

Cercetări privind formularea și caracterizarea unor dermopreparate cu acțiune antiacneică

RESEARCH ON FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF ANTI-ACNE ACTING TOPICAL PREPARATIONS



Dr. Manuela Hortolomei¹, Dr. Grațiela Popa¹, Dr. Iulian Stoleriu², Dr. Anca Zbranca^{1,3},
Dr. Iuliana Popovici¹, Șef Lucr. Dr. Lăcrămioara Ochiuz¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași

²Facultatea de Matematică, Universitatea „Al. I. Cuza”, Iași

³Clinica „Roderma”, Iași

Rezumat

Acneea este o afecțiune cutanată cu o incidență foarte mare atât în rândul tinerilor, cât și în rândul adulților. Luând în considerare eficacitatea terapeutică a eritromicinei și a tretinoinei în tratamentul topic al acneei, dar și efectele secundare pe care le pot induce, manifestate prin xeroze locale și efecte iritative, ne-am propus formularea unor dermopreparate emoliente și hidratante cu acțiune antiacneică prin asocierea celor două substanțe active cu uleiul de avocado. În cercetarea realizată am studiat trei formule în care am introdus eritromicină bază 2%, tretinoin 0,025% și concentrații diferite de ulei de avocado cuprinse în intervalul 3-7%. Formulările sunt stabile din punct de vedere fizico-chimic, prezintă un comportament plastic tixotrop, iar vâscozitatea variază invers proporțional cu concentrația uleiului de avocado din formulă. Testele de dizolvare in vitro au evidențiat faptul că atât eritromicina, cât și tretinoina prezintă o cedare liniară în timp, însă rezultatele obținute indică necesitatea unor studii suplimentare de evaluare a cineticii de cedare prin selectarea unui mediu de dizolvare cu proprietăți diferite față de cele ale mediului folosit în acest studiu (soluție tampon cu pH = 5,4).

Cuvinte cheie: preparate antiacneice, eritromicină, tretinoin, ulei de avocado

Adresa de corespondență:

Șef Lucr. Dr. Lăcrămioara Ochiuz, Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Str. Universității Nr. 16, Iași
e-mail: ochiuzd@yahoo.com

Abstract

Acne is a skin condition with high incidence in young and adult population. Considering the therapeutical efficacy of erythromycin and of tretinoin in the topical treatment of acne, but also the side effects that may occur (manifested as topical xerosis and irritations), our goal was to formulate some moisturizing and hydrating topical preparations; these preparations are intended to have an anti-acne effect, due to the combination of the two mentioned drugs with avocado oil. Our study concerned 3 formulations with erythromycin base 2 %, tretinoin 0.025 % and avocado oil in various concentrations in the range of 3-7 %. The preparations were chemically and physically stable, had a plastic-tixotropic behavior and their viscosity was inversely correlated to the avocado oil concentration in the formulation. The *in vitro* dissolution studies revealed that both erythromycin and tretinoin displayed a linear release in time, but the obtained results suggest the need of further studies on the release kinetics, by selecting an adequate dissolution medium, with different characteristics compared to the one used in the present study (buffer solution pH = 5.4).

Key words: anti-acne products, erythromycin, tretinoin, avocado oil

INTRODUCERE

Acneea reprezintă o afecțiune frecventă a pielii cu care se confruntă aproximativ 30% din populația globului, jumătate dintre aceștia fiind pacienți cu vârste cuprinse între 30 și 50 de ani (1). Această afecțiune cutanată se dezvoltă în trepte, acționând asupra integrității epiteliale prin afectarea sensibilității vasculare, manifestându-se ca o dermatoză cronică (2,3). Pielea deschisă la culoare este cel mai mult afectată de acneea rozacee, caracterizată de episoade acutizate de înroșire a obrazilor, urmate de eriteme persistente și telangiectazii care vor degenera mai târziu în erupții inflamatorii repetate, precum papule și pustule pe întreaga față. Aceste leziuni se manifestă adesea pe fondul unei elastoze solare și a dermatoheliozei (4,5).

Forma ușoară de acnee se manifestă doar prin prezența comedoanelor și a pustulelor în număr scăzut. Forma moderată este caracterizată de numeroase comedoane, multe pustule și noduli mici, fără cicatrici reziduale. În forma severă pustulele sunt numeroase, se detectează mulți noduli, cicatrici prezente și inflamație marcată. Acneea foarte severă este recunoscută prin comedoanele grupate, numărul mare de noduli profunzi, cicatrici și inflamație severă (6).

Mecanismul de apariție și de dezvoltare a acneei rozacee depinde de numeroși factori, precum: *obiceiuri alimentare greșite* (ingestia de alcool, băuturile fierbinți, mâncărurile condimentate etc.), *emoționali* (stresul, nervozitatea, agitația), *factori de mediu*, *infecțioși*, *vasculari*, *genetici*, *imunologici* alături de numeroase agresiuni aduse pielii prin *utilizarea produselor dermatologice* cu un conținut ridicat în alcool, mentol, eucaliptol sau diverse uleiuri volatile

care vor manifesta un potențial iritant asupra tegumentelor (1).

Germeii patogeni reprezintă o cauză majoră în etiopatologia acneei. *Propionibacterium acnes* (*Corynebacterium acnes*), *Staphylococcus album* și fungi din familia *Pityrosporum* (*P.ovale* și *P.orbicularare*) pot coloniza foliculul pilosebaceu. La aceștia se pot adăuga *Staphylococcus aureus*, enterobacterii și germeni anaerobi. Lipazele microbiene hidrolizează trigliceridele din sebum, generând astfel acizi grași proinflamatori (4,7,8). Un alt microorganism, *Malassezia furfur* (*Pityrosporum ovale*), este regăsit în mod frecvent la analiza microbiologică a probelor cu acnee rozacee, existând posibilitatea implicării acestuia în patogeneza bolii doar pe suprafețele epiteliale cu o densitate crescută a foliculilor piloși (3).

Deoarece factorii microbieni sunt cauza principală a acneei, tratamentul acestei afecțiuni cutanate include administrarea a cel puțin unui antibiotic la care germeul cauzator este sensibil. Tratamentul local al acneei este obligatoriu și poate fi asociat cu cel sistemic, în funcție de severitatea afecțiunii.

Obiectivul acestor studii a constat în formularea și prepararea unor dermopreparate antiacneice cu o bază de unguent de absorbție emulsionată, de tip H/L cu ulei de avocado. În formulările studiate am asociat *eritromicină și tretinoin*, două substanțe a căror eficacitate antiacneică este cunoscută în combinație cu *uleiul de avocado* pentru a diminua efectele secundare locale ale acestor substanțe prin acțiunea emolientă, nutritivă și de regenerare cutanată specifică acestui ulei. Toleranța și efectul hidratant al uleiului de avocado au fost investigate în cadrul unui studiu publicat anterior (9).

MATERIALE ȘI METODE

Materiale

Alcool cetostearilic, vaselină, (Amol Pharmaceuticals, India), eritromicină bază și tretinoin (Sigma Aldrich, Germania), ulei de avocado (Natural Sourcing LLC, Oxford Anglia). La preparare a fost folosită apă purificată și alți reactivi corespunzători condițiilor de calitate prevăzute de F.R. X.

Metode

Formularea și prepararea unor dermopreparate cu acțiune antiacneică

În prima etapă a studiului am formulat o bază unguent emulsie tip H\L, la prepararea cărei am folosit următoarele ingrediente: alcool cetostearilic, vaselină, ulei de parafină, trietanolamină și apă. Ulterior am preparat 3 formule ale unor preparate antiacneice, a căror concentrație în substanțe active este prezentată în Tabelul 1.

Tabelul 1. Formula dermopreparatelor studiate

Substanță activă (% m/m)	Formula		
	F1	F2	F3
Eritromicină bază	2	2	2
Tretinoin	0,025	0,025	0,025
Ulei de avocado	3	5	7

Formulele studiate au fost preparate prin dispersarea substanțelor active în baza de unguent, cu ajutorul unui agitator mecanic, Nahita 6002, la o viteză de rotație de 300 rpm.

Controlul calității dermopreparatelor antiacneice

Controlul calității dermopreparatelor studiate a constat în următoarele determinări:

- *Controlul macroscopic* (aspect, culoare și miros) – s-a realizat conform prevederilor F.R.X. imediat după preparare și la 30 de zile după acest moment.
- *Determinarea pH-ului* – s-a realizat potențiomtric cu pH-metru pentru produse dermatocosmetice HI 99181 (10).
- *Evaluarea comportamentului reologic* – s-a efectuat cu ajutorul Reometrului Brookfield DV-III Ultra, model 5x HBDVIIIU, prin determinarea tensiunii de forfecare la diferite viteze. Determinările au fost realizate în conformitate cu instrucțiunile prevăzute în specificațiile tehnice ale aparatului, prin creșterea progresivă a vitezei de forfecare și măsurarea variației vâscozității, respectiv a tensiunii de forfecare în funcție de viteză.

Evaluarea cineticii de cedare a eritromicinei și tretinoinei din dermopreparate antiacneice

Testele de dizolvare *in vitro* au fost efectuate la aparatul SR 8 Plus Series (AB&L Jasco), cu celula Enhancer, cu diametrul de 4 cm, conform următorului protocol:

- *mediu de dizolvare*: soluție tampon cu pH = 5,4;
- *masa probei*: pentru fiecare formulă studiată s-au utilizat 0,5 g;
- *membrană celulozică* cu diametrul porilor $\varnothing = 45\mu\text{m}$;
- *temperatură*: $37\text{ }^\circ\text{C} \pm 0,2\text{ }^\circ\text{C}$;
- *interval de recoltare*: 30 min., 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h și 6 h. La fiecare moment au fost recoltați 3 ml mediu, care au fost înlocuiți cu mediu proaspăt;
- *viteză*: 50 rpm.

Membrana celulozică a fost plasată în mediul de dizolvare timp de 24h, a priori efectuării testului *in vitro*, în vederea hidratării și dilatării optime a porilor.

Determinarea cantitativă a eritromicinei și a tretinoinei s-a realizat printr-o metodă de cromatografie de lichide de înaltă performanță, cu detecție UV conform monografiilor din Farmacopeea Americană 30 NF 25 (11,12) și Farmacopeea Europeană (13). Sistemul HPLC utilizat a fost format din: HPLC tip HP 1090 series II, spectrofotometru UV-VIS Agilent 8453. Faza staționară a sistemului a constat în coloană de Octadecilsilil silicagel pentru cromatografie (C_{18}) ($5\mu\text{m}$), cu următoarele caracteristici: dimensiune: $l = 0,25\text{ m}$, $\Phi = 4,6\text{ mm}$; suport: oțel inoxidabil. Faza mobilă a fost un amestec de soluție fosfat disodic 0,01 M: acetonitril în raport de 25:75. Debitul de curgere a fost stabilit la 1 ml/min., volumul injectat a fost de 20 μl , iar detecția a fost înregistrată la lungimea de undă de 200 nm pentru eritromicină și 380 nm pentru tretinoin.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Control macroscopic – formulările studiate se prezintă sub forma unor creme cu aspect omogen, cu o culoare galben-verzuie determinată de uleiul de avocado, având un miros caracteristic. Pentru exemplificare



Figura 1. Baza de unguent emulsie tip H\L – 30 de zile de la preparare

redăm în Figura 1 aspectul bazei de unguent emulsie tip H/L și în Figura 2 aspectul formulei. Preparatele și-au menținut acest aspect și după 30 de zile de la preparare fiind păstrate în condiții normale de temperatură, presiune și umiditate atmosferică ($20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, 60-65% umiditate relativă).



Figura 2. Formula F3 – 30 de zile de la preparare

Rezultatele **determinărilor de pH** sunt redată în Tabelul 2. Se observă că pe perioada testată nu s-au produs modificări ale valorilor de pH pentru formulările

studiate și valoarea acestui parametru de calitate se încadrează în limitele intervalului compatibil cu pielea.

Tabelul 2. Valorile pH-ului formulărilor studiate

Formula	pH inițial	pH după 30 de zile
F1	6	6.01
F2	5,8	5,7
F3	5,3	5,3

Evaluarea comportamentului reologic – rezultatele obținute sunt redată în Figurile 3, 4, 5 în care sunt prezentate reogramele și curbele de vâscozitate ale celor 3 formule studiate.

În ceea ce privește vâscozitatea, se observă în mod evident că valoarea acestui parametru de curgere scade direct proporțional cu creșterea concentrației de fază lipofilă din formulă.

Evaluarea cineticii de cedare a eritromicinei și tretinoinei din dermopreparate antiacneice – rezultatele testului de dizolvare au evidențiat o cedare liniară în timp atât a eritromicinei, cât și a tretinoinei din formulele studiate.

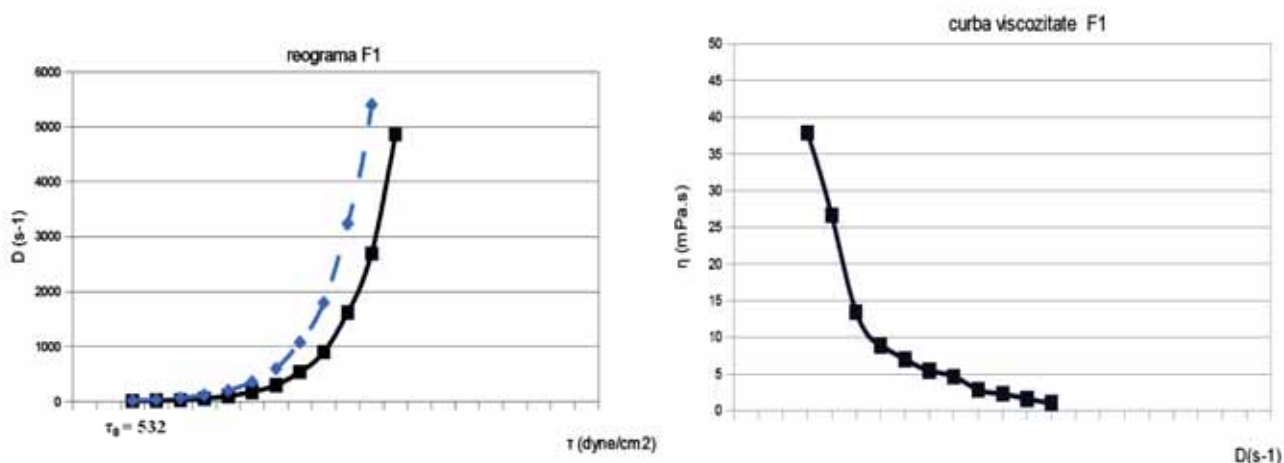


Figura 3. Comportamentul reologic al formulei F1

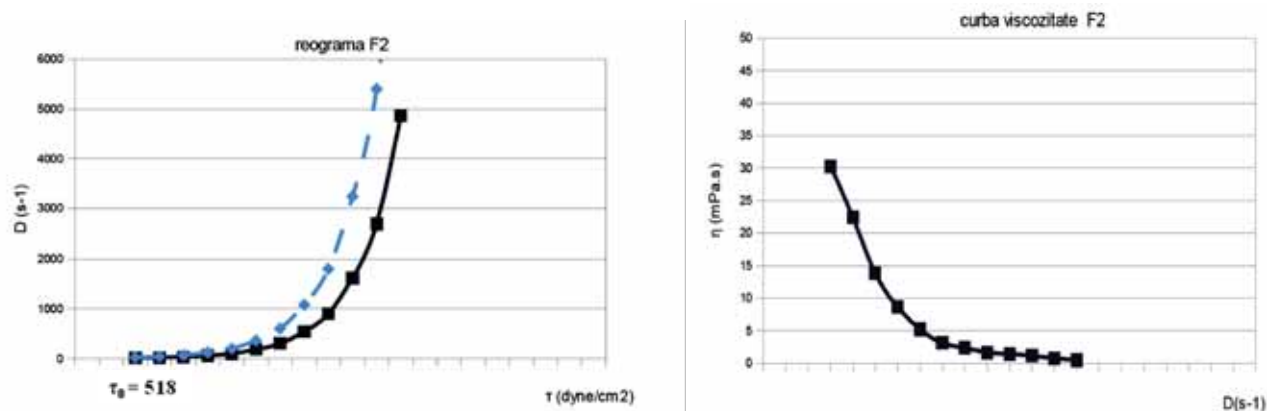


Figura 4. Comportamentul reologic al formulei F2

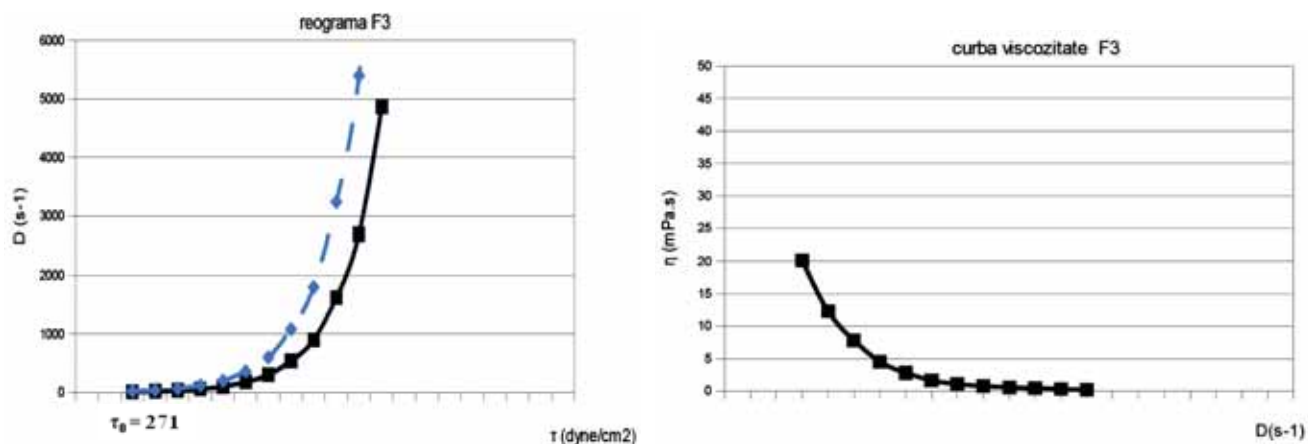


Figura 5. Comportamentul reologic al formulei F3

Deoarece cantitatea de substanță cedată este proporțională cu rădăcina pătrată a timpului și viteza de cedare este dependentă de timp, ca parametru de lucru, rezultatele obținute în cadrul acestei etape de cercetare sunt exprimate în unități de masă de substanță cedată (μg) pe cm^2 , unitate de suprafață versus rădăcina pătrată a timpului.

Ritmul de cedare a eritromicinei variază invers proporțional cu concentrația uleiului de avocado din formulă (Figura 6). Având în vedere cantitatea foarte mică de eritromicină cedată, apreciem că aceste rezultate pot fi determinate fie de caracteristicile mediului de dizolvare, fie de dimensiunea porilor membranei care nu au permis difuzia moleculelor dizolvate.

Luând în considerare și rezultatele obținute în cazul tretinoinei, unde, de asemenea, am înregistrat o cedare exprimată în valori procentuale unitare ($< 10\%$) (Figura 7) apreciem că sunt necesare studii suplimentare de investigație a cedării *in vitro* prin selectarea unui mediu de dizolvare, cu proprietăți total diferite de cele ale mediului utilizat în această etapă de cercetare.

CONCLUZII

Cercetările prezentate în această lucrare au avut ca obiectiv formularea și evaluarea farmacotehnică a unor dermopreparate cu acțiune antiacneică cu eritromicină, tretinoin și ulei de avocado. Cele două substanțe active au fost introduse în formulă în concentrație constantă de 2% pentru eritromicină și 0,025% pentru tretinoin, în timp ce uleiul de avocado a fost utilizat în

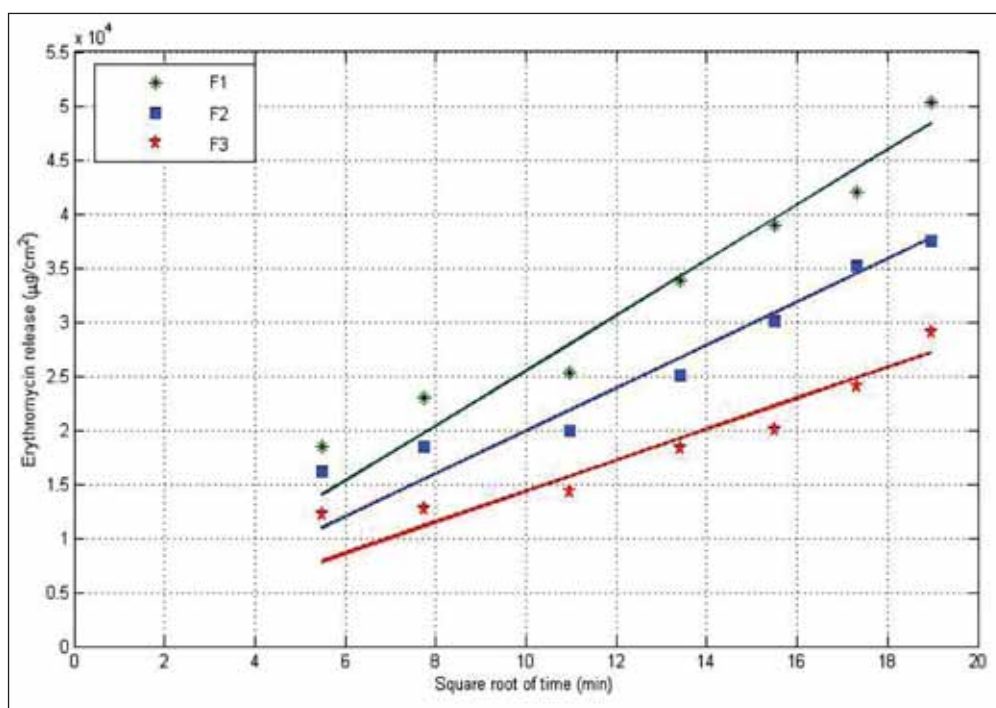


Figura 6. Cedarea in vitro a eritromicinei din formulele F1, F2, F3

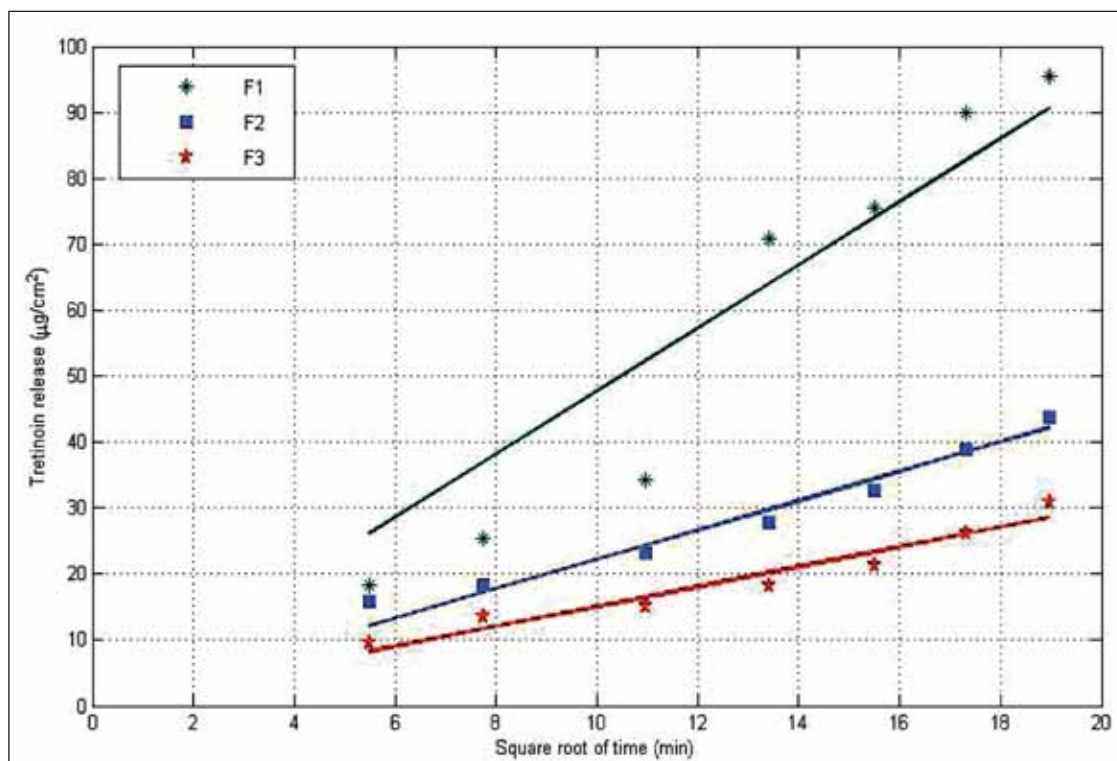


Figura 7.
Cedarea *in vitro*
a tretinoinei din
formulele F1,
F2, F3

concentrații variabile cuprinse în intervalul 3-7%. Rezultatele obținute au evidențiat faptul că formulările studiate sunt stabile și au un comportament plastic tixotrop influențat de concentrația fazei lipofile din formulă. În ceea ce privește cedarea substanțelor active s-a constatat o cedare liniară în timp atât pentru eritromicină, cât și pentru tretinoină pe durata celor 2

ore a testului de dizolvare *in vitro*. Deoarece procentul de cedare a substanțelor active este foarte mic, apreciem că sunt necesare studii suplimentare de investigație a cedării *in vitro*, prin utilizarea unui alt tip de membrană și selectare, unui mediu de dizolvare cu proprietăți diferite de cele ale mediului utilizat în această etapă de cercetare.

BIBLIOGRAFIE

1. Millikan L., *Recognizing rosacea*. *Postgrad Med*, 2009, 105:149-158;
2. Wilkin JK., *Rosacea-pathophysiology and treatment*. *Arch Dermatol*, 2004, 130:359-362;
3. Thiboutot DM., *Acne rosacea*. *Am Fam Physician*, 1994, 50:1691-1697;
4. Plewig G, Jansen T., *Rosacea*. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolf K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB, eds. *Fitzpatrick's Dermatology in General Dermatology*. New York: McGraw-Hill, 2005, 785-794.
5. Rebora A., *Rosacea*. *J Invest Dermatol* 88 (suppl. 3): 2007, 56S-60S.
6. Zouboulis C.C., Piquero-Martin J., *Update and future of systemic acne treatment*, *Dermatol*, 2011, 206, 37-35.
7. Jeremy A.H., Holland D.B., Roberts S.G., Thomson K.F., Cunliffe W.J., *Inflammatory events are involved in acne lesion initiation*, *J. Invest Dermatol*, 2003, 121, 20-27.
8. Burkhart C.N., Gottwald L., *Assessment of etiologic agents in acne pathogenesis*, *Skinmed*, 2003, 2, 222-228.
9. Hortolomei M., Popovici I., Ochiuz L., *Influence of formulation factors on the physico-chemical characteristics of dermal microemulsions prepared with sucrose esters*, *Farmacia* 4(60), 2012, 484 – 493.
10. *** Farmacopeea Română ed. a X-a, editura Medicală, București, 1993, 751 – 752.
11. *** Erythromycin monograph (2007), *US Pharmacopeia 30 – National Formulary 25*, New York: 2058.
12. *** Tretinoin monograph (2007), *US Pharmacopeia 30 – National Formulary 25*, New York: 3388.
13. *** The European Pharmacopoeia 7th, Strasbourg, 2011, 1011 – 1013.