BRIEF REPORT

# *Physicochemical Stability and In-vitro Efficacy of Aloe vera and Clobetasol Mouthwash*

Shohreh Alipour[1],
Vahid Moazami[2],
Fatemeh Ahmadi[3]

[1] Associate Professor, Department of Quality Control, Faculty of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
[2] Doctor of Pharmacy, Gorgan, Iran
[3] Associate Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

(Received June 12, 2019 ; Accepted March 15, 2020)

## *Abstract*

**Background and purpose:** Oral chronic lesions (OCLs) are challenging inflammatory diseases. Clobetasol is the most effective corticosteroid in treatment of OCLs. Clinical studies showed positive effects of aloe vera gel in improving the signs of inflammation and ulcer in OCLs. The aim of the present study was to design a mouthwash containing aloe vera gel and clobetasol and evaluating its stability and antifungal efficacy.

**Materials and methods:** Aloe vera gel was standardized and clobetasol was analyzed using a validated HPLC method. They were then mixed with suitable excipients to formulate a mouthwash. At days one and 45 after preparation, the pH, clearness, clobetasol assay, and microbial control (preservative test and limit test) of the mouthwash were tested. The efficacy of the optimized mouthwash on *Candida albicans* was tested and compared with two natural and chemical commercial mouthwashes.

**Results:** Aloe vera gel 100ml contained 36 mg glucomannan. Quality control test confirmed physical, chemical and microbial stability of the mouthwashes after 45 days. The optimized mouthwash showed considerable effects on *Candida albicans* even at 1:10 and 1:100 dilutions.

**Conclusion:** Considering anti-inflammatory effects of aloe vera gel, it seems that the optimized mouthwash, in addition to having wound healing effects, may prevent candidiasis induced by *Candida albicans* in patients with OCLs.

***Keywords:*** oral chronic lesions, mouthwash, clobetasol, aloe vera

**J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (185): 143-148 (Persian).**

*** Corresponding Author: Fatemeh Ahmadi -** Faculty of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran (E-mail: Ahmadi_f@sums.ac.ir)

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11 ]

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی ام شماره 185 خرداد سال 1399 (148-143)

# بررسی پایداری فیزیکو شیمیایی و اثر بخشی برون تن دهان شویه ژل آلوئه ورا و کلوبتازول

شهره علیپور[1]
وحید معظمی[2]
فاطمه احمدی[3]

## چکیده

**سابقه و هدف:** زخم‌های مزمن دهان یکی از پرچالش‌ترین بیماری‌های التهابی محسوب می‌شوند. از میان کورتیکواستروییدها، کلوبتازول در شکل‌های دارویی مختلف نتایج درمانی قابل توجهی از خود نشان داده است. مطالعات بالینی مصرف ژل آلوئه‌ورا را در بهبود کلی کیفیت زندگی این بیماران مفید دانسته است. لذا در مطالعه حاضر طراحی، بررسی پایداری و اثرات ضد قارچی دهان شویه حاوی ژل آلوئه‌ورا و کلوبتازول مدنظر قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** ابتدا گیاه آلوئه‌ورا استانداردسازی شد. آنالیز کلوبتازول با روش HPLC معتبرسازی شده انجام شد. فرمولاسیون دهانشویه‌ها با تغییر مقادیر اجزای جانبی تهیه شد و در روزهای اول و چهل و پنجم پس از ساخت، تست‌های کنترل کیفیت (pH، شفافیت، مقدار کلوبتازول) و کنترل میکروبی (تست ماده محافظ و محدودیت میکروبی) بر روی آن‌ها انجام شد. فراورده نهایی از لحاظ اثربخشی بر کاندیدا آلبیکنس ارزیابی شد و با دو دهانشویه گیاهی و شیمیایی موجود در بازار دارویی مقایسه شد.

**یافته‌ها:** صد میلی لیتر ژل گیاه آلوئه‌ورا حاوی 36 میلی‌گرم، ماده موثره گلوکومانان بود. تست‌های پایداری فیزیکی، شیمیایی و میکروبی موید سلامت فراورده پس از 45 روز بود. فرمولاسیون منتخب حتی در رقت‌های 1:10 و 1:100 اثرات بسیار قابل توجهی بر کاندیدا آلبیکنس از خود نشان داد.

**استنتاج:** با توجه به اثرات ضد التهابی آلوئه ورا، به نظر می‌رسد که فراورده حاضر علاوه بر التیام زخم‌های دهانی بیماران، بتواند از ایجاد عفونت‌های کاندیدیازیس ناشی از کاندیدا آلبیکنس نیز به خوبی جلوگیری کند.

**واژه های کلیدی:** زخم های مزمن دهانی، دهانشویه، کلوبتازول، آلوئه ورا

## مقدمه

زخم های مزمن دهانی یکی از پرچالش‌ترین بیماری‌های دهان است که درمان آن با انواع داروهای استروئیدی سیستمیک و موضعی مورد ارزیابی قرار گرفته است(1). در درمان با اشکال دارویی مختلف داروی کلوبتازول، 65 درصد از بیماران تا 6 ماه دوره‌های بهبودی بدون علامت را تجربه کرده‌اند(2). آلوئه‌ورا یا صبر زرد گیاهی از خانواده لیلیاسه است. ژل موسیلاژی داخل برگ‌های آن اثرات التیام بخش و ترمیم زخم دارد که به پلی ساکاریدگلوکومانان موجود در آن نسبت داده می‌شود(5-3).

**مولف مسئول: فاطمه احمدی -** شیراز: رکن آباد، دانشکده داروسازی شیراز
E-mail:Ahmadi_f@sums.ac.ir
1.دانشیار، گروه کنترل کیفیت، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران
2. دکترای داروسازی، گرگان، ایران
3.دانشیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران
تاریخ دریافت : 1398/3/22 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1398/3/27 تاریخ تصویب : 1398/12/25



[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11 ]

مطالعات بالینی، اثرات مثبت این گیاه را در درمان زخم‌های دهانی و بهبود کیفیت زندگی بیماران (کاهش درد و سوزش و ...) بدون ایجاد عوارض جانبی تایید کرده است(7،6،3). بنابراین به نظر می‌رسد استفاده همزمان ژل آلوئه‌ورا و داروی کلوبتازول به عنوان استاندارد طلایی درمان با هدف اثربخشی سینرژیک و احتمال استفاده از دوز کم‌تر داروی کلوبتازول بتواند تاثیر بهتری در درمان داشته باشد.

## مواد و روش ها

پودر کنجاک گلوکومانان ازشرکت Richest group چین، ژل گیاه آلوئه از شرکت باریج اسانس، پودر کلوبتازول از کارخانه داروسازی داروپخش خریداری شد. معرف کنگورد، پروپیلن گلیکول، گلیسیرین، پلی‌اتیلن گلیگول 400 (PEG)، دی هیدروژن فسفات، متیل پارابن و پروپیل پارابن از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. اتانول، متانول و استونیتریل (HPLC grade) از شرکت سامچون کره جنوبی خریداری شدند.

*تعیین مقدار گلوکومانان در ژل آلوئه جهت استانداردسازی*

استخراج گلوکومانان از پودر کنجاک گلوکومانان با استفاده از روش استخراجی که قبلاً گزارش شده با کمی تغییرات انجام شد (8, 9). غلظت‌های استاندارد 50، 100، 200، 400 و 800 µg/ml با نسبت 1:10 با محلول معرف کنگورد مخلوط شده و جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 540 نانومتر خوانده شد. جهت بررسی معتبرسازی منحنی استاندارد تمامی غلظت‌ها در سه روز متفاوت و هر روز سه بار تهیه شدند (n =5).

*تعیین مقدار کلوبتازول*

غلظت‌های استاندارد 12/5 µg/ml، 25، 50، 100 و 200 از کلوبتازول تهیه شدند و تعیین مقدار کلوبتازول با روش HPLC انجام شد. جهت بررسی معتبرسازی منحنی استاندارد تمامی غلظت‌ها سه روز متفاوت و هر روز سه بار تهیه شد (n =5).

*فرمولاسیون دهانشویه*

جهت دستیابی به فرمولاسیون بهینه، 6 فرمولاسیون مختلف تهیه شد. با توجه به نتایج مطالعات قبلی گلیسیرین، پروپیلن گلایکول، پلی اتیلن گلیکول در مقادیر مختلف به عنوان پایه فرمولاسیون حاوی کلوبتازول و آلوئه‌ورا بررسی شدند. فرمولاسیون‌های تهیه شده در جداول شماره 1 ارائه شده‌اند.

**جدول شماره 1:** پایه‌های مختلف استفاده شده درفرمولاسیون دهانشویه‌ها

| | پروپیلن گلیکول (درصد) | PEG 400 (درصد) | گلیسیرین (درصد) |
|---|---|---|---|
| F1 | 100 | - | - |
| F2 | - | 100 | - |
| F3 | - | - | 100 |
| F4 | 50 | - | 50 |
| F5 | 50 | 50 | - |
| F6 | - | 50 | 50 |

*تست های کنترل کیفیت دهانشویه*

تست‌های کنترل‌کیفیت به روش تسریع شده درکابینت پایداری در روزهای اول و چهل‌وپنجم پس از ساخت در دمای 40 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 75 درصد انجام پذیرفت. ابتدا pH فرمولاسیون‌ها بررسی شد. در تست شفافیت، میزان عبور نور از نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 580 نانومتر ارزیابی شد. در روزهای مشخص داروی کلوبتازول در نمونه‌ها با روش آنالیز معتبرسازی شده تعیین مقدار شد.

*تست های کنترل میکروبی دهانشویه*

*تست کارایی ماده محافظ*

میکروب‌های *Staphylococcus aureus*(PTCC 1337)، *Pseudomonas aeruginosa* (PTCC 1310)، *Escherichia coli* (PTCC 1276) و *Candida albicans* (PTCC 5027) که از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری ایران تهیه شدند به نمونه دهانشویه‌ها اضافه شدند و در روزهای 7، 14، 21 و 28 ام با استفاده از روش شمارش میکروارگانیسم زنده، تعداد کلونی‌ها شمارش شدند(11).

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11 ]

*شمارش میکروارگانیسم‌ها در دهانشویه*

جهت شمارش تعداد میکروارگانیسم‌ها، روش Most Probable Number (MPN) استفاده شد. کلیه فرمولاسیون‌ها پس از رقیق‌سازی به نسبت‌های 1:10، 1:100 و 1:1000 به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند و از نظر رشد میکروارگانیسم و ایجاد کدورت ارزیابی شدند. تعداد میکروارگانیسم موجود در هر گروه با استفاده از جدول ارائه شده در USP40 تعیین شد(14-12).

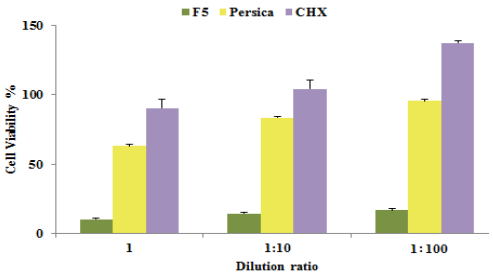
*اثربخشی فرمولاسیون نهایی*

از کشت تازه میکروارگانیسم کاندیدا آلبیکنس (PTCC 5027) *Candida albicans* سوسپانسیون با غلظت 0/5 مکفارلند تهیه شد و به فرمولاسیون دهانشویه نهایی، دهانشویه گیاهی پرسیکا و دهانشویه کلرهگزیدین با رقت‌های 1، 1:10 و 1:100 اضافه شد. پس از 18 ساعت در انکوباتور 37 درجه سانتی‌گراد کدورت نمونه‌ها در طول موج 600 نانومتر توسط الایزا ریدر خوانده شد و درصد زنده ماندن میکروارگانیسم‌ها تعیین شد.

## یافته ها و بحث

*تعیین مقدار گلوکومانان در ژل آلوئه جهت استانداردسازی*

نتایج رسم منحنی استاندارد در محدوده غلظت 800µg/ml تا50 در نمودارشماره 1 ارائه شده است. رگرسیون خط 0/9994 و معادله خط y=0/0005x-0/0008 به دست آمد. نتایج دقت درون روز، دقت بین روز و صحت منحنی به ترتیب 1±99، 0/5±97 و 3/6±96/7 درصد محاسبه شدند. ژل آلوئه قبل از استفاده در ساخت فرمولاسیون‌ها جهت تعیین مقدار گلوکومانان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تعیین مقدار نشان داد میزان 1/4±36 میلی گرم گلوکومانان در صد میلی‌لیتر ژل آلوئه موجود بود که تقریبا 60 برابر بیش‌تر از گزارشات گذشته که 0/6 میلی گرم درصد بوده می‌باشد(15).




**نمودار شماره 1:** اثربخشی دهانشویه‌های F5، پرسیکا (Persica) و کلرهگزیدین (CHX) بر میکروارگانیسم کاندیدا آلبیکنس (n=3).

*تعیین مقدار کلوبتازول*

روش HPLC جهت تعیین مقدار کلوبتازول با استفاده از فاز متحرک حاوی مخلوط پتاسیم دی هیدروژن فسفات 0/05 مولار و استونیتریل (80:20) و با سرعت جریان فاز متحرک 1/5 میلی‌لیتر در دقیقه در طول موج 240nm انجام شد. رگرسیون خط 0/9993 و معادله خط y=23/696x-63/547 به‌دست آمد. نتایج دقت درون روز، دقت بین روز و صحت منحنی به ترتیب 3/6±94/4، 3/4±96/6 و 2/2±97/7 درصد محاسبه شدند. میزان درصد بازیابی کلوبتازول در روش آنالیز 1/5±97/8 درصد محاسبه شد که موید معتبر بودن روش آنالیز بود.

*تست‌های کنترل کیفیت دهانشویه*

نتایج تست‌های کنترل کیفیت در جدول شماره 2 ارائه شده است. pH همه فرمولاسیون ها حدود 4/4 تا 4/8 بود که در محدوده قابل قبول برای فرمولاسیون‌های دهانی (4/5-5/5) قرار داشت(16). با توجه به نتایج تعیین میزان شفافیت، بجز فرمولاسیون F3، سایر فرمولاسیون‌ها کاهش شفافیت کم‌تر از 5 درصد از خود نشان دادند. تعیین مقدار کلوبتازول بعد از 45 روز نشان داد که فرمولاسیون‌های F4 حدود 12/5 درصد، F6 حدود 9/7 درصد و F1 حدود 6/8 درصد کاهش در مقدار ماده موثره داشتند. در حالی که کاهش میزان ماده موثره در سایر فرمولاسیون‌ها کم‌تر از 5 درصد به دست آمد. بنابراین فرمولاسیون‌های F2، F3 و F5 شرایط بهتری را از لحاظ ثبات مقدار ماده موثره داشته‌اند.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11 ]

**جدول شماره 2:** نتایج تست pH ،شفافیت و تعیین مقدار کلوبتازول

| | روز اول ساخت | | | روز 45ام | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | pH (انحراف معیار ± میانگین) | عبور نور (انحراف معیار ± میانگین) | کلوبتازول (درصد) | pH (انحراف معیار ± میانگین) | عبور نور (انحراف معیار ± میانگین) | کلوبتازول (درصد) |
| F1 | 4/73± 0/05 | 78/6± 0/5 | 99/7 | 4/80± 0/06 | 78/4± 0/7 | 93 |
| F2 | 4/76± 0/08 | 89/5± 0/9 | 96/9 | 4/63± 0/03 | 87/7± 0/4 | 94/6 |
| F3 | 4/48± 0/05 | 84/1± 0/7 | 99/9 | 4/40± 0/08 | 79/8± 0/3 | 96/2 |
| F4 | 4/55± 0/06 | 99/8± 0/6 | 95/9 | 4/48± 0/09 | 95/6± 0/8 | 83/4 |
| F5 | 4/53± 0/03 | 99/5± 0/5 | 93/9 | 4/51± 0/05 | 96/2± 0/6 | 90/5 |
| F6 | 4/73± 0/07 | 84/2± 0/8 | 93/9 | 4/67± 0/04 | 81/3± 0/4 | 84/2 |

*تست های کنترل میکروبی*

تست کارایی ماده محافظ

فرمولاسیون‌های F1 تا F6 در مدت زمان‌های 7، 14، 21 و 28 روز نیز آلودگی میکروبی نداشتند و از لحاظ تست کارایی ماده محافظ مطلوب بودند.

تست محدودیت میکروبی

براساس نتایج ارائه شده در جدول شماره 3، تمامی فرمولاسیون‌ها در محدوده قابل قبول قرار داشتند. کم‌ترین رشد میکروبی مربوط به فرمولاسیون‌های F5و F6 بود. بنابراین با توجه به مجموع نتایج به‌دست آمده، فرمولاسیون F5 به عنوان فرمولاسیون منتخب جهت ارزیابی اثربخشی مورد بررسی قرار گرفت.

**جدول شماره 3:** نتایج حاصل از تست محدودیت میکروبی

| فرمولاسیون ها | MPN Index per ml |
|---|---|
| F1 | 38 |
| F2 | 3/6 |
| F3 | 3/6 |
| F4 | 7/4 |
| F5 | <3 |
| F6 | <3 |

*اثربخشی فرمولاسیون نهایی*

براساس نتایج تست‌های کنترل کیفیت، فرمولاسیون F5 به عنوان فرمولاسیون منتخب جهت بررسی اثربخشی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج مربوط به اثربخشی در نمودار شماره 1 ارائه شده است. دهانشویه کلوبتازول و آلوئه‌ورا طراحی شده حتی در رقت‌های 1:10 و 1:100 اثرات بسیار مناسبی بر کاندیدا آلبیکنس داشت و تفاوت معنی‌داری ($P<0/05$). با هر دو دهانشویه تجاری موجود در بازار نشان داد. این نکته می‌تواند نشان‌دهنده قدرت اثر برتر و قابل توجه این دهان‌شویه باشد زیرا افزایش شانس ایجاد بیماری کاندیدیازیس ثانویه در مصرف داروهای استروئیدی بسیار زیاد است.

فرمولاسیون دهانشویه کلوبتازول و آلوئه ورا بهینه شده F5، پس از 45 روز پایداری ظاهری، فیزیکی و شیمیایی مناسبی داشت و با توجه به اثربخشی مشاهده شده در رقت‌های مختلف، به نظر می‌رسد که این فراورده بتواند علاوه بر التیام زخم‌ها، از ایجاد عفونت‌های دهانی مربوط به کاندیدا آلبیکنس در بیماران نیز به خوبی جلوگیری کند.

## سپاسگزاری

مقاله حاضر از پایان نامه دکترای عمومی آقای وحید معظمی استخراج با کد اخلاق IR.SUMS.REC.1398.171 تحت حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شده است. بدین‌وسیله از همکاری تمام افرادی که در اجرای این مطالعه همکاری داشته اند سپاسگزاری می کنیم.

## References

1. Mortazavi H, Safi Y, Baharvand M, Rahmani S. Diagnostic Features of Common Oral Ulcerative Lesions: An Updated Decision Tree. International Journal of Dentistry 2016; 2016: 7278925
2. Thongprasom K, Dhanuthai K. Steriods in the treatment of lichen planus: a review. J Oral Sci 2008; 50(4): 377-385.
3. Choonhakarn CH, Busaracome P, Sripanidkulchai B, Sarakarn P. The efficacy of aloe vera gel in the treatment of oral lichen planus: a randomized controlled trial. Br J Dermatol 2008; 158(3): 573-577.
4. Surjushe A, Vasani R, Saple DG. Aloe vera: a short review. Indian J Dermatol 2008; 53(4): 163-166.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11 ]

5. Ali S, Wahbi W. The efficacy of aloe vera in management of oral lichen planus: a systematic review and meta-analysis. Oral Dis 2017; 23(7): 913-917.
6. Salazar-Sanchez N, Lo´ pez-Jornet P, Camacho-Alonso F, Sa´ nchez-Siles M. Efficacy of topical Aloe vera in patients with oral lichen planus: a randomized double-blind study. J Oral Pathol Med 2010; 39(10): 735-740.
7. Mansourian A, Momen-Heravi F, Saheb-Jamee M, Esfehani M, Khalilzadeh O, Momen-Beitollahi J. Comparison of aloe vera mouthwash with triamcinolone acetonide 0.1% on oral lichen planus: a randomized double-blinded clinical trial. Am J Med Sci 2011; 342(6): 447-451.
8. Eberendu AR, Luta G, Edwards JA, McAnalley BH, Davis B, Rodriguez S, et al. Quantitative colorimetric analysis of aloe polysaccharides as a measure of Aloe vera quality in commercial products. J AOAC Int 2005; 88(3): 684-691.
9. Ahmadi F, Rezaee S, Alipour S. Formulation and evaluation of an Aloe vera -Licorice combination topical gel: a potential choice for wound healing. Trends in Pharmaceutical Sciences 2017; 3(2): 105-111.
10. Holbrook WP, Kristmundsdottir T, Loftsson T. Aqueous hydrocortisone mouthwash solution: clinical evaluation. Acta Odontol Scand 1998; 56(3): 157-160.
11. Colla FL, Mion L, Parizotto L, Rodrigues LB, Pilotto F, Dickel EL, et al. Miniaturized Most Probable Number for the Enumeration of Salmonella sp in Artificially Contaminated Chicken Meat. Rev Bras Cienc Avic 2014; 16(1): 45-48.
12. Sutton S.The Most Probable Number Method and Its Uses in Enumeration, Qualification, and Validation. J Valid Technol 2010; 16(3): 35-38.
13. *USP 40-NF 35, The United States Pharmacopeia and National Formulary,* 2017, Deutscher Apotheker Verlag.
14. Yavari Z, Moradi H, Sadeghi H, Barzegar Golchini B. Evaluation of Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) Antioxidant Activity and Some of the Morphological Characteristics in Different Vermicompost Field. Journal of Chemical Health Risks 2013; 3(4):19-28.
15. Ahmad Sh, Sinha S, Ojha S, Chadha H, Aggarwal B, Ajeet A, et al. Formulation and Evaluation of Antibacterial Herbal Mouthwash Against Oral Disorders. Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences 2018; 8(2): 37-40.

[ Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11 ]