

ผลของคอเลสเทอรอลและกรดโอเลอิกต่อคุณสมบัติทางกายภาพและ ความคงตัวของลิโปโซม

สุรวิทย์ ดวงจิตต์,¹ ธนัญญา อินทร์ตา², ภัทราพร เรืองกาญจนไพศาล², วันดี รังสิวิจิตรประภา³*

บทคัดย่อ

บทนำ: ในระยะเวลา 20-30 ปีที่ผ่านมา การใช้ลิโปโซมเพื่อเพิ่มการนำส่งยาทางผิวหนังได้รับความนิยมสูงมาก เป็นที่ทราบดีว่าคอเลสเทอรอลในลิโปโซมเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับผนัง อย่างไรก็ตาม คอเลสเทอรอลสามารถรบกวนการจัดเรียงตัวของผนังสองชั้นที่ไหลลื่นและลดการซึมผ่านผิวหนังได้ การเพิ่มกรดโอเลอิกซึ่งเป็นสารเร่งการซึมผ่านผิวหนังให้กับลิโปโซม (ในชื่อทรานสเฟอร์โซม) แต่ผลของคอเลสเทอรอลและกรดโอเลอิกต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวของระบบยังไม่แน่ชัด วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาผลของคอเลสเทอรอลและสารเร่งการซึมผ่านต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวของสูตรตำรับลิโปโซมและทรานสเฟอร์โซม **วิธีดำเนินการวิจัย:** สูตรตำรับที่ทดสอบประกอบด้วย ฟอสฟาทีดีลโคลีน กรดเอลลาจิก (ยาดันแบบ) และแปรรูปสัดส่วนของคอเลสเทอรอล (สารเพิ่มความคงตัว) และกรดโอเลอิก (สารเร่งการซึมผ่าน) ในปริมาณ 0-90 เปอร์เซ็นต์โมลและประเมินคุณลักษณะ ได้แก่ ขนาดอนุภาค การกระจายขนาด ประจุ และการกักเก็บยา การประเมินความคงตัวทางเคมีกายภาพของสูตรตำรับถูกทดสอบในสภาวะเร่งของวัฏจักรร้อน-เย็นที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง จำนวน 3 รอบ วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ด้วยวิธีทดลองแบบดั้งเดิมและวิธีทางคอมพิวเตอร์ **ผลการวิจัย:** ผลการวิจัยบ่งชี้ว่าคอเลสเทอรอลและกรดโอเลอิกมีผลต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวของสูตรตำรับอย่างมีนัยสำคัญ วิธีทางคอมพิวเตอร์แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างคอเลสเทอรอลและกรดโอเลอิกที่มีต่อคุณลักษณะของอนุภาคได้อย่างชัดเจนกว่าวิธีทดลองแบบดั้งเดิม วิธีทางคอมพิวเตอร์บ่งชี้ว่าสูตรตำรับที่เหมาะสมที่มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวที่ดีคือมีคอเลสเทอรอลและกรดโอเลอิกในเปอร์เซ็นต์โมลาร์ 40 ต่อ 40 เปอร์เซ็นต์โมล ซึ่งเทียบเท่ากับค่าที่ได้จากการทดลอง **สรุปผลการวิจัย:** การเพิ่มคอเลสเทอรอลและกรดโอเลอิกมีผลต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวของลิโปโซม การออกแบบการทดลองในการศึกษานี้เป็นประโยชน์และแนวทางสำหรับการพัฒนาสูตรตำรับลิโปโซมในอนาคต

คำสำคัญ: ลิโปโซม ทรานสเฟอร์โซม คอเลสเทอรอล กรดโอเลอิก

วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2559; 11(ฉบับพิเศษ): 1-13

¹อาจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

²นักศึกษาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

³รองศาสตราจารย์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

*ติดต่อผู้พิมพ์: วันดี รังสิวิจิตรประภา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี 34190

หมายเลขโทรศัพท์ติดต่อ 045-353630 E-mail: wandeeim@yahoo.com

Effect of Cholesterol and Oleic Acid on Physicochemical Properties and Stability of Liposomes

Sureewan Duangjit¹, Thanattha Inta², Pattaraporn Ruangarnjanapaisarn², Wandee Rungseevijitprapa^{3*}

Abstract

Introduction: For a few decades, the applications of liposomes to enhance transdermal drug delivery have evoked considerable interest. It has been known that the presence of cholesterol in liposomes is necessary in order to increase membrane rigidity. However, cholesterol could disrupt local packing orders of the fluid bilayers and decrease the skin penetration. The addition of oleic acid as skin penetration enhancer to liposomes is also known as transfersomes, but their effect on physicochemical properties and stability on the system is not yet to be elucidated. The objective of this study was to investigate the effects of cholesterol and penetration enhancer on the physicochemical properties and the stability of liposome and transfersome formulations. **Method:** Investigated formulations composed of phosphatidylcholine, ellagic acid (as a model drug) and various cholesterol (as a membrane stabilizer) and oleic acid (as a penetration enhancer) at 0-90 %mol were experimentally formulated and characterized for size, size distribution, zeta potential and entrapment efficiency. Physicochemical stability assessment of the tested formulations were subjected to accelerated condition of heating-cooling cycles at 45 °C for 12 h and 4 °C for 12 h, for 3 cycles. The data obtained were analyzed using conventional experimental and computational method. **Results:** Results indicated that cholesterol and oleic acid significantly affected the physicochemical properties and the stability of the formulations. The computational method showed the relationship between cholesterol and oleic acid on the vesicle characteristics was more markedly than the conventional experimental method. The computational method suggested the optimal formulation with proper physicochemical properties and stability was found out at cholesterol and oleic acid %mol ratio of 40:40 which was comparable to that of the experimental values. **Conclusion:** The addition of cholesterol and oleic acid affected physicochemical properties as well as stability of liposomes. The design of experiment used in this study was useful and suggestive for further liposome formulations development.

Keywords: Liposomes, Transfersomes, Cholesterol, Oleic acid

IJPS 2016; 11(Supplement): 1-13

¹Lecturer, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, Warinchamrab District, Ubon Ratchathani

²Pharmacy student, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, Warinchamrab District, Ubon Ratchathani

³Associate Professor, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, Warinchamrab District, Ubon Ratchathani

***Corresponding author:** Wandee Rungseevijitprapa, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubon Ratchathani University, Warinchamrab District, Ubon Ratchathani 34190 Tel. 045-353630 E-mail: wandeeim@yahoo.com

บทนำ

ในระยะหลายสิบปีที่ผ่านมา ลิโปโซม (liposomes) ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในการนำมาใช้เพื่อเป็นระบบนำส่งยาทางผิวหนัง ลิโปโซมประกอบด้วยฟอสโฟลิพิด (phospholipid) เป็นส่วนประกอบหลักและเรียงตัวเป็นผนังสองชั้น (lipid bilayer) คล้ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ดังนั้นจึงมีความปลอดภัยสูง สามารถเข้ากันได้กับร่างกาย และมีความเป็นพิษต่ำ (Kaur et al., 2013) จากรายงานวิจัยก่อนหน้านี้หลายฉบับมีการพัฒนาสูตรตำรับลิโปโซมโดยการเติมสารคอเลสเตอรอล (cholesterol) พบว่าสามารถช่วยเพิ่มความคงตัวให้แก่สูตรตำรับลิโปโซมได้ โดยคอเลสเตอรอลมีผลทำให้ผนังของลิโปโซมมีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น แต่ส่งผลให้ความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังลดลง (Liang et al., 2004) เพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว จึงมีการพัฒนาระบบลิโปโซมโดยการเติมสารเร่งการซึมผ่านผิวหนังชนิดต่างๆ ได้แก่ สารลดแรงตึงผิว (เช่น sodium cholate, sodium deoxycholate, tween 80 และ span 80) กรดไขมัน (เช่น oleic acid, linoleic acid และ linolenic acid) และ สารกลุ่มเทอร์ปีน (เช่น limonene, menthol, thymol, carvacrol, menthone และ cineole) เป็นต้น โดยเรียกลิโปโซมรูปแบบใหม่ที่มีการเติมสารต่างๆ ในชื่อเรียกที่แตกต่างกัน เช่น ระบบทรานสเฟอโรโซม เอทโรโซม และเมนโทโซม อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าสารเร่งการซึมผ่านผิวกลุ่มสารลดแรงตึงผิวและกลุ่มเทอร์ปีน มีผลโดยตรงต่อคุณลักษณะทางเคมีกายภาพ (physicochemical properties) ของลิโปโซม ได้แก่ ขนาด การกระจายขนาด ประจุ ความสามารถในการกักเก็บยา ความสามารถในการซึมผ่านผิวหนัง รวมถึงความคงตัวของสูตรตำรับลิโปโซม (Duangjit et al., 2014a) เนื่องจากการเติมสารเร่งการเพิ่มการซึมผ่านผิวหนังเหล่านี้จะทำให้การจัดเรียงตัวของไขมันที่บริเวณผนังสองชั้นของลิโปโซมเกิดความเปลี่ยนแปลงคือมีลักษณะการไหล (fluidity) มากขึ้น ทำให้ความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังเพิ่มขึ้น แต่อาจส่งผลโดยตรงต่อความคงตัวของผนังสองชั้นของลิ

โปโซม ทำให้ลิโปโซมมีความคงสภาพลดลง (Duangjit et al., 2014b)

กลุ่มผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการพัฒนาสูตรตำรับลิโปโซมที่มีการเติมคอเลสเตอรอลและสารเร่งการซึมผ่านผิวหนังพร้อมกัน โดยมุ่งหวังที่จะพัฒนาทั้งด้านความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังและความคงตัวของสูตรตำรับไปพร้อมกัน เนื่องจากจนถึงปัจจุบันยังไม่เป็นที่ทราบชัดเจนว่า การเติมคอเลสเตอรอลและสารเร่งการซึมผ่านผิวหนังส่งผลอย่างไรต่อคุณลักษณะเคมีกายภาพและความคงตัวของสูตรตำรับลิโปโซม เนื่องจากมีรายงานการศึกษาที่ขัดแย้งกันว่า การเพิ่มคอเลสเตอรอลส่งผลให้ขนาดของลิโปโซมเล็กลง (Pathak et al., 2012) และบางรายงานกล่าวว่า การเพิ่มคอเลสเตอรอลส่งผลให้ลิโปโซมมีขนาดใหญ่ขึ้น (Tseng et al., 2007) นอกจากนี้ การเติมคอเลสเตอรอลพร้อมกับสารเร่งการซึมผ่านผิวหนังยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าจะมีผลต่อคุณลักษณะทางเคมีกายภาพและความคงตัวของระบบอย่างไร จึงยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัดจนถึงปัจจุบัน ทำให้ยังไม่สามารถระบุปริมาณคอเลสเตอรอลและสารเร่งการซึมผ่านที่เหมาะสมที่ทำให้ลิโปโซมมีคุณลักษณะทางเคมีกายภาพและความคงตัวที่ดีที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นระบบนำส่งยาทางผิวหนังได้ จึงเป็นที่มาของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของคอเลสเตอรอลและกรดโอเลอิกซึ่งเป็นสารเร่งการซึมผ่านผิวที่มีประสิทธิภาพดี (Williams, 2004) ต่อคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของลิโปโซมและทรานสเฟอโรโซม (ลิโปโซมที่มีส่วนประกอบของกรดโอเลอิก) รวมถึงการศึกษาปริมาณคอเลสเตอรอลและกรดโอเลอิกที่เหมาะสมเพื่อให้ลิโปโซมมีคุณลักษณะทางเคมีกายภาพและความคงตัวที่ดีที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นระบบนำส่งยาทางผิวหนัง ซึ่งงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่ต้องการศึกษาและพัฒนาสูตรตำรับลิโปโซมที่มีคุณลักษณะทางเคมีกายภาพและความคงตัวที่ดีต่อไป โดยคุณสมบัติของตัวยาที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นต้นแบบ (model drug) ในการศึกษาครั้งนี้ คือ ตัวยาที่มีมวลโมเลกุลน้อยกว่า 500 ดาลตัน มีค่าสัมประสิทธิ์ความชอบน้ำและน้ำมัน

(log P) ประมาณ 1 ถึง 3 มีความแรง (high potency) ที่เหมาะสมสำหรับออกฤทธิ์ที่บริเวณผิวหนัง ซึ่งในการศึกษานี้ผู้วิจัยเลือกใช้กรดเอลลาจิก (ellagic acid) เป็นตัวยาต้นแบบเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง (potent antioxidant) และมีความน่าสนใจการพัฒนาเพื่อเป็นตัวยาใช้เพื่อต้านอนุมูลอิสระและสามารถประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอางได้ อย่างไรก็ตาม กรดเอลลาจิกมีข้อจำกัดเรื่องค่าการละลายในน้ำ (น้อยกว่า 10 µg/ml) จึงทำให้มีปัญหามากในการพัฒนาเป็นสูตรตำรับรูปแบบใหม่ ดังนั้นกรดเอลลาจิกจึงเหมาะสมที่จะนำมาพัฒนาในรูปแบบลิโปโซมและทรานสเฟอริโซม และใช้เป็นตัวยาต้นแบบในการศึกษานี้

วิธีดำเนินการวิจัย

1.สารเคมี

สารเคมีทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ เป็นสารเคมีคุณภาพสำหรับกรวิเคราะห์ (analytical grade) ได้แก่ phosphatidylcholine (PC) (LIPOID GmbH, Cologne, Germany), cholesterol (CHOL)

(Carlo Erba Reagenti, Italy), Oleic acid (OA) (Sigma Aldrich®, St. Louis, MO, USA), และ ellagic acid (EA) (ACROS ORGANICS, New Jersey, USA) เป็นต้น

2. การเตรียมลิโปโซมกักเก็บกรดเอลลาจิก

เตรียมสูตรตำรับโดยใช้วิธี thin film hydration method โดยใช้ฟอสฟาติดีลโคลีน (PC) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (เป็นสารก่อไขมันเยื่อหุ้มสองชั้น) และแปรผันสัดส่วนของคอเลสเตอรอล (เป็นสารเพิ่มความคงตัว) และกรดโอเลอิก (เป็นสารเร่งการซึมผ่าน) ที่ความเข้มข้น 0-90 % ของ PC และกรดเอลลาจิก (เป็นยาต้นแบบ) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้คือ คลอโรฟอร์มและเมทานอล (2 ต่อ 1) และใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 7.4) เป็นกระสายยาในการทำให้ฟอสฟาติดีลโคลีนขึ้นรูปเป็นอนุภาค และการเตรียมสูตรตำรับนี้ทำที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 1 แสดงอัตราส่วนขององค์ประกอบที่ใช้เตรียมลิโปโซมและทรานสเฟอริโซม

ตำรับที่	ส่วนประกอบ	ความเข้มข้น (ร้อยละมิลลิโมลาร์)			
		PC	CHOL	OA	EA
1	PC + CHOL + EA (LP)	100	0-90		1
2	PC + OA + EA (TF)	100		0-90	1
3	PC + Chol + OA(TF-CH)	100	0-90	40	1
4	Experimental Design	100	0-40	0-40	1

ฟอสฟาติดีลโคลีน (PC) คอเลสเตอรอล (CHOL) กรดโอเลอิก (OA) กรดเอลลาจิก (EA) ลิโปโซม (LP), ทรานสเฟอริโซม (TF) และทรานสเฟอริโซมที่มีคอเลสเตอรอล (TF-CH)

3. การประเมินคุณลักษณะต่าง ๆ ของลิโปโซมและทรานสเฟอริโซม

3.1 การวัดขนาด การกระจายขนาด และประจุ

นำลิโปโซมและทรานสเฟอริโซมที่เตรียมได้มาทำการวัดขนาดอนุภาค (size; nm) การกระจายขนาด (size distribution หรือ polydispersity index

(PDI)) ประจุ (zeta potential; mV) ด้วยเครื่อง Zetasizer (Malvern Instrument, UK)

3.2 การหาปริมาณกรดเอลลาจิกที่กักเก็บในสูตรตำรับ

นำลิโปโซมและทรานสเฟอริโซมผสมกับเมทานอลในสัดส่วน 1 ต่อ 1 ผสมให้เข้ากันโดยวิธีเขย่า (vortex®) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000

รอบต่อนาที นาน 10 นาที และนำไปวิเคราะห์หา
ปริมาณกรดเอลลาจิกทั้งหมดในสูตรตำรับด้วยวิธี

ปริมาณเอลลาจิกที่กักเก็บทั้งหมดในสูตรตำรับ (%) =

4. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดเอลลาจิกโดยวิธี HPLC

วิเคราะห์หาความเข้มข้นของกรดเอลลาจิกใน
สูตรตำรับด้วยวิธี High performance liquid
chromatography (HPLC) (Thermo Dionex UV/Vis,
USA) โดยใช้คอลัมน์ชนิด Hyper Clone 5u ODS C-
18 column (250x4.6 mm) เป็น วัฏภาคคงที่
(stationary phase) และวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile
phase) คือ 0.1% phosphoric acid และ acetonitrile
ในสัดส่วนแบบเกรเดียนท์ (gradient mode) (Ramrit,
2014) ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ความยาวคลื่นที่
ใช้คือ 254 นาโนเมตร อัตราการไหลเท่ากับ 0.8
มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณที่ฉีดในแต่ละครั้งเท่ากับ 40
ไมโครลิตร กราฟมาตรฐานที่ได้แสดงความสัมพันธ์
แบบเส้นตรงและมีสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r^2)
เท่ากับ 0.9992 (สารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1
ถึง 10 ไมโครกรัม)

5. การศึกษาความคงตัวของลิโปโซมกักเก็บกรด เอลลาจิก

นำสูตรตำรับลิโปโซมต้นแบบทุกสูตรไป
ทดสอบภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส
นาน 12 ชั่วโมง และย้ายไปทดสอบที่สภาวะ 4 องศา
เซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง จำนวน 3 รอบ นำสูตรตำรับ
ลิโปโซมที่ทดสอบความคงตัวมาประเมินคุณลักษณะ
ต่างๆ ได้แก่ ขนาด การกระจายขนาด ประจุ และ
วิเคราะห์หาปริมาณกรดเอลลาจิกเปรียบเทียบกับ
ภายหลังการเตรียมและวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมด 2 วิธี
คือ การทดลองแบบดั้งเดิม (conventional
experimental method) และการใช้วิธีทางคอมพิวเตอร์
(computational method)

HPLC ดังสมการ

$$\text{ปริมาณกรดเอลลาจิกในสูตรตำรับ (\%)} = \frac{\text{ปริมาณกรดเอลลาจิกในสูตรตำรับ}}{\text{ปริมาณกรดเอลลาจิกในมาตรฐาน}} \times 100$$

6. การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ Design Expert®

Design Expert® เป็นโปรแกรมคอมพิวเตอร์
ใช้สำหรับวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของข้อมูลระหว่าง
ตัวแปรต้น (formulation factors) และตัวแปรตาม
(response variables) และแสดงผลในลักษณะพื้นผิว
ตอบสนอง (response surface) โดยในการศึกษานี้จะ
แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้น คือ ความ
เข้มข้นของคอเลสเทอรอล (10-40 เปอร์เซ็นต์โมล)
และความเข้มข้นของกรดโอเลอิก (10-40 เปอร์เซ็นต์
โมล) ต่อคุณลักษณะทางเคมีกายภาพ ได้แก่ ขนาด
อนุภาค การกระจายขนาดอนุภาค ประจุของลิโปโซม
ความสามารถในการกักเก็บยา และความคงตัวของ
สูตรตำรับลิโปโซมและทรานสเฟอร์โซม และนอกจากนี้
ยังใช้โปรแกรมเดียวกันนี้ในการทำนายหาสูตรตำรับ
ลิโปโซมที่เหมาะสมที่สุดที่มีคุณลักษณะทางเคมี
กายภาพและความคงตัวที่ดีที่สุดที่เหมาะสมสำหรับนำส่งยา
ทางผิวหนัง โดยกำหนดให้สูตรตำรับที่เหมาะสมที่สุด
ควรมีคุณลักษณะดังต่อไปนี้ มีอนุภาคนาโนขนาดเล็ก การ
กระจายขนาดแคบ มีการกักเก็บตัวยามากที่สุด และมีความ
คงตัวดีที่สุด

7. การประเมินประสิทธิภาพในการนำส่งยาทาง ผิวหนัง

7.1 การศึกษาการซึมผ่านยาทางผิวหนัง

การศึกษาการซึมผ่านผิวหนังเพื่อ
เปรียบเทียบความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังของ
สูตรที่เหมาะสมที่สุด (optimal LP) กับสูตรลิโปโซม
ดั้งเดิม (liposome; LP) และสารละลายกรดเอลลาจิก
ในเอทานอล (Et-Sol) ด้วยเครื่องทดสอบการซึมผ่าน
ผิวหนังแนวดิ่ง (Franz diffusion cell) โดยใช้คราบงู
เป็นตัวแทนของผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียมที่
อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส ปริมาณสูตรตำรับที่ใช้
คือ 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายตัวรับที่ใช้คือฟอสเฟต

บัฟเฟอร์ (pH 7.4) เท่ากับ 16 มิลลิลิตร มีพื้นที่สำหรับ
ซึมผ่านเท่ากับ 2.01 ตารางเซนติเมตร และสุ่มตัวอย่าง
ทุกๆ 0.5, 1, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง และวิเคราะห์
ปริมาณด้วยวิธี HPLC

7.2 การศึกษาผลของลิโปโซมต่อการเปลี่ยนแปลง โครงสร้างของผิวหนัง

นำผิวหนังคราบงูหลังจากการทดสอบ
การซึมผ่านผิวหนังมาล้างทำความสะอาดและทำให้
แห้ง จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fourier
transform infrared spectroscopy (FT-IR) เพื่อศึกษา
ผลของลิโปโซมต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ
ผิวหนัง (Duangjit et al., 2014c) โดยใช้ผิวหนังคราบงู
ที่ทดสอบด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็นตัวอย่างควบคุม

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

1. การประเมินคุณลักษณะต่าง ๆ ของลิโปโซม และทรานสเฟอร์โซม

จากผลการประเมินคุณลักษณะต่างๆ และ
การศึกษาความคงตัวของลิโปโซม (LP) ทรานสเฟอร์
โซม (TF) และทรานสเฟอร์โซมที่มีคอเลสเตอรอล (TF-
CH) ผู้วิจัยได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูล 2 วิธี คือ การ
วิเคราะห์ข้อมูลทดลองแบบดั้งเดิม ดังแสดงในตารางที่
2, 3 และ 4 แสดงคุณลักษณะต่างๆ ของลิโปโซม (LP)
ทรานสเฟอร์โซม (TF) และ ทรานสเฟอร์โซมที่มี
คอเลสเตอรอล (TF-CH) ตามลำดับ หลังจากการ
เตรียมสูตรตำรับใหม่ (initial) และภายหลังการทดสอบ
ความคงตัว (final) พบว่า ขนาด การกระจายขนาด
ประจุ และการกักเก็บตัวของแต่ละสูตรตำรับมีความ
แตกต่างกันขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของตำรับ อย่างไรก็ตาม
ตาม ผลของคอเลสเตอรอลและสารเร่งการซึมผ่านต่อ
คุณลักษณะต่างๆ ของลิโปโซม (LP) ทรานสเฟอร์โซม
(TF) และทรานสเฟอร์โซมที่มีคอเลสเตอรอล (TF-CH)
ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูล
เดียวกันนี้ด้วยวิธีทางคอมพิวเตอร์ ผลการวิเคราะห์
ข้อมูลแสดงดังรูปที่ 1 ลักษณะของกราฟที่ได้แสดง
ข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างผลของคอเลสเตอรอลและ

สารเร่งการซึมผ่านต่อคุณลักษณะต่างๆ ได้อย่าง
ชัดเจน กราฟดังที่แสดงนี้เรียกว่า contour plot ซึ่งจะ
แสดงค่าความสัมพันธ์เป็นแนวสี สีแดงแสดงถึง
ความสัมพันธ์ค่ามาก และสีน้ำเงินแสดงถึง
ความสัมพันธ์ค่าน้อย

จากรูปที่ 1 (ก) (จุดเริ่มต้น) พบว่าเมื่อสัดส่วน
ของคอเลสเตอรอลและกรดโอเลอิกเพิ่มขึ้นพบว่า
อนุภาคมีแนวโน้มของขนาดเล็กลง เนื่องจาก
คอเลสเตอรอลจะเข้าไปแทรกอยู่ช่องว่างระหว่างโซ่
ของฟอสฟาติดีลโคลีน (hydrocarbon chain) ทำให้
การจัดเรียงของอนุภาคไขมันชิดกันแน่นขึ้น จึงมี
แนวโน้มส่งผลให้ขนาดของลิโปโซมเล็กลง (Kumar et
al, 2012) ในขณะที่กรดโอเลอิกจะมีผลเปลี่ยนแปลง
รัศมีความโค้งของผนังสองชั้นของลิโปโซม ซึ่งอาจ
ส่งผลให้ขนาดอนุภาคเล็กลงเช่นกัน (Cevc G et al.,
1998) เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิพบว่าขนาดของ
อนุภาคมีการเปลี่ยนแปลงทั้งเพิ่มขึ้นและเล็กลง ขึ้นกับ
สัดส่วนของคอเลสเตอรอลและกรดโอเลอิกในแต่ละ
สูตร เมื่อพิจารณาผลความแตกต่างของจุดเริ่มต้น
(initial) และจุดสุดท้าย (final) พบว่าบริเวณที่แสดงถึง
ขนาดอนุภาคไม่มีการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นโดยดูจากรูป
ที่ 1 (ก) (จุดสุดท้าย) จะเห็นว่าที่สัดส่วนของ
คอเลสเตอรอล 20-30 % และกรดโอเลอิก 25-35 %
โดยประมาณ จะมีแนวโน้มของความคงตัวมากกว่า
บริเวณอื่นๆ เนื่องจากคอเลสเตอรอลจะเข้าไปแทรก
บริเวณช่องว่างระหว่างส่วนสายกรดไฮโดรคาร์บอน
ของฟอสฟาติดีลโคลีนทำให้อนุภาคเรียงตัวกันแน่นขึ้น
เยื่อหุ้มลิโปโซมมีความแข็งแรงมากขึ้น ส่งผลให้มี
ความคงตัวของลิโปโซมเพิ่มขึ้น (Liang et al., 2004)

จากรูปที่ 1 (ข) (จุดเริ่มต้น) พบว่าเมื่อสัดส่วน
ของคอเลสเตอรอลที่เพิ่มขึ้นแนวโน้มของการกระจาย
ขนาดจะลดลง เมื่อสัดส่วนของกรดโอเลอิกเพิ่มขึ้นการ
กระจายขนาดจะเพิ่มขึ้น (ที่สัดส่วนโอเลอิก 10-25 %)
และลดลง (ที่สัดส่วนโอเลอิก 25-40 %) ขึ้นอยู่กับ
สัดส่วนของกรดโอเลอิก และเมื่อพิจารณาผลของ
อุณหภูมิพบว่ามีการกระจายขนาดมีการเปลี่ยนแปลง
ในช่วง 0.1 ซึ่งถือว่าการเปลี่ยนแปลงในช่วงแคบ
จากรูปที่ 1 (ข) (จุดสุดท้าย) พบว่าสัดส่วนของกรด

โอเลอิก 20-30 % มีผลให้แนวโน้มการกระจายขนาดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม นอกจากส่วนประกอบของตำรับแล้ว การศึกษาก่อนหน้านี้แนะนำว่าวิธีการเตรียมตำรับ (preparation method) อาจเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการกระจายขนาดของอนุภาคได้เช่นกัน (Duangjit, 2014c)

จากรูปที่ 1 (ค) (เริ่มต้น) พบว่าสัดส่วนคอลเลสเตอร์รอลที่เพิ่มขึ้น ประจุของทรานสเฟอริโซมไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อสัดส่วนของกรดโอเลอิกเพิ่มขึ้นพบว่าอนุภาคมีแนวโน้มของประจุเป็นลบมากขึ้น ซึ่งอาจเนื่องมาจากกรดโอเลอิกเป็นกรดไขมัน เมื่ออยู่ในสภาวะที่ทำการทดสอบคือ pH 7.4 อาจแสดงประจุเป็นลบ เนื่องจากกรดโอเลอิกมีค่า pKa น้อยกว่า pH ของระบบคือ 5.0 (Kanicky and Shah DO, 2002) ในขณะที่ในการศึกษานี้พบว่าคอลเลสเตอร์รอลไม่มีผลต่อประจุ

จากรูปที่ 1 (ง) (จุดเริ่มต้น) พบว่าสัดส่วนของคอลเลสเตอร์รอลและกรดโอเลอิกมีผลต่อปริมาณยาที่กักเก็บในอนุภาคลิโปโซม ขึ้นอยู่กับปริมาณของคอลเลสเตอร์รอลและกรดโอเลอิกที่เหมาะสม เนื่องจากคอลเลสเตอร์รอลและกรดโอเลอิกมีคุณสมบัติชอบละลายในน้ำมัน และตัวยาเอลลาจิกมีความชอบละลายในน้ำมันมากกว่าในน้ำเช่นกัน ดังนั้นการเพิ่มปริมาณของคอลเลสเตอร์รอลและกรดโอเลอิกจะทำให้ผนังของลิโปโซมมีความชอบต่อไขมันหรือน้ำมันมากขึ้น อาจทำให้ตัวยาเอลลาจิกสามารถละลายอยู่ในผนังของลิโปโซมได้มากขึ้น อย่างไรก็ตาม สัดส่วนที่เหมาะสมของ

คอลเลสเตอร์รอลและกรดโอเลอิกจะต้องไม่มากเกินไป เพราะอาจไปแย่งละลายอยู่ภายในผนังของลิโปโซมได้เช่นกัน จากรูปที่ 1 (ง) (จุดสุดท้าย) พบว่าอนุภาคมีผลต่อปริมาณยาที่กักเก็บอยู่ภายในลิโปโซมภายหลังการทดสอบความคงตัว การกักเก็บตัวของสูตรตำรับลิโปโซมลดลงเหลือ 5-10 % จากเริ่มต้นคือ 20 % อาจเนื่องมาจากกรดโอเลอิกจะเข้าไปแทรกระหว่างโมเลกุลของฟอสโฟลิพิด ทำให้การจัดเรียงตัวของผนังสองชั้นเกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้มีความยืดหยุ่นมากขึ้น มีคุณสมบัติการไหลเพิ่มมากขึ้น และเมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง (45 องศาเซลเซียส) จึงมีความคงทนต่ออุณหภูมิได้ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ไม่มีโอเลอิก (Irfan et al., 2012)

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า ขนาดอนุภาคนี้อิโซมที่กักเก็บเอลลาจิกมีขนาดอยู่ระหว่าง 124-752 นาโนเมตร มีการกระจายขนาดอยู่ที่ 0.4 และมีปริมาณยาที่กักเก็บ 1.35-26.75 % (Junyaprasert, 2012) และเมื่อเปรียบเทียบกับศึกษานี้พบว่า อนุภาคลิโปโซมในการศึกษานี้มีขนาดเล็กกว่า คือมีขนาดอนุภาคหลังเตรียมเสร็จอยู่ระหว่าง 54-109 นาโนเมตร มีการกระจายขนาดอยู่ที่ 0.123-0.35 ซึ่งถือว่ามีกระจายขนาดแคบกว่า และมีปริมาณยาที่กักเก็บ 6.42-20.76 % ซึ่งถือว่ามีปริมาณยาที่กักเก็บไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 2 แสดงผลของความคงตัวของสูตรตำรับลิโปโซม

ตำรับที่	คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ							
	ขนาด (นาโนเมตร)		การกระจายขนาด		ประจุลบ (มิลลิโวลต์)		การกักเก็บเฮลลาจิก (%)	
	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย
LP1	109.37±4.13	104.29±0.83	0.315±0.04	0.26±0.01	4.09±1.65	13.39±3.21	12.78±0.08	6.64±0.33
LP2	98.27±2.49	93.44±0.10	0.290±0.02	0.25±0.01	5.79±1.22	5.18±2.24	14.25±0.31	7.98±0.49
LP3	91.53±1.91	96.76±4.40	0.258±0.01	0.28±0.03	7.20±1.03	8.66±1.73	14.27±0.44	8.40±0.90
LP4	94.32±4.65	92.70±2.58	0.259±0.03	0.24±0.02	6.17±0.76	8.80±1.16	13.09±0.15	9.46±0.67
LP5	93.55±1.73	95.59±6.21	0.254±0.01	0.26±0.04	7.33±1.36	6.63±1.45	15.08±0.33	9.14±0.43
LP6	102.21±1.89	102.20±0.97	0.241±0.01	0.21±0.01	8.49±2.06	5.23±0.91	10.4±0.07	7.17±0.29
LP7	101.8±2.75	105.56±2.21	0.243±0.02	0.20±0.02	9.15±1.00	9.99±0.73	15.41±0.75	9.86±2.08
LP8	96.42±3.26	105.24±0.84	0.215±0.03	0.13±0.01	8.14±1.71	7.76±0.78	6.42±0.07	5.01±0.02
LP9	101.18±2.47	115.93±0.39	0.171±0.02	0.11±0.01	9.30±1.78	9.83±4.33	12.64±0.91	6.82±0.42
LP10	101.71±1.76	129.66±0.93	0.171±0.02	0.13±0.01	9.39±0.82	10.32±0.74	7.68±0.02	5.90±0.86

LP1-LP10 คือสูตรตำรับลิโปโซม

ตารางที่ 3 แสดงผลของความคงตัวของสูตรตำรับทรานเฟอร์โซม

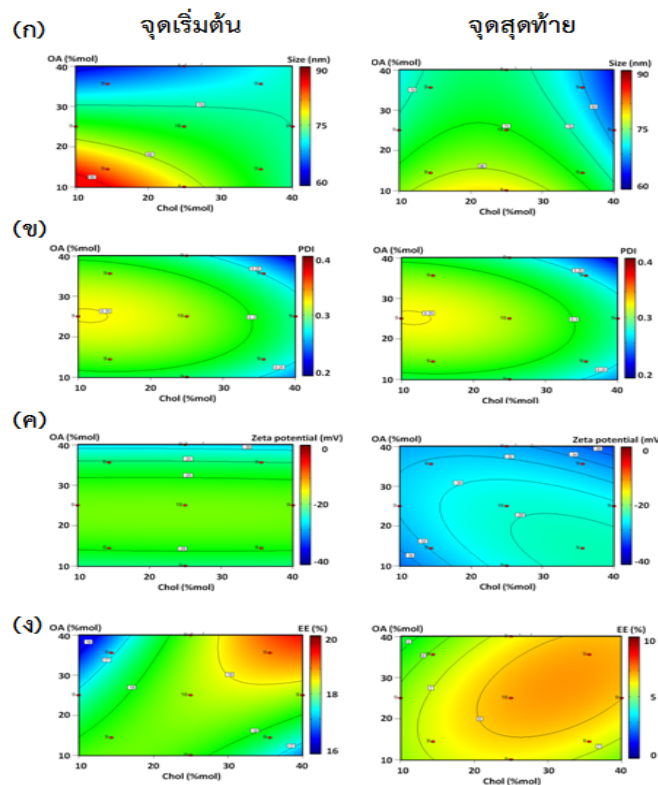
ตำรับที่	คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ							
	ขนาด (นาโนเมตร)		การกระจายขนาด		ประจุลบ (มิลลิโวลต์)		การกักเก็บเฮลลาจิก (%)	
	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย
TF1	91.51±1.84	102.40±2.50	0.286±0.03	0.39±0.02	7.60±1.31	5.55±2.00	12.99±0.04	6.54±0.22
TF2	79.92±1.53	80.80±2.22	0.28±0.01	0.29±0.01	8.58±1.23	6.79±3.00	11.21±0.10	6.01±0.37
TF3	74.62±1.69	73.96±1.73	0.28±0.01	0.32±0.05	44.03±7.00	10.20±0.91	10.43±0.10	6.95±1.02
TF4	72.99±3.32	89.70±6.60	0.40±0.05	0.44±0.03	24.77±12.44	9.73±2.03	14.29±0.01	11.68±0.74
TF5	67.35±4.97	67.22±1.70	0.34±0.07	0.36±0.02	21.28±4.03	7.81±1.17	17.36±0.08	10.17±1.07
TF6	61.35±3.34	59.09±1.03	0.30±0.04	0.26±0.02	32.09±4.76	12.87±2.08	14.32±1.15	10.18±0.40
TF7	61.02±5.70	64.86±1.28	0.30±0.66	0.27±0.03	37.47±6.12	17.37±2.33	16.11±0.08	10.93±2.28
TF8	57.1±1.90	127.54±51.12	0.213±0.03	0.24±0.03	36.02±3.30	23.12±3.09	18.77±0.07	14.35±0.55
TF9	55.76±0.26	77.89±8.88	0.145±0.04	0.23±0.06	37.07±2.98	23.47±3.00	17.54±0.07	13.8±0.19
TF10	54.55±0.25	84.13±15.50	0.127±0.01	0.28±0.07	38.00±2.27	27.47±4.71	13.85±0.20	10.71±0.58

TF1-TF10 คือสูตรตำรับทรานเฟอร์โซม

ตารางที่ 4 แสดงผลของความคงตัวของสูตรตำรับทรานเฟอร์โซมที่มีคอเลสเตอรอล

ตำรับที่	คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ							
	ขนาด (นาโนเมตร)		การกระจายขนาด		ประจุลบ (มิลลิโวลต์)		การกักเก็บเอลลาจิก (%)	
	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย	จุดเริ่มต้น	จุดสุดท้าย
TF-CH1	58.01±2.01	57.14±1.55	0.30±0.05	0.25±0.01	8.88±2.06	8.88±2.06	14.74±0.19	10.02±1.09
TF-CH2	60.56±2.47	67.46±1.89	0.26±0.02	0.25±0.02	13.36±2.47	13.36±2.47	13.14±0.05	12.36±5.23
TF-CH3	66.62±3.24	54.90±2.20	0.35±0.03	0.23±0.02	12.90±2.66	12.90±2.66	20.04±0.17	12.87±0.41
TF-CH4	57.66±0.97	60.59±2.63	0.24±0.02	0.27±0.03	16.02±3.66	16.02±3.57	20.76±0.37	14.35±0.35
TF-CH5	74.78±2.61	69.55±2.24	0.35±0.02	0.27±0.02	38.93±5.69	38.93±5.69	19.38±0.17	14.15±0.61
TF-CH6	73.5±2.63	68.33±1.22	0.31±0.04	0.22±0.01	17.90±3.67	17.90±3.67	19.16±0.61	13.03±0.95
TF-CH7	68.65±1.63	87.64±15.39	0.20±0.02	0.19±0.01	22.60±1.64	22.60±1.64	18.71±0.08	13.86±0.48
TF-CH8	60.26±3.25	64.12±0.69	0.24±0.03	0.17±0.01	18.54±4.77	18.54±4.77	17.53±0.05	12.87±0.11
TF-CH9	78.91±2.49	77.07±1.08	0.26±0.01	0.19±0.01	16.06±1.91	16.06±1.91	18.95±0.05	14.82±0.72
TF-CH10	82.69±3.13	80.16±1.03	0.27±0.03	0.15±0.01	29.49±2.81	29.49±2.81	19.61±0.15	15.79±0.13

TF-CH1-TF-CH10 คือสูตรตำรับทรานเฟอร์โซมที่มีคอเลสเตอรอล



รูปที่ 1 กราฟ contour plot แสดง (ก) ขนาด (nm), (ข) การกระจายขนาด (PDI), (ค) ประจุ (-mV) และ (ง) การกักเก็บยา (%) ที่จุดเริ่มต้น (initial) และจุดสุดท้าย (final)

2. การศึกษาหาสูตรที่เหมาะสมที่สุดด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

ภายหลังจากทำนายผลของคอเลสเตอรอลและสารเร่งการซึมผ่านผิวหนังต่อคุณลักษณะทางเคมีกายภาพและความคงตัวของลิโปโซมแล้ว ผู้วิจัยได้ใช้โปรแกรมเดียวกันนี้ในการทำนายหาสูตรตำรับที่เหมาะสมที่สุด จากผลการวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์พบว่าสูตรตำรับที่มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและความคงตัวที่ดีคือสูตรที่มีสัดส่วนคอเลสเตอรอลและกรดโอเลอิก 40 ต่อ 40 เปอร์เซนต์

โมล โดยมีค่าความพึงพอใจเท่ากับ 0.8222 (จากคะแนนเต็ม 1.000) จากนั้นผู้วิจัยได้นำสูตรที่ทำนายได้นี้ไปเตรียมเป็นสูตรตำรับลิโปโซมและทดสอบคุณลักษณะด้วยการทดลองจริงอีกครั้ง และนำผลที่ได้จากการทำนาย (predicted value) และผลที่ได้จากการทดลองจริง (experimental value) มาเปรียบเทียบกันพบว่าคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสูตรตำรับที่ได้จากการทำนายโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์และค่าที่ได้จากการทดลองจริงพบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน ดังแสดงในตารางที่ 5

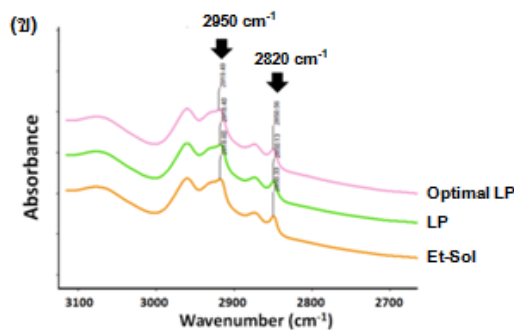
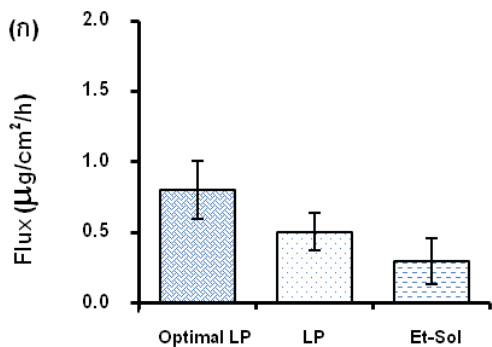
ตารางที่ 5 การประเมินความน่าเชื่อถือเปรียบเทียบผลที่ได้จากการทำนายและผลที่ได้จากการทดลองจริง

คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ	ค่าทำนาย	ค่าที่ได้จากการทดลอง	ระดับความเชื่อมั่น 95% (ค่าต่ำ-ค่าสูง)	ค่าคลาด (%)
ขนาด (นาโนเมตร)	68.87	74.78±2.61	63-74	0.08
การกระจายขนาด	0.19	0.35±0.02	0.14-0.24	0.46
ประจุลบ (มิลลิโวลต์)	32.46	38.93±5.69	25.32-39.60	0.17
Entrapment (%)	20.00	19.38±0.17	19.17-20.83	0.03

3. การประเมินประสิทธิภาพในการนำส่งยาทางผิวหนัง

จากผลทดลองเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการนำส่งยาของสูตรตำรับลิโปโซมที่เหมาะสม (Optimum LP) ลิโปโซมแบบดั้งเดิม (LP) และสารละลายผสมระหว่างเอทานอลและบัฟเฟอร์ (Et-Sol) พบว่าสูตรลิโปโซมที่เหมาะสมมีแนวโน้มในการนำส่งยาทางผิวหนังมากกว่าสูตรตำรับลิโปโซมแบบดั้งเดิม และสารละลายตัวยาในสารละลายผสมระหว่างเอทานอลและบัฟเฟอร์ ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 2 (ก) เนื่องจากลิโปโซมมีอนุภาคขนาดเล็ก (น้อยกว่า 100 นาโนเมตร) สามารถกักเก็บกรดเอลลาจิกไว้ภายในและมีโครงสร้างเป็นอนุภาคไขมันเรียงซ้อนกันสองชั้นคล้ายคลึงกับเยื่อหุ้มเซลล์ จึงอาจหลอมรวมกับเยื่อหุ้มเซลล์บริเวณผิวหนังและเพิ่มการซึมผ่านของตัวยายเข้าสู่ผิวหนังได้ นอกจากนี้ อาจเนื่องมาจากผลของสารเร่งการซึมผ่านผิวหนังในที่นี้คือ กรดโอเลอิก (Naik et al., 1995)

ภายหลังจากทดสอบผลของลิโปโซมต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผิวหนังด้วยเครื่อง FT-IT ซึ่งจะวัดการสั่นและการหมุนของโครงสร้างหมู่ฟังก์ชันในสูตรโมเลกุลใน การศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผิวหนังนั้น พิกที่สำคัญคือพีคที่บริเวณ 2920 cm^{-1} และ 2850 cm^{-1} ซึ่งเป็นพีค C-H asymmetric stretching และ C-H symmetric stretching ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 2 (ข) การเกิดการเปลี่ยนแปลงของพีคแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในผิวหนัง พบว่าโครงสร้างของผิวหนังครบอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นผลให้พีคของผิวหนังที่ทดสอบด้วยสูตรตำรับลิโปโซมที่เหมาะสมและลิโปโซมแบบดั้งเดิมเกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยที่บริเวณ 2920 cm^{-1} และ 2850 cm^{-1} อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาเกี่ยวกับผลของลิโปโซมต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของผิวหนังจำเป็นต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมด้วยเครื่องมือชนิดอื่นๆ เช่น Differential Scanning Calorimetry (DSC) หรือ X-ray diffraction เพื่อยืนยันความถูกต้องของผลการวิจัยในครั้งนี้



รูปที่ 2 (ก) แสดงปริมาณกรดเอลลาจิกในการซึมผ่านทางผิวหนังแครบงู และ (ข) แสดงความเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างไขมันภายในผิวหนังแครบงู

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาและวิเคราะห์ผลด้วยวิธีทางคอมพิวเตอร์แสดงให้เห็นผลที่ชัดเจนว่า คอเลสเตอรอลมีผลต่อขนาดอนุภาคคือ การเพิ่มคอเลสเตอรอลมีผลให้ขนาดอนุภาคมีแนวโน้มเล็กลง และทำให้สูตรตำรับอนุภาคมีความคงตัวมากขึ้น ในขณะที่เมื่อเพิ่มสัดส่วนของกรดโอเลอิกมากขึ้นจะทำให้ขนาดอนุภาคมีแนวโน้มลดลงและทำให้อนุภาคมีประจุเป็นลบมากขึ้น สามารถกักเก็บตัวยาได้มากขึ้น แต่อย่างไรก็ดี กรดโอเลอิกมีผลทำให้ความคงตัวของอนุภาคลดลง ดังนั้น ในการพัฒนาสูตรตำรับลิโปโซมเพื่อให้มีคุณลักษณะทางเคมีกายภาพและความคงตัวที่ดีจะต้องศึกษาเพื่อหาสัดส่วนของคอเลสเตอรอลและกรดโอเลอิกที่เหมาะสม ซึ่งการศึกษานี้พบว่า สูตรตำรับที่เหมาะสมควรมีคอเลสเตอรอลและกรดโอเลอิกในสัดส่วน 40 ต่อ 40 เปอร์เซ็นต์โมล นอกจากนี้ ยังพบว่าลิโปโซมที่เหมาะสมมีความสามารถในการนำส่งตัวยาเอลลาจิกได้ดีกว่าสูตรตำรับอื่นๆ และคุณลักษณะต่างๆ ที่ได้จากการทดลองจริงมีค่าใกล้เคียงค่าที่ได้จากการทำนายด้วยวิธีทางคอมพิวเตอร์

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่

ในการทำวิจัยในครั้งนี้ และนอกจากนี้ขอขอบคุณบริษัท LIPOID GmbH ประเทศเยอรมันสำหรับความอนุเคราะห์สารเคมีสำหรับทำงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Bahareh S, Mohamed I, Hamid A, Ehsan T, Ali K. Characterization of diclofenac liposomes formulated with palm oil fractions. *Trop J Pharm Res.* 2014; 13 (2): 185-190
- Benson AE. Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques. *Curr Drug Deliv.* 2005; 2: 23-33
- Chermahini SH, Majid FAA, Aziz AA, Yaakob H, Farizhandi AAK. New approaches in topical delivery through using various permeation barrier enhancers. *World Appli Sci J.* 2012; 31: 2120-2136
- Cevc G, Gebauer D, Stieber J, Schätzlein A, Blume G. Ultraflexible vesicles, Transfersomes, have an extremely low pore penetration resistance and transport therapeutic amounts of insulin across the intact mammalian skin. *Biochim Biophys Acta.* 1998; 1368(2): 201-215.

- Duangjit S, Nimcharoenwan T, Chomya N, Locharoenrat N, Ngawhirunpat T. "Development of deformable liposomes for transdermal delivery of extraction from chili pepper" *IJPS*. 2014a; 10 (Suppl): 112-120.
- Duangjit S, Opanasopit P, Rojarata T, Ngawhirunpat T. "Physicochemical stability of meloxicam loaded vesicle formulation: effect of cholesterol". *IJPS*. 2014b; 9 (Suppl): 173
- Duangjit S, Obata Y, Sano H, Onuki Y, et al. A comparative study of novel ultradeformable liposomes: menthosomes, transfersomes and liposomes for enhancing skin permeation of meloxicam. *Biol Pharm Bull*. 2014c; 37 (2): 239-247
- Haung CM, Chen CH, Pornpattananangkul D, et al. Eradication of drug resistant *Staphylococcus aureus* by liposomal oleic acids. *Biomaterials*. 2011; 32: 214-221
- Irfan M, Verma S, Ram A. Preparation and characterization of ibuprofen loaded transfersome as a novel carrier for transdermal drug delivery system. *AJPCR*. 2012; 5(3): 162-165
- Jangde R, Singh D. Investigation of drug-excipients compatibility of ellagic Acid for development of formulation containing liposomes. *UKJ Pharm Chem Biol Sci*. 2014; 2:15-18
- Junyaprasert V, Singhsa P, Jintapattanakit A. Influence of chemical penetration enhancers on skin permeability of ellagic acid-loaded niosomes. *AJPS*. 2013; 8: 110-7
- Junyaprasert V, Singhsa P, Suksiriworapong J, Chantasart D, Physicochemical properties and skin permeation of Span 60/Tween 60 niosomes of ellagic acid. *Int J Pharm*. 2012; 423(2): 303-311
- Kanicky JR, Shah DO. Effect of degree, type, and position of unsaturation on the pKa of long-chain fatty acids. *J Colloid Interface Sci*. 2002; 256: 201-207
- Kaur L, Kaur P, Khan M. Liposome as drug carrier – a review. *IJRPC*. 2013, 3(1): 121-128
- Kirby C, Clarke J, Gregoriadis G. Effect of the cholesterol content of small unilamellar liposomes on their stability in vivo and in vitro. *Biochem J*. 1980; 186: 591-598
- Liang X, Mao G, Simon K. Mechanical properties and stability measurement of cholesterol-containing liposome on mica by atomic force microscopy. *J Colloid Interface Sci*. 2004; 278: 53-62
- Naik A, Pechtold LARM, Potts RO, Guy HR. Mechanism of oleic acid-induced skin penetration enhancement in vivo in humans. *J Control Release*. 1995; 37(3): 299-306
- Pathak KS, Roli M, Kumar S, Prakash G, Parthasarthy R. Effect of cholesterol concentration on size of liposome. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2012; 1: 50-53
- Ramrit T, Yingngam B, Rungseewijitprapa W, Development of niosome for incorporation of Triphala. *IJPS*. 2014; 9 (Supplement): 22-26

- Srisuk P, Thongnopnua P, Raktanonchai U, Kanokpanont S. Physico-chemical characteristics of methotrexate-entrapped oleic acid-containing deformable liposomes for in vitro transepidermal delivery targeting psoriasis treatment. *Int J Pharm.* 2012; 427: 426–434
- Tseng LP, Liang H, Chung T, Huang Y, Liu D. Liposome incorporated with cholesterol for drug release triggered by magnetic field. *J Med Biol Eng.* 2007; 27(1): 29-34
- Verma S, Bhardwaj A, Vij M, Bajpai P, Goutam N, Kumar L. Oleic acid vesicles: a new approach for topical delivery of antifungal agent. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2014; 42(2): 95-101
- Williams AC, Barry BW, Penetration enhancers. *Adv Drug Deliv Rev.* 2004; 56(5): 603-618