

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย และการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันการบรรเทาอาการเจ็บปวดของผู้ป่วยจากโรคมะเร็ง นิยมใช้มอร์ฟินซึ่งถือเป็นยาที่ถูกเลือกใช้จากองค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) กรณีที่ผู้ป่วยมีความเจ็บปวดระดับปานกลางจนถึงรุนแรง (moderate to severe pain) เมื่อใช้ยาอื่นไม่ได้ผล อย่างไรก็ตาม การใช้มอร์ฟินยังมีข้อจำกัดอยู่หลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาการไม่พึงประสงค์ของยา นอกจากนี้เหตุผลของการระงับปวดของผู้ป่วยไม่ได้ผลนั้นมาจากหลายสาเหตุ เช่น การประเมินความเจ็บปวดที่ไม่ถูกต้อง ความเข้าใจในความเจ็บปวดของผู้ป่วยและเข้าใจหลักการการใช้ยา ระงับปวดที่ไม่ถูกต้อง อาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้น รวมทั้งการบริหารการใช้ยาและขาดกระบวนการการรักษาอาการปวดเฉียบพลัน (Bruguerolle and Labrecque, 2007) แนวทางการรักษาความเจ็บปวดของผู้ป่วยโรคมะเร็ง ที่แนะนำโดย WHO แบ่งเป็น 3 ขั้นตอนคือขั้นตอนที่ 1 การใช้ non-opioids เช่น paracetamol และ non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) ขั้นตอนที่ 2 การใช้ weak opioids ได้แก่ codeine และ dextropropoxyphene และขั้นสุดท้ายคือ การใช้ strong opioids ได้แก่ morphine, methadone และ fentanyl (Gourlay, 2001) โดยที่ strong opioid ควรใช้เมื่อการใช้ยาชนิดอื่นบรรเทาปวดแล้วไม่ได้ผล

มอร์ฟินมีค่าครึ่งอายุ (half-life) ประมาณ 2-3 ชั่วโมงเมื่อให้ในรูปแบบยาฉีด และผลในการรักษาจะน้อยกว่าเมื่อให้ทางรับประทานในขนาดยาการบริหารยาที่เท่ากัน เพราะมอร์ฟินจะถูกทำลายที่ทางเดินอาหารและตับ (first-pass metabolism) ก่อนกระจายไปทั่วร่างกาย (Vermeire and Remon, 1999) ยาในรูปแบบรับประทานมีความสะดวกทั้งกับผู้ป่วยและแพทย์ผู้ทำการรักษา และโดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยจะไม่ได้รับความเจ็บปวดจากการใช้ยา มอร์ฟินเป็นยาในกลุ่ม opioid ที่สำคัญที่สุดที่ถูกนำมาใช้ในทางการแพทย์เพื่อบรรเทาอาการปวดมานานแล้ว ในปัจจุบันมอร์ฟินที่ใช้อยู่ในรูปแบบเกลือซัลเฟตและคลอไรด์ที่ให้ทางยาฉีดหรือยารับประทาน ที่ใช้มากคือยาเม็ดหรือแคปซูล ซึ่งมีทั้งชนิดออกฤทธิ์ในระยะเวลาปกติ (4 ชั่วโมง) และออกฤทธิ์นาน (12-24 ชั่วโมง) ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบผลทางคลินิกของมอร์ฟินมากมายในต่างประเทศทั้งที่เป็นยาเม็ด แคปซูล และยาแขวนตะกอน รูปแบบยาที่เป็นชนิดออกฤทธิ์นานที่มีใช้ในต่างประเทศตัวอย่างเช่น Kapanol (Faulding, Adelaide, SA, Australia), MS Contin (Purdue Frederick, Conn, USA) และ Oramorph SR tablets (Roxane Laboratories, Ohio, USA) (Gourlay, et al, 1986; Brescia et al, 1987; Bloomfield et al, 1993; Forman et al, 1993)

ปัจจุบันยาเม็ดมอร์ฟินออกฤทธิ์นานที่ใช้ในปัจจุบันมีชนิดออกฤทธิ์นาน 12 ชั่วโมง ตัวอย่างชื่อการค้าคือ MST Continus[®] ขนาดยา 30 มิลลิกรัม ซึ่งผู้ป่วยต้องรับยารวันละ 2 ครั้ง โดยมีวิจัยของ เดชพล ปรีชากุล (2549) ได้พัฒนาตำรับยาเม็ดมอร์ฟินออกฤทธิ์นานเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และได้ศึกษาชีวสมมูลเปรียบเทียบกับยาต้นแบบ MST Continus[®] ขนาด 30 มิลลิกรัม พบว่าตำรับยาที่พัฒนาขึ้นมีอัตราการละลายของยาในหลอดทดลองเทียบเคียงกับยาต้นแบบ เมื่อทดสอบในอาสาสมัครสุขภาพดีพบว่า ตำรับยาดังกล่าวมีค่า AUC เทียบได้กับยาต้นแบบ แต่มีค่า C_{max} ต่ำกว่ายาต้นแบบ (73%) ปัจจุบันองค์การเภสัชกรรมได้นำไปพัฒนาการผลิตในระดับ pilot scale เพื่อศึกษาฤทธิ์ระดับปอดในผู้ป่วยจริงแล้ว ดังนั้นโครงการวิจัยนี้ถือว่าเป็นโครงการต่อยอดโครงการเดิม เพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยให้ดียิ่งขึ้น ซึ่งแนวทางการศึกษานี้ได้นำผลการศึกษาของการตั้งตำรับยาน้ำไอสมอร์ฟินมาประกอบการศึกษาค้นคว้าด้วย (Preechagoon et al, 2005)

Gourlay และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาผลการระงับปวดของผู้ป่วยมะเร็งระหว่าง MS Contin[®] (12 hr tablet) กับ Kapanol[®] (24 hr capsule) พบว่าให้ผลการรักษาที่เทียบเคียงกันได้ ไม่มีค่าด้าน pharmacokinetics และ pharmacodynamics ที่แตกต่างกัน ซึ่งทำให้มีทางเลือกกับผู้ป่วยมากขึ้น ในประเทศไทย Kapanol[®] เป็นตำรับที่มีใช้ในปัจจุบันและเป็นชนิดเดียวที่ออกฤทธิ์นาน 24 ชั่วโมง ที่มีขายในความแรง 20, 50 และ 100 มิลลิกรัม ราคาประมาณ 480, 950 และ 1580 บาทต่อ 20 แคปซูลตามลำดับ ซึ่งเป็นราคาที่สูงมาก ทำให้การเข้าถึงยาของผู้ป่วยเป็นไปได้ยากยิ่งขึ้น เทคโนโลยีการผลิตเป็นเทคโนโลยีขั้นสูง ซึ่งยากต่อการทำเลียนแบบ ปัจจุบันแพทย์จ่ายยาให้กับผู้ป่วยด้วยตำรับนี้มากขึ้น อันเนื่องมาจากผลของการรักษาผู้ป่วยมะเร็งด้วย Kapanol[®] นั้นดีมาก อย่างไรก็ตามการนำเข้ายาจากต่างประเทศทำให้เป็นข้อด้อยของยาตัวนี้

การนำส่งยาที่ใช้หลักการของ mucoadhesion เพื่อผ่านทางเดินอาหารนั้นยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควรเพื่อการนำส่งยาในระยะเวลานาน เนื่องจาก residual time ไม่นานพอ (McQuinn et al, 1995) ดังนั้นหากมีการนำส่งที่เพิ่มการยึดติดอยู่ที่ mucous membrane ในทางเดินอาหารก็จะช่วยได้ มีตัวอย่างที่ประสบความสำเร็จในการเพิ่มการยึดเกาะเช่น การใช้ Thiomer เพื่อเพิ่ม disulfide bonding ของยากับผนังของเซลล์ที่ลำไส้เล็ก (Albrecht et al, 2006) ดังนั้นผู้วิจัยจึงนำแนวทางกาพัฒนาของ mucoadhesion มาทดลองกับการนำส่งมอร์ฟินให้สามารถออกฤทธิ์ได้นาน 24 ชั่วโมงซึ่งมีความเป็นไปได้สูง เพื่อให้เม็ดยาเกาะติดที่ลำไส้ และปลดปล่อยยาออกมาอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลาไม่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเพื่อพัฒนา oflozacin โดยนำส่งทางการรับประทานและควบคุมการปลดปล่อยยา 24 ชั่วโมง polymer ที่ใช้ได้แก่ HPMC E100M, psyllium husk และ crospovidone ซึ่งพบว่าได้ผลเป็นที่น่าพึงพอใจ (Chavanpatil et al 2006) ปัจจัยที่จะทำให้ประสบความสำเร็จในการควบคุมการปลดปล่อยให้ได้

นาน โดยที่ยาเม็ดยังยึดติดกับผนังเซลล์ของสัตว์ทดลอง คือการเลือกใช้ polymer และสารยึดเกาะที่เหมาะสม ทั้งนี้ก็เพื่อให้เม็ดยายังสามารถอยู่ในทางเดินอาหารได้นาน และปลดปล่อยยาออกมาอย่างต่อเนื่องและจะถูกดูดซึมในที่สุด การใช้หลักการของ mucoadhesion ที่ระบบทางเดินอาหารในการวิจัยนี้ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะได้ผลการศึกษที่น่าสนใจ สามารถนำไปประกอบการตั้งตำรับเพื่อใช้จริงได้ในอนาคต

งานวิจัยนี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการควบคุมการปลดปล่อยยาเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาการตั้งตำรับยาออร์ฟีนเม็ดออกฤทธิ์นาน 24 ชั่วโมง โดยข้อดีของตำรับยาชนิดนี้คือสามารถควบคุมให้มีระดับยาในกระแสเลือดได้นานโดยให้เพียง 1 ครั้งต่อวันก็สามารถควบคุมอาการปวดของผู้ป่วยมะเร็งได้ ซึ่งทำให้ความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วยดีขึ้น สามารถลดอาการเจ็บปวดของผู้ป่วย และทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น เพื่อพัฒนาตำรับยาใช้ในประเทศ งานวิจัยสอดคล้องกับทิศทางการวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น พ. ศ. 2551-2554 ทิศทางการวิจัยที่ 2 เรื่องการสร้างเสริม การป้องกัน การดูแล รักษา และการฟื้นฟูสุขภาพ วิจัยและพัฒนาการเพื่อสร้างศักยภาพในการพึ่งตนเองด้านสุขภาพ สอดคล้องกับแผนงานวิจัยกับนโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ (พ.ศ. 2551-2553) กลยุทธ์การวิจัยที่ 3 การส่งเสริมสุขภาพการป้องกันโรคอุบัติใหม่ การรักษาพยาบาล การฟื้นฟูสมรรถภาพทางกายและจิตใจ รวมถึงการคุ้มครองผู้บริโภค สอดคล้องแผนงานวิจัยกลุ่มเรื่องที่ต้องวิจัยเร่งด่วนตามนโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ (พ.ศ. 2551-2553) การป้องกันโรคและการรักษาสุขภาพ

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาปัจจัยของชนิดและปริมาณของพอลิเมอร์ที่มีผลต่อคุณสมบัติของยาเม็ดออร์ฟีนชนิดออกฤทธิ์นาน 24 ชั่วโมง
2. เพื่อตั้งตำรับยาเม็ด และทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและการละลายของตำรับยาที่เตรียมขึ้น
3. เพื่อศึกษาการปลดปล่อยยาในหลอดทดลองกับเยื่อผนังลำไส้สัตว์ทดลอง

ขอบเขตของโครงการวิจัย

เป็นโครงการวิจัยเพื่อศึกษาปัจจัยที่สำคัญต่อการตั้งตำรับของตำรับยาเม็ดออร์ฟีนชนิดออกฤทธิ์นาน 24 ชั่วโมง ในระดับ lab scale แต่สามารถนำผลการวิจัยไปประยุกต์ต่อยอดใช้เพื่อผลิตในขั้นอุตสาหกรรมได้ในอนาคต และการศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงคุณภาพ

สมมุติฐานและกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

กรอบแนวคิดคือการพัฒนาตำรับยาเม็ดบรรเทาอาการปวดมอร์ฟินออกฤทธิ์นาน 24 ชั่วโมง ยังไม่มีการพัฒนาได้เองในประเทศ งานวิจัยนี้เป็นโครงการวิจัยแรกของตำรับยานี้ และเชื่อว่าศักยภาพของนักวิจัย สามารถจะพัฒนาตำรับยาประเภทนี้ได้ โดยกรอบแนวคิดคือการศึกษาปัจจัยที่จะชะลอการปลดปล่อยให้ได้นานในลำไส้เล็กในหลอดทดลอง ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญ เพื่อที่จะนำไปใช้ในการตั้งตำรับต่อไปในอนาคต

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่ยังไม่มีผู้ศึกษาในประเทศ โดยประโยชน์สูงสุดที่คาดว่าจะได้รับคือได้ปัจจัยที่จะควบคุมการปลดปล่อยยามอร์ฟินให้ได้ 24 ชั่วโมง และที่สำคัญคือมีต้นทุนการผลิตต่ำ ซึ่งหน่วยงานของรัฐจะสามารถนำผลที่ได้ไปพัฒนาเพื่อนำไปผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ เมื่อสามารถนำไปต่อยอดได้ ก็จะทำให้ลดการนำเข้ายาและลดภาระค่าใช้จ่ายของผู้ป่วยและของประเทศ ดังนั้นหน่วยงานที่สามารถนำเอาผลการวิจัยไปใช้ได้โดยตรงคือ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข และองค์การเภสัชกรรม โดยสามารถนำไปจดอนุสิทธิบัตรได้ ทั้งนี้เพื่อเป็นประโยชน์ต่อประชาชนกลุ่มเป้าหมายโดยตรงคือคนไข้มะเร็ง ที่จำเป็นต้องใช้ยาบรรเทาปวดตลอดเวลาเป็นเวลานาน

บทที่ 2

วิธีการดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และเครื่องมือที่สำคัญ

- Dissolution test apparatus (Pharma test, Type PWT S111)
- Single punch tabletting machine
- Hydraulic press
- HPLC Pump (Perkin Elmer, model 200, US instrument division, Norwalk, USA)
- Injector with 20 μ l loop (Rheodyne, model 7125i, California, USA)
- 4.6×250 mm C₁₈ reversed-phase column (Zorbax, 5- μ m, Agilent technology)
- UV-visible detector (Perkin Elmer)
- Integrator (Perkin Elmer, model 1022, US instrument division, Norwalk, USA).
- pH meter (Mettler, Teledo)
- Hot air oven (WTBBinder, Type FE240, Germany)
- Venkel Hardness tester

สารเคมีที่สำคัญ

- Morphine sulphate (ซื้อจาก กองควบคุมวัตถุเสพติด กระทรวงสาธารณสุข)
- Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC E4M)
- Chitosan (Low (80 kDa) and High molecular weight (400 kDa)
- Carbopol 940
- Sodium alginate
- Sodium carboxymethylcellulose
- Tragacanth
- Veegum
- Microcrystalline cellulose pH 102 (AMC Corporation Ltd, Thailand)
- Starch 1500 (Rama Production, Co, Ltd)
- Eratab (Erawan pharmaceutical Research and Laboratory Co, Bangkok, Thailand)
- Lactose powder (Praporn Darsuit Ltd)
- Magnesium stearate

การวิเคราะห์หาปริมาณมอร์ฟิน

การทดลองนี้ใช้ HPLC-UV Detector เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ โดยอุปกรณ์หลักประกอบด้วย

Isocratic Pump : Perkin Elmer, LC pump 200)

RP Column : Zorbax, 5- μ m, Agilent technology, USA (C18: 3.9 x 150 mm, 5 μ m)

Mobile phase : methanol: water acetic acid at ratios of 300:700:10

Flow rate : 1.0 ml/min

UV detector : 240 nm

Injection volume : 20 μ l

โดยที่ mobile phase นั้น ปรับ pH ให้ได้ 4.0 โดยใช้สารละลาย 1.0 N NaOH จากนั้นกรองโดยใช้แผ่นกรองขนาดรู 0.45 μ m mobile phase ผ่านการไล่อากาศด้วย sonicator เป็นเวลา 10 นาทีก่อนนำไปใช้

การเตรียมสารละลายมาตรฐานมอร์ฟิน

สารละลายมาตรฐานมอร์ฟินเตรียมที่ความเข้มข้น 25-250 μ g/ml โดยการชั่งสารมาตรฐานมอร์ฟินอย่างแม่นยำ 50 mg ละลายด้วยตัวทำละลาย mobile phase จำนวน 100 ml ได้ stock solution ที่ความเข้มข้น 500 μ g/ml จากนั้นนำไปเจือจางเพื่อให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการโดยใช้ volumetric flask นำสารละลายมาตรฐานไปฉีด HPLC ตามระบบที่ได้พัฒนาขึ้น จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของมอร์ฟินกับพื้นที่ใต้กราฟ เพื่อนำไปใช้ในการสร้างสมการเพื่อคำนวณหาปริมาณของมอร์ฟินในตัวอย่างที่ศึกษาต่อไป

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการปลดปล่อยยา

วิธีการเตรียมยาเม็ด

การเตรียมยาเม็ดมอร์ฟินนี้ ใช้วิธีการเตรียมโดยวิธีการตอกตรง (direct compression) เพื่อการตั้งตำรับยา โดยการนำผงยามอร์ฟินซัลเฟตผ่านร่อนเบอร์ 80 จากนั้นนำมาชั่งตามน้ำหนักที่ต้องการตามสูตรตำรับ นำไปใส่ในกระป๋องพลาสติก จากนั้นเติม polymer ที่ศึกษาปัจจัย (ตามสูตรในตารางที่ 1) ได้แก่ Chitosan, Veeum, Carbopol 940, HPMC E4M, Tragacant, Acacia และ Sodium alginate ลงไปผสมให้เข้ากัน ก่อนเติมสารอื่นๆ ลงไปตามลำดับของสารที่ใช้ในสูตรต่างๆ โดยใช้หลักการ geometric dilution รวมเวลาที่ใช้ในการผสม 15 นาที จากนั้นนำ

magnesium stearate ที่ผ่านแรงเบอร์ 80 ใส่ลงไปเพื่อผสมต่ออีก 5 นาทีก่อนนำไปตอกยาเม็ด ด้วยชุดตอก single punch ที่ควบคุมการตอกด้วย hydraulic press ตามน้ำหนักที่กำหนดในตารางที่ 1 โดยกำหนดแรงตอกคงที่ทุกตำรับที่ 20 kgf/cm^2 ตอกค้างไว้ 20 วินาที ทำการตั้งตำรับทั้งสิ้นประมาณ 20 ตำรับแต่นำเสนอผลเฉพาะตำรับที่นำไปทดสอบต่อจำนวน 14 ตำรับดังตารางที่ 1 จากนั้นนำเม็ดยาออกมาเก็บใส่ถุงพลาสติก แล้วเก็บไว้ใน desiccators ที่มีสารดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง ทั้งนี้การตั้งตำรับทำการพัฒนาโดยมีการปรับเปลี่ยน polymer ที่ใช้ในการควบคุมการปลดปล่อย เป็นการศึกษาเชิงเปรียบเทียบ ทั้งนี้ทั้งการใช้ polymer เดียวและการใช้ polymer 2 ชนิดร่วมกัน

ปัจจัยของสูตรตำรับที่ศึกษา

ตัวแปรที่ใช้ในการศึกษาในการศึกษาการตั้งตำรับได้แก่ ชนิดของ boiadhensive polymer ต่างๆ ได้แก่ HPMC, Carbopol, Ethylcellulose, Tragacant, Sodium alginate, Veegum, Chitosan ในสัดส่วนต่างๆ ของปริมาณของสาร (ตารางที่ 1)

การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของยาเม็ด

สูตรตำรับที่เตรียมได้นำไปศึกษาคุณสมบัติทั่วไปของยาเม็ด คือน้ำหนักของยาเม็ดโดยใช้เครื่องชั่ง (20 เม็ด) ความแข็งโดยใช้เครื่องวัดความแข็ง (hardness tester) (5 เม็ด) อัตราการละลาย (3 เม็ด) และปริมาณตัวยาสำคัญ (5 เม็ด) ดังรายละเอียดข้างล่าง จากนั้นหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบระหว่างตำรับที่ได้กับคุณสมบัติทางกายภาพต่างๆ

การทดสอบการละลายของยา (Dissolution test)

เนื่องจากไม่พบว่ามีวิธีมาตรฐานการทดสอบการละลาย ของยาเม็ดมอร์ฟีนออกฤทธิ์นาน ในเภสัชตำรับ ที่ทำการศึกษการละลายของยาตำรับต่างๆ ดังนั้นวิธีการทดสอบจึงเป็นวิธีที่ได้จากการทบทวนวรรณกรรมและมีลักษณะใกล้เคียงกับในร่างกายมนุษย์มากที่สุด โดยใช้ dissolution test apparatus 1 (basket) โดยตัวกลางที่ใช้เป็น 0.1 N HCl pH 1.2 และ phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 900 ml โดยทดสอบการละลายของยาในกรดเป็นเวลา 2 ชั่วโมงและในด่างเป็นเวลาต่อเนื่องอีก 22 ชั่วโมงรวมเป็น 24 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิที่ทดสอบไว้ที่ $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ความเร็วรอบในการหมุนของ basket คือ 100 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างครั้งละ 5 ml ที่ 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 12, และ 24 ชั่วโมง และทดแทนด้วยตัวกลางที่มีอุณหภูมิประมาณ 37°C ในปริมาตรเท่ากันทุกครั้งที่ตัวอย่างถูกเก็บออกมา นำตัวอย่างที่ได้ไปวัดหาปริมาณตัวยาสำคัญ โดยใช้ UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อ

คำนวณหาปริมาณมอร์ฟีนที่ละลายออกมาที่เวลาต่างๆ สำหรับการทดสอบยาต้นแบบก็ใช้หลักการทดสอบเช่นเดียวกัน

การหาปริมาณตัวยาสำคัญ

การหาปริมาณตัวยาสำคัญในเม็ดยาได้โดยการบดยาเม็ดทีละเม็ดทีละเม็ดจำนวน 10 เม็ด ลงในโถร่งแก้ว rinse โถร่งหลายๆ ครั้งด้วย 0.1 N HCl จากนั้นจึงนำไปปรับปริมาตรด้วย 0.1 N HCl ใน volumetric flash ขนาด 50 ml และนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No 1 โดยทิ้งส่วนแรก (ประมาณ 5 ml) ออกไป ก่อนนำไปวัดด้วย UV-Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารละลายยามาตรฐาน (ความเข้มข้น 5-50 $\mu\text{g/ml}$) จากนั้นคำนวณออกมาเป็นปริมาณยาสำคัญและเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบระหว่างยาต้นแบบ และยาที่พัฒนาขึ้น โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน ($y = 10.428x + 23.060$; $y = \text{area under the curve}$; $x = \text{drug concentration}$)

การทดสอบ Adhesion กับลำไส้หนูด้วยเครื่อง dissolution

ล้างลำไส้หนูใหม่ทุกครั้งด้วยน้ำประปาให้สิ่งสกปรกออกไป แล้วล้างสิ่งสกปรกออก ด้วย NSS และล้างด้วย phosphate buffer pH 6.8 นำเม็ดยามาแชใน phosphate buffer pH 6.8 เป็นเวลา 30 s จากนั้นตัดลำไส้เป็นแผ่นสี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 3x3 cm ขณะเดียวกันใช้พลาสติกอ่อนๆ ตัดออกมาเป็นชิ้นเพื่อหุ้ม basket ไว้โดยใช้เทปติดไว้ให้แน่น นำลำไส้ที่ตัดไว้ให้มีขนาดพอเหมาะแล้วมัดใส่ผิววนนอกของ basket โดยใช้ยางรัดหัวท้ายของ basket จากนั้นวางเม็ดยาลงบนลำไส้แล้วนำไปทดสอบโดยเครื่อง dissolution ที่ใช้ phosphate buffer pH 6.8 เป็น medium ปริมาตร 900 ml ที่อุณหภูมิควบคุมไว้ที่ $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ โดยให้ basket หมุนที่ความเร็ว 25 รอบ ต่อวินาที จากนั้นสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงและการเกาะติดของเม็ดยา จับเวลาเป็นเวลา 12 ชั่วโมง หรือจนกว่าหมดสภาพเม็ดยา ทำการทดสอบทุกตำรับที่มีผลการเกาะติดกับลำไส้ได้ดี ตำรับละ 3 ตัวอย่าง

Mucoadhesive and drug release study

ทำการศึกษาการยึดติดกับผนังของลำไส้หนูโดยประยุกต์จากหลักการของ Chavanpatil และคณะ (2006) และ Albrecht และคณะ (2006) โดยการนำลำไส้เล็กของหนูมายึดติดกับ plastic tube ที่ดัดแปลงเพื่อรองรับการทดสอบ ใส่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37°C แล้วบดสารละลาย 0.1 M phosphate buffer pH 6.5 ซึ่งคล้ายกับ intestinal fluids โดยให้มีการไหลที่ 1 ml/min เป็นเวลาประมาณ 15 นาทีก่อนการทดลอง จากนั้นนำยาเม็ดที่ได้มาทำการติดที่ผนังลำไส้หนู แล้วทำ

การทดสอบการเกาะติดของเม็ดยา และการละลายของยาที่เวลาต่างๆ ที่ 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, และ 24 ชั่วโมง โดยการเก็บตัวอย่างสารละลายที่ได้ มาวิเคราะห์หาความเข้มข้น ด้วย HPLC พร้อมสังเกตการยึดเกาะของเม็ดยาที่ผนังลำไส้สัตว์ทดลอง ทำการทดสอบกับตำรับยาที่มีคุณสมบัติในการยึดเกาะลำไส้ได้ดีที่สุดและมีการปลดปล่อยที่ดีจากผลการทดสอบการปลดปล่อยยาในสารละลาย ทำการทดสอบตำรับละ 3 ตัวอย่าง

Water absorption properties

ทำการศึกษา Water absorption ของยาเม็ดโดยประยุกต์จากวิธีของ Takahashi และคณะ (2007) โดยนำสูตรตำรับที่มีผลการศึกษา mucoadhesion และการปลดปล่อยยาที่น่าสนใจนำมาศึกษา วิธีการทำได้โดยการบรรจุน้ำใน measuring pipette จากนั้นวางเม็ดยาที่เตรียมได้ที่กลางถาดที่มี glass filter ติดอยู่ วาง measuring pipette ให้ติดกับ glass filter จากนั้นวัดปริมาตรน้ำที่ลดลงต่อเวลา (ml/min) แต่ละสูตรตำรับทำการทดสอบ 3 เม็ด ทดสอบระยะเวลา 30 นาที หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเปรียบเทียบแต่ละสูตรตำรับ

Mucoadhesive property

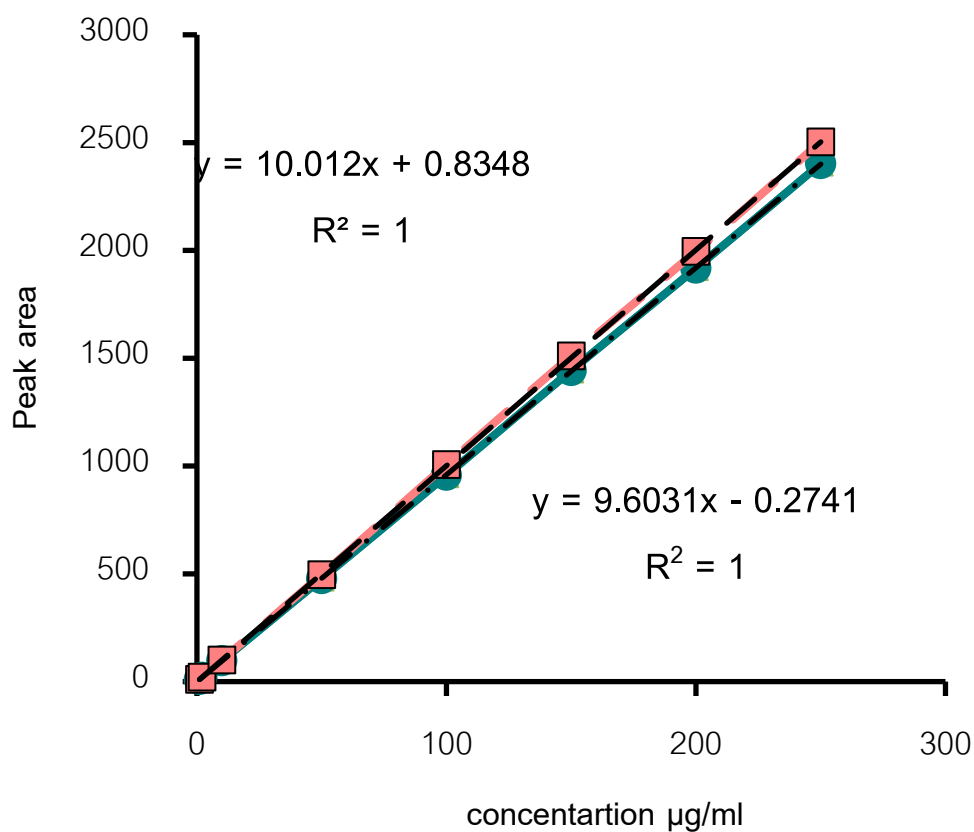
ทำการศึกษาความสามารถในการยึดเหนี่ยวของยาเม็ดกับลำไส้ โดยใช้ Texture analyzer (Thirawong et al, 2007) ทำการเตรียมลำไส้หนูที่ได้มาใหม่ๆ พลิกด้านในของลำไส้ออกมา ล้างด้วย normal saline solution pH 6.8 ในถาด จากนั้นใช้กรรไกรตัดแบ่งชิ้นส่วนของลำไส้ให้มีขนาดใหญ่กว่าขนาดของ block ของเครื่องเล็กน้อย นำไปทดสอบ adhesion ทำการ wet ลำไส้ด้วย normal saline solution 20 μ l จากนั้นใช้แรงกดลงบนลำไส้ให้นานเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นค่อยๆ ดึงแกนขึ้นอย่างช้าๆ ที่ความเร็วคงที่ วัดแรงยึดเหนี่ยวเปรียบเทียบในแต่ละสูตร ด้วยการทำทดลองแต่ละสูตร 3 ซ้ำ สูตรที่ยาเม็ดที่นำมาทดสอบต่อคือสูตรที่สามารถยึดติดกับลำไส้ได้นานกว่า 3 ชั่วโมงหรือมากกว่า

บทที่ 3

ผลการวิจัยและอภิปรายผลวิจัย

การวิเคราะห์ด้วยวิธีสำคัญ

จากการศึกษาสารละลายมาตรฐานมอร์ฟีนเตรียมที่ความเข้มข้น 25 - 250 µg/ml จากนั้นคำนวณหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและ peak area พบว่า มีสมการความสัมพันธ์ระหว่าง peak area (Y) กับความเข้มข้น (X) ดังนี้ โดยในสภาวะกรดและด่างคือ $y=10.01X+0.834$ และ $y=9.6031X+0.2741$ ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของมอร์ฟีนกับพื้นที่ใต้กราฟ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วย HPLC (● = ในสารละลายกรด; ■ = ในสารละลายด่าง)

ตารางที่ 1 ตำรับยามอร์ฟินที่ทำการศึกษา

สาร (w/w)	สูตรตำรับที่ (ปริมาณ, mg)														
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15
Morphine sulfate	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Avicel PH102	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
Starch 1500	57	57	57	27	27	57	7	7	77	57	27	7	57	57	27
Carbopol 940 (30%)	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Veegum (30%)		60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tragacanth (30%)	-	-	60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tragacanth (45%)	-	-	-	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chitosan (H) (30%)	-	-	-	-	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HPMC/Cabopol (15/15%)	-	-	-	-	-	30/ 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HPMC/Cabopol (50/5%)	-	-	-	-	-	-	100/ 10	-	-	-	-	-	-	-	-
HPMC/Cabopol (45/10%)	-	-	-	-	-	-	-	90/ 20	-	-	-	-	-	-	-
HPMC E4M (20%)	-	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-	-	-	-	-
HPMC E4M (30%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	60	-	-	-	-	-
HPMC E4M (45%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	90	-	-	-	-
HPMC E4M (55%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	110	-	-	-
SCMC (30%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	60	-	-
Ethyl cellulose (30%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	60	-
Sodium alginate (45%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	90
Aerosil	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Mg.stearate	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Total weight (mg)	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200
ความแข็ง (Kg)	8.40± 0.56	11.9 ± 1.00	6.1 ± 0.57	9.1 ± 1.63	1.8 ± 0.97	4.3 ± 0.60	7.9± 0.68	11.3± 3.01	8.9 ± 0.05	5.3± 0.65	8.9± 1.68	12.2 ± 1.70	9.3± 0.98	7.9± 0.42	8.8± 0.56

คุณสมบัติทางกายภาพตำรับยาเม็ดที่เตรียมได้

สูตรตำรับยาที่ทดสอบ

ตำรับยาเม็ดมอร์ฟีนกำหนดน้ำหนักคงที่ที่ 20 mg ต่อเม็ด โดยทำการเตรียมครั้งละ 150 เม็ด (30 กรัม) เพื่อใช้ตอกในทุกตำรับ ดังสูตรตำรับในตารางที่ 1 โดยสารช่วยที่ใช้ในการตอกตรงได้ใช้ Avicel PH102 และ Starch 1500 เป็นสารช่วยซึ่งได้จากการทดสอบในสูตรทดลองที่ใช้ propanolol เป็นตัวยาทดสอบโดยการตอกกับเครื่อง semi-automatic single punch tableting machine พบว่าสารช่วยทั้ง 2 ชนิดมีการไหลของผงยาที่ดีกว่าเมื่อใช้ Avicel PH 102 และ Eratab ซึ่งพบว่าการใช้สารช่วยทั้ง 2 ชนิด ทำให้ได้ยาเม็ดที่มีความแข็งที่ดีกว่าและมีความแปรปรวนของน้ำหนักของยาเม็ดที่ตอกได้น้อยกว่า และเมื่อมีการปรับสัดส่วนของสาร polymer ที่ใช้ศึกษาในการควบคุมการปลดปล่อยยา (polymer) ได้ปรับสัดส่วนของ starch 1500 ลงตามสัดส่วนน้ำหนักของ polymer ที่เพิ่มขึ้นโดยยังคงสัดส่วนของ Avicel ไว้คงเดิมที่น้ำหนัก 60 mg จากการศึกษาพบว่า เม็ดยาที่ได้มีความแข็งที่ดีเป็นส่วนใหญ่ แต่มีความแตกต่างกันดังตารางที่ 1 โดยทุกตำรับทำการตอกทีละเม็ดโดยใช้เครื่อง hydraulic press โดยควบคุมความดันของการตอกที่ 20 kgf/cm^2 ค้างไว้เป็นเวลา 20 วินาที ทั้งนี้ condition ที่ได้นั้นมาจากการทดลองตอก 2-3 ตำรับในเบื้องต้น เพื่อทดสอบว่าตำรับได้ความแข็งที่พอเหมาะเท่าใด ซึ่งตั้งไว้ที่ 8-10 kg

จากการทดสอบพบว่าตำรับที่มีความแข็งมากที่สุดคือตำรับที่มี HPMC ในสัดส่วนร้อยละ 55 เป็นองค์ประกอบ โดยมีความแข็งประมาณ 12 Kg ขณะที่ตำรับที่มีความแข็งของยาเม็ดรองลงมาคือตำรับที่ใช้ Veegum ที่ 11.9 Kg ส่วนตำรับที่มีความแข็งน้อยคือตำรับที่ใช้ Chitosan ในสัดส่วนร้อยละ 45 มีความแข็งไม่ถึง 2 Kg และตำรับที่ใช้ HPMC/Carbopol ในสัดส่วนร้อยละ 15 (ตารางที่ 1) ซึ่งการที่มีความแข็งที่แตกต่างกัน ขึ้นกับคุณสมบัติของสารด้วย อีกทั้งการที่มีปริมาณ Starch 1500 ในสัดส่วนที่ต่างกันในแต่ละสูตร อาจส่งผลต่อความแข็งได้เช่นกัน อย่างไรก็ตาม ก็เห็นได้ว่าการใช้แรงตอกเพียง 20 Kg/cm^2 ก็สามารถให้ความแข็งแก่ยาเม็ดได้เป็นอย่างดี หากตอกด้วยแรงตอกที่มากกว่านี้ ก็อาจได้ความแข็งที่มากกว่านี้มาก แสดงให้เห็นว่าสูตรตำรับที่ใช้ Starch 1500 ร่วมกับ Avicel PH102 นี้ เป็นสูตรตำรับที่ดี สามารถตอกเป็นเม็ดได้ดีและมีความแข็งที่สามารถปรับได้ตามต้องการ

Content uniformity

ผลการศึกษาการหาปริมาณด้วยยาสำคัญของตำรับยาต่างๆ โดยใช้วิธี HPLC ได้สมการของกราฟมาตรฐานคือ $y = 10.247x + 40.963$ $R^2 = 0.9993$ $y = \text{Area under the graph}$, $X = \text{concentration } (\mu\text{g/ml})$ โดยทำการทดสอบตำรับละ 10 เม็ด ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2

เห็นได้ว่าการวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาลำคณนี้ ทุกสูตรตำรับอยู่ในช่วงร้อยละ 94-98 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่ วิธีการดังกล่าวอาจไม่สามารถสกัดตัวยาออกมาจากเม็ดยาได้ทั้งหมด บางตำรับ บางเม็ดยาพบว่าการพองของเม็ดยา เช่นตำรับที่มี HPMC และ Carbopol ซึ่งก็ได้ทำการ sonicate และเขย่าเป็นเวลานานเพื่อช่วยในการสกัดตัวยาโมริฟีน ให้ละลายออกมาในสารละลาย ซึ่งวิธีนี้อาจทำให้ยาเสื่อมไปบางส่วนได้เช่นกัน เนื่องจากอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เป็นกรดเป็นเวลานาน อย่างไรก็ตาม วิธีการสกัดนี้เคยใช้กับการวิเคราะห์ยาเม็ดมอร์ฟีนออกฤทธิ์นาน 12 ชั่วโมงมาแล้ว และได้ผลดีค่อนข้างดี แต่ใช้ชนิดและสารช่วยในปริมาณที่แตกต่างกันในการวิจัยนี้ ซึ่งอาจทำให้ได้ผลที่แตกต่างกันได้

ตารางที่ 2 Content uniformity ของตำรับยาเม็ดมอร์ฟีน (n=5)

สูตรตำรับ	% ที่ตรวจวิเคราะห์ได้ (Mean±S.D.)
F1	94.0±3.5
F2	95.3±3.2
F3	98.9±1.4
F4	94.5±5.6
F5	92.9±3.4
F6	98.1±3.2
F7	95.5±3.6
F8	96.9±2.6
F9	94.5±1.6
F10	98.5±3.6
F12	97.5±4.6
F13	97.0±2.2
F14	96.9±2.6
F15	95.5±4.6

การทดสอบการเกาะติดเม็ดยากับผนังลำไส้หนูด้วยเครื่อง Dissolution

เมื่อทำการทดลองโดยการยึดเม็ดยาของสูตรที่มีความสามารถในการยึดเกาะกับผนังลำไส้หนูได้ดีและมีการปลดปล่อยยาที่ดี และทดสอบด้วยเครื่อง dissolution test apparatus ส่วนใหญ่พบว่าเม็ดยาของสูตรตำรับที่เกาะติดได้ดี ก็จะติดกับผนังลำไส้ได้ดีและนานมากกว่า 6 ชั่วโมง ส่วนเม็ดยาที่ไม่สามารถยึดติดกับผนังลำไส้ได้ ก็จะไม่สามารถติดอยู่ได้เลยตั้งแต่การทดสอบระยะเวลาแรกๆ และหลุดออกตั้งแต่แรก ทั้งนี้พบว่า เม็ดยาที่ใช้ HPMC เป็นสารยึดเกาะ เม็ดยามีการยึดติดกับผนังลำไส้ได้ดีที่สุด และนานกว่า 12 ชั่วโมงในทุกสัดส่วนที่ทำการศึกษา ขณะที่ตำรับที่ใช้สารทดสอบอื่นๆ ก็ติดได้ดี เช่นกัน ได้แก่ sodium alginate และ tragacanth แต่จะมีการบวมพองของเม็ดยามากกว่า HPMC และมีการกร่อนของเม็ดยามากกว่า เงข้อมูลข้างล่าง

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ เบื้องต้นทำการทดสอบการเกาะติดของเม็ดยากับลำไส้ โดยการทดสอบให้เม็ดยาเกาะติดที่ลำไส้ที่ basket โดยยังไม่ทดสอบใน dissolution apparatus ทั้งนี้ตำรับยาเม็ดยาที่พบว่าสามารถเกาะติดได้จึงนำไปทดสอบ ใน dissolution test apparatus พบว่าเมื่อใช้ Low และ High chitosan เป็น polymer ในการเตรียมตำรับยาเม็ดยา เม็ดยาพองและฟูขึ้นชัดเจน และไม่เกาะเป็นเม็ดยา ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ Chitosan ไม่ได้มีการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของ chitosan เพื่อให้มีคุณสมบัติในการยึดเกาะที่ดีขึ้น ดังเช่นงานวิจัยของ Marschütz and Bernkop-Schnürch (2002) ที่มีการเปลี่ยนโครงสร้างเป็น thiolated chitosan ซึ่งในงานวิจัยนี้ ยังไม่ได้ศึกษากรณีดังกล่าว ขณะที่เมื่อใช้ Carbopol 940 เป็นสารยึดเกาะ พบว่าเม็ดยาพองและฟูทันทีเช่นกัน เมื่อใช้ sodium CMC พบว่าเม็ดยาพอง เปื่อยยุ่ย ไม่เป็นเม็ดยา จึงไม่ได้ทำการทดสอบการยึดเกาะด้วย dissolution test apparatus กับ polymer ดังกล่าว ขณะที่เมื่อทดสอบกับเม็ดยาที่ใช้ Tragacanth, HPMC และ sodium alginate พบว่า เม็ดยาไม่พอง ยังคงเป็นเม็ดยาเหมือนเดิม จึงทำการทดสอบใน dissolution apparatus ต่อไป ผลการทดสอบการเกาะติดเม็ดยาของ polymer ต่างๆ รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 3 (หมายเหตุ: กรณีที่เม็ดยาไม่คงสภาพเป็นเม็ดยาแล้ว การทดลองจะถูกหยุด ไม่ได้ทำการทดลอง ถึง 12 หรือ 24 ชั่วโมง)

การที่ Polymer หลายชนิดไม่สามารถควบคุมการคงรูปของเม็ดยาได้นั้น อาจเกิดจากคุณสมบัติของสารเองที่ละลายน้ำได้ดี เช่น SCMC, Veegum เป็นต้น ในขณะที่การใช้ Ethylcellulose ที่ไม่ละลายน้ำอาจเกิดจากการที่ในตำรับมีสารที่สามารถพองตัวได้ดีทำให้เม็ดยาแตกออกหรือไม่คงสภาพ ได้แก่ Avicel และ Starch 1500 อย่างไรก็ตามการใช้สารอื่น ได้แก่ HPMC, sodium alginate และ Tragacanth นั้นสามารถควบคุมการปลดปล่อยได้ดีและเม็ดยาแม้ไม่คงรูป มีการพองตัวแต่ยังยึดเกาะกับผนังลำไส้ได้ดี

ตารางที่ 3 ผลการยิดเกาะเม็ดยาของตำรับต่าง ๆ กับผนังลำไส้หนู เมื่อ ใช้ 30%HPMC และ 45%HPMC ทดสอบด้วย dissolution test apparatus

เวลา	30%HPMC	45% HPMC
1 hr	เม็ดยา 30% HPMC พองตัวขึ้นมากกว่า 45% HPMC แต่ยังคงรูปร่างของเม็ดยาไว้ได้ และยังคงเกาะติดที่ลำไส้ได้ ไม่มีตะกอนของผงยาใน vessel	
2 hr	เม็ดยา HPMC 30% พองตัวขึ้นมากกว่าเม็ดยา 45% HPMC มีตะกอนผงยาที่ไม่ละลาย กระจายใน vessel ซึ่ง HPMC 30% มีตะกอนมากกว่าเม็ดยา 45% HPMC	
4 hr	30% HPMC พองตัวมีขนาดเท่ากับเม็ดยา 45% HPMC แต่ยังคงรูปร่างของเม็ดยาไว้ได้ อยู่ซึ่งเม็ดยา 45% HPMC ขอบของเม็ดยายังเป็นเหลี่ยม ส่วนเม็ดยา 30% HPMC เม็ดยากกลมมน และการยิดเกาะกับลำไส้ยังคงอยู่	
8 hr	คงสภาพเดิมเหมือน 4 hr	
12 hr	เม็ดยาพองตัวมากขึ้นโดยเม็ดยา 30% HPMC พองมากกว่า	
24 hr	ยังมีสภาพเป็นเม็ดยาได้ แต่พองมากขึ้นกว่าเดิมมาก	

ตารางที่ 4 ผลการยิดเกาะเม็ดยาของตำรับต่าง ๆ กับผนังลำไส้หนู เมื่อ ใช้ 30% Chitosan และ 30% Carbopol ทดสอบด้วย dissolution test apparatus

เวลา	30% Chitosan	30% Carbopol 940
0 min	ไม่มีการเปลี่ยนแปลง	เม็ดยาพองตัวกลาง basket พร้อมกับ ปล่อย insoluble particles ออกมาใน medium และ ติดหนีบที่ก้น basket
10 min	เม็ดยาติดที่ก้น basket ไม่พอง	ผงยากระจายเต็ม basket ไม่คงสภาพเป็น เม็ดแล้ว
20 min	เริ่มมีผงยาที่ไม่ละลายออกมาใน vessel	-
60 min	ผงยากระจายทั่ว vessel ไม่คงสภาพเป็น เม็ดแล้ว	-

ตารางที่ 5 ผลการยิดเกาะเม็ดยาของตำรับต่างๆกับผนังลำไส้หนู เมื่อใช้ 30% SCMC และ 20% HPMC ทดสอบด้วย dissolution test apparatus

เวลา	30% SCMC	20% HPMC
1 hr	มีผงยาที่ไม่ละลายตกตะกอนที่ก้น vessel	เม็ดยาไม่เปลี่ยนแปลง
2 hr	มีผงยาที่ไม่ละลายตกตะกอนที่ก้น vessel ยาใน basket ไม่คงสภาพเป็นเม็ดแล้ว	เม็ดยาไม่เปลี่ยนแปลง ยังคงรูปร่างเป็นเม็ดเหมือนเดิม
4 hr	-	เม็ดยาพองตัวมากขึ้น
6 hr	-	เม็ดยาพองตัวมากขึ้น ประมาณ 2 เท่าจากขนาดตั้งต้น และมีตะกอนของผงยาที่ก้น vessel เล็กน้อย
12 hr	-	เม็ดยาพองตัวเพิ่มขึ้นจากเดิมเล็กน้อย และมีตะกอนที่ก้น vessel ไม่พบว่าเป็นเม็ดยาแล้ว

ตารางที่ 6 ผลการยิดเกาะเม็ดยาของตำรับต่างๆกับผนังลำไส้หนู เมื่อใช้ 30% Sodium alginate และ 45% Sodium alginate ทดสอบด้วย dissolution test apparatus

เวลา	45% Sodium Alginate	30% Sodium alginate
1 hr	เม็ดยาพองเล็กน้อย	เม็ดยาพองตัว เริ่มแตกออก มีตะกอนผงยาอยู่ก้น vessel เล็กน้อย
2 hr	มีผงยาที่ไม่ละลายกระจายใน vessel	เม็ดยาแตกออก ทำให้มีตะกอนอยู่ตรง vessel
4 hr	เม็ดยาพองตัวใหญ่ขึ้นประมาณ 2.5 เท่าจากขนาดเม็ดยาเริ่มต้น	เม็ดยาแตกออกหมด มีตะกอน มีลักษณะเป็นวุ้นๆ ใน vessel หมดสภาพเม็ดยา
6 hr	เม็ดยาพองตัวไม่เพิ่มจากเดิมมากนัก มีตะกอนเล็กน้อยกระจายอยู่ใน vessel	
12 hr	มีตะกอนกระจายอยู่ใน vessel เม็ดยาพอง ไม่คงสภาพเป็นเม็ด	

ตารางที่ 7 ผลการยิดเกาะเม็ดยาของตำรับต่างๆกับผนังลำไส้หนู เมื่อใช้ 30% Tragacanth และ 45% Tragacanth ทดสอบด้วย dissolution test apparatus

เวลา	30% Tragacanth	45%Tragacanth
1 hr	เม็ดยาพองเล็กน้อยมาก และพบยา กระจายใน vessel เล็กน้อย	เม็ดยาไม่เปลี่ยนแปลง ยังคงรูปร่างเป็น เม็ดเหมือนเดิม ไม่พบยากระจายใน vessel เล็กน้อย
2 hr	เม็ดยาพองตัวเพิ่มขึ้น และพบยากระจาย ใน vessel เล็กน้อย	เม็ดยาไม่เปลี่ยนแปลง ยังคงรูปร่างเป็น เม็ดเหมือนเดิม ไม่พบยากระจายใน vessel เล็กน้อย
4 hr	เม็ดยาพองมากขึ้น มากกว่า 2 เท่า	เม็ดยาไม่เปลี่ยนแปลง ยังคงรูปร่างเป็น เม็ดเหมือนเดิม ไม่พบยากระจายใน vessel เล็กน้อย
6 hr	เม็ดยาพองมากขึ้น รูปร่างเกือบกลม พบ ยากระจายใน vessel เล็กน้อย	เม็ดยาพองขึ้น แต่มีขนาดบวมเล็กกว่า 30% Targacanth พบยากระจายใน vessel มากกว่า 40% Targacanth
24 hr	เม็ดยาพองตัวประมาณ 2 เท่าของขนาด ตั้งต้น ยังคงรูปร่างเป็นเม็ดอยู่ มีผงยา กระจายในเนื้อเจล และ มีตะกอนของผง ยาที่ก้น vessel	เม็ดยาพองตัวประมาณ 2 เท่าของขนาด ตั้งต้น ยังคงรูปร่างเป็นเม็ดอยู่ มีผงยา กระจายในเนื้อเจล แต่มีความหนืด มากกว่า และ มีตะกอนของผงยาที่ก้น vessel

ตารางที่ 8 ผลการยิดเกาะเม็ดยาของตำรับต่าง ๆ กับผนังลำไส้หนู เมื่อใช้ 50% HPMC + 5% Carbopol และ 55% HPMC ทดสอบด้วย dissolution test apparatus

เวลา	50% HPMC + 5 %Carbopol	55% HPMC
1 hr	เม็ดยาไม่พอง	เม็ดยาพองตัวขึ้น 0.5 เท่า
2 hr	เม็ดยาพองตัวขึ้น 0.5 เท่า โดยยาบวมตามรูปร่างของเม็ดยาเดิม	เม็ดยาพองตัวขึ้น 0.5 เท่า โดยยาบวมตามรูปร่างของเม็ดยาเดิม แต่มีรอยบุ๋มตรงกลาง
4 hr	เม็ดยาพองสูงขึ้นกว่าเดิม ในแนวตั้ง ด้านบนของเม็ดยาคลาย เจล	ตะกอนเม็ดยาตกลงมาข้างล่าง vessel เม็ดยาพองตัว 0.5 เท่า
6 hr	มีตะกอนตกที่ก้น vessel เม็ดยาพองตัวประมาณ 1 เท่า	มีตะกอนตกที่ก้น vessel เม็ดยาพองตัวแต่ไม่กลม
12 hr	เม็ดยาพองตัว โดยมีลักษณะฐานกว้าง ปลายด้านบนมน	เม็ดยาเป็นรู้นพองตัวเพิ่มขึ้น
24 hr	เม็ดยาพองตัวเป็นรู้นใน basket โดยเม็ดยาพองกลมประมาณ 4 เท่า เม็ดยาเหนียว มีผงยากระจายอยู่ด้านในเจล	เม็ดยาเป็นรู้นพองตัวลักษณะคล้าย เม็ดแคปซูล ขนาดพองประมาณ 3 เท่า เม็ดยาเหนียวมาก มีผงยากระจายอยู่ด้านในเจล

ตารางที่ 9 ผลการยิดเกาะเม็ดยาของตำรับต่าง ๆ กับผนังลำไส้หนู เมื่อใช้ 45% HPMC + 10% Carbopol ทดสอบด้วย dissolution test apparatus

เวลา	45% HPMC + 10 %Carbopol
1 hr	เม็ดยาไม่พองตัว แต่มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย
2 hr	เม็ดยาพองตัวขึ้น เม็ดยาบวมตามรูปร่างของเม็ดยาเดิม
4 hr	เม็ดยาพองมากขึ้นกว่าเดิม เม็ดยาคลาย เจล
6 hr	เม็ดยาพองตัวประมาณ 1 เท่า มีตะกอนตกที่ก้น vessel ชัดเจน
12 hr	เม็ดยาพองตัว มีตะกอนตกที่ก้น vessel ชัดเจนมากขึ้น
24 hr	เม็ดยาพองตัวเป็นรู้นใน basket โดยเม็ดยาพอง มีลักษณะเปลี่ยนไป มีผงยากระจายอยู่ด้านในเจล และมีมีตะกอนตกที่ก้น vessel ชัดเจน กระจายไปทั่ว

ตารางที่ 10 ผลการยึดเกาะเม็ดยาของตำรับต่างๆกับผนังลำไส้หนู เมื่อใช้ 15% HPMC + 15%Carbopol ทดสอบด้วย dissolution test apparatus

เวลา	15% HPMC + 15%Carbopol
1 hr.	เม็ดยาพองเล็กน้อย
2 hr.	มีผงยาที่ไม่ละลายตกตะกอนที่ก้น vessel
4 hr	ผงยากระจายเต็ม basket มีผงยาที่ไม่ละลายตกตะกอนที่ก้น vessel
6 hr	เม็ดยาคงสภาพเดิมกับที่เวลา 4 ชั่วโมง
12 hr	เม็ดยาพองเป็นวุ้น ไม่เป็นเม็ดแล้ว และมีผงยากระจายในเนื้อวุ้นนั้น อีกทั้งมีตะกอนของผงยาที่ไม่ละลายตกตะกอนที่ก้น vessel ไม่คงสภาพเป็นเม็ด

ตารางที่ 11 ผลการเปรียบเทียบทดสอบการเกาะติดลำไส้ เมื่อนำไปทดสอบด้วยเครื่อง Dissolution test apparatus

Polymer	ลักษณะที่ตรวจพบได้
Chitosan (L ,H WM)	เม็ดยาหลุดลุ่ย ตั้งแต่แรก เมื่อทดสอบ
Sodium CMC	เม็ดยาไม่สามารถยึดติดกับผนังลำไส้ได้เลย
Veegum	เม็ดยาไม่คงสภาพเป็นเม็ด เมื่อเริ่มทดสอบการยึดเกาะกับผนังลำไส้
Carbopol 940	ใช้เวลาน้อยกว่า 1 ชั่วโมง จึงหลุดออกจากลำไส้ ไม่ได้ทำการทดลองต่อ
Ethylcellulose	เม็ดยาคงสภาพในสารละลายกรดแต่แตกออกในเวลามานานเมื่อทดสอบในสารละลายด่าง
Sodium alginate	ที่เวลา 4 ชั่วโมง เม็ดยาหลุดออกมาและเปื่อยยุ่ย แตกออกเล็กน้อย ที่เวลา 6 ชั่วโมง ยากระจายออกใน vessel เป็นบางส่วน ลักษณะคล้ายเม็ดยามีการร่อน
Tragacanth	เม็ดยาพองตัวมากขึ้น เมื่อทดสอบ ยังคงรูปร่างเป็นเม็ดอยู่ มีผงยากระจายในเนื้อเจลของเม็ดยาที่พองขึ้น
HPMC	หลุดจากลำไส้อันดับสุดท้าย เม็ดยาติดลำไส้ดีมาก โดยพบว่าที่เวลา ชั่วโมงเม็ดยาเริ่มพองออกเล็กน้อยที่บริเวณขอบเม็ด แต่ยังคงรูปร่างเดิม 6 ชั่วโมง เม็ดยาบวมขึ้นเล็กน้อย และบวมเพิ่มซ้ำๆ

จากผลการทดลองการยึดเกาะลำไส้ พบว่าชนิดของ polymer มีผลต่อการยึดเกาะลำไส้ อย่างชัดเจน โดยพบว่า tragacanth, sodium alginate และ HPMC สามารถยึดเกาะลำไส้ได้ดี โดยเฉพาะ HPMC ที่สามารถยึดเกาะผนังลำไส้ได้ดีมาก ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา และพบว่าเมื่อยายังคงสภาพดี เกาะติดโดยตลอด ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจาก HPMC มีคุณสมบัติที่พองตัวได้ดีใน ตัวกลาง pH 6.8 ขณะที่ polymer อื่นๆ ในส่วนของ Chitosan ทุกน้ำหนักโมเลกุล พบว่าเมื่อสัมผัส กับน้ำ polymer จะพองตัวอย่างรวดเร็ว จนไม่สามารถนำไปทดสอบการยึดเกาะกับลำไส้ที่เครื่อง dissolution test apparatus ได้ ส่วน polymer อื่นๆ ก็ไม่สามารถยึดเกาะได้

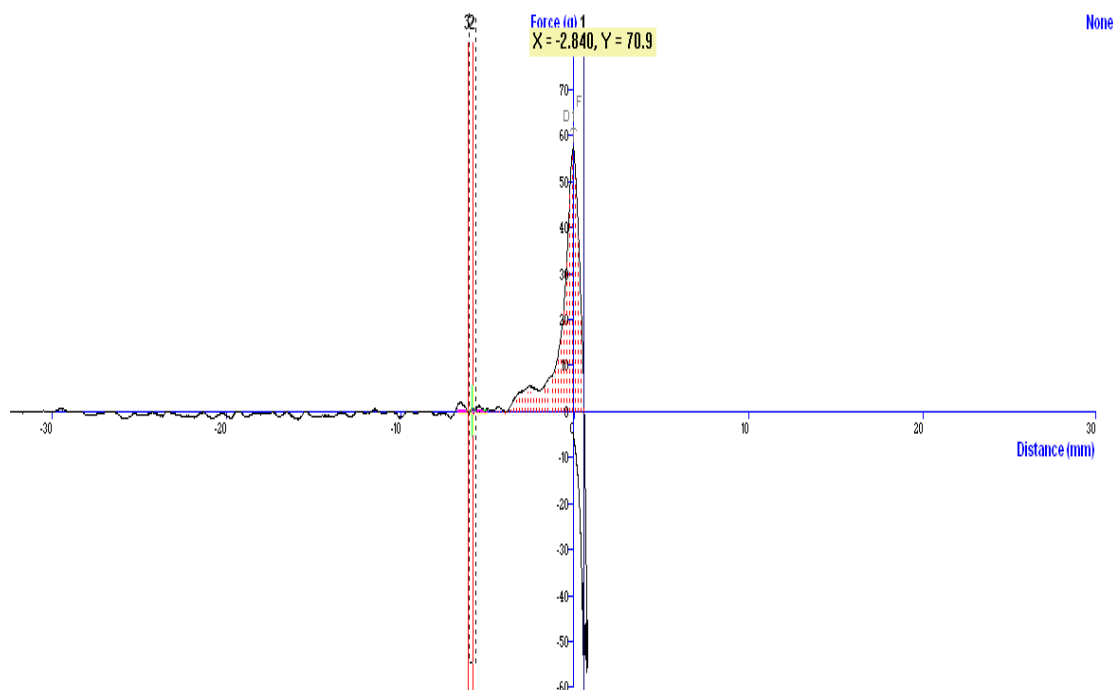
เป็นที่น่าสนใจว่า การยึดเกาะของเม็ดยาที่ใช้ HPMC ร่วมกับ carbopol นั้นไม่ค่อยดีมาก เมื่อเทียบกับการใช้ HPMC เดี่ยวๆ แต่เมื่อดูผลการปลดปล่อยยา ให้ผลการทดลองที่น่าสนใจมาก ว่า มีการปลดปล่อยออกมาของยาอย่างช้าๆ ซึ่งกรณีนี้เป็นที่น่าสนใจ เพราะอาจสามารถนำไปปรับ สัดส่วนที่พอเหมาะ เพื่อให้เม็ดยาเกาะได้ดีขึ้นและปลดปล่อยยาออกมาเร็วขึ้น ซึ่งได้อธิบายใน หัวข้อการปลดปล่อยยาด้วย dissolution test apparatus การทดลองเพื่อทดสอบ Water absorption properties ของยาเม็ดสูตรที่มีความสามารถในการยึดเกาะกับผนังลำไส้หมูได้ดีและมี การปลดปล่อยยาที่ดี พบว่าเมื่อทดสอบไปได้ 30 นาทีนั้น ความสามารถในการดูดน้ำของเม็ดยา สูตรต่างๆ จากการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน การดูดน้ำน้อยมากในเวลา 30 นาที โดยมีการดูด น้ำเข้ามาจาก pipette ได้น้อยกว่า 0.1 ml ในทุกการทดลองและทุกสูตรตำรับ และเมื่อเพิ่มเวลา เป็น 2 ชั่วโมงการดูดน้ำก็เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ที่ การทดลองนี้ไม่สามารถวัดการ ดูดน้ำของเม็ดยาได้ดี (ภาคผนวก 13) จึงไม่สามารถวัดความแตกต่างระหว่างสูตรตำรับได้

Mucoadhesive property study using texture analysis

การทดสอบนี้ทำการศึกษาความสามารถในการยึดเหนี่ยวของยาเม็ดกับลำไส้ โดยใช้ Texture analyzer ทำการเตรียมลำไส้หมูที่ได้มาใหม่ๆ พลิกด้านในของลำไส้ออกมา ล้างด้วย normal saline solution pH 6.8 ในถาด จากนั้นใช้กรรไกรตัดแบ่งชิ้นส่วนของลำไส้ให้มีขนาดใหญ่ กว่าขนาดของ block ของเครื่อง จากนั้นนำไปทดสอบ adhesion ทำการ wet ลำไส้ด้วย normal saline solution ปริมาตร 20 μ l จากนั้นใช้แรงกดลงบนลำไส้ให้นานเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นค่อยๆ ดึงแกนขึ้นอย่างช้าๆ ที่ความเร็วคงที่ วัดแรงยึดเหนี่ยวเปรียบเทียบกับแต่ละสูตร

จากการทดสอบพบความแตกต่าง ของความสามารถในการยึดเกาะกับผนังลำไส้ของ ตำรับยาต่างๆ ดังตาราง 12 และรูปที่ 2 จากการทดลองพบว่าตำรับที่ใช้ 45% Tragacanth มี area under the curve จากการทดสอบสมาที่สูงสุดที่ 110 g.mm ขณะที่ force ที่ใช้ในการดึงเม็ดยา ให้หลุดออกมีค่าสูงสุดที่ประมาณ 53 g เมื่อใช้ HPMC เป็นสารยึดเกาะในปริมาณที่สูงขึ้น จะใช้ แรงมากขึ้นเป็นสัดส่วนกัน พบว่า เมื่อใช้ 45% HPMC เป็นสารควบคุมการปลดปล่อยยา มีแรงยึด

เกาะน้อยที่สุด ขณะที่ เมื่อใช้ 45% HPMC+10%Carbopol นั้น พบว่า ต้องใช้แรงที่มากกว่าการใช้ HPMC เดียวๆ โดยคุณสมบัติของ Carbopol มีส่วนช่วยทำให้การยึดเกาะดีขึ้น (รูปที่ 2 แสดงผลการทดสอบเมื่อใช้ 55% HPMC เป็นสารยึดเกาะ) ขณะที่ผลจากการใช้ 50% HPMC+5% Carbopol ต้องใช้แรงมากที่สุดในการทำให้เม็ดยาหลุดจากผนังลำไส้ที่ประมาณ 60 g force จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ชนิดและปริมาณของ polymer ที่ใช้มีผลต่อการยึดเกาะของเม็ดยาต่อผนังของลำไส้ ซึ่งมีหน้าที่ทำให้การควบคุมการปลดปล่อยยาเป็นไปตามต้องการ โดยอาศัยหลักการของ mucoadhesive property ข้อสังเกตที่ได้คือความสามารถในการยึดเกาะที่ได้จากผลการทดลองนี้ เป็นไปแนวทางเดียวกับการทดสอบโดยใช้ dissolution test apparatus ซึ่งชนิดและสัดส่วนของ polymer ที่ใช้มีผลต่อการยึดเกาะของเม็ดยา ทำให้ต้องใช้แรงดึงมากในตำรับที่ยึดเกาะได้ดี และเมื่อทำการทดสอบข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม ANOVA test และ pair two sample for mean สำหรับการทดสอบ t test ในแต่ละคู่ของตำรับในตารางที่ 12 พบว่า ข้อมูลของ area และ force ที่ใช้ในการทดสอบ mucoadhesion ของตำรับยาที่ทำการศึกษา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p>0.05$ ดังแสดงที่ภาคผนวกที่ 16 และ 17



รูปที่ 2 Mucoadhesive behavior of morphine sulfate tablets using 45% HPMC as bioadhesive polymer using texture analyzer

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบ work of adhesion กับตำรับยาเม็ดที่ใช้ polymer ต่างๆ

สูตรตำรับ	Area (g.mm)	Force (g)
45% HPMC	52.36 ± 9.80	31.81 ± 6.48
55% HPMC	64.84 ± 28.83	42.64 ± 15.52
45% Sodium alginate	85.99 ± 12.28	33.66 ± 8.05
45% Tragacanth	110.71 ± 48.22	52.27 ± 13.63
45% HPMC+10% Carbopol	87.26 ± 22.69	57.88 ± 13.89
50% HPMC+5% Carbopol	64.24 ± 4.95	60.51 ± 12.66

ผลการทดสอบสถิติ ภาคผนวกที่ 16-17

การทดสอบความสามารถในการปลดปล่อยยา

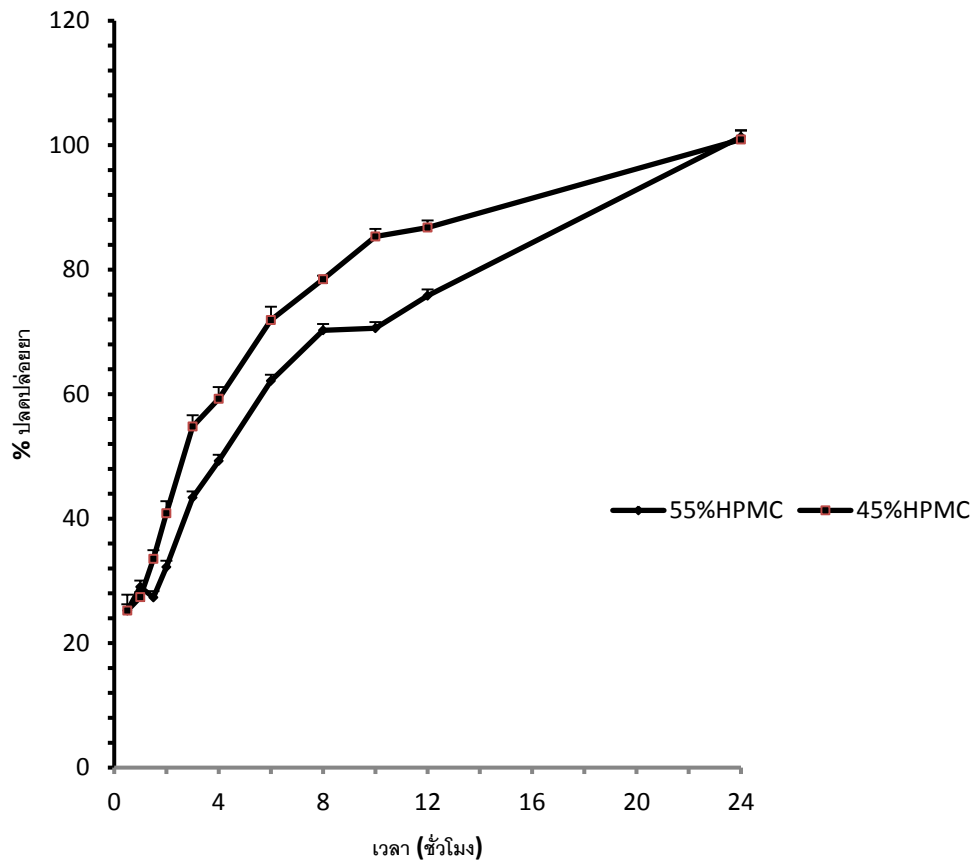
จากการทดสอบการปลดปล่อยยา โดยใช้เครื่อง dissolution test apparatus พบว่า ตำรับที่ใช้ polymer ที่ยึดเกาะลำไส้ได้ดี สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้นานมากขึ้น จากรูปที่ 2-3 เห็นได้ว่า การใช้ HPMC เป็นสารควบคุมการปลดปล่อยนั้น สามารถควบคุมการปลดปล่อยได้ช้าลง เมื่อใช้ปริมาณมากขึ้น เช่นที่ปริมาณ HPMC สัดส่วนร้อยละ 55 ปลดปล่อยยาออกมา ร้อยละ 80 ที่เวลา 18 ชั่วโมง ขณะที่เมื่อใช้ HPMC ร้อยละ 45 มีการปลดปล่อยยาออกมา ร้อยละ 80 ที่เวลาประมาณ 9 ชั่วโมง (รูปที่ 3) การปลดปล่อยยาเมื่อใช้ HPMC ร้อยละ 30 ก็ควบคุมยาให้ละลายออกมาช้ากว่าเมื่อใช้ร้อยละ 20 ในปริมาณที่เห็นได้ว่าแตกต่างกัน (รูปที่ 4) การใช้ Tragacanth เป็นสารควบคุมการปลดปล่อยในปริมาณร้อยละ 45 พบว่าการปลดปล่อยออกมาเร็วทั้งในสารละลายกรดและด่าง โดยมียาละลายออกมา ประมาณร้อยละ 60 เมื่อเวลาผ่านไป 4 ชั่วโมง และมีแนวโน้มคงที่จนถึงเวลา 8 ชั่วโมง และค่อยๆ ปลดปล่อยออกมาอย่างช้าๆ จนหมดในเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง โดยสอดคล้องกับการที่พบว่าเม็ดยามีการยึดเกาะกับผนังลำไส้ได้ดี ขณะที่พบว่าการใช้ sodium alginate นั้น มีการปลดปล่อยยาออกมาเร็วในกรด พอๆกับ Tragacanth และปลดปล่อยออกมาช้าๆ ในสารละลายที่เป็นด่าง (รูปที่ 5) ทั้งนี้เพราะยาเม็ดมีการพองตัวมากขึ้น และ sodium alginate ละลายได้น้อยในสารละลายที่เป็นด่าง ทำให้มอร์ฟินละลายออกมาช้ามาก หลังจาก 2 ชั่วโมงที่อยู่ในสารละลายด่าง ส่วนการปลดปล่อยยาโดยใช้ sodium CMC นั้นพบว่ายาละลายออกมาหมดภายใน 30 นาทีเท่านั้น

ขณะที่พบว่าการใช้ HPMC ร่วมกับ Carbopol นั้น (รูปที่ 6) เม็ดยามีลักษณะที่บวม ยุ่ยมากกว่าเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลดีต่อการทำเป็น mucoadhesive tablet เพราะเมื่อยาปลดปล่อยออกมาหมดแล้ว เม็ดยาก็ควรหลุดออกไป อย่างไรก็ตามก็เป็นที่สนใจว่า การใช้ Carbopol ในปริมาณที่มาก เช่นร้อยละ 10 ทำให้การปลดปล่อยยาออกมาช้ามากในสารละลายด่าง จนเกือบคงที่ หลังจากเวลา 4 ชั่วโมง ขณะที่การใช้ร่วมกับ HPMC ในปริมาณร้อยละ 5 การปลดปล่อยยาออกมาก่อนข้างสม่ำเสมอว่ามากในสารละลายด่าง (รูปที่ 7) ทั้งนี้ในการทดสอบต่อไป อาจปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของ carbopol ในช่วงร้อยละ 5-10 ร่วมกับการปรับเปลี่ยนสัดส่วนของ HPMC อาจทำให้ได้สารผสมที่สามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้ดี และออกมาช้าๆ ในด่าง รวมทั้งเกาะติดกับผนังไม่นานมากเกินไป เนื่องจากชัดเจนว่า หากใช้ HPMC เดียวๆ แม้ว่ายาก็จะปลดปล่อยออกมาจนหมด แต่เม็ดยาที่ไม่มียา อาจยังคงติดอยู่ที่ผนังลำไส้ได้นานเกินไป ซึ่งอาจไม่เป็นผลดีได้ ซึ่งเห็นว่าควรได้รับการพัฒนาต่อไปสำหรับการใช้ HPMC ร่วมกับ Carbopol โดยการหา optimization technique อาจทำให้ได้ตำรับที่สามารถควบคุมการปลดปล่อยได้ 24 ชั่วโมง และสามารถทำให้เม็ดยาหลุดออกในเวลาที่เหมาะสมเมื่อปลดปล่อยยาออกมาหมดแล้ว อย่างไรก็ตาม

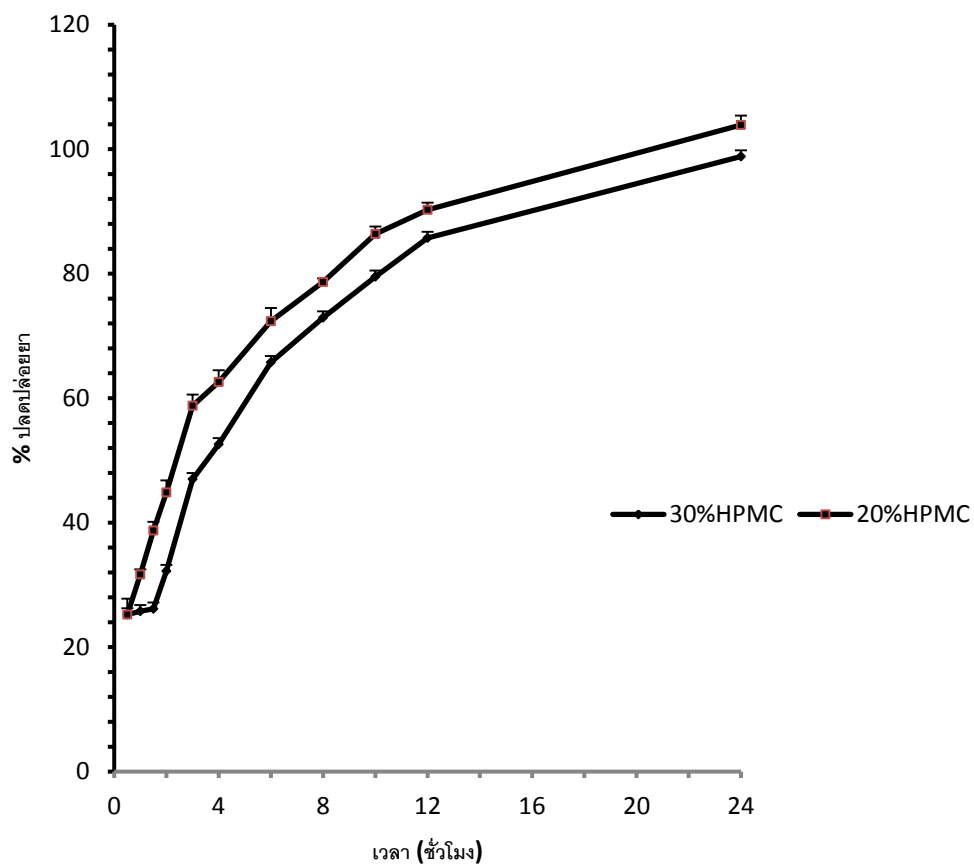
การทดลองนี้เป็นการทดลองในหลอดทดลองเท่านั้น ไม่ใช้การทดลอง in vivo ซึ่งอาจได้ผลการทดลองที่แตกต่างกันได้ก็เป็นได้ ซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป

มีการใช้ polymer ร่วมกันเพื่อควบคุมการปลดปล่อยยา ได้แก่ chitosan และ sodium alginate สำหรับยา diltiazem (Miyazaki et al, 1995) ซึ่งพบว่าสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้ดีทั้งในผลการทดลองในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง โดยมีค่า bioavailability ที่ดี กรณีการใช้ sodium alginate ทำให้เม็ดยาพองเกิดเป็นเจล คล้ายๆกับผลการศึกษานี้ แม้ว่าจะใช้ sodium alginate เดียวๆ ก็ให้ผลการทดลองไปในแนวทางเดียวกัน แสดงให้เห็นว่า การใช้ polymer ร่วมเป็นแนวทางที่ดีที่สามารถช่วยทำให้เม็ดยาเกาะได้ดีและปลดปล่อยยาออกมาได้นาน อย่างไรก็ตามก็ได้มีการศึกษาผลการใช้ polymer เดียว (pectin) ได้ผลดีในการเป็นสารยึดเกาะกับผนังลำไส้ส่วนต่างๆ ได้ อย่างไรก็ตามวิจัยนี้ยังไม่ได้นำเสนอผลการปลดปล่อยยา (Thirawong et al, 2007)

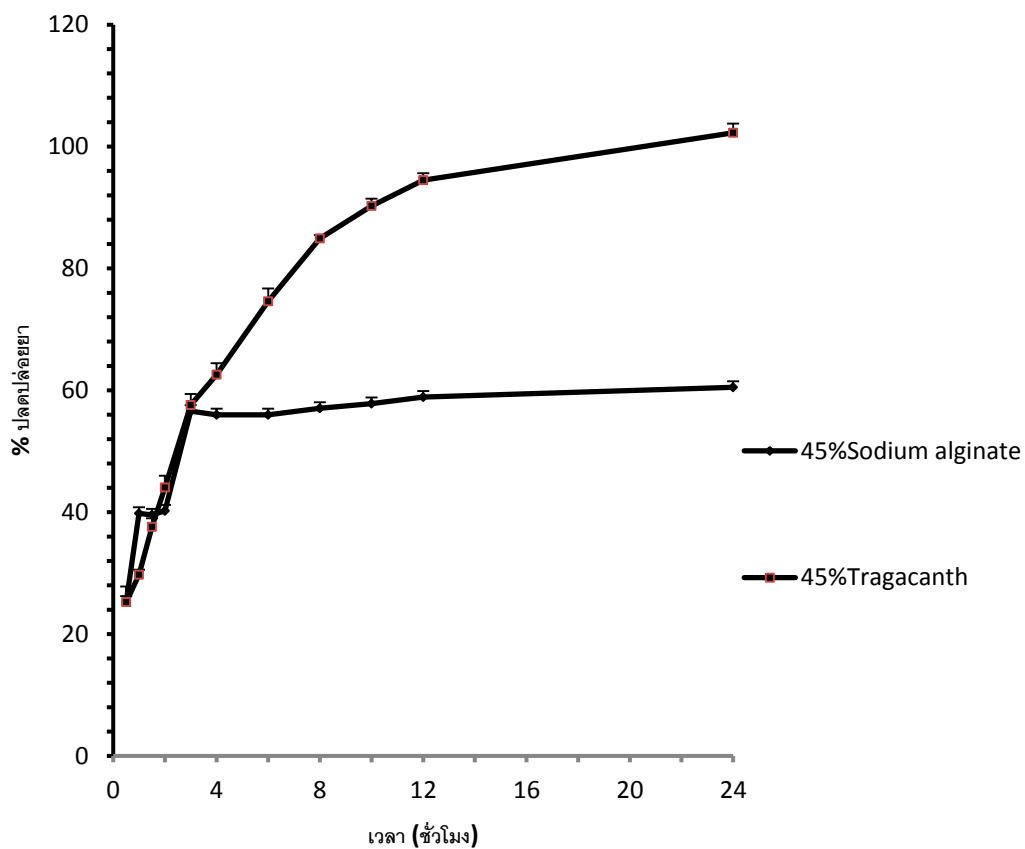
คณะผู้วิจัยของ Bernkop-Schnurch ได้รวบรวมเอกสารข้อมูลที่เป็นประโยชน์ สำหรับการนำสารควบคุมการปลดปล่อยยาเพื่อไปใช้เป็น mucoadhesive polymer (Grabovac et al, 2005) โดยมีปัจจัยที่สำคัญคือ pH ของสารละลายที่ตำรับยานั้นอยู่ ดังนั้นการเลือกใช้ polymer จึงต้องจำเพาะว่าจะนำไปใช้ที่ใดของลำไส้ในร่างกาย เพื่อให้ได้ผลการยึดเกาะที่ดี ซึ่งจะนำมาสู่การปลดปล่อยยาที่ดีได้ด้วยการใช้ copolymer หรือ conjugate polymer ก็เป็นอีกทางเลือกที่ดีเพื่อให้เกิดการประสานการทำหน้าที่ของ polymer ทั้ง 2 ชนิดนั้นๆ โดยงานวิจัยนี้ได้นำเทคนิคการใช้ polymer เดียวและ copolymer โดยใช้ physical mixing ซึ่งเป็นเทคนิคที่ไม่ซับซ้อนและให้ผลที่น่าสนใจว่าสามารถทำได้ดี เช่นกรณีของการใช้ HPMC ร่วมกับ Carbopol เป็นต้น



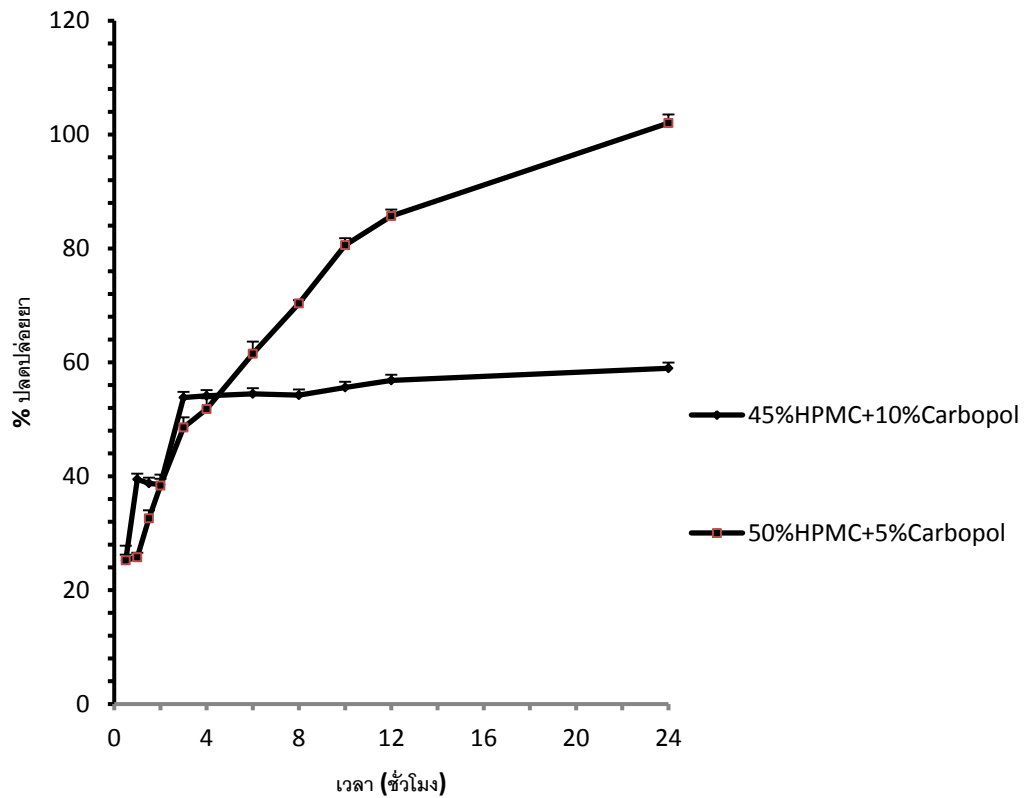
รูปที่ 3 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 55%HPMC+45%HPMC เป็นสารควบคุมการปลดปล่อยยา (n=3)



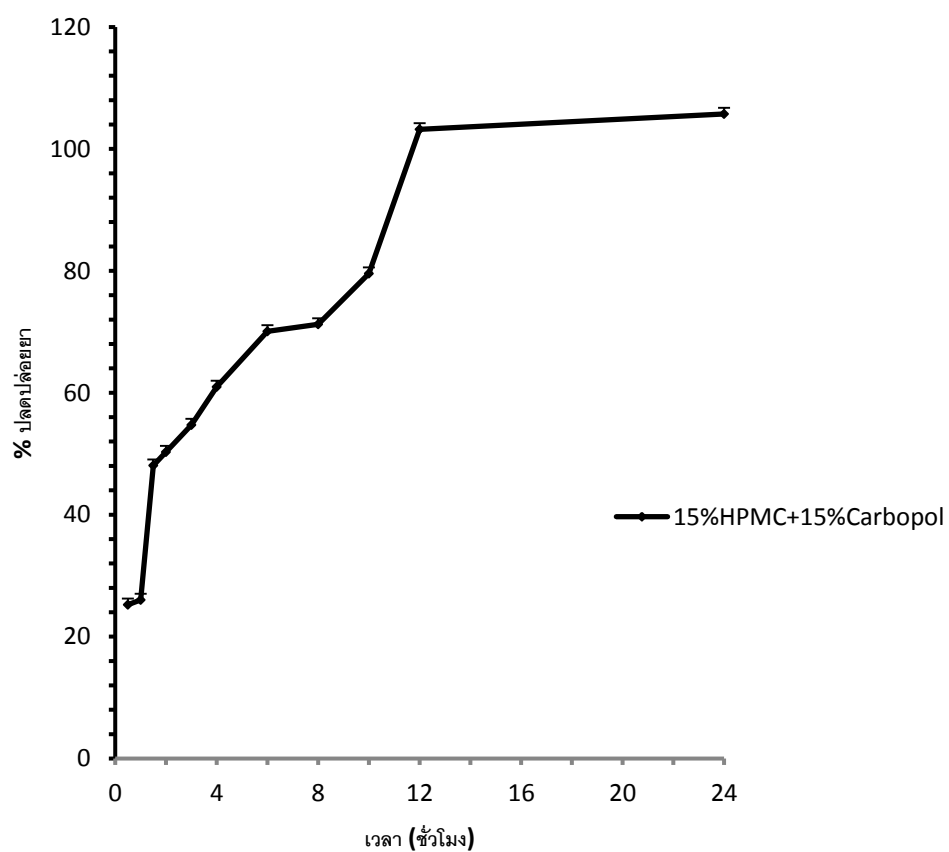
รูปที่ 4 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 30%HPMC และ 20% HPMC เป็นสารควบคุมการปลดปล่อยยา (n=3)



รูปที่ 5 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 45% Sodium alginate และ 45% Tragacanth เป็นสารควบคุมการปลดปล่อยยา (n=3)



รูปที่ 6 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 45%HPMC+10%Carbopol และ 50%HPMC+5%Carbopol เป็นสารควบคุมการปลดปล่อยยา (n=3)



รูปที่ 7 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 15%HPMC + 15% Carbopol เป็นสารควบคุมการปลดปล่อยยา (n=3)

Mucoadhesive and drug release study

การศึกษาเรื่องความสามารถในการยึดติดกับผนังของลำไส้หนู โดยประยุกต์จากหลักการของ Chavanpatil และคณะ (2006) และ Albrecht และคณะ (2006) โดยการนำลำไส้เล็กของหนูมายึดติดกับ plastic tube ที่ดัดแปลงเพื่อรองรับการทดสอบ ใส่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37°C แล้วบีบสารละลาย 0.1 M phosphate buffer pH 6.5 ซึ่งคล้ายกับ intestinal fluids โดยให้มีการไหลที่ 1 ml/min เป็นเวลาประมาณ 15 นาทีก่อนการทดลอง จากนั้นนำยาเม็ดที่ได้มาทำการติดที่ผนังลำไส้หนู แล้วทำการทดสอบการเกาะติดของเม็ดยา และการละลายของยาที่เวลาต่างๆ พบว่าการทดลองนี้ ไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากเมื่อทำการทดสอบกับตำรับยาที่ผ่านการทดสอบการปลดปล่อยยาและการยึดเกาะติดกับผนังลำไส้หนู ได้แกสตรดาร์บที่ใช้ 45% HPMC, 45% Tragacanth, 45% Sodium alginate พบว่าเมื่อนำสารละลายที่ได้ที่เวลาต่างๆ นำไปฉีดวิเคราะห์หาปริมาณด้วย HPLC นั้นไม่สามารถหาปริมาณตัวยาได้ เมื่อถึงที่เวลา 6 ชั่วโมง จึงได้หยุดการทดลอง ที่ไม่สามารถบรรลุการทดสอบนี้ได้อาจเนื่องมาจาก condition ของการทดลองที่อาจยังไม่เหมาะสม หรืออัตราการไหลของสารละลายอาจจะยังไม่มากพอ นอกจากนี้อาจเป็นไปได้ที่เครื่องมือที่ประยุกต์ใช้นี้ ไม่ตรงกับที่ผู้วิจัยอื่นได้ทำการศึกษา ทั้งนี้ อาจต้องทำการศึกษาในคราวต่อไป ซึ่งอาจต้องมีเครื่องมือที่เหมาะสม

บทที่ 4

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยนำร่อง เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการควบคุมการปลดปล่อยยา มอร์ฟีน ในลำไส้หนู เพื่อพัฒนาเป็นยาเม็ดออกฤทธิ์นาน 24 ชั่วโมง โดยปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ชนิด และปริมาณของ polymer เป็นสำคัญที่นำมาใช้ในการเตรียมยาเม็ด โดยทดสอบการยึดเกาะกับ ลำไส้หนู และความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยยาออกมาในตัวอย่างที่เป็นกรดและด่าง ซึ่งผลการวิจัยพบว่า ชนิดและปริมาณของ polymer มีผลต่อการยึดเกาะกับลำไส้หนูและการ ปลดปล่อยยาอย่างชัดเจน โดยพบว่า polymer ที่สามารถยึดเกาะได้ดีและควบคุมการปลดปล่อย ได้นานคือ HPMC E4M ที่ปริมาณตั้งแต่ร้อยละ 30 เป็นต้นไป tragacant และ sodium alginate ในสัดส่วนร้อยละ 45 ส่วน polymer ที่ไม่สามารถแสดงคุณสมบัติที่ต้องการได้เลยคือ Carbopol, 940, sodium CMC, Veegum, Chitosan (L,H Molecular Weight) และ Ethylcellulose ผลจากการศึกษาทำให้ได้ชนิดของ polymer ที่จะนำไปศึกษาต่อไป เพื่อเลือกสารช่วยที่เหมาะสม รวมทั้งการทดสอบการยึดเกาะและการปลดปล่อยต่อไป ในส่วนของผลการใช้ HPMC พบว่าเมื่อ เพิ่มสัดส่วนของปริมาณมากขึ้น ยาถูกปลดปล่อยออกมาลดลงตามสัดส่วนของ polymer ที่เพิ่มขึ้น การยึดเกาะกับผนังลำไส้ดีมาก จนไม่พบว่ายามีหลุดออกจากผนังลำไส้เลยตลอดระยะเวลาที่ ทดสอบ

อย่างไรก็ดีพบว่า การใช้ HPMC ร่วมกับ Carbopol ในสัดส่วนที่เหมาะสม ทำให้สามารถ ควบคุมการปลดปล่อยยาได้ดีและนานถึง 24 ชั่วโมง และการยึดเกาะกับผนังลำไส้ก็เป็นไปได้ดี โดยมีการยึดเกาะได้นาน แต่มีโอกาสที่จะหลุดออกได้ดีกว่าการใช้ HPMC อย่างเดียว ซึ่งผลการ ทดลองนี้ทำให้เป็นผลการทดลองที่น่าจะนำไปศึกษาต่อไป เพื่อนำไปพัฒนาการตั้งตำรับยาเม็ด มอร์ฟีนออกฤทธิ์นานที่เป็น mucoadhesive tablets ที่สามารถควบคุมการปลดปล่อยได้คงที่ เป็น zero order release และ เมื่อยาหลุดออกมาจากผนังลำไส้เมื่อปลดปล่อยยาออกหมดแล้ว

ข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยขั้นต่อไปคือ

1. ศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของ polymer และ สารช่วยในตำรับ ที่อาจมีผลต่อการยึดเกาะ และการปลดปล่อยยา โดยเฉพาะการใช้ HPMC E4M ร่วมกับ Carbopol 940
2. ศึกษาผลการใช้ polymer ร่วมให้หลากหลายมากขึ้น และการ modify polymer เพื่อ ควบคุมการปลดปล่อยยา
3. ศึกษาเวลาของการยึดเกาะในลำไส้ที่เหมาะสมกับการปลดปล่อยยาในสัตว์ทดลอง เพื่อให้ ได้ระดับยาที่ต้องการใน 24 ชั่วโมง

เอกสารอ้างอิง

เดชพล ปรีชากุล วิโรจน์ สุ่มใหญ่ พจน์ กุลวานิช สุวัฒนา จุฬารัตนพัฒน์ ธเนศ พงศ์จรรยากุล
วิวรรณ์ อุษายภิชาติ ธาณี เทศศิริ ศิริกุล อำพนธ์ ขนิษฐา ตันติศิริรินทร์. รายงานการวิจัยการพัฒนา
ตำรับยาเม็ดมอร์ฟีนออกฤทธิ์นาน: การตั้งตำรับยาและการประเมินชีวสมมูล 2549

Albrecht K, Zim EJ, Palmberger TF, Schlocker W, Bernkop-Schnürch A. (2006).
Preparation of thiomers microparticles and in vitro evaluation of parameters influencing
their mucoadhesive properties. *Drug Dev Ind Pharm* 32, 1149-1157.

Bloomfield SS, Cissell G.B, Mitchell J, Barden TP, Kaiko RF, Fitzmartin RD, Grandy RP,
Komorowski J, Goldenheim PD. (1993). Analgesic efficacy and potency of two oral
controlled-release morphine preparations. *Clin Pharmacol Ther* 53, 469-478.

Brescia FJ, Walsh M, Savarese JJ, Kaiko RF. (1987). A study of controlled-release oral
morphine (MS Contin) in an advanced cancer hospital. *J Pain Symptom Manage* 2, 193-
198.

Bruguerolle B and Labrecque G. (2007). Rhythmic pattern in pain and their
chronotherapy. *Adv Drug Deliv Rev* 59, (9-10), 883-895.

Chavanpatil MD, Jain P, Chaudhari S, Shear R, Vavia PR. (2006). Novel sustained
release, swellable and bioadhesive gastroretentive drug delivery system for ofloxacin.
Int J Pharm 316(1-2), 86-92.

Forman WB, Portenoy R.K, Yanagihara RH, Hunt C, Kush R, Shepard,K. (1993). A novel
morphine sulphate preparation: clinical trial of a controlled-release morphine in cancer
pain. *Palliative Med* 7, 301-306.

Gourlay GK, Cherry DA and Cousins MJ. (1986). A comparative study of the efficacy and pharmacokinetics of oral methadone and morphine in the treatment of severe pain in patients with cancer. *Pain* 25, 297-312.

Grabovac V, Gugli D, Bernkop-Schnürch A. (2005). Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(11) 1713-1723.

Gourlay GK, Cherry DA, Onley MM, Tordoff SG, Conn DA, Hood GM, Plummer JL 1997. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of twenty-four-hourly Kapanol compared to twelve-hourly MS Contin in the treatment of severe cancer pain. *Pain* 69, 295–302.

Marschütz MK and Bernkop-Schnürch A (2002). Thiolated polymers: self-crosslinking properties of thiolated 450 kDa poly(acrylic acid) and their influence on mucoadhesion *Eur J Pharm Sci*, 15(4) 387-394.

McQuinn RL, Kvam DC, Maser MJ, Miller AL and Oliver S (1995). Sustained oral mucosal delivery in human volunteers of buprenorphine from a thin non-eroding mucoadhesive polymeric disk. *J Controlled Release*, 34(3), 243-250.

Miyazaki S, Nakayama A, Oda M, Takada M, Attwood D. (1995). Drug release from oral mucosal adhesive tablets of chitosan and sodium alginate. *Int J Pharm* 118(2), 257-263.

Preechagoon D, Sumyai V, Tontisirin K, Aumpon S and Pongjanyakul T. (2006). Formulation Development and Stability Testing of Oral Morphine Solution Utilizing Preformulation Approach. *J Pharm Pharmaceut Sci* 8(2), 362-369.

Takahashi Y, Takeda C, Seto I, Kawanob G, Machida Y. (2007). Formulation and evaluation of lactoferrin bioadhesive tablets. *Int J Pharm* 343, 220–227.

Thirawong N, Nunthanid J, Puttipipatkachorn S, Srimornsak P. (2007). Mucoadhesive properties of various pectins on gastrointestinal mucosa: An in vitro evaluation using texture analyzer. *Eur J Pharm Biopharm*, 67(1), 132-140.

Vermeire AV and Remon JP. (1999). Stability and compatibility of morphine. *Int J Pharm* 187, 17-51.

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1 morphine Standard curve ในสารละลาย acid and basic media

HCl pH 2		Phosphate buffer pH 6.8	
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Area under the curve	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Area under the curve
1	10.175	1	10.775
2	19.864	2	20.816
10	96.851	10	100.579
50	477.788	50	496.162
100	957.148	100	1006.72
150	1443.088	150	1510.866
200	1917.523	200	1995.942
250	2402.552	250	2503.802

ภาคผนวก 2 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 45% HPMC + 10% Carbopol

45% HPMC + 10% Carbopol								
เวลา(hr)	Area S1	Area S2	Area S3	% S1	% S2	% S3	%mean	SD
0.5	81.52	76.36	80.51	28.16	23.41	24.15	25.24	2.56
1	82.93	85.82	82.52	39.16	40.37	38.84	39.46	0.81
1.5	83.43	78.89	84.38	39.40	37.14	39.71	38.75	1.40
2	85.58	77.65	82.14	40.40	36.55	38.67	38.54	1.93
3	32.04	32.46	33.78	55.18	51.76	54.50	53.81	1.81
4	32.67	32.82	34.46	55.53	52.00	54.88	54.14	1.88
6	34.12	32.99	34.95	56.18	52.08	55.11	54.46	2.13
8	31.21	37.29	32.02	54.88	54.10	53.74	54.24	0.58
10	35.55	40.44	33.44	56.82	55.58	54.40	55.60	1.21
12	36.80	44.66	35.78	57.39	57.56	55.50	56.82	1.14
24	40.70	50.66	39.78	59.15	60.38	57.38	58.97	1.51

ภาคผนวก 3 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 45 % Sodium alginate

45 % Sodium alginate								
เวลา(hr.)	Area S1	Area S2	Area S3	% S1	% S2	% S3	%mean	SD
0.5	76.75	79.14	83.22	28.16	23.41	24.15	25.24	2.56
1	85.33	82.15	86.08	40.27	38.66	40.51	39.81	1.01
1.5	87.22	80.34	84.30	41.18	37.82	39.68	39.56	1.68
2	87.63	83.79	84.65	41.37	39.43	39.84	40.22	1.02
3	36.15	33.57	35.70	58.00	55.16	56.58	56.58	1.42
4	31.32	34.38	35.31	55.90	55.61	56.46	55.99	0.44
6	32.70	35.03	33.29	56.51	55.92	55.52	55.98	0.50
8	32.99	36.82	38.09	56.64	56.76	57.76	57.05	0.62
10	33.45	38.88	40.44	56.85	57.73	58.87	57.82	1.01
12	35.50	40.60	43.56	57.77	58.54	60.34	58.88	1.32
24	37.70	44.44	47.88	58.77	60.34	62.37	60.49	1.81

ภาคผนวก 5 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 50%HPMC+5% Carbopol

50%HPMC+5% Carbopol								
เวลา(hr.)	Area S1	Area S2	Area S3	% S1	% S2	% S3	%mean	SD
0.5	41.22	43.60	45.62	28.16	23.41	24.15	25.24	2.56
1	52.70	51.31	60.02	24.91	24.13	28.22	25.75	2.17
1.5	67.52	64.93	75.30	31.88	30.53	35.41	32.61	2.52
2	81.80	75.25	87.32	38.60	35.40	41.07	38.36	2.85
3	21.75	20.38	23.21	48.75	44.95	51.95	48.55	3.51
4	29.16	27.17	29.86	52.13	48.17	55.11	51.80	3.48
6	47.40	48.00	53.60	60.34	57.95	66.25	61.51	4.28
8	65.03	69.04	71.88	68.30	67.85	74.87	70.34	3.93
10	80.51	97.03	94.38	75.29	81.01	85.45	80.58	5.09
12	76.30	81.61	82.28	73.43	73.84	79.83	75.70	3.58
24	148.14	153.35	148.76	105.72	107.42	110.95	108.03	2.67

ภาคผนวก 6 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 45 % Tragacanth

45 % Tragacanth								
เวลา(hr.)	Area S1	Area S2	Area S3	% S1	% S2	% S3	%mean	SD
0.5	47.98	47.59	45.94	28.16	23.41	24.15	25.24	2.56
1	65.74	62.62	61.16	31.03	29.44	28.76	29.74	1.17
1.5	83.73	78.20	77.68	39.50	36.78	36.53	37.60	1.65
2	96.78	90.45	93.46	45.65	42.55	43.96	44.05	1.56
3	29.94	28.26	28.93	59.49	55.79	57.51	57.60	1.85
4	40.31	37.91	40.83	64.21	60.37	63.15	62.57	1.98
6	67.16	63.36	66.47	76.29	72.31	75.19	74.60	2.06
8	82.68	88.15	92.46	83.33	83.99	87.42	84.91	2.20
10	94.31	98.20	105.13	88.58	88.74	93.41	90.25	2.74
12	101.88	108.77	114.27	92.01	93.72	97.72	94.48	2.93
24	115.70	122.54	136.97	98.23	100.20	108.38	102.27	5.38

ภาคผนวก 7 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 30% Tragacanth

30% Tragacanth								
เวลา(hr.)	Area S1	Area S2	Area S3	% S1	% S2	% S3	%mean	SD
0.5	57.97	62.62	55.90	28.16	23.41	24.15	25.24	2.56
1	84.17	81.30	73.13	39.69	38.23	34.38	37.43	2.74
1.5	86.88	94.29	88.24	41.02	44.35	41.50	42.29	1.80
2	100.69	109.82	102.57	47.49	51.66	48.25	49.13	2.22
3	30.81	32.76	27.05	61.71	67.01	60.92	63.22	3.31
4	36.18	40.10	36.04	64.19	70.52	65.19	66.63	3.40
6	58.80	63.59	57.18	74.37	81.54	75.12	77.01	3.94
8	75.95	78.24	68.66	82.12	88.45	80.54	83.71	4.19
10	89.49	90.89	80.27	88.24	94.41	86.00	89.55	4.35
12	100.54	99.43	91.00	93.23	98.44	91.06	94.24	3.79
24	115.75	112.58	101.25	100.10	104.62	95.88	100.20	4.37

ภาคผนวก 8 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 30% HPMC

30% HPMC								
เวลา(hr.)	Area S1	Area S2	Area S3	% S1	% S2	% S3	%mean	SD
0.5	37.91	41.04	39.45	28.16	23.41	24.15	25.24	2.56
1	42.48	43.74	45.88	20.11	20.58	21.58	20.76	0.75
1.5	53.58	56.42	56.63	25.33	26.53	26.63	26.16	0.73
2	66.79	68.57	69.87	31.54	32.25	32.86	32.22	0.66
3	32.94	29.50	32.57	46.72	46.07	48.12	46.97	1.05
4	45.60	42.96	42.52	52.48	52.44	52.85	52.59	0.23
6	74.16	71.04	71.23	65.34	65.63	66.33	65.76	0.51
8	89.31	85.92	87.37	72.21	72.66	73.95	72.94	0.90
10	103.67	99.57	101.80	78.69	79.08	80.74	79.51	1.09
12	78.31	63.54	73.81	67.32	62.23	67.66	65.74	3.04
24	147.37	139.99	143.33	98.31	97.98	100.18	98.82	1.18

ภาคผนวก 9 Dissolution profile ของยาเม็ดมอร์ฟีนที่ใช้ 45% HPMC

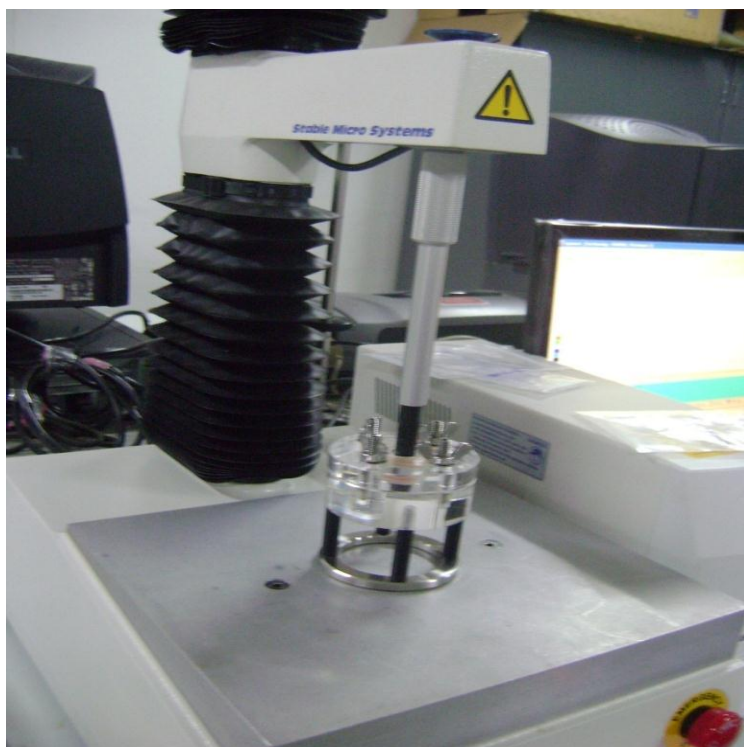
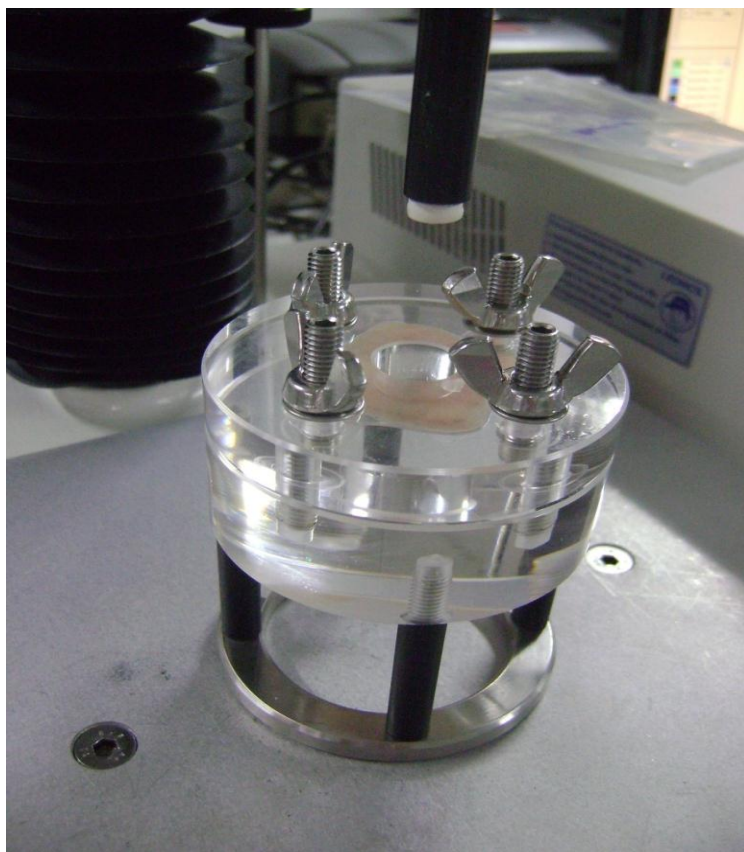
45% HPMC								
เวลา(hr.)	Area S1	Area S2	Area S3	% S1	% S2	% S3	%mean	SD
0.5	44.74	48.47	43.22	28.16	23.41	24.15	25.24	2.56
1	60.61	59.97	53.85	28.62	28.20	25.33	27.38	1.80
1.5	70.74	74.13	68.74	33.41	34.86	32.32	33.53	1.27
2	87.98	89.82	82.63	41.50	42.25	38.87	40.87	1.78
3	30.12	30.67	28.79	55.42	56.62	52.36	54.80	2.20
4	39.90	38.91	39.35	59.87	60.54	57.36	59.26	1.68
6	68.68	63.05	68.48	72.83	71.87	71.04	71.91	0.90
8	82.09	80.61	79.64	78.91	80.15	76.33	78.46	1.95
10	99.79	94.82	92.26	86.90	86.85	82.27	85.34	2.66
12	100.71	103.03	92.09	87.35	90.72	82.21	86.76	4.29
24	127.02	130.27	130.18	99.17	103.50	100.06	100.91	2.29

ภาคผนวก 4 Dissolution profile ของยาเม็ดที่ใช้ 55 % HPMC

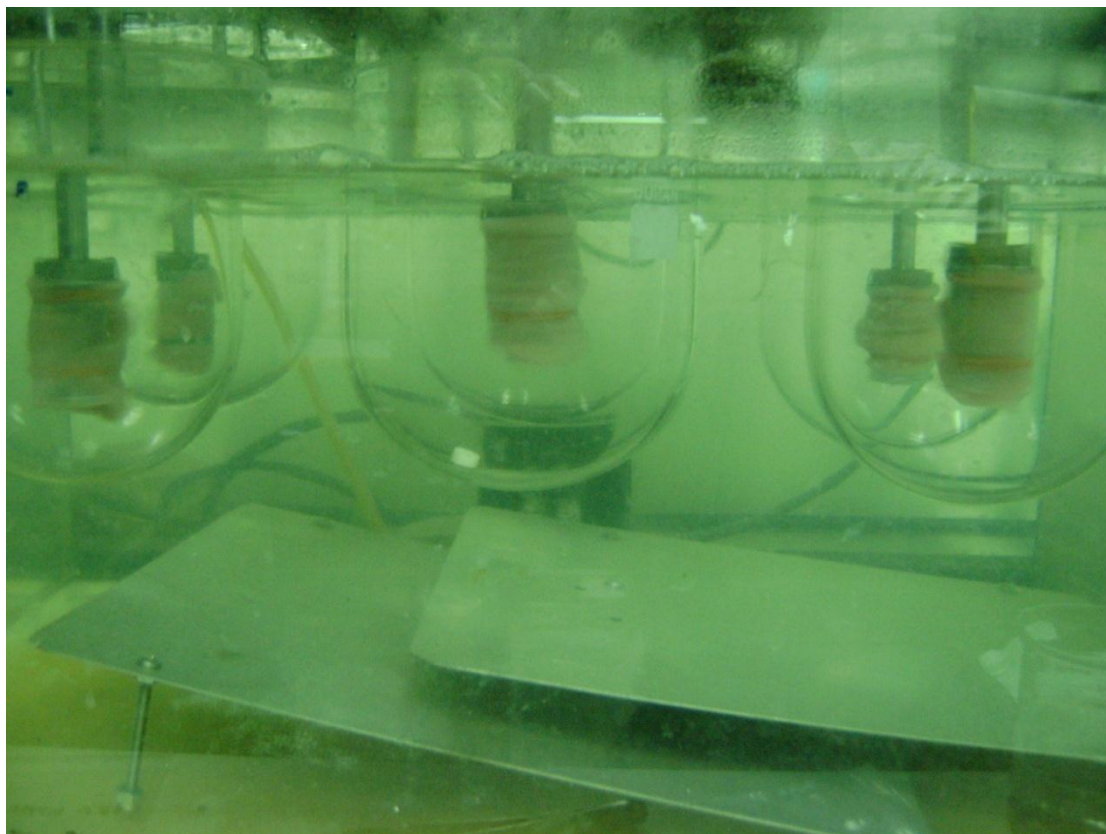
55 % HPMC								
เวลา(hr.)	Area S1	Area S2	Area S3	% S1	% S2	% S3	%mean	SD
0.5	31.99	30.29	31.66	28.16	23.41	24.15	25.24	2.56
1	43.77	45.18	45.08	20.71	21.24	21.19	21.04	0.29
1.5	58.56	58.28	57.34	27.66	27.40	26.96	27.34	0.35
2	67.53	68.90	68.89	31.89	32.41	32.40	32.24	0.30
3	27.17	23.61	20.91	44.48	43.47	42.20	43.38	1.14
4	38.82	37.37	33.27	49.77	49.97	48.04	49.26	1.06
6	65.45	65.94	61.35	61.77	63.39	61.22	62.13	1.13
8	84.99	81.20	79.07	70.60	70.60	69.58	70.26	0.59
10	107.99	76.88	63.16	80.98	68.60	62.17	70.58	9.56
12	92.50	92.36	96.05	74.06	75.85	77.54	75.82	1.74
24	150.45	146.26	149.83	100.08	101.14	102.81	101.34	1.38



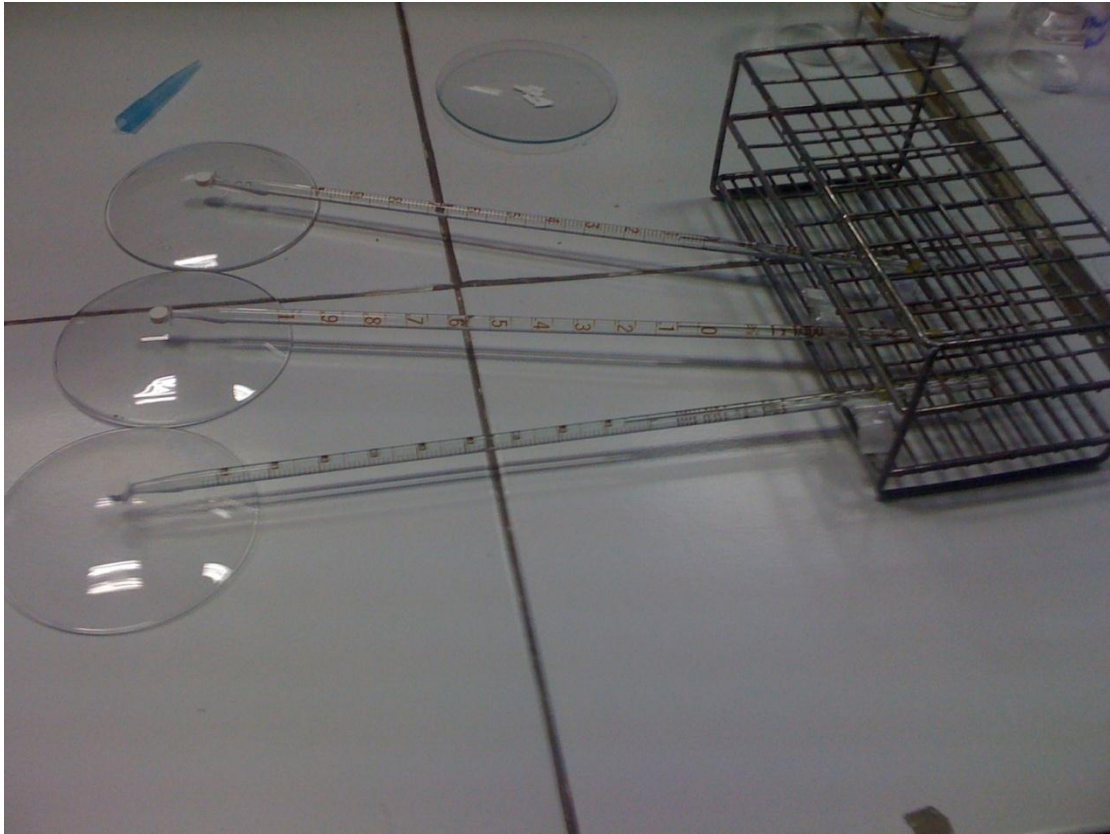
ภาคผนวก 10 การเตรียมลำไส้หนูเพื่อใช้ในการทดสอบ



ภาคผนวก 11 การทดสอบ adhesion ของเม็ดยาด้วยเครื่อง texture analyzer



ภาคผนวก 12 การทดสอบการยิดเกาะเม็ดยากับลำไส้โดยใช้เครื่อง dissolution apparatus



ภาคผนวก 13 การทดสอบ water uptake ของยาเม็ดมอร์ฟิน



ภาคผนวก 14 การทดสอบ Mucoadhesive and drug release study ของยาเม็ดมอร์ฟิน

ภาคผนวก 15 ผลการทดสอบ work of adhesion

Test ID	Area F-D 1:2 g.mm	Force 1 g
Area F-D 1:2	Force 1	
Start Batch testsample_		
testsample_1	76.38	36.355
End Batch testsample_		
Start Batch 45%HPMC_Lowchi_		
45%HPMC_Lowchi_1	40.169	34.9
45%HPMC_Lowchi_2	60.929	29.632
45%HPMC_Lowchi_3	43.212	23.203
45%HPMC_Lowchi_4	58.892	30.648
45%HPMC_Lowchi_5	58.599	40.664
avearge	52.3602	31.8094
sd	9.840	6.483
End Batch 45%HPMC_Lowchi_		
Start Batch 45%sodiumalginate_		
45%sodiumalginate_1	99.013	46.62
45%sodiumalginate_2	66.521	31.347
45%sodiumalginate_3	92.895	35.667
45%sodiumalginate_4	83.914	26.406
45%sodiumalginate_5	87.587	28.268
45%sodiumalginate_6		85.581
45%sodiumalginate_7		
average	85.986	33.6616
sd	12.28	8.05
End Batch 45%sodiumalginate_		
Start Batch 45%HPMC_Chi_		
45%HPMC_Chi_6	40.419	24.5
45%HPMC_Chi_7	48.061	36.445
End Batch 45%HPMC_Chi_		
Start Batch 45%HPMC_10%Carbopol_		
45%HPMC_10%Carbopol_1	108.077	43.022
45%HPMC_10%Carbopol_2	76.606	56.467
45%HPMC_10%Carbopol_3	76.913	62.592
45%HPMC_10%Carbopol_4	60.846	48.504
45%HPMC_10%Carbopol_5	113.884	78.835
average	87.2652	57.884
sd	22.696	13.892
End Batch 45%HPMC_10%Carbopol_		
Start Batch 45%HPMC_		
45%HPMC_1	130.734	39.547
45%HPMC_2	68.885	63.1
45%HPMC_3	68.738	57.054
45%HPMC_4		66.484
45%HPMC_5	48.399	48.165
45%HPMC_6	28.704	16.886
45%HPMC_7	20.205	17.89
45%HPMC_9	129.452	45.086
average	70.731	44.2765

sd	44.486	18.881
End Batch 45%HPMC_		
Start Batch 55%HPMC_		
55%HPMC_1	63.499	62.784
55%HPMC_2	48.089	28.155
55%HPMC_3	44.29	25.786
55%HPMC_4	54.817	49.203
55%HPMC_5	113.491	47.263
55%HPMC_6	74.401	70.533
55%HPMC_7	151.993	44.026
average	78.6543	46.8214
sd	39.8399	16.4400
End Batch 55%HPMC_		
Start Batch 50%HPMC_5%Carbopol_		
50%HPMC_5%Carbopol_1	69.855	57.798
50%HPMC_5%Carbopol_2	60.53	53.422
50%HPMC_5%Carbopol_3	57.772	55.847
50%HPMC_5%Carbopol_4	67.015	52.632
50%HPMC_5%Carbopol_5		82.874
50%HPMC_5%Carbopol_6		42.548
average	63.793	54.92475
sd	5.598	2.354
End Batch 50%HPMC_5%Carbopol_		
Start Batch 45%Targacanth_		
45%Targacanth_1		42.334
45%Targacanth_4	72.643	33.253
45%Targacanth_3	158.671	63.258
45%Targacanth_2	108.352	61.78
45%Targacanth_5	159.452	60.731
45%Targacanth_6	54.394	45.041
45%Targacanth_7	138.399	56.625
average	115.3185	53.448
sd	44.590	11.894
End Batch 45%Targacanth_		
Start Batch 50%HPMC_5%carbopol_		
50%HPMC_5%carbopol_6		36.118
End Batch 50%HPMC_5%carbopol_		
End of Test Data		

ภาคผนวก 16 ผลการทดสอบสถิติ mucoadhesive analysis (Area)

45%HPMC

45%alginate

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	52.3602	85.986
Variance	96.83157	150.7949
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.81174	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-3.56912	
P(T<=t) one-tail	0.011697	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.023394	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC_10%Carbopol_1

45HPMC

t-Test: Paired Two Sample for Means

45%HPMC

45%HPMC+10%carbopol

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	52.3602	87.2652
Variance	96.83157	515.1131
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.28751	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-2.86846	
P(T<=t) one-tail	0.02277	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.045539	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC

55%HPMC

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	52.3602	64.8372
Variance	96.83157	793.0193
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.269627	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-1.02531	
P(T<=t) one-tail	0.18159	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.363171	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC

50%HPMC+5%carbopol

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	52.3602	64.2374
Variance	96.83157	24.49464
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.06095	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-2.35422	
P(T<=t) one-tail	0.039077	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.078154	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC

45%tragacanth

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	52.3602	110.7024
Variance	96.83157	2325.547
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.454996	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-2.92402	
P(T<=t) one-tail	0.021535	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.04307	
t Critical two-tail	2.776445	

45%alginate

45%HPMC+10%carbopol

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	85.986	87.2652
Variance	150.7949	515.1131
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.452477	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-0.14063	
P(T<=t) one-tail	0.447479	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.894958	
t Critical two-tail	2.776445	

45%alginate

55%HPMC

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	85.986	64.8372
Variance	150.7949	793.0193
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.191773	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	1.660397	
P(T<=t) one-tail	0.086086	
t Critical one-tail	2.131847	

P(T<=t) two-tail	0.172172
t Critical two-tail	2.776445

45%alginate
 50%HPMC+5%carbopol
 t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	85.986	64.2374
Variance	150.7949	24.49464
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.402161	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	4.325455	
P(T<=t) one-tail	0.006197	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.012394	
t Critical two-tail	2.776445	

45%alginate
 45%tragacanth
 t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	85.986	110.7024
Variance	150.7949	2325.547
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.69105	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-0.96284	
P(T<=t) one-tail	0.195075	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.390151	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC+10%carbopol

55%HPMC

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	64.8372	64.2374
Variance	793.0193	24.49464
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.441399	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	0.050894	
P(T<=t) one-tail	0.480925	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.96185	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC+10%carbopol

50%HPMC+5%carbopol

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	64.8372	110.7024
Variance	793.0193	2325.547
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.7239	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-1.43825	
P(T<=t) one-tail	0.111874	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.223748	
t Critical two-tail	2.776445	

50%HPMC+5%carbopol

45%tragacanth

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	64.2374	110.7024
Variance	24.49464	2325.547
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.35733	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-2.06947	
P(T<=t) one-tail	0.053648	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.107295	
t Critical two-tail	2.776445	

ภาคผนวก 17 ผลการทดสอบสถิติ

muoadhesive analysis (Force)

45%HPMC

45%alginate

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	31.8094	33.6616
Variance	42.02895	64.75845
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.05512	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-0.39041	
P(T<=t) one-tail	0.358066	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.716132	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC_10%Carbopol_1

45HPMC

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable</i> <i>1</i>	<i>Variable</i> <i>2</i>
Mean	31.8094	57.884
Variance	42.02895	192.9952
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.313781	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-4.36394	
P(T<=t) one-tail	0.006012	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.012025	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC

45%HPMC+10%carbopol

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	31.8094	42.6382
Variance	42.02895	241.0246
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.676023	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-1.99732	
P(T<=t) one-tail	0.058236	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.116473	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC

55%HPMC

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	31.8094	60.5146
Variance	42.02895	160.3874
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.774506	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-7.39993	
P(T<=t) one-tail	0.000889	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.001779	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC

50%HPMC+5%carbopol

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	31.8094	52.2712
Variance	42.02895	185.7838
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.05657	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-2.96698	
P(T<=t) one-tail	0.020634	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.041268	

t Critical two-tail 2.776445

45%alginate

45%HPMC+10%carbopol

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	33.6616	57.884
Variance	64.75845	192.9952
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.50273	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-2.81519	
P(T<=t) one-tail	0.024031	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.048062	
t Critical two-tail	2.776445	

45%alginate

55%HPMC

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	33.6616	42.6382
Variance	64.75845	241.0246
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.376618	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-1.37962	
P(T<=t) one-tail	0.119905	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.23981	
t Critical two-tail	2.776445	

45%alginate

50%HPMC+5%carbopol

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	33.6616	60.5146
Variance	64.75845	160.3874
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.22458	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-3.64801	
P(T<=t) one-tail	0.010905	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.02181	

t Critical two-tail 2.776445

45%alginate

45%tragacanth

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	33.6616	52.2712
Variance	64.75845	185.7838
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.4042	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-2.25937	
P(T<=t) one-tail	0.043371	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.086741	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC+10%carbopol

55%HPMC

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	57.884	42.6382
Variance	192.9952	241.0246
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.3743	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	1.397024	
P(T<=t) one-tail	0.117463	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.234926	
t Critical two-tail	2.776445	

45%HPMC+10%carbopol

50%HPMC+5%carbopol

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	57.884	60.5146
Variance	192.9952	160.3874
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.81114	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-0.71352	
P(T<=t) one-tail	0.257473	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.514946	

t Critical two-tail 2.776445

45%HPMC+10%carbopol

45%tragacanth

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	57.884	52.2712
Variance	192.9952	185.7838
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.415106	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	0.843151	
P(T<=t) one-tail	0.223306	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.446612	
t Critical two-tail	2.776445	

55%HPMC

50%HPMC+5%carbopol

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	42.6382	52.2712
Variance	241.0246	185.7838
Observations	5	5
Pearson Correlation	-0.00987	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-1.03757	
P(T<=t) one-tail	0.179037	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.358074	
t Critical two-tail	2.776445	

50%HPMC

45%tragacanth

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	60.5146	52.2712
Variance	160.3874	185.7838
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.325578	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	1.205585	
P(T<=t) one-tail	0.147208	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.294416	
t Critical two-tail	2.776445	

50%HPMC+5%carbopol

45%tragacanth

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	42.6382	60.5146
Variance	241.0246	160.3874
Observations	5	5
Pearson Correlation	0.226731	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	4	
t Stat	-2.26209	
P(T<=t) one-tail	0.04324	
t Critical one-tail	2.131847	
P(T<=t) two-tail	0.08648	
t Critical two-tail	2.776445	

