تاثیر اریترومایسین و کلاریترومایسین بر روی عبور روده ای دیگوکسین

پروین ذاکری میلانی* [۲و۱]، هادی ولیزاده [۳و۲و۱] ، زیبا اسلامبولچیلار [۱]، مریم مهتری [۱] ، ساناز دامنی [۱]

[۱] دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، [۲] مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز،تبریز، ایران، [۳] شرکت داروسازی زهراوی، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۲۹ ، تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۰/۲۱

Effect of erythromycin and clarithromycin on the intestinal transport of digoxin

Zakeri-Milani P.[1,2*], Valizadeh H.[1,2,3], Islambulchilar Z.[1], Mehtari M.[1], Damani S.[1]

[1] Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. [2] Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.[3] Zahravi Pharmaceutical Co. Tabriz, Iran

Received: 19 Aug. 2008, Accepted: 10 Jan. 2009

Objectives: The purpose of the study was determining the intestinal permeability of digoxin using the SPIP technique and a range of concentrations in rats and assessing the quantitative contribution of P-gp-mediated efflux in limiting the oral bioavailability of digoxin using erythromycin and clarithromycin as inhibitors of P-gp efflux transporter. Moreover the enhancing effects of the investigated macrolides on digoxin absorption were compared. **Methods:** The study was performed on jejunal segment of rat. The cannulated segment was perfused by drug solution and samples were obtained from outlet tubing and the remaining drug was assayed. A reverse-phase HPLC method was used for analysis of all samples. **Results:** Although there were no differences among the obtained permeability coefficients in different concentrations of digoxin, erythromycin and clarithromycin significantly increased the intestinal transport of digoxin ($p<0.05$).Moreover there was no significant difference between clarithromycin and erythromycin effects on digoxin absorption ($P>0.05$). **Conclusion:** At least part of interactions between digoxin and macrolide antibiotics occurs in absorption level. Digoxin can rightly be classified as a low solubility-high permeability Class II BCS drug and its absorption from oral formulations could be affected by erythromycin and clarithromycin. Therefore in dose adjustment for patients using both digoxin and erythromycin or clarithromycin, this important interaction must be considered.

***Key words**: Transport, erythromycin, clarithromycin, permeability, P-gp, digoxin.*

زمینه و هدف: نفوذپذیری روده‌ای یا توانایی مولکول دارو برای عبور از غشاهای بیولوژیکی یکی از فاکتورهای مهم بیوفارماسیوتیکسی برای بررسی جذب دارو و مکانیسم‌های دخیل در آن می‌باشد. اخیراً نقش ترانسپورترهای انتقال به خارج (Efflux) در تعیین نفوذپذیری و بهره‌دهی درمانی داروها بسیار مورد توجه بوده است. در تحقیق حاضرنقش مهاری P-gp بر میزان جذب دیگوکسین با استفاده از اریترومایسین و کلاریترومایسین بعنوان مهارکننده های پمپ برگشتی روده ای بصورت کمی مورد مطالعه قرار گرفته است تا ضمن بررسی مکانیزم تداخل، قدرت تاثیر این دو ماکرولید بر جذب روده ای دیگوکسین نیز مورد مقایسه قرار گیرد. **روشها**: برای انجام آزمایشات از ژژنوم کانوله شده موش صحرایی استفاده شده است. بدین صورت که بخش مورد نظر با محلول دیگوکسین با غلظتهای مختلف (۲۰، ۱۵، ۱۰ و ۵ میکروگرم بر میلی لیتر) همرا یا بدون ماکرولید مورد بررسی پرفوزه شده و نمونه گیری از کانول خروجی انجام و داروی باقیمانده در روده اندازه گیری گردیده است. برای تعیین مقدار دارو در کلیه نمونه ها از روش کروماتوگرافی فاز معکوس استفاده شده است. **یافته ها:** نفوذپذیری روده‌ای دیگوکسین در هر چهار غلظت بکار رفته از آن در حضور اریترومایسین و کلاریترومایسین افزایش قابل توجهی یافته است (t-student test, $P< ۰/۰۵$). اگرچه اختلاف قابل توجهی در P_{eff} های حاصل شده از غلظتهای مختلف به کار برده از دیگوکسین مشاهده نشد که نشاندهنده عدم وابستگی نفوذپذیری دیگوکسین به غلظت است. بعلاوه اختلاف معنی داری در میزان قدرت اثر کلاریترومایسین و اریترومایسین بر جذب روده ای دیگوکسین مشاهده نگردید ($P> ۰/۰۵$). **نتیجه گیری**: بر اساس نتایج حاصله حداقل بخشی از تداخلات بالینی مشاهده شده مابین اریترومایسین و دیگوکسین و همچنین کلاریترومایسین و دیگوکسین، به تداخل آنها در سطح جذب مربوط است. بعلاوه براساس داده های بدست آمده دیگوکسین در کلاس II سیستم BCS (محلولیت کم و نفوذپذیری بالا) جای گرفته و جذب آن تحت تاثیر اریترومایسین و کلاریترومایسین قرار می گیرد. بنابراین در تجویز همزمان ماکرولیدها با دیگوکسین و در تنظیم دوز دارویی باید به این تداخل مهم توجه نمود.

***واژه های کلیدی**: ترانسپورت، اریترومایسین، کلاریترومایسین، نفوذپذیری، P-gp، دیگوکسین.*

*نویسنده مسئول: پروین ذاکری میلانی، استادیار، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تلفن: ۳۳۹۲۵۹۳ -۰۴۱۱، نمابر: ۳۳۴۴۷۹۸-۰۴۱۱

**Corresponding author: Parvin Zakeri-Milani, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. Tel: +98-411-339-2593; Fax: +98-411-334-4798; E-mail: pzakeri@tbzmed.ac.ir*

Archive of SID

www.SID.ir

١- مقدمه

نفوذپذیری روده‌ای یا توانایی مولکول دارو برای عبور از غشاهای بیولوژیکی یکی از فاکتورهای مهم بیوفارماسیوتیکسی برای بررسی جذب دارو و مکانیسم‌های دخیل در آن می‌باشد. اخیراً نقش ترانسپورترهای انتقال به خارج (Efflux) در تعیین نفوذپذیری و بهره‌دهی درمانی داروها بسیار مورد توجه بوده است. از جمله این ترانسپورترها می‌توان به Multidrug- resistance- protein (MRP) و polyspecific cation transporter (PCT) و نهایتاً P-glycoprotein (P-gp) اشاره کرد. P-gp یک پمپ Efflux وابسته به انرژی است که در محدوده وسیعی از بافت‌های طبیعی انسان و جوندگان از جمله سلول‌های اپی‌تلیال مجاری گوارشی، توبول‌های کلیوی، کبد، غدد آدرنال، چشم ، بیضه و نیز سلولهای اندوتلیال سد خونی- مغزی موجود است (١). تعداد فزاینده‌ای از داروها به عنوان سوبستراهای P-gp گزارش شده‌اند که یکی از مهمترین آنها دیگوکسین است که به طور معمول در درمان نارسایی احتقانی قلب مورد استفاده قرار می‌گیرد و بدلیل پنجره درمانی باریکش تداخل آن با دیگر داروها می تواند باعث بروز سمیت چشمگیر در انسان گردد (٢). بهره دهی درمانی این دارو در انسان متغیر می باشد (٣). بعنوان مثال بازدهی بدنی درون فردی و بین فردی آن به ترتیب بین ٩٠-٤٠٪ (٤) و ٨٥-٥٠٪ (٥) متغیر بوده است. فاکتورهای مربوط به فرمولاسیون نظیر سایز ذره ای، پلی مرفیسم و سن فراورده (مدت زمان سپری شده از تاریخ ساخت دارو) از مواردی هستند که احتمالا" با بهره دهی متغیر دارو در ارتباطند (٦). از آنجاییکه در استفاده از کپسولهای نرم ژلاتینی دیگوکسین به جای شکل دارویی قرص کاهش چندانی در میزان تغییرات بهره دهی درمانی مشاهده نشده است (٧)، لذا بنظر می رسد که سرعت انحلال به تنهایی دلیل قانع کننده ای برای این تغیر نباشد. بعلاوه بدلیل متابولیسم غیر قابل توجه دیگوکسین بعد از مصرف وریدی آن ، عبور اول کبدی چشمگیری از دارو انتظار نمیرود (٨). از طرف دیگر بنظر می رسد بدلیل لیپوفیلیسیته بالای دارو و نیز جذب خطی دیگوکسین در محدوده وسیعی از غلظت ، جذب آن از جدار روده از طریق دیفوزیون غیرفعال صورت پذیرد (٩). امروزه عقیده بر این است که بهره دهی درمانی ناقص و متغیر دیگوکسین احتمالا" به بیان و عملکرد متفاوت P-gp مربوط است (١٠). با این وجود اهمیت این گلیکوپروتئین در کاهش جذب روده ای دیگوکسین در انسان کاملا" روشن نیست (١١). بعنوان مثال در یک مطالعه انسانی مصرف همزمان دیگوکسین با کینیدین (بعنوان مهارکننده P-gp) بهره دهی درمانی دارو را از ٦٨/٥ ٪ به ٧٩/١٪ افزایش داده است (١٢) در حالیکه در مطالعه بالینی دیگر این افزایش چشمگیر نبوده است (از ٧٣/٥٪ به ٧٩/٣٪) (١٣). بعلاوه نشان داده شده است که توزیع P-gp در سراسر روده یکنواخت نبوده و از معده به کولون افزایش می یابد (٢). بنابراین عمده ترین محل جذب دارو در مصرف خوراکی قسمت فوقانی روده باریک می باشد که میزان کمتری از این گلیکوپروتئین را دارد. لذا بنظر میرسد که توزیع ناهمگون P-gp نیز تاثیر چشمگیری بر جذب دیگوکسین داشته باشد (٢). مشاهدات بالینی نشان می‌دهد که شماری از ترکیبات در صورت مصرف همزمان با دیگوکسین باعث بروز تداخل دارویی با آن می‌گردند. از بین این ترکیبات آنتی بیوتیک‌های ماکرولیدی را می‌توان نام برد که تحت عنوان مهار کننده های P-gp شناخته شده‌اند (١٥،١٤). در اغلب موارد این تداخل منجر به افزایش حدود دو تا سه برابر در غلظت سرمی دیگوکسین شده است. تداخل دیگوکسین با ماکرولیدها می‌تواند ناشی از مهار P-gp در روده، کبد و یا کلیه باشد. مطالعات قبلی انجام شده در زمینه تداخل دیگوکسین - ماکرولیدها اغلب بالینی بوده و هیچگونه مطالعه کنترل شده ای در حیوانات آزمایشگاهی به صورت in vivo یا in situ انجام نشده است و بنابراین هنوز ایده ای در خصوص مکانیسم دقیق این تداخل که آیا در سطح جذب یا در سطح متابولیسم می باشد، وجود ندارد. بنابراین در تحقیق حاضر از داروی اریترومایسین و کلاریترومایسین بعنوان مهار کننده های P-gp استفاده شده تا با تعیین نفوذپذیری روده ای دیگوکسین در حضور و عدم حضور آنها بتوان به میزان نقش مهاری P-gp و پدیده efflux در جذب دارو پی برد. بدین منظور از تکنیک پرفیوژن روده باریک موش صحرایی به روش single-pass استفاده خواهد شد. این روش معمولترین روش برای بررسی نفوذپذیری و کینتیک جذب داروهاست و از دقت و صحت بالایی برای پیش‌بینی جذب روده‌ای داروها در انسان برخوردار است (١٦) .

٢- مواد و روشها

٢-١: مواد بکار رفته

دیگوکسین (Boehringer Ingelheim, Germany)، فنل رد (St. Sigma Louis, Mo, U.S.A)، اریترومایسین و کلاریترومایسین (Elder Pharmaceutical LTD, India) ، سدیم فسفات مونوبازیک NaH_2PO_4 (Merck, Germany)، سدیم فسفات دی بازیک Na_2HPO_4 (Merck, Germany)، استونیتریل (Merck, Germany)، متانول (Merck, Germany) ، اورتوفسفریک اسید

Archive of SID

www.SID.ir

(Merck, Germany)، سديم كلراید (Merck, Germany)، دی اتيل اتر (Merck, Germany)، سديم پنتوباربيتال (Merck, Germany)، اتانل ۹۶ درجه (بيدستان، ايران)، سالين نرمال (شهيد قاضی، ايران).

۲-۲: دستگاههای بكار رفته

دستگاه HPLC شامل كنترل كننده سيستم (Shimadzu , Japan) SCL- 10A، دتكتور (Shimadzu SPD-10A (U.V-VIS) (Japan ,، پمپ ((LC-10AD(Shimadzu, Japan)، سونيكاتور (Liarre , Italy)، سرنگ هميلتون (Hamilton , Bonaduz, Switzerland)، ترازوی ديجيتالی با حساسيت ۰/۰۰۰۱ گرم (Shimadzu , Japan)، دستگاه pH متر (Coring, England)، پمپ خلاء (Edward, England)، پمپ انفوزيون سرنگدار (SP-500, Japan)، ميز جراحی مخصوص حيوان آزمايشگاهی (C.F. Palmer, England)، هيتر (Thermo Mantle , Netherland)، همزن مغناطيسی (Velp, Italy).

۳-۲: تهيه محلول پرفيوژن

برای آماده سازی محلول پرفيوژن ابتدا محلول ديگوكسين ۲۰ ميكرومولار در سالين بافر فسفاته (PBS) ايزوتونيک تهيه، سپس رقتهای ۱۵ و ۱۰ و ۵ ميكرومولار از آن فراهم شد. در محلولهای تست نيز علاوه بر ديگوكسين، اريترومايسين و يا كلاريترومايسين با غلظت ۱۵۰ ميكرومولار افزوده شد. بعنوان نشانگر غير قابل جذب نيز از فنل رد با غلظت ۲۵۰ ميلی گرم در ليتر استفاده گرديد.

٤-۲: جراحی حيوان

برای انجام آزمايش، رت‌های نر از نژاد ويستار به وزن ۳۰۰-۲۰۰ گرم انتخاب و چند روز در آزمايشگاه به منظور عادت كردن به محيط نگهداری شدند. اين رت‌ها حدود ۱۸-۱۲ ساعت قبل از انجام آزمايش گرسنه ماندند تا روده آنها از محتويات خالی گردد. ليكن تا يک ساعت قبل از جراحی آب كافی در اختيار آنها قرار داشت. آزمايشات پرفيوژن روده طبق روش گزارش شده در مقالات قبلی انجام گرفت (۱۷،۱۸). بيهوشی حيوان توسط تزريق داخل صفاقی فنوباربيتال به ميزان ٦۰ ميلی گرم بر كيلوگرم صورت گرفت. در طی آزمايش به منظور حفظ دمای بدن، حيوان روی تشک برقی قرار گرفت. بعد از برش پوست و لايه عضلانی شكم رت، حدود ۱۰ سانتيمتر از قسمت ابتدايی ژژنوم كانوله شده و به منظور شستشوی آن سالين ۳۷ °C به مدت ۱۰ دقيقه از آن عبور داده شد تا مواد موجود در روده كاملاً تخليه شده و محلول خروجی كاملا" زلال باشد. سپس محلول دارو با غلظتهای ۲۰، ۱۵، ۱۰ و ۵ ميكرومولار ، در حضور يا عدم حضور اريترومايسين و يا كلاريترومايسين ۱۵۰ ميكرومولار با سرعت ۰/۲ ميلی ليتر در دقيقه عبور داده شد. بعد از رسيدن به حالت پايدار (Steady State) به مدت حدوداً ۹۰ دقيقه نمونه گيری از لوله خروجی انجام گرديد. در انتها از محلول دارويی موجود در بالن و محلول دارويی موجود در سرنگ نمونه گرفته شد، تا ميزان جذب دارو در سرنگ نيز مشخص شود. حجم نمونه‌ها هر بار حدود ۲ ميلی ليتر بود. پس از اتمام آزمايش طول قسمت كانوله شده اندازه‌گيری شده و سپس حيوان كشته شد. نمونه‌ها در دمای ۲۰°C- تا زمان آنالیز نگهداری شدند. در تمام مراحل كار با حيوان، اصول كتاب راهنمای مراقبت از حيوانات آزمايشگاهی كه توسط كنسول كانادايی به چاپ رسيده است مورد تبعيت قرار گرفت (۱۹).

۵-۲: آنالیز نمونه‌ها

۱-۵-۲: روش آنالیز HPLC برای ديگوكسين

برای آنالیز ديگوكسين از روش HPLC (كروماتوگرافی مايع با كارايی بالا) كه مشخصات آن در زير آمده است استفاده گرديد (۲۰):

ستون: C_8 , Lichrosphere reverse phase select B 15cm، فاز متحرک: مخلوط ۷٤٪ آب و۲٦٪ استونيتريل، سرعت جريان: ۲ ميلی‌ليتر در دقيقه، طول موج: ۲۱۸ نانومتر و حجم تزريق:۱۰۰ ميكروليتر.

۲-۵-۲: روش آنالیز HPLC برای نشانگر فنل رد (۲۱)

مشخصات سيستم بكار رفته برای آنالیز فنل رد بشرح زير است: نوع ستون: Shimpak VP-ODS , (C_{18} (250×4.6 mm ، ستون گارد: (C_{18} (4.6× 50 mm ، فاز متحرک: ۵۵٪ متانول در محلول پتاسيم دی هيدروژن فسفات ۰/۰۵ مولار كه با اورتوفسفريک اسيد به pH حدود ۲/٦ رسيده باشد، سرعت جريان: ۱ ميلی‌ليتر در دقيقه، طول موج: ٤۳۰ نانومتر و حجم تزريق: ۱۰۰ ميكروليتر.

٦-۲ محاسبه نفوذپذيری موثر

بعد از اندازه‌گيری غلظت دارو در محلول خروجی (C_{out})، اين غلظت ابتدا به وسيله معادله ۱ نسبت به تغييرات غلظت فنل رد تصحيح شد:

$$C_{cor} = C_{out} (CPR_{in} / CPR_{out}) \qquad \text{معادله ۱}$$

كه در اين فرمول CPR_{out} و CPR_{in} به ترتيب غلظت فنل رد در محلول ورودی و محلول خروجی می‌باشد. از آن جايی كه فنل رد در روده جذب ندارد، بنابراين تغييرات غلظت آن به طور غيرمستقيم نشان دهنده ميزان ورود يا خروج مولكول آب می‌باشد. به اين ترتيب غلظت تصحيح شده (C_{cor}) غلظتی از دارو در محلول خروجی است كه ميزان نقل و انتقال ملكول‌های آب در آن لحاظ شده است. با

Archive of SID

www.SID.ir

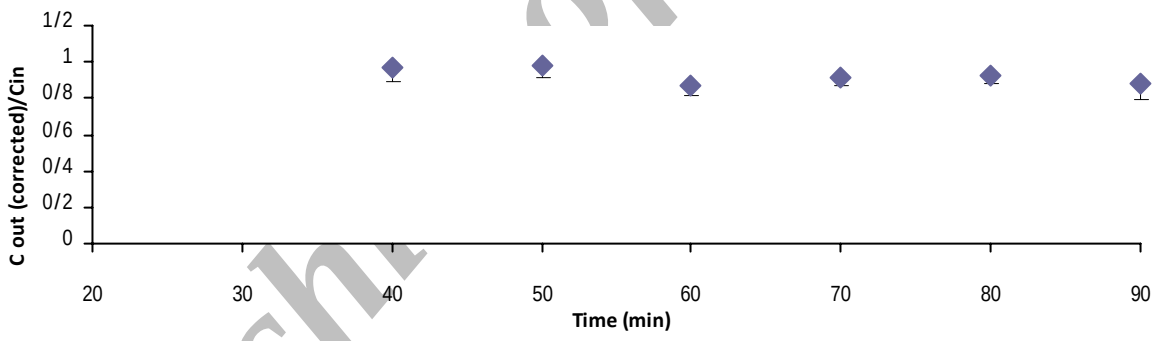
توجه به اینکه مدل جریان خطی (Laminar Flow) مناسبترین مدل در مورد حیوانات آزمایشگاهی می باشد، از فرمول زیر (معادله ۲) برای محاسبه نفوذپذیری موثر استفاده می‌شود (۲۲،۲۳):

$$P_{eff} = -Q_{in} \, Ln(C_{out}/C_{in})/2\pi rl \qquad \text{معادله ۲}$$

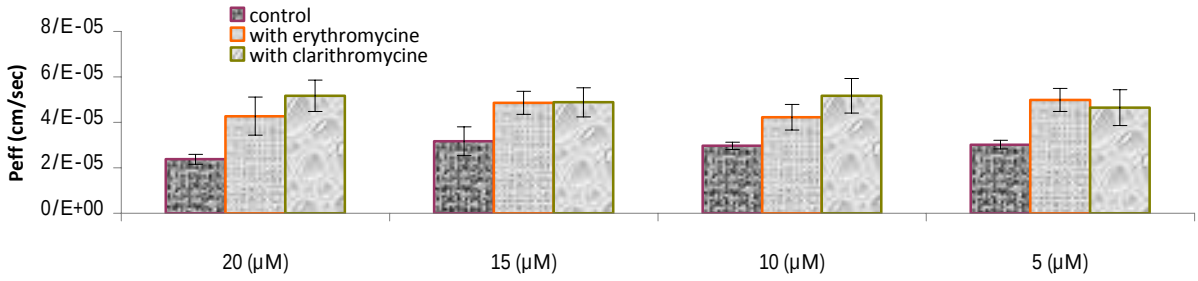
که در این فرمول C_{out} ، C_{in} غلظت دارو در محلول ورودی و خروجی، Q_{in} سرعت جریان محلول دارویی در روده (۰/۲ میلی لیتر بر دقیقه) ، $2\pi rl$ سطح تماس روده با محلول میباشد که r شعاع روده رت (۰/۱۸ سانتی متر) و l طول قسمت ایزوله شده (تقریباً ۱۰ سانتی متر) می‌باشد.

۳-نتایج

شکل۱ نشاندهنده نسبت غلظت تصحیح شده به غلظت ورودی $C_{out(cor)}/C_{in}$ در زمانهای مختلف می‌باشد. نتیجه حاصل از بررسی نفوذپذیری دیگوکسین در حضور و عدم حضور ماکرولیدهای بکار رفته بصورت ضرایب نفوذپذیری روده ای محاسبه شده در جدول۱ ذکر گردیده است همانگونه که در جدول ۱ مشاهده می شود نفوذپذیری روده ای دیگوکسین در گروه کنترل یعنی در عدم حضور ماکرولیدها از $۲/۳۷ \times ۱۰^{-۵}$ سانتیمتر بر ثانیه (برای غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر) تا از $۳/۱۶ \times ۱۰^{-۵}$ سانتیمتر بر ثانیه (برای غلظت ۱۵ میکروگرم بر میلی لیتر) متغیر بوده است. لیکن این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبوده است ($P> ۰/۰۵$) بنابراین مقدار نفوذپذیری مؤثر دیگوکسین بطور میانگین $۲/۸۷ \times ۱۰^{-۵}$ سانتیمتر بر ثانیه می باشد. بعلاوه در جدول ۱ مقادیر نفوذپذیری بدست آمده برای دیگوکسین در حضور اریترومایسین و کلاریترومایسین نیز آورده شده است. برای مقایسه، نمودارهای ستونی مربوطه نیز در شکل ۲ آورده شده است.

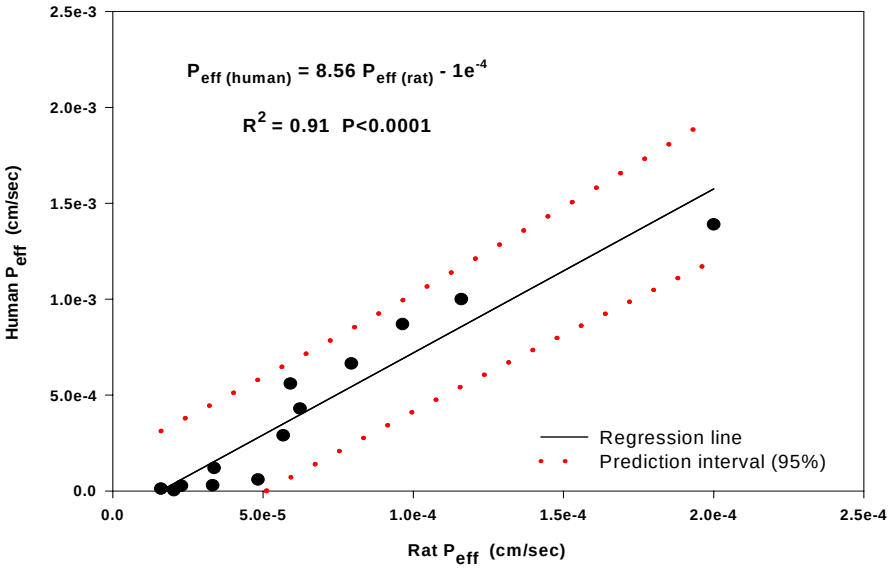


شکل۱ . نمودار نسبت غلظت دیگوکسین در محلول خروجی به غلظت آن در محلول ورودی در برابر زمان در گروه کنترل برای غلظت ۲۰میکروگرم بر میلی لیتر دارو



شکل ۲. مقایسه مقادیر نفوذپذیری بدست آمده برای دیگوکسین در روده رت بروش پرفیوژن در حضور و عدم حضور اریترومایسین و کلاریترومایسین

www.SID.ir



شكل ٣ . نمودار نفوذپذيري روده اي (Peff) رت در برابر نفوذپذيري روده اي انسان براي ١٤ مورد [١٦]

جدول ١. ميانگين ضرايب نفوذپذيري روده‌اي ديگوكسين در غلظت هاي مختلف و در حضور اريترومايسين و كلاريترومايسين

غلظت (µM)	گروه	ميانگين نفوذپذيري مؤثر (cm/sec) (± SD)	P-value
٢٠	كنترل	٠/ ٠٠٠٠٢٣٧ (± ٠/٠٠٠٠٠٢١٩)	
	تست با اريترومايسين	٠/ ٠٠٠٠٤٢٧ (± ٠/٠٠٠٠٠٨٤٢)	٠/٠٠٦٧
	تست باكلاريترومايسين	٠/ ٠٠٠٠٥١٧ (± ٠/٠٠٠٠٠٦٩)	٠/٠٠٠٥
١٥	كنترل	٠/٠٠٠٠٣١٦ (± ٠/٠٠٠٠٠٦٣٧)	
	تست با اريترومايسين	٠/ ٠٠٠٠٤٨٥ (± ٠/٠٠٠٠٠٥١٣)	٠/٠٢٣
	تست باكلاريترومايسين	٠/ ٠٠٠٠٤٨٨ (± ٠/٠٠٠٠٠٦٤١)	٠/٠٣٠
١٠	كنترل	٠/ ٠٠٠٠٢٩٦ (± ٠/٠٠٠٠١٦٦)	
	تست با اريترومايسين	٠/ ٠٠٠٠٤٢٢ (± ٠/٠٠٠٠٠٥٥٩)	٠/٠٢٠
	تست باكلاريترومايسين	٠/ ٠٠٠٠٥١٧ (± ٠/٠٠٠٠٠٧٦٦)	٠/٠٠٨
٥	كنترل	٠/ ٠٠٠٠٣٠٢ (± ٠/٠٠٠٠٠١٨٧)	
	تست با اريترومايسين	٠/ ٠٠٠٠٤٩٨ (± ٠/٠٠٠٠٠٥١٠)	٠/٠٠٣
	تست باكلاريترومايسين	٠/ ٠٠٠٠٤٦٥ (± ٠/٠٠٠٠٠٧٨٦)	٠/٠٢٥

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۲. مقادیر نسبت مهار efflux روده ای سیکلوسپورین توسط اریترومایسین و کلاریترومایسین در غلظت های بکار رفته

غلظت دیگوکسین (میکرومولار)	Efflux inhibition ratio (EIR) (با مهار کننده اریترومایسین)	Efflux inhibition ratio (EIR) (با مهارکننده کلاریترومایسین)
۲۰	۰/٤٤	۰/٥٤
۱٥	۰/۳٥	۰/۳٥
۱۰	۰/۳۰	۰/٤۳
٥	۰/۳۹	۰/۳٥

٤- بحث و بررسی

نتایج مطالعات آماری (t-student) نشان داد که نفوذپذیری روده‌ای دیگوکسین در هر چهار غلظت در حضور اریترومایسین و کلاریترومایسین افزایش قابل توجهی یافته است($P< ۰/۰٥$). اگرچه اختلاف قابل توجهی در P_{eff} های حاصل شده از چهار غلظت به کار برده شده از دیگوکسین مشاهده نشده که نشان دهنده عدم وابستگی نفوذپذیری دارو به غلظت است. از این رو نتیجه‌گیری می‌شود که حداقل بخشی از تداخلات بالینی مشاهده شده مابین ماکرولیدها و دیگوکسین بستگی به واکنشهای ایندو در سطح جذب دارد. با توجه به نتایج مشاهده شده در پژوهش حاضر جذب دیگوکسین در حضور اریترومایسین و کلاریترومایسین افزایش یافته است و این بدین معنی است که عملکرد پدیده efflux توسط P-gp در سلولهای روده‌ای توسط ماکرولیدها محدود شده و بنابراین نفوذپذیری دیگوکسین افزایش یافته است. چنین یافته ای با مکانیسمهای پیشنهاد شده برای تداخل ماکرولیدها- دیگوکسین هم سو می باشد. Wakasugi و همکارانش دفع کلیوی دیگوکسین در حضور کلاریترومایسین را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که کلیرنس کلیوی دیگوکسین در بیمارانی که دیگوکسین و کلاریترومایسین را همزمان بصورت خوراکی دریافت نموده اند، کاهش می یابد (١٤). لیکن در مطالعه ای دیگر روند افزایشی در کلیرنس کلیوی دیگوکسین در حضور ماکرولیدها مشاهده گردید (٢٤) بعلاوه مطالعات دیگر روی حیوانات نشان داده است که ترشح کلیوی دیگوکسین در عـــــــدم حضور P-gp افزایش میابد (۱۰،۲٥) . البته تاثیر ماکرولیدها بر فعالیت ترانسپورترهای دیگر از جمله پلی پپتید منتقل کننده آنیونهای آلی (Oatp2) نیز محتمل است که نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه دارد. احتمالا" در انسان بازجذب مجدد دیگوکسین در توبولهای کلیوی توسط ماکرولیدها کاهش می یابد (٢٤). البته مطالعات فارماکوکینتیکی متعدد در انسان نشان داده است که کلیرنس کلیوی دیگوکسین توسط مهارکننده های P-gp تحت تاثیر قرار نمی گیرد. بنابراین بنظر می رسد که احتمالا" مهارکننده ها در مرحله جذب از مخاط روده و در پروسه جذب بر سرنوشت دیگوکسین تاثیرگذار باشد (٢٤). در حقیقت افزایش سطوح سرمی دیگوکسین و در نتیجه سمیت آن فقط در مورد مصرف خوراکی دیگوکسین با ماکرولیدها صورت می گیرد که چنین فرضیه ای با نتایج حاصله از تحقیق حاضر تایید گردید. بنابراین نتیجه گیری شد که ماکرولیدها بیشتر سبب افزایش جذب دیگوکسین می شود تا مهار متابولیسم یا دفع آن. در یک مطالعه برون تن دیگر پیش بینی شده بود که ماکرولیدها از جمله اریترومایسین و کلاریترومایسین پتانسیل متفاوتی برای مهار P-gp داشته باشند (٢٦) لیکن در مطالعه دیگر توسط Tsutsumi و همکارانش چنین نتیجه ای حاصل نگردید، بطوریکه در دوزهای درمانی این ماکرولیدها اثرات مهاری متفاوتی نشان ندادند (٢٤). چنین یافته ای در تحقیق حاضر موردتایید قرار گرفت و در حقیقت اختلاف معنی داری در مقادیر نفوذپذیری روده ای دیگوکسین در حضور اریترومایسین و کلاریترومایسین مشاهده نگردید ($P>۰/۰٥$) بهر حال بنظر می رسد مطالعات بیشتر در زمینه دوز ماکرولیدها و فاصله زمانی بین شروع مصرف دوز دیگوکسین و دوز داروی مهارکننده لازم باشد. در ارزیابی انجام شده، برای بررسی میزان کمی نقش P-gp در جذب روده ای دیگوکسین و به عبارتی بررسی نسبت مهار efflux روده‌ای (Efflux Inhibition Ratio) دارو، نسبت P_{eff} دارو در حالت مهار P-gp efflux (P_{p-gp}) و نیز نفوذپذیری دارو به روش غیر فعال (P_{PD}) محاسبه شد. (P_{p-gp}) با کم کردن $P_{eff, control}$ از $P_{eff, inh}$ به دست می آید، درحالیکه P_{PD} مساوی همان $P_{eff, inh}$ می باشد. بنابراین EIR توسط معادله ۳ محاسبه شد(۲۷):

$$EIR = 1- (p_{eff,control} / P_{eff,inh}) \qquad \text{معادله ۳}$$

با فرض مهار کامل P-pg توسط ماکرولیدهای کار شده ، EIRبرای سیکلوسپورین در حضور اریترومایسین و کلاریترومایسین به ترتیب در محدوده ۰/٤٤-۰/۳۰٪ و

Archive of SID

www.SID.ir

٠/٣٥-٠/٥٤ به دست آمد و نشان داده می‌شود که ٠/٤٤- ٠/٣٧ ٪ انتقال غیر فعال سیکلوسپورین توسط P-gp مهار می گردد (جدول ٢). با توجه به P_{eff} به دست آمده از دیگوکسین در مدل رت و نیز با استفاده از معادله ای که ارتباط بین P_{eff} انسان و رت که را نشان می دهد (شکل ٣) (١٦) ، پیش‌بینی می‌شود که ضریب نفوذپذیری برای دیگوکسین در روده انسان $١/٤٥ \times ١٠^{-٤}$ سانتیمتر بر ثانیه باشد. بر اساس جدول طبقه بندی بیوفارماسی داروها از لحاظ محلولیت و نفوذپذیری و محاسبه D_0 (Dose number) طبق فرمول زیر (معادله ٤)،(D_0= ٢٠/٤٨)، داروی دیگوکسین در کلاس II (داروهای با محلولیت پایین و نفوذپذیری بالا) قرار می گیرد (٢٨) .

معادله ٤ $D_0=(M/V_0)/Cs$

M : وزن مولکولی (g) و V_0: حجم (ml) و Cs: غلظت اشباع (g/ml) . بنابراین جذب بالا و متفاوت دیگوکسین در انسان می‌تواند مرتبط با محلولیت کم شکل دارویی باشد. لیکن همانگونه که قبلا" نیز اشاره گردید (٧،١٠) در مورد دیگوکسین که سوبسترای پمپ برگشت روده ای می باشد مساله بازدهی بدنی کم ومتغیر تا حدود زیادی به P-gp در سلولهای اپی تلیال روده مربوط است تا انحلال شکل دارویی در روده.

٤- نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر با استفاده از تکنیک پرفیوژن روده باریک در رت‌ها نشان می‌دهد که نفوذپذیری روده ای دیگوکسین مستقل از غلظت صورت می گیرد. بعلاوه نفوذپذیری گوارشی دیگوکسین در حضور اریترومایسین و کلاریترومایسین در روده کوچک تحت تاثیر قرار گرفته و بطور معنی داری افزایش می یابد. بنابراین در حین تجویز داروی دیگوکسین با داروهای دیگری که مهارکننده و یا القاکننده پمپ برگشتی روده ای هستند باید به امکان بروز تغییرات قابل توجه در غلظت پلاسمایی دارو و در نتیجه احتمال بروز سمیت دارو توجه نمود.

References:

1. Funakoshi S., Murakami T., Yumoto R., Kiribayashi Y., and Takano M. Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics and drug interactions of digoxin and beta-methyldigoxin in rats. J. Pharm. Sci., 2003, 92(7): 1455-63.
2. Yao H.M., Chiou W.L. The complexity of intestinal absorption and exsorption of digoxin in rats. Int. J. Pharm., 2006, 322(1-2): 79-86.
3. Shaw T.R., Howard M.R., Hamer J. Variation in the biological availability of digoxin. Lancet, 1972, 2(7772): 303-7.
4. Meister W., Benowitz N.L., Benet L.Z. Unchanged absorption of digoxin tablets in patients with cardiac failure. Pharmacology, 1984, 28(2): 90-4.
5. Marcus F.I., Current status of therapy with digoxin. Curr. Probl. Cardiol., 1978, 3(5): 1-41.
6. Chiou W.L., Kyle L.E. Differential thermal, solubility, and aging studies on various sources of digoxin and digitoxin powder: biopharmaceutical implications. J. Pharm. Sci., 1979, 68(10): 1224-9.
7. Johnson B.F., Lindenbaum J., Budnitz E., Marwaha R. Variability of steady-state digoxin kinetics during administration of tablets or capsules. Clin. Pharmacol. Ther., 1986, 39(3): 306-12.
8. Hinderling P.H., Hartmann D. Pharmacokinetics of digoxin and main metabolites/derivatives in healthy humans. Ther. Drug Monit., 1991, 13(5): 381-401.
9. Caldwell J.H., Martin J.F., Dutta S., Greenberger N.J. Intestinal absorption of digoxin-3H in the rat. Am. J. Physiol., 1969, 217(6): 1747-51.
10. Mayer U., Wagenaar E., Beijnen J.H., Smit J.W., Meijer D.K., Van Asperen J., Borst P., Schinkel A.H. Substantial excretion of digoxin via the intestinal mucosa and prevention of long-term digoxin accumulation in the brain by the mdr 1a P-glycoprotein. Br. J. Pharmacol., 1996, 119(5): 1038-44.
11. Chiou W.L., Ma C., Chung S.M., Wu T.C. An alternative hypothesis to involvement of intestinal P-glycoprotein as the cause for digoxin oral bioavailability enhancement by talinolol. Clin. Pharmacol. Ther., 2001, 69(1): 79-81.
12. Pedersen K.E., Christiansen B.D., Klitgaard N.A., Nielsen-Kudsk F., Effect of quinidine on digoxin bioavailability. Eur. J. Clin. Pharmacol., 1983, 24(1): 41-7.
13. Hager W.D., Mayersohn M., Graves P.E., Digoxin bioavailability during quinidine administration. Clin. Pharmacol. Ther., 1981, 30(5): 594-9.
14. Wakasugi H., Yano I., Ito T., Hashida T., Futami T., Nohara R., Sasayama S., Inui K. Effect of clarithromycin on renal excretion of digoxin: interaction with P-glycoprotein. Clin. Pharmacol. Ther., 1998, 64(1): 123-8.
15. Laberge P., Martineau P. Clarithromycin-induced digoxin intoxication. Ann. Pharmacother., 1997, 31(9): 999-1002.
16. Zakeri-Milani P., Valizadeh H., Tajerzadeh H., Azarmi Y., Islambolchilar Z., Barzegar S., Barzegar-Jalali M. Predicting human intestinal permeability using single-pass intestinal perfusion in rat. J. Pharm. Pharm. Sci., 2007, 10(3): 368-79.
17. Zakeri-Milani P., Barzegar-Jalali M., Tajerzadeh H., Azarmi Y., Valizadeh H., Simultaneous determination of naproxen,

Archive of SID

www.SID.ir

ketoprofen and phenol red in samples from rat intestinal permeability studies: HPLC method development and validation. J. Pharm. Biomed. Anal., 2005, 39(3-4): 624-30.
18. Valizadeh H., Zakeri-Milani P., Islambulchilar Z., Tajerzadeh H. A simple and rapid high-performance liquid chromatography method for determining furosemide, hydrochlorothiazide, and phenol red: applicability to intestinal permeability studies. J. AOAC Int., 2006, 89(1): 88-93.
19. Ernest D., Alfert E.D., Brenda M., Cross B.M., Mcwilliam A.A.E., CCAC, Guide to the care and use of experimental animals, Canadian Council on Animal Care. 1993, 1: 1-150.
20. United States Pharmacopeia (USP) 30. 2007.
21. Swenson E.S., Milisen W.B., Curatolo W. Intestinal Permeability Enhancement: Efficacy, Acute Local Toxicity, and Reversibility. Pharmaceutical Research, 1994, 11(8): 1132-1142.
22. Komiy I., Park J.Y., Kamani A., Ho N.F.H., Higuchi W.I. Quantitative mechanistic studies in simultaneous fluid flow and intestinal absorption using steroids as model solutes. Int. J. Pharm., 1980, 4: 249-262.
23. Levitt M.D., Kneip J.M., Levitt D.G. Use of laminar flow and unstirred layer models to predict intestinal absorption in the rat. J. Clin. Invest., 1988, 81: 1365-1369.
24. Tsutsumi K., Kotegawa T., Kuranari M., Otani Y., Morimoto T., Matsuki S., Nakano, S. The effect of erythromycin and clarithromycin on the pharmacokinetics of intravenous digoxin in healthy volunteers. J. Clin. Pharmacol., 2002, 42(10): 1159-64.
25. Shinkel A.H., Mayer U., Wagenaar E., Mol C.A., Van Deemter L., Smit J.J., Van Der Valk M.A., Voordouw A.C., Spits H., Van Tellingen O., Zijlmans J.M., Fibbe W.E., Borst P., Normal viability and altered pharmacokinetics in mice lacking mdr1-type (drug-transporting) P-glycoproteins. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 1997, 94(8): 4028-33.
26. Wang L., Kitaichi K., Hui C.S., Takagi K., Sakai M., Yokogawa K., Miyamoto K.I., Hasegawa T. Reversal of anticancer drug resistance by macrolide antibiotics in vitro and in vivo. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 2000, 27(8): 587-93.
27. Varma M.V., Kapoor N., Sarkar M., Panchagnula R. Simultaneous determination of digoxin and permeability markers in rat in situ intestinal perfusion samples by RP-HPLC. J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 2004, 813(1-2): 347-52.
28. Rinaki E., Valsami G., Macheras P. Quantitative Biopharmaceutics classification system: The central role of dose/solubility ratio. Pharm. Res., 2003, 20(12): 1917-1925.

Archive of SID

www.SID.ir