



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

ของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็น
ระบบนำส่งยา

(Extended Oily Natural Rubber Liquid as Drug Delivery System)

โดย รศ. ดร. ธวัชชัย แพชมัด

ดำเนินการเสร็จเดือน สิงหาคม 2557

สัญญาเลขที่ RDG5650087

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

ของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็น
ระบบนำส่งยา

(Extended Oily Natural Rubber Liquid as Drug Delivery System)

คณะผู้วิจัย

สังกัด

รศ.ดร. ธีรชัย แพชมัด

คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยศิลปากร

โครงการวิจัยและพัฒนาองค์ความรู้ระดับต้นเพื่อต่อยอดสู่การวิจัยแบบมุ่งเป้า ปี พ. ศ. 2556

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช)

และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย วช.-สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทสรุปย่อรายงานสำหรับผู้บริหาร

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา

ชื่อโครงการ (ภาษาอังกฤษ) Extended Oily Natural Rubber Liquid as Drug Delivery System

ชื่อหัวหน้าโครงการ หน่วยงานสังกัด และที่อยู่

รศ.ดร. ธวัชชัย แพชมัด คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร อ. เมือง จ. นครปฐม 73000

โทรศัพท์ 034 255800 โทรสาร 034 255801 E-mail thawatchaienator@gmail.com

นักศึกษา ป โท ตรี เศรษฐจินดาเลิศ และ ป ตรี นางสาว ธนธร อัครนิวัตรกร

งบประมาณทั้งโครงการ 350,000 บาท

ระยะเวลาดำเนินการ 12 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน 2556 ถึง 31 สิงหาคม 2557

ปัญหาที่ทำวิจัยและความสำคัญ

ทางผู้วิจัยได้ศึกษาวิจัยเพื่อพยายามลดการเกิดไขของน้ำมันจากธรรมชาติชนิดหนึ่งด้วยการใช้พอลิเมอร์ พบว่ามีพอลิเมอร์น้อยชนิดมากที่สามารถละลายในน้ำมันได้ สำหรับยางพาราเองหากจะละลายในน้ำมันจากธรรมชาติต้องใช้ความร้อนหรือใช้เวลาในการที่ยางจะยอมเข้าเป็นเนื้อเดียวกับน้ำมันนานมาก ทางผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเป็นการเบื้องต้นโดยอาศัยหลักการแทนที่สารทำละลาย พบว่าประสบความสำเร็จเป็นอย่างดีในการละลายยางในของเหลวและน้ำมันบางชนิดที่ใช้ทางเภสัชกรรม และระบบที่ได้ซึ่งเป็นของเหลวที่มีความหนืดมีสมบัติที่ยืดและแผ่ตัวได้คล้ายฟิล์มที่พร้อมจะคลุมพื้นที่ที่ต้องการได้กว้าง อีกทั้งน้ำมันหรือของเหลวตัวกลางเหล่านั้นหลายชนิดมีสมบัติเข้าได้กับร่างกายหรือใช้เป็นสารช่วยในทางเภสัชกรรม อีกทั้งบางชนิดที่เป็นน้ำมันจากธรรมชาติสามารถสลายตัวได้จึงน่าจะเหนี่ยวนำให้ยางพาราสลายตัวทางชีวภาพภายหลังการใช้งานได้ง่ายขึ้น อีกทั้งจะทำให้ระบบมีองค์ประกอบเป็นสารจากธรรมชาติทั้งหมดซึ่งน่าสนใจในการนำมาใช้งานกับร่างกายมนุษย์ และจากสมบัติที่ยืดตัวและแผ่เป็นแผ่นฟิล์มที่ใสเหนียวจึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นระบบนำส่งยาได้ เนื่องจากสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาหรือสารออกฤทธิ์ให้ค่อยๆ ปลดปล่อยออกมาได้ และยังมีสมบัติที่อาจนำมาใช้เป็นกาวชีวภาพได้ในอนาคตอีกด้วย นอกจากนี้และของเหลวที่กล่าวแล้ว ยังพบว่าระบบ eutectic (สารสองชนิดที่มารวมกันแล้วมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่าสารเดี่ยวแต่ละชนิด) ยังสามารถกระจายยาได้ด้วยซึ่งเป็นที่น่าสนใจเพราะระบบนี้ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ด้วยตัวสารที่เป็นองค์ประกอบเองได้ด้วย ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาว่าน้ำมันและของเหลวชนิดใดบ้างที่นิยมใช้ได้ทางเภสัชกรรม สามารถเป็นตัวกลางที่ยางพาราชนิดแห้งสามารถกระจายตัวได้ โดยเริ่มจากการละลายยางแห้งในสารทำละลายชนิดที่ละลายยางแห้งได้ง่ายและระเหยจากระบบได้อย่างรวดเร็ว เพราะมีจุดเดือดต่ำ รวมทั้งสามารถละลายน้ำมันและของเหลวที่เลือกใช้ในระบบได้ด้วย หลังจากนั้นทำการระเหยสารทำละลายแรกนั้นออกไป ซึ่งหากจะเก็บสารทำละลายดังกล่าวเพื่อหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่ก็สามารถทำได้ ภายหลังการระเหยระบบที่ยางพาราสามารถกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันได้จะนำมาประเมินสมบัติด้านต่างๆ คือ ความหนืด การยืดและแผ่เป็นฟิล์ม และทดลองบรรจุยาสองชนิดที่น่าสนใจคือยา ibuprofen เพื่อทดสอบการนำส่งผ่านทางผิวหนัง และ azithromycin เพื่อทดลองนำส่งเป็นยาฆ่าเชื้อโรค เช่น เชื้อแบคทีเรียก่อโรค periodontitis รวมทั้งศึกษากลไกการควบคุมการปลดปล่อยยาทั้งสองโดยพิตข้อมูลการปลดปล่อยยากับโมเดลการปลดปล่อยยารูปแบบต่างๆ ได้แก่ zero order, first order, Higuchi's และ power law equation เพื่ออธิบายการควบคุมการปลดปล่อยยาจากระบบของเหลวที่คล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพารา

วัตถุประสงค์ ค้นหา น้ำมันและของเหลวทางเภสัชกรรมที่สามารถใช้เป็นตัวกลางที่ยางพาราสามารถกระจายตัวเป็นของเหลวหนืดที่ยืดและแผ่ตัวได้เพื่อบรรจุสารออกฤทธิ์ทางเภสัชกรรมและควบคุมการปลดปล่อยยาได้เพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาชนิดใหม่

ผลการดำเนินงาน

การใช้ diethyl ether (DE) สามารถละลายยางแท่ง (NR) ได้ดีและสารละลายที่ได้ไม่หนืดมากเกินไปและสามารถเทจากขวดได้ง่ายกว่าการใช้ dichloromethane ดังนั้นการศึกษาต่อมาได้เตรียมสารละลาย NR ในความเข้มข้น 5%w/w ใน DE ก่อนนำมาทดสอบเบื้องต้นในการผสมกับของเหลวสองชนิดคือ light mineral oil และ eutectic mixture คือ menthol-camphor (1:1) เพื่อให้ได้ NR ในน้ำมันเหล่านี้ในความเข้มข้น 1.25, 2.5, 3.75 และ 5 %w/w ภายหลัง DE ที่ระเหยออกไปแล้ว จากการศึกษา NR ความเข้มข้นที่ 3.75% เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม โดยระบบยังคงสามารถเทได้และไม่เหลวเกินไป หลังจากนั้นได้เปลี่ยนแปลงของเหลวเป็นชนิดอื่นๆ ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ natural oil (olive oil, sesame oil, coconut oil, eugenol, peppermint oil, castor oil, clove oil และ eucalyptus oil), synthesis oil และของเหลวอื่นที่ไม่ใช่น้ำมัน (triacetin, triethyl citrate, isopropyl myristate, light mineral oil, ethyl oleate, benzyl benzoate, N-methyl pyrrolidone (NMP), N-pyrrolidone, silicone oil และ tetraethylene glycol) และกลุ่ม eutectic mixture (1:1 menthol:camphor) พบว่าของเหลวที่ทำให้ส่วนผสมมีลักษณะภายนอกใสที่เป็นน้ำมันที่มาจากธรรมชาติได้แก่ coconut oil, eucalyptus oil, olive oil และ sesame oil ส่วนที่มาจากสารสังเคราะห์ได้แก่ ethyl oleate, isopropyl myristate และ light mineral oil ส่วนที่เป็นระบบ Eutectic ได้แก่ 1:1 menthol : camphor และเมื่อนำมาทดลองยัดดูพบว่า ได้ลักษณะเป็นฟิล์มที่ยืดและแผ่ตัวได้

จากการนำ menthol:camphor(1:1) (E) หรือ light mineral oil (L) ผสมกับ NR (N) ในความเข้มข้นของยางพาราต่างๆ (EN : ระบบที่ประกอบด้วย E และ N และ LN : ระบบที่ประกอบด้วย L และ N โดยมี N ในความเข้มข้นต่างๆ) ไปปั่นเพื่อระเหย solvent ออกหมดแล้ว และนำไปประเมินแรงยึดติดของระบบโดยใช้ texture analyzer พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ NR มากขึ้น แรงจะเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ light mineral oil เป็นของเหลวที่ทำให้ระบบสามารถยืดตัวได้ดี จากการกำหนดความเข้มข้นของ NR ให้คงที่ที่ 3.75% แล้วนำไปผสมกับของเหลวที่แยกระบายตัวได้จากข้อมูลข้างต้น พบว่า coconut oil มีแรงยึดติดสูงที่สุด ส่วนของเหลวที่ทำให้ระเหยยึดมากที่สุดคือ menthol:ibuprofen แต่เนื่องจาก coconut oil อาจมีปัญหาเรื่องกลิ่นหืนเมื่อเก็บไว้จึงต้องนำมาพิจารณาด้วยในการเลือกใช้ต่อไป ดังนั้น olive oil จึงเป็นน้ำมันที่น่าสนใจในการเป็นของเหลวเพื่อใช้ศึกษาต่อไป อย่างไรก็ตามพบปัญหาว่ายา ibuprofen ไม่สามารถละลายได้ดีในน้ำมันนี้ ดังนั้นจึงได้ใช้ eutectic mixture เพื่อเป็นของเหลวตัวกลางแทน และได้พบโดยบังเอิญว่า NR สามารถกระจายตัวได้ดีใน eutectic mixture โดยไม่จำเป็นต้องใช้ DE หรือระเหย DE ออกไป สำหรับระบบ eutectic mixture ที่ประกอบด้วย menthol:camphor ในสัดส่วน 1:1 ซึ่ง NR สามารถกระจายตัวได้ดี ส่วนผสมที่สัดส่วน 1:1 นี้มีลักษณะเป็นน้ำมันที่มีความหนืดที่ต่ำ ทำให้สามารถบรรจุสารอื่นลงไปอีกได้มากทั้งยาหรือยางพารา และส่วนผสมยังสามารถละลายยา ibuprofen รวมทั้ง azithromycin ได้ดี โดยสามารถบรรจุได้มากกว่า 15%w/w ด้วย ผลการวิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อนของระบบที่ประกอบมียา ibuprofen ด้วย Differential scanning calorimetry แสดงว่ายาทั้งสองชนิดยานี้กระจายตัวในตัวกลางคือ eutectic mixture ในลักษณะสารละลายซึ่งยากระจายอยู่ในระดับโมเลกุลในตัวกลางชนิดนี้ สำหรับการศึกษาด้วย thermogravimetric analysis (TGA) ยา ibuprofen สลายตัวโดยมีพีการสลายตัวสูงสุดที่อุณหภูมิประมาณ 210°C ส่วนตำรับที่เป็นตำรับควบคุมซึ่งไม่มียางพาราจะสลายตัวเร็วกว่าตำรับที่มีการเติมยางพาราอย่างชัดเจน ส่วนการเติม NMP ทำให้ความคงตัวลดลงและใกล้เคียงกับตำรับที่ไม่มียางพารา เมื่อปริมาณของ NMP มากขึ้นความหนืดของตำรับจะลดลง แสดงว่า NMP มีผลรบกวนการยัดสายโซ่โมเลกุลของยางพารา โดยทุกตำรับมีการไหลแบบ Newtonian

การปลดปล่อยยา ibuprofen จากตำรับผ่านเมมเบรน หรือยา azithromycin ผ่าน dialysis tube เมื่อมียางพาราจะทำให้ยาปลดปล่อยได้ช้าลง อันเนื่องมาจากยางทำหน้าที่ควบคุมการปลดปล่อยยา ความหนืดจากยางจึงมีผลลดการแพร่ของยาจากระบบทำให้ยาออกฤทธิ์ได้นาน การปลดปล่อยยา ibuprofen นี้จากตำรับของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราสอดคล้องกับสมการการปลดปล่อยแบบ Higuchi's ซึ่งแสดงว่ายาถูกควบคุมการปลดปล่อยด้วยการแพร่ของยาผ่านเมมเบรนและเข้าสู่ตัวกลาง ส่วนข้อมูลการปลดปล่อยของ

ยา azithromycin ส่วนใหญ่ฟิตได้ดีกับสมการ first order ซึ่งแสดงว่าอัตราการปลดปล่อยยาขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยาที่เหลืออยู่ใน dialysis tube สำหรับทั้งหมดที่บรรจุยา azithromycin สามารถยับยั้งเชื้อโรคทั้งสามชนิด คือ *S. aureus*, *S. mutans* และ *P. gingivalis* โดยยับยั้งได้ดีกว่าตำรับซึ่งไม่ได้บรรจุยา ซึ่งมีพอลิเมอร์น้อยชนิดมากที่สามารถละลายได้ในของเหลวประเภทน้ำมัน ดังนั้นยางพาราจึงเป็นพอลิเมอร์ชนิดที่ละลายได้ในของเหลวกลุ่มที่ศึกษานี้ได้หลายชนิดและสามารถหน่วงการปลดปล่อยยาได้ ทั้งนี้หากจะทำให้ตำรับชนิดนี้นี้ก็สามารถทำได้โดยสามารถใช้ปริมาณยางเพิ่มได้อีกโดยยังได้ระบบที่ใสและยางละลายได้ แต่ความหนืดอาจสูงเกินไปจากการที่ยางเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่สูงมากจะทำให้ตัวกลางที่ยางละลายอยู่มีความหนืดสูงเกินความเหมาะสมที่จะแผ่ตัวได้อย่างไรก็ตามระบบในความเข้มข้นสูงๆ สามารถเตรียมได้ และอาจใช้ประโยชน์ในการกักเก็บน้ำมันให้กลืนอยู่คงทนได้ เป็นต้น ซึ่งอาจเป็นการประยุกต์ใช้ในงานอื่นๆ ต่อไปได้ เนื่องจากตัวกลางที่ใช้ทำละลายยางแม้จะมีกลิ่นแต่การระเหยนั้นช้ามากจึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาและยางไม่มากนักและหากเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมจะป้องกันการระเหยนี้ได้

สรุปผลการวิจัย

ยางพาราชนิดแท่งสามารถกระจายตัวและเพิ่มความหนืดให้กับของเหลวที่ใช้ในทางเภสัชกรรมได้หลายชนิด โดยทำให้ยืดและแผ่ตัวได้ ซึ่งสามารถการเตรียมผ่านการละลายยางใน diethyl ether ก่อน หรือ ละลายใน eutectic mixture ได้โดยตรง การเพิ่มความหนืดจากยางพาราดังกล่าวสามารถทำให้ยาออกฤทธิ์ได้ยาวนานขึ้น ระบบนี้สามารถบรรจุยาได้ทั้งยา ibuprofen และ azithromycin โดยระบบที่บรรจุยา azithromycin สามารถยับยั้งเชื้อโรคที่ก่อโรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบได้ด้วย ดังนั้นการศึกษานี้ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ระดับห้องปฏิบัติการของเหลวที่คล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาใหม่โดยเริ่มจากสองแนวทางก่อนคือการนำส่งยาทางผิวหนังเพื่อรักษาอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อและเป็นวัสดุนำส่งยาฆ่าเชื้อแบคทีเรียในช่องฟันเพื่อรักษาโรค periodontitis รวมทั้งได้ข้อมูลของน้ำมันหรือของเหลวที่ใช้ทางเภสัชกรรมที่ยางพาราสามารถมีความเข้ากันได้และสามารถกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกัน สามารถพัฒนาวิธีการเตรียมด้วยเทคนิคการแทนที่สารทำละลายตัวกลางสำหรับกระจายยางพาราให้อยู่ในรูปสารละลายหรือละลายในของเหลวบางชนิดได้โดยตรง ซึ่งอาจนำไปใช้เป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์ยางแท่งในอุตสาหกรรมอื่นๆได้ต่อไป

ข้อเสนอแนะที่คาดว่าจะควรรววิจัยเพิ่ม และวิธีการที่ควรพัฒนาต่อยอดสู่ภาคปฏิบัติจริง

- จากการที่มีของเหลวหลายชนิดที่การศึกษายังไม่ได้เลือกใช้ในการบรรจุยา แต่ยางสามารถกระจายตัวได้ โดยเป็นของเหลวที่มีความปลอดภัยและใช้ทางเภสัชกรรม จึงยังมีโอกาสนำไปพัฒนาหรือทดสอบในด้านอื่นๆ ได้อีกด้วย ในแง่มุมมองการใช้ประโยชน์อื่นๆ ต่อไป
- การทดสอบประสิทธิภาพในสัตว์ทดลองหรืออาสาสมัครอาจดำเนินการต่อไปเพื่อทดสอบถึงประสิทธิภาพในร่างกาย
- เนื่องจากมีพอลิเมอร์น้อยชนิดมากที่มีศักยภาพในการละลายเข้ากับน้ำมัน ดังนั้นจึงเป็นช่องทางที่จะนำยางพาราไปใช้ประโยชน์ในลักษณะที่เกิดคุณค่าจากการที่ยางพาราละลายได้ในน้ำมันหรือของเหลวนี้ เช่นในอุตสาหกรรม อื่นๆ
- ระบบที่พัฒนาขึ้นมีศักยภาพในการพัฒนาต่อเพื่อใช้เป็นกาวยืดหรือระบบนำส่งยาหรือสารสกัดจากสมุนไพรทั้งที่ผ่านผิวหนังหรือใช้ปากคลุมรักษาแผลที่ผิวหนัง เช่นแผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก หรืออื่นๆ หากน้ำมันที่ใช้มีฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยจักเป็นการผสมผสานให้ได้ระบบที่น่าสนใจได้ด้วย

ผลงานทางวิชาการที่คาดว่าจะเกิดขึ้น

บทความตีพิมพ์ในวารสารนานาชาติอย่างน้อยสองเรื่อง

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบ

นำส่งยา

ชื่อโครงการ (ภาษาอังกฤษ) Extended Oily Natural Rubber Liquid as Drug Delivery System

ชื่อหัวหน้าโครงการ หน่วยงานสังกัด และที่อยู่

รศ.ดร. ธวัชชัย แพชมัด คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร อ. เมือง จ. นครปฐม 73000

โทรศัพท์ 034 255800 โทรสาร 034 255801 E-mail thawatchaienator@gmail.com

บทคัดย่อ

ยางพาราแท่งชนิด เอสทีอาร์ 5L (NR) มีสิ่งปนเปื้อนต่ำได้ถูกนำมาทดสอบในการเพิ่มความหนืดให้กับของเหลวหลายชนิดเพื่อเตรียมเป็นของเหลวที่สามารถยืดตัวได้เพื่อนำส่งยา ของเหลวที่ใช้ในการศึกษานี้ประกอบด้วย น้ำมันจากธรรมชาติ (olive oil, sesame oil, coconut oil, eugenol, peppermint oil, castor oil, clove oil และ eucalyptus oil) น้ำมันจากการสังเคราะห์หรือของเหลวอื่น (triacetin, triethyl citrate, Isopropyl myristate, light mineral oil, ethyl oleate, benzyl benzoate, N-methyl pyrrolidone (NMP), N-pyrrolidone, silicone oil, tetra ethylene glycol) และ eutectic mixture (1:1 menthol:camphor) เทคนิคการแทนที่สารทำละลายได้นำมาใช้เตรียมระบบนี้โดยละลายยางแท่งในไดเอทิลอีเธอร์ก่อนผสมกับของเหลวข้างต้นแล้วจึงระเหยไดเอทิลอีเธอร์ออกไป เทคนิคนี้ใช้ได้กับ coconut oil, eucalyptus oil, olive oil, sesame oil, sesame oil, ethyl oleate, isopropyl myristate, light mineral oil และ 1:1 menthol:camphor การเพิ่มความเข้มข้น NR ช่วยเพิ่มความหนืดให้ของเหลวอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม NR ละลายได้โดยตรงในระบบยูเทคติกที่ประกอบด้วย 1:1 menthol:camphor โดยความหนืดจะสูงขึ้นตามปริมาณยางพารา ยาอะซิโตรมัยซินและยาไอบูโพรเฟนสามารถละลายในระบบยูเทคติกในปริมาณที่สูงอย่างมาก ซึ่งการมี NR ในระบบด้วยจะทำให้ยาปลดปล่อยนานขึ้น โดยระบบที่พัฒนาขึ้นที่บรรจุยาอะซิโตรมัยซินสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6853P, *Streptococcus mutans* ATCC 27175 และ *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 ดังนั้นตำรับนี้แสดงศักยภาพในการใช้เพื่อรักษาโรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบ การศึกษาครั้งนี้สามารถพัฒนาของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาโดยการละลาย NR และยาในระบบยูเทคติก

Research Title: Extended Oily Natural Rubber Liquid as Drug Delivery System

Researcher: Associate Prof. Thawatchai Phaechamud Ph D.,

Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Thailand 73000

Tel 034 255800; Fax 034 255801 E-mail thawatchaienator@gmail.com

Abstract

Block natural rubber type STR 5L (NR) contained the low impurities was employed as viscosity inducing agent for various liquids to produce the extended oily natural rubber liquid as drug delivery system. The liquids were used in this study including: natural oil (olive oil, sesame oil, coconut oil, eugenol, peppermint oil, castor oil, clove oil and eucalyptus oil), synthesis oil and other liquids (triacetin, triethyl citrate, isopropyl myristate, light mineral oil, ethyl oleate, benzyl benzoate, N-methyl pyrrolidone (NMP), N-pyrrolidone, silicone oil, tetra ethylene glycol) and eutectic mixture (1:1 menthol:camphor). Solvent displacement technique was used to prepare this system. NR was dissolved into diethyl ether (DE) prior to mixing with the above liquids individually then the DE was evaporated and NR was dispersed in that liquid. This technique was successful for coconut oil, eucalyptus oil, olive oil, sesame oil, sesame oil, ethyl oleate, isopropyl myristate, light mineral oil and 1:1 menthol:camphor. The increasing NR concentration apparently increased the viscosity of the liquid. However NR could dissolve directly in 1:1 menthol:camphor which its viscosity increased with NR concentration dependence. Apparent high amount of azithromycin and ibuprofen could dissolve in this eutectic mixture and an addition of NR could successfully sustain the drug release. The developed azithromycin systems could inhibit *Staphylococcus aureus* ATCC 6853P, *Streptococcus mutans* ATCC 27175 and *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 therefore they exhibited the potential use for periodontitis treatment. This investigation could develop the extended oily NR liquid as drug delivery systems by dissolving NR and drug in eutectic mixture.

ความเป็นมาและความสำคัญของเรื่อง

ผู้วิจัยสนใจศึกษาว่ามีน้ำมันและของเหลวที่ไม่ใช่น้ำมันชนิดใดบ้างที่นิยมใช้ทางเภสัชกรรม ที่สามารถเป็นตัวกลางที่ย่างพาราชนิดหนึ่งสามารถกระจายตัวได้ โดยการละลายอย่างหนึ่งในสารทำละลายชนิดที่ละลายอย่างหนึ่งได้และระเหยจากระบบได้อย่างรวดเร็วเพราะมีจุดเดือดต่ำ รวมทั้งสามารถละลายน้ำมันและของเหลว ที่เลือกใช้ได้ด้วย หลังจากนั้นทำการระเหยสารทำละลายนั้นออกไป ซึ่งหากจะเก็บสารทำละลายดังกล่าวกลับมาใช้ใหม่ก็สามารถทำได้ ภายหลังการระเหยระบบที่ย่างพาราสามารถกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันได้จะนำมาประเมินสมบัติด้านต่างๆ คือ ความหนืด การยืดและแผ่เป็นฟิล์ม และทดลองบรรจุยาสองชนิดที่น่าสนใจคือยา ibuprofen เพื่อทดสอบการนำส่งผ่านทางผิวหนัง และ azithromycin เพื่อทดลองนำส่งเป็นยาฆ่าเชื้อโรค เช่น เชื้อแบคทีเรียก่อโรค periodontitis รวมทั้งศึกษากลไกการควบคุมการปลดปล่อยยาโดยพิตข้อมูลการปลดปล่อยยากับโมเดลการปลดปล่อยยารูปแบบต่างๆ ได้แก่ zero order, first order, Higuchi's และ power law equation เพื่ออธิบายการควบคุมการปลดปล่อยจากระบบของเหลวที่คล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพารา จากการวิจัยคาดว่าจะได้ข้อมูลของน้ำมันหรือของเหลวที่ใช้ทางเภสัชกรรมที่ย่างพาราสามารถมีความเข้ากันได้และสามารถกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันได้ สามารถพัฒนาวิธีการเตรียมด้วยเทคนิคการแทนที่สารทำละลายตัวกลางสำหรับกระจายยางพาราให้อยู่ในรูปสารละลาย ซึ่งอาจนำไปใช้เป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์อย่างหนึ่งในอุตสาหกรรมอื่นๆได้ต่อไป จากโครงการจะพัฒนาจนได้ผลิตภัณฑ์ระดับห้องปฏิบัติการของของเหลวที่คล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาโดยเริ่มจากสองแนวทางก่อนคือการนำส่งยาทางผิวหนังเพื่อรักษาอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อและเป็นวัสดุนำส่งยาฆ่าเชื้อแบคทีเรียในช่องฟันเพื่อรักษาโรค periodontitis

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาเทคนิคการเตรียม ส่วนประกอบ และทราบข้อมูลสมบัติกายภาพและเคมีของของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพารา

ทฤษฎี แนวคิดในการทำวิจัย และผลงานที่เกี่ยวข้อง

ยางธรรมชาติมีสมบัติหลายประการที่ได้รับความสนใจ เช่น มีความสามารถในการยืดหยุ่นและโค้งงอสูง และเป็นสารกึ่งฟิล์มได้ (1) จึงมีการนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายเช่น ใช้ทำถุงมือ ถุงยางอนามัย บอลลูก และ การประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ เป็นต้น ในทางเภสัชกรรมมีการนำยางพารามาใช้ในระบบนำส่งยาโดยการบรรจุโปรตีน bovine serum albumin (BSA) ลงในสารละลายยางพาราเพื่อนำทางในการสร้างกระดูกด้วยการควบคุมการปลดปล่อย BSA เป็นเวลา 18 วัน (2) นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมการปลดปล่อยยา metronidazole จากเมทริกซ์ฟิล์มได้เป็นเวลา 310 ชั่วโมง (3) กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ยางมักมีความจำเป็นต้องใช้สารประเภทน้ำมันเป็นส่วนผสมในสูตรเคมียาง เพื่อช่วยปรับลดความหนืดของยางคอมพาวด์ในกระบวนการผสม ทำให้แปรรูปได้ง่ายขึ้น ผสมสารตัวเติมเข้าไปในยางได้เร็วขึ้นและกระจายตัวในยางได้ดีขึ้น อีกทั้งช่วยให้เติมสารตัวเติมเข้าไปในยางได้ในปริมาณที่มากขึ้นด้วย ส่งผลให้ยางวัลคาไนซ์มีสมบัติบางประการที่ดีขึ้น เช่น ค่าการยืดตัว ณ จุดขาด (elongation at break) นอกจากนี้ อีกวัตถุประสงค์ของการใช้น้ำมันในยาง คือ ใช้เพื่อเพิ่มความแข็งแรงของยางวัลคาไนซ์ลดลง ซึ่งการใช้น้ำมันในกรณีหลังนี้จำเป็นต้องใช้ปริมาณน้ำมันมากกว่าในกรณีแรก น้ำมันที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมยางในปัจจุบัน ได้แก่ น้ำมันแร่ (mineral oils) หรือน้ำมันที่ได้จากปิโตรเลียม เนื่องจากมีราคาถูกสามารถเข้ากับยางได้หลายชนิด การเลือกใช้น้ำมันชนิดใดนั้นจำเป็นต้องพิจารณาให้เหมาะสมกับชนิดของยาง

น้ำมันควรจะมีค่าการละลายใกล้เคียงกับยาง เพื่อให้ผสมเข้ากับยางได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามน้ำมันแร่ได้รับความนิยมน้อยลงและไม่ได้รับการยอมรับให้ใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในประเทศยุโรป

การศึกษาการเตรียมระบบนำส่งยาทางผิวหนังในรูปแบบฟิล์มยางพาราที่เติมสารเพิ่มการดูดซึมยาต่างๆ คือ oleic acid, isopropyl palmitate, propylene glycol และ olive oil มีความเข้ากันได้กับยางพาราที่เตรียมจากน้ำยางเข้มข้น โดยสารเหล่านี้มีผลลดค่า young's modulus และ elongation at break มีค่าลดลง ยกเว้นฟิล์มที่มีการเติม isopropyl palmitate 10 และ 15 phr ส่วนการยึดติดมีแนวโน้มลดลงเมื่อสารเพิ่มการดูดซึมมากขึ้น (4) สารกลุ่ม polyaromatic hydrocarbon-rich extender oil ได้ถูกต่อต้านในการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ยาง ทำให้มีความพยายามนำน้ำมันที่มาจากแหล่งธรรมชาติมาใช้ทดแทนมากขึ้น เช่น neem oil และ kurunj oil ซึ่งทำให้สมบัติความต้านทานต่อการขัดถู (abrasion resistance) ดีขึ้น (5-7) นอกจากนี้ยังมีการนำ rice bran oil มาใช้ในกระบวนการวัลคาไนซ์ด้วย sulphur อีกด้วย (8) ของเหลวที่มีการใช้ทางเภสัชกรรม เป็นสารทำละลายที่เดิมเพื่อเพิ่มการละลายของยา หรือลดการสลายตัวของยาอันเกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เป็นกระสายยาที่สามารถผสมเข้ากับน้ำได้ดี กระสายยาที่นิยมใช้ได้แก่ ethyl alcohol ใช้เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายของตัวยา นอกจากนี้ยังมี propylene glycol ใช้ได้ในปริมาณสูง เนื่องจากมีพิษต่ำ สามารถถูกทำลายได้อย่างรวดเร็วในร่างกาย ทนความร้อนได้สูงหรือ glycerin นอกจากนี้ยังมีกระสายยาอื่นๆ ได้แก่ dioxolanes, dimethyl acetamide, N-(B-hydroxyethyl)-lactamide และ butylenes glycol (9,10) นอกจากนี้ยังมีกระสายยาที่ไม่สามารถกระจายเข้าเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ ได้แก่ น้ำมันชนิดต่างๆ เช่น fixed oil, ethyl oleate, isopropyl myristate และ benzyl benzoate น้ำมันที่ใช้ต้องผ่านการตรวจสอบหา mineral oil เนื่องจากเป็นน้ำมันที่ไม่สามารถถูกเมตาบอไลต์ได้ โดยน้ำมันที่นำมาใช้เป็นกระสายยาคควรมีค่า saponification อยู่ในช่วง 185-200 และค่าไอโอดีนอยู่ในช่วง 79-128 ทั้งนี้เพื่อควบคุมไม่ให้มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากเกินไป ซึ่งจะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อ สำหรับน้ำมันพืชที่นิยมใช้ ได้แก่ น้ำมันถั่วลิสง (peanut oil หรือ arachis oil) น้ำมันข้าวโพด (corn oil หรือ maize oil) น้ำมันเมล็ดฝ้าย (cotton seed oil) น้ำมันมะกอก (olive oil) และน้ำมันงา (sesame oil) โดยพบว่าน้ำมันถั่วลิสงจะมีความหนืดเพิ่มขึ้นเมื่อสัมผัสกับอากาศ และทำให้เกิดการเหม็นหืน สำหรับน้ำมันที่นิยมใช้มากที่สุด คือน้ำมันงา เพราะมีความคงตัวสูงสุด และมีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ (9,10) การนำของเหลวที่ใช้เป็นสารทำละลายทางยาหรือเป็นกระสายยา เพื่อเป็นตัวกลางสำหรับให้ยางพารากระจายตัวยังไม่มีรายงานมาก่อนและมีความน่าสนใจในสมบัติของระบบที่ได้ ซึ่งหากสามารถเพิ่มความสามารถในการแผ่ตัวของของเหลวจากความหนืดที่เพิ่มขึ้นจากการมียางพาราจะทำให้ครอบคลุมพื้นที่การนำส่งยาและน่าจะทำให้ควบคุมการปลดปล่อยยาให้ยาวนานขึ้นได้ด้วย

เนื่องจากจุดหลอมเหลวของสารส่งผลต่อการดูดซึมยาได้ การทำให้ยามีจุดหลอมเหลวลต่ำลง เช่นการเกิด eutectic ย่อมมีผลให้การดูดซึมยาดีด้วย โดยการเกิด eutectic ยับยั้งการเกิดผลึกสาร ทำให้จุดหลอมเหลวลต่ำลง การที่สารมีจุดหลอมเหลวลต่ำลงใกล้เคียงหรือต่ำกว่าอุณหภูมิผิวหนังจะเพิ่มการละลายของยาได้ สารที่สามารถเกิด eutectic ได้ เช่น ibuprofen-terpene, propranolol-fatty acid, และ lignocaine-menthol (11) การใช้ระบบ eutectic ที่ประกอบด้วย menthol-camphor สามารถเพิ่มการซึมผ่านของสารเข้าสู่สมองหนูทดลองได้ดีกว่าการใช้สารเดี่ยว หรือการใช้ร่วมกับ menthol หรือ camphor อย่างเดียว (12) การใช้ระบบ eutectic ในการละลาย captopril ในการเตรียมยาเม็ดทำให้ยาเม็ดมีตัวยาระบายตัว (content uniformity) อย่างสม่ำเสมอ และมีการดูดซึมยาที่ดีผ่านลำไส้ส่วน ileum ของหนูทดลอง (13,14) การใช้ eutectic ที่ประกอบด้วย menthol-camphor สามารถเพิ่มการซึมผ่านผิวหนังสัตว์ทดลองของยา fluconazole และระบบที่ได้สามารถยับยั้งเชื้อราได้ดี (15) การใช้สารก่อฟิล์มคือ ethyl cellulose และ eudragit RS 100 ในการนำส่งยา fluconazole ทางผิวหนังในรูปแบบสเปรย์ โดยใช้ระบบ eutectic ที่ประกอบด้วย camphor-menthol ดำรับที่พัฒนาแล้วให้ฟิล์มภายหลังการสเปรย์ที่ยึดหยุ่นและติดผิวหนัง และระบบ

eutectic ช่วยส่งเสริมการซึมผ่านของยาผ่านคราบงู และตำรับมีความคงตัวค่อนข้างดี (16) ดังนั้นเนื่องจากสมบัติของระบบ eutectic mixture ที่เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้องจึงมีศักยภาพในการเป็นของเหลวตัวกลางในการกระจายยาทางพาราได้เช่นกัน และน่าจะช่วยส่งเสริมให้ละลายตัวยาคิดดีขึ้นในระบบที่พัฒนาขึ้นเพื่อนำส่งยาทางผิวหนัง

โรคปริทันต์อักเสบเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Porphyromonas gingivaris*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* และ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* เป็นต้น ซึ่งสามารถรักษาได้ด้วยการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ รวมถึง azithromycin ซึ่งในปัจจุบันมีการศึกษาการใช้ azithromycin ในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบและจากผลการศึกษาพบว่าสามารถรักษาโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยได้ (17) เนื่องจาก azithromycin เป็นยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง และจากการทดสอบในหลอดทดลอง พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบได้ดี (18) สามารถสะสมในเนื้อเยื่อปริทันต์ได้มากกว่าและมีค่าครึ่งชีวิตยาวกว่ายา doxycycline ซึ่งเคยใช้เป็นยาที่นิยมใช้รักษาโรคปริทันต์อักเสบ หลักในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบคือการกำจัดจุลินทรีย์ กรณีที่ผู้ป่วยมีร่องปริทันต์ลึกจะทำให้การรักษาด้วยการขูดหินปูนและการเกลารากฟันไม่สะดวก จึงมีการนำยาไปยังเชื้อแบคทีเรียมาใช้ประกอบ (19,20) แต่การให้ยาโดยการรับประทานจะต้องใช้ยาในขนาดสูงเพื่อให้ยาดูดซึมได้เพียงพอต่อการออกฤทธิ์ การนำส่งยาโดยตรงยังร่องลึกปริทันต์จะทำให้โอกาสที่ยาจะออกฤทธิ์กับเชื้อได้ดีขึ้นและใช้ยาในปริมาณที่ต่ำกว่าการรับประทาน และหากเลือกรูปแบบที่ยาค่อยๆปลดปล่อยจะทำให้ลดจำนวนครั้งของการบริหารยาได้ (21) ibuprofen เป็นยาแก้ปวดในกลุ่ม NSAIDs ใช้ในการลดไข้ แก้ปวด และแก้การอักเสบ ยามีการละลายน้ำที่น้อยคือ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่ 25 องศาเซลเซียส และมีจุดหลอมเหลวที่ 75-77 องศาเซลเซียส สลายตัวที่อุณหภูมิประมาณ 252 องศาเซลเซียส (22) จากสมบัติดังกล่าวจึงมีผู้สนใจนำยาเพื่อให้นำส่งผ่านทางผิวหนังอย่างมาก จากการศึกษาการเกิดพิษแบบเฉียบพลัน (acute toxicity) ของยางพาราในหนู rat โดยการป้อนให้กินของที่มีอาจารย์วิวัฒน์ พิษณุกร พบว่าให้ dose สูงสุดที่เขาทำการทดสอบกัน 15,000 mg/kg พบว่าไม่มีหนูตายหรือแสดงอาการผิดปกติใดๆ แสดงว่าไม่พบอาการพิษเฉียบพลัน สำหรับการย่อยสลายยางพาราจากธรรมชาติ (poly(cis-1,4-isoprene)) พบว่ามีเอ็นไซม์ของเอนไซม์ 2 ชนิดจากเชื้อแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถทำการย่อยสลายยางธรรมชาติได้ โดยพบเอ็นไซม์ของ *Xanthomonas* sp. 35Y, RoxA สามารถทำปฏิกิริยา dioxygenase กับ poly(cis-1,4-isoprene) ทำให้เกิด short-chain isoprenoid (23) ส่วน *Actinomyces* harbouring Lcp สามารถย่อย poly(cis-1,4-isoprene) ได้เป็น isoprenoid ที่มีความยาว isoprene 20 หน่วยได้ (24) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Streptomyces* strain La 7 สามารถย่อยสลายเส้นยางธรรมชาติได้ 30% ในระยะเวลา 70 วัน (25) สำหรับแบคทีเรียแกรมลบนั้นพบว่า *Pseudomonas aeruginosa* สามารถย่อยสลายยางธรรมชาติทั้งที่เป็นน้ำยางเข้มข้น น้ำยางที่ผ่านกระบวนการ vulcanized สำหรับทำถุงมือยาง หรือแม้แต่ cis-1,4-polyisoprene สังเคราะห์ได้อีกด้วย (26) ดังนั้นการนำยางพารามาประกอบในระบบนำส่งยาสำหรับยับยั้งเชื้อโรคจึงน่าจะทำให้ระบบมีโอกาสจะระบบนำส่งนี้จะสลายตัวได้ทางชีวภาพจากการย่อยสลายได้ด้วยเชื้อโรคด้วยซึ่งเป็นข้อดี อีกทั้งการเลือกใช้น้ำมันจากธรรมชาติเป็นของเหลวเพื่อกระจายยาในระบบน่าจะช่วยให้มีการสลายตัวของระบบเองได้ง่ายขึ้นอีกประการด้วย

ทางผู้วิจัยได้ศึกษาวิจัยเพื่อพยายามลดการเกิดไขของน้ำมันจากธรรมชาติชนิดหนึ่ง ซึ่งได้พบว่ามีพอลิเมอร์น้อยชนิดมากที่จะสามารถละลายในน้ำมันได้ สำหรับยางพาราเองหากจะละลายในน้ำมันจากธรรมชาติจะต้องใช้ความร้อนหรือใช้เวลาในการที่ยางจะยอมเข้าเป็นเนื้อเดียวกับน้ำมันนานมาก ทางผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเป็นการเบื้องต้นโดยอาศัยหลักการแทนที่สารทำละลาย พบว่าประสบความสำเร็จเป็นอย่างดีในการละลายยางในของเหลวที่ไม่ใช่น้ำมันและน้ำมันบางชนิด และระบบที่ได้ซึ่งเป็นของเหลวที่มีความหนืดมีสมบัติที่ยืดและแผ่ตัวได้ คล้ายฟิล์มที่พร้อมจะคลุมพื้นที่ที่ต้องการได้กว้าง อีกทั้งน้ำมันหรือของเหลวตัวกลางเหล่านี้น่าจะมีสมบัติเข้า

ได้กับร่างกายหรือใช้เป็นสารช่วยในทางเภสัชกรรม อีกทั้งบางชนิดที่เป็นน้ำมันจากธรรมชาติสามารถละลายตัวได้จึงน่าจะเห็นย่นำให้ยางพาราละลายตัวได้ง่ายขึ้น อีกทั้งจะทำให้ระบบมีองค์ประกอบเป็นสารจากธรรมชาติทั้งหมดซึ่งน่าสนใจในการนำมาใช้ร่วมกับร่างกายมนุษย์ และจากสมบัติที่ยึดตัวและแผ่เป็นแผ่นฟิล์มที่ใสและเหนียวจึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นระบบนำส่งยาได้ เนื่องจากสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาหรือสารออกฤทธิ์ให้ค่อยๆ ปลดปล่อยออกมาได้ และยังมีสมบัติที่อาจนำมาใช้เป็นกาบชีวภาพได้ในอนาคตอีกด้วย นอกจากนี้ไขมันและของเหลวที่กล่าวแล้ว ยังพบวาระบบ eutectic (สารสองชนิดที่มารวมกันแล้วมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่าสารเดี่ยวแต่ละชนิด) ยังสามารถกระจายยาได้อย่างดีด้วยซึ่งเป็นที่น่าสนใจเพราะระบบนี้ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ด้วยตัวสารเองได้ด้วย

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาว่าน้ำมันและของเหลวที่ไม่ใช่น้ำมันชนิดใดบ้างที่นิยมใช้ทางเภสัชกรรม ที่สามารถเป็นตัวกลางที่ยางพาราชนิดแห้งสามารถกระจายตัวได้ โดยการละลายยางแห้งในสารทำละลายชนิดที่ละลายยางแห้งนี้ได้และระเหยจากระบบได้อย่างรวดเร็วเพราะมีจุดเดือดต่ำ รวมทั้งสามารถละลายน้ำมันและของเหลว ที่เลือกใช้ได้ด้วย หลังจากนั้นทำการระเหยสารทำละลายนั้นออกไป ซึ่งหากจะเก็บสารทำละลายดังกล่าวกลับมาใช้ใหม่ก็สามารถทำได้ ภายหลังการระเหยระบบที่ยางพาราสามารถกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันได้จะนำมาประเมินสมบัติด้านต่างๆ คือ ความหนืด การยึดและแผ่เป็นฟิล์ม และทดลองบรรจุยาของชนิดที่น่าสนใจคือยา ibuprofen เพื่อทดสอบการนำส่งผ่านทางผิวหนัง และ azithromycin เพื่อทดลองนำส่งเป็นยาฆ่าเชื้อโรค เช่น เชื้อแบคทีเรียก่อโรค periodontitis รวมทั้งศึกษากลไกการควบคุมการปลดปล่อยยาโดยฟิตข้อมูลการปลดปล่อยยากับโมเดลการปลดปล่อยยารูปแบบต่างๆ ได้แก่ zero order, first order, Higuchi's และ power law equation เพื่ออธิบายการควบคุมการปลดปล่อยยาจากระบบของเหลวที่คล้ายน้ำมันที่ยึดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราจากการวิจัยคาดว่าจะได้ข้อมูลของน้ำมันหรือของเหลวที่ใช้ทางเภสัชกรรมที่ยางพาราสามารถมีความเข้ากันได้และสามารถกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันได้ สามารถพัฒนาวิธีการเตรียมด้วยเทคนิคการแทนที่สารทำละลายตัวกลางสำหรับกระจายยางพาราให้อยู่ในรูปสารละลาย ซึ่งอาจนำไปใช้เป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอื่นๆ ได้ต่อไป จากโครงการจะพัฒนาจนได้ผลิตภัณฑ์ระดับห้องปฏิบัติการของของเหลวที่คล้ายน้ำมันที่ยึดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาโดยเริ่มจากสองแนวทางก่อนคือการนำส่งยาทางผิวหนังเพื่อรักษาอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อและเป็นวัสดุนำส่งยาฆ่าเชื้อแบคทีเรียในช่องฟันเพื่อรักษาโรค periodontitis ระบบที่พัฒนาขึ้นมีศักยภาพในการพัฒนาต่อเพื่อใช้เป็นกาบชีวภาพหรือระบบนำส่งยาหรือสารสกัดจากสมุนไพรทั้งที่ผ่านผิวหนังหรือใช้ปกคลุมรักษาแผลที่ผิวหนัง เช่น แผลไฟไหม้น้ำร้อนลวก หรืออื่นๆ หากน้ำมันที่ใช้มีฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยจักเป็นการผสมผสานให้ได้ระบบที่น่าสนใจได้ด้วย ผลงานจากการวิจัยน่าจะมีศักยภาพในการจดเป็นอนุสิทธิบัตร รวมทั้งสามารถสร้างบุคลากรสายงานวิจัยผ่านนักศึกษาเภสัชศาสตร์สายวิทยาการทางเภสัชศาสตร์ที่สนใจงานวิจัยและพัฒนาเภสัชภัณฑ์

วิธีการศึกษา

สารเคมีและอุปกรณ์

สารเคมี

- 2-Pyrrolidone (lot no. A0257476, Acros Organics, New Jersey, USA)
- Azithromycin (Supplied by Government of Pharmaceutical Organization, Thailand)
- Benzyl benzoate (Pharmaceutical Traders Co., Ltd., Bangkok, Thailand)
- Brain Heart Infusion (BHI) (lot no. 0270845, Bacto™, USA)
- Brain Heart Infusion Agar (BHA) (lot no. 0298038, Bacto™, USA)
- Block natural rubber (STR 5L, Chalong Latex Industry Co., Ltd., Songkhla Thailand)
 - Dirt (retained on 44 # aperture) 0.007% w/w
 - Ash 0.21%w/w
 - Volatile matter 0.30%w/w
 - Nitrogen 0.40%w/w
 - Colour (Lovibond scale) 4.5
 - Initial wallacc plasticity 40.7 P0, range 39-43
 - Plasticity retention index 80.8 PRI
- Camphor (supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand)
- Castor oil (supplied by SR Lab Co., Bangkok, Thailand)
- Clove oil (Srichand United Dispensary Ltd. Partnership, Bangkok, Thailand)
- Cold-pressed coconut oil (Tropicana Oil Co., Ltd., Nakhon Pathom, Thailand)
- Dichloromethane (244777-P, Brightchem Sdn Bhd, Pulau Pinang, Malaysia)
- Diethyl ether (lot. K37B19, J.T. Baker, U.S.A.)
- Disodium hydrogen phosphate (AR grade, Batch No. AF405300, Ajax finechem Pty. LTD., New South Wales, Australia)
- Ethyl oleate (lot no. 1425705, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buch, UK)
- Eucalyptus oil (supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand)
- Eugenol (batch no. DK8521, supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand)
- Ibuprofen (batch no. IBU/0110/A-1296, P. C. Drug Center Co., Ltd., Bangkok, Thailand)
- Isopropyl myristate (Ake-Trong Chemical 1985 Co., Ltd., Bangkok, Thailand)
- Light mineral oil (supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand)
- Menthol (supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand)
- Methanol (HPLC grade) (HPLC grade, Batch No. 0000019710, Avantor Performance materials Inc., Pennsylvania, USA)
- N-methyl-2-pyrrolidone (Lot No. SZBB3010V, Sigma-Aldrich Co., Missouri, USA)
- Olive oil (lot no. L9126R H1336, Sino-Pacific Trading Co., Ltd., Bangkok, Thailand)
- Peppermint oil (P. C. Drug Center Co., Ltd., Bangkok, Thailand)
- Phosphoric acid 85% (MERCK™)
- Potassium chloride (AR grade, Batch No. 0912453, Ajax finechem Pty. LTD., New South Wales, Australia)

- Potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄) (AR grade, Lot No. P5104-1-1000, QREC Chemical CO., LTD., Chonburi, Thailand)
- Sodium hydroxide(NaOH) (AR grade, Batch No. 1188-04/05, P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand)
- Sesame oil (Namsiang Co., Ltd., Bangkok, Thailand)
- Silicone oil (batch no. 1104551, Ajax Finechem Pty Ltd, NSW, Australia)
- Sodium chloride (batch no. AF407256, Ajax Finechem, Bangkok, Thailand)
- Sulphuric acid (supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand)
- Teflon (PTFE) membrane 0.45 µm (Whatman®)
- Triacetin (lot no. MKBG3776V, Sigma Aldrich, MO, USA)
- Triethyl citrate (lot no. BCBBF0400, Sigma-Aldrich, MO, USA)
- Tetra ethylene glycol (batch no. 04322BJ, Aldrich, MO, USA)
- Tryptic Soy Agar (TSA) (lot no. 7341698, Difco™, USA)
- Tryptic Soy Broth (TSB) (lot no. 8091999, Difco™, USA)

เครื่องมือ อุปกรณ์

- Anaerobic incubator (Forma Anaerobic System, Thermo Scientific, Ohio, USA)
- Analytical balance (CP2245 Satorious, Germany and PA214 Ohaus, Ohaus Corporation, USA)
- Autoclave (Rexall model LS-2D, Rexall industries co., Ltd, Taiwan)
- Brookfield DVIII Ultra programmable viscometer (Brookfield Engineering Laboratories.Inc., USA)
- Dialysis tube (Spectra / Por[®] membrane MWCO: 6,000 - 8,000, lot no. 32644, Spectrum Laboratories, Inc., CAL, USA)
- Differential scanning calorimetry (DSC) (Pyris Sapphire DSC, Standard 115V, Perkin Elmer instruments, Japan)
- Filter set and membrane filter 0.45 µm
- Freeze dryer (Triad™, Labconco, Missouri, USA)
- Freezer -20°C (Sanden Intercool, Thailand), Freezer -80°C
- High performance liquid chromatography (HPLC) (1100 series, Agilent technology, Germany)
- HPLC column ACE[®] C18 (4.6 mm x 15 cm, Advanced Chromatography Technology, Scotland)
- Magnetic stirrer (IKA[®] RO10, IKA Works (Asia), Malaysia) and Magnetic bar
- Micropipette (2-20 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL, 1-5 mL) and micropipette tip
- Shaking incubator (Shel Lab, Sheldon Manufacturing, Inc., Oregon, USA)
- Sonication bath (Transsonic T890/H, Elma, New South Wales, Australia)
- Texture analyzer (Charpa Techcenter, Godalming, สหราชอาณาจักร micro Systems Ltd., UK)
- Thermogravimetric analyzer (TGA) (Pyris/TGA, PerkinElmer, USA)

Standard microbes

- *Staphylococcus aureus* ATCC 6853P
- *Streptococcus mutans* ATCC 27175
- *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพารา

1.1 การเตรียมสารละลายยางพารา

นำยางแท่ง STR 5L (Standard Thai Rubber 5 Light) ที่มีโปรตีนต่ำ โดยมีการวิเคราะห์สมบัติพื้นฐานของยางนี้แล้วมาชั่งน้ำหนักและเตรียมในรูปสารละลายในความเข้มข้น 1.25, 2.5, 3.75 และ 5 %w/w ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ dichloromethane (DCM) หรือ diethyl ether (DE) ทำการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาระดับความเข้มข้นของยางพาราชนิดแท่งที่ละลายในสารทำละลายอินทรีย์ดังกล่าวที่ยางพาราสามารถละลายได้และให้ความหนืดในระดับที่เหมาะสมในการทำการทดลองต่อไปโดยไม่ให้หนืดเกินไปจนปั่นผสมไม่ได้หรือเหลวเกินไปจนทำให้สิ้นเปลืองสารทำละลาย

1.2 การศึกษาการแทนที่ด้วยของเหลวทางเภสัชกรรม

ทำการผสมสารละลายยางพาราดังกล่าวกับน้ำมันและของเหลวชนิดต่างๆ ที่ไม่ใช่ไขมัน โดยมี 3 กลุ่มดังรายการ A, B และ C ด้านล่างนี้ ในปริมาณร้อยละ 3.75 โดยน้ำหนักที่เท่ากับเนื้อยางพาราในสารทำละลายแล้วทำการผสม สังเกตการเข้ากันได้หรือการแยกตัวภายหลังการปั่นระเหยสารทำละลายเป็นเวลา 24 ชม

- A. Natural oil (olive oil, sesame oil, coconut oil, eugenol, peppermint oil, castor oil, clove oil และ eucalyptus oil)
- B. Synthesis oil และของเหลวอื่นที่ไม่ใช่ไขมัน (triacetin, Triethyl citrate, Isopropyl myristate, light mineral oil, ethyl oleate, benzyl benzoate, N-methyl pyrrolidone (NMP), N-pyrrolidone, silicone oil และ tetra glycol)
- C. Eutectic mixture (menthol:camphor)

1.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณยางพาราในระบบ

คัดเลือกระบบที่ยางพาราสามารถกระจายตัวเป็นสารละลายใสได้เพื่อเพิ่มปริมาณยางพาราลงไปอีก ในปริมาณเนื้อยาง เป็น 1.25, 2.5, 3.75 และ 5%w/w แล้วนำมาศึกษาเปรียบเทียบการยืดและแผ่เป็นฟิล์มเหนียว รวมทั้งแรงการยืดติด probe ของเครื่อง texture analyzer รวมทั้งระยะที่ฟิล์มยืดไปได้ รวมทั้งทำการเก็บระบบที่มีความเข้ากันได้ไว้เพื่อทำการเปลี่ยนแปลงความหนืด สภาวะการทดสอบด้วย texture analysis (Charpa Techcenter, Godalming, สตารางที่ micro Systems Ltd., UK) ซึ่งใช้ probe ชนิด P/20 ; 20mm DIA CYLINDER ALUMINIUM มี Contact Area 314.66 mm² (n=5)

2. เตรียมของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราที่บรรจุด้วยยาสำคัญ

คัดเลือกระบบที่ให้ความหนืดที่คงที่ไม่เปลี่ยนแปลงไป มาใช้บรรจุยา ibuprofen และ azithromycin โดยศึกษาปริมาณที่สามารถบรรจุยาได้ และประเมินระบบที่ได้ด้วยวิธีการข้างต้น ดังวิธีในข้อ 1.2-1.3 และศึกษาเพิ่มเติมคือการศึกษาระบบนำส่งยา Ibuprofen จากระบบที่เป็นของเหลวมีความหนืด โดยทุกระบบจะกำหนดให้มีปริมาณยางแท่งประมาณ 3.75 % และจะเปลี่ยนแปลงปริมาณยา Ibuprofen ให้มีทั้งหมด 4 ความเข้มข้นคือ 3.5 , 7 , 15 และ 20 % และมี control อีก 2 ตำรับ และศึกษาการเติม N-methyl pyrrolidone (NMP) ลงในตำรับคาดว่าจะช่วยในการปลดปล่อยยา โดยการศึกษานี้ได้ทดลองเปรียบเทียบทั้งหมด 4 สูตร โดยเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ NMP

ในสูตรในปริมาณ 10, 20, 30, 40 %w/w กลุ่มควบคุมที่ใช้ได้แก่ Ibuprofen 7%w/w ในส่วนประกอบที่เป็นยางแท่ง 3.75%w/w ใน Eutectic (C3) และ Ibuprofen 7%w/w ใน Eutectic (C4) รวมทั้งได้ใช้ Cremophor ช่วยในการปลดปล่อยยา โดยการใช้ Cremophor 10%w/w และเติม NMP 40%w/w โดยทั้งใช้ Ibuprofen 7%w/w ยางแท่ง 3.75%w/w และใช้ Eutectic ปรับปริมาตรให้เต็ม จากการศึกษการละลายยา Azithromycin ในยางพาราโดยใช้ระบบน้ำมัน ซึ่งต้องนำยางพาราละลายใน DE ก่อนแล้วจึงนำมาผสมกับยาและน้ำมัน ดังนั้นการศึกษานี้จึงเลี่ยงการใช้ DE ซึ่งเป็น Organic Solvent แต่ใช้ระบบ Eutectic คือ Menthol:camphor 1:1 แทน เนื่องจาก Azithromycin และยางแท่ง สามารถละลายใน Eutectic ได้ ซึ่งได้ทดลองเปรียบเทียบทั้งหมด 4 สูตร โดยความเข้มข้นของยาในสูตร คือ 3.5, 7, 15, 20% นำตัวอย่างแต่ละสูตรไปประเมิน ความหนืดด้วย Brookfield DVIII Ultra programmable viscometer (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., USA) โดยใช้เข็มเบอร์ 41 โดยวัดที่อุณหภูมิห้อง (25°C) (N=3) และสมบัติเชิงความร้อน และการปลดปล่อยยาโดยวิธีการต่างๆ ดังนี้

2.1 สมบัติเชิงความร้อน

นำระบบที่เตรียมได้มาวิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อนด้วยวิธี differential scanning calorimetry ในช่วงอุณหภูมิ -100 ถึง 180 องศาเซลเซียส และ thermogravimetric method (TGA) ในช่วงอุณหภูมิ 25 ถึง 600 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่คาดว่าจะพบการเปลี่ยนแปลงทั้งการหลอมเหลวและการสลายตัวได้ โดยบรรจุสารใน pan ในปริมาณ 10 mg ก่อนการทดสอบ

2.2 ศึกษาการปลดปล่อยยาและกลไกการควบคุมการปลดปล่อยยา

สำหรับการศึกษาการปลดปล่อยยา ibuprofen ทำการวิเคราะห์ยานี้โดยใช้วิธี HPLC โดยศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยยาด้วยเครื่อง franz diffusion cell โดยใช้ Teflon membrane ที่มีขนาด pore size 0.45 μm และใช้ตัวกลางที่เป็น phosphate buffer pH 7.4 ที่มี tween 20 ความเข้มข้น 2%w/v ที่อุณหภูมิร่างกาย และสำหรับการปลดปล่อยยา azithromycin ศึกษาด้วยวิธี dialysis method โดยใช้ dialysis tube (Spectra / Pore membrane MWCO: 6,000 - 8,000, lot no. 32644, Spectrum Laboratories, Inc., CAL, USA) ในตัวกลาง phosphate buffer pH 6.8 ซึ่งเป็น pH ของร่องฟัน โดยตัวกลางนี้ได้เติม tween 20 ปริมาณ 2%w/v ด้วย ทำการเขย่าด้วยความเร็วรอบ 50 รอบต่อนาที ทำการสุ่มตัวกลางมาวัดหาปริมาณยาที่ปลดปล่อยโดยใช้เครื่อง HPLC (1100 series, Agilent technology, Germany) ดังรายละเอียดดังนี้

2.2.1 การวิเคราะห์การปลดปล่อย ibuprofen

วิเคราะห์หาปริมาณยาไอบูโพรเฟนด้วยวิธี HPLC (n=6) โดยใช้ C18 column โดย mobile phase ประกอบด้วย acetonitrile และ 0.01M Phosphoric acid อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร flow rate 1 มล/นาที วิเคราะห์ที่ช่วงความยาวคลื่น 220 nm โดยฉีดปริมาณตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ทำการวิเคราะห์หาสมการมาตรฐานในช่วงความเข้มข้น 5-120 ไมโครกรัม/มล และ 0.2-1.2 มก/มล สมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค คือ $y = 43.91x + 18.377$ โดยมีค่า r^2 0.9999 ข้อมูลการปลดปล่อยยาต่อพื้นที่นำมาพิตกับสมการของ Higuchi's

2.2.2 การวิเคราะห์การปลดปล่อย Azithromycin

การเตรียม Calibration curve ของสารละลายยา Azithromycin โดยนำสารละลายที่ได้ไปวัด Peak Area ด้วยเครื่อง HPLC (1100 series, Agilent technology, Germany) โดยใช้ HPLC column ACE[®] C18 (4.6 mm x 15 cm, Advanced Chromatography Technology, Scotland) โดยสภาวะของการวัด คือ Stationary phase คือ Column C18 150x4.6 mm; Mobile phase คือ Methanol:Phosphate buffer pH 7.5 อัตราส่วน 80:20; Temperature: 50°C; Flow rate :2.0 mL/min; UV detector wavelength:210 nm โดยสมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค คือ $y = 0.8368x - 10.1$ และ r^2 คือ 0.9994 การศึกษาการปลดปล่อยยาจากตำรับด้วยวิธี Dialysis membrane method (ทำ 3 ซ้ำ) โดยชั่งตำรับปริมาณ 1 กรัม ลงใน Dialysis tube (MW cut off 6,000-8,000) และบรรจุในขวดแก้วที่มี Phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 100 mL หลังจากนั้นนำขวดไปเขย่าใน Shaking incubator (Shel Lab, Sheldon Manufacturing, Inc., Oregon, USA) อุณหภูมิ 37°C ความเร็วในการหมุน 50 rpm สุ่มตัวอย่างขึ้นมา 10 mL ที่แต่ละเวลา โดยเติม Phosphate buffer pH 6.8 คืนกลับไป 10 mL ในทุกตัวอย่างที่สุ่มและทุกครั้งที่ทำ การสุ่ม และวิเคราะห์ปริมาณยาที่ปลดปล่อยด้วยวิธี HPLC (n=6) ทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลการปลดปล่อยยาและโมเดลการปลดปล่อยยาต่างๆ ได้แก่ First order, Zero order, Powder law expression และ Higuchi's เพื่อหาโมเดลที่เหมาะสมที่สุดสำหรับข้อมูลการปลดปล่อยยาจากระบบที่เตรียมขึ้นด้วยโปรแกรม nonlinear computer programme, Scientist for Windows, version 2.1 และเปรียบเทียบความสามารถในการฟิต (goodness-of-fit) จากค่า coefficient of determination (r^2) และค่า model selection criteria (msc) ซึ่งหากมีค่าที่สูงแสดงว่าข้อมูลฟิตกับสมการนั้น ๆ ได้ดี

2.2 การยับยั้งเชื้อโรค

ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อโรค คือ *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* โดยวิธี cup agar diffusion method (n=3) ดังรายละเอียดวิธีการดังนี้

- วิธีเตรียมการเตรียมเชื้อ โดยนำเชื้อแต่ละชนิด มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว Brain Heart Infusion Broth (BHI) สำหรับเชื้อ *Streptococcus mutans* และ *Porphyromonas gingivalis* และ Tryptic Soy Broth (TSB) สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* บ่มในสภาวะไร้ออกซิเจนด้วยเครื่อง Anaerobic incubator (Forma Anaerobic System, Thermo Scientific, Ohio, USA)
- ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24-48 ชั่วโมง
- วิธีทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคของระบบโดยวิธี cup diffusion method เตรียม agar plate โดยใช้อาหาร Brain Heart Infusion Agar (BHI) สำหรับเชื้อ *Streptococcus mutans* และ *Porphyromonas gingivalis* และ Tryptic Soy Agar (TSA) สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากนั้นนำเชื้อที่เตรียมได้จากข้างต้น มาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้นของเชื้อแต่ละชนิดคือ 1×10^8 cfu/ml โดยเทียบกับ calibration curve จากนั้นนำ sterile swab จุ่มลงในเชื้อที่ทำการ dilute แล้ว หมุน swab กับผิวด้านในหลอดให้ swab พอหมาด ๆ แล้วจึงใช้ swab มาป้ายให้เป็น 3 ระบาย ให้เชื้อกระจายทั่วผิวหน้าอาหาร ปล่อยให้ผิวหน้าอาหารแห้งประมาณ 3-5 นาที ใช้ sterile forceps แล้วปล่อยให้เย็นจึงตัก cup มาวางบนผิวของอาหาร โดยที่จะวางในลักษณะที่ตรงข้ามกัน นำตัวอย่างและตัวควบคุมในปริมาตร 150 μ L หยดลงใน cup แต่ละอัน แล้วนำไปบ่มบ่มในสภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24-48 ชั่วโมง การแปลผลการทดสอบวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone ที่เกิดขึ้น โดยใช้หน่วยเป็น cm (n=3)

3 วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการทดลองต่างๆ ข้างต้น ด้วยสถิติ ANOVA

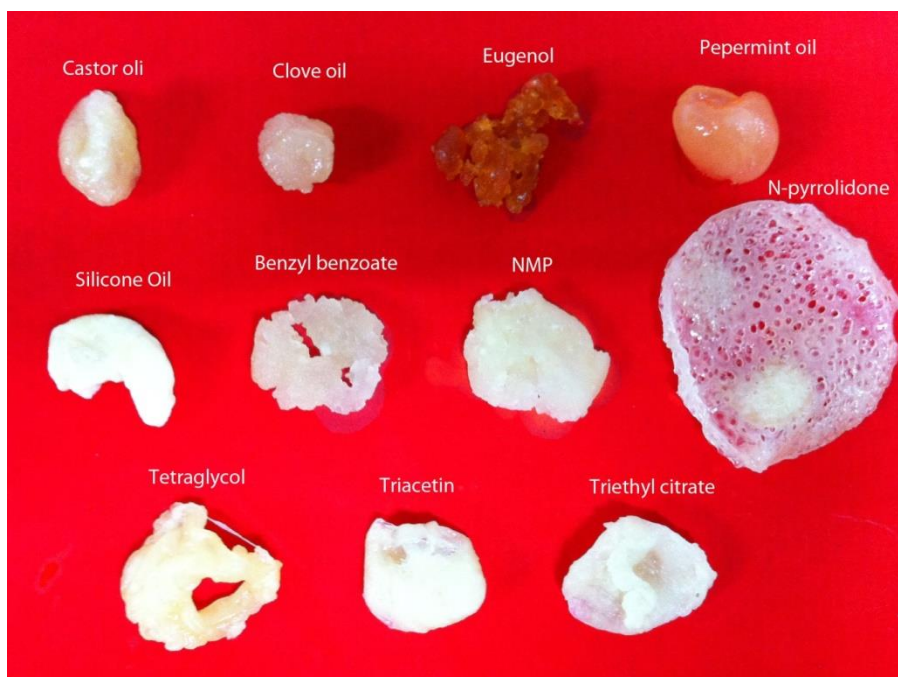
ผลการวิจัย

จากการเปรียบเทียบการละลายยางพารา (NR) ในความเข้มข้น 1, 2.5, 3.75 และ 5 %w/w ในตัวทำละลายคือ dichloromethane (DCM) และ diethyl ether (DE) พบว่าตัวทำละลายทั้งสองสามารถละลาย NR ได้ แต่เมื่อความเข้มข้น NR สูงมากกว่า 5%w/w พบว่าสารละลายที่ได้หนืดมากจนเทออกจากขวดได้ยากมาก และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใส่ตัวทำละลายทั้งสองชนิด การใช้ DE สามารถละลาย NR ได้เร็วกว่าและสารละลายที่ได้ไม่หนืดมากเกินไปและสามารถเทจากขวดได้ง่ายกว่าการใช้ DCM ดังนั้นการศึกษาต่อมาได้เตรียมสารละลาย NR ในความเข้มข้น 5%w/w ใน diethyl ether ในขวดที่มีฝาปิด ก่อนนำมาทดสอบเบื้องต้นในการผสมกับ light mineral oil และ eutectic mixture คือ menthol-camphor (1:1) ก่อน เพื่อให้ได้ NR ในน้ำมันเหล่านี้ในความเข้มข้น 1.25, 2.5, 3.75 และ 5 %w/w ภายหลัง DE ระเหยออกไปแล้ว โดยนำ light mineral oil หรือ eutectic mixture ปริมาณ 19.75, 19.5, 19.25 และ 19 g ผสมกับ NR 5, 10, 15 และ 20 g ตามลำดับ แล้วนำไปปั่นโดยใช้ magnetic bar ให้ solvent ระเหยออกให้หมดเป็นเวลา 24 ชม. ภายในตู้ดูดควัน จากการศึกษานี้ NR ความเข้มข้นที่ 3.75% (สารละลาย NR 15g) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมโดยระบบยังคงสามารถเทได้และไม่เหลวเกินไป หลังจากนั้นได้เปลี่ยนแปลง dispersing medium ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ natural oil (olive oil, sesame oil, coconut oil, eugenol, peppermint oil, castor oil, clove oil และ eucalyptus oil), synthesis oil และของเหลวอื่นที่ไม่ใช่น้ำมัน (triacetin, Triethyl citrate, Isopropyl myristate, light mineral oil, ethyl oleate, benzyl benzoate, N-methyl pyrrolidone (NMP), N-pyrrolidone, silicone oil และ tetraethylene glycol) และกลุ่ม eutectic mixture (1:1 menthol:camphor)

จากการผสมสารละลาย NR 5%w/w กับ dispersing medium ชนิดต่างๆ โดยเมื่อให้สารทำละลายระเหยไปแล้วและให้มีเนื้ออย่างกระจายในตัวกลางอยู่ในความเข้มข้น 3.75% พบว่า dispersing medium ที่ทำให้ส่วนผสมมีลักษณะภายนอกใสที่เป็นน้ำมันที่มาจากธรรมชาติได้แก่ coconut oil , eucalyptus oil , olive oil และ sesame oil แต่ sesame oil จะมีส่วนผสมที่มีสีเหลือง ส่วนที่มาจากสารสังเคราะห์ได้แก่ ethyl oleate , isopropyl myristate และ light mineral oil ส่วนที่เป็นระบบ Eutectic ได้แก่ 1:1 Menthol : camphor และเมื่อนำมาทดลองยืดดูพบว่าได้ลักษณะเป็นฟิล์มที่ยืดและแผ่ตัวได้ ดังรูปที่ 1 นอกจากนี้ยังพบว่า dispersing medium บางชนิดไม่สามารถผสมเข้ากับสารละลาย NR 5% w/w ได้ แต่เกิดการแยกตัวเป็นก้อน ลักษณะต่างๆ ดังรูปที่ 2 ซึ่งแบ่งเป็น dispersing medium ออกเป็น มาจากธรรมชาติได้แก่ eugenol, peppermint oil, castor oil และ clove oil ส่วนที่มาจากสารสังเคราะห์ได้แก่ triacetin, triethyl citrate, benzyl benzoate, N-methyl pyrrolidone (NMP), N-pyrrolidone, tetra glycol และ silicone oil จากการนำ light mineral oil ผสมกับ NR ความเข้มข้นต่างๆ ไปปั่นเพื่อระเหย solvent ออกหมดแล้ว และนำไปประเมินลักษณะทางกายภาพโดยการสังเกตความหนืดและความสามารถในการยืดทั้งแบบก่อนและหลังจากทิ้งไว้ 3 เดือน พบว่า สามารถผสมเข้ากันได้ทุกความเข้มข้น ส่วนความหนืดและความสามารถในการยืดเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ NR และเมื่อวัดหลังจากทิ้งไว้ 3 เดือนพบว่าทั้งความหนืดและความสามารถในการยืดลดลงเล็กน้อยเหมือนกันส่วนการทดลองที่ใช้ menthol:camphor(1:1) ยังคงให้ผลการประเมินเช่นเดียวกันกับ light mineral oil



รูปที่ 1 ฟิล์มยางพาราในระบบที่ใช้ olive oil เป็น dispersing agent



รูปที่ 2 การแยกตัวของยางพาราเมื่อทดสอบละลายยางพาราใน diethyl ether ลงในสารละลายต่างๆ

จากการนำ menthol:camphor(1:1) (E) หรือ light mineral oil (L) ผสมกับ NR (N) ในความเข้มข้นของยางพาราต่างๆ (EN : ระบบที่ประกอบด้วย E และ N และ LN : ระบบที่ประกอบด้วย L และ N โดยมี N ในความเข้มข้นต่างๆ) ไปปั่นเพื่อระเหย solvent ออกหมดแล้ว และนำไปประเมินความแข็งและการยึดติดของระบบโดยใช้ texture analyzer ซึ่งวัดทั้งหมด 3 ค่าได้แก่ Force 1 คือ แรงสูงสุด, Force 2 คือแรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัว probe และ Distance คือระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัว probe พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ NR มากขึ้น Force 2 จะเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน ส่วน Force 1 และ distance ของ menthol:camphor

(1:1) และ light mineral oil ก็ยังคงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ NR เช่นเดิม แต่ light mineral oil จะมีค่าที่เพิ่มขึ้นมากกว่า menthol:camphor (1:1) แสดงว่า light mineral oil เป็น dispersing medium ที่ทำให้ระบบสามารถยึดตัวได้ดี ดังแสดงในตารางที่ 1 จากการกำหนดความเข้มข้นของ NR ให้คงที่ที่ 3.75% แล้วนำไปผสมกับ dispersing medium ชนิดต่างๆ ที่สามารถผสมเข้ากับ NR ได้ และนำไปประเมินการยึดติด probe ของเจลโดยใช้ texture analyzer ซึ่งวัดทั้งหมด 3 ค่าเช่นกัน ผลดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า dispersing medium ที่ให้ Force 1 และ Force 2 มากที่สุด คือ coconut oil ส่วน dispersing medium ที่ให้ Distance มากที่สุดคือ menthol:ibuprofen แต่จากภาพรวมของ dispersing medium ทุกชนิด สรุปได้ว่า coconut oil เป็น dispersing medium ที่ให้ทั้ง Force 1, Force 2 และ distance มากที่สุด อย่างไรก็ตามการพิจารณาการนำน้ำมัน coconut มาใช้อาจพบปัญหาเรื่องการยอมรับของกลิ่นและการเห็นได้

ตารางที่ 1 Film extension force and distance (n=5)

(A)

EN	Force 1 (N)	Force 2 (N)	Distance (mm)
1.25	0.015 $\pm$ 0.000	0.006 $\pm$ 0.001	5.415 $\pm$ 0.366
2.5	0.017 $\pm$ 0.000	0.007 $\pm$ 0.001	5.737 $\pm$ 0.001
3.75	0.018 $\pm$ 0.001	0.007 $\pm$ 0.000	7.140 $\pm$ 0.007
5	0.017 $\pm$ 0.007	0.009 $\pm$ 0.007	9.276 $\pm$ 0.134

(B)

LN	Force 1 (N)	Force 2 (N)	Distance (mm)
1.25	0.015 $\pm$ 0.001	0.005 $\pm$ 0.001	5.472 $\pm$ 0.377
2.5	0.015 $\pm$ 0.001	0.006 $\pm$ 0.001	6.150 $\pm$ 0.041
3.75	0.019 $\pm$ 0.001	0.007 $\pm$ 0.001	11.229 $\pm$ 0.3763
5	0.023 $\pm$ 0.000	0.009 $\pm$ 0.008	12.246 $\pm$ 0.3161

หมายเหตุ: EN คือ ระบบที่ประกอบด้วย E และ N และ LN คือ ระบบที่ประกอบด้วย L และ N โดยมี N ในความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 2 Film extension force and distance of system containing 3.75%NR (n=5)

Solvent	Force 1 (N)	Force 2 (N)	Distance (mm)
Isopropyl myristate	0.016 $\pm$ 0.001	0.006 $\pm$ 0.001	6.334 $\pm$ 0.038
Coconut oil	0.024 $\pm$ 0.001	0.011 $\pm$ 0.001	11.414 $\pm$ 0.003
Menthol:ibuprofen	0.020 $\pm$ 0.002	0.008 $\pm$ 0.002	11.599 $\pm$ 0.004
Eucalyptus oil	0.015 $\pm$ 0.001	0.005 $\pm$ 0.001	5.250 $\pm$ 0.208
Sesame oil	0.016 $\pm$ 0.000	0.006 $\pm$ 0.000	5.817 $\pm$ 0.111
Olive oil	0.015 $\pm$ 0.001	0.006 $\pm$ 0.001	5.825 $\pm$ 0.020
Ethyl oleate	0.015 $\pm$ 0.001	0.005 $\pm$ 0.001	5.837 $\pm$ 0.004

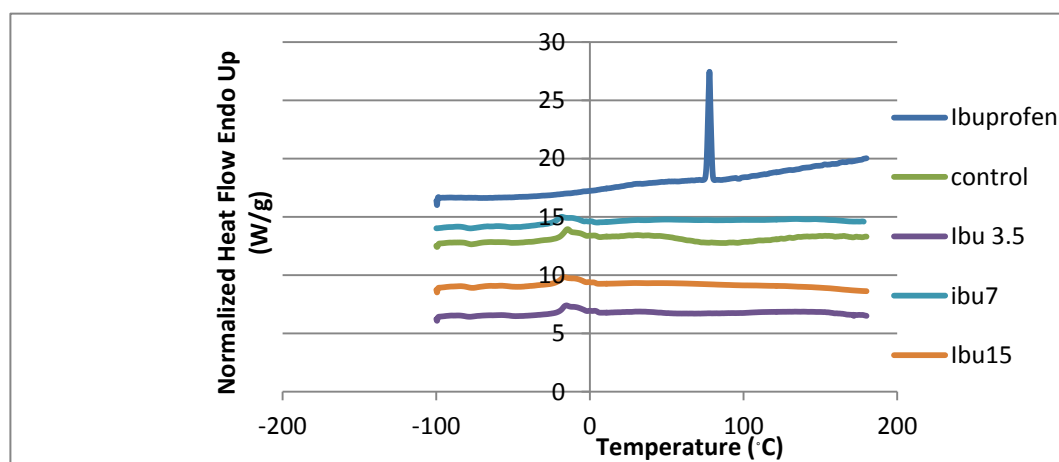
Force 1 คือแรงสูงสุด

Force 2 คือแรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัว probe

Distance 1 คือระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัว probe

จากการทดลองการหาค่าการละลายยา Ibuprofen ใน DE ซึ่งผลการทดลองที่ได้คือยานี้สามารถละลายได้ดีมากใน DE คือประมาณ 22 กรัมใน diethyl ether 20 กรัม ซึ่งจากผลการทดลองนี้ทำให้เลือกที่จะนำยา Ibuprofen มาละลายใน DE เนื่องจากมีค่าการละลายยาที่ดีเมื่อเทียบกับการละลายยาใน olive oil จากการทดลองหาค่าการละลายยา ibuprofen ใน olive oil ซึ่งผลการทดลองที่ได้คือ ยานี้ไม่สามารถละลายในน้ำมันนี้ได้ด้วยสถานะปกติ แต่หากมีการนำไปให้ความร้อนยานี้จะสามารถละลายได้หมดในน้ำมันชนิดนี้ ได้เป็นสารละลายใส แต่เมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 วัน ยาจะตกตะกอน จึงไม่เลือกนำ olive oil มาเป็นตัวทำละลายยาเนื่องจากยา มีการละลายที่ไม่ดี จากการศึกษางานด้านผู้วิจัยตัดสินใจเลือก eutectic mixture เพื่อเป็น dispersing medium เนื่องจากเป็นน้ำมันที่มีความนิยมใช้ทางเภสัชกรรม อีกทั้งให้สมบัติที่ดีโดยพบโดยบังเอิญว่า NR สามารถกระจายตัวได้ดี โดยไม่จำเป็นต้องใช้ DE หรือระเหย DE ออกไป สำหรับระบบ eutectic mixture ที่ประกอบด้วย menthol:camphor ในสัดส่วน 1:1 ซึ่ง NR สามารถกระจายตัวได้ดี ส่วนผสมที่สัดส่วน 1:1 นี้มีลักษณะเป็นน้ำมันที่มีความหนืดที่ต่ำ (27) ทำให้สามารถบรรจุสารอื่นลงไปอีกได้มาก ทั้งยาหรือยางพารา และส่วนผสมนี้ยังสามารถละลายยา ibuprofen รวมทั้ง azithromycin ได้ดี โดยสามารถบรรจุได้มากกว่า 15%w/w จึงได้นำมาใช้เป็น dispersing medium ในการศึกษาต่อไปด้วย จากการทดสอบแต่ละตำรับพบว่า ตำรับ Ibu3.5 ซึ่งมียา ibuprofen 3.5% ให้ค่าแรงสูงสุดในการดึง โดยแรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัว probe และ ระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากตัวมากที่สุด เนื่องจากตำรับ Ibu3.5 มีความหนืดมากที่สุด (ไม่ได้แสดงผลในส่วนนี้) แต่เมื่อปริมาณยาสูงขึ้นยานี้จะไปรบกวนความต่อเนื่องของระบบทำให้ความแข็งแรงลดลงและยึดตัวได้ต่ำลงตามปริมาณยาที่มากขึ้น

ผลการวิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อนของระบบที่ประกอบมียา ibuprofen ด้วย DSC (Differential scanning calorimetry) ผลที่ได้แสดงในรูปที่ 3 และตารางสรุปที่ 3 พบว่ายาเดี่ยวจะมีพีคดูดกลืนความร้อนของการหลอมตัวที่ชัดเจนที่ประมาณ 78°C ในขณะที่ระบบที่เตรียมขึ้นซึ่งมียา 3.5, 7 และ 15% ไม่พบพีคยาเกิดขึ้นแสดงได้ว่ายานี้กระจายตัวในตัวกลางคือ eutectic mixture ในลักษณะสารละลายซึ่งยากระจายอยู่ในระดับโมเลกุลในตัวกลางชนิดนี้ โดยมีการปรากฏพีคเล็กๆ ต่างๆ ชนิดการดูดความร้อนที่อุณหภูมิต่ำมากๆ และที่ประมาณ -15°C ซึ่งคล้ายคลึงกับของ eutectic mixture เท่านั้น ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางพลังงานของตัวกลางเช่นการเป็นสถานะจากของแข็งมาเป็นของเหลวจากปรากฏการณ์การเกิด eutectic mixture



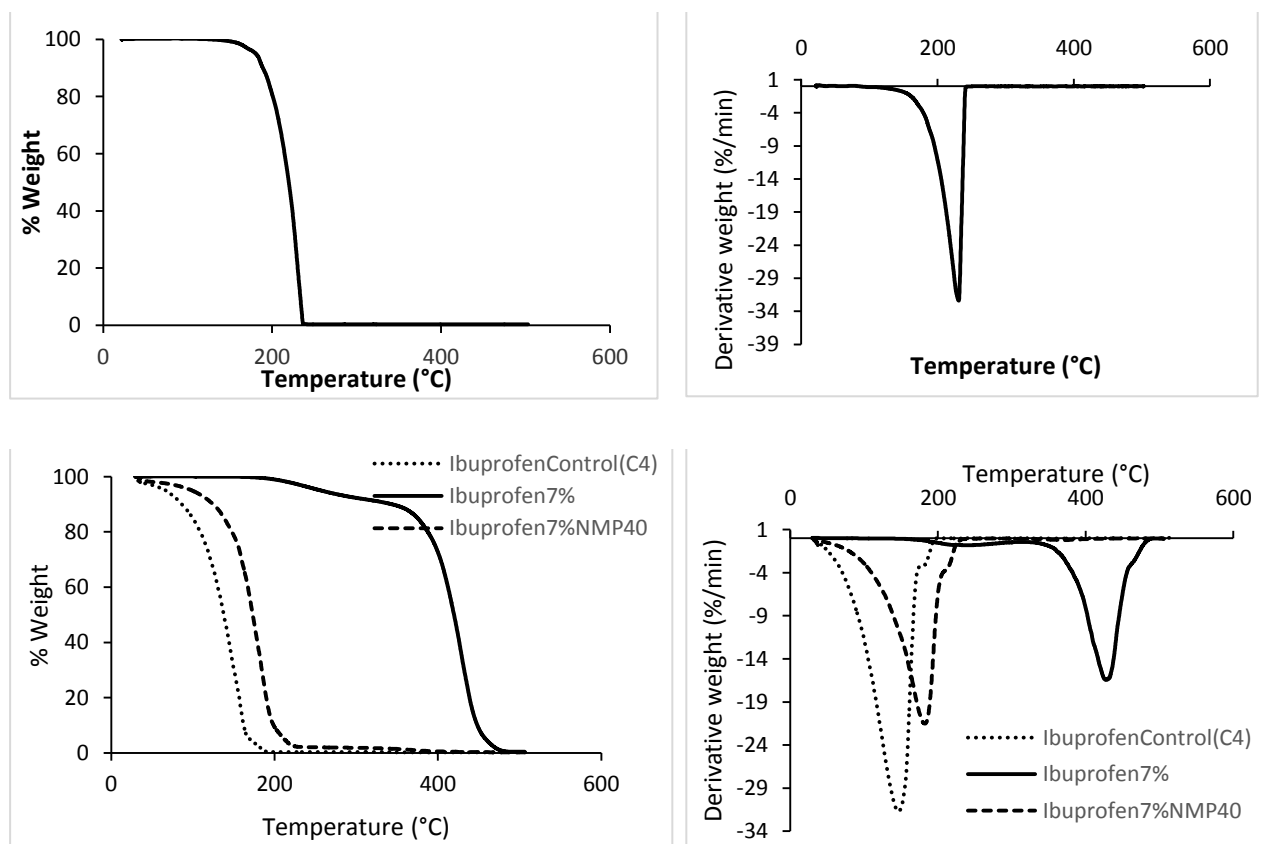
รูปที่ 3 DSC thermogram ของยา ibuprofen และระบบที่เตรียมขึ้นในความเข้มข้นต่างๆ จากการวิเคราะห์ด้วย DSC โดยการให้ความร้อนด้วยอัตรา 10°C/นาที โดยเริ่มจากอุณหภูมิห้องและทำให้เย็นลงไปที่ -100°C แล้วค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิจนถึง 180°C

ตารางที่ 3 อุณหภูมิและค่าพลังงานของพีคต่างๆ ของยา ibuprofen และระบบของเหลวที่เติมยานี้ในความเข้มข้นต่างๆ จากการวิเคราะห์ด้วย DSC โดยการให้ความร้อนด้วยอัตรา $10^{\circ}\text{C}/\text{นาที}$ โดยเริ่มจากอุณหภูมิห้องและทำให้เย็นลงไปที่ -100°C แล้วค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิจนถึง 180°C

Substances	Peak 1			Peak 2			Peak 3			Peak 4			Peak 5			Peak 6		
	Onset	Peak (°C)	Enthalpy	Onset	Peak	Enthalpy	Onset	Peak	Enthalpy	Onset	Peak	Enthalpy	Onset	Peak	Enthalpy	Onset	Peak	Enthalpy
	(°C)		(J/g)	(°C)	(°C)	(J/g)	(°C)	(°C)	(J/g)	(°C)	(°C)	(J/g)	(°C)	(°C)	(J/g)	(°C)	(°C)	(J/g)
Ibuprofen													75.712	77.833	123.48			
control buffer	-78.859	-76	0.626				-53.01	-50.5	46.421				63.264	84.5	-470.548	102.238	105.166	-709.119
control oil	-82.277	-77.167	-8.182				-54.502	-50.667	-4.568	-20.523	-14.667	71.37	14.196	45.5	84.821			
Ibu_3.5	-83.844	-78.167	-6.11	-83.747	-78.17	-18.925	-55.142	-48.334	-10.552	-20.724	-15.334	64.199	20.793	33.166	17.993			
Ibu_7	-81.393	-75.834	-8.469				-55.839	-43.667	-12.542	-22.472	-16.5	57.762	13.139	49.5	36.487			
Ibu_15	-82.491	-76.334	-8.173				-55.917	-45.334	-11.405	-22.506	-16.667	59.473	11.319	50.333	37.048			

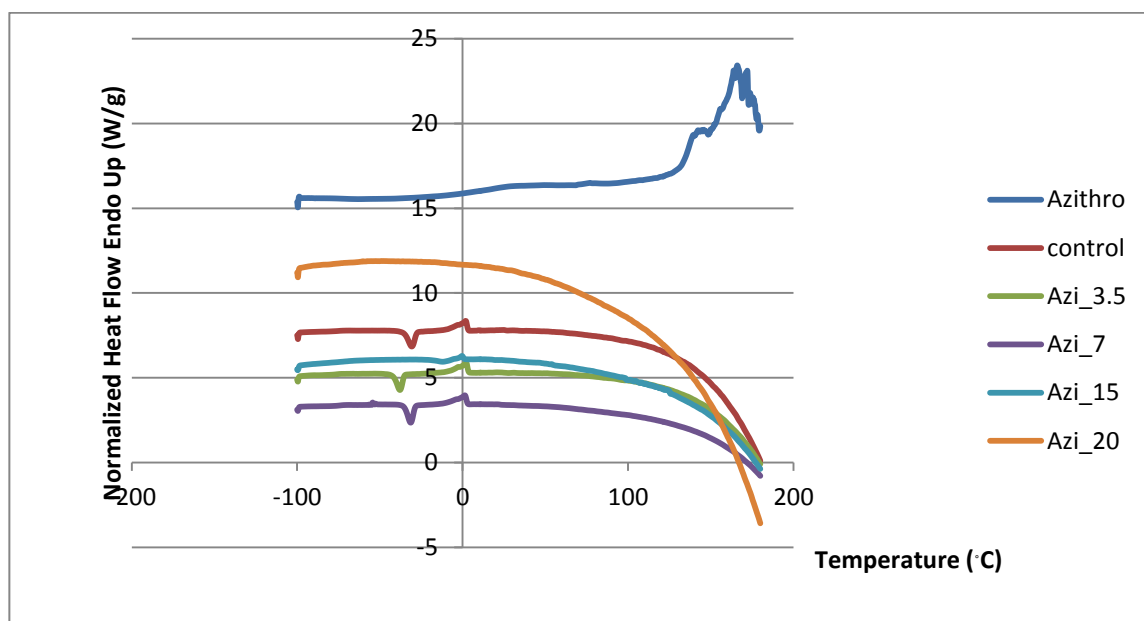
สำหรับการศึกษาด้วย thermogravimetric analysis (TGA)

ยา ibuprofen สลายตัวโดยมีพีคการสลายตัวสูงสุดที่อุณหภูมิประมาณ 210°C ส่วนตำรับที่เป็นตำรับควบคุมซึ่งไม่มียางพาราจะสลายตัวเร็วกว่าตำรับที่มีการเติมยางพาราอย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 4 ส่วนการเติม NMP ทำให้ความคงตัวลดลงและใกล้เคียงกับตำรับที่ไม่มียางพารา



รูปที่ 4 TGA และ DTGA ของ ibuprofen และระบบที่บรรจุยา ibuprofen

ผลการวิเคราะห์สมบัติเชิงความร้อนของระบบที่บรรจุยา azithromycin ด้วย DSC (Differential scanning calorimetry) ผลที่ได้แสดงในรูปที่ 5 และตารางสรุปที่ 4 พบว่ายาเดี่ยวมีพีคดูดกลืนความร้อนของการสลายตัวเริ่มที่ประมาณ 160°C ส่วนระบบที่เตรียมขึ้นซึ่งมียา 3.5, 7, 15 และ 20% ไม่พบพีคยาเกิดขึ้นแสดงว่ายานี้กระจายตัวในตัวกลางคือ eutectic mixture ในลักษณะสารละลายซึ่งยากระจายอยู่ในระดับโมเลกุลในตัวกลางชนิดนี้ โดยมีการปรากฏพีคเล็กๆ ต่างๆ ชนิดการคายความร้อนที่อุณหภูมิต่ำมากๆ และที่ประมาณ -15°C ซึ่งคล้ายคลึงกับของ eutectic mixture เท่านั้น ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางพลังงานของตัวกลางเช่นการเป็นสถานะจากของแข็งมาเป็นของเหลวจากปรากฏการณ์การเกิด eutectic mixture



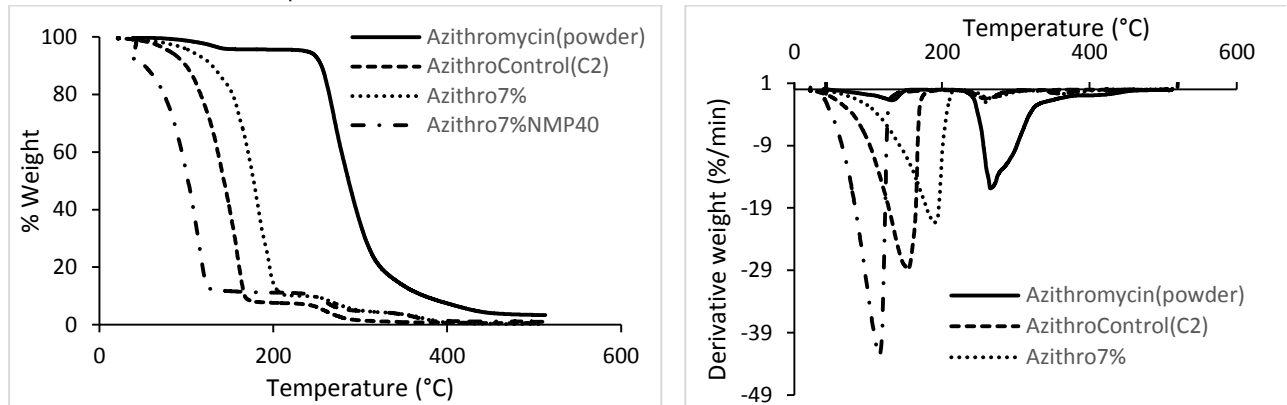
รูปที่ 5 DSC thermogram ของยา azithromycin และระบบที่เติมยานี้ในความเข้มข้นต่างๆ จากการวิเคราะห์ด้วย DSC โดยการให้ความร้อนด้วยอัตรา 10°C/นาทึ โดยเริ่มจากอุณหภูมิห้องและทำให้เย็นลงไปที่ -100°C แล้วค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิจนถึง 180°C

ตารางที่ 4 อุณหภูมิและค่าพลังงานของพีคต่างๆ ของยา azithromycin และระบบที่เติมยานี้ในความเข้มข้นต่างๆ จากการวิเคราะห์ด้วย DSC โดยการให้ความร้อนด้วยอัตรา 10°C/นาทึ โดยเริ่มจากอุณหภูมิห้องและทำให้เย็นลงไปที่ -100°C แล้วค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิจนถึง 180°C

Substances	Peak 1			Peak 2			Peak 3			Peak 4			Peak 5		
	Onset (°C)	Peak (°C)	Enthalpy (J/g)	Onset (°C)	Peak (°C)	Enthalpy (J/g)	Onset (°C)	Peak (°C)	Enthalpy (J/g)	Onset (°C)	Peak (°C)	Enthalpy (J/g)	Onset (°C)	Peak (°C)	Enthalpy (J/g)
Azithro										3.315	29	57.863	68.659	77.166	5.327
control				-35.342	-30.667	-28.748	-5.036	1.833	26.615						
Azi_3.5				-41.885	-37.834	-26.04	-3.35	2.166	28.261	-3.336	2.166	115.41			
Azi_7	-74.892	-71.5	2.606	-35.25	-31.334	-28.409	-5.574	1.333	24.874						
Azi_15				-19.712	-12	-8.927	-3.089	-0.334	3.144						

สำหรับการศึกษาด้วย thermogravimetric analysis (TGA)

ยา azithromycin สลายตัวโดยมีพีคการสลายตัวสูงสุดที่อุณหภูมิประมาณ 300 °ซ แสดงว่ามีความคงตัวต่อความร้อนสูงกว่ายา ibuprofen ส่วนตำรับที่เป็นตำรับควบคุมซึ่งไม่มียางพาราจะสลายตัวเร็วกว่าตำรับที่มีการเติมยางพาราอย่างชัดเจนเช่นกัน ดังแสดงในรูปที่ 6 รวมทั้งการเติม NMP ทำให้ความคงตัวลดลง ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับระบบที่บรรจุยา ibuprofen แสดงว่ายางพาราช่วยให้ระบบสลายตัวด้วยความร้อนน้อยลง



รูปที่ 6 TGA และ DTGA ของ azithromycin และระบบที่บรรจุยา azithromycin

การประเมินเมื่อนำตำรับทั้งหมดไปวัดความหนืด (Viscosity) และรูปแบบการไหล (Rheology)

จากตารางที่ 5 พบว่าตำรับ Ibu 3.5 มีความหนืดมากกว่ากลุ่มตำรับที่เติม NMP ส่วนกลุ่มตำรับที่เติม NMP เป็นตำรับที่ใช้ระบบ eutectic เป็น solvent ในการละลายยางแท่ง ทำให้ตำรับ Ibu3.5 มีความหนืดมากกว่า และจากกลุ่มที่เติม NMP ในตำรับพบว่า เมื่อปริมาณของ NMP มากขึ้นความหนืดของตำรับจะลดลงตามลำดับ ส่วนตำรับ C3 ความหนืดมากกว่าตำรับ C4 เนื่องจากตำรับ C3 คือตำรับที่ไม่เติม NMP ส่วนตำรับ C4 คือตำรับที่ไม่เติม NMP และไม่เติมยางแท่ง ส่งผลให้ตำรับ C4 มีความหนืดน้อยกว่าตำรับ C3 จากผลที่ได้แสดงว่า NMP มีผลรบกวนการยึดสายโซ่โมเลกุลของยางพารา โดยจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) และตำรับที่มีการเติม NMP ทั้งหมดมีความหนืดภายหลังเก็บไว้เป็นเวลา 6 เดือนน้อยกว่าก่อนเก็บโดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เนื่องจาก NMP ไม่ได้เป็นสารทำละลายที่ดีเหมือนกับระบบ eutectic ดังจะเห็นได้จากการแยกตัวของยางพาราใน dispersing agent ที่เป็น NMP ก่อนหน้านั้นหลังจากการระเหย DE ออกไปซึ่งยางจะจับตัวเป็นก้อน ดังนั้นจึงควรระวังการใช้ NMP ในตำรับที่มียาง แม้ว่า NMP จะเป็นสารทำละลายที่ดีทางเภสัชกรรม และมีความเข้าได้กับร่างกาย และช่วยให้สารดูดซึมได้ดีขึ้นก็ตาม (28-30) สำหรับตัวยาพื้นและตำรับที่เติมเฉพาะยายังคงมีความหนืดค่อนข้างคงที่โดยเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างความหนืดหลังการเตรียมและภายหลังการเก็บไว้ 6 เดือน

ทุกตำรับมีการไหลแบบ Newtonian คือ ความหนืดมีค่าคงที่ ไม่ขึ้นกับอัตราเร็วในการไหลของของเหลวนั้น จากการทดสอบแต่ละตำรับ พบว่าตำรับ Ibu3.5 ให้ค่าแรงสูงสุดในการดึง โดยแรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัว probe และ ระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัวมากที่สุด เนื่องจากตำรับ Ibu3.5 มีความหนืดมากที่สุดดังตารางที่ 6

ตารางที่ 5 ความหนืดของแต่ละตำรับก่อนและหลังการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน (n=3)

Sample	Viscosity (cps)	
	Mean±SD	
	Before	After
NMP10	491.67±7.02	422.91±3.49
NMP20	326.37±2.22	310.41±5.82
NMP30	215.30±4.25	202.72±6.20
NMP40	145.87±5.61	119.39±10.91
C3	626.17±13.78	619.42±5.84
C4	14.67±2.14	14.01±0.37
Ibu3.5	996.00±10.44	984.14±7.71
Ibu7	944.90±17.89	936.02±8.21
control oil	63.03±0.40	63.93±4.03

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบ Texture analysis (n=6)

	Force 1(N)	Force 2(N)	Distance 1(mm)
NMP10Ibu	0.017±0.000	0.007±0.001	6.107±0.524
NMP20Ibu	0.017±0.001	0.007±0.001	5.160±0.264
NMP30Ibu	0.017±0.001	0.007±0.001	5.377±0.181
NMP40Ibu	0.016±0.001	0.006±0.001	5.379±0.150
C3	0.020±0.001	0.010±0.001	6.959±0.393
C4	0.016±0.001	0.007±0.001	5.429±0.677
Ibu3.5	0.023±0.002	0.009±0.002	40.919±0.3.391
Ibu7	0.020±0.002	0.010±0.002	7.814±0.363
Control Ibu	0.018±0.001	0.008±0.001	4.834±0.256

หมายเหตุ Force 1 คือ แรงสูงสุด

Force 2 คือ แรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัวprobe

Distance คือ ระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัว probe

จากการเตรียมตำรับซึ่งได้เปลี่ยนเฉพาะความเข้มข้นของยา azithromycin ทั้งหมด 4 ความเข้มข้น โดยละลายยางและยาในระบบ eutectic ที่ประกอบด้วย 1:1 menthol: camphor พบว่าทุกตำรับยางแท่งสามารถละลายได้ และสามารถผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้ จากการเตรียมตำรับซึ่งใช้ NMP ช่วยในการปลดปล่อยยาโดยเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ NMP ทั้งหมด 5 ความเข้มข้น พบว่าตำรับที่ใช้ NMP 10-40%w/w ยางแท่งสามารถละลายได้ ส่วนตำรับที่ใช้ NMP 50% w/w ยางแท่งไม่ละลายจึงไม่สามารถนำไปทดสอบการปลดปล่อยยาได้ จากการทดลองใช้ Cremophor ELP 10%w/w ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิว เพื่อช่วยในการปลดปล่อยยาในตำรับ พบว่ายางแท่งสามารถละลายในตำรับได้ ส่วนตำรับที่ใช้ NMP 40%w/w และ Cremophor 10%w/w พบว่า ยางแท่งไม่ละลายจึงไม่สามารถนำไปทดลองการปลดปล่อยยา จากตารางที่ 7 พบว่า ตำรับ azithromycin 20% ซึ่งเป็นตำรับที่ไม่มี NMP ในตำรับมีความหนืดมากที่สุด และลดลงตามปริมาณของ azithromycin ซึ่งก็ยังคงมากกว่าตำรับที่เติม NMP ในตำรับ โดยความหนืดลดลงเมื่อปริมาณของ NMP ในตำรับมากขึ้น ตำรับที่มีการเติม NMP ทั้งหมดมีความหนืดภายหลังเก็บไว้เป็นเวลา 6 เดือนน้อยกว่าก่อนเก็บโดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การที่ NMP สามารถแย่งการละลายของยางพาราในตัวกลางที่เป็นยูเทคติกและ NMP เป็นสารทำลายที่ไม่ดีสำหรับยางพาราจึงทำให้ยางคลี่สายโซ่โมเลกุลในยูเทคติกได้น้อยทำให้ความหนืดของระบบน้อยลง หลังการของ antisolvent ที่มีผลต่อการละลายของพอลิเมอร์และยา และมีการนำมาใช้เพื่อแยกวัตถุภาคยาหรือพอลิเมอร์จากตัวทำละลายเดิมได้(31) ทำให้ ส่วน C1 มีความหนืดมากกว่า C2 เนื่องจาก C1 คือตำรับที่มียางแท่ง แต่ตำรับ C2 ไม่มียางแท่งในตำรับ โดยจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) สำหรับตัวยาพื้นและตำรับที่เติมเฉพาะยายังคงมีความหนืดค่อนข้างคงที่โดยเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างความหนืดหลังการเตรียมและภายหลังการเก็บไว้ 6 เดือน

ตารางที่ 7 ความหนืดของตัวอย่างต่างๆ ที่บรรจุยา azithromycin (n=3)

Sample	Viscosity (cps) Mean±SD	
	Before	After
NMP10	249.30±7.24	228.91±6.60
NMP20	182.13±1.40	175.39±2.93
NMP30	76.10±0.87	62.02±4.82
NMP40	19.20±0.36	10.82±2.81
control	0.00±0.00	0.82±1.25
C1	523.77±62.18	512.62±3.81
C2	19.80±6.15	17.92±1.04
Azithromycin 3.5	501.90±69.61	482.00±6.22
Azithromycin 7	627.67±5.65	612.04±3.39
Azithromycin 15	884.27±30.61	879.22±8.20
Azithromycin 20	1042.33±17.79	1034.79±3.04

สำหรับการศึกษารูปแบบการไหลของแต่ละตำรับ พบว่าทุกตำรับมีการไหลแบบ Newtonian คือ ความหนืดมีค่าคงที่ ไม่ขึ้นกับอัตราเร็วในการไหลของของเหลวนั้น (ไม่ได้แสดงรูปประกอบ) จากการทดสอบแรงติดกับ probe ของเครื่อง texture analyzer พบว่าค่าแรงสูงสุดในการดึง แรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัว probe และ ระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัว probe ไม่แตกต่างกันมากนัก ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบ Texture analysis (n=5)

	Force 1(N)	Force 2(N)	Distance 1(mm)
NMP10	0.016±0.000	0.006±0.001	4.690±0.171
NMP20	0.017±0.001	0.007±0.001	5.092±0.300
NMP30	0.017±0.001	0.006±0.001	4.824±0.327
NMP40	0.017±0.000	0.006±0.001	4.784±0.121
Azi7NMP	0.019±0.001	0.006±0.001	5.300±0.212
C1	0.017±0.001	0.008±0.001	5.262±0.325
C2	0.016±0.001	0.006±0.001	4.724±0.153
Azi3.5	0.017±0.001	0.007±0.002	5.705±0.172
Azi7	0.018±0.001	0.008±0.001	6.219±0.300
Azi15	0.019±0.000	0.008±0.001	7.249±0.193
Azi20	0.019±0.001	0.009±0.000	6.740±0.360
Azi7Eutec	0.016±0.001	0.006±0.000	4.634±0.038

หมายเหตุ Force 1 คือ แรงสูงสุด

Force 2 คือ แรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัวprobe

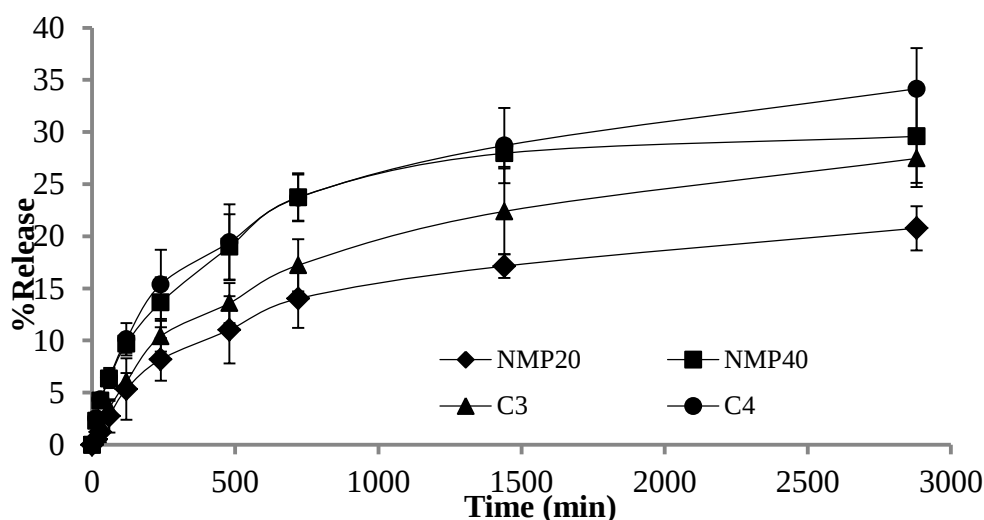
Distance คือ ระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัว probe

การปลดปล่อยยา

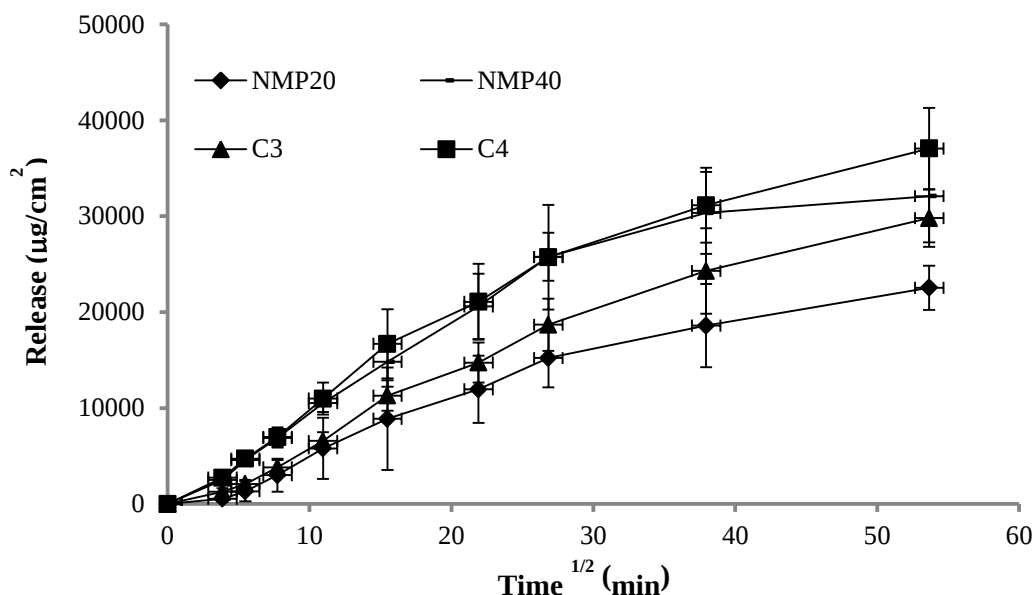
การหาปริมาณยาไอบูโพรเฟนด้วยวิธี HPLC โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค คือ สมการ $y = 43.91x + 18.377$ ทั้งนี้ไม่สามารถใช้วิธี UV spectrophotometer เนื่องจากได้พบว่ามีกระบวนการดูดกลืนแสงจากสารที่เป็นของเหลวในตำรับ ทำให้ต้องมาพัฒนาวิธีวิเคราะห์ยาด้วยวิธี HPLC และใช้ในการศึกษาการปลดปล่อยยาผ่านเมมเบรนชนิดที่ทำจาก Teflon เนื่องจากเป็นชนิดที่มีความทนต่อน้ำมัน และได้เติม tween 20 ในตัวกลางที่เป็นส่วน receptor ซึ่งคือตัวกลางซึ่งเป็นบัฟเฟอร์ที่รองรับยาที่ปลดปล่อยผ่านเมมเบรน ทั้งนี้เพื่อให้สามารถตรวจวัดการปลดปล่อยยา ibuprofen ซึ่งเป็นยาที่มีการละลายน้ำที่ไม่ดีได้ เนื่องจาก tween 20 เป็นสารลดแรงตึงผิวซึ่งช่วยส่งเสริมการเปียกและทำให้ในยาละลายในตัวกลางได้มากขึ้น จากผลที่ได้สรุปว่าตำรับ C4 ซึ่งไม่มียางพาราเป็นส่วนผสมจะปลดปล่อยยาได้เร็วที่สุด (รูปที่ 7) แต่เมื่อมียางพาราในตำรับที่ C3 พบว่ายาลดปล่อยได้ช้าลง อันเนื่องมาจากยางทำหน้าที่ควบคุมการปลดปล่อยยา ความหนืดจากยางจึงมีผลลดการแพร่ของยาจาก

ระบบทำให้ยาออกฤทธิ์ได้นาน ซึ่งมีพอลิเมอร์น้อยชนิดมากที่สามารถละลายได้ในของเหลวประเภทน้ำมัน ดังนั้น ยางพาราจึงเป็นพอลิเมอร์ชนิดที่ละลายได้ในของเหลวกลุ่มที่ศึกษานี้ได้หลายชนิดและสามารถหน่วงการปลดปล่อยยาได้ ทั้งนี้หากจะทำให้ตำรับหนึ่งก็สามารถทำได้โดยสามารถใช้ปริมาณยางเพิ่มได้อีกโดยยังได้ระบบที่ใสและยางละลายได้ แต่ความหนืดอาจสูงเกินไปจากการที่ยางเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่สูงมากจะทำให้ตัวกลางที่ยางละลายอยู่มีความหนืดสูงเกินความเหมาะสมที่จะแผ่ตัวได้ อย่างไรก็ตามระบบในความเข้มข้นสูงๆ สามารถเตรียมได้ และอาจใช้ประโยชน์ในการกักเก็บน้ำมันให้กลั่นอยู่คงทนได้ เป็นต้น ซึ่งอาจเป็นการประยุกต์ใช้ในงานอื่นๆ ต่อไปได้ เนื่องจากตัวกลางที่ใช้ทำละลายยางแม้จะมีกลิ่นแต่การระเหยนั่นช้ามากจึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาและยางไม่มากนักและหากเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมจะป้องกันการระเหยนี้อาจได้ สำหรับการเติม NMP พบว่าทำให้ยาปลดปล่อยได้ช้าลง (รูปที่ 7) แต่เมื่อปริมาณ NMP มากขึ้นมีผลลดความหนืดของตำรับจึงทำให้ยาสามารถแพร่ได้ง่ายขึ้นจึงทำให้ยาปลดปล่อยได้เร็วขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลของความหนืดของตำรับที่มี NMP ในปริมาณที่สูง

เมื่อนำข้อมูลการปลดปล่อยยามาพลอตในรูปแบบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณยาที่ปลดปล่อยต่อพื้นที่และ $t^{1/2}$ ซึ่งเป็นการพลอตแบบ Higuchi's พบว่าให้ความสัมพันธ์ที่ใกล้เคียงเป็นเส้นตรง ดังแสดงในรูปที่ 8 ซึ่งแสดงว่าการปลดปล่อยยา ibuprofen นี้จากตำรับของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราสอดคล้องกับสมการการปลดปล่อยแบบ Higuchi's ซึ่งแสดงว่ายานี้ถูกควบคุมการปลดปล่อยด้วยการแพร่ของยาผ่านเมมเบรนและเข้าสู่ตัวกลางโดยมีอัตราการปลดปล่อยยาดังที่กล่าวไว้ข้างต้น คือจากตำรับ C4>NMP40>C3>NMP20 ตามลำดับ



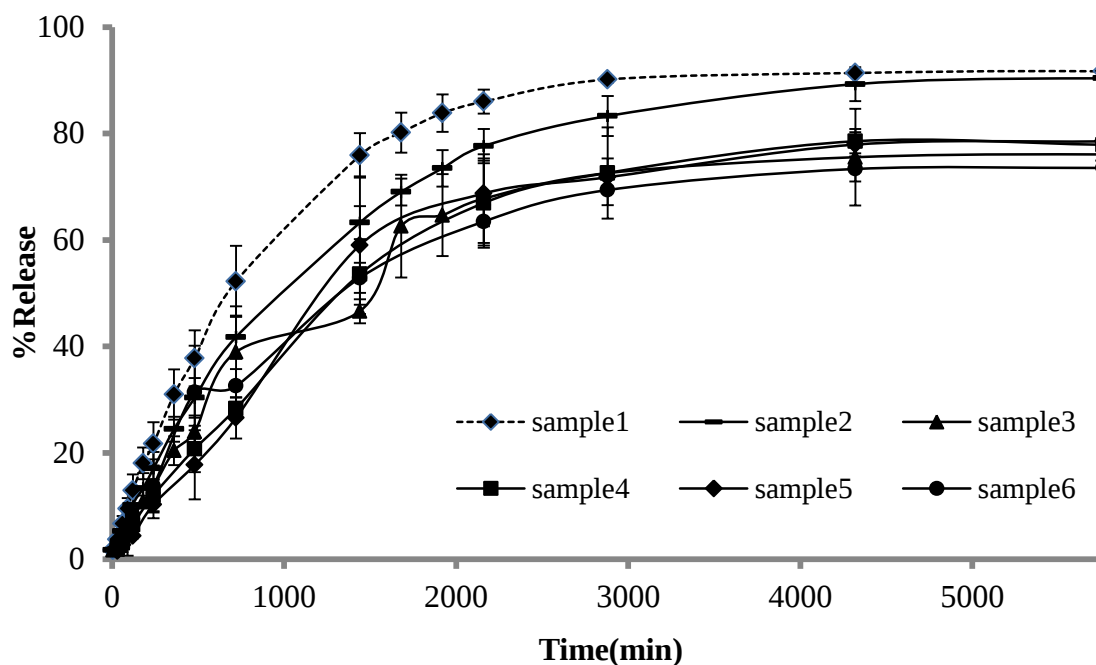
รูปที่ 7 ร้อยละการปลดปล่อยยา ibuprofen จากตำรับต่างๆ ผ่าน Teflon membrane (n=6)



รูปที่ 8 ปริมาณการปลดปล่อยยา ibuprofen จากตำรับต่างๆ ต่อพื้นที่ Teflon membrane เมื่อพลอตแบบ Higuchi's (n=6)

จากการศึกษาการปลดปล่อยของยา Azithromycin จากตำรับเจลโดยใช้ Dialysis membrane method แล้วนำมาหาปริมาณยาที่ปลดปล่อยด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้สมการเส้นตรง $y = 0.8368x - 10.16$ จะได้ว่า Sample 1 ได้แก่ ตำรับที่มี Azithromycin 7%w/w + Eutectic มีการปลดปล่อยยาเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 0 – 2000 นาที หลังจากนั้นจะเริ่มคงที่ และเป็นตำรับที่ปลดปล่อยยาออกมาได้มากที่สุด สำหรับ Sample 2 ได้แก่ ตำรับที่มี Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75%, Sample 3 ได้แก่ Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75% + NMP20%, Sample 4 ได้แก่ Azithromycin 15%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75%, Sample 5 ได้แก่ Azithromycin 20%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75% และ Sample 6 ได้แก่ Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75% + Cremophore 10% มีลักษณะการปลดปล่อยยาเช่นเดียวกับ Sample 1 โดย Sample 6 มีการปลดปล่อยยาออกมาน้อยที่สุด ดังนั้นจากการศึกษานี้ บ่งชี้ว่าการมียางพาราในระบบ ทำให้การปลดปล่อยยานานขึ้น เนื่องจากสามารถลดการแพร่ของยาออกจากระบบสู่ตัวกลางอื่นเนื่องมาจากยางทำให้น้ำมันหนืดมากขึ้น การแพร่ของยาจึงช้าลง ส่วนการเติม NMP และ Cremophor มีผลให้การปลดปล่อยยาช้าลง อันอาจเนื่องจากสารทั้งสองไม่สามารถแสดงผลในการช่วยดึงให้ยาละลายออกจากระบบได้เร็วขึ้น แม้ว่าจะมีผลทำให้ระบบมีความหนืดต่ำลง เนื่องจากต้องกระจายตัวเองในตัวกลางที่เป็นน้ำมันที่มีความไม่ชอบน้ำสูง ทำให้ไม่สามารถช่วยการละลายยาได้ ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากข้อมูลข้างต้นทั้งหมดประกอบกัน จะพบว่าระบบที่เหมาะสมคือระบบที่มียากระจายในน้ำมันที่มียางกระจายตัวอยู่โดยไม่ต้องเติม NMP หรือ Cremophor โดยการเติมสารทั้งสองนี้ยังพบว่าระบบการละลายของยางพาราด้วย โดยทำให้ยางพารามีการจับเป็นก้อนเมื่อความเข้มข้นของ NMP มากกว่า

50% แสดงว่าเป็นสารทำลายที่ไม่ดีสำหรับยางพาราและทำให้การคลี่ตัวของสายโซ่โมเลกุลยางพาราลดลง การที่มียางพาราในระบบและทำให้ระบบมีความหนืดขึ้นดังแสดงผลในการทดสอบความหนืดนั้นที่เคยกล่าวในเบื้องต้น แล้วนั้นจะช่วยใช้ระบบเมื่อฉีดเข้าสู่ร่องลึกปริทันต์แล้วจะเหนียวติดกับบริเวณนี้ได้ด้วย



รูปที่ 8 การปลดปล่อยยา azithromycin ใน phosphate buffer pH 6.8 ที่เติม tween 20 ปริมาณ 2%

โดย	Sample 1	ได้แก่	Azithromycin 7%w/w + Eutectic
	Sample 2	ได้แก่	Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75%
	Sample 3	ได้แก่	Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75% + NMP20%
	Sample 4	ได้แก่	Azithromycin 15%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75%
	Sample 5	ได้แก่	Azithromycin 20%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75%
	Sample 6	ได้แก่	Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75% + Cremophore 10%

จากการฟิตข้อมูลการปลดปล่อยยากับสมการการปลดปล่อยยาต่าง ๆ พบว่าข้อมูลการปลดปล่อยส่วนใหญ่ ฟิตได้ดีกับสมการ first order ซึ่งแสดงว่าอัตราการปลดปล่อยยานี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยาที่เหลืออยู่ใน dialysis tube ซึ่งอัตราการปลดปล่อยยาจากสูตรที่ 1-6 เท่ากับ 106.8, 73.5, 38.2, 43.1, 45.2 และ 36.8 ไมโครกรัม/นาที่ ซึ่งแสดงว่าสูตรที่ใส่ยางพารามีอัตราการปลดปล่อยยาช้ากว่าสูตรที่ไม่มีการเติมยางพารา ซึ่งสอดคล้องกับการอภิปรายผลข้างต้นนั้น ข้อมูลทั้งหมดค่อนข้างฟิตได้ดีกับสมการ power law โดยมีค่า r^2 ในช่วง 0.9653-0.9942 จากค่า n ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.45 แสดงว่าระบบมีการปลดปล่อยยาแบบ anomalous อย่างไรก็ตาม มีบางสูตร 1 และ 6 ที่มีค่านี้ต่ำกว่า 0.45 โดยสูตรแรกมีข้อมูลที่ฟิตได้ดีกับสมการ first order ส่วนสูตรที่ 6 ฟิตได้ดีกับสมการ Higuchi's ได้ดีกว่า first order เล็กน้อย

ตารางที่ 9 การเปรียบเทียบความสามารถในการพิชิตข้อมูลการปลดปล่อยยากับสมการการปลดปล่อยยาต่างๆ

Formula	Zero		First		Higuchi's		Power law		
	r ²	msc	r ²	msc	r ²	msc	r ²	msc	n
1	0.5540	0.52	0.9378	4.02	0.9693	3.15	0.9791	3.37	0.4200
2	0.7498	1.10	0.9969	5.51	0.9229	2.28	0.9942	4.66	0.5017
3	0.7353	1.04	0.9864	2.49	0.9533	2.70	0.9673	2.96	0.4673
4	0.8094	1.29	0.9699	3.14	0.9648	2.85	0.9670	2.66	0.5002
5	0.7929	1.21	0.9613	2.89	0.9427	2.35	0.9653	2.61	0.6702
6	0.7819	1.16	0.9358	2.38	0.9557	2.62	0.9727	2.93	0.4424

ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อโรค

จากการทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคด้วยวิธี cup agar diffusion แสดงในตารางที่ 9 พบว่า ตำรับทั้งหมดที่บรรจุยา azithromycin สามารถยับยั้งเชื้อโรคทั้งสามชนิด คือ *S. aureus*, *S. mutans* และ *P. gingivalis* โดยยับยั้งได้ดีกว่าตำรับ C5 ซึ่งไม่ได้บรรจุยา โดยความสามารถในการยับยั้งของสูตร C5 มาจากจากยูเทคติก ที่ส่วนประกอบคือ menthol และ camphor มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อโรคได้เช่นกันแต่น้อยกว่าตัวยาที่ใช้ในการทดลองนี้ สำหรับการยับยั้งเชื้อ *P. gingivalis* ของ positive control ที่น้อยกว่าตัวอย่างทดสอบ เกิดได้จากเชื้อชนิดนี้มีความไวต่อยา ampicillin ไม่มากนัก ปัจจุบันมีรายงานวิจัยการใช้ azithromycin ในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบ ซึ่งพบว่าสามารถรักษาโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยได้(17) เนื่องจาก azithromycin เป็นยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง และจากการทดสอบในหลอดทดลองพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบได้ดี สามารถสะสมในเนื้อเยื่อปริทันต์ได้มากกว่าและมีค่าครึ่งชีวิตยาวกว่ายา doxycycline ซึ่งเคยใช้เป็นยาที่นิยมใช้รักษาโรคปริทันต์อักเสบ(18) โดยรวมจากผลการทดสอบนี้แสดงว่าระบบที่บรรจุยานี้สามารถยับยั้งเชื้อโรคก่อโรคเยื่อหุ้มปริทันต์อักเสบได้และจากการทดสอบการปลดปล่อยยาข้างต้นบ่งชี้ว่ายาสามารถปลดปล่อยได้ยาวนานเป็นเวลาหลายวัน สำหรับตำรับที่บรรจุยา ibuprofen ไม่ได้นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคเนื่องจากยานี้ไม่ได้มีข้อบ่งชี้ในการยับยั้งเชื้อโรค

ตารางที่ 9 ค่า inhibition zone ของการยับยั้งเชื้อโรคชนิดต่างๆ ของตำรับที่มี azithromycin บรรจุอยู่ (n=3)

Formula	Inhibition zone (cm) (mean $\pm$ S.D.)		
	<i>Staptococcus aureus</i>	<i>Steptococcus mutans</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
C1	3.5 $\pm$ 0.3	5.6 $\pm$ 0.4	4.9 $\pm$ 0.1
C2	3.6 $\pm$ 0.4	5.5 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 0.2
C5	1.8 $\pm$ 0.1	2.6 $\pm$ 0.3	2.0 $\pm$ 0.1
Cremophor	3.8 $\pm$ 0.2	5.7 $\pm$ 0.7	4.2 $\pm$ 0.0
Ampicillin disk	4.5 $\pm$ 0.1	5.2 $\pm$ 0.1	1.5 $\pm$ 0.1

สำหรับฉลากประกอบผลิตภัณฑ์ยาทั้งสองชนิดที่ผู้วิจัยได้ออกแบบไว้ได้แสดงไว้ดังรูปด้านล่างนี้ โดยรูปที่ 9 สำหรับระบบที่บรรจุยา ibuprofen และรูปที่ 10 สำหรับยา azithromycin



รูปที่ 9 ภาพการออกแบบฉลากและบรรจุภัณฑ์เพื่อใช้บรรจุระบบที่พัฒนาขึ้นที่มียา ibuprofen บรรจุอยู่



รูปที่ 10 ภาพการออกแบบฉลากและผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นเพื่อบรรจุยา azithromycin และรูปแบบการบริหารยานี้

ยางพาราชนิดแท่งสามารถกระจายตัวและเพิ่มความหนืดให้กับของเหลวที่ใช้ในทางเภสัชกรรมได้หลายชนิด โดยทำให้ยืดและแผ่ตัวได้ ซึ่งสามารถเตรียมผ่านการละลายยางใน diethyl ether ก่อน หรือ ละลายใน eutectic mixture ได้โดยตรง การเพิ่มความหนืดจากยางพาราดังกล่าวสามารถทำให้ยาออกฤทธิ์ได้ยาวนานขึ้น ระบบนี้สามารถบรรจุยาได้ทั้งยา ibuprofen และ azithromycin โดยระบบที่บรรจุยา azithromycin สามารถยับยั้งเชื้อโรคที่ก่อโรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบได้ด้วย

ข้อเสนอแนะ

- จากการที่มีของเหลวหลายชนิดที่การศึกษายังไม่ได้เลือกใช้ในการบรรจุยา แต่ยังสามารถกระจายตัวได้ โดยเป็นของเหลวที่มีความปลอดภัยและใช้ทางเภสัชกรรม จึงยังมีโอกาสนำไปพัฒนาหรือทดสอบในด้านอื่นๆ ได้อีกด้วย ในแง่ของการใช้ประโยชน์อื่นๆ ต่อไป
 - การทดสอบประสิทธิภาพในสัตว์ทดลองหรืออาสาสมัครอาจดำเนินการต่อไปเพื่อทดสอบถึงประสิทธิภาพในร่าง
 - เนื่องจากมีพอลิเมอร์น้อยชนิดมากที่มีศักยภาพในการละลายเข้ากับน้ำมัน ดังนั้นจึงเป็นช่องทางที่จะนำ
- ยาร่างไปใช้ประโยชน์ในลักษณะที่เกิดคุณค่าจากการที่ยางพาราละลายได้ในน้ำมันหรือของเหลวนี้ เช่นในอุตสาหกรรม อื่นๆ

เอกสารอ้างอิง

1. Suksaeree, J., Boonme, P., Taweepreda W. et al. 2011. Characterization, in vitro release and permeation studies of nicotine transdermal patches prepared from deproteinized natural rubber latex blends. **Chem Eng Res Des.** 90:906-914.
2. Herculano, R.D., Silva, C.P., Ereno, C. et al. 2009. Natural rubber latex used as drug Delivery system in guided bone regeneration (GBR). **Mater Res.** 12: 253–256.
3. Herculano, R.D., Alencar de Queiroz, A.A., Kinoshita, A. et al. 2011. On the release of metronidazole from natural rubber latex membranes. **Mater Sci Eng C.** 31: 272–275.
4. Simchareona, W., Amnuaikita, T., Boonme, T., Taweepreda, W., Pichayakorn W. 2012. Characterization of natural rubber latex film containing various enhancers. **Procedia Chemistry** 4: 308 – 312 doi: 10.1016/j.proche.2012.06.043.
5. Dasgupta, S., Agrawal S.L., Bandyopadhyay, S., Chakrabort, S., Mukhopadhyay, R., Malkani, R.K., Ameta, S.C. 2007. Characterization of eco-friendly processing aids for rubber compound. **Mater Charact.** 26:489-500.
6. Dasgupta, S., Agrawal S.L., Bandyopadhyay, S., Chakrabort, S., Mukhopadhyay, R., Malkani, R.K., Ameta, S.C. 2008. Characterization of eco-friendly processing aids for rubber compound II. **Material Properties.** 27:277-283.
7. Dasgupta, S., Agrawal S.L., Bandyopadhyay, S., Mukhopadhyay, R., Malkani, R.K. 2009. Eco-friendly processing oils: A new tool to achieve the improved mileage in tyre tread. **Polym Test.** 28:251-263.
8. Kuriakose, A.P., Rajendran, G. 1995. Rice bran oil as a novel compound in-gredient in sulphur vulcanization of natural rubber. **Eur Polym J.** 31:595-602.
9. ภารุณี ถนอมเกียรติ. ยานี้ด. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2527.
10. ปราโมทย์ ทิพย์ดวงตา. ยานี้ด. เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2540.

11. Dhamecha D, Rath AA, Saifee M, Lahoti SR, Dehghan HG. 2009. Drug vehicle based approaches of penetration enhancement. **Int J Pharmacy & Pharmaceutical Sci.** 1(1): 24-46.
12. Chai G, Pan Y, Li F. 2009. Effect of borneol/menthol eutectic mixture on nasal-brain delivery of neurotoxin loaded nanoparticles. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.** 34(6):698-701.
13. Gohel M, Nagori SA. 2009 a. Fabrication and evaluation of captopril modified-release oral formulation. **Pharm Dev Technol.** 14(6):679-86.
14. Gohel MC, Nagori SA. 2009 b. Fabrication and design of transdermal fluconazole spray. **Pharm Dev Technol.** 14(2):208-15.
15. Gohel MC, Nagori SA. 2009 c. Fabrication of modified transport fluconazole transdermal spray containing ethyl cellulose and Eudragit RS100 as film formers. **AAPS PharmSciTech.** 10(2):684-91.
16. Gohel MC, Nagori SA. 2009 d. Resolving issues of content uniformity and low permeability using eutectic blend of camphor and menthol. **Indian J Pharm Sci.** 71: 622-629.
17. Seyed B.R., Nesheli M.H. Effect of azithromycin, a chemical macrolide in reducing tissue destruction of patients with chronic periodontitis [Poster], clinbiochem. 2010
18. Haas AN, Boghossian CM, Colombo AP, Susin C, Albandar JM, Oppermann RV et.al. 2012. Adjunctive azithromycin in the treatment of aggressive periodontitis: Microbiological findings of a 12-month randomized clinical trial. **J Dent.** 40(7): 556-63.
19. Listgarten MA, Slots J, Rosenberg J, Nitkin L, Sullivan P, Older J. Clinic and micro-biologic characteristics of treated periodontitis patients on maintenance care. **J Periodontol.** 1989; 60: 452-9.
20. Nyman S, Lindhe J, Rosling B. 1977. Periodontal surgery in plaque-infected dentitions. **J Clin Periodontol.** 4: 240-9.
21. Kornman KS. 1993. Controlled-release local delivery antimicrobials in periodontics: prospects for future. **J Periodontol.** 64: 782-91.
22. Pignatello R, Bucolo C, Feeara P, Maltese A, Puleo A, Puglisi G. 2002. Eudragit RS100® nanosuspensions for the ophthalmic controlled delivery of ibuprofen. **Eur J Pharm Sci.** 16:53-61.
23. Braaz, R., Fischer, P., Jendrossek, D. 2004. Novel type of heme-dependent oxygenase catalyzes oxidative cleavage of rubber (poly-cis-1, 4-isoprene). **Appl Environ Microbiol** 70; 7388–7395.
24. Ibrahim, E. M. A., Arenskotter, M., Luftmann, H., Steinbuchel, A. 2006. Identification of poly (cis-1,4-isoprene) degradation intermediates during growth of moderately thermophilic *Actinomyces* on rubber and cloning of a functional lcp homologue from *Nocardia farcinica* strain E1. **Appl Environ Microbiol.** 72: 3375–3382.

25. Gallert, C. 2000. Degradation of latex and of natural rubber by *Streptomyces* Strain La7. **System Appl Microbial.** 23, 433-441.
26. Linosa, A., Reichelt, R., Keller, U., Steinbuchel, A. 2000. A Gram-negative bacterium, identified as *Pseudomonas aeruginosa* AL98, is a potent degrader of natural rubber and synthetic cis-1, 4-polyisoprene. **FEMS Microbiol Lett.** 182: 155-161.
27. Tuntarawongsa, S., Phaechamud, T. 2012. Menthol, borneol, camphor and WS-3 eutectic mixture. **Advanced Material Research** 506:355-358.
28. Babu, R.J., and Pandit, J.K. 2005. Effect of penetration enhancers on the release and skin permeation of bupranolol from reservoir-type transdermal delivery-systems. **In J Pharm.**288:325-334.
29. Sanghvi, R., Narazaki, R., Machatha, S.G., Yalkowsky, S.H. 2008. Solubility improvement of drugs using N-methyl pyrrolidone. **AAPS PharmSciTech.** 9 (2):366-376.
30. Koizumi, A., Fujii, M., Kondoh, M., Watanabe, Y. 2004. Effect of N-methyl-2-pyrrolidone on skin permeation of estradiol. **Eur J Pharm Biopharm.** 57:473-478.
31. Thorat, A.A., Dalvi, S.V. 2012. Liquid antisolvent precipitation and stabilization of nanoparticles of poorly water soluble drugs in aqueous suspensions: Recent developments and future perspective. **Chem Eng J.** 181-182:1-34.

ผลงานนำเสนอในที่ประชุมนานาชาติ

Thawatchai Phaechemud. 2015. Extended oily natural rubber liquid as drug delivery system. Asian Federation for Pharmaceutical Sciences (AFPS) Conference (Submitted)

ตารางเปรียบเทียบผลการดำเนินงานในกิจกรรมต่าง ๆ

Output		
กิจกรรมในข้อเสนอโครงการ /หรือจากการปรับแผน	ผลสำเร็จ (%)	ผลที่ได้รับ
1. การเตรียมสารละลายยางพารา ละลายยางแท่งปริมาณต่างๆ ใน dichloromethane และ diethyl ether	100%	ได้ตัวทำละลายที่เหมาะสมคือ diethyl ether ในการละลายยาง และทราบว่าการเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 3.75% ในการนำไปใช้งาน-
2. การแทนที่ด้วยของเหลวทางเภสัชกรรม	100%	สามารถใช้การแทนที่ diethyl ether ด้วยของเหลวหลายชนิดที่ทำให้ยางพารายังคงกระจายตัวได้อยู่
3. การเปลี่ยนแปลงปริมาณยางพารา ศึกษาความเข้ากันได้ การแยกตัว เปรียบเทียบความหนืดและการยึดและแผ่เป็นฟิล์มเหนียว แรงการยึดติดด้วย เครื่อง texture analyzer รวมทั้งระยะที่ฟิล์มยืดไปได้	100%	ยางพาราที่เข้มข้นขึ้นทำให้ของเหลวที่ยาง หลายชนิดที่แทนที่ diethyl ether และยางกระจายตัวได้
4. การศึกษาการเติมตัวยา ibuprofen และ azithromycin	100%	ยา ibuprofen และ azithromycin สามารถละลายได้ดีในระบบที่เตรียมขึ้น
5. การปลดปล่อยยาและกลไกการควบคุมการปลดปล่อยยา	100%	ทราบการปลดปล่อยยาและกลไกการปลดปล่อยยาทั้งสองจากระบบเมื่อมีเป้าหมายการให้ยาที่แตกต่างกัน
6. การศึกษาสมบัติเชิงความร้อน	100%	ยางพาราทำให้ระบบมีความคงตัวต่อความร้อนมากขึ้น และทำให้ทราบว่ายาสามารถกระจายตัวในของเหลวในระดับโมเลกุล
7. การยับยั้งเชื้อโรค Streptococcus mutans และ Porphyromonas gingivalis ซึ่งก่อโรคปริทันต์อักเสบ	100%	ตำรับที่บรรจุยา azithromycin สามารถยับยั้งเชื้อโรคทั้งสามชนิด คือ S. aureus, S. mutans และ P. gingivalis
8. วิเคราะห์ผล สรุปและจัดทำรายงาน	100%	ได้รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา

Extended Oily Natural Rubber Liquid as Drug Delivery System

ธวัชชัย แพชมัด

Thawatchai Phaechamud

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร อ. เมือง จ. นครปฐม 73000

โทรศัพท์ 034 255800 โทรสาร 034 250942 อีเมล thawatchaienator@gmail.com

Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000, Thailand

Tel 034 255800; Fax 034 250942; E-mail thawatchaienator@gmail.com

บทคัดย่อ

ยางพาราแท่งชนิด เอสทีอาร์ 5L (NR) ได้ถูกนำมาทดสอบในการเพิ่มความหนืดให้กับของเหลวหลายชนิดเพื่อเตรียมของเหลวที่สามารถยืดตัวได้เพื่อนำส่งยา ของเหลวที่ใช้ในการศึกษานี้ประกอบด้วย น้ำมันจากธรรมชาติ (olive oil, sesame oil, coconut oil, eugenol, peppermint oil, castor oil, clove oil และ eucalyptus oil) น้ำมันจากการสังเคราะห์หรือของเหลวอื่น (triacetin, triethyl citrate, Isopropyl myristate, light mineral oil, ethyl oleate, benzyl benzoate, N-methyl pyrrolidone (NMP), N-pyrrolidone, silicone oil, tetra ethylene glycol) และ eutectic mixture (1:1 menthol:camphor) เทคนิคการแทนที่สารทำละลายได้นำมาใช้เตรียมระบบนี้โดยละลายยางแท่งในไดเอทิลอีเธอร์ก่อนผสมกับของเหลวข้างต้นแล้วจึงระเหยไดเอทิลอีเธอร์ออกไป เทคนิคนี้ใช้ได้กับ coconut oil, eucalyptus oil, olive oil, sesame oil, isopropyl myristate, light mineral oil และ 1:1 menthol:camphor การเพิ่มความเข้มข้น NR ช่วยเพิ่มความหนืดให้ของเหลวอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม NR ละลายได้โดยตรงในระบบยูเทคติกที่ประกอบด้วย 1:1 menthol:camphor โดยความหนืดจะสูงขึ้นตามปริมาณยางพารา ยาอะซิโตรมัยซินและยาไอบูโพรเฟนสามารถละลายในระบบยูเทคติกในปริมาณสูงอย่างมาก ซึ่งการมี NR ในระบบด้วยจะทำให้ยาปลดปล่อยนานขึ้น โดยระบบที่พัฒนาขึ้นที่บรรจุยาอะซิโตรมัยซินสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 6853P, *Streptococcus mutans* ATCC 27175 และ *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 ดังนั้นตำรับนี้แสดงศักยภาพในการใช้เพื่อรักษาโรคเยื่อหุ้มปรีทันต์อักเสบ การศึกษาครั้งนี้สามารถพัฒนาของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยาโดยการละลาย NR และยาในระบบยูเทคติก

Abstract

Block natural rubber type STR 5L (NR) was employed as viscosity inducing agent for various liquids to produce the extended oily natural rubber liquid as drug delivery systems. The liquids were used in this study including: natural oil (olive oil, sesame oil, coconut oil, eugenol, peppermint oil, castor oil, clove oil and eucalyptus oil), synthesis oil and other liquids (triacetin, triethyl citrate, isopropyl myristate, light mineral oil, ethyl oleate, benzyl benzoate, N-methyl pyrrolidone (NMP), N-pyrrolidone, silicone oil, tetra ethylene glycol) and eutectic mixture (1:1 menthol:camphor). Solvent displacement technique was used to prepare this system. NR was dissolved into diethyl ether (DE) prior to mixing with the above liquids individually then the DE was evaporated and NR was dispersed in that liquid. This technique was successful for coconut oil, eucalyptus oil, olive oil, sesame oil, sesame oil, ethyl oleate, isopropyl myristate, light mineral oil and 1:1 menthol:camphor. The increasing NR concentration apparently increased the viscosity of the liquid. However NR could dissolve directly in 1:1 menthol:camphor which its viscosity increased with NR concentration dependence. Apparent high amount of azithromycin and ibuprofen could dissolve in this eutectic mixture and an addition of NR could successfully sustain the drug release. The developed azithromycin system could inhibit *Staphylococcus aureus* ATCC 6853P, *Streptococcus mutans* ATCC 27175 and *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 therefore it exhibited the potential use for periodontitis treatment. This investigation could develop the extended oily NR liquid as drug delivery systems by dissolving NR and drug in eutectic mixture.

คำนำ

ยางธรรมชาติมีสมบัติหลายประการที่ได้รับความสนใจ เช่น มีความสามารถในการยืดหยุ่นและโค้งงอสูง และเป็นสารก่อฟิล์มได้ (Suksaeree และคณะ, 2011) จึงมีการนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายเช่น ใช้ทำถุงมือ ถุงยางอนามัย บอลลูก และ การประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ เป็นต้น ในทางเภสัชกรรมมีการนำยางพารามาใช้ในระบบนำส่งยาโดยการบรรจุโปรตีน bovine serum albumin (BSA) ลงในสารละลายยางพาราเพื่อใช้ในการสร้างกระดูกด้วยการควบคุมการปลดปล่อย BSA เป็นเวลา 18 วัน (Herculano และคณะ, 2009) นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมการปลดปล่อยยา metronidazole จากเมทริกซ์ฟิล์มได้เป็นเวลา 310 ชั่วโมง (Herculano และคณะ, 2011) กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ยางมักมีความจำเป็นต้องใช้สารประเภทน้ำมันเป็นส่วนผสมในสูตรเคมียาง เพื่อช่วยปรับลดความหนืดของยางคอมพาวด์ในกระบวนการผสม ทำให้แปรรูปยางได้ง่ายขึ้น ผสมสารตัวเติมเข้าไปในยางได้เร็วขึ้นและกระจายตัวในยางได้ดีขึ้น อีกทั้งช่วยให้เติมสารตัวเติมเข้าไปในยางได้ในปริมาณที่มากขึ้นด้วย ส่งผลให้ยางวัลคาไนซ์มีสมบัติบางประการที่ดีขึ้น เช่น ค่าการยืดตัว ณ จุดขาด (elongation at break) นอกจากนี้ อีกวัตถุประสงค์ของการใช้น้ำมันในยาง คือ ใช้เพื่อทำให้ความแข็งแรงของยางวัลคาไนซ์ลดลง ซึ่งการใช้น้ำมันในกรณีหลังนี้จำเป็นต้องใช้ปริมาณน้ำมันมากกว่าในกรณีแรก น้ำมันที่นิยม

ใช้ในอุตสาหกรรมยางในปัจจุบัน ได้แก่ น้ำมันแร่ (mineral oils) หรือน้ำมันที่ได้จากปิโตรเลียม เนื่องจากมีราคาถูก สามารถเข้ากับยางได้หลายชนิด การเลือกใช้น้ำมันชนิดใดนั้นจำเป็นต้องพิจารณาให้เหมาะสมกับชนิดของยาง น้ำมันควรจะมีความการละลายใกล้เคียงกับยาง เพื่อให้ผสมเข้ากับยางได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามน้ำมันแร่ได้รับความนิยมน้อยลงและไม่ได้รับการยอมรับให้ใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในประเทศยุโรป

การศึกษาการเตรียมระบบนำส่งยาทางผิวหนังในรูปแบบฟิล์มยางพาราที่เติมสารเพิ่มการดูดซึมยาต่างๆ คือ oleic acid, isopropyl palmitate, propylene glycol และ olive oil มีความเข้ากันได้กับยางพาราที่เตรียมจากน้ำยางเข้มข้น โดยสารเหล่านี้มีผลลดค่า young's modulus และ elongation at break มีค่าลดลงยกเว้นฟิล์มที่มีการเติม isopropyl palmitate 10 และ 15 phr ส่วนการยืดตึงมีแนวโน้มลดลงเมื่อสารเพิ่มการดูดซึมมากขึ้น (Simchareona และคณะ, 2012) สารกลุ่ม polyaromatic hydrocarbon-rich extender oil ได้ถูกต่อต้านในการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ยาง ทำให้มีความพยายามนำน้ำมันที่มาจากแหล่งธรรมชาติมาใช้ทดแทนมากขึ้น เช่น neem oil และ kurunj oil ซึ่งทำให้สมบัติความต้านทานต่อการขัดถู (abrasion resistance) ดีขึ้น (Dasgupta และคณะ, 2007; Dasgupta และคณะ, 2008; 2009) นอกจากนี้ยังมีการนำ rice bran oil มาใช้ในกระบวนการวัลคาไนซ์ด้วย sulphur อีกด้วย (Kuriakose และ Rajendran, 1995.) ของเหลวที่มีการใช้ทางเภสัชกรรม เป็นสารทำละลายที่เติมเพื่อเพิ่มการละลายของยา หรือลดการสลายตัวของยาอันเกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เป็นกระสายยาที่สามารถผสมเข้ากับน้ำได้ดี กระสายยาที่นิยมใช้ได้แก่ ethyl alcohol ใช้เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายของตัวยา นอกจากนี้ยังมี propylene glycol ใช้ได้ในปริมาณสูง เนื่องจากมีพิษต่ำสามารถถูกทำลายได้อย่างรวดเร็วในร่างกาย ทนความร้อนได้สูงหรือ glycerin นอกจากนี้ยังมีกระสายยาอื่นๆ ได้แก่ dioxolanes, dimethyl acetamide, N-(B-hydroxyethyl)-lactamide และ butylenes glycol (ภารุณี, 2527; ปราโมทย์, 2540) นอกจากนี้ยังมีกระสายยาที่ไม่สามารถกระจายเข้าเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ ได้แก่ น้ำมันชนิดต่างๆ เช่น fixed oil, ethyl oleate, isopropyl myristate และ benzyl benzoate น้ำมันที่ใช้ต้องผ่านการตรวจสอบหา mineral oil เนื่องจากเป็นน้ำมันที่ไม่สามารถถูกเมตาบอไลต์ได้ โดยน้ำมันที่นำมาใช้เป็นกระสายยาควรมีค่า saponification อยู่ในช่วง 185-200 และค่าไอโอดีนอยู่ในช่วง 79-128 ทั้งนี้เพื่อควบคุมไม่ให้มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากเกินไป ซึ่งจะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อ สำหรับน้ำมันพืชที่นิยมใช้ได้แก่ น้ำมันถั่วลิสง (peanut oil หรือ arachis oil) น้ำมันข้าวโพด (corn oil หรือ maize oil) น้ำมันเมล็ดฝ้าย (cotton seed oil) น้ำมันมะกอก (olive oil) และน้ำมันงา (sesame oil) โดยพบว่าน้ำมันถั่วลิสงจะมีความหนืดเพิ่มขึ้นเมื่อสัมผัสกับอากาศ และทำให้เกิดการเหม็นหืน สำหรับน้ำมันที่นิยมใช้มากที่สุด คือน้ำมันงา เพราะมีความคงตัวสูงสุด และมีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ (ภารุณี, 2527; ปราโมทย์, 2540) การนำของเหลวที่ใช้เป็นสารทำละลายทางยาหรือเป็นกระสายยาเพื่อเป็นตัวกลางสำหรับให้ยางพารากระจายตัวยังไม่มีรายงานมาก่อนและมีความน่าสนใจในสมบัติของระบบที่ได้ซึ่งหากสามารถเพิ่มความสามารถในการแผ่ตัวของของเหลวจากความหนืดที่เพิ่มขึ้นจากการมียางพาราจะทำให้ครอบคลุมพื้นที่การนำส่งยาและน่าจะทำให้ควบคุมการปลดปล่อยยาให้ยาวนานขึ้นได้ด้วย

เนื่องจากจุดหลอมเหลวของสารส่งผลต่อการดูดซึมยาได้ การทำให้ยามีจุดหลอมเหลวลต่ำลง เช่นการเกิด eutectic ย่อมมีผลให้การดูดซึมยาดีด้วย โดยการเกิด eutectic ยับยั้งการเกิดผลึกสาร ทำให้จุดหลอมเหลวสารต่ำลง การที่สารมีจุดหลอมเหลวลต่ำลงใกล้เคียงหรือต่ำกว่าอุณหภูมิผิวหนังจะเพิ่มการละลายของยาได้ สารที่สามารถเกิด eutectic ได้ เช่น ibuprofen-terpene, propranolol-fatty acid, และ lignocaine-menthol โครงการ ของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา สัญญาเลขที่ RDG5650087

(Dhamecha และคณะ, 2009) การใช้ระบบ eutectic ที่ประกอบด้วย menthol-camphor สามารถเพิ่มการซึมผ่านของสารเข้าสู่สมองหนูทดลองได้ดีกว่าการใช้สารเดี่ยว หรือการใช้ร่วมกับ menthol หรือ camphor อย่างเดียว (Chai และคณะ, 2009) การใช้ระบบ eutectic ในการละลาย captopril ในการเตรียมยาเม็ดทำให้ยาเม็ดมีตัวยากระจายตัว (content uniformity) อย่างสม่ำเสมอ และมีการดูดซึมยาที่ดีผ่านลำไส้ส่วน ileum ของหนูทดลอง (Gohel และ Nagori, 2009 a;b) การใช้ eutectic ที่ประกอบด้วย menthol-camphor สามารถเพิ่มการซึมผ่านผิวหนังสัตว์ทดลองของยา fluconazole และระบบที่ได้สามารถยับยั้งเชื้อราได้ดี (Gohel และ Nagori, 2009 c) การใช้สารก่อฟิล์มคือ ethyl cellulose และ eudragit RS 100 ในการนำส่งยา fluconazole ทางผิวหนังในรูปแบบเปรย์ โดยใช้ระบบ eutectic ที่ประกอบด้วย camphor-menthol ดำรับที่พัฒนาแล้วให้ฟิล์มภายหลังการสเปรย์ที่ยืดหยุ่นและติดผิวหนัง และระบบ eutectic ช่วยส่งเสริมการซึมผ่านของยาผ่านคราบงู และดำรับมีความคงตัวค่อนข้างดี (Gohel และ Nagori, 2009 d) ดังนั้นเนื่องจากสมบัติของระบบ eutectic mixture ที่เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้องจึงมีศักยภาพในการเป็นของเหลวตัวกลางในการกระจายยาพาราได้เช่นกัน และน่าจะช่วยส่งเสริมให้ละลายตัวยาคิดดีขึ้นในระบบที่พัฒนาขึ้นเพื่อนำส่งยาทางผิวหนัง

โรคปริทันต์อักเสบเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Porphyromonas gingivaris*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* และ *Actinobacillus actinomycetemcomitans* เป็นต้นซึ่งสามารถรักษาได้ด้วยการใช้ยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ รวมถึง azithromycin ซึ่งในปัจจุบันมีการศึกษาการใช้ azithromycin ในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบและจากผลการศึกษาพบว่าสามารถรักษาโรคปริทันต์อักเสบในผู้ป่วยได้ (Sayed and Nesheli, 2010) เนื่องจาก azithromycin เป็นยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง และจากการทดสอบในหลอดทดลอง พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคปริทันต์อักเสบได้ดี (Haas และคณะ, 2012) สามารถสะสมในเนื้อเยื่อปริทันต์ได้มากกว่าและมีค่าครึ่งชีวิตยาวกว่ายา doxycycline ซึ่งเคยใช้เป็นยาที่นิยมใช้รักษาโรคปริทันต์อักเสบหลักในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบคือการกำจัดจุลินทรีย์ กรณีที่ผู้ป่วยมีร่องปริทันต์ลึกจะทำให้การรักษาด้วยการขูดหินปูนและการเกลารากฟันไม่สะดวก จึงมีการนำยายับยั้งเชื้อแบคทีเรียมาใช้ประกอบ (Listgaten และคณะ, 1989; Nyman และคณะ, 1987) แต่การให้ยาโดยการรับประทานจะต้องใช้ยาในขนาดสูงเพื่อให้ยาดูดซึมได้เพียงพอต่อการออกฤทธิ์ การนำส่งยาโดยตรงยังร่องลึกปริทันต์จะทำให้โอกาสที่ยาจะออกฤทธิ์กับเชื้อได้ดีขึ้นและใช้ยาในปริมาณที่ต่ำกว่าการรับประทาน และหากเลือกรูปแบบที่ยาค่อยๆปลดปล่อยจะทำให้ลดจำนวนครั้งของการบริหารยาได้ (Kornman, 1993) ibuprofen เป็นยาแก้ปวดในกลุ่ม NSAIDs ใช้ในการลดไข้ แก้ปวดและแก้การอักเสบ ยามีการละลายน้ำที่น้อยคือ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่ 25 องศาเซลเซียส และมีจุดหลอมเหลวที่ 75-77 องศาเซลเซียส สลายตัวที่อุณหภูมิประมาณ 252 องศาเซลเซียส (Pignatello และคณะ, 2002) จากสมบัติดังกล่าวจึงมีผู้สนใจนำยาเพื่อนำส่งผ่านทางผิวหนังอย่างมาก จากการศึกษาการเกิดพิษแบบเฉียบพลัน (acute toxicity) ของยาพาราในหนู rat โดยการป้อนให้กินของที่มียาจารย์วิวัฒน์ พิษฐานกร พบว่าให้ dose สูงสุดที่เขาทำการทดสอบกัน 15,000 mg/kg พบว่าไม่มีหนูตายหรือแสดงอาการผิดปกติใดๆ แสดงว่าไม่พบอาการพิษเฉียบพลัน สำหรับการย่อยสลายยาพาราจากธรรมชาติ (poly(cis-1,4-isoprene)) พบว่ามีเอ็นของเอนไซม์ 2 ชนิดจากเชื้อแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถทำการย่อยสลายยาธรรมชาติได้ โดยพบเอ็นของ *Xanthomonas* sp. 35Y, RoxA สามารถทำปฏิกิริยา dioxygenase กับ poly(cis-1,4-isoprene) ทำให้เกิด short-chain isoprenoid (Braaz และคณะ, 2004) ส่วน *Actinomyces* harbouring Lcp สามารถย่อย poly(cis-1,4-isoprene) ได้เป็น isoprenoid ที่มีความยาว isoprene 20 หน่วยได้ (Ibrahim และคณะ, 2006)

โครงการ ของเหลวถ่ายน้ำมันที่อัดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยาพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา สัญญาเลขที่ RDG5650087

นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Streptomyces* strain La 7 สามารถย่อยสลายเส้นยางธรรมชาติได้ 30% ในระยะเวลา 70 วัน (Gallert, 2000) สำหรับแบคทีเรียแกรมลบนั้นพบว่า *Pseudomonas aeruginosa* สามารถย่อยสลายยางธรรมชาติทั้งที่เป็นน้ำยางเข้มข้น น้ำยางที่ผ่านกระบวนการ vulcanized สำหรับทำถุงมือยาง หรือแม้แต่ cis-1,4-polyisoprene สังเคราะห์ได้อีกด้วย (Linosa และคณะ, 2000) ดังนั้นการนำยางพารามาประกอบในระบบนำส่งยาสำหรับยับยั้งเชื้อโรคจึงน่าจะทำให้ระบบมีโอกาสจะระบบนำส่งนี้จะสลายตัวได้ทางชีวภาพจากการย่อยสลายได้ด้วยเชื้อโรคด้วยซึ่งเป็นข้อดี อีกทั้งการเลือกใช้น้ำมันจากธรรมชาติเป็นของเหลวเพื่อกระจายยางในระบบน่าจะช่วยให้มีการสลายตัวของระบบเองได้ง่ายขึ้นอีกประการด้วย

ระบบที่ได้ซึ่งเป็นของเหลวที่มีความหนืดมีสมบัติที่ยืดและแผ่ตัวได้คล้ายฟิล์มที่พร้อมจะคลุมพื้นที่ที่ต้องการได้กว้าง อีกทั้งน้ำมันหรือของเหลวตัวกลางเหล่านั้นหลายชนิดมีสมบัติเข้าได้กับร่างกายหรือใช้เป็นสารช่วยในทางเภสัชกรรม อีกทั้งบางชนิดที่เป็นน้ำมันจากธรรมชาติสามารถสลายตัวได้จึงน่าจะเหนี่ยวนำให้ยางพาราสลายตัวได้ง่ายขึ้น อีกทั้งจะทำให้ระบบมีองค์ประกอบเป็นสารจากธรรมชาติทั้งหมดซึ่งน่าสนใจในการนำมาใช้งานกับร่างกายมนุษย์ และจากสมบัติที่ยืดตัวและแผ่เป็นแผ่นฟิล์มที่ใสและเหนียวจึงมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นระบบนำส่งยาได้ เนื่องจากสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาหรือสารออกฤทธิ์ให้ค่อยๆ ปลดปล่อยออกมาได้ และยังมีสมบัติที่อาจนำมาใช้เป็นกาวชีวภาพได้ในอนาคตอีกด้วย นอกจากนี้และของเหลวที่กล่าวแล้ว ยังพบว่าระบบ eutectic (สารสองชนิดที่มารวมกันแล้วมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่าสารเดี่ยวแต่ละชนิด) ยังสามารถกระจายยางได้ด้วยซึ่งเป็นที่น่าสนใจเพราะระบบนี้ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ด้วยตัวสารเองได้ด้วย

ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาว่าน้ำมันและของเหลวที่ไม่ใช่น้ำมันชนิดใดบ้างที่นิยมใช้ทางเภสัชกรรม ที่สามารถเป็นตัวกลางที่ยางพาราชนิดแห้งสามารถกระจายตัวได้ โดยการละลายยางแห้งในสารทำละลายชนิดที่ละลายยางแห้งนี้ได้และระเหยจากระบบได้อย่างรวดเร็วเพราะมีจุดเดือดต่ำ รวมทั้งสามารถละลายน้ำมันและของเหลว ที่เลือกใช้ได้ด้วย หลังจากนั้นทำการระเหยสารทำละลายนั้นออกไป ซึ่งหากจะเก็บสารทำละลายดังกล่าวกลับมาใช้ใหม่ก็สามารถทำได้ ภายหลังการระเหยระบบที่ยางพาราสารสามารถกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันได้จะนำมาประเมินสมบัติด้านต่างๆ คือ ความหนืด การยืดและแผ่เป็นฟิล์ม และทดลองบรรจุยาสองชนิดที่น่าสนใจคือยา ibuprofen เพื่อทดสอบการนำส่งผ่านทางผิวหนัง และ azithromycin เพื่อทดลองนำส่งเป็นยาฆ่าเชื้อโรค เช่นเชื้อแบคทีเรียก่อโรค periodontitis รวมทั้งศึกษากลไกการควบคุมการปลดปล่อยยาโดยพิตข้อมูลการปลดปล่อยยากับโมเดลการปลดปล่อยยาแบบต่างๆ ได้แก่ zero order, first order, Higuchi's และ power law equation เพื่ออธิบายการควบคุมการปลดปล่อยยาจากระบบของเหลวที่คล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพารา จากการวิจัยคาดว่าจะได้ข้อมูลของน้ำมันหรือของเหลวที่ใช้ทางเภสัชกรรมที่ยางพาราสารมีความเข้ากันได้และสามารถกระจายตัวเป็นเนื้อเดียวกันได้ สามารถพัฒนาวิธีการเตรียมด้วยเทคนิคการแทนที่สารทำละลายตัวกลางสำหรับกระจายยางพาราให้อยู่ในรูปสารละลาย ซึ่งอาจนำไปใช้เป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์ยางแห้งในอุตสาหกรรมอื่นๆได้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

2-Pyrrolidone (lot no. A0257476, Acros Organics, New Jersey, USA), azithromycin (Supplied by Government of Pharmaceutical Organization, Thailand), benzyl benzoate (Pharmaceutical Traders Co., Ltd., Bangkok, Thailand), Brain Heart Infusion (BHI) (lot no. 0270845, Bacto™, USA), Brain Heart Infusion Agar (BHA) (lot no. 0298038, Bacto™, USA), Block natural rubber (STR 5L, Chalong Latex Industry Co., Ltd., Songkhla Thailand), camphor (supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand), castor oil (supplied by SR Lab Co., Bangkok, Thailand), clove oil (Srichand United Dispensary Ltd. Partnership, Bangkok, Thailand), cold-pressed coconut oil (Tropicana Oil Co., Ltd., Nakhon Pathom, Thailand, dichloromethane (244777-P, Brightchem Sdn Bhd, Pulau Pinang, Malaysia), diethyl ether (lot. K37B19, J.T. Baker, U.S.A.), disodium hydrogen phosphate (AR grade, Batch No. AF405300, Ajax finechem Pty. LTD., New South Wales, Australia), ethyl oleate (lot no. 1425705, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Buch, UK), eucalyptus oil (supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand), eugenol (batch no. DK8521, supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand), ibuprofen (batch no. IBU/0110/A-1296, P. C. Drug Center Co., Ltd., Bangkok, Thailand), isopropyl myristate (Ake-Trong Chemical 1985 Co., Ltd., Bangkok, Thailand), light mineral oil (supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand), menthol (supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand), methanol (HPLC grade) (HPLC grade, Batch No. 0000019710, Avantor Performance materials Inc., Pennsylvania, USA), N-methyl-2-pyrrolidone (Lot No. SZBB3010V, Sigma-Aldrich Co., Missouri, USA), olive oil (lot no. L9126R H1336, Sino-Pacific Trading Co., Ltd., Bangkok, Thailand), peppermint oil (P. C. Drug Center Co., Ltd., Bangkok, Thailand), phosphoric acid 85% (MERCK™), potassium chloride (AR grade, Batch No. 0912453, Ajax finechem Pty. LTD., New South Wales, Australia), potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄) (AR grade, Lot No. P5104-1-1000, QREC Chemical CO., LTD., Chonburi, Thailand), sodium hydroxide (NaOH) (AR grade, Batch No. 1188-04/05, P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand), sesame oil (Namsiang Co., Ltd., Bangkok, Thailand), silicone oil (batch no. 1104551, Ajax Finechem Pty Ltd, NSW, Australia), sodium chloride (batch no. AF407256, Ajax Finechem, Bangkok, Thailand), sulphuric acid (supplied by P.C. Drug Center CO., LTD., Bangkok, Thailand), teflon (PTFE) membrane 0.45 μ m (Whatman®), triacetin (lot no. MKBG3776V, Sigma Aldrich, MO, USA), triethyl citrate (lot no. BCBBF0400, Sigma-Aldrich, MO, USA), tetra ethylene glycol (batch no. 04322BJ, Aldrich, MO, USA), tryptic Soy Agar (TSA) (lot no. 7341698, Difco™, USA) and tryptic Soy Broth (TSB) (lot no. 8091999, Difco™, USA)

วิธีการทดลอง

วิธีการวิจัย

1. การเตรียมของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพารา

1.1 การเตรียมสารละลายยางพารา

นำยางแท่ง STR 5L (Standard Thai Rubber 5 Light) ที่มีโปรตีนต่ำ โดยมีการวิเคราะห์สมบัติพื้นฐานของยางนี้แล้วมาย่อยขนาดและเตรียมในรูปสารละลายในความเข้มข้น 1.25, 2.5, 3.75 และ 5 %w/w ในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ dichloromethane (DCM) หรือ diethyl ether (DE) ทำการศึกษาเบื้องต้นเพื่อหาระดับความเข้มข้นของยางพาราชนิดแท่งที่ละลายในสารทำละลายอินทรีย์ดังกล่าวที่ยางพาราสามารถละลายได้และให้ความหนืดในระดับที่เหมาะสมในการทำการทดลองต่อไปโดยไม่ให้หนืดเกินไปจนปั่นผสมไม่ได้หรือเหลวเกินไปจนทำให้สิ้นเปลืองสารทำละลาย

1.2 การศึกษาการแทนที่ด้วยของเหลวทางเภสัชกรรม

ทำการผสมสารละลายยางพาราดังกล่าวกับน้ำมันและของเหลวชนิดต่างซึ่งไม่ใช่ไขมัน ซึ่งมี 3 กลุ่มดังรายการ A, B และ C ด้านล่างนี้ ในปริมาณร้อยละ 3.75 โดยน้ำหนักที่เท่ากับเนื้อยางพาราในสารทำละลาย แล้วทำการผสม สังเกตการเข้ากันได้หรือการแยกตัวภายหลังการปั่นระเหยสารทำละลายเป็นเวลา 24 ชม

- A. Natural oil (olive oil, sesame oil, coconut oil, eugenol, peppermint oil, castor oil, clove oil และ eucalyptus oil)
- B. Synthesis oil และของเหลวอื่นที่ไม่ใช่ไขมัน (triacetin, Triethyl citrate, Isopropyl myristate, light mineral oil, ethyl oleate, benzyl benzoate, N-methyl pyrrolidone (NMP), N-pyrrolidone, silicone oil และ tetra glycol)
- C. Eutectic mixture (menthol:camphor)

1.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณยางพาราในระบบ

ระบบที่ยางพาราสามารถกระจายตัวเป็นสารละลายใส จะทำการเพิ่มปริมาณยางพาราลงไปอีก ในปริมาณเนื้อยาง เป็น 1.25, 2.5, 3.75 และ 5%w/w แล้วนำมาศึกษาเปรียบเทียบการยืดและแผ่เป็นฟิล์มเหนียว รวมทั้งแรงการยืดติด probe ของเครื่อง texture analyzer รวมทั้งระยะที่ฟิล์มยืดไปได้ รวมทั้งทำการเก็บระบบที่มีความเข้ากันได้ไว้เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงความหนืด สภาวะการทดสอบด้วย texture analysis (Charpa Techcenter, Godalming, Stable micro Systems Ltd., UK) ซึ่งใช้ probe ชนิด P/20 ; 20mm DIA CYLINDER ALUMINIUM มี Contact Area 314.66 mm² (n=5)

2. เตรียมของเหลวคล้ายน้ำมันที่ขี้ดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราที่บรรจุด้วยสำคัญ

คัดเลือกระบบที่ให้ความหนืดที่คงที่ไม่เปลี่ยนแปลงไป มาใช้บรรจุยา ibuprofen และ azithromycin โดยศึกษาปริมาณที่สามารถบรรจุได้ และประเมินระบบที่ได้ด้วยวิธีการข้างต้น ดังวิธีในข้อ 1.2-1.3 และศึกษาเพิ่มเติมคือ การศึกษากระบวนการนำส่งยา Ibuprofen จากระบบที่เป็นของเหลวที่มีความหนืด โดยทุกระบบจะกำหนดให้มีปริมาณยางแท่งประมาณ 3.75 % และจะเปลี่ยนแปลงปริมาณยา Ibuprofen ให้มีทั้งหมด 4 ความเข้มข้นคือ 3.5 , 7 , 15 และ 20 % และมี control อีก 2 ตำรับ และศึกษาการเติม N-methyl pyrrolidone (NMP) ลงในตำรับคาดว่าจะช่วยในการปลดปล่อยยา โดยการศึกษานี้ได้ทดลองเปรียบเทียบทั้งหมด 4 สูตร โดยเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ NMP ในสูตรในปริมาณ 10, 20, 30, 40 %w/w กลุ่มควบคุมที่ใช้ได้แก่ Ibuprofen 7%w/w ในส่วนประกอบที่เป็นยางแท่ง 3.75%w/w ใน Eutectic (C3) และ Ibuprofen 7%w/w ใน Eutectic (C4) รวมทั้งได้ใช้ Cremophor ช่วยในการปลดปล่อยยา โดยใช้การใช้ Cremophor 10%w/w และเติม NMP 40%w/w โดยทั้งใช้ Ibuprofen 7%w/w ยางแท่ง 3.75%w/w และใช้ Eutectic ปรับปริมาตรให้เต็ม จากการศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยยา Azithromycin ในยางพาราโดยใช้ระบบน้ำมัน ซึ่งต้องนำยางพาราละลายใน DE ก่อนแล้วจึงนำมาผสมกับยาและน้ำมัน ดังนั้นการศึกษานี้จึงเลี่ยงการใช้ DE ซึ่งเป็น Organic Solvent แต่ใช้ระบบ Eutectic คือ Menthol:camphor 1:1 แทน เนื่องจาก Azithromycin และยางแท่ง สามารถละลายใน Eutectic ได้ ซึ่งได้ทดลองเปรียบเทียบทั้งหมด 4 สูตร โดยความเข้มข้นของยาในสูตร คือ 3.5, 7, 15, 20% นำตัวอย่างแต่ละสูตรไปประเมิน ความหนืดด้วย Brookfield DVIII Ultra programmable viscometer (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., USA) (N=3) และการปลดปล่อยยาโดยวิธี dialysis method (N=6)

2.1 ศึกษาการปลดปล่อยยาและกลไกการควบคุมการปลดปล่อยยา

สำหรับการศึกษาการปลดปล่อยยา ibuprofen ทำการวิเคราะห์ยานี้โดยใช้วิธี HPLC โดยศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยยาด้วยเครื่อง franz diffusion cell โดยใช้ Teflon membrane ที่มีขนาด pore size 0.45 μm และใช้ตัวกลางที่เป็น phosphate buffer pH 7.4 ที่มี tween 20 ความเข้มข้น 2%w/v ที่อุณหภูมิร่างกาย และสำหรับการปลดปล่อยยา azithromycin ศึกษาด้วยวิธี dialysis method โดยใช้ dialysis tube (Spectra / Pore membrane MWCO: 6,000 - 8,000, lot no. 32644, Spectrum Laboratories, Inc., CAL, USA) ในตัวกลาง phosphate buffer pH 6.8 ซึ่งเป็น pH ของช่องฟัน โดยตัวกลางนี้ได้เติม tween 20 ปริมาณ 2%w/v ด้วย ทำการเขย่าที่ความเร็วรอบ 50 รอบต่อนาที ทำการสุ่มตัวกลางมาวัดหาปริมาณยาที่ปลดปล่อยโดยใช้เครื่อง HPLC (1100 series, Agilent technology, Germany) ดังรายละเอียดดังนี้

2.1.1 การวิเคราะห์การปลดปล่อย ibuprofen

วิเคราะห์หาปริมาณยาไอบูโพรเฟนด้วยวิธี HPLC โดยใช้ C18 column โดย mobile phase ประกอบด้วย acetonitrile และ 0.01M Phosphoric acid อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร flow rate 1 มล/นาที วิเคราะห์ในช่วงความยาวคลื่น 220 nm โดยฉีดปริมาณตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ทำการวิเคราะห์หาสมการมาตรฐานในช่วงความเข้มข้น 5-120 ไมโครกรัม/มล และ 0.2-1.2 มก/มล สมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์

โครงการ ของเหลวคล้ายน้ำมันที่ขี้ดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา สัญญาเลขที่ RDG5650087

ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค คือ $y = 43.91x + 18.377$ โดยมีค่า r^2 0.9999 ข้อมูลการปลดปล่อยยาต่อพื้นที่นำมาพิดกับสมการของ Higuchi's

2.1.2 การวิเคราะห์การปลดปล่อย Azithromycin

การเตรียม Calibration curve ของสารละลายยา Azithromycin โดยนำสารละลายที่ได้ไปวัด Peak Area ด้วยเครื่อง HPLC (1100 series, Agilent technology, Germany) โดยใช้ HPLC column ACE[®] C18 (4.6 mm x 15 cm, Advanced Chromatography Technology, Scotland) โดยสภาวะของการวัด คือ Stationary phase คือ Column C18 150x4.6 mm; Mobile phase คือ Methanol:Phosphate buffer pH 7.5 อัตราส่วน 80:20; Temperature: 50°C; Flow rate :2.0 mL/min; UV detector wavelength:210 nm โดยสมการเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค คือ $y = 0.8368x-10.1$ และ r^2 คือ 0.9994 การศึกษาการปลดปล่อยยาจากตำรับด้วยวิธี Dialysis membrane method (ทำ 3 ซ้ำ) โดยชั่งตำรับปริมาณ 1 กรัม ลงใน Dialysis tube (MW cut off 6,000-8,000) และบรรจุในขวดแก้วที่มี Phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 100 mL หลังจากนั้นนำขวดไปเขย่าใน Shaking incubator (Shel Lab, Sheldon Manufacturing, Inc., Oregon, USA) อุณหภูมิ 37°C ความเร็วในการหมุน 50 rpm สุ่มตัวอย่างขึ้นมา 10 mL ที่แต่ละเวลา โดยเติม Phosphate buffer pH 6.8 คืนกลับไป 10 mL ในทุกตัวอย่างที่สุ่มและทุกครั้งที่ทำ การสุ่มและวิเคราะห์ปริมาณยาที่ปลดปล่อยด้วยวิธี HPLCทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลการปลดปล่อยยาและโมเดลการปลดปล่อยยาต่างๆ ได้แก่ First order, Zero order, Powder law expression และ Higuchi's เพื่อหาโมเดลที่เหมาะสมที่สุดสำหรับข้อมูลการปลดปล่อยยาจากระบบที่เตรียมขึ้นด้วยโปรแกรม nonlinear computer programme, Scientist for Windows, version 2.1 และเปรียบเทียบความสามารถในการพิด (goodness-of-fit) จากค่า coefficient of determination (r^2) และค่า model selection criteria (msc) ซึ่งหากมีค่าที่สูงแสดงว่าข้อมูลพิดกับสมการนั้นๆ ได้ดี

2.2 การยับยั้งเชื้อโรค

ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อโรค คือ *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* โดยวิธี cup agar diffusion method (n=3) ดังรายละเอียดวิธีการดังนี้

- วิธีเตรียมการเตรียมเชื้อ โดยนำเชื้อแต่ละชนิด มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว Brain Heart Infusion Broth (BHI) สำหรับเชื้อ *Streptococcus mutans* และ *Porphyromonas gingivalis* และ Tryptic Soy Broth (TSB) สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* บ่มในสภาวะไร้ออกซิเจนด้วยเครื่อง Anaerobic incubator (Forma Anaerobic System, Thermo Scientific, Ohio, USA)
- ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24-48 ชั่วโมง
- วิธีทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคของระบบโดยวิธี cup diffusion method เตรียม agar plate โดยใช้อาหาร Brain Heart Infusion Agar (BHI) สำหรับเชื้อ *Streptococcus mutans* และ *Porphyromonas gingivalis* และ Tryptic Soy Agar (TSA) สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากนั้นนำเชื้อที่เตรียม

โครงการ ของเหลวคล้ายน้ำมันที่อัดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา สัญญาเลขที่ RDG5650087

ได้จากข้างต้น มาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้นของเชื้อแต่ละชนิดคือ 1×10^8 cfu/ml โดยเทียบกับ calibration curve จากนั้นนำ sterile swab จุ่มลงในเชื้อที่ทำการ dilute แล้ว หมุน swab กับผิวด้านในหลอดให้ swab พอหมาด ๆ แล้วจึงใช้ swab มาป้ายให้เป็น 3 ระบาย ให้เชื้อกระจายทั่วผิวน้ำอาหาร ปล่อยให้ผิวน้ำอาหารแห้งประมาณ 3-5 นาที ใช้ sterile forceps แล้วปล่อยให้เย็นจึงคืบ cup มาวางบนผิวของอาหาร โดยที่จะวางในลักษณะที่ตรงข้ามกัน นำตัวอย่าง และตัวควบคุมในปริมาตร 150 μ l หยดลงใน cup แต่ละอัน แล้วนำไปบ่มบ่มในสภาวะไร้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24-48 ชั่วโมง การแปลผลการทดสอบวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ inhibition zone ที่เกิดขึ้น โดยใช้หน่วยเป็น cm (n=3)

3 วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการทดลองต่างๆ ข้างต้น ด้วยสถิติ ANOVA

ผลการทดลอง

จากการเปรียบเทียบการละลายยางพารา (NR) ในความเข้มข้น 1, 2.5, 3.75 และ 5 %w/w ในตัวทำละลายคือ dichloromethane (DCM) และ diethyl ether (DE) พบว่าตัวทำละลายทั้งสองสามารถละลาย NR ได้ แต่เมื่อความเข้มข้น NR สูงมากกว่า 5%w/w พบว่าสารละลายที่ได้หนืดมากจนเทออกจากขวดได้ยากมาก และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้ตัวทำละลายทั้งสองชนิด การใช้ DE สามารถละลาย NR ได้เร็วกว่าและสารละลายที่ได้ไม่หนืดมากเกินไปและสามารถเทจากขวดได้ง่ายกว่าการใช้ DCM ดังนั้นการศึกษาต่อมาได้เตรียมสารละลาย NR ในความเข้มข้น 5%w/w ใน diethyl ether ในขวดที่มีฝาปิด ก่อนนำมาทดสอบเบื้องต้นในการผสมกับ light mineral oil และ eutectic mixture คือ menthol-camphor (1:1) ก่อน เพื่อให้ได้ NR ในน้ำมันเหล่านี้ในความเข้มข้น 1.25, 2.5, 3.75 และ 5 %w/w ภายหลัง DE ระเหยออกไปแล้ว โดยนำ light mineral oil หรือ eutectic mixture ปริมาณ 19.75, 19.5, 19.25 และ 19 g ผสมกับ NR 5, 10, 15 และ 20 g ตามลำดับ แล้วนำไปปั่นโดยใช้ magnetic bar ให้ solvent ระเหยออกให้หมดเป็นเวลา 24 ชม. ภายในตู้ดูดควัน จากการศึกษา NR ความเข้มข้นที่ 3.75% (สารละลาย NR 15g) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมโดยระบบยังคงสามารถเทได้และไม่เหลวเกินไป หลังจากนั้นได้เปลี่ยนแปลง dispersing medium ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ natural oil (olive oil, sesame oil, coconut oil, eugenol, peppermint oil, castor oil, clove oil และ eucalyptus oil), synthesis oil และของเหลวอื่นที่ไม่ใช่น้ำมัน (triacetin, Triethyl citrate, Isopropyl myristate, light mineral oil, ethyl oleate, benzyl benzoate, N-methyl pyrrolidone (NMP), N-pyrrolidone, silicone oil และ tetraethylene glycol) และกลุ่ม eutectic mixture (1:1 menthol:camphor)

จากการผสมสารละลาย NR 5%w/w กับ dispersing medium ชนิดต่างๆ โดยเมื่อให้สารทำละลายระเหยไปแล้วและให้มีเนื้อยางกระจายในตัวกลางอยู่ในความเข้มข้น 3.75% พบว่า dispersing medium ที่ทำให้ส่วนผสมมีลักษณะภายนอกใสที่เป็นน้ำมันที่มาจากธรรมชาติได้แก่ coconut oil , eucalyptus oil , olive oil และ sesame oil แต่ sesame oil จะมีส่วนผสมที่มีสีเหลือง ส่วนที่มาจากสารสังเคราะห์ได้แก่ ethyl oleate , isopropyl myristate และ light mineral oil ส่วนที่เป็นระบบ Eutectic ได้แก่ 1:1 Menthol : camphor และเมื่อนำมาทดลองยืดดูพบว่า ได้ลักษณะเป็นฟิล์มที่ยืดและแผ่ตัวได้ นอกจากนี้ยังพบว่า dispersing medium บางชนิดไม่สามารถผสมเข้ากับสารละลาย NR 5% w/w ได้ แต่เกิดการแยกตัวเป็นก้อน ลักษณะต่างๆ ซึ่งแบ่งเป็น dispersing medium ออกเป็น มาจากธรรมชาติได้แก่ eugenol, peppermint oil, castor oil และ clove oil ส่วนที่มาจากสารสังเคราะห์ได้แก่ triacetin, triethyl citrate, benzyl benzoate, N-methyl pyrrolidone (NMP), N-pyrrolidone, tetra glycol และ silicone oil จากการนำ light mineral oil ผสมกับ NR ความเข้มข้นต่างๆ ไปปั่นเพื่อระเหย solvent ออกหมดแล้ว และนำไปประเมินลักษณะทางกายภาพโดยการสังเกตความหนืดและความสามารถในการยืดทั้งแบบก่อนและหลังจากทิ้งไว้ 3 เดือน พบว่า สามารถผสมเข้ากันได้ทุกความเข้มข้น ส่วนความหนืดและความสามารถในการยืดเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ NR และเมื่อวัดหลังจากทิ้งไว้ 3 เดือน พบว่าทั้งความหนืดและความสามารถในการยืดลดลงเล็กน้อยเหมือนกันส่วนการทดลองที่ใช้ menthol:camphor(1:1) ยังคงให้ผลการประเมินเช่นเดียวกันกับ light mineral oil

จากการนำ menthol:camphor(1:1) (E) หรือ light mineral oil (L) ผสมกับ NR (N) ในความเข้มข้นของยางพาราต่างๆ (EN : ระบบที่ประกอบด้วย E และ N และ LN : ระบบที่ประกอบด้วย L และ N โดยโครงการ ของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา สัญญาเลขที่ RDG5650087

มี N ในความเข้มข้นต่าง ๆ) ไปบันทึกเพื่อระเหย solvent ออกหมดแล้ว และนำไปประเมินความแข็งและการยึดติดของระบบโดยใช้ texture analyzer ซึ่งวัดทั้งหมด 3 ค่าได้แก่ Force 1 คือ แรงสูงสุด, Force 2 คือแรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัว probe และ Distance คือระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัว probe พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ NR เพิ่มขึ้น Force 2 จะเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน ส่วน Force 1 และ distance ของ menthol:camphor (1:1) และ light mineral oil ก็ยังคงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ NR เช่นเดิม แต่ light mineral oil จะมีค่าที่เพิ่มขึ้นมากกว่า menthol:camphor (1:1) แสดงว่า light mineral oil เป็น dispersing medium ที่ทำให้ระบบสามารถยึดตัวได้ดี ดังแสดงในตารางที่ 1 จากการกำหนดความเข้มข้นของ NR ให้คงที่ที่ 3.75% แล้วนำไปผสมกับ dispersing medium ชนิดต่างๆ ที่สามารถผสมเข้ากับ NR ได้ และนำไปประเมินการยึดติด probe ของเจล ผลดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า dispersing medium ที่ให้ Force 1 และ Force 2 มากที่สุด คือ coconut oil ส่วน dispersing medium ที่ให้ Distance มากที่สุดคือ menthol:ibuprofen แต่จากภาพรวมของ dispersing medium ทุกชนิด สรุปได้ว่า coconut oil เป็น dispersing medium ที่ให้ทั้ง Force 1, Force 2 และ distance มากที่สุด อย่างไรก็ตามการพิจารณาการนำน้ำมัน coconut มาใช้อาจพบปัญหาเรื่องการยอมรับของกลิ่นและการเห็นได้

จากการทดลองการหาค่าการละลายยา Ibuprofen ใน DE ซึ่งผลการทดลองที่ได้คือยานี้สามารถละลายได้ดีมากใน DE คือประมาณ 22 กรัมใน diethyl ether 20 กรัม ซึ่งจากผลการทดลองนี้ทำให้เลือกที่จะนำยา Ibuprofen มาละลายใน DE เนื่องจากมีค่าการละลายยาที่ดีเมื่อเทียบกับการละลายยาใน olive oil จากการทดลองหาค่าการละลายยา ibuprofen ใน olive oil ซึ่งผลการทดลองที่ได้คือ ยานี้ไม่สามารถละลายในน้ำมันนี้ได้ด้วยสภาวะปกติ แต่หากมีการนำไปให้ความร้อนยานี้จะสามารถละลายได้หมดในน้ำมันชนิดนี้ ได้เป็นสารละลายใส แต่เมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 วัน ยาจะตกตะกอน จึงไม่เลือกนำ olive oil มาเป็นตัวทำละลายยาเนื่องจากยาไม่มีการละลายที่ดี จากการศึกษาข้างต้นผู้วิจัยตัดสินใจเลือก eutectic mixture เพื่อเป็น dispersing medium เนื่องจากเป็นน้ำมันที่มีความนิยมใช้ทางเภสัชกรรม อีกทั้งให้สมบัติที่ดีโดยพบโดยบังเอิญว่า NR สามารถกระจายตัวได้ดี โดยไม่จำเป็นต้องใช้ DE หรือระเหย DE ออกไป สำหรับระบบ eutectic mixture ที่ประกอบด้วย menthol:camphor ในสัดส่วน 1:1 ซึ่ง NR สามารถกระจายตัวได้ดี ส่วนผสมที่สัดส่วน 1:1 นี้มีลักษณะเป็นน้ำมันที่มีความหนืดที่ต่ำ (Tuntarawongsa และ Phaechamud, 2012) ทำให้สามารถบรรจุสารอื่นลงไปอีกได้มาก ทั้งยาหรือยาพารา และส่วนผสมนี้ยังสามารถละลายยา ibuprofen รวมทั้ง azithromycin ได้ดี โดยสามารถบรรจุได้มากกว่า 15%w/w จึงได้นำมาใช้เป็น dispersing medium ในการศึกษาต่อไปด้วย จากการทดสอบแต่ละตำรับพบว่า ตำรับ Ibu3.5 ซึ่งมียา ibuprofen 3.5% ให้ค่าแรงสูงสุดในการดึง โดยแรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัว probe และ ระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัวมากที่สุด เนื่องจากตำรับ Ibu3.5 มีความหนืดมากที่สุด (ไม่ได้แสดงผลในส่วนนี้) แต่เมื่อปริมาณยาสูงขึ้นยานี้จะไปรบกวนความต่อเนื่องของระบบทำให้ความแข็งแรงลดลงและยึดตัวได้ต่ำลงตามปริมาณยาที่มากขึ้น

Table 1 Film extension force and distance (n=5)

(A)

EN	Force 1 (N)	Force 2 (N)	Distance (mm)
1.25	0.015 $\pm$ 0.000	0.006 $\pm$ 0.001	5.415 $\pm$ 0.366
2.5	0.017 $\pm$ 0.000	0.007 $\pm$ 0.001	5.737 $\pm$ 0.001
3.75	0.018 $\pm$ 0.001	0.007 $\pm$ 0.000	7.140 $\pm$ 0.007
5	0.017 $\pm$ 0.007	0.009 $\pm$ 0.007	9.276 $\pm$ 0.134

(B)

LN	Force 1 (N)	Force 2 (N)	Distance (mm)
1.25	0.015 $\pm$ 0.001	0.005 $\pm$ 0.001	5.472 $\pm$ 0.377
2.5	0.015 $\pm$ 0.001	0.006 $\pm$ 0.001	6.150 $\pm$ 0.041
3.75	0.019 $\pm$ 0.001	0.007 $\pm$ 0.001	11.229 $\pm$ 0.3763
5	0.023 $\pm$ 0.000	0.009 $\pm$ 0.008	12.246 $\pm$ 0.3161

หมายเหตุ: EN คือ ระบบที่ประกอบด้วย E และ N และ LN คือ ระบบที่ประกอบด้วย L และ N โดยมี N ในความเข้มข้นต่างๆ

Table 2 Film extension force and distance of system containing 3.75%NR (n=5)

Solvent	Force 1 (N)	Force 2 (N)	Distance (mm)
Isopropyl myristate	0.016 $\pm$ 0.001	0.006 $\pm$ 0.001	6.334 $\pm$ 0.038
Coconut oil	0.024 $\pm$ 0.001	0.011 $\pm$ 0.001	11.414 $\pm$ 0.003
Menthol:ibuprofen	0.020 $\pm$ 0.002	0.008 $\pm$ 0.002	11.599 $\pm$ 0.004
Eucalyptus oil	0.015 $\pm$ 0.001	0.005 $\pm$ 0.001	5.250 $\pm$ 0.208
Sesame oil	0.016 $\pm$ 0.000	0.006 $\pm$ 0.000	5.817 $\pm$ 0.111
Olive oil	0.015 $\pm$ 0.001	0.006 $\pm$ 0.001	5.825 $\pm$ 0.020
Ethyl oleate	0.015 $\pm$ 0.001	0.005 $\pm$ 0.001	5.837 $\pm$ 0.004

Force 1 คือแรงสูงสุด

Force 2 คือแรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัว probe

Distance 1 คือระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัว probe

จากตารางที่ 3 พบว่าตำรับ Ibu 3.5 มีความหนืดมากกว่ากลุ่มตำรับที่เติม NMP ส่วนกลุ่มตำรับที่เติม NMP เป็นตำรับที่ใช้ระบบ eutectic เป็น solvent ในการละลายยางแท่ง ทำให้ตำรับ Ibu3.5 มีความหนืดมากกว่า และจากกลุ่มที่เติม NMP ในตำรับพบว่า เมื่อปริมาณของ NMP มากขึ้นความหนืดของตำรับจะลดลงตามลำดับ ส่วนตำรับ C3 ความหนืดมากกว่าตำรับ C4 เนื่องจากตำรับ C3 คือตำรับที่ไม่เติม NMP ส่วนตำรับ C4 คือตำรับที่ไม่เติม NMP และไม่เติมยางแท่ง ส่งผลให้ตำรับ C4 มีความหนืดน้อยกว่าตำรับ C3 โดยจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าความหนืดมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) จากผลที่ได้แสดงว่า NMP มีผลรบกวนการยึดสายไซโมเลกุลของยางพารา เนื่องจาก NMP ไม่ได้เป็นสารทำละลายที่ดีเหมือนกับระบบโครงการ ของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา สัญญาเลขที่ RDG5650087

eutectic ดังจะเห็นได้จากการแยกตัวของยางพาราใน dispersing agent ที่เป็น NMP ก่อนหน้านี้หลังจากการระเหย DE ออกไปซึ่งยางจะจับตัวเป็นก้อน ดังนั้นจึงควรระวังการใช้ NMP ในตำรับที่มียาง แม้ว่า NMP จะเป็นสารทำละลายที่ดีทางเภสัชกรรมและมีความเข้าได้กับร่างกาย และช่วยให้สารดูดซึมได้ดีขึ้นก็ตาม (Babu and Pandit, 2005; Sanghvi และคณะ, 2008; Koizumi และคณะ, 2004) และตำรับที่มีการเติม NMP ทั้งหมดมีความหนืดภายหลังเก็บไว้เป็นเวลา 6 เดือนน้อยกว่าก่อนเก็บโดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 5 ความหนืดของแต่ละตำรับก่อนและหลังการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน (n=3)

Sample	Viscosity (cps)	
	Mean $\pm$ SD	
	Before	After
NMP10	491.67 $\pm$ 7.02	422.91 $\pm$ 3.49
NMP20	326.37 $\pm$ 2.22	310.41 $\pm$ 5.82
NMP30	215.30 $\pm$ 4.25	202.72 $\pm$ 6.20
NMP40	145.87 $\pm$ 5.61	119.39 $\pm$ 10.91
C3	626.17 $\pm$ 13.78	619.42 $\pm$ 5.84
C4	14.67 $\pm$ 2.14	14.01 $\pm$ 0.37
Ibu3.5	996.00 $\pm$ 10.44	984.14 $\pm$ 7.71
Ibu7	944.90 $\pm$ 17.89	936.02 $\pm$ 8.21
control oil	63.03 $\pm$ 0.40	63.93 $\pm$ 4.03

ทุกตำรับมีการไหลแบบ Newtonian คือ ความหนืดมีค่าคงที่ ไม่ขึ้นกับอัตราเร็วในการไหลของของเหลวนั้นจากการทดสอบแต่ละตำรับ พบว่าตำรับ Ibu3.5 ให้ค่าแรงสูงสุดในการดึง โดยแรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัว probe และ ระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัวมากที่สุด เนื่องจากตำรับ Ibu3.5 มีความหนืดมากที่สุดดังตารางที่ 4 จากการเตรียมตำรับซึ่งได้เปลี่ยนเฉพาะความเข้มข้นของยา azithromycin ทั้งหมด 4 ความเข้มข้น โดยละลายยางและยาในระบบ eutectic ที่ประกอบด้วย 1:1 menthol: camphor พบว่าทุกตำรับยางแท่งสามารถละลายได้ และสามารถผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้ จากการเตรียมตำรับซึ่งใช้ NMP ช่วยในการปลดปล่อยยาโดยเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ NMP ทั้งหมด 5 ความเข้มข้น พบว่าตำรับที่ใช้ NMP 10-40%w/w ยางแท่งสามารถละลายได้ ส่วนตำรับที่ใช้ NMP 50% w/w ยางแท่งไม่ละลายจึงไม่สามารถนำไปทดสอบการปลดปล่อยยาได้ จากการทดลองใช้ Cremophor ELP 10%w/w ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิว เพื่อช่วยในการปลดปล่อยยาในตำรับ พบว่า ยางแท่งสามารถละลายในตำรับได้ ส่วนตำรับที่ใช้ NMP 40%w/w และ Cremophor 10%w/w พบว่า ยางแท่งไม่ละลายจึงไม่สามารถนำไปทดลองการปลดปล่อยยา จากตารางที่ 5 พบว่า ตำรับ azithromycin 20% ซึ่งเป็นตำรับที่ไม่มี NMP ในตำรับมีความหนืดมากที่สุด และลดลงตามปริมาณของ azithromycin ซึ่งก็ยังคงมากกว่าตำรับที่เติม NMP ในตำรับ โดยความหนืดลดลงเมื่อปริมาณของ NMP ในตำรับมากขึ้น ส่วน C1 มีความหนืดมากกว่า C2 เนื่องจาก C1 คือตำรับที่มียางแท่ง แต่ตำรับ C2 ไม่มียางแท่งในตำรับ

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบ Texture analysis (n=5)

	Force 1(N)	Force 2(N)	Distance 1(mm)
NMP10Ibu	0.017±0.000	0.007±0.001	6.107±0.524
NMP20Ibu	0.017±0.001	0.007±0.001	5.160±0.264
NMP30Ibu	0.017±0.001	0.007±0.001	5.377±0.181
NMP40Ibu	0.016±0.001	0.006±0.001	5.379±0.150
C3	0.020±0.001	0.010±0.001	6.959±0.393
C4	0.016±0.001	0.007±0.001	5.429±0.677
Ibu3.5	0.023±0.002	0.009±0.002	40.919±0.3.391
Ibu7	0.020±0.002	0.010±0.002	7.814±0.363
Control Ibu	0.018±0.001	0.008±0.001	4.834±0.256

หมายเหตุ Force 1 คือ แรงสูงสุด

Force 2 คือ แรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัวprobe

Distance คือ ระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัว probe

ตารางที่ 5 ความหนืดของตัวอย่างต่างๆ ที่บรรจุยา azithromycin (n=3)

Sample	Viscosity (cps)	
	Mean±SD	
	Before	After
NMP10	249.30±7.24	228.91±6.60
NMP20	182.13±1.40	175.39±2.93
NMP30	76.10±0.87	62.02±4.82
NMP40	19.20±0.36	10.82±2.81
control	0.00±0.00	0.82±1.25
C1	523.77±62.18	512.62±3.81
C2	19.80±6.15	17.92±1.04
Azithromycin 3.5	501.90±69.61	482.00±6.22
Azithromycin 7	627.67±5.65	612.04±3.39
Azithromycin 15	884.27±30.61	879.22±8.20
Azithromycin 20	1042.33±17.79	1034.79±3.04

สำหรับการศึกษารูปแบบการไหลของแต่ละตำรับ พบว่าทุกตำรับมีการไหลแบบ Newtonian คือ ความหนืดมีค่าคงที่ ไม่ขึ้นกับอัตราเร็วในการไหลของของไหลนั้น (ไม่ได้แสดงรูปประกอบ) จากการทดสอบแรงติดกับ probe ของเครื่อง texture analyzer พบว่าค่าแรงสูงสุดในการดึง แรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัว probe และ ระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัว probe ไม่แตกต่างกันมากนัก ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบ Texture analysis (n=5)

	Force 1(N)	Force 2(N)	Distance 1(mm)
NMP10	0.016±0.000	0.006±0.001	4.690±0.171
NMP20	0.017±0.001	0.007±0.001	5.092±0.300
NMP30	0.017±0.001	0.006±0.001	4.824±0.327
NMP40	0.017±0.000	0.006±0.001	4.784±0.121
Azi7NMP	0.019±0.001	0.006±0.001	5.300±0.212
C1	0.017±0.001	0.008±0.001	5.262±0.325
C2	0.016±0.001	0.006±0.001	4.724±0.153
Azi3.5	0.017±0.001	0.007±0.002	5.705±0.172
Azi7	0.018±0.001	0.008±0.001	6.219±0.300
Azi15	0.019±0.000	0.008±0.001	7.249±0.193
Azi20	0.019±0.001	0.009±0.000	6.740±0.360
Azi7Eutec	0.016±0.001	0.006±0.000	4.634±0.038

หมายเหตุ Force 1 คือ แรงสูงสุด

Force 2 คือ แรงที่เกิดขึ้นขณะที่สารขาดออกจากตัวprobe

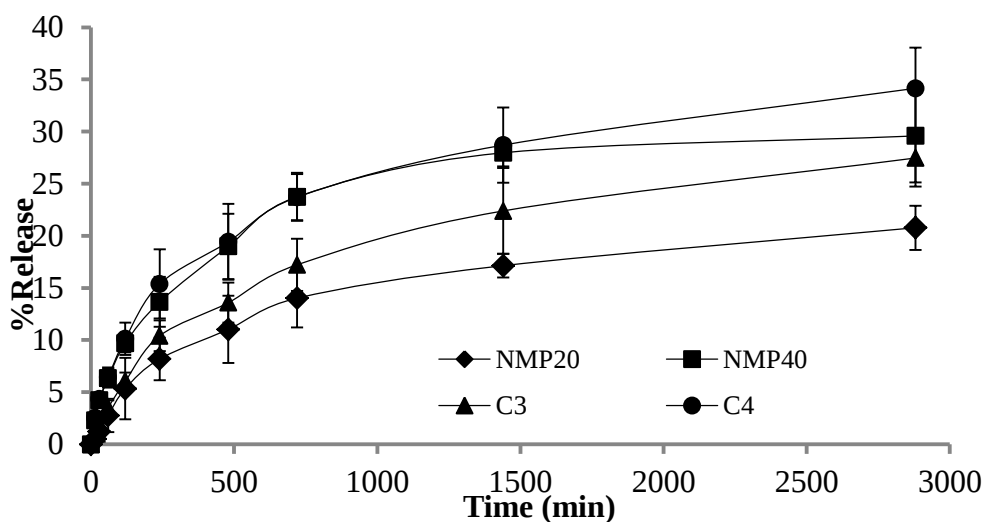
Distance คือ ระยะทางที่สารเคลื่อนที่สูงสุดก่อนที่จะขาดออกจากตัว probe

การปลดปล่อยยา

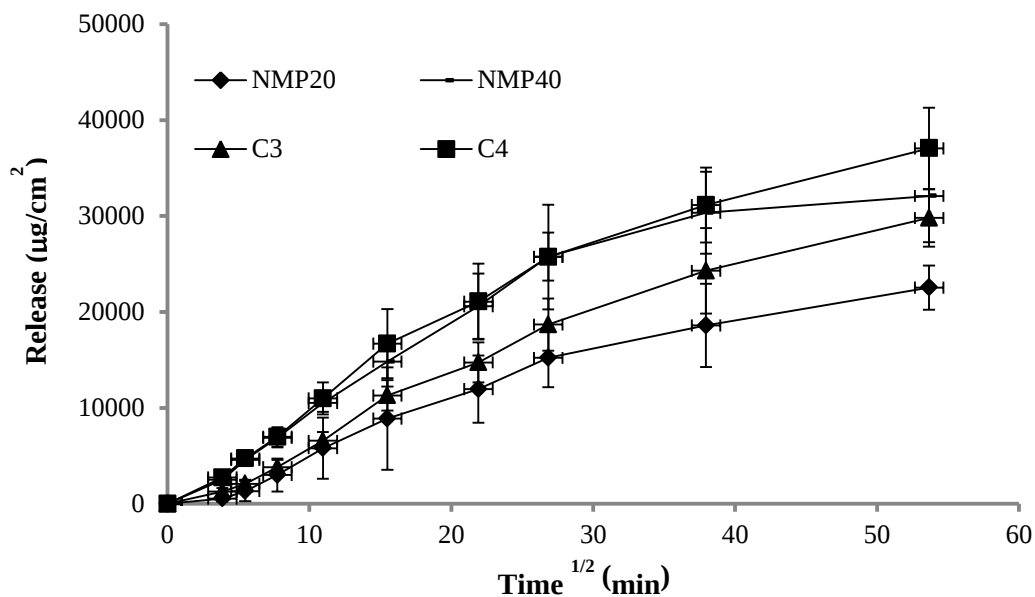
การหาปริมาณยาไอบูโพรเฟนด้วยวิธี HPLC โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค คือสมการ $y = 43.91x + 18.377$ ทั้งนี้ไม่สามารถใช้วิธี UV spectrophotometer เนื่องจากได้พบว่ามีการรบกวนการดูดกลืนแสงจากสารที่เป็นของเหลวในตำรับ ทำให้ต้องมาพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC และใช้ในการศึกษาการปลดปล่อยยานี้ผ่านเมมเบรนชนิดที่ทำจาก Teflon เนื่องจากเป็นชนิดที่มีความทนต่อน้ำมัน และได้เติม tween 20 ในตัวกลางที่เป็นส่วน receptor ซึ่งคือตัวกลางซึ่งเป็นบัฟเฟอร์ที่รองรับยาที่ปลดปล่อยผ่านเมมเบรน ทั้งนี้เพื่อให้สามารถตรวจวัดการปลดปล่อยยา ibuprofen ซึ่งเป็นยาที่มีการละลายน้ำที่ไม่ดีได้ เนื่องจาก tween 20 เป็นสารลดแรงตึงผิวซึ่งช่วยส่งเสริมการเปียกและทำให้ในยาละลายในตัวกลางได้มากขึ้น จากผลที่ได้สรุปว่าตำรับ C4 ซึ่งไม่มียางพาราเป็นส่วนผสมจะปลดปล่อยยาได้เร็วที่สุด (รูปที่ 1) แต่เมื่อมีโครงการ ของเหลวลดน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา สัญญาเลขที่ RDG5650087

ยางพาราในตำรับที่ C3 พบว่ายาลดปล่อยได้ช้าลง อันเนื่องมาจากยางทำหน้าที่ควบคุมการปลดปล่อยยา ความหนืดจากยางจึงมีผลลดการแพร่ของยาจากระบบทำให้ยาออกฤทธิ์ได้นาน ซึ่งมีพอลิเมอร์ชนิดหนืดมากที่สามารถละลายได้ในของเหลวประเภทน้ำมัน ดังนั้นยางพาราจึงเป็นพอลิเมอร์ชนิดที่ละลายได้ในของเหลวกลุ่มที่ศึกษานี้ได้หลายชนิดและสามารถหน่วงการปลดปล่อยยาได้ ทั้งนี้หากจะทำให้ตำรับหนืดกว่านี้ก็สามารถทำได้ โดยสามารถใช้ปริมาณยางเพิ่มได้อีกโดยยังได้ระบบที่ใสและยางละลายได้ แต่ความหนืดอาจสูงเกินไปจากการที่ยางเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่สูงมากจะทำให้ตัวกลางที่ยางละลายอยู่มีความหนืดสูงเกินความเหมาะสมที่จะแผ่ตัวได้ อย่างไรก็ตามระบบในความเข้มข้นสูงๆ สามารถเตรียมได้ และอาจใช้ประโยชน์ในการกักเก็บน้ำมันให้กลั่นอยู่คงทนได้ เป็นต้น ซึ่งอาจเป็นการประยุกต์ใช้ในงานอื่นๆ ต่อไปได้ เนื่องจากตัวกลางที่ใช้ทำละลายยางแม้จะมีกลิ่นแต่การระเหยนั้นช้ามากจึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาและยางไม่มากนักและหากเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมจะป้องกันการระเหยนี้ได้ สำหรับการเติม NMP พบว่าทำให้ยาลดปล่อยได้ช้าลง (รูปที่ 1) แต่เมื่อปริมาณ NMP มากขึ้นมีผลลดความหนืดของตำรับจึงทำให้ยาสามารถแพร่ได้ง่ายขึ้นจึงทำให้ยาลดปล่อยได้เร็วขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลของความหนืดของตำรับที่มี NMP ในปริมาณที่สูง

เมื่อนำข้อมูลการปลดปล่อยยามาพลอตในรูปแบบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณยาที่ปลดปล่อยต่อพื้นที่ และ $t^{1/2}$ ซึ่งเป็นการพลอตแบบ Higuchi's พบว่าให้ความสัมพันธ์ที่ใกล้เคียงเป็นเส้นตรง ดังแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งแสดงว่าการปลดปล่อยยา ibuprofen นี้จากตำรับของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราสอดคล้องกับสมการการปลดปล่อยแบบ Higuchi's ซึ่งแสดงว่ายานี้ถูกควบคุมการปลดปล่อยด้วยการแพร่ของยาผ่านเมมเบรนและเข้าสู่ตัวกลางโดยมีอัตราการปลดปล่อยยาดังที่กล่าวไว้ข้างต้น คือจากตำรับ C4>NMP40>C3>NMP20 ตามลำดับ



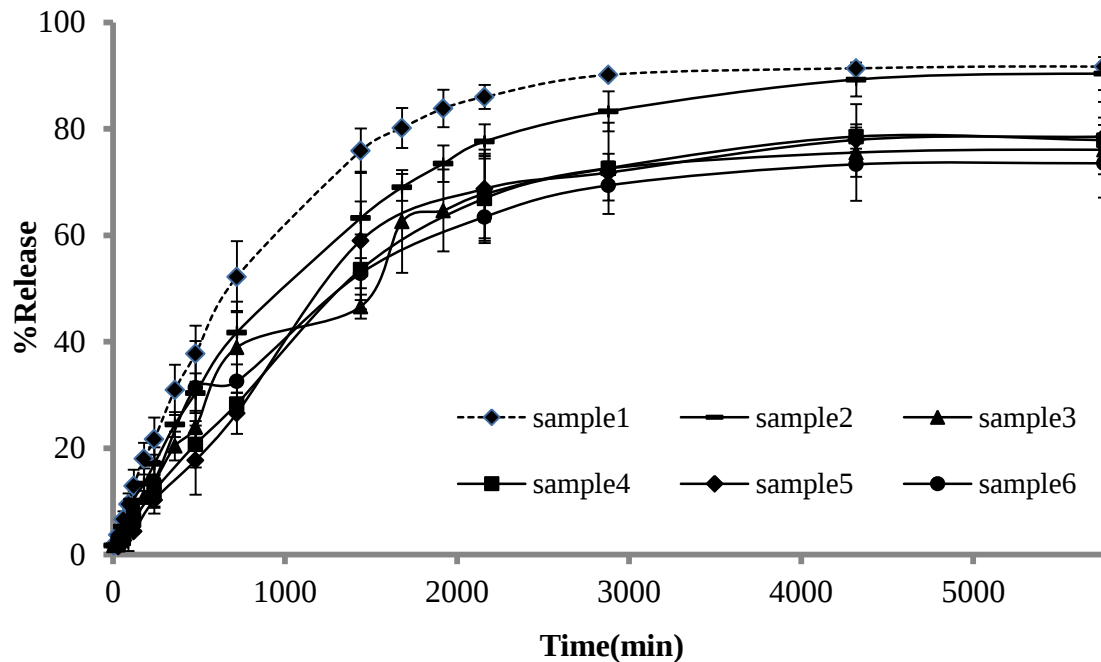
รูปที่ 1 ร้อยละการปลดปล่อยยา ibuprofen จากตำรับต่างๆ ผ่าน Teflon membrane (n=6)



รูปที่ 2 ปริมาณการปลดปล่อยยา ibuprofen จากตำรับต่างๆ ต่อพื้นที่ Teflon membrane เมื่อพลอตแบบ Higuchi's (n=6)

จากการศึกษาการปลดปล่อยของยา Azithromycin จากตำรับเจล โดยใช้ Dialysis membrane method แล้วนำมาหาปริมาณยาที่ปลดปล่อยด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้สมการเส้นตรง $y = 0.8368x - 10.16$ ผลการปลดปล่อยยาแสดงในรูปที่ 3 โดย Sample 1 ได้แก่ ตำรับที่มี Azithromycin 7%w/w + Eutectic มีการปลดปล่อยยาเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 0 – 2000 นาที หลังจากนั้นจะเริ่มคงที่ และเป็นตำรับที่ปลดปล่อยยาออกมาได้มากที่สุด สำหรับ Sample 2 ได้แก่ ตำรับที่มี Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75%, Sample 3 ได้แก่ Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75% + NMP20%, Sample 4 ได้แก่ Azithromycin 15%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75%, Sample 5 ได้แก่ Azithromycin 20%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75% และ Sample 6 ได้แก่ Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75% + Cremophore 10% มีลักษณะการปลดปล่อยยาเช่นเดียวกับ Sample 1 โดย Sample 6 มีการปลดปล่อยยาออกมาน้อยที่สุด ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้ บ่งชี้ว่าการมียางพาราในระบบ ทำให้การปลดปล่อยยานานขึ้น เนื่องจากสามารถลดการแพร่ของยาออกจากระบบสู่ตัวกลางอันเนื่องมาจากยางทำให้ไขมันหนืดมากขึ้น การแพร่ของยาจึงช้าลง ส่วนการเติม NMP และ Cremophor มีผลให้การปลดปล่อยยาช้าลง อันอาจเนื่องจากสารทั้งสองไม่สามารถแสดงผลในการช่วยดึงให้ยาละลายออกจากระบบได้เร็วขึ้น แม้ว่าจะมีผลทำให้ระบบมีความหนืดต่ำลง เนื่องจากต้องกระจายตัวเองในตัวกลางที่เป็นไขมันที่มีความไม่ชอบน้ำสูง ทำให้ไม่สามารถช่วยการละลายยาได้ ดังนั้นเมื่อพิจารณาจากข้อมูลข้างต้นทั้งหมดประกอบกัน จะพบว่าระบบที่เหมาะสมคือระบบที่มียากระจายในไขมันที่มียางกระจายตัวอยู่โดยไม่ต้องเติม NMP หรือ Cremophor โดยการเติมสารทั้งสองนี้ยังพบว่ารบกวนการละลายของยางพาราด้วย โดยทำให้ยางพารามีการจับเป็นก้อนเมื่อความเข้มข้นของ NMP มากกว่า 50% แสดงว่าเป็นสารทำลายที่ไม่ดีสำหรับยางพาราและทำให้การเคลือบตัวของสายโซ่โมเลกุล

ยางพาราลดลง การที่มียางพาราในระบบและทำให้ระบบมีความหนืดขึ้นดังแสดงผลในการทดสอบความหนืดนั้นที่เคยกล่าวในเบื้องต้นแล้วนั้นจะช่วยใช้ระบบเมื่อฉีดเข้าสู่ร่องลึกปริทันต์แล้วจะเหนียวติดกับบริเวณนี้ได้ด้วย



รูปที่ 3 การปลดปล่อยยา azithromycin ใน phosphate buffer pH 6.8 ที่เติม tween 20 ปริมาณ 2% (n=6)

โดย	Sample 1	ได้แก่	Azithromycin 7%w/w + Eutectic
	Sample 2	ได้แก่	Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75%
	Sample 3	ได้แก่	Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75% + NMP20%
	Sample 4	ได้แก่	Azithromycin 15%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75%
	Sample 5	ได้แก่	Azithromycin 20%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75%
	Sample 6	ได้แก่	Azithromycin 7%w/w + Eutectic + ยางพารา 3.75% + Cremophore 10%

จากการฟิตข้อมูลการปลดปล่อยยากับสมการการปลดปล่อยยาต่างๆ (ตารางที่ 7) พบว่าข้อมูลการปลดปล่อยส่วนใหญ่ฟิตได้ดีกับสมการ first order ซึ่งแสดงว่าอัตราการปลดปล่อยยาขึ้นกับความเข้มข้นของยาที่เหลืออยู่ใน dialysis tube ซึ่งอัตราการปลดปล่อยยาจากสูตรที่ 1-6 เท่ากับ 106.8, 73.5, 38.2, 43.1, 45.2 และ 36.8 ไมโครกรัม/นาที่ ซึ่งแสดงว่าสูตรที่ใส่ยางพารามีอัตราการปลดปล่อยยาช้ากว่าสูตรที่ไม่มีการเติมยางพารา ซึ่งสอดคล้องกับการอภิปรายผลข้างต้นนั้น ข้อมูลทั้งหมดค่อนข้างฟิตได้ดีกับสมการ power law โดยมีค่า r^2 ในช่วง 0.9653-0.9942 จากค่า n ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.45 แสดงว่าระบบมีการปลดปล่อยยาแบบ anomalous อย่างไรก็ตามมีบางสูตร 1 และ 6 ที่มีค่านี้ต่ำกว่า 0.45 โดยสูตรแรกมีข้อมูลที่ฟิตได้ดีกับสมการ first order ส่วนสูตรที่ 6 ฟิตได้ดีกับสมการ Higuchi's ได้ดีกว่า first order เล็กน้อย

ตารางที่ 7 การเปรียบเทียบความสามารถในการฟิตข้อมูลการปลดปล่อยยากับสมการการปลดปล่อยยาต่างๆ

Formula	Zero		First		Higuchi's		Power law		
	r ²	msc	r ²	msc	r ²	msc	r ²	msc	n
1	0.5540	0.52	0.9378	4.02	0.9693	3.15	0.9791	3.37	0.4200
2	0.7498	1.10	0.9969	5.51	0.9229	2.28	0.9942	4.66	0.5017
3	0.7353	1.04	0.9864	2.49	0.9533	2.70	0.9673	2.96	0.4673
4	0.8094	1.29	0.9699	3.14	0.9648	2.85	0.9670	2.66	0.5002
5	0.7929	1.21	0.9613	2.89	0.9427	2.35	0.9653	2.61	0.6702
6	0.7819	1.16	0.9358	2.38	0.9557	2.62	0.9727	2.93	0.4424

ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อโรค

จากการทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคด้วยวิธี cup agar diffusion แสดงในตารางที่ 8 พบว่า ตำรับทั้งหมดที่บรรจุยา azithromycin สามารถยับยั้งเชื้อโรคทั้งสามชนิด คือ *S. aureus*, *S. mutans* และ *P. ginggivalis* โดยยับยั้งได้ดีกว่าตำรับ C5 ซึ่งไม่ได้บรรจุยา โดยความสามารถในการยับยั้งของสูตร C5 มาจากจากยูเทคติกที่ส่วนประกอบคือ menthol และ camphor มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อโรคได้เช่นกันแต่น้อยกว่าตัวยาที่ใช้ในการทดลองนี้ สำหรับการยับยั้งเชื้อ *P. ginggivalis* ของ positive control ที่น้อยกว่าตัวอย่างทดสอบ เกิดได้จากเชื้อชนิดนี้มีความไวต่อยา ampicillin ไม่มากนัก โดยรวมจากผลการทดสอบนี้แสดงว่าระบบที่บรรจุยานี้สามารถยับยั้งเชื้อโรคก่อโรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบได้และจากการทดสอบการปลดปล่อยยาข้างต้นบ่งชี้ว่ายาสามารถปลดปล่อยได้ยาวนานเป็นเวลาหลายวัน สำหรับตำรับที่บรรจุยา ibuprofen ไม่ได้นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อโรคเนื่องจากยานี้ไม่ได้มีข้อบ่งชี้ในการยับยั้งเชื้อโรค

ตารางที่ 8 ค่า inhibition zone ของการยับยั้งเชื้อโรคชนิดต่างๆ ของตำรับที่มี azithromycin บรรจุอยู่ (n=3)

Formula	Inhibition zone (mean $\pm$ S.D.)		
	<i>Staptococcus aureus</i>	<i>Steptococcus mutans</i>	<i>Porphyromonas ginggivalis</i>
C1	3.5 $\pm$ 0.3	5.6 $\pm$ 0.4	4.9 $\pm$ 0.1
C2	3.6 $\pm$ 0.4	5.5 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 0.2
C5	1.8 $\pm$ 0.1	2.6 $\pm$ 0.3	2.0 $\pm$ 0.1
Cremophor	3.8 $\pm$ 0.2	5.7 $\pm$ 0.7	4.2 $\pm$ 0.0
Ampicillin disk	4.5 $\pm$ 0.1	5.2 $\pm$ 0.1	1.5 $\pm$ 0.1

สรุป

ยางพาราชนิดแห้งสามารถกระจายตัวและเพิ่มความหนืดให้กับของเหลวที่ใช้ในทางเภสัชกรรมได้หลายชนิด โดยทำให้ยืดและแผ่ตัวได้ ซึ่งสามารถเตรียมผ่านการละลายยางใน diethyl ether ก่อน หรือ ละลายใน eutectic mixture ได้โดยตรง การเพิ่มความหนืดจากยางพาราดังกล่าวสามารถทำให้ยาออกฤทธิ์ได้ยาวนานขึ้น ระบบนี้สามารถบรรจุยาได้ทั้งยา ibuprofen และ azithromycin โดยระบบที่บรรจุยา azithromycin สามารถยับยั้งเชื้อโรคที่ก่อโรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบได้ด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ โครงการวิจัยและพัฒนาองค์ความรู้เพื่อต่อยอดสู่การวิจัยแบบมุ่งเป้า ปี 2556 ในการสนับสนุนทุนวิจัย และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่สนับสนุนสถานที่ทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ปราโมทย์ ทิพย์ดวงตา. ยาฉีด. เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2540.

ภาณุณี ถนอมเกียรติ. ยาฉีด. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2527.

Babu, R.J., and Pandit, J.K. 2005. Effect of penetration enhancers on the release and skin permeation of bupranolol from reservoir-type transdermal delivery-systems. **In J Pharm.**288:325-334.

Braaz, R., Fischer, P., Jendrosseck, D. 2004. Novel type of heme-dependent oxygenase catalyzes oxidative cleavage of rubber (poly-cis-1, 4-isoprene). **Appl Environ Microbiol** 70; 7388–7395.

Chai G, Pan Y, Li F. 2009. Effect of borneol/mentholum eutectic mixture on nasal-brain delivery of neurotoxin loaded nanoparticles. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.** 34(6):698-701.

Dasgupta, S., Agrawal S.L., Bandyopadhyay, S., Chakrabort, S., Mukhopadhyay, R., Malkani, R.K., Ameta, S.C. 2007. Characterization of eco-friendly processing aids for rubber compound. **Mater Charact.** 26:489-500.

Dasgupta, S., Agrawal S.L., Bandyopadhyay, S., Chakrabort, S., Mukhopadhyay, R., Malkani, R.K., Ameta, S.C. 2008. Characterization of eco-friendly processing aids for rubber compound II. **Material Properties.** 27:277-283.

Dasgupta, S., Agrawal S.L., Bandyopadhyay, S., Mukhopadhyay, R., Malkani, R.K. 2009. Eco-friendly processing oils: A new tool to achieve the improved mileage in tyre tread. **Polym Test.** 28:251-263.

โครงการ ของเหลวคล้ายน้ำมันที่ยืดและแผ่ตัวได้ที่มีส่วนผสมของยางพาราเพื่อใช้เป็นระบบนำส่งยา สัญญาเลขที่ RDG5650087

- Dhamecha D, Rath AA, Saifee M, Lahoti SR, Dehghan HG. 2009. Drug vehicle based approaches of penetration enhancement. **Int J Pharmacy & Pharmaceutical Sci.** 1(1): 24-46.
- Gallert, C. 2000. Degradation of latex and of natural rubber by *Streptomyces* Strain La7. **System Appl Microbial.** 23, 433-441.
- Gohel M, Nagori SA. 2009 b. Fabrication and evaluation of captopril modified-release oral formulation. **Pharm Dev Technol.** 14(6):679-86.
- Gohel MC, Nagori SA. 2009 a. Resolving issues of content uniformity and low permeability using eutectic blend of camphor and menthol. **Indian J Pharm Sci.** 71: 622-629.
- Gohel MC, Nagori SA. 2009 c. Fabrication and design of transdermal fluconazole spray. **Pharm Dev Technol.** 14(2):208-15.
- Gohel MC, Nagori SA. 2009 d. Fabrication of modified transport fluconazole transdermal spray containing ethyl cellulose and Eudragit RS100 as film formers. **AAPS PharmSciTech.** 10(2):684-91.
- Haas AN, Boghossian CM, Colombo AP, Susin C, Albandar JM, Oppermann RV et.al. 2012. Adjunctive azithromycin in the treatment of aggressive periodontitis: Microbiological findings of a 12-month randomized clinical trial. **J Dent.** 40(7): 556-63.
- Herculano, R.D., Alencar de Queiroz, A.A., Kinoshita, A. et al. 2011. On the release of metronidazole from natural rubber latex membranes. **Mater Sci Eng C.** 31: 272–275.
- Herculano, R.D., Silva, C.P., Ereno, C. et al. 2009. Natural rubber latex used as drug Delivery system in guided bone regeneration (GBR). **Mater Res.** 12: 253–256.
- Ibrahim, E. M. A., Arenskotter, M., Luftmann, H., Steinbuchel, A. 2006. Identification of poly (cis-1,4-isoprene) degradation intermediates during growth of moderately thermophilic *Actinomyces* on rubber and cloning of a functional lcp homologue from *Nocardia farcinica* strain E1. **Appl Environ Microbiol.** 72: 3375–3382.
- Koizumi, A., Fujii, M., Kondoh, M., Watanabe, Y. 2004. Effect of N-methyl-2-pyrrolidone on skin permeation of estradiol. **Eur J Pharm Biopharm.** 57:473-478.
- Kornman KS. 1993. Controlled-release local delivery antimicrobials in periodontics: prospects for future. **J Periodontol.** 64: 782-91.
- Kuriakose, A.P., Rajendran, G. 1995. Rice bran oil as a novel compound in-gredient in sulphur vulcanization of natural rubber. **Eur Polym J.** 31:595-602.
- Linosa, A., Reichelt, R., Keller, U., Steinbuchel, A. 2000. A Gram-negative bacterium, identified as *Pseudomonas aeruginosa* AL98, is a potent degrader of natural rubber and synthetic cis-1, 4-polyisoprene. **FEMS Microbiol Lett.** 182: 155-161.
- Listgaten MA, Slots J, Rosenberg J, Nitkin L, Sullivan P, Older J. Clinic and micro-biologic characteristics of treated periodontitis patients on maintenance care. **J Periodontol.** 1989; 60: 452-9.
- Nyman S, Lindhe J, Rosling B. 1977. Periodontal surgery in plaque-infected dentitions. **J Clin Periodontol.** 4: 240-9.
- Pignatello R, Bucolo C, Feeara P, Maltese A, Puleo A, Puglisi G. 2002. Eudragit RS100® nanosuspensions for the ophthalmic controlled delivery of ibuprofen. **Eur J Pharm Sci.** 16:53-61.

- Sanghvi, R., Narazaki, R., Machatha, S.G., Yalkowsky, S.H. 2008. Solubility improvement of drugs using N-methyl pyrrolidone. **AAPS PharmSciTech.** 9 (2):366-376.
- Seyed B.R., Nesheli M.H. Effect of azithromycin, a chemical macrolide in reducing tissue destruction of patients with chronic periodontitis [Poster], clinbiochem. 2010
- Simchareona, W., Amnuaikita, T., Boonmea, T., Taweepredab, W., Pichayakorna W. 2012. Characterization of natural rubber latex film containing various enhancers. **Procedia Chemistry** 4: 308 – 312 doi: 10.1016/j.proche.2012.06.043.
- Suksaeree, J., Boonme, P., Taweepreda W. et al. 2011. Characterization, in vitro release and permeation studies of nicotine transdermal patches prepared from deproteinized natural rubber latex blends. **Chem Eng Res Des.**90:906-914.
- Tuntarawongsa, S., Phaechamud, T. 2012. Menthol, borneol, camphor and WS-3 eutectic mixture. **Advanced Material Research** 506:355-358.