

การพัฒนาระบบนำส่งยาแบบไมโครพาร์ติเคิลจากพอลิเมอร์ชีวภาพจีน



ปริญญานิพนธ์
ของ
เดชบดี ด้วงศาลเจ้า

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์

กรกฎาคม 2558

การพัฒนาระบบนำส่งยาแบบไมโครพาร์ติเคิลจากพอลิเมอร์ชีวภาพจีน



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์

กรกฎาคม 2558

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การพัฒนาระบบนำส่งยาแบบไมโครพาร์ติเคิลจากพอลิเมอร์ชีวภาพจีน



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์

มิถุนายน 2558

เดชบดี ค้างศาลเจ้า. (2558). การพัฒนาระบบนำส่งยาแบบไมโครพาร์ทิเคิลจากจีน.

ปริญญาณพนธ์ วท.ม.(วิทยาการเภสัชภัณฑ์). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย

ศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม: ดร.ภญ.ดวงรัตน์ ชูวิสิฐกุล,

ผศ.ดร.ภญ. ภัทราวดี บุรณตระกูล

ยาเตรียมในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิลสามารถนำมาใช้ควบคุมการปลดปล่อยยาทั้งระบบนำส่งยาทางปากและทางผิวหนังได้ โดยสารที่นำมาใช้ควรเป็นสารที่เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อร่างกาย ซึ่งจีนเป็นโปรตีนที่มีสมบัติดังกล่าวจึงเหมาะแก่การนำมาพัฒนาเป็นระบบนำส่งยา ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะพัฒนาวิธีเตรียมจีนไมโครพาร์ทิเคิล เพื่อให้เกิดระบบนำส่งยาแบบไมโครพาร์ทิเคิลที่ควบคุมการปลดปล่อยยา และเพื่อศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงตัวแปรต่างๆ ในกระบวนการเตรียมต่อคุณลักษณะพิเศษของจีนไมโครพาร์ทิเคิล โดยเตรียมจีนไมโครพาร์ทิเคิลด้วยวิธีโคเอเซอร์เวชัน และศึกษาขนาด รูปร่างของจีนไมโครพาร์ทิเคิลที่เตรียมได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราด และเครื่องวัดขนาดอนุภาคด้วยการกระเจิงแสง ศึกษาผลของตัวยาต้นแบบ (ซัลฟาไทอะโซลและลิโดเคน) ต่อการเก็บกักยาและการปลดปล่อยยาจากจีนไมโครพาร์ทิเคิล จากการศึกษาพบว่า อัตราส่วนของตัวยาละลายมีผลต่อขนาดของจีนไมโครพาร์ทิเคิล เมื่อเติมน้ำซึ่งเป็นตัวที่ไม่ละลาย เพิ่มขึ้นจะได้จีนไมโครพาร์ทิเคิลที่มีขนาดเล็กลง แต่อัตราส่วนของตัวยาละลายไม่ได้มีผลต่อรูปร่างของจีนไมโครพาร์ทิเคิล การใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย ในการทำแห้งจีนไมโครพาร์ทิเคิลโดยการเติมโซเดียมลอริลซัลเฟตมีผลทำให้ประจุผิวของจีนไมโครพาร์ทิเคิลเปลี่ยนจากประจุบวกเป็นประจุลบ การเพิ่มความเข้มข้นของ SLS ช่วยเพิ่มปริมาณของผงแห้งและเพิ่มขนาดของจีนไมโครพาร์ทิเคิล ที่ความเข้มข้นโซเดียมลอริลซัลเฟต 0.02 โมล จะได้จีนไมโครพาร์ทิเคิลที่มีขนาดอนุภาคใหญ่ที่สุด แต่ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมลอริลซัลเฟตมากกว่า 0.02 โมล จะทำให้จีนไมโครพาร์ทิเคิลมีขนาดเล็กลง เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของปริมาณตัวยาต้นแบบต่อปริมาณจีนในตำรับจะทำให้ตัวยาต้นแบบสามารถเข้าไปในไมโครพาร์ทิเคิลได้มากขึ้น ตัวยาต้นแบบที่มีประจุลบ (ซัลฟาไทอะโซล) ให้ประสิทธิภาพการกักเก็บยาที่สูงกว่าตัวยาต้นแบบที่มีประจุบวก (ลิโดเคน) นอกจากนี้ตัวยาต้นแบบที่มีประจุลบปลดปล่อยออกมาจากจีนไมโครพาร์ทิเคิลสูงกว่า ดังนั้น วิธีการเตรียมจีนไมโครพาร์ทิเคิลด้วยตัวแปรที่แตกต่างกันทำให้เกิดจีนไมโครพาร์ทิเคิลที่มีขนาดต่างกัน ตัวยาที่มีประจุต่างกันส่งผลต่อประสิทธิภาพการกักเก็บยาและการปลดปล่อยยาออกจากจีนไมโครพาร์ทิเคิล จึงควรมีการพัฒนาจีนไมโครพาร์ทิเคิลต่อไปเพื่อให้เกิดระบบนำส่งยาแบบควบคุมและปลดปล่อยยาได้ตามต้องการ

DEVELOPMENT OF ZEIN BASED MICROPARTICLES FOR DRUG DELIVERY SYSTEM



Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master of Science in Pharmaceutical Product Development
at Srinakharinwirot University

July 2015

Dechbordee Doungsanjao. (2014). *Development of zein biopolymers vased microparticles for drug delivery systems..* Master thesis, M.S. (Pharmaceutical Product Development). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Duangratana Shuwisitkul Ph.D., Patravadee Buranatrakul Ph.D.

Microparticles is a drug delivery system for controlling drug release. Zein is a natural protein. It shows biocompatibility, therefore it is an attractive alternative for the preparation of microparticles. The main objective of this study was to develop zein microparticles. The effects of processing parameters on properties of zein microparticles were investigated. Zein microparticles were prepared by simple coacervation. Microparticles were then characterized by a scanning electron microscope and a laser light scattering particle size analyzer. Encapsulation efficiency and drug release of two model drugs (sulfathiazole and lidocaine) was also studied. It was found that the ratio between the solvent (ethanol) and the non-solvent (water) affected the particle size of the zein microparticles. An increase in final ethanol concentration as a decrease in volume of added water led to an increase in particle sizes. The effect of the solvent ratio on the particle morphology of zein microparticles was not found. For using the spray drying as a drying method, the addition of SLS resulted in change of ions on the surface of micro-zein particles from positive to negative. An increase in concentration of SLS helped increase the yield of zein microparticles. At the concentration of 0.02M SLS the largest zein microparticles were obtained. At the concentration above 0.02M of SLS the microparticles were smaller. When increasing the ratio between the model drugs and zein, the encapsulation efficiency was increased. Sulfathiazole (anionic model drug) showed the higher encapsulation efficiency in comparison to lidocaine (cationic model drug). Moreover, sulfathiazole was released faster from zein microparticles. In conclusion, the changes in processing parameter influences the particles size of zein microparticles. The model drugs with the different ionic charges lead to the difference in encapsulation efficiency and drug release. The further studies are need to obtain better properties of zein microparticles

ปริญญานิพนธ์
เรื่อง
การพัฒนาระบบนำส่งยาแบบไมโครพาร์ทิเคิลจากพอลิเมอร์ชีวภาพชั้น
ของ
เดชบดี ค้วงศาลเจ้า
ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมชาย สันติวัฒนกุล)

วันที่เดือน มิถุนายน พ.ศ 2558

อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

.....ที่ปรึกษาหลัก

.....ประธาน

(ดร.ภญ. ดวงรัตน์ ชูวิสิฐกุล)

(รศ.ดร.ภก.วัลลภ วิชรังสรรค์)

.....ที่ปรึกษาร่วม

.....กรรมการ

(ผศ.ดร.ภญ. ภัทราวดี บุรณตระกูล)

(ผศ.ดร.ภญ. ภัทราวดี บุรณตระกูล)

.....กรรมการ

(ดร.ชนัท อ้วนอ่อน)

.....กรรมการ

(ดร.ภญ. ดวงรัตน์ ชูวิสิฐกุล)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงตามความมุ่งหมายได้ ด้วยความช่วยเหลือจาก ดร.ภญ.ดวงรัตน์ ชูวิสิฐกุล อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ ผศ.ดร.ภญ.ภัทราวดี บุรณตระกูล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ซึ่งได้เสียสละเวลาอันมีค่า เพื่อกำหนดแนวทางในการดำเนินงานวิจัยทุกขั้นตอนอย่างไม่เหน็ดเหนื่อย ตลอดจนให้คำแนะนำ, ข้อเสนอแนะต่างๆเพื่อใช้ในการแก้ปัญหา และความรู้ต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของอาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ทั้งสองท่านไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภก.วัลลภ วิธังสรรค์ ที่ให้ความกรุณาเป็นประธานการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ชนัท อ้วนอ่อน ที่ให้ความกรุณาเป็นกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่านที่ทำให้ผู้วิจัยมีความรู้ และความสามารถนำความรู้ที่ได้นั้นมาใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ ตลอดจนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ในห้องปฏิบัติการคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒทุกท่าน ที่คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการเบิกจ่ายอุปกรณ์และสารเคมีมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้โอกาส ให้การสนับสนุน ตลอดจนเป็นกำลังใจในการศึกษากับผู้วิจัยเป็นอย่างดีเสมอมา

เดชบดี ศิวาสาลเจ้า

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์	1
2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	2
ไมโครพาร์ติเคิล (microparticles)	2
กระบวนการผลิตไมโครพาร์ติเคิล	2
พอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer).....	6
ซีน (zein).....	6
การประยุกต์ซีน(Zein Application).....	9
การศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยของซีนไมโครพาร์ติเคิล.....	10
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	11
อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี.....	11
วิธีการศึกษา.....	12
การเตรียมซีนไมโครพาร์ติเคิลด้วยเทคนิค coacervation	12
การศึกษาลักษณะของไมโครพาร์ติเคิลที่ได้จากซีน.....	12
การเตรียมผงแห้งซีนไมโครพาร์ติเคิลด้วยเทคนิค Spray drying.....	13
การศึกษาการกักเก็บยาเข้าไปในไมโครพาร์ติเคิลและการศึกษา อัตราการปลดปล่อยตัวยานอกจากซีนไมโครพาร์ติเคิล	14
4 ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย	16
การศึกษาลักษณะของไมโครพาร์ติเคิลที่ได้จากซีน.....	16
การศึกษาการกักเก็บยาเข้าไปในไมโครพาร์ติเคิลและการศึกษาอัตราการปลดปล่อย ตัวยานอกจากซีนไมโครพาร์ติเคิล.....	25
5 สรุปผลการวิจัย.....	29

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
บรรณานุกรม	30
ประวัติย่อผู้วิจัย	33



บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 แสดงองค์ประกอบกรดอะมิโนของโปรตีนชั้นแต่ละแบบ.....	8
2 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของเอทานอลและการเปลี่ยนแปลงปริมาตรน้ำกลั่น ครั้งสุดท้าย.....	13
3 แสดงขนาดอนุภาค,การเติมน้ำกลั่นครั้งสุดท้าย และ เปอร์เซ็นต์ของเอทานอลใน สารละลายในการเตรียมไมโครพาร์ทิเคิล.....	17
4 แสดงขนาดอนุภาค และ ประจุที่ผิวของอนุภาคชั้นไมโครพาร์ทิเคิล.....	23
5 แสดงประสิทธิภาพการกักเก็บยาและขนาดโถมของตัวยาต้นแบบ ในชั้นไมโครพาร์ทิเคิล.....	25



บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 แสดงส่วนประกอบและรูปแบบของไมโครพาร์ทิเคิล.....	2
2 การเกิดไมโครพาร์ทิเคิลโดยเทคนิค coacervation.....	3
3 แสดงการเคลือบโดยใช้เทคนิคฟลูอิดไดส์ เบด (Fluidized bed coating).....	4
4 แสดงการเกิดฟิล์มระหว่างการเคลือบโดยใช้เทคนิคฟลูอิดไดส์ เบด.....	4
5 แสดงการเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying).....	5
6 แสดงเทคนิคต่างๆที่ใช้ในการผลิตไมโครเอนแคปซูล.....	6
7 แสดงส่วนประกอบหลักในเมล็ดข้าวโพด.....	7
8 แสดงโครงสร้างของซิน.....	7
9 แสดงเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสุดท้ายของเอทานอลที่มีผลต่อขนาดของซิน ไมโครพาร์ทิเคิล.....	18
10 แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดรูปร่างลักษณะของซิน ไมโครพาร์ทิเคิลที่ไม่มีตัวยาต้นแบบ.....	19
11 แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดรูปร่างลักษณะอัตราส่วน ของปริมาณตัวยาต้นแบบ Sulfathaizole ต่อปริมาณซินในการทำไมโครพาร์ทิเคิล ก) อัตราส่วนของ Sulfathaizole : Zein เท่ากับ 0.05:1 ข) อัตราส่วนของ Sulfathaizole : Zein เท่ากับ 0.1:1 ค) อัตราส่วนของ Sulfathaizole : Zein เท่ากับ 0.2:1 อัตราส่วนของ Sulfathaizole : Zein เท่ากับ 0.4:1.....	20
12 แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดรูปร่างลักษณะอัตราส่วน ของปริมาณตัวยาต้นแบบ Lidocaine ต่อปริมาณซินในการทำไมโครพาร์ทิเคิล ก) อัตราส่วนของ Lidocaine : Zein เท่ากับ 0.05:1 ข) อัตราส่วนของ Lidocaine : Zein เท่ากับ 0.1:1 ค) อัตราส่วนของ Lidocaine : Zein เท่ากับ 0.2:1 อัตราส่วนของ Lidocaine : Zein เท่ากับ 0.4:1.....	21

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักผงแห้งกับความเข้มข้นของ SLS.....	22
14 แสดงการทำ SDS-PAGE โดยนำ Protein Marker มาใช้เป็นตัวเทียบค่า ตัวอย่างที่ใช้ ได้แก่ Zein Commercial และ Zein Microparticles ที่ได้จากการทำการทดลอง.....	24
15 แสดงผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาต่อการปลดปล่อยยาจากซินไมโครพาร์ทิเคิลในสภาวะกรด (0.1N HCl) ก) ซินไมโครพาร์ทิเคิลที่เตรียมจากอัตราส่วนของปริมาณตัวยาค้นแบบ Lidocaine ต่อปริมาณซิน ข) ซินไมโครพาร์ทิเคิลที่เตรียมจากอัตราส่วนของปริมาณตัวยาค้นแบบ Sulfathiazole ต่อปริมาณซิน.....	27
16 แสดงผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาต่อการปลดปล่อยยาจากซินไมโครพาร์ทิเคิลในสภาวะต่าง (Phosphate Buffer pH 6.8) ก) ซินไมโครพาร์ทิเคิลที่เตรียมจากอัตราส่วนของปริมาณตัวยาค้นแบบ Lidocaine ต่อปริมาณซิน ข) ซินไมโครพาร์ทิเคิลที่เตรียมจากอัตราส่วนของปริมาณตัวยาค้นแบบ Sulfathiazole ต่อปริมาณซิน.....	28

สัญลักษณ์และคำย่อ

μm	=	ไมโครเมตร
mm	=	มิลลิเมตร
mg	=	มิลลิกรัม
N	=	นอร์มัลลิตี
ml	=	มิลลิลิตร
μl	=	ไมโครลิตร
rpm	=	รอบต่อนาที
s	=	วินาที
$^{\circ}\text{C}$	=	องศาเซลเซียส
HCl	=	กรดไฮโดรคลอริก
SLS	=	โซเดียมโรลล์ซัลเฟต
%	=	เปอร์เซ็นต์
v/v	=	ปริมาตรต่อปริมาตร
w/v	=	น้ำหนักต่อปริมาตร
w/w	=	น้ำหนักต่อน้ำหนัก
pH	=	ความเป็นกรด-ด่าง, พีเอช
kDa	=	กิโลดาลตัน
SEM	=	Scanning Electron Microscope
SDS-PAGE	=	Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
R^2	=	Coefficient of Determination
SD	=	Standard deviation

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ไมโครพาร์ติเคิล (microparticles) คือ อนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วงไมครอน เป็นรูปแบบหนึ่งของระบบนำส่งยาที่ได้รับความนิยมมากในปัจจุบันสามารถนำส่งได้ทั้งทางปาก⁽¹⁾ การฉีดเข้ากล้ามเนื้อหรือการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เนื่องจากไมโครพาร์ติเคิลมีข้อดีหลายประการ เช่น สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้ สามารถจำเพาะเจาะจงต่ออวัยวะเป้าหมายได้ และสามารถใช้กลบรสยาได้⁽²⁾ แต่ระบบนำส่งยารูปแบบไมโครพาร์ติเคิลก็มีข้อด้อยในเรื่องของการเพิ่มจำนวน(scale up) และความแปรปรวนของไมโครพาร์ติเคิล ซึ่งมีปัจจัยหลายอย่างที่ส่งผล เช่น ชนิดของพอลิเมอร์ ชนิดของตัวยา และเทคนิคในการเตรียมไมโครพาร์ติเคิล การนำพอลิเมอร์มาใช้ในการเตรียมไมโครพาร์ติเคิล⁽³⁾ จากการรวบรวมข้อมูลพบว่าทางด้านเภสัชกรรมมีพอลิเมอร์หลากหลายชนิดที่ถูกนำมาใช้ในการควบคุมระบบนำส่งยา โดยเฉพาะพอลิเมอร์ชีวภาพ (biopolymer) ที่ได้รับความนิยม ซึ่งพอลิเมอร์ที่นำมาใช้นั้นจะต้องมีสมบัติที่ดี คือ สามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ (biodegradable) (สำหรับระบบนำส่งยาที่ให้โดยการฉีด) เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของร่างกาย (biocompatible) และไม่เป็นพิษต่อร่างกาย⁽⁴⁾ ซีน (zein) เป็นไบโอพอลิเมอร์ (biopolymer) ที่พบได้ในเอนโดสเปิร์มของเมล็ดข้าวโพด นิยมใช้มากในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมการเกษตร และทางเภสัชกรรม ซีนมีสมบัติสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของร่างกาย มีสมบัติการยึดเกาะ(adhesive) ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย⁽⁵⁾ มีราคาไม่แพง สามารถสกัดได้จากกากข้าวโพดที่ผ่านกระบวนการแปรรูปในโรงงานอุตสาหกรรม⁽⁶⁾ ทำให้ซีนเป็นพอลิเมอร์เป็นชนิดหนึ่งที่น่าสนใจที่จะนำมาเพิ่มมูลค่าเพื่อที่จะสามารถใช้เป็นทางเลือกในการพัฒนาเป็นระบบนำส่งยาต่อไป นอกจากนี้ในปัจจุบันยังมีการศึกษาการเตรียมไมโครพาร์ติเคิลจากซีนไม่มากนัก ดังนั้นผู้ทำงานวิจัยจึงมุ่งหวังที่จะศึกษาและพัฒนาซีนไมโครพาร์ติเคิล เพื่อให้ได้ซีนไมโครพาร์ติเคิลที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นระบบนำส่งยาที่มีประสิทธิภาพต่อไป

วัตถุประสงค์

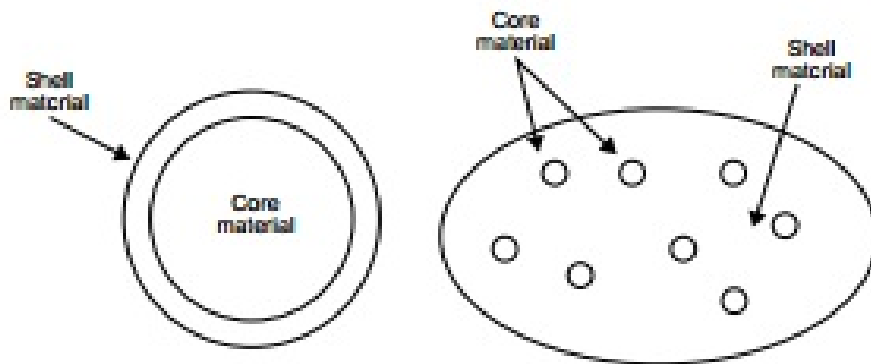
1. พัฒนาวิธีการเตรียมไมโครพาร์ติเคิลจากซีนโดยใช้เทคนิค coacervation
2. ศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ในการเตรียมที่มีผลต่อลักษณะของซีนไมโครพาร์ติเคิล

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและ งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ไมโครพาร์ทิเคิล (microparticles)

ไมโครพาร์ทิเคิล คือ อนุภาคที่มีขนาดอยู่ระหว่าง 1 ถึง 1,000 ไมโครเมตรแบ่งได้ 2 แบบ คือ ไมโครแคปซูล (microcapsule) ตรงแกนกลางจะเป็นสารสำคัญและจะมีพอลิเมอร์หุ้มเป็นผนังอยู่อีกครั้งหนึ่ง ดังนั้นจึงทำให้สารสำคัญและผนังหุ้มแยกจากกันอย่างชัดเจน ส่วน ไมโครสเฟียร์ (microspheres) สารสำคัญจะกระจายตัวแทรกอยู่ในสารห่อหุ้ม โดยที่สารสำคัญไม่สามารถแยกตัวกับสารห่อหุ้มได้อย่างชัดเจน (3, 7, 8)



ภาพประกอบ 1 แสดงส่วนประกอบและรูปแบบของไมโครพาร์ทิเคิล

กระบวนการผลิตไมโครพาร์ทิเคิล ⁽⁸⁾

สามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธีหลักๆ ดังนี้

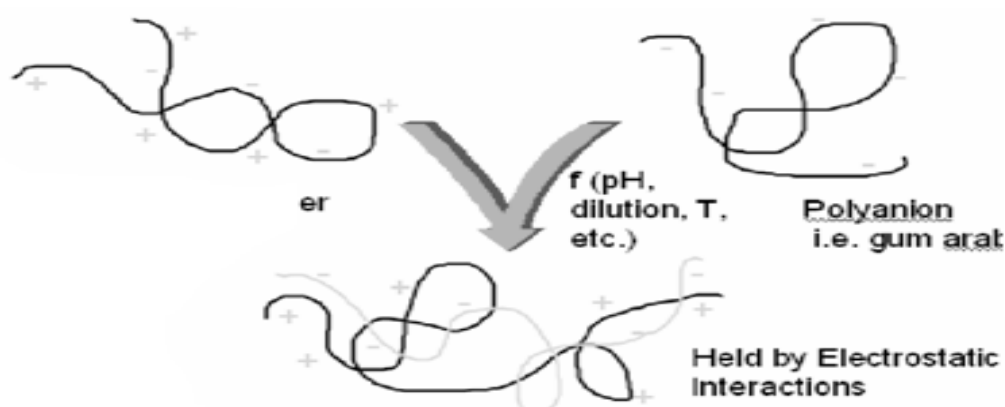
1. วิธีทางเคมี

Complex coacervation หรือ coacervation-phase Separation เป็นกระบวนการที่อาศัยหลักการทางเคมี โดยมีการทำงาน 3 ขั้นตอนคือ

- นำคอร์ที่ต้องการเคลือบไปกระจายตัวในสารละลายพอลิเมอร์ที่ใช้เป็นเชลล์
- แยกวัฏภาค (phase) ของพอลิเมอร์ออกจากตัวทำละลาย เพื่อให้พอลิเมอร์ไปดูดซับอยู่บนผิว

ของคอร์ที่ต้องการเคลือบ

- ทำให้ชั้นพอลิเมอร์ที่เคลือบแข็งตัว โดยอาศัยอุณหภูมิหรือสารเพิ่มความแข็งแรงเช่น สารประกอบแคลเซียม สามารถแยกแคลเซียมออกโดยการกรอง ด้วยสารละลายที่เหมาะสมหรือทำให้แห้งด้วย Spray Dryer เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป ซึ่งกระบวนการนี้มักใช้กับสารที่เป็นของเหลวหรืออนุภาคนขนาดเล็กที่ไม่ละลายน้ำเช่น น้ำมันพืช วิตามินเอ



ภาพประกอบ 2 แสดงการเกิดไมโครพาร์ทิเคิลโดยเทคนิค coacervation^[8]

Interfacial Polymerization (IFP) เป็นกระบวนการที่มีการเติมมอนอเมอร์ (monomer) นำไปละลายในสารละลายคอร์ แล้วมีการทำปฏิกิริยาเรียงตัวกันอย่างรวดเร็วบนพื้นผิวของสารที่เป็นคอร์เกิดเป็นแคลชูตของสารพอลิเมอร์ (polymer) ห่อหุ้มคอร์ไว้ภายใน ซึ่งกระบวนการนี้ใช้ในการเตรียมแคลชูตยาฆ่าแมลงที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 20-30 ไมครอน

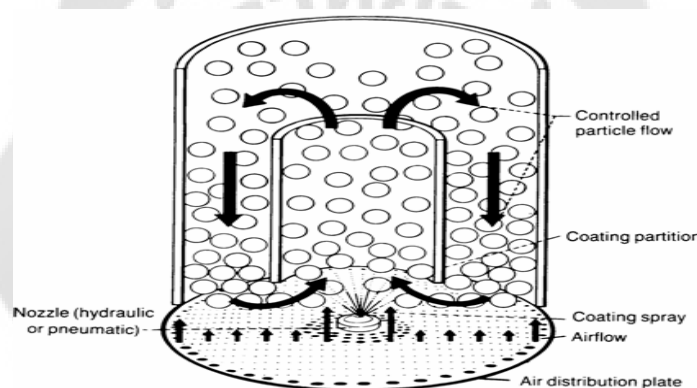
Centrifugal Force Processes เป็นกระบวนการที่พัฒนาขึ้นในช่วงปี พ.ศ.2483 เพื่อผลิตไมโครเอนแคลชูตของน้ำมันปลาและวิตามินต่าง ๆ เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งจะเป็นการเอ็กซ์ทรูด (extruded) สารอิมัลชันระหว่างน้ำกับน้ำมันผ่านรูขนาดเล็กลงในอ่างน้ำมัน ส่วนที่เป็นน้ำของสารอิมัลชันจะไปรวมกับสารพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้ที่นำมาใช้ทำเซลล์ เช่น เจลาติน เมื่อเจลาตินนี้เย็นตัวลงก็จะห่อหุ้มน้ำมันไว้ภายใน สามารถทำให้แห้ง แล้วนำไปใช้งานได้

2. วิธีทางกายภาพ

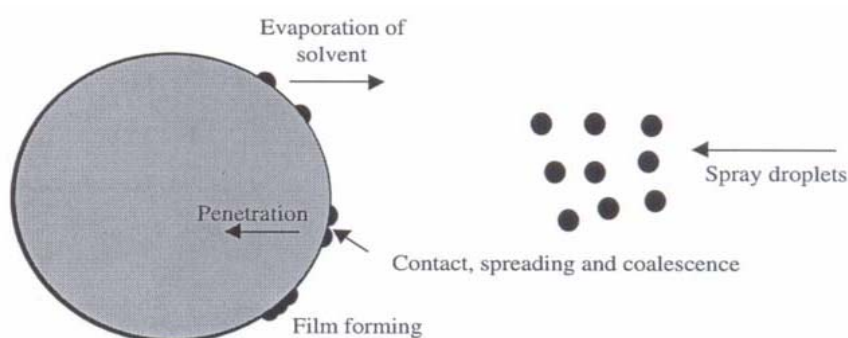
Spray Coating แบ่งออกได้เป็น

Pan Coating เป็นกระบวนการเคลือบอนุภาคของแข็งที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 500 ไมครอนขึ้นไป ซึ่งพบมากในอุตสาหกรรมยา โดยการเคลือบด้วยยานอนุภาคที่เป็นของแข็งก่อน แล้วจึงนำไปเคลือบด้วยสารพอลิเมอร์อีกครั้ง โดยผ่านลมร้อนตลอดเวลา

Fluidized Bed Coating เป็นกระบวนการที่ใช้เคลือบอนุภาคของแข็ง รวมถึงของเหลวที่ดูดซับบนของแข็งมีโพรงภายใน มักใช้ในอุตสาหกรรมยาเช่นกัน โดยอนุภาคจะเคลื่อนที่ด้วยแรงลม และหัวพ่นจะพ่นสารเคลือบที่เป็นของเหลวบนผิวอนุภาค จากนั้นจะถูกทำให้เย็นและแข็งตัว โดยจะมีการหมุนเวียนเช่นนี้จนกระทั่งผนังแคปซูลมีความหนาตามที่ต้องการ ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 50-500 ไมครอน

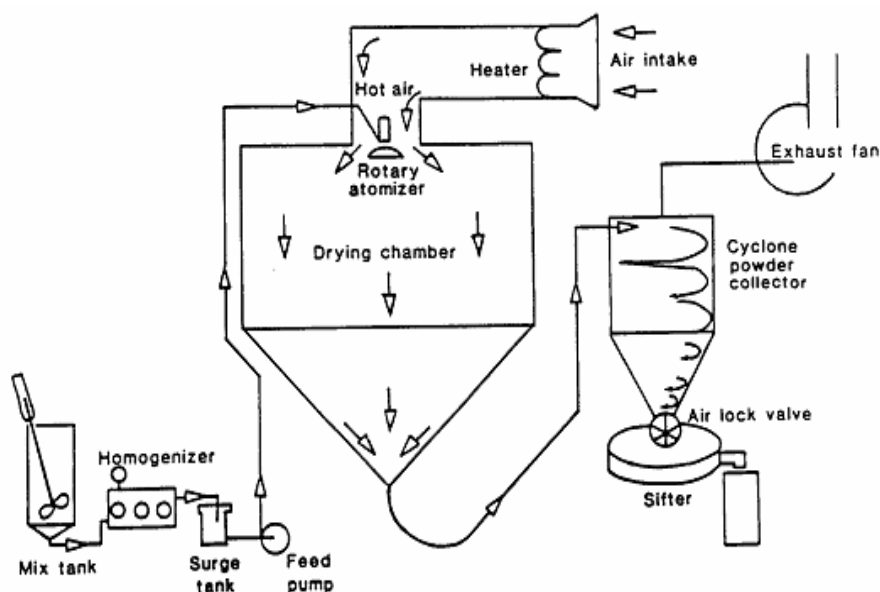


ภาพประกอบ 3 แสดงการเคลือบโดยใช้เทคนิคฟลูอิดไดส์ เบด (Fluidized bed coating)^[8]



ภาพประกอบ 4 แสดงการเกิดฟิล์มระหว่างการเคลือบโดยใช้เทคนิคฟลูอิดไดส์ เบด^[8]

Spray Drying เป็นกระบวนการที่พัฒนาขึ้นในช่วงปี พ.ศ.2473 โดยการนำสารที่ใช้เป็นคอร์ซึ่งมักจะเป็นสารอิมัลชัน ของสารที่ไม่ละลายน้ำเช่น สารให้กลิ่นรส (flavor) ผสมลงในสารละลายเซลล์ แล้วนำไปบรรจุในเครื่อง Spray Dryer และฉีดพ่นออกมาผ่านหัวพ่น น้ำจะระเหยไปกับลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 100-160°C ทำให้ได้อนุภาคขนาดเล็กเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10-150 ไมครอน ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมมากในอุตสาหกรรมอาหาร

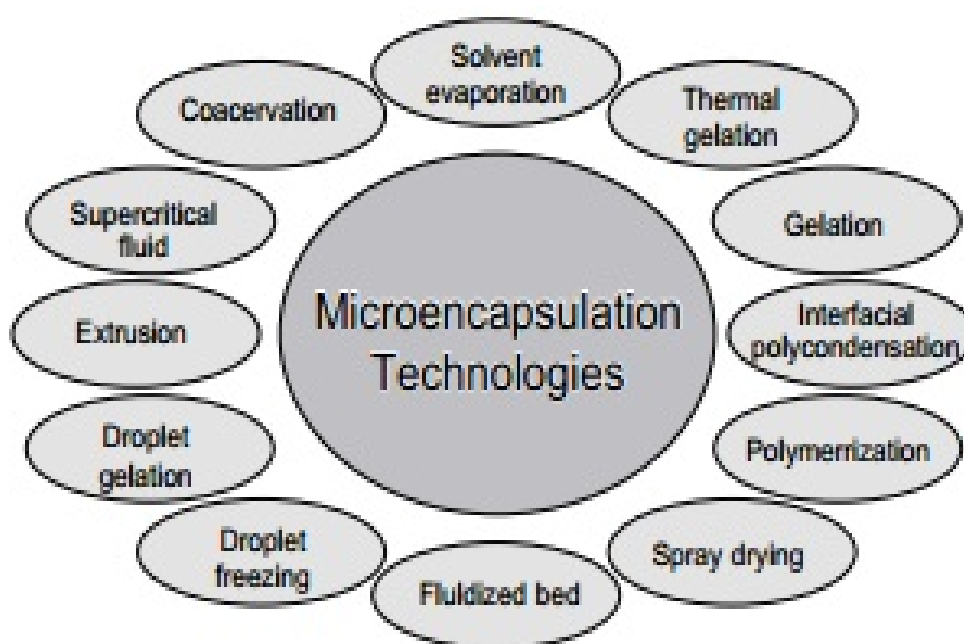


ภาพประกอบ 5 แสดงการเอนแคปซูเลทโดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying)^[8]

Spray Cooling หรือ Spray Chilling ใช้เคลือบสารที่ไม่ทนต่อความร้อน มีหลักการทำงานคล้ายกับวิธี Spray Drying โดยการนำอนุภาคไปกระจายตัวในสารละลายของสารเคลือบ แล้วนำไปพ่นผ่านหัวสเปรย์กระทบกับลมเย็น โดยสารเคลือบที่ใช้ในวิธีนี้ จะต้องเป็นสารที่เป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง เช่น Wax กรดไขมัน และสารพอลิเมอร์

Melt Extrusion ใช้ผลิตแคปซูลที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 250 ไมโครเมตร จนถึงไม่กี่มิลลิเมตร โดยจะมีการใช้เครื่อง Screw Extruder เข้ามาช่วย และใช้สารจำพวกคาร์โบไฮเดรต เพื่อเป็นสารตัวพา (carrier) สำหรับสารให้กลิ่นรส (flavor) แล้วทำการอัดผสมเข้าด้วยกันในเครื่อง Screw Extruder และถูกอัดผ่านตะแกรงเป็นแผ่นหรือเส้นตามต้องการ มักใช้ในอุตสาหกรรมสารกลิ่นรสที่จะนำไปใช้ในการผลิตลูกกวาด

ยังมีเทคนิคอื่นอีกมากมาย ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารภายในแคปซูลและการนำไปใช้งาน ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพประกอบ 6 แสดงเทคนิคต่างๆที่ใช้ในการผลิตไมโครเอ็นแคปซูล ⁽⁸⁾

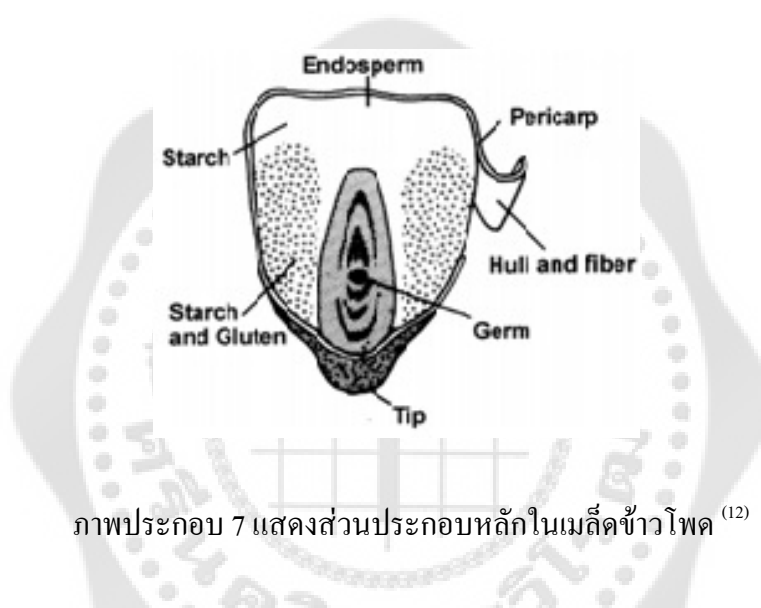
พอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer)

โปรตีนได้ถูกนำมาใช้งานในด้านเภสัชกรรมมากขึ้น โดยเฉพาะด้านวัคซีน แต่อย่างไรก็ตาม สูตรตำรับโปรตีนมีปัญหาในเรื่องของความคงสภาพและการนำส่งโปรตีนไปยังเป้าหมาย จึงมีการพัฒนาวิธีการห่อหุ้มโปรตีนโดยใช้พอลิเมอร์ชีวภาพ ซึ่งสามารถนำส่งโปรตีนไปยังเป้าหมายได้ดีและเพิ่มการดูดซึม สามารถย่อยสลายได้เองในร่างกาย และมีความเข้ากันได้กับร่างกาย ⁽⁴⁾

ซีน (zein)

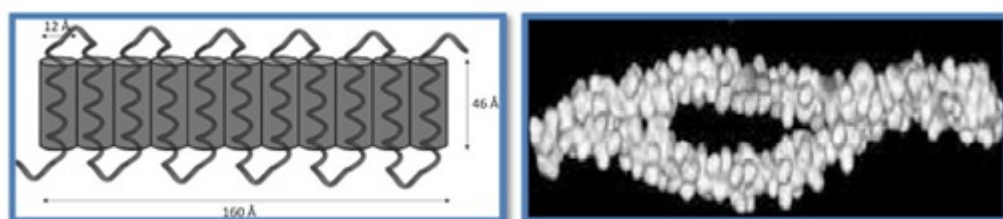
ซีน (zein) เป็นไบโอพอลิเมอร์ (biopolymer) ที่พบได้ในเอนโดสเปิร์มของเมล็ดข้าวโพด ⁽⁹⁾ จัดอยู่ในกลุ่มโปรตีนโพลามิน (prolamin) ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่ไม่มีขั้วและไม่ชอบรวมตัวกับน้ำ (hydrophobic) เช่น โพลีน (proline) อะลานีน (alanine) และ ลูซีน (leucine) เป็นจำนวนมาก สามารถละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ 60-80 % ⁽¹⁰⁾ นิยมใช้มากในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร,

อุตสาหกรรมเกษตร และ ทางเภสัชกรรม ชินมีสมบัติสามารถย่อยสลายได้เองในธรรมชาติ (biodegradable) เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของร่างกาย (biocompatible) ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย^(1, 5) พื้นที่ผิวของชินโปรตีนสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามค่า pH และ สิ่งแวดล้อม⁽¹¹⁾ ชินเป็นพอลิเมอร์ที่มีศักยภาพเหมาะสมในการควบคุมเภสัชจลนพลศาสตร์ของไลโซโซม ชินแสดงการปล่อยปล่อยอย่างยั่งยืนในรูปแบบของไมโครพาร์ทิเคิล มีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวพาหะสำหรับยาต้านจุลชีพ การใช้เทคนิคการพ่นแห้งแบบฝอย (spray drying) เป็นเทคนิคที่มีความเป็นไปได้ในการผลิตเชิงพาณิชย์ และใช้ต้นทุนในการผลิตต่ำ⁽⁵⁾



ภาพประกอบ 7 แสดงส่วนประกอบหลักในเมล็ดข้าวโพด⁽¹²⁾

โครงสร้างของชินประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิดที่เรียงต่อกันเป็นลำดับโครงสร้างของชินเป็นแบบเกลียวขดเรียงกัน (helical) โมโนเมอร์ของชิน มี 9 โซโมโลกส์ซ้ำกัน จัดเรียงตัวแบบไม่ขนานกัน และมีพันธะไฮโดรเจนเชื่อมอยู่ทำให้โครงสร้างของชินมีความเสถียร^(6,13)



ภาพประกอบ 8 แสดงโครงสร้างของชิน⁽¹³⁾

สามารถแบ่งโดยอาศัยการจัดเรียงลำดับของกรดอะมิโนที่แตกต่างกันในโครงสร้างของโปรตีน สามารถแบ่งโปรตีนขึ้นในข้าวโพดได้ 4 แบบ ได้แก่ α , β , γ และ δ -zein⁽⁶⁾ (ตารางที่ 1)

ตาราง 1 แสดงองค์ประกอบกรดอะมิโนของโปรตีนขึ้นแต่ละแบบ⁽⁶⁾

	Total zein	α -zein		β -zein	γ - zein	δ - zein
		M_r 19000 (A30)	M_r 22000 (pZ22.1)	(M_r 15000)	(M_r 28000)	(M_r 10000)
Asp	3.9	0	0	1	0	1
Asn		10	12	3	0	3
Thr		5	8	4	9	5
Ser	5.9	15	16	8	8	8
Glu	20.7	1	1	3	2	0
Gln		41	50	26	30	15
Pro	13.0	23	22	14	51	20
Gly	3.8	5	4	14	13	4
Ala	11.3	29	34	22	10	7
Cys	1.9	2	1	7	15	5
Val	4.5	5	15	4	15	5
Met	1.9	0	5	18	1	29
Ile	2.9	9	8	1	4	3
Leu	15.3	43	44	16	19	15
Tyr	3.9	8	8	14	4	1
Phe	3.8	13	9	0	2	5
His	2.1	2	3	0	16	3
Lys	0.2	0	0	0	0	0
Arg	1.7	2	2	5	5	0
Trp	Nd.	0	0	0	0	0
Amino acid residue		213	242	160	204	129
Absolute M_r		23329	26532	17279	21824	14431

จากตารางที่ 1 พบว่า โปรตีนขึ้นทุกแบบมีกรดอะมิโนหลักคือ กลูตามีน (glutamine) และ โพรลีน (proline) และกรดอะมิโนที่ไม่พบคือ ไลซีน (lysine) และ ทริปโตเฟน (tryptophan) ส่วนเมไทโอนีน (methionine) จะพบกรดอะมิโนดังกล่าวมาก ในบีตาซีน และแกมมาซีน ส่วนซิสทีน (cystine) และ ฮิสทีดีน (histidine) จะพบทั้งสองตัวปริมาณมากในแกมมาซีน

1.1.1 แอลฟา-ซีน (α -Zein) คือ โปรตีนกลุ่มหลักของโปรตีนซีนโปรตีนกลุ่มนี้มีประมาณ 75 - 80 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนซีนทั้งหมด ประกอบด้วยน้ำหนักโมเลกุลหลักๆ คือ M_r 19,000 และ M_r 22,000 มีทั้งส่วนที่เป็นมอโนเมอร์ และโอลิโกเมอร์ ซึ่งส่วนที่เป็นโอลิโกเมอร์สามารถละลายได้ง่ายในสารละลายแอลกอฮอล์ แอลฟา-ซีน เป็นโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการต่ำ เนื่องจากมีปริมาณของซิสเตอีน และเมไทโอนีนที่ต่ำ และไม่พบไลซีนและทรีปโตเฟนในส่วนนี้

1.1.2 บีตา-ซีน (β -Zeins) คือ โปรตีนโพรลามีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 15,000 ดาลตัน เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีการแยกโปรตีนโดยกระแสไฟฟ้าแบบพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis; SDS-PAGE) โปรตีนในกลุ่มนี้ประกอบด้วยกรดแอมิโน 18 ชนิด มาต่อกันเป็นสายพอลิเปปไทด์ประมาณ 160 หน่วย ซึ่งพบ เมไทโอนีน 18 หน่วย และซิสเตอีน 7 หน่วย ดังตารางที่ 1

1.1.3 แกมมา-ซีน (γ -ซีน) คือ โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 27,000 ดาลตันและมีมากเป็นอันดับสองในโปรตีนซีน

1.1.4 เดลตา-ซีน (δ - Zein) คือ โปรตีนโพรลามีนของข้าวโพดที่ประกอบด้วยน้ำหนักโมเลกุล 2 ช่วงหลักๆ คือ 10,000 และ 18,000 ดาลตัน โปรตีนทั้งสองชนิดนี้ประกอบด้วยเมไทโอนีนในปริมาณที่สูง ในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 18,000 และ 10,000 ดาลตัน ประกอบด้วยเมไทโอนีน 26.9 และ 22.8 โมล ตามลำดับ

การประยุกต์ซีน (Zein Application) ^(14,15)

เนื่องจากซีนมีสมบัติเฉพาะตัวอยู่หลายประการที่เป็นที่น่าสนใจจึงมีการนำมาประยุกต์ในทางต่างๆ ได้แก่

1. การประยุกต์ซีนแทนพลาสติก เนื่องจากซีนเมื่อตกตะกอนออกจากตัวทำละลายแล้วซีนสามารถเปลี่ยนรูปร่างไปจากเดิมได้ จึงมีการประยุกต์นำซีนมาใช้แทนหรือนำมาผสมกับพลาสติกไซเซอร์ (plasticizer) เพื่อใช้แทนพลาสติกได้ นอกจากนี้ยังอาจผสมฟอร์มัลดีไฮด์ (formaldehyde) เข้าไปเพื่อให้ได้พลาสติกที่มีความคงทนและคงตัวมากยิ่งขึ้น

2. การประยุกต์ซีนในการเคลือบ มีการนำซีนมาใช้ในการเคลือบพื้นแทนเซลแลค(shellac) เนื่องจากการเคลือบพื้นด้วยซีนจะทำให้ได้พื้นที่มีความคงทนมากกว่าและลื่นน้อยกว่าการเคลือบพื้นด้วยเซลแลค นอกจากนี้ยังนิยมใช้เซลแลคร่วมกันมากกว่าใช้ซีนอย่างเดียว ๆ ในการเคลือบพื้นเนื่องจากเซลแลคจะช่วยปรับปรุงข้อจำกัดของซีนจากที่ไม่ทนน้ำให้ทนต่อน้ำมากขึ้นและซีนช่วยปรับปรุงข้อจำกัดของเซลแลคให้มีความคงทนและทนต่อการขีดข่วนมากขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถนำซีนมาใช้ในการเคลือบยาเม็ดแทนเซลแลคเพื่อตัดแปรการปลดปล่อยยาได้อีกด้วย

3.ประยุกต์ใช้เป็น binder สำหรับทำ wet granulation ได้เนื่องจากจีนมีสมบัติในการยึดเกาะกับพื้นผิวได้ดี

4.ประยุกต์ใช้ในการผลิตไฟเบอร์ โคนการนำเอาสารละลายมีซีมผ่านการอัดรีด (extrude) ในอากาศ (dry spinning) หรือการอัดรีดลงใน coagulation medium เช่น น้ำ (wet spinning) ให้ได้ผลผลิตจากการอัดรีด (extrudate) ที่มีลักษณะเป็นเส้นไฟเบอร์เกิดขึ้น

5.การประยุกต์ใช้ในการผลิตน้ำหมึก มีการผสมซินลงไปในการผลิตน้ำหมึก เนื่องจากซินมีผลช่วยในการเกิดฟิล์มของน้ำหมึกและซินยังช่วยในการจับเม็ดสี (pigment) ไว้บนกระดาษได้ดียิ่งขึ้นอีกด้วย

การศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยของซินไมโครพาร์ติเคิล

มีการศึกษาเกี่ยวกับการเตรียมซินไมโครพาร์ติเคิล โดยวิธี phase separation เพื่อทำการควบคุมการปลดปล่อยยา ivermectin และ prednisolone พบว่า ซินไมโครพาร์ติเคิล สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้ และพบปัจจัยที่มีผลต่อการกักเก็บยาและ drug loading ได้แก่ ปริมาณซิน ต่อ prednisolone, วิธีการคน (agitation method) และอุณหภูมิ นอกจากนี้ซินไมโครพาร์ติเคิลจากการเตรียมด้วยวิธีนี้ยังสามารถใช้ประโยชน์ในการเป็น drug targeting system เมื่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไมโครพาร์ติเคิลเหมาะสมกับการถูกกำจัด (phagocytosis) โดย macrophages อีกด้วย ^(1, 17)

นอกจากวิธี phase separation แล้วยังมีการเตรียมซินไมโครพาร์ติเคิลหรือนาโนพาร์ติเคิล ด้วยเทคนิค simple coacervation เพื่อทำการควบคุมการปลดปล่อยยา gitoxin และ DNA โดยการเตรียมซินไมโครพาร์ติเคิลเพื่อการปลดปล่อยยา gitoxin ได้ศึกษาเปรียบเทียบระหว่างความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยยาออกจากซินไมโครพาร์ติเคิลที่เตรียมได้จากการใช้ ethanol, methanol หรือ isopropanol เป็นตัวทำละลาย โดยพบว่า ซินไมโครพาร์ติเคิลที่เตรียมได้จากการใช้ ethanol มีความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยยา gitoxin ได้ดีที่สุด ⁽⁵⁾ และ ซินนาโนพาร์ติเคิลสามารถช่วยป้องกัน DNA จากการถูกทำลายโดยเอนไซม์ DNase และช่วยควบคุมการปลดปล่อย DNA โดยพบว่าการใช้อัตราส่วนของซินต่อ DNA ที่สูงขึ้นจะมีผลทำให้ประสิทธิภาพการกักเก็บ (encapsulation efficiency) เพิ่มขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าซินมีผลช่วยให้นาโนพาร์ติเคิลที่เตรียมได้มีลักษณะเป็นทรงกลมและสามารถควบคุมการปลดปล่อย DNA แบบเนิ่น (sustained-release) ได้ ⁽¹⁶⁾

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี (Materials, Instrument and Reagents)

1.1 อุปกรณ์ เครื่องมือ

1. อุปกรณ์เครื่องแก้ว
2. Magnetic stirrer (Jenway LTD, United Kingdom)
3. pH meter (perpHect Log R meter model 320, ORION Research, Inc. Boston USA)
4. Waterbath shaker (SB22, Heto lab Equipment, Bangkok Thailand)
5. Freeze dryer (CHRIST ALPHA 2-4 LSC, scientific promotion, Bangkok, Thailand)
6. Thermometer
7. Desiccators
8. Centrifugation
9. Spray drying (BÜchi Labortechnik AG, Germany)
10. Hood
11. UV-vis spectrophotometer (VK 50 UV-VIS, Vankel, Weston Parkway, Germany)
12. Scanning Electron Microscope (SEM JSM-5410, JEOL Ltd., Tokyo, Japan)
13. Differential scanning calorimeter (DSC) (DSC823e, Mettler-Toledo STARE-System, Switzerland)
14. High speed microcentrifuge (TOMY model MX-301, TOMY SEIKO, Japan)
15. Optical microscope, Stage and ocular micrometer (Nikon, Japan)
16. Laser light scattering particle size analyzer (Zetasizer, Malvern Instruments Ltd., United Kingdom)
17. Zetasizer (3000HS, MALVERN, UK)
18. Incubator shaker (ZHICHENG, Shanghai, China)
19. SDS-PAGE (NuPAGE, Invitrogen, CA, USA)

1.2 สารเคมี

1. Isopropyl alcohol (P.C. Drug center, Bangkok, Thailand)
2. Methanol (Merck, Darmstadt, Germany)
3. Ethanol (Merck, Germany)
4. Zein (Acros organics, New Jersey, USA)
5. $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Univar reagent, Australia)
6. $\text{NaPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Univar reagent, Australia)
7. Hydrochloric acid (QR&C, New Zealand)
8. Lidocaine (Sigma, USA)
9. Sulfathiazole (บริษัทซีพี ดรัก เซ็นเตอร์, ประเทศไทย)
10. Sodium lauryl sulfate (หน้าเขียน, วันรัต, ประเทศไทย)

2. วิธีการศึกษา

2.1 การเตรียมซึนไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเทคนิค coacervation

นำตัวยาต้นแบบ 60 มิลลิกรัม ใส่ลงไปในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ที่ทำการกวนอยู่บนเครื่องกวน (magnetic stirrer) ตั้งอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เมื่อยาละลายหมด เติมน้ำกลั่น 0.2 กรัม หลังจากนั้นเติมน้ำ 95 เปอร์เซ็นต์เอทานอล 140 มิลลิลิตร จะได้สารละลายซึน เติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร 3 ครั้ง แต่ละครั้งเวลาห่างกัน 5 นาที จะได้ซึนไมโครพาร์ทิเคิล ปริมาตรสุทธิ 300 มิลลิลิตร เทคนิคประยุกต์จาก Xinming Liua และคณะ และ L. Muthuselvi และคณะ

2.2 การศึกษาลักษณะของไมโครพาร์ทิเคิลที่ได้จากซึน

2.2.1 การศึกษาขนาด รูปร่างและลักษณะของซึนไมโครพาร์ทิเคิล

นำซึนไมโครพาร์ทิเคิลที่เตรียมได้มาส่องดูขนาดด้วย Optical microscope (Nikon, Japan) ที่กำลังขยาย 40x และ Laser light scattering particle size analyzer (Zetasizer, Malvern Instruments Ltd., United Kingdom) และนำไปเคลือบทองคำก่อนจะศึกษาขนาด รูปร่างและลักษณะของไมโครพาร์ทิเคิลด้วย Scanning Electron Microscope (SEM JSM-5410, JEOL Ltd., Japan) ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า

2.2.2 Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

ใช้ SDS-PAGE (NuPAGE, Invitrogen, CA, USA) ทดสอบโปรตีนซึน โดยนำซึนและซึนไมโครพาร์ทิเคิล 0.25 มิลลิกรัม ผสมกับ protein loading buffer (Protein cell loading buffer 2x with

pyroninY) 250 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง นำไป centrifuge ที่ 1.2 rpm 3 นาที ดูตัวอย่างมาอย่างละ 10 ไมโครลิตร เติม protein loading 10 ไมโครลิตร นำไปให้ความร้อนที่ 95.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที นำไป centrifuge ที่ 1.2 rpm 1 นาที นำไปหยอดในหลุมเจลแล้วทำการรันโปรตีนด้วยเครื่อง gel electrophoresis โดยใช้กระแสไฟฟ้า 200 V 110 mA ใช้เวลาประมาณ 45 นาที นำเจลที่ได้ไปล้างด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิตร 5 นาที 1 ครั้ง หลังจากนั้นย้อมด้วยสี simply blue staining 100 มิลลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิตร 3 ครั้ง ทำให้แห้งแล้วจึงนำไปถ่ายภาพ

2.3 การเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ของการเตรียมซินไมโครพาร์ทิเคิล

ในการเตรียมซินไมโครพาร์ทิเคิล ทำการศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงตัวแปรในการเตรียมได้แก่

2.3.1 ปริมาตรแอลกอฮอล์ที่เตรียมหลังจากกระจายซินในน้ำ และการเติมน้ำครั้งสุดท้าย เพื่อให้เกิดเป็นไมโครพาร์ทิเคิล ดังในตารางที่ 2

ตาราง 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของเอทานอลและการเปลี่ยนแปลงปริมาตรน้ำกลั่นครั้งสุดท้าย

ปริมาณน้ำกลั่น ครั้งสุดท้าย	95 % เอทานอล (การเตรียมตัวทำละลายครั้งที่ 2)		
	40 มิลลิตร	55 มิลลิตร	70 มิลลิตร
10 มิลลิตร 3 ครั้ง	Beaker 1.1	Beaker 2.1	Beaker 3.1
30 มิลลิตร 1 ครั้ง	Beaker 1.2	Beaker 2.2	Beaker 3.2
50 มิลลิตร 1 ครั้ง	Beaker 1.3	Beaker 2.3	Beaker 3.3

2.3.2 การศึกษาเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสุดท้ายของเอทานอลที่มีผลต่อขนาดในการเตรียมซินไมโครพาร์ทิเคิล

3. การเตรียมผงแห้งซินไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเทคนิค Spray drying

นำซินไมโครพาร์ทิเคิลที่ได้จากการทำด้วยเทคนิค coacervation 300 มิลลิตร มาทำการระเหยให้ความเข้มข้นของสารละลายอินทรีย์น้อยลง โดยทำการกวนอยู่บนเครื่องกวน (magnetic stirrer) ตั้งอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียสใน hood จนปริมาตรสุทธิเหลือ 200 มิลลิตร จึงนำไปเข้าเครื่องพ่นแห้งแบบฝอย (spray drying) จะได้ผงแห้งของซินไมโครพาร์ทิเคิล

3.1 การเตรียมผงแห้งชินไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเทคนิค spray drying โดยการเติม SLS

3.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นของ SLS ที่มีผลต่อขนาดและประจุของชินไมโครพาร์ทิเคิล

4. การศึกษาการกักเก็บยาเข้าไปในไมโครพาร์ทิเคิลและการศึกษาอัตราการปลดปล่อยตัวยาออกจากชินไมโครพาร์ทิเคิล

ทำการศึกษาโดยใช้ยา lidocaine และ sulfathiazole เป็นยาต้นแบบ โดยจะทำการใส่ยาโดยละลายยาลงในเฟสน้ำ ก่อนจะทำการกระจายชินและทำการเตรียมตามขั้นตอนการเตรียมชินไมโครพาร์ทิเคิลจากชินข้างต้น

4.1 การศึกษาประสิทธิภาพในการเก็บกักยาเข้าไปภายในไมโครพาร์ทิเคิล (Encapsulation efficiency) หลังจากการระเหยเอาเอทานอล ออกจนเกิด coacervation ที่สมบูรณ์แล้ว นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงแยกชินไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแยกตะกอน (high speed microcentrifuge) ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายใสส่วนบน (supernatant) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-vis spectrophotometer) ที่ 260 นาโนเมตร ของ lidocaine และที่ 265 นาโนเมตร ของ sulfathiazole แล้วคำนวณหาประสิทธิภาพการกักเก็บยา (encapsulation efficiency) และขนาดโถม (drug loading) ดังสมการ

$$\text{Encapsulation efficiency (\%,W/W)} = \frac{\text{amount of Drug in microparticles}}{\text{Drug initially added}}$$

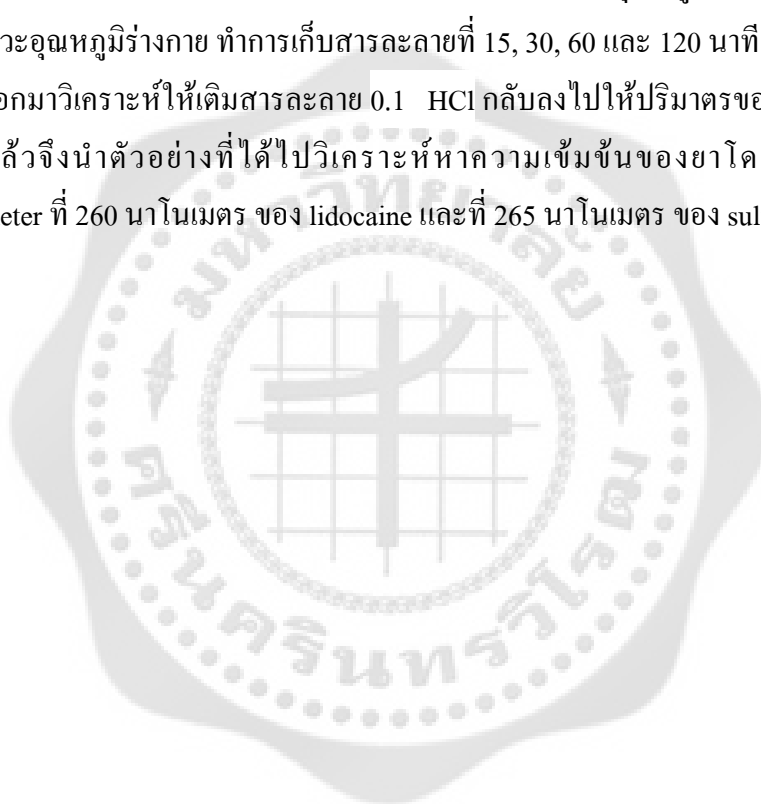
$$\text{Drug loading (\%,W/W)} = \frac{\text{amount of Drug in microparticles}}{\text{amount of microparticles}}$$

4.2 การศึกษาอัตราการปลดปล่อยตัวยาออกจากชินไมโครพาร์ทิเคิล

ทำการทดสอบอัตราการปลดปล่อยตัวยาออกจากชินไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเครื่อง waterbath shaker โดยใช้ตัวกลางการละลายเป็น phosphate buffer pH 6.8 และ 0.1 HCl

ใช้ตัวกลางการละลายเป็น phosphate buffer pH 6.8 จำนวน 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 ± 0.5 องศาเซลเซียส เพื่อจำลองสภาวะอุณหภูมิร่างกาย ทำการเก็บสารละลายที่ 60, 120, 180 และ 240 นาที ตามลำดับ ทุกๆครั้งที่นำตัวอย่างออกมาวิเคราะห์ให้เติมสารละลาย phosphate buffer pH 6.8 กลับลงไปให้ปริมาตรของสารละลายเท่าเดิมตลอดเวลา แล้วจึงนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของยา โดยใช้เครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ 260 นาโนเมตร ของ lidocaine และที่ 265 นาโนเมตร ของ sulfathiazole

ใช้ตัวกลางการละลายเป็น 0.1N HCl จำนวน 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 ± 0.5 องศาเซลเซียส เพื่อจำลองสภาวะอุณหภูมิร่างกาย ทำการเก็บสารละลายที่ 15, 30, 60 และ 120 นาที ตามลำดับ ทุกๆครั้งที่นำตัวอย่างออกมาวิเคราะห์ให้เติมสารละลาย 0.1 HCl กลับลงไปให้ปริมาตรของสารละลายเท่าเดิมตลอดเวลา แล้วจึงนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของยาโดยใช้เครื่อง UV-vis spectrophotometer ที่ 260 นาโนเมตร ของ lidocaine และที่ 265 นาโนเมตร ของ sulfathiazole



บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. การศึกษาลักษณะของไมโครพาร์ติเคิลที่ได้จากจีน

1.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ที่มีผลต่อขนาด รูปร่างและลักษณะของจีนไมโครพาร์ติเคิลการพิจารณาว่าไมโครพาร์ติเคิลที่พัฒนาขึ้นมีลักษณะที่ดีเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในระบบนำส่งยาคือ ไมโครพาร์ติเคิลต้องมีรูปร่างเป็นทรงกลมและมีพื้นผิวเรียบไม่ขรุขระ ซึ่งจากผลการพัฒนาจีนไมโครพาร์ติเคิลด้วยเทคนิค coacervation พบว่าปัจจัยต่างๆ มีผลต่อลักษณะของไมโครพาร์ติเคิล

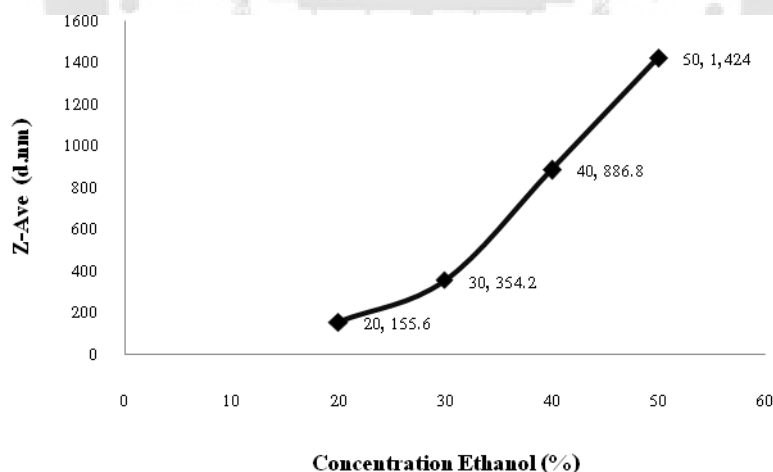
จากผลการทดลองปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของน้ำและแอลกอฮอล์ พบว่าไมโครพาร์ติเคิลที่เตรียมได้จากการเติมน้ำลงในสารละลายเอทานอลในน้ำ เมื่อความเข้มข้นสุดท้ายของเอทานอลในตำรับลดลงจาก 44.33 จนถึง 17.50 %v/v ทำให้อายุของไมโครพาร์ติเคิลที่เตรียมได้ลดลง โดยได้จีนไมโครพาร์ติเคิลอยู่ในช่วง 0.3-1.0 ไมโครเมตร และในการเติมน้ำครั้งสุดท้ายเพื่อให้เกิดเป็นไมโครพาร์ติเคิลครั้งละ 10 ml จำนวน 3 ครั้ง พบว่าจะได้ไมโครพาร์ติเคิลที่มีขนาดเท่ากับ 1,037 d.nm ส่วนการเติมน้ำ 30 ml 1 ครั้งและ 50 ml 1 ครั้ง จะได้ขนาดของไมโครพาร์ติเคิลเท่ากับ 426.1 และ 313.9 d.nm ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตาราง 3 แสดงขนาดอนุภาค,การเติมน้ำกลั่นครั้งสุดท้าย และ เปอร์เซ็นต์ของเอทานอลในสารละลาย ใน การเตรียมไมโครพาร์ทิเคิล

95 % Ethanol (ml)	H ₂ O (ml) (2 nd addition)	% Ethanol in solution	Z-average (d.nm)
40	10 ml x 3	31.67	1037
40	30 ml x 1	31.67	426.1
40	50 ml x 1	17.50	313.9
55	10 ml x 3	38.70	894.6
55	30 ml x 1	38.70	> 1 μ m
55	50 ml x 1	33.71	462.4
70	10 ml x 3	44.33	> 1 μ m
70	30 ml x 1	44.33	> 1 μ m
70	50 ml x 1	39.12	> 1 μ m

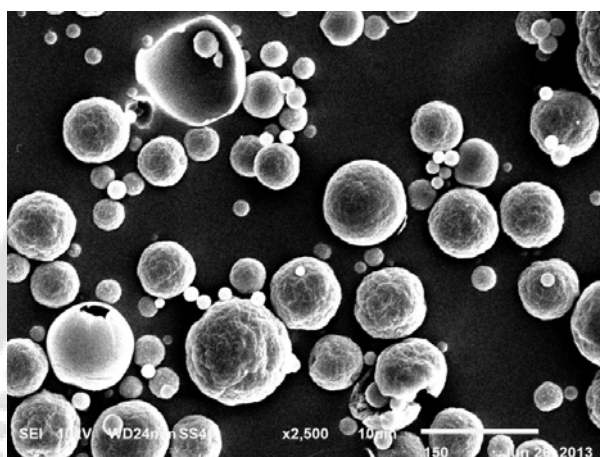
จากผลการทดลองในตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่าการทยอยเติมน้ำจนครบปริมาตรที่ต้องการ เพื่อให้เกิดเป็นไมโครพาร์ทิเคิลจะได้ไมโครพาร์ทิเคิลที่มีขนาดใหญ่กว่าการเติมน้ำในปริมาณมากเพียงครั้งเดียว เนื่องจากการเตรียมไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเทคนิค coacervation ในการทดลองนี้จะใช้ ethanol เป็น solvent และน้ำเป็น non-solvent เมื่อน้ำลงไปในระบบ จะทำให้เปอร์เซ็นต์ของ solvent ค่อยๆ ลดลง โดยการเติมครั้งแรกจะเกิด nucleation ขึ้น เมื่อเติม non-solvent ครั้งที่สองและครั้งที่สาม พอลิเมอร์จะก่อตัวเป็นไมโครพาร์ทิเคิลโดยไม่รวมกับ nucleus ที่เกิดขึ้นจากการเติม non-solvent ครั้งแรกจึงทำให้ได้ชิ้นไมโครพาร์ทิเคิลที่มีขนาดใหญ่ขึ้น⁽⁸⁾

จากการศึกษาผลของ non-solvent (น้ำ) ที่ใช้ในการเตรียมไมโครพาร์ทิเคิล (ภาพประกอบ 9) โดยละลายซินในแอลกอฮอล์ 95% และเติมน้ำจนได้ความเข้มข้นของเอทานอล 20, 30, 40 และ 50 %v/v หรือปริมาตรน้ำที่เติมสุดท้ายลดลง มีผลทำให้ขนาดของอนุภาคซินไมโครพาร์ทิเคิลใหญ่ขึ้น ตามลำดับดังนี้ 155.6, 354.2, 886.8 และ 1,424 d.nm เนื่องจากการเติมน้ำที่น้อยลงเพียงครั้งเดียวทำให้เกิด nucleus ของซินไมโครพาร์ทิเคิลที่จำนวนน้อยกว่า และซินที่ยังละลายอยู่มาเกาะกับ nucleus ที่เกิดขึ้นหลังการเติมน้ำจำนวนน้อยๆ ทำให้ขนาดไมโครพาร์ทิเคิลใหญ่ขึ้นมากกว่าการเติมน้ำในปริมาณมาก⁽⁸⁾

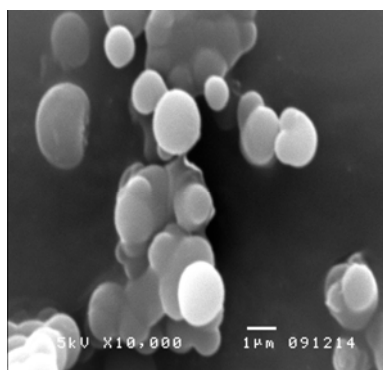


ภาพประกอบ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสุดท้ายของเอทานอลที่มีผลต่อขนาดของซินไมโครพาร์ทิเคิล

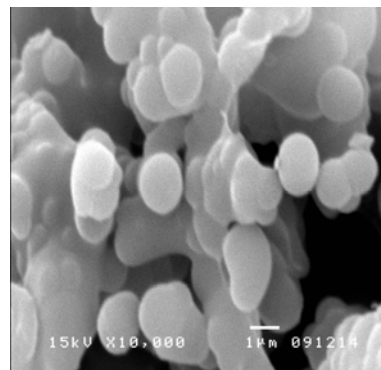
การศึกษารูปร่างของซินไมโครพาร์ติเคิลที่พัฒนาขึ้นโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด พบว่าซินไมโครพาร์ติเคิลที่ไม่มีตัวยาคั่นแบบมีรูปร่างเป็นทรงกลมและพื้นผิวเรียบ ดังแสดงในภาพประกอบ 10 ส่วนรูปร่างของซินไมโครพาร์ติเคิลที่มีตัวยาคั่นแบบ Sulfathiazole มีลักษณะเป็นทรงกลม ผิวเรียบดังแสดงในภาพประกอบ 11 ลักษณะรูปร่างของซินไมโครพาร์ติเคิลที่มีตัวยาคั่นแบบ Lidocaine มีลักษณะเป็นทรงกลม ผิวขรุขระเล็กน้อย ดังแสดงในภาพประกอบ 12



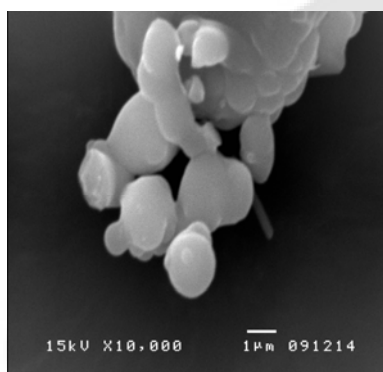
ภาพประกอบ 10 แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดรูปร่างลักษณะของซินไมโครพาร์ติเคิลที่ไม่มีตัวยาคั่นแบบ



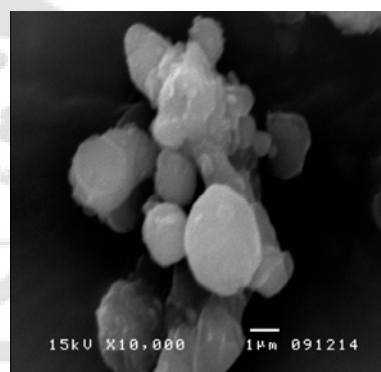
ก



ข



ค



ง

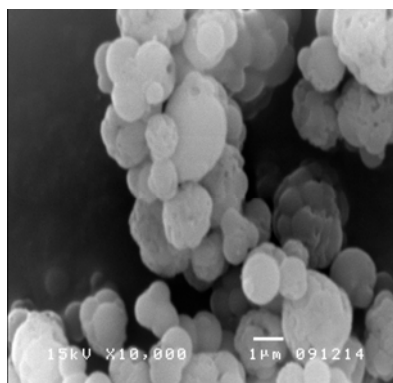
ภาพประกอบ 11 แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดรูปร่างลักษณะอัตราส่วนของปริมาณตัวยาคัณแบบ Sulfathiazole ต่อปริมาณซินในการทำไมโครพาร์ทิเคิล

ก) อัตราส่วนของ Sulfathiazole : Zein เท่ากับ 0.05:1

ข) อัตราส่วนของ Sulfathiazole : Zein เท่ากับ 0.1:1

ค) อัตราส่วนของ Sulfathiazole : Zein เท่ากับ 0.2:1

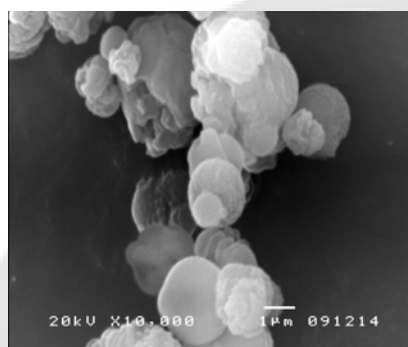
ง) อัตราส่วนของ Sulfathiazole : Zein เท่ากับ 0.4:1



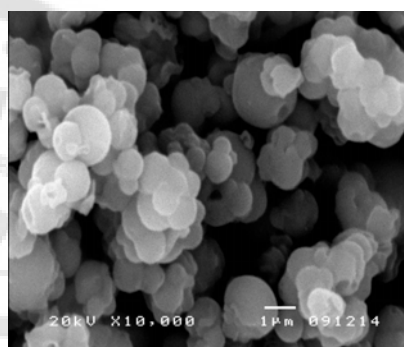
ก



ข



ค



ง

ภาพประกอบ 12 แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดรูปร่างลักษณะอัตราส่วนของปริมาณตัวยาต้นแบบ Lidocaine ต่อปริมาณซินในการทำไมโครพาร์ทิเคิล

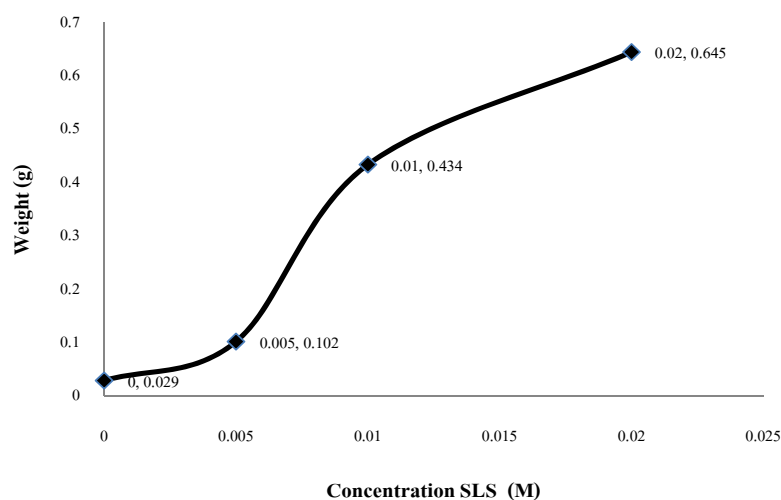
ก) อัตราส่วนของ Lidocaine : Zein เท่ากับ 0.05:1

ข) อัตราส่วนของ Lidocaine : Zein เท่ากับ 0.1:1

ค) อัตราส่วนของ Lidocaine : Zein เท่ากับ 0.2:1

ง) อัตราส่วนของ Lidocaine : Zein เท่ากับ 0.4:1

การศึกษาการเตรียมผงแห้งชินไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเทคนิค spray drying พบว่าปริมาณของ SLS มีผลต่อน้ำหนักของผงแห้งที่ได้ ขนาดของไมโครพาร์ทิเคิลและประจุที่ผิวของชินไมโครพาร์ทิเคิล โดยการเติม SLS ที่ความเข้มข้น 0, 0.005, 0.01 และ 0.2 M จะได้น้ำหนักของผงแห้งเท่ากับ 0.029, 0.102, 0.434, และ 0.645 g ตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบ 13 และขนาดของชินไมโครพาร์ทิเคิล โดยการเติม SLS ที่ความเข้มข้น 0, 0.005, 0.01, 0.2, 0.4, และ 0.1 M ได้เท่ากับ 886.8, 6137, 5441, 3465, 2542 และ 775.8 d.nm ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 4 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ SLS ขึ้นเรื่อยๆ จะได้น้ำหนักของผงแห้งชินไมโครพาร์ทิเคิลมากขึ้น และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ SLS เท่ากับ 0.02 M จะได้น้ำหนักของชินไมโครพาร์ทิเคิลใหญ่สุด ถ้าเติม SLS ความเข้มข้นมากกว่า 0.02 M จะทำให้น้ำหนักของชินไมโครพาร์ทิเคิลเล็กลง และจากการเตรียมผงแห้งชินไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเทคนิค spray drying พบการเติม SLS ทำให้ประจุที่ผิวของอนุภาคชินไมโครพาร์ทิเคิลเปลี่ยนจากบวกเป็นลบ ดังแสดงในตาราง 4

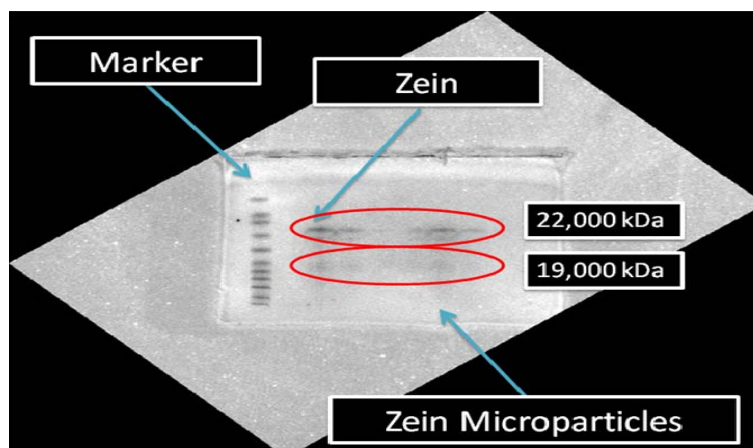


ภาพประกอบ 13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักผงแห้งกับความเข้มข้นของ SLS

ตาราง 4 แสดงขนาดอนุภาค และ ประจุที่ผิวของอนุภาคซินไมโครพาร์ติเคิล

การเตรียม %Ethanol	Zein Protein (g)	H ₂ O (ml) ครั้งที่ 1	95% Ethanol (ml)	H ₂ O (ml) ครั้งที่ 2	Total(ml)	SLS(M)	Z-Ave(d.nm)	ZP(mV)
40	0.2	113.65	126.24	20 ml 3 ครั้ง	300	0	886.8	73.1
						0.005	6137	-29.6
						0.01	5441	-31.8
						0.02	3465	-25.9
						0.04	2542	-27.0
						0.1	775.8	-32.7

การศึกษาความคงตัวของซินโปรตีนเมื่อได้รับความร้อนจากขั้นตอนการเตรียมซินไมโครพาร์ติเคิล เนื่องจากซินโปรตีนสามารถเสื่อมสลายได้ด้วยความร้อน จึงศึกษาว่ากระบวนการเตรียมมีผลกระทบต่อความคงตัวของซิน โดยใช้ SDS-PAGE (NuPAGE, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) และนำ Protein Marker มาใช้เป็นตัวเทียบค่า ตัวอย่างที่ใช้ได้แก่ Zein และ Zein Microparticles ที่ได้จากการทำการทดลอง ผลปรากฏว่า ขนาดโมเลกุลของโปรตีน Zein และ Zein Microparticles ขึ้นที่ 19,000 kDa และ 22,000 kDa เท่ากัน จึงสรุปได้ว่า Zein Protein หลังจากนำมาผ่านขั้นตอนการทดลองต่างๆ แล้วยังมีขนาดโมเลกุลเท่าเดิมไม่เปลี่ยนแปลง และ Zein Protein ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ เป็นแบบ α - Zein เนื่องจากขนาดโมเลกุลขึ้นที่ 19,000 kDa และ 22,000 kDa (ภาพประกอบ 14)



ภาพประกอบ 14 แสดงการทำ SDS-PAGE โดยนำ Protein Marker มาใช้เป็นตัวเทียบค่า ตัวอย่างที่ใช้ ได้แก่ Zein Commercial และ Zein Microparticles ที่ได้จากการทำการทดลอง

จากไมโครพาร์ติเคิลที่เตรียมได้ พบว่าปริมาณยาที่ใส่ลงในตำรับมีผลต่อขนาดโอม (drug loading) และประสิทธิภาพในการกักเก็บยา (encapsulation efficiency) โดยตำรับที่มีตัวยาคั่นแบบเป็น lidocaine และ sulfathiazole ที่มีอัตราส่วนของปริมาณตัวยาคั่นแบบต่อปริมาณซินเป็น 1:4 , 1:2 , 1:1 , และ 2:1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่าตำรับที่มีตัวยาคั่นแบบเป็น sulfathiazole มีประสิทธิภาพการกักเก็บยาสูงกว่า การใช้ lidocaine เป็นยาคั่นแบบ เนื่องจากความเป็นประจุลบของตัวยาคั่น sulfathiazole สามารถจับกันได้ดีกับประจุบวกของ amino acid ในซินที่มากกว่าประจุลบ (ประจุรวมของซินไมโครพาร์ติเคิลเป็นบวก) (ตาราง 5) ในกรณีของ lidocaine ซึ่งเป็นตัวยาคั่นแบบประจุบวก แม้ว่าประสิทธิภาพการกักเก็บยาน้อยกว่า ก็ยังได้ค่าประสิทธิภาพการกักเก็บถึง 90% เนื่องจากยังมีหมู่ฟังก์ชันของ amino acid ในซินที่เป็นประจุลบที่ยังสามารถจับกันได้ดีกับ lidocaine

ตาราง 5 แสดงประสิทธิภาพการกักเก็บยาและขนาดโคมของด้วยาต้นแบบในซินไมโครพาร์ทิเคิล

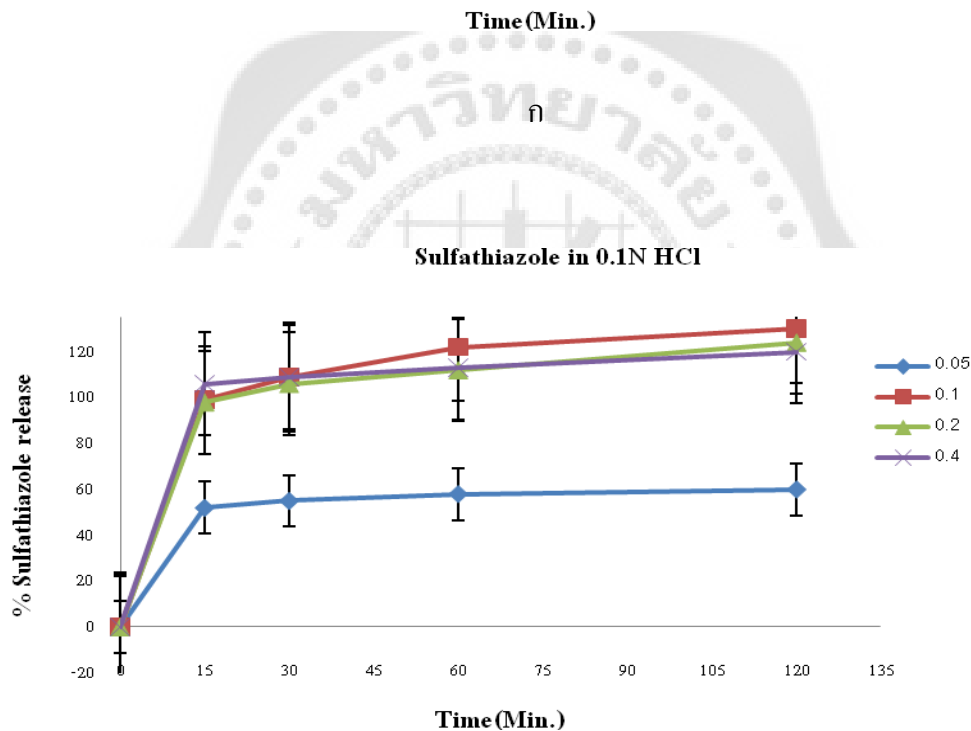
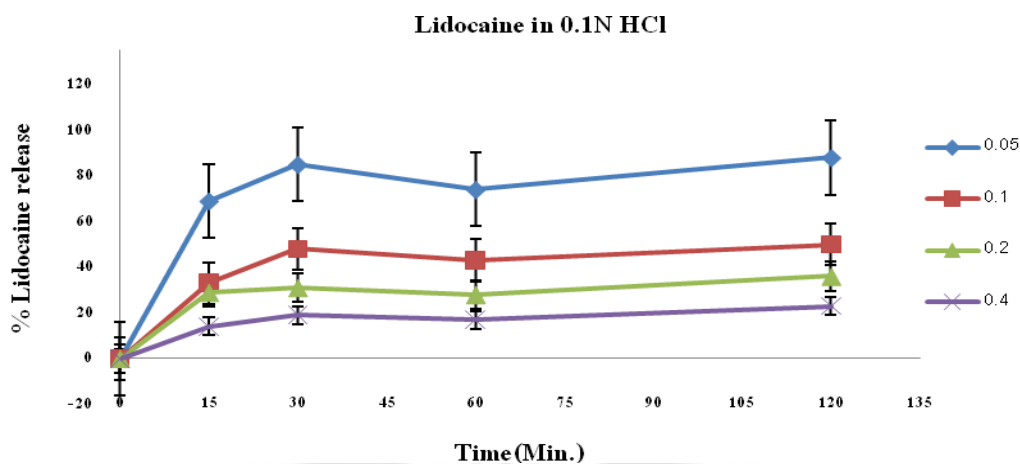
Preparation of microparticles (Concentration of model drug : zein)	Encapsulation efficiency (%)		Drug Loading (%)	
	Sulfathiazole	Lidocaine	Sulfathiazole	Lidocaine
Model Drug 0.25, zein 1 mg/ml (1:4)	98.96	90.26	19.79	18.05
Model Drug 0.50, zein 1 mg/ml (1:2)	99.00	90.55	33.00	30.15
Model Drug 1, zein 1 mg/ml (1:1)	98.98	90.23	49.49	45.11
Model Drug 2, zein 1 mg/ml (2:1)	99.01	91.73	66.01	61.16

2. การศึกษาการกักเก็บยาเข้าไปในไมโครพาร์ทิเคิลและการศึกษาอัตราการปลดปล่อยตัวยาออกจากซินไมโครพาร์ทิเคิล

โดยทั่วไปแล้วการปลดปล่อยยาออกจากซินไมโครพาร์ทิเคิลแบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ การปลดปล่อยยาที่อยู่ผิวของซินไมโครพาร์ทิเคิลและการปลดปล่อยยาที่อยู่ภายในซินไมโครพาร์ทิเคิล ในช่วงแรกยาจะถูกปลดปล่อยออกจากซินไมโครพาร์ทิเคิลอย่างรวดเร็วเป็นการปลดปล่อยของยาที่อยู่ใกล้กับผิวรอบนอกของไมโครพาร์ทิเคิล ทำให้เกิดเกิดรูพรุน (microporous) บนซินไมโครพาร์ทิเคิล หลังจากนั้นยาที่อยู่ภายในไมโครพาร์ทิเคิลจะปลดปล่อยออกมาอย่างช้าๆ แบบ sustained-release^(1,5)

การศึกษาการปลดปล่อยด้วยาต้นแบบ sulfathiazole และ lidocaine ออกจากซินไมโครพาร์ทิเคิลในสภาวะกรด เพื่อจำลองกระเพาะอาหาร โดยใช้ 0.1 N กรดไฮโดรคลอริก (pH 1.07) เป็นตัวกลางการละลาย และในสภาวะด่างเพื่อจำลองลำไส้เล็กโดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 เป็นตัวกลางการละลาย จากการทดลองพบว่า ซินไมโครพาร์ทิเคิลจะปลดปล่อยด้วยาต้นแบบในกรดได้ช้ากว่าในด่าง เนื่องจากซินมีสมบัติทนต่อกรดในกระเพาะอาหารได้ดี จึงทำให้เกิดการละลายของซินน้อย ไมโครพาร์ทิเคิลเกิดความพรุนต่ำ จึงทำให้ซินไมโครพาร์ทิเคิลปลดปล่อยยาในสภาวะกรดได้ช้ากว่าในสภาวะด่าง ในการศึกษาการปลดปล่อยของปริมาณด้วยาต้นแบบต่อปริมาณซิน ผลการทดลองพบว่าในสภาวะกรดและด่าง ซินไมโครพาร์ทิเคิลมีการปลดปล่อยยา sulfathiazole ออกมาเร็วกว่าการปลดปล่อยยา lidocaine

(ภาพประกอบ 15 และ ภาพประกอบ 16) เนื่องจากชินไมโครพาร์ทิเคิลที่มีตัวยาต้นแบบ sulfathiazole มีประสิทธิภาพการเก็บกักยามากกว่าชินไมโครพาร์ทิเคิลที่มีตัวยาต้นแบบ Lidocaine และเมื่อศึกษาการปลดปล่อยยาในอัตราส่วนของปริมาณตัวยาต้นแบบ sulfathiazole และ lidocaine ต่อปริมาณชิน ที่อัตราส่วน 1:4, 1:2 ,1:1 และ 2:1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีความแตกต่างกัน โดยในกรณี ที่อัตราส่วน 2:1 w/v ตัวยาต้นแบบ sulfathiazole จะปลดปล่อยออกมาเร็วที่สุดและที่อัตราส่วน 1:4 w/v ตัวยาต้นแบบ sulfathiazole จะปลดปล่อยออกมาช้าที่สุด (ภาพประกอบ 15ข) เนื่องด้วยขนาดโณมที่สูงกว่าจะส่งผลให้ตัวยาต้นแบบออกมาเร็วกว่า ในทางกลับกันอัตราส่วน 1:4 w/v ตัวยาต้นแบบ lidocaine จะปลดปล่อยออกมาเร็วที่สุดและที่อัตราส่วน 2:1 w/v ตัวยาต้นแบบ Lidocaine จะปลดปล่อยออกมาช้าที่สุด (ภาพประกอบ 15ก) (ขนาดโณมน้อยๆออกมามากกว่า) อาจเป็นเพราะอันตรกิริยาระหว่างตัวยาต้นแบบกับชิน ทำให้ lidocaine ออกมาจากชินไมโครพาร์ทิเคิลได้ปริมาณเล็กน้อยปริมาณหนึ่ง เมื่อนำไปหารตัวปริมาณตัวยาที่มีในไมโครพาร์ทิเคิลที่ต่างกันทำให้เสมือนเมื่อมีขนาดโณมน้อยปลดปล่อยยาออกมามากกว่า จึงควรมีการศึกษาโดยละเอียดเกี่ยวกับการปลดปล่อยยาจากชินไมโครพาร์ทิเคิลต่อไป



ภาพประกอบ 15 แสดงผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาต่อการปลดปล่อยยาจาก

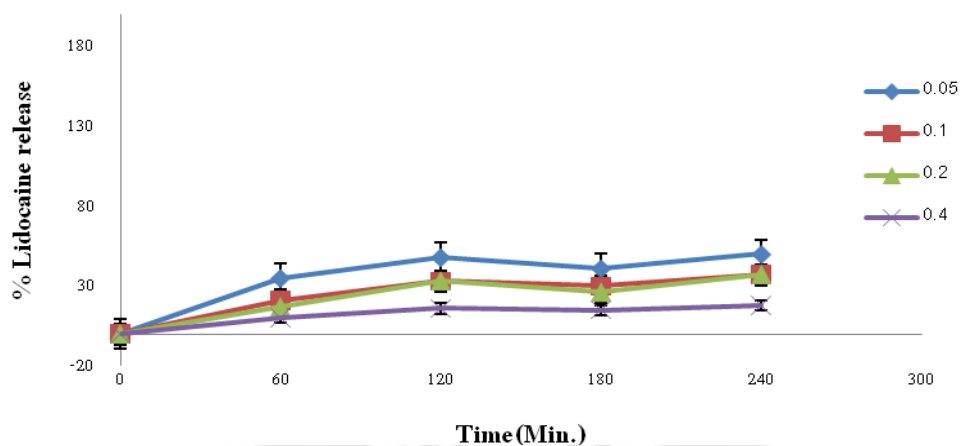
ซินไมโครพาร์ทิเคิลในสภาวะกรด (0.1N HCl)

ก) ซินไมโครพาร์ทิเคิลที่เตรียมจากอัตราส่วนของปริมาณตัวยาดัชนีแบบ Lidocaine ต่อปริมาณซิน

ข) ซินไมโครพาร์ทิเคิลที่เตรียมจากอัตราส่วนของปริมาณตัวยาดัชนีแบบ Sulfathiazole

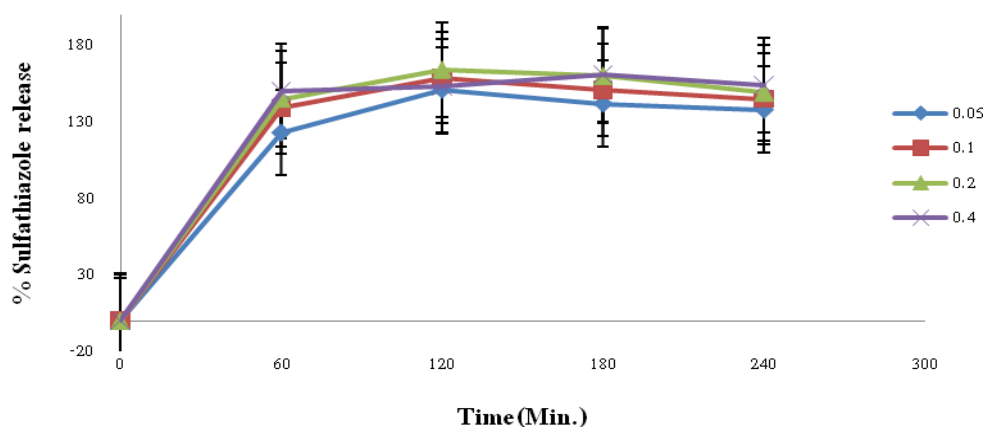
ต่อปริมาณซิน

Lidocaine in Phosphate Buffer pH 6.8



ก

Sulfathiazole in Phosphate pH 6.8



ข

ภาพประกอบ 16 แสดงผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาต่อการปลดปล่อยยาจากจีน

ไมโครพาร์ทิเคิลในสภาวะต่าง (Phosphate Buffer pH 6.8)

ก) จีนไมโครพาร์ทิเคิลที่เตรียมจากอัตราส่วนของปริมาณตัวยาค้นแบบ Lidocaine ต่อปริมาณจีน

ข) จีนไมโครพาร์ทิเคิลที่เตรียมจากอัตราส่วนของปริมาณตัวยาค้นแบบ Sulfathiazole

ต่อปริมาณจีน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

กระบวนการพัฒนาการเตรียมซึนไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเทคนิค coacervation จะทำให้ได้ซึนไมโครพาร์ทิเคิลมีลักษณะเป็นทรงกลม ผิวเรียบ ความเข้มข้นของเอทานอลสุดท้ายหลังเติมน้ำที่มากขึ้น (การเติมน้ำ หรือ non-solvent ที่ลดลง) 20, 30, 40 และ 50 %V/V ทำให้ขนาดของอนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น การค่อยๆเติมน้ำกลั่นลงไปในระบบหลายครั้ง ในปริมาตรครั้งละต่ำๆ (10 ml 3 ครั้ง) ทำให้อนุภาคไมโครพาร์ทิเคิลมีขนาดใหญ่มากกว่าการเติมน้ำในครั้งเดียวทั้งหมด (30 ml 1 ครั้ง)

การใช้เทคนิคทำแห้งแบบพ่น (spray drying process) ในการทำแห้งซึนไมโครพาร์ทิเคิล การเติม SLS มีผลทำให้ประจุที่ผิวของซึนไมโครพาร์ทิเคิลเปลี่ยนจากประจุบวกเป็นประจุลบ การเพิ่มความเข้มข้นของ SLS ช่วยเพิ่มปริมาณของผงแห้งและเพิ่มขนาดของซึนไมโครพาร์ทิเคิลที่ ความเข้มข้น SLS 0.02 M จะได้ซึนไมโครพาร์ทิเคิลที่มีขนาดอนุภาคใหญ่ที่สุด แต่ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของ SLS มากกว่า 0.02 M จะทำให้ซึนไมโครพาร์ทิเคิลมีขนาดเล็กลง ปริมาณและชนิดของตัวยาต้นแบบที่ใส่ลงในตำรับมีผลต่อขนาดโดม (drug loading) และประสิทธิภาพในการกักเก็บยา (encapsulation efficiency) โดยตำรับที่มีตัวยาต้นแบบเป็น sulfathiazole และ lidocaine เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของปริมาณตัวยาต้นแบบต่อปริมาณซึนในตำรับ จะทำให้ตัวยาต้นแบบสามารถเข้าไปในไมโครพาร์ทิเคิลได้มากขึ้น และ sulfathiazole ซึ่งเป็นตัวยาต้นแบบประจุลบให้ประสิทธิภาพการกักเก็บยาสูงกว่า lidocaine ซึ่งเป็นตัวยาต้นแบบประจุบวก และเนื่องจากซึนมีสมบัติทนต่อกรดในกระเพาะอาหารได้ดี จึงทำให้เกิดการละลายของซึนน้อย ไมโครพาร์ทิเคิลเกิดความพยุบตัว จึงทำให้ซึนไมโครพาร์ทิเคิลปลดปล่อยยาในสภาวะกรด (0.1N กรดไฮโดรคลอริก) ได้ช้ากว่าในสภาวะด่าง (ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8) ซึนไมโครพาร์ทิเคิลที่มีตัวยาต้นแบบ sulfathiazole จะปลดปล่อยยาในสภาวะกรดและสภาวะด่างได้ดีกว่า ซึนไมโครพาร์ทิเคิลที่มีตัวยาต้นแบบ lidocaine

ดังนั้น การพัฒนาซึนไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเทคนิค coacervation มีประสิทธิภาพในการนำส่งยาให้ดูดซึมได้ดีบริเวณกระเพาะอาหาร การเลือกใช้ตัวยาต้นแบบประจุของตัวยาและรูปแบบการแตกตัวของยามีผลต่อประสิทธิภาพการปลดปล่อยยาออกจากซึนไมโครพาร์ทิเคิล

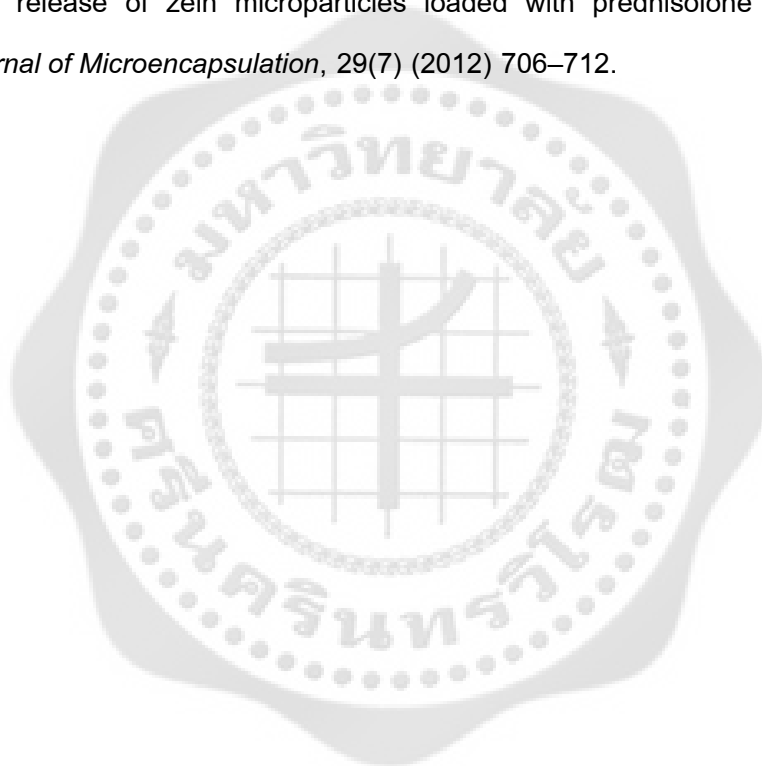


บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- 1.Liu X, Sun Q, Wang H, Zhang L, Wang JY. Microspheres of corn protein, zein, for an ivermectin drug delivery system. *Biomaterials*. 2005;26(1):109-15. Epub 2004/06/15.
- 2.Yu CY, Zhang XC, Zhou FZ, Zhang XZ, Cheng SX, Zhuo RX. Sustained release of antineoplastic drugs from chitosan-reinforced alginate microparticle drug delivery systems. *International journal of pharmaceutics*. 2008;357(1-2):15-21. Epub 2008/03/04.
- 3.Tan ML, Choong PF, Dass CR. Recent developments in liposomes, microparticles and nanoparticles for protein and peptide drug delivery. *Peptides*. 2010;31(1):184-93. Epub 2009/10/13.
- 4.Suksamran T, Opanasopit P, Rojanarata T, Ngawhirunpat T, Ruktanonchai U, Supaphol P. Biodegradable alginate microparticles developed by electrohydrodynamic spraying techniques for oral delivery of protein. *Journal of microencapsulation*. 2009;26(7):563-70. Epub 2009/10/21.
- 5.Muthuselvi L, Dhathathreyan A. Simple coacervates of zein to encapsulate Gitoxin. *Colloids and surfaces B, Biointerfaces*. 2006;51(1):39-43. Epub 2006/07/04.
- 6.Qixin Zhong MJ. Zein nanoparticles produced by liquid-liquid dispersion. *Food Hydrocolloids*. 2009;23:2380-7.
- 7.Samad A TM, Alam MI, and Akkhter MS. Microparticle A Novel Drug Delivery System. *Colloids in Drug Delivery*. p. 456-64.
- 8.ทวีโรจนกุล . Microencapsulation Technology : เทคโนโลยีชีวแต่แจ้ว. Technology promotion. 2009;36:41.
9. Guo HX, Shi YP. A novel zein-based dry coating tablet design for zero-order release. *International journal of pharmaceutics*. 2009;370(1-2):81-6. Epub 2008/12/23.
10. S. Kim JX. Aggregate formation of zein and its structural inversion in aqueous ethanol. *Cereal Science*. 2008;47:1-5.
11. Namita Deo SJ, Nicholas J. Turro, and P. Somasundaran. Surfactant Interactions with Zein Protein. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*. 2003;19:5083-8.
12. Shukla R., Cheryan M. Zein: the *Industrial protein from corn*. *Industrial crops and products* 2001;13:171-92.

13. Paliwal R, Palakurthi S. Zein in controlled drug delivery and tissue engineering. *Journal of controlled release* 2014;189:108-22.
14. CR R. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. London 2006.
15. W.lawton J. Zein: A History of processing and use. *cereal chem.* 2002;79:1-18.
16. Mary C, Jessica D, Tyler B, Yiqi Y and Angela K, Fabrication and characterization of DNA-loaded zein nanospheres, *Journal of Nanobiotechnology.*, (2012).
17. Lau TLE, Johnson KS, Mikkelsen D, Halley JP and Steadman JK, Preparation and in vitro release of zein microparticles loaded with prednisolone for oral delivery, *Journal of Microencapsulation*, 29(7) (2012) 706–712.





ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นาย เฉชบดี ค้างสาธเจ้า
วันเดือนปีเกิด	2 มิถุนายน 2530
สถานที่เกิด	จ.กรุงเทพมหานคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	47/1 หมู่ 7 ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ผู้ช่วยผู้จัดการ
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	คลินิกหมอสุพล แพทย์แผนไทย บางชัน 47/1 หมู่ 7 ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2544-2549	ชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จาก โรงเรียนธรรมศาสตร์คลองหลวงวิทยาคม
พ.ศ. 2549-2552	ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) สาขาวิชา ชีววิทยา จาก มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ