



Journal of Applied Research in Chemical-Polymer Engineering

journal homepage: www.arcpe.modares.ac.ir

Research Paper

Liposomal Sucrosomial Iron with Enhanced Stability and Bioavailability

Zahra Talebzadeh¹, Fariba Ganji^{1,*}, Mohammad Jafar Abdekhodaie²

¹ Biomedical Engineering Group, Faculty of Chemical Engineering, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

² Biomedical Engineering Group, Chemical and Petroleum Engineering, Sharif University of Technology, Tehran, Iran

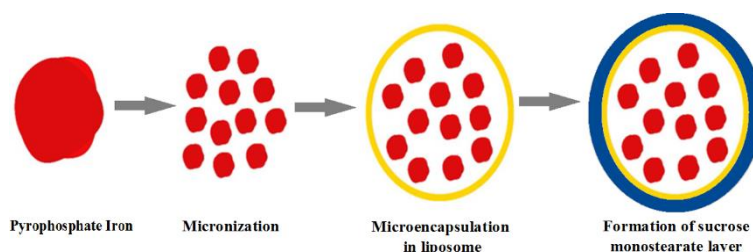
ARTICLE INFO

Received 2025-02-19
Revised 2026-04-22
Accepted 2026-04-26
Available online 2026-05-12
ISSN: 2588-5316
Online ISSN: 2588-5324

Keywords:

Iron Deficiency
Liposome
Sucrosome
Bioavailability
Pyrophosphate iron

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

Research subject: Microencapsulation technology is an effective approach to address the challenges of treating iron deficiency using oral supplements, as it not only prevents the adverse effects associated with the presence of iron in the gastrointestinal tract but also significantly improves the bioavailability of iron salts. The main aim of this study is to prepare the sucrosomial iron formulation by the heating method and then optimize the final formulation in terms of its composition (its components and their percentage, especially the percent loading of Iron in the sucrosomial iron formulation) and in terms of performance (increasing stability and absorption in the gastrointestinal tract).

Research approach: In order to achieve the highest percentage of iron loading, the concentrations of lecithin, sucrose monostearate and iron pyrophosphate were optimized, taking into account the rate of increase in stability and permeation of the intestinal mucosa under *ex vivo* conditions. The final sucrose formulation, consisting of soy lecithin, iron pyrophosphate, sucrose monostearate and pre-gelatinized starch, was prepared with initial concentrations of 0.5, 0.1, 1 and 2 (%w/v), respectively, and its characteristics were determined.

Main results: Iron loading efficiency was calculated $10.87\% \pm 0.34$. Liposomal iron and sucrosomial iron had an average size of $1.3 \mu\text{m}$ and $1.9 \mu\text{m}$, respectively, with a potential of -43 mV and -10 mV . TEM results confirmed the formation of two phospholipid layers in liposomal iron. In the acidic environment of the stomach under *in vitro* conditions, more than 80% of the pyrophosphate iron remained encapsulated in the prepared sucrosomial formulation. Also, the percent of iron permeation from the intestinal mucosa in *ex vivo* conditions was calculated to be $46.1 \pm 2.21\%$ in 4 hours. The results showed that the final formulation exhibited significant results in terms of iron loading, increasing the stability and diffusion of iron pyrophosphate from the intestinal mucosa.

* Corresponding author: fganji@modares.ac.ir – ORCID: 0000-0003-0714-5213



نشریه پژوهش‌های کاربردی مهندسی شیمی- پلیمر

آدرس صفحه: www.arcpe.modares.ac.ir

مقاله تحقیقاتی

افزایش پایداری و زیست‌فراهمی فرمول‌بندی لیپوزومی آهن ساکرستری

زهره طالب‌زاده^۱، فریبا گنجی^{۱*}، محمدجعفر عبدخدایی^۲

^۱ گروه مهندسی پزشکی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۲ گروه مهندسی پزشکی، دانشکده مهندسی شیمی و نفت، دانشگاه صنعتی شریف، تهران، ایران

چکیده

موضوع تحقیق: فناوری ریزکپسوله‌سازی، رویکردی مؤثر برای حل مشکلات درمان کمبود آهن با استفاده از مکمل‌های خوراکی است که هم از بروز اثرات منفی حضور آهن در دستگاه گوارش جلوگیری می‌کند و هم فراهمی زیستی نمک آهن را تا حد قابل توجهی بهبود می‌بخشد. هدف از این پژوهش، تهیه فرمول‌بندی آهن ساکروزومی به روش حرارتی و بهینه‌سازی فرمول‌بندی نهایی هم از نظر ترکیب (اجزای تشکیل‌دهنده و میزان بازده بارگذاری آهن) و هم از نظر عملکرد (افزایش پایداری و جذب آهن در محیط دستگاه گوارش) است.

روش تحقیق: به منظور دستیابی به بالاترین درصد بارگذاری آهن، غلظت لسیتین، ساکروزومونواستئارات و آهن پیروفسفات با در نظر گرفتن میزان افزایش پایداری و نفوذ از مخاط روده‌ای در شرایط برون‌تنی، بهینه‌سازی شد. فرمول‌بندی ساکروزومی نهایی متشکل از لسیتین سویا، آهن پیروفسفات، ساکروزومونواستئارات و نشاسته پیش‌ذاتینه به ترتیب با غلظت‌های اولیه ۰/۵، ۰/۱، ۱ و ۲ درصد وزنی-حجمی تهیه و مشخصات آن تعیین شد.

نتایج اصلی: بازده بارگذاری آهن $10/87 \pm 0/34$ ٪ محاسبه شد. آهن لیپوزومی و آهن ساکروزومی به ترتیب دارای اندازه متوسط $1/3 \mu m$ و $1/9 \mu m$ و پتانسیل زتا $43 mV$ و $10 mV$ بودند. نتایج TEM تشکیل دو لایه فسفولیپیدی در آهن لیپوزومی را تأیید کرد. در محیط اسیدی معده و در شرایط آزمایشگاهی، بیش از ۸۰ درصد آهن پیروفسفات به صورت ریزکپسوله در فرمول‌بندی ساکروزومی تهیه شده باقی ماند. همچنین درصد نفوذ آهن از مخاط روده در شرایط برون‌تنی در مدت ۴ ساعت $46/1 \pm 2/21$ ٪ محاسبه شد. نتایج نشان داد که فرمول‌بندی به دست آمده از نظر میزان بارگذاری آهن پیروفسفات در آن، همچنین، پایداری و جذب در دستگاه گوارش عملکرد مناسبی داشته است.

کلیدواژه‌ها

کمبود آهن

لیپوزوم

ساکروزوم

فراهمی زیستی

آهن پیروفسفات

اطلاعات مقاله

دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۰۱

بازنگری: ۱۴۰۵/۰۲/۰۲

پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۰۶

دسترس آنلاین: ۱۴۰۵/۰۲/۲۲

ISSN: 2588-5316

Online ISSN: 2588-5324

* نویسنده مسئول: fganji@modares.ac.ir - ORCID: 0000-0003-0714-5213

کپی‌رایت © ۲۰۲۵، نویسندگان. این مقاله به صورت دسترسی آزاد منتشر شده و تحت مجوز بین‌المللی Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 قرار دارد. بر اساس این مجوز، شما می‌توانید این مطلب را در هر قالب و رسانه‌ای کپی، بازنشر و بازآفرینی کنید و یا آن را ویرایش و بازسازی نمایید، به شرط آنکه نام نویسنده را ذکر کرده و از آن برای مقاصد غیرتجاری استفاده کنید.

۱ مقدمه

آهن ماده‌ای مغذی، معدنی و ضروری است که در عملکردهای فیزیولوژیکی متعددی مانند انتقال اکسیژن، تولید انرژی، سوخت‌وساز سلولی، ایمنی بدن و غیره نقش دارد. کمبود آهن یکی از شایع‌ترین کمبودهای غذایی است. مهم‌ترین عارضه کمبود آهن، کم‌خونی ناشی از آن است [۲۰]. در سطح جهان بیش از دو میلیارد نفر از کم‌خونی ناشی از کمبود آهن (Iron Deficiency Anaemia, IDA) رنج می‌برند. بسته به شرایط، کمبود آهن می‌تواند با مکمل‌های آهن خوراکی، تزریق وریدی آهن و تزریق خون درمان شود. مکمل‌های آهن خوراکی به دلیل دردسترس بودن، سهولت مصرف، ایمنی و هزینه نسبتاً کم، اولین گزینه درمانی برای IDA هستند. نمک آهن خوراکی، معمولاً با دوز بالا (۲۰۰-۱۰۰ میلی گرم آهن عنصری) و میزان مصرف ۱-۳ بار در روز تجویز می‌شود. با این حال نمک‌های معمولی آهن تنها ۱۰-۱۵ درصد جذب (Absorption) می‌شوند و می‌توانند منجر به عوارض جانبی مهمی از جمله سوزش معده، حالت تهوع، یبوست و تغییرات رنگ مدفوع و در نتیجه پذیرش ضعیف و کنار گذاشتن درمان شوند. فناوری ریزکپسوله‌سازی (Micro-encapsulation) نمک‌های آهن، رویکردی مؤثر برای حل مشکلات درمان کمبود آهن با استفاده از مکمل‌های خوراکی است که از این اثرات منفی جلوگیری می‌کند [۳].

استفاده از حامل‌های لیپوزومی نوع خاصی از روش کپسوله‌سازی است که به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته و به‌عنوان سامانه دارورسانی توسعه یافته است [۴]. لیپوزوم‌ها با محافظت از نمک آهن کپسوله‌شده در خود، از تخریب آن در دستگاه گوارش جلوگیری می‌کنند و طعم نامطلوب آن را بهبود می‌بخشند. همچنین با افزایش جذب از طریق مسیر لنفاوی، منجر به افزایش زیست‌فراهمی در مقایسه با نمک‌های آهن خوراکی تجاری رایج می‌شوند [۵، ۶]. اما محدودیت‌هایی از جمله عدم پایداری لیپوزوم‌ها در شرایط دستگاه گوارش به دلیل تغییرات pH، حضور نمک‌های صفر و آنزیم‌ها و همچنین نفوذ و انتشار آن‌ها از میان لایه مخاط همواره مشکل‌ساز بوده است.

ساکروزوم، فناوری نوآورانه‌ای متشکل از غشای فسفولیپیدی و شبکه ساکروزاستراسید چرب (ساکروستر) (Sucrosome, phospholipid bilayer plus a sucrose matrix) است. فرمول‌بندی‌های بر پایه فناوری ساکروزوم برای مواد معدنی آهن، منیزیم و سلنیوم و روی، وارد بازار شده‌اند. ساکروسترها از استری شدن گروه متیل اسید چرب با ساکروز به‌دست می‌آیند. بخش ساکروتری نقش اصلی را در محافظت از تجزیه ساکروزوم ایفا می‌کند و به افزایش جذب و دسترس‌پذیری زیستی عناصر معدنی کمک می‌کند. ساکروزاسترها‌های اسیدچرب، مواد فعال سطحی هستند که در صنایع دارویی و به‌ویژه صنایع غذایی استفاده می‌شوند. همچنین غشای فسفولیپیدی ساکروزوم از نظر خصوصیات بسیار مشابه غشاهای سلولی است که اجازه عبور راحت از غشاهای زیستی را فراهم می‌کند [۳، ۷]. فرمول‌بندی ساکروزومی آهن به‌طور قابل توجهی فارماکوکینتیک (جذب و متابولیسم درون بدن) آن را تغییر می‌دهد. ساکروزوم توسط Mcells (سلول‌های میکرو Microfold Cells) که در بافت لنفاوی مرتبط با روده و مخاط وجود دارند جذب می‌شود. آهن ساکروزومی از طریق گردش لنفاوی به‌طور مستقیم به

کبد حمل می‌شود و در کبد توسط اعمال آنزیمی به بخش‌های کوچک‌تر شکسته شده، مواد معدنی خود را آزاد می‌کند. بنابراین فراهمی زیستی آهن در این فرمول‌بندی، در مقایسه با سایر محصولات افزایش می‌یابد [۸، ۷]. هدف اصلی از این پژوهش، تهیه و بهینه‌سازی فرمول‌بندی آهن ساکروزومی با استفاده از لیپوزوم‌های ساکروتری است. به‌منظور دستیابی به بالاترین درصد بارگذاری آهن، ابتدا غلظت اولیه لیسیتین و آهن پیروفسفات بهینه شدند. سپس درصد ساکروزومونواسترات با در نظر گرفتن میزان افزایش پایداری و نفوذ از مخاط روده‌ای در شرایط برون‌تنی، انتخاب شد. در انتها، پایداری فرمول‌بندی لیپوزومی در شرایط اسیدی معده و همچنین میزان نفوذ آهن از مخاط روده موش در شرایط برون‌تنی مورد بررسی قرار گرفت.

۲ بخش تجربی

۲-۱ مواد

نمک آهن پیروفسفات (Sigma، آمریکا)، لیسیتین سویا (E322) آب‌کافت‌نشده با خلوص ۹۸٪ (Lecico، آلمان)، ساکروزومونواسترات با ۱۵ HLB با خلوص ۹۹٪ (Alfa Aesar، آمریکا)، نشاسته پیش‌ژلاتینه ذرت (پارس خوشه‌پرداز، ایران)، گلیسرول (قطران شیمی، ایران)، کلروفرم (Merck، آلمان) و هیدروکلریک‌اسید ۳۷٪ (Sigma، آمریکا) مواد مورد استفاده در این تحقیق هستند.

۲-۲ روش آزمایش

از آنجایی که غلظت اولیه لیسیتین و آهن پیروفسفات، دو عامل مهم و مؤثر بر بازده بارگذاری آهن هستند، ابتدا این دو متغیر (در غلظت ثابتی از ساکروزومونواسترات و نشاسته پیش‌ژلاتینه) بهینه‌سازی شدند. سپس درصد اولیه ساکروزومونواسترات با در نظر گرفتن میزان افزایش پایداری در محیط اسیدی معده و نفوذ از مخاط روده در شرایط برون‌تنی، انتخاب شد. در همه فرمول‌بندی‌ها درصد نشاسته پیش‌ژلاتینه، ثابت و برابر ۱ درصد در نظر گرفته شد. زیرا نشاسته، نقش ماده دیواره‌ای غیر جاذب را برای تولید فرمول‌بندی پودری ایفا می‌کند. پس از تعیین درصدهای بهینه آهن پیروفسفات، لیسیتین و ساکروزومونواسترات، فرمول‌بندی نهایی تهیه و مشخصات آن تعیین شد.

۲-۲-۱ تهیه و مشخصه‌یابی آهن ساکروزومی

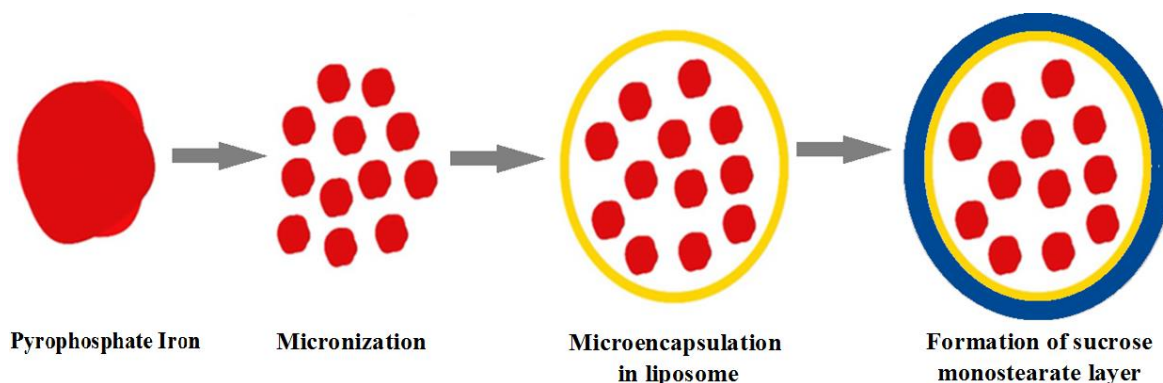
برای تهیه فرمول‌بندی آهن ساکروزومی، لازم است سه مرحله میکرونیزه کردن، ریزکپسوله‌سازی و تشکیل لایه ساکروزومونواسترات انجام شود (شکل ۱). میکرونیزه کردن با استفاده از دو دستگاه همگن‌ساز (IKA, Germany) دور بالا با دور ۱۵۰۰۰ rpm و برای مدت‌زمان (۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه) و روبش‌گر فرا آوا (اولتراسونیک) (توسعه‌ی فناوری‌های مافوق‌صوت، ایران) با توان ۳۰۰ وات و برای مدت‌زمان (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) انجام شد. سپس اندازه و توزیع اندازه ذرات با استفاده از دستگاه (Horiba Jobin DLS Jyovi, Japan) تعیین شد.

در مرحله دوم، میکروذرات آهن پیروفسفات در لیپوزوم‌های متشکل از لیسیتین سویا ریزکپسوله شدند. برای این منظور، مقادیر مورد نیاز از لیسیتین

۴۵۰۰ جدا شدند. تعلیق لیپوزومی تهیه‌شده در یخچال و در دمای 4°C نگهداری شد.

در مرحله آخر به‌منظور تشکیل آهن ساکروزومی، لازم است لیپوزوم‌های آهن در محلول ساکروزومونواسترات، پراکنده شوند. ابتدا مقادیر موردنظر ساکروزومونواسترات (مطابق جدول ۱) به محیط تعلیق اضافه شد و به مدت ۱ ساعت توسط همزن مغناطیسی در دمای محیط مخلوط شدند تا لایه ساکرستری به‌طور کامل روی سطح آهن لیپوزومی را بپوشاند. سرانجام تعلیق ساکروزومی در یخچال و در دمای 4°C نگهداری شد.

سویا مطابق جدول ۱ در بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری با اضافه کردن ۱۰۰ میلی‌لیتر آب یون‌زدوده برای مدت‌زمان ۲ ساعت در دمای اتاق با استفاده از همزن مغناطیسی، آبدار شد. سپس مقادیر مختلف از آهن پیروفسفات میکرونیزه (مطابق جدول ۱) و گلیسرول به میزان ۳٪ (وزنی - حجمی) نسبت به کل تعلیق اضافه شد. مخلوط موردنظر با استفاده از همزن مغناطیسی با دور rpm ۱۰۰۰ و دمای 60°C به مدت ۴۰ دقیقه مخلوط شدند تا ساختار لیپوزومی شکل بگیرد. تعلیق لیپوزومی حاصل به‌مدت ۱ ساعت در دمای محیط نگهداری شد تا پایدار شود و ذرات آهن پیروفسفات بارگذاری نشده در سامانه که در محیط آبی نامحلول و ناپایدار هستند، توسط سانتریفیوژ (Hettich ZENTRIFUGEN, Germany) به مدت ۱۰ دقیقه و با دور rpm



شکل ۱ تصویر مراحل ریزکپسوله‌سازی آهن در پوشش ساکروزومی

Figure 1 Schematic of iron microencapsulation steps in sucrosomal coating

جدول ۱ فرمول‌بندی‌های تهیه شده در این پژوهش

Table 1 Formulations prepared in this research

Formulations	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
(%w/v) Lecithin	0.10	0.10	0.10	0.10	0.25	0.50	0.75	1.00	0.50	0.50
(%w/v) Pyrophosphate Iron	0.03	0.05	0.10	0.12	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Sucrose (%w/v) monostearate	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	2.00	-
Pre-gelatinized starch (w/v%)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

پوشش کربنی قرار گرفت و با محلول ۲٪ اورانیل استات رنگ‌آمیزی منفی شد. پس از خشک‌شدن، لیپوزوم‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM, ZEISS, Germany) تصویربرداری شدند. برای تعیین میزان محبوس‌سازی (Encapsulation Efficiency, %EE) آهن پیروفسفات، ابتدا از تعلیق‌های تهیه‌شده نمونه‌ای با حجم ۱ میلی‌لیتر برداشته شد. سپس نمونه برداشته شده با ۱ میلی‌لیتر کلروفرم تخریب شد. در ادامه از روش فنانترویلین

میانگین اندازه و شاخص پراکندگی لیپوزوم‌های حاوی آهن پیروفسفات میکرونیزه بدون پوشش ساکروزومونواسترات و همراه با پوشش با استفاده از دستگاه DLS تعیین شد. همه اندازه‌گیری‌ها در زاویه پراکندگی 90° و در دمای 25°C با سه مرتبه تکرار انجام شد. باریک بودن دامنه اندازه ذرات با استفاده از شاخص پراکندگی محاسبه شد. برای تعیین ساختار هندسی یک قطره از تعلیق لیپوزومی حاوی آهن پیروفسفات بر روی گرید فرموار با

فالكون و در بن‌ماری که در دمای °C ۳۷ و با دور چرخش rpm ۱۲۰ تنظیم شده بود، قرار گرفتند. در فاصله‌های زمانی ۳۰ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر از محیط خارج شد و پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۱۴۰۰۰، روماند برای تعیین مقدار آهن آزاد شده از فرمول‌بندی‌ها استفاده شد. ذرات ته‌نشین شده با ۱ میلی‌لیتر محلول هیدروکلریک‌اسید با pH ۱/۲ مجدداً پراکنده و به فالكون برگردانده شدند. مقدار آهن آزادشده (تلف شده) در محیط اسیدی معده به روش فنانتروپین تعیین شد. سپس میزان آهن باقی‌مانده (قابل‌استحصال) در سامانه، محاسبه شد.

۲-۲-۴ شبیه‌سازی اثر تخریبی دستگاه گوارش

در این مرحله شرایط هضم معده و روده، شبیه‌سازی و بر روی نمونه‌ها اعمال شد. به منظور شبیه‌سازی هضم معده، فرمول‌بندی‌های تهیه‌شده ابتدا به مدت ۱ ساعت در محلول اسیدی (pH ۱/۲ HCl و در بن‌ماری (GFL, Germany) که در دمای °C ۳۷ و با دور چرخش rpm ۱۲۰ تنظیم شده بود، قرار گرفتند. پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۱۰۰۰۰، ریزذرات جدا شدند. سپس مجدداً در محلول حاوی ۰/۰۶ گرم پانکراتین (pH ۶/۸) برای شبیه‌سازی هضم روده‌ای پراکنده شدند. مواد پراکنده‌شده، پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه و با دور rpm ۱۰۰۰۰ بازیابی شدند و در بافر PBS با pH ۶/۸ مجدداً پراکنده شدند و سپس برای نفوذ از مخاط روده مورد استفاده قرار گرفتند [۹].

۲-۲-۵ بررسی نفوذپذیری از مخاط روده در شرایط برون‌تنی

به‌منظور بررسی اثر ریزکپسوله‌سازی آهن پیروفسفات بر میزان جذب آن در روده، نفوذپذیری آهن پیروفسفات کپسوله‌نشده و آهن پیروفسفات کپسوله‌شده در سه فرمول‌بندی (F6، F9، F10) ارزیابی شد. در این سه فرمول‌بندی تنها مقدار اولیه ساکروزمونواستئارات متفاوت بود. برای بررسی نفوذپذیری از روشی که قبلاً گزارش شده است، استفاده شد [۹]. به‌طور خلاصه، مخاط روده‌ای از موش ماده صحرایی نژاد ویستار با وزن ۳۰۰-۴۰۰ گرم خارج شد. پس از قربانی‌کردن موش‌ها (کد اخلاق پزشکی IR.MODARES.REC.1397.185) بلافاصله ۲۰ سانتی‌متر اول ژژنوم بریده شد. مخاط روده خارج شده به باریکه‌هایی به طول ۱/۵ سانتی‌متر برش داده شد و پس از شست‌وشو با بافر فسفات (PBS) بر روی جایگاه مناسب در سل تراوایی فرانز (Franz Diffusion Cell) نصب شد. ۱ میلی‌لیتر از بافر فسفات pH ۶/۸ به محفظه دهنده و ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات pH ۷/۴ به محفظه گیرنده اضافه شد. سل تراوایی فرانز در حمام آب °C ۳۷ که بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفته داشت، غوطه‌ور بود. بعد از ۲۰ دقیقه تعادل، محیط موجود در هر محفظه دهنده با ۱ میلی‌لیتر از نمونه تهیه‌شده در مرحله ۲-۳ (معادل ۲ میلی‌گرم آهن پیروفسفات) جایگزین شد. عبور و تراوایی فرمول‌بندی حاوی آهن از دیواره روده در فاصله‌های زمانی ۳۰ دقیقه و برای مدت‌زمان ۲۴۰ دقیقه ارزیابی شد. در فاصله هر نیم ساعت ۱۰۰ میکرولیتر از محفظه گیرنده برداشته شد و با حجم معادل ۱۰۰ میکرولیتر بافر PBS

برای تعیین مقدار آهن، استفاده شد و میزان جذب آن در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر با استفاده از طیف‌سنجی نوری (UV, GBC – Ewai, Australia) اندازه‌گیری شد. بازده محبوس‌سازی (%EE) آهن از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$(1) \quad \%EE = \frac{W_f}{W_i} \times 100$$

که در این رابطه W_i و W_f به‌ترتیب معادل مقدار داروی بارگذاری شده در نانوذرات و مقدار داروی اولیه هستند.

۲-۲-۲ تهیه فرمول‌بندی پودری آهن ساکروزومی

برای تهیه نمونه پودری فرمول‌بندی آهن ساکروزومی، محلول ۱ درصد وزنی-حجمی از نشاسته پیش ژلاتینه‌ی ذرت در آب یون‌زدوده، به تعلیق آهن ساکروزومی اضافه شد. سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه توسط همزن مغناطیسی در دمای محیط، هم زده شد تا نشاسته به‌طور کامل حل شود. سرانجام، نمونه موردنظر به دستگاه خشک‌کن پاششی (Buchi, Switzerland) تزریق شد. دمای ورودی °C ۱۴۰ و دمای خروجی °C ۷۵ انتخاب شد. درجه هواک (Aspirator)، روی ۱۰ واحد و نرخ پمپ، روی ۲ واحد تنظیم شد. در نهایت ریزذرات تولیدشده جمع‌آوری و در یخچال دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به‌منظور مطالعه شکل و تعیین اندازه ریزذرات ساکروزومی، نمونه پودری حاصل پس از پوشش طلا توسط میکروسکوپ (SEM, Tescan, Czech Republic) تصویربرداری شد.

برای تعیین بازده بارگذاری آهن پیروفسفات، ابتدا مقدار ۱۰ میلی‌گرم از نمونه پودری وزن و در ۲ میلی‌لیتر آب یون‌زدوده بر روی همزن مغناطیسی پراکنده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر کلروفرم به تعلیق موردنظر افزوده شد و به‌شدت هم زده شد تا سامانه پودری به‌طور کامل تخریب شود. سپس ۵۰۰ میکرولیتر هیدروکلریک‌اسید غلیظ اضافه و هم‌زده شد تا تمامی آهن خارج شده از سامانه در محیط اسیدی به‌طور کامل حل شود. در ادامه میزان بازده بارگذاری (%LC, Loading Capacity) آهن از رابطه ۲ محاسبه شد:

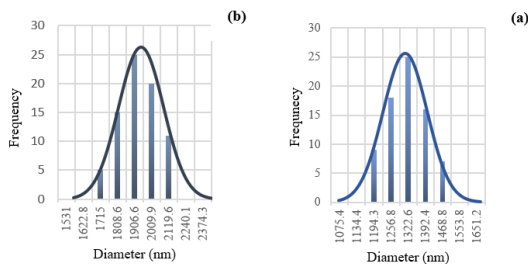
$$(2) \quad \%LC = \frac{W_f}{W_m} \times 100$$

که در این رابطه W_m و W_f به‌ترتیب معادل مقدار داروی بارگذاری شده در نانوذرات و وزن نهایی نانوذره حاوی دارو هستند.

۲-۲-۳ مطالعه پایداری در محیط اسیدی معده در شرایط آزمایشگاهی

تأثیر استفاده از پوشش ساکروزمونواستئارات بر افزایش پایداری ساختار لیپوزومی در محیط اسیدی با pH ۱/۲ در مدت ۲ ساعت بررسی شد. برای این منظور، پایداری سه فرمول‌بندی (F6، F9، F10) که تنها مقدار اولیه ساکروزمونواستئارات در آن‌ها متفاوت بود، مورد ارزیابی قرار گرفت. باتوجه‌به بازده بارگذاری آهن پیروفسفات در فرمول‌بندی‌ها، از هر نمونه به مقداری وزن شد که محتوی ۲ میلی‌گرم آهن پیروفسفات باشند. نمونه‌ها در تماس با محیط اسیدی متشکل از ۵۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکلریک‌اسید درون

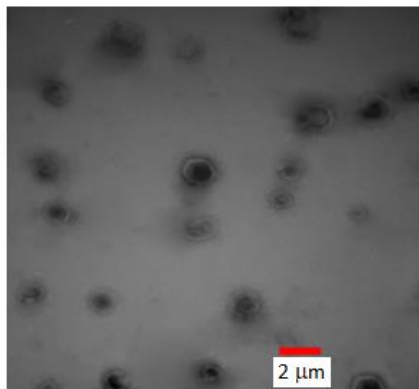
اثر قرارگرفتن حجم زیادی از گروه‌های ساکروز بر روی سطح لیپوزوم، از طریق پیوندهای هیدروژنی بین گروه هیدروکسیل ساکروز با گروه آمین در فسفاتیدیل کولین موجود در لسیترین، خواص مربوط به ساختار لیپوزوم از جمله اندازه تغییر می‌کند. از طرفی، پتانسیل سطحی آهن لیپوزومی و آهن ساکروزومی به ترتیب 43 mV - و 10 mV - اندازه‌گیری شد. کاهش قابل توجه در پتانسیل سطحی را نیز می‌توان به قرارگرفتن ماده فعال سطحی غیریونی ساکروزمونواستئارات روی لیپوزوم‌های با بار منفی نسبت داد. بار منفی لیپوزوم‌ها به دلیل بار منفی گروه فسفات در فسفاتیدیل کولین موجود در لسیترین است.



شکل ۳ اندازه آهن لیپوزومی (الف) بدون پوشش مونواستئارات و (ب) با پوشش مونواستئارات

Figure 3 Liposomal iron size a) without sucrose monostearate coating and b) with sucrose monostearate coating

برای اطمینان از تشکیل سامانه لیپوزومی، از تصویربرداری میکروسکوپ TEM نیز استفاده شد. همان‌گونه که در شکل ۴ دیده می‌شود، غشاهای لیپیدی پس از رنگ‌آمیزی منفی، تشکیل سامانه لیپوزومی را نشان می‌دهند. تصاویر TEM نتایج حاصل از DLS را نیز تأیید می‌کند که اندازه متوسط ذرات در محدوده ۱-۲ میکرومتر قرار دارد.



شکل ۴ تصویر TEM لیپوزوم‌های حاوی آهن ریزکپسوله

Figure 4 TEM image of microencapsulated iron-containing liposomes

۳-۳ فرمول‌بندی آهن ساکروزومی

۳-۳-۱ تعیین مقدار بهینه آهن پیروفسفات

در این مرحله، لسیترین در کمترین غلظت و برابر $1/10\%$ وزنی-حجمی، انتخاب شد و غلظت ساکروزمونواستئارات و نشاسته پیش‌ژلاتینه، ثابت و هر دو معادل 1% وزنی-حجمی در نظر گرفته شد.

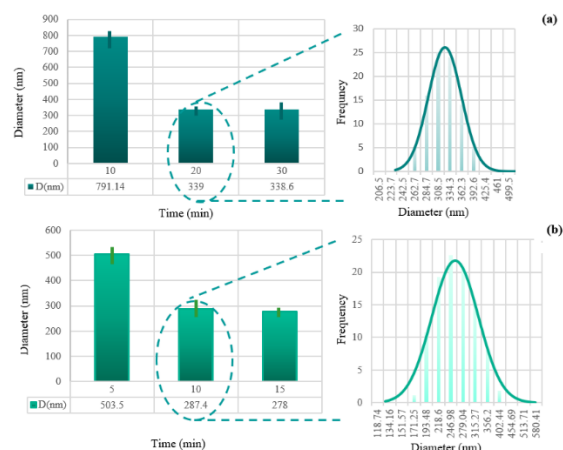
باتوجه به جدول ۲ مشاهده می‌شود که میزان LC% در داخل ریزذرات ساکروزومی با افزایش درصد داروی اولیه روند افزایشی دارد، اما EE% تا

با $7/4\text{ pH}$ جایگزین شد. نمونه خارج شده برای تعیین مقدار آهن نفوذ کرده، بررسی شد. برای ارزیابی بردن هرگونه اختلال در آزمون طیف‌سنجی نوری، آزمایش نفوذپذیری با فرمول‌بندی ساکروزومی بدون آهن که در معرض هضم قرار داشت نیز انجام شد.

۳ نتایج و بحث

۳-۱ تهیه آهن پیروفسفات میکرونیزه

فریک پیروفسفات، ترکیبی نامحلول در آب با دسترس‌پذیری زیستی ضعیف است که میکرونیزه کردن ذرات آن، باعث افزایش حلالیت می‌شود. در این تحقیق، میکرونیزه کردن آهن پیروفسفات با دو روش همگن‌ساز فراصوت و همگن‌ساز دور بالا و تغییر عامل‌های زمان، دور و توان انجام شد. نتایج نشان می‌دهد که در همگن‌ساز فراصوت با افزایش زمان از ۲۰ تا ۳۰ دقیقه در توان ثابت ۳۰۰ وات، تغییری در اندازه ذرات مشاهده نشد؛ و برای زمان ۲۰ و ۳۰ دقیقه اندازه ذرات به ترتیب برابر $3/39\text{ μm}$ ($PDI=0/32$) و $3/38\text{ μm}$ ($PDI=0/3$) به دست آمد (شکل ۲-الف). در همگن‌ساز دور بالا نیز برای مدت‌زمان ۱۰ و ۱۵ دقیقه، اندازه ذرات به ترتیب برابر $2/8\text{ mm}$ ($PDI=0/17$) و $0/3\text{ μm}$ ($PDI=0/13$) در دور ثابت 15000 rpm به دست آمد (شکل ۲-ب). از آنجاکه همگن‌ساز دور بالا قادر به تهیه ذرات آهن با اندازه کوچک‌تر است و از نظر ایمنی و صنعتی‌شدن نیز مناسب‌تر است، لذا ریزذرات مورد استفاده در این پژوهش با اندازه تقریبی $0/3\text{ μm}$ میکرومتر با استفاده از همگن‌ساز دور بالا و در زمان ۱۰ دقیقه و با دور 15000 rpm تهیه می‌شوند.



شکل ۲ تعیین اندازه ذرات آهن پیروفسفات میکرونیزه شده به روش (الف) فراصوت و (ب) همگن‌ساز دور بالا

Figure 2 Micronized pyrophosphate iron particle size using (a) ultrasonic and (b) high speed homogenizer

۳-۲ تعیین مشخصات لیپوزوم‌های تهیه‌شده

اندازه متوسط لیپوزوم‌های حاوی آهن ریزکپسوله $1/3\text{ μm}$ ($PDI=0/18$) و اندازه متوسط لیپوزوم‌های حاوی آهن ریزکپسوله با ۲ درصد پوشش ساکروزمونواستئارات $1/9\text{ μm}$ ($PDI=0/19$) به دست آمد (شکل ۳-الف و ب). افزایش قابل توجه اندازه آهن ساکروزومی نسبت به آهن لیپوزومی، قرارگرفتن لایه ساکروستری بر روی غشای لیپیدی را اثبات می‌کند. زیرا بر

۰/۵٪، منجر به کاهش بازده بارگذاری و محبوس‌سازی دارو می‌شود. زیرا با افزایش غلظت لسیتین در فاز آبی، اندازه لیپوزوم‌ها کوچک‌تر شده، بنابراین میزان داروی ریزکپسوله کاهش می‌یابد. همچنین با افزایش غلظت لسیتین احتمال تشکیل لیپوزوم‌های خالی شکل گرفته بیشتر می‌شود؛ در نتیجه میزان %LC کاهش می‌یابد. بنابراین فرمول‌بندی با ۰/۵٪ وزنی-حجمی لسیتین به‌عنوان فرمول‌بندی بهینه انتخاب شد.

۳-۳-۳ اثر ساکروز مونواستئارات بر بازده بارگذاری و محبوس‌سازی دارو

برای بررسی اثر ساکروز مونواستئارات اولیه سه فرمول‌بندی F6، F9 و F10 طبق جدول ۱ تهیه شدند. طبق نتایج به‌دست‌آمده در دو بخش قبل، در همه فرمول‌بندی‌ها درصد وزنی بهینه آهن پیروفسفات و لسیتین ثابت و به‌ترتیب برابر با ۰/۱٪ و ۰/۵٪ (وزنی-حجمی) انتخاب شد. همان‌طور که در جدول ۴ دیده می‌شود، آهن لیپوزومی بدون پوشش (F10) حداقل مقدار %EE را دارد. با ایجاد پوشش بر روی لیپوزوم‌ها (نمونه‌های F6 و F9)، %EE تا حدی افزایش می‌یابد. این امر احتمالاً به این دلیل است که پوشش ساکروز مونواستئارات بر روی حامل لیپوزومی، مقاومت اضافی ایجاد می‌کند که مانع از خروج آهن از آن می‌شود.

غلظت ۰/۱٪، روند افزایشی داشته، بیشتر از این مقدار، روند کاهشی داشته است. این نتایج نشان می‌دهد که %EE ریزذرات تا تکمیل‌شدن میزان گنجایش دارو در ساختار لیپوزومی، افزایش و پس از آن کاهش پیدا کرده است. بنابراین باتوجه‌به نتایج مندرج در جدول، درصد بهینه آهن پیروفسفات ۰/۱٪ وزنی-حجمی انتخاب شد که %LC و %EE در آن به‌ترتیب برابر با ۰/۳±۰/۵۸٪ و ۰/۵۱±۰/۹۹٪ است.

۳-۳-۳ تعیین مقدار بهینه لسیتین

لسیتین با تشکیل ساختار لیپوزومی، نقش پایدارکنندگی را برای ریزذرات آهن در محیط آب ایفا می‌کند. پنج فرمول‌بندی مختلف ساکروزمی (F8، F7، F6، F5، F3) با درصدهای وزنی مختلف لسیتین طبق جدول ۱ تهیه شدند. باتوجه‌به درصد بهینه آهن پیروفسفات از مرحله قبل، در همه فرمول‌بندی‌ها آهن پیروفسفات با غلظت ۰/۱٪ و ساکروز مونواستئارات و نشاسته پیش‌ژلاتینه هر دو معادل ۰/۱٪ وزنی-حجمی انتخاب شدند. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت اولیه لسیتین از ۰/۱٪ تا ۰/۵٪، %LC و %EE افزایش پیدا کرده است. در واقع با افزایش لسیتین اولیه، لیپوزوم‌های بیشتری شکل گرفته، مقدار بیشتری از داروی موجود در فاز آبی کپسوله می‌شود. اما افزایش بیشتر مقدار لسیتین از حد

جدول ۲ بهینه‌سازی آهن پیروفسفات

Table 2 Optimization of iron pyrophosphate

Formulations	Drug (%w/v)	Loading capacity* (%LC)	Encapsulation Efficiency* (%EE)
F1	0.03	0.02±3.70	0.11±31.91
F2	0.05	0.14±6.66	0.30±34.60
F3	0.10	0.03±10.58	0.51±38.99
F4	0.12	0.05±12.33	0.32±35.07
*Values are reported as "average data ± standard error", number of repetitions = 3			

جدول ۳ بهینه‌سازی مقدار لسیتین

Table 3 Optimization of lecithin

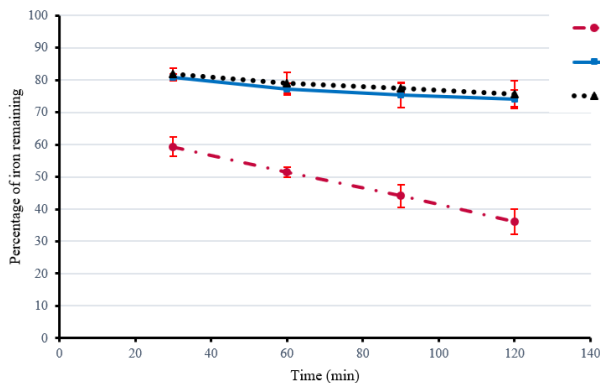
Formulations	Lecithin (%w/v)	Loading capacity* (%LC)	Encapsulation Efficiency* (%EE)
F3	0.10	10.58±0.03	38.99±0.51
F5	0.25	11.01±0.03	40.77±0.16
F6	0.50	11.44±0.13	41.77±0.40
F7	0.75	11.09±0.20	41.23±0.56
F8	1.00	10.87±0.01	41.07±0.15
*Values are reported as "average data ± standard error", number of repetitions = 3			

جدول ۴ اثر ساکروز مونواستئارات بر بازده بارگذاری و محبوس‌سازی دارو

Table 4 Effect of sucrose monostearate on loading capacity and encapsulation efficiency

Formulations	Sucrose Monostearate (%w/v)	Loading capacity* (%LC)	Encapsulation Efficiency* (%EE)
F6	1.00	11.44±0.13	41.77±0.40
F9	2.00	10.87±0.34	41.88±0.62
F10	Zero (no cover)	12.11±0.02	38.51±0.74
*Values are reported as "average data ± standard error", number of repetitions = 3			

حدی از فرمول‌بندی ساکروزومی در برابر محیط اسیدی معده محافظت می‌کند [۱۵].



شکل ۵ میزان آهن باقی‌مانده (قابل استحصال) در نمونه‌های F6, F9 و F10 بعد از قرارگرفتن در محیط اسیدی مشابه معده با pH ۱/۲ (سه بار تکرار)
Figure 5 The amount of microencapsulated iron (residue) in formulations F6, F9 and F10 in acidic gastric medium with pH 1.2 (n = 3)

۳-۳-۵ اثر ساکروزومونواستئارات بر نفوذپذیری

به‌منظور بررسی اثر پوشش ساکروزومونواستئارات بر افزایش جذب آهن پیروفسفات در دستگاه گوارش، نفوذپذیری آهن پیروفسفات کپسوله نشده و آهن پیروفسفات ریزکپسوله (فرمول‌بندی‌های F6, F9 و F10 مطابق جدول ۴ اندازه‌گیری شد. همه نمونه‌ها حاوی ۲ میلی‌گرم آهن پیروفسفات بودند و مطالعات نفوذپذیری با استفاده از مخاط روده موش در شرایط برون‌تنی و در مدت‌زمان ۴ ساعت انجام شد [۹]. به‌منظور مشخص‌شدن این نکته که ریزذرات لیپوزومی حاوی آهن از مخاط روده عبور می‌کنند و یا تنها آهن آزادشده از ساختار لیپوزومی امکان عبور و تراوش از مخاط روده را دارد، میزان آهن موجود در نمونه برداشته شده از محفظه گیرنده، هم قبل و هم بعد از افزودن کلروفرم، تعیین و با هم مقایسه شد. از آنجاکه میزان آهن اندازه‌گیری شده قبل از افزودن کلروفرم به محیط (برای تخریب ساختار لیپوزومی و آزادشدن آهن‌های کپسوله‌شده) بسیار کم است، نشان می‌دهد که درصد قابل‌توجهی از ریزذرات لیپوزومی آهن بعد از پشت سر گذاشتن شرایط هضم معده و روده، ساختار خود را به‌خوبی حفظ کرده، بدون تخریب از مخاط روده عبور می‌کنند. البته این نکته را باید در نظر داشت که در این قسمت، همه فرمول‌بندی‌ها ابتدا در تماس با محیط اسیدی معده قرار گرفته و بخشی از آهن ریزکپسوله‌شده خود را از دست داده‌اند، سپس برای آزمایش نفوذپذیری مورد استفاده قرار گرفته‌اند. بنابراین منظور از جذب، جذب آهن باقی‌مانده در فرمول‌بندی بعد از هضم معده‌ای/روده‌ای است.

همان‌گونه که در شکل ۶ دیده می‌شود نمک آهن پیروفسفات میکرونیزه شده با اندازه ذرات ۰/۳ میکرومتر با اختلاف قابل‌توجه نسبت به سایر فرمول‌بندی‌ها، کمترین میزان نفوذ از مخاط روده را دارد و پس از گذشت ۴ ساعت، میزان نفوذپذیری آن برابر ۱۲٪ آهن است. لیپوزوم‌های حاوی آهن پیروفسفات (F10)، نفوذ آهن از مخاط را تا ۲۵٪ افزایش داده‌اند و دلیل آن این است که غشاهای لیپیدی به‌دلیل شباهت با غشاهای زیستی جذب و عبور مخاطی را افزایش می‌دهند [۱۶].

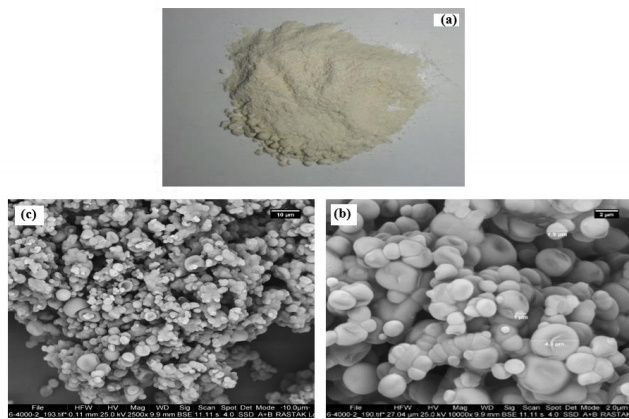
نتیجه قابل‌توجه این است که نفوذپذیری آهن ریزکپسوله‌شده در ساکروزوم

همچنین ساکروزومونواستئارات به پایداری فضایی لیپوزوم‌ها در تعلیق لیپوزومی کمک کرده، مانع از به هم چسبیدن، تجمع و ته‌نشین شدن آن‌ها می‌شود [۱۱، ۱۰]. بنابراین حضور بیشتر ریزذرات حاوی آهن پیروفسفات در تعلیق، میزان EE% در نمونه‌های F6 و F9 را نسبت به نمونه بدون پوشش F10 تا حدی افزایش می‌دهد. از طرفی نتایج نشان می‌دهد که مقدار LC% برای نمونه F10 حداکثر مقدار را دارد، اما با افزایش درصد وزنی ساکروزومونواستئارات (از نمونه F6 به F9) این مقدار کاهش می‌یابد. مشخص است که افزایش ساکروزومونواستئارات منجر به افزایش قابل‌توجه وزن کلی سامانه در مقایسه با حداکثر میزان آهن بارگذاری شده خواهد شد و طبق رابطه ۲ میزان LC% کاهش می‌یابد.

۳-۳-۴ اثر ساکروزومونواستئارات بر پایداری لیپوزوم‌ها

تأثیر پوشش ساکروزومونواستئارات بر پایداری ریزذرات لیپوزومی، با تعیین میزان آهن باقی‌مانده (قابل استحصال) در ساختار لیپوزومی بعد از قرارگرفتن در محیط اسیدی (مشابه معده) مطالعه شد. برای این منظور میزان آهن باقی‌مانده در سه فرمول‌بندی F6, F9 و F10 در محیط اسیدی با pH ۱/۲ به فاصله‌های زمانی ۳۰ دقیقه و در مدت‌زمان ۲ ساعت اندازه‌گیری شد. همان‌طور که در شکل ۵ دیده می‌شود، در محیط اسیدی با pH ۱/۲ در مدت ۳۰ دقیقه ۵۹/۳±۳٪ و در مدت ۲ ساعت ۳۶/۱±۴٪ از آهن به‌صورت ریزکپسوله در حامل لیپوزومی بدون پوشش ساکروزومونواستئارات باقی‌مانده است. به عبارتی بعد از گذشت ۲ ساعت، نزدیک به ۶۴٪ از آهن ریزکپسوله در ساختار لیپوزومی بدون پوشش، خارج می‌شود. اتلاف نسبتاً زیاد آهن به‌علت آب‌کافت لسیته‌ین در pH پایین است که منجر به تخریب غشای حامل لیپوزومی و خروج آهن از آن می‌شود [۱۲]. فسفاتیدیل‌کولین در اثر آب‌کافت به فسفاتیدیک اسید و کولین تجزیه می‌شود. به عبارتی حضور یون H⁺ در محیط اسیدی، با نفوذ به درون غشای دو لایه لیپیدی منجر به برهم‌زدن ساختار آن می‌شود [۱۳]. گرچه حضور گلیسرول در غشای دو لایه لیپوزومی تا حدی سیالیت (Fluidity) غشای لیپوزومی را تغییر می‌دهد و از آزادشدن و درنتیجه اتلاف آهن جلوگیری می‌کند [۱۴]. این در حالی است که در نمونه‌های لیپوزومی پوشش داده شده با ۱ و ۲ درصد وزنی-حجمی ساکروزومونواستئارات، میزان آهن باقی‌مانده در مدت‌زمان ۲ ساعت به ترتیب ۷۴±۳٪ و ۷۵/۷±۴٪ است (شکل ۵). در این حالت پوشش ساکروزومونواستئارات بر روی حامل لیپوزومی از تماس آن با محیط اسیدی جلوگیری کرده و در نتیجه مانع از تخریب آن می‌شود. همچنین با قرارگرفتن در غشای دو لایه، سیالیت آن را کاهش می‌دهد. بنابراین ساکروزومونواستئارات تا حد نسبتاً زیادی قادر به افزایش پایداری ساختار لیپوزومی در محیط اسیدی معده شده، باعث می‌شود که مقدار قابل‌توجهی از آهن کپسوله‌شده در آن همچنان به‌صورت محبوس باقی‌بماند.

از طرفی دیگر در تهیه این ریزذرات، از نشاسته پیش‌ژلاتینه استفاده شد. نشاسته‌های پیش‌ژلاتینه براساس تغییراتی که در ساختار مولکولی آن‌ها اعمال شده است (از جمله ایجاد پیوندهای عرضی بین زنجیرهای مولکول نشاسته)، تعداد کمی از پیوندهای هیدروژنی بین این زنجیرها با پیوندهای قوی کووالانسی جایگزین شده، قابلیت تحمل شرایط pH پایین، حرارت و تنش‌های برشی را به‌دست می‌آورند. بنابراین نشاسته پیش‌ژلاتینه نیز تا



شکل ۷ تصاویر فرمول‌بندی پودری آهن ساکروزومی تهیه‌شده در این پژوهش توسط (الف) دوربین نوری، (ب) SEM با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰۰ برابر و (ج) SEM با بزرگ‌نمایی ۲۵۰۰ برابر

Figure 7 Images of sucrosomial iron powder formulation prepared by a) Optical camera and b) SEM (Magnification 10000x) and c) SEM (Magnification 2500x)

۴ نتیجه‌گیری

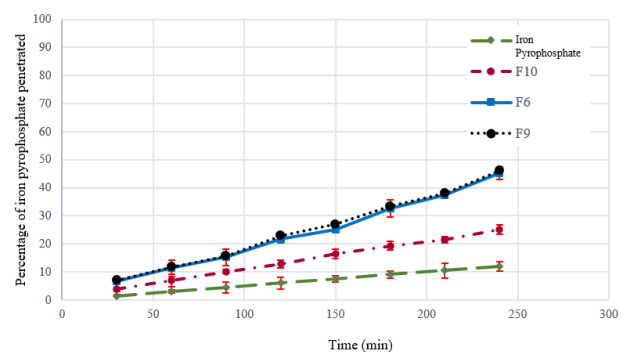
در این پژوهش، فرمول‌بندی ساکروزومی حاوی آهن پیروفسفات ریزکپسوله‌شده، تهیه شد. برای تهیه ریزذرات، از لسیتین سوپا، ساکروزومونواستئارات، نشاسته پیش‌ژلاتینه و آهن پیروفسفات میکرونیزه استفاده شد. با توجه به بازده بارگذاری، بازده محصورسازی، افزایش پایداری و نفوذ از مخاط روده، مقدار بهینه لسیتین، آهن پیروفسفات، نشاسته پیش‌ژلاتینه و ساکروزومونواستئارات به ترتیب برابر ۰/۵٪، ۰/۱٪، ۱٪ و ۲٪ وزنی- حجمی محاسبه شد. بازده بارگذاری آهن پیروفسفات در این فرمول‌بندی $107.34 \pm 1.10\%$ بود. میزان آهن باقی‌مانده در فرمول‌بندی آهن ساکروزومی نهایی در محیط اسیدی معده (pH ۱/۲) در مدت‌زمان ۳۰ و ۱۲۰ دقیقه به ترتیب $88.11/9 \pm 1.08\%$ و $96.75/7 \pm 3.75\%$ درصد به دست آمد. به عبارتی فرمول‌بندی ساکروزومی تهیه‌شده میزان آهن باقی‌مانده (قابل‌استحصال) در محیط اسیدی معده در شرایط آزمایشگاهی را بیش از ۸۰٪ افزایش داده است. میزان نفوذ آهن پیروفسفات از فرمول‌بندی ساکروزومی نهایی از مخاط روده موش در شرایط برون‌تنی در مدت‌زمان ۴ ساعت، برابر $21.46 \pm 1.46\%$ (به‌ازای ۲ میلی‌گرم آهن) محاسبه شد. تصاویر SEM نمونه پودری، ذرات کروی و با اندازه زیر ۱۰ میکرون را نشان داد که این اندازه برای جذب از Mcells سامانه گوارشی نیز مناسب است.

مراجع

- Charlebois E., and Pantopoulos K., Nutritional Aspects of Iron in Health and Disease. *Nutrients*, 15, 2441, 2023.
- Kumar A., Sharma E., Marley A., Samaan MA., and Brookes MJ., Iron Deficiency Anaemia: Pathophysiology, Assessment, Practical Management. *BMJ Open Gastroenterol.* 9(1), e000759, 2022.
- Pande S., Liposomes for Drug Delivery: Review of Vesicular Composition, Factors Affecting Drug Release and Drug Loading in Liposomes. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 51(1), 428-440, 2023.
- Zečkanović A., Kavčič M., Prelog T., Šmid A., and Jazbec J., Micronized, Microencapsulated Ferric Iron Supplementation in the Form of >Your< Iron Syrup Improves Hemoglobin and

نسبت به آهن کپسوله‌نشده افزایش قابل‌توجهی دارد، به‌طوری که پس از گذشت ۴ ساعت درصد نفوذپذیری آهن در فرمول‌بندی‌های ساکروزومی F6 و F9 با ۱ و ۲ درصد ساکروزومونواستئارات به‌ترتیب برابر با $2.45/1 \pm 0.45\%$ و $2.46/1 \pm 0.46\%$ است. همچنین افزایش نفوذ آهن در فرمول‌بندی‌های F6 و F9 در مقایسه با F10 بیشتر بوده است، بنابراین پوشش ساکروزومونواستئارات به‌خوبی توانسته است میزان جذب و عبور مخاطی را افزایش دهد. به نظر می‌رسد استرهای ساکروزومی، نفوذپذیری را از طریق هر دو مسیر خارج سلولی و درون‌سلولی افزایش می‌دهند. ساکروزومونواستئارات حاوی زنجیره اسید چرب طولانی‌تر است و در غلظت‌های پایین‌تر سیالیت غشای سلولی را بهتر افزایش می‌دهد که نشان‌دهنده رابطه بین طول زنجیر اسید چرب ماده فعال سطحی و اثر آن بر سیالیت غشا است.

مشاهده می‌شود که آهن ریز کپسوله در فرمول‌بندی F9 با ۲ درصد ساکروزومونواستئارات نسبت به فرمول‌بندی F6 با ۱ درصد ساکروزومونواستئارات نفوذپذیری بیشتری دارد، اما اختلاف این دو نمودار معنادار نیست ($P \text{ value} > 0.05$). از آنجایی که افزایش دوبرابری در مقدار اولیه ساکروزومونواستئارات، تأثیر قابل‌توجهی بر افزایش نفوذپذیری نداشت؛ بنابراین درصد‌های بالاتر از آن در نظر گرفته نشد.



شکل ۶ نفوذپذیری آهن پیروفسفات از فرمول‌بندی‌های مختلف در شرایط ex vivo، (سه بار تکرار)

Figure 6 Permeability of pyrophosphate iron from different formulations in ex vivo conditions (n = 3)

۳-۳-۶ شکل‌شناسی فرمول‌بندی نهایی با استفاده از SEM

از آن جایی که هدف استفاده از فرمول‌بندی‌های ساکروزومی، افزایش پایداری در محیط گوارشی و بهبود جذب روده‌ای است، بنابراین فرمول‌بندی F9 محتوی ۲ درصد ساکروزومونواستئارات به‌عنوان مقدار بهینه انتخاب شد. فرمول‌بندی ساکروزومی نهایی به شکل پودری (شکل ۷-الف) و متشکل از ۰/۵٪ لسیتین، ۰/۱٪ آهن پیروفسفات، ۲٪ ساکروزومونواستئارات و ۱٪ نشاسته پیش‌ژلاتینه انتخاب شد. تصویر SEM فرمول‌بندی انتخاب شده در شکل ۷ ب و ج نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، ذرات کروی بوده، میانگین اندازه ذرات $54.3/5 \pm 3.4$ میکرومتر است و تقریباً همه ذرات از ۱۰ میکرومتر کوچک‌تر هستند که این اندازه برای جذب از Mcells گوارشی نیز مناسب است. سطح صاف ریزذرات نیز به‌دلیل پوشش نشاسته‌ای است.

شکل ۷ تصاویر فرمول‌بندی پودری آهن ساکروزومی تهیه‌شده در این پژوهش توسط (الف) دوربین نوری، (ب) SEM با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰۰ برابر و (ج) SEM با بزرگ‌نمایی ۲۵۰۰ برابر

- Ferritin Levels in Iron-Deficient Children: Double-Blind, Randomized Clinical Study of Efficacy and Safety, *Nutrients*, 13(4), 1087, 2021.
5. Cesarano D., Borrelli S., Campilongo G., D'Ambra A., Papadia F., Garofalo C., De Marco A., Marzano F., Ruotolo C., Gesualdo L., Cirillo P., and Minutolo R., Efficacy and Safety of Oral Supplementation with Liposomal Iron in Non-Dialysis Chronic Kidney Disease Patients with Iron Deficiency. *Nutrients*, 16(9):1255, 2024.
6. Gómez-Ramírez S., Brilli E., Tarantino G., Girelli D., and Muñoz M., Sucrosomial® Iron: An Updated Review of Its Clinical Efficacy for the Treatment of Iron Deficiency. *Pharmaceuticals (Basel)*. 16(6), 847, 2023.
7. Brilli E., Lipinski P., Barnadas R., Camacho M., Fabiano A., Giordano G., and Tarantino G., Sucrosomial Iron Absorption Involve Mcells Interaction. *Blood*, 130, 2217-2217, 2017.
8. Giordano G., Napolitano M., and Di Battista V., Oral High-Dose Sucrosomial Iron vs Intravenous Iron in Sideropenic Anemia Patients Intolerant/Refractory to Iron Sulfate: A Multicentric Randomized Study. *Annals of Hematology*, 100, 2173-2179, 2021.
9. Lemp E., Zanicco A., and Günther G., Structural Changes in DODAC Unilamellar Liposomes by Addition of Sucrose Esters Monitored by using Fluorescent Techniques. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 229(1-3), 63-73, 2003.
10. Sedaghat Doost A., Afghari N., Abbasi H., Nikbakht Nasrabadi M., Dewettinck K., and Van der Meeren P., Nano-Lipid Carriers Stabilized by Hydrophobically Modified Starch or Sucrose Stearate for the Delivery of Lutein as a Nutraceutical Beverage Model, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 605, 125349, 2020.
11. Sainaga Jyothi V.,G.,S., Bulusu R., Venkata Krishna Rao B., Pranothi M., Banda S., Kumar Bolla P., and Kommineni N., Stability Characterization for Pharmaceutical Liposome Product Development with Focus on Regulatory Considerations: An Update, *International Journal of Pharmaceutics*, 624, 122022, 2022.
12. Nakazawa Y., Sagane Y., Sakurai S., Uchino M., Sato H., Toeda K. and Takano K. Large-scale Production of Phospholipase D from *Streptomyces Racemochromogenes* and its Application to Soybean Lecithin Modification. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 165(7-8), 1494-1506, 2011.
13. Jayapriya P., Pardhi E., Vasave R., Kumar Guru S., Madan J., and Kumar Mehra K., A Review on Stimuli-pH Responsive Liposomal Formulation in Cancer Therapy, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 90, 105172, 2023.
14. Tai K., He X., Yuan X., Meng K., Gao Y. and Yuan F., A Comparison of Physicochemical and Functional Properties of Icaritin-loaded Liposomes based on Different Surfactants. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 518, 218-231, 2017.
15. Chou S., Li B., Tan H., Zhang W., Zang Z., Cui H., Wang H., Zhang S., and Meng X., The Effect of pH on the Chemical and Structural Interactions Between Apple Polyphenol and Starch Derived from Rice and Maize. *Food Science and Nutrition*, 8(9), 5026-5035, 2020.
16. Pantopoulos K., Oral Iron Supplementation: New Formulations, Old Questions. *Haematologica*. 109(9):2790-2801, 2024.