

การสังเคราะห์และศึกษาการส่งผ่านผิวหนังนอกร่าง
ของเกลืออินทรีย์ไลโดเคน



แก้ไข

นางสาวสุปรียา ละออง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเภสัชเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2534

ISBN 974-578-921-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

017896 1172259๓๕

**SYNTHESIS AND IN VITRO SKIN PERMEATION STUDY
OF LIDOCAINE ORGANIC SALTS**

MISS SUPREEYA LA-ONG

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy**

Department of Pharmaceutical Chemistry

Graduate School

Chulalongkorn University

1991

ISBN 974-578-921-6

Copyright of the Graduate School, Chulalongkorn University



Thesis title Synthesis and in vitro Skin Permeation Study
 of Lidocaine Organaic Salts
By Miss Supreeya La-ong
Department Pharmaceutical Chemistry
Thesis Advisor Associate Professor Opa Vajragupta, Ph.D.
 Associate Professor Sunibhond Pummangura, Ph.D.
Academic Year 1990

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn
University in Partial Fulfillment of the Master's Degree.

..... *Thavorn Vajrabhaya* Dean of Graduate School
(Prof. Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee :

..... *Suttatip Chantaraskul* Chairman
(Associate Prof. Suttatip Chantaraskul, M.Sc in Pharm.)

..... *Opa Vajragupta* Member
(Associate Prof. Opa Vajragupta, Ph.D.)

..... *Sunibhond Pummangura* Member
(Associate Prof. Sunibhond Pummangura, Ph.D.)

..... *Panida Vayumhasuwan* Member
(Instructor Panida Vayumhasuwan, Ph.D.)

สุปรียา ละออง : การสังเคราะห์และศึกษาการส่งผ่านผิวหนังนอกร่างกายของเกลืออินทรีย์ไลโดเคน (SYNTHESIS AND IN VITRO SKIN PERMEATION STUDY OF LIDOCAINE ORGANIC SALTS) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. โอบา วัชรคุปต์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. สุนิพนธ์ ภูมิมางกูร, 130 หน้า. ISBN 974-578-921-6

การวิจัยนี้เป็นการออกแบบ และสังเคราะห์เกลืออินทรีย์ควอเทอร์นารีแอมโมเนียมของไลโดเคนในรูปแบบโพรดรัก (prodrug) ซึ่งคาดว่าจะเพิ่มการส่งผ่านทางผิวหนังได้โดยกลไกการขนส่งแบบไอออนคู่ (ion-pair) สารที่สังเคราะห์ได้จำนวน 4 สารคือ ไลโดเคนอะติเปต, ไลโดเคนมาลีเอต, ไลโดเคนมาโลเนต และ ไลโดเคนโทซีเลต นำมาหาค่าสัมประสิทธิ์การกระจายตัว (apparent partition coefficient) และทดสอบการส่งผ่านผิวหนังโดยใช้หนังจากลูกหมู การวิเคราะห์หาปริมาณสารที่ส่งผ่านผิวหนังใช้เทคนิคอนุพันธ์ลำดับที่ 1 ของสเปกโตรโฟโตเมทรีของการดูดกลืนแสง การประเมินผลการส่งผ่านคำนวณในรูปของปริมาณสะสม และอัตราเร็วในการส่งผ่านผิวหนัง ผลที่ได้เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับไลโดเคนและไลโดเคนไฮโดรคลอไรด์ พบว่าการส่งผ่านผิวหนังของเกลือไลโดเคนอะติเปตและเกลือไลโดเคนมาโลเนตที่ 12 ชั่วโมงมีค่าสูงกว่าไลโดเคนไฮโดรคลอไรด์ และมีค่าใกล้เคียงไม่แตกต่างจากไลโดเคนอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากรูปแบบของการส่งผ่านผิวหนังของเกลืออินทรีย์ไลโดเคนที่แตกต่างจากไลโดเคน พร้อมทั้งการส่งผ่านผิวหนังที่สูงกว่าไลโดเคนไฮโดรคลอไรด์ อาจแสดงถึงการขนส่งแบบไอออนคู่ของโพรดรักที่เกิดเพิ่มขึ้นจากการขนส่งแบบธรรมดา



ภาควิชา เกสัชเคมี
สาขาวิชา เกสัชเคมี
ปีการศึกษา 2533

ลายมือชื่อนิสิต คุณวิภา ค:๐๐๑
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา โอบา วัชรคุปต์

SUPREEYA LA-ONG : SYNTHESIS AND IN VITRO SKIN PERMEATION STUDY OF LIDOCAINE ORGANIC SALTS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. OPA VAJRAGUPTA, Ph.D., CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. SUNIBHOND PUMMANGURA, Ph.D. 130 PP. ISBN 974-578-921-6

Organic quarternary ammonium salts of lidocaine were designed and synthesized in this research study. The synthesized compounds were regarded as prodrugs of lidocaine and were expected to enhance skin permeability by ion-pair mechanism. Four organic salts were lidocaine adipate, lidocaine maleate, lidocaine malonate and lidocaine tosylate. In vitro permeation study through pig skin and determination of partition coefficients were carried out. First derivative UV spectrophotometry was employed to quantitate the permeated amount. The skin permeabilities were calculated as cumulative amount (Q) and flux (J). The skin permeation of lidocaine adipate and lidocaine malonate after 12 hours of application were significantly higher than lidocaine hydrochloride but was not significantly different from lidocaine ($\alpha < 0.05$). The increase in permeation of organic salts from lidocaine hydrochloride and the different profile of permeation from lidocaine may be the result of prodrug structure contributing ion-pair transportation besides normal route of transportation.

ภาควิชา เภสัชเคมี

สาขาวิชา เภสัชเคมี

ปีการศึกษา 2533

ลายมือชื่อนิสิต Supreeya La-ong.

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Opa Vajragupta

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาช่วย S.P.



ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to express her grateful appreciation to those who assisted her in her research and in the writing of this thesis :

To Associate Professor Dr. Opa Vajragupta, her major advisor, for her continued interest, invaluable suggestions, encouragement and guidance throughout the research studies, without whom none of this work would have been possible.

To Associate Professor Dr. Sunibhond Pummangura, her co-advisor, for his invaluable advice and willing cooperation.

To all staff of the Pharmaceutical Chemistry Department, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, for their advice and helpful cooperation.

To the staff of the Scientific and Technological Research Equipment Center for their cooperation in analyzing pure compounds.

To the Graduate School of Chulalongkorn University for the provision of partial financial support.

To the staff of Pharmaceutical Chemistry Department, Faculty of Pharmacy, Mahidol University for their suggestion and assistance in the operation of Hitachi spectrophotometer and mechanical shaker.

To the staff of B.J. (Benja-osoth) Ltd. for their helpful cooperation.

To her friends for their friendship, understanding and encouragement.

And lastly to her parents for their love, inspiration, encouragement and cheerfulness throughout her graduate study.



CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT	iv
ENGLISH ABSTRACT	v
ACKNOWLEDGEMENT	vi
LIST OF TABLES	x
LIST OF FIGURES	xii
ABBREVIATIONS	xvii
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
II HISTORY	5
III EXPERIMENTS AND RESULTS	
SYNTHESIS	
A. Materials	14
B. Methods and results	15
1. Lidocaine	16
2. Lidocaine adipate	17
3. Lidocaine maleate	18
4. Lidocaine malonate	19
5. Lidocaine tosylate	20
IN VITRO SKIN PERMEATION STUDY	
A. Materials	46
B. Methods and results	
1. Solutions	47
2. Permeation cell	49
3. Skin preparation	49

	Page
4. Analytical method	52
5. Measurement of permeabilities	53
DETERMINATION OF APPARENT PARTITION COEFFICIENTS	
A. Materials	85
B. Methods and results	
1. Solutions	86
2. Analytical method	88
3. Procedure	89
V DISCUSSION	99
IV SUMMARY	110
REFERENCE	112
APPENDIX	122
VITA	130

LIST OF TABLES

TABLE		Page
1.	Structure activity relationship of lidocaine analogs.	11
2.	Recrystallization solvent, melting point and percent yield of test compounds.	22
3.	Approximate solubility of test compounds.	23
4.	Elemental analyses of test compounds. ...	24
5.	Characteristic IR data of test compounds as potassium bromide pellets.	25
6.	Characteristic ^1H NMR data of test compounds.	26
7.	First derivative of absorbance (D_1) of standard solution of test compounds at 272.9 cm^{-1}	57
8.	Regression parameters of first derivative mode.	58
9.	D_1 value of matrix interferences.	59
10.	Percent recovery of test compounds.	60
11.	D_1 value of receptor phase after application of test compounds.	61

TABLE	Page
12. Corrected D_1 value and C_T at various time intervals after application.	62
13. <i>In vitro</i> permeability of test compounds.	63
14. Comparison of permeability results at 12 hours after application.	64
15. Comparison of permeability results at 24 hours after application.	65
16. Comparison of permeability results at 36 hours after application.	66
17. Comparison of permeability results at 48 hours after application.	67
18. Absorbance of standard solution of test compounds.	92
19. Regression parameters of absorbance mode.	93
20. Apparent partition coefficient of test compounds.	94
21. Comparison of properties of test compounds.	109
A. Duncan's table	129

LIST OF FIGURES

FIGURE	Page
1. Infrared Absorption Spectrum of Lidocaine as a Potassium Bromide Pellet.	27
2. Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of Lidocaine in Chloroform-d.	28
3. Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of Lidocaine in Chloroform-d and Deuterium Oxide.	29
4. Infrared Absorption Spectrum of Lidocaine Adipate as a Potassium Bromide Pellet. ..	30
5. Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of Lidocaine Adipate in Dimethyl Sulfoxide-d ₆ and Chloroform-d.	31
6. Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of Lidocaine Adipate in Dimethyl Sulfoxide-d ₆ , Chloroform-d and Deuterium Oxide. ...	32
7. Mass Spectrum of Lidocaine Adipate.	33
8. Infrared Absorption Spectrum of Lidocaine Maleate as a Potassium Bromide Pellet. ..	34

FIGURE	Page
9. Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of Lidocaine Maleate in Chloroform-d. ...	35
10. Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of Lidocaine Maleate in Chloroform-d and Deuterium Oxide.	36
11. Mass Spectrum of Lidocaine Maleate.	37
12. Infrared Absorption Spectrum of Lidocaine Malonate as a Potassium Bromide Pellet. .	38
13. Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of Lidocaine Malonate in Chloroform-d. ..	39
14. Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of Lidocaine Malonate in Chloroform-d and Deuterium Oxide.	40
15. Mass Spectrum of Lidocaine Malonate.	41
16. Infrared Absorption Spectrum of Lidocaine Tosylate as a Potassium Bromide Pellet. .	42
17. Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of Lidocaine Tosylate in Chloroform-d. ..	43
18. Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectrum of Lidocaine Tosylate in Chloroform-d and Deuterium Oxide.	44

FIGURE	Page
19. Mass Spectrum of Lidocaine Tosylate.	45
20. Permeation Cell.	50
21. Franz and Hadgraft Diffusion cell.	51
22. Ultraviolet Absorption Spectra of Lidocaine in Isotonic Phosphate Buffer pH 7.4 in First Derivative Mode.	68
23. Ultraviolet Absorption Spectra of Lidocaine Hydrochloride in Isotonic Phosphate Buffer pH 7.4 in First Derivative Mode.	69
24. Ultraviolet Absorption Spectra of Lidocaine Adipate in Isotonic Phosphate Buffer pH 7.4 in First Derivative Mode.	70
25. Ultraviolet Absorption Spectra of Lidocaine Maleate in Isotonic Phosphate Buffer pH 7.4 in First Derivative Mode.	71
26. Ultraviolet Absorption Spectra of Lidocaine Malonate in Isotonic Phosphate Buffer pH 7.4 in First Derivative Mode.	72
27. Ultraviolet Absorption Spectra of Lidocaine Tosylate in Isotonic Phosphate Buffer pH 7.4 in First Derivative Mode.	73

FIGURE	Page
28. Calibration Curve of Test Compounds in First Derivative Mode.	74
29. Ultraviolet Absorption Spectrum of Receptor Phase from Control Experiment after 12 hours.	75
30. Ultraviolet Absorption Spectrum of Receptor Phase from Control Experiment after 12 hours in First Derivative Mode.	76
31. Cumulative Amount (Q) of Test Compounds Permeated versus Time.	77
32. Cumulative Amount (Q) of Test Compounds Permeated versus Time.	78
33. Cumulative Amount (Q) of Test Compounds Permeated versus Time.	79
34. Cumulative Amount (Q) of Test Compounds Permeated versus Time.	80
35. Flux (J) of Test Compounds versus Time.	81
36. Flux (J) of Test Compounds versus Time.	82
37. Flux (J) of Test Compounds versus Time.	83
38. Flux (J) of Test Compounds versus Time.	84

FIGURE	Page
39. Ultraviolet Absorption Spectra of Lidocaine and Lidocaine Adipate in Octanol-Saturated Isotonic Phosphate Buffer pH 7.4.	95
40. Ultraviolet Absorption Spectra of Lidocaine Maleate and Lidocaine Malonate in Octanol-Saturated Isotonic Phosphate Buffer pH 7.4.	96
41. Ultraviolet Absorption Spectra of Lidocaine Tosylate and Lidocaine Hydrochloride in Octanol-Saturated Isotonic Phosphate Buffer pH 7.4.	97
42. Calibration Curve of Test Compounds.	98

ABBREVIATIONS

cm	centimetre
conc	concentration
C.V.	Coefficient of Variation
g	gram
hr	hour
µg	microgram
µM	micromole
mg	milligram
mL	millilitre
nm	nanometre
rpm	revolutions per minute
S.D.	Standard Deviation
SEM	Standard Error of the Mean