

کنترل فیزیکی 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 و لگاریس یکی از شایعترین بیماریهای پوستی است که در بالغین و بزرگسالان جوان دیده می‌شود و با ترکیبی از کم‌دون، پوستول، کیست و پیدایش 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 فیزیکی شیمیایی فرآورده‌ها نظیر تعیین pH پایداری ظاهری فرآورده، تعیین محتوی آب، کنترل میکروبی، تست سانتیفریژ، تست تغییرات دمایی، آزمایش سرد و گرم شدن، تست انجماد و نوب 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 سنتتیک در دمای 37 ± 0.5 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 فیزیکی شیمیایی در حد قابل قبول قرار داشتند. مقایسه ضرایب همبستگی مدلهای آزادسازی نشان داد که فرآورده‌های ژل از مدل هیگچی پیروی می‌کنند. در حالیکه الکوی آزادسازی برای کرمها از نوع معادله درجه اول می‌باشد ($p < 0.05$).

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 فارماپوتیکس - دانشکده

داروسازی - دانشگاه علوم پزشکی

اصفهان

اصفهان - ایران

مقدمه:

به صورت ترکیبی از کم‌دونها باز و بسته، پوستول، کیست و پیدایش اسکار با شدتهای متفاوت مشخص می‌شود (۲، ۱). 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

آکنه و لگاریس 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

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 (۵، 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 اسپکتروفوتومتری 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 ماکزیم جذب (λ_{max}) دارو در حلالهای مختلف (ایزوپروپیل الکل، ایزوپروپیل مریستات، کلروفرم و مخلوط کلروفرم با ایزوپروپیل الکل) میزان جذب UV دارو در محدوده طول موج ۳۰۰-۴۰۰ نانومتر (محدوده جذب اسپکتروفوتومتری ترتینوئین) اندازه‌گیری شد.

جهت رسم نمودار استاندارد و بررسی صدق قانون بیر-لامبرت غلظت‌های مختلفی از دارو (۱۰-۱۰۰ $\mu\text{g/ml}$) 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 λ_{max} ترتینوئین در حلالهای مختلف

حلال	ایزوپروپیل الکل	ایزوپروپیل مریستات	کلروفرم	ایزوپروپیل الکل-کلروفرم
λ_{max} (nm)	۲۵۳	۲۵۰	۳۶۵	۲۵۸

تعیین مقدار ترتینوئین در فرآورده‌های مختلف آن:
الف) تعیین مقدار در ژل ترتینوئین: وزنی معادل $370\mu\text{g}$ ترتینوئین از ژل با کلروفرم مخلوط شده به حجم 100ml

درجه وخامت آکنه انتخاب می‌گردد. اصول درمان بر مبنای سه پایه اصلی یعنی درمان سبور، 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 Stuttgart 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 (۴).

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 (۴).

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 (۵، ۶، ۷). 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 (۸، ۹).

در مورد داروهای 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.

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 ۵ ساعت برای هر یک از فرآورده‌های مورد بررسی به صورت سه تایی انجام گرفت.

آزمایشات ارزیابی فیزیکی شیمیایی فرآورده‌ها: این آزمایشات شامل بررسی یکنواختی ظاهر فرآورده، بررسی فرآورده از لحاظ عدم بروز کریمینگ و کئولسانس (۱۱، ۱۶)، آزمایشات پایداری شامل تستهای سانتریفوژ، تست تغییر دما، تست سرد و گرم شدن، آزمایشات انجماد و ذوب و بررسی رفتار رئولوژیک فرآورده‌ها بود (۱۶).

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 (۱۶، ۱۷).

روش انجام محاسبات 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 ۹۵٪ 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 λ_{max} ترتینوئین در حلالهای کلروفرم، ایزوپروپیل الکل، ایزوپروپیل مریستات و مخلوط کلروفرم با ایزوپروپیل

رسانده می‌شود. میزان جذب این مخلوط در طول موج ۳۶۵ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار ترتینوئین موجود در ژل از روی نمودار استاندارد محاسبه گردید (۱۴).

ب) تعیین مقدار در کرم ترتینوئین: وزنی معادل ۲۷۵۱۱g ترتینوئین از کرم در مخلوط کلروفرم-ایزوپروپیل الکل (۱:۱) وارد کرده به حجم ۱۰۰ml رسانده می‌شود. میزان جذب این مخلوط در طول موج ۳۵۸ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار ترتینوئین موجود در کرم از روی نمودار استاندارد محاسبه گردید (۱۵).

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 ۳۵۲ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار ترتینوئین موجود در لوسیون Steiva-A نیز محاسبه شد (۱۴).

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 ۵ 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، ۱۴). به کمک فرمول (۱) غلظت دارو در هر نمونه تعیین می‌گردید.

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

C_n = 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 صحرائی: 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 صحرائی نر نژاد Wistar با وزن ۲۵۰-۳۰۰g

جدول شماره ۲ - نتایج تعیین مقدار ترتینوئین در

فرآورده‌های مختلف ترتینوئین

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

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 ۴).

الکل (با نسبت ۱:۱) انجام شد، بدین منظور غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر از دارو، مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر λ_{max} 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 ۱-۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر خطی بوده ($r=0.999$) 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 ۳ - مقادیر درصد داروی آزاد شده از فرآورده‌های مختلف ترتینوئین در روش غشاء سنتتیک (n=۳)

درصد داروی آزاد شده				زمان (دقیقه)
ژل ایرانی	Retin-A gel	کرم ایرانی	Retin-A cream	
میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
۱۲/۴۲±۰/۶	۱۲/۷±۰/۴	۸/۱۶±۰/۴	۸/۶±۰/۴	۳۰
۱۹/۲±۰/۹۵	۲۱/۲±۱	۱۴/۳±۰/۷	۱۶/۳±۰/۸	۶۰
۲۳/۱±۱/۱	۲۴/۹±۱/۲	۲۰/۲±۱	۲۲/۶±۱/۱	۹۰
۲۷±۱/۳	۲۹/۵±۱/۷	۲۳/۷±۱/۱	۲۷/۷±۱/۳	۱۲۰
۲۹/۴±۱/۴	۳۴/۷±۱/۴	۲۸/۳±۱/۴	۳۲/۲±۱/۶	۱۵۰
۳۱/۳±۱/۵	۳۸/۳±۱/۹	۳۲/۲±۱/۶	۳۸±۱/۹	۱۸۰
۳۲/۲±۱/۶	۳۹/۴±۱/۹	۳۶±۱/۸	۴۲±۲/۱	۲۱۰
۳۲/۱±۱/۳	۳۹/۶±۱/۵	۳۹±۱/۹	۴۳/۷±۲/۲	۲۴۰
۳۲/۱±۱/۵	۳۹/۹±۱/۴	۴۱/۹±۲	۴۵/۸±۲/۳	۲۷۰
۳۲/۸±۰/۸	۴۰/۱±۱/۶	۴۲/۲±۱/۸	۴۶/۲±۲/۳	۳۰۰

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

درجه صفر		درجه یک		هیگوچی		نام فرآورده
K (h ⁻¹)	r	K* 1000(h ⁻¹)	r	K(h ^{-2/1})	R	
میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
۰/۱۴۰۵±۰/۰۰۰۵	۰/۸۷۳۴±۰/۰۰۲۱	۰/۷۵۶۱±۰/۰۲۷	۰/۹۰۷۴±۰/۰۰۱۲	۲/۳۰۹۴±۰/۱۴	۰/۹۹۱۸±۰/۰۰۰۴	ژل ایرانی
۰/۱۵۱±۰/۰۰۰۳	۰/۹۷۷±۰/۰۰۰۲	۰/۸۶۴۱±۰/۰۱۷	۰/۹۹۴۳±۰/۰۰۰۴	۲/۶۹۹۵±۰/۱۸	۰/۹۷۵۵±۰/۰۰۲۶	کرم ایرانی
۰/۱۷۸۹±۰/۰۰۰۷	۰/۹۳۴±۰/۰۰۰۹	۱/۰۱۵۷±۰/۰۰۹	۰/۹۶۵۱±۰/۰۰۲۶	۲/۸۴۵۸±۰/۰۰۳	۰/۹۹۰۴±۰/۰۰۰۴	Retin-A Gel
۰/۱۵۴۹±۰/۰۰۰۸	۰/۹۴۴۷±۰/۰۰۰۳	۰/۹۳۶۱±۰/۰۰۴	۰/۹۸۷۲±۰/۰۰۰۴	۲/۹۹۸۶±۰/۰۰۹	۰/۹۷۶۷±۰/۰۰۰۳	Retin-A Gream

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 ۵ و نمودارهای ۴ و ۵ 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 ۶ مشاهده می‌شود.

جدول شماره ۵ - مقادیر درصد داروی عبور کرده از پوست رت از فرآورده‌های مختلف ترتینوئین ($n=3$)

درصد داروی عبور کرده از پوست رت				
زمان (دقیقه)	Retin-A cream	کرم ایرانی	Retin-A gel	ژل ایرانی
۳۰	۵/۷۸±۰/۲	۴/۳±۰/۲۱	۸/۸۴±۰/۴۴	۷/۰۲±۰/۳۵
۶۰	۱۱/۳±۰/۶	۶/۱±۰/۳	۱۴/۳±۰/۷	۹/۵۲±۰/۴۶
۹۰	۱۴/۸±۰/۷	۸/۴±۰/۴۲	۱۷/۹±۰/۹	۱۰/۹±۰/۵۴
۱۲۰	۱۷/۷±۰/۹	۱۱/۸±۰/۶	۲۰/۴±۱	۱۲/۲±۰/۶
۱۵۰	۱۹/۷±۱	۱۴/۳±۰/۷	۲۲/۲±۱	۱۳/۳±۰/۶
۱۸۰	۲۲/۷±۱	۱۶/۳±۰/۵	۲۴/۹±۱/۲	۱۴/۲۸±۰/۷۱
۲۱۰	۲۶/۴±۱/۳	۱۸/۱±۰/۹	۲۵/۱±۰/۷	۱۴/۴±۰/۶
۲۴۰	۲۷/۲±۱/۴	۲۱/۳±۱	۲۵/۱۵±۰/۷	۱۴/۴۵±۰/۷۳
۲۷۰	۲۸/۳±۱/۴	۲۱/۹±۰/۹	۲۵/۲۵±۰/۹	۱۴/۵۵±۰/۳۵

جدول شماره ۶ - ضریب همبستگی و ثابت آزادسازی فرآورده‌های مختلف ترتینوئین در روش شامل پوست رت

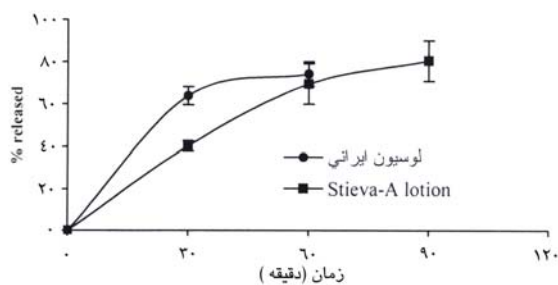
نام فرآورده	هیگوچی		درجه یک		درجه صفر	
	K(h ⁻¹) میانگین±انحراف معیار	R میانگین±انحراف معیار	K* 1000(h ⁻¹) میانگین±انحراف معیار	r میانگین±انحراف معیار	K(h ⁻¹) میانگین±انحراف معیار	r میانگین±انحراف معیار
ژل ایرانی	۱/۰۶۳۱±۰/۰۴	۰/۹۸۹۳±۰/۰۰۱	۰/۳۳۰۶±۰/۰۱	۰/۸۶۳۶±۰/۰۰۵	۰/۰۶۹۹±۰/۰۰۱۱	۰/۰۸۴۷۲±۰/۰۰۶
کرم ایرانی	۱/۲۱۷۶±۰/۰۴۵	۰/۹۴۰۳±۰/۰۰۱	۰/۴۱۵۸±۰/۰۱۹	۰/۹۹۲۹±۰/۰۰۱	۰/۰۸۸۸±۰/۰۰۴۸	۰/۹۹۰۸±۰/۰۰۱
Retin-A Gel	۱/۸۷۷±۰/۱۴	۰/۹۹۶۱±۰/۰۰۱	۰/۶۴۷۲±۰/۰۰۴	۰/۹۴۱۲±۰/۰۰۱	۰/۱۲۲۸±۰/۰۰۷۷	۰/۹۲۰۱±۰/۰۰۱
Retin-A Gream	۱/۷۲۷±۰/۰۰۵	۰/۹۷۸۴±۰/۰۰۱	۰/۵۹۶۵±۰/۰۱۴	۰/۹۸۷۴±۰/۰۰۱	۰/۱۰۶۳±۰/۰۰۷۶	۰/۹۶۲۷±۰/۰۰۵

نتایج آزمایشات ارزیابی فیزیکی شیمیایی 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 سانتیفریژ 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 (۴°C)، دمای معمولی (۲۵°C)

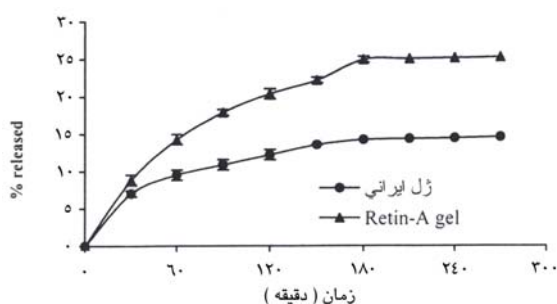
و دمای آون (۳۷°C-۴۵°C) نشان داد هیچگونه تغییر ظاهری و قابل مشاهده‌ای (مانند تغییر رنگ، بو، یکنواختی، کریمینگ و کئولسانس) در این فرآورده‌ها اتفاق نمی‌افتد و آنها کیفیت خود را در دماهای مختلف به خوبی حفظ کردند. نتایج بررسی رفتار رئولوژیک فرآورده‌های مختلف ترتینوئین در جدول ۷ مشاهده می‌گردد.

جدول شماره ۷ - نتایج حاصل از محاسبه تیکسوتروپی فرآورده‌ها

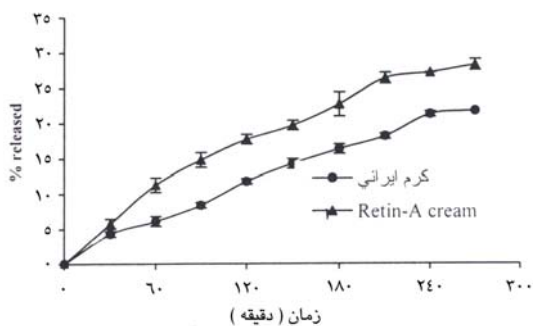
نوع فرآورده	مقدار تیکسوتروپی (Pa/sec)
کرم ایرانی	۲۰۷۴۰±۲۳۰
ژل ایرانی	۹۷۰۶±۲۲۷
Retin-A cream	۲۶۹۵۰±۳۸۰
Retin-A gel	۶۵۱۰±۱۱۰



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:

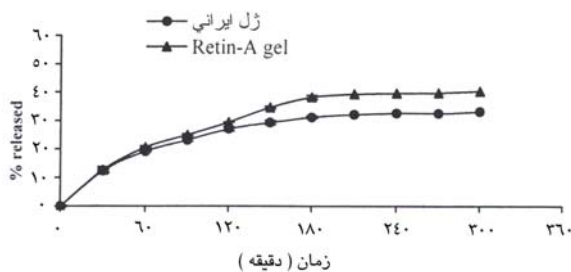
ترتینوئین فرم اسیدی ویتامین A است که در درمان آکنه و لگاریس مورد استفاده می‌باشد. این دارو در درمان برخی دیگر از اختلالات پوستی نظیر سندرم Kapsis، تظاهرات پوست Photodamaged نظیر پیگمانتاسیون،

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.

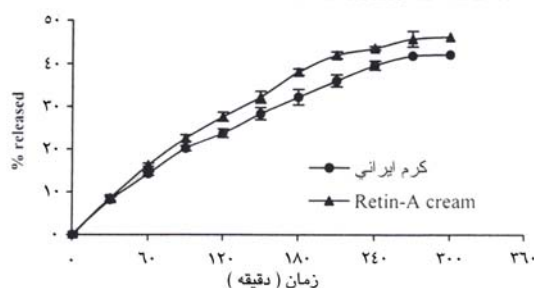
میانگین نتایج اندازه‌گیری میزان pH این فرآورده‌ها نشان داد pH لوسیون و کرم به ترتیب برابر $4/8 \pm 0/1$ و $4/99 \pm 0/1$ و pH ژل معادل $7/55 \pm 0/2$ می‌باشد.

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

مقایسه ضرایب همبستگی معادلات هیگچی، 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 هیگچی 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)

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 می‌میزان 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 هیگوجی 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 هیگوجی 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	۲۲/۲±۱/۶
Retin-A gel	۲۴/۹±۱/۲	۲۸/۳±۱/۹
Retin-A cream	۲۲/۷±۱/۰	۲۸±۱/۹

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 فیزیکی‌شیمیایی 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 آبی 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 میریستات 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 (فرآورده‌های 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> Retin-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

به ژل) آهسته‌تر و تدریجی‌تر صورت می‌گیرد. توجه این موضوع آن است که با توجه به بالا بودن ضریب تفکیک ترتینوئین مقادیر بسیار کمی از آن در فاز آبی (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 توجه‌کننده اختلافات زمان آزادسازی دارو از دو فرآورده باشد.

با توجه به آنکه در فرآورده‌های ترتینوئین؛ رهش آهسته 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.

جدول شماره ۸ در واقع ارتباط بین یک آزمایش Invitro با آزمایشی Exvivo که در آن 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

References

منابع

1. Tierney LM, McPhee S, Papadakis MA. Current medical diagnosis and treatment 2001. 40th ed. New York Mc Grow-Hill; 2001.
. 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. Habib PT. Clinical Dermatology: a color guide to diagnosis and therapy. 3rd ed. St.Louis: Mosby; 1996.
5. Banker G, Rhodes C. Modern pharmaceuticals. 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 dermatological 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.
- . افشین نیا، منوچهر. روشهای آماری و کاربرد آن در علوم. انتشارات اتا، صفحه ۴۷۲-۴۷۰، ۱۳۷۲.
- . دانیل، وایل. اصول روشهای آمار زیستی. ترجمه محمدتقی آیت‌اللهی. تهران: انتشارات امیرکبیر، صفحه ۲۶۶-۲۶۳، ۱۳۷۲.
- . افشین نیا، 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.

