هایی از نیوزوم‌های چشمی

۱-۵- سنجش های الکتروشیمیایی Error! Bookmark not defined.

۱-۵-۱- انواع و ویژگی ها Error! Bookmark not defined.

۱-۵-۲- حسگرهای الکتروشیمیایی بر پایه خمیر کربن ... Error! Bookmark not defined.

فصل دوم: مواد، روش ها و دستگاه ها

۲-۱- مواد مورد استفاده Error! Bookmark not defined.

۲-۲- خصوصیات فیزیکوشیمیایی مورد استفاده Error! Bookmark not defined.

۳-۲- دستگاه ها و تجهیزات مورد استفاده Error! Bookmark not defined.

۴-۲- روش کار Error! Bookmark not defined.

۱-۴-۲- غربالگری اولیه و طراحی آزمایش Error! Bookmark not defined.

۲-۴-۲- ساخت نیوزوم ها Error! Bookmark not defined.

۳-۴-۲- بررسی خصوصیات فیزیکی نیوزوم های تهیه شده. Error! Bookmark not defined.

۱-۳-۴-۲- بررسی تشکیل نیوزوم ها و مشاهده شکل ظاهری و ساختار فیزیکی Error!

Bookmark not defined.

۲-۳-۴-۲- بررسی پایداری فیزیکی نیوزوم ها Error! Bookmark not defined.

۳-۳-۴-۲- تهیه نمودارهای پایداری اندازه ذره ای نیوزوم ها Error! Bookmark not

defined.

۴-۴-۲- تهیه مدل و انتخاب فرمولاسیون برتر Error! Bookmark not defined.

۲-۴-۵- سنجش انسولین Error! Bookmark not defined.

۱-۴-۵-۲- روش تهیه الکتروکد خمیرکربن اصلاح شده Error! Bookmark not defined.

۲-۵-۴-۲- تهیه نمودار کالیبراسیون الکتروشیمیایی Error! Bookmark not defined.

۶-۴-۲- بررسی درصد محبوس سازی فرمولاسیون انتخابی. Error! Bookmark not defined.

۷-۴-۲- بررسی آزاد سازی انسولین از فرمولاسیون انتخابی. Error! Bookmark not defined.

فصل سوم: نتایج

۱-۳- بررسی های ساختاری نیوزوم های تهیه شده Error! Bookmark not defined.

۱-۳-۱- ویژگی های فرمولاسیون های ساخته شده Error! Bookmark not defined.

- ۳-۱-۲- نتایج مشاهده میکروسکوپی فرمولاسیون‌ها.....**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۲- نتایج اندازه ذره‌ای**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۲-۱- جدول میانگین‌های اندازه ذره‌ای**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۲-۲- نمودارهای پایداری اندازه ذره‌ای**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۳- نتایج طراحی مدل**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۳-۱- خلاصه طراحی**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۳-۲- مدل طراحی شده به کمک نرم‌افزار**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۳-۳- داده‌های آماری مرتبط با مدل**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۳-۳-۱- جدول ANOVA**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۳-۳-۲- داده‌های تکمیلی**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۳-۴- نمودارهای تداخل فاکتورها**Error! Bookmark not defined.**
- ۵-۳-۳- نمودارهای سه‌بعدی مدل**Error! Bookmark not defined.**
- ۴-۳- نتایج سنجش انسولین**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۴-۱- سنجش الکتروشیمیایی**Error! Bookmark not defined.**
- ۱-۱-۴-۳- نمودار جریان در مقابل پتانسیل عمل در غلظت‌های مختلف انسولین **Error!**
- Bookmark not defined.**
- ۳-۴-۱-۲- رسم منحنی استاندارد سنجش الکتروشیمیایی انسولین **Error! Bookmark not**
defined.
- ۳-۱-۴-۳- بررسی دقت**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۴-۱-۴- بررسی صحت**Error! Bookmark not defined.**
- ۵-۳- بررسی درصد محبوسسازی فرمولاسیون منتخب**Error! Bookmark not defined.**
- ۳-۶- بررسی نمودار آزادسازی انسولین از فرمولاسیون منتخب.**Error! Bookmark not defined.**

فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

- ۴-۱- بحث و نتیجه‌گیری**Error! Bookmark not defined.**
- ۴-۱-۱- بررسی ساخت و شکل‌گیری نیوزوم‌ها**Error! Bookmark not defined.**

۴-۱-۲- پایداری نیوزوم‌ها و عوامل مؤثر.....**Error! Bookmark not defined.**

۴-۱-۳- بررسی مدل و داده‌های آماری حاصل از نرم‌افزار.....**Error! Bookmark not defined.**

۴-۱-۴- انتخاب فرمولاسیون برتر.....**Error! Bookmark not defined.**

۴-۱-۵- بررسی آزادسازی و درصد محبوس‌سازی در فرمولاسیون برتر **Error! Bookmark**

not defined.

۴-۲- پیشنهادات.....**Error! Bookmark not defined.**

منابع

منابع..... ۱۲

فهرست جدول‌ها

صفحه	عنوان
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	جدول ۱-۲- مواد مورد استفاده
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	جدول ۲-۲- خصوصیات فیزیکوشیمیایی مورد استفاده
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	جدول ۳-۲- دستگاه‌ها و تجهیزات مورد استفاده
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	جدول ۴-۲- فرمولاسیون‌های طراحی شده توسط نرم‌افزار DOE
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	جدول ۵-۲- درصد اجزا هر فرمولاسیون
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	جدول ۱-۳- نتایج بررسی‌های میکروسکوپی فرمولاسیون‌ها
ERROR!	جدول ۲-۳- نتایج حاصل از بررسی اندازه ذره‌ای (میکرومتر) با دستگاه مالورن
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	جدول ۳-۳- خلاصه طراحی، فاکتورها و سطوح آن‌ها
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	جدول ۴-۳- خلاصه پاسخ‌ها و داده‌های مربوطه
ERROR!	جدول ۵-۳- داده‌های مربوط به تعیین غلظت انسولین با روش الکتروشیمیایی
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	جدول ۶-۳- بررسی صحت اندازه‌گیری
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	جدول ۷-۳- درصد محبوسسازی فرمولاسیون منتخب

فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۱-۱- ساختار چشم و قسمت‌های مختلف آن
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۲-۱- مسیر عبور دارو از طریق تجویز موضعی در چشم
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۳-۱- انواع نیوزوم‌ها از نظر ساختار.....
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۱-۲- شمایی از الکتروکدکسیمیتر ساخته شده و مراحل ساخت آن
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۱-۳- تصاویر میکروسکوپی فرمولاسیون‌های نیوزومی حاوی انسولین
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۲-۳- معادله نهایی مدل طراحی شده.....
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۳-۳- خروجی جدول ANOVA مرتبط با مدل در نرم‌افزار
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۴-۳- داده‌های آماری تکمیلی مدل.....
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۵-۳- تداخل دو فاکتور درصد کلسترول و غلظت انسولین
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۶-۳- تداخل دو فاکتور درصد کلسترول و زمان سونیکیشن
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۷-۳- نمودار سه‌بعدی تداخل تأثیر دو فاکتور درصد کلسترول و زمان سونیکیشن بر اندازه ذره‌ای
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	شکل ۸-۳- نمودار سه‌بعدی تداخل دو فاکتور درصد کلسترول و غلظت انسولین

فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
	نمودار ۱-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۱ در یک روز، هفت روز و یک ماه پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۲-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۲ در یک روز، هفت روز، یک ماه و هفت ماه پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۳-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۳ در یک روز، هفت روز، یک ماه و هفت ماه پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۴-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۴ در یک روز، هفت روز، یک ماه و هفت ماه پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۵-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۵ در یک روز، هفت روز، یک ماه و هفت ماه پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۶-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۶ در یک روز، هفت روز و یک ماه پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۷-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۷ در یک روز، هفت روز، یک ماه و هفت ماه پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۸-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۸ در یک روز، هفت روز، یک ماه و هفت ماه پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
	نمودار ۹-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۹ در یک روز، هفت روز، یک ماه و هفت ماه پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۱۰-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۱۰ در یک روز، هفت روز، یک ماه و هفت ماه
پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

نمودار ۱۱-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۱۱ در یک روز، هفت روز، یک ماه و هفت ماه
پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

نمودار ۱۲-۳- توزیع اندازه ذره‌ای فرمولاسیون ۱۲ در یک روز، هفت روز، یک ماه و هفت ماه
پس از ساخت و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

نمودار ۱۳-۳- مقایسه‌ای اندازه ذره‌ای پس از یک هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۱۴-۳- جریان در مقابل پتانسیل برای غلظت‌های مختلف انسولین
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

نمودار ۱۵-۳- منحنی استاندارد انسولین رگولار. **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

نمودار ۱۶-۳- نمودار آزادسازی فرمولاسیون منتخب **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

منابع

- [1] Easa N, Alany RG, Carew M, Vangala A. A review of non-invasive insulin delivery systems for diabetes therapy in clinical trials over the past decade. **Drug Discov Today** 2019; 24:440-51.
- [2] Chan J, Cheng-Lai A. Inhaled Insulin. **Cardiol Rev** 2017; 25:140-6.
- [3] Shen Y, Prinyawiwatkul W, Xu Z. Insulin: a review of analytical methods. **Anal** 2019; 144:4139-48.
- [4] Brange J, Langkjær L. **Insulin structure and stability. Stability and characterization of protein and peptide drugs.** US: Springer, 1993:315-50.
- [5] Wong CY, Martinez J, Dass CR. Oral delivery of insulin for treatment of diabetes: status quo, challenges and opportunities. **J Pharm Pharmacol** 2016; 68:1093-108.
- [6] Tsai C-H, Wang P-Y, Lin I, Huang H, Liu G-S, Tseng C-L. Ocular drug delivery: Role of degradable polymeric nanocarriers for ophthalmic application. **Int J Mol Sci** 2018; 19:2830.
- [7] Bruno BJ, Miller GD, Lim CS. Basics and recent advances in peptide and protein drug delivery. **Ther Deliv** 2013; 4:1443-67.
- [8] Bamiro OA, Ubale RV, Addo RT. **Background of ocular drug delivery. Ocular drug delivery: advances, challenges and applications.** USA: Springer, 2016:1-9.
- [9] Muheem A, Shakeel F, Jahangir MA, Anwar M, Mallick N, Jain GK, *et al.* A review on the strategies for oral delivery of proteins and peptides and their clinical perspectives. **Saudi Pharm J** 2016; 24:413-28.

- [10] Ahmed I, Patton TF. Disposition of timolol and inulin in the rabbit eye following corneal versus non-corneal absorption. **Int J Pharm** 1987;38:9-21.
- [11] Olsen TW, Edelhauser HF, Lim JI, Geroski DH. Human scleral permeability. effects of age, cryotherapy, transscleral diode laser, and surgical thinning. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 1995;36:1893-903.
- [12] Stratford Jr RE, Yang DC, Redell MA, Lee VH. Effects of topically applied liposomes on disposition of epinephrine and inulin in the albino rabbit eye. **Int J Pharm** 1983; 13:263-72.
- [13] Chiou GC, CHUANG CY, CHANG MS. Systemic delivery of insulin through eyes to lower the glucose concentration. **J Ocul Pharmacol Ther** 1989; 5:81-91.
- [14] Chen S, Hanning S, Falconer J, Locke M, Wen J. Recent advances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes): fabrication, characterization, pharmaceutical and cosmetic applications. **Eur J Pharm Biopharm** 2019; 144:18-39.
- [15] Zeng W, Li Q, Wan T, Liu C, Pan W, Wu Z, *et al.* Hyaluronic acid-coated niosomes facilitate tacrolimus ocular delivery: Mucoadhesion, precorneal retention, aqueous humor pharmacokinetics, and transcorneal permeability. **Colloids and Surfaces B** 2016; 141:28-35.
- [16] Durak S, Esmaili Rad M, Alp Yetisgin A, Eda Sutova H, Kutlu O, Cetinel S, *et al.* Niosomal drug delivery systems for ocular disease recent advances and future prospects. **Nanomaterials** 2020; 10:1191.
- [17] Prabhu P, Kumar RN, Koland M, Harish N, Vijayanarayan K, Dhondge G, *et al.* Preparation and evaluation of nano-vesicles of brimonidine tartrate as an ocular drug delivery system. **J Young Pharm** 2010; 2:356-61.
- [18] Guinedi AS, Mortada ND, Mansour S, Hathout RM. Preparation and evaluation of reverse-phase evaporation and multilamellar niosomes as ophthalmic carriers of acetazolamide. **Int J Pharm** 2005; 306:71-82.
- [19] Abdelkader H, Ismail S, Kamal A, Alany RG. Design and evaluation of controlled-release niosomes and discomes for naltrexone hydrochloride ocular delivery. **J Pharm Sci** 2011; 100:1833-46.
- [20] Gaafar PM, Abdallah OY, Farid RM, Abdelkader H. Preparation, characterization and evaluation of novel elastic nano-sized niosomes (ethoniosomes) for ocular delivery of prednisolone. **J Liposome Res** 2014; 24:204-15.
- [21] Fetih G. Fluconazole-loaded niosomal gels as a topical ocular drug delivery system for corneal fungal infections. **J Drug Deliv Sci Technol** 2016; 35:8-15.

- [22] Abdelbary A, Salem HF, Khallaf RA, Ali AM. Mucoadhesive niosomal *in situ* gel for ocular tissue targeting: *in vitro* and *in vivo* evaluation of lomefloxacin hydrochloride. **Pharm Dev Technol** 2017; 22:409-17.
- [23] Allam A, El-Mokhtar MA, Elsabahy M. Vancomycin-loaded niosomes integrated within pH-sensitive in-situ forming gel for treatment of ocular infections while minimizing drug irritation. **J Pharm Pharmacol** 2019; 71:1209-21.
- [24] Ramadan AA, Eladawy SA, El-Enin ASMA, Hussein ZM. Development and investigation of timolol maleate niosomal formulations for the treatment of glaucoma. **J Pharm Investig** 2020; 50:59-70.
- [25] Asadian E, Ghalkhani M, Shahrokhian S. Electrochemical sensing based on carbon nanoparticles: a review. **Sens Actuators B Chem** 2019; 293:183-209.
- [26] Labib M, Sargent EH, Kelley SO. Electrochemical methods for the analysis of clinically relevant biomolecules. **Chem Rev** 2016; 116:9001-90.
- [27] Budnikov G. Electrochemical methods of analysis. **J Anal Chem** 2000; 55:1007.
- [28] Kalcher K, Kauffmann JM, Wang J, Švancara I, Vytrás K, Neuhold C, *et al.* Sensors based on carbon paste in electrochemical analysis: a review with particular emphasis on the period 1990–1993. **Electroanalysis** 1995;7:5-22.
- [29] Švancara I, Vytrás K, Kalcher K, Walcarius A, Wang J. Carbon paste electrodes in facts, numbers, and notes: a review on the occasion of the 50-years jubilee of carbon paste in electrochemistry and electroanalysis. **Electroanalysis** 2009;21:7-28.
- [30] Bhardwaj P, Tripathi P, Gupta R, Pandey S. Niosomes: A review on niosomal research in the last decade. **J Drug Deliv Sci Technol** 2020; 56:101581.
- [31] Sadeghi S, Ehsani P, Cohan RA, Sardari S, Akbarzadeh I, Bakhshandeh H, *et al.* Design and physicochemical characterization of lysozyme loaded niosomal formulations as a new controlled delivery system. **Pharm Chem J** 2020; 53:921-30.
- [32] Basiri L, Rajabzadeh G, Bostan A. Physicochemical properties and release behavior of Span 60/Tween 60 niosomes as vehicle for α -tocopherol delivery. **LWT** 2017; 84:471-8.
- [33] Moazeni E, Gilani K, Sotoudegan F, Pardakhty A, Najafabadi AR, Ghalandari R, *et al.* Formulation and *in vitro* evaluation of ciprofloxacin containing niosomes for pulmonary delivery. **J Microencapsul** 2010; 27:618-27.
- [34] Ricci M, Giovagnoli S, Blasi P, Schoubben A, Perioli L, Rossi C. Development of liposomal capreomycin sulfate formulations: effects of formulation variables on peptide encapsulation. **Int J Pharm** 2006; 311:172-81.

- [35] Vangala A, Kirby D, Rosenkrands I, Agger EM, Andersen P, Perrie Y. A comparative study of cationic liposome and niosome-based adjuvant systems for protein subunit vaccines: characterisation, environmental scanning electron microscopy and immunisation studies in mice. **J Pharm Pharmacol** 2006; 58:787-99.
- [36] Aulton ME, Taylor KM. **Aulton's Pharmaceutics E-Book: The Design and Manufacture of Medicines**. New York: Elsevier Health Sciences, 2017: 84-95.
- [37] Nowroozi F, Almasi A, Javidi J, Haeri A, Dadashzadeh S. Effect of surfactant type, cholesterol content and various downsizing methods on the particle size of niosomes. **Iran J Pharm Res** 2018; 17:1.
- [38] Nematollahi MH, Pardakhty A, Torkzadeh-Mahanai M, Mehrabani M, Asadikaram G. Changes in physical and chemical properties of niosome membrane induced by cholesterol: a promising approach for niosome bilayer intervention. **RSC Adv** 2017; 7:49463-72.
- [39] Ghafelehbashi R, Akbarzadeh I, Yaraki MT, Lajevardi A, Fatemizadeh M, Saremi LH. Preparation, physicochemical properties, in vitro evaluation and release behavior of cephalexin-loaded niosomes. **Int J Pharm** 2019;569:118580.
- [40] Samed N, Sharma V, Sundaramurthy A. Hydrogen bonded niosomes for encapsulation and release of hydrophilic and hydrophobic anti-diabetic drugs: an efficient system for oral anti-diabetic formulation. **Appl Surf Sci** 2018; 449:567-73.
- [41] Momoh MA, Akpa PA, Ugwu KC, Kenekwue FC, Kenneth OC. Pharmacodynamics and pharmacokinetics behaviour of insulin from PEGylated-mucin microparticles coated with pH sensitive polymer: preparation and characterization. **Mater Today Commun** 2020; 25:101539.
- [42] Varshosaz J, Pardakhty A, Hajhashemi V-i, Najafabadi AR. Development and physical characterization of sorbitan monoester niosomes for insulin oral delivery. **Drug Deliv** 2003; 10:251-62.
- [43] Ning M, Guo Y, Pan H, Yu H, Gu Z. Niosomes with sorbitan monoester as a carrier for vaginal delivery of insulin: studies in rats. **Drug Deliv** 2005; 12:399-407.
- [44] Pardakhty A, Varshosaz J, Rouholamini A. *In vitro* study of polyoxyethylene alkyl ether niosomes for delivery of insulin. **Int J Pharm** 2007; 328:130-41.

