

## طراحی سیستم آهسته رهش الانزایین با استفاده از گلیسرول مونوئولئات در سیستم‌های سل-ژل

گیتا باقری<sup>۱\*</sup>، فرید عابدین درکوش<sup>۲</sup>، ابراهیم واشقانی فراهانی<sup>۳</sup>، مهدی ارجمند<sup>۴</sup>

۱. استادیار، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهریار - شهرقدس

۲. دانشیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳. استاد، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس

۴. استادیار، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب

### چکیده

**سابقه و هدف:** تحقیق حاضر به منظور توسعه سامانه‌های نوین آزادسازی دارو بر پایه سیستم‌های سل - ژل

صورت گرفته است. در این مطالعه نسبت به تهیه فرمولاسیون رهایش کنترل شده الانزایین (OZ) غیر محلول در آب، با استفاده از گلیسرول مونوئولئات (GMO) و پلی اتیلن گلیکول (PEG) اقدام شده است.

**مواد و روش‌ها:** از روش طراحی آزمایش باکس - به نکن با متغیرهایی شامل درصد الانزایین بارگذاری شده، نسبت وزنی

آب/گلیسرول مونوئولئات و نسبت وزنی پلی اتیلن گلیکول ۳۰۰/گلیسرول مونوئولئات استفاده شده است.

**یافته‌ها:** فرمولاسیون سامانه آهسته رهش داروی الانزایین بارگذاری شده بر روی ماتریس گلیسرول مونوئولئات با استفاده از روش

آماری سطح پاسخ باکس - به نکن و نرم افزار<sup>®</sup> Design Expert به منظور توسعه مدلی جهت شناسایی روابط بین متغیرهای مؤثر و وابسته انجام شد.

**بحث:** با توجه به نتایج آزمایشات، یک مدل کوادریتیک به عنوان فرمول مناسب برای پیش‌بینی درصد بارگذاری و یک مدل

مربعی برای درصد رهایش در ساعات ۱۲ام و ۱۶۸ام به عنوان بهترین مدل پیشگویی انتخاب گردید. سینتیک رهایش الانزایین توسط مدل‌های تجربی مختلف بررسی گردید که از بین آنها مدل هیگچی بهترین تناسب و بالاترین همبستگی را نشان داد.

**نتیجه گیری:** بهینه سازی سیستم ژلی بر اساس مفاهیم آماری و طرح‌ریزی تجربی انجام شد. تست اعتبارسنجی در شرایط بهینه پارامترهای پیش‌بینی شده توسط مدل چند فرمولی انجام گرفت.

**کلمات کلیدی:** الانزایین، گلیسرول مونوئولئات، فاز مکعبی، رهایش برون تنی، روش سطح پاسخ باکس به - نکن

### مقدمه

الانزایین برای درمان اسکیزوفرنی و اختلالات روانی مشابه استفاده می شود و به دسته نسل دوم عوامل ضد سایکوز تعلق دارد. الانزایین در آب نامحلول است و تنها ۰.۶٪ زیست

دسترس پذیری خوراکی داشته و نیمه عمر آن در انسان ۳۰ ساعت است (۸) و اثرات جانبی الانزایین کمتر از آنتی سایکوتیک‌های معمول دیگر است .

وقتی دارو به روش‌های قدیمی که مبتنی بر خوراکی و یا تزریقی است، مصرف می‌شود، ممکن است مشکلاتی چون ناپایداری و یا اثرات نامطلوب جانبی ایجاد کند و درجه درمان باریک، حلالیت زیاد، حساسیت‌زایی و ... ظاهر شود که کارایی روش‌های متداول قدیمی را با محدودیت مواجه می سازد. تخریب داروهای حساس در مسیر معده و روده، سوخت و ساز سریع و حذف دارو بلافاصله بعد از تزریق و هم‌چنین نیاز به

\*نویسنده مسئول: دکتر گیتا باقری

پست الکترونیکی: gitabagheri\_en@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۵/۲۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۰۶

لیتروپیک (۴) مانند لایه‌ای<sup>۲</sup> و فاز مکعبی، فاز شش ضلعی معکوس<sup>۳</sup> را تشکیل دهد و هر فاز ویژگی خاصی دارد.

فاز مکعبی بسیار ویسکوز بوده و یک حالت نیمه جامد و شفاف دارد و از لحاظ ترمودینامیکی پایدار می‌باشد. ویسکوزیته بالای فاز مکعبی باعث فراهم آوردن یک سیستم آهسته رهش برای آزادسازی داروها می‌شود که رهش داروهای مختلفی مانند ویتامین E (۱۱)، مترونیدازول (۲)، سفازولین (۳) و انسولین (۵) توسط این فاز بررسی گردیده است.

با توجه به آن که داروی الانزایم جهت اختلالات سایکوتیک و اسکیزوفرنی به صورت خوراکی و تزریقی تجویز می‌گردد و بر حسب نوع بیماری این افراد از بلع دارو ممانعت می‌ورزند لذا بررسی فرم تزریقی دارو و با رهش کنترل شده که با یکبار تزریق رهش دارو به یک هفته افزایش یابد، حائز اهمیت می‌باشد. لذا هدف در این مطالعه با توجه به نیمه عمر کم این دارو و نیاز به تعداد مصرف زیاد و عدم همکاری بیمار برای درمان، طراحی سیستم آهسته رهش دارو است که بتوان تعداد مصرف و نتیجتاً مسمومیت و تجمع دارو را در بدن کاهش داد که برای رسیدن به این هدف تأثیر هر یک از پارامترهای مستقل بر روی درصد بارگذاری دارو و میزان رهش آن بررسی گردیده و در نهایت یک مدل ریاضی جهت پیشبینی شرایط مختلف ارائه خواهد شد و همچنین به دست آوردن شرایط بهینه و فرمولاسیون نهایی از اهم سرفصل‌های این مطالعه می‌باشد.

## روش کار

### مواد

گلیسرول مونوئولئات از شرکت دنیسکو<sup>۴</sup> از کشور دانمارک تهیه گردیده و پلی اتیلن گلیکول ۳۰۰ از شرکت مرک آلمان خریداری و الانزایم از شرکت سبحان ایران تهیه شد. فیلتر سرنگ ۰/۲ میکرومتر و کیسه دیالیز ۱ کیلو دالتون از شرکت سیگمای آمریکا خریداری شد و مابقی مواد شیمیایی با خلوص بالا تهیه شدند.

### طرح آزمایش

طراحی آزمایش یک روش بسیار کارا، به منظور انجام آزمایشات می‌باشد، به طوری که داده‌های به دست آمده قابل تجزیه و

مصرف طولانی مدت در بیماری‌های مزمن و نیاز به تزریق دارو در یک نقطه خاص (شیمی درمانی)، حلالیت کم و ناپایداری داروهای جدید چون پپتیدها، واکسن‌ها، هورمون‌های رشد و پادتن‌ها، نیاز به طراحی سامانه‌های رهش کنترل دارو و اهمیت روز افزون این مسایل را روشن تر می‌سازد. با استفاده از سامانه‌های کنترل کننده میزان رهش دارو، می‌توان هم غلظت دارو در خون را در بیشینه حد درمانی آن نگه داشته و هم میزان مصرف دارو را به کمترین مقدار رساند. همچنین داروهایی که در چرخه بدن سریع تخریب می‌شوند را محافظت کرده تا از مصرف بیش از حد آن جلوگیری شود.

امروزه سامانه‌های دارویی آهسته رهش از جمله موضوعات با اهمیت در حوزه داروسازی و بیوتکنولوژی به شمار می‌آید زیرا در این سیستم‌ها می‌توان میزان مصرفی دارو را به میزان قابل توجهی کاهش داد و نتیجتاً عوارض جانبی آن‌ها و مسمومیت ناشی مصارف طولانی مدت به واسطه تجمع دارو در بدن را کاهش داد و همچنین از دفع بی‌مورد داروها نیز جلوگیری می‌شود.

در سال‌های اخیر توجه خاصی به بکارگیری اسیدهای چرب و چربی‌ها به عنوان حامل برای آزادسازی دارو در سیستم‌های رهش کنترل شده، گردیده است و با توجه به خصایص منحصر به فرد چربی‌ها (۱۰)، آنها در فرمولاسیون‌های مختلف از جمله ماتریکس‌های جامد و لیپوزوم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. چربی‌های آب دوست به عنوان ماتریکس جامد جهت بارگذاری داروها استفاده می‌شود. چربی‌های دو گانه دوست تحت شرایط خاص آرایش‌های سه بعدی از خود نشان داده و این چربی‌ها وقتی با آب تماس پیدا می‌کنند لیپیدهای دولایه تشکیل می‌دهند که از لحاظ ترمودینامیکی ساختار با دوامی هستند.

گلیسرول مونوئولئات یک چربی دوگانه دوست<sup>۱</sup> و استراسید چرب است. تقریباً تمام مواد زیست چسبنده که برای سیستم‌های انتقال دارو به کار می‌رود پلیمرها یا شبه پلیمرهایی با وزن مولکولی بالا هستند، اما گلیسرول مونوئولئات وزن مولکولی بسیار پایین با انحلال پذیری اندک در آب دارد و غیر اشباع و یک ماده مومی شکل دردمای اطاق است. گلیسرول مونوئولئات بر اثر هیدراسیون می‌تواند نوآرایی شود و فاز میسلار (L<sub>2</sub>) و چندین فاز کریستالی

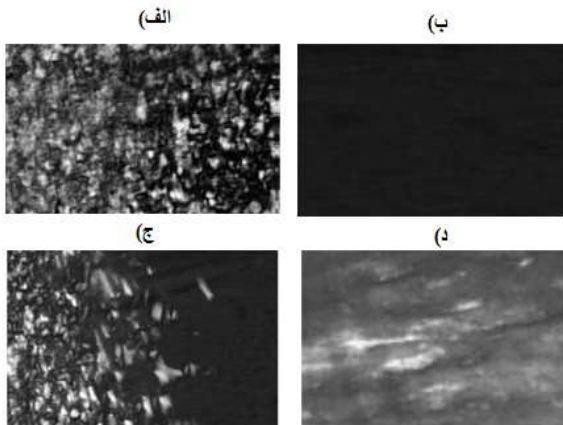
<sup>3</sup> Reversed hexagonal phase

<sup>4</sup> Denisco

<sup>1</sup> Amphiphilic lipid

<sup>2</sup> Lamellar

لایه نازکی از نمونه زیر میکروسکوپ نوری پلاریزه (نیکون، کاناگارا، ژاپن) قرار گرفت. برای تمام نمونه‌ها از بزرگ‌نمایی ۴۰۰ استفاده شد. فاز مکعبی به وسیله ی پس زمینه تیره مشخص شد زیرا بر طبق خاصیت ایزوتروپیک<sup>۵</sup> خود نور پلاریزه را از خود عبور می‌داد و پس زمینه تیره دیده می‌شد و فازهای لایه‌ای ساختار موزائیکی مانند داشت. شکل (۱) ساختار فازهای لایه‌ای و مکعبی و شش ضلعی را در زیر میکروسکوپ پلاریزه نشان داده است.



شکل ۱- ساختار فازهای کریستالی مایع در زیر میکروسکوپ پلاریزه (الف) فاز لایه‌ای (ب) فاز مکعبی (ج) فاز مکعبی و لایه‌ای (د) فاز شش ضلعی

## میزان بارگذاری دارو در ماتریس

### منحنی استاندارد جذب دارو

محلولی از ۲ میلی‌لیتر آب و ۱ میلی‌لیتر اسید استیک ۰.۲٪ را تهیه شد و از آن به‌عنوان شاهد استفاده شد. سپس شاهد به همراه داروی الانزاپین در سلول آنالیز قرار داده شد و طیف جذب دارو در محدوده ۶۰۰-۲۰۰ نانومتر به‌دست آمد. غربال‌گری توسط دستگاه مشخص نمود که داروی الانزاپین در طول موج ۲۶۵ نانومتر دارای حداکثر میزان جذب است. برای اطمینان از عدم تداخل جذب بین پلیمر و ماده دارویی محلول‌هایی از گلیسرول مونوئولئات و پلی اتیلن گلیکول ۳۰۰ با غلظت مشخص تهیه شد و در طول موج ۲۶۵ نانومتر میزان جذب آن‌ها خوانده شد و مشاهده شد که در این طول موج پلیمرهای مذکور جذبی نداشت.

برای رسم منحنی استاندارد ۱۰ میلی‌گرم از دارو با استفاده از ترازو وزن شد و در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری با حلال‌های آب

تحلیل آماری بوده و نتایج در سطح اطمینان معنی‌دار ارائه می‌گردد. روش سطح پاسخ طرح آزمایشی است که از ترکیب تکنیک‌های ریاضی و آماری به‌دست‌آمده و بهترین مدل ریاضی را با توجه به پارامترهای آماری از قبیل P-Value و F-Test به‌دست می‌آورد و نحوه تغییرات متغیرهای وابسته با متغیرهای مستقل را مورد ارزیابی قرار می‌دهد.

روش طراحی باکس- به نکلن گزینه مناسبی برای طراحی آزمایش می‌باشد، چرا که این طراحی بر اساس نقاط مرکزی محورهای می‌باشد و نه بر اساس مراکز سطوح، که این امر باعث اجتناب از مشکلات بالقوه ناشی از انجام آزمایش در نقاط گوشه می‌باشد.

طرح آماری باکس - به نکلن با استفاده از نرم‌افزار Design Expert<sup>®</sup> با سه متغیر مستقل شامل: میزان الانزاپین در محدوده ۰.۲-۴٪، نسبت وزنی Water/GMO و نسبت وزنی PEG 300/GMO به ترتیب در محدوده ۰.۲-۴٪ و ۰.۲-۶٪ به‌کار برده شد. متغیرهای وابسته نیز شامل بازده بارگذاری و درصد رهش در ساعت‌های ۱۲ام و ۱۶ام بودند. با توجه به طرح باکس - به نکلن با ۳ فاکتور، ۱۷ آزمایش مورد نیاز بود تا تأثیرات ۳ فاکتور مستقل را بر روی ۳ پاسخ مورد بررسی قرار گیرد.

## آماده‌سازی ژل‌های بارگذاری شده با الانزاپین

یک گرم گلیسرول مونوئولئات با پلی اتیلن گلیکول در نسبت‌های وزنی مختلف (۰/۲ و ۰/۴ و ۰/۶ w/w) توسط ورتکس مخلوط شده و سپس الانزاپین با درصدهای وزنی مختلف (۲ و ۳ و ۴٪) به آن‌ها اضافه شد و pH محلول‌ها اندازه‌گیری شد. pH تمام نمونه‌ها زیر ۴ تعیین شد و با توجه به آن‌که الانزاپین یک داروی چربی دوست است، بنابراین در pH‌های پایین میزان بارگذاری و بهم آمیختگی ماتریس افزایش یافت. سپس آب در سه نسبت (۰/۲ و ۰/۳ و ۰/۴ w/w) به محلول آماده شده اضافه شد و توسط ورتکس برای ۱۰ دقیقه مخلوط گردید و برای ۴۸ ساعت در دمای اتاق برای رسیدن به تعادل نگهداری شد و سپس نوع فاز تشکیل شده توسط میکروسکوپ نوری پلاریزه بررسی گردید.

## میکروسکوپ نوری پلاریزه

Isotropic °

داخل ۱۰۰ میلی‌لیتر از بافر فسفات غوطه‌ور شد (میزان ژل قرار گرفته در کیسه دیالیز با توجه به حلالیت دارو در محیط بافر و ایجاد شرایط سینک اندازه‌گیری شد). بشر حاوی بافر فسفات و کیسه دیالیز را در انکوباتور لرزان در دمای ۳۷ °C قرار داده شد.

یک میلی‌لیتر از محیط داخل کیسه دیالیز در زمان‌های تعیین شده (۲ و ۴ و ۶ و ۸ و ۱۰ و ۱۲ و ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ و ۹۶ و ۱۲۰ و ۱۴۴ و ۱۶۸ ساعت) از محیط خارج و حجم برابری از بافر تازه جایگزین می‌شد. نمونه‌ها با فیلتر سرنگ ۰/۲ میکرومتر فیلتر شده و سپس با اسپکتروفتومتر در ۲۶۵ نانومتر آنالیز می‌شدند و درصد رهایش دارو اندازه‌گیری می‌شد. با استفاده از مقدار جذب استاندارد، غلظت دارو و در نتیجه میزان داروی آزاد شده در محلول بافر فسفات به دست آمد. اندازه‌گیری داروی آزاد شده تا زمانی که تغییری در غلظت محلول ایجاد نشد، ادامه پیدا کرد. برای دقت کار، تمام آزمایش‌ها تحت شرایط مشابه سه بار تکرار شدند. جهت محاسبه درصد رهایش دارو در زمان‌های تعیین شده، پس از هر بار نمونه‌گیری، میزان جذب دارو با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به دست آمد و سپس مقدار داروی آزاد شده در محیط بافر در هر مرحله توسط مقادیر حاصل از معادله خط منحنی کالیبراسیون جذب دارو محاسبه گردید.

### طرح آزمایش

طرح آزمایش با روش باکس-به‌نکن برای آزمودن کارایی مدل پیشنهاد شد و آزمایش‌ها براساس روش ارائه شده انجام گرفت. مقدار متغیرهای مطلق و داده‌های تجربی مربوطه در جدول (۱) گردآوری شده است.

آنالیز رگرسیون داده‌ها جهت بررسی دقت معادلات کوادریتیکی و درجه دوم پیش‌بینی شده انجام گرفت. مدل-های هر یک از پاسخ‌ها بر اساس F-test برای آنالیز واریانس (ANOVA) که نشان دهنده میزان اهمیت هر یک از پارامترها است، مشخص شد. منحنی‌های سه بعدی سطح هر یک از پاسخ‌ها بر حسب متغیرهای مستقل رسم گردید تا درک بهتری از تأثیرات هر یک از فاکتورهای مؤثر بدست آید.

جدول ۱- نتایج طرح آزمایشی

و اسید استیک به حجم رسانده شد. غلظت محلول استوک به-دست آمده ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. از محلول استوک، محلول‌هایی با رقت‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از دارو با برداشتن حجم مناسب از محلول اولیه و رقیق نمودن توسط حلال‌ها تهیه شد و میزان جذب هر یک از آن‌ها در طول موج ۲۶۵ نانومتر خوانده شد و به این ترتیب منحنی استاندارد جذب و معادله آن تعیین گردید.

### تعیین مقدار داروی بارگذاری شده در ماتریس

محتوای دارویی در سیستم ژل با رقیق‌سازی ۱۰ میلی‌گرم از ژل در ۱۰ میلی‌لیتر از اتانول تعیین می‌شد و سپس محلول با استفاده از یک فیلتر سرنگی ۰/۲ میکرومتر صاف شده و جذب محلول توسط اسپکتروفتومتر در ۲۶۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌گردید. با استفاده از منحنی استاندارد جذب و معادله‌ای که حاصل شد میزان غلظت محلول و داروی موجود در آن محاسبه شد. با توجه به اینکه مقدار داروی اولیه موجود در محلول مشخص است از تفاضل این دو مقدار، میزان دارویی که در ماتریس محصور شده به دست آمد. سپس با استفاده از اطلاعات به دست آمده و با استفاده از فرمول زیر مقدار درصد داروی بارگذاری شده محاسبه شد.

معادله ۱

$$EE\% = \frac{A}{B} * 100$$

A: غلظت الانزایم در ژل و B: غلظت اولیه الانزایم در سیستم است.

### اندازه‌گیری میزان آزادسازی کنترل شده دارو در

#### شرایط برون تنی

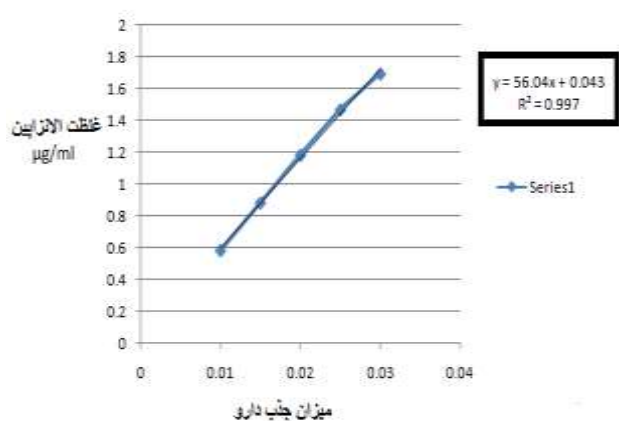
رهایش برون تنی الانزایم از سیستم ژل به وسیله روش کیسه دیالیز گزارش شده توسط Yang (۶ و ۱۳) مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان ژل قرار گرفته در کیسه دیالیز با توجه به حلالیت دارو در محیط بافر و ایجاد شرایط کاملاً سینک<sup>۶</sup> اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۱۰ میلی‌گرم از ماتریس پلیمر-دارو به دست آمده در غلظت‌های مختلف را همراه با ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات داخل کیسه دیالیز ۱ کیلو دالتون که از شب قبل در آب دیونیزه خیس شده بود، ریخته و این کیسه

<sup>۶</sup> Perfect sink condition

دید شده که منطقه انتقال را توصیف می‌کند. فاز مکعبی در نمونه‌های دارای نسبت وزنی ۱:۰/۴ شکل گرفته است. افزایش نسبت وزنی پلی اتیلن گلیکول منجر به شکل‌گیری فاز لایه‌ای می‌شود، حضور الانزایین تأثیر مهمی روی مزوفاز سیستم ژلی ندارد.

### میزان بارگذاری دارو در ماتریس منحنی استاندارد جذب دارو

از محلول استوک، محلول‌هایی با رقت‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰، ۲۵، میکروگرم بر میلی‌لیتر از دارو با برداشتن حجم مناسب از محلول اولیه و رقیق نمودن توسط حلال‌ها تهیه شد و میزان جذب هر یک از آن‌ها در طول موج ۲۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر خوانده شد و به این ترتیب منحنی استاندارد جذب (شکل ۲) و معادله آن تعیین گردید.



شکل ۲- منحنی جذب دارو

نمودار سه بعدی درصد بارگذاری دارو در نسبت‌های وزنی متفاوت (w/w) Water/GMO، PEG300/GMO در مقدار ثابت الانزایین در شکل ۳ نشان داده شده است. محدوده درصد بارگذاری ۰/۹۶ ± ۰/۲۸/۵۷ تا ۰/۸۳ ± ۰/۲۲/۱ مشاهده شده و درصد بارگذاری با افزایش نسبت Water/GMO در حداکثر سطح خود قرار داشته و با کاهش آن نزول یافته است زیرا با افزایش مقدار آب درصد تشکیل فاز مکعبی بالا می‌رود و میزان بارگذاری دارو در این فاز افزایش می‌یابد. در مقابل، در ابتدا با افزایش نسبت وزنی PEG300/GMO درصد بارگذاری دارو افزایش می‌یابد و پس از نسبت (w/w) PEG 300/GMO : ۰/۵ تمایل به

تعداد	X <sub>3</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>1</sub>	Y <sub>3</sub> (%) (mean±SD)	Y <sub>2</sub> (%) (mean±SD)	Y <sub>1</sub> (%) (mean±SD)
۱	۰/۳	۰/۴	۳	۹۱/۹±۰/۰۷	۵۷/۵۴±۱/۰۶	۸۷±۲۵/۸۷
۲	۰/۳	۰/۲	۲	۶۱/۸±۰/۰۸	۱۵/۷۵±۲/۴۸	۸۹±۳۸/۶۰
۳	۰/۲	۰/۴	۴	۷۳/۸±۰/۰۶	۲۷/۳۴±۲/۲۶	۹۳±۱۷/۲۱
۴	۰/۳	۰/۲	۴	۶۵/۶±۰/۰۴	۱۹±۲/۵	۹۰±۱۷/۸۲
۵	۰/۳	۰/۶	۴	۶۱/۸±۰/۰۵	۱۵/۵۴±۱/۶۴	۸۶±۲۱/۲۷
۶	۰/۴	۰/۶	۳	۸۱/۹±۰/۰۴	۳۶/۳۶±۲/۹۲	۹۲±۳۰/۵۴
۷	۰/۲	۰/۲	۳	۸۸/۳±۰/۰۵	۴۲/۲۲±۲/۶۲	۸۶±۲۱/۱۳
۸	۰/۲	۰/۴	۲	۸۹/۴±۰/۰۷	۵۵/۵۲±۲/۸۱	۸۵±۲۳/۹۱
۹	۰/۳	۰/۴	۳	۸۶/۳±۰/۰۵	۴۱±۱/۵۳	۸۸±۳۵/۵۶
۱۰	۰/۲	۰/۶	۳	۸۹/۲±۰/۰۱	۴۴/۷۴±۰/۸۷	۸۳±۴۲/۱
۱۱	۰/۳	۰/۶	۲	۷۶/۴±۰/۰۷	۳۰/۰۷±۲/۴۶	۸۶±۲۴/۹۵
۱۲	۰/۴	۰/۲	۳	۶۳/۵±۰/۰۳	۱۶/۹۵±۲/۸۵	۸۹±۲۳/۰۰
۱۳	۰/۳	۰/۴	۳	۸۷/۲±۰/۰۴	۴۲±۱/۵۶	۸۶/۵±۳۵/۰۱
۱۴	۰/۳	۰/۴	۳	۸۶/۳±۰/۰۴	۵۱±۰/۶۷	۹۰±۲۶/۳۵
۱۵	۰/۴	۰/۴	۲	۷۸/۸±۰/۰۷	۳۳/۳۲±۲/۰۷	۹۴±۲۴/۸۳
۱۶	۰/۴	۰/۴	۴	۵۴/۷±۰/۰۲	۹/۰۸±۱/۲۹	۹۶±۳۸/۵۷
۱۷	۰/۳	۰/۴	۳	۸۹/۳±۰/۰۳	۴۴/۳±۲/۹۰	۸۸±۲۷/۳۲

### میکروسکوپ نوری پلاریزه

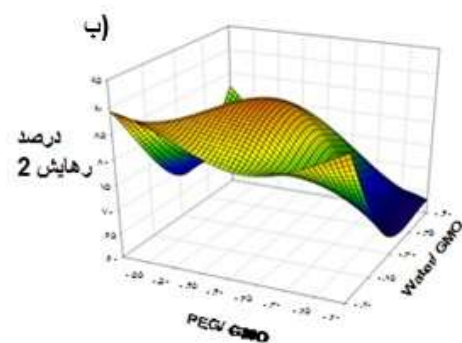
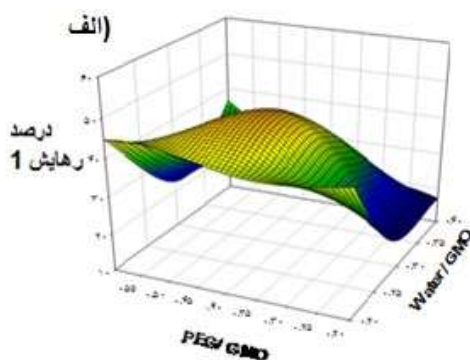
فازهای کریستالی مایع بر طبق نظریه Rosevear و همکاران (۱۲) مشخص شدند. مطالعات متعددی بر روی فازهای کریستالی ماتریس گلیسرول مونوئولات به واسطه مواد حل شده اضافی و حلال‌ها با قطبیت مختلف انجام شده است. قطبیت مولکولی افزودنی‌هایی مانند دارو و حلال می‌تواند روی مزوفاز<sup>۷</sup> سیستم ژلی مؤثر باشد. به‌طور کلی، وقتی دارویی آب دوست وارد ژل می‌شود به خاطر کاهش دسترسی آب به لایه‌های لیپید، فاز لایه‌ای تشکیل می‌گردد (۷). فاز لایه‌ای با میزان آب کمتری و در دمای ۲۰-۴۵ درجه سانتی‌گراد تشکیل می‌گردد. با افزایش مقدار آب شبکه فاز مکعبی ایجاد می‌شود که از لحاظ میکروسکوپی ایزوتوپیک و شفاف است. در دمای بالاتر از ۷۵ درجه سانتی‌گراد یک فاز غیرایزوتروپیک مانند فاز شش گوشه‌ای معکوس آرایش می‌یابد (۶). این فاز شامل استوانه‌های آب آرایش یافته در یک شبکه دو بعدی است که توسط چربی‌های دو لایه از هم جدا می‌گردد.

فاز لایه‌ای در نمونه‌های با نسبت وزنی (w/w) ۱ : ۰/۲ : Water/GMO شناسایی شده و هم‌چنین در نمونه‌هایی با نسبت وزنی (w/w) ۱ : ۰/۳ هر دو فاز لایه‌ای و مکعبی

گرفته شد. چگونگی تغییر رهایش دارو به وسیله‌ی نمودارهای سطح پاسخ تعیین گردید.

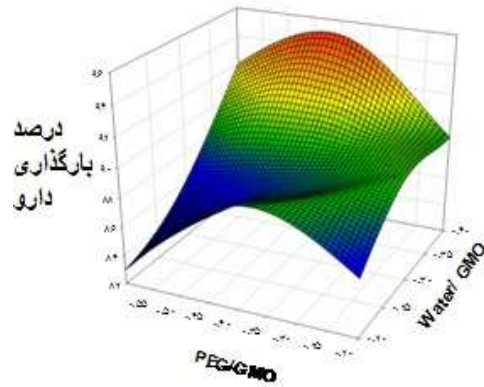
شکل ۴ (الف و ب) تأثیر نسبت وزنی PEG300/GMO و Water/GMO را بر روی درصد رهایش ۱ و ۲ نشان می‌دهند.

همان‌طور که در جدول ۱ آمده، محدوده رهایش  $1 \pm 0.1/26$  از  $0.9/8$  تا  $0.1/06 \pm 0.57/54$  و محدوده رهایش ۲ از  $0.0/2 \pm 0.54/7$  تا  $0.0/07 \pm 0.91/9$  به دست آمد. در مقدار ثابت PEG300/GMO رهایش دارو به طور خطی با افزایش نسبت وزنی Water/GMO، کاهش یافت و میزان رهایش از ۳٪ تا ۵٪ تعیین شد که در حداکثر مقدار خود قرار داشت. در ابتدا با افزایش مقدار الانزایین درصد رهایش افزایش یافت و سپس کم شد. کاهش مشاهده شده در میزان رهایش در دوز بحرانی دارو (w/w)  $3/5$  الانزایین) ممکن است به خاطر طبیعت چربی دوستی الانزایین باشد که دارو در لایه‌های چربی وارد می‌شود و میزان رهایش دارو از سیستم زلی کاهش می‌یابد.



شکل ۴- نمودار سه بعدی الف) درصد رهایش ۱ ب) درصد رهایش ۲ با نسبت‌های وزنی PEG/GMO و Water/GMO در مقدار ثابت الانزایین

پایین داشته است. طبیعت آب دوستی پلی اتیلن گلایکول بر روی آرایش ماتریس و میزان جذب آب تأثیر می‌گذارد. با افزایش مقدار پلی اتیلن گلایکول وارد شده به ژل، فاز لایه‌ای شکل می‌گیرد.



شکل ۳- نمودار سه بعدی تغییرات درصد بارگذاری دارو ب با نسبت‌های وزنی PEG/GMO و Water/GMO در مقدار ثابت الانزایین

ضرایب متغیرهای مهم برای درصد بارگذاری دارو در معادله ۲ نشان داده شده است.

معادله ۲

$$Y_1 = 87.9 + 3X_1 - 0.87X_2 - 1.38X_3 + 1.5X_1X_2 - 1.5X_1X_3 - 0.25X_2X_3 + 1.92X_1^2 - 2.33X_2^2 + 2.18X_3^2$$

$X_1, X_2, X_3$  به ترتیب کدهای تعریف شده برای درصد بارگذاری دارو و نسبت وزنی Water/GMO و PEG300/GMO، درصد الانزایین هستند. تجزیه و تحلیل رگرسیون واریانس داده‌ها نشان داد که ضرایب خطی فاکتور مستقل  $X_1$  تأثیرات بیشتری بر روی درصد بارگذاری دارو در مقایسه با دیگر فاکتورها دارد.

### رهایش الانزایین در محیط برون تنی

در طرح آزمایش رهایش را در ساعت ۱۲ام به عنوان رهایش ۱ و رهایش در ساعت ۱۶۸ام را به عنوان رهایش ۲ در نظر گرفته شد. در گام بعدی به منظور بهینه‌سازی شرایط، رنج مناسب رهایش ۱ را در محدوده ۱۵-۱۰٪ قرار داده شد، چون هدف این پروژه ایجاد یک سیستم آهسته رهش برای الانزایین بوده و رهایش ۲ در ماکزیمم مقدار خود در نظر

مقایسه درصد رهایش دارو از ماتریس‌هایی با نسبت‌های w/w ۰/۴ و ۰/۲ : Water/GMO و در میزان الانزایین و پلی اتیلن گلیکول ثابت نشان داد که میزان رهایش دارو با محتوای آب کمتر (۲۰٪) در مقایسه با نمونه‌هایی با میزان آب بیشتر (۴۰٪) پایین‌تر بود. این مشاهدات می‌تواند به واسطه تورم نمونه‌ها با ۴۰٪ آب مرتبط باشد. مطالعات زیادی برای بررسی تأثیر آب اولیه روی مکانیسم رهایش دارو انجام شده است (۱۴).

### تأثیر میزان دارو بر روی درصد رهایش

نوع و دوز دارو یک فاکتور مهم است که نرخ رهایش دارو و سینتیک را تحت تأثیر قرار داد. الانزایین به خاطر خاصیت چربی دوست بودن وارد لیپید دو لایه می‌شود و رهایش دارو با افزایش دوز الانزایین کاهش می‌یابد. انحلال‌پذیری و غلظت داروی بارگیری شده، روی درصد رهایش دارو از ماتریس گلیسرول مونوئولئات تأثیر می‌گذارد. مطالعات انجام گرفته روی رهایش داروهای قطبی و غیر قطبی تأثیر دوز و نوع دارو را بر روی پروفایل و مکانیسم رهایش نشان می‌دهد (۱).

### بحث

برای بررسی صحت مدل مقادیر P-Value و F-Test مدل هر یک از پاسخ‌ها بررسی گردید که این مقادیر به ترتیب برای درصد بارگذاری دارو ۰/۰۱۰۲ و ۵/۵۶ و رهایش ۱ برابر با ۰/۰۰۴۹ و ۵/۸۳ و رهایش ۲ برابر با ۰/۰۰۱۵ و ۱۲/۵۶ بود و با توجه به آن که مقادیر P-Value این مدل‌ها کمتر از ۰/۰۱ بود می‌توان به صحت این مدل‌ها مطمئن گردید.

بهینه‌سازی سیستم‌های ژلی بر اساس آنالیز آماری انجام گرفت. فرمولاسیون بهینه با استفاده از روش باکس-بنکن با نسبت وزنی Water/GMO در (w/w) ۰/۲۸، نسبت وزنی PEG 300/GMO در (w/w) ۰/۲ و درصد الانزایین در ۰/۴ به دست آمد. برای معتبرسازی و تأیید قابل پیش‌بینی بودن فرمولاسیون بهینه شده، یک ژل تازه با شرایط بهینه برای ۳ مرتبه آماده شد و پاسخ‌ها ارزیابی گردید. مقدارهای مشاهده شده و پیش‌بینی شده برای درصد بارگذاری دارو به ترتیب برابر با ۰/۸۶/۸٪ و ۰/۹۰/۳۱٪ و این

ضرایب متغیرهای مستقل برای درصد رهایش دارو در ساعت ۱۲ام (رهایش ۱) و درصد رهایش دارو در ساعت ۱۶۸ام (رهایش ۲) در معادلات ۳ و ۴ نشان داده شده است

$$Y_2 = 47.17 - 9.39X_1 + 3.97X_2 - 7.96X_3 + 4.47X_1X_2 + 0.99X_1X_3 - 4.45X_2X_3 - 0.31X_1^2 - 11.54X_2^2 - 15.54X_3^2$$

$$Y_3 = 88.18 - 7.79X_1 + 3.83X_2 - 6.31X_3 + 4.5X_1X_2 - 2.12X_1X_3 - 4.6X_2X_3 + 0.097X_1^2 - 7.68X_2^2 + 14.1X_3^2$$

که  $Y_2$  و  $Y_3$  پاسخ‌های پیش‌بینی شده به ترتیب برای درصد رهایش در ۱۲ ساعت و ۱۶۸ ساعت بود.

$X_1, X_2, X_3$  به ترتیب مقدارهای کد شده برای نسبت وزنی Water/GMO و PEG 300/GMO و درصد الانزایین هستند. آنالیز رگرسیون داده‌ها نشان داد که نسبت وزنی Water/GMO به عنوان فاکتور اصلی بیشترین تأثیر را بر روی درصد رهایش داشت. ضرایب منفی ارتباط معکوس بین فاکتورهای مستقل و پاسخ‌ها را نشان دادند. تأثیر  $X_1$  روی  $Y_2$  تقریباً دو برابر بیشتر در مقایسه با  $X_2$  و یک برابر بیشتر در مقایسه با  $X_3$  بود.

### تأثیر میزان پلی اتیلن گلیکول ۳۰۰ بر روی درصد رهایش دارو

رهایش برون‌تنی دارو از ماتریس‌هایی با محتوای آب و درصد داروی ثابت، برای ارزیابی تأثیر پلی اتیلن گلیکول بر روی درصد رهایش بررسی گردیده و نشان داده شده است با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول، رهایش دارو از ۶۱/۸٪ به ۷۶/۴٪ افزایش یافته. پلی اتیلن گلیکول با توجه به خاصیت آب دوستی باعث افزایش میزان جذب آب می‌شود و دسترسی آب را به لایه‌های چربی کاهش می‌دهد و باعث رهایش سریع‌تر دارو می‌شود. در مطالعات انجام گرفته در گذشته نیز در حضور پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ درصد رهایش دیازپام را افزایش داده و نتایج مشابهی نیز با حضور پلی اتیلن گلیکول ۱۰۰۰ مشاهده شده است (۹).

### تأثیر میزان آب اولیه بر روی درصد رهایش دارو

آهسته رهایش بود که هدف اصلی این پروژه بود. فرمولاسیون ماتریس بهینه بر اساس مدل به این صورت بود که نسبت وزنی Water/GMO و PEG/GMO به ترتیب ۰/۲۸ و ۰/۲ و درصد الانزاپین ۰/۴ بود. پاسخ‌های پیش بینی شده بر اساس این مدل برای ماتریس بهینه عبارت بودند از: درصد بارگذاری دارو  $90/73 \pm 3/24$ ، رهایش  $15 \pm 87/2$  درصد، رهایش ۲ برابر با  $63/56 \pm 0/05$  درصد. برای بررسی میزان دقت و کارایی مدل ماتریس بهینه سه مرتبه آماده گردید و میانگین هر یک از پاسخ‌ها محاسبه و با پاسخ مدل مقایسه گردید. خطاهای پیش‌بینی شده کمتر از ۰/۶ بود که صحت و قابل پیش‌بینی بودن بیشتر مدل ایجاد شده را نشان می‌داد.

## سپاسگزاری

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهریار برای تأمین منابع مالی این پروژه تشکر و قدردانی می‌شود.

پارامترها برای رهایش ۱ برابر با ۱۶/۱٪، ۱۵/۸٪ و برای رهایش ۲، ۵۹/۸٪ و ۶۳/۵۶٪ بود.

قابل ذکر است که خطاهای پیش بینی شده کمتر از ۰/۶ بود که صحت و قابل پیش‌بینی بودن بیشتر مدل ایجاد شده را نشان داد. با توجه به اینکه شرایط رهایش دارو از ماتریس به کوچک‌ترین تغییرات حساس بوده و اندکی تغییر در آن‌ها باعث ایجاد اختلاف زیادی می‌گردد، بنابراین نزدیک بودن مقادیر به دست‌آمده نشان‌دهنده دقت بالای عملیات تهیه ماتریس بود.

این مقاله به بررسی رهایش الانزاپین از ماتریس گلیسرول مونوئولئات پرداخت. ماتریس‌ها با استفاده از روش باکس-به-نکن با سه متغیر مستقل شامل نسبت وزنی Water/GMO و PEG/GMO و درصد الانزاپین طراحی شده بود و تأثیرات هر یک از آن‌ها را بر روی درصد بارگذاری و رهایش دارو بررسی شد. آزادسازی الانزاپین در ژل‌های مورد بررسی تا بیش از ۱۶۸ ساعت نیز به طول انجامید که نشان از سیستم

## منابع

1. Bezerril L, De Vasconcelos C, Dantas T, Pereira M, Fonseca J. Rheology of chitosan-kaolin dispersions. *J. Colloids Surf A*, 2006. 287 (1): p.24-8.
2. Clogston J, Craciun G, Hart D, Caffrey M. Controlling release from the lipidic cubic phase by selective alkylation. *J Controlled release*, 2005. 102 (2): p.441-61.
3. Engström S, Ljusberg-Wahren H, Gustafsson A. Bioadhesive properties of the monoolein-water system. *Pharm Tech Europe*, 1995. 7: p. 14-14.
4. Ericsson B, Eriksson P, Lofroth J, Engstrom S, editors. Cubic phases as delivery systems for peptide drugs. *ACS Symp Ser* 469, 1991.5(2): p. 251-265.
5. Firdous S, Aman T, Nisa A. Determination of olanzapine by UV spectrophotometry and non-aqueous titration. *J Chem Soc Pak*, 2005.27 (2): p.163-67.
6. Korsmeyer RW, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas NA. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int J Pharm*, 1983. 15 (1): p.25-35.
7. Kumar M K, Shah MH, Ketkar A, Mahadik K, Paradkar A. Effect of drug solubility and different excipients on floating behaviour and release from glyceryl monooleate matrices. *Int J Pharm*, 2004. 272 (1): p.151-60.
8. Makai M, Csányi E, Németh Z, Palinkas J, Erős I. Structure and drug release of lamellar liquid crystals containing glycerol. *Int J Pharm*, 2003. 256 (1): p.95-107.
9. Norling T, Lading P, Engström S, Larsson K, Krog N, Nissen SS. Formulation of a drug delivery system based on a mixture of monoglycerides and triglycerides for use in the treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 1992. 19 (9): p.687-92.
10. Porter CJ, Charman WN. In vitro assessment of oral lipid based formulations. *Adv. Drug. Delivery Rev*, 2001. 50: p.S127-S47.
11. Qiu H, Caffrey M. The phase diagram of the monoolein/water system: metastability and equilibrium aspects. *Biomaterials*, 2000.21 (3): p.223-34.
12. Shah JC, Sadhale Y, Chilukuri DM. Cubic phase gels as drug delivery systems. *Adv Drug Delivery Rev*, 2001. 47 (2): p.229-50.
13. Yang SC, Lu LF, Cai Y, Zhu JB, Liang BW, Yang CZ. Body distribution in mice of intravenously injected camptothecin solid lipid nanoparticles and targeting effect on brain. *J Controlled release*, 1999. 59(3): p.299-307.
14. Zarzycki R, Modrzejewska Z, Nawrotek K. Drug release from hydrogel matrices. *Eco 528 Chem Eng*, 2010. 17(2): p.117-36.