

میکروکپسول‌های هیدروژلی ژلاتین/سدیم کربوکسی متیل سلولز جهت رهایش حداکثری داروی

لیدوکائین هیدروکلراید

شبنم بهمنی^۱، رامین خواجوی^{۱*}، مرتضی احسانی^۲، محمدکریم رحیمی^۳، محمدرضا کلایی^۱

۱. دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران جنوب، تهران، ایران

۲. پژوهشکده فرایند پلیمرها، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، تهران، ایران

۳. دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

اخیراً سامانه‌های دارورسان هیدروژلی بر پایه‌ی پلیمرهای طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته و در این راستا از پلیمرهای گوناگونی به صورت تکی یا ترکیبی استفاده گردیده تا به خصوصیات مطلوب‌تری دست یابند. در این تحقیق ابتدا داروی لیدوکائین هیدروکلراید با غلظت‌های مختلف به همراه درصد‌های متفاوت از ژلاتین/سدیم کربوکسی متیل سلولز در محیطی آبی حل شده و سپس در محیطی پارافینی دیسپرس گردیدند و بدین وسیله میکروکپسول‌ها شکل گرفتند و در نهایت با گلاتارآلدهید شبکه‌ای و جمع‌آوری شدند. تصاویر میکروسکوپ‌های نوری و الکترونی (رویشی SEM) تشکیل میکروکپسول-هایی کروی با ناهمواری سطحی محدود را نشان دادند. تشکیل شبکه در هیدروژل و عدم برهمکنش بین دارو و پلیمرها با طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR) و تفرق اشعه ایکس (XRD) بررسی و تأیید شد. مطالعه‌ی اثرگذاری پارامترهای مستقل شامل مقادیر گلاتارآلدهید، دارو و سدیم کربوکسی متیل سلولز و تعامل آن‌ها بر پارامترهای وابسته شامل درصد تورم، بازده داروی بارگذاری شده و میانگین اندازه ذرات با روش آماری سطح پاسخ (RSM) براساس طرح مرکب مرکزی (CCD) و سه تکرار برای نقطه‌ی مرکزی انجام گردید. نتایج آماری نشان داد که اثرات خطی پارامترهای مستقل، بیشترین اثر را بر پارامترهای وابسته دارد. براساس تحلیل آماری انجام گرفته مقادیر غلظت بهینه برای گلاتارآلدهید ۵٪، سدیم کربوکسی-متیل سلولز ۱۰٪ و دارو ۴۰٪ حداکثر آزادسازی راندمان داروی بارگذاری شده (۶۳/۶٪) را ایجاد می‌نمایند. در مجموع نتایج نشان دادند که میکروکپسول‌های هیدروژلی ژلاتین/سدیم کربوکسی متیل سلولز پتانسیل استفاده به عنوان حامل‌های دارورسانی را دارند.

چکیده

تاریخ دریافت:

۱۴۰۱/۰۴/۰۶

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۱/۰۵/۰۱

میکروکپسول، هیدروژل ژلاتین/کربوکسی متیل سلولز،
لیدوکائین هیدروکلراید، روش پاسخ سطح

واژگان کلیدی



AMNC

Gelatin/ Sodium Carboxymethylcellulose Hydrogel Microcapsules for Maximum Release of Lidocaine Hydrochloride

Shabnam Bahmani¹, Ramin Khajavi^{1*}, Morteza Ehsani^{1,2}, Mohammad Karim Rahimi³, Mohammad Reza Kalaeie¹

1. Faculty of Engineering, South Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Faculty of Polymer Processing, Iran Polymer and Petrochemical Institute, Tehran, Iran

3. Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Recently, hydrogel drug delivery systems based on natural polymers have received lot of attention and in this regard, various polymers have been used individually or in combination to achieve more desirable properties. In this study, different concentrations of lidocaine hydrochloride (LidoHCl) with different percentages of gelatin / sodium carboxymethylcellulose were dissolved in water and then dispersed in paraffin medium. Hereby, microcapsules were formed and they were crosslinked with glutaraldehyde finally. Optical and electron microscope images (SEM) showed the formation of spherical microcapsules with slight surface roughness. The formation of crosslinking in the hydrogel and the lack of interaction between the drug and the polymers were investigated and confirmed by infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction (XRD). Evaluation of the effect of independent parameters including glutaraldehyde (GTA), drug and sodiumcarboxymethylcellulose (NaCMC) and their interaction on dependent parameters including swelling percentage, efficiency of drug loading and mean particle size by response surface method (RSM) based on central composite design (CCD) and three replications for the center point was performed. Statistical results showed that the linear effects of independent parameters have the greatest effect on dependent parameters. Based on the statistical analysis, the optimal concentration values for glutaraldehyde 5%, sodium carboxymethylcellulose 10% and drug 40% create the maximum release efficiency of the loaded drug (63.6%). Overall, the results showed that gelatin / carboxymethylcellulose hydrogel microcapsules have the potential to be used as drug carriers.

Keywords

Gelatin/ Carboxymethylcellulose hydrogel, Lidocaine hydrochloride, Surface response method

۱- مقدمه

مانند سدیم کربوکسی متیل سلولز (NaCMC) است. NaCMC یک مشتق آنیونی از سلولز است که گروه‌های هیدروکسیل بر ۲-گلوکوپیرانوز سلولز با گروه‌های کربوکسی-متیل جایگزین می‌شوند [۲۲]. با توجه به آماده‌سازی NaCMC درجه جایگزینی آن ممکن است متفاوت باشد. ماهیت قطبی گروه‌های کربوکسیل کربوکسی متیل سلولز، آن را بسیار آبدوست و محلول در آب می‌کند [۲۳-۲۵]. در نتیجه سامانه‌های رهایش کنترل شده مبتنی بر ژلاتین در حوزه‌های بسیار وسیع، از مهندسی بافت تا دارورسانی و ژن درمانی قابل استفاده هستند [۲۶، ۲۷]. بوهوس^۱ و همکارانش از این نوع هیدروژل‌ها برای رهایش کنترل شده آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط بازی استفاده کردند [۲۸]. همچنین محققان دیگری با تغییر نسبت بین NaCMC و Gel، حداکثر راندمان داروی بارگذاری شده را ۱۷/۲٪ گزارش کردند [۲۹]. بنابراین به بستر دارورسانی بهینه‌ای، برای دست یافتن به مقدار راندمان بالاتر نیاز است.

درمان درد همچنان یک چالش بالینی است و متخصصان پزشکی با انتخاب محدودی از داروهای ضددرد و غیردارویی^۲ روبه‌رو هستند [۳۰-۳۴]. یکی از داروهای بی‌حسی موضعی که به طور مکرر توسط پزشکان استفاده می‌شود، لیدوکائین هیدروکلراید (LidoHCl) است. مفهوم کاملاً شناخته شده بی‌حسی، شامل قطع شدن آبراه‌های انتقال علامت درد^۳ در نقاط مختلف در امتداد مسیرهای عصبی است [۳۵، ۳۶]. داروهای بی‌حسی موضعی پتانسیل قطع انتقال تکانه‌های عصبی را دارند. لیدوکائین با مسدود کردن کانال سدیم که مسئول انتشار عمل^۴ است، بی‌حسی ایجاد می‌کند [۳۷]. استفاده از داروهای بی‌حس کننده موضعی به دلیل شروع کند و طول اثر کوتاه مدت، محدود شده‌اند [۳۸، ۳۹]. برای عملکرد مؤثر ممکن است به استفاده مکرر نیاز باشد. بنابراین، گرچه می‌توانند به راحتی توسط بیماران استفاده شوند، اما اثر بی‌حسی کند و ناقص است. برای غلبه بر این محدودیت‌ها، سامانه‌های دارورسانی متعددی شامل فیلم‌ها [۴۰، ۴۱]، میکروذرات [۴۲] و حامل‌های تزریقی [۲۹] برای رهایش لیدوکائین با حداکثر راندمان آزادسازی ۴۰ تا ۵۰ درصد گزارش شده است. با توجه به مرور تحقیقات انجام شده ملاحظه می‌گردد با آنکه تا به حال تحقیقات متعددی روی استفاده از ژلاتین و کربوکسی متیل سلولز جهت دارورسانی انجام گرفته است، ولیکن تاکنون مطالعات کافی در زمینه‌ی افزایش راندمان آزادسازی دارو در pH پوست ارائه نشده است. بنابراین جهت رسیدن به حداکثر رهایش داروی لیدوکائین هیدروکلراید بارگذاری شده و جلوگیری از تکرار تجویز دوزهای متعدد، نیاز به اصلاح و بهبود دارند.

هیدروژل‌ها به دلیل کاربردهای زیست پزشکی و دارورسانی، در طی چند دهه‌ی اخیر مورد توجه دانشمندان قرار گرفته‌اند [۱-۴]. هیدروژل‌ها را می‌توان به عنوان شبکه‌های سه بعدی آبدوست معرفی کرد که می‌توانند مقادیر زیادی آب یا مایعات بیولوژیکی را جذب و بدون از دست دادن یکپارچگی ساختاری خود، داروها را با سرعت کنترل شده آزاد کنند [۵-۹]. هیدروژل‌ها دارای ویژگی‌های منحصر به فردی هستند که مزایای زیادی برای استفاده از آن‌ها در کاربردهای دارورسانی ایجاد می‌کنند مانند توانایی کپسوله کردن زیست‌ماکرومولکول‌ها (شامل پروتئین‌ها و DNA) بدون شکست پیوندهای ضعیف^۱ در این گونه‌ها، شرایط دسترسی نسبتاً راحت، امکان انجام بیشتر واکنش‌ها در دمای اتاق و استفاده بسیار کم از حلال‌های آلی [۶، ۱۰]. بسیاری از پلیمرهای طبیعی و مصنوعی در سنتز هیدروژل‌ها برای کاربردهای مختلف استفاده شده‌اند [۲]. در این میان پلیمرهای طبیعی به دلیل جذب بالای آب، غیرسمی بودن، زیست‌سازگاری و زیست‌تخریب‌پذیری به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۱-۱۳]. تحقیق حاضر به توسعه هیدروژل‌های بر پایه‌ی پلیمرهای طبیعی، مانند ژلاتین^۲ (به عنوان یک پروتئین بدست آمده از هیدرولیز کلاژن) و سدیم کربوکسی متیل سلولز^۳ (یک پلی‌ساکارید مشتق شده از سلولز) اختصاص دارد. ژلاتین (Gel) به دلیل حضور گروه‌های آمین و کربوکسیلیک در زنجیره ماکرومولکولی خود، ویژگی آمفوتریک دارد [۱۴، ۱۳]. نسبت بین تعداد گروه‌های اسیدی و بازی، pH ایزوالکتریک^۴ (pH_{IE}) ژلاتین را تعیین می‌کند. نقطه ایزوالکتریک برای پروتئین‌ها یک پارامتر بسیار مهم است و به عنوان یک pH تعریف می‌شود که در آن بار خالص مولکول پروتئین صفر است. بر این اساس، پروتئین‌ها در pH کمتر از نقطه ایزوالکتریک خود (pH < pH_{IE}) دارای بار مثبت و در pH بالاتر از آن (pH > pH_{IE}) دارای بار منفی هستند [۱۵، ۱۶]. نقطه ایزوالکتریک ژلاتین حدود ۳/۸ است. از سوی دیگر، ژلاتین به دلیل تعداد زیاد گروه‌های عاملی، به راحتی شبکه‌ای می‌شود و می‌توان پایداری حرارتی و استحکام مکانیکی آن را بهبود بخشید [۱۷]. از عوامل اتصال عرضی متعددی مانند کندرویتین سولفات^۵ [۱۸]، گلوکارآلدهید^۶ [۱۹]، کربودی‌ایمید^۷ [۲۰] و فرمالدهید^۸ [۲۱] استفاده شده است. یکی دیگر از راه‌های تثبیت زنجیره‌های ژلاتین، ایجاد کمپلکس پلی‌الکترولیتی آن با پلیمرهای طبیعی دیگر

- 1-Denaturation
- 2-Gelatin
- 3-Sodium carboxymethylcellulose
- 4-Isoelectric pH
- 5-Chondroitin sulfate
- 6-Glutaraldehyde
- 7-Carbodiimide
- 8-Formaldehyde

- 1-Buhs
- 2-Nonpharmacologic
- 3-Pain signal transduction cascades
- 4-Propagation of action potentials

پلیمر استفاده شد. لیدوکائین-هیدروکلراید (وزن مولکولی g/mol ۲۸۸/۸۱) به عنوان دارو از شرکت شیمیایی داروپخش فراهم شد. از آب یون زدایی شده^۱ (DI) برای حل کردن پلیمرها استفاده گردید. تمامی مواد شیمیایی در این تحقیق بدون خالص سازی مجدد مورد استفاده قرار گرفتند.

۲-۲ روش کار

روش سنتز میکروکپسول: میکروکپسول های هیدروژلی Gel/NaCMC در محیط امولسیون مطابق شکل ۱ سنتز گردیدند [۲۷،۲۸]. بدین صورت که ابتدا ژلاتین در آب یون زدایی شده با دمای °C ۳۵ به مدت ۳۰ دقیقه همزده شد. سپس داروی لیدوکائین-هیدروکلراید به آن اضافه شد. به منظور جلوگیری از کلوخه شدن و انحلال سریع، NaCMC به طور جداگانه در آب بدون یون در دمای °C ۴۵ همزده شد. پس از سرد شدن در دمای اتاق به محلول Gel و دارو اضافه گردید و تا رسیدن به محلول همگن تحت همزن مغناطیسی قرار گرفت. این محلول به آرامی به بشر حاوی ۱۰۰ میلی لیتر پارافین مایع حاوی اسپن ۸۰ (۰/۵ wt/wt) اضافه و با همزن مکانیکی (۲۰۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۴۰ دقیقه همزده شد. اسید استیک ۰/۱ مولار برای ایجاد محیط اسیدی (pH=۳/۸) به صورت قطره ای اضافه گردید. گلو تار آلدهید به عنوان عامل شبکه ای کننده جهت ایجاد اتصال عرضی هیدروژل در امولسیون آب/روغن به آهستگی به مخلوط اضافه و به مدت ۴ ساعت همزدن ادامه یافت. میکروذرات بدست آمده از پارافین مایع با کاغذ صافی 1-Deionized Water

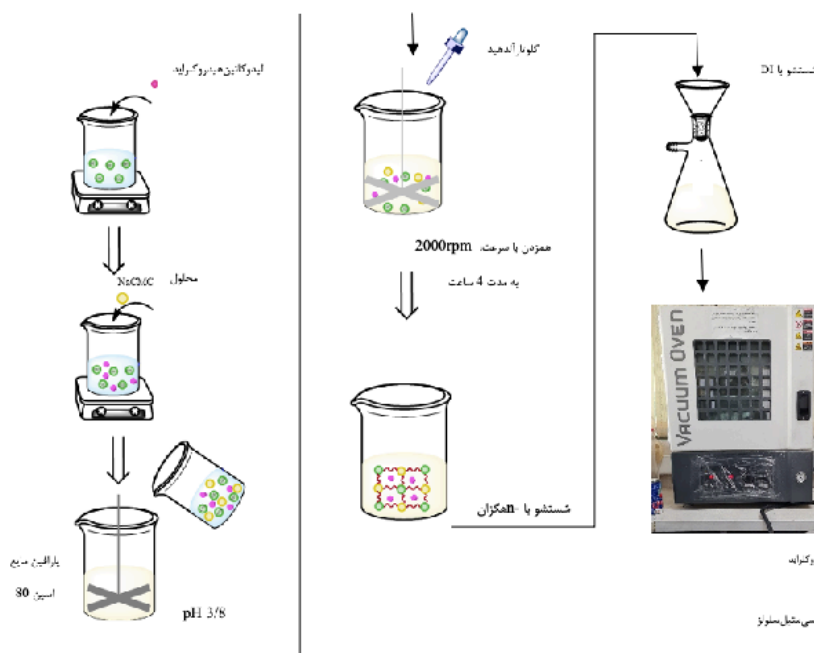
هدف از این پژوهش، تهیه و ارزیابی میکروکپسول های هیدروژلی زیست سازگار بر پایه ی ژلاتین/سدیم کربوکسی متیل سلولز به عنوان سامانه جدید دارورسانی با حداکثر بازده داروی بارگذاری شده برای رهایش در pH=۵/۵ بود. برای سنتز میکروکپسول های Gel/NaCMC، پلیمرها در محیط امولسیون پارافین و عامل سطح فعال با استفاده از گلو تار آلدهید (GTA) به عنوان عامل اتصال عرضی، شبکه ای شدند. مشخصات ساختاری هیدروژل با استفاده از FTIR و XRD برای درک شکل گیری ساختار شبکه ای بین پلیمرها و تأیید عدم وجود تعاملات شیمیایی بین دارو و پلیمرها تعیین شد. همچنین جهت مطالعه ریخت شناسی سطح و اندازه ذرات از میکروسکوپ الکترونی نوری و SEM استفاده گردید. اثر پارامترهای مقدار عامل شبکه ای کننده، مقدار NaCMC و مقدار دارو در ساختار بر توانایی تورم هیدروژل ها در pH پوست و در نتیجه بازده داروی بارگذاری شده و همچنین اندازه ذرات مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد

جهت سنتز میکروکپسول های هیدروژلی از ژلاتین نوع A (bloom 300، سدیم کربوکسی متیل سلولز (وزن مولکولی ۲۵۰ kDa، DS ۰/۹)، گلو تار آلدهید (محلول ۲۵٪ در آب)، اسید استیک^۱، سوربیتان مونوئلیت^۲ (اسپن ۸۰)، n-هگزان از شرکت سیگما آلد ریچ و پارافین مایع بهداشتی (جرم حجمی ۰/۸۷ g/ml) از شرکت رز

- 1-Acetic acid
- 2-Sorbitan monooleate



شکل ۱: فرآیند سنتز میکروکپسول Gel/NaCMC

بهینه استفاده کرد، بصورت معادله ۱ است.

$$Y = \beta_0 + \sum_{(i=1)}^k \beta_i x_i + \sum_{(i=1)}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{(ii \leq j)}^k \beta_{ij} x_i x_j + \dots + e \quad (1)$$

در این معادله، متغیر Y پاسخ، i ثابت خطی، j ثابت درجه دوم، β ثابت رگرسیون، k تعداد فاکتورهای بررسی و بهینه شده در آزمایش‌ها و e خطای تصادفی است. کیفیت برازش الگوی چندجمله‌ای با ضریب تشخیص R^2 بیان گردید.

۲-۴-آزمون‌ها

به منظور بررسی ساختار شبکه‌ای شده Gel و NaCMC دستگاه طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR) مدل TENSOR ساخت شرکت Bruker آلمان مورد استفاده قرار گرفت. جهت تأیید عدم واکنش دارو با پلیمرهای مورد استفاده آزمون پراش پرتو اشعه ایکس (XRD) بر نمونه دارو، میکروکپسول‌های بدون دارو و حاوی دارو انجام گردید. برای اندازه‌گیری میزان تورم، ۵۰ میلی‌گرم از میکروکپسول‌ها تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند، سپس در کیسه دیالیز و بافر فسفات (pH = ۵/۵) دمای $37^\circ C$ قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت از حلال خارج، مقدار حلال باقی مانده با دستمال کاغذی حذف و با ترازوی دیجیتال Sartorius ۳۱۳ با دقت ± 0.1 میلی‌گرم وزن گردید. درصد تورم میکروکپسول هیدروژلی با معادله (۲) محاسبه گردید [۵]:

$$(2) \quad 100 \times \text{وزن میکروکپسول خشک} / (\text{وزن میکروکپسول خشک} - \text{وزن میکروکپسول متورم}) = \text{درصد تورم}$$

جهت ریخت‌شناسی و اندازه ذرات میکروکپسول‌ها از دستگاه الکترونی روبشی (FESEM) مدل MIRA3 شرکت TESCAN و

جدا گردید. برای حذف مواد آلی باقیمانده، با حلال n-هگزان و برای حذف پلیمرهای شبکه‌ای نشده سه بار با آب یون‌زدایی شده شستشو شدند. سپس در آون خلاء و دمای $37^\circ C$ خشک و در دسیکاتور نگهداری شدند.

۲-۳- طراحی آزمایشات

برای طراحی آزمایش‌ها و تحلیل داده‌ها در این مطالعه از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت^۱ نسخه ۱۰ و روش سطح پاسخ^۲ (RSM) براساس طرح مرکب مرکزی^۳ (CCD) و سه تکرار برای نقطه مرکزی استفاده شده است. RSM یک رویکرد مدلسازی تجربی است که برای ارزیابی چندین متغیر بر پاسخ‌های مورد نظر استفاده می‌شود [۴۳،۴۴]. مزیت استفاده از RSM در طراحی آزمایش این است که برای ایجاد وابستگی بین پارامترهای متغیر و نتایج مورد بررسی، تعداد آزمایشات کمی نیاز دارد. در تحقیق حاضر، سه پارامتر: مقدار (A) NaCMC، مقدار گلوپتارآلدئید (B) و مقدار لیدوکائین هیدروکلراید (C) بر بازده داروی بارگذاری شده، تورم و میانگین اندازه ذرات مورد بررسی قرار گرفت. جدول ۱ متغیرهای مستقل در پنج سطح ۱- (حداقل)، α ، ۰ (نقطه مرکزی)، α و ۱+ (حداکثر) را نشان می‌دهد. باتوجه به سه پارامتر متغیر و سه تکرار در نقطه مرکزی، تعداد ۱۷ نمونه برای طراحی آزمایش طبق جدول ۱ در نظر گرفته شد.

الگوی معادله درجه دو آماری که می‌توان از آن برای پیش‌بینی شرایط

- 1-Design of expert
- 2-Response surface methodology
- 3-Central Composite Designs

جدول ۱: مقدار پارامترهای مستقل در ۵ سطح و نتایج به دست آمده از آزمون‌های تجربی

شماره نمونه	متغیرها			نتایج	
	A (%)	B (%)	C (%)	تورم (%)	میانگین اندازه ذره (um)
۱	۱۵۰	۷/۵	۴۶/۸	۳۶/۱	۳۹۵/۲
۲	۱۵۰	۷/۵	۳۰/۰	۲۳/۸	۴۶۶/۵
۳	۲۰/۰	۱۰/۰	۲۰/۰	۱۸/۲	۳۴۲/۶
۴	۲۰/۰	۱۰/۰	۴۰/۰	۱۹/۱	۳۵۸/۲
۵	۳۳/۴	۷/۵	۴۰/۰	۲۹/۱	۴۹۶/۴
۶	۱۵۰	۱۷/۷	۳۰/۰	۱۱/۵	۲۳۴/۲
۷	۱۰/۰	۵۰	۴۰/۰	۴۴/۸	۴۹۸/۲
۸	۱۰/۰	۵۰	۲۰/۰	۴۴/۴	۵۰۷/۴
۹	۱۵۰	۷/۵	۱۳/۲	۲۲/۱	۴۰۳/۵
۱۰	۶/۴	۷/۵	۳۰/۰	۳۷/۳	۳۶۹/۱
۱۱	۱۵۰	۳/۳	۳۰/۰	۳۷/۵	۵۵۷/۴
۱۲	۱۰/۰	۱۰/۰	۲۰/۰	۲۱/۲	۳۱۰/۸
۱۳	۲۰/۰	۵۰	۲۰/۰	۴۰/۴	۵۴۰/۹
۱۴	۱۵۰	۷/۵	۲۰/۰	۲۳/۴	۴۶۶/۵
۱۵	۱۰/۰	۱۰/۰	۴۰/۰	۲۳/۴	۲۹۵/۳
۱۶	۱۵۰	۷/۵	۳۰/۰	۲۳/۷	۴۶۶/۵
۱۷	۲۰/۰	۵۰	۴۰/۰	۴۱/۴	۵۰۸/۳

تصاویر به دست آمده از میکروکپسول‌های هیدروژلی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نوری و روبشی در شکل ۲ و ۳ مشاهده می‌شود. میکروکپسول‌های تهیه شده در این مطالعه دارای اشکال منظم کروی یا سطوح نسبتاً ناهموار بودند. وجود منافذ بر سطوح ناهموار (با فلش مشخص شده) نشان‌دهنده تسهیل نفوذ حلال در داخل و خارج از هیدروژل است. سطوح میکروکپسول‌های تهیه شده با NaCMC بالاتر، کمترین ناهمواری را در مقایسه با سایر ذرات نشان دادند (شکل ۳-الف). همچنین وجود مقدار مناسب گلوکارآلدهید به ایجاد منافذ بر سطح میکروذره کمک می‌کند [۴۵].

افزایش مقدار گلوکارآلدهید باعث افزایش چگالی اتصال عرضی و در نتیجه کاهش اندازه منافذ می‌گردد (شکل ۳-ج). میکروکپسول‌ها حاوی منافذ کوچک برای انتشار پایدار در طی مدت زمان طولانی دارو ترجیح داده می‌شوند، زیرا می‌توانند حلال‌ها را برای مدت بیشتری حفظ کنند. وجود کریستال‌های لیدوکائین هیدروکلراید بر سطوح هیدروژل حاوی مقدار داروی بالاتر (شکل ۳-د) نشان می‌دهد که دارو تا حدی کپسوله نشده است [۲۶].

۳-۲ شناسایی ساختار هیدروژل‌ها

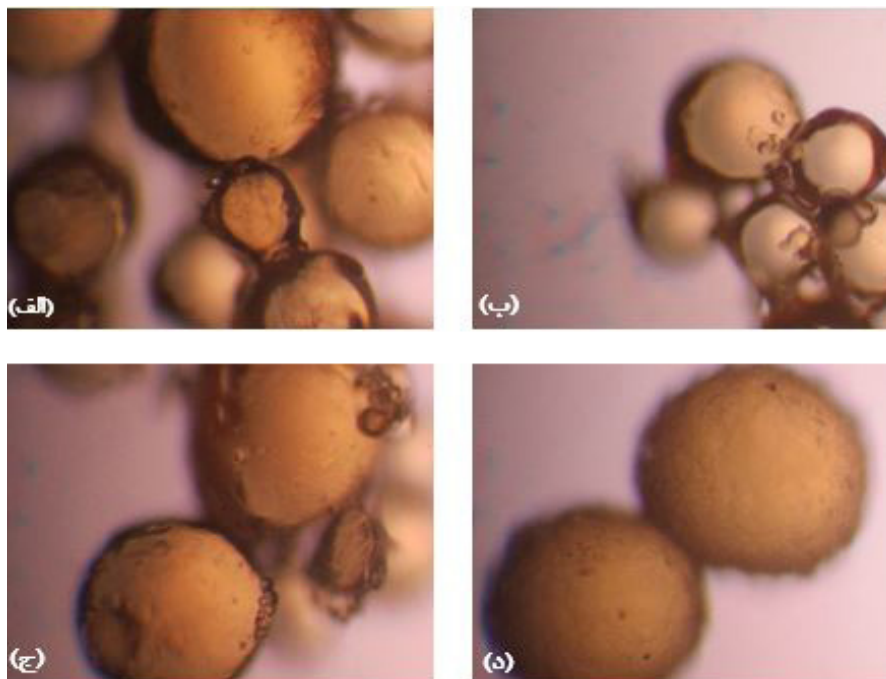
جهت بررسی ساختار شبکه‌ای هیدروژل‌ها و تغییرات گروه‌های عاملی زنجیره‌های پلیمری از طیف‌سنجی FTIR استفاده شد. طیف لیدوکائین هیدروکلراید، NaCMC، Gel، هیدروژل بدون دارو و حاوی دارو در شکل ۴ مشاهده می‌شود. در طیف مادون قرمز پیک‌های مشخصه لیدوکائین هیدروکلراید، پیک N-H کششی در

میکروسکوپ نوری مدل CX21 شرکت OLYMPUS استفاده شد. راندمان رهایش داروی بارگذاری شده با دستگاه طیف‌سنجی مرئی و فرابنفش (UV-Vis spectrophotometer)، مدل LAMBDA 365 شرکت PerkinElmer اندازه‌گیری شد. در این روش، ابتدا دارو با غلظت‌های مشخص (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در بافر (pH = ۵/۵) در محدوده ۲۰۰-۵۰۰ نانومتر با دستگاه UV-Vis spectrophotometer روبش شد. مقادیر جذب شده در ۲۶۳ نانومتر متناظر با غلظت لیدوکائین-هیدروکلراید در نظر گرفته شد و منحنی کالیبراسیون رسم گردید. ۱ گرم از میکروکپسول هیدروژلی خشک در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر (pH=۵/۵) و دمای (۳۷ C°) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. سپس با استفاده از دستگاه فراصوت پروب مدل 3200HD شرکت Bandelin به مدت ۱۰ دقیقه برای شکستن میکروکپسول در دستگاه فراصوت قرار داده شدند. برای حذف بقایای پلیمری، کل محلول با دستگاه مدل P3-16 شرکت Sigma سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی با دستگاه طیف‌سنجی مرئی و فرابنفش در حداکثر طول موج nm 263 ± 1 آنالیز گردید. راندمان رهایش مقدار داروی بارگذاری شده $(\%EE)$ به صورت معادله ۳ محاسبه شد [۲۶]:

$$\%EE = 100 \times (\text{مقدار کل دارو} / \text{مقدار داروی بارگذاری شده}) \quad (3)$$

۳-۳ نتایج و بحث ۳-۱ ریخت‌شناسی

1-Encapsulation efficiency



شکل ۲: تصاویر میکروسکوپ الکترونی نوری با بزرگنمایی 40x مربوط به (الف) نمونه ۸، (ب) نمونه ۱۵، (ج) نمونه ۷ و (د) نمونه ۴

ناحیه‌ی آمورف مشابه هیدروژل بدون دارو را ارائه داد. علاوه بر این ظاهر شدن پیک‌های مشخصه دارو در 26° و $20=14^\circ$ در نمونه‌ها نشان می‌دهد که دارو در ساختار هیدروژل حالت کریستالی خود را حفظ و عدم برهمکنش بین دارو و بستر پلیمری را تأیید می‌کند. همچنین مشاهده شد که با افزایش میزان دارو، پیک مشخصه دارو، شدت یافت.

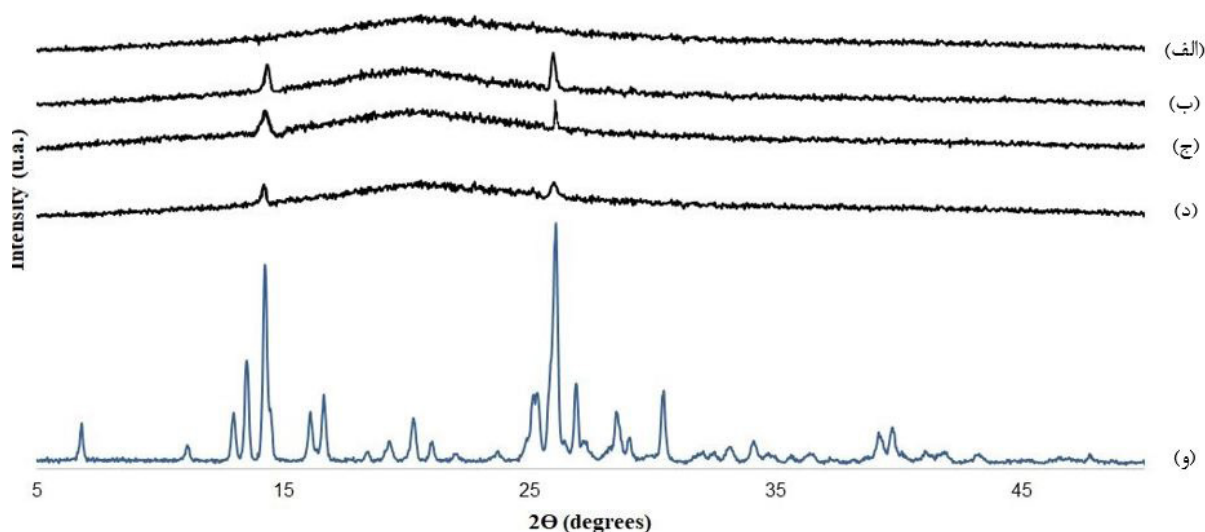
۳-۴- تحلیل آماری

نتایج داده‌های تجربی به دست آمده توسط متغیرهای مستقل در جدول ۱ نشان داده شده است. به منظور انتخاب الگو-های تجربی برای پیش بینی پاسخ، رابطه‌های خطی (A، B و C)، برهمکنش‌ها (AB، AC و BC) و چند جمله‌ای درجه دوم (A^2 و B^2 و C^2) بر داده‌های به دست آمده برازش و سپس این الگوها تحلیل آماری شد تا الگوی مناسب گزینش شود. مدل-های ریاضی پیشنهادی نرم‌افزار برای درصد بازده داروی بارگذاری شده و تورم، مدل درجه دوم و برای میانگین اندازه ذرات، مدل خطی می‌باشند که با داده‌های تجربی مطابقت دارند. با توجه به مدل‌های

و پلیمرها وجود ندارد. لازم به ذکر است که در هیدروژل حاوی دارو، جذب مشاهده شده در 1654 cm^{-1} با پیک آمید ژلاتین همپوشانی دارد، به همین علت آزمون XRD برای تأیید پایداری لیدوکائین هیدروکلراید در هیدروژل انجام شد.

۳-۳- بررسی حفظ ساختار کریستالی لیدوکائین هیدروکلراید در سامانه توسط پراش پرتو ایکس (XRD)

شکل ۵ نشان دهنده منحنی‌های پراش پرتو ایکس لیدوکائین هیدروکلراید، هیدروژل حاوی دارو و بدون دارو است. این آزمون یک تکنیک غیرمخرب است که برای بررسی ساختار کریستالی و تشکیل کمپلکس بین پلیمرها و دارو انجام شد. همانطور که در شکل مشخص است، الگوی پراش میکروکپسول هیدروژلی بدون دارو (شکل ۳ الف) پیک وسیعی را در $21=20^\circ$ ارائه داد که نشان دهنده حالت آمورف است. در حالیکه لیدوکائین هیدروکلراید به دلیل ماهیت بسیار کریستالی خود، پیک‌های تیز متعددی نشان می‌دهد. پراش نمونه میکروکپسول هیدروژل حاوی دارو (۱، ۲ و ۹)



شکل ۵: نمودارهای XRD (الف) هیدروژل بدون دارو، (ب) هیدروژل نمونه ۱، (ج) هیدروژل نمونه ۲، (د) هیدروژل نمونه ۹ و (و) لیدوکائین هیدروکلراید

جدول ۲: مدل‌های پیشنهادی برای پاسخ‌های مورد بررسی

p-value	ضریب تشخیص	مدل	حداکثر	حداقل	واحد	پاسخ
	R^2					
< 0.0001	۰/۹۹	Quadratic	۶۳/۶	۸/۵	%	R1 راندمان رهایش دارو
< 0.0001	۰/۹۹	Quadratic	۴۷۳/۵	۱۱۰/۵	%	R2 تورم
< 0.0001	۰/۹۵	Linear	۵۷۷/۴	۲۳۳/۲	μm	R3 میانگین اندازه ذرات

بیشترین تأثیر را بر تورم می‌گذارند. اثرات متقابل پارامترهای مستقل (A^2) NaCMC و (AB, AC, BC) و همچنین توان دوم (C^2) دارو به دلیل تأثیر ناچیز از معادله رگرسیون حذف می‌شوند. از این رو معادله رگرسیون برای درصد تورم ($\%Swelling$) به صورت معادله ۴ به دست می‌آید.

(۴) $Swelling\% = +18.18 - 0.61 \times A - 3.26 \times B + 0.31 \times C - 0.72 \times B^2$
 شکل ۶ تأثیر پارامترهای مستقل بر میزان تورم را نشان می‌دهد. pH اسیدی محیط باعث پروتونه شدن گروه‌های آمین آزاد Gel می‌شوند که منجر به دفعه الکترواستاتیکی بین آن‌ها و تورم شبکه پلیمری می‌گردد. از سوی دیگر، گروه‌های کربوکسیلیک آزاد با گروه‌های هیدروکسیل NaCMC ممکن است توسط برهمکنش‌های هیدروژنی قوی یا لاکتونیزاسیون بین مولکولی منجر به انقباض شبکه پلیمری شوند. از این رو، افزایش NaCMC در ساختار باعث کاهش تورم هیدروژل می‌گردد. یافته‌های مشابهی توسط تاتارو [۶] و خان [۱۳] گزارش شده است. همانطور که از نتایج جدول ۱ استنباط می‌شود، با افزایش مقدار عامل شبکه‌ای کننده از ۵٪ به ۱۱٪، تورم به طور قابل توجهی از ۴۷۳٪/۵ به ۱۱۰٪/۵ کاهش می‌یابد. به عبارت دیگر، تشکیل یک ساختار شبکه‌ای سخت در غلظت بالاتر از گلوپتارآلدئید منجر به کاهش جذب آب می‌گردد. همچنین بررسی نمونه‌های حاوی مقادیر مختلف دارو نشان داد که افزایش دارو نسبتاً باعث افزایش تورم می‌شود. دلیل این امر دفعه الکترواستاتیکی بین بارهای همنام

پیشنهادی، مقدار R^2 (ضریب تشخیص) برای راندمان رهایش داروی بارگذاری شده، تورم و میانگین اندازه ذرات به ترتیب برابر ۰/۹۹، ۰/۹۹ و ۰/۹۵ می‌باشد (جدول ۲) که نشان‌دهنده همپوشانی داده‌های بدست آمده از نتایج آزمایشگاهی و مقادیر پیش‌بینی شده توسط مدل ارائه شده است. برای بهینه‌سازی پاسخ، یعنی بیشترین مقدار راندمان رهایش دارو و تورم، از آنالیز آماری واریانس با مدل پیشنهادی استفاده شد. مدل درجه دوم به طور کلی با معادله ۱ نمایش داده می‌شود. ضرایب معادله با تجزیه و تحلیل رگرسیون چندگانه از نتایج تجربی محاسبه می‌شوند. معنادار بودن و یا نبودن هر کدام از ضرایب مدل رگرسیون توسط p-value مشخص می‌شود. هر چه p-value برای یک پارامتر و یا اثرات متقابل دو پارامتر کمتر باشد، تأثیر آن پارامتر بر پاسخ نهایی بیشتر و قابل توجه‌تر می‌شود (جدول ۳). p-value کمتر از ۰/۰۰۰۱ به عنوان پارامترهای مؤثر بر پاسخ در نظر گرفته می‌شوند.

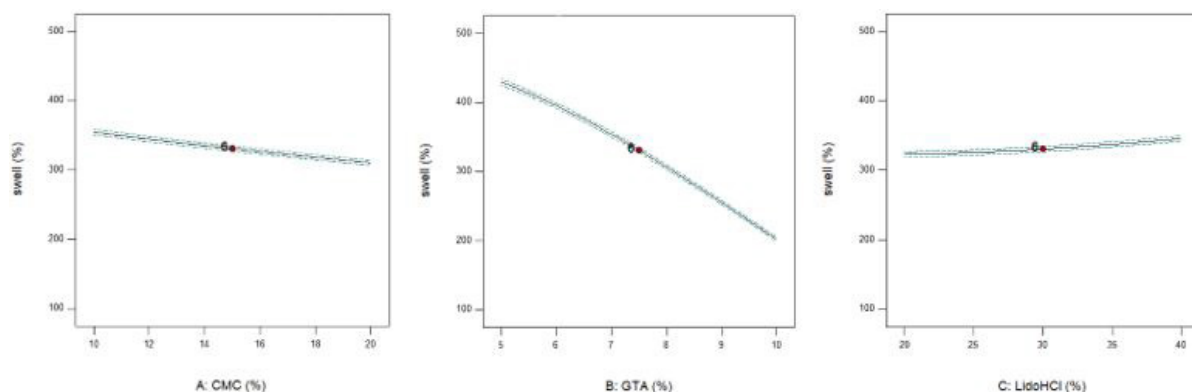
۳-۴-۱- تورم

به عنوان یک عامل مهم، تورم شاخص خوبی برای ارزیابی میکروکپسول‌های هیدروژلی در آزادسازی دارو است. با توجه به نتایج بدست آمده در جدول ۳ اثرات خطی درصد NaCMC (A)، درصد گلوپتارآلدئید (B)، درصد لیدوکائین‌هیدروکلراید (C) و توان دوم عامل شبکه‌ای کننده (B^2) با p-value کمتر از ۰/۰۵

جدول ۳: آنالیز واریانس پارامترها

پارامتر	راندمان رهایش دارو (%)		تورم (%)		میانگین اندازه ذرات (µm)	
	p-value	اهمیت*	p-value	اهمیت*	p-value	اهمیت*
A-CMC	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت**	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*
B-GTA	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*
C-LidoHCl	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*
AB	۰/۱۹۱۴	کم اهمیت***	۰/۱۱۷۲۹	کم اهمیت	۰/۳۳۶۰	کم اهمیت
AC	۰/۵۴۸۴	کم اهمیت	۰/۲۷۷۰	کم اهمیت	۰/۰۸۲۵	کم اهمیت
BC	۰/۳۷۷۶	کم اهمیت	۰/۰۴۷۷	کم اهمیت	۰/۹۱۸۸	کم اهمیت
A ²	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*	۰/۳۲۵۵	کم اهمیت	۰/۹۹۶۳	کم اهمیت
B ²	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*	۰/۰۸۵۳	کم اهمیت
C ²	< ۰/۰۰۰۱	پراهمیت*	۰/۰۰۸۲	کم اهمیت	۰/۲۴۲۰	کم اهمیت

importance *
 significant **
 Not significant ***



شکل ۶: اثر پارامترهای مستقل بر میزان تورم میکروکپسول‌های هیدروژلی

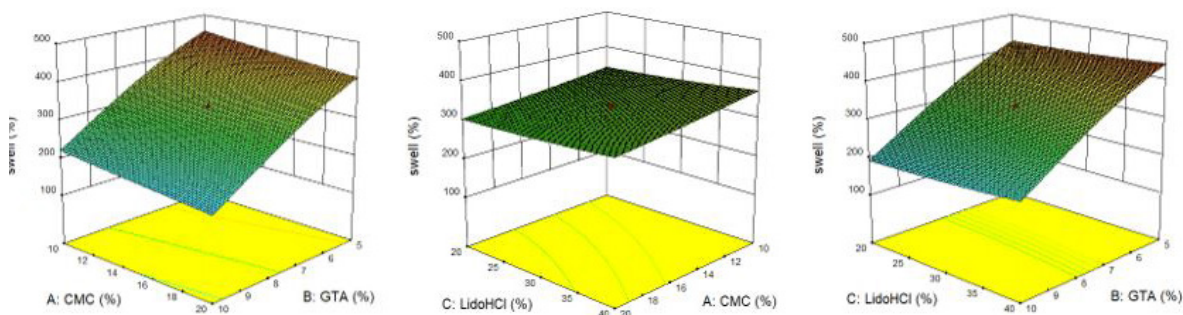
به دست می‌آید.

شکل ۸ تأثیر هر کدام از پارامترها را بر رهایش دارو مشخص می‌کند. باتوجه به نتایج، مهمترین پارامتر مؤثر بر میزان راندمان رهایش دارو، مقدار گلوکارآلدئید است. برای تشریح اثر عامل شبکه‌ای کننده بر رهایش دارو، نمونه‌های میکروکپسول با درصد‌های مختلف گلوکارآلدئید (۳/۲۹٪، ۵٪، ۷/۵٪، ۱۰٪ و ۱۱/۷۰٪) مورد بررسی قرار گرفت. کمترین نرخ آزادسازی دارو در نمونه ۶ مشاهده شد. همانطور که در بررسی تورم توضیح داده شد، ساختار سخت میکروکپسول باعث کاهش تورم و در نتیجه کاهش درصد راندمان دارو می‌گردد. به عبارت دیگر، افزایش مقدار عامل شبکه‌ای کننده، باعث افزایش نیروی اتصال گلوکارآلدئید با Gel و NaCMC می‌شود و همچنین چگالی اتصال عرضی افزایش می‌یابد، در نتیجه انتشار دارو به حداقل می‌رسد. همچنین افزایش NaCMC در ساختار باعث کاهش تورم می‌گردد که به نوبه‌ی خود باعث آزاد شدن کمتر دارو می‌گردد. مطالعه اثر مقدار رهایش داروی بارگذاری شده در میکروکپسول‌ها، با درصد‌های مختلف دارو (۱۳/۱۸٪، ۲۰٪، ۳۰٪، ۴۰٪ و ۴۶/۸۱٪) نشان داد که میکروکپسول حاوی داروی بیشتر، راندمان نسبتاً بالاتری دارند. اثرات متقابل متغیرها که باعث ایجاد اشکال مختلف نمودارهای

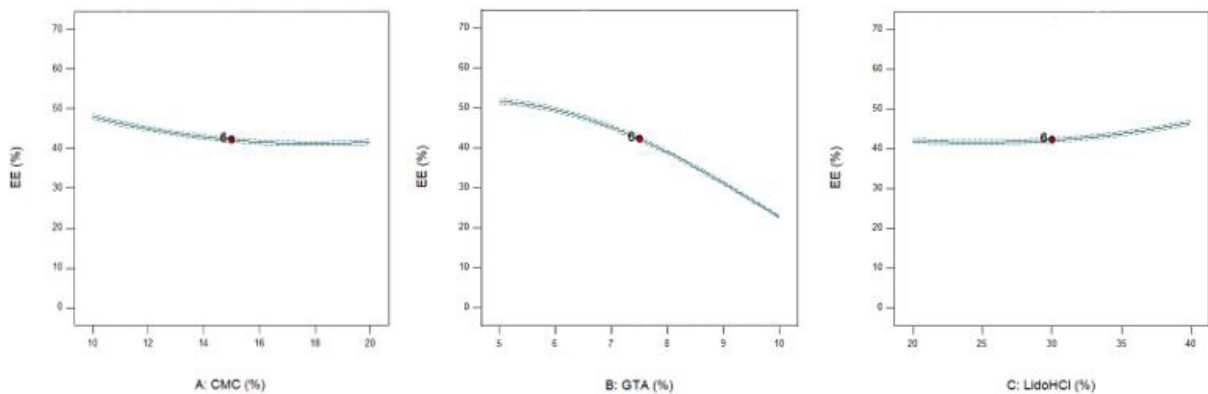
لیدوکائین هیدروکلراید و NaCMC است که منجر به انبساط زنجیره‌های شبکه پلیمری می‌گردد. برای توضیح بهتر روابط و تعاملات بین پارامترهای مستقل و درصد تورم، نمودارهای سطح پاسخ سه‌بعدی در شکل ۷ نشان داده شده است. بیشترین درصد تورم در مقادیر پایین گلوکارآلدئید و NaCMC مشاهده شد. باتوجه به شکل ۷، در مقادیر NaCMC ۱۵٪، گلوکارآلدئید ۳/۲۹٪ و دارو ۳۰٪ حداکثر تورم ۴۷۳/۵٪ به دست آمد.

۳-۴-۲- اثر مقدار NaCMC، دارو و عامل شبکه‌ای کننده بر راندمان رهایش داروی بارگذاری شده

برای درک رهایش دارو از میکروکپسول هیدروژلی Gel/ NaCMC حاوی لیدوکائین هیدروکلراید، آزمایش در شرایط پوست (در ۵/۵ pH و دمای ۳۷ C°) انجام شد. همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است مقدار NaCMC، دارو، عامل شبکه‌ای کننده و همچنین مقدار مربع آن‌ها بر درصد رهایش داروی بارگذاری شده اثرگذار هستند، اما اثر متقابل پارامترهای مستقل (AB، AC و BC) به دلیل p-value بیشتر از ۰/۰۵ کم اهمیت می‌باشند. از این‌رو معادله درجه دوم رگرسیون برای درصد رهایش داروی بارگذاری شده (EE٪) به صورت معادله ۵



شکل ۷: نمودارهای سطح پاسخ سه‌بعدی متغیرهای مستقل بر درصد تورم میکروکپسول‌های هیدروژلی



شکل ۸: اثر پارامترهای مستقل بر راندمان رهایش داروی بارگذاری شده

هیدروژلی دارند. ولی توان دوم (A^2 و B^2 و C^2) و اثرات متقابل پارامترهای مستقل (AB ، AC و BC) با p -value کمتر از ۰/۰۵ به دلیل تأثیر ناچیز از معادله رگرسیون حذف می‌شوند. از این رو معادله رگرسیون برای میانگین اندازه ذرات (Mean Particle Size) به صورت معادله ۷ محاسبه شد.

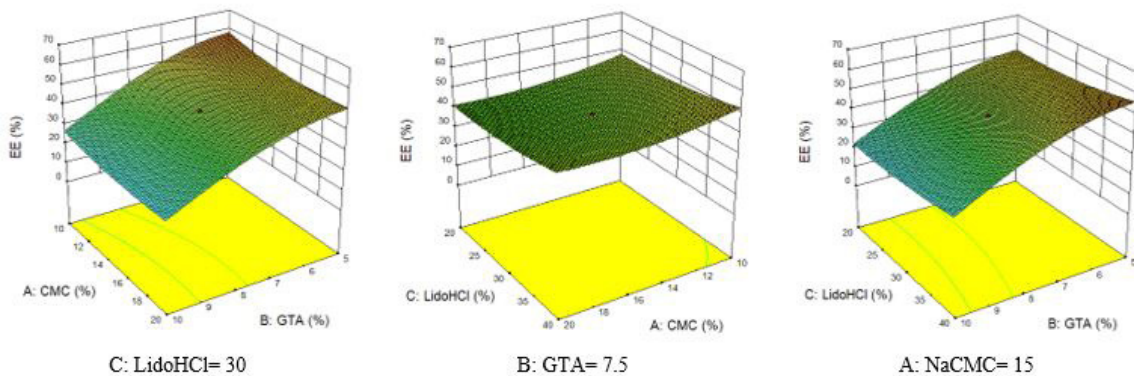
$$\text{Mean Particle Size} = +416.10 + 27.29 \times A - 91.62 \times B - 4.07C \quad (7)$$

تأثیر هرکدام از پارامترهای مستقل در شکل ۱۰ نشان داد که میانگین اندازه ذرات با افزایش مقدار NaCMC افزایش می‌یابد. در مقادیر بالاتر NaCMC، ویسکوزیته محلول پلیمر افزایش می‌یابد و مانع از خروج حباب‌ها از محلول می‌شود، بنابراین

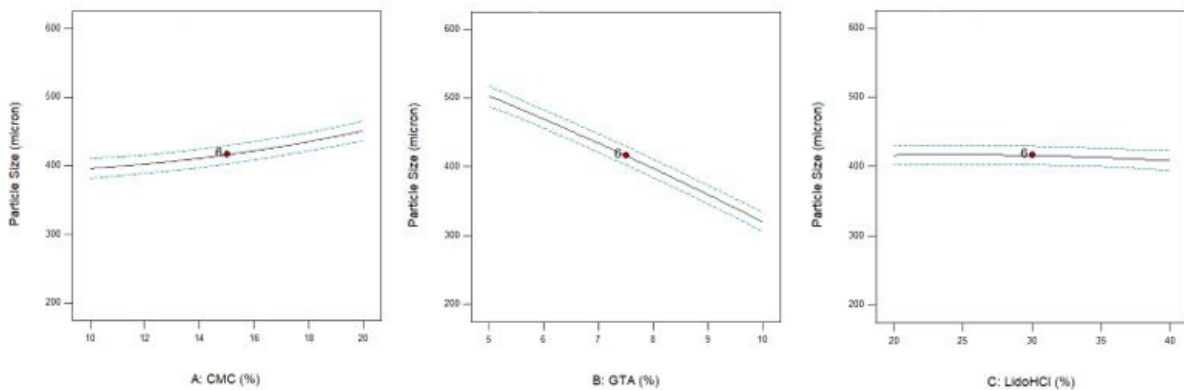
سطح پاسخ می‌شود در شکل ۹ نشان داده شده است. با توجه به نمودارها بیشترین مقدار راندمان رهایش دارو در مقادیر پایین گلوکارآلدهید و NaCMC اتفاق می‌افتد. حداکثر راندمان رهایش دارو در نمونه حاوی NaCMC ۱۰٪، گلوکارآلدهید ۵٪ و دارو ۴۰٪ مشاهده شد.

۳-۴-۳ بررسی میانگین اندازه ذرات

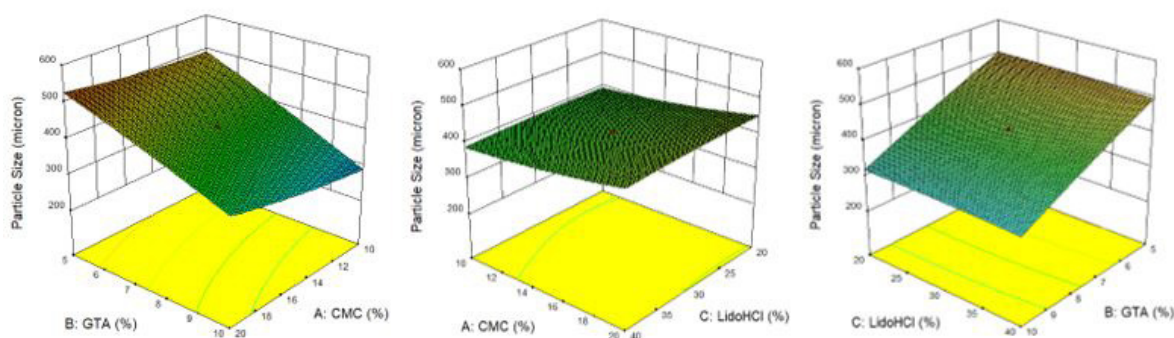
همانطور که در جدول ۳ نشان داده است، اثرات خطی درصد NaCMC (A)، درصد گلوکارآلدهید (B)، درصد لیدوکائین-هیدروکلراید (C) مهمترین تأثیر را بر اندازه میکروکپسول‌های



شکل ۹: نمودارهای سطح سه بعدی متغیرهای مستقل بر درصد راندمان رهایش داروی بارگذاری شده



شکل ۱۰: اثر پارامترهای مستقل بر میانگین اندازه ذرات



شکل ۱۰: اثر پارامترهای مستقل بر میانگین اندازه ذرات

شبکه پلیمری می‌گردد. همچنین افزایش گلوکارآلدئید باعث افزایش چگالی اتصال عرضی هیدروژل و در نتیجه کوچک‌تر شدن اندازه ذرات و کاهش تورم می‌شود. با توجه به اینکه هدف این تحقیق دست یافتن به بیشترین مقدار راندمان رهایش داروی بارگذاری شده می‌باشد، نقطه بهینه با مقادیر $NaCMC$ ۱۰٪، گلوکارآلدئید ۵٪ و دارو ۴۰٪ حاصل شد. همچنین تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی نوری و SEM، میکروکپسول‌های سنتز شده را کروی شکل و سطح آن‌ها را با کمی ناهمواری نشان دادند. با در نظر گرفتن نتایج به دست آمده، می‌توان امیدوار بود که توسعه میکروکپسول‌های هیدروژلی $Gel/NaCMC$ به عنوان یک رویکرد جدید برای ارائه اثر بخشی مطلوب دارورسانی از طریق پوست مورد توجه قرار گیرد.

قطرات بزرگتری در طول آماده‌سازی امولسیون تشکیل می‌شود که در حضور گلوکارآلدئید سخت می‌شوند. بالعکس، افزایش مقدار عامل شبکه‌ای کننده منجر به تشکیل میکروکپسول‌های کوچک‌تر می‌گردد. به عبارت دیگر، افزایش غلظت گلوکارآلدئید، چگالی اتصال عرضی و در هم تنیدگی فیزیکی بین Gel و $NaCMC$ را افزایش می‌دهد که به نوبه‌ی خود منجر به کاهش اندازه مش می‌شود. همچنین با افزایش مقدار لیدوکائین هیدروکلرید از ۲۰٪ به ۳۰٪، تغییرات محسوسی در اندازه میکروکپسول‌ها مشاهده نمی‌شود. اما با افزایش دارو از ۳۰٪ به ۴۰٪، اندازه میکروکپسول سیر نزولی نشان داد. این روند می‌تواند به دلیل این واقعیت باشد که دافعه الکترواستاتیکی بین بار الکتریکی همانام دارو و $NaCMC$ منجر به خروج حباب‌ها از محلول و در نتیجه ایجاد قطرات کوچک‌تر می‌گردد.

نمودارهای سطح پاسخ سه بعدی در شکل ۱۱ مشاهده می‌شود. باتوجه به نمودارها کمترین میانگین اندازه ذرات در مقادیر گلوکارآلدئید ۱۱/۷۰٪، $NaCMC$ ۱۵٪ و دارو ۳۰٪ مشخص شد.

۴- نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، میکروکپسول‌های هیدروژلی بر پایه‌ی $Gel/NaCMC$ به عنوان یک حامل تورم‌پذیر در pH پوست برای رهایش لیدوکائین هیدروکلرید در محیط امولسیونی سنتز شدند. سپس با آزمون‌های FTIR و XRD هویت‌شناسی شدند. با استفاده از روش پاسخ سطح، تأثیر پارامترهای مستقل شامل مقادیر $NaCMC$ ، گلوکارآلدئید و دارو بر درصد راندمان رهایش داروی بارگذاری شده، تورم و میانگین اندازه ذرات، مورد ارزیابی قرار گرفت. تحلیل آماری آنالیز واریانس پارامترها نشان داد که اثرات خطی پارامترهای مستقل بیشترین اثر را بر پاسخ‌های مورد بررسی دارند. نتایج حاصل از آزمون تورم مشخص کرد که افزایش $NaCMC$ در pH نسبتاً اسیدی باعث کاهش درصد انبساط

۵- مراجع

- [1] ن. کویایی، م. طاقه دلشاد، ا. قاسمی امینه، مروری بر هیدروژل‌ها، خواص و کاربرد آن‌ها در پزشکی، نشریه علمی پژوهشی مواد پیشرفته و پوشش‌های نوین 29-2116(1398)-2128
- [2] Jagur-Grodzinski J., "Polymeric gels and hydrogels for biomedical and pharmaceutical applications", *Polym. Adv. Technol.*, 21, 1, 27-47, 2010.
- [3] Gonzalez J. S., Mijangos C., Hernandez R., "Polysaccharide coating of gelatin gels for controlled BSA release", *Polymers (Basel)*, 11, 4, 2019.
- [4] Dash R., Foston M., Ragauskas A. J., "Improving the mechanical and thermal properties of gelatin hydrogels cross-linked by cellulose nanowhiskers", *Carbohydr. Polym.*, Elsevier Ltd., 91, 2, 638-645, 2013.
- [5] س. دن، م. کلانتری، سنتز نانوکامپوزیت هیدروژلی بر پایه کویلیم پیوندی کیتوسان/ایتاکونیک اسید و نانوذرات فلزی، نشریه علمی پژوهشی مواد پیشرفته و پوشش‌های نوین 38-2772 (1400)-2779
- [6] TATARU G., "Microparticles of Hydrogel Type Based on Carboxymethylcellulose and Gelatin", 56, 4, 399-410, 2011.
- [7] Kashyap N., Kumar N., Kumar M. N. V. R., "Hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications.", *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 22, 2, 107-149, 2005.
- [8] Dragan E. S., Perju M. M., Dinu M. V., "Preparation and characterization of IPN composite hydrogels based on polyacrylamide and chitosan and their interaction with ionic dyes", *Carbohydr. Polym.*, Elsevier Ltd., 88, 1, 270-281, 2012.
- [9] Peppas N. A., Bures P., Leobandung W., Ichikawa H., "Hydrogels in pharmaceutical formulations", *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 50, 1, 27-46, 2000.
- [10] Young S., Wong M., Tabata Y., Mikos A. G., "Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules", *J. Control. Release*, 109, 1-3, 256-274, 2005.
- [11] Thakur V. K., Thakur M. K., "Recent advances in green hydrogels from lignin: A review", *Int. J. Biol. Macromol.*, Elsevier B.V., 72, 834-847, 2015.
- [12] Thakur S., Sharma B., Verma A., Chaudhary J., Tamulevicius S., Thakur V. K., "Recent progress in sodium alginate based sustainable hydrogels for environmental applications", *J. Clean. Prod.*, Elsevier B.V., 198, 143-159, 2018.
- [13] Khan S., Anwar N., "Gelatin/carboxymethyl cellulose based stimuli-responsive hydrogels for controlled delivery of 5-fluorouracil, development, in vitro characterization, in vivo safety and bioavailability evaluation", *Carbohydr. Polym.*, Elsevier Ltd, 257, December 2020, 117617, 2021.
- [14] Xing Q., Yates K., Vogt C., Qian Z., Frost M. C., Zhao F., "Increasing mechanical strength of gelatin hydrogels by divalent metal ion removal", *Sci. Rep.*, 4, 1-10, 2014.
- [15] Liang H. C., Chang W. H., Liang H. F., Lee M. H., Sung H. W., "Crosslinking structures of gelatin hydrogels crosslinked with genipin or a water-soluble carbodiimide", *J. Appl. Polym. Sci.*, 91, 6, 4017-4026, 2004.
- [16] R. Schrieber H. G., "Gelatine Handbook", Wiley, Germany, 2007.
- [17] J-p D., B D., a V. D. V., a V. D. B., B B., E S., "In vitro release characteristics of bioactive molecules from dextran dialdehyde cross-linked gelatin hydrogel films. Proc 8th Int Symp on", *Recent Adv. Drug Deliv. Syst. Salt Lake City, USA*, 24-27 Febr., 19, 169-70, 1997.
- [18] Dawlee S., Sugandhi A., Balakrishnan B., Labarre D., Jayakrishnan A., "Oxidized chondroitin sulfate-cross-linked gelatin matrixes: A new class of hydrogels", *Biomacromolecules*, 6, 4, 2040-2048, 2005.
- [19] Devi N., Maji T. K., "Preparation and evaluation of gelatin/sodium carboxymethyl cellulose polyelectrolyte complex microparticles for controlled delivery of isoniazid", *AAPS PharmSciTech*, 10, 4, 1412-1419, 2009.
- [20] Kuijpers A. J., Engbers G. H. M., Feijen J., De Smedt S. C., Meyvis T. K. L., Demeester J. et al., "Characterization of the network structure of carbodiimide cross-linked gelatin gels", *Macromolecules*, 32, 10, 3325-3333, 1999.
- [21] De Carvalho R. A., Grosso C. R. F., "Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde", *Food Hydrocoll.*, 18, 5, 717-726, 2004.
- [22] Eyley S., Thielemans W., "Surface modification of cellulose nanocrystals", *Nanoscale*, 6, 14, 7764-7779, 2014.
- [23] Wang W., Wang Q., Wang A., "PH-responsive carboxymethylcellulose-g-poly(sodium acrylate)/ polyvinylpyrrolidone semi-IPN hydrogels with enhanced responsive and swelling properties", *Macromol. Res.*, 19, 1, 57-65, 2011.
- [24] Yang Z., Peng H., Wang W., Liu T., "Crystallization behavior of poly(ϵ -caprolactone)/layered double hydroxide nanocomposites", *J. Appl. Polym. Sci.*, 116, 5, 2658-2667, 2010.
- [25] Pourjavadi A., Barzegar S., Mahdavinia G. R., "MBA-crosslinked Na-Alg/CMC as a smart full-polysaccharide superabsorbent hydrogels", *Carbohydr. Polym.*, 66, 3, 386-395, 2006.
- [26] Rokhade A. P., Agnihotri S. A., Patil S. A., Mallikarjuna N. N., Kulkarni P. V., Aminabhavi T. M., "Semi-interpenetrating polymer network microspheres of gelatin and sodium carboxymethyl cellulose for controlled release of ketorolac tromethamine", *Carbohydr. Polym.*, 65, 3, 243-252, 2006.

- [27] Tabata Y., Ikada Y., "Synthesis of Gelatin Microspheres Containing Interferon", *Pharm. Res. An Off. J. Am. Assoc. Pharm. Sci.*, 6, 5, 422–427, 1989.
- [28] Buhus G., Peptu C., Popa M., Desbrières J., "Controlled release of water soluble antibiotics by carboxymethylcellulose- And gelatin-based hydrogels crosslinked with epichlorohydrin", *Cellul. Chem. Technol.*, 43, 4–6, 141–151, 2009.
- [29] Nayak A., Das D. B., Vladislavljevi G. T., "Microneedle-Assisted Permeation of Lidocaine Carboxymethylcellulose with Gelatine Co-polymer Hydrogel", 12, 2013.
- [30] Bhala N., Emberson J., Merhi A., Abramson S., Arber N., Baron J. A. et al., "Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: meta-analyses of individual participant data from randomised trials.", Elsevier, 2013.
- [31] Lee W. M., "Acetaminophen (APAP) hepatotoxicity—isn't it time for APAP to go away?", *J. Hepatol.*, Elsevier, 67, 6, 1324–1331, 2017.
- [32] Kumar L., Barker C., Emmanuel A., "Opioid-induced constipation: pathophysiology, clinical consequences, and management", *Gastroenterol. Res. Pract.*, Hindawi, 2014, 2014.
- [33] Bawor M., Dennis B. B., Samaan M. C., Plater C., Worster A., Varenbut M. et al., "Methadone induces testosterone suppression in patients with opioid addiction", *Sci. Rep.*, Nature Publishing Group, 4, 1, 1–7, 2014.
- [34] Brennan M. J., "The effect of opioid therapy on endocrine function", *Am. J. Med.*, Elsevier, 126, 3, S12–S18, 2013.
- [35] Basbaum A. I., Bautista D. M., Scherrer G., Julius D., "Cellular and molecular mechanisms of pain", *Cell*, Elsevier, 139, 2, 267–284, 2009.
- [36] Osterweis M., Kleinman A., Mechanic D., "Pain and disability: Clinical, behavioral, and public policy perspectives", National Academies Press (US), 1987.
- [37] Sheets M. F., Hanck D. A., "Molecular action of lidocaine on the voltage sensors of sodium channels", *J. Gen. Physiol.*, Rockefeller University Press, 121, 2, 163–175, 2003.
- [38] ADRIANI J., DALILI H., "Penetration of local anesthetics through epithelial barriers", *Anesth. Analg.*, LWW, 50, 5, 834–841, 1971.
- [39] Hallen B., Olsson G. L., Uppfeldt A., "Pain-free venepuncture: Effect of timing of application of local anesthetic cream", *Anaesthesia*, Wiley Online Library, 39, 10, 969–972, 1984.
- [40] Padula C., Nicoli S., Aversa V., Colombo P., Falson F., Pirot F. et al., "Bioadhesive film for dermal and transdermal drug delivery", *Eur. J. Dermatology*, 17, 4, 309–312, 2007.
- [41] Padula C., Nicoli S., Colombo P., Santi P., "Single-layer transdermal film containing lidocaine: Modulation of drug release", *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 66, 3, 422–428, 2007.
- [42] Favatela F., Horst M. F., Bracone M., Gonzalez J., Alvarez V., Lassalle V., "Gelatin/Cellulose nanowhiskers hydrogels intended for the administration of drugs in dental treatments: Study of lidocaine as model case", *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, Elsevier B.V., 61, 101886, 2021.
- [43] آ. ادهمی جمالی، ج. کریمی ثابت، ج. توفیقی داریان، ح. کاظم زاده، انتقال تسهیل شده یون کلنسیم با استفاده از غشای مانع پایه پلیمری سلولز استات: سنتز و بهینه‌سازی با استفاده از روش پاسخ سطح، نشریه علمی پژوهشی مواد پیشرفته و پوشش‌های نوین 24- (1397) 1732-1727
- [44] Bezerra M. A., Santelli R. E., Oliveira E. P., Villar L. S., Escalera L. A., "Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry", *Talanta*, 76, 5, 965–977, 2008.
- [45] Rasool A., Ata S., Islam A., "Stimuli responsive biopolymer (chitosan) based blend hydrogels for wound healing application", *Carbohydr. Polym.*, Elsevier Ltd., 203, 423–429, 2019.