

بررسی عوامل مؤثر در میزان اثربخشی دفروکسامین خوراکی بر دفع ادراری آهن در موش صحرائی

دکتر معصومه جرجانی^۱، دکتر طیبه تولیت^۲، دکتر محمد شیخ ویسی^۲

۱- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، بخش فارماکولوژی
۲- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، دانشکده داروسازی، بخش دارویی امیرآباد

چکیده

اگر چه تجویز دفروکسامین تزریقی در درمان مسمومیت حاد و مزمن آهن بسیار مؤثر می‌باشد ولی جذب ناکافی دارو از دستگاه گوارش و در نتیجه عدم وجود فرآورده‌های خوراکی آن که بتواند در درمان سمیت سیستمیک آهن به کار برده شود، از معایب اصلی این دارو به شمار می‌آید. این مطالعه به منظور تعیین اثربخشی محلول دفروکسامین خوراکی و مقایسه آن با داروی تزریقی موجود و نیز شناسایی عوامل مؤثر در جذب گوارشی دارو، انجام شده است. یک ساعت پس از تزریق ملح سوربیتول آهن (۵۰ mg/kg i.p.) به موش‌های صحرائی نر بالغ و افزایش میزان آهن سرم تا حد اشباع، دفروکسامین (۱۰۰ mg/kg i.p.) به حیوان تزریق و با گذاشتن حیوان در قفس متابولیک، ادرار ۱۸ ساعته جمع‌آوری گردید. میزان دفع آهن در نمونه ادراری به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری و با میزان دفع آهن ادراری در سایر گروه‌ها مقایسه شد. تجویز محلول دفروکسامین خوراکی از راه دهان در مقایسه با شکل تزریقی دارو، موجب دفع آهن به میزان ۳۳٪ گردید. حذف اثر اسید معده از طریق تزریق محلول دفروکسامین خوراکی به طور مستقیم در درون دوازدهه و از طریق برشی جلدی که در ناحیه شکم حیوان بیهوش ایجاد گردیده بود، موجب افزایش جذب دفروکسامین و دفع ادراری آهن به میزان ۸۸٪ شکل تزریقی دارو گردید. افزودن کیتوسان ۰/۵٪ به محلول دفروکسامین خوراکی نتوانست تغییر محسوسی در میزان جذب دارو از دستگاه گوارش ایجاد نماید اما استفاده از کیتوسان با غلظت ۱/۵٪، موجب شد تا جذب محلول دفروکسامین خوراکی تجویز شده در درون دوازدهه افزایش یافته و به حدود ۹۹٪ اثربخشی دفروکسامین تزریقی برسد. این یافته‌ها نشان دهنده قدرت تخریبی بالای اسید معده بر روی دفروکسامین بوده و به نظر می‌رسد تهیه اشکال خوراکی دارو با روکش‌های مناسب مقاوم در مقابل اسید معده و یا استفاده از ترکیبات مختلف افزایش دهنده جذب گوارشی داروها، می‌تواند راه حل مناسبی برای مصرف خوراکی این داروی کارآمد در درمان مسمومیت با آهن باشد.

واژه‌های کلیدی: دفروکسامین خوراکی، دفع ادراری آهن، کیتوسان، موش صحرائی.

مقدمه

مسمومیت حاد با فرآورده‌های آهن، یکی از علت‌های جدی و خطرناک مرگ و میر به ویژه در کودکان

به شمار می‌آید [۴ و ۱]. از سوی دیگر در مسمومیت‌های مزمن آهن و حالاتی مانند تالاسمی که در آن سطوح سرمی آهن به بیش از مقادیر طبیعی افزایش یافته باشد، کاهش جذب و یا افزایش دفع آهن از اقدامات درمانی بسیار مفید است [۹، ۶، ۱]. از بین داروهای مؤثر در کاهش سطوح سرمی آهن، دفروکسامین تنها ترکیبی است که به طور گسترده به عنوان شلات دهنده اختصاصی آهن در درمان سمیت سیستمیک آهن به کار برده می‌شود [۱۱، ۱]. این دارو پس از تزریق به یکی از روش‌های زیر جلدی داخل عضلانی و یا داخل وریدی در ترکیب با یون فریک، کمپلکس پایدار به نام فری اکسامین (Ferrioxamine) تشکیل می‌دهد که محلول در آب بوده و از نظر بیولوژیکی غیر فعال است. دفع این کمپلکس از طریق ادرار، موجب افزایش دفع آهن در نتیجه بهبود علائم سمیت سیستمیک می‌گردد [۱۱، ۱۰].

علی‌رغم کارآیی بالای دفروکسامین تزریقی در درمان مسمومیت با آهن، عدم تأثیر فرمولاسیون خوراکی دارو، یکی از معایب آن محسوب می‌گردد. در برخی از بیماران، تزریق زیر جلدی و مکرر دفروکسامین، موجب تعادل منفی آهن و کاهش سطوح فریتین سرم گردیده است [۲، ۱]. دفروکسامین خوراکی به میزان ناچیزی از دستگاه گوارش جذب می‌شود و تنها قادر است با شلات نمودن آهن در روده، از جذب اضافی آهن جلوگیری نماید [۱۵، ۱۴، ۴، ۱]. بدیهی است چنانچه دفروکسامین خوراکی با فرمولاسیون مناسب و جذب گوارشی کافی تهیه و به بازار دارویی عرضه گردد، در درمان حالات مسمومیت یا افزایش سطوح سرمی آهن مفید خواهد بود.

دفروکسامین خوراکی فرموله شده در آزمایشگاه‌های مختلف، اگر چه در کاهش جذب آهن از دستگاه گوارش مؤثر بوده است اما به دلیل جذب ناچیز گوارشی، در دفع آهن سرم کارآیی لازم را نداشته است [۶، ۵، ۴]. در این

مطالعه، میزان اثربخشی و کارآیی دفروکسامین خوراکی در دفروکسامین در مقایسه با شکل تزریقی دارو بر میزان دفع ادراری آهن در موش صحرایی بررسی شده است. در ضمن با حذف تأثیر ترشحات معده، از طریق تزریق مستقیم دارو در دوازدهه، نقش اسید معده در تخریب یا کاهش جذب گوارشی دفروکسامین مورد ارزیابی قرار گرفته است.

یکی دیگر از روش‌های افزایش جذب دارو، استفاده از ترکیبات افزایش دهنده جذب روده‌ای می‌باشد. ترکیبات متعدد افزایش دهنده جذب وجود دارند که با مکانیسم‌های مختلف و بسته به میزان حلالیت، خواص فیزیکوشیمیایی و قابلیت عبور دارو از غشاء بیولوژیک، موجب افزایش میزان جذب گوارشی می‌گردند [۱۷، ۱۶]. از جمله این ترکیبات می‌توان به پلیمرهای صناعی مثل کیتوسان اشاره نمود. این ترکیبات از طریق تداخل مستقیم با سلول‌های مخاطی با بار الکتریکی منفی موجب افزایش جذب دارو از غشاء بیولوژیک می‌گردند [۱۹، ۱۲، ۷]. کیتوسان، پلیمری با خاصیت قلیایی است که در محیط اسیدی ضعیف، به صورت پلی کاتیونیک ظاهر شده و پلیمر متورم می‌گردد. این پلیمر تورم یافته از طریق تداخل مستقیم با غشاء سلول‌ها، باعث افزایش جذب داروها می‌شود [۱۳، ۱۲، ۷].

مواد و روش‌ها

حیوانات : در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر، نژاد Sprague dawley و با محدوده وزنی ۱۸۰-۲۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط آب و هوایی، نور و رژیم غذایی یکسان در حیوان‌خانه نگهداری و ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، هر حیوان در یک قفس متابولیک اختصاصی در محیط آزمایشگاه قرار گرفته و ادرار ۱۸ ساعته جمع‌آوری گردید. حیوانات در این مدت گرسنه نگه داشته شده و تنها به آب دسترسی داشتند. دمای محیط آزمایشگاه

و قفس متابولیک در محدوده $20 \pm 3^{\circ}\text{C}$ حفظ گردید. نمونه ادرار ۱۸ ساعته هر حیوان به عنوان بلانک برای آن حیوان مورد استفاده قرار گرفت.

داروها و مواد مصرفی: کلوروفریک (از شرکت مرک)، ملح متان سولفونیک دفروکسامین (Desferal) از شرکت نوواتیس، آهن تزریقی (Jectofer) از شرکت (ASTRA)، Chitosan (از شرکت سیگما) تهیه شدند.

روش اندازه‌گیری میزان دفع آهن در نمونه ادرار: ابتدا به منظور بالا بردن غلظت سرمی آهن و ایجاد حالت اشباع، از تزریق داخل صفاقی آمپول آهن به میزان 50 mg/kg استفاده شد [۸، ۳]. یک ساعت بعد، دفروکسامین را به حیوان تجویز نموده و سپس آن را مجدداً در قفس متابولیک قرار داده، ادرار ۱۸ ساعت بعدی، به طور دقیق جمع‌آوری گردید. در مورد هر حیوان، یک نمونه به حجم 0.2 ml از نمونه ادرار ۱۸ ساعته قبل از تجویز دارو به عنوان بلانک و یک نمونه با همان حجم از ادرار ۱۸ ساعته، پس از تجویز دفروکسامین را در لوله‌های آزمایش جداگانه ریخته، به هر نمونه 0.3 ml محلول کلوروفریک اضافه شده و در پایان نیز به هر لوله آزمایش، 2 ml آب مقطر افزوده گردید. میزان جذب در محلول نمونه و استاندارد با استفاده از اسپکتروفتومتر (ساخت شرکت Cecil) و در طول موج 485 nm تعیین گردید.

انجام تست کالیبراسیون و رسم منحنی استاندارد: به منظور رسم منحنی استاندارد، از ۷ غلظت مختلف دفروکسامین استفاده شد. به منظور حذف میزان جذب در نمونه‌های ادرار طبیعی و جلوگیری از هر گونه خطا، هر یک از غلظت‌های به کار برده شده، با نمونه ادرار طبیعی که با روند مشابه رقیق گشته بود، خوانده شد. این کار در ۴ حیوان تکرار شده و در هر یک منحنی استاندارد و K و B مربوطه تعیین شد. برای محاسبه غلظت با استفاده از میانگین

K و B حاصله از فرمول زیر استفاده شد: $C (\mu\text{g/ml}) = (\text{Kmean} \times \text{Absorption}) + \text{Bmean}$ که در آن K بیان‌گر شیب خط و B معرف عرض از مبدأ خط می‌باشد.

به منظور تعیین مقدار آهن دفع شده از ادرار نیز از رابطه $\mu (\text{mg}) = C \times V(\text{ml})$ استفاده شد. در تمامی آزمایشات گروه کنترل نیز در نظر گرفته شده و در هر گروه تفاضل میانگین به دست آمده از دو گروه آزمون و کنترل، ملاک مقایسه با سایر گروه‌ها بوده است.

آزمایشات

- ۱- یک ساعت پس از تزریق آهن (50 mg/kg i.p.)، دفروکسامین تزریقی (100 mg/kg i.p.) به موش صحرایی تجویز و حیوان در قفس متابولیک اختصاصی قرار گرفت. پس از جمع‌آوری ادرار ۱۸ ساعته میزان دفع آهن در نمونه ادراری حیوان، به روشی که قبلاً شرح داده شد، با اسپکتروفتومتر UV اندازه‌گیری گردید. در گروه کنترل، به جای دفروکسامین، حجم مساوی از سالی‌ن نرمال تزریق گردید.
- ۲- به منظور بررسی میزان جذب و کارایی دفروکسامین خوراکی، مشابه آزمایش قبل، یک ساعت پس از تزریق آهن، محلول دفروکسامین (500 mg/kg)، با سرنگ مخصوص به حیوان خورانیده شد و میزان آهن دفع شده در نمونه ادرار ۱۸ ساعته، اندازه‌گیری گردید. به گروه کنترل نیز حجم مساوی از محلول سالی‌ن نرمال خوراکی تجویز شد.
- ۳- به منظور بررسی نقش ترشحات معده در تخریب و یا میزان جذب دفروکسامین خوراکی سعی شد تا به طریقی، دارو در مجاورت این ترشحات قرار نگیرد. بدین منظور، پس از تزریق آهن، حیوان را با پنتوباریتال سدیم (40 mg/kg i.p.) بیهوش نموده و پس از

نتایج حاصل از سایر آزمایشات در جداول شماره ۱ و ۲ و نمودارهای شماره ۱ و ۲ آمده است. بر اساس این یافته‌ها:

۱- میزان اثربخشی دفروکسامین خوراکی حدود ۲۳٪ کارآیی شکل تزریقی دارو بوده است و اختلاف میزان دفع آهن در این دو گروه با $P < 0.01$ از نظر آماری معنی دار بوده است.

۲- تزریق مستقیم دارو به درون لومن دوازدهه، موجب افزایش دفع ادراری آهن و به عبارتی افزایش جذب گوارشی محلول دفروکسامین گردید. با این شیوه، میزان کارآیی دفروکسامین خوراکی به حدود ۸۸٪ دفروکسامین تزریقی رسید که افزایش قابل توجهی را نسبت به حالت قبل نشان می‌دهد. در ضمن به نظر می‌رسد با حذف تأثیر ترشحات معده و تزریق مستقیم دارو در لومن دوازدهه میزان جذب، در مقایسه با تجویز دهانی زیادتر شد و در نتیجه اثربخشی دفروکسامین نیز به نحو معنی داری افزایش یافت ($P < 0.03$) (جدول شماره ۱، نمودار شماره ۱).

جدول ۱- بررسی تأثیر حذف ترشحات معده بر میزان دفع ادراری آهن توسط دفروکسامین جذب شده از دستگاه گوارش در موش صحرائی

میزان دفع ادراری آهن (µg)	گروه
۴۳۵۶/۷۵ ± ۱۰۰۵/۰۵ *	محلول دفروکسامین خوراکی
۹۲۰۰/۴۲ ± ۱۰۹۱/۶۱ **	تجویز محلول دفروکسامین در لومن دوازدهه

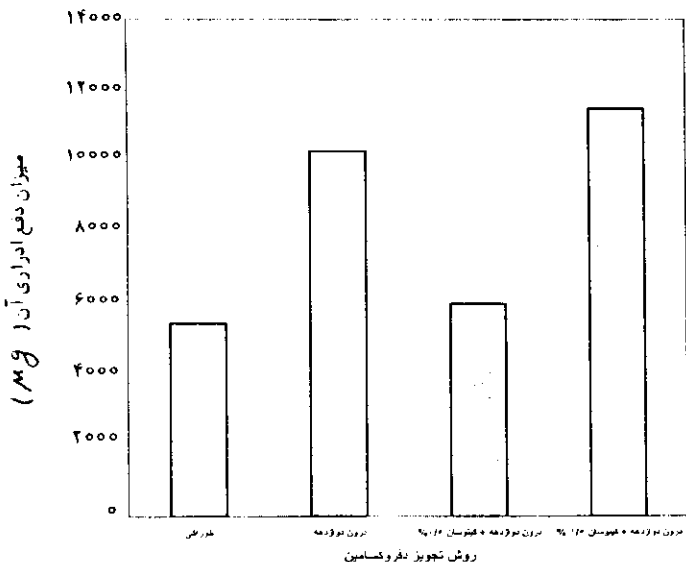
داده‌ها بیان‌گر میانگین ± انحراف معیار می‌باشند. (در هر گروه $n=6$).
 $P < 0.03$ * مقایسه گروه تجویز دفروکسامین در دوازدهه و
 $P < 0.001$ ** با گروه تجویز خوراکی دفروکسامین

ضد عفونی کردن سطح شکم و تراشیدن موهای ناحیه خط میانی، با ایجاد یک برش جلدی و صفاقی در ناحیه قرار گرفتن دوازدهه و آشکار شدن روده، محلول دفروکسامین خوراکی در حجم ۰/۵ ml (500 mg/kg) با سرنگ دارای سر سوزن مناسب، در ابتدای دوازدهه به آرامی تزریق شد. سپس صفاق و جلد را بخیه نموده، حیوان مجدداً در قفس متابولیک قرار داده شد و در نمونه ادرار ۱۸ ساعته، میزان آهن دفعی، تعیین گردید.

در گروه کنترل ۰/۵ ml از محلول سالین نرمال به درون دوازدهه تزریق شد. در گروه Sham- Operated نیز برش جراحی، درست مانند نمونه‌های قبل، ایجاد شد. نوک سوزن سرنگ وارد دوازدهه گردیده و پس از تحریک بافت، مجدداً ناحیه شکاف داده شده، بخیه زده شد. میزان دفع ادراری آهن مشابه آزمایشات قبل اندازه‌گیری شد.

۴- به منظور بررسی تأثیر ترکیبات افزایش دهنده جذب گوارشی در میزان جذب دفروکسامین خوراکی از دستگاه گوارش، در گروه‌های جداگانه محلول دفروکسامین خوراکی به میزان 500 mg/kg در محلول کیتوسان ۰/۵ و ۱/۵ w/v تهیه و با سرنگ مخصوص مستقیماً به درون دوازدهه تزریق گردید. در گروه‌های کنترل به روش مشابه، حلال و رقیق کننده کیتوسان با pH یکسان تزریق شد.

* آنالیز آماری: برای مقایسه داده‌ها بین گروه‌های مختلف از Oneway ANOVA و متعاقب آن تست Tukey HSD استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان ملاک معنی دار بودن اختلافات در نظر گرفته شد.



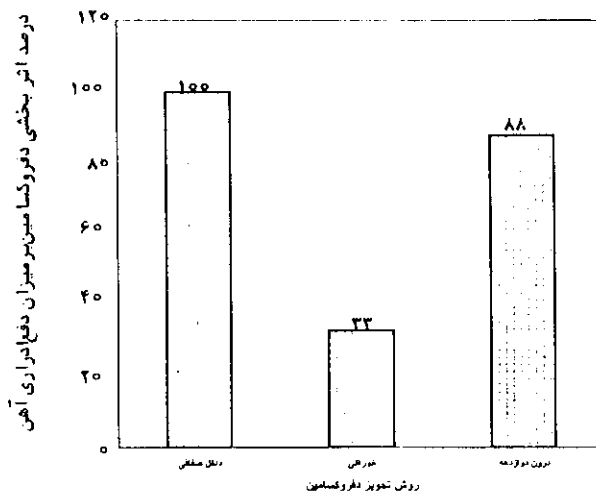
نمودار ۲- مقایسه تأثیر کیتوسان بر درصد اثربخشی دفروکسامین، تجویز شده در لومن دوازدهه بر میزان دفع ادراری آهن در موش صحرائی

- در هر یک از گروه‌های آزمایشی $n=6$ بوده است.
- دفروکسامین به میزان 500 mg/kg تجویز شده است.

۳- افزودن کیتوسان 0.1% به محلول دفروکسامین تجویز شده در لومن دوازدهه نتوانست، افزایش محسوسی در میزان جذب دارو از دستگاه گوارش ایجاد نماید. به طوری که کارآیی آن در مقایسه با فرم تزریقی تنها 47% بود. در حالی که افزودن کیتوسان با غلظت 1.5% موجب افزایش دفع ادراری آهن به میزان 99% فرآورده تزریقی دفروکسامین گردید (جدول شماره ۲ و نمودار شماره ۲).

بحث

تلاش‌های به عمل آمده توسط سایر محققین برای جانشین نمودن دفروکسامین خوراکی به جای انفوزیون زیر جلدی آن نشان داده است که گرچه تجویز دهانی دارو، می‌تواند در رفع مسمومیت با آهن خوراکی مفید باشد [۱۵]،



نمودار ۱- مقایسه درصد اثربخشی دفروکسامین خوراکی، تجویز دارو درون دوازدهه و دفروکسامین تزریقی بر میزان دفع ادراری آهن در موش صحرائی

- در هر یک از گروه‌های آزمایشی $n=6$ بوده است.
- دفروکسامین تزریقی به میزان 100 mg/kg i.p. و دفروکسامین خوراکی یا تجویز شده در لومن دوازدهه به میزان 500 mg/kg تجویز شده‌اند.

جدول ۲- مقایسه تأثیر کیتوسان بر میزان کارآیی دفروکسامین جذب شده از دستگاه گوارش و دفع ادراری آهن در موش صحرائی

گروه	میزان دفع ادراری آهن (µg)
تجویز دفروکسامین در لومن دوازدهه	$9200/42 \pm 1091/61$
حلال کیتوسان (دِفروکسامین + حلال کیتوسان) در دوازدهه	$855/78 \pm 172/3$
(تجویز دِفروکسامین + کیتوسان 0.1%) در دوازدهه	$5041/92 \pm 888/9$ *
(تجویز دِفروکسامین + کیتوسان 1.5%) در دوازدهه	$9594/74 \pm 1899/87$ **

داده‌ها بیان‌گر میانگین \pm انحراف معیار می‌باشند (در هر گروه $n=6$).
 $P < 0.05$ * در مقایسه با گروه کنترل و $P < 0.001$ ** در مقایسه با گروه کنترل مربوطه

۴] ولی جذب سیستمیک دارو بسیار ناچیز بوده و در نهایت میزان دفع آهن در مقایسه با کاربرد دارو به صورت تزریقی بسیار اندک است [۶، ۵، ۴].

دفروکسامین دارویی است که به روش تخمیر در گونه‌های باکتریایی استرپتومایسس پیلوسوس (*Streptomyces-Pilosus*) به وجود می‌آید [۱۰]. یک مولکول از این ترکیب با یک اتم آهن ۳ ظرفیتی باند شده و کمپلکس فری اکسامین را تشکیل می‌دهد که از نظر بیولوژیکی غیر فعال است و عمدتاً از طریق ادرار دفع می‌گردد [۱۱، ۱۰، ۱]. در هنگام تجویز خوراکی دفروکسامین نیز، این کمپلکس در روده تشکیل و به علت جذب گوارشی اندک [۱۵]، مانع جذب اضافی آهن خوراکی و در نهایت افزایش دفع آن می‌گردد [۱۵، ۱۴، ۴]. جذب گوارشی دفروکسامین به تنهایی نیز ناچیز بوده و پس از جذب، سریعاً از جریان خون حذف می‌گردد [۴، ۱]. بر اساس یافته‌های این تحقیق، میزان دفع ادراری آهن، پس از تجویز محلول خوراکی دفروکسامین (با میزانی حدود ۵ برابر دوز تزریقی)، تنها ۲۳٪ دفروکسامین تزریقی بوده است. این نتایج مشابه نتایج سایر مطالعات گذشته می‌باشد.

با توجه به اینکه در هر دو روش خوراکی و تزریقی، افزایش سطح سرمی آهن یا اشباع آهن (Overload)، به صورت تزریقی و به میزان مساوی صورت گرفته است، بنابراین به نظر می‌رسد علت اصلی بروز این تفاوت، جذب ناکافی دفروکسامین از دستگاه گوارش باشد که خود می‌تواند دلایل مختلفی همچون هیدرولیز توسط اسید معدی، نارسایی در جذب، متابولیسم گسترده دارو در کبد، کلیرانس سریع و یا ترکیبی از این عوامل داشته باشد [۶] که با تعدیل فرمولاسیون یا به کار بردن یک حامل مناسب، شاید بتوان، عبور دارو از غشاء بیولوژیک دستگاه گوارش و ورود آن به گردش خون سیستمیک را

حفاظت دارو از تأثیر ترشحات معدی، بسا تزریقی

مستقیم محلول دفروکسامین به درون لومن دوازدهه، موجب افزایش قابل توجه دفع ادراری آهن گردیده است. این یافته نشان دهنده افزایش میزان جذب گوارشی دارو بوده و در حقیقت گویای آن است که درصد بالایی از دارو، توسط ترشحات معده تخریب، بی اثر و یا غیر قابل جذب می‌گردد. بدیهی است چنانچه فرمولاسیون‌های جدیدی طراحی شوند که در آن روکش یا حامل به کار برده شده بتواند دارو را از آسیب ترشحات معدی حفظ نموده و در واقع پایداری دارو را در مقابل pH اسید معده زیاد کند، جذب دارو از اپی تلیم دستگاه گوارش افزایش یافته و نهایتاً میزان تشکیل کمپلکس دارو و آهن سرم و نیز دفع آهن افزایش خواهد یافت.

فقدان اختلاف آماری معنی‌دار بین نتایج به دست آمده از گروه Sham و گروه کنترل جراحی شده، نشان دهنده آن است که جراحی و روندهای مربوط به آن، به تنهایی تأثیر مشخصی بر میزان جذب دفروکسامین از دوازدهه ندارند.

نتایج این تحقیق، نشان داد که استفاده از محلول کیتوسان با غلظت پایین (۰/۵٪) به جای آنکه موجب افزایش جذب دفروکسامین تزریق شده در دوازدهه گردد، به عکس موجب کاهش جذب روده‌ای گردیده است. باید دانست اندازه مولکولی دفروکسامین ($MW = 606$) [۱۶]، به حدی است که در محیط بیولوژیک مناسب، قادر است از کانال‌های منافذ بین سلول‌های اپی تلیال عبور نموده و وارد گردش خون سیستمیک گردد. به کار بردن غلظت‌های پایین کیتوسان و تورم پلیمر تنها به اندازه‌ای است که مولکول پلیمر عملاً در مقابل بسیاری از منافذ موجود برای جذب قرار گرفته و آنها را مسدود می‌نماید و یا آنکه مولکول دارو را به میزان گسترده‌ای احاطه نموده، امکان عبور از آن را از کانال‌های موجود و در دسترس کاهش

می‌دهد. در حالی که غلظت‌های بالاتر پلیمر می‌تواند با اعمال نیروهای لازم به پایه غشاء و سلول‌های اندوتلیال، فضای مناسب برای انتقال دارو و از عرض غشاء ایجاد نماید. این موضوع با استفاده از غلظت ۱/۵٪ کیتوسان به خوبی آشکار شده و متعاقب افزایش جذب گوارشی دفروکسامین، میزان دفع ادراری آهن نیز به نحو چشمگیری افزایش یافته است (حدود ۹۹٪ فرآورده تزریقی)

در مجموع به نظر می‌رسد حذف تأثیر ترشحات معدی، بتواند تا حد زیادی جذب روده‌ای دفروکسامین را افزایش دهد و تحقیقات آینده بایستی پیرامون روش‌های افزایش پایداری دارو در مقابل ترشحات معده و در pH

تشکر و قدردانی

نویسندگان از همکاری و حمایت جناب آقای دکتر ابوالحسن احمدیانی مدیر محترم گروه فارماکولوژی و نیز همکاری صمیمانه جناب آقای صفرعلی غفاری، تکنسین محترم بخش فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به خاطر کمک‌های تکنیکی ارزنده در انجام این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

- [1] Adamson, J.W., Iron deficiency and other hypoproliferative anemias part VI, *Oncology and Hematology in Braunwald E. et al, editorts, Harrison's princioals of internal Medicine*, 15nd ed., New York McGrow-Hill (2001) 660-663.
- [2] Gilad, S.G. Daniel, R.A., William, A.R. and John, H.G., Intranasal administration of deferoxamine to iron overloaded patients, *Am. J. Med. Sci.*, 297 (1989) 280-283.
- [3] Hoy, T., Humphrys, J., Jacobs, A., William, A. and Ponka, P. Effective iron chelation following oral administration of an Isoniazid-pyridoxal hydrazone, *Br. J. Haematol.*, 43 (1979) 443-449.
- [4] Jackson, T.W., Ling, L.J. and Washington, V., The effect of oral deferoxamine on iron absorption in humans, *Clin Haematol*, 43 (1979) 443-449.
- [5] Jacobs, A. and Ting, W.C., Iron chelation with oral deferoxamine, *Lancet*, 11 (1980) 7940.
- [6] Kontoghiorghes, G., Marcus, R.E. and Huens, E.R., Deferoxamine suppositories, *Lancet*, 20 (1983) 454.
- [7] Kotze, A.F., Luben, H.L., De Leeuw, B.J., Deboer, A.G., Verhoef, J.C. and junginer, H.E., N-trimethyl chitosan chloride as a potential absorption enhancer across mucosal surface: in vitro evaluation in intestinal epithelial cells (caco-2), *Pharm. Res.*, 14 (1997) 1197.
- [8] Lucesoli, F., Fraga, C.G., Oxidative damage to lipids and DNA concurrent with decrease of antioxidants in rat testes after acute iron intoxication, *Arch. Biochem. Biophys.*, 316 (1995) 567-571.
- [9] Lucesoli, F., Caligiuri, M. et al., Dose-dependent increase of oxidative damage in the testes of rats subjected to acute iron overload, *Arch. Biomed. Biophys.*, 372 (1999) 37-43.
- [10] Raymond, J.B., Jan, W. and Gray, M.B., A potential alternative to deferoxamine for iron-chelating therapy, *Blood*, 91 (1998) 1446-1452.
- [11] Rejnolds, J.E.F., Chelating agents and some

- drug antagonists, In; *Martindale, The complete drug reference*, 30th ed., The pharmaceutical press, London, (1999) 975-978.
- [12] Senel, S., Kremer, M.J., et al., Enhancing effect of chitosan on peptide drug delivery across buccal, mucosa, *Biomaterials*, 21 (2000) 2067-2071.
- [13] Senel, S., Hincal A.A., Drug permeation enhancement via buccal route: possibilities and limitations, *J. Control. Releas.*, 14, 72 (2001) 133-144.
- [14] Sheila, T.C. and Weatherall, D.J., Iron chelating with oral desferrioxamine, *Lancet*, 27 (1980) 689.
- [15] Tracy, W.J., Louise, J.L. and Vindell, W., The effect of oral deferoxamine on iron absorption in humans, *Clin. Toxicol.*, 33 (1995) 325-329.
- [16] *United States Pharmacopeia XXIV/National Formulary*, 19, The USP convention, 2000, 499-500.