

**การเปรียบเทียบวิธีการประเมินประสิทธิภาพของไพโรอกซิแคมเจล**

**นางสาวเมทินี หลิมศิริวงษ์**



**วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต**

**ภาควิชาเภสัชกรรม**

**บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

**ปีการศึกษา 2539**

**ISBN 974-635-506-6**

**ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

**COMPARISON OF METHODS FOR EFFICIENCY EVALUATION OF  
PIROXICAM GELS**



**Miss Maytinee Limsiriwong**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements**

**for the Degree of Master of Science in Pharmacy**

**Department of Pharmacy**

**Graduate School**

**Chulalongkorn University**

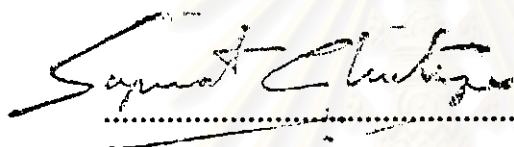
**Academic Year 1996**

**ISBN 974-635-506-6**

Thesis Title            Comparison of Methods for Efficiency Evaluation of  
                                 Piroxicam Gels  
By                            Miss Maytinee Limsiriwong  
Department            Pharmacy  
Thesis Advisor        Mr. Parkpoom Tengamnuay, Ph.D.  
Thesis Co-advisor    Mr. Withaya Janthasoot, M.Sc.

---

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in  
partial fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

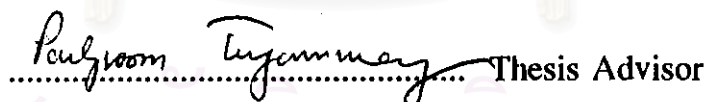


..... Dean of Graduate School  
(Professor Supawat Chutivongse, M.D.)

Thesis Committee



..... Chairman  
(Associate Professor Sumalee Sangtherapitikul, M.Sc.)



..... Thesis Advisor  
(Assistant Professor Parkpoom Tengamnuay, Ph.D.)



..... Thesis Co-advisor  
(Assistant Professor Withaya Janthasoot, M.Sc.)



..... Member  
(Associate Professor Poj Kulvanich, Ph.D.)

พิมพ์ต้นฉบับบทความวิจัยวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

เมทินี ทิมศิริวงษ์ : การเปรียบเทียบวิธีการประเมินประสิทธิภาพของไพโรกซิแคมเจล  
(COMPARISON OF METHODS FOR EFFICIENCY EVALUATION OF PIROXICAM GELS)

อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. ภาคภูมิ เต็งอำนวย, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.วิทยา จันทสูตร, 356 หน้า.  
ISBN 974-635-506-6

การเปรียบเทียบวิธีการประเมินผลิตภัณฑ์ยาเจลไพโรกซิแคม 4 ผลิตภัณฑ์ ประกอบด้วยผลิตภัณฑ์ที่ผลิตเลียนแบบ 3 ผลิตภัณฑ์ (ผลิตภัณฑ์ B, C และ D) และผลิตภัณฑ์ A ที่เป็นต้นแบบ 1 ผลิตภัณฑ์ โดยการศึกษาแบ่งเป็นการศึกษาในหลอดทดลอง (*in vitro*) สองวิธี คือการศึกษาการปลดปล่อยยาผ่านเมมเบรนเซลลูโลสอะซิเตท และการศึกษาการซึมผ่านของยาในหนังหมูแรกเกิด เปรียบเทียบกับการศึกษาการซึมผ่านของยาในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) สามวิธี คือ 1) วิธีที่อาศัยหลักการดูประสิทธิภาพของยาเจล ในการลดบวมในใบหูหนู (*Mice*) ซึ่งถูกกระตุ้นด้วยสารออกซาโซโลน 2) วิธีที่อาศัยหลักการดูฤทธิ์ของยาในการยับยั้งความสามารถในการยอมให้สารซึมผ่านได้ (*Vascular permeability*) ของเส้นเลือดหนูขาว (*Rats*) และ 3) วิธีประเมินการดูดซึมยาทางผิวหนังมนุษย์โดยการดึงลอกผิวหนังกำพวด พบว่าอัตราการปลดปล่อย อัตราการซึมผ่าน และปริมาณยาไพโรกซิแคมที่ผ่านเมมเบรนเซลลูโลสอะซิเตทและหนังหมูแรกเกิด ไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับค่าพารามิเตอร์จากการศึกษาการซึมผ่านผิวหนังในสิ่งมีชีวิต เนื่องจากความแตกต่างของลักษณะการทดลองและจลนศาสตร์ของการซึมผ่านผิวหนัง แต่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างความสามารถของยาเจลไพโรกซิแคมในการลดขนาดของจุดสีฟ้าที่ถูกกระตุ้นด้วยสารฮีสตามีน กับเปอร์เซ็นต์การดูดซึมยาผ่านผิวหนังมนุษย์ที่เวลา 1 ชั่วโมง ( $r = 0.9940, p < 0.05$ ) และกับเปอร์เซ็นต์การดูดซึมยาผ่านผิวหนังมนุษย์ที่เวลา 3 ชั่วโมง ( $r = 0.9502, p < 0.05$ ) สรุปได้ว่าวิธีการศึกษาในสิ่งมีชีวิตด้วยวิธีการลอกผิวหนังกำพวด มีสหสัมพันธ์กับวิธีทางเภสัชวิทยาอย่างมีนัยสำคัญ และเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ในการประเมินประสิทธิภาพในการดูดซึมยาเข้าสู่ผิวหนังของผลิตภัณฑ์ยาเจลไพโรกซิแคม

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา .....เภสัชกรรม.....  
สาขาวิชา .....เภสัชกรรม.....  
ปีการศึกษา .....2539.....

ลายมือชื่อนิติศ Paytinee Limsirirong  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Poukajorn Tungs  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Wirathaya Jantarat

##C775078 : MAJOR PHARMACY

KEY WORD: RELEASE/ PERMEATION/ NEW BORN PIG SKIN/ SKIN STRIPPING/ CELLULOSE ACETATE MEMBRANE/ PIROXICAM GEL/ TOPICAL BIOAVAILABILITY  
MAYTINEE LIMSIRIWONG : COMPARISON OF METHODS FOR EFFICIENCY EVALUATION OF PIROXICAM GELS. THESIS ADVISOR : PARKPOOM TENGAMNUAY, Ph.D. THESIS COADVISOR : WITHAYA JANTHASOOT, M.Sc., 356 pp. ISBN 974-635-506-6

Four topical piroxicam gel products, including three locally made preparations (products B, C and D) and one innovator product (A), were evaluated in this study for their *in vitro* release through cellulose acetate membrane and for their *in vitro* permeation through new born pig skin. The *in vitro* data were then compared to the results from the *in vivo* pharmacological studies in animal models and the percutaneous absorption studies in humans using a novel skin stripping technique. All the *in vitro* release/permeation parameters (release rate, steady state flux and the cumulative amount released/permeated) of piroxicam did not significantly correlate with any of the *in vivo* parameters due to differences in the experimental conditions and permeation kinetics. However, it was found that there were significant correlations between the ability of the gel products to reduce the size of blue spots, as induced by histamine, with the percent piroxicam absorption through the stratum corneum at 1 hr ( $r = 0.9940$ ,  $p < 0.05$ ) and at 3 hr ( $r = 0.9502$ ,  $p < 0.05$ ). In conclusion, the *in vivo* skin stripping method appeared to be a rapid and simple technique to evaluate the topical bioavailability of piroxicam gel products as well as their percutaneous absorption characteristics.

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....เภสัชกรรม

สาขาวิชา.....เภสัชกรรม

ปีการศึกษา.....2539

ลายมือชื่อนิสิต Maylinee Limsiriwong

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Parkpoom Tengamnuay

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม Withaya Janthasoot



## ACKNOWLEDGEMENTS

This thesis would have never been succeeded without the assistance of several people. For their suggestion, helps and supports, I will always be grateful.

Dr. Parkpoom Tengamnuay, my advisor, has given his time and attention to assist me throughout this study. His advice, continuing guidance, encouragement and understanding are also appreciated. Such appreciation is also extended to Mr. Withaya Janthasoot, my co-advisor, for his helpful guidance with the pharmacological testing models. Without their helps, this thesis would never have become a reality.

I am also deeply indebted to Dr. Jongdee Vongpinairat, Director of the Drug Analysis Division, and Miss Arunee Poomipanit, Head of the Chemical-Physical Assay Section, who provided a chance to continue my study in this Master program.

This investigation was supported in part by grants from the Graduate School, Chulalongkorn University, to which I am extremely grateful.

Also, I would like to thank all the faculty members in the Department of Pharmacy and all my friends for their assistance and encouragement. Their friendship was a continued source of strength and moral support to me.

I would like to express my infinite thanks and deepest gratitude to my family, especially, my parents for giving me the educational opportunity, love, care, and encouragement.

Finally, I would like to express my thanks to all of those whose name have not been mentioned and those who in one way or another have helped to make this thesis a reality.

## CONTENTS

ABSTRACT (Thai).....	IV
ABSTRACT (English).....	V
ACKNOWLEDGEMENTS.....	VI
CONTENTS.....	VII
LIST OF TABLES.....	VIII
LIST OF FIGURES.....	XI
LIST OF ABBREVIATIONS.....	XIII
<b>CHAPTER</b>	
I. INTRODUCTION.....	1
II. LITERATURE REVIEW.....	11
Methods to Evaluate Percutaneous Absorption.....	19
<i>In Vitro</i> studies.....	19
<i>In Vivo</i> studies.....	36
III. EXPERIMENTAL.....	54
Materials.....	54
Equipments.....	56
Methods.....	57
IV. RESULTS AND DISCUSSION.....	81
V. CONCLUSION.....	170
REFERENCES.....	180
APPENDICES.....	190
VITA.....	356



## LIST OF TABLES

<b>Table</b>	<b>Page</b>
1. Percent labeled amount of piroxicam gel products.....	82
2. Diffusion data of six brands of piroxicam released through cellulose acetate membrane.....	86
3. Comparison of cumulative amount and release rate of piroxicam from the six gel products through cellulose acetate membrane.....	90
4. Result from Duncan's test of <i>in vitro</i> release study of six piroxicam gel products through cellulose acetate membrane.....	90
5. Permeation data of four brands of piroxicam gel products through new born pig skin.....	96
6. Comparison of cumulative amount and steady state flux of piroxicam from four gel products through new born pig skin.....	97
7. Result from Duncan's test of <i>in vitro</i> permeation of four piroxicam gel products through new born pig skin.....	97
8. Comparison of oxazolone-induced ear weight difference of four piroxicam gel products and control group.....	111
9. Comparison of percent suppressing ear edema of four piroxicam gel products.....	111
10. Comparison of the blue spot size of four piroxicam gel products and control group, induced by histamine.....	117
11. Comparison of percent inhibition of vascular permeability of four piroxicam gel products.....	117



<b>Table</b>	<b>Page</b>
12. Amount of piroxicam remaining in the stratum corneum at various times : product A.....	128
13. Amount of piroxicam remaining in the stratum corneum at various times : product B.....	129
14. Amount of piroxicam remaining in the stratum corneum at various times : product C.....	130
15. Amount of piroxicam remaining in the stratum corneum at various times : product D.....	131
16. Amount of piroxicam in the stratum corneum of four gel products at various times.....	132
17. Comparison of amount of piroxicam in the stratum corneum of four gel products at various times.....	132
18. Percent absorbed of four piroxicam gel products at various times.....	134
19. Comparison of percent absorbed of four piroxicam gel products at various times.....	134
20. Rate constants of four piroxicam gel products over 6 hours.....	136
21. Comparison of rate constants of four piroxicam gel products over 6 hours .....	136
22. Correlation test of <i>in vitro</i> release/permeation and <i>in vivo</i> skin stripping/pharmacological studies.....	139
23. Rate constants of four diclofenac gel products over 6 hr and Duncan's test results.....	144

<b>Table</b>	<b>Page</b>
24. Average percent of diclofenac percutaneously absorbed from four diclofenac gel products and their ANOVA test results.....	146
25. Comparison of percent released and average percent percutaneously absorbed of piroxicam in four gel products.....	149
26. Comparison of percent released and average percent percutaneously absorbed of diclofenac in four gel products.....	149
27. Correlation test of <i>in vivo</i> skin stripping and <i>in vivo</i> pharmacological studies.....	152
28. <i>In vivo</i> topical bioavailability based on the percent absorbed through the stratum corneum at 1 and 3 hr of four gelproducts....	164
29 <i>In vivo</i> topical bioavailability based on the ability to reduce the size of blue spot of the four gel products.....	165

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. Schematic representation of the physiochemical processes involved in drug release and absorption.....	12
2. Equipment for evaluating drug release from semi-solid formulation... 17	17
3. Glass diffusion cell .....	30
4. Franz diffusion cell.....	30
5. Diagrammatic illustration and comparison of Franz diffusion cell and Keshary-Chien skin permeation cell.....	32
6. Flow-through diffusion cell.....	32
7. <i>In vitro</i> penetration-evaluation cell.....	34
8. Iontophoretic diffusion cell.....	34
9. Schematic diagram of Franz-type diffusion cell.....	60
10. Chromatograms and standard curve of piroxicam.....	68
11. Experiment step for evaluation of local anti-inflammatory activity using oxazolone-induced ear edema.....	71
12. Experiment step for evaluation of local anti-inflammatory activity using histamine-induced vascular permeability.....	73
13. Experiment step for evaluation for percutaneous absorption using skin stripping technique.....	78
14. Release profiles of six piroxicam gel products through cellulose acetate membrane.....	87

<b>Figure</b>	<b>Page</b>
15. Diffusion profiles of six piroxicam gel products released through cellulose acetate membrane.....	88
16. Permeation profiles of four piroxicam gel products through new born pig skin.....	100
17. Comparison of diffusion profiles through cellulose acetate membrane and new born pig skin : product A.....	101
18. Comparison of diffusion profiles through cellulose acetate membrane and new born pig skin : product B.....	102
19. Comparison of diffusion profiles through cellulose acetate membrane and new born pig skin : product C.....	103
20. Comparison of diffusion profiles through cellulose acetate membrane and new born pig skin : product D.....	104
21. Comparison of oxazolone-induced ear weight difference of four piroxicam gel products and the result of Duncan's test.....	114
22. Comparison of blue spot size of four piroxicam gel products, induced by histamine and the result of Duncan's test.....	119
23. Absorption profiles of four piroxicam gel products through stratum corneum.....	125
24 Correlation between percent absorbed of piroxicam at 1 hr and the blue spot size of four gel products.....	154
25 Correlation between percent absorbed of piroxicam at 3 hr and the blue spot size of four gel products.....	155

**LIST OF ABBREVIATIONS**

ANOVA	=	Analysis of variance
AUC	=	Area under the concentration-time curve
°C	=	Degree celcius
cm	=	Centrimetre
cm <sup>2</sup>	=	Squaremetre
cm <sup>3</sup>	=	Cubicmetre
CV	=	Coefficient of variation
Fig	=	Figure
g	=	Gram
HPLC	=	High performance liquid chromatography
hr	=	Hour
J <sub>ss</sub>	=	Steady state flux
kg	=	Kilogram
µg	=	Microgram
µl	=	Microlitre
M	=	Molar
mg	=	Milligram
min	=	Minute
ml	=	Millilitre
mm	=	Millimetre
ng	=	Nanogram
PAR	=	Peak area ratio
rpm	=	Revolutions per minute

$r$	=	Correlation coefficient
$r^2$	=	Regression coefficient
SD	=	Standard deviation



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย