

การพัฒนาเพลงเลตอีฟาวิเรนซ์  
โดยการพอกยาแขวนตะกอนให้เป็นชั้น

นางสาวชฎากาญจน์	ศิริสิทธิโชค	513 65234 33
นางสาวณัฐจิกา	นันทมน	513 65430 33
นางสาวสาวิตรี	สหกิจพิจารณ์	513 66802 33

โครงการปริญญาโทนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

เภสัชศาสตรบัณฑิต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2555

**Development of efavirenz pellets**  
**by suspension layering**

Miss Chadakarn Sirasitthichoke 513 65234 33

Miss Nattika Nimmano 513 65430 33

Miss Sawittree Sahakijpijarn 513 66802 33

A Senior Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

for the Bachelor of Science Program in Pharmacy

Chulalongkorn University

2012

## คำนำ

โครงการปริญญาโทเรื่อง การพัฒนาเพลตอีฟาวีเรนซ์โดยการพอกยาแขวนตะกอนให้เป็นชั้น รายงานได้กล่าวถึง การตั้งสูตรตำรับยาแขวนตะกอน การลดขนาดอนุภาคผงยาแขวนตะกอนด้วยเครื่อง high pressure homogenizer การพอกยาแขวนตะกอนบนเม็ดแกน โดยวิธีการพอกยาเป็นชั้น (layering) การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญด้วยวิธี high performance liquid chromatography รวมทั้งการประเมินผลทางกายภาพของยาแขวนตะกอนที่พอกเป็นชั้นบนอนุภาคแกนและการละลายของตัวยา

ทางผู้วิจัยคาดหวังว่าปริญญาโทฉบับนี้จะมีประโยชน์ต่อผู้อ่านและเป็นแนวทางในการพัฒนาเพลตต่อไป หากมีข้อผิดพลาดประการใดผู้วิจัยขออภัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย

โครงการลำดับที่.....  
วันที่.....

### บทคัดย่อปริญาานิพนธ์

**ชื่อโครงการ (ภาษาไทย)** : การพัฒนาเพลเลตอีฟาเวอเรนซ์โดยการพอกยาแขวนตะกอนให้เป็นชั้น  
**ชื่อโครงการ (ภาษาอังกฤษ)** : Development of efavirenz pellets by suspension layering  
**หัวหน้าโครงการ** : นางสาวชฎากาญจน์ ศิริสิทธิ์โชค 513 65234 33  
**ผู้ร่วมโครงการ** : นางสาวณัฐธิกา นิ่มมะโน 513 66430 33  
 : นางสาวสาวิตรี สหกิจพิจารณา 513 66802 33  
**อาจารย์ที่ปรึกษา** : อ. ญ. ดร.จิตติมา ชัชวาลย์สายสินธ์, ภก. วรชัช จูติกรพงศ์  
**ภาควิชา** : วิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม

ยาอีฟาเวอเรนซ์เป็นยาต้านไวรัสเอดส์ที่มีค่าการละลายน้ำต่ำ ทำให้มีข้อจำกัดด้านสภาพพร้อมใช้ทางชีวภาพ รูปแบบผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่ในท้องตลาดไม่เหมาะกับผู้ป่วยที่กลืนยายาก งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเพลเลต โดยเทคนิคการพอกยาแขวนตะกอนที่มีขนาดอนุภาคละเอียด ซึ่งอาจเป็นทางเลือกในการเพิ่มการละลายและเป็นรูปแบบที่เพิ่มความสะดวกในการรับประทานยาให้แก่ผู้ป่วย เตรียมเพลเลตโดยการนำยาแขวนตะกอนของอีฟาเวอเรนซ์ซึ่งมีพอลอกซาเมอร์ 188 และไฮดรอกซีโพรพิลเมธิลเซลลูโลสเป็นสารช่วยแขวนตะกอนในอัตราส่วน 1:1 ไปพอกชั้นบนลูกบิดแก้วด้วยหม้อเคลือบที่ติดตั้งหัวสเปรย์ ทำการประเมินผลของการลดขนาดอนุภาคด้วยยาและส่วนประกอบของสูตรตำรับต่อคุณสมบัติทางกายภาพของยาแขวนตะกอนที่พอกเป็นชั้นบนลูกบิดแก้ว ในด้านคุณสมบัติเชิงความร้อน ความเป็นผลึก ขนาดอนุภาคของตัวยาที่ได้จากการกระจายตัวกลับ และการละลายของตัวยา ผลการทดลองพบว่าขนาดอนุภาคตัวยาที่ได้จากการกระจายตัวกลับของยาแขวนตะกอนหลังการพอกชั้นบนลูกบิดแก้วมีขนาดใหญ่กว่าก่อนพอก และตัวยาที่พอกชั้นบนลูกบิดแก้วอยู่ในรูปอสัณฐาน เพลเลตของยาแขวนตะกอนที่ผ่านการลดขนาดและไม่ผ่านการลดขนาดมีการละลายที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีการละลายน้อยกว่าร้อยละ 25 ที่เวลา 90 นาที อย่างไรก็ตามพบว่าส่วนประกอบของสูตรตำรับมีผลในการเพิ่มการละลาย ดังนั้นควรมีการศึกษาพัฒนาสูตรตำรับและกระบวนการผลิตเพื่อเพิ่มการละลายของตัวยาต่อไป

ฝ่ายวิชาการ คณะเภสัชศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

.....  
อาจารย์ที่ปรึกษา

## กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาโครงการปริญญาโทนี้ ผู้ศึกษาขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ เกศษกรหญิง ดร. จิตติมา ชัชวาลย์สายสินธุ์ อาจารย์ที่ปรึกษา และ เกศษกร วรรัช สุติกรพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของโครงการนี้ ตลอดจนให้ความรู้และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงการปริญญาโทนี้

ขอขอบพระคุณ บริษัท Hetero Thailand จำกัด และองค์การเภสัชกรรม ที่เอื้อเฟื้อด้วยยาสำคัญ efavirenz

ขอขอบพระคุณอาจารย์ เกศษกรหญิง ดร. นฤพร สุตินทวิบูลย์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดจนให้ความรู้และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อ โครงการปริญญาโทนี้

ขอขอบคุณ เกศษกรหญิง สุจินดา กิระดิษฐ์นันท์ นิสิตปริญญาเอก ภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรมที่ให้ความช่วยเหลือในการติดต่อประสานงานเพื่อขอด้วยยาสำคัญ efavirenz และให้ความช่วยเหลือและคำปรึกษาเกี่ยวกับหลักการและการใช้เครื่องมือในการดำเนินโครงการ

ขอขอบคุณ เกศษกรสรณัฐ เชมฐสุรกุล นิสิตปริญญาโท ภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรมที่กรุณาเอื้อเฟื้อด้วยยาสำคัญ efavirenz และให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์

ขอขอบคุณ นิสิตเภสัชศาสตร์ รัชฎพิสิษฐ์ จันทร์กิตติชัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการทดลอง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม และเจ้าหน้าที่ประจำหน่วยปฏิบัติการกลาง คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ความสะดวกในการดำเนินโครงการนี้ และขอขอบพระคุณศูนย์นวัตกรรมทางยาและผลิตภัณฑ์สุขภาพ แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (CU.D.HIP) ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ

## สารบัญ

บทคัดย่อปริญญาานิพนธ์.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทัศนั้วรรณกรรม.....	3
2.1 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของ efavirenz.....	3
2.2 การละลายของยาในรูปแบบของแข็ง.....	4
2.3 การพัฒนายาน้ำแขวนตะกอนโดยวิธีการลดขนาด.....	9
2.4 แนวทางการเตรียมยาแขวนตะกอนขนาดนาโน.....	11
2.5 เพลเล็ต (pellet).....	17
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	22
3.1 สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	22
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย.....	25
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย.....	32
4.1 ผลการศึกษาเบื้องต้นสูตรตำรับ.....	32
4.2 ผลการศึกษการพัฒนาสูตรตำรับยาแขวนตะกอน.....	34
4.3 ผลการศึกษสูตรตำรับยาแขวนตะกอน.....	39

4.4	ผลการศึกษาการพอกยาแขวนตะกอนบน glass bead.....	39
4.5	ผลการหาปริมาณ (assay) ยาแขวนตะกอนที่พอกชั้นบน glass bead ด้วยวิธี HPLC.....	40
4.6	ผลคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของยาแขวนตะกอน และ เฟลเลต efavirenz .....	41
บทที่ 5	สรุปผลการศึกษา .....	53
	รายการอ้างอิง.....	54
	ภาคผนวก.....	57

## สารบัญภาพ

รูปที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างของ efavirenz.....	3
รูปที่ 2 แสดงผลิตภัณฑ์ยา efavirenz ในประเทศไทย.....	4
รูปที่ 3 แสดงกระบวนการแตกตัว การละลาย และการดูดซึมของยาเตรียมรูปแบบของแข็ง.....	5
รูปที่ 4 แสดง diffusion layer model.....	6
รูปที่ 5 แสดงความชอบในการเปียกน้ำ.....	9
รูปที่ 6 แสดงเครื่อง high pressure homogenizer.....	12
รูปที่ 7 แสดงเครื่อง high pressure homogenizer.....	13
รูปที่ 8 แสดงกระบวนการผลิตเพลเล็ตด้วยเทคนิค extrusion and spheronization.....	18
รูปที่ 9 แสดงกระบวนการผลิตเพลเล็ตด้วยเทคนิค drug layering.....	19
รูปที่ 10 แสดงกระบวนการผลิตเพลเล็ตด้วยเทคนิค direct pelletization.....	21
รูปที่ 11 แสดงการกระจายขนาดอนุภาคของยา efavirenz ซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบ.....	32
รูปที่ 12 แสดงภาพถ่ายจาก SEM ของ efvirenz ที่กำลังขยาย 5000X.....	32
รูปที่ 13 แสดงภาพถ่ายจาก SEM ของ poloxamer188 ที่กำลังขยาย 5000X.....	33
รูปที่ 14 แสดงภาพถ่ายจาก SEM ของ HPMC ที่กำลังขยาย 5000X.....	33
รูปที่ 15 แสดงความสัมพันธ์ของจำนวนรอบในการผ่าน high pressure homogenizer ที่มีผลต่อขนาดอนุภาค.....	37
รูปที่ 16 กราฟแสดง %การละลายของตัวยาจากยาแขวนตะกอนสูตร Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5.....	42
รูปที่ 17 แสดง %การละลายของตัวยาจากเพลเล็ตสูตร Rx2, Rx4 และ Rx5.....	43
รูปที่ 18 แสดง % การละลายของตัวยาจากยาแขวนตะกอนและเพลเล็ตของสูตร Rx1, Rx2.....	44
รูปที่ 19 แสดงการละลายตัวยาจากยาแขวนตะกอนของสูตร Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5.....	45
รูปที่ 20 แสดงการละลายตัวยาจากเพลเล็ตของสูตร Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5.....	46
รูปที่ 21 แสดงการส่องกราดของอนุภาคของพื้นผิว glass bead ที่พอกเป็นชั้นด้วยสูตร Rx1 โดยใช้กำลังขยายของกล้อง 15X, 1500X และ 3500X ตามลำดับ.....	47
รูปที่ 22 แสดงการส่องกราดของอนุภาคของพื้นผิว glass bead ที่พอกเป็นชั้นด้วยสูตร Rx2 โดยใช้.....	47
รูปที่ 23 แสดงการส่องกราดของอนุภาคของพื้นผิว glass bead ที่พอกเป็นชั้นด้วยสูตร Rx4 โดยใช้กำลังขยายของกล้อง 15X, 1500X และ 3500X ตามลำดับ.....	47



รูปที่ 24 แสดงการส่องกราดของอนุภาคของพื้นผิว glass bead ที่พอกเป็นชั้นด้วยสูตร Rx5 โดยใช้กำลังขยายของกล้อง 15X, 1500X และ 3500X ตามลำดับ .....48

รูปที่ 25 แสดง XRPD diffractogram เพื่อดูความเป็นผลึกของยา efavirez, poloxamer 188 และ HPMC กับ physical mixture ของ efavirez, poloxamer 188 และ HPMC ในอัตราส่วน 1:1:1.....49

รูปที่ 26 แสดง XRPD diffractogram เปรียบเทียบความเป็นผลึกของยา efavirez กับ สูตรตำรับยาแขวนตะกอนที่ผ่านการลดขนาด และไม่ผ่านการลดขนาด .....49

รูปที่ 27 แสดง XRPD diffractogram เปรียบเทียบความเป็นผลึกของยา efavirez, poloxamer 188 และ HPMC กับ physical mixture ของ efavirez, poloxamer 188 และ HPMC ในอัตราส่วน 1:1:1 กับสูตรตำรับยาแขวนตะกอนต่าง ๆ .....50

รูปที่ 28 แสดง DSC thermogram การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงความร้อนของสูตรตำรับยาแขวนตะกอนซึ่งพอกชั้นบนเพลตที่ผ่านการลดขนาดและไม่ผ่านการลดขนาด กับส่วนประกอบต่าง ๆ ในสูตรตำรับ...51

รูปที่ 29 แสดง DSC thermogram การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงความร้อนของสูตรตำรับยาแขวนตะกอนซึ่งพอกชั้นบนเพลตที่ไม่ผ่านการลดขนาด กับส่วนประกอบต่าง ๆ ในสูตรตำรับ .....51

รูปที่ 30 แสดง chromatogram ยา efavirenz ละลายใน methanol .....60

รูปที่ 31 แสดง chromatogram ยา efavirenz ละลายใน methanol (ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง).....61

รูปที่ 32 แสดง chromatogram ของ 1 N hydrogen peroxide .....61

รูปที่ 33 แสดง chromatogram ยา efavirenz ละลายใน 1 N hydrogen peroxide.....61

รูปที่ 34 แสดง chromatogram ของ 1 N Sodium hydroxide.....62

รูปที่ 35 แสดง chromatogram ยา efavirenz ละลายใน 1 N sodium hydroxide .....62

รูปที่ 36 แสดง chromatogram ของ 1 N hydrochloric acid .....62

รูปที่ 37 แสดง chromatogram ยา efavirenz ละลายใน 1 N hydrochloric acid.....63

รูปที่ 38 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง พื้นที่ใต้กราฟ และความเข้มข้นจากการวิเคราะห์ด้วย HPLC .....65

## สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงข้อดีและข้อเสียของวิธีต่างๆ ในการเตรียมยาแขวนตะกอนขนาดนาโน.....	14
ตารางที่ 2 แสดงส่วนประกอบของสูตรตำรับ .....	26
ตารางที่ 3 แสดงผลค่าเฉลี่ยวัด sedimentation volume ของสูตรที่ใช้ poloxamer เกรด 407 และ 188 เป็น flocculating agent ในปริมาณ 1-5% ของสูตรตำรับ (n=3).....	34
ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของการวัด sedimentation volume ของสูตรตำรับที่ใช้ HPMC ในปริมาณ 1% เป็น suspending agent และ สูตรตำรับที่ไม่มี HPMC เป็นส่วนประกอบ (n=3).....	35
ตารางที่ 5 แสดงส่วนประกอบของสูตรตำรับที่ผ่านการลดขนาด ด้วย high pressure homogenizer .....	36
ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาค ( $d_{50}(SD)$ , n=3) เมื่อผ่านการลดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง high pressure homogenizer .....	36
ตารางที่ 7 แสดงขนาดอนุภาคเฉลี่ย ( $d_{50}(SD)$ , n=3) ของสูตร F1 และ F2 เมื่อทำการลดขนาดด้วย high pressure homogenizer จำนวน 3 รอบ ในช่วงความดัน 800-1200 bar และหลังการลดขนาดอนุภาค ชั่วโมงที่ 1, 3, 6, 9 และ 24 .....	38
ตารางที่ 8 แสดงส่วนประกอบของสูตรตำรับที่ทำการเตรียมและพอกชั้นบน glass bead .....	39
ตารางที่ 9 แสดง %weight gain ของการพอกยาแขวนตะกอนของทั้ง 5 สูตรตำรับบน glass bead 100 กรัม.....	39
ตารางที่ 10 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ efavirenz จาก glass bead ที่พอกชั้น .....	40
ตารางที่ 11 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยขนาดอนุภาคของยาแขวนตะกอนก่อนพอกและอนุภาคของ.....	41
ตารางที่ 12 แสดง % ปริมาณยาสะสมเมื่อเวลาผ่านไป 15 30 45 60 และ 90 นาทีของยาแขวนตะกอนสูตร Rx1, Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5 .....	42
ตารางที่ 13 แสดง % ปริมาณยาสะสมเมื่อเวลาผ่านไป 15 30 45 60 และ 90 นาทีของสูตรยาแขวนตะกอนที่พอกชั้นบน glass bead ของสูตร Rx1, Rx2, Rx4 และ Rx5 .....	43
ตารางที่ 14 แสดงผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ด้วย HPLC ในหัวข้อ linearity .....	63
ตารางที่ 15 แสดงผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ด้วย HPLC ในหัวข้อ precision.....	66
ตารางที่ 16 แสดงผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ด้วย HPLC ในหัวข้อ accuracy .....	67

## บทที่ 1 บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ความสามารถในการละลายน้ำเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลถึงสภาพพร้อมใช้ทางชีวภาพ (bioavailability) โดยยาที่มีค่าการละลายน้ำต่ำจะยากต่อการตั้งสูตรตำรับ เทคนิคการทำยาแขวนตะกอน ขนาดนาโน<sup>1-4</sup> เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถเพิ่มการละลายของยาที่มีค่าการละลายน้ำต่ำ ซึ่งการลดขนาดอนุภาคของตัวยาให้ได้ขนาดนาโนจะส่งผลให้เพิ่มอัตราการละลายและเพิ่มสภาพพร้อมใช้ทางชีวภาพ<sup>5-7</sup> นอกจากนี้การลดขนาดอนุภาคของตัวยาและกระบวนการพอกยาอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจากรูปผลึกเป็นรูปอสัณฐาน<sup>8</sup> ซึ่งทำให้อัตราการละลายเพิ่มขึ้นเช่นกัน แต่การลดขนาดอนุภาคให้มีขนาดเล็กจะทำให้เกิดประจุไฟฟ้าสถิตย์ได้ทำให้อนุภาคขนาดเล็กเหล่านั้นเกาะกลุ่มกันเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ขึ้น<sup>9,14</sup> นอกจากนี้อนุภาคขนาดเล็กไม่คงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ มีพลังงานสูงในการรวมตัวเกาะกลุ่มกัน ทำใหยาแขวนตะกอนไม่คงตัวทางกายภาพ ด้วยเหตุดังกล่าวคณะผู้วิจัยจึงมีแนวความคิดในการพัฒนาเพลเลตโดยการพอกยาแขวนตะกอนที่ผ่านการลดขนาดอนุภาคตัวยา<sup>12-13</sup>

การเตรียมยาในรูปแบบเพลเลต<sup>10</sup> มีข้อดี คือ เพลเลตจะกระจายทั่วกระเพาะอาหาร และมีการเคลื่อนจากกระเพาะอาหารสู่ลำไส้เล็กสม่ำเสมอ ทำให้ความแปรปรวนในการดูดซึมยาน้อย นอกจากนี้รูปแบบเพลเลตยังช่วยลดปัญหาเกี่ยวกับ dose dumping เพลเลตมักเตรียมเป็นยาเม็ดหรือแคปซูลรูปหลายหน่วย โดยที่ผู้ป่วยอาจแกะผลิตภัณฑ์แคปซูลและโปรย (sprinkle) เพลเลตบนอาหารอ่อนและกลืนพร้อมอาหาร ซึ่งสะดวกสำหรับเด็ก หรือผู้สูงอายุที่กลืนยายาก

ตัวยาอีฟาเวเรนซ์ (efavirenz) เป็นยาด้านไวรัสเอดส์จัดเป็นอยู่ใน BCS class II ซึ่งมีค่าการละลายน้ำต่ำ (low solubility) และสภาพให้ซึมผ่านได้สูง (high permeability) แม้ว่าในปัจจุบันจะมีผลิตภัณฑ์ยาอีฟาเวเรนซ์ในรูปแบบยาน้ำแต่สภาพพร้อมใช้ทางชีวภาพยังไม่ดีเท่ากับรูปแบบยาเม็ด<sup>19-20</sup> การพัฒนาอีฟาเวเรนซ์ให้อยู่ในรูปแบบเพลเลตได้จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้กับผู้ป่วยเด็กทำให้มีความสะดวกในการรับประทานยามากขึ้น การเตรียมเพลเลตโดยเทคนิคการพอกยาแขวนตะกอนที่ผ่านการลดขนาดอนุภาคของตัวยา<sup>11</sup> อาจช่วยเพิ่มการละลายของตัวยาและสภาพพร้อมใช้ทางชีวภาพซึ่งตัวแปรสำคัญที่ส่งผลต่อการละลายของตัวยา คือ ขนาดอนุภาคของตัวยา และคุณสมบัติทางเคมีของแข็งของตัวยาหลังการพอกบนอนุภาคแกน

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์รวม : เพื่อพัฒนาเพลเลตโดยการพอกยาแขวนตะกอนให้เป็นชั้น โดยใช้อีฟารีเรนซ์เป็นยาต้นแบบ

วัตถุประสงค์เฉพาะ : เพื่อศึกษา

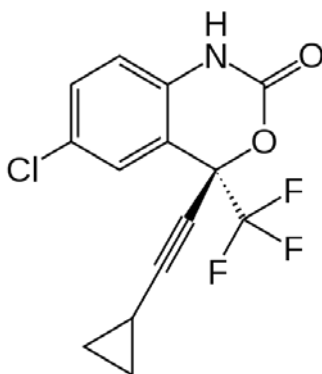
1. ผลของการลดขนาดอนุภาคด้วยอีฟารีเรนซ์ในยาแขวนตะกอนต่อการละลายของตัวยา
2. ผลของส่วนประกอบในยาแขวนตะกอนต่อการละลายของตัวยา
3. เพื่อศึกษาความเป็นผลึกของตัวยาที่พอกบนอนุภาคแกน

## 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สูตรตำรับเบื้องต้นในการเตรียมเพลเลต โดยการพอกยาแขวนตะกอนให้เป็นชั้น
2. ได้แนวคิดในการเพิ่มการละลายของยาที่ละลายน้ำยาก

## บทที่ 2 ปรีทัศน์วรรณกรรม

### 2.1 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของ efavirenz <sup>23</sup>



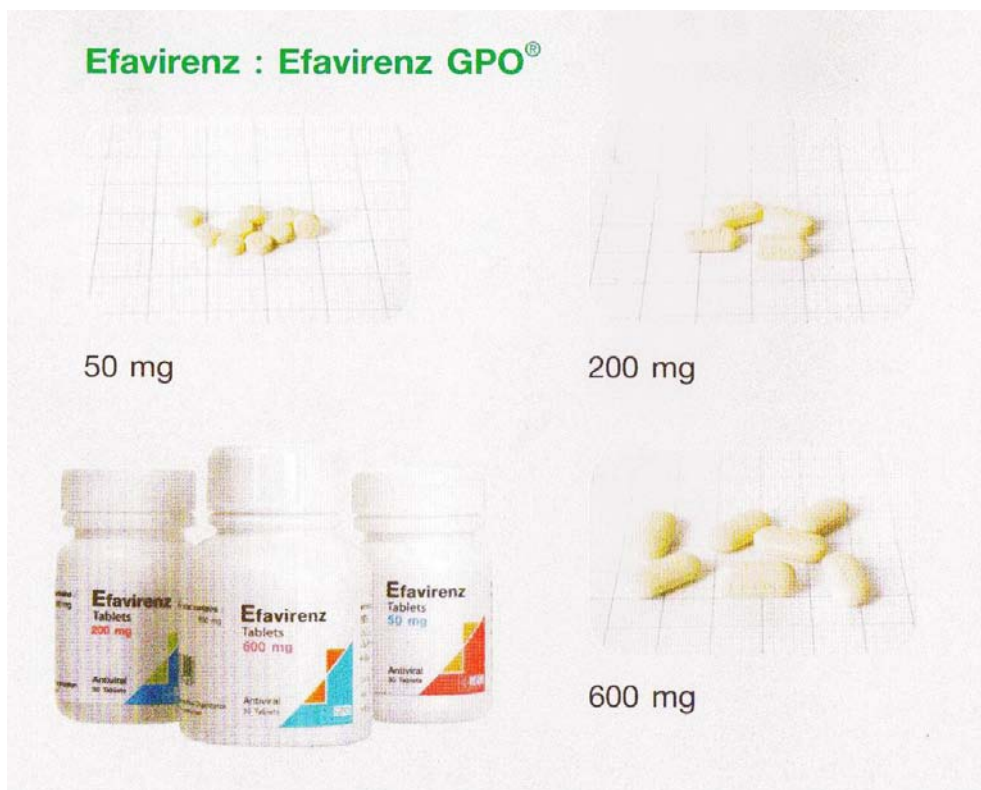
รูปที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างของ efavirenz

efavirenz เป็นยาในกลุ่ม non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTIs) ที่มีสูตร โมเลกุล คือ  $C_{14}H_9ClF_3NO_2$  โดยน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 315.675 ทั้งนี้ลักษณะภายนอกจะเป็นผง crystalline สีขาว จนถึงขาวอมชมพู ละลายในน้ำยาก แต่ละลายได้ดีในเมธานอล จัดอยู่ใน BCS class II ซึ่งมีค่าการละลายในน้ำที่ต่ำแต่มีความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังได้ดี นอกจากนี้ควรเก็บรักษาด้วยยาสำคัญในภาชนะที่ปิดสนิทและควรเก็บให้พ้นแสง ทั้งนี้รูปแบบที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ได้แก่ รูปแบบยาเม็ดและแคปซูล โดยขนาดยาที่ให้ผลการรักษาในเด็ก แบ่งตามน้ำหนักได้ดังนี้ 10 -15 กิโลกรัม: 200 มิลลิกรัมต่อวัน, 15-20 กิโลกรัม: 250 มิลลิกรัมต่อวัน, 20 -25 กิโลกรัม: 300 มิลลิกรัมต่อวัน, 25-33 กิโลกรัม: 350 มิลลิกรัมต่อวัน, 33-40 กิโลกรัม: 400 มิลลิกรัมต่อวัน, > 40 กิโลกรัม: 600 มิลลิกรัมต่อวัน และขนาดยาที่ให้ผลการรักษาในผู้ใหญ่ คือ 600 มิลลิกรัมต่อวัน

#### ผลิตภัณฑ์ยา efavirenz ที่มีท้องตลาดในต่างประเทศ

- ผลิตภัณฑ์ Erige<sup>®</sup> 50 mg (previously Auro-Efavirenz 50 mg)
- ผลิตภัณฑ์ Erige<sup>®</sup> 200 mg (previously Auro-Efavirenz 200 mg)
- ผลิตภัณฑ์ Erige<sup>®</sup> 600 mg (previously Auro-Efavirenz 600 mg)

## ผลิตภัณฑ์ยา efavirenz ที่มีท้องตลาดในประเทศไทย



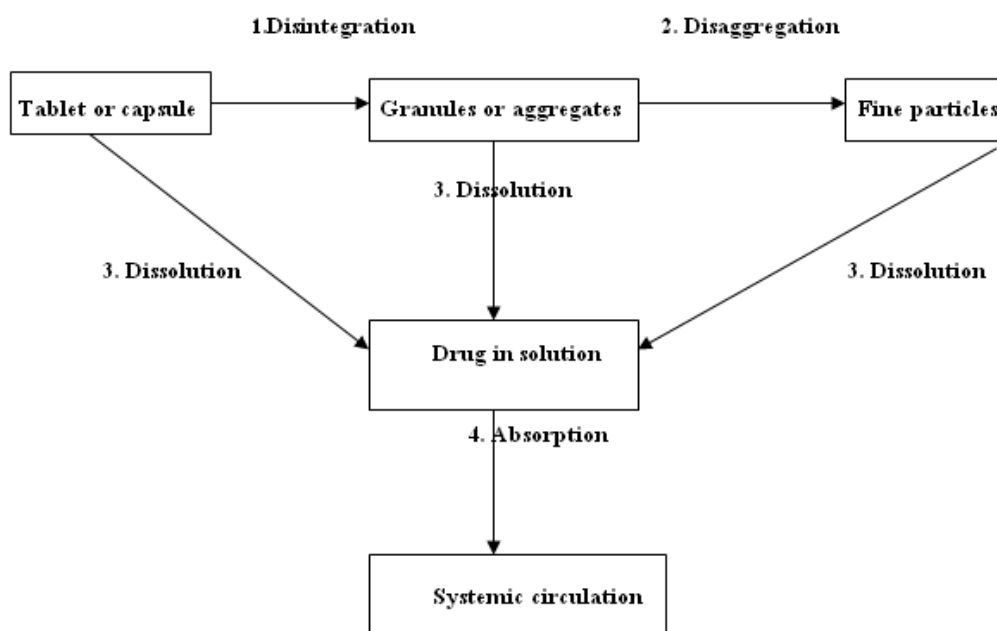
รูปที่ 2 แสดงผลิตภัณฑ์ยา efavirenz ในประเทศไทย

### 2.2 การละลายของยาในรูปแบบของแข็ง

รูปแบบยาเตรียมชนิดของแข็งเป็นรูปแบบยาเตรียมที่นิยมใช้กันมากที่สุด เนื่องจากสามารถผลิตได้ง่าย ให้ความสะดวกแก่ผู้ใช้ และมีความคงตัวดีกว่ารูปแบบยาเตรียมชนิดของเหลวหรือชนิดกึ่งแข็ง การใช้รูปแบบยาเตรียมชนิดของแข็งส่วนใหญ่มักจะออกแบบให้มีการดูดซึมตัวยาเข้าสู่ร่างกาย โดยผ่านระบบทางเดินอาหารด้วยวิธีต่างๆ เช่น การรับประทาน การอมใต้ลิ้น หรือการอมที่กระพุ้งแก้ม โดยตัวยาจะถูกดูดซึมผ่านผนังต่างๆ เข้าสู่กระแสโลหิต ไปยังเนื้อเยื่อหรืออวัยวะได้จำเป็นต้องอยู่ในรูปสารละลายก่อน ยาที่ละลายจะออกจากรูปแบบยาเตรียมเร็วหรือช้าก็ได้ทั้งนี้ขึ้นกับวัตถุประสงค์ในการบำบัดรักษาที่ต้องการให้ตัวยาทั้งหมดไปยังเนื้อเยื่อทันทีหรือต้องการให้ตัวยาไปที่เนื้อเยื่ออย่างช้าๆ และสม่ำเสมอในช่วงเวลาที่ต้องการ<sup>21</sup>

ในกรณีที่ตัวยามีคุณสมบัติละลายน้ำได้น้อย การเพิ่มการละลายเมื่อทำเป็นรูปแบบยาเตรียมจะมีความสำคัญมากเพื่อให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษา ซึ่งเภสัชตำรับของทั้งสหรัฐอเมริกา อังกฤษ ยุโรป ญี่ปุ่น หรือของประเทศไทยได้กำหนดให้มีการทดสอบการละลาย (dissolution test) สำหรับรูปแบบยาเตรียมชนิดของแข็งโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของยาที่ละลายน้ำได้น้อย

เมื่อเรารับประทานยาที่อยู่ในรูปยาเตรียมของแข็ง เช่น ยาเม็ด ยาผง การที่ยาจะสามารถออกฤทธิ์ในการรักษาได้จะมีกระบวนการหลักๆ ที่เกี่ยวข้อง 3 กระบวนการ คือ การแตกตัว (disintegration) การละลาย (dissolution) และการดูดซึม (absorption) เนื่องจากการที่ยาจะถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตได้ยาจะต้องอยู่ในรูปสารละลายจึงทำให้การละลายเป็นขั้นกำหนดอัตราของการดูดซึม โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาที่มีค่าการละลายต่ำ เช่น digoxin, penicillin v, phenytoin, quinidine และ tetracycline เป็นต้น ผลกระทบจากการที่ยามีการละลายเป็นขั้นกำหนดอัตราของการดูดซึม ได้แก่ การเลื่อนออกไปของเวลาที่ใช้ในการทำให้ระดับยาในเลือดถึงจุดสูงสุด เนื่องจากอัตราการละลายที่ช้าปริมาณยาส่วนใหญ่ไม่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายหรือการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายที่ไม่สมบูรณ์ส่งผลให้ระดับยาในเลือดไม่อยู่ในช่วงที่ให้ผลการรักษา

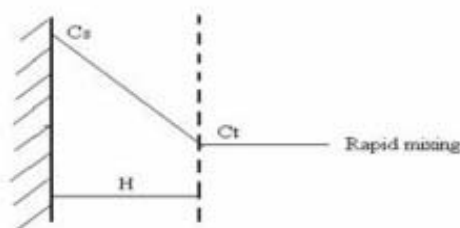


รูปที่ 3 แสดงกระบวนการแตกตัว การละลาย และการดูดซึมของยาเตรียมรูปแบบของแข็ง

เมื่อยาเม็ดอยู่ในทางเดินอาหารเม็ดยาจะแตกตัว (disintegration) เป็นกลุ่มอนุภาคที่ประกอบด้วยอนุภาคเล็กๆ จับกลุ่มกันอยู่ (granule) จากนั้นกลุ่มอนุภาคจะแยกตัว (deaggregation) กลายเป็นอนุภาคเดี่ยว (fine particle) ซึ่งอนุภาคเดี่ยวจะเกิดการละลายในของเหลวที่มีอยู่ในทางเดินอาหารจนอยู่ในรูปสารละลายแล้วถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตต่อไป

การละลายของอนุภาคเดี่ยวในตัวทำละลายอธิบายได้ด้วย diffusion layer model ที่ผิวอนุภาคจะมีชั้นของเหลวที่เรียกว่า stagnant liquid film หรือ diffusion layer ชั้นนี้จะยึดติดกับอนุภาคตลอดไม่ว่าอนุภาค

จะเกิดการเคลื่อนที่ไปที่ใดก็ตามซึ่งมีความหนาเท่ากับ  $h$  ความเข้มข้นของสารในตำแหน่งที่ติดกับผิวอนุภาค ( $C_s$ ) คือ ความเข้มข้นอิมิตัวของสารในตัวทำละลายชนิดนั้นนั่นเอง และในตำแหน่งที่ห่างจากผิวอนุภาค ออกมาความเข้มข้นของสารในชั้นของเหลวจะลดลงเรื่อยๆจนกระทั่งเมื่อผิวนอกของ diffusion layer ความเข้มข้นของสารจะคงที่ซึ่งเท่ากับความเข้มข้นของสารในตัวทำละลายทั้งหมด ณ เวลานั้น ( $C_b$ ) ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของทั้งสองตำแหน่งจะเป็นอิทธิพลต่อความเร็วในการละลายคือ ถ้าความเข้มข้นต่างกันมาก อัตราเร็วในการละลายก็จะสูงตามไปด้วย



รูปที่ 4 แสดง diffusion layer model

### Noyes-Whitney relationship

สมการของ Noyes-Whitney เป็นสมการพื้นฐานในการอธิบายการละลายของของแข็ง

$$dM/dt = DS (C_s - C)/h$$

สมการที่ 1

กำหนดให้

$dM/dt$	= อัตราการละลาย
$C_s$	= ค่าการละลายของของแข็ง
$C$	= ค่าความเข้มข้นใน bulk phase
$D$	= ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่
$h$	= ความหนาของชั้น diffusion layer
$S$	= พื้นที่ผิวของของแข็ง

ถ้าให้ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่และพื้นที่ผิวของของแข็งคงที่อัตราการละลายจะมากที่สุดเมื่อความหนาของชั้น diffusion layer มีค่าน้อยและความแตกต่างระหว่างค่าการละลายของของแข็งและความเข้มข้นใน bulk phase ( $C_s - C$ ) มีค่ามากหรือความเข้มข้นใน bulk phase มีค่าน้อยมาก (เข้าใกล้ 0) สภาวะที่  $C$  มีค่าน้อยมากจนทำให้ยาในชั้น saturated layer สามารถละลายออกมาเพิ่มขึ้นได้ เรียกว่า sink condition ซึ่งสภาวะ sink condition จะเกิดขึ้นเมื่อปริมาตรของตัวทำละลายหรือ dissolution medium ที่ใช้มีปริมาณอย่าง



น้อย 3 เท่าของปริมาตรที่ทำให้เกิดสารละลายอิ่มตัวของยา หรือความเข้มข้นของยาใน bulk solution ต้องมีค่าน้อยกว่าความเข้มข้นของยาในชั้น saturated layer อย่างน้อย 10%

จากสมการของ Noyes-Whitney เมื่อตัวยายู่ในสภาวะ sink condition อัตราการละลายจะเท่ากับผลคูณของค่าคงที่ของการละลาย (K) และ พื้นที่ผิวของของแข็ง (S) ดังสมการที่ 2

$$dM/dT = KS \quad \text{สมการที่ 2}$$

ทำให้สามารถคำนวณค่าอัตราการละลายต่อหน่วยพื้นที่ผิวของยา (intrinsic dissolution rate, G) ได้ จากสมการที่ 3

$$G = (1/S) * (dM/dt) = 1/S * KS = K \quad \text{สมการที่ 3}$$

ค่า G มีประโยชน์ในขั้นตอนของการทำ preformulation โดยเฉพาะอย่างยิ่งขั้นตอนการคัดเลือกยา เพราะสามารถนำมาทำนายได้ว่า สารหรือยาที่พัฒนาขึ้นมีแนวโน้มที่จะมีปัญหาในด้านการละลายจนทำให้การละลายกลายเป็น rate limiting step ของการดูดซึมหรือไม่โดยเกณฑ์ที่ใช้ในการพิจารณา คือถ้า G มีค่า  $< 0.1 \text{ mg/min/cm}^2$  แสดงว่า มีความเป็นไปได้ที่การละลายจะเป็น rate limiting step ของการดูดซึม

### ปัจจัยเกี่ยวกับคุณสมบัติของยาที่มีผลต่อการละลายของยา<sup>20</sup>

ปัจจัยทางเคมีกายภาพของตัวยา (physicochemical factors) ได้แก่

#### 1) การแตกตัวของยา

ตัวยามีคุณสมบัติเป็นเกลือที่แตกตัวในน้ำได้ดีจะเกิดการละลายและดูดซึมได้เร็ว แต่อย่างไรก็ตาม การละลายของสารประกอบประเภทนี้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ counter ion หรือค่า ionic strength ของตัวทำละลายด้วย ถ้าตัวทำละลายมีค่า ionic strength สูงอัตราเร็วในการละลายก็จะลดต่ำลง นอกจากนี้การละลายยังขึ้นกับค่า pH ของสภาวะแวดล้อมด้วย เช่น ในกระเพาะอาหารจะมี pH 1.5-3.0 ส่วนในลำไส้เล็กตอนต้นมี pH 5.0-7.0 ตัวยาคือเป็นด่างอ่อนจะละลายได้ดีในสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหาร เนื่องจากยาจะแตกตัวเป็นไอออนได้ดีซึ่งตรงกันข้ามกับยาที่เป็นกรดอ่อนจะละลายได้ดีที่ลำไส้เล็กแต่สิ่งสำคัญประการหนึ่ง คือยาจะละลายได้ดีเมื่อเกิดการแตกตัวแต่ร่างกายจะดูดซึมยาที่อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวได้ดีกว่า เพราะฉะนั้นยาที่เป็นด่างอ่อนจะละลายได้ดีที่กระเพาะอาหารแต่จะไปดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็ก

#### 2) ขนาดอนุภาคของยา

จากสมการของ Noyes – Whitney แสดงให้เห็นว่าอัตราเร็วการละลายจะแปรผันตรงกับพื้นที่ผิวของอนุภาคยา ถ้าอนุภาคมีขนาดเล็กจะทำให้พื้นที่ผิว (effective surface area) เพิ่มขึ้น ซึ่งก็จะทำให้

อัตราเร็วการละลายเพิ่มขึ้นนั่นเอง กรณีของยาที่ละลายน้ำได้น้อยการลดขนาดอนุภาคจะเพิ่มอัตราเร็วการละลายได้อย่างมีนัยสำคัญและทำให้ค่าชีวประสิทธิผลมากขึ้นตามไปด้วย

### 3) รูพรุนของอนุภาค

อัตราเร็วของการละลายจากพื้นที่ผิวภายในรูพรุนจะต่ำกว่าอัตราเร็วจากพื้นที่ผิวนอก เพราะระยะทางสำหรับการแพร่จะไกลกว่าและใช้เวลานานกว่าแต่รูพรุนภายในอนุภาคจะไม่มีผลต่ออัตราเร็วในการละลาย

### 4) รูปผลึก

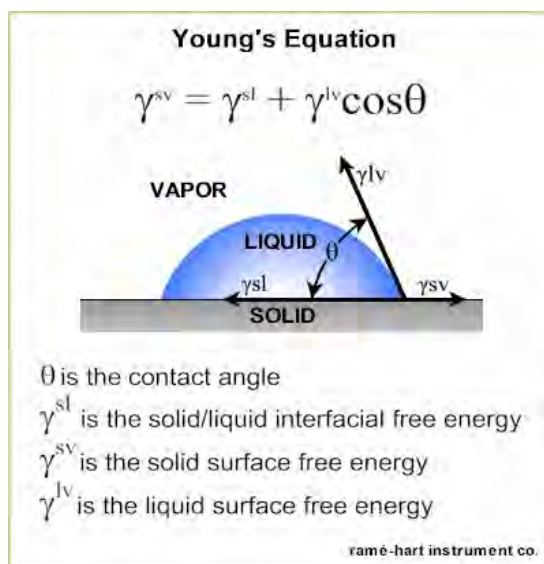
ผงยาที่เป็นแบบ crystalline จะละลายได้ช้ากว่าแบบ amorphous เพราะจะต้องใช้พลังงานที่สูงกว่าเพื่อทำลายแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลผงยาที่ผ่านการทำให้แห้งด้วยวิธี freeze-dried จะเป็นแบบ amorphous และมีลักษณะที่ฟูเบาจึงสามารถละลายน้ำได้เร็วมาก ผงยาที่มีรูปผลึกหลายแบบแต่ละแบบจะมีความสามารถในการละลายที่แตกต่างกัน ถ้าเลือกรูปผลึกที่ละลายน้ำได้ดีมาเตรียมตำรับก็จะได้รับที่ละลายเร็วและดูดซึมได้ดี ผงยาที่อยู่ในรูปแบบ hydrate มักจะละลายได้ดีกว่ารูปแบบ anhydrous

### 5) การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างยาที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำกับ cyclodextrin จะเพิ่มอัตราเร็วการละลายได้ เนื่องจาก cyclodextrin มีคุณสมบัติที่ชอบน้ำมากจึงไปคบบังคุณสมบัติความไม่ชอบน้ำของตัวยา

### 6) Wettability

ความชอบจับของตัวยากับตัวทำละลายซึ่งขึ้นกับแรงตึงผิว (surface tension) อธิบายโดยใช้สมการของ Young และมุมสัมผัส (contact angle) โดยความชอบของตัวยากับตัวทำละลายจะลดลง เมื่อมุมสัมผัสมีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้การลดค่ามุมสัมผัสสามารถทำได้โดยการเพิ่มสารลดแรงตึงผิว เช่น sodium lauryl sulfate



รูปที่ 5 แสดงความชอบในการเปียกน้ำ

(ที่มา: KH Finn. The measurement of surface energy of polymer by means of contact angles of liquids on solid surfaces. University of Osl. 2012: 3.)

7) ปัจจัยทางสูตรตำรับ (Formulation factors) ได้แก่

ชนิดของสารยึด (binders) ชนิดของสารช่วยแตกตัว (disintegrants) ชนิดของสารหล่อลื่น (lubricants) ชนิดของตัวทำเจือจาง หรือสารเพิ่มปริมาณ (diluent/filler) ชนิดของสารก่อแกรนูล (granulating agent)

8) ปัจจัยเกี่ยวกับรูปแบบยาเตรียม (dosage form factors) ได้แก่

ขั้นตอนหรือกระบวนการในการผลิต ขนาดของแกรนูล ปฏิกิริยาระหว่างสารสำคัญ และสารช่วยแรงตอกอัด การเกาะกันเป็นก้อนของตัวยา และสารในตำรับ สภาพการเก็บรักษา

9) ปัจจัยเกี่ยวกับเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทดสอบการละลาย (dissolution testing devices) ได้แก่

แรงในการปั่น การกวน ชนิดของอุปกรณ์ที่ใช้ในการกวน ลักษณะและรูปแบบของการกวน ชนิดของอุปกรณ์ที่ใช้ในการสุ่มเก็บตัวอย่าง ตำแหน่งการเก็บตัวอย่างและตัวกรอง ตำแหน่งของยาเตรียมที่ใช้ทดสอบ ชนิดของเครื่องมือทดสอบการละลาย

### 2.3 การพัฒนายาน้ำแขวนตะกอนโดยวิธีการลดขนาด

ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมาที่มีความสามารถในการละลายน้ำยากมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องในท้องตลาด ดังนั้นในอดีตจึงได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีที่จะสามารถแก้ปัญหาดังกล่าว ซึ่งยาที่มีปัญหาดังกล่าวส่วนใหญ่อยู่ใน BCS (biopharmaceutical classification system) class II ซึ่งการดูดซึมของยาขึ้นกับอัตราใน

การละลายของยา เพื่อเป็นการปรับปรุงและแก้ไขปัญหาลำหรับยาที่ละลายน้ำได้ยากจึงได้มีการค้นคว้าวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีต่างๆ เช่น นาอนุภาคของแข็งมากระจายตัวในตัวกลางโดยการทำให้แห้ง ด้วยการสเปรย์ (spray-drying) การทำให้แห้งด้วยการแช่แข็ง (freeze-drying) การหลอมด้วยความร้อน (hot melt extrusion) การลดขนาดอนุภาคยา ทดลองทำการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมี เช่น มีการเติมหมู่ที่ชอบน้ำ (hydrophilic group) ลงไปในโครงสร้าง การทำในรูปเกลือ การทำสารประกอบเชิงซ้อน เป็นต้น แม้ว่าจะประสบความสำเร็จแต่ก็พบว่าไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ในทุกกรณี เนื่องจากปัญหาบางประการ เช่น ความคงตัวและความเป็นพิษของสารช่วยในสูตรตำรับ เป็นต้น ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเพื่อเพิ่มการละลายและการดูดซึมของยาด้วยเทคนิคในการลดขนาดอนุภาคของแข็งให้อยู่ในขนาดนาโน (nano-milling technique) ในตัวกลางที่เป็นของเหลว<sup>1</sup> ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งที่มีความสะดวก รวมทั้งสามารถนำมาใช้ได้กับยาเกือบทุกชนิด

การลดขนาดของอนุภาคนั้นจะทำให้พื้นที่ผิว (specific surface area) ของอนุภาคเพิ่มมากขึ้นด้วย ซึ่งพื้นที่ผิวที่เพิ่มขึ้นนี้จะทำให้ค่าการละลาย และอัตราการละลายของตัวยาที่ละลายน้ำได้ยากนั้นเพิ่มสูงขึ้น และส่งผลต่อประสิทธิภาพในการรักษาเมื่อได้รับยาเข้าสู่ร่างกาย ดังเช่น การใช้ micronized griseofulvin ในตำรับยาเม็ดสำหรับรับประทานนั้นจะใช้ปริมาณตัวยาน้อยลงครึ่งหนึ่งของตำรับที่มีการใช้ griseofulvin ในรูปผงหยาบ เป็นต้น หากอัตราการละลายน้อยกว่าอัตราการดูดซึม กระบวนการละลายตัวยาจะเป็นตัวกำหนดอัตราในการออกฤทธิ์ ดังนั้นการลดขนาดอนุภาคซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวจะสามารถเพิ่มอัตราการละลายได้ และการลดขนาดอนุภาคต่ำกว่า 0.1 ไมโครเมตรนั้นจะมีผลต่อความสามารถในการละลายแท้จริง (intrinsic solubility) ของตัวยาซึ่งจะส่งผลไปยังอัตราการละลายแท้จริง (intrinsic solubility rate) ด้วยอนุภาคที่มีขนาดเล็กจะมีสัดส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูง ถ้าพื้นที่ผิวมีพลังงานมากกว่าปริมาตรเช่นในกรณีของอนุภาคขนาดเล็ก สารจะทำปฏิกิริยากับตัวกลางการละลายได้เร็วกว่าหรือได้ความสามารถในการละลายสูงกว่า

สำหรับยาแขวนตะกอนขนาดนาโน (nanosuspensions) เป็นรูปแบบสูตรตำรับที่ประกอบด้วยอนุภาคของยาที่มีขนาดอยู่ในช่วงนาโนเมตร หรือมีขนาดเล็กกว่าไมครอน (sub-micron) โดยมีขนาดเล็กอยู่ระหว่าง 200-600 นาโนเมตร ทั้งนี้อนุภาคที่มีขนาดดังกล่าวสามารถกระจายตัวได้ในของเหลวที่เป็นตัวทำละลายด้วยสารที่ช่วยเพิ่มความคงตัว (stabilizer) ในปัจจุบันได้มีการศึกษาว่า การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตยาน้ำแขวนตะกอนขนาดนาโน สำหรับเป็นระบบนำส่งยาได้มีการนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับการเพิ่มอัตราในการละลายของตัวยาที่ละลายน้ำได้ยาก เนื่องจากการเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับของเหลวที่เป็นตัวกลาง ทั้งนี้โดยปกติค่าความสามารถในการละลายอิ่มตัว (saturation solubility) เป็น

ค่าคงที่ที่สภาวะอุณหภูมิหนึ่งๆ แต่เมื่อทำการลดขนาดอนุภาคโดยเป็นการเพิ่มความดัน (dissolution pressure) เป็นผลให้สมดุลเคลื่อนไปในทิศที่ทำให้ค่าการละลายมากขึ้น หรือค่า saturation solubility เพิ่มขึ้น อธิบายได้ด้วยสมการของ Kelvin's equation

$$\ln \frac{p}{p_0} = \frac{2\gamma V_m}{rRT}$$

นอกจากนี้การลดขนาดอนุภาคจนได้ระดับนาโน สามารถเปลี่ยนรูปสัณฐานจากรูปผลึก (crystal form) ไปเป็นรูปอสัณฐาน (amorphous form) เป็นผลให้สามารถช่วยแก้ปัญหาการละลายของยาละลายน้ำยากได้ นอกจากนี้ระบบนำส่งยาดังกล่าวยังสามารถนำส่งยาไปสู่เป้าหมาย และเพิ่มชีวปริมาณออกฤทธิ์ของยาได้ ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีการนำยาแขวนตะกอนขนาดนาโนไปประยุกต์ใช้ทางเภสัชกรรมในการส่งยาในหลายรูปแบบ เช่น รูปแบบรับประทาน รูปแบบยาฉีด เป็นต้น ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีการจดทะเบียนทางการค้า ได้แก่ NanoCrystals<sup>®</sup> DissoCubes<sup>®</sup> และ SolEmuls<sup>®</sup> เป็นต้น

ในด้านความคงตัว พบว่าขนาดอนุภาคในยาแขวนตะกอนขนาดนาโนจะมีการกระจายขนาดที่แคบ นั่นคือ มีขนาดอนุภาคที่ใกล้เคียงกันทั้งตัวรับอันเนื่องมาจากกระบวนการในการผลิตเป็นผลให้ไม่เกิดความแตกต่างกันในเรื่องของค่าความสามารถในการละลายอิมตัว และค่าความเข้มข้นซึ่งเป็นการป้องกันไม่ให้เกิด Oswald ripening effect (การเกิดรูปผลึกที่ใหญ่ขึ้นจนทำให้อนุภาคมีขนาดอยู่ในระดับไมครอน)

## 2.4 แนวทางการเตรียมยาแขวนตะกอนขนาดนาโน

ตัวอย่างวิธีการเตรียมยาแขวนตะกอนขนาดนาโนมีด้วยกันหลายวิธี เช่น

### 1) การตกตะกอน (precipitation)

ใช้เทคนิคการตกตะกอน โดยละลายยาในตัวทำละลายชนิดหนึ่งจนหมดเสียก่อน จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปผสมกับตัวทำละลายอีกชนิดซึ่งยามีค่าการละลายที่ต่ำในตัวทำละลายชนิดที่สองเป็นผลให้ยาเกิดการตกตะกอนลงมา แต่ในทางปฏิบัติจะเตรียมอนุภาคขนาดนาโนได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากเมื่ออนุภาคขนาดเล็กจะมีพลังงานที่พื้นผิวมากขึ้นเป็นผลให้อนุภาคมีโอกาสเข้ามาเกาะกันสูง ดังนั้นต้องมีการควบคุมขนาดของอนุภาค เพื่อมิให้เกิดการเติบโตของขนาดที่มากเกินไปด้วยการเติมสารช่วยที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องการเลือกตัวทำละลาย นั่นคือยานั้นๆจะต้องมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายชนิดหนึ่ง และต้องไม่ละลายในตัวทำละลายอีกชนิด แต่ทั้งนี้ตัวทำละลายทั้งสองจะต้องสามารถผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ เช่น การเตรียมยาฉีดในกลุ่ม cyclosporins โดยใช้ตัวทำละลายคือ ethanol และน้ำ โดยมีสารช่วยคือ ethyl cellulose และ gelatin เป็นต้น<sup>20</sup>

## 2) การลดขนาดด้วย high pressure homogenizer

เป็นวิธีการเตรียมน้ำแขวนตะกอนที่ประกอบด้วยตัวยาลำคัญ และsurfactant ขนาดนาโนเมตร โดยใช้แรงดันที่สูงมากอัดอนุภาคผ่านช่องแคบ (gap) ที่มีขนาดนาโนของเครื่อง high pressure homogenizer จนทำให้ขนาดอนุภาคจากระดับไมโครเมตรแตกออกเป็นระดับนาโนเมตร โดยทำให้เกิดการปั่นป่วน ข้อดีของวิธีนี้ คือสามารถผลิตยาแขวนตะกอนขนาดนาโนได้ในปริมาณมาก มีความสม่ำเสมอในการผลิต โดยประสิทธิภาพในการลดขนาดจะขึ้นกับขนาดอนุภาคของสารก่อนการไหลลดสารลงเครื่อง จำนวนรอบที่นำอนุภาคผ่านกลับเข้าไปในเครื่อง ประเภทของเครื่อง high pressure homogenizer ซึ่งมีด้วยกันหลายขนาด และความดันของเครื่องที่ใช้ ตัวอย่างเครื่องที่ใช้ เช่น piston-gap homogenizer การทำงานของเครื่องจะเริ่มจากการเตรียมน้ำแขวนตะกอนขนาดไมครอน โดยนำอนุภาคผสมกับสารช่วยต่างๆในสูตรตำรับแล้วผ่านเครื่อง homogenizer แบบธรรมดาเพื่อทำการลดขนาดในระดับหนึ่ง จากนั้นจึงนำสารดังกล่าวมาผ่านเครื่อง high pressure homogenizer จนกระทั่งได้ขนาดตามที่ต้องการ

ทั้งนี้ช่วงความดันที่ใช้จะอยู่ในช่วง 100 – 1500 bar ขึ้นกับความสามารถของเครื่องมือ นอกจากนี้ขนาดของอนุภาคในของเหลวที่จะนำมาใช้กับเครื่องมือดังกล่าว ควรเริ่มต้นด้วยขนาด < 25 ไมครอน เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการอุดตันที่ช่องแคบเล็กๆของเครื่องมือ

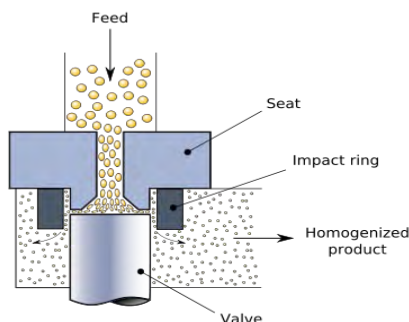
สำหรับจำนวนรอบที่นำอนุภาคผ่านกลับเข้าไปในเครื่องขึ้นกับความแข็งของชนิดยา และขนาดสุดท้ายที่ต้องการ ซึ่งถ้าต้องการจำนวนรอบที่เหมาะสมอาจต้องทำการไปวิเคราะห์หาขนาดอนุภาค หรือตรวจสอบการกระจายขนาดอนุภาคเสียก่อน โดยตรวจสอบจากค่า polydispersibility index



รูปที่ 6 แสดงเครื่อง high pressure homogenizer

(ที่มา: Patravale V.B, Abhijit A, Kulkarni R.M. Nanosuspension : a promising drug delivery strategy.

Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2004 March 30; 56: 827-840.)



รูปที่ 7 แสดงเครื่อง high pressure homogenizer

(ที่มา: Patravale V.B, Abhijit A, Kulkarni R.M. Nanosuspension : a promising drug delivery strategy. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2004 March 30; 56: 827-840.)

### 3) pearl milling หรือ media mlling

เป็นการลดขนาดที่เริ่มจากการนำยามาผสมกับสารช่วยที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกาะกันของอนุภาค (stabilizer) เช่น pluronics, polysorbates, povidone โดยมีสัดส่วนต่อยาที่พอเหมาะ คือช่วง 20:1 ถึง 2:1 การมีปริมาณสารช่วยที่ไม่เหมาะสม เช่น ถ้ามีปริมาณน้อยเกินไปอาจไม่มีส่วนช่วยในการป้องกันการเกาะกันของอนุภาคยา แต่หากมีมากเกินไปอาจเพิ่มความเสี่ยงต่อความเป็นพิษที่เกิดจากตัวของสารช่วยเอง การลดขนาดจะเริ่มจากการลดขนาดบางส่วนในระดับไมครอนหรือใกล้เคียง จากนั้นจึงนำไปผ่านเครื่อง pearl milling โดยภายในเครื่องจะมีตัวกลาง (media, pearls) ที่มีความแข็งแรงสูงเพื่อให้ทนทานต่อการสึกหรอ ทั้งนี้อนุภาคยาจะถูกแรงเฉือน และแรงกระแทกจากตัวกลางเป็นผลให้อนุภาคยาแตกออกในระดับนาโนได้ ซึ่งการบดในลักษณะนี้สามารถหมุนเวียนอนุภาคที่บดแล้วป้อนกลับเข้าไปในเครื่องใหม่จนได้ขนาดที่ต้องการได้

### 4) lipid emulsion/microemulsion template

lipid emulsion : เตรียมได้โดยการผสมไขมันที่หลอมกับสารลดแรงตึงผิว กระจายไมโครอิมัลชันในน้ำเย็นปริมาณมากพร้อมปั่นตลอดเวลา จากนั้นกำจัดปริมาณน้ำจำนวนมากด้วยการกรองละเอียดยิ่งยวด (ultrafiltration) หรือ โดยการทำแห้งเยือกแข็ง (lyophilization) เพื่อให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้นมากขึ้น และเกิดการตกตะกอนของอนุภาคจนได้ขนาดอยู่ในระดับนาโน

microemulsion template : ทำการเตรียมอิมัลชัน โดยวิธีดั้งเดิม จากนั้นทำการเจือจางอิมัลชัน

สรุปข้อดี-ข้อเสียของแต่ละวิธีในการเตรียม<sup>22</sup>

ตารางที่ 1 แสดงข้อดีและข้อเสียของวิธีต่างๆ ในการเตรียมยาแขวนตะกอนขนาดนาโน

เทคโนโลยีที่เกี่ยวข้อง	ข้อดี	ข้อเสีย
<b>precipitation</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- เป็นกระบวนการที่ธรรมดา ไม่ซับซ้อน</li> <li>- ค่าใช้จ่ายไม่สูง</li> <li>- สะดวกในการขยายกำลังการผลิต (scale up)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ยานีคนั้นๆจะต้องสามารถละลายได้ในตัวทำละลายหนึ่งชนิดและไม่ละลายในตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่ง ทั้งนี้ตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดนั้นจะต้องกระจายเข้ากันได้</li> </ul>
<b>high pressure homogenizer</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้กับยาเกือบทุกชนิดทั้งชนิดที่ละลายยากในน้ำ และในตัวทำละลายอินทรีย์</li> <li>- เป็นเทคนิคที่ไม่ซับซ้อน</li> <li>- มีโอกาสเกิดการปนเปื้อนต่ำ</li> <li>- ใช้ได้กับสารทั้งที่มีความเข้มข้นสูง และแบบเจือจาง</li> <li>- สะดวกในการขยายกำลังการผลิต (scale up)</li> <li>- ในผลิตภัณฑ์ขั้นต้นสุดท้ายจะมีการกระจายขนาดอนุภาคในช่วงที่แคบ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ใช้จำนวนรอบในการนำสารกลับเข้าเครื่องสูง</li> <li>- สารแขวนตะกอนที่จะนำเข้าเครื่องต้องมีขนาดอยู่ในระดับไมครอน</li> <li>- อาจเกิดการปนเปื้อนได้จากไอออนของโลหะที่หลุดออกมาจากผนังของเครื่อง</li> </ul>
<b>media milling</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- สะดวกในการขยายกำลังการผลิต (scale up)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ต้องทำการ regenerate media</li> <li>- ระยะเวลาของกระบวนการยาวนานหลายชั่วโมงจนถึงหลายวัน ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอสังฐานได้</li> </ul>
<b>emulsion/ microemulsion template</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- เหมาะกับยามีค่าครึ่งชีวิตนาน</li> <li>- มีความง่ายในการผลิต</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- อาจมีการใช้ตัวทำละลายที่อันตราย</li> <li>- อาจมีการใช้ปริมาณของสารช่วยทำให้เปียก และสารช่วยเพิ่มความคงตัวในปริมาณที่สูง</li> </ul>



### ข้อดีของยาน้ำแขวนตะกอนขนาดนาโน

1) เพิ่มอัตราเร็วในการละลาย เนื่องจากเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวจากระดับไมครอนเป็นระดับนาโนเมตร ซึ่งสามารถอธิบายได้ด้วยสมการของ Noyes Whitney equation ดังนี้

$$dM/dt = DS (C_s - C)/h$$

โดย	$dM/dt$	คือ อัตราเร็วในการละลาย
	$D$	คือ ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่
	$C_s$	คือ ค่าความสามารถในการละลายของยาที่จุดอิ่มตัว
	$C$	คือ ค่าความเข้มข้นของของเหลวรอบๆอนุภาค
	$S$	คือ พื้นที่ผิวของอนุภาค
	$h$	คือ ระยะห่างในการแพร่ผ่าน

นั่นคือ เมื่อขนาดอนุภาคเล็กลงในระดับนาโน จะมีผลให้อัตราการละลาย ( $dM/dt$ ) มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของค่าการละลายที่จุดอิ่มตัว ( $C_s$ ) การเพิ่มขึ้นของพื้นที่ผิวของอนุภาค ( $S$ ) และการลดลงของระยะห่างในการแพร่ผ่าน ( $h$ )

นอกจากนี้การลดขนาดอนุภาคลงจนถึงระดับนาโนสามารถเพิ่มค่าการละลายหรือความสามารถในการละลายของสารจันอิ่มตัว ซึ่งอธิบายด้วยสมการของ Kelvin

$$\ln \frac{p}{p_0} = \frac{2\gamma V_m}{rRT}$$

โดย  $P$  คือ ค่า dissolution pressure ของอนุภาคที่มีรัศมี  $r$  ซึ่งค่านี้จะมีความสัมพันธ์กับสมดุลระหว่างการละลายและการตกผลึกของยา โดยส่งผลต่อค่าการละลายของยาที่จุดอิ่มตัวซึ่งมีผลต่อค่าการละลายของยาที่จุดอิ่มตัว กล่าวคือเมื่อขนาดอนุภาคลดลงมากโดยเฉพาะในช่วงนาโนเมตรจะมีผลทำให้ค่า dissolution pressure เพิ่มมากขึ้น หรือทำให้สมดุลเคลื่อนไปในทิศทางที่ทำให้การละลายมากขึ้น สำหรับตัวแปรอื่นๆ ได้แก่  $\gamma, M, R, T, \rho$  หมายถึง แรงตึงผิว น้ำหนักโมเลกุล ค่าคงที่ของก๊าซ อุณหภูมิ และความหนาแน่นตามลำดับ

2) พัฒนาคุณสมบัติทางด้านชีววิทยา (biological performance)

จากการที่ลดขนาดอนุภาคยาจนถึงระดับนาโนเมตรซึ่งช่วยเพิ่มอัตราการละลาย และความสามารถในการละลายที่จุดอิ่มตัว จึงเป็นข้อดีในแง่การบริหารยาได้หลากหลายช่องทางมากขึ้น<sup>4</sup>

3) สะดวกในการผลิต และการขยายกำลังการผลิต

#### 4) มีความคงตัวทางกายภาพในระยะยาว

ช่วยป้องกันการเกิด Oswald ripening ซึ่ง Oswald ripening มักเกิดขึ้นกับอนุภาคผงยาที่เล็กละเอียด ซึ่งถูกกระจายอยู่ในระบบตัวทำละลาย หลังจากนั้นอนุภาคจะเกิดการมาเกาะกลุ่มรวมกันเป็นก้อนผลึก จนกระทั่งได้อนุภาคที่มีขนาดไมครอน ทั้งนี้สาเหตุเกิดจากความแตกต่างในเรื่องของ dissolution pressure/saturation solubility เนื่องจากการกระจายขนาดอนุภาคกว้าง ทั้งนี้ยาน้ำแขวนตะกอนขนาดนาโนจะไม่เกิดปรากฏการณ์ดังกล่าว เนื่องจากขนาดอนุภาคมีความสม่ำเสมอจึงไม่เกิดความแตกต่างในเรื่องของ saturation solubility

5) มีความยืดหยุ่นในการที่จะประยุกต์ยาน้ำแขวนตะกอนกับยาในรูปแบบอื่นๆ เช่น ยาเม็ด เฟลเลต ยาเหน็บ ช่องคลอด ทำให้มีรูปแบบในการบริหารยาที่หลากหลายมากขึ้น

#### คุณสมบัติและแนวทางการตรวจสอบคุณสมบัติของยาแขวนตะกอนขนาดนาโน

1) ค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาค และการกระจายขนาดอนุภาค (mean particle size and particle size distribution) ขนาดของอนุภาคยาแขวนตะกอนขนาดนาโนจะมีขนาดเล็กกว่าไมครอน โดยมักอยู่ในช่วง 300-800 นาโนเมตร ทั้งนี้ขนาดที่เหมาะสมจะขึ้นกับวัตถุประสงค์ที่จะนำไปใช้ สำหรับการตรวจสอบขนาดและการกระจายขนาดนิยมใช้เครื่อง photon correlation spectroscopy (PCS) ซึ่งวัดได้ในช่วง 3 นาโนเมตร ถึง 3 ไมครอน ร่วมกับ laser diffractometry (LD) ซึ่งวัดอนุภาคในช่วงที่กว้างมากกว่า เพื่อให้ครอบคลุมช่วงการวัดทั้งหมด

2) คุณสมบัติพื้นผิว (surface properties) พิจารณาในด้าน

- ประจุที่พื้นผิว (zeta potential) ซึ่งถ้าพลังงานพื้นผิวสูงส่งผลให้อนุภาคมีแนวโน้มมาเกาะกันสูง เป็นผลให้เกิดความไม่คงตัวทางกายภาพ สำหรับแนวทางในการป้องกัน คือพยายามควบคุมให้อนุภาคมีประจุที่พื้นผิวมากพอที่จะทำหน้าที่ในการผลักอนุภาคออกจากกัน โดยทั่วไปควรมีประจุที่พื้นผิวอย่างน้อย  $\pm 30$  มิลลิโวลต์ ทั้งนี้ประจุที่พื้นผิวสามารถปรับได้ด้วยทั้งชนิด และปริมาณของสารช่วยที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากค่าที่วัดได้ด้วยเครื่องหาประจุที่พื้นผิว

- ความชอบ/ไม่ชอบน้ำ (hydrophilicity/hydrophobicity) ซึ่งจะส่งผลต่อการดูดซึมของยา

3) คุณสมบัติความเป็นผลึก (crystalline states) ในขั้นตอนการเตรียมสารแขวนตะกอนขนาดนาโนจะมีแรงกระทำต่ออนุภาคผงยาเป็นผลให้มีโอกาสเกิดการเปลี่ยนแปลงพหุสัณฐาน อีกทั้งเพิ่มสัดส่วนของรูปออสถินฐานซึ่งอาจส่งผลต่อคุณสมบัติทั้งทางเคมีและกายภาพของตัวยา เช่น การละลาย ความคงตัว ในกรณีที่ใช้ high pressure homogenizer ซึ่งใช้พลังงานสูง พบว่าทำให้เกิดการเพิ่มสัดส่วนรูปออสถินฐานมากซึ่งอาจ

เป็นข้อดีในแง่เป็นการเพิ่มการละลาย แต่อาจส่งผลเสียในแง่ความคงตัวได้ซึ่งเครื่องมือที่ใช้ตรวจสอบความเป็นผลึกนิยมใช้ powder x-ray diffractometry หรือ differential scanning calorimetry (DSC)

4) คุณสมบัติทางด้านชีววิทยา (biological properties) เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติที่เกิดขึ้นหลังการบริหารยา แขนงตะกอนขนาดนาโนเข้าไปในร่างกาย

5) ความคงตัว (stability) คุณสมบัติพื้นผิวซึ่งต้องมีการศึกษาผลของสารช่วยเพื่อเพิ่มความคงตัว ทั้งในเรื่องประจุหรือ steric stabilization และในเรื่องขนาดและการกระจายขนาดของอนุภาค

## 2.5 เพลเลต (pellet)

### คำจำกัดความเพลเลต (pellet)

เพลเลต (pellet) ในอุตสาหกรรมยา หมายถึง อนุภาคทรงกลมขนาดเล็กที่มีการไหลอย่างอิสระ อนุภาคเหล่านี้จะเกิดจากการรวมตัวเป็นกลุ่มก้อน (agglomeration) ของผงยา และสารช่วยต่างๆในตำรับโดยอาศัยเครื่องมือที่เหมาะสมได้เป็นอนุภาคทรงกลมขนาดเล็ก มีคุณสมบัติการไหลที่ดี ไหลอย่างอิสระ มีการกระจายขนาดที่แคบ โดยขนาดเพลเลตที่ต้องการควรอยู่ในช่วง 0.5-1.5 มิลลิเมตร ซึ่งเหมาะแก่การบริหารยา โดยการรับประทาน

### ข้อดีของการผลิตเพลเลต<sup>25-26</sup>

- เพลเลตเมื่อรับประทานแล้วทำให้เกิดการไหลอย่างอิสระภายในทางเดินอาหาร ทำให้การดูดซึมของตัวยายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ลดการระคายเคืองเยื่อทางเดินอาหารของยาบางชนิด และลดความแปรปรวนของระดับยาในเลือดในผู้ป่วยคนเดียวกัน และระหว่างผู้ป่วย
- เพลเลตช่วยลดความแปรปรวนระหว่าง gastric emptying rate และ intestinal transit time เนื่องจากเพลเลตจะเปรียบเสมือนของเหลว จึงไม่มีผลของ gastric emptying rate และสามารถเคลื่อนไปสู่ลำไส้เล็กได้อย่างสม่ำเสมอ
- ลดความเสี่ยงในการเกิด dose dumping เนื่องจากปริมาณตัวยาระบายอยู่ในหน่วยเล็ก ๆ ในปริมาณ จึงปลอดภัยต่อผู้ใช้ยา
- ยาบางชนิดมีความไม่เข้ากันจึงทำในรูปของเพลเลตเพื่อที่จะสามารถบรรจุลงในแคปซูล หรือตอกเป็นเม็ดในเม็ดเดียวกันได้ เนื่องจากเพลเลตจะมีคุณสมบัติการไหลที่ดี ง่ายต่อการบรรจุ อีกทั้งยังเพิ่มความสะดวกในการรับประทาน โดยสามารถปรับขนาดยาให้เหมาะสมแก่ผู้ป่วยได้ตามต้องการ เหมาะสำหรับผู้ป่วยที่กลืนยาก นอกจากนี้ยังสามารถผลิตเพลเลตเพื่อกลบรสด้วย

- เพิ่มความแข็ง และลดความกร่อนของยา ป้องกันการเกาะกันของส่วนประกอบต่าง ๆ จึงทำให้มีความสม่ำเสมอมากขึ้น เพิ่ม bulk density และลด bulk volume จึงช่วยลดการเกิดฝุ่นผงเมื่อเปรียบเทียบกับผงยา อีกทั้งยังไม่เกิดการตกตะกอนของสารละลาย หรือสารแขวนตะกอน
- สามารถประยุกต์ใช้ใน controlled release หรือ enteric coated ได้

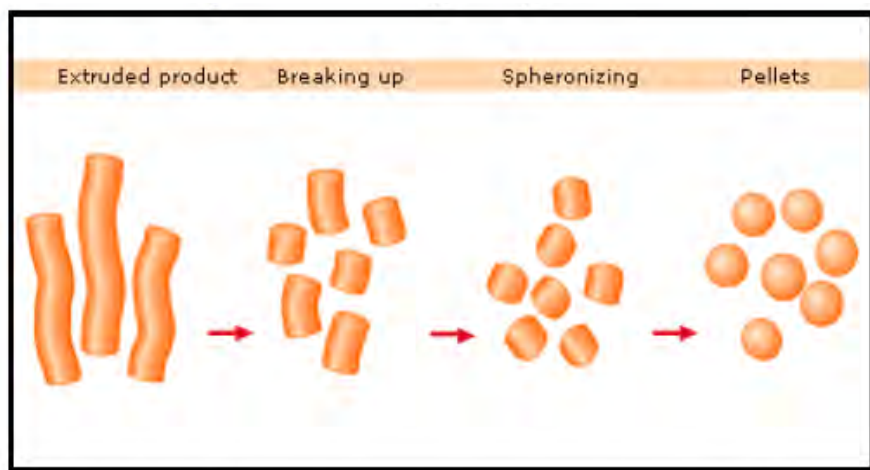
#### ข้อเสียของการผลิตเพลเล็ต<sup>25</sup>

- เพลเล็ตบางชนิดไม่สามารถตอกอัดเป็นเม็ดได้ เนื่องจากแข็งเกินไป จึงเหมาะแก่การบรรจุลงในแคปซูล
- การควบคุมกระบวนการผลิตเพลเล็ตในบางวิธียาก เช่น การเติมน้ำ หรือเวลาที่ใช้ในการได้เพลเล็ตที่มีคุณภาพ เป็นต้น อีกทั้งจะต้องลงทุนสูง และต้องอาศัยเครื่องมือที่มีความเฉพาะเจาะจง

#### การผลิตเพลเล็ต (pelletization)

เพลเล็ตถูกใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมการเกษตร อุตสาหกรรมแร่ อุตสาหกรรมอาหาร รวมไปถึงอุตสาหกรรมยา โดยวิธีการผลิตเพลเล็ตทางอุตสาหกรรมยามีด้วยกันหลายวิธี ได้แก่ agitation, compaction, drug layering, globulation, direct pelletization, cryopelletization, free pelletization โดยวิธีที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมคือ การรีดอัดและการทำให้เป็นทรงกลม (extrusion and spheronization) และการพอกเป็นชั้น (layering)

#### 1) Extrusion and Spheronization<sup>27-28</sup>



รูปที่ 8 แสดงกระบวนการผลิตเพลเล็ตด้วยเทคนิค extrusion and spheronization

(ที่มา: Extrusion/spheronization. Available at: <http://www.glatt.com/cm/en/process-technologies/pelletizing/extrusion-spheronization.html>. Accessed November 10, 2012.)

กระบวนการผลิตเพลเลตที่มีหลายชั้นตอน โดย extrusion เป็นการนำ wet mass ซึ่งผ่านการผสมแห้ง และผ่านเครื่องปั่นผสมแล้วมาอัดผ่านรูเปิดให้เป็นทรงกระบอกด้วยเครื่อง extruder ได้เป็น extrudate ซึ่งมีลักษณะที่แน่นกว่าแกรนูลทั่วไป โดย extrudate แต่ละอันจะมีความยาวใกล้เคียงกัน และจะต้องมีความยืดหยุ่นเพียงพอในการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง อีกทั้งขนาดของ extrudate ยังส่งผลถึงขนาดของ spheroid ในขั้นต่อไปอีกด้วย spheronization เป็นการนำ extrudate ที่ได้มาผ่านเครื่อง spheronizer ที่เป็น friction plate แรงกระแทกจะทำให้อนุภาคทรงกระบอกกลายเป็นอนุภาคทรงกลม ขนาดสม่ำเสมอ จากนั้นทำให้แห้งด้วยเครื่องมือที่เหมาะสม จะเห็นว่ากระบวนการทำเพลเลตวิธีดังกล่าวจะคล้ายกับกระบวนการทำแกรนูลเปียก ซึ่งได้เพลเลตที่มีคุณภาพ ผิวเรียบ สามารถบรรจุยาได้จำนวนมากแต่มีขั้นตอนที่ยุ่งยากและลงทุนสูง อีกทั้งยังเหมาะสมกับยาที่มีการควบคุมการปลดปล่อยเท่านั้น

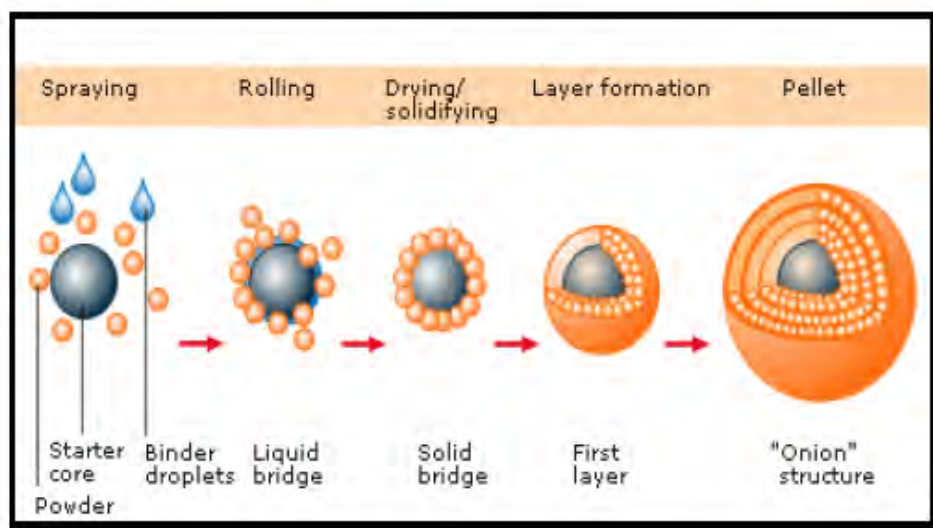
## 2) drug layering<sup>28</sup>

### dry powder layering

กระบวนการผลิตเพลเลตโดยการทำเม็ดแกนให้เปียกด้วยสารยึดเกาะในรูปสารละลาย จากนั้นใส่อนุภาคผงยาลงไปทำให้เกิดการเกาะติดบนอนุภาคแกน จากนั้นเป่าลมร้อนจนอนุภาคแห้ง ทำซ้ำในแต่ละรอบด้วยวิธีดังกล่าวจนได้ขนาดเพลเลตที่ต้องการ

ข้อเสีย ; การผสมให้เข้ากันจะทำให้ยาก และกระบวนการทำให้แห้งไม่มีประสิทธิภาพ

### solution/suspension layering



รูปที่ 9 แสดงกระบวนการผลิตเพลเลตด้วยเทคนิค drug layering

(ที่มา : Subrata K, Atul P, Keyur D, Ganga S, Nitin B. Multiparticalate modified release drug delivery system for antiepileptic drug: a review. International Journal of Pharmaceutical Innovations, 2012; 2(2); 117.)

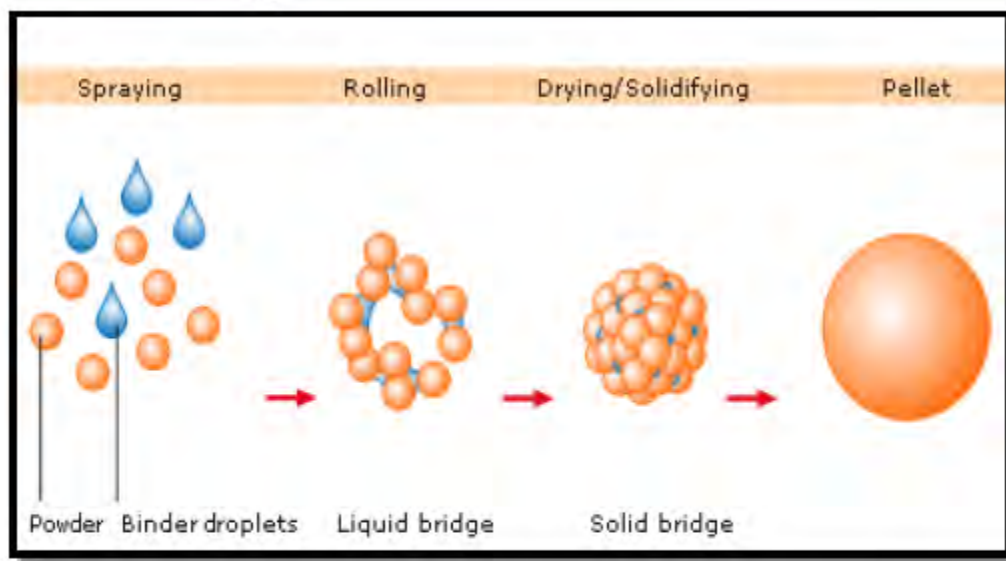
กระบวนการผลิตเพลเลตโดยการพอกเป็นชั้นด้วยสารแขวนตะกอนหรือสารละลายจะเตรียมโดยผสมตัวยากับสารยึดเกาะ โดยอาจจะแขวนลอยอยู่หรือละลายไปกับตัวกลางก็ได้ เมื่อตัวทำละลายระเหยจะทำให้ยาสามารถเกาะติดอยู่บนเม็ดแกนได้

### Coating equipment

- 1) conventional coating pan หม้อเคลือบที่อากาศร้อนสัมผัสกับ pan และผิวของหม้อเคลือบ โดยตรง ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพการแห้งไม่ทั่วถึง
- 2) perforated coating pan หม้อเคลือบที่ดัดแปลงมาจาก conventional coating pan เพื่อให้ประสิทธิภาพการทำให้แห้งและการเคลือบดีขึ้น
- 3) fluidized bed coater<sup>29</sup> มีประสิทธิภาพการเคลือบมากที่สุด ใช้เวลาน้อย

### กรรมวิธีอื่น ๆ มีดังนี้<sup>30</sup>

- 1) agitation; balling  
กระบวนการผลิตเพลเลตโดยการกลิ้งและ tumbling ผงสารอย่างต่อเนื่องใน pan, disc, drum หรือ mixer และมีการเติมของเหลวเพิ่มเข้าไปจนได้อนุภาคทรงกลม
- 2) compaction; compression  
กระบวนการผลิตเพลเลตที่เตรียมโดยการผสมตัวยากับสารช่วยต่างๆ แล้วอัดภายใต้ความดันที่เหมาะสม ซึ่งกระบวนการดังกล่าวจะต้องมีการควบคุมด้านคุณภาพการผลิตเช่นเดียวกับยาเม็ด
- 3) globulation
  - a. spray drying<sup>29</sup>  
ยาในรูปแบบยาแขวนตะกอนและสารละลายโดยปราศจากสารช่วยในสูตรตำรับถูกพ่นผ่านอากาศที่ร้อนให้เป็นอนุภาคแห้งทรงกลมทำให้ตัวกลางระเหยไปทำให้ได้อนุภาคแห้ง โดยเพลเลตที่ได้จากกระบวนการนี้มักจะมีรูพรุนซึ่งกระบวนการนี้จะช่วยปรับปรุงอัตราการละลาย และชีวปริมาณออกฤทธิ์ของยาละลายน้ำยาก
  - b. spray congealing<sup>29</sup>  
กระบวนการผลิตเพลเลตโดยให้ยาหลอมละลาย กระจาย หรือละลายไปใน gum, wax หรือ fatty acid ที่ถูกหลอมละลายจนร้อน จากนั้นพ่นไปใน chamber ที่ซึ่งควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของส่วนประกอบต่าง ๆ ในตำรับกลายเป็นอนุภาคเพลเลตที่เป็นทรงกลม กระบวนการดังกล่าวนี้สามารถผลิตยาที่ปลดปล่อยแบบทันที และสามารถควบคุมปลดปล่อยยาได้

4) direct pelletization<sup>31</sup>

รูปที่ 10 แสดงกระบวนการผลิตเม็ดด้วยเทคนิค direct pelletization

(ที่มา : Subrata K, Atul P, Keyur D, Ganga S, Nitin B. Multiparticle modified release drug delivery system for antiepileptic drug: a review. International Journal of Pharmaceutical Innovations, 2012; 2(2); 117.)

กระบวนการผลิตเม็ดโดยการเติมตัวทำละลายหรือสารยึดเกาะเข้าไปในวัตถุดิบ จากนั้นผสมให้เข้ากันโดยอาศัยแรงปั่นเหวี่ยง ซึ่งการปั่นเหวี่ยงจะทำให้เกิดอนุภาคที่รวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนที่มีขนาดเม็ดที่สม่ำเสมอ

## 5) cryopelletization

กระบวนการผลิตเม็ดโดยละอองฝอยของของเหลว (สารละลาย สารแขวนตะกอน อิมัลชัน) ให้กลายเป็นอนุภาคทรงกลม มีลักษณะเป็นของแข็งโดยใช้ไนโตรเจนเหลวที่  $-1600^{\circ}\text{C}$  เป็นตัวกลาง จากนั้นมีการถ่ายเทความร้อนอย่างรวดเร็วระหว่างไนโตรเจนเหลวและละอองฝอย แล้วจึงทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer สามารถใช้เทคนิคดังกล่าวในการผลิตยาที่ต้องการให้ปลดปล่อยยาทันที และควบคุมการปลดปล่อยยา

## 6) freeze pelletization

กระบวนการผลิตเม็ดโดยนำตัวยาสำคัญกระจายใน molten solid carrier เกิดเป็นละอองฝอย และสามารถเป็นอนุภาคของแข็งได้ที่อุณหภูมิห้องจึงไม่จำเป็นต้องใช้ความร้อนในการทำให้แห้ง อีกทั้งการเสื่อมสลายของตัวยาสำคัญเกิดขึ้นได้น้อย

## บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

### 3.1 สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

#### 3.1.1 สารเคมี

- 1) อีฟาเวิเรนซ์ (Efavirenz, Lot No.EFE/1005023, assay on dried basis 101.21%, impurity 0.12%, Matrix Laboratories Limited, India)
- 2) อีฟาเวิเรนซ์ (Efavirenz, Batch No.EN0080812, assay on dried basis 99.6%, impurity 0.03%, Hetero infrastructure Limited, Visakhapatnam, India)
- 3) พอลลอกซามเมอร์ 188 (Poloxamer 188, Kolliphor<sup>®</sup> P188, Lot No.WP0G562F, O-BASF The Chemical Company, Ludwigshafen, Germany)
- 4) ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (Hydroxypropylmethylcellulose, HPMC, Lot No.WE23012408, Dow Chemical Company, Los Angeles, United State of America)
- 5) ทวิน 80 (Tween 80)
- 6) ลูกปัดแก้ว (Glass bead , diameter 3 mm, Germany)

#### 3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

- 1) เมทานอล (Methanol, HPLC Grade)
- 2) อะซิโตนไนไตรด์ (Acetonitrile, HPLC Grade)
- 3) แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Ammonium dihydrogenphosphate)
- 4) ฟอสฟอริกแอซิด (Phosphoric acid)
- 5) 37% w/v กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid )
- 6) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)
- 7) 30% w/v ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogenperoxide)
- 8) น้ำบริสุทธิ์สูง (Ultrapure water)

#### 3.1.3 เครื่องมือ

- 1) เครื่องปั่นผสมเป็นเนื้อเดียว (Homogenizer , POLYTRON<sup>®</sup> System PT 3100, Kinematica AG, Switzerland )
- 2) เครื่องปั่นผสมเป็นเนื้อเดียวความดันสูง (High pressure homogenizer, EmulsiFlex<sup>®</sup>)



Model:C3, Avestin, Canada)

- 3) หม้อเคลือบ (Conventional pan coater with spraying system, diameter 16 cm. )
- 4) ปั๊มรีดท่อ (Peristaltic pump, Roto-Consulta, flocon1003, Lucerne, Switzerland)
- 5) เครื่องวัดขนาดอนุภาค (Laser diffraction particle size analyzer , Mastersizer 2000®, Malvern Instruments, England)
- 6) เครื่องทดสอบการละลายตัวของยา (Dissolution Tester, Vankel® VK 700, Varian Incorporation, California, USA)
- 7) เครื่องวิเคราะห์หุ้มสมบัติทางกายภาพของสาร ( Differential scanning calorimetry, Mettler Toledo DSC 822<sup>°</sup>, Switzerland)
- 8) เครื่องวิเคราะห์การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ (X-ray Diffractometer, Rigaku® Model : Miniflex II )
- 9) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope, JSM-5410LV, Jeol, Japan)
- 10) เครื่องปั่นสารละลาย (Magnetic Strrier, Variomag ®Telesystem Multipoint Stirrers, Thermo Scientific)
- 11) เครื่องปั่นสารละลาย (Magnetic Strrier, Nuova II® Strrier, Thermolyne)
- 12) เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; Auto sampler SIL-20AC HT (sereial No. L203548, Shimadzu Corporation.01906): Column oven CTO-20AC (serial no.L202148, Shimadzu Corporation 06784); Diode array detector SPP-M20A (serial no.L201547, Shimadzu Corporation 05104); Liquid Chromatogram LC-20AD (serial no.L201047, Shimadzu Corporation 16983); Communications bus module CBM-20A (serial no. L202348, Shimadzu Corporation 11485)
- 13) เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter, FE20/FG2, Mettler-Toledo GmbH, Laboratory & Weighing Technologies, Greifensee, Switzerland)
- 14) เครื่องชั่ง (Analytical Balance, PB303, max 310 g, min 0.02 g, d = 1mg, Mettler-Toledo GmbH, Laboratory & Weighing Technologies, Greifensee, Switzerland)
- 15) เครื่องชั่ง (Analytical Balance, PB3002, max 3100 g, min 0.5 g, d = 10 mg, Mettler-Toledo GmbH, Laboratory & Weighing Technologies, Greifensee, Switzerland)

- 16) เครื่องชั่ง (Analytical Balance, XP205, max 220 g, d = 0.01 mg, Mettler-Toledo GmbH, Laboratory & Weighing Technologies, Greifensee, Switzerland)
- 17) เครื่องทำความสะอาดด้วยแรงสั่น (Ultrasonic Cleaner, ELMA S70H, Elma Hans Schmidbauer GmbH & Co. KG, Singen, Germany )
- 18) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ((Immersion thermostat and waterbath, Polystat CC1, Huber Kältemaschinenbau, Offenburg, Germany)

### 3.1.4 อุปกรณ์

- 1) Colum HPLC (stainless steel column 25 cm x 4.6 cm containing packing octadecylsilyl silica gel , 5 $\mu$ m )
- 2) Beaker 50, 100, 150, 250, 600, 1000 ml
- 3) Volumetric flask 10, 100, 250, 1000 ml
- 4) Test tube
- 5) Centrifuge tube 10 ml
- 6) Stirring rod
- 7) ช้อนเขม
- 8) Magnetic bar
- 9) Pipette 1, 2, 3, 5, 10 ml
- 10) Syringe 10 ml
- 11) ชุดกรอง
- 12) กระดาษกรองไนลอน ขนาด 0.45 ไมครอน
- 13) Pafafilm
- 14) กระดาษ ฟอยล์
- 15) จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- 16) Prefilter syringe 0.45  $\mu$ m

## 3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

### 3.2.1 การศึกษาก่อนตั้งสูตรตำรับ

โดยการวัดขนาดอนุภาคของ efavirenz เมื่อกระจายในน้ำ ด้วยเครื่อง Masteseizer และสังเกตลักษณะพื้นผิวของอนุภาค efavirenz ด้วย Scanning Electron Microscope

### 3.2.2 การพัฒนาสูตรตำรับยาแขวนตะกอน efavirenz

- 3.2.2.1 ศึกษาหา flocculating agent ที่เหมาะสมโดยนำ flocculating agent จากการทบทวนวรรณกรรม มาเตรียมเป็นยาแขวนตะกอน efavirenz และประเมินจากการวัด sedimentation volume โดยเปรียบเทียบ sedimentation volume ของ (1) สูตรยาแขวนตะกอนที่ใช้ poloxamer 407 ตำรับ เป็น flocculating agent ในปริมาณ 1-5% ของสูตรตำรับ และ (2) สูตรยาแขวนตะกอนที่ใช้ poloxamer 188 ตำรับ เป็น flocculating agent ในปริมาณ 1-5% ของสูตรตำรับ เป็น flocculating agent โดยในการเตรียมจะใช้ tween 80 เป็นสารช่วยบดผสม (levigating agent) หลังจากนั้นจะนำไปกระจายในสารละลาย poloxamer ที่กระจายในน้ำเย็น และทำให้ใส
- 3.2.2.2 ศึกษาผลของการเพิ่ม suspending agent ในสูตรตำรับยาแขวนตะกอน โดยประเมินจากการวัด sedimentation volume ของสูตรตำรับ (1) สูตรยาแขวนตะกอนที่ใช้ poloxamer grade ที่เหมาะสม จากข้อ 3.2.2.1 เป็น flocculating agent ในปริมาณ 1-5% ของสูตรตำรับ และ HPMC เป็น suspending agent ในปริมาณ 1% ของสูตรตำรับ และ (2) สูตรยาแขวนตะกอนที่ใช้ poloxamer grade ที่เหมาะสม จากข้อ 1.1 เป็น flocculating agent ในปริมาณ 1-5% ของสูตรตำรับ และไม่ใช่ suspending agent โดยในการเตรียมจะใช้ tween เป็นสารช่วยบดผสม (levigating agent) หลังจากนั้นจะนำไปกระจายในสารละลาย poloxamer ที่กระจายในน้ำเย็น และทำให้ใส
- 3.2.2.3 ศึกษาเพื่อหาตัวแปรที่เหมาะสมในการทดลอง ได้แก่ จำนวนรอบในการผ่าน high pressure homogenizer ในการลดขนาดด้วยความดัน 800 -1200 bar หลังการบดผสมด้วยเครื่อง homogenizer ด้วยความเร็ว 8000 รอบ เป็นเวลา 15 นาที โดยจะทำการวัดขนาดเมื่อผ่านการลดขนาด รอบที่ 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 ซึ่งจะเลือกจำนวนรอบที่สามารถทำให้ขนาดอนุภาคของ efavirenz น้อยกว่า 4 ไมครอน โดยประเมินเปรียบเทียบจากขนาดอนุภาค ของสองสูตรตำรับ ได้แก่ (1) สูตรยาแขวนตะกอน F1 ที่ใช้ poloxamer grade และ ปริมาณที่เหมาะสมจากผลการทดลองของ ข้อ 3.2.2.1 และ 3.2.2.2 เป็น flocculating agent และ HPMC เป็น suspending agent ปริมาณ 1% ของสูตรตำรับ และ (2) สูตรยาแขวนตะกอน F2 ที่ใช้ poloxamer grade และ ปริมาณที่เหมาะสม

จากผลการทดลองของข้อ 3.2.2.1 และ 3.2.2.2 เป็น flocculating agent เป็น flocculating agent และ HPMC เป็น suspending agent ปริมาณ 2% ของสูตรตำรับ

3.2.2.4 ศึกษาหาปริมาณ suspending agent ที่เหมาะสม โดยประเมินจากการวัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Mastersizer 2000® เมื่อทำการลดขนาดด้วย high pressure homogenizer ในช่วงความดัน 800-1200 bar ด้วยจำนวนรอบที่เหมาะสม และหลังการลดขนาดอนุภาค ชั่วโมงที่ 1, 3, 6, 9 และ 24 เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกสูตรตำรับที่มีความคงตัวได้ ตลอดช่วงระยะเวลาการพอกชั้นบน glass bead โดยเปรียบเทียบขนาดอนุภาค ของสูตรตำรับ F1 และ F2

### 3.2.3 การเตรียมสูตรตำรับยาแขวนตะกอน efavirenz

วิธีมาตรฐานในการเตรียม

เตรียม poloxamer โดยกระจายในน้ำ และนำไปแช่เย็น จนได้สารละลายใส นำออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ส่วน HPMC เตรียมโดยโปรยผงในน้ำร้อน 2 ส่วน เมื่อละลายและกระจายตัวจนเริ่มใส จึงเติมน้ำเย็นอีก 1 ส่วน เพื่อให้พองตัวและใสมากขึ้น จากนั้นนำ efavirenz ที่ซังด้วยเครื่องซังที่ปรับสมดุลแล้วกระจายในน้ำ และ ผสมสารละลาย poloxamer และ HPMC เพื่อกระจายตัวตามลำดับ หลังจากนั้นปรับปริมาตร และนำไปปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย homogenizer ด้วยเวลาและจำนวนรอบ จากข้อ 3.2.2.3 หากเป็นสูตรที่ลดขนาดจะนำไปผ่านเครื่อง high pressure homogenizer ในช่วงความดัน 800 -1200 bar ด้วยจำนวนรอบที่เหมาะสม จากข้อ 3.2.2.3 เพื่อลดขนาดต่อไป โดยปริมาณของส่วนประกอบต่างๆในสูตรตำรับ จะมาจากการคัดเลือกสูตรที่ดีที่สุด จากข้อ 3.2.2.3 ในการประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของเพลเลต efavirenz ในขั้นต่อไป เพื่อทำการศึกษาหาผลของการลดขนาด และผลของส่วนประกอบในสูตรตำรับ จึงทำการเตรียมทั้งหมด 5 สูตร ดังนี้

ตารางที่ 2 แสดงส่วนประกอบของสูตรตำรับ

สูตร	ส่วนประกอบในสูตร			
	efavirenz		poloxamer188	HPMC
	ลดขนาด	ไม่ลดขนาด		
Rx1	✓	✗	✓	✓
Rx2	✗	✓	✓	✓
Rx3	✗	✓	✓	✗

สูตร	ส่วนประกอบในสูตร			
	efavirenz		poloxamer188	HPMC
	ลดขนาด	ไม่ลดขนาด		
Rx4	✗	✓	✗	✓
Rx5	✗	✓	✗	✗

หมายเหตุ เนื่องจาก tween 80 ซึ่งใช้ในเป็น levigating agent อาจมีผลต่อสัณฐาน ขนาดอนุภาค และการละลายของ efavirenz ซึ่งอาจทำให้การแปรผลการวิจัยผิดพลาด การเตรียมตำรับจึง ตัด tween ออกจากสูตรตำรับ

### 3.2.4 การพอกยาแขวนตะกอนบนอนุภาคแกน

จะทำการพอกยาแขวนตะกอนทั้ง 5 สูตรตำรับที่กล่าวถึงในข้อ 3.2.4 ด้วยเครื่อง conventional pan coater ที่ติดหัวสเปรย์ โดยใช้ glass bead เป็นเม็ดแกนต้นแบบ จำนวน 100 กรัม ซึ่งสภาวะของการพอกเป็นดังนี้

Coating machine : conventional pan coater with spraying system

Batch size : 100 g glass bead

Pan size diameter : 24 cm

Rotator Pan Speed : 43.9 rpm

Inlet Air Temperature : 47-50 °C

Outlet Air Temperature : 29-34 °C

Product Temperature : 41-49 °C

Atomizing pressure : 0.5 lb/inch<sup>2</sup>

Number of spray nozzle : 1

Distance between product and spray nozzle : 11 cm

Nozzle diameter (mm) : 1 mm

Spraying rate (g/min) : 6 g/min

Final drying temperature and time (°c, hour) : 45 °c , 5 hour

Rate of magnetic stirrer bar : 450 rpm

หมายเหตุ หากไม่สามารถพอกยาแขวนตะกอนบน glass bead ไม่ได้จะทำการแก้ไข โดยการพอกยาบน petri dish และจุดผงยาเพื่อไปวิเคราะห์ต่อไป

### 3.2.5 การหาปริมาณ (assay) ยาแขวนตะกอนที่พอกชั้นบน glass bead ด้วยวิธี HPLC

#### 3.2.5.1 Chromatographic system

Column : stainless steel column 25 cm x 4.6 cm containing packing octadecylsilyl silica gel (5 $\mu$ m)

Flow rate : 1.5 ml/minute

Detector : spectrophotometer 254 nm

Injection volume : 20  $\mu$ l

Mobile phase : filtered and degassed of acetonitrile and buffer solution

#### 3.2.5.2 การเตรียม mobile phase

- 1) acetonitrile โดยตวง acetonitrile และ ปรับปริมาตรด้วย volumetric flask 1000 ml และ กรองโดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ ด้วย millipore nylon filter ขนาดรูปเปิด 0.45 ไมครอน
- 2) buffer solution โดยชั่ง ammonium dihydrogen phosphate 8.60 กรัม ละลายใน ultrapure water ซึ่งผ่านการกรองด้วย millipore cellulose acetate filter 0.45 ไมครอน และปรับปริมาตรใน volumetric flask จนครบ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นหยด phosphoric acid เพื่อปรับ pH ให้เป็น  $3\pm 0.05$  ซึ่งวัดโดยเครื่อง pH meter

3.2.5.3 การเตรียม efavirenz stock solution โดยชั่ง efavirenz 25 มิลลิกรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติม methanol ในปริมาณเล็กน้อยลงไป ใน volumetric flask ในข้อ 1 แยกให้ผงยาแตกกระจายตัว และละลายจนหมด และ ปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 250 มิลลิลิตร จะได้ efavirenz stock solution ความเข้มข้น 0.01 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

3.2.5.4 เตรียมสารละลาย efavirenz ให้มีความเข้มข้น 0.002, 0.003, 0.004, 0.005, 0.006, 0.007 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร โดยปิเปตจาก efavirenz stock solution ดังนี้

- 1) ปิเปต stock solution มา 2 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะได้ความเข้มข้น 0.002 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
- 2) ปิเปต stock solution มา 3 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะได้ความเข้มข้น 0.003 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

- 3) ปิเปต stock solution มา 4 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะให้ความเข้มข้น 0.004 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
- 4) ปิเปต stock solution มา 5 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะให้ความเข้มข้น 0.005 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
- 5) ปิเปต stock solution มา 6 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะให้ความเข้มข้น 0.006 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
- 6) ปิเปต stock solution มา 7 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะให้ความเข้มข้น 0.007 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

#### 3.2.5.5 การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ (assay preparation)

ปิเปต ultrapure water 25 มิลลิลิตร และ methanol 75 มิลลิลิตร หลังจากนั้นผสมกันในบีกเกอร์ จนได้สารละลายใส และไม่มีฟอง จากนั้น ชั่งเม็ด bead 1 กรัม ใส่ลงใน volumetric flask 100 มิลลิลิตร และเติมสารละลายผสมจากข้อ 1 ลงไปเล็กน้อย แกว่งให้ glass bead แยกกัน และปรับปริมาตรด้วยสารละลายผสมจากข้อ 1 ใน volumetric flask จนครบ 100 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่อง sonicator นาน 10 นาที ฟิล์มที่พอกขึ้นบน glass bead จะละลายจนหมด และได้สารละลายใส หลังจากนั้นนำไปกรองด้วย millipore nylon filter 0.45 ไมครอน โดยในการวิเคราะห์ปริมาณยาทั้ง 5 สูตร จะเตรียมสูตรละ 2 sample (n=2)

#### 3.2.5.6 การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์

ปิเปต ultrapure water 25 มิลลิลิตร และ methanol 75 มิลลิลิตร หลังจากนั้นผสมกันในบีกเกอร์ จนได้สารละลายใส และไม่มีฟอง จากนั้น ชั่งเม็ด bead 1 กรัม ใส่ลงใน volumetric flask 100 มิลลิลิตร และเติมสารละลายผสมจากข้อ 1 ลงไปเล็กน้อย แกว่งให้ glass bead แยกกัน และปรับปริมาตรด้วยสารละลายผสมจากข้อ 1 ใน volumetric flask จนครบ 100 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่อง sonicator นาน 10 นาที ฟิล์มที่พอกขึ้นบน glass bead จะละลายจนหมด และได้สารละลายใส หลังจากนั้นนำไปกรองด้วย millipore nylon filter 0.45 ไมครอน โดยในการวิเคราะห์ปริมาณยาทั้ง 5 สูตร จะเตรียมสูตรละ 2 sample (n=2)

### 3.2.6 การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของยาแขวนตะกอนและเฟลเวต efavirenz ดังนี้

#### 3.2.6.1 sedimentation volume ของยาแขวนตะกอน

การวัด sedimentation volume ทำเพื่อหา flocculating agent ที่เหมาะสมในสูตรตำรับที่ทำให้เกิดสภาพ deflocculated ไม่จับตัวกันแน่น โดยเตรียมยาแขวนตะกอนและทำการปั่นผสมด้วย

เครื่อง homogenizer ให้กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ใส่ในหลอดทดลอง ซึ่งมีขนาดเท่าๆกัน หลังจาก นั้นวัดความสูงของตะกอนของยาเตรียมก่อนตกตะกอนด้วยไม้บรรทัด เมื่อครบ 7 วันทำการวัด ความสูงของตะกอนอีกครั้ง ด้วยไม้บรรทัด และคำนวณ sedimentation volume ตามสูตร

$$\text{sedimentation volume (F)} = \frac{V_u}{V_o}$$

โดย  $V_u$  = ปริมาตรของตะกอนหลังจากตกตะกอนอย่างสมบูรณ์

$V_o$  = ปริมาตรเริ่มต้นของยาเตรียมก่อนตกตะกอน

3.2.6.2 สังเกตลักษณะพื้นผิวของ glass bead หลังการพอกยาแขวนตะกอนของสูตร Rx1, Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5 ด้วยเครื่อง scanning electron microscope

3.2.6.3 ขนาดอนุภาคของตัวยา

ตรวจสอบหาขนาดอนุภาคของ efavirenz ในยาแขวนตะกอนก่อนทำการพอกบน glass bead และขนาดอนุภาคของตัวยาที่ได้จากการกระจายตัวกลับของยาแขวนตะกอนหลังพอกขึ้นเป็นเพล เลตของสูตรยาแขวนตะกอน Rx1, Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5 ซึ่งจะทำการวัดขนาดอนุภาคด้วย เทคนิค laser diffraction ด้วยเครื่อง Mastersizer 2000<sup>®</sup> ซึ่งจะทำการวัดขนาดอนุภาคด้วยเทคนิค laser diffraction ด้วยเครื่อง Mastersizer 2000<sup>®</sup> โดยกระจายยาแขวนตะกอน, ยาแขวนตะกอนที่พอก เป็นชั้นบนเพลเลตด้วยตัวกลาง คือ DI water (ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับกระสายยาของสูตรตำรับ) ใน volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ต่อมาทำการเขย่าสารตัวอย่าง เพื่อให้เกิดการกระจายของ อนุภาคยาทั่วทั้งตัวกลาง หลังจากนั้นจึงรินสารตัวอย่าง ที่ต้องการจะวัดขนาดอนุภาคลงในบีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร เพื่อทำการวัดขนาดโดยเครื่อง Mastersizer 2000<sup>®</sup> ที่อยู่ในสภาพพร้อมใช้งาน สุดท้ายเครื่องจะแสดงผลการกระจายขนาดอนุภาค  $d(v,50)$  ในรูปของกราฟแสดงจำนวนร้อยละการ กระจายอนุภาคในช่วงขนาดต่างๆ บันทึกผลที่ได้ ทั้งนี้สภาวะอุณหภูมิขณะปฏิบัติการคือ 25°C และ ทำการตั้งค่า refractive index ของ poloxamer คือ 1.456

3.2.6.4 ประเมินการละลายของยาแขวนตะกอน และเพลเลตที่พอกยาแขวนตะกอนของสูตร Rx1, Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5

- 1) สภาวะในการทดสอบ ได้แก่ ใช้เครื่อง Vankel<sup>®</sup> VK 700 โดยเลือกใช้ apparatus 2 paddle ซึ่งหมุน ด้วยความเร็ว 50 rpm ใน vessel ที่บรรจุ purified water จำนวน 900 มิลลิลิตร และควบคุมอุณหภูมิ ในการทดสอบให้อยู่ในช่วง  $37 \pm 0.5$  °C โดยการทดสอบจะทำ 3 vessel ต่อ หนึ่งสูตร และสุ่ม ตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 15, 30, 45, 60 และ 90 และเติมตัวกลางปริมาณ 10 มิลลิลิตร กลับคืน



## 2) วิธีการเตรียมสารตัวอย่าง

- 2.1 สำหรับยาแขวนตะกอน เตรียมโดยบีบยาแขวนตะกอน 5 มิลลิลิตรของสูตร Rx1, Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5 ซึ่งจะได้ปริมาณยา efavirenz เท่ากับ 50 มิลลิกรัมเช่นเดียวกับยาแคปซูลที่มีในท้องตลาด ใส่ลงใน vessel ที่เติมตัวกลางจำนวน 3 vessel
- 2.2 สำหรับเพลเลต ให้หาปริมาณ glass bead ที่ใส่ในแต่ละ vessel ของแต่ละสูตร โดยเทียบกับการวิเคราะห์ปริมาณยา โดยคำนวณเทียบให้ได้ efavirenz 50 มิลลิกรัม ซึ่งเท่ากับปริมาณตัวยา efavirenz ของยาแคปซูลที่มีในท้องตลาด ชั่ง glass bead ตามปริมาณที่คำนวณได้ ใส่ลงใน vessel ที่เติมตัวกลางจำนวน 3 vessel

- 3) การเก็บสารละลายตัวอย่าง โดยสุ่มตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกฉีดยาตามความถี่ที่กำหนด และเติม purified water ปริมาณ 10 มิลลิลิตรกลับคืนใน vessel ทั้ง 3 vessel หลังจากนั้นกรองสารละลายที่ได้จากการทดสอบการละลาย และนำส่วนที่กรองได้ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้น ด้วยเครื่อง HPLC

### 3.2.7.5 คุณสมบัติเชิงความร้อน

ศึกษาคุณสมบัติเชิงความร้อนของตัวอย่างโดยเทคนิค differential scanning calorimetry โดยนำผงสารตัวอย่างละเอียดที่ได้จากการชูดออกจากเม็ด glass bead ใส่ใน aluminium pan ขนาด 40 ไมโครลิตร เจาะรูที่ฝา และ cramp ปิดฝาให้สนิท ให้ความร้อนแก่ตัวอย่างโดยใช้ heating rate : 5 °C ต่อนาที ในช่วง 25-220 °C ภายใต้สภาวะของ nitrogen gas 60 g/min โดยตัวอย่างที่ทดสอบ ได้แก่ efavirenz, HPMC, poloxamer 188, efavirenz ผสมกับ HPMC ในสัดส่วน 1:1, efavirenz ผสมกับ poloxamer 188 ในสัดส่วน 1:1, efavirenz ผสมกับ HPMC และ poloxamer 188 ในสัดส่วน 1:1:1 และผงสารที่ได้จากการชูดจาก glass bead ที่ถูกพอกชั้นของสูตร Rx1, Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5

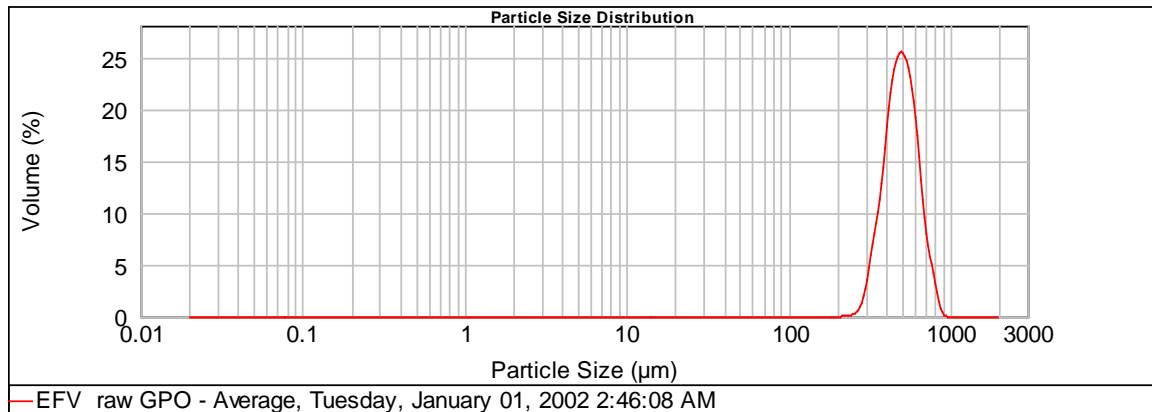
### 3.2.7.6 คุณสมบัติความเป็นผลึก

ศึกษาคุณสมบัติความเป็นผลึกโดยใช้ x-ray powder diffractometer โดยนำผงสารตัวอย่างละเอียดที่ได้จากการชูดออกจากเม็ด glass bead ไปอัดลงบนแผ่น slit และกำหนดสภาวะที่ใช้ ดังนี้ receiving slit 0.2, scanning rate 1 องศาต่อนาที ซึ่งตัวอย่างที่ทดสอบ ได้แก่ efavirenz, HPMC, poloxamer 188, efavirenz ผสมกับ HPMC และ poloxamer 188 ในสัดส่วน 1:1:1 และผงสารที่ได้จากการชูดจาก glass bead ที่ถูกพอกชั้น ของสูตร Rx1, Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5

## บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

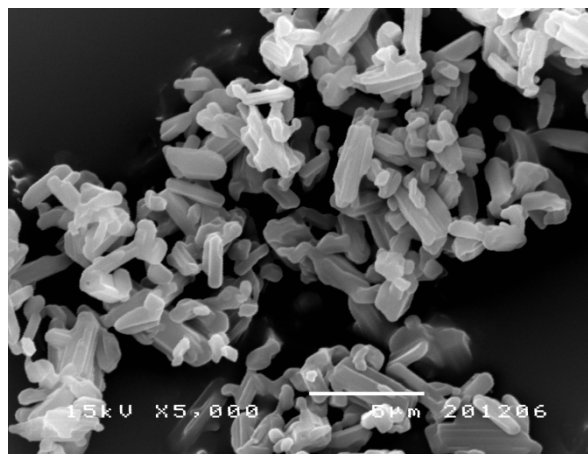
### 4.1 ผลการศึกษาเบื้องต้นสูตรตำรับ

4.1.1 ผลการศึกษารวบรวมขนาดอนุภาคของยา efavirenz เมื่อกระจายในน้ำด้วยเครื่อง laser diffraction particle size analyzer พบว่ามีค่าเฉลี่ย ( $d_{50}$ ) จากการวัดทั้ง 3 ครั้ง (493.886 ไมโครเมตร, 498.352 ไมโครเมตร, 502.560 ไมโครเมตร) เท่ากับ 498.226 ไมโครเมตร โดยมีค่า span เท่ากับ 0.638

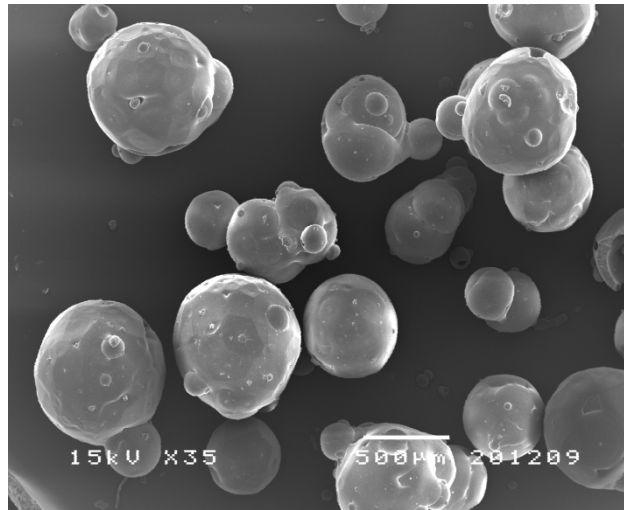


รูปที่ 11 แสดงการกระจายขนาดอนุภาคของยา efavirenz ซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบ

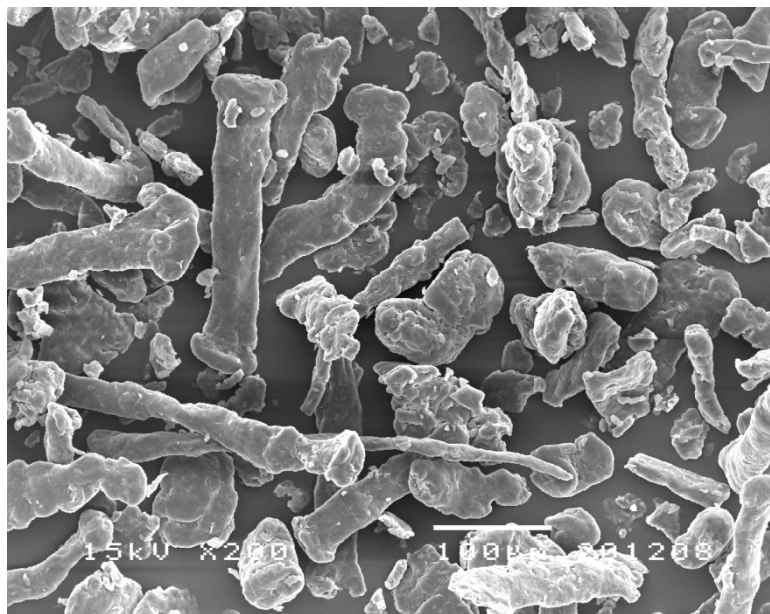
4.1.2 ผลการศึกษาลักษณะพื้นผิวปรากฏที่ส่องจากกล้อง scanning electron microscope ของ efavirenz, HPMC, poloxamer 188 ตามลำดับ



รูปที่ 12 แสดงภาพถ่ายจาก SEM ของ efavirenz ที่กำลังขยาย 5000X



รูปที่ 13 แสดงภาพถ่ายจาก SEM ของ poloxamer188 ที่กำลังขยาย 5000X



รูปที่ 14 แสดงภาพถ่ายจาก SEM ของ HPMC ที่กำลังขยาย 5000X

จากการศึกษาพบว่าขนาดอนุภาคยาเริ่มต้นมีขนาดที่ใหญ่ระดับไมครอน อีกทั้งรูปร่างของยา efavirenz ที่ได้จาก SEM พบว่าเป็นผลึกรูปแท่ง ส่วน poloxamer 188 มีรูปร่างกลม และ HPMC มีรูปร่างและขนาดที่ไม่แน่นอน

## 4.2 ผลการศึกษาการพัฒนาสูตรตำรับยาแขวนตะกอน

### 4.2.1 ผลการศึกษาหา flocculating agent ที่เหมาะสมโดยประเมินจากการวัด sedimentation volume

ตารางที่ 3 แสดงผลค่าเฉลี่ยวัด sedimentation volume ของสูตรที่ใช้ poloxamer เกรด 407 และ 188 เป็น flocculating agent ในปริมาณ 1-5% ของสูตรตำรับ (n=3)

ชนิดพอลิเมอร์	ปริมาณที่ใช้ในสูตรตำรับ				
	1%	2%	3%	4%	5%
<b>Poloxamer 407</b>	0.064	0.075	0.019	0.039	0.007
<b>Poloxamer 188</b>	0.074	0.090	0.12	0.096	0.109

จากการศึกษาพบว่าตัวยา efavirenz เป็นตัวยาประจวบที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งการตั้งสูตรตำรับยาแขวนตะกอนจะต้องอาศัย flocculating agent ในการห่อหุ้มตัวยาไว้ไม่ให้เกิดการตกตะกอนที่ก้นภาชนะหรือเกิด caking โดยสูตรตำรับนี้จะเลือก flocculating agent ที่ไม่มีประจุซึ่งไม่มีผลต่อตัวยานั้นคือ poloxamer จัดเป็น polymer และ surfactant ที่นิยมใช้เป็น flocculating agent ที่เหมาะสมในการตั้งสูตรตำรับสำหรับยาที่ลดขนาดอีกทั้ง poloxamer สามารถใช้เป็นส่วนประกอบในตำรับยารับประทานจึงเหมาะสมกับสูตรตำรับยาแขวนตะกอน efavirenz โดยช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการเป็น stabilizing agent หรือ flocculating agent จะอยู่ในช่วง 1-5 % ของสูตรตำรับ เมื่อนำมาทดสอบเพื่อหาชนิด flocculating agent ที่เหมาะสมพบว่าค่า sedimentation volume ของ poloxamer 188 มีค่ามากกว่าเมื่อเทียบกับการคำนวณ sedimentation volume ของ poloxamer 407 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า poloxamer 188 สามารถเกิด floccules ได้ดีกว่า poloxamer 407 โดยพบว่าในแต่ละความเข้มข้นค่า sedimentation volume ไม่แตกต่างกันมากดังนั้นเพื่อใช้สารอื่นนอกเหนือจากตัวยาให้น้อยที่สุดที่ยังสามารถทำหน้าที่ห่อหุ้มตัวยาได้จึงมีความเหมาะสมมีผลต่อตัวยาและมีผลต่อการวิเคราะห์น้อยที่สุด จึงเลือกใช้ poloxamer 188 ร้อยละ 1 เป็น flocculating agent ของสูตรตำรับ

4.2.2 ผลของการเพิ่ม suspending agent ในสูตรตำรับยาแขวนตะกอน โดยประเมินจากการวัด sedimentation volume เป็นดังตาราง

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยของการวัด sedimentation volume ของสูตรตำรับที่ใช้ HPMC ในปริมาณ 1% เป็น suspending agent และ สูตรตำรับที่ไม่มี HPMC เป็นส่วนประกอบ (n=3)

ปริมาณ poloxamer 188 (%)	ปริมาณ HPMC (%)	
	0	1
1	0.08(0.01)	0.09(0.01)
2	0.08(0.01)	0.08(0.01)
3	0.07(0.01)	0.08(0.01)
4	0.07(0.02)	0.08(0.01)
5	1.06(0.01)	0.08(0.01)

จากผลการศึกษาพบว่า สูตรตำรับยาแขวนตะกอนที่ดีจำเป็นต้องมี suspending agent เพื่อช่วยแขวนลอยตัวยาวไว้ในระบบ ดังนั้น suspending agent ที่ใช้จะต้องมีประจุเช่นเดียวกับ flocculating agent ที่ใช้หรือไม่มีประจุ และเนื่องจากสูตรตำรับดังกล่าวเมื่อผ่านการลดขนาดแล้วจะต้องนำไปพอกเป็นชั้นบน glass bead ซึ่งต้องอาศัยสารยึดเกาะเพื่อให้อนุภาคผงยาเกาะติดโดยตัวที่นิยมใช้คือ HPMC เนื่องจากเป็นสารที่หาง่าย มีคุณสมบัติการยึดเกาะผิวที่ดี ละลายได้ในน้ำซึ่งเหมาะกับสูตรตำรับที่ใช้เป็นกระสายยา โดยจากการทดลองพบว่า HPMC ร้อยละ 1 มีความเหมาะสมสำหรับสูตรตำรับ

4.2.3 ผลศึกษาเพื่อหาตัวแปรที่เหมาะสมในการทดลอง

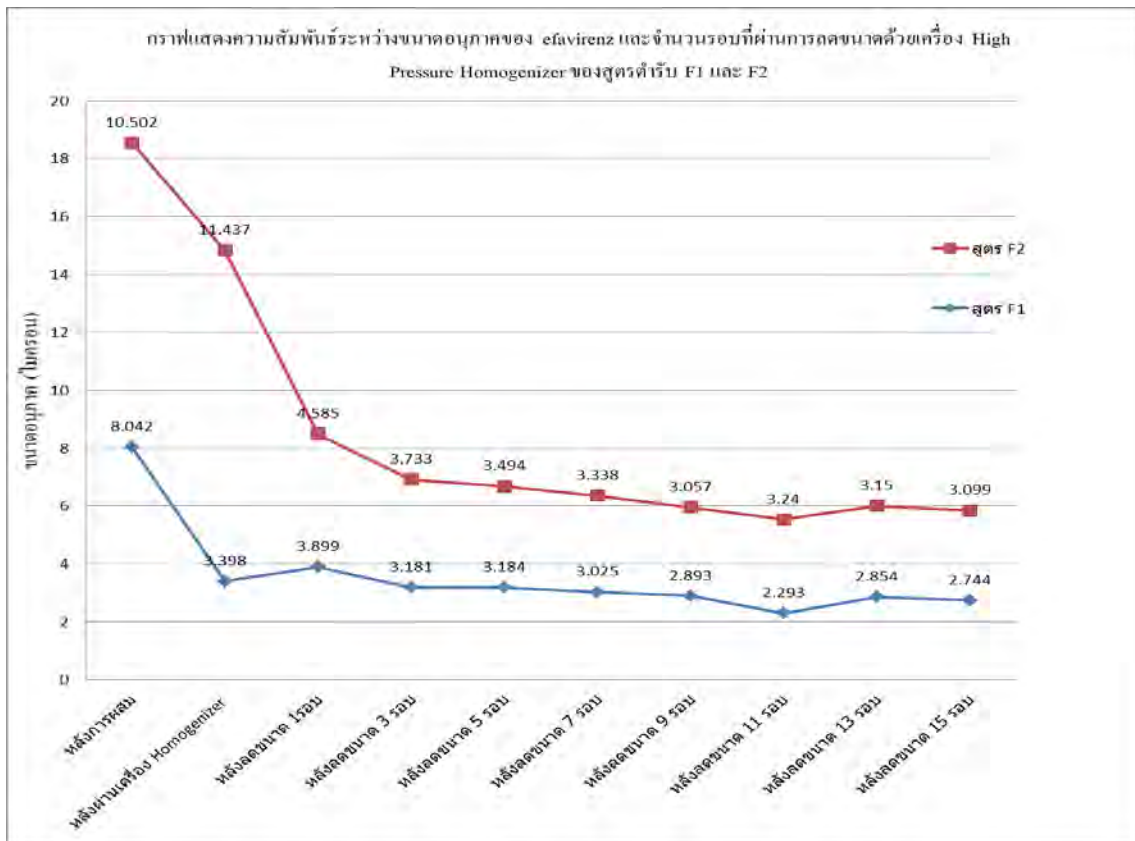
ผลการศึกษาจำนวนรอบ ในการลดขนาด ด้วย high pressure homogenizer ในช่วงความดัน 800 - 1200 bar โดยประเมินเปรียบเทียบขนาดอนุภาคของสูตรตำรับ F1 และสูตรตำรับ F2 ดังตาราง

ตารางที่ 5 แสดงส่วนประกอบของสูตรตำรับที่ผ่านการลดขนาด ด้วย high pressure homogenizer

ส่วนประกอบในตำรับ	F1	F2
<b>efavirenz</b>	1 %	1 %
<b>poloxamer 188</b>	1 %	1 %
<b>HPMC</b>	1 %	2 %

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาค ( $d_{50}$ (SD), n=3) เมื่อผ่านการลดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง high pressure homogenizer

ขั้นตอนการดำเนินการ	$d_{50}$ ของ F1 (ไมโครเมตร)	$d_{50}$ ของ F2 (ไมโครเมตร)
หลังผสม	8.042(0.0026)	10.502(0.02750)
หลังผ่านเครื่อง homogenizer 8000 รอบ/นาที นาน 15 นาที	8.398(0.0132)	11.437(0.02750)
หลังผ่านเครื่อง high pressure homogenizer 800-1200 bar จำนวน 1 รอบ	3.889(0.0096)	4.585(0.0223)
หลังผ่านเครื่อง high pressure homogenizer 800-1200 bar จำนวน 3 รอบ	3.181(0.0036)	3.733(0.0177)
หลังผ่านเครื่อง high pressure homogenizer 800-1200 bar จำนวน 5 รอบ	3.184(0.0050)	3.494(0.0070)
หลังผ่านเครื่อง high pressure homogenizer 800-1200 bar จำนวน 7 รอบ	3.025(0.0110)	3.338(0.0170)
หลังผ่านเครื่อง high pressure homogenizer 800-1200 bar จำนวน 9 รอบ	2.893(0.0030)	3.057(0.0190)
หลังผ่านเครื่อง high pressure homogenizer 800-1200 bar จำนวน 11 รอบ	2.293(0.0070)	3.240(0.0135)
หลังผ่านเครื่อง high pressure homogenizer 800-1200 bar จำนวน 13 รอบ	2.854(0.0085)	3.150(0.0105)
หลังผ่านเครื่อง high pressure homogenizer 800-1200 bar จำนวน 15 รอบ	2.744(0.0220)	3.099(0.0164)



รูปที่ 15 แสดงความสัมพันธ์ของจำนวนรอบในการผ่าน high pressure homogenizer ที่มีผลต่อขนาดอนุภาค

จากการศึกษาหาจำนวนรอบที่เหมาะสมในการลดขนาด โดยนำสูตรตำรับยาแขวนตะกอน ที่เลือกดังกล่าวผ่านเครื่อง homogenizer ความเร็วรอบ 8000 rpm นาน 15 นาที เมื่อนำไปวัดอนุภาค พบว่าไม่แตกต่างกันในช่วงก่อนผ่านเครื่อง homogenizer และหลังผ่านเครื่อง homogenizer จากนั้นนำมาผ่านเครื่องลดขนาด high pressure homogenizer ที่อาศัยหลักการอัดแรงดันสูงผ่านรูภายใน ตัวเครื่อง ความดัน 800-1200 bar พบว่าเมื่อเพิ่มจำนวนรอบมากขึ้นขนาดอนุภาคที่วัดได้มีขนาดที่ เล็กกลง โดยจากรูปที่ 15 ขนาดอนุภาคลดลงชัดเจนเมื่อผ่านเครื่อง high pressure homogenizer จำนวน 3 รอบ หลังจากนั้นจะลดลงค่อนข้างคงที่จึงเลือกการลดขนาดผ่านเครื่อง high pressure homogenizer จำนวน 3 รอบเป็นตัวแปรควบคุมตลอดการทดลอง แต่เนื่องจากเครื่องดังกล่าวการควบคุมความดัน ให้คงที่จะทำได้ยากจึงกำหนดเป็นช่วงความดันสูงที่สามารถลดขนาดอนุภาคได้เหมาะสมคือ ความดัน 800-1200 bar

4.2.4 ผลศึกษาหาปริมาณ suspending agent ที่เหมาะสม โดยประเมินจากการวัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Mastersizer 2000<sup>®</sup> เป็นไปดังตาราง

ตารางที่ 7 แสดงขนาดอนุภาคเฉลี่ย ( $d_{50}$ (SD), n=3) ของสูตร F1 และ F2 เมื่อทำการลดขนาดด้วย high pressure homogenizer จำนวน 3 รอบ ในช่วงความดัน 800-1200 bar และหลังการลดขนาดอนุภาค ชั่วโมงที่ 1, 3, 6, 9 และ 24

เวลา	$d_{50}$ ของ F1 (ไมครอน)	$d_{50}$ ของ F2 (ไมครอน)
หลังผ่านการลดขนาดจำนวน 3 รอบ	3.181(0.0035)	3.733(0.0177)
ชั่วโมงที่ 1	3.387(0.0176)	3.914(0.0303)
ชั่วโมงที่ 3	3.515(0.0245)	4.171(0.1158)
ชั่วโมงที่ 6	3.694(0.0045)	4.253(0.1396)
ชั่วโมงที่ 9	3.471(0.0100)	9.377(1.984)
ชั่วโมงที่ 24	4.401(0.0439)	33.008(0.27126)

เนื่องจากสูตรตำรับดังกล่าวเป็นยาแขวนตะกอนที่ผ่านการลดขนาดซึ่งไม่มีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ อนุภาคขนาดเล็กซึ่งมีพลังงานสูงจะพยายามมารวมตัวกันเป็นอนุภาคขนาดใหญ่เพื่อลดพื้นที่ผิว และลดพลังงานให้มีความคงตัวเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจะต้องมีการศึกษาหาช่วงเวลาที่เหมาะสมที่อนุภาคมีความคงตัว ไม่เกิดอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยจากการศึกษาพบว่าอนุภาคจะมีขนาดใหญ่มากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง การพอกเป็นชั้นของยาแขวนตะกอนบนเพลเลตจึงต้องทำภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากเตรียมสูตรตำรับยาแขวนตะกอน อีกทั้งเมื่อเปรียบเทียบร้อยละของ HPMC พบว่าขนาดอนุภาคเมื่อใช้ HPMC ร้อยละ 2 สารแขวนตะกอนจะมีความหนืดมาก ขนาดอนุภาคเกิดการรวมตัว และเกาะกลุ่มกันได้เร็ว ประกอบกับการอัดสารด้วยแรงดันสูงโดยเครื่อง high pressure homogenizer จะทำได้ยาก เกิดการอุดตันภายในเครื่องได้ ดังนั้นสูตรตำรับที่เหมาะสมสำหรับพอกเป็นชั้นบนเพลเลตคือ ตัวยา efavirenz ร้อยละ 1 poloxamer 188 ร้อยละ 1 และ HPMC ร้อยละ 1 ผ่าน homogenizer ความเร็วรอบ 8000 rpm นาน 15 นาที และผ่านเครื่องลดขนาด high pressure homogenizer จำนวน 3 รอบ ความดัน 800-1200 bar และนำไปพอกเป็นชั้นบนเพลเลตภายใน 24 ชั่วโมงจึงได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวทางกายภาพมากที่สุด



#### 4.3 ผลการศึกษาสูตรตำรับยาแขวนตะกอน เป็นดังนี้

สูตรตำรับยาแขวนตะกอนสำหรับการลดขนาดที่เหมาะสมประกอบด้วยยา efavirenz ร้อยละ 1 ทำหน้าที่เป็นตัวยาคำคัญของสูตรตำรับ poloxamer 188 ร้อยละ 1 ทำหน้าที่เป็น flocculating agent HPMC เกรด E5 ร้อยละ 1 ทำหน้าที่เป็น suspending agent และเติมน้ำ ซึ่งทำหน้าที่เป็น กระจายให้ครบ 100 ml

##### 4.3.1 ผลการศึกษาสูตรตำรับที่พอกชั้นบน glass bead มีทั้งหมด 5 สูตรตำรับ ดังตาราง ตารางที่ 8 แสดงส่วนประกอบของสูตรตำรับที่ทำการเตรียมและพอกชั้นบน glass bead

สูตร	ส่วนประกอบในสูตร			
	efavirenz		poloxamer 188	HPMC
	ลดขนาด	ไม่ลดขนาด		
<b>Rx1</b>	1%	-	1%	1%
<b>Rx2</b>	-	1%	1%	1%
<b>Rx3</b>	-	1%	1%	-
<b>Rx4</b>	-	1%	-	1%
<b>Rx5</b>	-	1%	-	-

#### 4.4 ผลการศึกษาการพอกยาแขวนตะกอนบน glass bead

ตารางที่ 9 แสดง %weight gain ของการพอกยาแขวนตะกอนของทั้ง 5 สูตรตำรับบน glass bead 100 กรัม

สูตร	% weight gain
<b>Rx1</b>	12.72
<b>Rx2</b>	11.48
<b>Rx3</b>	-
<b>Rx4</b>	9.00
<b>Rx5</b>	0.15

พบว่า สูตร Rx3 ไม่สามารถพอกชั้นบน glass bead ได้ เพราะยาแขวนตะกอนของสูตรดังกล่าว ไม่สามารถเกาะติดบน glass bead และทำให้แห้งได้ด้วยอุณหภูมิที่ใช้เคลือบได้

จากการศึกษาการพอกเป็นชั้นบนเพลเลตพบว่า ร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของเพลเลตแต่ละสูตรตำรับมีค่าแตกต่างกันเนื่องมาจากเครื่องที่ใช้ผลิตเพลเลตเป็นเครื่องดัดแปลง การปรับตั้งตัวแปรต่าง ๆ ของเครื่องให้คงที่ทำได้ยาก ประกอบกับผลของส่วนประกอบต่าง ๆ ในสูตรตำรับมีผลต่อการพอกเป็นชั้นบนเพลเลต กล่าวคือ สูตรตำรับ Rx1, Rx2 และ Rx4 พบว่ามีร้อยละของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมากกว่าสูตรตำรับอื่นเนื่องจากมีสารฮีดรอกซีเซลลูโลส (HPMC) จึงทำให้อนุภาคยาสามารถเกาะติดอยู่บนเพลเลตได้เป็นจำนวนมาก เมื่อเปรียบเทียบสูตรตำรับทั้งสองสูตรดังกล่าวกับสูตรตำรับ Rx4 พบว่า HPMC ช่วยทำให้อนุภาคยาเกาะติดแต่ไม่ดีเท่ากับสูตรตำรับ Rx1 และ Rx2 ซึ่งมี poloxamer ส่วนสูตรตำรับ Rx5 ไม่มีพอลิเมอร์ หรือสารฮีดรอกซีเซลลูโลสใด ๆ จึงทำให้อัตราการพอกเป็นชั้นบนเพลเลตต่ำกว่าสูตรอื่น ๆ นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าสูตรตำรับ Rx3 ไม่สามารถพอกเป็นชั้นบนเพลเลตได้ เนื่องจากสูตรตำรับ Rx3 ไม่สามารถแห้งที่อุณหภูมิที่ใช้เคลือบ เกิดความเหนียวเหนอะ ดังนั้นในการวิเคราะห์ทางกายภาพของเพลเลตจึงวิเคราะห์ได้เพียงสูตรตำรับ Rx1, Rx2, Rx4, Rx5

#### 4.5 ผลการหาปริมาณ (assay) ยาแขวนตะกอนที่พอกชั้นบน glass bead ด้วยวิธี HPLC

ตารางที่ 10 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ efavirenz จาก glass bead ที่พอกชั้น

สูตร	sample	น้ำหนัก pellet (g)	peak Area	ความเข้มข้น efavirenz ที่วิเคราะห์ได้ (g)	ความเข้มข้น efavirenz ที่วิเคราะห์ได้เฉลี่ย (g)	SD
Rx1	1	1.03338	10,102,011.00	0.034190	0.035331	0.00161
	2	1.03277	10,786,863.00	0.036473		
Rx2	1	1.02371	10,393,930.00	0.035163	0.036158	0.00141
	2	1.02372	10,991,010.00	0.037153		
Rx4	1	0.97776	11,901,474.00	0.040188	0.038966	0.00173
	2	0.99764	11,168,036.00	0.037743		
Rx5	1	1.02233	468,539.00	0.002078	0.002109	0.00004
	2	1.02238	486,790.00	0.002139		

#### 4.6 ผลคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของยาแขวนตะกอน และ เฟลเลต efavirenz

4.6.1 ผลการเปรียบเทียบขนาดอนุภาคของยาแขวนตะกอนก่อนพอก และขนาดอนุภาคของตัวยาหลังการ redisperse glass bead ที่พอกชั้น ของสูตรตำรับ Rx1, Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5

ตารางที่ 11 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยขนาดอนุภาคของยาแขวนตะกอนก่อนพอกและอนุภาคของตัวยาหลังการ redisperse pellet ที่พอกชั้น

สูตร	ค่าเฉลี่ยขนาดอนุภาคของยา น้ำแขวนตะกอน (ไมครอน)	span	ค่าเฉลี่ยขนาดอนุภาคของยา น้ำแขวนตะกอนที่พอกเป็นชั้น (ไมครอน)	span
Rx1	1.708	3.266	11.182	2.510
Rx2	6.624	1.427	10.484	2.365
Rx3	6.364	1.414	-	-
Rx4	5.956	1.282	26.049	2.393
Rx5	27.592	1.390	47.920	1.571

หมายเหตุ เนื่องจากสูตร Rx3 ไม่สามารถพอกชั้นบน glass bead ได้ เพราะยาแขวนตะกอนของสูตรดังกล่าวเมื่อพอกชั้นบน glass bead ไม่สามารถเกาะติดบน glass bead และทำให้แห้งได้ด้วยอุณหภูมิที่กำหนดจึงไม่วัดขนาดอนุภาคของ efavirenz หลังพอกได้

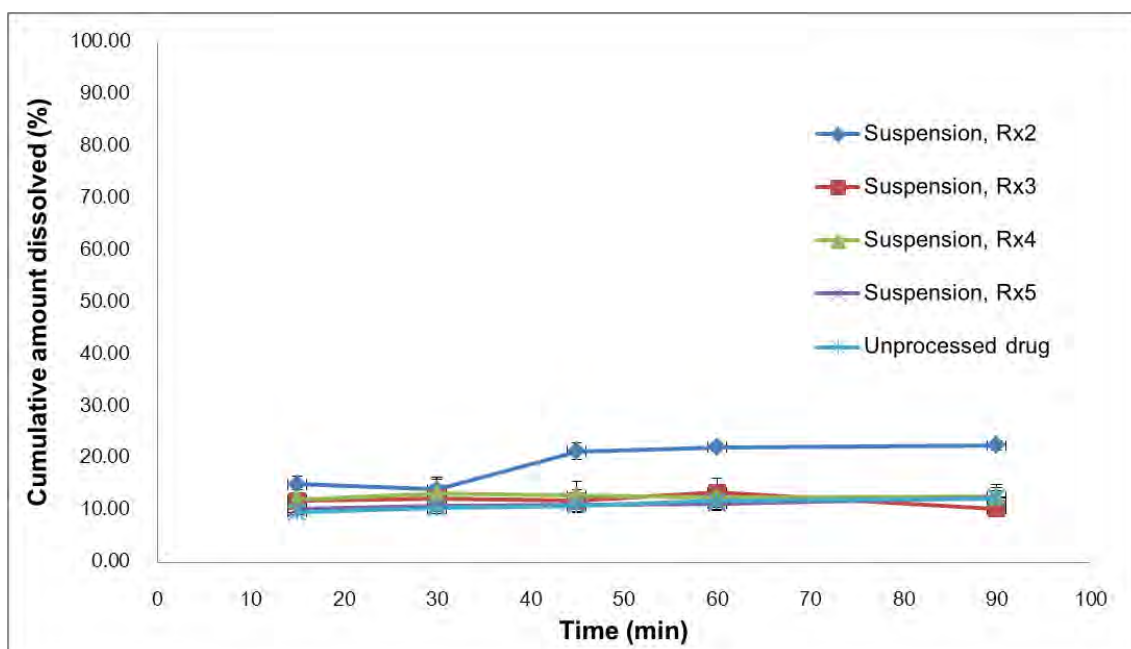
จากการศึกษาความคงตัวของเฟลเลตโดยดูจากขนาดอนุภาคหลังพอกเป็นชั้นบนเฟลเลตพบว่าขนาดอนุภาคแต่ละสูตรตำรับมีขนาดใหญ่ขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสูตรตำรับ Rx1 ซึ่งผ่านการลดด้วย high pressure homogenizer อาจเนื่องมาจากพอลิเมอร์อาจจับอนุภาคไว้ภายในทำให้เกิดการเกาะกลุ่มกันจนขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้น ดังนั้นเฟลเลตดังกล่าวจึงไม่มีความคงตัวทางกายภาพซึ่งจะต้องมีการศึกษาต่อไป

#### 4.6.2 ผลการศึกษาการละลายตัวของยา (Dissolution)

##### 1) ผลการศึกษาการละลายตัวของยาแขวนตะกอนสูตร Rx1, Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5

ตารางที่ 12 แสดง % ปริมาณยาสะสมเมื่อเวลาผ่านไป 15 30 45 60 และ 90 นาทีของยาแขวนตะกอนสูตร Rx1, Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5

Time (min)	% culmulative amount dissolved Rx1 suspension	% culmulative amount dissolved Rx2 suspension	% culmulative amount dissolved Rx3 suspension	% culmulative amount dissolved Rx4 suspension	% culmulative amount dissolved Rx5 suspension
15	21.04	15.04	11.88	12.14	10.37
30	20.16	14.10	12.37	13.31	10.89
45	22.11	21.42	11.92	12.90	11.17
60	21.95	22.22	13.45	12.51	11.38
90	21.92	22.57	10.40	12.69	12.53



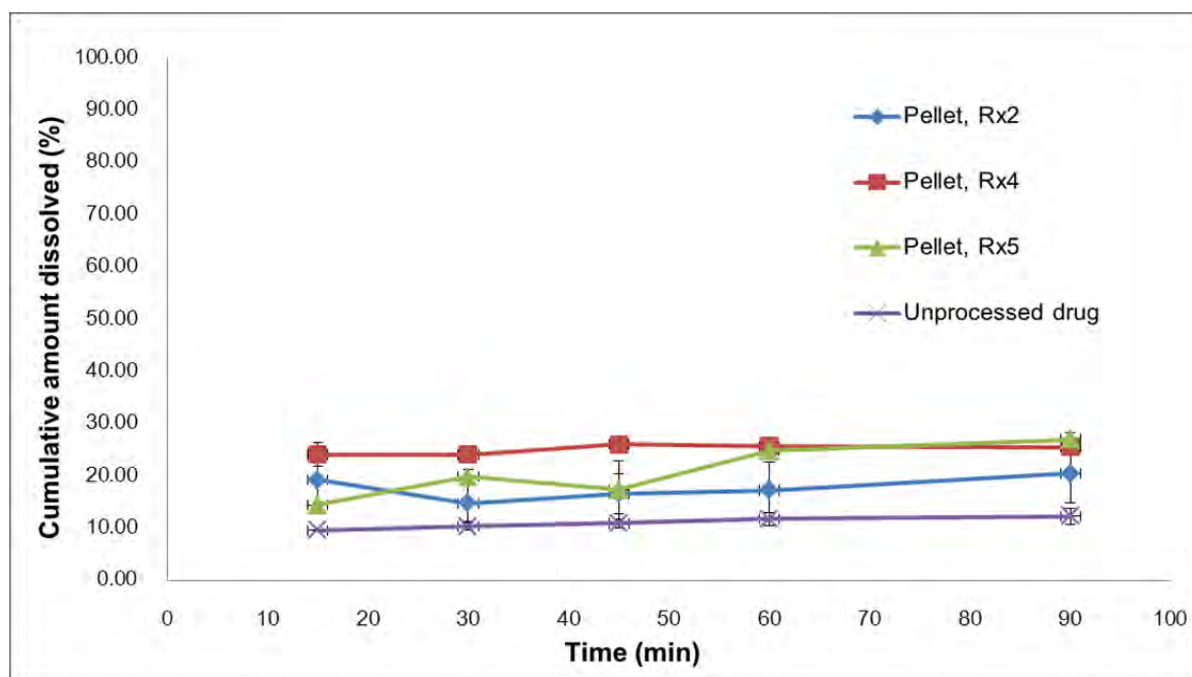
รูปที่ 16 กราฟแสดง % การละลายของตัวยาจากยาแขวนตะกอนสูตร Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5

หมายเหตุ สูตรตำรับ 5 มีจำนวนตัวอย่าง 2 ตัวอย่างเนื่องจากปริมาณยาที่สู่มจากการทดสอบการละลายไม่สามารถวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ได้

- 2) ผลการศึกษาการละลายตัวของยาแขวนตะกอนที่พอกเป็นชั้นบน glass bead ของสูตร Rx2, Rx4 และ Rx5

ตารางที่ 13 แสดง % ปริมาณยาสะสมเมื่อเวลาผ่านไป 15 30 45 60 และ 90 นาทีของสูตรยาแขวนตะกอนที่พอกชั้นบน glass bead ของสูตร Rx1, Rx2, Rx4 และ Rx5

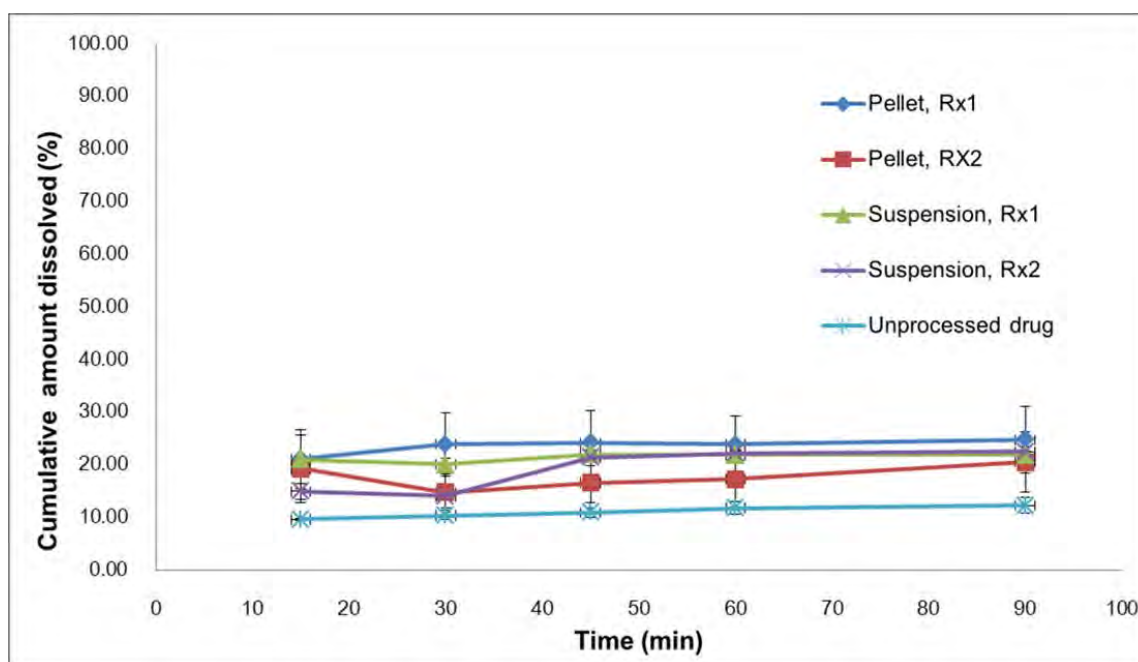
Time (min)	% culmulative amount dissolved Rx1 pellet	% culmulative amount dissolved Rx2 pellet	% culmulative amount dissolved Rx4 pellet	% culmulative amount dissolved Rx5 pellet
15	21.18	19.34	24.17	14.59
30	23.98	14.83	24.18	19.96
45	24.28	16.70	26.15	17.41
60	23.92	17.38	25.80	24.93
90	24.85	20.58	25.62	27.09



รูปที่ 17 แสดง % การละลายของตัวยาจากเพลเลตสูตร Rx2, Rx4 และ Rx5

หมายเหตุ เนื่องจากสูตร Rx3 ไม่สามารถพอกชั้นบน glass bead ได้ เพราะยาแขวนตะกอนของสูตรดังกล่าวเมื่อพอกชั้นบน glass bead ไม่สามารถเกาะติดบน glass bead และทำให้แห้งได้ด้วยอุณหภูมิที่กำหนด และสูตรตำรับ Rx5 มีจำนวนตัวอย่าง 2 ตัวอย่างเนื่องจากปริมาณยาที่สูงจากการทดสอบการละลายไม่สามารถวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ได้

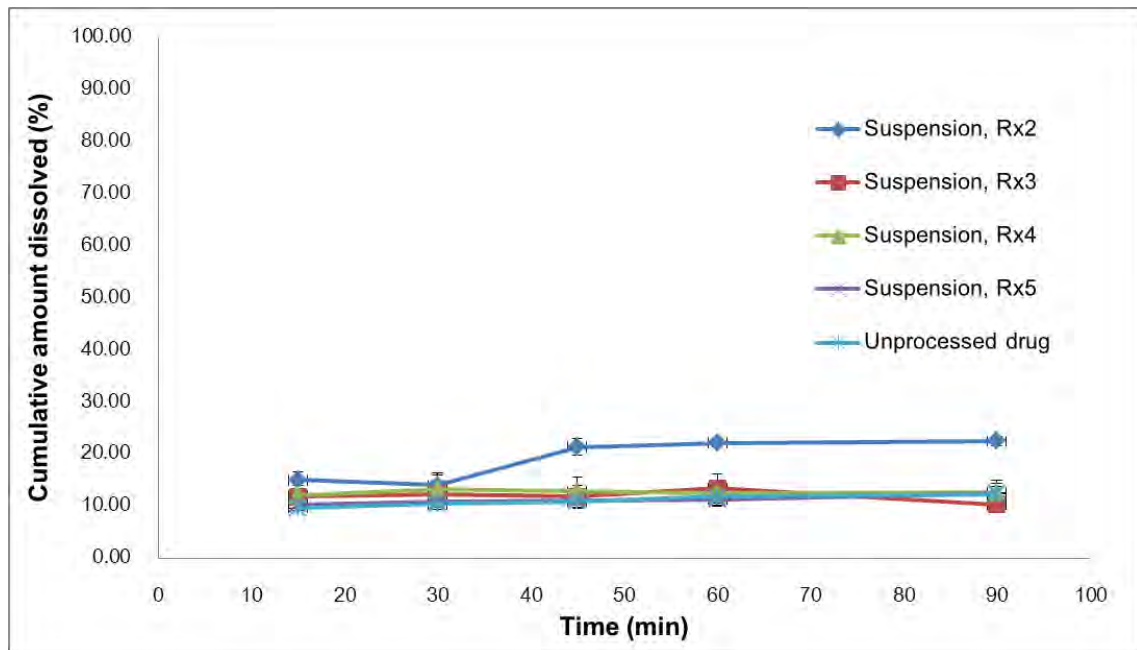
- 3) ผลการศึกษาเปรียบเทียบการปลดปล่อยตัวยาเพื่อศึกษาผลของการลดขนาดและการพอกชั้นบน glass bead



รูปที่ 18 แสดง % การละลายของตัวยาจากยาแขวนตะกอนและเพลเล็ตของสูตร Rx1, Rx2

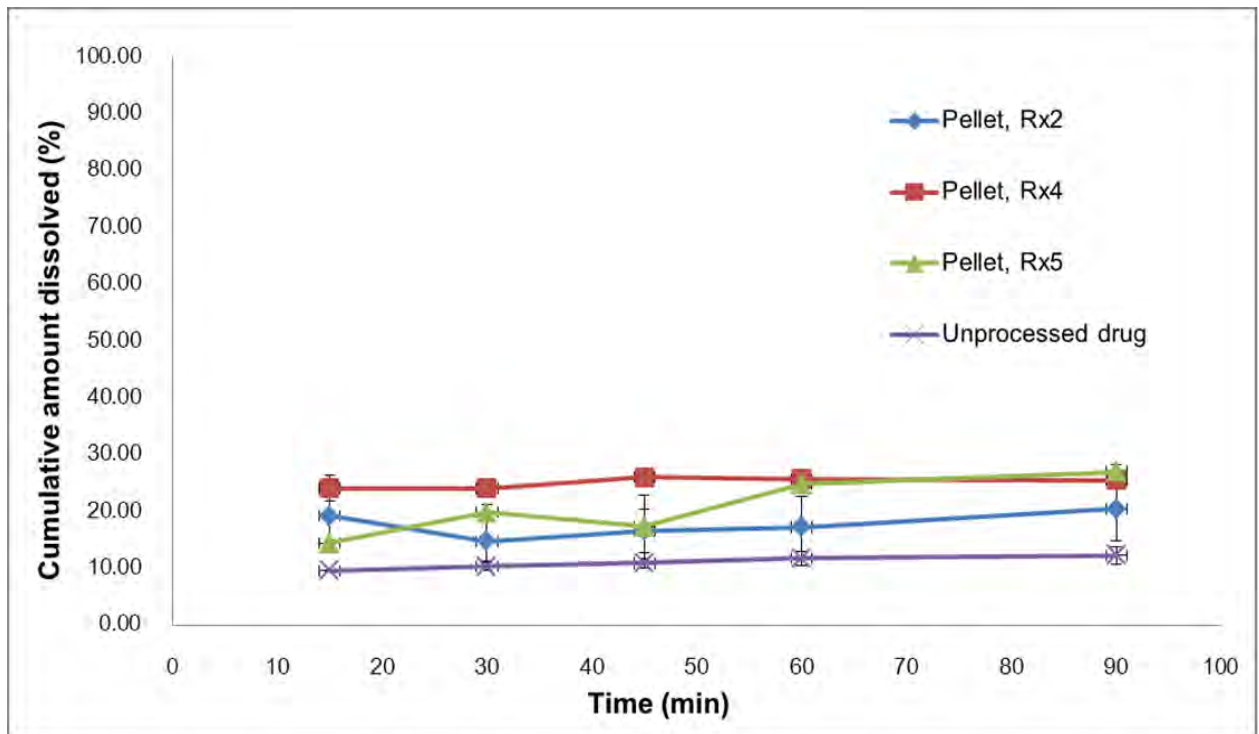
จากการศึกษาพบว่าเพลเล็ตของยาแขวนตะกอนที่ผ่านการลดขนาดด้วยเครื่อง high pressure homogenizer (สูตร Rx1) และไม่ผ่านการลดขนาดด้วยเครื่อง high pressure homogenizer (สูตร Rx2) มีการละลายที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p = 0.125$ ) แต่มีค่าสูงกว่าการละลายของตัวยาที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

- 4) ผลการเปรียบเทียบการปลดปล่อยตัวยาเพื่อศึกษาผลของสูตรตำรับในรูปยาแขวนตะกอนและรูปแบบ  
เฟลลิต



รูปที่ 19 แสดงการละลายตัวยาจากยาแขวนตะกอนของสูตร Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5

จากผลการศึกษาส่วนประกอบของสูตรตำรับที่มีผลต่อการละลายในรูปแบบแขวนตะกอนพบว่า สูตรตำรับ Rx2 มีการปลดปล่อยยามากกว่าสูตรตำรับยาแขวนตะกอนอื่น ๆ รวมถึงอนุภาคยาเมื่อไม่ผ่านกระบวนการผลิตใด ๆ ด้วย ดังนั้นส่วนประกอบในสูตรตำรับทั้งสองตัวอาจส่งผลต่อการละลาย



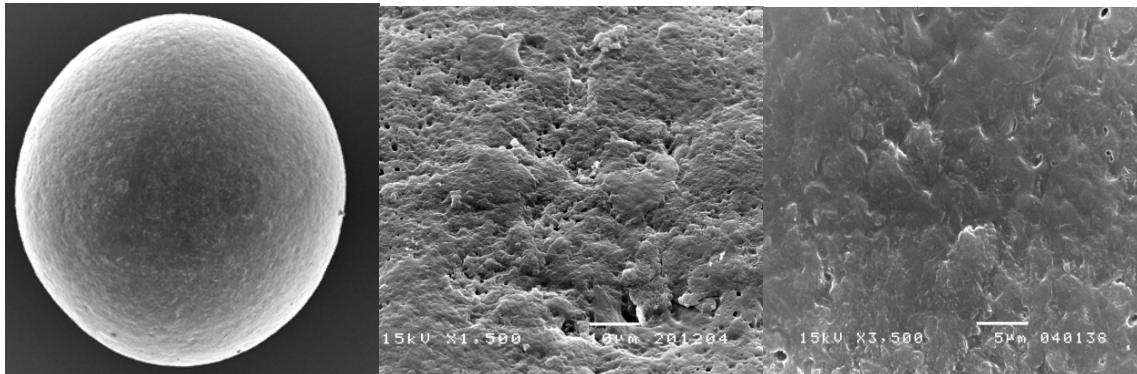
รูปที่ 20 แสดงการละลายตัวของยาจากเม็ดของสูตร Rx2, Rx3, Rx4 และ Rx5

หมายเหตุ เนื่องจากสูตร Rx3 ไม่สามารถพอกชั้นบน glass bead ได้ เพราะยาแขวนตะกอนของสูตรดังกล่าวเมื่อพอกชั้นบน glass bead ไม่สามารถเกาะติดบน glass bead และทำให้แห้งได้ด้วยอุณหภูมิที่กำหนด

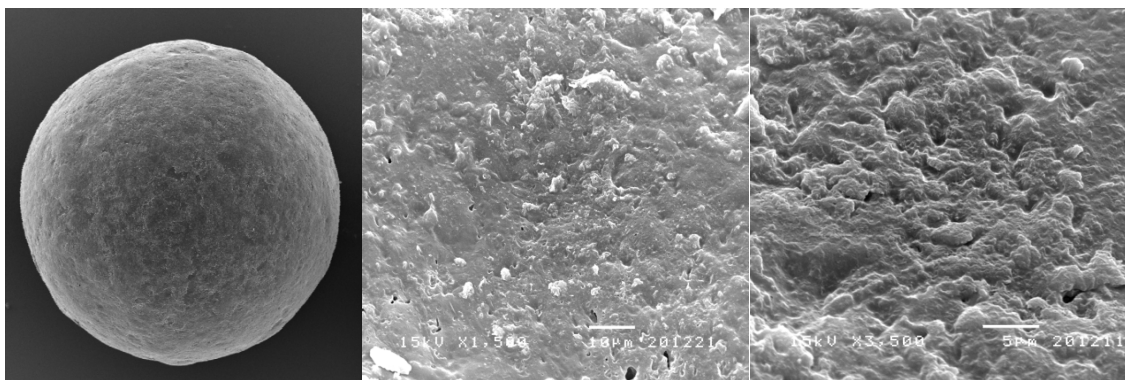
จากผลการศึกษาร่วมประกอบของสูตรตำรับที่มีผลต่อการละลายในรูปแบบเม็ดพบว่าสูตรตำรับ Rx4 มีการปลดปล่อยยามากกว่าสูตรตำรับ Rx2 และตัวยาวัตถุบอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งสูตรตำรับ Rx5 ยังมีการปลดปล่อยยาที่มากกว่าตัวยาวัตถุบอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าส่วนประกอบในสูตรตำรับนั้นคือ HPMC อาจส่งผลให้ตัวยาที่มีการละลายเพิ่มมากขึ้นส่งผลต่อการปลดปล่อยตัวยา นอกจากนี้เมื่อสังเกตจากผลการปลดปล่อยยาของสูตรตำรับ Rx5 และตัวยาวัตถุบซึ่งไม่ผ่านกระบวนการผลิตใด ๆ ยังพบว่ากระบวนการผลิตอาจส่งผลต่อการละลายและการปลดปล่อยอนุภาคยาได้เช่นกัน ทั้งนี้การศึกษาดังกล่าวไม่มีการศึกษาสูตรตำรับที่พอกเป็นชั้นบนเม็ดของสูตรตำรับ Rx3 จึงยังไม่สามารถสรุปได้แน่นอน และต้องมีการศึกษาผลในเชิงลึกอื่น ๆ ต่อไป



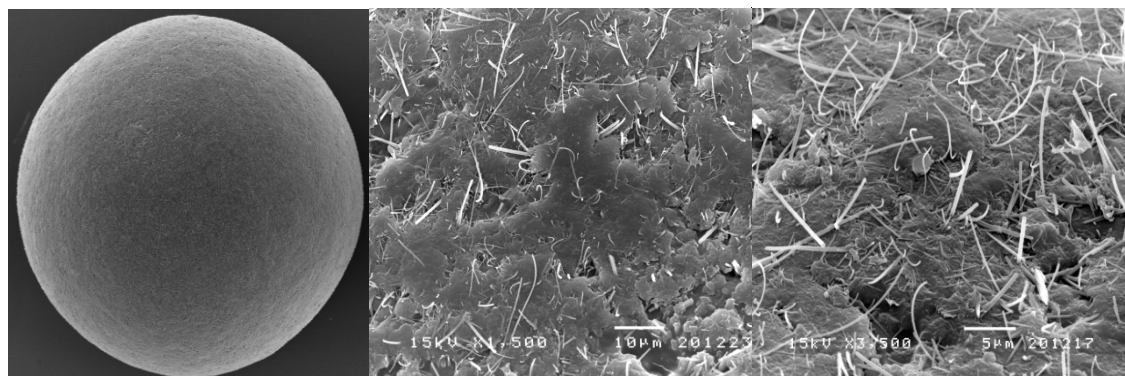
4.7.3 ลักษณะพื้นผิวของ glass bead หลังการพอกยาแขวนตะกอนของสูตร Rx1, Rx2, Rx4 และ Rx5 ด้วยเครื่อง scanning electron microscope



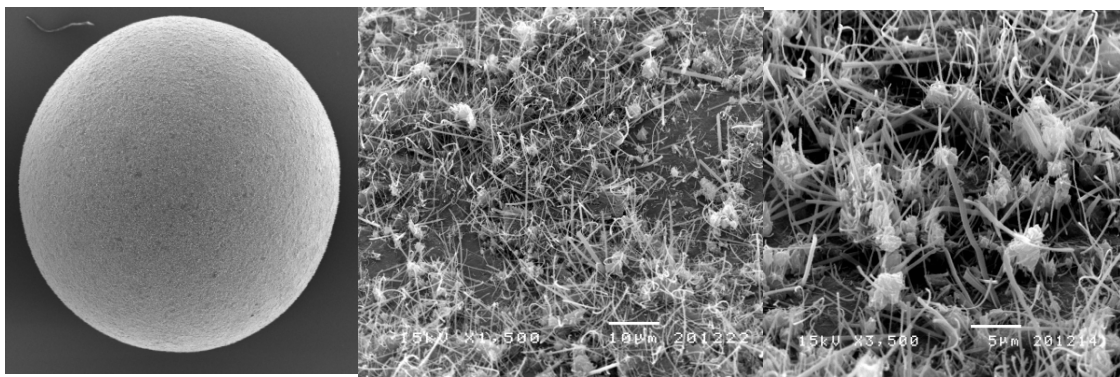
รูปที่ 21 แสดงการส่องกราดของอนุภาคของพื้นผิว glass bead ที่พอกเป็นชั้นด้วยสูตร Rx1 โดยใช้กำลังขยายของกล้อง 15X, 1500X และ 3500X ตามลำดับ



รูปที่ 22 แสดงการส่องกราดของอนุภาคของพื้นผิว glass bead ที่พอกเป็นชั้นด้วยสูตร Rx2 โดยใช้กำลังขยายของกล้อง 15X, 1500X และ 3500X ตามลำดับ



รูปที่ 23 แสดงการส่องกราดของอนุภาคของพื้นผิว glass bead ที่พอกเป็นชั้นด้วยสูตร Rx4 โดยใช้กำลังขยายของกล้อง 15X, 1500X และ 3500X ตามลำดับ



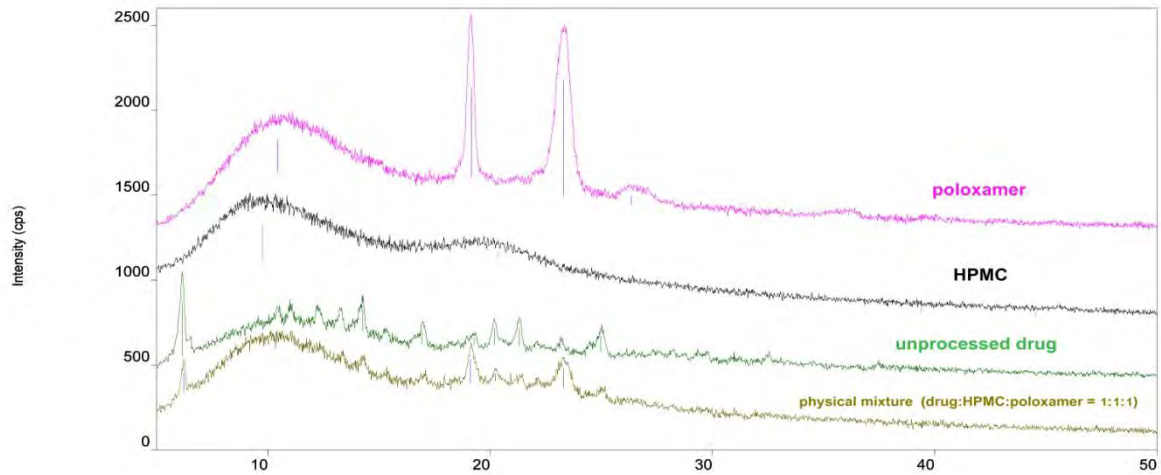
รูปที่ 24 แสดงการส่องกราดของอนุภาคของพื้นผิว glass bead ที่พอกเป็นชั้นด้วยสูตร Rx5 โดยใช้กำลังขยายของกล้อง 15X, 1500X และ 3500X ตามลำดับ

หมายเหตุ เนื่องจาก สูตร Rx3 ไม่สามารถพอกชั้นบน glass bead ได้ เพราะยาแขวนตะกอนของสูตรดังกล่าวเมื่อพอกชั้นบน glass bead ไม่สามารถเกาะติดบน glass bead และทำให้แห้งได้ด้วยอุณหภูมิที่กำหนด จึงไม่สามารถส่องกล้องเพื่อดูลักษณะพื้นผิวของ glass bead ที่ถูกพอกได้

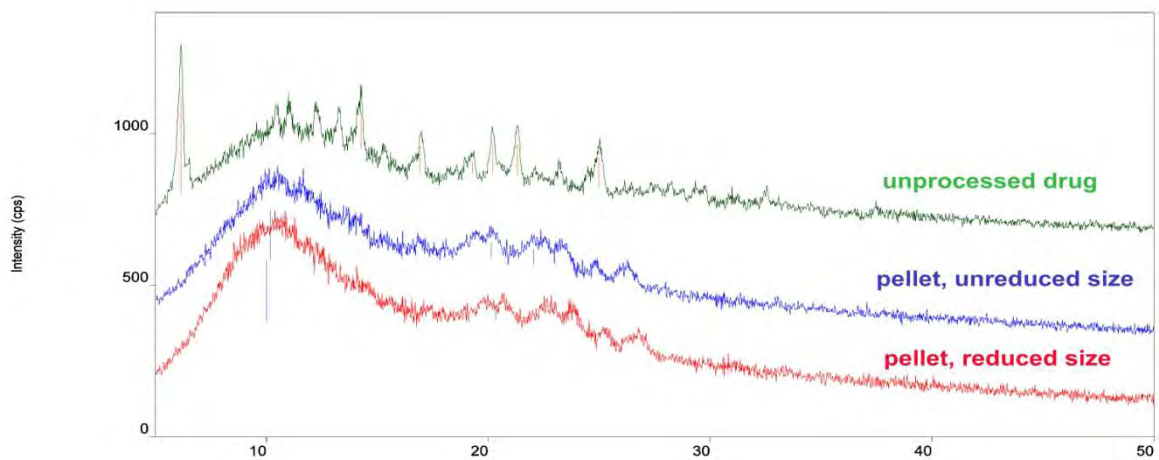
เมื่อนำอนุภาคที่พอกเป็นชั้นบน glass bead มาส่องด้วยกล้อง SEM พื้นผิวของอนุภาคภายนอกมีลักษณะทรงกลม ขรุขระเนื่องจากการเคลือบอนุภาคไม่สม่ำเสมอ และประสิทธิภาพการทำให้แห้งไม่ทั่วถึงทั้งหมดเคลือบ นอกจากนี้พบว่าภาพถ่ายจากกล้อง SEM ของสูตรตำรับ Rx1 และ Rx2 มีรูปร่างของอนุภาคแตกต่างจากตัวยาวัตถุคิอย่างชัดเจน (Rx5) อีกทั้งตัวยายังกระจายเป็นเนื้อเดียวกับสารช่วยแขวนตะกอน เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรตำรับ Rx4 และ Rx5 พบว่ายังสามารถเห็นผลึกของตัวยายู่ ดังนั้นส่วนประกอบในสูตรตำรับอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวยา

#### 4.7.4 ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของรูปผลึก

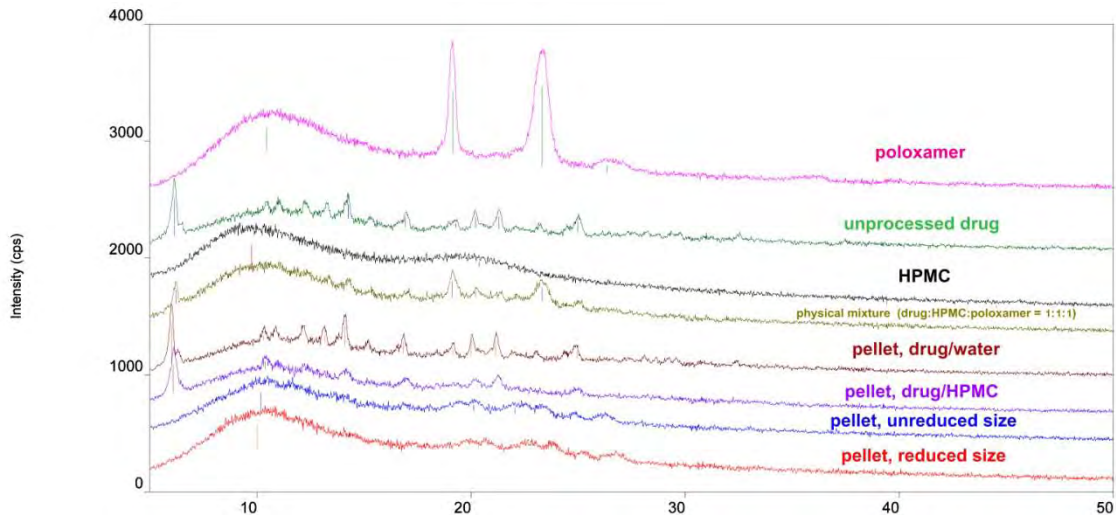
##### 1) ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของรูปผลึกด้วย x-ray powder diffractometer



รูปที่ 25 แสดง XRPD diffractogram เพื่อดูความเป็นผลึกของยา efavirez, poloxamer 188 และ HPMC กับ physical mixture ของ efavirez, poloxamer 188 และ HPMC ในอัตราส่วน 1:1:1



รูปที่ 26 แสดง XRPD diffractogram เปรียบเทียบความเป็นผลึกของยา efavirez กับ สูตรตำรับยาแขวนตะกอนที่ผ่านการลดขนาด และไม่ผ่านการลดขนาด



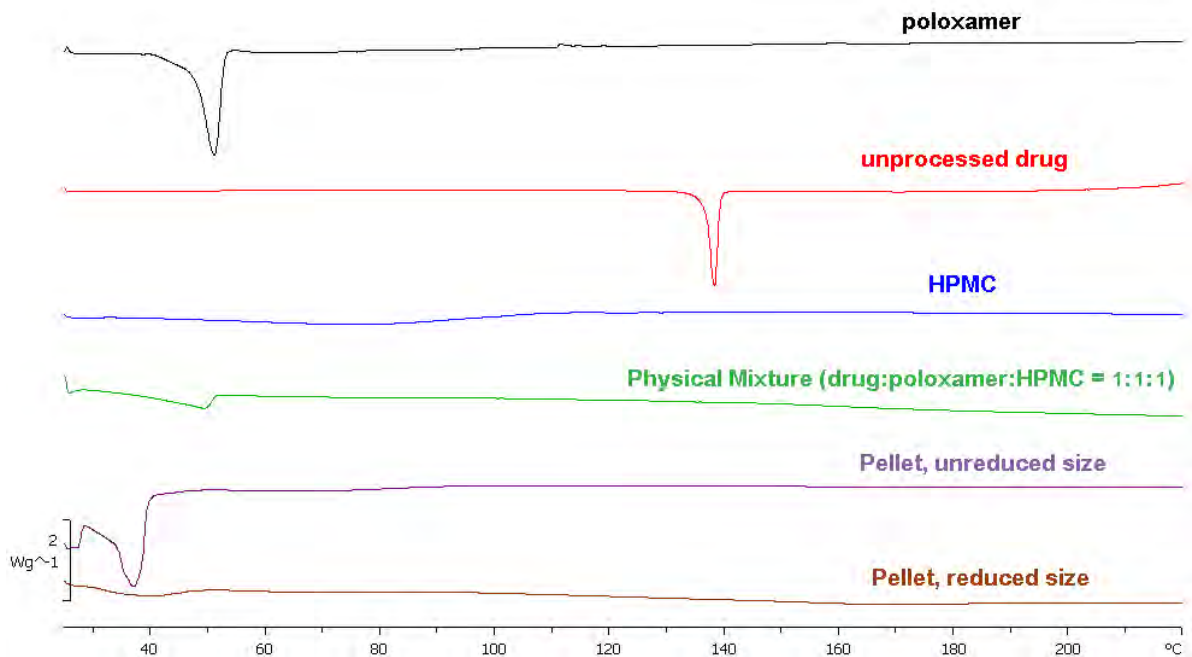
รูปที่ 27 แสดง XRPD diffractogram เปรียบเทียบความเป็นผลึกของยา efavirez, poloxamer 188 และ HPMC กับ physical mixture ของ efavirez, poloxamer 188 และ HPMC ในอัตราส่วน 1:1:1 กับสูตรตำรับยาแขวนตะกอนต่าง ๆ

หมายเหตุ เนื่องจาก สูตร Rx3 ไม่สามารถพอกชั้นบน glass bead ได้ เพราะยาแขวนตะกอนของสูตรดังกล่าวเมื่อพอกชั้นบน glass bead ไม่สามารถเกาะติดบน glass bead และทำให้แห้งได้ด้วยอุณหภูมิที่กำหนด และสูตร Rx 5 ไม่สามารถขูดผงสารออกจาก glass bead ได้ ดังนั้นทั้งสองสูตรจึงแก้ไขโดยการพอกสูตรยากับน้ำบน petri dish และขูดผงสารไป อัดลงบนแผ่น slit

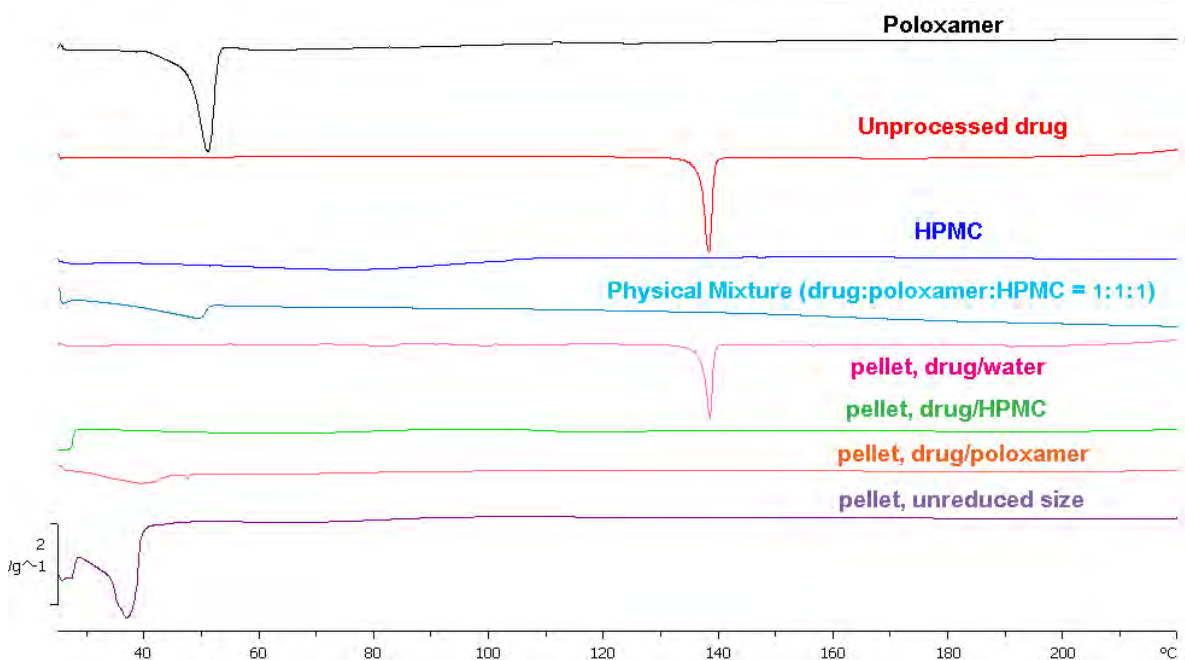
### การประเมินผล

จากการทดสอบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างผลึกของ physical mixture ของ efavirez, poloxamer 188 และ HPMC ในอัตราส่วน 1:1:1 เปรียบเทียบกับสูตรตำรับยาแขวนตะกอนที่ประกอบด้วย efavirez และ HPMC ในอัตราส่วน 1:1 ด้วยเครื่องมือ x-ray powder diffraction (XRPD) พบว่า XRPD diffractogram ของทั้งสองมีลักษณะเป็นรูปผลึก แต่เมื่อนำ physical mixture ของ efavirez, poloxamer 188 และ HPMC ในอัตราส่วน 1:1:1 เปรียบเทียบกับสูตรตำรับยาแขวนตะกอนที่ลดขนาดและไม่ลดขนาดด้วยเครื่องมือ x-ray powder diffraction (XRPD) พบว่า XRPD diffractogram ของ physical mixture มีลักษณะเป็นรูปผลึก ส่วน XRPD diffractogram ของสูตรตำรับยาแขวนตะกอนที่ลดขนาดและไม่ลดขนาดมีลักษณะอสัณฐาน ดังนั้นจึงสันนิษฐานได้ว่า poloxamer มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างผลึกของตัวยาคำคัญ อีกทั้งกระบวนการและความร้อนอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยาจากรูปผลึกเป็นรูปอสัณฐานด้วย

2) ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของรูปผลึกด้วย differential scanning calorimeter



รูปที่ 28 แสดง DSC thermogram การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงความร้อนของสูตรตำรับยาแขวนตะกอน ซึ่งพอกชั้นบนเพลเล็ตที่ผ่านการลดขนาดและไม่ผ่านการลดขนาด กับส่วนประกอบต่าง ๆ ในสูตรตำรับ



รูปที่ 29 แสดง DSC thermogram การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงความร้อนของสูตรตำรับยาแขวนตะกอนซึ่งพอกชั้นบนเพลเล็ตที่ไม่ผ่านการลดขนาด กับส่วนประกอบต่าง ๆ ในสูตรตำรับ

หมายเหตุ เนื่องจาก สูตร Rx3 ไม่สามารถพอกชั้นบน glass bead ได้ เพราะยาแขวนตะกอนของสูตรดังกล่าวเมื่อพอกชั้นบน glass bead ไม่สามารถเกาะติดบน glass bead และทำให้แห้งได้ด้วยอุณหภูมิที่กำหนด และสูตร Rx 5 ไม่สามารถขูดผงสารออกจาก glass bead ได้ ดังนั้นทั้งสองสูตรจึงแก้ไขโดยการพอกสูตรยากับน้ำบน petri dish และขูดผงสารใส่ pan

#### การประเมินผล

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงความร้อนของสารพบว่า HPMC และ poloxamer 188 มีผลทำให้ยาอีฟาเวียร์เปลี่ยนเป็นรูปอสัณฐาน อีกทั้งเพลเลตที่ถูกพอกโดยยาที่ผ่านการลดขนาด และไม่ผ่านการลดขนาดเป็นรูปอสัณฐานเช่นกัน

#### อภิปรายผลการศึกษาคู่สมบัติเชิงผลึก

จากการทดสอบเปรียบเทียบรูปผลึกโดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงผลึก และเชิงความร้อนพบว่า เมื่อมีการผ่านกระบวนการต่าง ๆ สูตรตำรับยาแขวนตะกอนที่พอกเป็นชั้นบนเพลเลตที่มีการลดขนาด และไม่ลดขนาดมีรูปผลึกที่เปลี่ยนเป็นอสัณฐาน ซึ่งผลการศึกษาทั้งสองมีความสอดคล้องกัน ดังนั้นกระบวนการผลิตมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปผลึกเป็นรูปอสัณฐาน และรูปอสัณฐานดังกล่าวของอนุภาคอาจส่งผลกระทบต่อการละลายของตำรับได้ นอกจากนี้เมื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงความร้อนพบว่า HPMC และ poloxamer 188 ซึ่งเป็นส่วนประกอบในสูตรตำรับอาจส่งผลกระทบต่อการละลายยาได้เช่นกัน แต่เมื่อทำการยืนยันผลสำหรับส่วนประกอบในสูตรตำรับด้วย XRPD พบว่าสูตรตำรับที่มี HPMC อย่างเดียวยังคงอยู่ในรูปผลึก จึงยังไม่สามารถสรุปผลได้แน่นอนว่า HPMC มีผลต่อการเปลี่ยนรูปตัวยาคือเป็นอสัณฐาน ดังนั้นจึงสันนิษฐานได้ว่า poloxamer 188 ที่อยู่ในสูตร Rx1 และ Rx2 อาจส่งผลกระทบต่อเปลี่ยนรูปตัวยาคือเป็นรูปอสัณฐาน

## บทที่ 5 สรุปผลการศึกษา

การพัฒนาเพลลิตีฟิวีเรนซ์โดยการพอกยาแขวนตะกอนที่ลดขนาดอนุภาคให้เป็นชั้นพบว่า การละลายของยาจะดีกว่าตัวยาวัตถุดิบ การละลายที่เพิ่มขึ้นเนื่องมาจากตัวยาที่เป็นรูปผลึก เมื่อผ่านกระบวนการพอกยาแขวนตะกอนให้เป็นชั้นบนลูกปัดแก้ว (glass bead) แล้วเปลี่ยนเป็นรูปอสัณฐานนอกจากนี้อาจเป็นผลจากส่วนประกอบของสูตรตำรับ คือ HPMC และ poloxamer อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบการละลายของเพลลิตสูตรยาแขวนตะกอนที่ผ่านการลดขนาดและไม่ผ่านการลดขนาด พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

### ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของการลดขนาดต่อการละลายของตัวยา พร้อมทั้งปัจจัยของสูตรตำรับ และกระบวนการผลิต เพื่อป้องกันการกลับมาเกาะกลุ่มกันของตัวยาหลังการกระจายตัวกลับไป

## รายการอ้างอิง

1. Arunkumar N, Deecaraman M. Nanosuspension technology and its applications in drug delivery. 2009 Oct 7; 2(3): 168-193. Available at: <http://www.asiapharmaceutics.info/article.asp?issn=0973-8398;year=2009;volume=3;issue=3;spage=168;page=173;aulast=Arunkumar>. Accessed December 11, 2011.
2. Muller RH, Peter K. Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 1997 Sep 16.
3. Kocbek P, Baumgartnar S, Kristi J. Preparation and evaluation of nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006 April 7; 312 (1-2): 179-186.
4. Gao L, Zhang D, Chen M. Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system. *Journal of Nanoparticle Research*, 2008; 10: 845-862.
5. Gao L, Liu G, Wang X, Liu F, Xu Y, Ma J. Preparation of a chemically stable quercetin formulation using nanosuspension technology. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011; 404: 231-237.
6. Muller RH, Jacobs C, Kayser O. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy rationale for development and what we can expect for the future. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2001; 47: 3-19.
7. Rabinow BE. Nanosuspension in drug delivery. *Nature reviews: Drug Discovery*. September 2004; 3: 785-796.
8. Sharma P, Zujovic ZD, Bowmaker GA, Denny WA, Garg S. Evaluation of a crystalline nanosuspension: Polymorphism, process induced transformation and in vivo studies. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011; 408: 138-151.
9. Pathak P, Meziani MJ, Desai T, Sun YP. Formation and stabilization of ibuprofen nanoparticles in supercritical fluid processing. *Journal of Supercritical Fluids*. 2006; 37: 279-286.
10. Traff PG. Pellets formulation of crystalline nanoparticles: A formulation process and characterization study. MSc Thesis. 2011; 1-49.



11. Singare DS, Marella S, Gowthamrajan K, Kulkarni GT, Vooturi R, Rao PS. Optimization of formulation and process variable of nanosuspension: An industrial perspective. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010; 402: 213-220.
12. Niwa T, Miura S, Danjo K. Design of dry nanosuspension with highly spontaneous dispersible characteristics to develop solubilized formulation for poorly water-soluble drugs. *Pharmaceutical Research*. 2011; 28: 2339-2349.
13. Moschwitz J, Muller RH. Spray coated pellets as carrier system for mucoadhesive drug nanocrystals. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2006; 62: 282-287.
14. Wu L, Zhang J, Watanabe W. Physical and chemical stability of drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2011; 63: 456-469.
15. Ghosh I, Bose S, Vippagunta R, Harmon F. Nanosuspension for improving the bioavailability of a poorly soluble drug and screening of stabilizing agents to inhibit crystal growth. *International Journal of Pharmaceutics*. 2011; 409: 260-268.
16. Lee J, Choi JY, Park CH. Characteristics of polymers enabling nano-comminution of water-insoluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008; 355: 328-336.
17. Keck CM, Muller RH. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2008; 62: 3-16.
18. Krause KP, Muller RH. Production and characterization of highly concentrated nanosuspension by high pressure homogenisation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2001; 214: 21-24.
19. Antiretroviral Dosage Forms for Swallowing Difficulties [database on the Internet]. University of Liverpool(UK). Available at: [http://www.hiv-druginteractions.org/data/NewsItem/95\\_ARV\\_Swallowing\\_Apr2012.pdf](http://www.hiv-druginteractions.org/data/NewsItem/95_ARV_Swallowing_Apr2012.pdf). Accessed August 4, 2012.
20. สันทยา ถิมมัททวาริทธิ์. ยาแขวนตะกอนขนาดนาโน: แนวทางการเตรียมและประยุกต์ใช้. วารสารไทยเภสัชชนิพนธ์. 2547: หน้า11-22.
21. Patravale V.B, Abhijit A, Kulkarni R.M. Nanosuspension : a promising drug delivery strategy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2004 March 30; 56: 827-840.
22. Kocbek P, Baumgartnar S, Kristi J. Preparation and evaluation of nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006 April 7; 312 (1-2): 179-186.

23. Xia Q, Radzio J, Anderson KS, Sluis-Cremer N: Probing nonnucleoside inhibitor-induced active-site distortion in HIV-1 reverse transcriptase by transient kinetic analyses. *Protein Sci.* 2007 Aug; 16(8): 1728-37.
24. KH Finn. The measurement of surface energy of polymer by means of contact angles of liquids on solid surfaces. University of Osl. 2012: 3.
25. Supriya P, Rajni B, A.C. R. Pelletization techniques: a literature review. *International Research Journal of Pharmacy*, 2012; 3(3): 43-47.
26. Hirjau M, Nicoara AC, Hirjau V, Lupuleasa D. Pelletization techniques used pharmaceutical fields. *Practica Farmaceutică*, 2011; 4: 206-11.
27. Extrusion/spheronization. Available at: <http://www.glatt.com/cm/en/process-technologies/pelletizing/extrusion-spheronization.html>. Accessed November 10, 2012.
28. Vikash K, Santosh M, Amit L, Vikas, Ranjit S. Multiple unit dosage form – pellet and pelletization techniques an overview. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy* , 2011; 2(1): 121-5.
29. Srivastava S, Mishra G. Fluid bed technology: overview and parameters for process selection. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 2010; 2(4): 236-46.
30. Lavanya K, Senthil V, Rathi V. Pelletization technology: a quick review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2011; 2(6): 1337-55.
31. Subrata K, Atul P, Keyur D, Ganga S, Nitin B. Multiparticulate modified release drug delivery system for antiepileptic drug: a review. *International Journal of Pharmaceutical Innovations*, 2012; 2(2): 117.

## ภาคผนวก

### การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

#### 1. Chromatographic system

Column : stainless steel column 25 cm x 4.6 cm containing packing octadecylsilyl silica gel (5  $\mu$ m)

Flow rate : 1.5 ml/minute

Detector : spectrophotometer 254 nm

Injection volume : 20  $\mu$ l

Mobile phase : filtered and degassed of acetonitrile and buffer solution

#### 2. การเตรียม mobile phase

1) acetonitrile โดยตวง acetonitrile และ ปรับปริมาตรด้วย volumetric flask 1000 ml และ กรองโดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ ด้วย millipore nylon filter ขนาดรูปเปิด 0.45 ไมครอน

2) Buffer solution โดยชั่ง ammonium dihydrogen phosphate 8.60 กรัม ละลายใน ultrapure water ซึ่งผ่านการกรองด้วย millipore cellulose acetate filter 0.45 ไมครอน และปรับปริมาตรใน volumetric flask จนครบ 1000 มิลลิลิตร จากนั้นหยด phosphoric acid เพื่อปรับ pH ให้เป็น  $3\pm 0.05$  ซึ่งวัดโดยเครื่อง pH meter

#### 3. การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ในหัวข้อต่อไปนี้

1) **specificity** เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ว่ามีความจำเพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการศึกษา หรือไม่ โดยจะเตรียมสารที่ทดสอบดังนี้

1.1 เตรียม stock solution โดยชั่ง efavirenz 0.12 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร และเติม methanol ในปริมาณเล็กน้อย ลงไปใน volumetric flask แก้วให้ผงยาแตกกระจายตัว และละลายจนหมด และ ปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้ efavirenz stock solution ความเข้มข้น 0.12 %w/v

1.2 เตรียมสารละลายกรด 1N HCl จากสารละลายกรด HCl 37 %w/v โดยปิเปตสารละลายกรด HCl 37%w/v มา 2.47 มิลลิลิตร ใส่ volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย purified water จนครบ 25 มิลลิลิตร

- 1.3 เตรียมสารละลายเบส 1N NaOH โดยชั่ง NaOH 1 กรัมใส่ beaker 50 มิลลิลิตร และละลายด้วย purified water ในปริมาณเล็กน้อยประมาณ 10 มิลลิลิตร และเติมใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย purified water จนครบ 25 มิลลิลิตร
- 1.4 เตรียมสารละลาย 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> จากสารละลายกรด H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%w/v โดยปิเปตสารละลายกรด hydrogen peroxide 30%w/v มา 2.5 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย purified water จนครบ 25 มิลลิลิตร
- 1.5 เตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ specificity ดังนี้
  - 1.5.1 ปิเปต efavirenz stock solution มา 5 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ครบด้วยสารละลายกรด 1 N HCl จนครบ 10 มิลลิลิตร
  - 1.5.2 ปิเปต efavirenz stock solution มา 5 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ครบด้วยสารละลายเบส 1 N NaOH จนครบ 10 มิลลิลิตร
  - 1.5.3 ปิเปต efavirenz stock solution มา 5 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ครบด้วยสารละลาย 3 %H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> จนครบ 10 มิลลิลิตร
  - 1.5.4 ปิเปตสารละลายกรด 1N HCl 10 มิลลิลิตร
  - 1.5.5 ปิเปตสารละลายเบส 1N NaOH 10 มิลลิลิตร
  - 1.5.6 ปิเปตสารละลาย 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 มิลลิลิตร
  - 1.5.7 ปิเปต efavirenz stock solution 10 มิลลิลิตร
- 1.6 นำสารละลายที่เตรียมได้ไปให้ความร้อนด้วย water bath 80 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
- 1.7 นำสารที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์ด้วย HPLC
- 2) **linearity and range** เป็นศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟของ efavirenz ด้วยเทคนิค least-square regression โดยจะเตรียมสารที่ทดสอบดังนี้
  - 2.1 การเตรียม efavirenz stock solution โดยการชั่ง efavirenz 25 มิลลิกรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร และเติม methanol ในปริมาณเล็กน้อยลงไป ใน volumetric flask ในข้อ 1 แยกให้ผงยาแตกกระจายตัว และละลายจนหมด และ ปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 250 มิลลิลิตร จะได้ efavirenz stock solution ความเข้มข้น 0.01 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
  - 2.2 เตรียมสารละลาย efavirenz ให้มีความเข้มข้น 0.002, 0.003, 0.004, 0.005, 0.006, 0.007 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร โดยปิเปตจาก efavirenz stock solution ดังนี้

- 2.2.1 ปิเปต stock solution มา 2 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะได้ความเข้มข้น 0.002 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
- 2.2.2 ปิเปต stock solution มา 3 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะได้ความเข้มข้น 0.003 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
- 2.2.3 ปิเปต stock solution มา 4 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะได้ความเข้มข้น 0.004 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
- 2.2.4 ปิเปต stock solution มา 5 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะได้ความเข้มข้น 0.005 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
- 2.2.5 ปิเปต stock solution มา 6 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะได้ความเข้มข้น 0.006 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
- 2.2.6 ปิเปต stock solution มา 7 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะได้ความเข้มข้น 0.007 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

- 3) **precision** เป็นค่าที่แสดงความสอดคล้องของผลการทดลองที่วิเคราะห์ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำหลายครั้งจาก efavirenz ตัวอย่าง โดยแสดงในรูปร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ (%relative standard deviation, %RSD) ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$\%RSD = \text{standard deviation} \times 100 / \text{mean}$$

การเตรียมตัวอย่าง efavirenz โดยชั่ง efavirenz 0.12 กรัม และเติม methanol ในปริมาณเล็กน้อย ลงไปใน volumetric flask แก้วให้ผงยาแตกกระจายตัว และละลายจนหมด และ ปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้ efavirenz stock solution ความเข้มข้น 0.12 %w/v และนำไปวิเคราะห์ ด้วย HPLC โดยจะการฉีดซ้ำจำนวน 6 ครั้ง คำนวณและแสดงผลในรูปของ %RSD เกณฑ์การยอมรับ %RSD ไม่เกิน 2%

- 4) **accuracy** ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์คือ ผลการวิเคราะห์ที่ได้ควรใกล้เคียงกัน หรือเท่ากับปริมาณสารที่มีอยู่จริงในตัวอย่างที่วิเคราะห์ โดยจะเตรียมสารที่ทดสอบดังนี้

- 4.1 เตรียม stock solution โดยชั่ง efavirenz 0.15 กรัม ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร และเติม methanol ในปริมาณเล็กน้อย ลงไปใน volumetric flask แก้วให้ผงยาแตกกระจายตัว และละลายจนหมด และ ปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้ efavirenz stock solution ความเข้มข้น 0.15 %w/v

4.2 เตรียมสารละลาย efavirenz ความเข้มข้น 0.096, 0.12, 0.144 % w/v โดยปิเปตจาก efavirenz stock solution ดังนี้

4.1.1 ปิเปต stock solution มา 16 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะได้ความเข้มข้น 0.096 % w/v

4.1.2 ปิเปต stock solution มา 20 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะได้ความเข้มข้น 0.12 % w/v

4.1.3 ปิเปต stock solution มา 24 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้ครบด้วย methanol จะได้ความเข้มข้น 0.144 % w/v

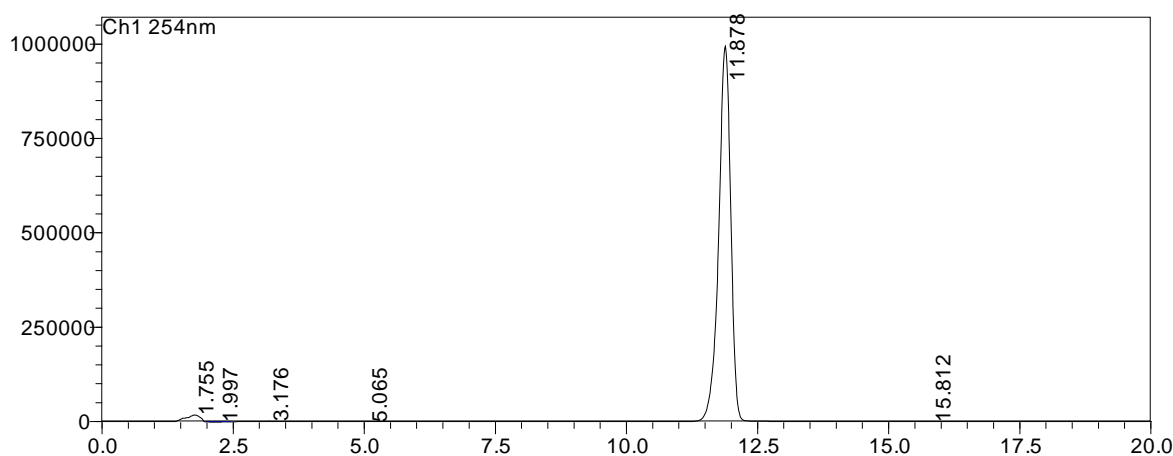
4.3 นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์ด้วยHPLC โดยแต่ละความเข้มข้นให้ฉีดความเข้มข้นละ 3 ครั้ง และคำนวณค่า %recovery ได้จาก

$$\text{สูตร } \% \text{ recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้น efavirenz ที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ความเข้มข้นที่ efavirenz ที่เดิม}} \times 100$$

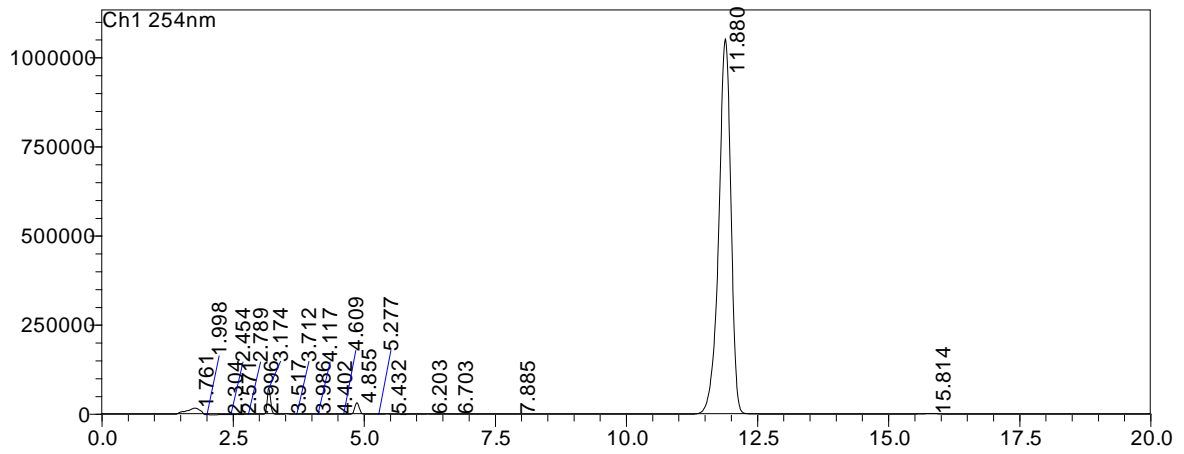
เกณฑ์การยอมรับ: %recovery อยู่ในช่วง 98.0-102.0% และ %RSD ไม่เกิน 2%

## ผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

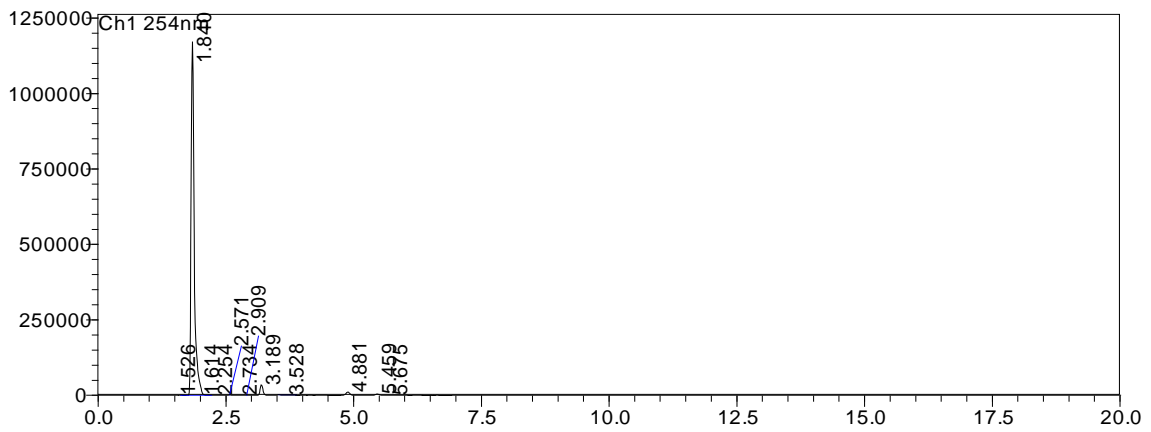
### 1. specificity



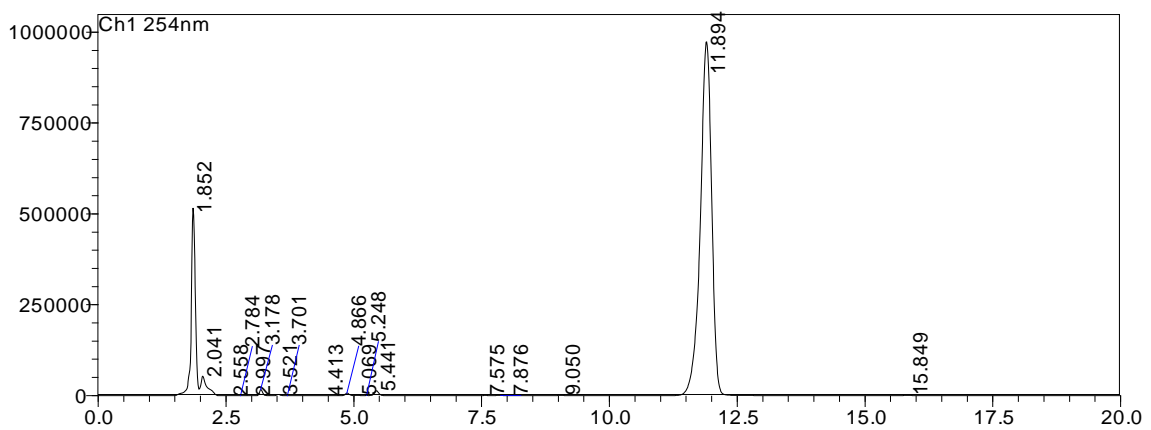
รูปที่ 30 แสดง chromatogram ยา efavirenz ละลายใน methanol



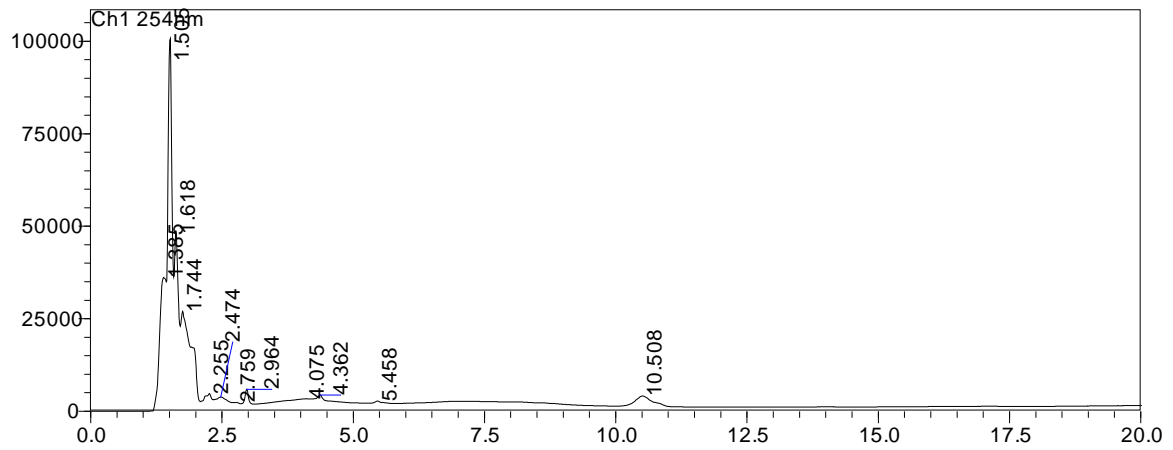
รูปที่ 31 แสดง chromatogram ยา efavirenz ละลายใน methanol (ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง)



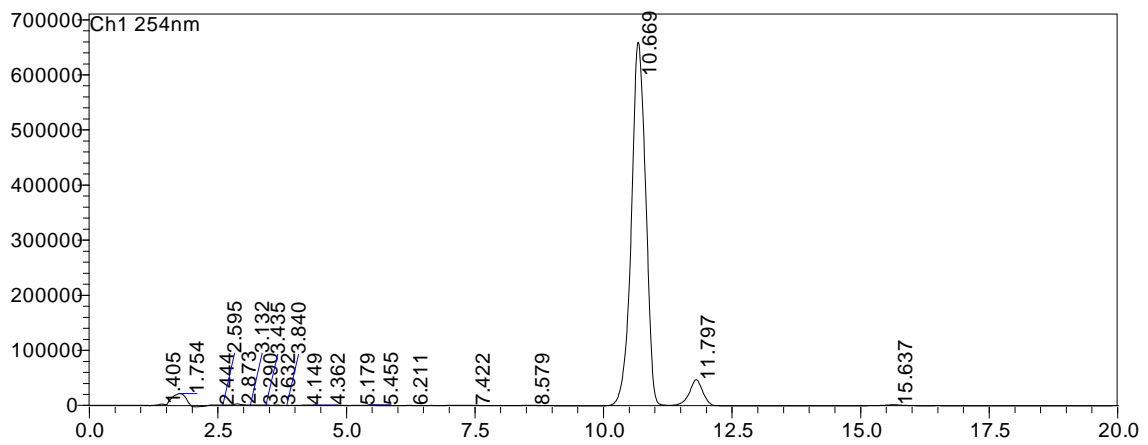
รูปที่ 32 แสดง chromatogram ของ 1 N hydrogen peroxide



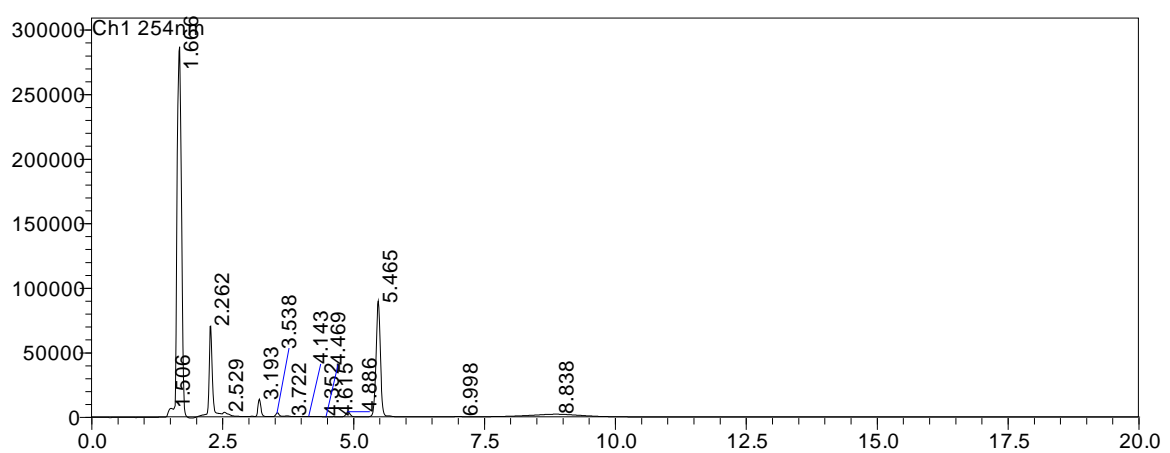
รูปที่ 33 แสดง chromatogram ยา efavirenz ละลายใน 1 N hydrogen peroxide



รูปที่ 34 แสดง chromatogram ของ 1 N Sodium hydroxide

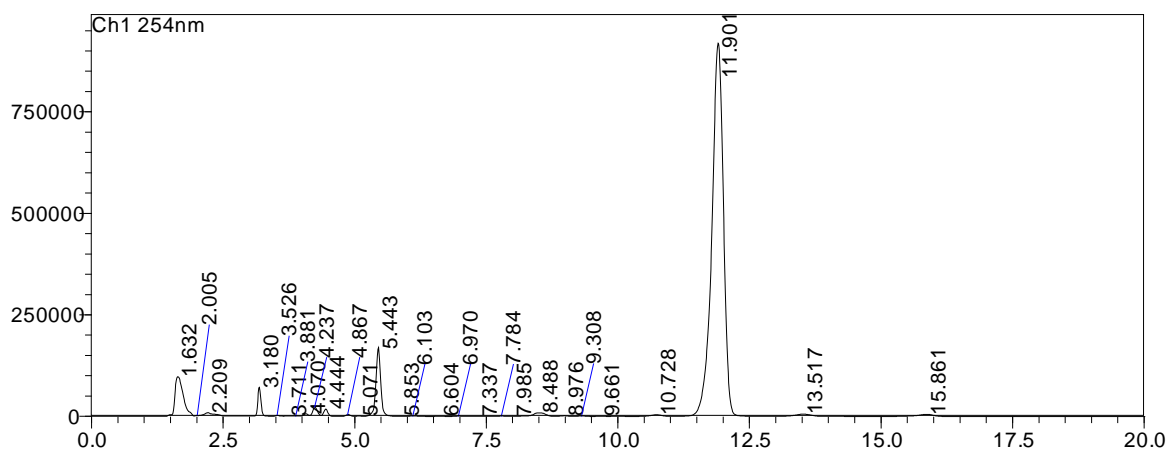


รูปที่ 35 แสดง chromatogram ยา efavirenz ละลายใน 1 N sodium hydroxide



รูปที่ 36 แสดง chromatogram ของ 1 N hydrochloric acid





รูปที่ 37 แสดง chromatogram ยา efavirenz ละลายใน 1 N hydrochloric acid

### การประเมินผล

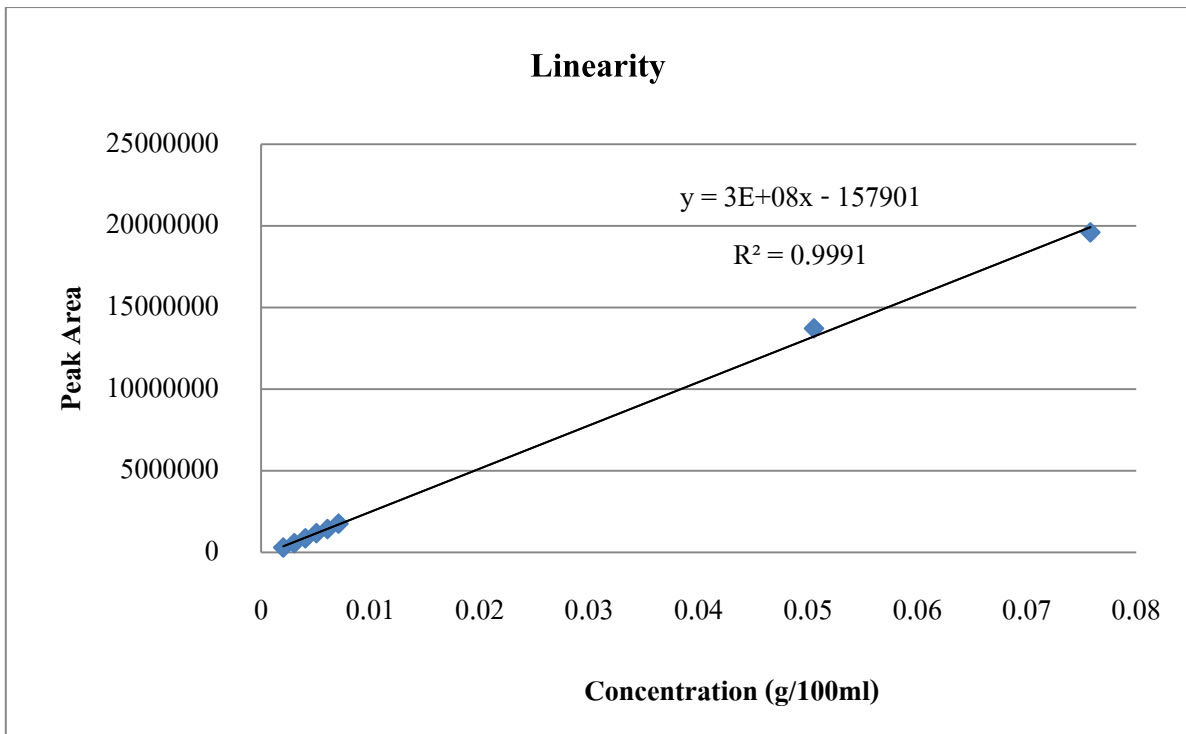
จากการทดสอบวิธีวิเคราะห์หือฟาวิเรนซ์ด้วยเครื่อง HPLC ในหัวข้อ specificity เพื่อเป็นการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์หือฟาวิเรนซ์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารที่ต้องการศึกษาหรือไม่ ผลปรากฏว่า ไม่มีการทับซ้อนของยาที่เมื่ออยู่ในสภาวะความร้อน กรด ต่าง และสภาวะที่มี oxidizing agent เทียบกับยาในสภาวะปกติ

### 2. linearity

ตารางที่ 14 แสดงผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ด้วย HPLC ในหัวข้อ linearity

Concentration (g /100ml)	Concentration จริง (g /100ml)	Sample	Peak area	Average
0.002	0.002022	1	301,467.00	302,101.00
		2	302,475.00	
		3	302,361.00	
0.003	0.003033	1	568,454.00	568,153.00
		2	566,557.00	
		3	569,448.00	
0.004	0.004044	1	864,683.00	866,363.00

Concentration ( g /100ml )	Concentration ជំរឿន ( g /100ml )	Sample	Peak area	Average
		2	866,887.00	
		3	867,519.00	
0.005	0.005054	1	1,181,069.00	1,181,296.67
		2	1,178,775.00	
		3	1,184,046.00	
0.006	0.006065	1	1,430,932.00	1,432,710.33
		2	1,433,596.00	
		3	1,433,603.00	
0.007	0.007076	1	1,761,156.00	1,762,527.00
		2	1,760,352.00	
		3	1,766,073.00	
0.05	0.050544	1	13,717,974.00	13,720,145.00
		2	13,716,228.00	
		3	13,726,233.00	
0.075	0.075816	1	19,571,340.00	19,559,129.00
		2	19,562,775.00	
		3	19,543,272.00	



รูปที่ 38 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง พื้นที่ใต้กราฟ และความเข้มข้นจากการวิเคราะห์ด้วย HPLC

#### การประเมินผล

จากการทดสอบวิธีวิเคราะห์อีฟาวิเรนซ์ด้วยเครื่อง HPLC ในหัวข้อ linearity เมื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 0.002, 0.003, 0.004, 0.005, 0.006, 0.007, 0.05, 0.075 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำพื้นที่ใต้กราฟที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้น ซึ่งค่า  $R^2$  ที่ได้เท่ากับ 0.9991

### 3. precision

ตารางที่ 15 แสดงผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ด้วย HPLC ในหัวข้อ precision

Concentration (g / 100 ml )	Sample	Retention time	Peak area
0.12	1	11.924	27319622
	2	11.911	27378848
	3	11.947	27428642
	4	11.965	27195744
	5	11.949	27421201
	6	11.932	27337298
<b>Average</b>	-	11.938	27346893
<b>SD</b>	-	0.019452506	85915.65
<b>% RSD</b>	-	0.163	0.314

#### การประเมินผล

จากการทดสอบวิธีวิเคราะห์อิมโฟวีนเร็นซ์ด้วยเครื่อง HPLC ในหัวข้อ precision เพื่อแสดงความสอดคล้องของผลการทดลองที่วิเคราะห์ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำหลายๆครั้ง ในที่นี้ทำซ้ำจำนวน 6 ครั้ง โดยทำการวิเคราะห์เพียงความเข้มข้นเดียว คือ 0.12%w/v พบว่า %RSD ของ peak area มีค่าน้อยกว่า 1% ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ใน USP 34

#### 4. accuracy

ตารางที่ 16 แสดงผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ด้วย HPLC ในหัวข้อ accuracy

Concentration (g /100ml )	Sample	Peak area	Average	SD	% RSD
0.096	1	99408	99756.33	341.23648	0.3420
	2	99771			
	3	100090			
0.12	1	147289	147305.7	59.769	0.0406
	2	147372			
	3	147256			
0.144	1	214594	214707.3	534.0958	0.24876
	2	215289			
	3	214239			

#### การประเมินผล

จากการทดสอบวิธีวิเคราะห์อิมโฟวเรนซ์ด้วยเครื่อง HPLC ในหัวข้อ accuracy เพื่อทดสอบความแม่นยำในวิธีวิเคราะห์พบว่าค่า % RSD ของ peak area ในทุกความเข้มข้นมีค่าน้อยกว่า 2% ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดใน USP 34