

فرآیندهای نوین در مهندسی مواد

ma.iaumajlesi.ac.ir

مدل سازی ریاضی برای رهایش پایدار و کنترل شده داروی چشمی تاکرولیموس بارگذاری شده بر روی کیتوسان

و نانو لیپوزوم

مقاله پژوهشی

پریسا حسن شیخی^۱، الهام عامری^{۲*}، زهرا علی محمدی^۳

۱- دانشجوی دکترا، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرضا، ایران.

۲- دانشیار، گروه مهندسی شیمی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران.

۳- استادیار، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرضا، ایران.

* ameri786@iau.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۰۵	اخیراً استفاده از تاکرولیموس در درمان بیماری‌های چشمی مورد توجه زیادی قرار گرفته است. این دارو با توجه به دامنه بالقوه دارویی که دارد، در زمینه تحقیق مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در این پژوهش طراحی و ساخت سامانه دارورسانی ایمن و هدمند به منظور انتقال و رهایش کنترل شده داروی تاکرولیموس بر روی کامپوزیت لیپوزوم - کیتوسان ارزیابی شد. ساخت و بهبود دهی حامل‌ها بررسی و با آزمون‌های گوناگون مشخصه یابی شد و نشان داده شد دارو بر روی حامل‌ها بارگذاری شده. دو عامل نانولیپوزوم (EPC, DPPC) و هیدروژل کیتوزان برای انتقال دارو در این مطالعه انتخاب شده‌اند. جهت اطمینان از بارگذاری دارو از آزمون طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون‌قرمز (FT - IR) استفاده شد و اثبات گردید بارگذاری دارو موفقیت‌آمیز بوده است، برای تهیه تصاویر نانو ذرات از میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FESEM) استفاده شد، تصاویر نشان دادند که نانو ذرات تشکیل شده در محیط آبی به خوبی پراکنده شده‌اند. مدل سازی ریاضی رهایش داروی تاکرولیموس از لیپوزوم‌های ساخته شده انجام شد. مدل سازی رهایش به دلیل شرایط مرزی متحرک و شروط اولیه کمی پیچیده است، بنابراین در این مقاله از روش‌های ریاضی برای حل معادله رهایش در شرایط اولیه و مرزی استفاده شد. مطابق تمامی راه حل مدل‌ها، از روش جداسازی متغیرها استفاده می‌شود و این مطالعه پیشنهاد می‌کند سینتیک انتشار با بررسی و شناسایی مناسب‌ترین شرایط ریاضی یک دستاورد ضمنی خواهد بود و همچنان مدل‌های تجربی برای راه حل اول جهت بررسی رهایش باقی می‌مانند. نتایج حاصل از بخش مدل سازی نشان داد که کمینه مقدار رهایش دارو مربوط به DPPC60 با میزان ۷/۵۴۲ می‌باشد.
کلید واژگان:	
کامپوزیت،	
نانو لیپوزوم،	
رهایش کنترل شده،	
تاکرولیموس،	
کیتوسان،	
مدل سازی ریاضی.	

Mathematical Modeling for Sustained and Controlled Release of Tacrolimus Ophthalmic Drug Loaded on Chitosan and Nanoliposome

Parisa Hassansheikhi¹, Elham Ameri^{2*}, Zahra Alimohammadi¹

1- Ph.D. Candidate, Department Of Chemical Engineering Shahreza Branch, Islamic Azad University, Shahreza, Iran.

2- Associate Professor, Department Of Chemical Engineering, NT.C., Islamic Azad University, Najafabad, Iran

3- Assistant Professor, Department Of Chemical Engineering, Najafabad Branch Islamic Azad University, Shahreza, Iran

* ameri786@iau.ac.ir

Article Information

Original Research Paper

Doi: 10.71753/ma.2025.1127294

Keywords:

Composite,
Nanoliposome,
Controlled Release,
Tacrolimus,
Chitosan,
Mathematical Modeling.

Abstract

The use of tacrolimus in treating eye diseases has recently received much attention. This drug has received a lot of attention in the field of research due to its potential medicinal scope. In this research, the design and construction of a safe and targeted drug delivery system was evaluated to transfer and release the tacrolimus drug on the liposome-chitosan composite. The construction and improvement of the carriers were investigated and characterized by various tests and it was shown that the drug was loaded on the carriers. This study selected two nanoliposome agents (EPC, DPPC) and chitosan hydrogel for drug delivery. Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) was used to ensure drug loading and it was proved that the loading of the drug was successful. A field emission scanning electron microscope (FESEM) was used to prepare images of nanoparticles. The images showed that the formed nanoparticles are well dispersed in the aqueous environment. Mathematical modeling of tacrolimus drug release from manufactured liposomes was done. Release modeling is a bit complicated due to moving boundary conditions and initial conditions, so in this article, mathematical methods were used to solve the release equation in initial and boundary conditions. According to all the solutions of the models, the method of separation of variables is used and this study suggests that diffusion kinetics will be an implicit achievement by examining and identifying the most appropriate mathematical conditions and still experimental models for the first solution remain to be investigated. The results from the modeling section showed that the minimum amount of drug release is related to DPPC60 with a rate of 7.542.

برای ارجاع به این مقاله از عبارت ذیل استفاده نمایید:

Please cite this article using:

Parisa Hassansheikhi, Elham Ameri, Zahra Alimohammadi, Mathematical Modeling for Sustained and Controlled Release of Tacrolimus Ophthalmic Drug Loaded on Chitosan and Nanoliposome, New Process in Material Engineering, 2025, 19(1), 45-60.

۱- مقدمه

سیستم های دارورسانی طراحی شده باید دارای دو ویژگی اساسی باشند: (۱) زیست سازگار باشند و (۲) ظرفیت و رهایش کنترل شده داشته باشند، پلیمرها از جمله بهترین حامل ها برای انتقال دارو می باشند. نخست آن که به علت داشتن وزن ماکولی بالا، زمان گردش دارو در خون را با افزایش وزن ماکولی حامل افزایش و سرعت حذف آن توسط کلیه ها را کاهش می دهند.

علاوه بر آن، آنها پایدار هستند و به دلیل اثر ابقا و تراوش پذیری افزایش یافته میزان تجمع دارو را افزایش می دهند. خواص سطحی شان را جهت اتصال لیگاندهای شناساگر به راحتی می توان بهبود داده و امکان انتقال هدفمند فعال دارو را فراهم آورد. از دیگر مزایای آنها آن است که امکان کنترل سرعت رهایش دارو را فراهم می کنند. بسیاری از پلیمرها از زمان های گذشته در بدن استفاده می شده اند و زیست سازگاری شان به اثبات رسیده است. راحتی و امکان تولید آنها در مقیاس بزرگ از دیگر مزایای آنهاست.

در بین پلیمرها، کیتوزان به دلیل ماهیت کاتیونی و توانایی شکل گیری پیوندهای الکترواستاتیک با مخاطی که دارای بار منفی است، دارای خاصیت مخاطی چربی بالایی است. چسبندگی کیتوزان در pH خنثی یا کمی قلیایی بیشتر است [۱]. خواصی از قبیل تجزیه پذیری، آب گریز بودن، طبیعت بیوژنتیک، قابلیت پخش پذیری خوبی در قرنی، خاصیت ضد میکروبی، سمیت کم و سازگاری مناسب باعث می شود کیتوزان حامل مناسبی برای تحویل داروی چشمی باشد [۲].

لیپوزوم ها با استفاده از مواد زیست سازگار و زیست تجزیه پذیر ساخته شده و شامل یک بخش آب دوست می باشند که توسط یک یا چند پوشش دولایه ای احاطه شده است که جنس این پوشش دولایه می تواند از لیپیدهای طبیعی یا مصنوعی باشد [۳]. امروزه لیپوزوم ها بخش مهمی از تحقیقات دارویی، زیستی و غذایی را شامل می شوند. لیپوزوم ها به دلیل دارا بودن خواصی چون دو گانه دوست بودن، تنوع در اندازه، بار الکتریکی و تعداد لایه ها کاربردهای گسترده ای در دارورسانی، ساختار و عملکرد غشاهای زیستی و تحقیقات پیرامون منشأ حیات دارا می باشند. در واقع لیپوزوم ها یکی

از بهترین حامل ها برای انتقال عوامل زیست فعال متنوع به سلول هدف یا بخش های متفاوت سیستم های زنده می باشد و کپسوله کردن عامل های زیست فعال درون لیپوزوم های زیست سازگار و زیست تجزیه پذیر به عنوان یک راه ایمن جهت انتقال مؤثر این ترکیبات در نظر گرفته می شود [۴].

تاکنون روش های مختلف و متفاوتی جهت ساخت لیپوزوم ارائه شده که از جمله مهم ترین آنها می توان به این موارد اشاره نمود: روش لایه نازک^۱ [۵]، روش فراصوت^۲ [۶]، روش روزن رانی^۳ [۶]، روش میکرو فلوئید^۴ [۶]، روش گرمادهی^۵ [۷]، روش مظفری^۶ [۸]. پژوهش های بسیاری جهت بررسی خواص تریبولوژیکی نانو ذرات صورت گرفته است [۹]. در کار پژوهشی دیگری از آب به عنوان نانو سیال برای جذب استفاده شده بود [۱۰]. کاربرد لیپوزوم ها به ویژه نانولیپوزوم ها در مواد آرایشی مزایای بسیاری را در این زمینه دارا می باشد که از جمله می توان به افزایش انتقال و نفوذ عوامل فعال، انتقال انتخابی آنها، زمان رهاسازی طولانی تر، پایداری بیشتر، زیست سازگاری بالا و کاهش اثرات ناخواسته اشاره کرد [۱۱]. ایده اصلی مطرح شده در این بررسی بر پایه نتایج حاصل از بررسی گزارش های سایر محققان، امکان دستیابی به یک رفتار رهایش پیوسته و کنترل شده برای تاکرولیموس ذخیره شده درون لیپوزوم با دستکاری نوع لیپید و غلظت کلسترول به همراه کیتوسان می باشد.

علت انتخاب روش مظفری این است که ویژگی های یک نانولیپوزوم به منظور دارورسانی شامل به دام انداختن دارو با بازده بالا، اندازه کوچک، پایداری بالا، عدم سمیت سامانه و رهایش دارو با بازده بالا می باشد. با این حال در بعضی از روش های ساخت نانولیپوزوم مشکلاتی نظیر سمیت، بارگیری ضعیف دارو، ناپایداری سامانه لیپوزومی و هزینه تولید بالا وجود دارد.

رهایش کنترل شده یکی از راهکارهای اساسی و یک عامل مهم برای درمان می باشد. انواع پدیده های انتقال جرم، انتقال گرما و ... در زمینه های متفاوت فیزیکی هستند که به راحتی با معادلات ریاضی تعریف می شوند، به عنوان مثال در پدیده انتقال حرارت معادله کیرشوف و در مکانیک سیالات معادله نویر استوکس ارائه شده که برای تحلیل پدیده ای انتقال

می باشد [۱۲]. یکی از روش های ریاضی برای تحلیل رهایش دارو، معادله انتشار است. در واقع تحلیل و ارزیابی سینتیک، رهایش مواد فعال در شرایط برون تنی^۷ امر مهمی در پیش بینی اثربخشی دارو دارد. مدل های ریاضی جهت تحلیل پدیده های انتشار که تابعی از شرایط اولیه و شروط مرزی ارائه شده اند به دو دلیل حائز اهمیت هستند: ۱) از ترکیب شرایط مختلف می توان به شروط اولیه مرزی یکسان و در نهایت به راه حل های ریاضی مشابه و یکسان دست یافت. ۲) به دست آوردن راه حل های ریاضی به دست آمده به شرایط مرزی اولیه لازم دارند که بتوان به کمک آنها پدیده های انتشار را به طور کامل تجزیه و تحلیل کرد. شروط مرزی در سیستم های دارورسانی به عنوان یک رابط هستند که به دلایل ریاضی مهم هستند. یکی از ویژگی های مهم نانو سیستم ها این است که این رابط ها یک سطح منحنی و بزرگ هستند و لازم است که دامنه های محلی با شرایط ناپیوسته برای آنها در نظر گرفته شود که در نهایت توابع توزیع به عنوان راه حل به دست می آید [۱۳]. انتشار دارو به وسیله انتقال توسط غشا کنترل می شود که به عنوان رابط در نظر گرفته می شود. رهایش دارو از لیپوزوم ها به وسیله رابط، اغلب در مدل های انتقال به عنوان غشاهایی که رهایش دارو از میکروسستم های لیپیدی را کنترل می کنند دیده می شود. از آنجا که توزیع درون غشا به انتقال در غشا منتقل می شود مدل های ریاضی برای غلظت ها در داخل غشا، خارج غشا و محتوای غشا نادیده گرفته می شوند. در واقع می توان گفت مدل های ریاضی بسیار پیچیده هستند و تحلیل ها و راه حل ها فقط برای شرایط ثابت حاصل می شوند [۱۴]. پیشرفت در رهایش و تحویل نانو داروهای ضد سرطان نیازمند به مدل سازی ریاضی هستند. در یک مطالعه با روش الترافیلتراسیون برای بررسی و نظارت بر سینتیک رهایش لیپوزومی به عنوان یک عامل ضد سرطان توسعه داده شد و شبیه سازی ریاضی و داده های انتشار، امکان نفوذپذیری دارو و اتصال سطحی هم زمان دارو را نشان می دهد [۱۵]. در یک مقاله برای درمان مولتیپل میلوما از بورتزمیب به عنوان اولین عامل درمانی که اغلب برای مهار کردن فعالیت پروتئازوم 26s طراحی شد. هدف از این مطالعه توسعه و بهینه سازی فرمول لیپوزومی بورتز به منظور کارایی بهتر کپسولاسیون بود.

در این مطالعه اثر گرادیان pH و نسب مولی و همچنین مدل سازی ریاضی مورد بررسی قرار گرفت [۱۶]. مدل سازی رهایش دارو توسط لیپوزوم ها در یک پژوهش بررسی شد. در این پژوهش مدل ریاضی ارائه شده به منظور درک هرچه بیشتر از رهایش داروی لیپوزومی که انتشار ناشی از LFUS بود، ضروری است. الگوی انتشار دارو به زمان وابسته است که این الگوی تجزیه توسط دو پارامتر مهم مشخص می شود: ۱) میانگین نفوذپذیری غشا، ۲) نسبت حجم کل پراکندگی و حجم اولیه همه لیپوزوم ها و در نهایت مدل سازی ریاضی نشان داد مکانیسم انتشار دارو توسط تابش LFUS تحریک می شود [۱۷]. در سال ۱۹۷۴ ضرایب تقسیم در حلال های غیر قطبی بین دیمیریتوئیل لستین و آب بررسی و تفسیر شد [۱۸]. در کار مطالعاتی دیگری نظریه نفوذپذیری در دولایه لیپیدی مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی ضریب انتشار و ضریب تقسیم و ضریب نفوذپذیری به ناحیه زنجیر مرتب شده مرتبط می شود و ضریب نفوذپذیری دکاین با ضریب نفوذپذیری و بارگذاری در دولایه لیپید مقایسه شد [۱۹]. یک بررسی نشان داد که تئوری سطح آزاد با نفوذپذیری استیک اسید در ژل در دولایه فسفولیپیدی کریستالی مایع تطابق دارد [۲۰]. شیانگ و اندرسون^۸ اثرات زنجیره لیپید و شکل و اندازه لیپید را بر نفوذپذیری در دولایه لیپیدی دی پالمیتوئیل فسفاتیدیل کولین (DPPC) کریستالی ژل مایع را با استفاده از روش ترکیبی، گسترش خط / را بررسی کردند. در مقایسه ضرایب نفوذپذیری تجربی و مدل انتشار این نتیجه به دست آمد که شکل و اندازه و اثرات زنجیره لیپید یک مدل نفوذپذیری ترکیبی در سراسر غشای لیپیدی ایجاد می کند [۲۱]. در یک کار پژوهشی نشان داده شد که موانع حمل و نقل در دولایه لیپیدی با ترکیب و ساختار فازی مختلف، متفاوت هستند [۲۲]. لی و همکاران^۹ انتشار پنسیکلوویر حاوی لیپوزوم و انتقال آن به پوست را برای آزادسازی پانسیکلوویر بارگذاری شده بر روی لیپوزوم و انتقال آن بر روی پوست را بررسی کردند و با در نظر گرفتن این فرضیه که پس از تخریب لیپوزوم تمام دارو در بافت درم قرار می گیرد انباشته شد که فرضیه انتقال، تخریب و انتشار دارو بر روی تمام بافت درم مطابقت دارد [۲۳]. در سال ۱۸۹۰ با شروع پدیده ذوب

شدن یخ اوکلاسی شرایط مرزی و معادلات دیفرانسیل را بررسی و معرفی کرد. این بررسی نشان داد، راه‌حل‌های تحلیلی برای نوع جدیدی از شرایط مرزی به دست می‌آیند که نیاز به پایداری انرژی دارند البته زمان نیز یک شرط و یک بعد در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند یک بعد متناهی یا نامتناهی باشد و در نتیجه گام‌های اول برای مدل‌سازی و رهایش داروی فعال از حامل‌های میکرو ذرات و نانو ذرات با شرایط مرزی متفاوت حاصل شد. مدل‌سازی رهایش سیستمی که دارو در آن پخش یا حل شود و دارای مرز متحرک هستند با راه‌حل‌های تحلیلی بررسی شدند [۲۴]. با استفاده از حالت پایدار هیگوجی معادله انتشار یک داروی پراکنده از یک ماتریکس همگن بررسی شد، نتایج نشان داد معادله به دست آمده فقط برای سیستم‌هایی که فرسایش ماتریکس در زمان کوتاهی به آزادسازی دارو منجر نمی‌شود، کاربرد دارد [۲۵]. یک راه‌حل تحلیلی دقیق می‌تواند جایگزین فرضیه گرادین خطی شود به نوعی که کارسلاو و یاگر^{۱۰} و همکاران برای پدیده ذوب و انجماد یک راه‌حل تحلیلی دقیق ارائه کردند و همچنین در سال ۱۹۷۵ کویزومی و همکاران^{۱۱} نیز برای این معادلات بررسی انجام دادند [۲۶]. در حقیقت زمانی که لایه مرزی در انتشار دارویی بدون هم زدن است به عنوان مقاومت در برابر رهایش عمل می‌کند [۲۷]. در یک کار تحقیقاتی فعالیت سطحی تر شوندگی بر رفتار انتشار مواد آبدوست بررسی شد [۲۸]. حل معادله انتشار در یک ماتریس لیپیدی بررسی شد، در این مطالعه روشی برای محاسبه پروفایل دارویی تعریف شد [۲۹]. دانشمندان یک مدل آزادسازی دو فازی را برای انحلال تاموکسیفن را به صورت برون تنی بررسی کردند. تجزیه تحلیل‌ها نشان دادند که آنالیز رگرسیون دوفازی تنها مدل کاربردی است [۳۰]. دانشمندان معتقدند که مدل‌سازی ریاضی می‌تواند تأثیرات بسیار مثبتی در زمینه داروسازی داشته باشد، از این رو اهمیت مدل‌سازی ریاضی هر روز پررنگ‌تر شده و نیاز آن در صنعت به وضوح دیده می‌شود. در کنترل انتشار دارو فرآیندهای مختلف فیزیکی و شیمیایی تأثیر گذارند، مواردی همچون: حل شدن دارو، نفوذ آب، تخریب ماتریکس و ... بر این امر تأثیر گذارند [۳۱]. یک مدل‌سازی ریاضی می‌تواند

واکنش‌های شیمیایی و حمل و نقل فیزیکی را در حال رخ دادن هستند را توصیف کند [۳۲]. یک مرور انتقادی برای مدل‌سازی‌های ریاضی ارائه شد و تجزیه تحلیل کمی و کیفی در این زمینه انجام شد، در این مطالعه نشان داده شد علیرغم اینکه مدل‌سازی برای انتشار و رهایش دارو با استفاده از آن هیگوجی جزو فراوان‌ترین مدل‌ها هستند اما استفاده از آن کاهش یافته است و در سال‌های آینده معادلات ریاضی با مدل‌های مکانیکی چند جزئی بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۲]. در یک کار پژوهشی حضور تری گلیسرید و تأثیر آن بر روی خواص دارو، رهایش دارو از لیپید و نقش ماتریکس بررسی شد، شواهد نشان داد انتشار با چربی دوستی تری گلیسرید همبستگی دارد [۳۳]. رهایش دارو با استفاده از مدل‌سازی ریاضی دیدگاهی در خصوص انتقال دارو و فرآیندها و مکانیسم‌های درگیر سیستم تحویل دارو و پارامترهای تأثیرگذار در اختیار ما قرار می‌دهد. مدل‌سازی ریاضی امکان پیش‌بینی پروفیل انتشار دارو را فراهم می‌آورد [۳۴]. در یک کار پژوهشی از نانو ذرات جهت توسعه و گسترش سامانه‌های دارورسانی استفاده شد. در این کار شبیه‌سازی و مدل‌سازی ریاضی جهت بررسی پارامترهای مختلف مانند دوز دارو، انحلال نانو ذرات و واکنش‌های نامطلوب استفاده شد [۳۵]. در سال ۲۰۲۲ از یک مدل ریاضی برای بیان سامانه دارورسانی با استفاده از پوشش‌های پلیمری بر روی ایمپلنت‌ها پیشنهاد شد، مدل پیشنهاد شده دارای معادلات دیفرانسیل جزئی و شرایط مرزی هستند [۳۶]. چاکروارتی و دالال^{۱۲} یک مدل ریاضی برای دارورسانی لیپوزومی پیشنهاد دادند، مدل ریاضی حاصل شده از معادلات دیفرانسیل جزئی جفت شده با در نظر گرفتن شرایط اولیه و شروط مرزی به صورت عددی حل شد [۳۷]. در کار پژوهشی حقیرالسادات و همکارانش نشان داده شد توسعه یک مدل ریاضی به رهایش کنترل شده دارو با فرمولاسیون‌های مختلف برای داروی دوکسوروبیسین با راندمان بالای کپسوله‌سازی تأثیر به سزایی دارد و رهایش کنترل شده رابهنه سازی میکند [۳۸]. یک مدل ریاضی جهانی برای سینتیک آزادسازی دارو از لیپوزوم‌ها پیشنهاد شد تا شرایط بهتر برای رهایش کنترل شده از لیپوزوم‌ها را فراهم کند، در این کار با تجزیه و

تحلیل رگرسیون چندگانه مدل نهایی تأیید شد و در نهایت بک مدل ریاضی برای آزادسازی تحت کنترل دارو از لیپوزوم پیشنهاد شد [۳۹]. امروزه داروی تاکرولیموس یک داروی اساسی برای سرکوب سیستم ایمنی بدن بعد از پیوند اعضا و درمان اختلالات سیستمی ایمنی بدن می باشد [۴۰-۴۱].

در چندین کار تحقیقاتی تفاوت دوزهای داروی تاکرولیموس در فرمولاسیون بررسی شد. این دارو فسفاتازو کلسینورین را به صورت انتخابی مهار می کند و فاکتور نکروزو تومور و اینترفرون را کاهش می دهد [۴۲]. مکانیسم انحلال داروی تاکرولیموس و آزادسازی داروی تاکرولیموس مراحل محدودکننده سرعت است و به دلیل تفاوت افراد در فارمokinetic باید غلظت خون کنترل شود [۴۳]. به دلیل عدم رعایت مصرف دوز استاندارد داروی تاکرولیموس در گذشته عمل پیوند با شکست مواجه می شد [۴۴]. به طور گسترده از میکروسفرها برای کاربردهای دارورسانی با انتشار کنترل شده مورد مطالعه قرار گرفتند و با تجویز تاکرولیموس یک بار در روز ماندگاری آن را در مدت زمان ۶ ماه ۸۱٪ افزایش دادند [۴۵]. در فرمولاسیون ترکیباتی که انحلال پایینی دارند سیستم های جدید دارورسانی پیشرفت خوبی داشته و پتانسیل خوبی در فرمولاسیون این ترکیبات را نشان می دهد [۴۶]. امروزه می توان با استفاده از روش تزریق، سمیت مرتبط با دوز دارو را کنترل کرد و همچنین با استفاده از سیستم های برون تنی و درون تنی^{۱۳} می توان بررسی های دقیق تری انجام داد [۴۷-۵۰].

یک مدل ریاضی می تواند همبستگی بین *in vivo*- *in vitro* را برای محصولات دارویی به روشنی تفسیر کند [۵۱]. روش رها کنندگی و پراکندگی یک روش بر اساس دیالیز جهت انتشار دارو در مقیاس نانو می باشد، این روش شرایط شبیه بدن انسان را شبیه سازی می کند [۵۲]. در یک بررسی رهایش دارو و انتقال آن به پروتیین با روش رها کنندگی و پراکندگی مورد بررسی قرار گرفت و رفتار انتشار دارو ثبات فیزیکی اندازه گیری شد [۵۳]. با توجه به افزایش روزافزون نانو حامل ها به تکنیک های بهبود یافته جهت تجزیه و تحلیل انتشار دارو مورد نیاز است [۵۴]. در یک مطالعه از روش رهایش

دارو در شرایط آزمایشگاهی و روش رها کنندگی و پراکندگی استفاده شد [۵۵]. از آنجا که حمل و نقل غشایی یک عامل محدودکننده در انتقال دارو با تکنیک دیالیز می باشد می توان از یک سیستم نظارت خودکار بر آزادسازی دارو استفاده کرد و برای تجزیه تحلیل داده از مدل ریاضی استفاده نمود [۵۶]. برای اشکال دارویی که حلالیت پایینی دارند و در ابتدای کار مطالعاتی هستند و غیرخوراکی هستند و به دلیل ماهیت پیچیده و نبود دیدگاه روشنی از رهایش دارو، ساخت روش آزمایشگاهی که دقیقاً مشابه بدن انسان باشد و قادر به شبیه سازی رهایش دارو در داخل بدن باشد، مسئله ای بسیار چالش برانگیز است.

با توجه به همه تلاش های صورت گرفته می توان گفت تنها فناوری کمی برای مطالعه و بررسی انتشار آزمایشگاهی نانو درمان ها می باشند. از این رو نانو ذرات برای توسعه فرمولاسیون مورد بررسی قرار خواهند گرفت. استفاده از روش نانو ذرات باعث توسعه سریع تر در زمینه توسعه فرمولاسیون خواهد شد و تلفیق مدل سازی و شبیه سازی ریاضی با این روش آزمایشگاهی باعث کنترل کریفیت حامل های نانو ساینز و همچنین پیش بینی عملکرد آنها خواهد شد.

بیماری های مزمن نیاز به دوزهای مکرر دارو دارند [۵۷] گلوله های پوشش داده شده به طور گسترده در زمینه دارورسانی مورد استفاده قرار گرفته اند و دارای مزایایی هستند، اما رفتار آنها با استفاده از مدل سازی ریاضی بررسی شد و اثربخشی داروها بهبود یافت [۵۸]. امروزه مدل سازی تصویری، تجربی و ریاضی به صورت ترکیبی مورد استفاده قرار می گیرد و باعث درک جامع رها سازی دارو می شود، در واقع می توان گفت که این روش مبنای استراتژی دارورسانی است [۵۹].

۲- مواد و روش ها

تاکرولیموس از شرکت سیگما آلدردیج خریداری شد.

Dipalmitoyl-sn-glycero-phosphocholine ۱،۲-

و Dipalmitoylphosphatidylcholine (dppc)، (EPC)

از شرکت سیگما آلدردیج تهیه (Centipoise) کیتوزان ۲۷

داروها به دو دسته تقسیم می شوند: ۱) داروهای آبدوست ۲) داروهای آب گریز، بارگذاری داروهای آبدوست به شیوه فعال می باشد به این صورت که ابتدا حامل ساخته می شود و سپس به کمک بافر فسفات نمکی دارو درون هسته لیپوزوم بارگذاری می شود که در این حالت درصد بارگذاری دارو بسیار بالا خواهد بود، بارگذاری داروهای آب گریز که تاکرولیموس نیز یک دارو آب گریز است به شیوه غیرفعال می باشد به این صورت که زمان ساخت نانو لیپوزوم وقتی حلال اضافه می شود دارو نیز اضافه می گردد و دارو در بین لایه های فسفولیپید (نانولیپوزوم) قرار می گیرد و بارگذاری دارو صورت می پذیرد.

۲-۲- ساخت نانوذرات کیتوسان

محققان نانوذرات کیتوزان را به طور گسترده مورد مطالعه قرار دادند و روش های مختلفی را با در نظر گرفتن عوامل مختلفی مانند اندازه، پایداری، ظرفیت بارگیری دارو و زمان ماند توسعه دادند.

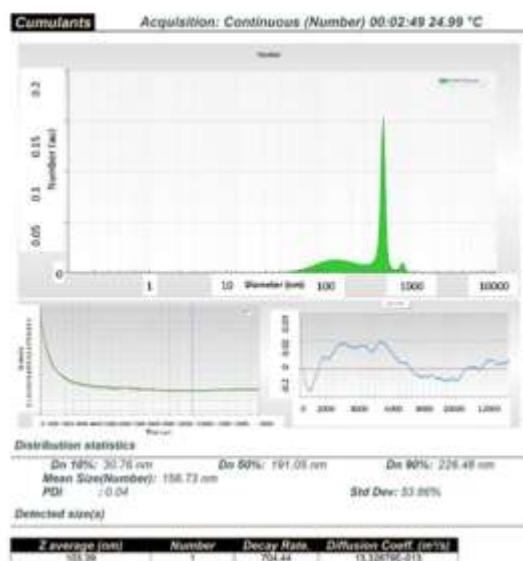
رویکردهای اساسی مورد استفاده برای تشکیل نانوذرات کیتوزان حول امولسیون سازی، رسوب، اتصال عرضی یونی یا کووالانسی یا ترکیبی از آنها می چرخد. امولسیون سازی و اتصال عرضی اولین روشی بود که در مقالات برای تهیه نانوذرات کیتوزان با استفاده از گروه آمینه کیتوزان و گروه آلدهیدی یک عامل اتصال عرضی توصیف شده است [۶۱]. امولسیونی متشکل از یک محلول کیتوزان آبی و یک فاز روغنی با استفاده از Span 80 به عنوان تثبیت کننده، تولوئن و گلو تار آلدنید به عنوان اتصال دهنده حاصل شد [۶۲-۶۳]. فازها به شدت مخلوط شدند و قطرات تشکیل شدند. داروی تاکرولیموس به شکل فعال بر روی این نانو ذرات بارگذاری شد [۶۴].

کیتوسان بر پایه روش مایسل معکوس، ویلسون و همکاران^{۱۵} [۶۵] سنتز شد. مقادیر ۱ گرم کیتوزان (۲۷ Centipoise) در ۱۰۰ میلی لیتر از محلول حاوی ۲٪ حجمی NaCl و استیک اسید ۳٪ (حجمی) حل شد و به مدت ۲ ساعت به طور مداوم هم زده شد و ژل کیتوزان حاصل شد. سپس لیپوزوم بارگذاری شده با دارو را به طور جداگانه در ۵ میلی لیتر ژل

، تولوئن، گلو تار آلدنید، اتانول، Span 80. متانول، کلسترول و گلیسرول توسط شرکت مرک (آلمان) تهیه شد. نمک ها و سایر مواد شیمیایی دارای گرید تحلیلی بودند. از این دستگاه برای تعیین اندازه و توزیع متوسط (DLS) VASCO / CORDOUAN TECHNOLOGIES / FRANCE ذرات نانولیپوزومها استفاده شد. برای تعیین اندازه دقیق نانولیپوزوم و هیدروژل کیتوزان، از میکروسکوپ الکترونی کشور سازنده: جمهوری MIRA III، (مدل FESEM روبشی کشور سازنده: ژاپن) Shimadzu چک) استفاده شد. (مدل استفاده شد.

۲-۱- ساخت نانو لیپوزوم

برای ساخت لیپوزومها از روش هیدراسیون فیلم نازک (سوندار راجان و همکاران^{۱۴}، ۲۰۰۹) استفاده شد [۶۰]. در این روش مقادیر مشخص لیپید و کلسترول در حلالی با نسبت حجمی ۱ به ۲ از متانول به کلروفرم در یک فلاسک حل و در حمام آب با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. حلال با استفاده از یک تبخیر کننده چرخشی که با شدت ۱۵۰ دور بر دقیقه تحت خلأ کار می کند و به حمام آب متصل است، در مدت یک ساعت به طور کامل تبخیر و یک لایه نازک لیپیدی چسبیده به دیواره های فلاسک حاصل شد. سپس مقدار مناسب محلول آمونیوم سولفات ۲۵۰ میلی مولار در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به این فیلم خشک افزوده شد تا لیپوزوم های چند لایه تشکیل شوند. برای کاهش سایز لیپوزوم های چند لایه به لیپوزوم های تک لایه با قطر متوسط 200 ± 100 نانومتر از روش گرمایش استفاده می شود: به مخلوط ترکیبات لیپوزومی از پیش گرم شده (c ۶۰، ۵ دقیقه)، نیسین (۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر) و گلیسرول (با غلظت نهایی ۳٪، حجمی) اضافه شد. این مخلوط هم زده شد (تقریباً ۱۰۰۰ دور در دقیقه) روی همزن میز گرم (کنترل ایمنی اساسی IKA، IKAMAG1 RET، مالزی) به مدت ۴۵-۶۰ دقیقه در جو نیتروژن گرم تر شد (c ۶۰). این واکنش در یک ظرف شیشه ای خانگی که به طور خاص توسط مظفری طراحی شده است انجام شد.



شکل (۲): تصویر توزیع ذرات (آزمون DLS) برای کامپوزیت لیپوزوم EPC-کیتوسان- تاکرولیموس.

لیپوزوم‌های تک لایه با قطر میانگین ۱۰۰ نانومتر و شاخص پراکندگی کوچک با روش هیدرتاسیون فیلم نازک به دست آمد. پراکندگی اندازه ذرات اندک و داده‌های حاصل تکرارپذیر می‌باشند. مهم‌ترین مزیت استفاده از روش هیدرتاسیون فیلم نازک، تولید لیپوزوم‌های تک لایه با توزیع اندازه اندک است. نتایج این دو شکل نشان داد لیپوزوم‌های اشباع شده EPC بزرگ‌تر از لیپوزوم‌های اشباع نشده DPPC هستند.

۳-۲- میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM)

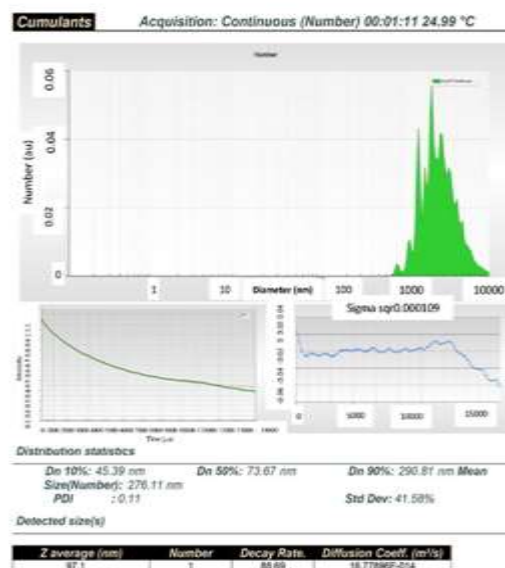
با توجه به نتایج آزمون پراکندگی نور دینامیکی و با توجه به اینکه لیپوزوم‌های اشباع در رهائش به مراتب بهتر از لیپوزوم‌های غیراشباع عمل می‌کنند از این رو DPPC برای نتایج نهایی آزمون‌های میکروسکوپ الکترونی انتخاب شد. کامپوزیت لیپوزوم DPPC-کیتوسان- تاکرولیموس انتخاب شد و نتیجه آزمون برای میکروسکوپ الکترونی برای این نانو حامل در شکل (۳) نشان داده شد.

کیتوزان (نسبت دارو به کیتوزان ۱:۱/۵، ۱:۲، ۱:۲/۵ و ۱:۳) تحت همزن مغناطیسی حل شد. ۶ گرم ژل کیتوسان طور قطره‌ای به ۱۰ میلی لیتر روغن بذر کتان حاوی ۲٪ حجمی span 80 تحت همزن مغناطیسی اضافه شد سپس ۵ میلی لیتر استن به طور قطره‌ای (۲ میلی لیتر در هر دقیقه) اضافه شد، سیستم درحالی که با فویل آلومینیومی پوشانده شده بود به مدت یک ساعت تحت همزن نگهداری شد سپس ۵ میلی لیتر تولوئن اشباع شده با گلو تار آلدئید به سیستم به آرامی اضافه شد و به مدت ۲ ساعت به طور مداوم به هم زده و سیستم تعلیق نانو ذرات حاصل شده در ۵۰۰۰ درو بر دقیقه سانتریفیوژ شد سپس با تولوئن شسته و خشک شد.

۳- بحث و نتایج

۳-۱- آزمون DLS

نتایج آزمون پراکندگی نور دینامیکی برای تعیین توزیع ذرات موجود استفاده شد. نتایج آزمون برای لیپوزوم DPPC در شکل (۱) نشان داده شده است. این روش تعیین اندازه ذرات در محدوده چند نانومتر تا میکرون به کار می‌رود. نتایج این آزمون برای لیپوزوم EPC در شکل (۲) نشان داده شده است.



شکل (۱): تصویر توزیع ذرات (آزمون DLS) برای کامپوزیت لیپوزوم DPPC-کیتوسان- تاکرولیموس.

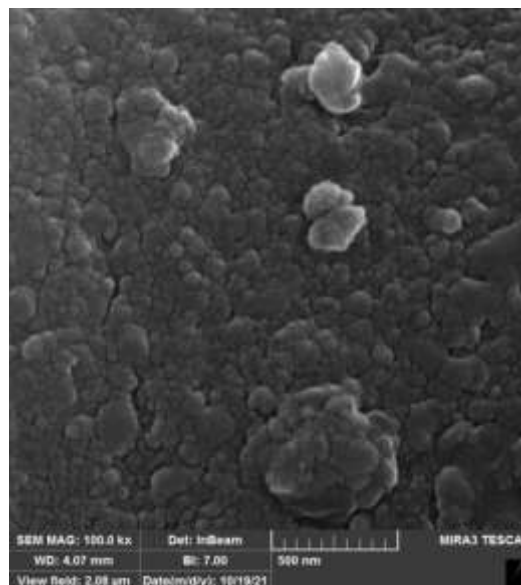
۳-۳- نتیجه آزمون (FTIR) سنتز لیپوزوم ها و بارگذاری تاکرولیموس

شکل (۴) طیف مادون قرمز (FTIR) دارای سه نمودار می باشد در نمودار (الف) طیف کیتوسان- دارو، در نمودار (ب) ترکیب لیپوزوم و کمپلکس دارو / کیتوسان DPPC/ Chitosan/ Drug آورده شده است و نمودار (ج) برای ترکیب لیپوزوم و کمپلکس دارو / کیتوسان EPC/ Chitosan/ Drug گرفته شده تا ردیابی پیک های ناشی از اتصالات بررسی شود.

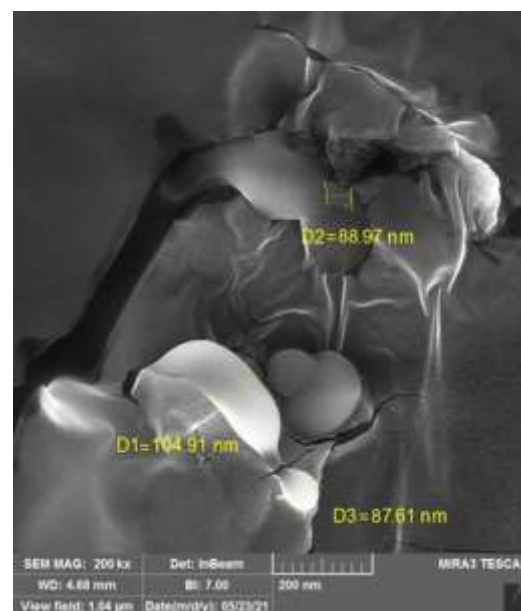
نمودار (الف) مربوط به نمونه تاکرولیموس-دارو می باشد، محدوده 3661 cm^{-1} مربوط به گروه کششی آزاد (O-H) می باشد و پیوند هیدروژنی (O-H) در 3452 cm^{-1} نشان داده شده. در این شکل محدوده 2985 cm^{-1} و 2945 cm^{-1} و 2933 cm^{-1} و 2872 cm^{-1} مشخص شده مربوط به ارتعاش کششی کربن هیبریدی sp^3 و sp^2 می باشد. در 2832 cm^{-1} ارتعاش کششی گروه (O-CH₃) و در 1751 cm^{-1} گروه (C=O) مشخص شده. پیک های جذب مربوط به گروه کتونی (C=O) در 1747 cm^{-1} و 1667 cm^{-1} نشان داده شده.

نمودار (ب) که مربوط به کمپلکس لیپوزوم DPPC-کیتوسان- تاکرولیموس می باشد یک پیک بزرگ در محدوده $3400-3500 \text{ cm}^{-1}$ دیده می شود که مربوط به اتصال کیتوسان و همپوشانی ارتعاشات کششی قوی گروه (N-H) و ارتعاشات کششی گروه هیدروکسیل (O-H) می باشد. همچنین اتصال کیتوسان سبب ظهور پیک های مربوط به ارتعاشات کششی گروه (CH₂-OH) در 1382 cm^{-1} شده است و در واقع بیانگر سنتز لیپوزوم و همچنین بارگذاری کمپلکس دارو روی این حامل می باشد، می توان گفت در این طیف ها پیک های تاکرولیموس مشاهده می شود که بیانگر بارگذاری دارو بر روی لیپوزوم می باشد. بعد از بارگذاری دارو پیک ها ضعیف تر شده و اندکی به سمت طول موج های بلندتر شیفต์ پیدا کرده که به علت برهمکنش بین تاکرولیموس و لیپوزوم می باشد.

نمودار (ج) مربوط به کمپلکس لیپوزوم EPC-کیتوسان- تاکرولیموس می باشد، یک پیک بزرگ در محدوده $3400-3500 \text{ cm}^{-1}$ دیده می شود که مربوط به اتصال کیتوسان و



(الف)



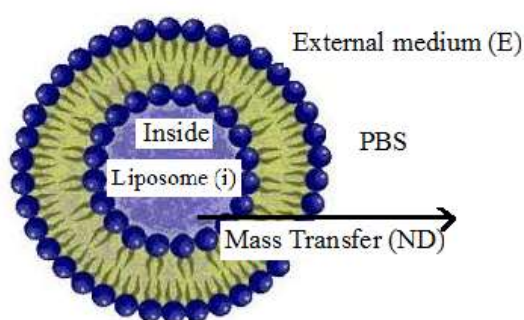
(ب)

شکل (۳): تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM) برای کامپوزیت لیپوزوم DPPC-کیتوسان- تاکرولیموس.

همان طور که در شکل مشخص است سنتز با مورفولوژی کروی با قطر کمتر از ۱۰۰ نانومتر می باشد که برای سیستم های انتقال دارو بسیار مطلوب می باشد.

لیپوزوم ها در طول رهایش تغییر اندکی کرده است؛ بنابراین می توان تخریب لیپوزوم ها در محیط بافر در طول مدت زمان رهایش (حداکثر ۱۸ روز) را نادیده گرفته و نفوذ را به عنوان تنها پدیده مؤثر در رهایش داروی تاکرولیموس از درون لیپوزوم در نظر گرفت. گرادیان غلظت دارو در دو طرف دولایه فسفولیپید (بین هسته و محیط خارجی) لیپوزوم نیروی محرکه نفوذ است. از سوی دیگر لیپوزوم های ساخته شده، تک لایه با قطر میانگین ۱۰۰ نانومتر و شاخص پراکندگی بسیار کوچک بوده و می توان تمامی لیپوزوم ها را یک اندازه در نظر گرفت؛ بنابراین به دلیل کوچکی لیپوزوم می توان غلظت را درون هسته، یکنواخت در نظر گرفت. از سوی دیگر محیط رهایش (محلول بافر فسفات نمکی) به طور مداوم با شدت ثابت ۸۰ دور بر دقیقه هم زده می شود که منجر به یکنواختی غلظت در محیط رهایش می گردد. به عبارتی پروفایل غلظت در هسته و در محیط رهایش در نظر گرفته نشده و از مقاومت فیلمی درونی و بیرونی می توان صرف نظر کرد؛ بنابراین لیپوزوم یک سامانه لامپد در نظر گرفته شود و موازنه جرم برای تاکرولیموس در دو طرف آن نوشته می شود:

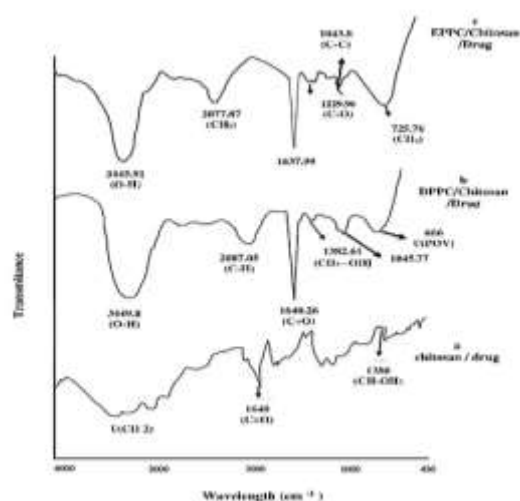
$$\text{مصرف} - \text{تولید} + \text{خروج} - \text{ورود} = \text{تجمع} \quad (۱)$$



شکل (۵): شمایی از رهایش داروی تاکرولیموس از لیپوزوم در محیط بافر فسفات نمکی.

ترم تجمع بیانگر تغییرات غلظت تاکرولیموس در هسته لیپوزوم با گذشت زمان است همچنین یک جریان یک طرفه خروج دارو از لیپوزوم به محیط رهایش به دلیل اختلاف

همپوشانی ارتعاشات کششی قوی گروه (N-H) و ارتعاشات گروه (CH₂-OH) در ۱۲۲۹ cm⁻¹ شده است.



شکل (۴): طیف مادون قرمز (FTIR) برای الف) تاکرولیموس - دارو، ب) لیپوزوم DPPC - کیتوسان - تاکرولیموس و ج) لیپوزوم EPC - کیتوسان - تاکرولیموس.

۳-۴- مدل سازی ریاضی رهایش

برای مدل سازی ریاضی رهایش داروی تاکرولیموس از لیپوزوم های ساخته شده بایستی معادلات بقای جرم، انرژی و اندازه حرکت نوشته شوند اما از آنجا که لیپوزوم ها درون کیسه دیالیز قرار دارند که در بافر غوطه ور بوده و کل مجموعه در انکوباتور شیکردار در دمای ثابت ۳۷ درجه سانتی گراد به طور مداوم با شدت ثابت هم زده می شود، اختلاف دما در دو طرف دولایه وجود ندارد و می توان فرآیند را هم دما در نظر گرفته و از معادله بقای انرژی صرف نظر کرد و با توجه به هم زدن مداوم محیط رهایش سرعت یکنواخت و ثابت در نظر گرفته شده و نیازی به نوشتن معادله بقای اندازه حرکت نیز نمی باشد و تنها بایستی معادله بقای جرم بررسی گردد.

رهایش داروی تاکرولیموس از لیپوزوم ها می تواند به دلیل پدیده نفوذ همراه با تخریب ساختار لیپوزوم در محیط رهایش رخ دهد. جدول (۱) تغییرات اندازه لیپوزوم های بارگذاری شده پس از رهایش در بافر فسفات نمکی را ارائه کرده است. همان طور که از داده های این جدول مشخص است قطر

در این رابطه k_e ضریب انتقال جرم و C_e غلظت تاکرولیموس در محیط رهایش (بافر فسفات نمکی) می باشد. با جایگذاری روابط (۷) و (۸) در رابطه (۳) معادله زیر حاصل می شود.

$$\frac{4}{3} \pi R^3 \frac{dC_i}{dt} = -k_e a_f 4\pi R^2 [C_i(t) - C_e(t)] \quad (9)$$

$$\frac{dC_i}{dt} = -\frac{3h_m}{R} [C_i(t) - C_e(t)] \quad (10)$$

$$h_m = k_e a_f \quad (11)$$

فاکتور h_m به تراوش پذیری غشا لیپوزوم و سطح مؤثر انتقال جرم بستگی دارد و تابعی از نوع سر قطبی، طول و درجه غیراشباعیت زنجیره های اسید چرب فسفولیپیدهای سازنده، دمای گذار لیپید، حجم آزاد بین زنجیره ها، غلظت افزودنی هایی همچون کلسترول در دولایه و نوع مولکول تراوش کننده می باشد. اکنون یک موازنه کلی برای جرم تاکرولیموس در هر لحظه نوشته می شود.

$$m_0 = m_i + m_e \quad (12)$$

$$C_0 V_0 = C_i V_i + C_e V_e \quad (13)$$

در این رابطه m و C به ترتیب جرم و غلظت تاکرولیموس درون هسته لیپوزوم در لحظه آغازین رهایش می باشند. V_e نیز حجم لیپوزوم در لحظه آغازین رهایش است که با توجه به تغییرات ناچیز قطر لیپوزوم در طول رهایش ثابت در نظر گرفته شده و از رابطه (۴-۶) محاسبه می شود. V_e حجم محیط رهایش (بافر فسفات نمکی) می باشد. حجم بافر در طول رهایش ثابت و برابر ۴۰ میلی لیتر نگه داشته شده است.

$$C_e(t) = \frac{C_0 - C_i(t)V_0}{V_e} \quad (14)$$

با جایگذاری معادله (۱۴-۴) در رابطه (۱۰-۴) یک معادله خطی درجه اول (۱۵-۴) حاصل می شود که به راحتی با روش های تحلیلی قابل حل است.

غلظت تاکرولیموس در دو طرف دولایه وجود دارد لذا معادله ۱ به شکل زیر نوشته می شود.

$$\text{خروج} - \text{تجمع} \quad (2)$$

$$\frac{dm_i}{dt} = -N_T A \quad (3)$$

در رابطه (۳-۴) T نشانگر تاکرولیموس و i نشانگر هسته لیپوزوم است. در این رابطه dm_i/dt تغییرات جرم تاکرولیموس درون هسته لیپوزوم با گذشت زمان برحسب میکروگرم بر روز ($\mu\text{g/day}$)، N_T فلاکس انتقال جرم خروجی از لیپوزوم برحسب میکروگرم بر روز نانومتر مربع ($\mu\text{g}/(\text{nm} \times \text{day})$)، A سطح مؤثر انتقال جرم برحسب نانومتر مربع می باشد. سطح مؤثر انتقال جرم کسری از سطح خارجی لیپوزوم است. این کسر با a_f نشان داده شده که عددی بین صفر و یک می باشد. سطح مؤثر انتقال جرم از رابطه (۳) به دست می آید. R در این رابطه شعاع لیپوزوم می باشد.

$$A = a_f 4\pi R^2 \quad (4)$$

سمت راست رابطه (۳) به صورت زیر نوشته می شود:

$$\frac{dm_i}{dt} = \frac{d(C_i V)}{dt} = V_i \frac{dC_i}{dt} + C_i \frac{dV_i}{dt} \quad (5)$$

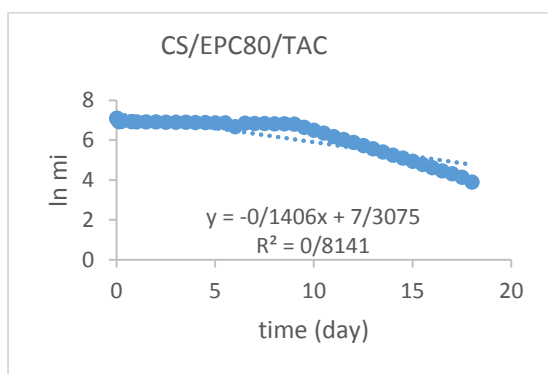
در رابطه (۵) V_i حجم لیپوزوم برحسب نانومتر مکعب و C_i غلظت داروی تاکرولیموس درون هسته لیپوزوم در هر زمان است که برحسب میکروگرم بر نانومتر مکعب می باشد. از آنجا که قطر لیپوزوم ها پس از رهایش دارو تغییری نکرده است، می توان از تغییرات حجم با زمان صرف نظر کرده و حجم لیپوزوم را برابر حجم اولیه آن در نظر گرفت.

$$V_i = V_0 = \frac{4}{3} \pi R^3 \quad (6)$$

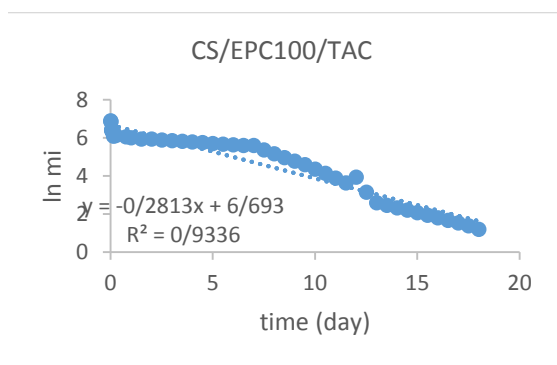
$$\frac{dmi}{dt} = v \frac{dc_i}{dt} = \frac{4}{3} \pi R^3 \frac{dc_i}{dt} \quad (7)$$

$$N_T = k_e [C_i(t) - C_e(t)] \quad (8)$$

بنابراین از ترسیم $\ln m_i$ برحسب زمان خط راستی با شیب β و عرض از مبدأ c به دست خواهد آمد. با یافتن شیب خط می توان h_m را محاسبه کرد. مدل به دست آمده با نتایج تجربی سایر پژوهشگران نیز همخوانی دارد [۵۲]. این پژوهشگران یک سینتیک درجه اول برای رهائش دارو از لیپوزوم را پیشنهاد کرده اند که به نوع دارو بستگی ندارد. شکل های (۶) و (۷) داده های تجربی را برای رهائش داروی تاکرولیموس در بافر فسفات نمکی با $\text{pH} = 7.4$ در لیپوزوم های ساخته شده ارائه می دهند. مقادیر β و h_m برای لیپوزوم های با ساختار مختلف محاسبه و نتایج در جدول (۱) ارائه شده است.



(الف)



(ب)

شکل (۶): منحنی تغییرات لگاریتمی جرم تاکرولیموس درون هسته با

زمان: خطوط پیش بینی مدل، دایره ها نقاط تجربی (الف)

CS/EPC80/TAC و (ب) CS/EPC100/TAC.

$$\frac{dC_i}{dt} = -\frac{3h_m}{R} \left[C_i(t) - \frac{C_0 - C_i(t)V_0}{V_e} \right] \quad (15)$$

$$= \alpha - \beta C_i(t)$$

$$\alpha = \frac{3h_m C_0 V_0}{R V_e} \quad (16)$$

$$\beta = \frac{3h_m}{R_1} \left(1 + \frac{V_0}{V_e} \right) = \frac{3h_m}{R} \quad (17)$$

در رابطه (۱۷) از حجم لیپوزوم در مقایسه با حجم محیط رهائش صرف نظر شده است. برای حل این معادله درجه اول نیاز به یک شرط اولیه وجود دارد که از رابطه (۱۸) استفاده می شود.

$$C_i = C_0 \quad \text{at} \quad t = 0 \quad (18)$$

$$C_i(t) = C_1 e^{-\beta t} + \frac{\beta}{t} \quad (19)$$

در نهایت پروفایل غلظت تاکرولیموس درون هسته لیپوزوم در طول مدت رهائش از رابطه زیر به دست می آید.

$$C_i(t) = \left(C_0 \frac{\alpha}{\beta} \right) e^{-\beta t} + \frac{\alpha}{\beta} \quad (20)$$

میزان داروی رهائش یافته در طی زمان رهائش برای فرمول های مختلف لیپوزوم به روش تجربی اندازه گیری شده است بنابراین پس از یافتن تغییرات غلظت تاکرولیموس در هسته با زمان (رابطه ۲۰) می توان از طریق رابطه (۲۱) میزان داروی باقیمانده در لیپوزوم نسبت به زمان را یافته و با داده های آزمایشگاهی تطبیق داد.

$$m_i(t) = \left(C_0 - \frac{\alpha}{\beta} \right) V_0 e^{-\beta t} + \frac{\alpha}{\beta} V_0 \quad (21)$$

این رابطه به صورت زیر خطی می گردد:

$$\ln m_i = -\beta t + c \quad (22)$$

$$c = \ln \left[\left(C_0 - \frac{\alpha}{\beta} \right) V_0 \right] + \ln \left(\frac{\alpha}{\beta} V_0 \right) \quad (23)$$

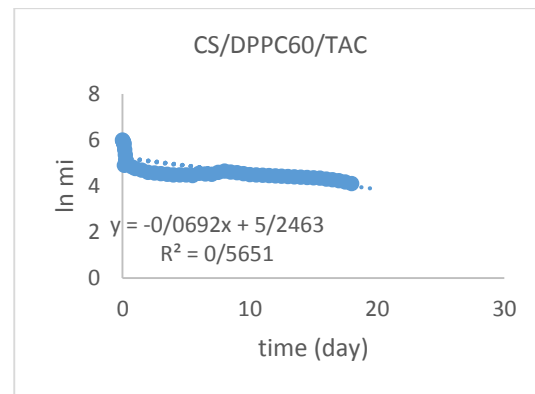
$$= \ln \frac{C_0^2 V_0^3}{V_e}$$

همان طور که از داده های جدول مشخص است بالاترین مقادیر h_m مربوط به لیپوزوم های ساخته شده از لیپید غیر اشباع EPC است که می تواند به ساختار نامتقارن، ناهمگن و نشت کننده لیپید و حجم آزاد بالای بین زنجیره های اسیلی مربوط گردد. سرعت پدیده نفوذ لیپوزوم های EPC بالا است و این لیپوزوم ها بالاترین سرعت رهایش را نیز دارند. کمترین مقادیر h_m نیز مربوط به لیپید اشباع DPPC60 که دمای گذار بالایی دارد می باشد که کمترین سرعت نفوذ و رهایش را دارد. مقادیر h_m به دست آمده برای EPC100، EPC80 و نشان می دهد افزایش غلظت کلسترول در دولایه منجر به کاهش مقادیر h_m می گردد. افزودن کلسترول به دولایه سبب کاهش در حجم آزاد بین زنجیره ها گردید؛ به عبارت دیگر یک ساختار منظم تر شکل گرفته، لیپوزوم ها محکم تر می شوند و تراوش پذیری آنها کاهش می یابد که منجر به کاهش سرعت نفوذ می شود و رهایش دارو را نیز به تأخیر می اندازد.

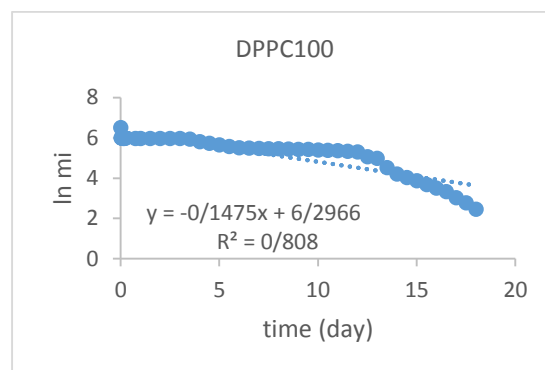
۴- نتیجه گیری

در این تحقیق با بارگذاری داروی تاکرولیموس بر روی پلیمر کیتوسان تلاش شد تا زیست سازگاری حامل افزایش یابد. سپس با افزودن نانو لیپوزوم ها می توان امکان تنظیم سرعت رهایش دلخواه را فراهم آورد. همچنین با به کارگیری پلیمر کیتوسان افزایش بازدهی بارگذاری داروی تاکرولیموس در سامانه طراحی شده، در مقایسه با نتایج تحقیقات گزارش شده در سامانه های مشابه مشاهده شد.

چالش اصلی در کاربرد لیپوزوم ها به عنوان سامانه دارو رسان افزایش پایداری فیزیکی و شیمیایی آنها و فراهم آوردن امکان رهایش کنترل شده دارو با یک سرعت دلخواه می باشد. در این تحقیق با دستکاری نوع لیپید تلاش شد تا این چالش ها برطرف گردد. در مرحله ساخت، ۲ لیپید مختلف مورد استفاده قرار گرفت. بازدهی داروی ذخیره شده در هسته و سرعت رهایش دارو به نوع لیپید و غلظت کلسترول بستگی دارد. لیپوزوم های ساخته شده از لیپید اشباع شده (EPC) بزرگ تر از لیپوزوم های ساخته شده از لیپیدهای اشباع نشده DPPC بود. افزایش غلظت کلسترول در ساختار لیپوزوم منجر



(الف)



(ب)

شکل (۷): منحنی تغییرات لگاریتمی جرم تاکرولیموس درون هسته با

زمان: خطوط پیش بینی مدل، دایره ها نقاط تجربی (الف)

CS/DPPC60/TAC و (ب) CS/DPPC100/TAC

جدول (۱): ثوابت h_m و β به دست آمده از داده های آزمایشگاهی برای ساختارهای مختلف لیپوزوم.

نوع لیپوزوم	β	$R(nm)$	h_m
CS/DPPC60/TAC	0.0692	10.9 ± 0.7	7.0542
CS/DPPC100/TAC	0.1475	9.9 ± 0.5	14.76
CS/EPC80/TAC	0.2813	9.5 ± 1.4	26.72
CS/EPC100/TAC	0.1406	10.6 ± 1.03	14.90

h_m فاکتوری است که بیانگر میزان تراوش پذیری غشا نسبت به مولکول تراوش کننده می باشد. تراوش پذیری به تحرک و حلالیت مولکول تراوش کننده بستگی دارد. تحرک مولکول به اندازه مولکول، ضریب نفوذ آن در غشا و حجم آزاد بین زنجیره ها بستگی دارد؛ که خود تابعی از نوع لیپید سازنده، درجه اشباعیت و دمای گذار فازی آن، غلظت کلسترول در دولایه و دمای محیط رهایش آن است. حلالیت مولکول نیز به نوع ماده، ساختار و ضریب توزیع آن بستگی دارد.

- [8] B. Rasti, S. Jinap & M. R. Mozafari, "Optimization on preparation condition of polyunsaturated fatty acids nanoliposome prepared by Mozafari method", *Journal of Liposome Research*, vol. 24, no. 2, pp. 99-105, 2014.
- [9] M. Makkarian & E. Ameri, "The Effect of Silicon Carbide Ceramic Nanoparticles on the Tribological Properties of SN500HVI Paraffinic Base Oil", *New Process in Material Engineering*, vol. 16, no. 1, pp. 27-41, 2022.
- [10] Danial Jafari Farsaani, Elham Ameri, Bubble Absorption Enhancement in Water-Based Nanofluids Using Nickel Oxide Nanoparticles in the Presence of Surfactant, *New Process in Material Engineering*, 2023, 17(1), 13-27.
- [11] C. Mircioiu, V. Voicu, V. Anuta, A. Tudose, Ch. Celia, D. Paolino, M. Fresta, R. Sandulovici & I. Mircioiu, "Mathematical modeling of release kinetics from supramolecular drug delivery systems", *Pharmaceutics*, vol. 11, p. 140, 2019.
- [12] J. Crank, "The mathematics of diffusion", Oxford University Press: Oxford, 1975.
- [13] K. D. Fugit, "Quantification of factors governing drug release kinetics from nanoparticles: a combined experimental and mechanistic modeling approach", 2014.
- [14] H. Tsuchiya & M. Mizogami, "Interaction of local anesthetics with biomembranes consisting of phospholipids and cholesterol: mechanistic and clinical implications for anesthetic and cardiotoxic effects", *Anesthesiology Research and Practice*, 2013.
- [15] A. Butu & et al. "Liposomal nanodelivery system for proteasome inhibitor anticancer drug bortezomib", *Farmacia*, vol. 63, no. 2, pp. 224-229, 2015.
- [16] G. Enden & S. Avi, "A mathematical model of drug release from liposomes by low frequency ultrasound", *Annals of biomedical engineering*, vol. 37, pp. 2640-2645, 2009.
- [17] J. M. Diamond & K. Yehuda, "Interpretation of nonelectrolyte partition coefficients between dimyristoyl lecithin and water", *The Journal of Membrane Biology*, vol. 17, pp. 121-154, 1974.
- [18] P. T. Mayer & B. D. Anderson, "Transport across 1, 9-decadiene precisely mimics the chemical selectivity of the barrier domain in egg lecithin bilayers", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 91, no. 3, pp. 640-646, 2002.
- به افزایش در اندازه لیپوزوم‌ها گردید. استحکام و میزان فشردگی حاصل از کلاسترول به نوع لیپید و غلظت آن بستگی دارد.
- یک مدل‌سازی ریاضی برای بررسی تغییرات غلظت تاکرولیموس درون‌هسته در طول رهایش انجام شد داده‌های تجربی تطابق خوبی با مدل نشان دادند. مدل‌سازی ریاضی رهایش داروی تاکرولیموس از لیپوزوم‌های ساخته شده انجام شد و نتایج حاصل از بخش مدل‌سازی نشان داد که کمینه مقدار رهایش دارو مربوط به DPPC60 با میزان ۷/۵۴۲ می‌باشد.
- ### ۵- منابع
- [1] F. de Meyer & S. Berend, "Effect of cholesterol on the structure of a phospholipid bilayer", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 106, no. 10, pp. 3654-3658, 2009.
- [2] T. Sengoku, S. Sakuma, S. Satoh, S. Kishi, T. Ogawa, Y. Ohkubo & et al, "Effect of FK506 eye drops on late and delayed-type responses in ocular allergy models", *Clinical & Experimental Allergy*, vol. 33, no. 11, pp. 1555-1560, 2003.
- [3] C. Decker, A. Fahr, J. Kuntsche & S. May, "Selective partitioning of cholesterol and a model drug into liposomes of varying size", *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 165, no. 5, pp. 520-529, 2012.
- [4] M. J. W. Johnston & et al, "Influence of drug-to-lipid ratio on drug release properties and liposome integrity in liposomal doxorubicin formulations," *Journal of liposome research*, vol. 18, no. 2, pp. 145-157, 2008.
- [5] R. Jayachandra Babu, Ch. Li & N. Kanikkannan, "Fatty alcohols, fatty acids, and fatty acid esters as penetration enhancers", *Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement: Modification of the Stratum Corneum*, pp. 133-150, 2015.
- [6] M. R. Mozafari, "Nanoliposomes: preparation and analysis", *Liposomes: Methods and protocols, Pharmaceutical Nanocarriers*, vol. 1, pp. 29-50, 2010.
- [7] M. R. Mozafari, C. J. Reed & C. Rostron. "5-Fluorouracil encapsulated in colloidal lipid particles: entrapment, release and cytotoxicity evaluation in an airway cell line", *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, vol. 17, no. 1, pp. 100-100, 2004.

- [31] J. Siepmann, F. Siepmann & A. T. Florence, "Local controlled drug delivery to the brain: mathematical modeling of the underlying mass transport mechanism", *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 314, no. 2, pp. 101-119, 2006.
- [32] D. Caccavo, "An overview on the mathematical modeling of hydrogels' behavior for drug delivery systems", *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 560, no. 175-190, 2019.
- [33] S. Koennings & et al, "Influence of wettability and surface activity on release behavior of hydrophilic substances from lipid matrices", *Journal of Controlled Release*, vol. 119, no. 2, pp. 173-181, 2007.
- [34] A. D. Yohanes, L. Y. Lee & Ch. H. Wang, "Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems", *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 58, no. 12-13, pp. 1274-1325, 2006.
- [35] N. Sahai, G. Manashjit & A. Nabeel, "Mathematical modeling and simulations for developing nanoparticle-based cancer drug delivery systems: a review", *Current Pathobiology Reports*, vol. 9, pp. 1-8, 2021.
- [36] R. Hernandez-Montelongo & et al, "Mathematical modeling of recursive drug delivery with diffusion, equilibrium, and convection coupling", *Mathematics*, vol. 10, no. 13, p. 2171, 2022.
- [37] K. Chakravarty & D. C. Dalal. "Mathematical modelling of liposomal drug release to tumour", *Mathematical Biosciences*, vol. 306, pp. 82-96, 2018.
- [38] F. Haghirsadat & et al, "A comprehensive mathematical model of drug release kinetics from nano-liposomes, derived from optimization studies of cationic PEGylated liposomal doxorubicin formulations for drug-gene delivery", *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, vol. 46, no. 1, pp. 169-177, 2018.
- [39] C. B. Zhao & et al, "Clinical efficacy and immunological impact of tacrolimus in Chinese patients with generalized myasthenia gravis", *International Immunopharmacology*, vol. 11, no. 4, pp. 519-524, 2011.
- [40] S. L. Schreiber & G. R. Crabtree, "The mechanism of action of cyclosporin A and FK506", *Immunology Today*, vol. 13, no. 4, pp. 136-142, 1992.
- [19] T. X. Xiang & B. D. Anderson, "Permeability of acetic acid across gel and liquid-crystalline lipid bilayers conforms to free-surface-area theory", *Biophysical Journal*, vol. 72, no. 1, pp. 223-237, 1997.
- [20] T. X. Xiang & B. D. Anderson, "Influence of chain ordering on the selectivity of dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer membranes for permeant size and shape", *Biophysical Journal*, vol. 75, no. 6, pp. 2658-2671, 1998.
- [21] T. X. Xiang & B. D. Anderson, "The barrier domain for solute permeation varies with lipid bilayer phase structure", *The Journal of Membrane Biology*, vol. 165, pp. 77-90, 1998.
- [22] C. Mircioiu & et al, "Mathematical modeling of release kinetics from supramolecular drug delivery systems", *Pharmaceutics*, vol. 11, no. 3, p. 140, 2019.
- [23] P. I. Lee, "Modeling of drug release from matrix systems involving moving boundaries: Approximate analytical solutions", *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 418, no. 1, pp. 18-27, 2011.
- [24] T. Higuchi, "Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 50, no. 10, pp. 874-875, 1961.
- [25] H. S. Carslaw & J. C. Jaeger, "Conduction of heat in solids", Clarendon, Oxford, 1959.
- [26] T. Koizumi & et al, "Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 23, no.12, pp. 3288-3292, 1975.
- [27] T. J. Roseman & W. I. Higuchi, "Release of medroxyprogesterone acetate from a silicone polymer", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 59, no. 3, pp. 353-357, 1970.
- [28] S. Koennings & et al, "Confocal microscopy for the elucidation of mass transport mechanisms involved in protein release from lipid-based matrices", *Pharmaceutical Research*, vol. 24, pp. 1325-1335, 2007.
- [29] J. M. Rosca & I. W. Vergnaud, "Assessing Bioavailability of Drug Delivery Systems Mathematical", 2005.
- [30] I. Mircioiu & et al, "Dissolution of tamoxifen in biorelevant media. A two phase release model", *Farmacia*, vol. 60, no. 3, 315-24, 2012.

- Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, vol. 115, pp. 73-83, 2017.
- [52] L. Jablonka & et al, "Predicting human pharmacokinetics of liposomal temoporfin using a hybrid in silico model", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, vol. 149, pp. 121-134, 2020.
- [53] F. Jung & et al, "A comparison of two biorelevant in vitro drug release methods for nanotherapeutics based on advanced physiologically-based pharmacokinetic modelling", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, vol. 127, pp. 462-470, 2018.
- [54] Ch. M. Wallenwein & et al, "A dialysis-based in vitro drug release assay to study dynamics of the drug-protein transfer of temoporfin liposomes", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, vol. 1, no. 43, pp. 44-50, 2019.
- [55] L. Xie & et al, "Assessing the drug release from nanoparticles: Overcoming the shortcomings of dialysis by using novel optical techniques and a mathematical model", International Journal of Pharmaceutics, vol. 488, no. 1-2, pp. 108-119, 2015.
- [56] I. Salahshoori & et al, "Simulation-based approaches for drug delivery systems: Navigating advancements, opportunities, and challenges", Journal of Molecular Liquids, p. 123888, 2023.
- [57] E. A. Chacin Ruiz & et al, "Mathematical Modeling of Drug Delivery from Bi-Layered Core-Shell Polymeric Microspheres", 2024.
- [58] D. Caccavo & et al, "Mathematical modelling of the drug release from an ensemble of coated pellets", British Journal of Pharmacology, vol. 174, no. 12, pp. 1797-1809, 2017.
- [59] S. Senarat & et al, "Numerical Mechanistic Modelling of Drug Release from Solvent-Removal Zein-Based In Situ Gel", Pharmaceutics, vol. 15, no. 10, p. 2401, 2023.
- [60] Soundararajan, A., Bao, A., Phillips, W.T., Perez, R., Goins, B.A. (2009). 186[Re] Liposomal doxorubicin (Doxil): in vitro stability, pharmacokinetics, imaging and biodistribution in a head and neck squamous cell carcinoma xenograft model. Nucl. Med. Biol. 36, 515-524.
- [61] J. R. Costa & et al, "Potential chitosan-coated alginate nanoparticles for ocular delivery of daptomycin", European Journal of Clinical [41] P. Marquet & et al, "Comparative clinical trial of the variability factors of the exposure indices used for the drug monitoring of two tacrolimus formulations in kidney transplant recipients", Pharmacological Research, vol. 129, pp. 84-94, 2018.
- [42] R. Kojima & et al, "Release mechanisms of tacrolimus-loaded PLGA and PLA microspheres and immunosuppressive effects of the microspheres in a rat heart transplantation model", International Journal of Pharmaceutics, vol. 492, no. 1-2, pp. 20-27, 2015.
- [43] K. Park & et al, "Injectable, long-acting PLGA formulations: Analyzing PLGA and understanding microparticle formation", Journal of Controlled Release, vol. 304, pp. 125-134, 2019.
- [44] A. N. Versypt, A. N. Ford, D. W. Pack & R. D. Braatz, "Mathematical modeling of drug delivery from autocatalytically degradable PLGA microspheres—A review", Journal of controlled release, vol. 165, no. 1, pp. 29-37, 2013.
- [45] L. Nothnagel & M. G. Wacker, "How to measure release from nanosized carriers?", European Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 120, pp. 199-211, 2018.
- [46] G. F. Gao & et al, "A sensitive in vitro performance assay reveals the in vivo drug release mechanisms of long-acting medroxyprogesterone acetate micro particles", International Journal of Pharmaceutics, vol. 586, p. 119540, 2020.
- [47] J. V. Andhariya & et al, "In vitro-in vivo correlation of parenteral PLGA microspheres: Effect of variable burst release", Journal of Controlled Release, vol. 314, pp. 25-37, 2019.
- [48] J. V. Andhariya & et al, "Development of Level a in vitro-in vivo correlations for peptide loaded PLGA microspheres", Journal of Controlled Release, vol. 308 pp. 1-13, 2019.
- [49] L. Jablonka & et al, "Advanced in silico modeling explains pharmacokinetics and biodistribution of temoporfin nanocrystals in humans", Journal of Controlled Release, vol. 308, pp. 57-70, 2019.
- [50] Sh. Jie & D. J. Burgess, "In vitro-in vivo correlation for complex non-oral drug products: where do we stand?", Journal of Controlled Release, vol. 219, pp. 644-651, 2015.
- [51] Ch. Janas & et al, "The dispersion releaser technology is an effective method for testing drug release from nanosized drug carriers", European

anti-Alzheimer drug tacrine." *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 6.1 (2010): 144-152.

Microbiology & Infectious Diseases, vol. 34, pp. 1255-1262, 2015.

۶- پی نوشت

- [1] Thin Layer
- [2] Sonication Technique
- [3] Extrusion Method
- [4] Microfluidization
- [5] Heating Method
- [6] Mozafari Method
- [7] In Vitro
- [8] Xiang & Anderson
- [9] Lee
- [10] Carlsaw & Jaeger
- [11] Koizumi et al
- [12] Chakravarty & Dalal
- [13] In Vivo
- [14] Soundararajan et al
- [15] Wilson et al

[62] Y. S. Chhonker & et al, "Amphotericin-B entrapped lecithin/chitosan nanoparticles for prolonged ocular application", *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 72, pp. 1451-1458, 2015.

[63] P. Hasansheikhi, E. Amery & Z. Alimohammadi, Chitosan hydrogel containing tacrolimus-loaded nanoliposome for ocular drug delivery: physicochemical and stability evaluation", *Nanomedicine Journal*, vol. 12, no. 2, pp. 299-312, 2024.

[64] S. Kanokpanont, "Interaction between PEAA and DOPC liposomes: a possible model for pH-triggered drug delivery", Drexel University, 1996.

[65] Wilson, Barnabas, et al. "Chitosan nanoparticles as a new delivery system for the