

250

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง การปลดปล่อยแบบควบคุมของยาอะม็อกซิซิลลินจากบีดแอลจี

เนต-เจลาติน-ไคโตซาน

CONTROLLED RELEASE OF AMOXICILLIN FROM
ALGINATE-GELATIN-CHITOSAN BEADS

ผู้วิจัย

นลินา ประไพรัชสิทธิ์

615.19
น286ก

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

เงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์) ประจำปี 2548

615.1๑

น๖8๖ 1

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง การปลดปล่อยแบบควบคุมของยาอะม็อกซิซิลลินจากบีดแอลจี

เนต-เจลาติน-ไคโตซาน

CONTROLLED RELEASE OF AMOXICILLIN FROM
ALGINATE-GELATIN-CHITOSAN BEADS



ผู้วิจัย

นลินา ประไพรัชสิทธิ์

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(เงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์) ประจำปี 2548

การปลดปล่อยแบบควบคุมของยาอะม็อกซิซิลลินจากบีดแอลจินेट-เจลาติน-ไคโตซาน

นลินา ประไพรัชสิทธิ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สุขุมวิท กทม. 10300

อะม็อกซิซิลลิน เป็นยาปฏิชีวนะ ที่สามารถใช้กำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างกว้างขวางทั้งชนิดแกรมบวก และ แกรมลบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งได้ถูกนำมาใช้สำหรับรักษาโรคแผลในกระเพาะอาหาร ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Helicobacter pylori* แต่พบว่ายาชนิดนี้มีระยะเวลาการคงตัวในกระเพาะอาหารน้อยเกินไป อีกทั้งอะม็อกซิซิลลินยังสามารถซึมผ่านกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กได้เร็วมาก ทำให้ความเข้มข้นของยาในกระเพาะอาหารต่ำ เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพในการรักษาของยาอะม็อกซิซิลลินให้ดีขึ้น จึงจำเป็นต้องปรับปรุงระบบนำส่งยา โดยมุ่งเน้นให้ยามีระยะเวลาการคงตัวในกระเพาะอาหารนานขึ้น และจะต้องถูกปลดปล่อยออกมาช้า ๆ อย่างต่อเนื่องในปริมาณที่เหมาะสมภายในช่วงระยะเวลาที่ต้องการได้ ซึ่งการนำพอลิเมอร์มาใช้ควบคุมระบบนำส่งยา จึงเป็นทางเลือกที่จะใช้แก้ปัญหาดังกล่าว ในงานวิจัยนี้ได้เลือกพอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่ควบคุมการปลดปล่อยยา ได้แก่ แอลจินेट กับเจลาติน และ พอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่ยึดเกาะกับเยื่อเมือกในกระเพาะอาหาร เพื่อให้ยามีระยะเวลาการคงตัวในกระเพาะอาหารนานขึ้น ได้แก่ ไคโตซาน จากการศึกษาพบว่าบีดที่มีส่วนผสมของแอลจินेट-เจลาติน-ไคโตซาน มีประสิทธิภาพในการกักเก็บยาดีที่สุดและมีคุณสมบัติในการยึดติดเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารดีที่สุดเช่นกัน ในขณะที่บีดแอลจินेट-ไคโตซาน มีประสิทธิภาพในการกักเก็บยาและคุณสมบัติในการยึดติดเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารรองลงมา แต่มีคุณสมบัติการลอยตัวที่ดีกว่าบีดแอลจินेट-เจลาติน-ไคโตซาน ในขณะที่บีดที่มีส่วนผสมของแอลจินेटเพียงอย่างเดียว และบีดที่มีส่วนผสมของแอลจินेटและเจลาตินมีคุณสมบัติทั้งสามด้อยกว่าบีดที่มีส่วนผสมของไคโตซาน ดังนั้นบีดที่สามารถควบคุมการปลดปล่อยของอะม็อกซิซิลลินได้ดีที่สุดในกระเพาะอาหารได้แก่บีดที่มีส่วนผสมของแอลจินेट เจลาตินและไคโตซาน

CONTROLLED RELEASE OF AMOXICILLIN FROM ALGINATE- GELATIN-CHITOSAN BEADS

Nalena Praphairaksit¹

¹Department of Biology, Faculty of Science, Srinakarinwirot University, Bangkok 10300,
Thailand

Amoxicillin is an antibiotics used to treat both Gram-positive and Gram-negative bacteria. It is also a drug of choice in treating peptic ulcer which originated from *Helicobacter pylori*. However, due to the short gastric retention time and the rapidness in dissolving through the gastric and intestinal membrane, there is not enough amoxicillin left in the gastric cavity to treat the *Helicobacter pylori*. To solve this problem, we introduced combinations of polymers a bead form to control the release of amoxicillin in and help the drug adhere to the mucus of the stomach. Our results show that the bead with the combination of alginate gelatin and chitosan yield the best results in percentage of encapsulation of amoxicillin and has high percentage of mucoadhesiveness which means that the bead can stay attached to the mucus of the stomach longer than the other bead form. The alginate chitosan bead has the second best results in percentage of encapsulation of amoxicillin and percentage of mucoadhesiveness but shows the best result in buoyancy of the bead. Beads with out chitosan as a polymer (in this study we have alginate beads and alginate-chitosan beads) had lower encapsulation, buoyancy and mucoadhesive properties. Therefore, the polymer that should be selected to use for controlled release of amoxicillin are the combination of alginate, gelatin and chitosan.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือของ นายธีระวัฒน์ สหเสถียร ผู้วิจัยขอขอบลมา ณ ที่นี้

งานวิจัยนี้จะดำเนินไปไม่ได้ถ้าปราศจากทุนสนับสนุนจากงบประมาณรายได้คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ผู้วิจัยจึงขอขอบลมา ณ ที่นี้ด้วย

สพ.ญ. ดร. นลินา ประไพรัชสิทธิ์



สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	6
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	9
บทที่ 5 สรุปอภิปรายผลและข้อเสนอแนะ	25
บรรณานุกรม	27
ประวัติย่อผู้วิจัย	28

บัญชีตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงการเปรียบเทียบ %encapsulation ระหว่างบีดที่เตรียมแบบวิธี suspension กับบีดที่เตรียมแบบ solution	15
2	แสดงเปอร์เซ็นต์การรวมตัวของบีด	16
3	แสดงรูปตัวอย่างการบวมตัวของบีดชนิดต่างๆ	17
4	แสดงค่าความสามารถในการลอยตัวของบีดชนิดต่าง ๆ	18
5	แสดงค่าความสามารถในการเกาะติดเนื้อเมือกในกระเพาะอาหารของบีดชนิดต่าง ๆ	19



บัญชีภาพประกอบ

รูปที่	หน้า
1 สูตรโครงสร้าง (a) แอลจีเนต (b) เจลาติน (c) ไคโตซาน และ (d) อะม็อกซิซิลลิน ไครไฮเดรต	4
2 โครมาโตแกรมในการหา retention time ของอะม็อกซิซิลลิน ที่มีสถานะเฟสเคลื่อนที่เป็น PBS : ACN ในอัตราส่วน 96 : 4	9
3 โครมาโตแกรมในการหา retention time ของอะม็อกซิซิลลิน ที่มีสถานะเฟสเคลื่อนที่เป็น PBS : ACN ในอัตราส่วน 90 : 10	9
4 กราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบหาปริมาณของอะม็อกซิซิลลิน	10
5 การปลดปล่อยของอะม็อกซิซิลลินใน 0.1 N HCL pH 1.2	11
6 กราฟการปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลินของแคปซูล ที่ pH 1.2 ก่อนการตัดปัจจัยการสลายตัว	13
7 กราฟการปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลินของแคปซูล ที่ pH 1.2 หลังการตัดปัจจัยการสลายตัว	14
8 รูปถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของบีด ALG	20
9 รูปถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของบีด ALG-GEL	21
10 รูปถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของบีด ALG-CHI	22
11 รูปถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของบีด ALG-GEL-CHI	23
12 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ในสมบัติด้านต่าง ๆ ของบีดแต่ละชนิด	25
13 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์โดยเฉลี่ยของสมบัติด้านต่าง ๆ ของบีดแต่ละชนิด	26

บทที่ 1

บทนำ

อะม็อกซิซิลลิน (Amoxicillin) เป็นยาต้านจุลชีพ (Antimicrobials) หรือยาปฏิชีวนะ (Antibiotics) ในกลุ่มเพนิซิลลิน (Penicillins) สามารถใช้กำจัดเชื้อจุลชีพได้อย่างกว้างขวางทั้งชนิดแกรมบวก (Gram-positive) และ แกรมลบ (Gram-negative) โดยเฉพาะอย่างยิ่งได้ถูกนำมาใช้สำหรับรักษาโรคแผลในกระเพาะอาหาร (Peptic ulcer) เนื่องจาก อะม็อกซิซิลลินมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นเชื้อบациลลัสไมโครแอโรฟิลิก ชนิดแกรมลบและเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร (Gastric ulcer, GU) และลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenal ulcer, DU) แต่พบว่ายาชนิดนี้มีระยะเวลาการคงตัวในกระเพาะอาหารน้อยเกินไป อีกทั้งอะม็อกซิซิลลินยังสามารถซึมผ่านกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กได้เร็วมาก ทำให้ความเข้มข้นของยาในกระเพาะอาหารต่ำ ซึ่งโดยทั่วไปเชื้อ *Helicobacter pylori* จะอาศัยอยู่บริเวณส่วนลึกของเยื่อเมือก (mucous) และเหนือเยื่อบุ (epithelial cells) ในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น ดังนั้นถ้ายามีระยะเวลาการคงตัวในกระเพาะอาหารน้อยและถูกดูดซึมเข้าสู่เยื่อบุกระเพาะอาหารได้เร็วเกินไป ย่อมส่งผลทำให้ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อไม่ดีตามไปด้วย^[1.5.9]

เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพในการรักษาของยาอะม็อกซิซิลลินให้ดีขึ้น จึงจำเป็นต้องปรับปรุงระบบนำส่งยา โดยมุ่งเน้นให้ยามีระยะเวลาการคงตัวในกระเพาะอาหารนานขึ้น และจะต้องถูกปลดปล่อยออกมาช้า ๆ อย่างต่อเนื่องในปริมาณที่เหมาะสมภายในช่วงระยะเวลาที่ต้องการได้ ซึ่งการนำพอลิเมอร์มาใช้ควบคุมระบบนำส่งยา จึงเป็นทางเลือกที่จะใช้แก้ปัญหาดังกล่าว โดยพอลิเมอร์ที่จะนำมาใช้นั้นจะต้องมีคุณสมบัติ คือ ไม่เป็นพิษและเข้ากันได้ดีกับร่างกาย สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ราคาไม่แพง และที่สำคัญจะต้องสามารถเกาะติดกับเยื่อเมือกหรือเยื่อบุในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นได้ดี

มีพอลิเมอร์ชนิดต่าง ๆ มากมายที่ถูกนำมาใช้เพื่อควบคุมระบบนำส่งยา ทั้งพอลิเมอร์ที่สกัดได้จากธรรมชาติ เช่น แอลจินเต ไซโตซาน เจลาติน และคาร์ราจีแนน เป็นต้น และพอลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น พอลิอะคริลิกแอซิด และพอลิเอทิลีนไกลคอล เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันถ้ากล่าวถึงผลิตภัณฑ์ประเภทอาหารและยา จะพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติจะได้รับการยอมรับในเรื่องความปลอดภัยมากกว่า ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะเลือกใช้พอลิเมอร์ที่สกัดได้จากธรรมชาติมาควบคุมระบบนำส่งยาอะม็อกซิซิลลิน ซึ่งได้แก่ แอลจินเต เจลาติน และไซโตซาน

แอลจินเต (Alginate) จัดเป็นพอลิเมอร์ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีน้ำตาล มีลักษณะโครงสร้างเป็นโคพอลิเมอร์ (copolymer) ที่ประกอบด้วยกรดกลูโรนิก (guluronic acid) และกรดแมนูโรนิก (manuronic acid) จึงเป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุเป็นลบ (polyanionic)

polymer) ซึ่งสามารถเกิดการเชื่อมขวางได้โดยการเติมสารที่มีประจุบวกชนิดใดวาเลนซ์ลงไป ทำให้มีคุณสมบัติด้าน encapsulation สูงขึ้นและยังสามารถหน่วงการปลดปล่อยยาให้นานขึ้นอีกด้วย^[2,7]

เจลาติน (Gelatin) เป็นพอลิเมอร์ประเภทพอลิเปปไทด์ (polypeptide) ที่สกัดได้จากหนังสัตว์ เช่น หนังหมู และหนังวัว มีลักษณะเป็นพอลิเมอร์ที่มีทั้งประจุบวกและลบภายในโครงสร้างซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเปปไทด์ แต่สามารถควบคุมชนิดประจุได้โดยการปรับ pH ของสารละลายโดยพิจารณาจากค่า isoelectric point ดังนั้นจึงสามารถใช้เจลาตินเป็นสารเชื่อมขวางของพอลิเมอร์ที่มีประจุได้หลากหลาย^[4]

ไคโตซาน (Chitosan) เป็นพอลิเมอร์ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ที่สกัดได้จากเปลือกกุ้งกระดองปู รวมถึงคิวติเคิล (cuticle) ของแมลงและเชื้อรา มีลักษณะเป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุบวก (polycationic polymer) จึงสามารถเกิดการเชื่อมขวางกับสารที่มีประจุลบชนิดใดวาเลนซ์ได้ ซึ่งการเชื่อมขวางดังกล่าวจะทำให้ ไคโตซานสามารถหน่วงการปลดปล่อยยาให้นานขึ้น^[3] และการที่ไคโตซานเป็น polycationic polymer จึงทำให้มีคุณสมบัติด้าน mucoadhesive ที่ดีอีกด้วย^[10]

ซึ่งหลักในการเลือกใช้พอลิเมอร์ทั้ง 3 ชนิดนี้มาทำการศึกษาเพื่อควบคุมระบบนำส่งยาอะม็อกซิซิลลิน ให้มี ประสิทธิภาพในการรักษาที่ดีขึ้นนั้น ได้พิจารณาจากคุณสมบัติของพอลิเมอร์แต่ละชนิดตามหน้าที่ โดยแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ 1) พอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่ควบคุมการปลดปล่อยยาเพื่อให้ยาถูกปลดปล่อยออกมาช้า ๆ อย่างต่อเนื่อง ซึ่งได้แก่ แอลจินेट กับเจลาติน และ 2) พอลิเมอร์ที่ทำหน้าที่ยึดเกาะกับเยื่อเมือกในกระเพาะอาหาร เพื่อให้ยามีระยะเวลาการคงตัวในกระเพาะอาหารนานขึ้น ซึ่งก็คือ ไคโตซาน นั่นเอง

จากคุณสมบัติของพอลิเมอร์ที่นำมาเลือกใช้ นอกจากจะพิจารณาจากคุณสมบัติตามหน้าที่แล้ว พอลิเมอร์ทั้งสามชนิดยังมีคุณสมบัติพื้นฐานที่คล้ายคลึงกันอีกด้วย กล่าวคือ การไม่เป็นพิษและเข้ากันได้ดีกับร่างกาย สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ และราคาไม่แพง จากคุณสมบัติเหล่านี้จึงทำให้มีงานวิจัยมากมายเกี่ยวกับการพัฒนา พอลิเมอร์ดังกล่าวสำหรับใช้เพื่อควบคุมระบบนำส่งยาให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี ค.ศ.2000 Lynne Whitehead และคณะ^[5] ได้ทำการเตรียมสูตรผสมของแอลจินेटกับยาอะม็อกซิซิลลินในรูปแบบของบีด จากการศึกษาพบว่า สูตรผสมที่เตรียมได้สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาให้ออกฤทธิ์เน้นในสภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร (pH 1.2) และเมื่อเพิ่ม amylose ในสูตรผสม จะทำให้ยาถูกปลดปล่อยออกมาช้าลงยิ่งขึ้น

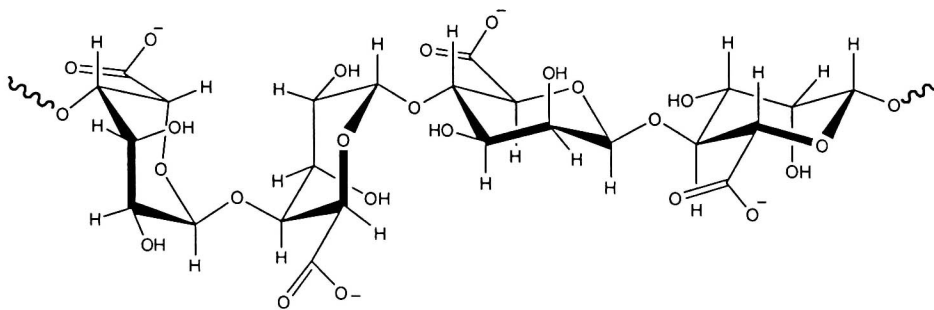
ในปี ค.ศ.2002 Kang Wang และคณะ^[6] ได้ทำการเตรียมสูตรผสมของแอลจินेट คอนยัคกลูโคแมนแนน และโคโคซาน เพื่อใช้ควบคุมการปลดปล่อยอินซูลินในรูปแบบของบีด พบว่า บีดที่มีสูตรผสมของคอนยัคกลูโคแมนแนนมากขึ้น จะให้ %encapsulation ที่สูงขึ้น แต่จะทำให้บีดหน่วงการปลดปล่อยอินซูลินได้น้อยลง

ในปี ค.ศ.2004 Ferreira Almeida และคณะ^[7] ได้ทำการเตรียมสูตรผสมของแอลจินेटกับยา pindolol ในรูปแบบของบีด โดยเลือกใช้เจลาติน พอร์มาลดีไฮด์ และกลูทาราลดีไฮด์ เป็นสารเชื่อมขวาง ซึ่งในการเตรียมสูตรผสมดังกล่าว จะทำในภาวะ suspension หรือไม่ใช้ตัวทำละลาย (solvent-free technique) ทำให้เกิดการเชื่อมขวางที่ดีขึ้น และจากการศึกษาพบว่าบีดที่เตรียมได้จากสูตรผสมของแอลจินेटกับเจลาตินจะให้ %encapsulation สูงที่สุด และเมื่อนำบีดที่เตรียมได้มาทำการศึกษการปลดปล่อยยา พบว่าบีดสามารถหน่วงการปลดปล่อยยาให้ช้าลงได้ในสารละลาย phosphate buffer (pH7.4)

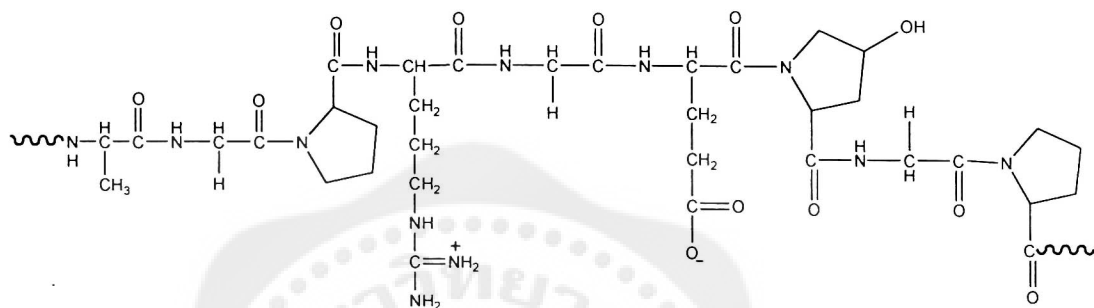
ในปี ค.ศ.2005 Anil K. Anal และคณะ^[8] ได้ทำการเตรียมบีดของโคโคซาน และแอลจินेट แบบ multilayer เพื่อใช้ควบคุมการปลดปล่อยยาแอมพิซิลลิน พบว่า บีดที่เตรียมจากแอลจินेटเพียงชนิดเดียว จะมี entrapment efficiency ต่ำกว่าบีดที่มีการใช้โคโคซานเป็น coagulation fluid ในขณะเดียวกันก็พบว่า บีดของโคโคซาน และแอลจินेट ที่เตรียมเป็นแบบ multilayer จะสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาด้านกว่าแบบ single layer

ในปี ค.ศ.2005 Zhepeng Liu และคณะ^[9] ได้ทำการศึกษาสมบัติด้าน mucoadhesive ของไมโครสเฟียร์ที่เตรียมจาก ethylcellulose (ใช้แทนไมโครสเฟียร์ที่ไม่มีสมบัติด้าน mucoadhesive) และไมโครสเฟียร์ที่เตรียมจากสูตรผสมของ ethylcellulose และ Carbopol 934P (ใช้แทนไมโครสเฟียร์ที่มีสมบัติด้าน mucoadhesive) เพื่อใช้ควบคุมการปลดปล่อยยาอะม็อกซิซิลลิน พบว่า ไมโครสเฟียร์ที่มีส่วนผสมของ Carbopol 934P จะสามารถเกาะติดกับเยื่อเมือกในกระเพาะอาหารได้นานกว่าไมโครสเฟียร์ที่ไม่มีส่วนผสมของ Carbopol 934P และยังสามารถช่วยเพิ่มปริมาณการดูดซึมยาเข้าสู่เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารได้

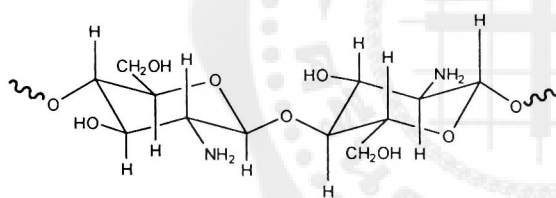
ในปี ค.ศ.1998 Ping He และคณะ^[10] ได้นำไมโครสเฟียร์ของโคโคซานมาทำการศึกษาสมบัติด้าน mucoadhesive พบว่า โคโคซานมีสมบัติด้าน mucoadhesive ที่ดีมาก



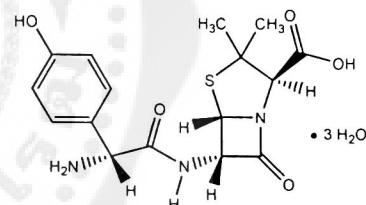
(a)



(b)



(c)



(d)

รูปที่ 1 สูตรโครงสร้าง (a) แอลจิน (b) เจลาติน (c) ไคโตซาน และ (d) อะมัยกซ์ซิลลินไตรไฮ

เดรต

จะเห็นว่าทั้ง แอลจินต เจลาติน และไคโตซาน สามารถนำมาใช้เพื่อควบคุมการปลดปล่อยยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่จากคุณสมบัติของไคโตซานที่แตกต่างไปจากพอลิเมอร์อีกสองชนิด นั่นคือคุณสมบัติด้าน mucoadhesive ทำให้ไคโตซานมีความน่าสนใจอย่างมากในการนำมาใช้พัฒนาเป็นสูตรผสมในรูปแบบของบีด โดยนำไคโตซานมาใช้ในการเคลือบบีด เพื่อให้บีดมีระยะเวลาการคงตัวในกระเพาะอาหารนานขึ้น และใช้แอลจินต กับเจลาติน เป็นพอลิ-เมอร์ที่ทำหน้าที่ควบคุมการปลดปล่อยยา โดยเลือกใช้วิธีทำบีดให้แห้งโดยการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze-dried) นอกจากนี้ยังทำการศึกษารูปแบบและอัตราการปลดปล่อยยา รวมถึงการศึกษาสมบัติด้าน mucoadhesive ของบีดที่เตรียมได้จากสูตรผสมดังกล่าว เพื่อหาสูตรผสมที่เหมาะสมที่สุด โดยมุ่งเน้นให้มีการปลดปล่อยยาในกระเพาะอาหารได้นานและต่อเนื่อง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา และสามารถช่วยลดจำนวนครั้งในการรับประทานยา

ในงานวิจัยนี้ทำเพื่อหาคู่ประกอบที่เหมาะสมในการเตรียมบีดจากสูตรผสมของของแอลจินต เจลาติน และไคโตซาน สำหรับปลดปล่อยยาอะมิออกซิซิลลิน ภายใต้ภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร



บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. เตรียมพอลิเมอร์ผสมชนิดต่าง ๆ ในรูปแบบของบีด ดังต่อไปนี้

1.1 เตรียมบีดแอลจินेट (ALG)

- เตรียม 2%(w/v) ALG โดยชั่ง ALG (powder) ปริมาณ 2 g. ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 ml. โดยทำการคนทิ้งไว้ 24 ชม.

- ชั่ง AMOX (powder) ปริมาณ 2 g. ละลายใน 2%(w/v) ALG ปริมาตร 100 ml. โดยทำการคนทิ้งไว้ 2 ชม.

- เทสารผสมที่ได้ปริมาตร 10 ml. ลงใน syringe ขนาด 10 ml. และใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 18 แล้วหยดลงในสารละลาย 0.2 M CaCl_2 ปริมาตร 150 ml. โดยมีอัตราการหยด 0.25 ml/min หลังจากหยุดบีดเสร็จให้ทิ้งบีดไว้ในสารละลายดังกล่าวเป็นเวลา 15 นาที แล้วทำการกรองบีดด้วยตะแกรง นำบีดที่ได้ใส่ลงในขวดกันกลบขนาด 100 ml. แล้วนำไปแช่ในน้ำแข็งแห้งที่เติมสารละลายอะซีโตนเพื่อให้บีดแข็งตัว จากนั้นนำบีดไปทำแห้งโดยวิธี freeze dry ต่อไป

1.2 เตรียมบีดแอลจินेट-เจลาติน (ALG-GEL)

- เตรียม 2%(w/v) ALG เช่นเดียววิธีในข้อ 1.1

- ชั่ง GEL (powder) ปริมาณ 2 g. เติลงใน 2%(w/v) ALG ปริมาตร 100 ml. ทำการคนใน water bath โดยควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 37 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชม.

- ชั่ง AMOX (powder) ปริมาณ 2 g. ละลายในสารละลายผสมข้างต้นปริมาตร 100 ml. โดยทำการคนทิ้งไว้ 2 ชม.

- ทำการหยุดบีด เช่นเดียวกับวิธีในข้อ 1.1

1.3 เตรียมบีดแอลจินेट-ไคโตซาน (ALG-CHI)

- เตรียม 2%(w/v) ALG เช่นเดียวกับวิธีในข้อ 1.1

- ชั่ง AMOX (powder) ปริมาณ 2 g. ละลายใน 2%(w/v) ALG ปริมาตร 100 ml. โดยทำการคนทิ้งไว้ 2 ชม.

- เทสารผสมที่ได้ปริมาตร 10 ml. ลงใน syringe ขนาด 10 ml. และใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 18 แล้วหยดลงในสารละลายผสมของ 0.4 M CaCl_2 ปริมาตร 75 ml.+ 2%(w/v) CHI ปริมาตร 75 ml. โดยมีอัตราการหยด 0.25 ml/min หลังจากหยุดบีดเสร็จให้ทิ้งบีดไว้ในสารละลายดังกล่าวเป็นเวลา 15

นาที่ แล้วทำการกรองปิดด้วยตะแกรง นำบีดที่ได้ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 100 ml. แล้วนำไปแช่ในน้ำแข็งแห้งที่เติมสารละลายอะซิโตนเพื่อให้บีดแข็งตัว จากนั้นนำบีดไปทำแห้งโดยวิธี freeze dry ต่อไป

1.4 เตรียมบีดแอลจินต-เจลาติน-ไคโตซาน (ALG-GEL-CHI)

- เตรียมสารผสมระหว่าง ALG ,GEL และ AMOX เช่นเดียวกับวิธีในข้อ 1.2
- ทำการหยดบีด เช่นเดียวกับวิธีในข้อ 1.3

2. การหาประสิทธิภาพในการกักเก็บยา (%encapsulation) ของบีดที่เตรียมได้

- ชั่งบีดที่เตรียมได้ ปริมาณ 100 mg. เติลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml. เติมน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรจนเป็น 100 ml. จากนั้นนำไป sonicate เป็นเวลา 120 นาที
- ทำการกรองสารละลายด้วย syringe filter membrane ขนาด 45 μ m แล้วนำสารละลายดังกล่าวไปวัดหาปริมาณยาด้วยเทคนิค HPLC โดยทำการเปรียบเทียบปริมาณยาที่วัดได้กับปริมาณยาที่คำนวณได้ทางทฤษฎี

3. การศึกษาการปลดปล่อยยาแอม็อกซิซิลลินจากบีดที่เตรียมได้

- ชั่งบีดที่เตรียมได้ ปริมาณ 100 mg. เติลงใน flask ซึ่งบรรจุด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก pH 1.2 ปริมาตร 250 ml ทำการเขย่าด้วยเครื่อง shaking water-bath ด้วยอัตราเร็ว 50 รอบต่อนาที ซึ่งควบคุมอุณหภูมิที่ 37 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยจะดูดสารละลายมาวิเคราะห์หาปริมาณยาด้วยเทคนิค HPLC ณ เวลา 30 นาที, 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง, 3 ชั่วโมง, 4 ชั่วโมง, 5 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ

หมายเหตุ : ในการดูดสารละลายมาวิเคราะห์แต่ละครั้ง จะทำการดูดมาในปริมาตร 3 ml. จากนั้นจะทำการปรับ pH ด้วยสารละลาย 3.0 M NaOH ปริมาตร 1 ml. เพื่อให้สารละลายมี pH ประมาณ 5 ทั้งนี้เพื่อป้องกันการสลายตัวของยาแอม็อกซิซิลลินระหว่างการวัดหาปริมาณ

4. การศึกษาการบวมตัวของบีด

นำบีดวางลงบน Petri Dish แล้วทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบีดเริ่มต้น (D_0) ผ่านกล้องจุลทรรศน์ เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก pH 1.2 ให้ท่วมบีดแล้ววัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบีด ณ เวลา 5 นาที, 10 นาที, 30 นาที, 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง, 3 ชั่วโมง, 4 ชั่วโมง, 5 ชั่วโมง, 6 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นคำนวณหา % Swelling ratio ได้จากสูตร

$$\text{Swelling ratio (\%)} = \frac{(D_t - D_0)}{D_0} \times 100$$

เมื่อ D_0 = initial diameter of dried beads

D_t = diameter of beads after immersion in test solution at time t

5. การศึกษาคุณสมบัติการลอยตัวของบีด

นำบีดจำนวน 100 บีด ใส่ลงใน flask ที่บรรจุด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก pH 1.2 ปริมาตร 250 ml ทำการเขย่าด้วยเครื่อง shaking water-bath ด้วยอัตราเร็ว 50 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 ± 2 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการนับจำนวนบีดที่ยังคงสามารถลอยอยู่บนสารละลายได้ ณ เวลา 30 นาที, 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง, 3 ชั่วโมง, 4 ชั่วโมง, 5 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ

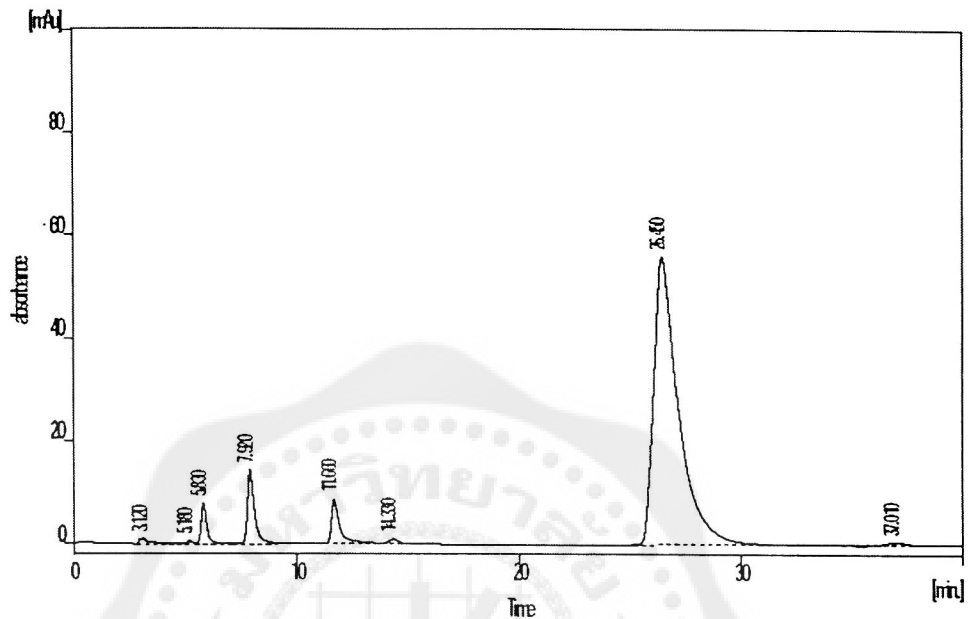
6. การศึกษาคุณสมบัติด้านการเกาะติดเยื่อเมือกในกระเพาะอาหาร

เตรียมกระเพาะหมู โดยทำการตัดชิ้นเนื้อให้มีขนาด 12x12 ซม. จากนั้นล้างด้วยน้ำเกลือปริมาตร 50 ml นำบีดจำนวน 100 บีดวางลงบนชิ้นเนื้อที่เตรียมไว้ แล้วนำไปแช่ใน water bath ที่มีฝาปิด โดยควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 37 ± 2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ที่ 93% เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำชิ้นเนื้อดังกล่าววางลงบนแผ่นพลาสติกที่ทำมุม 45° กับพื้น ทำการชะชิ้นเนื้อด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก pH 1.2 ด้วยอัตราเร็ว 300 ml/min เป็นเวลา 5 นาที นับจำนวนบีดที่ยังคงสามารถเกาะติดเยื่อเมือกบนชิ้นเนื้อนั้นได้

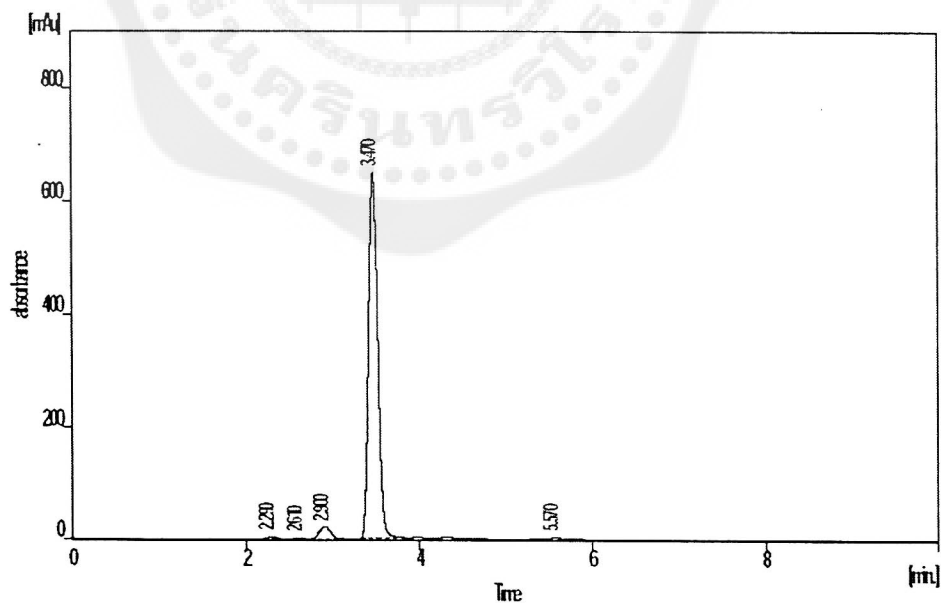
บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC



รูปที่ 2 โคโรมาโตแกรมในการหา retention time ของอะม็อกซิซิลลิน ที่มีสภาวะเฟสเคลื่อนที่เป็น PBS : ACN ในอัตราส่วน 96 : 4



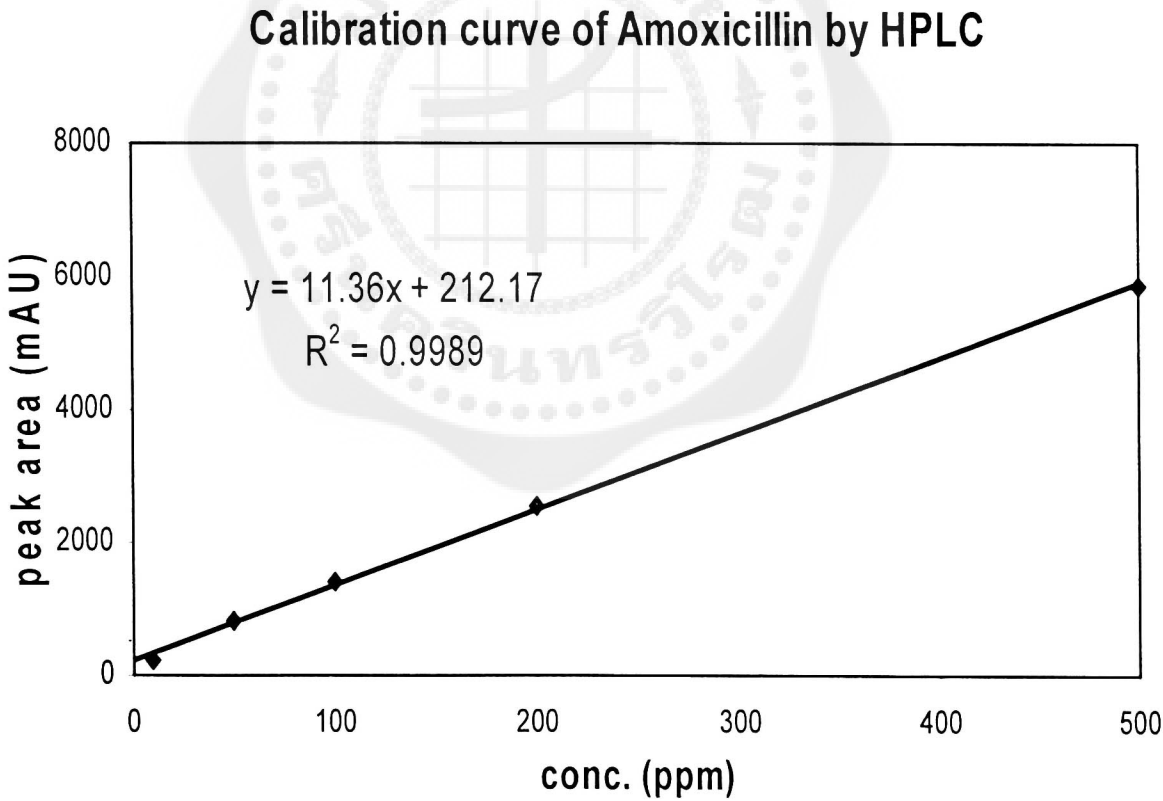
รูปที่ 3 โคโรมาโตแกรมในการหา retention time ของอะม็อกซิซิลลิน ที่มีสภาวะเฟสเคลื่อนที่เป็น PBS : ACN ในอัตราส่วน 90 : 10

จากการทดลองหา retention time ของอะม็อกซิซิลลินที่สภาวะทั้งสองแล้ว พบว่า ที่สภาวะเฟสเคลื่อนที่เป็น PBS : ACN ในอัตราส่วน 96 : 4 อะม็อกซิซิลลินมี retention time เป็น 26.450 นาที ส่วนที่สภาวะเฟสเคลื่อนที่เป็น PBS : ACN ในอัตราส่วน 90 : 10 อะม็อกซิซิลลินมี retention time เป็น 3.470 นาที และลักษณะพิกที่ได้ในการใช้สภาวะเฟสเคลื่อนที่เป็น PBS : ACN ในอัตราส่วน 90 : 10 จะมีลักษณะเป็น sharp peak ที่ค่อนข้างสมบูรณ์ และสามารถวิเคราะห์สารได้อย่างรวดเร็ว

ดังนั้นในการทดลองหาปริมาณของอะม็อกซิซิลลิน จึงเลือกใช้สภาวะเฟสเคลื่อนที่เป็น PBS : ACN ในอัตราส่วน 90 : 10

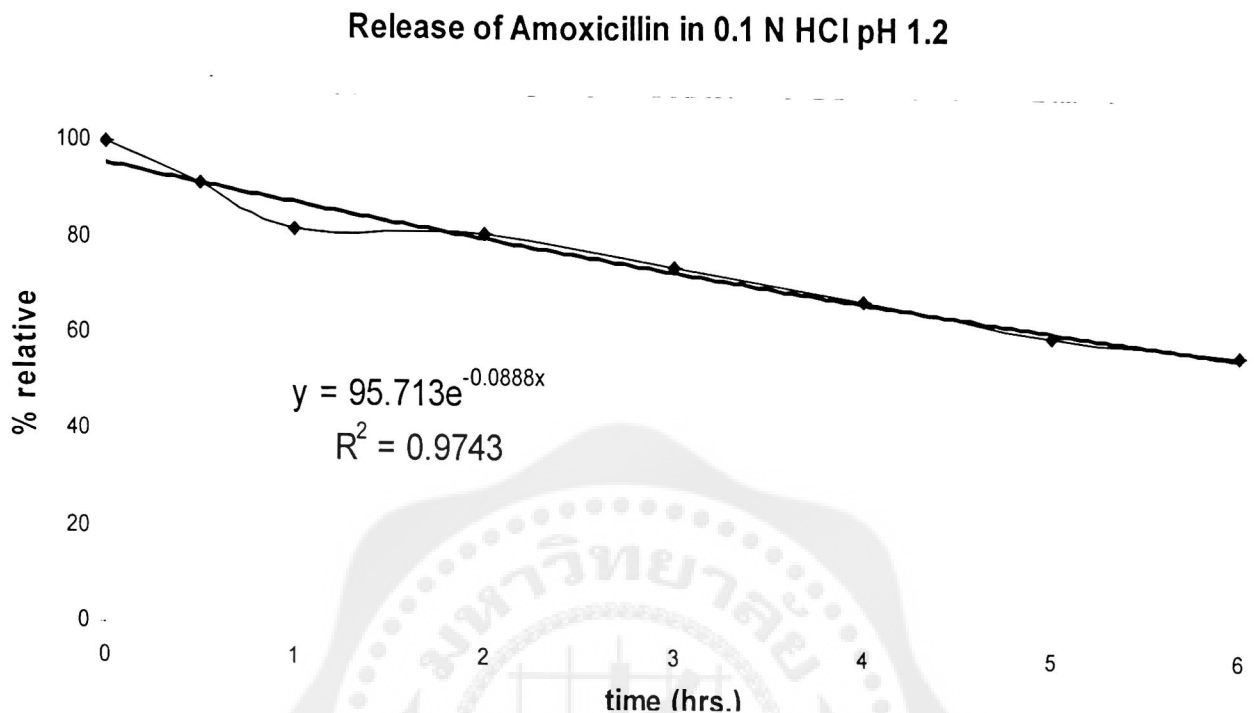
2. การหากราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบหาปริมาณของอะม็อกซิซิลลิน

ในการหาปริมาณของอะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างจากการวิเคราะห์ด้วย HPLC นั้น จะต้องนำอะม็อกซิซิลลินบริสุทธิ์มาทำการวิเคราะห์ด้วย HPLC ที่ ความเข้มข้นต่างๆ แล้วทำการพล็อตกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบหาปริมาณของอะม็อกซิซิลลินในตัวอย่างต่อไป



รูปที่ 4 กราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบหาปริมาณของอะม็อกซิซิลลิน

3. การหาปริมาณการสลายตัวของอะม็อกซิซิลลินที่ pH 1.2



รูปที่ 5 การปลดปล่อยของอะม็อกซิซิลลินใน 0.1 N HCL pH 1.2

เนื่องจากว่า อะม็อกซิซิลลินเป็นสารที่สลายตัวได้ในสภาวะที่เป็นกรด ดังนั้นจึงต้องการหาค่าคงที่การสลายตัวของอะม็อกซิซิลลิน (k_2) แล้วนำไปคำนวณปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่ปลดปล่อยโดยตัดปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวทิ้งไป โดยวิธีการคำนวณทำได้ดังนี้

➤ จากกราฟในการหาปริมาณการสลายตัวของอะม็อกซิซิลลิน จะมีสมการเป็น

$$C = C_0 \quad ; \quad t \leq t_{\text{degradation}}$$

$$C = C_0 e^{-k_2 t} \quad ; \quad t \geq t_{\text{degradation}}$$

เมื่อ C เป็น ปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่เหลืออยู่ในสารละลาย (มิลลิกรัม)

C_0 เป็น ปริมาณอะม็อกซิซิลลินตอนเริ่มต้น (มิลลิกรัม)

k_2 เป็น ค่าคงที่การสลายตัวของอะม็อกซิซิลลิน (ซึ่งสามารถหาได้จากกราฟ)

t เป็น เวลาที่ทำการเก็บสารตัวอย่าง (ชั่วโมง)

➤ จากกราฟการหน่วงการปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลิน ที่ pH จะมีสมการเป็น

$$D = A - C$$

เมื่อ D คือ ปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่ปลดปล่อย (มิลลิกรัม) หาได้จาก
ปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่ปลดปล่อยโดยไม่มีการสลายตัว (มิลลิกรัม)
ลบด้วย ปริมาณอะม็อกซิซิลลินสลายตัวไป (มิลลิกรัม)
 A คือ ปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่ปลดปล่อยโดยไม่มีการสลายตัว (มิลลิกรัม)
 C คือ ปริมาณอะม็อกซิซิลลินสลายตัวไป (มิลลิกรัม)

โดยกราฟจะแบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ

ช่วงที่ยังไม่มีการสลายตัวของอะม็อกซิซิลลิน ได้สมการเป็น

$$D = A_0(1 - e^{-k_1 t}) \quad ; \quad t \leq t_{\text{degradation}}$$

$$D = A_0(1 - e^{-k_1 t}) - (C_0 - C_0 e^{-k_2 t}) \quad ; \quad t \geq t_{\text{degradation}}$$

เมื่อ D คือ ปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่ปลดปล่อย (มิลลิกรัม)

A_0 คือ ปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่ปลดปล่อยออกมามากที่สุด
โดยไม่มีการสลายตัว (มิลลิกรัม)

C_0 คือ ปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่เริ่มต้นก่อนสลายตัว (มิลลิกรัม)

k_1 เป็น ค่าคงที่ของการปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลินโดยไม่มีการสลายตัว

k_2 เป็น ค่าคงที่การสลายตัวของอะม็อกซิซิลลิน

t เป็น เวลาที่ทำการเก็บสารตัวอย่าง (ชั่วโมง)

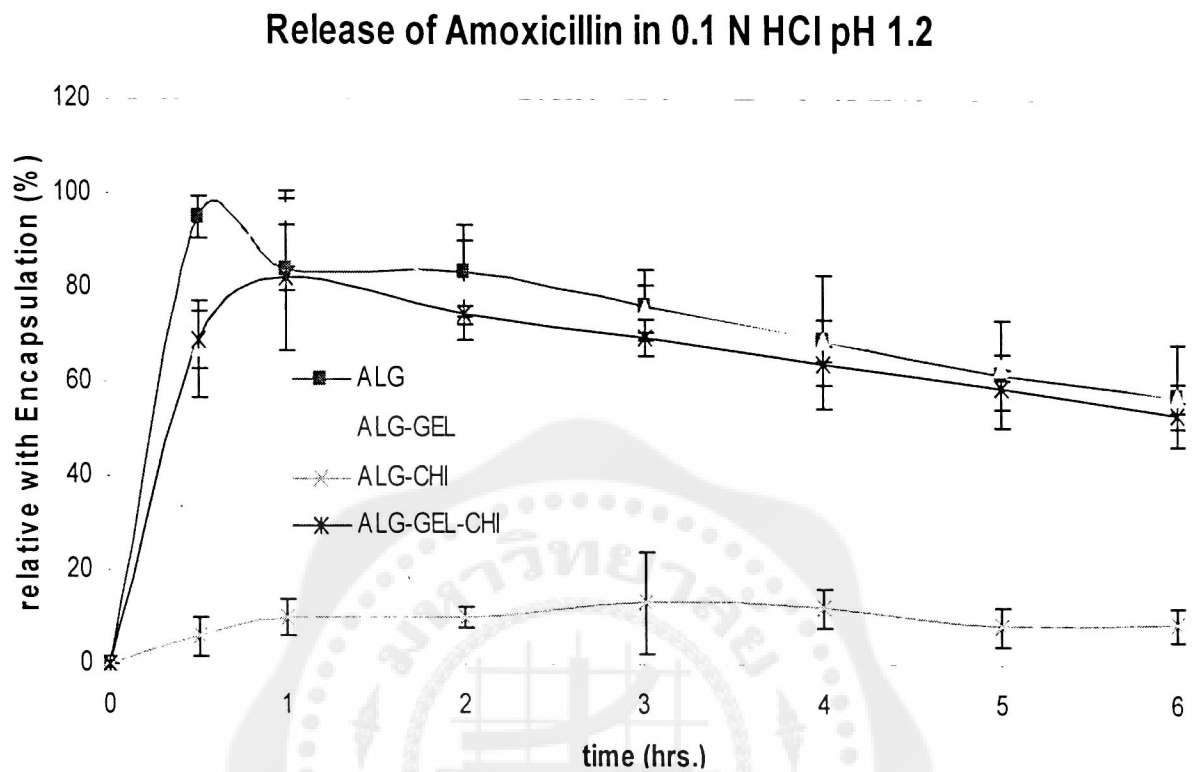
จากการทดลอง จะทราบปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่ปลดปล่อย (D) และจากกราฟ การสลายตัวของอะม็อกซิซิลลินที่ pH 1.2 จะทราบค่าอัตราการสลายตัวของอะม็อกซิซิลลิน (k_2) และปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่เริ่มต้นก่อนสลายตัว (C_0)

จากข้อมูลทั้งหมดที่ทราบค่า สามารถนำมาคำนวณหาปริมาณอะม็อกซิซิลลินที่ปลดปล่อยออกมาโดยไม่มีการสลายตัวของอะม็อกซิซิลลิน (A) ได้จากสมการ

$$A = A_0(1 - e^{-k_1 t}) = D + (C_0 - C_0 e^{-k_2 t})$$

เมื่อได้ค่า A ก็นำไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์กับเวลา จะได้นำกราฟแสดงการหน่วงการปลดปล่อยโดยตัดปัจจัยการสลายตัวออกไป

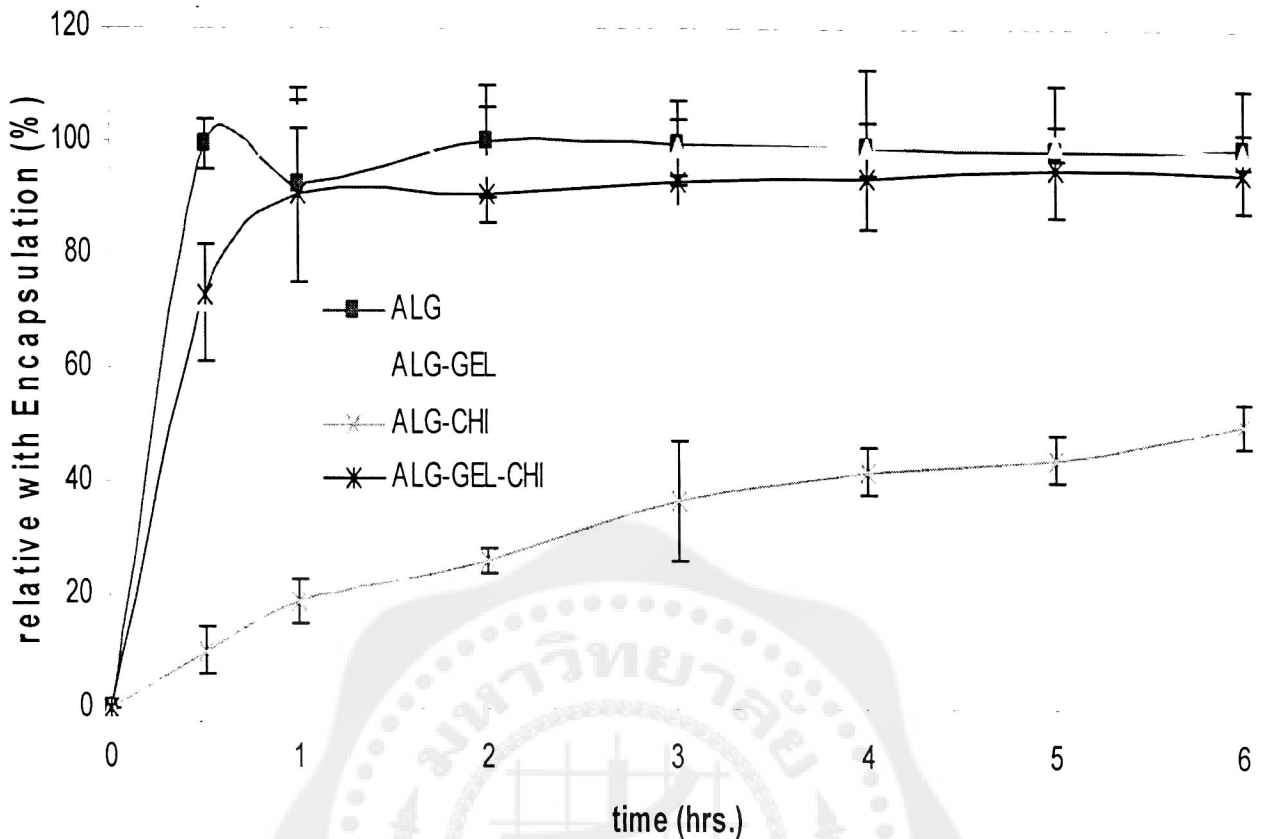
4. ผลการศึกษาการปลดปล่อยยาอะม็อกซิซิลลินที่ pH 1.2



รูปที่ 6 กราฟการปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลินของแคปซูล ที่ pH 1.2 ก่อนการตัดปัจจัยการสลายตัว

จากรูปที่ 6 แสดงการปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลินของแคปซูล ที่ pH 1.2 ก่อนการตัดปัจจัยการสลายตัว แสดงให้เห็นว่าที่เวลา 30 นาที การปลดปล่อยของอะม็อกซิซิลลินจากบีดของ แอลจินต-เจลาติน-ไคโตซาน และ แอลจินต-เจลาติน มีค่าใกล้เคียงกัน คือมี relative % Encapsulation มีค่าใกล้เคียงกันคือประมาณ 70 % ในขณะที่บีดแอลจินต จะปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลินออกมามากกว่า และ บีดแอลจินต-ไคโตซาน มีการปลดปล่อยต่ำสุดคือไม่ถึง 10% จากนั้นที่ 1 ชั่วโมง การปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลินจากบีดแอลจินต-เจลาติน-ไคโตซาน แอลจินต-ไคโตซาน และ แอลจินต-เจลาติน ยังคงเพิ่มขึ้น ในขณะที่ บีดแอลจินต มีการลดลง เมื่อถึง 2 ชั่วโมงบีดทุกชนิดจะมีการปลดปล่อยลดลง

Release of Amoxicillin in 0.1 N HCl pH 1.2



รูปที่ 7 กราฟการปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลินของแคปซูล ที่ pH 1.2 หลังการตัดปัจจัยการสลายตัว

จากรูปที่ 7 แสดงการปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลินของแคปซูล ที่ pH 1.2 หลังการตัดปัจจัยการสลายตัว แสดงให้เห็นว่าที่เวลา 30 นาที การปลดปล่อยของอะม็อกซิซิลลินจากบีดของ แอลจินต-เจลาติน-ไคโตซาน และ แอลจินต-เจลาติน มีค่าใกล้เคียงกัน คือมี relative % Encapsulation มีค่าใกล้เคียงกันคือประมาณ 75 % ในขณะที่บีดแอลจินต จะปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลินออกมามากกว่า และ บีดแอลจินต-ไคโตซาน มีการปลดปล่อยต่ำสุดคือประมาณ 10% จากนั้นที่ 1 ชั่วโมง การปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลิน จากบีดแอลจินต-เจลาติน-ไคโตซาน แอลจินต-ไคโตซาน และ แอลจินต-เจลาติน ยังคงเพิ่มขึ้น ในขณะที่ บีดแอลจินต มีการลดลง เมื่อถึง 2 ชั่วโมงการปลดปล่อยอะม็อกซิซิลลิน จากบีดแอลจินต-เจลาติน-ไคโตซาน แอลจินต-ไคโตซาน และ แอลจินต-เจลาติน จะมีการปลดปล่อยที่คงที่ในขณะที่ บีดแอลจินต-ไคโตซาน ยังคงมีการปลดปล่อยอย่างช้าๆไปจนถึงเวลา 6 ชั่วโมง

ในส่วนแรกของงานวิจัยได้มีการเตรียมบีดชนิดต่าง ๆ กล่าวคือ บีดแอลจินต (ALG), บีดแอลจินต-เจลาติน (ALG-GEL), บีดแอลจินต-ไคโตซาน (ALG-CHI) และบีดแอลจินต-เจลาติน-ไคโตซาน (ALG-GEL-CHI) ทั้งนี้การเตรียมบีดดังกล่าวเป็นการเตรียมแบบ suspension คือ ไม่มีการละลายยาก่อนผสมลงในสารละลายพอลิเมอร์ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า %encapsulation ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ

ต่อมารการทดลองนี้ จึงได้มีการเปลี่ยนวิธีการเตรียมบีดแบบใหม่ คือ การเตรียมแบบ solution ซึ่ง จะทำการละลายยาก่อนที่จะผสมลงในสารละลายพอลิเมอร์ และจากผลการทดลองพบว่า บีดที่เตรียมได้ ให้ %encapsulation ที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงผลในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบ %encapsulation ระหว่างบีดที่เตรียมแบบวิธี suspension กับบีดที่เตรียมแบบ solution

Formulation	%encapsulation	
	Suspension method	Solution method
ALG	60.88±0.86	77.62±2.75
ALG-GEL	74.59±2.74	77.33±0.93
ALG-CHI	58.53±2.46	89.24±0.54
ALG-GEL-CHI	73.62±2.75	92.86±1.50

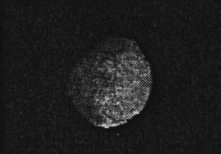
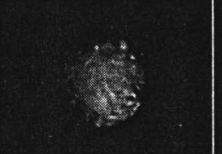
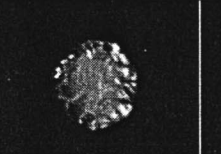
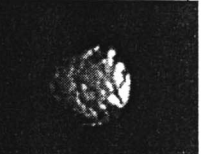
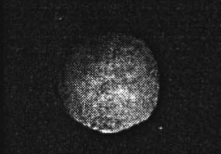
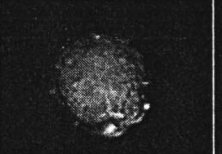
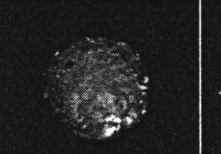
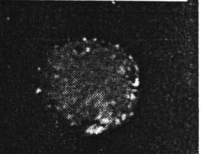
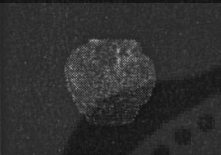
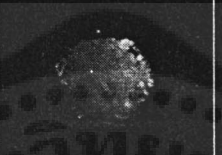
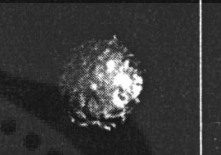
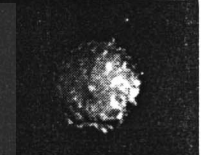
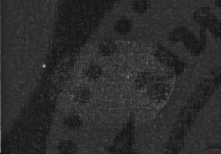
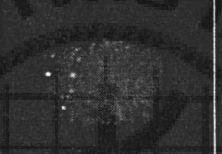
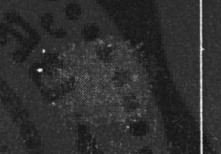
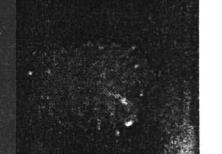
จากผลการทดลองข้างต้น จะเห็นว่าบีดที่มีการเตรียมแบบ solution ให้ผลการกักเก็บยาที่ดีกว่าบีดที่เตรียมแบบ suspension อย่างเห็นได้ชัด ดังนั้นจึงเลือกใช้บีดที่เตรียมได้ใหม่นี้ทำการศึกษาคุณสมบัติด้านอื่น ๆ ต่อไป

5. การศึกษาการบวมตัวของบีค

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์การบวมตัวของบีค

Time (min)	Swelling ratio (%)			
	ALG	ALG-GEL	ALG-CHI	ALG-GEL-CHI
0	0	0	0	0
5	3.72±0.75	3.95±1.08	6.73±2.48	8.67±0.38
10	3.72±0.75	6.97±0.82	7.80±1.76	11.55±2.07
30	4.26±0.00	7.91±2.16	9.22±2.33	11.95±2.64
60	4.26±0.00	8.38±2.82	9.22±2.33	11.95±2.64
120	4.26±0.00	8.38±2.82	8.87±1.78	11.95±2.64
180	4.26±0.00	8.38±2.82	8.87±1.78	11.95±2.64
240	4.26±1.50	8.38±2.82	8.87±1.78	11.95±2.64
300	4.26±1.50	8.38±2.82	8.87±1.78	11.55±2.07
360	4.26±1.50	8.38±2.82	8.87±1.78	11.14±1.49
1440	4.26±1.50	8.38±2.82	8.87±1.78	11.14±1.49

ตารางที่ 3 แสดงรูปตัวอย่างการบวมตัวของบีดชนิดต่างๆ

Formulation	Immersion Time (min)			
	0	10	240	1440
ALG				
ALG-GEL				
ALG-CHI				
ALG-GEL-CHI				

6. การศึกษาคุณสมบัติการลอยตัวของบีค

ตารางที่ 4 แสดงค่าความสามารถในการลอยตัวของบีคชนิดต่าง ๆ

Time (min)	Buoyancy (%)			
	ALG	ALG-GEL	ALG-CHI	ALG-GEL-CHI
0	100	100	100	100
5	44.33±8.50	43.67±10.21	91.00±5.00	75.33±14.29
10	44.33±9.45	45.67±14.01	91.00±6.56	77.67±15.18
30	42.33±11.68	44.00±12.77	94.00±2.65	76.33±14.29
60	43.00±11.53	40.00±8.89	93.00±2.65	74.33±13.05
120	42.33±12.06	36.67±7.57	90.33±7.37	73.33±13.05
180	41.33±11.68	34.67±7.77	89.67±7.09	72.67±13.87
240	41.00±12.53	32.67±6.66	89.33±7.64	73.05±13.45
300	41.00±12.12	32.33±6.43	89.33±7.64	73.33±13.05
360	41.00±12.12	31.33±5.51	89.33±7.64	72.67±13.87
1440	41.67±12.01	30.67±4.93	89.00±7.55	71.67±13.87

จากผลการทดลองพบว่า ความสามารถในการลอยตัวอยู่ในสารละลายกรดไฮดรอกลอริก pH 1.2 เรียงจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ ALG-CHI > ALG-GEL-CHI > ALG > ALG-GEL ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่า บีคที่เตรียมโดยมีการเคลือบด้วยชั้นไคโตซานจะสามารถลอยตัวในสารละลายได้นานกว่าบีคที่ไม่มีการเคลือบด้วยไคโตซาน เนื่องจากชั้นของไคโตซานที่เคลือบอยู่บริเวณผิวนอกโดยรอบของบีคจะช่วยกักเก็บฟองอากาศที่อยู่ในบีคได้ดีทำให้บีคสามารถลอยอยู่ในสารละลายได้นานขึ้น และจากผลการทดลองจะพบได้อีกว่า บีคที่มีส่วนผสมของเจลาตินจะให้ประสิทธิภาพในการลอยตัวลดน้อยลง สาเหตุเป็นเพราะเจลาตินเป็น hydrophilic substance ที่มีสมบัติด้าน water-absorbing ability, water-holding ability บีคจึงสามารถดูดซับสารละลายเข้าไปได้ดี ทำให้น้ำหนักบีคเพิ่มมากขึ้นจนจมลงในที่สุด

7. การศึกษาคุณสมบัติด้านการเกาะติดเยื่อเมือกในกระเพาะอาหาร

ตารางที่ 5 แสดงค่าความสามารถในการเกาะติดเยื่อเมือกในกระเพาะอาหารของบีดชนิดต่าง ๆ

Formulation	Percent of beads remaining (%)
ALG	75.33±2.10
ALG-GEL	78.33±4.00
ALG-CHI	85.67±2.50
ALG-GEL-CHI	96.00±3.60

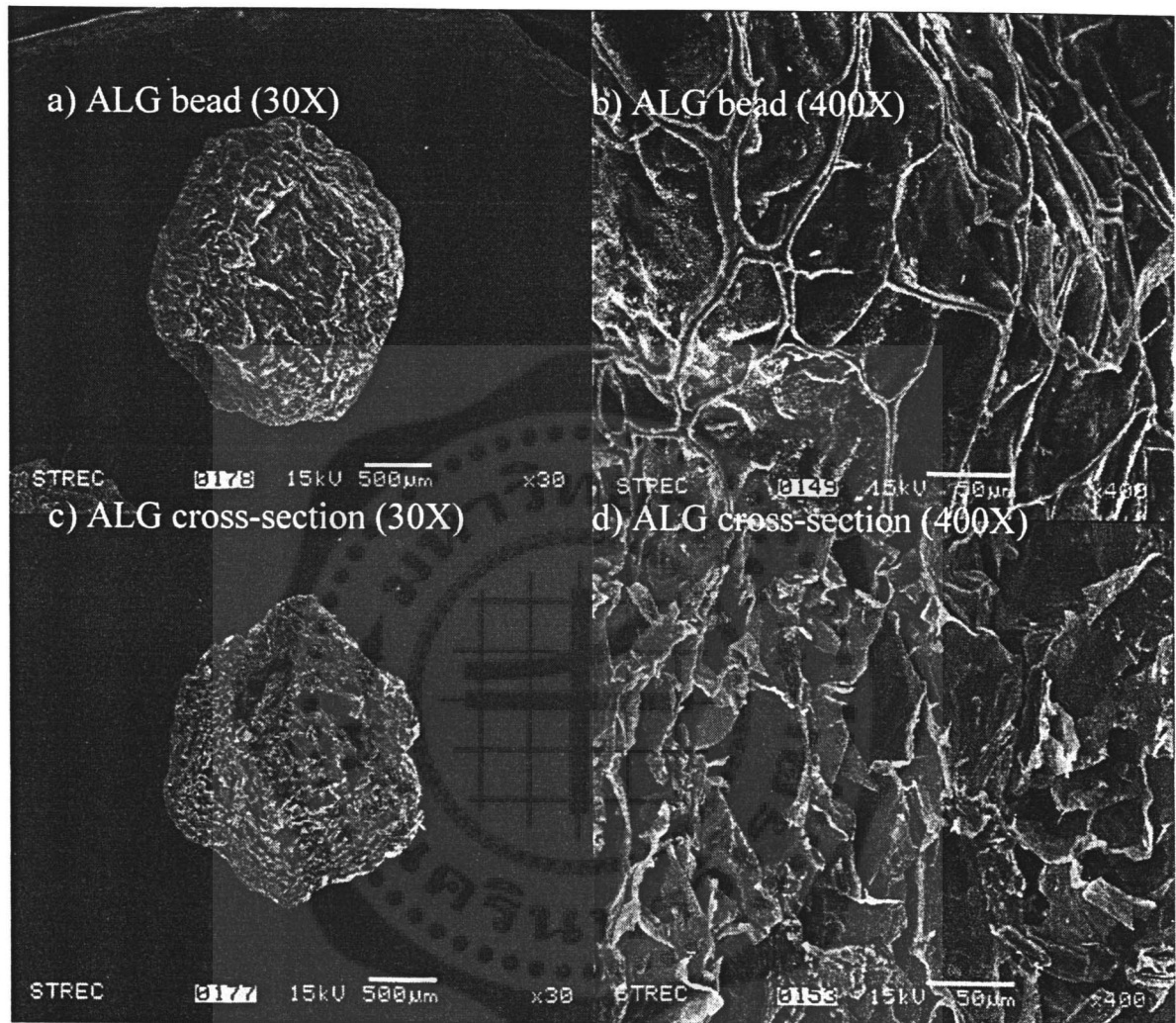
จากผลการทดลอง จะเห็นว่าคุณสมบัติในการเกาะติดเยื่อเมือกในกระเพาะอาหารให้ผลที่สอดคล้องกับผลการศึกษการบวมตัวของบีด คือ $ALG-GEL-CHI > ALG-CHI > ALG-GEL > ALG$

เนื่องจาก มีทฤษฎีมากมายที่อธิบายถึงกลไกในการเกาะติดเยื่อเมือก เช่น

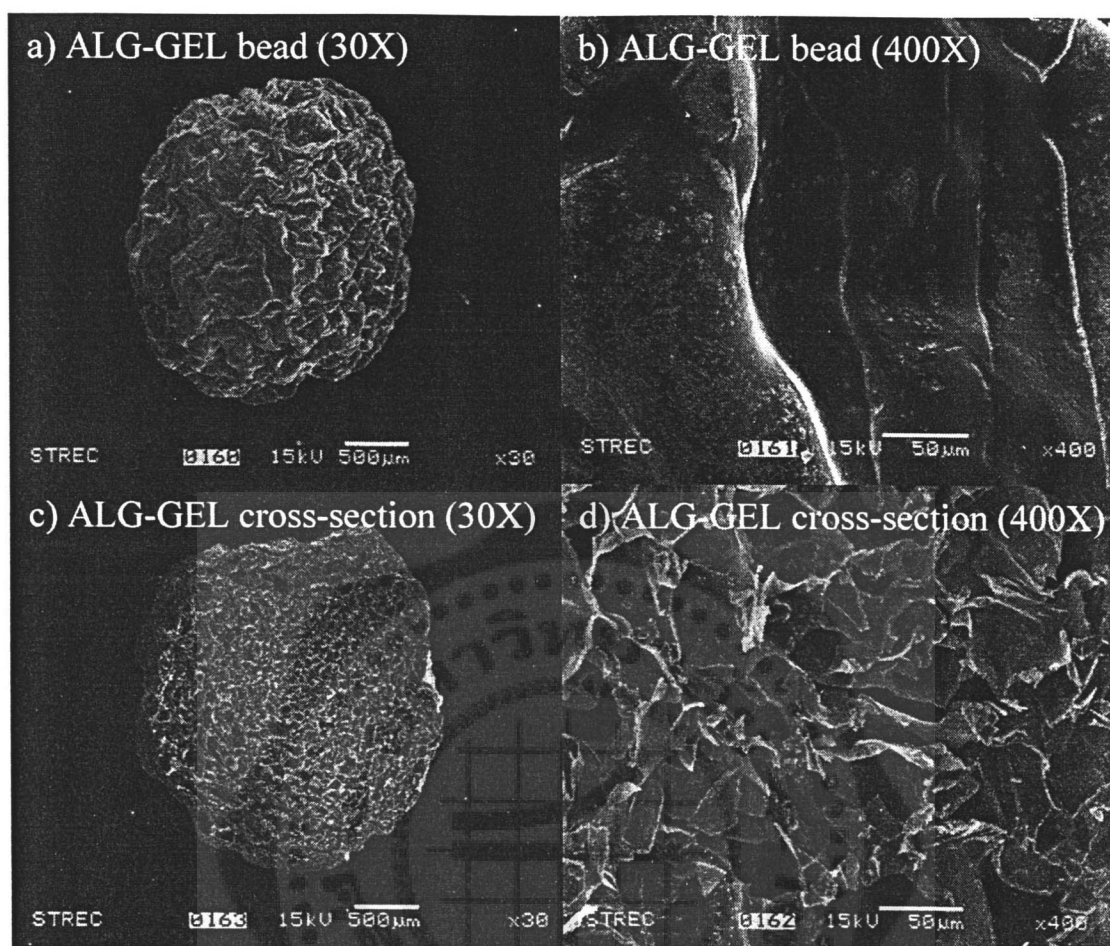
- Electronic theory คือ การเกิด Electrostatic interaction ระหว่าง glycoprotein mucin network กับ mucoadhesive material
- Wetting theory คือ ความสามารถของ mucoadhesive polymer ที่จะแพร่กระจาย (spread) สัมผัสกับ mucus membrane
- Diffusion theory คือ การพันกัน (entanglement) ของสายพอลิเมอร์กับเส้นใย mucin และ การแผ่ซึม (interpenetration) ของเส้นใย music เข้าสู่ porous structure ของพอลิเมอร์

จากผลการทดลองพบว่า บีดที่มีการบวมตัวที่ดีกว่าก็จะสามารถเกิดการเกาะติดเยื่อเมือกในกระเพาะอาหารได้ดีกว่า ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎี Wetting theory และ Diffusion theory ประกอบกับ บีดที่มีการเคลือบด้วยชั้นไคโตซาน ซึ่งเป็น positively charged polymer จะสามารถเกาะติดกับเยื่อเมือกได้ดี เนื่องจาก glycoprotein mucin network มีสมบัติเป็น negative charge ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎี Electronic theory

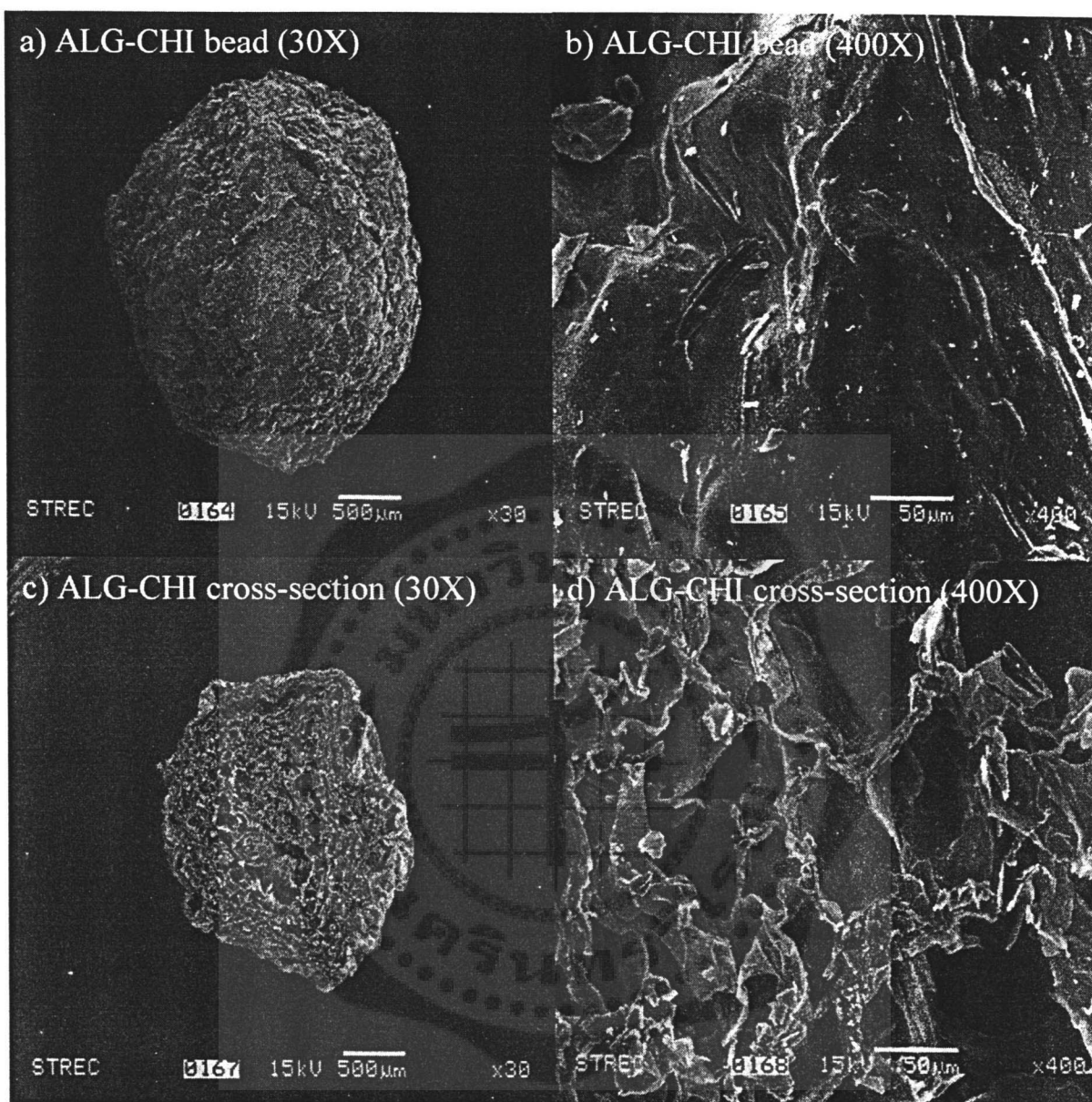
8. การศึกษาลักษณะของปัดด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM)



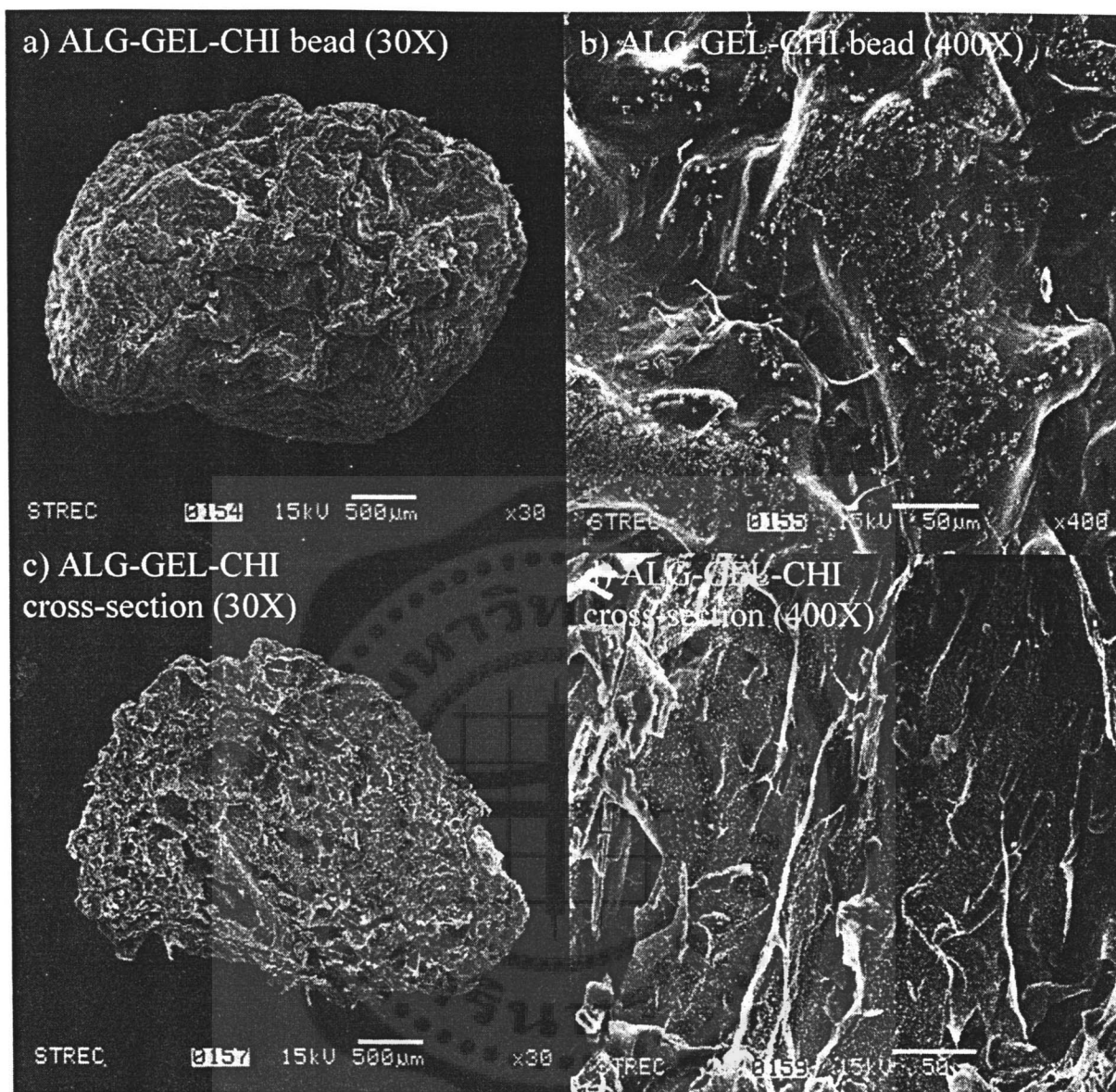
รูปที่ 8 รูปถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของปัด ALG



รูปที่ 9 รูปถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของบีต ALG-GEL



รูปที่ 10 รูปถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของบีด ALG-CHI



รูปที่ 11 รูปถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของปัด ALG-GEL-CHI

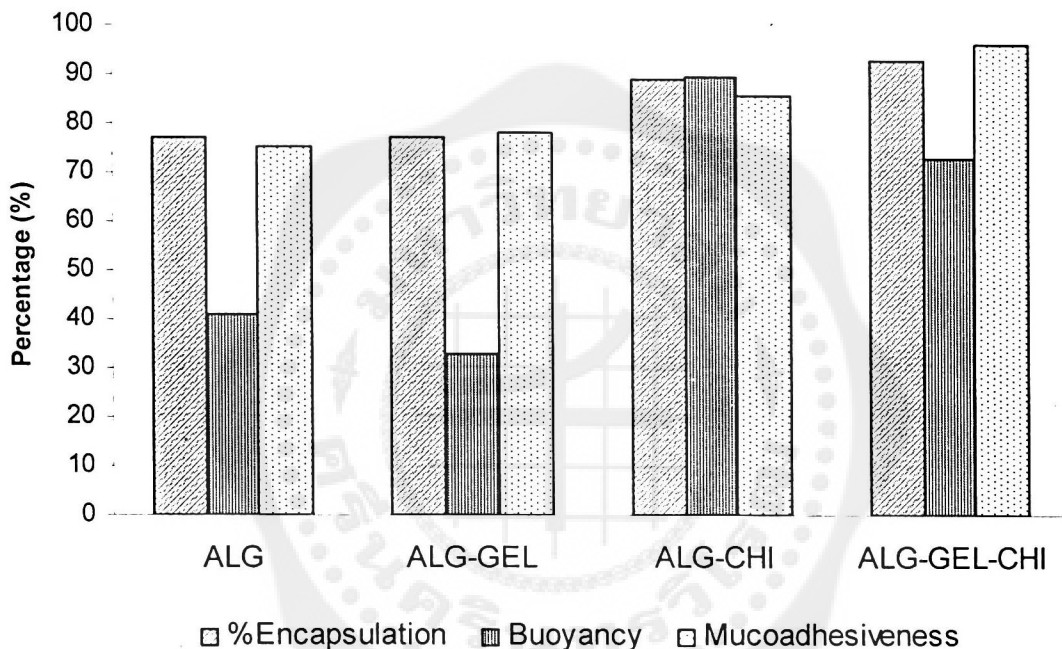
จากผลการวิเคราะห์ลักษณะของบีดด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) พบว่า เมื่อทำการขยายภาพขนาด 30 เท่า (รูปที่ 1a, 2a 3a และ 4a) ลักษณะโครงสร้างภายนอกของบีดในทุก formulation จะมีลักษณะผิวที่ค่อนข้างขรุขระ ไม่เรียบ ทั้งนี้เนื่องจากบีดเกิดการหดตัว (shrink) ระหว่างกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze-dry) และเมื่อทำการขยายภาพเพื่อสังเกตลักษณะพื้นผิวที่ความละเอียด 400 เท่า พบว่า ALG (รูปที่ 1b) มีลักษณะการยุบตัวของโครงสร้างภายนอกอย่างเห็นได้ชัด ในขณะที่บีดที่มีการเติมเจลาตินหรือมีการเคลือบด้วยสารละลายไคโตซาน ซึ่งได้แก่ ALG-GEL (รูปที่ 2b), ALG-CHI (รูปที่ 3b) และ ALG-GEL-CHI (รูปที่ 4b) พบว่า ลักษณะพื้นผิวของบีดดังกล่าว มีความเรียบมากขึ้น ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่า เจลาตินมีส่วนช่วยในการเชื่อมโครงสร้างของแอลจินัตด้วยพันธะไอออนิก (ionic interaction) เนื่องจาก เจลาตินที่ใช้ในการทดลองมี isoelectric point อยู่ระหว่าง pH 4-6 (นั่นคือ หากสารละลายมี pH อยู่ระหว่าง 4 ถึง 6 จะทำให้เจลาตินมีประจุรวมเป็นศูนย์ หรือมีประจุบวกเท่ากับประจุลบนั่นเอง) ซึ่งในการทดลองสารละลายแอลจินัตที่ใช้มี pH เท่ากับ 6 จึงทำให้เจลาตินอยู่ในรูปที่มีทั้งประจุบวกและลบ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า ประจุบวกของเจลาตินจะเกิด ionic interaction กับประจุลบของแอลจินัต ส่งผลให้บีดมีลักษณะพื้นผิวที่เรียบขึ้น ในส่วนของไคโตซานซึ่งเตรียมโดยการละลายในกรดอะซิติก 1% (v/v) และใช้เป็น coagulant นั้น ไคโตซานจะมีประจุเป็นบวก ซึ่งสามารถเกิด ionic interaction กับแอลจินัตซึ่งมีประจุเป็นลบ จึงทำให้พื้นผิวของบีดมีลักษณะเรียบขึ้นได้

เมื่อพิจารณาลักษณะของบีดแบบตัดขวาง (cross-section) ด้วยภาพขยายขนาด 30 เท่า (รูปที่ 1c, 2c, 3c และ 4c) พบว่า ลักษณะภายในของบีดทุก formulation จะมีลักษณะเป็นโพรงขนาดต่างๆกันกระจายอยู่โดยทั่วไป ซึ่งลักษณะเช่นนี้สามารถพบได้เมื่อมีการทำแห้งบีดแบบเยือกแข็ง นอกจากนี้จากภาพตัดขวาง จะสามารถสังเกตได้ว่า บีดที่มีการเคลือบด้วยสารละลายไคโตซาน (รูปที่ 3c และ 4c) จะมีลักษณะขอบที่หนากว่าบีดที่ไม่มีการเคลือบด้วยสารละลายไคโตซาน และเมื่อทำการขยายภาพที่ความละเอียด 400 เท่า พบว่า ลักษณะภายในของบีดมีลักษณะเป็นโพรง ซึ่งคล้าย ๆ กันในทุก formulation แต่พบว่าในบีดของ ALG-CHI และ ALG-GEL-CHI จะมีการกระจายตัวของยาที่ค่อนข้างหนาแน่นกว่าบีด ALG และ ALG-GEL ซึ่งสอดคล้องกับผลของ %encapsulation ที่หาได้

บทที่ 4

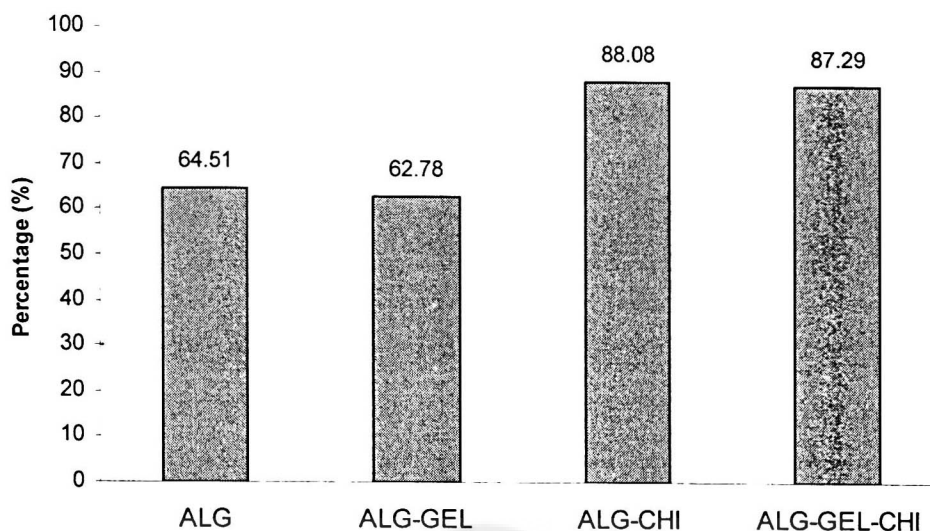
สรุปผล และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของบีด ซึ่งประกอบด้วย 1) ประสิทธิภาพในการกักเก็บยา 2) สมบัติการลอยตัวของบีด และ 3) สมบัติด้านการเกาะติดเยื่อเมือกในกระเพาะอาหาร สามารถนำมาสรุปเป็นกราฟได้ดังนี้



รูปที่ 12 แสดงเปอร์เซ็นต์ในสมบัติด้านต่าง ๆ ของบีดแต่ละชนิด

จากรูปที่ 12 จะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บยา และสมบัติการยึดติดกระเพาะอาหารของบีด ALG-GEL-CHI จะดีที่สุดคือมีค่าประมาณ 90% ในขณะที่บีดชนิดอื่นจะมีประสิทธิภาพในการกักเก็บยาและสมบัติการยึดติดกระเพาะอาหาร ค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตามบีด ALG-CHI มีคุณสมบัติการลอยตัวที่ดีที่สุด และรองลงมาคือบีด ALG-GEL-CHI บีด ALG และ บีด ALG-GEL มีคุณสมบัติทั้งสามที่ต่ำกว่าบีดที่มีการผสมไคโตซาน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า บีดที่มีส่วนประกอบของไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพทั้งสมบัติในการกักเก็บยา สมบัติการลอยตัว และสมบัติการยึดติดเยื่อเมือกกระเพาะอาหาร



รูปที่ 13 แสดงเปอร์เซ็นต์โดยเฉลี่ยของสมบัติด้านต่าง ๆ ของบีดแต่ละชนิด

จากการประเมินผลการทดลองการศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของบีดแต่ละชนิด ดังแสดงในกราฟที่ 2 พบว่า บีดแอลจินต-ไคโตซาน (ALG-CHI) และ บีดแอลจินต-เจลาติน-ไคโตซาน (ALG-GEL-CHI) ให้ผลการทดลองที่ดีที่สุด ดังนั้นในการปรับสัดส่วนผสมเพื่อหาค่าประกอบของบีดที่เหมาะสมที่สุดนั้น จึงควรที่จะเลือกบีดทั้งสองชนิดนั้นมาทำการศึกษาต่อไป

บรรณานุกรม

1. P.M. dela Torre, Y. Enobakhare, G. Torrado, S. Torrado, 2003. Release of amoxicillin from polyionic complexes of chitosan and poly(acrylic acid). Study of polymer/polymer and polymer/drug interactions within the network structure. *Biomaterials*, 24, 1499-1506.
2. M.L. Huguet, R.J. Neufeld, E. Dellacherie, 1996. Calcium-Alginate Beads Coated with Polycationic Polymers: Comparison of Chitosan and DEAE-Dextran. *Process Biochemistry*, 31, 347-353.
3. X.Z. Shu, K.J. Zhu, 2000. A novel approach to prepare tripolyphosphate/chitosan complex beads for controlled release drug delivery. *Int. J. Pharm.*, 201, 51-58.
4. C.C. Leffler, B.W. Müller, Influence of the acid type on the physical and drug liberation properties of chitosan-gelatin sponges. *Int. J. Pharm.*, 194, 229-237.
5. L. Whitehead, J.H. Collett, J.T. Fell, 2000. Amoxicillin release from a floating dosage form based on alginates. *Int. J. Pharm.*, 210, 45-49.
6. K. Wang, Z. He, 2002. Alginate-konjac glucomannan-chitosan beads as controlled release matrix. *Int. J. Pharm.*, 244, 117-126.
7. P.F. Almeida, A.J. Almeida, 2004. Cross-linked alginate-gelatine beads: a new matrix for controlled release of pindolol. *J. Controlled Release*, 97, 431-439.
8. A.K. Anal, W.F. Stevens, 2005. Chitosan-alginate multilayer beads for controlled release of ampicillin. *Int. J. Pharm.*, 290, 45-54.
9. Z. Liu, W. Lu, L. Qian, X. Zhang, P. Zeng, J. Pan, 2005. In vitro and in vivo studies on mucoadhesive microspheres of amoxicillin. *J. Controlled Release*, 102, 135-144.
10. P. He, S.S. Davis, L. Illum, 1998. In vitro evaluation of the mucoadhesive properties of chitosan microspheres. *Int. J. Pharm.*, 166, 75-88.

ประวัติย่อผู้วิจัย

1. ชื่อ ศพ.ญ. ดร. นลินา ประไพรัชสิทธิ์

Dr. Nalena Praphairaksit (Lesiuk)

2. การทำงาน

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ระดับ 7 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ประธานมิตร

ที่ทำงาน และสถานที่ตั้ง

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประธานมิตร

สุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110

โทรศัพท์ 02-6641000 ต่อ 8101

โทรสาร 02-2600127

e-mail nalena@swu.ac.th

3. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี สาขาวิชา สัตวแพทยศาสตร์ สถาบัน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่สำเร็จ 2538

ปริญญาเอก สาขาวิชา Neuroscience สถาบัน Iowa State University

ปีที่สำเร็จ 2543

หัวข้อวิทยานิพนธ์ที่ทำ Physiological and Developmental gradients in aquatic Oligochaete,
Lumbriculus variegatus

4. สาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง (ตอบได้มากกว่า 1) ประสาทสรีรวิทยา พืชวิทยาสิ่งแวดล้อม การควบคุมการปลดปล่อยยา

5. รางวัลและทุน:

1. Royal Thai Government Scholarship: For Ph.D. studying at Iowa State University, Iowa U.S.A.

during 1995-2000 .

2. Teaching excellence award : Iowa State University U.S.A

3. ทุนนักวิจัยรุ่นใหม่ สกว.

4. ทุนวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ มศว

6. ประสบการณ์งานวิจัย

1) หัวหน้าโครงการวิจัย:

I. ชื่อโครงการ: โครงการผลกระทบของยากำจัดศัตรูพืชที่อาจก่อให้เกิดโรคพาร์คินสัน ต่อสิ่งมีชีวิตที่พบในระบบนิเวศน์ทางน้ำ โดยใช้สิ่งมีชีวิตเป็นเครื่องมือทดสอบ

II. ชื่อโครงการ: การศึกษาการปลดปล่อยของยาอะม็อกซิซิลินจากบีดแอลจีเนต-ไคโตซานที่เตรียมโดยวิธี Tray dried

2) ผู้ร่วมวิจัย:

I. ชื่อโครงการ: สภาวะที่เหมาะสมในการควบคุมการปลดปล่อยยาของไคโตซาน

II. ชื่อโครงการ: การปลดปล่อยแบบควบคุมของโซเดียมไคโกลไฟแนคจากบีดไคโตซานและคาร์แรจเจน

III. ชื่อโครงการ: การปลดปล่อยแบบควบคุมของยาอะม็อกซิซิลินจากบีดแอลจีเนต-เจลาติน-ไคโตซาน

IV. ชื่อโครงการ: การปลดปล่อยแบบควบคุมของโซเดียมไคโกลไฟแนคจากบีดไคโตซานที่เชื่อมขวางด้วยไตรโพลิฟอสเฟต

7. ผลงานเผยแพร่และตีพิมพ์

1. Lesiuk NM & Drewes CD, 2001. Behavioral plasticity and central regeneration of locomotor reflexes in the freshwater oligochaete, *Lumbriculus variegatus* I: Transection studies, *Journal of Invertebrate Biology*, 120(3): 248-258.
2. Lesiuk NM & Drewes CD, 2001. Behavioral plasticity and central regeneration of locomotor reflexes in the freshwater oligochaete, *Lumbriculus variegatus* II: Ablation studies, *Journal of Invertebrate Biology*, 120(3): 259-268.
3. Lesiuk NM & Drewes CD, 1999. Autotomy reflex in a freshwater oligochaete, *Lumbriculus variegatus* (Clitellata Lumbriculidae), *Hydrobiologia*. 406: 253-261.
4. Lesiuk NM & Drewes CD, 1999. Blackworms, Blood vessel pulsations & Drug effects. *The American Biology Teacher*. 61 (1): 48-53.
5. Praphairaksit NM and Klywong K. 2005. The Controlled Release of Diclofenac Sodium from Chitosan-Diclofenac Bead. *Proceedings of 31st Congress on Science and Technology of Thailand*.
6. Praphairaksit NM, Piyakulawat P and Muangsin N. 2005. Preparation and Study of the Controlled Release of Sodium Diclofenac from Biodegradable Polymer Beads. *วารสารไทยเภสัชสาร*. 74.
7. นลินา ประไพรัชสิทธิ์ 2549. จะตรวจคลื่นเอได้อย่างไร. *วารสารศูนย์เครื่องมือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย*. (in press).
8. นลินา ประไพรัชสิทธิ์ 2549. The Chemical of Love. *วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ มศว*. (in press)