Preparation of tacrolimus ophthalmic solution using cyclodextrins

Farzaneh Hajiahmadi[1], Akbar Derkhshan[2], Maliheh Nikandish[3], Bizhan Malaekeh-Nikouei[4]

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 tacrolimus174, 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: malaekehb@mums.ac.ir Tel: 98 513 8823255 Fax: 98 513 8823251

مقاله اصیل پژوهشی

تهیه قطره چشمی تاکرولیموس با استفاده از سیکلودکسترین‌ها

فرزانه حاجی‌احمدی[1]، اکبر درخشان[2]، ملیحه نیک‌اندیش[3]، بیژن ملائکه‌نیکوئی[4]

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از تاکرولیموس موضعی در بیماری کراتوکونژنکتیویت بهاره به‌عنوان جایگزین استرویید‌ها 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 هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز (HPMC) و یا پلی‌وینیل‌الکل (PVA) (به‌عنوان افزاینده ویسکوزیته)، متیل‌پارابن و یا بنزآلکونیوم 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 مایی 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، 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 بنزآلکونیوم 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 مایی، قطره چشمی

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

دریافت: 1395/11/04 **پذیرش: 1396/02/24**

[1] دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

2 مرکز تحقیقات چشم، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

3 گروه چشم، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.

[4] **نویسنده مسؤول؛** مرکز تحقیقات نانوفناوری، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

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

تلفن: 051-8823255 نمابر: 051-8823251 پست الکترونیکی: malaekehb@mums.ac.ir

مقدمه

سیکلودکسترین‌ها، اولیگوساکاریدهایی هستند که از واحدهای d-گلکوپیرانوز تشکیل شدند. این ترکیبات ساختار مخروطی ناقصی دارند که در بخش داخلی به‌طور نسبتی غیرقطبی هستند و محیط هیدروفوبی ایجاد می‌کنند؛ اما به‌علّت وجود تعداد زیاد گروه‌های هیدروکسیل در بخش خارجی، محلول در آب هستند (1). مشتقّات این مواد، با هدف هر چه بیشترشدن محلولیت آنها در آب تشکیل شده‌اند (2). سیکلودکسترین‌ها به‌وسیله 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 مؤثّر 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 ایمنوفیلین FK506 binding protein-12، کمپلکسی ایجاد می‌کند که به کلسیم، کالمودولین و کلسی‌نورین متصل و سبب مهار فعالیت فسفاتاز کلسی نورین می‌شود. مهار این آنزیم، از جابه‌جایی فاکتور رونویسی لنفوسیت T فعال‌شده، 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 (12-4 میکروگرم بر میلی لیتر) دارد. یکی از روش‌های دارورسانی تاکرولیموس، کمپلکس آن با سیکلودکسترین است (5).

تاکرولیموس داروی مناسبی برای درمان بیماری کراتوکونژکتیویت بهاره است؛ ولی با توجه به محلولیت پایین این دارو در آب، امکان تهیه فرمولاسیون چشمی آن به‌صورت محلول چشمی فراهم نمی‌باشد. به این منظور در این مطالعه از سیکلودکسترین‌ها به‌عنوان عمل افزاینده محلولیت مایی 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

تاکرولیموس‌مونوهیدرات، از شرکت داروسازی ابوریحان (تهران، ایران) تهیه شد. آلفا، گاما، سولفوبوتیل اتر بتا سیکلودکسترین از شرکت Seebio (چین) و هیدروکسی‌پروپیل‌بتا، هیدروکسی‌پروپیل‌گاماسیکلودکسترین و بنزآلکونیوم‌کلراید (BZCl) از شرکت Sigma-Aldrich (آمریکا) تهیه شدند. پلیمر هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز (HPMC) ساخت شرکت Colorcon (آمریکا) و فسفریک‌اسید، پلی‌وینیل الکل (PVA) و متیل‌پارابن، ساخت شرکت Merck (آلمان) بودند.

مطالعات محلولی مایی تاکرولیموس در حضور سیکلودکسترین

محلول‌های مایی سیکلودکسترین با غلظت‌های مختلف (15-5% برای آل‌سیکلودکسترین و 20-5% برای دیگر سیکلودکسترین‌ها) آماده شدند. به هر میکروتیوب، مقدار مساوی تاکرولیموس (3 میلی گرم) افزوده شد. میکروتیوب‌ها در روتاتور خورشیدی به‌مدّت 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

گفته‌شده در عدم حضور سیکلودکسترین تکرار شد. هر نمونه سه بار تهیه شد و نتایج به‌صورت Mean±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 پلی‌وینیل الکل (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 سانتریفیوژ و نیز برای استریل‌نمودن نمونه‌ها از فیلتر 0/22 میکرون استفاده شد.

سنجش HPLC

ستون مورد استفاده دستگاه HLPC ستون C_{18} و طول موج دتکتور 215nm UV بود. فاز متحرّک 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?l مورد استفاده قرار گرفت.

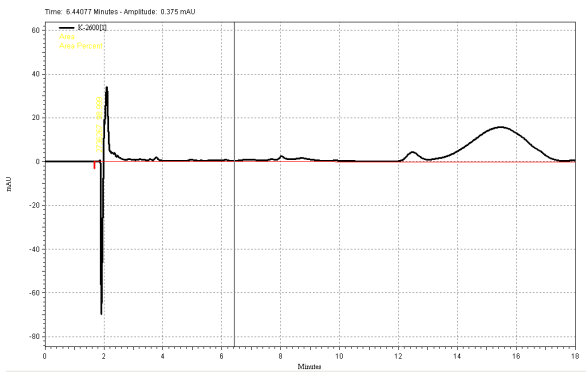
آنالیز آماری

نتایج به‌صورت Mean±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.

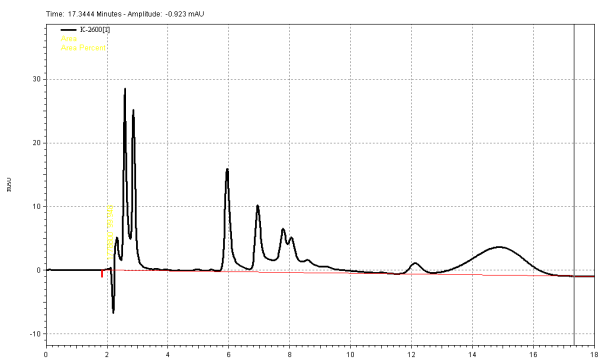
یافته‌ها

در کروماتوگرام‌های HPLC از محلول استاندارد تاکرولیموس (شکل 1) و کمپلکس تاکرولیموس و سیکلودکسترین (شکل 2)، مشاهده می‌شود که پیک‌های مورد نظر در 15 دقیقه ظاهر شدند.

محلولیت مایی تاکرولیموس در حضور سولفوبوتیل‌اتربتاسیکلودکسترین، نظم مرتّبی نداشت؛ ولی در حضور دیگر سیکلودکسترین‌ها محلولیّت دارو با افزایش غلظت سیکلودکسترین به‌صورت 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±0/9 میکروگرم بر میلی‌لیتر به 799/7±105/9 میکروگرم بر میلی‌لیتر افزایش پیدا کرد. روند صعودی افزایش محلولیت مایی تاکرولیموس در حضور سه سیکلودکسترین‌آلفا، هیدروکسی‌پروپیل‌بتا و هیدروکسی‌پروپیل‌گاما مشاهده شد.



شکل 1- کروماتوگرام HPLC از محلول استاندارد تاکرولیموس



شکل 2- کروماتوگرام محلولیت مایی تاکرولیموس در حضور سیکلودکسترین

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

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

همان‌طور که در جدول یک مشاهده می‌شود، با افزایش غلظت سیکلودکسترین، محلولیت تاکرولیموس افزایش یافت. در غلظت 15% آلفا سیکلودکسترین، محلولیت از 4/6±0/9 به 799/7±105/9 میکروگرم بر میلی‌لیتر افزایش پیدا کرد (بیشترین محلولیت با این سیکلودکسترین دیده شد). دو سیکلودکسترین‌آلفا و هیدروکسی‌پروپیل‌بتا، بیشترین افزایش محلولیت را ایجاد کردند. در حضور سولفوبوتیل‌اتربتاسیکلودکسترین، نظم مرتّبی در افزایش محلولیت مشاهده نشد.

با توجه به اینکه در مطالعات قبلی از غلظت 500 میکروگرم بر میلی‌لیتر تاکرولیموس برای ساخت سوسپانسیون چشمی آن استفاده شده است؛ بنابراین در این مطالعه نیز به منظور استفاده از این غلظت، سیکلودکسترین‌های آلفا و هیدوروکسی‌پروپیل‌بتا برای ساخت قطره چشمی انتخاب شدند. در حضور آلفاسیکلودکسترین (10 درصد) با افزودن بافر فسفات‌ایزوتونیک، هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز و متیل‌پارابن، محلولیت دارو با کاهش قابل توجهی همراه بود (جدول 1). در حضور هیدروکسی‌پروپیل‌بتاسیکلودکسترین (15درصد) نیز نتایج به همین صورت بود. در حضور آلفاسیکلودکسترین و فرمولاسیون بافر فسفات‌ایزوتونیک، هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز (و یا پلی وینیل الکل) و بنزآلکونیوم کلراید، محلولیت به‌طور مجدد افزایش پیدا کرد. در حضور هیدروکسی‌پروپیل‌بتاسیکلودکسترین و فرمولاسیون بافر فسفات‌ایزوتونیک، هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز (و یا پلی‌وینیل‌الکل) و بنزآلکونیوم‌کلراید نیز محلولیت به‌طور مجدد افزایش پیدا کرد.

محلولیت تاکرولیموس در حضور آلفاسیکلودکسترین و فرمولاسیون بافر فسفات‌ایزوتونیک، پلی‌وینیل‌الکل و بنزآلکونیوم‌کلراید نسبت به کمپلکس اولیه، اختلاف معنی‌داری نداشت (P>0/05). همچنین محلولیت تاکرولیموس در حضور

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

بحث

تاکرولیموس، دارویی است که در درمان کراتوکونژکتیویت بهاره می‌تواند نقش مؤثّری 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 حاصل‌نمودن 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 ذرّات (Aggregation)، تشکیل کیک (Cake formation) و غیره با گذشت زمان در آنها وجود دارد که کارآیی درمانی آنها را کاهش می‌دهد. همچنین فرم سوسپانسیونی منجر به افزایش قیمت فرآورده می‌شود (۷،۸). با توجه به موارد ذکرشده، شکل محلول بر سوسپانسیون برتری دارد.

مطالعات مختلفی در زمینه افزایش محلولیت داروها به دنبال کمپلکس‌شدن 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-، سولفوبوتیل‌اتر بتا- و هیدروکسی‌پروپیل‌گاماسیکلودکسترین 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، آلدهیدها، کتون‌ها، الکل‌ها،

جدول 2- بررسی پارامترهای حاصل از نمودار محلولیت فازی

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

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 قابلیّت انحلال سیکلودکسترین‌ها در آب و تشکیل کمپلکس‌های گنجایشی می‌شود (2). در مطالعه حاضر هیدروکسی‌پروپیل‌بتا احتمالاً به این طریق محلولیت را افزایش داده است.

همان‌طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود، هیدروکسی‌پروپیل‌بتاسیکلودکسترین 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 حجیم بوده و گروه‌های عاملی هیدروکسی‌پروپیل‌بتاسیکلودکسترین، ممانعت فضایی ایجاد می‌کنند؛ بنابراین محلولیت تاکرولیموس در حضور هیدروکسی‌پروپیل‌بتاسیکلودکسترین نسبت به آلفاسیکلودکسترین کمتر افزایش می‌یابد (12). در بین گاماسیکلودکسترین و هیدروکسی‌پروپیل‌گاماسیکلودکسترین، کمترین افزایش محلولیت مایی تاکرولیموس با هیدروکسی‌پروپیل‌گاماسیکلودکسترین دیده شد که احتمالاً به‌علّت تزاحم فضایی گروه‌های آلکیل با مولکول نسبتاً حجیم تاکرولیموس می‌باشد (9). هیدروکسی‌پروپیل‌بتاسیکلودکسترین و سولفوبوتیل‌اتربتاسیکلودکسترین، هر دو مشتق صناعی بتاسیکلودکسترین هستند؛ اما سولفوبوتیل‌اتربتاسیکلودکسترین محلولیت را به‌طور منظمی افزایش نمی‌دهد. علت این امر را می‌توان در ساختمان مولکولی این دو ماده جست و جو کرد. 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 سولفوبوتیل‌اتربتاسیکلودکسترین، تعداد بیشتری از گروه‌های هیدروکسیل توسط گروه‌های سولفوبوتیل‌اتر اشغال شدند؛ بنابراین تعداد گروه‌های هیدروکسیل آزاد برای پیوند با آب و محلولیت مایی سولفوبوتیل‌اتربتاسیکلودکسترین کاهش می‌یابد (13).

پارامترهای مختلفی می‌تواند بر محلولیت داروها در حضور سیکلودکسترین مؤثّر 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 به‌شدّت 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 هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز و پلی‌وینیل‌الکل محلولیت کاهش یافت. در مطالعه Loftsson و Frioriksdottir نقش کمپلکس‌های غیرگنجایشی در افزایش محلولیت با استفاده از پلیمرهای محلول در آب مانند: هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز 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 هیدروکسی‌پروپیل‌متیل‌سلولز و سدیم‌استات افزایش یافت (16). در مطالعه Loftsson و Masson نیز مشخص شد که ترکیباتی مانند: چربی‌ها، سورفاکتانت‌ها، حلال‌های آلی، نمک‌های بافری و نگه‌دارنده‌ها 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

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، کارآیی 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 به‌علّت اثر اندازه و خصوصیات چربی‌دوستی مولکول‌های نگه‌دارنده بود. بیشترین تداخل با 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 هیدروکسی‌پروپیل‌بتاسیکلودکسترین 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 می شود.

منابع:

1- Malaekeh-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- Malaekeh-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- Malaekeh-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-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 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, Stefansdottir O, Frioriksdottir H, Guomundsson O. Interaction between preservatives and 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin. Drug Dev Ind Pharm. 1992; 18(13): 1477-84.