

بررسی اثر سیکلودکسترین در جذب ماده ضد آفتاب اکسی بنزون (Eusolex® 4360) از خلال پوست موش صحرائی

جواد شکری^{۱*}، داود حسن زاده^۱، هادی ولیزاده^۱، مینا دیزجی ایلخچی^۲، فرهاد کیا فر^۱

^۱ مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ^۲ گروه فارماسیوتیکس دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۰/۵، تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۲/۹

The effect of β -cyclodextrine on penetration of oxybenzone (Eusolex® 4360) sunscreen agent through rat skin

Shokri J.^{1,2*}, Hassan-zadeh D.¹, Valizadeh H.¹, Dizadji-ilkhchi M.², Kiafar F.¹

¹ Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, ² Drug Applied Research Center (DARC), Tabriz University of Medical Sciences

Received: 2007/12/26, Accepted: 2008/3/9

Objectives: The aim of this study was evaluation of the effect of complexation of with β -cyclodextrine (CDX) on transdermal absorption of oxybenzone and formulation of a sunscreen product with low transdermal absorption using this technique. **Methods:** In the first step, we designed a base for our formulation with suitable features in the case of appearance, viscosity and stability (including physical and chemical stability). Sunscreen-CDX Complexes were prepared by different methods including: Kneading, cogrinding and solvent evaporation. The performance of complexation process was assessed by DSC and FTIR spectra and coevaporation method was selected as the best complexation technique. Transdermal absorption studies were carried out on the base formulations with sunscreen, sunscreen plus CDX as simple physical mixture and sunscreen-CDX complexes. Transdermal studies were done using full thickness skin of wistar rats and Standard Franz diffusion cell equipment. Sunscreen in the samples taken from receptor phase of diffusion cells were analyzed by HPLC method. **Results:** Results showed that complexation with CDX can significantly decrease flux of sunscreen agent (14.5 fold lower than formulation without CDX) whereas formulation containing sunscreen-CDX physical mixture did not showed significant decrease in flux compared with CDX free formulation. (0.4477 and 0.3575 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ for formulation of sunscreen-CDX simple physical mixture and CDX free formulation respectively). Lag time of skin penetration also significantly increased with CDX in formulations containing sunscreen-CDX complex (2.53 and 1.88h for formulations containing sunscreen-CDX complex and CDX free formulations respectively). **Conclusion:** these results demonstrated the complexation with CDX can improve characteristics of sunscreen formulation prepared with Eusolex 4360 active ingredient significantly.

Keywords: Formulation, Sunscreen, Skin absorption, β -Cyclodextrine, Oxybenzone, Complexation.

زمینه و هدف: هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر کمپلکس ماده ضد آفتاب اکسی بنزون با سیکلودکسترین بر روی جذب پوستی این ماده ضد آفتاب و فرمولاسیون یا بهینه سازی فرمولاسیونهای ضد آفتاب موجود با استفاده از این تکنیک بمنظور کاهش جذب پوستی آنها می باشد. **روش ها:** در مرحله اول این مطالعه یک فرمولاسیون پایه قابل قبول از نظر شکل و خصوصیات ظاهری و پایداری فیزیکی و شیمیایی قابل قبول تهیه گردید. فرآیند کمپلکس کردن ماده مؤثره ضد آفتاب با سیکلودکسترین (CDX) با استفاده از روشهای مختلف شامل خمیر کردن، همسایش و تبخیر حلال انجام شد. کارایی فرآیند کمپلکس شدن با استفاده از طیفهای DSC و FTIR تعیین شده و بهترین روش کمپلکس کردن تعیین گردید. در مرحله بعد مطالعات مربوط به جذب پوستی انجام گرفت بدین ترتیب که از فرمولاسیونهای پایه حاوی ماده ضد آفتاب، حاوی ماده ضد آفتاب و CDX بصورت مخلوط فیزیکی و حاوی کمپلکس ماده ضد آفتاب و CDX جذب پوستی انجام گرفت. مطالعات جذب پوستی با استفاده از پوست کامل رتهای ویستار و سلهای دیفوزیون از نوع فرانز انجام شده و غلظت نمونه های گرفته شده (تا زمان ۶ ساعت) با استفاده از دستگاه HPLC تعیین گردید. **یافته ها:** بهترین روش برای کمپلکس کردن ماده ضد آفتاب با CDX روش تبخیر حلال تعیین گردید. نتایج نشان داد که کمپلکس CDX با این ماده ضد آفتاب کاهش بسیار قابل توجهی بر جذب پوستی آن دارد. کاهش در فلاکس ماده ضد آفتاب از فرمولاسیون حاوی کمپلکس Eusolex 4360-CDX بسیار قابل ملاحظه بود بطوریکه فلاکس دارو از فرمولاسیونهای حاوی کمپلکس نسبت به فرمولاسیونهای فاقد CDX در حدود ۱۴/۵ برابر کاهش نشان داد. (برای فرمولاسیون بدون CDX و ۰/۴۴۷۷ و ۰/۳۵۷۵ میکروگرم بر سانتیمتر مربع در ساعت برای فرمولاسیون حاوی کمپلکس Eusolex 4360-CDX) اما این کاهش فلاکس در مورد مخلوط فیزیکی CDX با ماده ضد آفتاب فوق در مقایسه با فرمولاسیون بدون CDX قابل ملاحظه نبود (۰/۴۴۷۷ برای فرمولاسیون بدون CDX در برابر ۰/۳۵۷۵ برای مخلوط فیزیکی). نتایج همچنین نشان داد که کمپلکس شدن با CDX علاوه بر کاهش فلاکس سبب افزایش قابل ملاحظه در زمان تاخیر جذب این ماده در پوست دارد بطوریکه زمان تاخیر در فرمولاسیون حاوی کمپلکس Eusolex 4360-CDX و فرمولاسیون بدون CDX بترتیب ۲/۵۳ و ۱/۸۸ ساعت می باشد که این مسئله نیز برتری فرمولاسیون حاوی کمپلکس با CDX را نشان می دهد. **نتیجه گیری:** این نتایج نشان میدهد که سیکلودکسترین در صورت ایجاد کمپلکس با مواد ضد آفتاب می تواند جذب پوستی آنها را بطور مؤثر و بسیار قابل ملاحظه ای کاهش دهد.

واژه های کلیدی: فرمولاسیون، ضد آفتاب، جذب پوستی، سیکلودکسترین، اکسی بنزون، کمپلکس کردن.

*Corresponding Author: Dr Javad Shokri, Associated Professor,
Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical
Sciences, Tel: 0411- 3376148; Fax: 0411- 3344798;
E-mail: shokri.j@gmail.com

*نویسنده مسئول: دکتر جواد شکری، دانشیار، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی
دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۷۶۱۴۸، نمابر: ۳۳۴۴۷۹۸

۱- مقدمه

فرآورده های ضد آفتاب و آفتاب سوختگی امروزه استفاده وسیعی در جوامع مختلف خصوصا در جوامع توسعه یافته و کشورهای با شدت آفتاب بالا پیدا کرده است. بالا رفتن اطلاعات و آگاهی های عموم مردم از فواید استفاده از این فرآورده ها و نیز آسیب لایه ازون اتمسفر کره زمین در بعضی از نقاط باعث گردیده تا استفاده از فرآورده های ضد آفتاب سوختگی روز بروز افزایش پیدا کند لذا تحقیقات در مورد این فرآورده ها در جهت بالا بردن کیفیت و کارایی ضد آفتاب، کاستن از عوارض ناخواسته و افزودن سازگاری فرآورده های ضد آفتاب با پوست از اهمیت و جایگاه ویژه ای برخوردار می باشد. فرآورده های ضد آفتاب موجود اغلب حاوی ترکیبات و مواد مؤثره ضد آفتاب سنتتیک هستند که عمدتا به دو دسته ضد آفتابهای فیزیکی و شیمیایی تقسیم می شوند. از معایب عمده ضد آفتابهای شیمیایی تجزیه آنها در نتیجه جذب پرتوهای پراثری UV، ایجاد حساسیتها و تحریکات پوستی، جذب در پوست و ایجاد عوارض جانبی سیستمیک، تداخل با سایر ضد آفتابهای شیمیایی موجود در فرآورده، ایجاد رادیکالهای آزاد و محدود بودن طیف حفاظتی این مواد می باشد (۴-۱). ضد آفتابهای فیزیکی مشکل جذب در پوست و تجزیه شیمیایی در نتیجه برخورد پرتوهای UV را ندارند اما مشکل عمده آنها (خصوصا تیتانیوم دی اکساید) ایجاد رادیکالهای آزاد در نتیجه جذب انرژی می باشد (۵). رادیکالهای ایجاد شده توسط این مواد می توانند سبب اکسید شدن چربیهای طبیعی پوست و ناپایداری مواد مؤثره ضد آفتاب شیمیایی موجود در فرآورده گردد (در مواردی که در فرآورده از مواد ضد آفتاب فیزیکی و شیمیایی بطور همزمان استفاده شده باشد). این رادیکال ها در دراز مدت می توانند سبب ایجاد تغییرات در DNA سلولهای پوست شده و پوست را مستعد ایجاد سرطان نمایند همچنین با اکسید کردن کلاژن و الاستین درم می توانند در دراز مدت، سبب از دست رفتن قابلیت انعطاف پوست و پیری (Aging) زودرس پوست گردند البته روشهایی برای کاهش این اثرات مضر انجام شده (۶ و ۷) که یکی از موفقترین این روشها استفاده از سیکلودکسترین ها می باشد. این مواد با در بر گرفتن مولکولهای ماده جاذب شیمیایی از تماس مستقیم آنها با پوست جلوگیری می کند. این مسئله سبب کاهش قابل ملاحظه جذب پوستی این مواد و در نتیجه کاهش عوارض جانبی موضعی از قبیل ایجاد تحریک، حساسیت، راشهای پوستی و عدم تحمل فرآورده و عوارض جانبی سیستمیک از قبیل تجمع دارو و ایجاد سمیت دارویی می گردد.

قرار گرفتن مولکولهای ماده جاذب در حفره مولکولی سیکلودکسترینها همچنین سبب کاهش شدت نور تابیده شده به مواد ضد آفتاب شیمیایی شده و در نتیجه رادیکالهای آزاد ایجاد شده از این مواد را کاهش می دهد (۶ و ۷). استفاده از مواد پایدار کننده، استفاده از مواد از بین برنده رادیکالهای آزاد (Free radical scavengers) و روکش دادن ذرات مواد مؤثره ضد آفتاب (۶ و ۷) نیز از جمله روشهایی است که برای کاهش عوارض جانبی فرآورده های ضد آفتاب حاوی مواد جاذب شیمیایی بکار برده شده اما هیچکدام از این روشها نمی توانند مانند سیکلودکسترینها جذب پوستی جاذبهای شیمیایی را کاهش دهند (۸ و ۹). سیکلودکسترینها علاوه بر کاهش دادن جذب پوستی مواد مؤثره ضد آفتاب، می توانند از ایجاد رادیکالهای آزاد توسط این مواد جلوگیری کرده (۹ و ۱۰) و پایداری شیمیایی آنها را افزایش دهند (۱۴-۱۱). برای ایجاد اثرات بهینه سیکلودکسترینها در فرآورده های ضد آفتاب باید نوع و غلظت بکار برده شده از این مواد کاملا بدقت تعیین گردد بعبارت دیگر باید بین مقدار ماده جاذب استفاده شده در فرمولاسیون و میزان سیکلودکسترین بکار رفته تعادل دقیقی موجود باشد. از طرف دیگر طرز اضافه کردن این مواد به فرمولاسیونها نیز باید بدرستی انجام گیرد تا پوشش ذرات ماده ضد آفتاب با سیکلودکسترین بطور کامل انجام شود. در این مطالعه سعی خواهد شد تا فرمولاسیونهایی از ماده جاذب شیمیایی اکسی بنزون که از مواد ضد آفتاب استاندارد و تایید شده می باشد با سیکلودکسترینها تهیه گردد که کمترین جذب پوستی و عوارض را داشته باشد.

۲- مواد و روش کار

۲-۱. مواد

پبودر خالص β -سیکلودکسترین ساخت Sigma Chemical Co, USA
ایزوپروپیل میریستات، ستیل الکل و استئاریل الکل ساخت، Merck, Germany
بنزوفنون ۳ (Oxybenzone) یا Eusolex 4360 ساخت Merck, Germany
ستیل پالمیتات Cutina CP-A, Henkel, KGaA, Germany
متیل پارابن و پروپیل پارابن ساخت Merck, Germany
کاغذ صافی Watmann filter paper Ashless No. 40 ساخت انگلستان
پارافیلیم ساخت American National Can-Greenwitch

و سپس پایداری آنها در حضور مواد مؤثره ضد آفتاب مورد بررسی قرار گرفت و پایدارترین فرمولاسیون پایه انتخاب گردید. فرمولاسیونهای انجام شده برای انجام تست پایداری اولیه، هر یک از فرمولاسیونها در سه لوله با اندازه یکسان ریخته شده و در سه دمای ۴ درجه (یخچال)، ۲۵ درجه (دمای اتاق) و ۴۰ درجه (آون) بمدت ۲۴ ساعت نگهداری شد و فرمولاسیونهایی که پس از این مدت سالم مانده بود جهت بررسی های بیشتر انتخاب شدند. هر یک از فرمولاسیونها پس از تهیه در سه ظرف جداگانه ریخته شده و در سه دمای مختلف برای مدت سه ماه نگهداری شدند تا از نظر پایداری فیزیکی مورد بررسی و ارزیابی قرار گیرند. دماهای استفاده شده شامل دمای یخچال (۴ درجه سانتیگراد)، دمای معمولی اتاق (۲۵ درجه) و دمای آون ۴۰ درجه سانتیگراد بود. جهت جلوگیری از ورود هرگونه آلودگی و مواد خارجی و نیز جهت جلوگیری از تبخیر آب گرمها دهانه ظروف محتوی کرم کاملاً بسته نگهداشته شد. در فواصل زمانی دو هفته یکبار فرمولاسیونهای تحت بررسی از نظر پایداری فیزیکوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند. پارامترهای مقایسه ای مورد استفاده شامل رنگ، بو، قوام، کرمی شدن، شفافیت، چروک خوردگی سطح کرم، یکنواختی رنگ و سایر خواصی که باید در یک پایه کرم خوب مورد توجه قرار گیرد مانند درخشندگی و ظاهر مطلوب. از بین فرمولاسیونهای تهیه شده در بالا سه فرمولاسیون برتر (F2، F3 و F4) پس از تست پایداری انتخاب و برای مراحل بعدی کار از آن استفاده شد.

۲-۳-۲: **طریقه اضافه کردن مواد مؤثره به فرمولاسیون پایه**

نمونه های کرم تهیه شده در این مطالعه شامل چهار نوع نمونه بود اول پایه بدون ماده ضد آفتاب و سیکلودکسترین، دوم پایه حاوی ضد آفتاب و بدون سیکلودکسترین، سوم پایه حاوی ضد آفتاب و سیکلودکسترین بصورت اختلاط ساده و چهارم پایه حاوی کمپلکس ضد آفتاب و سیکلودکسترین. مقدار درصد ماده مؤثره در تمام فرمولاسیونهای حاوی ضد آفتاب ۲ درصد وزنی/حجمی در نظر گرفته شد. در نمونه های نوع دوم با توجه به محلولیت در روغن مناسب ماده ضد آفتاب استفاده شده در مطالعه این مواد در فاز روغنی حل شده و سپس بقیه مراحل تهیه امولسیون شامل اضافه شدن فاز روغنی و آبی به یکدیگر انجام گرفت. برای تهیه نمونه های نوع سوم ماده ضد آفتاب بهمراه سایر مواد محلول در روغن به فاز روغنی و سیکلودکسترین به فاز آبی فرمولاسیون اضافه شده و در آنها حل گردید سپس دو فاز در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد بهم

پتاسیم دی هیدروژن فسفات، سود و سدیم کلراید جهت تهیه بافر فسفات ایزوتون ساخت Merck, Germany گریز سیلیکون (GREASIL 4000 IDC Limited. EU, England)

کلروفرم ساخت Merck, Germany
وسایل شیشه ای مصرفی

۲-۲: **دستگاه ها**

دستگاه طیف سنجی

(Shimadzu DSC 60, Kyoto, JAPAN) DSC

دستگاه FTIR از نوع BOMEM MB-100, CANADA

دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu mini 1240, Japan) UV

دستگاه HPLC از نوع Shimadzu, JAPAN(SCL10A_{VP})

مجهر به دکتور UV

دستگاه اندازه گیری جذب پوستی

Erweka HDT6, Germany مجهز به ۶ سل شیشه ای فرانز و

بهمزن مغناطیسی

دستگاه آسیاب گلوله ای از نوع FRITSCH ساخت آلمان

با دور قابل تنظیم

دستگاه مخلوط کن خمیر از نوع ERWEKA AR-400, Germany

دستگاه تقطیر در خلاء از نوع

Heidolph WB-2000 Germany

پمپ خلا قوی (Cenco- USA)

بهم زن مغناطیسی Velp-Italy

آون با دمای قابل تنظیم

موتراش برقی Moser, Germany

لوازم جراحی جهت جدا کردن پوست حیوان

۲-۳: **روش کار**

۲-۳-۱: **تهیه کرم پایه**

برای تهیه کرم از معکوس شدن فاز استفاده گردید. ابتدا اجزاء فاز روغنی بهمراه سورفکتانتها وزن شده و داخل یک بشر ریخته شد. این اجزاء روی بنماری به درجه حرارت ۷۰ درجه سانتیگراد رسانده شد تا کاملاً ذوب شوند. در حین ذوب شدن محتویات بشر بهم زده میشد تا بطور یکنواخت مخلوط شوند سپس آب حاوی مواد محافظت کننده به آرامی و در حال بهم خوردن به فاز روغنی اضافه شد. دمای آب محافظت شده به ۱۰ درجه بالاتر از فاز روغنی رسانده شد تا در مدت زمان ریخته شده بر روی فاز روغنی دمای آن کمتر از فاز روغنی نشود. عمل هم زدن با دور ۶۰۰rpm و بطور یکنواخت تا سرد شدن محتویات ادامه یافت. برای تهیه کرم پایه فرمولاسیونهایی تهیه شد که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. از آنجائیکه HLB مواد مؤثره بکار برده شده و میزان تاثیر آنها بر HLB پایه نامشخص بود لذا ناگزیر چند فرمولاسیون پایدار مختلف برای پایه تعیین کرده

اضافه شده و امولسیون تشکیل گردید. در نمونه های نوع چهارم از کمپلکس ضد آفتاب و سیکلودکستین استفاده شد. کمپلکس مواد ضد آفتاب و سیکلودکستین از لحاظ خصوصیات ظاهری نسبت به هر دو ماده فوق به تنهایی اختلاف بارزی نشان میداد به این ترتیب که از لحاظ محلولیت در روغن کمتر از ماده ضد آفتاب و از لحاظ محلولیت آبی نیز کمتر از محلولیت سیکلودکستین بود. پس از آزمایش حالتهای مختلف برای اضافه کردن کمپلکس ضد آفتابها با سیکلودکستین به این نتیجه رسیدیم که افزودن این ترکیب به فاز روغنی سبب ایجاد یکنواختی مطلوب تر و پخش یکنواخت تری از کمپلکس در پایه می شود فلذا برای ساخت فرمولاسیونهای حاوی کمپلکس مواد ضد آفتاب- سیکلودکستین به این روش عمل شد. از آنجایی که بدلیل حل شدن ماده ضد آفتاب در پایه امکان تغییر HLB فاز روغنی و کاهش پایداری فرمولاسیون وجود دارد لذا برای اطمینان از عدم تاثیر ماده ضد آفتاب بر پایداری پایه، نمونه های حاوی ماده ضد آفتاب با سه پایه منتخب مرحله قبل فرموله شده و تست پایداری برای مدت سه ماه انجام گرفت و در نهایت فرمولاسیون F3 بعنوان فرمولاسیون منتخب نهایی پایه تعیین گردیده و بقیه مطالعات مربوطه با استفاده از این پایه انجام شد.

۲-۳-۳: روشهای کمپلکس کردن مواد مؤثره ضد آفتاب با سیکلودکستین

۲-۳-۳-۱: روش خمیر کردن (Kneading)

در این روش ابتدا وزن های مساوی از ماده ضد آفتاب مورد آزمایش و سیکلودکستین وزن شده و با هم مخلوط گردید. از آنجایی که عمل کمپلکس شدن در محیط حاوی حلال امکان پذیر است لذا مقداری حلال آلی باید به مخلوط اضافه کرد. مقدار حلال اضافه شده باید به اندازه ای باشد که ذرات ماده مؤثره و حامل را بطور کامل تر کند. پس از تر شدن دو ماده با اختلاط مکانیکی حالت خمیری در مخلوط ایجاد می گردد. خمیر حاصل سپس توسط مخلوط کن های ویژه خمیر بخوبی بهم زده شده و سپس در روی یک صفحه مسطح پخش می شود تا حلال مربوطه تبخیر شده و خشک گردد (۱۵ و ۱۶). برای خشک شدن کامل مخلوط می توان از آون با درجه حرارت حدود ۱۰۰ درجه بمدت زمان کافی استفاده کرد. در این مطالعه، وزن برداشت شده از ضد آفتاب و سیکلودکستین ۲۰ گرم بوده و از اتانول بعنوان حلال در فرآیند خمیر کردن استفاده شد. مخلوط حاصل به حالت خمیر درآورده شده و خمیر حاصله با استفاده از دستگاه بهم زن خمیر با دور ۱۰۰ دور در دقیقه چندین بار مخلوط گردید تا کاملاً یکنواخت گردد.

سپس خمیر حاصله روی صفحات فلزی با ضخامت کم پخش گردید و در آون با حرارت ۱۰۰ درجه سانتیگراد بمدت ۶ ساعت قرار داده شد تا عمل خشک شدن کامل گردد. مخلوط خشک شده سپس خرد شده و از الک با مش ۴۰ عبور داده شد تا برای اضافه شدن به فرمولاسیون آماده گردد.

۲-۳-۳-۲: روش همسایش (Cogrinding)

در این روش برای ایجاد کمپلکس از اختلاط توسط دستگاه آسیاب گلوله ای (Ball Mill) استفاده شد به این ترتیب که وزنه های مساوی (۵ گرم) از هر کدام از مواد مؤثره با حامل مربوطه در مخزن دستگاه آسیاب گلوله ای قرار داده می شود سپس گلوله های فلزی با تعداد مشخص در مخزن قرار داده شده و مخزن را روی دستگاه قرار می دهند. با حرکت دورانی مخزن دستگاه گلوله ها در داخل آن به حرکت در آمده و پودرهای مربوطه بین گلوله ها و نیز بین گلوله ها و دیواره مخزن دستگاه با فشار بالا ساییده می شوند. این سایش از یک سو باعث ریز شدن اندازه ذره ای و از سوی دیگر باعث در هم روی ذرات پودرها و اختلاط یکنواخت آنها در یکدیگر شده و سطح تماس مؤثر بین ذرات دو نوع پودر با یکدیگر را بمقدار قابل ملاحظه ای افزایش می دهد (۱۷). از آنجاییکه لازمه تشکیل کمپلکس وجود یک بستر مرطوب می باشد لذا قبل از بستن درب مخزن دستگاه مقدار کمی حلال بعنوان تر کننده به مخلوط پودرها افزوده میشود در این مطالعه از حدود ۱ میلی لیتر اتانول برای تر کردن مخلوط ضد آفتاب و سیکلودکستین استفاده گردید. زمان همسایش یک ساعت، تعداد گلوله های استفاده شده در دستگاه ۸ عدد، قطر گلوله ها ۱۵ میلی متر و دور دستگاه ۶۰۰ دور در دقیقه انتخاب گردید.

۲-۳-۳-۳: روش تبخیر حلال (solvent évaporation)

در این روش ماده مؤثره و حامل در یک حلال مشترک حل شده و سپس حلال مربوطه تبخیر می گردد. در حین تبخیر حلال غلظت مواد موجود در حلال باقیمانده به تدریج افزایش می یابد تا اینکه به غلظت اشباع خود برسد و از این پس ماده بتدریج رسوب می نماید. در حین افزایش غلظت احتمال برخورد و بر هم کنش مولکولهای ماده مؤثره و حامل افزایش یافته و کمپلکس ماده مؤثره- حامل ایجاد می گردد. از آنجاییکه کمپلکس حاصل از نظر محلولیت متفاوت از مواد اولیه می باشد لذا ممکن است کمپلکس حاصله پس از تشکیل رسوب کند. در صورتی که کمپلکس محلولیت مناسبی در حلال بکار برده شده داشته باشد

اثر استفاده گردید که با سرعت ۸۰۰ rpm در تمام مدت آزمایش مایع داخل سلها را بهم می زد. در فاز گیرنده از محلول بافر فسفات (pH= ۷/۴) حاوی ۳۰٪ حجمی/حجمی ایزوپروپیل الکل و در فاز دهنده مقدار نیم گرم از کرم مورد نظر قرار داده شد.

برای جلوگیری از نشت مایع بین دو قسمت سلها از سیلیکون نیمه جامد (Silicon grease) استفاده شد که به علت خاصیت آبگریزی قوی خود عایق خوبی در برابر نفوذ آب از لبه های سل ایجاد کرده و در عین حال هیچگونه تداخلی نیز ایجاد نمی نماید. نمونه های مورد نظر به حجم یک میلی لیتر در زمانهای تعیین شده (۱/۵، ۱، ۲، ۴ و ۶ ساعت) از فاز گیرنده گرفته شده و بلافاصله با همین حجم از بافر فسفات تازه جایگزین گردید. برای جلوگیری از ایجاد حباب در سطح زیرین پوست (فاز گیرنده) محلول بافر استفاده شده در فاز گیرنده قبل از انتقال به سلها توسط دستگاه اولترا سوند گاز زدایی گردید. بمنظور بهینه کردن شرایط آزمایش، محلول بافر فسفات استفاده شده در فاز گیرنده ایزوتون گردید تا از هر گونه نشت مواد از پوست به فاز گیرنده در نتیجه اختلاف فشار اسمزی جلوگیری گردد. برای این منظور پس از تهیه بافر، محلول مورد نظر با حل کردن ۰/۴۴ درصد نمک طعام خالص ایزوتون گردید. پس از پر شدن فاز گیرنده سلهای دیفوزیون از بافر ایزوتون شده، حبابهای هوای بزرگ موجود در این قسمت به دقت تخلیه می شد تا از کاهش سطح تماس مؤثر بخش سرورزی پوست با محلول بافر ایزوتون و کاهش ورود دارو به این فاز جلوگیری گردد. بدلیل محلولیت آبی بسیار پایین برخی از این مواد و احتمال اشباع فاز گیرنده از دارو یا خروج از شرایط سینک در فاز گیرنده به همراه بافر فسفات از کمک حلال استفاده شد. برای این منظور محلولیت مواد در حلالهای مختلف شامل اتانول، ایزوپروپیل الکل، پروپیلن گلیکول و گلیسرین با درصدهای مختلف حجمی بررسی شد و در نهایت ایزوپروپیل الکل ۳۰ درصد برای استفاده در فاز گیرنده به همراه بافر فسفات ایزوتون انتخاب گردید. هر آزمایش سه بار تکرار شد و میانگین بعنوان میزان جذب در نظر گرفته شد. بدلیل اختلاف جزئی در سطح دهانه سلهای دیفوزیون سه بار آزمایش هر نمونه در یک سل دیفوزیون ثابت انجام گرفت تا از ایجاد خطا جلوگیری نماید

۲-۳-۶: آنالیز نمونه های پوستی با استفاده از

HPLC

دستگاه HPLC از نوع Shimadzu, JAPAN مجهز به دکتور ماوراء بنفش از نوع SPD10AVP با طول موج متغیر و دو پمپ ایجاد فشار از نوع LC10ADVP جهت ایجاد فشار

می توان با تبخیر حلال بطور کامل آن را از حلال جدا نمود (۱۴). برای انجام این مرحله از کار ابتدا ۲ گرم ماده ضد آفتاب و ۲ گرم سیکلودکستین در اتانول ۹۰ درجه حل شده و سپس با استفاده از خلا در دسیکاتور حلال آن تبخیر گردید. برای تسریع در حل شدن حلال و جلوگیری از سرد شدن بیش از حل محلول، دسیکاتور روی صفحه داغ با دمای تنظیم شدن قرار داده شد تا دمای محلول را در طول تبخیر حلال در حدود ۴۰ درجه سانتیگراد ثابت بماند. پس از تبخیر حلال برای خشک کردن رطوبت باقیمانده، توده حاصل از این فرآیند در دسیکاتور ایزوله از محیط بمدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید. مخلوط خشک شده سپس آسیاب شده و از الک با مش ۴۰ عبور داده شد تا برای اضافه کردن به پایه آماده گردد.

۲-۳-۴: تهیه پوست

مطالعه با استفاده از پوست کامل (Full Thickness) انجام گرفت. پوست مورد نظر از ناحیه شکمی رت های آزمایشگاهی نر جوان با وزن متوسط 25 ± 160 گرم جدا گردید. ابتدا موهای پوست موش توسط ماشین برقی زده شده و حیوان بمدت ۲۴ ساعت به حال خود گذاشته شد تا پوست حالت طبیعی خود را باز یابد سپس حیوان با قرار گرفتن در یک محفظه سر بسته حاوی پنبه آغشته به کلروفرم کشته شده و پوست ناحیه شکمی آن توسط تیغ جراحی جدا گردید.

در هنگام جدا سازی پوست چربی های زیر پوست حیوان بدقت توسط تیغ جراحی جدا گردید. پوست های جدا شده سپس به مدت ۲۴ ساعت در یخچال از سمت درم در تماس با نرمال سالین قرار داده شدند تا علاوه بر هیدراته شدن آن، آنزیمها و مواد اضافی نشت کرده از پوست در حین جدا سازی کاملاً شسته شده و از پوست جدا شوند (۷). این عمل از طریق نصب کردن پوست روی سل دیفوزیون و پر کردن قسمت پایینی سل (فاز گیرنده) از نرمال سالین انجام گرفت. پس از این مدت، نرمال سالین تخلیه شده و قسمت پایینی سل از بافر پر شده و بقیه مراحل انجام میگرفت.

۲-۳-۵: مطالعه جذب پوستی

برای مطالعه جذب پوستی سیستمی شامل سلهای دیفوزیون استاندارد از نوع فرانز (Franz Diffusion cells) با قطر دهانه $5/3 \pm 0/3$ cm^۳ و حجم 26 ± 2 cm^۳ استفاده گردید. این سلها دو جداره بوده و آب توسط پمپهای دستگاه با دمای ۳۷° C بین دو جداره جریان می یابد تا دمای سلها را در این میزان ثابت حفظ کند. برای یکسان سازی غلظت دارو در تمام نقاط فاز گیرنده، از مگنت هایی با پوشش تفلونی کاملاً بی

۷-۳-۲: طیف نگاری FT-IR و DSC

برای اطمینان از ایجاد یا عدم ایجاد کمپلکس بین مواد ضد آفتاب و سیکلودکسترین و همچنین برای تعیین میزان کمپلکس شدن این مواد در فرآیند کمپلکس‌اسیون با استفاده از روشهای مختلف مانند تبخیر حلال، خمیر کردن یا همسایش از طیفهای DSC استفاده گردید. برای این منظور نمونه خالص ماده ضد آفتاب و سیکلودکسترین، مخلوطهای فیزیکی ساده و کمپلکس ماده ضد آفتاب با سیکلودکسترین با نسبت وزنی مساوی تهیه شده و طیفهای DSC آنها با استفاده از دستگاه طیف سنجی DSC گرفته شد. برای این منظور مقدار مناسب از نمونه های فوق (بسه اندازه حجم pan) در داخل pan های آلومینیومی ریخته شده و در دستگاه قرار داده شد. رنج تغییر دما از ۲۰ تا ۳۵۰ درجه سانتیگراد و سرعت افزایش دما 20°C/min درجه در دقیقه تنظیم گردید.

طیفهای FT-IR برای تایید ترموگرامهای DSC در مورد تشکیل یا عدم تشکیل کمپلکس و نیز برای تعیین اثرات احتمالی دما بر مواد مورد آزمایش در حین فرآیند آنالیز حرارتی انجام گردید برای این منظور دیسکهای شفاف از مخلوط نمونه ها و برومید پتاسیم توسط دستگاه پرس روغنی تحت فشار ۱۰۰ کیلو پاسکال و با استفاده از سمبه های دستگاه تهیه شده و طیفهای مربوطه با استفاده از این دیسکها و دستگاه طیف سنجی FT-IR انجام گردید. بمنظور دقیقتر شدن نتایج سعی شد تا در ساخت دیسکها از مقدار وزنی ثابتی از نمونه ها استفاده شود تا ارتفاع پیکها نیز قابل مقایسه باشد.

۳: نتایج

۳-۱: نتایج طیفهای DSC

طیفهای DSC مربوط به ماده ضد آفتاب خالص، سیکلودکسترین خالص، مخلوط فیزیکی و کمپلکس هر کدام از مواد ضد آفتاب استفاده شده در شکل شماره ۱ آورده شده است. طیفهای FT-IR در شکلهای شماره ۲ و ۳ نشان داده شده اند.

۳-۲: نتایج جذب پوستی

نتایج جذب پوستی نمونه های بدون سیکلودکسترین، دارای سیکلودکسترین بصورت مخلوط ساده و حاوی کمپلکس ضد آفتاب- سیکلودکسترین در جداول شماره ۲ تا ۴ آورده شده است. همانطور که دیده می شود اطلاعات مربوط به جذب پوستی بصورت درصد داروی عبور کرده در زمانهای نمونه گیری و مقدار داروی عبور کرده به ازای واحد سطح

یکنواخت و Controller از نوع SCL10AVP. ستون از نوع Spherisorb C18 به طول ۱۵۰×۴mm و اندازه ذرات ۵.۰μm فاز متحرک متشکل از اتانول ویژه کروماتوگرافی و بافر فسفات (pH= 7.4) با نسبتهای ۳۰:۷۰ درصد حجمی- حجمی و طول موج دکتور معادل ۲۸۸ نانومتر (۱۸). برای کالیبره کردن دستگاه غلظتهای استاندارد در حدود غلظت نمونه های گرفته شده انتخاب گردید. تعیین این غلظت ها بر روش آزمون و خطا و پس از چندین بار آزمایش انجام گرفت. این غلظت ها عبارتند از ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵، ۰/۳۱۲۵، ۰/۱۵۶ و ۰/۰۷۸ میکروگرم در میلی لیترا. برای به حداقل رساندن خطای بین روز و روزانه ناشی از نوسانات کار دستگاه به دلایل مختلف تستهایی انجام شد. برای این منظور تنظیم دستگاه اعم از سرعت جریان فاز متحرک، فشار ستون، حساسیت دستگاه و طول موج استفاده شده در تمام طول مدت استفاده از آن ثابت نگه داشته شد. علاوه بر این برای آزمایش تکرارپذیری نتایج حاصله، از غلظتهای استاندارد داروها در هر روز چندین بار با فواصل زمانی مشخص به دستگاه تزریق و نتایج با اعداد به دست آمده در همان روز و روزهای قبل مقایسه می گردید. نتایج مقایسه این اعداد نشان دادند که نوسانات دستگاه قابل اغماض می باشد (< ۱۰٪) و اعداد بدست آمده از تکرار پذیری قابل قبولی برخوردار هستند. برای به حداقل رساندن نوسانات دستگاه و ایجاد حالت ثابت پس از روشن کردن دستگاه ستون بمدت ۳۰ دقیقه توسط متانول شستشو داده شده و سپس فاز متحرک به تنهایی به مدت ۹۰ دقیقه با همان سرعت جریان مورد استفاده در ستون به جریان انداخته می شد تا سیستم کاملاً به حالت تعادل برسد.

قبل از روشن کردن دستگاه تمام راههای عبور فاز متحرک اعم از پمپ ها، دستگاه جاذب هوا و لوله های رابط کاملاً هواگیری شده و فاز متحرک نیز قبل از استفاده توسط دستگاه اولترا سوند به مدت ۱۰ دقیقه هوا زدایی می شد تا از ایجاد حبابهای هوا و افت فشار جلوگیری گردد. قبل از هواگیری فاز متحرک توسط فیلترهای Millipore به کمک خلاء صاف شد تا ذرات موجود در مواد تشکیل دهنده یا ذرات اضافه شده به آن در طی پروسه ساخت جدا شده و از انسداد ستون جلوگیری گردد. تزرق نمونه به قسمت تزریق با حجم بیشتری (۱۰۰μl) در مقایسه با حجم لوپ دستگاه (۲۰μl) انجام میشد تا از پر شدن لوپ اطمینان کافی حاصل گردد و هم باقیمانده های احتمالی از نمونه های قبلی یا فاز متحرک از داخل لوپ کاملاً تخلیه گردد. تعیین مقدار بر اساس ارتفاع پیک بوده و معادله مربوطه $Y=145508X + 7958.4$ می باشد.

برداشتی با محلول بافر تازه در سلهای دیفوزیون، داده های مربوط به غلظت اندازه گیری شده نمونه ها با استفاده از نرم افزار تصحیح دز بصورت غلظتهای واقعی محاسبه و در این جداول منظور گردیده است.

پوست محاسبه گردیده است. تمامی داده ها با استفاده از داده های مربوط به ضخامت پوست که میانگین ضخامت اندازه گیری شده در سه نقطه مختلف پوست میباشد نرمالیزه شده است. بدلیل جایگزین شدن نمونه های

جدول شماره ۱: اجزاء استفاده شده در فرمولاسیونهای اولیه پایه برای تعیین درصد سورفکتانتها (تمام واحدها به گرم می باشد)

فرمولاسیون	Span60	Tween80	ستیل پالمیتات	استتاریل الکل	ستیل الکل	ایزوپروپیل میریستات	آب محافظت شده
F1	۱/۵	۳/۵	۱	۱	۱	۱۵	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F2	۱/۵	۳/۵	۱	۱	۵	۱۵	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F3	۱/۵	۳/۵	۱	۵	۱	۱۵	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F4	۱/۵	۳/۵	۵	۱	۱	۱۵	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F5	۱/۵	۳/۵	۱	۵	۵	۱۵	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F6	۱/۵	۳/۵	۵	۱	۵	۱۵	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F7	۱/۵	۳/۵	۵	۵	۱	۱۵	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F8	۱/۵	۳/۵	۱	۱	۱	۱۰	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F9	۱/۵	۳/۵	۱	۱	۵	۱۰	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F10	۱/۵	۳/۵	۱	۵	۱	۱۰	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F11	۱/۵	۳/۵	۵	۱	۱	۱۰	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F12	۱/۵	۳/۵	۱	۵	۵	۱۰	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F13	۱/۵	۳/۵	۵	۱	۵	۱۰	تا ۱۰۰ میلی لیتر
F14	۱/۵	۳/۵	۵	۵	۱	۱۰	تا ۱۰۰ میلی لیتر

جدول شماره ۲: مقادیر مربوط به جذب پوستی Eusolex 4360 از فرمولاسیونهای این ماده بدون حضور سیکلودکسترین

انحراف معیار سه بار آزمایش	میانگین داروی عبور کرده از واحد سطح Q (mg/cm ²)	میانگین مقدار ماده عبور کرده (mg)	میانگین غلظت (mg/ml)	زمان (ساعت)
۰/۰۰۱۲	۰/۰۰۴۷	۰/۰۹۶۸	۰/۰۰۳۴	۰/۵
۰/۰۰۱۷	۰/۰۲۴۷	۰/۵۰۵۸	۰/۰۱۸۰	۱
۰/۰۲۶۱	۰/۱۱۹۵	۲/۴۴۰۸	۰/۰۸۷۱	۲
۰/۰۳۲۷	۰/۴۳۲۲	۸/۸۲۱۸	۰/۳۱۵۱	۳
۰/۱۲۵۶	۰/۹۱۵۳	۱۸/۶۸۲۰	۰/۶۶۷۲	۴
۰/۲۲۹۸	۱/۸۷۶۶	۳۸/۳۰۱۰	۰/۳۶۷۹	۵

جدول شماره ۳: مقادیر مربوط به جذب پوستی Eusolex 4360 از فرمولاسیونهای این ماده و سیکلودکستین بصورت مخلوط فیزیکی ساده

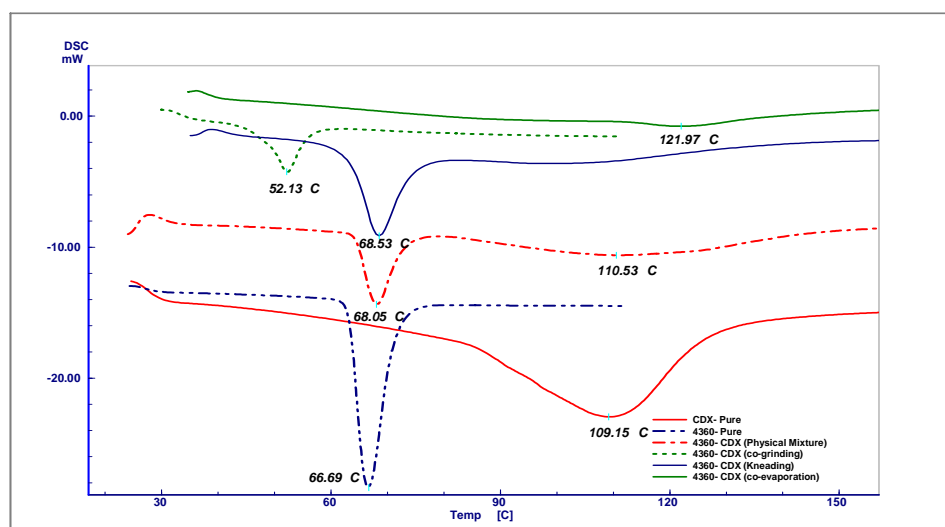
انحراف معیار سه بار آزمایش	میانگین داروی عبور کرده از واحد سطح Q (mg/cm ²)	میانگین مقدار ماده عبور کرده (mg)	میانگین غلظت (mg/ml)	زمان (ساعت)
۰/۰۰۴۵	۰/۰۱۸۹	۰/۳۸۶۷	۰/۰۱۵۵	۰/۵
۰/۰۰۴۱	۰/۰۱۱۶	۰/۲۳۶۷	۰/۰۰۹۵	۱
۰/۰۰۸۹	۰/۱۷۶۹	۳/۶۱۰۴	۰/۱۴۴۴	۲
۰/۰۱۲۸	۰/۲۰۰۰	۴/۰۸۲۰	۰/۱۶۳۳	۳
۰/۱۹۹۲	۰/۵۸۵۸	۱۱/۹۵۶۵	۰/۴۷۸۳	۴
۰/۳۶۶۸	۱/۲۷۸۲	۲۶/۰۸۸۲	۱/۰۴۳۵	۶

جدول شماره ۴: مقادیر مربوط به جذب پوستی Eusolex 4360 از فرمولاسیونهای این ماده و سیکلودکستین بصورت کمپلکس

انحراف معیار سه بار آزمایش	میانگین داروی عبور کرده از واحد سطح Q (mg/cm ²)	میانگین مقدار ماده عبور کرده (mg)	میانگین غلظت (mg/ml)	زمان (ساعت)
۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۱۰	۰/۰۲۰۷	۰/۰۰۰۷	۰/۵
۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۱۲	۰/۰۲۵۸	۰/۰۰۰۹	۱
۰/۰۰۳۸	۰/۰۰۹۰	۰/۱۹۰۸	۰/۰۰۶۳	۲
۰/۰۰۵۹	۰/۰۱۳۴	۰/۲۷۳۷	۰/۰۰۹۱	۳
۰/۰۱۸۷	۰/۰۴۶۸	۰/۹۵۵۷	۰/۰۳۱۸	۴
۰/۰۴۵۱	۰/۱۰۶۴	۲/۱۷۳۴	۰/۰۷۲۴	۶

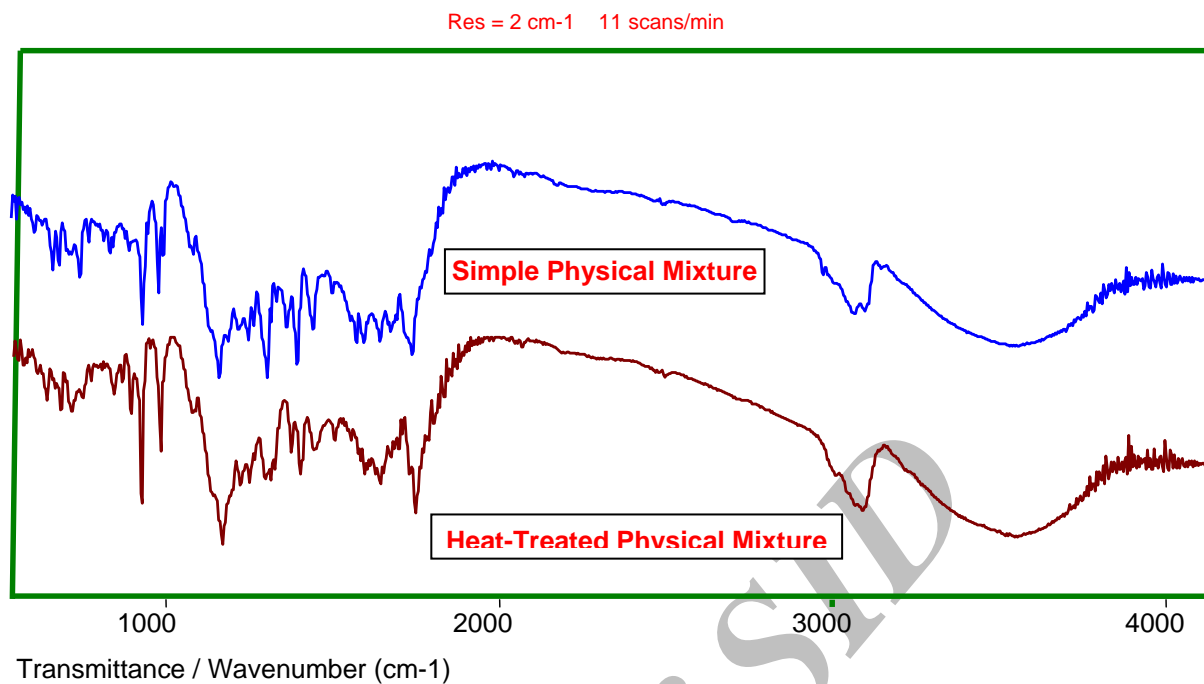
جدول شماره ۴: فلاکس و زمان تاخیر فرمولاسیونهای حاوی Eusolex 4360

نوع فرمولاسیون	فلاکس (μg/cm ² /h)	زمان تاخیر (min)
فاقد سیکلودکستین	۰/۴۴۷۷	۱۱۳
فرمولاسیون حاوی مخلوط فیزیکی ضد آفتاب با سیکلودکستین	۰/۳۵۷۵	۱۴۴/۵
فرمولاسیون حاوی کمپلکس ضد آفتاب- سیکلودکستین	۰/۰۳۰۹	۱۵۱/۶

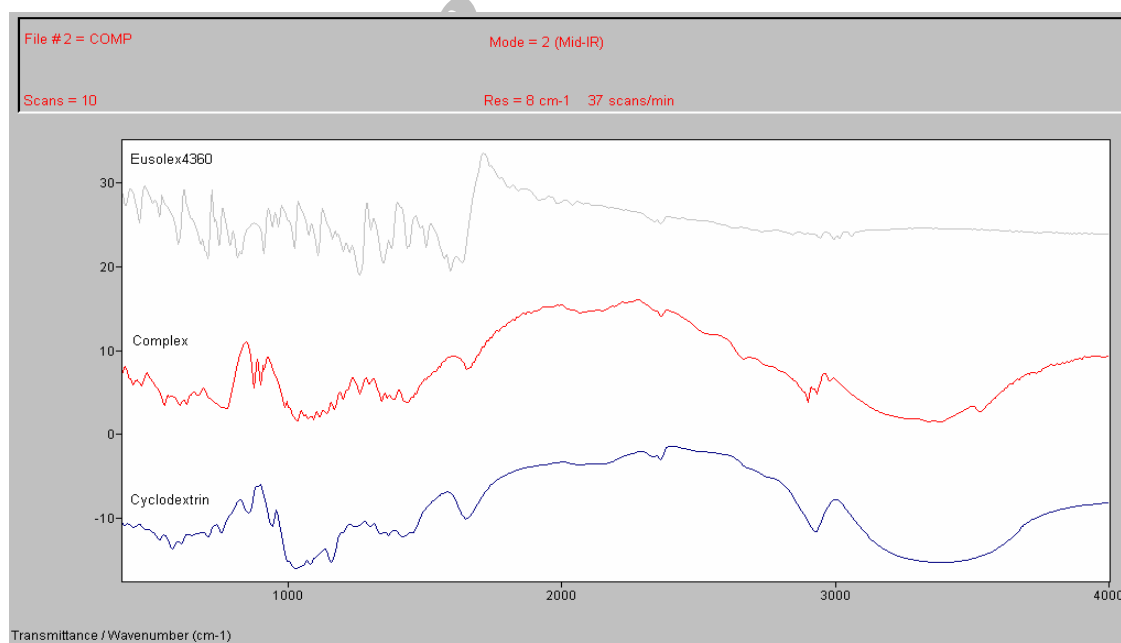


شکل شماره ۱: ترموگرام های DSC مربوط به ضد آفتاب خالص، سیکلودکستین خالص، مخلوط فیزیکی ساده و کمپلکس تهیه شده با سه روش همسایش، خمیر کردن و

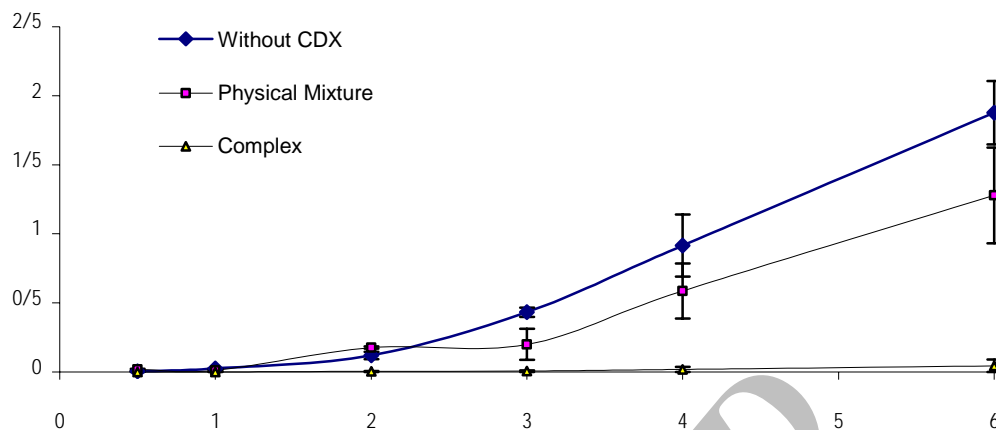
تبخیر حلال



شکل شماره ۲: طیفهای FT-IR نمونه های مخلوط فیزیکی ساده و مخلوط فیزیکی ساده Heat Treated ماده ضد آفتاب با سیکلودکسترین با نسبت ۱:۱



شکل شماره ۳: طیفهای FT-IR نمونه های ماده ضد آفتاب خالص، سیکلودکسترین خالص و کمپلکس تهیه شده با روش تبخیر حلال با نسبت ۱:۱



شکل شماره ۴: نمودار مقدار جذب ماده ضد آفتاب از واحد سطح پوست در برابر زمان

۴- بحث و بررسی

۴-۱: تفسیر طیف های FT-IR و DSC

همسایش فقط یک پیک در ناحیه ۵۲/۱۳ درجه دارد و پیک پهن مربوط به سیکلودکستین در این ترموگرام دیده نمی شود که احتمالاً ناشی از آمورف شدن این ماده در حین فرآیند همسایش بوده است. شیفت پیک مربوط به نقطه ذوب عمدتاً ناشی از ایجاد مخلوط اتکتیک بین دو ماده می باشد در این حالت محلولیت ماده با نقطه ذوب بالاتر در ذوب شده ماده دوم بالا بوده و در نتیجه پیک مربوط به نقطه ذوب به میزان قابل توجهی جابجا می گردد. این احتمال در مورد شیفت پیک مربوط به ماده ضد آفتاب به ناحیه ۵۲/۱۳ درجه (۱۴/۵۶ درجه شیفت) نمی تواند صادق باشد زیرا در این صورت می بایست این شیفت در مخلوط فیزیکی نیز ایجاد می شد لذا این جابجایی در پیک ماده ضد آفتاب به احتمال زیاد ناشی از ریز شدن قابل توجه اندازه ذره ای ماده ضد آفتاب در نتیجه فرآیند همسایش می تواند باشد البته میزان شیفت به حدی است که امکان برهم کنشهای مواد در نتیجه حرارت ناشی از اصطکاک شدید پودرهای دارویی با گلوله ها و جداره مخزن آسیاب گلوله ای را نیز نمی توان رد کرد. ریز شدن اندازه ذره ای یک ماده جامد می تواند باعث رسیدن سریعتر دما به ذرات دارو شده و شروع ذوب ماده را به جلو بیاندازد بعبارت بهتر ریز شدن اندازه ذره ای سبب نزدیکتر شدن پیک نقطه ذوب ماده به مقدار واقعی خود گردد. ترموگرام مربوط به کمپلکس تهیه شده با روش خمیر کردن نیز یک پیک در ناحیه بسیار نزدیک به پیک داروی خالص در ناحیه ۶۸/۵۳ درجه سانتیگراد را نشان می دهد که در واقع همان پیک دارو بوده و نشان دهنده عدم ایجاد کمپلکس قابل توجه با استفاده از این روش می باشد. ترموگرام مربوط به

شکل شماره ۱ نشان دهنده ترموگرامهای DSC ماده ضد آفتاب خالص، سیکلودکستین خالص، مخلوط فیزیکی ساده با نسبت وزنی ۱:۱ و کمپلکس آن با سیکلودکستین با همین نسبت به سه روش همسایش، خمیر کردن و تبخیر حلال می باشد. همانطور که در این شکل ملاحظه می شود نقطه ذوب ماده ضد آفتاب برابر با ۶۶/۶۹ درجه سانتیگراد می باشد همچنین سیکلودکستین در ناحیه ۱۰۹/۱۵ درجه سانتیگراد پیک پهنی ایجاد نموده که مربوط به TG این ماده می باشد و حدوداً از ۸۰ درجه شروع و تا ۱۳۰ درجه سانتیگراد امتداد می یابد. ترموگرام مربوط به مخلوط فیزیکی ساده نشان دهنده تغییر قابل توجهی نمی باشد. ترموگرام مخلوط فیزیکی ساده در نواحی ۶۸/۰۵ و ۱۱۰/۵۳ درجه سانتیگراد دارای پیک می باشد که بسیار نزدیک به پیک های ایجاد شده توسط ماده ضد آفتاب و سیکلودکستین خالص می باشد. پیک های موجود در مخلوط فیزیکی از لحاظ شکل نیز شبیه به پیکهای دیده شده در ترموگرامهای ضد آفتاب و سیکلودکستین خالص می باشد به این معنی که پیک تیز برای ضد آفتاب و پیک پهن برای سیکلودکستین. شیفت مختصر در محل این دو طیف احتمالاً از بر هم کنش مواد فوق در حین ذوب ناشی شده است. ارتفاع دو پیک در طیف مخلوط فیزیکی از ارتفاع پیکهای مشابه در طیف مواد خالص کمتر و در حدود نصف آنهاست که امری طبیعی بوده و از کمتر بودن مقدار دو ماده فوق در مخلوط فیزیکی نسبت به مواد خالص ناشی می گردد. ترموگرام کمپلکس تهیه شده با استفاده از روش

کمپلکس تهیه شده با استفاده از روش تبخیر حلال گرفته شد که در شکل شماره ۳ نشان داده شده است. همانطور که در این طیفها مشاهده می گردد درجه کریستالی ماده ضد آفتاب بالا بوده و پیکهای تیز زیادی در طیف ضد آفتاب خالص خصوصا در طول موجهای کمتر از ۲۰۰۰ نانومتر دیده می شود در حالیکه سیکلودکستین در این ناحیه دارای چند پیک پهن می باشد. در طیف کمپلکس پیکهای تیز ضد آفتاب خالص تقریبا از بین رفته یا به حالت آمورف نزدیک شده است. پیک مربوط به TG سیکلودکستین با شدت کمتر در کمپلکس دیده می شود اما پیکهای اصلی مربوط به ضد آفتاب حذف شده و پیک جدیدی که مربوط به کمپلکس بوده و قابل ملاحظه باشد در طیف کمپلکس اضافه نشده این نتایج می تواند تا حدودی نتایج ترموگرامهای DSC مبنی بر شرکت تقریبا کامل ضد آفتاب در فرآیند کمپلکسایون، باقی ماندن مقداری سیکلودکستین کمپلکس نشده در نمونه کمپلکس و کریستالی نبودن کمپلکس ایجاد شده بین ضد آفتاب و سیکلودکستین را تایید می کند.

۲-۴: تفسیر نتایج جذب پوستی

نتایج مطالعات جذب پوستی نمونه های حاوی ضد آفتاب ماده ضد آفتاب در شکل شماره ۴ نشان داده شده همانطور که دیده می شود بیشترین سرعت آزاد سازی مربوط به فرمولاسیون حاوی ضد آفتاب و فاقد سیکلودکستین و کمترین سرعت جذب مربوط به فرمولاسیون حاوی کمپلکس سیکلودکستین با ضد آفتاب می باشد. برای محاسبه فلاکس و زمان تاخیر آزاد سازی ماده ضد آفتاب از فرمولاسیونها معادله رگرسیون قسمت خطی نمودار میزان جذب ضد آفتاب از واحد سطح پوست در برابر زمان رسم گردید. نقطه تقاطع امتداد این خط رگرسیون با محور افقی نشان دهنده زمان تاخیر جذب پوستی ماده ضد آفتاب می باشد. این زمان در واقع نشاندهنده مدت زمان لازم برای رسیدن پروسه جذب به حالت تعادل بوده و تثبیت سرعت جذب و رسیدن آن به حالت نزدیک به خطی را نشان می دهد. همانطور که در این شکل دیده می شود کمپلکس شدن ماده ضد آفتاب با سیکلودکستین کاهش بسیار قابل ملاحظه ای در میزان جذب پوستی ضد آفتاب ایجاد نموده است. برای روشن شدن بهتر موضوع مقدار فلاکس و زمان تاخیر جذب دارو از سه فرمولاسیون در جدول شماره ۴ نشان داده شده است. همانطور که در این جدول ملاحظه می شود اضافه شدن سیکلودکستین علی الخصوص بصورت کمپلکس با ضد آفتاب سبب ایجاد دو حالت شده است اول کاهش شدید فلاکس و دوم افزایش زمان تاخیر

روش تبخیر حلال بسیار جالب می باشد بدین ترتیب که پیک مربوط به دارو کاملا از بین رفته و پیک مربوط به سیکلودکستین علاوه بر کوچک شده به ۱۲۱/۹۷ درجه شیفت پیدا کرده است یعنی حدودا ۱۲/۸۲ درجه شیفت مثبت. ناپدید شدن پیک مربوط به ضد آفتاب به احتمال زیاد در نتیجه شرکت آن در کمپلکس با سیکلودکستین—ترین می باشد و شیفت پیک مربوط به سیکلودکستین به احتمال زیاد ناشی از اثرات پلاستی سائیزی ضد آفتاب بر سیکلودکستین می باشد. کوچک شدن قابل توجه پیک مربوط به سیکلودکستین به احتمال زیاد ناشی از شرکت درصد بالایی از این ماده در کمپلکس و عدم ظاهر شدن پیک مربوط به کمپلکس ناشی از آمورف بودن کمپلکس این دو ماده می باشد. با توجه به نکات ذکر شده در بالا از بین روش کمپلکس کردن استفاده شده روش تبخیر حلال بهترین نتیجه را بدست داد و لذا از این روش برای تهیه نمونه های مورد استفاده در فرمولاسیونها برای مطالعه جذب پوستی استفاده گردید. برای تایید این نظریه از طیفهای FT-IR استفاده گردید. برای اطمینان از این مسئله که مواد موجود در نمونه ها در نتیجه حرارت اعمال شده توسط دستگاه DSC دچار تغییر یا تجزیه شیمیایی نشده و در نتیجه ترموگرامهای مربوطه را تغییر نداده باشند آزمایشی طراحی گردید. در این آزمایش یک نمونه مخلوط فیزیکی ضد آفتاب و سیکلودکستین بمدت ۱۰ دقیقه در آن ۲۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شده و سپس از آن خارج گردید (نمونه HT یا Heat Treated). طیفهای FT-IR از مخلوط فیزیکی حرارت داده نشده و مخلوط فیزیکی HT گرفته شد که در شکل شماره ۲ نشان داده شده. طیفهای مربوطه هیچ نوع تغییری در دو نمونه را نشان نداد لذا مشخص گردید که حرارت اعمال شده در فرآیند آنالیز حرارتی اثرات شیمیایی بین دو ماده یا تجزیه شیمیایی مواد موجود در نمونه ها را باعث نشده است. در مرحله بعد از طیف های FT-IR برای تایید نتایج گرفته شده از ترموگرامهای مربوط به روش تبخیر حلال که بعنوان بهترین روش کمپلکس کردن انتخاب شده بود استفاده گردید. همانطور که در بحث تفسیر ترموگرامهای DSC کمپلکس تهیه شده با روش تبخیر حلال ذکر شد ناپدید شدن پیک مربوط به ضد آفتاب و کوچک شدن پیک مربوط به TG سیکلودکستین احتمالا بعلت وارد شدن کامل ضد آفتاب و قسمت اعظم سیکلودکستین در فرآیند کمپلکس شدن و عدم ظهور پیک جدید مربوط به کمپلکس احتمالا ناشی از آمورف بودن کمپلکس حاصل می باشد. برای تایید این مسئله طیفهای FT-IR از ضد آفتاب خالص، سیکلودکستین خالص و

جذب دارو در پوست. همانطور که در این جدول مشاهده می شود فلاکس در فرمولاسیون فاقد سیکلودکستین، مخلوط فیزیکی ضد آفتاب و سیکلودکستین و فرمولاسیون حاوی سیکلودکستین و ضد آفتاب بترتیب ۰/۴۴۷۷، ۰/۳۵۷۵ و ۰/۳۰۹ میکروگرم بر سانتیمتر مربع در ساعت اندازه گیری گردید. همانطور که از اعداد مشخص است سیکلودکستین بصورت مخلوط فیزیکی بمیزان ۱/۲۵ برابر و بصورت کمپلکس بمیزان ۱۴/۴۸ برابر فلاکس ضد آفتاب را کاهش داده است که خصوصا در مورد دوم کاهش چشمگیری می باشد.

از طرف دیگر سیکلودکستین بصورت کمپلکس با ضد آفتاب زمان تاخیر آزاد سازی دارو را از ۱/۸۸ ساعت به ۲/۵۳ ساعت افزایش داده است بدین معنی که جذب دارو در پوست از فرمولاسیون حاوی کمپلکس ضد آفتاب با سیکلودکستین روند افزایشی و خطی خود را ۰/۶۴ ساعت یا تقریبا ۳۸/۵ دقیقه دیرتر از فرآورده ضد آفتاب فاقد سیکلودکستین شروع می نماید. این مسئله با توجه به مدت زمان محدود اقامت فرآورده ضد آفتاب بر روی پوست که در مورد کرمهای ضد آفتاب حدود ۳ تا ۴ ساعت می باشد (۷) حائز اهمیت زیادی است. نکته ای دیگری که در این نمودارها خصوصا نمودار مربوط به فرمولاسیونهای حاوی مخلوطهای فیزیکی و کمپلکس ضد آفتاب با سیکلودکستین (شکل شماره ۴) قابل مشاهده است ایجاد یک حالت نسبتا ایستا یا پلاتو در نمودار مقدار داروی جذب شده از واحد سطح در برابر زمان در زمان ۲ تا ۳ ساعت می باشد به این ترتیب که در یک ساعت جذب دارو کم است سپس شیب نمودار افزایش می یابد، در زمان ۲ ساعت شیب نمودار به شدت کاهش یافته و به نزدیکی حالت افقی می رسد این حالت تا زمان ۳ ساعت ادامه یافته و پس از آن جذب ضد آفتاب از پوست به حالت تعادل رسیده و روند خطی پیدا می کند که البته این حالت در مورد فرمولاسیون بدون سیکلودکستین دیده نمی شود. این مسئله احتمالا از آنجا ناشی می شود که در فرمولاسیون بدون سیکلودکستین بعلت ماهیت لیپوفیل پوست و لیپوفیلیته بالای ماده ضد آفتاب، این ماده از بدو ورود به داخل پوست در مواد پوست حل می شود تا اینکه به حالت اشباع برسد. تا زمان رسیدن پوست به حالت اشباع شیب نمودار ملایم تر می باشد اما پس از این مرحله جذب دارو به حالت تعادل رسیده و روند خطی خود را بدست می آورد. البته این حالت در مورد داروهای دیگر در مطالعات قبلی نیز مشاهده شده است (۱۹ و ۲۰) در مورد فرمولاسیونهای حاوی سیکلودکستین احتمالا بدلیل

تغییراتی که این ماده هیدروفیل در قسمتهای سطحی پوست ایجاد کرده و لیپوفیلیته این قسمتها را کاهش می دهد لذا عمل اشباع پوست از ماده ضد آفتاب کامل نشده و بنابراین قسمتی از ماده ضد آفتاب پس از عبور از پوست مجددا در پوست حل می شوند تا اینکه پوست به حالت اشباع برسد به همین دلیل غلظت ضد آفتاب در فاز گیرنده در این محدوده زمانی افزایش زیادی پیدا نمی کند. بارز تر بودن این حالت در مورد فرمولاسیون حاوی مخلوط فیزیکی ماده ضد آفتاب با سیکلودکستین نیز می تواند تایید کننده نظر فوق باشد به این معنی که در این فرمولاسیونها سیکلودکستین آزاد که قابلیت اتصال به اجزاء پوست و تغییر خصوصیات سطحی پوست را داشته باشد بیشتتر می باشد.

مسئله قابل توجه در این مورد این است که اگرچه مخلوط فیزیکی ساده ماده ضد آفتاب فوق با سیکلودکستین فلاکس ضد آفتاب را بمیزان کمی یعنی در حدود ۲۰ درصد کاهش داده اما افزایش در زمان تاخیر جذب این ماده از فرمولاسیونهای حاوی مخلوط فیزیکی ساده بسیار قابل توجه می باشد بطوریکه مخلوط فیزیکی ساده ضد آفتاب با سیکلودکستین زمان تاخیر در جذب پوستی ضد آفتاب را بمیزان ۰/۵۳ ساعت یا ۳۱/۵ دقیقه افزایش داده این در حالی است که میزان افزایش در زمان تاخیر در جذب پوستی این ماده از فرمولاسیونهای حاوی کمپلکس آن با سیکلودکستین ۰/۶۵ ساعت یا ۳۸/۶ دقیقه می باشد. این افزایش در زمان تاخیر همانطور که قبلا نیز ذکر گردید در مقایسه با مدت زمان اقامت فرآورده بر روی پوست (۳ تا ۴ ساعت) زمان قابل توجهی محسوب شده و مقدار کلی ضد آفتاب جذب شده در پوست را کاهش دهد.

۵- نتیجه گیری

با توجه به نتایج این مطالعه می توان گفت که کمپلکسهای سیکلودکستین این ماده ضد آفتاب با سیکلودکستین یک روش بسیار مؤثر و مفید در کاهش جذب پوستی ماده ضد آفتاب می تواند باشد به شرط اینکه از یک روش مناسب با شرایط بهینه برای این منظور استفاده گردد.

با توجه به اینکه یکی از مشکلات اصلی فرآورده های ضد آفتاب شیمیایی جذب این مواد در پوست و عوارض طولانی مدت ناشی از تجمع این مواد در بدن می باشد استفاده از این روش خواهد توانست در بهبود کیفیت و بهینه سازی فرمولاسیونهای حاوی مواد مؤثره ضد آفتاب شیمیایی بسیار مؤثر واقع گردد. این موضوع

۶- تقدیر و تشکر

در پایان از آزمایشگاه فرمولاسیون و رئیس مرکز تحقیقات کاربردی دارویی که با حمایت همه جانبه موجبات انجام این طرح تحقیقاتی را فراهم نموده اند همچنین از همکاران محترم طرح تشکر و قدردانی می نمایم.

با در نظر گرفتن مزایای زیاد دیگری که در منابع برای کمپلکس‌اسیون با سیکلودکسترین ذکر شده از قبیل افزایش پایداری شیمیایی مواد مؤثره ضد آفتاب شیمیایی و کاهش تولید رادیکالهای آزاد توسط این مواد در حضور سیکلودکسترین که در متن به آنها اشاره شده و منابع مربوطه نیز ذکر گردیده اهمیت بیشتری پیدا می کند.

7- References:

- 1- Brinon-L; Geiger-S; Alard-V; Doucet-J; Couaraze-G; et-al: Percutaneous absorption of sunscreens from liquid crystalline phases, *J-Controlled-Release (Journal-of-Controlled-Release)*; 1999; 57(Jun 28); 67-76
- 2- Jiang-R; Roberts-MS; Prankerd-RJ; Benson-HA : Percutaneous absorption of sunscreen agents from liquid paraffin: self-association of octyl salicylate and effects on skin flux, *J-Pharm-Sci (Journal-of-Pharmaceutical-Sciences)*; 1997; 86(Jul); 791-796
- 3- Hayden-CG; Roberts-MS; Benson-HA : Systemic absorption of sunscreen after topical application, *Lancet (Lancet)*; 1997; 350(Sep 20); 863-864
- 4- Monti-D; Saettone-MF; Centini-M; Anselmi-C : Substantivity of sunscreens-in vitro evaluation of the transdermal permeation characteristics of some benzophenone derivatives, *Int-J-Cosmet-Sci (International-Journal-of-Cosmetic-Science)*; 1993; 15(2); 45-52
- 5- Sayre-RM; Kollias-N; Roberts-RL; Baqer-A; Sadiq-I: Physical sunscreens, *J-Soc-Cosmet-Chem (Journal-of-the-Society-of-Cosmetic-Chemists)*; 1990; 41(Mar-Apr); 103-109
- 6- Scalia-S, Simeoni-S, Barbieri-A, Sostero-S: Influence of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin on photoinduced free radical production by the sunscreen agent, butyl-methoxydibenzoylmethane, *J-Pharm-Pharmacol (Journal-of-Pharmacy-and-Pharmacology)*; 2002; 54(11); 1553-1558
۷- فرآورده های آرایشی و بهداشتی: کلیات، فرمولاسیون، روش ساخت. دکتر جواد شکری، چاپ اول، ۱۳۸۲
- 8- Simeoni-S, Scalia-S, Benson-HA; Influence of cyclodextrines on in-vitro human absorption of the sunscreen, butyl-methoxydibenzoylmeyhane, *int-J-Pharm*, 2004 (Aug), 6, 280 1-2, 163-171.
- 9- Felton-LA, Wiley-CJ, Godwin-DA; Influence of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin on the transdermal permeation and skin accumulation of oxybenzone, *Drug-Dev-Ind-Pharm (Drug-Development-and-Industrial-Pharmacy)*, 2002 (Oct), 28 (9), 1117-24
- 10- Scalia-S, Simeoni-S, Barbieri-A, Sostero-S; Influence of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin on photo-induced free radical production by the sunscreen agent, butyl-methoxydibenzoylmeyhane, *J-Pharm-Pharmacol (Journal-of-Pharmacy-and-Pharmacology)*, 2002 (Nov), 54 (11), 1553-8
- 11- Scalia-S, Molinari-A, Casolari-A, Maldotti-A; Complexation of the sunscreen agent, phenylbenzimidazole sulphonic acid with cyclodextrins: effect on stability and photoinduced free radical formation, *Eur-J-Pharm-Sci (European-Journal-of-Pharmaceutical-Sciences)*, 2004 (Jul), 22 (4), 241-9
- 12- Felton-LA, Wiley-CJ, Godwin-DA; Influence of cyclodextrin complexation on the in vitro photoprotonation effects of oxybenzone, *Drug-Dev-Ind-Pharm (Drug-Development-and-Industrial-Pharmacy)*, 2004 (Jan), 30 (1), 95-102
- 13- Scalia-S, Casolari-A, Laconinoto-A, Simeoni-S; Comparative studies of the influence of cyclodextrines on the stability of the sunscreen agent, 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate, *J-Pharm-Biomed-Anal (Journal-of-Pharmacy-and-Biomedical-Analysis)*, 2002 (Nov), 30 (4), 1181-9
- 14- Scalia-S, Villani-S, Casolari-A; Inclusion complexation of sunscreen agent, 2-ethylhexyl-p-dimethylaminobenzoate with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, *J-Pharm-Pharmacol (Journal-of-Pharmacy-and-Pharmacology)*, 1999 (Dec), 51 (12), 1367-74.
- 15- Orient-I, Cerchiara-T, Zecchi-V, Arias Blanco-M.J., Gines-J.M., Moyano-J.R., Robasco Alvarez-A.M.: Complexation of ursodeoxycholic acid with beta-cyclodextrine-choline dichloride coprecipitate, *Int. J. Pharm (International-Journal-of-Pharmaceutics)*, 1999, 190, 139-153
- 16- Tenjarla-S, Puranjati- P, Kasina-R, Mandal-T: Preparation, characterization and evaluation of micronized beta-cyclodextrine complexes for improved oral and topical delivery, *J.Pharm.Sci (Journal-of-Pharmaceutical-sciences)*, 1998, 87, 425-429
- 17- Arias-M.J., Moyano-J.R., Gines-J.M.: Investigations of the triamterene-beta-cyclodextrine system prepared by co-grinding, *Int. J. Pharm (International-Journal-of-Pharmaceutics)*, 1997, 153, 181-189
- 18- Chivert A, Carmen M, Marti P, Salvador A., Determination of UV filters in sunscreens., *Fresenius J. Anal. Chem. (2001)*, 369 (638- 641)
- 18- Shokri. J, Nokhodchi. A, Dashbolaghi. A, Hassan-Zadeh. D, Ghafourian. T, Barzegar-Jalali. M: The effect of surfactants on the skin penetration of diazepam, *International Journal of Pharmaceutics* 228 (2001) 99-107
- 19- Nokhodchi. A, Shokri. J, Dashbolaghi. A, Hassan-Zadeh. D, Ghafourian. T, Barzegar-Jalali. M: The enhancement effect of surfactants on the penetration of lorazepam through rat skin, *International Journal of Pharmaceutics* 250 (2003) 359-369
- 20- Jan D. Bos and M. H. M. Meinardi: The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs, *Experimental Dermatology*, 9 (2000), 165-169.