Archive of SID

● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ چهاردهم، شمارهٔ ۳، ص ۱۷۵-۱۶۳، ۱۳۸۶

مقالهٔ پژوهشی

تهیه ژل موضعی دیلتیازم برای درمان شقاق مقعد و ارزیابی آزادسازی دارو به روش‌های *In-vitro* و *Ex-vivo*

دکتر ناصر توکلی[1*]، دکتر محسن مینائیان[2] و دکتر الهام سقایی[3]

خلاصه

مقدمه: شقاق مقعد (Anal fissure) شکاف‌های غیرطبیعی ظریف در پوست ناحیه آنوس می‌باشد که با علایمی مانند درد و خونریزی در محل زخم (هنگام اجابت مزاج) همراه است. از جمله داروهایی که اخیراً برای درمان این بیماری استفاده می‌شود، اشکال موضعی گلیسریل تری‌نیترات (GTN) و دیلتیازم می‌باشند. دیلتیازم یک داروی بلوکه‌کننده کانال کلسیم است که به طور مؤثر باعث کاهش فشار آنال و افزایش خون‌رسانی به موضع شده و عوارض GTN مانند سردرد، سوزش آنال و افت فشار خون را به همراه ندارد. هدف از انجام مطالعهٔ حاضر، ارائه یک فرمولاسیون مناسب از دیلتیازم در پایه ژل است که علاوه بر ارائه یک پروفایل آزادسازی مناسب از دارو، پایداری کافی و عمر قفسه‌ای مطلوب نیز داشته باشد.

روش: چهار فرمولاسیون ژل از سه پلی‌مرهیدروکسی پروپیل متیل سلولز (HPMC)، گوار و کتیرا تهیه شد. خصوصیات فیزیکی فرآورده‌های منتخب از جمله آزادسازی دارو به روش *in vitro* و نفوذپذیری آن به روش *ex-vivo* توسط سل دیفوزیون فرانز و غشاءهای سنتتیک (سلولز استات) و بیولوژیک (پوست رت) مورد بررسی قرار گرفته و مقدار داروی آزاد شده از هر فرمولاسیون (در طول دوره زمانی ۵ ساعته) توسط روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۳۶ نانومتر تعیین شد. همچنین مطالعات پایداری اولیه تحت شرایط تسریع شده و تعیین عمر قفسه‌ای در مورد چهار فرمولاسیون منتخب انجام شد.

یافته‌ها: فرآورده‌های منتخب شامل ژل با پایه HPMC ۱٪ و ۱/۵٪، گوار ۱/۲۵٪ و کتیرا ۱/۵٪ دارای خصوصیات فیزیکوشیمیایی مطلوبی بوده و در طول آزمایشات پایداری کیفیت خود را حفظ نمودند. همچنین بررسی آزادسازی دارو توسط غشاء سنتتیک نشان داد که ژل‌های فوق به ترتیب ۸۹/۷٪، ۷۶/۷٪، ۹۴/۹٪ و ۶۶/۱٪ محتوای داروئی خود را آزاد کرده‌اند. این مقادیر در مورد عبور دارو از غشاء بیولوژیک (پوست رت) برای هر یک از فرمولاسیون‌ها به ترتیب برابر ۵۲/۷٪، ۵۰/۹٪، ۶۴/۶٪ و ۴۲/۶٪ بود.

نتیجه‌گیری: مقایسه نتایج میزان داروی آزاد شده از پایه های مختلف مشخص نمود که درصد آزادسازی از غشاء سنتتیک (در تمام پایه‌ها) از درصد عبور دارو از پوست رت بیشتر بوده است ($P<0/05$). کینتیک آزادسازی دارو از پایه، در هر دو روش بررسی (غشاء سنتتیک و پوست رت) به نوع عامل(پلیمر) ژل‌ساز بستگی نداشته و در مورد هر چهار فرمولاسیون از معادله هیگوچی پیروی می‌نماید.

واژه‌های کلیدی : دیلتیازم، ژل موضعی، شقاق مقعد

۱- دانشیار گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۲- دانشیار گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۳- دستیار فارماکولوژی- سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

* **نویسنده مسؤول، آدرس:** گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ● **آدرس پست الکترونیک :** tavakoli@pharm.mui.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۶/۲۱ **دریافت مقاله اصلاح شده :** ۱۳۸۶/۳/۲۰ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۶/۴/۶

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

شقاق مقعد یکی از بیماری‌های شایع بخش انتهایی دستگاه گوارش است که در تمام گروه‌های سنی دیده می‌شود و میزان شیوع آن در مردان و زنان تقریباً مساوی می‌باشد (۱۲).

تظاهرات بالینی این بیماری در مراحل حاد شامل درد و سوزش شدید هنگام دفع و خونریزی است که در موارد مزمن، هیپرتروفی در محل زخم و دگمه پوستی در حاشیه پروگزیمال آن نیز مشاهده می‌شود (۱۲).

اگر چه عامل اتیولوژیک این بیماری کاملاً مشخص نیست ولی حوادث ترومایی مانند یبوست مزمن (معمول‌ترین عامل)، اسهال و زایمان را جز عوامل اصلی و تشدیدکننده این بیماری می‌دانند. همچنین عملکرد نادرست اسفنکتر داخلی و ایسکمی ناشی از افزایش فشار اسفنکتر داخلی آنال از دیگر عوامل دخیل در پیشرفت و احیاناً بروز این بیماری هستند (۱۰).

امروزه اساس درمان شقاق مقعد کاهش فشار اسفنکتر داخلی آنال (که به دلیل وجود زخم دچار اسپاسم می‌شود) و متعاقباً افزایش جریان خون به این قسمت است که به دنبال آن بهبود زخم‌ها تسریع یافته و علایم ظاهری بیماری تخفیف می‌یابند. در حال حاضر راهکارهای درمانی را می‌توان در سه مرحله بیان نمود: ۱- درمان سنتی یا حمایت کننده ۲- درمان دارویی ۳- عمل جراحی

استفاده از درمان‌های سنتی (شامل وان آب گرم، کاربرد لیدوکائین و هیدروکورتیزون موضعی و مصرف فیبر غذایی) بیشتر در مورد شقاق‌های حاد و ابتدایی به کار می‌رود و در اکثر موارد پاسخ مناسبی نیز دیده می‌شود (۱۰).

درمان جراحی(Lateral sphincterotomy) اگر چه درصد قابل توجهی از شقاق‌ها را بهبود می‌بخشد اما به دلیل عوارض جانبی برگشت‌ناپذیر مانند بی‌اختیاری مدفوع، و تهاجمی بودن روش و انجام عمل تحت بیهوشی عمومی کمتر مورد توجه قرار گرفته و امروزه جزء درمان‌های مراحل نهایی به حساب می‌آید (۱۵).

درمان دارویی (Chemical sphincterotomy) بدون آسیب رساندن دایم به عملکرد اسفنکتر آنال باعث کاهش فشار در این ناحیه می‌شود و لذا به عنوان خط اول درمان جایگزین جراحی شده است.

اشکال موضعی حاوی ۰/۲ درصد گلیسریل تری نیترات (GTN) به عنوان منابع تأمین‌کننده نیتریک اکسید (مؤثر در انبساط اسفنکتر داخلی) اولین مرحله درمان دارویی در این زمینه هستند. البته عوارضی مانند سردرد، افت فشارخون، سوزش در ناحیه آنال و کاهش میزان بهبودی در استفاده طولانی مدت (به علت بروز پدیده تحمل به نیترات‌ها) باعث کاهش پذیرش و ادامه درمان از جانب بیماران شده است (۸،۱۴).

تزریق موضعی سم بوتولینوم به عنوان مهارکننده آزادسازی استیل کولین از پایانه‌های عصبی، کاربرد ژل موضعی بتانکل ۱ درصد به عنوان یک آنتاگونسیت موسکارینی و ایندورامین خوراکی و موضعی به عنوان بلوک‌کننده گیرنده‌های آلفا-۱ آدرنرژیک از دیگر اقدامات درمانی می‌باشند که به طور محدود مورد استفاده قرار می‌گیرند (۸،۹،۱۷،۱۸).

از آن جایی که قسمت اعظم انقباض اسفنکتر داخلی آنال با حضور یون‌های کلسیم صورت می‌گیرد و تأثیرگذاری برخی از داروها به نحوی با این یون ارتباط پیدا می‌کند، مصرف خوراکی یا موضعی مهارکننده‌های کانال کلسیم مانند دیلتیازم مورد توجه خاص محققان بوده است. مقایسه فرم موضعی و خوراکی دیلتیازم نشان داده است که فرم موضعی به علت ایجاد عوارض جانبی کمتر مانند سردرد، افت فشارخون، راش و مصرف مقادیر کمتری از دارو، نسبت به فرم خوراکی ارجح است (۱۳). همچنین در مقایسه بالینی، اثر بخشی فرم موضعی دیلتیازم با پماد GTN، اثربخشی این دودارو مشابه بوده است. علاوه بر این دیلتیازم موضعی عوارض GTN را نشان نداده است (۶). بنابراین امروزه استفاده از اشکال موضعی دیلتیازم به عنوان خط دوم درمان دارویی و جانشین مناسب برای GTN موضعی مورد توجه می‌باشد (۱۳). با توجه به این که هم اکنون در بازار

www.SID.ir

Archive of SID

دارویی کشورمان فرآورده موضعی مناسب و تأیید شده‌ای از دیلتیازم موجود نمی‌باشد و نیاز به این شکل دارویی بیش از پیش احساس می‌شود، در این تحقیق سعی شده است ضمن ساخت یک فرآورده موضعی مناسب از دیلتیازم، این فرآورده از لحاظ خواص فیزیکوشیمیایی، آزادسازی ماده مؤثره و مطالعات پایداری مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش بررسی

۱- مواد مورد استفاده: پودر دیلتیازم هیدروکلراید (دارو پخش، ایران)، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز [K4M(HPMC)] (کالرکون، انگلیس)]، صمغ گوار G3 (هرکولس،آمریکا)، صمغ کتیرا (نمونه قابل دسترس در ایران)، متیل پارابن، پروپیل پارابن، پروپیلن گلیکول، سدیم ادتات، گلیسرین و پلی‌اتیلن گلیکول ۴۰۰ (همگی مرک، آلمان).

۲- تهیه ژل‌های دیلتیازم: برای تهیه ژل هیدروکسی پروپیل متیل سلولز، ابتدا پودر HPMC با مقادیر معینی پروپیلن گلیکول (PG) و متیل و پروپیل پارابن مخلوط و ۸۰ درصد آب فرمولاسیون تا دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سرد شده و به مخلوط فوق همراه با همزدن (توسط همزن مغناطیسی مدل Gallenna ساخت انگلستان) اضافه شد. بعد از تهیه کامل پایه ژل، ۲ گرم دیلتیازم و دی‌سدیم‌ادتات در مابقی آب حل و به پایه افزوده شد. در نهایت پلی‌اتیلن‌گلیکول ۴۰۰ کم کم به فرآورده اضافه گردید.

برای ساخت ژل گوار، پودر گوار همراه با پروپیلن گلیکول و مواد محافظ در یک بشر مخلوط گردید. سپس آب فرمولاسیون حاوی ۲ گرم دیلتیازم و دی‌سدیم‌ادتات کم کم به مخلوط حاصل اضافه شد. پلی‌اتیلن‌گلیکول نیز در نهایت به آرامی اضافه شد.

برای تهیه ژل کتیرا، ابتدا پودر کتیرا توسط گلیسیرین و پروپیلن‌گلیکول همراه با مواد محافظ به مدت یک هفته مرطوب شد. آب فرمولاسیون حاوی دیلتیازم و دی‌سدیم‌ادتات با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد همراه با همزدن به مخلوط حاصل اضافه شد. در نهایت پلی‌اتیلن‌گلیکول ۴۰۰ نیز افزوده شد.

جدول ۱: *اجزاء فرمولاسیون‌های مختلف ژل دیلتیازم بر حسب درصد (W/W)*

کد فرمولاسیون / اجزای تشکیل دهنده (٪W/W)	F_1	F_2	F_3	F_4	F_5	F_6	F_7	F_8	F_9	F_{10}	F_{11}
دیلتیازم	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
HPMC K_4M	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱	–	–	–	–	–	–	–
گوار G3	–	–	–	–	۰/۵	۱	۱/۲۵	۱/۲۵	–	–	–
کتیرا	–	–	–	–	–	–	–	–	۲	۱/۵	۱/۵
پروپیلن گلیکول	٤	٤	۸	۸	٦	۵	۵	۵	۵	۵	۸
PEG 400	۵	۱۰	۱۵	۱۵	۵	۵	۱۰	۵	۵	۱۰	۱۰
گلیسیرین	-	-	-	-	-	-	-	-	٦	٦	٦
متیل پارابن	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
پروپیل پارابن	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
دی‌سدیم‌ادتات	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
آب مقطر به مقدار کافی تا	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

www.SID.ir

Archive of SID

فرمولاسیون‌های تهیه شده توسط ۳ پلیمر مورد نظر و سایر مواد تشکیل دهنده در جدول ۱ ارائه شده‌اند.

۳- بررسی خصوصیات فیزیکی و رئولوژی ژل‌های دیلتیازم: این آزمایشات شامل بررسی یکنواختی ظاهر فرآورده‌ها به صورت میکروسکوپی و ماکروسکوپی، تعیین pH فرآورده‌ها، اعمال تنش‌های حرارتی شامل آزمایش ذوب و انجماد، سرد و گرم شدن و بررسی خصوصیات رئولوژی فرآورده‌ها بود.

برای بررسی خواص رئولوژی فرآورده‌ها از دستگاه رئومتر Rheomat (مدل RM180 ساخت کارخانه Mettler سویس) استفاده شد. برای کار با این دستگاه که از انواع ویسکومترهای پایه و شاقول (cup and bob) است، ابتدا لازم است دستگاه کالیبره گردد. سپس نمونه مورد آزمایش به استوانه وارد شده و قسمت مخروطی درون استوانه قرار گرفته و مجموعه حاصل به دستگاه وصل می‌شود. در این حالت دستگاه در مقادیر D_{min} و D_{max} (معادل کمترین و بیشترین سرعت تنش) تنظیم گردیده و پس از شروع بکار، مقادیر نیروی کششی (بر حسب واحد پاسکال) و میزان ویسکوزیته (η) در نقاط مشخصی از سرعت تنش روی مانیتور دستگاه خوانده می‌شود.

۴- تعیین مقدار دارو در فرآورده‌ها: مقدار ۰/۵گرم از ژل به دقت توزین شده و توسط آب مقطر به صورت متوالی ۱۰۰۰ مرتبه رقیق شد و سپس محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (مدل Kubota-KN-70 ساخت ژاپن) شد. در مورد فرمولاسیون‌های دارای گوار و کتیرا، یک مرحله فیلتراسیون محلول پیش ازسانتریفوژ انجام شد. مرحله فوق برای فرآورده‌های بدون دارو (پایه) نیز به عنوان شاهد انجام شد. میزان جذب UV ماده مؤثره در طول موج ۲۳۶ نانومتر(طول موج حداکثر جذب دیلتیازم در محیط آبی) توسط دستگاه اسپکترو فتومتر (UV mini 240-CE) اندازه‌گیری و غلظت دارو از روی اختلاف جذب شاهد و نمونه در طول موج λ_{max} و با استفاده از منحنی استاندارد (نمودار ۱) محاسبه گردید.

۵- بررسی آزادسازی دارو به روش *In-vitro*: به منظور بررسی میزان داروی آزاد شده از فرآورده‌های منتخب ژل، سل دیفوزیون فرانز (به حجم ۲۷ میلی‌لیتر) و غشا سنتتیک از جنس سلولز استات مورد استفاده قرار گرفت. بخش گیرنده سل دیفوزیون توسط بافر فسفات با pH=۶ پر و ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه مورد آزمایش در سطح غشا سنتتیک به عنوان فاز دهنده به صورت یکنواخت پخش شد. نمونه‌گیری در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ دقیقه ومتعاقباً به فواصل یکساعت تا ۵ ساعت و به میزان ۰/۶ میلی‌لیتر صورت گرفته و میزان جذب هریک از نمونه‌ها در طول موج ۲۳۶ نانومتر(طول موج حداکثر جذب دیلتیازم در محیط بافر فسفات) تعیین شد. غلظت حقیقی دارو در هر نمونه توسط معادله استاندارد و فرمول ۱ محاسبه گردید (این آزمایش برای هر فرآورده سه بار تکرار شد). برای حذف هر گونه تداخل احتمالی(ناشی از حضور سایر اجزاء موجود در فرمولاسیون‌ها) از هر فرآورده یک نمونه فاقد دارو تهیه و میزان آزادسازی دارو با روش فوق مورد بررسی قرار گرفت. اختلاف جذب میان نمونه‌های فاقد دارو و حاوی دارو به عنوان جذب حقیقی حاصل از دارو در نظر گرفته شد.

فرمول شماره ۱:

$$c_n = c + \frac{c_{n-1} \times v}{v_t}$$

C_n = غلظت حقیقی دارو در نمونه n

C = غلظت ظاهری دارو در نمونه n

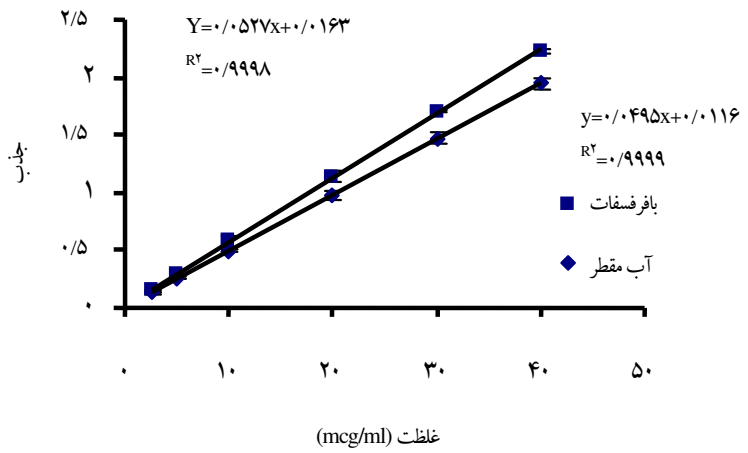
C_{n-1} = غلظت حقیقی دارو در نمونه n-1

V = حجم نمونه

V_t = حجم کل نمونه

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱: *منحنی استاندارد دیلتیازم هیدروکلراید در محیط آب مقطر و بافر فسفات (pH=6)*

کینتیک آزادسازی دارو از هر یک از فرآورده‌های منتخب توسط سه مدل کینتیکی درجه صفر، درجه یک و هیگوچی مورد مطالعه قرار گرفت و ضرایب همبستگی هر یک محاسبه شد. همچنین پارامترهای MDT (Mean Dissolution Time) یا متوسط زمان انحلال، فرمول ۲) و T_{50} (مدت زمانی که ۵۰ درصد دارو از فرآورده آزاد می‌شود) نیز برای هر یک از فرآورده‌ها محاسبه گردید. این دو پارامتر نشان‌دهنده الگوی کلی انحلال دارو بوده و برای مقایسه روند آزادسازی دارو از پایه‌ها به کار می‌روند.

فرمول شماره ۲:

$$MDT = \frac{\sum_{j=1}^{n} t_j \Delta M_j}{\sum_{j=1}^{n} \Delta M_j}$$

در این رابطه، t_i میانگین زمان بین دو نمونه‌گیری و ΔM_j اختلاف میزان داروی آزاد شده بین دو نمونه‌گیری است.

۶- بررسی میزان عبور دارو به روش *Ex-vivo* : برای این منظور نیز از سل دیفوزیون فرانس مشابه با روش قبل استفاده گردید با این تفاوت که به جای غشای سنتتیک، پوست ناحیه شکم موش صحرایی نر (رت) نژاد Wistar با وزن ۲۵ ± ۱۵۰ گرم به عنوان غشای بیولوژیک به کار برده شد. پوست تازه رت پس از آماده‌سازی و زدودن مو و لایه‌های چربی زیرین، بین بدنه و دهانه سل کشیده شد به طوری که سطح اپیدرمی آن به سمت فازدهنده و سطح درمی آن به سمت فاز گیرنده باشد (۱). بقیه مراحل آزمایش مانند روش مذکور در قسمت قبل بوده و کینتیک آزادسازی و عبور دارو و پارامترهای MDT و T_{50} نیز در این روش برای هر فرآورده محاسبه شدند.

۷- مطالعات پایداری و تعیین تاریخ انقضاء: فرآورده‌های منتخب در تیوب‌های پوشش‌دار بسته‌بندی شده و به مدت ۶ ماه در دمای ۱ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس در فواصل زمانی هر ۲ ماه یکبار پایداری فرآورده از لحاظ ظاهری و محتوای ماده مؤثره مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین به منظور تعیین تاریخ انقضاء، مطابق دستورالعمل WHO تعدادی از فرآورده‌های بسته‌بندی شده در دمای ۲±۴۰ درجه سانتی‌گراد (به صورت عمودی) به مدت سه ماه نگهداری شده و در فواصل زمانی ۱ ماهه از لحاظ فیزیکی و ظاهری،pH، یکنواختی محتوای ماده مؤثره و خصوصیات رئولوژیک مورد بررسی قرار گرفتند.

۸- آنالیز آماری داده‌ها: برای مقایسه دو میانگین از آزمون آماری t-test و برای مقایسه بیش از دو میانگین از

www.SID.ir

Archive of SID

آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و متعاقب آن از تست دانکن(Duncan) استفاده گردید. در همه آنالیزها ارزش P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد. برنامه آماری به کار رفته SPSS نسخه ۱۲ بود.

نتایج

از میان فرمولاسیون‌های مندرج در جدول ۱، ۴فرمولاسیون بر اساس سازگاری ماده ژل‌ساز با دارو و سپس داشتن ظاهر و قوام نسبی مناسب انتخاب شده و سایر آزمایشات بر روی این ۴ فرمولاسیون صورت گرفت.

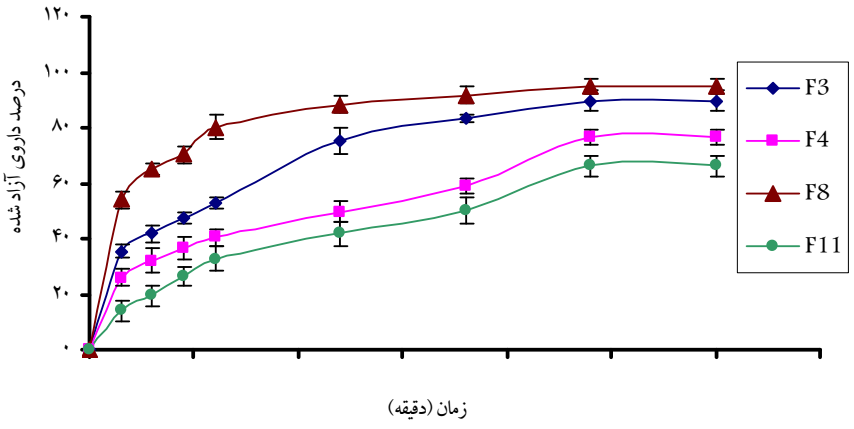
نتایج حاصل از بررسی خواص فیزیکی فرمولاسیون‌های منتخب، ۴۸ ساعت پس از ساخت نشان داد که این فرآورده‌ها از لحاظ ماکروسکوپی و میکروسکوپی یکنواخت، فاقد ذرات قابل لمس و بدون حباب هوا می‌باشند. همچنین pH فرآورده‌ها نزدیک به pH موضع مورد استفاده (pH کانال آنال ۶ است) است که در جدول ۲ نشان داده شده‌اند. فرآورده‌ها پس از تحمل استرس‌های حرارتی همچنان کیفیت اولیه خود را حفظ کرده و تغییری در رنگ و ظاهر (از لحاظ جدا شدن فازها و یا ایجاد کریستال) آنها مشاهده نشد. رفتار رئولوژی فرآورده‌ها با استفاده از رئوگرام‌های حاصله حاکی از آن است که همه فرآورده‌ها دارای جریان شبه‌پلاستیک بوده و فاقد تیکسوتروپی می‌باشند.

جدول۲: *میانگین pH و مقدار دیلتیازم (بر حسب گرم) فرآورده‌ها ۴۸ ساعت پس از ساخت*

فرمولاسیون	pH (میانگین±SD)	مقدار دیلتیازم (میانگین±SD)
F_3	۵/ ٦٥ (±۰/۲۱)	۲/۰۱۸ (±۰/۰۲)
F_4	۵/۷۱ (±۰/۲)	۱/۹۹۷ (±۰/۰٤۰)
F_8	۵/۷۵ (±۰/۲٦)	۲/۱۱۲ (±۰/۲۳)
F_{11}	۵/٦٨ (±۰/۲۵)	۲/۱۲۰ (±۰/۲۳)

نتایج حاصل از تعیین مقدار دارو در فرآورده‌ها، ۴۸ ساعت پس از ساخت در جدول ۲ ارائه شده است. مقدار دارو در همه فرآورده‌ها در محدوده ٪۱۰±۱۰۰ قرار داشت.

نمودار۲ درصد تجمعی داروی آزاد شده در برابر زمان را نمایش می‌دهد. همچنین کینتیک آزادسازی دارو توسط سه مدل درجه صفر، درجه یک و هیگوچی مورد بررسی قرار گرفت و ضرایب همبستگی مربوط به هریک محاسبه و در جدول ۳ نشان داده شده است. این نتایج از لحاظ آماری مورد مقایسه قرار گرفتند و در مورد هر فرمولاسیون مدل کینتیکی مناسب‌تر انتخاب شد. همچنین پارامترهای MDT و T_{50} نیز برای هر فرآورده محاسبه گردید که در جدول ۳ ذکر شده‌اند.



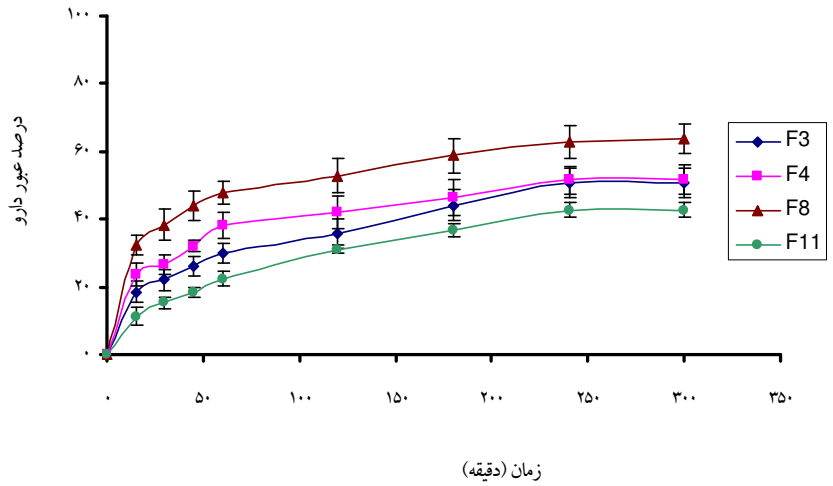
نمودار ۲: *درصد آزادسازی دارو در برابر زمان در فرآورده‌های منتخب به روش غشای سنتتیک (n=۳)*

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳: ضرایب همبستگی کینتیک‌های درجه صفر، درجه یک و هیگوچی و مقادیر MDT و T_{50} مربوط به فرآورده‌های منتخب در روش غشای سنتتیک(In- vitro)

فرمولاسیون	درجه صفر	درجه یک	هیگوچی	MDT (±SD) (min)	T_{50} (min)
F_3	۰/۸۸۲۷	۰/۹۶۹۳	۰/۹۸۵۳	۱۸/۷۵٦±۰/٤۹	۹٤/٦۷
F_4	۰/۷۵۰۷	۰/۸۸٦۱	۰/۹۳۵۵	۱۶/۸۴±۰/۲۶	٤۷/٤۲
F_8	۰/٤٦۳۷	۰/٦۵۵۱	۰/۷٦۳۵	۱۱/۲۵٦±۰/٤۳	۱/۲٤
F_{11}	۰/۸٤۳۲	۰/۹۱۰۸	۰/۹۷۳۹	۱۷/۳۹۷±۰/۲۰	۱۵۰/۹۹



نمودار ۳: درصدعبور دارو در برابر زمان در فرآورده‌های منتخب به روش پوست جدا شده رت (n=۳)

جدول٤: ضرایب همبستگی کینتیک‌های درجه صفر، درجه یک و هیگوچی و مقادیر MDT و T_{50} مربوط به فرآورده‌های منتخب در روش پوست رت(Ex-vivo)

فرمولاسیون	درجه صفر	درجه یک	هیگوچی	MDT (±SD) (min)	T_{50} (min)
F_3	۰/٦۹۹۲	۰/۷۹۹٦	۰/۹۰۳۸	۱٦/۸۷٤±۲/۰۷	۲٤۳/۱۲
F_4	۰/۸۳۸۸	۰/۹۱۱۳	۰/۹۷۵۹	۱۳/۲۰٤±۰/۲٦	۲۱۲/۹۵
F_8	/٦۲۷۰	۰/۷۸۲۹	۰/۸۵۵۸	۱۳/۱۸۹±۰/۵۹	۱۰۵/٤٤
F_{11}	۰/۸۷۹٦	۰/۹۲۲۱	۰/۹۸۹٤	۱۸/۲۰۷±۰/۹۹	۳۵۸/۱۸

www.SID.ir

Archive of SID

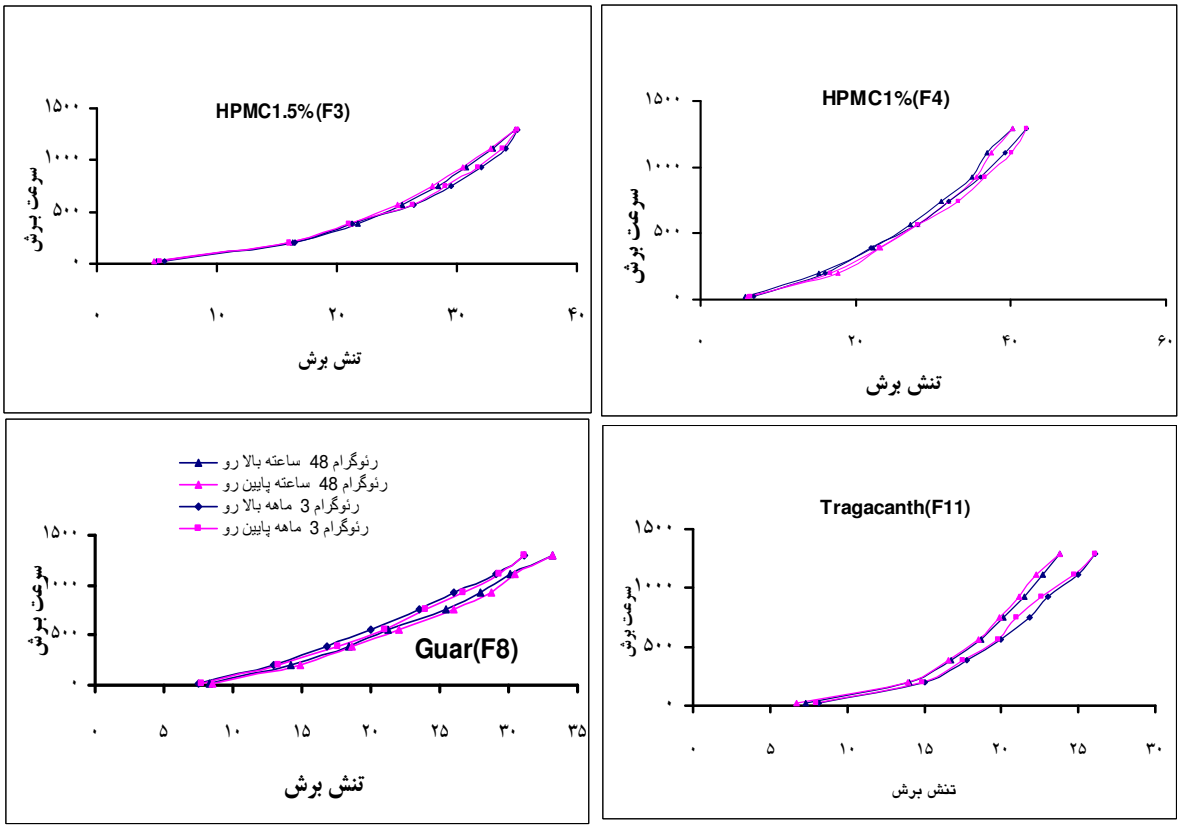
نتایج حاصل از بررسی مقدار داروی عبور کرده از پوست رت در نمودار ۳ نشان داده شده است. ضرایب همبستگی حاصل از بررسی کینتیک‌های درجه صفر، درجه یک و هیگوچی تعیین و در جدول ۴ نشان داده شده‌اند. پارامترهای MDT و T_{50} نیز در این آزمایش برای هر فرآورده محاسبه شد که در جدول ۴ ارائه شده‌اند.

در بررسی ۶ ماهه فرآورده‌ها در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد (با فواصل ۲ ماهه) تغییری در خصوصیات ظاهری فرآورده‌ها مشاهده نشد (از لحاظ رنگ، بو، یکنواختی ظاهر) و محتوای ماده مؤثره در محدوده

جدول ۵: *نتایج تعیین مقدار دیلتیازم در فرآورده‌های منتخب در یک دوره سه ماهه (دمای ۲±۴۰ درجه سانتی‌گراد) (n=۳)*

فرمولاسیون	میانگین مقدار دارو (برحسب گرم)		
	۱ ماه بعد از ساخت	۲ ماه بعد از ساخت	۳ ماه بعد از ساخت
F_3	۲/۱۲٤±۰/۰٤	۲/۱۱۵±۰/۰٤	۲/۱۰۸±۰/۰٤
F_4	۲/۰۲۲±۰/۰۲	۲/۰۲۱±۰/۰۲	۲/۰۳۹±۰/۰۳
F_8	۲/۱۰۷±۰/۳۲	۲/۰٤۲±۰/۳۷	۲/۰۸۳±۰/۳۳
F_{11}	۲/۱۱۷±۰/۵۷	۲/۰۸۳±۰/٦۲	۲/۰۰۵±۰/٤٦

نمودار ۴: *رئوگرام فرمولاسیون‌های ژل ۱/۵٪HPMC، ۱٪HPMC، گوار و کتیرا ۴۸ ساعت و ۳ ماه پس از ساخت*



www.SID.ir

Archive of SID

قابل قبول (۱۰±۱۰۰ درصد) قرار داشت. همچنین فرآورده‌های منتخب در طول سه ماه نگهداری در دمای ۲±۴۰ درجه سانتی‌گراد از لحاظ کیفیت ظاهری، محتوی دارویی و pH تغییر چندانی از خود نشان ندادند (جدول ۵). رفتار رئولوژیک فرآورده‌ها در طول این زمان هم‌چنان شبه‌پلاستیک و بدون تیکسوتروپی بود (نمودار۴).

بحث

در دهه‌های اخیر هیدروژل‌های حاصل از پلیمرهای طبیعی (مانند کتیرا)، پلیمرهای نیمه صناعی (مانند مشتقات سلولز) و یا صناعی (مانند کربومر) به عنوان حاملی مناسب در صنایع داروسازی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این پایه‌ها دارای خصوصیاتی چون ویسکوزیته مناسب، چسبندگی (به مخاط یا پوست) مطلوب و عدم ایجاد تحریک و یا حساسیت در موضع مورد استفاده هستند (۲۲). دیلتیازم به صورت نمک هیدروکلراید با pK_a=۵/۵، یک ترکیب اسیدی و محلول در آب است که با در نظر داشتن این خصوصیات هدف اولیه مطالعه یافتن پایه مناسبی برای دارو بود.

هیدروکسی پروپیل متیل سلولز، مشتق سلولزی است که در تهیه فراوردهٔ موضعی دیلتیازم مورد استفاده قرار گرفت. افزودن مادهٔ مؤثره به این پایه عملاً تداخل و ناسازگاری به دنبال نداشت که با توجه به خصوصیات فیزیکوشیمیایی این پلیمر، از جمله غیر یونی بودن ساختار آن و پایداری در محدودهٔ وسیعی از pH، چنین نتیجه‌ای را می‌توان انتظار داشت. در ساختار این پلیمر عملاً گروه‌هایی جهت واکنش و جانشینی با کاتیون‌ها و الکترولیت‌های احتمالی (موجود در محیط انحلال) وجود ندارد (۲۵).

کتیرا نیز یک پلیمر طبیعی است که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. افزودن دارو به این پایه در غلظت‌های مختلف مادهٔ ژل ساز و همراه با سایر اجزاء فرمولاسیون تغییری در ساختار ژل به وجود نیاورد. اگر چه این پلیمر یک پلی‌ساکارید آنیونیک می‌باشد اما در محدودهٔ وسیعی از pH (۸/۵-۱/۹) کاملاً پایدار است و در حقیقت بیشترین پایداری را در pHهای پایین از خود نشان می‌دهد (۲۵). این مطلب توجیه کننده عدم تداخل دارو و پایه است.

پلیمر طبیعی دیگری که مورد مطالعه قرار گرفت، صمغ گوار بود. در مورد این ماده، عدم تداخل پایه ژل و دارو را میتوان به غیر یونی بودن ساختار پلیمر مربوط دانست (۲۵).

تغییر در سایر اجزاء فرمولاسیون(به جز عامل ژل ساز) با هدف تهیه فرآورده‌هایی مطلوب از نظر ظاهری، پایداری و متناسب با موضع مورد استفاده صورت گرفت. به طور مثال مقادیر مؤثری از مواد محافظ (۰/۲ درصد متیل پارابن و ۰/۰۵ درصد پروپیل پارابن) و شلات کننده (۰/۰۵ درصد دی‌سدیم‌ادتات) به منظور پایداری فرآورده‌ها در طول مطالعات پایداری و تعیین عمر قفسه ای استفاده شد (۵،۱۶). از آنجایی که موضع مورد استفاده بافت مخاطی آسیب دیده است، از حداقل مقادیر پروپیلن گلیکول (۲۰-۵ درصد) به عنوان افزایش‌دهنده جذب استفاده شد (۲۴). تغییر در مقدار(درصد) پلی‌اتیلن‌گلیکول ۴۰۰ نیز برای بهبود خاصیت پخش شوندگی فرآورده‌ها و به تأخیر انداختن تشکیل فیلم (به خصوص در مورد ژل‌های HPMC) صورت گرفت (۲۰). با توجه به نتایج حاصل از مطالعات پایداری (عدم تغییر pH، محتوای ماده مؤثره، رفتار رئولوژیک و خصوصیات ظاهری فرآورده‌ها) و تطابق آن با منابع می‌توان عمر قفسه‌ای حدود ۲ سال را برای فرآورده‌ها پیشنهاد کرد(۷،۱۹).

با توجه به ضرایب همبستگی مربوط به هر یک از معادلات درجه صفر، درجه یک و هیگوچی و مقایسه آنها از لحاظ آماری (توسط تست آماری ANOVA یک طرفه) مشخص شد که آزادسازی همه فرمولاسیون‌های منتخب در هر دو روش بررسی (غشاء سنتتیک و پوست رت) از معادلهٔ هیگوچی پیروی می‌کنند. این یافته‌ها مطابق با خطوط راهنمای FDA می‌باشد (۱۱). بنابراین می‌توان

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه گرفت که اولاً کینتیک آزادسازی دارو مستقل از نوع پایه فراوردهٔ نیمه جامد است (کرم، پماد، ژل) و ثانیاً با توجه به همین مطالعه و سایر مطالعاتی که توسط انواع مختلف پلی‌مرهای ژل ساز صورت گرفته، کینتیک آزادسازی مستقل از نوع پلیمر به کار رفته است (۴،۲۱،۲۲،۲۳). در مقایسه میزان داروی آزاد شده از پایه (صرف نظر از نوع پایه) مشخص شد که درصد آزادسازی از غشاء سنتتیک (در تمام پایه‌ها) از درصد عبور دارو از پوست رت بیشتر بوده است (P<۰/۰۵). این تفاوت معنی‌دار مربوط به پیچیدگی ترکیب پوست و مقاومت آن نسبت به نفوذ مولکول‌های دارو می‌باشد. در مطالعه‌ای که روی کلرفنیرآمین مالئات در پایه ژل هیدروکسی پروپیل متیل سلولز صورت گرفته چنین تفاوتی مشاهده می‌شود به طوریکه آزادسازی دارو از پایه توسط غشاء سنتتیک ۷/۲۱ درصد و عبور آن از پوست رت ۱/۲۶ درصد بود (P<۰/۰۵) (۳). همچنین در مطالعه دیگری که طی آن آزادسازی و نفوذ ترتینوئین از فرآورده‌های تجاری ژل و کرم دارو توسط غشاء سنتتیک و پوست رت مورد بررسی قرار گرفت، این اختلاف معنی‌دار (در هر دو روش غشاء سنتتیک و پوست رت) مشاهده گردید؛ به طوری که میزان داروی آزاد شده در پایان آزمایش معادل ۳۱/۳ درصد برای غشاء سنتتیک و ۱۴/۲۸ درصد برای پوست رت بود (۲). در مطالعه حاضر، بررسی آزادسازی دارو از پایه‌های مختلف پس از گذشت ۵ ساعت نشان داد، بیشترین آزادسازی از ژل گوار به میزان ۹۴/۹ درصد (توسط غشاء سنتتیک) و ۶۴/۶۵ درصد(توسط پوست رت) و کمترین میزان از ژل کتیرا به میزان ۶۶/۱۱ درصد (توسط غشاء سنتتیک) و ۴۲/۶۴ درصد(توسط پوست رت) بوده است. محاسبه مقادیر MDT و T50 که بیان کننده الگوی انحلال دارو در زمان مشخص هستند نشان داد که هر دو پارامتر در همه پایه‌ها دارای اختلاف آماری بودند (P<۰/۰۵). بر اساس داده های حاصل از عبور دارو از پوست رت، ژل کتیرا دارای بیشترین و ژل گوار دارای کمترین مقادیر MDT و T_{50} می‌باشد (جدول۴). در بررسی آزادسازی دارو از فرمولاسیون‌های ۱ و ۱/۵ درصد HPMC در دو روش غشاء سنتتیک و پوست رت، میزان آزادسازی پس از ۵ ساعت از پایه ۱ درصد HPMC به ترتیب ۸۹/۷۱ درصد و ۵۲/۶۶ درصد و از پایه ۱/۵ درصد HPMC به ترتیب ۷۶/۷۵ درصد و ۵۰/۹۱ درصد می‌باشد. از آن جایی که تمام اجزاء این دو فرمولاسیون به جز درصد مادهٔ ژل‌ساز یکسان می‌باشند می‌توان گفت که مقدار داروی آزاد شده از پایه وابسته به غلظت پلیمر موجود در آن بوده به طوری که با افزایش غلظت پلیمر به علت به دام افتادن دارو در آن و عدم خروج سریع و آسان دارو از شبکه پلیمری، مقدار داروی آزاد شده کاهش می‌یابد. این تفاوت در دو پایه ۱/۵ و ۲ درصد ژل (HPMC CPS 50) مورد استفاده برای تهیه ژل کلرفنیرآمین نیز مشاهده شده است (۳).

نکته مورد توجه در این مطالعه و سایر مطالعات مشابه که از فرآورده‌های نیمه جامد به عنوان یک سیستم دارورسانی استفاده شده است، این است که در هیچ یک از مطالعات *In- vitro* هدف رسیدن به درصد آزادسازی مشخص شده (همانند آنچه برای اشکال دارویی جامد خوراکی در فارماکوپه‌ها مشاهده می‌شود) نیست بلکه ابتدا هدف یافتن پایه‌ای مناسب برای حمل دارو و متناسب با موضع مورد استفاده است و سپس بهینه کردن فرآورده از لحاظ خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پایداری است. بدیهی است که بررسی دقیق اثر بخشی و مورد پذیرش بودن یک فرمولاسیون مستلزم انجام مطالعات بالینی می‌باشدکه مورد نظر محققین برای انجام مطالعات بعدی می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که پشتیبانی و امکانات مالی اجرای طرح را فراهم نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

www.SID.ir

Archive of SID

Summary

Preparation of Diltiazem Topical Gel for the Treatment of Anal Fissure and *In-vitro*, *Ex-vivo* Drug Release Evaluations

Tavakoli N., Ph.D[1]., Minaiyan M., Ph.D.[2], Saghaei E., Pharm D.[3]

1. Associate Professor of Pharmaceutics, Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. 2. Associate Professor of Pharmacology, Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. 3. Ph.D Student of Toxicology, School of Pharmacy, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Introduction: Anal fissures are small tears in the lining skin of the anus presenting with typical symptoms of pain and bleeding during defecation. Several new forms of medicines such as glyceryle trinitrate (GTN) ointments and diltiazem, a calcium channel-blocking agent, have been recently used for the treatment of these fissures. Diltiazem relaxes the muscle of anal sphincter and consequently increases blood flow to promote healing. It does not have GTN side effects like headache, anal burning and hypotension. The objective of this study was to formulate a suitable topical gel from diltiazem and then to investigate its physicochemical stability and also the drug release profiles from the bases.

Methods: Various formulations of gel base including Guar 1.25%, Tragacanth 1.5%, HPMC 1%, and HPMC 1.5% were prepared and *in vitro* release and penetration characteristics of diltiazem from each preparation were studied through a hydrophilic dora pore diffusion barrier and membrane excised rat skin using Franz cell over a period of 5 hours. The amount of drug released from topical preparations was determined spectrophotometrically at λ_{max}=236 nm. Stability studies and shelf life assessments were performed too.

Results: Gel formulations containing HPMC, Guar and Tragacanth presented both good chemical and physical stabilities. The rates of cumulative drug release from HPMC 1%, HPMC 1.5%, Guar 1.25% and Tragacanth 1.5% bases using synthetic membrane were 89.7%, 76.7%, 94.9% and 66.1% respectively. For excised rat skin test, the cumulative percent of penetrated drug at the end of each experiment were 52.7 %, 50.9%, 64.6% and 42.6% for HPMC 1%, HPMC 1.5%, Guar 1.25% and Tragacanth 1.5% bases respectively.

Conclusion: The comparative study showed that the percent of drug release from synthetic membrane was more than the percent of penetrated drug through excised rat skin for all bases ($P<0.05$). It was concluded that the kinetics of diltiazem release *in vitro* was not affected by the kind of gel forming agent and for all of the formulations, Higuchi's kinetic model was suitable to explain their kinetics.

Key words*:* Diltiazem, Topical gel, Anal fissure

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2007; 14(3): 163-175

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

۱- توکلی، ناصر؛ مینائیان، محسن و لاوی، رویا: فرمولاسیون فرآورده موضعی دوکسپین مؤثر در درمان اگزمای اتوپیک و ارزیابی جذب پوستی دارو در پوست جدا شده موش صحرایی. مجله ارمغان دانش، ۱۳۸۳، سال نهم، شماره سی پنجم، ص ۱۰-۱.

۲- ملاذ، الهه؛ توکلی، ناصر و ابراهیمی، رضا: ارزیابی فیزیکوشیمیایی، مطالعه پایداری و آزادسازی دارو از فرآورده‌های موضعی ترتینوئین. مجله پزشکی هرمزگان، ۱۳۸۳، سال هشتم، شماره چهارم، ص ۲۰۷-۱۹۹.

3. Babar A, Bhandari RD, Plakogiannis FM. *In vitro* release studies of chlorpheniramine maleate from topical bases using cellulose membrane and hairless mouse skin. *Drug Dev Ind Pharm* 1991; 17: 1027-40.
4. Babar A, Solanki UD, Cutie AJ, Plakogiannis F. Piroxicam release from dermatological bases: *In vitro* studies using cellulose membrane and hairless mouse skin. *Drug Dev Ind Pharm* 1990; 16: 523-540.
5. Betageri G, Sunil P: Semisolid preparations. In: Swarbrick J, Boylan JC (Eds). Encyclopedia of pharmaceutical technology. 2nd ed., London, Marcel Dekker, 2002; pp2436-8.
6. Bielecki K, Kolodziejczak M. A prospective randomized trial of diltiazem and glyceryl trinitrate ointment in the treatment of chronic anal fissure. *Colorectal Dis* 2003; 5(3): 256-7.
7. Board N: Modern Technology of Cosmetics. India, Asia Pacific Business Press Inc, 2003; pp52, 82-90.
8. Brisinda G, Maria G, Bentivoglio AR, Cassetta E, Gui D, Albanese A. A comparison of injections of botulinum toxin and topical nitroglycerin ointment for the treatment of chronic anal fissure. *N Engl J Med* 1999; 341(2): 65-9.
9. Carapeti EA, Kamm MA, Phillips RK. Topical diltiazem and bethanechol decrease anal sphincter pressure and heal anal fissures without side effects. *Dis Colon Rectum* 2000; 43(10): 1359-62.
10. Castillo ED, Margolin DA. Anal fissures: Diagnosis and management. *Techniques in Gastrointestinal Endoscopy* 2004; 6 (1): 12-16.
11. Flynn GL, Shah VP, Tenjarla SN, Corbo M, DeMagistris D, Feldmon TG , *et al.* Assessment of value and applications of in vitro testing of topical dermatological drug products. *Pharm Res* 1999; 16 (9): 1325-30.
12. Isselbacher KJ, Epstein A. Diverticular, vascular and other disorders of the intestine and peritoneum. In: Braunwald E, Fausi A.S., Kasper D.L, Hauser S.L. (Eds) Harrison's principles of internal medicine. 15th ed., New York, McGraw-Hill, 2001;pp 1700-1.
13. Jonas M, Neal KR, Abercrombie JF, Scholefield JH. A randomized trial of oral vs. topical diltiazem for chronic anal fissures. *Dis Colon Rectum* 2001; 44(8): 1074-8.
14. McLead RS, Evans J. Sympthomatic care and nitrogylcerin in the management of anal fissure. *J Gastro intest Surg* 2002; 6(3): 278-80.
15. Nelson RL. A review of operative procedures for anal fissure. *J Gastro intest Surg* 2002; 6(3): 284-9.
16. Owen SC: Edetic Acid. In: Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ (Eds). Hand book of pharmaceutical excipients. 4th ed., London, Pharmaceutical Press, 2003; pp 225-8.
17. Phillips R. Pharmacologic treatment of anal fissure with Botoxin, diltiazem or Bethanechol. *J Gartroinest Surg* 2002; 6(3): 281-3.
18. Pitt J, Craggs MM, Henry MM, Boulos PB. Alpha-1 adrenoreceptor blocker: potential new treatment for anal fissures. *Dis Colon Rectum* 2000; 43(6): 800-3.
19. Poucher WA: Phoucher's perfumes, cosmetics and soaps. 9th ed., Vol. 3, London, Chapman & Hall, 1993; pp 446-52, 620, 628.

www.SID.ir

Archive of SID

20. Price JC: Polyethylenglycol. In: Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ (Eds). Hand book of pharmaceutical excipients. 4th ed., London, Pharmaceutical Press, 2003; pp 392-8.
21. Rebelo ML, Pina ME. Release kinetics of tretinoin from dermatological formulations. *Drug Dev Ind Pharm* 1997; 23(7): 727-730.
22. Realdon N, Ragazzi E, DalZotto M, Dalla Fini G. Possibilities of conveying a cationic drug in carbomer hydrogels. *Drug Dev Ind Pharm* 1998; 24(4): 337-43.
23. Tas C, Ozkan Y, Savaser A, Baykara T. *In vitro* release studies of chlorpheniramine maleate from gels prepared by different cellulose derivatives. *Farmaco* 2003; 58(8): 605-11.
24. Waller PJ: Propylenglycol. In: Rowe RC, Sheskey PJ, Weller PJ (Eds). Handbook of pharmaceutical excipients. 4th ed. London, Pharmaceutical Press, 2003; pp 442-4.
25. Zatz JL, Berry JJ, Alderman DA: Viscosity-Imparting agents in disperse systems. In: Lieberman HA, Rieger MM, Banker GS (Eds).Pharmaceutical dosage forms: Disperse systems. 2nd ed., New York, Marcel Dekker, 1996; pp287-313.

www.SID.ir