

Research Paper

Investigation of Microbial Contamination and Physicochemical Properties of Compounded Medications in Pharmacies



Reihaneh Radmanesh¹, Mohsen Nabi Meybodi¹, *Vahid Ramezani¹, Maryam Akrami², Mohammad Ali Ranjbar¹, Azadeh Emami¹

1. Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

2. Department of Psychiatry Research Center of Addiction and Behavioral Sciences, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.



Citation Radmanesh R, Nabi Meybodi M, Ramezani V, Akrami M, Ranjbar M, Emami A. [Investigation of Microbial Contamination and Physicochemical Properties of Compounded Medications in Pharmacies (Persian)]. Quarterly of "The Horizon of Medical Sciences". 2020; 26(1):82-93. <https://doi.org/10.32598/hms.26.1.3175.1>

doi <https://doi.org/10.32598/hms.26.1.3175.1>



Received: 08 Jul 2019

Accepted: 15 Dec 2019

Available Online: 01 Jan 2020

Key words:

Compounded medications, Pharmacy, Microbial contamination

ABSTRACT

Aims Any pharmaceutical product made in pharmacy, hospital or factory may be contaminated with microbes. This contamination can originate from raw materials or during production. Hence, it is important to study the physical and chemical properties and stability of compounded drugs.

Methods & Materials In this study, first a specific sample of prescribed medication was ordered from 63 pharmacies in Yazd, Iran. After collecting the samples, the amount of microbial contamination, viscosity and particle size distribution and their stability were investigated and their results were compared to the standard levels.

Findings Based on the results, 31.7% of the samples had discoloration and 23.8% showed creaming phenomenon. In terms of particle size distribution, 57.1% of the samples had a 20-40 μm particle size and 49.2% had a viscosity equal to 2500-3000 centipoise. Regarding stability, 12.6% of the samples underwent phase change at 30-40°C. About of the amount of hydroquinone in samples, 35% had acceptable amount. In 23.8% of the samples, fungal infection was observed.

Conclusion Contrary to a popular belief that the compounded medicines produced in pharmacies have microbial contamination, the results of this study showed that the microbial contamination of these compounded medications is low.

Extended Abstract

1. Introduction

Any compounded form of pharmaceutical product made in pharmacies, hospital or factory may be contaminated with microbes. This contamination can originate from raw materials or during production. Hence, it is important to study the physical and chemical properties and

stability of compounded drugs. Microbial contamination of compounded and health products has been considered from the past and for this reason, in pharmaceutical pharmacopoeias, some restrictions have been put on such products. For such specific products, it is necessary that they be free of contaminating microorganisms [3]. Small drug particles in semi-solid form of pharmaceutical compounds may dissolve in the continuous phase and join larger particles (e.g. Ostwald ripening). To examine the tendency of Ostwald ripening during the production stage, it is possible to study the room temperature cycle up to 40° C. [9].

* Corresponding Author:

Vahid Ramezani, PhD.

Address: Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

Tel: +98 (912) 8015038

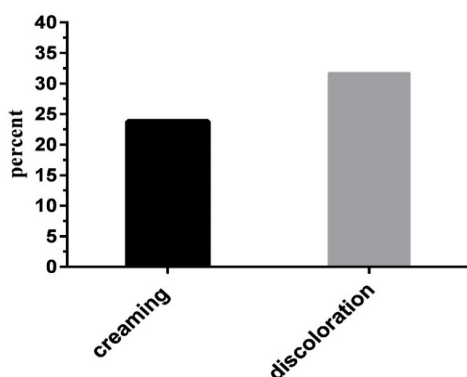
E-mail: vramezani@razi.tums.ac.ir

The particle size of compounded products is affected by the viscosity and concentration of their ingredients [10]. The pH of a semi-solid form may be related to multiple failure modes in the drug product. The pH effect of topical drug forms in the living organism (in vivo) on the skin is not well known [11]. One of the goals of quality assurance programs is to establish systems that can ensure the uniformity of the properties of medications in all doses or packages, and on the other hand, to ensure their safety when consumed. The assurance about uniformity (effectiveness) and health of the medications are related to the stability of the compounded product.

Therefore, it is important to pay attention to the stability and properties of these products. In this regard, various tests have been performed to evaluate the efficacy and safety of dermatological drugs, including assessment of the amount of active ingredients in the formulation, the uniformity of dosage forms, pH, the amount of water content, microbial constraints, viscosity and particle size [2]. Due to the importance of physicochemical and microbial properties of the compounded medications produced in urban pharmacies, this study aimed to investigate their physicochemical properties and microbial contamination.

2. Methods and Materials

This is an experimental field study. 63 prescribed compounded medications with specific formulation (Table 1) containing an oxidizing substance (hydroquinone), a substance with the ability to change the pH of the product (salicylic acid), and an antioxidant (vitamin C) were collected from 63 pharmacies in Yazd city in the spring 2017, and experimental studies on the study variables continued until the fall 2017. According to Pharmacopoeia guidelines, the numbers of microbes including *Pseudomonas aeruginosa*,



Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 1. Microbial contamination of semi-solid pharmaceutical products made in the pharmacies of Yazd City

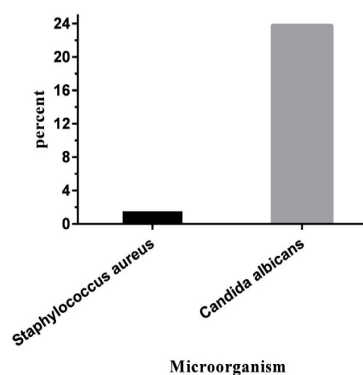
Staphylococcus aureus, *Candida sp.*, and *Escherichia coli* that are not allowed in topical drugs were counted using the spread plate technique.

To measure the viscosity, 1 gram of each sample was placed in the viscometer (Brookfield, USA) at room temperature and then, it was measured at 10 rpm. In order to test the physicochemical properties of the samples, one gram of each sample was poured into a 10-cc beaker and placed on a heater, using a magnet to create a uniform flow and increase the temperature. In the end, the temperature at which the samples underwent phase change was measured using a thermometer. The amount of hydroquinone in each sample was measured in milligrams per gram of cream with a spectrophotometer at a wavelength of 293 nm where methanol was used as a blank.

3. Results

According to Table 2, only one sample contaminated with *Staphylococcus aureus* was found, and microbial contamination by *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* did not occur outside the designated range, and 15 samples had fungal infection (*Candida albicans*) (Figure 1). One month after the samples were stored in ideal conditions, 22.2% of them showed discoloration. After a few weeks, 31.7% had discoloration and 23.8% showed creaming phenomenon (Figure 2).

In terms of particle size distribution, 22.2% of the samples had a 10-20 μm particle size, 33.3%, 20-30 μm ; 23.8%, 30-40 μm ; 12.6%, 40-50 μm ; and 7.9% were in a range of 50-60 μm . Moreover, 12.6% of the samples underwent phase change and creaming at a temperature of 30-40° C, 77.7% at 40-50° C, and 9.5% at 50-60° C. The maximum viscosity



Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Figure 2. The percentage of creaming and discoloration in the semi-solid pharmaceutical products made in the pharmacies of Yazd City

Table 1. The ordered drug formulation for the study

Ingredients	Amount
Hydroquinone	1 g
Salicylic acid	1 g
Vitamin C	1 g
Cold cream	10 g

Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

Table 2. Acceptance criteria for nonsterile pharmaceutical products according to the US Pharmacopoeia

Specified	Total Combined Yeasts/Molds Count (cfu/g or cfu/ml)	Total Aerobic Microbial Count (Cfu/g or cfu/ml)	Route of Administration
Absence of Pseudomonas or Staphylococcus			Transdermal patches

Quarterly of
The Horizon of Medical Sciences

of the semi-solid product was between 2,500 and 3,000 centipoise (29 samples). Hydroquinone in 50% of the samples was more than one gram; in 35%, between 0.9 and 1 g, and in 15% it was less than 0.9 g.

4. Discussion

Elmorsy and Hafez [12] in a study on various cosmetic brands found bacterial and fungal-microbial contamination in 22.6% of the samples. The products were contaminated with pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, and Escherichia coli. In study conducted in Poland by Glogowski et al. [19] on the viscosity of salicylic acid and boric acid inside the ointment formulation, they concluded that the formulation containing salicylic acid had better viscosity. Kumar et al [21] in a study to determine the amount of lidocaine in the ointment formulation by spectrophotometer at a wavelength of 263 nm, found that its amount was 98.7%. Jeon et al. [11] found out that changing the pH of any topical cream could influence the effect of the cream on the skin and its other features.

5. Conclusion

One of the limitations of this study was the lack of uniform conditions in pharmacies for making the study drugs. According to the results obtained from particle size and physicochemical properties, the related principles during the production of compounded medications should be observed more. Numerous factors such as increased awareness, adherence to principles, more use of preservatives,

use of moisturizing creams (which contain significant preservatives) and use of alcohol as a solvent in the study samples, can reduce the rate of contamination in compounded drugs made in pharmacies.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study considered all the rules related to pharmaceutical research and obtained an ethical approval (Code: IR.SSU.MEDICINE.REC.1396.85) from the Medical University of Yazd.

Funding

This study received financial support from the Deputy for Research of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences.

Authors' contributions

All authors contributed in preparing this article.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank Dr. Masoud Heidarnejhad and all those had cooperation in conducting this study.

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و آلودگی میکروبی داروهای ترکیبی داروخانه‌های شهر یزد

ریحانه رادمنش^۱، محسن نبی میبیدی^۱، وحید رضانی^۱، مریم اکرمی^۲، محمدعلی رنجبر^۱، آزاده امامی^۱

۱. گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

۲. گروه روانپزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۷ تیر ۱۳۹۸

تاریخ پذیرش: ۲۴ آذر ۱۳۹۸

تاریخ انتشار: ۱۱ دی ۱۳۹۸

اهداف: هر فرآورده دارویی که در محیط داروخانه، بیمارستان و یا کارخانه ساخته شده باشد، ممکن است با میکروبهایی آلوده شود. این آلودگی می‌تواند از مواد اولیه منشأ گرفته باشد یا در حین ساخت فرآورده وارد شود؛ بنابراین بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی و پایداری فرآورده‌های ترکیبی حائز اهمیت است.

مواد و روش‌ها: ابتدا یک نمونه مشخص از یک داروی ساختنی را با نسخه پزشک به ۶۳ داروخانه سفارش داده شد و بعد از جمع‌آوری نمونه‌ها میزان آلودگی میکروبی، ویسکوزیته و نحوه توزیع اندازه ذره‌ای و پایداری آن‌ها بررسی شد و نمونه‌ها و نتایج آن‌ها با استانداردها تطبیق داده شد.

یافته‌ها: نتایج آزمایش‌ها نشان داد ۳۱/۷ درصد نمونه‌ها دچار تغییر رنگ و ۲۳/۸ درصد نمونه‌ها دچار پدیده کریمنگ شده بودند. از نظر بررسی اندازه ذره‌ای، ۵۷/۱ درصد نمونه‌ها اندازه ذره‌ای ۲۰-۴۰ میکرومتر و ۴۹/۲ درصد نمونه‌ها ویسکوزیته‌ای برابر با ۲۵۰۰-۳۰۰۰ سانتی پواز داشتند. در بررسی پایداری، ۱۲/۶ درصد در دمای ۳۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد دچار تغییر فاز شدند. در بررسی میزان هیدروکینون موجود در نمونه‌های تصادفی ۳۵ درصد موارد مقدار قابل قبول را دارا بوده‌اند. در ۲۳/۸ درصد از نمونه‌ها آلودگی قارچی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد تصور اغلب افراد که داروهای دست‌ساز در داروخانه از لحاظ میکروبی ممکن است آلودگی داشته باشند، اشتباه است؛ چراکه نتایج نشان داد بار میکروبی فرآورده‌های دست‌ساز در داروخانه پایین است.

کلیدواژه‌ها:

آلودگی میکروبی،

خصوصیات

فیزیکوشیمیایی،

داروهای ساختنی،

داروخانه، ویسکوزیته

مقدمه

کاربرد سالیسیلیک اسید پنج درصد به عنوان کراتولیتیک و همچنین قابلیت استفاده از پایه‌های مختلف بر اساس نوع پوست مانند استفاده از پایه‌های Oil Free برای پوست‌های چرب و استفاده از پایه‌های روغنی برای پوست‌های خشک، مورد توجه قرار می‌گیرد [۱].

داروهای موضعی به این دلیل که پذیرش بالا توسط بیمار، رهایش یکنواخت و کنترل شده در طول یک دوره طولانی را فراهم می‌کنند، باید از لحاظ کیفی کنترل شوند. آزمایش‌های روتین که برای داروهای موضعی به کار برده می‌شوند هر دو کیفیت و عملکرد محصول را بررسی می‌کنند. تست‌های کیفیتی محصولات خصوصیات فیزیکی را تعیین کرده در حالی که تست‌های عملکردی بر انتشار دارویی از ماتریکس فرمولاسیون تمرکز می‌کنند.

یکی از اهداف برنامه‌های تضمین کیفیت، برقراری سیستم‌هایی است که بتوان با کمک آن‌ها از یکنواختی ویژگی‌ها و خواص داروها در تمام دژها یا بسته‌بندی‌های آن اطمینان حاصل کرد و

علی‌رغم تهیه و عرضه اقلام دارویی اساسی مورد نیاز بیماران توسط کارخانه‌های داروسازی داخل و خارج کشور و توزیع و عرضه آن در داروخانه‌های سطح کشور و با توجه به وجود برخی داروهای رسمی کم‌مصرف در نسخ پزشکان که تهیه آن‌ها برای تولیدکننده جنبه اقتصادی ندارد و یا به علت روش‌های نوین درمان بیماری‌های پوستی و پایداری محدود ساخت داروهای ترکیبی، انتظار می‌رود ساخت این نوع داروها در زمان تجویز تحت نظر دانشگاه علوم پزشکی مربوطه انجام گیرد.

در داروهای ترکیبی به دلایلی همچون قابلیت تغییر اجزای آن، مانند ساخت انواع کرم‌های ضدآکنه با مواد مختلف، قابلیت تغییر مقادیر اجزا مانند کاربرد سالیسیلیک اسید یک درصد به عنوان پایدارکننده یا کاربرد سالیسیلیک اسید دو درصد در درمان آکنه و یا

* نویسنده مسئول:

دکتر وحید رضانی

نشانی: یزد، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، دانشکده داروسازی، گروه فارماسیوتیکس.

تلفن: ۰۳۸ ۱۵۰۱۵۰ (۹۱۲) ۹۸+

پست الکترونیکی: vramezani@razi.tums.ac.ir

است در فاز پیوسته حل شوند و به ذرات بزرگتر بپیوندند (به عنوان مثال رسیدن به Ostwald). برای بررسی تمایل رسیدن به استوالد در مرحله تولید محصول می‌توان از بررسی چرخه دمایی اتاق تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد استفاده کرد. برای داروهای نیمه‌جامد معمولاً چرخه دمایی متناوب به این ترتیب به کار می‌رود: الف) ۲۴ ساعت در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد و ۲۴ ساعت در دمای اتاق؛ ب) ۴۸ ساعت در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد و ۲۴ ساعت در دمای اتاق؛ ج) ۷۲ ساعت در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد و ۲۴ ساعت در دمای اتاق [۹].

اندازه ذرات محصولات دارویی تحت تأثیر ویسکوزیته و غلظت مواد تشکیل‌دهنده قرار می‌گیرند [۱۰]. در محصولات نیمه‌جامد برای دستیابی به اندازه ذره‌ای کوچک‌تر و توزیع یکنواخت اجزا از روش‌های هموژنیزاسیون مانند روش آسیاب‌کردن، آسیاب کلونیدی نوع استاتور - روتور و هموژنایزر سونیک استفاده می‌شود. محصولات دارویی باید با توجه به ظاهر فیزیکی، عدم وجود کریستال‌های دارویی (محصولات محلول‌شده)، اندازه ذرات کریستال‌های دارویی و یکپارچگی بسته‌بندی، پس از این سیکل‌ها پایدار باقی بمانند [۹].

pH یک فرم نیمه‌جامد ممکن است با حالت‌های شکست متعدد برای محصول دارویی مرتبط باشد. مثلاً pH ممکن است بر وضعیت یونیزاسیون، شکل پلی‌مورفیک، ثبات یا حلالیت دارو تأثیر بگذارد. به همین ترتیب، pH ممکن است نسبت داروی محلول به داروی غیرمحلول، توزیع آن در ریزساختار ذریع فرم، رئولوژی، کاربرد ذره، اسپری‌شدن، انتقال محصول، پذیرش و راحتی استفاده از دارو در پوست حساس، آسیب‌دیده یا بیمار را تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین نکته مهم، ظرفیت بافر بودن ذرات برای حفظ pH در مصرف بالینی است. تأثیر pH فرم‌های دارویی موضعی، در موجود زنده (in vivo) بر روی پوست به‌خوبی شناخته شده نیست [۱۱].

اصلاح ویسکوزیته قسمت مهمی از فرمولاسیون نیمه‌جامد است. اگر ویسکوزیته ماده ساخته‌شده در کیفیت دارویی تأثیر زیادی نداشته باشد، نیازی نیست ویسکوزیته دارویی ترکیبی با ویسکوزیته داروهای مرجع یکسان باشد. ویسکوزیته می‌تواند بر حفظ ذره دارو و میزان نفوذ آن بر روی پوست و در نهایت دارورسانی بهتر تأثیر گذارد. بنابراین منطقی به نظر می‌رسد که دستورالعملی مشابه داروی مرجع برای تهیه محصولی در شرایط آزمایشگاه (in vitro) برای نفوذ عالی در پوست آماده شود.

علاوه بر این نیاز است که ویژگی‌های ماندگاری بر روی پوست و دستیابی بیمار ارزیابی شود تا مشخص شود محصول تولیدشده با ویسکوزیته‌های مختلف نسبت به ویسکوزیته فرآورده مرجع تأثیر منفی بر ماندگاری و تأثیرپذیری دارو نمی‌گذارد. به دلیل اینکه اثرات آن چندبُعدی است و به‌آسانی قابل پیش‌بینی نیست، ویسکوزیته و قابلیت گسترده‌گی به عنوان ویژگی‌های کیفیتی مهم

از طرفی بتوان از بی‌ضرر بودن دارو موقع مصرف آن مطمئن بود. تضمین یکنواختی (اثربخشی) و سلامت دارو به پایداری فرآورده دارویی مرتبط است؛ بنابراین توجه و بررسی پایداری و خواص این فرآورده‌ها حائز اهمیت است. در این رابطه تست‌های مختلفی جهت ارزیابی کارایی و ایمنی داروهای پوستی وضع شده است که شامل بررسی مقدار ماده مؤثره در فرمولاسیون، بررسی یکنواختی اجزای ذرات، pH، مقدار محتوای آب، محدودیت‌های میکروبی، ویسکوزیته و اندازه ذره‌ای است [۲].

آلودگی میکروبی فرآورده‌های دارویی و بهداشتی از گذشته مورد توجه بوده و به همین دلیل در فارماکوپه‌های دارویی برای این‌گونه فرآورده‌ها محدودیت‌هایی در نظر گرفته شده است. همچنین جهت فرآورده‌های خاص، عاری بودن فرآورده از میکروارگانیسم‌های خاص آلوده‌کننده ضرورت یافته است [۳]. از سوی دیگر، کیفیت میکروبیولوژیکی محصولات دارویی غیراستریل یک موضوع مهم است؛ چراکه می‌تواند باعث تغییر در انتظار مصرف‌کننده، تغییر در فرمولاسیون و مشکلات مختلف در فرایند تولید شود. به همین دلیل در فارماکوپه‌های دارویی برای این‌گونه فرآورده‌ها محدودیت‌هایی در نظر گرفته شده است. همچنین جهت فرآورده‌های خاص، عاری بودن فرآورده از میکروارگانیسم‌های خاص آلوده‌کننده ضرورت یافته است [۴].

فرآورده‌های آرایشی و بهداشتی موضعی (کرم‌ها و پمادهای پوستی)، ژل‌ها و خمیرها دسته‌ای از محصولات پرمصرف هستند که به صورت تجارتي توسط کارخانه‌های معتبر و یا با توجه به دستور پزشک در داروخانه ساخته می‌شوند. فرآورده‌های موضعی تجاری به دلیل دارا بودن حداقل شرایط GMP^۱ و نیز کاربرد مواد محافظ کمتر در معرض آلودگی میکروبی قرار می‌گیرند، ولی شرایط مذکور در داروخانه‌ها معمولاً وجود ندارد [۵]. بنابراین مصرف این‌گونه فرآورده‌های ساختنی می‌تواند علاوه بر فساد فرآورده و ماده مؤثره، مشکلاتی را برای مصرف‌کننده ایجاد کند. این نظرات به‌خصوص اگر مصرف‌کننده ضعف ایمنی^۲ داشته و یا دچار بیماری پوستی باشد، بیشتر است [۶].

یکی از اهداف برنامه‌های تضمین کیفیت، برقراری سیستم‌هایی است که بتوان با کمک آن‌ها از یکنواختی ویژگی‌ها و خواص داروها در تمام ذره‌ها یا بسته‌بندی‌های آن اطمینان حاصل کرد [۷]. از طرفی بتوان از بی‌ضرری بالینی دارو موقع مصرف مطمئن بود و تضمین، حاصل شده باشد. هم تضمین یکنواختی (اثربخشی) هم تضمین بی‌ضرری بالینی دارو با پایداری فرآورده دارویی مرتبط است؛ بنابراین، توجه و بررسی پایداری و خواص این فرآورده‌ها نیز حائز اهمیت است [۸].

ذرات کوچک دارویی در فرم نیمه‌جامد ترکیبات دارویی ممکن

1. Good Manufacturing Practice
2. Immunocompromised

جهت تشخیص افتراقی میکروارگانیسم‌های ممنوعه شامل استافیلوکوک اورئوس از محیط مانیتول سالت آگار^۷ و بلاد آگار و سودوموناس آئروژینوزا، از محیط Eosin Methylene Blue استفاده شد. پس از بررسی محیط کشت‌ها از نظر رشد و تشکیل کلونی میکروارگانیسم‌های پیش‌گفته میزان آلودگی‌ها مشخص شد.

اندازه‌گیری ویسکوزیته

برای اندازه‌گیری ویسکوزیته مقدار یک گرم از نمونه موردنظر در دمای محیط در ویسکومتر (Brookfield ساخت آمریکا) قرار گرفت و با سرعت ۱۰ دور در دقیقه ویسکوزیته اندازه گرفته شد.

اندازه‌گیری اندازه ذره‌ای

در مورد اندازه ذره‌ای نمونه‌ها نیز مقدار یک گرم از آن‌ها در عمیق‌ترین قسمت شیار قرار گرفتند و سپس به وسیله تیغه مخصوصی که از فولاد سخت است به صورت یکنواخت بر روی طول شیار کشیده شدند. در این حالت از ذرات جامد در نقاطی که عمق شیار مساوی اندازه ذره است آثاری به جای می‌مانند که برای تعیین اندازه ذرات، عمق این نقاط از روی صفحه مدرج خوانده می‌شود.

بررسی خصوصیات فیزیکی شیمیایی

آزمایشات ارزیابی فیزیکی شیمیایی نمونه‌ها شامل بررسی یکنواختی ظاهر فراورده، بررسی نمونه‌ها از لحاظ عدم بروز پدیده کریمینگ و تغییر رنگ نمونه‌ها و آزمایشات پایداری شامل تست تغییر دما بود که برای این کار مقدار یک گرم از هر نمونه داخل بشری به حجم ۱۰ سی‌سی ریخته شد و بر روی هیتر گذاشته شد و با استفاده از مگنت، جریان یکنواختی ایجاد شد و دما افزایش داده شد؛ در نهایت دمایی که نمونه‌ها دچار تغییر فاز شدند با استفاده از دماسنج اندازه‌گیری شد.

تعیین مقدار ماده مؤثره

جهت اندازه‌گیری میزان هیدروکینون موجود در فراورده‌ها بر اساس فارماکوپه آمریکا [۶] مقداری از کرم، که باید معادل ۲۰

7. Mannitol salt agar

در مراحل اولیه تولید محصول در نظر گرفته می‌شوند [۹]. این تحقیق با توجه به اهمیت خصوصیات فیزیکی شیمیایی و میکروبی فراورده‌های تولیدشده در داروخانه‌های شهری، به منظور ارزیابی و احتمالاً توصیه‌های آینده، صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۶۳ داروی ترکیبی با فرمولاسیون مشخص (جدول شماره ۱) با نسخه پزشک از داروخانه‌های سطح شهر یزد در بهار سال ۱۳۹۶ جمع‌آوری شد و مطالعات آزمایشگاهی شاخص‌های پژوهش تا پاییز ۱۳۹۶ ادامه یافت. در این مطالعه به منظور بررسی نحوه عملکرد داروخانه‌های شهری در ساخت داروهای ترکیبی، یک فرمولاسیون شاخص که حاوی یک ماده اکسیدشونده (هیدروکینون)، یک ماده با توانایی تغییر PH فراورده، مانند سالیسیلیک اسید و یک آنتی‌اکسیدانت (ویتامین ث) استفاده شد.

آزمون‌های میکروبی

با توجه به ضوابط فارماکوپه میزان شمارش میکروبی و خواص فیزیکی شیمیایی داروهای نیمه‌جامد تعیین و فراورده‌های فوق از دیدگاه میکروارگانیسم‌های ممنوع در فراورده‌های موضعی شامل سودوموناس آئروژینوزا^۳، استافیلوکوکوس اورئوس^۴، اشریشیا کلی^۵ و گونه‌های کاندیدا^۶ بررسی شدند. برای شمارش میکروارگانیسم‌های هوازی احتمالی، از روش پلیت استفاده شد. در روش Pour plate یک گرم از هر نمونه در ۹ میلی‌لیتر نرمال سالین استریلیته یکنواخت شد. حجم مناسبی از محیط کشت استریل (۵ سی‌سی) مولر هینگتون آگار و سویین کازئین دایجس آگار (مرک آلمان) برای شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در پلیت ریخته شد و نمونه‌های رقیق‌شده بر روی محیط کشت، کشت خطی داده شدند. پلیت‌های مزبور در ۳۵ درجه به مدت ۲۴-۴۸ ساعت انکوبه شدند. همچنین برای شمارش قارچ نیز نمونه‌ها بر روی محیط استریل سابرو دکستروز آگار (مرک آلمان) کشت داده شدند و در ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵-۷ روز انکوبه شدند.

3. Pseudomonas aeruginosa
4. Staphylococcus aureus
5. Escherichia coli
6. Candida sp

جدول ۱. فرمولاسیون نمونه ترکیبی درخواستی

ترکیبات	مقدار
Hydroquinon	۱ گرم
Salicylic acid	۱ گرم
Vitamin c	۱ گرم
Cold cream	۱۰ گرم

تنها یک نمونه آلوده به استافیلوکوک اورئوس یافت شد و آلودگی میکروبی شامل سودوموناس آئرژینورا و اشیرشیا کلای خارج از محدوده تعیین شده دیده نشد. ۱۵ نمونه نیز دارای آلودگی قارچی از نوع کاندیدا بودند (تصویر شماره ۱). مشاهدات ما نشان داد که بعد از گذشت یک ماه از نگهداری نمونه‌ها در شرایط ایده‌آل میزان ۲۲/۲ درصد از فراورده‌ها دچار تغییر رنگ شدند.

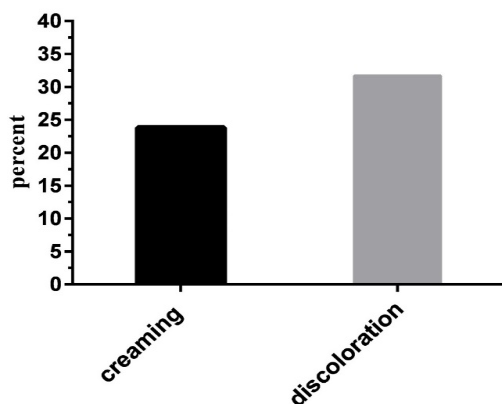
بررسی فراورده از لحاظ عدم پدیده کریمینگ (به این مفهوم که ذرات و قطرات معلق در امولسیون، در اثر نیروی ثقل ته‌نشین شوند و به صورت رسوب درآیند) [۱۳] انجام شد. بعد از گذشت چند هفته از نگهداری نمونه‌ها در شرایط ایده‌آل میزان ۳۱/۷ درصد از فراورده‌ها دچار تغییر رنگ شدند و در ۲۳/۸ درصد از فراورده‌ها پدیده کریمینگ مشاهده شد (تصویر شماره ۲).

در بررسی ۶۳ نمونه، اندازه ذره‌ای آن‌ها ۲۲/۲ درصد دارای اندازه ذره‌ای بین ۱۰-۲۰ میکرومتر، ۳۳/۳ درصد بین ۲۰-۳۰ میکرومتر، ۲۳/۸ درصد بین ۳۰-۴۰ میکرومتر، ۱۲/۶ درصد بین ۴۰-۵۰ میکرومتر و ۷/۹ درصد در محدوده بین ۵۰-۶۰ میکرومتر بودند (تصویر شماره ۳).

در بررسی پایداری ۶۳ نمونه در تغییرات دمایی و دو فاز شدن آن‌ها ۱۲/۶ درصد نمونه‌ها در دمای ۳۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد، ۷۷/۷ درصد بین ۴۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد و ۹/۵ درصد بین ۵۰-۶۰ درجه دچار تغییر فاز و کریمینگ شدند (تصویر شماره ۴).

در اندازه‌گیری ویسکوزیته توسط دستگاه ویسکومتر بیشترین میزان ویسکوزیته فراورده نیمه‌جامد بین ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ سانتی پواز (نمونه ۲۹) بود. دامنه ویسکوزیته نمونه‌ها بین ۱۵۰۰ تا ۳۵۰۰ سانتی پواز بود (تصویر شماره ۵).

در بررسی میزان هیدروکینون، ۲۰ نمونه به صورت تصادفی در



افتخ دانش

تصویر ۲. نمودار وضعیت نمونه‌ها از لحاظ وجود پدیده کریمینگ و تغییر رنگ فراورده‌های نیمه‌جامد تهیه شده از داروخانه‌های سطح شهر یزد.

میلی گرم هیدروکینون باشد وزن شد و داخل بشر ۱۰۰ میلی لیتر ریخته و با متانول حل شد سپس با کاغذ صافی که قبلاً با متانول شسته شده بود صاف شد. ماده فیلتر شده داخل بالن با حجم ۵۰۰ میلی لیتر ریخته شد و دوباره فیلتر شد. ۲۵ سی سی از محلول داخل بالن ۱۰۰ میلی لیتر ریخته و با متانول به حجم رسید. سپس مقدار هیدروکینون موجود در هر نمونه، به میلی گرم در هر گرم کرم، با دستگاه اسپکتوفتومتری در طول موج ۲۹۳ نانومتر با فرمول شماره ۱ اندازه‌گیری شد که در این اندازه‌گیری متانول به عنوان بلانک استفاده شد:

$$1. \left(\frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{blank}}} \right) \times (C/W) = 2000 \times \text{مقدار ماده مؤثره}$$

C = غلظت بر اساس USP که یک میلی گرم بر میلی لیتر در نظر گرفته می‌شود.

W = وزن کرم مصرفی بر اساس گرم

AU = جذب ماده مورد بررسی

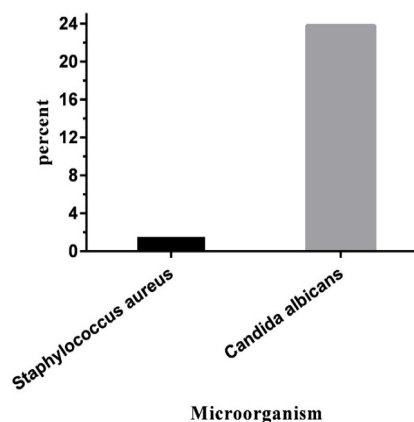
AS = جذب ماده استاندارد (متانول)

اندازه‌گیری pH

برای سنجش pH نیز با استفاده از کاغذ تورنسل و بررسی رنگ حاصل پس از قرار دادن در نمونه‌ها، pH و اسیدی یا بازی بودن آن‌ها مشخص شد.

یافته‌ها

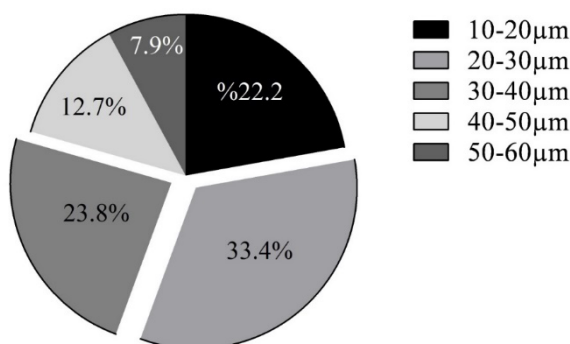
با توجه به اطلاعات جدول شماره ۲، فارماکوپه آمریکا (USP) و دیگر مراجع، مقدار آلودگی میکروبی در کرم‌های پوستی خلاصه کرده‌اند [۱۲]. با توجه به جدول مرجع در نمونه‌های مورد بررسی



افتخ دانش

تصویر ۱. میزان آلودگی میکروبی فراورده‌های نیمه‌جامد تهیه شده از داروخانه‌های سطح شهر یزد

paricle size



افتخار دانش

تصویر ۳. بررسی اندازه ذره‌های فرآورده‌های نیمه‌جامد تهیه‌شده از داروخانه‌های سطح شهر یزد

مواردی است که در داروهای جالینوسی باید مدنظر قرار گیرد.

آلودگی میکروبی در فرآورده می‌تواند باعث از بین بردن پایداری فیزیکی، ایجاد بوی نامطبوع و از بین بردن اکسپاینت یا ماده مؤثره شود. همچنین آلودگی میکروبی می‌تواند برای مصرف‌کنندگان مخصوصاً افرادی که دارای ضعف سیستم ایمنی هستند، باعث بعضی از بیماری‌های قارچی یا پوستی شود.

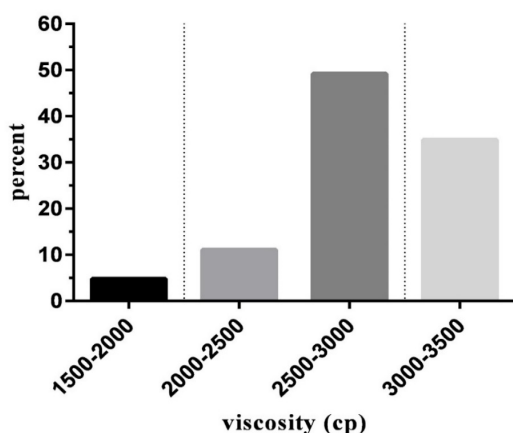
پژوهش‌های انجام‌شده توسط المورسی و حافظ بر روی برندهای مختلف مواد آرایشی نشان داد که مواد آرایشی حاوی ۲۲/۶ آلودگی میکروبی و قارچی بودند. این آلودگی‌ها ناشی از میکروارگانیسم‌های اشرشیا کلای، سودوموناس آئرژینوزا و استافیلوکوک بوده‌اند [۱۴] یا در مطالعه دیگری که در لهستان انجام شد، کورون و همکارانش ۵۵ نمونه از ۱۹ نوع مواد آرایشی را جمع‌آوری کردند و بعد از آزمایش‌های مختلف مشخص شد که ۲۰ درصد نمونه‌ها آلوده به استافیلوکوک و یک نمونه آلوده به سودوموناس و نیز چهار نمونه آلوده به پنسیلیوم و آسپرژیلوس بودند [۱۵] که نشان‌دهنده این

طول موج ۲۹۳ نانومتر ارزیابی شدند. نتایج نشان داد هیدروکینون در ۵۰ درصد از نمونه‌های انتخابی به میزان بیش از یک گرم، ۳۵ درصد بین ۱۰/۹-۱ گرم و ۱۵ درصد زیر ۰/۹ گرم بوده است (تصویر شماره ۶).

بحث

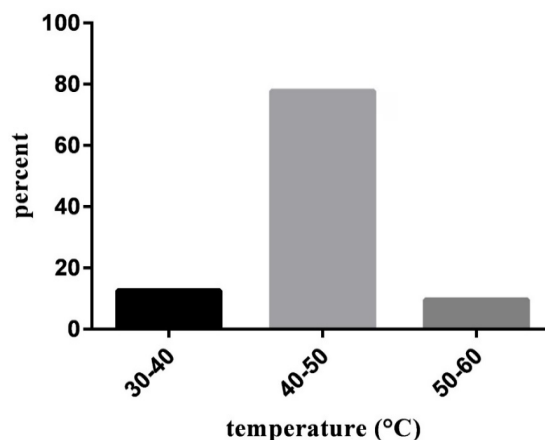
با توجه به اینکه در فرمول خواسته‌شده، مواد به صورت پودری در قالب یک فرمولاسیون جامد تهیه می‌شوند، نحوه ساخت و عملکرد داروساز می‌تواند به طور مؤثری در کیفیت و کارایی این فرآورده مؤثر باشد. علاوه بر این، کیفیت مواد اولیه مورد استفاده می‌تواند سهم بسزایی در کیفیت فرمولاسیون نهایی داشته باشد.

آلودگی‌هایی مانند آلودگی‌های باکتریایی و قارچی می‌توانند در کرم به وجود بیایند؛ چراکه وجود مقادیر بالای آب و افزایش Water activity کرم می‌تواند به طور قابل توجهی باعث رشد باکتری‌ها شود؛ بنابراین کنترل آلودگی میکروبی یکی از مهم‌ترین



افتخار دانش

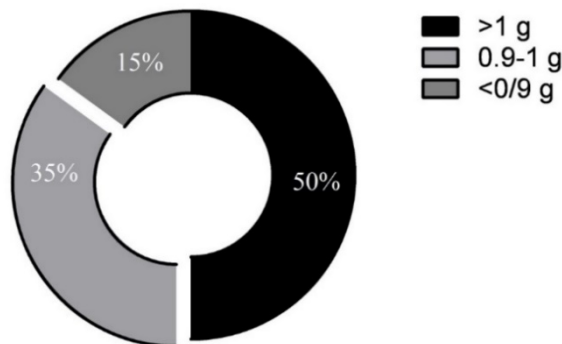
تصویر ۵. توزیع فراوانی میزان ویسکوزیته فرآورده‌های نیمه‌جامد تهیه‌شده از داروخانه‌های سطح شهر یزد



افتخار دانش

تصویر ۴. توزیع فراوانی میزان پایداری فرآورده‌های نیمه‌جامد تهیه‌شده از داروخانه‌های سطح شهر یزد

amount of hydroquinone



افتخ دانش

تصویر ۶. مقدار هیدروکینون موجود در فراورده‌های نیمه‌جامد تهیه‌شده از داروخانه‌های سطح شهر یزد

جدول ۲. مقدار آلودگی میکروبی مجاز از نظر فارماکوپه آمریکا

Route of Administration	Total Aerobic Microbial count (Cfu/g or cfu/ml)	Total combined Yeasts /Molds count (Cfu/g or cfu/ml)	Specified
Transdermal patches	۱۰۲	۱۰۱	Absence of Pseudomonas or Staphylococcus

افتخ دانش

آلودگی میکروبی در داروهای ساختنی را به حداقل می‌رساند؛ بنابراین برای کاهش آلودگی میکروبی می‌توان از مواد نگهدارنده استفاده کرد و می‌توان فرمولاسیون‌ها را در مکان‌های بسیار تمیز و با رعایت اصول بهداشتی و با استفاده از وسایل استریل تهیه کرد.

در مطالعه‌ای در انگلستان نیز میکروب سودوموناس آئرژینوزا در اغلب فراورده‌های ساخته‌شده در داروخانه یافت شد که نشان می‌داد آلودگی میکروبی بیشتر در داروخانه و حین ساخت رخ می‌دهد [۱۶]. در نتایج حاصل از این پژوهش تنها یک مورد آلودگی به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس گزارش شد. با توجه به شرایط آب و هوایی گرم و خشک در منطقه مورد بررسی و نیاز به رطوبت کافی به منظور رشد و تکثیر باکتری‌ها، از این دست آلودگی‌های میکروبی در داروهای ترکیبی در یزد نسبت به کشورهای اروپایی با آب و هوای معتدل و مرطوب به میزان کمتری یافت می‌شود.

هیدروکینون می‌تواند در محیط آبی در اثر گذشت زمان با رادیکال‌های اکسیژن واکنش داده و از رنگ سفید به حالت تیره درآید که می‌تواند باعث تیره‌شدن فرمولاسیون شود. وجود فرم ویتامین ث در حد مناسب و به صورت فعال می‌تواند از اکسیداسیون این ماده جلوگیری کند و در نتیجه از تیره‌شدن فرمولاسیون در اثر گذشت زمان ممانعت کند. این خود می‌تواند دلیلی بر استفاده از یک ماده اولیه با کیفیت و فرمولاسیون آن به صورت مناسب (در

است که این فراورده‌ها می‌توانند دارای آلودگی باشند.

آلودگی میکروبی می‌تواند از مواد اولیه در حین ساخت و یا موقع مصرف توسط بیمار به وجود آید. اگرچه در حین ساخت مقدار زیادی میکروب می‌تواند داخل فراورده شود، ولی با توجه به اینکه پایه مورد استفاده در نمونه‌های مصرفی عمدتاً حاوی ماده نگهدارنده^۸ است، انتظار می‌رود میزان آلودگی به مقدار زیادی کاهش یابد. این در حالی است که در موارد دیگر، در فرمولاسیون‌هایی که حاوی کرم پایه نبودند و در آن‌ها از آب و غیره برای ساخت فرمولاسیون استفاده می‌شود، احتمال آلودگی بیشتر است. همچنین استفاده از مواد جامد به صورت پودر در تهیه داروهای ساختنی کمک بسیار مهمی به تهیه فراورده بدون آلودگی میکروبی می‌کند؛ چراکه به دلیل Water activity کم مواد جامد پودری، عملاً رشد باکتری‌ها در آن کم است و فقط بعضی از باکتری‌ها با توانایی تشکیل اسپور می‌توانند در آن‌ها وجود داشته باشند.

از طرفی عمده موادی که در ساخت این ترکیب یا دیگر داروهای ترکیبی استفاده می‌شود، عموماً در ابتدا دارای مواد محافظ میکروبی هستند. همچنین بعضی از داروهای ساخته‌شده در داروخانه‌ها حاوی مقادیر بالایی الکل هستند که این خود می‌تواند باعث کاهش و توقف رشد میکروب‌ها شود که وجود

8. Preservative

باعث کاهش ویسکوزیته خواهد شد [۲۰].

همان‌طور که در نتایج نشان داده شد میزان هیدروکینون در نمونه‌ها اعداد بسیار پراکنده‌ای است. با توجه به مراجع موجود مانند فارماکوپه آمریکا که میزان انحراف از دُز را در فرمولاسیون کرم در تیوب‌های ۶۰ گرمی کمتر از ۹۰ درصد بیان کرده است [۱۴]، مشاهده می‌شود که محدوده‌های به‌دست‌آمده از نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان هیدروکینون بسیار فراتر از رنج‌های بیان‌شده توسط فارماکوپه آمریکاست. این نتایج خود می‌تواند دلایل مختلفی از قبیل عدم توزین نامناسب هیدروکینون، عدم کالیبره‌بودن ترازوهای موجود در داروخانه، عدم همگن‌بودن هیدروکینون در کل فرآورده، عدم خلوص پودر هیدروکینون و ناپایداری شیمیایی داشته باشد، که توصیه می‌شود ترازوهای موجود در داروخانه‌ها به صورت دوره‌ای مورد ارزیابی قرار گیرد.

همچنین هیدروکینون موجود در بازار دارای گریدهای مختلفی مانند گرید فارماسیوتیکال و گرید صنعتی است که لزوم استفاده از گرید فارماسیوتیکال ضروری است. در بررسی که کومار و همکارانش برای تعیین میزان لیدوکائین موجود در فرمولاسیون پماد به وسیله اسپکتروفتومتر انجام دادند، در طول موج ۲۶۳ نانومتر میزان لیدوکائین موجود در پماد ۹۸/۷ درصد بدست آمد [۲۱].

در بررسی pH نمونه‌ها، تمامی نمونه‌ها دارای pH اسیدی (۲-۳) بوده‌اند که این موضوع به دلیل خاصیت اسیدی سالیسیلیک اسید رخ داده است. با توجه به مطالعه‌ای که توسط جون و همکارانش صورت گرفت مشخص شد تغییر pH موردنظر هر کرم موضعی می‌تواند بر تأثیر کرم بر روی پوست و دیگر خصوصیات آن تأثیر گذارد [۱۱]. بنابراین حفظ pH متناسب با اجزای سازنده فرآورده موضعی بر عملکرد مناسب آن تأثیرگذار است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج، عوامل متعددی نظیر افزایش آگاهی، رعایت اصول، استفاده بیشتر از نگهدارنده‌ها، استفاده از کرم‌های مرطوب‌کننده موجود در بازار دارویی به عنوان پایه - که دارای مواد نگهدارنده قابل توجه هستند - و استفاده از الکل به عنوان حلال در نمونه انتخابی، باعث کاهش میزان آلودگی در داروهای ترکیبی در داروخانه‌ها شده است. اما با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری و خصوصیات فیزیکوشیمیایی باید ضوابط حین ساخت فرآورده‌های ترکیبی بیشتر رعایت شود و برخلاف باور اغلب افراد، خواص فیزیکوشیمیایی نسبت به آلودگی میکروبی باید مورد توجه بیشتری قرار گیرد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

در این پژوهش کلیه قوانین مرتبط با تحقیقات دارویی رعایت

فاز آبی کرم) باشد. هرچند با توجه به مقاله‌ای که ورما و همکارانش در آلمان درباره تأثیر اندازه وزیکول^۱ بر نفوذ دو ماده فلورسنت شده به پوست انسان ارائه دادند، مشخص شد که اندازه ذره‌ای بر نفوذ فرآورده‌های موضعی به پوست تأثیرگذار است [۱۷].

اندازه ذره‌ای اثر بسزایی در جذب پوستی داروها دارد؛ بنابراین انتظار می‌رود برای جذب حداکثری مواد جامد موجود در کرم اندازه ذره‌ای آن‌ها ریز شده باشد؛ با توجه به اینکه هیدروکینون و ویتامین ث به صورت پودرهایی با ذرات درشت به داروخانه‌ها عرضه می‌شوند و از طرفی دیگر وجود ذره‌هایی با اندازه درشت باعث ناخوشایندی و زبری بر روی پوست در اثر لمس کردن می‌شود. مراجعی مانند فارماکوپه آمریکا و فارماکوپه اروپا اندازه عمده ذرات (طبق نظر بعضی کتاب‌های دارویی ۷۵ درصد و طبق نظر بعضی دیگر ۹۹ درصد) را بین ۲۰ تا ۴۰ میکرومتر در نظر گرفته‌اند و ذره بزرگ‌تری از ۴۰ تا ۷۰ میکرومتر را قابل قبول ندانسته‌اند. بنابراین با توجه به اندازه ذره‌ای درشت در بعضی فرمولاسیون‌ها انتظار می‌رود که قبل از فرمولاسیون، ذرات درشت هیدروکینون یا ویتامین ث یا به صورت محلول درآمده یا با روش‌های مختلفی مانند لویگه‌کردن یا آسیاب کردن اندازه ذره‌ای ریز شود.

ویسکوزیته یکی از فاکتورهایی است که برای استفاده راحت از نمونه‌های نیمه‌جامد و رضایت بیماران حائز اهمیت است. در نمونه‌های بررسی‌شده بعضی از آن‌ها به صورت لوسیون بوده و از ویسکوزیته مناسبی برخوردار نبودند؛ در حالی که نمونه‌های دیگر ویسکوزیته مناسبی داشته‌اند.

از آنجایی که در فارماکوپه آمریکا محدوده خاصی برای ویسکوزیته در نظر گرفته نشده است، داروسازان می‌توانند بر اساس استفاده درست از مواد موردنظر در داروهای جالینوسی رعایت اصول ساخت این داروها ویسکوزیته مناسبی را ایجاد کنند. با توجه به مطالعه‌ای که توسط پیکوتا و همکارانش بر روی تغییرات ویسکوزیته در فرمولاسیون مشابه با پایه‌های متفاوت شامل اوسرین، لائولین و پترولاتوم سفید و زرد انجام دادند مشخص شده است عواملی مانند پایه مورد استفاده (اوسرین، پماد، کلد کرم و غیره) بر روی ویسکوزیته مواد مؤثرند و هرچه ضریب Partition-coefficient پایه مورد استفاده بیشتر باشد ویسکوزیته بیشتر خواهد بود [۱۸]. همچنین بر اساس بررسی‌ای در لهستان که توسط گولگوسکی و همکارانش بر روی پارامتر ویسکوزیته سالیسیلیک اسید و بوریک اسید در داخل فرمولاسیون پماد صورت گرفت مشخص شد که فرمولاسیون حاوی سالیسیلیک اسید، ویسکوزیته بهتری دارد [۱۹]. این مواد در داروخانه‌ها موجود بوده و داروساز می‌تواند بر اساس نوع داروی جالینوسی پایه مناسب برای ایجاد ویسکوزیته مطلوب را استفاده کند. همچنین هرچه آب مورد استفاده در فرآورده بیشتر باشد

9. Vesicle

شده است. این پژوهش در دانشگاه علوم پزشکی یزد با کد کمیته اخلاق IR.SSU.MEDICINE.REC.1396.85 ثبت شده است.

حامی مالی

منابع مالی این پژوهش از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یزد و گرنت پژوهشی استادان و دانشجو تأمین شد.

مشارکت نویسندگان

ایده اصلی، طراحی مطالعه، تدوین دستنوشته، بازبینی نهایی مقاله: ریحانه رادمنش، محسن نبی میبیدی، وحید رضائی، مریم اکرمی، علی محمد رنجبر و آزاده امامی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله هیچ‌گونه تعارض منافی نداشته است.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر امیر مسعود حیدری نژاد و همچنین کلیه عزیزانی که در طی مراحل پژوهشی و نگارشی این تحقیق ما را یاری کردند، صمیمانه سپاسگزاری می‌کنیم.

References

- [1] Gholami Kh, Akbarzadeh T, Niknam S, Goodarzi N, Kaviani F, Kouti L, et al. Pharmaceutical Compounding. Teimourzadeh Publication. 2014. <http://opac.nlai.ir/opac-prod/bibliographic/3222076>
- [2] Ueda CT, Shah VP, Derdzinski K, Ewing G, Flynn G, Maibach H, et al. Topical and transdermal drug products. *Pharmacoepial Forum*; 2009; 35(3):750-64. <https://pdfs.semanticscholar.org/fe79/2b44c22f6df0084c5d643e6c90277f4a633f.pdf>
- [3] Bloomfield SF. Microbial contamination: Spoilage and hazard. In: Denyer SP, Baird RM, editors. *Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals and Medical Devices*. Boca Raton, FL: CRC Press; 2006. p. 23-50. [DOI:10.1201/9781420021622.ch2]
- [4] Williams PG. Panning for chemical gold: Marine bacteria as a source of new therapeutics. *Trends in Biotechnology*. 2009; 27(1):45-52. [DOI:10.1016/j.tibtech.2008.10.005] [PMID]
- [5] Larsson DJ. Pollution from drug manufacturing: Review and perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. 2014; 369(1656):20130571. [DOI:10.1098/rstb.2013.0571] [PMID] [PMCID]
- [6] Riederer A, Grein G, Bogner J. High prevalence of opportunistic infections in the head and neck related to human immunodeficiency virus. A prospective study of the distribution of otorhinolaryngologic disorders in 250 patients. *Infection*. 1996; 24(6):440-6. [DOI:10.1007/BF01713046] [PMID]
- [7] Rosas, Juan G., Marcel Blanco, Josep M. González, and Manel Alcalá. "Quality by design approach of a pharmaceutical gel manufacturing process, part 1: Determination of the design space". *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2011; 10:4432-41. [DOI:10.1002/jps.22611] [PMID]
- [8] Murray-Smith RJ, Coombe VT, Grönlund MH, Waern F, Baird JA. Managing emissions of active pharmaceutical ingredients from manufacturing facilities: An environmental quality standard approach. *Integrated Environmental Assessment and Management*. 2012; 8(2):320-30. [DOI:10.1002/ieam.1268] [PMID]
- [9] Chang RK, Raw A, Lionberger R, Yu L. Generic development of topical dermatologic products: Formulation development, process development, and testing of topical dermatologic products. *The AAPS journal*. 2013; 15(1):41-52. [DOI:10.1208/s12248-012-9411-0] [PMID] [PMCID]
- [10] Moghadam H, Samimi M, Samimi A, Khoram M. Study of parameters affecting size distribution of beads produced from electro-spray of high viscous liquids. *Iranian Journal of Chemical Engineering*. 2009; 6(3):88-98. https://iranjournals.nlai.ir/1294/article_341946_fabf2ca1e567a94cf2b837e7874ec7e7.pdf
- [11] Jeon JS, Kim BH, Lee SH, Kwon HJ, Bae HJ, Kim SK, et al. Simultaneous determination of arbutin and its decomposed product hydroquinone in whitening creams using high-performance liquid chromatography with photodiode array detection: Effect of temperature and pH on decomposition. *International Journal of Cosmetic Science*. 2015; 37(6):567-73. [DOI:10.1111/ics.12228] [PMID]
- [12] Behravan J, Fazly Bazzaz, Malaekah P. Survey of bacteriological contamination of cosmetic creams in Iran (2000). *International Journal of Dermatology*. 2005; 44(6):482-5. [DOI:10.1111/j.1365-4632.2005.01963.x] [PMID]
- [13] Gregory R, Edzwald J. Sedimentation and flotation. In: Edzwald JK editor. *Water Quality & Treatment: A Handbook on Drinking Water*. 6th ed. New York City: McGraw Hill Professional; 2010.
- [14] Elmorsy T, Hafez E. Microbial contamination of some cosmetic preparations in Egypt. *International Journal of Agricultural Technology*. 2016; 12(3):567-77.
- [15] Skowron K, Jakubicz A, Budzyńska A, Kaczmarek A, Grudlewska K, Reślirski A, et al. Microbiological purity assessment of cosmetics used by one and several persons and cosmetics after their expiry date. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*. 2017; 68(2):191-7.
- [16] Jarvis B, Reynolds AJ, Rhodes AC, Armstrong M. A survey of microbiological contamination in cosmetics and toiletries in the UK 97. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*. 1974; 25(10):563-75.
- [17] Verma DD, Verma S, Blume G, Fahr A. Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin. *International Journal of Pharmaceutics*. 2003; 258(1-2):141-51 [DOI:10.1016/S0378-5173(03)00183-2]
- [18] Piechota-Urbanska M, Kolodziejska J, Zgoda MM. Viscosity of pharmaceutical multimolecular ointment vehicles and pharmaceutical availability of a model therapeutic agent. *Polymers in Medicine*. 2007; 37(2):3.
- [19] Glogowski A, Kolodziejska J, Kolodziejczyk MK, Zgoda MM. The influence of the viscosity of the ointment vehicles magisterial topical preparations, on the speed transfer of biologically active substances. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2015; 28(3):212-8 [DOI:10.1515/cipms-2015-0075]
- [20] Bhargava S, Cooper SL. Effect of water on viscosity and shear-thickening behavior of telechelic ionomers in nonpolar solvents. *Macromolecules*. 1998; 31(2):508-14. [DOI:10.1021/ma970889c]
- [21] Kumar BK, Rajan T, Begum NT. Analytical method development and validation of lidocaine in ointment formulation by U. V spectrophotometric method. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2012; 4(2):610-4.