Thesis Title	Entrapment of Tranexamic Acid in Liposomes		
Author	Miss Koonsup Podjanasoonthon		
M.Pharm.	Pharmaceutical Technology		
Examining Committee :	Assoc.Prof.Dr. Aranya	Manosroi	Chairman
	Assoc.Prof.Dr. Jiradej	Manosroi	Member
	Lect. Wilai	Thanasarnaksorn, MD	Member

ABSTRACT

Tranexamic acid (TA) is a hydrophilic drug used as an antifribrinolytic agent. It has been claimed to have anti-inflammatory and whitening effects for topical use. In this study, effects of concentrations of TA (5% and 10% in DI water) entrapped in liposomes and charges (positive and negative) of liposomes on the physical and chemical properties of six formulations were investigated. Liposome formulations were prepared by chloroform film method with sonication. The lipids used were hydrogenated soya phosphatidylcholine (Emulmetik 950®), cholesterol and charged lipids (stearylamine and dicetyl phosphate). The physical (appearance and pH) and chemical (TA contents, percent remaining of TA in liposomes, transition temperature and enthalpy of transition) properties of all formulations kept at 4 ±1 ^{0}C, room temperature (30 ±1 ^{0}C) and 45 ±1 ^{0}C for 90 days were examined. The TA contents were determined by derivertizing TA with 2,4,6 trinitrobenzosulfonic acid. The absorbance of the resulting compound was detected spectrophotometically at 415 nm. The percentages of entrapment of TA in all liposome formulations were in the range of 13 to 15%. However, the amount of TA in liposomes increased with increasing TA concentrartions. There were some effects of charges on percentages of entrapment of TA in liposome as well as size and size distribution of liposomes. Particle sizes were determined

by light scattering particle analyzer. Negative blank liposomes and positive liposomes both blank and with the entrapped TA had about 10 times larger diameter than the negatively charged liposomes with the entrapped drug. Lamellarities of all liposome formulations of about 8 to15 bilayers can be observed by a transmission electron microscope. The amounts of TA remaining in all liposome formulations after 3 months at all temperatures were calculated and fitted to the first order of kinetic reaction. The negatively charged liposome gave the amounts of TA remaining in liposomes higher than the positively charged liposomes. The release study of TA from different liposome formulations was performed by a vertical Franz diffusion cell at 37 $\pm 1\ ^{0}C$ through a molecular porous membrane tubing (MWCO 12,000-14,000) sampling at 0, 15, 30 mins, 1, 2, 4, 6, 8 and 24 hrs. It had been found that the release rate of TA from 7:2:1 (5%TA,+), 7:2:1 (10%TA,+), 7:2:1 (5%TA,-) and 7:2:1 (10%TA,-) when fitted with Higuchi model were 6.12, 8.13, 6.29 and 8.57% / $hr^{½}$ respectively. The release rate of TA from 5% and 10% solution in DI water were 18.89 and 19.77% / $hr^{½}$ respectively. All TA liposome formulations gave the release rate of TA about 3 times slower than from the solution. Charges and sizes of liposomes appeared not to affect the release profile of TA from liposomes.

The 10% TA entrapped in the negative liposome formulation was suggested to be the best formulation since it has advantage over other formulations of better physical stability and shelf life. The results from this study can be applied for future development of TA not only as a sustained release preparation but also for topical whitening cosmetics as well.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การเก็บกักทราเนซามิคแอซิดในไลโปโซม

ชื่อผู้เขียน นางสาวคูณทรัพย์ พจนสุนทร

เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ : รศ.ดร. อรัญญา มโนสร้อย ประธานกรรมการ
รศ.ดร. จีรเดช มโนสร้อย กรรมการ
อ.พ.ญ. วิไล ธนสารอักษร กรรมการ

บทคัดย่อ

ทราเนซามิคแอซิดเป็นยาซึ่งสามารถละลายได้ดีในน้ำ ได้มีการนำมาใช้เพื่อยับยั้งการละลายตัวของไฟบรินซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่ทำให้โลหิตแข็งตัวหรือจับตัวเป็นลิ่ม นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบและเมื่อนำมาใช้ทาผิวจะมีฤทธิ์ทำให้ผิวขาวได้ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นของทราเนซามิคแอซิด (สารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์และ 10 เปอร์เซ็นต์ในน้ำปราศจากไอออน)และประจุ (บวกและลบ) ของไลโปโซมต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของไลโปโซม 6 ตำรับ ซึ่งเตรียมโดยวิธีคลอโรฟอร์ม – ฟิล์มร่วมกับการใช้คลื่นความถี่สูง โดยไลโปโซมมีส่วนประกอบของไขมันไฮโดรจีเนตเตดโซยาฟอสฟาทิดิลโคลีน (Emulmetik 950®), โคเลสเตอรอลและไขมันมีประจุ (ไดเซทติลฟอสเฟตหรือสเตียริลลามีน) ในอัตราส่วนโมลาร์เท่ากับ 7:2:1 ทำการตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ (ลักษณะที่ปรากฏและความเป็นกรด-ด่าง) และสมบัติทางเคมี (ปริมาณทราเนซามิคแอซิด เปอร์เซ็นต์ของปริมาณทราเนซามิคแอซิดที่ยังคงถูกเก็บกักในไลโปโซม อุณหภูมิทรานซิชันและเอนธัลปีของทรานซิชัน) เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 ±1 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิห้อง (30 ±1 องศาเซลเซียส) และ 45 ±1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 90 วัน แล้วตรวจสอบวิเคราะห์หาปริมาณทราเนซามิคแอซิดโดยนำทราเนซามิคแอซิดมาทำปฏิกิริยากับ 2,4,6 ไตรไนโตรเบ็นโซซัลโฟนิคแอซิดแล้ววัดการดูดกลืนแสงของสารประกอบมีสีที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตรโดยใช้สเปคโตรโฟโตมิเตอร์ จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์ของปริมาณทราเนซามิคแอซิดที่ถูกเก็บกักในไลโปโซมพบว่าทุกตำรับมีปริมาณอยู่ในช่วง 13 ถึง 15 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณทราเนซามิคแอซิดถูกเก็บกักในไลโปโซมเพิ่มขึ้นเมื่อ

เพิ่มความเข้มข้นของตัวยา ความเป็นประจุและขนาดอนุภาครวมถึงการกระจายตัวของขนาดอนุภาคมีผลบางส่วนต่อเปอร์เซ็นต์ปริมาณทราเนซามิคแอซิดที่เก็บกักในไลโปโซม ในการศึกษาขนาดอนุภาคด้วยเครื่องที่ใช้หลักการการกระจายตัวหรือเบี่ยงเบนแสง พบว่าตำรับไลโปโซมประจุลบที่ไม่มียาและตำรับไลโปโซมประจุบวกที่มีและไม่มียามีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าไลโปโซมประจุลบที่มียาประมาณ 10 เท่า จากการสังเกตจำนวนชั้นของผนังไขมันไลโปโซมโดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องผ่านพบว่าทุกตำรับมีจำนวนชั้นประมาณ 8 ถึง 15 ชั้น จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์ปริมาณทราเนซามิคแอซิดที่ยังคงถูกเก็บกักในไลโปโซมเมื่อถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆเป็นเวลา 3 เดือน โดยคำนวณหาปริมาณยาที่คงเหลือในไลโปโซมที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆสามารถใช้สมการจลนศาสตร์อันดับหนึ่งได้ พบว่าตำรับไลโปโซมประจุลบจะมีปริมาณยาที่ยังคงถูกเก็บกักในไลโปโซมมากกว่าไลโปโซมประจุบวก ในการศึกษาการปลดปล่อยทราเนซามิคแอซิดจากไลโปโซมตำรับต่างๆโดยใช้เครื่อง vertical Franz diffusion cell ผ่าน molecular porous membrane tubing (MWCO 12,000-14,000) ที่อุณหภูมิ 37 $\pm$1 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 0, 15, 30 นาที, 1, 2, 4, 6, 8 และ 24 ชั่วโมง พบว่าอัตราเร็วในการปลดปล่อยทราเนซามิคแอซิดจากไลโปโซมตำรับ 7:2:1 (5%TA,+), 7:2:1 (10%TA,+), 7:2:1 (5%TA,-), 7:2:1 (10%TA,-) ที่ได้ใช้สมการ Higuchi model ประเมินแล้วมีค่าเท่ากับ 6.12, 8.13, 6.29 และ 8.57% / ชั่วโมง $^{1/2}$ ตามลำดับ ส่วนอัตราเร็วในการปลดปล่อยทราเนซามิคแอซิดจากสารละลาย 5% และ 10% มีค่าเท่ากับ 18.89 and 19.77% / ชั่วโมง $^{1/2}$ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าอัตราเร็วในการปลดปล่อยทราเนซามิคแอซิดจากไลโปโซมจะช้ากว่าอัตราเร็วในการปลดปล่อยทราเนซามิคแอซิดจากสารละลายประมาณ 3 เท่า นอกจากนี้ว่าประจุและขนาดอนุภาคของไลโปโซมดูเหมือนจะไม่มีผลต่อการปลดปล่อยทราเนซามิคแอซิดจากไลโปโซม

สรุปได้ว่าตำรับ10%ทราเนซามิคแอซิดเก็บกักในไลโปโซมประจุลบเป็นตำรับที่ดีที่สุดทั้งนี้เนื่องจากเป็นตำรับที่มีความคงตัวทางกายภาพและมีอายุยาบนชั้นดีกว่าตำรับอื่นๆ จะสามารถนำผลการวิจัยนี้ไปประยุกต์และพัฒนาทราเนซามิคแอซิดเตรียมในรูปแบบไลโปโซมเพื่อการออกฤทธิ์เฉพาะที่และการนำมาเป็นเครื่องสำอางใช้ทาเฉพาะที่เพื่อให้ผิวขาว