

## Preparation of tacrolimus ophthalmic solution using cyclodextrins

Farzaneh Hajjahmadi<sup>1</sup>, Akbar Derkshan<sup>2</sup>, Maliheh Nikandish<sup>3</sup>, Bizhan Malaekheh-Nikouei<sup>4</sup>

**Background and Aim:** Application of topical tacrolimus in Vernal Keratoconjunctivitis is considered as an alternative to steroids. Due to the low aqueous solubility of the drug, preparing a solution of the drug has got particular importance. In the present study, tacrolimus eye drop was prepared using cyclodextrin, as a drug solubility enhancer.

**Materials and Methods:** To improve the aqueous solubility of tacrolimus, 5 types of cyclodextrins called  $\alpha$ ,  $\gamma$ , hydroxypropyl (HP)- $\beta$ , HP- $\gamma$ , and sulfobutyl ether (SBE)- $\beta$ -cyclodextrin (CD), were used. After phase solubility studies, the most appropriate cyclodextrin was selected to prepare tacrolimus eye drop. For eye drop preparation, phosphate buffer (pH=7.4), hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and polyvinyl alcohol (PVA) polymers (viscosity increasing agent), methyl paraben and benzalkonium chloride (preservative agent) were used together with cyclodextrin-tacrolimus complex.

**Results:**  $\alpha$ , HP- $\beta$ , and  $\gamma$ -CD had the most effect on aqueous solubility, respectively. These 3 types of CDs, respectively increased the intrinsic solubility of tacrolimus 174, 160, and 102 times. Taking this into account,  $\alpha$  and HP- $\beta$ -CD were chosen to prepare a soluble form of tacrolimus. In the eye drop formulation containing CD-tacrolimus complex, methyl paraben and HPMC, remarkably reduced the drug solubility while there was not a critical change in the solubility of tacrolimus in the case of CD-tacrolimus complex, buffer, HPMC or PVA and benzalkonium chloride.

**Conclusion:** It is possible to prepare tacrolimus eye drop (0.05%) using cyclodextrins.

**Key Words:** Tacrolimus, Cyclodextrin, Aqueous solubility, Eye drop.

*Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2017; 24 (1): 19-27.*

*Received: January 23, 2017*

*Accepted: May 14, 2017*

<sup>1</sup> Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

<sup>2</sup> Eye Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

<sup>3</sup> Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

<sup>4</sup> **Corresponding Author;** Nanotechnology Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Email: malaekheh@mums.ac.ir

Tel: 98 513 8823255

Fax: 98 513 8823251

## تهیه قطره چشمی تاکرولیموس با استفاده از سیکلودکسترین‌ها

فرزانه حاجی احمدی<sup>1</sup>، اکبر درخشان<sup>2</sup>، ملیحه نیک‌اندیش<sup>3</sup>، بیژن ملائکه‌نیکوئی<sup>4</sup>

## چکیده

زمینه و هدف: استفاده از تاکرولیموس موضعی در بیماری کراتوکونژنکتیویت بهاره به‌عنوان جایگزین استروئیدها مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به محلولیت در آب پایین دارو، تهیه فرم محلول از این دارو از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این مطالعه با افزودن سیکلودکسترین‌ها برای افزایش محلولیت دارو، قطره چشمی تاکرولیموس تهیه شد.

روش تحقیق: برای بهبود محلولیت در آب تاکرولیموس، 5 سیکلودکسترین آلفا، گاما، هیدروکسی پروپیل بتا، هیدروکسی پروپیل گاما و سولفوبوتیل اتر بتا سیکلودکسترین مورد استفاده قرار گرفت. در تهیه قطره چشمی، بافر فسفات (pH=7/4)، پلیمرهای هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) و یا پلی‌وینیل‌الکل (PVA) (به‌عنوان افزاینده ویسکوزیته)، متیل‌پارابن و یا بنزالکونیوم کلراید (به‌عنوان ماده محافظ) در کنار کمپلکس سیکلودکسترین و تاکرولیموس مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها: آلفا، هیدروکسی پروپیل بتا و گاما سیکلودکسترین به‌ترتیب بیشترین تأثیر را در افزایش محلولیت مایه داشتند. این سه نوع سیکلودکسترین، به‌ترتیب: حدود 174، 160 و 102 برابر محلولیت ذاتی تاکرولیموس را افزایش دادند. با توجه به این نتایج، آلفا و هیدروکسی پروپیل بتا سیکلودکسترین برای تهیه فرم محلول تاکرولیموس انتخاب شدند. در فرمولاسیون قطره چشمی حاوی کمپلکس سیکلودکسترین - تاکرولیموس، متیل‌پارابن و HPMC، محلولیت دارو به‌میزان قابل توجهی کاهش یافت؛ در صورتی که در فرمولاسیون حاوی کمپلکس سیکلودکسترین - تاکرولیموس، بافر، HPMC (یا PVA) و بنزالکونیوم کلراید تغییر قابل توجهی در محلولیت تاکرولیموس مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: امکان تهیه قطره چشمی تاکرولیموس با غلظت 0/05% با استفاده از سیکلودکسترین‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تاکرولیموس، سیکلودکسترین، محلولیت مایه، قطره چشمی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. 1396؛ 24 (1): 19-27.

دریافت: 1395/11/04 پذیرش: 1396/02/24

<sup>1</sup> دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

<sup>2</sup> مرکز تحقیقات چشم، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

<sup>3</sup> گروه چشم، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

<sup>4</sup> نویسنده مسؤؤل؛ مرکز تحقیقات نانوفناوری، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

آدرس: مشهد- بلوار وکیل آباد- مجتمع دانشگاهی- دانشکده داروسازی- صندوق پستی 91777-1365

تلفن: 051-8823255 نمایر: 051-8823251 پست الکترونیک: malaekheh@mums.ac.ir

## مقدمه

کراتوکونژکتیویت بهاره است؛ ولی با توجه به محلولیت پایین این دارو در آب، امکان تهیه فرمولاسیون چشمی آن به صورت محلول چشمی فراهم نمی‌باشد. به این منظور در این مطالعه از سیکلودکسترین‌ها به عنوان عمل افزایشدهنده محلولیت مایه دارو با تشکیل کمپلکس دارو-سیکلودکسترین استفاده شد و تلاش شد با بررسی تأثیر سیکلودکسترین‌های طبیعی و صناعی و دیگر اجزای فرمولاسیون قطره چشمی بر محلولیت تاکرولیموس، فرمولاسیون مناسب برای ساخت محلول چشمی تاکرولیموس ارائه شود.

## روش تحقیق

## مواد

تاکرولیموس مونوهیدرات، از شرکت داروسازی ابوریحان (تهران، ایران) تهیه شد. آلفا، گاما، سولفوبوتیل اتر بتا سیکلودکسترین از شرکت Seebio (چین) و هیدروکسی پروپیل بتا، هیدروکسی پروپیل گاما سیکلودکسترین و بنزالکونیوم کلراید (BZCI) از شرکت Sigma-Aldrich (آمریکا) تهیه شدند. پلیمر هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) ساخت شرکت Colorcon (آمریکا) و فسفریک اسید، پلی‌وینیل الکل (PVA) و متیل پارابن، ساخت شرکت Merck (آلمان) بودند.

## مطالعات محلولی مایه تاکرولیموس در حضور

## سیکلودکسترین

محلول‌های مایه سیکلودکسترین با غلظت‌های مختلف (5-15% برای آل سیکلودکسترین و 5-20% برای دیگر سیکلودکسترین‌ها) آماده شدند. به هر میکروتیوب، مقدار مساوی تاکرولیموس (3 میلی گرم) افزوده شد. میکروتیوب‌ها در روتاتور خورشیدی به مدت 24 ساعت قرار گرفتند و بعد از سانتریفیوژ، با استفاده از دستگاه HPLC (کروماتوگرافی مایع با فشار بالا) مورد آنالیز قرار گرفتند. با کمک منحنی استاندارد، میزان تاکرولیموس در فرم محلول تعیین گردید؛ همچنین برای تعیین محلولیت ذاتی تاکرولیموس، مراحل

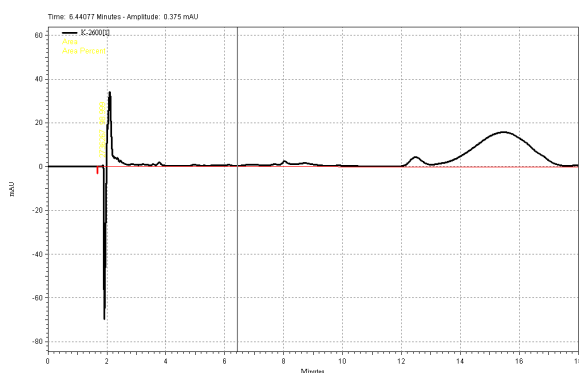
سیکلودکسترین‌ها، اولیگوساکاریدهایی هستند که از واحدهای d-گلکوپیرانوز تشکیل شدند. این ترکیبات ساختار مخروطی ناقصی دارند که در بخش داخلی به طور نسبتی غیرقطبی هستند و محیط هیدروفوبی ایجاد می‌کنند؛ اما به علت وجود تعداد زیاد گروه‌های هیدروکسیل در بخش خارجی، محلول در آب هستند (1). مشتقات این مواد، با هدف هر چه بیشتر شدن محلولیت آنها در آب تشکیل شده‌اند (2). سیکلودکسترین‌ها به وسیله حفره هیدروفوب خود می‌توانند با مولکول‌های لیپوفیل، کمپلکس گنجایشی تشکیل دهند. توانایی سیکلودکسترین در تشکیل کمپلکس به نسبت اندازه سیکلودکسترین به اندازه مولکول دارو و یا گروه‌های عاملی همراه دارو، بستگی دارد. فاکتور مؤثر دیگر، واکنش ترمودینامیک میان اجزای مختلف سیستم (سیکلودکسترین، دارو و حلال) می‌باشد (1). عواملی مانند: نوع سیکلودکسترین، تغییرات دما، روش‌های تهیه کمپلکس و پلیمرهای محلول در آب، در تشکیل کمپلکس گنجایشی تأثیر گذارند (3).

تاکرولیموس، یک ماکرولید آب‌گریز لاکتونی مشتق از باکتری *Streptomyces tsukubaensis* با فعالیت سرکوب‌کنندگی سیستم ایمنی است (4). تاکرولیموس با اتصال به ایمونوفیلین FK506 binding protein-12، کمپلکسی ایجاد می‌کند که به کلسیم، کالمودولین و کلسی‌نورین متصل و سبب مهار فعالیت فسفاتاز کلسی‌نورین می‌شود. مهار این آنزیم، از جابه‌جایی فاکتور رونویسی لنفوسیت T فعال شده، جلوگیری می‌کند. در نهایت دارو باعث مهار فعالیت لنفوسیت T و افزایش پاسخ‌دهی بیماران پیوندی می‌گردد (5). ساز و کار اثر آن، مشابه سیکلوسپورین بوده، ولی بیش از 100 برابر نسبت به سیکلوسپورین، قدرت دارد (6). تاکرولیموس محلولیت در آب ناچیزی (4-12 میکروگرم بر میلی لیتر) دارد. یکی از روش‌های دارورسانی تاکرولیموس، کمپلکس آن با سیکلودکسترین است (5).

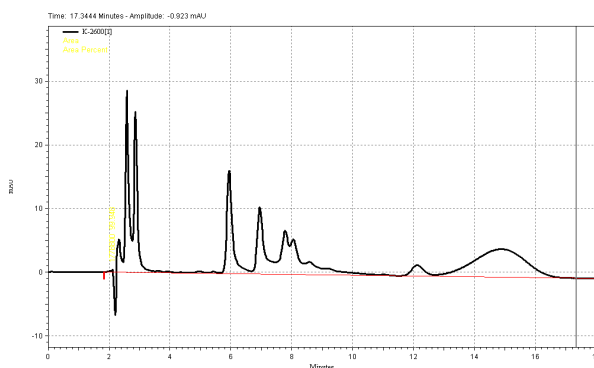
تاکرولیموس داروی مناسبی برای درمان بیماری

مورد نظر در 15 دقیقه ظاهر شدند.

محلولیت مایی تاکرولیموس در حضور سولفوبوتیل‌اتربتاسیکلودکسترین، نظم مرتبی نداشت؛ ولی در حضور دیگر سیکلودکسترین‌ها محلولیت دارو با افزایش غلظت سیکلودکسترین به صورت خطی افزایش پیدا کرد (در حضور غلظت 15% گاما سیکلودکسترین، کمی کاهش محلولیت مشاهده شد)؛ به طوری که در حضور غلظت 15% آلفاسیکلودکسترین، محلولیت از  $4/6 \pm 0/9$  میکروگرم بر میلی‌لیتر به  $799/7 \pm 105/9$  میکروگرم بر میلی‌لیتر افزایش پیدا کرد. روند صعودی افزایش محلولیت مایی تاکرولیموس در حضور سه سیکلودکسترین آلفا، هیدروکسی‌پروپیل‌بتا و هیدروکسی‌پروپیل‌گاما مشاهده شد.



شکل 1- کروماتوگرام HPLC از محلول استاندارد تاکرولیموس



شکل 2- کروماتوگرام محلولیت مایی تاکرولیموس در حضور سیکلودکسترین

گفته شده در عدم حضور سیکلودکسترین تکرار شد. هر نمونه سه بار تهیه شد و نتایج به صورت  $Mean \pm SD$  گزارش گردید.

پس از مطالعات محلولیت فازی، غلظت‌های مورد نظر از سیکلودکسترین برای ساخت قطره چشمی (با غلظت 0/05 درصد) انتخاب شدند. سپس با افزودن اجزای قطره چشمی در فرمولاسیون اول شامل: بافر فسفات‌ایزوتونیک (B)، هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز (0/1 درصد) و متیل‌پارابن (0/1 درصد) (مرحله به مرحله) به کمپلکس تاکرولیموس-سیکلودکسترین و نیز در فرمولاسیون دیگر با افزودن بافر فسفات‌ایزوتونیک، هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز (و یا پلی‌وینیل‌الکل (1/4 درصد)) و بنزآلکونیوم‌کلراید (0/013 درصد) به کمپلکس تاکرولیموس-سیکلودکسترین، میزان محلولیت دارو بررسی شد. در انتها برای حذف داروی نامحلول در آب از ساترifiوژ و نیز برای استریل‌نمودن نمونه‌ها از فیلتر 0/22 میکرون استفاده شد.

### سنجش HPLC

ستون مورد استفاده دستگاه HPLC ستون  $C_{18}$  و طول موج دکتور UV 215nm بود. فاز متحرک از فسفریک‌اسید: آب: استونیتریل (300:700:0/2 v/v/v) تشکیل شد و با سرعت جریان 1 ml/min و با حجم تزریق 20 $\mu$ l مورد استفاده قرار گرفت.

### آنالیز آماری

نتایج به صورت  $Mean \pm SD$  گزارش شد. آنالیز آماری به‌وسیله آزمون ANOVA یک‌طرفه با کمک نرم‌افزار InStat®3 صورت گرفت. مقدار  $P < 0/05$  به‌عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

در کروماتوگرام‌های HPLC از محلول استاندارد تاکرولیموس (شکل 1) و کمپلکس تاکرولیموس و سیکلودکسترین (شکل 2)، مشاهده می‌شود که پیک‌های

جدول 1- نتایج محلولیت مایی تا کرو لیموس در حضور انواع مختلف سیکلودکسترین ها و دیگر اجزا (Mean±SD, n=3)

غلظت سیکلودکسترین				فرمولاسیون
محلولیت مایی (میکروگرم بر میلی لیتر)				
%20	%15	% 10	%5	
470/9±108/2	361/4±14/6	401/85±49/8	15/2±48/5	گاما سیکلودکسترین
158/3±36/6	91/4±10	133/05±23/5	93/7±13/9	سولفوبوتیل اتر بتا سیکلودکسترین
-	799/7±105/9	556/8±90/09	286/2±68/3	آلفا سیکلو دکسترین
705/98±129/7	657/14±94/1	450/2±74/7	171/6±36/3	هیدروکسی پروپیل بتا سیکلو دکسترین
323/05±77/2	220/3±28/1	176/4±47/6	125/4±18/05	هیدروکسی پروپیل گاما سیکلودکسترین
		125/4±41/7		B+آلفا سیکلودکسترین
		200/7±60/4		B+HPMC+آلفا سیکلودکسترین
		59/8±10/9		متیل پارابن+B+HPMC+آلفا سیکلودکسترین
	308/5±28/5			B+هیدروکسی پروپیل بتا سیکلودکسترین
	285/81±43/8			B+HPMC+هیدروکسی پروپیل بتا سیکلودکسترین
	169/4±51/3			متیل پارابن+B+HPMC+هیدروکسی پروپیل بتا سیکلودکسترین
		198/2±21/2		B+آلفا سیکلودکسترین
		424/9±8		B+HPMC+BZCI+آلفا سیکلودکسترین
		469/6±32/4		B+BZCI+PVA+آلفا سیکلودکسترین
	286/2±33/03			B+هیدروکسی پروپیل بتا سیکلودکسترین
	514/9±49/98			B+BZCI+HPMC+هیدروکسی پروپیل بتا سیکلودکسترین
	518/2±55/5			B+BZCI+PVA+هیدروکسی پروپیل بتا سیکلودکسترین

فسفات ایزوتونیک، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز و متیل پارابن، محلولیت دارو با کاهش قابل توجهی همراه بود (جدول 1). در حضور هیدروکسی پروپیل بتا سیکلودکسترین (15 درصد) نیز نتایج به همین صورت بود. در حضور آلفا سیکلودکسترین و فرمولاسیون بافر فسفات ایزوتونیک، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (و یا پلی وینیل الکل) و بنزالکونیوم کلراید، محلولیت به طور مجدد افزایش پیدا کرد. در حضور هیدروکسی پروپیل بتا سیکلودکسترین و فرمولاسیون بافر فسفات ایزوتونیک، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (و یا پلی وینیل الکل) و بنزالکونیوم کلراید نیز محلولیت به طور مجدد افزایش پیدا کرد.

محلولیت تا کرو لیموس در حضور آلفا سیکلودکسترین و فرمولاسیون بافر فسفات ایزوتونیک، پلی وینیل الکل و بنزالکونیوم کلراید نسبت به کمپلکس اولیه، اختلاف معنی داری نداشت ( $P>0/05$ ). همچنین محلولیت تا کرو لیموس در حضور

همان طور که در جدول یک مشاهده می شود، با افزایش غلظت سیکلودکسترین، محلولیت تا کرو لیموس افزایش یافت. در غلظت 15% آلفا سیکلودکسترین، محلولیت از  $4/6±0/9$  به  $799/7±105/9$  میکروگرم بر میلی لیتر افزایش پیدا کرد (بیشترین محلولیت با این سیکلودکسترین دیده شد). دو سیکلودکسترین آلفا و هیدروکسی پروپیل بتا، بیشترین افزایش محلولیت را ایجاد کردند. در حضور سولفوبوتیل اتر بتا سیکلودکسترین، نظم مرتبی در افزایش محلولیت مشاهده نشد.

با توجه به اینکه در مطالعات قبلی از غلظت 500 میکروگرم بر میلی لیتر تا کرو لیموس برای ساخت سوسپانسیون چشمی آن استفاده شده است؛ بنابراین در این مطالعه نیز به منظور استفاده از این غلظت، سیکلودکسترین های آلفا و هیدروکسی پروپیل بتا برای ساخت قطره چشمی انتخاب شدند. در حضور آلفا سیکلودکسترین (10 درصد) با افزودن بافر

را کاهش می‌دهد. همچنین فرم سوسپانسیون منجر به افزایش قیمت فرآورده می‌شود (۷،۸). با توجه به موارد ذکر شده، شکل محلول بر سوسپانسیون برتری دارد.

مطالعات مختلفی در زمینه افزایش محلولیت داروها به دنبال کمپلکس شدن به سیکلودکسترین‌ها صورت گرفته است. به‌عنوان نمونه در مطالعه‌ای که بر روی ایندومتاسین صورت گرفت، هیدروکسی‌اتیل‌بتاسیکلودکسترین و هیدروکسی‌پروپیل‌بتاسیکلودکسترین، به‌میزان قابل توجهی محلولیت ایندومتاسین را افزایش دادند (9). ملائکه و همکاران نشان دادند که محلولیت مایی کورتیکواستروئیدهایی نظیر فلورومتولون و بکلومتازون در حضور سیکلودکسترین‌ها افزایش قابل توجهی پیدا می‌کند (10، 1). در مطالعه دیگری نشان داده شد که سیکلودکسترین‌ها با تشکیل کمپلکس گنجایشی با کلرامفنیکل، سبب افزایش محلولیت آن در فرمولاسیون قطره چشمی شدند (11).

با توجه به نمودار محلولیت مایی تاکرولیموس در حضور غلظت‌های مختلف آلفا، گاما، هیدروکسی‌پروپیل‌بتا، سولفو بتیل‌اتر بتا- و هیدروکسی‌پروپیل‌گاما سیکلودکسترین در این مطالعه، محلولیت مایی تاکرولیموس به‌صورت خطی با سه سیکلودکسترین آلفا، هیدروکسی‌پروپیل‌بتا و هیدروکسی‌پروپیل‌گاما افزایش یافت. نمودار آلفا نیز از نوع  $A_L$  و نمودارهای هیدروکسی‌پروپیل‌بتا و هیدروکسی‌پروپیل‌گاما در محدوده غلظت‌های 5% تا 15% از نوع  $A_L$  می‌باشد. در این مطالعه بیشترین افزایش محلولیت مایی تاکرولیموس با غلظت 15% آلفا سیکلودکسترین ایجاد شد. از آن جا که ترکیبات متفاوتی نظیر: زنجیره‌های مستقیم یا شاخه‌دار آلیفاتیک، آلدئیدها، کتون‌ها، الکل‌ها،

هیدروکسی‌پروپیل‌بتاسیکلودکسترین و فرمولاسیون بافر فسفات‌ایزوتونیک، هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز (و یا پلی‌وینیل‌الکل) و بنزالکونیوم کلراید نسبت به کمپلکس اولیه، اختلاف معنی‌داری نداشت ( $P > 0/05$ ).

## بحث

تاکرولیموس، دارویی است که در درمان کراتوکونژکتیویت بهاره می‌تواند نقش مؤثری داشته باشد؛ اما به‌علت محلولیت کم و ناچیز این دارو در آب، مطالعاتی در زمینه تهیه فرم سوسپانسیون آن انجام شده است. برادران رفیعی و همکاران در مطالعه‌ای، سوسپانسیون چشمی تاکرولیموس را تهیه کردند و بهبود قابل ملاحظه علائم بیماری را طی یک هفته از شروع درمان و بهبود اکثر نشانه‌های بیماری با طول زمان بیشتری از شروع درمان (حداقل یک ماه) را مشاهده نمودند (6).

محلول‌های چشمی به‌راحتی در چشم قرار می‌گیرند؛ اما با این حال برای ایجاد اثرات درمانی بهتر، باید از ماندن دارو در داخل چشم اطمینان حاصل نمود. همچنین محلول‌های چشمی در بینایی بیمار تداخلی ایجاد نمی‌کنند (7). سوسپانسیون‌های چشمی نیز به‌راحتی در چشم قرار می‌گیرند اما معایبی دارند. به‌عنوان مثال، اطمینان حاصل نمودن از اینکه سوسپانسیون شامل ذرات بزرگی که منجر به تحریک چشم می‌شوند نباشد، کار مشکلی است. به‌دلیل عدم محلولیت نسبی دارو در حامل، نمی‌توان در غلظت داروی حل‌شده دستکاری نمود. سوسپانسیون‌ها سیستم‌های غیرهموژنی هستند که احتمال وقوع پدیده‌هایی نظیر: تجمع ذرات (Aggregation)، تشکیل کیک (Cake formation) و غیره با گذشت زمان در آنها وجود دارد که کارایی درمانی آنها

جدول 2- بررسی پارامترهای حاصل از نمودار محلولیت فازی

سیکلودکسترین	ضریب همبستگی	ثابت پایداری تشکیل کمپلکس	بازده کمپلکس	نوع نمودار
هیدروکسی‌پروپیل‌بتا	0/9209	1158	0/0069	AN
هیدروکسی‌پروپیل‌گاما	0/9579	401	0/0024	AP
آلفا	0/9983	1022/9	0/0061	AL

میانگین درجه جایگزینی سولفوبوتیل 7 و میانگین درجه جایگزینی هیدروکسی پروپیل 3/5 است. با توجه به این نسبت می‌توان نتیجه گرفت که در مولکول سولفوبوتیل‌اتر بتاسیکلودکسترین، تعداد بیشتری از گروه‌های هیدروکسیل توسط گروه‌های سولفوبوتیل‌اتر اشغال شدند؛ بنابراین تعداد گروه‌های هیدروکسیل آزاد برای پیوند با آب و محلولیت مایی سولفوبوتیل‌اتر بتاسیکلودکسترین کاهش می‌یابد (13).

پارامترهای مختلفی می‌تواند بر محلولیت داروها در حضور سیکلودکسترین مؤثر باشد که در ادامه به چند مورد اشاره خواهد شد. پلیمرهای محلول در آب می‌توانند با افزایش محلولیت آبی سیکلودکسترین، سبب افزایش کمپلکس‌سازی سیکلودکسترین- دارو شوند (14). در مطالعه Loftsson، گزارش شد که معمولاً با افزودن پلیمر، محلولیت به‌شدت بالا می‌رود و در غلظت‌های 0/1-0/2% (w/v) به حداکثر می‌رسد؛ اما با افزودن مقدار بیشتری از پلیمر، تا حدودی کاهش می‌یابد (15). اما در این مطالعه با افزودن هیدروکسی پروپیل‌متیل سلولز و پلی‌وینیل‌الکل محلولیت کاهش یافت. در مطالعه Loftsson و Frioriksdottir نقش کمپلکس‌های غیرگنجایشی در افزایش محلولیت با استفاده از پلیمرهای محلول در آب مانند: هیدروکسی پروپیل‌متیل سلولز و ترکیبات آنیونیک و کاتیونیک از جمله سدیم استات و بنزآلکونیوم کلراید، مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه محلولیت کمپلکس هیدروکورتیزون- بتا سیکلودکسترین در حضور هیدروکسی پروپیل‌متیل سلولز و سدیم استات افزایش یافت (16). در مطالعه Loftsson و Masson نیز مشخص شد که ترکیباتی مانند: چربی‌ها، سورفاکتانت‌ها، حلال‌های آلی، نمک‌های بافری و نکه‌دارنده‌ها کارآیی کمپلکس‌شدن را کاهش می‌دهند (14).

در مطالعه ملائکه نیکوئی و همکاران، محلولیت مایی سیکلوسپورین با افزایش غلظت سدیم استات، کاهش یافت. در این مطالعه مشخص شد که آلفا سیکلودکسترین با

هیدروکربن‌ها، آمین‌ها و ترکیبات آروماتیک می‌توانند توسط سیکلودکسترین‌ها در بر گرفته شوند، احتمالاً آلفا سیکلودکسترین با حفره کوچک خود، این گروه‌ها را در بر می‌گیرد. آلکیلاسیون بعضی از گروه‌های OH در سیکلودکسترین، باعث کاهش پیوندهای هیدروژنی داخل مولکولی می‌شود و بعضی از گروه‌های OH را برای واکنش با آب آزاد می‌گذارد؛ در نتیجه باعث افزایش قابلیت انحلال سیکلودکسترین‌ها در آب و تشکیل کمپلکس‌های گنجایشی می‌شود (2). در مطالعه حاضر هیدروکسی پروپیل‌بتا احتمالاً به این طریق محلولیت را افزایش داده است.

همان‌طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود، هیدروکسی پروپیل‌بتاسیکلودکسترین بیشترین ثابت پایداری کمپلکس را دارد؛ به این معنی که تمایل آن برای تشکیل کمپلکس با تاکرولیموس و ایجاد کمپلکس پایدارتر بیشتر است. با این وجود آلفاسیکلودکسترین، بیشترین افزایش محلولیت مایی تاکرولیموس را ایجاد می‌کند. این موضوع احتمالاً به این علت است که مولکول تاکرولیموس به نسبت حجم بوده و گروه‌های عاملی هیدروکسی پروپیل‌بتاسیکلودکسترین، ممانعت فضایی ایجاد می‌کنند؛ بنابراین محلولیت تاکرولیموس در حضور هیدروکسی پروپیل‌بتاسیکلودکسترین نسبت به آلفاسیکلودکسترین کمتر افزایش می‌یابد (12). در بین گاماسیکلودکسترین و هیدروکسی پروپیل‌گاماسیکلودکسترین، کمترین افزایش محلولیت مایی تاکرولیموس با هیدروکسی پروپیل‌گاماسیکلودکسترین دیده شد که احتمالاً به علت تراحم فضایی گروه‌های آلکیل با مولکول نسبتاً حجیم تاکرولیموس می‌باشد (9).

هیدروکسی پروپیل‌بتاسیکلودکسترین و سولفوبوتیل‌اتر بتاسیکلودکسترین، هر دو مشتق صناعی بتاسیکلودکسترین هستند؛ اما سولفوبوتیل‌اتر بتاسیکلودکسترین محلولیت را به‌طور منظمی افزایش نمی‌دهد. علت این امر را می‌توان در ساختمان مولکولی این دو ماده جست و جو کرد.

متیل‌پارابن به‌علت اندازه کوچک آن، دیده شد (17، 8). در این مطالعه نیز متیل‌پارابن با هیدروکسی‌پروپیل‌بتا سیکلودکسترین (مشتق بتا سیکلودکسترین) و آلفا سیکلودکسترین تداخل ایجاد کرد و منجر به کاهش محلولیت تاکرولیموس شد. بنزآلکونیوم کلراید، محلولیت در آب بسیار خوبی دارد؛ به همین دلیل نسبت به متیل‌پارابن اثر بسیار کمتری بر کمپلکس تاکرولیموس - سیکلودکسترین می‌گذارد؛ در نتیجه محلولیت دارو را کاهش نمی‌دهد (18). در این مطالعه نیز افزایش محلولیت در حضور بنزآلکونیوم کلراید مشاهده شد. در اکثر موارد، افزایش دما سبب کاهش مقدار ثابت پایداری کمپلکس دارو-سیکلودکسترین و در نتیجه کاهش محلولیت می‌شود (3). در این مطالعه اثر دما بر محلولیت مایی کمپلکس مورد بررسی قرار نگرفت.

### نتیجه‌گیری

در این مطالعه نشان داده شد که افزایش محلولیت تاکرولیموس در حضور سیکلودکسترین‌ها به‌خصوص آلفا و هیدروکسی‌پروپیل‌بتا سیکلودکسترین امکان‌پذیر است. همچنین امکان تهیه قطره چشمی 0/05% تاکرولیموس به شکل محلول با استفاده از سیکلودکسترین‌ها وجود دارد.

### تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد برای تأمین منابع مالی این مطالعه، تشکر و قدردانی می‌شود.

گروه‌های آلیفاتیک حلقه سیکلوسپورین کمپلکس تشکیل می‌دهد. همچنین مشخص شد که یون استات به این دلیل که گروه‌های متیل کوچک دارد، می‌تواند اثر رقابتی داشته و محلولیت را کاهش دهد (1). مکانیسم‌های مختلفی شامل: رقیق‌سازی، جایگزینی رقابتی، اتصال به پروتئین، بازجذب دارو در بافت، تغییر در قدرت یونی و دما، در آزادسازی دارو از کمپلکس دارو-سیکلودکسترین نقش مهمی دارند. با افزایش قدرت یونی، کارایی کمپلکس کاهش می‌یابد (1). در این مطالعه سیکلودکسترین با تاکرولیموس کمپلکس گنجایشی تشکیل داد و نیروی پیش‌برنده اصلی این فرآیند، نیروی هیدروژنی بود. با افزودن بافر فسفات، به علت قدرت یونی بالا، محلول دارو و سیکلودکسترین تحت تأثیر قرار گرفت و محلولیت دارو کاهش یافت.

در محلول‌های چشمی حاوی سیکلودکسترین، مشاهده شد که افزودن نگه‌دارنده‌ها به محلول‌های مائی حاوی سیکلودکسترین به‌علت خطر آلودگی میکروبی، ضروری است. مطالعات زیادی تداخل بین سیکلودکسترین‌ها و نگه‌دارنده‌ها را نشان داده‌اند. Chan و همکاران در مطالعه‌ای تداخل پارابن‌ها و بتاسیکلودکسترین را بررسی کردند. بعد از تهیه محلول‌ها طی فرآیندهای متعدد، ارزیابی تداخلات از طریق غشاهای دیالیزی صورت گرفت. این مطالعه نشان داد که تداخل محافظ و سیکلودکسترین با افزایش غلظت سیکلودکسترین، افزایش یافت و این افزایش تحت تأثیر روش تهیه نمونه نبود؛ بلکه به‌علت اثر اندازه و خصوصیات چربی‌دوستی مولکول‌های نگه‌دارنده بود. بیشترین تداخل با

### منابع:

- 1- Malaekheh-Nikouei B, Sajadi Tabassi A, Gerayeli G, Arab Salmani M, Gholamzadeh A. The effect of cyclodextrin mixtures on aqueous solubility of beclomethasone dipropionate. *J Incl Phenom Macrocycl Chem*. 2012; 72(3): 383-7.
- 2- Kurkov SV, Loftsson T. Cyclodextrins. *Int J Pharm*. 2013; 453(1): 167-80.
- 3- Challa R, Ahuja A, Ali J, Khar RK. Cyclodextrins in drug delivery: An updated review. *AAPS Pharm Sci Tech*. 2005; 6(2): 329-57.
- 4- Shi Q, Li J, Ding F. Development and validation of method for determination of related substances of tacrolimus in tacrolimus capsules and degradation studies. *Int J Chem Tech Res*. 2012; 4(4): 1543-52.



- 5- Patel P, Patel H, Panchal S, Mehta T. Formulation strategies for drug delivery of tacrolimus: an overview. *Int J Pharm Investig.* 2012; 2(4): 169-75.
- 6- Baradaran-Rafii AR, Akbari M, Sadooghi MM. Efficacy of topical tacrolimus 0.05% suspension on treatment of steroid resistant refractory vernal keratoconjunctivitis. *Bina.* 2014; 19(2): 99-109. [Persian]
- 7- Ali Y, Lehmuusaari K. Industrial perspective in ocular drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2006; 58(11): 1258-68.
- 8- Malaekheh-Nikouei B, Fazly Bazzaz BS, Soheili V, Mohammadian K. Problems in ophthalmic drug delivery: Evaluation of the interaction between preservatives and cyclodextrins. *Jundishapur J Microbiol.* 2013; 6(5): e6333.
- 9- Jambhekar S, Casella R, Maher T. The physicochemical characteristics and bioavailability of indomethacin from beta-cyclodextrin, hydroxyethyl-beta-cyclodextrin, and hydroxypropyl-beta-cyclodextrin complexes. *Int J Pharm.* 2004; 270(1-2): 149-66.
- 10- Malaekheh-Nikouei B, Sajadi Tabassi SA, Ashari H, Gholamzadeh A. Evaluation the effect of cyclodextrin complexation on aqueous solubility of fluorometholone to achieve ophthalmic solution. *J Incl Phenom Macrocycl Chem.* 2009; 65: 335.
- 11- Zuorro A, Fidaleo M, Lavecchia R. Solubility enhancement and antibacterial activity of chloramphenicol included in modified  $\beta$ -cyclodextrins. *Bull Korean Chem Soc.* 2010; 31(11): 3460-2.
- 12- Arima H, Yunomae K, Miyake K, Irie T, Hirayama F, Uekama K. Comparative studies of the enhancing effects of cyclodextrins on the solubility and oral bioavailability of tacrolimus in rats. *J Pharm Sci.* 2001; 90(6): 690-701.
- 13- Okimoto K, Rajewski RA, Uekama K, Jona JA, Stella VJ. The interaction of charged and uncharged drugs with neutral (HP- $\beta$ -CD) and anionically charged (SBE7- $\beta$ -CD) beta-cyclodextrins. *Pharm Res.* 1996; 13(2): 256-64.
- 14- Loftsson T, Masson M. Cyclodextrin in topical drug formulations: theory and practice. *Int J Pharm.* 2001. 225(1-2): 15-30.
- 15- Loftsson T. Increasing the cyclodextrin complexation of drugs and drug bioavailability through the addition water-soluble polymers. *Pharmazie.* 1998; 53(11): 733-40.
- 16- Loftsson T, Frioriksdottir H. The effect of water-soluble polymer on the aqueous solubility and complexing abilities of  $\beta$ -cyclodextrin. *Int J Pharm.* 1998; 163(1-2): 115-21.
- 17- Chan LW, Kurup TRR, Muthaiah A, Thenmozhiyal JC. Interaction of p-hydroxybenzoic esters with beta-cyclodextrin. *Int J Pharm.* 2000(1-2); 195: 71-9.
- 18- Loftsson T, Stefansdottir O, Frioriksdottir H, Guomundsson O. Interaction between preservatives and 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Drug Dev Ind Pharm.* 1992; 18(13): 1477-84.