

ส่วนที่ 2 รายงานความก้าวหน้าการดำเนินงานโครงการวิจัย (Project)
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ.....2558.....

โครงการวิจัยรหัส ว-ท(ด) 9.58

การผลิตอนุภาคโคคริสตอลระหว่างยาซัลฟาเม็ททีออกซาโซลกับกรดมาลิก ด้วยเทคนิค Gas Anti-Solvent (GAS)

Production of cocystal between sulfamethoxazole and malic acid using Gas Anti-Solvent (GAS) technique.

ดร.มานพ เจริญไชยตระกูล⁽¹⁾ และ นายรวินทร์ อิมชาลี⁽²⁾

Manop Charoenchaitrakool ⁽¹⁾ and Rawin ImChalee²⁾

⁽¹⁾ (ภาษาไทย) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ ม.เกษตรศาสตร์

(ภาษาอังกฤษ) Associate Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University

⁽²⁾ (ภาษาไทย) นิสิตปริญญาโท สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ ม.เกษตรศาสตร์

(ภาษาอังกฤษ) Master Student, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยาซัลฟาเม็ททีออกซาโซล (SMX) ซึ่งเป็นยาที่ละลายน้ำได้ น้อยกับกรดมาลิก (L-Malic acid) ด้วยกระบวนการ Gas Anti-Solvent (GAS) cocrystallization โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตเป็นตัวดำเนินการละลาย โดยมีวัตถุประสงค์คือ เพื่ออัตราการละลายของตัวยา SMX โดยศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX กับกรดมาลิก (2:1, 1.5:1 และ 1:1) อุณหภูมิ (35 °C และ 45 °C) และความเข้มข้นของสารละลาย (30%SAT 50%SAT และ 70%SAT) ในตัวทำละลายอะซิโตน ที่มีต่อ Drug content ลักษณะของอนุภาค จุดหลอมเหลวและอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้ รวมทั้งเปรียบเทียบผลกับอนุภาคโคคริสตอลที่ได้จากการผลิตด้วยเทคนิค Slow evaporation ผลการทดลองพบว่า กระบวนการ GAS และเทคนิค Slow evaporation สามารถผลิตอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก ซึ่งยืนยันผลได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ที่ปรากฏพีคใหม่ที่ค่า 2 theta เท่ากับ 6.8 และ 13.8 และจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR แสดงให้เห็นว่าตัวยา SMX และกรดมาลิกนั้นยึดเหนี่ยวกันระหว่างโมเลกุลด้วยพันธะไฮโดรเจน นอกจากนี้พบว่าค่า Drug content ของอนุภาคโคคริสตอลจากกระบวนการ GAS นั้นขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก กล่าวคือ เมื่ออัตราส่วนมีค่าลดลงจาก 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ค่า Drug content ของอนุภาคที่ผลิตได้มีค่าลดลง ซึ่งสอดคล้องกันทั้งการผลิตที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย

ส่งผลให้ความดันที่อนุภาคตกตะกอนลดลง แต่ส่งผลให้ปริมาณที่ผลิตภัณท์ที่ผลิตได้เพิ่มขึ้น โดยอนุภาคที่ผลิตได้จากกระบวนการ GAS มี 2 ส่วนคือ ส่วนสีขาวและสีเหลือง ซึ่งลักษณะสัณฐานของอนุภาคโคคริสตอลจากภาพถ่าย SEM ประกอบไปด้วยตัวยา SMX และกรดมาลิกยึดเหนี่ยวกันเป็นเนื้อเดียวกัน รูปร่างไม่แน่นอน โดยอนุภาคสีขาวมีขนาดเล็กกว่าสีเหลือง อนุภาคที่ผลิตได้มีจุดหลอมเหลวอยู่ระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก และมีพลังงานที่ใช้ในการหลอมเหลวที่ต่ำกว่าสารตั้งต้นทั้ง 2 ชนิด นอกจากนี้การวิเคราะห์อัตราการละลายที่พบว่า ตัวยา SMX ในอนุภาคโคคริสตอลที่ได้จากกระบวนการ GAS สามารถละลายได้ 90% ภายใน 4.2 นาที ในขณะที่ของผสมทางกายภาพมีค่าเวลาในการละลายได้ 90% เท่ากับ 8.2 นาที (อัตราส่วน 1:1) และ 25 นาที (อัตราส่วน 2:1) และสำหรับตัวยา SMX ที่ผ่านการบดใช้เวลา 28 นาที สำหรับอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลจากเทคนิค Slow evaporation มีเวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90% ภายในเวลา 12 นาที โดยขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก โดยอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลจากกระบวนการ GAS ที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากความเป็นผลึกของอนุภาคที่ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD

Abstract

The objective of this research was to enhance the dissolution rate of a poorly water-soluble antibiotic drug, sulfamethoxazole (SMX), by forming cocrystal with L-Malic acid (MA). Gas Anti-Solvent (GAS) technique with the use of dense carbon dioxide as an anti-solvent was applied for cocrystallization. The effects of SMX to MA mass ratio (2:1, 1.5:1 and 1:1), temperature (35°C and 45°C) and drug concentration in acetone (30% SAT, 50% SAT and 70% SAT) on % drug content, particle morphology and dissolution rate were investigated. Production of SMX-MA cocrystal by slow evaporation technique was also conducted in order to compare the obtained results. It was found that SMX-MA cocrystal could be successfully produced by both GAS and slow evaporation techniques. Based on the XRD analysis, the cocrystal formation was confirmed by the appearance of two new peaks at $2\theta = 6.8$ and 13.8 . Results from the FTIR analysis also confirmed that there was hydrogen bond formation in the SMX-MA cocrystal. In the GAS process, it was found that drug content of the product was dependent on the SMX to MA ratio. As the SMX to MA ratio decreased from 2:1 to 1:1, % drug content in the product was decreased. The effect of SMX to MA ratio on the % drug content was valid for both 35 °C and 45 °C. In addition, an increase in drug concentration resulted in a lower threshold pressure, but higher amount of product. Two distinct colors (white and pale yellow) of the GAS products were observed. It was found that the size of the white product was slightly smaller than the pale yellow product at the same operating condition. The melting point of the GAS product was in between those of the drug and co-former. The heat of melting of the GAS product was also lower compared to the drug and co-former. In the dissolution studies, it was found that 90% of SMX in the cocrystal obtained from GAS could be dissolved within 4.2 min, whereas the times required to dissolve 90% of the drug in the physical mixtures were 8.2 min (ratio 1:1) and 25 min (ratio 2:1), and up to 28 min for the commercial micronized SMX. On the other hand, the times required to dissolve 90% of the drug in the cocrystal from slow evaporation could go up to 12 min depending on the SMX to MA ratio. The enhanced in the dissolution rate of the GAS product could be attributed to the reduction in degree of crystallinity as observed from the XRD results.

บทนำ

ในปัจจุบันนั้นยาเป็นสิ่งสำคัญต่อการดำรงชีวิตที่ใช้ในการรักษาหรือบรรเทาโรคต่าง ๆ รวมทั้งป้องกันโรค โดยตัวยาจะส่งผลต่อการรักษามากหรือน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับค่าชีวปริมาณออกฤทธิ์ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณยาที่สามารถดูดซึมเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตของผู้ป่วย ซึ่งตัวยาส่วนใหญ่จะถูกนำเข้าสู่ร่างกายโดยการบริโภค ซึ่งสำหรับตัวยาที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้น้อยจะส่งผลให้มีค่าชีวปริมาณออกฤทธิ์ที่ต่ำ ทำให้ไม่ออกฤทธิ์ในการรักษาอย่างที่ต้องการ ทำให้ต้องบริโภคนยาในปริมาณที่มากขึ้นจึงจะออกฤทธิ์ในการรักษา แต่การบริโภคนยาในปริมาณมากก็อาจจะส่งผลข้างเคียงต่อร่างกายผู้ป่วยได้เช่นกัน ยกตัวอย่างเช่น เกิดการตกค้างของยาในร่างกายผู้ป่วย เป็นต้น ดังนั้นตัวยาที่สามารถละลายได้น้ำดีและสามารถดูดซึมได้สูงจึงเป็นสิ่งที่ต้องการในการรักษาโรค โดยกระบวนการพัฒนาและปรับปรุงเพื่อเพิ่มคุณภาพและประสิทธิภาพของยาเพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายของตัวยาที่สมดุลสามารถปรับปรุงได้ทั้งทางกายภาพและเคมีเช่น การบดลดขนาด การใช้สารลดแรงตึงผิว เป็นต้น

ในอุตสาหกรรมการผลิตอนุภาคยานั้นได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยเทคนิคในการเพิ่มความสามารถในการละลายของยานั้นมีหลากหลายวิธีเช่น การบดลดขนาด การผลิตเป็นอนุภาคโคคริสตัล การตกผลึกร่วมกับพอลิเมอร์ (Coprecipitation) และ การทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน (Complexation) เป็นต้น ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้มีข้อดีคือ มีตัวทำละลายอินทรีย์ตกค้างอยู่ในยา จากการพัฒนาอย่างต่อเนื่องนั้นทำให้อุปกรณ์ เครื่องมือ รวมทั้งเทคนิคในการผลิตอนุภาคนั้นถูกพัฒนาให้ทันสมัยขึ้นอย่างมาก จึงได้มีการนำของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต (Supercritical fluid) มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอนุภาคยาเพื่อเพิ่มความสามารถในการละลาย

ของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตคือสารใด ๆ ที่มีอุณหภูมิและความดันสูงกว่าอุณหภูมิและความดันที่จุดวิกฤต (Critical point) ซึ่งในสภาวะนี้จะไม่สามารถจำแนกได้ว่ามีสถานะเป็นก๊าซหรือของเหลวจึงเรียกก๊าซในสภาวะนี้ว่า ของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต ซึ่งจะมีคุณสมบัติอยู่ก้ำกึ่งระหว่างของเหลวและก๊าซคือ มีความหนาแน่น (Density) ใกล้เคียงของเหลว แต่มีความหนืด (Viscosity) ที่ใกล้เคียงกับก๊าซและมีความสามารถในการแพร่ (Diffusivity) ที่ดีกว่าของเหลว อีกทั้งไม่มีแรงตึงผิวเช่นเดียวกับก๊าซ จากคุณสมบัติที่โดดเด่นจึงได้มีการนำของไหลที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตมาใช้ในการผลิตอนุภาคซึ่งประกอบไปด้วย 5 เทคนิคคือ 1.เทคนิค Rapid Expansion of Supercritical Solutions (RESS) 2.เทคนิค Precipitation from Gas Saturated Solutions (PGSS) 3.เทคนิค Aerosol Solvent Extraction System (ASES) 4.เทคนิค Solution Enhanced Dispersion by Supercritical fluid (SEDS) และ 5.เทคนิค Gas Anti-Solvent (GAS)

ตัวยาซัลฟาเม็ทท์ออกซาโซลเป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้สำหรับรักษาอาการติดเชื้อในร่างกายและทางเดินปัสสาวะ โดยเป็นยาที่จัดอยู่ใน Class II ตามมาตรฐาน BCS ซึ่งมีความสามารถในการละลายน้ำได้น้อยและดูดซึมได้ไม่สมบูรณ์ มีลักษณะโครงสร้างเป็นผลึก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจการเพิ่มความสามารถในการละลายของตัวยาซัลฟาเม็ทท์ออกซาโซล ด้วยการผลิตเป็นอนุภาคโคคริสตอล (Cocrystal) ซึ่งประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ (Active ingredient) ในที่นี้คือตัวยาซัลฟาเม็ทท์ออกซาโซลและโคฟอร์มเมอร์ (Co-former) คือ กรดมาลิก (L-Malic acid) ด้วยกระบวนการตัวต้านการละลายที่เป็นก๊าซ (Gas Anti-Solvent) ที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตเป็นตัวต้านการละลาย (Anti solvent) และทำการศึกษาผลของอุณหภูมิ อัตราส่วนระหว่างตัวยาซัลฟาเม็ทท์ออกซาโซลกับกรดมาลิก และความเข้มข้นของยาที่มีต่ออนุภาคโคคริสตอล

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเพิ่มอัตราการละลายของยาซัลฟาเม็ทท์ออกซาโซล (SMX) โดยการผลิตอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX กับ กรดมาลิก ด้วยกระบวนการ GAS
2. ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างยาซัลฟาเม็ทท์ออกซาโซลกับกรดมาลิก อุณหภูมิ และความเข้มข้นของยา ที่ส่งผลต่ออนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตด้วยกระบวนการ GAS
3. เพื่อเปรียบเทียบอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่ได้จากกระบวนการ GAS กับอนุภาคโคคริสตอลที่ได้จากการผลิตด้วยเทคนิค Slow evaporation และกับอนุภาคยาที่ผ่านกระบวนการ GAS

ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX กับ กรดมาลิก โดยทำการทดลองที่ช่วงอุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วนโดยมวลระหว่างตัวยา SMX กับกรดมาลิก 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ในช่วงของความเข้มข้นที่ 30%SAT, 50%SAT และ 70%SAT ของตัวยา SMX ในตัวทำละลายอะซิโตน

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ปั๊มความดันสูง (High pressure pump) (บริษัท ISCO รุ่น 260D)
2. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven; บริษัท Memmert)
3. เครื่องล้างความถี่สูง (Cavitator Ultrasonic Cleaner; บริษัท Mettler Electronic)
4. เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (บริษัท Adventure Ohaus)
5. โถดูดความชื้น (Desiccator)
6. ตู้ควบคุมความชื้น (Electronic Dry Cabinet; บริษัท Weifo รุ่น DZF 6021)
7. Heater (Polystat)
8. Hot plate magnetic stirrer (จากบริษัท IKA RCT Basic Safety Control)
9. ยาซัลฟาเมทโทกซาโซลที่ผ่านการอบ (ความบริสุทธิ์ 100% จากบริษัท แบนг เทรอดดิ่ง)
10. กรดมาลิก (L-Malic acid, ความบริสุทธิ์ > 99% บริษัท Sigma - Aldrich)
11. คาร์บอนไดออกไซด์ (High Purity Grade จากบริษัท TIG)
12. เมทานอล (ความบริสุทธิ์ 99.8% บริษัท Carlo Erba Reagents)
13. เอทานอล (ความบริสุทธิ์ 99.8% บริษัท Carlo Erba Reagents)
14. อะซิโตน (ความบริสุทธิ์ 99.9% บริษัท Carlo Erba Reagents)
15. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (ความบริสุทธิ์ 98% บริษัท Carlo Erba Reagents)
16. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (ความบริสุทธิ์ 99% บริษัท Carlo Erba Reagents)

เครื่องมือวิเคราะห์

1. เครื่อง UV Spectrophotometer ยี่ห้อ Thermo Scientific รุ่น Genesys 10S
2. เครื่อง Differential Thermal Analysis ยี่ห้อ TA-instruments รุ่น SDT 2960
3. เครื่อง Scanning Electron Microscope ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-5600LV
4. เครื่อง X-ray diffraction ยี่ห้อ Bruker รุ่น D8 ADVANCE
5. เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy ยี่ห้อ Bruker รุ่น Tensor 27

วิธีการ

1. วิธีการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

1.1 เริ่มจากการเตรียมสารละลาย (โมลต่อลิตร) โดยละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ปริมาณ 27.22 กรัม ด้วยน้ำ DI และจากนั้นปรับปริมาตรสารละลายเป็น 1,000 มิลลิลิตร

1.2 เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ด้วยการละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 8 กรัม ด้วยน้ำ DI และจากนั้นปรับปริมาตรสารละลายเป็น 1,000 มิลลิลิตร

1.3 นำสารละลายโพแทสเซียมฟอสเฟตที่เตรียมไว้ในขั้นตอน 1.1 มาปริมาตร 250 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมไว้ในขั้นตอน 1.2 ปริมาตร 195.5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จนได้ 1,000 มิลลิลิตร เรียกว่าสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

1.4 วัดค่า pH ของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ว่าเท่ากับ 7.4 หรือไม่ ด้วยเครื่อง pH Meter ถ้าไม่เท่าให้ทำการปรับค่า pH ของสารละลายด้วยสารละลาย HCl หรือ NaOH

2. การตกตะกอนอนุภาคด้วยวิธีการ Gas Anti-Solvent (GAS)

กระบวนการ Gas Anti-Solvent (GAS) เป็นเทคนิคที่ในงานวิจัยนี้ใช้ในการตกตะกอนอนุภาคยาและสารโคฟอร์มเมอร์ด้วยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะใกล้จุดวิกฤต โดยมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

2.1 ประกอบอุปกรณ์เครื่องมือที่ใช้สำหรับกระบวนการ GAS ตามที่แสดงดังภาพที่ 1

2.2 นำสารละลายที่ประกอบไปด้วยยาและสารโคฟอร์มเมอร์ที่เตรียมไว้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ฉีดเข้าสู่ห้องตกตะกอน (หรือ Precipitator chamber) ทางด้านบนของห้องตกตะกอน

2.3 เติมคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่บัมด้วยการเปิดวาล์ว V-1 ตามปริมาตรการใช้งาน เมื่อได้ปริมาตรตามต้องการแล้ว ปิดวาล์ว V-1

2.4 ตรวจสอบทิศทางการไหลของ Dense CO_2 โดยวาล์ว V-3 ต้องมีทิศทางการไหลลงล่าง และวาล์ว V-4 มีทิศทางการไหลเข้าสู่ห้องตกตะกอน เมื่อทิศทางการไหลถูกต้องแล้วให้ใส่น้ำเข้าสู่ Water bath จนท่วมอุปกรณ์การทดลองและถึงระดับที่ Heater สามารถทำงานได้ จากนั้นตั้งอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลอง

2.5 เมื่อได้อุณหภูมิตามที่ต้องการแล้ว จะเริ่มทำการทดลองโดยปรับโหมดของบัมให้ทำงานแบบอัตราการไหลคงที่ (Constant flow) และเปิดวาล์ว V-2 เพื่อให้ Dense CO_2 ไหลเข้าสู่ระบบที่อัตราการไหลคงที่ 10 มิลลิลิตรต่อนาที

2.6 Dense CO_2 ที่ไหลเข้าสู่ห้องตกตะกอนนั้นจะสัมผัสกับสารละลายส่งผลให้เกิดการขยายตัวของสารละลายเกิดขึ้นซึ่งสังเกตจากปริมาตรสารละลายในห้องตกตะกอนที่เพิ่มสูงขึ้น ทำให้สารละลายมีความ

อิมตัวขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงจุดที่สารละลายเกิดการอิมตัวยิ่งยวด (Super saturation) จะทำให้เกิดการตกตะกอนออกมา บันทึกค่าความดัน ณ จุดที่อนุภาคเริ่มตกตะกอน (Threshold pressure)

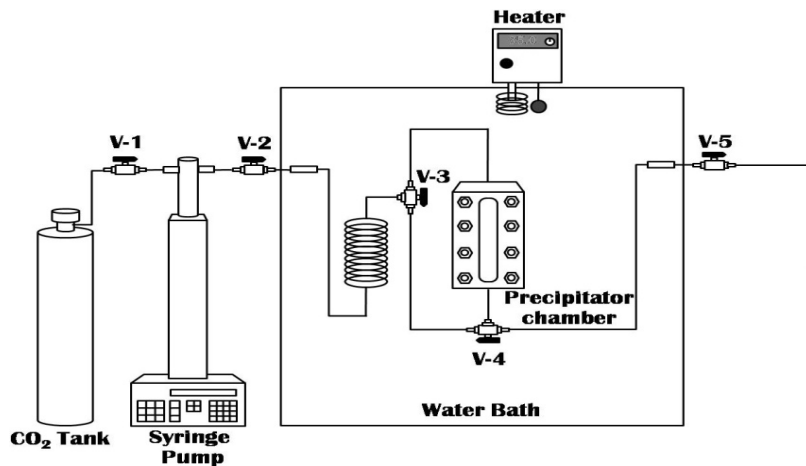
2.7 ทำการทดลองต่อจนถึงความดัน 90 บาร์ จากนั้นเปลี่ยนโหมดการทำงานของปั๊มเป็นแบบความดันคงที่ที่ 90 บาร์ โดยจะทำการล้างอนุภาคที่ได้ที่ความดันนี้

2.8 เปลี่ยนทิศทางการไหลของวาล์ว V-3 เพื่อให้ Dense CO₂ ไหลเข้าทางด้านบนของห้องตกตะกอน และเปลี่ยนทิศทางการไหลของวาล์ว V-4 เพื่อทำการล้างตัวทำละลายออกจากอนุภาคในห้องตกตะกอนออกไปทางวาล์ว V-5 รอจนความดันของระบบคงที่ 90 บาร์

2.9 เมื่อความดันของระบบคงที่แล้ว ทำการเปิดวาล์ว V-5 เพื่อให้ Dense CO₂ และตัวทำละลายอินทรีย์ไหลออกจากห้องตกตะกอน โดยควบคุมอัตราการไหลไม่เกิน 1 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้ปริมาตรของ Dense CO₂ 80 มิลลิลิตร ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมง

2.10 เมื่อทำการล้างจนปริมาตรของ Dense CO₂ ที่ใช้ครบ 80 มิลลิลิตรแล้วให้ปิดวาล์ว V-2 และหยุดการทำงานของปั๊ม ลดความดันของห้องตกตะกอนเข้าสู่ความดันบรรยากาศ

2.11 เก็บอนุภาคที่ได้ในห้องตกตะกอนแล้วนำมาวิเคราะห์ผลต่อไป



ภาพที่ 1 อุปกรณ์ที่ใช้การทดลองด้วยกระบวนการ GAS

3. การตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลด้วยเทคนิค Slow evaporation

การตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกด้วยเทคนิค Slow evaporation มีขั้นตอนการทดลองดังต่อไปนี้

3.1 เตรียมตัวยา SMX และกรดมาลิกที่อัตราส่วน 2:1, 1.5:1 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ซึ่งจะควบคุมให้มีปริมาณของตัวยาเท่ากันในทุก ๆ อัตราส่วน ใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร

3.2 นำของผสมในข้อ 3.1 มาละลายด้วยอะซิโตนปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดปากบีกเกอร์ด้วยพาราฟิล์ม และนำไปสั่นด้วยเครื่องสั่นความถี่สูง เพื่อให้เกิดการละลายอย่างสมบูรณ์

3.3 เทสารละลายของตัวยา SMX และกรดมาลิกที่ได้จาก 3.2 ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อ และปิดด้วย Aluminum foil รวมทั้งเจาะรูความกว้างประมาณ 2 เซนติเมตร เพื่อให้ตัวทำละลายระเหยออกสู่บรรยากาศได้

3.4 ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน เพื่อระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ ทำให้เกิดการตกตะกอนของอนุภาคโคคริสตัล จากนั้นเก็บอนุภาคโคคริสตัลที่ได้ใส่ขวดสีชา เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

4. การวิเคราะห์อัตราการละลายของยาด้วยวิธี Dissolution test

ขั้นตอนการวิเคราะห์อัตราการละลายของยาด้วยวิธี Dissolution test มีดังต่อไปนี้

4.1 สร้าง Calibration curve ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายยา (แกน X) และ ค่าการดูดกลืนแสงหรือ Absorbance (แกน Y) โดยละลายยาซัลฟาเม็ทที่ออกซาโซลด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4

4.2 เริ่มด้วยการกรวณสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตปริมาตร 900 มิลลิลิตร ด้วยเครื่อง Magnetic stirrer ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที (rpm) พร้อมทั้งควบคุมอุณหภูมิของสารละลายให้คงที่ที่ 37 °C ซึ่งเป็นการจำลองอุณหภูมิภายในร่างกาย

4.3 เทยาซัลฟาเม็ทที่ออกซาโซลปริมาณ 20 มิลลิกรัมลงในสารละลายบัฟเฟอร์ที่เตรียมไว้ในขั้นตอนที่ 2.2 จากนั้นใช้เข็มฉีดยาเก็บตัวอย่างสารละลายยาและบัฟเฟอร์มา 5 มิลลิลิตร ที่เวลา 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 180 และ 240 นาที ตามลำดับ และกรองสารละลายยาที่เก็บมาด้วย Syringe Filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

4.4 เจือจางตัวอย่างสารละลายที่ผ่านการกรองแล้วในขั้นตอนที่ 4.3 ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ หลังจากนั้นนำตัวอย่างสารละลายที่ผ่านการเจือจางไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV Spectrophotometer แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบหาความเข้มข้นของตัวยา SMX ในสารละลายที่เวลาต่าง ๆ กับ Calibration curve

4.5 สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (แกน x) และความเข้มข้นของสารละลายยา (แกน y) เพื่อแสดงอัตราการละลายของยา

4.6 ทำการทดลองซ้ำ แต่เปลี่ยนจากตัวยาซัลฟาเม็ทที่ออกซาโซลก่อนผ่านกระบวนการ GAS เป็นอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตได้ที่สภาวะต่าง ๆ ในการทดลอง โดยคิดเทียบให้มีตัวยาในตัวอย่างเท่ากับ 20 มิลลิกรัมเท่ากัน

5. การวิเคราะห์หาปริมาณยาในอนุภาคโคคริสตอล

ในงานวิจัยนี้ได้นำอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนได้จากกระบวนการ GAS มาทำการหาปริมาณยาในอนุภาค โดยมีขั้นตอนดังนี้

5.1 เตรียมสารละลายยาซัลฟาเม็ททีออกซาโซลในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และนำไปวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 261 นาโนเมตร จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) และความเข้มข้นของสารละลาย (แกน X) เพื่อใช้เป็น Calibration curve

5.2 ชั่งอนุภาคโคคริสตอลที่ได้จากกระบวนการ GAS 10 มิลลิกรัม จากนั้นนำมาละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

5.3 นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV spectroscopy ซึ่งค่าที่วัดได้จะนำไปเทียบกับ Calibration curve จะทำให้ทราบปริมาณยาจากอนุภาคโคคริสตอลทั้งหมด

5.4 คำนวณ % Drug content ซึ่งคืออัตราส่วนระหว่างมวลของยาในผลิตภัณฑ์ทั้งหมดที่ได้จากการผลิตอนุภาคโคคริสตอลด้วยกระบวนการ GAS (อนุภาคไม่ผ่านการล้างยาส่วนเกินออก) โดยคำนวณได้ตามสมการ

$$\% \text{Drug content} = \frac{\text{mass of drug in particles}}{\text{total mass of particles}} \times 100\%$$

6. การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Differential Thermal Analysis (DTA)

เครื่อง Differential Thermal Analysis หรือเรียกย่อว่าเครื่อง DTA เป็นมือที่ใช้วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางความร้อน (Thermal transition) ของสารตัวอย่าง งานวิจัยนี้เลือกใช้โหมดการวิเคราะห์แบบ Differential Scanning Calorimeter (DSC) โดยมีหลักการคือ จะนำถาด (Cup) 2 ถาด ซึ่งประกอบไปด้วยถาดที่บรรจุสารตัวอย่าง (Sample pan) และถาดอ้างอิง (Reference pan) ซึ่งเป็นถาดเปล่า โดยทั้ง 2 ถาดจะถูกใส่ไว้ในเครื่องให้ความร้อน (Heater) และจะให้ความร้อนอย่างต่อเนื่องด้วยอัตราคงที่ในสภาวะแวดล้อมที่เป็นก๊าซไนโตรเจน (N₂) ผลการวิเคราะห์ของเครื่อง DSC จะแสดงผลออกมาเป็นกราฟ ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการให้ความร้อน (Heat flow) และอุณหภูมิ ข้อมูลที่ได้จากเครื่อง DSC จะทำให้เราทราบจุดหลอมเหลวและพลังงานในการหลอมเหลว (Heat of melting, ΔH_m) ของสารตัวอย่าง โดยขั้นตอนในการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

6.1 นำสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์บรรจุลงในภาควิเคราะห์ จากนั้นนำภาควิเคราะห์ และภาควิเคราะห์ อ่างอิงใส่ลงในเครื่อง DSC

6.2 ตรวจทิศทางการไหลของก๊าซจากนั้นเปิดให้ก๊าซไนโตรเจนไหลผ่านภายในเครื่อง DSC ด้วยอัตราการไหลคงที่ที่ 100 มิลลิลิตรต่อนาที

6.3 เริ่มการวิเคราะห์ด้วยการตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 250 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราการให้ความร้อน 5 องศาเซลเซียสต่อนาที จากนั้นรอจนวิเคราะห์จนถึงอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เครื่องจะหยุดให้ความร้อนและระบายความร้อนออก

6.4 รอจนอุณหภูมิของเครื่องวิเคราะห์ลดลงจนถึงอุณหภูมิต่ำ จากนั้นวิเคราะห์เส้นกราฟที่ได้ เพื่อวิเคราะห์จุดหลอมเหลวและพลังงานความร้อนในการหลอมเหลวของสารตัวอย่างที่วิเคราะห์

7. วิเคราะห์อนุภาคด้วยเครื่อง X-ray Diffraction (XRD)

เครื่อง X-ray Diffraction หรือ เครื่อง XRD เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติเชิงโครงสร้างของวัสดุ โดยอาศัยหลักการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ โดยสามารถวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของสารประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ โดยสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งตัวอย่างแบบผง (Powder) และแบบฟิล์มบาง (Thin film) ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD จะสามารถให้รายละเอียดของโครงสร้างผลึก ความเป็นผลึก และระนาบของผลึกของสารตัวอย่าง ซึ่งใช้เป็นเครื่องยืนยันการเกิดอนุภาคโคคริสตัลระหว่างตัวยว SMX และกรดมาลิก โดยจะดูค่า 2 Theta ที่ปรากฏพีคตำแหน่งใหม่ที่ไม่พบในสารตั้งต้นทั้ง 2 ชนิด โดยสภาวะในการวิเคราะห์ที่ Step size เท่ากับ 0.01 step/time และ Step size เท่ากับ 1.6 s/step ที่มุม 2 Theta เท่ากับ 5 - 40° ด้วยเครื่อง XRD ยี่ห้อ Bruker รุ่น D8 ADVANCE แหล่งจ่ายรังสี Cu K α 1.54 operated at 40kV and 40 mA ตัวรับสัญญาณยี่ห้อ Lynxeye

8. วิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM)

การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) เป็นการศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยา (Morphology) ของอนุภาคเช่น ลักษณะอนุภาค ขนาดอนุภาค และรูปร่างของตัวอย่างที่วิเคราะห์เป็นต้น การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SEM ทำได้โดยอบไล่ความชื้นของสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ และจากนั้นทำการเคลือบด้วยทองคำ แล้วจึงนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ลักษณะพื้นฐานวิทยาด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy ผลการวิเคราะห์ที่ได้จะเป็นภาพถ่ายตามกำลังขยายที่ต้องการใช้ในการวิเคราะห์

9. การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของอนุภาคโคคริสตัลด้วยเทคนิค FTIR

การวิเคราะห์อนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนจากระบบการ GAS ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy หรือเรียกย่อ ๆ ว่า เทคนิค FTIR เป็นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์เพื่อตรวจสอบและศึกษาโครงสร้างของโมเลกุลของสารได้ทั้งในสถานะของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซ โดยศึกษาแทรนซิชันของการสั่นหรือหมุนของหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลของสารนั้น ๆ ซึ่งเกิดจากการดูดกลืนคลื่นอินฟราเรดที่ทำให้เกิดการแทรนซิชันของการสั่นของโมเลกุลและมีผลต่อการสั่นของพันธะโมเลกุลอีกด้วย ซึ่งผลที่ได้จะพล็อตระหว่างเลขคลื่น (Wavenumber) ในแกน (X) กับค่าการดูดกลืนคลื่นอินฟราเรดในแกน (Y) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

- 9.1 อบไล์ความชื้นของ KBr ก่อนนำมาใช้วิเคราะห์
- 9.2 ชั่งน้ำหนัก KBr ที่ใช้เป็นเมทริกซ์ตัวกลาง ปริมาณ 0.05 มิลลิกรัม
- 9.3 ชั่งน้ำหนักของสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาณ 0.001 มิลลิกรัม จากนั้นผสมกับ KBr และบดให้เป็นผงด้วยครกบดยา
- 9.4 อัดสารผสมที่ผ่านการบดในข้อที่ 9.3 ให้เป็นแผ่นด้วยแม่พิมพ์ ที่แรงอัดขนาด 5,000 กิโลกรัม เป็นเวลา 20 วินาที
- 9.5 นำสารผสมที่ผ่านการอัดเป็นแผ่นแล้วในข้อที่ 9.4 ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR

ผลและวิจารณ์

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะเพิ่มอัตราการละลายของตัวยาซัลฟาเม็ทที่ออกซาโซลด้วยการผลิตเป็นอนุภาคโคคริสตัลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกด้วยกระบวนการ Gas anti-solvent (GAS) ด้วยการใช้น้ำคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตเป็นตัวดำเนินการละลาย โดยสามารถแบ่งงานวิจัยออกเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนที่ 1 ศึกษาปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิ (25 °C 35 °C และ 45 °C) ความดันเริ่มต้น (40 บาร์ และ 61 บาร์) ตัวทำละลายอินทรีย์ (เมทานอล เอทานอล อะซิโตน และ ตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนและเอทานอล) ที่มีผลต่อการผลิตอนุภาคโคคริสตัลและคัดเลือกอุณหภูมิ ความดันเริ่มต้น และตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในการทดลองต่อไป

ส่วนที่ 2 ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลต่ออนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนด้วยกระบวนการ GAS ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลาย อุณหภูมิ และอัตราส่วนระหว่างตัวยาและโคฟอร์มเมอร์ ซึ่งใช้ตัวทำละลายเป็นอะซิโตน โดยปัจจัยความเข้มข้นของสารละลายที่ศึกษาได้แก่ 30% 50% และ 70% ของความอิ่มตัวของตัวยา SMX (%SAT) ที่อุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ซึ่งจุดอิ่มตัวของตัวยา SMX ในตัวทำละลายอะซิโตนมีค่าเท่ากับ 250 mg/ml

ส่วนที่ 3 เป็นการเปรียบเทียบอนุภาคที่ได้จากการตกตะกอนด้วยกระบวนการ GAS กับอนุภาคโคคริสตัลที่ได้จากการผลิตด้วยเทคนิคการระเหยตัวทำละลายอย่างช้า ๆ (Slow evaporation) ที่อัตราส่วนของตัวยา SMX กับกรดมาลิก และความเข้มข้นของสารละลายเดียวกัน

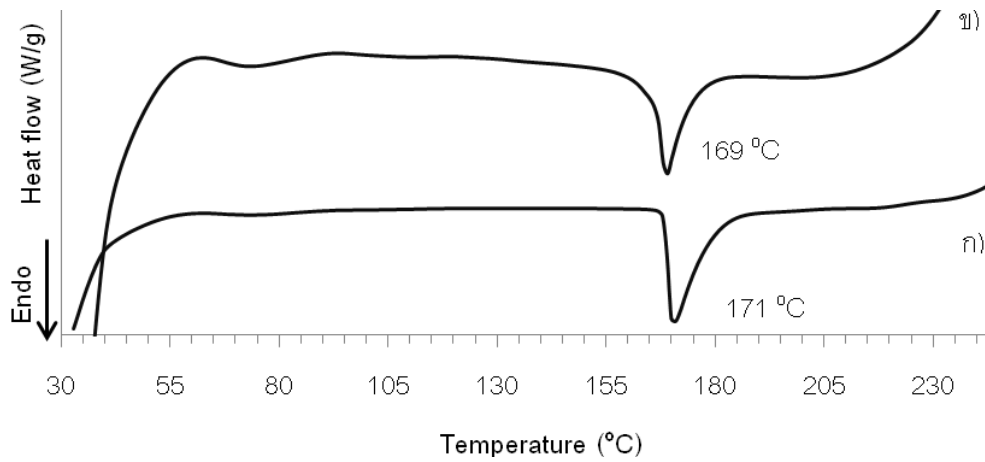
การทดลองเพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการตกตะกอน

ในส่วนแรกนั้นจะเป็นการทดลองเพื่อเลือกตัวทำละลายอินทรีย์ ความดันเริ่มต้น และอุณหภูมิที่ใช้ในการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตัลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก โดยพิจารณาจาก ค่า Drug content ของผลิตภัณฑ์ และอัตราการละลายของยาในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการตกตะกอน ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. ตัวทำละลายอินทรีย์

งานวิจัยนี้ได้ทดลองใช้ตัวทำละลายทั้งหมด 4 ชนิด ในการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลได้แก่ เมทานอล เอทานอล อะซิโตน และ ตัวทำละลายผสมระหว่างไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่อัตราส่วน 50% โดยปริมาตร โดยทำการตกตะกอนที่ความเข้มข้น 75%SAT อุณหภูมิ 35 °C และ อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 โดยน้ำหนัก เพื่อศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการตกตะกอน โดยอนุภาคที่ตกตะกอนได้จะนำไปวิเคราะห์เพื่อหาค่า Drug content ผลการทดลองพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยอะซิโตนมีค่า Drug content เท่ากับ 48.18% ส่วนผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายเมทานอล เอทานอล และตัวทำละลายผสมมีค่า Drug content เท่ากับ 92.49%, 93.11% และ 85.88% ตามลำดับ ดังนั้นจึงคาดว่าผลิตภัณฑ์ที่มีค่า Drug content สูง ประกอบด้วยตัวยา SMX ที่ตกตะกอนออกมาเพียงชนิดเดียวและคาดว่าจะไม่เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตอล เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลองจึงนำอนุภาคที่ตกตะกอนด้วยตัวทำละลายเมทานอลที่มีค่า Drug content 92.49% ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC-TGA ผลการทดลองพบว่า มีพีคของยาที่อุณหภูมิ 169 °C เพียงตำแหน่งเดียว ดังภาพที่ 2 เส้น ข) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอนุภาคที่ตกตะกอนจากตัวทำละลายเมทานอลประกอบไปด้วยตัวยา SMX เป็นหลัก และไม่ปรากฏพีคใหม่ที่เป็นของอนุภาคโคคริสตอล

ตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากตัวทำละลายอินทรีย์ต่าง ๆ และค่า Drug content ของผลิตภัณฑ์ซึ่งพบว่าน้ำหนักของอนุภาคที่ตกตะกอนจากสารละลายที่ใช้ตัวทำละลายเมทานอล เอทานอล และตัวทำละลายผสมยังมีค่าน้อยกว่าที่ได้จากตัวทำละลายอะซิโตนมาก ทั้งนี้เนื่องจากตัวยา SMX มีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดได้น้อย ทำให้ปริมาณสารที่มีอยู่ในสารละลายก่อนตกตะกอนมีน้อยตามไปด้วย ซึ่งความสามารถในการละลายของตัวยา SMX ในตัวทำละลายเมทานอล และเอทานอล มีค่าเท่ากับ 80 และ 30 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย (250 mg/ml) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้เลือกใช้ตัวทำละลายอะซิโตนในการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลที่สภาวะต่าง ๆ ต่อไป



ภาพที่ 2 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC ก) ตัวยา SMX ที่ผ่านการบด ข) อนุภาคที่ตกตะกอนจากตัวทำละลายเมทานอล ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 โดยน้ำหนัก ความเข้มข้น 75%SAT และอุณหภูมิ 35°C

ตารางที่ 1 น้ำหนักและค่า Drug content ของผลิตภัณฑ์ที่ตกตะกอนด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 35 °C อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 ความเข้มข้น 75%SAT

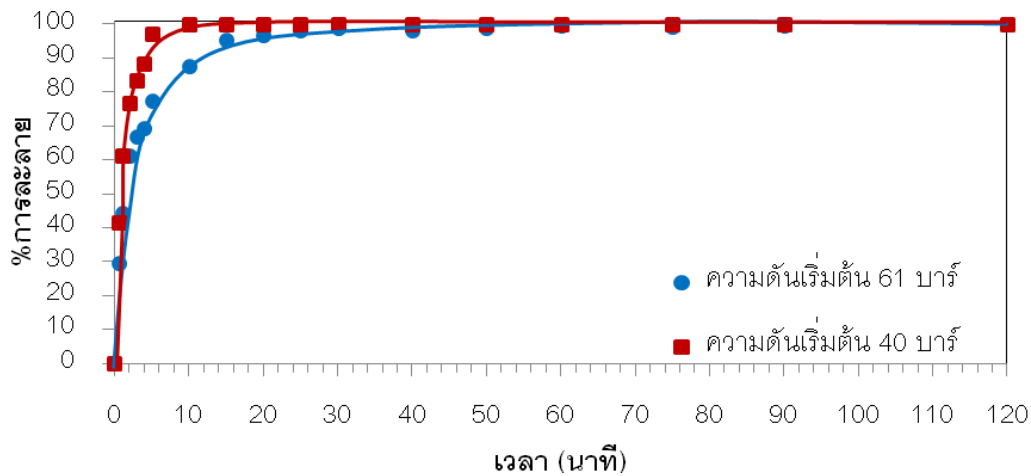
ตัวทำละลายอินทรีย์	น้ำหนักของผลิตภัณฑ์ (มิลลิกรัม)	% Drug content
เมทานอล	132	92.49%
เอทานอล	50	93.11%
ตัวทำละลายผสม (ไดคลอโรมีเทน-เอทานอล)	72	85.88%
อะซิโตน	951.1	48.18%

2. ความดันเริ่มต้นในการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองเพื่อหาความดันเริ่มต้นที่เหมาะสมในการเริ่มตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก ด้วยกระบวนการ GAS โดยทางผู้วิจัยได้ทดลองผลิตอนุภาคโคคริสตอลที่อุณหภูมิ 45 °C ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 และความเข้มข้นที่ 50%SAT ซึ่งทดลองเปรียบเทียบความดันเริ่มต้น 2 ความดันคือที่ 40 บาร์ และ 61 บาร์ จากนั้นนำอนุภาคที่ตกตะกอนได้ไปวิเคราะห์หาค่า Drug content และทดสอบอัตราการละลายของอนุภาคที่ผลิตได้เพื่อเลือกความดันเริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับการทดลองอื่น ๆ ต่อไป

ผลการทดลองพบว่า เมื่อใช้ความดันเริ่มต้นเป็น 61 บาร์ สำหรับการตกตะกอน โดยการปล่อย Dense CO₂ เข้าสู่ห้องตกตะกอน จะทำให้เกิดการตกตะกอนของอนุภาคออกมาทันที และเมื่อนำอนุภาคที่ตกตะกอนได้มาหาค่า Drug content พบว่ามีค่าเท่ากับ 84% และ 84.13% สำหรับอนุภาคสีขาวและสีเหลือง ตามลำดับ ในขณะที่อนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนที่ความดันเริ่มต้นเป็น 40 บาร์ เมื่อเริ่มการทดลองพบว่าอนุภาคเริ่มตกตะกอนที่ความดัน 54.0 บาร์ และอนุภาคที่ได้มีค่า Drug content เท่ากับ 73.97% และ 75.24% สำหรับอนุภาคสีขาวและเหลือง ตามลำดับ เนื่องจากกรดมาลิกมีความสามารถในการละลายในอะซิโตนสูง (479.8 mg/ml) ดังนั้นเมื่อเริ่มทดลองที่ความดันเริ่มต้นสูง (61 บาร์) ส่งผลทำให้กรดมาลิกมีเวลาในการตกตะกอนออกมาน้อยกว่าการเริ่มต้นทดลองที่ความดันเริ่มต้นมีค่าน้อย (40 บาร์) จึงเป็นผลทำให้ค่า Drug content มีค่ามากกว่า

เมื่อทำการทดสอบหาอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้พบว่า อัตราการละลายของอนุภาคที่ตกตะกอนจากการใช้ความดันเริ่มต้นเป็น 40 บาร์ สามารถละลายได้ 90% ในเวลาเพียง 4.2 นาที ในขณะที่อนุภาคที่ตกตะกอนจากการใช้ความดันเริ่มต้นเป็น 61 บาร์ ใช้เวลาในการละลายได้ 90% ถึง 11.1 นาที ดังแสดงในภาพที่ 3 ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกความดันเริ่มต้นในการตกตะกอนที่ 40 บาร์ สำหรับการทดลองผลิตอนุภาคโคคริสตอลที่สภาวะอื่น ๆ ต่อไป



ภาพที่ 3 อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนจากตัวทำละลายอะซิโตน อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 ความเข้มข้น 50%SAT และอุณหภูมิ 45 °C ที่ความดันเริ่มต้นเป็น 40 บาร์ และ 61 บาร์ ตามลำดับ

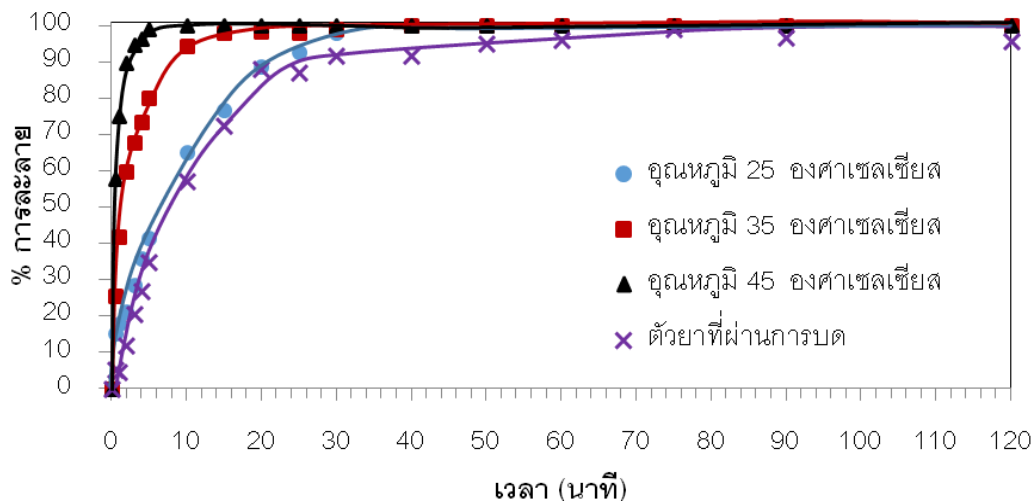
3. อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลอง

งานวิจัยนี้สนใจเลือกทำการตกตะกอนที่อุณหภูมิ 25 °C 35 °C และ 45 °C เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่ออนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนและหาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตัลต่อไป โดยอุณหภูมิที่เลือกใช้จะมีค่าไม่เกิน 45 °C เพื่อเป็นการป้องกันการเสื่อมสภาพของตัวยา SMX หรือกรดมาลิก ที่อาจเสื่อมสภาพจากความร้อน

สภาวะที่เลือกใช้ในการทดลองเพื่อศึกษานาอนุภาคที่เหมาะสมคือที่ความเข้มข้นของสารละลายยา 50% SAT อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ในตัวทำละลายอะซิโตน ผลการทดลองพบว่า สำหรับการตกตะกอนที่อุณหภูมิ 25 °C อนุภาคเริ่มตกตะกอนที่ความดัน 41.8 บาร์ ในขณะที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C เริ่มตกตะกอนที่ความดัน 50 และ 58.2 บาร์ ตามลำดับ ซึ่งการที่อนุภาคตกตะกอนออกมาจากสารละลายได้ก่อนนั้นทำให้อนุภาคของตัวยาและกรดมาลิกสามารถเกิดการโต และขนาดของอนุภาคที่ได้มีขนาดใหญ่ โดยส่งผลต่ออัตราการละลายทำให้มีอัตราการละลายที่ช้ากว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็ก (ภาพที่ 4) จากนั้นเมื่อวิเคราะห์หาค่า Drug content พบว่าอนุภาคที่ผลิตได้ที่อุณหภูมิ 25 °C 35 °C และ 45 °C มีค่า Drug content เท่ากับ 64.22%, 74.58% และ 70.23% ตามลำดับ

เมื่อนำอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิต่าง ๆ ข้างต้นมาทดสอบหาอัตราการละลายของอนุภาค ผลการทดลองพบว่าอนุภาคที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 25 °C ต้องใช้เวลาในการละลายถึง 21.6 นาที

สำหรับการละลายได้ 90%ของยาทั้งหมด ในขณะที่อุณหภูมิที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C ใช้เวลาในการละลายเท่ากับ 8.4 และ 2 นาที ตามลำดับ จากการทดสอบอัตราการละลายของอนุภาคที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิต่าง ๆ ข้างต้นทำให้เห็นว่า การตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลที่อุณหภูมิ 25 °C ทำให้ได้อนุภาคที่มีอัตราการละลายที่ช้ากว่าการตกตะกอนที่อุณหภูมิ 35 และ 45 °C ทั้งนี้เพราะอนุภาคที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 25 °C เริ่มตกตะกอนที่ความดันต่ำซึ่งทำให้ได้อนุภาคที่มีขนาดใหญ่ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับตัวยาที่ผ่านการบด พบว่าอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิต่าง ๆ มีอัตราการละลายที่สูงกว่าตัวยาที่ผ่านการบดซึ่งใช้เวลา 28 นาที ในการละลายได้ 90% แสดงดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 25 °C 35 °C และ 45 °C เปรียบเทียบกับตัวยาที่ผ่านการบด (Micronized SMX)

จากการทดสอบอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และ กรดมาลิกเป็น 2:1 ความเข้มข้น 50%SAT ในตัวทำละลายอะซิโตนที่อุณหภูมิ 25 °C 35 °C และ 45 °C ในภาพที่ 4 แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C อนุภาคที่ผลิตได้มีอัตราการละลายที่สูงกว่าที่อุณหภูมิ 25 °C ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้เลือกใช้อุณหภูมิในการทดลองที่ 35 °C และ 45 °C สำหรับการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลที่สภาวะต่าง ๆ ต่อไป

การตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลด้วยกระบวนการ GAS

ในส่วนที่ 2 ของการศึกษาการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX และ กรดมาลิก ด้วยกระบวนการ GAS จะทำการศึกษาผลของอุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารละลาย อัตราส่วนโดยมวล ระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก ที่มีผลต่ออนุภาคที่สามารถตกตะกอนได้และเปรียบเทียบกับอนุภาคของตัวยาก่อนผ่านกระบวนการ ซึ่งเป็นยาที่ผ่านการลดขนาดจากตัวแทนจำหน่าย (Commercial micronized SMX) โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. ลักษณะของอนุภาคโคคริสตอล

ในการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX กับกรดมาลิกด้วยกระบวนการ GAS ที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็นอะซิโตน พบว่าอนุภาคที่ตกตะกอนได้นั้น ในบางสภาวะสามารถแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนสีเหลืองและสีขาว โดยสภาวะที่พบว่าอนุภาคที่ตกตะกอนได้แบ่งออกเป็น 2 สี แสดงดังตารางที่ 8 ทั้งนี้ เป็นผลมาจากภายในห้องตกตะกอนจะเกิดโซนที่ไม่สัมผัสกับ Dense CO₂ ที่ถูกปล่อยเข้าสู่สารละลาย (Dead zone) ตรงบริเวณด้านล่างของห้องตกตะกอน ส่งผลให้ตัวยา SMX และกรดมาลิก ที่อยู่ในสารละลายบริเวณนั้นไม่ตกตะกอนออกมา แต่เมื่อทำการทดลองเพิ่มความดันจนถึง 90 บาร์ (ความดันสูงสุดในการทดลอง) พบว่าจะเกิดการตกตะกอนและมีการโตของอนุภาคที่อยู่ในสารละลายบริเวณ Dead zone ซึ่งอนุภาคที่ตกตะกอนออกมานั้นมีขนาดใหญ่ และมีสีเหลืองอย่างชัดเจน ในขณะที่อนุภาคส่วนที่อยู่นอกโซนดังกล่าวนี้ จะมีสีขาว อย่างไรก็ตามการเกิด Dead zone จะพบได้ในบางสภาวะเท่านั้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายและอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลอง

จากตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่าในการทดลองที่อุณหภูมิ 35 °C อัตราส่วน 1:1 และ 1.5:1 จะมีเพียงที่ความเข้มข้น 30%SAT เท่านั้นที่อนุภาคมีเพียงสีขาว (การทดลองที่ 1 และ 4 ตามลำดับ) ในขณะที่อนุภาคที่ผลิตได้จากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ทุกความเข้มข้น อนุภาคที่ตกตะกอนได้จะมีสีขาวเพียงอย่างเดียวเท่านั้น (การทดลองที่ 7-9) ส่วนในการทดลองที่อุณหภูมิ 45 °C พบว่ามีเพียงที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 และ 2:1 ที่ความเข้มข้น 30%SAT เท่านั้นที่อนุภาคที่ได้มีเพียงสีขาว (การทดลองที่ 13 และ 16 ตามลำดับ)

ตารางที่ 2 สภาวะที่ใช้ในการทดลองสำหรับกระบวนการ GAS โดยใช้ตัวทำละลายอะซิโตนและสีของอนุภาค

การทดลองที่	อุณหภูมิ (°C)	อัตราส่วน (SMX: L-Malic acid)	ความเข้มข้น (%SAT)	สีของอนุภาค	
				ขาว	เหลือง
1	35	1:1	30	✓	น้อยมาก*
2			50	✓	✓
3			70	✓	✓
4	35	1.5:1	30	✓	น้อยมาก*
5			50	✓	✓
6			70	✓	✓
7	45	2:1	30	✓	น้อยมาก*
8			50	✓	น้อยมาก*
9			70	✓	น้อยมาก*
10	45	1:1	30	✓	✓
11			50	✓	✓
12			70	✓	✓
13	45	1.5:1	30	✓	น้อยมาก*
14			50	✓	✓
15			70	✓	✓
16	45	2:1	30	✓	น้อยมาก*
17			50	✓	✓
18			70	✓	✓

หมายเหตุ * มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอื่น ๆ ได้

2. ความดันเริ่มต้นที่อนุภาคเริ่มตกตะกอน (Threshold pressure)

ในการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลด้วยกระบวนการ GAS จากสารละลายของตัวยา SMX และ กรดมาลิกในตัวทำละลายอะซิโตน ในระหว่างการทดลองนั้นจะสามารถสังเกตเห็นความดันที่อนุภาคโคคริสตอลที่เริ่มตกตะกอนออกจากสารละลายได้ผ่านทางด้านหน้าของห้องตกตะกอน (Jerguson view cell) ความดันที่อนุภาคเริ่มตกตะกอนนั้นเรียกว่า Threshold pressure ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลาย อุณหภูมิ และอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก ที่ใช้ในการทดลอง

ก่อนที่จะเริ่มตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกด้วยกระบวนการ GAS งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองเพื่อศึกษาหาความดันที่สารบริสุทธิ์ทั้ง 2 ชนิด ข้างต้นเริ่มตกตะกอนจากสารละลายที่สภาวะในการทดลองเป็น 50%SAT อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C ในตัวทำละลายอะซิโตน ผลการทดลองพบว่าตัวยา SMX มีค่า Threshold pressure เท่ากับ 52.2 บาร์ และ 56.4 บาร์ สำหรับการตกตะกอนภายใต้ อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C ตามลำดับ และสำหรับกรดมาลิกมีค่า Threshold pressure เท่ากับ 42.3 บาร์ และ 46.4 บาร์ สำหรับการตกตะกอนภายใต้อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C ตามลำดับ

จากผลการทดลองที่ได้ทดลองตกตะกอนสารบริสุทธิ์ทั้ง 2 ชนิดข้างต้นแสดงให้เห็นว่าภายใต้สภาวะในการตกตะกอนเดียวกัน (50%SAT อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C ตัวทำละลายอะซิโตน) กรดมาลิกมีค่า Threshold pressure ต่ำกว่าตัวยา SMX ทั้ง 2 อุณหภูมิ ซึ่งกรดมาลิกเริ่มตกตะกอนจากสารละลายก่อนตัวยา SMX และนอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการตกตะกอน ความดันที่อนุภาคของตัวยา SMX และกรดมาลิกเริ่มตกตะกอนมีค่าสูงขึ้น เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิส่งผลให้ความสามารถในการทำละลายของตัวทำละลายอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น ตัวถูกละลายจึงละลายในตัวทำละลายได้เพิ่มขึ้น ความดันที่ตัวยา SMX และกรดมาลิก เริ่มตกตะกอนที่อุณหภูมิ 45 °C จึงมีค่าสูงกว่าที่อุณหภูมิ 35 °C

ในส่วนต่อไปกล่าวถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่า Threshold pressure สำหรับการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.1 ผลของความเข้มข้นของสารละลายที่มีต่อ Threshold pressure

ตารางที่ 3 แสดงสภาวะต่าง ๆ ที่ใช้ตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอล จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของสารละลาย มีผลต่อความดันที่อนุภาคเริ่มตกตะกอนออกมาจากสารละลาย กล่าวคือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายจาก 30%SAT เป็น 50%SAT และ 70%SAT ความดันที่อนุภาคเริ่มตกตะกอนนั้นมีแนวโน้มลดน้อยลง สำหรับการทดลองที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกและอุณหภูมิเดียวกัน ตัวอย่างเช่น การตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลที่อุณหภูมิ 35 °C ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ความดันที่อนุภาคเริ่มตกตะกอนออกมาที่ความเข้มข้นของสารละลายเป็น 30%SAT มีค่า 50.7 บาร์ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเป็น 50%SAT และ 70%SAT ความดันที่อนุภาคเริ่มตกตะกอนออกมามีค่าเท่ากับ 48.4 และ 47.6 บาร์ ตามลำดับ เนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการตกตะกอนนั้น จะทำให้สารละลายเข้าสู่สภาวะอิ่มตัวยิ่งยวดได้เร็วขึ้น (Supersaturation) ส่งผลให้ความดันที่อนุภาคโคคริสตอลเริ่มตกตะกอนมีค่าลดลง ซึ่งผลการทดลองมีแนวโน้มเหมือนกันในอัตราส่วน 1.5:1 และ 1:1 รวมไปถึงการทดลองที่อุณหภูมิ 45°C ค่าความดันที่ตกตะกอนก็จะมีแนวโน้มลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเช่นเดียวกัน

ตารางที่ 3 ความดันที่อนุภาคโคคริสตอลเริ่มตกตะกอน (Threshold pressure) ที่สภาวะในการทดลองต่าง ๆ ในตัวทำละลายอะซิโตน

อัตราส่วนโดยมวล ของยาต่อกรดมาลิก	ความดันที่อนุภาคเริ่มตกตะกอน (บาร์)					
	อุณหภูมิ 35 °C			อุณหภูมิ 45 °C		
	30%SAT	50%SAT	70%SAT	30%SAT	50%SAT	70%SAT
2:1	50.7	48.4	47.6	56.8	54.4	53.2
1.5:1	48	46	45.6	56.4	54	53.2
1:1	47.6	45.4	45.1	55.4	53.8	53.2

2.2 ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกที่มีต่อ Threshold pressure

จากตารางที่ 3 เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิ 35 °C ที่ความเข้มข้น 30%SAT พบว่าอุณหภูมิที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 เริ่มตกตะกอนที่ความดัน 47.6 บาร์ และเมื่ออัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกมีค่าเพิ่มขึ้น (ปริมาณยา SMX ในสารละลายเท่าเดิม แต่ลดปริมาณกรดมาลิกในสารละลาย) ที่อัตราส่วน 1.5:1 และ 2:1 ความดันที่อุณหภูมิโคคริสตอลเริ่มตกตะกอนออกมามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น คือ มีค่า 48 บาร์ และ 50.7 บาร์ ตามลำดับ โดยมีแนวโน้มเหมือนกันที่ความเข้มข้น 50%SAT และ 70%SAT เนื่องจากการเพิ่มอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกในสารละลาย ส่งผลให้ความเข้มข้นของสารละลายมีค่าน้อยลงอันเป็นผลทำให้สารละลายเข้าสู่สภาวะอิ่มตัวยิ่งยวดได้ช้าลง ทำให้ความดันที่อุณหภูมิเริ่มตกตะกอนมีค่าเพิ่มขึ้น

สำหรับการตกตะกอนอุณหภูมิโคคริสตอลที่อุณหภูมิ 45°C พบว่าแนวโน้มของความดันที่อุณหภูมิเริ่มตกตะกอนมีแนวโน้มเหมือนกับการตกตะกอนที่อุณหภูมิ 35°C กล่าวคือเมื่ออัตราส่วนระหว่างตัวยาและกรดมาลิกเพิ่มขึ้น ค่าความดันที่เริ่มตกตะกอนก็เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน ยกเว้นกรณีที่ใช้ความเข้มข้นของสารละลายเท่ากับ 70%SAT ที่พบว่า ความดันที่อุณหภูมิเริ่มตกตะกอนมีค่าคงที่ที่ 53.2 บาร์

2.3 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อ Threshold pressure

โดยปกตินั้นการเพิ่มอุณหภูมิส่งผลทำให้ตัวทำละลายมีความสามารถในการทำละลายสูงขึ้น ดังนั้นจึงละลายตัวถูกละลายได้ดีขึ้น ซึ่งผลการทดลองในตารางที่ 3 ก็มีแนวโน้มเช่นเดียวกันคือ เมื่อพิจารณาการตกตะกอนที่อุณหภูมิ 35 °C เปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิ 45 °C ที่ความเข้มข้นของสารละลายและอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเดียวกัน พบว่าค่าความดันที่อุณหภูมิโคคริสตอลเริ่มตกตะกอนออกจากสารละลายที่อุณหภูมิ 35 °C มีค่าน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 45°C อันเป็นผลมาจากการเพิ่มอุณหภูมิของสารละลายทำให้อะซิโตนสามารถละลายตัวยา SMX และกรดมาลิกได้เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้สารละลายเข้าสู่สภาวะอิ่มตัวยิ่งยวดได้ช้าลง ความดันที่อุณหภูมิเริ่มตกตะกอนจึงเพิ่มขึ้น

3. ปริมาณยาในอนุภาคที่ผลิตได้ (Drug content)

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาปัจจัย 3 ปัจจัย ได้แก่ ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวยาและโคฟอร์เมอร์ (1:1, 1.5:1 และ 2:1) ผลของอุณหภูมิ (35 °C และ 45 °C) และผลของความเข้มข้นของสารละลายยา (30% SAT 50% SAT และ 70% SAT) ที่มีต่อค่า Drug content ของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากกระบวนการ GAS ซึ่งใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ โดยค่า Drug content ของผลิตภัณฑ์ที่ตกตะกอนได้จะประกอบไปด้วย 2 ส่วนคือ 1. ตัวยา SMX ที่อยู่ในอนุภาคโคคริสตอลและ 2. ตัวยา SMX ที่ไม่ได้เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตอลหรือตัวยา SMX ที่ตกตะกอนเดี่ยว ๆ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ober *et al.* (2013) ที่ตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา itraconazole กับกรดมาลิกด้วยกระบวนการ GAS โดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวดำเนินการละลาย ซึ่งผลการทดลองพบว่า ในอนุภาคที่ตกตะกอนได้นั้นมีส่วนของตัวยา itraconazole และกรดมาลิกที่เป็นส่วนเกินอยู่ในผลิตภัณฑ์ (ที่ไม่เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตอล)

โดยผลการทดลองสามารถแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ดังต่อไปนี้

3.1 ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกที่มีต่อค่า Drug content

จากการทดลองเพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกที่มีต่อค่า Drug content ของอนุภาคที่ผลิตได้ที่สภาวะต่าง ๆ โดยควบคุมให้มีปริมาณตัวยา SMX ในสารละลายปริมาตร 5 มิลลิลิตรที่ใช้ในการตกตะกอนเท่ากันดังที่แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 น้ำหนักของตัวยาและกรดมาลิกในสารละลายที่ใช้ในการตกตะกอน 5 มิลลิลิตรที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกต่าง ๆ

น้ำหนักของตัวยา SMX และกรดมาลิก (mg)						
ในสารละลาย 5 มิลลิลิตร						
%SAT of SMX*	30%		50%		70%	
อัตราส่วนโดยมวลของยาต่อกรดมาลิก	ยา	กรดมาลิก	ยา	กรดมาลิก	ยา	กรดมาลิก
2:1	375	187.5	625	312.5	875	437.5
1.5:1	375	250	625	416.67	875	583.33
1:1	375	375	625	625	875	875

หมายเหตุ *ตัวยา SMX สามารถละลายในอะซิโตนได้มากที่สุด 250 mg/ml

ตารางที่ 5 แสดงค่า Drug content ของอนุภาคที่อัตราส่วนและความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 35 °C ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้น 30%SAT อนุภาคที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 มีค่า Drug content สูงที่สุด รองมาคืออนุภาคที่อัตราส่วน 1.5:1 และ อัตราส่วน 1:1 ตามลำดับ ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากสัดส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกในสารละลายที่ใช้ในการตกตะกอนมีค่าลดลง (ปริมาณของกรดมาลิกในสารละลายเพิ่มขึ้น) จึงทำให้กรดมาลิกสามารถตกตะกอนออกมาได้เพิ่มมากขึ้น แต่ในขณะที่ตัวยา SMX สามารถตกตะกอนออกมาได้เท่าเดิม ซึ่งเป็นผลทำให้ค่า Drug content ของอนุภาคโคคริสตัลที่ได้มีค่าลดลง โดยที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 อนุภาคที่ตกตะกอนได้มีค่า Drug content เท่ากับ 80.14%, 68.40% และ 59.88% ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าสำหรับอนุภาคที่ตกตะกอนได้ที่สภาวะนี้จะมีเพียงสีขาวเท่านั้น

ตารางที่ 5 Drug content ของอนุภาคโคคริสตอลที่อัตราส่วนและความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 35 °C

%SAT of SMX	ค่า Drug content ของอนุภาคโคคริสตอลตกตะกอนที่อุณหภูมิ 35 °C					
	30%		50%		70%	
อัตราส่วนโดยมวล ของยาต่อกรดมาลิก	ขาว	เหลือง	ขาว	เหลือง	ขาว	เหลือง
2:1	80.14%	-	74.58%	-	92.44%	-
1.5:1	68.4%	-	65.2%	71.24%	71.13%	66.81%
1:1	59.88%	-	64.54%	69.87%	48.18%	46.14%

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบค่า Drug content ของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนจากสารละลายที่มีความเข้มข้น 50% และ 70% SAT อนุภาคที่ผลิตจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 จะมีค่า Drug content สูงกว่าที่อัตราส่วน 1.5:1 และ 1:1 ซึ่งมีแนวโน้มเหมือนกับอนุภาคที่ผลิตจากสารละลายที่มีความเข้มข้น 30% SAT กล่าวคือเมื่อสัดส่วนระหว่างตัวยา SMX ต่อกรดมาลิกในสารละลายมีค่าเพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่า Drug content ของอนุภาคที่ผลิตได้เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน และผลการทดลองดังกล่าวยังสอดคล้องกันทั้งในอนุภาคสีขาวและสีเหลือง

จากนั้นทำการทดลองที่อุณหภูมิ 45 °C เพื่อศึกษาค่า Drug content ของอนุภาคที่ผลิตได้ โดยผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 6 เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นของสารละลาย 30% SAT พบว่าอนุภาคที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 จะมีค่า Drug content 82.28% โดยมีค่ามากกว่าอนุภาคที่อัตราส่วน 1.5:1 (76.87%) และอนุภาคที่อัตราส่วน 1:1 (64.13%) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 35 °C และสำหรับการทดลองที่ความเข้มข้นของสารละลายเป็น 50% และ 70% SAT พบว่ามีความสัมพันธ์สอดคล้องเช่นเดียวกัน

ตารางที่ 6 Drug content ของอนุภาคโคคริสตัลที่อัตราส่วนและความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 45 °C

%SAT of SMX	ค่า Drug content ของอนุภาคโคคริสตัลตกตะกอนที่อุณหภูมิ 45 °C					
	30%		50%		70%	
อัตราส่วนโดยมวล ของยาต่อกรดมาลิก	ขาว	เหลือง	ขาว	เหลือง	ขาว	เหลือง
2:1	82.28%	-	70.23%	78.20%	72.67%	70.99%
1.5:1	76.87%	-	73.97%	75.24%	65.63%	65.24%
1:1	64.13%	56.63%	66.27%	54.67%	53.82%	58.57%

3.2 ผลของความเข้มข้น (%SAT) ที่มีต่อค่า Drug content

จากตารางที่ 5 และ 6 เป็นการทดลองตกตะกอนอนุภาคโคคริสตัลที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ที่ความเข้มข้น 30%SAT 50%SAT และ 70%SAT ผลการทดลองพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายจาก 30%SAT เป็น 50%SAT และ 70%SAT ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX ต่อกรดมาลิกคงที่ ส่งผลให้ปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่ตกตะกอนได้เพิ่มมากขึ้น แต่ไม่ส่งผลต่อค่า Drug content ของอนุภาคที่ตกตะกอนได้

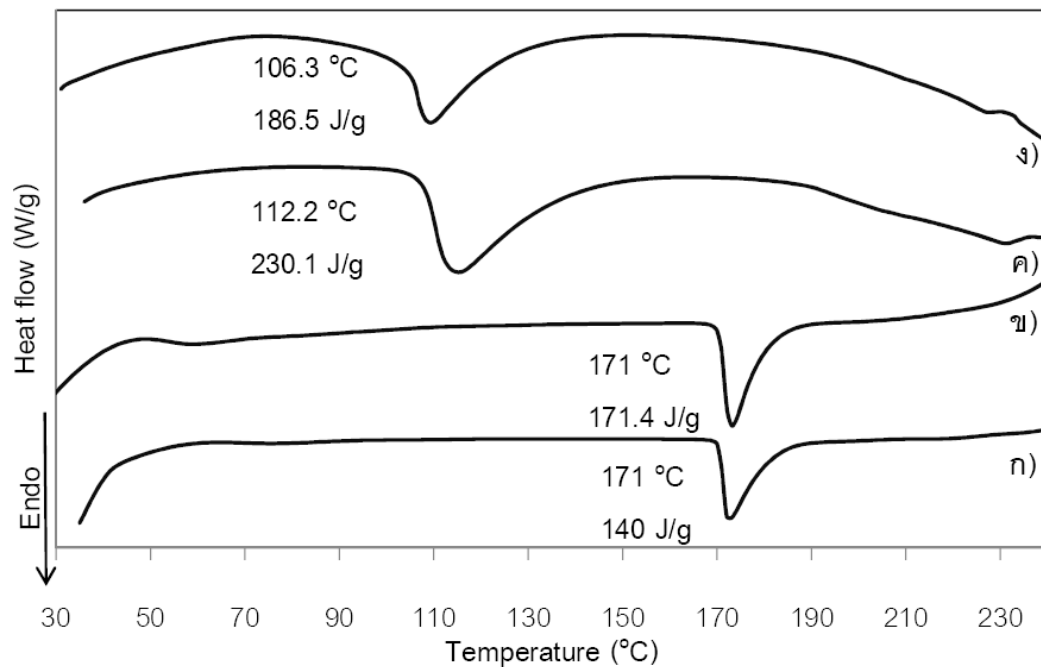
3.3 ผลของอุณหภูมิ ที่มีต่อค่า Drug content

ในการทดลองได้ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อค่า Drug content ของอนุภาคที่ตกตะกอนได้ โดยศึกษาเปรียบเทียบที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ที่ความเข้มข้น 30%SAT 50%SAT และ 70%SAT ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการทดลองจาก 35 °C (ตารางที่ 5) เป็นอุณหภูมิ 45 °C (ตารางที่ 6) ไม่สามารถสังเกตเห็นแนวโน้มของค่า Drug content ที่ตกตะกอนได้ โดยเมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้น 30%SAT ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 35 °C จะมีค่า Drug content น้อยกว่าที่อุณหภูมิ 45 °C แต่ในขณะที่ความเข้มข้น 50%SAT และ 70%SAT ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเดียวกัน การเพิ่มอุณหภูมิจาก 35 °C เป็น 45 °C ไม่สามารถเห็นแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของค่า Drug content ของอนุภาคที่ตกตะกอนได้ และค่า Drug content ของอนุภาคที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน

4. การวิเคราะห์จุดหลอมเหลวและพลังงานในการหลอมเหลวด้วยเครื่อง DSC

จากการวิเคราะห์จุดหลอมเหลวและพลังงานในการหลอมเหลวของอนุภาคตัวยา SMX และกรดมาลิกก่อนผ่านกระบวนการ GAS ด้วยเครื่อง DSC พบว่ามีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 171°C และ 112.2°C สำหรับตัวยา SMX และกรดมาลิก ตามลำดับ ในขณะที่ตัวยา SMX และกรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS ภายใต้สภาวะที่ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 45°C ในตัวทำละลายอะซิโตน ตัวยา SMX หลังผ่านกระบวนการ GAS มีจุดหลอมเหลวที่เท่ากับตัวยาก่อนผ่านกระบวนการคือ 171°C ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของศิวพร (2555) ที่ตกตะกอนตัวยา SMX จากตัวทำละลายอะซิโตนด้วยกระบวนการ GAS ที่รายงานว่าจุดหลอมเหลวของตัวยา SMX ก่อนและหลังกระบวนการ GAS มีค่าใกล้เคียงกัน แต่สำหรับกรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS มีจุดหลอมเหลว 106.3°C แสดงดังภาพที่ 5

จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC พลังงานในการหลอมเหลวของตัวยา SMX ก่อนกระบวนการ GAS มีค่า 140 J/g (ภาพที่ 5 (ก)) และเมื่อตกตะกอนด้วยกระบวนการ GAS ภายใต้สภาวะที่ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 45°C ในตัวทำละลายอะซิโตน พบว่าค่าพลังงานในการหลอมเหลวของตัวยา SMX มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 171.4 J/g (ภาพที่ 5 (ข)) ทั้งนี้เพราะอนุภาคของตัวยา SMX หลังผ่านกระบวนการ GAS มีขนาดใหญ่กว่าตัวยาก่อนผ่านกระบวนการ ซึ่งสอดคล้องกับภาพถ่ายที่ได้จาก SEM ซึ่งจะกล่าวเพิ่มเติมในหัวข้อถัดไป



ภาพที่ 5 จุดหลอมเหลวและพลังงานในการหลอมเหลว ก) ตัวยา SMX ที่ผ่านการบด ข) ตัวยา SMX หลังผ่านกระบวนการ GAS ค) กรดมาลิกตามท้องตลาด (Commercial L-Malic acid) และ ง) กรดมาลิก หลังผ่านกระบวนการ GAS ที่อุณหภูมิ 45 °C ความเข้มข้น 125 mg/ml ในตัวทำละลายอะซิโตน

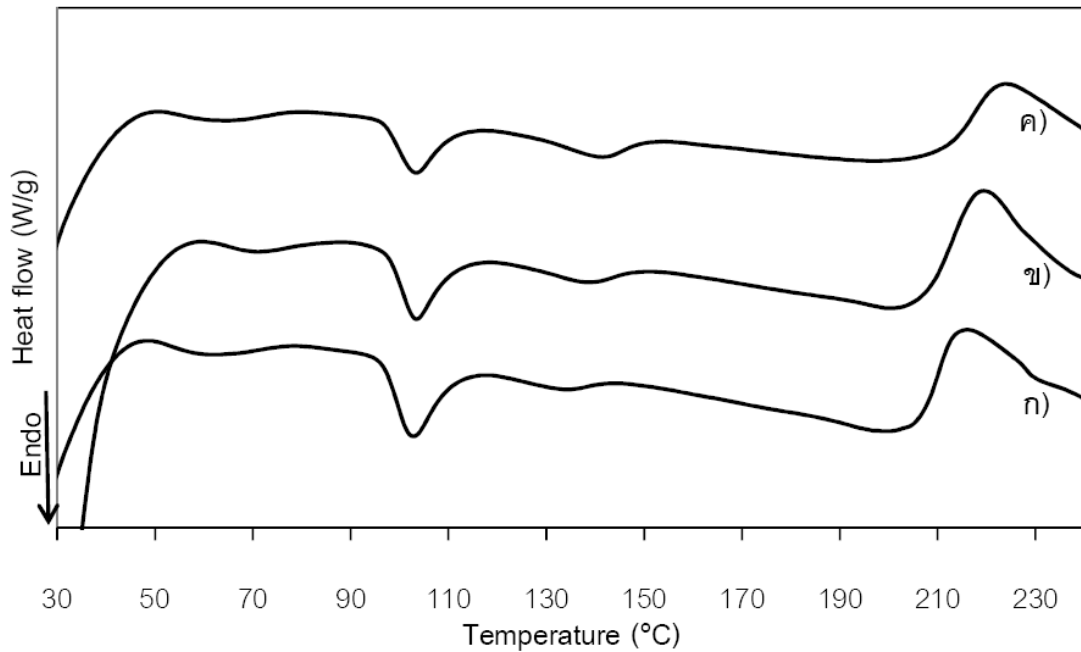
สำหรับกรดมาลิกก่อนผ่านกระบวนการ GAS จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC มีพลังงานในการหลอมเหลวเท่ากับ 230.1 J/g (ภาพที่ 5 (ค)) และหลังผ่านการตกตะกอนด้วยกระบวนการ GAS ภายใต้สภาวะความเข้มข้น 125 mg/ml ที่อุณหภูมิ 45 °C มีค่าพลังงานในการหลอมเหลวเท่ากับ 186.5 J/g (ภาพที่ 5 (ง)) เนื่องจากอนุภาคของกรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS มีขนาดที่เล็กลงซึ่งสอดคล้องกับลักษณะของอนุภาคที่ได้จากภาพถ่าย SEM ภาพที่ 9 (ข) และ (ง) สำหรับกรดมาลิกก่อนและหลังกระบวนการ GAS ตามลำดับ

4.1 จุดหลอมเหลวและพลังงานที่ใช้ในการหลอมเหลวของของผสมทางกายภาพ

การวิเคราะห์จุดหลอมเหลวของของผสมทางกายภาพด้วยเทคนิค DSC ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเดียวกันกับสภาวะที่ใช้ในการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตัลด้วยกระบวนการ GAS (2:1, 1.5:1 และ 1:1) แสดงดังภาพที่ 6 ผลการวิเคราะห์พบว่าของผสมทางกายภาพที่อัตราส่วน 1:1 ปรากฏพีค 2 ตำแหน่ง ที่พีคตำแหน่งแรกเป็นของกรดมาลิกที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 102.6 °C จากนั้นเมื่ออุณหภูมิในการ

วิเคราะห์เพิ่มสูงขึ้นจะปรากฏพีคที่ 2 ที่อุณหภูมิ 133.1 °C โดยพีคที่ 2 เป็นพีคของอนุภาคโคคริสตัลที่เกิดขึ้นระหว่างการให้ความร้อนในการวิเคราะห์ อีกทั้งในการวิเคราะห์นั้นไม่พบพีคของตัวยา SMX ที่อุณหภูมิในการหลอมเหลวเท่ากับ 171 °C เนื่องจากตัวยา SMX สามารถละลายลงในกรดมาลิกที่หลอมเหลว ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Soares and Carneiro (2014) ที่ตกตะกอนอนุภาคโคคริสตัลระหว่างตัวยา Ibuprofen กับ Nicotinamide ในตัวทำละลายเมทานอลด้วยเทคนิค Slow evaporation ซึ่งได้วิเคราะห์ของผสมทางกายภาพของตัวยา ibuprofen กับ Nicotinamide ที่อัตราส่วนเป็น 1:1 โดยน้ำหนัก ด้วยเทคนิค DSC และรายงานไว้ว่าในระหว่างการให้ความร้อนในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC ตัวยา Ibuprofen จะหลอมเหลวก่อนที่อุณหภูมิ 72 °C ซึ่งตัวยาที่หลอมเหลวสามารถไปละลาย Nicotinamide ที่มีอยู่ทำให้เกิดอนุภาคโคคริสตัลและปรากฏพีคของอนุภาคโคคริสตัลที่อุณหภูมิ 89.6 °C อีกทั้งจากการวิเคราะห์ยังไม่ปรากฏพีคของ Nicotinamide ที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 131 °C เช่นเดียวกัน

การวิเคราะห์ของผสมทางกายภาพที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 ด้วยเทคนิค DSC ในภาพที่ 6 เส้น ก) เกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการวิเคราะห์ดังนี้ 1. กรดมาลิก หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 102.6 °C 2. กรดมาลิกที่หลอมเหลวเข้าไปละลายบางส่วนของตัวยา SMX ทำให้เกิดการรวมตัวเป็นอนุภาคโคคริสตัลในสารที่หลอมเหลว 3. อนุภาคโคคริสตัลที่เกิดขึ้นเกิดการหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 133.1 °C (Eutectic point) และ 4. ตัวยา SMX ทั้งหมดจะละลายลงในกรดมาลิกที่หลอมเหลว ทำให้จากการวิเคราะห์ไม่ปรากฏพีคของตัวยา SMX ที่อุณหภูมิ 171 °C นอกจากนี้การวิเคราะห์ของผสมทางกายภาพที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 (ภาพที่ 6 ข) และ 2:1 (ภาพที่ 6 ค) ยังให้ผลการทดลองที่เหมือนกันกับที่อัตราส่วน 1:1 โดยพบว่ากรดมาลิกหลอมเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 103 °C ทั้งสองอัตราส่วนและระหว่างการให้ความร้อนยังทำให้เกิดอนุภาคโคคริสตัลอีกเช่นเดียวกัน ซึ่งจุดหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตัลมีค่า 137.8 °C และ 141.3 °C สำหรับอัตราส่วน 1.5:1 และ 2:1 ตามลำดับ โดยจุดหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตัลที่เปลี่ยนไปเป็นผลมาจากปริมาณกรดมาลิกที่อยู่ในของผสมที่อัตราส่วน 1.5:1 และ 2:1 มีค่าลดลง ตามลำดับ ทำให้กรดมาลิกที่หลอมเหลวในขั้นตอนแรกมีปริมาณน้อยลง จึงไปละลายตัวยา SMX ได้ช้าลง ทำให้เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตัลได้ช้ากว่าของผสมที่อัตราส่วน 1:1 จุดหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตัลจึงมีค่าสูงขึ้น



ภาพที่ 6 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC ของผสมทางกายภาพที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น ก) 1:1 ข) 1.5:1 และ ค) 2:1

เมื่อพิจารณาค่าพลังงานในการหลอมเหลวของของผสมทางกายภาพสำหรับที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1, 1.5:1 และ 2:1 ที่อุณหภูมิ 140 °C พบว่าค่าพลังงานที่ใช้ในการหลอมเหลวมีค่าต่ำกว่าสารบริสุทธิ์ทั้ง 2 ชนิดที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งพลังงานที่ใช้ในการหลอมเหลวที่มีค่าน้อยนั้นทำให้ตัวยา SMX สามารถกลายเป็นของเหลวได้ง่าย อีกทั้งยังสามารถแตกตัวและสร้างพันธะกับตัวทำละลายได้ง่ายมากขึ้น อันเป็นผลทำให้ตัวยามีอัตราการละลายที่สูงขึ้น (Ober *et al.*, 2013) โดยค่าพลังงานในการหลอมเหลวของของผสมทางกายภาพมีค่าเท่ากับ 15.83, 21.67 และ 25.32 J/g สำหรับของผสมที่อัตราส่วน 1:1, 1.5:1 และ 2:1 ตามลำดับ

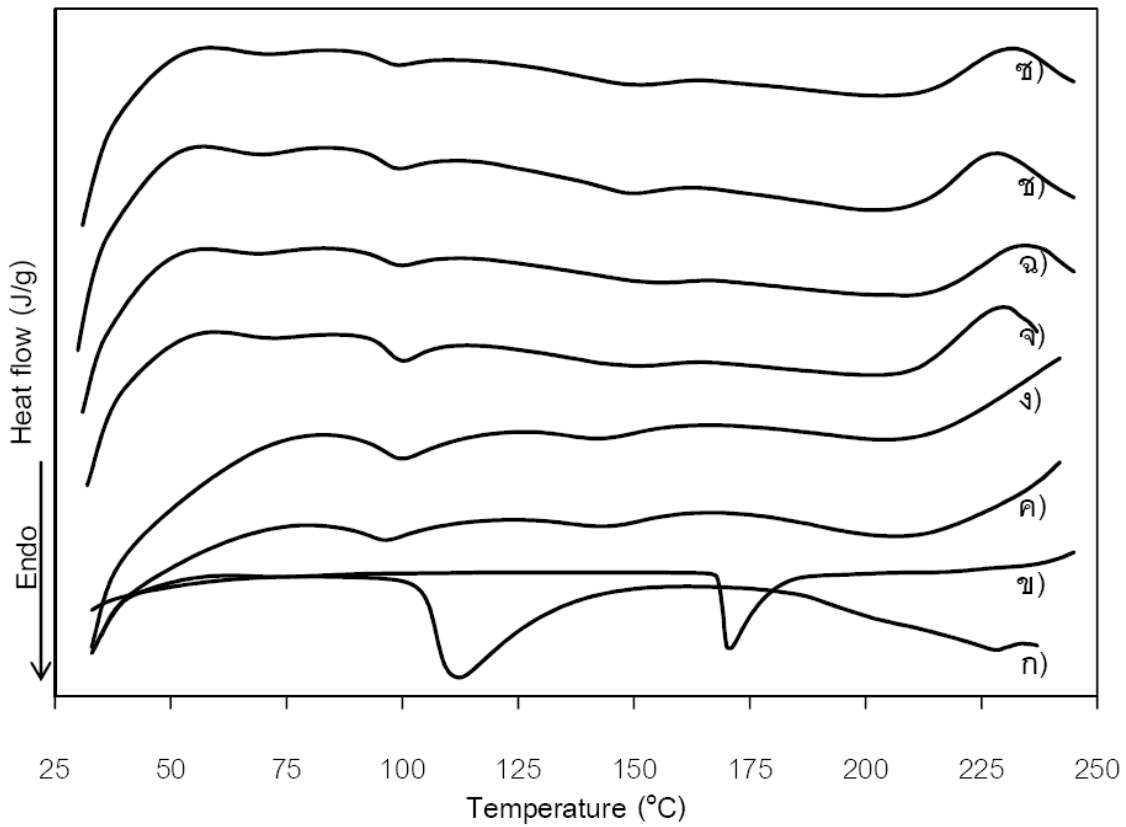
4.2 จุดหลอมเหลวและพลังงานในการหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตอล

จุดหลอมเหลวของตัวยา SMX และกรดมาลิกบริสุทธิ์หลังผ่านกระบวนการ GAS มีค่าเท่ากับ 171 °C และ 106.3 °C ตามลำดับ และเมื่อนำสารทั้งสองมาตกตะกอนเป็นอนุภาคโคคริสตอลภายใต้สภาวะการทดลองต่าง ๆ ด้วยกระบวนการ GAS ที่ใช้ Dense CO₂ เป็นตัวดำเนินการละลาย ภายใต้สภาวะในการทดลองที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 โดยน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ และความเข้มข้นต่าง ๆ ในตัวทำละลายอะซิโตน ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 7 ผลการทดลองพบว่า จุดหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากทุกสภาวะมีค่าอยู่ระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Bailey *et al.*, 2003; Nicoli *et al.*, 2008; Stanton and Bak, 2008; Shikhar *et al.*, 2011;

Grossjohann *et al.*, 2012; Ober *et al.*, 2013) ที่รายงานไว้ว่าอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้มีจุดหลอมเหลวอยู่ระหว่างสารตั้งต้นทั้ง 2 ชนิด ตัวอย่างของผลการวิเคราะห์อนุภาคที่ตกตะกอนจากกระบวนการ GAS ด้วยเทคนิค DSC แสดงดังภาพที่ 7

จุดหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนได้นั้นขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ในการตกตะกอนด้วยกระบวนการ GAS และจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC ที่ทุกสภาวะในการทดลองพบว่าปรากฏพีค 2 ตำแหน่ง (ตัวอย่างผลการวิเคราะห์อนุภาคอยู่ในภาพที่ 7 เส้น (ค) ถึง (ข)) คล้ายกับของผสมทางกายภาพ ซึ่งจากการวิเคราะห์ก็ไม่ปรากฏพีคของตัวยา SMX ที่เป็นส่วนเกินในผลิตภัณฑ์เช่นเดียวกัน โดยพีคที่ตำแหน่งแรกนั้นเป็นกรดมาลิกส่วนเกินที่อยู่ในผลิตภัณฑ์เกิดการหลอมเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 100 - 103 °C ในขณะที่จุดหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตอลในผลิตภัณฑ์อยู่ในช่วงตั้งแต่ 131.4 °C ไปจนถึง 156.6 °C เนื่องจากการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ตกตะกอนได้นั้นมีส่วนของตัวยา SMX และกรดมาลิกที่ไม่เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตอลอยู่ด้วย ทำให้จุดหลอมเหลวของผลิตภัณฑ์ที่ตกตะกอนจากสภาวะต่าง ๆ เมื่อวิเคราะห์ออกมานั้นมีช่วงของจุดหลอมเหลวที่กว้าง อีกทั้งจุดหลอมเหลวแปรผันตามค่า Drug content ของผลิตภัณฑ์ กล่าวคือเมื่อพิจารณาผลิตภัณฑ์ที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 35 °C ความเข้มข้นของสารละลาย 30% SAT ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ที่มีค่า Drug content เท่ากับ 80.14% พบว่ามีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 152.5 °C เปรียบเทียบกับที่อัตราส่วน 1.5:1 และ 1:1 ที่อุณหภูมิและความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งมีค่า Drug content เท่ากับ 68.4% และ 59.88% ตามลำดับ ซึ่งมีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 145.7 °C และ 136.7 °C ตามลำดับ จากข้างต้นแสดงให้เห็นว่าค่า Drug content ส่งผลต่อจุดหลอมเหลวของผลิตภัณฑ์ที่ตกตะกอนได้ โดยผลิตภัณฑ์ที่มีค่า Drug content มาก (ปริมาณกรดมาลิกในผลิตภัณฑ์น้อย) มีจุดหลอมเหลวที่สูงกว่าผลิตภัณฑ์ที่มีค่า Drug content น้อย

แต่อย่างไรก็ดี การวิเคราะห์จุดหลอมเหลวของอนุภาคที่ตกตะกอนได้จากสภาวะต่าง ๆ ด้วยเทคนิค DSC นั้นยังไม่สามารถใช้เป็นเครื่องยืนยันการเกิดอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกจากการตกตะกอนด้วยกระบวนการ GAS เนื่องจากในระหว่างการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC การให้ความร้อนสามารถทำให้เกิดอนุภาคโคคริสตอลได้ดังที่กล่าวไว้ในหัวข้อ 4.1 โดยการยืนยันการเกิดอนุภาคโคคริสตอลนั้นจะต้องอาศัยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอื่น ซึ่งจะกล่าวถึงในหัวข้อต่อไป



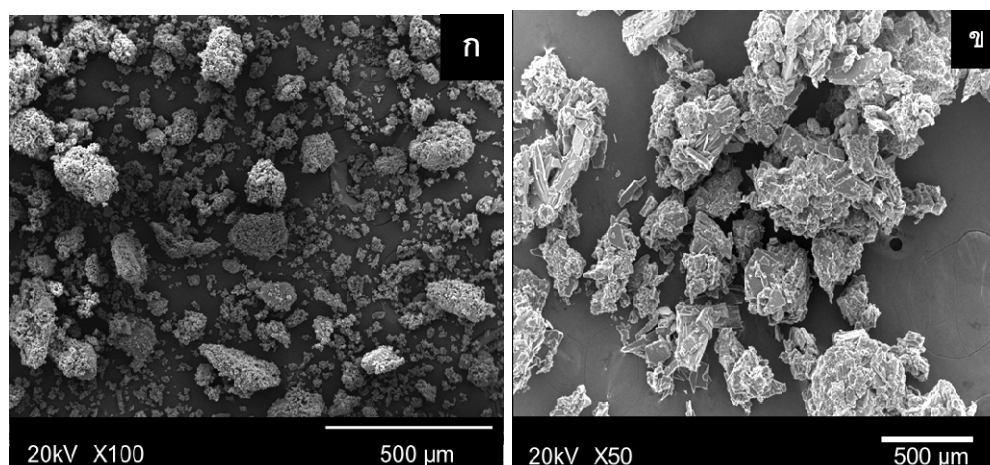
ภาพที่ 7 จุดหลอมเหลวและพลังงานในการหลอมเหลวของอนุภาคที่ตกตะกอนด้วยกระบวนการ GAS ก) กรดมาลิก ข) ตัวยา SMX ค) อนุภาคที่ผลิตจากอัตราส่วน 1:1 สีขาว ง) อนุภาคที่ผลิตจากอัตราส่วน 1:1 สีเหลือง จ) อนุภาคที่ผลิตจากอัตราส่วน 1.5:1 สีขาว ฉ) อนุภาคที่ผลิตจากอัตราส่วน 1.5:1 สีเหลือง ช) อนุภาคที่ผลิตจากอัตราส่วน 2:1 สีขาว และ ซ) อนุภาคที่ผลิตจากอัตราส่วน 2:1 สีเหลือง (หมายเหตุ ตกตะกอนจากตัวทำละลายอะซิโตน ที่ความเข้มข้น 50%SAT และอุณหภูมิ 45 °C)

ตารางที่ 7 จุดหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตอลที่อัตราส่วนและความเข้มข้นต่าง ๆ ภายใต้การตกตะกอนที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C

%SAT of SMX	อุณหภูมิ 35 °C					
	30%		50%		70%	
อัตราส่วนโดยมวล	ขาว	เหลือง	ขาว	เหลือง	ขาว	เหลือง
SMX:L-malic						
2:1	152.5	-	148.0	-	156.7	-
1.5:1	145.5	-	148.9	150.7	144.00	141.2
1:1	136.7	-	139.0	140.0	139.5	131.4
	อุณหภูมิ 45 °C					
2:1	151.0	-	148.5	147.7	144.9	148.7
1.5:1	146.8	-	149.7	148.5	143.5	141.1
1:1	138.6	136.8	142.7	141.7	137.7	135.1

พลังงานในการหลอมเหลวของอนุภาคที่ตกตะกอนได้จากสภาวะต่าง ๆ ด้วยกระบวนการ GAS ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC แสดงดังตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าอนุภาคที่ผลิตได้จากสภาวะต่าง ๆ มีค่าพลังงานในการหลอมเหลวที่ต่ำกว่าสารตั้งต้นทั้ง 2 ชนิด โดยมีค่าอยู่ในช่วง 10.0 ถึง 39.58 J/g ซึ่งค่าพลังงานในการหลอมเหลวที่น้อยแสดงถึงความเป็นผลึกของอนุภาคที่ผลิตได้มีค่าน้อยลงเมื่อเทียบกับสารตั้งต้นทั้ง 2 ชนิด และผลการวิเคราะห์ยังสอดคล้องกับการวิเคราะห์อนุภาคที่ผลิตได้ด้วยเทคนิค XRD ในหัวข้อที่ 6 อีกด้วย โดยความเป็นผลึกของอนุภาคนั้นจะส่งผลทำให้อนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้มีอัตราการละลายที่เพิ่มสูงขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบพลังงานในการหลอมเหลวของอนุภาคที่ผลิตได้จากกระบวนการ GAS กับของผสมทางกายภาพ พบว่าส่วนใหญ่แล้วมีค่ามากกว่าของผสมทางกายภาพ เนื่องจากอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากกระบวนการ GAS นั้นมีขนาดที่ใหญ่กว่าของผสมทางกายภาพที่ใช้ในการวิเคราะห์ ซึ่งเตรียมจากตัวยา SMX ที่ผ่านการบด ดังที่แสดงในภาพที่ 8



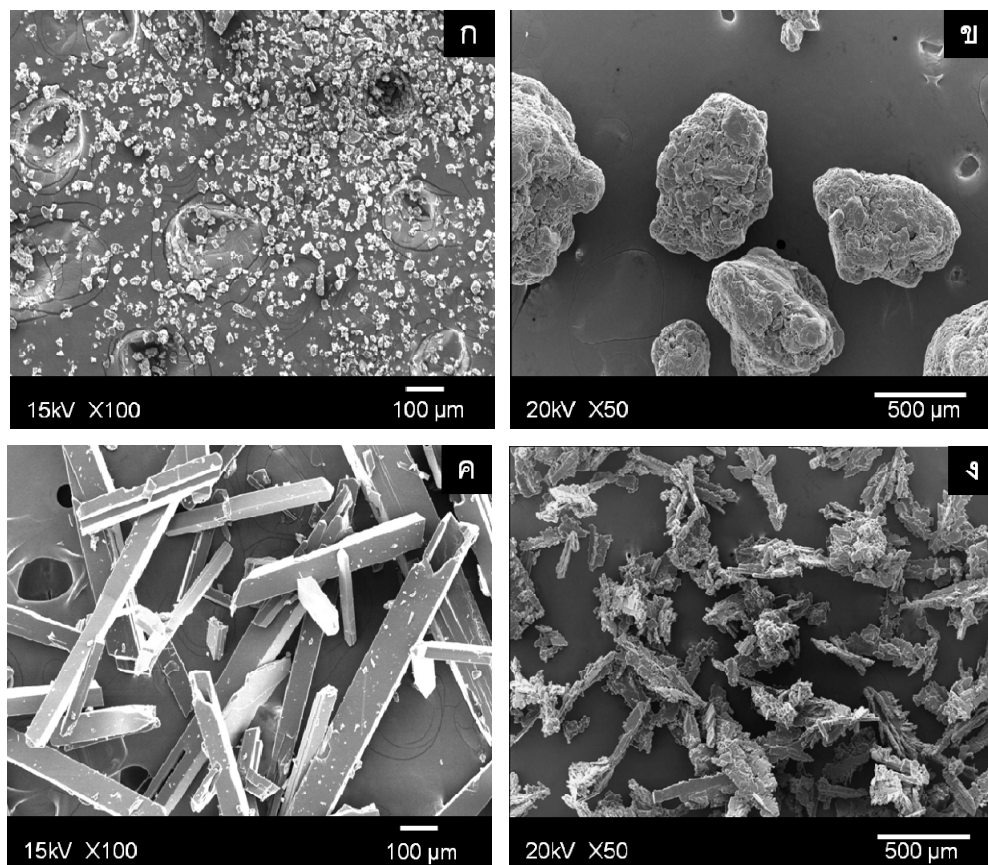
ภาพที่ 8 ภาพถ่ายจาก SEM ก) ของผสมทางกายภาพที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 และ ข) อนุภาคโคคริสตัลในส่วสีขาวที่ผลิตจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 ความเข้มข้น 50%SAT และอุณหภูมิ 45 °C

ตารางที่ 8 ค่าพลังงานในการหลอมเหลวของอนุภาคที่ตกตะกอนได้จากสภาวะต่าง ๆ

%SAT of SMX	อุณหภูมิ 35 °C					
	30%		50%		70%	
อัตราส่วนโดยมวล SMX:L-malic	ขาว	เหลือง	ขาว	เหลือง	ขาว	เหลือง
2:1	38.61	-	35.58	-	39.58	-
1.5:1	26.68	-	23.34	28.73	21.84	20.32
1:1	19.34	-	28.83	23.31	19.83	10.00
อุณหภูมิ 45 °C						
2:1	34.66	-	38.44	38.95	26.72	25.79
1.5:1	29.98	-	35.04	33.94	19.48	15.16
1:1	28.67	18.56	26.43	21.02	18.08	22.28

5. การวิเคราะห์อนุภาคที่ได้ด้วยเทคนิค SEM

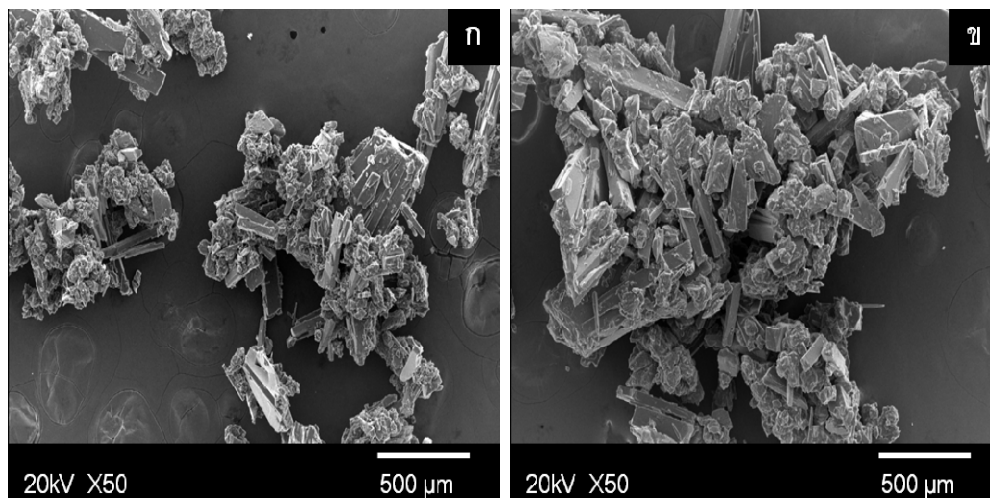
การศึกษาลักษณะของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนที่สภาวะต่าง ๆ งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาและเปรียบเทียบลักษณะของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนจากสารละลายที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ตามลำดับ ความเข้มข้น 50%SAT และที่อุณหภูมิ 45 °C ใช้ตัวทำละลายอะซิโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากอนุภาคที่ตกตะกอนจากสภาวะที่ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 45 °C มีอัตราการละลายที่สูง นอกจากนี้ในเบื้องต้นงานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์อนุภาคของตัวยา SMX และกรดมาลิกทั้งก่อนและหลังกระบวนการ GAS เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบกับอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้ แสดงดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 ภาพถ่ายจากเครื่อง SEM ก) อนุภาคตัวยา SMX ที่ผ่านการบดลดขนาด ข) กรดมาลิกก่อนผ่านการตกตะกอนด้วยกระบวนการ GAS ค) อนุภาคตัวยา SMX หลังผ่านกระบวนการ GAS และ ง) กรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS

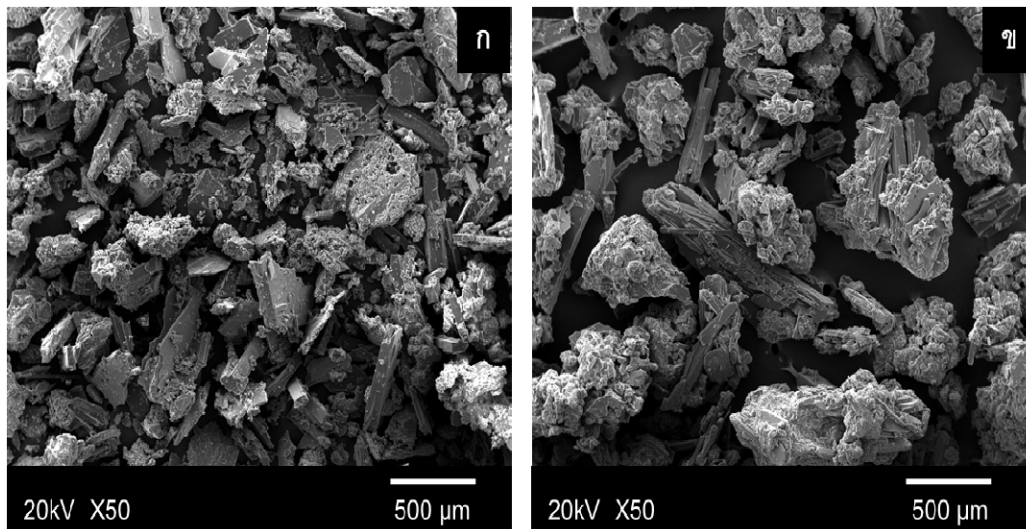
จากภาพที่ 9 เป็นการวิเคราะห์อนุภาคจากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด หรือ SEM แสดงให้เห็นว่าตัวยา SMX ที่ผ่านการบด (Micronized SMX) ก่อนผ่านกระบวนการ GAS มีลักษณะเป็นผงสีขาว มีขนาดเล็ก มีรูปร่างไม่แน่นอน (ภาพที่ 9 (ก)) และกรดมาลิกก่อนผ่านกระบวนการ GAS เป็นผงสีขาว มีขนาดใหญ่ ลักษณะเป็นทรงกลมและผิวไม่เรียบ (ภาพที่ 9 (ข)) เมื่อทำการตกตะกอนตัวยา SMX และกรดมาลิกจากสารละลายที่อุณหภูมิ 45 °C ความเข้มข้น 50 %SAT ในตัวทำละลายอะซิโตนด้วยกระบวนการ GAS พบว่าตัวยา SMX หลังผ่านกระบวนการ GAS มีลักษณะเป็นแท่ง รูปทรงสี่เหลี่ยม ภายในกลวง และมีขนาดใหญ่ขึ้น (ภาพที่ 9 (ค)) และกรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS มีรูปร่างที่ไม่แน่นอนและมีผิวที่ไม่สม่ำเสมอ (ภาพที่ 9(ง))

การวิเคราะห์อนุภาคโคคริสตัลระหว่างตัวยา SMX กับกรดมาลิกที่ตกตะกอนด้วยกระบวนการ GAS ที่อุณหภูมิ 45 °C ความเข้มข้น 50%SAT ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ผลการวิเคราะห์พบว่า ลักษณะพื้นฐานของอนุภาคโคคริสตัลประกอบไปด้วยลักษณะของตัวยา SMX และกรดมาลิกจับรวมตัวกันอยู่เป็นเนื้อเดียวกัน มีขนาดใหญ่ มีรูปร่างที่ไม่แน่นอน แสดงดังภาพที่ 10 ซึ่งลักษณะของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตได้ในส่วนสีขาว (ภาพที่ 10 (ก)) จะมีขนาดที่เล็กกว่าอนุภาคที่มีสีเหลือง (ภาพที่ 10 (ข)) เนื่องจากอนุภาคส่วนสีเหลืองนั้นเกิดจากการตกตะกอนของสารละลายที่อยู่ภายใน Dead zone ดังที่กล่าวมาข้างต้น



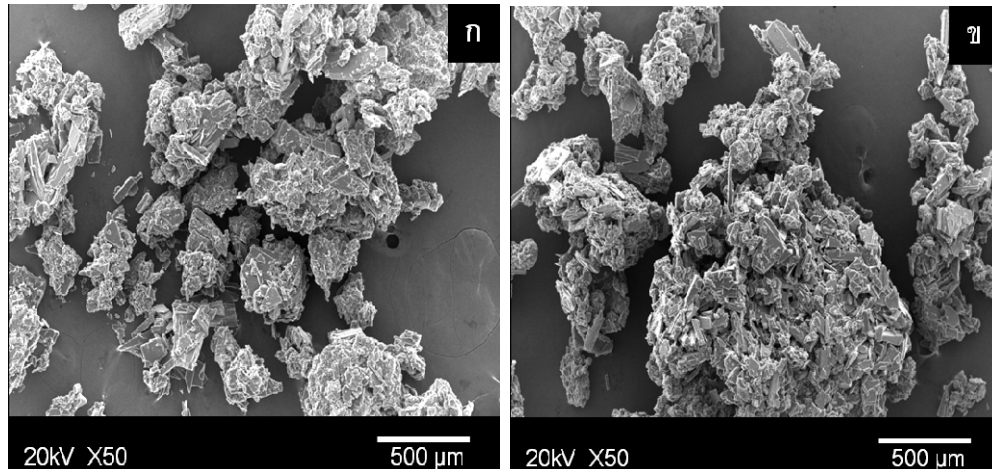
ภาพที่ 10 ภาพถ่ายจากเครื่อง SEM ของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากกระบวนการ GAS ภายใต้สภาวะที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 45°C ในตัวทำละลายอะซิโตน ก) อนุภาคสีขาว ข) อนุภาคสีเหลือง

เมื่อวิเคราะห์อนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า ลักษณะของอนุภาคที่ตกตะกอนได้จะมีรูปร่างคล้ายกับอนุภาคที่อัตราส่วน 2:1 คือลักษณะของสัณฐานของตัวยา SMX และกรดมาลิกจับรวมตัวกันอยู่เป็นเนื้อเดียวกันแสดงดังภาพที่ 11 และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะของอนุภาคในส่วนสีขาว (ภาพที่ 11 ก) มีขนาดเล็กกว่าอนุภาคในส่วนสีเหลือง (ภาพที่ 11 ข) เช่นเดียวกัน นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบอนุภาคโคคริสตอลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 กับอัตราส่วน 1.5:1 สัณฐานของตัวยา SMX ที่อัตราส่วน 1.5:1 มีขนาดเล็กลงเนื่องจากปริมาณกรดมาลิกที่มีอยู่ในสารละลายเริ่มต้นมีมากกว่า ทำให้เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตอลมากขึ้นรวมทั้งกรดมาลิกอาจเข้าไปไปขัดขวางการโตของตัวยา SMX อีกด้วย



ภาพที่ 11 ภาพถ่ายจากเครื่อง SEM ของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตจากกระบวนการ GAS ภายใต้สภาวะที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 45 °C ในตัวทำละลายอะซิโตน ก) อนุภาคสีขาว ข) อนุภาคสีเหลือง

การวิเคราะห์อนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนภายใต้สภาวะที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 45°C ในตัวทำละลายอะซิโตน แสดงดังภาพที่ 12 โดยผลจากการวิเคราะห์ลักษณะของอนุภาคที่ผลิตได้มีลักษณะเหมือนกับอนุภาคที่อัตราส่วน 2:1 และ 1.5:1 คือ มีลักษณะรูปร่างไม่แน่นอน เกาะรวมตัวเป็นกลุ่ม ประกอบไปด้วยสัณฐานของตัวยา SMX และกรดมาลิก โดยอนุภาคในส่วนสีขาวยังจะมีขนาดเล็กกว่าสีเหลืองเช่นเดียวกัน แสดงดังภาพที่ 12 ก) สำหรับอนุภาคสีขาว และ ข) สำหรับอนุภาคสีเหลือง ตามลำดับ



ภาพที่ 12 ภาพถ่ายจากเครื่อง SEM ของอนุภาคโคโคริสตอลที่ผลิตจากกระบวนการ GAS ภายใต้สภาวะที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 45 °C ในตัวทำละลายอะซิโตน ก) อนุภาคสีขาว ข) อนุภาคสีเหลือง

จากการวิเคราะห์ลักษณะของอนุภาคโคโคริสตอลด้วยเทคนิค SEM ทั้ง 3 อัตราส่วน (2:1, 1.5:1 และ 1:1) ที่ตกตะกอนด้วยกระบวนการ GAS ดังที่กล่าวไว้ก่อนหน้านี้ ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าอนุภาคโคโคริสตอลส่วนที่เป็นสีขาวมีขนาดเล็กกว่าอนุภาคส่วนสีเหลืองทั้ง 3 อัตราส่วน นอกจากนี้อนุภาคที่ผลิตจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกในสารละลายเริ่มต้นเป็น 2:1 (ภาพที่ 10) สัณฐานของตัวยา SMX ในอนุภาคโคโคริสตอลมีลักษณะเป็นแท่งทรงสี่เหลี่ยม ขนาดใหญ่และสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน ขณะที่เมื่ออัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกมีค่าน้อยลง (ปริมาณกรดมาลิกเพิ่มขึ้น) ในอัตราส่วน 1.5:1 (ภาพที่ 11) สัณฐานของตัวยา SMX ในอนุภาคโคโคริสตอลที่ตกตะกอนได้มีขนาดเล็กลง และที่อัตราส่วน 1:1 (ภาพที่ 12) สัณฐานของตัวยา SMX จะมีขนาดเล็กที่สุดและอนุภาคโคโคริสตอลที่อัตราส่วนนี้มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenous) กันมากที่สุดเมื่อเทียบกับอนุภาคโคโคริสตอลที่อัตราส่วนอื่น ๆ

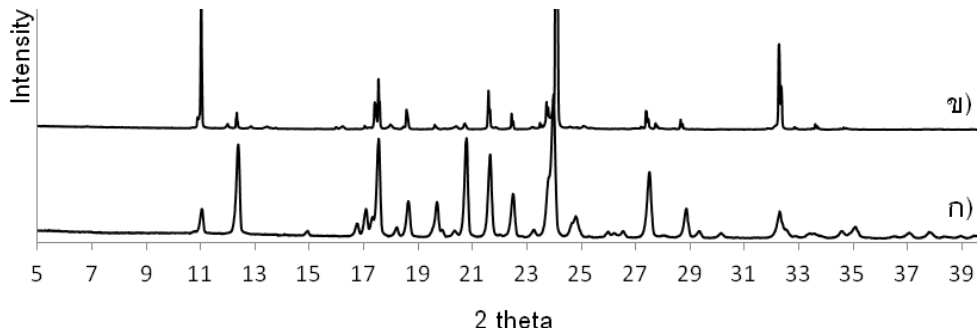
จากผลการวิเคราะห์อนุภาคโคโคริสตอลที่ตกตะกอนได้จากกระบวนการ GAS นั้นทำให้สรุปได้ว่าปริมาณของกรดมาลิกที่อยู่ในสารละลายเริ่มต้นมีผลต่อลักษณะของอนุภาคโคโคริสตอลที่ผลิตได้ โดยอนุภาคที่ตกตะกอนจากสารละลายที่มีปริมาณกรดมาลิกมาก (อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1) จะทำให้ได้อนุภาคโคโคริสตอลที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันมากที่สุด

6. ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD

การวิเคราะห์อนุภาคด้วยเทคนิค XRD เป็นการศึกษาความเป็นผลึกของอนุภาคที่ตกตะกอนได้จากกระบวนการ GAS ที่ใช้ Dense CO₂ เป็นตัวดำเนินการละลาย โดยศึกษาจาก Diffractogram ของอนุภาคที่วิเคราะห์ นอกจากนี้ยังสามารถใช้ยืนยันการเกิดอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกได้อีกด้วย โดยดูจากตำแหน่งของพีคใน Diffractogram ซึ่งอนุภาคที่ตกตะกอนได้แล้วเกิดเป็นอนุภาคโคคริสตอลแล้วนั้น ตำแหน่งพีคใน Diffractogram ที่ได้จาก XRD จะแตกต่างจากตัวยา SMX และกรดมาลิก และต้องไม่เป็นผลรวมของตัวยาและกรดมาลิกเช่นเดียวกัน ดังเช่น ในงานวิจัยของ Ober *et al.* (2013) ที่ทดลองตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลด้วยกระบวนการ GAS ระหว่างตัวยา itraconazole กับกรดมาลิก และเมื่อวิเคราะห์อนุภาคที่ตกตะกอนได้ด้วยเทคนิค XRD พบว่าอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนได้มีลักษณะของ Diffractogram ที่มีพีคแตกต่างจากตัวยา itraconazole กับกรดมาลิก อีกทั้ง Diffractogram ที่ได้ไม่ได้เป็นผลรวมของสารทั้ง 2 ข้างต้น และงานวิจัยของ Limwikrant *et al.* (2012) ที่ตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา Carbamazepine กับกรดมาลินิก (Malonic acid) ด้วยการบด (Grinding) และเมื่อนำอนุภาคโคคริสตอลที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD พบว่า Diffractogram ของอนุภาคโคคริสตอลแตกต่างจากตัวยา Carbamazepine และกรดมาลินิก เป็นต้น

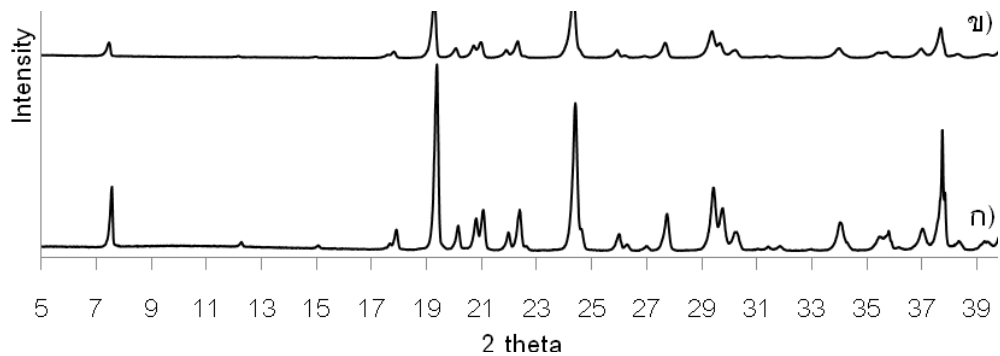
ในงานวิจัยนี้จึงได้วิเคราะห์อนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนที่สภาวะต่าง ๆ ด้วยเทคนิค XRD เพื่อศึกษาความเป็นผลึกและยืนยันการเกิดอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ตามลำดับ ความเข้มข้น 50%SAT และที่อุณหภูมิ 45 °C ที่ใช้ตัวทำละลายอะซิโตนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์

จากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ของตัวยา SMX ก่อนและหลังผ่านกระบวนการ GAS ดังแสดงในภาพที่ 13 พบว่าตัวยา SMX มีพีคหลักที่มุม 2 theta มีค่าเท่ากับ 11.0, 12.3, 17.5, 20.7, 23.7 และ 32.3 สำหรับตัวยาก่อนผ่านกระบวนการ GAS มีความเป็นผลึกน้อยกว่าตัวยาหลังผ่านกระบวนการ GAS เนื่องจากตัวยาก่อนผ่านกระบวนการนั้นผ่านการบดมาแล้วทำให้อนุภาคมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 9 (ก)) และการลดขนาดยังทำให้ความเป็นผลึกของอนุภาคตัวยา SMX ลดลง ในขณะที่ตัวยา SMX หลังผ่านกระบวนการ GAS นั้นอนุภาคของตัวยาที่ได้มีขนาดใหญ่ ดังที่แสดงในภาพที่ 9 (ค) ซึ่งสอดคล้องงานวิจัยของ Chang *et al.* (2007) ที่ทำการทดลองลดขนาดตัวยา SMX ด้วยกระบวนการ SAS ผลการทดลองพบว่าอนุภาคของตัวยา SMX เมื่อผ่านการลดขนาดด้วยกระบวนการ SAS มีขนาดที่เล็กลง รวมทั้งเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ยังแสดงให้เห็นว่าอนุภาคที่ผ่านการลดขนาดยังมีความเป็นผลึกที่ลดลงด้วยเช่นเดียวกัน



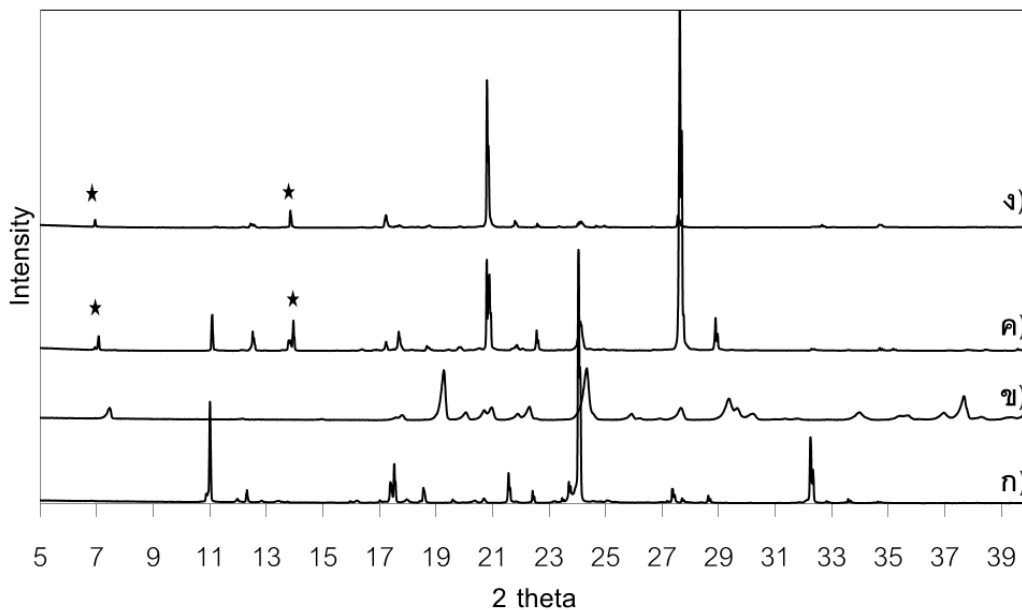
ภาพที่ 13 Diffractogram จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ของตัวยา SMX ก) ก่อนผ่านกระบวนการ GAS ข) หลังผ่านกระบวนการ GAS

สำหรับการวิเคราะห์กรดมาลิกด้วยเทคนิค XRD แสดงดังภาพที่ 14 พบว่าตำแหน่งพีคหลักของกรดมาลิกมีค่า 2 theta เท่ากับ 7.4, 19.3, 24.3, 29.4 และ 37.7 และกรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS มีความเป็นผลึกน้อยกว่ากรดมาลิกก่อนผ่านกระบวนการ เนื่องจากหลังผ่านกระบวนการนั้นกรดมาลิกมีขนาดเล็กลงดังภาพที่ 9 (ข) และ (ง) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ober *et al.* (2013) ที่รายงานไว้ว่ากรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS มีขนาดที่เล็กลง และเมื่อวิเคราะห์ความเป็นผลึกด้วยเทคนิค XRD พบว่ากรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการมีความเป็นผลึกลดลงเช่นเดียวกัน



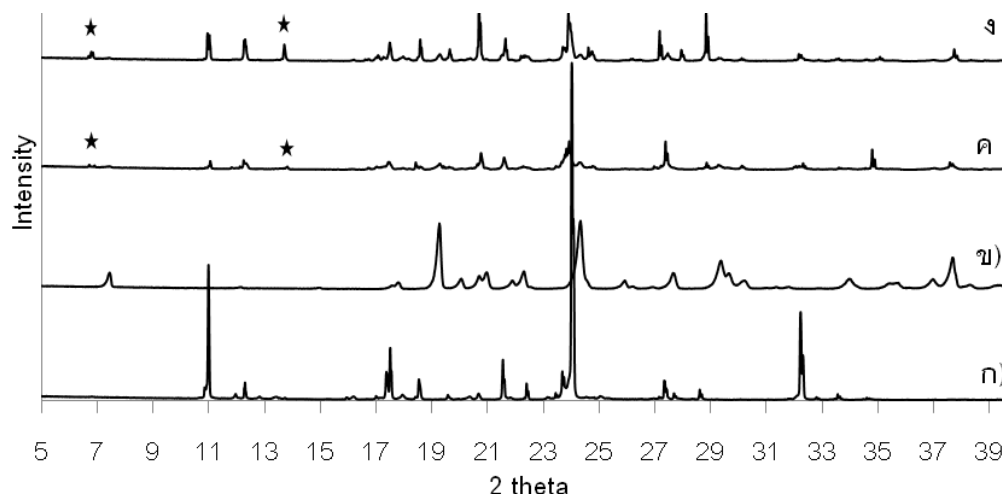
ภาพที่ 14 Diffractogram จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ของกรดมาลิก ก) ก่อนผ่านกระบวนการ GAS
ข) หลังผ่านกระบวนการ GAS

เมื่อวิเคราะห์อนุภาคระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกที่ตกตะกอนด้วยกระบวนการ GAS ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ความเข้มข้น 50%SAT และที่อุณหภูมิ 45 °C เปรียบเทียบกับตัวยา SMX และกรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS ที่สภาวะในการทดลองเดียวกัน ดังที่แสดงในภาพที่ 12 ผลการวิเคราะห์พบว่าอนุภาคที่ตกตะกอนได้เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตัล โดยพิจารณาจาก Diffractogram พบพีคตำแหน่งใหม่ที่มีค่า 2 theta เท่ากับ 6.8 และ 13.8 ดังที่ทำสัญลักษณ์ไว้ในภาพที่ 15 เส้น ค) และ ง) สำหรับอนุภาคสีขาวและสีเหลือง ตามลำดับ ซึ่งตำแหน่งพีคที่เกิดขึ้นไม่ปรากฏในตัวยา SMX (ภาพที่ 15 ก)) และกรดมาลิก (ภาพที่ 15 ข)) ที่ผ่านกระบวนการ GAS นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ก็ยังแสดงให้เห็นว่าในผลิตภัณฑ์ที่ตกตะกอนได้นั้นยังมีตัวยา SMX และกรดมาลิกที่ไม่เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตัลอยู่ในผลิตภัณฑ์ที่ตกตะกอนได้ซึ่งสังเกตได้จาก Diffractogram ของผลิตภัณฑ์ที่ปรากฏตำแหน่งพีคของตัวยา SMX และกรดมาลิกอยู่ด้วย โดยปริมาณของตัวยา SMX และกรดมาลิกที่เป็นส่วนเกินนั้นยังไม่สามารถระบุได้ว่ามีปริมาณอยู่ในผลิตภัณฑ์ที่ตกตะกอนได้เท่าไร



ภาพที่ 15 Diffractogram จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ของ ก) ตัวยา SMX หลังผ่านกระบวนการ GAS ข) กรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS และอนุภาคโคคริสตัลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ค) สีขาว ง) สีเหลือง สภาวะในการตกตะกอนที่ความเข้มข้น 50%SAT และอุณหภูมิ 45 °C

ผลการวิเคราะห์อนุภาคที่ตกตะกอนที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 ที่ความเข้มข้น 50%SAT และอุณหภูมิ 45 °C เปรียบเทียบกับตัวยา SMX และกรดมาลิกที่ตกตะกอนที่สภาวะเดียวกัน ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 16 พบว่าอนุภาคที่ตกตะกอนได้นั้นเกิดเป็นอนุภาคโคคริสตอล ซึ่งปรากฏพีคตำแหน่งใหม่ที่ไม่พบในตัวยา SMX และ กรดมาลิก ที่ตำแหน่งของ 2 theta เท่ากับ 6.8 และ 13.8 ดังที่ทำสัญลักษณ์ไว้ในภาพที่ 16 (เส้น ค) และ ง) สำหรับอนุภาคสีขาวและสีเหลือง ตามลำดับ และผลการทดลองยังให้ผลเหมือนกับการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลภายใต้สภาวะเดียวกัน ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเท่ากับ 2:1 กล่าวคือยังพบตัวยาและกรดมาลิกที่ไม่เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตอลผสมอยู่ในผลิตภัณฑ์ที่ตกตะกอนได้อีกด้วย

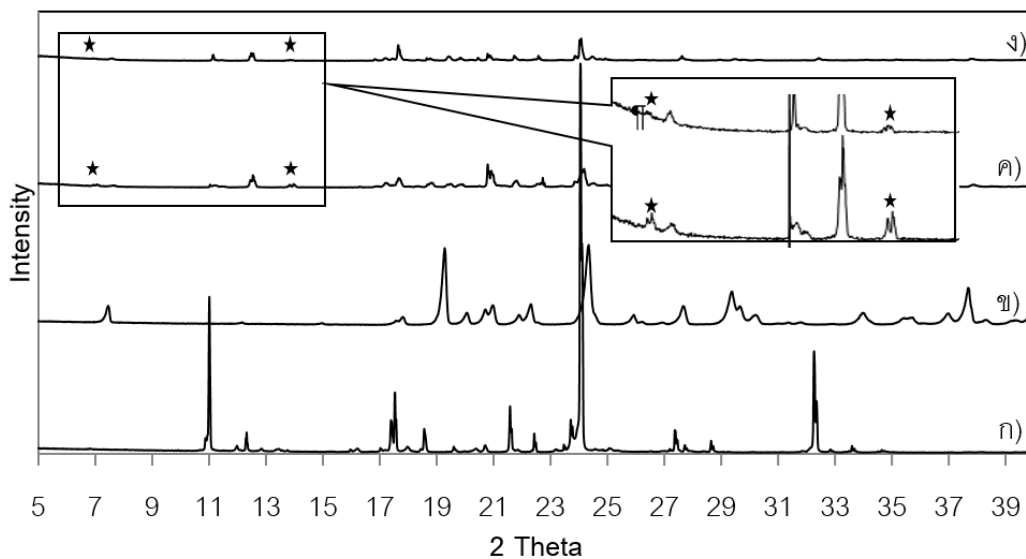


ภาพที่ 16 Diffractogram จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ของ ก) ตัวยา SMX หลังผ่านกระบวนการ GAS ข) กรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS และอนุภาคโคคริสตอลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 ค) สีขาว ง) สีเหลือง สภาวะในการตกตะกอนที่ความเข้มข้น 50%SAT และอุณหภูมิ 45 °C

สำหรับการวิเคราะห์อนุภาคที่ตกตะกอนจากสภาวะที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 ที่ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 45 °C เปรียบเทียบกับตัวยา SMX และกรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS ที่สภาวะเดียวกัน แสดงดังภาพที่ 17 ผลการทดลองพบว่าอนุภาคที่ตกตะกอนได้นั้นเกิดเป็นอนุภาคโคคริสตอลเช่นเดียวกับอนุภาคที่ตกตะกอนที่อัตราส่วน 2:1 และ 1.5:1 ที่กล่าวมาข้างต้น โดยดูจาก

Diffractogram ที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ที่ปรากฏตำแหน่งพีคใหม่ที่ค่า 2 Theta เท่ากับ 6.8 และ 13.8 เช่นเดียวกัน

จากการวิเคราะห์ผลึกภัณฑ์ที่ได้จากการตกตะกอนที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ที่ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 45 °C ในตัวทำละลายอะซิโตน พบว่าผลึกภัณฑ์ที่ตกตะกอนได้มีความเป็นผลึกลดน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวยา SMX และกรดมาลิก โดยดูจาก Diffractogram ของการวิเคราะห์ด้วย XRD ยกเว้นผลึกภัณฑ์ที่อัตราส่วน 2:1 เท่านั้นที่ความเป็นผลึกของผลึกภัณฑ์ที่ตกตะกอนได้มีค่าสูง เนื่องจากที่อัตราส่วน 2:1 มีปริมาณของกรดมาลิกอยู่น้อย ซึ่งอาจทำให้ตัวยา SMX ตกตะกอนออกมาเพียงชนิดเดียวมากกว่าเกิดเป็นอนุภาคโคคริสตัล ส่งผลให้เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD จึงปรากฏพีคของตัวยา SMX ที่มีความเข้มสูง (Intensity)



ภาพที่ 17 Diffractogram จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ของ ก) ตัวยา SMX หลังผ่านกระบวนการ GAS ข) กรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS และอนุภาคโคคริสตัลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 ค) สีขาว ง) สีเหลือง สภาวะในการตกตะกอนที่ความเข้มข้น 50%SAT และอุณหภูมิ 45 °C

ผลการวิเคราะห์อนุภาคที่ตกตะกอนภายใต้สภาวะที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ความเข้มข้นของสารละลายเป็น 50%SAT และอุณหภูมิ 45 °C ในตัวทำละลายอะซิโตน พบว่าทุกสภาวะนั้นอนุภาคที่ตกตะกอนออกมานั้นประกอบไปด้วยอนุภาคโคคริสตัล และตัวยา SMX กับกรดมาลิก ที่ตกตะกอนออกมาโดยไม่เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตัลผสมกันอยู่ในผลึกภัณฑ์ที่ตกตะกอน และจากการวิเคราะห์ยังแสดงให้เห็นว่าอนุภาคที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 (ภาพที่ 15 (ค) และ

(ง) อนุภาคที่ตกตะกอนได้จะมีความเป็นผลึกมากกว่าอนุภาคที่อัตราส่วน 1.5:1 (ภาพที่ 16 (ค) และ (ง)) และที่อัตราส่วน 1:1 (ภาพที่ 17 (ค) และ (ง)) โดยสังเกตได้จากความสูงของ Diffractogram ที่มีความสูงลดน้อยลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณของกรดมาลิกที่เพิ่มขึ้นนั้น ส่งผลให้ความเป็นผลึกของอนุภาคที่ตกตะกอนได้มีค่าลดน้อยลง เนื่องจากกรดมาลิกเข้าไปขัดขวางการโตและการจัดเรียงตัวของผลึกอื่น ๆ ที่ตกตะกอนออกมาจากสารละลาย โดยผลการทดลองนั้นยังสอดคล้องกับภาพถ่ายที่ได้จาก SEM ที่แสดงให้เห็นว่าเมื่อสัดส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกมีค่าน้อยลงจาก 2:1 เป็น 1.5:1 และ 1:1 ตามลำดับ สัณฐานของตัวยาที่ตกตะกอนได้ก็จะมีขนาดที่เล็กลงเช่นเดียวกัน

7. การวิเคราะห์อนุภาคด้วยเทคนิค FTIR

การวิเคราะห์อนุภาคที่ตกตะกอนได้ด้วยเทคนิค FTIR เป็นการวิเคราะห์เพื่อศึกษาแรงกระทำ ระหว่างโมเลกุล (Intermolecular interaction) ของตัวยา SMX และกรดมาลิก ที่อยู่ในอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนได้ ซึ่งโดยทั่วไปสำหรับอนุภาคโคคริสตัลนั้นแรงที่กระทำกันระหว่างตัวยาและสารโคฟอร์มเมอร์เป็นแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลแบบพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) ที่ไม่ใช่พันธะโคเวเลนต์ (Limwikrant *et al.* 2012; Ober *et al.* 2013; Lin *et al.* 2014; Padrela *et al.* 2014) โดยการศึกษาแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลนั้น จะพิจารณาจากการเลื่อนของตำแหน่งพีคของหมู่ฟังก์ชัน (Function) ที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน โดยใช้การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR

จากสูตรโครงสร้างของตัวยา SMX และกรดมาลิกนั้นเมื่อพิจารณาหมู่ฟังก์ชันที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน มีรายละเอียดดังต่อไปนี้ สำหรับตัวยา SMX มีหมู่เอมีนปฐมภูมิ (Primary amine) และหมู่เอมีนทุติยภูมิ (Secondary amine) และกรดมาลิกมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) และหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) โดยหมู่ฟังก์ชันทั้ง 4 มุมนั้นเอื้อแก่การเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของตัวยา SMX และกรดมาลิก ดังที่กล่าวไว้ในงานวิจัยของ Qiao *et al.* (2011) ว่าหมู่ฟังก์ชันที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนมีดังต่อไปนี้คือ กรดคาร์บอกซิลิก ไอไมด์ เอมีน แอลกอฮอล์ เป็นต้น

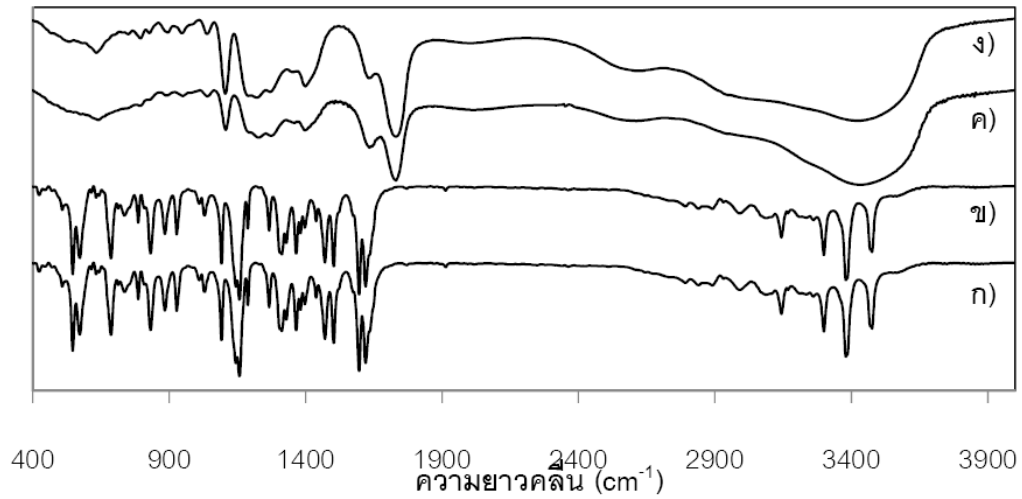
จากภาพที่ 18 แสดงผลการวิเคราะห์ตัวยา SMX ก่อนและหลังผ่านกระบวนการ GAS แสดงดัง เส้น ก) และ ข) ตามลำดับ และสำหรับกรดมาลิกในเส้น ค) และ ง) สำหรับก่อนและหลังกระบวนการ GAS ตามลำดับ และตารางที่ 9 แสดงค่าความยาวคลื่น (cm^{-1}) ของหมู่ฟังก์ชันที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน ผลการวิเคราะห์พบว่าตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันของตัวยา SMX หลังกระบวนการ GAS ไม่เกิดการเลื่อนตำแหน่งไปจากตำแหน่งเดิมเมื่อเทียบกับยาก่อนกระบวนการ โดยสำหรับหมู่ $1^{\text{st}}\text{-NH}_2$ ของตัวยา SMX ปรากฏที่ 2 ความยาวคลื่นคือที่ $3,387$ และ $3,477 \text{ cm}^{-1}$ ตามลำดับ และหมู่ 2^{nd}-NH ของตัวยา SMX ปรากฏที่ความยาวคลื่น

3,300 cm⁻¹ ทำให้สามารถบอกได้ว่าตัวยา SMX หลังผ่านกระบวนการ GAS ไม่เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของตัวยา SMX ด้วยกันเอง

สำหรับการวิเคราะห์กรดมาลิกหลังผ่านกระบวนการ GAS ผลการทดลองสอดคล้องกับตัวยา SMX กล่าวคือไม่เกิดการเลื่อนตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชัน -OH และหมู่ -COOH ซึ่งปรากฏอยู่ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 2,631 cm⁻¹ และ 1,736 cm⁻¹ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรดมาลิกก่อนผ่านกระบวนการ GAS ทำให้สรุปได้ว่าไม่เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลของกรดมาลิกด้วยกันเอง และจากผลการวิเคราะห์ยังพบว่าตัวทำละลายอินทรีย์ และ Dense CO₂ ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันภายในโมเลกุลของตัวยา SMX และกรดมาลิกอีกด้วยเพราะว่า ตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ ของสารทั้ง 2 ชนิด ในภาพที่ 18 ทั้งก่อนและหลังกระบวนการ GAS มีลักษณะและความยาวคลื่นที่ปรากฏเหมือนเดิม

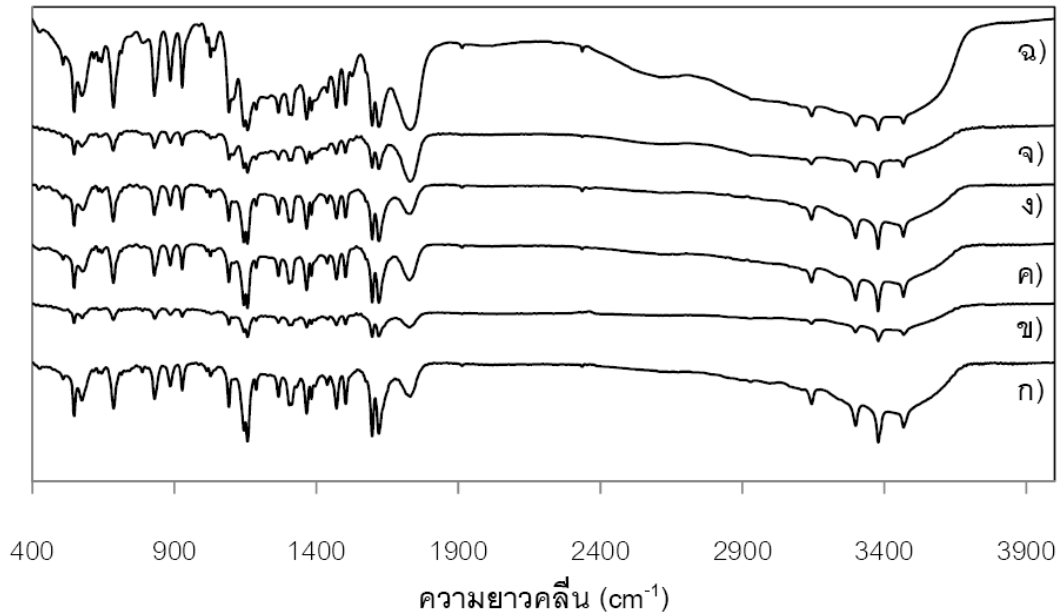
ตารางที่ 9 ค่าความยาวคลื่นของหมู่ฟังก์ชันที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนของตัวยา SMX และกรดมาลิก ก่อนและหลังผ่านกระบวนการ GAS ภายในสภาวะที่ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 45 °C ในตัวทำละลายอะซิโตน

หมู่ฟังก์ชัน	ตัวยา SMX		กรดมาลิก	
	ก่อนผ่าน	หลังผ่าน	ก่อนผ่าน	หลังผ่าน
	กระบวนการ GAS	กระบวนการ GAS	กระบวนการ GAS	กระบวนการ GAS
-OH	-	-	2,631	2,631
-COOH	-	-	1,736	1,736
1 st -NH ₂	3,387 และ 3,477	3,387 และ 3,477	-	-
2 nd -NH-	3,300	3,302	-	-



ภาพที่ 18 FTIR spectra ของตัวยา SMX ก) ก่อน ข) หลังผ่านกระบวนการ GAS ตามลำดับ และกรดมาลิก ค) ก่อน ง) หลัง ผ่านกระบวนการ GAS ตามลำดับ

การวิเคราะห์อนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 45 °C ด้วยเทคนิค FTIR เพื่อศึกษาการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก ของอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนได้ ผลการวิเคราะห์แสดงดังภาพที่ 19 พบว่าอนุภาคที่ผลิตจากทุกอัตราส่วนนั้นให้ลักษณะและตำแหน่งของพีค FTIR ที่เหมือนกัน ซึ่งตำแหน่งของพีคที่ปรากฏนั้นใกล้เคียงผลรวมของพีคของตัวยา SMX และกรดมาลิกที่เป็นสารตั้งต้นทั้ง 2 ชนิด



ภาพที่ 19 FTIR spectra ของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตโดยใช้ ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 45 °C ก) อัตราส่วน 2:1 สีขาว ข) อัตราส่วน 2:1 สีเหลือง ค) อัตราส่วน 1.5:1 สีขาว ง) อัตราส่วน 1.5:1 สีเหลือง จ) อัตราส่วน 1:1 สีขาว และ ฉ) อัตราส่วน 1:1 สีเหลือง

เมื่อพิจารณาดำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนแสดงดังตารางที่ 10 เปรียบเทียบกับตัวยา SMX และกรดมาลิกที่ผ่านกระบวนการ GAS ภายใต้สภาวะในการทดลองเดียวกันพบว่าตำแหน่งของความยาวคลื่นที่หมู่ฟังก์ชันของอนุภาคโคคริสตอลเกิดการเลื่อนไปจากตำแหน่งเดิมยกตัวอย่างเช่น อนุภาคที่ผลิตจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 พิจารณาดำแหน่งของหมู่ฟังก์ชัน -OH จากกรดมาลิกที่มีการเลื่อนจากตำแหน่งเดิมคือที่ความยาวคลื่น $2,631\text{ cm}^{-1}$ ไปยังความยาวคลื่นประมาณ $2,644\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งใกล้เคียงกันทั้งอนุภาคสีเหลืองและขาว อีกทั้งหมู่ฟังก์ชัน -COOH ยังเลื่อนจากความยาวคลื่น $1,736\text{ cm}^{-1}$ ไปยัง $1,720\text{ cm}^{-1}$ สำหรับอนุภาคสีเหลือง

จากนั้นพิจารณาหมู่ฟังก์ชันของตัวยา SMX พบว่าหมู่ $1^{\text{st}}\text{-NH}_2$ เกิดการเลื่อนจากความยาวคลื่น $3,387$ และ $3,477\text{ cm}^{-1}$ ไปยังความยาวคลื่น $3,379$ และ $3,468\text{ cm}^{-1}$ ตามลำดับ แต่ หมู่ 2^{nd}-NH- นั้นพบว่าไม่เกิดการเลื่อนตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชัน ซึ่งหมู่ฟังก์ชันที่มีการเลื่อนของตำแหน่งของความยาวคลื่นแสดงถึงการเกิดแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของตัวยา SMX กับกรดมาลิก ที่เป็นแรงแบบพันธะไฮโดรเจน

ตารางที่ 10 ค่าความยาวคลื่น (cm^{-1}) ของหมู่ฟังก์ชันที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนของตัวยา SMX และกรดมาลิก เปรียบเทียบกับอนุภาคโคคริสตัลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกต่าง ๆ ภายในสภาวะที่ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 45 °C ในตัวทำละลายอะซิโตน

หมู่ฟังก์ชัน	ยา SMX	กรดมาลิก	อนุภาคโคคริสตัล ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนัก					
			ระหว่างตัวยา SMX:กรดมาลิก					
			2:1		1.5:1		1:1	
			ขาว	เหลือง	ขาว	เหลือง	ขาว	เหลือง
-OH	-	2,631	สังเกต	สังเกต	2,646	2,644	2,646	2,644
			ไม่ชัด	ไม่ชัด				
-COOH	-	1,736	1,734	1,732	1,730	1,718	1,734	1,720
1 st -NH ₂	3,387	-	3,377	3,377	3,379	3,379	3,379	3,379
	3,477		3,470	3,470	3,468	3,468	3,468	3,468
2 nd -NH-	3,300	-	3,300	3,300	3,300	3,300	3,300	3,300

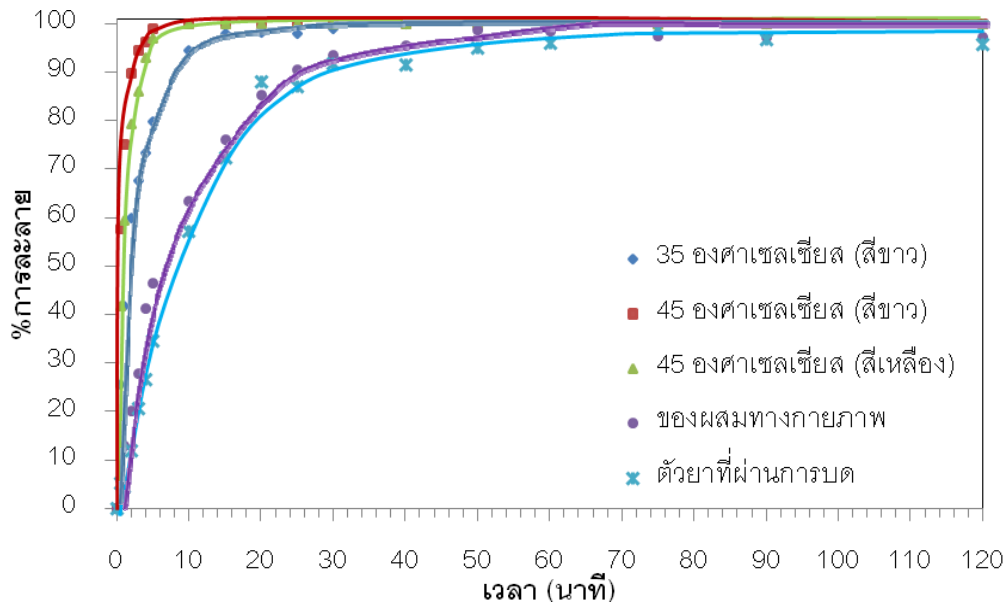
8. อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัล

การวิเคราะห์อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลจะวิเคราะห์เปรียบเทียบกับของผสมทางกายภาพที่มีค่า Drug content ใกล้เคียงกับอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนได้ รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวยาก่อนผ่านกระบวนการที่ผ่านการบด ซึ่งทำการเปรียบเทียบค่าของเวลาที่ตัวยา SMX ใช้ในการละลายได้ 90% ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ภายใต้สภาวะ Sink condition (ตัวถูกละลายละลายในตัวทำละลายในปริมาณมาก) โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

8.1 อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C

การวิเคราะห์อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ที่ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C เปรียบเทียบกับของผสมทางกายภาพและตัวยา SMX ที่ผ่านการบด ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 20 พบว่าเมื่อพิจารณา %การละลายที่ 90% ตัวยาก่อน

การบดต้องใช้เวลาในการละลายถึง 28 นาที ในขณะที่ของผสมทางกายภาพที่มี Drug content เท่ากับ 70% ซึ่งใกล้เคียงอนุภาคโคคริสตอลใช้เวลาในการละลาย 25 นาที และสำหรับอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 35 °C ใช้เวลาในการละลาย 8.5 นาที และอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 45 °C สามารถละลายได้ 90% ในเวลาเพียง 2.0 และ 3.5 นาที สำหรับอนุภาคในส่วนสีขาวและสีเหลือง ตามลำดับ จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าตัวยา SMX เมื่อนำมาตกตะกอนกับกรดมาลิกเป็นอนุภาคโคคริสตอลจะมีอัตราการละลายที่สูงขึ้น



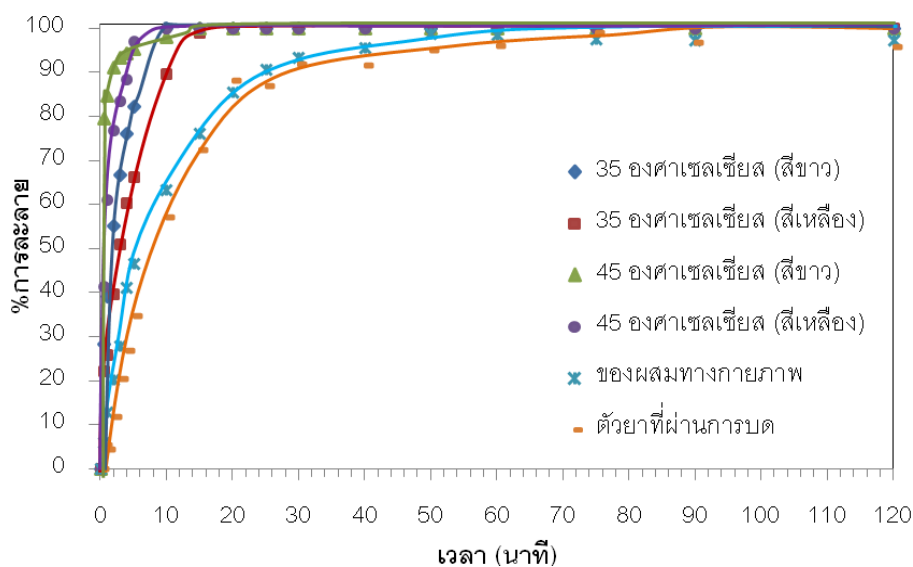
ภาพที่ 20 อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนจากตัวทำละลายอะซิโตน อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C เปรียบเทียบกับของผสมทางกายภาพที่มี Drug content ใกล้เคียงกัน และตัวยา SMX ที่ผ่านการบด

จากภาพที่ 20 เมื่อเปรียบเทียบอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนจากสารละลายความเข้มข้น 50%SAT อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 อุณหภูมิ 35 °C และอุณหภูมิ 45 °C พบว่าอนุภาคโคคริสตอลที่อุณหภูมิ 35 °C มีอัตราการละลายต่ำกว่าอนุภาคโคคริสตอลที่อุณหภูมิ 45 °C เนื่องจากอนุภาคที่ผลิตจากอุณหภูมิ 35 °C มีขนาดใหญ่กว่าเพราะเริ่มตกตะกอนออกมาจากสารละลายก่อนอนุภาคที่ผลิตจากอุณหภูมิ 45 °C ดังที่กล่าวไว้ข้างต้น นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลในส่วนสีขาวและสีเหลืองที่ผลิตจากอุณหภูมิ 45 °C พบว่าอนุภาคในส่วนสีขาวมีอัตราการละลายที่สูงกว่าอนุภาคส่วนสีเหลือง เนื่องจากมีขนาดเล็กกว่า ทำให้มีพื้นที่ในการสัมผัสกับสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์มากกว่า

8.2 อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก เป็น 1.5:1 ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C

สำหรับการวิเคราะห์อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากสารละลายความเข้มข้น 50%SAT อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 ที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C เปรียบเทียบกับของผสมทางกายภาพ และตัวยา SMX ที่ผ่านการบด แสดงดังภาพที่ 21 ผลการทดลองพบว่าอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C มีอัตราการละลายที่สูงกว่าของผสมทางกายภาพ (Drug content 70%) และตัวยาที่ผ่านการบด เมื่อพิจารณาเวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90% ของอนุภาคโคคริสตัลส่วนสีขาวและสีเหลืองที่อุณหภูมิ 35 °C มีค่าเท่ากับ 7.4 และ 10.3 นาที ตามลำดับ ในขณะที่อนุภาคโคคริสตัลในส่วนสีขาวและเหลืองที่ผลิตจากอุณหภูมิ 45 °C ใช้เวลาในการละลายได้ 90% เท่ากับ 1.8 และ 4.2 นาที ตามลำดับ

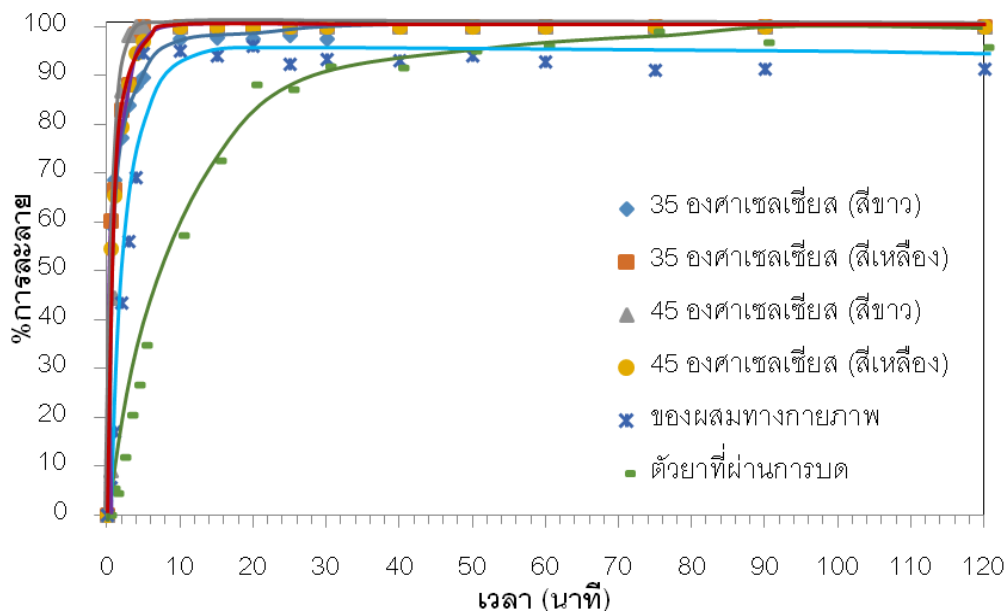
จากภาพที่ 21 แสดงให้เห็นว่าอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 35 °C มีอัตราการละลายที่ต่ำกว่าอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนจากอุณหภูมิ 45 °C ทั้งในส่วนสีขาวและสีเหลือง เนื่องจากอนุภาคที่อุณหภูมิ 35 °C เริ่มตกตะกอนที่ความดันต่ำกว่าทำให้อนุภาคที่ผลิตได้มีขนาดใหญ่กว่าที่อุณหภูมิ 45 °C นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบอนุภาคในส่วนสีขาวและสีเหลืองของทั้ง 2 อุณหภูมิ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลในส่วนสีเหลืองมีค่าต่ำกว่าส่วนสีขาว อันเป็นผลมาจากอนุภาคส่วนสีเหลืองมีการเกิดและโตภายใน Dead zone ที่อยู่ในห้องตกตะกอน ทำให้อนุภาคที่ได้มีขนาดที่ใหญ่กว่าส่วนสีขาว ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับภาพถ่ายจาก SEM ที่กล่าวมาข้างต้น



ภาพที่ 21 อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนจากตัวทำละลายอะซิโตน อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C ที่เปรียบเทียบกับของผสมทางกายภาพที่มี Drug content ใกล้เคียงกัน และตัวยา SMX ที่ผ่านการบด

8.3 อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C

เมื่อนำอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C มาวิเคราะห์หาอัตราการละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 เปรียบเทียบกับของผสมทางกายภาพที่มีค่า Drug content ใกล้เคียงกันและตัวยา SMX ที่ผ่านการบด ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 22 พบว่าตัวยาที่ผ่านการบดสามารถละลายได้ 90% ที่เวลา 28 นาที และสำหรับของผสมทางกายภาพที่ค่า Drug content เท่ากับ 55% สามารถละลายได้ 90% ในเวลา 8.2 นาที ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตได้จะเห็นได้ว่าอนุภาคโคคริสตัลจะมีอัตราการละลายที่สูงกว่าของผสมทางกายภาพทั้งสองอุณหภูมิ โดยเวลาที่ละลายได้ 90% สำหรับอนุภาคสีขาวและสีเหลืองที่ผลิตที่อุณหภูมิ 35 °C มีค่าเท่ากับ 5.2 และ 3.2 นาที ตามลำดับ และสำหรับอนุภาคที่ผลิตที่อุณหภูมิ 45 °C ใช้เวลาในการละลายได้ 90% เท่ากับ 2.3 และ 3.4 นาที สำหรับอนุภาคสีขาวและสีเหลือง ตามลำดับ



ภาพที่ 22 อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนจากตัวทำละลายอะซิโตน อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C

เปรียบเทียบกับของผสมทางกายภาพที่มี Drug content ใกล้เคียงกัน และตัวยา SMX ที่ผ่านการ
บด

จากภาพที่ 22 ซึ่งเป็นการวิเคราะห์อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 พบว่าอนุภาคที่ผลิตจากอุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C มีอัตราในการละลายที่ใกล้เคียงกัน ยกเว้นในส่วนของอนุภาคสีขาว ซึ่งแสดงให้เห็นว่าที่อัตราส่วน 1:1 นั้นอุณหภูมิในการตกตะกอนไม่ส่งผลต่ออัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัล กล่าวคือแม้จะผลิตจากอุณหภูมิที่แตกต่างกัน แต่อัตราการละลายของอนุภาคที่ผลิตได้มีค่าใกล้เคียงกัน

เมื่อเปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90% ของอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนภายใต้อุณหภูมิ 35 °C ความเข้มข้นของสารละลาย 50%SAT ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 สรุปไว้ดังตารางที่ 11 พบว่าปริมาณของกรดมาลิกที่อยู่ในสารละลายเริ่มต้นนั้น มีผลต่ออัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนได้ ซึ่งจะเห็นว่าอนุภาคโคคริสตัลที่อัตราส่วน 2:1 ที่มีปริมาณกรดมาลิกอยู่ในสารละลายเริ่มต้นน้อยที่สุด ทำให้ใช้เวลาในการละลายได้ 90% นานที่สุด (8.5 นาที สำหรับสีขาว) และเมื่อปริมาณของกรดมาลิกในสารละลายเพิ่มสูงขึ้นที่อัตราส่วน 1.5:1 อนุภาคสามารถละลายได้เร็วขึ้นที่เวลาในการละลายที่ 90% มีค่าเท่ากับ 7.4 และ 10.3 นาที สำหรับอนุภาคสีขาวและสีเหลืองตามลำดับ สุดท้ายอนุภาคที่อัตราส่วน 1:1 ที่มีปริมาณกรดมาลิกสูงสุดมีอัตราในการละลายสูงที่สุด โดยใช้เวลาในการละลายได้ 90% เท่ากับ 5.2 และ 3.2 นาที สำหรับอนุภาคสีขาวและสีเหลือง ตามลำดับ

ตารางที่ 11 เวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90% ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากความเข้มข้น 50%SAT ภายใต้อุณหภูมิ 35 °C ที่อัตราส่วนต่าง ๆ

อัตราส่วนระหว่าง ตัวยา SMX และกรดมาลิก	เวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90% (นาที)	
	สีขาว	สีเหลือง
2:1	8.5	-
1.5:1	7.4	10.3
1:1	5.2	3.2
ตัวยา SMX ผ่านการบด	28	

สำหรับอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่ค่าการละลายเท่ากับ 90% ที่ตกตะกอนภายใต้ อุณหภูมิ 45 °C สรุปไว้ในตารางที่ 12 ผลการทดลองพบว่าอัตราการละลายของอนุภาคที่ผลิตจากอุณหภูมิ 45 °C โดยรวมแล้วจะมีอัตราการละลายที่สูงกว่าอนุภาคที่ผลิตจากอุณหภูมิ 35 °C เนื่องจากการตกตะกอนที่ อุณหภูมิสูงส่งผลให้ค่า Threshold pressure มีค่าสูง ซึ่งหมายถึงอนุภาคเริ่มตกตะกอนออกมาที่ความดันสูง กว่าการผลิตที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นอนุภาคที่ตกตะกอนได้จากอุณหภูมิ 45 °C จึงมีขนาดที่เล็กกว่าอนุภาค 35 °C ส่งผลให้อัตราการละลายของอนุภาคที่ผลิตได้จากอุณหภูมิ 45 °C จึงมีอัตราการละลายที่สูงกว่า

เมื่อพิจารณาผลของอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกที่มีผลต่ออัตราการละลายของ อนุภาคโคคริสตอล พบว่าการตกตะกอนอนุภาคที่อุณหภูมิ 45 °C ปริมาณกรดมาลิกที่มีอยู่ในสารละลาย เริ่มต้นมีผลต่ออัตราการละลายเพียงเล็กน้อย ซึ่งอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 มีอัตราการละลายที่รวดเร็วใกล้เคียงกัน โดยอนุภาคในส่วนสีขาว ในทุกอัตราส่วนนั้นสามารถละลายได้ 90% ภายในเวลา 2.3 นาที และสำหรับในส่วนของอนุภาคสีเหลืองของ ทุกอัตราส่วนสามารถละลายได้ 90% ภายในเวลา 4.2 นาที

ตารางที่ 12 เวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90% ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ของอนุภาคโคคริส ตอลที่ผลิตจาก ความเข้มข้น 50%SAT ภายใต้อุณหภูมิ 45 °C ที่อัตราส่วนต่าง ๆ

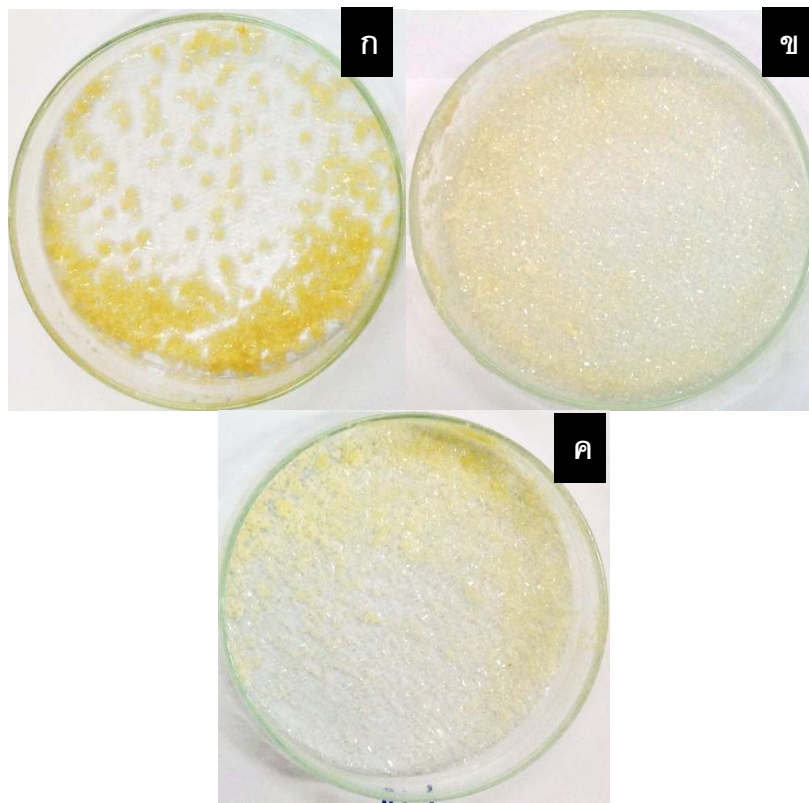
อัตราส่วนระหว่าง ตัวยา SMX และกรดมาลิก	เวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90% (นาที)	
	สีขาว	สีเหลือง
2:1	2.0	3.5
1.5:1	1.8	4.2
1:1	2.3	3.4
ตัวยา SMX ผ่านการบด	28	

ผลการวิเคราะห์อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนจากสภาวะต่าง ๆ ดังที่กล่าวมา ข้างต้นนั้น แสดงให้เห็นอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้นั้นมีอัตราการละลายที่สูงกว่าตัวยา SMX ที่ผ่านการบด เนื่องจากอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้นั้นมีค่าพลังงานในการหลอมเหลวที่ต่ำกว่าตัวยา SMX ที่ผ่านการบด มาก อีกทั้งจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ยังแสดงให้เห็นว่าอนุภาคโคคริสตอลยังมีความเป็นผลึกที่น้อย กว่าอีกด้วย

เปรียบเทียบอนุภาคโคคริสตอลจากกระบวนการ GAS กับเทคนิค Slow evaporation

ในส่วนที่ 3 เป็นการเปรียบเทียบอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX กับกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ในตัวทำละลายอะซิโตนกับอนุภาคที่ผลิตจากกระบวนการ GAS ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเดียวกัน ที่ความเข้มข้น 50%SAT และอุณหภูมิ 45 °C มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยเทคนิค Slow evaporation นั้นจะมีสีเหลืองเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการระเหยตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำกว่านั้นเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ ทำให้อนุภาคมีเวลาในการรวมตัวกันได้อย่างทั่วถึง และยังมีเวลาในการจัดเรียงตัวเป็นอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ได้ ส่งผลให้อนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนได้นั้นจึงมีเพียงสีเหลืองเท่านั้น แสดงดังภาพที่ 23



ภาพที่ 23 ลักษณะของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนได้จากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น ก) 1:1 ข) 1.5:1 และ ค) 2:1

1. เปรียบเทียบ %Drug content

อนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนด้วยเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 มีค่าเท่ากับ 66.06% 59.57% และ 52.22% ตามลำดับ ซึ่งในการทดลองนั้นจะควบคุมปริมาณของตัวยา SMX ทั้ง 3 อัตราส่วนให้มีปริมาณเท่าเดิม แต่ปริมาณกรดมาลิกมีค่าเพิ่มขึ้นตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปริมาณของกรดมาลิกในสารละลายเริ่มต้นที่เพิ่มขึ้น ทำให้ค่า Drug content ของอนุภาคที่ตกตะกอนได้มีค่าลดลง ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตัลด้วยกระบวนการ GAS ที่เมื่อปริมาณกรดมาลิกในสารละลายเริ่มต้นมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า Drug content ของอนุภาคที่ตกตะกอนได้มีค่าลดลง ดังที่แสดงในตารางที่ 13

จากตารางที่ 13 เมื่อเปรียบเทียบค่า Drug content ของอนุภาคที่ตกตะกอนจากสารละลายที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเท่ากัน พบว่าอนุภาคจากเทคนิค Slow evaporation มีค่า Drug content ที่น้อยกว่าอนุภาคที่ตกตะกอนจากกระบวนการ GAS เนื่องจากการตกตะกอนด้วยเทคนิค GAS บางส่วนของตัวยา SMX และกรดมาลิกยังสามารถละลายอยู่ในตัวดำเนินการละลาย และยังถูกชะออกไปในขั้นตอนการล้างได้อีกด้วย

ตารางที่ 13 ค่า Drug content ของอนุภาคโคคริสตัลจากเทคนิค Slow evaporation เปรียบ เทียบกับกระบวนการ GAS ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก เดียวกัน

อัตราส่วนของ ตัวยา SMX :กรดมาลิก	%Drug content ของอนุภาคโคคริสตัล		
	Slow evaporation	GAS	
		ขาว	เหลือง
2:1	66.05%	70.23%	78.20%
1.5:1	59.57%	73.97%	75.24%
1:1	52.22%	66.27%	54.67%

2. วิเคราะห์อนุภาคด้วยเทคนิค DSC

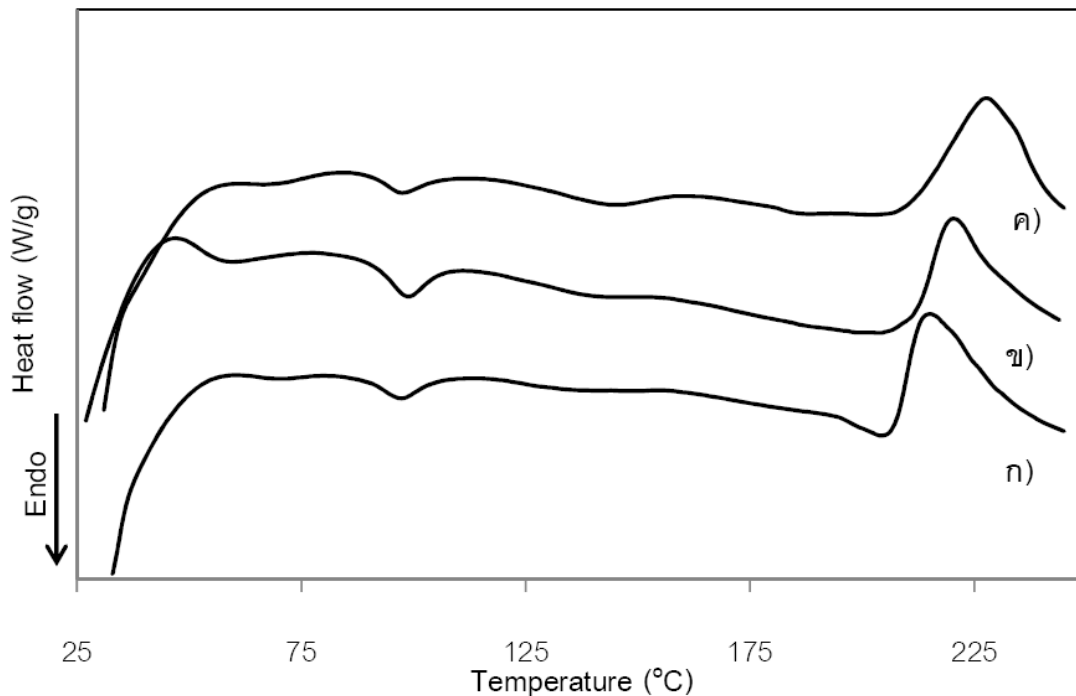
การวิเคราะห์อนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตด้วยเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ด้วยเทคนิค DSC แสดงดังภาพที่ 24 พบว่าลักษณะของพีคที่วิเคราะห์ได้นั้นมีลักษณะเหมือนกับของผสมทางกายภาพและอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนได้จากกระบวนการ GAS ที่ปรากฏพีค 2 ตำแหน่ง โดยตำแหน่งแรกที่อยู่อุณหภูมิประมาณ 98 °C เป็นของกรดมาลิกในผลิตภัณฑ์ที่เป็นส่วนเกินหลอมเหลว และตำแหน่งที่ 2 คือพีคของอนุภาคโคคริสตอลเกิดการหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 143.6, 135.6 และ 135.0 °C สำหรับอนุภาคที่อัตราส่วน 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 14 ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปริมาณกรดมาลิกมีผลต่อจุดหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากเทคนิค Slow evaporation คือเมื่อปริมาณกรดมาลิกในสารละลายเริ่มต้นเพิ่มมากขึ้น จุดหลอมเหลวของอนุภาคมีค่าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากกระบวนการ GAS อีกด้วย

ตารางที่ 14 แสดงค่าพลังงานในการหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตอลที่ได้จากเทคนิค Slow evaporation พบว่ามีค่าน้อยกว่าตัวยา SMX และกรดมาลิก ที่เป็นสารตั้งต้นทั้ง 2 ชนิด อีกทั้งยังมีค่าน้อยกว่าอนุภาคที่ได้จากกระบวนการ GAS อีกด้วย

แต่อย่างไรก็ดี ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC ของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนด้วยเทคนิค Slow evaporation ก็ไม่สามารถเป็นเครื่องยืนยันการเกิดอนุภาคโคคริสตอลได้เช่นเดียวกัน เนื่องจากการให้ความร้อนในขณะวิเคราะห์นั้นสามารถทำให้เกิดอนุภาคโคคริสตอลได้เช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์อนุภาคโคคริสตอลที่ได้จากกระบวนการ GAS ดังที่กล่าวไว้ก่อนหน้านี้ ซึ่งต้องใช้เทคนิคอื่นในการยืนยันการเกิดอนุภาคโคคริสตอลต่อไป

ตารางที่ 14 จุดหลอมเหลวและพลังงานในการหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตด้วยเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนต่าง ๆ เปรียบเทียบกับอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตด้วยกระบวนการ GAS ภายใต้อุณหภูมิ 45 °C ความเข้มข้น 50%SAT ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกต่าง ๆ

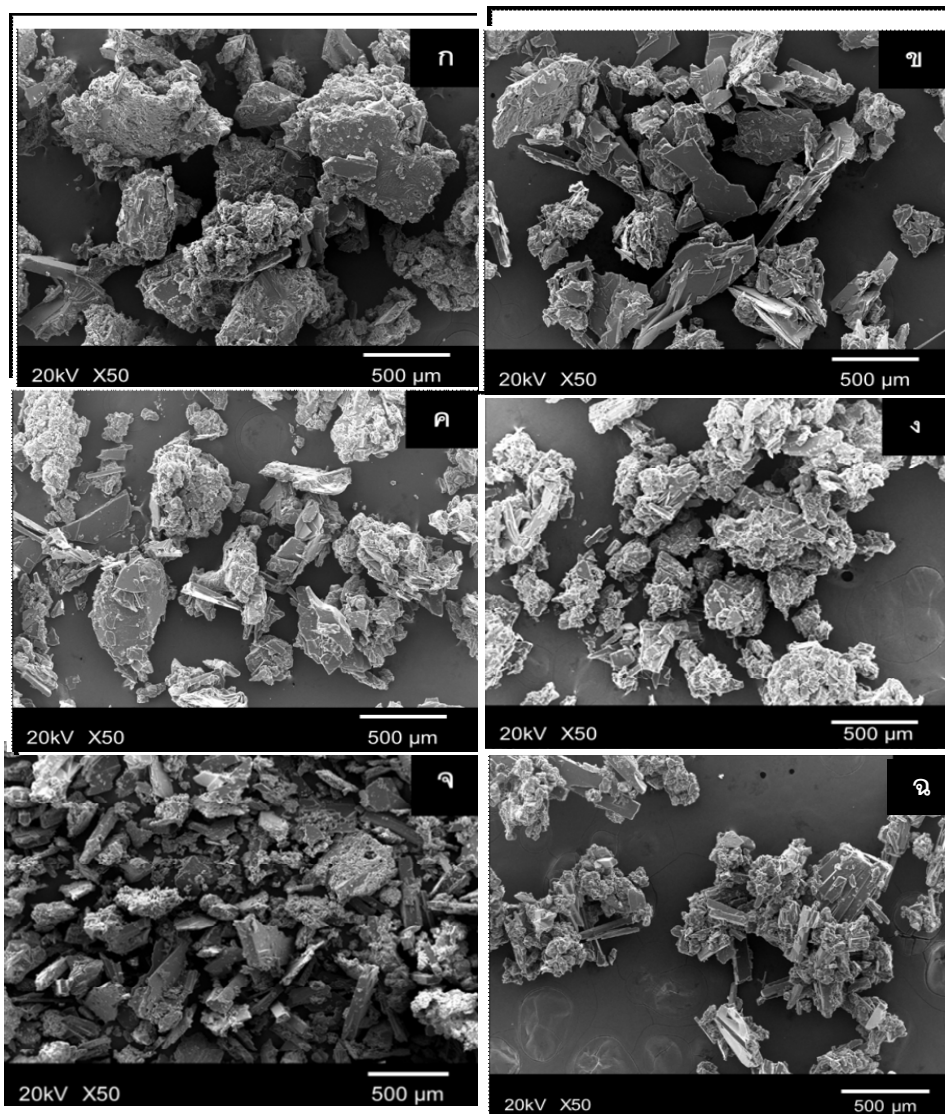
อัตราส่วนโดยมวล	จุดหลอมเหลว (°C)			พลังงานในการหลอมเหลว (J/g)		
	Slow evaporation	GAS		Slow evaporation	GAS	
		ขาว	เหลือง		ขาว	เหลือง
SMX:L-malic						
2:1	143.6	148.5	147.7	36.84	38.44	38.95
1.5:1	138.6	149.7	148.5	20.2	35.04	33.94
1:1	135	142.7	141.7	12.88	26.43	21.02



ภาพที่ 24 ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DSC ของอนุภาคโคคริสตอลจากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น ก) 1:1 ข) 1.5:1 และ ค) 2:1

3. การวิเคราะห์ลักษณะของอนุภาคด้วยเทคนิค SEM

การวิเคราะห์ลักษณะของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนได้จากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเท่ากับ 2:1, 1.5:1 และ 1:1 เปรียบเทียบกับลักษณะของอนุภาคที่ตกตะกอนได้จากกระบวนการ GAS ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเดียวกัน ความเข้มข้นของสารละลาย 50%SAT และอุณหภูมิ 45 °C ผลการวิเคราะห์แสดงดังภาพที่ 25



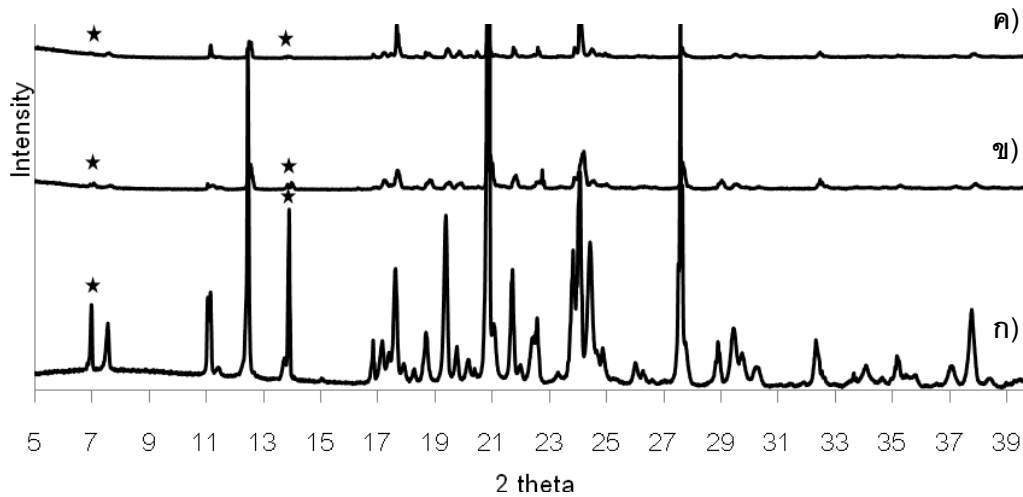
ภาพที่ 25 ภาพถ่ายจากเครื่อง SEM ของอนุภาคโคคริสตอลจากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนของตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น ก) 1:1 ข) 1.5:1 ค) 2:1 และจากกระบวนการ GAS (ส่วนสีขาว) ที่อัตราส่วน ง) 1:1 จ) 1.5:1 และ ฉ) 2:1

จากภาพที่ 25 ก) - ค) เป็นภาพถ่ายจากเครื่อง SEM ของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนจากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วน 1:1, 1.5:1 และ 2:1 พบว่าลักษณะของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนได้นั้น ประกอบไปด้วย 2 ส่วน คือสัณฐานของตัวยา SMX และกรดมาลิก เช่นเดียวกับกับอนุภาคที่ผลิตได้จากเทคนิค GAS (ภาพที่ 25 ง) - จ) แต่ขนาดของอนุภาคที่ผลิตได้จากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเท่ากัน มีขนาดใหญ่กว่าอนุภาคที่ผลิตได้จากเทคนิค GAS ในส่วนสีขาว เนื่องจากอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตจากเทคนิค Slow evaporation ในการทดลองทำโดยค่อย ๆ ระบายตัวทำละลายออกจากสารละลายอย่างช้า ๆ ภายใต้อุณหภูมิห้อง ซึ่งใช้เวลาในการตกตะกอนที่นาน (14 วัน) ทำให้อนุภาคมีเวลาในการจัดเรียงตัวและรวมตัวกันได้ดีกว่าอนุภาคจึงมีขนาดใหญ่ ในขณะที่อนุภาคโคคริสตอลที่ได้จากเทคนิค GAS ที่ในการทดลองทำให้สารละลายเกิดสภาวะอิ่มตัวอย่างรวดเร็วด้วย Dense CO₂ ซึ่งใช้เวลาในการทดลองน้อยกว่ามาก (4-5 ชั่วโมง) ทำให้อนุภาคที่ตกตะกอนได้นั้นมีขนาดเล็กกว่า

4. การวิเคราะห์อนุภาคด้วยเทคนิค XRD

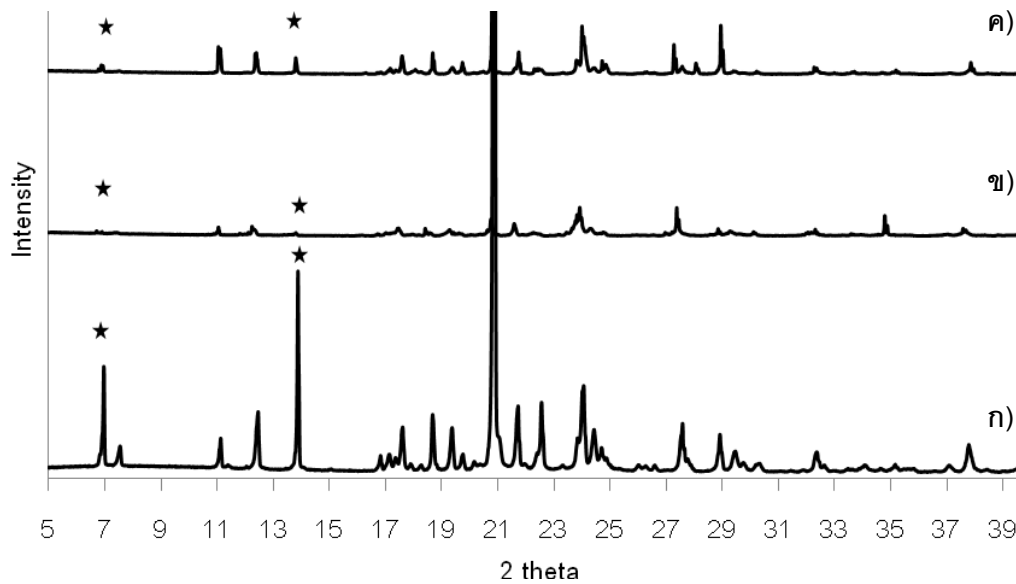
การวิเคราะห์ความเป็นผลึกของอนุภาคโคคริสตอลด้วยเทคนิค XRD สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการตกตะกอนด้วยเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 เปรียบเทียบกับอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากกระบวนการ GAS ที่อัตราส่วนเดียวกัน ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 45 °C ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 26 พบว่าอนุภาคที่ผลิตจากเทคนิค Slow evaporation (เส้น ก) เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตอลโดยปรากฏพีคตำแหน่งใหม่ที่ค่า 2 theta เท่ากับ 6.8 และ 13.8 ดังที่ได้ทำสัญลักษณ์ไว้ในภาพ และมีความเป็นผลึกสูงกว่าอนุภาคโคคริสตอลจากกระบวนการ GAS ทั้งส่วนสีขาวและสีเหลืองในเส้น ข) และ ค) ตามลำดับ เนื่องจากใช้เวลาในการตกตะกอนที่นานกว่าอนุภาคจากเทคนิค GAS ทำให้อนุภาคมีเวลาในการจัดเรียงตัวได้เป็นระเบียบมากกว่า

เมื่อวิเคราะห์อนุภาคโคคริสตอลที่อัตราส่วน 1.5:1 ของอนุภาคที่ผลิตจากเทคนิค Slow evaporation เปรียบเทียบกับอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากกระบวนการ GAS ที่อัตราส่วนเดียวกัน ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 45 °C แสดงดังภาพที่ 27 พบว่าผลการทดลองสอดคล้องกับอนุภาคที่อัตราส่วน 1:1 ที่กล่าวมาข้างต้น คืออนุภาคที่ได้จากเทคนิค Slow evaporation (เส้น ก) เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตอล โดยปรากฏพีคใหม่ที่ค่า 2 theta เท่ากับ 6.8 และ 13.8 เช่นเดียวกัน และเมื่อเปรียบเทียบความเป็นผลึกกับอนุภาคโคคริสตอลจากเทคนิค GAS ในเส้น ข) และ ค) สำหรับ สีขาวและสีเหลืองตามลำดับ พบว่ามีความเป็นผลึกที่น้อยกว่าเช่นเดียวกับอนุภาคที่อัตราส่วน 1:1



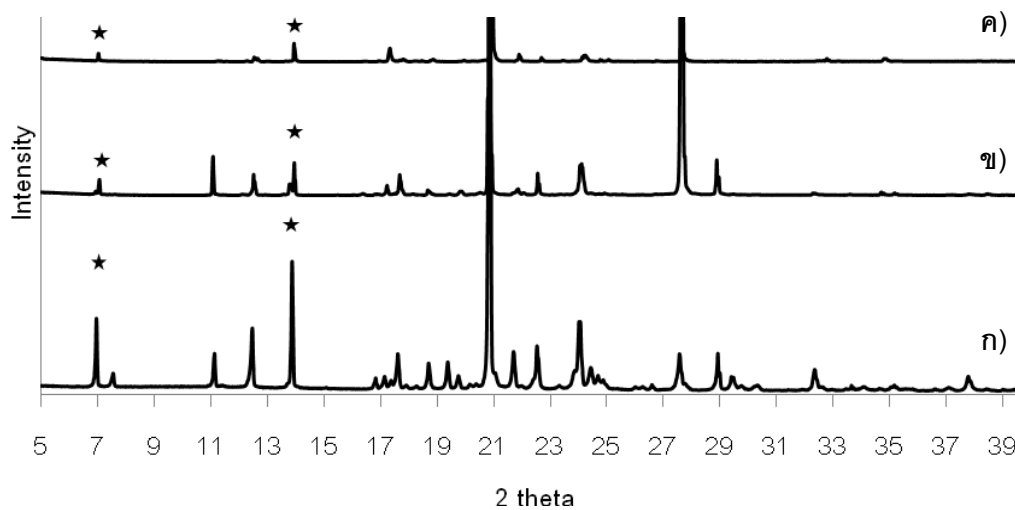
ภาพที่ 26 Diffractogram จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ของ ก) อนุภาคโคคริสตัลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 จากเทคนิค Slow evaporation และอนุภาคโคคริสตัลจากเทคนิค GAS ข) สีขาว ค) สีเหลือง ที่ตกตะกอนภายใต้สภาวะที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 45 °C

สำหรับการวิเคราะห์อนุภาคโคคริสตัลที่อัตราส่วน 2:1 ของอนุภาคที่ผลิตจากเทคนิค Slow evaporation เปรียบเทียบกับอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตได้จากกระบวนการ GAS ที่อัตราส่วนเดียวกัน ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 45 °C แสดงดังภาพที่ 28 พบว่าผลการทดลองสอดคล้องกับอนุภาคที่ 2 อัตราส่วนข้างต้น กล่าวคืออนุภาคที่ได้จากเทคนิค Slow evaporation (เส้น ก) เกิดเป็นอนุภาคโคคริสตัลโดยปรากฏพีคใหม่ที่ค่า 2 theta เท่ากับ 6.8 และ 13.8 เช่นเดียวกัน และมีความเป็นผลึกมากกว่าอนุภาคโคคริสตัลจากเทคนิค GAS ในเส้น ข) และ ค) สำหรับ สีขาวและสีเหลือง ตามลำดับ เช่นเดียวกัน



ภาพที่ 27 Diffractogram จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ของ ก) อนุภาคโคคริสตอลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 จากเทคนิค Slow evaporation และอนุภาคโคคริสตอลจากเทคนิค GAS ข) สีขาว ค) สีเหลือง ที่ตกตะกอนภายใต้สภาวะที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 45 °C

ผลการวิเคราะห์อนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ด้วยเทคนิค XRD แสดงให้เห็นว่าอนุภาคที่ทุกอัตราส่วนมีตัวยา SMX และกรดมาลิกที่เป็นส่วนเกินอยู่ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งดูจาก Diffractogram ที่ปรากฏพีคของตัวยา SMX และกรดมาลิก นอกจากอนุภาคที่ผลิตได้มีความเป็นผลึกที่มากกว่าอนุภาคโคคริสตอลจากเทคนิค GAS ที่อัตราส่วนเดียวกัน และความเป็นผลึกของอนุภาคโคคริสตอลจากเทคนิค Slow evaporation ลดลงเมื่อปริมาณของกรดมาลิกในสารละลายเริ่มต้นมีค่าเพิ่มขึ้น (จากอัตราส่วน 2:1 ไป 1:1) เช่นเดียวกันอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตจากเทคนิค GAS ทำให้สรุปได้ว่าสามารถผลิตอนุภาคโคคริสตอลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกได้ทั้ง 2 เทคนิค โดยดูจากตำแหน่งของพีคใหม่ที่ปรากฏที่ค่า 2 theta เท่ากับ 6.8 และ 13.8 ที่กล่าวไว้ข้างต้น



ภาพที่ 28 Diffractogram จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ของ ก) อนุภาคโคคริสตัลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 จากเทคนิค Slow evaporation และอนุภาคโคคริสตัลจากเทคนิค GAS ข) สีขาว ค) สีเหลือง ที่ตกตะกอนภายใต้สภาวะที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 ความเข้มข้น 50%SAT ที่อุณหภูมิ 45 °C

5. การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR

การวิเคราะห์อนุภาคที่ตกตะกอนได้ด้วยเทคนิค FTIR เป็นการวิเคราะห์เพื่อศึกษาแรงกระทำ ระหว่างโมเลกุล (Intermolecular interaction) แบบพันธะไฮโดรเจนของตัวยา SMX และกรดมาลิกที่อยู่ในอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนได้จากเทคนิค Slow evaporation โดยพิจารณาจากหมู่ฟังก์ชัน $1^{\text{st}}\text{-NH}_2$ และ 2^{nd}-NH ของตัวยา SMX กับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) และหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ที่อยู่ในโมเลกุลของกรดมาลิก ดังแสดงในตารางที่ 15 ซึ่งผลการทดลองพบว่า เกิดการเลื่อนตำแหน่งของหมู่ $1^{\text{st}}\text{-NH}_2$ ที่อยู่ในโมเลกุลของตัวยา SMX จากตำแหน่งเดิมคือที่ความยาวคลื่น $3,387$ และ $3,477\text{ cm}^{-1}$ ไปยังความยาวคลื่น $3,376$ และ $3,468\text{ cm}^{-1}$ สำหรับอัตราส่วน 2:1 และสำหรับที่อัตราส่วนอื่นแสดงดังตารางที่ 15 โดยจากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าอาจเกิดพันธะไฮโดรเจนกับหมู่ไฮดรอกซิลของกรดมาลิกซึ่งสอดคล้องกับอนุภาคที่ผลิตจากกระบวนการ GAS อย่างไรก็ตาม ความยาวคลื่นของหมู่ไฮดรอกซิลในผลิตภัณฑ์ที่ $2,631\text{ cm}^{-1}$ ไม่สามารถสังเกตได้ว่ามีการเลื่อนตำแหน่งไปหรือไม่

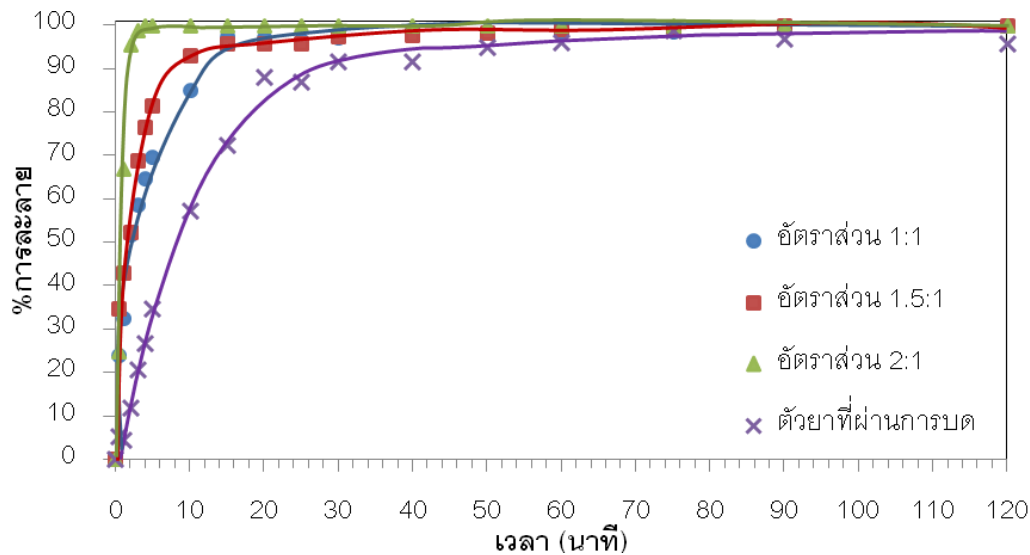
ตารางที่ 15 ค่าความยาวคลื่น (cm^{-1}) ของหมู่ฟังก์ชันที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนของตัวยา SMX และกรดมาลิก เปรียบเทียบกับอนุภาคโคคริสตอลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกต่าง ๆ ในตัวทำละลายอะซิโตน

หมู่ฟังก์ชัน	ตัวยา SMX	กรดมาลิก	อนุภาคโคคริสตอล ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักระหว่างตัวยา		
			SMX :กรดมาลิก		
			2:1	1.5:1	1:1
O-H	-	2,631	สังเกตไม่ชัด	สังเกตไม่ชัด	สังเกตไม่ชัด
-COOH	-	1,736	1,734	1,736	1,736
1 st -NH ₂	3,387	-	3,376	3,379	3,375
	3,477	-	3,468	3,464	3,469
2 nd -NH-	3,300	-	3,302	3,300	3,304

6. วิเคราะห์อัตราการละลาย

การวิเคราะห์อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่ได้จากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ในตัวทำละลายอะซิโตน โดยทำการเปรียบเทียบกับตัวยา SMX ที่ผ่านการบด รวมทั้งเปรียบเทียบกับอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตจากเทคนิค GAS ภายใต้สภาวะในการทดลองที่อุณหภูมิ 45 °C ความเข้มข้น 50%SAT และอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเดียวกัน ในตัวทำละลายอะซิโตนเช่นเดียวกัน ผลการวิเคราะห์แสดงดังภาพที่ 29

จากภาพที่ 29 เมื่อเปรียบเทียบ %การละลายที่ 90% ของอนุภาคโคคริสตอลที่ตกตะกอนจากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 พบว่าอนุภาคโคคริสตอลใช้เวลาในการละลาย 1.9, 8.8 และ 12 นาที ตามลำดับ ในขณะที่ตัวยา SMX ที่ผ่านการบดต้องใช้เวลาในการละลายถึง 28 นาที ที่ค่าการละลายเท่ากับ 90% การละลาย จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกที่ลดลง (ปริมาณกรดมาลิกในสารละลายเพิ่มขึ้น) อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากเทคนิค Slow evaporation มีค่าลดลง



ภาพที่ 29 อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนจากตัวทำละลายอะซิโตน ด้วยเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 เปรียบเทียบกับตัวยา SMX ที่ผ่านการบด

เมื่อเปรียบเทียบอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 กับอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากกระบวนการ GAS ที่อัตราส่วนเดียวกัน ความเข้มข้น 50% และอุณหภูมิ 45 °C ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 16 พบว่าอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากทั้ง 2 เทคนิคมีอัตราการละลายที่ใกล้เคียงกัน โดยเมื่อดูเวลาที่ใช้ในการละลาย 90% อนุภาคจากเทคนิค Slow evaporation ใช้เวลาในการละลายเท่ากับ 1.9 นาที และอนุภาคจากเทคนิค GAS ใช้เวลา 2.0 และ 3.5 นาที สำหรับอนุภาคสีขาวและสีเหลือง ตามลำดับ

จากตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 เปรียบเทียบกับอนุภาคโคคริสตัลจากกระบวนการ GAS ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเดียว ความเข้มข้นของสารละลาย 50% SAT และอุณหภูมิ 45 °C ผลการทดลองพบว่าอนุภาคโคคริสตัลจากเทคนิค Slow evaporation มีอัตราการละลายช้ากว่าอนุภาคโคคริสตัลจากกระบวนการ GAS ทั้งในส่วนสีขาวและสีเหลือง โดยเวลาที่อนุภาคจากเทคนิค Slow evaporation ใช้เวลาในการละลายได้ 90% เท่ากับ 8.8 นาที ในขณะที่จากกระบวนการ GAS ใช้เวลา 1.8 และ 4.2 นาที สำหรับสีขาวและเหลือง ตามลำดับ

ตารางที่ 16 เวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90% ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากกระบวนการ GAS ที่ความเข้มข้น 50%SAT อุณหภูมิ 45 °C ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกต่าง ๆ

กระบวนการ GAS	%Drug content		เวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90%	
	สีขาว	สีเหลือง	สีขาว	สีเหลือง
	(%)		(นาที)	
อัตราส่วนตัวยา SMX : กรดมาลิก				
1:1	66.27%	54.67%	2.3	3.4
1.5:1	73.97%	75.24%	1.8	4.2
2:1	70.23%	78.20%	2.0	3.5

สำหรับอัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตัลที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1:1 จากเทคนิค Slow evaporation เปรียบเทียบกับอนุภาคจากกระบวนการ GAS จากสารละลายเข้มข้น 50%SAT และอุณหภูมิ 45 °C ที่อัตราส่วนเดียวกัน ในตารางที่ 16 และ 17 พบว่าอนุภาคจากกระบวนการ GAS มีอัตราการละลายสูงกว่าอนุภาคจากเทคนิค Slow evaporation ทั้งในส่วนสีขาวและสีเหลือง ซึ่งเวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90% มีค่าเท่ากับ 2.3 และ 3.4 นาที สำหรับอนุภาคสีขาวและสีเหลือง ตามลำดับ และสำหรับอนุภาคจากเทคนิค Slow evaporation มีค่าเท่ากับ 12 นาที

ผลการวิเคราะห์ห้อนุภาคโคคริสตัลจากเทคนิค Slow evaporation เปรียบเทียบกับอนุภาคจากกระบวนการ GAS แสดงให้เห็นว่าอนุภาคที่ผลิตจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1 มีอัตราการละลายที่เร็วกว่าอนุภาคโคคริสตัลจากกระบวนการ GAS เล็กน้อย เนื่องจากที่อัตราส่วน 2:1 ความเป็นผลึกจากการวิเคราะห์หัตถ์ด้วยเทคนิค XRD (ภาพที่ 28) ของอนุภาคจากเทคนิค Slow evaporation ใกล้เคียงกับอนุภาคจากกระบวนการ GAS อัตราการละลายจึงมีค่าใกล้เคียงกัน สำหรับอนุภาคที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 1.5:1 และ 1:1 ของเทคนิค Slow evaporation เมื่อเปรียบเทียบความเป็นผลึกในภาพที่ 27 และ 26 ตามลำดับ พบว่ามีความเป็นผลึกมากกว่าอนุภาคโคคริสตัลจากกระบวนการ GAS ทำให้มีอัตราการละลายต่ำกว่า

ตารางที่ 17 เวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90% ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 ของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตจากเทคนิค Slow evaporation ความเข้มข้น 50%SAT ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกต่าง ๆ ของผสมทางกายภาพ และตัวยา SMX ที่ผ่านการบด

Slow evaporation	%Drug content	เวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90%
อัตราส่วนตัวยา SMX : กรดมาลิก	(%)	(นาที)
1:1	52.22	12
1.5:1	59.57	8.8
2:1	66.06	1.9
ของผสมทางกายภาพ	70%	25
	55%	8.2
ตัวยา SMX ที่ผ่านการบด	-	28

ในการวิเคราะห์อัตราการละลายแสดงให้เห็นว่าอนุภาคโคคริสตัลที่ได้จากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วน 2:1 มีอัตราการละลายที่ใกล้เคียงกับอนุภาคจากกระบวนการ GAS แต่อย่างไรก็ดี การผลิตด้วยเทคนิค Slow evaporation ใช้เวลาในการตกตะกอนนานกว่ามาก (14 วัน) รวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังมีตัวทำละลายอินทรีย์ที่ตกค้างอยู่ด้วย ซึ่งสำหรับการผลิตด้วยกระบวนการ GAS ใช้เวลาในการผลิตที่น้อยกว่า (4 - 5 ชั่วโมง) รวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่มีตัวทำละลายอินทรีย์ตกค้างอีกด้วย และเมื่อเปรียบเทียบค่า Drug content ของอนุภาคที่ผลิตได้จากกระบวนการ GAS พบว่ามีค่ามากกว่าอนุภาคที่ได้จากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเดียวกัน

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองเพื่อเพิ่มอัตราการละลายของตัวยาซัลฟาเมทท็อกซาโซล (SMX) โดยการผลิตเป็นอนุภาคโคคริสตัลกับกรดมาลิก (L-Malic acid) ด้วยกระบวนการ GAS ที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะใกล้จุดวิกฤตเป็นตัวดำเนินการละลาย และเปรียบเทียบกับอนุภาคที่ผลิตได้จากเทคนิค Slow evaporation

1. กระบวนการ GAS และเทคนิค Slow evaporation สามารถผลิตอนุภาคโคคริสตัลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก โดยสามารถยืนยันผลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD ที่ปรากฏพีกตำแหน่งใหม่ที่ค่า 2θ เท่ากับ 6.8 และ 13.8 ซึ่งไม่ปรากฏอยู่ในสารตั้งต้นทั้ง 2 ชนิด และจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR แสดงให้เห็นว่าตัวยา SMX และกรดมาลิกมีแรงยึดเหนี่ยวกันด้วยแรงระหว่างโมเลกุลแบบพันธะไฮโดรเจน อนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตได้จากทั้ง 2 เทคนิคเมื่อนำมาทดสอบอัตราการละลายและเปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการละลายได้ 90% พบว่ามีอัตราการละลายที่สูงกว่าตัวยา SMX ที่ผ่านการบด ดังนั้นงานวิจัยนี้สามารถเพิ่มอัตราการละลายของตัวยา SMX ด้วยการผลิตเป็นอนุภาคโคคริสตัลกับกรดมาลิก

2. การศึกษาการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตัลระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกด้วยกระบวนการ GAS โดยศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่ออนุภาค ได้แก่ อุณหภูมิ (35 °C และ 45 °C) ความเข้มข้นของสารละลาย (30%SAT 50%SAT และ 70%SAT) อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก (2:1, 1.5:1 และ 1:1 โดยน้ำหนัก) ในตัวทำละลายอะซิโตน พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่ออนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตได้คือ อุณหภูมิในการทดลองและอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก ส่วนความเข้มข้นของสารละลายนั้นส่งผลต่อความดันที่อนุภาคตกตะกอนและปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ในแต่ละสภาวะ โดยลักษณะของอนุภาคโคคริสตัลที่ตกตะกอนได้ประกอบไปด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนสีขาวและสีเหลือง ซึ่งค่า Drug content ของอนุภาคที่ผลิตได้ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX กับกรดมาลิกคือ เมื่ออัตราส่วนมีค่าลดลง (ปริมาณกรดมาลิกในสารละลายเพิ่มขึ้น) ส่งผลให้ค่า Drug content ของอนุภาคที่ผลิตได้มีค่าลดลง ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกันทั้งการตกตะกอนที่ 35 °C และ 45 °C

3. ลักษณะของอนุภาคโคคริสตัลจากภาพถ่าย SEM ประกอบไปด้วยสัญญาณของตัวยา SMX และกรดมาลิกเกาะรวมกันอยู่เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งเมื่ออัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกลดลง (จาก 2:1 ไป 1:1) สัญญาณของตัวยา SMX มีขนาดเล็กและอนุภาคส่วนสีขาวมีขนาดเล็กกว่าส่วนสีเหลือง โดยจุดหลอมเหลวของอนุภาคโคคริสตัลที่ผลิตได้ทุกสภาวะในการทดลองมีค่าอยู่ระหว่างจุดหลอมเหลวของตัวยา SMX และกรดมาลิก ซึ่งแปรผันกับค่า Drug content ของอนุภาคที่ผลิตได้ นอกจากนี้อนุภาคโคคริสตัลที่ทุก

การทดลองมีพลังงานที่ใช้ในการหลอมเหลวที่ต่ำกว่าสารตั้งต้นทั้ง 2 ชนิด ซึ่งเป็นผลทำให้อนุภาคโคคริสตอลมีอัตราการละลายที่สูงขึ้น

4. การวิเคราะห์อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตที่อุณหภูมิ 35 °C และ 45 °C ความเข้มข้น 50%SAT และอัตราส่วนเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 พบว่า สำหรับอนุภาคสีขาวที่ผลิตจากอุณหภูมิ 35 °C ใช้เวลาในการละลายได้ 90% เท่ากับ 8.5, 7.4 และ 5.2 นาที สำหรับอัตราส่วนที่ 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ตามลำดับ และสำหรับอนุภาคสีเหลืองมีค่าเท่ากับ 10.3 และ 3.2 นาที สำหรับอัตราส่วน 1.5:1 และ 1:1 ตามลำดับ และการวิเคราะห์อนุภาคที่ผลิตที่อุณหภูมิ 45 °C พบว่ามีอัตราการละลายสูงกว่าอนุภาคที่ผลิตที่อุณหภูมิ 35 °C โดยอนุภาคที่ผลิตจากอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก ต่าง ๆ มีอัตราการละลายที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งอนุภาคในส่วนสีขาวที่ทุกอัตราส่วนในการทดลองสามารถละลายได้ 90% ภายในเวลาเพียง 2.3 นาที และสำหรับอนุภาคโคคริสตอลในส่วนสีเหลืองจากทุกอัตราส่วนในการทดลองใช้เวลาในการละลายได้ 90% เท่ากับ 4.3 นาที ซึ่งมีความสูงกว่าตัวยา SMX ที่ผ่านการบดที่ใช้เวลา 28 นาที สำหรับการละลายได้ 90%

5. อนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากเทคนิค Slow evaporation ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็น 2:1, 1.5:1 และ 1:1 พบว่า ลักษณะของอนุภาคจากภาพถ่าย SEM มีลักษณะคล้ายกับอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากกระบวนการ GAS อีกทั้งจุดหลอมเหลวของอนุภาคที่ผลิตได้ยังสอดคล้องกับอนุภาคจากการกระบวนการ GAS ที่มีค่าอยู่ระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก แต่จากผลวิเคราะห์ด้วยเทคนิค XRD อนุภาคจากเทคนิค Slow evaporation มีความเป็นผลึกที่มากกว่าอนุภาคที่ผลิตจากกระบวนการ GAS ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเดียวกัน นอกจากนี้การวิเคราะห์อัตราการละลายของอนุภาคโคคริสตอลจากเทคนิค Slow evaporation แสดงให้เห็นว่าเวลาที่อนุภาคใช้ในการละลายได้ 90% มีค่าเท่ากับ 1.9, 8.8 และ 12 นาที สำหรับอัตราส่วน 2:1, 1.5:1 และ 1:1 ตามลำดับ ซึ่งมีอัตราการละลายต่ำกว่าอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตจากกระบวนการ GAS ที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเท่ากัน ยกเว้นที่อัตราส่วน 2:1 เท่านั้น ที่อัตราการละลายเร็วกว่าเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ดีการผลิตอนุภาคโคคริสตอลด้วยเทคนิค Slow evaporation ใช้เวลาในการตกตะกอนที่นานถึง 14 วัน และยังมีตัวทำละลายอินทรีย์ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้อีกด้วย

ข้อเสนอแนะ

1. จากการตกตะกอนอนุภาคโคคริสตอลด้วยกระบวนการ GAS นั้นเกิด Dead zone ภายในห้องตกตะกอนเนื่องจากลักษณะของตัวกรองที่อยู่ภายในไม่เหมาะสม จึงควรเปลี่ยนลักษณะของตัวกรองที่อยู่ภายในห้อง เช่น ใช้ตัวกรองที่เป็นลักษณะเป็นแผ่นแทนแท่งทรงกระบอก เป็นต้น
2. ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิกเป็นแบบสัดส่วนโดยน้ำหนัก ซึ่งปฏิกิริยาอนุภาคโคคริสตอลจะเข้าสร้างกันพันธะหรือยึดเหนี่ยวกันด้วยสัดส่วนโดยโมล ตาม Stoichiometric ดังนั้นอาจทำการศึกษาและทดลอง เพิ่มเติมในการผลิตอนุภาคที่อัตราส่วนระหว่างตัวยา SMX และกรดมาลิก เป็นสัดส่วนโดยโมลต่อไป
3. ในงานวิจัยนี้ไม่ได้ทำการทดสอบความเสถียรภาพของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากทั้ง 2 เทคนิค ดังนั้นควรมีการศึกษาและทดสอบเพิ่มเติมถึงความเสถียรของอนุภาคที่ผลิตได้
4. การผลิตอนุภาคโคคริสตอลด้วยเทคนิค Slow evaporation ควรมีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นในการทดลอง เพื่อให้ผลการทดลองมีความแม่นยำและสามารถทำการทดลองเพื่อผลิตซ้ำใหม่ได้เหมือนกันทุก ๆ การทดลอง
5. การวิเคราะห์ขนาดของอนุภาคโคคริสตอลที่ผลิตได้จากทั้ง 2 เทคนิค ควรมีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอื่นเพิ่มเติมนอกเหนือจากภาพถ่ายจากเครื่อง SEM เพื่อเป็นการยืนยันว่าอนุภาคในส่วนสีขาวมีขนาดเล็กกว่าอนุภาคในส่วนสีเหลือง เช่น อาจใช้เครื่อง Malvern mastersizer เพื่อวิเคราะห์ขนาดและการกระจายตัวของอนุภาค

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- ศิวพร สุทธิกรชัย. 2555. การเพิ่มอัตราการละลายของยาซัลฟาเม็ทที่ออกซาโซลด้วยกระบวนการ Gas Anti-Solvent. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Bailey W., R. D., M.W. Bradner, S. Fleischman, L.A. Morales, B. Moulton, N. Rodríguez-Hornedob and M.J. Zaworotko. 2003. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. *Chem Commun.* 2: 186-187.
- Chang, Y. P., M. Tang, Y. P. Chen. 2007. Micronization of sulfamethoxazole using the supercritical anti-solvent process. *J Mat Sci.* 23: 123-129.
- Grossjohann C., K.S. Eccles, A.R. Maguire, S.E. Lawrence and L. Tajber. 2012. Characterisation, solubility and intrinsic dissolution behavior of benzamide: dibenzyl sulfoxide cocrystal. *Int J Pharm.* 422: 24-32
- Limwikrant, W., A. Nagai, Y. Hagiwara, K. Higashi, K. Yamamoto and K. Moribe. 2012. Formation mechanism of a new carbamazepine/malonic acid cocrystal polymorph. *Int J Pharm.* 431: 237-240.
- Lin, H.L., T.K. Wu and S.Y. Lin. 2014. Screening and characterization of cocrystal formation of metaxalone with short-chain dicarboxylic acids induced by solvent-assisted grinding approach. *Thermochim Acta.* 575: 313-321.
- Nicoli, S., S. Bilzi, P. Santi, M.R. Cairra, J. Li and R. Bettini. 2008. Ethyl-Paraben and Nicotinamide mixture: Apparent solubility, thermal behavior and X-Ray structure of the 1:1 cocrystal. *J Pharm Res.* 97: 4830-4839.
- Ober, C.A., S.E. Montgomery and R.B. Gupta. 2013. Formation of itraconazole/L-Malic acid cocrystals by gas antisolvent cocrystallization. *Powder Technol.* 236: 122-131.
- Padrela, L., M.A. Rodrigues, J. Tiago, S.P. Velaga, H.A. Matos and E.G.D. Azevedo. 2014. Tuning physicochemical properties of theophylline by cocrystallization using the supercritical fluid enhanced atomization technique. *J Supercrit Fluid.* 86: 129-136.
- Qiao, N., M. Li, W. Schlindwein, N. Malek, A. Davies and G. Trappitt. 2011. Pharmaceutical cocrystals: An overview. *Int J Pharm.* 419: 1-11.
- Shikhar, A., M. M. Bommana, S. S. Gupta, E. Squillante. 2011. Formulation development of Carbamazepine- Nicotinamide co-crystals complexed with γ - cyclodextrin using supercritical fluid process. *J Supercrit Fluids.* 55: 1070-1078.

- Soares F.L. and R.L. Carneiro. 2014. Evaluation of analytical tools and multivariate methods for quantification of co-former crystals in ibuprofen-nicotinamide co-crystals. **J Pharm Biomed Anal.** 89: 166-175.
- Stanton, M. and K.A. Bak. 2008. Physicochemical properties of pharmaceutical co-crystals: a case study of ten AMG 517 cocrystals. **Cryst Growth Des.** 8 ; 3856–3862.

ภาคผนวก

บทความตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ ระดับนานาชาติ

Rawin Imchalee, Manop Charoenchaitrakool. Gas anti-solvent processing of a new sulfamethoxazole–L-malic acid cocrystal. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 25 (2015) 12-15.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Industrial and Engineering Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jiec



Short communication

Gas anti-solvent processing of a new sulfamethoxazole–L-malic acid cocrystal



Rawin Imchalee^a, Manop Charoenchaitrakool^{a,b,*}

^aDepartment of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

^bCenter for Advanced Studies in Nanotechnology for Chemical, Food and Agricultural Industries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 June 2014

Received in revised form 3 November 2014

Accepted 10 November 2014

Available online 15 November 2014

Keywords:

Crystallization
Co-precipitation
Cocrystal
Sulfamethoxazole
L-Malic acid

ABSTRACT

The objective of this work was to enhance the dissolution rate of a poorly water-soluble antibiotic drug, sulfamethoxazole (SMX), by forming cocrystal with L-malic acid (MA) using gas anti-solvent (GAS) process. The effect of SMX to MA mass ratio (2:1, 1.5:1 and 1:1) on drug content and dissolution rate was investigated. The GAS cocrystallization was carried out at 45 °C using the drug concentration of 50% saturation in acetone. It was found that cocrystals produced from SMX to MA ratio of 2:1 had higher drug content than those produced from the ratios 1.5:1 and 1:1. In the dissolution studies, it was found that 90% of SMX in the cocrystals could be dissolved within 4.2 min, whereas the times required to dissolve 90% of the drug in the physical mixtures were 8.2 min (ratio 1:1) and 25 min (ratio 2:1), and up to 28 min for the micronized SMX.

© 2014 The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Introduction

In pharmaceutical practice, many drugs exhibit poor solubility in water, thus presenting problems with regards to dissolution and bioavailability [1]. Cocrystallization is a relatively recent technology which is considered as a potential method for enhancing the bioavailability of drugs with low aqueous solubility [2–6]. The formation of cocrystals involves hydrogen bonding between the active pharmaceutical ingredients (APIs) and highly water soluble cofomers. The altered properties of cocrystal such as solubility, melting point, crystallinity, hygroscopicity, stability, compression property are highly beneficial for tailoring the properties of an API in drug formulation [7–14]. Many new drug-coformer cocrystals have been explored and synthesized, for examples, itraconazole–L-malic acid [15], itraconazole–succinic acid [16], carbamazepine–cinnamic acid [17], naproxen–nicotinamide [18].

Sulfamethoxazole (SMX) is an effective antibiotic drug used for treating a variety of bacterial infections esp., urinary tract infection. According to the Biopharmaceutical Classification System (BCS), SMX is classified as class IV drug. Various techniques have been used to increase the dissolution rate of SMX, for

examples, micronization [19], co-precipitation with polyvinylpyrrolidone (PVP) [20]. However, the possibility of cocrystal formation between SMX and L-malic acid (MA) for dissolution rate enhancement has not been reported.

In this letter, the feasibility to synthesize cocrystal of SMX–MA using the gas anti-solvent (GAS) technique was explored. The effect of SMX to MA mass ratio (2:1, 1.5:1 and 1:1) on drug content and dissolution rate was also investigated. Production of SMX–MA cocrystal by a slow evaporation technique was also conducted in order to compare the obtained results.

Experimental

Commercial micronized SMX (Bang Trading Thailand, 100% purity) and L-malic acid (Acros, 99.9% purity) were used as received. Acetone (Carlo Erba Reagents, 99.9% purity) was used as organic solvent. Carbon dioxide (high purity grade, TIG) was used as an anti-solvent. Potassium phosphate monobasic (Carlo Erba Reagents, 99% purity) and sodium hydroxide (Sigma, minimum 98% purity) were used to prepare the phosphate buffer solution for the dissolution studies.

The schematic diagram of the GAS process is shown in Fig. 1. Production of SMX–MA cocrystal was conducted by charging the vessel (Jerguson sight gauge series no.32) with 5 mL of the drug and cofomer solution in acetone. Three different SMX to MA mass ratios (2:1, 1.5:1 and 1:1) with a fixed drug concentration of 50%

* Corresponding author at: Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.
Tel.: +66 2 797 0999x1216; fax: +66 2 561 4621.

E-mail address: manop.c@ku.ac.th (M. Charoenchaitrakool).

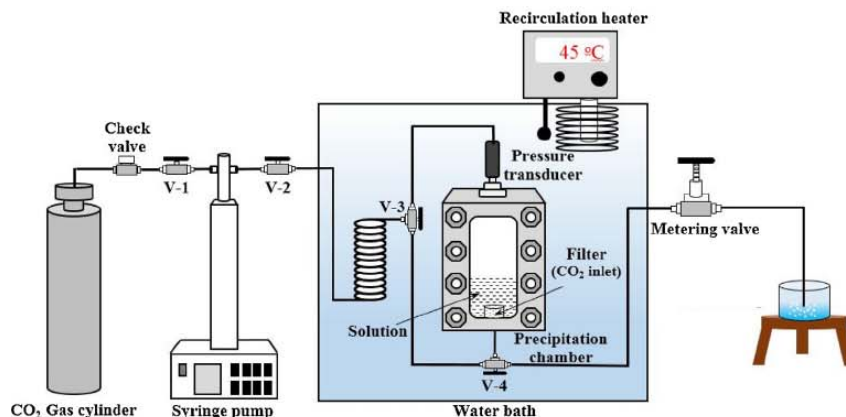


Fig. 1. Schematic diagram of the GAS apparatus.

saturation in acetone were used in this study. The system temperature was controlled to within 0.1 °C using a recirculation heater (Thermoline Unistat 130) and set to 45 °C (note that 45 °C approaches the upper limitation of the water bath material, and from the preliminary studies the cocrystals produced at lower temperatures such as 25 °C and 35 °C had lower dissolution rates compared to 45 °C). Liquid CO₂ was fed to a syringe pump (ISCO model 260D) and delivered through a preheating coil, which was immersed in the perspex water bath. The initial pressure prior feeding to the system was set to be 40 bar for each experiment. The precipitation chamber was then brought to the desired pressure by passing CO₂ from the pump through a 0.5 μm filter from the bottom. The flow rate of CO₂ delivered to the vessel for pressurization was set at 10 mL/min. The pressure of the system was increased up to 90 bar in order to ensure a complete precipitation. Precipitated samples were then washed with approximately 80 mL of CO₂ at 90 bar to remove residual solvent. After washing, the system was depressurized and a sample was taken for analyses.

Powder X-Ray Diffraction (PXRD) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) were used as the primary means of detecting cocrystal formation. The drug content was determined

using UV-vis at the wave length of 261 nm. The drug content can be calculated using the following equation:

$$\text{drug content} = \frac{\text{mass of the drug in product}}{\text{total mass of product}} \times 100\%$$

Powder dissolution studies were performed in 900 mL of phosphate buffer solution at pH 7.4 and 37 °C, using a magnetic stirrer at 200 rpm. Accurately weighed samples were introduced into the dissolution medium. Aliquots (≈4 mL) were withdrawn at certain time intervals and passed through a 0.45 μm filter. The amount of SMX in the withdrawn samples were determined by measuring the absorbance at λ = 261 nm using UV spectrometer (Shimadzu, Anthelie advance 5).

Results and discussion

Characterization of SMX-MA cocrystal

Prior to the production of SMX-MA cocrystal, independently precipitation of SMX and MA were carried out by GAS. Conditions for the cocrystallization were then selected to give a small difference in the threshold pressures of the drug and cofomer.

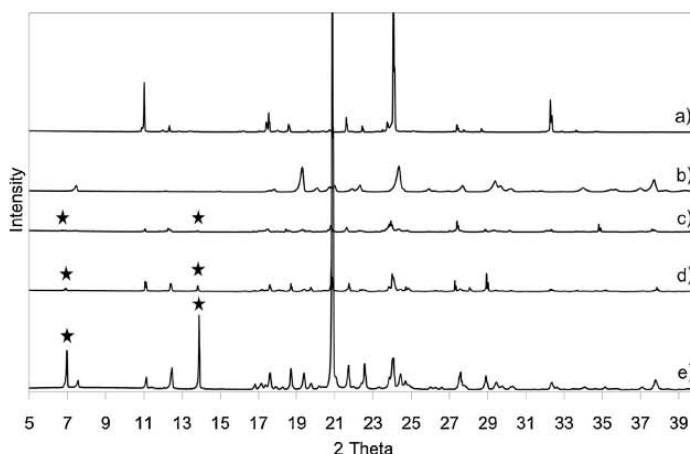


Fig. 2. PXRD patterns of (a) SMX after the GAS process, (b) MA after the GAS process, (c and d) cocrystals by GAS using SMX to MA ratio of 1.5:1 (c) white crystal (d) pale yellow crystal, and (e) cocrystal by slow evaporation using SMX to MA ratio of 1.5:1 (each * denotes a new peak found in the cocrystal).

Fig. 2 illustrates the PXRD patterns of pure SMX after the GAS process, pure MA after the GAS process and the product obtained in this work. It was found that the characteristic peaks of SMX and MA remained unchanged after the GAS process. However, the degrees of crystallinity of the drug and coformer, as indicated by peak intensity, were altered after processing. It was found that the precipitated SMX was larger and had higher XRD peak intensity than the commercial micronized SMX. In the case of MA, the precipitates were smaller and had lower XRD peak intensity than the unprocessed material [21]. The cocrystal formation was confirmed by the appearance of two new peaks at $2\theta = 6.8$ and 13.8 . Note that there were also pure component peaks in the product patterns. This result indicated that there were likely uncocrystallized components in the final product. Similar result was also observed in the case of itraconazole–succinic acid [16]. Ober and Gupta [16] explained that during the washing step in the GAS process the remaining solvent becomes supersaturated with unprecipitated compounds, as a result, additional cocrystallization or possibly recrystallization of the pure drug and/or coformer could occur and become part of the final product.

The interactions between SMX and MA were also confirmed by the FTIR analysis. Shifts in the primary amide group of SMX from 3387 and 3477 cm^{-1} to 3377 and 3470 cm^{-1} , respectively, and also another shift in the hydroxyl group of MA from 2631 cm^{-1} to 2644 cm^{-1} indicated hydrogen bond formation in the SMX–MA cocrystal.

To further confirm the formation of SMX–MA cocrystal via the GAS process, the cocrystallization using slow evaporation (SE) technique was conducted for comparison. The products from the SE method were found to have the same XRD patterns with higher intensity and IR spectra shifts as the products obtained from GAS. Therefore, the formation of SMX–MA cocrystal was successfully performed by the GAS process.

Drug to coformer ratio effect

Before conducting the GAS experiment, the saturation solubility of SMX in acetone at room temperature was determined using

Table 1

Drug content in the product and time required to achieve 90% of drug dissolved.

Condition	Drug content (%)		Time for 90% of drug dissolved (min)	
	White	Yellow	White	Yellow
GAS at 45 °C				
1:1	66.27	54.67	2.3	3.4
1.5:1	73.97	75.24	1.8	4.2
2:1	70.23	78.20	2.0	3.5
Slow evaporation				
1:1		52.22		12.0
1.5:1		59.57		8.8
2:1		66.06		1.9
Physical mixture				
1:1		50.0		8.2
2:1		66.7		25.0
Micronized SMX		100.0		28

gravimetric method and found to be 0.25 g/mL . The effect of SMX to MA mass ratio on the drug content and particle size was examined by fixing the amount of SMX at 50% saturation in acetone and varying the amount of MA at 45 °C. It was found that two distinct colors (white and pale yellow) of the GAS products were observed for all conditions studied. Note that the pale yellow product was usually found at the base of the frit filter. It was suspected that a poor mixing and non-uniform nucleation at the base of the frit filter was the main reason for this pale yellow product. As can be seen from Table 1, a reduction in MA in the starting solution resulted in an increase in drug content. Fig. 3 shows the morphology of pure SMX after the GAS process, pure MA after the GAS process and the GAS product. It was found that the size of the white product was slightly smaller than the pale yellow product at the same operating conditions. The product from SMX to MA ratio of 2:1 appeared as rectangular shape and had similar morphology as the precipitates of pure drug by GAS. In addition, the product from SMX to MA ratio of 1:1 was found to be more homogeneous and smaller than those of 2:1 ratio.

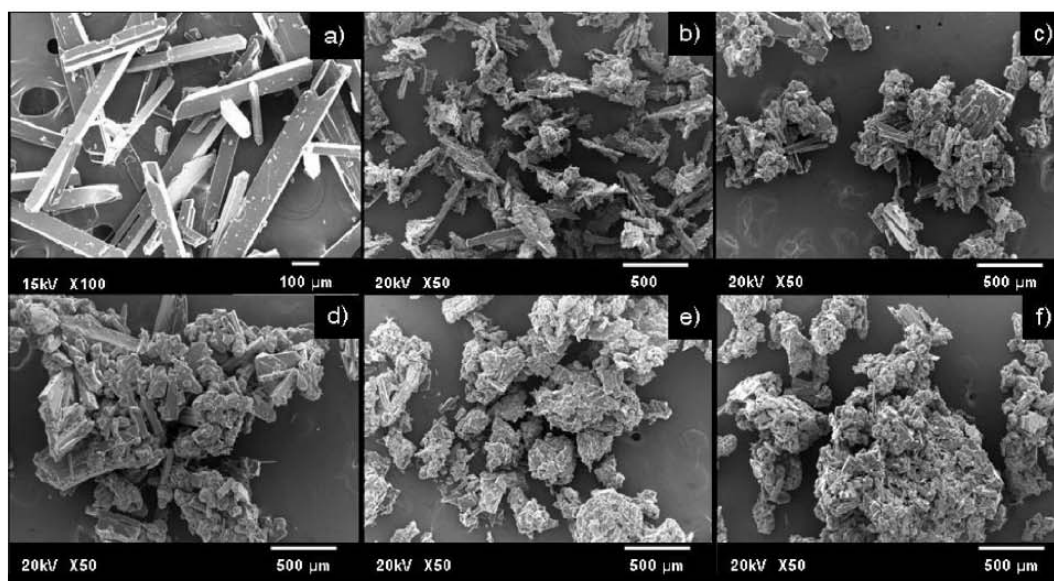


Fig. 3. SEM images of (a) SMX after the GAS process, (b) MA after the GAS process, (c–f) cocrystals by GAS using various SMX to MA ratios; (c) 2:1 white crystal, (d) 2:1 pale yellow crystal, (e) 1:1 white crystal and (f) 1:1 pale yellow crystal.

The dissolution studies in phosphate buffer solution (pH 7.4, 37 °C) of the commercial micronized SMX, physical mixture of SMX and MA, cocrystals from GAS and slow evaporation were conducted. As a basis for comparison, time after which 90% of the original amount of drug had dissolved was determined and listed in Table 1. It was found that 90% of SMX in the cocrystals from GAS could be dissolved within 4.5 min for both white and pale yellow products. On the other hand, the times required to dissolve 90% of the drug in the cocrystals from slow evaporation could go up to 12 min depending on the SMX to MA ratio. The enhanced in the dissolution rate of the GAS product could be attributed to the reduction in degree of crystallinity as observed from the PXRD results. In addition, the presence of MA in the physical mixture also improved wettability of SMX resulting in a faster dissolution rate compared to the commercial micronized SMX. It is also interesting to note that the SMX–MA cocrystal by GAS had higher drug content and slightly faster dissolution rate compared to the SMX–PVP composites [20]. Thus, this work has demonstrated a promising option to effectively enhance the dissolution rate of SMX via cocrystal formation.

Conclusions

Formation of SMX–MA cocrystals was successfully performed by the GAS process at 45 °C using acetone as a solvent and CO₂ as an anti-solvent. An increase in the SMX to MA ratio resulted in a higher drug content. All the cocrystals produced by GAS could achieve 90% of drug dissolved within 4.5 min, which was faster than the commercial micronized SMX. The significant improvement of SMX dissolution rate obtained from the cocrystals was due to the reduction in degree of crystallinity and the enhanced wettability of MA in the cocrystal product.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the financial support of Faculty of Engineering, Kasetsart University and the Kasetsart University Research and Development Institute (KURDI).

The authors have declared no conflict of interest.

References

- [1] S. Hiendrawan, B. Veriansyah, R.R. Tjandrawinata, J. Ind. Eng. Chem. 20 (2014) 54.
- [2] R. Thakuria, A. Delori, W. Jones, M.P. Lipert, L. Roy, N. Rodríguez-Hornedo, Int. J. Pharm. 453 (2013) 101.
- [3] L. Padrela, M.A. Rodrigues, J. Tiago, S.P. Velaga, H.A. Matos, E.G. de Azevedo, J. Supercrit. Fluids 86 (2014) 129.
- [4] N. Qiao, K. Wang, W. Schlindwein, A. Davies, M. Li, Eur. J. Pharm. Biopharm. 83 (2013) 415.
- [5] J.W. Steed, Trends Pharmacol. Sci. 34 (2013) 185.
- [6] N. Blagden, M. de Matas, P.T. Gavan, P. York, Adv. Drug Deliv. Rev. 59 (2007) 617.
- [7] A.V. Trask, W.D. Sam Motherwell, W. Jones, Int. J. Pharm. 320 (2006) 114.
- [8] Y. Maeno, T. Fukami, M. Kawahata, K. Yamaguchi, T. Tagami, T. Ozeki, T. Suzuki, K. Tomono, Int. J. Pharm. 473 (2014) 179.
- [9] S. Basvoju, D. Boström, S.P. Velaga, Pharm. Res. 25 (2008) 530.
- [10] N. Shan, M.J. Zaworotko, Drug Discov. Today 13 (2008) 440.
- [11] N. Qiao, M. Li, W. Schlindwein, N. Malek, A. Davies, G. Trappitt, Int. J. Pharm. 419 (2011) 1.
- [12] A.A. Najar, Y. Azim, J. Indian Inst. Sci. 94 (2014) 45.
- [13] S. Tsutsumi, M. Iida, N. Tada, T. Kojima, Y. Ikeda, T. Moriwaki, K. Higashi, K. Moribe, K. Yamamoto, Int. J. Pharm. 421 (2011) 230.
- [14] K. Shiraki, N. Takata, R. Takano, Y. Hayashi, K. Terada, Pharm. Res. 25 (2008) 2581.
- [15] C.A. Ober, S.E. Montgomery, R.B. Gupta, Powder Technol. 236 (2013) 122.
- [16] C.A. Ober, R.B. Gupta, AAPS Pharm. Sci. Technol. 13 (2012) 1396.
- [17] A. Shayanfar, K. Asadpour-Zeynali, A. Jouyban, J. Mol. Liq. 187 (2013) 171.
- [18] C. Neurohr, A.L. Revelli, P. Billot, M. Marchivie, S. Lecomte, S. Laugier, S. Massip, P. Subra-Paternault, J. Supercrit. Fluids 83 (2013) 78.
- [19] Y.P. Chang, M. Tang, Y.P. Chen, J. Mater. Sci. 43 (2008) 2328.
- [20] S. Photipanyakun, S. Suttikornchai, M. Charoenchairakool, Powder Technol. 250 (2013) 84.
- [21] R. Imchalee, Production of cocrystal between sulfamethoxazole drug and L-malic acid using gas anti-solvent (GAS) process, (M.Eng. thesis), Kasetsart University, Thailand, 2014.