




Research Article

Preparation and Physicochemical Evaluation of Injectable Sustained-Release Risperidone by Lipid Liquid Crystal Vehicle

Hossein Kamali¹, Elham Khodaverdi², Hamidreza Boujaran³, Seyed Hojat Hosseini³, Seyedeh Nesa Rezaeian Shiadeh^{4,5*}, Farzin Hadizadeh^{6**}

¹Assistant Professor of Targeted Drug Delivery, Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

²Professor of Pharmaceutics, Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

³Pharmacy Student, Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

⁴Assistant Professor of Pharmaceutics, Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran

⁵Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

⁶Professor of Medicinal Chemistry, Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

*Corresponding author: Seyedeh Nesa Rezaeian Shiadeh, Assistant Professor of Pharmaceutics, Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran; Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. E-mail: rezaeiann941@mums.ac.ir.

**Corresponding author: Farzin Hadizadeh, Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. E-mail: hadizadehf@mums.ac.ir.

DOI: [10.32592/nkums.15.3.43](https://doi.org/10.32592/nkums.15.3.43)

How to Cite this Article:

Kamali H, Khodaverdi E, Boujaran H R, Hosseini S H, Rezaeian Shiadeh S N, Hadizadeh F. Preparation and Physicochemical Evaluation of Injectable Sustained-Release Risperidone by Lipid Liquid Crystal Vehicle. J North Khorasan Univ Med Sci. 2023;15(3):43-54. DOI: [10.32592/nkums.15.3.43](https://doi.org/10.32592/nkums.15.3.43)

Received: 26 Apr 2023

Accepted: 24 Jun 2023

Keywords:

Lipid liquid crystal
Risperdal CONSTA®
Risperidone
Span
Sustained-release
Tocopherol acetate
Tween

Abstract

Introduction: Risperidone is a highly effective medicine in patients with mental disorders. Since maintaining blood concentrations of risperidone within the therapeutic index is pivotal during treatment, these patients should receive medication daily and continuously.

Method: In this study, an optimal lipid liquid crystal was designed according to the maximum release for 60 days based on different ratios of phosphatidylcholine (PC) to sorbitan monooleate (PC:SMO), tween 80 (w/w%), and tocopherol acetate (w/w%) using Design Expert software with the Central Composite Design (CCD) method. Release evaluations were conducted in vitro to compare the effects of lipid liquid crystal and Risperdal CONSTA®. The structure evaluation was also tested using polarized electron microscopy and in vitro assessment via cell culture.

Results: The optimal formulation was selected based on the maximum release (100%) of the drug obtained within 2 months with a PC: SMO ratio of 58.6%, tween 0.82% (w/w), and tocopherol acetate 3.6% (w/w). A hexagonal mesophase with a dihedral structure was observed in the liquid crystal structure. No toxicity was observed in the cell culture test.

Conclusion: The comparison of the results of in vitro studies of the liquid crystal formulation containing risperidone and the commercial formulation, Risperdal CONSTA®, showed that the liquid crystal system provides better and more uniform drug release for 60 days. Therefore, it can increase patient compliance and ease the problems of oral administration.



فرمولاسیون و ارزیابی فیزیکوشیمیایی فرم تزریقی آهسته رهش کریستال مایع لیپیدی

ریسپریدون

حسین کمالی^۱، الهام خداوردی^۲، حمیدرضا بوجاران^۳، سید حجت حسینی^۳، سیده نساء رضائیان شیاده^۴، فرزین هادی زاده^۶

^۱ استادیار دارورسانی هدفمند، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۲ استاد فارماسیوتیکس، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۳ دانشجوی داروسازی، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۴ استادیار فارماسیوتیکس، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

^۵ استادیار فارماسیوتیکس، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۶ استاد شیمی دارویی، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

***نویسنده مسئول:** سیده نساء رضائیان شیاده: گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. ایمیل: rezaeiann941@mums.ac.ir.

****نویسنده مسئول:** فرزین هادی زاده: گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. ایمیل: hadizadehf@mums.ac.ir.

DOI: 10.32592/nkums.15.3.43

| | |
|---|--|
| چکیده | تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۶ |
| مقدمه: ریسپریدون دارویی بسیار پرکاربرد در بیماران با اختلالات روانی است. از آنجایی که حفظ غلظت خونی این دارو در محدوده درمانی بسیار مهم است، این بیماران باید به صورت روزانه و پیوسته دارو دریافت کنند. بدین منظور، فرمولاسیون های آهسته رهش از این دارو در این مطالعه ارزیابی شدند. | تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳ |
| روش کار: در این مطالعه، کریستال مایع بهینه بر مبنای حداکثر آزادسازی طی ۶۰ روز با نسبت های مختلف فسفاتیدیل کولین (PC) (Phosphatidylcholine) به سوربیتان مونو اولئات (PC: SMO) (sorbitan monooleate)، توئین ۸۰ (درصد وزنی/وزنی)، و توکوفرول استات (TA) (Tocopherol acetate) (درصد وزنی/وزنی) با روش Central Composite Design (CCD) به دست آمد. مطالعات ارزیابی آزادسازی برون تن برای مقایسه اثرهای کریستال مایع لیپیدی و Risperdal CONSTA® انجام شد. ارزیابی با میکروسکوپ نوری پلاریزه و کشت سلولی نیز انجام شد. | واژگان کلیدی: کریستال مایع لیپیدی ریسپریدون Risperdal CONSTA® اسپان توئین توکوفرول استات آهسته رهش |
| یافته ها: فرمولاسیون بهینه حاوی نسبت PC به اسپان ۵۸/۶ درصد وزنی/وزنی، توئین ۰/۸۲ درصد وزنی/وزنی و TA ۳/۶ درصد وزنی/وزنی برای حداکثر آزادسازی دارو طی دو ماه انتخاب شد. مزوفاز هگزاگونال با ساختار دووجهی در ساختار کریستال مایع مشاهده شد. آزمایش کشت سلولی سمیتی نشان نداد. | |
| نتیجه گیری: این مطالعه توانایی بالاتر سیستم کریستال مایع بر پایه اسپان را در مقایسه با فرم تجاری Risperdal CONSTA® تأیید می کند که می تواند به افزایش همراهی بیمار و تسهیل مشکلات درمان خوراکی منجر شود. | |

مقدمه

در سال های اخیر، توجه به سیستم های آهسته رهش افزایش یافته است. از این سیستم ها در صنایع داروسازی با اهداف متعددی، مانند دارورسانی چشمی، بینی، موضعی، تزریقی، انتقال ژن و... استفاده می شود. از مزایای اصلی این سیستم ها کاهش نوسانات غلظت خونی در طول درمان است [۱].

برای تهیه فرم تزریقی است که پس از تزریق، دارو را با تأخیر سه هفته ای آزاد می کند. یکی دیگر از فرمولاسیون های آهسته رهش، فرمولاسیون ایمپلنت درجاتشکیل شونده با پایه پلیمر PLGA است. این فرمولاسیون با نام تجاری Perseris® به منظور تزریق زیرجلدی برای آزادسازی یک ماهه دارو برای افرادی که دوزهای بالای دارو را در روز دریافت می کنند، در دسترس است [۲-۴].

سیستم های کریستال مایع به لحاظ مولکولی، وضعیتی بین جامد و مایع دارند و خصوصیات هر دو را هم زمان دارا هستند [۵]؛ بنابراین،

ریسپریدون نوعی داروی ضدجنون و یکی از مشتقات benzisoxazole است. فرم آهسته رهش تزریقی ریسپریدون با نام تجاری Risperdal CONSTA® مخلوطی از میکروسفرهای آهسته رهش و ماده رقیق کننده

در سال های اخیر، توجه به سیستم های آهسته رهش افزایش یافته است. از این سیستم ها در صنایع داروسازی با اهداف متعددی، مانند دارورسانی چشمی، بینی، موضعی، تزریقی، انتقال ژن و... استفاده می شود. از مزایای اصلی این سیستم ها کاهش نوسانات غلظت خونی در طول درمان است [۱].

فسفاتیدیل کولین به سوربیتان مونوواتات (PC:SMO) (A)، درصد وزنی توئین (B) و درصد وزنی TA (C) هستند که با روش Central Composite Design (CCD) Design Expert (نرم افزار Design Expert (Version 11.0.4)) آنالیز آماری شدند [۱۳، ۱۴، ۱۵]. مدل پیشنهادی بر اساس مدل مربعات به صورت فرمول ۱ آورده شده است. محدوده تغییرات متغیرهای مستقل در جدول ضمیمه ۱ آورده شده است.

فرمول ۱:

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_k)$$

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_{ij} X_i + \sum \beta_{ij} X_j^2 + \sum \beta_{jk} X_i X_k$$

که در آن Y پاسخ سیستم و X_{ijk} متغیرهای سیستم است.

$$\beta_0 = \text{ضریب رگرسیون برای ضریب ثابت}$$

$$\beta_j = \text{ضریب رگرسیون برای ترم های خطی}$$

$$\beta_{ij} = \text{ضریب رگرسیون برای ترم های مربع}$$

$$\beta_{jk} = \text{ضریب رگرسیون برای ترم های برهم کنش}$$

با طراحی به دست آمده، ۱۵ فرمولاسیون تهیه شد و درصد رهش طی ۶۰ روز تعیین شد.

ساخت کریستال مایع

ابتدا فسفاتیدیل کولین و سپس، به ترتیب SMO، توئین و TA با توجه به مقادیر داخل جدول ضمیمه ۱ به میکروتیوب ها اضافه و با گاز نیتروژن پر شدند. سپس، میکروتیوب ها داخل سونیکاتور (LABMAN Digital Ultrasonic cleaner (LMUC3)) با حمام دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند تا در یکدیگر حل شوند. سپس، ۵۰ میلی گرم داروی ریسپریدون و ۲۰۰ میکرولیتر حلال NMP تهیه شدند. به علت حل نشدن ریسپریدون در کریستال مایع، داروی پراکنده شده در حلال توسط سرنگ دوطرفه به پایه‌ها اضافه شد که در شکل ضمیمه ۱ نشان داده شده است. برای استریل کردن فرمولاسیون، از روش فیلتراسیون استفاده شد.

ارزیابی مزوفازها با کمک میکروسکوپ نوری پلاریزه

مزوفازهای تشکیل شده در ساختار کریستال مایع با کمک میکروسکوپ نوری پلاریزه (LEO1450 VP, Zeiss Company, Oberkochen, Germany) ارزیابی شدند. ضخامت نازکی از کریستال مایع روی لام قرار داده شد و در تماس با محیط آبی قرار گرفت، در انتها، لام دیگری روی ژل تشکیل شده قرار گرفت [۱۵].

بررسی syringeability فرمولاسیون بهینه

برای اطمینان از syringeability (قابلیت تزریق از سرنگ) فرمولاسیون بهینه، فرمولاسیون از سرنگ ۲۳ G با سرعت ۱۰ میلی متر در دقیقه از دستگاه تست مواد (Hounsfield, H50KS, England) عبور داده شد. منحنی نیروکشش رسم شد و نیروی لازم برای تزریق، مدول الاستیک و نقطه تسلیم تعیین شد.

بررسی ویسکوزیته فرمولاسیون بهینه

ویسکوزیته فرمولاسیون بهینه نیز ارزیابی شد. برای تعیین ویسکوزیته، ۳ میلی لیتر از فرمولاسیون نهایی به دستگاه ویسکومتر (Brookfield،

مولکول ها در فاز کریستال مایع مانند مولکول ها در ساختاری مایع منتشر می شوند، درعین حال، حاوی درجه ای از نظم و ترتیب در ساختار خود هستند. مولکول ها در ساختار کریستال مایع، هر دو ویژگی نظم ساختاری و تحرک را به طور هم زمان دارند [۱۶].

سامانه کریستال مایع لیپیدی با درصدهای مختلف نسبت روغن و سورفکتانت به فازهای مختلف، مانند مکعبی، لاملار، شش وجهی، میسل معکوس و... تبدیل می شود. ژل کریستال مایع شامل انواع لیپیدها، حلال ها و پایدارکننده ها است [۱۷].

لیپیدهای به کاررفته در این نوع فرمولاسیون، شامل لیپیدهای غیرقطبی و آمفوفیلیک است [۱۸]. با تزریق زیرجلدی محلول لیپیدی اولیه، حلال از فرمولاسیون خارج می شود و به دنبال آن، آب میان بافتی به سمت داخل حرکت می کند؛ پس از آن، ساختار داخلی کریستال مایع اولیه که حاوی مولکول های چربی و سایر اجزای فرمولاسیون است، تغییر می کند و سبب خروج دارو از ماتریکس کریستال مایع می شود [۱۷].

در سال های اخیر، به فازهای مکعبی و شش وجهی، به علت پتانسیل بالا برای دارورسانی، توجه شده است [۹، ۱۰]. این فازها توانایی انتقال ماکرو مولکول ها را دارند و می توانند از آن ها در برابر تخریب فیزیکی و شیمیایی محافظت کنند. لیپیدهای به کاررفته در ساختار کریستال مایع غیرسمی و زیست تخریب پذیر هستند [۱۱]. در مطالعات گسترده ای از این سیستم ها برای انتقال داروهای هیدروفیل و هیدروفوب به منظور انتقال هدفمند و تهیه سیستم های دارورسانی بهره برده اند [۸، ۱۲].

هدف از انجام این مطالعه ساخت فرآورده تزریقی زیرجلدی آهسته رهش ریسپریدون با استفاده از سامانه ژل شونده در محل بر مبنای سیستم کریستال مایع است که می تواند حداکثر آزادسازی را طی ۶۰ روز با نسبت های مختلف فسفاتیدیل کولین، اسپان، توئین (درصد وزنی/وزنی) و TA (درصد وزنی/وزنی) با استفاده از روش سطح پاسخ به دست آورد. به علاوه، تست های برون تن، ارزیابی ساختار با کمک میکروسکوپ نوری پلاریزه و ارزیابی سمیت سلولی به منظور بررسی ژل کریستال مایع بهینه انجام شد.

روش کار

Lipoid (PC) Phosphatidylcholine از شرکت آلمان خریداری شد. اسپان، توئین ۸۰، Tocopherol acetate (TA) و حلال N-methyl-2-pyrrolidone (NMP) از کمپانی شیمی Merck آلمان خریداری شد. ریسپریدون را به عنوان هدیه، شرکت پورسینا در ایران تأمین کرد. Risperdal CONSTA® از شرکت داروسازی Janssen امریکا خریداری شد. سایر مواد از شرکت Merck آلمان خریداری شدند.

طراحی تهیه فرمولاسیون بهینه

برای حصول بهترین فرمولاسیون آهسته رهش با کریستال مایع لیپیدی که طی ۶۰ روز به حداکثر آزادسازی (Y) (۱۰۰ درصد) به طور یکنواخت برسد، متغیرهای مؤثر ارزیابی شدند. متغیرهای مستقل تأثیرگذار شامل نسبت

شود. محلول برداشته شده بعد از سانتریفوژ با HPLC آنالیز شد. با توجه به معادله حاصل از نمودار استاندارد، مقدار تجمعی رهش ریسپریدون در زمان های مختلف طبق فرمول ۳ محاسبه شد [۱۹].

فرمول ۳:

$$M_n = C_n V_t + \sum C_{(n-1)} V_s$$

M_n = مقدار واقعی (تجمعی) نمونه n م ($\mu\text{g/ml}$)
 C_n = غلظت ظاهری (خوانده شده) نمونه n م ($\mu\text{g/ml}$)
 V_s = حجم نمونه برداشته شده (ml)
 V_t = حجم کل محیط release (ml)
 $\sum C_{(n-1)}$ = مجموع غلظت های ظاهری (خوانده شده) نمونه های قبل از n
تا $n-1$ ($\mu\text{g/ml}$)

میزان حلال NMP آزاد شده در فواصل زمانی مشخص نیز بر اساس منحنی کالیبراسیون در غلظت های ۰/۰۶ تا ۳۰ میکروگرم در میلی لیتر با آنالیز توسط HPLC تعیین شد. فاز متحرک مخلوطی از استونیتریل و تری فلوئوروآستیک اسید (۳۲:۶۸) در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد بود. نوع ستون، سرعت جریان، حجم تزریق و طول موج به ترتیب C_{18} (اندازه ذره‌ای ۵ میکرومتر، قطر ۴/۶ میلی متر و طول ۲۵ سانتی متر از شرکت $^{\circ}$ (Sepachrome, Adams)، ۰/۵ میلی لیتر در دقیقه، ۲۰ میکرولیتر و ۲۲۰ نانومتر بود [۲۰].

مطالعه برون تن تخریب فرمولاسیون بهینه کریستال مایع و

فرمولاسیون تجاری $^{\circ}$ Risperdal CONSTA

مقداری از فرمولاسیون در میکروتیوب های جداگانه قرار داده شد و به آن ها آب دیونیزه اضافه شد و میکروتیوب ها روی بن ماری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. به ازای هر زمان، میکروتیوب جداگانه در نظر گرفته شد تا تخریب مستقیم بررسی شود. در زمان های ۱، ۲، ۳، ۴، ۷، ۱۰، ۱۴، ۱۷، ۲۱، ۲۴، ۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳۵، ۳۸، ۴۲، ۴۵، ۴۹، ۵۲، ۵۶ و ۶۰ روز، محلول رویی موجود در میکروتیوب دور ریخته شد و باقی مانده آن در دمای محیط خشک شد. درصد تخریب با نسبت اختلاف وزن پس از خشک شدن و وزن قبل از اضافه کردن آب دیونیزه به وزن اولیه، مطابق با معادله ۴ تعیین شد [۲۱].

فرمول ۴:

$$\text{Degradation \%} = \frac{W_i - W_t}{W_i} \times 100$$

W_i (وزن اولیه)، W_t (وزن در زمان t)

ارزیابی سمیت سلولی

برای تعیین میزان زنده ماندن سلول ها در مواجهه با سیستم کریستال مایع لیپیدی حاوی داروی ریسپریدون و فرم تجاری $^{\circ}$ Risperdal CONSTA، از تست MTT (Merck, Darmstadt, Germany) استفاده شد. به این منظور، رده سلولی فیبروبلاست موشی L929 از انستیتو پاستور ایران تهیه شد.

برای انجام این آزمایش، از محیط کشت RPMI 1640 (Merck, Darmstadt, Germany) حاوی ۱۰ درصد سرم گاوی (FBS) (Merck, Darmstadt, Germany) استفاده شد تا شرایط سینک برقرار

پس از انجام تست، منحنی تنش برشی در برابر سرعت برشی و سرعت برشی در مقابل ویسکوزیته ترسیم شد.

آنالیز ریسپریدون با HPLC

برای تعیین غلظت ریسپریدون در نمونه ها، ابتدا نمودار استاندارد بر حسب سطح زیر پیک (Mili area unit) در برابر غلظت رسم شد و فرمول حاصل از رابطه غلظت و جذب به دست آمد. به دنبال آن، بر اساس میزان سطح به دست آمده از دستگاه HPLC (Shimadzu, Japan)، غلظت داروی آزاد شده در محیط بافر فسفات به کمک فرمول محاسبه شد. محدوده غلظت برای تعیین منحنی کالیبراسیون، محدوده تشخیص (LOD) و محدوده کمی (LOQ) بین ۲ تا ۲۰۰ نانوگرم بر میلی لیتر در نظر گرفته شد [۱۷]. برای تعیین LOD و LOQ از نسبت سیگنال به نویز استفاده شد. نسبت ۱ به ۳ برای تعیین LOD و نسبت ۱ به ۱۰ برای تعیین LOQ به کار رفت. برای تعیین LOD و LOQ، ابتدا نمودار سطح زیر هر کدام از پیک ها بر حسب غلظت رسم شد و شیب خط مشخص شد و سپس، با استفاده از نرم افزار Excel (۲۰۱۹)، با اجرای دستور STEYX، مقدار STEYX مشخص شد و با استفاده از فرمول ۲، LOD و LOQ تعیین شدند:

فرمول ۲:

$$\text{LOD} = 3.3 \times (\text{STEYX}/\text{Slope})$$

$$\text{LOQ} = 10 \times (\text{STEYX}/\text{Slope})$$

فاز متحرک مخلوطی از استونیتریل و دی پتاسیم هیدروژن اورتوفسفات ۰/۰۵ مولار با نسبت ۷۰ به ۳۰ درصد وزنی/وزنی در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد بود که با کمک ارتوفسفریک اسید به $\text{PH}=3/7$ تنظیم شد. نوع ستون، سرعت جریان، حجم تزریق و طول موج به ترتیب C_{18} (اندازه ذره‌ای ۵ میکرومتر، قطر ۴/۶ میلی متر و طول ۲۵ سانتی متر از شرکت $^{\circ}$ (Sepachrome, Adams, Italy)، ۰/۶ میلی لیتر در دقیقه، ۲۰ میکرولیتر و ۲۷۵ نانومتر بود [۱۸].

تعیین آزاد سازی تجمعی ریسپریدون/حلال NMP از کریستال

مایع لیپیدی و فرمولاسیون تجاری $^{\circ}$ Risperdal CONSTA در

محیط برون تن

مقدار ۱۰۰ میلی گرم از هر کدام از فرمولاسیون های کریستال مایع (حاوی ۵ میلی گرم ریسپریدون) و فرمولاسیون تجاری $^{\circ}$ Risperdal CONSTA به کیسه دیالیز با اندازه منافذ ۱۲ کیلو دالتون اضافه شد و سپس، در ۷۵ میلی لیتر محیط آزاد سازی برون تن PBS (دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، ۱۰۰ دور بر دقیقه) قرار گرفت. فرمولاسیون طی تماس با بافر به کریستال مایع (زل) تبدیل شد و به منظور شبیه سازی با دمای بدن، در حمام با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد (دمای بدن) قرار داده شد. در زمان های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۸، ۲۴، ۳۲ و ۳۶ ساعت و ۲، ۳، ۴، ۷، ۱۰، ۱۴، ۱۷، ۲۱، ۲۴، ۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳۵، ۳۸، ۴۲، ۴۵، ۴۹، ۵۲، ۵۶ و ۶۰ روز، ۲ میلی لیتر از محیط رویی برداشته شد و ۲ میلی لیتر از بافر PBS تازه به محیط دارویی اضافه شد تا شرایط سینک برقرار

۲ نشان داده شده است. با طراحی به دست آمده، ۱۵ فرمولاسیون برای به دست آوردن فرمولاسیون بهینه بر مبنای حداکثر رهش دارو بعد از ۶۰ روز تهیه شد.

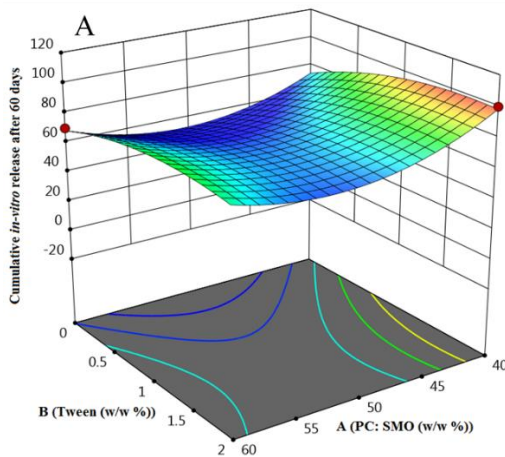
با استفاده از نرم افزار Design expert، مدل پیشنهادی به صورت فرمول ۶ به دست آمد که رابطه بین متغیر وابسته و متغیرهای مستقل مانند نسبت PC:SMO (A)، درصد وزنی Tween 80 (B) و درصد وزنی TA (C) است. فاکتورهای موجود در مدل پیشنهادی در صورتی که دارای P-value کمتر از ۰/۰۵ باشند، مؤثر هستند که در جدول ضمیمه ۳ نشان داده شده است. فرمول ۶:

$$Y = 85/36 + 0/1300 A - 0/1100 B - 2/31 C + 17/49 A^2 - 8/29 B^2 - 12/16 C^2$$

شرایط بهینه فرمولاسیون بر مبنای حداکثر رهش (۱۰۰ درصد) طی ۶۰ روز در نمودار ۱ نشان داده شده است. در نمودار A۱ رهش دارو بر حسب PC:SMO و توئین و در نمودار B۱ بر حسب توئین و TA نشان داده شده است. با نسبت ۵۸/۶ درصد وزنی/وزنی PC:SMO، ۰/۸۲ درصد وزنی/وزنی توئین و ۳/۶ درصد وزنی/وزنی TA، حداکثر رهش طی دو ماه دست یافتنی است. همان طور که از نمودار A۱ نیز استنباط می شود، با افزایش نسبت PC به SMO، آزادسازی دارو ابتدا کاهش و سپس افزایش می یابد و همچنین، با افزایش توئین تا ۰/۸۲ درصد وزنی/وزنی رهش دارو افزایش می یابد. افزایش بیشتر توئین، تغییر محسوسی ایجاد نکرد. علاوه بر آن، مطابق نمودار B۱، با افزایش TA تا ۳/۶ درصد وزنی/وزنی رهش دارو افزایش یافت؛ ولی مقدار بیشتر از آن باعث کاهش رهش دارو شد.

بررسی توسط میکروسکوپ نوری پلاریزه

تصویر حاصل از میکروسکوپ نوری پلاریزه (شکل ۱)، تشکیل مزوفازهای آنیزوتروپیک H_{II} را در کریستال مایع با پایه اسپان نشان داد. طبق مطالعات گذشته، ساختارهای حاوی چربی هایی مانند TA می تواند به تشکیل ساختارهای هگزاگونال منجر شود [۲۴]. این ساختارها برای تهیه سیستم های دارورسانی آهسته رهش و کاربردهای پزشکی مناسب هستند؛ همچنین، ساختار دوعبدهی هگزاگونال شامل نانوکمانال هایی است که سطح بیشتری برای انتقال دارو دارند [۵].



(Darmstadt, Germany) و یک درصد محلول آنتی بیوتیک های پنی سیلین (۱۰۰ واحد در میلی لیتر) و استریتومایسین (۱۰۰ میلی گرم در میلی لیتر) استفاده شد. به منظور انجام این آزمایش، نمونه حاوی بافر و سیستم کریستال مایع تخریب شده در زمان های ۱۲، ۲۴ و ۷۲ ساعت و ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲، ۴۹ و ۵۶ روز از محیط آزادسازی نمونه برداشته شد. در مرحله بعدی، این نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در تماس با سلول ها قرار داده شدند. بعد از این مرحله، ۱۰ میکروگرم در میلی لیتر از محلول MTT با غلظت ۵ میلی گرم در میلی لیتر در PBS به هر چاهک اضافه شد. بعد از این مرحله، محلول MTT خارج شد و ۱۰۰ میکرولیتر محلول دی متیل سولفوکساید به هر چاهک اضافه شد و پلیت به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر قرار گرفت. سپس، میزان جذب محلول حاصل در طول موج های ۵۷۰ و ۶۳۰ نانومتر در مقابل پس زمینه خوانده شد [۲۲، ۲۳]. در هر گروه حداقل ۳ تکرار وجود داشت. مرگ نسبی سلولی (R) با فرمول ۵ محاسبه شد: فرمول ۵:

$$[R = (A_{\text{test}}/A_{\text{control}}) \times 100$$

در این فرمول A_{test} جذب سلول هایی است که با فرمولاسیون مدنظر مجاور شده اند و A_{control} جذب مربوط به سلول هایی است که فقط با محیط کشت مجاور بوده اند. مقادیر درصد زنده ماندن سلول ها و نیز سطح معنی داری داده ها توسط نرم افزار اکسل (Excel Version 2018) و نرم افزار آنالیز آماری (GraphPad Prism Version 8) محاسبه شدند.

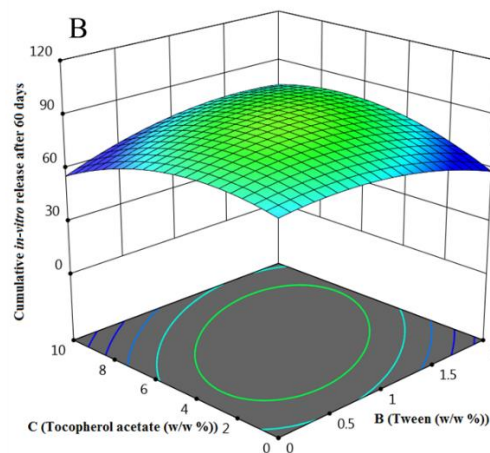
روش آنالیز

هر آزمایش سه مرتبه تکرار شد و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. نتایج با کمک آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و پست تست Tukey-Kramer post-test (GraphPad Prism 8.0) ارزیابی شدند. ارزش P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

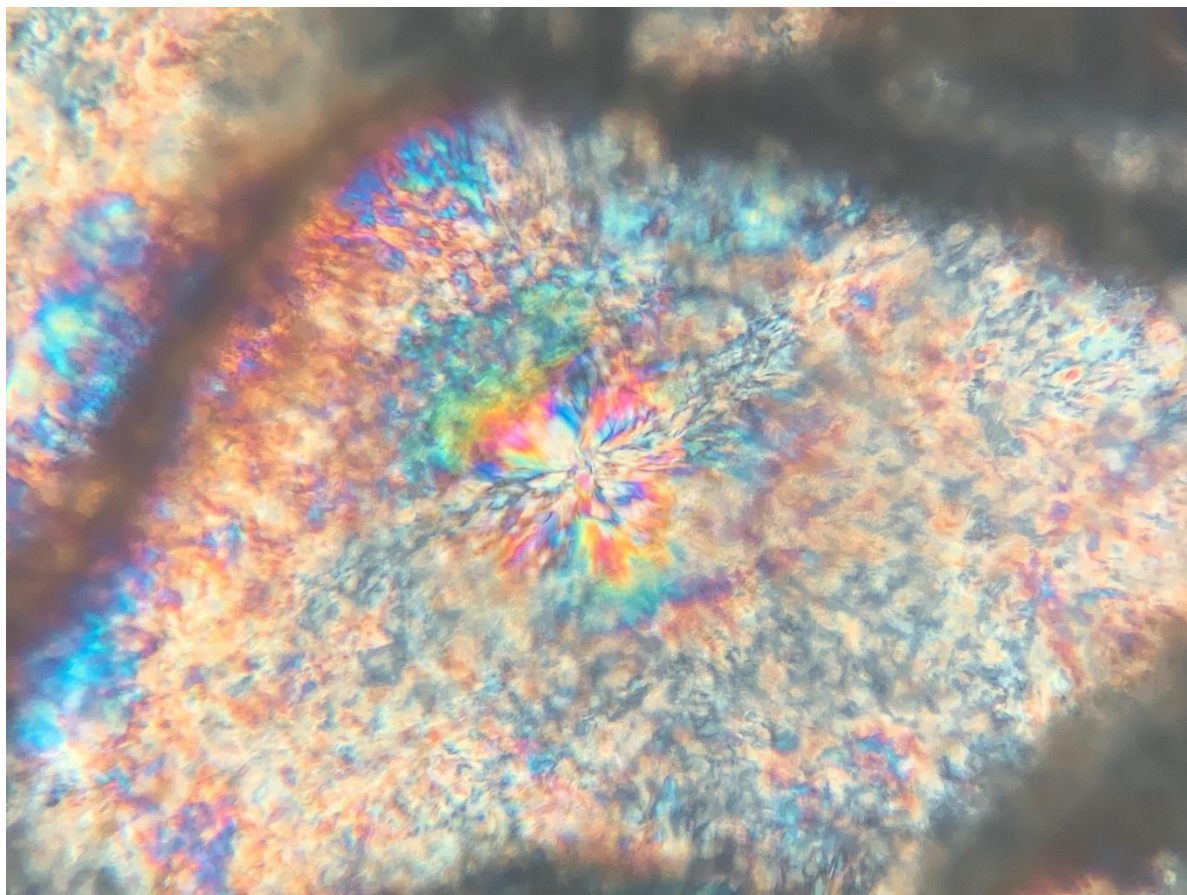
یافته ها

شناسایی فرمولاسیون بهینه

نتایج Y (رهش دارو بعد از ۶۰ روز) برای فرمولاسیون های مختلف مطابق با طراحی آزمایش ها با نرم افزار design expert در جدول ضمیمه



نمودار ۱. نمودار پاسخ رهش دارو بر حسب PC:SMO و توئین (A) و نمودار پاسخ رهش دارو بر حسب توئین و TA (B)



شکل ۱. تصویر حاصل از میکروسکوپ نوری پلاریزه

بررسی syringeability فرمولاسیون بهینه

با عبور فرمولاسیون حاوی کریستال مایع ریسپریدون از سرنگ با سوزن ۲۳ G، منحنی نیروکوشش (نمودار A۲) ترسیم شد، در این منحنی فاز I نیرویی است که به پیستون وارد می‌شود و برای تزریق تقریباً ۱۳/۷۴ نیوتن اندازه‌گیری می‌شود. فاز II یک فاز ثابت است که دلیل آن خروج مداوم محتواست. مقاومت تحت فشار و همچنین، تغییر شکل الاستیک به‌عنوان مدول الاستیک ارزیابی می‌شود. مدول الاستیک برای کریستال مایع تزریقی ۱۱/۰۲ میلی‌پاسکال اندازه‌گیری شد. حد تغییر رفتار الاستیک و شروع رفتار پلاستیک به‌عنوان نقطه تسلیم شناخته می‌شود و ۱۱/۲ میلی‌پاسکال اندازه‌گیری شد.

بررسی ویسکوزیته فرمولاسیون بهینه

با عبور فرمولاسیون حاوی کریستال مایع ریسپریدون از ویسکومتر، منحنی تنش برشی در مقابل سرعت برشی و سرعت برشی در مقابل ویسکوزیته ترسیم شد که در نمودار ۲ (B و C) نشان داده شده است. با توجه به اینکه نمودار سرعت برشی در مقابل ویسکوزیته بیانگر رفتار دیلاتانت است و در این سیستم‌ها میزان تنش با سرعت تنش به توان (n) بزرگتر از ۱) نسبت مستقیم دارد و n می‌تواند عددی نزدیک به ۱ نیز باشد، می‌توان چنین برداشت کرد که رفتار مایع دیلاتانت است که نشان‌دهنده مقاومت این سیستم در برابر تنش تا نقطه تنش تسلیم است [۲۵]. در این سیستم باید فشار وارده به سرنگ از نقطه تنش تسلیم

عبور کند تا مایع به راحتی جریان یابد و از سوزن ۲۳ G عبور کند. در نیروی کمتر از تنش تسلیم، مایع در برابر جریان مقاومت می‌کند.

آنالیز ریسپریدون با HPLC

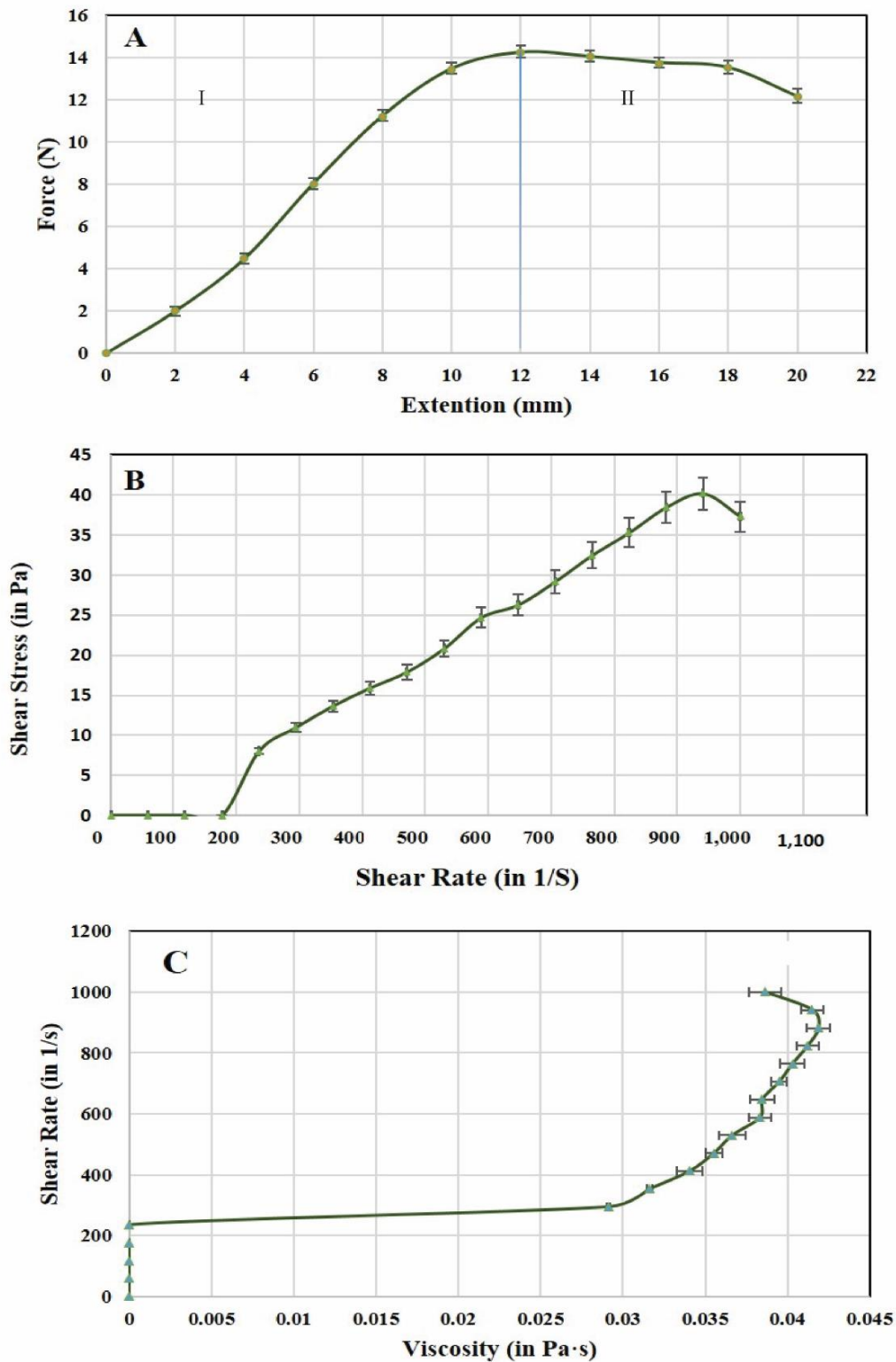
زمان ظهور پیک ریسپریدون در محیط برون تن PBS، $0.12 \pm 1/9$ دقیقه به دست آمد که در شکل ضمیمه ۲ نمونه‌ای از ظهور پیک حاصل از آزاد شدن دارو از فرمولاسیون نشان داده شده است. منحنی کالیبراسیون با ضریب رگرسیون خطی بالاتر از ۰/۹۹۲ به دست آمد. LOD و LOQ به ترتیب ۱/۵ و ۴/۵ نانوگرم بر میلی لیتر به دست آمدند. مقایسه پروفایل رهش دارو از فرمولاسیون بهینه کریستال مایع

لیپیدی و فرمولاسیون تجاری Risperdal CONSTA®

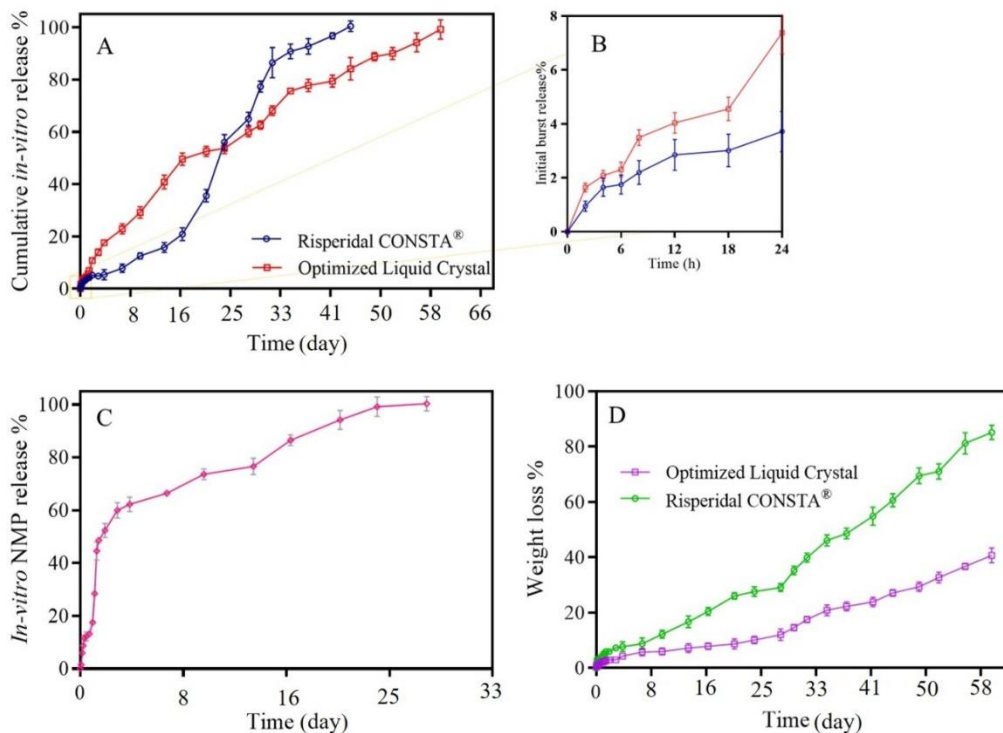
مقایسه پروفایل رهش دارو از فرمولاسیون بهینه کریستال مایع لیپیدی و فرمولاسیون تجاری Risperdal CONSTA® در نمودار ۳ (A و B) نشان داده شده است. همان‌طور که در نمودار ملاحظه می‌شود، آزادسازی دارو در فرمولاسیون تجاری Risperdal CONSTA® با گذشت مدت زمان تقریباً دو تا سه هفته‌ای به غلظت مؤثر و درمانی می‌رسد و در این زمان، بیمار به مصرف داروی خوراکی نیاز دارد؛ اما در فرمولاسیون کریستال مایع سریع‌تر به حد درمانی می‌رسد. علاوه بر این، فرمولاسیون کریستال مایع دارو را در مدت زمان طولانی تری نسبت به فرم تجاری در غلظت درمانی آزاد می‌کند و برای تهیه فرمولاسیون با رهش ۶۰ عروزه مناسب است.

است. همان طور که از پروفایل تخریب سامانه‌های آهسته‌رهش پیداست، طی دو ماه، فرمولاسیون کریستال مایع $2/7 \pm 40/67$ درصد و فرمولاسیون تجاری Risperdal CONSTA[®] $2/55 \pm 85/13$ درصد تخریب شده‌اند. در فرمولاسیون تجاری که طی ۴۵ روز به آزادسازی ۱۰۰ درصد می‌رسد، $2/53 \pm 60/65$ درصد تخریب شده است.

میزان حلال NMP آزاد شده از کریستال مایع در روز اول $0/87 \pm 17/50$ درصد بود و مدت‌زمان لازم برای آزادسازی کامل حلال NMP از کریستال مایع لیپیدی ۲۴ روز بود (نمودار 3C). پروفایل تخریب سامانه کریستال مایع لیپیدی و فرمولاسیون تجاری Risperdal CONSTA[®] در آب دیونیزه در نمودار 3D نشان داده شده



نمودار ۲. (A) منحنی نیرو بر حسب کشش، (B) منحنی تنش برشی بر حسب سرعت برشی و (C) منحنی تنش برشی بر حسب ویسکوزیته فرمولاسیون بهینه کریستال مایع لیپیدی

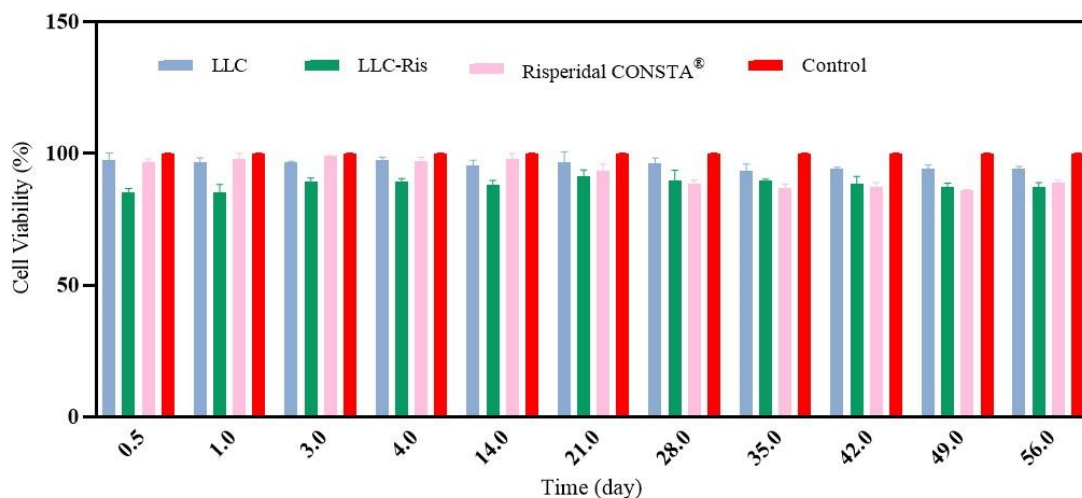


نمودار ۳. (A) پروفایل رهش دارو از فرمولاسیون بهینه کریستال مایع لیپیدی و فرمولاسیون تجاری Risperdal CONSTA®. (B) پروفایل رهش دارو از فرمولاسیون بهینه کریستال مایع لیپیدی و فرمولاسیون تجاری Risperdal CONSTA® در ۲۴ ساعت ابتدایی پس از تزریق، (C) آزادسازی حلال NMP از فرمولاسیون کریستال مایع، (D) پروفایل تخریب سامانه کریستال مایع لیپیدی و فرمولاسیون تجاری Risperdal CONSTA® در آب دیونیزه

دارو، میزان زنده ماندن سلول ها اندکی کمتر از گروه کنترل بود و در ادامه، سمیت چندانی در طول ۶۰ روز از خود نشان نداد. در مقابل، در روزهای اول پس از تزریق Risperdal CONSTA® حلال آزاد می شود و اندکی سمیت سلولی نشان می دهد. سپس، بعد از گذشت ۲ هفته از تزریق، اندکی سمیت در این گروه مشاهده شد که این میزان سمیت در روزهای انتهایی تقریباً با گروه دریافت کننده کریستال مایع لیپیدی یکسان می شود.

ارزیابی تأثیر مجاورت سامانه کریستال مایع لیپیدی بر زنده ماندن سلول جانوری

نمودار ۴ بیانگر درصد زنده ماندن سلول های رده سلولی فیبروبلاست پوستی در مجاورت با نمونه های حاصل از محیط آزادسازی فرمولاسیون های بهینه حاوی کریستال مایع لیپیدی، کریستال مایع لیپیدی حاوی دارو، فرم تجاری Risperdal CONSTA® و گروه کنترل است. نتایج نشان داد که در گروه دریافت کننده کریستال مایع حاوی



نمودار ۴. درصد زنده ماندن سلول های جانوری در تماس با محتویات فرمولاسیون کریستال مایع و Risperdal CONSTA®

بحث

سرعت آزادسازی مؤثر است و هم متأثر از نسبت‌های مختلف ترکیب کریستال مایع است [۲۷]. سیستم‌های کریستال مایع بر پایه فسفاتیدیل کولین، SMO و TA فاز هگزگونال معکوس را تشکیل می‌دهند که پایه‌های مناسبی برای دارورسانی زیرجلدی و آهسته‌رهش هستند. در این مطالعه نیز سیستم کریستال مایع با نشان‌دادن فاز هگزگونال توانایی خوبی برای کنترل آزادسازی دارو با تشکیل فاز شش‌وجهی نشان داد.

در فاز اول، بعد از تزریق فرمولاسیون کریستال مایع لیپیدی رهش اولیه بیشتری نسبت به فرمولاسیون Risperidal CONSTA® داشت که با توجه به حد درمانی (حداکثر ۱۶ میلی‌گرم در روز) [۲۸] این مقدار مجاز است و عوارض ناشی از دوز بالای دارو در بیمار مشاهده نمی‌شود. در مقابل، در فرمولاسیون تجاری، مقدار داروی آزادشده کمتر از پنجره درمانی است و بیمار به مصرف هم‌زمان داروی خوراکی نیاز دارد. در فاز دوم، ویژگی‌های آمفی‌فیل ساختار کریستال مایع با حلالیت و آزادسازی دارو مرتبط است. در این مطالعه، گروه فسفات PC به گروه آمین داروی ریسپریدون متصل می‌شود و آزادسازی دارو را تحت کنترل قرار می‌دهد. از آنجایی که این فرمولاسیون‌ها ماهیت لیپیدی و آب‌گریز دارند و در مقابل نفوذ آب و تغییر حلال مقاومت می‌کنند، حلال NMP در فرمولاسیون حبس می‌شود. کاهش خروج حلال NMP به کاهش خروج ناگهانی اولیه دارو منجر می‌شود؛ بنابراین، میزان داروی آزادشده در محدوده‌ی درمانی کنترل می‌شود و بیمار به مصرف هم‌زمان دارو نیاز ندارد. ماتریکس تشکیل‌شده با سیستم کریستال مایع لیپیدی دیرتر از فرمولاسیون تجاری تخریب می‌شود و دارو را در مدت‌زمان طولانی‌تر (۶۰ روز) آزاد می‌کند. به علت ماهیت لیپوفیل فاز داخلی، نفوذ آب به سامانه کمتر و سرعت تخریب آهسته‌تر است.

نتایج حاصل از تزریق برون‌تن فرمولاسیون کریستال مایع با دارو و فرمولاسیون تجاری تقریباً غلظت ثابتی به‌ترتیب طی ۶۰ روز و یک ماه بعد از زمان T_{max} از خود نشان می‌دهند که نشان از موفقیت‌آمیز بودن این فرمولاسیون‌ها است. در مطالعات مشابه نیز از کریستال مایع برای انتقال دارو به‌مدت یک ماه استفاده شد [۸، ۲۹].

از آنجایی که حلال NMP بسیار محلول در آب است، می‌تواند ریسپریدون محلول را طی فرایند تشکیل ژل با خود به محیط اطراف ببرد و سبب بروز سمیت شود [۳۰]. ارزیابی زیست‌سازگاری برون‌تن نشان داد که درصد زنده‌ماندن سلول‌ها در مجاورت با نمونه حاوی بافر و سیستم کریستال مایع تخریب‌شده و اجزای تشکیل‌دهنده آن به‌همراه دارو پذیرفتنی است و سمیت سلولی ندارد. در روزهای اول پس از تزریق، سیستم کریستال مایع لیپیدی حاوی دارو سمیت بیشتری نسبت به سایر نمونه‌ها نشان داد که می‌تواند ناشی از آزادسازی داروی ریسپریدون محلول در حلال به‌دنبال روند تشکیل ژل در اثر تغییر حلال باشد.

در این مطالعه، از یکی از فناوری‌های جدید برای کنترل آزادسازی اشکال دارویی تزریقی استفاده شده است که از نوع سیستم‌های کریستال مایع بر پایه لیپید است. برای سنتز پایه فرمولاسیون با استفاده از نرم افزار Design expert با روش CCD، تعداد ۱۵ فرمولاسیون از نسبت‌های مختلف PC به سوربیتان‌مونوولات، توتئین و TA طراحی و تهیه شد تا بهترین فرمولاسیون و بازده حاصل شود. مقایسه نتایج حاصل از فرمولاسیون‌های مختلف نشان می‌دهد که همه متغیرهای مستقل در کنترل آزادسازی دارو مؤثر هستند. آزادسازی دارو با افزایش نسبت PC به اسپان افزایش یافت. به‌علاوه، آزادسازی دارو با افزایش توتئین افزایش یافت و افزایش بیشتر تأثیر درخور توجهی بر آزادسازی دارو نداشت. TA با بالا رفتن تا ۳/۶ درصد به افزایش آزادسازی دارو منجر شد؛ ولی افزایش بیشتر اثر کاهنده بر روند آزادسازی دارو داشت. PC احتمالاً به دلیل خاصیت چربی‌دوستی در کریستال مایع و ممانعت از ورود آب اثر درخور توجهی در کنترل آزادسازی دارو دارد. میزان کمتر یا بیشتر از PC ممکن است به تشکیل‌نشدن ساختار کریستال مایع با قوام مناسب منجر شود. در مطالعه‌ای که Báez-Santos و همکارانش، در سال ۲۰۱۶ انجام دادند، مشاهده شد که میزان بالاتر از ۵۰ درصد PC در ۱۳ درصد آب، به تشکیل ساختار L_{α} منجر می‌شود؛ اما در درصد‌های بالاتر از آب، با تشکیل فاز H_{II} کنترل بهتری بر روند آزادسازی دارو مشاهده شد [۵].

مطالعه دیگری که Ki و همکارانش، در سال ۲۰۱۴ منتشر کردند، نشان داد که با توجه به خاصیت چربی‌دوستی PC، این ماده بر روند ورود آب و آزادسازی دارو تأثیر مستقیمی دارد [۸].

از آنجایی که لیپیدها در حضور هوا تجزیه می‌شوند، استفاده از آنتی‌اکسیدان ضروری به نظر می‌رسد. با این حال، سطح بالاتر از ۳/۶ درصد TA ممکن است چربی‌دوستی حامل را افزایش دهد؛ در نتیجه، جذب آب مدنظر و رهش پایدار را کاهش دهد. علاوه بر این، مقدار کمتر نیز ممکن است نتواند خواص آنتی‌اکسیدانی را حفظ کند.

در گروه دریافت‌کننده کریستال مایع حاوی ریسپریدون میزان قابل قبول و یکنواختی از سمیت در روزهای ابتدایی با حفظ روند یکنواخت تا روزهای آخر مشاهده شد.

نتایج مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۶ انجام شد، نشان داد که با حذف TA، جریان آب به کریستال مایع لیپیدی افزایش می‌یابد و به افزایش سرعت تخریب و رهاسازی منجر می‌شود. با حذف TA نیز مشاهده شد که بیش از ۵۰ درصد از داروی بارگذاری‌شده در کمتر از پنج روز آزاد می‌شود [۵]. شکل‌های رایج مزوفازهای سیستم کریستال مایع لاملار (L_n)، شش‌وجهی معکوس (H_{II}) و مکعبی دو مداوم (V_{II}) در محیط آبی هستند که دو مورد دوم گزینه‌های بهتری برای تهیه سیستم‌های دارورسانی به نظر می‌رسند [۲۶]. این ویژگی‌ها هم روی

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، با ارزیابی روش‌ها و نسبت‌های مختلف از کریستال مایع، یک داروی آهسته‌رهش جدید برای دارورسانی ریسپریدون ارزیابی شد. در نتیجه آزمایش‌ها مشخص شد که فرمولاسیون با نسبت ۵۸/۶ درصد PC به اسپان، ۳/۶ TA، درصد و توئین ۰/۸۲ درصد بهترین کنترل را بر آزادسازی ۱۰۰ درصد طی ۶۰ روز از خود نشان می‌دهد. در کنار این عوامل، ویژگی‌های ظاهری میکروسکوپی نشان‌دهنده ساختار هگزاگونال بود که بهترین ساختار برای کنترل و آزادسازی داروها است.

پس از تعیین ساختار بهینه، آزادسازی دارو با فرمولاسیون تجاری مقایسه شد و نتیجه‌گیری شد که از فرمولاسیون پایه کریستال مایع می‌توان

برای دارورسانی با روند یکنواخت تا ۲ ماه استفاده کرد.

سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد (۹۷۱۰۱۲). بدین وسیله از شرکت داروسازی پورسینا برای تأمین داروی ریسپریدون تقدیر و تشکر به عمل می‌آید. (کد اخلاق: (IR.MUMS.PHARMACY.REC.1397.098

تعارض منافع

در اظهارات این متن هیچ‌گونه تعارض منافی وجود نداشته است و نویسندگان هیچ‌گونه منفعت مالی از نتایج مطالعه پیشنهادی نمی‌برند.

جدول ضمیمه ۱. محدوده متغیرهای تأثیرگذار بر رهش ناگهانی اولیه و رهش دارو طی ۶۰ روز

| متغیرهای تأثیرگذار | سطح | |
|------------------------|-----|----|
| | ۰ | -۱ |
| PC:SMO | ۵۰ | ۴۰ |
| توئین (w/w %) | ۱ | ۰ |
| توکوفرول استات (w/w %) | ۵ | ۰ |

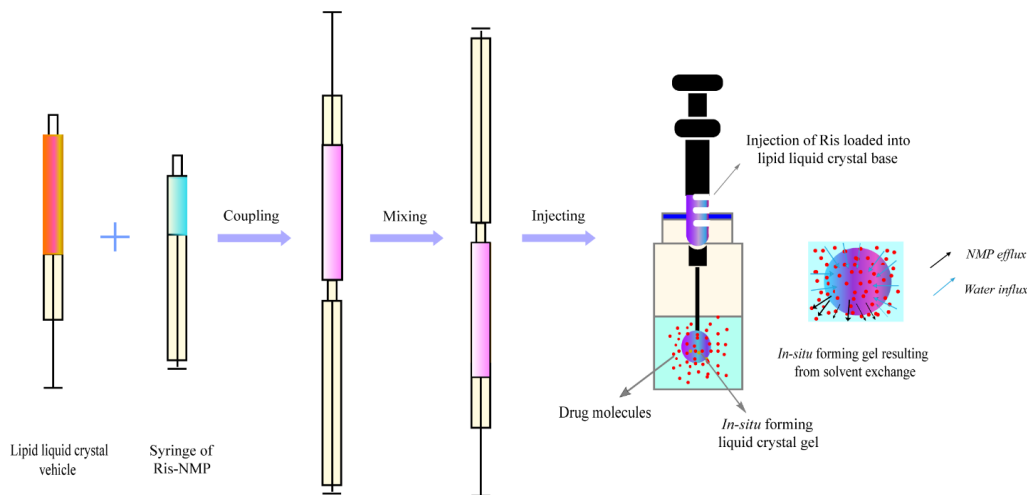
جدول ضمیمه ۲: نتایج حاصل از متغیرهای وابسته در سه سطح و سه فاکتور با روش CCD در برابر متغیرهای مستقل

| Run | PC:SMO | Tween (w/w %) | Tocopherol acetate (w/w %) | Release % after 60 days |
|-----|--------|---------------|----------------------------|-------------------------|
| ۱ | ۶۰ | ۲ | ۰ | ۸۰/۷۳ |
| ۲ | ۵۰ | ۱ | ۵ | ۹۳/۰۱ |
| ۳ | ۵۰ | ۱ | ۵ | ۸۱/۲۱ |
| ۴ | ۵۰ | ۱ | ۱۰ | ۶۷/۶۸ |
| ۵ | ۴۰ | ۲ | ۱۰ | ۱۰۰/۰۰ |
| ۶ | ۶۰ | ۱ | ۵ | ۹۹/۷۷ |
| ۷ | ۵۰ | ۱ | ۵ | ۸۷/۴۳ |
| ۸ | ۵۰ | ۱ | ۵ | ۸۸/۱۷ |
| ۹ | ۴۰ | ۱ | ۵ | ۹۹/۵۱ |
| ۱۰ | ۵۰ | ۱ | ۰ | ۷۲/۳۱ |
| ۱۱ | ۵۰ | ۱ | ۵ | ۸۹/۷۷ |
| ۱۲ | ۵۰ | ۰ | ۵ | ۷۳/۹۷ |
| ۱۳ | ۴۰ | ۰ | ۰ | ۸۵/۰۷ |
| ۱۴ | ۶۰ | ۰ | ۱۰ | ۷۰/۱۹ |
| ۱۵ | ۵۰ | ۲ | ۵ | ۷۳/۷۵ |

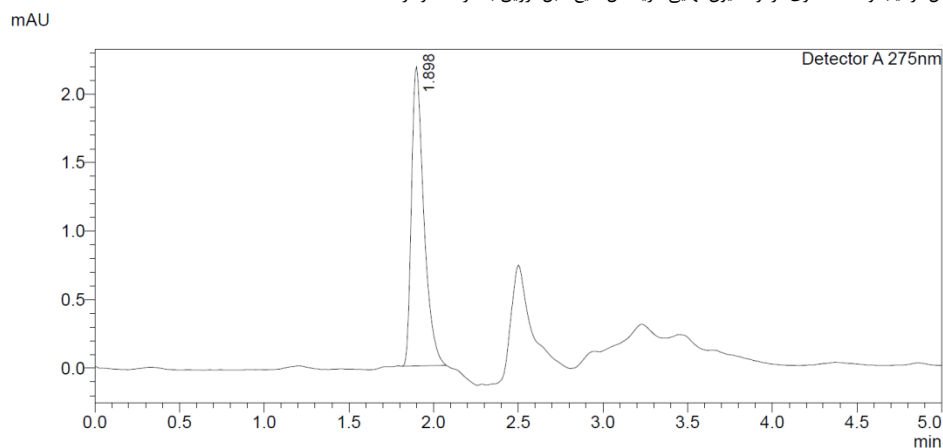
جدول ضمیمه ۳: ضریب رگرسیون و ارزش P برای مدل‌های آزادسازی ناگهانی اولیه و درصد آزادسازی بعد از ۶۰ روز با کمک نرم‌افزار Design Expert

| Term | p-value | Release % after 60 days coefficient |
|----------------|---------|-------------------------------------|
| Intercept | - | ۸۲/۲۶ |
| A | ۰/۹۷۶۷ | -۰/۱۳۰۰ |
| B | ۰/۹۸۰۳ | -۰/۱۱۰۰ |
| C | ۰/۶۰۸۱ | -۲/۳۱ |
| AB | ۰/۵۳۹۷ | -۳/۴۱ |
| AC | ۰/۲۶۷۰ | -۶/۴۸ |
| BC | ۰/۱۵۵۶ | ۸/۶۷ |
| A ² | ۰/۰۰۵۲ | ۱۷/۴۹ |
| B ² | ۰/۰۷۵۳ | -۸/۲۹ |
| C ² | ۰/۰۲۱۹ | -۱۲/۱۶ |

نمادهای A، B و C به ترتیب نسبت فسفاتیدیل کولین به اسپان، درصد وزنی توئین و درصد وزنی توکوفرول استات هستند.



شکل ضمیمه ۱. مراحل ترکیب و آماده سازی فرمولاسیون نهایی کریستال مایع قابل تزریق با سرنگ دوطرفه



شکل ضمیمه ۲. نمونه ای از کروماتوگرام حاصل از ریسپریدون آزاد شده از فرمولاسیون در محیط PBS

References

- Taylor KM, Aulton ME. Aulton's Pharmaceutics E-Book: The Design and Manufacture of Medicines: Elsevier Health Sciences; 2017.
- Russu A, Kern Sliwa J, Ravenstijn, Singh A, Mathews M, Kim E, et al. Maintenance dose conversion between oral risperidone and paliperidone palmitate 1month: practical guidance based on pharmacokinetic simulations. *Int J Clin Pract*. 2018;**72**(6):e13089. DOI: 10.1111/ijcp.13089 PMID: 29707876
- Gefvert O, Eriksson B, Persson P, Helldin L, Björner A, Mannaert E, et al. Pharmacokinetics and D 2receptor occupancy of long-acting injectable risperidone (Risperdal Consta™) in patients with schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2005;**8**(1):27-36. DOI: 10.1017/S1461145704004924 PMID: 15710053
- Dongaonkar A, Deshmukh P, Deshmukh G, Folane P, Kale R, Biyani K. A Review on current effective medications in the treatment of schizophrenia. *Int J Adv Pharm Biotech*. 2020; **6**(3):1-4.
- Báez-Santos Y, Otte A, Mun E, Soh, Song CG, Lee YN, et al. Formulation and characterization of a liquid crystalline hexagonal mesophase region of phosphatidylcholine, sorbitan monooleate, and tocopherol acetate for sustained delivery of leuprolide acetate. *Int J Pharm*. 2016;**514**(1):314-321. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2016.06.138 PMID: 27863678
- Nilsson C, Edwards K, Eriksson J, Larsen S, Østergaard J, Larsen C, et al. Characterization of oil-free and oil-loaded liquid-crystalline particles stabilized by negatively charged stabilizer citrem. *Langmuir*. 2012;**28**(32):11755-11766. DOI: 10.1021/la3021244 PMID: 22831645
- Rosevear FB. Liquid crystals: the mesomorphic phases of surfactant compositions. *J Soc Cosmet Chem*. 1968;**19**(9):581-594.
- Ki MH, Lim JL, Ko JY, Park SH, Kim JE, Cho HJ, et al. A new injectable liquid crystal system for one month delivery of leuprolide. *J Control Release*. 2014;**185**:62-70. DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.04.034 PMID: 24794897
- Clogston J, Caffrey M. Controlling release from the lipidic cubic phase. Amino acids, peptides, proteins and nucleic acids. *J Control Release*. 2005;**107**(1):97-111. DOI: 10.1016/j.jconrel.2005.05.015 PMID: 15990192
- Mezzenga R, Schurtenberger P, Burbidge A, Michel M. Understanding foods as soft materials. *Nat Mater*. 2005;**4**(10):729-740. DOI: 10.1038/nmat1496 PMID: 16195765
- Ganem-Quintanar A, Quintanar-Guerrero D, Buri P. Monoolein: a review of the pharmaceutical applications. *Drug Dev Ind Pharm*. 2000;**26**(8):809-820. DOI: 10.1081/ddc-100101304 PMID: 10900537
- Fong WK, Hanley T, Boyd BJ. Stimuli responsive liquid crystals provide 'on-demand' drug delivery in vitro and in vivo. *J Control Release*. 2009;**135**(3):218-226. DOI: 10.1016/j.jconrel.2009.01.009 PMID: 19331865
- Kamali H, Khodaverdi E, Hadizadeh F, Yazdian-Robati R, Haghbin A, Zohuri G, et al. An in-situ forming implant formulation of naltrexone with minimum initial burst release using mixture of PLGA copolymers and ethyl heptanoate as an additive: In-vitro, ex-vivo, and in-vivo release evaluation. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2018;**47**:95-105. DOI: 10.1016/j.jddst.2018.06.027
- Sani T, Golmakani E, Mohammadi A, Feyzi P, Kamali H. Optimization of pressurized hot water extraction on the extract yield and antioxidant activity from Biebersteinia multifida DC using a modified supercritical fluid extractor. *J Supercrit Fluids*. 2014;**94**:130-137. DOI: 10.1016/j.supflu.2014.07.006

15. Sherif S, Bendas E, Badawy S. The clinical efficacy of cosmeceutical application of liquid crystalline nanostructured dispersions of alpha lipoic acid as anti-wrinkle. *Eur J Pharm Biopharm.* 2014;**86**(2):251-259. DOI: 10.1016/j.ejpb.2013.09.008 PMID: 24056055
16. Usach I, Martinez R, Festini T, Peris JE. Subcutaneous injection of drugs: literature review of factors influencing pain sensation at the injection site. *Adv Ther.* 2019;**36**(11):2986-2996. DOI: 10.1007/s12325-019-01101-6 PMID: 31587143
17. Mohajeri SA, Yaghoubi S, Abdollahi E, Tekie F, Kamali H, Khodaverdi E, et al. In-vivo study of naltrexone hydrochloride release from an in-situ forming PLGA-PEG-PLGA system in the rabbit. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2016;**36**:156-160. DOI: 10.1016/j.jddst.2016.10.006
18. Mohammadpour F, Kamali H, Hadizadeh F, Bagheri M, Shiadeh S, Nazari A, et al. The PLGA Microspheres Synthesized by a Thermosensitive Hydrogel Emulsifier for Sustained Release of Risperidone. *J Pharm Innov.* 2021:1-13.
19. Chen S, Liu W, Wan J, Cheng X, Gu C, Zhou H, et al. Preparation of coenzyme Q10 nanostructured lipid carriers for epidermal targeting with high-pressure microfluidics technique. *Drug Dev Ind Pharm.* 2013;**39**(1):20-28. DOI: 10.3109/03639045.2011.650648 PMID: 23116283
20. Bakhshi R, Vasheghani-Farahani E, Mobedi H, Jamshidi A, Khakpour M. The effect of additives on naltrexone hydrochloride release and solvent removal rate from an injectable in situ forming PLGA implant. *Polym Adv Technol.* 2006;**17**(5):354-359. DOI: 10.1002/pat.717
21. Pei Y, Zhao L, Du G, Li N, Xu K, Yang H. Investigation of the degradation and stability of acrylamide-based polymers in acid solution: Functional monomer modified polyacrylamide. *Petroleum.* 2016;**2**(4):399-407. DOI: 10.1016/j.petlm.2016.08.006
22. Liu Q, Zhang H, Zhou G, Xie S, Zou H, Yu Y, et al. In vitro and in vivo study of thymosin alpha1 biodegradable in situ forming poly (lactide-co-glycolide) implants. *Int J Pharm.* 2010;**397**(1-2):122-129. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2010.07.015 PMID: 20650309
23. Ozdemir K, Yilmaz H, Yilmaz S. In vitro evaluation of cytotoxicity of soft lining materials on L929 cells by MTT assay. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2009;**90**(1):82-86. DOI: 10.1002/jbm.b.31256 PMID: 18985793
24. Kim DH, Jahn A, Cho SJ, Kim JS, Ki MH, Kim DD. Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery: a review. *J Pharm Investig.* 2015;**45**(1) 1-11. DOI: 10.1007/s40005-014-0165-9
25. Chhabra RP, Richardson JF. Non-Newtonian flow in the process industries: fundamentals and engineering applications. Butterworth-Heinemann; 1999.
26. Caffrey MJB. Kinetics and mechanisms of the lamellar gel/lamellar liquid-crystal and lamellar/inverted hexagonal phase transition in phosphatidylethanolamine: a real-time X-ray diffraction study using synchrotron radiation. *Biochemistry.* 1985;**24**(18):4826-4844. DOI: 10.1021/bi00339a017 PMID: 4074661
27. Otte A, Soh B, Yoon G, Park K. Liquid crystalline drug delivery vehicles for oral and IV/subcutaneous administration of poorly soluble (and soluble) drugs. *Int J Pharm.* 2018;**539**(1-2):175-183. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.01.037 PMID: 29371020
28. Drugs.com [Internet]. risperidone Information from Drugs.com; c 2018-1996[Updated: 13February 2018CJAFhwdcrc] .
29. Guo C, Wang J, Cao F, Lee RJ, Zhai G. Lyotropic liquid crystal systems in drug delivery. *Drug Discov Today.* 2010;**15**(23-24):1032-1040. DOI: 10.1016/j.drudis.2010.09.006 PMID: 20934534
30. Sanghvi R, Narazaki R, Machatha SG, Yalkowsky SH. Solubility improvement of drugs using N-methyl pyrrolidone. *AAPS PharmSciTech.* 2008;**9**(2):366-376. DOI: 10.1208/s12249-008-9050-z PMID: 18431671