

Preparation of tacrolimus ophthalmic solution using cyclodextrins

Farzaneh Hajiahmadi¹, Akbar Derkhshan², Maliheh Nikandish³, Bizhan Malaekh-Nikouei⁴

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 α , γ , hydroxypropyl (HP)- β , HP - γ , and sulfobutyl ether (SBE)- β -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: α , HP - β ,and γ -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, α and HP - β -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

¹ Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

² Eye Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

³ Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

⁴ Corresponding Author; Nanotechnology Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Email: malaekhb@mums.ac.ir

Tel: 98 513 8823255

Fax: 98 513 8823251

تهیه قطره چشمی تاکرولیموس با استفاده از سیکلودکسترین‌ها

فرزانه حاجی‌احمدی^۱, اکبر درخشان^۲, مليحه نیک‌اندیش^۳, بیژن ملاتکه‌نیکوئی^۴

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از تاکرولیموس موضعی در بیماری کراتوکونژنکتیویت بهاره به عنوان جایگزین استروبیدها 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، ۵ سیکلودکسترین آلفا، گاما، هیدروکسی پروپیل بتا، هیدروکسی پروپیل کاما و سولفوبوتیل اتر بتا سیکلودکسترین مورد استفاده قرار گرفت. در تهیه قطره چشمی، بافر فسفات (pH=7/4)، پلیمرهای هیدروکسی پروپیل متیل سلوژ (HPMC) و یا پلی‌وینیل الکل (PVA) (به عنوان افزاینده ویسکوزیته)، متیل پارابن و یا بنزاکونیوم کلرايد (به عنوان ماده محافظ) در کار کمپلکس سیکلودکسترین و تاکرولیموس مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها: آلفا، هیدروکسی پروپیل بتا و گاما سیکلودکسترین به ترتیب بیشترین تأثیر را در افزایش محلولیت مایی داشتند. این سه نوع سیکلودکسترین، به ترتیب: حدود ۱۷۴، ۱۶۰ و ۱۰۲ 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، متیل پارابن و HPMC، محلولیت دارو بهمیزان قابل توجهی کاهش یافت؛ در صورتی که در فرمولاسیون حاوی کمپلکس سیکلودکسترین-تاکرولیموس، بافر، HPMC (یا PVA) و بنزاکونیوم کلرايد تغییر قابل توجهی در محلولیت تاکرولیموس مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: امکان تهیه قطره چشمی تاکرولیموس با غلظت ۰/۰۵٪ با استفاده از سیکلودکسترین‌ها می‌باشد.

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

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۶: ۲۴(۱): ۱۹-۲۷.

دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۲۴ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۰۴

^۱ دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

^۲ مرکز تحقیقات چشم، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

^۳ گروه چشم، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

^۴ تویسندۀ مسؤول؛ مرکز تحقیقات نانوفناوری، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

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

تلفن: ۰۵۱-۸۸۲۳۲۵۵ نامبر: ۰۵۱-۸۸۲۳۲۵۱ پست الکترونیکی: malaekhb@mums.ac.ir

مقدمه

کراتوکونثرکتیوبیت 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 سیکلودکسترنین‌ها به عنوان عمل افزاینده محلولیت مایی دارو با تشکیل کمپلکس دارو-سیکلودکسترنین استفاده شد و تلاش شد با بررسی تأثیر سیکلودکسترنین‌های 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 سیکلودکسترنین از شرکت Seebio (چین) و هیدروکسی پروپیل بتا، هیدروکسی پروپیل گاما سیکلودکسترنین و Sigma-Aldrich (BZCI) از شرکت Sigma-Aldrich (آمریکا) تهیه شدند. پلیمر هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC) ساخت شرکت Colorcon (آمریکا) و فسفوکلریک اسید، پلی وینیل الکل (PVA) و متیل پارابن، ساخت شرکت Merck (آلمان) بودند.

مطالعات محلولی مایی تاکرولیموس در حضور سیکلودکسترنین

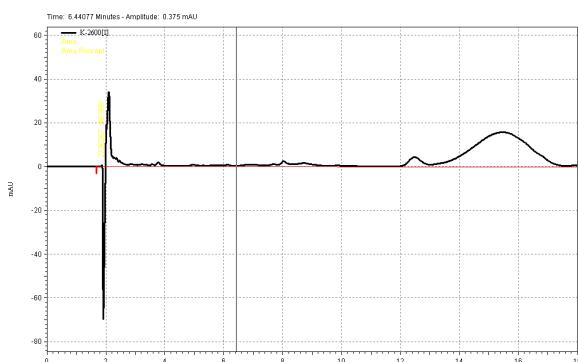
محلول‌های مایی سیکلودکسترنین با غلظت‌های مختلف (5-15٪ برای آل سیکلودکسترنین و 5-20٪ برای دیگر سیکلودکسترنین‌ها) آماده شدند. به هر میکروتیوب، مقدار مساوی تاکرولیموس (3 میلی گرم) افزوده شد. میکروتیوب‌ها در روتاتور خورشیدی به مدت 24 ساعت قرار گرفتند و بعد از سانتریفیوژ، با استفاده از دستگاه HPLC (کروماتوگرافی 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

سیکلودکسترنین‌ها، اولیگوساکاریدهایی هستند که از واحدهای d-گلکوپیرانوز تشکیل شدن. این ترکیبات ساختار مخربوطی 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 بیشترشدن محلولیت آنها در آب تشکیل شده‌اند (2). سیکلودکسترنین‌ها به وسیله حفره هیدروفوب خود می‌توانند با مولکول‌های لیپوفیل، کمپلکس گنجایشی تشکیل دهند. توانایی سیکلودکسترنین در تشکیل کمپلکس به نسبت اندازه سیکلودکسترنین به اندازه مولکول دارو و یا گروه‌های عاملی همراه دارو، بستگی دارد. فاکتور مؤثر دیگر، واکنش ترمودینامیک میان اجزای مختلف سیستم (سیکلودکسترنین، دارو و حلال) می‌باشد (1). عواملی مانند: نوع سیکلودکسترنین، تغییرات دما، روش‌های تهیه کمپلکس و پلیمرهای محلول در آب، در تشکیل کمپلکس گنجایشی تأثیر گذارند (3).

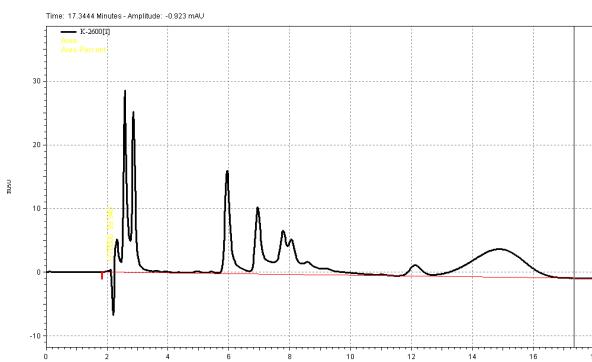
تاکرولیموس، یک ماکرولید آب‌گریز لاکتونی مشتق از باکتری *Streptomyces tsukubaensis* با فعالیت سرکوب‌کنندگی سیستم ایمنی است (4). تاکرولیموس با اتصال به ایمنوفیلین 12-FK506 binding protein-12، کمپلکسی ایجاد می‌کند که به کلسیم، کالمودولین و کلسی‌نورین متصل و سبب مهار فعالیت فسفاتاز کلسی‌نورین می‌شود. مهار این آنزیم، از جایه‌جایی فاکتور رونویسی لنفوسيت T فعال شده، جلوگیری می‌کند. در نهایت دارو باعث مهار فعالیت لنفوسيت 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 سیکلودکسترنین است (5).

تاکرولیموس داروی مناسبی برای درمان بیماری

مورد نظر در 15 دقیقه ظاهر شدند. محلولیت مایی تاکرولیموس در حضور سولفوبوتیل‌اترباتاسیکلولدکسترين، نظم مرتبی نداشت؛ ولی در حضور دیگر سیکلولدکسترين‌ها محلولیت دارو با افزایش غلظت سیکلولدکسترين به صورت خطی افزایش پیدا کرد (در حضور غلظت 15% گاما سیکلولدکسترين، کمی کاهش محلولیت مشاهده شد)؛ به طوری که در حضور غلظت 15% آلفاسیکلولدکسترين، 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 سیکلولدکسترين‌آلفا، هیدروکسیپروپیل‌بنا و هیدروکسیپروپیل گاما مشاهده شد.



شکل 1- کروماتوگرام HPLC از محلول استاندارد تاکرولیموس



شکل 2- کروماتوگرام محلولیت مایی تاکرولیموس در حضور سیکلولدکسترين

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

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

سنحش

ستون مورد استفاده دستگاه HPLC ستون C₁₈ و طول موج دتکتور UV 215nm بود. فاز متحرک از فسفوکی‌اسید: آب: استونیتریل (300:700:0/2 v/v/v) تشکیل شد و با سرعت جریان 1 ml/min و با حجم تزریق 20?1 مورد استفاده قرار گرفت.

آنالیز آماری

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

یافته‌ها

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

جدول 1- نتایج محلولیت مایی تاکرولیموس در حضور انواع مختلف سیکلودکستربن‌ها و دیگر اجزا (Mean \pm SD, n=3)

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

فسفات‌ایزوتوئنیک، هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز و متیل‌پارابن، محلولیت دارو با کاهش قابل توجهی همراه بود (جدول 1). در حضور هیدروکسی‌پروپیل‌باتا‌سیکلودکستربن (15 درصد) نیز نتایج به همین صورت بود. در حضور آلفا‌سیکلودکستربن و فرمولاسیون بافر فسفات‌ایزوتوئنیک، هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز (و یا بنزآلکونیوم کلراید، محلولیت به طور مجدد افزایش پیدا کرد. در حضور هیدروکسی‌پروپیل‌باتا‌سیکلودکستربن و فرمولاسیون بافر فسفات‌ایزوتوئنیک، هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز (و یا پلی‌وینیل‌الکل) و بنزآلکونیوم کلراید نیز محلولیت به طور مجدد افزایش پیدا کرد.

محلولیت تاکرولیموس در حضور آلفا‌سیکلودکستربن و فرمولاسیون بافر فسفات‌ایزوتوئنیک، پلی‌وینیل‌الکل و بنزآلکونیوم کلراید نسبت به کمپلکس اولیه، اختلاف معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). همچنین محلولیت تاکرولیموس در حضور

همان‌طور که در جدول یک مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت سیکلودکستربن، محلولیت تاکرولیموس افزایش یافت. در غلظت 15% آلفا سیکلودکستربن، محلولیت از $4/6\pm0/9$ به $799/7\pm105/9$ میکروگرم بر میلی لیتر افزایش پیدا کرد (بیشترین محلولیت با این سیکلودکستربن دیده شد). دو سیکلودکستربن آلفا و هیدروکسی‌پروپیل بتا، بیشترین افزایش محلولیت را ایجاد کردند. در حضور سولفوبوتیل‌اتریتا‌سیکلودکستربن، نظم مرتبی در افزایش محلولیت مشاهده نشد.

با توجه به اینکه در مطالعات قبلی از غلظت 500 میکروگرم بر میلی لیتر تاکرولیموس برای ساخت سوسپانسیون چشمی آن استفاده شده است؛ بنابراین در این مطالعه نیز به منظور استفاده از این غلظت، سیکلودکستربن‌های آلفا و هیدروکسی‌پروپیل بتا برای ساخت قطره چشمی انتخاب شدند. در حضور آلفا‌سیکلودکستربن (10 درصد) با افزودن بافر

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

مطالعات مختلفی در زمینه افزایش محلولیت داروها به

دنبال کمپلکس‌شدن به سیکلودکسترین‌ها صورت گرفته است. به عنوان نمونه در مطالعه‌ای که بر روی ایندوماتاسین

صورت گرفت، هیدروکسی‌اتیل‌باتاسیکلودکسترین و هیدروکسی‌پروپیل‌باتاسیکلودکسترین، به میزان قابل توجهی محلولیت ایندوماتاسین را افزایش دادند (۹). ملائمه همکاران نشان دادند که محلولیت مایی کورتیکواستروئیدهایی نظیر فلورو متولون و بکلومتاژون در حضور سیکلودکسترین‌ها افزایش قابل توجهی پیدا می‌کند (۱۰، ۱۱). در مطالعه دیگری نشان داده شد که سیکلودکسترین‌ها با تشکیل کمپلکس گنجایشی با کلرامفینیکل، سبب افزایش محلولیت آن در فرمولاسیون قطره چشمی شدند (۱۱).

با توجه به نمودار محلولیت مایی تاکرولیموس در حضور غلظت‌های مختلف آلفا، گاما، هیدروکسی‌پروپیل‌بنا، سولفوبوتیل‌اتر‌بنا و هیدروکسی‌پروپیل‌گاما‌سیکلودکسترین در این مطالعه، محلولیت مایی تاکرولیموس به صورت خطی با سه سیکلودکسترین آلفا، هیدروکسی‌پروپیل‌بنا و هیدروکسی‌پروپیل‌گاما افزایش یافت. نمودار آلفا نیز از نوع AL و نمودارهای هیدروکسی‌پروپیل‌بنا و هیدروکسی‌پروپیل‌گاما در محدوده غلظت‌های ۵% تا ۱۵% از نوع AL می‌باشد. در این مطالعه بیشترین افزایش محلولیت مایی تاکرولیموس با غلظت ۱۵% آلفا سیکلودکسترین ایجاد شد. از آن جا که ترکیبات متفاوتی نظیر: زنجیره‌های مستقیم یا شاخه‌دار آلیفاتیک، الدهیدها، کتون‌ها، الكل‌ها،

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

بحث

تاکرولیموس، دارویی است که در درمان کراتوکونزکتیویت بهاره می‌تواند نقش مؤثری داشته باشد؛ اما به علت 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 (۶).

محلول‌های چشمی به راحتی 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 (۷). سوسپانسیون‌های چشمی نیز به راحتی در چشم قرار می‌گیرند اما معایبی دارند. به عنوان مثال، اطمینان حاصل نمودن از اینکه سوسپانسیون شامل ذرات بزرگی که منجر به تحریک چشم می‌شوند نباشد، کار مشکلی است. به دلیل عدم محلولیت نسبی دارو در حامل، نمی‌توان در غلظت داروی حل شده دستکاری نمود. سوسپانسیون‌ها سیستم‌های غیرهموزنی هستند که احتمال وقوع پدیده‌هایی نظیر: تجمع ذرات (Aggregation)، تشکیل کیک (Cake formation) و غیره با گذشت زمان در آنها وجود دارد که کارآیی درمانی آنها

جدول ۲- بررسی پارامترهای حاصل از نمودار محلولیت فازی

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

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 سولفوبوتیل اتر بتاسیکلودکسترن، تعداد بیشتری از گروه‌های هیدروکسیل توسط گروه‌های سولفوبوتیل اثر اشغال شدند؛ بنابراین تعداد گروه‌های هیدروکسیل آزاد برای پیوند با آب و محلولیت مایی سولفوبوتیل اتر بتاسیکلودکسترن کاهش می‌یابد (13).

پارامترهای مختلفی می‌تواند بر محلولیت داروها در حضور سیکلودکسترن مؤثر باشد که در ادامه به چند مورد اشاره خواهد شد. پلیمرهای محلول در آب می‌توانند با افزایش محلولیت آبی سیکلودکسترن، سبب افزایش کمپلکس‌سازی Loftsson سیکلودکسترن-دارو شوند (14). در مطالعه Loftsson گزارش شد که معمولاً با افزودن پلیمر، محلولیت بهشت بالا می‌رود و در غلظت‌های 0/1% (w/v) به حد اکثر می‌رسد؛ اما با افزودن مقدار بیشتری از پلیمر، تا حدودی کاهش می‌یابد (15). اما در این مطالعه با افزودن هیدروکسی پروپیل متیل‌سلولز و پلی‌وینیل‌الکل محلولیت کاهش یافت. در مطالعه Frioriksottir و Loftsson نقش کمپلکس‌های غیرگنجایشی در افزایش محلولیت با استفاده از پلیمرهای محلول در آب مانند: هیدروکسی پروپیل متیل‌سلولز و ترکیبات آنیونیک و کاتیونیک از جمله سدیم استات و بنزاکلونیوم کلراید، مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه محلولیت کمپلکس هیدروکورتیزون- بتا سیکلودکسترن در حضور هیدروکسی پروپیل متیل‌سلولز و سدیم استات افزایش یافت (16). در مطالعه Loftsson و Masson نیز مشخص شد که ترکیباتی مانند: چربی‌ها، سورفاکтанتها، حلال‌های آلی، نمک‌های بافری و نگهدارنده‌ها کارآیی کمپلکس‌شدن را کاهش می‌دهند (14). در مطالعه ملائکه نیکوئی و همکاران، محلولیت مایی سیکلوسیپورین با افزایش غلظت سدیم استات، کاهش یافت. در این مطالعه مشخص شد که آلفا سیکلودکسترن با

هیدروکربن‌ها، آمین‌ها و ترکیبات آروماتیک می‌توانند توسط سیکلودکسترن‌ها در بر گرفته شوند، احتمالاً آلفا سیکلودکسترن با حفره کوچک خود، این گروه‌ها را در بر می‌گیرد. آلکیلاسیون بعضی از گروه‌های OH در سیکلودکسترن، 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 سیکلودکسترن‌ها در آب و تشکیل کمپلکس‌های گنجایشی می‌شود (2). در مطالعه حاضر هیدروکسی پروپیل بتا احتمالاً به این طریق محلولیت را افزایش داده است.

همان‌طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود، هیدروکسی پروپیل بتاسیکلودکسترن 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 آلفاسیکلودکسترن، بیشترین افزایش محلولیت مایی تاکرولیموس را ایجاد می‌کند. این موضوع احتمالاً به این علت است که مولکول تاکرولیموس به نسبت هیدروکسی پروپیل بتاسیکلودکسترن، ممانعت فضایی ایجاد می‌کند؛ بنابراین محلولیت تاکرولیموس در حضور هیدروکسی پروپیل بتاسیکلودکسترن نسبت به آلفاسیکلودکسترن کمتر افزایش می‌یابد (12). در بین گاما سیکلودکسترن و هیدروکسی پروپیل گاما سیکلودکسترن، کمترین افزایش محلولیت مایی تاکرولیموس با هیدروکسی پروپیل گاما سیکلودکسترن دیده شد که احتمالاً به علت تراحم فضایی گروه‌های آلکیل با مولکول نسبتاً حجمی تاکرولیموس می‌باشد (9).

هیدروکسی پروپیل بتاسیکلودکسترن و سولفوبوتیل اتر بتاسیکلودکسترن، هر دو مشتق صناعی بتاسیکلودکسترن هستند؛ اما سولفوبوتیل اتر بتاسیکلودکسترن محلولیت را به طور منظمی افزایش نمی‌دهد. علت این امر را می‌توان در ساختمان مولکولی این دو ماده جست و جو کرد.

متیلپارابن به علت اندازه کوچک آن، دیده شد (17، 18). در این مطالعه نیز متیلپارابن با هیدروکسیپروپیل بتا 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.

گروه‌های آلیاتیک 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، کارآیی کمپلکس کاهش می‌باید (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.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه نشان داده شد که افزایش محلولیت تاکرولیموس در حضور سیکلودکسترین‌ها به خصوص آلفا و هیدروکسیپروپیل بتاسیکلودکسترین امکان‌پذیر است. همچنین امکان تهیه قطره چشمی ۰/۰۵٪ تاکرولیموس به شکل محلول با استفاده از سیکلودکسترین‌ها وجود دارد.

تقدیر و تشکر

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

در محلول‌های چشمی حاوی سیکلودکسترین، مشاهده شد که افزودن نگهدارنده‌ها به محلول‌های مائی حاوی سیکلودکسترین به علت 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 غشاها دیالیزی صورت گرفت. این مطالعه نشان داد که تداخل محافظه و سیکلودکسترین با افزایش غلظت سیکلودکسترین، افزایش یافت و این افزایش تحت تأثیر روش تهیه نمونه نبود؛ بلکه به علت اثر اندازه و خصوصیات چربی‌دوستی مولکول‌های نگهدارنده بود. بیشترین تداخل با:

منابع:

- 1- Malaekh-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, Lehmussaari K. Industrial perspective in ocular drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2006; 58(11): 1258-68.
- 8- Malaekh-Nikouei B, Fazly Bazzaz BS, Soheili V, Mohammadian K. Problems in ophtalmic 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- Malaekh-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 β -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- β -CD) and anionically charged (SBE7- β -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, Friðriksdóttir H. The effect of water-soluble polymer on the aqueous solubility and complexing abilities of β -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, Stefansdóttir O, Friðriksdóttir H, Guomundsson O. Interaction between preservatives and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Drug Dev Ind Pharm.* 1992; 18(13): 1477-84.