

Investigation of Digoxin Solubility in Different Cosolvent Systems

Zakeri-Milani P.^{1,2}, Ebrahimi S.^{3,4}, Valizadeh H.^{1,5*}

¹ Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. ² Liver and Gastrointestinal Diseases Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. ³ Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. ⁴ Student Research Committee, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. ⁵ Research Center for Pharmaceutical Nanotechnology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

Received: 12 Jan. 2011, Accepted: 6 June 2012

Objectives: Digoxin is a drug with very low aqueous solubility, low therapeutic dose and low therapeutic index. Soft gelatin capsule is an ideal dosage form to formulate low soluble drugs that provides faster dissolution, higher bioavailability and higher content uniformity. The purpose of the present study is to enhance digoxin solubility using appropriate vehicles to prepare digoxin soft gelatin capsule core formulation. **Methods:** Solubility of digoxin in different solvents, including water, ethanol, polyethylene glycol 400, propylene glycol, transcutool and binary and/or ternary solvent systems were investigated using shake-flask method. Saturated solutions of these solvents and solvent mixtures were shaken at 25°C for 48 h. After equilibrium, the supernatant layer was withdrawn and passed through 0.45 µm filter. Concentrations of drug in solutions were determined by HPLC and UV method. The mathematical mixture design was used to design the solvent systems. **Results:** The obtained results indicated that best co-solvent for increasing the solubility of digoxin is ethanol. Digoxin solubility in other co-solvents also was more than its aqueous solubility. Using co-solvency method, the solubility was increased up to 14.5 times more than its aqueous solubility. **Conclusion:** It is concluded that digoxin solubility could be increased using co-solvency method to achieve appropriate formulations for designing soft gelatin capsules.

Key words: Digoxin, Solubility, Co-solvency, Soft gelatin capsule, Mixture design

بررسی محلولیت دیگوکسین در سیستم های حلال مختلف

پروین ذاکری میلانی^{۱،۲}، سوها ابراهیمی^{۳،۴}، هادی ولیزاده^{۱،۵*}

^۱ دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. ^۲ مرکز تحقیقات بیماریهای کبد و گوارش دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. ^۳ مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. ^۴ کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. ^۵ مرکز تحقیقات ریز فناوری دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۲۳، تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۱۷

زمینه و هدف: دیگوکسین، دارویی با محلولیت آبی بسیار کم، دوز درمانی پایین و اندکس درمانی بسیار باریک می باشد و کپسول ژلاتینی نرم یک فرم ایده آل جهت فرموله کردن داروهای کم محلول در آب جهت افزایش سرعت انحلال، افزایش بازدهی بدنی و یکنواختی بخش ماده مؤثره آن می باشد. هدف از این مطالعه افزایش محلولیت دیگوکسین با استفاده از حامل های مناسب جهت آماده سازی محلول داخلی کپسول ژلاتینی نرم حاوی این دارو می باشد. **روش ها:** محلولیت داروی دیگوکسین در حلال های آب، اتانول مطلق، پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰، پروپیلن گلیکول و ترانسکیوتول به صورت منفرد و در سیستم های دوتایی و چندتایی از حلال ها با استفاده از روش Saturation Shake-Flask تعیین شد، به این ترتیب که محلول های اشباع از پودر دیگوکسین به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵°C در شیکر انکوباتور قرار داده شده، سپس سانتریفوژ و صاف شده، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV و HPLC تعیین مقدار گردید. مدل آماری Mixture design جهت طراحی سیستم های حلال بکار رفت. **یافته ها:** اتانول بیشترین افزایش را در محلولیت دیگوکسین باعث شد. محلولیت در هر یک از حلال های دیگر نیز بیشتر از آب بوده و با ترکیب کمک حلال ها با درصد های مختلف، محلولیت دیگوکسین تا ۱۴/۵ برابر محلولیت آبی آن افزایش یافت. **نتیجه گیری:** با بهره گیری از روش کوسولوانسی می توان محلولیت آبی دیگوکسین را افزایش داد و امکان فرموله کردن آن در شکل کپسول ژلاتینی نرم را فراهم آورد.

واژه های کلیدی: دیگوکسین، کپسول ژلاتینی نرم، محلولیت، حلالیت مشترک، طرح نسبتی، Mixture design

* Corresponding Author: Hadi Valizadeh, Associate professor, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. Tel: +98-411-339-2649, Fax: +98-411-334-4798; Email: valizadeh@tbzmed.ac.ir

* نویسنده مسئول: هادی ولیزاده، دانشیار دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران. تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۹۲۶۴۹، فاکس: ۰۴۱۱-۳۳۴۷۹۸، ایمیل: valizadeh@tbzmed.ac.ir

۱- مقدمه

محلولیت و انحلال در پژوهشهای دارویی و در تولید دارو در صنعت داروسازی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. محلولیت آبی یک دارو، فاکتور بسیار تأثیرگذار در اثربخشی و سلامت آن می باشد، از این جهت که روی پارامترهای محلولیت و فراهمی زیستی آن تأثیر می گذارد (۱).

متأسفانه اغلب داروها محلولیت کمی در آب دارند و برای تهیه شکل دارویی محلول لازم است محلولیت افزایش یابد. روش های متداولی برای افزایش محلولیت داروها در آب وجود دارد که از بین آن ها روش کوسولوانسی، مهم ترین و پرکاربردترین روش می باشد، از این جهت که یک روش ساده، با اثرات جانبی کم و قدرت افزایش محلولیت بالا بوده و موجب صرفه جویی در هزینه و زمان می شود. در این روش از حلال های آلی قابل اختلاط با آب جهت افزایش محلولیت استفاده می شود. افزودن یک کمک حلال تفاوت بین قطبیت دارو و سیستم آب کمک حلال را کاهش داده میزان محلولیت را افزایش می دهد (۲).

دیگوکسین دارویی از دسته گلیکوزیدهای قلبی می باشد (۳) که به عنوان مهار کننده پمپ ATPase، پتاسیم- سدیم عمل می کند و به این ترتیب باعث افزایش نیروی انقباض قلب (فعالیت اینوتروپیک مثبت) و کاهش هدایت گره AV می شود. کاربرد عمده ی این دارو درمان نارسائی احتقانی قلب (CHF) می باشد.

دیگوکسین دارای لیپوفیلیسیته نسبتاً بالا است و فراهمی زیستی متغیری دارد. از سدهای سلولی مثل سد خونی مغزی و جفت عبور کرده و در شیر نیز وارد میشود (۴-۶). این دارو محلولیت بسیار کمی در آب دارد، بنابراین سرعت انحلال آن از قرص های معمولی بسیار کم بوده و لذا بازدهی بدنی آن در افراد مختلف بسیار متغیر است (۶).

از طرفی دیگوکسین دوز درمانی پائین و اندیس درمانی بسیار باریکی دارد، بنابراین تهیه قرص هایی با یکنواختی پخش ماده مؤثره (content uniformity) بالا اهمیت فراوان دارد چرا که تغییر اندک در میزان داروی تجویز شده ممکن است باعث عدم اثر بخشی و یا سمیت شود. کپسول ژلاتینی نرم یک فرم ایده آل جهت فرموله کردن داروهای کم محلول در آب در جهت افزایش سرعت انحلال و افزایش بازدهی بدنی می باشد. به طوریکه دوز ۰/۲ میلی گرم کپسول ژلاتینی نرم دیگوکسین معادل ۰/۲۵ میلی گرم قرص دیگوکسین می باشد. از طرفی با اتخاذ یک روش مناسب جهت تهیه کپسول های ژلاتینی نرم می توان یکنواختی بالائی حاصل کرد. با توجه به اینکه دیگوکسین یک داروی نامحلول در آب می باشد و از طرفی جذب

متغیری دارد (۱۰-۷) و نظر به اینکه مطالعات بسیار محدودی در مورد محلولیت دیگوکسین انجام گرفته است، و تنها یک فراورده تجاری از این دارو وجود دارد (LanoxiCaps, GlaxoSmithKline)، هدف از این مطالعه افزایش محلولیت دیگوکسین با استفاده از حامل های مناسب جهت آماده سازی محلول داخلی کپسول ژلاتینی نرم حاوی این دارو می باشد.

۲- مواد و روش ها

۱-۲: مواد بکار رفته

دیگوکسین (Boehringer Ingelheim, Germany)، استونیتریل (Caledon, Canada)، اسید استیک (Merck, Germany)، اتانول (Merck, Germany)، پروپیلن گلیکول (Merck, Germany)، پلی اتیلن گلیکول (Merck, Germany)، ترانسکیوتول (Gattefose, France)

۲-۲: دستگاه ها

دستگاه اسپکتروفتومتر UV-160 (Shimadzu, Japan)، ترازوی آنالیتیک با دقت ۰/۱ میلی گرم (Sartorius, Germany)، شیکر انکوباتوردار (Clifton, England)، اولترا سوند (Liarre, Italy) سانتریفوژ (Hettich, Germany)، صافی هیدروفیل ۰/۴۵ میکرومتر، ستون HPLC (Beckman, USA)، ستون HPLC (Shimpack) (clc ODS 250×46 mm)

۳-۲: رسم منحنی کالیبراسیون

۱-۳-۲: رسم منحنی کالیبراسیون با استفاده از UV

برای رسم این منحنی، محلول های استاندارد با غلظت های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۸۰ میلی گرم در لیتر از پودر دیگوکسین در حلال اتانول مطلق که رقیق سازی با آن صورت گرفته تهیه شد و بعد از قرائت جذب فرابنفش در طول موج ۲۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر UV، منحنی کالیبراسیون رسم گردید.

از این منحنی برای اندازه گیری محلولیت دیگوکسین در حلال های آب، اتانول مطلق، پروپیلن گلیکول و ترانسکیوتول استفاده شد.

۲-۳-۲: رسم منحنی کالیبراسیون با استفاده از HPLC

شرایط HPLC در کلیه مراحل کار به شرح زیر می باشد ستون HPLC (Shimpack clc ODS 250×46 mm)، فاز متحرک: ۶۵٪ آب حاوی ۰/۱٪ اسید استیک، ۳۵٪ استونیتریل، سرعت جریان: ۱ میلی لیتر در دقیقه، طول موج: ۲۲۰ نانومتر، حجم تزریق: ۱۰۰ میکرولیتر.

۲-۵: طراحی سیستم های حلال

طراحی سیستم های حلال با استفاده از روش Mixture design صورت گرفت. این روش وابستگی پاسخ به نسبت اجزاء را تخمین می زند، از این رو زمانی مناسب است که پاسخ به عنوان تابعی از نسبت اجزاء و نه مقدار کلی آن ها تغییر کند.

هر جزء می تواند در محدوده ای از ۰ تا ۱۰۰٪ متغیر باشد و جمع اجزای مخلوط باید برابر ۱۰۰٪ باشد. ممکن است نیاز به اعمال محدودیت روی یک یا چند جزء وجود داشته باشد. به عنوان مثال در فرمولاسیون یک مایع پرشونده در کپسول ژلاتینی نرم درصد آب و اتانول در ترکیب نباید از ۱۰٪ تجاوز کند. با در نظر گرفتن این عوامل طراحی سیستم های حلال صورت گرفت که در جدول ۱-۲ آمده است.

۲-۶: آماده سازی سیستم های حلال

در این مرحله، ابتدا از هر یک از سیستم های حلال مطابق درصد اجزای ذکر شده در جدول ۱ به میزان ۱۰ گرم تهیه شد.

با توجه به اینکه وزن محتویات پوکه های کپسولی که به عنوان استاندارد در گرفته شد ۵۰۰mg بود، دوز دارو معادل ۰/۲mg/۵۰۰mg بوده و بر این اساس مقدار پودر دیگوکسین لازم جهت تهیه ۱۰g فرمولاسیون محاسبه شده و به هر یک از سیستم های حلال تهیه شده اضافه شد.

۳- نتایج

نتایج مربوط به اندازه گیری محلولیت دیگوکسین در حلال های آب، اتانول، پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰، پروپیلن گلیکول و ترانسکیوتول در جدول ۲ آورده شده است. محلولیت دیگوکسین در سیستم های حلال دوتایی و چندتایی از حلال های ذکر شده در بالا با درصدهای مختلف در دمای C ۲۵^o اندازه گیری شد که در جدول ۳ آورده شده است.

برای رسم این منحنی غلظت های ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر از پودر دیگوکسین در فاز متحرک تهیه و بعد از اندازه گیری سطح زیر منحنی پیک ایجاد شده در دستگاه HPLC منحنی کالیبراسیون رسم گردید. با توجه به اینکه محلول ۰/۵٪ پلی اتیلن گلیکول در اتانول مطلق ایجاد پیک کرده و در میزان جذب ایجاد تداخل می کرد، محلولیت دیگوکسین در پلی اتیلن گلیکول با استفاده از منحنی کالیبراسیون رسم شده با استفاده از HPLC اندازه گیری شد. همچنین از این منحنی برای اندازه گیری محلولیت دیگوکسین در سیستم های حلال نیز استفاده شد.

۲-۴: تعیین محلولیت

تعیین محلولیت با استفاده از روش Saturation Shake- Flask صورت گرفت، به این ترتیب که محلول اشباع دیگوکسین در هر یک از حلال ها با اضافه کردن مقدار مازاد از پودر دیگوکسین به حدود ۳ میلی لیتر از هر یک از حلال ها تهیه شده و برای رسیدن به تعادل و تشکیل محلول اشباع به مدت ۴۸ ساعت در شیکر انکوباتوردار در دمای C ۲۵^o به هم زده شد. سپس محلول ها به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شده، مایع رویی با استفاده از کاغذ صافی ۰/۴۵ میکرومتر و فیلتر واتمن صاف شد. نمونه های صاف شده برای حلال های آب، اتانول، پروپیلن گلیکول و ترانسکیوتول با استفاده از اتانول مطلق رقیق شد. میزان جذب نمونه های رقیق شده توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV در طول موج ۲۲۰ نانومتر اندازه گیری شده و میزان محلولیت دارو در حلال با استفاده از منحنی کالیبراسیون مربوطه و با در نظر گرفتن ضرایب رقت تعیین شد. برای تعیین محلولیت دارو در پلی اتیلن گلیکول، محلول صاف شده ی مربوطه، با استفاده از فاز متحرک رقیق شده و سطح زیر منحنی پیک ایجاد شده در دستگاه HPLC تعیین شد. محلولیت دیگوکسین در پلی اتیلن گلیکول با استفاده از منحنی کالیبراسیون مربوطه و با در نظر گرفتن ضریب رقت تعیین شد.

جدول ۱. سیستم های حلال طراحی شده با استفاده از Mixture design

فرمولاسیون	پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ %w/w	آب %w/w	اتانول %w/w	پروپیلن گلیکول %w/w	ترانسکیوتول %w/w
۱	۴۰	۰	۰	۰	۶۰
۲	۶۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
۳	۴۰	۱۰	۰	۰	۵۰
۴	۴۰	۱۰	۱۰	۰	۴۰
۵	۶۲	۵	۵	۵	۲۳
۶	۴۰	۱۰	۰	۱۰	۴۰
۷	۴۰	۰	۱۰	۱۰	۴۰
۸	۷۳	۲/۵	۷/۵	۵	۱۲
۹	۹۰	۰	۱۰	۰	۰
۱۰	۴۰	۱۰	۱۰	۱۰	۳۰
۱۱	۸۰	۱۰	۱۰	۰	۰
۱۲	۵۷	۰	۳	۰	۴۰
۱۳	۷۳	۰	۰	۰	۲۷
۱۴	۵۳	۱۰	۱۰	۰	۲۷

جدول ۲. محلولیت دیگوکسین در حلال های منفرد

حلال	محلولیت (mg/l)
آب	۸۹/۱
اتانول	۶۰۲۶/۱
پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰	۶۶۸/۶
پروپیلن گلیکول	۳۴۸۳/۸
ترانسکیوتول	۱۷۲۹/۶

جدول ۳. محلولیت دیگوکسین در سیستم های حلال

فرمولاسیون	محلولیت (mg/l)
۱	۴۹۰/۶
۲	۸۰۰/۱
۳	۲۶۴/۲
۴	۷۶۵/۳
۵	۶۹۴/۵
۶	۱۱۰۴/۸
۷	۱۰۹۴/۳
۸	۱۳۱۰/۲
۹	۵۷۴/۱
۱۰	۹۷۶/۴
۱۱	۹۰۶/۷
۱۲	۵۶۱/۹
۱۳	۲۰۳/۹
۱۴	۵۷۴/۵

۴- بحث

باشد و با ترکیب حلال های مختلف با درصدهای متفاوت می توان محلولیت بهینه را بسته به هدف مورد نظر به دست آورد. درصدهای انتخاب شده برای حلالها و کمک

نتایج حاصل از بررسی محلولیت دیگوکسین در حلال های مختلف نشان داد که مقدار داروی حل شده در حلال های مختلف بسته به میزان قطبیت آن می تواند بسیار متفاوت

بدست آمده برای دیگوکسین در طرح آماری نسبتی بکار رفته نیز حاصل گردید.

کمک حلال ها مواد آلی قابل اختلاط با آب هستند که به واسطه داشتن نواحی کوچک هیدروکربنی باعث افزایش محلولیت مواد غیرقطبی در آب می شوند (۱۷، ۱۸).

حضور کمک حلال در محیط آبی باعث کاهش برهم کنشهای بین حلال و کاهش ویژگی های مرتبط با قطبیت حلال مانند کشش سطحی، ثابت دی الکتریک و پارامتر محلولیت می شود. از طرفی پیوند هیدروژنی بین مولکول های آب به کمک نواحی هیدروکربنی هیدروفوب داروی نامحلول شکسته شده و تداخلات بین مولکولی و درون مولکولی ماده حل شونده در حلال، مثل پیوند هیدروژنی باعث افزایش محلولیت می گردد (۲۲-۲۰، ۱۹، ۱۷).

این تداخلات بین مولکولی در مورد دیگوکسین بین مولکول آب و بخش گلیکونی هیدروفیل مولکول دیگوکسین به وجود می آید. به این ترتیب با اضافه کردن کمک حلال به آب میزان محلولیت دیگوکسین افزایش یافته و میزان محلولیت دیگوکسین در هر یک از سیستم های حلال از محلولیت آبی آن بیشتر می گردد. تفاوت مشاهده شده در مقدار محلولیت دیگوکسین در سیستم های حلال مختلف به تفاوت در قطبیت این سیستم ها برمی گردد. بیشترین افزایش در محلولیت دارو، در کمک حلال یا مخلوطی از آب-کمک حلال با قطبیت مشابه به دارو حاصل می شود (۱۹).

۵- نتیجه گیری

نتایج بدست آمده از مطالعات این تحقیق نشان داد که می توان با استفاده از روش حلال مشترک و بهره گرفتن از سیستم کمک حلال ۵ تایی شامل آب، اتانول، پروپیلن گلیکول، پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ و ترانسکیوتول محلولیت دیگوکسین را تا ۱۴/۵ برابر محلولیت آبی آن افزایش داد و این مسئله فرموله کردن دیگوکسین به شکل کپسول ژلاتینی نرم را به راحتی امکان پذیر می سازد.

۶- تشکر و قدردانی

از شرکت داروسازی زهراوی که در تهیه مواد لازم برای این مطالعه همکاری صمیمانه داشته اند، نهایت تشکر و قدردانی می گردد.

حلالهای بکار رفته بر اساس میزان مجاز قابل استفاده از آنها در طراحی کپسول نرم ژلاتینی انتخاب گردیده اند.

بنابر نتایج بدست آمده، محلولیت دیگوکسین در آب $89/1 \text{ mg/l}$ بوده و برای تهیه فرم خوراکی کپسول ژلاتینی نرم با دوز $0/2$ میلی گرم (غلظت بالاتر از 1 mg/l) مناسب نمی باشد. محلولیت در هر یک از حلال های اتانول، پروپیلن گلیکول، پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰ و ترانسکیوتول بیشتر از آب بوده و به ترتیب $60/26/1$ ، $34/83/8$ ، $66/8/6$ و $172/9/6$ میلی گرم در لیتر بدست آمد که بیشتر از غلظت مورد نیاز از دیگوکسین جهت تهیه کپسول ژلاتینی نرم می باشد. در واقع به دلیل محدودیت در میزان حلال غیرآبی مصرفی در فرمولاسیون، علیرغم بالا بودن محلولیت دیگوکسین در تک تک آنها، نمی توان از هر حلال به تنهایی برای ساخت کپسول نرم ژلاتینی استفاده کرد. این در حالی است که با ترکیب حلال های ذکر شده در بالا با درصدهای مختلف و مجاز تهیه کپسول ژلاتینی نرم، محلولیت دیگوکسین تا $131/0 \text{ mg/l}$ افزایش یافت. چنین اثری قبلا برای داروهای دیازپام، کلونازپام و لاموتریژین در سیستم حلال حاوی مخلوط آب، اتانول، پروپیلن گلیکول و N-متیل پیرولیدون مشاهده شده است (۱۱، ۱۲).

در پیش بینی محلولیت عمدتاً از اصل "شبيه در شبيه حل می شود" استفاده می گردد (۱۳). این عبارت بر این مسئله دلالت می کند که یک حل شونده در حلالی به خوبی حل می شود که از لحاظ ساختمان شیمیایی شبيه آن باشد. قطبیت یک حلال فاکتور بسیار تأثیرگذاری بر روی قابلیت آن جهت محلول سازی داروها می باشد (۱۴).

بنابراین از آنجاییکه مولکول دیگوکسین یک ترکیب شیمیایی از یک قند سه کربنی به نام دیجیتوکسوز و یک بخش آگلیکونی غیر قطبی بزرگ به نام دیگوکسی ژنین می باشد (۱۵) و در مجموع مولکولی غیرقطبی است، از این رو در آب که حلالی با قطبیت و ثابت دی الکتریک بالاست (۸۰ در دمای 25°C) (۱۶) به مقدار کمتری حل می شود اما در اتانول که نسبت به آب قطبیت کمتری دارد به میزان بیشتری حل می گردد، به این ترتیب که گروه هیدروکسیل آن بخش گلیکوزیدی مولکول دیگوکسین را در خود حل کرده و گروه کربونیل آن با بخش آگلیکونی مولکول دیگوکسین برهم کنش داده و آن را در خود حل می کند. این مسئله در مورد سایر کمک حلال ها هم که دارای بخش های قطبی و غیرقطبی در ساختار خود هستند صدق می کند. چنین رابطه ای بین قطبیت حلالها و محلولیت

References

1. Hassan Aboul-Einien M. formulation and evaluation of felodipine in softgels with a solubilized core, *Asian Journal of Pharmaceutical Science*, 2009, 4(3):144-60.
2. Sinko PJ. *Martin's physical and pharmaceutical sciences*. Lippincott williams and wilkins, philadelphia, 2006, 119-120.
3. Moffat AC., Osseiton MD., Widdop B. *Clarkes Analysis of Drugs and Poisons in Pharmaceuticals, Body fluids and postmortem Materials*. Pharmaceutical Press, London, 2004 914-917.
4. Delgado JN., Remens WA. Willson and Gisvoids *Text book of organic Medicinal and Pharmaceutical chemistry*. Lippincott, Philadelphia, 1991, 741-757.
5. Sanborn KD., McCauley R, *Physicians Desk refrence (PDR)*, 2007, 1494.
6. Darrouzet H. Preparing cyclodextrin inclusion compound, *Manufebem*, 1993, 64:34-39.
7. Florence AT. Changes in crystallinity and solubility on comminution of digoxin and observations on spironolactone and oestradiol, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1976, 28(8):637-642.
8. Kim CK. Development of digoxin dry elixir as a novel dosage form using a spray-drying technique, *Journal of Microencapsulation*, 1995 12(5):547-556.
9. Dilova V. Study of insolubility problems of dexamethasone and digoxin: cyclodextrin complexation, *Bollettino Chimico Farmaceutico*, 2004, 143(1):20-23.
10. Eder M. Solubility and dissolution rate of digoxin from *Digitalis lanata* drug extracts. *Pharmazie*, 2000, 55(12):928-933.
11. Shayanfar A., Acree Jr WE., Jouyban A. Solubility of lamotrigine, diazepam, clonazepam and phenobarbital in propylene glycol+water mixtures at 298.15 K, *Journal of Chemical and Engineering Data*, 2009, 54:1153-1157.
12. Shayanfar A., Fakhree MAA., Acree Jr WE., Jouyban A. Solubility of lamotrigine, diazepam and clonazepam in ethanol+water mixtures at 298.15 K, *Journal of Chemical and Engineering Data*, 2009 54:1107-1109.
13. Williamson KJ. *Macroscale and Microscale Organic Experiments*, D. C, Health, Lexington, 1994, 40.
14. Martin A., Paruta A., Adjei A. Extended hildebrand solubility approach: methylxanthines in mixed solvent, *pharmaceutical science*, 1981, 70:1115-1120.
15. Claus EP., Tyler VE., Brady LR. *Pharmacognosy*, Lea and Febiger, Philadelphia, 1971 92.
16. Nandi I., Bateson M., Bari M., Joshi HN. Synergistic Effect of PEG-400 and Cyclodextrin to Enhance Solubility of progesterone. *AAPS PharmSciTech*, 2003, 4(1):article1.
17. Robert F. A Method for Estimating Both the Solubility Parameters and Molar Volumes of Liquids, 1974, 147-154.
18. Yalkowsky SH., Roseman JT. *Tecniques of solubility of Drug*, Vol 12. Marcel Dekker, 1981, 91-134, 135-211.
19. Rao VM, Sanghvi R, Zhu H. solubility of pharmaceutical solids. In: *Developing solid oral dosage form*, Elsevier, burlington, 2009, 15.
20. Chaudhari P., Sharma P., Barhate N., Kulkarni P., Mistry C. Solubility enhancement of hydrophobic drugs using synergistically interacting cyclodextrins and cosolvent, *Current Science -Bangalore-*, 2007, 92(11):1586-91.
21. Millard JW., Alvarex-Nunez FA., Yalkowsky SH. Solubilization by Cosolvent-Establishing the log-linear model, *Int. J. Pharm*, 2002, 245:153-166.
22. Smith PE., Mazo RM. On the Theory of Solute Solubility in Mixed Solvents, *Journal of Physical Chemistry*, 2008, 112:7875-7884.