

สารประกอบเชิงซ้อนไอออนคู่เพื่อระบบนำส่งยา

Ion Pair Complex for Drug Delivery System

สินีรัตน์ วรรณทอง¹, ปริญญา สืบสี¹, ศิริลักษณ์ เทพจันทร์¹, วริษฐา ศิลาอ่อน¹, อุรชา รัชชานนท์ชัย², วันดี รังสีจิตรประภา^{*1}

Sineerat Wantong¹, Pariyakorn Sublee¹, Sirilak Tepchan¹, Warisada Sila-On¹, Uracha Ruktanonchai²,

Wandee Rungseevijitprapa^{*1}

¹ กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190

² ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย

อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

ABSTRACT

The purpose of this study was to develop a sustained drug delivery system based on a complex of drug and an agent of oppositely charges. In this study, cationic propranolol HCl was used to form complex with anionic sodium lauryl sulfate. Optimum ratio of propranolol and sodium lauryl sulfate that forms a water insoluble complex was investigated by turbidity and free propranolol HCl analysis. It was found that the ratio of propranolol HCl: sodium lauryl sulfate that gave the highest quantity of insoluble complex was 5.5:4.5 mmolar. Results from differential scanning calorimetry and x-ray diffraction analysis indicated the formation of a new substance. *In vitro* drug release in phosphate buffer pH 6.8 and 0.1 N HCl showed a slower dissolution rate of propranolol HCl-sodium lauryl sulfate complex microparticle than propranolol-sodium lauryl sulfate complex and propranolol HCl powder. Encapsulation of propranolol-sodium lauryl sulfate complex into microparticles gave 35.43±1.61% entrapment while entrapment of propranolol HCl to microparticle was only 2.26±0.19 %. In conclusion, the propranolol-sodium lauryl sulfate complex provides promising sustained drug delivery and was feasible to be encapsulated in microparticles for a more sustained drug release effect. However, a long term stability and bioavailability studies need to be further investigated.

Keywords: Ion pair complex, Drug delivery system, Propranolol HCl, Sodium lauryl sulfate, Microparticle

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาระบบนำส่งยาออกฤทธิ์นานจากสารประกอบเชิงซ้อนของยากับสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุตรงข้ามกัน โดยการทดลองนี้ได้ศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของยาประจุบวกคือโพรพรานอลอล ไฮโดรคลอไรด์และสารลดแรงตึงผิวประจุลบคือโซเดียมลอริลซัลเฟต ในการทดลอง ได้มีการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของตัวยากับสารลดแรงตึงผิวที่ให้ปริมาณสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำในปริมาณสูงสุด โดยวัดค่าความขุ่นและปริมาณยาอิสระที่ไม่เกิดสารประกอบเชิงซ้อน ทำการพิสูจน์การเกิดสารใหม่โดยใช้ differential scanning calorimetry (DSC) และ x-ray diffraction ศึกษาการปลดปล่อยตัวยานำสารประกอบเชิงซ้อนมากักเก็บในไมโครพาร์ติเคิล

* ผู้เขียนที่สามารถติดต่อได้ : วันดี รังสีจิตรประภา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190

โทรศัพท์ 045-353672 โทรสาร 045-353626 E-mail : wandeeim@yahoo.com

ผลการศึกษาพบว่า อัตราส่วนที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนมากที่สุดของยาโพพรานอลอล ไฮโดรคลอไรด์และโซเดียมลอร์ิซัลเฟตคือ 5.5 ต่อ 4.5 มิลลิโมลลาร์ การพิสูจน์การเกิดสารใหม่พบว่าสารประกอบเชิงซ้อนมีการเปลี่ยนแปลงของเทอร์โมแกรมเกิดขึ้น การปลดปล่อยตัวยาในพอสเฟต บัฟเฟอร์ พีเอช 6.8 และ 0.1 นอร์มอล ไฮโดรคลอไรด์พบว่า สารประกอบเชิงซ้อนที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิลมีอัตราการปลดปล่อยตัวยาช้ากว่าสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ได้กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิล และยาโพพรานอลอล ไฮโดรคลอไรด์เดี่ยว ไมโครพาร์ติเคิลของสารประกอบเชิงซ้อนมีค่าร้อยละของการกักเก็บเท่ากับ 35.43 ± 1.61 ซึ่งมากกว่าไมโครพาร์ติเคิลของยาโพพรานอลอล ไฮโดรคลอไรด์เดี่ยวที่สามารถกักเก็บตัวยาได้เพียงร้อยละ 2.26 ± 0.19 จากผลการทดลองนี้ สรุปได้ว่า การพัฒนาระบบนำส่งยาโดยใช้สารประกอบเชิงซ้อนประจุตรงข้ามระหว่างยาโพพรานอลอล ไฮโดรคลอไรด์และโซเดียมลอร์ิซัลเฟต สามารถช่วยให้ยาออกฤทธิ์เห็นได้ แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาถึงความคงตัวในระยะยาวและศึกษาชีวประสิทธิผลของยาเพื่อให้สามารถนำมาใช้ได้จริงในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

คำสำคัญ : สารประกอบเชิงซ้อนประจุตรงข้าม, ระบบนำส่งยา, โพพรานอลอล ไฮโดรคลอไรด์, โซเดียมลอร์ิซัลเฟต, ไมโครพาร์ติเคิล

บทนำ

การใช้ยาในรูปแบบธรรมดา (conventional dosage forms) หากต้องการรักษาระดับยาในเลือดให้อยู่ในช่วงการรักษา จำเป็นต้องให้ยาหลาย ๆ ครั้งต่อวัน ทำให้เสี่ยงต่อการที่ระดับยาในเลือดไม่อยู่ในช่วงการรักษา จึงได้มีการพัฒนาระบบนำส่งยาซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อทำให้ระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของยานานขึ้น สามารถควบคุมหรือกำหนดอัตราเร็ว ปริมาณและเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยา เพิ่มความสามารถในการรักษาและประหยัดค่าใช้จ่ายในการดูแลผู้ป่วย แนวทางการแก้ไขปัญหานี้ทำให้มีการคิดค้นพัฒนายาตัวใหม่ซึ่งเป็นวิธีที่ต้องใช้เงินทุนจำนวนมาก อีกแนวทางหนึ่งคือการพัฒนาแบบนำส่งยาซึ่งใช้เงินทุนน้อยกว่าทำให้ปัจจุบันวิทยาการด้านการผลิตยาออกฤทธิ์เห็นและระบบนำส่งยาแบบใหม่ ๆ ถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติของยาเดิมที่มีอยู่แล้วให้สามารถผลิตยาได้จริงในระดับอุตสาหกรรม (ณรงค์ สาริสุต, 2535) ซึ่งเทคนิควิธีการเตรียมและผลิตระบบนำส่งยาโดยใช้หลักการ การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (Ion pair complex) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีความสำคัญและได้รับความสนใจอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรม การศึกษาทางชีวภาพ การผลิตเครื่องสำอาง และเทคโนโลยีการเตรียมยาตัวอย่างการศึกษาเช่น การเกิด ion pair complex ระหว่างยาหรือโปรตีนกับ ionic surfactants, polyelectrolytes (Unchalee Kositprapa, 1996)

การทำให้ ionic surfactants ที่มีประจุตรงกันข้ามกับยา ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายน้ำได้น้อยลง จากรายงานการศึกษาพบว่า การเตรียมยาโดยใช้หลักการ ion pair complex เพิ่ม lipophilicity จึงช่วยเพิ่มการนำส่งยาผ่านผิวหนัง เพิ่มค่า bioavailability เมื่อเตรียมในรูปแบบยาเหน็บหรือยาพ่น และการทดลองการนำส่งยาผ่าน cell culture models ของระบบทางเดินอาหาร พบว่า ช่วยเพิ่มการดูดซึมและเพิ่มระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของยาที่ได้ จึงมีประโยชน์ คือ ช่วยควบคุมการปลดปล่อยของตัวยานำมาทำเป็นยาออกฤทธิ์นานได้ ทำให้ระดับยาในเลือดคงที่และเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา (Guerrero et al., 1996)

ในการพัฒนายาโดยใช้หลักการ ion pair complex ที่ประสบผลสำเร็จอย่างเห็นได้ชัด เช่น การพัฒนา insulin โดยนำมาเตรียมเป็น complex กับสารที่เป็น divalent ions เช่น zinc และ protamines (Adachi et al., 2006) หลักการนี้ได้ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1930s และได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องจนสามารถเตรียม insulin NPH ในรูป microcrystalline suspension บริหารยาโดยการฉีดใต้ผิวหนัง ทำให้ insulin ออกฤทธิ์ในการควบคุมระดับน้ำตาลได้ยาวนานตลอด 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังมีการพัฒนา insulin ให้สามารถบริหารโดยการรับประทาน โดยเตรียมเป็น zinc insulin

complex จากการทดลองในหนูทดลอง พบว่า complex ที่เตรียมได้มีการดูดซึมจากทางเดินอาหารได้เพิ่มขึ้นและสามารถควบคุมระดับน้ำตาลได้เป็นอย่างดี (Norrmann, 2007) ทำให้เป็นแนวทางในการวิจัยในอนาคตต่อไป นอกจากนี้ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้หลักการ ion pair complex เช่น การเตรียม leuprolide acetate กับ sodium oleate เพื่อเตรียมในรูปยาออกฤทธิ์นานสำหรับรักษามะเร็งต่อมลูกหมากที่สามารถบริหารยาโดยการฉีดใต้ผิวหนังหรือฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular) ซึ่งฉีดเพียง 1-3 เดือนต่อ 1 ครั้ง (Choi and Park, 2000) จะเห็นได้ว่าการพัฒนยาออกฤทธิ์นานโดยใช้หลักการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (ion pair complex) เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและประหยัดค่าใช้จ่ายในการพัฒนาและสามารถนำมาใช้ได้จริงในระดับอุตสาหกรรม

เนื่องจาก ion pair complex ระหว่าง cationic drug และ anionic surfactants นี้มีคุณสมบัติลดค่าการละลายของยาและช่วยให้ยาออกฤทธิ์นั้นได้ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จึงมีประโยชน์อย่างมากในการเตรียมยาที่มีค่าการละลายสูงและมีค่าครึ่งชีวิตสั้น เช่น ยา propranolol HCl ซึ่งเป็นยาที่มีข้อบ่งใช้ในการรักษาโรค เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจล้มเหลว (Huang et al., 2004) สำหรับ anionic surfactants เช่น sodium lauryl sulfate (สุธิ เวศวะวากยานนท์และวัชรีย์ คุณกิตติ, 2541) มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี เตรียมง่าย และมีความปลอดภัย (LD₅₀ (rat,oral) : 1.29 g/Kg) จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาเตรียม ion pair complex กับตัวยา propranolol HCl ในการทดลองครั้งนี้

เครื่องมือและอุปกรณ์

UV spectrophotometer (Shimadzu, ญี่ปุ่น), Scanning Electron Microscope (SEM) (JEOL LTD JSM-5410LV, ญี่ปุ่น), Differential Scanning Calorimeter (DSC) (Mettler 810e, เยอรมนี), X-ray diffraction (Panalytical, เนเธอร์แลนด์), Horizontal shaker (Julabo, เยอรมนี), Dissolution apparatus 2 (Electrolab TDT-08L, อินเดีย)

วัสดุและสารเคมี

Propranolol hydrochloride (Pharma, ไทย), Sodium lauryl sulfate (SLS) (Pharma, ไทย), Deionized water, Ethylcellulose 10 CPS. (Ethocel[®], เยอรมนี), Methylene chloride (Carlo Erba, ฝรั่งเศส), Polyvinyl alcohol (PVA) (Acros, สหรัฐอเมริกา), Methanol (Carlo Erba, ฝรั่งเศส)

วิธีการทดลอง

1.ศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบ

เชิงซ้อนของ Propranolol HCl และ SLS

การศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนประจุมตรงข้ามระหว่าง propranolol HCl และ SLS ได้มีการปรับปรุงวิธีการทดลองจากผลงานวิจัยของ Unchalee Kositprapa, B.Sc. (PHARM) เรื่อง "Characterization and Preparation of Drug Complex and Their Delivery Systems โดยการเตรียม 50 มิลลิโมลาร์ propranolol HCl (P) stock solution และ 50 มิลลิโมลาร์ SLS stock solution ผสมสารละลาย propranolol HCl และ SLS ในหลอดทดลองที่มีฝาปิดขนาด 50 มิลลิลิตร (n=2) มีความเข้มข้นรวมเท่ากับ 10 มิลลิโมลาร์ ทุกอัตราส่วน (ตาราง 1) เขย่าด้วย Horizontal shaker 190 rpm สังเกตการเกิดตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อน เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา วัดค่าความขุ่นของสารที่ 520 นาโนเมตร และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็วรอบการหมุน 12,000 รอบ ต่ออนาทินาน 15 นาที นำส่วนสารละลายใส วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) 290 นาโนเมตร เพื่อหาปริมาณสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้น โดยการวิเคราะห์หาปริมาณ free drug ที่เหลือในปฏิกิริยาซึ่งเป็น indirect method (Choi and Park, 2000)

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณ propranolol HCl (P) และ sodium lauryl sulfate (SLS) ในการหาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

อัตราส่วน P:SLS (mmolar)	Propranolol HCl (ml)	SLS (ml)	Deionize water (ml)
10 : 0	10	0	40
7 : 3	7	3	40
6.5 : 3.5	6.5	3.5	40
5.5 : 4.5	5.5	4.5	40
5 : 5	5	5	40
4.5 : 5.5	4.5	5.5	40
3.5 : 6.5	3.5	6.5	40
3 : 7	3	7	40
0 : 10	0	10	40

2. การเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนของ propranolol HCl และ SLS

หลังจากได้อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ propranolol HCl และ SLS ที่ให้ปริมาณสารประกอบเชิงซ้อนมากที่สุด จึงเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนโดยล้างตะกอนที่ได้ด้วย deionize water 200 มิลลิลิตร ทำให้แห้งด้วย freeze dry 72 ชั่วโมง เก็บตะกอนที่ได้ใน desiccator เพื่อนำมาวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ เตรียมไมโครพาร์ติเคิลและศึกษาการปลดปล่อยตัวยาต่อไป

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณ propranolol HCl ใน propranolol HCl – SLS complex

โดยชั่งผง propranolol HCl - SLS complex 20 มิลลิกรัม ละลายใน cosolvent ของ methanol:H₂O (2:3) จนครบ 20 มิลลิลิตร เขย่าใน Horizontal shaker 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) 290 นาโนเมตร

2.2 การวิเคราะห์ค่าการละลายของ propranolol HCl – SLS complex

โดยชั่งผง propranolol HCl – SLS complex 20 มิลลิกรัม เติม deionize water 50 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด เขย่าใน Horizontal shaker ที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง บั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็วรอบการหมุน 12,000 รอบต่อนาที

นาน 5 นาที กรองให้ได้สารละลายใส วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) 290 นาโนเมตร

2.3 การวิเคราะห์หาค่า partition coefficient ของ propranolol HCl – SLS complex

เตรียมสารละลายผสมระหว่าง n-Octanol 5 มิลลิลิตร และ deionize water 160 มิลลิลิตร ใน separating funnel เขย่านาน 1 ชั่วโมงและตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย 0.1% W/V propranolol HCl – SLS complex ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่า separating funnel 180 องศา นาน 5 นาที พักไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้สารละลายผสมอยู่ในภาวะสมดุล ไขกอกเพื่อเก็บ phase น้ำ 40 มิลลิลิตร บั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็วรอบการหมุน 2,500 รอบ ต่อนาที นาน 20 นาที วิเคราะห์หาความเข้มข้นของยา propranolol HCl ใน phase น้ำ โดยคำนวณจากกราฟมาตรฐาน propranolol HCl ใน deionize water วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) 290 นาโนเมตร คำนวณหาค่า Partition coefficient ดังสมการ

$$P o/w = \frac{\text{ความเข้มข้นของยาใน Octanol phase}}{\text{ความเข้มข้นของยาใน Water phase}}$$

2.4 การประเมินคุณลักษณะของ propranolol HCl – SLS complex

นำผง propranolol HCl - SLS complex ที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง differential scanning calorimeter (DSC) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงเชิงพลังงานของสาร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง X-ray diffraction เพื่อศึกษาการจัดเรียงตัวของรูปผลึกของสารนิยมใช้แยกความแตกต่างระหว่าง crystalline solid และ amorphous solid

3. การเตรียมไมโครพาร์ติเคิล

เตรียมโดยใช้วิธีระเหยตัวทำละลาย (O/W solvent evaporation method) ใช้ 0.25% w/v PVA solution 400 มิลลิลิตร เป็นวัสดุภายนอกและ ethylcellulose 300 mg ละลายในตัวทำละลายคือ dichlorometane 5.2 กรัม เป็นวัสดุภายในเพื่อกักเก็บตัวยาคือ propranolol HCl และ propranolol HCl - SLS complex อย่างละ 100 มิลลิกรัม ประเมินผลการเตรียมจากลักษณะพื้นผิวของไมโครพาร์ติเคิลด้วยเครื่อง SEM 20 Kv ประเมินร้อยละของไมโครพาร์ติเคิลที่เตรียมได้ (% yield) และร้อยละการกักเก็บตัวยาคือ (% encapsulation efficiency) จากสมการ

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{total obtained weight of microparticle}}{\text{practical weight of polymer}} \times 100$$

$$\% \text{Encapsulation efficiency} = \frac{\text{practical drug load}}{\text{theoretical drug load}} \times 100$$

4. การศึกษาการปลดปล่อยตัวยาคือ สารละลาย 0.1 N HCl pH 1.2, phosphate buffer pH 6.8

4.1 การศึกษาการปลดปล่อยตัวยาคือ propranolol HCl – SLS complex

โดยใช้ USP apparatus 2 ความเร็วรอบการหมุน 100 รอบ ต่อนาที อุณหภูมิ 37 ± 5 °C ซึ่งตัวยาคือ propranolol HCl - SLS complex 100 มิลลิกรัม (n=2) ปริมาตรสารละลายตัวกลาง 250 มิลลิลิตร สุ่มตัวอย่าง 1.5 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง 0.2 ไมโครเมตร

ที่เวลา 15, 30, 45 นาที และ 1, 2, 4, 6, 12, 24 ชั่วโมง นำสารละลายใส่ วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) 290 นาโนเมตร พร้อมทั้งใส่สารละลายทดแทนเท่ากับปริมาณที่สุ่มขึ้นมา

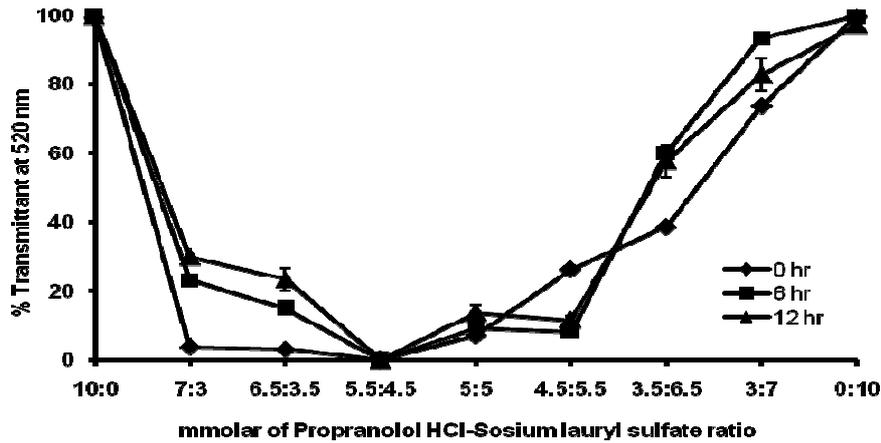
4.2 การศึกษาการปลดปล่อยตัวยาคือ propranolol HCl - SLS complex ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิล

โดยใช้ Incubator shaker ความเร็วรอบการหมุน 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37.0 °C ซึ่งไมโครพาร์ติเคิล 20 มิลลิกรัม (n=2) ปริมาตรสารละลายตัวกลาง 20 มิลลิลิตร สุ่มตัวอย่าง 1.0 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็วรอบการหมุน 10,000 รอบ ต่อนาที นาน 2 นาที ที่เวลา 15, 30, 45 นาที และ 1, 2, 4, 6, 12, 24 ชั่วโมง นำสารละลายใส่ วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) 290 นาโนเมตร พร้อมทั้งใส่สารละลายทดแทนเท่ากับปริมาณที่สุ่มขึ้นมา

ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาอัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ propranolol HCl และ SLS

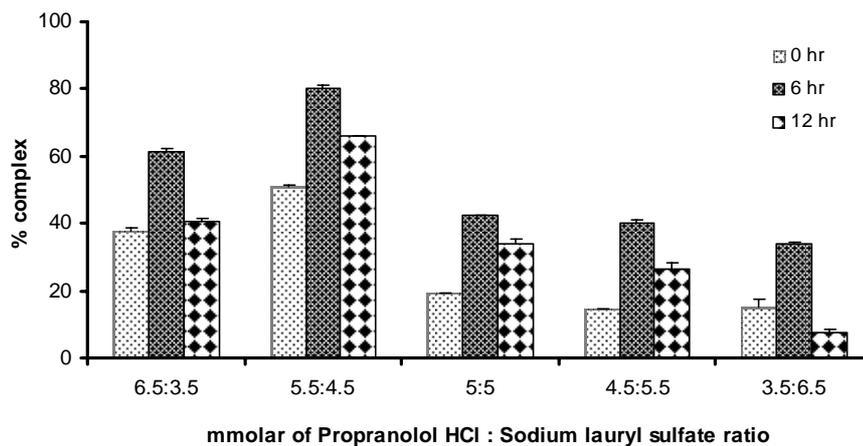
ผลการวิเคราะห์อัตราส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ propranolol HCl และ SLS จากการพิจารณาค่าความขุ่น พบว่าที่อัตราส่วนต่าง ๆ ให้ค่าความขุ่นที่แตกต่างกัน (รูปที่ 1) เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์นั้นจะสังเกตเห็นตะกอนสีขาวขุ่นที่ได้จากสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำ ทำให้การส่องผ่านแสงเปลี่ยนแปลงตามปริมาณตะกอนที่เกิดขึ้น (Unchalee Kositprapa, 1996) และพบว่าอัตราส่วนระหว่าง propranolol HCl และ SLS ที่ 5.5 ต่อ 4.5 มิลลิโมลาร์ มีค่าความขุ่นมากที่สุด ซึ่งแสดงเป็นค่าการส่องผ่านของแสงน้อยสุด



รูปที่ 1 กราฟแสดงค่าความขุ่นของ Propranolol HCl : SLS แต่ละอัตราส่วนที่เวลาต่างแตกต่างกัน

จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนจากปริมาณ free drug ที่เหลือในปฏิกิริยา ซึ่งเป็น indirect method (Choi and Park, 2000) โดยคำนวณจากกราฟมาตรฐาน propranolol HCl ใน deionize water $y = 0.0205x + 0.0109$ $R^2 =$

0.9997 พบว่าอัตราส่วนที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนมากที่สุดระหว่าง propranolol HCl และ SLS คือ 5.5 ต่อ 4.5 มิลลิโมลาร์ตามลำดับ (รูปที่ 2) ระยะเวลาในการเขย่าเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ ได้สารประกอบเชิงซ้อนมากที่สุดต้องใช้เวลา 6 ชั่วโมง



รูปที่ 2 แสดงปริมาณสารประกอบเชิงซ้อนของ propranolol HCl : SLS แต่ละอัตราส่วนที่เวลาต่างแตกต่างกัน

2. ผลการเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนของ propranolol HCl และ SLS

2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ propranolol HCl ใน propranolol HCl – SLS complex

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณของ propranolol HCl ใน propranolol HCl – SLS complex 100 mg จากการเตรียมกราฟมาตรฐานของ propranolol HCl ใน cosolvent ของ methanol ต่อ H₂O (2:3) ที่ $y = 0.0209x + 0.0012$ และค่า $R^2 = 0.9993$ พบว่า มีปริมาณยา propranolol HCl 47.8 ± 0.5 มิลลิกรัม

2.2 ผลการวิเคราะห์ค่าการละลายของ propranolol HCl – SLS complex

การทดสอบค่าการละลายของ propranolol HCl – SLS complex พบว่า สารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมได้มีค่าการละลายในน้ำน้อยกว่า 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งลดลงเมื่อเทียบกับค่าการละลายของผงยา propranolol HCl ที่มีค่าการละลายเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.3 ผลการวิเคราะห์หาค่า partition coefficient ของ propranolol HCl – SLS complex

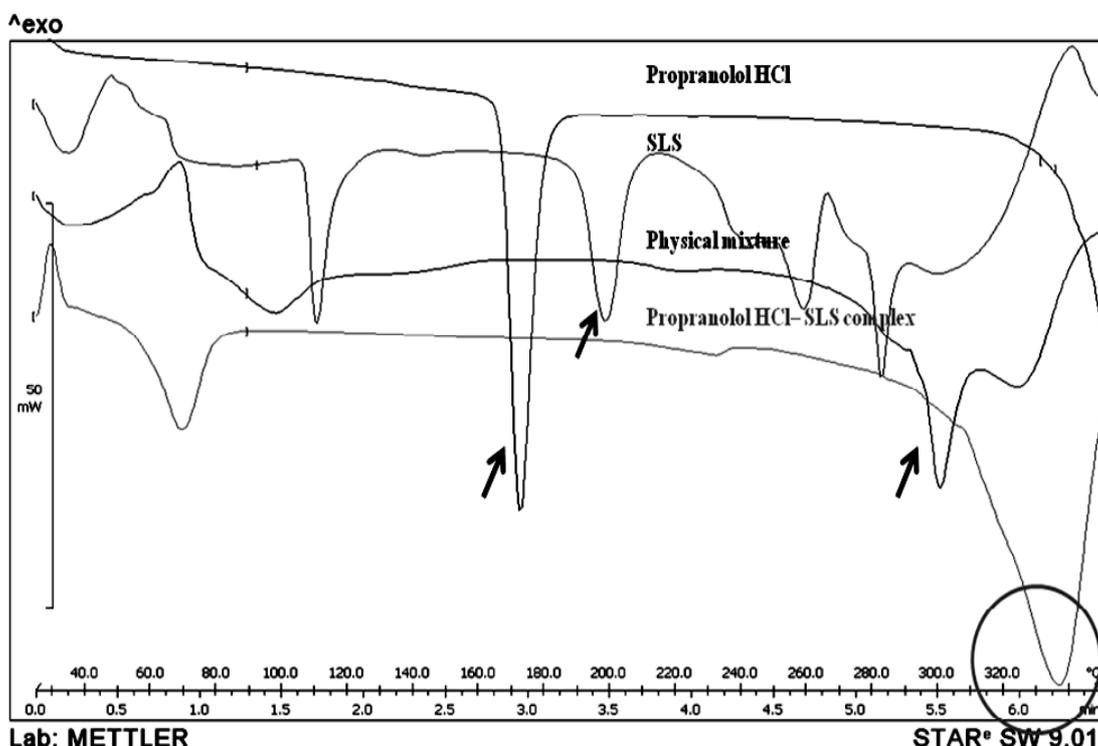
การศึกษาค่า partition coefficient ศึกษาโดยใช้ n-Octanol และน้ำ พบว่า มีค่า partition coefficient = 1.75 ± 0.13

2.4 ผลการประเมินคุณลักษณะของ propranolol HCl – SLS complex

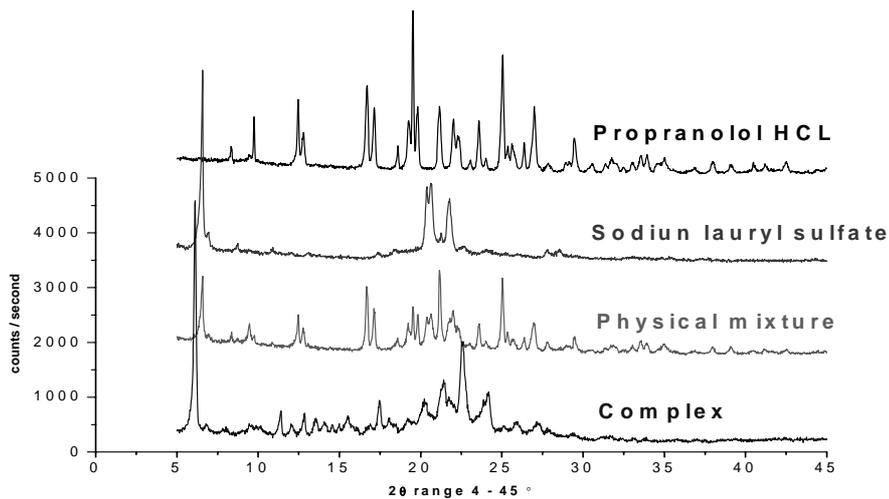
การศึกษาคุณลักษณะ propranolol-SLS complex มีวัตถุประสงค์เพื่อพิสูจน์การเกิดสารใหม่ด้วยเครื่อง differential scanning calorimetry จาก thermograms (รูปที่ 3) พบว่า ตัวยา propranolol HCl เกิด peak ที่จุดหลอมเหลวของตัวยาคือที่ 168°C SLS เกิด peak สองตำแหน่งคือที่จุดหลอมเหลวของสารคือ 202°C และที่อุณหภูมิ 110°C ซึ่งอาจเป็น peak solvate ของ SLS การที่ propranolol HCl – SLS physical mixture ไม่แสดง peak ของ propranolol HCl และ SLS เนื่องจากอาจเกิดอันตรกิริยาระหว่างยากับ SLS เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งอาจมีการศึกษาด้วยวิธีอื่นๆ

เพิ่มเติมเช่น การศึกษาหมู่ functional group ว่ามีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่ด้วยวิธี fourier transform infrared spectrometer (FTIR) และเป็นที่น่าสนใจที่พบว่า thermograms Propranolol – SLS complex ปรากฏ peak ที่ 330°C และผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง x-ray diffraction พบว่ากราฟของ propranolol HCl – SLS physical mixture เกิดจากการรวมกันของ propranolol HCl และ SLS ส่วนกราฟ propranolol HCl – SLS complex มีความแตกต่างไปจากกราฟ propranolol HCl และ SLS อีกทั้งมีความคมของ peak เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4)

การที่ผล propranolol HCl – SLS complex ไม่แสดง peak ที่จุดหลอมเหลวของ propranolol HCl แสดงว่า propranolol ไม่มีการเกิดโครงสร้างผลึกของ propranolol HCl แต่อาจเกิดโครงสร้างผลึกร่วมกับ SLS ซึ่งหากพิจารณาร่วมกับกราฟ x-ray diffraction จะเห็นว่ารูปผลึกของ propranolol HCl – SLS complex แตกต่างจาก propranolol HCl และ SLS



รูปที่ 3 DSC thermogram ของ propranolol HCl, SLS, propranolol HCl-SLS physical mixture, propranolol HCl - SLS complex



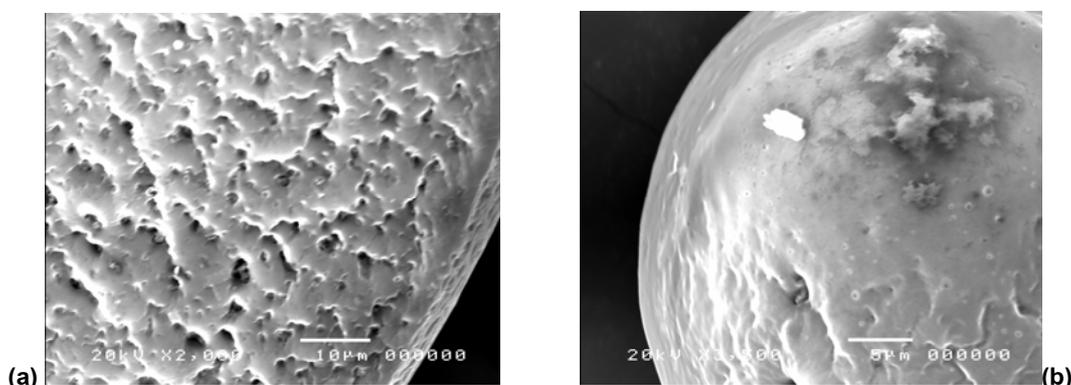
รูปที่ 4 Powder X-ray diffraction ของ propranolol HCl, SLS, propranolol HCl-SLS physical mixture, propranolol HCl - SLS complex

3. ผลการเตรียมไมโครพาร์ติเคิล

จากผลการเตรียมไมโครพาร์ติเคิล พบว่า propranolol HCl - SLS complex ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิล มี % yield มากกว่ายา propranolol HCl ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิล เมื่อพิจารณา % encapsulation efficacy พบว่า propranolol HCl - SLS complex ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิลมี % encapsulation efficacy = 35.43 ± 1.61 มากกว่ายา propranolol HCl ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิลซึ่งมี % encapsulation efficacy เพียง = 2.26 ± 0.19

จากการศึกษาลักษณะของไมโครพาร์ติเคิลที่เตรียมได้พบว่า propranolol HCl - SLS complex ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิลมีลักษณะ free flow และกลม ขณะที่ไมโครพาร์ติเคิลของ propranolol HCl มีน้ำหนัก

เบาและเกาะกันเป็นแผ่น เมื่อศึกษาลักษณะพื้นผิวด้วยกล้อง SEM พบว่า ภาพตัดขวางของ propranolol HCl - SLS complex ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิลมีผงยาบรรจุอยู่ภายใน ลักษณะพื้นผิวของ มีช่องว่างขนาดเล็กเกิดขึ้น ขณะที่พื้นผิวของ propranolol HCl ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิลมีผงยาเกาะอยู่ภายนอก และ ethyl cellulose เกิดไมโครพาร์ติเคิลได้ไม่สมบูรณ์ เมื่อศึกษา ลักษณะของผงยา พบว่า ผงยาของ propranolol HCl - SLS complex มีขนาดใหญ่กว่าผง propranolol HCl แต่ยังไม่สามารถสังเกตเห็นองค์ประกอบอื่น ๆ เช่นอนุภาคของน้ำ เนื่องจากกำลังขยายน้อยเกินไป ในการศึกษาครั้งต่อไปจึงควรเพิ่มกำลังขยายเพื่อให้สังเกตเห็นได้ง่ายขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 5

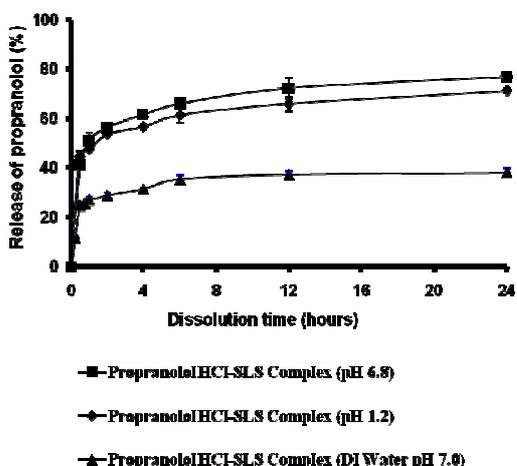


รูปที่ 5 ภาพถ่ายจาก Scanning Electron Microscope (SEM) แสดงลักษณะภาพตัดขวาง propranolol HCl-SLS complex microparticle (x2,000) (a) พื้นผิว propranolol HCl microparticle (x3,500) (b)

4. ผลการศึกษาการปลดปล่อยตัวยาในสารละลาย 0.1 N HCl pH 1.2, phosphate buffer pH 6.8

4.1 ผลการศึกษาการปลดปล่อยตัวยาของ propranolol HCl – SLS complex

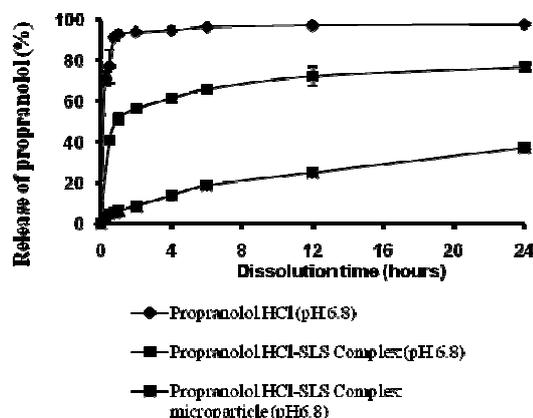
เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาการปลดปล่อยตัวยาแบบนอกร่าง (*in vitro* drug release) ของ propranolol HCl - SLS complex ใน สารละลายที่มีค่า pH แตกต่างกันโดยคำนวณหาปริมาณตัวยาที่ปลดปล่อยจากกราฟมาตรฐานของ propranolol HCl ใน Phosphate buffer pH 6.8 $y = 0.0192x + 0.0058$ $R^2 = 0.9996$ และ กราฟมาตรฐานของ propranolol HCl ใน 0.1 N HCl pH 1.2 $y = 0.0187x + 0.003$ $R^2 = 0.9993$ พบว่า ใน phosphate buffer pH 6.8 propranolol HCl-SLS complex จะสามารถปลดปล่อยยาออกมาได้เร็วกว่าในสารละลาย 0.1 N HCl pH 1.2 แต่ผลไม่มีความแตกต่างกันมากนัก และผลการศึกษาการปลดปล่อยตัวยาของ propranolol HCl-SLS complex ใน deionize water พบว่า propranolol HCl-SLS complex มีการปลดปล่อยตัวยาออกมาช้าที่สุด (รูปที่ 5) เนื่องจาก deionize water ไม่มีชั้น counter ion ที่จะไปรบกวนการปลดปล่อยของตัวยาออกมา (Sriwongjanya and Bodmeier, 1998)



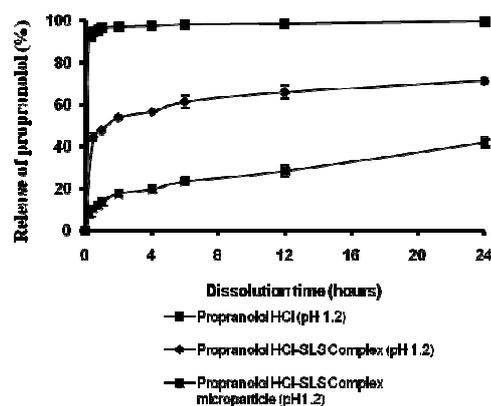
รูปที่ 6 เปรียบเทียบการปลดปล่อยยาของ propranolol HCl - SLS complex

4.2 ผลการศึกษาการปลดปล่อยตัวยาของ propranolol HCl - SLS complex ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิล

การเปรียบเทียบอัตราการปลดปล่อยตัวยาของ ผงยา propranolol HCl เดี่ยวๆกับ propranolol HCl - SLS complex และ propranolol HCl – SLS complex ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิล (รูปที่ 7-8) พบว่า propranolol HCl - SLS complex ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิล มีอัตราการปลดปล่อยตัวยาช้าที่สุด รองลงมาคือ propranolol HCl - SLS complex และ ผงยา propranolol HCl ตามลำดับ



รูปที่ 7 เปรียบเทียบการปลดปล่อยยาใน phosphate buffer pH 6.8 ระหว่าง propranolol HCl, propranolol HCl - SLS complex และ propranolol HCl - SLS complex microparticle



รูปที่ 8 เปรียบเทียบการปลดปล่อยยาใน 0.1 N HCl pH 1.2 ระหว่าง ระหว่าง propranolol HCl, propranolol HCl - SLS complex และ propranolol HCl - SLS complex microparticle

วิจารณ์และสรุปผล

ในขั้นตอนการเตรียม propranolol HCl - SLS complex หากใช้ความเข้มข้นของ anionic surfactants เกิน critical micelle concentration จะยิ่งเพิ่มการละลายของยา (Nokhodchia et al., 2002) จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์หาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่าง cationic drug และ anionic surfactants จากการศึกษาพบว่าอัตราส่วนที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนมากที่สุดของยา propranolol HCl และ SLS คือ 5.5 ต่อ 4.5 มิลลิโมลาร์ เวลาในการเขย่าเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์คือ 6 ชั่วโมง การศึกษาค่าการละลายของ propranolol HCl - SLS complex พบว่า มีค่า น้อยกว่า 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของน้ำ ซึ่งเป็นเหตุผลหนึ่งที่ใช้สนับสนุนการละลายน้ำที่ลดลงของสารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมได้ เหตุผลที่ทำให้ค่าการละลายของ propranolol HCl - SLS complex ลดลง เนื่องจาก เมื่อ propranolol HCl แยกตัวที่ pH ต่ำกว่า pKa ของยา propranolol HCl (pKa =9.5) จะให้ประจุบวก และ SLS ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวประจุลบ เมื่อทำปฏิกิริยาจะเกิดรูปเกลือของ propranolol lauryl salt (Aungst and ussain, 1992) โครงสร้างที่ใหญ่กว่ารูปเกลือ hydrochloride และลักษณะการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ SLS ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวจะเป็นลักษณะ reverse micelles (Jeffrey and Mark, 1998) นั่นคือการหันส่วนของ hydrophobic tail ออกด้านนอก ทำให้ propranolol HCl - SLS complex มีความสามารถในการละลายน้ำลดลง การศึกษาค่า Partition coefficient พบว่าค่า partition coefficient เท่ากับ 1.75 ± 0.13 จากค่า partition coefficient ที่มีค่ามากกว่า 1 เป็นอีก parameter ที่แสดงถึงความเป็น lipophilic drug การศึกษา DSC thermograms propranolol - SLS complex ไม่ปรากฏ peak ที่จุดหลอมเหลวของตัวยา propranolol HCl และ ไม่ปรากฏ peak ของ SLS แต่จะปรากฏ peak ที่ 330°C เมื่อพิจารณาร่วมกับกราฟ X-ray diffraction ของ propranolol - SLS complex มีความแตกต่างไปจากกราฟของ propranolol HCl และ SLS อีกทั้งมีความคมของ peak เพิ่มมากขึ้นซึ่งแสดงถึงการเกิดสารใหม่ บ่งบอกถึงการจัดเรียงตัวของโมเลกุลอย่างเป็นระเบียบ

(crystalline solid) มีข้อดีคือช่วยให้สารประกอบเชิงซ้อนมีความคงตัวมากขึ้น

จากผลการเตรียมไมโครพาร์ติเคิล เพื่อศึกษาความสามารถในการกักเก็บตัวยาในไมโครพาร์ติเคิล ซึ่งเตรียมด้วยวิธี O/W solvent evaporation ในขั้นตอนการละลายตัวยา propranolol HCl ด้วย dichlorometane พบว่าตัวยา propranolol HCl ไม่สามารถละลายได้หมดมีลักษณะเป็น solid dispersion ขณะที่ propranolol HCl - SLS complex สามารถละลายใน dichlorometane ซึ่งเป็น organic solvent ได้ สารละลายใส จากผลการประเมิน % encapsulation efficacy พบว่า propranolol HCl - SLS complex สามารถกักเก็บในไมโครพาร์ติเคิลได้ดีกว่าตัวยา propranolol HCl เนื่องจากการเตรียมไมโครพาร์ติเคิลด้วยวิธี o/w solvent evaporation จะกักเก็บยาที่มีความเป็น lipophilic drug ไว้ภายในได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษา partition coefficient ของ propranolol HCl - SLS complex ที่แสดงถึงความเป็น lipophilic ของสารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมได้ แต่อย่างไรก็ตาม อาจศึกษาสูตรตำรับในการเตรียมไมโครพาร์ติเคิลที่เหมาะสมเพื่อให้กักเก็บ propranolol HCl - SLS complex ให้ได้มากที่สุด ผลการศึกษาการปลดปล่อยตัวยา โดยศึกษาใน 0.1 N HCl pH 1.2 และ Phosphate buffer pH 6.8 พบว่า propranolol HCl - SLS complex ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิลมีอัตราการปลดปล่อยตัวยาช้าที่สุด รองลงมาคือ propranolol - SLS complex และผงยา propranolol HCl ตามลำดับ (รูปที่ 7-8) สาเหตุที่ทำให้ผงยา propranolol HCl มีอัตราการปลดปล่อยตัวยาอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเมื่อพิจารณาค่า pKa ของยา propranolol HCl แล้วพบว่า มีค่า pKa เท่ากับ 9.5 ซึ่งเมื่อนำผงยามาศึกษาอัตราการปลดปล่อยตัวยา 0.1 N HCl pH 1.2 และ phosphate buffer pH 6.8 ผลของ pH ที่ต่ำกว่าค่า pKa ของยา propranolol HCl ทำให้ยาสามารถแตกตัวและละลายได้หมดอย่างรวดเร็ว (Takka et al., 2000) ส่วนสาเหตุที่ทำให้ propranolol HCl - SLS complex ที่กักเก็บในไมโครพาร์ติเคิลมีอัตราการปลดปล่อยตัวยาที่ช้าที่สุด สามารถอธิบายได้ด้วยปัจจัย 2 ประการคือ คุณสมบัติของสารประกอบเชิงซ้อนที่มีค่าการละลาย

ลดลงทำให้การปลดปล่อยตัวยาลงและความสามารถในการปลดปล่อยตัวของไมโครพาร์ติเคิล เนื่องจาก ethylcellulose เป็นโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ กลไกการปลดปล่อยตัวยาจะเกิดกระบวนการ diffusion method การที่ยาจะถูกปลดปล่อยจากไมโครพาร์ติเคิลนั้น propranolol – SLS complex ต้องถูกละลายก่อนจึงมีการปลดปล่อยตัวยาออกมาได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยปริญญาโท โครงการสร้างปัญญาวิทย์ ผลิตนักเทคโนโลยี (Young Scientist and Technologist Programme: YSTP)

เอกสารอ้างอิง

ณรงค์ สาริสุต, 2535. การผลิตยาออกฤทธิ์เน้นและระบบนำส่งยาแบบต่าง ๆ. ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุธี เวคะวากยานนท์ และวัชรีย์ คุณกิตติ, 2541. เทคนิคการตั้งตำรับยาเตรียม. ภาควิชาเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Adachi Y, Yoshida J, Koderia Y et al. 2006. Oral administration of a zinc complex improves type 2 diabetes and metabolic syndromes. *Biochem and Biophys Res Commun* 351: 165–170.

Aungst BJ, Hussain MA. 1992. Sustained popanolol delivery and increased oral bioavailability in dogs given popanolol laurate salt. *Pharm Res* 9: 1507-1508.

Choi SH, Park TG. 2000. Hydrophobic ion pair formation between leuprolide and sodium oleate for sustain release form biodegradable polymeric microspheres, *Int J Pharm* 203: 193-202.

Guerrero DQ, Allemann E, Fessi H, et al. 1997. Applications of the ion pair concept to hydrophilic substances with spacial emphasis on peptides. *Pharm Res* 14: 119-127.

Huang YB, Tsai YH, Yang WC, et al. 2004. Optimization of Sustained-Release Propranolol Dosage form Using Factorial Design and Response Surface Methodology. *Biol Pharm Bull* 27: 1626-1629.

Jeffrey DM, Mark CM, 1998. Hydrophobic Ion Pairing : Altering the Solubility Properties of Biomolecules. *Pharm Res* 15: 188-193.

Kositprapa U. 1996. Characterization and preparation of drug complexes and their delivery systems. The university of Texas. Austin

Liu R. 2000. Water- insoluble Drug Formation. *Interpharm Press*. 214-217.

Nokhodchia A, Sania SN, Shadbada MR, et al. 2002. The effect of various surfactants on the release rate of propranolol hydrochloride from hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) - Eudragit matrices. *Eur J Pharm Biopharm* 54: 349–356.

Norrman M, Hubalek F, Schluckebier G. 2007. Structural characterization of insulin NPH formulations. *Eur J Pharm Sci* 30: 414–423.

Sriwongjanya M, Bodmeier R, 1998. Effect of ion exchange resins on the drug release from matrix tablets, *Eur J Pharm Biopharm* 46: 321-327.

Takka S, Rajbhandari S, Sakr A. 2000. Effect of anionic polymers on the release of propranolol hydrochloride from matrix tablets. *Eur J Pharm Biopharm* 52: 75-82.