



طراحی و بهینه سازی فرمولاسیون پوستی ژل نیوزومال حاوی پاروکستین و ارزیابی درون تن جهت دارورسانی در درمان اختلال اضطرابی عمومی و اختلال ترس

شیوا مسائلی^۱، عرفانه قسامی^{۱*}، محمد ربانی^۲، ناصر توکلی^۱

۱. گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲. گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

چکیده

نوع مقاله: پژوهشی اصیل

مقدمه: پاروکستین یکی از موثرترین مهارکننده‌های بازجذب سروتونین است که به دلیل متابولیسم عبور اول کبدی و تشدید اثرات نامطلوب ناشی از نوسانات غلظت با اشکالات قابل توجهی روبروست. دارورسانی ترانس درمال یکی از استراتژی‌های حذف عبور اول کبدی است که در آن استفاده از نیوزومها به دلیل افزایش قابل توجه نفوذ دارو مورد توجه قرار گرفته است.

روش: ژل نیوزومال بارگیری شده با پاروکستین براساس متغیرهای مختلف با استفاده از نرم افزار دیزاین اکسپرت (ورژن ۷) طراحی و بهینه سازی شد. سپس مطالعات تکمیلی برون تن روی نیوزومهای بهینه انجام و دیسپرسیون این نیوزوم ها وارد پایه هیدروژل HPMC شد. در مرحله بعد، هیدروژل حاوی نیوزومها در مدل های حیوانی اختلالات اضطراب عمومی و هراس، به ترتیب با استفاده از maze elevated-T و maze elevated plus بررسی شد.

یافته ها: فرمول بهینه دارای اندازه ذرات $417/40 \pm 28/05$ نانومتر، توزیع اندازه ذره ای $0/31 \pm 0/06$ ، پتانسیل زتا $12/80 \pm 0/42$ میلی ولت، کارایی بارگیری $72/85 \pm 0/47$ درصد و کارایی رهش $0/55 \pm 71/94$ درصد طی ۴ ساعت بود. نتایج مطالعات حیوانی نشان داد که اثربخشی درمان با فرمولاسیون پیشنهادی به طور معنی داری ($P < 0.05$) در مدل های حیوانی در مقایسه با گروه های دریافت کننده داروی آزاد و نرمال سالین بهبودیافت.

نتیجه گیری: عملکرد مناسب برون تن و درون تن هیدروژل حاوی نیوزومهای لود شده با پاروکستین این پتانسیل را نشان داد که به عنوان یک سیستم دارورسانی جایگزین برای فرم خوراکی جهت درمان اختلال اضطراب عمومی و هراس مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

کلیدواژه ها: پاروکستین، دارورسانی از طریق پوست، نیوزوم، اختلال اضطراب عمومی، اختلال هراس

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۶/۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۴

*نویسنده مسئول: عرفانه قسامی،

گروه فارماسیوتیکس، دانشکده

داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم

پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تلفن: ۰۳۱۳۷۹۲۷۱۱۸

پست الکترونیک:

e.ghassami@pharm.mui.ac.ir



مقدمه

در میان طیف اختلالات اضطرابی، اختلال اضطراب فراگیر به عنوان یک بیماری مزمن همراه با اضطراب و استرس بیش از حد، علاوه بر بی خوابی یا سایر علائم روان تنی تعریف می شود که در بزرگسالی رخ داده و در تمام طول زندگی بیمار باقی می ماند (۱-۵). شکایت اصلی بیماران اضطراب غیرقابل کنترل است که معمولاً با ناتوانی اجتماعی قابل توجهی همراه است. اختلال اضطراب فراگیر درمان نشده با خطر بالای اختلال افسردگی مازور، خودکشی و سایر اختلالات اضطرابی مرتبط است. شیوع اختلال اضطراب فراگیر در کودکان ۵٪ و در بزرگسالان ۳-۶٪ تخمین زده می شود و معمولاً در بیماران ۱۰-۵ سال قبل از تشخیص وجود دارد (۵-۱۲).

یکی دیگر از اختلالات روانی مرتبط با سایر مسائل روانپزشکی، اختلال حمله هراس (panic attack) است. مشخصه این اختلال حملات ناگهانی و شدید است که به طور معمول یک بار در ماه رخ داده و در فواصل آن نیز بیمار دچار اضطراب ناشی از حملات است که منجر به کاهش قابل توجه شاخص کیفیت زندگی می شود. شیوع حملات پانیک در طول زندگی ۱/۶ تا ۲/۲ درصد است و میزان عود آن بالا است (۱۳-۱۵).

اثربخشی مهارکننده های بازجذب سروتونین، مهارکننده های بازجذب سروتونین و نوراپی نفرین، داروهای ضد افسردگی سه حلقه ای و بنزودیازپین ها در درمان مورد ارزیابی قرار گرفته اند. تخمین زده می شود که ۲۰ تا ۴۰ درصد از بیماران نوعی اختلال مقاوم به دارو را نشان داده و ۲۵-۵۰ درصد عود بیماری را طی ۶ ماه پس از قطع دوره درمان تجربه کرده اند که این مسئله نشان دهنده نیاز به تحقیقات بیشتر برای یافتن داروهای موثرتر است (۱۶). انتقال دهنده سروتونین نقش هدف را برای چندین کلاس از داروهای اعصاب از جمله داروهای ضد افسردگی سه حلقه ای، مهارکننده های انتخابی بازجذب سروتونین، مهارکننده های بازجذب سروتونین-نوراپی نفرین، و مشتقات کوکائین ایفای کند (۱۷-۲۷). در میان این داروها،

پاروکستین دارای بالاترین میل و ویژگی بالا (ثابت تفکیک $K_d < 1$ نانومولار) برای انتقال دهنده سروتونین در بین مهارکننده های انتخابی بازجذب سروتونین ها است و معمولاً در درمان طیف گسترده ای از اختلالات روانپزشکی از جمله اختلال اضطرابی فراگیر و حملات پانیک استفاده می شود (۱۷، ۲۸). پاروکستین تحت متابولیسم گذر اول کبدی قرار گرفته و نیمه عمر وابسته به دوز نشان داده است. در مطالعات پیشین نشان داده شده است که فرمولاسیون های با رهش کنترل شده قادر به کاهش نوسانات غلظت دارو در پلاسما بوده و از این رو اثرات نامطلوب را ۲۰-۳۰٪ کاهش داده است (۱۷، ۲۹).

در خصوص کاهش اثر گذر اول کبدی استفاده از روش دارورسانی ترانس درمال در مقالات گزارش شده و نیوزوم ها یکی از نانوحامل هایی هستند که در این سیستم ها مورد استفاده قرار می گیرند. نیوزوم ها مجموعه ویکولاری از سورفکتانت های غیریونی و کلسترول در فاز آبی هستند. باتوجه به ساختارشان، این نانوحامل ها به عنوان ابزاری برای بهبود نفوذ دارو به موایمانند لایه شاخی پوست یا عبور از سد خونی- مغزی مورد بررسی قرار گرفته اند (۳۰-۳۳). از آنجایی که متابولیسم گذر اول کبدی در این مسیر تجویز حذف شده و می توان به سطوح پلاسمایی پایداری دست یافت، سیستم های انتقال دارو از طریق پوست مسیر مؤثری برای تجویز برای اثرات سیستمیک و موضعی فراهم کرده اند. علاوه بر این، سادگی کاربرد با بهبود پذیرش بیمار همراه است (۳۴). این مسیر تجویز قبلاً در مورد داروی هالوپریدول مورد بررسی قرار گرفته و نتایج قابل قبولی به دنبال داشته است (۳۵).

مصرف خوراکی دارو در زمان حمله اضطراب عمومی و هراس با مشکل همراه است. چراکه در طول حمله پانیک بیماران ممکن است تغییراتی را در بلع ناشی از ترس تجربه کنند که می تواند تولید بزاق را کاهش داده و در نتیجه خشکی دهان و مشکل در بلع را ایجاد و مصرف داروها از راه خوراکی را با چالش مواجه کند (۳۶)؛ بر این اساس، در مطالعه حاضر ژل نیوزوم بارگیری شده با پاروکستین



مستقل و در ۳ سطح طراحی شد (جدول ۱). تأثیر هر متغیر بر ویژگی‌های نیوزوم‌ها از جمله اندازه ذرات، شاخص پراکندگی اندازه ذرات (PDI)، پتانسیل زتا، کارایی به دام افتادن دارو (EE) و کارایی رهاسازی دارو (RE) ارزیابی شد.

جدول ۱. متغیرهای مستقل و محدوده مورد مطالعه برای هریک از آنها

محدوده	متغیرهای مستقل مورد مطالعه
۱-۰	نسبت کلسترول به اسپن ۸۰
۱۰-۱	درصد وزنی-حجمی PEG 400
۰-۱	نسبت فاز آبی به آلی

روش تعیین ویژگی‌های فرمولاسیون‌های طراحی شده

روش تعیین اندازه ذره‌ای، توزیع اندازه ذره‌ای و پتانسیل زتا

اندازه ذرات، توزیع اندازه ذره‌ای و پتانسیل زتا نیوزوم‌ها با استفاده از دستگاه (DLS) dynamic light scattering (Malvern Zetasizer)، انگلستان) تعیین شد. تمام اندازه‌گیری‌ها با سه بار تکرار انجام شدند.

روش تعیین درصد کارایی بارگیری دارو

به منظور تخمین کارایی بارگیری دارو، نمونه‌های تهیه شده از دیسپرسیون حاوی نیوزوم‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده (Eppendorf ultracentrifuge 5h30، آلمان) و غلظت داروی آزاد در مایع رویی با استفاده از معادله منحنی استاندارد تعیین شد. جذب محلول رویی تعیین شده (Shimadzu UV-VIS spectrophotometer mini 1240، ژاپن) و مقدار داروی بارگیری نشده برای به دست آوردن کارایی بارگیری نیوزوم‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۳۴):

به صورت پوستی و به عنوان جایگزین فرم خوراکی مورد بررسی قرار گرفت. هدف از این مطالعه بهینه سازی فرمولاسیون با توجه به ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن به منظور دستیابی به فرمولاسیون با نفوذپذیری و رهش مناسب و در مرحله بعد ارزیابی اثربخشی درون تن در مدل‌های حیوانی اختلال اضطراب عمومی و اختلال پانیک در مقایسه با داروی آزاد بود.

روش

مواد مورد استفاده:

پاروکستین هیدروکلراید همی هیدرات از شرکت داروسازی تهران شیمی تهیه شد. پلی اتیلن گلیکول (PEG ۴۰۰)، HPMC K4M، Tween 80، Span 80، 400) و کلسترول از شرکت Merck، آلمان تهیه شد.

روش تهیه نیوزوم‌های بارگیری شده با پاروکستین

نیوزوم‌های بارگیری شده با پاروکستین به روش هیدراسیون لایه نازک تهیه شدند. به طور خلاصه، ۲۰ میلی گرم پاروکستین در اتانول حل شد، سپس کلسترول و سورفکتانت حل شده در کلروفرم به محلول اتانولی اضافه شد. حلال‌های آلی با استفاده از دستگاه rotary evaporator (آلمان) Heidolph به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد تبخیر و یک لایه نازک متشکل از دارو، سورفکتانت و کلسترول تشکیل شد. مرحله هیدراسیون با ۲۰ میلی لیتر آب دیونیزه حاوی PEG 400 و در دمای اتاق به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد که براساس نتایج به دست آمده از یک مطالعه مقدماتی تعیین شده بود. در مرحله بعد، اولترا هموژنایزر (IKA، آلمان) به عنوان تکنیک کاهش اندازه ذره‌ای، به مدت ۴ دقیقه در ۶۵۰۰ دور در دقیقه استفاده شد. وزیکول‌های به دست آمده برای مشخصه یابی مورد استفاده قرار گرفتند. از نرم افزار Design Expert (نسخه ۷) برای بهینه سازی نسبت کلسترول به سورفکتانت، مقدار PEG 400 و نسبت فاز آلی به فاز آبی استفاده شد و مطالعه از نوع Box Behnken برای ۳ متغیر

**طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)**

طیف FTIR پاروکستین هیدروکلراید، کلسترول، اسپان ۸۰ و همچنین نیوزومها بارگیری‌شده با دارو از ۴۰۰-۴۰۰۰ بر سانتی‌متر برای تایید عدم وقوع هرگونه واکنش بین مواد تشکیل‌دهنده و دارو موردبررسی قرارگرفت.

وارد کردن دیسپرسیون نیوزومهای بهینه در پایه ژل

به‌منظور سهولت استفاده و عدم ریزش سریع نیوزومها و حذف آنها از سطح پوست، از HPMC به‌عنوان ماده ژل دهنده استفاده‌شد تا با افزایش قوام پایه، ماندگاری سیستم دارورسانی در سطح پوست را افزایش‌دهد. از این رو، مقدار لازم HPMC برای تهیه غلظت ۲ درصد وزنی-حجمی به حجم مشخص از دیسپرسیون نیوزومها اضافه‌شده و در حدود ۵ دقیقه روس استیرر قرارگرفت تا همگن گردد.

بررسی پروفایل عبور پوستی دارو از نمونه پوست جداشده موش به‌صورت ex-vivo

یک سل فرانز با سطح ۴ سانتی‌مترمربع بین بخش‌های اهداکننده و گیرنده استفاده‌شده که با استفاده از پوست بدون چربی و بدون موی موش سوری از یکدیگر جداشدند. محفظه گیرنده با بافر فسفات با $\text{pH } 2/0 \pm 5/6$ پرشده و نمونه روی پوست جداشده موش قرارگرفت. نمونه‌برداری در فواصل زمانی ازپیش‌تعیین‌شده انجام و هر نمونه با حجم معادل از محیط آزادسازی تازه جایگزین‌شد. غلظت دارو در این نمونه‌ها اندازه‌گیری و پروفایل رهایش دارو براساس زمان ترسیم‌شد. این روش در سه تکرار انجام‌شد و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش‌شد.

بررسی عبور پوستی نیوزومها با کمک میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال

فرمول بهینه به‌جای داروی پاروکستین با ترکیب فلورسنت رودامین B بارگیری و به حامل هیدروژل اضافه‌شد. سپس نمونه هیدروژل حاوی نیوزومها در محفظه بالایی سل فرانز بر روی نمونه پوست جداشده موش قرارگرفت و پس از مدت

$$EE\% = \frac{Ct - Cf}{Ct} \times 100$$

که در این رابطه، Ct غلظت کل دارو و Cf غلظت داروی آزاد در محلول رویی می‌باشد.

با این روش می‌توان میزان داروی بارگیری‌نشده را به‌دست‌آورد و همچنین تعداد داروهای بارگیری‌شده در نیوزومها را به روش غیر پمستقیم محاسبه‌کرد.

روش مطالعه پروفایل رهش دارو و تعیین کارایی رهش

یک کیسه دیالیز سلولزی (با سایز عبور ۱۲۰۰۰ دالتون) برای بررسی پروفایل رهایش دارو استفاده‌شد. بافر فسفات ($\text{pH } 6.4 \pm 0.2$) به‌عنوان محیط رهاسازی مورداستفاده قرارگرفته و نمونه‌گیری در فواصل زمانی از پیش تعیین‌شده انجام‌شد و برای حفظ حجم محیط رهاسازی، محیط تازه جایگزین‌شد. هر نمونه با اتانول رقیق‌شده و جذب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۳ نانومتر اندازه‌گیری‌شد.

تعیین فرمولاسیون بهینه

پس از به‌دست‌آوردن متغیرهای وابسته برای همه فرمولاسیون‌های طراحی‌شده توسط نرم‌افزار و آنالیز تاثیر هریک از متغیرهای مستقل بر متغیرهای وابسته مورد نظر، معیارهای انتخاب فرمولاسیون بهینه تعیین‌شد. این معیارهای عبارت بود از: کمترین اندازه ذره‌ای، حداقل توزیع اندازه ذره‌ای، حداکثر کارایی رهش و حداکثر کارایی بارگیری دارو.

بررسی‌های برون تن تکمیلی بر روی فرمولاسیون بهینه**بررسی مورفولوژی نیوزومها توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری**

میانگین اندازه ذرات و شکل نیوزومها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (Philips/Fei 208S، آلمان) تعیین‌شد. این دستگاه پرتو الکترونی با عبور از عدسی‌های مختلف الکترومغناطیسی و روزه‌های مخصوص طراحی‌شده است.



طبق معادلات زیر محاسبه شد (۳۷). برای مقایسه و تجزیه و تحلیل نتایج گروه‌های مختلف نرم‌افزار GraphPad Prism 9 مورد استفاده قرار گرفت.

$$CAE \% = \frac{\text{تعداد ورود به بازوهای بسته}}{\text{مجموع تعداد ورود به بازوهای بسته و باز}} \times 100$$

$$OAE \% = \frac{\text{تعداد ورود به بازوهای باز}}{\text{مجموع تعداد ورود به بازوهای بسته و باز}} \times 100$$

$$CAE \% = \frac{\text{زمان سپری شده روی بازوهای بسته}}{\text{مجموع زمان سپری شده در بازوهای بسته و باز}} \times 100$$

$$OAE \% = \frac{\text{زمان سپری شده روی بازوهای باز}}{\text{مجموع زمان سپری شده در بازوهای بسته و باز}} \times 100$$

مدل ETM (شکل ۱- B) از دستگاه مدل اضطراب EPM مشتق شده است، اما دستگاه ETM یکی از بازوهای محصور در EPM را ندارد. رفتار حیوان به مدت ۵ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت، در ابتدا حیوان در انتهای بازوی محصور قرار گرفت و تأخیر خروج از بازو (Inhibitory Avoidance, IA) ثبت شد. سپس حیوان در انتهای یکی از بازوهای باز قرار گرفت و پاسخ فرار (Escape) ثبت شد (۳۸). شاخص‌های مورد استفاده برای مقایسه اثربخشی درمان در گروه‌های مختلف طبق معادلات زیر محاسبه شد. برای مقایسه و تجزیه و تحلیل نتایج گروه‌های مختلف نرم‌افزار GraphPad Prism 9 استفاده شد.

$$IA \% = \frac{\text{زمان سپری شده روی بازوی بسته}}{\text{مجموع زمان سپری شده در بازوهای بسته و باز}} \times 100$$

زمان مشخص نمونه‌های پوست خارج شده و در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد منجمد و برش‌هایی از مقطع نمونه پوست به وسیله میکروتوم تهیه و با میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال بررسی شدند.

مطالعات درون تن در مدل‌های حیوانی هراس و اضطراب عمومی

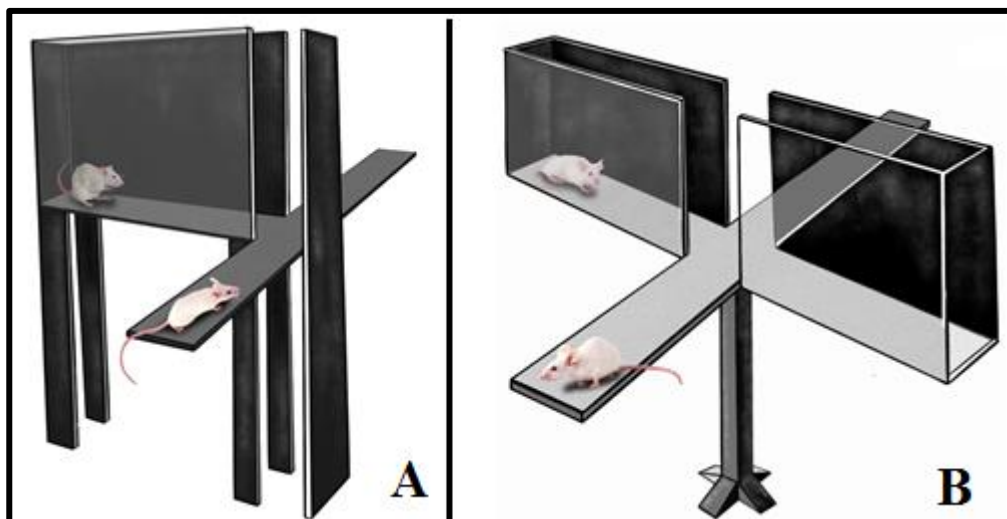
تعداد ۳۶ موش سوری نر balb/c (وزن بدن: ۲۵±۵ گرم) که از لانه حیوانات دانشکده داروسازی اصفهان (اصفهان، ایران) تهیه شده بودند، برای مطالعات درون تن مورد استفاده قرار گرفتند.

قبل از شروع مطالعه، موهای ناحیه پشتی موش‌ها تراشیده شده و ۲۴ ساعت پس از مداخله درمانی، رفتار حیوان توسط EPM (maze elevated plus) و maze ETM (elevated T) بررسی شد. حیوانات براساس مداخلات به شش گروه (۶ موش) تقسیم شدند. گروه HG: تجویز ترانس درمانال هیدروژل بدون دارو. گروه F11-Np- HG: تجویز ترانس درمانال هیدروژل حاوی نیوزوم‌ها بهینه‌بارگیری شده با پاروکستین (معادل ۱۰ میلی‌گرم دارو بر کیلوگرم وزن حیوان). گروه free D-HG: تجویز ترانس درمانال هیدروژل حاوی داروی آزاد (معادل ۱۰ میلی‌گرم دارو بر کیلوگرم وزن حیوان). گروه NS: تجویز خوراکی نرمال سالین. گروه freeD: تجویز خوراکی محلول پاروکستین (معادل ۱۰ میلی‌گرم دارو بر کیلوگرم وزن حیوان). گروه ششم: بدون مداخله.

دستگاه EPM (شکل ۱- A) دارای ۲ بازوی باز و ۲ بازوی بسته در مقابل یکدیگر است. رفتار حیوان به مدت ۵ دقیقه بررسی شده و تعداد ورود حیوانات به بازوهای بسته (Closed Arm Entry, CAE) و باز (Open Arm Entry, OAE) و همچنین مدت زمانی که حیوانات در بازوی بسته (Closed Arm Time, CAT) و باز (Open Arm Time, OAT) سپری کردند به عنوان شاخص‌های مورد استفاده برای مقایسه اثربخشی درمان‌های مختلف

تجزیه و تحلیل اثر هر یک از متغیرهای مستقل بر خواص فیزیکوشیمیایی نیوزومها به وسیله نرم افزار Design Expert نشان داد که تاثیر متغیرها به شرح زیر می باشد:

$$Escape \% = \frac{\text{زمان سپری شده روی بازوهای باز}}{\text{مجموع زمان سپری شده در بازوهای بسته و باز}} \times 100$$



شکل ۱. طراحی دستگاه های Elevated Plus Maze (A) برای مدل حیوانی اختلال اضطراب عمومی و Elevated T Maze (B) برای مدل حیوانی اختلال حمله هراس

یافته ها

۱. افزایش نسبت کلسترول به سورفکتانت منجر به افزایش جزئی در اندازه ذرات می شود (شکل ۲-۱)، تغییر این متغیر تاثیر معنی داری بر توزیع اندازه ذره ای و کارایی رهش نداشت و افزایش این نسبت به طور قابل توجهی کارایی بارگیری را کاهش داد (شکل ۲-۲).

تعیین فرمولاسیون بهینه و اثر متغیرهای مستقل بر متغیرهای وابسته

نتایج مربوط به خصوصیات بررسی شده برای هریک از فرمولاسیون های طراحی شده توسط نرم افزار Design Expert در جدول ۲ خلاصه شده است.

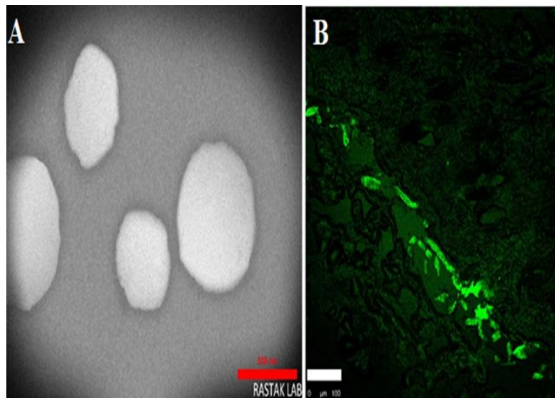
جدول ۲. متغیرهای مستقل و وابسته در فرمولاسیون های طراحی شده به وسیله نرم افزار برای دستیابی به فرمولاسیون بهینه در تهیه نیوزوم های حاوی پاروکستین

کارایی رهش دارو (%)	کارایی بارگیری (%)	پتانسیل زتا (mV)	شاخص توزیع اندازه ذرات (PDI)	اندازه ذرات (nm)	نسبت کلسترول به سورفکتانت	مقدار PEG400 (w/v %)	نسبت فاز آلی به آبی	فرمولاسیون
۸۸/۴۷	۳۱/۳۰	۱۰/۵	۰/۱۸۴	۲۰۲/۵۷	۰	۵/۵	۰/۱	F1
۸۸/۵۴	۴۶/۱۴	۲/۴۹	۰/۳۹۳	۴۲۷/۱۷	۱	۵/۵	۱	F2
۸۹/۸۶	۳۷/۴۱	۴/۰۲	۰/۴۰۴	۳۰۶/۸	۰/۵	۵/۵	۰/۵۵	F3
۸۴/۳۴	۵۷/۱۹	۰/۶۴	۰/۴۸۰	۳۰۷/۵	۰	۵/۵	۱	F4

F5	۰/۱	۵/۵	۱	۲۵۹/۴۷	۰/۳۰۸	۱۴/۳۷	۳۲/۰۴	۸۶/۹۱
F6	۰/۵۵	۱	۰	۲۶۲/۲۷	۰/۳۹۷	۱۴/۶۵	۵۱/۳۷	۸۵/۰۲
F7	۰/۵۵	۱۰	۱	۳۶۸/۷	۰/۲۳۲	۰/۳۵	۵۳/۱۲	۸۰/۵۴
F8	۰/۵۵	۱	۱	۳۹۵/۷۳	۰/۲۴۸	۰/۷۷	۵۰/۵۰	۷۳/۸۸
F9	۰/۱	۱	۰/۵	۴۴۵/۵۳	۰/۴۸۵	۱/۰۵	۴۹/۰۵	۹۰/۸۹
F10	۱	۱	۰/۵	۵۰۴/۵	۰/۳۹۸	۱۴/۲۰	۵۲/۵۴	۷۹/۷۶
F11	۰/۵۵	۱۰	۰	۴۱۷/۴	۰/۳۰۶	۱۲/۸۰	۸۰/۴۶	۷۲/۲۵
F12	۱	۱۰	۰/۵	۳۷۰/۳	۰/۳۰۷	۴/۷۹	۶۶/۷۹	۷۶/۸۷
F13	۰/۱	۱۰	۰/۵	۷۷۶/۳۳	۰/۲۷۹	۰/۲۴	۵۳/۴۱	۸۶/۴۲

مورفولوژی نیوزومها

میکروگراف TEM نیوزومها در شکل ۴-A نشان داده شده است. در این شکل، نیوزومهای کروی را می توان با قطر تقریبی ۴۰۰ نانومتر مشاهده کرد.



شکل ۴. تصاویر میکروسکوپی حاصل از (A) بررسی مورفولوژی نیوزوم های فرمولاسیون بهینه با استفاده از میکروسکپ TEM و (B) بررسی توانایی نیوزوم ها برای عبور از سطح و تجمع در بخش داخلی پوست با استفاده از میکروسکپ لیزر کانفوکال

بررسی عبور پوستی دارو از نمونه پوست جدا شده موش به صورت **ex-vivo**

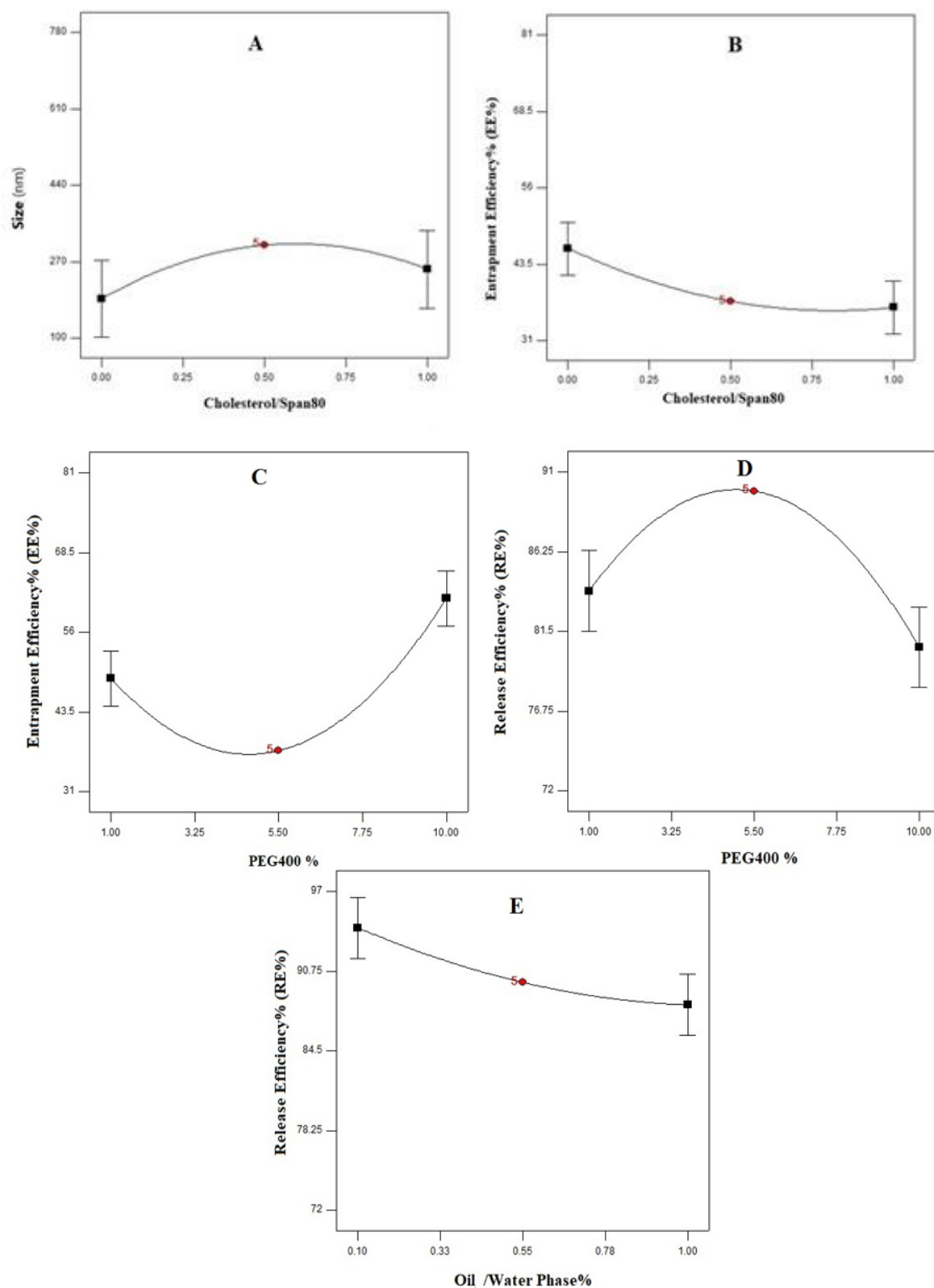
نتایج مطالعه آزادسازی پاروکستین در طول زمان از پوست جدا شده موش در شکل ۳-B نشان داده شده است. رهائش

۲. افزایش مقدار PEG 400 منجر به افزایش جزئی در اندازه ذرات و کاهش جزئی در توزیع اندازه ذره ای شد. افزایش مقدار PEG 400 تا ۵ درصد در فرمولاسیون منجر به کاهش کارایی بارگیری شده؛ با این حال، افزایش بیشتر مقدار این جزء منجر به افزایش قابل توجه کارایی بارگیری شده است (شکل ۲-C). باتوجه به نتایج مطالعه بررسی پروفایل رهش، الگوی معکوس برای اثر PEG 400 بر کارایی بارگیری دارو از نیوزومها مشاهده شد (شکل ۲-D)، یعنی افزایش مقدار PEG 400 تا ۵ درصد در فرمولاسیون با افزایش کارایی رهش همراه بوده؛ با این حال، افزایش بیشتر مقدار این جزء به طور قابل توجهی باعث کارایی رهش شده است. پروفایل رهش فرمولاسیونهای مختلف در شرایط برون تن آزمایشگاهی در شکل ۳-A نشان داده شده است.

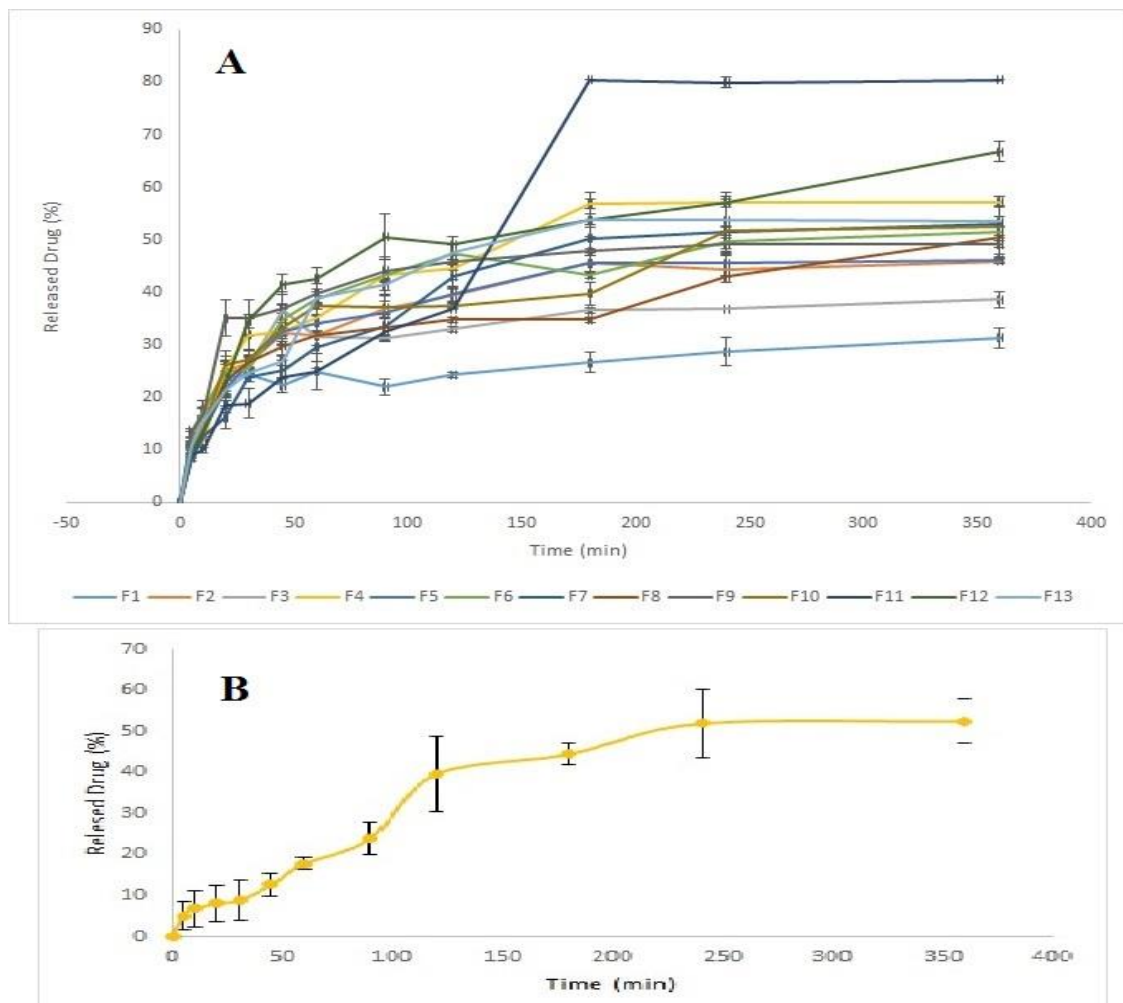
۳. افزایش نسبت فاز آلی به آبی منجر به افزایش غیرمعنی دار ($p > 0.05$) کارایی رهش و افزایش معنی دار ($p < 0.05$) کارایی بارگیری دارو شد (شکل ۲-E).

فرمولاسیون بهینه

مطابق تجزیه و تحلیل نرم افزار، فرمولاسیون F11 به عنوان بهینه انتخاب و جهت تکمیل ارزیابی های برون تن و انجام مطالعات درون تن مورد استفاده قرار گرفت.



شکل ۲. تاثیر تغییرات متغیرهای مستقل، شامل A,B) نسبت کلسترول به اسپان ۸۰ و C,D) درصد پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ و E) نسبت فاز روغنی به آبی، بر متغیرهای وابسته



شکل ۳. پروفایل رهش داروی پاروکستین از (A) نیوزوم های فرمولاسیون های مختلف طراحی شده با نرم افزار Design Expert در محیط برون تن با استفاده از غشای دیالیز سلولزی و (B) نیوزوم های فرمولاسیون بهینه در محیط برون تن با استفاده از پوست جداشده موش

در طیف FTIR نمونه پاروکستین (شکل ۹-A)، پیک مشاهده شده در ۸۷۴ بر سانتی متر نشان دهنده C-H آروماتیک خارج از پیوند صفحه است. در محدوده ۹۳۶ بر سانتی متر پیک نشان دهنده گروه C-O-C (استال) و در ناحیه ۱۰۵۴ بر سانتی متر و ۱۲۲۱ بر سانتی متر پیک های گروه C-O-C (اتری متقارن) و C-O-C (نامتقارن اتری) به ترتیب مشاهده شدند. گروه های آروماتیک C=C به دلیل پیک های مشاهده شده در ۱۴۸۷ بر سانتی متر و ۱۶۵۰ بر سانتی متر و پیک های نشان دهنده

دارو در عرض ۴ ساعت به حالت پلاتو رسید و کارایی آزادسازی ۷۴/۲ درصد محاسبه شد.

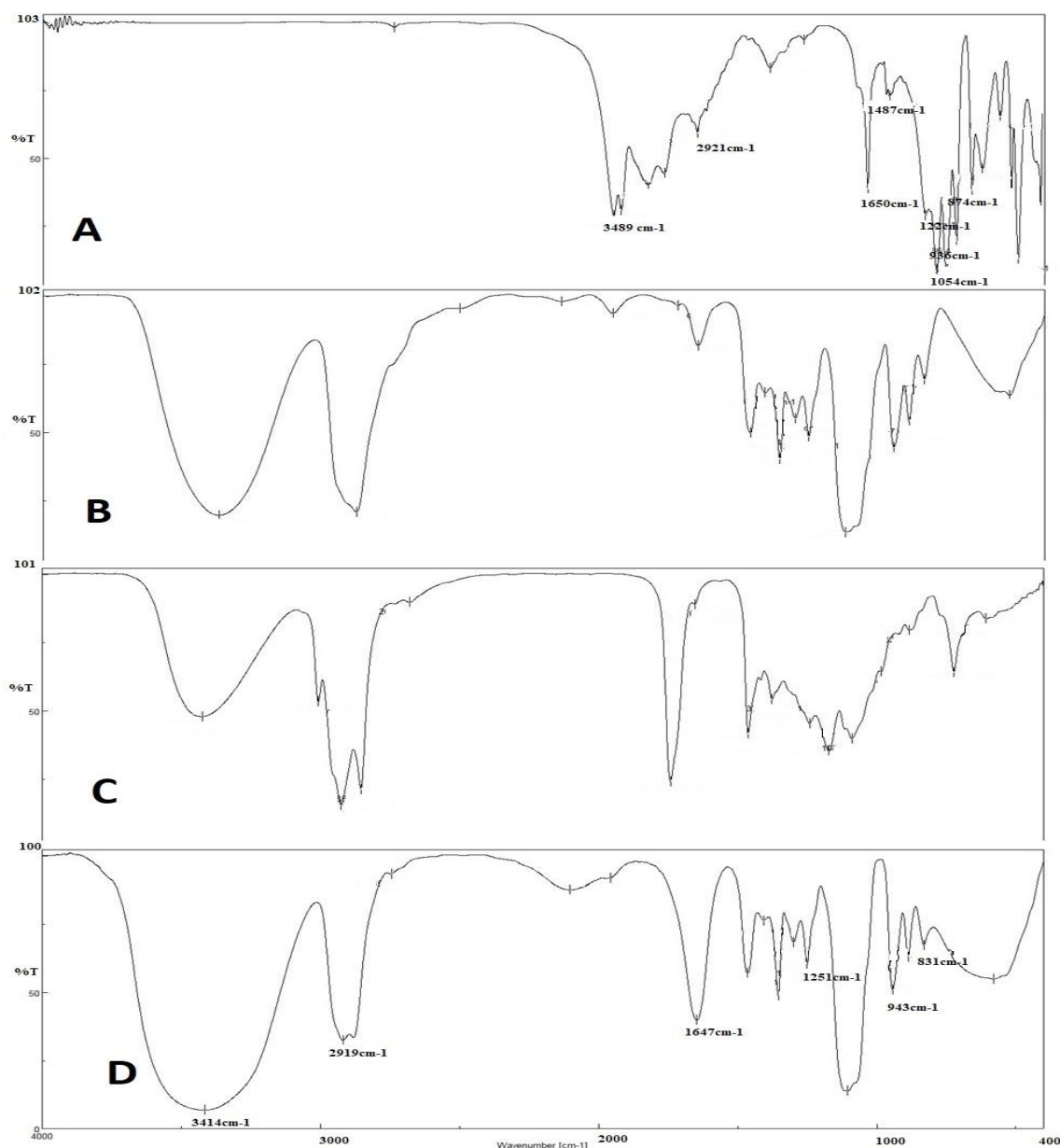
میکروگراف های به دست آمده از میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال نیز توانایی نیوزوم ها را برای عبور از پوست تأیید می کند (شکل ۴-B). وجود نیوزوم های بارگیری شده با رودامین در لایه های داخلی پوست را می توان در این میکروگراف ها مشاهده کرد.

طیف سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR)

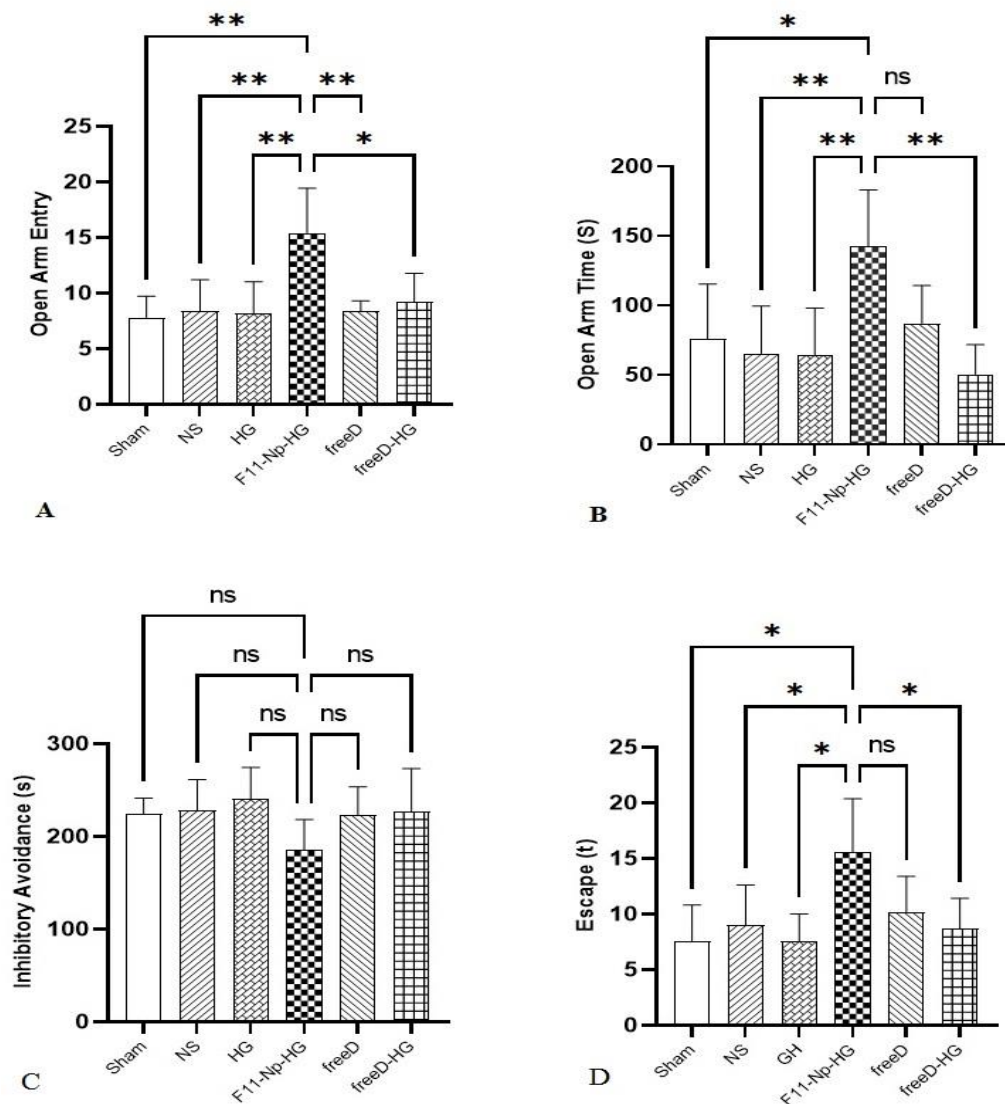


نامتقارن) در ۱۲۵۱ بر سانتی‌متر و گروه آروماتیک C=C در محدوده ۱۶۴۷ بر سانتی‌متر و ۱۴۶۴ بر سانتی‌متر مشاهده شد. پیک مرتبط با گروه آمونیوم (N⁺-H) در ۲۹۱۹ بر سانتی‌متر و پیک مربوط به O-H نیز در ۳۴۱۴ بر سانتی‌متر مشاهده شده است.

گروه آمونیوم (N + -H) در ۲۹۲۱ بر سانتی‌متر وجود داشتند. پیک‌های مربوط به O-H نیز در ۳۴۸۹ بر سانتی‌متر مشاهده شدند. در بررسی طیف FTIR فرمولاسیون بهینه حاوی دارو، F11 (شکل ۹-D)، تمامی پیک‌های مربوط به پاروکستین وجود داشته است. پیوند آروماتیک C-H در ۸۳۱ بر سانتی‌متر و گروه C-O-C (استال) در ۹۴۳ بر سانتی‌متر، گروه C-O-C (اتری



شکل ۵. طیف FTIR از نمونه (A) پاروکستین خالص، (B) پلی اتیلن گلیکول ۴۰، (C) اسپین ۸۰، (D) فرمولاسیون بهینه F11 حاوی پاروکستین



شکل ۶. نتایج مطالعات حیوانی. (A) زمان سپری شده در بازوی باز؛ (B) تعداد ورود حیوان به بازوی باز؛ (C) زمان اجتناب مهاری؛ (D) زمان فرار.

مطالعات درون تن در مدل های حیوانی

نتایج مطالعات EPM نشان داده است که فرمولاسیون بهینه اثر ضد اضطرابی بر موش های نر balb/c دارد. موش های تحت درمان با ژل موضعی اسپانلاستیک بارگیری شده با پاروکستین زمان بیشتری را در بازوهای باز سپری کرده (شکل ۶-۴). همچنین، مطالعات در گروه موش های تحت

درمان با ژل موضعی نیوزومال پاروکستین نشان داد که تعداد ورود حیوانات به بازوی باز به طور قابل توجهی افزایش یافته است (شکل ۶-۴). آنالیز واریانس یک طرفه اثر معنی دار ($p < 0.05$) را گروه درمان شده F11-Np-HG را در مقایسه با freeD و freeD-HG نشان داد. با استفاده از مدل ETM اثر فرمولاسیون F11-Np-HG بر روی



موش‌های نر balb/c با در نظر گرفتن زمان اجتناب مهباری (شکل ۶- C) و زمان فرار (شکل ۶- D) مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز واریانس یک طرفه ($P > 0.05$) اثر غیرمعنی دار F11-Np-HG را در موش در مقایسه با گروه freeD-HG و freeD نشان داد.

بحث

۱. دلیل استفاده از سیستم دارورسانی ژل نیوزومال به روش پوستی

سیستم ترانس درمال در نظر گرفته شده در مطالعه حاضر به عنوان یک سیستم دارورسانی برای پاروکستین می‌تواند یک روش غیرتهاجمی برای دوززدن اثر عبور اول کبدی باشد که به طور بالقوه می‌تواند به جبران کلیرانس کبدی پاروکستین که حدود ۶۵٪ است کمک کند. علاوه بر این، تجویز ترانس درمال برای بیماران دچار محدودیت مصرف اشکال دارویی خوراکی مفید می‌باشد. گزارشاتی در مورد فرمولاسیون سایر داروهای CNS که برای تحویل دارو از طریق پوست طراحی شده‌اند، وجود دارد. به عنوان مثال در مطالعه‌ای توسط فهمی و همکاران، نیوزوم‌ها برای از بین بردن اثر عبور اول کبدی استفاده و نشان داده شد که این استراتژی، فراهمی زیستی هالوپریدول را تا ۵۰ درصد نسبت به فرم خوراکی افزایش داد. علاوه بر این، هیدروژل ترانس درمال حاوی نیوزوم‌های بهینه‌سازی شده، پروفایل رهش طولانی مدت و متناوب را در جریان خون نشان می‌دهد که منجر به سطوح بالاتر دارو در مغز شده، که می‌تواند باعث کاهش تواتر و دوز دارو تجویزی باشد (۳۵، ۳۹).

در مطالعه Pervaiz و همکاران که نانوذرات حاوی پاروکستین، Kolliwax gms ii و توپین ۸۰ با روش hot melt encapsulation تهیه شدند (۴۰)، نانوذرات به دست آمده اندازه ذرات کوچک تری نسبت به نمونه‌های به دست آمده در مطالعه کنونی داشتند. معمولاً اندازه ذرات در سیستم‌های نانوذرات لیپوزومی در مقایسه با سایر سیستم‌های وزیکولی کوچک تر است (۴۱). همچنین در مطالعه Hao و همکاران، نانوذرات تهیه شده به روش

الکترواسپینینگ کواکسیال، به دلیل ماهیت روشی که محققین برای ساخت این نانوذرات انتخاب کرده‌اند، کارایی بارگیری دارو بالاتر بوده و همچنین مقادیر بالاتری از پتانسیل زتا به دست آمد که می‌تواند در مورد تکنیک ساخت که در آن میدان الکتریکی اعمال می‌شود نیز تفسیر شود (۴۲). همچنین در مطالعه Silva و همکاران، نانوذرات حاوی پاروکستین و اسیتالوپرام با روش هموزنیاسیون با فشار بالا و گرم تشکیل شد، ویژگی‌های ذرات تهیه شده تفاوت چندانی با نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نداشت. با این حال، روش استفاده شده توسط Silva و همکاران می‌تواند به عنوان یک روش پرانرژی در نظر گرفته شود و به دلیل هزینه بالای تهیه نانوذرات، امکان صنعتی سازی تولید فرمولاسیون وجود ندارد (۴۳).

۲. توضیح در مورد نقش اجزاء فرمولاسیون در تعیین خصوصیات برون تن سیستم دارورسانی حاصل

با توجه به نقش اندازه ذره‌ای در عملکرد نانوذرات، نقش متغیرهای بر این پاسخ بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد افزایش مقدار PEG تا ۵ درصد باعث کاهش اندازه ذرات می‌شود. در حالی که از ۵ تا ۱۰ درصد رشد، اندازه ذرات نیوزوم‌های تشکیل شده افزایش می‌یابد. این پدیده می‌تواند ناشی از بهبود سختی غشا نیوزوم و در نتیجه کاهش اندازه ذره‌ای تا ۵ درصد وزنی PEG باشد؛ اما افزایش بیشتر میزان PEG باعث آگریگیشن ذرات و در نتیجه افزایش اندازه ذره‌ای شود. تغییر نسبت کلسترول به سورفکتانت و روغن به آب بر اندازه ذرات نیوزوم تأثیر معنی داری نداشته است (۴۴).

افزایش کارایی بارگیری دارو مطلوب است زیرا امکان تشکیل نیوزوم‌هایی با جرم کل کم اما بار دارویی بالا را فراهم می‌کند؛ و فرمولاسیون کارآمدتر و مقرون به صرفه تر می‌گردد. در مورد داروهای آمفیفیلک مانند پاروکستین که هم خاصیت آبگریز و هم خاصیت آب دوست دارند ماهیت چربی دوست پاروکستین به آن اجازه می‌دهد تا با دولاپه لیپیدی نیوزوم تعامل داشته باشد و به بارگیری آن کمک کند.



می‌تواند به دلیل تفاوت داروها در آب‌دوستی و چربی‌دوستی باشد (۵۰، ۵۱).

نکته قابل توجه در مطالعه حاضر این است که به دلیل اینکه نقطه شروع بازه موردبررسی برای متغیر "نسبت کلسترول به اسپان" از صفر در نظر گرفته شده است، در برخی فرمولاسیون‌ها کلسترول حذف شده و در این فرمولاسیون‌ها نوع خاصی از نیوزوم تحت عنوان اسپانلاستیک ایجاد شده است. فرمولاسیون F11 که به عنوان بهینه توسط نرم‌افزار design expert انتخاب شد نیز فاقد کلسترول و بنابراین از نوع اسپانلاستیک می‌باشد. مطالعات ثابت کرده است که اسپانلاستیک‌ها به دلیل انعطاف‌پذیری بیشتر ناشی از حذف کلسترول می‌توانند به دلیل خاصیت ارتجاعی بالا و توانایی تغییر شکل و نفوذ از طریق موانعی مانند لایه شاخی به کمک edge activator در کاهش کشش سطحی، منجر به قابلیت سیال شدن و فشرده شدن از طریق فضاهای بین سلولی شده و باعث بهبود جذب داروها گردند (۴۶، ۵۲، ۵۳). با توجه به اینکه در مطالعه Taher و همکاران نشان داده شده که PEG 400 می‌تواند نقش کو-سرفکتانت داشته باشد، وجود این ترکیب در ساختار اسپانلاستیک‌های فرمولاسیون F11 به ایفاء نقش edge activator کمک کرده است (۵۴).

میکروگراف‌های به دست آمده از میکروسکوپ اسکن لیزری کانفوکال (شکل ۴-B) نیز این توانایی عبور از پوست را تایید می‌کنند زیرا وجود اسپانلاستیک‌های بارگیری شده با رودامین در لایه‌های پوست در این میکروگراف‌ها قابل مشاهده است.

۳. توضیح در مورد نتایج مطالعات درون تن در مدل حیوانی

مطالعه حاضر از مدل اضطراب EPM برای ارزیابی اثرات ضد اضطرابی فرمولاسیون ترانس درمال بهینه بارگیری شده با پاروکستین بر اختلال اضطراب فراگیر استفاده کرد. برخلاف سایر روش‌های بررسی رفتار اضطرابی حیوانات بر اساس محرک‌های تهاجمی مانند شوک الکتریکی یا بارهای صوتی، این مدل مبتنی بر ترس طبیعی جوندگان از

با این حال، وجود بخش‌های آبدوست در پاروکستین نیز می‌تواند با تأثیر بر فعل‌وانفعالات بین دارو و اجزای لیپیدی، فرآیند آماده‌سازی را تحت تأثیر قرار دهد (۴۵). افزایش نسبت کلسترول به سرفکتانت و کاهش نسبت روغن به آب باعث کاهش قابل توجهی در کارایی بارگیری دارو شد. این نتیجه می‌تواند نشان دهد که افزایش کلسترول و کاهش محتوای نسبت روغن به آب باعث کاهش تمایل مولکول‌های دارو به حفظ در سیستم دارورسانی می‌شود. این را می‌توان با تمایل پاروکستین به باقی ماندن در ساختار نیوزوم توصیف کرد.

میزان PEG به کاررفته در فرمولاسیون نیز بر کارایی بارگیری دارو موثر بود. افزایش میزان PEG ۵ تا ۵ درصد باعث کاهش کارایی بارگیری و از ۵ درصد تا ۱۰ درصد باعث افزایش معنادار کارایی بارگیری به طور معناداری شد. هدف از افزودن PEG 400 به سیستم دارورسانی بهبود نفوذپذیری سیستم دارورسانی است. طبق مطالعات انجام شده توسط El-Menshawe و همکاران، افزایش مقدار PEG 400 به بهبود انتقال از مخاط مولکول‌های دارو کمک کرده است (۴۶). همچنین در مطالعات قبلی ذکر شده است که تغییر در غشاء وزیکولی می‌تواند منجر به کاهش کارایی بارگیری و افزایش سرعت رهاسازی دارو شود. علاوه بر این، وجود PEG 400 می‌تواند بر اندازه ذره‌ای و مورفولوژی نیوزوم‌ها تأثیر گذاشته به طوری که با افزایش PEG 400 اندازه ذره‌ای و توزیع اندازه ذره‌ای کاهش می‌یابد. به طور کلی، ترکیب PEG 400 در فرمولاسیون نیوزوم‌ها می‌تواند به طور قابل توجهی بر خواص فیزیکوشیمیایی و رفتار آزادسازی دارو تأثیر بگذارد (۴۷-۴۹).

تغییر نسبت کلسترول به سرفکتانت تأثیر معناداری بر کارایی آزادسازی دارو نداشته است. این نتیجه برخلاف مطالعات Soliman و همکاران و Nahar و همکاران بوده است که تغییر مقدار کلسترول در فرمول آن‌ها به طور قابل توجهی بر کارایی انتشار دارو تأثیر می‌گذارد. این تفاوت



مکان‌های باز و مرتفع است. رفتار حیوانات در این مدل منعکس کننده تضاد بین اجتناب از مناطق محافظت نشده و رویکرد ذاتی آن‌ها برای کاوش در یک مکان جدید است که می‌تواند شاخصی از فعالیت حرکتی در نظر گرفته شود. زمان گذارنده شده در محیط باز دستگاه فعالیت ضد اضطرابی را نشان می‌دهد (۵۵). مدل ETM از مدل EPM مشتق شده است و براساس فرضیه Deakin/Greaff است که نقش سروتونین را در رفتارهای دفاعی توضیح می‌دهد (۵۶، ۵۷). با استفاده از ETM تعارض انگیزشی از حالت‌های ترس جدامی شود و دو وظیفه اصلی مطالعات شامل اجتناب مهاری و فرار است. افزایش تاخیر خروج از بازوی بسته را می‌توان اجتناب بازدارنده در نظر گرفت که به عنوان یک پاسخ اضطراب تعبیر می‌شود. از سوی دیگر، وظیفه فرار با رفتار حیوان در هنگام قراردادن روی بازوی باز سنجیده می‌شود و حملات پانیک را مدل سازی می‌کند. بنابراین، پیش‌بینی مناسبی توسط ETM برای بررسی داروهای ضد اضطراب و پانیکولیتیک ارائه شده می‌شود (۵۸).

در درمان با هیدروژل ترانس درمال فرمولاسیون بهینه بارگیری شده با پاروکستین، تعداد ورود به بازوی باز دستگاه نسبت به سایر گروه‌ها به طور قابل توجهی افزایش یافت، که نشان دهنده اثر ضد اضطرابی بالاتر هیدروژل فرمولاسیون بهینه حاوی دارو بود. با این حال، زمانی که حیوانات در بازوی باز دستگاه سپری کردند، در گروه تحت درمان با هیدروژل فرمولاسیون بهینه حاوی دارو در مقایسه با گروه کنترل و گروه دریافت کننده نرمال سالین حاوی پاروکستین آزاد دریافت کردند، افزایش معنی داری نداشت. در مطالعه اختلال هراس در حیواناتی که فرمولاسیون بهینه را دریافت کردند نسبت به گروهی که نرمال سالین به صورت خوراکی دریافت کردند تفاوت معنی داری مشاهده نشد. یک علت مشاهده این نتیجه ممکن است حساسیت ناکافی روش ETM باشد. زیرا این تست زمانی که مکانیسم اثر دارو از طریق گیرنده‌های GABA رخ می‌دهد، معتبرتر است.

نتیجه گیری

باتوجه به شیوع بیماری‌های اختلال اضطراب عمومی و اختلال هراس و با در نظر داشتن اختلال بلع در بیماران در زمان حمله این بیماری‌ها، استفاده از یک سیستم دارورسانی که به طریقی غیر از روش خوراکی بتواند جذب و اثربخشی دارو را به دنبال داشته باشد می‌تواند کمک قابل ملاحظه‌ای به درمان این بیماران نماید. سیستم دارورسانی پوستی که در مطالعه حاضر طراحی و بهینه سازی شد و خصوصیات برون تن و درون تن آن مورد ارزیابی قرار گرفت می‌تواند یک گام مقدماتی در مسیر دستیابی به سیستم‌های دارورسانی جایگزین در درمان اختلالات سیستم اعصاب مرکزی به شمار آید. نتایج این مطالعه نشان داد که تهیه فرمولاسیون نیوزوم فاقد کلسترول که به آن اسپانلاستیک نیز گفته می‌شود می‌تواند در عین حفظ ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مناسب، به دلیل انعطاف پذیری بیشتر، امکان عبور راحت تر سامانه دارورسانی از خلال سلول‌های پوستی را فراهم آورد و این احتمال وجود دارد که منتج به جذب بهتر و اثر بخشی بهتر دارو گردد. این امر می‌تواند بهبود اثربخشی مشاهده شده در مطالعات درون تن در مدل‌های حیوانی را در مقایسه با تجویز پوستی یا خوراکی داروی آزاد توجیه نماید. هرچند که در این مسیر، تکرار مطالعات حیوانی با تعداد بیشتر حیوان در هر گروه و نیز انجام مطالعات فارماکوکینتیک در ادامه این مطالعه مورد نیاز می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل از پایان نامه دکتر شیوا مسائلی جهت اخذ دکترای عمومی رشته داروسازی با کد علمی ۳۹۹۵۱۰ مصوب دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان میباشد، که به راهنمایی دکتر عرفانه قسامی، دکتر محمد ربانی و دکتر ناصر توکلی انجام گرفته است.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله تصدیق می‌نمایند هیچ گونه وابستگی که ممکن است به عنوان احتمال ایجاد تعارض منافع سایر موسسات تلقی و باعث سود یا زیان آنان شود وجود ندارد.



حمایت مالی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به انجام رسیده است

ملاحظات اخلاقی و کد اخلاق

حیوانات براساس دستورالعمل کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان (IR.MUI.RESEARCH.REC.1399.488) تحت مطالعه قرار گرفتند.

مشارکت نویسندگان

دکتر شیوا مسائلی: جمع‌آوری داده‌ها، نوشتن نسخه مقاله، تایید نسخه نهایی
دکتر عرفانه قسامی: ارائه ایده پژوهشی، طراحی مطالعه، آنالیز داده‌ها، نوشتن نسخه مقاله، تایید نسخه نهایی
دکتر محمد ربانی: طراحی مطالعه، آنالیز داده‌ها، نوشتن نسخه مقاله، تایید نسخه نهایی
دکتر ناصر توکلی: ارائه ایده پژوهشی، نوشتن نسخه مقاله، تایید نسخه نهایی

References:

1. Sapra A, Bhandari P, Sharma S, Chanpura T, Lopp L. Using Generalized Anxiety Disorder-2 (GAD-2) and GAD-7 in a Primary Care Setting. *Cureus*. 2020 May 21;12(5):e8224.
2. Szuhany KL, Simon NM. Anxiety Disorders: A Review. *JAMA*. 2022;328(24):2431–2445.
3. Papola D, Miguel C, Mazzaglia M, et al. Psychotherapies for Generalized Anxiety Disorder in Adults: A Systematic Review and Network Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *JAMA Psychiatry*. 2024;81(3):250–259.
4. Mohammadi MR, Pourdehghan P, Mostafavi SA, Hooshyari Z, Ahmadi N, Khaleghi A. Generalized anxiety disorder: Prevalence, predictors, and comorbidity in children and adolescents. *Journal of Anxiety Disorders*. 2020; 73: 102234.
5. Strawn JR, Mills JA, Schroeder H, Mossman SA, Varney ST, Ramsey LB. Escitalopram in Adolescents With Generalized Anxiety Disorder: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study. *Journal Of Clinical Psychiatry*. 2020.
6. Hoffman DL, Dukes EM, Wittchen HU. Human and economic burden of generalized anxiety disorder. *Depression and anxiety*. 2008;25(1):72-90.
7. Husky MM, Olfson M, He J-p, Nock MK, Swanson SA, Merikangas KR. Twelve-month suicidal symptoms and use of services among adolescents: results from the National Comorbidity Survey. *Psychiatric services*. 2012;63(10):989-96.
8. Nepon J, Belik SL, Bolton J, Sareen J. The relationship between anxiety disorders and suicide attempts: findings from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Depression and anxiety*. 2010;27(9):791-8.
9. Pine DS, Cohen P, Gurley D, Brook J, Ma Y. The risk for early-adulthood anxiety and depressive disorders in adolescents with anxiety and depressive disorders. *Archives of general psychiatry*. 1998;55(1):56-64.
10. Strawn JR, Geraciotti L, Rajdev N, Clemenza K, Levine A. Pharmacotherapy for generalized anxiety disorder in adult and pediatric patients: an evidence-based treatment review. *Expert opinion on pharmacotherapy*. 2018;19(10):1057-70.



11. Wittchen H-U, Hoyer J. Generalized anxiety disorder: nature and course. *Journal of Clinical Psychiatry*. 2001;62:15-21.
12. Wittchen HU. Generalized anxiety disorder: prevalence, burden, and cost to society. *Journal of Depression and anxiety*. 2002;16(4):162-71.
13. Degeorge KC, Grover M, Streeter GS. Generalized Anxiety Disorder and Panic Disorder in Adults. *Journal of American Academy of Family Physician*. 2022;106(2):157-164.
14. Ziffra M. Panic disorder: A review of treatment options. *Annals Of Clinical Psychiatry* 2021;33(1):e22-e31.
15. Chawla N, Anothaisintawee T, Charoenrungrueangchai K, Thaipsisuttikul P, McKay G J, Attia J et al. Drug treatment for panic disorder with or without agoraphobia: systematic review and network meta-analysis of randomised controlled trials *BMJ* 2022; 376 :e066084.
16. Zugliani MM, Cabo MC, Nardi AE, Perna G, Freire RC. Pharmacological and neuromodulatory treatments for panic disorder: clinical trials from 2010 to 2018. *Psychiatry Investigation*. 2019;16(1):50.
17. Davis BA, Nagarajan A, Forrest LR, Singh SK. Mechanism of paroxetine (paxil) inhibition of the serotonin transporter. *Scientific reports*. 2016;6(1):1-13.
18. Masson J, Sagne C, Hamon Me, El Mestikawy S. Neurotransmitter transporters in the central nervous system. *Pharmacological reviews*. 1999;51(3):439-64.
19. Delorme R, Betancur C, Wagner M, Krebs M-O, Gorwood P, Pearl P, et al. Support for the association between the rare functional variant I425V of the serotonin transporter gene and susceptibility to obsessive compulsive disorder. *Molecular psychiatry*. 2005;10(12):1059-61.
20. Hahn M, Blakely R. Monoamine transporter gene structure and polymorphisms in relation to psychiatric and other complex disorders. *The pharmacogenomics journal*. 2002;2(4):217-35.
21. Kristensen AS, Andersen J, Jørgensen TN, Sørensen L, Eriksen J, Loland CJ, et al. SLC6 neurotransmitter transporters: structure, function, and regulation. *Pharmacological reviews*. 2011;63(3):585-640.
22. Murphy DL, Lerner A, Rudnick G, Lesch K-P. Serotonin transporter: gene, genetic disorders, and pharmacogenetics. *Molecular interventions*. 2004;4(2):109.
23. Ozaki N, Goldman D, Kaye W, Plotnicov K, Greenberg B, Lappalainen J, et al. Serotonin transporter missense mutation associated with a complex neuropsychiatric phenotype. *Molecular psychiatry*. 2003;8(11):933-6.
24. Sutcliffe JS, Delahanty RJ, Prasad HC, McCauley JL, Han Q, Jiang L, et al. Allelic heterogeneity at the serotonin transporter locus (SLC6A4) confers susceptibility to autism and rigid-compulsive behaviors. *The American Journal of Human Genetics*. 2005;77(2):265-79.
25. Veenstra-VanderWeele J, Muller CL, Iwamoto H, Sauer JE, Owens WA, Shah CR, et al. Autism gene variant causes hyperserotonemia, serotonin receptor hypersensitivity, social impairment and repetitive behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(14):5469-74.
26. Amara SG, Sonders MS. Neurotransmitter transporters as molecular targets for addictive drugs. *Drug and Alcohol Dependence-Shannon*. 1998;51(1):87-96.
27. Barker E, Blakely R. Norepinephrine and serotonin transporters: molecular targets of antidepressant drugs. *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. 1995;28:321-33.
28. Gupta AK, Verma P, Praharaj SK, Roy D, Singh A. Paroxetine overdose. *Indian journal of psychiatry*. 2005;47(3):167.



29. Knorr U, Kessing LV. The effect of selective serotonin reuptake inhibitors in healthy subjects. A systematic review. *Nordic journal of psychiatry*. 2010;64(3):153-63.
30. Azmin M, Florence A, Handjani-Vila R, Stuart J, Vanlerberghe G, Whittaker J. The effect of non-ionic surfactant vesicle (niosome) entrapment on the absorption and distribution of methotrexate in mice. *Journal of pharmacy and pharmacology*. 1985;37(4):237-42.
31. Bragagni M, Mennini N, Ghelardini C, Mura P. Development and characterization of niosomal formulations of doxorubicin aimed at brain targeting. *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*. 2012;15(1):184-96.
32. Dufes C, Gaillard F, Uchegbu IF, Schätzlein AG, Olivier J-C, Muller J-M. Glucose-targeted niosomes deliver vasoactive intestinal peptide (VIP) to the brain. *International journal of pharmaceutics*. 2004;285(1-2):77-85.
33. Ingallina C, Rinaldi F, Bogni A, Ponti J, Passeri D, Reggente M, et al. Niosomal approach to brain delivery: Development, characterization and in vitro toxicological studies. *International journal of pharmaceutics*. 2016;511(2):969-82.
34. El-Nabarawi MA, Bendas ER, El Rehem RTA, Abary MY. Transdermal drug delivery of paroxetine through lipid-vesicular formulation to augment its bioavailability. *International journal of pharmaceutics*. 2013;443(1-2):307-17.
35. Fahmy AM, El-Setouhy DA, Ibrahim AB, Habib BA, Tayel SA, Bayoumi NA. Penetration enhancer-containing spanlastics (PECSs) for transdermal delivery of haloperidol: in vitro characterization, ex vivo permeation and in vivo biodistribution studies. *Drug delivery*. 2018;25(1):12-22.
36. Baker R. Understanding panic attacks and overcoming fear: Lion Books; 2011.
37. Wall P, Messier C. Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2001;25(3):275-86.
38. Moreira FA, Gobira PH, Viana TG, Vicente MA, Zangrossi H, Graeff FG. Modeling panic disorder in rodents. *Cell and tissue research*. 2013;354(1):119-25.
39. Gunasekara NS, Noble S, Benfield P. Paroxetine. *Drugs*. 1998;55(1):85-120.
40. Pervaiz F, Saba A, Yasin H, Buabeid M, Noreen S, Khan AK, et al. Fabrication of solid lipid nanoparticles-based patches of paroxetine and their ex-vivo permeation behaviour. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 2023;51(1):108-19.
41. Barauskas J, Johnsson M, Tiberg F. Self-assembled lipid superstructures: beyond vesicles and liposomes. *Nano letters*. 2005;5(8):1615-9.
42. Hao S, Wang B, Wang Y, Xu Y. Enteric-coated sustained-release nanoparticles by coaxial electrospray: preparation, characterization, and in vitro evaluation. *Journal of nanoparticle research*. 2014;16:1-11.
43. Silva S, Bicker J, Fonseca C, Ferreira NR, Vitorino C, Alves G, et al. Encapsulated Escitalopram and paroxetine intranasal co-administration: In vitro/in vivo evaluation. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12:751321.
44. Sammour RM, Taher M, Chatterjee B, Shahiwala A, Mahmood S. Optimization of aceclofenac proniosomes by using different carriers, part 1: Development and characterization. *Pharmaceutics*. 2019;11(7):350.



45. Sezgin-Bayindir Z, Yuksel N. Investigation of formulation variables and excipient interaction on the production of niosomes. *Aaps Pharmscitech*. 2012;13:826-35 ..
46. El-Menshawe S. A novel approach to topical acetazolamide/PEG 400 ocular niosomes. *Journal of drug delivery science and technology*. 2012;22(4):295-9.
47. Hua W, Liu T. Preparation and properties of highly stable innocuous niosome in Span 80/PEG 400/H₂O system. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2007;302(1-3):377-82.
48. Javani R, Hashemi FS, Ghanbarzadeh B, Hamishehkar H. Quercetin-loaded niosomal nanoparticles prepared by the thin-layer hydration method: Formulation development, colloidal stability, and structural properties. *LWT*. 2021;141:110865.
49. Liu T, Guo R, Hua W, Qiu J. Structure behaviors of hemoglobin in PEG 6000/Tween 80/Span 80/H₂O niosome system. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2007;293(1-3):255-61.
50. Nahar S, Islam S, Khandaker S, Nasreen W, Hoque O, Dewan I. Formulation and evaluation of metoprolol tartrate loaded niosomes using 23 factorial design. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 2018;22(6):1-17.
51. Soliman SM, Abdelmalak NS, El-Gazayerly ON, Abdelaziz N. Novel non-ionic surfactant proniosomes for transdermal delivery of lacidipine: optimization using 23 factorial design and in vivo evaluation in rabbits. *Drug delivery*. 2016;23(5):1608-22.
52. Sadeghi S, Bakhshandeh H, Ahangari Cohan R, Peirovi A, Ehsani P, Norouzian D. Synergistic anti-staphylococcal activity of niosomal recombinant lysostaphin-LL-37. *International Journal of Nanomedicine*. 2019;9777-92.
53. Nowroozi F, Almasi A, Javidi J, Haeri A, Dadashzadeh S. Effect of surfactant type, cholesterol content and various downsizing methods on the particle size of niosomes. *Iranian journal of pharmaceutical Research: IJPR*. 2018;17(Suppl2):1.
54. Taher SS, Al-Kinani KK, Hammoudi ZM, Ghareeb MM. Co-surfactant effect of polyethylene glycol 400 on microemulsion using BCS class II model drug. *J Adv Pharm Educ Res*. 2022;12(1):63-9.
55. Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature protocols*. 2007;2(2):322-8.
56. Amodeo LR, Greenfield VY, Humphrey DE, Varela V, Pipkin JA, Eaton SE, et al. Effects of acute or repeated paroxetine and fluoxetine treatment on affective behavior in male and female adolescent rats. *Psychopharmacology*. 2015;232(19):3515-28.
57. Graeff FG, Netto CF, Zangrossi Jr H. The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 1998;23(2):237-46.
58. Borsini F, Podhorna J, Marazziti D. Do animal models of anxiety predict anxiolytic-like effects of antidepressants? *Psychopharmacology*. 2002;163:121-41.



Design and Optimization of a Transdermal Niosomal Gel Loaded with Paroxetine for Treating General Anxiety and Panic Disorders

Shiva Masaeli¹, Erfaneh Ghassami^{1*}, Mohammed Rabbani², Naser Tavakoli¹

1. Department of pharmaceutics, School of pharmacy and pharmaceutical Sciences, Isfahan University of medical Sciences, Isfahan, Iran
2. Department of pharmacology and toxicology, School of pharmacy and pharmaceutical Sciences, Isfahan University of medical Sciences, Isfahan, Iran

Type of Article Original Research

Received: 2024/08/24

Accepted: 2025/01/13

*Corresponding Author:
Erfaneh Ghassami,

Department of pharmaceutics, School of pharmacy and pharmaceutical Sciences, Isfahan University of medical Sciences, Isfahan, Iran

TEL: 03137927118

Email:
(e.ghassami@pharm.mui.ac.ir)

Abstract

Introduction: Paroxetine is an effective serotonin reuptake inhibitor, but its bioavailability is challenged by the hepatic first pass effect, resulting in blood level fluctuations that negatively affect its therapeutic effects. Transdermal drug delivery could be used as a solution to this issue, and noisome are suggested as a solution to penetration enhancement of drugs at this point in administration.

Methods: In the current study, paroxetine-loaded niosomes were optimized for pharmaceutical characteristics Design Expert Software (ver.7) regarding the pharmaceutical characteristics. Then, the dispersion in HPMC hydrogel medium was dispersed, and the in vivo efficacy of this drug delivery system was investigated in animal models using elevated plus maze and elevated t-maze methods.

Results: The optimum formulation had a particle size of 417.40 ± 28.05 nm, the particle size distribution of $0.31 \pm$, zeta potential of 12.8 ± 0.42 mV, entrance efficiency of $72.85 \pm 0.47\%$, and release efficiency of $71.94 \pm 0.55\%$. Treatment of Bulb/c mice with this formulation via transdermal route of administration resulted in higher efficacy ($p < 0.05$) compared with the positive and negative control groups.

Conclusion: The proposed formulation showed rather acceptable in vitro and in vivo efficacy, paving the ground for further investigation to choose drug products to substitute currently marketed ones.

Keywords: Transdermal Drug Delivery, Noisome, Generalized Anxiety Disorder, Panic Disorder

► Please cite this article as: Masaeli Sh, Ghassami E, Rabbani M, Tavakoli N. Design and Optimization of a Transdermal Niosomal Gel Loaded with Paroxetine for Treating General Anxiety and Panic Disorders. J Neyshabur Univ Med Sci 2023;11(3):51-69.