دانشگاه صنعتی امیرکبیر

دانشکده‌ی مهندسی پزشکی

پایان نامه‌ی دکتری مهندسی پزشکی گرایش بیومتریال

تهیه سامانه دارویی تشکیل شونده در محل بر پایه PLGA به منظور رهایش داروهای کورتیکواستروئید: مطالعه In vitro

نگارش

محمد رفیعی‌نیا

اساتید راهنما

پروفسور حمید میرزاده

دکتر حمید موبدی

استاد مشاور

دکتر احمد جمشیدی

شهریور ۱۳۸۶

بسمه تعالی

شماره:

تاریخ:

معاونت پژوهشی

فرم پروژه تحصیلات تکمیلی ۷

فرم اطلاعات پایان‌نامه
کارشناسی ارشد و دکترا

دانشگاه صنعتی امیرکبیر
(پلی تکنیک تهران)

۱-مشخصات دانشجو

نام و نام خانوادگی: محمد رفیعی نیا دانشجوی آزاد ☒ بورسیه ☐ معادل ☐

شماره دانشجویی: ۸۰۱۳۳۹۱۰ دانشکده : مهندسی پزشکی رشته تحصیلی : بیومتریال

نام و نام خانوادگی استاد راهنما : دکتر حمید میرزاده- دکتر حمید موبدی

عنوان به فارسی : تهیه سامانه دارویی تشکیل شونده در محل بر پایه PLGA به منظور رهایش داروهای کورتیکواستروئید: مطالعه In vitro

عنوان به انگلیسی : preparation of in situ forming drug delivery system based on PLGA in order to release corticosteroide drugs: In vitro study

نوع پروژه: کاربردی ☒ بنیادی ☐ توسعه ای ☐ نظری ☐

تاریخ شروع : ۸۰/۷/۱ تاریخ خاتمه : ۸۶/۶/۲۵ تعداد واحد : ۲۷

سازمان تأمین کننده اعتبار :

واژه های کلید به فارسی : سامانه تشکیل شونده در محل، بتامتازون، بتامتازون استات، پلی لاکتیک-گلیکولیک اسید، تابش گاما

واژه های کلیدی به انگلیسی : In situ forming system, Betamethasone, Betamethasone acetate, Poly (lactic-co-glycolic) acid, Gamma irradiation

نظرها و پیشنهادها به منظور بهبود فعالیت های پژوهشی دانشگاه :

استاد راهنما : دکتر حمید میرزاده- دکتر حمید موبدی

دانشجو : محمد رفیعی نیا

امضاء استاد راهنما : تاریخ : ۸۶/۷/۱۵

۸۶/۷/۱۰

نسخه ۱ : معاونت پژوهشی

نسخه ۲ : کتابخانه و به انضام دو جلد پایان نامه به منظور تسویه حساب با کتابخانه و مرکز اسناد و مدارک علمی

به‌نام خداوندی که زینت زبان‌ها، یادگار جان‌ها، آسایش دل‌ها و آرایش کارها به نام اوست. پروردگاری که لوح محفوظ را به "قلم نور"، به "مداد فضل" و به "دوات عشق"، بر"دفتر لطف" نگاشت. هرچه معلمان به تعلیم کوشند و استادان تلقین کنند، همه اسبابند، و آموزنده، به حقیقت خداست. هر آموخته‌ای را آموزنده اوست و هر افروخته‌ای را افروزنده اوست. هر سوخته را سوزنده اوست و هر ساخته را سازنده او...

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

یگانه معلمین صبر و تلاش، آنان که وجودشان همواره روشنی بخش زندگی من و موفقیت امروزم نتیجه تلاش، راهنمایی‌ها و زحمت بیدریغ آنان است.

و

همسر عزیزم

برای همراهی، همدلی و همگامیش

و

همه‌ی دانش پژوهان کشور عزیزم

با تقدیر و تشکر فراوان از

اساتید ارجمندم جناب آقای پروفسور حمید میرزاده، جناب آقای دکتر حمید موبدی و جناب آقای دکتر احمد جمشیدی که از مراتب علمی، سجایای اخلاقی ایشان و نصایح گرانقدرشان در زمینه انجام پژوهش، نگارش و تصحیح این مجموعه بی‌شک بهره‌های فراوان بردم.

داوران گرامی، به‌ویژه سرکار خانم دکتر عاصم‌پور، جناب آقای دکتر ایمانی و سرکار خانم کردستانی، که امر قضاوت این پایان نامه را بر عهده داشتند و کاستی‌های پایان نامه را گوشزد کردند.

- مسئول محترم آزمایشگاه سنتز و شیمی بیومتریال‌ها دانشکده مهندسی پزشکی دانشگاه صنعتی امیر کبیر، جناب آقای مهندس شاهین بنکدار
- مسئول محترم آزمایشگاه سامانه‌های نوین دارورسانی پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، سرکار خانم مهندس فرزانه احمدخان‌بیگی
- مسئولین محترم صندوق حمایت از پژوهشگران کشور
- آزمایشگاه‌های پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران
- اساتید و کارمندان محترم دانشکده مهندسی پزشکی دانشگاه صنعتی امیر کبیر
- جناب آقای دکتر امامی عضو هیات علمی دانشکده مهندسی پزشکی دانشگاه صنعتی امیر کبیر
- جناب آقای دکتر دلیری عضو هیات علمی پژوهشگاه ملی ژنتیک و زیست فناوری

که همگی در به ثمر رسیدن این مجموعه از کوچکترین کمکی مضایقه نفرمودند.

بنام خداوند جان و خرد

فهرست مطالب

چکیده فارسی ..... آ

فصل اول

مروری بر سامانه‌های دارورسانی تشکیل شونده در محل

۱-۱- مقدمه ۱

۱-۲- خمیرهای ترموپلاستیک ۳

۱-۳- سامانه‌های شبکه‌ای شونده در محل تزریق ۷

۱-۳-۱- ترموست‌ها ۷

۱-۳-۲- ژل‌های شبکه‌ای شونده با نور ۸

۱-۳-۳- ژل شدن با واسطه-یونی ۹

۱-۴- جامد شدن ژل‌های آلی در محل تزریق ۱۱

۱-۵- رسوب پلیمر در محل تزریق ۱۲

۱-۵-۱- انتقال سل- ژل بر اثر گرما ۱۲

۱-۵-۲- تولید رسوب با خروج حلال ۱۶

۱-۶- حلال‌های آلی ۴۴

۱-۶-۱- حلال‌هایی با حلالیت کم در آب ۴۵

۱-۶-۲- N- متیل-۲- پیرولیدون (NMP) ۴۷

۱-۶-۳- دی متیل سولفوکسید (DMSO) ۴۷

۱-۷- محصولات تجاری کنترل رهایش دارویی تهیه شده از PLGA ۴۹

فصل دوم

مکانیزم‌های تخریب PLGA

۲-۱- مکانیزم‌ها و عوامل موثر بر تخریب PLGA ۵۳

۲-۲- تاثیر تابش گاما بر سامانه‌های دارورسانی ۵۸

فصل سوم

نظریه غشاء ۶۶

فصل چهارم

داروهای ضد التهاب، کورتیکواستروئیدها

۴-۱- خواص، چگونگی اثر، جذب، دفع و سرنوشت ۷۰

۴-۲- موارد مصرف کورتیکواستروئیدها ۷۳

اهداف و نوآوری‌های این پروژه..... ۷۵

فصل پنجم

کارهای عملی

۵-۱- مواد مورد استفاده ۷۶

۵-۱-۱- بتامتازون..... ۷۶

۵-۱-۲- پلی (D،L-لاکتیک-گلیکولیک) اسید ۷۷

۵-۱-۳- N-متیل-۲-پیرولیدون ۷۸

۵-۱-۴- اتیل هپتانوآت..... ۷۹

۵-۲- دستگاه‌ها ۷۹

۵-۲-۱- کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) ۷۹

۵-۲-۲- طیف سنج ماوراء بنفش ۷۹

۵-۲-۳- گرما وزن سنجی (TGA) ۸۰

۵-۲-۴- گرماسنجی روبشی تفاضلی (DSC) ۸۰

۵-۲-۵- میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)..... ۸۰

۵-۲-۶- رزونانس مغناطیسی هسته‌ای (NMR)..... ۸۰

۵-۲-۷- کروماتوگرافی نفوذ ژلی (GPC)..... ۸۰

۵-۲-۸- اندازه‌گیری زاویه تماس ۸۰

۵-۲-۹- دستگاه خشک کن سرمایش..... ۸۱

۵-۳- روش‌های آزمون..... ۸۱

۵-۳-۱- تهیه فرمولاسیون..... ۸۱

۵-۳-۲- آزمون میکروسکوپی الکترونی روبشی (SEM)..... ۸۴

۵-۳-۳- آزمون گرما وزن سنجی (TGA) ۸۵

۵-۳-۴- آزمون گرماسنجی روبشی تفاضلی (DSC)..... ۸۵

۵-۳-۵- آزمون رهایش دارو ۸۵

۵-۳-۶- بررسی کینتیک رهایش دارو..... ۸۵

۵-۳-۷- آزمون اندازه‌گیری وزن مولکولی (GPC) ۸۶

۵-۳-۸- تعیین روش اندازه‌گیری داروی بتامتازون و بتامتازون استات ۸۷

۵-۳-۸-۱- انتخاب طول موج مناسب ۸۷

۵-۳-۸-۲- تعیین طول موج بهینه جهت اندازه‌گیری جذب دارو در حضور دیگر اجزاء ۸۸

۵-۳-۸-۳- رسم نمودار استاندارد جذب-غلظت در طول موج جذب (۲۶۵ nm)..... ۹۱

۵-۳-۸-۴- بررسی تاثیر هر یک از عوامل موجود در محیط رهایش بر روی صحت اندازه‌گیری غلظت دارو در طول موج ۲۶۵ nm ۹۳
۵-۳-۸-۵- تدوین روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) ۹۸
۵-۳-۸-۶- بررسی اثر تغییر در نسبت محلول‌های فاز متحرک ۹۹
۵-۳-۸-۷- بررسی تاثیر مواد افزودنی بر پیک داروی بتامتازون استات ۱۰۳
۵-۳-۸-۸- رسم نمودار استاندارد غلظت بر حسب سطح زیر پیک و ارتفاع پیک ۱۱۰
۵-۳-۸-۹- بررسی صحت و دقت روش اندازه‌گیری ۱۱۶
۵-۳-۸-۱۰- اندازه‌گیری غلظت دارو و تعیین درصد داروی آزاد شده ۱۲۲

فصل ششم

نتایج و بحث

۶-۱- بررسی پایداری دارو پس از تابش گاما ۱۲۳
۶-۲- بررسی اثر تابش گاما بر اجزاء تشکیل دهنده فرمولاسیون ۱۲۹
۶-۲-۱- تاثیر تابش گاما بر پلیمرها ۱۲۹
۶-۲-۱-۱- پودر خشک پلیمر ۱۲۹
۶-۲-۱-۲- محلول پلیمر در NMP ۱۳۲
۶-۲-۲- تاثیر تابش گاما بر اتیل هپتانوآت و حلال NMP ۱۳۳
۶-۳- بررسی تاثیر عوامل گوناگون بررهایش داروی بتامتازون و بتامتازون استات ۱۳۵
۶-۳-۱- تاثیر تابش گاما ۱۳۶
۶-۳-۲- تغییر مورفولوژی در نمونه‌های تابش دیده ۱۴۳
۶-۳-۳- اثر نوع پلیمر ۱۴۷
۶-۳-۴- اثر بارگذاری دارو ۱۵۳
۶-۳-۵- اثر ماده افزودنی ۱۵۷
۶-۳-۶- اثر نوع دارو ۱۶۳
۶-۴- بررسی نتایج NMR ۱۶۷
۷- نتیجه گیری ۱۷۸
۷- پیشنهادها برای کارهای آینده ۱۸۰
۸- منابع ۱۸۱
۹- ضمائم ۱۹۱

چکیده

سامانه‌های دارورسانی تزریقی جدید در طی چند سال گذشته پیشرفت‌های قابل توجهی داشته‌اند. این توجه به دلیل امتیازاتی است که این سامانه‌ها دارا هستند از قبیل کاربرد ساده، دارورسانی موضعی به نحو مؤثر، دوره طولانی رساندن دارو (دارورسانی)، کاهش دوز مصرفی دارو همراه با کاهش میزان اثرات جانبی، افزایش راحتی و پذیرش آنها توسط بیمار. در حال حاضر در کنار توسعه دیگر سامانه‌های دارورسانی، استفاده از سامانه‌های تشکیل شونده در محل تزریق بر پایه پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر مانند PLGA مورد توجه قرار گرفته است. این نوع سامانه‌ها پس از تزریق و کاشت به حالت جامد در می‌آیند. اصول پایه در این روش استفاده از یک حلال برای حل کردن پلیمر است بطوریکه بتوان آن را همراه با دارو به سرعت به محیط بیولوژیک وارد نمود تا پس از ورود یک توده‌ی جامد تشکیل دهد.

در این رساله هدف دستیابی به نوعی سامانه دارو رسانی زیست تخریب‌پذیر، به منظور درمان التهاب‌های ایجاد شده در بافت‌ها، ناشی از عمل جراحی کاشت بیومتریال‌ها یا بیماری‌ها می‌باشد. بدین منظور از دو نوع پلیمر زیست تخریب‌پذیر مختلف (PLGA)، حلال N-متیل-۲-پیرولیدون (NMP)، ماده افزودنی اتیل هپتانوآت و دو نوع داروی کورتیکواستروئید (بتامتازون و بتامتازون استات) به همراه تابش گاما برای استریل کردن نمونه‌ها استفاده شده است.

در این تحقیق تاثیر پارامترهای گوناگون مانند تابش گاما، وزن مولکولی پلیمر و نوع دارو بر فرآیند رهایش دارو مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تعیین خصوصیت‌های سامانه‌های تهیه شده از انواع روش‌های دستگاهی مانند HPLC، DSC، TGA، FTIR، GPC، NMR و SEM استفاده شد. نتایج این پژوهش بیانگر آنست که امکان استفاده از سامانه‌های تشکیل شونده در محل که تحت فرآیند استریلیزاسیون با تابش گاما (دوز ۲۵ kGy) قرار گرفته‌اند، وجود دارد و این نوع سیستم‌ها بر حسب نوع پلیمر بکار رفته و نوع دارو قادر به دارورسانی موضعی برای مدت ۲۰ تا بیش از ۱۲۰ روز در محیط In vitro هستند.

با توجه به دست آوردهای تجربی این پروژه شیوه جدیدی در درمان بیماری‌های مرتبط با التهاب‌های ناشی از بیماری، عمل جراحی و یا کاشت یک بیومتریال در بدن ارائه شده است.

کلید واژه‌ها: سامانه تشکیل شونده در محل، بتامتازون، بتامتازون استات، پلی لاکتیک-گلیکولیک اسید، تابش گاما

فصل اول
مروری بر سامانه‌های دارورسانی تشکیل شونده در محل

۱-۱- مقدمه

سامانه‌های دارورسانی تزریقی جدید در طی چند سال گذشته پیشرفت‌های قابل توجهی داشته‌اند [۱و۲] این توجه به دلیل امتیازاتی است که این سامانه‌ها دارا هستند از قبیل کاربرد ساده، دارورسانی موضعی به نحو مؤثر [۳و۴]، دوره طولانی مدت دارورسانی، کاهش دوز مصرفی دارو همراه با کاهش میزان اثرات جانبی، که در بیشتر سامانه‌های دارورسانی معمول است و افزایش راحتی و پذیرش بیمار. در مطالعات اولیه سامانه‌های دارویی مانند امولسیون‌ها [۵]، لیپوزوم‌ها [۶و۷]، میکروسفرهای زیست تخریب‌پذیر [۸-۱۰]، مایسل‌ها [۱۱] مطالعه شده‌اند. اگر چه این فرمولاسیون‌ها در کاربردهای خاص موفقیت‌های زیادی داشته‌اند اما هنوز جای پیشرفت و توسعه آنها وجود دارد.

امولسیون‌ها اغلب در محصولات تزریقی استفاده می‌شوند اما معمولا" در فرمولاسیون‌های طولانی اثر، به علت مشکلاتی مانند پایداری، امکان اختلال در پراکندگی یا انحلال در مایعات اطراف، امولسیون‌ها، انتخابی ضعیف برای فرمولاسیون‌های طولانی اثر هستند [۱۲].

لیپوزوم‌ها نیز وسیله قابل اطمینانی برای فرمولاسیون‌های طولانی اثر نیستند. گرچه نگهداری موضعی داروهای محبوس شده در لیپوزوم‌ها تقریبا" طولانی‌تر از داروهای آزاد است، اما ممکن است به علت پاکسازی سریع توسط ماکروفاژها و دیگر سلول‌ها، امکان نگهداری دارو در سطح مناسب در طول دوره درمان را نداشته باشند [۱۳]. مشکلات دیگر مانند پایداری بافت، مشکلات استرلیزه کردن و درصد بارگذاری کم دارو نقش بسیار مهمی در محدود کردن استفاده از لیپوزوم‌ها ایفا می‌نمایند [۷].

میکروسفرها برای انتقال به محل عمل راحت هستند اما معایب ذاتی متعددی دارند که شامل احتیاج به شکل‌گیری قبل از تزریق، پروسه‌ی تولید نسبتا" پیچیده برای تولید محصولی استریل، پایدار، با قابلیت تولید مجدد و امکان مهاجرت میکروسفرها از محل تزریق [۱۴-۱۶].

مایسل‌ها همچنین مستعد مهاجرت هستند اما تعداد زیادی متغیر وجود دارد که بر روی خصوصیات بارگذاری مؤثر عامل بیولوژیکی تأثیر می‌گذارد. کنترل توام فاکتورهایی مانند ابعاد توده و پوسته بیرونی، که بخصوص روی بارگذاری دارو و توزیع اندازه ذره تأثیر می‌گذارد، تقریبا" غیر ممکن است. بعلاوه پایداری مایسل‌ها عمدتا" به غلظت بحرانی مایسل‌ها (CMC)[1] وابسته است. CMC حداقل غلظت یک پلیمر است که برای تشکیل مایسل مورد نیاز است. با کم شدن مقدار CMC، پایداری ترمودینامیکی مایسل‌ها در محلول‌های رقیق بیشتر می‌شود. در رقت‌های زیر CMC مایسل‌ها به صورت همزمان در زنجیرهای منفرد گرد هم جمع می‌شوند [۱۶و۱۷]. بنابراین رقیق شدن هنگام تزریق، همانند برهمکنش با اجزا لیپیدی خون، ممکن است باعث افزایش ناگهانی در میزان رهایش دارو شود. به علت حضور چنین نقایصی داروهای تزریقی نیمه جامد تشکیل شونده در محل تزریق به عنوان سامانه‌های دارورسانی توسعه یافتند. این سامانه‌های کاشتنی از پلیمرهای زیست تخریب‌پذیری ساخته می‌شوند که می‌توانند همراه با دارو توسط یک سرنگ به بدن تزریق شوند و به محض تزریق در محل جامد شده تا یک ذخیره نیمه جامد تشکیل دهند [۱۸-۲۰]. سامانه‌های کاشتنی تزریقی زیست تخریب‌پذیر نیمه جامد براساس مکانیسم عملکرد جامد شدن در محیط In vivo به چهار گروه تقسیم می‌شوند :

۱- چسب‌های ترموپلاستیک

۲- سامانه‌هایی که در محل تزریق شبکه‌ای می‌شوند.

۳- سامانه‌هایی که در محل تزریق رسوب می‌کنند.

۴- جامد شدن ارگانوژل‌ها در محل تزریق

[1]- Critical micellar concentration

۱-۲- خمیرهای ترموپلاستیک

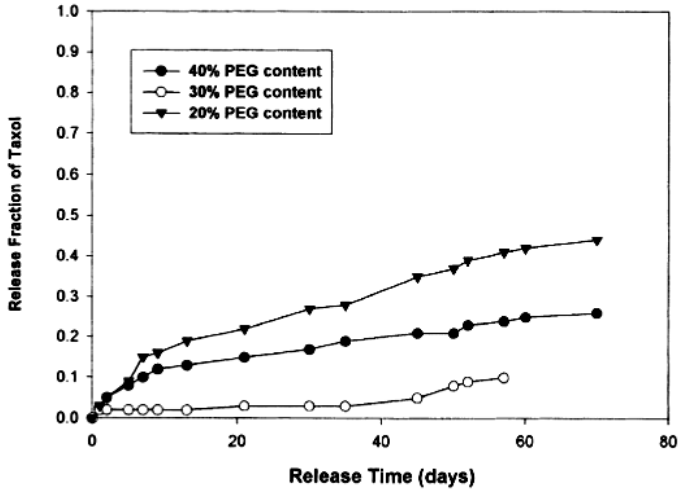
خمیرهای ترموپلاستیک سامانه‌های پلیمری هستند که به صورت مذاب به بدن تزریق می‌شوند و بر اثر خنک شدن در دمای بدن نیمه جامد می‌شوند، از جمله مشخصات این مواد داشتن نقطه ذوب پائین در محدوده $25\ ^{\circ}C$ تا ۶۵ و ویسکوزیته ذاتی $0.8\ dl/g$ تا $0.05\ dl/g$ در دمای $25\ ^{\circ}C$ می‌باشد. گزارش شده است که ویسکوزیته ذاتی کمتر از $0.05\ dl/g$ ممکن است پروفیل آزادسازی کنترل شده دارو را کاهش دهد و کوپلیمری با ویسکوزیته ذاتی بالاتر از $0.8\ dl/g$ ممکن است خیلی ویسکوز باشد بطوریکه نتوان آنرا از سوزن به آسانی عبور داد [۲۱]. این سامانه‌ها، زمانیکه کمی بالاتر از نقطه ذوب گرم شوند به علت وزن مولکولی کم و T_g کم (دمای انتقال شیشه‌ای) تزریق‌پذیری آسانی دارند. این سامانه‌های پلیمری معمولا" در دماهای بالا موقعی که تحت فشار و یا اینکه تحت یک بار مشخص قرار گیرند به آسانی جاری می‌شوند. شکل‌شان را اغلب در دمای اتاق نگه می‌دارند و با استفاده از گرما شکل‌های متفاوتی پیدا می‌کنند [۲۲].

خمیره‌های ترموپلاسیک زیست تخریب‌پذیر از مونومرهایی مانند D وL- لاکتید گیکولید، ε-کاپرولاکتون، تری متیلن کربنات، دی اکسانون و ارتواسترها تهیه می‌شوند [۲۳].

Walter و همکارانش سامانه‌ای حاوی داروی Taxol ™ را بتوسط پلی [بیس (P- کربوکسی فنوکسی) پروپان– سباسیک اسید]، در کنار تومورهای مغزی یا داخل محل برداشته شدن تومور قرار دادند و کارایی سامانه را در موش صحرایی بعد از جراحی مورد بررسی قرار دادند [۲۴]. در کوششی برای انجام یک عمل جراحی غیر تهاجمی و یا توسعه وسایل جلوگیری از جراحی، زانگ و همکارانش سامانه پلیمری سه قطعه‌ای ترموپلاستیک متشکل از پلی (L،D- لاکتید) (PLA) بلاک – پلی اتیلن گلیکول (PEG) – بلاک – پلی (L،D- لاکتید و پلی (۳- کاپرولاکتون) (PCL) را برای رساندن موضعی داروی Taxol ™ ارائه کردند [۲۵]. هر دو سامانه پلیمری قادر به آزادسازی Taxol ™ در مدت زمانی طولانی (بیشتر از ۶۰ روز) بودند، البته این آزادسازی با سرعت بسیار کمی صورت گرفت (شکل ۱-۱).

امتیاز استفاده از این سامانه بر تزریق سیستمیک Taxol™، کاهش اثرات جانبی به علت رساندن موضعی Taxol™ به محل تومور می‌باشد. البته این سامانه‌های پلیمری دارای معایب مهم و برجسته هستند. اول اینکه نقاط ذوب این خمیرهای پلیمری بالاتر از $60^{\circ}C$ است. بنابراین دمای خمیر در زمان تزریق حداقل $60^{\circ}C$ است، این دما برای بیماران درد آور است و میزان صدمات بافتی و تشکیل زخم‌های بافتی را در محل تزریق افزایش می‌دهد [۲۶]. دومین عیب سرعت آزادسازی خیلی کم دارو می‌باشد. موقعیکه کوپلیمر بلاک استفاده شود، ۴۰٪ جرم دارو بعد از ۶۰ روز آزاد می‌شود و موقعی که

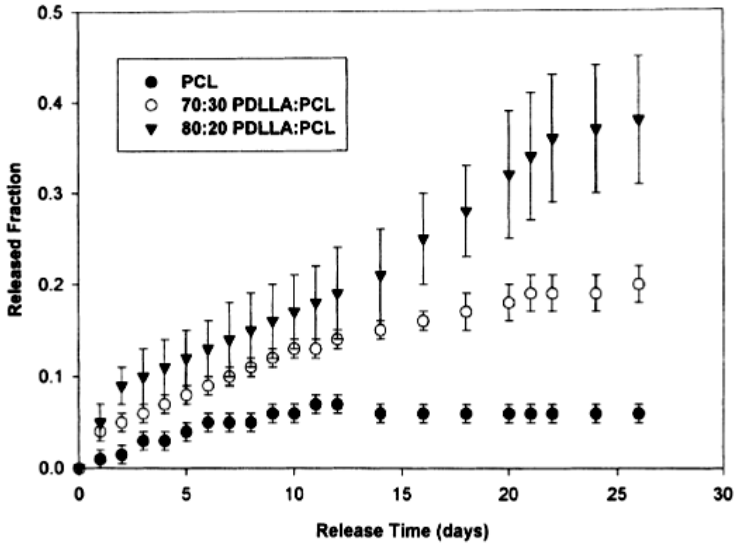
آلیاژ PDLLA و PCL استفاده می‌شود، ۳۵ ٪ جرم دارو بعد از ۳۰ روز آزاد می‌شود (شکل ۱-۲). این سرعت کم آزادسازی که تأثیر مهمی در فرمولاسیون خمیرهای پلیمری برای جلوگیری از رشد تومور دارد، ممکن است به علت وزن مولکولی بالای PCL، درجه بالای بلورینگی در پلیمرهای سنتزی (PCL) یا تمایل بیشتر دارو نسبت به پلیمر برای انحلال در آب باشد.



شکل (۱-۱) رهایش کلی Taxol از سیلندرهای PDLLA-PEG-PDLLA در محلول نمک بافر فسفات حاوی آلبومین در دمای ۳۷°C [۲۵].

Dordanoo و همکارانش برای غلبه بر مشکل آزادسازی آهسته Taxol ™ ، از پلی (ε-کاپرولاکتون) با وزن مولکولی ۲۰-۱۰ kDa به عنوان یک خمیر پلیمری استفاده کردند. برای افزایش آزادسازی Taxol ™، آنها اثر مواد افزودنی قابل حل در آب مانند ژلاتین، آلبومین، متیل سلولز، دکستران و سدیم کلرید را روی سرعت آزادسازی دارو آزمایش کردند. قرص‌های استوانه‌ای از خمیرهای بارگذاری شده با Taxol ™ به روش استخراج مذاب تهیه شده و مطالعات آزادسازی In vitro در فسفات بافر سالین (PBS) انجام شد. افزایش افزودنی‌های قابل حل در آب بطور قابل توجهی سرعت آزادسازی دارو را افزایش داد، بخصوص زمانیکه ژلاتین یا آلبومین استفاده شد. این محققان پیشنهاد می‌کنند که بالا بودن سرعت آزادسازی دارو در حضور ژلاتین یا آلبومین بدین دلیل است که این دو ماده افزودنی در آب قابل تورم و قابل حل هستند. تورم این ماده‌افزودنی در داخل خمیرهای پلیمری، جذب آب را به سمت پلیمر افزایش می‌دهد و بنابراین سرعت انحلال و آزادسازی دارو را بالا می‌برد. توضیحی دیگر بیانگر آنست که افزایش سرعت آزادسازی هیچ ارتباطی با تورم ندارد بلکه ممکن است به دلیل افزایش حلالیت Taxol ™ در محیط آزادسازی به علت پیوند خوردن با پروتئین‌ها باشد. Taxol ™

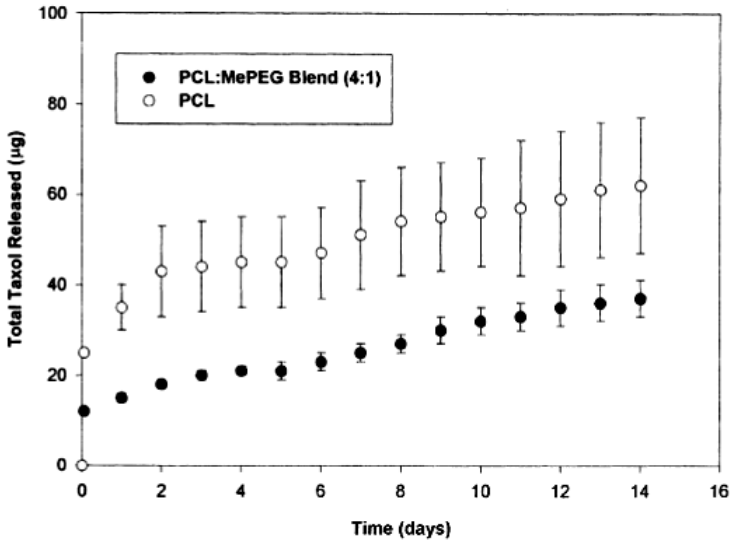
در آب حلالیت کمی دارد (۰/۲ µg/ml)، و افزودن پروتئین‌هایی مانند آلبومین قابلیت انحلال Taxol ™ را در آب، تا (۳/۷ µg/ml) افزایش می‌دهد [۲۷].



شکل (۱-۲) رهایش کلی Taxol از آلیاژهای PDLLA:PCL و PCL حاوی ۲۰٪ داروی Taxol در محیط بافر آلبومین PBS و دمای ۳۷°C [۲۵].

در مطالعات In vivo خمیرهای شامل ذرات Taxol ™– ژلاتین تهیه شدند و تا ۶۰°C گرم شدند و سپس در محل تومور هشت موش ماده اکسترود شدند. وزن تومور با توجه به کنترل‌های انجام شده تا ٪ ۲۷ ± ۶۳ کاهش یافت. این سامانه‌ها معایب محدود کننده‌ای نیز دارند. پلی (ε-کاپرولاکتون) درجه بلورینگی بین ۵۰ و ۷۰ درصد دارد [۲۸]. درجه بالای بلورینگی از نفوذ دارو به داخل سیلندر جلوگیری می‌کند. خمیر تا ۶۰°C گرم می‌شود تا به حالت مذاب در آید و با سرنگ قابل تزریق باشد. این دما می‌تواند باعث تشکیل زخم‌هایی در بافت شود و همچنین خمیر پلیمری کپسوله شده از نفوذ Taxol ™ به سلول‌های توموری اطراف جلوگیری کند. با روشی دیگر Winternitz و همکارانش متوکسی (پلی اتیلن گلیکول)(MePEG) را در مقادیر تا حدود ٪۳۰ به خمیر پلی (ε-کاپرولاکتون) افزودند که نقطه ذوب را از°C ۵۵ به حوالی ۵۰°C پائین آورد و بلورینگی پلیمر را از ۴۲ به ۵۱ درصد افزایش داد [۲۹]. Taxol ™ یک پروفیل آزادسازی دو فازی در محیط In vitro تشکیل داد که از یک فاز انفجاری[1] در روزهای اول، و به دنبال آن سرعت آزادسازی کمی آهسته‌تر تشکیل می‌شود (شکل ۱-۳).

[1] - Burst Release



شکل (۱-۳) الگوهای رهایش Taxol، آلیاژ PCL و PCL:MePEG حاوی ۳۰٪ Taxol بارگذاری شده [۲۹].

افزودن متیل پلی اتیلن گلیکول مقدار آب جذب شده توسط آمیزه پلیمری را افزایش داد اما سرعت آزادسازی Taxol ™ را کاهش داد، که این به افزایش درجه بلورینگی PCL در پلیمر نسبت داده شد که بسیار آهسته‌تر تخریب می‌شود و کاهش در ضریب نفوذپذیری Taxol ™ نیز به علت پرپیچ و خم بودن راه نفوذپذیری می‌باشد [۲۹]. با وجود این، این سامانه دارورسانی با تغییرات کمی در ساختار پلیمر، در تومورهای LNCap پروستات انسانی رشد یافته در زیر پوست موش نر athymic عقیم شده آزمایش شد و نتایج قابل قبولی بدست آمد [۳۰].

کاشتنی‌های تزریقی ترموپلاستیک برای رساندن عامل‌های فعال دارویی به داخل چشم بکار برده شده‌اند. نوعی سامانه کاشتنی تزریقی توسط Davis و همکارانش [۳۱] ساخته شد که متشکل از کوپلیمرهای PCL و پلی (اتیلن گیلکول) بوده و زمانیکه تا ۵۰°C گرم شود می‌تواند از یک سرنگ gauge ۲۲ تزریق شود. این اختراع از خطرات جراحی چشم برای وارد کردن سامانه‌های دارورسانی و همچنین از واکنش‌های درون چشمی ممکن، جلوگیری کند. تنها مشکل این سامانه‌ها دمای خمیر در زمان تزریق (۵۰°C) است که برای محیط چشم بسیار بالا به نظر می‌رسد. ادعا شده، که زیست سازگاری در محیط In vivo و مدت زمان تخریب در چشم را می‌توان به وسیله تزریق خمیر استریلیزه شده به درون هر دو حفره داخلی و حفره عدسی چشم‌های خرگوش‌های آزمایشگاهی، مورد بررسی قرار داد. در غیاب داده‌های آزمایشگاهی، با توجه به سازگاری In vivo این سامانه‌ها، ضرورت مطالعات بیشتر ثابت می‌شود.

۱-۳- سامانه‌های شبکه‌ای شونده در محل تزریق

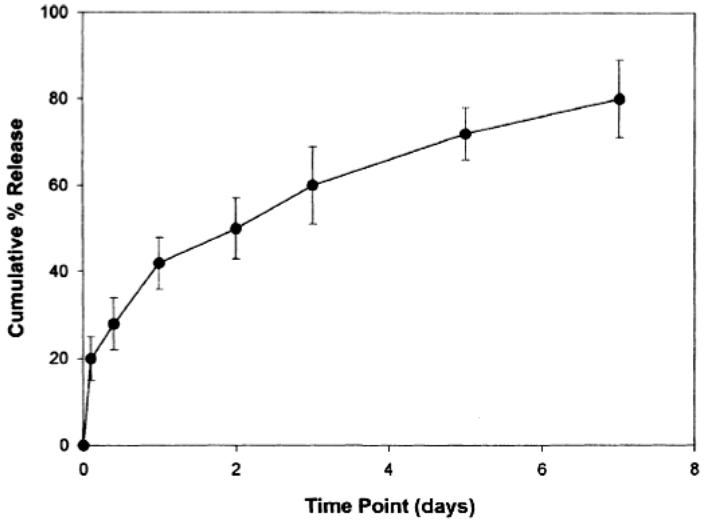
شبکه‌های پلیمری از راه‌های مختلفی در محل تزریق می‌توانند تشکیل شوند و ژل‌ها یا سامانه‌های پلیمری جامد را تشکیل دهند. این راه‌ها شامل واکنش‌های رادیکالی با شروع کننده گرمایی، یا جذب فوتون‌ها و یا برهمکنش بین کاتیون‌های کوچک و پلیمرهای آنیونی می‌باشد.

۱-۳-۱- ترموست‌ها

پلیمرهای ترموست در بدو تولید قادرند جریان یابند و قالبگیری شوند، اما بعد از گرم شدن به فرم اصلی تبدیل می‌شوند. این مراحل را پخت می‌نامند که شامل تشکیل شبکه‌های کووالانسی بین زنجیرهای پلیمری به منظور تشکیل شبکه‌های ماکرومولکولی است. گرما دادن مجدد پلیمر پخت شده، موجب تخریب آن می‌شود [۲۲]. پخت در حضور گرما به صورت شیمیایی شروع می‌شود. Dunn و همکارانش کاربرد سامانه ترموست را معرفی کرده‌اند [۳۲]. متأسفانه، مقالات زیادی که در مورد کاربرد سامانه‌های ترموست با آغازگر شیمیایی برای انتقال عامل‌های فعال دارویی به بدن باشد وجود ندارد، که ممکن است به علت محدودیت‌های آنها باشد. بطور خاص، شرایط واکنش پخت برای کاربردهای In vivo خیلی سخت بوده و شامل محدوده کوچکی از دماهای قابل قبول از نظر فیزیولوژیکی است و بعلاوه محتاج به مونومرهای و/یا حلال‌ها غیر سمی، رطوبت و محیط‌های غنی از اکسیژن، و نیز به فرآیندپذیری سریع و سرعت‌های پلیمریزاسیون مناسب از نظر کلینیکی است [۳۳].

Dunn و همکارانش، کوپلیمرهای زیست تخریب‌پذیر L و D- لاکتید یا L- لاکتید با ε-کاپرولاکتون را برای تهیه سامانه‌های ترموست کاشتنی‌های پروستات و سامانه‌های دارورسانی با سرعت کم بکار بردند. این سامانه در خارج از بدن به صورت مایع است و به وسیله سرنگ و سوزن، قابل تزریق است و در داخل بدن پخت (سخت) می‌شود [۳۴]. پلیمرهای چند عاملی در سامانه ترموست ابتدا به وسیله کوپلیمریزاسیون D و L-لاکتید با ε-کاپرولاکتون با بکار بردن آغازگر پلی ال چند عاملی و یک کاتالیست (مانند پروکسید)، برای تشکیل پلی‌ال با انتهای پیش پلیمرهای مایع سنتز می‌شوند. این پیش پلیمرها سپس به یک پیش پلیمر منتهی شده به اکریلیک اسید تبدیل می‌شوند. پخت آکریلیک مایع با انتهای پیش پلیمر قبل از تزریق به داخل بدن به وسیله افزایش بنزوئیل پروکسید یا N و N–دی متیل-P-تولوئیدین آغاز می‌شود. بعد از افزودن آغازگر سامانه پلیمری تزریق می‌شود و جامد شدن پلیمر رخ می‌دهد. زمان تخمین زده شده واکنش بین ۵ تا ۳۰ دقیقه است [۳۵]. امتیاز استفاده از این سامانه سهولت سرنگ‌پذیری است. سه عیب با این سامانه‌ها همراه است که کاربردشان را محدود می‌کند، اول اینکه

موقعی که عامل زیست فعالی مانند داروی Flurbiprofen با این سامانه بکار رود، انفجاری در آزادسازی دارو در ساعت اولیه مشاهده می‌شود (شکل ۱-۴). این انفجار به علت تأخیر زمانی برای جامد شدن پلیمر است. در حالیکه واکنش شبکه‌ای شدن در داخل بدن و در حضور پلیمر (به حالت مایع) در حال انجام است، دارو می‌تواند خیلی سریع‌تر به بیرون از سامانه نفوذ کند، بدین سبب باعث آزادسازی انفجاری دارو می‌شود. این غلظت بالای دارو در محل واکنش ممکن است منجر به ایجاد اثرات جانبی شود، دوم اینکه گرمای آزاد شده در هنگام پخت (دمایی بیش از ۹۴°C برای پلی متیل متاکریلات، به عنوان سیمان استخوانی گزارش شده است) بواسطه طبیعت گرمازای واکنش‌های شبکه‌ای شدن، صدماتی در بافت‌های اطراف ایجاد می‌شود [۳۶] و بالاخره ورود عامل‌های تولید کننده رادیکال آزاد چون بنزوئیل پرکسید به داخل بدن ممکن است منجر به پیشرفت تومور شود.



شکل ۱-۴ رهایش دارو در محیط In vitro از فرمولاسیون حاوی ۵٪ Flurbiprofen در PBS و دمای ۳۷°C [۳۶].

۱-۳-۲- ژل‌های شبکه‌ای شونده با نور[1]

بیومتریال‌های تخریب‌پذیر، پلیمریزه شونده با نور، بر سامانه‌های ترموست با آغاز کننده شیمیایی برتری‌هایی دارند. در این راهکار، پیش پلیمرها، به وسیله تزریق به محل مورد نظر وارد می‌شوند و به وسیله کابل‌های فیبر نوری پخت تابشی صورت می‌گیرد [۳۳]. این روش مزایای زیادی دارد. استفاده از آغازگر نوری واکنش‌های پلیمریزاسیونی با سرعت بالا و در دماهای فیزیولوژیکی مهیا می‌کند. چون مواد آغازی در این روش محلول‌های مایع هستند، بنابراین به سهولت می‌توان آنها را در شکل‌های حجم‌دار پیچیده و با ابعاد مورد نظر تولید نمود. این ویژگی‌ها محققان را به استفاده از این سامانه‌ها برای

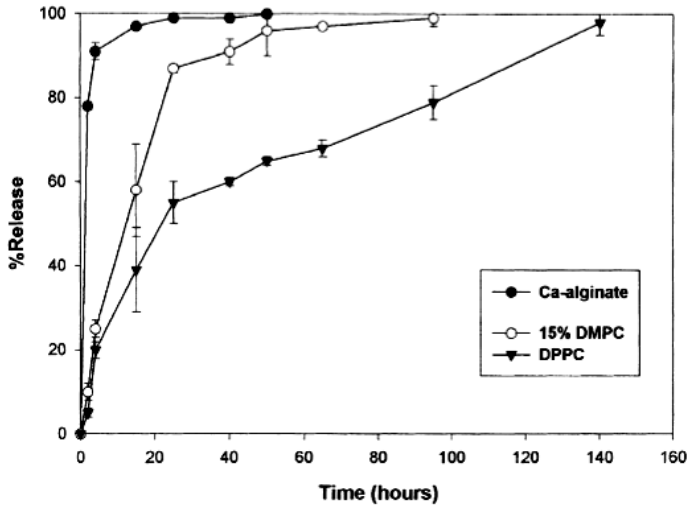
[1] - Photocrosslinked Gels

مهندسی بافت [۳۶-۳۸]، کاربردهای وابسته به اورتوپدی[۳۹]، پیوند سلول [۴۰]، دارورسانی موضعی [۴۱]، دندانپزشکی [۴۲]، جلوگیری از چسبندگی بافت‌ها [۴۳] و دامپزشکی [۴۴] تشویق کرده است.

۱-۳-۳- ژل شدن با واسطه-یونی

آلژینات‌ها پلیمرهای طبیعی هستند که بطور گسترده برای دارورسانی بررسی شده‌اند [۴۵]. آلژینات‌ها در تماس با کاتیون‌های دووالانسی مانند یون‌های کلسیم، ژل‌هایی تشکیل می‌دهند. آنها می‌توانند مستقیما" به عنوان حامل‌های دارو و یا به عنوان حامل در یک سامانه دارورسانی دیگر مانند لیپوزوم‌ها استفاده شوند [۴۶]. لیپوزم‌ها قادر به افزایش نگهداری موضعی لیپوزم- داروهای به دام افتاده، نسبت به داروهای آزاد هستند. اگر چه نگهداری موضعی، به علت پاکسازی سریع گویچه‌های لیپوزومی توسط ماکروفاژها، به اندازه کافی برای نگهداری موضعی سطح دارو کافی نیست، برای فائق آمدن بر این مشکل، Cui و گروهش [۴۶] گویچه‌های حساس حرارتی، بارگذاری شده با کلسیم را مورد استفاده قرار دادند. این مواد موقعی که به اندازه دمای بدن گرم شوند، قادر به آزادسازی Ca^{2+} هستند و همراه با آلژینات سدیم یک سوسپانسیون مایع تشکیل می‌دهند که در $37\ ^{o}C$ ژل می‌شود. ۱ و ۲ - بیس (پالمیتوئیل)-گلیسرو-۳- فونوکولین [1](DPPC) و ۱ و ۲- بیس (میریستوئیل)-گلیسرو-۳- فونوکولین [2](DMPC) برای تهیه گویچه‌های فسفولیپید بارگذاری شده با کلسیم و دارو استفاده می‌شوند. نسبت مولی DPPC: DMPC برابر ۱ : ۹ تنظیم می‌شود تا نقطه ذوب لیپوزم‌ها را به پائین‌تر از دمای بدن برساند. به خوبی مشخص شده که نفوذپذیری فسفولیپیدهای دو لایه‌ای قویا" وابسته به دماست. در دماهای پائین‌تر از دمای انتقال ذوب زنجیر لیپیدی، فسفولیپید دو لایه نسبتا" به یون‌های چند والانسی نفوذ ناپذیر است. اگر چه، نفوذپذیری فسفولیپیدها در دمای ذوب چندین مرتبه بالاتر است [۴۷]. افزودن لیپوزوم‌های پرشده از دارو به فرمولاسیون هیدروژل باعث می‌شود که دارو به دام افتاده مترونیدازول به شکلی کنترل شده آزاد شود. خصوصیت این سامانه‌ها، آزادسازی انفجاری دارو در ابتدای استفاده و به دنبال آن آزادسازی کنترل شده آهسته‌تر دارو از ماتریس هیدروژل است. مترونیدازول از فرمولاسیون ۱۵ ٪ لیپوزوم DMPC سریع‌تر از لیپوزم DPPC خالص آزاد می‌شود که این به علت تفاوت در نفوذپذیری لایه‌ها در دو نوع ساختار در دمای $37^{o}C$ است (شکل ۱-۵).

[1]- 1,2-bis(palmitoyl)-glycero-3-phosphocoline
[2]- 1,2-bis(myristoyl)-glycero-3-phophocol-dentine



شکل (۱–۵) رهایش مترانیدوزول از هیدروژل‌های آلژینات/لیپوزوم که بطور حرارتی ژل شده‌اند [۴۷].

این روش به وضوح نیمه عمر لیپوزوم‌ها را افزایش می‌دهد و ثابت می‌کند که امتیازی برای کاربردهای دارورسانی موضعی دارد که در آن ژل شدن در محل تزریقی مورد نیاز است [۴۸]. از معایب استفاده از این سامانه عمر نگهداری[1] کم، به علت نشست آهسته Ca^{2+} از لیپوزوم‌ها و آزادسازی مقادیر زیاد دارو در لحظه‌های اولیه است.

اخیرا" Westhaus و همکاران دو سامانه متفاوت را معرفی کرده‌اند [۴۹]، یکی بر اساس آزادسازی آغازگر گرمایی Ca^{2+} از لیپوزوم‌ها برای تشکل هیدروژل کلسیم آلژینات و دیگری بر پایه پروتئین است، که در آن آزادسازی آغازگر کلسیم آنزیم کاتالیز شده Transglutaminse باعث شبکه‌ای شدن پروتئین‌ها می‌شود. اصول این سامانه همان اصول حاکم بر سامانه ارائه شده توسط Cui و همکارانش است که در بالا به آن اشاره شد. در اینجا نیز نشت کلسیم از لیپوزوم‌ها باعث زمان نگهداری کوتاه می‌شود.

علیرغم این کاربردها، دو فاکتور مهم وجود دارد که استفاده از کلسیم آلژینات را برای اهداف دارورسانی محدود می‌کند. اولین فاکتور قدرت ایمن زایی[2] و دومین فاکتور مدت زمان زیادی است که برای تخریب In vivo مورد نیاز است. برای مثال سمیت و عدم زیست تخریب‌پذیری طبیعی آلژینات کلسیم موجود در پانسمان‌های زخم منجر به واکنش‌های مزمن نسبت به عوامل خارجی در بدن می‌شود [۵۰].

[1]- Shelf life
[2] - Immunogenicity

۱-۴- جامد شدن ژل‌های آلی در محل تزریق

ژل‌های آلی یا ژل‌های روغنی از چربی‌های با دو سر آبدوست و آبگریز نامحلول در آب ساخته شده‌اند که در آب متورم می‌شوند و بلورهای مایع لیوتروپیک[1] را تشکیل می‌دهند. طبیعت تشکیل فاز بلور مایع به خصوصیات ساختمانی چربی، دما و طبیعت داروی همراه و مقدار آب در سامانه بستگی دارد. چربی‌های آمفیفیلیک[2] که تاکنون برای دارورسانی آزمایش شده‌اند از استرهای گلیسرول اسیدهای چربی مانند گلیسرول مونوالات[3]، گلیسیرول مونوپالمیتواستئارات[4] و گلیسرول مونولینوات[5] هستند، این مواد در دمای اتاق به صورت موم هستند. این ترکیبات بر اثر تزریق به محیط آبی تشکیل فاز بلور مایع می‌دهند [۵۱]. این ساختمان بلورین مایع شبیه ژل بوده و کاملا" ویسکوز است. این نوع ژل برای تشکیل سامانه‌های ذخیره دارویی به منظور رساندن داروهای محلول و نامحلول در آب استفاده می‌شود. به عنوان مثال Ericsson و همکارانش [۵۲]، سامانه گلیسرول– مونوالئات را برای انتقال داروی سوماتوستاتین[6]، به صورت زیر پوستی در خرگوش بکار برده‌اند در حالیکه Yim و همکارانش فرمولاسیونی را برای انتقال اینترفرون – α بر پایه آلومینیوم مونواستئارات و روغن بادام زمینی [۱۲] ارائه داده‌اند، Gao و همکارانش [۵۳] استفاده از سامانه گلیسرول – پالمیتواستئارات[7] (precirol) برای انتقال داروهای چربی دوست لوونورژسترول[8] و اتیل استرادیول را توسعه داده‌اند.

اگر چه این سامانه‌ها با مقدار کمی آب فرموله می‌شوند، ویسکوزیته را می‌توان با افزودن روغن‌های گیاهی، کاهش داد. کاهش ویسکوزیته در این روش تزریق‌پذیری را آسان می‌کند و دوره آزادسازی را بخصوص برای داروهای چربی دوست کاهش می‌دهد. به طور مثال، گاأ و همکارانش یافتند که استفاده از روغن هسته زردآلو گلیکولیز شده به میزان صفر تا ۲۰٪، سرعت آزادسازی لونورژسترول را به ترتیب از ۳۶/۲ $\mu g/cm^2$ به ۱۹/۹ (در روز چهاردهم) کاهش می‌دهد [۵۴]. آزادسازی داروی چربی‌دوست از این ژل‌های آلی به حلالیت دارو در فاز بلورین بستگی دارد. اگر غلظت دارو از میزان حلالیتش در فاز بلورین تجاوز کند ذرات دارو تشکیل خواهد شد. حضور این ذرات جامد، کینتیک

[1] - Lyotropic
[2] - Amphiphilic
[3] - Glycerol Monooleate
[4] - Glycerol Monopalmitostearate
[5] - Glycerol Monolinoleate
[6] - Somatostatin
[7] - Glycerol Palmitostearate
[8] - Levonorgestrel

آزادسازی از مرتبه صفر را تولید می‌کند که با کاهش اندازه ذرات، سرعت رهایش دارو افـزایش مـی‌یابـد [۵۴].

امتیاز دیگر این سامانه این است که آنها زیست تخریب‌پـذیر هـستند. زیـست تخریـب‌پـذیری بواسطه عملکرد لیپازها رخ می‌دهد و برای سامانه گلیسرول پالمیتو استئارات/ لابرافیل[1] 1944 CS، بین ۵ تا ۶ هفته زمان لازم است تا تخریب صورت گیرد [۵۳]. یک واکنش التهـابی بـرای ایـن سـامانه مـشاهده می‌شود، که به مدت هفت روز پایان می‌یابد و از بین می‌رود.

این روش تعدادی معایب ذاتی دارد. خلوص موم و پایداری روغن، نکته اصلی است که باید به آن توجه شود. تعـدادی از مـوم‌هـا ماننـد مـوم Cranuba, Wool، مـوم کـافوری[2]، و مـوم Esparto در مصارف آرایشی استفاده می‌شود اما برای کاربردهای تزریقی مورد استفاده قرار نمی‌گیرد. فقط موم زنبـور عسل به صورت خالص وجود دارد. روغن‌ها معمولا" به پایدار کننده، ضد اکـساینده و نگهدارنـده بـرای افزایش عمر و پایداری نیاز دارند. علاوه بر آن تفاوت بین نقطه ذوب موم‌ها و روغـن‌هـا، ایـن سـامانه را مستعد جدایی فاز می‌سازد.

۱-۵- رسوب پلیمر در محل تزریق

استراتژی دیگری که برای تولید یک ذخیره دارورسانی تزریقی استفاده می‌شـود پدیـده رسـوب پلیمر از محلول است. این رسوب می‌تواند به وسیله خارج شدن حلال [۵۵و۵۶]، تغییر در دمـا [۵۷و۵۸] یا تغییر در pH [۵۹ و۶۰] تولید شود.

۱-۵-۱- انتقال سل- ژل بر اثر گرما

تعداد زیادی از پلیمرها در پاسخ به تغییر دمای محیط تغییر حلالیت می‌دهند. از ایـن ویژگـی فیزیکی برای تشکیل ذخیره‌های دارویی با بکاربردن سامانه‌های پلیمری اسـتفاده شـده اسـت کـه بـر اثـر تزریق به بدن تحت انتقالات سل– ژل قرار می‌گیرند [۶۱].

پلی(N- ایزوپروپیلن آکریل آمید) [poly (NIPAAM)][3] پلیمری حساس بـه حـرارت اسـت. این پلیمر پدیده جدایی فازی در دمای حلالیت بحرانی پائین[4](LCST) را نـشان مـی‌دهـد. تحقیقـات در مورد poly (NIPAAM) و کاربردهای آن بـسیار زیـاد اسـت [۶۲]. poly (NIPAAM) یـک LCST

[1] - Glycerol Palmitostearate /Labrafil 1944 CS
[2] - Spermaceti Wax
[3] - Poly(N-isopropyl acrylamide)
[4] - Lower Critical Solution Temperature