

การพัฒนาเคอร์คูมินและพิเพอร์รีนไมโครสเฟียร์แบบลอยตัวในสภาวะกรด

สุรีวัลย์ ดวงจิตต์¹, วิภาณดา สีแพนบาล², นลินทิพย์ เนื่องเหมรัช², วันดี รังสีจิตรประภา^{3*}

บทคัดย่อ

บทนำ: โรคแผลในกระเพาะอาหารเป็นโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารที่มีอัตราการเสียชีวิตค่อนข้างสูง โดยเกิดจากสาเหตุที่สำคัญคือ เชื้อ *Helicobacter pylori* ในการรักษามักจะใช้ยาปฏิชีวนะร่วมกันหลายขนานเพื่อป้องกันเชื้อดื้อยา ซึ่งผู้ป่วยบางรายอาจเกิดผลข้างเคียงหรือแพ้ยาได้ การใช้ไขมันจากธรรมชาติและสารสกัดพืชสามารถเพื่อทดแทนยาปฏิชีวนะและการพัฒนาระบบนำส่งยาในรูปแบบใหม่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเคอร์คูมินและพิเพอร์รีนไมโครสเฟียร์แบบลอยตัวเพื่อให้ออกฤทธิ์ในกระเพาะอาหารได้นานขึ้น **วิธีดำเนินการวิจัย:** เตรียมไมโครสเฟียร์ทำโดยวิธีการระเหยตัวทำละลาย โดยใช้เอทิลเซลลูโลสเป็นผนังของอนุภาค (ความเข้มข้น 90-110 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของตัวทำละลาย) การพัฒนาระบบลอยตัวอาศัยหลักการการกักเก็บน้ำมันมะพร้าวที่มีความหนาแน่นต่ำไว้ภายใน โดยทำการศึกษาปัจจัยทางด้านสูตรตำรับที่มีผลต่อลักษณะภายนอก รูปร่างขนาดอนุภาค ร้อยละของการกักเก็บ ระยะเวลาลอยตัวของอนุภาค และศึกษาร้อยละของการปลดปล่อยตัวยาในหลอดทดลอง **ผลการวิจัย:** ไมโครสเฟียร์ที่เตรียมได้มีรูปร่างกลม ขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 200-500 ไมโครเมตร ขึ้นอยู่กับปริมาณเอทิลเซลลูโลสและความเข้มข้นของน้ำมันที่ใช้ ร้อยละการกักเก็บของสารสำคัญอยู่ในช่วง 20-90 ไมโครพาร์ติเคิลที่เตรียมได้มีระยะเวลาลอยตัวในสภาวะที่เป็นกรดมากกว่า 72 ชั่วโมงและอัตราเร็วในการปลดปล่อยตัวยาช้าลงเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมันที่กักเก็บ **สรุปผลการวิจัย:** จากการศึกษาพบว่า การเลือกส่วนประกอบที่เหมาะสมจะทำให้สามารถผลิตไมโครสเฟียร์แบบลอยตัวในสภาวะกรดได้นานขึ้น และปลดปล่อยตัวยาได้อย่างช้าๆ และออกฤทธิ์ได้นานขึ้นและคาดว่าจะจะเป็นประโยชน์ในการรักษาโรคแผลในกระเพาะอาหารอย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

คำสำคัญ: ไมโครสเฟียร์แบบลอยตัว, เคอร์คูมิน, พิเพอร์รีน, โรคแผลในกระเพาะ

วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2559; 11(ฉบับพิเศษ): 101-111

¹อาจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

²นักศึกษาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

³รองศาสตราจารย์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

*ติดต่อผู้พิมพ์: วันดี รังสีจิตรประภา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี 34190 โทร 045-353621E-mail: wandeim@yahoo.com

Development of Curcumin and Piperine floating microspheres in acidic condition

Sureewan Duangjit¹, Wikanda Seepanbal², Nalintip Neanghemmarach², Wandee Rungseevijitprapa^{3*}

Abstract

Introduction: Peptic ulcer is one of the major gastric diseases with relatively high mortality rate which one of the most important causes by *Helicobacter pylori*. Combinations of antibiotics have been used for the treatment of peptic ulcer in order to avoid bacterial resistance which may cause side effect and sensitization to some patients. Natural oils and plant extracts would be interesting alternatives to antibiotics and the development of innovative drug delivery system may also enhance the treatment. The objective of this study was to develop curcumin and piperine floating microspheres that can prolong floating time of particles in acidic condition. **Methods:** microspheres were prepared by solvent evaporation method. Ethylcellulose was used as wall material (90-110 milligram per milliliter of solvent). Coconut oil was coencapsulated with the actives to increase the floating time. Effect of formulation parameters on morphology, shape, size of microspheres, percentage entrapment, floating time and *vitro* drug release rate was investigated. **Results:** The obtained microsphere exhibited spherical shape and processed size in the range of 200-500 micrometer depending on the ethylcellulose and coconut oil concentration used. Percentage entrapments of curcumin or piperine were varied between 20-90%. The obtained microparticles had floating time in acidic solution over 72 hours and drug release was more slowly as the encapsulated oil content increased. **Conclusions:** Results from this study indicated that optimization of formulation could give desired floating time of microspheres and could be potentially benefited for the treatment of peptic ulcer.

Keyword: Floating microspheres, Curcumin, Piperine, Peptic ulcer

IJPS 2016; 11(Supplement): 101-111

¹Lecturer, Faculty of Pharmaceutical Sciences, UbonRatchathani University, Warinchamrab District, UbonRatchathani

²Pharmacy student, Faculty of Pharmaceutical Sciences, UbonRatchathani University, Warinchamrab District, UbonRatchathani

³Associate Professor, Faculty of Pharmaceutical Sciences, UbonRatchathani University, Warinchamrab District, UbonRatchathani

Corresponding author: Wandee Rungseevijitprapa, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Ubonratchathani University, Warinchamrab District, Ubonratchathani 34190, Thailand, Tel. 045-353621 E-mail:wandeeim@yahoo.com

บทนำ

โรคแผลในกระเพาะอาหารเป็นโรคในระบบทางเดินอาหารที่พบบ่อยประมาณร้อยละ10 ของประชากรทั่วไป (Javadzadeh and Hamedeyazdan, 2014) และมีอัตราการเสียชีวิตค่อนข้างสูง ซึ่งสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแผลในกระเพาะอาหารเกิดจากหลายสาเหตุโดยการติดเชื้อ *Helicobacter pylori* (*H.Pylori*) เป็นสาเหตุหนึ่งที่มีเชื้อมีความสัมพันธ์กับการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (gastric ulcer) กระเพาะอาหารอักเสบ (gastritis) โรคแผลในลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenal ulcer) ตลอดจนการเกิดมะเร็งในกระเพาะอาหาร (gastric cancer) มีรายงานว่ามากกว่าร้อยละ50 ของประชากรทั่วโลกที่ติดเชื้อ *H. pylori* มาจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อน (Suriyachan and Trakulpua, 2012) ในการรักษาโรคแผลในกระเพาะอาหารมักจะใช้ยา กลุ่มลดการหลั่งกรดร่วมกับยาปฏิชีวนะร่วมกันหลายชนิด (William and Benjamin, 2007) แต่อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงสูงในการดื้อยา

ในปัจจุบันพบว่าผู้คนสนใจการรักษาแผลในกระเพาะอาหารด้วยสมุนไพรมากขึ้นเนื่องจากการลดใช้สารเคมีราคาแพง ดังนั้นการใช้น้ำมันจากธรรมชาติและสารสกัดพืชจึงเป็นทางเลือกในการใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะ สมุนไพรในปัจจุบันที่สามารถรักษาโรคแผลในกระเพาะอาหารทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ คือขมิ้นชันมีสารสกัดสำคัญคือเคอร์คูมินซึ่งมีฤทธิ์ในการมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ *H. pylori* (Prucksunand et al., 2001) และพริกไทยมีสารสกัดสำคัญคือพิเพอร์รีนมีฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* และลดการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (Aljama,2011) แต่เนื่องจากเคอร์คูมินมีปัญหาด้านการละลายน้ำได้น้อย ค่าชีวประสิทธิผลน้อย

กว่าร้อยละ 1 การดูดซึมอยู่ในระดับต่ำ และมีการเมตาบอลิซึมออกจากร่างกายเร็ว ซึ่งจากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้มีการศึกษาถึงการผลของพิเพอร์รีนที่สามารถเพิ่มค่าชีวประสิทธิผลให้แก่เคอร์คูมินได้โดยการไปยับยั้งเอนไซม์เมตาบอลิซึมของเคอร์คูมิน ทำให้ออกฤทธิ์ได้นานขึ้น (Ratanavaraporn et al.,2013) โดยในปัจจุบันมีรูปแบบของระบบนำส่งยาที่มีหลายรูปแบบซึ่งหนึ่งในรูปแบบนั้นคือระบบไมโครสเฟียร์แบบลอยตัว ในการศึกษาจะใช้ไขมันมะพร้าวซึ่งมีความหนาแน่นต่ำเพื่อกักเก็บไมโครสเฟียร์จะทำให้ไมโครสเฟียร์ลอยตัวได้ นอกจากนี้ ไขมันมะพร้าวยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* (Bergsson et al., 2000) ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเห็นถึงความสำคัญในการพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบไมโครสเฟียร์แบบลอยตัวโดยการใช้ไขมันจากธรรมชาติ ซึ่งเป็นนวัตกรรมของระบบนำส่งยาที่สามารถเพิ่มระยะเวลาในการออกฤทธิ์ในกระเพาะอาหารที่คาดว่าจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรคได้แผลในกระเพาะอาหารได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สารเคมี

เคอร์คูมิน (Curcumin, Acros, USA); พิเพอร์รีน (Piperine, Fluka, Switzerland); ไขมันมะพร้าวบริสุทธิ์ (Coconut oil, Vechapong, Thailand); Ethycellulose 10 CPS (Ethocel®, EC, Germany);Methanol, Dichloromethane (Carlo Erba, France), Polyvinyl alcohol 88 % hydrolyzed (Acros, USA, PVA)

2. การเตรียมไมโครสเฟียร์ (Preparation of microspheres)

การเตรียมไมโครสเฟียร์จะใช้วิธีการระเหยตัวทำละลาย (Solvent evaporation method) ดัดแปลงจากวิธีที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ (Sriwongjanya and Bodmeier, 1997) โดยละลายสารสำคัญประกอบด้วยเคอร์คูมินหรือฟิเพอร์รีน ลงในวัตภาคภายในที่ประกอบด้วยน้ำมันมะพร้าว เอทิลเซลลูโลส และตัวทำละลาย (ไตรคลอโรมีเทนต่อเมทานอลอัตราส่วน 8.5:1.5) จากนั้นนำมาฉีดลงในวัตภาคภายนอกซึ่งประกอบด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 ในน้ำทำการปั่นผสมด้วยเครื่อง marine propeller (Ika®-WERKE, Germany) ที่ความเร็ว 1,100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาคนด้วย Magnetic stirrer เพื่อระเหยตัวทำละลายภายใต้ตู้ดูดควันเป็นเวลา 15 ชั่วโมง ทำการกรองและล้างอนุภาคด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บไมโครสเฟียร์แล้วนำไปทำให้แห้งใน Desiccator ก่อนนำไปใช้ทดสอบ ซึ่งสูตรการเตรียมไมโครสเฟียร์ที่ใช้ในการศึกษามีส่วนประกอบตามตารางที่ 1

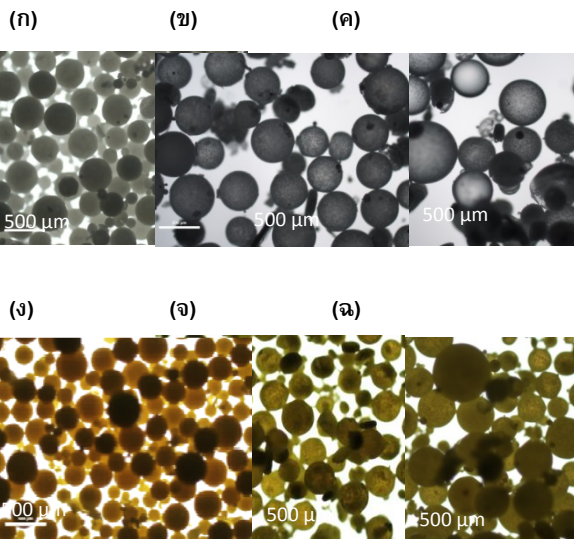
ตารางที่ 1 ปริมาณสารในสูตรตำรับไมโครสเฟียร์ที่ทำการศึกษา

Formulation No.	Ethyl cellulose (mg)	Curcumin (mg)	Piperine (mg)	Coconut oil (ml)(% of solvent)	Dichloromethane: Methanol (ml)
1	900	100	-	0	8.5:1.5
2	1000	100	-	0	8.5:1.5
3	1100	100	-	0	8.5:1.5
4	900	-	100	0	8.5:1.5
5	1000	-	100	0	8.5:1.5
6	1100	-	100	0	8.5:1.5
7	900	100	-	2 (20%)	8.5:1.5
8	1000	100	-	2 (20%)	8.5:1.5
9	1100	100	-	2 (20%)	8.5:1.5
10	900	-	100	2 (20%)	8.5:1.5
11	1000	-	100	2 (20%)	8.5:1.5
12	1100	-	100	2 (20%)	8.5:1.5
13	900	100	-	3 (30%)	8.5:1.5
14	1000	100	-	3 (30%)	8.5:1.5
15	1100	100	-	3 (30%)	8.5:1.5
16	900	-	100	3 (30%)	8.5:1.5
17	1000	-	100	3 (30%)	8.5:1.5
18	1100	-	100	3 (30%)	8.5:1.5

3. การประเมินคุณลักษณะของไมโครสเฟียร์ (Characterization of microspheres)

3.1 การวัดขนาดอนุภาคและศึกษาลักษณะทาง กายภาพของไมโครสเฟียร์ (size measurement and physical appearance evaluation of microspheres)

นำไมโครสเฟียร์วางบนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปส่อง
กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope, Nikon,
Japan) ที่กำลังขยาย 40 X จากนั้นวัดขนาดอนุภาค
(n=100) และสังเกตลักษณะทางกายภาพของอนุภาคด้วย
ซอฟต์แวร์ Image analysis system (Hollywood
International group, Thailand)



รูปที่ 1 ลักษณะภายนอกของอนุภาคไมโครสเฟียร์ที่
เตรียมจากเอทิลเซลลูโลส 1000 มิลลิกรัมสารสำคัญ 100
มิลลิกรัม ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย
40 X (ก) ฟิเพอร์รินน้ำมันมะพร้าวร้อยละ 0, (ข) ฟิเพ

อร์รินน้ำมันมะพร้าวร้อยละ 20, (ค) ฟิเพอร์ริน น้ำมัน
มะพร้าว ร้อยละ 30, (ง) เคอร์คูมิน น้ำมันมะพร้าวร้อยละ
0, (จ) เคอร์คูมิน น้ำมันมะพร้าวร้อยละ 20 และ (ฉ) กัก
เก็บเคอร์คูมิน น้ำมันมะพร้าวร้อยละ 30

3.2 การศึกษาหรร้อยละของผลผลิตที่ได้ (Investigation of percent yield)

นำน้ำหนักแห้งของไมโครสเฟียร์ที่เตรียมได้มา
คำนวณเทียบกับน้ำหนักของไมโครสเฟียร์ที่ใช้ในการ
เตรียมวัตถุดิบภายใน (พอลิเมอร์ ยา และ น้ำมัน) เพื่อ
หรร้อยละผลผลิตแห้งที่ได้ตามสูตร

$$\text{ร้อยละผลได้} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของไมโครสเฟียร์แห้งที่เตรียมได้}}{\text{น้ำหนักของสารที่ใช้เตรียมวัตถุดิบภายใน}} \times 100$$

3.3 การศึกษาหรร้อยละการกักเก็บสารในไมโครส เฟียร์ (% Encapsulation efficiency, % EE)

นำอนุภาคไมโครสเฟียร์แห้งมา 10 มิลลิกรัม
แล้วนำไปละลายในไดคลอโรมีเทนต่อเมทานอล อัตราส่วน
8.5:1.5 จากนั้นนำไปเขย่าจนกระทั่งได้สารละลายใส แล้ว
นำไปวิเคราะห์หาปริมาณเคอร์คูมินและฟิเพอร์ริน โดยใช้
เครื่อง UV- spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 421 นา
โนเมตร และ 343 นาโนเมตรตามลำดับ โดยใช้ไมโครพาร์
ติเคิลที่ไม่มีสารสำคัญเป็น Blank จากนั้นคำนวณหรร้อยละ
การกักเก็บของตัวยาจากสมการ

$$\text{ร้อยละการกักเก็บ} = \frac{\text{ปริมาณยาที่วัดได้จริง}}{\text{ปริมาณยาตามทฤษฎี}} \times 100$$

3.4 การศึกษาความสามารถในการลอยตัวของ

สาร (Study of floating ability)

การศึกษาความสามารถในการลอยตัวของสาร
ดัดแปลงจากวิธีของ Smriti และคณะ

(Malviya et al.,2013) นำอนุภาคไมโครสเฟียร์แห้งมา 10 มิลลิกรัมใส่ลงในหลอดทดลองที่บรรจุด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มาลิตี (pH 1.2) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพื่อเลียนแบบสภาวะกรดในกระเพาะอาหาร จากนั้นปิดขวดแล้วนำไปเขย่าใน Horizontal shaker (Julado, Germany) ด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ $37 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ จับเวลาที่อนุภาคแรกเริ่มจมที่ก้นหลอด และเวลาที่อนุภาคจมไปร้อยละ 50

3.5 การศึกษาการปลดปล่อยตัวยาในหลอด

ทดลอง (In vitro drug release study)

การศึกษาความสามารถในการปลดปล่อย
สารสำคัญในหลอดทดลองดัดแปลงจากวิธีของ Alam
และคณะ (Alam et al.,2012) แต่เนื่องจากเคอร์คูมินมี
ค่าการละลายในน้ำเพียง 3.12 mg/L (Kurien et al.,
2007) ดังนั้นในการศึกษาการปลดปล่อยของตัวยาจาก
ไมโครสเฟียร์ในการทดลองนี้จึงใช้สารละลาย 50 % เอ
ทานอลในน้ำเป็น release medium โดยในการศึกษา
จะนำไมโครสเฟียร์มา 20 มิลลิกรัม ใส่ลงใน release
medium ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

ที่อุณหภูมิ $37 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ใน Horizontal shaker
(Julado, Germany) ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที สุ่ม
ตัวอย่างมาหลอดละ 5 มิลลิลิตร (n=3) ที่เวลา 0.5, 1,
2, 4, 6, 12 และ 24 แล้วเติม release medium ใหม่ 5
ลงในหลอดทดลองแทนปริมาตรที่สุ่มตัวอย่างออกมา

จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาความเข้มข้น
ของตัวยาด้วย UV-spectrophotometer แล้วนำมา
คำนวณอัตราเร็วในการปลดปล่อยตัวยา

3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

ผลการทดลองจะแสดงผลเป็นค่า Mean \pm SD
และวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้ ANOVA ค่า $p < 0.5$ ถือว่า
มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา และอภิปรายผลการศึกษา

1. การวัดขนาดอนุภาคและศึกษาลักษณะทาง กายภาพของไมโครสเฟียร์ (size measurement and physical appearance evaluation of microspheres)

ผลการศึกษาขนาดอนุภาคและลักษณะภายนอก
ของไมโครสเฟียร์ที่กักเก็บเคอร์คูมินหรือฟิเพอร์รินใน
ปริมาณ 100 มิลลิกรัมโดยศึกษาถึงปัจจัยของการเพิ่ม
ปริมาณของเอทิลเซลลูโลส พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณเอทิล
เซลลูโลสจะทำให้ไมโครสเฟียร์มีแนวโน้มที่มีขนาดใหญ่ขึ้น
เนื่องจากปริมาณเอทิลเซลลูโลสจะทำให้เพิ่มความหนืด
ให้กับวัสดุภาคภายใน ดังนั้นเมื่อให้แรงเฉือน (shear force)
ในการปั่นเพื่อตัดสายพอลิเมอร์ด้วยแรงเท่าเดิม จะทำให้
อนุภาคได้ขนาดอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นและเมื่อเพิ่มปริมาณ
น้ำมันมะพร้าวจากร้อยละ 0 เป็น 20 และ 30 ตามลำดับ
แนวโน้มของอนุภาคจะติดกันไม่สามารถไหลได้อย่างอิสระ
เนื่องจากน้ำมันจะไปลดค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะแก้ว
(glass transition temperature) ของเอทิลเซลลูโลสลงทำ
ให้อนุภาคที่เกิดการอ่อนตัวจนเกาะติดกันอย่างไรก็ตาม
พบว่าอนุภาคที่กักเก็บเคอร์คูมินและฟิเพอร์ริน จะมีขนาด
อยู่ในช่วง 200-500 ไมโครเมตร ดังแสดงในตารางที่ 2
และ 3 และมีลักษณะทรงกลมผิวเรียบดังรูปที่ 2

ตารางที่ 2 ผลของปริมาณน้ำมันที่ใช้เตรียมต่อขนาดอนุภาคเฉลี่ยของไมโครสเฟียร์ (n=100)

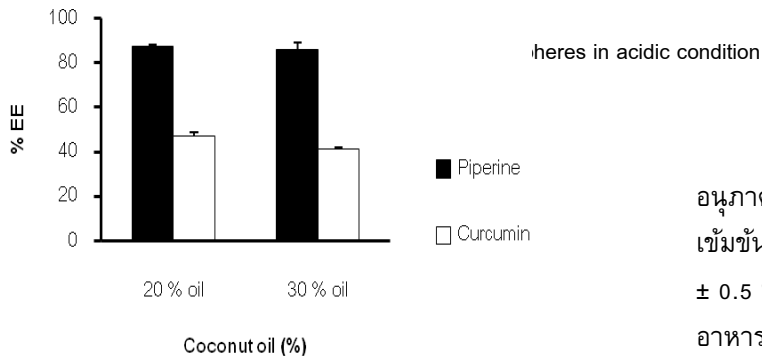
Ethcellulose (mg)	Mean particle siz(µm)					
	0% Oil		20 % Oil		30 % Oil	
	Curcumin	Piperine	Curcumin	Piperine	Curcumin	Piperine
900	244.75 ±48.17	331.56 ±65.27	N/A	212.24 ±54.44	N/A	239.33 ±105.34
1000	259.18 ±78.88	298.85 ±79.69	351.76 ±55.55	431.09 ±129.65	366.66 ±85.22	464.76 ±126.28
1100	N/A	301.38 ±82.12	383.98 ±103.3	326.85 ± 75.52	N/A	N/A

หมายเหตุ : N/A หมายถึง อนุภาคเกาะติดกัน (aggregate) หรือแตกและไม่สามารถวัดขนาดได้

2. ผลการศึกษาการหาค่าร้อยละการกักเก็บสารในไมโครสเฟียร์ (% Encapsulation efficiency, % EE)

จากการทดลอง เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมันที่ใช้ในการเตรียมไมโครสเฟียร์จากความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็น 30 พบว่าไม่มีผลต่อค่าร้อยละการกักเก็บของสารสำคัญ แต่ชนิดของสารสำคัญพบว่ามีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยพิเพอร์รินจะมีค่าร้อยละการกักเก็บสารในไมโครสเฟียร์สูงกว่าเคอร์คูมินประมาณสองเท่า ทั้งนี้อธิบายได้จากขั้นตอนการเกิดเป็นอนุภาคไมโครสเฟียร์ ซึ่งประกอบด้วย 4 เหตุการณ์คือ ตัวทำละลายจากวัฏภาคภายในแพร่ออกมายังวัฏภาคภายนอก น้ำจากวัฏภาคภายนอกจากแพร่เข้าไปยังวัฏภาคภายใน ยาจะแพร่ออกมายังวัฏภาคภายในตามการแพร่ของตัวทำละลายของวัฏภาคภายใน สุดท้ายพอลิเมอร์เกิดการตกตะกอนเนื่องจากสูญเสียตัวทำละลายออกไป จึงทำให้หยดอนุภาคอิมัลชันค่อยๆ เปลี่ยนสภาพจากของเหลวกลายเป็น

อนุภาคแข็งของไมโครสเฟียร์ โดยเมื่อพิจารณาส่วนประกอบที่เป็นตัวทำละลายของวัฏภาคภายในของไมโครสเฟียร์ซึ่งประกอบด้วยไดคลอโรมีเทน เมทานอล และน้ำมันมะพร้าวที่เติมลงไปเพื่อเป็นสารที่ช่วยให้อนุภาคลอยได้นั้น พบว่าเคอร์คูมินซึ่งเป็นสารที่ไม่ชอบน้ำ จะมีความชอบในการละลายในสารละลายของวัฏภาคภายในมากกว่าพิเพอร์ริน ดังนั้น ในระหว่างการเตรียมไมโครสเฟียร์ที่มีการแลกเปลี่ยนสารเกิดขึ้นคือ เคอร์คูมินจะละลายได้ดีในน้ำมันและตัวทำละลายของ วัฏภาคภายในมากกว่าพิเพอร์ริน จึงแพร่ผ่านวัฏภาคภายในออกมายังวัฏภาคภายนอก ทำให้ค่าร้อยละการกักเก็บสารสำคัญมีน้อยกว่าพิเพอร์รินดังผลการทดลอง (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ผลของปริมาณน้ำมันและชนิดของตัวยาที่ใช้ต่อค่าร้อยละการกักเก็บของตัวยาในอนุภาคไมโครสเฟียร์

5. ผลการศึกษาความสามารถในการลอยของสาร (Study of floating ability)

ตารางที่ 3 ระยะเวลาการการลอยตัวของอนุภาคไมโครสเฟียร์ที่กักเก็บ curcumin และ piperine

Ethylcellulose (mg)	Coconut oil (%)	Time to sink (hr)			
		First particle sink		50 % of particle sink	
		Curcumin	Piperine	Curcumin	Piperine
900	0	0.20	0.38	10.45	10.35
1000	0	0.50	0.42	14.00	13.45
1100	0	0.59	0.57	14.35	14.20
900	20	9.15	42.5	36.55	>72
1000	20	10.2	53.55	37	>72
1100	20	21.3	55.3	>72	>72
900	30	10.1	45.05	>72	>72
1000	30	37	57.45	>72	>72

4. ผลการศึกษาเรื่องการปลดปล่อยตัวยาในหลอดทดลอง (In vitro drug release)

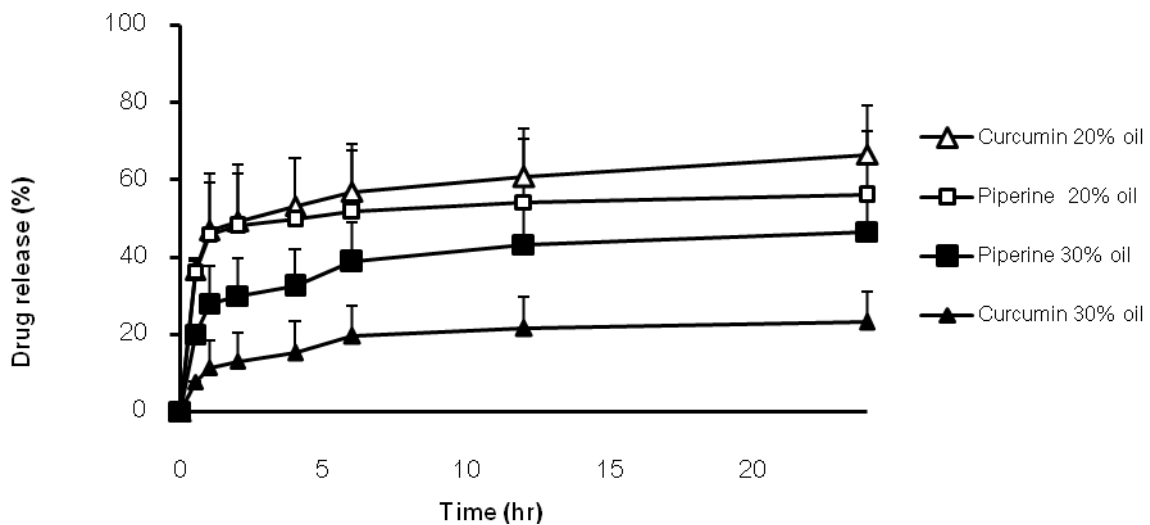
จากผลการทดลองพบว่า การปลดปล่อยสารเคอร์คูมินและพิเพอรินจะมีอัตราเร็วในการปลดปล่อยแบ่งเป็น 2 ช่วงคือ ใน 2 ชั่วโมงแรกจะมีอัตราการปลดปล่อยออกมาอย่างรวดเร็วในช่วงร้อยละ 10-50 เนื่องจากตัวยา

การศึกษาความสามารถในการลอยตัวของอนุภาคไมโครสเฟียร์ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มาลิตี (pH = 1.2) ที่สภาวะอุณหภูมิ 37 ± 0.5 °C เพื่อเลียนแบบสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร โดยพบว่าความสามารถในการลอยตัวของอนุภาคไมโครสเฟียร์ที่กักเก็บเคอร์คูมินและพิเพอริน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณเอทิลเซลลูโลส และน้ำมันมะพร้าวจากร้อยละ 20 เป็น 30 เนื่องจากเมื่อปริมาณเอทิลเซลลูโลสและปริมาณน้ำมันมะพร้าวจะส่งผลให้ขนาดของอนุภาคใหญ่ขึ้น ทำให้สามารถกักเก็บปริมาณน้ำมันมะพร้าวได้มากจึงลอยสามารถลอยตัวได้นานดังตารางที่ 3

บางส่วนที่ไม่ได้กักเก็บอยู่ภายในอนุภาคแต่เกาะอยู่บริเวณผิวภายนอกจะถูกปลดปล่อยออกมาก่อนอย่างรวดเร็ว ซึ่งตัวยาในช่วงนี้จะเป็นส่วนที่ออกฤทธิ์เร็วและช่วยในการรักษาทันที ในช่วงที่สอง อัตราเร็วในการปลดปล่อยตัวยาจะช้าลง ซึ่งเกิดขึ้นจากตัวยาที่ถูกกักเก็บไว้ภายในอนุภาคจะต้องมีการแพร่ผ่านชั้นน้ำมันและผนังพอลิเมอร์ออกมา

ตัวยาที่ปลดปล่อยออกมาในส่วนนี้ จึงเป็นเสมือนตัวยาที่รักษาในระดับยาในกระแสเลือด เพื่อให้มีฤทธิ์ในการรักษาที่นานขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมันมะพร้าวจาก ร้อยละ 20 เป็น 30 อัตราเร็วในการปลดปล่อยของสารสำคัญจะลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มปริมาณน้ำมันทำให้อนุภาคมีขนาดใหญ่ขึ้น จึงทำให้ระยะทางที่สารจะแพร่ผ่านน้ำมันมาที่ผนังอนุภาคใช้ระยะเวลาเวลานานขึ้น และปริมาณน้ำมันที่กักเก็บมากขึ้น จะเป็นชั้นที่ขัดขวางการแพร่ของตัวยาออกมา ทำให้ยิ่งเพิ่มปริมาณน้ำมันจึงมีแนวโน้มที่จะลดอัตราเร็วในการปลดปล่อยตัวยา ซึ่งตรงกับการศึกษาเกี่ยวกับการศึกษาการปลดปล่อย

ของสารของระบบลอยตัวที่ขนาดและพื้นผิวของอนุภาคมีผลต่อการปลดปล่อยของสารสำคัญ (Singh and Kim, 2000) และเมื่อเปรียบเทียบผลของสารสำคัญที่กักเก็บคือ เคอร์คูมินและพิเพอร์ริน พบว่าเมื่อใช้น้ำมันที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 อัตราเร็วในการปลดปล่อยตัวยาทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญแต่เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมันที่กักเก็บเป็นร้อยละ 30 พบว่าอัตราเร็วในการปลดปล่อยของพิเพอร์รินมีแนวโน้มสูงกว่าเคอร์คูมิน เนื่องจากพิเพอร์รินมีค่าการละลายในน้ำมากกว่า จึงสามารถปลดปล่อยออกมาได้เร็วกว่า ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 ผลของปริมาณน้ำมันที่กักเก็บในอนุภาคไมโครสเฟียร์ต่อการปลดปล่อยเคอร์คูมินและพิเพอร์ริน (n=3)

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาสรุปได้ว่าการกักเก็บสารที่มีค่าความหนาแน่นต่ำในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้สามารถผลิตไมโครสเฟียร์แบบลอยตัวในสภาวะกรดได้นานขึ้น

ผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้คาดว่าจะช่วยรักษาโรคแผลในกระเพาะอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพได้ดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- Alam S, Panda JJ, Chauhan VS, Novel dipeptide nanoparticles for effective curcumin delivery. *Int J Nnanomedicine* 2012; 7: 4207-4222.
- AlJamal A. Effects of Tumeric in Peptic Ulcer and *Helicobacter pylori*. *Plant Sciences Research*, 2011; 3:25-28.
- Bergsson G, Steingrimsson O, Thormar H, Bactericidal effects of fatty acids and monoglycerides on *Helicobacter pylori*. *Int J AntimicrobAgent* . 2002; 20(4): 258-262. 32(1): 208-215.
- Javadzadeh Y, Hamedeyazdan S, Floating Drug Delivery Systems for Eradication of *Helicobacter pylori* in Treatment of Peptic Ulcer Disease, in *Trends in Helicobacter pylori Infection*, Roesler BM, ed. 2014, InTech. p.304-307
- Kurien BT, Singh A, Matsumoto H, Scofield RH, Improving the solubility and pharmacological efficacy of curcumin by heat treatment. *Assay Drug Dev Technol*. 2007; 5(4): 567-576.
- Malviy S. etal. Formulation and evaluation of floating microbeads of ciprofloxacin HCl by emulsion gelation method, *Der Pharmacia Lettre*. 2013; 5 (2):63-68.
- Prucksunand C, Indrasukhsri B, Leethochawalit M, Hungspreugs K, Phase II clinical trial on effect of the long turmeric (*Curcuma longa* Linn) on healing of peptic ulcer. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2001;
- Ratanavaraporn J., Kanokpanont S., and Damrongsakkul S.; The development of injectable gelatin/silk fibroin microspheres for the dual delivery of curcumin and piperine; *J Mater Sci Mater Med*. 2013; 25:401.
- Singh BN, Kim KH, Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. *J Control Release*. 2000; 63(3): 235-259. Alam S, Panda JJ, Chauhan VS, Novel dipeptide nanoparticles for effective curcumin delivery. *Int J Nnanomedicine* 2012; 7: 4207-4222.
- Bergsson G, Steingrimsson O, Thormar H, Bactericidal effects of fatty acids and monoglycerides on *Helicobacter pylori*. *Int J AntimicrobAgent* . 2002; 20(4): 258-262. 32(1): 208-215.
- Javadzadeh Y, Hamedeyazdan S, Floating Drug Delivery Systems for Eradication of *Helicobacter pylori* in Treatment of Peptic Ulcer Disease, in *Trends in Helicobacter pylori Infection*, Roesler BM, ed. 2014, InTech. p.304-307

Kurien BT, Singh A, Matsumoto H, Scofield RH, Improving the solubility and pharmacological efficacy of curcumin by heat treatment. *Assay Drug Dev Technol.* 2007; 5(4): 567-576.

Malviy S. et al. Formulation and evaluation of floating microbeads of ciprofloxacin HCl by emulsion gelation method, *Der Pharmacia Lettre.* 2013; 5 (2):63-68.

Prucksunand C, Indrasukhsri B, Leethochawalit M, Hungspreugs K, Phase II clinical trial on effect of the long turmeric (*Curcuma longa* Linn) on healing of peptic ulcer. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2001;

Ratanavaraporn J., Kanokpanont S., and Damrongsakkul S.; The development of injectable gelatin/silk fibroin microspheres for the dual delivery of curcumin and piperine; *J Mater Sci Mater Med.* 2013; 25:401.

Singh BN, Kim KH, Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. *J Control Release.* 2000; 63(3): 235-259.

Siriwongjanya M, Bodmeier R. Entrapment of drug-loaded pH sensitivity particle with polymeric microparticle, *Int J Pharm* 1997; 158:29-38.

Suriyachan K, Tragoolpua Y. Anti-bacterial properties of propolis, royal jelly and *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees against bacteria causing gastric ulcer, *Helicobacter pylori.* *IJPS.* 2012; 8(1): 96-104

William D. Chey, Benjamin C.Y. Wong. American College of Gastroenterology Guideline on the Management of *Helicobacter pylori* Infection. *Am J Gastroenterol* 2007; 102:1808–1825