Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 6:01 +0430 on Thursday September 21st 2017

کنترل فیزیکو شیمیایی، مطالعه آزادسازی و بررسی پایداری ترتینوئین از فرآورده‌های نیمه جامد موجود در ایران

دکتر الهه ملاذ [۱] دکتر ناصر توکلی [۱] دکتر رضا ابراهیمی [۲]

[۱] استادیار، گروه فارماسیوتیکس دانشگاه علوم پزشکی اصفهان [۲] داورساز

مجله پزشکی هرمزگان سال هشتم شماره چهارم زمستان ۸۳ صفحات ۱۹۹ تا ۲۰۷

چکیده

مقدمه: *آکنه ولگاریس یکی از شایعترین بیماریهای پوستی است که در بالغین و بزرگسالان جوان دیده می‌شود و با ترکیبی از کمدون، پوستول، کیست وپیدایش اسکار با شدتهای متفاوت مشخص می‌شود.*

این مطالعه با هدف ارزیابی پایداری فیزیکی و شیمیایی فرآورده‌های پوستی مختلف ترتینوئین، آزادسازی دارو توسط روشهای مختلف Invitro انجام گرفته و مدلهای آزادسازی دارو در این فرآورده‌ها با یکدیگر مقایسه شده است.

روش کار: *ابتدا منحنی استاندارد ترتینوئین در حلالهای مناسب به روش اسپکتروفتومتری رسم شدند و میزان داروی موجود در فرآورده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. پس از انجام آزمایشات کنترل فیزیکوشیمیایی فرآورده‌ها نظیر تعیین pH، پایداری ظاهری فرآورده، تعیین محتوی آب، کنترل میکروبی، تست سانتریفوژ، تست تغییرات دمایی، آزمایش سرد و گرم شدن، تست انجماد و ذوب شدن، بررسی رئولوژی فرآورده، آزادسازی دارو از پایه به روش Invitro در حلال مناسب مورد مطالعه قرار گرفت. آزمون آزادسازی بر روی فرآورده‌های موضعی ترتینوئین در بازار دارویی ایران با استفاده از سل دیفوزیون Franz و غشاء سنتیتک در دمای ۳۷ C به مدت ۵ ساعت انجام شد و مقادیر داروی عبور کرده از پوست در مقابل زمان ثبت گردید.*

نتایج: *نتایج آزمایشات مختلف بر روی فرآورده‌های مختلف ترتینوئین بیانگر این است که فرآورده‌های تهیه شده از نظر خواص فیزیکوشیمیایی در حد قابل قبول قرار داشتند. مقایسه ضرایب همبستگی مدلهای آزادسازی نشان داد که فرآورده‌های ژل از مدل هیگوچی پیروی می‌کنند. در حالیکه الگوی آزادسازی برای کرمها از نوع معادله درجه اول می‌باشد ($p<۰/۰۵$).*

نتیجه‌گیری: *به نظر می‌رسد آزادسازی دارو از کرم آهسته‌تر از دو فرآورده دیگر است و جذب پوستی تدریجی دارو از کرم می‌تواند ضمن ایجاد حداکثر اثربخشی، کمترین تحریک پوستی را ایجاد نماید.*

کلیدواژه‌ها: *سیستم‌های آزادسازی داور – پایداری دارو – ترتینوئین*

نویسنده مسئول:
دکتر الهه ملاذ
گروه فارماپیوتیکس – دانشکده داروسازی –دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
اصفهان - ایران

مقدمه:

آکنه ولگاریس یک عارضه التهابی پوست می‌باشد که علت آن نامعلوم و ظاهراً عامل مساعدکننده پیدایش آن حضور آندروژنها در زمینه ارثی مستعد است. جوش صورت تحت عنوان بیماریهای پوستولی توصیف می‌شود هر چند عارضه ایلی‌پلی مورف است که به صورت ترکیبی از کمدونهای باز و بسته، پوستول، کیست و پیدایش اسکار با شدتهای متفاوت مشخص می‌شود (۱، ۲).

با توجه به اتیولوژی متعدد و درجه وخامت یا شدت و ضعف ضایعه، روشهای درمانی بایستی با در نظر گرفتن کلیه جوانب امر از جمله مطالعه کافی سابقه بیمار، نوع تظاهرات و

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 6:01 +0430 on Thursday September 21st 2017

درجه وخامت آکنه انتخاب می‌گردد. اصول درمان بر مبنای سه پایه اصلی یعنی درمان سبوره، مبارزه با کمدون‌ها و درمان ضایعات التهابی نظیر پاپول، پوستول و کیست استوار می‌باشد (۳). استفاده از ویتامین A یا رتینوئیک اسید در درمان بیماریهای موضعی ابتدا توسط Stuttgen در سال ۱۹۶۲ میلادی گزارش گردید. او اثرات دارو را روی پوست به صورت وازودیلاتاسیون و تا حدودی انفیلتراسیون در اطراف مویرگها و کراتینیزه شدن اپیدرم بدون اینکه اثری قابل ملاحظه روی درم گذاشته باشد، مشاهده نمود (٤).

ترتینوئین فرم اسیدی ویتامین A است. ابتدا برای درمان آکنه ولگاریس که به صورت کمدون، پاپول و پوستول ظاهر می‌شود، استفاده شد. همچنین این ماده در درمان اختلالات دیگر حاصل از کراتینیزه شدن به کار می‌رود (٤).

بطور کلی منظور از تهیه فرمهای موضعی آن است که پس از قرار گرفتن فرآورده روی پوست و با آزادسازی دارو از پایه، دارو به منطقه مورد نظر از پوست برسد. به منظور دستیابی به فرم موضعی ایده‌آل می‌بایست، مقدار عبور دارو از طریق پوست، قابلیت نگهداری و به تأخیر انداختن جذب توسط پایه در روی پوست و پذیرش بیمار نسبت به فرآورده را مدنظر قرار داد (٥، ٦، ٧). تاکنون هیچ روش عمومی ابداع نشده که با آن بتوان زمان توقف دارو در پوست را افزایش داد و بنابراین بسیاری از فرمولاسیونهای پوستی هنوز از طریق آزمون تجربه و خطا بدست می‌آیند (٨، ٩).

در مورد داروهایی نظیر ترتینوئین که بطور گسترده در درمان آکنه مورد استفاده قرار می‌گیرند و در پوست ایجاد تحریک می‌کنند، استفاده از فرمهایی که آزادسازی ماده مؤثره را به تأخیر اندازد، اهمیت می‌یابد. علاوه بر آن این موضوع سبب می‌گردد در طول درمان تأخیری، پوست امکان جانشینی یافته و جذب سیستمیک دارو نیز کاهش یابد (۱۰).

در این تحقیق سعی شده الگوی آزادسازی ترتینوئین از فرآورده‌های موضعی ایرانی با استفاده از روشهای Invitro بررسی و با فرمهای دارویی مشابه خارجی مقایسه گردد تا به کمک آن عوارض پوستی بیشتر و تحریک جلدی گسترده‌تر فرآورده‌های ایرانی توجیه و توصیه‌های لازم به سازندگان این محصولات در جهت بهبود کیفیت آنها ارائه گردد.

جهت مطالعه جذب پوستی داروها، از روشهای Invitro و invivo استفاده می‌شود. روشهای Invitro ممکن است با استفاده از غشاء یا بدون کاربرد غشاء انجام شود. از جمله پارامترهای مهم در این روشها طراحی سل دیفوزیون می‌باشد (٥، ۱۱، ۱۲).

روش کار:

روش آنالیز ترتینوئین: پس از بررسی روشهای آنالیز موجود و با توجه به ساختمان شیمیایی ترتینوئین، از جذب این ماده در ناحیه ماوراء بنفش و روش اسپکتروفتومتری UV استفاده شده است. از آنجایی که در طول انجام آزمایشات assay و آزادسازی از محیطهای مختلف نظیر ایزوپروپیل الکل، مخلوط ایزوپروپیل الکل با کلروفرم، کلروفرم و ایزوپروپیل مریستات استفاده می‌شود، بنابراین طیف جذبی ترتینوئین حل شده در این حلالها تعیین و اندازه‌گیری می‌گردد.

رسم نمودار استاندارد جذب ترتینوئین و بررسی صدق قانون بیرلامبرت: به منظور تعیین ماکزیمم جذب (λmax) دارو در حلالهای مختلف (ایزوپروپیل الکل، ایزوپروپیل مریستات، کلروفرم و مخلوط کلروفرم با ایزوپروپیل الکل) میازن جذب UV دارو در محدوده طول موج ۳۰۰-٤۰۰۰ نانومتر (محدوده جذب اسپکتروفتومتری ترتینوئین) اندازه‌گیری شد.

جهت سرم نمودار استاندارد و بررسی صدق قانون بیر-لامبرت غلظت‌های مختلفی از دارو (۱-۱۰ μg/ml) تهیه و میزان جذب آنها اندازه‌گیری شد (۱۳). برای ارزیابی دقت و صحت روش تغییرات درون روزی و بین روزی منحنی استاندارد، رسم و درصد ضریب تغییرات (C.V%) محاسبه گردید. نتایج در جدول شماره ۱ خلاصه شده است.

جدول شماره ۱ –نتایج تعیین λmax ترتینوئین در حلالهای مختلف

حلال	ایزوپرپیل الکل	ایزوپروپیل مریستات	کلروفرم	ایزوپروپیل الکل-کلروفرم
λ_{max} (nm)	۳۵۳	۳۵۰	۳٦٥	۳۵۸

تعیین مقدار ترتینوئین در فرآورده‌های مختلف آن:

الف) تعیین مقدار در ژل ترتینوئین: وزنی معادل ۳۷٥μg ترتینوئین از ژل با کلروفرم مخلوط شده به حجم ۱۰۰ml

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 6:01 +0430 on Thursday September 21st 2017

رسانده می‌شود. میزان جذب این مخلوط در طول موج ۳٦٥ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار ترتینوئین موجود در ژل از روی نمودار استاندارد محاسبه گردید (١٤).

ب) تعیین مقدار در کرم ترتینوئین: وزنی معادل ۳۷٥μg ترتینوئین از کرم در مخلوط کلروفرم-ایزوپروپیل الکل (۱:۱) وارد کرده به حجم ۱۰۰ml رسانده می‌شود. میزان جذب این مخلوط در طول موج ۳٥۸ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار ترتینوئین موجود در کرم از روی نمودار استاندارد محاسبه گردید (۱٥).

ج) تعیین مقدار در لوسیون ترتینوئین: برای تعیین مقدار ترتینوئین در محلول آن از حلال ایزوپروپیل الکل استفاده شد. میزان جذب این مخلوط در طول موج ۳٥۲ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار ترتینوئین موجود در لوسیون Steiva-A نیز محاسبه شد (١٤).

روش اندازه‌گیری میزان عبور دارو از غشاء سنتتیک: به منظور اندازه‌گیری میزان عبور دارو از غشاء سنتتیک از جنس نیترات سلولز با قطر منافذ (۰/۱) میکرون و سل دیفوزیون Franz استفاده شد. نمونه‌گیری از فاز گیرنده از زمان صفر تا ٥ ساعت با فاصله ۳۰ دقیقه یکبار از لوله مخصوص نمونه‌گیری صورت گرفته و در هر نمونه‌گیری ۳ml از فاز گیرنده با ایزوپروپیل الکل جایگزین می‌شد (۲، ١٤). به کمک فرمول (۱) غلظت دارو در هر نمونه تعیین می‌گردید.

$$Cn=C+\frac{Cn-1\times V}{Vt}$$ فرمول (۱)

Cn= غلظت حقیقی دارو در نمونه n

C= غلظت ظاهری دارو در نمونه n

C_{n-1}= غلظت حقیقی دارو در نمونه n-1

V= حجم نمونه

V_t= حجم کل نمونه

روش اندازه‌گیری میزان عبور دارو از پوست جدا شده موش صحرایی: برای این منظور نیز از سل دیفوزیون Franz مشابه با روش غشاء سنتتیک استفاده گردید با این تفاوت که به جای غشاء سنتتیک، پوست شکم موش صحرایی نر نژاد Wistar با وزن ۲٥۰-۳۰۰g بعنوان سد پوستی بکار برده شد. پوست تازه تهیه و آماده شده رات، بین بدنه و دهانه سل قرار می‌گیرد بطوریکه سطح اپیدرمی آن به سمت فاز دهنده و سطح درمی آن به سمت فاز گیرنده باشد (۲، ۱۲). بقیه مراحل آزمایش مانند روش مذکور در قسمت قبل می‌باشد که به مدت ٥ ساعت برای هر یک از فرآورده‌های مورد بررسی به صورت سه تایی انجام گرفت.

آزمایشات ارزیابی فیزیکوشیمیایی فرآورده‌ها: این آزمایشات شامل بررسی یکنواختی ظاهر فرآورده، بررسی فرآورده از لحاظ عدم بروز کریمینگ و کئولسانس (۱۱، ١٦)، آزمایشات پایداری شامل تستهای سانتریفوژ، تست تغییر دما، تست سرد و گرم شدن، آزمایشات انجماد و ذوب و بررسی رفتار رئولوژیک فرآورده‌ها بود (١٦).

جهت بررسی رئولوژی فرآورده‌ها از دستگاه ویسکومتر Rheomat مدل R.M 180 که از نوع دستگاههای Rotational می‌باشد، استفاده شد.

آزمایشات شیمیایی: این آزمایشات شامل تستهای تعیین محتوی آب فرآورده‌ها به روش دین استارک، تعیین pH و آزمایشات عدم رشد میکروبی بود (١٦، ۱۷).

روش انجام محاسبت آماری: برای مقایسه نتایج حاصل از تعیین ضرایب همبستگی معادلات مدلهای مختلف کینتیکی در آزمایشات آزادسازی (درجه صفر، درجه یک و هیگوچی) هر یک از فرآورده‌ها، مطالعه آماری آنالیزی واریانس یک طرفه انجام شد (۱۸، ۱۹). این مطالعه آماری به منظور بررسی وجود اختلاف معنی‌دار بین نتایج حاصل از مقایسات مذکور انجام شد. سطح اطمینان برای وجود اختلاف معنی‌دار آماری ۹٥٪ در نظر گرفته شد. بدین منظور از برنامه نرم‌افزاری SPSS نسخه ۱۰، سال ۱۹۹۹ تحت برنامه Windows 98 استفاده گردید (۲۰).

نتایج:

نتایج حاصل از آنالیز ترتینوئین: آزمایش تعیین λmax ترتینوئین در حلالهای کلروفرم، ایزوپروپیل الکل، ایزوپروپیل مریستات و مخلوط کلروفرم با ایزوپروپیل

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 6:01 +0430 on Thursday September 21st 2017

الکل (با نسبت ۱:۱) انجام شد، بدین منظور غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از دارو، مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر λmax در جدول شماره ۱ ذکر شده است.

نتایج رسم منحنی استاندارد دارو و بررسی صدق قانون بیر نشان داد جذب دارو در برابر غلظت آن برای محلولهای استاندارد ترتینوئین در محدوده ۱۰-۱ میکروگرم در میلی‌لیتر خطی بوده (r=۰/۹۹۹) و نشان‌دهنده صدق قانون بیر در محدوده مورد بررسی است.

نتایج حاصل از تعیین مقدار (بر حسب درصد) ترتینوئین برای هر یک از فرآورده‌های ژل، کرم و لوسیون در جدول شماره ۲ با یکدیگر مقایسه شده است. این نتایج نشان می‌دهند با آنکه در فرآورده‌های لوسیون بخصوص لوسیون ایراین میزان دارو بالا است با اینحال مقدار دارو در تمامی فرآورده‌های در محدوده مورد نظر فارماکوپه USP (۹۰ تا ۱۳۵٪) قرار دارد.

جدول شماره ۲ – نتایج تعیین مقدار ترتینوئین در فرآورده‌های مختلف ترتینوئین

ژل ایرانی	کرم ایرانی	لوسیون ایرانی	لوسیون Stieva-A
میانگین ±Sd	میانگین ±Sd	میانگین ±Sd	میانگین ±Sd
۱۰۲±۲/۲	۱۰۰/۹±۰/۹	۱۳۳±۱/۲	۱۱۰±۱/۹

نتایج اندازه‌گیری میزان عبور دارو از غشاء سنتتیک: این آزمایش به منظور اندازه‌گیری میزان ترتینوئین آزاد شده از پایه صورت گرفت و در آن از سل دیفوزیون Franz و غشاء سنتتیک استفاده گردید. در جدول شماره ۳ و نمودارهای ۱ تا ۳ درصد داروی آزاد شده در برابر زمان نشان داده شده است. همچنین به منظور تعیین مکانیسم آزادسازی دارو، درصد داروی آزاد شده در برابر ریشه دوم زمان و لگاریتم درصد باقیمانده دارو در برابر زمان رسم و ضرایب همبستگی و ثابت‌های آزادسازی کلیه فرآورده‌ها در مدلهای مختلف محاسبه شد (جدول شماره ٤).

جدول شماره ۳ – مقادیر درصد داروی آزاد شده از فرآورده‌های مختلف ترتینوئین در روش غشاء سنتتیک (n=۳)

زمان (دقیقه)	درصد داروی آزاد شده			
	Retin-A cream	کرم ایرانی	Retin-A gel	ژل ایرانی
	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار
۳۰	۸/٦±۰/٤	۸/۱٦±۰/٤	۱۲/۷±۰/٤	۱۲/٤۲±۰/٦
٦۰	۱٦/۳±۰/۸	۱٤/۳±۰/۷	۲۱/۲±۱	۱۹/۲±۰/۹۵
۹۰	۲۲/٦±۱/۱	۲۰/۲±۱	۲٤/۹±۱/۲	۲۳/۱±۱/۱
۱۲۰	۲۷/۷±۱/۳	۲۳/۷±۱/۱	۲۹/۵±۱/۷	۲۷±۱/۳
۱۵۰	۳۲/۲±۱/٦	۲۸/۳±۱/٤	۳٤/۷±۱/٤	۲۹/٤±۱/٤
۱۸۰	۳۸±۱/۹	۳۲/۲±۱/٦	۳۸/۳±۱/۹	۳۱/۳±۱/۵
۲۱۰	٤۲±۲/۱	۳٦±۱/۸	۳۹/٤±۱/۹	۳۲/۲±۱/٦
۲٤۰	٤۳/۷±۲/۲	۳۹±۱/۹	۳۹/٦±۱/۵	۳۲/٦±۱/۳
۲۷۰	٤۵/۸±۲/۳	٤۱/۹±۲	۳۹/۹±۱/٤	۳۲/٦±۱/۵
۳۰۰	٤٦/۲±۲/۳	٤۲/۲±۱/۸	٤۰/۱±۱/٦	۳۲/۸±۰/۸

جدول شماره ۴ – ضریب همبستگی و ثابت آزادسازی فرآورده‌های مختلف ترتینوئین در روش غشاء سنتتیک

نام فرآورده	هیگوچی		درجه یک		درجه صفر	
	R	$K(h^{-2/1})$	r	$K^* 1000(h^{-1})$	r	$K (h^{-1})$
	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار	میانگین±انحراف معیار
ژل ایرانی	۰/۹۹۱۸±۰/۰۰۰٤	۲/۳۰۹٤±۰/۱٤	۰/۹۰۷٤±۰/۰۰۱۲	۰/۷۵٦۱±۰/۰۳۷	۰/۸۷۳٤±۰/۰۰۲۱	۰/۱٤۰۵±۰/۰۰۰۵
کرم ایرانی	۰/۹۷۵۵±۰/۰۰۲٦	۲/٦۹۹۵±۰/۱۸	۰/۹۹٤۳±۰/۰۰۰٤	۰/۸٦٤۱±۰/۰۱۷	۰/۹۷۷±۰/۰۰۰۳	۰/۱۵۱±۰/۰۰۳
Retin-A Gel	۰/۹۹۰٤±۰/۰۰۰٤	۲/۸٤۵۸±۰/۰۳	۰/۹٦۵۱±۰/۰۰۲٦	۱/۰۱۵۷±۰/۰۹	۰/۹۳٤٤±۰/۰۰۰۹	۰/۱۷۸۹±۰/۰۰۷
Retin-A Gream	۰/۹۷٦۷±۰/۰۰۰۳	۲/۹۹۸٦±۰/۰۹	۰/۹۸۷۲±۰/۰۰۰٤	۰/۹۳٦۱±۰/۰٤	۰/۹٤٤۷±۰/۰۰۰۳	۰/۱۵٤۹±۰/۰۰۸

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 6:01 +0430 on Thursday September 21st 2017

نتایج اندازه‌گیری میزان عبور دارو از پوست جدا شده موش صحرایی: این آزمایش به منظور تعیین مقدار داروی عبور کرده از پوست جدا شده موش صحرایی و با استفاده از سل دیفوزیون Franz صورت گرفت. نتایج این بررسی در جدول ٥ و نمودارهای ٤ و ٥ نشان داده شده است. همچنین به منظور تعیین مدل و مکانیسم عبور دارو از پوست درصد داروی آزاد شده در برابر ریشه دوم زمان و لگاریتم درصد باقیمانده دارو در برابر زمان رسم و ضرایب همبستگی و ثابتهای آزادسازی کلیه فرآورده‌ها در مدلهای مختلف محاسبه شد. نتایج در جدول شماره ٦ مشاهده می‌شود.

جدول شماره ٥ – مقادیر درصد داروی عبور کرده از پوست رت از فرآورده‌های مختلف ترتینوئین (n=٣)

درصد داروی عبور کرده از پوست رت				
زمان (دقیقه)	Retin-A cream	کرم ایرانی	Retin-A gel	ژل ایرانی
٣٠	٥/٧٨±٠/٣	٤/٣±٠/٢١	٨/٨٤±٠/٤٤	٧/٠٢±٠/٣٥
٦٠	١١/٣±٠/٦	٦/١±٠/٣	١٤/٣±٠/٧	٩/٥٢±٠/٤٦
٩٠	١٤/٨±٠/٧	٨/٤±٠/٤٢	١٧/٩±٠/٩	١٠/٩±٠/٥٤
١٢٠	١٧/٧±٠/٩	١١/٨±٠/٦	٢٠/٤±١	١٢/٢٤±٠/٦
١٥٠	١٩/٧±١	١٤/٣±٠/٧	٢٢/٢±١	١٣/٣±٠/٦
١٨٠	٢٢/٧±١	١٦/٣±٠/٥	٢٤/٩±١/٢	١٤/٢٨±٠/٧١
٢١٠	٢٦/٤±١/٣	١٨/١±٠/٩	٢٥/١±٠/٧	١٤/٤±٠/٦
٢٤٠	٢٧/٢±١/٤	٢١/٣±١	٢٥/١٥±٠/٧	١٤/٤٥±٠/٧٣
٢٧٠	٢٨/٣±١/٤	٢١/٩±٠/٩	٢٥/٢٥±٠/٩	١٤/٥٥±٠/٣٥

جدول شماره ٦ – ضریب همبستگی و ثابت آزادسازی فرآورده‌های مختلف ترتینوئین در روش شامل پوست رت

نام فرآورده	هیگوچی		درجه یک		درجه صفر	
	R میانگین±انحراف معیار	$K(h^{-1})$ میانگین±انحراف معیار	r میانگین±انحراف معیار	$K^* 1000(h^{-1})$ میانگین±انحراف معیار	r میانگین±انحراف معیار	$K (h^{-1})$ میانگین±انحراف معیار
ژل ایرانی	٠/٩٨٩٣±٠/٠٠١	١/٠٦٣١±٠/٠٤	٠/٨٦٣٦±٠/٠٠٥	٠/٣٣٠٦±٠/٠١	٠/٨٤٧٢±٠/٠٠٦	٠/٠٦٩٩±٠/٠٠١١
کرم ایرانی	٠/٩٤٠٣±٠/٠٠١	١/٢١٧٦±٠/٠٤٥	٠/٩٩٢٩±٠/٠٠١	٠/٤١٥٨±٠/٠١٩	٠/٩٩٠٨±٠/٠٠١	٠/٠٨٨٨±٠/٠٠٤٨
Retin-A Gel	٠/٩٩٦١±٠/٠٠١	١/٨٧٧±٠/١٤	٠/٩٤١٢±٠/٠٠١	٠/٦٤٧٢±٠/٠٤	٠/٩٢٠١±٠/٠٠١	٠/١٢٢٨±٠/٠٠٧٧
Retin-A Gream	٠/٩٧٨٤±٠/٠٠١	١/٧٢٧±٠/٠٥	٠/٩٨٧٤±٠/٠٠١	٠/٥٩٦٥±٠/٠١٤	٠/٩٦٢٧±٠/٠٠٥	٠/١٠٦٣±٠٠٧٦

نتایج آزمایشات ارزیابی فیزیکوشیمیایی فرآورده‌ها: نتایج این آزمایش برای فرآورده‌های مختلف کرم، ژل و لوسیون ایرانی نشان داد این فرآورده‌ها از لحاظ ماکروسکوپی و میکروسکوپی یکنواخت، فاقد ذرات قابل لمس و بدون حباب هوا می‌باشد. این فرآورده‌ها در طول سه ماه نگهداری در درجه حرارت اطاق، کیفیت خود را بطور کامل حفظ کرده و هیچگونه تغییر ظاهری مانند کریمینگ و کئولسانس در آنها مشاهده نگردید. کلیه فرآورده‌ها پس از طی زمان سانتریفوژ پایداری خود را حفظ نموده و هیچگونه شکستگی یا جدا شدن فازها مشاهده نگردید. نگهداری فرآورده‌ها به مدت سه ماه در دماهای مختلف شامل دمای یخچال (٤°c)، دمای معمولی (٢٥°c) و دمای آون (٤٥°c–٣٧°c) نشان داد هیچگونه تغییر ظاهری و قابل مشاهده‌ای (مانند تغییر رنگ، بو، یکنواختی، کریمینگ و کئولسانس) در این فرآورده‌ها اتفاق نمی‌افتد و آنها کیفیت خود را در دماهای مختلف به خوبی حفظ کردند.

نتایج بررسی رفتار رئولوژیک فرآورده‌های مختلف ترتینوئین در جدول ٧ مشاهده می‌گردد.

جدول شماره ٧ –نتایج حاصل از محاسبه تیکسوتروپی فرآورده‌ها

نوع فرآورده	مقدار تیکسوتروپی (Pa/sec)
کرم ایرانی	٢٠٧٤٠±٢٣٠
ژل ایرانی	٩٧٠٦±٣٢٧
Retin-A cream	٢٦٩٥٠±٣٨٠
Retin-A gel	٦٥١٠±١١٠

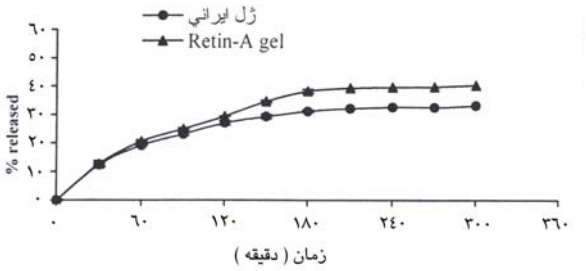
Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 6:01 +0430 on Thursday September 21st 2017

نتایج تعیین محتوی آب به روش دین-استارک نشان داد در حالیکه فرآورده‌های ژل و لوسیون ترتینوئین فاقد آب می‌باشند، میزان آب کرم ایران معادل ۰/۶۸cc در هر گرم نمونه است.

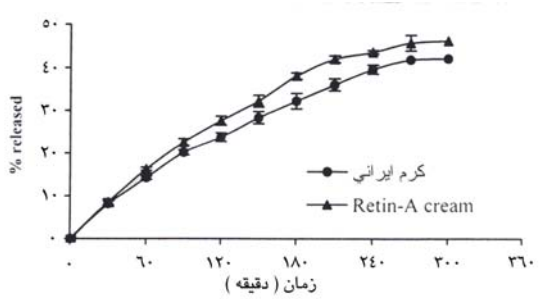
میانگین نتایج اندازه‌گیری میزان pH این فرآورده‌ها نشان داد pH لوسیون و کرم به ترتیب برابر ۰/۱±۴/۸ و ۰/۱±۴/۹۹ و pH ژل معادل ۰/۲±۷/۵۵ می‌باشد.

نتایج آزمایش عدم رشد میکروبی نشان داد هیچیک از فرآورده‌های ترتینوئین به میکروارگانیسمهای استافیلوکوکوس اورئوس و پسودوموناس آئروژینوزا آلودگی ندارند.

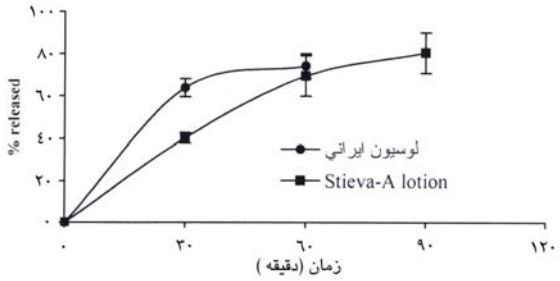
مقایسه ضرایب همبستگی معادلات هیگوچی، درجه صفر و درجه یک در مورد هر فرآورده به طور جداگانه انجام گرفت. نتایج آزمون ANOVA در این مقایسه نشان داد که آزادسازی و عبور دارو از پوست در پایه ژل ایرانی و ژل Retin-A از معادله هیگوچی پیروی می‌کند، همچنین آزادسازی و عبور دارو از پوست در پایه کرم ایرانی و کرم Retin-A از معادله درجه یک پیروی می‌کند.



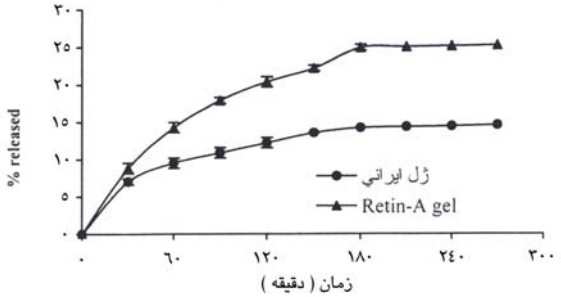
نمودار شماره ۱: مقدار داروی عبور کرده از غشاء سنتتیک برحسب زمان (پایه های ژل)



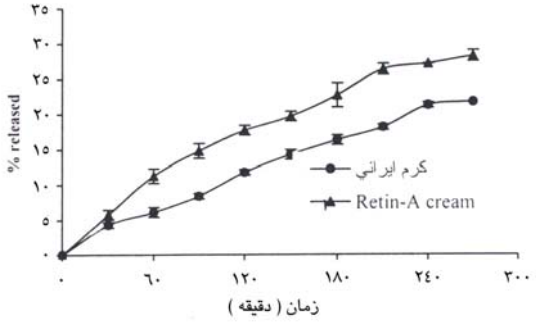
نمودار شماره ۲ : مقدار داروی عبور کرده از غشاء سنتتیک برحسب زمان (پایه های کرم)



نمودار شماره ۳ : مقدار داروی عبور کرده از غشاء سنتتیک برحسب زمان (پایه های لوسیون)



نمودار شماره ۴: مقدار داروی عبور کرده از پوست رت برحسب زمان (پایه های ژل)



نمودار شماره ۵: مقدار داروی عبور کرده از پوست رت برحسب زمان (پایه های کرم)

بحث و نتیجه‌گیری:

ترتینوئین فرم اسیدی ویتامین A است که در درمان آکنه ولگاریس مورد استفاده می‌باشد. این دارو در درمان برخی دیگر از اختلالات پوستی نظیر سندرم Kapsis، تظاهرات پوست Photodamaged نظیر پیگمانتاسیون،

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 6:01 +0430 on Thursday September 21st 2017

برطرف نمودن چین و چروک و پسوریازیس هم مورد استفاده قرار می‌گیرد.

در این مطالعه، سعی شده است دو فرآورده (ژل و کرم) ترتینوئین ساخت ایران با مشابه خارجی آن مقایسه گردند تا بتوان در صورت تشابه ویژگیهای فیزیکوشیمیایی آنها، مصرف‌کنندگان این فرآورده‌ها را به سمت استفاده از داروهای ساخت داخل سوق داد.

در مورد داورهایی مثل ترتینوئین سعی می‌شود تا سیستم آزادسازی به گونه‌ای طراحی شود که حداکثر اثربخشی ترتینوئین با کمترین حالت تحریک همراه باشد و پس از تجویز فرآورده دارو به تدریج جذب پوست گردد (۲۱، ۲۲). از این جهت یکی از مراحل طراحی فرمولاسیون موضعی، آزمایشهای Invitro و سپس Invitro به منظور ارزیابی آزادسازی و جذب پوستی دارو می‌باشد. در این تحقیق به منظور مقایسه فرآورده‌های مختلف از لحاظ آزادسازی دارو از پایه با یکدیگر، از غشاء سنتتیک استفاده گردید. علاوه بر آن انتخاب نوع فاز گیرنده بر اساس انحلال مناسب دارو در این فاز در نظر گرفته شد. با توجه به عدم انحلال مناسب ترتینوئین در آب و سایر حلالهای آبکی از حلالهای چربی دوست مانند ایزوپروپیل میریستات، ایزوپروپیل الکل و کلروفرم بعنوان فاز گیرنده در آزمایش آزادسازی استفاده شد. عدم آزادسازی مناسب ترتینوئین از فرآورده‌های کرم در ایزوپروپیل مریستات و نیز مشکل تبخیر کلروفرم در طول آزمایش و تشکیل حباب در حد فاصل غشاء و فاز گیرنده، سبب شد ایزوپروپیل الکل بعنوان فاز گیرنده مناسب تشخیص و به کار گرفته شود.

نتایج آزمایشات آزادسازی دارو از پایه‌ها (فرآورده‌ها)ی مختلف در یک فاصله زمانی ۵ ساعته بررسی شد (جدول شماره ۳). بطور خلاصه ترتیب کلی آزادسازی دارو از پایه‌های مختلف به صورت زیر می‌باشد:

Retin-A cream>کرم ایرانی>Reten-A gel>ژل ایرانی

مطالعه آزادسازی فرآورده‌های مختلف ترتینوئین با غشاء سنتتیک نشان داد که الگوی آزادسازی دارو از پایه‌های لوسیون و ژل با پایه‌های کرم متفاوت است (لوسیون ایرانی به دلیل داشتن ترتینوئین بالا از مقایسه حذف شد). در حالیکه درصد داروی آزاد شده از ژل و کرم ایرانی پس از ۵ ساعت به ترتیب برابر ۳۲/۸ و ۴۲ درصد محاسبه شد، این میزان در مورد ژل Retin-A برابر ۴۰ درصد و در مورد کرم Retin-A ۴۶ درصد بدست آمد علاوه بر آن بیشترین درصد آزادسازی دارو مربوط به کرم Retin-A می‌باشد (جدول ۳ و نمودارهای ۱، ۲، ۳).

هدف از انجام آزمایش اندازه‌گیری یمیزان عبور دارو از پوست جدا شده موش صحرایی مطالعه دقیق‌تر کینتیک نفوذ ترتینوئین در پوست و نیز مطالعه تأثیر حاملها روی جذب پوستی دارو می‌باشد (جدول شماره ۵). بطور خلاصه میزان داروی عبور کرده از پوست رت پس از ۴/۵ ساعت در مورد فرآورده‌های مختلف به قرار زیر است:

Retin-A cream>Retin-A gel>کرم ایرانی>ژل ایرانی

به منظور دستیابی به یک مدل کینتیکی ایده‌آل جهت تفسیر نتایج بدست آمده، مدلهای کینتیکی مختلف شامل درجه صفر، درجه یک و هیگوچی مورد استفاده قرار گرفت نتایج آزمون ANOVA و مقایسه آماری ضرایب همبستگی داده‌های مختلف آزادسازی دارو در هر دو روش غشاء سنتتیک و پوست رت نشان داد در حالیکه آزادسازی و عبور دارو از پوست در پایه ژل ایران و ژل Retin-A از معادله هیگوچی پیروی می‌کند، در پایه کرم ایرانی و کرم Retin-A، معادله درجه ۱ بیانگر نحوه آزادسازی دارو می‌باشد. مقایسه شیب منحنی آزادسازی در مورد هر دو دسته از فرآورده‌ها (ژل و کرم) نشان داد شیب منحنی آزادسازی فرآورده‌های خارجی بزرگتر از فرآورده‌های ایرانی مشابه است ($p<0/05$) (جدول ۴ و ۶). مقایسه درصد داروی آزاد شده از فرآورده‌های مختلف با درصد داروی عبور کرده از پوست در حالت پلاتو در جدول شماره ۸ نشان داده شده است.

جدول شماره ۸ – مقایسه میزان داروی عبور کرده از پوست با میزان داروی آزاد شده پس از ۲۷۰ دقیقه

نام فرآورده	میزان داروی عبور کرده از پوست (٪)	میزان دارو آزاد شده (٪)
ژل ایرانی	۱۴/۲۸±۰/۷۱	۳۱/۳±۱/۵
کرم ایرانی	۱۶/۳±۰/۵	۳۲/۲±۱/۶
Retin-A gel	۲۴/۹±۱/۲	۳۸/۳±۱/۹
Retin-A cream	۲۲/۷±۱/۰	۳۸±۱/۹

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 6:01 +0430 on Thursday September 21st 2017

جدول شماره ۸ در واقع ارتباط بین یک آزمایش Invitro با آزمایشی Exvivo که در آن از سل دیفوزیون Franz استفاده شده را نشان می‌دهد. اینگونه مطالعات می‌تواند مدلهای تجربی مفیدی برای بررسی نحوه آزادسازی دارو از پایه‌های نیمه جامد و عبور آن از پوست محسوب گردند و به منظور بهبود فرمولاسیون اینگونه فرآورده‌ها بکار آیند.

لازم به ذکر است کنترل سرعت آزادسازی دارو بخصوص در مورد داروهای محرک (نظیر تینوئین) که پوست بایستی به مدت طولانی در معرض دارو قرار گیرد، حائز اهمیت است (۱۰). نتایج مطالعات Brisaert و همکاران نشان داد تهیه فرم لیپوزومال از ترتینوئین علاوه بر بهبود پایداری دارو می‌تواند سبب آهسته نمودن ریلیز آن در Invitro شود (۲۳).

در مطالعه حاضر، نتایج آزمایشات آزادسازی دارو نشان داد با وجود آنکه فرآورده‌های کرم و ژل ترتینوئین هر کدام از الگوی متفاوت آزادسازی پیروی می‌کنند لیکن با مقایسه درصد داروی آزاد شده و طول مدت زمان آزادسازی، رهش ترتینوئین از فرآورده‌های کرم (نسبت به ژل) آهسته‌تر و تدریجی‌تر صورت می‌گیرد. توجیه این موضوع آن است که با توجه به بالا بودن ضریب تفکیک ترتینوئین مقادیر بسیار کمی از آن در فاز آبکی (فاز خارجی) حل می‌شود و در تماس با غشاء یا پوست قرار می‌گیرد. در فرآورده کرم قسمت اعظم فاز خارجی را آب تشکیل می‌دهد در صورتیکه در فرآورده ژل، فاز خارجی از اتانول تشکیل یافته است. به نظر می‌رسد همین اختلاف فاز خارجی در هر دو فرآورده توجیه‌کننده اختلافات زمان آزادسازی دارو از دو فرآورده باشد.

با توجه به آنکه در فرآورده‌های ترتینوئین؛ رهش آهته ماده مؤثره ممکن است ایده‌آل باشد، فرمولاسیون‌های موضعی که قادر باشند دارو را به تدریج در اختیار پوست قرار دهند، ممکن است ترجیح داشته باشند. این فرآورده‌ها می‌توانند شامل فرآورده‌های موضعی رایج نظیر ژل‌ها و کرم‌ها و یا سیستم‌های دارورسانی موضعی نظیر لیپوزوم‌ها باشند. این موضوع بخصوص در مورد آن دسته از فرآورده‌های ترتینوئین که حاوی درصد بالاتری از دارو می‌باشند، حائز اهمیت است.

References — منابع

1. Tierney LM, McPhee S, Papadakis MA. Current medical diagnosis and treatment 2001. 40th ed. New York Mc Grow-Hill; 2001.
۲. آدرنگی، مسعود. فیزیولوژی پوست و داروهای پوستی. تهران: نشر آینه کتاب، جلد اول، صفحه ۳۷۰-۳۰۵ و ۱۳۷-۱۰۵، ۱۳۶۹.
3. Creene J, Harris D. Pathology and therapeutic for pharmacists. New York: Mc Grow-Hill; 1993.
4. Habif PT. Clinical Dermatology: a color guide to diagnosis and therapy. 3rd ed. St.Louis: Mosby; 1996.
5. Banker G, Rhodes C. Modern pharmaceutics. New York: Marcel Dekker; 1996.
6. Sloan K. Prodrugs. Topical and ocular drug delivery. New York: Marcel Dekker; 1992.
7. Kydonieus A, Berner B. Transdermal delivery of drugs. Florida: CRX press; 1987.
8. Osborne D, Amann A. Topical drug delivery formulations. New York: Marcel Dekker; 1990.
9. Hsieh D. Drug permeation enhancement: theory and application. New York: Marcel Dekker; 1994.
10. Jenning V, Schafer M, Gohla S. Vitamin A-loaded solid lipid nanoparticles for topical use: dryg release properties. *Journal of Controlled Release*. 1996;200(66):115-126.
11. Lackman L, Deluce P. The theory and practice of industrial pharmacy. Philadelphia: Lea & Febiger; 1986.
12. Barber A. Piroxicam release form dermatogical bases: in-vitro studies using cellulose membrane and hairless mouse skin. *Drug Der Ind Pharm*. 1990;16(3):523-540.
13. Rebelo ML, Pina ME. Release kinetics of tretinoin form dermatological formulation. *Drug Der Ind Pharm*. 1997;23(7):723-730.
14. The United States Pharmacopeia. 23rd ed. Washington; 1995.
15. The United States Pharmacopeia, 22nd ed. Washington; 1990.
16. Poucher WA. Pucher's perfumes, cosmetics and soaps. 9th ed. London: Chapman & Hall; 1993.

17. Connors K. Textbook of pharmaceutical analysis. New York: Wiley interscience; 1982.

۱۸. افشین‌نیا، منوچهر. روشهای آماری و کاربرد آن در علوم. انتشارات اتا، صفحه ٤٧٢-٤٧٠، ١٣٧٢.

۱۹. دانیل، وایل. اصول روشهای آمار زیستی. ترجمه محمدتقی آیت‌اللهی. تهران: انتشارات امیرکبیر، صفحه ٢٦٦-٢٦٣، ١٣٧٢.

۲۰. افشن‌نیا، فرساد. تحلیل کاربردی داده‌ها. راهنمای استفاده از نرم‌افزار SPSS. اصفهان: انتشارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی، صفحه ۸۱-۷۵، ۱۳۷۸.

21. Nigra P. Topical drug delivery composition and method. Available at URL: WWW.pharmcast.com/patents/022200 O G/6028/05-topical 022200 htm.
22. Hare PJ. Benzoyl peroxide gel compared with retinoic acid in acne vulgaris. *Br J Clin Pract*. 1975;29:63-66.
23. Brisaert M, Gabriels M, Matthijis V, Plaizier-Vercammen J. Liposomes with tretinoin and chemical evaluation. *J Pharm Biomed Anal*. 2001;26:909-917.

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 6:01 +0430 on Thursday September 21st 2017

Downloaded from hmj.hums.ac.ir at 6:01 +0430 on Thursday September 21st 2017