

15
9-20-20

***By the Name of
Most Generous***

9 5 7 7 0



School of Pharmacy
Kerman University of Medical Sciences

For the Certificate of Pharm. D. Degree

Title:

**Formulation and physicochemical
and release evaluation of brimonidine
tartrate from its ophthalmic drop**

By:

Parya Attarian

پاریا اتاریان
کتابخانه

۱۳۸۷ / ۲ / ۲۵

Supervisor:

Dr. Mehdi Ansari

Dr. Maryam Kazemipour

Summer 2007

۹۲۷۷۰

No. of Theses: 474

پاریا



دانشگاه علوم پزشکی کرمان
دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

**فرمولاسیون و بررسی خصوصیات فیزیگوشیمیایی و
آزادسازی قطره چشمی بریمونیدین تارترات**

توسط:

پریا عطاریان

به راهنمایی:

دکتر مهدی انصاری

دکتر مریم کاظمی پور

سپاس به پیشگاه حضرت دوست که موهبت

چگونه اندیشیدن را به من آموخت.

تقدیم به:

باغبانان مهربان و صمیمی باغ وجودم

"پدر و مادر عزیزتر از جانم"

گل‌واژه‌های گذشت و ایشار

آنان که تکه‌ای از آسمان، قلبشان را پر کرده و تکه‌ای از دریا در چشمانشان موج

می‌زند. بقای سایه لطفشان بر سرم را همواره از خداوند مسئلت دارم.

"خواهران عزیزم"

که قلب مهربانسان در تمام لحظات شادی بخش وجودم است

و آینده روشن آنها تجلی‌گاه آرزوهای من است.

تقدیم به:

"مادر بزرگ و خاله عزیزم"

که دعایشان همواره بدرقه راهم بود.

"دوستان مهربانم"

فرگس، مریم و سمانه

که بهترین خاطرات دوران تحصیلم در کنار آنها شکل گرفت

و کلیه دوستانم در ورودی ۸۰

که صمیمیتشان را هرگز فراموش نمی‌کنم.

با سپاس بی‌شائبه از:

اساتید گرانقدر

جناب آقای دکتر مهدی انصاری

سرکار خانم دکتر مریم کاظمی‌پور

که در تنظیم و تدوین این پژوهش صمیمانه مرایاری نمودند.

با تشکر فراوان از:

هیأت محترم داوران

کلیه اساتید دانشکده داروسازی

که در این سالها از دریای بی‌کران علم و معرفتشان بهره جستیم.

کلیه کارمندان دانشکده داروسازی

به ویژه آقای دانش‌پژوه

Abstract

Introduction: Brimonidine tartrate (BT) is a relatively selective alpha-2 adrenergic agonist that is used as intraocular pressure lowering agent in open-angle glaucoma or ocular hypertension. Among drugs that is used in glaucoma, BT can either inhibit aqueous humour formation or increase aqueous humour outflow.

The aim of this study was formulation of an ophthalmic solution with suitable physicochemical stability and acceptable release properties compared to reference formulation (Alphagan®) manufactured by Allergan company.

Material & Methods: Various formulations of BT (0.2%) containing polymeric material, tonicity modifier, pH adjusting agent and preservative was prepared and put in various temperatures (2-8°C, 25°C, 40°C) to study physical and chemical stability of the formulations. The physical stability were evaluated during 2 months under mentioned conditions. Solutions were inspected for turbidity, sedimentation, color change, crystal growth and microbial or fungal growth. To study chemical stability, percent of active ingredient remained, was measured at 0 and 6 months after storing of the formulations at 40°C±2°C, and 75% ±5 RH% with a validated HPLC and UV spectrophotometric method.

The rheologic properties of prepared formulations studied with Brookfield synchroelectric rheometer.

The in vitro release of BT from the formulations was studied using cellulose membrane and beef cornea in Franz diffusion cells.

Results and Discussion: Formulation 2 containing: sodium citrate (0.255g), citric acid (0.182g), sodium chloride (0.766g), BT(0.2g), preservative (5µl), polyvinyl alcohol (1.4%) had the highest physical and microbial stability in refrigerator and 40°C. Also based on WHO protocol for stability testing of pharmaceuticals (in this study accelerated stability testing was conducted at 40°C±2°C and 75±5% relative humidity in the final packaging for 6 months) formulation 2 was stable at the above mentioned conditions and more than 90% of active ingredient was remained.

Most of the formulations (including F2) were shown non-newtonian behavior in rheological studies.

In release studies most of the formulations (including F2) had non-fickian mechanism.

Conclusion: According to the results of this study, formulation 2 had suitable physicochemical stability for at least two years to store in ambient condition.

Key words: Formulation, Release, Ophthalmic drop, BT

خلاصه

مقدمه: بریمونیدین تارترات یک آگونیست نسبتاً انتخابی آلفا-۲ آدرنژیک است که به عنوان کاهش دهنده فشار داخل کره چشم در بیماران مبتلا به گلوکوم با زاویه باز یا هایپرتانسیون چشمی کاربرد دارد. بریمونیدین در بین همه دستجات دارویی قابل مصرف در درمان گلوکوم دارای اثرات قابل ملاحظه جلوگیری از تشکیل مایه زلالیه و تسهیل خروج آن می باشد.

هدف این تحقیق تهیه یک فرمولاسیون چشمی با پایداری فیزیکوشیمیایی مناسب بوده که از خصوصیات آزادسازی قابل قبول در مقایسه با نمونه فرانس (Alphagan®) ساخت شرکت Allergan برخوردار باشد.

روش کار: فرمولاسیون‌های مختلف از بریمونیدین تارترات ۰/۲٪ شامل انواع مختلف مواد پلیمری، تنظیم کننده تونیسیت، تنظیم کننده pH و نگهدارنده تهیه و در شرایط مختلف دمایی شامل (۸، ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۴۰ درجه سانتی‌گراد) به منظور مطالعه پایداری فیزیکی و شیمیایی نگهداری شد. پایداری فیزیکی در طول دو ماه در شرایط ذکر شده ارزیابی شد. محلول‌ها از نظر تغییر رنگ، ایجاد رسوب، رشد کریستالی، تغییر ویسکوزیته و رشد میکروبی و قارچی به مدت دو ماه مورد بررسی قرار گرفتند. به منظور مطالعه پایداری شیمیایی، درصد داروی باقی مانده، در زمان صفر و شش ماه پس از نگهداری محلول‌ها در $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ و 40°C و رطوبت ۵۵٪ ± ۵٪ با روش اسپکتروفتومتری UV و HPLC اندازه‌گیری شد.

خصوصیات رئولوژیک فرمولاسیون‌های تهیه شده با رئومتر بروکفیلد بررسی شد. آزادسازی بریمونیدین تارترات از فرمولاسیون‌های ساخته شده با استفاده از غشای سلوفان و همچنین قرنیه چشم گاو به وسیله سل انتشار فرانس بررسی شد.

۱۳۷

نتایج و بحث: فرمولاسیون شماره ۲ شامل سدیم سیترات (g/۰/۲۵۵)، اسید سیتریک (g/۰/۱۸۲)، سدیم کلراید (g/۰/۷۶۶)، بریمونیدین (g/۰/۲)، ماده محافظ (۵ μ l)، پلی وینیل الکل (۱/۴٪) بالاترین پایداری فیزیکی و میکروبی را در دو دمای یخچال و ۴۰ درجه سانتیگراد نشان داد همچنین بر اساس پروتکل WHO برای تست‌های پایداری (در این مطالعه تست پایداری به روش تسریع شده برای بسته‌بندی نهایی به مدت شش ماه در دمای $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ و رطوبت نسبی 75 ± 2 بررسی شد)، فرمولاسیون شماره ۲ در شرایط ذکر شده پایدار بوده و بیش از ۹۰٪ ماده مؤثره را حفظ کرده بود. اکثر فرمولاسیون‌ها (از جمله فرمولاسیون شماره ۲) رفتار غیر نیوتونی را در مطالعات رئولوژی از خود نشان دادند. در مطالعات آزادسازی اکثر فرمولاسیون‌ها (از جمله فرمولاسیون شماره ۲) دارای مکانیسم non-Fickian بودند.

نتیجه‌گیری: بر طبق نتایج این مطالعه فرمولاسیون شماره ۲ می‌تواند از نظر خصوصیات فیزیکوشیمیایی در دمای محیط حداقل به مدت ۲ سال پایدار باشد.

واژه‌های کلیدی: فرمولاسیون، آزادسازی، قطره چشمی، بیریمونیدین تارترات

Index

Title	Page
English Abstract	I
Persian Abstract.....	III

Chapter 1: Introduction

1-1- Glaucoma	2
1-2- Physiology of aqueous humour	3
1-3- Composition of aqueous humour	3
1-4- Formation and flow of aqueous humour	4
1-5- Outflow of aqueous humor	4
1-6- Pathophysiology of glaucoma	6
1-7- Treatment of raised intraocular pressure	7
1-7-1- Suppression of aqueous humour production	7
1-7-1-1- Beta blocking agents.....	7
1-7-1-2- α_2 adrenergic agonist agents.....	7
1-7-1-3- Carbonic anhydrase inhibitors	8
1-7-2- Facilitation of aqueous humour outflow	9
1-7-2-1- Parasympathomimetic agents	9
1-7-2-2- Irreversible anticholinestrase agents.....	9
1-7-2-3- Prostaglandin analogs	9

Title	Page
1-7-2-4- Epinephrines	10
1-7-3- Reduction of vitreous volume	10
1-7-4- Estrogen therapy	10
1-8- Brimonidine	12
1-8-1- Pharmacology	12
1-8-2- Pharmacokinetics	13
1-8-3- Clinical trials	14
1-8-4- Indications	14
1-8-5- Contraindications	14
1-8-6- Warnings	14
1-8-7- Precautions	15
1-8-8- Drug interactions	16
1-8-9- Adverse reactions	17
1-8-10- Administration and dosage	17
1-8-11- Dosage forms	17
1-8-12- Patient information	17
1-8-13- Over dosage	18
1-8-14- Storage/ Stability	18
1-9- Brimonidine tartrate analysis	18

Title	Page
1-10- Ophthalmic drug formulation and delivery	19
1-10-1- Sterility	20
1-10-2- Clarity	21
1-10-3- Antimicrobial preservatives	22
1-10-4- Vehicle	23
1-10-5- Tonicity	23
1-10-6- Viscosity	24
1-10-7- pH adjustment	25
1-10-8- Antioxidants	26
1-10-9- Stabilizers	26
1-10-10- Surfactants	27
1-10-11- Stability	27
1-11- Quality control.....	28
1-11-1- Containers for eye drops	28
1-11-2- Storage conditions	29
1-11-3-Labeling.....	29
 <i>Chapter 2: Masterials & Methods</i>	
2-1- Material and Methods.....	31
2-1-1- Materials.....	31

Title	Page
2-1-2' Equipments.....	32
2-2- Identification.....	33
2-2-1- Infrared spectroscopy	34
2-3- Quantitation	34
2-3-1- UV-Vis spectroscopy	34
2-3-2- High-performance liquid chromatography (HPLC)	35
2-3-3- Method development for chemical stability of brimonidine.....	37
2-4- Preparation of formulations.....	37
2-4-1- Selecting –buffering agent and pH adjustment.....	37
2-4-2- Selecting tonicity modifier.....	38
2-4-3- Selecting thickening agent	38
2-4-4- Preservative selection.....	38
2-5- Preparation of final solution	39
2-6- Physical, microbial and chemical stability studies	
of the formulation	40
2-7- Rheological studies.....	41
2-8- In vitro release studies	42
2-8-1- Celluphane membrane.....	42
2-8-2- Beef cornea.....	43

Page	Title
<i>Chapter 3: Results</i>	
3-1- Results	46
<i>Chapter 4: Discussion & Conclusion</i>	
Discussion & Conclusion	78
<i>Chapter 5: References</i>	
References	87

Chapter 1

Introduction

1-1- Glaucoma

Glaucoma is an optic neuropathy characterized by optic disk cupping and visual field loss. It is usually associated with elevated intraocular pressure.

About 60 million people have glaucoma. An estimated 3 million Americans are affected and of these cases about 50% are undiagnosed. About 6 million people are blind from glaucoma, including approximately 100,000 Americans, making it the leading cause of preventable blindness in the United States (1, 2, and 3).

The mechanism of raised intraocular pressure in glaucoma is impaired outflow of aqueous humor resulting from abnormalities within the drainage system to the anterior chamber angle (open-angle glaucoma) or impaired access of aqueous humor to the drainage system (closed – angle glaucoma). Treatment is directed toward reducing the intraocular pressure and when possible, correcting the underlying cause. Although in normal tension glaucoma intraocular pressure is within the normal range, reduction of intraocular pressure may still be beneficial (1, 4, 5, 6, and 7).

Reducing aqueous humour production is used in all forms of glaucoma. Several medications are available. Surgical procedures that reduce aqueous humour production also may be useful. But those are destructive and generally used only after medical treatment has failed. Facilitating flow of aqueous humor through the trabecular meshwork is useful in open-angle glaucoma (1).

Improving access of aqueous humour to the anterior chamber angle in closed-angle glaucoma may be achieved by peripheral laser iridotomy or surgical iridectomy if the cause is pupillary block, miosis if there is angle crowding, or cycloplegia if there is anterior lens displacement. Surgically bypassing the drainage system is useful in open-angle glaucoma and in closed angle that fails to respond to medical treatment (1, 7, and 8).

1-2- Physiology of aqueous humour

Intraocular pressure is determined by the rate of aqueous humour production and the resistance to outflow of aqueous humour from the eye (1).

1-3- Composition of aqueous humour

The aqueous humor is a clear liquid that fills the anterior and posterior chamber of the eye. Its volume is about 250 μ l and its rate of production, which is subject to diurnal variation, is about 2.5 μ l/min. The osmotic pressure is slightly higher than that of plasma. The composition of aqueous humour is similar to that of plasma except for much higher concentrations of ascorbate, pyruvate and lactate and lower concentration of protein, urea and glucose (1 and 11).

Aqueous humour is produced by the ciliary body. An ultrafiltrate of plasma produced in the stroma of the ciliary process is modified by the barrier function and secretory process of the ciliary epithelium. Entering the posterior chamber, The aqueous humour passes through the pupil into the anterior chamber, and then to the trabecular meshwork in the anterior chamber angle (Figure 1-1) (1, and 8-10).

1-5- Outflow of aqueous humor

The trabecular meshwork is composed of beams of collagen and elastic tissue covered by trabecular cells that form a filter with a decreasing pore size as the canal of schlemm is approached contraction the ciliary muscle through its insertion into the trabecular meshwork increases pore size in the meshwork and hence the rate of aqueous humour drainage. Passage of aqueous humor into schlemm's canal depends upon cyclic formation of transcellular channels in the endothelial lining. Efferent channels from schlemm's canal (about 30 collector channels and 12 aqueous veins) conduct the fluid into the venous system. Some aqueous humor passes between then bundles of the ciliary muscle and through the sclera.

The major resistance to aqueous humour outflow from the anterior chamber is the endothelial lining of schlemm's canal and the adjacent portions of the

trabecular' meshwork rather than the venous collector system. But the pressure in the episcleral venous network determines the minimum level of intraocular pressure that can be achieved by medical therapy (1,8,9,10) (Figure 1-1).

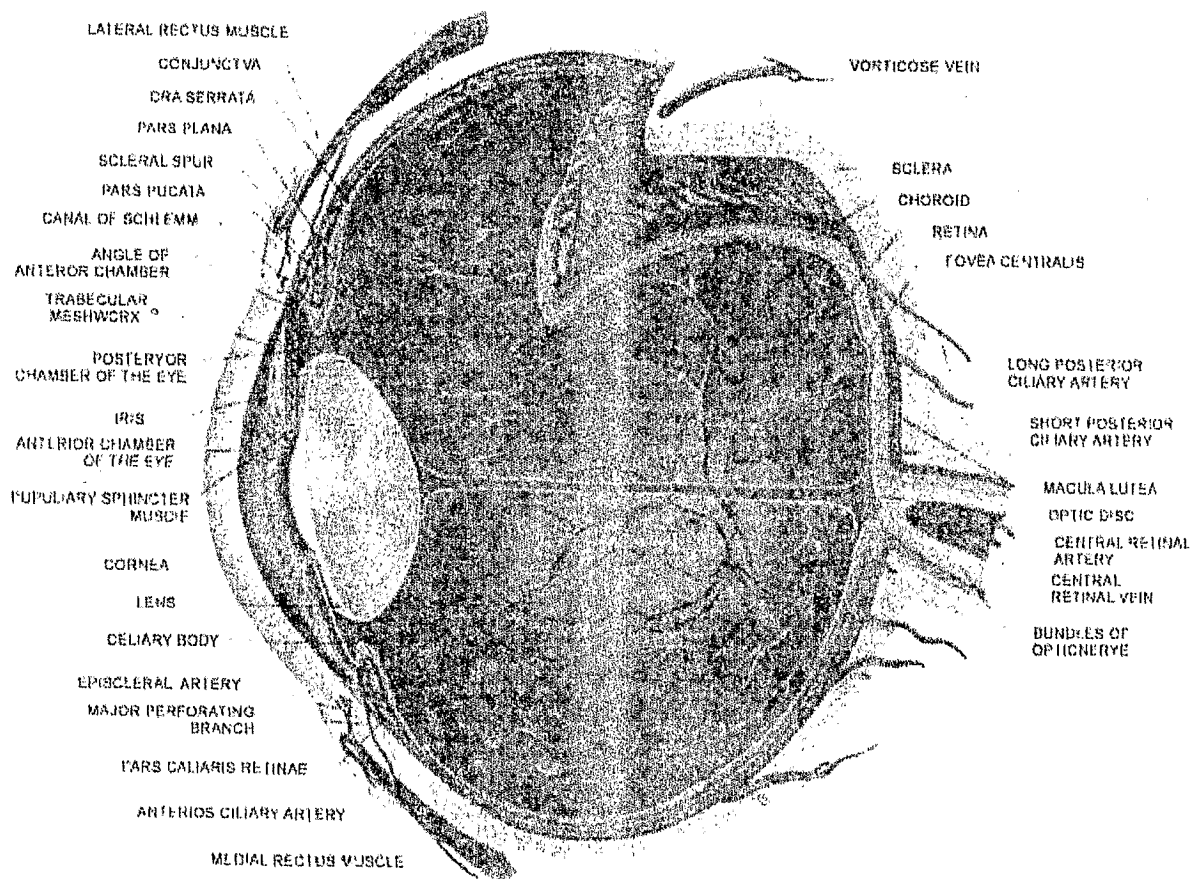


Figure 1-1- Structure of eye