การเตรียมและประเมินอนุภาคขนาดเล็กที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพของไรแฟมพิซิน โดยใช้เทคนิคสารไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตเพื่อนำส่งยาทางปอด

นางสาว วิภาลักษณ์ ปฐมชัยวิวัฒน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชกรรม
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-17-4558-3

PREPARATION AND EVALUATION OF BIODEGRADABLE RIFAMPICIN MICROPARTICLES USING SUPERCRITICAL FLUID TECHNIQUE FOR PULMONARY DELIVERY

Miss Vipaluk Patomchaiviwat

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Pharmaceutics
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University
Academic Year 2005

ISBN 974-17-4558-3

Thesis Title	PREPARATION AND EVALUATION OF BIODEGRADABLE RIFAMPICIN MICROPARTICLES USING SUPERCRITICAL FLUID TECHNIQUE FOR PULMONARY DELIVERY
By	Miss Vipaluk Patomchaiviwat
Field of Study	Pharmaceutics
Thesis Advisor	Associate Professor Poj Kulvanich, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Assistant Professor Ornlaksana Paeratakul, Ph.D.

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

Boonyong Tantisira .....Dean of Faculty of Pharmaceutical Sciences

(Associate Professor Boonyong Tantisira, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

Porntip Nimmannitya ..... Chairman

(Associate Professor Porntip Nimmannitya, M.Sc. in Pharm.)

P. Kulvanich ..... Thesis Advisor

(Associate Professor Poj Kulvanich, Ph.D.)

O. Paeratakul ..... Thesis Co-Advisor

(Assistant Professor Ornlaksana Paeratakul, Ph.D.)

Parkpoom Tengamuay .....Member

(Associate Professor Parkpoom Tengamuay, Ph.D.)

Satit P. Khachorn .....Member

(Associate Professor Satit Puttipipatkhachorn, Ph.D.)

N. Vardhanabhuti .....Member

(Nontima Vardhanabhuti, Ph.D.)

N. Sutanthavibul .....Member

(Narueporn Sutanthavibul, Ph.D.)

วิภาลักษณ์ ปฐมชัยวิวัฒน์: การเตรียมและประเมินอนุภาคขนาดเล็กที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพของไรแฟมพิซินโดยใช้เทคนิคสารไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตเพื่อนำส่งยาทางปอด (PREPARATION AND EVALUATION OF BIODEGRADABLE RIFAMPICIN MICROPARTICLES USING SUPERCRITICAL FLUID TECHNIQUE FOR PULMONARY DELIVERY) อ. ที่ปรึกษา: รศ.ดร. พจน์ กุลวานิช, อ. ที่ปรึกษาร่วม: ผศ.ดร. อรลักษณา แพรัตกุล, 187 หน้า. ISBN 974-17-4558-3

งานวิจัยนี้ใช้เทคนิคสารไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต เพื่อเตรียมอนุภาคขนาดเล็กของไรแฟมพิซินและพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพเพื่อสูดดมเข้าสู่ปอดได้ พอลิเมอร์ที่ใช้ทดลองเป็นกลุ่มของโพลีไฮดรอกซีแอซิดพอลิเมอร์ ได้แก่ 50:50 พอลิ(ดีแอล-แลคไทด์-โค-ไกลโคไลด์)(PLGA) พอลิ(ดีแอล-แลคไทด์)(DL-PLA) และ พอลิ(แอล-แลคไทด์)(L-PLA) ละลายไรแฟมพิซินและพอลิเมอร์ที่อัตราส่วนต่างๆในเมทิลีนคลอไรด์แล้วสเปรย์ลงในคาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ในสภาวะเหนือจุดวิกฤต ศึกษาถึงผลของชนิดและปริมาณพอลิเมอร์ ความดัน อุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารละลาย อัตราการป้อนสาร ต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้ เมื่อใช้พอลิ(ดีแอล-แลคไทด์-โค-ไกลโคไลด์)และพอลิ(ดีแอล-แลคไทด์)ระหว่าง 50 ถึง 100% จะได้ฟิล์มของพอลิเมอร์หรือฟิล์มของพอลิเมอร์กับตัวยา เมื่อใช้พอลิ(ดีแอล-แลคไทด์-โค-ไกลโคไลด์)และพอลิ(ดีแอล-แลคไทด์)ระหว่าง 20 ถึง 40% จะได้อนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่า 18 ไมครอนและเมื่อใช้พอลิ(แอล-แลคไทด์)ระหว่าง 70 ถึง 100% จะได้อนุภาคทรงกลมขนาดเล็ก เมื่อใช้พอลิ(แอล-แลคไทด์)ที่ 60% จะได้ทั้งอนุภาคทรงกลมขนาดเล็กและอนุภาคที่มีรูปร่างไม่แน่นอน เมื่อลดปริมาณของพอลิ(แอล-แลคไทด์)ลงอีกจะพบเพียงอนุภาคที่มีรูปร่างไม่แน่นอน อนุภาคขนาดเล็กที่ผลิตโดยใช้ปริมาณของพอลิ(แอล-แลคไทด์) 60% และไรแฟมพิซิน 40% กักเก็บยาได้ดี (23.30%) และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ยโดยปริมาตรเท่ากับ 4.07 ไมครอน แต่ปลดปล่อยยาค่อนข้างรวดเร็ว อนุภาคขนาดเล็กที่ผลิตโดยใช้ปริมาณของพอลิ(แอล-แลคไทด์) 70% และไรแฟมพิซิน 30% เป็นสูตรตำรับที่เหมาะสมเนื่องจากสามารถกักเก็บยาได้ดี (16.33%) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยโดยปริมาตรเท่ากับ 3.40 ไมครอน และสามารถปลดปล่อยยาอย่างต่อเนื่องได้ตลอด 24 ชั่วโมง อนุภาคขนาดเล็กที่ผลิตโดยใช้ปริมาณของพอลิ(แอล-แลคไทด์) 80% และไรแฟมพิซิน 20% กักเก็บยาต่ำ (8.13%) มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยโดยปริมาตรเท่ากับ 3.37 ไมครอน และปลดปล่อยยาค่อนข้างช้า ขนาดอนุภาคเฉลี่ยแบบแอโรไดแนมิก (mass median aerodynamic diameter) ของสูตรตำรับที่เตรียมได้จากพอลิ(แอล-แลคไทด์) 70% และไรแฟมพิซิน 30% กับแลคโตสขนาดเล็กกว่า 45 ไมครอนในอัตราส่วน 1:2 เท่ากับ 4.86 ไมครอน และเมื่อผสมกับแลคโตสขนาดระหว่าง 45 ถึง 90 ไมครอนในอัตราส่วน 1:2 เท่ากับ 4.29 ไมครอน อนุภาคของพอลิ(แอล-แลคไทด์)กับเก็บไรแฟมพิซินที่เตรียมจากกระบวนการดึงตัวทำละลายที่ใช้สภาวะสารไหลเหนือจุดวิกฤต (supercritical antisolvent process) เหมาะสมสำหรับใช้เตรียมผลิตภัณฑ์ยาสูดดมแบบผงแห้งเพื่อนำส่งยาทางปอดเนื่องจากมีขนาดของอนุภาคที่เหมาะสม ไม่พบว่ามีการสลายของไรแฟมพิซินเมื่อเตรียมตัวยาด้วยกระบวนการที่ใช้สภาวะสารไหลเหนือจุดวิกฤต การวิเคราะห์โดยใช้ XRD, FTIR และDSC แสดงว่าไรแฟมพิซินที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวได้สารที่มีรูปผลึกไม่เหมือนกับรูปผลึกที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ น้ำหนักโมเลกุลและแหล่งผลิตพอลิเมอร์มีอิทธิพลต่อคุณสมบัติของอนุภาคขนาดเล็กที่ได้ ประสิทธิภาพในการต่อต้านการเจริญเติบโตของเชื้อไมโครแบคทีเรียทูเบอร์คูโลซีสของอนุภาคพอลิ(แอล-แลคไทด์)กักเก็บไรแฟมพิซินที่เตรียมจากกระบวนการที่ใช้สภาวะสารไหลเหนือจุดวิกฤตยังเท่าเทียมกับตัวยาไรแฟมพิซินก่อนผ่านกระบวนการ

สาขาวิชา.....เภสัชกรรม..... ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา.....2548..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

##437 69627 33 MAJOR : PHARMACEUTICS
KEYWORD : RIFAMPICIN / SUPERCRITICAL FLUID TECHNIQUE / PULMONARY DELIVERY / MICROPARTICLES/ BIODEGRADABLE POLYMER

VIPALUK PATOMCHAIVIWAT: PREPARATION AND EVALUATION OF BIODEGRADABLE RIFAMPICIN MICROPARTICLES USING SUPERCRITICAL FLUID TECHNIQUE FOR PULMONARY DELIVERY. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. POJ KULVANICH, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: ASSIST. PROF. ORNLAKSANA PAERATAKUL, Ph. D., 187 pp. ISBN 974-17-4558-3

It is of interest to apply a supercritical fluid technology for production of inhalable biodegradable microparticles of rifampicin. The polyhydroxy acids[poly(DL-lactide-co-glycolide) copolymer composition 50:50 (PLGA), poly(DL-lactide)(DL-PLA), and poly(L-lactide)(L-PLA)] were used for preparation of drug-loaded microparticles. The solutions of rifampicin and polymer in methylene chloride at various ratios were sprayed into supercritical carbon dioxide. The effect of the type and content of polymer, operating pressure, temperature, solution concentration and feed rate of solution on the characteristics of products were investigated. With 50-100% polymer content of DL-PLA and PLGA, polymer or polymer-drug film occurred. The DL-PLA and PLGA microparticles of 20-40% polymer content had volumetric mean diameter larger than 18 μm and exhibited irregular shape particles forming large and porous agglomerates. The spherical drug loaded microparticles of L-PLA polymer was formed at high polymer content (70-100%). The microparticles prepared using 60% L-PLA polymer content was in spherical and irregular shapes. The shape of L-PLA microparticles became more irregular with decreasing polymer content. The microparticles prepared from 60 % L-PLA and 40 % rifampicin had good drug loading (23.30%) and a mean size of 4.07 μm but their release of drug was rather rapid. The microparticles prepared from 70 % L-PLA and 30 % rifampicin was the preferred formula because it had good drug loading (16.33%) with mean of 3.40 μm and showed sustained release property throughout 24 hours. The microparticles prepared from 80% L-PLA and 20% rifampicin had low drug loading (8.13%) with mean size of 3.37 μm and their releases of drug was rather slow. The mass medium aerodynamic diameter of the microparticles prepared from 70 % L-PLA and 30 % rifampicin with lactose (< 45 μm) in 1:2 ratio and with lactose (45-90 μm) in 1:2 ratio were 4.86 μm and 4.29 μm, respectively. L-PLA rifampicin loaded microparticles prepared by supercritical anti-solvent (SAS) process was of a suitable size to be used in dry powder inhaler formulation for pulmonary delivery. SAS process showed that no decomposition of rifampicin occurred during the processing. The analysis from XRD, FTIR and DSC indicated that processed rifampicin produced by SAS technique was not corresponding to that of rifampicin in the previous reports. Not only the molecular weight of polymer but also the source of polymer influenced on the characteristics of microparticles. The bactericidal efficacy of L-PLA rifampicin loaded microparticles produced by SAS technique against *Mycobacterium Tuberculosis* was similar to that of unprocessed rifampicin.

Field of study...Pharmaceutics.....
Academic year..... 2005.....

Student's signature...Vipaluk Patomchaiviwat.....
Advisor's signature.....P. Kulvanich.....
Co-advisor's signature.....O. Paeratakul.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere gratitude to my thesis advisor, Associate Professor Poj Kulvanich, Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, for his very excellent meaningful advices, invaluable guidance, kindness, and supervision throughout my investigation.

I wish to express appreciation to all members of the thesis committee for their valuable suggestion and comments.

I am also indebted to Assistant Professor Ornlaksana Paeratakul, Ph.D., my co-advisor, for her kind assistance. I wish to express appreciation for using Supercritical fluids extraction (SFE 400) instrument and suggestion of Associate Professor Rapepol Bavovada, Ph.D., Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University.

I wish to express appreciation for using Anderson cascade impactor of Associate Professor Teerapol Srichana Ph.D., Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University. I am indebted to Somchai Rianthong, Division of Tuberculosis, Department of Disease Control, Ministry of Pubic Health for his helpful in bactericidal efficiency data.

The acknowledgement is given to all staffs of Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, especially the staff of the Department of Manufacturing Pharmacy, for their assistance and support. I am thankful to my friends for their friendship and other people whose names have not been mentioned for their great help and support.

Ultimately, I would like to thank my father, my mother and my sister for their love, kind understanding, support, care and encouragement throughout my graduate study.

CONTENTS

Page

Page

LIST OF TABLES

Table Page

Table Page

Table Page

Table Page

LIST OF FIGURES

Figure Page

Figure Page

Figure Page

Figure Page

ABBREVIATIONS

bar	10^5 Pa (one newton per square meter)
°C	degree Celsius
cm	centimeter
cm^2	square centimeter
CV	coefficient of variation
$D_{10\%}$	particle diameters at a cumulative fraction of the volume distribution at 10 percent (μm)
$D_{50\%}$	particle diameters at a cumulative fraction of the volume distribution at 50 percent (μm)
$D_{90\%}$	particle diameters at a cumulative fraction of the volume distribution at 90 percent (μm)
DL-PLA	poly(DL-lactide)
DL-PLGA	poly(DL-lactide-co-glycolide) copolymer
e.g.	*exemplit gratia*, 'for example'
et al.	*et alii*, 'and others'
g	gram
HPLC	high performance liquid chromatography
hr	hour
Kg	kilogram
L-PLA	L-poly(lactide)
mg	milligram
min	minute
ml	milliliter
mm	millimeter
MPa	Megapascals
nm	nanometer
MW	molecular weight
N	normal (concentration)
N/m^2	Newton per square meter
$N\text{-}s/m^2$	Newton-second per square meter

Pa	pascal
PBS	phosphate buffer in saline
pH	the negative logarithm of the hydrogen ion concentration
ppm	part per million
psi	pound per square inch
r^2	coefficient of determination
rpm	revolution per minute
SAS	supercritical anti-solvent
SD	standard deviation
sec	second
SEM	Scanning Electron Microscope
SF	Supercritical Fluid
Span	The polydispersity of the microparticles was $[D_{90\%}-D_{10\%}]/D_{50\%}$
T_g	glass transition temperature
T_m	melting temperature
µl	microliter
µg	microgram
µm	micrometer
USP	The United States Pharmacopoeia
Vs	versus
%w/w	% weight by weight
%w/v	% weight by volume