Research Article

การพัฒนาตำรับยาสอดเต้าแบบผงแห้งสำหรับผสมเป็นยาแขวนตะกอนใช้ในโคนม

วิริยาพร ศิริกุล[1]*, ชุติมน หมื่นแก้ว[1], นฤพร สุตัณฑวิบูลย์[2]

[1]ดร., คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม

[2]ผศ.ดร., ภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*** ติดต่อผู้นิพนธ์:** วิริยาพร ศิริกุล คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม 38 ถ.เพชรเกษม แขวงบางหว้า เขตภาษีเจริญ กรุงเทพมหานคร 10160

email: wiriyaporn.sir@siam.edu

บทคัดย่อ

การพัฒนาตำรับยาสอดเต้าแบบผงแห้งสำหรับผสมเป็นยาแขวนตะกอนใช้ในโคนม

วิริยาพร ศิริกุล[1]*, ชุติมน หมื่นแก้ว[1], นฤพร สุตัณฑวิบูลย์[2]

ว. เภสัชศาสตร์อีสาน 2567; 20(2) : 73-85

รับบทความ: 18 ธันวาคม 2566 **แก้ไขบทความ:** 29 พฤษภาคม 2567 **ตอบรับ:** 17 มิถุนายน 2567

โรคเต้านมอักเสบในโคนม เป็นปัญหาสำคัญในด้านเศรษฐกิจของอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นม ซึ่งในปัจจุบันปัญหาหลักของตำรับยาสอดเต้าคือมีปริมาณตัวยากระจายไปยังบริเวณเป้าหมายได้ไม่เพียงพอ เนื่องจากตัวยาไม่สามารถยึดเกาะบริเวณเต้านมได้ **วัตถุประสงค์:** งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นพัฒนาสูตรตำรับยาโดยลดขนาดอนุภาคผงยาของสูตรตำรับเพื่อเพิ่มการกระจายยาในเต้านม **วิธีการศึกษา:** งานวิจัยนี้ใช้ตัวยาคลินดามัยซิน ไฮโดรคลอไรด์เป็นยาต้นแบบในการพัฒนารูปแบบนำส่งแบบยาแขวนตะกอน ซึ่งใช้พอลิเมอร์ 3 ชนิดที่มีประจุแตกต่างกันได้แก่ ไคโตซาน (ประจุบวก) โซเดียมคาร์บอกซี เมทิลเซลลูโลส (ประจุลบ) และไฮดรอกซี โพรพิล เมทิลเซลลูโลส (ไม่มีประจุ) โดยมีอัตราส่วนระหว่างพอลิเมอร์และตัวยาคลินดามัยซิน ไฮโดรคลอไรด์เป็น 0.5:1 1:1 และ 2:1 จากนั้นทำให้เป็นผงแห้งด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย **ผลการวิจัย:** พบว่ามีเพียงสูตรตำรับที่ประกอบด้วยโซเดียมคาร์บอกซี เมทิลเซลลูโลส และไฮดรอกซีโพรพิล เมทิลเซลลูโลส 4000 ในอัตราส่วน 1:1 และ 2:1 เท่านั้นที่ให้ร้อยละการกักเก็บตัวยาอยู่ในช่วงร้อยละ 90.00-120.00 โดยมีรูปร่างลักษณะเป็นทรงกลมและขนาดของอนุภาคอยู่ในระดับไมครอน และเมื่อนำมาศึกษาการปลดปล่อยตัวยาแบบภายนอกร่างกายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ค่าความเป็นกรดด่าง 7.4) เป็นสารละลายตัวกลางพบว่าสูตรตำรับที่มีโซเดียมคาร์บอกซี เมทิลเซลลูโลส หรือ ไฮดรอกซีโพรพิล เมทิลเซลลูโลส 4000 ในอัตราส่วน 1:1 ตัวยาปลดปล่อยได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 30 นาที และเมื่อนำมาศึกษาการปลดปล่อยแบบภายนอกร่างกายในสารละลายตัวกลางเป็นน้ำนมดิบ ผลการศึกษาพบว่าสูตรตำรับของโซเดียมคาร์บอกซี เมทิลเซลลูโลส ให้ร้อยละการปลดปล่อยตัวยาคลินดามัยซิน ไฮโดรคลอไรด์ คือร้อยละ 75.06 ซึ่งใกล้เคียงกับเกณฑ์ที่กำหนดไว้ (Q ≥ ร้อยละ 85) และสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ **สรุปผลการวิจัย:** สูตรตำรับโซเดียมคาร์บอกซี เมทิลเซลลูโลสอัตราส่วน 1:1 จึงให้แนวโน้มที่ดีที่จะนำไปพัฒนาในงานวิจัยต่อไป

คำสำคัญ: ยาสอดเต้านมวัว, คลินดามัยซิน ไฮโดรคลอไรด์, เต้านมอักเสบ, โซเดียมคาร์บอกซี เมทิลเซลลูโลส, ไฮดรอกซีโพรพิล เมทิลเซลลูโลส

Development of Intramammary Dry Powder for Suspension in Dairy Cows Use

Wiriyaporn Sirikun[1]*, Chutimon Muankaew[1], Narueporn Sutanthavibul[2]

[1]Dr., Faculty of Pharmacy, Siam University

[2]Assistant Professor. Dr., Department of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University

***Corresponding author:** Wiriyaporn Sirikun, Faculty of Pharmacy, Siam University, 38 Petchkasem, Bangwa Phasricharoen, Bangkok, 10160

email: wiriyaporn.sir@siam.edu

Abstract

Development of Intramammary Dry powder for Suspension in Dairy Cows Use

Wiriyaporn Sirikun[1]*, Chutimon Muankaew[1], Narueporn Sutanthavibul[2]

IJPS, 2024; 20(2) : 73-85

Received: 18 December 2023 **Revised:** 29 May 2024 **Accepted:** 17 June 2024

Mastitis in dairy cows has been a major economic problem for dairy industries. Nowadays, the main problem of intramammary preparations is insufficient amounts of drugs at the target site. It is due to the fact that the preparations do not spread and adhere in udders. **Objective:** This research was aimed to develop formulations by reducing particle sizes of the preparations to increase spreadability in udder. **Method:** Clindamycin HCl was selected as a model drug to develop suspensions. Chitosan (cationic charge), sodium carboxymethylcellulose; NaCMC (anionic charge) and hydroxypropyl methylcellulose; HPMC (nonionic charge) were chosen to develop the preparations in this study. The proportions of each polymer and clindamycin HCl were varied as 0.5:1, 1:1 and 2:1. All formulas were generated as dried powders via spray drying process. **Result:** There were only the formulas which contained NaCMC and HPMC 4000 in the ratio of 1:1 and 2:1 gave the percentages of entrapment in the ranges of 90.00-120.00%. The morphology was spherical and particle sizes were in the ranges of microns. Those formulas were selected to evaluate in vitro release study in phosphate buffered (pH 7.4). The results showed that the formulas which were composed of NaCMC or HPMC 4000 in the ratio of 1:1 were completely released within 30 minutes. Therefore, those formulas were carried out in vitro release study in full cream milk. The results showed that only NaCMC formula gave the percentages of clindamycin HCl released at 75.06%, that was close to the criteria ($Q \geq 85\%$). The NaCMC formula could inhibit *Staphylococcus* aureus. **Conclusion:** The NaCMC (1:1) formula gave a good trend to develop in the further experiments.

Keywords: intramammary, clindamycin HCl, mastitis, sodium carboxymethylcellulose, hydroxypropyl methylcellulose

บทนำ

โรคเต้านมอักเสบ (mastitis) ในโคนมนั้น เป็นปัญหาสำคัญในทางเศรษฐกิจของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม เนื่องจากคุณภาพของน้ำนมโคที่ได้ลดต่ำลง ไม่สามารถผลิตน้ำนมได้เพียงพอต่อความต้องการของตลาด อีกทั้งต้องสูญเสียค่ารักษาในโคนมที่เป็นโรคนี้อีกด้วย โดยโรคเต้านมอักเสบ คือ ภาวะของการอักเสบที่เกิดขึ้นในบริเวณเนื้อเยื่อภายในเต้านม ส่งผลให้เต้านมมีลักษณะบวมแดงและน้ำนมโคที่ได้จะมีปริมาณ และคุณภาพลดลง (Gruet *et al.*, 2001; Hegde *et al.*,2013) การอักเสบนี้ส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อ เช่น Staphylococcus aureus, Corynebacterium bovis และ Streptococcus agalactiae เป็นต้น ซึ่งอาการของโรคแบ่งได้ตามอาการแสดงคือ เต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (subclinical mastitis) ซึ่งส่วนมากจะไม่มีอาการแสดงบริเวณเต้านมแต่สามารถตรวจได้จากการนำน้ำนมไปวิเคราะห์ พบว่าน้ำนมมีค่าความเป็นกรดด่าง จำนวน somatic cells จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวและเชื้อแบคทีเรียในน้ำนมมีปริมาณที่สูงขึ้น ส่วนเต้านมอักเสบแบบแสดงอาการ (clinical mastitis) ซึ่งพบได้น้อยกว่าแบบแรก แต่มีอาการแสดงออกชัดเจน เช่น เต้านมมีลักษณะอักเสบบวมแดงหรือโคนมมีอาการซึม เบื่ออาหาร มีไข้ ประกอบกับลักษณะน้ำนมเปลี่ยนแปลงไป โดยพบน้ำนมเป็นก้อนหรือเป็นแผ่น หรือสีของน้ำนมเปลี่ยนเป็นใส อาจมีสารคัดหลั่งหรือเลือดออกมาจากเต้าซึ่งมีสีและกลิ่นผิดปกติไป และจะพบน้ำนมมีค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ที่เปลี่ยนแปลงไปเพิ่มขึ้นถึง 7.4 (ค่าปกติ 6.4-6.6) เช่นเดียวกับเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการ (Hegde *et al.*, 2013; Leelapongsathon *et al.*, 2014; Rathbone *et al.*, 2013)

การรักษาเต้านมอักเสบในโคนมปัจจุบันด้วยการบริหารยาผ่านการฉีดโดยสามารถฉีดได้ทั้งเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular; IM) เข้าหลอดเลือดดำ (intravenous; IV) และการสอดผ่านทางเต้านม (intramammary) (Andrews *et al.*, 2009; Garg *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2014; Ramteke *et al.*, 2014; Reyes *et al.*, 2015) ซึ่งยาสอดเต้านมมีข้อดีกว่าการบริหารยาผ่านทางฉีดเข้ากล้ามเนื้อและหลอดเลือดดำเนื่องจากยาไม่ผ่านเข้ากระแสเลือดทำให้ไม่มีการสูญเสียปริมาณยาที่ใช้ในการรักษา ส่วนการให้ยาผ่านทางการฉีดมีข้อดีคือการบริหารยาง่าย ข้อเสียคือปริมาณของยาปฏิชีวนะ ไม่สามารถไปถึงตำแหน่งของการติดเชื้อได้เพียงพอ ในขณะที่การรักษาโดยวิธีการสอดเต้าผ่านทางหัวนมของวัวในแต่ละเต้ามีข้อดีคือใช้ปริมาณยาในการรักษาน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการบริหารยาผ่านการฉีด อีกทั้งมีการกระจายยาไปบริเวณที่ติดเชื้อเนื้อเยื่อเต้านมได้ดีกว่า แต่มีปัญหาในเรื่องของปริมาณยาที่ออกมาพร้อมน้ำนมในระหว่างการรักษา (Garg *et al.*, 2017; Gehring *et al.*,2006; Gruet *et al.*, 2001; Hoque *et al.*, 2016; Jánosi *et al.*, 2001; Lainesse *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014; Tiwari *et al.*, 2014;) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gruet *et al.* (2001) ได้ทำการศึกษาอัตราการรักษาของโรคเต้านมอักเสบในโคนมโดยการบริหารยาทางหลอดเลือดดำเปรียบเทียบกับการให้ยาสอดทางเต้านม พบว่าการบริหารยาผ่านทางการสอดเต้านมมีอัตราหายจากการติดเชื้อสูงกว่าการบริหารยาผ่านทางหลอดเลือดดำ โดยอัตราการหายจากการติดเชื้อเท่ากับร้อยละ 40 และ 16 ตามลำดับ

ซึ่งการให้ยาสอดทางเต้านมที่ผ่านมามีการพัฒนาโดยใช้วิธีต่างๆ เช่น เทคโนโลยีการทำแห้งเยือกแข็งแบบสุญญากาศ (freeze-drying) และ วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) ดังนั้นในการศึกษานี้ทางคณะผู้วิจัยจึงมีความคิดที่จะพัฒนาตำรับยาสอดเต้าด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อลดขนาดอนุภาค (Chaubai and Popescu, 2008; Irache *et al.*, 2011; Shaila and Nayanabhirama, 2009) เนื่องจากการศึกษาของ Wang *et al.* (2015) พบว่าอนุภาคที่เล็กลงจะมีพื้นที่ผิวที่มากขึ้นทำให้ตัวยาสามารถกระจายได้ดีในเต้านมจึงทำให้ยาไปถึงบริเวณที่ติดเชื้อได้มากขึ้น ยาปฏิชีวนะที่มีการนำมาทำเป็นยาสอดเต้า เช่น กลุ่ม เบต้าแลคแทม (β-lactam), เตตราไซคลีน (tetracycline) และ แมโครไลด์ (macrolide) เป็นต้น (Beenu *et al.*, 2012; Persson *et al.*, 2011; Plumb, 2011; Roesch *et al.*, 2006) ซึ่งในปัจจุบันนี้เชื้อเริ่มมีการดื้อยาสูงขึ้น (Andrews *et al.*, 2004) สำหรับการศึกษานี้เลือกใช้ตัวยาคลินดามัยซินไฮโดรคลอไรด์ (clindamycin HCl) เป็น model drug เนื่องจากพบว่าตัวยา clindamycin HCl สามารถกระจายตัวได้ดีในเนื้อเยื่อของเต้านม มีประสิทธิภาพในการรักษาเชื้อก่อโรคค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับยาชนิดอื่นที่มีการกระจายตัวได้ดีในเนื้อเยื่อเต้านมเช่นเดียวกัน (Plumb, 2011) โดยในการศึกษานี้ได้ศึกษาหาชนิดของพอลิเมอร์ที่มีความเหมาะสมที่สุดในการเตรียมตำรับยาสอดเต้า โดยแบ่งประเภทของพอลิเมอร์ออก เป็น 3 ชนิด คือ 1. ชนิดที่มีประจุบวกเลือกใช้ ไคโตซาน (chitosan), 2) ชนิดที่มีประจุลบเลือกใช้ โซเดียม คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (sodium carboxymethyl cellulose; NaCMC) และ 3) ชนิดที่ไม่มีประจุเลือกใช้ ไฮดรอกซีโพรพิล เมทิลเซลลูโลส (hydroxypropyl methylcellulose; HPMC) (Agarwal *et al.*, 2015; Andrews *et al.*, 2009; Lanctôt *et al.*, 2017; Nguyen *et al.*, 2016; Yadav

et al., 2010;) โดยคัดเลือกตัวแทนของแต่ละกลุ่มตามคุณสมบัติความไม่เป็นพิษและไม่ระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อเต้านมวัว ความเข้ากันได้กับสารช่วยตัวอื่นในตำรับไม่ขัดขวางการปลดปล่อยตัวยา (Rowe *et al.*, 2009) มีความคงตัวตลอดอายุการใช้งานและมีราคาไม่แพง เมื่อได้สูตรตำรับที่เหมาะสมจะนำมาทดสอบการปลดปล่อยในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) และในน้ำนมดิบ พร้อมทั้งศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ในการยับยั้งเชื้อ Staphylococcus aureus ในแต่ละสูตรตำรับ

วิธีดำเนินการวิจัย

1.การพัฒนาสูตรตำรับ

1.1 การเตรียมสูตรตำรับ

เตรียมสูตรตำรับแต่ละตำรับ โดยทำการเปลี่ยนแปลงชนิดของพอลิเมอร์ ได้แก่ chitosan (high molecular weight; Seafresh industry PCL), NaCMC (Rama production, Co.,LTD) และ HPMC 4000 (Rama production, Co.,LTD) และเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนระหว่างพอลิเมอร์ต่อตัวยา clindamycin HCl ได้แก่ 0.5:1, 1:1 และ 2:1 รวมทั้งหมดเป็น 9 สูตรตำรับ ดังตารางที่ 1 ทั้งนี้สารช่วยแต่ละชนิดที่คัดเลือกมาใช้ มีความเข้ากันได้กับตัวยาสำคัญและระหว่างสารช่วย (Rowe *et al.*, 2009)

ตารางที่ 1 สูตรตำรับ

ส่วนประกอบ	Rx1	Rx2	Rx3	Rx4	Rx5	Rx6	Rx7	Rx8	Rx9	หน้าที่
clindamycin HCl (D)	1 g									ตัวยาสำคัญ
chitosan (P)	0.5:1 (P:D)	1:1 (P:D)	2:1 (P:D)	-	-	-	-	-	-	พอลิเมอร์
NaCMC (P)	-	-	-	0.5:1 (P:D)	1:1 (P:D)	2:1 (P:D)	-	-	-	
HPMC 4000 (P)	-	-	-	-	-	-	0.5:1 (P:D)	1:1 (P:D)	2:1 (P:D)	
SWFI	q.s. to 100%									น้ำกระสาย

การเตรียมตำรับที่มี NaCMC หรือ HPMC 4000 เป็นส่วนประกอบ จะใช้ sterile water for injection (SWFI) เป็นตัวทำละลาย สำหรับตำรับที่มี chitosan เป็นส่วนประกอบ จะใช้สารละลายกรดอะซิติก ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1 (%v/v) เป็นตัวทำละลาย จากนั้นกระจายพอลิเมอร์ด้วยเครื่องปั่น (stirrer) เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไป sonicated ต่อเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจะตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อให้พอลิเมอร์พองตัวได้อย่างเต็มที่ โดยสารละลายที่เตรียมได้จะมีความเข้มข้นของพอลิเมอร์เท่ากับร้อยละ 0.5 (%w/v)

จากนั้นนำสารละลายที่เตรียมได้แต่ละสูตรตำรับผสมกับตัวยา clindamycin HCl ปริมาณ 1 กรัม ก่อนนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยต่อไป

1.2 การอบแห้งแบบพ่นฝอย

นำสารละลายสูตรตำรับยาแขวนตะกอนที่เตรียมได้ไปการอบแห้งแบบพ่นฝอยด้วยเครื่อง spray drying machine (Mini spray dryer B-290, Buchi, Switzerland) โดยสภาวะ (condition) ที่ใช้ คือ 1) inlet temperature: 125°C, 2) outlet temperature: 85°C, 3) aspiration: 85%, 4) pump: 5% และ 5) nozzle clean: 3 จากนั้นจึงนำผงแห้งของแต่ละตำรับไปประเมินคุณสมบัติแต่ละด้าน

2. การประเมินผล

2.1 การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ

โดยประเมินลักษณะ รูปร่างและขนาดของอนุภาคหลังผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยนำผงแห้งของแต่ละตำรับประเมินในแต่ละหัวข้อดังนี้

2.1.1 การประเมินรูปร่างและขนาด

ประเมินลักษณะรูปร่างและขนาดของอนุภาค โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope and energy dispersive X-ray spectrometer; SEM, JSM-5410 LV, JEOL LTd, Japan) model: tungsten filament source, 3.0 nm resolution (30 kV) ที่ HV mode และ 4.0 nm resolution (30 kV) ที่ LV mode, X5 ถึง X300,000 magnification, SE และ BE detector

2.1.2 การประเมินการกระจายขนาดอนุภาค

ทำการประเมินการกระจายขนาดอนุภาคของผงที่ผ่านการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้เครื่อง dynamic light scattering (DLS, Malvern instruments zetasizer version 6.01 serial no. MAL1021381, Malvern, UK)

2.2 การประเมินคุณสมบัติทางเคมี

2.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณ clindamycin HCl ด้วยเทคนิค high performance liquid chromatography; HPLC (Nexera SR with photodiode array detector, Shimadzu corporation, Japan) ทำด้วยสภาวะการวิเคราะห์ตาม USP43/NF38 ดังนี้

1) เตรียม sample solution มีความเข้มข้นของ clindamycin HCl 0.5 mg/mL

2) เตรียม mobile phase ที่ประกอบด้วย acetonitrile: buffer pH 7.5 (KH_2PO_4:H_2O) (อัตราส่วน 9:11)

3) ใช้column 4.6 mm. x 25 cm. 5 µm packing L1 ทำการวิเคราะห์โดยใช้ diode array detector ที่ wavelength 210 nm โดยมี flow rate ที่ 1 mL/min, injection volume ที่ปริมาตร 10 µL, retention time ที่ 12 นาที และ run times ที่ 15 นาที วิเคราะห์ทั้งหมด 3 ตัวอย่าง (n = 3)

วิธีการเตรียมตัวอย่าง: เจือจางตัวอย่างด้วย mobile phase เตรียมให้ได้ความเข้มข้นของตัวยา clindamycin HCl เท่ากับ 0.5 mg/mL นำไปกรองผ่าน filter ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมครอน ก่อนนำไปวิเคราะห์หาปริมาณตัว clindamycin HCl

2.2.2 การประเมินร้อยละการกักเก็บตัวยา clindamycin HCl (%drug entrapment efficiency; %DEE) โดยการนำผลที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณตัวยา clindamycin HCl ตามสมการที่ 1 เพื่อคำนวณหา %DEE และ คัดเลือกสูตรตำรับที่มีตัวยา clindamycin HCl อยู่ในช่วงร้อยละ 90.00-120.00 (%w/w)

$$\% \text{ DEE} = \frac{\text{experimental drug loading (mg) X 100}}{\text{theoretical drug loading (mg)}} \quad (1)$$

กำหนดให้

%DEE หมายถึง ร้อยละการกักเก็บตัวยา clindamycin HCl

experimental drug loading หมายถึง ปริมาณตัวยา clindamycin HCl ที่วิเคราะห์ได้ (mg)

Theoretical drug loading หมายถึง ปริมาณตัวยา clindamycin HCl ตามทฤษฎี (mg)

สูตรตำรับที่มี %DDE อยู่ในช่วงที่กำหนด (ร้อยละ 90.00-120.00 (%w/w)) จะนำไปประเมินร้อยละการปลดปล่อยตัวยาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4)

2.3 การประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

2.3.1 การประเมินร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4)

วิธีการ: โดยชั่งผงยาของแต่ละสูตรให้มีปริมาณตัวยา clindamycin HCl เท่ากับ 150 มิลลิกรัม ทดสอบสูตรตำรับละ 3 ตัวอย่าง (n = 3) จากนั้นเติม mineral oil ให้ได้ความเข้มข้นของตำรับเป็น 300 มิลลิกรัมต่อ 2 มิลลิลิตร ผสมผงยาและ mineral oil ให้เป็นเนื้อเดียวกันบรรจุในแคปซูล และนำไปทดสอบการปลดปล่อยตัวยาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) ปริมาตร 900 มิลลิลิตร (37°C) ซึ่งเป็นค่า pH เดียวกับน้ำนมที่ติดเชื้อ ทำการทดสอบโดยจะใช้รอบในการหมุนของ magnetic stirrer 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นดูดสารละลายตัวอย่างออกและกรองผ่านแผ่นกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมครอน นำไปวิเคราะห์หาปริมาณตัวยา clindamycin HCl ด้วย HPLC

โดยตำรับที่มีค่าการปลดปล่อยตัวยามากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 85.00 (USP43/NF38) จะนำไปทดสอบการประเมินร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในน้ำนมดิบ (Garg *et al.*, 2017)

2.3.2 การประเมินร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในน้ำนมดิบ

วิธีการ: โดยนำสูตรตำรับที่คัดเลือกได้จากการประเมินร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) และตัวยา clindamycin HCl (raw material, RM) ที่เป็นกลุ่มควบคุม นำมาประเมินการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในน้ำนมดิบ (full cream milk) โดยทำสูตรตำรับละ 3 ตัวอย่าง (n=3) โดยชั่งผงยาของแต่ละสูตรตำรับให้มีปริมาณตัวยา clindamycin HCl เท่ากับ 150 มิลลิกรัม จากนั้นผสมกับ mineral oil ให้ได้ความเข้มข้นของตำรับเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อ 2 มิลลิลิตร ผสมผงยาและ mineral oil ให้เป็นเนื้อเดียวกันบรรจุในแคปซูล จากนั้นนำไปทดสอบร้อยละการปลดปล่อยในน้ำนมดิบ (37°C) ปริมาตร 900 มิลลิลิตร โดยใช้รอบในการหมุนของ magnetic stirrer 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นดูดสารตัวอย่างออกมาและกรองผ่าน Whatman® filter paper no.1 เพื่อกรองส่วนที่ไม่ละลายออก จากนั้นนำน้ำนมที่กรองปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมลงใน volumetric flask และปรับปริมาตรด้วย mobile phase จนครบ

5 มิลลิลิตร เพื่อสกัดเอาตัวยา clindamycin HCl ออกมา นำสารละลายที่ได้ไปเขย่าด้วย vortex เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงโดยใช้ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วนใสที่อยู่ส่วนล่างของหลอดออกมาและกรองผ่านแผ่นกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 มิลลิเมตร (Garg *et al.*, 2017) นำไปวิเคราะห์หาปริมาณตัว clindamycin HCl ด้วยเครื่อง HPLC โดยเกณฑ์กำหนดค่าร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl มากกว่าหรือเท่ากับ 85.00 (USP43/NF38)

2.4 การประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ (bioassay)

2.4.1 การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อ Staphylococcus aureus (ส่งตัวอย่างทดสอบ ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) (Persson *et al.*, 2011)

วิธีการ: นำตัวอย่างทำการทดสอบตามสภาวะดังนี้

การทดสอบ: anti-Staphylococcus aureus

วิธีการ: optical density microplate assay (OD600)

MIC_{90} of positive control: rifampicin = 0.0781-0.156 µg/mL

vancomycin = 1.00 µg/mL

2.5 สถิติที่ใช้

การรายงานผลแสดงด้วย means ± standard deviation เป็นสถิติเชิงพรรณนาและกำหนดเกณฑ์ผ่านในแต่ละหัวข้อทดสอบ

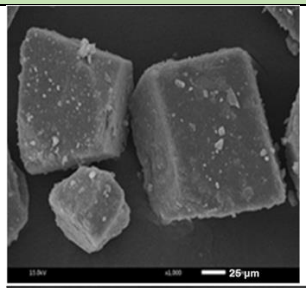
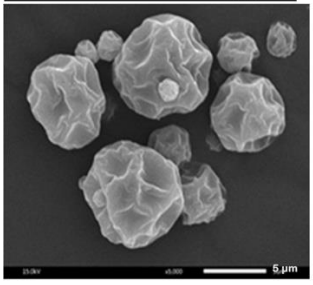
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

ทุกสูตรตำรับจะถูกเตรียมให้อยู่ในรูปสารละลายก่อนนำไปผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อทำเป็นผงยาแห้ง จากนั้นจึงนำผงยาที่ได้ของแต่ละสูตรตำรับไปประเมินคุณสมบัติในด้านต่างๆ ดังต่อไปนี้

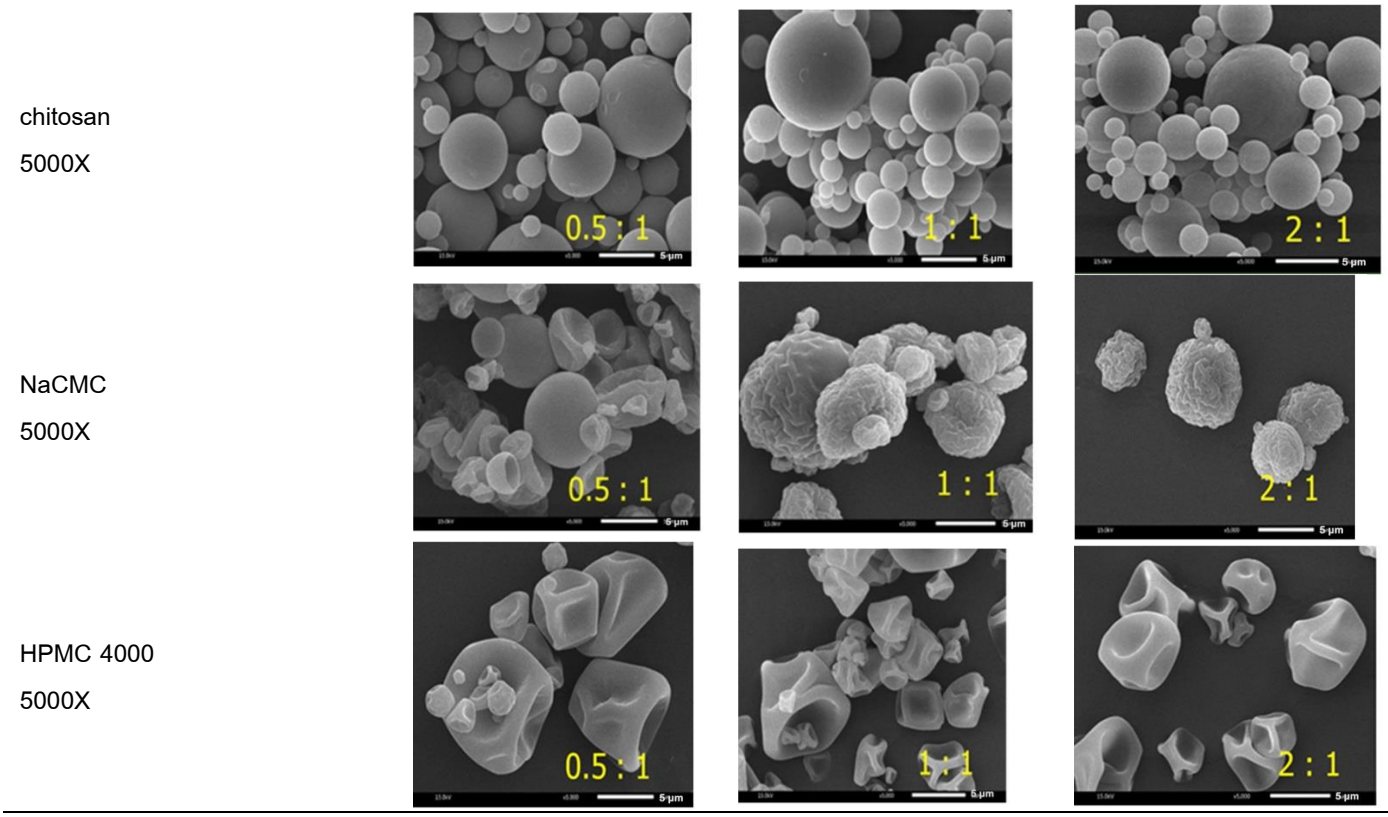
การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ

ประเมินรูปร่าง (morphology) และขนาด (size)

การประเมินลักษณะ รูปร่าง และขนาดอนุภาคของผงยาหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ดังรูปที่ 1 ผลการประเมินพบว่า อนุภาคของผงยา clindamycin HCl ที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย มีขนาดเล็กลงกว่าผงยา clindamycin HCl (raw material) และมีลักษณะเป็นทรงกลม และเมื่อพิจารณาขนาดอนุภาคของทุกสูตรตำรับหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ที่ได้นั้นมีขนาดเล็กลงเช่นกันและรูปร่างเป็นทรงกลมมากขึ้นเมื่อเทียบกับอนุภาคที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย

สูตรตำรับ	ลักษณะอนุภาคหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย
clindamycin HCl (RM) 1000X	
clindamycin HCl (spray dried powders) 5000X	

รูปที่ 1 ลักษณะรูปร่างและพื้นผิวของอนุภาคหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของแต่ละสูตรตำรับโดยใช้เทคนิค SEM



รูปที่ 1 ลักษณะรูปร่างและพื้นผิวของอนุภาคหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของแต่ละสูตรตำรับโดยใช้เทคนิค SEM (*ต่อ*)

เมื่อประเมินการกระจายขนาดอนุภาค ที่ประเมินด้วยเครื่อง DLS ในตารางที่ 2 พบว่าการกระจายขนาดอนุภาคมีความสม่ำเสมอ โดยให้ผลของขนาดอนุภาคหลักเพียงขนาดเดียว โดยการกระจายขนาดของอนุภาคของแต่ละสูตรตำรับมีขนาดไม่เกิน 5 ไมครอน และอยู่ในช่วง 0.3 to 112 µm ซึ่งเป็นช่วงขนาดผงยาที่ช่วยทำเกิดการกระจายในเต้านมได้ดีขึ้น (Gehring *et al.*, 2006)

ตารางที่ 2 การกระจายขนาดอนุภาคของแต่ละสูตรตำรับ

polymer : clindamycin HCl	การกระจายขนาอนุภาค (µm)		
	0.5 : 1	1 : 1	2 : 1
chitosan	5.05±0.53	4.73±0.67	3.51±0.58
NaCMC	2.41±0.44	3.20±0.53	3.69±0.49
HPMC 4000	4.51±0.71	3.58±0.81	3.71±0.86

ซึ่งเมื่อพิจารณาผลร่วมกันระหว่างขนาดอนุภาคที่พิจารณาโดย SEM และการประเมินการกระจายขนาดอนุภาคด้วย DLS พบว่าให้ผลสอดคล้องกัน คือขนาดของอนุภาคอยู่ในระดับไมครอน ซึ่งเป็นไปตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้มุ่งเน้นการลดขนาดของอนุภาคของสูตรตำรับ เพื่อต้องการเพิ่มพื้นที่ผิว ซึ่งขนาดอนุภาคที่เล็กลงนั้น ทำให้ตัวยาสามารถกระจายในเนื้อเยื่อเต้านมได้ดี ซึ่งการศึกษาของ Wang *et al.* (2015) พบว่าขนาดอนุภาคที่มีขนาดเล็กจะเพิ่มพื้นที่ผิวมากขึ้น ทำให้ตัวยาสามารถกระจายได้ดีในเนื้อเยื่อเต้านม ทำให้ตัวยาไปถึงบริเวณเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อได้มากขึ้น และทำให้การออกฤทธิ์ดีขึ้น (Gehring *et al.*, 2006) ทุกสูตรตำรับนำไปพิจารณาคุณสมบัติทางเคมี เพื่อหาความสม่ำเสมอของปริมาณยา

การประเมินคุณสมบัติทางเคมี

ผงยาที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ของแต่ละสูตรตำรับนอกจากถูกประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ จะถูกนำมาประเมินร้อยละการกักเก็บตัวยา clindamycin HCl (%DEE) โดยปริมาณตัวยา clindamycin HCl ที่วิเคราะห์ได้โดยเทคนิค HPLC จะนำมาคำนวณเป็นค่าร้อยละการกักเก็บตัวยา (ตารางที่ 3) โดยการหาร้อยละการกักเก็บตัวยาเป็นการหาปริมาณตัวยาสำคัญที่ถูกห่อหุ้มด้วยพอลิเมอร์ เพื่อแสดงประสิทธิภาพของระบบการกักเก็บตัวยาของแต่ละสูตรตำรับที่มีชนิดพอลิเมอร์ต่างกันได้แก่ chitosan, NaCMC และ HPMC ที่ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ต่อตัวยา clindamycin HCl ในแต่ละอัตราส่วนเพื่อประเมินความสามารถในการกักเก็บตัวยา

จากผลการประเมินร้อยละการกักเก็บตัวยา clindamycin HCl พบว่าทุกอัตราส่วนของสูตรตำรับ chitosan มีค่าร้อยละการกักเก็บตัวยาสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนดคือร้อยละ 90.00-120.00 (%w/w) โดยสูตรตำรับ chitosan ที่อัตราส่วน 0.5:1, 1:1 และ 2:1 ให้ค่าร้อยละการกักเก็บตัวยาเท่ากับ 123.19±28.10, 138.53±21.18 และ 154.13±12.78 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) เมื่อพิจารณาชนิดของ chitosan ที่ใช้ ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่นิยมนำมาใช้ในทางเภสัชกรรมพบว่าน้ำหนักมวลโมเลกุลของ chitosan จะเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำและความหนืดที่แตกต่างกันโดย chitosan ที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นชนิด deacetylated เท่ากับ 85 มีความสามารถละลายน้ำได้น้อยและมีความหนืดสูง จึงส่งผลต่อค่าการประเมินร้อยละการกักเก็บตัวยาที่ได้ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Vandenberg *et al.* (2001) ที่ได้อธิบายว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ chitosan จะส่งผลทำให้โมเลกุลของ chitosan เกาะตัวกันแน่น เกิดเป็นร่างแหที่แน่นหนาและมีความหนืดเพิ่มขึ้น ทำให้กีดขวางการกักเก็บตัวยาของ chitosan ตัวยาไม่สามารถแทรกเข้าไปอยู่ในพอลิเมอร์ได้ จึงทำให้ยาไม่ถูก chitosan ห่อหุ้มและเกาะอยู่บนบริเวณผิวของกลุ่มพอลิเมอร์แทน ซึ่งค่า deacetylated คือร้อยละของการกำจัดหมู่ acetyl เพื่อเพิ่มการละลายน้ำ ซึ่งหากค่านี้สูงค่าน้ำหนักโมเลกุลจะยิ่งลดลง ทำให้เพิ่มการละลายน้ำมากขึ้นและมีความหนืดต่ำลง ในทางกลับกันหากค่านี้ต่ำค่าน้ำหนักโมเลกุลจะสูง การละลายน้ำลดลงและมีความหนืดสูง และจากการศึกษาของ Ruziana *et al.* (2016) พบว่า chitosan ที่นำมาใช้ทดลองคือชนิด deacetylated เท่ากับ 85 ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 400 กิโลดาลตัน เทียบกับชนิด deacetylated เท่ากับ 95 จะมีน้ำหนักมวลโมเลกุลเพียง 100 กิโลดาลตัน และทั้ง 2 ชนิดนี้ส่งผลให้ค่าความหนืดในขณะเป็นสารละลายต่างกัน ส่งผลให้เมื่อนำมาประเมินร้อยละการกักเก็บตัวยาจึงมีค่าสูงกว่าที่กำหนดและเมื่อพิจารณาร่วมกับส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) พบว่ามีช่วงที่กว้างมาก เนื่องจากการทดสอบในแต่ละตัวอย่างให้ผลที่แตกต่างกันมากและมีความความแปรปรวนสูง ดังนั้นสูตรตำรับของ chitosan ทุกอัตราส่วนจึงไม่เหมาะต่อการพัฒนาเป็นตำรับยาสอดเต้าต่อไป

สูตรตำรับ NaCMC และ HPMC ในอัตราส่วน 0.5:1 มีค่าร้อยละการกักเก็บตัวยาไม่อยู่ในช่วงที่กำหนด โดยสูตรตำรับของ NaCMC 0.5:1 มีค่าร้อยละการกักเก็บตัวยา clindamycin HCl เท่ากับ 89.37±11.23 และ HPMC 0.5:1 มีค่าร้อยละการกักเก็บตัวยา clindamycin HCl เท่ากับ 114.16±2.52 (ตารางที่ 3) เนื่องจากปริมาณของพอลิเมอร์น้อยเกินไป จึงทำให้ประสิทธิภาพการกักเก็บตัวยาต่ำจึงไม่เหมาะสมในการนำไปพัฒนาเป็นตำรับยาต่อไป

จากการประเมินพบว่ามีเพียง 4 สูตรตำรับ ได้แก่ NaCMC 1:1, 2:1 และ HPMC 1:1, 2:1 ที่มีร้อยละของการกักเก็บตัวยา clindamycin HCl อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดคือร้อยละ 90.00-120.00 (%w/w) คือ NaCMC 1:1 และ 2:1 มีค่าร้อยละการกักเก็บตัวยาเท่ากับ 103.18±3.13 และ 104.31±4.30 ตามลำดับ และสูตรตำรับ HPMC 1:1 และ HPMC 2:1 มีค่าร้อยละการกักเก็บตัวยาเท่ากับ 94.56±4.26 และ 98.38±6.67 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากเมื่อเพิ่มปริมาณพอลิเมอร์จนมีปริมาณที่เหมาะสมจะสามารถรวมตัวกับตัวยา clindamycin HCl และเกาะกลุ่มกันได้ดี จึงทำให้ได้เป็นระบบการนำส่งที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Abdalla *et al.* (2015) และ Orlu *et al.* (2006) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของพอลิเมอร์ในอัตราส่วนที่เหมาะสมจะทำให้ได้ร้อยละของการกักเก็บตัวยาที่เป็นไปตามข้อกำหนดและจะช่วยอัตราการปลดปล่อยตัวยาดีขึ้น เนื่องจากพอลิเมอร์ที่ใช้เป็นชนิดละลายน้ำ

ดังนั้น จากการพิจารณาผลการประเมินจึงพบว่ามีเพียง 4 สูตรตำรับได้แก่ NaCMC 1:1, 2:1 และ HPMC 1:1, 2:1 เท่านั้นที่ให้ร้อยละการกักเก็บตัวยาอยู่ในช่วงที่กำหนด จึงทำการคัดเลือก 4 สูตรตำรับเหล่านี้เพื่อนำไปประเมินการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) ต่อไป

ตารางที่ 3 ร้อยละการกักเก็บตัวยา clindamycin HCl ในแต่ละสูตรตำรับ

polymer : clindamycin HCl	ร้อยละการกักเก็บตัวยา clindamycin HCl		
	0.5 : 1	1 : 1	2 : 1
chitosan	123.19±28.10	138.53±21.18	154.13±12.78
NaCMC	89.37±11.23	103.18±3.13	104.31±4.30
HPMC 4000	114.16±2.52	94.56±4.26	98.38±6.67

การประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ

การประเมินร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4)

จากการประเมินคุณสมบัติทางเคมี พบว่ามีเพียง 4 สูตรตำรับที่มีร้อยละการกักเก็บตัวยา clindamycin HCl อยู่ในช่วงที่กำหนดคือร้อยละ 90.00-120.00 (%w/w) ได้แก่ NaCMC 1:1, 2:1 และ HPMC 1:1, 2:1 จึงนำมาประเมินประสิทธิภาพการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) ซึ่งเป็น pH ที่เทียบเท่ากับน้ำนมที่ติดเชื้อ เพื่อประเมินการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl จากระบบการนำส่งว่าสามารถละลายได้อย่างรวดเร็วในสภาวะที่ใกล้เคียงกับน้ำนมที่ติดเชื้อจริง

โดยผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสูตรตำรับ NaCMC และ HPMC ในอัตราส่วน 2:1 นั้น มีค่าร้อยละการปลดปล่อยตัวยาไม่ถึงเกณฑ์ที่กำหนดคือแต่ละเม็ดต้องมีการปลดปล่อยตัวยาไม่ต่ำกว่าร้อยละ 85 (%w/v) โดย NaCMC 2:1 มีค่าร้อยละการปลดปล่อยตัวยาเท่ากับ 44.86±5.73 และ HPMC 2:1 มีค่าร้อยละการปลดปล่อยตัวยาเท่ากับ 56.97±34.26 (ตารางที่ 4) เนื่องจากความเข้มข้นของพอลิเมอร์ที่ใช้ในตำรับมากเกินไป ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มของพอลิเมอร์และห่อหุ้มตัวยา clindamycin HCl อย่างหนาแน่น ส่งผลให้ความสามารถในการปลดปล่อยตัวยาลดลง เพราะฉะนั้น 2 สูตรตำรับนี้จึงไม่ถูกเลือกนำไปพัฒนาเป็นตำรับยาสอดเต้าต่อไป

ผลจากการทดลองพบว่ามีเพียง 2 สูตรตำรับที่ให้ค่าร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl สูงที่สุด ได้แก่ NaCMC 1:1 มีค่าร้อยละการปลดปล่อยตัวยาเท่ากับ 97.35±4.30 และ HPMC 1:1 มีค่าร้อยละการปลดปล่อยตัวยาเท่ากับ 95.62±2.76 (ตารางที่ 4) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ในขณะที่ผงยา clindamycin HCl (RM) ตัวอย่างควบคุม มีค่าการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ที่น้อยกว่า คือมีร้อยละการปลดปล่อยตัวยาเท่ากับ 88.78±4.06 (ตารางที่ 4) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปัจจัยของขนาดอนุภาคของแต่ละตำรับที่เล็กระดับไมครอนทำให้เพิ่มพื้นที่ผิวในการละลายและการใช้พอลิเมอร์ที่ละลายน้ำในอัตราส่วนที่เหมาะสมของระบบการนำส่ง จึงเป็น 2 ปัจจัยหลักที่ช่วยทำให้ตัวยาสามารถปลดปล่อยและละลายได้อย่างรวดเร็วมากกว่าสูตรตำรับที่ไม่มีการใช้พอลิเมอร์และผลจากการประเมินแสดงให้เห็นว่าตัวยา clindamycin HCl นั้นสามารถละลายออกมาได้โดยที่พอลิเมอร์ไม่ได้ขัดขวางการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl และยังสามารถปลดปล่อยได้อย่างรวดเร็วภายในเวลา 30 นาทีตามที่กำหนด ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยนี้ที่ต้องการพัฒนาตำรับยาสอดเต้าให้อยู่ในรูปแบบปลดปล่อยทันที (immediate release dosage form) เพื่อให้ตัวยาสำคัญสามารถไปออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้อย่างรวดเร็ว

ดังนั้นเมื่อพิจารณาทั้งร้อยละการกักเก็บตัวยาร่วมกับร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ของสูตรตำรับ NaCMC 1:1 และ HPMC 1:1 พบว่ามีแนวโน้มที่ดี ซึ่งไม่เพียงแต่สามารถกักเก็บตัวยาได้เท่านั้น แต่ยังสามารถปลดปล่อยปริมาณยาออกมาได้โดยพอลิเมอร์ไม่ได้ขัดขวางการปลดปล่อยของตัวยา ดังนั้นจึงคัดเลือก 2 สูตรตำรับนี้นำไปประเมินค่าร้อยละการปลดปล่อยตัว clindamycin HCl ในน้ำนมดิบต่อไป

ตารางที่ 4 ร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4)

polymer : clindamycin HCl	ร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl	
	1 : 1	2 : 1
NaCMC	97.35±4.30	44.86±5.73
HPMC 4000	95.62±2.76	56.97±34.26
clindamycin HCl (RM)	88.78±4.07	

การประเมินร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในน้ำนมดิบ

จากการประเมินร้อยละการปลดปล่อยตัว clindamycin HCl ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) มีเพียง 2 สูตรตำรับที่มีร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดคือแต่ละเม็ดต้องมีการปลดปล่อยตัวยาไม่ต่ำกว่าร้อยละ 85.00 (%w/v) ได้แก่ NaCMC 1:1 และ HPMC 1:1 ดังนั้นจึงคัดเลือก 2 สูตรตำรับนี้มาประเมินร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในน้ำนมดิบ

ผลจากการประเมินพบว่ามีเพียงสูตรตำรับของ NaCMC 1:1 ที่มีร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl สูงที่สุด คือมีค่าร้อยละการปลดปล่อยตัวยาเท่ากับ 75.19±1.55 (ตารางที่ 5) ซึ่งค่าที่ได้นั้นต่ำกว่าค่าที่ได้จากการประเมินร้อยละการปลดปล่อยตัวยาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) ที่มีค่าร้อยละการปลดปล่อยตัวยาเท่ากับ 97.35±4.30 (ตารางที่ 5) เนื่องจากองค์ประกอบของน้ำนมดิบมีองค์ประกอบของไขมันปริมาณสูง มีโปรตีนกลุ่มคาเซอีน (casein) วิตามินและเกลือแร่ ซึ่งแตกต่างจากสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) และเนื่องจากตัวยา clindamycin HCl เป็นยาที่สามารถละลายน้ำได้ดี ดังนั้นเมื่อตัวทำละลายเป็นน้ำนมดิบที่มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น ทำให้ตัวยา clindamycin HCl มีความสามารถในการละลายลดลงเมื่อใช้ปริมาตรตัวทำละลายเท่ากันกับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) จึงส่งผลให้เมื่อนำมาประเมินร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในน้ำนมดิบจึงได้ค่าที่ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Williams *et al.* (2011) ซึ่งพบว่าการศึกษาร้อยละการปลดปล่อยตัวยาสำคัญในน้ำนมดิบนั้นมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับในสารละลายบัฟเฟอร์ เนื่องจากไขมันในน้ำนมจะเคลือบบริเวณผิวของยา ทำให้ยาถูกปลดปล่อยออกมาได้ช้าและลดลง

ตารางที่ 5 ร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl ในน้ำนมดิบ

polymer : clindamycin HCl	ร้อยละการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl
	1 : 1
NaCMC	75.19±1.55
HPMC 4000	63.61±13.49
clindamycin HCl (RM)	91.62±3.75

การประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ (bioassay)

การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ Staphylococcus aureus

ทำการทดสอบเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้งเชื้อ Staphylococcus aureus ของแต่ละสูตรตำรับที่นำมาทดสอบการปลดปล่อยตัวยา clindamycin HCl พบว่าสูตรตำรับของ NaCMC 1:1 และ HPMC 1:1 ให้ผลมีค่าเท่ากับ 0.391 µg/mL ซึ่งเป็นค่าเดียวกับ clindamycin HCl (RM) ทั้งนี้จึงเป็นการยืนยันว่าเมื่อตัวยา clindamycin HCl ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยแล้วคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อไม่เปลี่ยนแปลง

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

สรุปผลการวิจัย

จากการพัฒนาตำรับยาสอดเต้าเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการกระจายของตัวยาในเนื้อเยื่อเต้านม โดยใช้กระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย พบว่ามีเพียงสูตรตำรับ NaCMC 1:1 ที่ให้ผลดีที่สุด โดย 1) ร้อยละของการกักเก็บตัวยา clindamycin HCl เท่ากับ 103.18±3.13 (อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด) 2) ร้อยละการปลดปล่อยตัวยาในสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ 97.35±4.30 (อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด) และในน้ำนมดิบเท่ากับ 75.19±1.55 ซึ่งมีค่าใกล้กับเกณฑ์ที่กำหนดและ 3) สามารถยับยั้งเชื้อ Staphylococcus aureus ได้เท่ากับ clindamycin HCl (RM) จึงเป็นตำรับที่มีแนวโน้มที่ดีในการนำสูตรตำรับนี้ไปพัฒนาตำรับยาสอดเต้าโคนมให้มีการปลดปล่อยยาให้สูงขึ้นเป็นไปตามเกณฑ์และศึกษาการยึดเกาะเต้านมในการศึกษาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยสยาม ทั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยามและคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อนุเคราะห์ วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่เพื่อดำเนินงานวิจัย และขอขอบพระคุณบริษัทชุมชนเภสัชกรรม จำกัด มหาชน ที่เอื้อเฟื้อตัวยา clindamycin HCl ใช้ในการศึกษานี้ ยิ่งไปกว่านั้นขอบคุณผู้ช่วยวิจัยทุกท่านได้แก่ ภก.พันธุ์เลิศ ปิยธำรงรัตน์ ภญ.อภิชญา ดวงรัตนประทีป ภญ.อัจฉราภรณ์ สุขเจริญ และ ภญ.น้ำทอง ชำนิจ ที่ช่วยให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จไปได้เป็นอย่างดี

References

Abdalla KF, Kamoun EA and ElMaghraby GM. Optimization of the entrapment efficiency and release of ambroxol hydrochloride alginate beads. *JAPS*. 2015; 5(04): 13-19.

Agarwal S and Murthy RSR. Effect of different polymer concentrations on drug release rate and physicochemical properties of mucoadhesive gastroretentive tablets. *JIPS*. 2015; 77(6): 705-14.

Andrews AH, Blowey RW, Boyd H and Eddy RG. Bovine mastitis. In: Andrews AH, editor. Bovine medicine diseases and husbandry of cattle. 2nd ed. Oxford: *Blackwell Science*; 2004. 327-36.

Andrews GP, Laverty TP and Jones DS. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 71(3): 505–18.

Beenu J, Anuj T and Bhandari MJ. Antibiotic resistance and virulence genes in Streptococcus agalactiae isolated from cases of bovine subclinical mastitis. *Vet Arh* 2012; 82(5): 423–32.

Chaubal MV and Popescu C. Conversion of nanosuspensions into dry powders by spray drying: a case study. *Pharm Res* 2008; 25(10): 2302-8.

Garg S, Wang W, Song Y, Eats P, Trott DJ, Page SW, *et al.* Development of intramammary drug delivery systems: novel in vitro release method. *J Pharm Sci* 2017; 106(3): 866-71.

Gehring R and Smith GW. An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparations used to treat bovine mastitis. *J. vet. Pharmacol. Therap*. 2006; 29, 237–241.

Gruet P, Maincent P, Berthelot X and Kaltsatos V. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 50(0169–409): 245–59.

Hegde R, Isloor Sh, Prabhu KN, Shome RB and Rathnamma D, Suryanarayana VS, *et al.* Incidence of subclinical mastitis and prevalence of major mastitis pathogens in organized farms and unorganized sectors. *Indian J Microbiol* 2013; 53(3): 315–20.

Hoque MN, Das ZC, Rahman AN and Hoque MM. Effect of administration of vitamin E, selenium and antimicrobial therapy on incidence of mastitis, productive and reproductive performances in dairy cows. *Int J Vet Sci Med* 2016; 4: 63–70.

Irache JM, Esparza I, Gamazo C, Agueros M and Espuelas S. Nanomedicine: Novel approaches in human and veterinary therapeutics. *Vet Parasitol* 2011; 180: 47–71

Jánosi SZ and Huszenicaza G. The use of the dry cow therapy in the control of bovine mastitis. *Vet Med Czech* 2001; 46(2): 55-60

Lainesse C, Gehring R, Pasloske K, Smith G, Soback S, Wagner S, Whittem T. Challenges associated with the demonstration of bioequivalence of intramammary products in ruminants. *J Vet Pharmacol Therap* 2012; 35 (Suppl. 1), 65–79.

Lanctôt S, Fustier P, Taherian AR, Bisakowski B, Zhao X and Lacasse P. Effect of intramammary infusion of chitosan hydrogels at drying-off on bovine mammary gland involution. *J Dairy Sci* 2017; 100 (3): 2269–2281

Leelapongsathon K, Schukken YH and Suriyasathaporn W. Quarter, cow and farm risk factors for intramamary infections with major pathogens relative to minor pathogen in Thai dairy cows. *Trop Anim Health Prod* 2014; 46 (6): 1067-1078

Li Y, Wang L, Gu X, Zeng ZI, He LM, Yang F, *et al.* Pharmacokinetics and residues of cefquinome in milk of lactating Chinese dairy cows after intramammary administration. *J Integr Agric* 2014, 13(12): 2750-2757

Nguyen KT, Le DV, Do DH and Le QH. Development of chitosan graft pluronic®F127 copolymer nanoparticles containing DNA aptamer for paclitaxel delivery to treat breast cancer cells. *Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol* 2016; 7(2): 4-9.

Orlu M, Cevher E and Araman A. Design and evaluation of colon specific drug delivery system containing flurbiprofen microsponges. *Int J Pharm* 2006; 318 (1-2): 103-17.

Persson Y, Nyman A-KJ and Andersson UG. Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden. *Acta Vet Scand*. 2011; 53(1): 36.

Plumb DC. Plumb's veterinary drug handbook. 7th ed. Stockholm: *PhrmaVet*; 2011.832-40.

Ramteke KH, Joshi SA, Dighe PA and Kharat AR. Veterinary pharmaceutical dosage forms: A Technical Note. *Austin Therapeutics*. 2014;1(1): 1-10.

Rathbone MJ. Intramammary delivery technologies for cattle mastitis treatment. In: McDowell A, editor. Long acting animal health drug products. New York: *Springer*; 2013. 295-319

Reyes J, Chaffer M, Sanchez J, Torres G, Macias D, Jaramillo M, *et al.* Evaluation of the efficacy of intramuscular versus intramammary treatment of subclinical Streptococcus agalactiae mastitis in dairy cows in Colombia. *J Dairy Sci* 2015; 98 (8):5294–5303

Roesch M, Perreten V, Doherr MG, Schaeren W, Schallibaum M and Blum JW. Comparison of antibiotic resistance of udder pathogens in dairy cows kept on organic and on conventional farms. *J Dairy Sci* 2006; 89(3): 989–97.

Rowe RC, Sheskey PJ and Quinn ME. Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th ed. The Pharmaceutical Press (2009).

Ruzaina I, Zhong F, Rashid NA, Jia W, Li Y, Som HZM, Seng CC, Sikin AM, Wahab NA, Abidin MZ. Effect of Different Degree of Deacetylation, Molecular Weight of Chitosan and Palm Stearin and Palm Kernel Olein Concentration on Chitosan as Edible Packaging for Cherry Tomato. *J Food Process Preserv* 2017; 41 (4):1-12.

Shaila LM and Nayanabhirama U. Solid dispersions: a review. Research Gate 2009; 4(2): 235.

Tiwari S, Mitkare S, Bhangale P. Veterinary dosage form: REVIEW *Int J App Pharm* 2014; 6(1): 20-29

The United States Pharmacopeial-National Formulary USP 43 NF 38. Vol 2. *Rockville*: *USP*; 2020. 1063-1066

Vandenberg GW, Drolet C, Scott SL and Noue JD. Factors affecting protein release from alginate–chitosan coacervate microcapsules during production and gastric/intestinal simulation. *JCR* 2001; 77(3): 297-307.

Wang W, Song Y, Petrovski K, Eats P, Trott DJ, Wong HS, *et al.* Development of intramammary delivery systems containing lasalocid for the treatment of bovine mastitis: impact of solubility improvement on safety, efficacy, and milk distribution in dairy cattle. *Drug Des Devel Ther* 2015; 9: 631–42.

Williams HD, Nott KP, Barrett DA, Ward R, Hardy IJ and Melia CD. Drug release from HPMC matrices in milk and fat-rich emulsions. *J Pharm Sci* 2011; 100(11): 4823-35.

Yadav VK, Gupta AB, Kumar R, Yadav JS and Kumar B. Mucoadhesive polymers: means of improving the mucoadhesive properties of drug delivery system. *JC hem Pharm Res* 2010; 2(5): 418-32.