

Modification of lidocaine transdermal penetration by two strategies: microencapsulation and menthol addition to carbopol gels

Dr. Lama Mohammad Al haushey*

(Received 25 / 6 / 2019. Accepted 26 / 8 / 2019)

□ ABSTRACT □

The objective of this paper was to study the effect of pharmaceutical formulation on *in vitro* lidocaine release and transdermal penetration using modified Franz cells. Carbopol gels containing lidocaine were prepared with (or without) penetration enhancer (e.g. menthol). Microparticles of poly ϵ -caprolactone were also prepared. Gels and microparticles containing lidocaine were characterized. Addition of menthol to gel formulations didn't affect pH or spreadability ($P>0.05$); however, menthol enhanced *in vitro* lidocaine release and penetration through rabbit skin: 92% and 23% respectively against 48 and 14% from formulations without menthol ($P<0.05$). Lidocaine-loaded microparticles of 20-30 microns released about 49% of their content and didn't allow more than 5% of encapsulated lidocaine to penetrate the skin. Therefore, microparticles could form reservoir in the skin and had capacity to prolong lidocaine release.

Key words: gel, lidocaine, menthol, microparticles, *in vitro* penetration, rabbit skin, Franz cell.

* Associate professor- Department Of Pharmaceutics And Pharmaceutical Technology - Faculty Of Pharmacy- Tishrine University
e.mail: lamaalhaushey@yahoo.fr

تعديل الاخرافية الجلدية لليدوكائين عبر تقنيتين: التمحفظ الدقيق وإضافة المنتول إلى هلاميات الكاربوبول

الدكتورة لى محمد الهوشي*

(تاريخ الإيداع 25 / 6 / 2019. قُبِلَ للنشر في 26 / 8 / 2019)

□ ملخص □

يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير تعديل الصياغة الصيدلانية على تحرر واختراق الليدوكائين للجلد في الزجاج. تم تعديل الصياغة وفق استراتيجيتين: الأولى عبر إضافة محسن اختراق كيميائي (منتول) إلى هلاميات الكاربوبول 940 والثانية بتحضير جسيمات دقيقة باستخدام بولي كابرولاكتون PCL. درست خصائص الهلاميات عياناً وتم تحديد الـ pH وقياس قابلية المد وقيمت كذلك خصائص الجسيمات الدقيقة المحضرة من حيث الأبعاد وفعالية التمحفظ. تمت دراسات التحرر والاختراق عبر الجلد لكلا الشكلين: الهلاميات والجسيمات الدقيقة. لم تؤثر إضافة المنتول على pH الهلام أو على قابلية المد مقارنة مع الصيغ التي لاتحوي منتول ($P>0.05$) بينما أدت إضافة المنتول إلى زيادة كمية الليدوكائين المتحررة من الهلاميات إلى 92% تقريباً مقارنة مع 48% ابتداء من الصيغ التي لاتحوي منتول ($P<0.05$). كما حسن المنتول من اختراق الليدوكائين عبر جلد أرنب مطبق في خلايا Franz المعدلة حيث اخترق حوالي 23% من الليدوكائين من الهلاميات الحاوية على منتول مقارنة مع 14% في الصيغ التي لاتحويه ($P<0.05$). بالنسبة إلى الجسيمات الدقيقة فقد كان متوسط الأبعاد : 20-30 ميكرون ووصلت فعالية التمحفظ إلى 52% تقريباً وتحرر حوالي 49% من الليدوكائين في الزجاج ولكن عند تقييم اختراقية الجسيمات الدقيقة للجلد تبين أنها لم تستطع تحرير إلا 5% من محتواها. كما تبين الصور الملتقطة لسطح الجلد وجود بعض الجسيمات المخترقة مما يعكس قدرة هذه الجسيمات على تشكيل مستودع وتأمين تحرر مطول لليدوكائين في الجلد.

الكلمات المفتاحية: هلامية، ليدوكائين، منتول، جسيمات دقيقة، اختراقية في الزجاج، جلد أرنب، خلايا Franz

* أستاذ مساعد - قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

e.mail: lamaalhaushey@yahoo.fr

مقدمة

يعتبر إيتاء الأدوية عبر الجلد ذا أهمية خاصة فهو يقلل التهيجات المعديّة-المعوية (Kulkarni PK et al. 2002) ويجنب المرور الكبدي الأول (Singh VK et al. 2013) ويزيد من التوافر الحيوي كما أنه يحقق إيتاء للدواء خلال فترة زمنية طويلة (Prausnitz MR 2004) فالأشكال الجلدية مثل الكريمات والهلاميات واللصاقات تحسن من مطاوعة المرضى نتيجة نقص تكرار التجريع (Sowmya J et al. 2016).

عند التطبيق الجلدي يجب أن يبقى الدواء على سطح الجلد بشكله غير المنتشر لوقت محدد ليتسنى له عبور الطبقة المتقرنة (*Stratum Corneum* (SC): الحاجز الرئيس لعبور الجلد والشكل المنتشر يجب أن يتحول إلى الشكل غير المنتشر مما يزيد من مدروج التركيز وبالتالي زيادة الفعالية الترموديناميكية والعبور الجلدي (Marzouk M et al. 2009).

من بين العوامل التي تؤثر على عبور المادة الفعالة عبر الجلد: انحلاليتها في الماء ومدروج التركيز عبر طبقات الجلد المختلفة (Allen M et al. 2002). تتم دراسة التحرر والاختراقية للأشكال الجلدية دستورياً بطرائق عديدة أهمها وأكثرها انتشاراً في أغلب الدراسات: خلايا Franz والتي تعتبر نموذجاً لدراسة الانتشار عبر SC (Raphael AP et al. 2013) أو كامل طبقات الجلد (Nayak A et al. 2014). تتألف خلايا Franz من حجرة معطية تحوي على الشكل الصيدلاني ومن حجرة مستقبلية حاوية على السائل المستقبل والذي يكون تحت التحريك المستمر لتأمين شروط الغور sink conditions وتكون الحجرتان مفصولتين بواسطة جلد أو غشاء صناعي (Pharmacopeial Forum, 2009).

الليدوكائين مخدر موضعي فعال وله بدء ظهور سريع نسبياً وسمية جهازية ضعيفة فهو يستخدم حقناً بشكل تقليدي ولكن هذا يسبب الألم وعدم مطاوعة المرضى (Nir Y et al. 2003, Kim NW et al. 2014). وهو مرشح لصياغته ضمن أشكال جلدية (Akitoshi Y et al., 1988, Okabe H et al. 1989) حيث تتوفر مستحضرات جلدية له بشكل مراهم، هلاميات، بخاخات spray ولصاقات جلدية كما يتواجد شكل صيدلاني حاو على الليدوكائين بشكل مزيج اصهري مع البروكائين ويتمتع هذا الشكل بتحرر فوري (Pathak P et al., 2009). فالمزيج الأصهري eutectic mixture يتكون من مادتين أو أكثر بحيث لا تكون هناك درجة انصهار خاصة لكل مادة وذلك نتيجة زيادة أنتروبية النظام (Woolfson AD et al. 2000, Bi M et al. 2003). تم تطبيق المزائج الأصهرية من أجل زيادة الانحلالية والاختراقية والامتصاص (Stott PW et al. 1998, Stott PW et al. 2001, Lazerges M et al. 2010) كما يمكن استخدامها كطور زيتي في المستحلبات (Wahlgren CF et al. 2000, Nazzal S et al. 2002) وقد استخدم المنتول (من التربينات) بشكل نموذجي كمكون في المزائج الأصهرية مع مواد فعالة عديدة ومن بينها الليدوكائين وذلك لأن المنتول يتمتع بخواص مخدرة موضعياً ويخفف الألم والحكة (Tuntarawongsa S et al. 2012) كما يتمتع بخواص مضاد جرثومية (Al Bayati FA et al. 2009).

يمكن أن تزداد اختراقية المواد الفعالة عبر الجلد باستخدام محسنات الاختراق التي يمكن أن تكون فيزيائية (مثل تطبيق تيار كهربائي أو أمواج فوق صوتية) أو كيميائية (مثل التربينات الحلقية، دي ميثيل سلفوكسيد DMSO، Azone..... (Priborsky J et al. 1998)) كما يمكن أن تحسن الاختراقية بواسطة تحسين الصياغة الصيدلانية (Rao S et al. 2016, Asbill CS et al. 2000). من محسنات الاختراق الكيميائية المدروسة: المنتول (Patel J et al. 2016).

2017, Balata JF et al. 2007) حيث يحسن الاختراق بتعديل بنية الليبيدات مما يساهم في فتح الطرق لزيادة العبور الجلدي (Foldvari M 2000, Williams AC 2003) كما أن التريينات تعتبر مركبات آمنة نسبياً (Mohammadi-Samani S et al. 2010).

عند التطبيق عبر الجلد، يلاقي الليدوكائين مشكلة وهي عدم نجاحه في عبور الطبقة المتقرنة كما أنه يأخذ وقتاً لا بأس به للعبور مما يقلل من الفعالية المرغوبة (Singh I et al. 2011) حيث أنه يجب تطبيق المستحضرات الحاوية على مخدرات موضعية 45-60 دقيقة قبل الحصول على نتيجة سريرية (Sawyer J et al. 2009) ولذلك باستخدام محسنات الاختراق يمكن لليدوكائين أن يتجاوز SC ويتحقق هدف الإيتاء الجلدي بنجاح.

من بين الأشكال الصيدلانية الجلدية شائعة الاستخدام نجد الهلاميات والتي تعرف بأنها أشكال صيدلانية نصف صلبة تكون فيها حركة الطور المبعثر (Dispersant phase) مقيدة بشكل شبكة ثلاثية الأبعاد من جزيئات العامل المهلم. تتمتع الهلاميات بمواصفات خاصة فهي لاتعطي إحساساً دهنيًا وهي سهلة الغسل (Singh MP et al. 2014) كما أنها تحضر بدون الحاجة إلى مصادر حرارية (Mohammed Haneefa KP et al. 2012).

تتمتع الأشكال الجسيمية Particulate forms بقدرتها على إيصال الدواء إلى الموقع المرغوب بمعدل مضبوط (Pathak P et al. 2009) كما تسمح هذه الجسيمات بإطالة فترة التأثير (Chen P, Pathak P et al. 2009) وبإعطاء جرعات كبيرة (Le Corre et al. 2002, Shikanov A et al. 2007). يمكن أن تحسن هذه الأشكال كذلك الاختراقية عبر الجلد وتزيد من التأثير الموضعي كما أنها تمنع الامتصاص الجهازى مما يقلل الآثار الجانبية (Barratt G et al. 2003).

أهمية البحث وأهدافه

تهدف هذه الدراسة المجراة في كلية الصيدلة - جامعة تشرين خلال 2018-2019 إلى دراسة تأثير الصياغة الصيدلانية على تحرر واختراق الليدوكائين الضعيف عبر الجلد والذي ينجم عنه تأخر في بدء ظهور التأثير المخدر أو قصر في فترة تأثيره. سيتم تقييم الاختراقية الجلدية لليدوكائين المصاغ ضمن هلاميات حاوية على المنتول كمحسن اختراق بشكل مزيج أصهري وكذلك دراسة الاختراقية لجسيمات دقيقة حاوية على ليديوكائين في محاولة لإطالة تأثيره. كما أن هذه الدراسة تهدف إلى تطوير طريقة في مخابر كلية الصيدلة لدراسة التحرر والاختراقية الجلدية في الزجاج *in vitro* وذلك بتصميم خلية Franz بحيث تكون محاكاة للطرائق الدستورية والمستخدمة عالمياً في هذا المجال.

طرائق البحث ومواده

المواد والطرائق

المواد

ليدوكائين، منتول، بولي كابرولاكتون (Sigma- Aldrich) PCL 45000، ديكلوروميثان (SURECHEM) DCM، الكحول البولي فينيلي (TitanBiotech, India) PVA، كاربوبول 940، غليسرين، كحول إيثيلي، تري إيتانول أمين (TEA)، فوسفات أحادية الصوديوم (LOBachemie, India) وفوسفات ثنائية الصوديوم (Qualikems, India).

الطرائق

1 تحضير الهلاميات ودراسة خصائصها

تحضير هلاميات الليدوكائين

حضرت الهلاميات بشكل معدل عن الطريقة التقليدية في التحضير (Amnuakil TH et al. 2008, Bregni C et al. 2008). باختصار، تم حل الليدوكائين (2%) في مزيج الغليسرين والكحول بنسبة 6:10) ومن ثم أُضيف المحلول السابق إلى مبعثر الكاربوبول 940 في الماء (0.5%) وترك المزيج طوال الليل. في اليوم التالي، تمت إضافة الـ TEA على شكل محلول مائي بحيث أن 1 غ كاربوبول يحتاج إلى 1.5 غ TEA (Technical data sheet) على دفعات مع التحريك بملوق حتى تمام التجانس وتشكل الهلامية. في حال إضافة المنتول إلى الهلامية، يحل المنتول (2%) في محلول الليدوكائين ضمن مزيج: الغليسرين والكحول. يبين الجدول (1) صيغ الهلاميات التي تم تحضيرها.

الجدول (1): الصياغات المختلفة التي تم وفقها تحضير الهلاميات

TEA	كحول (%)	غليسرين (%)	منتول (%)	ليدوكائين (%)	كاربوبول (%)	اسم رمز المكون الصيغة
0.75	12	20	-	2	0.5	F ₁
0.75	12	20	2	2	0.5	F ₂

تحديد خصائص الهلاميات

الفحص العياني للهلاميات المحضرة

تم فحص الهلاميات عياناً من حيث التجانس واللون والشفافية ووجود تبلور أو تحجب (Patel SH et al. 2018). (Nawaz A et al. 2013).

تجانس المحتوى

تم تحديد محتوى الهلاميات من الليدوكائين بشكل معدل عن الطريقة التي اتبعتها Niyaz Basha وزملاؤه (Niyaz Basha B et al. 2011). باختصار، استخلص الليدوكائين من 1 غ هلام (مع أو بدون محسن اختراق) ضمن 50 مل وقاء فوسفاتي (7.4 pH) لمدة 0.5 ساعة (n=3) تحت التحريك. بعد الترشيح وإجراء التمديد المناسب، تم قياس امتصاصية الليدوكائين بواسطة مقياس الطيف الضوئي: (Jasco V-530 UV/Vis, Japan) عند طول موجة 263nm.

تحديد pH هلاميات الليدوكائين

أخذ 1 غ من الهلام وبعثر في الماء المقطر (Ramdan A, 2008) وتم التمديد بالماء حتى 40 غ. ترك المزيج تحت التحريك المغناطيسي (100 دورة/د) لمدة ساعتين ثم تم قياس pH المحلول الناتج بواسطة مقياس الـ pH (Jenway 3510, UK) وتم التعبير عن النتائج بالمتوسط الحسابي \pm الانحراف المعياري: $M \pm SD$ (n=3). الغاية من هذا الفحص: التأكد من pH المناسب لتحقيق لزوجة الهلام المطلوبة وتأمين التوافق مع pH الجلد الفيزيولوجي (Sayiner O et al. 2018) وجعل الليدوكائين بقدر المستطاع بشكل غير متشرد قابل للاختراق عبر الجلد.

فحص قابلية المد

تم إجراء هذا الفحص وفق البروتوكول الذي اتبعه Karthikeyan وزملاؤه (Karthikeyan K et al. 2012). وضع 1 غ من المستحضر بين صفيحتين زجاجيتين وزيد الوزن بمقدار 0.5 كغ فوق الصفيحة العلوية لمدة دقيقة. قيس قطر الدائرة المتشكلة وفق المحورين الأفقي والعمودي وتم التعبير عن قابلية الهلامة للمد وللدهن بحساب مساحة الدائرة المتشكلة وفق العلاقة:

$$S=d^2\pi/4$$

حيث: d: متوسط القطر الذي تصل إليه العينة بعد تطبيق الصفيحة (وفق المحورين الأفقي والعمودي)،
S: مساحة الدائرة.

يعكس هذا الفحص سهولة التطبيق على الجلد (Sayiner O et al. 2018, Abdel-Mottaleb MM et al. 2007) ويعكس القدرة على تحرر الدواء حيث برفع اللزوجة (المتعلقة بالقوام) يتأثر التحرر (Ramdan A 2008).

فحص التحرر في الزجاج

أجري فحص تحرر الليدوكائين من هلاميات الكاربوبول في الزجاج بواسطة خلايا Franz المعدلة (قطر الفتحة: 3سم) حيث وضع غشاء سللوزي (Sartorius Stedim Biotech GmbH, 0.45µ, Germany) على فتحة الخلية ليفصل بين الهلام الموضوع فوق الغشاء وبين الحجرة المستقبلية (n=3). السائل المستقبل هو وقاء فوسفاتي (40مل، 7.4 pH) (Sayiner O et al. 2018, Varshosaz J et al. 2006) وتمت دراسة التحرر لمدة 6 ساعات بدرجة حرارة 32م وتحت التحريك المغناطيسي بسرعة 300دورة/دقيقة (Monotherm, variomog, Germany). عند أزمنة محددة تم اخذ 2 مل من السائل في الحجرة المستقبلية واستبدالها بـ 2مل وقاء فوسفاتي. قيست كمية الليدوكائين المتحررة بواسطة مقياس الطيف الضوئي عند طول موجة 263nm.

فحص الاختراقية الجلدية في الزجاج

تم هذا الاختبار بواسطة خلايا Franz المعدلة والمستخدمة في فحص التحرر وذلك باستبدال جلد ظهر أرنب بالغشاء السللوزي حيث تم استخدام جلد الأرنب كنموذج في دراسات عديدة (Ogiso T et al. 2001, Hussain Shah). لإجراء هذا الفحص، أخذ جلد أرنب وتم قص الوبر الناعم للجلد قدر المستطاع، أزيلت طبقة تحت الأدمة وغسل الجلد بوقاء فوسفاتي (7.4 = pH) وقطع الجلد إلى قطع دائرية تتناسب مساحة فوهة خلية Franz والتي جمدت بدرجة حرارة -20م لحين الاستخدام. وضع الجلد (n=6) ضمن خلية Franz بحيث تكون الطبقة المتقرنة باتجاه الخارج وطبقة الأدمة بتماس مستمر مع السائل المستقبل (Al haushey L et al. 2009, Lakshami PK et al. 2011). ضبطت درجة حرارة السائل المستقبل عند 32م وسرعة التحريك عند 300 دورة/دقيقة ليتم الحفاظ على شروط الغور وتمت متابعة العمل كما سبق في اختبار التحرر في الزجاج بما يخص فترة الدراسة وسحب العينات وتحليلها.

2. تحضير الجسيمات الدقيقة ودراسة خصائصها

تحضير الجسيمات الدقيقة

حضرت الجسيمات الدقيقة بواسطة طريقة تبخر المحل المعدلة لتناسب الليدوكائين (Al haushey L 2019). استحلب الطور العضوي الحاوي على الليدوكائين والبلمر (PCL) وديكلوروميثان DCM ضمن 10مل من طور مائي حاو على 0.5% PVA تحت التحريك (Scilogex D160 homogenizer) لمدة 30 ثانية وبسرعة 15000 rpm

للحصول على مستحلب ز/م. ثم نقل المستحلب الناتج إلى 50 مل PVA (0.5%) تحت التحريك بواسطة محرك ميكانيكي (Heidolph RZR 2021, Germany) لمدة ساعة وبسرعة (500 rpm) ليتم تصليب القطيرات وتشكيل للجسيمات الدقيقة. جمعت الجسيمات بالترشيح (Zelma, thickness 0.33mm) ومن ثم جففت بالهواء. يبين الجدول (2) مكونات الصيغة المحضرة.

جدول 2: مكونات صيغة الجسيمات الدقيقة الحاوية على الليدوكائين

العامل المدروس	كمية PCL (غ)	كمية الليدوكائين (غ)	حجم DCM (مل)	حجم م ₂ (مل) في مرحلة قبل التصلب	تركيز PVA (%)
رقم الصيغة	0.75	0.25	5	10	0.5

تحديد خصائص الجسيمات الدقيقة Microparticles characterization

تحديد الأبعاد Particle size

تم تحديد الأبعاد بواسطة المجهر الضوئي (Wet zlar BX 300) عن طريق عد ما لا يقل عن 200 جسيمة. أحصي عدد الجسيمات ضمن كل مجال أبعاد محدد ثم تم تحديد متوسط أبعاد الجسيمات الدقيقة بتطبيق العلاقة التالية (Allen et al. 2005, Parrott EL 1970):

$$\text{متوسط البعد} = \frac{\text{مجموع (عدد الجسيمات الدقيقة * متوسط البعد الموافق لكل مجموعة)}}{\text{عدد الجسيمات الكلية المعدودة}}$$

تحديد فعالية التمحفظ Encapsulation Efficiency

حلت كمية معينة من الجسيمات الدقيقة ضمن 1 مل DCM وبعد الانحلال التام ترك DCM للتبخر ثم بعثر الراسب المتشكل في 5 مل وقاء فوسفاتي pH 7.4 لمدة ساعة تحت التحريك (Monotherm, variomog, Germany). حددت كمية الليدوكائين في المحلول الراشح (عبر مرشحة مثبتة على محقنة: Isolab. 0.45 μ) بواسطة الـ Spectrophotometer (Jasco V-530 UV/Vis, Japan) عند طول موجة 263 nm. حسبت فعالية التمحفظ من العلاقة التالية:

$$\text{فعالية التمحفظ \%} = \frac{\text{الكمية الفعالة (الحقنفة) للدوكائين ضمن كمية معينة من الجسيمات الدقيقة}}{\text{الكمية النظرية ضمن نفس الوزن من الجسيمات الدقيقة}} \times 100$$

فحص التحرر في الزجاج In vitro release study

بعثرت كمية من الجسيمات الدقيقة ضمن 50 مل من وقاء فوسفاتي pH = 7.4 وعند أزمنة محددة تم اخذ 2 مل من وسط التحرر وتعويضها بـ 2 مل وقاء فوسفاتي. تم قياس كمية الليدوكائين المتحررة بواسطة مقياس الطيف الضوئي كما سبق.

فحص الاختراقية الجلدية في الزجاج In vitro penetration study

أجري هذا الفحص مثل الطريقة المتبعة في إجراء فحص التحرر في الزجاج للهلاميات ولكن تم استبدال مبعثر لجسيمات دقيقة (~40 ملغ) ضمن الماء على شكل معجون بعينة الهلام وتم متابعة العمل كما سبق.

3. التحليل الإحصائي للنتائج

حللت النتائج إحصائياً بإجراء اختبار t-Student (excel 2007) وقد اعتبرت النتائج ذات أهمية إحصائية أو دلالة معنوية إذا كانت p -Value أصغر أو تساوي 0.05.

النتائج والمناقشة

تم تحضير الأشكال الصيدلانية في هذه الدراسة بعد دراسة مبدئية تم فيها تحديد كميات وتراكيز المواد الفعالة ومختلف السواغات للحصول على مواصفات الهلاميات والجسيمات الدقيقة الأفضل. كما تم تصميم خلايا Franz في مختبرات كلية الصيدلة-جامعة تشرين كنموذج عن الخلايا المستخدمة دستورياً وعالمياً وأجريت على هذه الخلايا دراسة لتحديد سرعة التحريك المثلى التي تضمن تحريك السائل المستقبل بأكمله كما حددت كمية الماء في الحمام المائي ودرجة حرارة هذا الحمام المائي اللازمة ليكون سطح الجلد بدرجة حرارة 32م (Shiow-Fern Ng et al., 2010).

1. النتائج المتعلقة بالهلاميات

الفحص العياني للهلاميات

يبين الجدول (3) خصائص الصيغ المختلفة المحضرة من حيث المظهر الخارجي. كانت الهلاميات المحضرة مبيضة وذلك لانخفاض انحلالية الليدوكائين والمنترول في جملة الهلام ككل.

الجدول (3): خصائص الهلاميات المحضرة (الفحص العياني، فحص الـ pH، تجانس المحتوى وقابلية المد)

الفحص رمز الصيغة	مظهر الهلاميات	pH (M± SD)	تجانس المحتوى (%) (M±SD)	Spreadability (cm ²) (M±SD)
F ₁	مبيضة، متجانسة دون تجمعات أو تجمعات	7.97 ± 0.025	95.43±0.91	29.7±1.37
F ₂	مبيضة بشكل اكبر من F ₁ ، متجانسة دون تجمعات أو تجمعات	8.02 ± 0.035	95.55±0.56	24.63± 1.24

فحص الـ pH

يبين الجدول (3) قيم pH الهلاميات المحضرة وقد كانت قيم الـ pH قريبة من 8 والتي تناسب قوام الهلامية (Handbook of pharmaceutical excipients, 2006) وتحملها من قبل الجلد (Patel J et al. 2011, Nawaz A et al. 2013) كما أن هذه القيمة مناسبة ليكون الليدوكائين (أساس) بالشكل غير المتشرد مناسب للعبور الجلدي فالليدوكائين بشكله الأساس له انحلالية متوسطة في جملة ماء/ دسم مما يساعد في اختراق الجلد بسهولة (Valenta C et al. 2000).

تجانس المحتوى Content uniformity

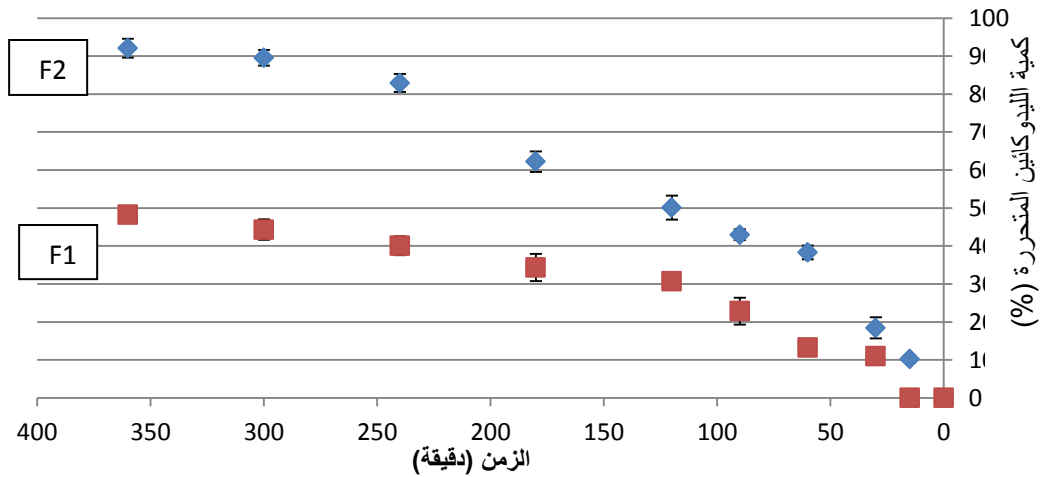
أبدت الهلاميات تجانساً في محتواها الذي كان قريباً من 95% (الجدول 3) وهو ضمن المجال: 10±100% المسموح به للأشكال الجلدية (Varshosaz J et al. 2002, Csoka I et al. 2005) مما يدل على أن الطريقة المستخدمة في التحضير قادرة على إعطاء هلام بتوزع متجانس لليدوكائين.

فحص قابلية المد Spreadability

يظهر من الجدول (3) أن قابلية مد هلاميات الكاربوبول المحضرة لم تتغير بدون أو مع المنتول ($P>0.05$) مما يدل على عدم قدرة المنتول على إحداث تغيير في لزوجة الهلامية حيث أن لزوجة المستحضرات تعكس عادة قوامها (Malay K et al. 2007).

فحص التحرر في الزجاج *In vitro* release study

يبين الشكل (1) تحرر الليدوكائين من الهلاميات المصاغة بدون أو مع المنتول. يظهر الشكل تحراً أكبر لليدوكائين في حال إضافة المنتول ($P<0.05$) حيث أن الليدوكائين في الصيغة F1 قد تم حله في الكحول عند التحضير بينما في الصيغة F2 فقد تم استحلاب المزيج الأصهري (الليدوكائين+المنتول) في الماء ومما يدل على انحلال الليدوكائين الأقل في الصيغة F2 (أو استحلاب المزيج الأصهري) هو ميل الهلامية لأن تكون أكثر بياضاً (الجدول 3). في الصيغة F2 استطاع السواغ الحامل التخلي عن المادة المستحلبة بشكل أسهل وأسرع مقارنة مع الليدوكائين المنحل نسبياً في الصيغة F1 أي أن الجملة الحاوية على منتول تعطي فعالية ترموديناميكية أكبر لليدوكائين (لذلك تحرر الليدوكائين بنسبة 92% من الهلاميات الحاوية على منتول مقابل 48% من الهلاميات التي لاتحوي منتول). أثبتت دراسات عديدة على أن التريينات تشكل مع الليدوكائين مزائج أصهريّة مما يزيد من الفعالية الترموديناميكية ضمن الصيغة الصيدلانية (Kang L et al. 2000, Kang L et al. 2001). كما أظهرت دراسات أخرى تأثير انحلالية المادة الفعالة في السواغ الحامل وتأثير اختيار هذا الأخير على التحرر (Ozsoy V et al. 2004, Ropke CD et al. 2010, Mallikarijuna Setty C et al. 2004) حيث أن معدل التحرر لا يعتمد فقط على المادة الفعالة المستخدمة وإنما أيضاً على الخواص الفيزيوكيميائية للحامل (Shima K et al. 1981, Uekama K et al. 2010, Rasool BKA et al. 1998) فقد تغير انحلال وتبعثر الليدوكائين في الصيغتين F1 و F2. من المتوقع أن زيادة الكمية المتحررة الملاحظة في الصيغة F2 يمكن أن تؤدي إلى زيادة في الامتصاص والاختراقية عبر الجلد (Lakshmi PK et al. 2011).



الشكل 1: تحرر الليدوكائين في الزجاج من الهلاميات المحضرة بدون أو مع منتول

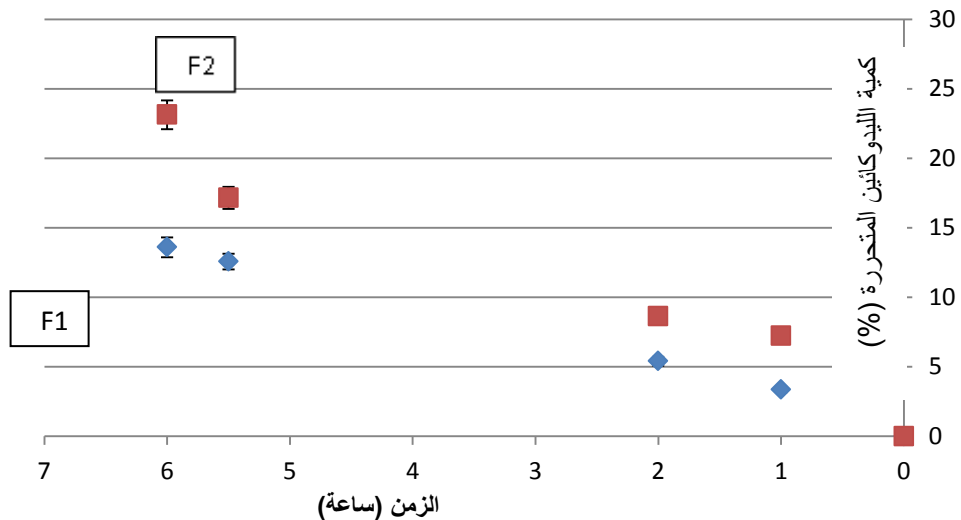
عند التمثيل البياني لكمية الليدوكائين المتحررة مع الجذر التربيعي للزمن من كلا الصيغتين F1 و F2 يتبين أن R^2 تساوي: 0.965 و 0.983 على الترتيب (الجدول 4) مما يدل أن الانتشار هو المرحلة المحددة والحاسمة خلال تحرر الليدوكائين من الهلاميات سواء احتوت أم لم تحتو على محسن اختراق ($R^2_{Higuchi} > R^2_{Order}$). شوهدت آلية الانتشار في كثير من الهلاميات لمواد فعالة مختلفة (Riccia EJ et al. 2005) كما يدل ذلك على أن الغشاء لا يتدخل في تحديد كمية الليدوكائين المتحررة وإنما الصياغة الصيدلانية هي التي تتحكم بالتحرر (Guy RH et al. 1990, Mallikarjuna Setty C et al. 2010).

الجدول (4): قيم معاملات التحديد لصيغتي الهلاميات وفق الرتبة صفر ونموذج Higuchi

الفحص رمز الصيغة	R^2 (الرتبة صفر)	R^2 (نموذج Higuchi)
F ₁	0.908	0.965
F ₂	0.951	0.983

فحص الاختراقية الجلدية في الزجاج *In vitro* permeation study

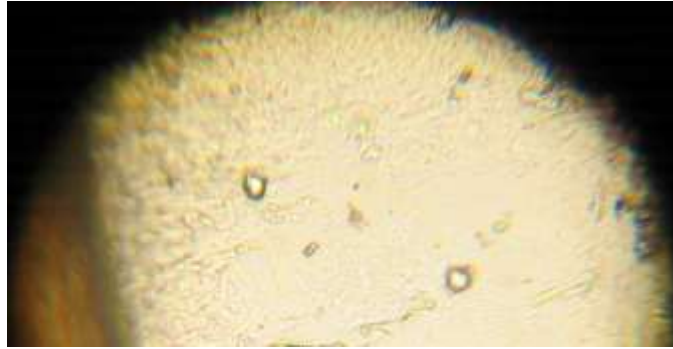
يظهر الشكل (2) نسبة الليدوكائين المخترقة للجلد بدءاً من الهلاميات الحاوية وغير الحاوية على منتول (تم التركيز في هذا الفحص على النسبة المخترقة الكلية في نهاية الدراسة). تزداد كمية الليدوكائين المخترقة بوجود المنتول المتحررة 14%. فالمنتول يحدث اضطراباً في بنية ليبيدات الطبقة المتقرنة (Fujii M et al. 2003, Yener G et al. 2004, Kanikkannan N et al. 2003, al. 2004) وينقص من لزوجتها (Surapanini S et al. 2002) وبالتالي فهو يحسن الاختراق (Narishetty et al. 2003, Fujii M et al. 2000, Kang L et al. 2000, HO Ho et al, 1998, STK et al. 2005). من الجدير ملاحظته أن زيادة التحرر الملاحظة في دراسة التحرر في الزجاج نتيجة وجود المنتول ترافقت مع زيادة في الكمية المخترقة.



الشكل 2: كمية الليدوكائين المخترقة لجلد الأرنب في الزجاج من الهلاميات المحضرة بدون أو مع منتول

2. النتائج المتعلقة بالجسيمات الدقيقة

كانت أبعاد الجسيمات الدقيقة المحضرة وفق الصيغة التي تم اختيارها حوالي 20-30 ميكرون ووصلت فعالية تمحفظ الليدوكائين داخل الجسيمات الدقيقة إلى 52% تقريباً (n=3). وصلت كمية الليدوكائين المتحررة في الزجاج إلى 49% تقريباً في نهاية 6 ساعات. عند دراسة الاختراقية الجلدية لهذه الجسيمات لم يستطع الليدوكائين الوصول إلى السائل المستقبل بكمية كبيرة مما يدل على عدم قدرة الجسيمات الدقيقة على تحرير كمية كبيرة من الليدوكائين كون الجسيمات مبعثرة بشكل معجون وليست بتماس كبير مع وسط مستقبل سائل كما أن لهذه الجسيمات قدرة محدودة على اختراق الجلد كون أبعادها ليست مناسبة جداً لعبور الجلد (De Jalon et al. 2001) وبالتالي فإن كمية الجسيمات المحدودة والمختزقة تشكل مستودع في الجلد لتحرير الليدوكائين بشكل مطول. إن التحرر المطول لليدوكائين يساهم في تحسين الفعالية العلاجية ضد الألم (Kim Ch M et al. 2017). يظهر الشكل (3) صورة ملتقطة للجلد بواسطة كاميرا فائقة الدقة (Canon, PowerShot A70) موصولة إلى مجهر ضوئي (Zuzi, Auxilabs, Spain) حيث يظهر سطح الجلد بعد إزالة الطبقة المتقرنة skin stripping بواسطة شريط لاصق (19 مرة) وتبدو في هذه الصورة بعض الجسيمات الدقيقة التي نجحت في عبور الطبقة المتقرنة SC وتوضعت على الأرحح في البشرة الحية. إن مراحل اختراق المادة الفعالة للجلد هي: (1) الانتشار من الشكل الصيدلاني إلى السطح الفاصل بين هذا الشكل وسطح الجلد، (2) انتقال المادة الفعالة عبر السطح الفاصل وادمصاصها على سطح الجلد، (3) اختراق المادة الفعالة عبر الجلد. عند مقارنة الكمية المختزقة من الليدوكائين بدءاً من الجسيمات الدقيقة يتبين أنها أقل بكثير من الكمية المتحررة في الزجاج (5% مقابل 49%) مما يدل على أن المرحلة المحددة لوصول الليدوكائين إلى السائل المستقبل في حال تمحفظه بشكل جسيمات دقيقة هي اختراقه للبشرة أكثر من انتشاره في الشكل الصيدلاني أو من الادمصاص على سطح الجلد (Ohzeki K et al. 2008).



الشكل 3: صورة لسطح الجلد بعد إزالة الطبقة المتقرنة مظهرة بعض الجسيمات الدقيقة المتبقية

الاستنتاجات والتوصيات

في هذه الدراسة، تم تقييم التحرر والاختراقية عبر الجلد لليدوكائين المحضر بشكل هلاميات أو بشكل جسيمات دقيقة. أبدت الهلاميات تحرراً لليدوكائين بنسبة 48% وعند إضافة محسن اختراق إليها تحرر الليدوكائين بنسبة 92% بعد 6 ساعات من مدة الدراسة. كما أبدى المنتول قدرة على تحسين اختراقية الليدوكائين عبر الجلد بنسبة 23% مقابل 14% من الهلاميات التي لا تحويه. عند تقييم اختراقية الليدوكائين المحمل ضمن جسيمات دقيقة تبين أن هذه الجسيمات

(20-30 ميكرون) قادرة على تأمين تحرر مطول ومديد بشكل مستودع في الجلد كما يمكن اعتبار الجسيمات الدقيقة فيما لو تم تصغير أبعادها كنظم واعدة في إطالة التحرر وإن دراسات إضافية أخرى ستكون مفيدة في دراسة تأثير الصياغة (مواصفات الجسيمات) على تحرر واختراق الليدوكائين.

بالتالي كخلاصة نهائية، تم التوصل إلى صيغ تسرع وتزيد من تحرر الليدوكائين وذلك بصياغة هلاميات حاوية على منتول (إذا كان المطلوب: السرعة في بدء ظهور التأثير) كما تم تحضير جسيمات دقيقة قادرة على إطالة التحرر (إذا كان الهدف هو إطالة التحرر وفترة التأثير) وبالتالي يمكن دمج هذين الشكلين في شكل واحد للحصول على تأثير مخدر بسرعة ولفترة مطولة. من المتوقع في هذا الشكل الجديد أن تزداد كمية الليدوكائين المتحررة من الجسيمات الدقيقة وأن تزداد كذلك اختراقه عبر الجلد طالما أن البيئة المميهة التي تؤمنها الهلاميات والضرورية لذلك متوفرة.

المراجع

- Abdel-Mottaleb MM, Mortada ND, Elshamy AA, Awad GA. Preparation and evaluation of fluconazole gels. *Egypt. J. Biomed. Sci.* 2007, 23: 266-286.
- Akitoshi Y, Takayama K, Machida Y, Nagai T. Effect of cyclohexanone derivatives of percutaneous absorption of ketoprofen and indomethacin. *Drug Design and Delivery*, 1988, 2: 239-245.
- Al Bayati FA. Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2009, 8:20.
- Al haushey L, Bolzinger MA, Fessi H, Briancon S. RH EGF microspheres formulation and in vitro skin evaluation. *J Microencapsulation*, 2009, 27(1):14-24.
- Al haushey L. Evaluation of bioactivity of urease microencapsulated by double emulsion-solvent evaporation method: effect of some formulation and process parameters. *Tishreen University Journal For Research And Scientific Studies- Health Sciences Series*, 2019, 41(1): 23-37.
- Allen LV, Popovich NG, Ansel Howard C. *Powders and Granules in Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. 8th ed. 2005; 186-203.
- Allen M, Prausnitz M, McAllister D, and Cros F. *Microneedle Devices and Methods of Manufacture and Use Thereof*. United States of America Patent US 6334856 B1. January 1, 2002.
- Amnuait TH; Ingkatawong S; Maneenuan D; Worachotekamjorn K. Caffeine topical gel formulation.. *IJPS*, 2008, 4(1):
- Asbill CS, Michniak BB. Percutaneous penetration enhancers: Local versus transdermal activity. *Pharmaceutical science & technology today*, 2000, 3(1):36-41.
- Balata JF, Shamardl H A. Formulation of chlorpheniramine maleate in span 60/ tween 20 based organogels for transdermal delivery. *J Innov Pharm BioSci*. 2017, 4(1): 49-57.
- Barratt G. Colloidal drug carriers: achievements and perspectives. *Cell Mol Life Sci*. 2003, 60: 21-37.
- Bi M, Hwang SJ, Morris KR. Mechanism of eutectic formation upon compaction and its effects on tablet properties. 2003, *Thermochim Acta* 2003, 404(1-2): 213-226.
- Bregni C, Chiappetta D, Faiden N, Carlucci A, García R, Pasquali R. Release study of diclofenac from new carbomer gels. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2008, 21(1): 12-16.
- Chen PCh, Kohane DS, Park YJ, Bartlett RH, Langer R, Yang VC. Injectable microparticle- gel system for prolonged and localized lidocaine release. II. *In vivo* anesthetic effects. *Wiley Periodicals, Inc. J Biomed Mater Res* 2004, 70A: 459-466.

- Csoka I, Csanya E, Zapantis G, Nagy E, Feher-Kish A, Horvath G, Blazso |G, Eros I. *In vitro* and *In vivo* percutaneous absorption of topical dosage forms: Case studies. *Int J Pharm*, 2005, 291: 11-19.
- De Jalon EG, Banco-Prieto MJ, Ygartua P. et al. PLGA microparticles: possible vehicles for topical drug delivery. *Int J Pharm*. 2001, 226: 181-184.
- Foldvari M. Non-invasive administration of drugs through the skin: Challenges in delivery system design. *Pharmaceutical science & technology today*. 2000, 3(12):417-425.
- Formulating Hydroalcoholic Gels with Carbopol® Polymers. Technical Data Sheet. Edition: September 3, 2009.
- Fujii M, Takeda Y, Yoshida M et al. Comparison of skin permeation enhancement by 3-l-menthoxypropane-1,2-diol and l-menthol: the permeation of indomethacin and antipyrine through Yucatan micropig skin and changes in infrared spectra and x-ray diffraction patterns of stratum corneum. *Int. J. Pharm*. 2003, 258(1-2), 217-223.
- Guy RH, Hadgraft J. Selection of drug candidates for transdermal drug delivery, In: HADGRAFT, J., GUY, R.H. (Eds.), *Transdermal drug delivery, developmental issues and research initiatives*, Marcel Dekker, Basel. 1990.
- Handbook of pharmaceutical excipients. 5th .ed., Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, London-Chicago, 2006.
- Ho HO, Chen LC, Lin HM, Sheu MT. Penetration enhancement by menthol combined with a solubilization effect in a mixed solvent system. *J. ontrrol Release*, 1998, 51(2-3), 301-311.
- Hussain Shah S N , Rabbani M and Fakhruddin Amir M. In-vitro study of percutaneous absorption of diclofenac in the presence of sodium lauryl sulphate through rabbit skin. *J. res. Sci.*, 2005, 16(1), 45-50.
- Kang L, Jun HW and Mani N. Preparation and characterization of two-phase melt systems of lidocaine. *Int. J. Pharm*. 2001, 222(1): 35-44.
- Kang L, Jun HW and McCall JW. Physicochemical studies of lidocaine-menthol binary systems for enhanced membrane transport. *Int. J. Pharm*. 2000., 206(1-2): 35-42.
- Kanikkannan N, Andega S, Burton S, Babu RJ, Singh M. Formulation and in vitro evaluation of transdermal patches of melatonin. *Drug Dev. Ind. Pharm*. 2004, 30(2), 205-212.
- Karthikeyan K, Durgadevi R, Saravanan K, Shivsankar K, Usha S, Saravanan M. Formulation of Bioadhesive Carbomer Gel Incorporating Drug-Loaded Gelatin Microspheres for Periodontal Therapy. *Trop J Pharma Res* 2012, 13 (3): 335-343.
- Kim Ch M, Ullah A, Chang Ch H and Kim G M. Preparation of Lidocaine-Loaded Porous Poly (Lactic-Co-Glycolic Acid) Microparticles Using Microfluidic Flow Focusing and Phosphate Buffer Solution Porogen. *International journal of precision engineering and manufacturing*. 2017, 18 (4), 599-604.
- Kim NW, Lee MS, Kim KR, Lee JE, Park JS, Matsumoto Y, Jo DG, Lee H, Lee DS, Jeong JH. Polyplex-releasing microneedles for enhanced cutaneous delivery of DNA vaccine. *J Control Release* 2014; 179: 11-17.
- Kulkarni PK, Pradeep K. Emulsion-gels as topical drug delivery vehicles-a review. *Int J Pharm Edu* 2002; 36 (3): 119-3.
- Lakshmi PK, Kumar MK, Sridharan A, Bhaskaran SH. Formulation and evaluation of ibuprofen topical gel: a novel approach, for penetration enhancement. *Int j Appl Pharm*. 2011, 3(3): 25-30.

- Lazerges M, Rietveld IB, Corvis Y, Ceolin R, Espeau P. Thermodynamic studies of mixtures for topical anesthesia: lidocaine-salol binary phase diagram. *Thermochim Acta*. 2010, 497 (1-2): 124-128.
- Le Corre P, Estebe JP, Clement R, et al. Spray-dried bupivacaine loaded microspheres: in vitro evaluation and biopharmaceutics of bupivacaine following brachial plexus administration in sheep. *International Journal of Pharmaceutics* 2002; 238:191–203.
- Malay K DAS and AHMED AB.. Formulation and ex vivo evaluation of rofecoxib gel for topical application *Acta Poloniae Pharmaceutica- Drug Research*. 63(5),2007, 461-467.
- Mallikarjuna Setty C, Rupal Babubhai S, Bashir Pathan I. Development of valdecoxib topical gels: effect of formulation variables on the release of valdecoxib. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2010, 2(1) 70-73.
- Marzouk M, Kassem A, Samy EA, Amer AM. *In vitro* release, thermodynamics and pharmacodynamic studies of aceclofenac transdermal Eudragit patches. 2009, 1: 16-22.
- Mohammadi-Samani S, Jamshidzadeh A, Montaseri H, M. Rangbar-Zahedani and Kianrad R. The effects of some permeability enhancers on the percutaneous absorption of lidocaine. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2010, 23(1): 83-88.
- Mohammed Haneefa KP, Abraham A, Saraswathi R, Prasad Mohanta G, Nayar C. Formulation and Evaluation of Herbal Gel of *Basella alba* for wound healing activity.. *J. Pharm. Sci. & Res.* 2012, 4(1): 1642-1648.
- Narishetty STK, Panchagnula R. Effect of l-menthol and 1,8-cineole on phase behavior and molecular organization of SC lipids and skin permeation of zidovudine. *J. Control Release*. 2005, 102(1), 59–70.
- Nawaz A, Jan SU, Khan NR, Hussain A And Khan GM. Formulation and *in vitro* evaluation of clotrimazole gel containing almond oil and tween 80 as penetration enhancer for topical application. *Pak J Phar Sci*. 2013, 26: 617-622.
- Nayak A, Das DB Vladislavljević G. Microneedle-assisted permeation of lidocaine carboxymethylcellulose with gelatine co-polymer hydrogel. *Pharm Res* 2014; 33: 1170-1184.
- Nazzal S, Smalyukh II, Laverentovich OD, Khan MA. Preparation and in vitro characterization of a eutectic based semisolid self-nanoemulsified drug delivery system (SNEDDS) of ubiquinone: mechanism and progress of emulsion formation> *int J Pharm*, 2002, 235(1-2): 247-265.
- Nir Y, Paz A, Sabo E, Potasman I. Fear of Injections in Young Adults: Prevalence and Associations. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 68: 341-344.
- Niyaz Basha B, Prakasam K, Goli D. Formulation and evaluation of gel containing Fluconazol-antifungal agent. *Int J drug Deliv Res*. 2011, 3(4): 109-128.
- Ogiso T, Hata T, Iwaki M, And Tanino T. Transdermal Absorption of Bupranolol in Rabbit Skin in Vitro and in Vivo. *Biol. Pharm. Bull.* 2001, 24(5) 588-591.
- Ohzeki K, Kitahara M, Suzuki N, Taguchi K, Yamazaki Y, Akiyama Sh, Takahashi K, Kanzaki Y. Local anesthetic cream prepared from lidocaine-tetracaine eutectic mixture. *Yakugaku Zasshi*, 2008, 128(4): 611-616.
- Okabe H, Takayama K, Ogura A, Nagai T. Effect of limonen and related compounds on the percutaneous absorption of indometacin. *Drug Design and Delivery*, 1989, 4: 313-321.
- Ozsoy V, Gungor S, Cevher E. Vehicle effects on in vitro release of tiaprofemic acid from different topical formulations. *Il Farmaco* 2004; 59: 563-566.
- Parrott EL, Characteristics of particles and powders in Pharmaceutical technology, *Fundamental Pharmaceutics*.1970: 1-36.

- Patel J , Patel B, Banwait H, Parmar K, Patel M. Formulation And Evaluation of Topical Aceclofenac Gel Using Different Gelling Agent. *Int. J. Drug Dev. & Res.* 2011,3 (1): 156-164.
- Patel SH, Changediya B, Gadhav MV, Jadhav S, Gaikwad DD. Formulation and evaluation of diclofenac sodium gel by using carbopol. *Int Res J sci Engin*, 2018, A3: 65-68.
- Patel T, Ishiuj Y, Yosipovitch G. Menthol: A refreshing look at this ancient compound *J Am Acad dermatol*, 2007, 57(5): 873-878.
- Pathak P, Nagarsenker M. Formulation and evaluation of lidocaine lipid nanosystems for dermal delivery. *AAPS PharmSciTech*, 2009, 10(3): 985- 992.
- Prausnitz MR, Mitragotri S, Langer R. *Nature reviewa drug discovery*, 2004, 3(2): 115-124.
- Priborsky J, Kikuchi K, Takayama K, Nagai T. Percutaneous bsorption of disopyramide, lidocaine, and trimecaine. *Acta univ Palacki Olomuc Fac Med.* 1998, 141: 31-33.
- Ramadan AA. Formulation and Evaluation of Bioadhesive Gels Containing Miconazole Nitrate. *Journal of Applied Sciences Research*, 2008, 4(9): 1052-1065.
- Rao S, Barot T, Rajesh KS and Jha LL. Formulation, optimizastion ansd evaluation of microemulsion based gelof butenafine hydrochloride for topical delivery by using simplex lattice mixture design. *J Pharm Investig.* 2016, 46: 1-12.
- Raphael AP, Meliga SC, Chen X, Fernando GJP, Flain C, Kendall MAF. Depth-Resolved Characterization of diffusion properties within and across minimally-perturbed skin layers. *J Control Release* 2013; 166: 87-94.
- Rasool BKA, Abu-Gharbieh EF, Fahmy SA, Saad HS, Khan SA. Development and evaluation of ibuprofen transdermal gel formulations. *Trop J pharm Res.* 2010, 9(4): 355-363.
- Riccia EJ, Lunardib LO, Nanclaresb DMA, Marchetti JM. Sustained release of lidocaine from Poloxamer 407 gels. *International Journal of Pharmaceutics.* 2005, 288: 235–244.
- Ropke CD, Kaneko TM, Rodrigues RM, Dasilva VV, Barros S, Sawada TCH, Kato MJ, Barros SBM. Evaluation of percutaneous absorption of 4-nerolidylcatechol from four topical formulations. *Int.J.Pharm* 2004; 249: 109-116.
- Sawyer J, Febbraro S, Masud S, Ashburn MA, Campbell JC. Heated lidocaine/tetracaine patch (Synera™, Rapydan™) compared with lidocaine/prilocaine cream (EMLA®) for topical anaesthesia before vascular access, *B J Anaesth.* 2009, 102(2): 210-215.
- Sayiner O, Urfa E, Arisoy S, Comoglu T. Preparation, Characterization, and *In Vitro* Evaluation of Cream & Gel Formulations Containing Lidocaine and Tetracaine. *Ann Rev Resear.* 2018, 3(5): 1-8.
- Shikanov A, Domb AJ, Weiniger CF. Long acting local anestheticpolymer formulation to prolong the effect of analgesia. *Journal of Controlled Release* 2007; 117: 97–103.
- Shima K, Matsuska C, Hirose M, Noguchi T, Yamahira Y. biopharmaceutical characteristics of indometacin gel ointment. *Chem. Pharm Bul*, 1981, 29(8): 2338-2343.
- Shiow-Fern Ng, Rouse J J, Sanderson FD, Meidan V, Eccleston GM. Validation of a Static Franz Diffusion Cell System for In Vitro Permeation Studies. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(3): 1432-1441.
- Singh I, Morris AP. Performance of transdermal therapeutic systems: Effects of biological factors. *Int J Pharm Invest* 2011; 1: 4-9.

- Singh MP, Nagori P, Shaw NR, Solanki R, Tiwari M. A comparison study of Q.C parameters of marketed topical gel formulations and rajasthan Govt. supplied free topical gel formulations. *Int J Pharm Res BioSci.* 2014, 3(1): 471-481.
- Singh VK, Singh PK, Sharma PK, Srivasava P K, Mishra A. Formulation and evaluation of topical gel of aceclofenac containing piparine. *Indo American J Pharm Res,* 2013, 3(7): 5266-5280.
- Sowmya J, Gowda DV, Gowrav :P, Aravind Ram AS, Atul Srivastava, Riyaz Ali M, Osmani, Bhavya MV and S Praveen. Development and characterisation of ketoprofen solid dispersion incorporated topical gel. *Der Pharmacia Lettre,* 2016, 8(9): 193-199.
- Stott PW, Williams AC, Barry BW. Transdermal delivery from eutectic systems: enhanced permeation of a model drug, ibuprofen. *J Control rel,* 1998, 50(1-3): 297-308.
- Stott PW, Williams AC, Barry BW. Mechanistic study into the enhanced transdermal permeation of a model β -blocker, propranolol, by fatty acids: a melting point depression effect. *Int J Pharm,* 2001, 219 (1-2): 161-176.
- Surapanini S, Diwan PV. Optimised transdermal delivery of ketoprofen using pH and hydroxypropyl- β -cyclodextrin as coenhancers. *Eur J Pharm Biopharm,* 2002, 54(2):151-154.
- Topical and Transdermal Drug Products. *Pharmacopeial Forum.* [May–June 2009, 35(3): 750-764.
- Tuntarawongsa S, Phaechamud T. polymeric eutectic drug delivery system. *J Met Mat Min,* 2012,22 (2) : 27-32.
- Uekama K, Hirayama F, Irie T. cyclodextrin drug carrier systems. *Chem. Rev,* 1998, 98 (5): 2045- 2076.
- Valenta C., Siman U., Kratzel M. & Hadgraft J. The dermal delivery of lignocaine: Influence of ion pairing. *International journal of pharmaceutics.* 2000, 197(1–2):77-85.
- Varshosaz J, Javakoli N, Saidan S. development and characterization of a periodontal bioadhesive gel of metronidazole. *Drug delivery,* 2002, 9, 127-133.
- Varshosaz J., Jaffari F., Karimzadeh S. Development of bioadhesive chitosan gels for topical delivery of lidocaine. *Scientia Pharmaceutica. Sci. Pharm.* 2006, 74, 209-223.
- Wahlgren CF, Quiding H. depth of cutaneous analgesia after application of a eutectic mixture of the local anesthetics lidocaine and prilocaine (EMLA cream). *J Am Acad Dermatol.* 2000, 42(4):584-588.
- Williams AC. *Transdermal and topical drug delivery.* 2003, London: Pharmaceutical Press. 242p.
- Wolfson AD, Malcom RK, Campbell K, Jones DS, Russell JA, Rheological, mechanical and membrane penetration properties of novel dual drug systems for percutaneous delivery. *J contrl Rel* 2000, 67(2-3): 395-408.
- Yener G, Gonullu U, Uner M, Degim T, Araman A. Effect of vehicles and penetration enhancers on the in vitro percutaneous absorption of celecoxib through human skin. *Pharmazie.* 2003, 58(5), 330–333.