



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การเพิ่มการละลายของสารสกัดกระชายดำโดยวิธีการเกิดอิมัลชันได้เอง

Enhancement Dissolution and absorption

of *Kaemferia parviflora* Extract by self-emulsifying drug

delivery systems

ยศนันท์ วีระพล และคณะ

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปี

งบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๑ มหาวิทยาลัยบูรพา

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การเพิ่มการละลายของสารสกัดกระชายดำโดยวิธีการเกิดอิมัลชันตัวเอง

Enhancement Dissolution and absorption of Kaemferia parviflora Extract by
self-emulsifying drug delivery systems

ดร. ยศนันท์ วีระพล

สุภรรณีการ์ ทับทิมศรี

ศ. ดร.พรศักดิ์ ศรีอมรศักดิ์

ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบุคคลต่อไปนี้ที่ได้ให้การสนับสนุนในการทำวิจัย ขอขอบคุณ ศ. ดร. ฉวีวรรณ จันสกุล อาจารย์สาขาเวชกรรมไทย คณะการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่สนับสนุนสารเคมีในการวิจัยและให้คำปรึกษาและคำแนะนำเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ นสภ.ณัฐธิดา ไวยรูปี, นสภ.วรางคณา บุญญานวัตร และ นสภ.ณัฐชาติ แก้วอินทร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาในการทำทดสอบหาค่าการละลายและการศึกษาขนาดของตัวอย่างในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่อำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่เพื่อทำการวิจัย รวมถึงบริษัท Tomita Pharmaceutical, Japan, บริษัท Gattefossé, France, บริษัท BASF (Thai) Co., Ltd. (Thailand) และบริษัท Fuji Chemical Industries, Japan ที่สนับสนุนสารเคมีที่ใช้ในการวิจัยนี้

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 80/2561

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร
(Executive Summary)

ข้าพเจ้า เกสัชกร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยศนันท์ วีระพล ได้รับทุนสนับสนุน
โครงการวิจัยจากมหาวิทยาลัยบูรพา ประเภทงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)
มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัยเรื่อง (ภาษาไทย) การเพิ่มการละลายของสารสกัดกระชายดำโดยวิธีการเกิด
อิมัลชันได้เอง

(ภาษาอังกฤษ) Enhancement Dissolution and absorption of Kaemferia
parviflora Extract by self-emulsifying drug delivery systems

สัญญาเลขที่ 80/2561 ได้รับงบประมาณรวมทั้งสิ้น 580,400 บาท

(ห้าแสนแปดหมื่นสี่ร้อยบาทถ้วน)

ระยะเวลาการดำเนินงาน 1ปี (ระหว่าง 1 ตุลาคม 2560 ถึง 30 กันยายน 2561)

บทคัดย่อ

กระชายดำคือสมุนไพรที่ใช้ควบคุมความดันโลหิตและยาอายุวัฒนะ บำรุงร่างกายให้มีสุขภาพดีขึ้น สารออกฤทธิ์ที่สำคัญเป็นสารละลายน้ำยากซึ่งนำไปสู่การดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้น้อย การศึกษานี้เพื่อจะเพิ่มการละลายและการดูดซึมของสารสกัดกระชายดำจากไดคลอโรมีเทน (KPD) ด้วยระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เอง (SEDDS) สารสกัดกระชายดำละลายใน caprylic/capric glyceride, polyoxyl-35 castor oils และ diethylene glycol monoethyl ether ได้สารละลายสีเหลืองใสของอิมัลชันชนิดเกิดได้เอง สารออกฤทธิ์ methoxyflavone นำมาใช้ศึกษาปริมาณและการละลายคือ 5,7-dimethoxyflavone (DMF), 5, 7, 4'-trimethoxyflavone (TMF) และ 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone (PMF) อิมัลชันชนิดเกิดได้เองรูปแบบของแข็งเตรียมโดยผสมอิมัลชันชนิดเกิดได้เองในอัตราส่วน 1:1) กับตัวพาของแข็ง 5 ชนิด: Aerosil® 200, Florite® RE, Neusilin® US2 (X700), Fujicalin®, และ Neusilin® UFL2 ทดสอบการละลายโดยใช้ USP apparatus II กับสารละลายเลียนแบบของเหลวในทางกระเพาะอาหาร (SGF, pH 1.2) หลังจาก 30 นาที methoxyflavone ละลายออกจาก KPD, SEDDS และ SEDDS/X700 ประมาณ 16%, 92% และ 72% ตามลำดับ ข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์ของ methoxyflavone สำหรับให้โดยรับประทานในหนูขาว (Wistar rats); พื้นที่ใต้กราฟของ SEDDS/X700 (1.83 เท่า) และ SEDDS (5.42 เท่า) มีค่าสูงกว่า KPD อย่างมีนัยสำคัญ ดำรับที่พัฒนาขึ้นมีความคงตัวดีหลังจากเก็บในสภาวะเร่งและสภาวะปกติเป็นเวลา 6 เดือน

คำสำคัญ: ยาละลายน้ำยาก; อิมัลชันชนิดเกิดได้เอง; กระชายดำ; การศึกษาในร่างกายของสิ่งมีชีวิต

Abstract

Kaempferia parviflora, a medicinal herb, treats hypertension and promotes longevity with good health and well-being. Its bioactive component is poorly water soluble, leading to poor absorption. This study enhanced the dissolution and absorption of *Kaempferia parviflora* dichloromethane extract (KPD) using a self-emulsifying drug delivery system (SEDDS). KPD dissolved in caprylic/capric glyceride:polyoxyl-35 castor oil:diethylene glycol monoethyl ether gave a clear yellow SEDDS solution. The methoxyflavone markers, 5,7-dimethoxyflavone (DMF), 5, 7, 4'-trimethoxyflavone (TMF), and 3,5,7,3',4'-pentamethoxyflavone (PMF) were used for content and dissolution analysis. Solid SEDDS (S-SEDDS) was prepared by stepwise mixing of KPD using a mortar and pestle (1:1 ratio) with five solid carriers: Aerosil[®] 200, Florite[®] RE, Neusilin[®] US2 (X700), Fujicalin[®], and Neusilin[®] UFL2. The dissolution testing of the formulations was performed using the USP apparatus II with simulated gastric fluid USP (pH 1.2). After 60 min, the methoxyflavones dissolution from KPD, SEDDS, and SEDDS/X700 were approximately 16%, 92%, and 73%, respectively. The pharmacokinetic profiles of methoxyflavones for oral administration were studied using Wistar rats; the areas under the curve of SEDDS/X700 (1.83-fold) and SEDDS (5.42-fold) were significantly higher than that of KPD. The developed formulations showed good stability after storage under accelerated and long-term conditions for 6 months.

Keywords: poorly water-soluble drug; *Kaempferia parviflora*; self-emulsifying drug delivery systems; in vivo study

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

บทคัดย่อ	1
Abstract	2
บทนำ (Introduction)	4
การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	11
วิธีดำเนินการวิจัย.....	12
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	14
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง.....	17
สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นตอนต่อไป ตลอดจนประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลการวิจัยที่ได้	31
ผลผลิต (Output).....	32
เอกสารอ้างอิง.....	33
ประวัตินักวิจัยและคณะ พร้อมหน่วยงานสังกัด	36

บทนำ (Introduction)

เหง้าของสมุนไพรกระชายดำ (อยู่ในสกุล Zingiberaceae) ใช้ในยาแผนโบราณไทยและพบได้ในภาคเหนือของประเทศไทย เหง้าสมุนไพรเชื่อว่าใช้ในการรักษาได้หลายประกอบด้วย อาการปวดในช่องท้อง เสื่อมสมรรถภาพทางเพศ ความดันโลหิตสูง ลดระดับกลูโคสในเลือด เพิ่มการไหลเวียนเลือดและทำให้ร่างกายสดชื่น [1-4] ในตอนนี้มีข้อมูลการศึกษาสารสกัดกระชายดำอย่างจำกัด แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดนำมาใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อให้อายุยืน [5-7] สารสกัดกระชายดำเป็นแหล่งของไบโอฟลาโวนอยด์ที่มีหมู่เมทิลเป็นองค์ประกอบ สารฟลาโวนอยด์ทางธรรมชาติมีฤทธิ์แตกต่างกัน ยกตัวอย่างเช่น 5,7,4'-trimethoxyflavone และ 5,7,3',4'-tetramethoxyflavone ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Plasmodium falciparum* 3,5,7,4'-tetramethoxyflavone และ 5,7,4'-trimethoxyflavone ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา [8] และ 5,7,3',4'-pentathoxyflavone [1] ออกฤทธิ์กระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหลังไนตริกออกไซด์และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เส้นเลือดในหนูทดลอง การศึกษาก่อนหน้านี้ ได้พบสาระสำคัญใน KPD คือ 5,7-dimethoxyflavone (DMF); 5,7,4'-trimethoxyflavone (TMF); and 3,5,7,3',4'-pentathoxyflavone (PMF) แต่มีการปลดปล่อย TMF ใน สารละลายเลียนแบบของเหลวในกระเพาะอาหารมีน้อยกว่า 15% แต่อย่างไรก็ตาม มีการพัฒนาโซลิดดิสเพอร์ชันของ KPD [9] ได้พัฒนาขึ้นมีข้อจำกัดคือผสม KPD ได้น้อย แต่ก็ให้การละลายได้สูงถึง 85% และแม้ว่า self-microemulsifying drug delivery (SMEDDS) ผสมสารสกัดกระชายดำจากเอทานอลได้พัฒนาขึ้น แต่ความคงตัวของเทอร์โมไดนามิกของ SMEDDS สามารถรบกวนได้โดยการเจือจางด้วยน้ำหรือสารละลายในกระเพาะอาหารส่งผลให้เกิดการตกตะกอนของยาละลายน้ำยากซึ่งจะส่งผลต่อการดูดซึมยาเข้าสู่ทางเดินอาหารได้น้อยลง [10-13]. การเพิ่มค่าการละลายและชีวประสิทธิผลของยาละลายน้ำยากสามารถทำได้โดยการผลิตหรือการตั้งตำรับที่เหมาะสมโดยใช้น้ำมันหรือไขมัน เพื่อที่จะพัฒนาเป็นอิมัลชันชนิดเกิดตัวเอง (SEDDS) [14-17] อิมัลชันชนิดเกิดตัวเองประกอบด้วย น้ำมัน สารลดแรงตึงผิว สารช่วยสารลดแรงตึงผิว และยา ซึ่งจะก่อตัวเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำได้เองในของเหลวในกระเพาะและจะเป็นความไม่คงตัวของเทอร์โมไดนามิก อิมัลชันชนิดเกิดตัวเองสามารถทนการเจือจางด้วยน้ำได้มากกว่า 100 เท่า ดังนั้นจะเพิ่มการละลายและการดูดซึมยาในทางเดินอาหารได้ [10, 18, 19] นอกจากนี้ อิมัลชันชนิดเกิดตัวเองมีข้อดีคือสามารถเตรียมอยู่ในเภสัชภัณฑ์ที่เป็นเม็ดแคปซูลนิ่มหรือแข็งก็ได้ซึ่งจะทำให้มีความคงตัวของกายภาพและเคมี และยังจะลดความแปรปรวนเภสัชจลนศาสตร์ในผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับทางเดินอาหาร [20, 21] ดังนั้นการศึกษามีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มการละลายและการดูดซึมของ KPD โดยใช้อิมัลชันชนิดเกิดตัวเอง ซึ่งตำรับที่พัฒนาขึ้นจะแสดงให้เห็นประโยชน์ที่จะพัฒนาตำรับสารสกัดสมุนไพรที่เป็นสารละลายน้ำยาก

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ KPD โดยใช้ระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เองรูปแบบของแข็ง
2. เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพและอัตราการละลายของผลิตภัณฑ์ KPD เทียบกับ KPD

ขอบเขตการวิจัย

- 3.1 นำสารสกัดกระชายดำที่ได้มาศึกษาปริมาณสารสำคัญเพื่อกำหนดเป็นปริมาณที่จะใช้ในสูตรตำรับ
- 3.2 ตั้งตำรับผลิตภัณฑ์โดยเลือกสัดส่วนน้ำมันและสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมสำหรับตำรับ
- 3.3 ทดสอบและเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพความคงตัว และการปลดปล่อยสารสำคัญของตำรับ

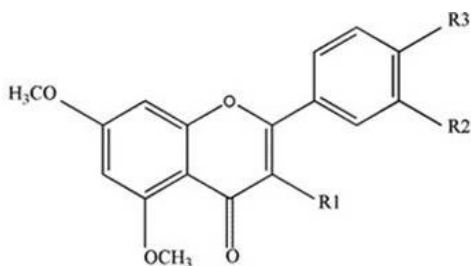
การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

พืชสมุนไพรไทยกระชายดำใช้เป็นยาบรรเทาอาการปวดตามร่างกาย แก้ไขระบบย่อยอาหารที่ผิดปกติ และเพิ่มสมรรถภาพทางเพศในเพศชาย ส่วนประกอบหลักของสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ประกอบไปด้วยฟลาโวนอยด์ 11 ชนิดที่มีการศึกษาเพิ่มเติมพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย เชื้อราและไมโคแบคทีเรีย รักษาแผลในกระเพาะอาหาร ลดอาการแพ้และมีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ acetylcholine-esterase (AChE) [3] ซึ่งค้นพบได้เฉพาะในฟลาโวนอยด์บางชนิดของกระชายดำเท่านั้น กระชายดำนำมาใช้เป็นยาเพิ่มสมรรถภาพทางเพศในเพศชายอย่างแพร่หลายซึ่งยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด จากการศึกษาในหลอดทดลองพบว่ากระชายดำเกี่ยวข้องกับกลไกยับยั้งการทำลาย Cyclic guanosine monophosphate (cGMP) ของ phosphodiesterase type 5 (PDE -5) [4] ในกล้ามเนื้อเรียบ การมี cGMP เพิ่มขึ้นส่งผลให้เกิดการหลั่งของไนตริกออกไซด์ (NO) มากขึ้น นอกจากนี้ยังเพิ่มไนตริกออกไซด์โดยการเพิ่มการ protein expression ผ่าน mRNA อีกทางหนึ่งด้วย จากการศึกษาทดลองให้สารสกัดกระชายดำ TMF DMF และ PMF (ภาพที่ 1) ในหนูทางการรับประทานพบว่ามีการทำลายสารสำคัญผ่านทางตับอย่างรวดเร็วมีค่าครึ่งชีวิต 3 ชั่วโมง [22] ปริมาณสารสูงสุดที่ให้แล้วเกิดพิษเฉียบพลันมากกว่า 13.3 g/kg และปริมาณสูงสุดที่ได้รับสารแล้วจะมีพิษเรื้อรังมากกว่า 1 g/kg ในหนู 50% (LD₅₀) สารสกัดกระชายดำเป็น methoxyflavones ซึ่งละลายน้ำได้น้อยและมีการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้น้อย (1-4%) เมื่อให้สัตว์ทดลองทางปาก (250 mg/kg) มีโมเลกุลหนักน้อยกว่า 300 Da จุดหลอมเหลวประมาณ 150-200 องศาเซลเซียสและมีค่า log K 2-3 (22)

1. อิมัลชันชนิดเกิดได้เอง

ชีวประสิทธิผลของยาละลายน้ำยากที่บริหารโดยการรับประทานมีค่าต่ำและดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ไม่สมบูรณ์ในทางเดินอาหาร ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้โดยอาศัยระบบนำส่งยาซึ่งจะเพิ่มอัตราและปริมาณการละลายและการดูดซึมยาเข้าสู่ทางเดินอาหารคือระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เอง ระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เอง

ประกอบไปด้วย สารลดแรงตึงผิวและน้ำมันเป็นองค์ประกอบหลัก ตัวอย่างของระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เองมี ตัวอย่างงานวิจัยที่ได้ประสบความสำเร็จแสดงไว้ตารางที่ 1



Methoxyflavones	R1	R2	R3	MW	Calculated log K^*	Melting point (°C)
3, 5, 7, 3', 4'-Pentamethoxyflavone (PMF)	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	372	2.37	151.2
5,7-Dimethoxyflavone (DMF)	H	H	H	282	3.27	201.7
5, 7, 4'-Trimethoxyflavone (TMF)	OCH ₃	H	H	312	3.53	156.9

ภาพที่ 1 โครงสร้างฟลาโวนอยด์ของสารสกัดกระชายดำ

หลักสำคัญในการนำส่งยาละลายน้ำยากคือยาต้องอยู่ในสถานะละลายที่ล้อมรอบด้วยน้ำย่อยภายในร่างกาย ในขณะที่ยังคงอยู่ในรูปสารละลายจนกว่าจะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดนานพอที่จะไม่ตกผลึกออกมา น้ำมันและสารลดแรงตึงผิวต่างๆ ซึ่งในระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เอง (self-emulsifying drug delivery system, SEDDS) ที่ใช้นำส่งยาละลายน้ำยาก (poorly water-soluble drugs) ดังนั้นสมบัติของน้ำมันที่สามารถละลายยาที่มีความเข้มข้นเพียงพอ สารลดแรงตึงผิวชอบน้ำเพียงพอที่จะเกิดเป็นอิมัลชันและชอบไขมันเพียงพอที่จะละลายอยู่ในไขมันได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิฏภาคในของอิมัลชันจะเป็นปัจจัยหลักของระบบที่ส่งผลต่อการดูดซึมและการปลดปล่อยยา ในระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เองมีความสามารถเพิ่มค่าการละลายของยาในตำรับ (loading capacity) เมื่อเทียบกับการละลายยาอยู่ในสารละลายไขมันสำหรับยาที่มีความชอบไขมันปานกลางถึงต่ำ (log P 2-4) และยังช่วยให้มีปริมาณยาอยู่ในกระแสเลือดได้เท่ากันทุกครั้งเมื่อบริหารระบบนำส่งยา สมบัติพิเศษของสารแต่ละชนิดที่เป็นส่วนผสมของระบบมีส่วนช่วยในการเพิ่มชีวประสิทธิผลในเลือดได้ ระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เองจึงเป็นระบบนำส่งยาที่น่าสนใจและง่ายต่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรม

ตารางที่ 1 ตัวอย่างระบบนำส่งยาชนิดอิมัลชันเกิดได้เองที่ประสบความสำเร็จจากการใช้สารลดแรงตึงผิวและน้ำมันชนิดต่างๆ [23]

Drug compounds	Oils	Surfactants
Ontazolast	A mixture of mono- and diglycerides of oleic acid	Solid, polyglycolyzed mono-, di- and triglycerides (HLB = 14), Tween 80 (HLB = 15)
A naphthalene derivative	Medium chain saturated fatty acids, peanut oil	Medium chain mono- and diglycerides, Tween 80, PEG25 glyceryl trioleate, polyglycolyzed glycerides (HLB = 6-14)
5-(5-(2,6-dichloro-4-(dihydro-2-oxazolyl) phenoxy) penty)-3-methylisoxazole)	Medium chain saturated fatty acids	PEG25 glyceryl trioleate
Progesterone	Ethyl oleate	Tween 80
CoQ ₁₀	Myvacet 9-45 or Captex 200	Labrasol (HLB = 14) or Labrafac CM10 (HLB = 10); lauroglycol (HLB = 4)
Ritonavir	Oleic acid	Polyoxyl 35 castor oil
Saquinavir	dl-alpha tocopherol	Medium chain mono- and diglycerides

2 น้ำมันไตรกลีเซอไรด์ [15]

น้ำมันไตรกลีเซอไรด์ที่ได้จากพืชมีข้อดีสำหรับการใช้ในระบบนำส่งยาชนิดอิมัลชันเกิดได้เอง เนื่องจากเป็นสารที่ย่อยได้ง่ายและดูดซึมได้อย่างสมบูรณ์จึงไม่ต้องพิจารณาถึงความเป็นพิษ น้ำมันพืชไตรกลีเซอไรด์เอสเทอร์ของสารผสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว แหล่งที่มาจากพืชต่างชนิดกันยอมให้สัดส่วนกรดไขมันต่างกัน กรดไขมันที่ได้จากมะพร้าวและเมล็ดปาล์มเป็นที่น่าสังเกตว่าจะมีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวที่มีสายโซ่คาร์บอน

ขนาดกลางปริมาณสูง (MCT:C8, C10, โดยเฉพาะอย่างยิ่ง C12) น้ำมันมะพร้าวที่ผ่านการกลั่นแล้วจะได้ MCT (glyceryl tricaprilate/ caprate) ซึ่งมีขายในท้องตลาดหลายตัวแทนจำหน่าย โดยจะมีปริมาณไขมันอิ่มตัว C8 50-80% และ C10 20-45% ไตรกลีเซอไรด์เป็นสารที่มี lipophilic สูงและความสามารถในการละลายยาขึ้นกับปริมาณของหมู่เอสเทอร์ ดังนั้น MCT จึงมีความสามารถในการเพิ่มการละลายได้ดีมากกว่า LCT และเนื่องจาก MCT ได้จากการกลั่นซึ่งได้ไขมันอิ่มตัวทำให้ไม่ทำให้เกิดการออกซิเดชัน MCT จึงได้รับความนิยม

ไตรกลีเซอไรด์ที่ถูกไฮโดรไลซ์เพียงบางส่วนประกอบด้วย monoglycerides, diglycerides และ triglycerides องค์ประกอบขึ้นกับแหล่งที่มาจากน้ำมันนั้นๆ และความแรงของไฮโดรไลซ์ ผลิตภัณฑ์ monoglycerides ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมี diglycerides และ triglycerides เจือปนปริมาณมาก ซึ่ง diglycerides และ triglycerides ในปริมาณสูงอาจทำให้ไขมันอยู่ในรูปแบบกึ่งแข็ง (แวกซ์) medium-chain monoglycerides และ long-chain monoglycerides นิยมนำมาใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับยาละลายน้ำยากมากกว่า triglycerides เนื่องจากมีข้อดีคือสามารถละลายยาได้ดี และยังเข้ากับไขมันอื่นๆ ในตำรับไมโครอิมัลชันได้ นอกจากนี้ medium-chain glycerides ยังมีข้อดีมากกว่า long-chain glycerides คือไม่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3 สารลดแรงตึงผิว

3.1 สารลดแรงตึงผิวชนิดไม่ละลายน้ำ

ได้แก่ non-ionic ester ซึ่งไม่ใช่ polyethoxylated หรือ polyglycerylated โดยทั่วไประบบ lipid-based เป็นกลุ่มของสารลดแรงตึงผิวที่มีค่า HLB 8-12 ซึ่งจะดูดซับวฏภาคน้ำมันและวฏภาคน้ำบนผิวได้ดีส่วนที่ชอบน้ำจะมีความสามารถละลายน้ำได้เพียงพอเกิดเป็นอิมัลชัน ความสามารถในการละลายขึ้นกับหมู่ ethoxy ในโครงสร้าง oleate esters เช่น polyoxyethylene (20) sorbitan trioleate (polysorbate 85 –Tween® 85) หรือ polyoxyethylene [24] glyceryl trioleate (Tagat® TO) โดยมีค่า HLB 11 และ 11.5 ตามลำดับ โดยจะใช้ในไมโครอิมัลชัน การใช้สารลดแรงตึงผิวแบบผสมสารลดแรงตึงผิวตัวอย่างเช่น Tween® 80 และ Span 80 จะให้ HLB ประมาณ 11 โดยมักจะผสมสารลดแรงตึงผิวที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำเข้าด้วยกัน

3.2 สารลดแรงตึงผิวชนิดละลายน้ำ

สารลดแรงตึงผิวชนิดละลายน้ำมักใช้บ่อยในระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เองและไม่โครอิมัลชัน ในความเข้มข้นที่เหนือจุด CMC (critical micelle concentration) สารละลายมีความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวต่ำกว่า HLB ของสารกลุ่มนี้มีค่ามากกว่า 12 กรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบจะเป็นกรดไขมันอิ่มตัวหรือกรดไขมันไม่อิ่มตัวก็ได้ ในตำรับอิมัลชันชนิดเกิดได้เองนิยมใช้ Chemophor® RH40 และ Chemophor® EL เป็นสารลด

แรงตึงผิวในตำรับ โดย Chemophor® RH40 ประกอบไปด้วยกรดไขมันอิ่มตัวที่เกิดจากการเติมไฮโดรเจน (hydrogenate) ในขณะที่ Chemophor® EL ประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวและมีหมู่ ethoxy ในปริมาณมากกว่า ตัวอย่างสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ เช่น polyethylene glycol (PEG) กับ hydrolyzed vegetable oils ได้เป็นกรดไขมันที่มี mono และ diesters ของ PEG กับ glyceride และ PEG อีสารที่ไม่ได้ต่อกับโครงสร้าง หรือการใช้ alcohol กับหมู่ ethylene oxide ได้เป็น alkyl ether ethoxylates ตัวอย่างเช่น cetostearyl alcohol ethoxylate (cetomacrogol) เป็นต้น สารลดแรงตึงผิวและน้ำมันบางชนิดยังส่งผลยับยั้งการขับออกของยา (efflux) และยับยั้งการทำลายยาผ่านเอนไซม์ดังนั้นจึงมีผลเพิ่มชีวประสิทธิผลของยาได้ดังตัวอย่างในตารางที่ 2 [25] ในลักษณะเดียวกันยาบางชนิดเมตาบอไลต์ผ่านเอนไซม์ CYP3A และมีความสามารถในการเป็นสารยับยั้งและสารตั้งต้นของ P-glycoprotein ดังนั้นย่อมส่งผลต่อปริมาณยาในเลือดที่เปลี่ยนแปลงไปได้เช่นกัน (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 ตัวอย่างน้ำมันหรือสารลดแรงตึงผิวซึ่งส่งผลต่อเอนไซม์หรือตัวขนส่ง

Lipid excipients/surfactants	Example	Comments
Polyoxyethylated/pegylatedPolyoxyl 35 castor oil	Cremophor® Solutol® HS-15	CYP3A and P-gp inhibitor
PEG-15-hydroxystearate	Labrasol®	CYP3A and P-gp inhibitor
Medium chain glycerol and PEG ester	Softigen® 767 Acconon	P-gp inhibitor
Polysorbates	Tween® 80, Tween® 20	CYP3A and P-gp inhibitor
Sucrose esters	Sucrose monolaurate	P-gp inhibitor
Tocopheral esters	Vitamin E-D-alpha-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate	P-gp inhibitor
Polymers	Pluronic block copolymer	CYP3A and P-gp inhibitor

ตารางที่ 3 ยาเมตาบอไลต์ผ่าน CYP 3A และมีความสามารถในการเป็นสารยับยั้งและสารตั้งต้นของ P-glycoprotein [25]

CYP 3A substrate	P-gp substrate	P-gp inhibitor
Amiodarone	-	+
Atorvastatin	+	+
Azithromycin	+	+
Carbamazepine	+	+
Cyclosporine	+	+
Indinavir	+	-
Itraconazole	+	+
Ketoconazole	-	+
Lanzoprazole	-	+
Lovastatin	+	+
Ritonavir	+	+
Saquinavir	+	+
Sirolimus	+	-
Tacrolimus	+	+
Tamoxifen	-	+

4. การเตรียมอิมัลชันชนิดเกิดได้เอง

อิมัลชันชนิดเกิดได้เองสามารถเตรียมได้หลายวิธี เช่น การออกแบบการทดลอง [24, 26] จากการศึกษาของ Ratananangkoon และคณะ [26] ใช้การทดลอง 465 การทดลองจาก 768 การทดลองต้องนำออกไป เนื่องจากการไม่เข้ากันของสารผสม แต่อิมัลชันหลังจากพัฒนาได้นั้นมีสมบัติในการนำส่งยา fenofibrate ได้ดี

มีค่าชีวประสิทธิผลสูงเมื่อเทียบกับยาในท้องตลาด ไม่เกิดการรบกวนค่าชีวประสิทธิผลเมื่อรับประทานพร้อมกับอาหาร การศึกษาผลของค่า HLB จากการศึกษาของ Wang และคณะ [27] อาศัยค่า HLB ของสารลดแรงตึงผิวที่มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีต่างกันได้อธิบายถึงโครงสร้างดังกล่าวส่งผลต่อขนาดของอิมัลชันหลังจากเตรียมเป็นระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เอง วิธีการเตรียมที่พบได้มากคือการใช้ ternary phase diagram

Zhao และคณะ [28] เตรียมอิมัลชันชนิดเกิดได้เองโดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนบน ternary phase diagram ผลที่ได้เป็นอิมัลชันชนิดเกิดได้เองที่สามารถเกิดได้ภายใน 1 นาที สารในตำรับประกอบไปด้วย zedoary turmeric oil, ethyl oleate, Tween[®] 80, Transcutol[®] P ขนาดของอิมัลชันที่ได้คือ 68.3 นาโนเมตร มีความคงตัวดีที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลามากกว่า 1 ปี ค่าชีวประสิทธิผลที่ได้จากการเตรียมระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เองสูงมากกว่า 2.5 เท่าเมื่อเทียบกับยาที่ไม่ได้ปรุงเป็นตำรับ การเตรียมโดยทั่วไปที่อยู่ในรูปของเหลวต้องนำไปบรรจุในแคปซูลนิ่ม (soft gelatin capsule) ซึ่งต้องใช้อุปกรณ์พิเศษลงทุนสูงและผลิตได้ช้า ข้อเสียนี้สามารถแก้ไขได้โดยเตรียมระบบอิมัลชันชนิดเกิดได้เองรูปแบบของแข็ง ซึ่งจะสามารถนำไปใช้งานได้สะดวกกว่า โดยการตอกอัดเป็นเม็ดหรือใช้ในรูปแบบยาผงหรือแกรนูล เทคนิควิธีการเตรียมประกอบไปด้วย การพ่นแห้งแบบฝอย [29] การทำแกรนูลหลอมร้อน [30] การทำเป็นเพลเลตหลอมร้อน [31] หรือการดูดซับบนตัวดูดซับ [32] ซึ่งวิธีการใช้สารดูดซับเป็นวิธีที่ง่าย ใช้เครื่องมือพื้นฐานในโรงงานอุตสาหกรรม การศึกษาโดยใช้สารดูดซับที่เป็นอนุพันธ์ของซิลิกาดูดซับอิมัลชันชนิดเกิดได้เองโดย Agarwal และคณะ [32] พบว่าการปลดปล่อยยาขึ้นกับขนาดความกว้างของรูพรุน สารดูดซับบนผิว

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สังคมและชุมชน รวมถึงการเผยแพร่ในวารสาร จดสิทธิบัตร ฯลฯ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์
2. สามารถทำเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าและส่งเสริมให้ประชาชนปลูกกระชายดำเพื่อเพิ่มรายได้
3. วารสารทางวิชาการระดับนานาชาติอย่างน้อย 1 ฉบับ

วิธีดำเนินการวิจัย

เคมีภัณฑ์

1. สารสกัดกระชายดำ (KPD, Prince of songkla University,Hat-Yai,Thailand)
2. Methanol (Lot No. 12 04 0213, RCI labscan, Thailand)
3. Sodium chloride (NaCl) (Lot No. 1105238, Ajax Finechem, New zealand)
4. Trifluoroacetic acid (TFA) (Lot No. 1491509, Fisher Chemical, United Kingdom)
5. Hydrochloric acid (HCl) (Lot No. 1508100007, Ajax Finechem, New zealand)
6. Polyoxyl 35 castor oil (P35) (Lot No. 62564436W0, BASF, Germany)
7. Diethylene glycolmonoethyl ether (DGE) (Lot No. 450829025, GATTEFOSSE, France)
8. Caprylic/capric glyceride (CCG)
9. Aerosil[®] 200 (silicon dioxide: FS200)
10. Florite[®] RE (calcium silicate: PCS120) (Lot No. S20967, Tomita Pharmaceutical, Japan)
11. Fujicalin[®] (calcium phosphate: X800) (Lot No. CP503501, Fuji Chemical Industries, Japan)
12. Neusilin[®] US2 (silicon dioxide: X700) (Lot No. 410034, Fuji Chemical Industries, Japan)
13. Neusilin[®] UFL2 (silicon dioxide: X2,000) (Lot No. 509033, Fuji Chemical Industries, Japan)
13. Neusilin[®] UFL2 (silicon dioxide: X2,000) (Lot No. 509033, Fuji Chemical Industries, Japan)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (1260 Qual Pump VL, Agilent technologic, USA)
2. Differential Scanning Calorimetry (DSC) (model Sapphire, perkin Elmer, USA)
3. Dissolution Tester (DT720, Erweka, Germany)
4. Powder X-ray diffraction (PXRD) (model MiniFlex II, Rigaku, Japan)
5. Scanning electron microscopy (SEM) (LEO 1450VP EDAX[®], USA)
6. Photon correlation spectroscopy (PCS) (model Zetasizer Nano ZS, Malvern, England).

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1. การเตรียมสารตัวอย่าง

นำเหง้าสดของกระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) จำนวน 20 kg นำมาผสมและสกัดแบบต่อเนื่องด้วยวิธีการหมัก จำนวน 2 ครั้ง โดยใช้ 95% ethanol ครั้งละ 20 L เป็นเวลา 2 วัน จนได้สารสกัดสีเข้ม จากนั้นทำการสกัดแยก 3 ครั้งด้วย 100% dichloromethane ครั้งละ 20 mL นำส่วนของสารละลาย dichloromethane มาผ่านการกรองและทำการระเหยภายใต้สภาวะความดันต่ำ จากนั้นนำสารแห้งที่เหลือไปสกัดภายใต้ความดันสูงในภาวะสุญญากาศเพื่อสกัด dichloromethane ออก จนได้สารสกัดกระชายดำ (KPD) มีสีเหลืองขุ่นเหนียวมีค่าร้อยละผลผลิตเท่ากับ 2.6 [1]

2. การเตรียมตำรับ SEDDS

เตรียมตำรับ SEDDS โดยเตรียมส่วนผสมระหว่าง oil, surfactant และ co-surfactant ได้แก่ CCG : P35 : DGE ที่อัตราส่วน 10 : 10 : 80, 30 : 60 : 10 และ 80 : 10 : 10 และชั่ง KPD 500 mg ผสมลงไป จากนั้นนำไปเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 72 ชั่วโมง

ตารางที่ 4 แสดงอัตราส่วนของส่วนประกอบในตำรับระหว่าง CCG : P35 : DGE

ตำรับที่	อัตราส่วนของ CCG: P35: DGE	Solubility ($\mu\text{g/ml}$)
1	10:10:80	9.94 \pm 0.21
2	30:60:10	8.45 \pm 0.49
3	80:10:10	8.62 \pm 0.20

จากนั้นนำตำรับ SEDDS มาชั่งน้ำหนักให้ได้ 10 g ผสมกับตัวพา 10 g ทั้ง 5 ชนิดด้วยโกรีง

3. การวิเคราะห์

3.1. วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในตำรับที่อัตราส่วนต่างๆ โดยเครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) หลังจากเขย่ามาเป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำตัวอย่างไป Centrifuged ต่อที่ 3,500 rpm เป็นเวลา 15 นาที และนำส่วนใสของสารมาวิเคราะห์ HPLC โดยใช้ Symmetry[®] C₁₈ column และมี mobile phase เป็นน้ำ+0.05% trifluoroacetic acid และ methanol+0.05% trifluoroacetic acid ในอัตราส่วน 5 : 95 >> 100 : 0 ที่กรองผ่าน membrane ขนาด 0.22 μm และผ่านการ sonicate ก่อนใช้ โดยมี flow rate ของ mobile phase เป็น 1.0 mL/min และ UV detection wavelength 254 nm และ 210 nm

3.2. ศึกษาสมบัติของสารสกัดกระชายดำและตำรับ ดังนี้

3.2.1. ศึกษาสมบัติทางความร้อนด้วย differential scanning calorimetry (DSC)

ใช้ตัวอย่าง 2.5 mg และใช้ความร้อน 20 – 250°C ที่ heating rate 10°C/min. [9]

โดยตัวอย่างที่นำมาศึกษาด้วย DSC ได้แก่

- 1) ตำรับที่เป็น SEDDS powder ทั้ง 5 ตำรับ
- 2) ตำรับที่เป็นสารผสมทางกายภาพระหว่าง SEDDS และตัวพาทั้ง 5 ชนิด

3.2.2. ศึกษาสัณฐานวิทยาภายใต้เครื่อง scanning electron microscope (SEM)

- 1) KPD และตัวพาทั้ง 5 ชนิด FS200, PCS120, X800, X700, X2,000
- 2) เป็น SEDDS powder ทั้ง 5 ตำรับ
- 3) ตำรับที่เป็นสารผสมทางกายภาพระหว่าง SEDDS และตัวพาทั้ง 5 ชนิด

3.2.3. การศึกษาโครงสร้างผลึกด้วยเครื่อง X-ray powder diffraction (XRPD)

นำสารตัวอย่างมาอบทองแล้วนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดความต่างศักย์ 20 kV ศึกษาการตรวจสอบโครงสร้างผลึก โดยใช้เทคนิค X-ray powder diffraction (XPD) ที่ 30 kV, 15 mA และ angle speed 4°/min เหนือช่วง 5°- 45° 2 θ ใช้ Cu K α radiation wavelength of 1.5406 Å [9]

3.2.4. ศึกษาขนาดอนุภาคของการเกิดอิมัลชัน

นำสูตรตำรับ SEDDS ที่ดูดซับบนตัวพาทั้ง 5 ตำรับ และตำรับ SEDDS ปริมาณ 0.1 mL จากนั้นนำไปเจือจางด้วยน้ำปริมาณ 19.09 mL นำไปปั่นเหวี่ยง (666xg) เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำส่วนใสไปวัดขนาดอิมัลชันด้วยเครื่อง Photon correlation spectroscopy (PCS)

3.3. ศึกษาการทดสอบการละลาย (dissolution study) ศึกษาโดยใช้ USP dissolution apparatus II

ทดสอบสูตรตำรับที่มีส่วนผสมระหว่าง CCG : P35 : DGE ที่อัตราส่วน 10 : 10 : 80 ที่ผสมกับตัวพาทั้ง 5 ชนิด โดยชั่งน้ำหนักแต่ละสูตรตำรับให้มีปริมาณของ KPD เท่ากับ 90 mg จากนั้นนำไปทดสอบใน dissolution vessel ที่บรรจุ simulated gastric (SGF) 900 mL เป็นตัวกลางทำละลาย ที่อุณหภูมิ 37±0.5 °C ใช้ความเร็วที่ 50 rpm จากนั้นสุ่มตัวอย่างสารละลายแต่ละสูตรตำรับ 5 mL ที่เวลา 5, 10, 15, 30, 60, 90, และ 120 นาที และเติม SGF กลับคืน 5 mL ทุกครั้งที่มีการสุ่มตัวอย่างจากนั้นนำไปกรองผ่าน membrane ขนาด 0.45 μ m และนำไปตรวจสอบปริมาณยาที่ละลายในตัวการทำละลายด้วย HPLC [1]

4. การทดสอบแบบ *in vivo* study ได้ดัดแปลงมาจากการทดสอบของ Burapapadh [33] โดยจะบริหาร

ยาให้กับหนู 100 mg/kg โดยมีปริมาตร 1 mL catheter สำหรับสุ่มตัวอย่างจะล้างด้วยสารละลาย heparin ก่อนการทดสอบไม่เกิน 1 วัน ในการสุ่มตัวอย่างจะเจาะเลือดปริมาณ 0.7-0.9 mL บริเวณ jugular vein ในเวลา 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, และ 24 ชั่วโมง หลังจากบริหารยา ตัวอย่างเลือดจะเก็บใน

microcentriguge tube ที่ป้องกันแสง ตัวอย่างปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10000 rpm เป็นเวลา 5 นาที เพื่อแยกพลาสมาแล้วเก็บพลาสมาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC งานวิจัยนี้ได้ขอดำเนินการทดลองผ่านคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (permission number: 10/2018)

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

ผลการศึกษาการเตรียมตำรับนำส่งยาชนิดเกิดอิมัลชันได้ขึ้นเอง

การพัฒนาตำรับโดยใช้ระบบนำส่งยาชนิดเกิดอิมัลชันได้ขึ้นเอง ที่ได้จากการผสม KPD ด้วย oil, surfactant และ co-surfactant ได้แก่ CCG : P35 : DGE ที่อัตราส่วน 10 : 10 : 80 และเขย่าเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาดูดซับบนตัวพาที่เป็นของแข็งที่แตกต่างกัน 5 ชนิด คือ FS200, PCS120, X800, X700 และ X2,000 (1:1)

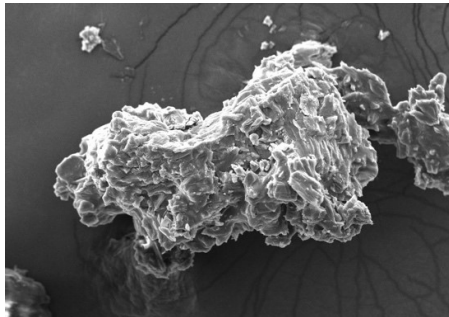
พบว่า SEDDS ที่ดูดซับบนตัวพา X800 มีลักษณะจับกันเป็นก้อนสีเหลือง ส่วน FS200 และ PCS120 เป็นผงละเอียดเล็ก สีเหลืองอ่อน, X700 มีลักษณะเป็นแกรนูลละเอียดสีเหลือง และ X2,000 เป็นผงละเอียดสีเหลือง ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 5 ลักษณะทางกายภาพของ SEDDS กับตัวพา ในอัตราส่วน 1:1

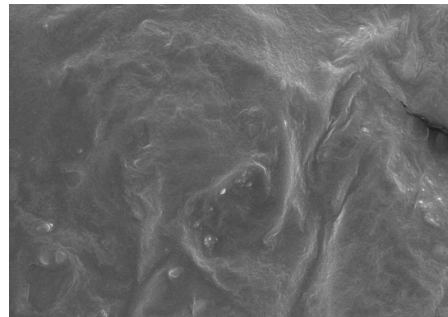
ชนิดของตัวพา	ลักษณะที่ได้หลังผสมกับ SEDDS	
FS200		ผงละเอียดเล็ก สีเหลืองอ่อน
PCS120		ผงละเอียดเล็ก สีเหลืองอ่อน
X800		จับกันเป็นก้อน สีเหลือง
X700		เป็นแกรนูลละเอียด สีเหลือง
X2,000		เป็นผงสีเหลือง

ผลการศึกษาลักษณะวิทยาของสารละลายตัวอย่างภายใต้เครื่อง scanning electron microscope (SEM)

a. KPD

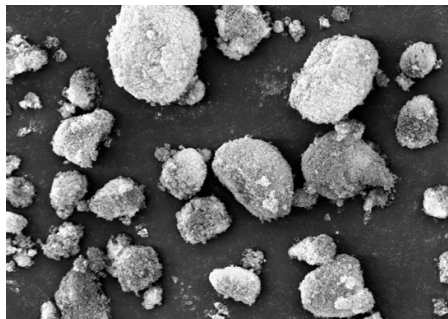


20 μm

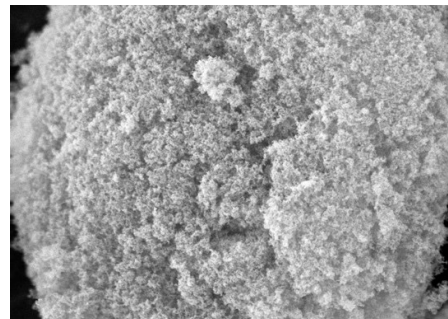


2 μm

b. FS200

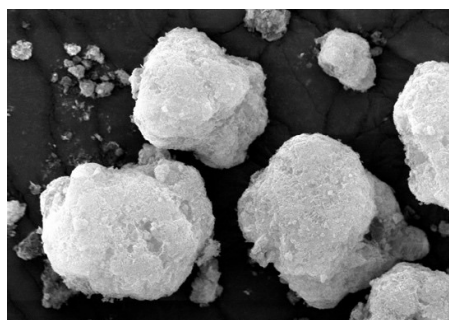


3 μm

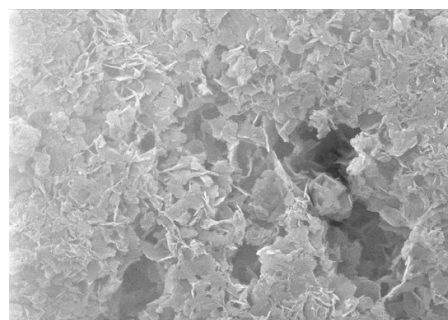


1 μm

c. PCS120

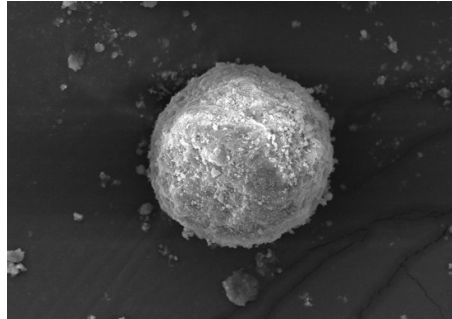


2 μm

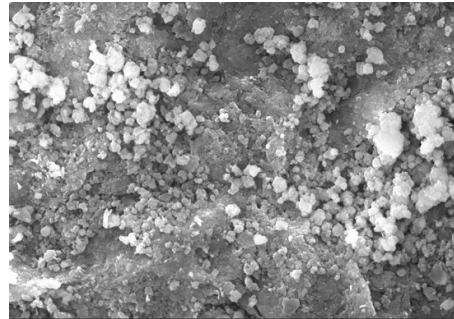


1 μm

d. X800

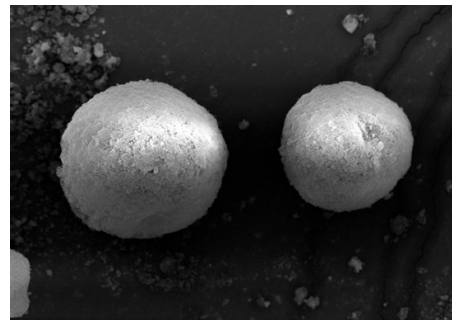


2 μ m

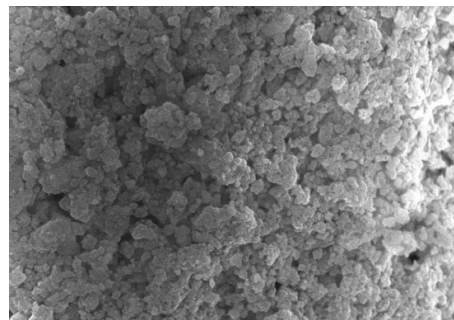


1 μ m

e. X700

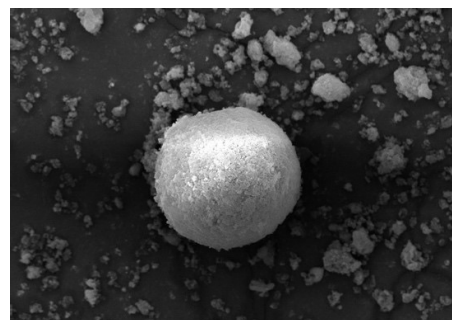


2 μ m

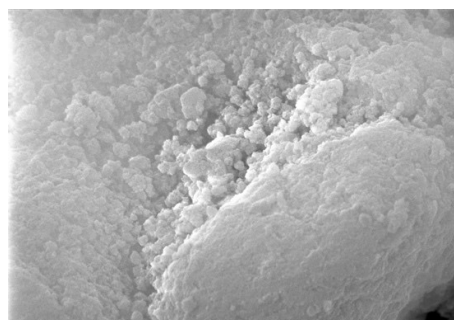


1 μ m

f. X2,000

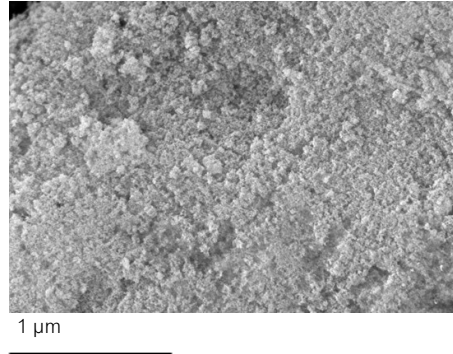
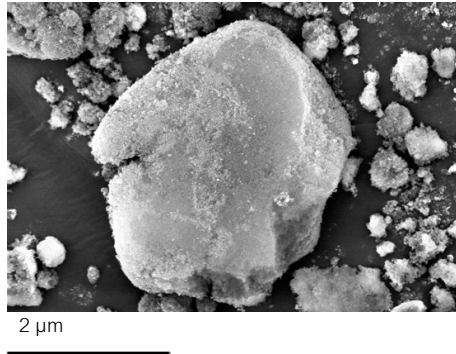


2 μ m

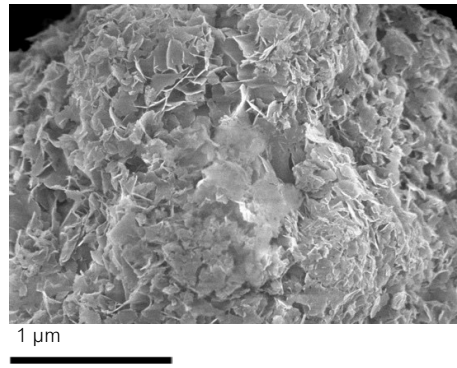
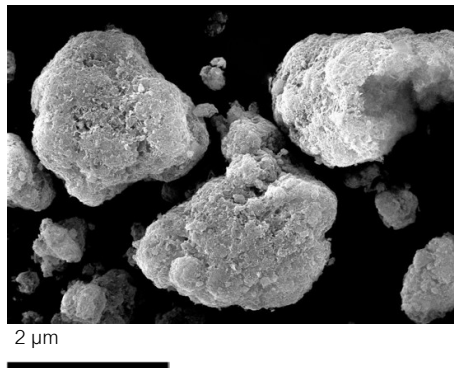


1 μ m

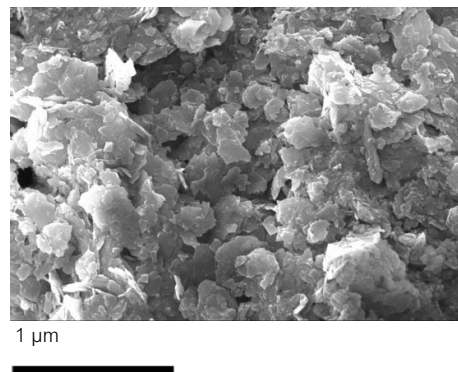
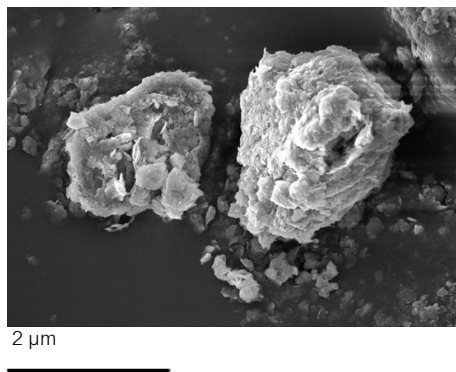
g. SEDDS/ FS200 (1:1)



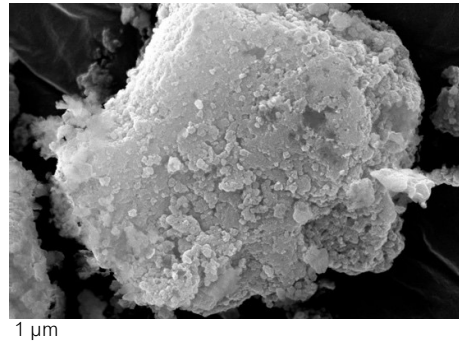
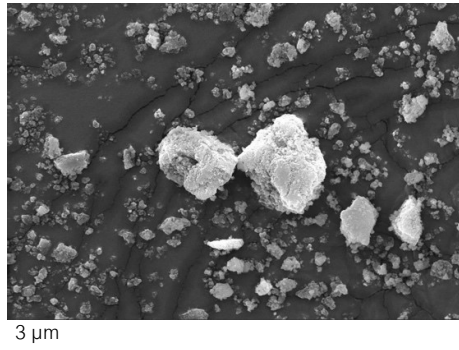
h. SEDDS/ PCS120 (1:1)



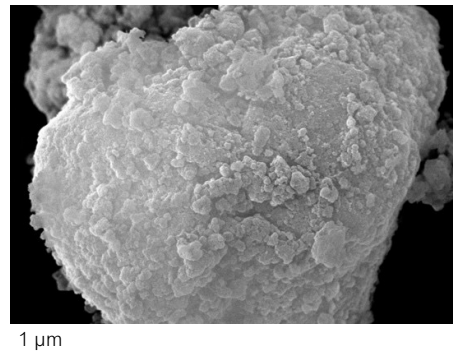
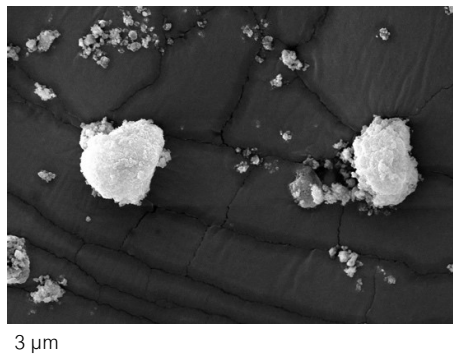
i. SEDDS/ X800 (1:1)



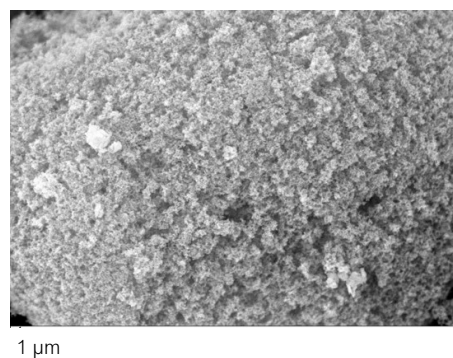
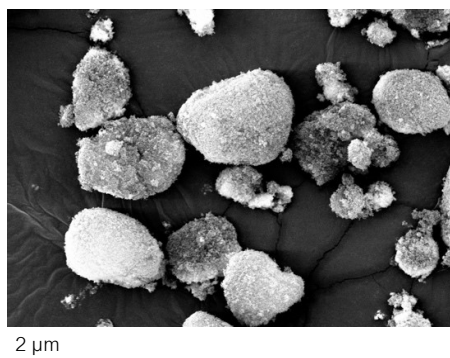
j. SEDDS/ X700 (1:1)



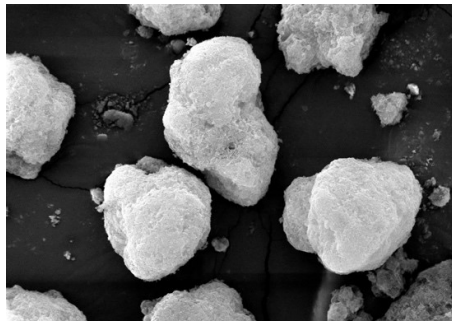
k. SEDDS/ X2,000 (1:1)



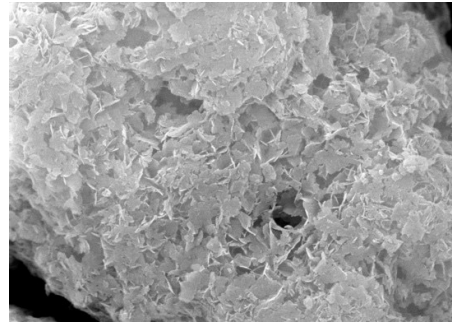
ล. ผสมทางกายภาพ KPD/ FS200 (1:1)



ม. ผสมทางกายภาพ KPD/ PCS120 (1:1)

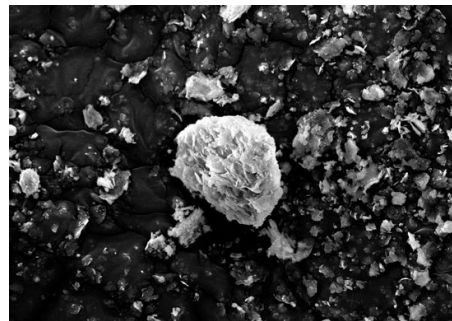


2 μm

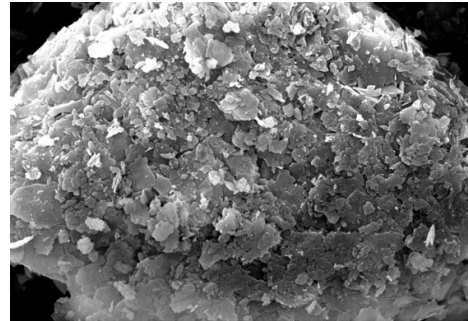


1 μm

น. ผสมทางกายภาพ KPD/ X800 (1:1)

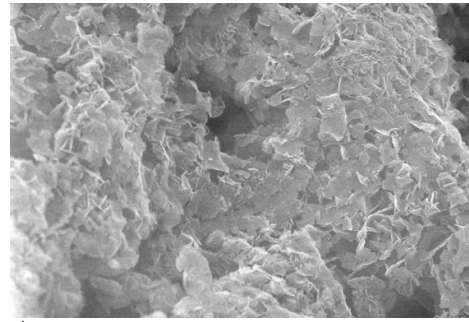
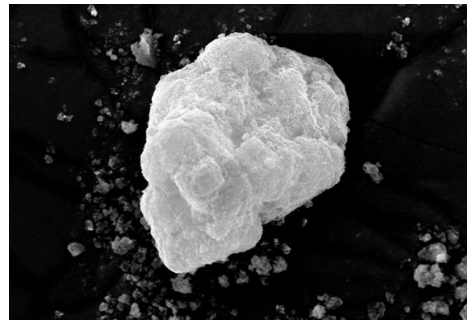


2 μm

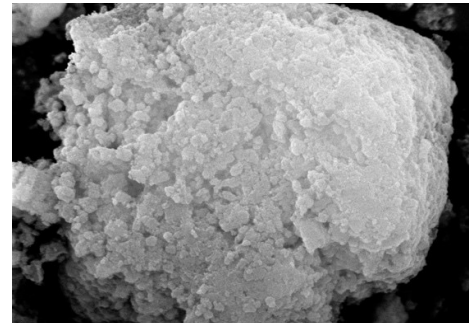
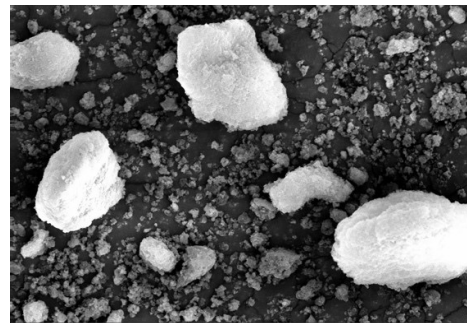


1 μm

o. ผสมทางกายภาพ KPD/ X700 (1:1)



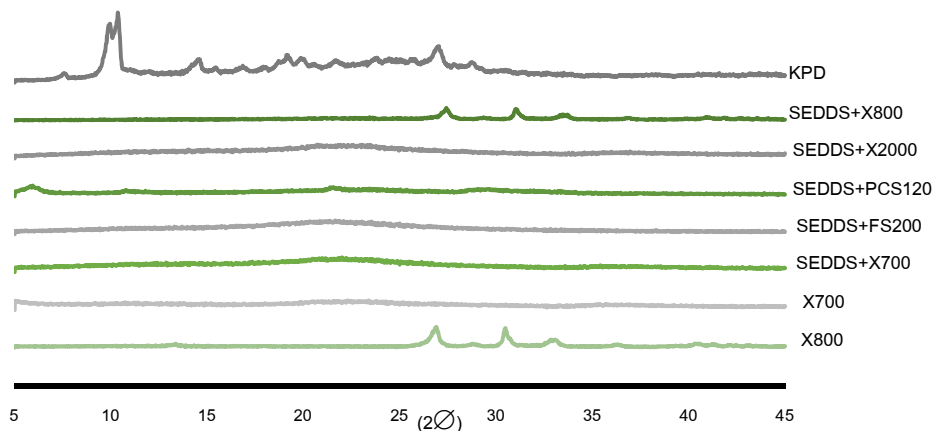
p. ผสมทางกายภาพ KPD/ X2,000 (1:1)



รูปที่ 2 การวิเคราะห์ SEM เพื่อทดสอบลักษณะพื้นผิวภายนอกของสาร

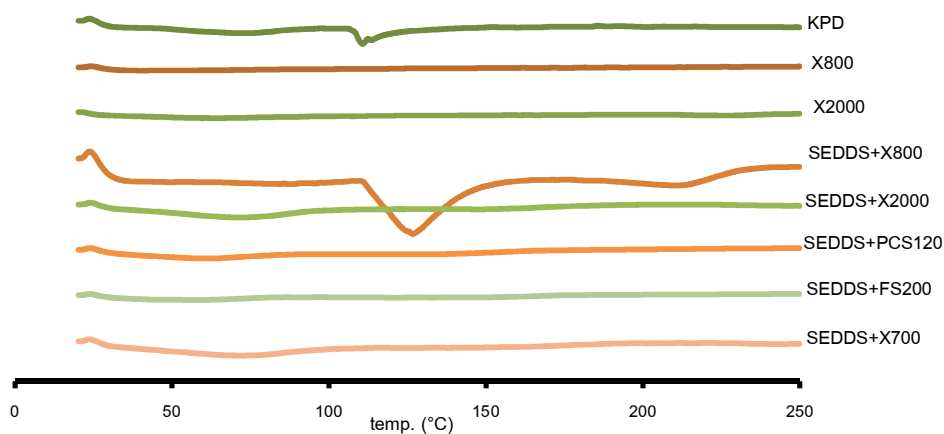
การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพวิเคราะห์โดย SEM จากรูปที่ 2 พบว่า KPD มีลักษณะพื้นผิวภายนอกที่ไม่เรียบเนียน เช่นเดียวกับกับตัวดูดซับชนิดอื่นๆ ซึ่งมีรูพรุนจำนวนมาก โดยตัวดูดซับชนิด X2,000 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 3-5 μm , X700 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 44-177 μm ซึ่งทั้งคู่มีพื้นที่ผิวเฉพาะที่เท่ากัน คือ 300 m^2/g , FS200 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 0.012 μm และมีพื้นที่ผิวเฉพาะขนาด 200 \pm 25 m^2/g , PCS120 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 26 μm และมีพื้นที่ผิวเฉพาะขนาด 100 m^2/g และตัวดูดซับชนิด X800 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 115 μm และมีพื้นที่ผิวเฉพาะขนาด 40 m^2/g

สรุปได้ว่า สารที่มีอนุภาคขนาดใหญ่ มีความพรุนสูง และมีพื้นที่ผิวเฉพาะ (specific surface area) สูง พบว่ามีประสิทธิภาพในการดูดซับดีกว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็ก (23)



รูปที่ 3 ผลการวิเคราะห์ XRPD ของ KPD และ SEDDS POWDER บนตัวพาทั้ง 5 ชนิด

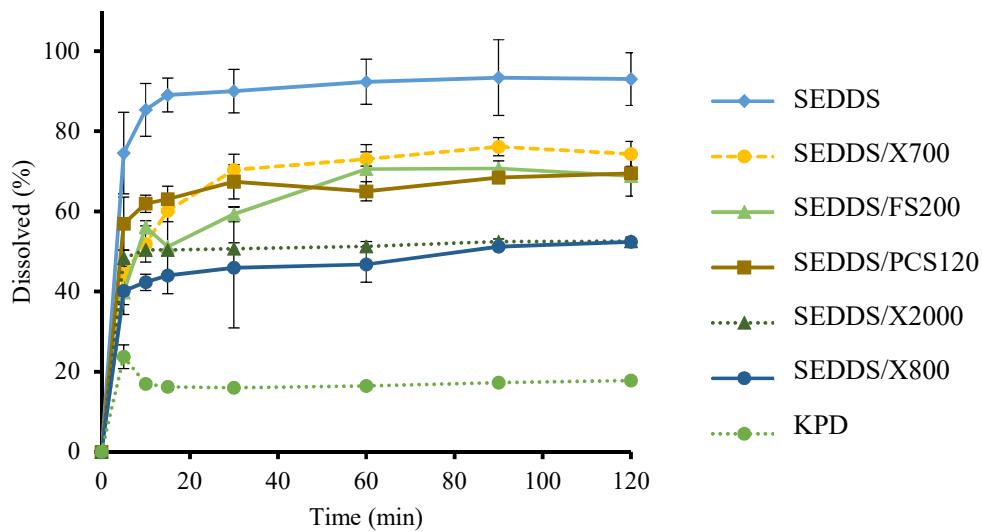
ผลการทดลอง XRPD พบว่า จากรูปที่ 3 ไม่พบ peak ของสาร KPD ในตำรับ SEDDS powder บนตัวพาที่แตกต่างกันทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ PCS200 FS200 X700 และ X2000 มีเพียงตำรับ SEDDS powder บนตัวพา X800 เท่านั้นที่พบ peak ของ KPD เล็กน้อย



รูปที่ 4 ผลการวิเคราะห์ DSC ของ KPD และ SEDDS POWDER บนตัวพาทั้ง 5 ชนิด

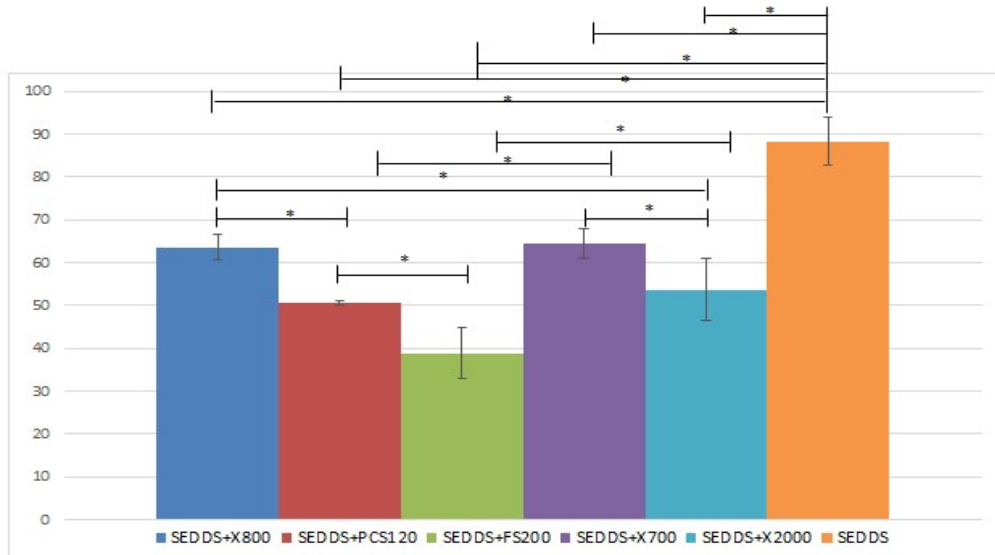
ผลการศึกษา DSC จากรูปที่ 4 พบว่า KPD มีการดูดความร้อนที่ 20 – 250°C โดยเปรียบเทียบกับตำรับที่เป็น SEDDS powder บนตัวพาที่แตกต่างกันทั้ง 5 ชนิด พบว่ามี 4 ได้แก่ PCS200 FS200 X700 และ X2000 ตำรับที่ไม่พบ peak การดูดความร้อนของ KPD และมีเพียงตำรับ SEDDS powder บนตัวพา X800 ที่มีการดูดความร้อนที่ค่าเดียวกับ KPD

การทดสอบละลาย methoxyflavone ของ KPD

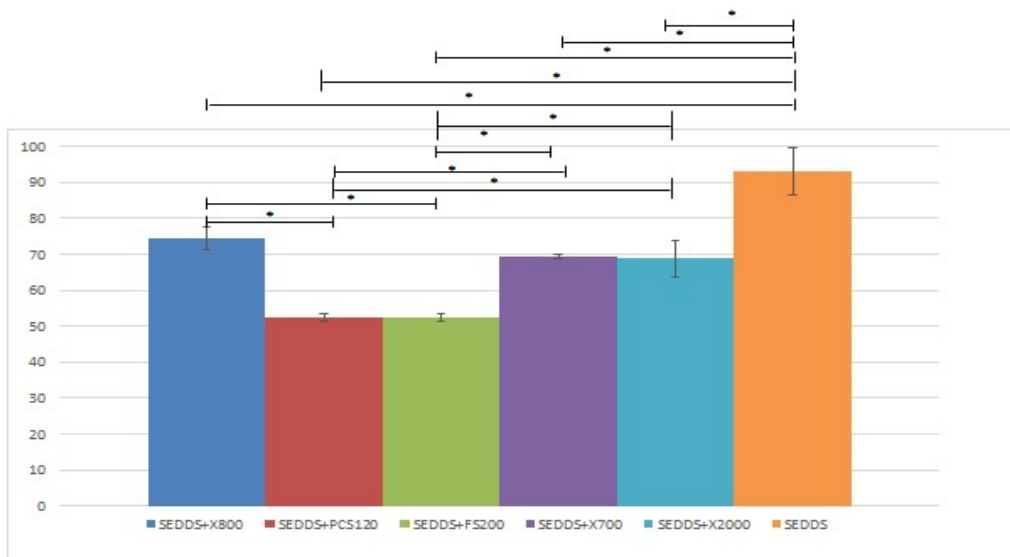


รูปที่ 5 ทดสอบการละลาย methoxyflavone ของ KPD ในแต่ละสูตรตำรับ SGF pH 1.2 โดยชนิดของตัวพาที่แตกต่างกัน

จากรูปภาพที่ 5 การทดสอบการละลายของ methoxyflavone จาก KPD ในสภาวะทดสอบการละลายในกระเพาะ (SGF pH1.2) พบว่า มีการละลายเป็นร้อยละ 17 และการทดสอบการละลายของ SEDDS และ SEDDS ที่ดูดซับบนตัวพาพบว่าตำรับที่มีการละลายมากที่สุดคือตำรับ SEDDS มีการละลายเป็น 5 เท่าของ KPD ตามด้วยตำรับ SEDDS ที่ดูดซับบนตัวพา X700, FS200, PCS120, X2000 และ X800 ซึ่งมีการละลายเป็น 4.3, 4.1, 3.8, 3, 2.7 เท่าของ KPD ตามลำดับ ตำรับที่เป็นของแข็งเมื่อดูดซับด้วย X700 ให้การปลดปล่อยยาได้มากที่สุด



รูปที่ 6 แสดงความสามารถการปลดปล่อยยาออกจากตัวพาที่แตกต่างกัน (SGF PH 1.2) ที่นาทีที่ 20



รูปที่ 7 แสดงความสามารถการปลดปล่อยยาออกจากตัวพาที่แตกต่างกัน (SGF PH1.2) ที่นาทีที่ 120

* P VALUE<0.05

การวัดขนาดอนุภาคของการเกิดอิมัลชัน

การวัดขนาดอนุภาคของการเกิดอิมัลชัน โดยใช้เครื่องPhoton correlation spectroscopy

ตารางที่ 6 ค่าขนาดอนุภาคเฉลี่ย และค่าการกระจายขนาดของการเกิดอิมัลชัน

Sample name	Z-Average (d.nm)	Pdl
FS200	8471.67	0.727
FS200 (centrifuged)	4254.67	0.356
PCS120	2.457×10^4	0.645
PCS120 (centrifuged)	5045.33	0.566
X800	965.23	0.694
X800 (centrifuged)	351.30	0.515
X2,000	4123.33	0.687
X2,000 (centrifuged)	3455.00	0.793
X700	5818.67	1.000
X700 (centrifuged)	4364.33	0.732

จากตารางที่ 6 การวัดค่าขนาดอนุภาคเฉลี่ยของการเกิดอิมัลชันของตัวดูดซับแต่ละชนิด พบว่าอนุภาคของ PCS120 มีขนาดใหญ่ที่สุด คือ มีค่า Z-Average เท่ากับ 2.457×10^4 , FS200 มีค่า Z-Average เท่ากับ 8471.67, X700 มีค่า Z-Average เท่ากับ 5818.67, X2,000 มีค่า Z-Average เท่ากับ 4123.33 และ X800 มีขนาดเล็กที่สุด คือ มีค่า Z-Average เท่ากับ 965.23

จากตารางที่ 6 การวัดค่าการกระจายขนาดของการเกิดอิมัลชัน พบว่า X700 มีค่าการกระจายขนาดของอนุภาคอิมัลชันมากที่สุด คือ มีค่า Pdl เท่ากับ 1.000, FS200 มีค่า Pdl เท่ากับ 0.727, X800 มีค่า Pdl เท่ากับ 0.694, X2,000 มีค่า Pdl เท่ากับ 0.687 และ PCS120 มีค่าการกระจายขนาดของอนุภาคอิมัลชันน้อยที่สุด คือ มีค่า Pdl เท่ากับ 0.645

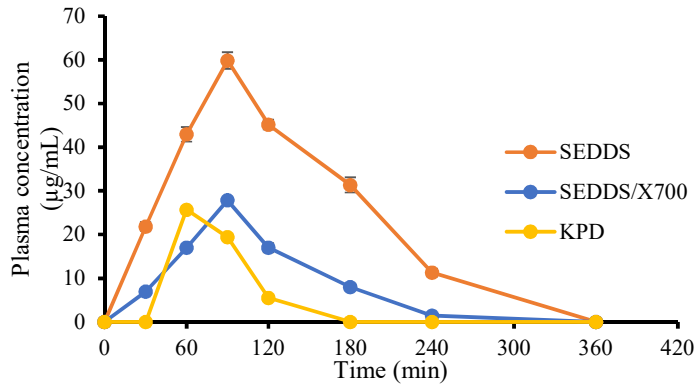
สามารถสรุปได้ว่า ขนาดอนุภาคของการเกิดอิมัลชันของตัวดูดซับชนิด PCS120 มีขนาดใหญ่ที่สุด และ X800 มีขนาดอนุภาคของการเกิดอิมัลชันเล็กที่สุด ซึ่งจากการวัดค่าการกระจายขนาดของการเกิดอิมัลชัน ตัวดูดซับชนิด X700 มีค่าการกระจายขนาดมากที่สุด และ PCS120 มีค่าการกระจายขนาดน้อยที่สุด ซึ่งบอกได้ว่า PCS120 มีการกระจายของขนาดอนุภาคอิมัลชันสม่ำเสมอมากที่สุด

จากตารางที่ 7 เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ที่ได้พัฒนาขึ้นในสภาวะที่กำหนดพบว่าทั้งตำรับ SEDDS และ SEDDS/X700 มีความคงตัวดีเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาต่อ

ตารางที่ 7 ความคงตัวของผลิตภัณฑ์

		Content)%(± SD		
		DMF	TMF	PMF
KPD	Initial	100.00 ± 0.25	100.00 ± 0.75	100.00 ± 0.56
	Accelerated condition	99.84 ± 0.21	100.00 ± 0.34	100.00 ± 0.79
	Long-term storage condition	99.86 ± 0.50	99.96 ± 0.64	99.99 ± 0.32
SEDDS	Initial	100.00 ± 0.21	100.00 ± 0.32	100.00 ± 0.19
	Accelerated condition	99.89 ± 0.78	99.99 ± 0.56	99.96 ± 1.30
	Long-term storage condition	99.92 ± 0.91	99.79 ± 0.88	98.98 ± 0.90
SEDDS/X700	Initial	100.00 ± 0.09	100.00 ± 0.75	100.00 ± 0.31
	Accelerated condition	99.98 ± 0.29	100.00 ± 0.16	100.00 ± 0.64
	Long-term storage condition	99.93 ± 0.17	99.98 ± 2.09	99.99 ± 1.30

การทดสอบหาเภสัชจลนศาสตร์ ในหนูขาวแสดงในรูปที่ 8 ปริมาณ methoxyflavone ในเลือด ภายใน 6 ชั่วโมง ของ SEDDS, SEDDS/X700 และ KPD มีค่าเท่ากับ 8667.04 ± 176.82 , 2923.61 ± 95.02 และ $1600.50 \pm 125.05 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ KPD แล้ว SEDDS และ SEDDS/X700 สามารถเพิ่มการดูดซึมยาในเลือดได้ ประมาณ 5.4 และ 1.8 เท่าตามลำดับ และค่าความเข้มข้นของยาในเลือด สูงที่สุดพบได้กับหนูที่ให้ SEDDS และน้อยที่สุดเมื่อให้ KPD จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าตำรับที่พัฒนาขึ้นมีความสามารถในการเพิ่มการดูดซึมยาเข้าสู่กระแสเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) SEDDS/X700 มีค่าการละลายต่ำกว่าสอดคล้องกับการดูดซึมซึ่งมีค่าต่ำกว่าไปในทิศทางเดียวกันเมื่อเทียบกับ SEDDS แสดงให้เห็นว่าควรเลือกใช้สารในการดูดซับให้เหมาะสมหรือทำการทดลองการละลายเพื่อช่วยในการทำนายการดูดซึมได้ [34]



รูปที่ 8 กราฟแสดงปริมาณ methoxyflavone ในเลือด

ตารางที่ 8 เกณฑ์จลนศาสตร์ของ methoxyflavone ในสัตว์ทดลอง

		AUC _{0-6h} (µg·h/mL)	T _{max} (h)	C _{max} (µg/mL)
SEDDS/X700	DMF	1100.29 ± 48.20*	1.5	10.22 ± 0.38*
	TMF	1224.15 ± 41.08*	1.5	10.79 ± 0.68*
	PMF	599.18 ± 27.52*	1.5	6.84 ± 0.63*
	Total flavonoids	2923.61 ± 95.02*	1.5	27.85 ± 0.37*
SEDDS	DMF	3084.11 ± 140.62*	1.5	21.45 ± 0.74*
	TMF	3466.65 ± 76.95*	1.5	23.23 ± 0.86*
	PMF	2116.28 ± 92.71*	1.5	15.18 ± 0.73*
	Total flavonoids	8667.04 ± 176.82*	1.5	59.86 ± 1.93*
KPD	DMF	673.50 ± 32.12	1.0	10.20 ± 0.50
	TMF	435.00 ± 43.07	1.0	7.30 ± 0.60
	PMF	492.00 ± 45.05	1.0	8.20 ± 0.30
	Total flavonoids	1600.50 ± 125.05	1.0	25.70 ± 1.48

สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นตอนต่อไป ตลอดจนประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลการวิจัยที่ได้ โดยระบบนำส่งยาชนิดเกิดอิมัลชันได้เอง เป็นหนึ่งในเทคนิคการเพิ่มการละลายของยาโดยใช้ไขมัน ซึ่งสามารถเตรียมได้โดยใช้ส่วนผสมระหว่าง oil, surfactant และ co-surfactant ได้แก่ CCG : P35 : DGE ที่อัตราส่วน 10 : 10 : 80, 30 : 60 : 10 และ 80 : 10 : 10 ซึ่งพบว่าอัตราส่วน 10 : 10 : 80 สามารถกักเก็บสารสกัด กระจายตัวได้มากที่สุด

โดยเลือกเทคนิคการเตรียมตำรับ SEDDS โดยการดูดซับบนตัวพาชนิดของแข็ง ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและใช้ตัวพาในกลุ่มของ porous silica ที่นิยมใช้กันเนื่องจากมีความพรุนสูง โดยแต่ละชนิดของตัวพาจะมีขนาด ความพรุนและพื้นที่ผิวที่แตกต่างกัน ซึ่งผู้วิจัยได้เลือกตัวพาชนิด FS200, PCS120, X800, X700 และ X2,000 ที่มีขนาด ความพรุนและพื้นที่ผิวที่แตกต่างกัน

ทดสอบการละลายโดยใช้ USP apparatus II กับสารละลายเลียนแบบของเหลวในทางกระเพาะอาหาร (SGF, pH 1.2) หลังจาก 30 นาที methoxyflavone ละลายออกจาก KPD, SEDDS และ SEDDS/X700 ประมาณ 16%, 92% และ 72% ตามลำดับ ข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์ของ methoxyflavone สำหรับให้โดยรับประทาน ในหนูขาว (Wistar rats); พื้นที่ใต้กราฟของ SEDDS/X700 (1.83 เท่า) และ SEDDS (5.42 เท่า) มีค่าสูงกว่า KPD

ผลผลิต (Output)

Pilaipan Chairuk, Sukannika Tubtimsri, Chaweewan Jansakul, Pornsak Srimornsak, Yotsanan Weerapol. Enhancing dissolution and absorption of *Kaemferia parviflora* extract using self-emulsifying drug delivery systems, JDDST, 2019. submitted

เอกสารอ้างอิง

1. Yorsin, S., et al., *Effects of Kaempferia parviflora rhizomes dichloromethane extract on vascular functions in middle-aged male rat*. Journal of Ethnopharmacology, 2014. **156**: p. 162-174.
2. Weerateerangkul, P., et al., *Effects of Kaempferia parviflora Wall. Ex. Baker on electrophysiology of the swine hearts*. The Indian Journal of Medical Research, 2013. **137**(1): p. 156-163.
3. Malakul, W., et al., *Effects of Kaempferia parviflora Wall. Ex Baker on endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats*. Journal of Ethnopharmacology, 2011. **133**(2): p. 371-377.
4. Sudwan, P., et al., *Effect of Kaempferia parviflora Wall. ex. Baker on sexual activity of male rats and its toxicity*. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2006. **37 Suppl 3**: p. 210-5.
5. Promthep, K., et al., *Effect of Kaempferia parviflora Extract on Physical Fitness of Soccer Players: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial*. Medical Science Monitor Basic Research, 2015. **21**: p. 100-108.
6. Park, J.-E., et al., *Standardized Kaempferia parviflora Extract Inhibits Intrinsic Aging Process in Human Dermal Fibroblasts and Hairless Mice by Inhibiting Cellular Senescence and Mitochondrial Dysfunction*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017. **2017**: p. 14.
7. Leardkamolkarn, V., S. Tiomyuyen, and B.O. Sripanidkulchai, *Pharmacological activity of Kaempferia parviflora extract against human bile duct cancer cell lines*. Asian Pac J Cancer Prev, 2009. **10**(4): p. 695-8.
8. Yenjai, C., et al., *Bioactive flavonoids from Kaempferia parviflora*. Fitoterapia, 2004. **75**(1): p. 89-92.
9. Weerapol, Y., et al., *Improved dissolution of Kaempferia parviflora extract for oral administration by preparing solid dispersion via solvent evaporation*. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2017. **12**(2): p. 124-133.
10. Patel, P.V., et al., *Self micro-emulsifying drug delivery system of tacrolimus: Formulation, in vitro evaluation and stability studies*. International Journal of Pharmaceutical Investigation, 2013. **3**(2): p. 95-104.

11. Singh, A.K., et al., *Exemestane Loaded Self-Microemulsifying Drug Delivery System (SMEDDS): Development and Optimization*. AAPS PharmSciTech, 2008. **9**(2): p. 628-634.
12. Jaiswal, P., et al., *Development of self-microemulsifying drug delivery system and solid-self-microemulsifying drug delivery system of telmisartan*. International Journal of Pharmaceutical Investigation, 2014. **4**(4): p. 195-206.
13. Bansode, S.T., et al., *Design and development of SMEDDS for colon-specific drug delivery*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2016. **42**(4): p. 611-623.
14. Shah, N.H., et al., *Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) with polyglycolized glycerides for improving in vitro dissolution and oral absorption of lipophilic drugs*. International Journal of Pharmaceutics, 1994. **106**(1): p. 15-23.
15. Pouton, C.W. and C.J.H. Porter, *Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: materials, methods and strategies*. Adv Drug Deliv Rev, 2008. **60**(6): p. 625-637.
16. Pouton, C.W., *Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006. **29**(3-4): p. 278-287.
17. Pouton, C.W., *Formulation of self-emulsifying drug delivery systems*. Advanced Drug Delivery Reviews, 1997. **25**(1): p. 47-58.
18. Gupta, S., R. Kesarla, and A. Omri, *Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems*. ISRN Pharmaceutics, 2013. **2013**: p. 1-16.
19. Nipun, T.S. and S.M. Ashraful Islam, *SEDDS of gliclazide: Preparation and characterization by in-vitro, ex-vivo and in-vivo techniques*. Saudi Pharmaceutical Journal, (0).
20. Weerapol, Y., et al., *Enhanced dissolution and oral bioavailability of nifedipine by spontaneous emulsifying powders: Effect of solid carriers and dietary state*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2015. **91**: p. 25-34.
21. Wang, Z., et al., *Solid self-emulsifying nitrendipine pellets: Preparation and in vitro/in vivo evaluation*. International Journal of Pharmaceutics. **383**(1-2): p. 1-6.
22. Mekjaruskul, C., et al., *Novel formulation strategies for enhancing oral delivery of methoxyflavones in Kaempferia parviflora by SMEDDS or complexation with 2-*

- hydroxypropyl-β-cyclodextrin*. International Journal of Pharmaceutics, 2013. **445**(1): p. 1-11.
23. Nelson, J.H., R.G. Jensen, and R.E. Pitas, *Pregastric Esterase and other Oral Lipases--A Review*. Journal of Dairy Science, 1977. **60**(3): p. 327-362.
 24. Venkata, R.R. and J. Shao, *Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for oral delivery of protein drugs: I. Formulation development*. International Journal of Pharmaceutics, 2008. **362**(1-2): p. 2-9.
 25. Chen, M.L., *Lipid excipients and delivery systems for pharmaceutical development: a regulatory perspective*. Adv Drug Deliv Rev, 2008. **60**(6): p. 768-777.
 26. Ratanabanangkoon, P., et al., *A high-throughput approach towards a novel formulation of fenofibrate in omega-3 oil*. Eur J Pharm Sci, 2008. **33**(4-5): p. 351-60.
 27. Wang, L., et al., *Design and optimization of a new self-nanoemulsifying drug delivery system*. J Colloid Interface Sci, 2009. **330**(2): p. 443-448.
 28. Zhao, Y., et al., *Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) for oral delivery of zedoary essential oil: formulation and bioavailability studies*. Int J Pharm, 2010. **383**(1-2): p. 170-177.
 29. Tan, A., et al., *Silica-lipid hybrid (SLH) microcapsules: a novel oral delivery system for poorly soluble drugs*. J Control Release, 2009. **134**(1): p. 62-70.
 30. Wang, Z., et al., *Solid self-emulsifying nitrendipine pellets: preparation and in vitro/in vivo evaluation*. Int J Pharm, 2010. **383**(1-2): p. 1-6.
 31. Franceschinis, E., et al., *Self-emulsifying pellets in a lab-scale high shear mixer: Formulation and production design*. Powder Technol, 2011. **207**(1-3): p. 113-118.
 32. Agarwal, V., et al., *Dissolution and powder flow characterization of solid self-emulsified drug delivery system (SEDDS)*. Int J Pharm, 2009. **366**(1-2): p. 44-52.
 33. Burapapadh, K., H. Takeuchi, and P. Srimornsak, *Novel pectin-based nanoparticles prepared from nanoemulsion templates for improving in vitro dissolution and in vivo absorption of poorly water-soluble drug*. Eur J Pharm Biopharm, 2012. **82**(2): p. 250-261.
 34. Weerapol, Y., et al., *Fabrication of spontaneous emulsifying powders for improved dissolution of poorly water-soluble drugs*. Powder Technology, 2015. **271**: p. 100-108.