

Formulation and Optimization of Controlled Release of Olanzapine by Glycerol Monooleate

Gita Bagheri^{1*}, FaridAbedin Dorkoosh², Ebrahim Vasheghani-Farahani³, Mehdi Ardjmand⁴, HosseinAttar¹

¹Department of Chemical Engineering, Shahriar-Shar-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Department of Pharmaceutics, SchoolofPharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Department of Chemical Engineering, SchoolofEngineering, TarbiatModares University, Tehran, Iran

⁴Department ofChemical Engineering, School of Graduate, Islamic Azad University, Tehran South Branch, Tehran, Iran

Received: 7 Dec, 2013 Accepted: 21 Jan, 2014

Abstract

Background and Objectives: In situ gel formation of Glycerol Monooleate (GMO) has been utilized to release many drugs. The aim of this research was to optimize, and *in-vitro* characterization of the controlled release and formulation of the matrices containing Olanzapine (OZ), GMO and Polyethylene glycol (PEG 300).

Methods and Materials: Response surface methodology (RSM) is a combination of mathematical and statistical techniques. In this study, Design-Expert® software with Box-Behnken response surface methodology has been used to determine the relationships between variables and responses. GMO/water weight ratio (w/w) different and PEG 300/GMO (w/w) were in the range of 2-4% and 2-6% respectively. Percentage of loading; and release at 12th and 168th hr were calculated. *In-vitro* release studies of OZ from prepared gels were conducted in PBS (pH 6.8) and then analyzed by spectrophotometer at 265 nm.

Results: The optimum formulation was obtained at weight ratio of water/GMO (w/w) and PEG (300)/GMO (w/w) at 0.28 and 0.2 respectively, and percentage of OZ was at 4%. The observed and predicted values for EE % were 86.8 %, 90.31% respectively those parameters for release at 12th hr were 16.1% and 15% and for release at 168th hr, were 59.8 % and 63.56% respectively.

Conclusion: In this study we performed kinetic release profile of OZ with several models, from which Higuchi model showed the best fitting and correlation.

Keywords: *In-vitro*, Monoolein, Polyethylene Glycols, Olanzapine

*Corresponding author:

E-mail: gitabagheri_en@yahoo.com

مقاله پژوهشی

فرمولاسیون و بهینه سازی سیستم آهسته رهش الانزایین با استفاده از گلیسرول مونوئولات

گیتا باقری^۱، فرید عابدین درکوش^۲، ابراهیم واشقانی فراهانی^۳، مهدی ارجمند^۴، حسین عطار^۱

^۱گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهریار-شهرقدس، تهران، ایران
^۲گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
^۳گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
^۴گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

دریافت: ۹۲/۹/۱۶ پذیرش: ۹۲/۱۱/۱

چکیده

زمینه و اهداف: گلیسرول مونوئولات (GMO) در ساختار ژلی، جهت کنترل رهش بسیاری از داروها با خواص فیزیکوشیمیایی متفاوت بکار رفته است. هدف این تحقیق تهیه و بهینه سازی و بررسی رهش برون تنی فرمولاسیون رهش کنترل شده ماتریسهایی متشکل از الانزایین (OZ)، GMO و پلی اتیلن گلیکول (PEG) است.

مواد و روش‌ها: روش سطح پاسخ ترکیبی از تکنیک‌های آماری و ریاضی است که با توجه به چندین پارامتر آماری بهترین مدل رارائه می دهد. در این مطالعه از نرم افزار Design-Expert با روش سطح پاسخ باکس - به نکن برای تعیین رابطه میان متغیرهای مستقل و پاسخ ها استفاده شده است. متغیرهای مستقل شامل: محتوای الانزایین در محدوده ۲-۴٪، نسبت وزنی آب / گلیسرول مونوئولات و پلی اتیلن گلیکول / گلیسرول مونوئولات به ترتیب در محدوده ۲-۴٪ و ۲-۶٪ است. متغیرهای وابسته شامل بازده بارگذاری و درصد رهش در ساعت های ۱۲ ام و ۱۶۸ ام می باشد. مطالعات رهش برون تنی الانزایین از ژل‌های آماده شده در محیط بافر با pH: ۶/۸ انجام گرفت و دارو با اسپکتروفتومتر در ۲۶۵ نانومتر آنالیز شد.

یافته‌ها: فرمولاسیون بهینه با نسبت وزنی Water/GMO و PEG 300/GMO به ترتیب در ۰/۲۸ و ۰/۲ و الانزایین در ۴٪ بدست آمد. مقدارهای مشاهده شده و پیش بینی شده برای درصد بارگذاری دارو به ترتیب برابر با ۰/۸۶/۸ و ۰/۹۰/۳۱٪ و برای رهش در ساعت ۱۲م برابر با ۱۶/۱٪، ۱۵٪ و رهش در ساعت ۱۶۸م، ۵۹/۸٪ و ۵۶/۳٪ بوده است

نتیجه‌گیری: سینتیک رهش الانزایین توسط مدل‌های مختلف بررسی گردید که از بین آنها مدل هیگوجی بهترین تناسب و همبستگی را نشان داد.

کلید واژه‌ها: برون تنی، مونوئولین، پلی اتیلن گلیکولها، الانزایین

*ایمیل نویسنده رابط: gitabagheri_en@yahoo.com

مقدمه

کمتر از آنتی سایکوتیک‌های معمول دیگر است. در سالهای اخیر توجه خاصی روی بکارگیری اسیدهای چرب و چربی‌ها به عنوان حامل برای آزادسازی دارو در سیستم‌های رهش کنترل شده گردیده و به خاطر ویژگی‌های منحصر به فرد چربی‌ها (۲) این مواد در فرمولاسیون‌های مختلف از جمله ماتریس‌های جامد و لیپوزوم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند.

الانزایین یا ۲-(4-methyl-1-piperazinyl)-10H-thieno-benzodiazepine [1,5][2, 3-b] برای درمان اسکیزوفرنی و اختلالات روانی مشابه استفاده می‌شود و به دسته نسل دوم عوامل ضد سایکوز تعلق دارد. الانزایین در آب نامحلول است و تنها ۶۰٪ زیست دسترس پذیری خوراکی داشته و نیمه عمر آن در انسان ۳۰ ساعت است (۱) و اثرات جانبی این دارو

بخش تجربی

مواد

گلیسرول مونوئولئات از شرکت دنیسکو از کشور دانمارک و پلی اتیلن گلایکول ۳۰۰ از شرکت مرک آلمان و الانزایم از شرکت سبحان ایران تهیه شده است. فیلتر سرنگ ۰/۲ میکرومتر و کیسه دیالیز ۱ کیلو دالتون از شرکت سیگمای آلمان خریداری شده است و مابقی مواد شیمیایی با کیفیت و خلوص بالا تهیه شده اند.

طرح آزمایش

روش سطح پاسخ، طرح آزمایشی است که از ترکیب تکنیک‌های ریاضی و آماری بدست آمده و بهترین مدل ریاضی را با توجه به پارامترهای آماری از قبیل P-Value و F-Test بدست می آورد و نحوه تغییرات متغیرهای وابسته را با متغیرهای مستقل مورد ارزیابی قرار می دهد. طرح آماری باکس - به نکن با استفاده از نرم افزار Design Expert® با سه متغیر مستقل شامل میزان الانزایم در محدوده ۲-۴٪، نسبت وزنی Water/GMO و نسبت وزنی PEG 300/GMO به ترتیب در محدوده ۲-۴٪ و ۲-۶٪ بکار برده شده است. متغیرهای وابسته نیز شامل بازده بارگذاری و درصد رهش در ساعت‌های ۱۲ ام و ۱۶۸ ام می باشد. با توجه به طرح باکس - به نکن با ۳ فاکتور، ۱۷ آزمایش مورد نیاز است تا تاثیرات ۳ فاکتور مستقل را بر روی ۳ پاسخ مورد بررسی قرار دهد.

آماده سازی ژل‌های بارگذاری شده با الانزایم

یک گرم گلیسرول مونوئولئات با پلی اتیلن گلایکول در نسبت‌های مختلف (۰/۲ و ۰/۴ و ۰/۶ w/w) توسط ورتکس مخلوط شده و سپس الانزایم با درصد‌های وزنی مختلف (۲، ۳ و ۴ درصد) به آنها اضافه شده و سپس PH محلول‌ها اندازه‌گیری می‌شود (PH) تمام نمونه‌ها زیر ۴ نشان داده شد سپس آب در سه نسبت (۰/۲ و ۰/۳ و ۰/۴) به محلول آماده شده اضافه شد و توسط ورتکس برای ۱۰ دقیقه مخلوط گردید و برای ۴۸ ساعت در دمای اطاق برای رسیدن به تعادل نگهداری شد. سپس نوع فاز تشکیل شده توسط میکروسکوپ نوری پلاریزه بررسی گردید.

میکروسکوپ نوری پلاریزه

میکروسکوپ نوری پلاریزه برای تشخیص فازهای کریستالی مایع مورد استفاده قرار می‌گیرد. لایه نازکی از نمونه زیر میکروسکوپ نوری پلاریزه (نیکون، کاناگارا، ژاپن) قرار می‌گیرد و در تمام نمونه‌ها از بزرگ‌نمایی ۴۰۰ استفاده می‌شود. فاز مکعبی به وسیله‌ی پس زمینه تیره مشخص می‌شود زیرا بر طبق خاصیت ایزوتروپیک خود نور پلاریزه را از خود عبور می‌دهد و پس زمینه تیره دیده می‌شود و فازهای لایه‌ای ساختار موزائیکی دارد.

چربی‌های آب دوست به عنوان ماتریس جامد جهت بارگذاری داروها استفاده می‌شود. چربی‌های دو گانه دوست تحت شرایط خاص آرایش‌های سه بعدی از خود نشان می‌دهند. این چربی‌ها وقتی با آب تماس پیدا می‌کنند لیپیدهای دولایه تشکیل می‌دهند که از لحاظ ترمودینامیکی ساختار بادوامی است. بر روی توانایی استرهای اسید-چرب مانند گلیسریدها و گلیسرول مونوئولئات و گلیسرول مونوئولینولات (GML) جهت بکارگیری در سیستم‌های آهسته رهش داروها تحقیقات بسیاری صورت گرفته و فازهای کریستالی آنها در درصد ترکیبات مختلف مشخص شده است (۳). گلیسرول مونوئولئات و یا مونوئولین یک چربی دوگانه دوست قطبی و یک استراسید چرب است. تقریباً تمام مواد زیست چسبیده که برای سیستم‌های انتقال دارو بکار می‌رود پلیمرها یا شبه پلیمرهایی با وزن مولکولی بالا هستند، اما گلیسرول مونوئولئات وزن مولکولی بسیار پایین با انحلال‌پذیری اندک در آب دارد و غیر اشباع و در دمای اطاق یک ماده مومی شکل است. گلیسرول مونوئولئات بر اثر هیدراسیون می‌تواند نورآرایی شود و فاز میسلی و چندین فاز کریستالی لیتروپیک (۴) مانند لایه‌ای (Lamellar)، فاز مکعبی و فاز شش ضلعی معکوس (Reversed Hexagonal Phase) را تشکیل دهد که هر فاز ویژگی خاصی دارد. فاز میسلی ساختمان ایزوتروپی و میله‌ای شکل با ویسکوزیته بالا با آرایشی خطی از کانال آبی و لیپیدهای دولایه دارد. فاز مکعبی بسیار ویسکوز بوده و یک حالت نیمه جامد و شفاف دارد و از لحاظ ترمودینامیکی پایدار می‌باشد. در این شبکه سه بعدی کانال‌های آبی به وسیله‌ی لیپیدهای دو لایه احاطه می‌شوند و دو کانال آبی ممتد را از هم جدا می‌کنند. رهش داروهای مختلفی مانند ویتامین E (۵) مترونیدازول (۶)، سفازولین (۷) و انسولین (۸) توسط این فاز بررسی گردیده است. از فاز مکعبی گلیسرول مونوئولئات جهت بررسی رهش داروی اسید سالیسیلیک استفاده شده است. در ابتدا مشخصات فازهای کریستالی مایع توسط میکروسکوپ نوری پلاریزه مشخص گردیده و تاثیر هر یک از فاکتورهای ترکیب بر روی فاز و همچنین میزان تورم سیستم بررسی گردیده و نشان داده که حضور اسید سالیسیلیک تاثیر بر روی مزوفاز سیستم نداشته و پروفایل رهش دارو بر اساس معادله فیک و مستقل از میزان داروی اولیه بوده است. میزان تورم ماتریس بر اساس معادله درجه دوم قابل پیش‌بینی بوده است (۹). بر روی سیستم گلیسرول مونوئولئات به همراه کیتوسان به عنوان سیستم آهسته رهش داروهای کتوپروفن و دگزامتازون کار شده است و از گلوکار آلدئید به عنوان لینکر استفاده شده و تاثیر لینکرهای مختلف بر روی ضریب نفوذ و میزان جذب آب و درصد رهش دارو مشخص شده است. خصوصیات چسبندگی کیتوسان در حضور گلیسرول مونوئولئات تشدید می‌گردد (۱۰).

درصد بارگذاری انزایین

$\ln M_t = -K_1 t + \ln M_0$
 M_t مقدار داروی باقی مانده در ژل در زمان t ، M_0 مقدار اولیه دارو در ژل و K_1 ثابت مدل رهایش درجه اول است (۹).

سینتیک رهایش مدل هیگزون-کراول (Hixson-Crowell)

این قانون ریشه دوم جهت توصیف رهایش دارو از سیستمی است که سطح یا قطر ذره تغییر می‌کند، از قبیل قرص‌ها. این معادله را می‌توان به صورت زیر بیان نمود.
 (معادله ۴):

$$M_0^{1/3} - M_t^{1/3} = K_{HC} t$$

مقدار داروی رها شده در زمان t ، M_0 مقدار اولیه دارو در ژل و K_{HC} ثابت نرخ مدل هیگزون - کراول است.

سینتیک رهایش مدل هیگوچی

این مدل برای سیستم رهایش کنترل‌شده بویژه برای توصیف ماتریس‌های آب دوست به کار می‌رود و رهایش دارو با زمان کاهش می‌یابد. در ابتدا این مدل برای ماتریس‌های نامحلول استفاده شده است. شکل ساده شده این مدل به صورت زیر است
 (معادله ۵):

$$M_t = K_H t^{0.5}$$

که M_t مقدار داروی رهایش یافته در زمان t ، K_H ثابت مدل هیگوچی است.

سینتیک رهایش مدل کروسمایر-پیاس

کروسمایر و همکاران یک رابطه ساده برای توصیف رهایش دارو از سیستم پلیمری بیان کردند (۱۴). برای تعیین مکانیسم و مدل رهایش دارو ابتدا ۶۰٪ از داده‌های نرمال شده رهایش دارو با فرمول زیر متناسب شد که عبارت است از
 (معادله ۶):

$$M_t / M_\infty = K t^n$$

جزئی از داروی رهایش یافته، K ثابت نرخ رهایش و n توان رهایش است. همچنین مقدار n مدل مکانیسم رهایش را تعیین می‌کند (۱۵).

طرح آزمایش

مقدار متغیرهای مطلق و داده‌های تجربی مربوطه در جدول ۱ گردآوری شده است.

محتوای دارویی در سیستم ژل با رقیق‌سازی ۱۰ میلی‌گرم از ژل در ۱۰ میلی‌لیتر از اتانول تعیین می‌شود. سپس محلول با استفاده از یک فیلتر سرنگی ۰/۲ میکرومتر فیلتر شده و جذب محلول توسط اسپکتروفتومتر در ۲۶۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. درصد بارگذاری دارو توسط رابطه زیر محاسبه می‌گردد:

(معادله ۱)

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

A: غلظت انزایین در ژل و B: غلظت اولیه انزایین در سیستم ژلی است.

رهایش انزایین در محیط برون تنی

رهایش برون تنی انزایین از سیستم ژل به وسیله روش کیسه دیالیز که توسط Yang (۱۱-۱۲) ارائه گردیده، مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان ژل قرارگرفته در کیسه دیالیز با توجه به حلالیت دارو در محیط بافر و ایجاد شرایط سینک اندازه‌گیری شد. ۱۰ میلی‌گرم از ژل در یک کیسه دیالیز ۱ کیلو دالتون که از شب قبل در آب دیونیزه خیس شده بود قرار داده و سپس در محیط بافر مجهز به همزن با $Ph=6/8$ و در دمای $37 \pm 0/5^\circ C$ قرار داده می‌شود. ۱ میلی‌لیتر از محیط داخل کیسه دیالیز در زمانهای تعیین شده (۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۱۲۰، ۱۴۴، ۱۶۸ ساعت) از محیط خارج و حجم برابری از بافر تازه جایگزین می‌شود. نمونه‌ها با فیلتر سرنگ ۰/۲ میکرومتر فیلتر شده و سپس با اسپکتروفتومتر در ۲۶۵ نانومتر آنالیز می‌شوند و درصد رهایش دارو اندازه‌گیری می‌شود.

مدلهای تجربی رهایش دارو

سینتیک رهایش درجه صفر

این مدل برای توصیف رهایش ایده‌آل داروهای ماند قرص‌های اسموتیک خوراکی و قرص‌های داروهای کم محلول (۱۳) مورد استفاده قرار می‌گیرد. این مدل را می‌توان به شکل زیر بیان نمود (معادله ۲):

$$M_t = M_0 + K_0 t$$

که M_t مقدار داروی رها شده در زمان t ، M_0 مقدار اولیه دارو در محیط بافر که اغلب صفر است، K_0 ثابت رهایش معادله درجه صفر است.

سینتیک رهایش درجه یک

این مدل برای توصیف جذب یا حذف برخی داروها مورد استفاده قرار می‌گیرد. فرم انتگرالی این مدل به شکل زیر است.
 (معادله ۳):

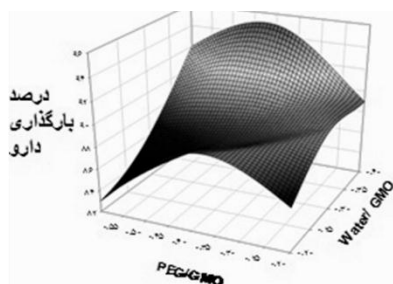
جدول ۱: نتایج طرح آزمایشی

تعداد	X ₁	X ₂	X ₃	Y ₁ (%) (mean±SD)	Y ₂ (%) (mean±SD)	Y ₃ (%) (mean±SD)
۱	۰/۳	۰/۴	۳	۸۷±۲۵/۸۷	۵۷/۵۴±۱/۰۶	۹۱/۹±۰/۰۷
۲	۰/۳	۰/۲	۲	۸۹±۳۸/۶۰	۱۵/۸۵±۲/۴۸	۶۱/۸±۰/۰۸
۳	۰/۲	۰/۴	۴	۹۳±۱۷/۲۱	۲۷/۳۴±۲/۲۶	۷۳/۸±۰/۰۶
۴	۰/۳	۰/۲	۴	۹۰±۱۷/۸۲	۱۹±۲/۵	۶۵/۶±۰/۰۴
۵	۰/۳	۰/۶	۴	۸۶±۲۱/۲۷	۱۵/۵۴±۱/۶۴	۶۱/۸±۰/۰۵
۶	۰/۴	۰/۶	۳	۹۲±۳۰/۵۴	۳۶/۳۶±۲/۹۲	۸۱/۹±۰/۰۴
۷	۰/۲	۰/۲	۳	۸۶±۲۱/۱۳	۴۳/۲۲±۲/۶۲	۸۸/۳±۰/۰۵
۸	۰/۲	۰/۴	۲	۸۵±۲۳/۹۱	۵۵/۵۲±۲/۸۱	۸۹/۴±۰/۰۷
۹	۰/۳	۰/۴	۳	۸۸±۳۵/۵۶	۴۱±۱/۵۳	۸۶/۳±۰/۰۵
۱۰	۰/۲	۰/۶	۳	۸۳±۴۲/۱	۴۴/۸۴±۰/۸۷	۸۹/۲±۰/۰۱
۱۱	۰/۳	۰/۶	۲	۸۶±۴۳/۹۵	۳۰/۰۷±۲/۴۶	۷۶/۴±۰/۰۷
۱۲	۰/۴	۰/۲	۳	۸۹±۲۳/۰۰	۱۶/۹۵±۲/۸۵	۶۳/۵±۰/۰۳
۱۳	۰/۳	۰/۴	۳	۸۶/۵±۳۵/۰۱	۴۲±۱/۵۶	۸۷/۲±۰/۰۴
۱۴	۰/۳	۰/۴	۳	۹۰±۲۶/۳۵	۵۱±۰/۶۷	۸۶/۳±۰/۰۴
۱۵	۰/۴	۰/۴	۲	۹۴±۲۴/۸۳	۳۳/۳۲±۲/۰۷	۷۸/۸±۰/۰۷
۱۶	۰/۴	۰/۴	۴	۹۶±۳۸/۵۷	۹/۰۸±۱/۲۹	۵۴/۷±۰/۰۲
۱۷	۰/۳	۰/۴	۳	۸۸±۱۷/۳۲	۴۴/۳±۲/۹۰	۸۹/۳±۰/۰۳

مکعبی در نمونه‌های دارای نسبت وزنی ۱: ۰/۴ شکل گرفته است. افزایش نسبت وزنی پلی اتیلن گلیکول منجر به شکل-گیری فاز لایه ای می‌شود، حضور الانزایم تاثیر مهمی روی مزوفاز سیستم ژلی ندارد.

درصد بارگذاری دارو

نمودار سه بعدی درصد بارگذاری دارو در نسبت‌های وزنی متفاوت PEG 300/GMO, Water/GMO در مقدار ثابت الانزایم در شکل ۱ نشان داده شده است. محدوده درصد بارگذاری ۱/۲۲±٪ تا ۲۸/۵۷±٪ 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 PEG 300/GMO درصد بارگذاری دارو افزایش می‌یابد و سپس (PEG300/GMO: ۰/۵) تمایل به پایین داشته است. طبیعت آب دوستی پلی اتیلن گلیکول بر روی آرایش ماتریس و میزان جذب آب تاثیر می‌گذارد. با افزایش مقدار پلی اتیلن گلیکول وارد شده به ژل، فاز لایه ای شکل می‌گیرد.

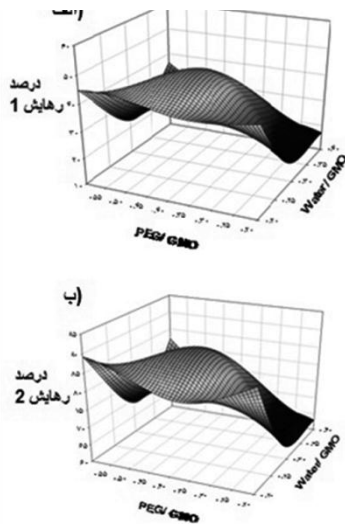


شکل ۱: نمودار سه بعدی تغییرات درصد بارگذاری دارو ب با نسبت‌های وزنی Water/GMO و PEG/GMO در مقدار ثابت الانزایم. تغییرات مهم برای درصد بارگذاری دارو در معادله ۷ نشان داده شده است.

آنالیز رگرسیون داده‌ها جهت بررسی دقت معادلات کوادریتیک و درجه دوم پیش‌بینی شده انجام گرفت. مدل‌های هر یک از پاسخ‌ها بر اساس F-test برای آنالیز واریانس (ANOVA) که نشان‌دهنده 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 تاثیرات هر یک از فاکتورهای موثر بدست آوریم.

میکروسکوپ نوری پلاریزه

فازهای کریستالی مایع سیستم‌های ژلی بر طبق نظریه Rosevear و همکاران (۱۶) مشخص می‌گردند. مطالعات متعددی بر روی فازهای کریستالی ماتریس گلیسرول مونوئولئات به واسطه مواد حل شده اضافی و حلالها با قطبیت مختلف انجام شده است. قطبیت مولکولی افزودنی‌هایی مانند دارو و حلال می‌تواند روی مزوفاز سیستم ژلی موثر باشد. بطور کلی، وقتی دارویی آب دوست وارد ژل می‌شود به خاطر کاهش دسترسی آب به لپیده‌های دو لایه‌ای، فاز لایه ای تشکیل می‌گردد (۱۷). فاز لایه ای با میزان آب کمتری و در دمای ۲۰-۴۵ درجه سانتی‌گراد تشکیل می‌شود و این فاز دارای لپید دو لایه‌ای است که در یک شبکه یک بعدی آرایش یافته و با لایه‌های آب از یکدیگر جدا می‌گردد. با افزایش مقدار آب شبکه فاز مکعبی ایجاد می‌شود که از لحاظ میکروسکوپی ایزوتروپیک و شفاف است. در دمای بالاتر از ۷۵ درجه سانتی‌گراد یک فاز غیر ایزوتروپیک مانند فاز شش گوشه ای معکوس آرایش می‌یابد (۸). این فاز شامل استوانه-های آب آرایش یافته در یک شبکه دو بعدی است که توسط چربی‌های دو لایه از هم جدا می‌گردد. فاز لایه ای در نمونه-های با نسبت وزنی ۱: ۰/۲ Water/GMO شناسایی شده و همچنین در نمونه‌هایی با نسبت وزنی ۱: ۰/۳ هر دو فاز لایه-ای و مکعبی دیده شده که منطقه انتقال را توصیف می‌کند. فاز



شکل ۲: نمودار سه بعدی (الف) درصد رهایش ۱ (ب) درصد رهایش ۲ با نسبت‌های وزنی Water/GMO و PEG/GMO در مقدار ثابت الانزایم

که Y_2 و Y_3 پاسخ‌های پیش‌بینی شده به ترتیب برای درصد رهایش در ۱۲ ساعت و ۱۶۸ ساعت بوده و X_1, X_2, X_3 به ترتیب مقدارهای کد شده برای نسبت وزنی Water/GMO و PEG 300/GMO و درصد الانزایم هستند. آنالیز رگرسیون داده نشان می‌دهند که نسبت وزنی Water/GMO به عنوان فاکتور اصلی بیشترین تاثیر را بر روی درصد رهایش دارد. ضرایب منفی ارتباط معکوس بین فاکتورهای مستقل و پاسخ‌ها را نشان می‌دهند. تاثیر X_1 روی Y_2 تقریباً دو برابر بیشتر در مقایسه با X_2 و یک برابر بیشتر در مقایسه با X_3 است.

تاثیر میزان پلی اتیلن گلیکول ۳۰۰ بر روی درصد رهایش دارو

رهایش برون تنی دارو از ماتریس‌هایی با محتوای آب و درصد داروی ثابت برای ارزیابی تاثیر پلی اتیلن گلیکول بر روی درصد رهایش بررسی گردیده و نشان دادیم که با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول، رهایش دارو از ۶۱/۸٪ به ۷۶/۴٪ افزایش یافته است. پلی اتیلن گلیکول با توجه به خاصیت آب دوستی آن باعث افزایش میزان جذب آب می‌شود و دسترسی آب را به لایه های چربی کاهش می‌دهد و باعث رهایش سریع تر دارو می‌شود. تحقیقات گذشته نیز نشان داده‌اند که در حضور پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ درصد رهایش دیازپام افزایش می‌یابد و نتایج مشابهی نیز با حضور پلی اتیلن گلیکول ۱۰۰۰ گزارش شده است (۱۸).

تاثیر میزان آب اولیه بر روی درصد رهایش دارو

مقایسه درصد رهایش دارو از ماتریس‌هایی با نسبت‌های ۰/۴ و Water/GMO:۰/۲ و در میزان الانزایم و پلی اتیلن گلیکول ثابت نشان می‌دهد که میزان رهایش دارو با محتوای آب کمتر (۲۰٪) در مقایسه با نمونه‌هایی با میزان آب بیشتر (۴۰٪) پایین تر است. این مشاهدات می‌تواند به واسطه تورم نمونه-

معادله ۷:

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

بارگذاری دارو و نسبت وزنی Water/GMO و PEG 300/GMO درصد الانزایم هستند. تجزیه و تحلیل رگرسیون واریانس داده‌ها نشان داد که ضرایب خطی فاکتور مستقل X_1 تاثیرات بیشتری بر روی درصد بارگذاری دارو در مقایسه با دیگر فاکتورها دارد ($P < 0.05$).

رهایش الانزایم در محیط برون تنی

طرح آزمایشی رهایش را در ساعت ۱۲ ام به عنوان رهایش ۱ و رهایش در ساعت ۱۶۸ ام را به عنوان رهایش ۲ در نظر گرفته ایم. در گام بعدی بهینه سازی است که محدوده مناسب و موردنظر جهت رهایش ۱ را ۱۰-۱۵٪ قرار دادیم، چون هدف این پروژه ایجاد یک سیستم آهسته رهش برای الانزایم بوده و رهایش ۲ را در ماکزیمم مقدار خود در نظر گرفتیم. چگونگی تغییر رهایش دارو به وسیله نمودارهای سطح پاسخ تعیین شده است. شکل ۲ (الف و ب) تاثیر نسبت وزنی PEG 300/GMO و Water/GMO را بر روی درصد رهایش ۱ و ۲ نشان می‌دهند. همانطور که در جدول ۱ آمده، محدوده رهایش ۱ $9.8 \pm 1.26\%$ تا $54.5 \pm 0.57\%$ و محدوده رهایش ۲ از $4.7 \pm 0.02\%$ تا $91.9 \pm 0.07\%$ بدست آمده است. در مقدار ثابت PEG 300/GMO رهایش دارو به طور خطی با افزایش نسبت وزنی Water/GMO کاهش می‌یابد. و میزان رهایش از ژل وقتی درصد دارو ۳-۳/۵٪ است در حداکثر مقدار خود قرار دارد. در ابتدا با افزایش مقدار الانزایم درصد رهایش افزایش یافته و سپس کم می‌شود. کاهش مشاهده شده در میزان رهایش در دوز بحرانی دارو (w/w) ۳/۵٪ الانزایم) ممکن است به خاطر طبیعت چربی دوستی الانزایم باشد در صورتی که دارو در لایه های چربی وارد می‌شود و میزان رهایش دارو از سیستم ژلی را کاهش می‌دهد. ضرایب متغیرهای مستقل برای درصد رهایش دارو در ساعت ۱۲ ام (رهایش ۱) و درصد رهایش دارو در ساعت ۱۶۸ ام (رهایش ۲) در معادلات ۸ و ۹ نشان داده شده اند.

معادله ۸:

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

معادله ۹:

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

های ۴۰٪ آب باشد. مطالعات زیادی برای بررسی تاثیر آب اولیه روی مکانیسم رهش دارو انجام شده است (۱۹).

۹۰/۳۱٪ و این پارامترها برای رهش ۱ برابر با ۱۶/۱٪، ۱۵٪ و برای رهش ۲، ۵۹/۸٪ و ۵۶/۳٪ بوده است. قابل ذکر است که خطاهای پیش بینی شده کمتر از ۱۰٪ بود که صحت و قابل پیش بینی بودن مدل پیشنهادی را نشان می دهد.

نتیجه گیری

امروزه سامانه های دارویی آهسته رهش از جمله موضوعات با اهمیت در حوزه داروسازی و بیوتکنولوژی به شمار می آید. زیرا در این سیستم ها می توان میزان مصرفی دارو را به میزان قابل توجهی کاهش داد و نتیجتاً عوارض جانبی آنها و مسمومیت ناشی از مصارف طولانی مدت به واسطه تجمع دارو در بدن را کاهش داد و همچنین از دفع بی مورد داروها نیز جلوگیری می شود. در این مطالعه داروی الانزاپین به عنوان مدل دارویی مناسب در نظر گرفته شده است که با توجه به نوع بیماری که از این دارو استفاده می کنند لزوم طراحی سامانه آهسته رهش دارو قابل ملاحظه تر و ملموس تر خواهد بود. این مقاله به بررسی رهش الانزاپین از ماتریس گلیسرول مونوئولئات می پردازد. ویژگی های سیستم ژلی از جمله درصد بارگذاری دارو، درصد رهش، بررسی مکانیسم آزاد سازی دارو مورد بررسی قرار گرفتند. ماتریس ها با استفاده از روش باکس سه نکهت باسه متغیر مستقل شامل نسبت وزنی آب/ گلیسرول مونوئولئات و پلی اتیلن گلاکول/ گلیسرول مونوئولئات و درصد الانزاپین طراحی شده است و تاثیرات هر یک از آنها را بر روی درصد بارگذاری و رهش دارو بررسی گردیده است. آزادسازی الانزاپین در ژل های مورد بررسی تا بیش از ۱۶۸ ساعت نیز بطول انجامید که نشان از سیستم آهسته رهش بود که هدف اصلی این پروژه می باشد. چندین مدل برای بررسی سیتیک رهش الانزاپین استفاده گردید و از بین آنها معادله هیگوجی بهترین درجه رگرسیون را با داده های تجربی نشان داد.

تاثیر میزان دارو بر روی درصد رهش

نوع و دوز دارو یک فاکتور مهم است که نرخ رهش دارو و سیتیک را تحت تاثیر قرار می دهد. الانزاپین به خاطر چربی دوستیش وارد لیپید دو لایه می شود و رهش آن با افزایش دوز الانزاپین کاهش می یابد. انحلال پذیری و غلظت داروی بارگیری شده، روی درصد رهش دارو از ماتریس گلیسرول مونوئولئات تاثیر می گذارد مطالعات انجام گرفته روی رهش داروهای قطبی و غیر قطبی تاثیر دوز و نوع دارو را بر روی پروفایل و مکانیسم رهش نشان می دهد (۲۰).

ارزیابی مکانیسم رهش دارو

با توجه درجه همگرایی داده ها بهترین مدل جهت توصیف رهش، مدل هیگوجی است. در این مدل غلظت پلیمرها، محتوای آب و ساختار ژل تاثیرات مهمی روی مکانیسم آزادسازی (۲۱) دارد و همچنین مدل کروس مایر-پپاس رفتار حالت II را از خود نشان می دهد.

بهینه سازی و صحت مدل

بهینه سازی سیستم های ژلی بر اساس آنالیز آماری انجام گرفت. فرمولاسیون بهینه با استفاده از روش باکس سه نکهت با نسبت وزنی Water/GMO در ۰/۲۸، نسبت وزنی PEG 300/GMO در ۰/۲ و درصد الانزاپین در ۰/۴ بدست آمد. برای معتبر سازی و تایید قابل پیش بینی بودن فرمولاسیون بهینه شده، یک ژل تازه با شرایط بهینه برای ۳ مرتبه آماده شد و پاسخها ارزیابی گردید. مقادیر مشاهده شده و پیش بینی شده برای درصد بارگذاری دارو به ترتیب برابر با ۸۶/۸٪ و

References

- 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): 95-107.
- Porter CJ, Charman WN. In vitro assessment of oral lipid based formulations. *Adv Drug Delivery Rev* 2001; **50**: S127-S147.
- Nielsen L. S, Schubert L, Hansen J. Bioadhesive drug delivery systems: I. Characterisation of mucoadhesive properties of systems based on glycerylmono-oleate and glyceryl monolinoleate. *Eur J Pharm Sci* 1998; **6**(3): 231-239.
- Ericsson B, Eriksson P, Lofroth J, Engstrom S. Cubic phases as delivery systems for peptide drugs. In *ACS Symp Ser*. ACS Publications, 1991; PP: 251-265.
- Qiu H, Caffrey M. The phase diagram of the monoolein/water system: metastability and equilibrium aspects. *Biomaterials* 2000; **21**(3): 223-234.
- Clogston J, Craciun G, Hart D, Caffrey M. Controlling release from the lipidic cubic phase by selective alkylation. *J Controlled Release* 2005; **102**(2): 441-461.
- Engström S, Ljusberg-Wahren H, Gustafsson A. Bioadhesive properties of the monoolein-water system. *PharmTech Europe* 1995; **7**: 14-14.
- Firdous S, Aman T, Nisa A. Determination of olanzapine by UV spectrophotometry and non-aqueous titration. *J Chem Soc Pak* 2005; **27**(2): 163-167.
- Korsmeyer RW, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas NA. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int J Pharm* 1983; **15**(1): 25-35.
- Ganguly S, Dash A.K. A novel in situ gel for sustained drug delivery and targeting. *Int J Pharm* 2004; **276**(1): 83-92.
- 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): 299-307.
12. Dash S, Murthy PN, Nath L, Chowdhury P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Pol Pharm* 2010; **67**(3): 217-223.
 13. Lara MG, Bentley M, Collett JH. In vitro drug release mechanism and drug loading studies of cubic phase gels. *Int J Pharm*2005; **293**(1): 241-250.
 14. Hackley VA, Ferraris CF. Guide to rheological nomenclature: Measurements in ceramic particulate systems. National Institute of Standards and Technology Gaithersburg, MD, USA, 2001.
 15. Mădălina Georgiana A, Ghica MV, Lăcrămioara P, Leca M, Trandafir V. Kinetics of in vitro release of doxycycline hyclate from collagen hydrogels. *Rev RoumChim*2009; **54**(5): 373-379.
 16. Shah JC, Sadhale Y, Chilukuri DM. Cubic phase gels as drug delivery systems. *Adv Drug Delivery Rev*2001; **47**(2): 229-250.
 17. 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**: 151-160.
 18. 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**(1): 687-692.
 19. Zarzycki R, Modrzejewska Z, Nawrotek K. Drugrelease from hydrogel matrices. *Ecological Chemistry and Engineering S Selected Full Texts*2010; **17**(2): 117-136.
 20. Bezerril L, De Vasconcelos C, Dantas T, Pereira M, Fonseca J. Rheology of chitosan-kaolin dispersions. *E Co 528 ChemEng*2006; **287**: 24-28.
 21. Martinez-Ruvalcaba A, Chornet E, Rodrigue D. Viscoelastic properties of dispersed chitosan/xanthan hydrogels. *CarbohydrPolym*2007; **67**(4): 586-595.