مجله دانشکده پزشکی اصفهان **مقاله پژوهشی**
سال بیست و نهم/شماره ۱۷۳/ ویژه نامه (بیماری های پوستی و سالک)۱۳۹۰ تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۰/۲۰

تهیه‌ی ژل زیست چسب کیتوزان جهت دارورسانی موضعی لیدوکایین

دکتر ژاله ورشوساز[۱]، دکتر فریبا جعفری[۲]، سارا کریم‌زاده[۳]

چکیده

مقدمه: لیدوکایین داروی بی‌حس‌کننده‌ی موضعی پر مصرفی است و اشکال دارویی متنوعی دارد. هدف از این مطالعه طولانی کردن اثر بی‌حس‌کنندگی این دارو از طریق پوست بود.

روش‌ها: ژل‌های لیدوکایین هیدروکلراید در سه وزن مولکولی و غلظت‌های متفاوت کیتوزان تهیه شدند. لیسیتین به عنوان افزاینده‌ی تراوایی استفاده شد. ویسکوزیتی، چسبندگی زیستی، انتشار دارو از غشاهای سنتیک و نفوذ دارو به سدهای بیولوژیک (پوست موش صحرایی) و اثر ضد درد ژل‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند. افزایش غلظت کیتوزان موجب کاهش اثر چسبندگی زیستی شد.

یافته‌ها: مطالعه‌ی آزادسازی دارو در ژل‌ها نشان داد که افزایش غلظت و وزن مولکولی کیتوزان باعث افزایش اندازه و گستردگی و همچنین سرعت جریان دارو می‌شود که شاید به علت افزایش نیروهای دافعه بین لیدوکایین و یون‌های مثبت کیتوزان است. سرعت جریان دارو از طریق پوست موش، برای ژل کیتوزان با وزن مولکولی بالا (H3) در مقایسه با ژل استاندارد ۳ درصد بیشتر بود. لیدوکایین به صورت موضعی در آزمون فرمالین کف پنجه‌ی موش مؤثر بود که فعال‌ترین حالت آن بلافاصله پس از استفاده بود. ویژگی ضد درد لیدوکایین در ژل H3 توانست مدت زمان تحریک‌پذیری به درد فرمالین را پوشش دهد. بیشترین پاسخ لیدوکایین به کاهش درد در دوزهای قابل مقایسه‌ی H3 و ژل استاندارد در فاز دوم حدود ۵۲ و ۳۶ درصد بود که به ترتیب با گروه شاهد مقایسه شد.

نتیجه‌گیری: پاسخ بیشتر ژل H3 را می‌توان به اثر چسبندگی زیستی پایه‌ی کیتوزان و غلظت‌های بیشتر لیدوکایین در مقایسه با ژل استاندارد نسبت داد.

واژگان کلیدی: لیدوکایین، ژل کیتوزان، ضد درد، عرضه‌ی دارو از خلال پوست

مقدمه

نفوذ موضعی و از طریق پوست، نسبت به شکل خوراکی مزایایی دارد. مزیت سیستم‌های بین غشایی شامل کاربرد راحت، پذیرش بهتر از طرف بیمار و حذف اثر گذر اولیه‌ی کبدی است. با وجود این، اغلب داروها به دلیل ویژگی محافظتی بسیار عالی پوست با این روش استفاده قابل جذب نیستند. مولکول‌ها نخست باید به لایه‌ی شاخی خارجی پوست نفوذ کنند. سپس، مولکول پیش از گذر از لایه‌ی پاپیلری درم و نفوذ از دیواره‌های مویرگ و ورود به جریان خون سیستمیک، از لایه‌ی زنده‌ی اپیدرم عبور می‌کند. لایه‌ی شاخی و یک ساختار پیچیده از لایه‌های سلولی کراتینزه متراکم شده است که یک سطح محدودکننده‌ی سرعت و بزرگ‌ترین مانع جذب موضعی یا انتشار پوستی داروها را مهیا می‌کند (۱). لیدوکایین در پوست به منظور سرکوب درد ناشی از سوختگی، خارش، عمل‌های جراحی، تزریقات و بیماری‌های پوستی استفاده می‌شود (۲).

طی سه دهه‌ی اخیر، تعدادی فراورده‌ی

---

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

[۱] دانشیار، مرکزتحقیقات پوست وسلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران و گروه فارماکوگنوزی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] دانشیار، مرکزتحقیقات بیماری‌های پوستی وسالک،دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۳] دانشجوی داروسازی، مرکزتحقیقات بیماری‌های پوستی وسالک و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکترفریباجعفری
Email: Jaffary@pharm.mui.ac.ir

www.mui.ac.ir

بی‌حس‌کننده موضعی پوستی عرضه شده‌اند. با این حال این مطلب اثبات شده است که اغلب آن‌ها به دلیل غلظت‌های ناکافی فرم غیر یونیزه‌ی داروی بی‌حس‌کننده (فرم فعال دارو) و یا جذب ضعیف پوستی ثانویه به خصوصیات لیپوفیلیک مشتقات آمیدی (لیدوکایین، بنزوکایین و...) بی‌اثر بوده‌اند. در تلاش به منظور افزایش غلظت‌های پایه‌ی بی‌حس‌کننده از حلال‌های آلی استفاده شده است، اما سوزش موضعی غیر قابل پذیرش آن، مانع از کاربرد بالینی آن شد. به علت نفوذ ضعیف آن‌ها از میان پوست سالم، این محلول‌ها را تنها می‌توان در بی‌حس کردن غشاهای مخاطی به کار برد. تولید امولسیون روغن در آب بی‌حس‌کننده‌ی موضعی، به علت حضور آب ممکن است در دستیابی به غلظت بالای فرم فعال دارو با نفوذ پوستی بهتر کمک کند. هر چند این اقدامات حتی با غلظت‌های بالا، یک بی‌حس‌کننده‌ی پوستی مؤثر تولید نمی‌کنند (۳).

یک روش معمول برای بهبود نفوذ دارو از طریق پوست استفاده از افزاینده‌های نفوذ یعنی حلال‌های آلی مثل اتانول یا N متیل پیرولیدون، اسیدهای چرب مثل اولئیک اسید، سورفاکتانت‌ها مثل لائورات سدیم، اتیل تری متیل آمونیوم بروماید و لیسیتین یا سیکلودکسترین‌ها است (۴). افزاینده‌های نفوذ می‌توانند ساختار لیپیدهای پوست را تغییر دهند و عملکرد سدهای پوستی را دگرگون کنند.

این ترکیبات اغلب منجر به حساسیت‌های پوستی می‌شوند (۵). نفوذ لیدوکایین توسط فلورتین در ناقلین آزمایش شده تا ۱/۳۹ برابر در فرمولاسیون آب‌دوست و بین ۱/۲۵ تا ۱/۷۶ برابر در فرمولاسیون‌های چربی‌دوست، افزایش یافته است (۲).

Kushla و Zatz در مطالعات آزمایشگاهی پوستی توسط انتشار فعال، نشان دادند که یون‌های مثبت سورفکتانت ممکن است به صورت قابل توجهی سرعت جذب پوستی لیدوکایین را از طریق سیستم‌های اشباع شده در مخلوط‌های پروپیلن–گلیکول–آب افزایش دهند (۶).

Kushla و همکاران تحقیق کردند که ۲۰ درصد از اثر بی‌حس‌کننده‌ی فرمولاسیون‌های مختلف لیدوکایین موضعی، ناشی از پروپیلن گلیکول است. آنان دریافتند همه‌ی فرمولاسیون‌های حاوی پروپیلن گلیکول، در مقایسه با فرمولاسیون‌های بدون پروپیلن گلیکول به وضوح اثر بی‌حس‌کنندگی بیشتری دارند (۷).

Sarpotdar و Zatz یک مطالعه‌ی آزمایشگاهی در مورد افزایش نفوذ لیدوکایین از طریق پوست بدون موی موش، در حضور پروپیلن گلیکول را گزارش کرده‌اند (۸). آنان مشاهده کردند که غلظت پروپیلن گلیکول به شدت بر سرعت جریان یکنواخت اثر دارد (۸).

ژل‌های لیدوکایین شامل HPMC و دی اتیلن گلیکول، در مقایسه با گروه شاهد، افزایشی تا ۳/۸۹ در خاصیت ضد دردی نشان دادند (۹). انتشار بین غشایی لیدوکایین به وسیله‌ی Iontophoresis، Electroporation و Electroincorporation منجر به بی‌حسی پوستی سطحی مشابه شد. هر چند Iontophoresis بی‌حسی عمیق‌تری ایجاد می‌کند (۱۰).

نتایج نشان می‌دهد که با استفاده از ژل، مقادیر یکسان لیدوکایین به طور مشخص سطوح Intracameral بالاتری از لیدوکایین بدست می‌دهد و با بی‌حسی بهتر، همکاری بهتر بیمار و نیاز کمتر به بی‌حسی‌کننده‌ی تکمیلی در حین عمل همراه است (۱۱).

کیتوزان یک پلی‌ساکارید طبیعی با ویژگی‌هایی

www.mui.ac.ir

چون تجزیه‌پذیری، نداشتن اثرات سمی آسیب‌رسان و چسبندگی زیستی عالی است. کیتوزان به علت ویژگی بی‌نظیر پلیمری-کاتیونی و خواص غشایی و ژلاتینی، در صنعت دارویی به منظور ساخت سیستم‌های آزادسازی دارو به صورت گسترده آزموده شده است.

از آن رو که هیچ گزارشی در مورد استفاده از ژل‌های چسبنده‌ی زیستی کیتوزان برای رساندن لیدوکایین از طریق پوست وجود ندارد، این مطالعه به منظور طراحی یک فرمولاسیون حاوی کیتوزان برای طولانی کردن زمان آزادسازی موضعی لیدوکایین هیدروکلراید در پوست انجام شد. در این مطالعه فرمولاسیون‌های ژل کیتوزان در ترکیب با لیدوکایین هیدروکلراید ساخته شدند و برای خواص رهاسازی در محیط آزمایشگاه و اثرات بی‌حسی در محیط زنده در موش مورد بررسی قرار گرفتند.

روش‌ها

لیدوکایین هیدروکلراید به عنوان هدیه‌ای از شرکت دارویی دارو پخش (ایران)، کیتوزان (Swetzerland Fluka) با وزن مولکولی پایین (۱۵۰۰۰۰)، متوسط (۴۰۰۰۰۰) و بالا (۶۰۰۰۰۰)، محلول فرمالین ۳۷ درصد، هیدروکسید سدیم و فسفات پتاسیم دی هیدروژن که همه از شرکت شیمایی Merck (آلمان) خریداری شدند. لیدوکایین موجود در بازار (۲ درصد w/w) به عنوان ژل استاندارد استفاده شد (شرکت دارویی دارو پخش، ایران).

ژل‌های کیتوزان در غلظت‌های ۳-۱ درصد w/w در محلول رقیق شده‌ی اسید لاکتیک (۲ درصد w/w) آماده شدند. لیدوکایین در فرمولاسیون‌هایی با غلظت ۴ درصد w/w ترکیب شد و لیسیتین ۱ درصد w/w به منظور افزاینده‌ی نفوذ اضافه شد. از زمانی که ویسکوزیته‌ی ژل‌ها با وزن مولکولی افزایش یافت این غلظت‌ها به منظور سهولت کاربرد انتخاب شدند.

اثر دو متغییر، یعنی وزن مولکولی کیتوزان و غلظت آن‌ها هر کدام در سه سطح، به وسیله‌ی طراحی کامل فاکتوریل مورد مطالعه قرار گرفتند و ۳۲ فرمولاسیون مختلف آماده شد. فرمولاسیون‌ها به وسیله‌ی یک حرف که نشان‌دهنده‌ی وزن مولکولی کیتوزان و یک عدد که غلظت آن‌ها را نشان می‌داد، کدگذاری شدند. L برای وزن مولکولی پایین (Low)، M برای وزن مولکولی متوسط (Medium) و H برای وزن مولکولی بالا (High) انتخاب شدند.

آزمایش‌های علمی جهت بررسی جریان مواد و مایعات برای سنجش خواص ویسکوزیته و الاستیسیته فرمولاسیون‌های مختلف طراحی شدند. اندازه‌گیری ویسکوزیته‌ی ژل‌ها به وسیله‌ی دستگاه دیجیتالی غیر متحرک، محاسبه‌کننده‌ی ویسکوزیته‌ی ایستا (Model RM 180, CUP & bob, Germany) در دمای اتاق انجام شد.

وضعیت انجام تست به صورت زیر بود:

سیستم اندازه‌گیری شماره‌ی ۳۳، لوله‌ی اندازه‌گیری شماره‌ی ۳، دیامتر ۱۵/۱۸ میلی‌متر، اندازه‌ی شماره‌ی ۳ Bob دیامتر ۱۴ میلی‌متر، محدوده‌ی شکاف ۱۲۹۱s-1- ۵/۶ و حجم ۱ و ۹ میلی‌متر بود.

چسب زیستی تهیه شده، در محیط آزمایشگاه با استفاده از پوست برداشته شده‌ی نوزاد موش بدون هیچ درمان اضافی مورد آزمون قرار گرفت. بیشترین قدرت چسبندگی روی دستگاه آزمایش کننده‌ی با نیروی قابل انعطاف (Instron, A301, England) اندازه‌گیری شد. ژل‌های کیتوزان (۰/۵ گرم) به صورت همگن روی

www.mui.ac.ir

صفحه‌ی شیشه‌ای ۲/۵ × ۲/۵ سانتی‌متر گسترده شد و سپس صفحات به منظور حمایت از دستگاه آزمایش کننده‌ی با نیروی قابل انعطاف با استفاده از یک چسبنده‌ی ۲ طرفه ثابت شدند. ژل در تماس با پوست برداشته شده‌ی نوزاد موش، زیر یک فشار بسیار اندک (۲ گرم) و به مدت ۱ دقیقه در این وضعیت قرار گرفت. سپس تست انعطاف‌پذیری با یک میزان کشش دایمی ۲۰ میلی‌متر در دقیقه انجام شد.

آزاد شدن لیدوکایین در In vitro از ژل‌های با غلظت‌های مختلف کیتوزان با استفاده از دیالیز غشای استات سلولز (CUT off 12000 D, Biagen) و نفوذ پوستی از طریق پوست برداشته شده‌ی موش بر روی انتشار سلولی Franz (عمودی) اندازه‌گیری شد.

غشاهای سنتزی یا طبیعی بین گیرنده و قسمت‌های باندشونده (اهداکننده) قرار داده شدند، به طوری که لایه‌ی شاخی رو به بالا باشد. سپس بخش باندشونده با ۰/۶ گرم از ژل‌ها پر شد. بخش گیرنده با ۲۷ میلی لیتر از سالین بافر فسفات (PBS با PH = ۷/۴) پر شد و در دمای ۰/۵ ± ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد و به وسیله‌ی میله‌ی مغناطیسی ۵ ± ۲۰۰ دور در دقیقه با هم آمیخته شدند. لیدوکایین اسید کلریدریک در این محیط کشت بسیار محلول است. منطقه‌ی انتشار قابل دسترس سلول ۴/۹۱ سانتی‌متر مربع بود. در فواصل زمانی از پیش تعیین شده (هر نیم ساعت تا ۳ ساعت و سپس هر ۱ ساعت تا ۶ ساعت) ۱ میلی لیتر نمونه از سلول گیرنده گرفته شد و بی‌درنگ با همان حجم از محلول رسپتور تازه جایگزین شد. نمونه‌ها تصفیه شدند و تا ۲۰ میلی‌لیتر رقیق شدند و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر ماورای بنفش (UV) از نظر میزان لیدوکایین در ۲۶۳/۳ نانومتر سنجیده شدند(UV mini 1240, Shimadzu, Japan).

از ژل‌های کیتوزان بلانک برای اندازه‌گیری واکنش احتمالی پایه‌ی ژل با جذب دارو استفاده شدند. در مورد آزمایش نفوذ پوستی، تداخلات جذب مولکول‌های UV قبل از پر کردن سلول‌ها با ژل‌ها بررسی شد.

همه‌ی مطالعه‌های جانوری مطابق با راهنمایی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی منتشر شده توسط مؤسسه‌های ملی سلامت و نکات تعلیمی اخلاقی بین‌المللی برای مطالعه‌ی درد، انجام شدند. تست فرمالین در موش‌هایی (وزن ۴۰-۳۰ گرم) که پیش از آزمایشات به تنهایی به مدت ۴۵ دقیقه در معرض اتاق مشاهده قرار گرفته بودند، انجام شد.

۲۰ میکرولیتر فرمالین ۵ درصد (۱۲) به صورت زیر پوستی در کف پنجه‌ی راست رات تزریق شد. سپس حیوان‌ها در یک استوانه‌ی پلاستیکی شفاف (۲۰ در ۳۰ سانتی‌متر) قرار گرفتند. رفتار درد به وسیله‌ی اندازه‌گیری میزان زمانی که موش کف پای تزریق شده را می‌لیسد، هر پنج دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه، تعیین شد. دو فاز لیسیدن بی‌اختیاری در رفتار موش بعد از تزریق فرمالین مشاهده شد.

فاصله‌ی زمانی صفر تا ۵ دقیقه به عنوان فاز I و فاصله‌ی زمانی ۱۵ تا ۳۰ به عنوان فاز II تعریف شده است (۱۳). معیار خروج از مطالعه شامل تزریق ناکامل فرمالین یا خونریزی شدید از محل تزریق بود. همه‌ی داروهای آزمایش شده ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین تجویز شدند و با ژل کیتوزان بلانک (گروه شاهد منفی) و ژل لیدوکایین استاندارد موجود در بازار (گروه شاهد مثبت) مقایسه شدند. از ژل تحت آزمایش (ژل H3 ۴ درصد) به میزان ۲۵۰ میلی‌گرم و از ژل استاندارد (۲ درصد) ۵۰۰ میلی‌گرم داده شد. هر

www.mui.ac.ir

گروه شامل ۶ حیوان بود. در هر مورد مجموع پاسخ لیسیدن برای هر موش محاسبه شد.

یافته‌ها

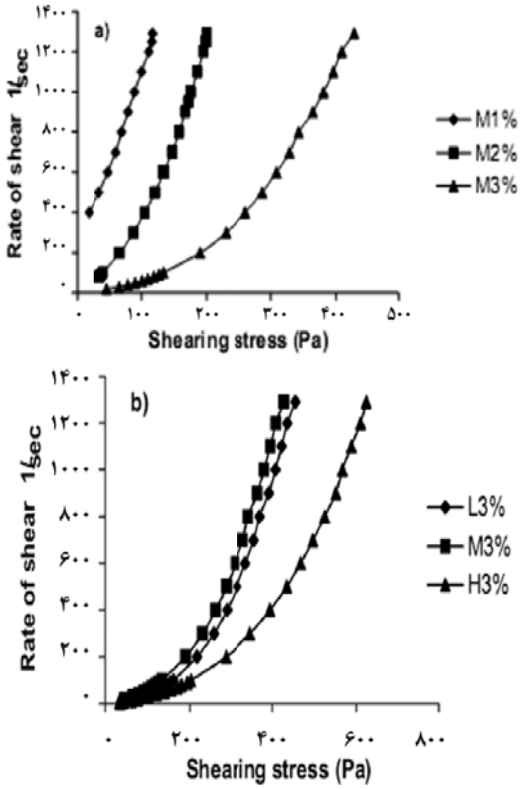
فرمولاسیونی ایده‌آل برای انتشار موضعی باید سهولت انتشار، ماندگاری خوب در محل استفاده و انتشار کنترل شده‌ای برای داروی مورد نظر داشته باشد. کاربرد ژل‌های با چسبندگی زیستی سبب ماندگاری طولانی مدت، نفوذ کافی دارو، بازده بالا و مقبولیت می شود. از کیتوزان به عنوان یک پلیمر غیر سمی، با سازگاری زیستی و تجزیه‌پذیر به طور گسترده برای کاربرد دارویی و پزشکی استفاده شده است.

کیتوزان افزایش جذب مولکول‌های قطبی کوچک و داروهای پپتیدی پروتئینی را در حیوانات و داوطلبان انسانی را نشان داده است (۱۴).

با در نظر گرفتن اثر افزایش یافته‌ی تراوایی ژل کیتوزان در مولکول‌های آب‌دوست از طریق پوست با استفاده از اسید لاکتیک در مقایسه با اسید استیک و ویسکوزیته‌ی کمتر ژل‌های تولید شده با این اسید آلی، کیتوزان حل شده در اسید لاکتیک برای آماده‌سازی ژل انتخاب شد (۱۵).

در منحنی های جریان (شکل ۱) دیده شد که ژل‌های کیتوزان حاوی لیدوکایین، یک جریان تغییرپذیر کاذب را نشان می‌دهند و ویسکوزیتی به صورت معنی‌داری با افزایش میزان غلظت یا وزن مولکولی کیتوزان افزایش داشت (شکل 1a). اگر چه هیچ تفاوت آماری بین وزن مولکولی پایین و متوسط دیده نشد. بر اساس نتایج اندازه‌گیری‌های چسبندگی زیستی (شکل ۲) و ویسکوزیتی بالای ژل‌ها (شکل ۱)، انتظار می‌رود کیتوزان دارو را در بازه‌ی زمانی طولانی آزاد کند و این اثرات بالینی را افزایش می‌دهد.

میزان ویسکوزیتی ژل کیتوزان ۳ درصد، بالاتر از ژل‌های ۱ و ۲ درصد بود که برای بقای طولانی دارو



شکل ۱. منحنی‌های جریان ژل‌های کیتوزان a) با غلظت‌های متفاوت از کیتوزان با وزن مولکولی متوسط b) با وزن‌های مولکولی متفاوت از ژل کیتوزان ۳ درصد.

در استعمال موضعی، آن را کاربردی‌تر می‌سازد. نتایج اندازه‌گیری های ویسکوزیته، توسط افزایش غلظت کیتوزان و همچنین افزایش وزن مولکولی، افزایش در Shearing stress ژل‌ها را نشان می‌دهد (شکل ۱)

هر چند به نظر می‌رسد که در L3 و M3 که ویسکوزیته‌های مشابه را نشان می‌دهند (شکل 1b)، غلظت کیتوزان نسبت به وزن مولکولی اثر وخیم‌تری روی Shear stress دارد.

www.mui.ac.ir

همان طور که این شکل نشان می‌دهد صرف نظر از نوع کیتوزان، افزایش غلظت کیتوزان سبب کاهش قابل توجه میزان چسبندگی زیستی ژل‌ها می‌شود ($P < ۰/۰۵$). هیچ تفاوت قابل توجهی در نیروی چسبندگی ژل‌های آماده شده در غلظت خاص با انواع مختلف کیتوزان وجود نداشت.

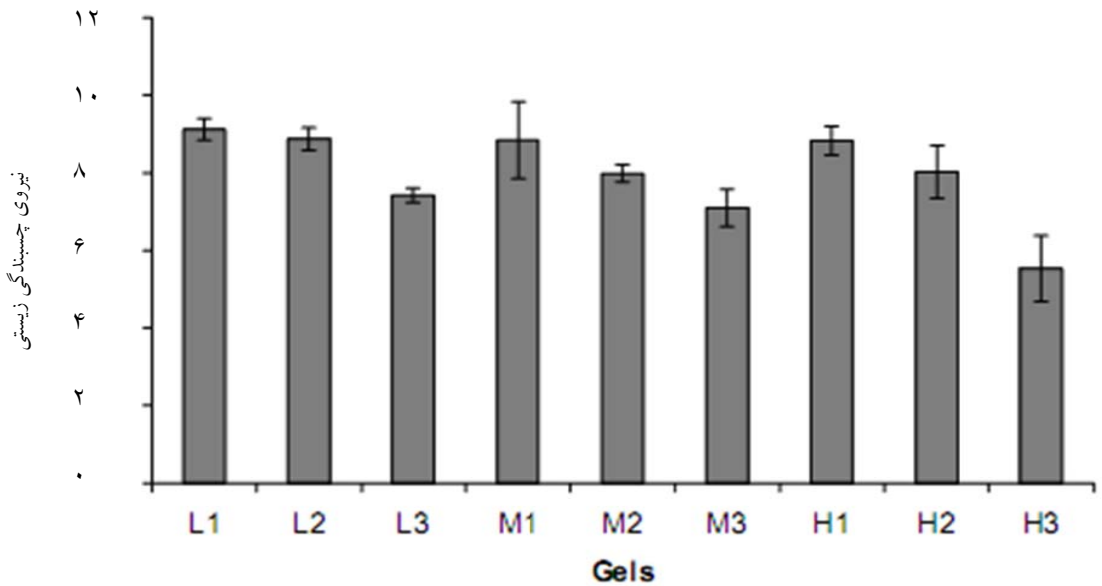
همان طور که اندازه‌گیری های چسندگی زیستی ژل‌ها نشان می‌دهد (شکل ۲)، افزایش غلظت کیتوزان در هر وزن مولکولی، به طور قابل توجهی چسبندگی زیستی را کاهش می‌دهد ($P < ۰/۰۵$)، اما در غلظت یکسان تفاوت واضحی بین وزن های مولکولی مختلف کیتوزان دیده نمی‌شود ($P > ۰/۰۵$).

شاید این نتیجه گرفته شود که با افزایش Shearing stress ژل‌ها (شکل ۱) چسبندگی زیستی کاهش می‌یابد (شکل ۲). در اشکال جامد مقدار داروی تجویز شده و افزایش غلظت پلیمر، خاصیت چسبندگی زیستی را افزایش می‌دهد، اما در ژل‌ها یک سقف اثر یا غلظت مطلوبی برای پلیمر وجود دارد که در غلظت‌های بیشتر اثر چسبندگی زیستی را کاهش می‌دهد. این امر به دلیل کاهش حلال و افزایش در هم پیچیدگی زنجیره‌های پلیمر است (۱۶).

منحنی آزاد شدن لیدوکایین از طریق غشای استات سلولز در شکل ۳ دیده می‌شود. این شکل نشان می‌دهد که افزایش غلظت کیتوزان از ۱ درصد تا ۳ درصد منجر به افزایش آزادسازی لیدوکایین می‌شود (شکل ۳a). این امر در تمامی وزن‌های مولکولی کیتوزان دیده شده است. از سوی دیگر افزایش ژن مولکولی کیتوزان آزادسازی دارو را تسریع می‌کند.

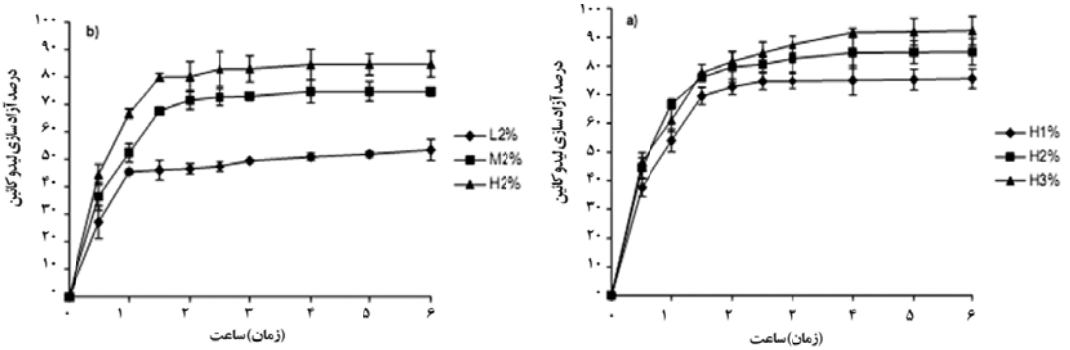
داده‌های موجود نشان داد که افزایش غلظت کیتوزان در وزن مولکولی مشخص میزان رهاسازی دارو را افزایش می‌دهد (شکل ۳a) که با نتایج ویسکوزیتی مطابقت ندارد (شکل ۱a).

به عبارت دیگر، هرچه میزان شکاف ژل بالاتر باشد، آزادسازی لیدوکایین سریع‌تر می‌شود.



شکل ۲. نیروی چسبندگی زیستی ژل‌های کیتوزان (بر اساس نیرو گرم) (انحراف معیار ± میانگین)

www.mui.ac.ir



شکل ۳. آزادسازی لیدوکایین اسید کلریدریک از: a) ژل‌های کیتوزان با غلظت‌های مختلف با وزن مولکولی بالای کیتوزان b) وزن‌های مولکولی متفاوت از ژل‌های کیتوزان ۲ درصد در محلول بافر فسفات (PH = ۷/۴) (n = ۳)

Senel و همکاران افزایش میزان آزادسازی گلوکونات کلرهگزیدین از طریق افزایش غلظت کیتوزان را گزارش کردند (۱۷).

البته، در یک غلظت مخصوص کیتوزان، افزایش وزن مولکولی میزان آزادسازی دارو را افزایش می‌دهد (شکل ۳b). این اطلاعات امکان دستیابی به آزادسازی کنترل شده ی داروها را با استفاده از ماتریکس‌های کیتوزان مطرح می‌کنند. وابستگی مستقیم آزادسازی لیدوکایین بر وزن ملکولی پلیمر با افزایش دسترسی گروه های شامل آمین برای دفع یونی یون‌های دارویی مشابه سازگار است.

بحث

Rege و همکاران، برای جذب بهتر دارو کیتوزان‌ها را به صورت قرص ساختند و برای کنترل آزادسازی از اسید سالیسیلیک استفاده کردند و دریافتند که در PH اسیدی، کیتوزان‌ها آمین‌های پروتونی دارند که می‌تواند با داروهای یونی با شارژ مخالف واکنش دهد و بنابراین آزادسازی دارو را تعدیل کند (۱۸).

Ramanathan و Block از یونوفورزیس برای انتشار بین پوستی داروهای مختلف از ژل کیتوزان استفاده کردند. آن ها یک دفع دو طرفه بین لیدوکایین هیدروکلراید (به عنوان داروی کاتیونی) و کیتوزان ماتریکس با بار مثبت مشاهده کردند. این بار مثبت سبب شد که ماکرومولکول کیتوزان کش بیاید و منجر به کاهش گسترش الکترواسموتیک لیدوکایین به طرف آن دو شود (۱۹). این یافته ها آزاد شدن سریع‌تر لیدوکایین از غلظت‌های بالاتر و وزن مولکولی کیتوزان را در مقایسه با غلظت های پایین‌تر و وزن مولکولی کمتر توضیح می‌دهد.

آنالیز آزاد شدن داده‌ها برای فرمولاسیون‌های مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. همان طور که این جدول نشان می‌دهد، جریان سریع لیدوکایین با غلظت و وزن مولکولی کیتوزان افزایش یافت. با افزایش غلظت دارو در این ژل‌ها از ۲ درصد در ژل استاندارد تا ۴ درصد در ژل H3، جریان سریع دارو به طور معنی‌داری در برش پوستی رات افزایش یافت. این جدول همچنین نشان می‌دهد که در همه‌ی موارد مدل Higuchi سینتیک رهاسازی لیدوکایین از ژل‌ها را توصیف می‌کند. در نظر داشته باشید که جریان سریع و بالاتر دارو از طریق H3 با فرمولاسیون‌های دیگر مقایسه

www.mui.ac.ir

می‌شود. این ژل برای مطالعه‌ی اثر بی‌حس‌کننده در بافت زنده انتخاب شده بود که از تست فرمالین کف پای موش استفاده شد (۱۲).

جدول ۱: جریان لیدوکائین از ژل کیتوزان در PBS (PH:7.9) با استفاده از غشای سلولز استات و ضریب همبستگی آنالیز رگرشن داده‌های آزادسازی دارو طبق مدل Higuch (در موارد نشان داده شده، سرعت جریان در برش‌های پوست رات اندازه گیری می‌شود) (n=3).

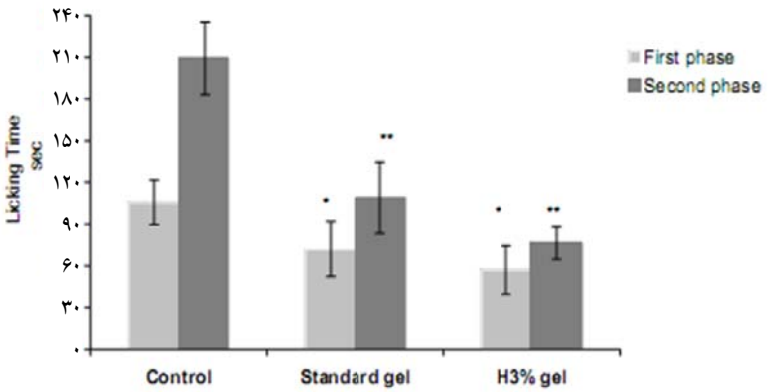
فرمولاسیون	ضریب همبستگی (r۲)	جریان (Ng/cm2/hr)
L1	۰/۹۳ ± ۰/۰۴	۲۷۷/۴۵± ۸/۰۶
L2	۰/۹۱ ± ۰/۰۶	۳۵۳/۴۸ ± ۱۱/۱۵
L3	۰/۹۳ ± ۰/۰۲	۳۹۶/۲۲ ± ۹/۵۴
M1	۰/۹۳ ± ۰/۰۱	۴۷۴/۰۰ ± ۱۲/۹۱
M2	۰/۹۲ ± ۰/۰۵	۵۱۳/۱۰ ± ۴/۲۸
M3	۰/۹۳ ± ۰/۰۵	۵۵۷/۵۶ ± ۴/۶۸
H1	۰/۹۳ ± ۰/۰۴	۵۱۹/۹۳ ± ۲۴/۵۱
H2	۰/۹۳ ± ۰/۰۴	۵۸۴/۶۵ ± ۳/۲۹
H3	۰/۹۳ ± ۰/۰۵	۶۰۶/۸۹ ± ۱۹/۵۴
H3*	۰/۹۷ ± ۰/۰۲	۲۸۰/۰۵ ± ۳/۱۳
ژل استاندارد	۰/۹۲ ± ۰/۰۲	۱۷۱/۱۳ ± ۳۸/۰۰

L: Low M: Medium H:High

Kolesnikov و همکاران اثر توزیع فرمالین را از داخل پوست دم و کف پای موش نشان دادند (۱۲). به دنبال تزریق فرمالین، فقط یک رفتار دلالت‌کننده بر درد متناوب که لیسیدن دم است در عرض ۴-۲ دقیقه شروع شد و تا ۶۰-۴۰ دقیقه ادامه داشت.

حداکثر پاسخ به تحریک درد در طول ۳۰ دقیقه ی اول و به دنبال آن یک افزایش ثانویه ی فعالیت لیسیدن در ۴۰-۳۰ دقیقه‌ی بعدی مشاهده شد. پس از آن موش‌ها هیچ رفتار دلالت‌کننده بر تحریک درد نشان را ندادند. در مطالعه‌ی اخیر، لیدوکایین فعال‌ترین ماده، بلافاصله پس از القای درد، بیشترین تأثیر را داشت. اثر ضد درد ژل‌های لیدوکایین می‌تواند مدت تحریک دردناک فرمالین را پوشش دهد.

توجه به تنظیم دوز H3 و ژل استاندارد، کاهش سریع در رفتار لیسیدن را در ژل استاندارد آشکار می‌سازد (شکل ۴) ، که به تدریج به سمت مقادیر کنترل افزایش می‌یابد. این مسأله ممکن است مدت کوتاه‌تر اثر دارو نسبت زمان درد را منعکس کند زیرا لیسیدن پا در فاز اول در مقایسه با فاز دوم کمتر دیده می‌شود. بااین وجود، دوز بالاتر لیدوکایین در ژل اثر مهاری بیشتری بر روی رفتار دردناک ناشی از فرمالین ایجاد کرد (لیسیدن کمتر در هر دو فاز) و دوره‌ی عمل



شکل ۴. پاسخ به لیدوکایین در تست فرمالین پنجه‌ی پا در گروهی از موش‌ها (N=b). ۲۰ میلی‌لیتر از فرمالین ۵ درصد به صورت زیرپوستی در کف پا تزریق شد و۳۰ دقیقه پس از تجویز، ژل‌ها را دریافت کردند. پاسخ لیسیدین یک جا برای هر موش در دو فاز محاسبه شده است.

I: ۵-۰ دقیقه و II: ۳۰-۱۵ دقیقه پس از تجویز ۲۵۰ میلی‌گرم از ژل H3 حاوی داروی ۴ درصد و ۵۰۰ میلی‌گرم از ژل استاندارد ۲ درصد است.

*** و ** P < ۰/۰۵ در مقایسه‌ی میانگین‌ها در فاز I و II به ترتیب با گروه شاهد.**

www.mui.ac.ir

طولانی‌تری (کاهش زمان لیسیدن در طول فاز دوم در مقایسه با ژل استاندارد) داشت.

در دوزهای مشابه بیشترین پاسخ لیدوکایین حدود ۵۲ درصد و ۳۶ درصد اثر ضد دردی در فاز دوم برای H_3 استاندارد و ژل‌ها در مقایسه با گروه شاهد بود (شکل ۴). پاسخ بیشتر ژل H3 بیشترین پاسخ لیدوکایین حدود ۵۲ درصد و ۳۶ درصد اثر ضد دردی در فاز دوم برای H3 استاندارد و ژل‌ها در مقایسه را می‌توان به اثر چسبندگی زیستی کیتوزان نسبت داد که آزادسازی لیدوکایین را طولانی می‌کند و موجب افزایش جریان سریع دارو از طریق پوست می‌شود. این اثر مثبت کیتوزان ممکن است به علت باز کردن اتصال‌های محکم باشد (۲۰).

نتیجه‌گیری

می‌توان نتیجه گرفت که کیتوزان ۳ درصد با وزن مولکولی بالا که با اسید لاکتیک ترکیب شده باشد، شاید برای جذب موضعی لیدوکایین مفید باشد. این ژل می‌تواند دارو را بدون تأخیر زمانی آزاد کند و یک اثر قابل توجه و طولانی‌تر ضد تحریک دردناک در مقایسه با ژل‌های لیدوکایین ۲ درصد موجود در بازار ایجاد کند. با این وجود طراحی مطالعات آینده بر روی پوست انسان جالب توجه خواهد بود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در دانشکده‌ی داروسازی با همکاری مرکز تحقیقات بیماری‌های پوستی و سالک، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان اجرا گردید.

References

1. Aulton ME. Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design. 2nd ed. London: Churchill Livingston; 2002.
2. Gabriele AB, Valenta C. Influence of phloretin on the skin permeation of lidocaine from semisolid preparations. Eur J Pharm Biopharm 2004; 57(2): 307-12.
3. Koren G. Topical skin anesthesia. Clin Dermatol 1989; 7(3): 136-41.
4. Chattaraj SC, Walker RB. Penetration enhancer classification. In: Smith EW, Smith HI, editors. Percutaneous Penetration Enhancers. 1st ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 1995.
5. Walters KA. Penetration enhancers and their use in transdermal therapeutic systems. In: Hadgraft J, Guy RH, editors. Transdermal Drug Delivery.New York, NY: Marcel Dekker; 1989.
6. Kushla GP, Zatz JL. Evaluation of a noninvasive method for monitoring percutaneous absorption of lidocaine in vivo. Pharm Res 1990; 7(10): 1033-7.
7. Kushla GP, Zatz JL, Mills OH, Jr., Berger RS. Noninvasive assessment of anesthetic activity of topical lidocaine formulations. J Pharm Sci 1993; 82(11): 1118-22.
8. Sarpotdar PP, Zatz JL. Evaluation of penetration enhancement of lidocaine by nonionic surfactants through hairless mouse skin in vitro. J Pharm Sci 1986; 75(2): 176-81.
9. Shin SC, Cho CW, Yang KH. Development of lidocaine gels for enhanced local anesthetic action. Int J Pharm 2004; 287(1-2): 73-8.
10. Wallace MS, Ridgeway B, Jun E, Schulteis G, Rabussay D, Zhang L. Topical delivery of lidocaine in healthy volunteers by electroporation, electroincorporation, or iontophoresis: an evaluation of skin anesthesia. Reg Anesth Pain Med 2001; 26(3): 229-38.
11. Bardocci A, Lofoco G, Perdicaro S, Ciucci F, Manna L. Lidocaine 2% gel versus lidocaine 4% unpreserved drops for topical anesthesia in cataract surgery: a randomized controlled trial. Ophthalmology 2003; 110(1): 144-9.
12. Kolesnikov Y, Cristea M, Oksman G, Torosjan A, Wilson R. Evaluation of the tail formalin test in mice as a new model to assess local analgesic effects. Brain Res 2004; 1029(2): 217-23.
13. Abbott FV, Franklin KB, Westbrook RF. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. Pain 1995; 60(1): 91-102.
14. Illum L, Farraj NF, Davis SS. Chitosan as a novel nasal delivery system for peptide drugs. Pharm Res 1994; 11(8): 1186-9.

www.mui.ac.ir

15. Orienti I, Luppi B, Zecchi V. Chitosan and its N-carboxyethyl and N-aminoethyl derivatives as vehicles for topical formulations. J Cosmet Sci 1999; 50: 307-13.
16. Ugwoke MI, Verbeke N, Kinget R. The biopharmaceutical aspects of nasal mucoadhesive drug delivery. J Pharm Pharmacol 2001; 53(1): 3-21.
17. Senel S, Ikinci G, Kas S, Yousefi-Rad A, Sargon MF, Hincal AA. Chitosan films and hydrogels of chlorhexidine gluconate for oral mucosal delivery. Int J Pharm 2000; 193(2): 197-203.
18. Rege PR, Shukla DJ, Block LH. Chitinosans as tableting excipients for modified release delivery systems. Int J Pharm 1999; 181(1): 49-60.
19. Ramanathan S, Block LH. The use of chitosan gels as matrices for electrically-modulated drug delivery. J Control Release 2001; 70(1-2): 109-23.
20. Smith J.Chitosan and transdermal drug delivery. Retinoids 2003; 19: 72-5.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 173, Special Issue (Skin Diseases and Leishmaniasis) 2012 Received: 26.12.2011 Accepted: 19.2.2012

Development of Bioadhesive Chitosan Gels for Topical Delivery of Lidocaine

Jaleh Varshosaz PhD[1], Fariba Jaffari MD, PhD[2], Sara Karimzadeh[3]

Abstract

Background: Lidocaine (LC) is a local anesthetic agent. The aim of this study is the prolonging of the anesthetic effect of this drug for transdermal delivery.

Methods: LC hydrochloride gels were prepared with three different molecular weights (MW) and concentrations of chitosan. Lecithin was used as permeation enhancer. Viscosity, bioadhesion, drug release from synthetic membranes, drug permeation through the biological barrier (rat skin) and antinociceptive effect of gels were studied. Increasing the concentration of chitosan caused a decrease in the bioadhesion.

Findings: Studing drug release in gels showed that increasing the concentration and MW of chitosan caused an increase in the amount, extent, and rate of influx of the drug. This is probably due to the increase in repulsive forces between LC and chitosan cations. The flux of the drug through the rat skin was higher for 3% high MW chitosan gel (H3) compared to the standard gel. LC was effective topically in hind paw formalin assay. It was most active immediately after its administration. The analgesic activity of LC in H3 gel could cover the duration of the formalin nociception. The maximal response of LC in comparable doses of H3 and standard gel was about 52% and 36% analgesia in the second phase, respectively compared to the control group.

Conclusion: The higher response of the H3 gel may be attributed to the bioadhesive effect of the chitosan base and the higher concentrations of LC compared to the standard gel.

Keywords: Lidocaine, Chitosan gel, Antinociception, Transdermal delivery

* This paper is derived from a medical doctorate thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

[1] Associate Professor, Skin and Stem Cell Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran And Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan Iran
[2] Associate Professor, Skin Disease and Leishmaniasis Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan Iran
[3] Student of Pharmacy, Skin Disease and Leishmaniasis Research Center And Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan Iran
Corresponding Author: Fariba Jaffari MD, PhD, Email: jaffary@pharm.mui.ac.ir