ผลของรูปแบบยาผ่านผิวหนังต่อการซึมผ่านผิวหนังหมู แบบนอกกายของกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์

นางสาวพัลลภา อนุสิฏฐกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชอุตสาหกรรม ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2550

EFFECTS OF TRANSDERMAL DOSAGE FORMS ON *IN VITRO* PIG SKIN PERMEATION OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE

Miss Punlapa Anusitthakul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Industrial Pharmacy
Department of Manufacturing Pharmacy
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University
Academic Year 2007

Thesis Title	EFFECTS OF TRANSDERMAL DOSAGE FORMS ON *IN VITRO* PIG SKIN PERMEATION OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE
By	Miss Punlapa Anusitthakul
Field of Study	Industrial Phamacy
Thesis Advisor	Phanphen Wattanaarsakit, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Jittima Chatchawalsaisin, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master 's Degree

Pornpen Pramyothin ..... Dean of the Faculty of Pharmaceutical Sciences

(Associate Professor Pornpen Pramyothin, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

Garnpimol C. Ritthidej ..... Chairman

(Professor Garnpimol C. Ritthidej, Ph.D.)

Phanphen Wattanaarsakit ..... Thesis Advisor

(Phanphen Wattanaarsakit, Ph.D.)

J. Chatchawalsaisin ..... Thesis Co-advisor

(Jittima Chatchawalsaisin, Ph.D.)

..... Member

(Narueporn Sutanthavibul, Ph.D.)

..... Member

(Assistant Professor Warangkana Warisnoicharoen, Ph.D.)

พัลลภา อนุสิฏฐกุล : ผลของรูปแบบยาผ่านผิวหนังต่อการซึมผ่านผิวหนังหมูแบบนอกกายของกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์. (EFFECTS OF TRANSDERMAL DOSAGE FORMS ON *IN VITRO* PIG SKIN PERMEATION OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE) อ. ที่ปรึกษา : ดร.พรรณเพ็ญ วัฒนาอาษากิจ, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ดร.จิตติมา ชัชวาลย์สายสินธ์, 133 หน้า.

กลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ ซึ่งเป็นสารในกลุ่มอะมิโนโมโนแซคคาไรด์ที่สามารถพบในร่างกายมนุษย์ จัดเป็นยาบรรเทาอาการในโรคข้อเสื่อม การศึกษาผลของรูปแบบยาผ่านผิวหนังและส่วนประกอบของตำรับที่มีต่อการซึมผ่านผิวหนังหมูแบบนอกกายของตัวยา ทำโดยใช้ชุดฟรานซ์ดิฟฟิวชันเซลล์ ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง การวิเคราะห์หาปริมาณตัวยากลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ใช้วิธีวิเคราะห์ด้วยโครมาโตกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง โดยทำปฏิกิริยาระหว่างกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์กับสารฟีนิลไอโซไธโอไซยาเนตก่อนทำการวิเคราะห์ ทำการคำนวณหาค่าร้อยละของปริมาณสะสมของยาที่ซึมผ่านผิวหนังที่เวลา 24 ชั่วโมงและค่าคงที่ของการซึมผ่านผิวหนัง ในช่วงเวลา 6 ชั่วโมง ของสูตรตำรับที่ใช้ได้แก่สารละลายน้ำ สารละลายไฮโดรแอลกอฮอลิก เจลและไมโครอิมัลชันที่ความเข้มข้นของตัวยาร้อยละ 2 พบว่าสูตรตำรับที่มีประสิทธิภาพในการช่วยการซึมผ่านของยาเข้าสู่ผิวหนังมากที่สุดเรียงตามลำดับได้แก่ ไมโครอิมัลชันที่เตรียมจากทวีน 80 (ปริมาณสะสมของยาที่ซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 47.78% ค่าคงที่ของการซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 9.6×10^{-5} เซ็นติเมตรต่อวินาที) สารละลายไฮโดรแอลกอฮอลิกที่ความเข้มข้นของเอทานอลเท่ากับร้อยละ 10 (ปริมาณสะสมของยาที่ซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 38.05% ค่าคงที่ของการซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 7.0×10^{-5} เซ็นติเมตรต่อวินาที) สารละลายน้ำ (ปริมาณสะสมของยาที่ซึมผ่านผิวหนัง 34.04% ค่าคงที่ของการซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 6.4×10^{-5} เซ็นติเมตรต่อวินาที) เจลที่เตรียมจากเฮชพีเอ็มซี (ปริมาณสะสมของยาที่ซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 27.63% ค่าคงที่ของการซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 6.0×10^{-5} เซ็นติเมตรต่อวินาที) ไมโครอิมัลชันที่เตรียมจากเซทิลไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (ปริมาณสะสมของยาที่ซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 20.11% ค่าคงที่ของการซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 3.8×10^{-5} เซ็นติเมตรต่อวินาที) ไมโครอิมัลชันที่เตรียมจากโซเดียมบิสทูเอทิลเฮกซิลซัลโฟซัคซิเนต(ปริมาณสะสมของยาที่ซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 19.87% ค่าคงที่ของการซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 0.99×10^{-5} เซ็นติเมตรต่อวินาที) ไมโครอิมัลชันที่เตรียมจากเลซิทิน (ปริมาณสะสมของยาที่ซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 0.83% ค่าคงที่ของการซึมผ่านผิวหนังเท่ากับ 0.21×10^{-5} เซ็นติเมตรต่อวินาที) พบว่าปริมาณการซึมผ่านของยาเข้าสู่ผิวหนังหมูมีแนวโน้มที่จะคงที่ภายหลังเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง ในสารสารละลายไฮโดรแอลกอฮอลิคที่มีเอทานอลปริมาณน้อยสามารถช่วยเพิ่มการซึมผ่านของยาสู่ผิวหนังได้ แต่ผลการซึมผ่านเข้าสู่ผิวหนังของยาจะมีค่าลดลงเมื่อมีเอทานอลปริมาณมากเนื่องจากผลการทำลายโปรตีนที่อยู่ในผิวหนังหมู การซึมผ่านของตัวยาจากระบบไมโครอิมัลชันที่เตรียมจากทวีน 80 ชนิดน้ำมันในน้ำให้ประสิทธิภาพการซึมผ่านของยาเข้าสู่ผิวหนังหมูได้ดีที่สุด จากผลการทดลองพบว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำส่งยากลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ผ่านทางผิวหนัง อย่างไรก็ตามผลของรูปแบบยาต่อการซึมผ่านทางผิวหนังมนุษย์ควรต้องมีการศึกษาอย่างละเอียดต่อไป

ภาควิชา	เภสัชกรรมอุตสาหกรรม	ลายมือชื่อนิสิต.....พัลลภา อนุสิฏฐกุล.....
สาขาวิชา	เภสัชกรรมอุตสาหกรรม	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา	2550	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....จิตติมา ชัชวาลย์สายสินธ์

4776587433 : MAJOR INDUSTRIAL PHARMACY
KEY WORD : GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE / MICROEMULSION / PERMEATION / PIG SKIN / SURFACTANT / ETHANOL / SOLUTION / HYDROALCOHOLIC SOLUTION / GEL

PUNLAPA ANUSITTHAKUL : EFFECTS OF TRANSDERMAL DOSAGE FORMS ON *IN VITRO* PIG SKIN PERMEATION OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE. THESIS ADVISOR : PHANPHEN WATTANAARSAKIT Ph.D., THESIS COADVISOR : JITTIMA CHATCHAWALSAISIN Ph.D., 133 pp.

Glucosamine hydrochloride (GS HCl), the aminomonosaccharide present in the human body, is classified as symptom modifying drug in osteoarthritis disease. The effects of transdermal dosage forms and their components on permeation of the GS HCl through pig ear skin *in vitro* were elucidated using Franz-diffusion cells at 32°C for 24 hours. The GS HCl was determined quantitatively using validated HPLC method by pre-column with phenylisothiocyanate (PITC) derivatization. The percent cumulative amount of permeated drug after 24 hours and the permeability constant (k_p) up to 6 hours of various dosage forms, solution, hydroalcoholic solution, gel and microemulsion containing 2% GS HCl was calculated. The potential of enhancing permeability of the dosage forms studied can be ranked as the following, Tween 80 microemulsion (cumulative amount of permeated drug 47.78%, $k_p=9.6\times10^{-5}$ cm/s), hydroalcoholic solution contain 10% ethanol (cumulative amount of permeated drug 38.05%, $k_p=7.0\times10^{-5}$ cm/s), water solution (cumulative amount of permeated drug 34.04%, $k_p=6.4\times10^{-5}$ cm/s), HPMC gel (cumulative amount of permeated drug 27.63%, $k_p=6.0\times10^{-5}$ cm/s), cethyltrimethylammonium bromide microemulsion (cumulative amount of permeated drug 20.11%, $k_p=3.8\times10^{-5}$ cm/s), sodium bis (2-ethylhexyl) sulfosuccinate microemulsion (cumulative amount of permeated drug 19.87%, $k_p=0.99\times10^{-5}$ cm/s) and lecithin microemulsion (cumulative amount of permeated drug 0.83%, $k_p=0.21\times10^{-5}$ cm/s). The permeation tended to reach a plateau after 6 h. The presence of small quantity of ethanol in hydroalcoholic solution could enhance the drug permeability but with high content of ethanol failed to enhance the drug permeation as a result of protein denaturation in pig skin. Tween 80 microemulsion whereby its type has to be oil in water could effectively enhance the permeability of GS HCl. The results indicate that there is a possibility to develop a GS HCl. transdermal dosage forms. However, the effect of the dosage forms on the drug permeation through human skin needs to be further refined.

Department : Manufacturing Pharmacy Student's signature P. Anusitthakul
Field of study : Industrial Pharmacy Advisor's signature Phanphen Wattanaarsakit
Academic year : 2007 Co-advisor's signature J. Chatchawalsaisin

ACKNOWLEDGEMENTS

First of all, I would like to express my gratitude to my advisor, Dr. Phanphen Wattanaarsakit and co-advisor, Dr. Jittima Chatchawalsaisin, for their helpful comments and attention to my work, and for giving kind advice and correction of this thesis.

I would like to express my appreciation to Professor Dr. Garnpimol C.Ritthidej, chairman of my thesis examination committee, as well as committee members, Dr. Narueporn Sutanthavibul and Assistant Professor Dr. Warangkana Warisnoicharoen for their kind advice and make this thesis complete.

I would like to express my thank to Assistant Professor Dr.Pornchai Rojsitthisak and Mr. Wisut Wichitnithet, for their help and advice in drug analysis.

I would like to express my thank to Dr.Supang Maneesri, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University for her helpful in preparation pig skin samples for light microscopy determination.

Sincere thanks are also given to all staff members of Manufacturing Pharmacy Department, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for helping and to other people whose names have not been mentioned here for their assistance and encouragement.

Finally, greatest thank to my family and Mr. Natthakan Chuangching for their love, understanding, encouragement, and continued support throughout these past years. Special thank to my lovely friends for their helpful and cheerfulness.

CONTENTS

Page

Page

LIST OF TABLES

Table **Page**

Table **Page**

Table **Page**

LIST OF FIGURES

Figure **Page**

Figure **Page**

Figure **Page**

Figure **Page**

Figure **Page**

LIST OF ABBREVIATIONS

AOT	=	soduim bis (2-ethylhexyl) sulfosuccinate
^{o} c	=	degree Celsius
cm	=	centimeter
CTAB	=	cetyltrimethylammonium bromide
et al	=	et alii , ' and others'
g	=	gram
GS HCl	=	glucosamine hydrochloride
h	=	hour
HPMC	=	hydroxypropyl methylcellulose
IPM	=	isopropyl myristate
kg	=	kilogram
k_p	=	permeability constant
µg	=	microgram
µl	=	microliter
LM	=	light microscopy
ME	=	microemulsion
mg	=	milligram
min	=	minute
ml	=	milliliter
nm	=	nanometer
PBS	=	phosphate buffer saline
PC	=	phosphatidylcholine
PITC	=	phenyl isothiocyanate
pH	=	the negative logarithm of the hydrogen concentration
SE	=	standard error
s	=	second
v / v	=	volume by volume
w / w	=	weight by weight