MRG4680120 รศ.ดร.พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวในกระเพาะอาหาร ในรูปของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีด

โดย

พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์ และคณะ

มิถุนายน 2548

สัญญาเลขที่ MRG4680120

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวในกระเพาะอาหาร ในรูปของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีด

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์
ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

รองศาสตราจารย์ ดร. สาธิต พุทธิพิพัฒน์ขจร
ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยทบวงมหาวิทยาลัย และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย ทบวงฯ และสกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

สัญญาเลขที่ : MRG4680120
ชื่อโครงการ : การพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวในกระเพาะอาหารในรูปของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีด
ชื่อนักวิจัย : พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์ และ สาธิต พุทธิพิพัฒน์ขจร
ระยะเวลาดำเนินงาน : 2 ปี (1 กรกฎาคม 2546 ถึง 30 มิถุนายน 2548)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวเพื่อยืดระยะเวลาคงอยู่ในกระเพาะอาหารในรูปของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีด โดยใช้แนวทางการลดความหนาแน่นของระบบโดยใช้น้ำมันหรือสารสร้างแก๊สผสมเข้าในสูตรตำรับ

การเตรียมเป็นแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบอาศัยวิธีการเกิดเป็นอิมัลชั่นและการเกิดเป็นเจลซึ่งได้พัฒนาและเสนอขึ้นมาใหม่ และได้ศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อรูปร่างลักษณะของเม็ดบีดและการลอยตัว เช่น ชนิดและปริมาณของน้ำมันที่ใช้ และชนิดของเพคติน เป็นต้น นอกจากนั้นยังได้ศึกษาผลของการปรับสูตรตำรับวิธีต่างๆ ต่อการปลดปล่อยตัวยาเมโทรนิดาโซลอีกด้วย ภาพถ่ายอิเล็กตรอนแสดงให้เห็นโครงสร้างของเม็ดบีดซึ่งมีรูขนาดเล็กสำหรับบรรจุน้ำมันอยู่ทั่วเม็ดเจลบีด ผลการศึกษาการลอยตัวและการปลดปล่อยยาพบว่าการใช้น้ำมันในปริมาณที่เหมาะสมช่วยให้เม็ดบีดลอยตัวได้ในสภาวะที่ทดสอบ การเพิ่มอัตราส่วนของยาต่อเพคตินมีผลชะลอการปลดปล่อยยาออกจากเม็ดเจลบีด อย่างไรก็ตามการปลดปล่อยยาออกจากเม็ดบีดยังค่อนข้างเร็ว การปรับอัตราการปลดปล่อยยาโดยการปรับสูตรตำรับด้วยวิธีต่างๆ พบว่าการเติมสารชะลอการปลดปล่อยยาทั้งที่เป็นสารพอลิเมอร์ สารจำพวกแว็กซ์ทั้งที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ มีผลชะลอการปลดปล่อยยาไม่แตกต่างจากระบบที่ไม่ได้ปรับสูตรตำรับอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่การแช่เม็ดบีดในสารเพิ่มความแข็ง (กลูตาราลดีไฮด์) มีผลทำให้การปลดปล่อยยาช้าลงประมาณ 2 เท่า ส่วนวิธีการเคลือบเม็ดบีดด้วยพอลิเมอร์ชนิดไม่ละลายน้ำทำให้มีการปลดปล่อยยาช้าลงอย่างมีนัยสำคัญโดยที่เม็ดบีดยังคงสามารถลอยตัวได้

งานวิจัยนี้ยังได้พัฒนาวิธีการเตรียมแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดลอยตัวในกระเพาะอาหารโดยใช้สารกลุ่มคาร์บอเนตซึ่งเป็นสารสร้างแก๊ส และได้ศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อรูปร่างลักษณะของเม็ดเจลบีด การลอยตัวและการปลดปล่อยยาจากเม็ดเจลบีด เช่น ชนิดและปริมาณของสารคาร์บอเนต ชนิดของเพคติน ชนิดของสารตัวกลางก่อเจลและวิธีการทำให้แห้ง เป็นต้น ผลการศึกษาพบว่าเม็ดบีดที่ผสมโซเดียมไบคาร์บอเนตและแคลเซียมคาร์บอเนตมีโครงสร้างเป็นรูพรุนและลอยตัวได้ การเลือกใช้สารตัวกลางก่อเจลที่มีความเป็นกรดทำให้โครงสร้างมีรูพรุนมากขึ้น และยังพบว่าการทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็งทำให้ได้เม็ดบีดที่มีโพรงขนาดใหญ่และทำให้เม็ดบีดลอยตัวได้ดีกว่าวิธีการทำให้แห้งโดยการอบแห้ง นอกจากนั้นยังพบว่าปัจจัยต่างๆ ที่ศึกษามีผลต่อการปลดปล่อยยาออกจากเม็ดบีดแตกต่างกันไป

ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบและชนิดที่ใช้สารกลุ่มคาร์บอเนตเป็นระบบที่สามารถพัฒนาเป็นระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวในกระเพาะอาหารได้ ซึ่งคุณสมบัติของเม็ดบีดที่ลอยตัวได้นี้สามารถพัฒนาให้เป็นระบบที่ชะลอการปลดปล่อยตัวยาหรือเป็นระบบที่เจาะจงเป้าหมายที่บริเวณเยื่อบุกระเพาะอาหารได้

คำสำคัญ: เพคติน แคลเซียมเพคติเนต ระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวในกระเพาะอาหาร บีด

Abstract

Contract No. : MRG4680120

Project Title : Development of intragastric floating drug delivery system using calcium pectinate gel beads

Researchers : Pornsak Sriamornsak and Satit Puttipipatkhachorn

Research Duration : 2 years (1 July 2003 – 30 June 2005 2004)

This research was aimed to develop the intragastric floating drug delivery system using calcium pectinate gel (CaPG) beads as carriers. The approach to make the bead afloat is adding the oils or gas-forming excipients in the formulations to reduce the density of the beads.

A new emulsion-gelation method to prepare oil-entrapped CaPG beads capable of floating in the gastric condition was designed and tested. Scanning electron photomicrographs demonstrated very small pores dispersed all over the beads. The effect of selected factors, such as type of oil, percentage of oil, and type of pectin on morphology and floating properties was investigated. The effect of various release modification methods on metronidazole (MZ) release was also investigated. The oil-entrapped CaPG beads floated if a sufficient amount of oil was used. Increasing the drug to pectin ratio in the beads decreased the release rate of the drug from oil-entrapped CaPG beads. However, the drug release from these beads was rapid. The attempts to modify the drug release were made by adding some additives into starting solution prior to bead formation, hardening with glutaraldehyde, or coating with polymer. The results demonstrated that addition of additives insignificantly changed the release profiles while using a hardening agent prolonged the drug release about 2-fold. Coating the beads significantly sustained the drug release and the beads still floated.

A new intragastric floating drug delivery system using CaPG beads containing carbonate salts, as gas-forming agents, was designed and tested. The effect of selected factors, such as type of carbonates, percentage of carbonates, type of pectin, type of gelation medium and drying condition, on morphology, buoyancy and drug release properties was investigated. Incorporation of $NaHCO_3$ or $CaCO_3$ into pectin solution resulted in porous structured beads. Acidity of gelation medium increased the pores in the structure. The lyophilized beads gave superporous structure and increased buoyancy when compared to air-dried beads since the structure of lyophilized beads remained the same as wet beads. All factors investigated have influenced the drug release from the CaPG beads containing carbonate salts.

The results suggested that oil-entrapped CaPG beads and CaPG beads containing carbonate salts were promising as a carrier for intragastric floating drug delivery. These properties are applicable not only to the sustained release of drugs but also to the targeting of the gastric mucosa.

Key words: pectin, calcium pectinate, intragastric floating drug delivery system, beads

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณทบวงมหาวิทยาลัยและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ที่สนับสนุนเงินทุนวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สาธิต พุทธิพิพัฒน์ขจร นักวิจัยที่ปรึกษาในโครงการวิจัยนี้ ซึ่งได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และให้การสนับสนุนในการทำวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่อำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่เพื่อทำการวิจัย และบริษัท Food & Cosmetic Systems ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างเพคตินที่ผลิตโดย CP Kelco (ประเทศเดนมาร์ค) ที่ใช้ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ ภญ.นาตยา ถีระวงษ์ ที่ช่วยเหลือในการทำวิจัยบางส่วนในห้องปฏิบัติการ และคุณวิฑูร แซ่โง้ว นักวิทยาศาสตร์ประจำศูนย์เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ช่วยเหลือในการถ่ายภาพ SEM และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรีสกุล สังข์ทองจีน ที่ให้คำแนะนำในการทำวิจัย รวมทั้งครอบครัวและเพื่อนร่วมงานทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุนและกำลังใจจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

สารบัญ

บทคัดย่อ	1
Abstract	2
กิตติกรรมประกาศ	3
สารบัญ	4
หน้าสรุปรายงานวิจัย	5
เนื้อหางานวิจัย	8
ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	8
ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (literature review)	9
วัตถุประสงค์ของโครงการ	10
ผลงานวิจัยที่ได้รับ	11
1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดโดยใช้เพคตินชนิดต่างๆ	11
2. เตรียมแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดลอยตัวที่ยังไม่ได้บรรจุยาโดยใช้เทคนิคต่างๆ	11
3. ศึกษาคุณสมบัติของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่เตรียมได้	14
4. เตรียมตำรับยา metronidazole โดยเลือกใช้แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีสารสร้างแก๊สซึ่งเป็นสารกลุ่มคาร์บอเนต สูตรที่สามารถลอยตัวได้	24
5. เตรียมตำรับยา metronidazole โดยเลือกใช้แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีสารลดความหนาแน่นของระบบ เช่น edible oil สูตรที่สามารถลอยตัวได้	34
สรุปผลการวิจัย	48
เอกสารอ้างอิง	49
Output ที่ได้จากโครงการ	51
ภาคผนวก	53

หน้าสรุปรายงานวิจัย (Executive Summary)

สัญญาเลขที่ MRG4680120

โครงการ: การพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวในกระเพาะอาหารในรูปของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีด

หัวหน้าโครงการ	:	รองศาสตราจารย์ ดร. พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์
หน่วยงาน	:	ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
ระยะเวลาดำเนินงาน	:	2 ปี (1 กรกฎาคม 2546 ถึง 30 มิถุนายน 2548)
งบประมาณ	:	480,000.00 บาท

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันในประเทศไทยสามารถผลิตยาสามัญ (generic drug) เพื่อใช้ในการรักษาโรคสำหรับผู้ป่วยทั้งในประเทศและบางส่วนสามารถส่งไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้ ปัจจุบันสถานพยาบาลต่างๆ หันมาใช้ยาสามัญที่ผลิตในประเทศแทนยาต้นแบบ (original drug) ของต่างประเทศเพิ่มมากขึ้น เพื่อลดค่าใช้จ่ายและต้นทุนในการรักษา แต่ในบางครั้งอาจมีคำถามเกี่ยวกับคุณภาพของยาสามัญที่ผลิตเองในประเทศว่าจะมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคได้เหมือนกับยาต้นแบบของต่างประเทศหรือไม่ เนื่องจากระบบการพัฒนาและการผลิตยาในประเทศส่วนใหญ่เป็นการนำยาสามัญที่หมดความคุ้มครองจากสิทธิบัตรมาเตรียมเป็นรูปแบบยาโดยไม่ได้มีการวิจัยและพัฒนาอย่างจริงจัง ในบางครั้งจึงอาจมีปัญหาต่อประสิทธิภาพการรักษาทั้งจากคุณสมบัติของตัวยาเอง จากรูปแบบยา และจากปัจจัยทางสรีรวิทยาของผู้ป่วยที่ใช้ยา

การออกแบบและพัฒนาระบบนำส่งยาที่ให้โดยการรับประทานมักมีวัตถุประสงค์เพื่อให้สามารถทำนายอัตราการปลดปล่อยตัวยาสำคัญจากระบบนำส่งยาได้และเพื่อเพิ่มชีวประสิทธิผล (bioavailability) ของตัวยา อย่างไรก็ตามขั้นตอนการพัฒนาระบบนำส่งยามักมีปัญหาติดขัดที่ระบบสรีรวิทยา เช่น ไม่สามารถทำให้ระบบนำส่งยาหยุดอยู่ในทางเดินอาหารเฉพาะในบริเวณที่ยาดูดซึมได้ดีหรือมีความคงตัวดีหรือมีความแตกต่างของระยะเวลาที่ระบบนำส่งยาอยู่ในกระเพาะอาหารในระหว่างบุคคลมาก เป็นต้น นอกจากนั้นระยะเวลาที่ระบบนำส่งยาผ่านกระเพาะอาหารในมนุษย์ค่อนข้างสั้น (เฉลี่ยประมาณ 2-3 ชั่วโมง) ทำให้ยาปลดปล่อยออกมาจากระบบนำส่งยาสู่กระเพาะอาหารได้ไม่สมบูรณ์ มีผลลดประสิทธิภาพของระบบนำส่งยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาที่ดูดซึมได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด ดังนั้นการควบคุมให้ระบบนำส่งยาอยู่ในกระเพาะอาหารเป็นเวลานานจึงช่วยเพิ่มการดูดซึมยาและเพิ่มชีวประสิทธิผลของยา ซึ่งมีประโยชน์สำหรับยาที่ดูดซึมได้น้อย ยาที่ดูดซึมได้เฉพาะในสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหารและยาที่เสื่อมสลายได้ง่ายในสภาวะที่มี pH สูงของลำไส้เล็ก เป็นต้น การยืดระยะเวลาคงอยู่ในกระเพาะอาหารของระบบนำส่งยาที่ให้โดยการรับประทานอาจทำได้โดยการใช้ระบบนำส่งยาชนิดลอยตัว ซึ่งมีความถ่วงจำเพาะต่ำกว่าของเหลวในกระเพาะอาหารทำให้ยังคงลอยตัวในกระเพาะอาหารได้โดยไม่ถูกบีบไล่ออกจากกระเพาะเป็นระยะเวลานาน ในขณะที่ระบบลอยตัวอยู่ในของเหลวในกระเพาะตัวยาจะปลดปล่อย

ออกมาอย่างช้าๆ จากระบบ และระบบจะถูกบีบไล่จากกระเพาะหลังจากที่ยาปลดปล่อยออกมาหมดแล้ว ซึ่งการที่ระบบลอยตัวได้ทำให้ระยะเวลาที่คงอยู่ในกระเพาะอาหารนานขึ้น สามารถควบคุมระดับยาในเลือดให้มีความสม่ำเสมอได้ดีขึ้น

อย่างไรก็ตาม เทคนิควิธีการเตรียมที่เกิดจากการพัฒนาส่วนใหญ่เป็นงานของต่างประเทศและได้รับการคุ้มครองจากสิทธิบัตรทำให้การนำเอาเทคนิควิธีการมาใช้ต้องเสียค่าใช้จ่ายที่สูง การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดใหม่โดยใช้พอลิเมอร์จากธรรมชาติมาใช้ในการพัฒนาเป็นระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวเพื่อยืดระยะเวลาคงอยู่ในกระเพาะอาหาร เพื่อแก้ปัญหาการดูดซึมยาได้น้อยไม่คงตัวในลำไส้ของยาสามัญบางตำรับ โดยเตรียมในรูปแบบของแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีด โดยจะทำการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเตรียมให้ได้ระบบที่ลอยตัวได้ในของเหลวในกระเพาะอาหาร รวมถึงการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อขั้นตอนการเตรียมระบบนำส่งยาดังกล่าว

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวเพื่อยืดระยะเวลาคงอยู่ในกระเพาะอาหารโดยใช้เพคติน เพื่อให้สามารถใช้ได้กับยาที่ต้องการให้มีฤทธิ์เฉพาะที่ในกระเพาะอาหาร
2. เพื่อศึกษาและพัฒนาเทคนิคการผลิตให้ได้ระบบที่ลอยตัวได้ และศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อขั้นตอนการเตรียมระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวที่ใช้เพคติน

3. ผลการวิจัย

ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามระเบียบวิธีวิจัยตามที่เสนอไว้ในข้อเสนอโครงการ เพื่อให้บรรลุตามวัตถุประสงค์ของโครงการ คือ การพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวเพื่อยืดระยะเวลาคงอยู่ในกระเพาะอาหารโดยใช้เพคติน รวมถึงการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการผลิตให้ได้ระบบที่ลอยตัวได้และการศึกษาปัจจัยที่มีผล *ต่อขั้นตอนการเตรียมระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวที่ใช้เพคติน*

โดยผู้วิจัยได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีด โดยใช้เพคตินชนิด low methoxy ที่มี degree of esterification (DE) แตกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ เพคติน LM-101 AS (มีค่า DE 36%) และ LM-104 AS-FS (มีค่า DE 28%) หลังจากที่ได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วได้เตรียมแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดชนิดลอยตัวที่ยังไม่ได้บรรจุยาโดยใช้เทคนิคต่างๆ ได้แก่ การเตรียมโดยวิธี ionotropic gelation การเตรียมโดยการเติมสารที่ลดความหนาแน่นของระบบ เช่น edible oil และการเตรียมโดยการเติมสารสร้างแก๊ส (gas forming agent) โดยได้ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเตรียมเจลบีด เช่น ชนิดของเพคติน ชนิดของน้ำมันที่ใช้ ความเข้มข้นของน้ำมันที่ใช้ ชนิดของสารสร้างแก๊ส ปริมาณของสารสร้างแก๊สที่ใช้ การเติมและชนิดของสารเร่งการเกิดแก๊ส วิธีการทำให้แห้ง เป็นต้น ผลการศึกษาคุณสมบัติของแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดที่เตรียมได้ (เช่น ลักษณะโครงสร้างทางกายภาพ (โดยใช้ scanning electron microscope) และคุณสมบัติการลอยตัว (buoyancy properties) เป็นต้น) พบว่าแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดชนิดลอยตัวที่ยังไม่ได้บรรจุยาซึ่งเตรียมโดยใช้สารต่างชนิดกัน หรือมีปริมาณแตกต่างกัน หรือใช้วิธีการเตรียมที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันในเชิงโครงสร้างของเจลบีดและมีคุณสมบัติการลอยตัวที่แตกต่างกันด้วย

หลังจากที่ได้ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อคุณสมบัติของแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดชนิดลอยตัวที่เตรียมได้แล้ว ได้เลือกบางสูตรตำรับทั้งที่ใช้น้ำมันและสารสร้างแก๊สเป็นสารที่ลดความหนาแน่นของระบบ

เพื่อเตรียมตำรับยา โดยเลือกใช้ metronidazole เป็นตัวยาต้นแบบ รวมถึงได้ศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อคุณสมบัติของบีดที่เตรียมได้ ศึกษาลักษณะและโครงสร้างของบีดที่เตรียมได้ ศึกษาคุณสมบัติการลอยตัวของบีดที่เตรียมได้เปรียบเทียบกับบีดที่ไม่ได้บรรจุยา และศึกษาการปลดปล่อยยาในสภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร ผลการศึกษาพบว่าปัจจัยที่ศึกษามีผลต่อลักษณะ โครงสร้าง คุณสมบัติการลอยตัว และการปลดปล่อยยาออกจากเจลบีด ผู้วิจัยยังได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมจากที่เสนอไว้ในข้อเสนอโครงการเพื่อสังเกตผลของการเติมสารพอลิเมอร์หรือสารบางชนิดในสูตรตำรับต่อการปลดปล่อยยา พบว่าการแช่เม็ดบีดที่บรรจุยาและมีน้ำมันเป็นส่วนประกอบในสารเพิ่มความแข็ง (glutaraldehyde) ทำให้การปลดปล่อยยาช้าลงประมาณ 2 เท่า การเติมสารพอลิเมอร์ (Eudragit® L) สารจำพวกแว็กซ์ เช่น glyceryl monostearate และสารกลุ่ม polyethylene glycol มีผลต่อการปลดปล่อยยาออกจากเม็ดบีดเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญในบางสูตรตำรับ การเคลือบเม็ดบีดด้วยพอลิเมอร์ชนิดที่ไม่ละลายน้ำ (Eudragit® RL) มีผลชะลอการปลดปล่อยยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวเพื่อยืดระยะเวลาคงอยู่ในกระเพาะอาหารโดยใช้เพคตินและสามารถพัฒนาต่อไปเพื่อใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยยา

4. Output จากงานวิจัย

ผลงานวิจัยที่ได้จากการดำเนินโครงการวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยได้เผยแพร่ผลงานวิจัยสู่วงการวิชาการและสาธารณชนทั้งในและต่างประเทศ ในรูปแบบต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ 3 เรื่อง

   ตีพิมพ์แล้ว 2 เรื่อง

   - AAPS Journal 2004, 6(3), article 24 (impact factor 2003 = 1.558)
   - European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2005, 24(4), 363-373. (impact factor 2003 = 2.250)

   กำลังอยู่ในระหว่างการเตรียมต้นฉบับ 1 เรื่อง

2. ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ 6 ครั้ง
3. ประชุมวิชาการในประเทศ 4 ครั้ง

ผลงานวิจัยที่ได้ยังมีประโยชน์ต่อการเรียนการสอนด้านเทคโนโลยีเภสัชกรรม การผลิตยาและการออกแบบระบบนำส่งยา รวมถึงการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อประยุกต์ใช้ในทางอุตสาหกรรมยา ทั้งในระดับปริญญาบัณฑิตและบัณฑิตศึกษา

เนื้อหางานวิจัย

ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันในประเทศไทยสามารถผลิตยาสามัญ (generic drug) เพื่อใช้ในการรักษาโรคสำหรับผู้ป่วยทั้งในประเทศและบางส่วนสามารถส่งไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้ จากนโยบายของรัฐบาลชุดปัจจุบันที่มี"โครงการ 30 บาท รักษาทุกโรค" ทำให้สถานพยาบาลต่างๆ หันมาใช้ยาสามัญที่ผลิตในประเทศแทนยาต้นแบบ (original drug) ของต่างประเทศเพิ่มมากขึ้น เพื่อลดค่าใช้จ่ายและต้นทุนในการรักษา แต่ในบางครั้งอาจมีคำถามเกี่ยวกับคุณภาพของยาสามัญที่ผลิตเองในประเทศว่าจะมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคได้เหมือนกับยาต้นแบบของต่างประเทศหรือไม่ เนื่องจากระบบการพัฒนาและการผลิตยาในประเทศส่วนใหญ่เป็นนำยาสามัญที่หมดความคุ้มครองจากสิทธิบัตรมาเตรียมเป็นรูปแบบยาโดยไม่ได้มีการวิจัยและพัฒนาอย่างจริงจัง ในบางครั้งจึงอาจมีปัญหาต่อประสิทธิภาพการรักษาทั้งจากคุณสมบัติของตัวยาเอง จากรูปแบบยา และ จากปัจจัยทางสรีรวิทยาของผู้ป่วยที่ใช้ยา

การออกแบบและพัฒนาระบบนำส่งยาที่ให้โดยการรับประทานมักมีวัตถุประสงค์เพื่อให้สามารถทำนายอัตราการปลดปล่อยตัวยาสำคัญจากระบบนำส่งยาได้และเพื่อเพิ่มชีวประสิทธิผล (bioavailability) ของตัวยา อย่างไรก็ตามขั้นตอนการพัฒนาระบบนำส่งยามักมีปัญหาติดขัดที่ระบบสรีรวิทยา เช่น ไม่สามารถทำให้ระบบนำส่งยาหยุดอยู่ในทางเดินอาหารเฉพาะในบริเวณที่ต้องการได้ หรือมีความแตกต่างของระยะเวลาที่ระบบนำส่งยาอยู่ในกระเพาะอาหารในระหว่างบุคคลมาก เป็นต้น ระยะเวลาที่ระบบนำส่งยาอยู่ในกระเพาะอาหารอาจจะสั้นเพียงไม่กี่นาทีหรือยาวนานถึง 12 ชั่วโมงขึ้นกับการทำงานในร่างกายของแต่ละคนและการออกแบบระบบนำส่งยาด้วย ความแตกต่างนี้อาจทำให้ไม่สามารถทำนายค่าชีวประสิทธิผลของยาและเวลาที่มีระดับยาในเลือดสูงสุดได้ถูกต้องเนื่องจากยาส่วนใหญ่สามารถดูดซึมได้ดีในทางเดินอาหารส่วนต้น (Rouge et al., 1996) นอกจากนั้นการที่ระยะเวลาที่ระบบนำส่งยาผ่านทางเดินอาหารส่วนต้นในมนุษย์ค่อนข้างสั้น (เฉลี่ยประมาณ 2-3 ชั่วโมง ในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น) ทำให้ยาปลดปล่อยออกมาจากระบบนำส่งยาได้ไม่สมบูรณ์ มีผลลดประสิทธิภาพของระบบนำส่งยาและทำให้ได้รับยาไม่ครบตามขนาดที่ต้องการ การควบคุมให้ระบบนำส่งยาอยู่เฉพาะในบริเวณที่ต้องการ (เช่น ในกระเพาะอาหาร) เป็นเวลานานจึงมีข้อดีหลายประการ เช่น ลดผลข้างเคียงและอาการไม่พึงประสงค์ เพิ่มความคงตัวของยาบางชนิด เพิ่มการดูดซึมยาและเพิ่มชีวประสิทธิผลของยา เป็นต้น (Alvisi et al., 1996) และมีประโยชน์สำหรับยาที่ต้องการให้ออกฤทธิ์เฉพาะที่ในกระเพาะอาหาร (เช่น เพื่อใช้ในการรักษาแผลในกระเพาะอาหาร) ยาที่มีปัญหาเรื่องความคงตัวในทางเดินอาหาร (เช่น ยาที่ไม่คงตัวในสภาวะของลำไส้เล็ก) และยาที่ดูดซึมได้เฉพาะในสภาวะที่เป็นกรด เป็นต้น แนวทางที่ใช้ในการยืดระยะเวลาคงอยู่ในกระเพาะอาหารของระบบนำส่งยาที่ให้โดยการรับประทานอาจทำได้ทั้งการใช้ระบบลอยตัว ระบบที่มีการพองตัวและขยายตัว ระบบที่ยึดเกาะกับเยื่อบุกระเพาะอาหาร หรือรูปแบบอื่นๆ ที่ใช้ชะลอการบีบไล่จากกระเพาะอาหาร (Deshpande et al., 1993; Rouge et al., 1996; Singh & Kim, 2000) ระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวเป็นระบบที่อาศัย hydrodynamic balance โดยมีความถ่วงจำเพาะของระบบต่ำกว่าของเหลวในกระเพาะอาหารทำให้ยังคงลอยตัวในกระเพาะอาหารได้โดยไม่ถูกบีบไล่ออกจากกระเพาะเป็นระยะเวลานาน ในขณะที่ระบบลอยตัวอยู่ในของเหลวในกระเพาะตัวยาจะค่อยๆ ปลดปล่อยออกมาช้าๆ จากระบบใน

อัตราที่ต้องการ (โดยอาจพัฒนาให้เป็นระบบที่ออกฤทธิ์นานได้) หลังจากที่ยาปลดปล่อยออกมาแล้วระบบจะถูกบีบไล่จากกระเพาะอาหาร ซึ่งการที่ระบบลอยตัวได้ทำให้ระยะเวลาที่คงอยู่ในกระเพาะอาหารนานขึ้น และในบางกรณีสามารถควบคุมระดับยาในเลือดให้มีความสม่ำเสมอได้ดีขึ้น

อย่างไรก็ตาม เทคนิควิธีการเตรียมที่เกิดจากการพัฒนาส่วนใหญ่เป็นงานของต่างประเทศและได้รับการคุ้มครองจากสิทธิบัตรทำให้การนำเอาเทคนิควิธีการมาใช้ต้องเสียค่าใช้จ่ายที่สูง การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดใหม่โดยใช้พอลิเมอร์จากธรรมชาติที่สามารถหาได้ง่ายในประเทศมาใช้ในการพัฒนาเป็นระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวเพื่อยืดระยะเวลาคงอยู่ในกระเพาะอาหาร เพื่อใช้ประโยชน์สำหรับยาที่ต้องการให้ออกฤทธิ์เฉพาะที่ในกระเพาะอาหาร เช่น เพื่อใช้ในการรักษาแผลในกระเพาะอาหาร (ในการศึกษานี้ใช้ยา metronidazole เป็นยาต้นแบบ) โดยเตรียมในรูปแบบของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีด โดยจะทำการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเตรียมให้ได้ระบบที่ลอยตัวได้ในของเหลวในกระเพาะอาหาร รวมถึงการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อขั้นตอนการเตรียมระบบนำส่งยาดังกล่าว

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (literature review)

แนวทางในการเตรียมระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวคือทำให้ระบบมีความหนาแน่นน้อยกว่า 1 กรัมต่อมิลลิลิตรเพื่อให้ลอยได้ในน้ำ ซึ่งสามารถทำได้โดยการใช้สารที่มีลักษณะรูพรุน การเก็บกักอากาศไว้ภายใน การใช้สารที่สามารถสร้างฟองฟู่หรือแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น (Deshpande et al., 1993; Singh & Kim, 2000) *สารช่วยที่ใช้ในระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวมักเป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid) หรือโพลีแซคคาไรด์ที่ก่อเจลได้หรือพองตัวได้ดี (เช่น อนุพันธ์ของเซลลูโลส อัลจิเนต ไคโตแซน เป็นต้น)* (Muller-Lissner et al., 1981; Inouye et al., 1989; Oth et al., 1992; Whitehead et al., 1998; Choi et al., 2002) การเตรียมรูปแบบยาชนิดลอยตัวอย่างง่าย ๆ ได้แก่ การเตรียมแคปซูลหรือยาเม็ดที่มีส่วนผสมของตัวยากับสารไฮโดรคอลลอยด์ซึ่งสามารถพองตัวเมื่อสัมผัสกับของเหลวในกระเพาะอาหารหลังจากที่รับประทานยา โดยรูปแบบยายังคงรูปได้อย่างค่อนข้างสมบูรณ์ อากาศที่ถูกจับอยู่ภายในรูปแบบยาที่พองตัวทำให้รูปแบบยานั้นลอยตัวได้ โครงสร้างของเจลที่เกิดขึ้นทำหน้าที่ชะลอการปลดปล่อยตัวยาจากรูปแบบยาเพราะว่าตัวยาต้องแพร่ผ่านชั้นเจลเหนียวที่เกิดขึ้นจากการพองตัวของสารไฮโดรคอลลอยด์อย่างช้า ๆ (Bogentoft, 1982) ระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวอาจเตรียมเป็นยาเม็ดมาทริกซ์โดยใช้พอลิเมอร์ที่พองตัวได้ผสมรวมกับส่วนประกอบที่ทำให้เกิดฟองฟู่ (เช่น โซเดียมไบคาร์บอเนตและ กรดซิตริกหรือกรดทาร์ทาริก) (Rubinstein & Friend, 1994) หรือเป็นมาทริกซ์ที่มีช่องบรรจุของเหลวที่เปลี่ยนรูปเป็นแก๊สได้ที่อุณหภูมิของร่างกาย (Ritschel, 1991) ยาเม็ดมาทริกซ์ที่เตรียมเพื่อให้เดินทางมายังกระเพาะอาหารและเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์โดยอาศัยความเป็นกรดในกระเพาะอาหารและถูกจับอยู่ในไฮโดรคอลลอยด์ที่เกิดเป็นเจล ซึ่งวิธีนี้ทำให้รูปแบบยาลอยตัวขึ้นและยังคงลอยอยู่ได้ในกระเพาะอาหาร

ระบบลอยตัวที่มีการพัฒนาในยุคแรก ๆ ที่มีรายงานมักเตรียมเป็นระบบ single-unit ซึ่งมีข้อด้อยเนื่องจากการยืดระยะเวลาคงอยู่ในกระเพาะอาหารไม่สม่ำเสมอเมื่อให้โดยการรับประทาน เนื่องจากกระบวนการบีบไล่ออกจากกระเพาะเป็นแบบที่ไม่สามารถคาดการณ์ได้ โดยอาจจะเกิดขึ้นหรือไม่ก็ได้ (all-or-nothing) (Kawashima et al., 1991) การเตรียมเป็นรูปแบบ multiple-unit จึงน่าจะเป็นรูปแบบที่ดีกว่าเพราะสามารถลดการแปรปรวนในการดูดซึมยาระหว่างบุคคลและมีโอกาสเกิด dose-dumping ต่ำกว่า (Rouge et al., 1996) การเตรียมระบบยาลอยตัวในรูปแบบ multiple-unit อาจเตรียมเป็นอนุภาคทรงกลมขนาดเล็กที่มีลักษณะกลวง (hollow microspheres) โดยใช้พอลิเมอร์ชนิดต่าง ๆ (Joseph et al., 2002; El-

Kamel et al., 2001) การเตรียมเป็นเจลบีด (gel beads) ซึ่งทำให้แห้งโดยวิธี freeze drying ซึ่งทำให้โครงสร้างของบีดมีความพรุนมาก (Whitehead et al., 1998) หรือเติมสารบางชนิดลงในตำรับ เช่น น้ำมันพืช สารลดแรงตึงผิว เป็นต้น (Murata et al., 2000; El-Gibaly, 2002) Choi และคณะ (2002) เตรียมเป็นแคลเซียมอัลจิเนตเจลบีด โดยการหยดสารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่ผสมสารที่เป็นแหล่งของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ผสมกับกรดอะซิติกเพื่อทำให้เกิดเป็นเจลและเพื่อสร้างแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ การเพิ่มปริมาณสารที่เป็นแหล่งของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ขนาดของบีดใหญ่ขึ้นและลอยตัวได้นานขึ้น

Sriamornsak และ Nunthanid (1998) นำเอาเพคตินซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์จากธรรมชาติซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับสารไฮโดรคอลลอยด์ชนิดอื่น (เช่น อัลจิเนต) ที่มีการนำมาใช้เป็นระบบนำส่งชนิดลอยตัว มาใช้เตรียมเป็นแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดโดยใช้เทคนิค ionotropic gelation ให้เจลบีดในลักษณะเดียวกัน ซึ่งวิธีนี้สามารถเตรียมได้ง่าย ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่มีราคาแพง บีดที่เตรียมได้มีขนาดสม่ำเสมอและสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้ดี (Sriamornsak & Nunthanid, 1998,1999) ในการศึกษาของ Sriamornsak (1998,1999) ซึ่งใช้ระบบแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดที่เตรียมโดยเทคนิคเดียวกันเพื่อนำส่งยาโปรตีนเพื่อให้ออกฤทธิ์เฉพาะที่ในลำไส้ใหญ่ พบว่าบีดที่เตรียมได้สามารถนำส่งยาไปยังเป้าหมายที่ต้องการได้ โดยไม่ถูกละลายหรือสลายตัวในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กแต่ถูกย่อยได้โดยอาศัยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ การศึกษาผลของวิธีการทำให้แห้งพบว่าบีดที่ทำให้แห้งโดยอบแห้งที่อุณหภูมิสูงมีลักษณะเรียบทึบเนื่องจากน้ำที่อยู่ภายในระเหยออก ส่วนบีดที่ทำให้แห้งโดยวิธี freeze drying มีลักษณะพรุนคล้ายรวงผึ้งและสามารถลอยได้ในของเหลวตัวกลาง (Sriamornsak, 1999) ดังนั้นการเตรียมแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดจึงมีแนวโน้มที่จะสามารถนำมาใช้เพื่อพัฒนาเป็นระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวได้เช่นเดียวกัน โดยจะต้องมีการพัฒนาเทคนิคกระบวนการเตรียมเพิ่มเติม รวมถึงการเลือกใช้สารที่จะใส่เข้าไปในระบบเพื่อช่วยให้รูปแบบยาลอยตัวได้

นอกจากนั้นการเลือกใช้เพคตินยังมีข้อดีเนื่องจากเป็นสารจากธรรมชาติ มีราคาถูก และไม่เป็นพิษสามารถสกัดได้จากพืชชั้นสูงเกือบทุกชนิดโดยเฉพาะในพืชตระกูลส้ม ทำให้เพคตินมีศักยภาพในการนำมาใช้เพื่อพัฒนาเป็นระบบนำส่งยา Sriamornsak (2004) ได้ทบทวนงานวิจัยที่นำเอาเพคตินไปใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรม งานวิจัยส่วนใหญ่ทำการศึกษาและพัฒนาระบบนำส่งยาเพื่อให้ออกฤทธิ์นานในลำไส้เล็กหรือให้ออกฤทธิ์เฉพาะที่ในลำไส้ใหญ่ นอกจากนั้นเพคตินยังมีประโยชน์ในเชิงสุขภาพในการช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด ใช้ในการควบคุมน้ำหนักตัว และมีฤทธิ์ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งบางชนิด (พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์, 2544-45)

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวเพื่อยืดระยะเวลาคงอยู่ในกระเพาะอาหารโดยใช้เพคติน
2. เพื่อศึกษาและพัฒนาเทคนิคการผลิตให้ได้ระบบที่ลอยตัวได้
3. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อขั้นตอนการเตรียมระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวที่ใช้เพคติน

ผลงานวิจัยที่ได้รับ

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีด โดยใช้เพคตินชนิดต่างๆ

เพคตินที่ใช้ในการศึกษามี 2 ชนิด ได้แก่ LM-101 AS และ LM-104 AS-FS (CP Kelco, Denmark) โดยได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมให้ได้เม็ดเจลบีดที่มีลักษณะกลม ซึ่งวิธีการเตรียมแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดโดยวิธี ionotropic gelation มีขั้นตอนสรุปดังนี้ คือ ผสมสารละลายเพคตินความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนัก หลังจากนั้นจึงหยดสารละลายเพคตินที่เตรียมได้ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ ผ่านเข็มฉีดยาเบอร์ 21G ปลายตัดตรง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 มิลลิเมตร โดยปรับอัตราการหยดที่ประมาณ 50-60 หยดต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที การเกิดแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดจะเกิดขึ้นโดยอัตโนมัติ หลังจากนั้นแช่แคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดที่เกิดขึ้นในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่ออีก 20 นาที เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ยิ่งขึ้น บีดที่ได้มีลักษณะกลม สีเหลืองอ่อนใส จากนั้นจึงนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นและนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

2. เตรียมแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดชนิดลอยตัวที่ยังไม่ได้บรรจุยาโดยใช้เทคนิคต่างๆ ได้แก่

2.1. การเตรียมโดยวิธี ionotropic gelation

เตรียมแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดโดยวิธี ionotropic gelation ดังรายละเอียดที่กล่าวมาแล้วในข้อ 1 โดยได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ได้แก่

2.1.1. ศึกษาผลของชนิดของเพคติน

เตรียมเจลบีดจากเพคตินชนิด low methoxy ที่มี degree of esterification (DE) แตกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ เพคติน LM-101 AS (มีค่า DE 36%) และ LM-104 AS-FS (มีค่า DE 28%)

2.1.2. ศึกษาผลของวิธีการทำให้แห้ง

นำเจลบีดที่เตรียมได้จากเพคตินทั้ง 2 ชนิดไปทำให้แห้งโดยวิธีการอบแห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง (freeze drying)

2.2. การเตรียมโดยการเติมสารที่ลดความหนาแน่นของระบบ เช่น edible oil

เตรียมแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดชนิดที่มีน้ำมันชนิดที่รับประทานได้เป็นสารที่ลดความหนาแน่นของระบบ โดยวิธี emulsion-gelation ซึ่งเป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธี ionotropic gelation โดยวิธีการเตรียมมีความแตกต่างจากการเตรียมเจลบีดธรรมดาเล็กน้อยคือ ผสมสารละลายเพคติน (ความเข้มข้น 5% w/w) กับน้ำมันความเข้มข้นต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 หากกวนผสมแบบธรรมดาจะเกิดการแยกชั้นของน้ำมันและสารละลายเพคติน จึงต้องใช้เครื่องปั่นผสม homogenizer ช่วยในการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยของเหลวที่ได้มีลักษณะเป็นอิมัลชันซึ่งคงตัว เนื่องจากเพคตินมีคุณสมบัติในการเป็นสารก่ออิมัลชัน หลังจากนั้นจึงหยดสารละลายเพคตินที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ ผ่านเข็มเบอร์ 21G ปลายตัดตรง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 มิลลิเมตร โดยปรับอัตราการหยดที่ประมาณ 50-60 หยดต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที การเกิดแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดจะเกิดขึ้นโดยอัตโนมัติ หลังจากนั้นแช่เจลบีดที่เกิดขึ้นในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ต่ออีก 20 นาที เพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ยิ่งขึ้น แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่นและนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ได้แก่

ตารางที่ 1 ตัวอย่างการคำนวณส่วนประกอบในตำรับการเตรียมแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดที่มีน้ำมันชนิดที่รับประทานได้เป็นสารที่ลดความหนาแน่นของระบบ

5% Pectin solution (กรัม)	น้ำมัน (กรัม)	น้ำหนักรวม (กรัม)	คิดเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำมันในสูตร (%w/w)
25.0	0	25.0	0
25.0	1.3	26.3	5
25.0	2.8	27.8	10
25.0	6.3	31.3	20
25.0	10.7	35.7	30
25.0	16.7	41.7	40

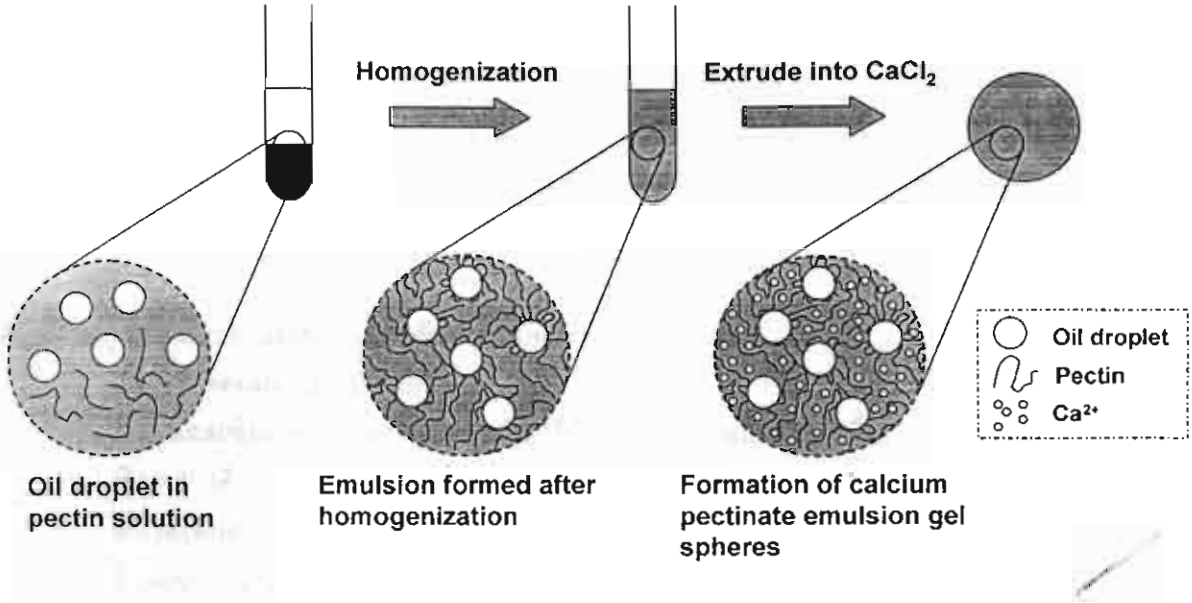
2.2.1. *ศึกษาผลของชนิดของเพคติน*
เตรียมเจลบีดจากเพคตินชนิด low methoxy ที่มี DE แตกต่างกัน 2 ชนิด (เช่นเดียวกับ 2.1.1.)

2.2.2. *ศึกษาผลของชนิดของน้ำมันที่ใช้*
เลือกใช้น้ำมันที่ใช้ในทางเภสัชกรรมและที่ใช้ประกอบอาหารซึ่งสามารถรับประทานได้ รวมทั้งสิ้น 8 ชนิด ได้แก่ light mineral oil, olive oil, corn oil, soybean oil, rice oil, sesame oil, peppermint oil and sunflower oil

2.2.3. *ศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำมันที่ใช้*
ใช้น้ำมันในสูตรตำรับในปริมาณที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ 5-40 % โดยน้ำหนัก

ในรูปที่ 1 แสดงแผนภาพกลไกการเกิดเป็นเม็ดเจลบีดด้วยวิธีการเกิดเป็นอิมัลชันก่อน แล้วจึงเกิดเป็นเจล (emulsion-gelation method) ซึ่งได้นำเสนอขึ้นใหม่เป็นครั้งแรก[1]

[1] ตีพิมพ์ใน *AAPS Journal* 2004 ปีที่ 6 ฉบับที่ 3 บทความที่ 24 (http://www.aapsj.org)



รูปที่ 1 Diagram to illustrate the proposed model of emulsion gel spheres formation process by which the oil-entrapped calcium pectinate gel spheres is formed by ionotropic gelation.

2.3. การเตรียมโดยการเติมสารสร้างแก๊ส (gas forming agent)

เตรียมแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดชนิดที่มีสารสร้างแก๊ส เช่น สารกลุ่มคาร์บอเนต เพื่อช่วยลดความหนาแน่นของระบบ โดยวิธี ionotropic gelation เช่นเดียวกัน โดยวิธีการเตรียมมีความแตกต่างจากเจลบีดธรรมดาคือมีการเติมสารกลุ่มคาร์บอเนตลงในสารละลายเพคตินก่อนหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ วิธีการเตรียมในขั้นตอนอื่นๆ คล้ายกับวิธีการที่กล่าวมาแล้วในข้อ 1 และได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ได้แก่

2.3.1. *ศึกษาผลของชนิดของเพคติน*

เตรียมเจลบีดจากเพคตินชนิด low methoxy ที่มี DE แตกต่างกัน 2 ชนิด (เช่นเดียวกับ 2.1.1.)

2.3.2. *ศึกษาผลของชนิดของสารสร้างแก๊ส*

เลือกใช้สารกลุ่มคาร์บอเนตซึ่งสามารถแตกตัวให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้ เช่น โซเดียมไบคาร์บอเนต (sodium bicarbobate) โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate) และโปแตสเซียมคาร์บอเนต (potassium carbonate)

2.3.3. *ศึกษาผลของปริมาณของสารสร้างแก๊สที่ใช้*

ใช้สารกลุ่มคาร์บอเนตในสูตรตำรับในปริมาณที่แตกต่างกัน คือ 5 และ 10 % โดยน้ำหนักของสารผสมที่เตรียมได้

2.3.4. *ศึกษาผลของการเติมและชนิดของสารเร่งการเกิดแก๊ส*

ได้เลือกใช้กรดเกลือ (0.1 N HCl) และกรดน้ำส้ม (10% acetic acid) เติมลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ผลการศึกษาพบว่าสารละลายเพคตินที่ผสมโซเดียมคาร์บอเนตหรือโปแตสเซียมคาร์บอเนต ได้เป็นสารละลายที่มีลักษณะข้นหนืด ไม่สามารถหยดผ่านเข็มได้ จึงไม่สามารถเตรียมเป็นเม็ดเจลบีดได้ ในขณะที่สารละลายที่ผสมกับโซเดียมไบคาร์บอเนตหรือแคลเซียมคาร์บอเนต สามารถเตรียมเป็นเม็ดเจลบีดได้ โดยเม็ดบีดที่เตรียมได้มีลักษณะที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของสารกลุ่มคาร์บอเนตและสารเร่งการเกิดแก๊สเป็นสำคัญ

3. ศึกษาคุณสมบัติของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่เตรียมได้ ได้แก่

3.1. ขนาดเฉลี่ยของเม็ดเจลบีด

แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่เตรียมได้ด้วยวิธีต่างกันมีขนาดเฉลี่ยของเม็ดเจลบีดที่แตกต่างกัน กล่าวคือเม็ดเจลบีดที่ไม่ได้เติมสารลดความหนาแน่นของระบบที่เตรียมโดยวิธีการอบแห้งมีขนาดเล็กกว่าที่ทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง เนื่องจากการทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็งสามารถรักษาขนาดเดิมของเม็ดเจลบีดไว้ได้ (ดังแสดงในตารางที่ 2)

ขนาดของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของน้ำมันที่เพิ่มขึ้น (ดังตัวอย่างในรูปที่ 2) ซึ่งเพคตินทั้งสองชนิดให้ผลไม่แตกต่างกัน ส่วนความเข้มข้นของน้ำมันที่ใช้พบว่าหากใช้น้ำมันในสัดส่วนที่มากขึ้น เช่น 40 เปอร์เซ็นต์ หลังจากอบแห้งจะพบน้ำมันรั่วออกจากเม็ดบีดที่เตรียมได้

แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดที่ใช้สารสร้างแก๊สกลุ่มคาร์บอเนตที่แตกต่างกัน มีขนาดเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ปัจจัยที่มีผลเด่น คือ วิธีในการทำให้แห้ง ชนิดของสารคาร์บอเนตและการเติมสารเร่งการเกิดแก๊ส (ดังแสดงในตารางที่ 3)

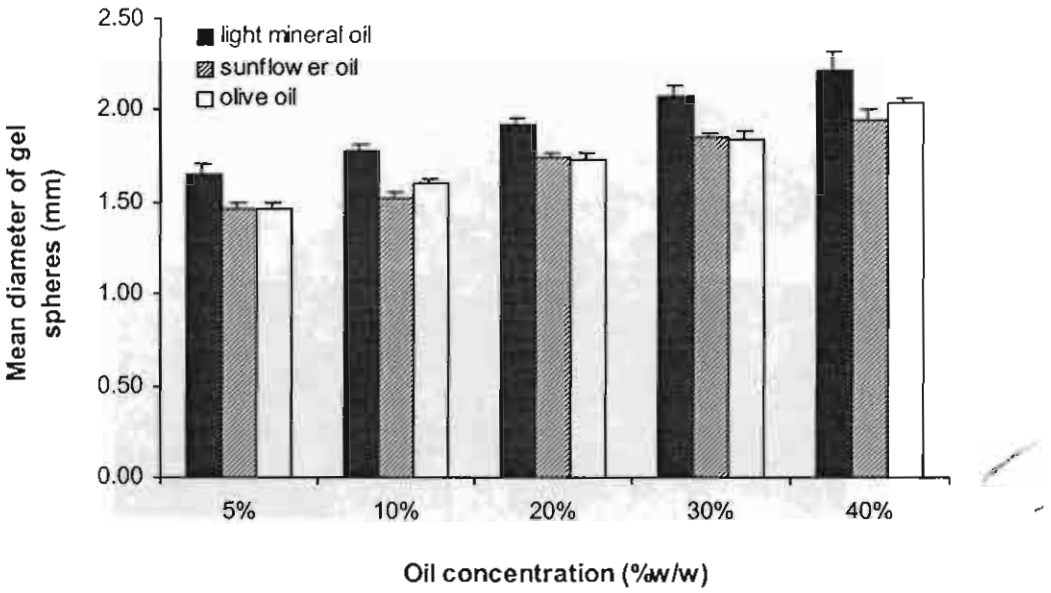
3.2. ลักษณะโครงสร้างทางกายภาพ

แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่เตรียมได้ เมื่อผ่านการอบแห้งแล้ว พบว่าแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่เตรียมได้จากเพคตินทั้งสองชนิด มีลักษณะภายนอกที่ปรากฏไม่แตกต่างกัน โดยที่แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ไม่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ ขนาดจะเล็กลง แบน และยุบตัวลงมากหลังจากการอบแห้ง ส่วนแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบทุกชนิดและทุกความเข้มข้น มีลักษณะค่อนข้างกลม แบนลงเล็กน้อย แต่ไม่ยุบตัวหลังการ อบแห้ง มีสีเหลืองอ่อน (รูปที่ 3) โดยเม็ดบีดที่มี olive oil และ sunflower oil เป็นส่วนประกอบ จะมีสีเหลืองเข้มกว่าเม็ดบีดที่เตรียมได้จาก light mineral oil ในขณะที่แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ไม่มีน้ำมันจะมีขนาดเล็กกว่า

ส่วนลักษณะโครงสร้างของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ศึกษาโดย SEM พบว่า แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่เตรียมได้จากเพคตินทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกัน โดยที่แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ไม่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ จะมีลักษณะแบนเกิดจากการยุบตัวลงหลังการอบแห้ง พื้นผิวภายนอกค่อนข้างเรียบ ด้านข้างของโครงสร้างจะมีรอยหยักซึ่งเกิดจากเม็ดเจลบีดสูญเสียน้ำจากการอบแห้ง (รูปที่ 4a) ส่วนโครงสร้างภายในตามภาพตัดขวาง (รูปที่ 4b) พื้นผิวภายในยังคงเรียบ ไม่มีรูพรุน แต่จะพบรอยแตกเป็นร่องเล็กๆ จากด้านข้างตามแนวทรงกลม ส่วนแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ (รูปที่ 5-6) จะมีความกลมมากกว่า พื้นผิวภายนอกมีรูพรุน โครงสร้างภายในมีรูพรุนเช่นกันแต่ไม่พบร่องหรือรอยแตกภายใน

ตารางที่ 2 ขนาดเฉลี่ยของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีด (เพคตินชนิด LM-104 AS-FS) ชนิดที่ไม่มีและชนิดที่มีน้ำมันชนิดรับประทานได้เป็นสารที่ลดความหนาแน่นของระบบ

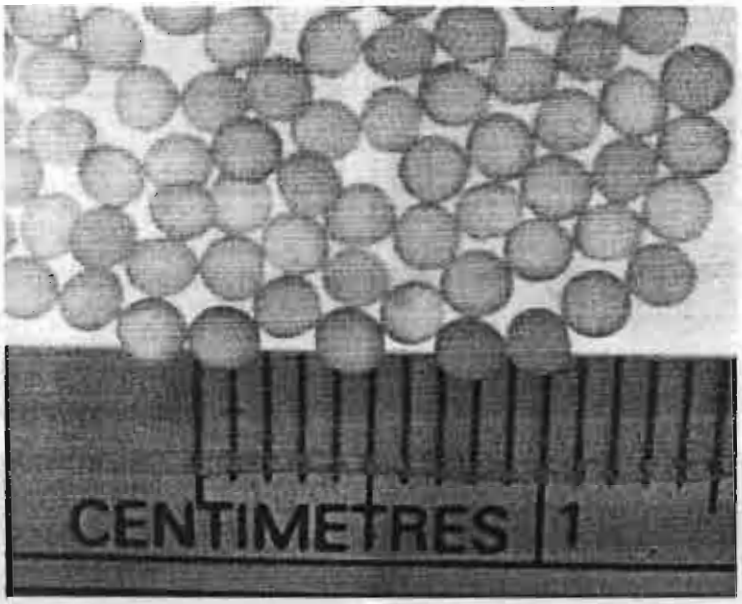
Formulation	Mean diameter, mm ± SD (n=50)
No oil (conventional) – air-dried	1.27 ± 0.08
No oil (conventional) – freeze-dried	1.58 ± 0.18
Mineral oil (relative density = 0.84)	
5%	1.65 ± 0.06
10%	1.78 ± 0.04
20%	1.92 ± 0.04
30%	2.08 ± 0.06
40%	2.22 ± 0.11
Olive oil (relative density = 0.91)	
5%	1.46 ± 0.04
10%	1.60 ± 0.02
20%	1.73 ± 0.03
30%	1.84 ± 0.05
40%	*2.04 ± 0.03*
Sunflower oil (relative density = 0.94)	
5%	*1.46 ± 0.03*
10%	1.52 ± 0.04
20%	1.75 ± 0.02
30%	1.85 ± 0.03
40%	1.95 ± 0.06
Soybean oil (relative density = 0.92)	
10%	1.65 ± 0.05
20%	1.82 ± 0.03
30%	1.91 ± 0.03
Corn oil (relative density = 0.92)	
10%	1.62 ± 0.05
20%	1.81 ± 0.07
30%	2.01 ± 0.04
Rice oil (relative density = 0.91)	
10%	1.62 ± 0.04
20%	1.84 ± 0.04
30%	1.93 ± 0.03
Sesame oil (relative density = 0.91)	
10%	1.60 ± 0.06
20%	1.73 ± 0.05
30%	1.85 ± 0.03
Peppermint oil (relative density = 0.90)	
10%	1.41 ± 0.07
20%	1.51 ± 0.04
30%	1.60 ± 0.03



รูปที่ 2 กราฟแสดงผลของความเข้มข้นของน้ำมันที่ใช้ต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของเม็ดแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบบางตำรับ (n=50).

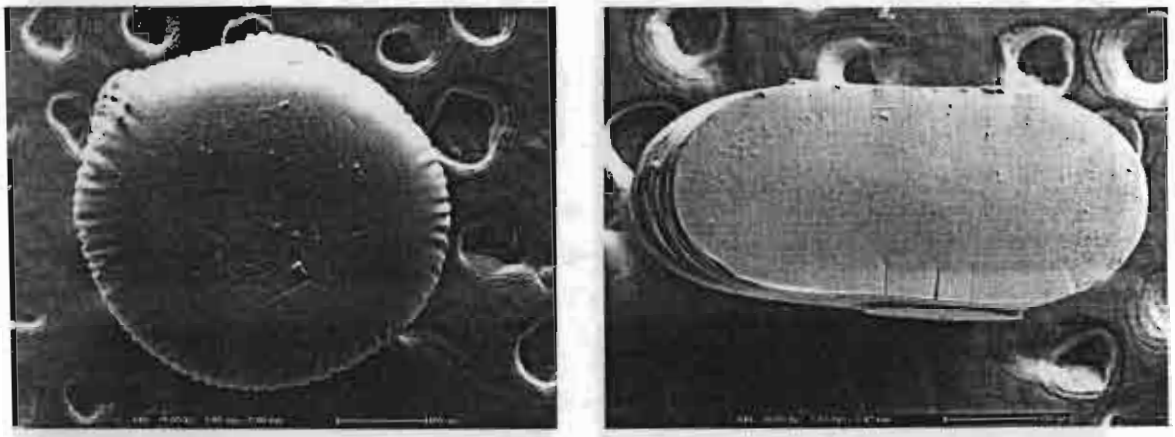
ตารางที่ 3 ขนาดเฉลี่ยของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดที่ใช้สารสร้างแก๊สกลุ่มคาร์บอเนตเป็นสารที่ลดความหนาแน่นของระบบ

Formulation	Pectin LM-104 AS-FS		Pectin LM-101 AS	
	Air-dried	Freeze-dried	Air-dried	Freeze-dried
- / $CaCl_2$ (control)	1.17 ± 0.09	1.58 ± 0.16	1.21 ± 0.08	1.58 ± 0.14
5% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$	1.26 ± 0.11	1.87 ± 0.10	1.49 ± 0.13	2.04 ± 0.16
5% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic acid	irregular	irregular	irregular	irregular
5% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$ + HCl	irregular	irregular	irregular	irregular
10% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$	1.29 ± 0.10	2.17 ± 0.18	1.18 ± 0.10	2.00 ± 0.07
10% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic acid	irregular	irregular	irregular	irregular
10% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$ + HCl	irregular	irregular	irregular	irregular
5% $CaCO_3$ / $CaCl_2$	1.23 ± 0.07	1.60 ± 0.16	1.32 ± 0.11	1.70 ± 0.15
5% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic acid	1.37 ± 0.10	1.91 ± 0.16	1.69 ± 0.18	2.09 ± 0.14
5% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + HCl	1.38 ± 0.07	2.04 ± 0.17	1.68 ± 0.07	2.07 ± 0.16
10% $CaCO_3$ / $CaCl_2$	1.44 ± 0.06	1.73 ± 0.13	1.47 ± 0.11	1.56 ± 0.15
10% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic acid	1.51 ± 0.12	2.11 ± 0.16	1.29 ± 0.14	2.27 ± 0.11
10% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + HCl	1.49 ± 0.06	2.02 ± 0.12	1.30 ± 0.17	2.30 ± 0.18



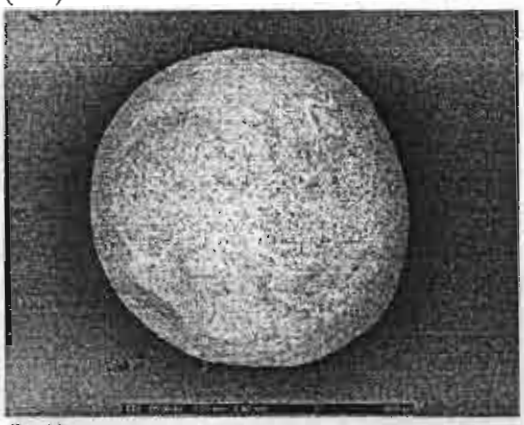
รูปที่ 3 ภาพถ่ายแสดงลักษณะแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ประกอบด้วย light mineral oil 30% ซึ่งเตรียมโดยวิธี emulsion-gelation

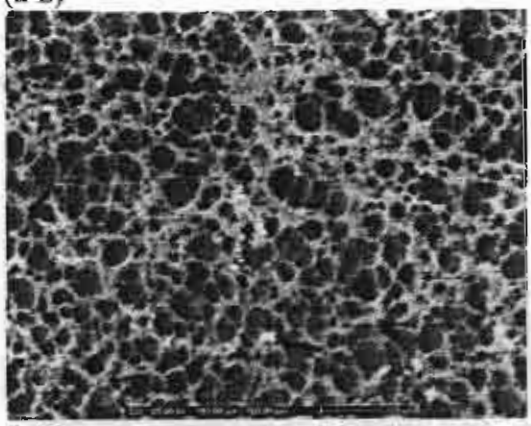
(a) (b)



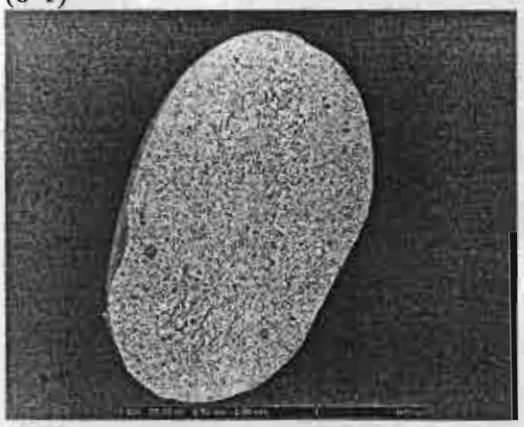
ปที่ 4 ภาพถ่าย scanning electron micrographs ของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ไม่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ (a) แสดงโครงสร้างภายนอก และ (b) ภาพตัดขวางแสดงโครงสร้างภายใน

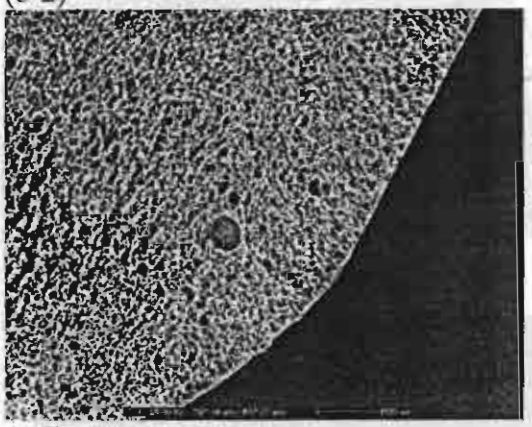
(a-1) (a-2)



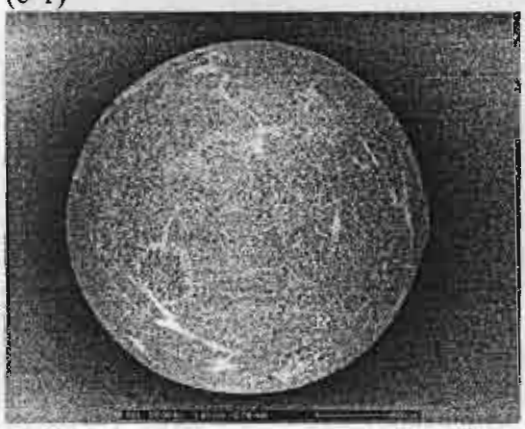


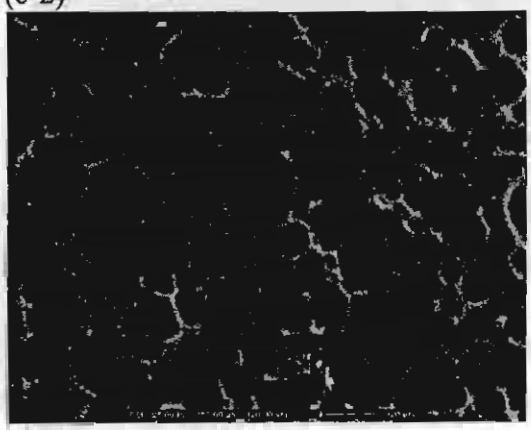
(b-1) (b-2)



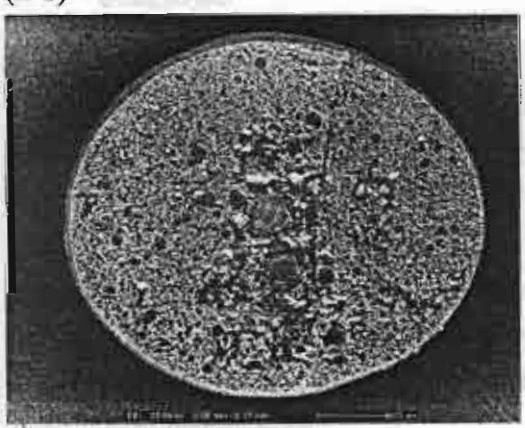


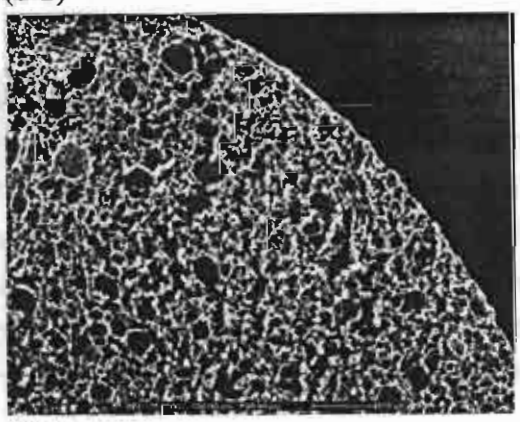
(c-1) (c-2)





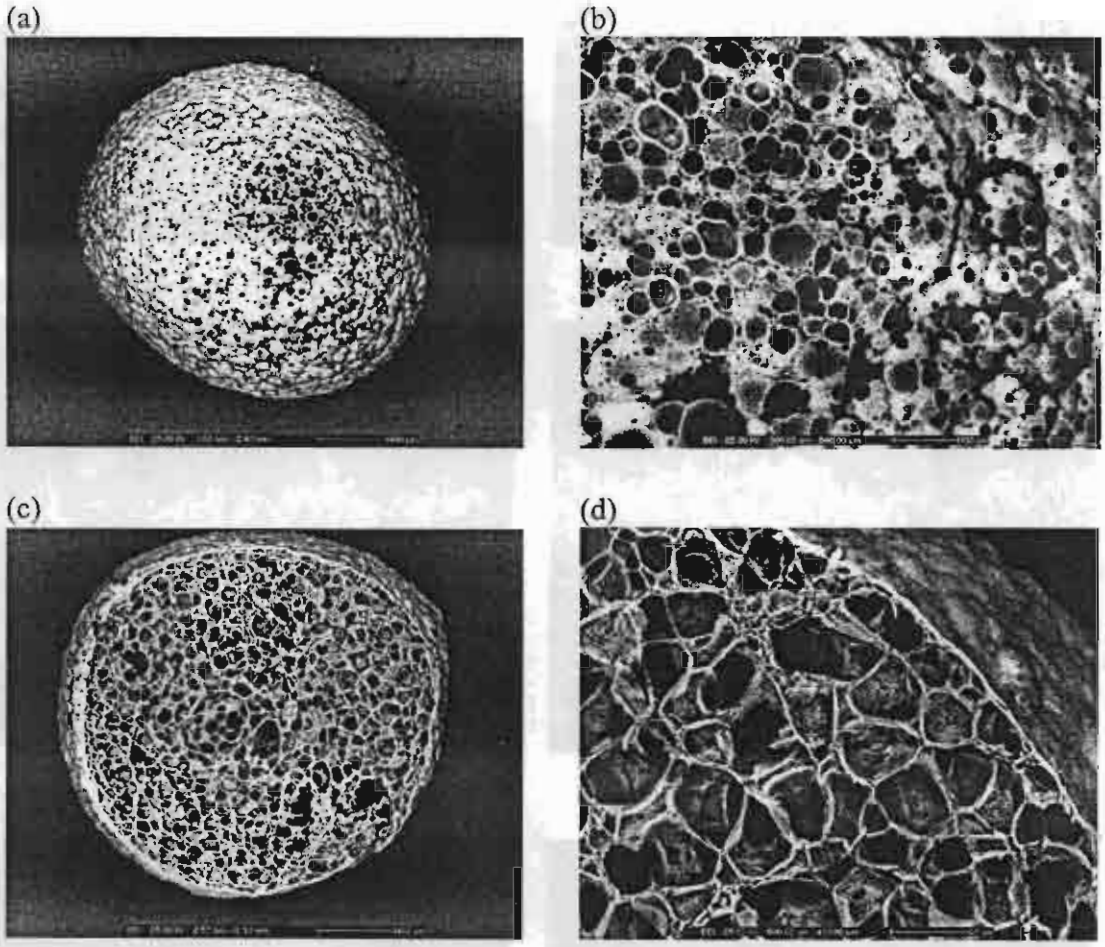
(d-1) (d-2)





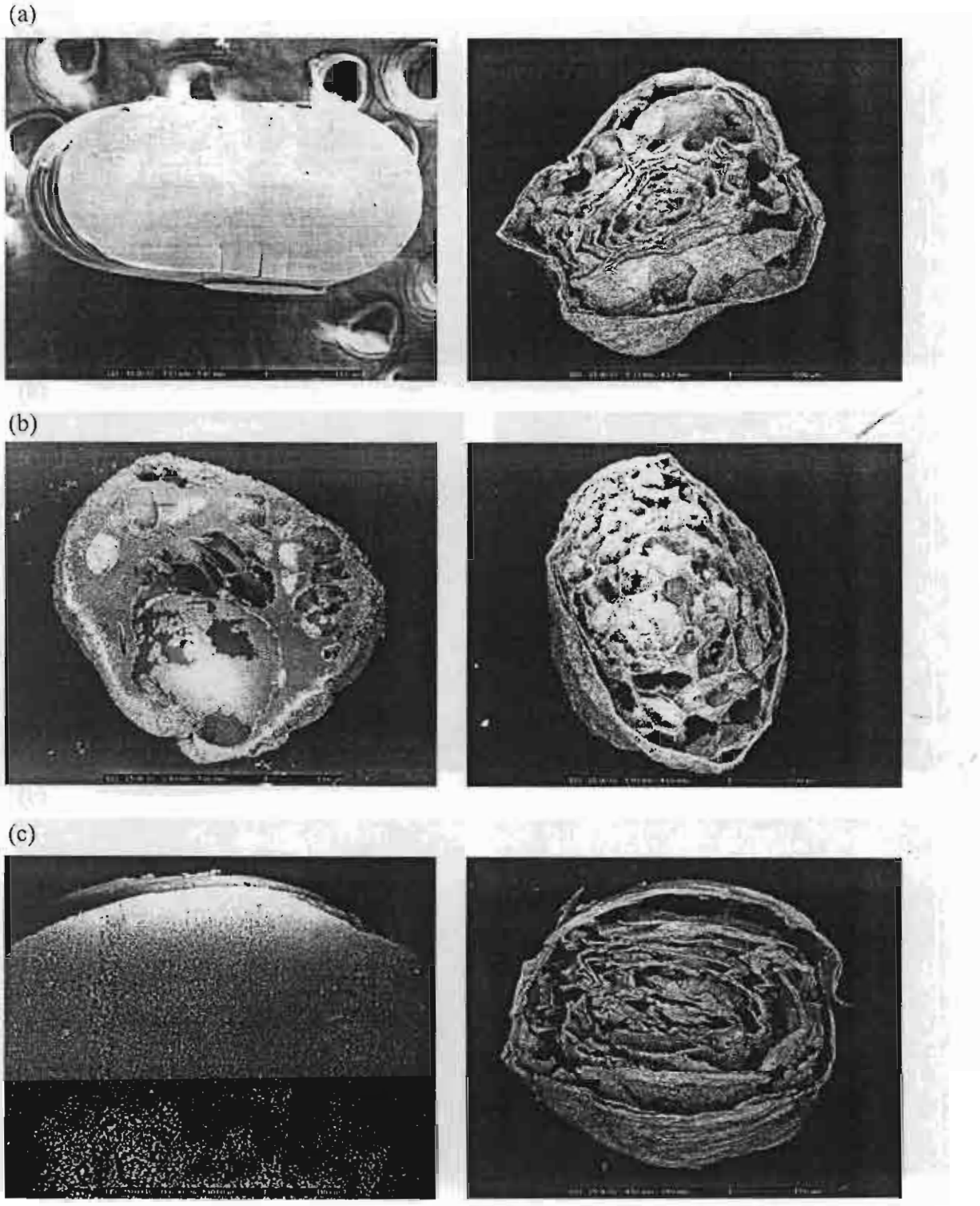
รูปที่ 5 .....

รูปที่ 5 ภาพถ่าย scanning electron micrographs แสดง (a) โครงสร้างภายนอก และ (b) ภาพตัดขวางแสดงโครงสร้างภายในของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มี olive oil 5% เป็นส่วนประกอบ และ (c) โครงสร้างภายนอก และ (d) ภาพตัดขวางแสดงโครงสร้างภายในของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มี olive oil 30% เป็นส่วนประกอบ

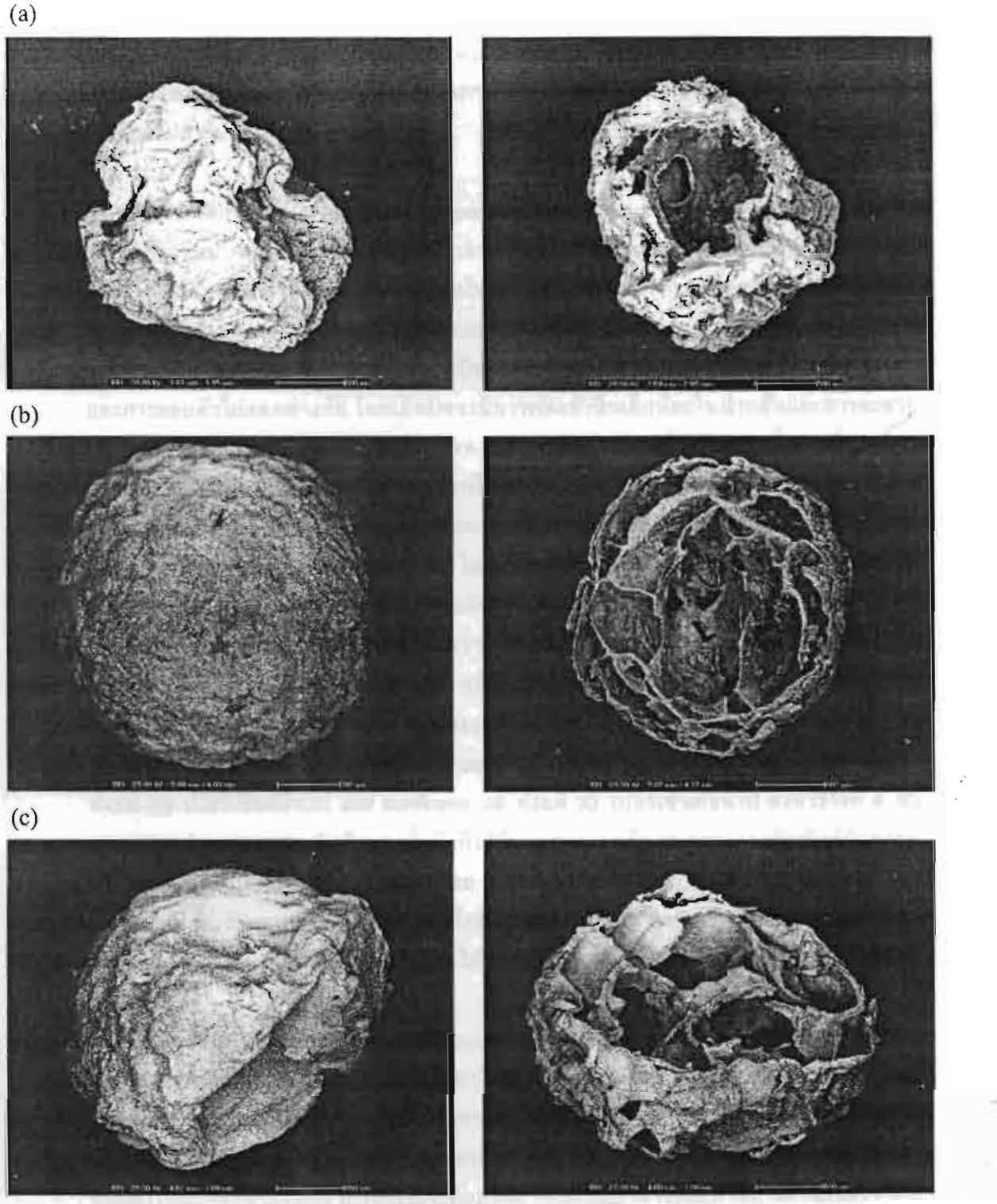


รูปที่ 6 ภาพถ่าย scanning electron micrographs แสดง (a และ b) โครงสร้างภายนอก และ (c และ d) ภาพตัดขวางแสดงโครงสร้างภายในของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มี peppermint oil 30% เป็นส่วนประกอบ

ลักษณะโครงสร้างที่ศึกษาโดยเทคนิค SEM ของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีการเติมสารสร้างแก๊ส พบว่าบีดที่มีการเติมสารสร้างแก๊สต่างชนิดกันหรือเกิดเจลโดยใช้สารเร่งการเกิดแก๊สแตกต่างกันมีลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกันไป (รูปที่ 7-8) เจลบีดที่ไม่ใส่สารสร้างแก๊สซึ่งทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็งมีลักษณะกลวง เป็นชั้นๆ ของแคลเซียมเพคติเนต ในขณะที่แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีสารสร้างแก๊สเป็นโซเดียมไบคาร์บอเนตมีลักษณะกลวง เป็นช่องอากาศที่เกิดจากฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเตรียมเจลบีด กรณีที่ใช้สารสร้างแก๊สเป็นแคลเซียมคาร์บอเนตจะไม่เห็นเป็นช่องกลวงของฟองอากาศ แต่มีลักษณะเช่นเดียวกับแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ไม่ใส่สารสร้างแก๊ส



รูปที่ 7 ภาพถ่าย scanning electron micrographs ของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ทำให้แห้งด้วยวิธีอบแห้ง (left column) และวิธีเยือกแข็ง (right column) ซึ่งมีการเติมสารสร้างแก๊สต่างๆ กัน; (a) ไม่มีสารสร้างแก๊ส (b) 5% โซเดียมไบคาร์บอเนตและ (c) 10% แคลเซียมคาร์บอเนต



รูปที่ 8 ภาพถ่าย scanning electron micrographs ของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดแสดงโครงสร้างภายนอก (left column) และภาพตัดขวางแสดงโครงสร้างภายในของบีดที่ใช้ 10% แคลเซียมคาร์บอเนต (a) ก่อเจลในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ผสมกับกรดน้ำส้ม (acetic acid) ทำให้แห้งโดยวิธีอบแห้ง (b) ก่อเจลในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ผสมกับกรดน้ำส้ม ทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง และ (c) ก่อเจลในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ผสมกับกรดเกลือ (hydrochloric acid) ทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง

กรณีที่มีการเติมสารเร่งการเกิดแก๊สจำพวกกรดลงในสูตรตำรับที่ใช้แคลเซียมคาร์บอเนต ช่วยให้เกิดฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างการเกิดเป็นเม็ดเจลบีด ซึ่งแสดงในรูปที่ 8 ลักษณะโพรงอากาศภายในรวมถึงพื้นผิวภายนอกมีลักษณะสม่ำเสมอกว่า เจลบีดที่ใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต

3.3. คุณสมบัติการลอยตัว (buoyancy properties)

แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ผ่านการอบแห้งแล้วนำไปทดสอบการลอยตัวในตัวกลาง 3 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (0.9% w/v) และสารละลายเลียนแบบสภาวะในกระเพาะอาหาร [simulated gastric fluid USP without pepsin, pH 1.2] ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเม็ดบีดที่เตรียมจากเพคตินทั้งสองชนิดให้ผลการพองตัวและการลอยตัวไม่แตกต่างกัน โดยเม็ดบีดจะมีการพองตัวขึ้นเล็กน้อยในน้ำกลั่นและสารละลายเลียนแบบสภาวะในกระเพาะอาหาร และยังคงสภาพของเม็ดบีดอยู่ในตัวกลางทั้งสองนี้มากกว่า 6 ชั่วโมง เม็ดบีดมีการพองตัวอย่างมากในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เนื่องจากมีการแลกเปลี่ยนอิออนกันระหว่างโซเดียมจากสารละลายโซเดียมคลอไรด์ และแคลเซียมที่อยู่ในโครงสร้างของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีด ได้สารโซเดียมเพคติเนตซึ่งมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ ทำให้มีการพองตัวมากและไม่คงสภาพของเม็ดเจลบีดเมื่อแช่ในสารละลายนี้เป็นระยะเวลานาน

ส่วนผลการศึกษาการลอยตัวพบว่าแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ไม่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบไม่ลอยตัวในตัวกลางทั้ง 3 ชนิด แต่เม็ดบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบสามารถลอยตัวได้เมื่อมีความเข้มข้นหรือปริมาณของน้ำมันต่างๆ กันดังนี้ light mineral oil ตั้งแต่ 10 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป olive oil, soybean oil, corn oil, rice oil, sesame oil และ peppermint oil ตั้งแต่ 20 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป และ sunflower oil ตั้งแต่ 30 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ดังตารางที่ 4 ซึ่งความแตกต่างของความเข้มข้นของน้ำมันที่ใช้กับผลการลอยตัว คาดว่าน่าจะสัมพันธ์กับความหนาแน่นของน้ำมัน (relative density) โดย light mineral oil มีความหนาแน่นน้อยที่สุด ส่วน sunflower oil มีความหนาแน่นมากที่สุดจึงต้องใช้ในปริมาณจึงจะเกิดการลอยตัว ส่วนลักษณะการลอยตัวนั้น พบว่าเม็ดบีดสามารถลอยได้ทันทีในตัวกลางนั้นและยังคงลอยอยู่ได้นานหลายชั่วโมง

ผลการศึกษาการลอยตัวของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ใช้สารสร้างแก๊สในตัวกลางต่างๆ ให้ผลคล้ายคลึงกัน (ตารางที่ 5) โดยบีดที่ทำให้แห้งด้วยการอบแห้งสามารถลอยตัวได้น้อยกว่าการเติมสารคาร์บอเนตต่างชนิดกันให้ผลการลอยตัวที่แตกต่างกัน เจลบีดที่ทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็งสามารถลอยได้ดีเนื่องจากโพรงอากาศอยู่ในโครงสร้าง ส่วนกรณีที่ทำให้แห้งโดยการอบแห้งให้ผลแตกต่างกันคือ กรณีที่ใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตสามารถลอยได้บางส่วนเนื่องจากมีโพรงอากาศที่เกิดจากแก๊สที่เกิดขึ้น แต่ส่วนใหญ่ไม่ลอยในตัวกลางที่ทดสอบ เมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารสร้างแก๊สเม็ดเจลบีดที่ได้ไม่ลอยในตัวกลางในช่วง 5 นาทีแรกของการทดสอบเนื่องจากโครงสร้างที่ทึบ ไม่มีโพรงอากาศภายใน แต่เม็ดเจลบีดที่ทดสอบในตัวกลางที่เป็นกรดสามารถลอยตัวได้หลังจาก 5 นาที เนื่องจากความเป็นกรดในตัวกลางทดสอบ (SGF) ไปเร่งการเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในเม็ดเจลบีดในระหว่างการทดสอบการลอยตัว ซึ่งปรากฏการณ์นี้ไม่พบในตัวกลางอื่น (น้ำกลั่นและน้ำเกลือ)

ตารางที่ 4 ผลการลอยตัวของแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีด (เพคตินชนิด LM-104 AS-FS) ชนิดที่ไม่มีและชนิดที่มีน้ำมันชนิดรับประทานได้เป็นสารที่ลดความหนาแน่นของระบบในตัวกลางต่างๆ ได้แก่ น้ำกลั่น สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (0.9%) และสารละลายเลียนแบบสภาวะในกระเพาะอาหาร (SGF)

	Buoyancy behavior (n=10)		
	in distilled water	in normal saline	in SGF[1]
No oil (conventional)	S	S	S
Mineral oil (relative density = 0.84)			
5%	S	S	S
10%	F	F	F
20%	F	F	F
30%	F	F	F
40%	F	F	F
Olive oil (relative density = 0.91)			
5%	S	S	S
10%	S	S	S
20%	F	F	F
30%	F	F	F
40%	F	F	F
Sunflower oil (relative density = 0.94)			
5%	S	S	S
10%	S	S	S
20%	S	S	S
30%	F	F	F
40%	F	F	F
Soybean oil (relative density = 0.92)			
10%	S	S	S
20%	F	F	F
30%	F	F	F
Corn oil (relative density = 0.92)			
10%	S	S	S
20%	F	F	F
30%	F	F	F
Rice oil (relative density = 0.91)			
10%	S	S	S
20%	F	F	F
30%	F	F	F
Sesame oil (relative density = 0.91)			
10%	S	S	S
20%	F	F	F
30%	F	F	F
Peppermint oil (relative density = 0.90)			
10%	S	S	S
20%	F	F	F
30%	F	F	F

S = sink, F = float (immediately, and still float for at least 6 hours)
[1] SGF = simulated gastric fluid USP without pepsin

ตารางที่ 5 ผลการลอยตัวของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีด (เพคตินชนิด LM-104 AS-FS) ชนิดที่ใช้สารสร้างแก๊สเป็นสารที่ลดความหนาแน่นของระบบบางตำรับ ในสารละลายเลียนแบบสภาวะในกระเพาะอาหาร

Formulation	Air-dried		Freeze-dried	
	5 min	6 h	5 min	6 h
control	S	S	S	S
5% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$	S	S	F	F
10% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$	S	S	S	S
5% $CaCO_3$ / $CaCl_2$	S	F	F	F
5% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic acid	F	F	F	F
5% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + HCl	F	F	F	F
10% $CaCO_3$ / $CaCl_2$	S	S	S	S
10% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic acid	F	F	F	F
10% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + HCl	F	F	F	F

S = sink, F = float (immediately, and still float for at least 6 hours)

การเติมสารเร่งการเกิดแก๊สทำให้ได้เม็ดเจลบีดที่ลอยได้ในตัวกลางทดสอบทุกชนิด ซึ่งให้ผลเหมือนกันทั้งที่ทำให้แห้งโดยวิธีอบแห้งและวิธีเยือกแข็ง (ตารางที่ 5) ผลการลอยตัวของเจลบีดที่ใช้กรดเกลือและกรดน้ำส้มเป็นสารเร่งการเกิดแก๊สให้ผลเหมือนกัน แม้ว่าลักษณะโครงสร้างจะมีความแตกต่างกันก็ตาม

4. เตรียมตำรับยา metronidazole (MZ) โดยเลือกใช้แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีสารสร้างแก๊สซึ่งเป็นสารกลุ่มคาร์บอเนต สูตรที่สามารถลอยตัวได้

4.1. เตรียมแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดลอยตัว โดยบรรจุตัวยาต้นแบบลงในเม็ดบีดในขั้นตอนการเตรียม

เตรียมแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดที่มีสารสร้างแก๊สซึ่งเป็นสารกลุ่มคาร์บอเนต เพื่อช่วยลดความหนาแน่นของระบบ โดยวิธี ionotropic gelation เช่นเดียวกับที่กล่าวไว้ใน 2.3 โดยวิธีการเตรียมมีความแตกต่างเล็กน้อยโดยเติมตัวยาต้นแบบ คือ metronidazole (MZ) ลงในสารละลายเพคตินก่อนเตรียมเจลบีด และได้ทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่

4.1.1. ศึกษาผลของปริมาณยา MZ

เลือกใช้ปริมาณตัวยา 2 ความเข้มข้น ได้แก่ 2.5 และ 5 %w/w ในสารละลายก่อนเตรียมเจลบีด

4.1.2. ศึกษาผลของชนิดของเพคติน

เตรียมเจลบีดจากเพคตินชนิด low methoxy ที่มี DE แตกต่างกัน 2 ชนิด (เช่นเดียวกับ 2.1.1.)

4.1.3. ศึกษาผลของชนิดของสารสร้างแก๊ส

เลือกใช้สารกลุ่มคาร์บอเนตซึ่งสามารถแตกตัวให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้ โดยเลือกสูตรตำรับที่สามารถลอยตัวได้ (เลือกจากข้อ 3) เช่น โซเดียมไบคาร์บอเนต และแคลเซียมคาร์บอเนต

4.1.4. ศึกษาผลของปริมาณของสารสร้างแก๊สที่ใช้

ใช้สารกลุ่มคาร์บอเนตในสูตรตำรับในปริมาณที่แตกต่างกัน คือ 5 และ 10 % โดยน้ำหนักของสารผสมที่เตรียมได้

4.1.5. ศึกษาผลของการเติมและชนิดของสารเร่งการเกิดแก๊ส

ได้เลือกใช้กรดเกลือ (0.1 N HCl) และกรดน้ำส้ม (10% acetic acid) เติมลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ผลการศึกษาพบว่าสารละลายเพคตินที่ผสมโซเดียมไบคาร์บอเนตหรือแคลเซียมคาร์บอเนต สามารถเตรียมเป็นเม็ดเจลบีดได้ โดยเม็ดบีดที่เตรียมได้มีลักษณะที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของสารกลุ่มคาร์บอเนตและสารเร่งการเกิดแก๊สเป็นสำคัญ

แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่เตรียมได้ด้วยวิธีต่างกันมีขนาดเฉลี่ยของเม็ดเจลบีดที่แตกต่างกัน กล่าวคือเม็ดเจลบีดที่ไม่ได้เติมสารลดความหนาแน่นของระบบที่เตรียมโดยวิธีการอบแห้งมีขนาดเล็กกว่าที่ทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง เนื่องจากการทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็งสามารถรักษาขนาดเดิมของเม็ดเจลบีดไว้ได้ นอกจากนั้นชนิดของสารคาร์บอเนตและการเติมสารเร่งการเกิดแก๊ส ก็มีส่วนสำคัญต่อขนาดของเจลบีด

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณยา (drug content) ที่มีในเม็ดเจลบีดและประสิทธิภาพการกักเก็บยา (entrapment efficiency) ในแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ใช้สารสร้างแก๊สเป็นสารที่ลดความหนาแน่นของระบบ โดยปริมาณยาแตกต่างกันในแต่ละตำรับ ขึ้นกับสูตรตำรับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเข้มข้นเริ่มต้นของตัวยาที่เติมลงไป ซึ่งถ้าความเข้มข้นเริ่มต้นของตัวยาสูงกว่า ปริมาณยาที่มีอยู่ก็จะมากกว่า และเมื่อคำนวณหาประสิทธิภาพการเก็บกักยาเทียบกับปริมาณยาตามทฤษฎีแล้วพบว่าระบบที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของตัวยาสูงกว่าจะมีประสิทธิภาพการเก็บกักยาสูงกว่าด้วย

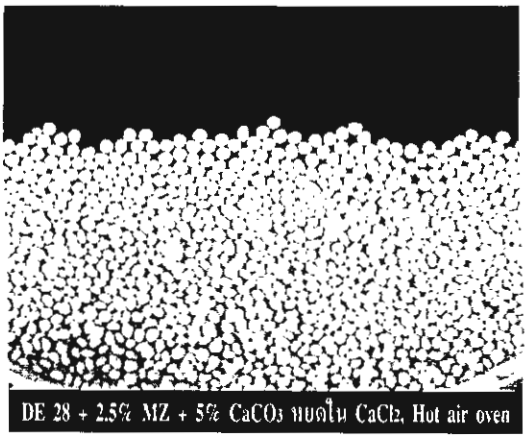
นอกจากนั้นการที่สารสร้างแก๊สเกิดปฏิกิริยาในสารก่อเจลที่มีความเป็นกรด ทำให้เกิดเป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และถูกเก็บกักเอาไว้ภายในเม็ดบีดในระหว่างการเตรียม ซึ่งการเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นแก๊สนี้ก็อาจมีผลต่อการคำนวณปริมาณยาต่อหน่วยรวมถึงประสิทธิภาพการเก็บกักยาด้วยเช่นกัน

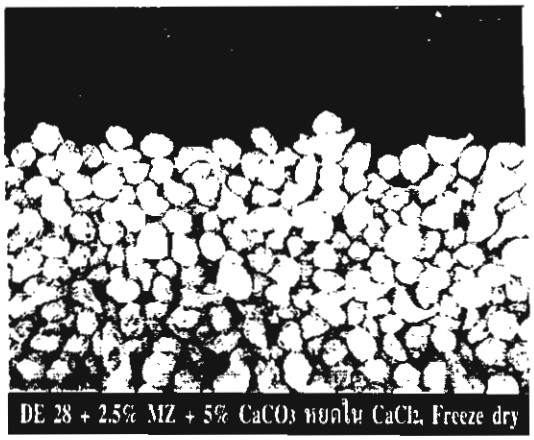
4.2. ศึกษาลักษณะของบีดโดยใช้ optical microscope

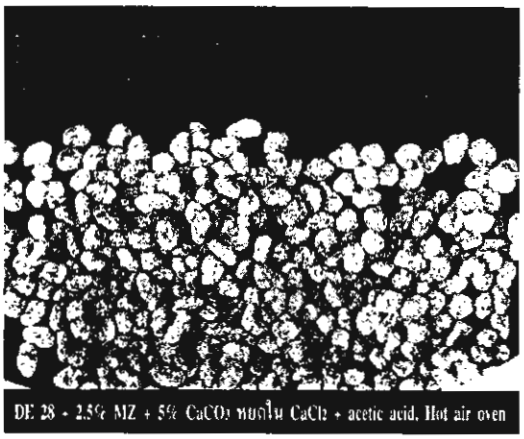
ลักษณะของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดซึ่งมีสารสร้างแก๊สเป็นองค์ประกอบ (รูปที่ 9) ซึ่งส่วนใหญ่มีลักษณะกลม ยกเว้นในบางตำรับที่มีลักษณะไม่เป็นทรงกลม (รูปที่ 10)

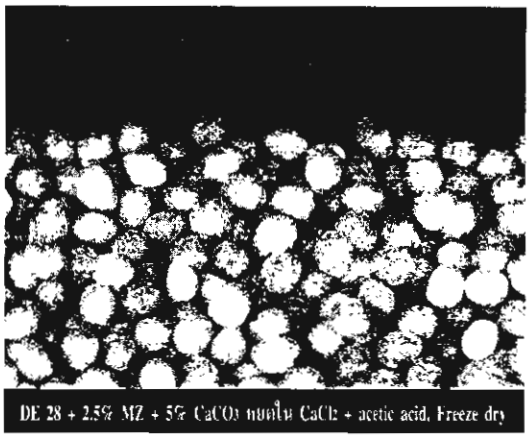
ตารางที่ 6 ปริมาณยา (drug content) และประสิทธิภาพการกักเก็บยา (entrapment efficiency) ในแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ใช้สารสร้างแก๊สเป็นสารที่ลดความหนาแน่นของระบบ

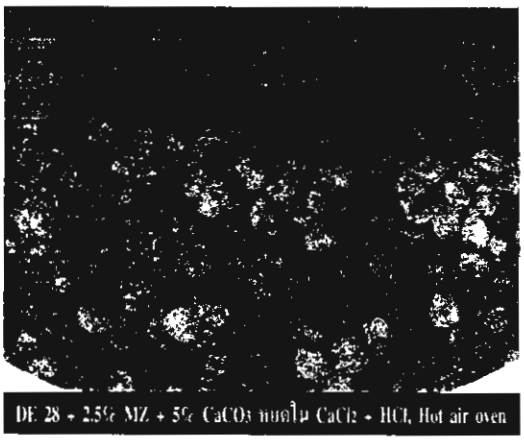
Formulation	Pectin LM-104 AS-FS (DE28%)		Pectin LM-101 AS (DE36%)	
	Drug content (%)	EE (%)	Drug content (%)	EE (%)
Air drying				
5% NaHCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	5.19 ± 0.61	15.57 ± 1.84	8.37 ± 1.11	25.11 ± 3.34
5% CaCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	2.14 ± 0.06	6.41 ± 0.18	3.50 ± 0.08	10.50 ± 0.23
5% CaCO3 / $CaCl_2$+acetic acid / 2.5% MZ	7.98 ± 0.29	23.95 ± 0.87	7.42 ± 0.35	22.27 ± 1.06
5% CaCO3 / $CaCl_2$+HCl / 2.5% MZ	4.62 ± 0.61	13.87 ± 1.84	6.25 ± 1.43	18.74 ± 4.28
Freeze drying				
5% NaHCO3 / $CaCl_2$ / 5% MZ	15.79 ± 0.03	31.57 ± 0.06	20.42 ± 1.65	40.84 ± 3.30
5% NaHCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	3.65 ± 0.45	10.95 ± 1.36	9.68 ± 0.31	29.05 ± 0.92
10% NaHCO3 / $CaCl_2$ / 5% MZ	9.36 ± 0.25	28.09 ± 0.76	15.43 ± 0.59	46.29 ± 1.78
10% NaHCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	6.91 ± 0.27	34.56 ± 1.37	6.13 ± 0.27	30.65 ± 1.35
5% CaCO3 / $CaCl_2$ / 5% MZ	16.93 ± 0.40	33.86 ± 0.79	16.85 ± 0.37	33.69 ± 0.74
5% CaCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	4.50 ± 0.47	13.49 ± 1.41	2.80 ± 0.12	8.39 ± 0.36
10% CaCO3 / $CaCl_2$ / 5% MZ	13.14 ± 0.26	39.43 ± 0.78	13.24 ± 0.48	39.72 ± 1.45
10% CaCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	2.00 ± 0.19	9.98 ± 0.97	2.27 ± 0.21	11.36 ± 1.06
5% CaCO3 / $CaCl_2$+acetic acid / 5% MZ	26.37 ± 2.01	52.74 ± 4.01	16.45 ± 0.92	32.89 ± 1.83
5% CaCO3 / $CaCl_2$+acetic acid / 2.5% MZ	5.44 ± 0.05	16.32 ± 0.16	6.53 ± 0.04	19.59 ± 0.11
10% CaCO3 / $CaCl_2$+acetic acid / 5% MZ	9.48 ± 0.51	28.43 ± 1.54	16.49 ± 0.89	49.46 ± 2.66
10% CaCO3 / $CaCl_2$+acetic acid / 2.5% MZ	6.29 ± 0.34	31.46 ± 1.68	5.69 ± 0.33	28.47 ± 1.63
5% CaCO3 / $CaCl_2$+HCl / 5% MZ	5.96 ± 0.08	11.91 ± 0.15	11.45 ± 0.79	22.89 ± 1.58
5% CaCO3 / $CaCl_2$+HCl / 2.5% MZ	3.71 ± 0.22	11.14 ± 0.67	5.50 ± 1.23	16.51 ± 3.68
10% CaCO3 / $CaCl_2$+HCl / 5% MZ	6.74 ± 0.88	20.23 ± 2.64	4.07 ± 1.43	12.21 ± 4.29
10% CaCO3 / $CaCl_2$+HCl / 2.5% MZ	3.88 ± 0.23	19.42 ± 1.16	3.30 ± 0.34	16.48 ± 1.70

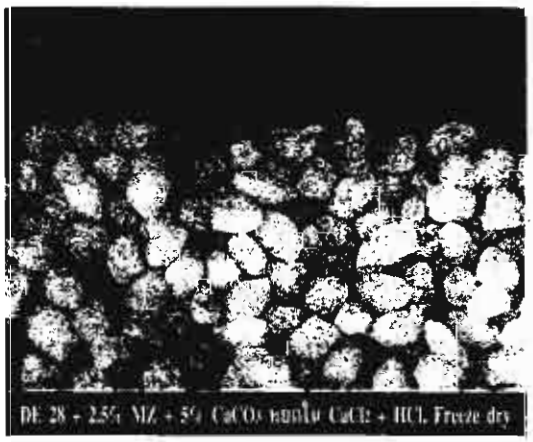

DE 28 + 2.5% MZ + 5% $CaCO_3$ หยดใน $CaCl_2$, Hot air oven

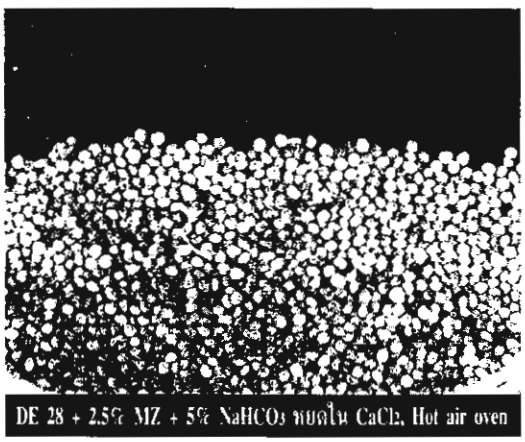

DE 28 + 2.5% MZ + 5% $CaCO_3$ หยดใน $CaCl_2$, Freeze dry

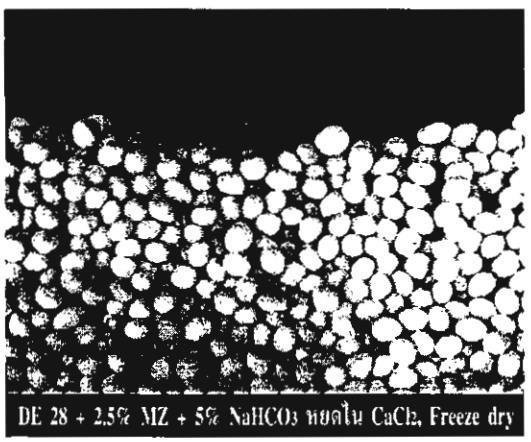

DE 28 + 2.5% MZ + 5% $CaCO_3$ หยดใน $CaCl_2$ + acetic acid, Hot air oven


DE 28 + 2.5% MZ + 5% $CaCO_3$ หยดใน $CaCl_2$ + acetic acid, Freeze dry


DE 28 + 2.5% MZ + 5% $CaCO_3$ หยดใน $CaCl_2$ + HCl, Hot air oven

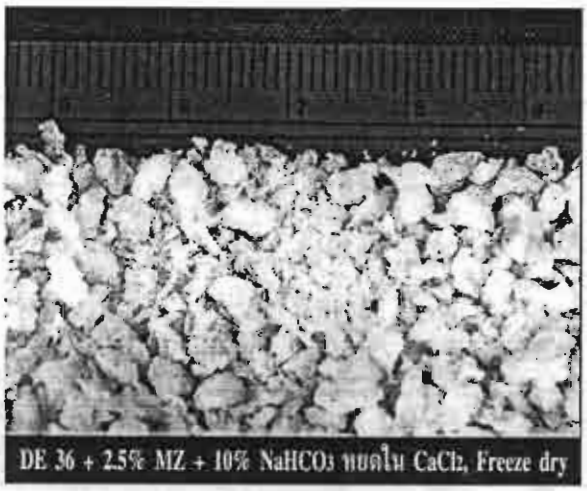

DE 28 + 2.5% MZ + 5% $CaCO_3$ หยดใน $CaCl_2$ + HCl, Freeze dry


DE 28 + 2.5% MZ + 5% $NaHCO_3$ หยดใน $CaCl_2$, Hot air oven


DE 28 + 2.5% MZ + 5% $NaHCO_3$ หยดใน $CaCl_2$, Freeze dry

รูปที่ 9 ....

รูปที่ 9 ภาพถ่ายของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีสารสร้างแก๊สเป็นส่วนประกอบ และทำให้แห้งด้วยวิธีการอบแห้งหรือวิธีเยือกแข็ง (รายละเอียดแสดงในคำอธิบายใต้ภาพ)



รูปที่ 10 ภาพถ่ายของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีสารโซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นส่วนประกอบ แสดงรูปร่างของเม็ดเจลบีดที่ไม่เป็นทรงกลม (รายละเอียดแสดงในคำอธิบายใต้ภาพ)

4.3. ศึกษาคุณสมบัติการลอยตัวของบีดที่เตรียมได้ เปรียบเทียบกับบีดที่ไม่ได้บรรจุยา

ผลการศึกษาการลอยตัวของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่บรรจุยา MZ ซึ่งเตรียมโดยใช้สารสร้างแก๊ส ในตัวกลางต่าง ๆ ให้ผลคล้ายคลึงกัน (ตารางที่ 7) โดยตำรับของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ทำให้แห้งด้วยการอบแห้งที่ไม่ได้ใช้สารเร่งการเกิดแก๊สไม่ลอยตัวในตัวกลางที่ใช้ทดสอบเลย (0%) ในขณะที่ตำรับที่มีการใช้สารเร่งการเกิดแก๊สจะลอยตัวได้หมด (100%)

ตำรับของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็งสามารถลอยได้ดีเนื่องจากโพรงอากาศอยู่ในโครงสร้าง แต่การใช้สารคาร์บอเนตต่างชนิดกันให้ผลการลอยตัวที่แตกต่างกัน ในบางกรณี เช่น การใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตปริมาณ 5% ทำให้ตำรับเจลบีดลอยตัวได้ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเป็น 10% ทำให้ตำรับเจลบีดลอยได้ลดลงในทุกตัวกลางที่ใช้ทดสอบ เมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารสร้างแก๊สตำรับเจลบีดที่ได้ไม่ลอยหรือลอยได้บางส่วนในตัวกลางทดสอบที่เป็นน้ำกลั่นและน้ำเกลือ ส่วนในสารละลายเลียนแบบสภาวะของกระเพาะอาหารนั้น ตำรับเจลบีดที่ใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารสร้างแก๊สสามารถลอยได้เนื่องจากความเป็นกรดในตัวกลางทดสอบ ไปเร่งการเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในเม็ดเจลบีดในระหว่างการทดสอบการลอยตัว

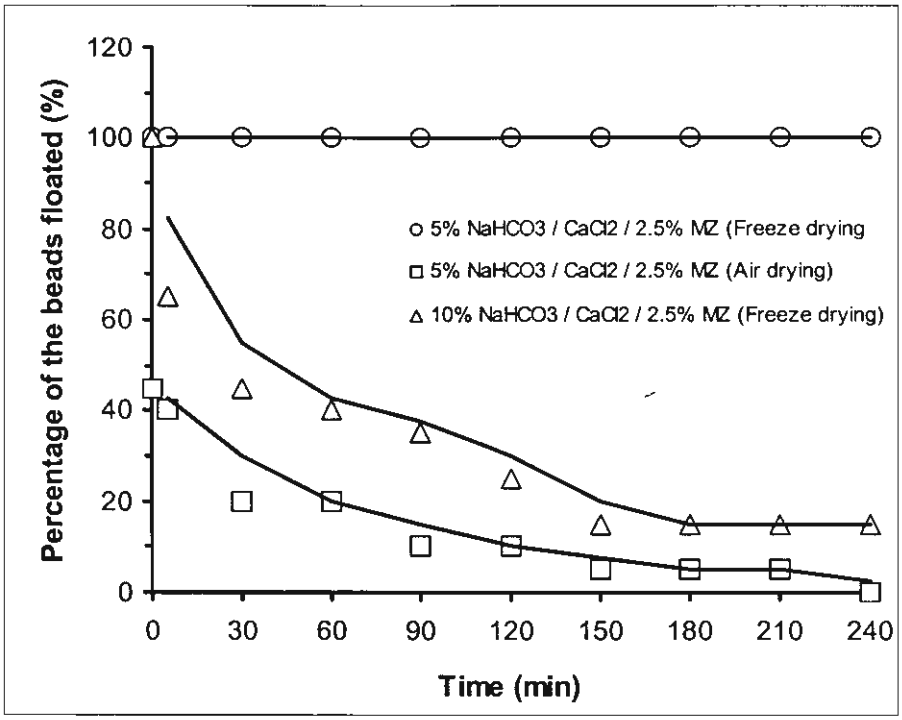
การเติมสารเร่งการเกิดแก๊สทำให้ได้เม็ดเจลบีดที่ลอยได้ในตัวกลางทดสอบทุกชนิด ซึ่งให้ผลเหมือนกันทั้งที่ทำให้แห้งโดยวิธีอบแห้งและวิธีเยือกแข็ง (ตารางที่ 7) ผลการลอยตัวของเจลบีดที่ใช้กรดเกลือและกรดน้ำส้มเป็นสารเร่งการเกิดแก๊สให้ผลเหมือนกัน แม้ว่าลักษณะโครงสร้างจะมีความแตกต่างกันก็ตาม

ตารางที่ 7 ผลการลอยตัวของแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีด (เพคตินชนิด LM-104 AS-FS) ที่บรรจุยา ซึ่งเตรียมโดยใช้สารสร้างแก๊สเป็นสารที่ลดความหนาแน่นของระบบ ในตัวกลางต่างๆ ได้แก่ น้ำกลั่น สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (0.9%) และสารละลายเลียนแบบสภาวะในกระเพาะอาหาร (SGF)

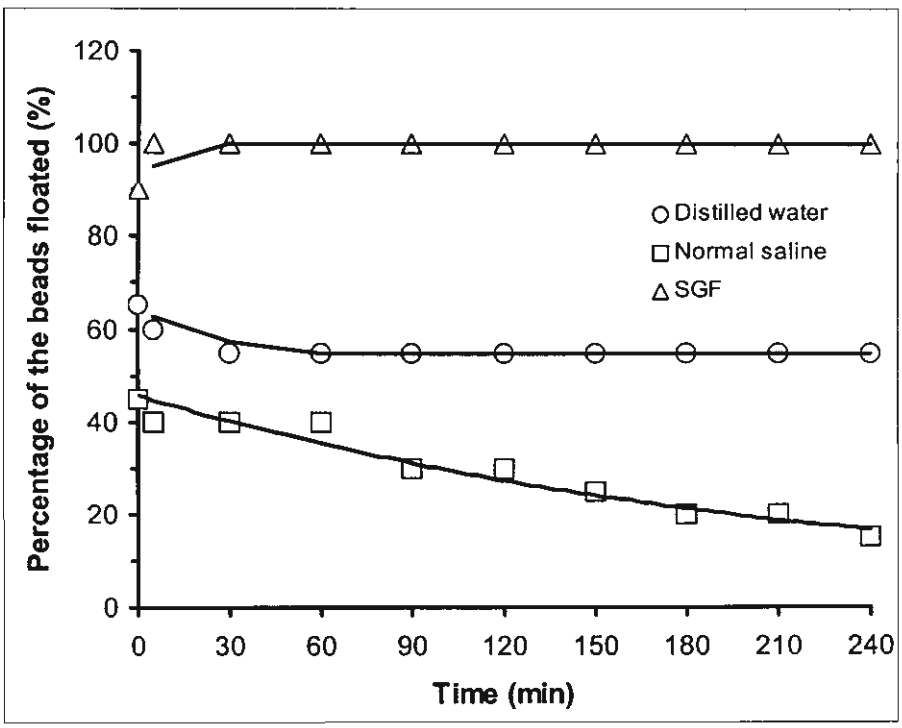
Formulation (LM-104)	Test media					
	Distilled water		Normal saline		SGF	
	5 min	6 h	5 min	6 h	5 min	6 h
Air drying						
5% NaHCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	0	0	0	0	10	0
5% CaCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	0	0	0	0	0	0
5% CaCO3 / $CaCl_2$+acetic acid / 2.5% MZ	100	100	100	100	100	100
5% CaCO3 / $CaCl_2$+HCl / 2.5% MZ	100	100	100	100	100	100
Freeze drying						
5% NaHCO3 / $CaCl_2$ / 5% MZ	100	100	100	100	100	100
5% NaHCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	100	100	100	100	100	100
10% NaHCO3 / $CaCl_2$ / 5% MZ	10	10	15	0	65	15
10% NaHCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	10	10	15	0	60	10
5% CaCO3 / $CaCl_2$ / 5% MZ	100	100	90	95	100	100
5% CaCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	35	35	35	30	100	100
10% CaCO3 / $CaCl_2$ / 5% MZ	85	85	85	85	100	100
10% CaCO3 / $CaCl_2$ / 2.5% MZ	60	55	40	15	100	100
5% CaCO3 / $CaCl_2$+acetic acid / 5% MZ	100	100	100	100	100	100
5% CaCO3 / $CaCl_2$+acetic acid / 2.5% MZ	100	100	100	100	100	100
10% CaCO3 / $CaCl_2$+acetic acid / 5% MZ	100	100	100	100	100	100
10% CaCO3 / $CaCl_2$+acetic acid / 2.5% MZ	100	100	100	100	100	100
5% CaCO3 / $CaCl_2$+HCl / 5% MZ	100	100	100	100	100	100
5% CaCO3 / $CaCl_2$+HCl / 2.5% MZ	100	100	100	100	100	100
10% CaCO3 / $CaCl_2$+HCl / 5% MZ	100	100	100	100	100	100
10% CaCO3 / $CaCl_2$+HCl / 2.5% MZ	100	100	100	100	100	100

Note: The numbers presented in the table are the percentage of the beads floated at the time; the calculation is based on the beads of 20.

จลนศาสตร์การลอยตัวของแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดตำรับต่างๆ ที่มีสารสร้างแก๊สเป็นส่วนประกอบแสดงในรูปที่ 11 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตำรับที่ทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็งและใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตปริมาณ 5% สามารถลอยได้ตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดการทดลอง (24 ชั่วโมง แต่แสดงในรูปเพียง 6 ชั่วโมง) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเป็น 10% ทำให้ตำรับเจลบีดลอยได้ลดลง ส่วนตำรับที่ทำให้แห้งโดยวิธีอบแห้งนั้นลอยตัวได้น้อยกว่า และปริมาณเม็ดเจลบีดที่ลอยได้ลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโครงสร้างบางส่วนของเม็ดบีดเกิดการยุบตัวลงได้เป็นโครงสร้างที่แน่นขึ้นเมื่อเทียบกับตำรับที่ทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง



รูปที่ 11 กราฟแสดงจลนศาสตร์การลอยตัวของแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดตำรับต่างๆ ที่มีสารสร้างแก๊สเป็นส่วนประกอบ



รูปที่ 12 กราฟแสดงจลนศาสตร์การลอยตัวในตัวกลางต่างๆ ของแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดตำรับที่ใช้เพคติน LM-104 AS-FS และใช้ยา MZ 2.5% ใช้ 10% แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารสร้างแก๊ส (ทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง)

ผลของชนิดของตัวกลางที่ใช้ทดสอบต่อจลนศาสตร์การลอยตัวของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดตำรับที่ใช้เพคติน LM-104 AS-FS ใช้ยา MZ 2.5% และใช้ 10% แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารสร้างแก๊ส แสดงในรูปที่ 12 พบว่าตำรับเจลบีดที่ได้ลอยได้เพียงบางส่วนในตัวกลางทดสอบที่เป็นน้ำกลั่นและน้ำเกลือ ส่วนในสารละลายเลียนแบบสภาวะของกระเพาะอาหารนั้นเมื่อใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารสร้างแก๊สพบว่าเม็ดเจลบีดที่ได้ไม่ลอยในตัวกลางทันที (ในช่วง 5 นาทีแรกของการทดสอบ) เนื่องจากโครงสร้างที่ทึบ ไม่มีโพรงอากาศภายใน แต่ลอยตัวได้หลังจากระยะเวลาผ่านไป (5 นาที) เนื่องจากความเป็นกรดในตัวกลางทดสอบไปเร่งการเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในเม็ดเจลบีดในระหว่างการทดสอบการลอยตัว

4.4. ศึกษาการปลดปล่อยยาในสภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร

การศึกษาการปลดปล่อยยา MZ ทำในเครื่องทดสอบการละลาย (dissolution apparatus) ตามข้อกำหนดของ US Pharmacopeia โดยใช้สารละลายตัวกลางที่ทดสอบเป็นสารละลายเลียนแบบสารละลายในกระเพาะอาหาร ไม่เติมเอนไซม์ (simulated gastric fluid without pepsin USP หรือ SGF)

ผลการศึกษาพบว่าปัจจัยส่วนใหญ่ที่ทำการศึกษามีผลต่อการปลดปล่อยยา ดังนี้

4.4.1. ผลของชนิดของเพคติน

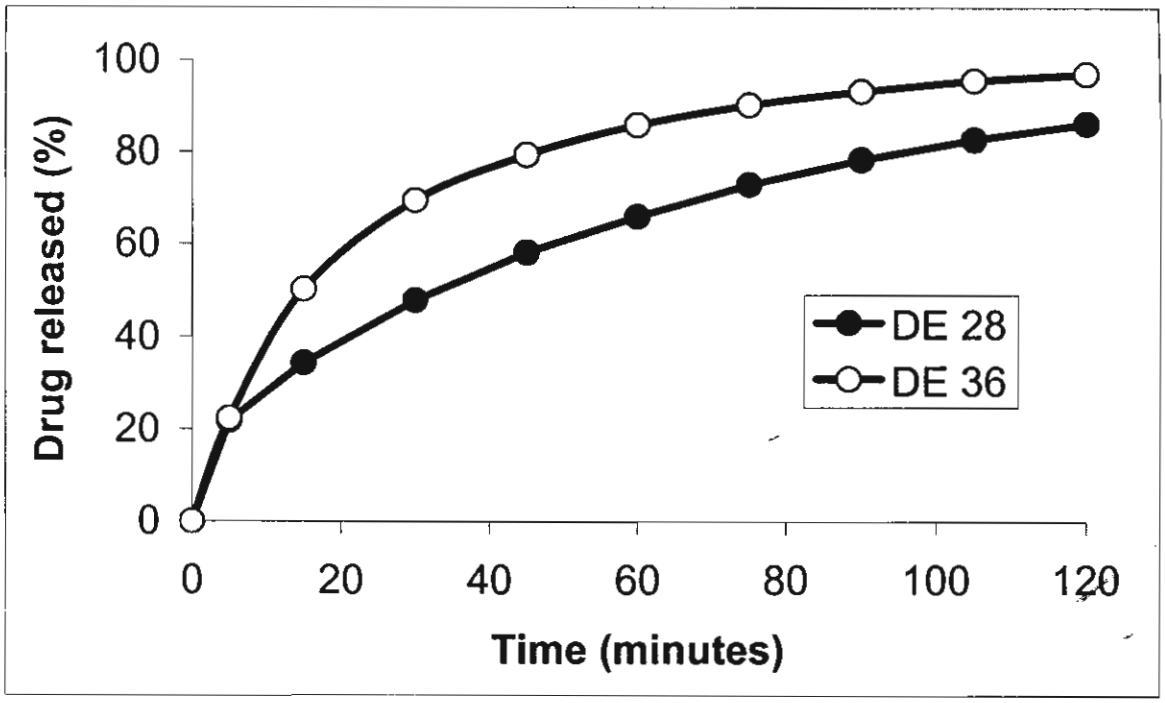
พบว่าเพคตินชนิด LM-104 AS-FS ซึ่งมีค่า DE ต่ำกว่า (28%) มีผลชะลอการปลดปล่อยยาได้มากกว่าเพคตินชนิด LM-101 AS ซึ่งมีค่า DE 36% (รูปที่ 13) ทั้งนี้เนื่องจากเพคตินที่มีค่า DE ต่ำกว่ามีหมู่คาร์บอกซิลอิสระในปริมาณที่มากกว่า จึงสามารถเกิดปฏิกิริยากับแคลเซียมในสารละลายขณะเตรียมเจลบีดได้มากกว่า และส่งผลให้ได้เม็ดเจลบีดที่น่าจะมีความแข็งแรงมากกว่า

4.4.2. ผลของปริมาณยา MZ

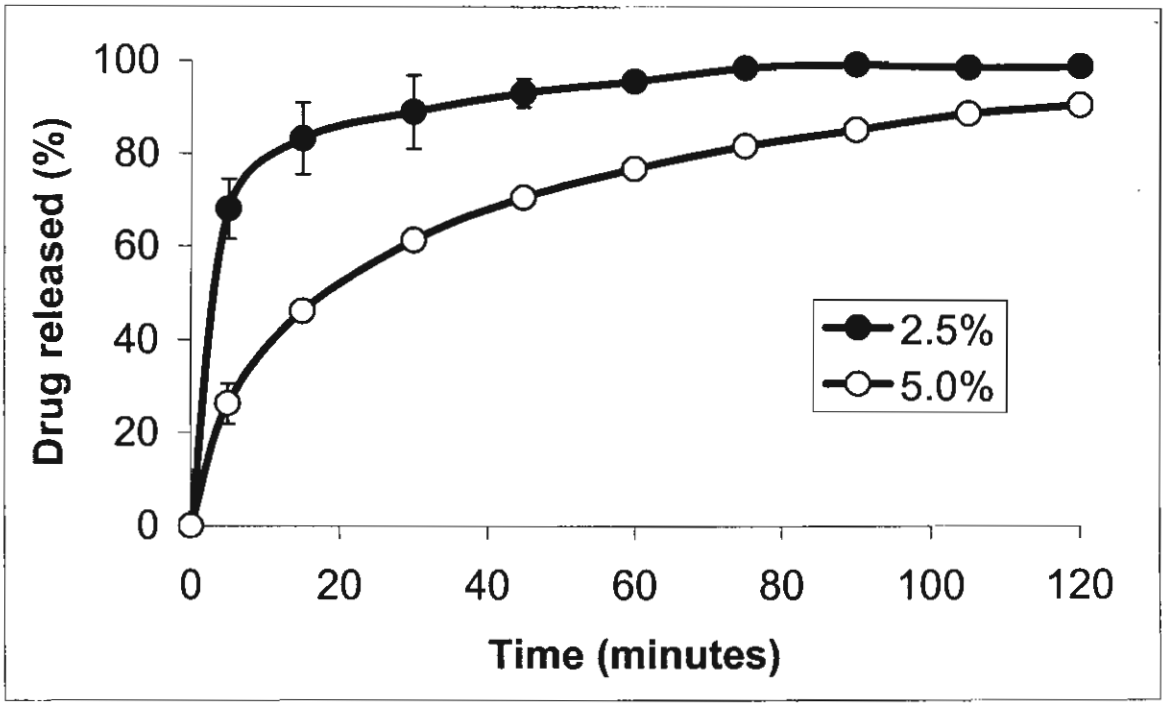
พบว่าปริมาณเริ่มต้นในสารละลายก่อนเตรียมเม็ดเจลบีดมีผลต่อการปลดปล่อยตัวยาออกจากเม็ดบีดเมื่อทดสอบการปล่อยยา (รูปที่ 14) โดยระบบที่มีปริมาณยาเมื่อเริ่มเตรียมน้อยกว่าจะมีการปลดปล่อยยาออกมาได้เร็วกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4.4.3. ผลของชนิดของสารสร้างแก๊ส

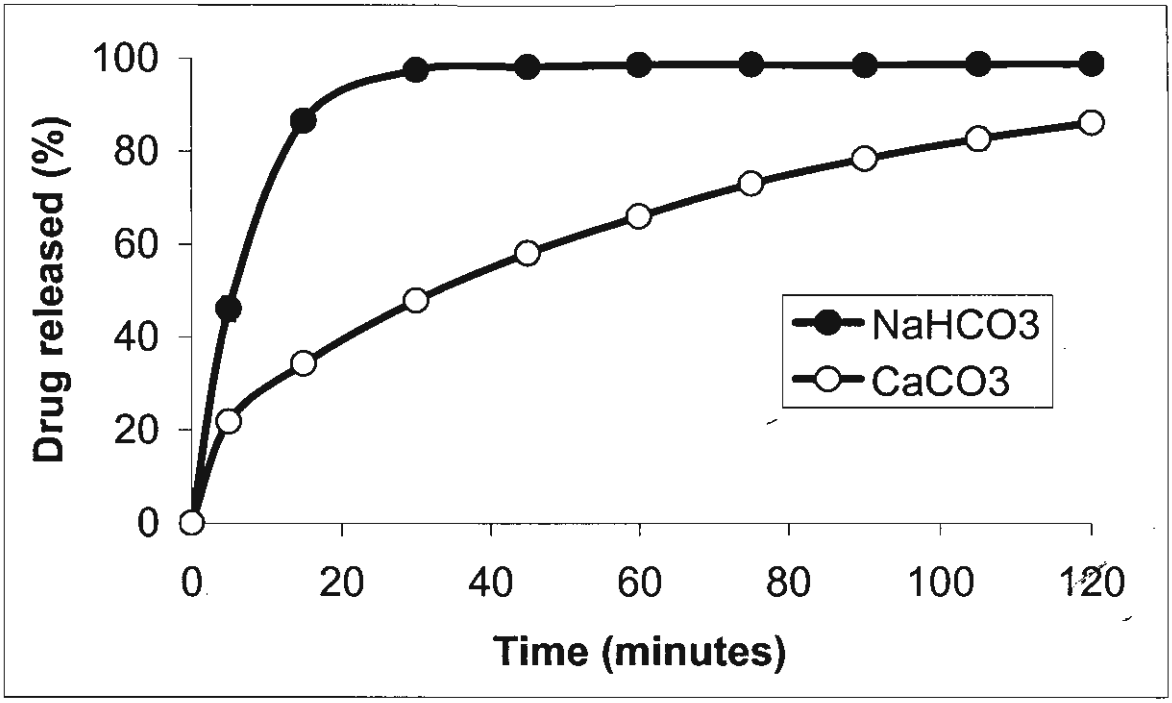
พบว่าสารสร้างแก๊สต่างชนิดกันมีผลให้การปลดปล่อยยาออกจากเม็ดเจลบีดแตกต่างกัน (รูปที่ 15) โดยเม็ดเจลบีดที่เตรียมโดยใช้แคลเซียมคาร์บอเนตเป็นสารสร้างแก๊สสามารถชะลอการปลดปล่อยตัวยาออกจากเม็ดเจลบีดได้มากกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเม็ดเจลบีดที่ใช้แคลเซียมคาร์บอเนตมีลักษณะโครงสร้างที่ทึบไม่มีโพรงอากาศภายใน ในขณะที่เม็ดเจลบีดที่ใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตมีลักษณะพรุนหรือมีโพรงอากาศอยู่ภายในโครงสร้าง



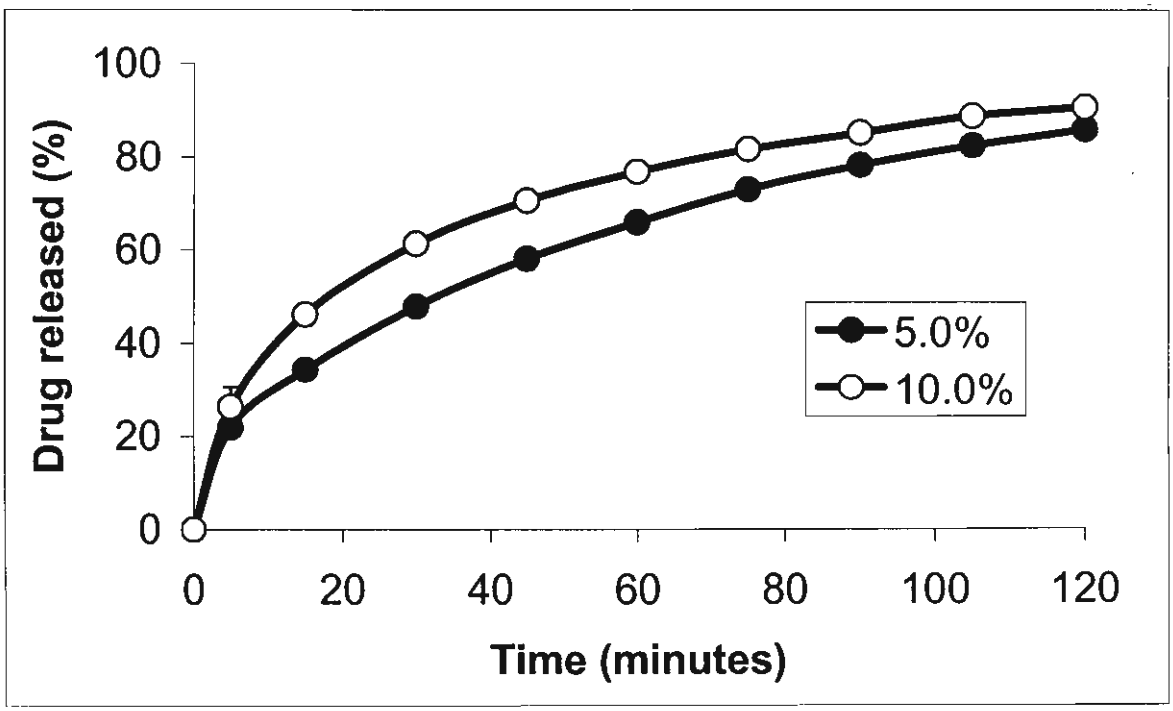
รูปที่ 13 ผลของชนิดของเพคตินต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ใช้ยา MZ 5% และใช้แคลเซียมคาร์บอเนต (5%) เป็นสารสร้างแก๊ส (DE28 = LM-104 AS-FS และ DE36 = LM-101 AS) ซึ่งทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง



รูปที่ 14 ผลของชนิดปริมาณยา MZ ในสารละลายเริ่มต้นต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ใช้เพคติน LM-104 AS-FS และใช้แคลเซียมคาร์บอเนต (10%) เป็นสารสร้างแก๊ส ซึ่งทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง



รูปที่ 15 ผลของชนิดของสารสร้างแก๊สที่ใช้ (ปริมาณ 5%) ต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ใช้เพคติน LM-104 AS-FS และมีตัวยา MZ 2.5% ซึ่งทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง



รูปที่ 16 ผลของปริมาณของแคลเซียมคาร์บอเนตที่ใช้ต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดซึ่งใช้เพคติน LM-104 AS-FS และมีตัวยา MZ 5% ซึ่งทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง

4.4.4. ผลของปริมาณของสารสร้างแก๊ส

พบว่าปริมาณเริ่มต้นของสารสร้างแก๊สที่ใช้ต่างกันมีผลต่อการปลดปล่อยยาแตกต่างกัน (รูปที่ 16) โดยตำรับเจลบีดที่ใช้สารสร้างแก๊สเริ่มต้นมากกว่ามีการปลดปล่อยตัวยาออกมาได้เร็วกว่า เนื่องจากเม็ดเจลบีดมีรูพรุนที่เกิดจากสารสร้างแก๊สมากกว่า

4.4.5. ผลของชนิดของสารเร่งการเกิดแก๊ส

พบว่าการเติมสารเร่งการเกิดแก๊สที่ใช้มีผลต่อการปลดปล่อยยา (รูปที่ 17) โดยตำรับที่เติมสารเร่งการเกิดแก๊สจะมีการปลดปล่อยยาออกมาได้เร็วกว่าตำรับที่ไม่ได้เติม เนื่องจากมีโพรงอากาศอยู่ในโครงสร้างของเจลบีด เป็นการเพิ่มพื้นที่ของในการสัมผัสสารตัวกลางที่ใช้ทดสอบ นอกจากนั้นชนิดของสารเร่งการเกิดแก๊สที่แตกต่างกันก็มีผลต่อการปลดปล่อยยาเช่นเดียวกัน

4.4.6. ผลของวิธีการทำให้แห้ง

พบว่าตำรับที่ใช้วิธีการทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็งมีการปลดปล่อยยาออกมาได้เร็วกว่าตำรับที่ใช้วิธีอบแห้ง (รูปที่ 18) ทั้งนี้เนื่องมาจากโครงสร้างของเม็ดเจลบีดที่ทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็งมีลักษณะเป็นรูพรุนมากกว่า ทำให้มีพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับสารละลายตัวกลางได้มากขึ้น มีผลให้มีการปลดปล่อยตัวยาได้เร็วขึ้น

5. *เตรียมตำรับยา MZ โดยเลือกใช้แคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีสารลดความหนาแน่นของระบบ เช่น edible oil สูตรที่สามารถลอยตัวได้*

5.1. เตรียมแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดลอยตัว โดยบรรจุตัวยาต้นแบบลงในเม็ดบีดในขั้นตอนการเตรียม

เตรียมแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดที่มีสารลดความหนาแน่นของระบบ ซึ่งเป็นน้ำมันชนิดรับประทานได้ โดยวิธี emulsion-gelation เช่นเดียวกับที่กล่าวไว้ใน 2.2 โดยวิธีการเตรียมมีความแตกต่างเล็กน้อยโดยเติมตัวยา MZ ลงในสารละลายเพคตินก่อนเตรียมเจลบีด และได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ได้แก่

5.1.1. ศึกษาผลของปริมาณยา MZ

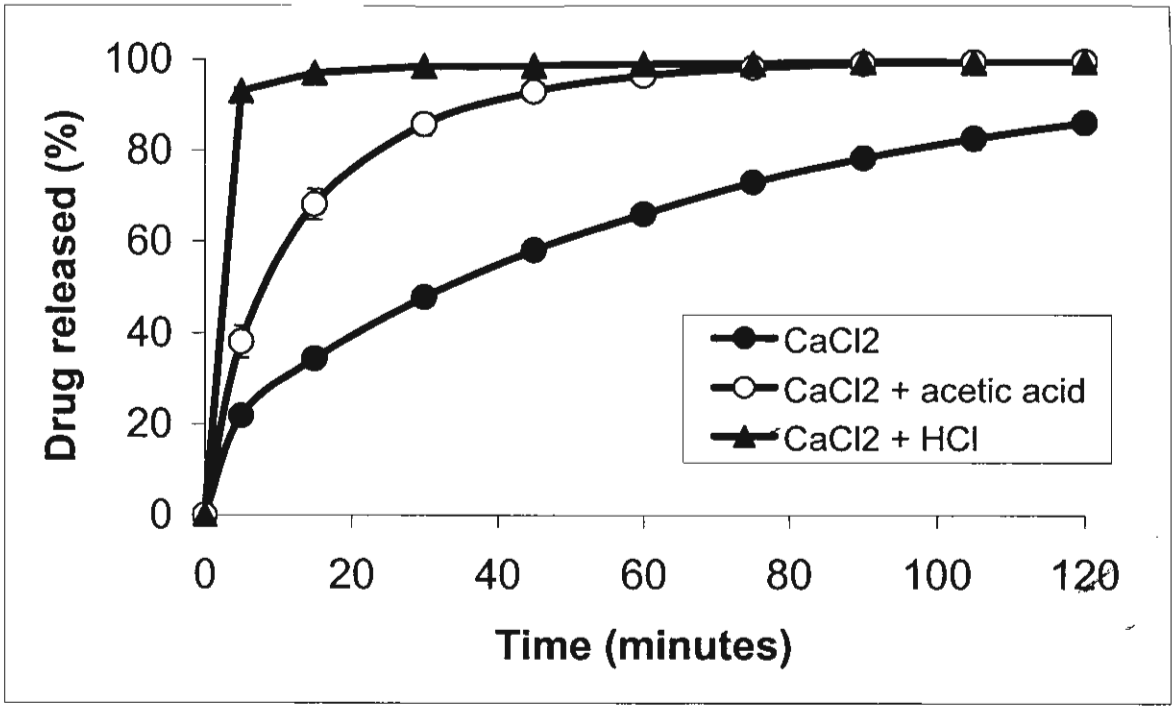
เลือกใช้ปริมาณตัวยา 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 5, 7.5 และ 10 %w/w ในสารละลายเพคตินเข้มข้น 5 %w/w ก่อนเตรียมเจลบีด โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักระหว่างเพคตินต่อยาเป็น 1:1, 1:1.5 และ 1:2 ตามลำดับ

5.1.2. ศึกษาผลของชนิดของน้ำมันที่ใช้

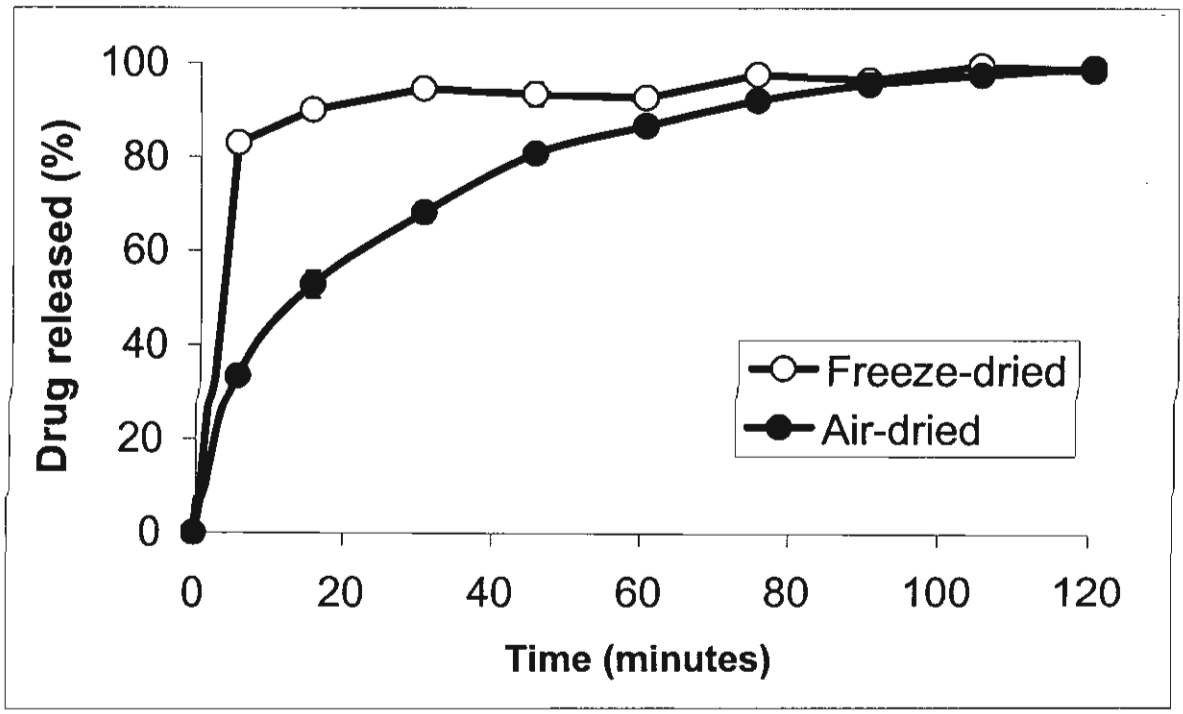
เลือกใช้น้ำมันที่ใช้ในทางเภสัชกรรมที่สามารถทำให้เม็ดบีดลอยได้ (ดูจากผลการศึกษาใน 2.2) จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ light mineral oil, olive oil และ peppermint oil

5.1.3. ศึกษาผลของปริมาณของน้ำมันที่ใช้

ใช้น้ำมันในสูตรตำรับในปริมาณน้อยที่สุดที่จะสามารถทำให้เม็ดบีดลอยได้ คือ ประมาณ 10-30% โดยน้ำหนัก



รูปที่ 17 ผลของชนิดของสารเร่งการเกิดแก๊สที่ใช้ต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดซึ่งใช้เพคติน LM-104 AS-FS มีตัวยา MZ 5% ใช้แคลเซียมคาร์บอเนต (5%) เป็นสารสร้างแก๊ส และทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็ง



รูปที่ 18 ผลของวิธีการทำให้แห้งที่ใช้ต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดซึ่งใช้เพคติน LM-104 AS-FS มีตัวยา MZ 2.5% และใช้แคลเซียมคาร์บอเนต (5%) เป็นสารสร้างแก๊ส

5.1.4. ศึกษาผลของการเติมสารเพิ่มความแข็งแรงของโครงสร้าง

ได้เลือกใช้ 2% glutaraldehyde เพื่อเป็นสารเพิ่มความแข็งแรงของโครงสร้าง (hardening agent) โดยใช้เวลาในการแช่นาน 2 ชั่วโมง ก่อนที่จะล้างและผ่านขั้นตอนการทำให้แห้ง

5.1.5. ศึกษาผลของการเติมสารอื่นในเม็ดบีด

ได้เลือกใช้ glyceryl monosterate, polyethylene glycol (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 10000 และ Eudragit® L100 เติมเข้าในเม็ดเจลบีด โดยกระจายตัวสารเหล่านี้ในสารผสมอิมัลชั่นของเพคติน น้ำมันและตัวยา MZ และผสมให้เข้ากันก่อนเตรียมเม็ดบีดโดยวิธี emulsion-gelation เช่นเดียวกับที่กล่าวไว้ใน 5.1

5.1.6. ศึกษาผลของการเคลือบเม็ดบีดด้วยพอลิเมอร์

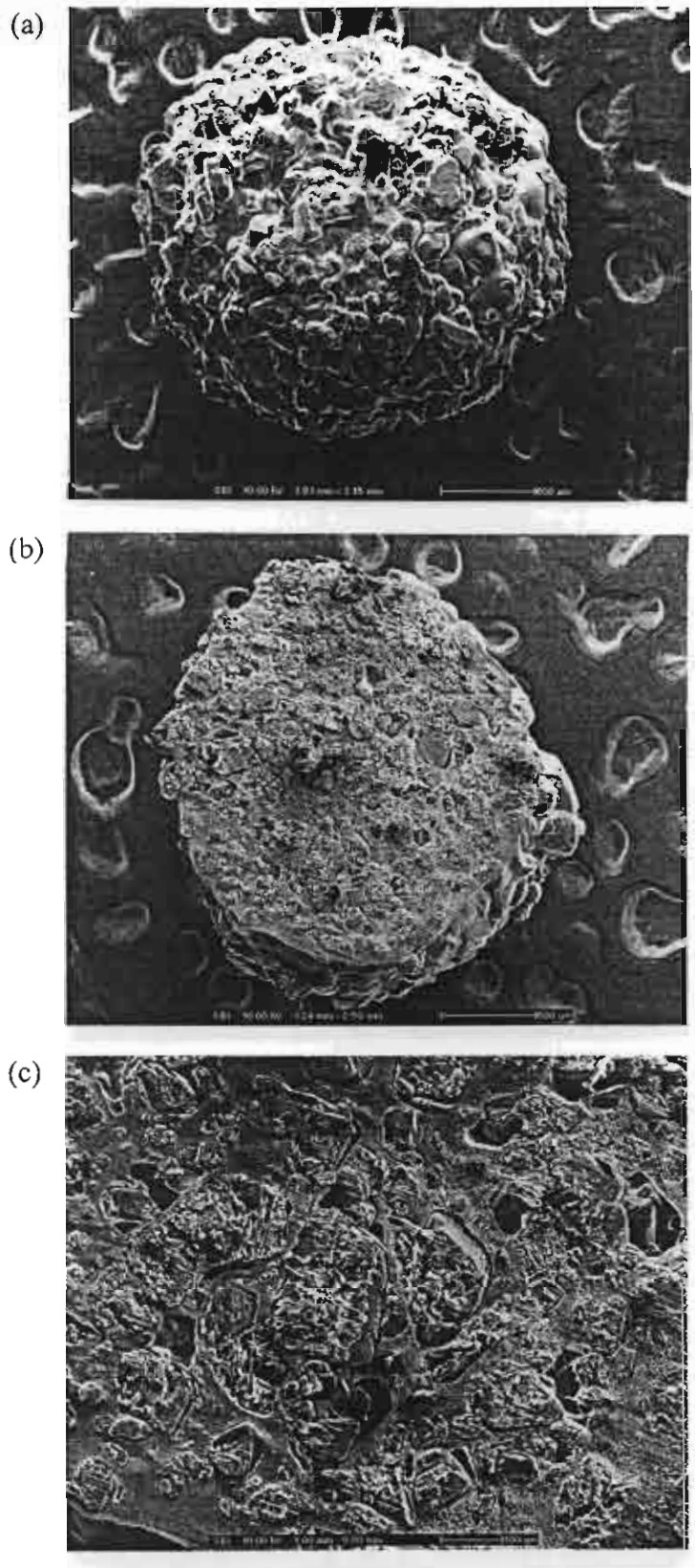
เคลือบเม็ดบีดที่เตรียมได้ด้วย Eudragit® RL100 ด้วยเทคนิค air suspension โดยใช้สารละลายของ Eudragit® RL100 เข้มข้น 8%w/v ในแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ เคลือบโดยการพ่นฝอยด้วยอัตราการพ่น 0.2 กรัมต่อนาที และเคลือบจนได้น้ำหนักเพิ่มสุทธิ 16% เม็ดบีดที่เตรียมได้นำไปอบแห้งในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

ผลการศึกษาพบว่าการเตรียมบีดชนิดลอยตัว ที่มีน้ำมันเป็นสารลดความหนาแน่นของระบบ โดยบรรจุตัวยาต้นแบบลงในเม็ดบีดในขั้นตอนการเตรียมนั้น สามารถเตรียมบีดได้ง่าย โดยอาศัยกลไกการเกิดเป็นเม็ดบีดแบบ emulsion-gelation ดังที่กล่าวข้างต้น (รูปที่ 1)

5.2. ศึกษาลักษณะของบีดโดยใช้ scanning electron microscope (SEM)

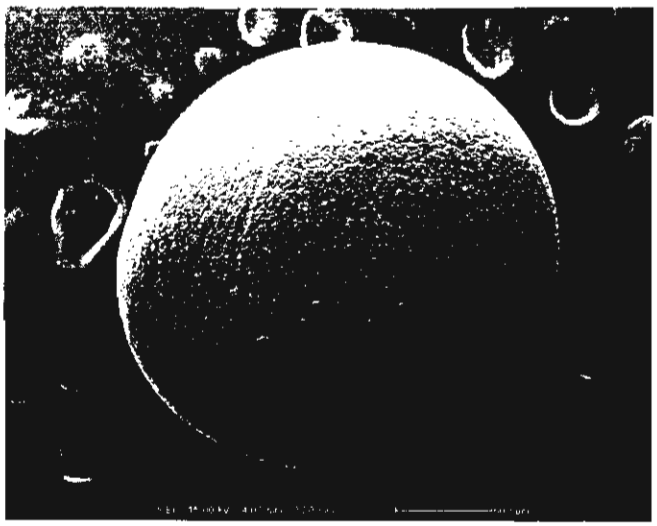
ลักษณะโครงสร้างของแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดที่มีตัวยา MZ บรรจุอยู่ ที่ศึกษาโดย SEM พบว่าแคลเซียมเพคตินเนตเจลบีดที่ไม่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ มีลักษณะกลม ผิวขรุขระมาก (รูปที่ 19a) เนื่องจากอนุภาคหรือผงยากระจายตัวอยู่ทั่วโครงสร้างบีด ซึ่งช่วยให้เม็ดบีดไม่แบนจากการยุบตัวลงหลังการอบแห้งเหมือนเม็ดบีดเปล่าที่ไม่ได้บรรจุยา ส่วนโครงสร้างภายในตามภาพตัดขวาง (รูปที่ 19b-19c) จะเห็นตัวยากระจายตัวอยู่สม่ำเสมอทั่วทั้งโครงสร้าง เห็นโครงสร้างของแคลเซียมเพคตินเนตเป็นลักษณะคล้ายร่างแห

รูปที่ 20a-20c แสดงโครงสร้างภายนอกและภายในของบีดที่มี olive oil (30 %w/w) เป็นส่วนประกอบ โดยยังไม่ได้บรรจุตัวยาลงในเม็ดเจลบีด ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอของหยดน้ำมันทั่วเม็ดบีดซึ่งสามารถมองเห็นได้ทั้งที่พื้นผิวด้านนอกและด้านใน พื้นผิวภายนอกมีความขรุขระน้อยกว่าเม็ดบีดที่ไม่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ ส่วนรูปที่ 20d-20e แสดงให้เห็นโครงสร้างภายในของบีดที่มี olive oil (30 %w/w) เป็นสารประกอบ โดยบรรจุตัวยาลงในเม็ดเจลบีด ซึ่งจะเห็นผงยาและช่องสำหรับบรรจุหยดน้ำมันกระจายอยู่ทั่วโครงสร้างของเม็ดบีด

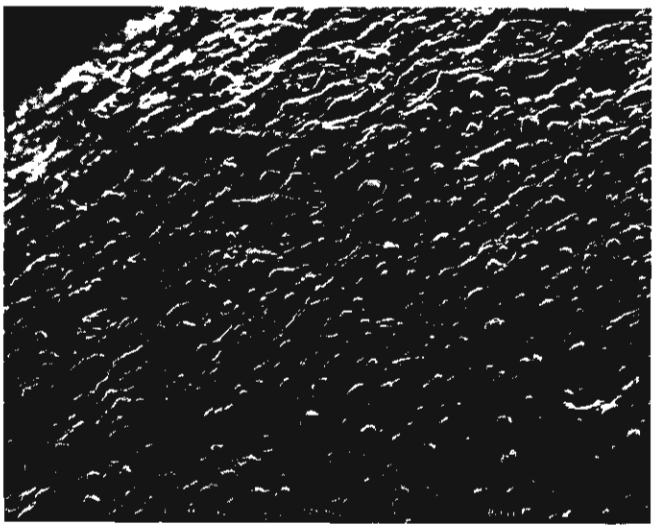


รูปที่ 19 ภาพถ่าย scanning electron micrographs แสดง (a) โครงสร้างภายนอก และ (b-c) ภาพตัดขวาง แสดงโครงสร้างภายในของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ไม่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ

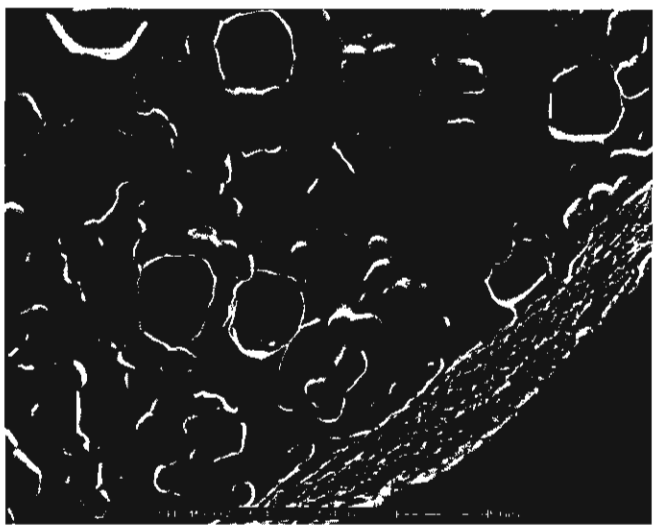
(a)



(b)

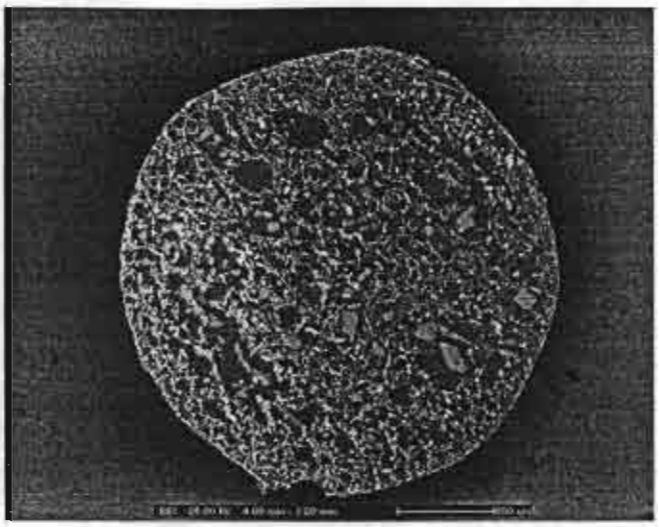


(c)

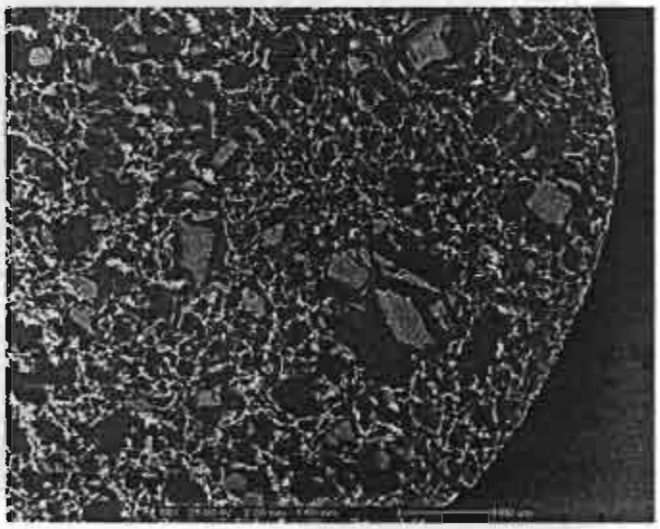


รูปที่ 20 ...

(d)

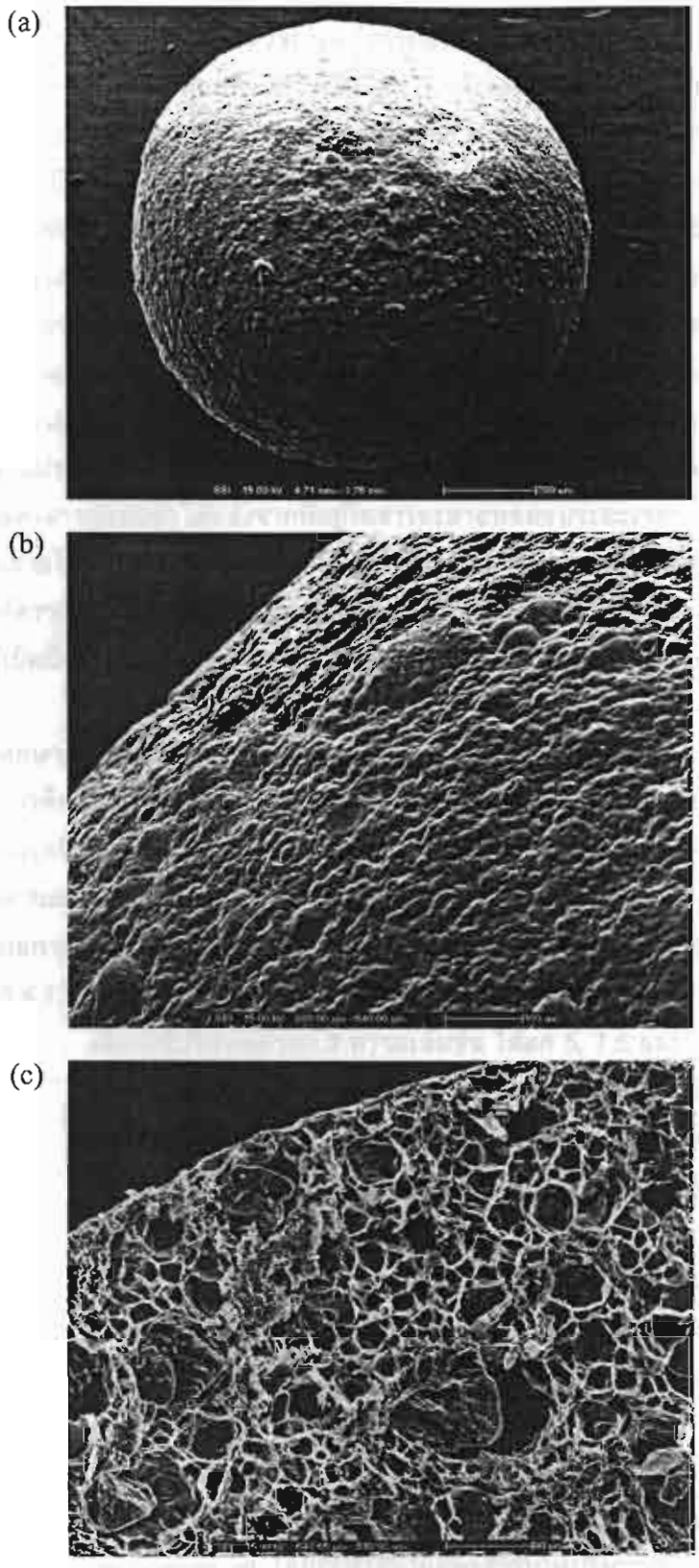


(e)



รูปที่ 20 ภาพถ่าย scanning electron micrographs แสดง (a-b) โครงสร้างภายนอก และ (c) ภาพตัดขวางแสดงโครงสร้างภายในของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มี olive oil 30% เป็นส่วนประกอบ และ (d-e) ภาพตัดขวางแสดงโครงสร้างภายในของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่บรรจุยา metronidazole และมี olive oil 30% เป็นส่วนประกอบ

รูปที่ 21 แสดงโครงสร้างภายนอกและภายในของบีดที่บรรจุยาและมี peppermint oil (30 %w/w) เป็นส่วนประกอบ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงพื้นผิวภายนอกมีความขรุขระน้อยกว่าเม็ดบีดที่ไม่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบเช่นเดียวกับกรณีที่ใช้ olive oil แต่มีการกระจายของหยดน้ำมันที่พื้นผิวต่อนข้างหนาแน่นกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องจาก peppermint oil สามารถระเหยได้ ทำให้หยดน้ำมันเคลื่อนที่ออกมาอยู่ที่ผิวของเม็ดบีดได้ โครงสร้างภายในแตกต่างจากกรณีที่ใช้ olive oil คือจะเห็นช่องว่างด้านในของโครงสร้างที่ใหญ่กว่า ลักษณะคล้ายฟองน้ำ ซึ่งช่องว่างขนาดใหญ่หรือรูพรุนที่เกิดในโครงสร้างอาจเกิดจากการระเหยของ peppermint oil ในระหว่างการทำให้เม็ดบีดแห้ง นอกจากนั้นในรูปที่ 21 ยังแสดงให้เห็นการกระจายของอนุภาคยาทั่วโครงสร้างเม็ดบีดด้วย



รูปที่ 21 ภาพถ่าย scanning electron micrographs แสดง (a-b) โครงสร้างภายนอก และ (c) ภาพตัดขวาง แสดงโครงสร้างภายในของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่บรรจุยา metronidazole และมี peppermint oil 30% เป็นส่วนประกอบ

5.3. ศึกษาคุณสมบัติการลอยตัวของบีดที่เตรียมได้ เปรียบเทียบกับบีดที่ไม่ได้บรรจุยา

ผลการศึกษาการลอยตัวของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่บรรจุยา MZ ซึ่งเตรียมโดยใช้น้ำมันเป็นสารลดความหนาแน่นของระบบ ในสารละลายเลียนแบบสภาวะในกระเพาะอาหาร พบว่าเม็ดบีดที่ไม่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบไม่ลอยในสารละลายทดสอบ เมื่อมีน้ำมันในปริมาณที่เหมาะสมทำให้เม็ดบีดลอยตัวได้ (20% สำหรับ mineral oil, 30% สำหรับ olive oil และสำหรับ peppermint oil) ดังแสดงในตารางที่ 8 ซึ่งปริมาณน้ำมันที่ใช้เพื่อให้เม็ดบีดลอยได้ทันทีในสารละลายทดสอบต้องใช้มากขึ้น เนื่องจากมีตัวยา MZ เป็นส่วนประกอบเพิ่มขึ้นมา ซึ่งมีผลให้ความหนาแน่นของระบบเพิ่มมากขึ้น โดยปริมาณน้ำมันที่ใช้สำหรับน้ำมันแต่ละชนิดแตกต่างกันขึ้นกับความหนาแน่นของน้ำมันที่ใช้ดังที่ได้กล่าวแล้วข้างต้น อย่างไรก็ตามเม็ดเจลบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ 10% สำหรับ mineral oil และ 20% สำหรับ olive oil และสำหรับ peppermint oil นั้นสามารถลอยตัวได้หลังจากที่อยู่ในสารละลายทดสอบระยะเวลาหนึ่ง เนื่องจากตัวยา MZ (ซึ่งละลายได้) ละลายออกมาจากเม็ดบีด ทำให้ความหนาแน่นของเม็ดบีดลดลง

อัตราส่วนของเพคตินต่อตัวยา และการเติมสารอื่นเข้าในเม็ดบีดรวมถึงการเคลือบไม่มีผลทำให้เม็ดบีดจม เม็ดบีดที่เตรียมได้ในตำรับต่างๆ สามารถลอยได้ในสารละลายทดสอบ

5.4. ศึกษาการปลดปล่อยยาในสภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร

การศึกษาการปลดปล่อยยา MZ ทำในเครื่องทดสอบการละลาย โดยใช้สารละลายตัวกลางที่ทดสอบเป็นสารละลายเลียนแบบสารละลายในกระเพาะอาหาร ไม่เติมเอนไซม์ (simulated gastric fluid without pepsin USP หรือ SGF)

ผลการศึกษาพบว่าปัจจัยส่วนใหญ่ที่ทำการศึกษามีผลต่อการปลดปล่อยยา ดังนี้

5.4.1. ศึกษาผลของปริมาณยา MZ

เลือกใช้ปริมาณตัวยา 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 5, 7.5 และ 10 %w/w ในสารละลายเพคตินเข้มข้น 5 %w/w ก่อนเตรียมเจลบีด โดยมีอัตราส่วนโดยน้ำหนักระหว่างเพคตินต่อยาเป็น 1:1, 1:1.5 และ 1:2 ตามลำดับ พบว่าปริมาณเริ่มต้นในสารละลายก่อนเตรียมเม็ดเจลบีดมีผลเล็กน้อยต่อการปลดปล่อยตัวยาออกจากเม็ดบีดเมื่อทดสอบการปล่อยยา (รูปที่ 22) โดยทุกตำรับมีการปลดปล่อยยารวดเร็ว คือสามารถปลดปล่อยยาออกมา 80% ในระยะเวลาน้อยกว่า 30 นาที ทั้งเนื่องจากตัวยา MZ สามารถละลายได้รวดเร็ว กรณีที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบมีการปลดปล่อยยาช้าลง (รูปที่ 23-24)

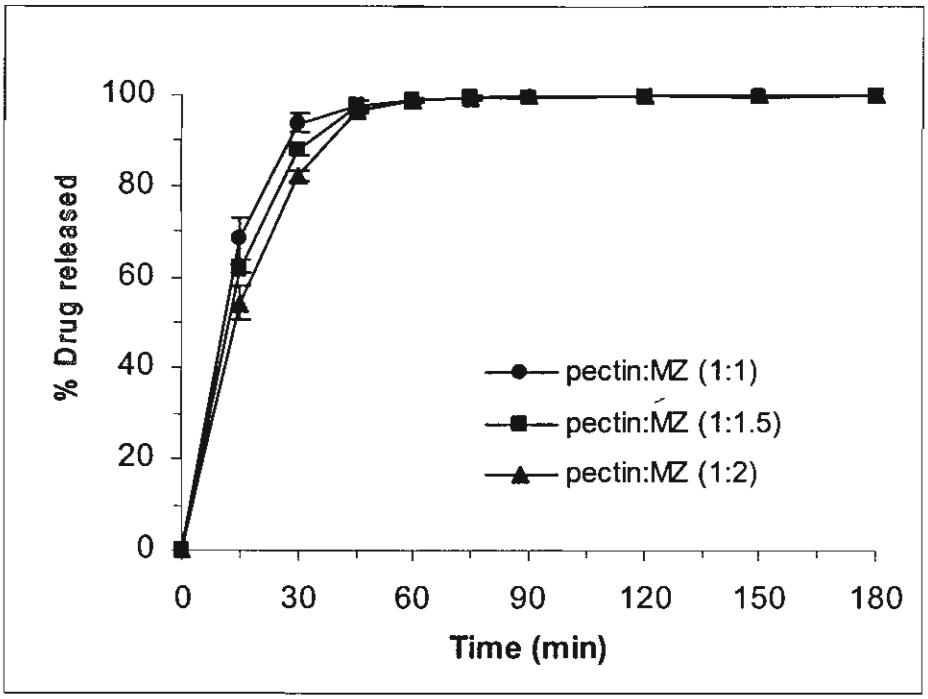
5.4.2. ศึกษาผลของชนิดและปริมาณของน้ำมันที่ใช้

เลือกใช้น้ำมันที่ใช้ในทางเภสัชกรรมที่สามารถทำให้เม็ดบีดลอยได้ (ดูจากผลการศึกษาใน 2.2) จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ light mineral oil, olive oil และ peppermint oil โดยใช้น้ำมันในสูตรตำรับในปริมาณน้อยที่สุดที่จะสามารถทำให้เม็ดบีดลอยได้ คือประมาณ 10-30% โดยน้ำหนัก พบว่าชนิดน้ำมันที่ใช้ต่างชนิดกันมีผลให้การปลดปล่อยยาออกจากเม็ดเจลบีดแตกต่างกันเล็กน้อย (รูปที่ 23-24)

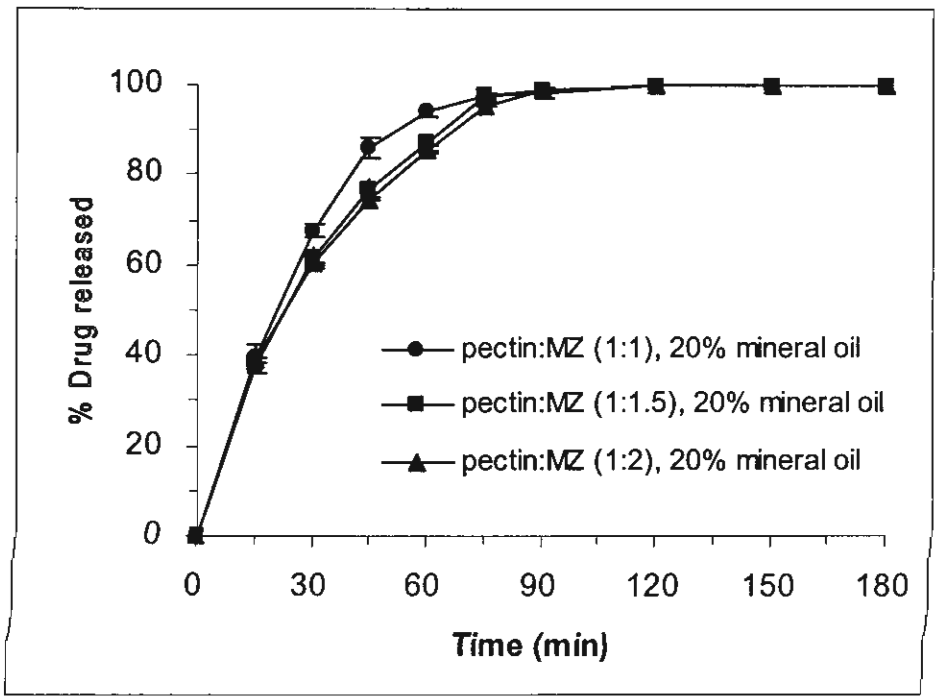
ตารางที่ 8 ผลการลอยตัว (n=20) ของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีด (เพคตินชนิด LM-104 AS-FS) ที่บรรจุยา ซึ่งเตรียมโดยใช้น้ำมันเป็นสารที่ลดความหนาแน่นของระบบ และบีดที่มีการเติมสารอื่นหรือมีการเคลือบในสารละลายเลียนแบบสภาวะในกระเพาะอาหาร (SGF)

Formulation	Pectin:MZ ratio (by weight)		
	1:1	1:1.5	1:2
Conventional CaPG beads	S	S	S
CaPG beads containing oil			
10% mineral oil	S→F	S→F	S→F
20% mineral oil	F	F	F
10% olive oil	S	S	S
20% olive oil	S→F	S→F	S→F
30% olive oil	F	F	F
10% peppermint oil	S	S	S
20% peppermint oil	S→F	S→F	S→F
30% peppermint oil	F	F	F
CaPG beads containing oil + hardening with glutaraldehyde			
20% mineral oil	F	N/A	N/A
30% olive oil	F	N/A	N/A
30% peppermint oil	F	N/A	N/A
Additive-added CaPG beads containing 30% olive oil			
Eudragit : pectin = 0.5:1	F	N/A	N/A
Eudragit : pectin = 1:1	F	N/A	N/A
GMS : pectin = 0.25:1	F	N/A	N/A
GMS : pectin = 0.5:1	F	N/A	N/A
GMS : pectin = 1:1	F	N/A	N/A
PEG : pectin = 0.25:1	F	N/A	N/A
PEG : pectin = 0.5:1	F	N/A	N/A
PEG : pectin = 1:1	F	N/A	N/A
Polymer-coated CaPG beads containing 30% olive oil			
Eudragit RL (16% weight increase)	F	N/A	N/A

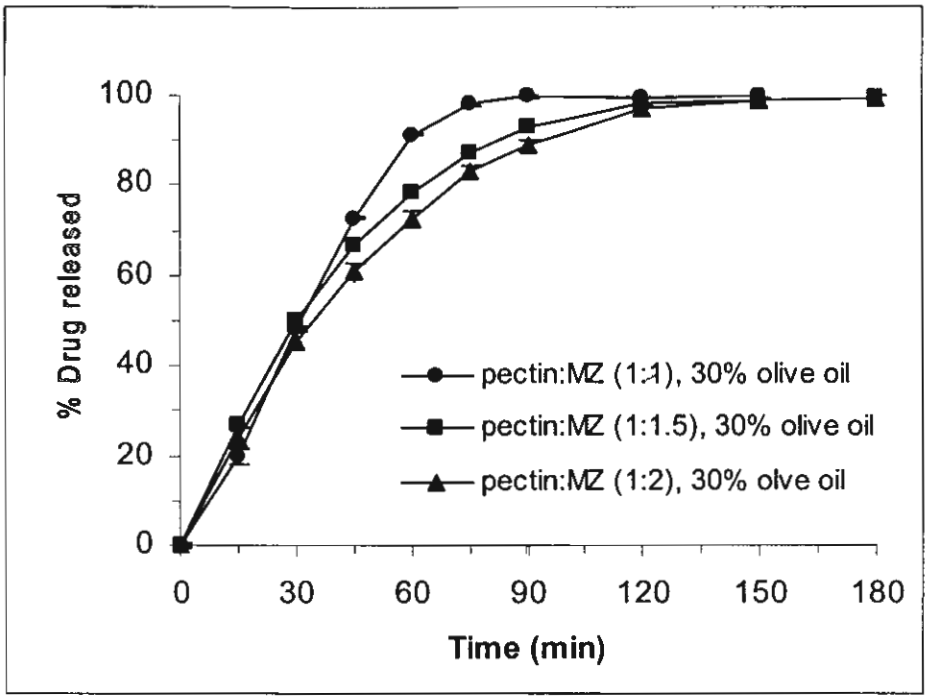
Abbreviation:
S = sink, F = float (immediately, and still afloat for at least 24 hours), S→F = sink immediately and then gradually float, N/A = not applicable
CaPG = calcium pectinate gel, GMS = glyceryl monostearate, PEG = polyethylene glycol



รูปที่ 22 ผลของปริมาณตัวยา MZ ในตำรับ (อัตราส่วนของเพคตินต่อตัวยา) ต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่ไม่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ



รูปที่ 23 ผลของปริมาณตัวยา MZ ในตำรับ (อัตราส่วนของเพคตินต่อตัวยา) ต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ (mineral oil, 20%)



รูปที่ 24 ผลของปริมาณตัวยา MZ ในตำรับ (อัตราส่วนของเพคตินต่อตัวยา) ต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ (olive oil, 30%)

5.4.3. *ศึกษาผลของการเติมสารเพิ่มความแข็งแรงของโครงสร้าง*

การใช้ 2% glutaraldehyde เพื่อเป็นสารเพิ่มความแข็งแรงของโครงสร้าง ทำให้การปลดปล่อยยาออกจากเม็ดบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบช้าลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 25) โดยสามารถชะลอการปลดปล่อยยาให้ช้าลงประมาณ 2 เท่า (เมื่อเทียบกับตำรับที่ไม่ได้ใช้สารเพิ่มความแข็ง (รูปที่ 23-24) ทั้งนี้เม็ดบีดที่ใช้ peppermint oil มีการปลดปล่อยยาช้าลงไม่มากนัก ซึ่งอาจเนื่องมาจากโครงสร้างที่เป็นรูพรุน (ดังได้แสดงในรูปที่ 21c)

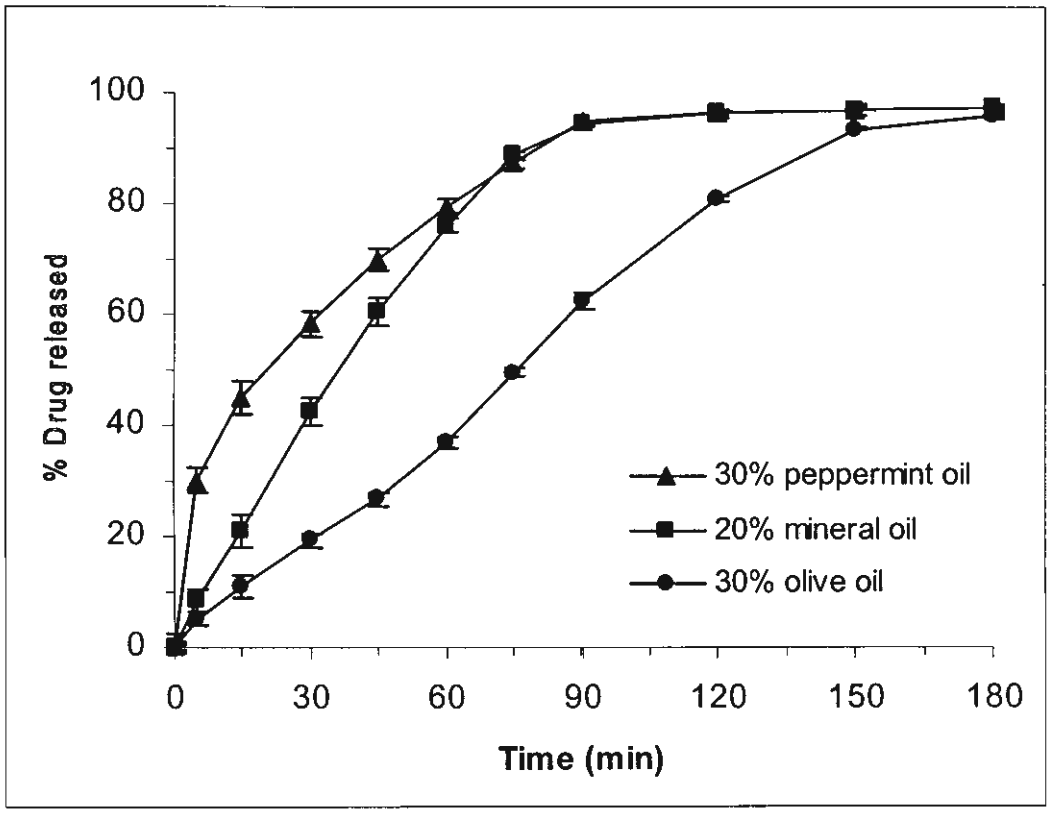
5.4.4. *ศึกษาผลของการเติมสารอื่นในเม็ดบีด*

การเติม Eudragit® L (รูปที่ 26) glyceryl monosterate หรือ GMS (รูปที่ 27) และ polyethylene glycol หรือ PEG น้ำหนักโมเลกุล 10000 (รูปที่ 28) ในเม็ดบีดที่มีน้ำมัน (30% olive oil) เป็นส่วนประกอบ มีผลต่อการปลดปล่อยตัวยาออกจากเม็ดเจลบีดแตกต่างกัน กล่าวคือ เม็ดเจลบีดที่มีการเติม Eudragit® L มีการปลดปล่อยยาช้าลง แต่การเพิ่มปริมาณของ Eudragit® L ในอัตราส่วนของ Eudragit® L ต่อเพคตินเป็น 0.5:1 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ไม่มีผลชะลอการปลดปล่อยยาเพิ่มขึ้น อาจเป็นเพราะ Eudragit® L ไม่ได้เกิดอันตรกิริยาหรือช่วยเพิ่มความแข็งแรงของโครงสร้างเม็ดบีด

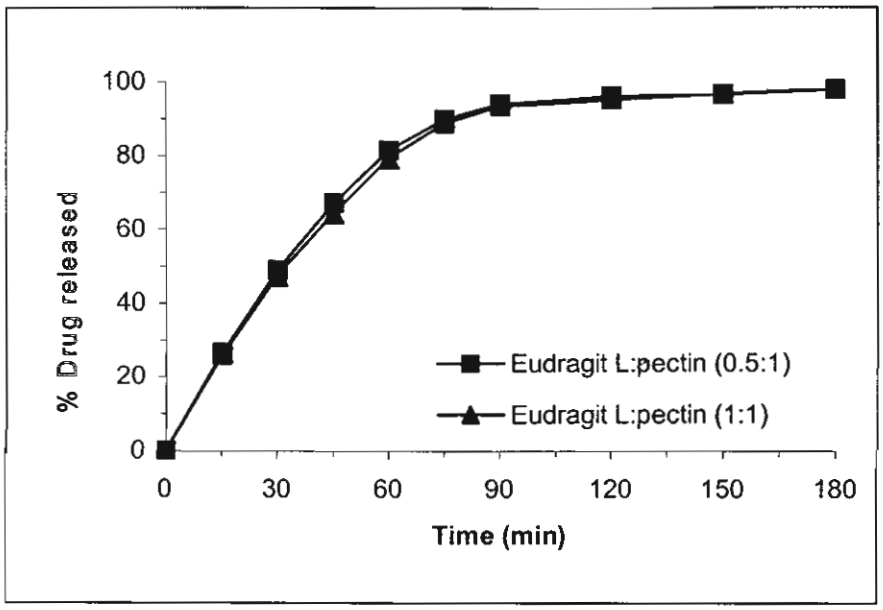
กรณีที่ใช้ glycerol monosterate หรือ GMS ซึ่งเป็นสารที่ไม่ชอบน้ำ พบว่าทำให้การปลดปล่อยยาช้าลงเฉพาะตำรับที่ใช้ GMS ต่อเพคตินในอัตราส่วน 1:1 เท่านั้น โดยการปลดปล่อยยายังเกิดขึ้นค่อนข้างเร็ว เช่นเดียวกับการเติม polyethylene glycol หรือ PEG ซึ่งเป็นสารกลุ่มที่ละลายน้ำได้ง่าย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารทั้งสองกลุ่มนี้เพียงแต่ไปกระจายตัวอยู่ในโครงสร้างแต่ไม่ได้ไปเกิดอันตรกิริยากับส่วนประกอบในโครงสร้างหรือตัวยา MZ

5.4.5. *ศึกษาผลของการเคลือบเม็ดบีดด้วยพอลิเมอร์*

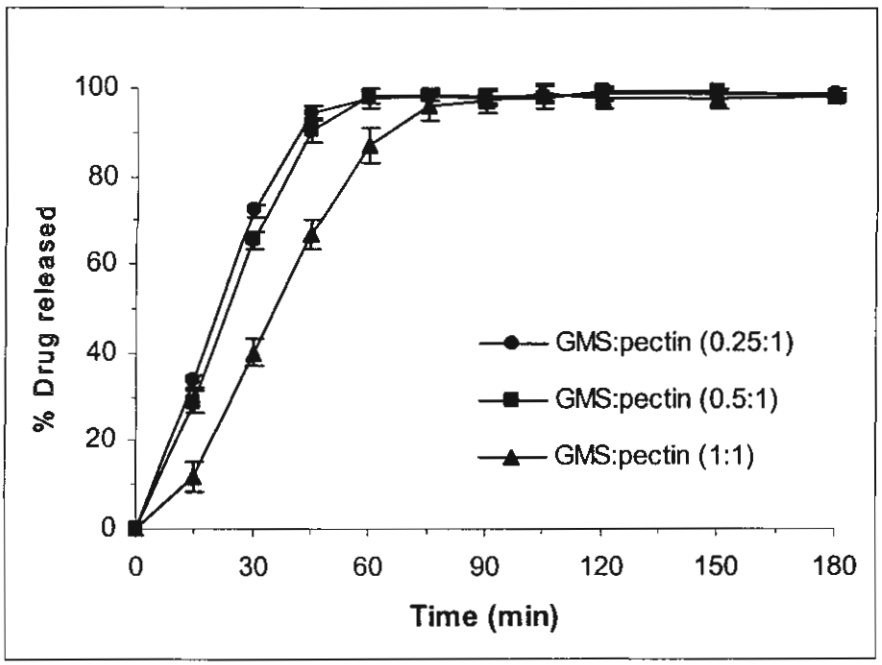
การเคลือบเม็ดบีดด้วยพอลิเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำมีผลให้การปลดปล่อยตัวยาออกจากเม็ดบีดช้าลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 29) ทั้งนี้กลไกการปลดปล่อยยาออกจากเม็ดบีดที่เคลือบต้องอาศัยการแพร่ของน้ำในตัวกลางทดสอบผ่านทะลุชั้นฟิล์มเคลือบเข้าไปด้านในเพื่อละลายตัวยาก่อนที่ตัวยาจะแพร่ผ่านชั้นฟิล์มออกมาในตัวกลางทดสอบ ซึ่งเป็นขั้นตอนที่จำกัดอัตราเร็วในการปลดปล่อยยา (rate-limiting step)



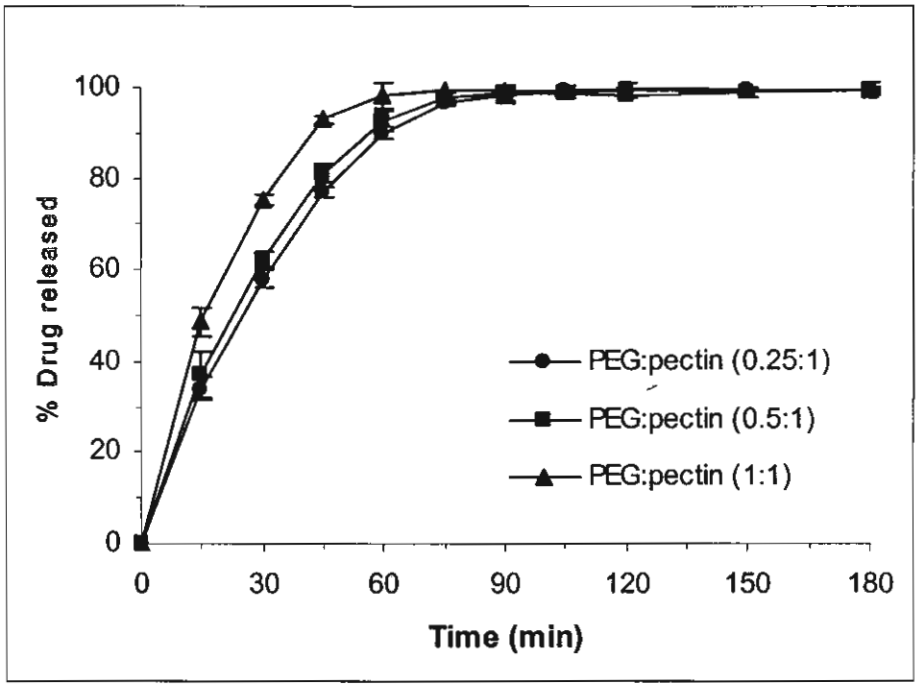
รูปที่ 25 ผลของการใช้ 2% glutaraldehyde ต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ



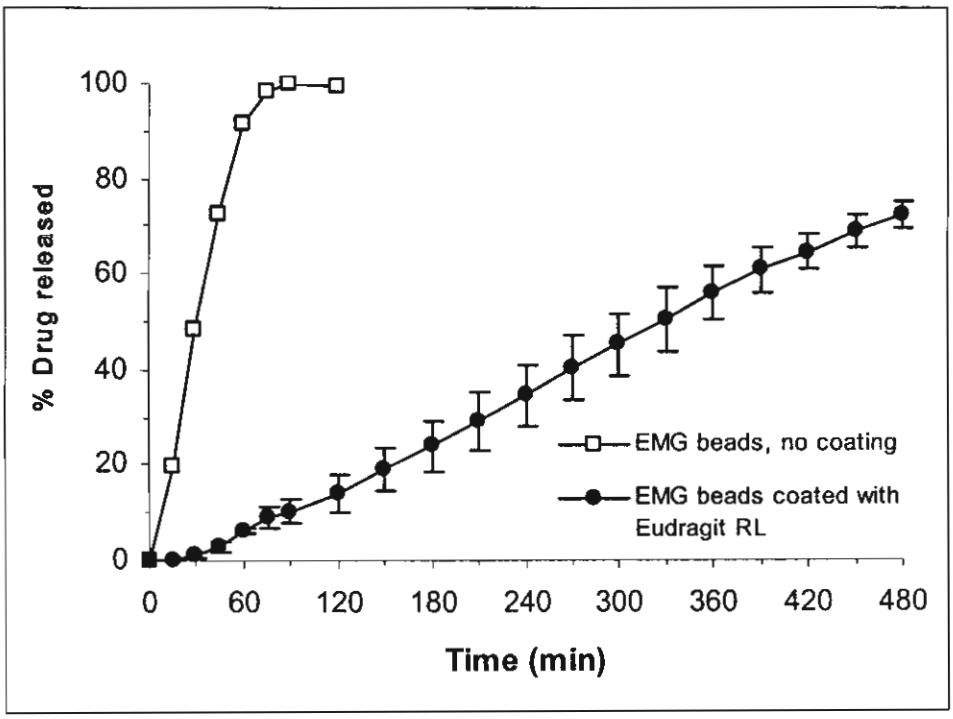
รูปที่ 26 ผลของการเติม Eudragit® L ในอัตราส่วนต่างๆ ในเม็ดเจลบีดต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ (olive oil, 30%)



รูปที่ 27 ผลของการเติม glycerol monosterate (GMS)ในอัตราส่วนต่างๆ ในเม็ดเจลบีดต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ (olive oil, 30%)



รูปที่ 28 ผลของการเติม polyethylene glycol (PEG) ในอัตราส่วนต่างๆ ในเม็ดเจลบีดต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ (olive oil, 30%)



รูปที่ 29 ผลของการเคลือบเม็ดบีดด้วย Eudragit® RL ต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ (olive oil, 30%)

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวเพื่อยืดระยะเวลาคงอยู่ในกระเพาะอาหารในรูปของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีด โดยใช้แนวทางการลดความหนาแน่นของระบบโดยใช้น้ำมันหรือสารสร้างแก๊สผสมเข้าในสูตรตำรับ และได้ศึกษาและพัฒนาเทคนิคการผลิตให้ได้ระบบที่ลอยตัวได้รวมถึงปัจจัยที่มีผลต่อขั้นตอนการเตรียมระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวที่ใช้เพคติน

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาและเสนอหลักการใหม่ในการใช้วิธีการเกิดเป็นอิมัลชั่นและการเกิดเป็นเจลเพื่อใช้ เตรียมแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ และได้ศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อรูปร่างลักษณะของเม็ดเจลบีดและการลอยตัว เช่น ชนิดและปริมาณของน้ำมันที่ใช้ และชนิดของเพคติน เป็นต้น นอกจากนั้นยังได้ศึกษาผลของการปรับสูตรตำรับวิธีต่างๆ ต่อการปลดปล่อยตัวยาอีกด้วย ภาพถ่ายอิเล็กตรอนแสดงให้เห็นโครงสร้างของเม็ดบีดซึ่งมีรูขนาดเล็กสำหรับบรรจุน้ำมันอยู่ทั่วเม็ดเจลบีด ผลการศึกษาการลอยตัวและการปลดปล่อยยาพบว่าการใช้น้ำมันในปริมาณที่เหมาะสมสามารถช่วยให้เม็ดบีดลอยตัวได้ในสภาวะที่ทดสอบ การเพิ่มอัตราส่วนของยาต่อเพคตินมีผลชะลอการปลดปล่อยยาออกจากเม็ดเจลบีด อย่างไรก็ตามการปลดปล่อยยาออกจากเม็ดบีดยังค่อนข้างเร็ว การปรับอัตราการปลดปล่อยยาโดยการปรับสูตรตำรับด้วยวิธีต่างๆ พบว่าการเติมสารชะลอการปลดปล่อยยาทั้งที่เป็นสารพอลิเมอร์ สารจำพวกแว็กซ์ทั้งที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ มีผลชะลอการปลดปล่อยยาไม่แตกต่างจากระบบเดิมอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่การแช่เม็ดบีดในสารเพิ่มความแข็งมีผลทำให้การปลดปล่อยยาช้าลงประมาณ 2 เท่า ส่วนวิธีการเคลือบเม็ดบีดด้วยพอลิเมอร์ ชนิดไม่ละลายน้ำทำให้มีการปลดปล่อยยาช้าลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่เม็ดบีดยังคงสามารถลอยตัวได้

งานวิจัยนี้ยังได้พัฒนาวิธีการเตรียมแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดลอยตัวในกระเพาะอาหารโดยใช้สารกลุ่มคาร์บอเนตซึ่งเป็นสารสร้างแก๊ส และได้ศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อรูปร่างลักษณะของเม็ดเจลบีด การลอยตัวและการปลดปล่อยยาจากเม็ดเจลบีด เช่น ชนิดและปริมาณของสารคาร์บอเนต ชนิดของ เพคติน ชนิดของสารตัวกลางก่อเจลและวิธีการทำให้แห้ง ผลการศึกษาพบว่าเม็ดบีดที่ผสมโซเดียมไบคาร์บอเนตและแคลเซียมคาร์บอเนตมีโครงสร้างเป็นรูพรุน การเลือกใช้สารตัวกลางก่อเจลที่มีความเป็นกรดทำให้โครงสร้างมีรูพรุนมากขึ้น นอกจากนั้นยังพบว่าการทำให้แห้งโดยวิธีเยือกแข็งทำให้ได้เม็ดบีดที่มีโพรงขนาดใหญ่และทำให้เม็ดเจลบีด ลอยตัวได้ดีกว่าวิธีการทำให้แห้งโดยการอบแห้ง นอกจากนั้นยังพบว่าปัจจัยต่างๆ ที่ศึกษามีผลต่อการปลดปล่อยยาออกจากเม็ดบีดแตกต่างกันไป

ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดชนิดที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบและชนิดที่ใช้สารกลุ่มคาร์บอเนตเป็นระบบที่สามารถพัฒนาเป็นระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวในกระเพาะอาหารได้ ซึ่งคุณสมบัติของเม็ดบีดที่ลอยตัวได้นี้สามารถที่จะพัฒนาให้เป็นระบบที่ชะลอการปลดปล่อยตัวยาหรือเป็นระบบที่เจาะจงเป้าหมายที่บริเวณเยื่อบุกระเพาะอาหารได้

เอกสารอ้างอิง

- Alvisi, V., Gasparetto, A., Dentale, A., Heras, H., Felletti-Spadazzi, A., D'Ambrosi, A. (1996). Bioavailability of a controlled release formulation of ursodeoxycholic acid in man. Drugs Exp. Clin. Res., 22, 29-33.
- Bogentoft, C. (1982). Oral controlled-release dosage forms in perspective. Pharm. Int., 3, 366-369.
- Choi, B.Y., Park, H.J., Hwang, S.J., Park, J.B. (2002). Preparation of alginate beads for floating drug delivery system: effect of CO_2 gas forming agents. Int. J. Pharm., 239, 81-91.
- Deshpande, A.A., Shah, N.H., Rhodes, C.T., Malick, A.W. (1997). Development of a novel controlled-release system for gastric retention. Pharm. Res., 14, 815-819.
- El-Gibaly, I. (2002). Development and in vitro evaluation of novel floating chitosan microcapsules for oral use: comparison with non-floating chitosan microspheres. Int. J. Pharm., 249, 7-21.
- El-Kamel, A.H., Sokar, M.S., Al-Gamel, S.S., Naggar, N.F. (2001). Preparation and evaluation of ketoprofen floating oral delivery system. Int. J. Pharm., 220, 13-21.
- Inouye, K., Machida, Y., Sannan, T., Nagai, T. (1989). Buoyant sustained release granules based on chitosan. Drug Des. Del., 4, 55-67.
- Joseph, N.J., Lakshmi, S., Jayakrishnan, A. (2002). A floating-type oral dosage form for piroxicam based on hollow polycarbonate microspheres: in vitro and in vivo evaluation in rabbits. J. Control. Release, 79, 71-79.
- Kawashima, Y., Niwa, T., Takeuchi, H., Hino, T., Ito, Y., (1991). Preparation of multiple unit hollow microspheres (microballoons) with acrylic resin containing tranilast and their drug release characteristics (in vitro) and floating behavior (in vivo). J. Control. Release, 16, 279-290.
- Muller-Lissner, S.A., Will, N., Muller-Duysing, W., Heinzel, F., Blum, A.L. (1981). A floating capsule with slow release of drugs: new method of oral drug medication. Dtsch. Med. Wochenschr., 106, 1143-1147.
- Murata, Y., Sasaki, N., Miyamoto, E., Kawashima, S. (2000). Use of floating alginate gel beads for stomach-specific drug delivery. Eur. J. Pharm. Biopharm., 50, 221-226.
- Nur, A.O., Zhang, J.S. (2000). Recent progress in sustained/controlled release oral drug delivery of captopril: an overview. Int. J. Pharm., 194, 139-146.
- Oth, M., Franz, M., Timmermans, J., Moes, A. (1992), The bilayer floating capsule: a stomach-directed drug delivery system for misoprostol. Pharm. Res., 9, 298-302.
- Ritschel, W.A. (1991). Targeting in the gastrointestinal tract: new approaches. Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol., 13, 313-336.

- Rouge, N., Buri, P., Doelker, E. (1996). Drug absorption sites in the gastrointestinal tract and dosage forms for site-specific delivery. Int. J. Pharm., 136, 117-139.
- Rubinstein, A., Friend, D.R. (1994). Specific delivery to the gastrointestinal tract. In: A.J. Domb (Ed.), Polymeric Site-Specific Pharmacotherapy, Wiley, Chichester.
- Singh, B.N., Kim, K.H. (2000). Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. J. Control. Release, 63, 235-259.
- Sriamornsak, P. (1998). Investigation of pectin as a carrier for oral delivery of proteins: using calcium pectinate gel beads. Int. J. Pharm., 169, 213-220.
- Sriamornsak, P. (1999). Effect of calcium concentration, hardening agent and drying condition on release characteristics of oral proteins from calcium pectinate gel beads. Eur. J. Pharm. Sci., 8, 221-227.
- Sriamornsak, P. (2004). Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses. Silpakorn Univ. Int. J. (in press)
- Sriamornsak, P., Nunthanid, J. (1998). Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: I. Preparation and in-vitro release studies. Int. J. Pharm., 160, 207-212.
- Sriamornsak, P., Nunthanid, J. (1999). Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: II. Effect of formulation and processing variables on drug release. J. Microencapsul., 16, 303-313.
- Whitehead, L., Fell, J.T., Collett, J.H., Sharma, H.L., Smith, A.M. (1998). Floating dosage forms: an in-vivo study demonstrating prolonged gastric retention. J. Control. Release, 55, 3-12.
- พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์ (2544-2545). เพคติน: บทบาทในเชิงสุขภาพ. *วารสารมหาวิทยาลัยศิลปากร*, 21-22(1), 60-77.

Output ที่ได้จากโครงการ

ผลงานวิจัยที่ได้จากการดำเนินโครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาระบบนำส่งยาชนิดลอยตัวในกระเพาะอาหารในรูปของแคลเซียมเพคติเนตเจลบีดนี้ คณะผู้วิจัยได้เผยแพร่ผลงานวิจัยสู่วงการวิชาการและสาธารณชนทั้งในและต่างประเทศ ในรูปแบบต่างๆ ดังต่อไปนี้ (ดูในภาคผนวก)

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Morphology and buoyancy of oil-entrapped calcium pectinate gel beads. *AAPS Journal* 2004, 6(3), article 24. (http://www.aapsj.org) [impact factor 2003 = 1.558]
2. Sriamornsak P, Thirawong N, Puttipipatkhachorn S. Emulsion gel beads of calcium pectinate capable of floating on the gastric fluid: Effect of some additives, hardening agent or coating on release behavior of metronidazole. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2005, 24(4), 363-373. [impact factor 2003 = 2.25]
3. Sriamornsak P and Puttipipatkhachorn S. Investigation of calcium pectinate gel beads containing carbonates as an intragastric floating drug delivery system. [กำลังเตรียม manuscript เพื่อส่งตีพิมพ์]

ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

1. Sriamornsak P, Thirawong N. Emulsion gel spheres: A novel floating system for intragastric drug delivery. *Proceedings of the 3rd Indochina Conference on Pharmaceutical Sciences* 2003; 3: PP267-271. [Bangkok, 21-23 May 2003]
2. Sriamornsak P, Thirawong N, Nunthanid J, Puttipipatkhachorn S, Kasantikul V and Keokitichai S. Novel emulsion gel spheres for floating drug delivery: Effect of selected factors on floating and drug release properties. *The 1st European Federation in Pharmaceutical Science Conference on Optimising Drug Delivery and Formulation: New Challenges in Drug Delivery*, Versailles, 29 September – 1 October 2003.
3. Sriamornsak P, Thirawong N, and Puttipipatkhachorn S. A new intragastric floating system using calcium pectinate gel beads containing carbonates. *Proceedings of the Sixth NRCT-JSPS Joint Seminar on Natural Medicine in Pharmaceutical Sciences* 2003; 6: 224. [Bangkok, 2-4 December 2003]
4. Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Superporous gel spheres of calcium pectinate: a novel floating drug delivery. *The 2nd Pharmaceutical Sciences World Congress*, Kyoto, 29 May - 3 June 2004.

5. Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Investigation of calcium pectinate gel beads as an intragastric floating drug delivery system: Using carbonates as a gas-forming agent. *The 31th Annual Meetings of the Controlled Release Society*, Hawaii, 12-16 June 2004.
6. Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Oil-entrapped calcium pectinate gel beads capable of floating on the gastric fluid – effect of some additives on release behaviour of metronidazole. *Proceedings of the 20th Asian Congress of Pharmaceutical Sciences* 2004; 20: IP-P-22. [Bangkok, 30 November - 3 December 2004]

ประชุมวิชาการในประเทศ

1. Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Evaluation of oil-entrapped calcium pectinate gel spheres as gastro-retentive drug delivery system.# The RGJ Seminar Series XXIV: Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Bangkok, 15-16 October 2003.
2. Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. A novel floating emulsion gel sphere for stomach-specific drug delivery. Thai Journal of Pharmaceutical Sciences 2003; 27(supp): 21. (การประชุมเสนอผลงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ ครั้งที่ 20, วันที่ 1 ธันวาคม 2546, คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)
3. Sriamornsak P. Use of citrus pectin in pharmaceutical production and drug delivery [Invited Lecture]. *Proceedings of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand* 2004; 30: 31. [นำเสนอผลงานวิจัยเรื่องนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการบรรยาย
4. Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Oil-entrapped calcium pectinate gel beads as a gastroretentive drug delivery system. การประชุมนักวิจัยรุ่นใหม่พบเมธีวิจัยอาวุโส สกว., กาญจนบุรี, 14-16 มกราคม 2548.

ผลงานวิจัยที่ได้ยังมีประโยชน์ต่อการเรียนการสอนด้านเทคโนโลยีเภสัชกรรม การผลิตยาและการออกแบบระบบนำส่งยา รวมถึงการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อประยุกต์ใช้ในทางอุตสาหกรรมยา ทั้งในระดับปริญญาบัณฑิตและบัณฑิตศึกษา

This research was awarded the TPEN Award 2003 (Best Poster Presentation) at the *RGJ Seminar Series XXIV: Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology*, Bangkok, Thailand, on 15-16 October 2003.

ภาคผนวก

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Morphology and buoyancy of oil-entrapped calcium pectinate gel beads. *AAPS Journal* 2004, 6(3), article 24. (http://www.aapsj.org)

ome

The AAPS Journal
Editorial Board
Special Issues
- Theme Issues
- Special Features
- Pharmacogenetics-Pharmacogenomics Virtual Journal
- AAPS Annual Meeting Abstracts

thor Resources
Author's Instructions
Ten Best Manuscript Submission Practices
Contact The AAPS Journal Editorial Office
FAQ
About *The AAPS Journal*

APS
AAPS Pharmaceutica
AAPS Manuscript Tracking System

The AAPS Journal (ISSN 1550-7416) is a peer-reviewed online-only journal published by the American Association of Pharmaceutical Scientists. The journal covers all areas of pharmaceutical research, including drug discovery, development, and therapy. Our mission is to disseminate scientific information worldwide, taking full advantage of the electronic publication medium by offering 3-D graphics, video, interactive figures, ancillary databases, and sound. Indexed by PubMed/Medline, *Index Medicus*, Institute of Scientific Information's Science Citation Index and Chem Abstracts. *The AAPS Journal* is an Open Access publication and is freely accessible on the Web.

Editor-In-Chief, Wolfgang Sadée, Dr.rer.nat, leads an international editorial board of leading researchers in the pharmaceutical sciences. Dr. Sadée is Felts Mercer Professor of Medicine and Pharmacology, Chair of the *Department of Pharmacology*, *Adjunct Professor of* Pharmacy, and Director, Program in Pharmacogenomics, at Ohio State University, Columbus OH.

Volumes and Issues

AAPSJ 2004
Vol. 6 No. 4
Vol. 6 No. 3

AAPS PharmSci Back Issues
2004
Vol. 6 No. 2
Vol. 6 No. 1

2003
Vol. 5 No. 4
Vol. 5 No. 3
Vol. 5 No. 2
Vol. 5 No. 1
Vol. 5 No. S1

2002
Vol. 4 No. 4
Vol. 4 No. 3
Vol. 4 No. 2
Vol. 4 No. 1
Vol. 4 No. S1

2001
Vol. 3 No. 4
Vol. 3 No. 3
Vol. 3 No. 2
Vol. 3 No. 1
Vol. 3 No. S1

2000
Vol. 2 No. 4
Vol. 2 No. 3
Vol. 2 No. 2

The AAPS Journal Formerly *AAPS PharmSci*

Table of contents
Abstract Introduction Materials and Methods Results and Discussion Conclusion
Acknowledgements References

Sriamornsak P, Thirawong N, Puttipipatkhachorn S. Morphology and Buoyancy of Oil-entrapped Calcium Pectinate Gel Beads.
AAPS J. 2004; 6 (3): article 24. DOI: 10.1208/aapsj060324

Morphology and Buoyancy of Oil-entrapped Calcium Pectinate Gel Beads

Pornsak Sriamornsak,[1] Nartaya Thirawong,[1] and Satit Puttipipatkhachorn[2]

[1]Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000, Thailand
[2]Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

Correspondence to:
Pornsak Sriamornsak
Tel: +66 34 255800
Fax: +66 34 255801
Email: pornsak@email.pharm.su.ac.th

Submitted: April 26, 2004; Accepted: July 20, 2004; Published: October 7, 2004

Keywords: calcium pectinate, pectin, oil, emulsion, gel beads, floating, gastro-retentive

The AAPS Journal 2004; 6 (3) Article 24 (http://www.aapsj.org).

Morphology and Buoyancy of Oil-entrapped Calcium Pectinate Gel Beads

Submitted: April 26, 2004; Accepted: July 20, 2004; Published: October 7, 2004.

Pornsak Sriamornsak,[1] Nartaya Thirawong,[1] and Satit Puttipipatkhachorn[2]

[1]Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000, Thailand
[2]Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

ABSTRACT

A new emulsion-gelation method to prepare oil-entrapped calcium pectinate gel (CaPG) beads capable of floating in the gastric condition was designed and tested. The gel beads containing edible oil were prepared by either being gently mixed or homogenized an oil phase and a water phase containing pectin, and then extruded into calcium chloride solution with gentle agitation at room temperature. The gel beads formed were then separated, washed with distilled water, and dried at 37°C for 12 hours. A model of the emulsion-gelation process to illustrate the formation of oil-entrapped CaPG beads was proposed. The effect of selected factors, such as type of oil, percentage of oil, and type of pectin on morphology and floating properties was investigated. The oil-entrapped calcium pectinate gel beads floated if a sufficient amount of oil was used. Scanning electron photomicrographs demonstrated very small pores, ranging between 5 and 40 μm, dispersed all over the beads. The type and percentage of oil play an important role in controlling the floating of oil-entrapped CaPG beads. The results suggested that oil-entrapped CaPG beads were promising as a carrier for intragastric floating drug delivery.

KEYWORDS: calcium pectinate, pectin, oil, emulsion, gel beads, floating, gastro-retentive.

INTRODUCTION

Gastro-retentive dosage forms (ie, those designed to exhibit a prolonged gastric residence time) have been a topic of interest in terms of their potential for controlled drug delivery.[1,2] These dosage forms are particularly appropriate for drugs (1) that are locally active to the gastric mucosa in the stomach, for example, antibiotic administration for *Helicobacter pylori* eradication in the treatment of peptic ulcer disease[3]; (2) with an absorption window in the stomach or the upper small intestine; (3) that are unstable in the intestine or colonic environment; and (4) with low solubility in high pH values.[4] It is widely accepted that gastric emptying of conventional dosage forms in humans is affected by numerous factors and the time taken shows wide inter- and intrasubject variation. This variability, in turn, can lead to unpredictable times to achieving peak plasma drug levels and bioavailability, since many drugs absorb to the greatest extent in the upper part of the small intestine.[5] A drug that is released from a dosage form in a controlled manner in the stomach will empty together with fluids and will have the whole surface area of the small intestine available for absorption. Several approaches of gastro-retentive dosage forms have been proposed and investigated, such as bioadhesive delivery systems in which bioadhesive polymers adhere to the mucin-epithelial surfaces.[6] Another approach is density-controlled delivery systems or floating dosage forms, which remain buoyant on gastric contents because they have a lower density than gastric fluids.[7]

Floating dosage forms can be made by a gelling process of hydrocolloid materials or by incorporating a vacuum or gas-filled flotation chamber.[8] The most commonly used excipients are gel-forming or highly swellable cellulose-type hydrocolloids, polysaccharides, and matrix-forming polymers such as polycarbonate, polyacrylate, polymethacrylate, and polystyrene.[2] Highly porous carriers for intragastric floating drug delivery (eg, hollow polycarbonate microspheres,[7,9] hydrophobic polypropylene foam powder with low density,[4] coated calcium alginate beads containing air compartment[10]) have been developed. Floating properties of dosage form can also be fabricated using oils, for example, theophylline tablets are composed of mineral oil-entrapped agar for controlled drug release.[11]

The polysaccharide pectin is an inexpensive, nontoxic product extracted from citrus peels or apple pomaces and has been used as a food additive, a thickening agent, and a gelling agent.[12] In addition, pectin can reduce interfacial tension between an oil phase and a water phase and is efficient for the preparation of emulsion.[13] Pectin has a very complex structure that depends on both its source and the extraction process. Numerous studies contributed to elucidate the structure of pectin. Basically, it is a polymer of α-D-galacturonic acid with 1→4 linkages.[12] This chain is regularly interrupted by some rhamnogalacturonan segments that combine galacturonic acid residues and α-L–rhamnopyranose by a 1→2 linkage .[14] The galacturonic acid of the backbone is partially methyl-esterified. Low-methoxy pectin with degree of esterification less than 50% can form rigid gels by the action of

Corresponding Author: Pornsak Sriamornsak, Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000, Thailand. Tel: +66 34 255800. Fax: +66 34 255801. Email: pornsak@email.pharm.su.ac.th.

alcium ions or multivalent cations, which cross-link the alacturonic acid chains. Calcium pectinate hydrogels are table in low pH solution and are being investigated as a car- material for different controlled release systems. In ecent years, gel beads of calcium pectinate have been devel- ped as a unique vehicle for drug delivery. The gel beads ave been used in various ways in the gastrointestinal tract, or example, for sustained release of drugs[15-16] or for target- g drugs to the colon.[17] However, the floating properties of alcium pectinate gel (CaPG) beads and their potential as a astro-retentive system has not yet been tested. The aims of his study were to develop the oil-entrapped CaPG beads sing selected oils for a floating drug delivery system and to vestigate their morphology and floating behavior. The ffect of selected factors, such as type of oil, percentage of , and type of pectin on bead size, morphology, and float- g properties was also investigated.

ATERIALS AND METHODS

aterials

ow-methoxy pectin with degree of esterification (DE) of 3% (GENUpectin type LM-101 AS) and one with DE of 3% (GENUpectin type LM-104 AS-FS) were the generous ft of CP Kelco (Lille Skensved, Denmark) and are referred as LM-101 and LM-104, respectively. Light mineral oil, ve oil, corn oil, soybean oil, rice oil, sesame oil, pepper- nt oil, and sunflower oil were standard pharmaceutical ade, and all chemical reagents used were analytical grade.

ethods

eparation of Conventional Calcium Pectinate Gel Beads

onventional CaPG beads were prepared by ionotropic gela- n method, which was previously described.[15-16] In brief, 5 ach of LM-101 and LM-104 was dissolved in water with gitation to make 100-g solutions. The solutions were extrud- d using a nozzle of 0.80-mm inner diameter into a 0.34 M alcium chloride solution with gentle agitation at room tem- erature. The distance from the nozzle to the calcium chlo- de solution was 5 cm. The gel beads formed were allowed stand in the solution for 20 minutes, and then were sepa- ted and washed with distilled water. The beads were dried 37°C for 12 hours.

eparation of Oil-entrapped CaPG Beads by Emulsion- elation Method

he oil-entrapped CaPG beads were prepared by emulsion- elation method. Either LM-101 or LM-104 (5 g) was dis- lved in water with agitation. Different amounts (ie, 5-40 g) f selected oils were added to the solution to make a 100-g ixture as shown in Table 1. Either homogenized or nonho- mogenized mixture was extruded using a nozzle of 0.80-mm inner diameter into a 0.34 M calcium chloride solution with gentle agitation at room temperature. The oil-entrapped CaPG beads formed were treated in the same manner as conventional CaPG beads.

Study of Particle Size and Morphology of Gel Beads

The mean diameter of 50 dried beads was determined by optical microscopy (BH-2, Olympus, Beijing, China). The microscope eyepiece was fitted with a micrometer by which the size of the beads could be determined. Analysis of variance (ANOVA) and Levene's test for homogeneity of variance were performed using SPSS Version 10.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL). Post hoc testing ($P < .05$) of the multiple comparisons was performed by either the Scheffé or Games-Howell test depending on whether Levene's test was insignificant or significant, respectively.

Morphological examination of the surface and internal structure of the dried beads was performed using a scanning electron microscope (SEM) (model Maxim-2000, CamScan Analytical, Cambridgeshire, UK) equipped with back-scattered electron detector at an accelerating voltage of 25 keV. The samples were not coated with gold, so that the difference in atomic number of elements (ie, the difference between calcium and carbon) could be detected by back-scattered electron detector.[18] For examination of the internal structure of the beads, they were cut in half with a steel blade.

Buoyancy of Gel Beads

Specific gravity of the test solution (distilled water, USP simulated gastric fluid without pepsin (SGF) and normal saline solution, ie, 0.9% NaCl) previously measured using a standard pycnometer was 1.007, 1.013, and 1.014, respectively. The gel bead samples (n = 20) were steeped in 50 mL of each test solution, and their buoyancy (sink or float) was observed visually. The preparation was considered to have buoyancy in the test solution only when all of the gel beads floated in it.[3]

RESULTS AND DISCUSSION

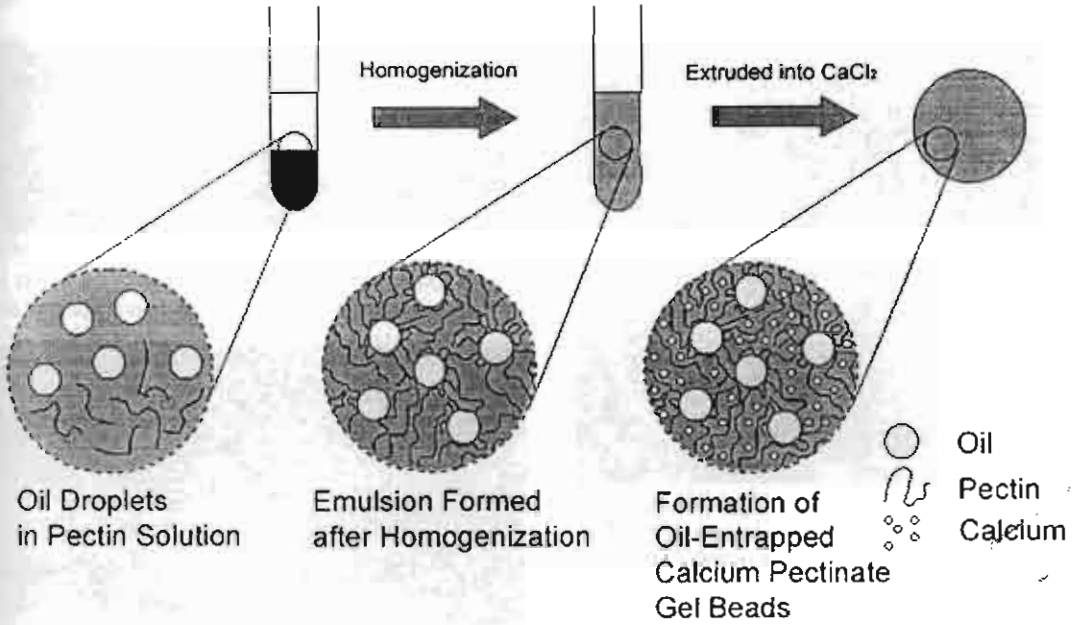
Preparation of Gel Beads

Pectin with low DE can form gel by ionotropic gelation with divalent calcium ions. When either aqueous solution of pectin or emulsion of selected oils containing pectin was dropped into calcium chloride solutions, spherical gel beads were then formed instantaneously in which intermolecular cross-links were formed between the divalent calcium ions and the negatively charged carboxyl groups of the pectin molecules. The gel beads were easily manufactured without any sophisticated equipment.

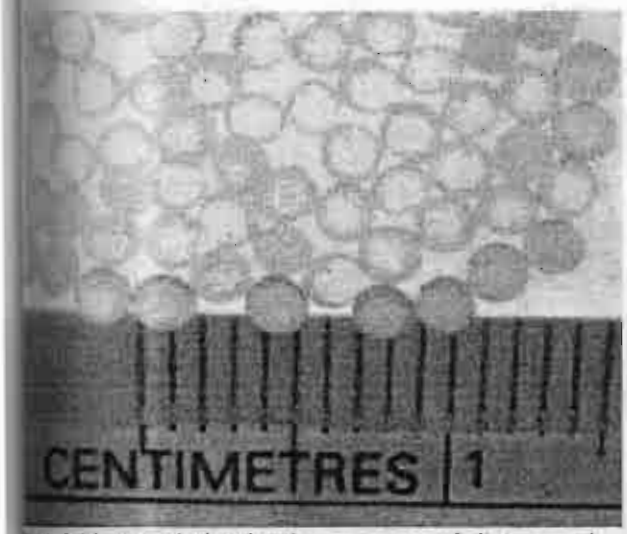
Table 1. Mean Diameter and Buoyancy of the Conventional and Oil-entrapped Calcium Pectinate Gel Beads Made of Pectin (LM-104) and Various Types of Oil in Different Test Solutions*

	Mean Diameter, mm ± SD (n = 50)	Buoyancy Behavior (n = 20)		
		Distilled Water	Normal Saline	SGF
[illegible] oil (conventional)	1.27 ± 0.08	S	S	S
[illegible]neral oil (relative density† = 0.84)				
[illegible]%	1.65 ± 0.06	S	S	S
[illegible]%	1.78 ± 0.04	F	F	F
[illegible]%	1.92 ± 0.04	F	F	F
[illegible]%	2.08 ± 0.06	F	F	F
[illegible]%	2.22 ± 0.11	F	F	F
[illegible] oil (relative density = 0.91)				
[illegible]%	1.46 ± 0.04	S	S	S
[illegible]%	1.60 ± 0.02	S	S	S
[illegible]%	1.73 ± 0.03	F	F	F
[illegible]%	1.84 ± 0.05	F	F	F
[illegible]%	2.04 ± 0.03	F	F	F
[illegible]flower oil (relative density = 0.94)				
[illegible]%	1.46 ± 0.03	S	S	S
[illegible]%	1.52 ± 0.04	S	S	S
[illegible]%	1.75 ± 0.02	S	S	S
[illegible]%	1.85 ± 0.03	F	F	F
[illegible]%	1.95 ± 0.06	F	F	F
[illegible]bean oil (relative density = 0.92)				
[illegible]%	1.65 ± 0.05	S	S	S
[illegible]%	1.82 ± 0.03	F	F	F
[illegible]%	1.91 ± 0.03	F	F	F
[illegible] oil (relative density = 0.92)				
[illegible]%	1.62 ± 0.05	S	S	S
[illegible]%	1.81 ± 0.07	F	F	F
[illegible]%	2.01 ± 0.04	F	F	F
[illegible] oil (relative density = 0.91)				
[illegible]%	1.62 ± 0.04	S	S	S
[illegible]%	1.84 ± 0.04	F	F	F
[illegible]%	1.93 ± 0.03	F	F	F
[illegible]me oil (relative density = 0.91)				
[illegible]%	1.60 ± 0.06	S	S	S
[illegible]%	1.73 ± 0.05	F	F	F
[illegible]%	1.85 ± 0.03	F	F	F
[illegible]tcoint oil (relative density = 0.90)				
[illegible]%	1.41 ± 0.07	S	S	S
[illegible]%	1.51 ± 0.04	F	F	F
[illegible]%	1.60 ± 0.03	F	F	F

*[illegible]dicates *USP* simulated gastric fluid without pepsin; S, sink; and F, float (immediately, and still afloat for at least 6 hours)
†[illegible] density was reported according to the manufacturer's specification.



ure 1. Diagram to illustrate the proposed model of emulsion-gelation process by which the oil-entrapped calcium pectinate gel s are formed.



ure 2. Photograph showing the appearance of oil-entrapped cium pectinate gel beads containing light mineral oil (10%).

hout homogenization, the oil separated from the pectin tion despite being mixed by stirrer. The homogenized ture gave the homogeneous texture of the combination se of the emulsifying property of pectin.[13] However, emulsifying property was limited when the oil concentra- was increased. As a consequence, oil began to leak from beads at 40% wt/wt even when a homogenized mixture achieved.

tin helped to emulsify the mixture of water and oil phas- during the homogenization process. Although there is no explanation about the origin of the emulsifying function ectin, its emulsion stabilization could be explained by its surface active ability to reduce the interfacial tension between an oil phase and a water phase.[13] Another explanation is that the emulsion stabilization is probably owing to steric and mechanical stabilization mechanisms, similar to other polysaccharides (eg, cellulose, guar gum, locust bean gum).[19] After the emulsion was formed, it was extruded into calcium chloride solution, and the gel formed by the action of calcium cross-linking to the negative charged groups of pectin chain. As a result, the oil droplets dispersed in the structure of the calcium cross-linked gel beads. The proposed model of emulsion-gelation process by which the oil-entrapped CaPG beads are formed is illustrated in Figure 1.

Figure 2 shows the appearance of oil-entrapped CaPG beads containing mineral oil (10% wt/wt). The beads containing mineral oil were spherical, transparent, and slightly yellowish, whereas those containing olive oil, soybean oil, corn oil, rice oil, peppermint oil, and sunflower oil were less transparent and light yellowish, and the beads containing sesame oil were dark brown in color. This result was owing to original color presented in an oil phase.

Particle Size Studies

The mean diameter of conventional CaPG beads was 1.27 ± 0.08 mm. The mean diameter of oil-entrapped CaPG beads containing different types and amounts of oil is shown in Table 1. The results show that the amount of oil in pectin solution affected the mean diameter of the beads. The size of the gel beads increased as the amount of oil used was increased. For example, when the amount of mineral oil was

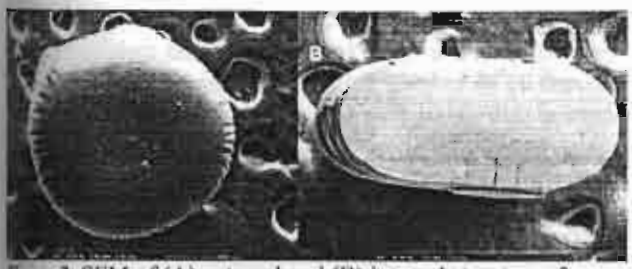


Figure 3. SEM of (A) external and (B) internal structure of a conventional calcium pectinate gel bead. The sizes of exposed area and scale bars are shown on the individual photographs.

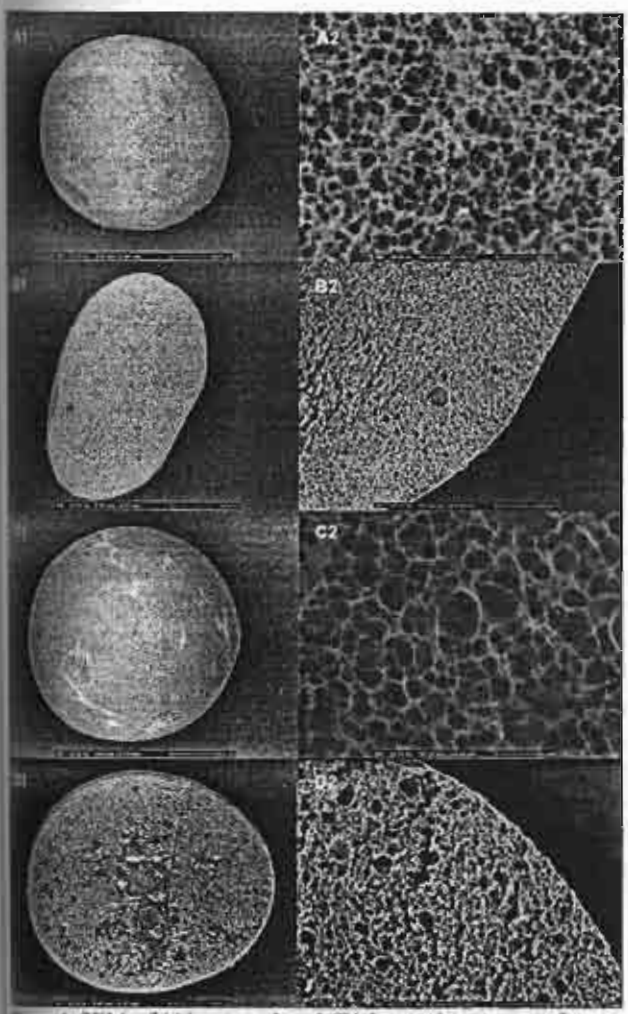


Figure 4. SEM of (A) external and (B) internal structure of an oil-entrapped calcium pectinate gel bead containing olive oil (5%); and (C) external and (D) internal structure of an oil-entrapped calcium pectinate gel bead containing olive oil (30%). The sizes of exposed area and scale bars are shown on the individual photographs.

increased from 5% wt/wt to 40% wt/wt, the size of the CaPG beads significantly increased from 1.65 ± 0.06 to 2.22 ± 0.11 mm. In addition, the size of CaPG beads made of different types of pectin was not significantly different ($P > .05$). The beads containing peppermint oil were smaller than those containing other oils when comparing at the same percentage of oil used. This is probably owing to the volatility of peppermint oil resulting in loss of mass during air drying.

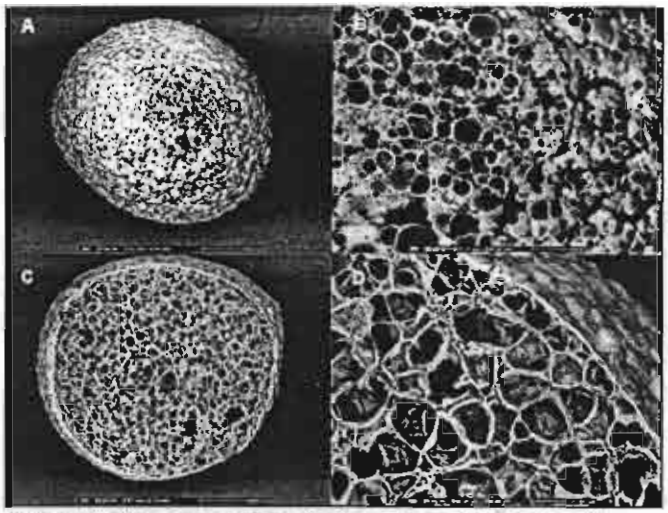


Figure 5. SEM of (A and B) external and (C and D) internal structure of an oil-entrapped calcium pectinate gel bead containing peppermint oil (30%). The sizes of exposed area and scale bars are shown on the individual photographs.

Morphology of Gel Beads

Samples were taken from different formulations and operating conditions for SEM observation. Typical image is shown in Figure 3 illustrating the external and internal structure of the dry conventional CaPG beads. Upon air drying, the conventional CaPG beads of all formulations became small, dense, and flattened with wrinkled circumference due to water diffusing gradually from the sphere under the drying process. The oil-entrapped CaPG beads were more spherical with no hollow at the middle of sphere surface (Figures 4 and 5). This spherical shape of oil-entrapped CaPG beads could be maintained with high concentration of oil. The oil-entrapped CaPG structure formed showed the sponge-like structure where the oil was entrapped. This sponge-like structure may correspond to the egg-box structure of calcium pectinate (as proposed in Figure 1), which was rigid and water insoluble.

The pores of the oil-entrapped CaPG beads represented the oil droplets, and their size was influenced by concentration of oil. Figure 4 shows the external and internal morphology of an oil-entrapped CaPG bead made of 5% and 30% olive oil. The morphology of the external and internal structure was identical. The surface of oil-entrapped CaPG beads showed small pores (5-40 μm) containing oil droplets dispersed all over the structure. The size of the pores found on the CaPG beads containing 5% olive oil was smaller than that of the beads containing 30% olive oil. This finding is probably due to the homogeneous dispersion of the small fraction of oil phase in pectin solution. The droplets of dispersed phase, therefore,

separate to form a more stable emulsion (before extru- into calcium chloride solution) than those of larger frac- of oil phase. Moreover, the large number of oil droplets emulsion may stick to each other with a thin film between to be flocculation or they may unite to a larger droplet coalescence.[20] As a consequence, larger oil-filled pores obtained when a greater amount (30% wt/wt) of olive oil used to prepare the oil-entrapped CaPG beads.

Furthermore, the structure of the oil-entrapped CaPG beads depends on the type of oil used. Although the macrostructure of oil-entrapped CaPG beads appeared to be the same irrespec- of oil type, the morphology determined by SEM showed different surface appearance. It was found that oil-entrapped CaPG beads made of peppermint oil were rougher than those of olive oil and had smaller pores dispersed all over the beads. Figure 5 shows the external and internal morphology of oil-entrapped CaPG beads made of peppermint oil (30%).

Buoyancy of Gel Beads

When conventional CaPG beads made of LM-104 were immersed in distilled water, normal saline solution, or SGF, they sank as shown in Table 1. In contrast, the oil-entrapped CaPG beads containing various oils floated immediately and remained floating for 24 hours if a sufficient amount of oil was used. The oil-entrapped CaPG beads containing 10% light mineral oil or 20% olive oil, soybean oil, corn oil, rice bran, sesame oil, or peppermint oil, or 30% sunflower oil, floated in the test solutions irrespective of the type of medium. The results appear to be related to their relative density (= 0.84 for light mineral oil, between 0.90 and 0.92 for pep- mint oil, olive oil, soybean oil, corn oil, sesame oil, and rice bran oil, and more than 0.92 for sunflower oil). The results indicated that if the oil with lower relative density was used, a smaller amount of the oil was required to keep the beads float. In fact, each type of oil contains various fatty acids that link together and form linear or branch chains. These properties may affect the formation of emulsion with pectin and need to be further examined at a molecular level.

The floating behavior of the beads made of LM-101 (data not shown) was similar to that of LM-104. This indicates that degrees of esterification (ie, between 28% and 36%) of the pectin were not the main factor on floating property of the system.

CONCLUSION

A new floating system of oil-entrapped CaPG beads was designed and prepared by an emulsion-gelation method and its morphology and buoyancy were investigated in this study. The mean diameter of beads increased with the increased amount of oil phase. The pore size of oil-entrapped CaPG beads was affected by concentration of oil. The oil-entrapped CaPG beads showed excellent, immediate, and lasting buoyancy in the acidic environment of the gastric fluid as well as in distilled water or normal saline solution if they contained a sufficient amount of oil, depending on the relative density of the oil.

The enhanced buoyancy property of oil-entrapped CaPG beads makes them an excellent candidate for an intragastric floating drug delivery system. This property will be applicable to the gastro-retention of drug delivery systems by slowing down the gastric emptying of systems. The lasting intragastric buoyancy of a controlled release dosage form may also provide a suitable manner to deliver drugs that are locally active to the gastric mucosa in the stomach and, hence, achieve a sustained site-specific therapeutic action (eg, antibiotic administration for *Helicobacter pylori* eradication in the treatment of peptic ulcer disease).

In order to investigate the actual buoyancy of the system and its usefulness in sustaining drug release, such formulations will be selected for drug loading and release examination. We are continuing our experiments with these systems in an attempt to (1) keep the systems afloat in the gastric condition and (2) control the drug (eg, antimicrobial agent) release from the oil-entrapped CaPG beads.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financially supported by the Thailand Research Funds (grant number MRG4680120). The authors gratefully acknowledge Mr Witoon Sae-Ngow from Silpakorn University Scientific and Technological Research Equipment Centre (SUSTREC) for technical assistance on SEM imaging. Thanks also go to Food and Cosmetic System Co, Ltd, (Bangkok,Thailand) for supplying pectin samples.

REFERENCES

1. Moes AJ. Gastroretentive dosage forms. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 1993;10:143-195.

2. Singh BM, Kim KH. Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. *J Control Release*. 2000;63:235-239.

3. Cooreman MP, Krausgrill P, Hengels KJ. Local gastric and serum amoxycillin concentrations after different oral application forms. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993;37:1506-1509.

4. Streubel A, Siepmann J, Bodmeier R. Floating microparticles based on low density foam powder. *Int J Pharm*. 2002;241:279-292.

5. Rouge N, Buri P, Doelker E. Drug absorption sites in the gastrointestinal tract and dosage forms for site-specific delivery. *Int J Pharm*. 1996;136:117-139.

6. Akiyama Y, Nagahara N. Novel formulation approaches to oral mucoadhesive drug delivery systems. In: Mathiowitz E, Chickering DE III, Lehr CM, eds. *Bioadhesive Drug Delivery Systems Fundamentals: Novel Approaches and Development*. New York, NY: Marcel Dekker; 1999:477-505.

Joseph NJ, Lakshmi S, Jayakrishnan A. A floating-type oral dosage form for piroxicam based on hollow polycarbonate microspheres: in vitro and in vivo evaluation in rabbits. *J Control Release*. 2002;79:71-79.

Chien YW. Oral drug delivery. In: Chien YW, ed. *Novel Drug Delivery Systems*. New York, NY: Marcel Dekker; 1992:139-196.

Hanoo BC, Sunny MC, Jayakrishnan A. Oral sustained-release drug delivery systems using polycarbonate microspheres capable of floating on the gastric fluid. *J Pharm Pharmacol*. 1993;45:21-24.

Iannuccelli V, Coppi G, Bernabel MT, Cameroni R. Air compartment multiple-unit system for prolonged gastric residence. Part I: Formulation study. *Int J Pharm*. 1998;174:47-54.

Desai S, Bolton S. A floating controlled release drug delivery system: in-vitro - in-vivo evaluation. *Pharm Res*. 1993;10:1321-1325.

Rolin C. Pectin. In: Whistler RL, Bemiller JN, eds. *Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives*. New York, NY: Academic Press; 1993:257-293.

Leroux J, Langendorff V, Schick G, Vaishnav V, Mazoyer J. Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids*. 2003;17:455-462.

Schols HA, Voragen AGJ. Complex pectin: structure elucidation using enzymes. In: Visser J, Voragen AGJ, eds. *Progress in Biotechnology: Pectin and Pectinases*. Vol 14. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier; 1996:3-19.

15. Sriamornsak P, Nunthanid J. Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery. I. Preparation and in-vitro release studies. *Int J Pharm*. 1998;160:207-212.

16. Sriamornsak P, Nunthanid J. Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery. II. Effect of formulation and processing variables on drug release. *J Microencapsul*. 1999;16:303-313.

17. Sriamornsak P. Effect of calcium concentration, hardening agent and drying condition on release characteristics of oral proteins from calcium pectinate gel beads. *Eur J Pharm Sci*. 1999;8:221-227.

18. Sriamornsak P, Thirawong N. Use of back-scattered electron imaging as a tool for examination matrix structure of calcium pectinate. *Int J Pharm*. 2003;267:151-156.

19. Garti N, Reichman D. Hydrocolloids as food emulsifiers and stabilizers. *Food Structure*. 1993;12:411-426.

20. Friberg SE, Goubran RF, Kayali IH. Emulsion stability. In: Larsson K, Friberg SE, eds. *Food Emulsions*. New York, NY: Marcel Dekker; 1990:1-6.

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

Sriamornsak P, Thirawong N, Puttipipatkhachorn S. Emulsion gel beads of calcium pectinate capable of floating on the gastric fluid: Effect of some additives, hardening agent or coating on release behavior of metronidazole. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2005, 24(4), 363-373.

Available online at www.sciencedirect.com
SCIENCE DIRECT®
European Journal of Pharmaceutical Sciences 24 (2005) 363–373
EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES
www.elsevier.com/locate/ejps

Emulsion gel beads of calcium pectinate capable of floating on the gastric fluid: effect of some additives, hardening agent or coating on release behavior of metronidazole

Pornsak Sriamornsak[a,*], Nartaya Thirawong[a], Satit Puttipipatkhachorn[b]

[a] *Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000, Thailand*
[b] *Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand*

Received 5 October 2004; received in revised form 2 December 2004; accepted 10 December 2004
Available online 23 January 2005

Abstract

Emulsion gel (EMG) beads of calcium pectinate capable of floating in the gastric condition were developed using an emulsion-gelation method and their release properties were investigated. Attempts to modify the drug release were made by applying some additives into the starting solution prior to bead formation, by hardening with glutaraldehyde, and by coating with polymer. The metronidazole-loaded EMG beads were found to float on simulated gastric fluid. Increasing the drug to pectin ratio in the beads slowed the drug release from the conventional and the EMG beads. However, the drug release from these beads was rapid, i.e., about 80% of drug loading released within 20–80 min. The additives (PEG10000, glyceryl monostearate and Eudragit® L) had a slight, insignificant, effect on the drug release. Using 2% glutaraldehyde as a hardening agent prolonged the drug release. Coating the beads with Eudragit® RL significantly sustained the drug release while the beads remained buoyant. The results suggest that EMG beads are suitable as a carrier for intragastric floating drug delivery and that their release behaviour could be modified by hardening with glutaraldehyde or by coating with Eudragit® RL.
© 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Calcium pectinate; Pectin; Emulsion gel; Beads; Floating; Additives; Sustained release

1. Introduction

Oral administration is always the preferred means of drug delivery to the systemic circulation. Many attempts have been made to develop sustained release preparations with extended clinical effects and reduced dosing frequency. A problem frequently encountered with conventional sustained release dosage forms is the inability to increase their residence time in the stomach and proximal portion of the small intestine. Retention of drug delivery systems in the stomach prolongs the overall gastrointestinal transit time, thereby resulting in improved oral bioavailability of the basic drugs that have poor solubility in higher pH, and of drugs susceptible to circadian variations (Moes, 1993). These systems are also appropriate for drugs which are locally active to the gastric mucosa in the stomach, for example, antibiotic administration for *Helicobacter pylori* eradication in the treatment of peptic ulcer disease (Cooreman et al., 1993).

Floating dosage forms can be used to retain the delivery system in the stomach to increase the gastric residence time. Various methods have been used to prepare the floating dosage forms (Hwang et al., 1998; Singh and Kim, 2000). The most commonly used excipients are gel-forming or highly swellable cellulose type hydrocolloids, polysaccharides, and matrix forming polymers such as polycarbonate, polyacrylate, polymethacrylate and polystyrene (Singh and Kim, 2000). Floating properties of dosage form can also be fabricated using oils, for example, tablets containing mineral oil-entrapped agar (Desai and Bolton, 1993).

* Corresponding author. Tel.: +66 34 253912x2317; fax: +66 34 255801.
E-mail address: pornsak@email.pharm.su.ac.th (P. Sriamornsak).

0928-0987/$ – see front matter © 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.ejps.2004.12.004

The polysaccharide pectin is an inexpensive, non-toxic product extracted from citrus peels or apple pomaces, and has been used as a food additive, a thickening agent and a gelling agent (Rolin, 1993). In addition, pectin is capable of reducing interfacial tension between an oil phase and a water phase and can be effective in the preparation of emulsion (Sriamornsak et al., 2003). Pectin has a very complex structure which depends on both its source and the extraction process. Numerous studies have contributed to our understanding of the structure of pectin. Basically, it is a polymer of α-D-galacturonic acid with 1–4 linkages (Rolin, 1993). This chain is regularly interrupted by some rhamnogalacturonan segments which combine galacturonic acid residues and α-L-rhamnopyranose by a 1–2 linkage (Schols and Voragen, 1996). The galacturonic acid of the backbone is partially methyl-esterified. Low methoxy pectin with a degree of esterification less than 50%, can form rigid gels by the action of calcium ions or multivalent cations, which crosslink the galacturonic acid chains. Calcium pectinate hydrogels are stable in low pH solution, and are being investigated as a potential carrier material for different controlled release systems. In recent years, calcium pectinate gel (CaPG) beads have been developed as a unique vehicle for drug delivery. The gel beads have been used in various ways in the gastrointestinal tract, for example, for sustained release of drugs (Sriamornsak and Nunthanid, 1998, 1999) or for targeting drugs to the colon (Sriamornsak, 1999). We recently investigated the morphology and floating properties of oil-entrapped gel beads of calcium pectinate (Sriamornsak et al., 2004).

In this study, the drug-loaded emulsion gel (EMG) beads of calcium pectinate using selected oils were developed for floating drug delivery system, based on our previous report (Sriamornsak et al., 2004) and the drug release behavior of EMG beads capable of floating in the gastric fluid was studied. The effect of various release modification methods on drug release including; the use of additives in the starting solution prior to bead formation, hardening with glutaraldehyde, and coating with polymer, was also investigated.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Low methoxy pectin with a degree of esterification of 25% (GENU pectin type LM-104 AS-FS) was the generous gift of CP Kelco (Lille Skensved, Denmark). Eudragit® L100 and Eudragit® RL100 (Röhm Pharma, Darmstadt, Germany), glyceryl monostearate (GMS), metronidazole (MZ) (IPC Drug Center, Bangkok, Thailand), calcium chloride, polyethylene glycol (PEG) 10000 (E. Merck, Darmstadt, Germany) and glutaraldehyde (Fluka Chemie, Buchs, Switzerland) were used as received. Light mineral oil, olive oil and peppermint oil and all other chemicals were standard pharmaceutical grade.

2.2. Preparation of conventional CaPG beads, EMG beads, and modified EMG beads

2.2.1. Conventional CaPG beads

Conventional CaPG beads were prepared by the ionotropic gelation method that was previously described (Sriamornsak and Nunthanid, 1998, 1999). Briefly, 5 g of pectin were dispersed in water with agitation to make a 100-g solution. Various amounts of MZ (80-mesh sieved) were dispersed in pectin solution to make different pectin to drug ratios (i.e., 1:1, 1:1.5 and 1:2, w/w). The dispersion was then extruded, using a needle of 0.80-mm inner diameter, into 0.34 M calcium chloride which was gentle stirred at room temperature. The distance from the needle to the surface of calcium chloride solution was fixed to 5 cm. The gel beads formed were allowed to stand in the solution for 20 min before being separated and washed with distilled water. The beads were dried at 37 °C for 12 h.

2.2.2. EMG beads of calcium pectinate

The EMG beads of calcium pectinate were prepared by emulsion-gelation method as previously reported (Sriamornsak et al., 2004). Five grams of pectin were dissolved in water with agitation. Different amounts (i.e., 10, 20, 30 g) of olive oil, light mineral oil or peppermint oil were added to the solution to make 100-g mixtures and homogenized using a homogenizer (Type XI020, Ystral GmbH. Dottingen, Germany), at 3000 rpm for 5 min. Various amounts of MZ were dispersed in an emulsion of oil and pectin mixture. The EMG beads were treated in the same manner as conventional CaPG beads. In some cases, the EMG beads were treated in 2% (v/v) glutaraldehyde for 2 h prior to washing and drying at 37 °C for 12 h.

2.2.3. Additive-added EMG beads

Different amounts of GMS, PEG10000, or Eudragit® L100 were dispersed in the homogenized emulsion mixture of pectin, oil and MZ (additive to pectin ratio was 0.25:1, 0.5:1 or 1:1, w/w) and mixed until the homogenous mixture was obtained. The mixture was used to prepare the additive-added EMG beads in the same manner as conventional CaPG beads

2.2.4. Polymer-coated EMG beads

The coating on drug-loaded EMG beads was performed by the air suspension method. The coating solution (8%, w/v) was prepared by dissolving Eudragit® RL100 in absolute alcohol to make a 100-ml solution. The EMG beads (10 g) were placed in a 250-ml round-bottomed flask. The coating solution was introduced to the cores using a spray gun at a rate of 0.2 g/min and a stream of drying air at 60 °C was applied to the surface of the cores. Coat application was continued until a 16% coating weight gain was achieved. The hot air was continuously blown in the chamber until all the solvent had evaporated. The coated beads were then collected and dried in a hot air oven at 50 °C for 12 h.

2.3. Study of particle size and morphology of gel beads

The mean diameter of 50 dried beads was determined by optical microscopy (BH-2, Olympus, Japan). The microscope eyepiece was fitted with a micrometer by which the size of the beads could be determined.

Morphological examination of the surface and internal structure of the dried beads was carried out using a scanning electron microscope (Model Maxim-2000, CamScan Analytical, Cambridge, England) equipped with secondary electron detector at an accelerating voltage of 15 keV. The samples were coated with gold to a thickness of about 30 nm in a vacuum evaporator. The internal structure of the beads was examined by cutting them in half with a steel blade.

2.4. Buoyancy of gel beads

The gel bead samples ($n = 20$) were placed in the Erlenmeyer flask filled with 50 ml of simulated gastric fluid USP without pepsin (SGF) test solution. The flask was shaken in a shaking incubator. The shaking speed was 100 rpm and the temperature was maintained at 37 °C. Their buoyancy was observed for 24 h. The preparation was considered to have buoyancy in the test solution only when all of the gel beads floated in it (Cooreman et al., 1993).

2.5. Determination of entrapment efficiency and drug release

Prior to the determination of MZ content, the beads must be dissolved by phosphate buffer (pH 7.4) containing 5 mM ethylenediamine tetraacetic acid. The content of MZ was later assayed by UV-spectrophotometer (Hitachi U-2000, Japan) in pH 7.4 phosphate buffer at 277 nm. The determinations were made in triplicate. The ratio of the actual drug content in the beads to the theoretical drug content was termed the entrapment efficiency (EE).

The in vitro release of MZ from the different formulations was examined using a USP dissolution apparatus 1 (Erweka, Germany) with 1000 ml of SGF (pH 1.2) and the basket rotation at 100 rpm. The temperature was controlled at 37 ± 0.1 °C. Samples were taken at appropriate time intervals and assayed spectrophotometrically at 277 nm. All dissolution runs were performed in triplicate.

3. Results and discussion

3.1. Preparation and morphology of gel beads

An aqueous solution of pectin was extruded into calcium chloride solutions and gel beads were formed instantaneously by ionotropic gelation (Sriamornsak and Nunthanid, 1998) in which intermolecular cross-links were formed between the divalent calcium ions and the negatively charged carboxyl groups of the low methoxyl pectin molecules. The conventional CaPG beads were easily manufactured without any sophisticated equipment (Sriamornsak and Nunthanid, 1998). The MZ-loaded CaPG beads can also be prepared by the same method but for this formulation MZ was dispersed in pectin solution prior to bead formation. Typical SEM images illustrating the external and internal structures of the MZ-loaded CaPG beads are shown in Fig. 1. The external surface of gel beads was rough and its shape remained spherical after the drying process. The MZ particles, homogenously dispersed in the calcium pectinate network, can also be seen in the image.

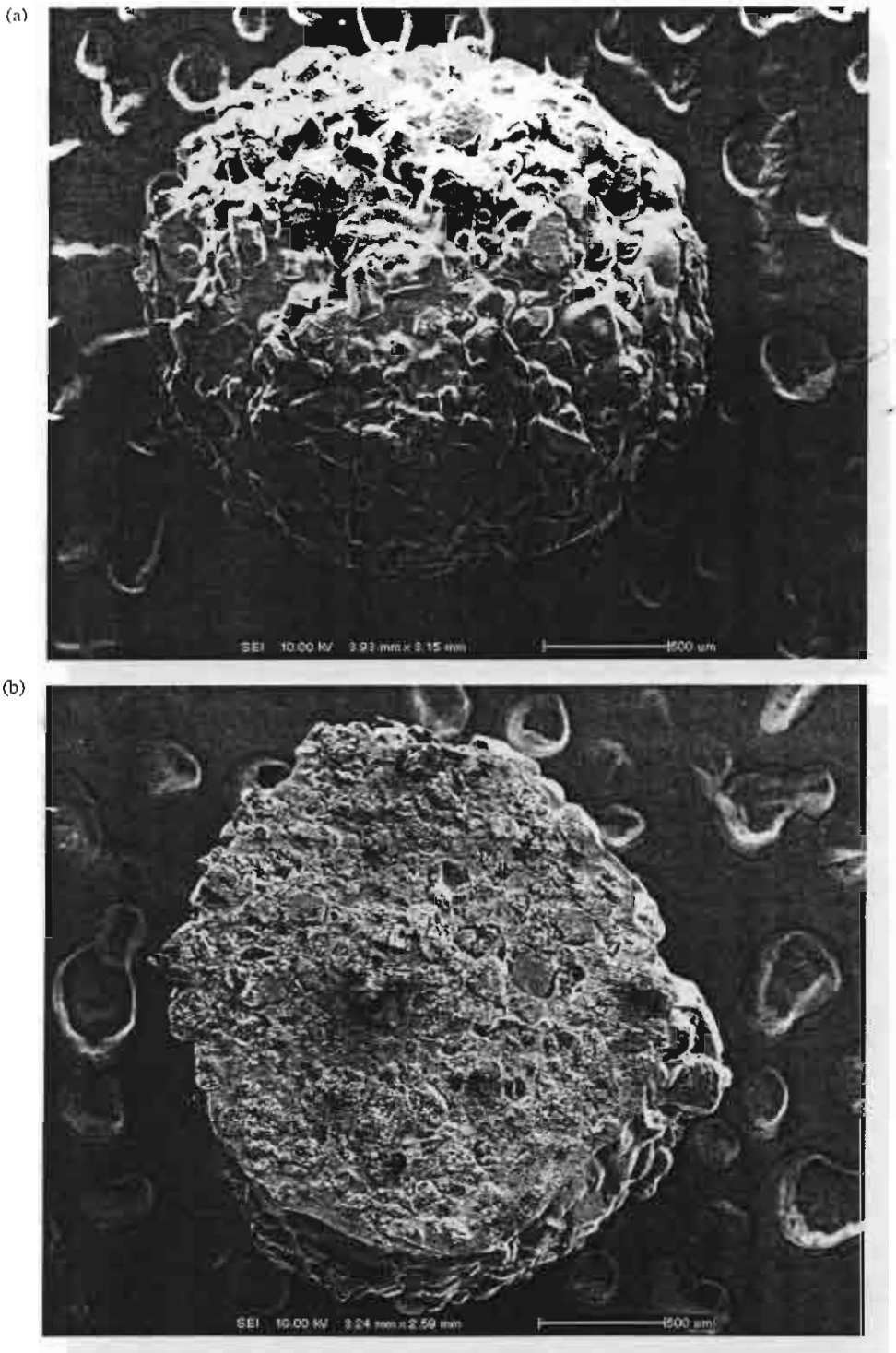
Pectin helped to emulsify the mixture of water and oil phases during the homogenization process. The emulsion stabilization property of pectin can be explained by its surface active ability to reduce the interfacial tension between an oil phase and a water phase (Leroux et al., 2003), or steric and mechanical stabilization mechanisms similar to other polysaccharides such as cellulose, guar gum and locust bean gum (Garti and Reichman, 1993). The MZ-loaded EMG beads were formed by the emulsion-gelation process (Sriamornsak et al., 2004) by which the MZ-loaded emulsion containing pectin was gelled by the action of calcium. Fig. 2 shows external and internal morphology of EMG beads containing 30% (w/w) olive oil. Distribution of the oil droplets in the structure of the calcium cross-linked gel beads was uniform but for the MZ particles, it was randomly scattered. The EMG beads were more spherical and exhibited a smoother surface than conventional CaPG beads. The morphology of all additive-added EMG beads containing 30% (w/w) olive oil was identical to that of EMG beads containing 30% (w/w) olive oil (data not shown). Fig. 3 shows external and internal morphology of MZ-loaded EMG beads containing 30% (w/w) peppermint oil. The beads were spherical in shape with a slightly rougher surface than those containing olive oil. The internal structure of an MZ-loaded EMG bead containing 30% (w/w) peppermint oil demonstrates the sponge-like nature (Fig. 3c) of the structure even though the beads were dried in the hot-air oven. It also shows that there was no oil droplet under the gold coating. This is due to the volatile property of peppermint oil, resulting in the pore formation during the drying process.

3.2. Mean diameter and EE of gel beads

The mean diameter and EE of the MZ-loaded CaPG beads, EMG beads and modified EMG beads at different pectin to MZ ratios is shown in Table 1. The mean diameter of the MZ-loaded gel beads ranges between 2.45 and 3.51 mm. The average size of the beads increased slightly as the amount of MZ and/or oils increased. The hardening agent caused a decrease in bead size as it promoted the formation of crosslinks between the pectin molecules (Sriamornsak and Nunthanid, 1999). The type of additives used insignificantly influenced the mean diameter of the modified EMG beads.

The EE of the beads was calculated from the fractional amount of drug remaining in the beads. As shown in Table 1, the EE of the conventional CaPG beads and EMG beads

anges from 64.30% to 84.13%, while that of the additive-dded EMG beads and coated EMG beads ranges from 9.66% to 66.17%. This is probably due to the high solu-ility of MZ, resulting in high drug loss (about 15–35%) into the solution during the preparation. The EE increased slightly with increased amount of drug loading. On the other hand, the EE decreased, by half, when the beads were soaked in the hardening agent for 2 h.



g. 1. Scanning electron micrographs of (a) external and (b) internal structures of conventional calcium pectinate gel beads. Magnifications and scale bars are own on the individual photographs.

3.3. Buoyancy of gel beads

Our previous study (Sriamornsak et al., 2004) showed that the conventional CaPG beads (with no drug) made of low methoxy pectin did not float in SGF. In contrast, if a sufficient amount of oil was added (i.e. 10% mineral oil, 20% olive oil or peppermint oil), the EMG beads floated immediately and remained floating for 24 h. The results appeared to be related to their relative density, i.e. 0.84 for light mineral oil, between 0.90 and 0.92 for peppermint oil and olive

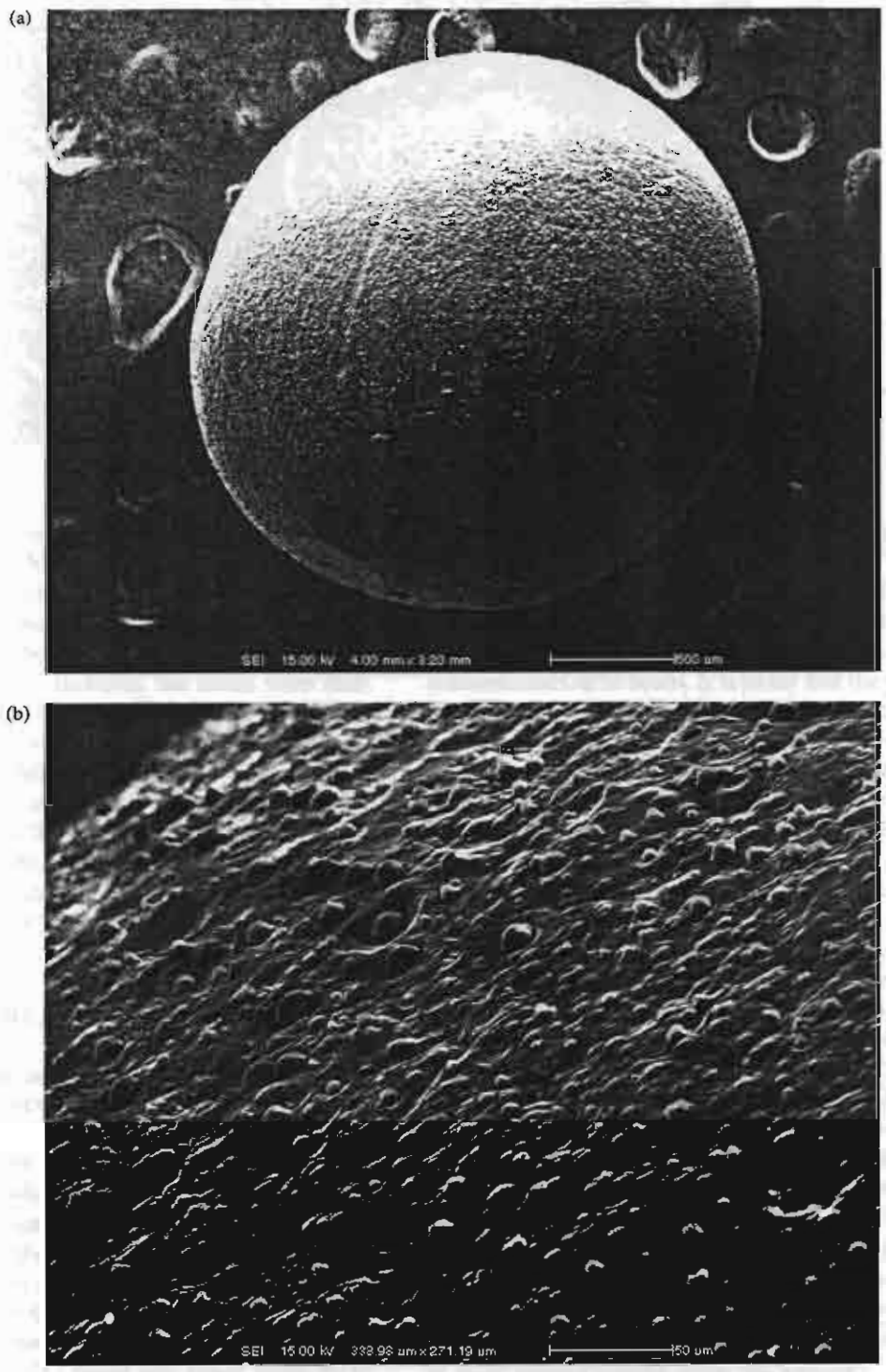


Fig. 2. Scanning electron micrographs of (a and b) external and (c) internal structures of emulsion gel beads of calcium pectinate containing olive oil (30%). Magnifications and scale bars are shown on the individual photographs.

(c)

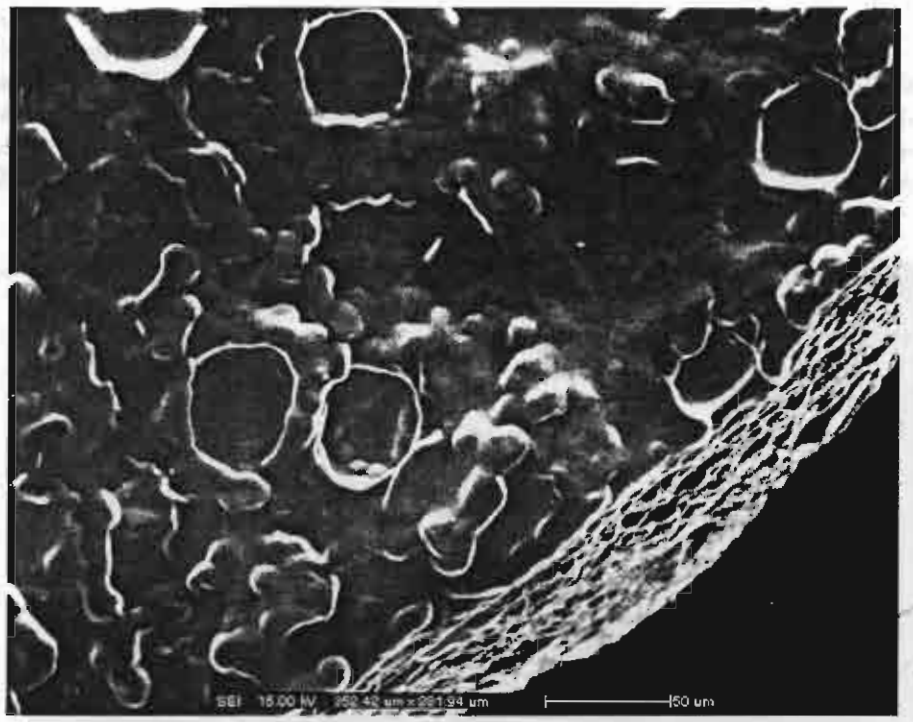


Fig. 2. (*Continued*).

Different results were obtained when MZ was loaded in conventional CaPG and EMG beads, that is, the MZ-loaded EMG beads containing mineral oil (10%), olive oil (20%), peppermint oil (20%) did not float immediately (Table 2). This is probably due to the increased density of the beads when the drug was added. However, the beads were then float after the drug was released from the beads. Additionally, the amount of oil required to keep the beads afloat was increased (Table 2). The MZ-loaded EMG beads containing mineral oil (20%) or olive oil (30%) or peppermint oil (30%) floated immediately in SGF. The buoyancy of EMG beads treated with glutaraldehyde, additive-added EMG beads, and polymer-coated EMG beads is also shown in Table 2. Good in vitro floating behavior in SGF was observed in all modified EMG beads.

In vitro release of MZ from gel beads

Release studies were carried out, only when the beads floated in SGF, in order to examine the suitability of the EMG beads as an intragastric floating drug delivery system. MZ, which is used for *H. pylori* eradication, was used as a model drug. The drug release profiles were presented by plotting the amount of MZ released against time.

Figs. 4a–c illustrates the release profiles of MZ-loaded conventional CaPG beads, and EMG beads containing 20% mineral oil and 30% olive oil, respectively. No lag time was observed in any of the formulations studied. The release of MZ from conventional CaPG beads was rapid; about 80% of MZ was released within 20–30 min, in any ratio of pectin to MZ. This is probably due to the fact that MZ dissolves quickly in water and diffuses through the calcium pectinate structure into the dissolution medium easily. The amount of MZ loaded did not significantly affect the release behavior. The EMG beads containing either 20% mineral oil or 30% olive oil produced slower drug release profiles, compared to conventional CaPG beads. It is likely that the oil, which was dispersed in the structure of EMG beads, obstructed the dissolution channel of MZ. Consequently, the drug release was prolonged; about 80% of MZ was released within 40–80 min. Since the drug release was still quick and was not harmonious for floating drug delivery, modification of the EMG bead formulations was need. Some treatments were done or some additives were added in the formulations in order to extend the drug release.

The hardening agent is commonly used to strengthen the bead structure as well as to modify the release behavior. In this study, a hardening agent was used in order to delay the drug release from EMG beads. Fig. 5 shows the effect of the hardening agent, glutaraldehyde, on MZ release from EMG beads containing various oils. The MZ release from EMG beads containing 30% olive oil, which were soaked in 2% glutaraldehyde for 2 h, was prolonged about two-fold. About 80% of drug release was achieved within 120 min, compared to about 50 min for non-hardened EMG beads. However, the release of MZ from EMG beads containing peppermint oil, which were soaked in glutaraldehyde, was not prolonged and showed similar results to that of non-soaked EMG beads (data not shown). The porous structure of these beads resulting from the volatility of the oil may have contributed to these insignificant differences in drug release.

Some pharmaceutical excipients, for example, enteric polymer (i.e. Eudragit® L), hydrophobic additive (i.e. GMS), and hydrophilic additive (i.e. PEG10000) were used as additives in the formulation, in order to modify the release behavior of the EMG beads. Fig. 6 shows the effect of additive : pectin ratio on MZ release from the additive-added EMG beads using Eudragit® L, GMS, and PEG10000. The drug release from EMG beads was slightly slower when Eudragit® L, was added into the beads containing 30% olive oil. Nevertheless, the release from EMG beads was not significantly different when the amount of Eudragit® L was increased (Fig. 6a). It was suggested that the Eudragit® L was only dispersed in

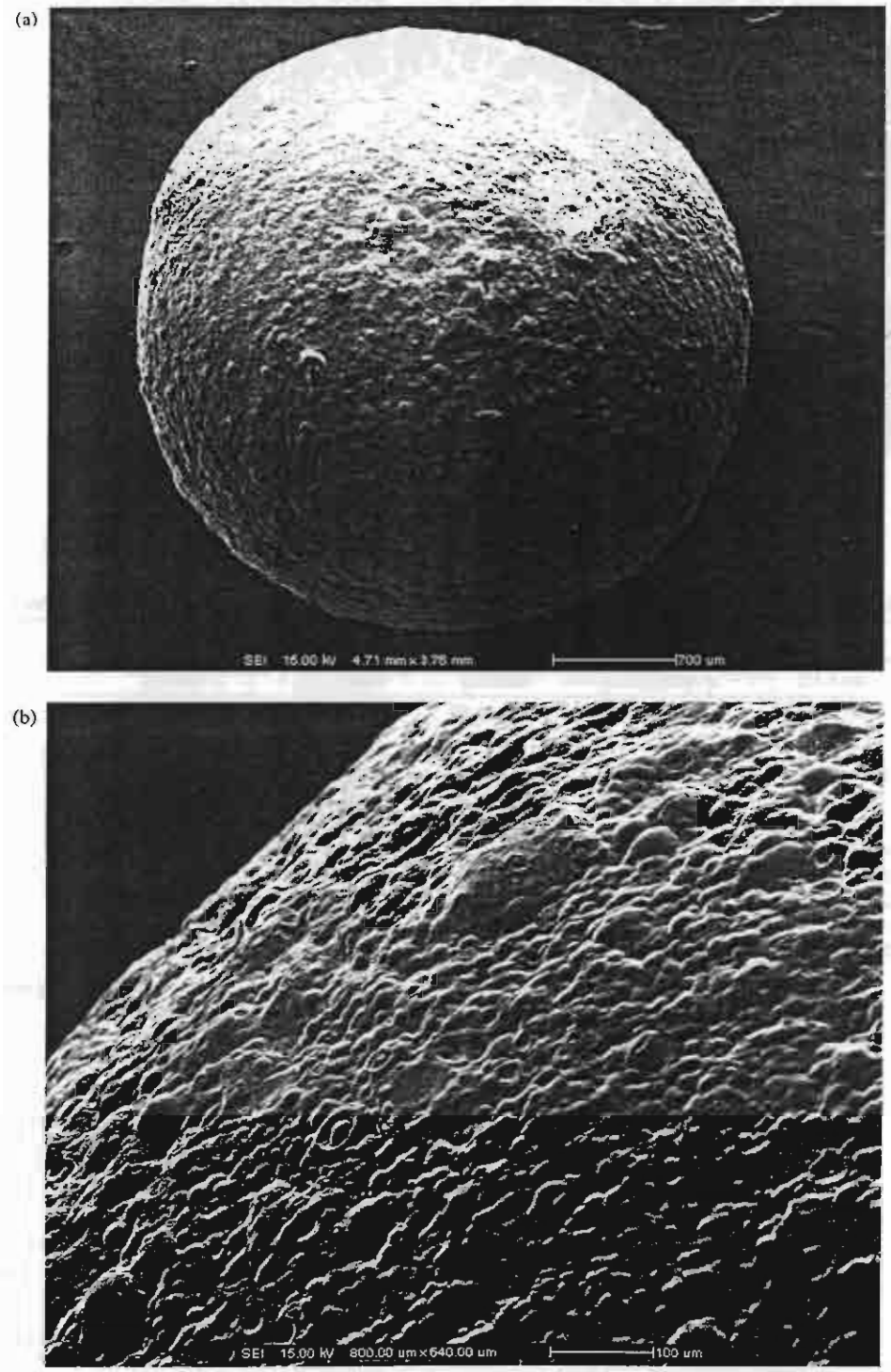


Fig. 3. Scanning electron micrographs of (a and b) external and (c) internal structures of emulsion gel beads of calcium pectinate containing peppermint oil (5%). Magnifications and scale bars are shown on the individual photographs.

(c)

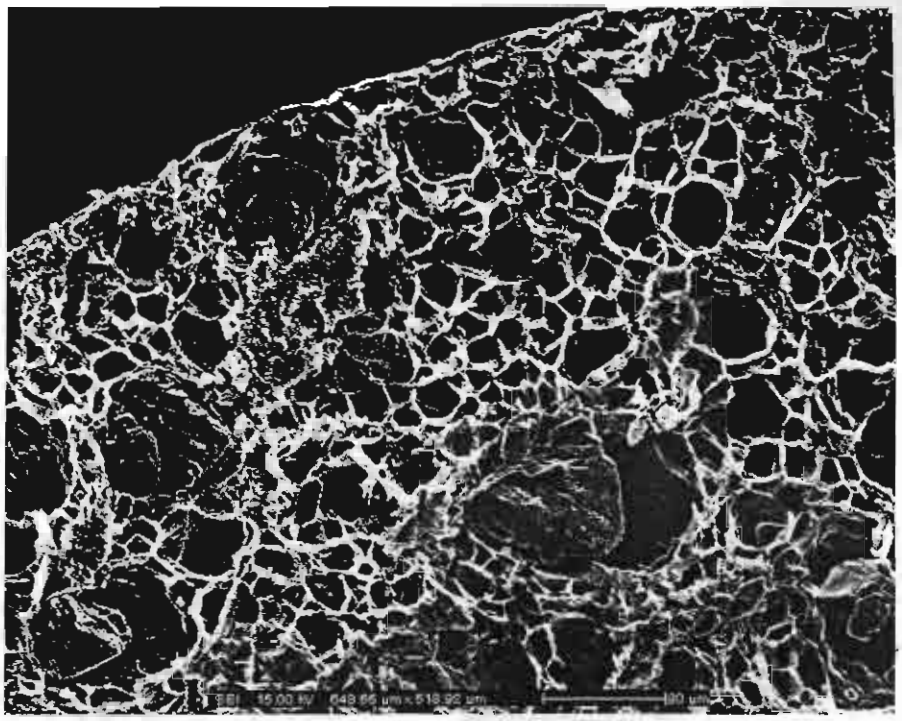


Fig. 3. (*Continued*).

Table 1
Mean diameter and entrapment efficiency of the MZ-loaded CaPG beads, EMG beads and modified EMG beads at different pectin to MZ ratios

Formulations	Mean diameter, mm ± S.D. ($n = 50$)			Entrapment efficiency, % ± S.D. ($n = 3$)		
	1:1 ratio	1:1.5 ratio	1:2 ratio	1:1 ratio	1:1.5 ratio	1:2 ratio
Conventional CaPG beads	2.45 ± 0.04	2.49 ± 0.11	2.54 ± 0.12	80.28 ± 1.12	78.68 ± 0.45	75.70 ± 1.34
EMG beads						
10% mineral oil	2.78 ± 0.04	2.82 ± 0.14	2.86 ± 0.09	70.16 ± 0.95	78.14 ± 1.42	75.58 ± 1.35
20% mineral oil	2.92 ± 0.11	2.94 ± 0.07	2.98 ± 0.14	69.09 ± 0.28	76.30 ± 0.97	78.05 ± 1.15
10% olive oil	2.60 ± 0.11	2.64 ± 0.08	2.66 ± 0.12	64.30 ± 0.15	69.88 ± 1.21	75.76 ± 0.95
20% olive oil	2.73 ± 0.03	2.78 ± 0.08	2.81 ± 0.11	69.78 ± 0.36	75.63 ± 1.38	80.64 ± 0.51
30% olive oil	2.84 ± 0.06	2.88 ± 0.15	2.96 ± 0.05	66.48 ± 0.21	70.74 ± 0.80	72.57 ± 0.15
10% peppermint oil	2.71 ± 0.07	2.77 ± 0.12	2.79 ± 0.08	72.90 ± 0.88	81.89 ± 0.62	78.46 ± 1.44
20% peppermint oil	2.97 ± 0.04	3.05 ± 0.14	3.12 ± 0.09	78.56 ± 0.64	80.13 ± 1.11	84.13 ± 0.94
30% peppermint oil	3.28 ± 0.03	3.40 ± 0.11	3.51 ± 0.14	72.84 ± 0.56	75.47 ± 1.22	77.57 ± 0.76
EMG beads hardening with glutaraldehyde						
20% mineral oil	2.72 ± 0.14	N/A	N/A	38.44 ± 0.36	N/A	N/A
30% olive oil	2.69 ± 0.09	N/A	N/A	28.80 ± 0.04	N/A	N/A
30% peppermint oil	2.98 ± 0.13	N/A	N/A	30.64 ± 0.02	N/A	N/A
Additive-added EMG beads containing 30% olive oil						
Eudragit® L100:pectin = 0.5:1	2.88 ± 0.09	N/A	N/A	59.66 ± 0.07	N/A	N/A
Eudragit® L100:pectin = 1:1	2.92 ± 0.14	N/A	N/A	62.03 ± 0.18	N/A	N/A
GMS:pectin = 0.25:1	2.90 ± 0.11	N/A	N/A	62.15 ± 0.75	N/A	N/A
GMS:pectin = 0.5:1	2.93 ± 0.13	N/A	N/A	63.66 ± 0.84	N/A	N/A
GMS:pectin = 1:1	2.94 ± 0.16	N/A	N/A	66.17 ± 1.41	N/A	N/A
PEG10000:pectin = 0.25:1	2.91 ± 0.07	N/A	N/A	61.82 ± 1.14	N/A	N/A
PEG10000:pectin = 0.5:1	2.97 ± 0.16	N/A	N/A	62.89 ± 0.72	N/A	N/A
PEG10000:pectin = 1:1	2.98 ± 0.13	N/A	N/A	65.18 ± 0.54	N/A	N/A
Polymer-coated EMG beads containing 30% olive oil						
Eudragit® RL100	3.20 ± 0.14	N/A	N/A	60.25 ± 0.40	N/A	N/A

Abbreviations: MZ = metronidazole, CaPG = calcium pectinate gel, EMG = emulsion gel, GMS = glyceryl monostearate, PEG = polyethylene glycol, N/A = not applicable.

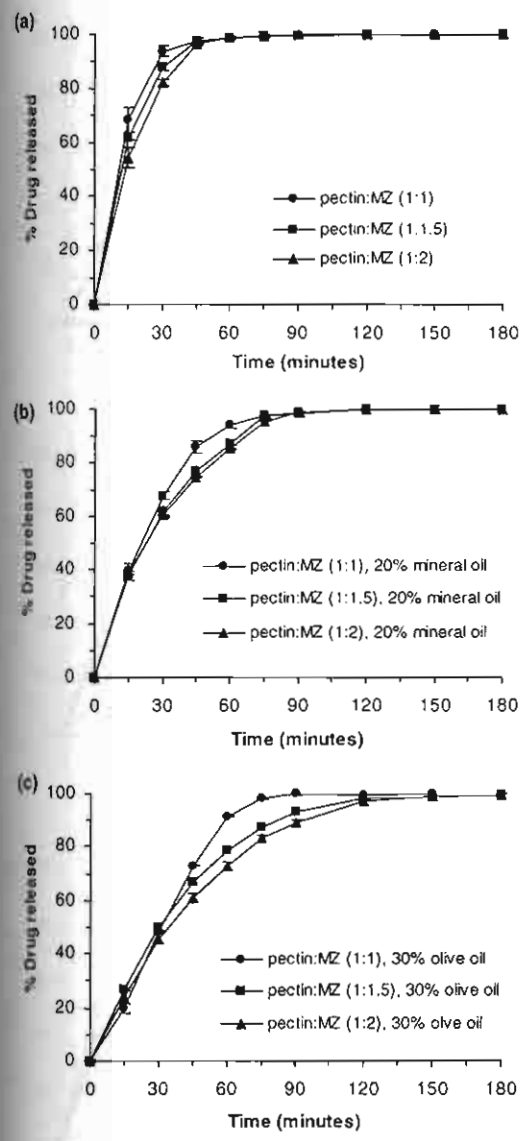


Fig. 4. Effect of pectin to drug ratio on metronidazole (MZ) release from (a) conventional calcium pectinate gel beads and emulsion gel beads containing (b) mineral oil and (c) 30% olive oil. The means and the standard deviation of triplicate data are plotted.

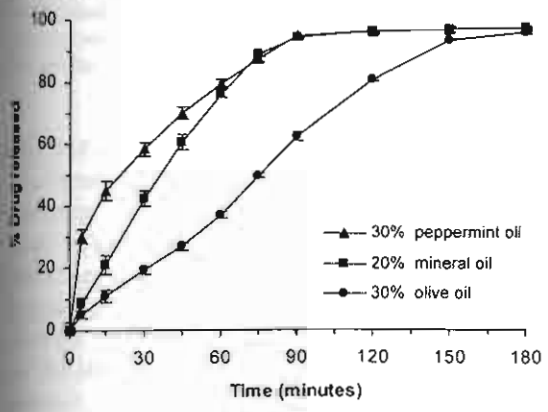


Fig. 5. Effect of hardening agent, 2% (v/v) glutaraldehyde, on metronidazole release from emulsion gel beads containing various oils. The means and the standard deviation of triplicate data are plotted.

Table 2
Buoyancy ($n = 20$) of the MZ-loaded CaPG beads, EMG beads and modified EMG beads in simulated gastric fluid USP without pepsin

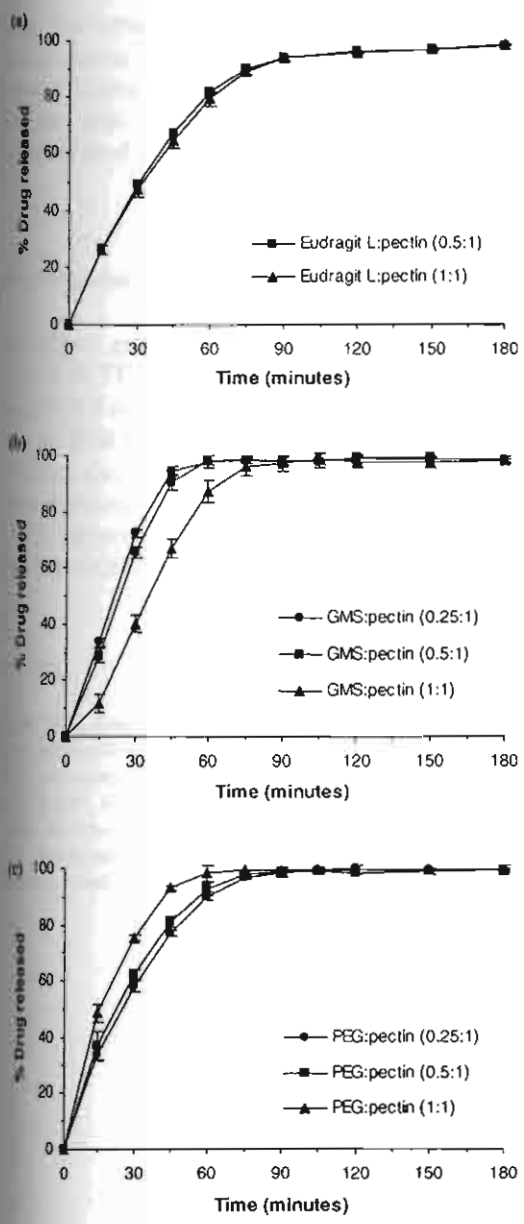
Formulations	Pectin:MZ ratio		
	1:1	1:1.5	1:2
Conventional CaPG beads	S	S	S
EMG beads			
10% mineral oil	S → F	S → F	S → F
20% mineral oil	F	F	F
10% olive oil	S	S	S
20% olive oil	S → F	S → F	S → F
30% olive oil	F	F	F
10% peppermint oil	S	S	S
20% peppermint oil	S → F	S → F	S → F
30% peppermint oil	F	F	F
EMG beads hardening with glutaraldehyde			
20% mineral oil	F	N/A	N/A
30% olive oil	F	N/A	N/A
30% peppermint oil	F	N/A	N/A
Additive-added EMG beads containing 30% live oil			
Eudragit® L100:pectin = 0.5:1	F	N/A	N/A
Eudragit® L100:pectin = 1:1	F	N/A	N/A
GMS:pectin = 0.25:1	F	N/A	N/A
GMS:pectin = 0.5:1	F	N/A	N/A
GMS:pectin = 1:1	F	N/A	N/A
PEG10000:pectin = 0.25:1	F	N/A	N/A
PEG10000:pectin = 0.5:1	F	N/A	N/A
PEG10000:pectin = 1:1	F	N/A	N/A
Polymer-coated EMG beads containing 30% olive oil			
Eudragit® RL100 (16% weight increase)	F	N/A	N/A

Abbreviations: S = sink, F = float (immediately, and still afloat for at least 24 h), S → F = sink immediately and then gradually float, N/A = not applicable, MZ = metronidazole, CaPG = calcium pectinate gel, EMG = emulsion gel, GMS = glyceryl monostearate, PEG = polyethylene glycol.

the EMG structure and did not interact with calcium ion or carboxylic group of pectin. Thus, it did not help to strengthen the network structure. In addition, the Eudragit® L did not encapsulate the drug particles or the beads so that the drug could release directly from the matrix bead structure.

GMS, a hydrophobic substance, was added to the starting solution prior to bead formation to delay the drug release. The drug release was slower when the GMS to pectin ratio was increased (Fig. 6b). Addition of GMS to the formulation at the ratio of 0.25:1 and 0.5:1 did not slow the drug release. Further addition of GMS at 1:1 ratio had a significant effect on the release of MZ in which about 80% of drug loading was released within 50 min. It is suggested that addition of GMS at higher amount gave the matrix with more hydrophobicity which consequently delayed the diffusion of drug from the beads.

Adding PEG10000 into the formulation, on the other hand, gave the opposite results. In the presence of PEG10000, the release of MZ was found to increase slightly. When PEG10000 to pectin ratio was increased, the drug release from the EMG beads was faster (Fig. 6c). It is likely that the PEG10000, a hydrophilic substance, enhances water uptake into the bead, and thus increases the dissolution of MZ.



Effect of additive to pectin ratio on metronidazole release from ...-added emulsion gel beads containing 30% olive oil; (a) Eudragit® L, ...ceryl monostearate (GMS), and (c) polyethylene glycol 10000 (PEG). ...means and the standard deviation of triplicate data are plotted.

...over, PEG was dissolved out and created porous matrix ...ich could enhance drug release. This result is in agreement ...Kumar et al. (2004) where the PEGs increase the re... of chlorpheniramine maleate and diazepam from glyc... monooleate matrices.

...It is apparent that both hydrophobic and hydrophilic ad... did not significantly help to prolong the drug release ...the EMG beads. The matrix structure (e.g. the drug parti... polymers, and additives homogenously dispersed in the ...ture) predominantly influenced the drug release. A dif... means to modify the drug release by coating the EMG ...was used. Fig. 7 illustrates the effect of coating with

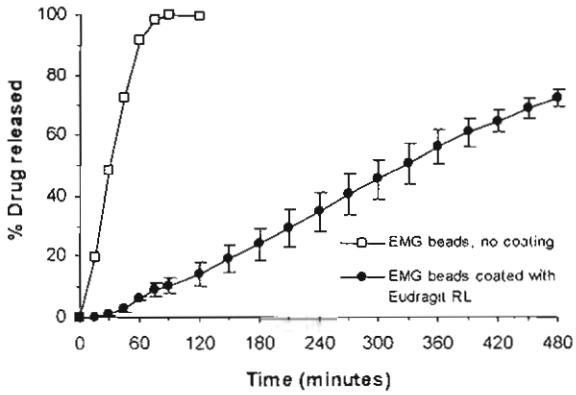


Fig. 7. Effect of coating with Eudragit® RL on metronidazole release from the emulsion gel (EMG) beads containing 30% olive oil. The means and the standard deviation of triplicate data are plotted.

Eudragit® RL on MZ release from the EMG beads containing 30% olive oil. Coating the EMG beads with Eudragit® RL slowed the release of MZ compared to uncoated EMG beads. After a lag time period, the release from coated beads is essentially constant; about 80% of drug loading were released at 8 h. It is generally known that the mode of drug release from beads or pellets coated with a water-insoluble membrane (i.e. reservoir type) is penetration of liquid into the beads, dissolution of the drug to form a saturated solution (as long as undissolved drug is present), partitioning of drug into the polymeric membrane, and diffusion of drug through the membrane.

4. Conclusion

The EMG beads of calcium pectinate were designed and prepared by emulsion-gelation method for use in floating drug delivery systems. MZ was used as a model drug for intragastric floating drug delivery system in order to *H. pylori* eradication in the treatment of peptic ulcer disease. The MZ released rapidly from conventional CaPG beads, but no significant change was seen with the different amounts of MZ loaded. The MZ-loaded EMG beads floated in an acidic environment of gastric fluid and the drug release from these beads was slightly slower than that from conventional CaPG beads. Modified EMG beads with Eudragit® L, GMS or PEG10000 as an additive, could not significantly prolong the drug release. However, the treatment with glutaraldehyde affected a slight reduction in the drug release. The drug release was dramatically prolonged by coating the EMG beads with Eudragit® RL. However, more information on the influence of different variables and coating conditions on the release need to be studied further. In addition, it is essential to consider the mechanisms implied in the release and the physicochemical properties of the active principles and polymers.

These systems can float in the gastric condition and can control the drug release from the EMG beads of calcium

pectinate. The enhanced buoyancy property of EMG beads of calcium pectinate makes them an excellent candidate for gastric floating drug delivery systems. Moreover, these systems may also provide a suitable means of delivery for drugs that are locally active to the gastric mucosa in the stomach.

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge Mr. Witoon Saeteow from SUSTREC (Silpakorn University Scientific and Technological Research Equipment Centre) for technical assistance on SEM imaging. Thanks also go to Food & Cosmetic System Co. Ltd. (Thailand) for supplying pectin samples manufactured by CP Kelco (Denmark). This work was financially supported by the Thailand Research Funds (grant number MRG4680120).

References

M.P., Krausgrill, P., Hengels, K.J., 1993. Local gastric and serum amoxycilline concentrations after different oral application forms. Antimicrob. Agents Chemother. 37, 1506–1509.

S., Bolton, S., 1993. A floating controlled release drug delivery system: in-vitro-in-vivo evaluation. Pharm. Res. 10, 1321–1325.

N., Reichman, D., 1993. Hydrocolloids as food emulsifiers and stabilizers. Food Struct. 12, 411–426.

Hwang, S.J., Park, H., Park, K., 1998. Gastric retention drug delivery systems. Crit. Rev. Ther. Drug. Carrier Syst. 15, 243–284.

Kumar, M.K., Shah, M.H., Ketkar, A., Mahadik, K.R., Paradkar, A., 2004. Effect of drug solubility and different excipients on floating behaviour and release from glyceryl monooleate matrices. Int. J. Pharm. 272, 151–160.

Leroux, J., Langendorff, V., Schick, G., Vaishnav, V., Mazoyer, J., 2003. Emulsion stabilizing properties of pectin. Food Hydrocolloids 17, 455–462.

Moes, A.J., 1993. Gastroretentive dosage forms. Crit. Rev. Ther. Drug. Carrier Syst. 10, 143–195.

Rolin, C., 1993. Pectin. In: Whistler, R.L., Bemiller, J.N. (Eds.), Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives. Academic Press, New York, pp. 257–293.

Schols, H.A., Voragen, A.G.J., 1996. Complex pect structure elucidation using enzymes. In: Visser, J., Voragen, A.G.J. (Eds.), Progress in Biotechnology: Pectin and Pectinases, vol. 14. Elsevier, Amsterdam, pp. 3–19.

Singh, B.M., Kim, K.H., 2000. Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. J. Control. Rel. 63, 235–239.

Sriamornsak, P., 1999. Effect of calcium concentration, hardening agent and drying condition on release characteristics of oral proteins from calcium pectinate gel beads. Eur. J. Pharm. Sci. 8, 221–227.

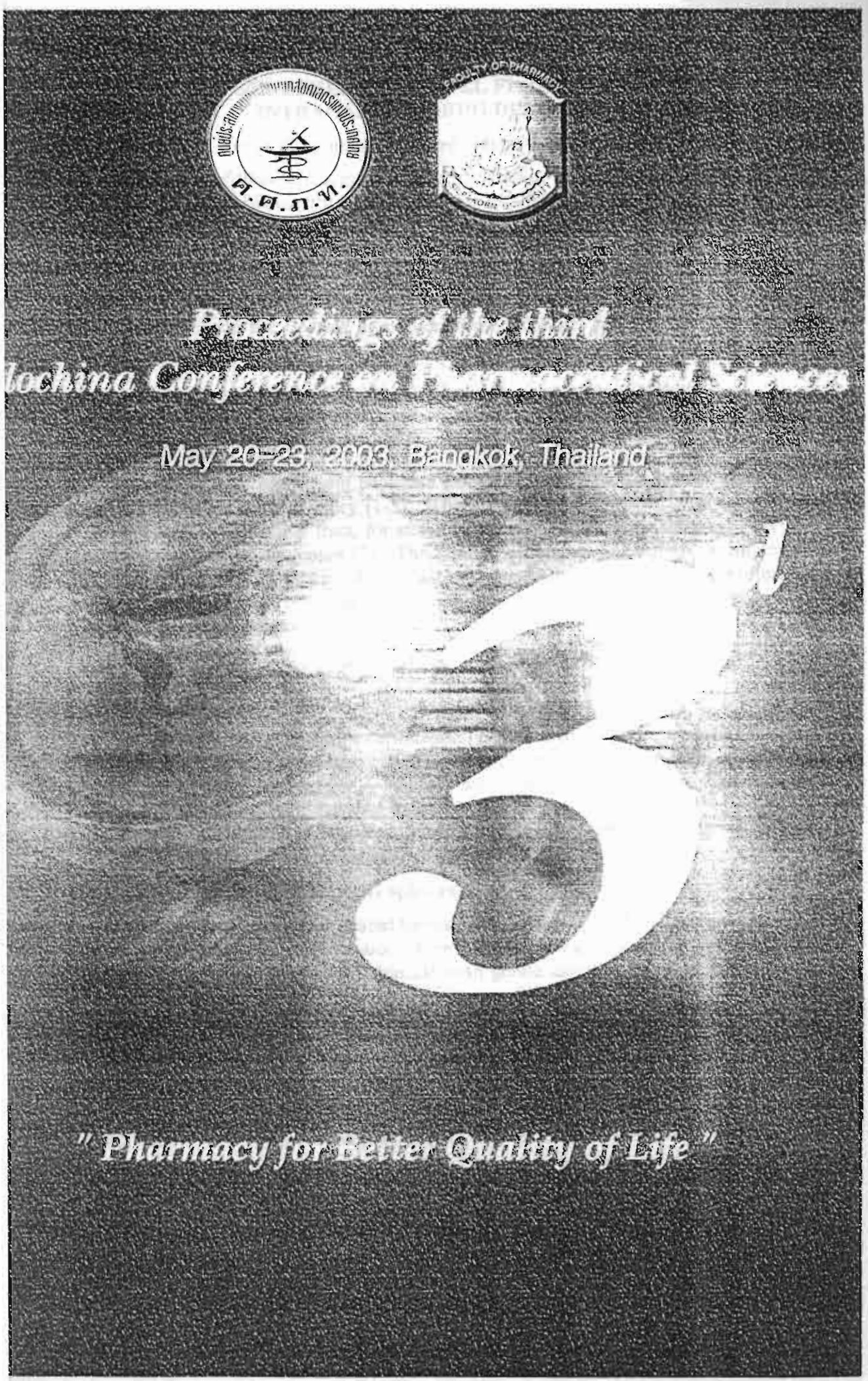
Sriamornsak, P., Nunthanid, J., 1998. Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: I. Preparation and in-vitro release studies. Int. J. Pharm. 160, 207–212.

Sriamornsak, P., Nunthanid, J., 1999. Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: II. Effect of formulation and processing variables on drug release. J. Microencapsul. 16, 303–313.

Sriamornsak, P., Thirawong, N., Puttipipatkhachorn, S., 2004. Morphology and buoyancy of oil-entrapped calcium pectinate gel beads. AAPS J. 6 (3), article 24 (http://www.aapsj.org).

ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

Sriamornsak P, Thirawong N. Emulsion gel spheres: A novel floating system for intragastric drug delivery. *Proceedings of the 3rd Indochina Conference on Pharmaceutical Sciences* 2003; 3: PP267-271. [Bangkok, 21-23 May 2003]


Proceedings of the third
Indochina Conference on Pharmaceutical Sciences
May 26–28, 2003, Bangkok, Thailand
3rd
" Pharmacy for Better Quality of Life "

EMULSION GEL SPHERES: A NOVEL FLOATING SYSTEM FOR INTRAGASTRIC DRUG DELIVERY

Pornsak Sriamornsak and Nartaya Thirawong

Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000 Thailand.

Abstract

A novel method to prepare emulsion gel spheres of calcium pectinate capable of floating in the gastric condition was designed. The effect of oil type and oil concentration on the floating properties of emulsion gel spheres has been tested. The buoyancy of gel spheres is attributed to the oil held in the gel matrix.

Keywords: calcium pectinate; pectin; oil; emulsion; gel spheres; floating

1. Introduction

Gel spheres of calcium pectinate have been developed in recent years as a unique vehicle for drug delivery [1-3]. The gel spheres have been used in various ways in the gastrointestinal tract, for example, for sustained release of drugs [1-2] or for targeting drugs to the colon [3]. The floating properties of calcium pectinate gel (CPG) spheres and their potential as a gastroretentive system has not yet been tested. In this study, selected oils were used to prepare emulsion gel spheres and their floating behavior was investigated.

2. Experimentals

Materials

Pectin with degree of esterification (DE) of 36% and degree of amidation (DA) of 14% (GENUpectin type LM-101 AS) and one with DE of 28% and DA of 20% (GENUpectin type LM-104 AS-FS) were the generous gift of Copenhagen Pectin (Denmark) and are referred to as LM-101 and LM-104 respectively. Light mineral oil, olive oil and sunflower oil were of standard pharmaceutical grade and all chemical reagents used were of analytical grade.

Preparation of conventional CPG spheres

CPG spheres were prepared by dissolving pectin (i.e., LM-101 and LM-104) in water with agitation. The solutions were extruded using a nozzle of 0.80-mm inner diameter into a 0.34 M calcium chloride with gentle agitation at room temperature. The CPG spheres formed were allowed to stand in the solution for 20 minutes, separated and washed with distilled water. The spheres were dried at 37°C for 12 hours.

Preparation of emulsion gel spheres

Both pectins were dissolved in water with agitation. Different amounts (i.e., 5, 10, 20, 30, 40 %w/w) of selected oils (i.e., light mineral oil, olive oil, sunflower oil) were added to the solution. Either the homogenized or non-homogenized mixture was extruded into calcium chloride at room temperature. The gel spheres formed were treated in the same manner as CPG spheres.

Study of particle size and morphology of gel spheres

The mean diameter of 50 dried spheres was determined by optical microscopy (BH-2, Olympus, Japan). The microscope eyepiece was fitted with a micrometer by which the size of the beads could be determined. A scanning electron microscope (Model MaXim, CamScan Analytical, England) was used to examine the structure of gel spheres.

Buoyancy of gel spheres

Specific gravity of the test solution (distilled water, simulated gastric fluid USP minus pepsin (SGF) and normal saline solution (i.e., 0.9% NaCl)) previously measured using standard pycnometer was 1.007, 1.013 and 1.014, respectively. The gel sphere samples (n=10) were steeped in 50 mL of each test solution and their buoyancy was observed visually. The preparation was considered to have buoyancy in the test solution only when all of the gel spheres floated in it [4].

3. Results and Discussion

Either aqueous solution of pectin or emulsion containing pectin and selected oils was dropped into calcium chloride solutions and gelled sphere was formed instantaneously by ionotropic gelation in which intermolecular cross-links were formed between the divalent calcium ions and the negatively charged carboxyl groups of the pectin molecules. The gel spheres were easily manufactured without any sophisticated equipment.

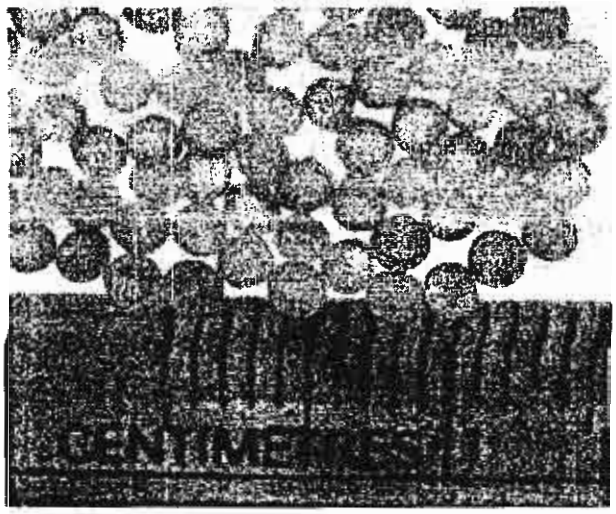


Figure 1. Photograph showing the appearance of emulsion gel spheres containing mineral oil (30%).

Figure 1 shows the appearance of emulsion gel spheres containing 10% of mineral oil. The spheres containing mineral oil were transparent and light yellowish whereas those containing olive oil and sunflower oil were less transparent and dark yellowish. Oil began to leak from the spheres with high concentration of oil (i.e. 40%). The mean diameter of emulsion gel spheres ranges between 1.46±0.04 and 2.22±0.11 mm while that of conventional gel spheres was 1.27±0.08 mm. Figure 2 demonstrated that the sphere diameter increased as the amount of oil used was increased. The mean diameter of spheres made of different types of pectin was not significantly different.

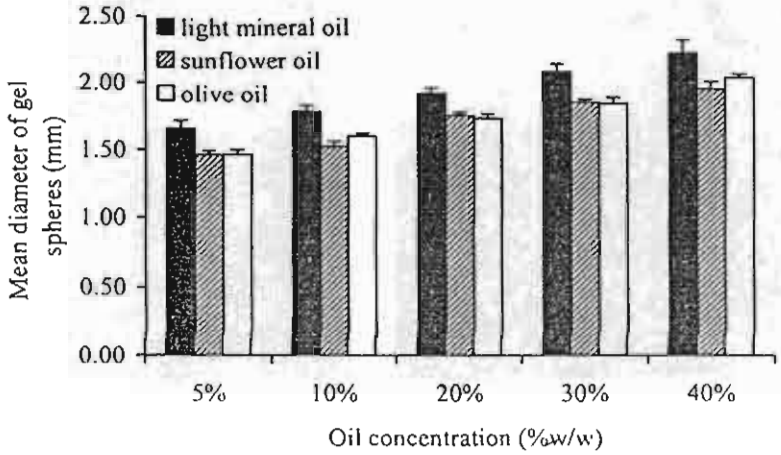


Figure 2. Mean diameter of emulsion gel spheres containing different oils and concentrations (n=50).

Samples were taken from different formulations and operating conditions for SEM observation. Some typical images are shown in Figure 3 to illustrate the external and internal structure of the dry conventional gel spheres. Upon air drying, the conventional gel spheres of all formulations became small, dense and had a hollow at the middle of surface. The emulsion gel spheres (Figure 4) were more spherical with no hollow at the middle of sphere surface. Figure 4 show the internal morphology of an emulsion gel sphere made of olive oil. The microstructure of all emulsion gel spheres appeared the same irrespective of oil type.

When conventional gel spheres were steeped in distilled water, normal saline solution or SGF, they sank as shown in Table 1. However, the emulsion gel spheres containing various oils were floated if the sufficient amount of oils were used. The emulsion gel spheres containing about 10% of mineral oil or 20% of olive oil or 30% of sunflower oil floated in the tested solutions. These results were due to the different relative densities of the oils used, i.e., 0.840, 0.913 and 0.921 for mineral oil, olive oil and sunflower oil, respectively. The results indicated that if the oil with lower relative density was used, the lower amount of the oil was required to keep the spheres float.

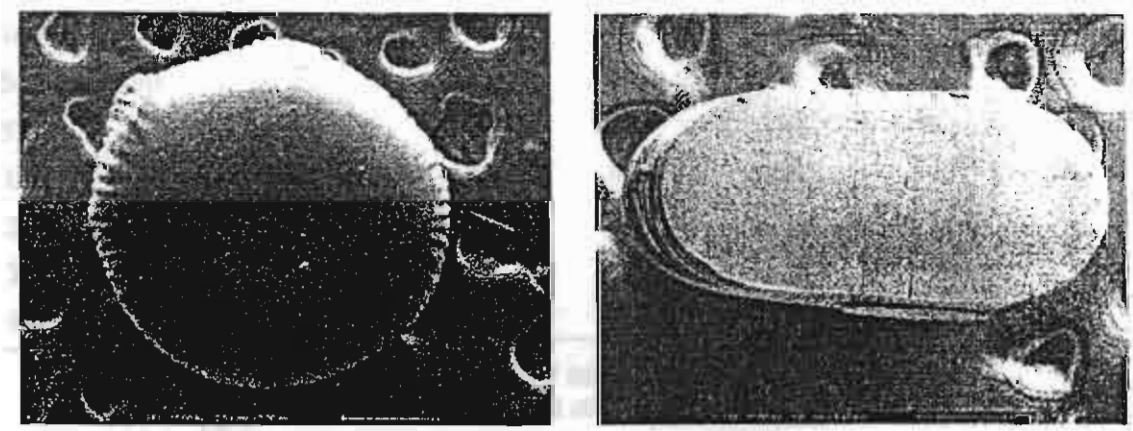


Figure 3. Scanning electron micrographs of (a) external and (b) internal structure of a conventional gel sphere.

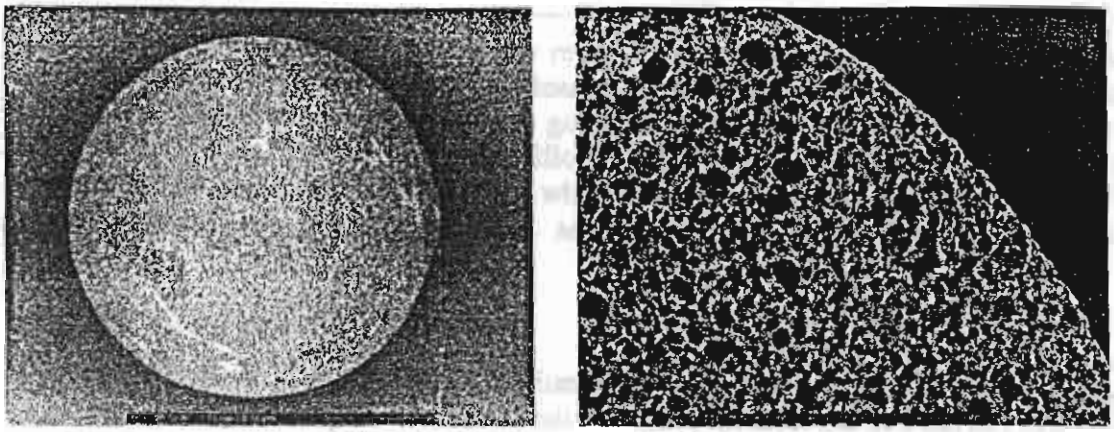


Figure 4. Scanning electron micrographs of (a) external and (b) internal structure of an emulsion gel sphere containing olive oil (30%).

Table 1. Buoyancy of the conventional and emulsion gel spheres in different tested solutions.

	Pectin LM-101			Pectin LM-104		
	Distilled water	Normal saline	SGF*	Distilled water	Normal saline	SGF*
No oil (conventional)	S	S	S	S	S	S
Mineral oil						
5%	S	S	S	S	S	S
10%	F	F	F	F	F	F
20%	F	F	F	F	F	F
30%	F	F	F	F	F	F
40%	F	F	F	F	F	F
Olive oil						
5%	S	S	S	S	S	S
10%	S	S	S	S	S	S
20%	F	F	F	F	F	F
30%	F	F	F	F	F	F
40%	F	F	F	F	F	F
Sunflower oil						
5%	S	S	S	S	S	S
10%	S	S	S	S	S	S
20%	S	S	S	S	S	S
30%	F	F	F	F	F	F
40%	F	F	F	F	F	F

* SGF = simulated gastric fluid USP minus pepsin
S = sink, F = float (immediately, and still float for 6 hours)

4. Conclusion

In this study, we designed a novel floating system of emulsion gel spheres and examined its buoyancy. The emulsion gel spheres floated in acidic environment of the gastric fluid as well as in distilled water or normal saline solution if they contained

sufficient amount of oil, depending on relative density of oil. These properties are applicable not only to the sustained release of drugs but also to the targeting of the gastric mucosa. The floating emulsion gel spheres appear to be a promising vehicle for delivering such preparations specifically to the region. And it will play an important role in therapy of diseases in which a gastric mucosa-specific drug delivery regimen should be considered, such as gastric ulcer with Helicobactor pylori infection.

5. References

1. Sriamornsak, P., Nunthanid, J. Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: I. Preparation and *in-vitro* release studies. *Int. J. Pharm.*1998, 160, 207-212.
2. Sriamornsak, P., Nunthanid, J.. Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: II. Effect of formulation and processing variables on drug release. *J. Microencapsul.* 1999, 16, 303-313.
3. Sriamornsak, P. Effect of calcium concentration, hardening agent and drying condition on release characteristics of oral proteins from calcium pectinate gel beads. *Eur. J. Pharm. Sci.* 1999, 8, 221-227.
4. Murata, Y., Sasaki, N., Miyamoto, E., Kawashima, S. Use of floating alginate gel beads for stomach-specific drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000, 50, 221-226.

ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

Sriamornsak P, Thirawong N, Nunthanid J, Puttipipatkhachorn S, Kasantikul V and Keokitichai S. Novel emulsion gel spheres for floating drug delivery: Effect of selected factors on floating and drug release properties. ***The 1st European Federation in Pharmaceutical Science Conference on Optimising Drug Delivery and Formulation: New Challenges in Drug Delivery*****, Versailles, 29 September – 1 October 2003.**

EUROPEAN FEDERATION FOR PHARMACEUTICAL SCIENCES

1st EUFEPS Conference on

Optimising Drug Delivery and Formulation: New Challenges in Drug Delivery

Organised with
APGI - Association de Pharmacie Galénique Industrielle

Final Programme and Abstracts

Palais des Congrès de Versailles • Versailles • France
September 29 – October 1, 2003

Novel emulsion gel spheres for floating drug delivery: Effect of selected factors on floating and drug release properties

Pornsak Sriamornsak[1], Nartaya Thirawong[1], Jurairat Nunthanid[1], Satit Puttipipatkhachorn[2], Vira Kasantikul[3], Sindhchai Keokitichai[3]

[1] Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Thailand

[2] Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Thailand

[3] Department of Biopharmacy, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Thailand

Oral sustained drug delivery system is complicated by limited gastric residence times. Rapid gastrointestinal transit can prevent complete drug release in the absorption zone and reduce the efficacy of administered dose in the stomach and upper small intestine [1]. To overcome these limitations, a novel floating system of emulsion gel spheres with prolonged gastric residence times was designed and tested. The calcium pectinate gel spheres containing edible oil were prepared according to the method of Sriamornsak et al. [2-3] as follows. An oil phase and a water phase containing pectin (with 36% degree of esterification (DE) (LM-101) and 28% DE (LM-104), Copenhagen Pectin, Denmark) were either gently mixed or homogenized. The mixtures were then extruded into a 0.34 M calcium chloride with gentle agitation at room temperature. The gel spheres formed were allowed to stand in the solution for 20 minutes, separated and washed with distilled water. The spheres were dried at 37°C for 12 hours. The model drug, metronidazole, was used in this study. The effect of selected factors, such as type of oil, percentage of oil, type of pectin and pectin to drug ratio, on floating and drug release properties was investigated. In this study, the gel spheres were formed instantaneously by ionotropic gelation in which intermolecular cross-links were formed between the divalent calcium ions and the negatively charged carboxyl groups of the pectin molecules. The gel spheres were easily manufactured without any sophisticated equipment. The emulsion gel spheres containing various oils floated if the sufficient amount of oils were used. As percentage of oil increased, the floating time prolonged and the drug released slower. The gel spheres prepared from different types of pectin showed similar floating and drug release behavior. The increased drug to pectin ratio slightly influenced the drug release patterns. The results of these studies indicate that type and percentage of oil is more important than other factors studied. The enhanced buoyancy and prolonged release properties of emulsion gel spheres make them an excellent candidate for floating drug delivery system. These properties are applicable not only to the sustained release of drugs but also to the targeting of the gastric mucosa. The floating emulsion gel spheres appear to be a promising vehicle for delivering such preparations specifically to the region. And it will play an important role in therapy of diseases in which a gastric mucosa-specific drug delivery regimen should be considered, such as gastric ulcer with Helicobactor pylori infection.

References

1. Singh BM, Kim KH. Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. J Control Release 2000; 63: 235-239.
2. Sriamornsak P, Nunthanid J. Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: I. Preparation and *in-vitro* release studies. Int J Pharm 1998; 160: 207-212.
3. Sriamornsak P. Effect of calcium concentration, hardening agent and drying condition on release characteristics of oral proteins from calcium pectinate gel beads. Eur J Pharm Sci 1999; 8: 221-227.

ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

Sriamornsak P, Thirawong N, and Puttipipatkhachorn S. A new intragastric floating system using calcium pectinate gel beads containing carbonates. *Proceedings of the Sixth NRCT-JSPS Joint Seminar on Natural Medicine in Pharmaceutical Sciences* 2003; 6: 224. [Bangkok, 2-4 December 2003]

JSPS-NRCT Core University System on
Natural Medicine in Pharmaceutical Sciences

The Sixth Joint Seminar

Recent Advances in Natural Medicine Research

PROCEEDINGS

December 2-4, 2003
Bangkok, Thailand

Jointly Organized by :

Faculty of Pharmaceutical Sciences
of Chulalongkorn University

Chulabhorn Research Institute

Institute of Natural Medicine,
Toyama Medical and Pharmaceutical University

Faculties of Pharmaceutical Sciences of
Khon Kaen University, Prince of Songkla University,
Naresuan University, Ubon Ratchathani University

Faculties of Pharmacy of
Mahidol University, Chiang Mai University, Silpakorn University,
Srinakharinwirot University, Mahasarakham University

A NEW INTRAGASTRIC FLOATING SYSTEM USING CALCIUM PECTINATE GEL BEADS CONTAINING CARBONATES

Pornsak Sriamornsak[1], Nartaya Thirawong[1] and Satit Puttipipatkhachorn[2]

[1] Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000 Thailand
[2] Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400 Thailand

A new intragastric floating drug delivery system using calcium pectinate gel beads containing carbonates, as gas-forming agents, was designed and tested in order to overcome the complication of limited gastric residence times of oral sustained drug delivery system. The calcium pectinate gel beads containing carbonates were prepared by dissolving or suspending carbonate salts (i.e., sodium bicarbonate, calcium carbonate, potassium carbonate or sodium carbonate) in pectin solution. The mixtures were then extruded into either neutral or acidified solution of calcium chloride with gentle agitation at room temperature. The gel spheres formed were then separated, washed with distilled water and dried. The effect of selected factors, such as type of carbonates, percentage of carbonates, type of pectin, type of gelation medium and drying condition, on physical and floating properties was investigated. The surface and cross-sectional morphology of the beads were examined with scanning electron microscopy. The beads containing potassium carbonate or sodium carbonate could not be prepared as the viscous gel formed before extrusion through the needle. Incorporation of sodium bicarbonate or calcium carbonate into pectin solution resulted in porous-structured beads. Acidity of gelation medium increased the pores in the structure. This is due to carbonate salts were reacted with acid to produce carbon dioxide. The evolving gas permeated through the calcium pectinate structure leaving gas bubbles or pores. As percentage of carbonates increased, the size and floating properties increased. The lyophilized beads gave more porous structure and increased buoyancy when compared to air-dried beads since the structure of lyophilized beads remained the same as wet beads. The enhanced buoyancy of calcium pectinate gel beads containing carbonates makes them an excellent candidate for intragastric floating drug delivery system. These properties are applicable not only to the sustained release of drugs but also to the targeting of the gastric mucosa.

ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Superporous gel spheres of calcium pectinate: a novel floating drug delivery. *The 2nd Pharmaceutical Sciences World Congress*, Kyoto, 29 May - 3 June 2004.

2nd World Congress of the Board of Pharmaceutical Sciences of FIP

The Global Translation of Science
Development in Advancing Therapy

May 30 - June 3, 2004

Kyoto International Conference Hall, Japan

ored by:
ational Pharmaceutical Federation (FIP)

can Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS)
ation de Pharmacie Galenique Industrielle (APGI)
lasian Pharmaceutical Sciences Association (APSA)
y of Pharmaceutical Sciences of Great Britain (APSGB)
y of Pharmaceutical Science and Technology, Japan (APSTJ)
lled Release Society (CRS)
n Federation for Pharmaceutical Sciences (EUFEPS)
ceutical Society of Japan (PSJ)

2nd PHARMACEUTICAL SCIENCES WORLD CONGRESS FIP

KYOTO 29 May - 3 June 2004

P3A-IV-018 Superporous gel spheres of calcium pectinate: a novel floating drug delivery

Pornsak Sriamornsak[1], Nartaya Thirawong[1], Satit Puttipipatkhachorn[2]
[1]*Dept. of Pharmaceutical Technology, Fac. of Pharmacy, Silpakorn Univ., Thailand;* [2]*Dept. of Manufacturing Pharmacy, Fac. of Pharmacy, Mahidol Univ., Thailand*

Purpose: A new intragastric floating drug delivery system using superporous calcium pectinate gel spheres was designed and tested.
Methods: The superporous calcium pectinate gel (CPG) spheres containing carbonates, as gas-forming agents, were prepared by dissolving or suspending carbonates (i.e., $NaHCO_3$, $CaCO_3$, K_2CO_3 or Na_2CO_3) in pectin solution. The mixtures were then extruded into either neutral or acidified solution of $CaCl_2$ with gentle agitation. The CPG spheres formed were then separated, washed with distilled water and dried. The effect of selected factors, such as type of carbonates, percentage of carbonates, type of pectin, type of gelation medium and drying condition, on physical and floating properties was investigated. The surface and cross-sectional morphology of the dried CPG spheres were examined with SEM.
Results: The CPG spheres containing K_2CO_3 or Na_2CO_3 could not be prepared as the viscous gel formed before extrusion through the needle. Incorporation of $NaHCO_3$ or $CaCO_3$ into pectin solution resulted in porous-structured beads. Acidity of gelation medium increased the pores in the structure. This is due to carbonate salts reacted with acid to produce CO_2. The evolving gas permeated through the matrix structure leaving gas bubbles or pores. As percentage of carbonates increased, the size and floating properties increased. The lyophilized spheres gave superporous structure and increased buoyancy when compared to air-dried gel spheres since the structure of lyophilized spheres remained the same as wet beads.
Conclusion: The enhanced buoyancy of CPG spheres containing carbonates makes them an excellent candidate for intragastric floating drug delivery system. These properties are applicable not only to the sustained release of drugs but also to the targeting of the gastric mucosa.

P3A-IV-019 Novel chitosan particles and chitosan-coated emulsions inducing immune response via intranasal vaccine delivery

Yoshie Maitani[1], Takahiro Nagamoto[1], Yoshiyuki Hattori[1], Kozo Takayama[2]
[1]*Inst. of Medicinal Chemistry, Hoshi Univ., Japan;* [2]*Dept. of Pharmaceutics, Hoshi Univ., Japan*

Purpose: The mucosal vaccine delivery is very attractive for inducing a protective immune response and nasal mucosa is one of suitable immunized routes. The aim of this study was to prepare a novel vaccine carrier particulate system (nanoparticles and emulsions) with chitosan, and to evaluate the effect of this system on the immune response for intranasal delivery.
Methods: Chitosan nanoparticles (NP) and chitosan-coated emulsions (CC-Emul) were prepared by improvement of the method reported previously, and modified ethanol injection methods, respectively. The size, surface potential, and adsorbed amounts of ovalbumin (OVA) in NP and CC-Emul were measured. The rats were immunized with their particles adsorbed with OVA and cholera toxin (CT) by intranasal (i.n.) and intraperitoneal (i.p.) administration. IgG, IgA and anti-OVA IgG were measured.
Results: NP and CC-Emul could be prepared with particle diameter from about 0.4 μm to 3 μm. IgG induced by i.n. of NP was comparable with that by i.p., and IgA induced by i.n. of 0.4-μm and 1-μm sized NP was significantly higher than control (OVA and CT). IgG and IgA induced by i.n. of 2-μm sized CC-Emul were significantly higher than those with control.
Conclusions: The novel chitosan particles employed simple preparation methods showed high OVA adsorption. When administered intranasally, NP and CC-Emul induced systemic immune response in rats. These findings suggested that CC-Emul and the smaller sized (0.4 μm) NP are effective for targeting to nasal associated lymphoid tissues (NALT) in nasal vaccine delivery.

P3A-IV-020 The pH-sensitive polymeric micelle drug carriers designed for intracellular delivery

Younsoo Bae[1], Nobuhiro Nishiyama[2], Shigeto Fukushima[1], Kazunori Kataoka[1]
[1]*Graduate School of Engineering, The Univ. of Tokyo, Japan;* [2]*Graduate School of Medicine, The Univ. of Tokyo, Japan*

Purpose: During the last decade to devote considerable efforts, numerous kinds of drug carriers have been developed for cancer treatment. Even though great progress has been made in clearing the troublesome in vivo barriers such as rapid renal clearance, non-specific systemic spread and uptake of reticular endothelial system, the carriers still have difficulties to treat some intractable cancers that are resistant to anticancer agents due to the overexpression of drug-excreting P-glycoproteins (P-gp) on the tumor cell membrane. In order to clear this limit, we have designed a smart drug carrier that delivers the loaded drugs into cell interior without passing through P-gp.
Methods: Adriamycin, an anticancer drug, was conjugated to the amphiphilic block copolymers through acid-sensitive linkers, which self-assembled into core-shell micelle structure in aqueous solution with tens of nm size in diameter. The micelle was studied in vitro and in vivo by evaluating antitumor activity, toxicity, and biodistribution.
Results: Reversed phase liquid chromatograpy confirmed the micelle released the loaded drugs selectively in acidic condition below 6.0, corresponding to endosomes and lysosomes in the cell. The intracellular drug release and distribution of the micelle was observed by monitoring fluorescence change in intensity with confocal laser scanning microscopy, which demonstrated that the micelle was precisely functioning as designed interacting with live cells. In addition, characteristic delayed cytotoxicity was shown as coincubation time increased, which also reflects intracellular drug trafficking of the micelle. Subsequent animal test showed that the micelle was effectively suppressing tumor growth in tumor bearing mice with remarkably alleviated toxicity, which was considered to be due to tumor-specific drug delivery and release by drug release control.
Conclusions: With the ingenious design of chemical structures, an intelligent drug carrier, the pH-sensitive polymeric micelle, has prepared, which provided one of the most promising carrier models that not only change the bioavailability of loaded drugs but also broaden in vivo applications for the new type of cancer therapy in the future.

P3A-IV-021 Multi-targeting drug delivery system using thermo-responsive polymeric micelles combined with hyperthermia

Masamichi Nakayama[1], Masayuki Yokoyama[1], Teruo Okano[1], Kazuaki Sasaki[2], Ken-ichi Kawabata[2], Shin-ichiro Umemura[2]
[1]*Inst. Adv. Biomed. Eng. and Sci., Tokyo Women's Medical Univ., Japan;* [2]*Central Research Laboratory, Hitachi Ltd., Japan*

Purpose: By combining passive targeting drug carrier system with ON-OFF control of drug release by external stimuli in one carrier system, an ideal drug targeting is expected to be designed. In order to accomplish this intelligent drug targeting system, we have designed thermo-responsive polymeric micelles with poly(*N*-isopropylacrylamide) (PIPAAm) outer shells, and investigated control of anti-tumor activity by temperature change.
Methods: We synthesized thermally responsive polymeric micelles constructed with P(IPAAm-*co*-dimethylacrylamide)-*b*-poly(D,L-lactide) block copolymer, and the ADR loading was carried out by a dialysis method. In vitro cytotoxic activity of free ADR or the ADR-loaded micelles was assayed with human breast cancer MCF-7 at below or above the phase transition temperature (39.5℃) of polymeric micelles. Moreover, we investigated intracellular drug distribution by fluorescence microscopy in order to know these cytotoxic mechanisms modulated by temperature.
Results: In vitro cytotoxic activity of free ADR at 41℃ was compared with at 37℃. On the other hand, ADR-loaded polymeric micelles above the LCST (41℃) showed much higher cytotoxic activity than that below the LCST (37℃). In observation of intracellular drug distribution, free ADR which accumulated rapidly and selectively in nuclei without temperature effect, whereas ADR accumulation in the cells delivered by the polymeric micelles showed a significant temperature effect. The ADR delivered by the polymeric micelles distributed uniformly in whole cells above the phase transition temperature, while the ADR in the micelles showed slight accumulation in the cell below the LCST. This result shows that the thermo-responsive polymeric micelles delivered drug into the cell *via* triggered phase transition of the outer shell.
Conclusions: These results suggest that our thermo-responsive polymeric micelle system has a great potential in intracellular drug delivery control as well as for a multi-drug targeting system combining passive and active drug targeting.

ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Investigation of calcium pectinate gel beads as an intragastric floating drug delivery system: Using carbonates as a gas-forming agent. *The 31th Annual Meetings of the Controlled Release Society*, 12-16 June 2004.

Pornsak

From: education@controlledrelease.org
Sent: เสาร์ 13 มีนาคม 2547 5:44 AM
To: Pornsak
Subject: CRS 2004 Annual Meeting Podium Abstract Acceptance

ar Pornsak Sriamornsak:

ongratulations! **Your abstract, Investigation of calcium pectinate gel beads as an ntragastric floating drug delivery system: Using carbonates as a gas-forming agent, as been rated of notable high scientific quality; and therefore, has been accepted r podium presentation** at the 31st Annual Meeting and Exposition of the Controlled lease Society, Honolulu, Hawaii, June 12-16, 2004. Your presentation in the lysaccharide Based Drug Delivery Session is scheduled for a 15-minute time block on ednesday, June 16, 2004 . **As a podium presenter, you must register for the meeting.** lease visit http://www.controlledrelease.org for details of the meeting. This site ill provide registration, Passport/Visa, and hotel information.

lease note that this message is being sent to the corresponding and presenting thors of this abstract.

e following information is provided to assist you in preparation of your podium esentation.

esentation Time:
ll presenters must adhere to the published presentation schedule. Presenters are llotted 15 minutes (12 minutes for presentation and 3 minutes for discussion).

fficial Conference Language:
glish is the official language of the Controlled Release Society; yet, please member this is an international meeting, and there will be many in attendance who y have difficulty understanding English and for whom English is not their first nguage. Please speak slowly and clearly. Use of text slides is helpful for the derstanding of others.

the presenter, if your native language is not English, please have the transcripts your talks edited. If you are not comfortable speaking English, please bring a lleague who may assist with questions and answers from the floor.

uthors and Co-authors:
you are the senior investigator of a talk being presented by the junior scientist, encourage your presence at the time the paper is presented, and please feel free to rticipate in the discussion.

ession Chair:
lease identify yourself to the session chair prior to the session. Session chairs ve been asked to keep presentations on schedule and to stimulate discussion periods. ession chairs will not reschedule presentation times, so please do not ask.

udio-visual:
e Controlled Release Society will provide wired lavaliere microphones and a LCD ojector. If speakers will be using an LCD projector, they will need to provide their esentation on a CD-Rom or Zip disk at least 24 hours prior to the start of the ession. Speakers will not be permitted to use their own computers for their esentations as there will be insufficient time between papers to connect and sconnect individual computers.

ublication Date:
ccepted abstracts will be published online for registered meeting attendees on May t, 2004. Please have patent issues resolved by this time.

ank you for your participation in the 31st Annual Meeting and Exposition of the ntrolled Release Society. We look forward to meeting you and hearing your esentation. If you have any questions, please contact the appropriate program chair

from the list below.

Bioactive Materials Track Program Chairs:
David Grainger, grainger@lamar.colostate.edu
Lisbeth Illum, lisbeth.illum@illumdavis.com
Tarunori Kataoka, kataoka@bmw.t.u-tokyo.ac.jp

Consumer and Diversified Products Track Program Chairs:
Todd Becker, tbecker@genencor.com
Anil Gaonkar, agaonkar@Kraft.com

Veterinary Track Program Chairs:
Terry Bowersock, terry.l.bowersock@pharmacia.com
David Brayden, David.Brayden@ucd.ie

See you in Hawaii!

Kind regards,
CONTROLLED RELEASE SOCIETY
Educational Services Department
+1-763-512-0909 telephone
+1-763-765-2329 facsimile
education@controlledrelease.org

INVESTIGATION OF CALCIUM PECTINATE GEL BEADS AS AN INTRAGASTRIC FLOATING DRUG DELIVERY SYSTEM: USING CARBONATES AS A GAS-FORMING AGENT

Pornsak Sriamornsak[1,*], Nartaya Thirawong[1] and Satit Puttipipatkhachorn[2]

[1] Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000 Thailand.
[2] Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400 Thailand.
* e-mail address of presenting author: pornsak@email.pharm.su.ac.th

ABSTRACT SUMMARY

A new intragastric floating drug delivery system using calcium pectinate gel beads was designed. The effect of some formulation variables (e.g. carbonate salts, acidity of medium, pectin type, etc.) on buoyancy and morphology of the beads was studied. The beads floated in gastric conditions due to their porous structure.

Keywords: oral drug delivery, polysaccharides, gels

INTRODUCTION

Pectin is a naturally occurring water-soluble polysaccharide found in higher plant cell wall. Pectin can gel with calcium ions. Previously, calcium pectinate gel (CPG) beads were produced by ionotropic gelation for delivering drugs to small intestine[1-2] or colon[3]. In this study, we have designed a floating drug delivery system using CPG beads to target the drug to stomach in order to overcome the complication of limited gastric residence times of oral sustained drug delivery system. The floating drug delivery system employs carbonate salts as a gas-forming agent dispersed in a CPG matrix.

EXPERIMENTAL METHODS

Preparation of CPG beads

The CPG beads containing carbonates, as gas-forming agents, were prepared by dissolving or suspending carbonates (i.e., sodium bicarbonate, calcium carbonate, potassium carbonate or sodium carbonate) in pectin (GENUpectin, type LM-104 AS-FS, CP Kelco, Denmark) solution. The mixtures were then extruded into either neutral or acidified solution of calcium chloride with gentle agitation at room temperature. The gel beads formed were then separated, washed with distilled water and dried.

Scanning electron microscopy

A scanning electron microscope (CamScan Maxim 2000, England) was used to examine the structure of CPG beads. The effect of selected factors, such as type of carbonates, percentage of carbonates, type of pectin, type of gelation medium and drying condition, on morphology of the beads was investigated.

Buoyancy test

The buoyancy of the CPG beads was tested in simulated gastric fluid USP without pepsin (SGF), water, or 0.9% NaCl, at 37 °C using shaking incubator. The samples (n=10) were steeped in 50 mL of each test solution and their buoyancy was observed visually. The effect of some factors on buoyancy of the beads was also investigated.

RESULTS AND DISCUSSION

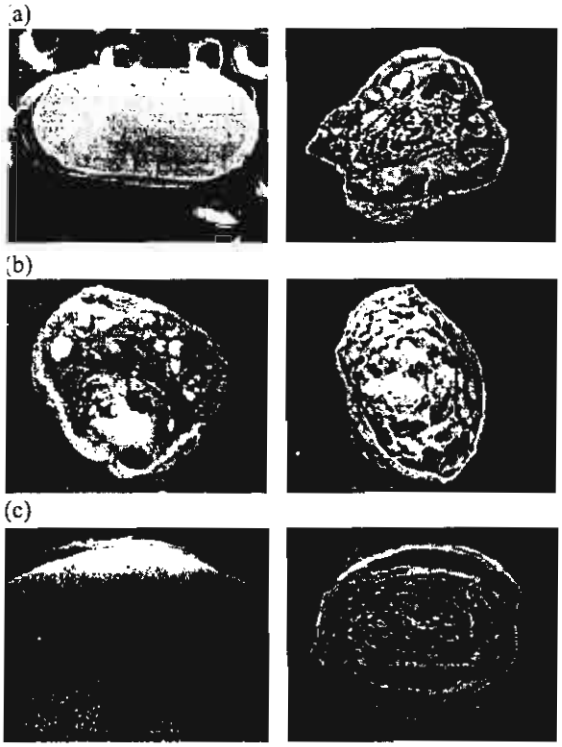
The CPG beads containing potassium carbonate or sodium carbonate could not be prepared as the viscous gel formed before extrusion through the needle. Incorporation of sodium bicarbonate or calcium carbonate into pectin solution resulted in porous-structured gel beads. Table 1 shows that both sodium bicarbonate and calcium carbonate significantly increased the size of the gel beads over the control (no gas-forming agent). As percentage of carbonates increased, the size of CPG beads increased. The size of lyophilized CPG beads was also larger than that of air-dried gel beads. This was because the lyophilization could maintain the structure of the gel beads to that of before drying while during air-drying the water evaporated from the structure and the beads became smaller.

Table 1. Mean diameter of dried CPG beads containing different carbonate salts (n=20).

Formulation	Mean diameter (mm ± SD)	
	Air-dried	Lyophilized
- / $CaCl_2$ (control)	1.17 ± 0.09	1.58 ± 0.16
5% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$	1.26 ± 0.11	1.87 ± 0.10
5% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic â	-	-
10% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$	1.29 ± 0.10	2.17 ± 0.18
10% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic â	-	-
5% $CaCO_3$ / $CaCl_2$	1.23 ± 0.07	1.60 ± 0.16
5% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic â	1.37 ± 0.10	1.91 ± 0.16
10% $CaCO_3$ / $CaCl_2$	1.44 ± 0.06	1.73 ± 0.13
10% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic â	1.51 ± 0.12	2.11 ± 0.16

Figure 1 shows the SEM photographs of the air-dried and lyophilized CPG beads containing no gas-forming agent, 5% sodium bicarbonate and 10% calcium carbonate. It was suggested that the presence of calcium ions contributed to homogenous CPG bead formation. Many large pores are present in the structure of CPG beads containing carbonate salts.

Figure 2 shows the SEM photographs of the air-dried and lyophilized CPG beads containing 10% calcium carbonate, gelled in neutral or acidified calcium chloride solution. Acidity of gelation medium increased the pores in the structure as the carbonate salts reacted with acid to produce CO_2. The evolving gas permeated through the calcium pectinate structure leaving gas bubbles or pores. Their size was also larger than that of gel beads prepared in neutral gelation medium (Table 1).



'igure 1. SEM photographs of the air-dried (left column) nd lyophilized (right column) CPG beads containing (a) .o gas-forming agent, (b) 5% sodium bicarbonate and (c) 0% calcium carbonate.

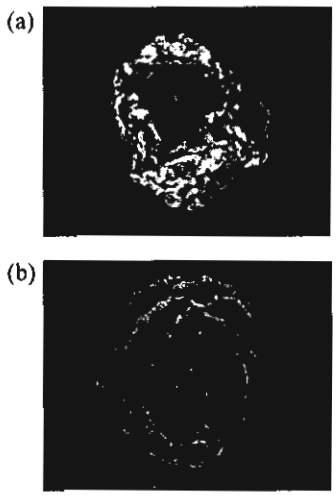


Figure 2. SEM photographs of the (a) air-dried and (b) yophilized CPG beads containing 10% calcium carbonate, gelled in acidified calcium chloride solution.

The buoyancy of prepared gel beads in SGF is shown in Table 2. Their buoyancy in water and 0.9% NaCl was similar to that in SGF. The carbonate-free beads sank completely in all media. The beads containing carbonate salts demonstrated excellent floating ability, especially the lyophilized beads and the beads gelled in acidified medium. The lyophilized beads had better floating ability than air-dried beads since the structure of the lyophilized beads was more porous (Figure 1). The floating ability of the CPG beads was not affected by the percentage of carbonates added. However, in some cases, the floating ability of the beads decreased as the percentage of carbonates increased.

Table 2. Buoyancy of the different CPG beads in simulated gastric fluid USP without pepsin (SGF). The numbers presented in the table are the percentage of beads floated at the time.

Formulation	Air-dried		Lyophilized	
	15 min	6 h	15 min	6 h
control	0	0	80	80
5% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$	80	0	100	100
10% $NaHCO_3$ / $CaCl_2$	60	20	30	40
5% $CaCO_3$ / $CaCl_2$	0	0	100	100
5% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic â	90	90	100	100
10% $CaCO_3$ / $CaCl_2$	0	0	30	40
10% $CaCO_3$ / $CaCl_2$ + acetic â	100	60	100	100

CONCLUSION

The enhanced buoyancy of gel beads containing carbonates makes them an excellent candidate for intragastric floating drug delivery system. These properties are applicable not only to the sustained release of drugs but also to the targeting to the gastric mucosa. The floating emulsion gel beads appear to be a promising vehicle for delivering such preparations specifically to the region. And it will play an important role in therapy of diseases in which a stomach-specific drug delivery regimen should be considered.

REFERENCES

1. Sriamornsak, P., Nunthanid, J. (1998), Int. J. Pharm., 160, 207-212.
2. Sriamornsak, P., Nunthanid, J. (1999), J. Microencapsul., 16, 303-313.
3. Sriamornsak, P. (1999), Eur. J. Pharm. Sci., 8, 221-227.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank Mr. Witoon Sae-Ngow (SUSTREC) for SEM and Thailand Research Funds (grant number MRG4680120) for financial support.

ประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Oil-entrapped calcium pectinate gel beads capable of floating on the gastric fluid – effect of some additives on release behaviour of metronidazole. ***Proceedings of the 20th Asian Congress of Pharmaceutical Sciences*** **2004; 20: IP-P-22. [Bangkok, 30 November - 3 December 2004]**

30 Nov. - 3 Dec. • Bangkok • Thailand

FAPA 20th 2004

Emerging Science and Profession in Pharmacy

ABSTRACTS

The 20th Congress of Federation of Asian Pharmaceutical Associations (FAPA)

November 30 - December 3, 2004
Bangkok – Thailand

"Emerging Science and Profession in Pharmacy"

The Pharmaceutical Association of Thailand under Royal Patronage

IP-P-22

OIL-ENTRAPPED CALCIUM PECTINATE GEL BEADS CAPABLE OF FLOATING ON THE GASTRIC FLUID – EFFECT OF SOME ADDITIVES ON RELEASE BEHAVIOUR OF METRONIDAZOLE

Pornsak Sriamornsak[1*], Nartaya Thirawong[1], Satit Puttipipatkhachorn[2]
[1]Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom, Thailand; [2]Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok, Thailand
Email: pornsak@email.pharm.su.ac.th

Oil-entrapped calcium pectinate gel (CaPG) beads capable of floating in the gastric condition were developed using an emulsion-gelation method. The effect of various release modification methods on metronidazole release was also investigated. The metronidazole-loaded CaPG beads were found to float on simulated gastric fluid. Increasing the drug to pectin ratio in the beads decreased the release rate of the drug from either CaPG or oil-entrapped CaPG beads. However, the drug release from these beads was rapid, i.e., about 80% of drug loading released within 60 minutes. The attempts to modify the drug release were made by adding some additives into starting solution prior to bead formation, hardening with glutaraldehyde, or coating with polymer. The results demonstrated that addition of some additives (e.g., PEG 10000, glyceryl monostearate and Eudragit® L) insignificantly changed the release profiles while using 2% glutaraldehyde as a hardening agent prolonged the drug release about 2-fold. Coating the wet beads with Eudragit® RL significantly sustained the drug release and the beads still floated. The results suggested that oil-entrapped CaPG beads were promising as a carrier for intragastric floating drug delivery and their release behaviour could be modified by hardening with glutaraldehyde or coating with Eudragit® RL.

E-Proceeding of

20th FAPA Congress 2004, Thailand

Bangkok Convention Center (BCC), Bangkok

30 November - 3 December 2004

"Emerging Science and Profession in Pharmacy"

Songsak Srianujata, Ph.D.

Editor

Copy Right Reserved

Reproduction without permission from editor is prohibited

Thanks to DSM Nutritional Products/Rovithai Ltd.

OIL-ENTRAPPED CALCIUM PECTINATE GEL BEADS CAPABLE OF FLOATING ON THE GASTRIC FLUID – EFFECT OF SOME ADDITIVES ON RELEASE BEHAVIOR OF METRONIDAZOLE

Pornsak Sriamornsak[1,*], Nartaya Thirawong[1] and Satit Puttipipatkhachorn[2]

[1]*Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000 Thailand;* [2]*Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400 Thailand*

[*]*Presenting author. Phone: +66 34 253912 ext. 2317, Fax: +66 34 255801, E-mail: pornsak@email.pharm.su.ac.th*

ABSTRACT

Oil-entrapped calcium pectinate gel (OCP) beads capable of floating in the gastric condition were developed using an emulsion-gelation method. The effect of various release modification methods on metronidazole (MZ) release was also investigated. The MZ-loaded OCP beads were found to float on simulated gastric fluid. Increasing the drug to pectin ratio in the beads decreased the release rate of the drug from OCP beads. However, the drug release from these beads was rapid, i.e., about 80% of drug loading released within 60 min. The attempts to modify the drug release were made by adding some additives into starting solution prior to bead formation, hardening with glutaraldehyde, or coating with polymer. The results demonstrated that addition of some additives (e.g., polyethylene glycol, glyceryl monostearate and Eudragit® L) insignificantly changed the release profiles while using 2% glutaraldehyde as a hardening agent prolong the drug release about 2-fold. Coating the wet beads with Eudragit® RL significantly sustained the drug release and the beads still floated. The results suggested that OCP beads were promising as a carrier for intragastric floating drug delivery and their release behaviors could be modified by hardening with glutaraldehyde or coating with Eudragit® RL.

Keywords: oral drug delivery, pectin, gastro-retention, floating

INTRODUCTION

Oral administration is always the preferred means of drug delivery to the systemic circulation. Many attempts have been made to develop sustained release preparations with extended clinical effects and reduced dosing frequency. A problem frequently encountered with conventional sustained release dosage forms is the inability to increase their residence time in the stomach and proximal portion of the small intestine. Retention of drug delivery systems in the stomach prolongs the overall gastrointestinal transit time, thereby resulting in improved oral bioavailability of the basic drugs that have poor solubility in higher pH, and of drugs susceptible to circadian variations [1]. These systems are also appropriate for drugs which are locally active to the gastric mucosa in the stomach, for example, antibiotic administration for *Helicobacter pylori* eradication in the treatment of peptic ulcer disease [2]. Various approaches, such as bioadhesive delivery systems [3], density-controlled delivery systems [4], and floating dosage forms [5-6], have been tried as a means to retain the delivery system in the stomach with a view to increasing the gastric residence time.

Floating dosage forms can be made by a gelling process of hydrocolloid materials, or by incorporating a vacuum or gas-filled floatation chamber [7]. The most commonly used excipients are gel-forming or highly swellable cellulose type hydrocolloids, polysaccharides, and matrix forming polymers such as polycarbonate, polyacrylate and polystyrene [5]. A highly porous system as a carrier for intragastric floating drug delivery, e.g. hollow microspheres or microballoons [8], hydrophobic polypropylene foam powder with low density [9], coated calcium alginate beads containing air compartment [10] has been developed. Floating properties of dosage form can also be fabricated using oils, e.g., tablets composed of mineral oil-entrapped agar for controlled drug release [11].

The polysaccharide pectin is an inexpensive, non-toxic product extracted from citrus peels or apple pomaces, and has been used as a food additive, a thickening agent and a gelling agent [12]. In addition, pectin is capable of reducing interfacial tension between an oil phase and a water phase and can be effective in the preparation of emulsion [13]. Pectin has a very complex structure which depends on both its source and the extraction process. Numerous studies have contributed to our understanding of the structure of pectin. Basically, it is a polymer of α–D–galacturonic acid with 1–4 linkages [12]. This chain is regularly interrupted by some rhamnogalacturonan segments which combine galacturonic acid residues and α–L–rhamnopyranose by a 1–2 linkage [14]. The galacturonic acid of the backbone is partially methyl-esterified. Low methoxy pectin with a degree of esterification less than 50%, can form rigid gels by the action of calcium ions or multivalent cations, which crosslink the galacturonic acid chains. Calcium pectinate hydrogels are stable in low pH solution, and are being investigated as a potential carrier material for different controlled release systems. In recent years, calcium pectinate gel (CP) beads have been developed as a unique vehicle for drug delivery. The CP beads have been used in various ways in the gastrointestinal tract, for example, for sustained release of drugs [15-16] or for targeting drugs to the colon [17]. We recently investigated the morphology and floating properties of oil-entrapped calcium pectinate gel (OCP) beads [18].

In this study, the drug-loaded OCP beads using selected oils were developed for floating drug delivery system, based on our previous report [18] and the drug release behavior of OCP beads capable of floating in the gastric fluid was studied. The effect of various release modification methods on drug release including; the use of additives in the starting solution prior to bead formation, hardening with glutaraldehyde, and coating with polymer, was also investigated.

MATERIALS AND METHODS

2.1 Materials

Low methoxy pectin with a degree of esterification of 28% (GENU pectin type LM-104 AS-FS) was the generous gift of CP Kelco (Denmark). Eudragit® L100 and Eudragit® RL100 (Röhm Pharma, Germany), glyceryl monostearate (GMS), metronidazole (MZ) (P.C. Drug Center, Thailand), calcium chloride, polyethylene glycol 10000 (PEG) (E. Merck, Germany) and glutaraldehyde (Fluka Chemie, Switzerland) were used as received. Light mineral oil, olive oil and peppermint oil and all other chemicals were standard pharmaceutical grade.

2.2 Preparation of conventional CP beads, OCP beads, and modified OCP beads

2.2.1 Conventional CP beads

Conventional CP beads were prepared by the ionotropic gelation method that was previously described [15-16]. Briefly, five grams of pectin were dispersed in water with agitation to make a 100-g solution. Various amounts of MZ (200-mesh sieved were dispersed in pectin solution to make different pectin to drug ratios (i.e., 1:1, 1:1.5 and 1:2 by weight). The dispersion was then extruded using a needle of 0.80-mm inner diameter into 0.34 M calcium chloride with gentle agitation at room temperature. The gel beads formed were allowed to stand in the solution for 20 min before being separated and washed with distilled water. The beads were dried at 37°C for 12 h.

2.2.2 OCP beads

The OCP beads were prepared by emulsion-gelation method [18]. Five grams of pectin were dissolved in water with agitation. Different amounts (i.e., 10, 20, 30 g) of olive oil, light mineral oil or peppermint oil were added to the solution and homogenized in high speed homogenizer to make 100-g emulsions. Various amounts of MZ were dispersed in an emulsion of oil and pectin mixture. The OCP beads were treated in the same manner as conventional CP beads. In some cases, the OCP beads were treated in 2%v/v glutaraldehyde for 2 h prior to washing and drying.

2.2.3 Additive-added OCP beads

Different amounts of GMS, PEG, or Eudragit® L100 were dispersed in the homogenized emulsion mixture of pectin, oil and MZ (additive to pectin ratio was 0.25:1, 0.5:1 or 1:1 by weight) and mixed until the homogenous mixture was obtained. The mixture was extruded into 0.34 M calcium chloride with gentle agitation at room temperature. The additive-added OCP beads formed were allowed to stand in the solution for 20 min and treated in the same manner as CP beads.

2.2.4 Polymer-coated OCP beads

The coating on drug-loaded OCP beads was performed by the air suspension method. The coating solution (8%w/v) was prepared by dissolving Eudragit® RL100 in absolute alcohol to make a 100-mL

solution. The coating solution was sprayed at a rate of 0.2 g/min until a 16% theoretical weight gain was achieved. The coated beads were then collected and dried in a hot air oven at 50°C for 12 h.

2.3 Study of morphology of gel beads

Morphological examination of the surface and internal structure of the dried beads was carried out using a scanning electron microscope (Model Maxim-2000, CamScan Analytical, England) at an accelerating voltage of 15 keV. The internal structure of the beads was examined by cutting them in half with a steel blade.

2.4 Buoyancy of gel beads

The gel bead samples (n=20) were steeped in 50 mL of simulated gastric fluid USP without pepsin (SGF) test solution and their buoyancy was observed for 24 h. The preparation was considered to have buoyancy in the test solution only when all of the gel beads floated in it [2].

2.5 Determination of drug release

The in-vitro release of MZ from the different formulations was examined using a USP dissolution apparatus 1 (Erweka, Germany) with 1000 ml of SGF (pH 1.2) and the basket rotation at 100 rpm. The temperature was controlled at 37±0.1°C. Samples were taken at appropriate time intervals and assayed spectrophotometrically at 277 nm. All dissolution runs were performed in triplicate.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Preparation and morphology of gel beads

An aqueous solution of pectin was extruded into calcium chloride solutions and gel beads were formed instantaneously by ionotropic gelation [15] in which intermolecular cross-links were formed between the divalent calcium ions and the negatively charged carboxyl groups of the low methoxyl pectin molecules. The conventional CP beads were easily manufactured without any sophisticated equipment [15]. The MZ-loaded CP beads can also be prepared by the same method but for this formulation MZ was dispersed in pectin solution prior to bead formation. The external surface of gel beads was rough and its shape remained spherical after the drying process. The MZ particles, homogenously dispersed in the calcium pectinate network.

Pectin helped to emulsify the mixture of water and oil phases during the homogenization process. The emulsion stabilization property of pectin can be explained by its surface active ability to reduce the interfacial tension between an oil phase and a water phase [13], or steric and mechanical stabilization mechanisms similar to other polysaccharides such as cellulose, guar gum and locust bean gum [19]. When emulsion was formed, the MZ was added and properly mixed. The mixture was then extruded into calcium chloride solution and the gel formed by the action of calcium cross-linking to the negative charged groups of the pectin chain [18]. By this emulsion-gelation technique, the MZ-loaded OCP beads were formed. Figure 1 shows external and internal morphology of OCP beads containing 30%w/w olive oil. They show the oil droplets uniformly distributed. The OCP beads were spherical and exhibited a smoother surface than conventional CP beads (data not shown). Figure 2 shows external and internal morphology of MZ-loaded OCP beads containing 30%w/w peppermint oil. The beads were spherical in shape with a slightly rougher surface than those containing olive oil. The internal structure of an MZ-loaded OCP bead containing 30%w/w peppermint oil demonstrates the sponge-like nature of the structure even though the beads were dried in the hot-air oven. It also shows that there was no oil droplet under the gold coating. This is due to the volatile property of peppermint oil, resulting in the pore formation during the drying process.

Figure 1. SEM photographs of (a and b) external and (c) internal structures of OCP beads containing olive oil (30%).

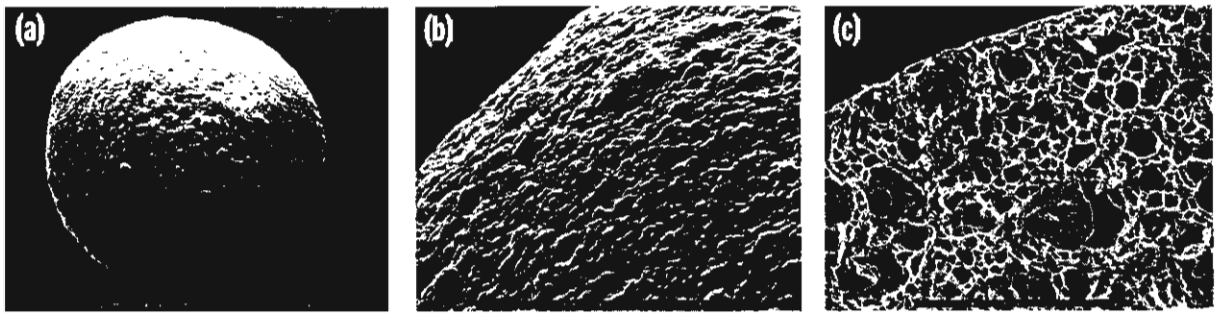


Figure 2. SEM photographs of (a and b) external and (c) internal structures of OCP beads containing peppermint oil (30%).

3.2 Buoyancy of gel beads

Our previous study [18] showed that the conventional CP beads (with no drug) made of low methoxy pectin did not float in SGF. In contrast, if a sufficient amount of oil was added (i.e. 10% mineral oil, 20% olive oil, and 20% peppermint oil), the OCP beads floated immediately and remained floating for 24 h. The results appeared to be linked to their relative density, i.e. 0.84 for light mineral oil, between 0.90 and 0.92 for peppermint oil and olive oil.

Different results were obtained when MZ was loaded in conventional CP beads, and OCP beads containing olive oil or mineral oil or peppermint oil. The MZ-loaded OCP beads containing mineral oil (10%), olive oil (20%), or peppermint oil (20%) did not float immediately. This is probably due to the density of the beads which increased when the drug was added. When drug was released from the MZ-loaded OCP beads, they gradually floated. As a result, the amount of oil required to keep the beads afloat was increased. The MZ-loaded OCP beads containing mineral oil (20%) or olive oil (30%) or peppermint oil (30%) floated immediately in SGF. The OCP beads treated with glutaraldehyde, additive-added OCP beads, and polymer-coated OCP beads floated in SGF.

3.3 In-vitro release of MZ from gel beads

Release studies were carried out, only when the beads floated in SGF, in order to examine the suitability of the OCP beads as an intragastric floating drug delivery system. MZ, used for *H. pylori* eradication, was used as a model drug. The drug release profiles were presented by plotting the amount of MZ released against time.

Figure 3 illustrates the release profiles of MZ-loaded conventional CP beads, and OCP beads containing 20% and 30% olive oil. No lag time was observed in any of the formulations studied. The release of MZ from conventional CP beads was rapid; about 80% of MZ was released within 20-30 min, in any ratio of pectin to MZ. This is probably due to the fact that MZ dissolves quickly in water and diffuses through the calcium pectinate structure into the dissolution medium easily. The amount of MZ loaded did not significantly affect the release behavior. The OCP beads containing either 20% mineral oil or 30% olive oil produced slower drug release profiles, compared to conventional CP beads. It was likely that the oil, which dispersed in the structure of OCP beads, obstructed the dissolution channel of MZ. Consequently, the drug release was prolonged; about 80% of MZ was released within 40-80 min. Since the drug release was still quick and was not harmonious for floating drug delivery, modification of the OCP bead formulations was needed. Some treatments were done or some additives were added in the formulations in order to extend the drug release.

Figure 4 shows the effect of the hardening agent, glutaraldehyde, on MZ release from OCP beads containing various oils. The MZ release from OCP beads containing 30% olive oil, soaking in 2% glutaraldehyde for 12 h, was prolonged about 2-fold. About 80% of drug release was achieved within 120 min, compared to about 50 min for non-hardened OCP beads. However, the release of MZ from OCP beads containing peppermint oil was not prolonged when soaking in glutaraldehyde and showed similar results to that of non-soaked OCP beads. The porous structure of these beads resulting from the volatility of the oil may have contributed to these insignificant differences in drug release.

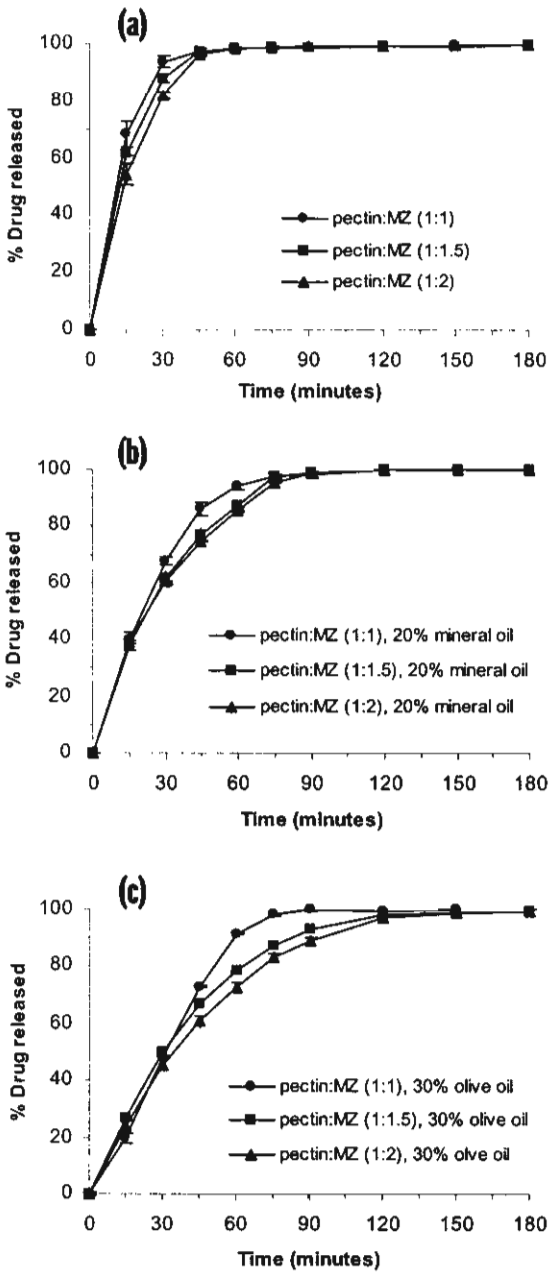


Figure 3. Effect of pectin to drug ratio on MZ release from (a) conventional CP beads, and OCP beads containing (b) 20% mineral oil and (c) 30% olive oil.

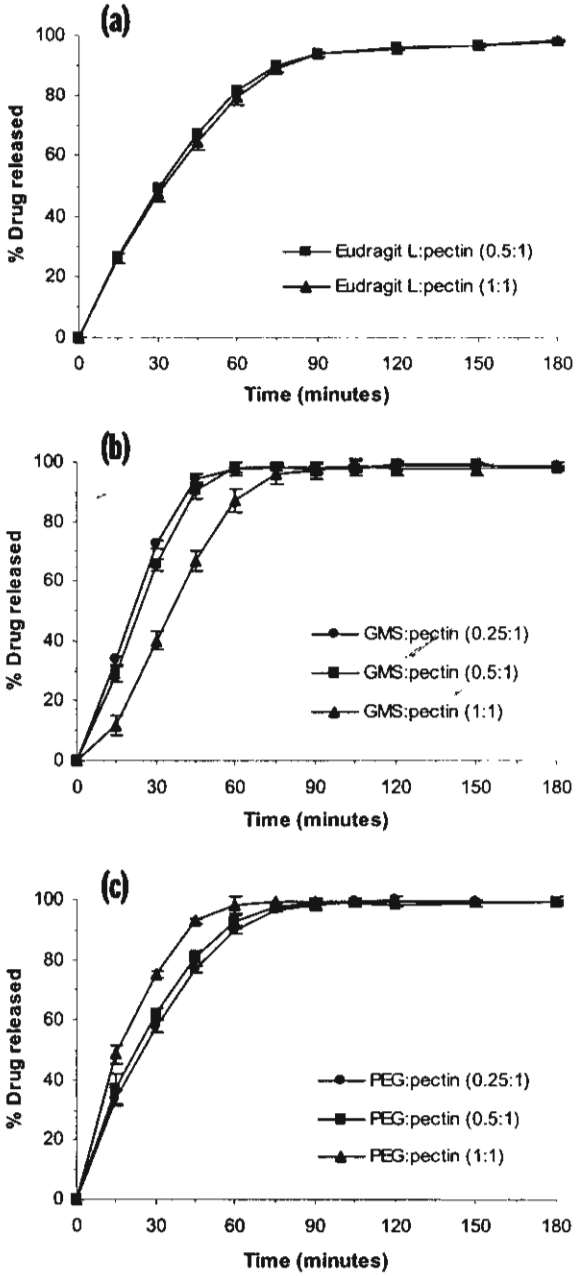


Figure 5. Effect of additive to pectin ratio on MZ release from additive-added OCP beads using (a) Eudragit L, (b) GMS, and (c) PEG.

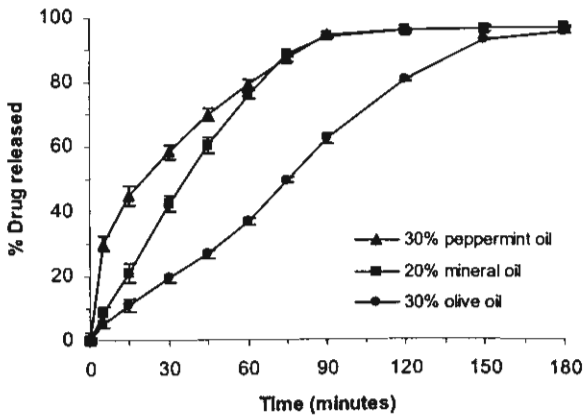


Figure 4. Effect of hardening agent, 2% glutaraldehyde for 2 h, on MZ release from OCP beads containing various oils

Figure 5 shows the effect of additive to pectin ratio on MZ release from the additive-added OCP beads using Eudragit® L, GMS, and PEG. The drug release from OCP beads was slightly slower when Eudragit® L was added into the beads containing 30% olive oil. Nevertheless, the release from OCP beads was not significantly different when the amount of Eudragit® L was increased (Figure 5a). This may be due to the Eudragit® L which only dispersed in the OCP structure and did not interact with calcium ion or carboxylic group of pectin. Thus, it did not help to strengthen the network structure. GMS, a hydrophobic substance, was added to the starting solution prior to bead formation to delay the drug release. The drug release was slower when the GMS to pectin ratio was increased (Figure 5b). Only the highest GMS to pectin ratio studied (1:1) had a significant effect on the release of MZ, although about 80% of drug loading was released within 50 min. Adding PEG into the formulation, on the other hand, gave the opposite results. When PEG to pectin ratio was increased, the drug release from the OCP beads was faster (Figure 5c). It is likely that the PEG, a hydrophilic substance, enhances water absorption into the bead, and thus the dissolution of MZ can occur easily. The drug release from all formulation of modified OCP beads using PEG was not dramatically extended.

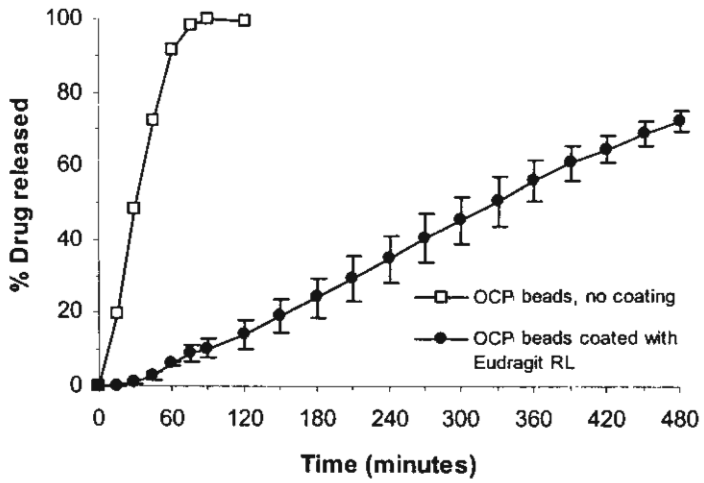


Figure 6. Effect of coating with Eudragit RL on MZ release from the OCP beads containing 30% olive oil.

Figure 6 illustrates the effect of coating with Eudragit® RL on MZ release from the OCP beads containing 30% olive oil. The amount of coating material was calculated as 0.16 g per 1 g of OCP beads (16% theoretical weight gain). Coating the OCP beads with Eudragit® RL slowed the release of MZ, compared to uncoated OCP beads. After a lag time period, the release from coated beads is essentially constant; about 80% of drug loading were released at 8 h. It is generally known that the mode of drug release from beads or pellets coated with a water-insoluble membrane is penetration of liquid into the beads, dissolution of the drug to form a saturated solution (as long as undissolved drug is present), partitioning of drug into the polymeric membrane and diffusion of drug through the membrane.

4. CONCLUSION

The OCP beads were designed and prepared by emulsion-gelation method for use in floating drug delivery systems. MZ was used as a model drug for intragastric floating drug delivery system in order to *Helicobacter pylori* eradication in the treatment of peptic ulcer disease. The MZ released rapidly from conventional CP beads, and no significant change was seen with the different amounts of MZ loaded. The MZ-loaded OCP beads floated in an acidic environment of gastric fluid and the drug release from these beads was slightly slower than that from conventional CP beads. Modified OCP beads with Eudragit® L, GMS or PEG as an additive, could not significantly prolong the drug release. However, the treatment with glutaraldehyde effected a slight reduction in the drug release. The drug release was dramatically prolonged by coating the OCP beads with Eudragit® RL.

These systems can float in the gastric condition and can control the drug release from the OCP beads. The enhanced buoyancy property of OCP beads makes them an excellent candidate for intragastric floating drug delivery systems. Moreover, this system may also provide a suitable means of delivery for drugs that are locally active to the gastric mucosa in the stomach.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was financially supported by the Thailand Research Funds (grant number MRG4680120). The authors gratefully acknowledge Mr Witoon Sae-Ngow from SUSTREC (Silpakorn University Scientific and Technological Research Equipment Centre) for technical assistance on SEM imaging. Thanks also go to Food & Cosmetic System Co., Ltd. (Thailand) for supplying pectin samples.

REFERENCES

1. Moes AJ. Gastroretentive dosage forms. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1993; 10: 143-195.
2. Cooreman MP, Krausgrill P, Hengels KJ. Local gastric and serum amoxycilline concentrations after different oral application forms. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 1506-1509.
3. Akiyama Y, Nagahara N. Novel formulation approaches to oral mucoadhesive drug delivery systems. In: Mathiowitz E, Chickering DE III, Lehr CM, editors. *Bioadhesive drug delivery systems fundamentals, novel approaches and development*. New York: Marcel Dekker, 1999. p. 477-505.
4. Hwang SJ, Park H, Park K. Gastric retention drug delivery systems. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1998; 15: 243-284.
5. Singh BM, Kim KH. Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. *J Control Rel* 2000; 63: 235-239.
6. Desai S, Bolton S. A floating controlled release drug delivery system: in-vitro – in-vivo evaluation. *Pharm Res* 1993; 10: 1321-1325.
7. Chien YW. Oral drug delivery. In: Chien YW, editor. *Novel drug delivery system*. New York: Marcel Dekker, 1992. p. 139-196.
8. Sato Y, Kawashima Y, Takeuchi H, Yamamoto H, Fujibayashi Y. Pharmacoscintigraphic evaluation of riboflavin-containing microballoons for a floating controlled drug delivery system in healthy humans. *J Control Rel* 2004; 98: 75-85.
9. Streubel A, Siepmann J, Bodmeier R. Floating microparticles based on low density foam powder. *Int J Pharm* 2002; 241: 279-292.
10. Iannuccelli V, Coppi G, Bernabel MT, Cameroni R. Air compartment multiple-unit system for prolonged gastric residence. Part I: Formulation study. *Int J Pharm* 1998; 174: 47-54.
11. Desai S, Bolton S. A floating controlled release drug delivery system: in-vitro – in-vivo evaluation. *Pharm Res* 1993; 10: 1321-1325.
12. Rolin C. Pectin. In: Whistler RL, Bemiller JN, editors. *Industrial gums: polysaccharides and their derivatives*. New York: Acamedic Press, 1993. p. 257-293.
13. Leroux J, Langendorff V, Schick G, Vaishnav V, Mazoyer J. Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids* 2003; 17: 455-462.
14. Schols HA, Voragen AGJ. Complex pectin: structure elucidation using enzymes. In: Visser J, Voragen AGJ, editors. *Progress in biotechnology: pectin and pectinases*, Vol 14. Amsterdam: Elsevier, 1996. p. 3-19.
15. Sriamornsak P, Nunthanid J. Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: I. Preparation and in-vitro release studies. *Int J Pharm* 1998; 160: 207-212.
16. Sriamornsak P, Nunthanid J. Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: II. Effect of formulation and processing variables on drug release. *J Microencapsul* 1999; 16: 303-313.
17. Sriamornsak P. Effect of calcium concentration, hardening agent and drying condition on release characteristics of oral proteins from calcium pectinate gel beads. *Eur J Pharm Sci* 1999; 8: 221-227.
18. Sriamornsak P, Thirawong N, Puttipipatkhachorn S. Morphology and buoyancy of oil-entrapped calcium pectinate gel beads. *AAPS J* 2004; 6: article 24. (http://www.aapsj.org)
19. Garti N, Reichman D. Hydrocolloids as food emulsifiers and stabilizers. *Food Structure* 1993; 12: 411-426.

ประชุมวิชาการในประเทศ

Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Evaluation of oil-entrapped calcium pectinate gel spheres as gastro-retentive drug delivery system. The RGJ Seminar Series XXIV: Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Bangkok, 15-16 October 2003.

RGJ Seminar Series XXIV:
Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology

จัดโดย

Thailand Pharmaceutics Education Network (TPEN)

ร่วมกับ โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก

วันที่ 15 –16 ตุลาคม พ.ศ. 2546

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

The Thailand Research Fund

www.trf.or.th

e-mail: trf-info@trf.or.th

P-2

Evaluation of Oil-entrapped Calcium Pectinate Gel Spheres as Gastro-retentive Drug Delivery System

Pornsak Sriamornsak[a], Nartaya Thirawong[a] and Satit Puttipipatkhachorn[b]

[a] *Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000 Thailand*

[b] *Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400 Thailand*

Objective

A novel gastro-retentive delivery system of oil-entrapped calcium pectinate gel spheres was designed and tested in order to overcome the complication of limited gastric residence times of oral sustained drug delivery system.

Methods

The calcium pectinate gel spheres containing edible oil were prepared by either gently mixed or homogenized an oil phase and a water phase containing pectin. The mixtures were then extruded into calcium chloride solution with gentle agitation at room temperature. The gel spheres formed were then separated, washed with distilled water and dried at 37°C for 12 hours. The model drug, metronidazole, was used in this study. The effect of selected factors, such as type of oil, percentage of oil, type of pectin and pectin to drug ratio, on floating and drug release properties was investigated.

Results

In this study, the gel spheres were formed instantaneously by ionotropic gelation in which intermolecular cross-links were formed between the divalent calcium ions and the negatively charged carboxyl groups of the pectin molecules. The gel spheres were easily manufactured without any sophisticated equipment. The oil-entrapped calcium pectinate gel spheres floated if the sufficient amount of oils were used. As percentage of oil increased, the floating time prolonged and the drug released slower. The gel spheres prepared from different types of pectin showed similar floating and drug release behavior. The increased drug to pectin ratio slightly influenced the drug release patterns.

Conclusion

The results of these studies indicate that type and percentage of oil is more important than other factors studied. The enhanced buoyancy and prolonged release properties of oil-entrapped calcium pectinate gel spheres make them an excellent candidate for floating drug delivery system. These properties are applicable not only to the sustained release of drugs but also to the targeting of the gastric mucosa.

Key words: calcium pectinate; oil-entrapped; floating; gastro-retentive; drug delivery

Selected References

1. Singh BM, Kim KH. (2000). Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. *J Control Release* 63: 235-9.
2. Sriamornsak P, Nunthanid J. (1998). Calcium pectinate gel beads for controlled release drug delivery: I. Preparation and *in-vitro* release studies. *Int J Pharm* 160: 207-12.

ประชุมวิชาการในประเทศ

Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. A novel floating emulsion gel sphere for stomach-specific drug delivery. Thai Journal of Pharmaceutical Sciences 2003; 27(supp): 21. (การประชุมเสนอผลงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ ครั้งที่ 20, วันที่ 1 ธันวาคม 2546, คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

ไทยเภสัชสาร

The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences

Volume 27 Supplement Issue December 2003

กำหนดการและบทคัดย่อ

การประชุมเสนอผลงานวิจัยทางเภสัชศาสตร์ ครั้งที่ 20

1 ธันวาคม 2546

Scientific Program and Abstract Supplement

The 20th Annual Research Meeting in Pharmaceutical Sciences

December 1, 2003

ISSN 0125-4685

A NOVEL FLOATING EMULSION GEL SPHERE FOR STOMACH-SPECIFIC DRUG DELIVERY

Pornsak Sriamornsak[1], Nartaya Thirawong[1] and Satit Puttipipatkhachorn[2]

[1]Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000 Thailand.
[2]Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400 Thailand.

A novel method to prepare emulsion gel spheres of calcium pectinate capable of floating in the gastric condition was designed and tested. The gel spheres containing edible oil were prepared by either gently mixed or homogenized an oil phase and a water phase containing pectin. The mixtures were then extruded into calcium chloride solution with gentle agitation at room temperature. The gel spheres formed were then separated, washed with distilled water and dried at 37°C for 12 hours. The model drug, metronidazole, was used in this study. The effect of selected factors, such as type of oil and percentage of oil, on floating and drug release properties was investigated. The oil-entrapped calcium pectinate gel spheres floated if the sufficient amount of oils were used. As percentage of oil increased, the floating time prolonged and the drug released slower. The results of these studies indicate that type and percentage of oil is important to control the floating and drug release from calcium pectinate gel spheres.

ประชุมวิชาการในประเทศ

[นำเสนอผลงานวิจัยเรื่องนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการบรรยาย - Invited Lecture]

Sriamornsak P. Use of citrus pectin in pharmaceutical production and drug delivery. *Proceedings of the 30th Congress on Science and Technology of Thailand* 2004; 30: 31.

บทคัดย่อ
ABSTRACTS

การประชุมวิชาการ
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 30

19-21 ตุลาคม 2547

ณ ศูนย์แสดงสินค้าและการประชุมอิมแพ็ค เมืองทองธานี

30th Congress on Science and Technology of Thailand

19-21 October 2004

Impact Exhibition and Convention Center , Muang Thong Thani

สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์
THE SCIENCE SOCIETY OF THAILAND
UNDER THE PATRONAGE OF HIS MAJESTY THE KING

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
FACULTY OF SCIENCE
SRINAKARINWIROT UNIVERSITY

USE OF CITRUS PECTIN IN PHARMACEUTICAL PRODUCTION AND DRUG DELIVERY

พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์

Pornsak Sriamornsak

Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000 Thailand
E-mail address: pornsak@email.pharm.su.ac.th

บทคัดย่อ: เพคตินเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติที่ผลิตได้จากกากผลไม้ เช่น เปลือกส้ม ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร มีการนำเพคตินมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มมายาวนาน ปัจจุบันมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมทางเทคโนโลยีชีวภาพ ในเชิงเภสัชกรรมและการผลิตยาเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ เพคตินมีคุณสมบัติเฉพาะที่ทำให้สามารถนำมาใช้เก็บกักหรือนำส่งยา โปรตีนหรือเปปไทด์ และเซลล์ บทความนี้ได้กล่าวถึงตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้ประโยชน์เพคตินจากเปลือกส้มในการผลิตยาและเพื่อเป็นระบบนำส่งยา ที่มีการทำวิจัยในประเทศไทย เช่น การออกแบบยาเม็ดโดยใช้เพคตินเป็นสารก่อเจล เพื่อชะลอการปลดปล่อยตัวยาที่ให้โดยการรับประทาน การพัฒนาระบบยาเม็ดเคลือบฟิล์มชนิดคอมพอสิตระหว่างเพคตินกับพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่ไม่ละลายน้ำเพื่อใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยยาจากระบบนำส่งยาแบบนำวิถีไปยังอวัยวะเป้าหมายที่ลำไส้ใหญ่ การพัฒนาเทคโนโลยีการเคลือบฟิล์มยาเม็ดโดยอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่ผิวประจันของเม็ดยากับเพคตินเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเพื่อใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยตัวยาออกจากเม็ดยา การออกแบบระบบเจลบีดเพื่อเก็บกักยาหรือยาโปรตีนสำหรับใช้ในการนำส่งยาที่ให้โดยการรับประทาน โดยอาศัยหลักการเกิดเจลระหว่างประจุ การพัฒนาเทคโนโลยีการควบคุมการปลดปล่อยยาจากเม็ดเจลบีดชนิดที่สามารถลอยตัวได้เพื่อให้ระบบคงอยู่ในกระเพาะอาหารนานขึ้นเพื่อใช้สำหรับยาที่ต้องการให้ออกฤทธิ์เฉพาะที่ในกระเพาะอาหาร การศึกษาโครงสร้างภายในของเม็ดเจลบีดโดยใช้เทคนิคการเกิดภาพของอิเล็กตรอนชนิดกระจายกลับ เป็นต้น เนื่องจากงานวิจัยและพัฒนาทางด้านเภสัชกรรมและระบบนำส่งยาที่ใช้เพคตินยังคงมีการดำเนินการอย่างต่อเนื่อง จึงคาดหมายได้ว่าจะมีนวัตกรรมและการประยุกต์ใช้ที่น่าสนใจในอนาคต

Abstract: Pectin, a naturally occurring polysaccharide, is almost exclusively derived from citrus peel, by-product from agro-industry. It has been used successfully for many years in the food and beverage industry. Pectin is finding increasing applications in the biotechnology and pharmaceutical industry. Pectin also has several unique properties that have enabled it to be used as a matrix for the entrapment and/or delivery of a variety of drugs, proteins and cells. This paper reviews the research works on the pharmaceutical (including drug delivery) application of citrus pectin those have been done by research groups in Thailand. The research works include the tablet design using pectin as a gel forming agent to prolong the drug release; pectin-Eudragit® composite film coating for colon-specific drug delivery; development of a new method of using pectin gel as a coating to avoid the use of organic liquids or elevated temperature to dry the coats. The comprehensive evaluation of the properties of calcium pectinate gel beads that may be used as a delivery system for drugs or therapeutic proteins has also been reported. The possibility of using calcium pectinate gel beads containing edible oils or carbonate salts as an intragastric floating drug delivery system has been evaluated. The extensive works on back-scattered electron imaging revealed the microscopic structure of the gel beads and the drug distribution through the matrix structure of gel beads. As research and development continues with delivery system using pectin, we expect to see many innovative and exciting applications in the future.

ประชุมวิชาการในประเทศ

Sriamornsak P, Thirawong N and Puttipipatkhachorn S. Oil-entrapped calcium pectinate gel beads as a gastroretentive drug delivery system. การประชุมนักวิจัยรุ่นใหม่พบเมธีวิจัยอาวุโส สกว., กาญจนบุรี, 14-16 มกราคม 2548.

ABSTRACTS

การประชุม

นักวิจัยรุ่นใหม่ ... พบ ... เมธีวิจัยอาวุโส สกว.

14 - 16 มกราคม 2548

โรงแรมเฟลิกซ์ ริเวอร์แคว กาญจนบุรี

สนับสนุนโดย

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.)

กระทรวงศึกษาธิการ

และ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

Oil-entrapped calcium pectinate gel beads as a gastroretentive drug delivery system

Pornsak Sriamornsak [a,*], Nartaya Thirawong [a] and Satit Puttipipatkhachorn [b]

[a] *Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000 Thailand*
[b] *Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400 Thailand*

Abstract—Oral sustained drug delivery system is complicated by limited gastric residence times. Rapid gastrointestinal transit can prevent complete drug release in the absorption zone and reduce the efficacy of administered dose in the stomach and upper small intestine. To overcome these limitations, a novel gastroretentive delivery system of oil-entrapped calcium pectinate gel beads was designed and tested. The calcium pectinate gel beads containing edible oil were prepared by either gently mixed or homogenized an oil phase and a water phase containing pectin. The mixtures were then extruded into calcium chloride solution with gentle agitation at room temperature. The gel beads formed were then separated, washed with distilled water and dried at 37°C for 12 hours. A model of emulsion-gelation process to illustrate the formation of oil-entrapped calcium pectinate gel beads was proposed. Metronidazole was used as a model drug in this study. The effect of selected factors, such as type of oil, percentage of oil, type of pectin and pectin to drug ratio, on morphology, floating and drug release properties was investigated. The oil-entrapped calcium pectinate gel beads floated if the sufficient amount of oils was used. Scanning electron micrographs demonstrated very small pores, range between 5 and 40 μm, dispersed all over the beads. The type and percentage of oil play an important role to control the floating of oil-entrapped calcium pectinate gel beads. As percentage of oil increased, the floating time prolonged and the drug released slower. The gel beads prepared from different types of pectin showed similar floating and drug release behavior. The increased drug to pectin ratio slightly influenced the drug release patterns. The results of these studies indicate that type and percentage of oil is more important than other factors studied. The enhanced buoyancy of oil-entrapped gel beads makes them an excellent candidate for intragastric floating or gastroretentive drug delivery system. These properties are applicable not only to the sustained release of drugs but also to the targeting to the gastric mucosa. The floating gel beads appear to be a promising vehicle for delivering such preparations specifically to the region. And it will play an important role in therapy of diseases in which a stomach-specific drug delivery regimen should be considered.

Keywords—Gastroretention; Drug delivery system; Pectin; Calcium pectinate; Beads; Edible oil; Oil-entrapped beads

Output

1. Sriamornsak, P., Thirawong, N. and Puttipipatkhachorn, S. *Journal SPAA*, 2004. in press.

* Corresponding author. Tel 0 3425 5800; fax: 0 3425 5801; e-mail. pornsak@email.pharm.su.ac.th