

Research Paper

Preparation, Investigation of Physicochemical Properties and Stability of Azelaic Acid Gel Formulation



Saeed Ghasemi¹, Zahra Sabour², Mohammad Moazen², *Saeed Manoochehri²

1. Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

2. Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.



Citation Ghasemi S, Sabour Z, Moazen M, Manoochehri S. [Preparation, Investigation of Physicochemical Properties and Stability of Azelaic Acid Gel Formulation (Persian)]. *Journal of Guilan University of Medical Sciences*. 2024; 33(1):74-83. <https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.1.495.1>

<https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.1.495.1>



Received: 14 Aug 2023

Accepted: 02 Jan 2024

Available Online: 01 Apr 2024

ABSTRACT

Background Rosacea as a skin inflammatory disease may be triggered by some types of bacteria. Azelaic acid with antibacterial property can be used for treatment of skin conditions such as Rosacea.

Objective In this study, we aim to prepare and evaluate the physicochemical properties and primary stability of 15% azelaic acid gel.

Methods For the gel preparation, first, an aqueous solution containing ethylenediaminetetraacetic and benzoic acids was prepared. Then, a mixture of polysorbate 80 and triglyceride was added to the solution at 50°C. Then, lecithin, propylene glycol, and carbomer 940 P was added to the mixture, and stirred. After that, the gel was prepared. Then, 15 g of dissolved azelaic acid in propylene glycol was added to the gel. Finally, the formulation was homogenized for 15 min.

Results On the day of production, all the formulations had a smooth appearance and the amount of azelaic acid was about 15%. In the preliminary stability study for 3 months, the amount of azelaic acid in the formulation 5 (F5), prepared using homogenizer, was more than 99% of drug content, without any significant difference with other formulations. The released drug from F5 was 30% in the first hour and 50% after 2 hours.

Conclusion All prepared formulations have acceptable pH, viscosity, and drug content. In 3 months, the highest homogeneity of azelaic acid with the lowest standard deviation was seen in the F5 formulation, indicating the importance of using homogenizer in azelaic acid gel preparation. Also, the propylene glycol 18% w/w, in addition to having a co-solvent role, can increase the release of azelaic acid from the gel.

Keywords:

Azelaic acid, Rosacea, Gel, Stability

*** Corresponding Author:**

Saeed Manoochehri

Address: Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

Tel: +98 (13) 33486470

E-Mail: manoochehri@gums.ac.ir



مقاله پژوهشی

ساخت، بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و مطالعات پایداری فرمولاسیون ژل آزلائیک اسید

سعید قاسمی^۱، زهرا صبور^۲، محمد مؤذن^۲، سعید منوچهری^۲

۱. گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران.
 ۲. گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران.



Citation Ghasemi S, Sabour Z, Moazen M, Manoochehri S. [Preparation, Investigation of Physicochemical Properties and Stability of Azelaic Acid Gel Formulation (Persian)]. *Journal of Guilan University of Medical Sciences*. 2024; 33(1):74-83. <https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.1.495.1>

<https://doi.org/10.32598/JGUMS.33.1.495.1>

چکیده

تاریخ دریافت: ۲۳ مرداد ۱۴۰۲
 تاریخ پذیرش: ۱۲ دی ۱۴۰۲
 تاریخ انتشار: ۱۳ فروردین ۱۴۰۳

زمینه: آکنه روزاسه یک بیماری التهابی پوستی است که توسط برخی باکتری‌ها ایجاد می‌شود. آزلائیک اسید به دلیل فعالیت ضد میکروبی می‌تواند در بیماری‌های پوستی، از جمله آکنه روزاسه استفاده شود.

هدف: هدف از این مطالعه، تهیه، ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پایداری مقدماتی ژل آزلائیک اسید ۱۵ درصد است.

روش‌ها: برای تهیه ژل آزلائیک اسید ابتدا محلول آبی حاوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید و بنزوئیک اسید تهیه شد. سپس مخلوطی همگن حاوی پلیسوربات ۸۰ و تری گلیسیرید در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مخلوط اول اضافه شد. پروپیلن گلیکول، لسیتین و کرپومر ۹۴۰P به مخلوط فوق افزوده و ژل تشکیل شد. سپس محلول آزلائیک اسید در پروپیلن گلیکول به ژل افزوده شد. در نهایت، فرمولاسیون ژل ۱۵ دقیقه هموژنایز شد.

یافته‌ها: در روز ساخت، تمام فرمولاسیون‌های با ظاهر مناسب و میزان آزلائیک اسید حدود ۱۵ درصد بودند. در مطالعه مقدماتی پایداری ۳ ماهه، میزان آزلائیک اسید در فرمولاسیون (F5) (ساخته شده با هموژنایزر) بیشتر از ۹۹ درصد محتوای دارو شد، البته این فرمولاسیون تفاوت معناداری با سایر فرمولاسیون‌ها نداشت. میزان آزادسازی دارو از F5، در ساعت اول حدود ۳۰ درصد و پس از ۲ ساعت ۵۰ درصد شد.

نتیجه‌گیری: فرمولاسیون‌های ساخته شده از نظر pH، ویسکوزیته و محتوای دارو مناسب بودند. با توجه به شرایط مشابه نگهداری فرمولاسیون‌ها در طی ۳ ماه، در F5 بیشترین میزان همگن بودن آزلائیک اسید و کمترین مقدار انحراف معیار مشاهده شد که نشان‌دهنده اهمیت استفاده از هموژنایزر در فرایند ساخت ژل است. همچنین استفاده از پروپیلن گلیکول ۱۸ درصد وزنی / وزنی، علاوه بر نقش کمک حلالی می‌تواند سبب افزایش میزان رهش آزلائیک اسید شود.

کلیدواژه‌ها:

آزلائیک اسید، آکنه روزاسه، ژل، پایداری

* نویسنده مسئول:

سعید منوچهری

نشانی: رشت، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دانشکده داروسازی، گروه فارماسیوتیکس.

تلفن: ۳۳۴۸۶۴۷۰ (۱۳) ۹۸+

رایانامه: manoochehri@gums.ac.ir

مقدمه

باکتریایی پروپیونی باکتریوم در سطح پوست و فولیکول‌های سباسه می‌شود. همچنین آزلایک اسید فعالیت‌های ضد آنزیم تیروزیناز و ضد میتوکندریایی دارد و با کاهش رادیکال‌های آزاد، باعث کاهش فعالیت ملانوسیت‌ها و رشد آن‌ها در ملاسما می‌شود و هایپرپیگمنتاسیون موضعی ماکولا در پوست را متوقف می‌کند [۷]. سنتز دی‌ان‌ای باکتری در سیتوپلاسم این باکتری رخ می‌دهد، از این جهت آزلایک اسید برای رسیدن به این قسمت، باید از طریق لایه شاخی پوست در لایه درم عبور کند و سپس با عبور از چربی پپتیدوگلیکان‌های ضخیم باکتری پروپیونی باکتریوم به داخل سیتوپلاسم باکتری نفوذ کند [۸].

مطالعات متعددی روی فرمولاسیون‌های میکروامولسیون، لیپوزوم، ژل، کریستال مایع و فوم حاوی آزلایک اسید با هدف افزایش حلالیت در حامل و نفوذپذیری بیشتر از طریق پوست انجام شده است [۹]. فرمولاسیون ژل آزلایک اسید ۱۵ درصد در سال ۲۰۰۲ برای درمان آکنه روزاسه توسط سازمان غذا و داروی آمریکا تأیید شد [۹].

فرمولاسیون‌های موضعی ژل ۱۵ درصد و کرم ۲۰ درصد آزلایک اسید در بازار دارویی دنیا موجود است که فرمولاسیون ژل برای درمان آکنه روزاسه و فرمولاسیون کرم برای درمان آکنه وولگاریس توسط سازمان غذا و داروی آمریکا تأیید شده‌اند. در بسیاری از کشورهای اروپایی فرمولاسیون ژل به صورت استفاده خارج از دستور (Off Label) برای درمان آکنه وولگاریس نیز استفاده می‌شود [۱۰].

فرمولاسیون ژل آزلایک اسید مزایایی نسبت به فرمولاسیون کرم دارد. از جمله این مزایا می‌توان به بارگیری دز کمتر آزلایک اسید و ماندگاری بیشتر روی پوست که سبب افزایش آزادسازی دارو و فراهمی زیستی می‌شود، اشاره کرد. علاوه بر این، فرمولاسیون ژل بدون آسیب به پوست یا کاهش محتوای آب اپیدرمی می‌تواند به درون پوست نفوذ کند و به همین دلیل یک گزینه درمانی مناسب در درمان آکنه روزاسه پاپولوپوسچولار التهابی است [۱۱].

در سال‌های گذشته مطالعاتی [۱۲، ۱۳] در خصوص فرمولاسیون کرم آزلایک اسید انجام شده و این فرمولاسیون در حال حاضر در بازار دارویی ایران موجود است، اما فرمولاسیون ژل تاکنون به بازار دارویی ایران ارائه نشده است؛ بنابراین هدف از مطالعه حاضر تهیه و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی فرمولاسیون ژل آزلایک اسید و مطالعات پایداری مقدماتی فرمولاسیون است.

آکنه یک بیماری التهابی پوستی بسیار شایع است که به عنوان جوش نیز شناخته می‌شود. جوش‌ها معمولاً در صورت، قفسه سینه، بالای کمر و گردن یافت می‌شوند. پروپیونی باکتریوم و استافیلوکوکوس اورئوس از باکتری‌های ایجادکننده آکنه هستند [۱]. بروز آکنه با بسیاری از عوامل، از جمله ترشح سبوم، سطح هورمون‌ها، عفونت باکتریایی و واکنش‌های التهابی ارتباط نزدیک دارد که در این میان تغییرات ترشح سبوم یکی از عوامل مهم بروز آکنه به شمار می‌آید [۲].

فعالیت اصلی غدد چربی بالغ، تولید و ترشح سبوم است که حاوی مخلوط پیچیده‌ای از لیپیدهاست. ترکیب سبوم بین گونه‌ها متفاوت است که این تفاوت احتمالاً به علت عملکرد متنوع سبوم است [۳]. افزایش دفع سبوم عامل اصلی ایجاد آکنه است. سایر عملکردهای غدد چربی، از جمله ترشح لیپیدهای پیش‌التهابی چربی، سیتوکین‌های مختلف تولیدشده در محل، پپتیدها و نوروپپتیدهای اطراف غدد چربی با ایجاد آکنه مرتبط هستند [۲].

آکنه روزاسه یک بیماری التهابی و مزمن پوستی است که اغلب گونه‌ها، بینی، چانه و پیشانی را درگیر می‌کند. تظاهرات این بیماری شامل اریتم مداوم صورت، پاپول، جوش، تلانژکتازی و گرگرفتگی مکرر است [۴]. شیوع روزاسه در جمعیت‌های روشن پوست بین ۲ تا ۲۲ درصد متغیر است [۵]. بیماری روزاسه اپیزودهای تشدید و بهبود دارد و در افراد با سنین بین ۳۰ تا ۵۰ سال دیده می‌شود. خانم‌ها بیشتر از آقایان درگیر این بیماری می‌شوند [۴].

درمان آکنه روزاسه شامل مراقبت‌های پوستی و دارودرمانی است. از درمان‌های غیردارویی می‌توان به مراقبت‌های پوستی نظیر خودداری از قرار گرفتن در معرض آفتاب و استفاده از کرم‌های ضد آفتاب و مرطوب‌کننده‌ها اشاره کرد.

درمان‌های دارویی موضعی مورد تأیید سازمان غذا و داروی آمریکا برای درمان بیماری آکنه روزاسه شامل فرمولاسیون‌های موضعی سولفات استامید سدیم، مترونیدازول و آزلایک اسید است [۶].

آزلایک اسید یک دی کربوکسیلیک اسید با زنجیره مستقیم دو $4/53$ pKa و $5/33$ و حلالیت محدودی در آب دارد. آزلایک اسید، فعالیت ضد میکروبی علیه پروپیونی باکتریوم آکنه و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس دارد. این عملکرد ضد میکروبی ممکن است به دلیل مهار سنتز پروتئین‌های سلول میکروبی باشد. با این سازوکار، آزلایک اسید سبب کاهش جمعیت

روش‌ها

آشکارساز آرایه دیودی (PDA)، سطح زیرمنحنی (AUC) در طول موج ۲۱۲ نانومتر خوانده شد [۱۵].

سپس ۱ گرم ژل توزین شد و به بشر ۱۰۰ میلی لیتری انتقال داده شد. ۶۰ میلی لیتر متانول به بشر افزوده شد. مخلوط تهیه شده در داخل حمام آب در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده شد تا محلول یکنواختی تشکیل شود. سپس محلول تازه تهیه شده با متانول به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. ۲ میلی لیتر از محلول تهیه شده با فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرومتر صاف شد. نمونه فیلتر شده داخل ویال برای تعیین مقدار توسط HPLC ریخته شد.

برای تعیین مقدار آزلائیک اسید از ستون C18 و متانول گرید HPLC-بافر فسفات (۲۰:۸۰) به عنوان فاز متحرک استفاده شد. بافر فسفات با pH ۴/۸ و مولاریته ۰/۰۵ تهیه شد. به منظور ثابت شدن فشار دستگاه، ستون به مدت ۶۰ دقیقه توسط فاز متحرک شست و شو داده شد. در ادامه، مقدار سطح زیر نمودار پیک در طول موج ۲۱۲ نانومتر اندازه گیری شد. این آزمایش روی فرمولاسیون های F۳، F۴ و F۵ (هر کدام ۳ مرتبه) تکرار شد.

تعیین pH فراورده

برای تعیین pH فراورده از دستگاه pH متر Metrohm استفاده شد. ۵ گرم از هر یک از فرمولاسیون های F۳، F۴ و F۵ توزین و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. pH نمونه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد توسط دستگاه pH متر اندازه گیری شد.

اندازه گیری ویسکوزیته

برای تعیین ویسکوزیته فرمولاسیون ژل از دستگاه ویسکومتر Brookfield مدل DV-II با اسپیندل ۵ (در ۲ سرعت برشی ۳۰ و ۵۰ rpm) استفاده شد. این آزمایش روی فرمولاسیون های F۴ و F۵ که مقادیر فرمولاسیون یکسان و شرایط ساخت متفاوتی داشتند، انجام شد. نحوه اندازه گیری ویسکوزیته به این صورت بود که با اضافه کردن ۵۰ میلی لیتر از فرمولاسیون های F۴ و F۵ به داخل بشر و قرار دادن آن در دستگاه ویسکومتر، ویسکوزیته ژل ها اندازه گیری شد. این تست در دمای ۲۳ درجه سانتی گراد انجام شد.

تست رهش دارو

برای اندازه گیری رهش آزلائیک اسید در فرمولاسیون ژل از روش سل فرانس^۴ استفاده شد. سل انتشار فرانتس از ۲ قسمت دهنده و گیرنده تشکیل شده که توسط غشایی از هم جدا شده اند [۱۶]. با توجه به این که محیط گیرنده باید قابلیت ایجاد

آزلائیک اسید، سدیم هیدروکساید، پتاسیم دی هیدروژن فسفات، پلی سوربات، بنزوئیک اسید، پروپیلن گلیکول، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید^۲ و اتانول ۹۶ درصد از شرکت مرک^۳ آلمان، کربومر ۹۴۰P از شرکت کورل فارما کم هند، لسیتین از شرکت داکسان کره جنوبی، تری گلیسیرید از شرکت نوتریشیا هلند و متانول از شرکت دکتر مجلی ایران خریداری شدند.

فرمولاسیون ژل آزلائیک اسید

فرمولاسیون ژل آزلائیک اسید طی چند مرحله و با استفاده از روش ارائه شده در مطالعات در چند مرحله تهیه شد [۱۴]. ابتدا در یک بشر، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید و بنزوئیک اسید در آب مقطر حل شدند (مرحله ۱). سپس در بشر دیگری مخلوطی همگن حاوی ۱/۵ گرم پلی سوربات ۸۰ و ۲ گرم تری گلیسیرید تهیه شد. مخلوط تهیه شده تا دمای ۵۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد و در همین دما به بشر اول اضافه شد، محتوای بشر توسط همزن مغناطیسی یکنواخت شد (مرحله ۲). در ادامه در بشر جداگانه ای مخلوط یکنواختی از پروپیلن گلیکول و لسیتین تهیه شد و طی هم زدن به مخلوط قبلی افزوده شد (مرحله ۳).

برای تشکیل ژل از کربومر ۹۴۰P استفاده شد. ابتدا مقدار ۱ گرم کربومر در مجاورت ۱۰ میلی لیتر آب قرار گرفت تا خیس شود. سپس کربومر خیس شده به مخلوط تهیه شده قبلی در دمای ۵۰ سانتی گراد اضافه شد. پس از پخش شدن کامل کربومر، سود به صورت قطره قطره به ترکیب تهیه شده اضافه شد تا در pH ۵ ژل کربومر تشکیل شود (مرحله ۴). سپس ۱۵ گرم آزلائیک اسید در پروپیلن گلیکول حل شد و به ژل تهیه شده افزوده شد. در نهایت، فرمولاسیون ژل حاوی آزلائیک اسید به مدت ۱۵ دقیقه با دستگاه همزن اورهد یکنواخت شد (مرحله ۵).

پس از ساخت فرمولاسیون های مقدماتی و انتخاب مقدار مواد تشکیل دهنده فرمولاسیون ژل (جدول شماره ۱)، به منظور بررسی تأثیر دستگاه های مختلف بر میزان یکنواختی آزلائیک اسید در فرمولاسیون ژل، از ترکیبی از دستگاه های هموزنایزر، همزن اورهد و همزن مغناطیسی در مراحل مختلف ساخت فرمولاسیون ژل استفاده شد (جدول شماره ۲). اجزای فرمولاسیون های F۳، F۴ و F۵ مشابه هستند.

تعیین مقدار آزلائیک اسید در ژل به روش HPLC

در ابتدا برای رسم منحنی استاندارد آزلائیک اسید، غلظت های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از آزلائیک اسید در متانول تهیه شد و با توجه به λ_{max} به دست آمده از

2. Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA)
3. Merck

4. Franz Cell

بررسی تعیین مقدار آزلائیک اسید در مطالعه پایداری طولانی مدت در بازه زمانی ۳ ماهه

بررسی تعیین مقدار آزلائیک اسید در فرمولاسیون ژل که پیشتر درباره آن صحبت شد، مربوط به زمان ساخت فرمولاسیون بود. در ادامه برای بررسی پایداری طولانی مدت آزلائیک اسید در فرمولاسیون ژل در بازه زمانی ۳ ماهه از روز ساخت، تعیین مقدار آزلائیک اسید در فرمولاسیون ژل F۵ در این بازه زمانی بررسی شد. با توجه به محدوده جغرافیایی کشور ایران، مطالعه پایداری طولانی مدت به مدت ۳ ماه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و رطوبت ۶۰ درجه سانتی گراد انجام شد. دما و رطوبت مورد نیاز توسط دستگاه محفظه پایداری شرکت Memmert تأمین شد.

یافته‌ها

از نظر ظاهری فرمولاسیون F۱ ظاهر مناسبی نداشت و پس از قرار گرفتن ژل در دست حالت شنی احساس می‌شد. در فرمولاسیون F۲ حالت شنی برطرف شد، اما فرمولاسیون ژل بسیار روان بود. در فرمولاسیون F۳ که با افزایش غلظت لسیتین و توسط دستگاه همزن اورهد ساخته شد، شکل ظاهری فرمولاسیون مناسب بود. همچنین فرمولاسیون‌های F۴ و F۵ نیز ظاهر مناسبی داشتند.

نتایج ویسکوزیته برای فرمولاسیون‌های F۴، F۵ با اسپندل ۵ در دمای ۲۳ درجه سانتی گراد در جدول شماره ۳ ذکر شده است. همچنین نتایج pH فرمولاسیون‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در روز ساخت بین ۴/۹ تا ۵/۱ بود. نتایج نشان داد pH فرمولاسیون‌ها در طی ۳ ماه حدود ۵ بود (جدول شماره ۳).

شرایط سینک برای آزلائیک اسید را داشته باشد، محیطی حاوی محلول بافر فسفات مونوبازیک با pH ۴/۸ و اتانول ۹۶ درصد با نسبت ۱:۱ برای آزمون رهش آزلائیک اسید در فرمولاسیون ژل در نظر گرفته شد [۱۷، ۱۸]. برای رسم منحنی استاندارد، غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میکروگرم در میلی لیتر از آزلائیک اسید در محلول حاوی بافر فسفات pH ۴/۸ و اتانول ۹۶ درصد با نسبت ۱:۱ تهیه شد و سطح زیر نمودار پیک در طول موج ۲۱۲ نانومتر توسط آشکارساز آرایه دیودی خوانده شد.

پس از آماده‌سازی، کیسه دیالیز ۳۰ دقیقه در محیط گیرنده قرار گرفت تا توسط محیط اشباع شود. برای انجام آزمایش رهش، ۳۵۰ میلی گرم فرمولاسیون F۵ توزین و روی کیسه دیالیز بخش شد. قسمت خروجی محفظه گیرنده با پارافیلیم پوشانده شد تا از تبخیر احتمالی اتانول و کاهش حجم محیط گیرنده جلوگیری شود. سل فرانس در دستگاه انکوباتور شیکردار در شرایط معین (دمای ۳۲ درجه سانتی گراد و سرعت ۱۰۰ rpm) قرار داده شد. سپس در زمان‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ ساعت از محیط گیرنده نمونه‌گیری شد. به این صورت که در هر یک از زمان‌های ذکر شده، ۱ میلی لیتر نمونه برداری انجام شد. در ادامه برای ثابت ماندن حجم محیط گیرنده، ۱ میلی لیتر از محیط تازه تهیه شده به محفظه گیرنده اضافه و مجدداً با پارافیلیم پوشانده شد. برای انجام آنالیز، محتوای میکروتیوب‌ها از فیلتر سرسرنگی ۰/۲۲ میکرومتر عبور داده و به داخل ویال HPLC انتقال داده شد. پس از تزریق به دستگاه HPLC، مقدار سطح زیر نمودار خوانده شد. این تست ۳ مرتبه برای فرمولاسیون F۵ تکرار شد.

جدول ۱. مقادیر مواد تشکیل دهنده فرمولاسیون‌های تهیه شده در آزمایش‌های مقدماتی

اجزای فرمولاسیون (w/w %)	F1	F2	F3
Azelaic acid	۱۵	۱۵	۱۵
Benzoic acid	۰/۱	۰/۱	۰/۱
EDTA	۰/۱	۰/۱	۰/۱
Carbopol 940	۱	۱	۱
Polysorbate 80	۱/۵	۱/۵	۱/۵
Lecithin	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۵
Propylene glycol	۱۲	۱۸	۱۸
MCT Oil	۲	۲	۲
Purified water	۶۸/۰۵	۶۲/۰۵	۶۱/۸

جدول ۲. دستگاه‌های استفاده‌شده در تهیه فرمولاسیون‌های F3، F4 و F5

فرمولاسیون	همونایزر در مراحل ۲ و ۳	همزن مغناطیسی در مراحل ۲ و ۳	همونایزر در مرحله ۵	همزن اورهد مرحله ۵
F3		●		●
F4		●	●	
F5	●		●	

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

شد. همچنین مقدار آزلائیک اسید موجود در فرمولاسیون F5 در ماه اول ۱۰۰/۲۵ درصد، در ماه دوم ۱۰۲/۹ درصد و در ماه سوم ۹۹/۵ درصد شد. میزان آزلائیک اسید در فرمولاسیون ژل F5 در طول مدت ۳ ماه بیشتر از ۹۹ درصد تعیین مقدار شد. نتایج به‌دست‌آمده از تعیین مقدار آزلائیک اسید در زمان‌های مختلف با روش تی‌تست در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ ارزیابی شد.

همان‌طور که ذکر شد برای بررسی رهايش آزلائیک اسید از ژل، منحنی استاندارد آزلائیک اسید در محیط حاوی محلول بافر فسفات مونوبازیک با pH ۴/۸ و اتانول ۹۶ درصد با نسبت ۱:۱ رسم شد، سپس پروفایل رهش آزلائیک اسید از فرمولاسیون ژل F5 در طی ۶ ساعت در این محیط بررسی شد. همان‌طور که در تصویر شماره ۳ مشاهده می‌شود در ساعت اول حدود ۳۰ درصد از دارو آزاد شد و پس از ۲ ساعت میزان آزادسازی آزلائیک اسید به حدود ۵۰ درصد رسید و رهش تا مدت زمان ۶ ساعت، افزایش معناداری نداشت.

تعیین مقدار آزلائیک اسید در ژل در روز ساخت و پایداری طولانی‌مدت (۱، ۲ و ۳ ماهه)

بر اساس منحنی استاندارد (تصویر شماره ۱) و پیک HPLC (تصویر شماره ۲) نتایج میانگین غلظت آزلائیک اسید در فرمولاسیون ژل در روز ساخت، ماه‌های اول، دوم و سوم در جدول شماره ۴ ذکر شده است. نتایج تعیین مقدار آزلائیک اسید فرمولاسیون‌های F3، F4 و F5 در روز ساخت در محدوده ۱۰۰ تا ۱۰۴ درصد قرار داشت.

نتایج تعیین مقدار آزلائیک اسید در فرمولاسیون‌های مختلف در پایان ماه‌های اول، دوم و سوم نشان داد (جدول شماره ۴) مقدار آزلائیک اسید در فرمولاسیون F3، در ماه اول ۹۹/۷۲ درصد، در ماه دوم ۹۶/۲۵ درصد و در ماه سوم ۱۰۰/۵ درصد بود. مقدار آزلائیک اسید در فرمولاسیون F4 در ماه‌های اول، دوم و سوم به ترتیب ۱۰۰/۳۹ درصد، ۹۷/۸۵ درصد و ۹۸/۷۶ درصد محاسبه

جدول ۳. ویسکوزیته و pH فرمولاسیون‌ها

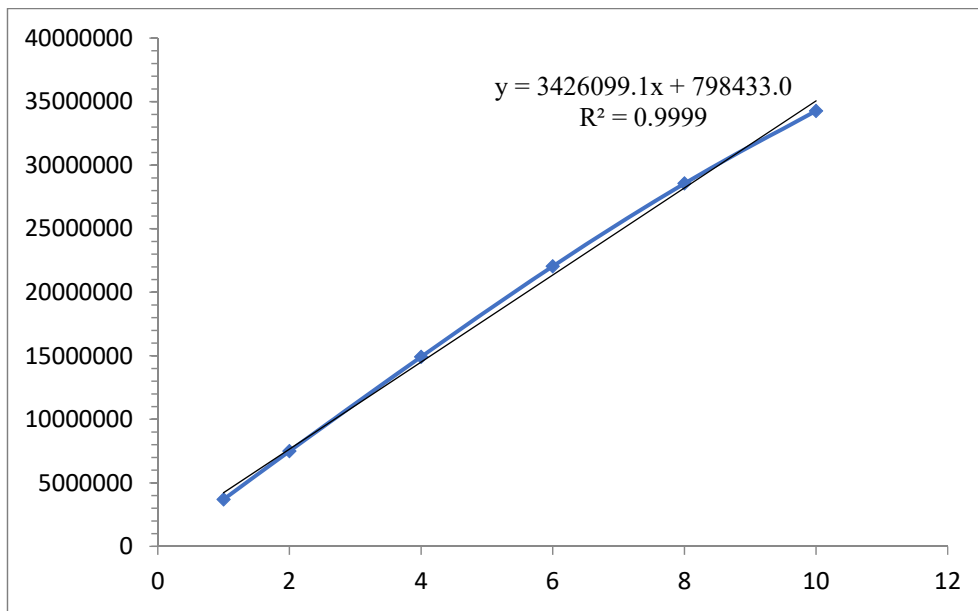
فرمولاسیون	ویسکوزیته (mPa.s)		pH (روز ساخت)	pH (پایان ماه اول)	pH (پایان ماه دوم)	pH (پایان ماه سوم)
	سرعت (rpm)					
F4	۳۰	۶۲۸۰	۵/۱	۵/۰۲	۵/۰۲	۵/۰۰
F5	۵۰	۵۷۵۲	۵/۰۰	۵/۱	۵/۱	۵/۰۰

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

جدول ۴. مقدار محتوای آزلائیک اسید و انحراف‌معیار آن در فرمولاسیون‌های مختلف ژل در روز ساخت و زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ماهه

فرمولاسیون	روز ساخت	انحراف‌معیار	ماه اول	انحراف‌معیار	ماه دوم	انحراف‌معیار	ماه سوم	انحراف‌معیار
F3	۱۰۱/۸۷	۱/۲۳	۹۹/۷۲	۲/۸۴	۹۶/۲۵	۱/۷۶	۱۰۰/۵	۴/۵۹
F4	۱۰۲/۸	۰/۱۴	۱۰۰/۳۹۵	۰/۷۱	۹۷/۸۵	۰/۲۱	۹۸/۷۶	۱/۷۶
F5	۱۰۱/۵	۰/۷۰	۱۰۰/۲۵	۰/۲۵	۱۰۲/۹	۰/۸۴	۹۹/۵	۰/۷۰

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان



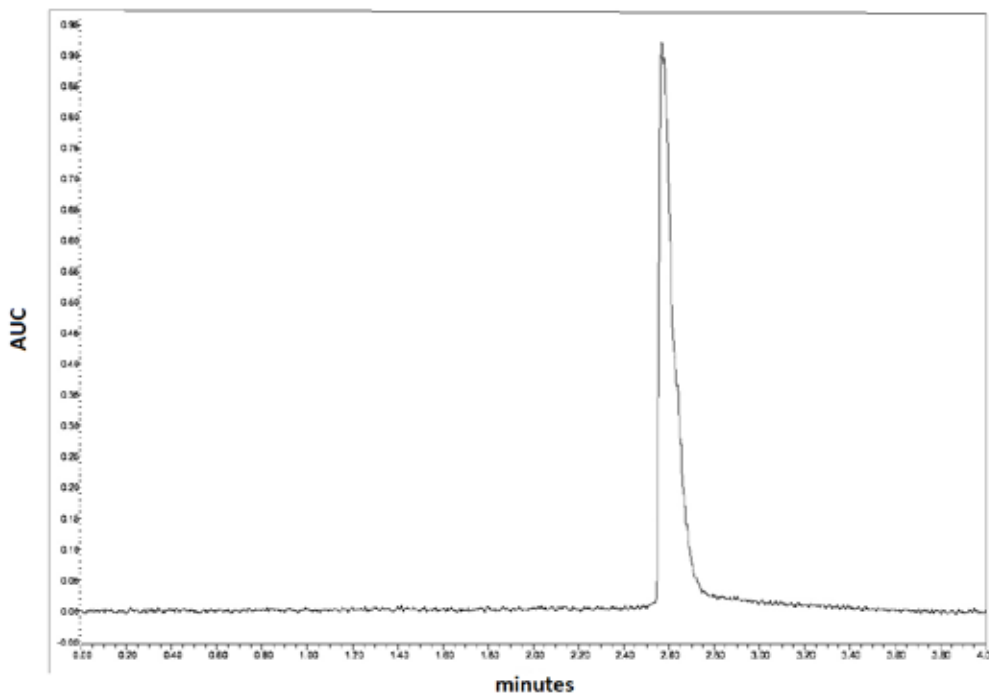
تصویر ۱. منحنی استاندارد آزلائیک اسید در حلال متانول

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

بحث

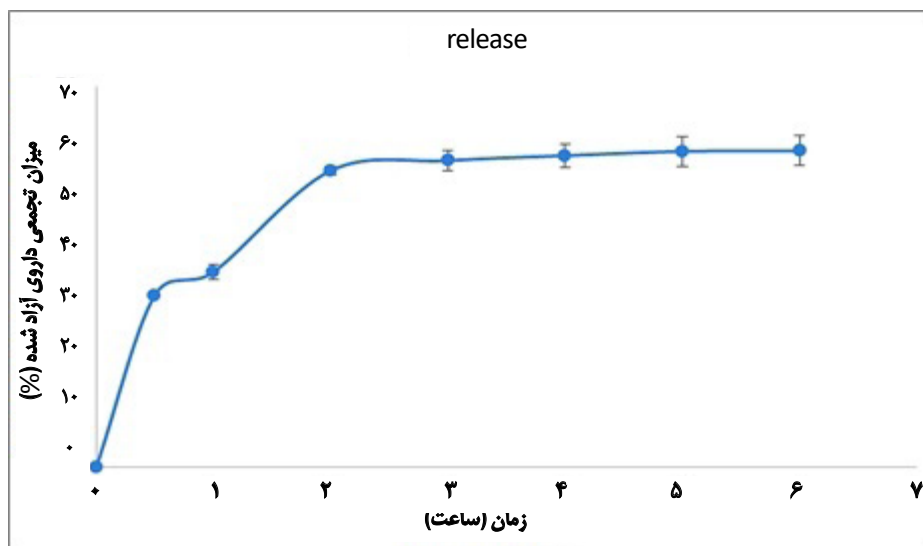
جمعیت با پوست‌های رنگی در آمریکا، آفریقا و آسیا تا ۱۰ درصد گزارش شده است [۱۹]. اگرچه تأثیرات آکنه روزانه بر سلامت جسمی فرد محدود است، اما تأثیرات عمیق روحی بر فرد مبتلا می‌گذارد؛ بنابراین درمان این بیماری تا حد زیادی باعث بهبود کیفیت زندگی فرد می‌شود [۶].

آزلائیک اسید یک دی کربوکسیلیک اسید طبیعی است و با کاهش ضایعات التهابی و اریتم در افراد مبتلا به آکنه روزانه سبب درمان بیماری آکنه می‌شود [۱۸]. شیوع این بیماری بین



تصویر ۲. کروماتوگرام HPLC آزلائیک اسید در طول موج ۲۱۲ نانومتر

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان



تصویر ۳. پروفایل رهائش آزلاتیک اسید از فرمولاسیون ژل F5 در طی ۶ ساعت

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان

به نظر می‌رسد با وجود شرایط نگهداری مشابه هر ۳ فرمولاسیون در طی ۳ ماه، استفاده از همزن‌های مغناطیسی و اورهد در فرمولاسیون F۳ سبب شده میزان همگن بودن آزلاتیک اسید در این فرمولاسیون کمتر باشد، اما مقدار آزلاتیک اسید در این فرمولاسیون نسبت به فرمولاسیون F5 در طی مدت ۳ ماه افت کمتری داشت؛ این نتایج می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت استفاده از نوع دستگاه در فرایند ساخت فرمولاسیون ژل برای حفظ یکپارچگی و همگنی فرمولاسیون در مدت طولانی باشد.

مطالعه آزمون تی‌تست نشان داد ۳ فرمولاسیون در مدت زمان مطالعه شده تفاوت معناداری با یکدیگر نداشتند؛ بنابراین برای نتیجه‌گیری مناسب‌تر بهتر است مطالعه پایداری در زمان‌های طولانی‌تری انجام شود یا نوع مطالعه پایداری به مطالعه تسریع شده تغییر یابد.

مقدار pH اندازه‌گیری شده در هر ۳ فرمولاسیون‌های F۴، F۳ و F5 در ماه‌های مختلف مطالعه نشان داد pH ژل در محدوده مناسب پوست قرار داشت و تغییر چندانی نکرد [۲۰، ۲۱]. ویسکوزیته ژل موضعی ساخته شده در مطالعه اوسیتومیوا و همکاران در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در بازه mPa.s5000 تا mPa.s9000 قرار داشت. نتایج ویسکوزیته مطالعه حاضر نیز در محدوده mPa.s5000 تا mPa.s9100 قرار داشت که با مطالعه فوق در یک راستا بود [۲۲].

بررسی نتایج حاصل از تست رهش فرمولاسیون F5 نشان داد آزادسازی دارو در ساعت اول ۳۵/۸ درصد بود و سپس تا ساعت دوم، آزادسازی به ۵۴/۴ درصد رسید. در ساعت سوم، افزایش معناداری در آزادسازی مشاهده نشد و تا پایان ساعت ششم، آزادسازی به ۵۸/۱ درصد رسید. المراج و همکاران، آزمایشی

با توجه به این‌که فرمولاسیون ژل موضعی آزلاتیک اسید در بازار دارویی ایران موجود نیست، در این تحقیق ساخت و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پایداری کوتاه‌مدت فرمولاسیون ژل موضعی ۱۵ درصد آزلاتیک اسید بررسی شد. با توجه به این‌که میزان انحلال‌پذیری آزلاتیک اسید در آب کم است، به طوری که میزان انحلال‌پذیری آن در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد ۲/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است؛ بنابراین انتخاب غلظت مناسب کمک حلال از اهمیت بسزایی برخوردار است.

در این مطالعه از پروپیلن گلیکول با ۲ نسبت ۱۲ و ۱۸ درصد وزنی / وزنی به عنوان کمک حلال در فرمولاسیون ژل استفاده شد، نتایج نشان داد افزایش میزان پروپیلن گلیکول هم‌زمان با افزایش غلظت لسیتین موجب تهیه فرمولاسیون ژل با قوام مناسب می‌شود. برای بررسی نقش دستگاه هموژنایزر و همزن اورهد در مراحل ساخت، نتایج انحراف‌معیار تعیین مقدار روز ساخت فرمولاسیون‌های F۳، F۴ و F5 بررسی شد. آزلاتیک اسید موجود در این فرمولاسیون‌های F۴ و F5 که توسط دستگاه هموژنایزر به خوبی هموزن شده بودند، به شکل مناسب‌تری در فرمولاسیون ژل پراکنده شدند و انحراف‌معیار کمتری نسبت به فرمولاسیون F۳ که توسط همزن اورهد تهیه شده بود، داشتند.

تعیین مقدار فرمولاسیون ژل F5 در بازه زمانی ۳ ماهه، میزان آزلاتیک اسید بیشتر از ۹۹ درصد را نشان داد، اما نتایج تعیین مقدار فرمولاسیون F۳ که فرایند ساخت آن توسط همزن مغناطیسی و همزن اورهد انجام شده بود، نشان داد مقدار آزلاتیک اسید در مدت زمان ۳ ماه کاهش داشته و این کاهش نسبی با افزایش انحراف‌معیار همراه بود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات گیتا الکن صابری، کارشناس آزمایشگاه فارماسیوتیکس که در این پژوهش ما را همراهی کردند، تشکر و قدردانی کنند.

برای افزایش میزان رهایش پیش‌داروی آزلائیک اسید انجام دادند و میزان درصد تجمعی آزلائیک اسید را بعد از ۶ ساعت حدود ۴۰ درصد محاسبه کردند [۱۷].

همچنین کاررر و همکاران در سال ۲۰۲۰ در پژوهش خود نشان دادند پروپیلن گلیکول در فرمولاسیون‌های موضعی می‌تواند به عنوان حلال کمکی و همچنین عاملی برای افزایش نفوذ دارو به پوست عمل کند [۲۳]. در نتیجه، به نظر می‌رسد افزایش مقدار پروپیلن گلیکول به میزان ۱۸ درصد وزنی / وزنی در فرمولاسیون F5 علاوه بر نقش کمک حلالی، می‌تواند سبب افزایش میزان رهش آزلائیک اسید شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، در فرمولاسیون ژل F5 که از ۳ مرحله هموزنایزر در فرایند ساخت آن استفاده شد و فرمولاسیون به خوبی یکنواخت شده بود، مقدار آزلائیک اسید در مدت زمان نگهداری تغییر محسوسی نداشته و انحراف معیار کمتری نسبت به سایر فرمولاسیون‌ها مشاهده شد. می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که استفاده از دستگاه هموزنایزر هنگام ساخت فرمولاسیون ژل آزلائیک اسید در همگن شدن بیشتر ژل مؤثر است و فرمولاسیون F5 همگن‌تر از سایر فرمولاسیون‌ها بوده و به عنوان فرمولاسیون بهینه انتخاب شد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه دکترای عمومی داروسازی به شماره ثبت د/۱۵۰ است. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی گیلان با کد اخلاق IR.GUMS.REC.1399.511 تصویب شد.

حامی مالی

این تحقیق هیچ‌گونه کمک مالی از سازمان‌های دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی و طراحی مطالعه: سعید منوچهری؛ کسب، تحلیل و تفسیر داده‌ها: سعید منوچهری، محمد مؤذن و سعید قاسمی؛ تهیه پیش‌نویس دست‌نوشته و تحلیل آماری: سعید قاسمی و سعید منوچهری؛ انجام مطالعه: زهرا صبور.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

References

- [1] Amrutbhai HH, Jaykumar PA, Narkhede SB. A review on azelaic acid emulgel for acne and hyperpigmentation. *Journal of Innovation in Pharmaceutical Sciences*. 2019; 3(1):16-21. [Link]
- [2] Li X, He C, Chen Z, Zhou C, Gan Y, Jia Y. A review of the role of sebum in the mechanism of acne pathogenesis. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2017; 16(2):168-73. [DOI:10.1111/jocd.12345] [PMID]
- [3] Picardo M, Ottaviani M, Camera E, Mastrofrancesco A. Sebaceous gland lipids. *Dermato-Endocrinology*. 2009; 1(2):68-71. [DOI:10.4161/derm.1.2.8472] [PMID]
- [4] van Zuuren EJ. Rosacea. *New England Journal of Medicine*. 2017; 377(18):1754-64. [DOI:10.1056/NEJMc1506630] [PMID]
- [5] Culp B, Scheinfeld N. Rosacea: A review. *Pharmacy and Therapeutics*. 2009; 34(1):38-45. [PMID]
- [6] Two AM, Wu W, Gallo RL, Hata TR. Rosacea: Part II. Topical and systemic therapies in the treatment of rosacea. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2015; 72(5):761-70. [DOI:10.1016/j.jaad.2014.08.027] [PMID]
- [7] Liu RH, Smith MK, Basta SA, Farmer ER. Azelaic acid in the treatment of papulopustular rosacea: A systematic review of randomized controlled trials. *Archives of Dermatology*. 2006; 142(8):1047-52. [DOI:10.1001/archderm.142.8.1047] [PMID]
- [8] Apriani EF, Rosana Y, Iskandarsyah I. Formulation, characterization, and in vitro testing of azelaic acid ethosome-based cream against *Propionibacterium acnes* for the treatment of acne. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 2019; 10(2):75-80. [DOI:10.4103/japtr.JAPTR_289_18] [PMID]
- [9] Hung WH, Chen PK, Fang CW, Lin YC, Wu PC. Preparation and evaluation of azelaic acid topical microemulsion formulation: In vitro and in vivo study. *Pharmaceutics*. 2021; 13(3):410. [DOI:10.3390/pharmaceutics13030410] [PMID]
- [10] Bergman D, Luke J. Azelaic acid. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*. 2017; 9(3):157-60. [DOI:10.1097/JDN.0000000000000309]
- [11] Gupta AK, Gover MD. Azelaic acid (15% gel) in the treatment of acne rosacea. *International Journal of Dermatology*. 2007; 46(5):533-8. [DOI:10.1111/j.1365-4632.2005.02769.x] [PMID]
- [12] Cunliffe WJ, Holland KT. Clinical and laboratory studies on treatment with 20% azelaic acid cream for acne. *Supplementum*. 1989; 143:31-34. [PMID]
- [13] Maddin S. A comparison of topical azelaic acid 20% cream and topical metronidazole 0.75% cream in the treatment of patients with papulopustular rosacea. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1999; 40(6 Pt 1):961-5. [DOI:10.1016/S0190-9622(99)70085-X] [PMID]
- [14] Franke P, Günther C, Riedl J. Composition with azelaic acid. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office; 2003. [Link]
- [15] Sharma A, Mishra A, Sharma S. Stability indicating simultaneous validation of azelaic acid, minoxidil and tretinoin with forced degradation behavior study. By Rp-Hplc in Pharmaceutical Dosage Form. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2016; 3. [Link]
- [16] Klimundová J, Satinský D, Sklenářová H, Solich P. Automation of simultaneous release tests of two substances by sequential injection chromatography coupled with Franz cell. *Talanta*. 2006; 69(3):730-5. [DOI:10.1016/j.talanta.2005.11.011] [PMID]
- [17] Al-Marabeh S, Khalil E, Khanfar M, Al-Bakri AG, Alzweiri M. A prodrug approach to enhance azelaic acid percutaneous availability. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2017; 22(4):578-86. [DOI:10.1080/10837450.2016.1200614] [PMID]
- [18] Jones DA. Rosacea, reactive oxygen species, and azelaic acid. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*. 2009; 2(1):26. [PMID]
- [19] Alexis AF, Callender VD, Baldwin HE, Desai SR, Rendon MI, Taylor SC. Global epidemiology and clinical spectrum of rosacea, highlighting skin of color: Review and clinical practice experience. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2019; 80(6):1722-9. e7. [DOI:10.1016/j.jaad.2018.08.049] [PMID]
- [20] Bandier J, Johansen JD, Petersen LJ, Carlsen BC. Skin pH, atopic dermatitis, and filaggrin mutations. *Dermatitis*. 2014; 25(3):127-9. [DOI:10.1097/DER.0000000000000045] [PMID]
- [21] Schmidt T, Zollner T, Friedrich M. Azelaic acid-comprising formulation with added pigment. United States patent application. 2012; Application No. 13/116,791. [Link]
- [22] Osipitan OO, Shi Y, Di Pasqua AJ. Phenethyl isothiocyanate-containing carbomer gel for use against squamous cell carcinoma. *Pharmaceutics*. 2021; 13(1):106. [DOI:10.3390/pharmaceutics13010106] [PMID]
- [23] Carrer V, Alonso C, Pont M, Zanuy M, Córdoba M, Espinosa S, et al. Effect of propylene glycol on the skin penetration of drugs. *Archives of Dermatological Research*. 2020; 312(5):337-52. [DOI:10.1007/s00403-019-02017-5] [PMID]

]