



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาและศึกษากลไกของไมโครอิมัลชันที่มีสารลดแรงตึงผิวซึ่งสามารถย่อยสลาย  
ได้ในร่างกายเพื่อนำส่งเซเลคอกซิบผ่านทางผิวหนัง

Development and mechanism study of microemulsion containing  
biodegradable surfactants for skin penetration enhancement of  
celecoxib

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ถิรพิทย์ สุกงกช

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้

(เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๑

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ ๖๙๒๕๐๕

สัญญาเลขที่ ๑๐๔/๒๕๖๑

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาและศึกษากลไกของไมโครอิมัลชันที่มีสารลดแรงตึงผิวซึ่งสามารถย่อยสลายได้ใน  
ร่างกายเพื่อนำส่งเซเลคอกซิบผ่านทางผิวหนัง

Development and mechanism study of microemulsion containing  
biodegradable surfactants for skin penetration enhancement of celecoxib

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ถิรพิทย์ สุนงกช

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๑ มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา ๑๐๔/๒๕๖๑

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาสูตรตำรับไมโครอิมัลชันชนิดใหม่ที่มีพีอีจี-6-คาพริลิกคาพริกกลีเซอโรไรด์เป็นสารลดแรงตึงผิวเพื่อเพิ่มการแพร่ผ่านผิวหนังของเซเลโคชิบ โดยมีการประเมินไมโครอิมัลชันที่ได้ทั้งขนาดประจุพื้นผิว การกระจายขนาด ชนิดของไมโครอิมัลชัน การปลดปล่อยยาและการแพร่ผ่านผิวหนังแบบภายนอก ร่างกาย อนุภาคของเซเลโคชิบไมโครอิมัลชันที่เตรียมได้มีขนาดอยู่ในช่วง 48-269 นาโนเมตร มีประจุที่พื้นผิวเป็นกลาง การปลดปล่อยเซเลโคชิบจากไมโครอิมัลชันจะเป็นจลนศาสตร์อันดับศูนย์ ไมโครอิมัลชันที่เตรียมได้สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านผิวหนังของเซเลโคชิบได้มากกว่ารูปแบบสารละลายอย่างมีนัยสำคัญ

**คำสำคัญ** ไมโครอิมัลชัน เซเลโคชิบ พีอีจีหกคาพริลิกคาพริกกลีเซอโรไรด์ การแพร่ผ่านผิวหนัง

## Abstract

This study was aimed to develop a new microemulsion formulation that contained PEG-6 caprylic/capric glycerides as surfactant for dermal delivery of celecoxib. The developed microemulsion was evaluated for their size, zeta potential, polydispersity index, microemulsion types, *in vitro* release and *in vitro* skin penetration study. The celecoxib loaded microemulsion had a particle size in range of 48-269 nm with a neutral surface charge. The *in vitro* release of celecoxib loaded microemulsion was best fitted with the zero-order model. The microemulsion significantly improved the skin penetration of celecoxib compared to celecoxib solution.

**Keywords:** microemulsion, celecoxib, PEG-6 caprylic/capric glycerides, dermal drug delivery

## สารบัญเรื่อง (Table of contents)

|                                | หน้า |
|--------------------------------|------|
| บทนำ                           | 1    |
| สารเคมีและเครื่องมือ           | 4    |
| วิธีดำเนินการวิจัย             | 6    |
| ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย | 12   |
| สรุปผลการวิจัย                 | 28   |
| รายงานสรุปการเงิน              | 29   |
| เอกสารอ้างอิง                  | 30   |

## สารบัญตาราง (List of tables)

|  | หน้า |
|--|------|
| ตารางที่ 1 ค่าการละลายเฮลโคชิบในวัฏภาคน้ำมัน   | 12   |
| ตารางที่ 2 ค่าการละลายเฮลโคชิบในสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวรวม   | 13   |
| ตารางที่ 3 อัตราส่วนของสูตรตำรับไมโครอิมัลชัน  | 20   |
| ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาค การกระจายของขนาด ประจุพื้นผิวและ<br>ค่าการนำไฟฟ้าของไมโครอิมัลชันสูตรต่างๆ | 23   |
| ตารางที่ 5 จลนศาสตร์ของการปลดปล่อยเฮลโคชิบจาก MC 3   | 25   |
| ตารางที่ 6 ปริมาณเฮลโคชิบที่แพร่ผ่านผิวหนังของสูตรควบคุมและสูตรไมโครอิมัลชันต่างๆ                            | 26   |

## สารบัญภาพ (List of illustrations)

|  | หน้า |
|--|------|
| รูปที่ 1 Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว<br>PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-35 Castor oil อัตราส่วน 1:1      | 14   |
| รูปที่ 2 Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว<br>PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 1:1 | 15   |
| รูปที่ 3 Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว<br>PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 1:1 | 16   |
| รูปที่ 4 Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว<br>PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 2:1 | 17   |
| รูปที่ 5 Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว<br>PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 3:1 | 18   |
| รูปที่ 6 Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว<br>PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 4:1 | 19   |
| รูปที่ 7 กราฟแสดงการปลดปล่อยเซลล์โคชิบบนแบบผสมของ MC 3   | 25   |



## 1. บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

เนื่องจากปัจจุบันประเทศไทยกำลังเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ จึงพบโรคที่พบได้บ่อยในผู้สูงอายุ เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (Rheumatoid arthritis) โรคข้อเสื่อม (Osteoarthritis) ข้ออักเสบเก๊าท์ (Gout) อาการปวดเฉียบพลัน (Acute pain) เป็นต้น โดยโรคเหล่านี้ทำให้เกิดความทุกข์ทรมาน ส่งผลต่อคุณภาพชีวิตและการดำเนินกิจกรรมประจำวันของผู้ป่วย การรักษาตามแนวทางเวชปฏิบัติโดยทั่วไปคือการให้ยาบรรเทาอาการปวดในกลุ่มยาต้านการอักเสบ ประเภท Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs) ยาในกลุ่มนี้แบ่งออกเป็น 3 ประเภทตามการยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase ได้แก่ Non selective COX inhibitors, Selective COX-2 inhibitors และ Specific COX-2 inhibitors ซึ่งยาในประเภท Non selective COX inhibitors จะมีผลข้างเคียงที่สำคัญคือ ระคายเคืองกระเพาะอาหารและทำให้เกิดเลือดออกในทางเดินอาหารได้ ทำให้มีการพัฒนายาที่ยับยั้งเอนไซม์ COX-2 ได้จำเพาะมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะทำให้ลดการระคายเคืองกระเพาะอาหาร โดยยาประเภทที่จำเพาะต่อการยับยั้ง COX-2 มากที่สุด คือ ยาประเภท Specific COX-2 inhibitors เช่น เซเลโคซิบ (celecoxib) เป็นต้น

ในทางการค้าเซเลโคซิบมีจำหน่ายในรูปแบบยารับประทานโดยเป็นผงยาบรรจุในแคปซูลขนาด 200 และ 400 มิลลิกรัม ซึ่งรูปแบบยารับประทานนั้นมีข้อเสียคือยาเซเลโคซิบอยู่ในรูปแบบที่ยังไม่ละลาย ยาต้องผ่านขั้นตอนการละลายก่อน จึงจะถูกดูดซึมผ่านลำไส้เข้าสู่กระแสเลือดได้ ทำให้เวลาการเริ่มออกฤทธิ์ช้า (slow onset) และปริมาณยาส่วนหนึ่งจะถูกทำลายที่ตับ (first pass hepatic metabolism) นอกจากนี้การรับประทานยาเซเลโคซิบติดต่อกันเป็นเวลานานก็มีผลข้างเคียงทำให้เกิดภาวะไตวายเฉียบพลันได้

ระบบนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง (transdermal drug delivery system) มีข้อดีหลายประการ เช่น เป็นการบริหารยาเข้าสู่บริเวณที่มีพยาธิสภาพโดยตรง จึงลดการแพร่กระจายยาไปสู่บริเวณอวัยวะอื่น อันจะก่อให้เกิดผลข้างเคียง ลดการถูกทำลายของยาที่ตับจากการรับประทานยา (first pass hepatic metabolism) ไม่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดระหว่างการบริหารยา ทำให้ผู้ป่วยได้รับความสะดวกสบายจากการใช้ยา จึงสามารถเพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาให้กับผู้ป่วยได้ (patient compliance) อย่างไรก็ตามสารที่สามารถแพร่ผ่านผิวหนังได้ดีนั้น ตามทฤษฎีแล้วควรมีน้ำหนักโมเลกุลไม่เกิน 500 ดาลตัน และมีค่า log Partition coefficient (log P) อยู่ระหว่าง 1-3 [1]

จากคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีพบว่า เซเลโคชิบมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 381 ดาลตัน เป็นยาที่ละลายน้ำได้ไม่ดี (ค่าการละลายของเซเลโคชิบในน้ำน้อยกว่า 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) [2] และมีค่า log P เท่ากับ 4.01 [3] ทำให้การดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังเกิดขึ้นได้น้อย จำเป็นต้องมีระบบเพื่อช่วยเพิ่มการแพร่ผ่านเข้าสู่ผิวหนัง

ไมโครอิมัลชัน (Microemulsions) จัดเป็นระบบคอลลอยด์ที่มีอนุภาคระดับนาโนเมตร ไมโครอิมัลชันประกอบด้วยวัฏภาคน้ำมัน สารลดแรงตึงผิว (surfactant) สารลดแรงตึงผิวร่วม (co-surfactant) และวัฏภาคน้ำ ไมโครอิมัลชันเป็นระบบที่มีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ สามารถเตรียมได้ง่ายและเหมาะต่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ไมโครอิมัลชันสามารถเตรียมได้โดยวิธี water titration method โดยการหยดวัฏผิวหนังก่อนลงในของผสมระหว่างวัฏภาคน้ำมัน สารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม ของผสมที่มีความพอดีกันในสัดส่วนของทั้งสามวัฏภาคจึงเกิดเป็นไมโครอิมัลชันขึ้นได้เอง (spontaneous formation) สัดส่วนการเกิดไมโครอิมัลชันโดยของผสมทั้งสามวัฏภาคนี้จะแสดงโดยใช้ pseudoternary phase diagram มีรายงานว่าไมโครอิมัลชันสามารถเพิ่มการซึมผ่านทางผิวหนังของยา amphotericin B [4] ondansetron [5] ropivacaine [6] เป็นต้น

เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีเซเลโคชิบรูปแบบไมโครอิมัลชันเพื่อนำส่งผ่านทางผิวหนังในทางการค้า งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรตำรับไมโครอิมัลชันชนิดใหม่ที่มี PEG-6 caprylic/capric glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว เพื่อนำส่งเซเลโคชิบผ่านทางผิวหนัง ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการเตรียมไมโครอิมัลชันโดยใช้ PEG-6 caprylic/capric glycerides มาก่อน

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 1) เพื่อพัฒนาสูตรตำรับไมโครอิมัลชันที่สามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย โดยมี PEG-6 caprylic/capric glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว
- 2) เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของไมโครอิมัลชันที่มี PEG-6 caprylic/capric glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว
- 3) เพื่อศึกษาผลของไมโครอิมัลชันที่มี PEG-6 caprylic/capric glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิวต่อการเพิ่มการซึมผ่านทางผิวหนังของเซเลโคชิบ

## 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) เป็นการพัฒนารักษาอาการปวดหรืออักเสบแบบใช้เฉพาะที่ ทำให้ผู้ป่วยใช้ยาเซเลโคชิบได้อย่างปลอดภัยมากขึ้น โอกาสเกิดอาการข้างเคียงลดน้อยลง
- 2) เป็นการส่งเสริมให้โรงงานผลิตยาภายในประเทศสามารถผลิตยาเทคโนโลยีนาโนได้เอง จึงช่วยลดค่าใช้จ่ายในการนำเข้ายาจากต่างประเทศ
- 3) เพื่อสร้างองค์ความรู้ที่เป็นประโยชน์ต่อวงการวิชาการและการวิจัยเกี่ยวกับการใช้ไมโครอิมัลชันเพื่อเป็นระบบนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง

## 1.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย

- 1) วัตถุดิบน้ำมันที่ใช้ในการเตรียมไมโครอิมัลชัน ได้แก่ isopropyl myristate, isononyl isononanoate, oleic acid และ octyldodecanol
- 2) สารลดแรงตึงผิวร่วม (co-surfactants) ที่ใช้ในการเตรียมไมโครอิมัลชัน ได้แก่ PEG 400, PEG-7 Glyceryl Cocoate (Cetiol HE) และ PEG-35 Castor oil (Cremophor EL)

## 2. สารเคมีและเครื่องมือ

### 2.1 สารเคมี

- 1) Celecoxib
- 2) PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides
- 3) PEG 400
- 4) PEG-7 Glyceryl Cocoate (Marconol HE)
- 5) PEG-35 Castor oil (Cremophor EL)
- 6) Methanol
- 7) 50% Ethanol in PBS (v/v)
- 8) Isopropyl myristate (IPM)
- 9) Isononyl isononanoate
- 10) Octyldodecanol
- 11) Oleic acid
- 12) PEG-20 glyceryl triisostearate (TGI 20)
- 13) Absolute ethanol
- 14) Labrafil M
- 15) Propylene glycol (PG)
- 16) Labrafac
- 17) Glycerine

## 2.2 เครื่องมือ

- 1) Magnetic stirrer (ST-900EC, Scilution, Bangkok, Thailand)
- 2) Centrifuge (Sorvall™ Legend™ X1R Centrifuge, Thermo Scientific™, MA, USA)
- 3) HPLC (Agilent 1260 infinity II LC systems, Agilent Technology, Santa Clara, CA, USA)
- 4) C18 reversed-phase column (VertiSep UPS C18, Vertical Chromatography; Nonthaburi, Thailand)
- 5) Sonicator bath (WUC-D22H, DAIHAN Scientific, Gangwon-do, Korea)
- 6) Dynamic light scattering (DLS) particle size analyzer (Zetasizer Nano-ZS; Malvern Instrument, Malvern, UK)
- 7) Magnetic stirrer with heating (C-MAG HS7, Becthai Bangkok Equipment&Chemical, Bangkok, Thailand)
- 8) Dialysis bag (CelluSep T2®; Membrane Filtration Products Inc., Seguin, TX, USA)
- 9) Tape strip (Scotch 3M Transparent Tape 500, 24 mm x 33 m)
- 10) Digital Caliper (AD-5764A-150, AND, Japan)

### 3. วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ของเซเลโคซิบ

การเตรียมกราฟมาตรฐานทำโดยการชั่งเซเลโคซิบ 25 มิลลิกรัม ด้วยเครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical balance) ลงขวดปริมาตร (Volumetric flask) แล้วปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเจือจางจนได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจนถึง 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปวิเคราะห์ด้วย High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

#### 3.2 การหาค่าการละลายของเซเลโคซิบ

ศึกษาค่าการละลายของเซเลโคซิบ เพื่อเลือกส่วนประกอบที่จะใช้ในสูตรตำรับไมโครอิมัลชันในตัว กลาง ชนิดต่างๆ ทั้งวัฏภาคน้ำมันและสารลดแรงตึงผิว โดยปีเปตสารแต่ละชนิดมา 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเซเลโคซิบที่ มากเกินพอสำหรับการละลาย จากนั้นคนติดต่อกัน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารแขวนตะกอนที่ได้มา บั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บสารละลาย ส่วนบน (Supernatants) มาเจือจางด้วย Methanol จากนั้นมาวัดความเข้มข้นด้วย HPLC

#### 3.3 การเตรียมไมโครอิมัลชัน

##### 3.3.1 การเลือกสารลดแรงตึงผิวร่วม (Co-surfactant) สำหรับการเตรียมตำรับไมโครอิมัลชัน

เพื่อให้ได้ Pseudo-ternary phase diagram ที่มีพื้นที่การเกิดไมโครอิมัลชันที่กว้างที่สุด จึงต้องมีการศึกษาเพื่อหาชนิดของสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เหมาะสมที่สุด โดยเลือกจากสารลดแรงตึงผิวที่ให้ค่าการละลาย เซเลโคซิบมากที่สุด 4 อันดับแรกจากขั้นตอนที่ 3.2 โดยเลือกวัฏภาคน้ำมันจากน้ำมันที่ให้ค่าการละลายเซเลโคซิบสูงสุด โดยกำหนดอัตราส่วนของสารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิวร่วมเท่ากับ 1:1 โดยสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ คือ PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides และสารลดแรงตึงผิวร่วม ได้แก่ PEG 400, PEG-7 glyceryl cocoate และ PEG-35 castor oil (Cremophor EL) ส่วนการสร้าง Pseudo-ternary phase diagram ทำโดยการหยด น้ำที่ละลายจนได้ไมโครอิมัลชัน

### 3.3.2 การสร้าง Pseudo-ternary phase diagram ของไมโครอิมัลชัน

ซึ่งสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมผสมให้เข้ากัน จะได้ส่วนผสมสารลดแรงตึงผิว (Sm) จากนั้นจึงผสม Sm และวัฏภาคน้ำมันให้เข้ากัน โดยอัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมันและ Sm มีค่าตั้งแต่ 1:19 ถึง 9:1 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) จากนั้นจึงหยดน้ำกลั่นลงส่วนผสมดังกล่าวโดยคนด้วย Magnetic stirrer จากนั้นสังเกตความใส (Transparency) และบันทึกปริมาณน้ำที่มากที่สุดที่ยังทำให้ส่วนผสมมีลักษณะใส โดยส่วนผสมที่ได้ที่มีลักษณะใสจัดเป็นไมโครอิมัลชัน

### 3.3.3 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวร่วมสำหรับไมโครอิมัลชัน

โดยเปรียบเทียบอัตราส่วนของสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวร่วมเป็น 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:1 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) จากนั้นจึงผสมวัฏภาคน้ำมันและ Sm ให้เข้ากัน โดยอัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมันและ Sm มีค่าตั้งแต่ 1:19 ถึง 9:1 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) จากนั้นจึงหยดน้ำกลั่นลงในส่วนผสมดังกล่าวโดยคนด้วย Magnetic stirrer จากนั้นสังเกตความใส (Transparency) เลือกอัตราส่วนสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวร่วมที่มีพื้นที่ของไมโครอิมัลชันใน Pseudo-ternary phase diagram มากที่สุดมาใช้

### 3.3.4 การหาค่าการละลายของเซเลโคชิบในไมโครอิมัลชัน

ซึ่งเซเลโคชิบปริมาณมากเกินพอลงในไมโครอิมัลชัน แล้วคนด้วย Magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารแขวนตะกอนที่ได้ไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บสารละลายส่วนใส (Supernatants) มาเจือจางด้วย Methanol จากนั้นมาวัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง HPLC สูตรไมโครอิมัลชันที่จะนำไปศึกษาต่อจะต้องสามารถละลายเซเลโคชิบได้อย่างน้อยร้อยละ 2 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w)

### 3.3.5 การเตรียมเซเลโคชิบในไมโครอิมัลชัน

เมื่อได้ Pseudo-ternary phase diagrams ที่แสดงขอบเขตการเกิดไมโครอิมัลชันแล้ว จึงเลือกจุดจากเฟสไดอะแกรมเพื่อเตรียมไมโครอิมัลชัน โดยเลือกสูตรที่มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 20-200 นาโนเมตร และไม่มีสารแยกเฟส การเตรียมไมโครอิมัลชันทำโดยผสมวัฏภาคน้ำมัน สารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมและน้ำ คนให้เข้ากัน จากนั้นผสมเซเลโคชิบลงไป คนต่อจนเกิดการละลายสมบูรณ์

### 3.4 การศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของไมโครอิมัลชัน

การวัดขนาดอนุภาค (Mean droplet size) ประจุพื้นผิว (Surface charge) การกระจายขนาด (Size distribution) และค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity)

การวัดขนาดของเซเลโคชิบในไมโครอิมัลชัน ศักย์ซีตา (Zeta potential) การกระจายขนาด ค่าการนำไฟฟ้าของเซเลโคชิบในไมโครอิมัลชัน โดยใช้ Dynamic Light Scattering (DLS) Partical size analyzer ที่มี 4 mW Helium-neon laser ที่มุม 173 องศา ทำการวัดอย่างน้อย 3 ครั้งต่อสูตรไมโครอิมัลชัน

### 3.5 การศึกษาการปลดปล่อยยาแบบภายนอกร่างกาย (*In vitro* drug release study)

ศึกษาการปลดปล่อยเซเลโคชิบจากไมโครอิมัลชันของสูตรตำรับจากขั้นตอนที่ 3.4 โดยใช้ Dialysis bag ที่มี Molecular weight cut off ระหว่าง 6,000-8,000 โดยนำเซเลโคชิบไมโครอิมัลชันปริมาณ 6 มิลลิลิตร ใส่ลง Dialysis bag แล้วจึงปิดส่วนบนและล่างโดยใช้ Clamp จากนั้นใส่ลงในขวดแก้ว แล้วเติม Receiever medium ซึ่งเป็นร้อยละ 50 ปริมาตรต่อปริมาตร Ethanol ต่อ PBS (v/v) ปริมาตร 180 มิลลิลิตร แล้วคนด้วย Magnetic stirrer ที่ 300 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเมื่อครบเวลา 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 และ 24 ชั่วโมง จึงเก็บ Release medium ครั้งละ 1 มิลลิลิตร ไปวัดปริมาณเซเลโคชิบด้วย HPLC และเติมร้อยละ 50 ปริมาตรต่อปริมาตร Ethanol ต่อ PBS (v/v) เท่ากับปริมาตรที่เก็บมาลง Release medium จากนั้นพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและร้อยละ Cumulative drug release โดยหาจลนศาสตร์การปลดปล่อยจากสมการ

$$C_t = C_0 - K_0t \text{ สำหรับ Zero-order kinetic}$$

$$\text{Log } C_t = \text{log } C_0 - K_1t/2.303 \text{ สำหรับ First order kinetic}$$

$$Q = K_n t^{1/2} \text{ สำหรับ Higuchi diffusion model}$$

เมื่อ Q คือ ปริมาณเซเลโคชิบที่ปลดปล่อย และ t คือ เวลา

$C_0$  คือความเข้มข้นของเซเลโคชิบที่เวลาเริ่มต้น

$C_t$  คือความเข้มข้นของเซเลโคชิบที่เวลาต่างๆ

$K_0$  คือค่าคงที่ของจลนศาสตร์อันดับศูนย์

$K_1$  คือค่าคงที่ของจลนศาสตร์อันดับหนึ่ง

$K_n$  คือค่าคงที่ของจลนศาสตร์แบบฮิกูชิ



### 3.6 การศึกษาการแพร่ผ่านผิวหนังแบบภายนอกร่างกาย (*In vitro* skin penetration study)

การศึกษาการแพร่ผ่านผิวหนังของสูตรตำรับไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคซิบและสูตรควบคุม (สารละลายของเซเลโคซิบใน PEG 400 ความเข้มข้นร้อยละ 2 น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ทดสอบโดยใช้ Franz diffusion cell โดยใช้ผิวหนังหมูที่ตายด้วยสาเหตุทางธรรมชาติเป็นเยื่อกั้นการแพร่ผ่าน โดยเอาผิวหนังส่วนท้องมาลอกเอาชั้น subcutaneous ออก จากนั้นใช้ Phosphate buffer pH 7.4 ล้าง นำผิวหนังไปวางในเครื่องบนส่วน receiver compartment โดยหันชั้น stratum corneum ขึ้นไปสู่ donor compartment ของ Franz diffusion cell ควบคุมอุณหภูมิของ Circulating bath ไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส โดยส่วนของ donor compartment ใส่ไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคซิบที่จะทำการทดสอบปริมาณ 2 มิลลิลิตร ส่วน receiver compartment จะบรรจุสารละลาย ร้อยละ 50 ของ Ethanol ใน PBS (v/v) เมื่อครบเวลาที่กำหนด 6 ชั่วโมง จึงดูดสารละลายในชั้น receiver compartment 1 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายไปวัดปริมาณเซเลโคซิบด้วย HPLC

ใช้กระดาษที่ขูดผิวหนังหมูด้าน stratum corneum 15 ครั้ง แล้วนำผิวหนังไปแช่น้ำหนักและวัดความหนา จากนั้นนำไปลอก (tape strip method) ชั้น stratum corneum ด้วยเทปกาว (tape strip method) ทั้งหมด 35 ครั้ง จากนั้นนำเทปกาวทั้งหมดใส่ลงในขวดแล้วเติม Methanol 5 มิลลิลิตร ลงไปแล้วนำไปวางใน sonicator baths เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลาย Methanol 1 มิลลิลิตรที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณเซเลโคซิบด้วย HPLC

นำผิวหนังหมูที่เหลือจากการลอก stratum corneum ออก ซึ่งผิวหนังจะเหลือเพียงชั้น viable epidermis และ dermis นำมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วเติม Methanol 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวางใน sonicator bath เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลาย Methanol 1 มิลลิลิตรที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณเซเลโคซิบด้วย HPLC

หาปริมาณยาใน receiver medium หาได้จากสมการที่ 1

ปริมาณยาในส่วน receiver medium ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) =  $Q_r / P$  (สมการที่ 1)

$Q_r$  = ปริมาณยาในส่วน receiver medium ( $\mu\text{g}$ )

$P$  = พื้นที่ผิวการแพร่ผ่าน ( $\text{cm}^2$ )

หาปริมาณยาใน stratum corneum หาได้จากสมการที่ 2

ปริมาณยาในชั้น stratum corneum ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) =  $Q_s / P$  (สมการที่ 2)

$Q_s$  = ปริมาณยาในชั้น stratum corneum ( $\mu\text{g}$ )

$P$  = พื้นที่ผิวการแพร่ผ่าน ( $\text{cm}^2$ )

จากนั้นเปรียบเทียบสูตรตำรับที่สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคซิบได้มากที่สุด โดยพิจารณาจากปริมาณยาของผิวหนังในชั้น viable epidermis และ dermis ( $Q_{vd}$ ) ต่อพื้นที่ผิวการแพร่ผ่านของผิวหนังหมู

ปริมาณยาใน viable epidermis และ dermis หาได้จากสมการที่ 3

ปริมาณยาใน viable epidermis และ dermis ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) =  $Q_{vd}/P$  (สมการที่ 3)

$Q_{vd}$  = ปริมาณยาในชั้น viable epidermis และ dermis ( $\mu\text{g}$ )

$P$  = พื้นที่ผิวการแพร่ผ่าน ( $\text{cm}^2$ )

### 3.7 การวิเคราะห์โดยใช้สถิติ

ใช้ Analysis of variance (One way ANOVA) ตามด้วย Post hoc test โดยถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ  $p$ -value น้อยกว่า 0.05

### 3.8 การวิเคราะห์ด้วย High performance liquid chromatography (HPLC)

วิเคราะห์ปริมาณของเซเลโคซิบด้วย HPLC โดยใช้อัตราส่วนระหว่าง Acetonitrile:Water เท่ากับ 75:25 ปริมาตรต่อปริมาตร (v/v) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ ใช้คอลัมน์ C18 โดยกำหนดอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยฉีดตัวอย่างครั้งละ 20 ไมโครลิตร วิเคราะห์ที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร

## 4. ผลการวิจัย

### 4.1 การหาค่าการละลายของเซเลโคซิบ

#### 4.1.1 การเลือกวัสดุภาคน้ำมัน

ตารางที่ 1 ค่าการละลายเซเลโคซิบในวัสดุภาคน้ำมัน

| วัสดุภาคน้ำมัน        | ความเข้มข้นเฉลี่ย (mg/ml) |
|-----------------------|---------------------------|
| Isopropyl myristate   | 4.87±0.41                 |
| Isononyl isononanoate | 3.20±0.01                 |
| Octyldodecanol        | 0.99±0.02                 |
| Oleic acid            | 0.74±0.07                 |

Each value represent mean±SD (n=3)

จากตารางจึงเลือก Isopropyl myristate ที่มีค่าการละลายของเซเลโคซิบเท่ากับ 4.87±0.41 mg/ml ซึ่งละลายเซเลโคซิบได้มากที่สุด ในการใช้เป็นวัสดุภาคน้ำมัน

#### 4.1.2 การเลือกสารสารถแรงตั้งผิวร่วม

ตารางที่ 2 ค่าการละลายเซลล์โคชิบในสารสารถแรงตั้งผิว (PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides) และสารสารถแรงตั้งผิวร่วม

| สารสารถแรงตั้งผิวและสารสารถแรงตั้งผิวร่วม | ความเข้มข้นเฉลี่ย (mg/ml) |
|---|---------------------------|
| PEG 400                                   | 410.28±0.52               |
| PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides          | 330.63±2.89               |
| PEG-35 castor oil                         | 302.47±0.16               |
| PEG-20 glyceryl triisostearate            | 225.45±1.84               |
| PEG-7 glyceryl cocoate                    | 224.73±0.39               |
| Absolute ethanol                          | 79.15±10.25               |
| Labrafil M                                | 41.73±0.08                |
| PG  | 23.43±0.10                |
| Lipophile WL                              | 12.24±0.02                |
| 50% Ethanol in PBS                        | 1.39±0.00                 |
| Glycerine                                 | 0.42±0.01                 |

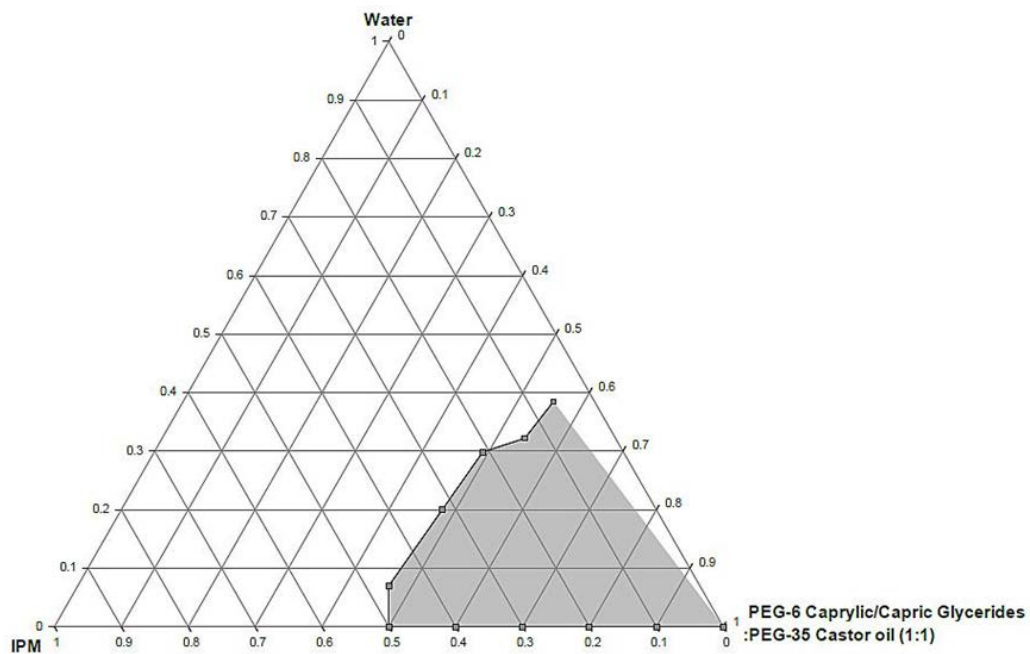
Each value represent mean±SD (n=3)

## 4.2 การเตรียมไมโครอิมัลชัน

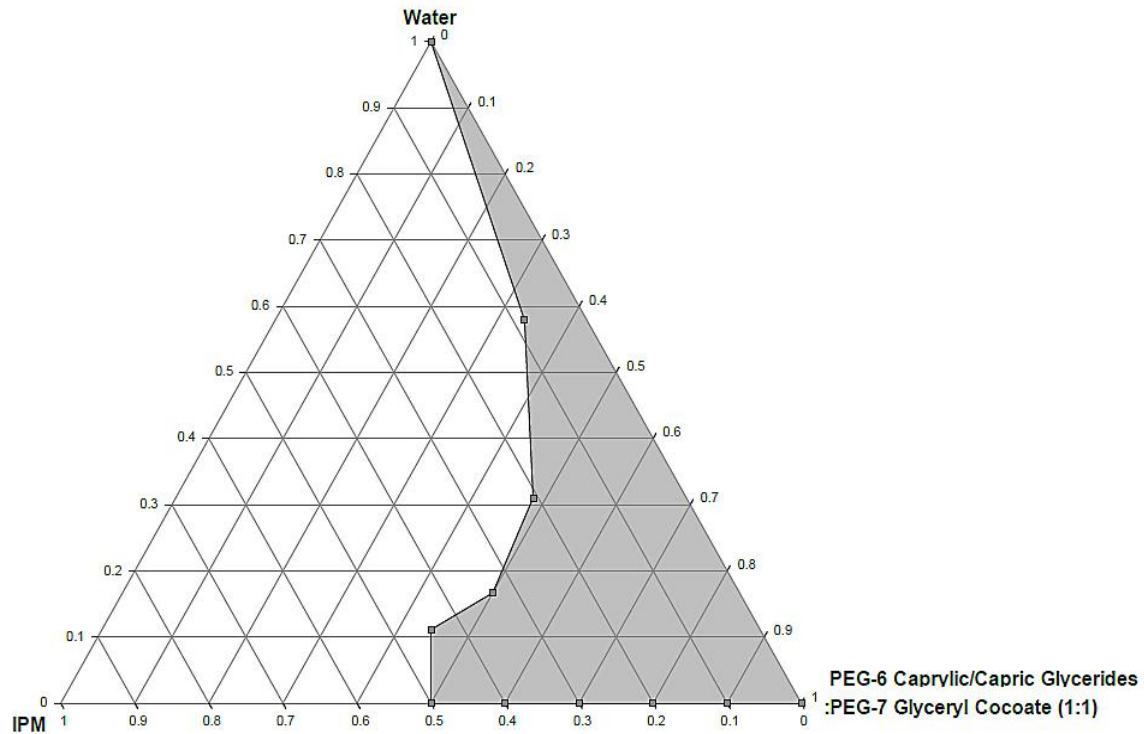
### 4.2.1 การเลือกสารลดแรงตึงผิวร่วม

เพื่อให้ได้ pseudo-ternary phase diagram ของการเกิดไมโครอิมัลชันที่มีพื้นที่มากที่สุด จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อเลือกชนิดของสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เหมาะสม

สำหรับการเลือกชนิดของสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เหมาะสมใช้ Isopropyl myristate เป็นวัฏภาคน้ำมัน ใช้ PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว โดยมี PEG 400, PEG-35 castor oil และ PEG-7 glyceryl cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม



รูปที่ 1 แสดง pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-35 Castor oil อัตราส่วน 1:1 (พื้นที่สีเทาคือพื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน)

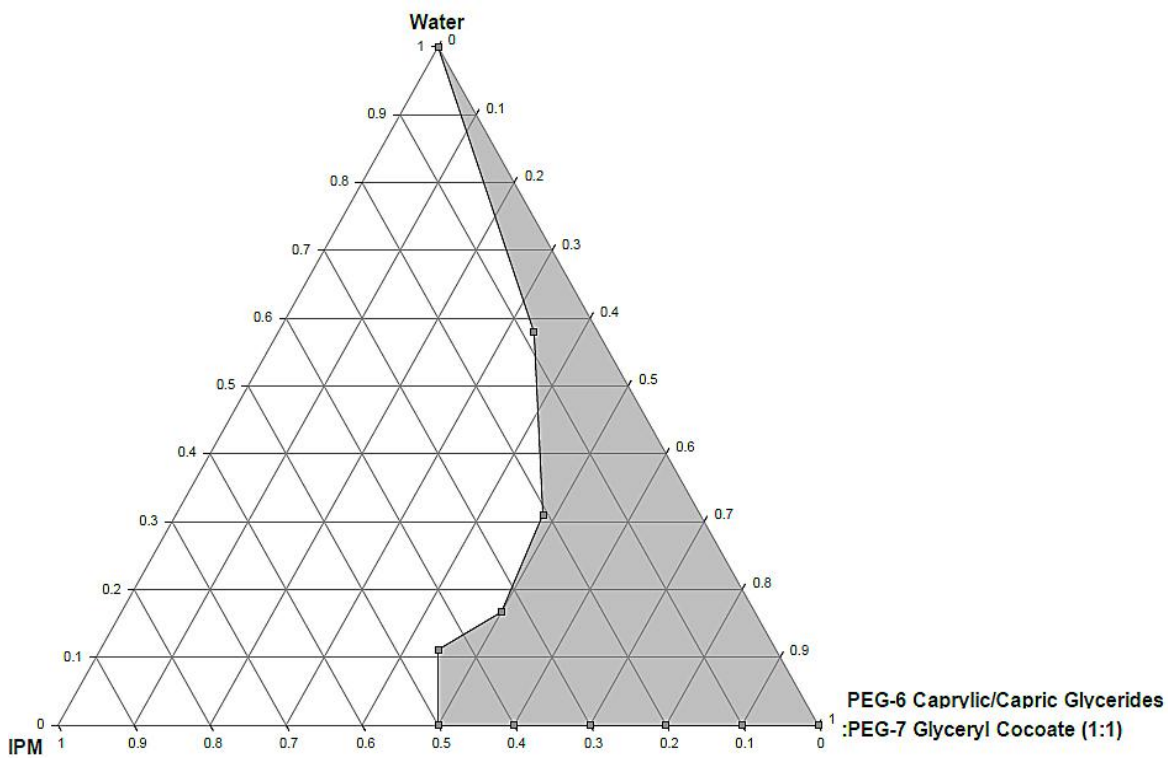


รูปที่ 2 แสดง pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 1:1 (พื้นที่สีเทาคือพื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน)

จากการศึกษาการเกิดไมโครอิมัลชันเมื่อใช้ PEG 400 เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม ไม่พบการเกิดไมโครอิมัลชัน ส่วน pseudo-ternary phase diagram ของไมโครอิมัลชันซึ่งมี PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิวและมี PEG-35 Castor oil เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วมแสดงในรูปที่ 1 ส่วน pseudo-ternary phase diagram ของไมโครอิมัลชันซึ่งมี PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิวและมี PEG-7 Glyceryl Cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วมแสดงในรูปที่ 2 โดยพบว่าการใช้ PEG-7 Glyceryl Cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม มีพื้นที่การเกิดไมโครอิมัลชันมากกว่าการใช้ PEG-35 Castor oil จึงเลือกใช้ระบบซึ่งประกอบด้วย Isopropyl myristate เป็นวัฏภาคน้ำมัน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว PEG-7 Glyceryl Cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วมและ water เป็นวัฏภาคน้ำ ในการศึกษาต่อไป

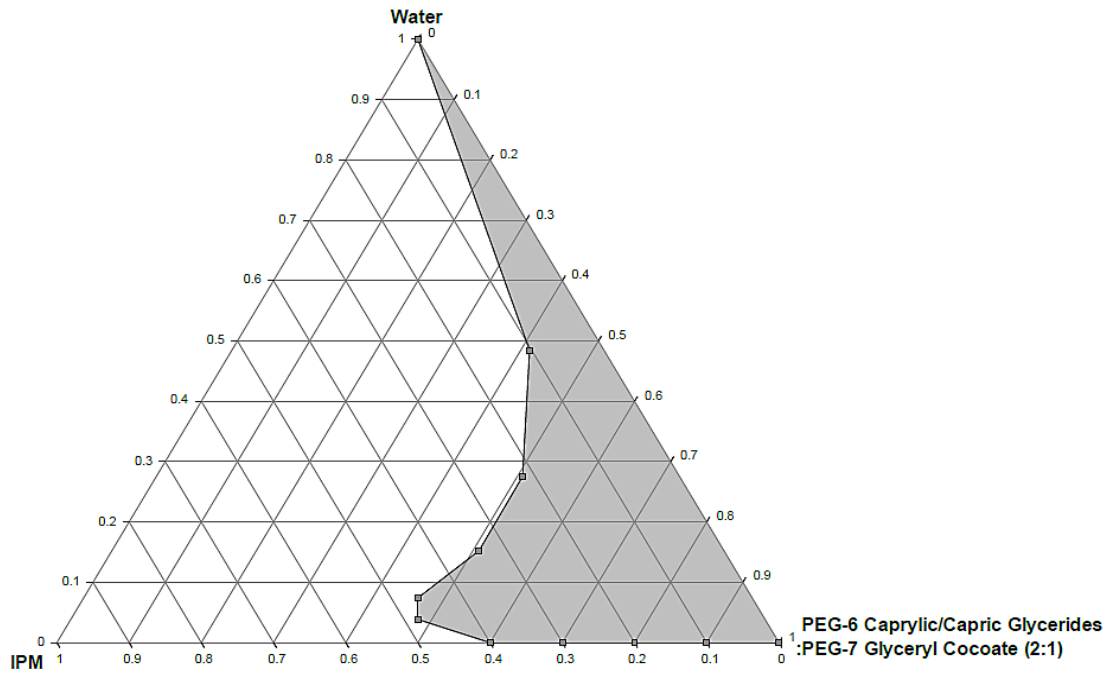
#### 4.2.2 การสร้าง pseudo-ternary phase diagram

ในการศึกษาครั้งนี้ pseudo-ternary phase diagram ประกอบด้วย Isopropyl myristate เป็นวัฏภาคน้ำมัน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว PEG-7 Glyceryl Cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม และ water เป็นวัฏภาคน้ำ โดยกำหนดอัตราส่วนระหว่างสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมเท่ากับ 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:1 ตามลำดับ ซึ่ง water ถูกหยดลงในของผสมระหว่างวัฏภาคน้ำมัน สารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม พื้นที่การเกิดไมโครอิมัลชันแสดงดังรูปที่ 3-6

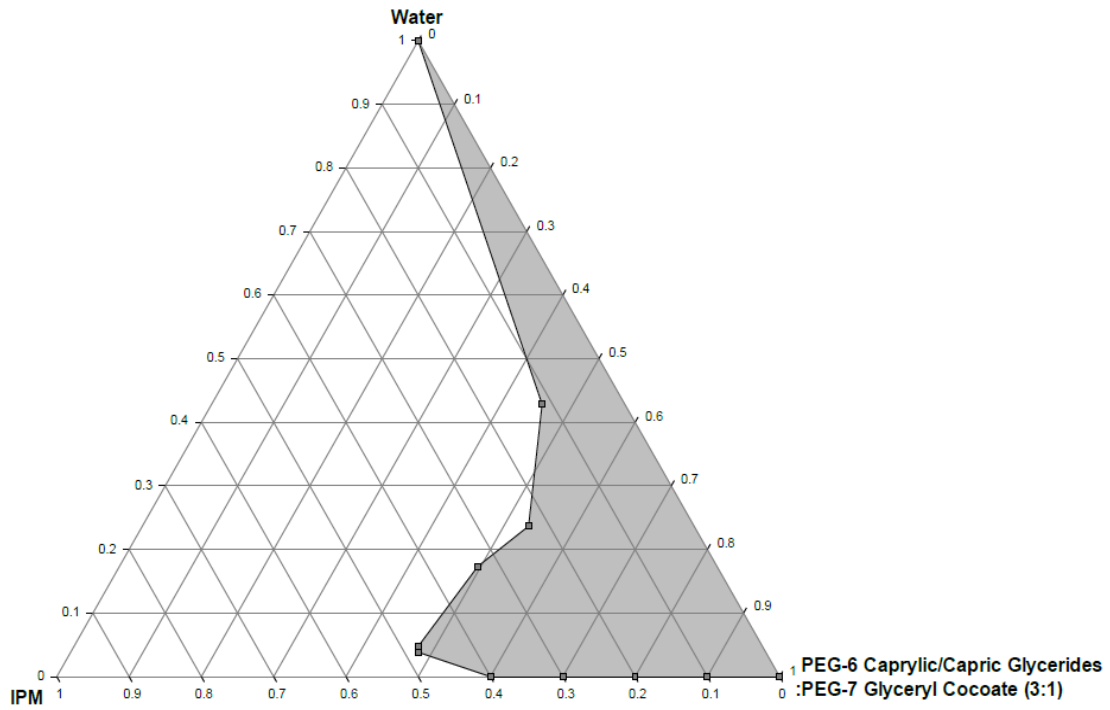


รูปที่ 3 แสดง pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 1:1 (พื้นที่สีเทาคือพื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน)

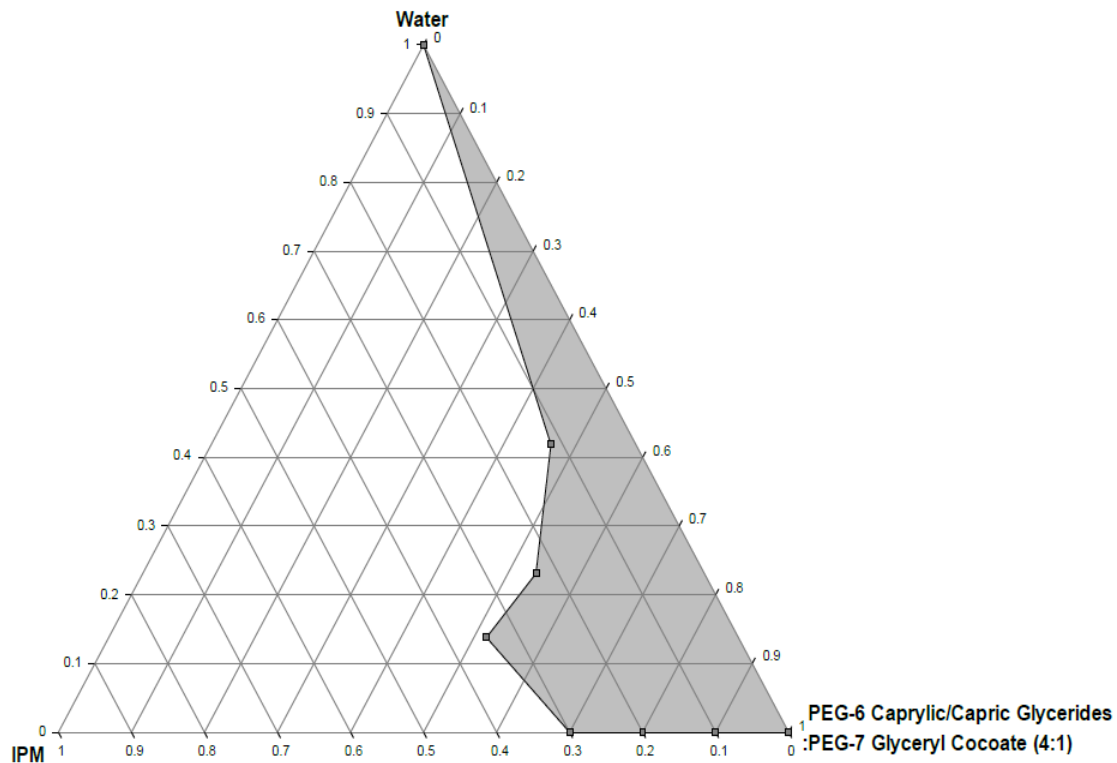




รูปที่ 4 แสดง pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 2:1 (พื้นที่สีเทาคือพื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน)



รูปที่ 5 แสดง pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 3:1 (พื้นที่สีเทาคือพื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน)



รูปที่ 6 แสดง pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 4:1 (พื้นที่สีเทาคือพื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน)

การเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวรวมจาก 1:1 เป็น 2:1 3:1 และ 4:1 ดังแสดงในรูปที่ 3, 4, 5 และ 6 ตามลำดับนั้น ไม่สามารถเพิ่มพื้นที่การเกิดไมโครอิมัลชันได้ โดยพบว่าอัตราส่วนระหว่าง PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides:PEG-7 glyceryl cocoate เท่ากับ 1:1 ให้พื้นที่ในการเกิดไมโครอิมัลชันมากที่สุด

ดังนั้นไมโครอิมัลชันที่ประกอบด้วย Isopropyl myristate เป็นวัฏภาคน้ำมัน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว PEG-7 glyceryl cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวรวม (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides:PEG-7 glyceryl cocoate เท่ากับ 1:1) และ water เป็นวัฏภาคน้ำจะถูกนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป โดยจะเลือกอัตราส่วนซึ่งให้ไมโครอิมัลชันที่มีขนาดไม่เกิน 200 นาโนเมตรและมีความคงตัวดี ซึ่งอัตราส่วนที่เลือกใช้เพื่อศึกษาต่อแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 อัตราส่วนของสูตรตำรับไมโครอิมัลชัน

| Formulation | IPM | Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides:PEG-7 glyceryl cocoate เท่ากับ 1:1) | Water |
|-------------|-----|---|-------|
| MC 1        | 0.1 | 0.8   | 0.1   |
| MC 2        | 0.1 | 0.7   | 0.2   |
| MC 3        | 0.1 | 0.6   | 0.3   |
| MC 4        | 0.1 | 0.5   | 0.4   |
| MC 5        | 0.2 | 0.7   | 0.1   |
| MC 6        | 0.2 | 0.6   | 0.2   |
| MC 7        | 0.3 | 0.6   | 0.1   |

#### 4.3 การศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของไมโครอิมัลชัน

การศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของไมโครอิมัลชัน

การศึกษาคุณสมบัติไมโครอิมัลชันจะศึกษาทั้งไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคซิบ (Blank microemulsion) และไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคซิบ (Celecoxib loaded microemulsion)

##### 4.3.1. ผลการศึกษาการวัดขนาดของอนุภาค

จากการศึกษาขนาดโดยใช้เทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS) ดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่าอนุภาคไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคซิบมีขนาดอยู่ในช่วง 40.01-571.68 nm ในขณะที่ไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคซิบมีขนาดอยู่ในช่วง 47.90-268.52 nm โดยพบว่าขนาดของไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคซิบมีขนาดเล็กกว่าไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคซิบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสูตร MC 1, MC 2, MC 3 และ MC 4 สำหรับ MC 5 และ MC 7 นั้นไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคซิบนั้นมีขนาดที่ไม่

แตกต่างจากไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบ ส่วน MC 6 มีขนาดของไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบใหญ่กว่าไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบอย่างมีนัยสำคัญ

#### 4.3.2 ผลการศึกษาการวัดประจุที่พื้นผิว

จากตารางที่ 4 ไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบมีค่าศักย์ゼตาในช่วง  $-0.094$  ถึง  $0.086$  mV ในขณะที่ไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบมีค่าศักย์ゼตาในช่วง  $-0.111$  ถึง  $0.25$  mV เนื่องจากองค์ประกอบของตำรับไมโครอิมัลชันมีสารลดแรงตึงผิวที่ใช้คือ PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides และ PEG-7 Glyceryl Cocoate ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีประจุ (Non-ionic surfactant) นอกจากนี้เซเลโคชิบยังเป็นยาที่ไม่มีประจุ ดังนั้นในสภาวะของไมโครอิมัลชันที่มีค่า pH เป็นกลาง จึงสรุปว่าอนุภาคไมโครอิมัลชันมีประจุพื้นผิวเป็นกลาง (neutral charge)

#### 4.3.3 ผลการศึกษาการวัดการกระจายขนาด

จากตารางที่ 4 อนุภาคของไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบมีการกระจายขนาด (PDI) อยู่ระหว่าง  $0.36-0.95$  ส่วนอนุภาคของไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบมีการกระจายขนาด (PDI) อยู่ระหว่าง  $0.41-0.66$

อนุภาคของไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบและไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบ มีการกระจายขนาดที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการเติมเซเลโคชิบปริมาณร้อยละ 2 ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการกระจายขนาดของไมโครอิมัลชัน

#### 4.3.4 ผลการศึกษาการวัดค่าการนำไฟฟ้า

ค่าการนำไฟฟ้าเป็นสิ่งที่สามารถนำมาใช้บอกถึงชนิดของไมโครอิมัลชันได้ (oil in water, water in oil หรือ bicontinuous microemulsion)

จากรายงานการวิจัยของ Subongkot และ Ngawhirunpat [7] ได้สรุปว่าไมโครอิมัลชันที่อัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมากกว่าวัฏภาคน้ำมัน และมีค่า conductivity มากกว่า  $52.5 \mu\text{S}/\text{cm}$  จะจัดเป็น oil in water microemulsion (O/W) แต่ถ้ามีค่า conductivity น้อยกว่า  $52.5 \mu\text{S}/\text{cm}$  จะจัดเป็น bicontinuous microemulsion ส่วนไมโครอิมัลชันที่อัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมันมากกว่าวัฏภาคน้ำ จะจัดเป็น water in oil microemulsion (W/O)

ดังนั้นสูตร ME 3 และ ME 4 จึงจัดเป็น oil in water microemulsion (O/W) เนื่องจากมีอัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมากกว่าวัฏภาคน้ำมันและมีค่า conductivity เท่ากับ  $63.85$  และ  $117.83$

ตามลำดับ ส่วนสูตร MC 1, MC 2 และ MC 6 จัดเป็น bicontinuous microemulsion เนื่องจากมีอัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมากกว่าหรือเท่ากับวัฏภาคน้ำมันและมีค่า conductivity เท่ากับ 8.99, 23.15 และ 21.15 ตามลำดับ ส่วนสูตร ME 5 และ ME 7 จัดเป็น water in oil microemulsion (W/O) เนื่องจากมีปริมาณของวัฏภาคน้ำมันมากกว่าน้ำและมีค่า conductivity เท่ากับ 18.63 และ 11.21 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาค การกระจายของขนาด ประจุพื้นผิวและค่าการนำไฟฟ้าของไมโครอิมัลชัน  
สูตรต่างๆ

| Formulation number | Particle size (nm)     |                                 | Polydispersity index (PDI) |                                 | Zeta potential (mV)   |                                 | Conductivity ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) |                                 |
|--------------------|------------------------|---------------------------------|----------------------------|---------------------------------|-----------------------|---------------------------------|--|---------------------------------|
|                    | Blank micro emulsion   | Celecoxib loaded micro emulsion | Blank micro emulsion       | Celecoxib loaded micro emulsion | Blank micro emulsion  | Celecoxib loaded micro emulsion | Blank micro emulsion                     | Celecoxib loaded micro emulsion |
| MC 1               | 571.68<br>$\pm 199.97$ | 178.68<br>$\pm 83.76^*$         | 0.57<br>$\pm 0.14$         | 0.66 $\pm$<br>0.299             | 0.086<br>$\pm 0.595$  | 0.064 $\pm$<br>0.135            | 3.68<br>$\pm 30.05$                      | 8.99<br>$\pm 6.82$              |
| MC 2               | 249.27<br>$\pm 33.91$  | 144.35 $\pm$<br>38.39*          | 0.36<br>$\pm 0.03$         | 0.49 $\pm$<br>0.141             | 0.007<br>$\pm 0.393$  | -0.111<br>$\pm 0.062$           | 27.45<br>$\pm 1.48$                      | 23.15<br>$\pm 1.35^*$           |
| MC 3               | 115.32<br>$\pm 14.32$  | 77.88<br>$\pm 10.73^*$          | 0.37<br>$\pm 0.16$         | 0.55<br>$\pm 0.061$             | -0.094<br>$\pm 0.224$ | 0.09997<br>$\pm 0.362$          | 71.08<br>$\pm 2.47$                      | 63.85<br>$\pm 2.74^*$           |
| MC 4               | 40.01<br>$\pm 4.02$    | 47.90<br>$\pm 2.95^*$           | 0.95<br>$\pm 0.07$         | 0.64<br>$\pm 0.146^*$           | -0.014<br>$\pm 0.217$ | -0.0029<br>$\pm 0.209$          | 133.33<br>$\pm 2.25$                     | 117.83<br>$\pm 1.94^*$          |
| MC 5               | 245.97<br>$\pm 121.93$ | 213.65 $\pm$<br>18.03           | 0.42<br>$\pm 0.11$         | 0.43 $\pm$<br>0.158             | -0.001<br>$\pm 0.260$ | 0.033<br>$\pm 0.209$            | 7.00<br>$\pm 1.22$                       | 18.63<br>$\pm 5.42^*$           |
| MC 6               | 128.08<br>$\pm 32.06$  | 268.52<br>$\pm 49.51^*$         | 0.45<br>$\pm 0.13$         | 0.41<br>$\pm 0.081$             | -0.086<br>$\pm 0.246$ | 0.00013<br>$\pm 0.355$          | 39.08<br>$\pm 2.80$                      | 21.15<br>$\pm 5.09^*$           |
| MC 7               | 120.20<br>$\pm 25.10$  | 109.87 $\pm$<br>11.03           | 0.48<br>$\pm 0.15$         | 0.47 $\pm$<br>0.061             | -0.017<br>$\pm 0.272$ | 0.25<br>$\pm 0.456$             | 19.58<br>$\pm 6.18$                      | 11.21<br>$\pm 2.59^*$           |

Each value represent mean $\pm$ SD (n=3), \* คือมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อน  
บรรจุเซเลโคซิบ (p-value<0.05 )

จากข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 4 จึงเลือกสูตร MC 1, MC 3, MC 4, MC 5 และ MC 7 มาเตรียมเป็น 2% w/w celecoxib loaded microemulsion เนื่องจากมีขนาดอนุภาคไม่เกิน 200 นาโนเมตรและมีความคงตัวดี จากนั้นจึงศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของ celecoxib loaded MC 1, MC 3, MC 4, MC 5 และ MC 7 ได้ ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 4

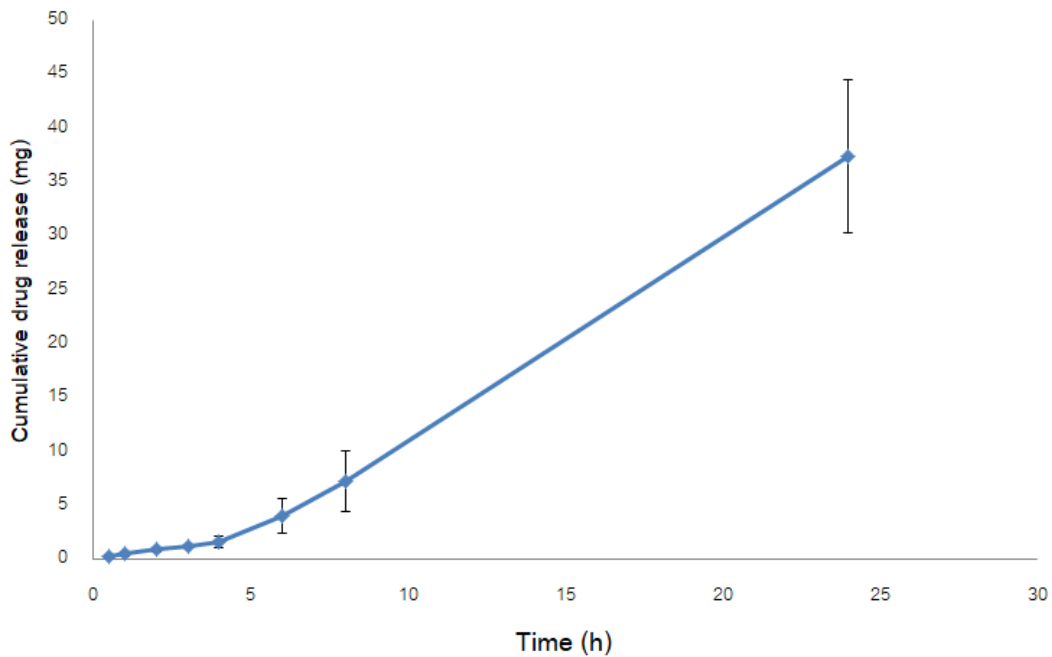


#### 4.4 การศึกษาการปลดปล่อยยาแบบภายนอกร่างกาย (*In vitro* drug release study)

จากการทดสอบการปลดปล่อยเซเลโคชิบจาก MC 3 พบว่ารูปแบบการปลดปล่อยเซเลโคชิบจาก MC 3 เป็นจลนศาสตร์อันดับศูนย์ ดังแสดงในตารางที่ 5 และ รูปที่ 7

ตารางที่ 5 จลนศาสตร์ของการปลดปล่อยเซเลโคชิบจาก MC 3

| Release kinetic           | MC 3   |
|---------------------------|--------|
| Zero order $R^2$          | 0.9724 |
| First order $R^2$         | 0.863  |
| Higushi $R^2$             | 0.8459 |
| Release rate ( $h^{-1}$ ) | 1.6238 |



รูปที่ 7 กราฟแสดงการปลดปล่อยเซเลโคชิบแบบสะสมของ MC 3

#### 4.5 การศึกษาการแพร่ผ่านผิวหนังแบบภายนอกร่างกาย (*In vitro* skin penetration study)

การทดสอบการแพร่ผ่านผิวหนังของเซเลโคซิบแบบภายนอกร่างกายของไมโครอิมัลชัน สูตร MC 1, MC 3, MC 4, MC 5, MC 7 และสูตรควบคุม (celecoxib in PEG 400) แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณเซเลโคซิบที่แพร่ผ่านผิวหนังของสูตรควบคุมและสูตรไมโครอิมัลชันต่างๆ

| Formulation code | Stratum corneum ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) | Viable epidermis + dermis ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) | Receiver medium ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) |
|------------------|---|---|---|
| Control          | 50.45±28.10                                   | 18.13±10.80   | ND  |
| MC 1             | 36.73±15.92                                   | 24.54±24.54   | 2.13±1.17                                     |
| MC 3             | 97.58±51.24*                                  | 160.44±33.32*   | 1,954.24±3,272.39                             |
| MC 4             | 16.60±7.56                                    | 20.62±5.65  | 0.72±0.44                                     |
| MC 5             | 40.48±18.19                                   | 15.28±5.28  | 0.27±1.46                                     |
| MC 7             | 65.59±17.61                                   | 21.06±12.73   | ND  |

Each value represent mean±SD (n=3)

\* คือแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $p\text{-value}<0.05$ )

ND คือ ไม่สามารถวัดปริมาณสารได้ (non-detect)

สูตรควบคุมมีปริมาณยาในชั้น stratum corneum อยู่ที่  $50.45 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ส่วนสูตรไมโครอิมัลชันมีค่าอยู่ระหว่าง  $16.60$  ถึง  $97.58 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

โดยสูตรควบคุมมีปริมาณยาในผิวหนังชั้น viable epidermis และ dermis อยู่ที่  $18.13 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  ขณะที่สูตรไมโครอิมัลชันมีค่าอยู่ระหว่าง  $15.28$  ถึง  $160.44 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

ส่วนใน receiver medium นั้นสูตรควบคุมไม่พบปริมาณเซเลโคซิบ ส่วนสูตรไมโครอิมัลชันมีทั้งที่ไม่สามารถตรวจพบและที่ตรวจพบปริมาณเซเลโคซิบได้ โดยสูตรไมโครอิมัลชันที่ตรวจพบปริมาณยาใน receiver medium มีค่าอยู่ระหว่าง  $0.27$  ถึง  $1954.24 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

อย่างไรก็ตามการทดสอบการแพร่ผ่านผิวหนังนั้นจะพิจารณาจากปริมาณเซเลโคซิบในผิวหนังชั้น viable epidermis และ dermis เท่านั้น เนื่องจากเป็นชั้นผิวหนังที่มีเส้นเลือดซึ่งสามารถเกิดการแพร่ผ่านของเซเลโคซิบเข้าสู่กระแสเลือดได้ โดยพบว่ามีเฉพาะสูตร MC 3 เท่านั้นที่มีปริมาณยาในผิวหนังชั้น viable epidermis และ dermis มากกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p\text{-value}<0.05$ )

## 5. สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้สามารถเตรียมไมโครอิมัลชันชนิดใหม่ขึ้นมาได้ โดยมี Isopropyl myristate เป็นวัฏภาคน้ำมัน มี PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว มี PEG-7 glyceryl cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides:PEG-7 glyceryl cocoate เท่ากับ 1:1) และ water เป็นวัฏภาคน้ำ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการใช้ PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides ในการเตรียมไมโครอิมัลชันมาก่อน จากการศึกษาพบว่าไมโครอิมัลชันสูตร MC 3 (ประกอบด้วย IPM ร้อยละ 10, PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides:PEG-7 glyceryl cocoate อัตราส่วน 1:1 ปริมาตรร้อยละ 60 และวัฏภาคน้ำร้อยละ 30) ที่เตรียมได้นี้สามารถเพิ่มค่าการละลายของเซเลโคชิบและสามารถเพิ่มการแพร่ผ่านผิวหนังของเซเลโคชิบได้มากกว่าสูตรควบคุมซึ่งเป็นรูปแบบสารละลายได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

## รายงานสรุปการเงิน

### โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

ชื่อโครงการ การพัฒนาและศึกษากลไกของไมโครอิมัลชันที่มีสารลดแรงตึงผิวซึ่งสามารถย่อยสลายได้ในร่างกาย  
เพื่อนำส่งเซเลคอกซิบผ่านทางผิวหนัง

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ผศ.ดร. ถิรพิทย์ สุปงกช

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2561 ถึงวันที่ 21 พฤษภาคม 2562

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี 6 เดือน

จำนวนเงินที่ได้รับ 289,500 บาท

#### รายจ่าย

| รายการ                                    | งบประมาณที่ตั้งไว้<br>(บาท) | งบประมาณที่ใช้จริง<br>(บาท) | จำนวนเงินคงเหลือ<br>(บาท) |
|---|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| 1. งบบุคคลากร                             | 70,000                      | 70,000                      | 0                         |
| 2. งบดำเนินการ: ค่าตอบแทน                 | 78,950                      | 78,950                      | 0                         |
| งบดำเนินการ: ค่าใช้สอย                    | 28,000                      | 28,000                      | 0                         |
| งบดำเนินการ: ค่าวัสดุ                     | 83,600                      | 83,600                      | 0                         |
| งบดำเนินการ:<br>ค่าธรรมเนียมอุดหนุนสถาบัน | 28,950                      | 28,950                      | 0                         |
| รวม                                       | 289,500                     | 289,500                     | 0                         |

(.....)

ผศ.ดร. ถิรพิทย์ สุปงกช  
หัวหน้าโครงการวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Naik A, Kalia YN, Guy RH. Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharm Sci Technolo Today*. 2000 (3) 318-326.
- [2] Nozohouri S., Shayanfar A., Cárdenas Z.J., Martinez F., Jouyban A. Solubility of celecoxib in N-methyl-2-pyrrolidone+water mixtures at various temperatures: Experimental data and thermodynamic analysis. *KOREAN J CHEM ENG*. 2017 (34) 1435-1443.
- [3] Available from <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00482>. Cited on 1 May 2019.
- [4] Butani D., Yewale C., Misra A. Amphotericin B topical microemulsion: Formulation, characterization and evaluation. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2014 (116) 351–358.
- [5] Al Abood R.M., Talegaonkar S., Tariq M. et al. Microemulsion as a tool for the transdermal delivery of ondansetron for the treatment of chemotherapy induced nausea and vomiting. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2013 (101) 143–151.
- [6] Zhao L., Wang Y., Zhai Y. et al. Ropivacaine loaded microemulsion and microemulsion-based gel for transdermal delivery: Preparation, optimization, and evaluation. *Int J Pharm* 2014 (477) 47–56.
- [7] Subongkot T and Ngawhirunpat T. Development of a novel microemulsion for oral absorption enhancement of all-trans retinoic acid. *Int J Nanomed*. 2017 (12) 5585-5599.