การตั้งตำรับอิมัลชันเสริมวิตามินชนิดละลายในไขมันเพื่อให้ทางหลอดเลือดดำ

นางสาวณันทนา คันติโต

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม หลักสูตรเทคโนโลยีเภสัชกรรม (นานาชาติ)
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-17-0728-2

FORMULATION OF INTRAVENOUS LIPID EMULSION CONTAINING OIL-SOLUBLE VITAMINS

Miss Nuntana Candido

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

For the Degree of Master of Science in Pharmaceutical Technology

Program in Pharmaceutical Technology (International)

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2001

ISBN 974-17-0728-2

Thesis Title	Formulation of Intravenous Lipid Emulsion Containing Oil-Soluble Vitamins
By	Miss Nuntana Candido
Field of study	Pharmaceutical Technology (International) Program
Thesis Advisor	Dr. Warangkana Warisnoicharoen, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Dr. Nongnuch Pongcharoenkiat, Ph.D.

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

..... Dean of Faculty of Pharmaceutical Sciences
(Associate Professor Boonyong Tantisira, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman
(Associate Professor Ubonthip Nimmannit, Ph.D.)

..... Thesis Advisor
(Warangkana Warisnoicharoen, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor
(Nongnuch Pongcharoenkiat, Ph.D.)

..... Member
(Nontima Vardhanabhuti, Ph.D.)

..... Member
(Suchat Watnasirichaikul, Ph.D.)

ฉันทนา คันดิโต : การตั้งตำรับอิมัลชันเสริมวิตามินชนิดละลายในไขมันเพื่อให้ทางหลอดเลือดดำ (FORMULATION OF INTRAVENOUS LIPID EMULSION CONTAINING OIL-SOLUBLE VITAMINS) อ. ที่ปรึกษา: อ. ดร. วรางคณา วารีสน้อยเจริญ, อ. ที่ปรึกษาร่วม: ดร. นงนุช พงศ์เจริญเกียรติ. 254 หน้า. ISBN 974-17-0728-2

การบริหารยาทางหลอดเลือดของวิตามินชนิดละลายในไขมันสามารถทำได้ในรูปของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของอิมัลชันไขมันได้ถูกศึกษา อันได้แก่ จำนวนรอบในการปั่นผสม, ส่วนประกอบของอิมัลชัน รวมทั้งวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อ ส่วนผสมของไตรกลีเซอไรด์ชนิดสายโมเลกุลปานกลาง (ไมกลีออล 812) และไตรกลีเซอไรด์ชนิดสายโมเลกุลยาว (น้ำมันถั่วเหลือง) หรือน้ำมันถั่วเหลืองเพียงชนิดเดียว ถูกใช้เป็นวัฏภาคน้ำมันในการเตรียมอิมัลชันไขมันที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 หรือ 20 สารอิมัลซิฟายเออร์หลักที่ใช้ได้แก่ เลซิทินจากถั่วเหลือง หรือเลซิทินจากไข่ สารอิมัลซิฟายเออร์ร่วมที่ใช้ได้แก่ ฟอสฟาติดิลกลีเซอรอล, สเตียริวเอมีน และทวีน 80 โดยใช้สารอิมัลซิฟายเออร์หลักเพียงตัวเดียวหรือ ใช้ผสมร่วมกับสารอิมัลซิฟายเออร์ร่วม หรือส่วนผสมของสารอิมัลซิฟายเออร์ร่วม จำนวนรอบของการปั่นผสมด้วยเครื่องปั่นผสมแรงดันสูงที่ใช้ในการเตรียมได้ถูกปรับเปลี่ยน (3, 5, 7 หรือ10 รอบ) การศึกษาแสดงให้เห็นว่า การปั่นผสมจำนวน 10 รอบ จะทำให้ได้ขนาดอนุภาคที่มีขนาดเล็กที่สุด ซึ่งมีค่าประมาณ 0.2 ไมโครเมตร อิมัลชันไขมันที่เตรียมขึ้นโดยใช้น้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ 10 โดยใช้ส่วนผสมของสารอิมัลซิฟายเออร์ คือ เลซิทินจากไข่ (หรือเลซิทินจากถั่วเหลือง) ทวีน 80 และ สเตียริวเอมีน มีความคงตัวที่ดีที่สุดเมื่อเก็บในตู้เย็นเป็นระยะเวลา 4 เดือน ขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ยของตำรับดังกล่าวที่ผ่านการทำให้ไร้เชื้อโดยใช้หม้อนึ่งอัดไอน้ำ มีค่าประมาณ 0.2 ไมโครเมตร ความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชันมีค่าโดยประมาณที่เป็นกลาง อิมัลชันที่เตรียมขึ้นโดยใช้สารอิมัลซิฟายเออร์ คือ เลซิทินจากไข่ ร่วมกับทวีน 80 และสเตียริวเอมีนแสดงค่าความเป็นบวกของค่าต่างศักย์ที่ผิวของอนุภาคที่สูงกว่าอิมัลชันที่เตรียมขึ้นโดยใช้สารอิมัลซิฟายเออร์ คือ เลซิทินจากถั่วเหลืองร่วมกับ ทวีน 80 และสเตียริวเอมีน ดังนั้นจึงถูกนำมาใช้ในการบรรจุวิตามินได้แก่ วิตามินเอ ปาล์มมิเตท, ดีสาม, อี อะซิเตท และเคหนึ่ง

อิมัลชันที่เตรียมขึ้นโดยใช้เลซิทินจากไข่ ร่วมกับทวีน 80 สเตียริวเอมีน และวิตามินมีคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์คล้ายกับอิมัลชันที่เตรียมโดยไม่ใส่วิตามิน หลังการเก็บเป็นเวลา 1 เดือนค่าความต่างศักย์ที่ผิวอนุภาคของตำรับที่ถูกทำให้ไร้เชื้อโดยใช้หม้อนึ่งอัดไอน้ำและเตรียมโดยใช้เลซิทินจากไข่ ร่วมกับทวีน 80 สเตียริวเอมีน และวิตามินมีค่า 14.21 มิลลิโวลท์ และมีขนาดอนุภาคเท่ากับ 0.2 ไมโครเมตร ค่าความเป็นกรด-ด่างของทุกตำรับมีค่าโดยประมาณที่เป็นกลาง ค่าออสโมแลลิตีของอิมัลชันมีค่าประมาณ 300 มิลลิออสโมลต่อกิโลกรัม ทำการเปรียบเทียบวิธีการทำให้ปราศจากเชื้อ คือการกรอง และการใช้หม้อนึ่งอัดไอน้ำพบว่าทั้งสองวิธีมีผลกระทบต่อปริมาณวิตามินที่เหลืออยู่ในอิมัลชันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) พบการสูญเสียของปริมาณวิตามินชนิดละลายในไขมันในอิมัลชัน ซึ่งจะขึ้นกับชนิดของวิตามินและระยะเวลาการเก็บ วิตามินอี อะซิเตท เป็นวิตามินที่มีความคงตัวมากที่สุดเมื่อเทียบกับวิตามินตัวอื่นๆ จากการทดลองทั้งหมดสรุปได้ว่าความคงตัวของอิมัลชันที่ประกอบด้วยเลซิทินจากไข่สามารถเพิ่มขึ้นได้โดยการใช้ส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวชนิดไม่มีประจุ (ทวีน 80) และ สารที่มีประจุบวก (สเตียริวเอมีน) โดยอิมัลชันที่เตรียมได้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับการนำส่งวิตามินชนิดละลายในไขมันทางหลอดเลือดดำ

ภาควิชา.....-.....	ลายมือชื่อนิสิต.....
หลักสูตร ....เทคโนโลยีเภสัชกรรม (นานาชาติ)...	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา .....2544.....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

437-68523-33: MAJOR PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY (INTERNATIONAL PROGRAM)

KEY WORD: LIPID EMULSION / OIL-SOLUBLE VITAMINS / PHYSICAL STABILITY / PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES

NUNTANA CANDIDO: FORMULATION OF INTRAVENOUS LIPID EMULSION CONTAINING OIL-SOLUBLE VITAMINS.THESIS ADVISOR: DR. WARANGKANA WARISNOICHAROEN, Ph.D., THESIS COADVISOR: DR. NONGNUCH PONGCHAROENKIAT, Ph.D., 254 pp. ISBN 974-17-0728-2

The oil-soluble vitamins could be parenterally administered via oil-in-water emulsion. Factors affecting the physicochemical properties of lipid emulsion were investigated, i.e., cycles of homogenization, emulsion compositions, including sterilization method. The combination of medium chain triglycerides (Miglyol 812) and long chain triglycerides (soybean oil) or only soybean oil was used as oil phase in lipid emulsion preparation at concentration of 10% or 20%. The main emulsifiers used were soy lecithin (SPC) or egg lecithin (EPC). The co-emulsifiers used were phosphatidylglycerol (PG), stearylamine (SA) and Tween 80 (T80). The main emulsifier was used either alone or in combination with co-emulsifier or a mixture of co-emulsifiers. The methods of preparation were varied in number of cycle times of emulsion through the high pressure homogenizer (3, 5, 7 or 10 cycles). The studies revealed that 10 cycles of homogenization provided the smallest droplet size, which was approximately 0.2 μm. Lipid emulsions formulated using 10% soybean oil, stabilized by the combination of EPC (or SPC), T80 and SA showed the best stability upon 4-month storage in a refrigerator. The mean droplet sizes of such autoclaved formulations were approximately 0.2 μm. The pH values of emulsions were approximately neutral. Emulsion using EPC+T80+SA exhibited higher positive zeta potential than that found in emulsion using SPC+T80+SA, hence it was used to incorporate vitamins (V) that were vitamins A palmitate, D_3, E acetate and K_1.

Emulsion containing EPC+T80+SA+V had the similar physicochemical properties to prepared emulsion without vitamins. After 1-month storage, zeta potential of autoclaved formulations using EPC+T80+SA+V were 14.21 mV and the particle size was 0.2 μm. The pH of the formulation was approximately neutral and the osmolality was approximately 300 mOsm/kg. Comparison between methods of sterilization, filtration and autoclaving, was found that they insignificantly affected the amount of vitamins remaining in the emulsion ($P > 0.05$). The loss of oil-soluble vitamins in the emulsion was observed and seemed to depend on the type of vitamins and storage time. Vitamin E acetate was the most stable vitamin compared to others. From the overall results, it would be concluded that stability of emulsion containing EPC could be increased using a mixture of nonionic surfactant (T80) and positively-charged agent (SA). The prepared emulsion provided a promising properties for intravenous delivery of oil-soluble vitamins.

Department .....- ..... Student's signature Nuntana Candido.

Field of study Pharmaceutical Technology (International) Program Advisor's signature Warangkana Warisnoicharoen

Academic year .....2001..... Co-advisor's signature N. Pongcharoenkiat

ACKNOWLEDGEMENTS

While this work is entitled to be my thesis, I could not get the most out of it without contributions from many parties. For the development and production of this work, I feel a deep sense of gratitude:

To my advisor Warangkana Warisnoicharoen, Ph.D. and co-advisor Nongnuch Pongcharoenkiat, Ph.D., who play a very important part in shaping a sensible direction, helping me solve problems on the way, and the most important thing, gear me up with all necessary tools for my future career in Pharmacy. I am obliged to Associate Professor Ubonthip Nimmannit,Ph.D., Nontima Vardhanabhuti, Ph.D and Suchat Watnasirichaikul, Ph.D to be my thesis committee and for their valuable suggestions and discussions.

To all staff members of the office International Graduate studies and Department of Food Chemistry , Faculty of Pharmaceutical sciences for their assistance and encouragement.

To Government Pharmaceutical Organization which provides a laboratory facility for me to executing the tests and gather result data.

To my lovely parents for cheerful living life of integrity and all-round supports, both emotionally and financially.

To my dear brothers and sisters who some time have to be my production assistance in preparing this material. And, to Mr. Peeti Dejkong who always has to stay up with me in the lab while I am executing the tests. Thanks to his patience in providing good services during the whole process.

CONTENTS

LIST OF TABLES

Table **Page**

LIST OF FIGURES

LIST OF ABBREVIATIONS

BHT	=	butylated hydroxytoluene
bo	=	blended oil
^{o}C	=	degree Celcious
CNS	=	central nervous system
d(3,2)	=	the surface weighted mean diameter
d(4, 3)	=	the volume weighted mean diameter
d(v, 0.1)	=	the diameter of particles of 10% volume percentile
d(v, 0.5)	=	the diameter of particles of 50% volume percentile
d(v, 0.9)	=	the diameter of particles of 90% volume percentile
DMSO	=	dimethyl sulfoxide
DOTMA	=	dioleyl oxypropyl trimethyl ammonium chlorine
e.g.	=	exampli gratia (for example)
EPC	=	egg phospholipid
et al.	=	et all (and others)
etc.	=	et centera (and so on)
FFA	=	free fatty acid (s)
GC	=	gas chromatography
HDL	=	high density lipoprotein
HLB	=	hydrophilic-lipophilic balance
HPLC	=	high performance liquid chromatography
i.e.	=	id est (that is)
IFCC	=	International Federation of Clinical Chemistry
IU	=	international unit
IUPAC	=	International Union of Pure and Applied Chemistry
IV	=	intravenous
KPa	=	kilopascal
LCT	=	long chain triglyceride
LD_{50}	=	lethal dose at 50%
LDL	=	low density lipoprotein

Lot No.	=	lot number
LPC, lyso-pc	=	lysophosphatidylcholine
LPE	=	lysophosphatidylethanolamine
M	=	molality
MCT	=	medium chain triglycerides
mg	=	milligram (s)
M.I.U.	=	million international unit
ml	=	milliliter (s)
mM	=	millimolal
MmHg	=	millimeter Mercury
mOsmol/kg	=	milliosmols per kilogram water
mOsmol/l	=	milliosmols per liter water
mV	=	millivolt
N	=	normality
ND	=	not determined
nm	=	nanometer (s)
No.	=	number of sample
o/w	=	oil in water
o/w/o	=	oil in water in oil
PA	=	phosphatidic acid
PC	=	phosphatidylcholine
PCS	=	photon correlation spectroscopy
PE	=	phosphatidylethanolamine
PFEs	=	parenteral fat emulsions
PG	=	phosphatidylglycerol
$PG\text{-}E_1$	=	prostaglandin – E
pH	=	the negative logarithm of the hydrogen ion concentration
PI	=	phosphatidylinositol
PL	=	phospholipids
PS	=	phosphatidylserine
psi	=	pound (s) per square inch
R^2	=	correlation of determination

RDA	=	recommended dietary allowance
RES	=	recticuloendothelial system
SA	=	stearylamine
SD	=	standard deviation
SEM	=	scanning electron microscopic
so	=	soybean oil
SP	=	sphingomyelin
SPC	=	soy phospholipid
T80	=	Tween 80
TEM	=	transmission electron microscopic
TPN	=	total parenteral nutrition
v/v	=	volume by volume
w/o	=	water in oil
w/o/w	=	water in oil in water
w/w	=	weight by weight
w/v	=	weight by volume
ζ	=	zeta potential
%	=	percentage
®	=	registered
>	=	more than
$\geq$	=	equal or more than
μl	=	microliter (s)
μg	=	microgram (s)
μm	=	micrometer (s)