



Research Article

Characterization and Stability Study of Itraconazole-Loaded Microemulsions for Skin Application

การศึกษาสมบัติและความคงตัวของไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลสำหรับทาผิวหนัง

ประภาพร บุญมี^{1*}, ศิรดา ภูสันติสัมพันธ์¹, ณัฐธัญญา จันทร์มา¹, สรัสนันท์ พรหมจันทร์¹

Prapaporn Boonme^{1*}, Sirada Pusantisumpun¹, Nattanicha Janma¹, Saratsanan Promjan¹

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90112

¹Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University, Songkhla, 90112

Article Info

Received 14 December 2023

Revised 23 February 2024

Accepted 3 March 2024

Abstract

Dermatophytosis is a common disease in tropical regions and it can be treated with antifungal drugs via oral and topical administration. Topical liquid dosage form of an antifungal drug provides advantages such as reducing systemic adverse reactions, spreading on the applied area thoroughly, and convenience for patient using. This study aimed to investigate the microemulsion systems for preparing itraconazole-loaded microemulsions for topical usage. Microemulsion formation of systems consisting of different types of oil phase, aqueous phase, and surfactant was studied by titration method. Blank microemulsions were selected from the phase diagram with large microemulsion region for incorporation with itraconazole 1% w/w. The obtained formulations were observed and compared the present appearances with their blank counterparts. Stability of the formulations after being stored in light-protected glass containers at ambient temperature ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) for 8 weeks was evaluated. The drug content was quantitatively analyzed using UV-visible spectroscopy. The results showed that among 12 systems with various excipients, the optimized system was composed of 3:1 clove oil:oleic acid as oil phase, 1:1 water:propylene glycol as aqueous phase, and Tween 80 as surfactant. Incorporation of the active drug into the four selected blank microemulsions did not affect on appearances and microemulsion type. Viscosity and pH values of all prepared formulations were determined in acceptable criteria for skin application. However, low chemical stability was found when all formulations were kept under the investigated condition. Therefore, in the further study, the formulations should be improved to enhance chemical stability of the active drug.

Keywords: Itraconazole, Microemulsion, Antifungal drug, Stability

บทคัดย่อ

โรคผิวหนังจากเชื้อราเป็นโรคที่พบได้บ่อยในภูมิภาคเขตร้อนชื้นโดยทั่วไป โรคนี้สามารถรักษาได้ด้วยยาต้านเชื้อราโดยการรับประทานและการทาเฉพาะที่ ยาต้านเชื้อราในรูปแบบของเหลวสำหรับทาเฉพาะที่มีข้อดี คือ ลดการเกิดอาการไม่พึงประสงค์แบบทั่วร่างกาย ยาแผ่กระจายได้ทั่วบริเวณที่ทา และผู้ป่วยสามารถใช้ยาได้สะดวก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระบบไมโครอิมัลชันในการเตรียมตำรับไอทราโคนาโซลไมโครอิมัลชันสำหรับใช้เฉพาะที่ โดย

*Corresponding Author. Email: prapaporn@pharmacy.psu.ac.th

ศึกษาการเกิดไมโครอิมัลชันในระบบที่แตกต่างกัน ซึ่งประกอบด้วยวัฏภาคน้ำมัน วัฏภาคน้ำ และสารลดแรงตึงผิว ต่างชนิดกันด้วยวิธีไทเทรต จากนั้นเลือกตำรับไมโครอิมัลชันเปล่าจากแผนภาพวัฏภาคที่มีพื้นที่ไมโครอิมัลชันขนาดใหญ่เพื่อบรรจุยาไอทราโคนาโซลในความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก สังเกตลักษณะของตำรับที่เตรียมได้เทียบกับไมโครอิมัลชันเปล่า นอกจากนี้ ศึกษาความคงตัวของตำรับเมื่อเก็บในภาชนะแก้วที่ป้องกันแสง ที่อุณหภูมิโดยรอบ (28 ± 2 องศาเซลเซียส) นาน 8 สัปดาห์ โดยใช้เทคนิคอัลตราไวโอเลตและวิธีเปิดสเปกโทรสโคปีในการวิเคราะห์ปริมาณตัวยาสำคัญ ผลการศึกษาพื้นที่ไมโครอิมัลชันของระบบที่มีส่วนประกอบแตกต่างกัน 12 ระบบ พบว่าระบบที่เหมาะสมประกอบด้วยน้ำมันกานพลูและกรดโอเลอิกในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 เป็นวัฏภาคน้ำมัน น้ำและโพรพิลีนไกลคอลในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 เป็นวัฏภาคน้ำ และทวิน 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว การผสมตัวยาสำคัญในไมโครอิมัลชันเปล่าที่เลือกมาศึกษา 4 ตำรับ ไม่มีผลต่อลักษณะและชนิดของไมโครอิมัลชัน สมบัติด้านความหนืดและความเป็นกรด-ด่างของทุกตำรับที่เตรียมได้อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับการทาผิวหน้ง อย่างไรก็ตาม พบว่าทุกตำรับมีความคงตัวทางเคมีต่ำเมื่อเก็บภายใต้สภาวะที่ศึกษา ดังนั้น ในการศึกษาต่อไป ควรปรับปรุงสูตรตำรับเพื่อให้ตัวยามีความคงตัวทางเคมีเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ: ยาไอทราโคนาโซล, ไมโครอิมัลชัน, ยาต้านเชื้อรา, ความคงตัว

1. บทนำ

โรคผิวหนังจากเชื้อรา (dermatophytosis) มีโอกาสพบได้บ่อยในภูมิภาคเขตร้อนชื้น รวมถึงประเทศไทย เชื้อก่อโรคที่พบเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum audouinii*, *Trichophyton rubrum* นอกจากนี้อาจพบสาเหตุจาก *Aspergillus nidulans* และ *Candida* species ด้วย โรคนี้สามารถรักษาได้ด้วยการให้ยาต้านเชื้อรา (antifungal drug) ทางการรับประทานหรือการทาเฉพาะที่ [1] การบริหารยาโดยการทาเฉพาะที่มีข้อดีในด้านการลดความเสี่ยงของการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ รวมถึงวิธีการใช้ยาที่ง่ายสามารถเพิ่มความร่วมมือในการรักษาของผู้ป่วย ซึ่งยาทาในรูปแบบของเหลว นอกจากจะมีข้อดีดังกล่าวแล้ว ยังทำให้ตัวยาสำคัญแผ่กระจายบนบริเวณผิวหนังที่ต้องการได้ง่ายอีกด้วย

ยาไอทราโคนาโซล (itraconazole) เป็นยาต้านเชื้อราในกลุ่มไตรเอโซล (triazole) ออกฤทธิ์โดยยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์เออร์โกสเตอรอล (ergosterol) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา คือ cytochrome P-450-dependent enzymes ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราไม่สมบูรณ์ อย่างไรก็ตาม ยานี้มีค่าการละลายในน้ำต่ำ (9.64 มิลลิกรัม/ลิตร) และน้ำหนักโมเลกุลสูง (705.6 กรัม/โมล) [2] ซึ่งเป็นอุปสรรคในการผลิตยาในรูปแบบตำรับไมโครอิมัลชัน (microemulsions) สามารถแก้ปัญหานี้ได้

ไมโครอิมัลชันเป็นรูปแบบตำรับหนึ่งที่มีความน่าสนใจ เนื่องจากสามารถเกิดขึ้นได้เอง (spontaneous formation) เมื่อผสมส่วนประกอบต่างๆ ได้แก่ วัฏภาคน้ำมัน (oil phase) วัฏภาคน้ำ (aqueous phase) และสารลดแรงตึงผิว (surfactant) นอกจากนี้บางระบบอาจมีสารลดแรงตึงผิวร่วม (cosurfactant) และ/หรือตัวทำละลายร่วม (cosolvent) ในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งอยู่ภายในพื้นที่ไมโครอิมัลชัน (microemulsion region) ของแผนภาพวัฏภาคไตรภาค (ternary phase diagram) หรือแผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียม (pseudoternary phase diagram) เข้าด้วยกัน โดยไม่ต้องใช้พลังงานหรือเครื่องมือเฉพาะในการผลิต จึงผลิตง่ายและสามารถขยายขนาดการผลิตได้สะดวก มีลักษณะเป็นของเหลวใสซึ่งดูน่าใช้และสามารถทำให้ตัวยาสามารถกระจายในบริเวณที่ต้องการได้ดี มีกำลังใน

การละลาย (high solubilization power) สูง จึงใช้บรรจุได้ทั้งยาที่ขบน้ำและยาที่ขบน้ำมัน รวมถึงมีสมบัติเพิ่มการซึมผ่านผิวหนังของตัวยาสำคัญ ไมโครอิมัลชันจึงได้รับความนิยมในการศึกษาเพื่อนำส่งยาหลากหลายชนิดทางผิวหนัง [3,4] รวมถึงยาต้านเชื้อรา [5]

ผลการศึกษาการละลายของยาไอทราโคนาโซลในงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าไมโครอิมัลชันที่เตรียมจากน้ำมันรำข้าว (rice bran oil) หรือน้ำมันปาล์ม (palm oil) เป็นวัฏภาคน้ำมัน ของผสมระหว่างน้ำกับโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol) ในอัตราส่วน 1:1 เป็นวัฏภาคน้ำ และของผสมระหว่างทวิน 80 (Tween 80) กับสแปน 80 (Span 80) ในอัตราส่วน 1:1 เป็นสารลดแรงตึงผิว สามารถเพิ่มการละลายของยาได้เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนประกอบเดี่ยวๆ แต่ละชนิดในสูตรตำรับ และตำรับที่ได้สามารถนำไปใช้เตรียมไมโครอิมัลชันออร์แกโนเจลบรรจุยาไอทราโคนาโซล (itraconazole microemulsion organogels) โดยใช้ฟุ้งซิลิกา (fumed silica) เป็นสารก่อเจล [6] อย่างไรก็ตาม ตำรับไมโครอิมัลชันออร์แกโนเจลบรรจุยาไอทราโคนาโซลที่เตรียมได้ในงานวิจัยดังกล่าว มีความเข้มข้นของยาไอทราโคนาโซลร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก

Patel และคณะ [7] เตรียมตำรับไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก โดยพิจารณาชนิดของส่วนประกอบจากการละลาย ซึ่งสารที่ถูกเลือกใช้ได้แก่ น้ำมันยูคาลิปตัส (eucalyptus oil) เป็นวัฏภาคน้ำมัน ทวิน 20 (Tween 20) เป็นสารลดแรงตึงผิว เมทานอล (methanol) เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม และน้ำเป็นวัฏภาคน้ำ ผลการศึกษาพบว่าไมโครอิมัลชันที่เหมาะสม (optimized microemulsion) ซึ่งพิจารณาจากการปลดปล่อยยาผ่านเยื่อเลือกผ่าน (semi-impermeable membrane) ได้สูงกว่าไมโครอิมัลชันอื่นอีก 8 ตำรับที่เตรียมได้ในการศึกษานี้ ให้ผลการปลดปล่อยยาผ่านเยื่อเลือกผ่านสูงกว่าและยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ดีกว่าผลิตภัณฑ์ทางการค้า อย่างไรก็ตาม ในงานวิจัยดังกล่าว ผู้วิจัยไม่ได้ระบุรูปแบบยาเตรียม (dosage form) และความเข้มข้นของตัวยาสำคัญของผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่ใช้ในการเปรียบเทียบ รวมถึงไม่ได้ศึกษาความคงตัวของตำรับที่เตรียมได้ นอกจากนี้ เมทานอลเป็นสารที่ไม่ใช้ในตำรับยา เนื่องจากมีความเป็นพิษสูง การได้รับสารนี้โดยการสัมผัส มีผลก่อความระคายเคืองต่อผิวหนัง ทำให้ผิวหนังแห้งและเป็นผื่นแดง รวมถึงอาจซึมผ่านผิวหนังซึ่งส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย (systemic toxicity) ได้ [8]

Promjan และ Boonme [9] รายงานว่าระบบที่ประกอบด้วยน้ำมันกานพลู (clove oil) เป็นวัฏภาคน้ำมัน ทวิน 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว และของผสมระหว่างน้ำกับพอลิเอทิลีนไกลคอล 400 (polyethylene glycol 400) ในอัตราส่วน 1:1 เป็นวัฏภาคน้ำ ให้พื้นที่ไมโครอิมัลชันขนาดใหญ่ ส่งผลให้สามารถเตรียมได้ทั้งไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil-in-water) และชนิดน้ำในน้ำมัน (water-in-oil) แต่พบว่าไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันซึ่งมีปริมาณน้ำมันกานพลูสูงเท่านั้นที่สามารถผสมกับยาไอทราโคนาโซลความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักแล้วได้ตำรับที่มีลักษณะเป็นของเหลวใส การเก็บตำรับที่เตรียมได้ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียสมีผลให้ความคงตัวทางเคมีและกายภาพดีกว่าการเก็บที่ 45 องศาเซลเซียส ตำรับที่เตรียมได้สามารถนำส่งยาทางผิวหนังเมื่อศึกษาด้วยคราบงูเห่าไทย (shed snakeskin of *Naja kaouthia*) รวมถึงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *T. rubrum*

ดังนั้นการเตรียมยาไอทราโคนาโซลให้อยู่ในรูปไมโครอิมัลชันจึงมีความน่าสนใจ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเกิดไมโครอิมัลชันของระบบซึ่งมีส่วนประกอบเป็นสารที่พบการใช้ในตำรับยาทาผิวหนังเพื่อนำมาเตรียมตำรับไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก จากนั้นศึกษาสมบัติต่างๆ และความคงตัวของตำรับที่เตรียมได้

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 สารเคมี

ตัวยาสาคัญ คือ ยาไอทราโคนาโซล ซื้อมาจาก Acros Organics ประเทศเบลเยียม ส่วนสารเคมีอื่นๆ ซื้อมาจาก JKK Chemical, RCI Labscan, PC Drug Center และ Union Chemical 1986 ประเทศไทย สารที่ใช้ในการเตรียมตำรับเป็นสารเคมีเกรดยา (pharmaceutical grade) สารที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นสารเคมีเกรดงานวิเคราะห์ (analytical grade) และน้ำที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ น้ำกลั่น (distilled water)

2.2 การสร้างแผนภาพวัฏภาคเพื่อหาพื้นที่ไมโครอิมัลชัน

สร้างแผนภาพวัฏภาคไตรภาคหรือแผนภาพวัฏภาคไตรภาคเทียมด้วยวิธีไทเทรต (titration method) ที่อุณหภูมิโดยรอบ (ambient temperature; 28±2 องศาเซลเซียส) โดยผสมวัฏภาคน้ำมันกับสารลดแรงตึงผิวหรือกับของผสมระหว่างสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม ในอัตราส่วน 1:9 2:8 3:7 4:6 5:5 6:4 7:3 8:2 และ 9:1 โดยน้ำหนัก จากนั้นไทเทรตแต่ละของผสมด้วยวัฏภาคน้ำ หลังการเติมวัฏภาคน้ำทุกครั้ง เขย่าแรงๆ เพื่อให้ของผสมทั้งหมดเข้ากันดีและรอจนกระทั่งระบบเข้าสู่สมดุล (equilibrium) ก่อนไทเทรตต่อ จนถึงจุดที่ระบบมีลักษณะขุ่นหรือเริ่มเกิดการแยกชั้น ซึ่งเป็นจุดสิ้นสุดการเกิดไมโครอิมัลชัน จากนั้นจึงนำปริมาณร้อยละโดยน้ำหนักของส่วนประกอบต่างๆ ที่ผสมกันแล้วได้ไมโครอิมัลชันที่มีลักษณะเป็นของเหลวใสไปเขียนกราฟสามเหลี่ยม เพื่อหาพื้นที่ไมโครอิมัลชันบนแผนภาพวัฏภาค [10] ในงานวิจัยนี้ ศึกษาทั้งหมด 12 ระบบซึ่งมีชนิดและอัตราส่วนของส่วนประกอบที่แตกต่างกัน โดยวัฏภาคน้ำมันที่ศึกษา ได้แก่ น้ำมันกานพลู (clove oil; CO) กรดโอเลอิก (oleic acid; OA) และไอโซโพรพิลไมริสเทต (isopropyl myristate; IPM) สารลดแรงตึงผิวที่ศึกษา ได้แก่ ทวิน 80 (Tween 80; T80) สารลดแรงตึงผิวร่วมที่ศึกษา ได้แก่ พอลิเอทิลีนไกลคอล 400 (polyethylene glycol 400; PEG400) และ ครีโมเฟอรอาร์เอช 40

(Cremophor RH40; RH40) วัฏภาคน้ำที่ศึกษา ได้แก่ น้ำกลั่น (distilled water; W) และของผสมระหว่าง W กับตัวทำละลายร่วมที่ศึกษาซึ่งได้แก่ PEG400 ไอโซโพรพานอล (isopropanol; IPA) และโพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol; PG) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระบบที่ศึกษาการเกิดไมโครอิมัลชัน

ระบบที่	ส่วนประกอบ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)		
	วัฏภาคน้ำมัน	วัฏภาคน้ำ	สารลดแรงตึงผิว
01	1:1 OA:IPM	W	1:1 T80:PEG400
02	OA	W	1:1 T80:RH40
03	OA	W	1:2 T80:RH40
04	OA	W	2:1 T80:RH40
05	OA	W	T80
06	1:1 OA:IPM	W	T80
07	1:1 CO:OA	W	T80
08	2:1 CO:OA	W	T80
09	3:1 CO:OA	W	T80
10	3:1 CO:OA	1:1 W:PEG400	T80
11	3:1 CO:OA	1:1 W:IPA	T80
12	3:1 CO:OA	1:1 W:PG	T80

2.3 การเตรียมตำรับไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล

เลือกระบบที่ให้พื้นที่ไมโครอิมัลชันขนาดใหญ่ จากนั้นเลือกจุดในพื้นที่ไมโครอิมัลชันที่มีอัตราส่วนของส่วนประกอบที่แตกต่างกัน เพื่อเตรียมไมโครอิมัลชันเปล่า (blank microemulsions) โดยการคนผสมส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกันและสังเกตลักษณะด้วยตาเปล่า (สถานะทางกายภาพและความใส) ผสมยาไอทราโคนาโซลร้อยละ 1 โดยน้ำหนักแล้วสังเกตลักษณะ จากนั้นเลือกไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะเมื่อเทียบกับไมโครอิมัลชันเปล่า เพื่อศึกษาขั้นต่อไป โดยเตรียมไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ด้วยการละลายยาไอทราโคนาโซลในวัฏภาคน้ำมัน จากนั้นเติมส่วนประกอบอื่นลงไปผสม [9]

2.4 การศึกษาสมบัติและความคงตัวของไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล

สังเกตลักษณะของตำรับที่เตรียมได้ ได้แก่ ความใส และสี ด้วยตาเปล่า ศึกษาชนิดของไมโครอิมัลชันที่เตรียมได้โดยการทดสอบการผสมเข้ากันได้เมื่อหยดตัวอย่างลงในน้ำผสมสีที่ละลายน้ำ (water-soluble dye) ซึ่งในการศึกษานี้ใช้น้ำผสมสีฟ้า (brilliant blue) เพื่อเพิ่มความชัดเจนในการสังเกตผล และโดยหยดสีที่ละลายน้ำมัน (oil-soluble dye) ซึ่งในการศึกษานี้ใช้ Sudan III ลงในตัวอย่าง จากนั้นสังเกตลักษณะการแพร่ของสี รวมถึงวัดค่าการนำไฟฟ้า (conductivity) ของตัวอย่างด้วย electrical conductivity meter (F20 FiveEasy™,

Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland) ศึกษาสมบัติของไมโครอิมัลชันที่เตรียมได้ โดยวัดความหนืด (viscosity) และศึกษาแบบการไหล (rheological characteristics) ด้วย Brookfield viscometer (LV/DV-III Ultra, Brookfield Engineering Laboratories, Middleboro, USA) โดยใช้ SC4-31 spindle ซึ่งหมุนด้วยความเร็ว 5 ค่า คือ 50 100 150 200 และ 250 รอบต่อนาที วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วย pH meter (SevenCompact™ pH/Ion S220, Mettler Toledo Schwerzenbach, Switzerland) โดยทดลองที่อุณหภูมิโดยรอบและทดลอง 3 ซ้ำ (triplicate) [9,11,12]

ศึกษาความคงตัวของอิมัลชันภายใต้สภาวะปกติ โดยเก็บตัวอย่างในขวดแก้วใสและห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์เพื่อป้องกันแสง วางที่อุณหภูมิโดยรอบ จากนั้นสังเกตและศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ รวมถึงวิเคราะห์ปริมาณยาที่เหลืออยู่หลังเก็บไว้ที่ระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ โดยสกัดด้วยยาออกจากตัวรับและเจือจางด้วยเมทานอลให้ได้ความเข้มข้นของยาในช่วงที่เหมาะสมแล้ววิเคราะห์หาปริมาณยาที่คงเหลือ จากนั้นคำนวณเป็นร้อยละเทียบกับปริมาณยาเริ่มต้น

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณด้วยยาสำคัญ

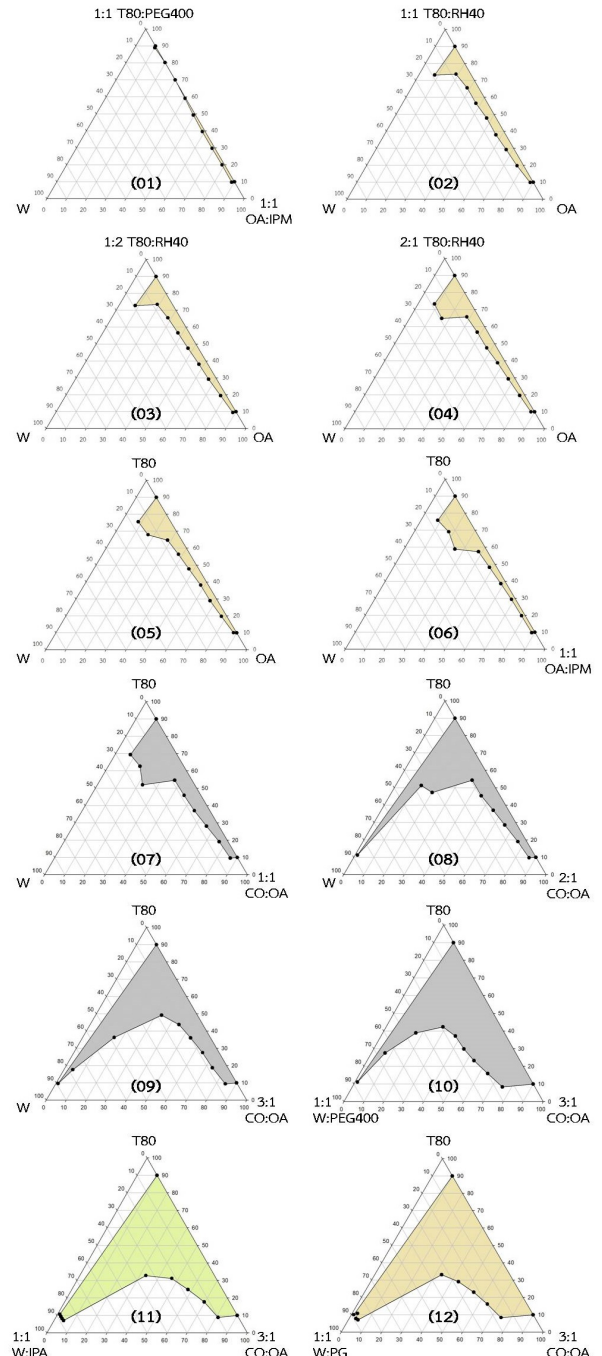
วิเคราะห์ปริมาณยาไอโธราโคนาโซลด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลตและ-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) ซึ่งดัดแปลงจากรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ [13] โดยชั่งไมโครอิมัลชัน 100 มิลลิกรัม ละลายและเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมด้วยเมทานอล จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ด้วย UV-Vis spectrophotometer (UV-1900i, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) ที่ความยาวคลื่น 258 นาโนเมตร (nm) และใช้เมทานอลเป็นแบล็ค (blank) จากนั้นเทียบกับกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของยาไอโธราโคนาโซลในเมทานอล ในช่วงความเข้มข้น 5–18 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม (µg/mL) และค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination, r^2) > 0.999 และวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

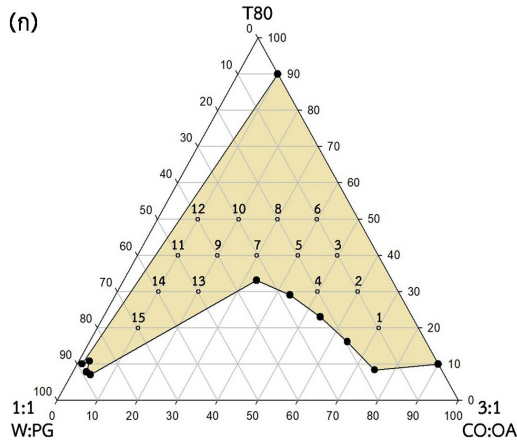
3.1 พื้นที่ไมโครอิมัลชันในแผนภาพสามเหลี่ยมและตัวรับที่เตรียมได้

จากการศึกษาพฤติกรรมของระบบพบว่าเกิดไมโครอิมัลชันใน 12 ระบบ แต่รูปร่างและขนาดของพื้นที่ไมโครอิมัลชันที่เกิดขึ้นมีความแตกต่างกัน โดยพบว่าระบบที่ 11 และ 12 มีพื้นที่ไมโครอิมัลชันขนาดใหญ่ใกล้เคียงกัน ดังภาพที่ 1 และระบบที่ 12 ประกอบด้วย PG เป็นตัวทำละลายร่วม จึงมีความเสี่ยงในการก่อความระคายเคืองผิวหนังน้อยกว่าระบบที่ 11 ซึ่งประกอบด้วย IPA เป็นตัวทำละลายร่วม จากข้อมูลดังกล่าว จึงเลือก 15 จุดบนพื้นที่ไมโครอิมัลชันในระบบที่ 12 ซึ่งมีอัตราส่วนของส่วนประกอบที่แตกต่างกัน ดังภาพที่ 2(ก) ไปเตรียมไมโครอิมัลชันเปล่า ผลการศึกษาพบว่าไมโครอิมัลชันเปล่าที่เตรียมจากทั้ง 15 จุด มีลักษณะเป็นของเหลวใสเหลือง อย่างไรก็ตาม เมื่อผสมกับยาไอโธราโคนาโซล พบว่าตัวรับที่เตรียมจากจุดที่ 1 2 3 และ 4 ยังคงมีลักษณะเป็นของเหลวใสหลังผสมกับยา ดังภาพที่ 2(ข) ขณะที่ตัวรับที่เตรียมจากจุดอื่น (จุดที่ 5 – จุดที่ 15) มีลักษณะเป็นเจลขุ่นหลังผสมกับยา ดังตัวอย่างในภาพที่ 2(ค) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากตัวรับเหล่านี้มีปริมาณไขมันไม่เพียงพอสำหรับละลายยาไอโธราโคนาโซลซึ่งเป็นยาที่ชอบไขมัน (lipophilic drug) ส่งผลให้ตัวรับขุ่น [9]

ส่วนสาเหตุที่ตัวรับมีลักษณะขุ่นขึ้นจนมีลักษณะคล้ายเจลหลังผสมยา ยังไม่แน่ชัด แต่อาจเป็นไปได้ว่าโมเลกุลของยาที่ไม่ละลายในไขมันอาจเกิดอันตรกิริยา (interaction) กับส่วนหางที่ชอบไขมัน (lipophilic tail) ของ T80 ซึ่งเป็นฟิล์มที่ผิวประจัน (interfacial film) ส่งผลให้การเรียงตัวของบริเวณผิวประจัน (interfacial packing) เปลี่ยนแปลง [14] ดังนั้น จึงเลือกตัวรับที่เตรียมจากจุดที่ 1 2 3 และ 4 ไปศึกษาต่อ โดยเรียกชื่อไมโครอิมัลชันเปล่าเป็น B-ME1 B-ME2 B-ME3 และ B-ME4 ตามลำดับ และเรียกชื่อไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอโธราโคนาโซลเป็น ME1 ME2 ME3 และ ME4 ตามลำดับ

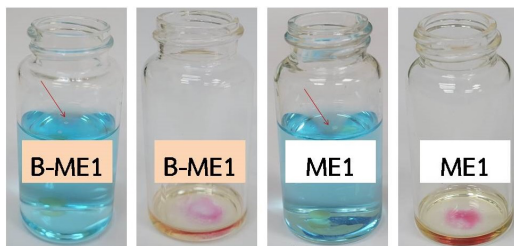


ภาพที่ 1 แผนภาพสามเหลี่ยมของระบบที่ศึกษาในตารางที่ 1 โดยบริเวณที่แรเงาแสดงพื้นที่ไมโครอิมัลชัน



ภาพที่ 2 (ก) แผนภาพวัฏภาคของระบบที่ 12 โดยบริเวณที่แรเงาแสดงพื้นที่ไมโครอิมัลชันและจุดแสดงอัตราส่วนของส่วนประกอบสำหรับเตรียมไมโครอิมัลชันเปล่า (ข) ตำรับที่เตรียมจากจุดที่ 1 2 3 และ 4 หลังผสมกับยาไอทราโคนาโซล (ME1 – ME4) ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวใส (ค) ตำรับที่เตรียมจากจุดที่ 5 หลังผสมกับยาไอทราโคนาโซล (ME5) ซึ่งมีลักษณะเป็นเจลขุ่น

ไมโครอิมัลชันเปล่า (B-ME1 – B-ME4) และไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล (ME1 – ME4) มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลือง ทุกตำรับไม่ผสมเข้ากัน (immiscible) กับ brilliant blue aqueous solution ขณะที่สี Sudan III แปรได้ไมโครอิมัลชันทุกตำรับ ดังตัวอย่างในภาพที่ 3 และทุกตำรับมีค่าการนำไฟฟ้าต่ำ โดย B-ME1 – B-ME4 มีค่าการนำไฟฟ้า 6.94 ± 0.01 8.36 ± 0.03 9.30 ± 0.02 และ 16.95 ± 0.03 ไมโครซีเมนส์/เซนติเมตร ($\mu\text{S}/\text{cm}$) ตามลำดับ ขณะที่ ME1 – ME4 มีค่าการนำไฟฟ้า 6.78 ± 0.01 8.52 ± 0.02 9.09 ± 0.05 และ 16.39 ± 0.03 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ตามลำดับ ดังนั้นทุกตำรับเป็นไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน [9,12] เนื่องจากตำรับที่เลือกมาศึกษามีปริมาณวัฏภาคน้ำมันสูงกว่าวัฏภาคน้ำ นอกจากนี้ พบว่าค่าการนำไฟฟ้าของตำรับสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณวัฏภาคน้ำ [11] การผสมยาไอทราโคนาโซลในความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักในไมโครอิมัลชันเปล่าที่เลือกมาศึกษา 4 ตำรับ ไม่มีผลต่อลักษณะและชนิดของไมโครอิมัลชัน



ภาพที่ 3 ผลการทดสอบชนิดของไมโครอิมัลชันเปล่าที่เตรียมจากจุดที่ 1 (B-ME1) และไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซลที่เตรียมจากจุดที่ 1 (ME1) ด้วย brilliant blue aqueous solution และ Sudan III

3.2 ความคงตัวของไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล

ผลการศึกษาหลังเก็บ ME1 – ME4 ในภาชนะแก้วที่ป้องกันแสง ที่อุณหภูมิโดยรอบ เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะที่มองเห็นด้วยตาเปล่าและชนิดไมโครอิมัลชัน โดยทุกตำรับยังคงมีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลืองและเป็นไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน

ME1 – ME4 มีความหนืดคงที่เมื่อได้รับแรงกระทำจากการหมุนของ spindle ในทุกความเร็วรอบ จึงมีรูปแบบการไหลแบบนิวโตเนียน (Newtonian flow) ตลอดช่วงเวลาที่ศึกษา ความหนืดของตำรับหลังเตรียมมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณ T80 กล่าวคือ ME3 ซึ่งมี T80 ร้อยละ 39.6 มีความหนืดสูงที่สุด ตามด้วย ME2 และ ME4 ซึ่งมี T80 ร้อยละ 29.7 เท่ากัน ส่วน ME1 ซึ่งมี T80 ร้อยละ 19.8 มีความหนืดต่ำที่สุด ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ [9] และหลังเก็บในภาชนะแก้วที่ป้องกันแสง ที่อุณหภูมิโดยรอบ เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าทุกตำรับมีการเปลี่ยนแปลงของความหนืดเพียงเล็กน้อยหรือต่ำกว่า 5 เซนติพอยส์ (cP) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความหนืดที่ความเร็วรอบในการหมุน spindle 250 rpm ของไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล หลังเตรียม (wk 0) และหลังเก็บในภาชนะป้องกันแสงที่อุณหภูมิโดยรอบนาน 4 สัปดาห์ (wk 4) และ 8 สัปดาห์ (wk 8) (mean $\pm$ SD, n=3)

ตำรับ	ความหนืด (cP)		
	wk 0	wk 4	wk 8
ME1	30.95 $\pm$ 0.00	31.79 $\pm$ 0.00	31.35 $\pm$ 0.18
ME2	47.23 $\pm$ 0.07	47.99 $\pm$ 0.00	49.11 $\pm$ 0.14
ME3	68.51 $\pm$ 0.00	68.67 $\pm$ 0.07	72.82 $\pm$ 0.32
ME4	50.87 $\pm$ 0.00	47.03 $\pm$ 0.00	51.91 $\pm$ 0.07

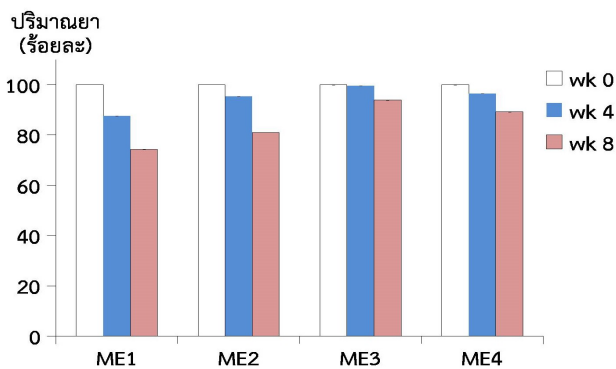
ME1 – ME4 มี pH เริ่มต้นเฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.05 – 4.66 และหลังเก็บในภาชนะแก้วที่ป้องกันแสง ที่อุณหภูมิโดยรอบ เป็นระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ พบการเปลี่ยนแปลงของความหนืดต่ำกว่า 0.5 หน่วย เมื่อเทียบกับ pH เริ่มต้น โดยเมื่อเก็บไว้ 4 สัปดาห์ ME1 – ME4 มี pH เฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.32 – 4.77 และเมื่อเก็บไว้ 8 สัปดาห์ ME1 – ME4 มี pH เฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.21 – 4.60 ดังตารางที่ 3 ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่มี pH ในช่วง 4 – 6 จัดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับการทาผิวหนัง [15] สาเหตุที่ pH เริ่มต้นของ ME1 – ME4 มีความแตกต่างกัน ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่เป็นไปได้ว่าเกิดจากอัตราส่วนของส่วนประกอบในตำรับที่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตาม พบว่าไมโครอิมัลชันทั้ง 4 ตำรับ ให้ผลความคงตัวทางเคมีของตัวยาสำคัญต่ำ ปริมาณตัวยาสำคัญลดลงเมื่อเก็บตำรับไว้นานขึ้น ดังภาพที่ 4 โดยพบว่า ปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลืออยู่หลังการเก็บ 4 และ 8 สัปดาห์มีแนวโน้มเหมือนกันโดยเรียงลำดับจากน้อยไปมาก คือ ME1 < ME2 $\approx$ ME4 < ME3 ซึ่งมีแนวโน้มสัมพันธ์กับ pH เริ่มต้นของตำรับซึ่งเรียงลำดับจากต่ำไปสูง คือ ME1 (4.05 ± 0.01) < ME2 (4.10 ± 0.01) $\approx$ ME4 (4.18 ± 0.01) < ME3 (4.31 ± 0.01) ถึงแม้ว่า ME3 มีปริมาณตัวยาสำคัญที่เหลืออยู่หลังการเก็บ 8 สัปดาห์ สูงกว่า

ตำรับอื่นในการศึกษานี้และสูงกว่าร้อยละ 90 เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้น แต่ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณตัวยาสําคัญในตำรับนี้ลดลงเมื่อเก็บนานขึ้น โดยหลังการเก็บ 4 สัปดาห์ พบปริมาณตัวยาสําคัญที่เหลืออยู่ร้อยละ 99.60 ± 1.60 เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้น ขณะที่หลังการเก็บ 8 สัปดาห์ พบปริมาณตัวยาสําคัญที่เหลืออยู่ลดลง โดยมีปริมาณเพียงร้อยละ 93.93 ± 1.46 เมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้น ดังนั้น จึงมีแนวโน้มที่ปริมาณตัวยาสําคัญอาจลดลงอีก หากเก็บตำรับนี้เป็นระยะเวลาที่นานขึ้น

ตารางที่ 3 pH ของไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล หลังเตรียม (wk 0) และหลังเก็บในภาชนะป้องกันแสงที่อุณหภูมิโดยรอบนาน 4 สัปดาห์ (wk 4) และ 8 สัปดาห์ (wk 8) (mean $\pm$ SD, n=3)

ตำรับ	pH		
	wk 0	wk 4	wk 8
ME1	4.05 ± 0.01	4.32 ± 0.02	4.21 ± 0.02
ME2	4.10 ± 0.01	4.50 ± 0.01	4.34 ± 0.02
ME3	4.31 ± 0.01	4.77 ± 0.02	4.60 ± 0.03
ME4	4.18 ± 0.01	4.64 ± 0.02	4.39 ± 0.02



ภาพที่ 4 ร้อยละของปริมาณที่เหลืออยู่ในไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล หลังเตรียม (wk 0) และหลังเก็บในภาชนะป้องกันแสงที่อุณหภูมิโดยรอบนาน 4 สัปดาห์ (wk 4) และ 8 สัปดาห์ (wk 8) (mean $\pm$ SD, n=3)

งานวิจัยก่อนหน้านี้รายงานว่ายาไอทราโคนาโซลสลายตัวเนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในสภาวะกรด (acidic hydrolysis) เมื่อละลายผงยาไอทราโคนาโซลในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 นอร์มอล รีฟลักซ์ (reflux) สารละลายนี้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่ 75 องศาเซลเซียส [16] นอกจากนี้ Promjan และ Boonme [9] รายงานว่าไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันบรรจุยาไอทราโคนาโซลความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ซึ่งมี pH เริ่มต้นโดยเฉลี่ยในช่วง 5.77 – 6.22 มีความคงตัวตลอดระยะเวลาที่ศึกษา 3 เดือน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส ขณะที่การเก็บที่ 45 องศาเซลเซียสมีผลให้ตำรับมีสีเข้มขึ้น และมีปริมาณตัวยาสําคัญที่เหลืออยู่น้อยกว่าเมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่ำ Mali และคณะ [17] เตรียมไมโครอิมัลชันเจลบรรจุยาไอทราโคนาโซลจากไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ พบว่าตำรับที่เหมาะสมซึ่งมี pH เริ่มต้น 6.14 ± 0.02 มีความคงตัวทางกายภาพและเคมีหลังเก็บในขวดที่ผลิตจากพอลิเอทิลีน (polyethylene bottles) โดยเก็บให้พ้นแสงที่อุณหภูมิ 4 และ 40 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือน อย่างไรก็ตาม

Shin และคณะ [18] รายงานว่ายยาไอทราโคนาโซลคงตัวในสภาวะกรด (acidic conditions) เนื่องจากพบว่ายานี้คงตัวในสารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solutions) pH 1 และ 2 หลังบ่ม (incubation) ที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง แต่รายงานนี้ไม่มีข้อมูลในระยะเวลาสั้น

นอกจากนี้ อันตรกิริยาระหว่างยาหรือสารสําคัญกับส่วนประกอบอื่นๆ ในตำรับ และชนิดไมโครอิมัลชัน อาจส่งผลต่อความคงตัวของสารบางชนิด ผลการบรรจุแอสคอร์บิลปาลมิเตต (ascorbyl palmitate) ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก ในไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน และไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ ซึ่งมีส่วนประกอบชนิดเดียวกันแต่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันสามารถทำให้สารนี้มีความคงตัวทางเคมีสูงกว่าไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เพราะโครงสร้างส่วนที่ไวต่อออกซิเดชันในโมเลกุลของสารนี้ชอบอยู่ในวัฏภาคน้ำมากกว่าวัฏภาคน้ำมัน โครงสร้างส่วนนี้จึงอยู่ในวัฏภาคภายในของไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน ส่งผลให้สัมผัสกับออกซิเจนและเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ต่ำกว่าเมื่ออยู่ในวัฏภาคภายนอกของไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ อย่างไรก็ตาม ความคงตัวของสารนี้ในไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันที่ศึกษา ยังไม่เพียงพอสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ต่อ [19] ขณะที่ผลการบรรจุโซเดียมแอสคอร์บิลฟอสเฟต (sodium ascorbyl phosphate) ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ในไมโครอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันและไมโครอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำซึ่งมีส่วนประกอบชนิดเดียวกันแต่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าชนิดไมโครอิมัลชันไม่ผลต่อความคงตัวทางเคมีของสารนี้ [20] ส่วนในการฉีดยาไอทราโคนาโซล ยังไม่พบรายงานที่เปรียบเทียบความคงตัวเมื่อเตรียมในรูปแบบไมโครอิมัลชันต่างชนิดกัน

ดังนั้น ในการศึกษาต่อไป ควรปรับปรุงสูตรตำรับไมโครอิมัลชันบรรจุยาไอทราโคนาโซล โดยการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับผลของ pH เริ่มต้น อันตรกิริยาระหว่างยากับสารอื่นในตำรับ ผลของชนิดไมโครอิมัลชัน เป็นต้น เพื่อให้ตัวยาสําคัญคงตัวมากขึ้น

4.สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาพบว่าระบบที่ประกอบด้วยของผสมระหว่างน้ำมันกานพลูกับกรดโอเลอิกในอัตราส่วน 3:1 เป็นวัฏภาคน้ำมัน ทวิน 80 เป็นสารลดแรงตึงผิว และของผสมระหว่างน้ำกับโพธิ์ลิโนเลอคอลในอัตราส่วน 1:1 เป็นวัฏภาคน้ำ ให้พื้นที่ไมโครอิมัลชันขนาดใหญ่และสามารถเลือกอัตราส่วนของส่วนประกอบเพื่อเตรียมไมโครอิมัลชัน-เปล้าได้หลายจุด ซึ่งในการศึกษานี้เลือก 15 จุด อย่างไรก็ตาม พบว่ามีเพียงไมโครอิมัลชัน 4 ตำรับที่สามารถผสมกับยาไอทราโคนาโซลแล้วมีลักษณะเป็นของเหลวใส เนื่องจากมีปริมาณวัฏภาคน้ำมันสูง จึงสามารถละลายยาไอทราโคนาโซลได้ การผสมยาในตำรับ ไม่มีผลต่อลักษณะและชนิดของไมโครอิมัลชัน ถึงแม้ว่าทุกตำรับที่ศึกษามีสมบัติด้านความหนืดและความเป็นกรด-ด่างอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับการทาผิวหนัง แต่ผลการศึกษาความคงตัวโดยเก็บตำรับในภาชนะแก้วที่ป้องกันแสงที่อุณหภูมิโดยรอบนาน 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าทุกตำรับที่ศึกษายังไม่เหมาะสมสำหรับการนำส่งยาไอทราโคนาโซลทางผิวหนัง เนื่องจากมีปริมาณตัวยาสําคัญลดลงเมื่อเก็บในระยะเวลาสั้นขึ้น ดังนั้นควรปรับปรุงสูตรตำรับเพื่อให้ยาไอทราโคนาโซลมีความคงตัวในการศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Luplertlop N, Suwanmanee S. Dermatophytosis: from bench to bedside. *J Trop Med Parasitol*. 2013;36(2):75-87.
2. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 55283, Itraconazole. [cited 2023 Nov 28]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Itraconazole>.
3. Souto EB, Doktorovova S, Boonme P. Lipid-based colloidal systems (nanoparticles, microemulsions) for drug delivery to the skin: materials and end-product formulations. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2011;21(1):43-54.
4. Lopes LB. Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. *Pharmaceutics*. 2014;6:52-77.
5. Boonme P, Kaewbanjong J, Amnuait T, Andreani T, Silva AM, Souto EB. Microemulsion and microemulsion-based gels for topical antifungal therapy with phytochemicals. *Curr Pharm Des*. 2016;22(27):4257-4263.
6. Boonme P, Wuttikul K, Fookloy K, Promjan S, Teeranachaideekul V. Formulation development and characterization of topical itraconazole microemulsion-organogels. *Lat Am J Pharm*. 2017;36(5):896-901.
7. Patel TB, Patel TR, Suhagia BN. Preparation, characterization, and optimization of microemulsion for topical delivery of itraconazole. *J Drug Deliv Ther*. 2018;8(2):136-145.
8. Public Health England. Methanol: Toxicological Overview. [cited 2023 Nov 28]. Available from: https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a7f16d6e5274a2e8ab4a0be/Methanol_TO_PHE_260815.pdf.
9. Promjan S, Boonme P. Itraconazole-loaded microemulsions: formulation, characterization, and dermal delivery using shed snakeskin as the model membrane. *Pharm Dev Technol*. 2023;28(1):51-60.
10. ณัฐธิดา ภัคพยัต, ทรงวุฒิ ยศวิมลวัฒน์, ประภาพร บุญมี. กรีน-ไมโครอิมัลชันสำหรับเครื่องสำอาง. *วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ* 2554;6(4):290-298.
11. Lou H, Qiu N, Crill C, Helms R, Almoazen H. Development of w/o microemulsion for transdermal delivery of iodide ions. *AAPS PharmSciTech*. 2013;14(1):168-176.
12. Wuttikul K, Boonme P. N-acetylglucosamine microemulsions: assessment of physicochemical stability and *in vitro* release. *Lat Am J Pharm*. 2019;38(9):1823-1830.
13. Srinivas L, Hemalatha B, Vinai KT, Naga MRB, Bhanu TB. Studies on solubility and dissolution enhancement of itraconazole by complexation with sulfo-butyl7 ether β cyclodextrin. *Asian J Biomed Pharm Sci*. 2014;4(38):6-16.
14. Mehta SK, Kaur G, Bhasin KK. Tween-embedded microemulsions - physicochemical and spectroscopic analysis for antitubercular drugs. *AAPS PharmSciTech*. 2010;11(1):143-153.
15. Lukić M, Pantelić I, Savić SD. Towards optimal pH of the skin and topical formulations: from the current state of the art to tailored products. *Cosmetics*. 2021;8:69.
16. Parikh SK, Dave JB, Patel CN, Ramalingan B. Stability-indicating high-performance thin-layer chromatographic method for analysis of itraconazole in bulk drug and in pharmaceutical dosage form. *Pharm Methods*. 2011;2:88-94.
17. Mali KK, Dhawale SC, Dias RJ. Microemulsion based bioadhesive gel of itraconazole using tamarind gum: *in-vitro* and *ex-vivo* evaluation. *Marmara Pharm J*. 2017;21(3):688-700.
18. Shin JH, Choi KY, Kim YC, Lee MG. Dose-dependent pharmacokinetics of itraconazole after intravenous or oral administration to rats: intestinal first-pass effect. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(5):1756-1762.
19. Špiclin P, Gašperlin M, Kmetec V. Stability of ascorbyl palmitate in topical microemulsions. *Int J Pharm*. 2001;222(2):271-279.
20. Špiclin P, Homar M, Zupančič-Valant A, Gašperlin M. Sodium ascorbyl phosphate in topical microemulsions. *Int J Pharm*. 2003;256(1-2):65-73.