

# مراقبة جودة كريمات الكلوتريمازول المسوقة محلياً

## خلال عمر الاستخدام

طالبة الماجستير: يارا محمود عوده

قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية-كلية الصيدلة- جامعة حمص

إشراف: أ.م.د. هاني سليم

### ملخص البحث

يعتبر الكلوتريمازول أحد أهم الأدوية المستخدمة لعلاج الإنتانات الفطرية الموضعية. وتعتبر مستحضرات الكلوتريمازول الجلدية من المستحضرات الشائعة الاستخدام والتي تُعطى دون وصفة طبية. يتواجد الكلوتريمازول ضمن أشكال صيدلانية عديدة صلبة ونصف صلبة وسائلة، وتعتبر الأشكال الصيدلانية نصف الصلبة قليلة الثبات مقارنة بالأشكال الصلبة وذلك بسبب كونها غير مقسمة لجرعات مضبوطة ويمكن أن تكون متعددة الأطوار كالكريمات كما أن هناك إمكانية لتعرضها للعوامل الخارجية وهذا يتطلب دراسة عمر الاستخدام الفعلي لهذه المستحضرات.

تضمن هذا البحث تقييم جودة كريمات الكلوتريمازول المحفوظة في درجة حرارة الغرفة أثناء استخدامها من قبل المرضى من خلال محاكاة طريقة الاستخدام (مع اتباع ممارسات النظافة الجيدة وبدونها).

تم إجراء البحث على العديد من طبخات كريمات الكلوتريمازول الجلدية من عدة شركات محلية (ثلاث شركات)، حيث تم إجراء عدد من الاختبارات لمراقبة ثباتها وهي: الفحوص الحسية (مراقبة

لون، رائحة، قوام ومظهر الكريم)، فحص تحديد نمط المستحلب، فحص للزوجة، فحص الامتداد، فحص درجة الحموضة، مقايضة المادة الفعالة واختبارات مكروبيولوجية (اختبار التعداد الميكروبي والتحري عن العنقوديات المذهبة والزانفة الزنجارية) عند الفتح وخلال ثلاثة أشهر من عمر الاستخدام.

أظهرت الدراسة أن جميع الكريمات المدروسة حققت الشروط الدستورية المطلوبة من الناحية الفيزيائية والكيميائية عند الفتح. وأما خلال عمر الاستخدام فقد حافظت الكريمات المدروسة على جودتها باستثناء كريمات الشركة A التي أصبحت خارج الحدود الدستورية. وتشير نتائج الدراسة إلى أن مستحضرات الكلوتريمازول (الكريمات) التي تم استخدامها مع اتباع ممارسات النظافة الجيدة GHP هي الأفضل نسبياً من ناحية الثباتية، ومن الممكن استخدام كريمات الكلوتريمازول لمدة ثلاثة أشهر باستثناء كريمات الشركة A التي أصبحت خارج الحدود المقبولة.

**الكلمات المفتاحية:** مراقبة جودة، كلوتريمازول، عمر الاستخدام، الكريمات، ثباتية.

# **Quality Control of Locally Marketed Clotrimazole Creams During in-Use Shelf-Life**

## **Abstract**

Clotrimazole is one of the most important drugs used to treat fungal infections. Clotrimazole skin preparations are among the commonly used preparations that are given as OTC. Clotrimazole is available in many pharmaceutical forms: solid, liquid and semi-solid. The semi-solid pharmaceutical forms are considered as low stability forms because they are not divided into specific doses, may contain multiple phases (creams) and there is the possibility of them being exposed to external factors. This requires studying the actual in-use shelf life of these preparations.

This research involved evaluating the quality of clotrimazole creams kept at room temperature during their use by simulating the method of use (with and without good hygiene practice).

The research was conducted on many batches of clotrimazole skin creams from several local companies(3 companies) , where number of tests were conducted to monitor their stability: sensory tests (monitoring the color, smell, texture and appearance of the cream) , examination of Emulsion

Type Determination , Spreadability Test , viscosity test, pH test, assay of the active substance) and microbiological tests (Microbial Enumeration Test and investigation of *Pseudomonas aeruginosa* and *staphylococcus aureus*) at opening and within three months of use.

Upon opening the containers all the studied creams met the required pharmacopoeia conditions in terms of physical and chemical aspects. During the life of use, the thoughtful creams maintained their quality, with the exception of Company A, which have become outside the acceptable limits. The results of the study indicate that clotrimazole preparations (creams) that were used while following good hygiene practice GHP were relatively better in terms of stability. It is possible to use clotrimazole creams for three months, with the exception of Company A creams, which have become outside the acceptable limits.

**Keywords:** quality control, clotrimazole, in-use shelf-life, creams, stability.

## 1 مقدمة نظرية Introduction

يعتبر الجلد أكبر عضو في الجهاز الغطائي لجسم الإنسان إذ يغطي كامل الجسم ويعمل كحاجز واقٍ من البيئة الخارجية (الدفاع ضد العدوى البكتيرية، الحماية من المواد الكيميائية والسموم.. إلخ) ويعمل أيضاً على تنظيم درجة حرارة الجسم، يعتبر الجلد عرضة للإصابة بمختلف الاضطرابات كالصدفية، العدوى البكتيرية، العدوى الفطرية وغيرها. لذا يتم استخدام المستحضرات الموضعية لعلاج الاضطرابات الجلدية حيث تتميز هذه المستحضرات بتطبيق مباشر للمادة الدوائية على الجلد (موقع الاضطراب أو الآفة) أي علاج الأنسجة المصابة فقط [1][2].

تُعرف المستحضرات الموضعية الجلدية بأنها أشكال صيدلانية نظيفة تطبق على الجلد أو الأغشية المخاطية لتعطي تأثيرها الموضعي [2][3].

ويمكن تصنيف المستحضرات الجلدية بالاعتماد على شكلها الفيزيائي وصفاتها إلى مستحضرات صلبة كالمساحيق، ومستحضرات نصف صلبة كالكريمات، المراهم، الجل، المعجون، ومستحضرات سائلة كالمحاليل، المعلقات، والغسولات [2].

وبالحديث عن الكريمات تُعرف بأنها أشكال صيدلانية نصف صلبة على هيئة مستحلبات مكونة من طورين غير ممتزجين طور مائي وطور زيتي، حيث يتبعثر الزيت بشكل قطرات صغيرة ضمن الطور المائي ليعطي مستحلبات زيت في ماء (الكريمات الغسولة)، أو العكس يتبعثر الماء ضمن الطور الزيتي ليشكل مستحلبات ماء في زيت (الكريمات الزيتية) [4].

وتعتبر الكريمات مستحضرات ضعيفة الثبات باعتبارها مستحلبات فمن أشكال عدم ثباتها الفيزيائي (التقشيد، الاندماج، انقلاب الطور.. إلخ)، وأيضاً لأنها عرضة للتلوث الميكروبي كونها تحتوي على الماء وإمكانية تلوثها أثناء الاستخدام من قبل المريض [2][5]. بشكل عام تعتبر المستحضرات الجلدية (الكريمات) مستحضرات غير مجزأة لجرعات مضبوطة وبالتالي فهي أكثر

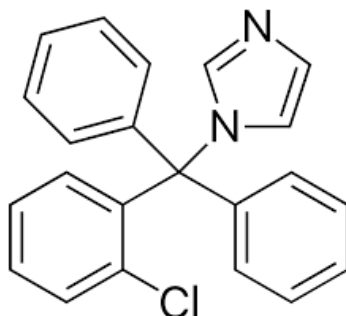
عرضة مقارنةً بالمستحضرات الأخرى للتخرب الفيزيائي أو الكيميائي أو الميكروبيولوجي خلال عمري الرف والاستخدام [6].

يُعرف عمر الرف بأنه الفترة الزمنية التي من المتوقع أن يبقى المنتج الدوائي خلالها ضمن المواصفات المطلوبة، شريطة أن يتم تخزينه في ظروف التخزين الموصى بها [7]. ويمكن تعريف عمر الاستخدام بأنه المدة الزمنية التي يبقى فيها المستحضر الدوائي المتعدد الجرعات multi dose بعد فتح عبوته محافظاً على جودته الكيميائية والفيزيائية والميكروبيولوجية [6][8].

وبمجرد فتح العبوة المتعددة الجرعات سيعرضها ذلك إلى عوامل خارجية (الرطوبة، الضوء، الأكسجين، والكائنات الدقيقة.. إلخ) يمكن أن تؤثر على ثباتها. مما قد يؤدي إلى إمكانية حدوث تغير في الخصائص الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية للمنتج الدوائي أثناء الاستخدام، وبالتالي فإن فترة صلاحية استخدام المنتج بعد فتح عبوته ستكون أقصر مما هي عليه في حال العبوة المختومة [6][9].

تُعرف اختبارات الثبات أثناء الاستخدام بأنها اختبارات ثباتية يتم تطبيقها على المستحضرات المتعددة الجرعات للتأكد بأن المستحضر يبقى محافظاً على مواصفات جودته ضمن الحدود المقبولة بعد فتح العبوة خلال عمر الاستخدام. إذ ينبغي تحديد المواصفات الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية للمستحضر الصيدلاني على مدار فترة الصلاحية المقترحة لعمر الاستخدام [8][10].

ومن المستحضرات الجلدية غير المجزأة والتي تستخدم موضعياً وبشكل شائع نذكر كريمات الكلوتريمازول، حيث يعتبر الكلوتريمازول (Clotrimazole) (الشكل 1) أحد أهم العلاجات المستخدمة لعلاج الإنتانات الفطرية، ويقع ضمن فئة الايميدازول الفرعية من أدوية الآزول المضادة للفطور [11].



الشكل (1) بنية Clotrimazole

يعمل الكلوتريمازول عن طريق تثبيط اصطناع الارغوستيروول الذي يعتبر العنصر الأساسي في الغشاء السيتوبلازمي الفطري، حيث أثناء اصطناع الارغوستيروول يمنع الكلوتريمازول نزع الميثيل (demethylation) من Lanosterol عن طريق تثبيط انزيم Lanosterol 14 $\alpha$  demethylase ، وبالتالي يسبب اضطراب في نفاذية الغشاء. وباعتبار الارغوستيروول يحفز بشكل مباشر نمو الخلايا الفطرية بطريقة تشبه الهرمونات فإن ذلك يؤدي إلى تثبيط نمو الفطريات [12][13].

يعتبر الكلوتريمازول مضاد فطري واسع الطيف حيث يملك فعالية ضد فطريات المبيضات البيض وغيرها من الإنتانات الفطرية الأخرى، ويملك فعالية تجاه بعض الجراثيم إيجابية الغرام. حيث يستخدم الكلوتريمازول موضعياً لعلاج أمراض ك سعة القدم، سعة الفخذ (السعة الآربية)، سعة الجسم، الفطريات الشعروية، الفطريات البشرية والمبيضات البيض [14].

وانطلاقاً من قلة ثباتية المستحضرات المتعددة الفتح والاستخدام نتيجة الفتح المتكرر للعبوات وإمكانية تغير الخصائص الفيزيائية والكيميائية والمكروبيولوجية أثناء التخزين والاستخدام والتي قد تؤدي إلى تخرب المنتج وانخفاض الفعالية العلاجية، وباعتبار كريمات الكلوتريمازول مستحضرات شائعة الاستخدام لعلاج الإنتانات الفطرية وتُعطى دون وصفة طبية ويتم استخدامها لفترات طويلة

ومتكررة بسبب طبيعة الأمراض الفطرية تم العمل على مراقبة جودة هذه المستحضرات خلال عمر الاستخدام.

## 2 هدف البحث

❖ تقييم جودة كريمات الكلوتريمازول المسوقة محلياً عبر إجراء مجموعة من الفحوص الفيزيائية والكيميائية والمكروبيولوجية.

❖ مراقبة جودة وثبات كريمات الكلوتريمازول خلال عمر الاستخدام واقتراح عمر الاستخدام المناسب.

## 3 مواد وطرائق البحث

### 3.1 المواد المستخدمة

كلوتريمازول كمادة أولية عيارية Standard ذات نقاوة 99.76%، أسيتونتريل (Honeywell Riedel-de Haen/ Germany ) خاص للاستخدام في جهاز HPLC، ميتانول ( / Carlo ebra Germany) خاص للاستخدام في جهاز HPLC، وقاء فوسفاتي، بولي سوربات 80، ماء مقطر حديثاً من أجل عمليات التمديد والتحضير، أوساط زرع: Sabouraud Dextrose، Agar، Tryptone Soya Agar، Cetiramide Agar، Mannitol Salt Agar.

### 3.2 الأدوات والأجهزة المستخدمة

أدوات زجاجية (بيشر، دوارق حجمية، ممصات عيارية بأحجام مختلفة)، أطباق بيتري ( 90 mm )، مرشح ميكرونية (0.45 um)، مقياس درجة اللزوجة ( Brookfield DV-ii + )، مقياس درجة الحموضة (viscometer/ China Sartorius/ Germany)، جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC (Shimadzo/Japan.)، ميزان إلكتروني



حساس (Sartorius Basic /Germany)، حوض أمواج فوق الصوتية (Elma s 80H/Germany)، حاضنة جرثومية وفطرية، صاد موصل للتعقيم.

### 3.3 العينات وشروط الاستخدام والحفظ

#### 3.3.1 العينات المدروسة

تمّ جمع عينات الكريم المدروسة للكلوتريمازول من السوق المحلية، حيث تمّ الاعتيان من ثلاث شركات. وتم ترميز الشركات بالأحرف A,B,D ويشير الرقم إلى رقم الطبخة. أما الرمز C يشير للكريم. يوضح الجدول (1) العينات المدروسة مع ترميزها.

جدول (1) عينات كلوتريمازول التجارية المدروسة

الترميز	الشركة
CA1	A
CA2	
CA3	
CB1	B
CB2	
CD1	D
CD2	

#### 3.3.2 شروط استخدام العينات والحفظ

##### ❖ شروط الاستخدام

تم محاكاة طريقة استخدام المريض لمستحضرات الكلوتريمازول الموضعية وفق مايلي:

- مع مراعاة ممارسات النظافة الجيدة (GHP: Good Hygiene Practices):  
غُسِلت الأيدي جيداً، ثم فُتحت العبوة وأُخذ مقدار صغير من المستحضر بواسطة  
قطنة نظيفة ثم أُغلقت العبوة. مع مراعاة عدم لمس فوهة العبوة باليد أو سطح  
الجلد.
- دون مراعاة ممارسات النظافة الجيدة (GHP: Good Hygiene Practices):  
فُتحت العبوة بدون غسل الأيدي وأُخذ مقدار صغير من المستحضر باستخدام  
إصبع اليد ثم أُغلقت العبوة.

#### ❖ شروط الحفظ

تم حفظ العينات بدرجة حرارة الغرفة.

### 3.4 الطرائق المستخدمة

أُجريت الاختبارات على الكريمات الجلدية المدروسة عند بداية الفتح وبعد ثلاثة أشهر.

#### 3.4.1 الفحوص الحسية sensory tests

هي الفحوص التي يتم إجراؤها باستخدام حواس الإنسان، حيث يتم مراقبة (تجانس اللون، الرائحة، القوام، جودة العبوة، سهولة الغسل.. إلخ) [15]. بالإضافة للانتباه للضغط الأولى عند فتح العبوة عند بداية استخدام المستحضر.

#### 3.4.2 تحديد نمط المُستحلب Emulsion Type Determination

تم اعتماد طريقة التلوين لمعرفة نمط المُستحلب بحيث تُخلط بضع قطرات من أزرق الميثيلين  
Methylene Blue مع العينة على صفيحة زجاجية، ثم مراقبة اللون الناتج تحت المجهر  
الضوئي. فإذا امتزج الكريم مع الصبغة مع ظهور لون أزرق واضح ومتجانس، كان المُستحلب من  
النمط (زيت/ماء) ز/م، لأنَّ الماء يُشكل الطور الخارجي. وبالحالة المعاكسة يكون المُستحلب من  
النمط (ماء/زيت) م/ز [16].

### 3.4.3 فحص اللزوجة Viscosity Test

تمّ قياس اللزوجة باستخدام جهاز مقياس اللزوجة وذلك بعد اختيار المغزل (Spindle) المطلوب وعدد الدورات المناسبة لحدود اللزوجة المطلوبة بحسب تعليمات عمل جهاز مقياس اللزوجة، حيث تم استخدام المغزل LV4 بعدد دورات 6RPM بالدقيقة لقياس لزوجة الكريم وبدرجة حرارة 25 م°، ولا توجد حدود دستورية لاختبار اللزوجة، بل تختلف حسب المُستحضَر المدروس والسواغات الداخلة في تركيبه.

### 3.4.4 فحص الامتداد Spreadability Test

فحص غير دستوري تم إجراؤه عن طريق قياس قطر انتشار 1 g من الكريم بعد دقيقة واحدة من وضعه بين صفيحتين زجاجيتين ووضع وزن 125 g فوق الصفيحة العلوية[17].

### 3.4.5 تحديد درجة الحموضة pH Determination

تم استخدام جهاز قياس درجة الحموضة pH meter لقياس درجة حموضة المستحضرات المدروسة وذلك بعد إخضاعه للمعايرة (Calibration) وغسل المسرى بالماء المقطر وتجفيفه جيداً. تم غمس مسرى الجهاز في العينات، ثم تم أخذ القيمة بعد ثباتها على الجهاز حيث أُخذت ثلاث قياسات متتالية وتم اعتماد المتوسط الحسابي لهذه القياسات كدرجة حموضة للعينَة المدروسة [15][18].

### 3.4.6 مقايسة المحتوى من الكلوتريمازول Assay

تمت المقايسة باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء-الطور العكوس، وفق الطريقة الدستورية USP44 بالشروط الكروماتوغرافية الموضحة في الجدول(2)[19]:

الجدول (2) الشروط الكروماتوغرافية للطريقة الدستورية

العمود المستخدم	C18 (250×4.6mm,5um)
الطور المتحرك	أسيتونتريل + وقاء فوسفاتي (1;3)
طول الموجة	254nm
معدل التدفق	1.5ml/min
حجم الحقنة	25µl
درجة الحرارة	Ambient

تحضير محلول الشاهد:

تم تحضير محلول الشاهد بوزن 25 ملغ من عياري الكلوتريمازول ونقلها إلى دورق حجمي ذو سعة 50 مل ومن ثم حلها في المذيب (الميتانول)، ويُكمل الحجم حتى الخط العياري بالمذيب، يوضع الدورق ضمن حمام الأمواج الصوتية لمدة 5 دقائق ثم يُرشح باستخدام مرشح ميكرونية فنحصل على محلول تركيزه 0.5 ملغ / مل.

تحضير عينة الكريم:

يتم وزن ما يعادل 25 ملغ كلوتريمازول من الكريم في بيشر ثم يضاف 50 مل ميتانول، ثم يتم التسخين مع التحريك باستخدام المحرك المغناطيسي وذلك حتى تمام انحلال الكريم، بعد تبريد

المحلول ضمن الحمام الثلجي تم ترشيحه باستخدام ورق الترشيح ثم تم سحب عينة باستخدام السيرنك وترشيحها بمرشح ميكرونية قبل وضعها في الفيل المخصص ضمن جهاز ال HPLC، ثم تم حقن العينات في الجهاز بتطبيق الشروط الكروماتوغرافية حيث حددت نسبة الكلوتريمازول وفورنت مع المجال المقبول ضمن دستور الأدوية USP من الرقم المعنون.

### 3.4.7 الفحوص الميكروبيولوجية microbiological tests

تم تقييم النقاوة الميكروبيولوجية للمستحضرات المدروسة بإجراء اختبارين هما:

- اختبار التعداد الميكروبي Microbial Enumeration Test

- اختبار التحري عن أحياء دقيقة معينة Test for Specified Microorganisms

حيث يحدد دستور الأدوية الأمريكي معايير الجودة الميكروبيولوجية للمستحضرات الجلدية كما هو موضح في الجدول (3) [20].

الجدول (3) الحدود الدستورية المسموحة

Route of Administration	TAMC (cfu/g or cfu/ml)	TYMC (cfu/g or cfu/ml)	Specified Microorganism
Cutaneous use	$10^2$	$10^1$	Absence of <i>S.aureus</i> (1g or 1ml)
			Absence of <i>P.aeruginosa</i> (1g or 1ml)

### 3.4.7.1 تحضير العينات للفحوص الميكروبيولوجية

لإجراء الفحوص الميكروبيولوجية كان ينبغي إلغاء الفعالية المضادة للمكروبات لكل من الكلوتريمازول والمواد الحافظة المضافة للمستحضر قبل زرعها على أوساط الزرع. لذا تم ذلك باستخدام تقنية الترشيح العشائي memberane filtration technique، كما تم تمديد العينات بالمحلول الممدد المستخدم في تحضير العينات، بالإضافة إلى ذلك تم إضافة مادة بولي سوريات 80 والتي تسمح باستحلاب المواد الدسمة.

تم تحضير عينات الكريم بأخذ 10 غ من المُستحضر إلى أريئة معقمة ثم مُزجت مع أقل كمية لازمة من 80 Polysorbates (عامل فعال على السطح) ثم تم التسخين ضمن حمام مائي درجة الحرارة 40 درجة مئوية. ثم بعد ذلك تمديد العينات باستخدام المحلول الممدد المكون من وقاء فوسفاتي ذو  $pH=7$  وحتى الوصول إلى 100 مل.

تم وضع مرشحة ميكرونية (قطر مسامها  $0.45\mu m$ ) باستخدام ملقط عقيم على قمع الترشيح. وأخذ 2 مل من المحلول الناتج إلى المرشحة الميكرونية وتم غسلها بالوقاء الفوسفاتي بمقدار 100 مل على ثلاث دفعات وذلك تحت تطبيق ضغط سلبي. وبعد الترشيح أُخذت المرشحة باستخدام ملقط عقيم ووضعت على سطح وسط الزرع التي تم صبه مسبقاً في طبق البتري [21].

### 3.4.7.2 اختبار التعداد الميكروبي Microbial Enumeration Test

يسمح هذا الاختبار بالتعداد الكمي للجراثيم والفطور التي تنمو تحت الظروف الهوائية. تم استخدام وسط Tryptone Soya Agar للتعداد الكلي للمكروبات الهوائية (TAMC)، بالمقابل تم استخدام وسط Sabouraud Dextrose Agar لتحديد التعداد الكلي لمجموع الخمائر والعفونات (TYMC).

بعد تحضير العينة للفحص وإزالة الفعالية المضادة للمكروبات، أُخذت المرشحة بواسطة ملقط عقيم إلى طبق بتري حاوي على وسط Tryptone Soya Agar مع وضع طبق شاهد يحوي

(TSA)، ثم تم الحضان بدرجة حرارة 30-35° مئوية لمدة 3-5 أيام، وتم تحديد (TAMC) على ألا تتجاوز قيمته  $10^2$  (cfu/g or ml) أي ما يعادل 200.

تم تكرار العملية السابقة ونقل المرشحة إلى طبق بتري حاوي على وسط Sabouraud Dextrose Agar مع وضع طبق شاهد يحوي (SDA) ومن ثم الحضان عند درجة حرارة 20-25° مئوية لمدة 5 أيام، وتم تحديد (TYMC) على ألا تتجاوز قيمته  $10^1$  (cfu/g or ml) أي ما يعادل 20 (cfu/g or ml) [21].

### 3.4.7.3 اختبار التحري عن أحياء دقيقة معينة Test for Specified Microorganisms

يسمح هذا الاختبار بالتحري عن غياب أحياء دقيقة معينة والتي قد تتواجد في المستحضر الدوائي.

#### 3.4.7.3.1 الكشف عن جرثومة الزائفة الزنجارية *Pseudomonas Aeruginosa*

بعد تحضير العينة وترشيحها كما سبق تُنقل المرشحة إلى زجاجة تحوي 100 مل من Teypton Soy Broth Medium المعقم وتُغلق الزجاجة جيداً، وتحفظ في درجة حرارة 35° مئوية لمدة 48 ساعة. يُؤخذ 1 مل من المستتبت السائل وتفرش على سطح Cetiramide Agar Medium وتحضن بدرجة حرارة 35° مئوية لمدة 48 ساعة.

تعتبر العينة خالية من جراثيم الزائفة الزنجارية إذا لم تعطِ المستعمرات النامية على Cetiramide Agar أي تألق أخضر [22].

#### 3.4.7.3.2 الكشف عن جراثيم العنقوديات المذهبة *Staphylococcus Aureus*

بعد تحضير العينة وترشيحها كما سبق تُنقل المرشحة إلى زجاجة تحوي 100 مل من Teypton Soy Broth Medium المعقم وتُغلق الزجاجة جيداً، وتحفظ في درجة حرارة 35° مئوية لمدة 48

ساعة. يُؤخذ 1 مل من المستنبت السائل وتفرش على سطح Mannitol Salt Agar Medium وتحضن بدرجة حرارة 35° مئوية لمدة 48 ساعة [22].

تعتبر العينة خالية من جراثيم العنقوديات المذهبة إذا لم تعطي المستعمرات النامية على Mannitol Salt Agar أي لون أصفر.

#### 4 النتائج والمناقشة

##### 4.1 نتائج الفحوص الحسية

###### عند الفتح:

كانت جميع الكريمات المدروسة ذات لون أبيض يتوافق مع لون المواد الأولية المستخدمة في صيغة الكريم [23]. ولا يوجد اختلاف بين ألوان طبخات الشركة ذاتها. يوضح الجدول (4) الصفات الحسية للمستحضرات المدروسة.

وبدت جميع المستحضرات متجانسة من حيث المظهر وخالية من أي تكتلات ظاهرية أو مواد غريبة. ولم يظهر على الكريمات أي مظاهر انفصال.

وبمراقبة الكريم أثناء خروجه من الأنبوب فقد سُمع صوت فقاعة هوائية واضح عند فتح الأنبوب للمرة الأولى (الضغط الأولى) في عينات الشركة A وهذا قد يشير إلى سوء التعبئة أو عدم التجانس أو دخول الهواء أثناء عمليتي التحضير والتعبئة.

###### خلال فترة الدراسة:

لم يُلاحظ حدوث اختلاف بالصفات الحسية للكريمات المدروسة خلال فترة الدراسة.



الجدول (4) الصفات الحسية للمستحضرات المفحوصة

المستحضر	اللون	الرائحة	المظهر	سهولة الغسل
CA1 CA2 CA3	أبيض	عديم الرائحة	متجانس	سهل الإزالة، غير متدبق
CB1 CB2	أبيض	عديم الرائحة	متجانس	سهل الإزالة، غير متدبق
CD1 CD2	أبيض	عديم الرائحة	متجانس	سهل الإزالة، غير متدبق

#### 4.2 نتائج تحديد نمط المستحلب

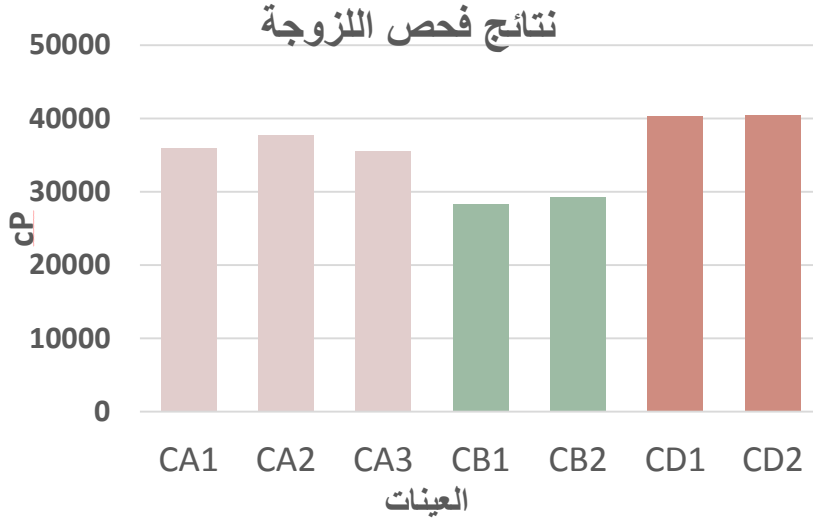
تلونت العينات المأخوذة من المستحضرات المدروسة مع الملون أزرق الميثيلين Methylene Blue مما يدل على أنّ نمط مستحلب هذه المستحضرات هو ز/م، وبقي نمط المستحلب ثابت خلال فترة الدراسة.

قد يعود ذلك كون مادة الكلوتريمازول غير منحلة في الماء، واختيار الطور المستمر مائي يسرع تحرر الكلوتريمازول من الصيغة مما يحسن اختراقية الدواء [2].

#### 4.3 نتائج فحص اللزوجة

عند الفتح:

امتلك مستحضرات الكريم قيماً لزوجة تراوحت بين cp (28300-40452) وقد تفاوتت قيم اللزوجة بين المستحضرات المدروسة. وكانت كريمة الشركة D هي الأعلى لزوجة، وكريمة الشركة B هي الأقل لزوجة. ويوضح الشكل (2) درجات اللزوجة لكريمة الكلوتريمازول عند الفتح.



الشكل (2) قيم اللزوجة لكريمة الكلوتريمازول عند الفتح

#### خلال فترة الدراسة:

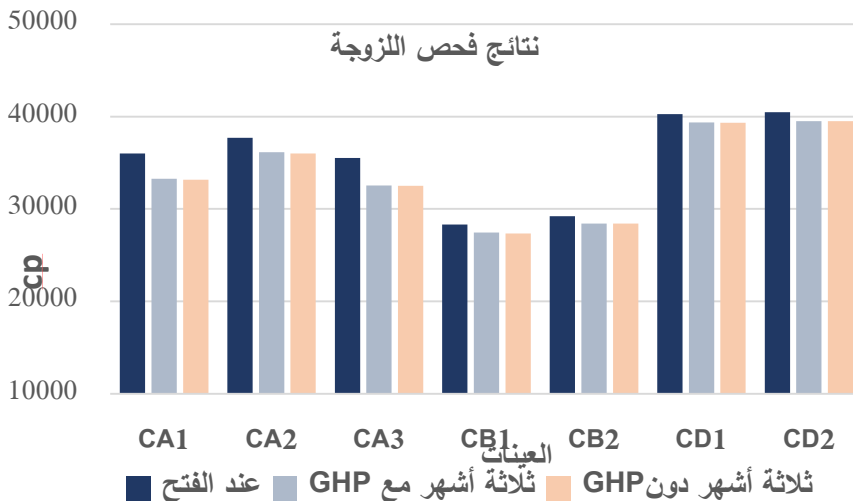
انخفضت قيم اللزوجة عن القيمة الأولية في جميع عينات الكريم بعد ثلاثة أشهر. وهذا يتوافق مع دراسة Aboud على كريمات الديكسابانينول إذ انخفضت لزوجة العينات المدروسة خلال عمر الاستخدام [7]. ويوضح الشكل (3) قيم اللزوجة أثناء عمر الاستخدام.

إن اختلاف قيم اللزوجة بين العينات عند الفتح وانخفاضها بعد ثلاثة أشهر قد يعود لعدة أسباب مثل:

-اختلاف السواغات المستخدمة ونسبتها يؤدي إلى اختلاف لزوجة الطبقات التابعة لشركات مختلفة، إذ أكد Teresa Alves أن سواغ سيتيل بالميتات يؤثر على لزوجة كريم الكلوتريمازول المحضر [24][25]. كما أن عملية التحضير تؤثر على قطر الجسيمات المبعثرة وبالتالي على لزوجة الكريم [26].

-قوى الجذب بين الجزيئات: إنّ عدد الروابط الهيدروجينية المرتفعة يزيد قوى الجذب بين الجزيئية حيث تملك بعض المواد قوى جذب مرتفعة بين جزيئاتها والبعض الآخر تكون قوى الجذب بين جزيئاتها منخفضة، وعندما تكون قوى الجذب ضعيفة تتخفّض اللزوجة [27][7].

قد يؤدي التلوث الميكروبي إلى انخفاض اللزوجة، حيث قد تتغذى الميكروبات على السواغات الداخلة في المستحضر الصيدلاني (كرافعات اللزوجة، بوليمرات السيللوز، الكحولات) وهذا ما نلاحظه في عينات الشركة A حيث انخفضت فيها اللزوجة بشكل أكبر من باقي العينات، وهذا يتوافق مع دراسة Hamdan على مستحضرات حمض الفوسيديك، حيث حدث أكبر انخفاض في اللزوجة في المستحضرات التي أبدت نمو مكروبي [28].



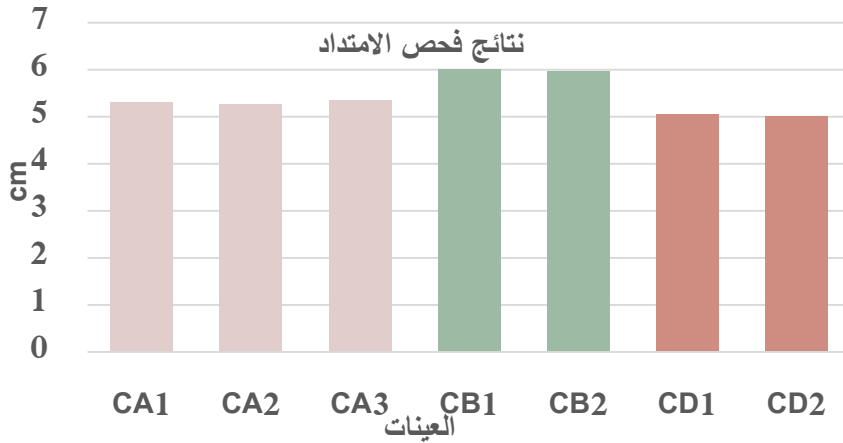
الشكل (3) نتائج لزوجة كريمات كلوتريمازول خلال عمر الاستخدام

#### 4.4 نتائج فحص الامتداد

عند الفتح:

تراوح قطر الانتشار لعينات الكريم (5~6) سم. ولا توجد قيمة دستورية لهذا الاختبار، بينما هناك العديد من الدراسات التي تشير إلى أن الانتشار المثالي للكريم يتراوح (5~7) سم [29]. ويوضح المخطط (4) نتائج فحص الامتداد عند الفتح.

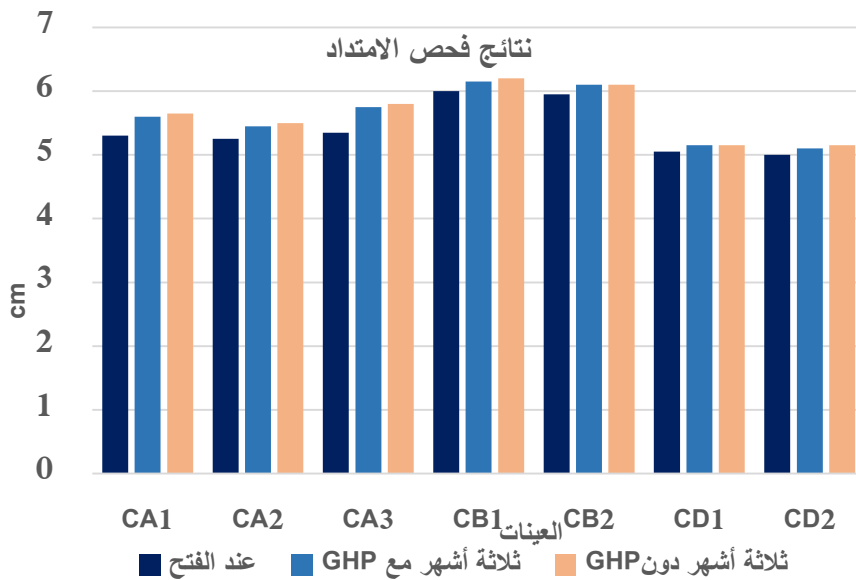
كانت عينات الشركة B الأكثر قدرة على الامتداد وتغطية المساحة الأكبر، في حين كانت عينات الشركة D هي الأقل انتشاراً. وبالربط مع نتائج اللزوجة فإن المستحضر ذو درجة اللزوجة الأقل هو المستحضر الأكثر قدرة على الامتداد. وذلك وفقاً لعدة دراسات [30].



الشكل (4) نتائج فحص الامتداد لكريمات الكلوتريمازول عند الفتح

خلال فترة الدراسة:

زادت قيم قطر الانتشار في جميع العينات، ويمكن تفسير ذلك بانخفاض لزوجة المستحضر بمرور الوقت. يوضح المخطط (5) نتائج فحص الامتداد عند الفتح وبعد ثلاثة أشهر.



الشكل (5) نتائج فحص الامتداد خلال عمر الاستخدام

#### 4.5 نتائج فحص درجة الحموضة

وهو فحص مهم حيث من الضروري ضبط درجة حموضة المستحضرات الجلدية بحيث تحافظ على فعاليتها وثباتها من جهة، وتكون قريبة من درجة حموضة الجلد كي لا تسبب أي تهيج أو تخريش للجلد.

لا توجد قيمة دستورية لدرجة حموضة مستحضرات الكلوتريمازول، لكن قيمة درجة الحموضة التي يتحملها الجلد هي [18] 4~7.

#### عند الفتح:

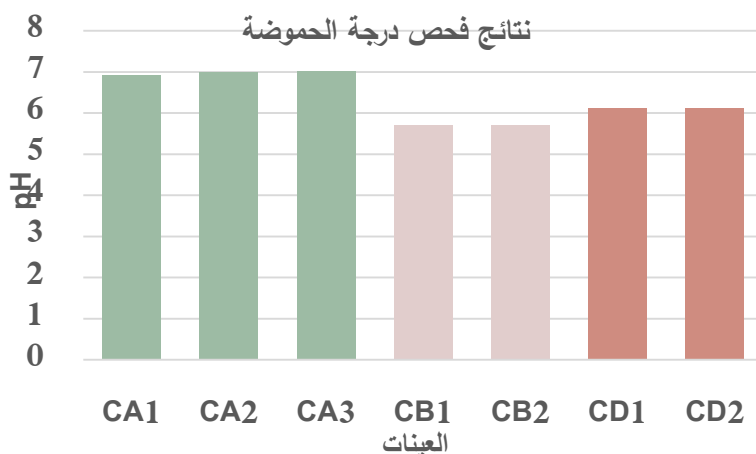
تفاوتت قيم درجة الحموضة بين المستحضرات المدروسة، حيث امتلكت كريمات الشركة A أعلى درجة حموضة في حين كانت كريمات الشركة B هي الأقل وبوضح الشكل (6) نتائج درجة الحموضة عند الفتح. ولم يُلاحظ وجود اختلاف ملحوظ بين طبخات الشركة الواحدة بينما لُوحظ

وجود اختلاف بين مستحضرات الشركات المدروسة. قد يُعزى ذلك لاختلاف السواغات المستخدمة بين الشركات.

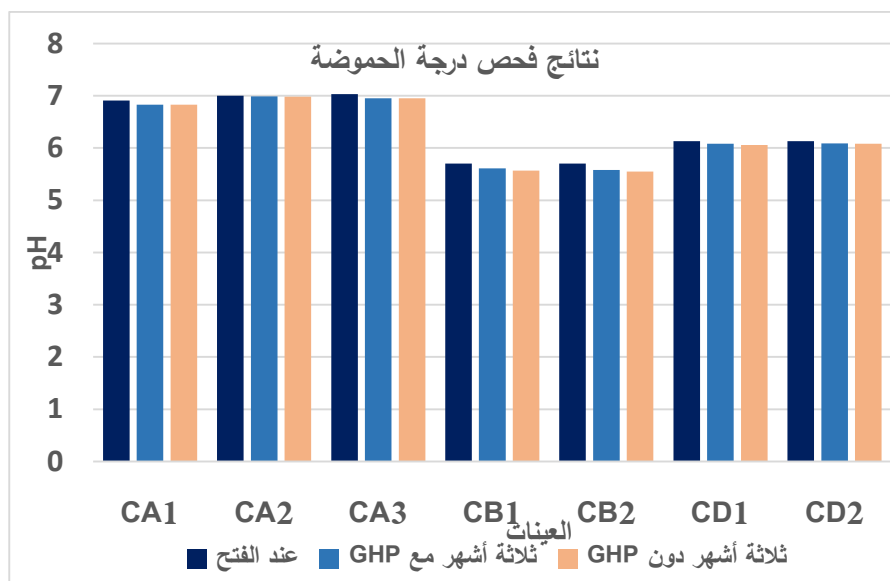
### خلال فترة الدراسة:

لُوحظ انخفاض بسيط بدرجة الحموضة في معظم المستحضرات المدروسة، وقد يعزى السبب إلى:

- انخفاض تركيز مواد ذات طبيعة قلوية مثل الكلوتريمازول [31].
- إنتاج مستقلبات ذات طبيعة حمضية نتيجة النمو الميكروبي في عينات الشركة A[32].



الشكل (6) نتائج فحص درجة الحموضة للمستحضرات المدروسة عند الفتح



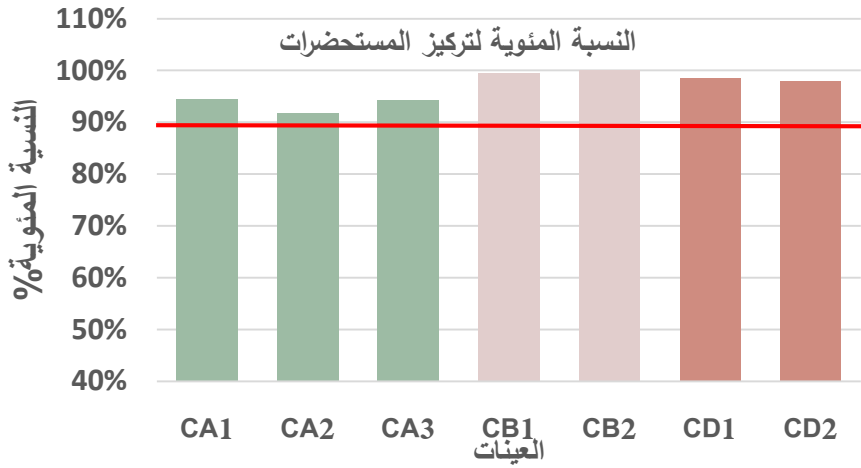
الشكل (7) نتائج فحص درجة الحموضة للمستحضرات المدروسة بعد ثلاثة أشهر

#### 4.6 نتائج فحص المقايسة

تمت مقايسة المستحضرات وفقاً للطريقة الدستورية وذلك بعد إجراء اختبار ملائمة نظام لها وحساب الانحراف المعياري الذي كان أقل من 2[19].

#### عند الفتح:

احتوت جميع المستحضرات على النسبة المئوية المسموح بها، حيث حدد دستور الأدوية الأمريكي النسبة المئوية المسموح بها لمستحضرات الكريم [19] 90.0%-110.0%. ويوضح الشكل (8) النسبة المئوية لتركيز.



الشكل (8) النسبة المئوية لتركيز المستحضرات المدروسة

### خلال فترة الدراسة

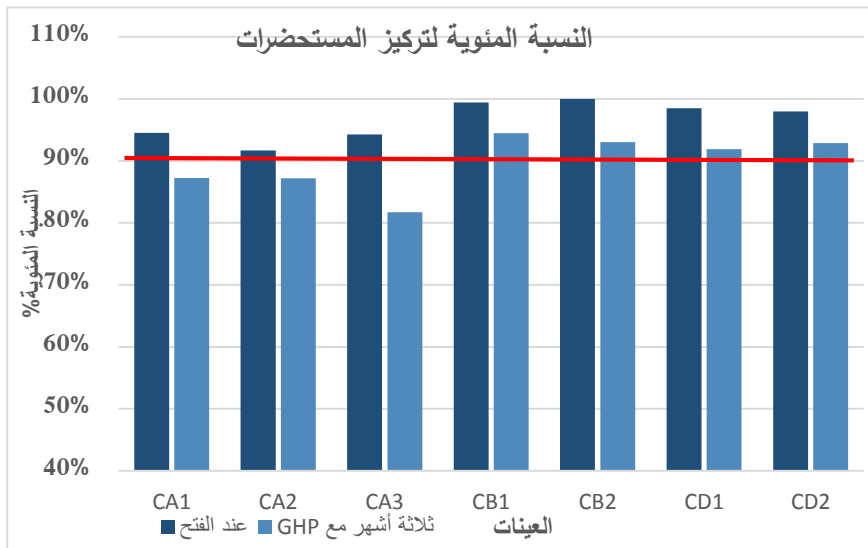
حافظت العينات على نسبة من المادة الفعالة ضمن الحدود الدستورية (باستثناء عينات الشركة A بشرطي الاستخدام والعينة CD1 دون مراعاة ممارسات النظافة الجيدة) مع حدوث انخفاض بسيط في تركيز الكلوتريمازول في معظم مستحضرات الكريم، وكانت أكبر نسبة انخفاض في العينات CA1 و CA3 وهي العينات التي أبدت أكبر نمو جرثومي وفطري. فخرجت جميع مستحضرات كريم الشركة A من الحدود الدستورية المسموح بها للنسبة المئوية لتركيز الكلوتريمازول.

وبالمقارنة بين شرطي الاستخدام: لوحظ أن العينات التي لم يتم فيها مراعاة ممارسات النظافة الجيدة كانت نسبة الانخفاض في معظم عيناتها أكبر بشكل طفيف مقارنةً بالعينات التي تم فيها مراعاة ممارسات النظافة الجيدة. يوضح الشكل (9) نتائج مقايضة المستحضرات خلال عمر الاستخدام مع مراعاة ممارسات النظافة الجيدة والشكل (10) نتائج مقايضة المستحضرات خلال عمر الاستخدام دون مراعاة ممارسات النظافة الجيدة.

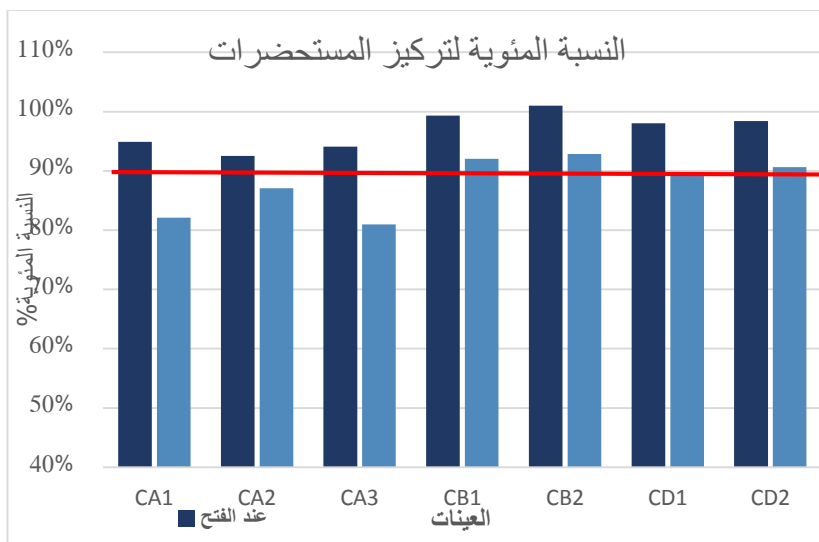
قد يُعزى سبب الانخفاض إلى:



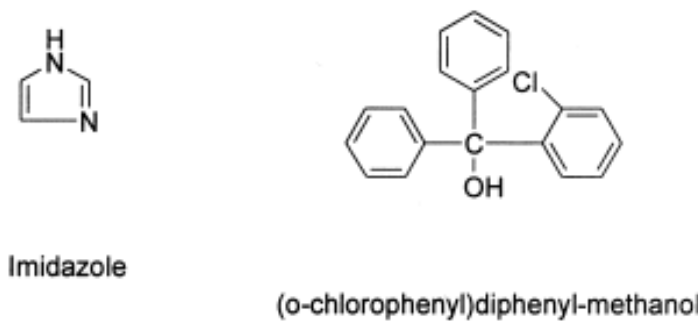
- حدوث تخرب للكلوتريمازول ليعطي منتجي تخرب فحسب Batubara وزملاؤه تم تفسير سبب انخفاض تركيز الكلوتريمازول في عينات الكريم إلى حدوث تخرب له ليعطي منتجي لتخرب الكلوتريمازول هما الايميدازول و (أورتوكلوروفينيل)ثنائي فينيل ميتانول، إذ تم الكشف عنهما باستخدام جهاز LC-MS/MS بعد ثلاثة أشهر من تخزين عينات الكريم[33]. يوضح الشكل (11) صيغ نواتج التخرب.
- استهلاك الكلوتريمازول باعتباره مضاد فطري واسع الطيف ويملك فعالية ضد بعض أنواع الجراثيم[14].



الشكل (9) نتائج مقايسة الكلوتريمازول مع مراعاة GHP



الشكل (10) نتائج مقايضة الكلوتريمازول دون مراعاة GHP



الشكل (11) صيغ نواتج تخرب الكلوتريمازول

#### 4.7 نتائج الفحوص الميكروبيولوجية

عند الفتح

كانت جميع المستحضرات خالية من النمو الجرثومي والفطري باستثناء مستحضرات كريم الشركة A التي أبدت نمو جرثومي وفطري وكان ضمن الحدود المقبولة.

قد يعزى سبب خلو المستحضرات من النمو الميكروبي إلى:

طبيعة المادة الفعالة المضادة للفطور وامتلاكها فعالية ضد بعض أنواع الجراثيم إيجابية الغرام [14].

فعالية المادة الحافظة ونظام الحفظ المستخدم في الصيغة [31].

اتباع قواعد ممارسات التصنيع الجيد GMP [34].

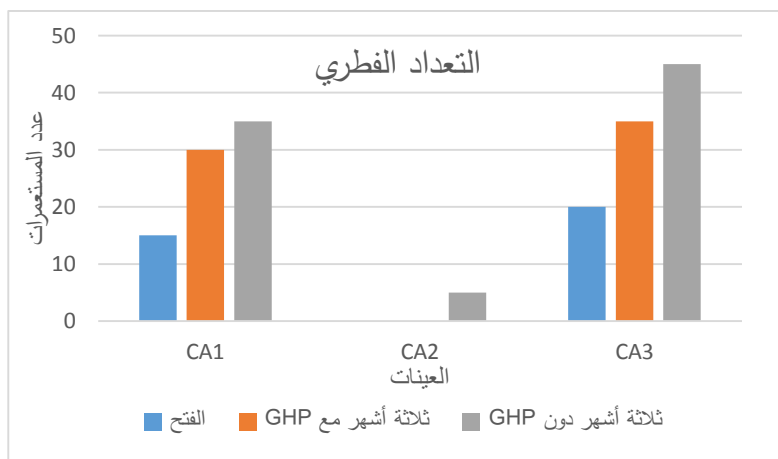
أما سبب تلوث مستحضرات الشركة A قد يعود إلى عدة أسباب ومصادر: المواد الخام، الماء، العمال، بيئة الإنتاج (درجة الحرارة، الرطوبة النسبية والهواء) و العبوات والتغليف [35].

### خلال فترة الدراسة

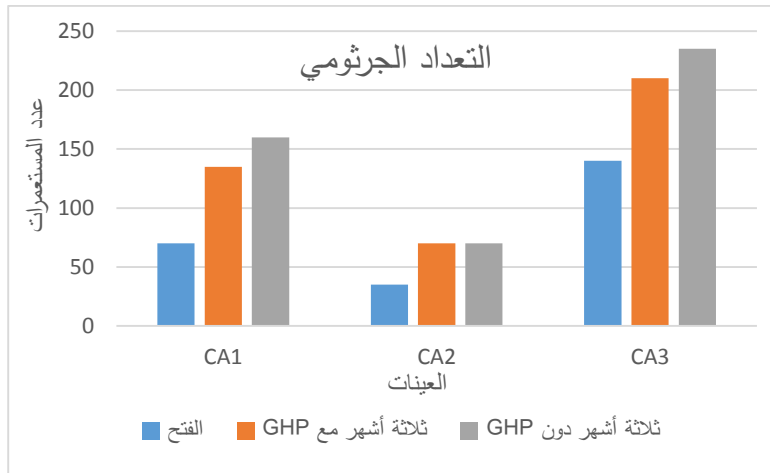
حافظت جميع المستحضرات على خلوها من النمو الجرثومي والفطري باستثناء مستحضرات كريم الشركة A. وتزايد النمو الميكروبي في كريمات الشركة A. تصبح العينة CA1 و CA3 خارج الحدود المقبولة دستورياً بعد ثلاثة أشهر وهذا يتوافق وهذا يتوافق مع دراسة Saad على مستحضرات التريتينوين حيث تزايد فيها النمو المكروبي بمرور الزمن [36]. وقد ترافق ذلك مع خروج هذه العينات من حدود النسبة المئوية لتركيز مادة الكلوتريمازول.. يوضح الشكل 12 و 13 التعداد الفطري والجرثومي لعينات الشركة A على التوالي.

وبالمقارنة بين طريقتي الاستخدام امتلكت عينات كريمات الشركة A التي لم يتم فيها مراعاة ممارسات النظافة الجيدة نمو مكروبي أعلى قليلاً من العينات التي تم فيها مراعاة ممارسات النظافة الجيدة.

ولم يشاهد نمو مستعمرات بلون كريمي محاط بهالة صفراء على وسط Mannitol Salt Agar مما يدل على عدم وجود جراثيم المكورات العنقودية، بينما سُوهِد نمو مستعمرات خضراء مفلورة على وسط Cetrimide في العينة CA3 مما يدل على وجود الزائفة الزنجارية.



الشكل (12) التعداد الفطري في عينات الشركة A



الشكل (13) التعداد الجرثومي في عينات الشركة A

## 5 الاستنتاجات

- احتوت جميع المستحضرات المدروسة على نسبة المادة الفعالة الموسومة على العبوة عند الفتح، وتمتعت بمواصفات حسية وفيزيائية مقبولة، بالإضافة إلى ذلك كانت العينات خالية من المكروبي باستثناء كريمات الشركة A التي أبدت نمو مكروبي.
- خلال عمر الاستخدام (بعد ثلاثة أشهر) حافظت المستحضرات المدروسة على جودتها باستثناء كريمات الشركة A والتي خرجت عن الحدود المسموحة بها وذلك في كلا شرطي الاستخدام.
- بالمقارنة بين شرطي الاستخدام فإن المستحضرات التي تم فيها مراعاة ممارسات النظافة الجيدة (GHP) حافظت على جودتها بشكل أفضل نسبياً.

## 6 التوصيات

- ضرورة أهمية اتباع قواعد الاستخدام النظيف أثناء الاستخدام. حيث أنها ساهمت في الحفاظ على المستحضرات المدروسة بشكل أفضل نسبياً. ومن هنا يأتي دور الصيدلة بإرشاد المرضى حول طريقة الاستخدام الصحيحة للمستحضرات الموضعية.
- إجراء دراسة مقارنة بين الأشكال الصيدلانية المتوفرة لمادة الكلوتريمازول خلال عمر الاستخدام.
- دراسة جودة مستحضرات موضعية أخرى ذات استخدام شائع عند الفتح وخلال عمر الاستخدام.

## المراجع

1. CHANG R, RAW A, LIONBERGER R, AND YU L, 2012– Generic Development of Topical Dermatologic Products: Formulation Development, Process Development, and Testing of Topical Dermatologic Products. American Association of Pharmaceutical Scientists.
2. BAKKER P, and WOERDENBAG H, 2012– Dermatological Preparations for the tropics. Beta Science Shop, University of Groningen, The Netherlands.
3. GARG T, RATH G, and GOYAL A, 2015– Comprehensive review on additives of topical dosage forms for drug delivery, Drug Delivery, vol 22(8): 969–987.
4. MAYBA J and GOODERHAM M, 2017– A Guide to Topical Vehicle Formulations. Journal of Cutaneous Medicine and Surgery, vol 1–6.
5. ECCLESTON G, Emulsions and creams. Editor(s) :Aulton M, Taylor K, 2018–Aulton's Pharmaceutics The Design and Manufacture of Medicines. Elsevier, Fifth edition, London, 918p.
6. TOUWD, THIESEN J and VIGNERON J, Stability. In: Le Brun P, Crauste-Manciet S, Krämerl, Smith J, Woerdenbag H (eds), 2023–Practical Pharmaceutics: An International Guideline for the

Preparation Care and Use of Medicinal Products. Springer  
Intenational Publishing, Second Edition(pp809–837).

7. ABOUD H,2021–Quality Evaluation OF Dexpanthenol In Locally Marketed Dermatological Pharmaceutical And Cosmetic Creams and Monitoring their Stability during In–Use Shelf–life, Al–Baath University Journal –Series of Medical and health,vol 43, 15, 61–112.(in Arabic).
8. SABINE K, KSENIA F. Stability Testing of Active Pharmaceutical Ingredients and Finished Pharmaceutical Products. World Health Organ. 2017.
9. LOWE A. STORAGE, STABILITY AND IN–USE SHELF–LIFE GUIDELINES FOR NON–STERILE MEDICINES, LONDON. 2001.
10. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Note ForGuidance On In–Use Stability Testing Of Human Medicinal Products [Internet]. COMMITTEE FOR PROPRIETARY MEDICINAL PRODUCTS (CPMP); 2001.
11. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 2812, Clotrimazole. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Clotrimazole>. Accessed Nov. 1, 2024.
12. CROWLEY P and GALLAGHER H, 2014–Clotrimazole as a pharmaceutical: past, present and future, Journal of Applied Microbiology, vol 117, 611––617.



13. HAQ M , DESHMUKH P, 2022– Review of Recurrent Otomycosis and Clotrimazole in Its Treatment,Cureus, 14(10): e30098.
14. KUMAR S, KHAN R and SHARMA B,2021– CLOTRIMAZOLE: A REVIEW OF ITS STRUCTURE, THERAPEUTIC CLASS AND PHARMACEUTICAL PROPERTIES, PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS AND ADMINISTRATION AND ANALYTICAL STUDY,WORLD JOURNAL OF PHARMACY AND Pharmaceuticals Sciences, Vol 10, Iss 10, 325–338.
15. DEBEBE D, GABRIEL T, BRHANE Y, TEMESGEN A et al,2018– Comparative in vitro evaluation of brands of clotrimazole cream formulations marketed in ethiopia, Journal of Drug Delivery and Therapeutics, vol 8(1):17–22.
16. MAHA H, SINAGA K, 2018– Formulation and evaluation of Miconazole Nitrate nanoemulsion and cream,Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research,vol 11, issue 3.
17. GARG A, AGGARWAL I D, GARG S and SIGLA A K, 2002– Spreading of semisolid formulation An Update,Pharmaceutical Technology.
18. SARATH CHANDRAN C, VIPIN K.V, ANN ROSE AUGUSTHY et al,2013–Comparative evaluations between carbopol gel and paraffin ointment base for the development of topical semisolid formulation containing clotrimazoleip,World Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol 2,Issue 4,2118–2130.
19. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA 44–NATIONAL FORMULARY 39 (USP 44 – NF 39), 2021.

20. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA 44–NATIONAL FORMULARY 39 (USP 44 – NF 39), 2021. <1111> Microbiological examination of nonsterile products: Acceptance criteria for pharmaceutical preparations and substances for pharmaceutical use.
21. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA 44–NATIONAL FORMULARY 39 (USP 44 – NF 39), 2021. <61> Microbiological examination of nonsterile products: Microbiological enumeration tests.
22. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA 44–NATIONAL FORMULARY 39 (USP 44 – NF 39), 2021. <62> Microbiological examination of nonsterile products: Tests for specified microorganisms.
23. British pharmacopeia 2022.
24. ALVES T, ARRANCA D, MARTINS A, RIBEIRO H, et al, 2021– Complying with the Guideline for Quality and Equivalence for Topical Semisolid Products: The Case of Clotrimazole Cream, Pharmaceutics, vol13, 555.
25. INOUEY, FURUYA K, MATUMOTO M, MURATA I, et al, 2012– A comparison of the physicochemical properties and a sensory test of Acyclovir creams, International Journal of Pharmaceutics, vol 436 (2012) 265– 271.
26. SZEWCZYK E, KARŁOWICZ–BODALSKA K, HAN S and MUSIAL W, 2014–Influence of Liquid Paraffin, White Soft Paraffin and Initial

- Hydration on Viscosity of Corticosteroid Cream. Trop J Pharm Res, vol 13(8):1233.
27. Intermolecular Forces In Action– Surface Tension, Viscosity, and Capillary Action. 2019.
28. HAMDAN H, 2021–Quality Evaluation of Locally Marketed Dermatological Preparations Contain Fusidic Acid and Monitoring their Stability during "In–Use Shelf–Life, Faculty of pharmacy Al–Baath university, Syria, p 46–48. (in Arabic).
29. AISYAH Y, YUNITA D, IKHWANA Y, 2024– Formulation and characteristics of skin cream with the addition of essential oil blend,IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, vol 1297(2024) 012080.
30. ROHMANI S, ESTHER DINDA K, AINUROFIQ A, 2021– Formulation and evaluation of the cream made from potassium azeloyldiglycinate as an antiaging. Journal of Physics: Conference Series, vol 1912 012041.
31. MAROUF M, 2023– Studying changes in quality of oxymetazoline nasal drops during " in \_ use shelf life",Al–Baath University Journal –Series of Medical and health,vol 45, 3, 117–152.(in Arabic)
32. BAIRD R, 2004– Microbial spoilage infection risk and contamination control, in Hugo and Russell’s Pharmaceutical Microbiology,Blickwell Science Ltd, Seventh Edition.
33. BATUBARA C, IRYANIA A and KUSUMAWARDANI L, 2021– Study of reaction kinetics and identification of clotrimazole degradation compounds in anti–fungal cream preparations,

Helium: Journal of Science and Applied Chemistry, Vol 01, No 02.

34. GAD G, ALY R and ASHOUR M, 2011– Microbial Evaluation of Some Non–sterile Pharmaceutical Preparations Commonly Used in the Egyptian Market. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, vol10 (4): 437–445.
35. NOOR R, ZERIN N, DAS K,2015– Microbiological quality of pharmaceutical products in Bangladesh: current research perspective. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, vol 5(4): 264–270.
36. SAAD N, 2020–"Quality evaluation of the locally marketedTretinoin drugs and monitoring their stability during "inusesshelf–life", Faculty of pharmacy Al–Baath university, Syria, p 69–83. (in Arabic).