



โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

ผลรวมของไมโครอิมัลชันชนิดใหม่และโซโนโฟเรซิสต่อการแพร่ผ่านผิวหนัง
ของเซเลโคซิบ

(Combination Effects Of Novel Microemulsion And Sonophoresis On
Dermal Delivery Of Celecoxib)

โดย

นสภ. วริศ	คุณรัตนภรณ์	รหัส 56210097
นสภ. นันทภรณ์	นามภูมิ	รหัส 56210162
นสภ. สุชัยญา	ศรีสว่างอรุณรุ่ง	รหัส 56210170
นสภ. นภัสสร	แสงศิริมงคลยิ่ง	รหัส 56210178

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาในหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต

ปีการศึกษา 2560

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

ผลรวมของไมโครอิมัลชันชนิดใหม่และโซโนโฟเรซิสต่อการแพร่ผ่านผิวหนัง
ของเซเลโคซิบ
(Combination Effects Of Novel Microemulsion And Sonophoresis On
Dermal Delivery Of Celecoxib)

โดย

นสภ. วริศ	คุณรัตนภรณ์	รหัส 56210097
นสภ. นันทภรณ์	นามภูมิ	รหัส 56210162
นสภ. สุชัญญา	ศรีสว่างอรุณรุ่ง	รหัส 56210170
นสภ. นภััสสร	แสงศิริมงคลยิ่ง	รหัส 56210178

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาในหลักสูตร
ปริญญาบัณฑิต
ปีการศึกษา 2560
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

คำนำ

ในปัจจุบันประเทศไทยมีจำนวนผู้สูงอายุเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสามารถเกิดโรคต่างๆได้เป็นจำนวนมาก เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคข้อเสื่อม ข้ออักเสบเก๊าท์ อาการปวดเฉียบพลัน โดยยาที่มักใช้รักษาโรคที่กล่าวมาข้างต้น คือ ยาที่ใช้ด้านการอักเสบกลุ่ม NSAIDs ซึ่งมีผลข้างเคียงที่สำคัญ คือ ระคายเคืองกระเพาะอาหาร ทำให้มีการพัฒนายาที่ยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase-2 ได้จำเพาะมากยิ่งขึ้น เพื่อลดการระคายเคืองกระเพาะอาหารคือ ยาประเภท Specific COX-2 inhibitors เช่น เซเลโคซิบ (Celecoxib) ซึ่งตัว เซเลโคซิบ ละลายน้ำได้ไม่ดี ทำให้การดูดซึมน้อย และยังมีผลต่อผู้ป่วยโรคตับและผู้ที่เสี่ยงเป็นโรคตับ อีกทั้งเมื่อมีการรับประทานยานี้เป็นเวลานาน ยายังสามารถทำให้เกิด โรคไตวายเฉียบพลัน

ดังนั้นจึงสนใจศึกษาวิจัยเกี่ยวกับระบบนำส่งยาผ่านผิวหนัง (Transdermal drug delivery system) โดยใช้ผลรวมของไมโครอิมัลชันชนิดใหม่และโซโนโฟเรซิสต่อการแพร่ผ่านทางผิวหนังของเซเลโคซิบ เพื่อหลีกเลี่ยงการถูกทำลายของยาที่ทางเดินอาหารและที่ตับ สามารถควบคุมการปลดปล่อยของยา เพิ่มครึ่งชีวิตของยา ทำให้ยาอยู่ในร่างกายได้นานขึ้น ลดอาการข้างเคียงเช่น อาการคลื่นไส้ อาเจียน สามารถใช้ในผู้ป่วยที่ไม่สามารถกลืนยาได้นอกจากนี้ผู้ป่วยยังสามารถบริหารยาได้ด้วยตนเอง และหวังว่าการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาให้กับผู้ป่วยและเป็นองค์ความรู้ในทางวิชาการต่อไป

คณะผู้วิจัย

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2560

เรื่อง ผลร่วมของไมโครอิมัลชันชนิดใหม่และโซโนโฟเรซิสต่อการแพร่ผ่านผิวหนังของเซลโคชิบ

ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

- | | | |
|------------------|------------------|---------------|
| 1. นสภ. วริศ | คุณรัตนาภรณ์ | รหัส 56210097 |
| 2. นสภ. นันทภรณ์ | นามภูมิ | รหัส 56210162 |
| 3. นสภ. สุทธิญา | ศรีสว่างอรุณรุ่ง | รหัส 56210170 |
| 4. นสภ. นภัสสร | แสงศิริมงคลยิ่ง | รหัส 56210178 |

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

ภก.อ.ดร. ถิรพิทย์ สุนงกษ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาไมโครอิมัลชันชนิดใหม่ประกอบด้วย พีอีจี-6 คาโพรลิก/คาพริก กลีเซอไรด์เป็นสารลดแรงตึงผิว การศึกษาสภาวะโซโนโฟเรซิสที่สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านผิวหนังของเซลโคชิบและเพื่อศึกษาผลร่วมระหว่างไมโครอิมัลชันชนิดใหม่และโซโนโฟเรซิสต่อการแพร่ผ่านผิวหนังของเซลโคชิบ ไมโครอิมัลชันชนิดใหม่ที่ได้รับการพัฒนาขึ้นนี้ได้รับการประเมินทั้งขนาดอนุภาค ศักย์ซีตา การกระจายขนาด ชนิดของไมโครอิมัลชัน การปลดปล่อยยาแบบภายนอกร่างกาย และการแพร่ผ่านผิวหนังแบบภายนอกร่างกาย โดยพบว่าไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซลโคชิบมีขนาดอนุภาคอยู่ระหว่าง 48 ถึง 269 นาโนเมตร มีประจุพื้นผิวเป็นกลาง มีการปลดปล่อยเซลโคชิบจากไมโครอิมัลชันเป็นจลนศาสตร์อันดับศูนย์ ซึ่งไมโครอิมัลชันชนิดใหม่สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านทางผิวหนังของเซลโคชิบได้มากกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสภาวะของโซโนโฟเรซิสที่สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านของเซลโคชิบได้นั้นพบว่าเท่ากับ 30 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร เมื่อศึกษาผลร่วมของสูตรไมโครอิมัลชันและสภาวะโซโนโฟเรซิสที่เพิ่มการแพร่ผ่านของเซลโคชิบได้มากที่สุดด้วยกันพบว่าการแพร่ผ่านผิวหนังของเซลโคชิบลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการใช้เพียงแคไมโครอิมัลชัน

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

Senior Project Academic Year 2017

: Combination Effects Of Novel Microemulsion And Sonophoresis On Transdermal Delivery Of Celecoxib

By

- | | | | |
|---------------------|---------------------|----|----------|
| 1. Mr. Varit | Kunrattanaporn | ID | 56210097 |
| 2. Miss. Nanthaporn | Namphoomee | ID | 56210162 |
| 3. Miss. Suchanya | Srisawangarunrung | ID | 56210170 |
| 4. Miss. Napatsorn | Sangsirimongkonying | ID | 56210178 |

Advisor:

Dr. Thirapit Subongkot (Ph.D.)

ABSTRACT

This study was aimed to develop a novel microemulsion that contained PEG-6 caprylic/capric glycerides as surfactant, to evaluate the optimum condition of sonophoresis for skin penetration enhancement of celecoxib and to study the combination effect of this novel microemulsion and sonophoresis on dermal delivery of celecoxib. The created microemulsion was evaluated for their size, zeta potential, polydispersity index, microemulsion types, *in vitro* release and *in vitro* skin penetration test. The celecoxib loaded microemulsion had a particle size in range of 48-269 nm with a neutral surface charge. The *in vitro* release of celecoxib loaded microemulsion was best fitted with the zero-order model. The microemulsion significantly improved the skin penetration of celecoxib. The energy of sonophoresis for skin penetration enhancement of celecoxib was 30 watt/cm². The microemulsion formulation and sonophoresis condition which provided the highest amount of celecoxib in the skin

were selected to investigate the combination effect on dermal delivery of celecoxib. However, the combination effect of microemulsion and sonophoresis resulted in the decrease of the celecoxib penetration into the skin comparing to microemulsion.

Advisor

.....

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ประจำปี 2560 เรื่อง ผลร่วมของไมโครอิมัลชันชนิดใหม่ และโซโนโฟเรซิสต่อการแพร่ผ่านทางผิวหนังนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจากอาจารย์ ธีรพิทย์ สุปงกช อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ ผู้ซึ่งกรุณาสั่งสอน ให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา ในการทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้ตั้งแต่กระบวนการเริ่มต้น การเขียนโครงร่างโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ ขั้นตอนและกระบวนการดำเนินการวิจัย ตลอด ถึงการตรวจแก้ไขโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์จนเสร็จสมบูรณ์

นอกจากนี้ทางคณะผู้วิจัยต้องขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการทางเภสัชกรรมและเจ้าหน้าที่สำนักงานประจำคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้ความอนุเคราะห์ ในด้านอุปกรณ์เครื่องมือทำการทดลอง คณะกรรมการและอาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย ทางคณะผู้วิจัยขอแสดงความขอบคุณอย่างสุดซึ้ง ณ ที่นี้

นสภ. วริศ	คุณรัตนภรณ์
นสภ. นันทภรณ์	นามภูมิ
นสภ. สุชัยญา	ศรีสว่างอรุณรุ่ง
นสภ. นภัสสร	แสงศิริมงคลยิ่ง

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	๗
บทคัดย่อ	๘
กิตติกรรมประกาศ	๙
1. บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 กรอบแนวคิดการวิจัย	4
1.4 สมมติฐานการวิจัย	4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2. วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 การทบทวนวรรณกรรม	5
2.2 สารเคมีและเครื่องมือ	8
3. วิธีการดำเนินการวิจัย	10
3.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ของเซเลโคชิป	10
3.2 หาค่าการละลายของเซเลโคชิป	10
3.3 การเตรียมไมโครอิมัลชัน	11
3.3.1 การเลือกสารลดแรงตึงผิวร่วม (Co-surfactant) สำหรับการเตรียม ตำรับไมโครอิมัลชัน	11
3.3.2 การสร้าง Pseudo-ternary phase diagram ของไมโครอิมัลชัน	11
3.3.3 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวกับสาร ลดแรงตึงผิวร่วมสำหรับไมโครอิมัลชัน	11

	หน้า
3.3.4 การหาค่าการละลายของเซเลโคชิบในไมโครอิมัลชัน	12
3.3.5 การเตรียมเซเลโคชิบในไมโครอิมัลชัน	12
3.4 การศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของไมโครอิมัลชัน	12
3.5 การศึกษาการปลดปล่อยยาแบบภายนอกร่างกาย (<i>In vitro</i> drug release studies)	13
3.6 การศึกษาการแพร่ผ่านผิวหนังแบบภายนอกร่างกาย (<i>In vitro</i> skin penetration studies)	13
3.7 การศึกษาสภาวะของโซโนโฟเรซิสที่เพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบ	15
3.7.1 การเตรียมสารละลายของเซเลโคชิบ	15
3.7.2 การคำนวณพลังงานสำหรับโซโนโฟเรซิส	15
3.7.3 พลังงานของโซโนโฟเรซิส	16
3.8 การศึกษาผลร่วมระหว่างไมโครอิมัลชันและโซโนโฟเรซิส	17
3.9 การวิเคราะห์โดยใช้สถิติ	18
3.10 การวิเคราะห์ด้วย High performance liquid chromatography (HPLC)	18
4. ผลการวิจัย	19
4.1 การหาค่าการละลายของเซเลโคชิบ	19
4.1.1 การเลือกวัสดุภาคน้ำมัน	19
4.1.2 การเลือกสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม	20
4.2 การเตรียมไมโครอิมัลชัน	21
4.2.1 การเลือกสารลดแรงตึงผิวร่วม	21
4.2.2 การสร้าง Pseudo-ternary phase diagram	23
4.3 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของไมโครอิมัลชัน	27
4.3.1 ผลการศึกษาการวัดขนาดอนุภาค (Mean droplet size)	27

	หน้า
4.3.2 ผลการศึกษาการวัดประจุพื้นผิว (Surface charge)	28
4.3.3 ผลการศึกษาการวัดการกระจายขนาด (Size distribution)	28
4.3.4 ผลการศึกษาการวัดค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity)	28
4.4 การศึกษาการปลดปล่อยยาแบบภายนอกร่างกาย (<i>In vitro</i> drug release study)	31
4.5 การศึกษาการแพร่ผ่านผิวหนังแบบภายนอกร่างกาย (<i>In vitro</i> skin penetration studies)	32
4.6 การศึกษาสภาวะของโซโนโฟเรซิสที่เพิ่มการแพร่ผ่านของเซลล์โคชิบได้มากที่สุด	34
4.7 การศึกษาผลร่วมระหว่างไมโครอิมัลชันและโซโนโฟเรซิส	36
5. สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย	39
เอกสารอ้างอิง	40
ภาคผนวก	44

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงค่าการละลายเซลโคชิบในวัฏภาคน้ำมัน	19
ตารางที่ 2 แสดงค่าการละลายเซลโคชิบในสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวรวม	20
ตารางที่ 3 แสดงอัตราส่วนของสูตรตำรับไมโครอิมัลชัน	27
ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาค การกระจายของขนาด ประจุพื้นผิวและ ค่าการนำไฟฟ้าของไมโครอิมัลชันสูตรต่างๆ	30
ตารางที่ 5 จลนศาสตร์ของการปลดปล่อยยาเซลโคชิบจาก Control, MC 1 และ MC 3	31
ตารางที่ 6 แสดงปริมาณเซลโคชิบที่แพร่ผ่านผิวหนังของไมโครอิมัลชันสูตรต่างๆ	33
ตารางที่ 7 แสดงปริมาณเซลโคชิบที่แพร่ผ่านผิวหนังของสภาวะไฮโดรโฟบิกต่างๆ	35
ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบของผลรวมการแพร่ผ่านของเซลโคชิบโดยใช้ ไมโครอิมัลชันร่วมกับไฮโดรโฟบิก	37
ตารางที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยของ Peak area กับความเข้มข้น ของเซลโคชิบ ในช่วง 0.1- 500 µg/ml	45
ตารางที่ 10 แสดงปริมาณ Isopropyl myristate, Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-35 Castor oil เท่ากับ 1:1) และ Water ในอัตราส่วนต่างๆ สำหรับสร้าง Pseudo-ternary phase diagram	47
ตารางที่ 11 แสดงปริมาณ Isopropyl myristate, Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate เท่ากับ 1:1) และ Water ในอัตราส่วนต่างๆ สำหรับสร้าง Pseudo-ternary phase diagram	48

ตารางที่ 12 แสดงปริมาณ Isopropyl myristate, Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate เท่ากับ 2:1) และ Water ในอัตราส่วนต่างๆ สำหรับสร้าง Pseudo-ternary phase diagram	49
ตารางที่ 13 แสดงปริมาณ Isopropyl myristate, Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate เท่ากับ 3:1) และ Water ในอัตราส่วนต่างๆ สำหรับสร้าง Pseudo-ternary phase diagram	50
ตารางที่ 14 แสดงปริมาณ Isopropyl myristate, Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate เท่ากับ 4:1) และ Water ในอัตราส่วนต่างๆ สำหรับสร้าง Pseudo-ternary phase diagram	51
ตารางที่ 15 แสดงขนาดอนุภาคไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบ	52
ตารางที่ 16 แสดงขนาดอนุภาคไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบ	53
ตารางที่ 17 แสดงการกระจายอนุภาคไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบ	54
ตารางที่ 18 แสดงการกระจายอนุภาคไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบ	55
ตารางที่ 19 แสดงศักย์เซตาไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบ	56
ตารางที่ 20 แสดงศักย์เซตาไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบ	57
ตารางที่ 21 แสดงการนำไฟฟ้าของไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบ	58
ตารางที่ 22 แสดงการนำไฟฟ้าของไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบ	59
ตารางที่ 23 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่การปลดปล่อยยาระหว่างปริมาณยาสะสมกับเวลา	60
ตารางที่ 24 แสดงปริมาณเซเลโคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน Receiver medium	61
ตารางที่ 25 แสดงปริมาณเซเลโคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน Strip	62
ตารางที่ 26 แสดงปริมาณเซเลโคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน Viable epidermis และ Dermis	63
ตารางที่ 27 แสดงปริมาณเซเลโคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน Receiver medium	64
ตารางที่ 28 แสดงปริมาณเซเลโคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน Strip	65

ตารางที่ 29 แสดงปริมาณเซลล์โคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน	
Viable epidermis และ Dermis	66
ตารางที่ 30 แสดงปริมาณเซลล์โคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน Receiver medium	67
ตารางที่ 31 แสดงปริมาณเซลล์โคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน Strip	67
ตารางที่ 32 แสดงปริมาณเซลล์โคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน	
Viable epidermis และ Dermis	68

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 แสดง Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-35 Castor oil อัตราส่วน 1:1	21
รูปที่ 2 แสดง Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 1:1	22
รูปที่ 3 แสดง Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 1:1	23
รูปที่ 4 แสดง Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 2:1	24
รูปที่ 5 แสดง Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 3:1	25
รูปที่ 6 แสดง Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 4:1	26
รูปที่ 7 กราฟแสดงการปลดปล่อยเซลล์โคชิบสะสมของ MC 3	32
รูปที่ 8 แสดงกราฟมาตรฐานของเซลล์โคชิบในช่วงความเข้มข้น 0.1- 500 µg/ml	46

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันประเทศไทยมีจำนวนผู้สูงอายุเพิ่มมากขึ้น จนเริ่มเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ ซึ่งสามารถเกิดโรคต่างๆ ได้เป็นจำนวนมาก โดยโรคที่พบบ่อย เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคข้อเสื่อม ข้ออักเสบเก๊าท์ อาการปวดเฉียบพลัน ซึ่งโรคเหล่านี้ทำให้เกิดความทุกข์ทรมานและทำให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยแย่ลง [1] โดยยาที่มักใช้รักษาโรคที่กล่าวมาข้างต้น คือ ยาที่ใช้ต้านการอักเสบ ซึ่งก็คือยากลุ่ม Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) ยาในกลุ่มนี้แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ Non selective COX inhibitors, Selective COX-2 inhibitors และ Specific COX-2 inhibitors ซึ่งยาในประเภท Non selective COX inhibitors จะมีผลข้างเคียงที่สำคัญ คือ ระคายเคืองกระเพาะอาหาร ทำให้มีการพัฒนายาที่ยับยั้งเอนไซม์ COX-2 ได้จำเพาะมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะทำให้ลดการระคายเคืองกระเพาะอาหาร โดยประเภทที่จำเพาะต่อการยับยั้ง COX-2 มากที่สุด คือ ยาประเภท Specific COX-2 inhibitors เช่น เซเลโคซิบ (Celecoxib)

เซเลโคซิบในท้องตลาดปัจจุบัน มีรูปแบบแคปซูลขนาด 200 และ 400 มิลลิกรัม [2] ซึ่งเมื่อรับประทานยาในรูปแบบแคปซูลจะต้องมีการละลายของแคปซูลก่อน จากนั้นยาที่อยู่ด้านในจะต้องละลายน้ำแล้วจึงจะมีการดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งตัวเซเลโคซิบ ละลายน้ำได้ไม่ดี (ค่าการละลายของเซเลโคซิบในน้ำเท่ากับ 3.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) [3] เมื่อยามีการละลายน้ำน้อยก็จะทำให้การดูดซึมน้อยตามไปด้วย จากนั้นเมื่อยาถูกดูดซึมยาจะเข้าสู่กระบวนการเมตาบอลิซึมรอบแรก (First pass metabolism) ที่ตับ โดยผ่านเอนไซม์ CYP2C9 (major) และ CYP3A4 (minor) ทำให้มีผลต่อผู้ป่วยโรคตับและผู้ที่เสี่ยงเป็นโรคตับ นอกจากนี้เซเลโคซิบยังสามารถเพิ่มระดับ ALP และระดับ AST ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงการถูกทำลายของตับ [4]

รวมถึงทำให้เกิดภาวะคั่งของน้ำดี (Cholestatic hepatitis) [5] อีกทั้งเมื่อมีการรับประทานยานี้เป็นเวลานานยายังสามารถทำให้เกิดโรคไตวายเฉียบพลัน (Acute kidney injury) [6] ได้ เนื่องจากการยับยั้ง พรอสตาแกลนดิน (Prostaglandin) บริเวณเส้นเลือดแดงขาเข้าที่หน่วยไต (Afferent arteriole) ทำให้หลอดเลือดบริเวณนั้นหดตัว เลือดจึงไปที่ไตน้อยลง ทำให้ไตเกิดความเสียหายจากการขาดเลือด

ระบบนำส่งยาผ่านผิวหนัง (Transdermal drug delivery system) เป็นระบบที่มีการนำส่งยาผ่านผิวหนังเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือด การนำส่งยาผ่านผิวหนังมีข้อดี คือ สามารถหลีกเลี่ยงการถูกทำลายของยาที่ทางเดินอาหารจากความเป็นกรดของกระเพาะอาหารหรือจากเอนไซม์ต่างๆ สามารถหลีกเลี่ยงการถูกทำลายของยาที่ตับ สามารถควบคุมการปลดปล่อยของยา เพิ่มครึ่งชีวิตของยา ทำให้ยาอยู่ในร่างกายได้นานขึ้น ลดอาการข้างเคียง เช่น อาการคลื่นไส้ อาเจียน โดยสามารถใช้ในผู้ป่วยที่ไม่สามารถกลืนยาได้ นอกจากนี้ผู้ป่วยยังสามารถบริหารยาได้ด้วยตนเอง [7]

ผิวหนังของมนุษย์แบ่งได้เป็น 3 ชั้น คือ หนังกำพร้า (Epidermis) หนังแท้ (Dermis) และชั้นไขมันใต้ผิวหนัง (Subcutaneous tissue) โดยชั้นที่เป็นชั้นกำหนดอัตราการแพร่ผ่านเข้าสู่ผิวหนัง (Rate limiting step) คือ สตราตัมคอร์เนียม (Stratum corneum) [8] ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของชั้นหนังกำพร้า มีความหนาประมาณ 10-15 ไมโครเมตร มีการเรียงตัวแบบ Brick and mortar system [9] ตามทฤษฎีแล้วยาที่แพร่ผ่านผิวหนังได้ดีควรมีค่าการละลายมากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า Log P อยู่ในช่วง 1-3 และมีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 500 ดาลตัน [8] เซเลโคซิบเป็นยาที่มีค่าการละลายน้ำต่ำ (3.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) มีค่า Log P เท่ากับ 3.47 น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 381.373 กรัมต่อโมล [3] ดังนั้นเซเลโคซิบจึงแพร่ผ่านผิวหนังไม่ดี จำเป็นต้องมีระบบนำส่งเพื่อช่วยเพิ่มการแพร่ผ่านทางผิวหนัง

การเพิ่มการแพร่ผ่านทางผิวหนังมี 2 วิธี คือ ทางกายภาพและเพิ่มการแพร่ผ่านโดยใช้ระบบอนุภาคระดับนาโนเมตร โดยการเพิ่มการแพร่ผ่านทางผิวหนังทางกายภาพ เช่น Microneedle [10], Iontophoresis [11], Sonophoresis [12], Electroporation [13] เป็นต้น การเพิ่มการแพร่ผ่านโดยใช้ระบบอนุภาคระดับนาโนเมตร เช่น Liposome [14], Dendrimer [15], Microemulsion [16]

ไมโครอิมัลชันจัดเป็นระบบคอลลอยด์มีขนาดอนุภาคระดับนาโนเมตร ประกอบด้วย ภูมิภาคน้ำมัน ภูมิภาคน้ำ สารลดแรงตึงผิว และสารลดแรงตึงผิวร่วม โดยไมโครอิมัลชันสามารถแบ่งได้ 3 ประเภท ตามการกระจายตัวของภูมิภาคน้ำมันและภูมิภาคน้ำ คือ ประเภทน้ำมันในน้ำ (Oil in water หรือ o/w) ประเภทน้ำในน้ำมัน (Water in oil หรือ w/o) และประเภทต่อเนื่องแบบคู่ (Bicontinuous) [17] ไมโครอิมัลชันมีข้อดี คือ ช่วยเพิ่มการดูดซึม เพิ่มชีวประสิทธิผล เติร์ยมง่าย สามารถผลิตได้ในระดับอุตสาหกรรม และนำไปประยุกต์ใช้ได้หลายรูปแบบ เช่น รูปแบบรับประทาน รูปแบบทา และรูปแบบฉีด [18]

โซโนโฟเรซิส (Sonophoresis) คือ การนำส่งโมเลกุลของสารผ่านผิวหนังโดยใช้คลื่นเหนือเสียง (Ultrasound) โดยโซโนโฟเรซิสแบ่งเป็น 3 ประเภท คือ 1) ความถี่สูง หรือ Diagnostic ultrasound (3-10 MHz) 2) ความถี่ปานกลาง หรือ Therapeutic ultrasound (0.7-3 MHz) 3) ความถี่ต่ำ หรือ Power ultrasound (20-100 kHz) ซึ่งใช้ในการนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง โดยกลไกที่ใช้ในการเพิ่มการแพร่ผ่าน คือ Microscopic bubble (Cavitation) เป็นการทำให้เกิดโพรงอากาศในตัวกลางเป็นจำนวนมากและมีการพองตัวและหดตัวอย่างรวดเร็ว การหดตัวของโพรงอากาศจะปลดปล่อยคลื่น Shock wave ซึ่งสามารถทำให้โครงสร้างของเนื้อเยื่อรอบๆ เปลี่ยนไปจึงทำให้เพิ่มการแพร่ผ่านทางผิวหนังได้ และโซโนโฟเรซิสยังมีข้อดีคือไม่ทำให้ผิวหนังถูกทำลาย (Non-invasive) จึงไม่ทำให้เกิดการเจ็บปวด [19,20,21]

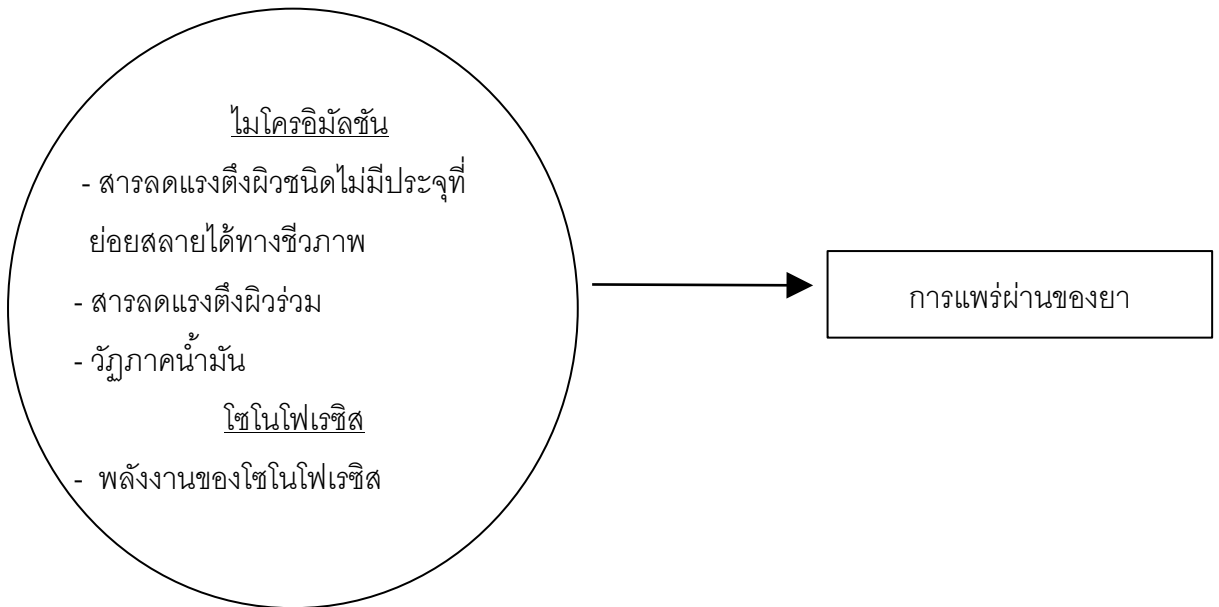
เนื่องจากยังไม่เคยมีการรายงานการวิจัยถึงการใช้ไมโครอิมัลชันร่วมกับโซโนโฟเรซิสรวมทั้งในการตั้งสูตรตำรับไมโครอิมัลชันนั้นมีการใช้สารลดแรงตึงผิวในปริมาณสูง [22] งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาผลของไมโครอิมัลชันที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดใหม่ร่วมกับโซโนโฟเรซิสต่อการแพร่ผ่านทางผิวหนังของเซเลโคชิบ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาให้กับผู้ป่วยและเป็นองค์ความรู้ในทางวิชาการต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาสูตรตำรับไมโครอิมัลชันชนิดใหม่ เพื่อเพิ่มการแพร่ผ่านเซเลโคชิบทางผิวหนัง
2. เพื่อศึกษาปัจจัยของโซโนโฟเรซิสที่ส่งผลต่อการเพิ่มการแพร่ผ่านผิวหนังของเซเลโคชิบ

3. เพื่อศึกษาผลร่วมของโซโนโฟเรซิสและไมโครอิมัลชันต่อการแพร่ผ่านผิวหนังของเซเลโคชิบ

1.3 กรอบแนวคิดการวิจัย



1.4 สมมติฐานการวิจัย

คาดว่าผลร่วมของโซโนโฟเรซิสและไมโครอิมัลชันจะเพิ่มการแพร่ผ่านผิวหนังของเซเลโคชิบได้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สูตรตำรับที่เพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบทางผิวหนัง
2. ทราบสถานะของโซโนโฟเรซิสที่สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบทางผิวหนังได้
3. เพื่อเป็นองค์ความรู้ทางวิชาการถึงผลร่วมของการใช้ไมโครอิมัลชันร่วมกับโซโนโฟเรซิสในการเพิ่มการแพร่ผ่านทางผิวหนัง

บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 การทบทวนวรรณกรรม

เซเลโคซิบเป็นยาในกลุ่ม Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) มีกลไกยับยั้งเอนไซม์ COX-2 แบบ Specific โดยเซเลโคซิบมีคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมี คือ มีน้ำหนักโมเลกุล 381.373 กรัมต่อโมล ค่าการละลายในน้ำ 3.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และมี Log P เท่ากับ 3.47 [3] รูปแบบของเซเลโคซิบในท้องตลาดปัจจุบันมีเพียงชนิดเดียว คือ รูปแบบแคปซูล [2] ส่วนรูปแบบที่เคยมีการศึกษาแต่ยังไม่มีให้นำออกสู่ท้องตลาด ได้แก่ รูปแบบไมโครอิมัลชันชนิดเจล [22] รูปแบบนาโนอิมัลชัน [23] รูปแบบเจล [24] และรูปแบบครีม [25] โดยมีรายละเอียดดังนี้

รูปแบบไมโครอิมัลชันชนิดเจล จากการศึกษานี้ของ Soliman และคณะ [22] ได้ทำการศึกษาเซเลโคซิบในรูปแบบไมโครอิมัลชันชนิดเจล โดยตำรับที่มีการใช้ Isopropyl myristate ร้อยละ 19.6 เป็นวัฏภาคน้ำมัน Tween 80 ร้อยละ 25.07 เป็นสารลดแรงตึงผิว Cremophor RH40 ร้อยละ 20.66 เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม น้ำร้อยละ 32.67 เป็นวัฏภาคน้ำ และเซเลโคซิบร้อยละ 2 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) เป็นสูตรตำรับที่ให้ผลการปลดปล่อยยาดีที่สุด

รูปแบบนาโนอิมัลชัน จากการศึกษานี้ของ Baboota และคณะ [23] ได้ทำการศึกษาเซเลโคซิบในรูปแบบนาโนอิมัลชัน โดยสูตรตำรับประกอบด้วยเซเลโคซิบร้อยละ 2 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) Sefsol 218 และ Triacetin (อัตราส่วน 1:1) ร้อยละ 10 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) เป็นวัฏภาคน้ำมัน Tween-80 และ Transcutol-P (อัตราส่วน 1:1) ร้อยละ 50 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) เป็นสารลดแรงตึงผิว และวัฏภาคน้ำร้อยละ 40 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) เป็นสูตรตำรับที่มีการปลดปล่อยยาและมีฤทธิ์ด้านการอักเสบได้มากที่สุด

รูปแบบเจล จากการศึกษากของ Tavakoli และคณะ [24] ได้ทำการศึกษาเซเลโคชิบในรูปแบบเจลร่วมกับไอออนโตโฟเรซิส โดยใช้ Sodium alginate, Sodium carboxymethyl cellulose, Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) และ Carbopol 934P ในการตั้งสูตรตำรับ โดยตำรับที่ใช้ HPMC มีการปลดปล่อยยาได้มากที่สุด

รูปแบบครีม จากการศึกษากของ Geannyne และคณะ [25] ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเซเลโคชิบรูปแบบครีมในการบรรเทาอาการปวดมพบว่เซเลโคชิบรูปแบบครีมความเข้มข้นร้อยละ 2 สามารถบรรเทาอาการปวดได้

โซโนโฟเรซิส คือ การนำส่งโมเลกุลของสารผ่านผิวหนังโดยใช้คลื่นเหนือเสียง (Ultrasound) ซึ่งความถี่ที่ใช้แบ่งเป็น 3 ช่วง คือ 1) ความถี่สูง หรือ Diagnostic ultrasound (3-10 MHz) ใช้กับงาน Clinical imaging 2) ความถี่ปานกลาง หรือ Therapeutic ultrasound (0.7-3 MHz) ใช้ในงานกายภาพบำบัด 3) ความถี่ต่ำ หรือ Power ultrasound (20-100 kHz) นิยมใช้มากทางการแพทย์ เช่น การดูดไขมัน การรักษามะเร็ง การขูดพื่น การตรวจระดับสารในร่างกาย รวมถึงการนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง [19]

จากการศึกษากของ Herwadkar และคณะ [26] ได้ศึกษาการใช้ระบบนำส่งยาแบบโซโนโฟเรซิสเพื่อเพิ่มการแพร่ผ่านของคีโตโพรเฟน (Ketoprofen) เปรียบเทียบกับวิธีการแพร่แบบไม่ใช้พลังงาน (Passive diffusion) ผ่านผิวหนังของหนูที่ไร้ขน พบว่ปัจจัยของโซโนโฟเรซิสที่เพิ่มการแพร่ผ่านได้ดีที่สุด คือ ใช้เวลา 2 นาที Duty cycle ร้อยละ 100 ระยะห่างระหว่าง Horn และผิวหนัง คือ 0.3 เซนติเมตร และใช้ Sodium Lauryl Sulfate (SLS) ร้อยละ 1 เป็น Medium

จากการศึกษากของ Sintov [27] พบว่การใช้ไมโครอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมัน ในการนำส่งเคอร์คูมินผ่านทางผิวหนัง ทำให้อาสามารถผ่านผิวหนังได้มากกว่าการใช้ Micellar system การใช้ Water-free surfactants และ Oil mixture

สารลดแรงตึงผิวที่ใช้ คือ PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides จัดเป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทไม่มีประจุ ประกอบด้วยพันธะเอสเทอร์ และสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ มีลักษณะเป็นของเหลวใสหนืดเล็กน้อย ไม่มีสีถึงสีเหลือง [28,29]

จากงานวิจัยของ Manikkath และคณะ [15] ได้ศึกษาการใช้ Peptide dendrimers และ โซโนโฟเรซิสในการแพร่ผ่านทางผิวหนังของคีโตโปรเฟน โดยใช้เครื่อง Vertical Franz diffusion cells ในการทดสอบการแพร่ผ่านของผิวหนังที่ใช้ผิวหนังหนูนาไรรัน โดยใช้ Receptor medium HEPES buffer pH 7.4 โดยจะหั่นผิวหนังชั้นนอกสุดไปด้าน Donor compartment ใช้พื้นที่ผิวหนัง 0.64 ตารางเซนติเมตร ใน Donor medium จะใช้สารละลายคีโตโปรเฟน HEPES buffer pH 7.4 ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมลงส่วน Donor compartment 2 มิลลิลิตร จากนั้นดูด Receptor medium 0.5 มิลลิลิตรเพื่อนำมาวัดปริมาณยาใน 24 ชั่วโมง แล้วเติม Receptor medium เท่ากับปริมาณที่ดูดออกไป จากนั้นวัดปริมาณยาด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC)

จากการศึกษาของ Oliesia และคณะ [32] ได้มีการศึกษาการแพร่ผ่านเซลล์โคชิบผ่านทาง ผิวหนังโดยทำสูตรตำรับในรูปแบบเจล มีการใช้วิธี Tape strip method ในการแยกชั้น Stratum corneum ออกจากชั้น Epidermis และ Dermis โดยเทปกาวที่ได้จากการ Tape strip method จะเป็นชั้น Stratum corneum จะมีการเติม Methanol : Water (72:28) ลงในเทปกาวปริมาณ 5 mL และนำไป Sonicate 15 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,500 rpm เป็นเวลา 3 นาที และนำไปวัดปริมาณยาด้วยเครื่อง HPLC

ส่วนผิวหนังของหนูหลังจากการ Tape strip method จะเป็นชั้น Epidermis และ Dermis มีการตัดผิวหนังเป็นชิ้นเล็กๆ และเติม Methanol : Water (72:28) ปริมาณ 3 mL จากนั้นนำไป Sonicate 15 นาที แล้วนำไปเข้าเครื่องปั่นผสมด้วยความเร็วสูง (Ultra-Turrax) 1 นาทีแล้วนำไปกรองโดยใช้ตัวกรองขนาด 0.45 ไมครอน จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณยาด้วยเครื่อง HPLC

2.2 สารเคมีและเครื่องมือ

สารเคมี

1. Celecoxib
2. PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides
3. PEG 400
4. PEG-7 Glyceryl Cocoate (Marconol HE)
5. PEG-35 Castor oil (Cremophor EL)
6. Methanol
7. 50% Ethanol in PBS (v/v)
8. Medium chain triglyceride (Lexol GT865)
9. Isopropyl myristate (IPM)
10. Isononyl isononanoate
11. Octyldodecanol
12. Oleic acid
13. TGI 20 (PEG-20 glyceryl triisostearate)
14. Absolute ethanol
15. Labrafil M
16. Propylene glycol (PG)
17. Labrafac
18. Glycerin

เครื่องมือ

1. Magnetic stirrer (ST-900EC, Scilution, Bangkok, Thailand)
2. Centrifuge (Sorvall™ Legend™ X1R Centrifuge, Thermo Scientific™, MA, USA)

3. HPLC (Agilent 1260 infinity II LC systems, Agilent Technology, Santa Clara, CA, USA)
4. C18 reversed-phase column (VertiSep UPS C18, Vertical Chromatography; Nonthaburi, Thailand)
5. Sonicator bath (WUC-D22H, DAIHAN Scientific, Gangwon-do, Korea)
6. Dynamic light scattering (DLS) particle size analyzer (Zetasizer Nano-ZS; Malvern Instrument, Malvern, UK)
7. Magnetic stirrer with heating (C-MAG HS7, Becthai Bangkok Equipment&Chemical, Bangkok, Thailand)
8. Dialysis bag (CelluSep T2[®]; Membrane Filtration Products Inc., Seguin, TX, USA)
9. Tape strip (Scotch 3M Transparent Tape 500 24 mm x 33 m)
10. Digital Caliper (AD-5764A-150; AND, Japan)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ของเซเลโคซิบ

การเตรียมกราฟมาตรฐานทำโดยการชั่งเซเลโคซิบ 25 มิลลิกรัม ด้วยเครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical balance) ลงขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) แล้วปรับปริมาตรด้วย Methanol จนครบ 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเจือจางจนได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจนถึง 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปวิเคราะห์ด้วย High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

3.2 การหาค่าการละลายของเซเลโคซิบ

ศึกษาการละลายของเซเลโคซิบ เพื่อเลือกส่วนประกอบที่จะใช้ในสูตรตำรับ ไมโครอิมัลชันในตัว กลางชนิดต่างๆทั้งวัฏภาคน้ำมันและสารลดแรงตึงผิว โดยปีปเตสารแต่ละชนิดมา 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเซเลโคซิบที่มากเกินไปสำหรับการละลาย จากนั้นคนติดต่อกัน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารแขวนตะกอนที่ได้มาปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บสารละลายส่วนบน (Supernatants) มาเจือจางด้วย Methanol จากนั้นมาวัดความเข้มข้นด้วย HPLC

3.3 การเตรียมไมโครอิมัลชัน

3.3.1 การเลือกสารลดแรงตึงผิวร่วม (Co-surfactant) สำหรับการเตรียมตำรับไมโครอิมัลชัน

เพื่อให้ได้ Pseudo-ternary phase diagram ที่มีพื้นที่การเกิดไมโครอิมัลชันที่กว้างที่สุด จึงต้องมีการศึกษาเพื่อหาชนิดของสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เหมาะสมที่สุด โดยเลือกจากสารลดแรงตึงผิวที่ให้ค่าการละลายเฮลคอกซิบมากที่สุด 4 อันดับแรกจากขั้นตอนที่ 2 โดยเลือกวัตถุน้ำมันจากน้ำมันที่ให้ค่าการละลายเฮลคอกซิบสูงสุด โดยกำหนดอัตราส่วนของสารลดแรงตึงผิวต่อสารลดแรงตึงผิวร่วมเท่ากับ 1:1 โดยสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ คือ PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides และสารลดแรงตึงผิวร่วม ได้แก่ PEG 400, PEG-7 Glyceryl Cocoate (Cetiol HE) และ PEG-35 Castor oil (Cremophor EL) ส่วนการสร้าง Pseudo-ternary phase diagram ทำโดยการหยดน้ำที่ละหยดจนได้ไมโครอิมัลชัน

3.3.2 การสร้าง Pseudo-ternary phase diagram ของไมโครอิมัลชัน

ซึ่งสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมผสมให้เข้ากัน จะได้ส่วนผสมสารลดแรงตึงผิว (Sm) จากนั้นจึงผสม Sm และวัตถุน้ำมันให้เข้ากัน โดยอัตราส่วนของวัตถุน้ำมันและ Sm มีค่าตั้งแต่ 5:95 ถึง 90:10 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) จากนั้นจึงหยดน้ำกลั่นลงในส่วนผสมดังกล่าวโดยคนด้วย Magnetic stirrer จากนั้นสังเกตความใส (Transparency) และบันทึกปริมาณน้ำที่มากที่สุดที่ยังทำให้ส่วนผสมมีลักษณะโปร่งใส โดยส่วนผสมที่ได้ที่มีลักษณะใสจัดเป็นไมโครอิมัลชัน

3.3.3 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวร่วมสำหรับไมโครอิมัลชัน

โดยเปรียบเทียบอัตราส่วนของสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวร่วมเป็น 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:1 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) จากนั้นจึงผสมวัตถุน้ำมันและ Sm ให้เข้ากัน โดยอัตราส่วนของวัตถุน้ำมันและ Sm มีค่าตั้งแต่ 5:95 ถึง 90:10 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w) จากนั้นจึงหยดน้ำกลั่นลงในส่วนผสมดังกล่าวโดยคนด้วย Magnetic stirrer จากนั้นสังเกตความใส (Transparency)

เลือกอัตราส่วนสารลดแรงตึงผิวกับสารลดแรงตึงผิวร่วมที่มีพื้นที่ของไมโครอิมัลชันใน Pseudo-ternary phase diagram มากที่สุดมาใช้

3.3.4 การหาค่าการละลายของเซเลโคชิบในไมโครอิมัลชัน

ชั่งเซเลโคชิบปริมาณมากลงในไมโครอิมัลชัน แล้วคนด้วย Magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารแขวนตะกอนที่ได้ไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เก็บสารละลายส่วนใส (Supernatants) มาเจือจางด้วย Methanol จากนั้นมาวัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง HPLC สูตรไมโครอิมัลชันที่จะนำไปศึกษาต่อจะต้องสามารถละลายเซเลโคชิบได้อย่างน้อยร้อยละ 2 น้ำหนักต่อน้ำหนัก (w/w)

3.3.5 การเตรียมเซเลโคชิบในไมโครอิมัลชัน

เมื่อได้ Pseudo-ternary phase diagrams ที่แสดงขอบเขตการเกิดไมโครอิมัลชันแล้ว จึงเลือกจุดจากเฟสไดอะแกรมเพื่อเตรียมไมโครอิมัลชัน โดยเลือกสูตรที่มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 20-200 นาโนเมตร และไม่มีการแยกเฟส การเตรียมไมโครอิมัลชันทำโดยผสมวัตถุดิบน้ำมัน สารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมและน้ำ คนให้เข้ากัน จากนั้นผสมเซเลโคชิบลงไป คนต่อจนเกิดการละลายสมบูรณ์

3.4 การศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของไมโครอิมัลชัน

การวัดขนาดอนุภาค (Mean droplet size) ประจุพื้นผิว (Surface charge) การกระจายขนาด (Size distribution) และค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity)

การวัดขนาดของเซเลโคชิบในไมโครอิมัลชัน ศักย์ซีตา (Zeta potential) การกระจายขนาดค่าการนำไฟฟ้าของเซเลโคชิบในไมโครอิมัลชัน โดยใช้ Dynamic Light Scattering (DLS) Partical size analyzer ที่มี 4 mW Helium-neon laser ที่มุม 173 องศา ทำการวัดอย่างน้อย 3 ครั้งต่อสูตรไมโครอิมัลชัน

3.5 การศึกษาการปลดปล่อยยาแบบภายนอกร่างกาย (*In vitro* drug release studies)

ศึกษาการปลดปล่อยเซเลโคชิบจากไมโครอิมัลชันของสูตรตำรับจากขั้นตอนที่ 3.4 โดยใช้ Dialysis bag ที่มี Molecular weight cut off ระหว่าง 6,000-8,000 Dalton โดยนำเซเลโคชิบ ไมโครอิมัลชันปริมาณ 6 มิลลิลิตร ใส่ลง Dialysis bag แล้วจึงปิดส่วนบนและล่างโดยใช้ Clamp จากนั้นใส่ลงในขวดแก้ว แล้วเติม Receiver medium ซึ่งเป็นร้อยละ 50 ปริมาตรต่อปริมาตร Ethanol ต่อ PBS (v/v) ปริมาณ 180 มิลลิลิตร แล้วคนด้วย Magnetic stirrer ที่ 300 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเมื่อครบเวลา 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 และ 24 ชั่วโมง จึงเก็บ Release medium ครั้งละ 1 มิลลิลิตร ไปวัดปริมาณเซเลโคชิบด้วย HPLC และเติมร้อยละ 50 ปริมาตรต่อ ปริมาตร Ethanol ต่อ PBS (v/v) เท่ากับปริมาตรที่เก็บมาลง Release medium จากนั้นพลอต กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและร้อยละ Cumulative drug release โดยหาจลนศาสตร์การ ปลดปล่อยจากสมการ

$$C_t = C_0 - Kt \text{ สำหรับ Zero-order kinetic}$$

$$\log C_t = \log C_0 - Kt/2.303 \text{ สำหรับ First order kinetic}$$

$$Q = Kt^{1/2} \text{ สำหรับ Higuchi diffusion model}$$

เมื่อ Q คือ ปริมาณเซเลโคชิบที่ปลดปล่อย และ t คือ เวลา

C_0 คือ ความเข้มข้นของเซเลโคชิบที่เวลาเริ่มต้น

C_t คือ ความเข้มข้นของเซเลโคชิบที่เวลาต่างๆ

K คือ ค่าคงที่

3.6 การศึกษาการแพร่ผ่านผิวหนังแบบภายนอกร่างกาย (*In vitro* skin penetration studies)

การศึกษาการแพร่ผ่านผิวหนังของสูตรตำรับไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบและสูตร ควบคุม (สารละลายของเซเลโคชิบใน PEG 400 ความเข้มข้นร้อยละ 2 น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ทดสอบโดยใช้ Franz diffusion cell โดยใช้ผิวหนังหมูที่ตายด้วยสาเหตุทางธรรมชาติเป็นเยื่อ

การแพร่ผ่าน โดยเอาผิวหนังส่วนท้องมาลอกเอาชั้น Subcutaneous ออก จากนั้นใช้ Phosphate buffer pH 7.4 ล้าง นำผิวหนังไปวางในเครื่องบนส่วน Receiver compartment โดยหันชั้น Stratum corneum ขึ้นไปสู่ Donor compartment ของ Franz diffusion cell ควบคุมอุณหภูมิของ Circulating bath ไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส โดยส่วนของ Donor compartment ใส่ไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคธิบที่จะทำการทดสอบปริมาณ 2 มิลลิลิตร ส่วน Receiver compartment จะบรรจุสารละลาย ร้อยละ 50 ของ Ethanol ใน PBS (v/v) เมื่อครบเวลาที่กำหนด 6 ชั่วโมง จึงดูดสารละลายในชั้น Receiver compartment 1 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายไปวัดปริมาณเซเลโคธิบด้วย HPLC

ใช้กระดาษทิชชูซับผิวหนังหมูด้าน Stratum corneum 15 ครั้ง แล้วนำผิวหนังไปแช่น้ำหนักและวัดความหนา จากนั้นนำไปลอก (Tape strip method) ชั้น Stratum corneum ด้วยเทปกาว (Tape strip method) ทั้งหมด 35 ครั้ง จากนั้นนำเทปกาวทั้งหมดใส่ลงในขวดแล้วเติม Methanol 5 มิลลิลิตร ลงไปแล้วนำไปวางใน Sonicator baths เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลาย Methanol 1 มิลลิลิตรที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณเซเลโคธิบด้วย HPLC

นำผิวหนังหมูที่เหลือจากการลอก Stratum corneum ออก ซึ่งผิวหนังจะเหลือเพียงชั้น Viable epidermis และ Dermis นำมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วเติม Methanol 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวางใน Sonicator bath เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลาย Methanol 1 มิลลิลิตรที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณเซเลโคธิบด้วย HPLC

หาปริมาณยาใน Receiver medium หาได้จากสมการที่ 1

ปริมาณยาในส่วน Receiver medium ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) = Q_r / P (สมการที่ 1)

Q_r = ปริมาณยาในส่วน Receiver medium (mcg)

P = พื้นที่ผิวการแพร่ผ่าน (cm^2)

หาปริมาณยาใน Stratum corneum หาได้จากสมการที่ 2

ปริมาณยาในชั้น Stratum corneum ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) = Q_s / P (สมการที่ 2)

Q_s = ปริมาณยาในชั้น Stratum corneum (μg)

P = พื้นที่ผิวการแพร่ผ่าน (cm^2)

จากนั้นเปรียบเทียบสูตรตำรับที่สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบได้มากที่สุด โดยพิจารณาจากปริมาณยาของผิวหนังในชั้น Viable epidermis และ Dermis (Q_{vd}) ต่อพื้นที่ผิวการแพร่ผ่านของผิวหนังหมู่

ปริมาณยาใน Viable epidermis และ Dermis หาได้จากสมการที่ 3

ปริมาณยาใน Viable epidermis และ Dermis ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) = Q_{vd} / P (สมการที่ 3)

Q_{vd} = ปริมาณยาในชั้น Viable epidermis และ Dermis (μg)

P = พื้นที่ผิวการแพร่ผ่าน (cm^2)

3.7 การศึกษาสถานะของโซโนโฟเรซิสที่เพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบ

3.7.1 การเตรียมสารละลายของเซเลโคชิบ

ซึ่งเซเลโคชิบละลายใน PEG 400 ให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 2 น้ำหนักต่อน้ำหนัก

3.7.2 การคำนวณพลังงานสำหรับการให้โซโนโฟเรซิส

$$W = J / (A \times T)$$

W คือ พลังงานในหน่วย (watt/cm^2)

J คือ พลังงานในหน่วย (Joule)

A คือ พื้นที่การแพร่ผ่านของผิวหนัง (cm^2)

T คือ ระยะเวลาที่ให้พลังงานของเครื่องโซโนโฟเรซิส (s)

3.7.3 พลังงานของโซโนโฟเรซิส

เพื่อศึกษาพลังงานที่สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบได้มากที่สุด โดยศึกษาเปรียบเทียบพลังงานที่ 6, 8, 10, 15, 30, 60, 90 และ 120 watt/cm² โดยมีสูตรควบคุมคือ สารละลายเซเลโคชิบใน PEG 400 ตามข้อ 7.1 (Passive diffusion) โดยใช้ Franz diffusion cells ที่มีผิวหนังหมูเป็นเยื่อกั้นการแพร่ผ่านและใช้น้ำปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร เป็น Coupling medium จากนั้นตั้งค่าพลังงานตามที่ต้องการ และจุ่ม Probe ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 6 มิลลิเมตร โดยมีระยะห่างระหว่างปลาย Probe กับผิวหนัง (Horn) เท่ากับ 3 มิลลิเมตร เป็นระยะเวลา 2 นาที ที่ แอมพลิจูดเท่ากับร้อยละหนึ่งร้อยและรอบการทำงาน (Duty cycle) เท่ากับร้อยละหนึ่งร้อย จากนั้นดูดน้ำออก แล้วใช้กระดาษทิชชูซับน้ำส่วนเกินบนผิวหนังออก นำไปศึกษาการแพร่ผ่านโดยเติมสารละลายของเซเลโคชิบที่เตรียมได้ในขั้นตอนที่ 7.1 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร โดยในส่วน Receiver compartment เติมสารละลายร้อยละ 50 ของ Ethanol ใน PBS (v/v) เมื่อครบเวลา 6 ชั่วโมง จึงดูดสารละลายใน Receiver compartment 1 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายไปวัดปริมาณเซเลโคชิบด้วย HPLC

ใช้กระดาษทิชชูซับผิวหนังหมูด้าน Stratum corneum 15 ครั้ง แล้วนำผิวหนังไปแช่น้ำหนักและวัดความหนา จากนั้นนำไปลอก (Tape strip method) ชั้น Stratum corneum ด้วย เทปกาว (Tape strip method) ทั้งหมด 35 ครั้ง จากนั้นนำเทปกาวทั้งหมดใส่ลงในขวดแล้วเติม Methanol 5 มิลลิลิตร ลงไปแล้วนำไปวางใน Sonicator baths เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลาย Methanol 1 มิลลิลิตรที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณเซเลโคชิบด้วย HPLC หาปริมาณยาใน Stratum corneum (Q_s) จากสมการที่ 2

นำผิวหนังหมูที่เหลือจากการลอก Stratum corneum ออก ซึ่งผิวหนังจะเหลือเพียงชั้น Viable epidermis และ Dermis นำมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วเติม Methanol 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวางใน Sonicator bath เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลาย Methanol 1 มิลลิลิตรที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณเซเลโคชิบด้วย HPLC

จากนั้นเปรียบเทียบพลังงานของโซโนโฟเรซิสที่สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบได้มากที่สุด โดยพิจารณาจากปริมาณยาของผิวหนังในชั้น Viable epidermis และ Dermis (Q_{vd}) ต่อพื้นที่ผิวการแพร่ผ่านของผิวหนังหมุดังสมการที่ 3

3.8 การศึกษาผลร่วมระหว่างไมโครอิมัลชันและโซโนโฟเรซิส

ศึกษาผลร่วมระหว่างไมโครอิมัลชันและโซโนโฟเรซิสต่อการแพร่ผ่านผิวหนังของเซเลโคชิบ โดยใช้ Franz diffusion cells ที่มีผิวหนังหมูเป็นเยื่อกั้นการแพร่ผ่าน ใช้สภาวะของโซโนโฟเรซิสที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.7.3 ที่สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบได้มากที่สุด โดยให้โซโนโฟเรซิสกับผิวหนัง โดยใช้สภาวะเช่นเดียวกับขั้นตอน 3.7.3 จากนั้นนำไปศึกษาการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบ โดยเติมสูตรตำรับไมโครอิมัลชันที่เพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบจากขั้นตอนที่ 3.6 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ลงใน Donor compartment สำหรับ Receiver compartment เติมนสารละลายร้อยละ 50 ของ Ethanol ใน PBS (v/v) เมื่อครบเวลา 6 ชั่วโมง จึงดูดสารละลายใน Receiver compartment 1 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายดังกล่าวไปวัดปริมาณเซเลโคชิบด้วย HPLC หาปริมาณยาใน Receiver medium (Q_r) จากสมการที่ 1

ใช้กระดาษทิชชูซับผิวหนังหมูด้าน Stratum corneum 15 ครั้ง แล้วนำผิวหนังไปชั่งน้ำหนักและวัดความหนา จากนั้นนำไปลอก (Tape strip method) ชั้น Stratum corneum ด้วยเทปกาว (Tape strip method) ทั้งหมด 35 ครั้ง จากนั้นนำเทปกาวทั้งหมดใส่ลงในขวดแล้วเติม Methanol 5 มิลลิลิตร ลงไปแล้วนำไปวางใน Sonicator baths เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลาย Methanol 1 มิลลิลิตรที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณเซเลโคชิบด้วย HPLC แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณเซเลโคชิบด้วย HPLC หาปริมาณยาในชั้น Stratum corneum (Q_s) จากสมการที่ 2

นำผิวหนังหมูที่เหลือจากการลอก Stratum corneum ออก ซึ่งผิวหนังจะเหลือเพียงชั้น Viable epidermis และ Dermis นำมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วเติม Methanol 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวางใน Sonicator bath เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลาย Methanol 1 มิลลิลิตรที่ได้

ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 rpm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณเซเลโคชิบด้วย HPLC

จากนั้นเปรียบเทียบพลังงานของไซโนโฟเรซิสที่สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบได้มากที่สุด โดยพิจารณาจากปริมาณยาของผิวหนังในชั้น Viable epidermis และ Dermis (Q_{vd}) ต่อพื้นที่ผิวการแพร่ผ่านของผิวหนังหมุดงสมการที่ 3

3.9 การวิเคราะห์โดยใช้สถิติ

ใช้ Analysis of variance (One way ANOVA) ตามด้วย Post hoc test โดยถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ P-value น้อยกว่า 0.05

3.10 การวิเคราะห์ด้วย High performance liquid chromatography (HPLC)

วิเคราะห์ปริมาณของเซเลโคชิบด้วย HPLC โดยใช้อัตราส่วนระหว่าง Acetonitrile:Water เท่ากับ 75:25 ปริมาตรต่อปริมาตร (v/v) เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ ใช้คอลัมน์ C18 โดยกำหนดอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยฉีดตัวอย่างครั้งละ 20 ไมโครลิตร วิเคราะห์ที่ความยาวคลื่น 250 นาโนเมตร

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การหาค่าการละลายของเซเลโคชิป

4.1.1 การเลือกวัสดุภาคน้ำมัน

ตารางที่ 1 แสดงค่าการละลายเซเลโคชิปในวัสดุภาคน้ำมัน

วัสดุภาคน้ำมัน	ความเข้มข้นเฉลี่ย $\pm$ SD (mg/ml)
Medium chain triglyceride	11.62 $\pm$ 3.08
Isopropyl myristate	4.87 $\pm$ 0.41
Isononyl isononanoate	3.20 $\pm$ 0.01
Octyldodecanol	0.99 $\pm$ 0.02
Oleic acid	0.74 $\pm$ 0.07

Each value represents mean $\pm$ SD (n=3)

จากตารางเลือก Isopropyl myristate ที่มีค่าการละลายของเซเลโคชิปเท่ากับ 4.87 $\pm$ 0.41 mg/ml ซึ่งละลายเซเลโคชิปได้ดี ในการใช้เป็นวัสดุภาคน้ำมัน เนื่องจากมีค่าการละลายที่สูงอันดับ 2 และเป็นน้ำมันที่เหนอะหนะผิวน้อยกว่า Medium chain triglyceride จึงเลือกใช้ Isopropyl myristate เป็นวัสดุภาคน้ำมัน

4.1.2 การเลือกสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม

ตารางที่ 2 แสดงค่าการละลายเซเลโคชิบในสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม

สารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม	ความเข้มข้นเฉลี่ย (mg/ml)
PEG 400	410.28±0.52
PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides	330.63±2.89
PEG-35 castor oil	302.47±0.16
PEG-20 glyceryl triisostearate	225.45±1.84
PEG-7 glyceryl cocoate	224.73±0.39
Absolute ethanol	79.15±10.25
Labrafil M	41.73±0.08
PG	23.43±0.10
Lipophile WL	12.24±0.02
50% Ethanol in PBS	1.39±0.01
Glycerin	0.42±0.01

Each value represents mean±SD (n=3)

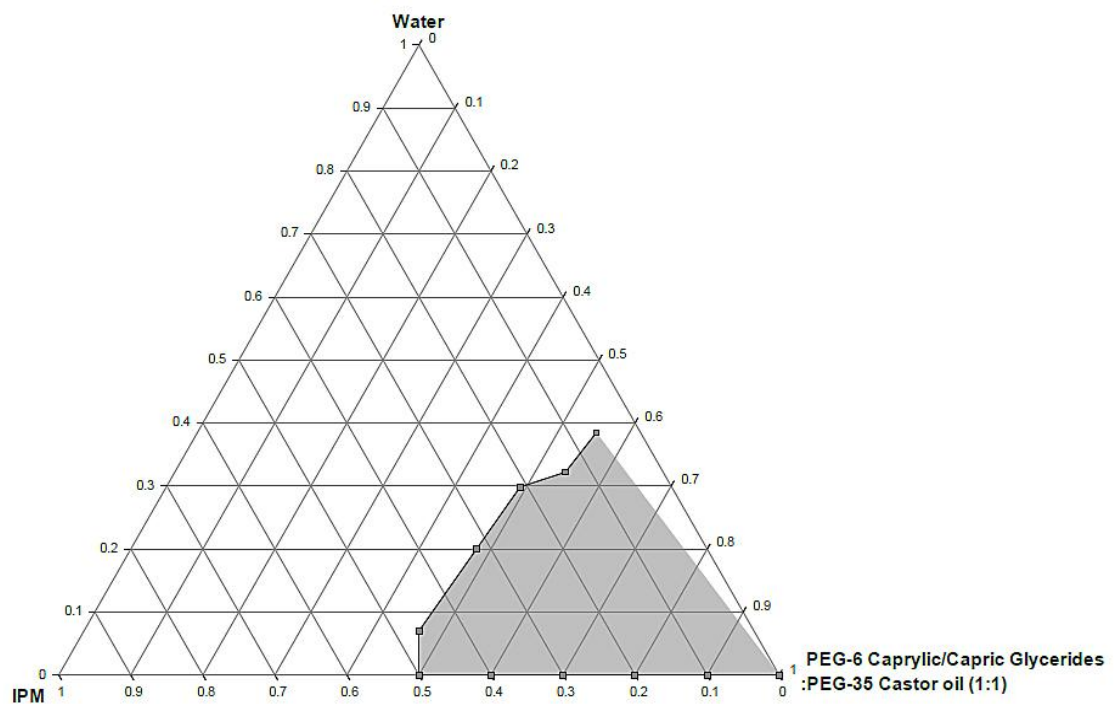
จากการศึกษาค่าการละลายดังตารางที่ 2 จึงเลือกใช้ PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว เนื่องจากเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ให้ค่าการละลายของเซเลโคชิบมากที่สุด

4.2 การเตรียมไมโครอิมัลชัน

4.2.1 การเลือกสารลดแรงตึงผิวร่วม

เพื่อให้ได้ Pseudo-ternary phase diagram ของการเกิดไมโครอิมัลชันที่มีพื้นที่มากที่สุด จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อเลือกชนิดของสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เหมาะสม

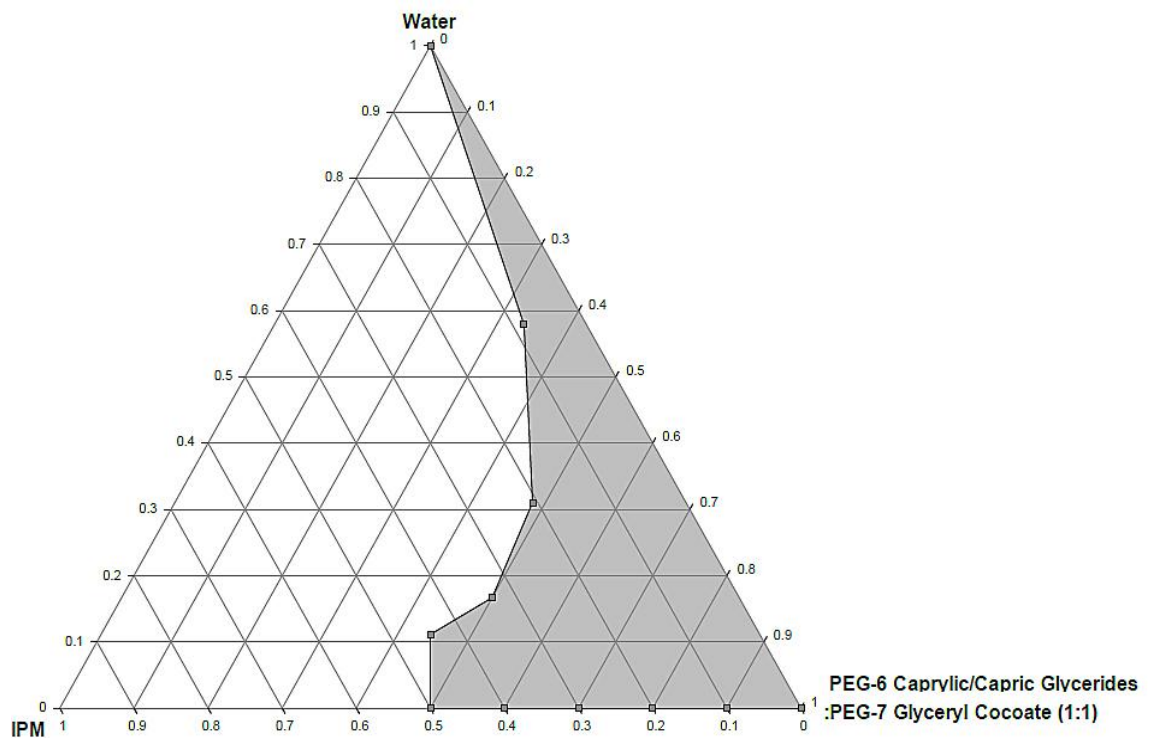
สำหรับการเลือกชนิดของสารลดแรงตึงผิวร่วมที่เหมาะสมใช้ Isopropyl myristate เป็นวัฏภาคน้ำมัน ใช้ PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว โดยมี PEG 400, PEG-35 castor oil และ PEG-7 glyceryl cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม



รูปที่ 1 แสดง pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric

Glycerides : PEG-35 Castor oil อัตราส่วน 1:1

พื้นที่สีเทา คือ พื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน



รูปที่ 2 แสดง Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric

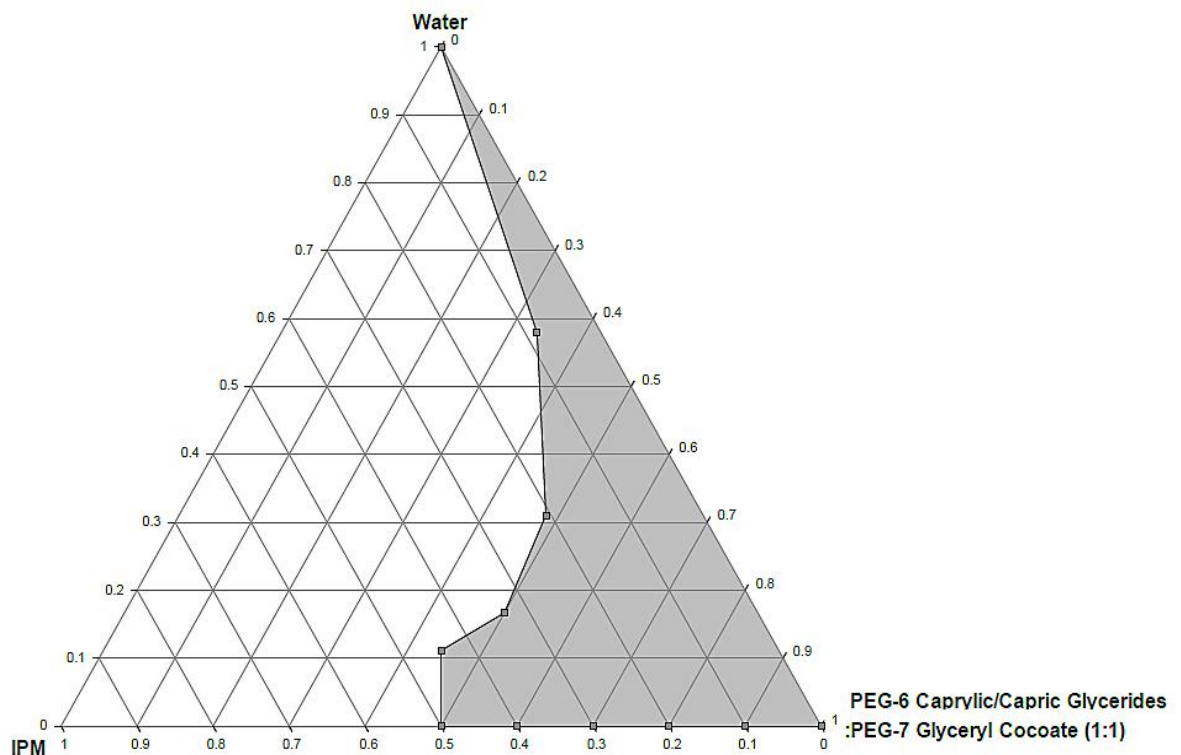
Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 1:1

พื้นที่สีเทา คือ พื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน

จากการศึกษาการเกิดไมโครอิมัลชันเมื่อใช้ PEG 400 เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วมไม่พบการเกิดไมโครอิมัลชัน ส่วน Pseudo-ternary phase diagram ของไมโครอิมัลชันซึ่งมี PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิวและมี PEG-35 Castor oil เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วมแสดงในรูปที่ 1 ส่วน Pseudo-ternary phase diagram ของไมโครอิมัลชันซึ่งมี PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิวและมี PEG-7 Glyceryl Cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วมแสดงในรูปที่ 2 โดยพบว่าการใช้ PEG-7 Glyceryl Cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม มีพื้นที่การเกิดไมโครอิมัลชันมากกว่าการใช้ PEG-35 Castor oil จึงเลือกใช้ระบบซึ่งประกอบด้วย Isopropyl myristate เป็นวัฏภาคน้ำมัน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว PEG-7 Glyceryl Cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วมและ Water เป็นวัฏภาคน้ำในการศึกษาต่อไป

4.2.2 การสร้าง Pseudo-ternary phase diagram

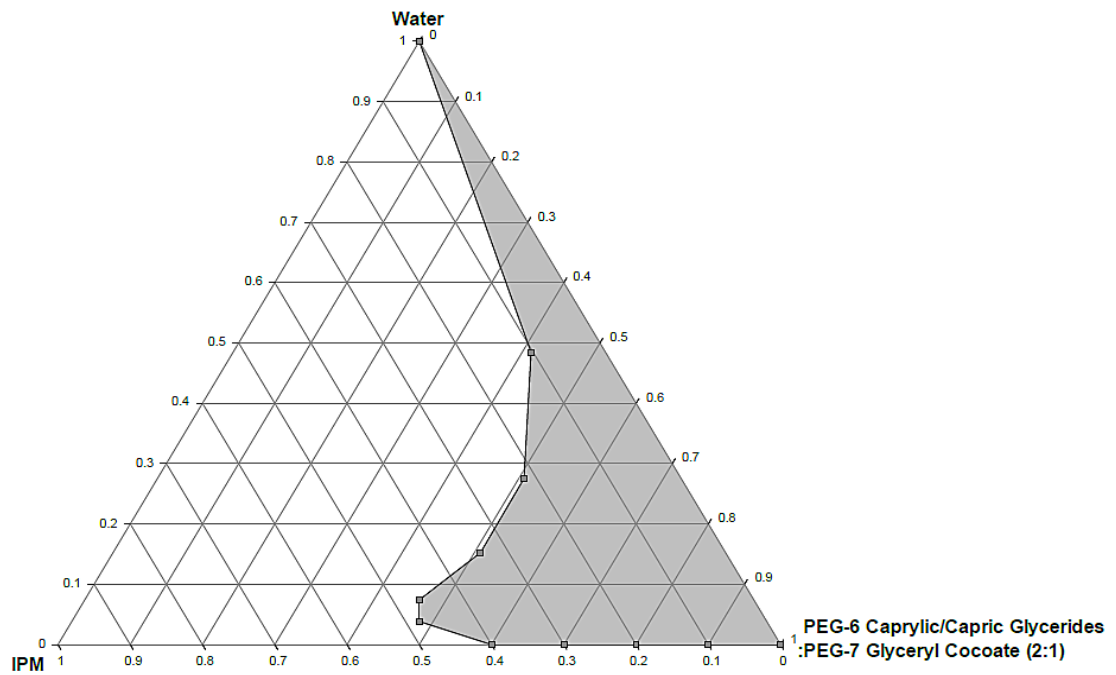
ในการศึกษานี้ Pseudo-ternary phase diagram ประกอบด้วย Isopropyl myristate เป็นวัฏภาคน้ำมัน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว PEG-7 Glyceryl Cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม และ Water เป็นวัฏภาคน้ำ โดยกำหนดอัตราส่วนระหว่างสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมเท่ากับ 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:1 ตามลำดับ ซึ่ง Water ถูกหยดลงในของผสมระหว่างวัฏภาคน้ำมัน สารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม พื้นที่ที่เกิดไมโครอิมัลชันแสดงดังรูปที่ 3-6



รูปที่ 3 แสดง Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric

Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 1:1

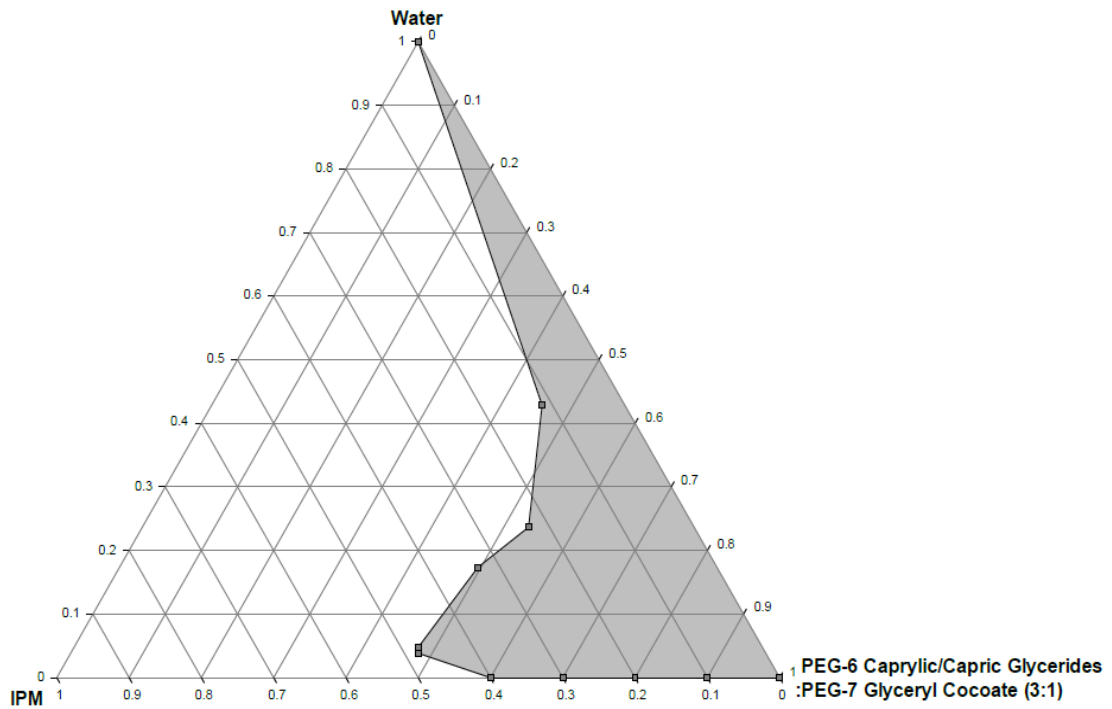
พื้นที่สีเทา คือ พื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน



รูปที่ 4 แสดง Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric

Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 2:1

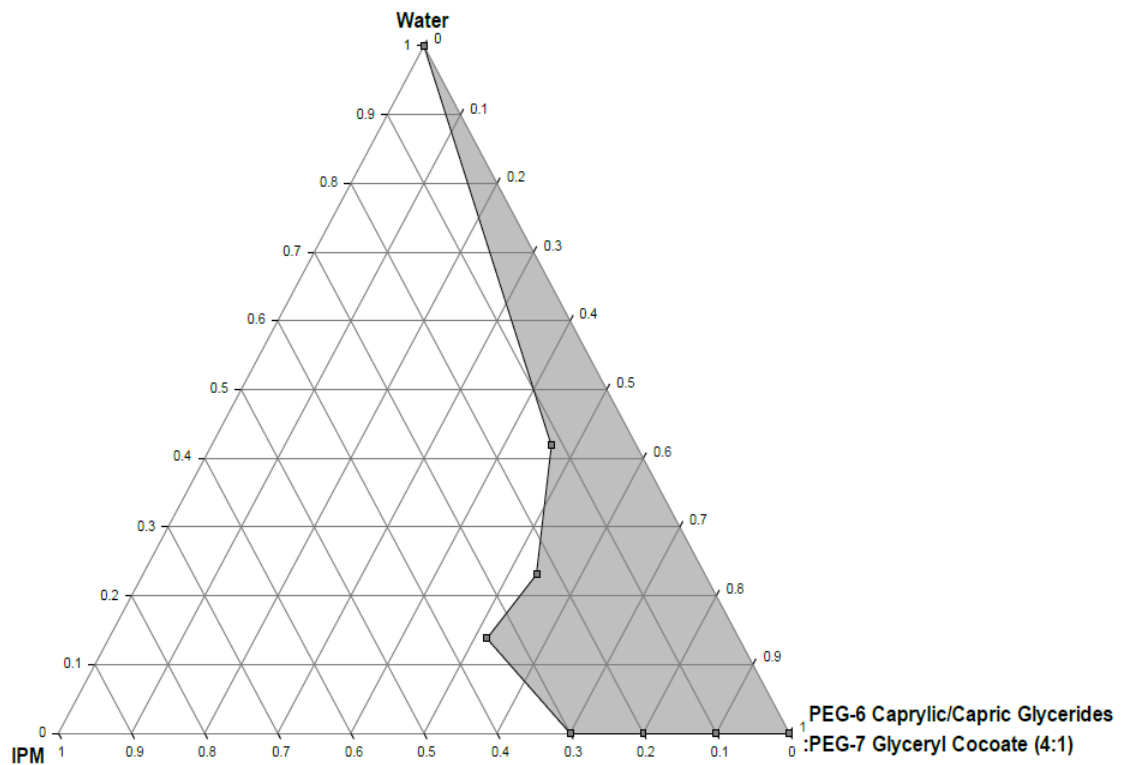
พื้นที่สีเทา คือ พื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน



รูปที่ 5 แสดง Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric

Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 3:1

พื้นที่สีเทา คือ พื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน



รูปที่ 6 แสดง Pseudo-ternary phase diagram ของสารลดแรงตึงผิว PEG-6 Caprylic/Capric

Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate อัตราส่วน 4:1

พื้นที่สีเทา คือ พื้นที่แสดงการเกิดไมโครอิมัลชัน

การเพิ่มอัตราส่วนระหว่างสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมจาก 1:1 เป็น 2:1 3:1 และ 4:1 ดังแสดงในรูปที่ 3, 4, 5 และ 6 ตามลำดับนั้น ไม่สามารถเพิ่มพื้นที่การเกิดไมโครอิมัลชันได้ โดยพบว่าอัตราส่วนระหว่าง PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides:PEG-7 glyceryl cocoate เท่ากับ 1:1 ให้พื้นที่ในการเกิดไมโครอิมัลชันมากที่สุด

ดังนั้นไมโครอิมัลชันที่ประกอบด้วย Isopropyl myristate เป็นวัฏภาคน้ำมัน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว PEG-7 glyceryl cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides:PEG-7 glyceryl cocoate เท่ากับ 1:1) และ water เป็นวัฏภาคน้ำจะถูกนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป โดยจะเลือกอัตราส่วนซึ่งให้ไมโคร

อิมัลชันที่มีขนาดไม่เกิน 200 นาโนเมตรและมีความคงตัวดี ซึ่งอัตราส่วนที่เลือกใช้เพื่อศึกษาต่อแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงอัตราส่วนของสูตรตำรับไมโครอิมัลชัน

Formulation	IPM	Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides:PEG-7 glyceryl cocoate เท่ากับ 1:1)	Water
MC 1	0.1	0.8	0.1
MC 2	0.1	0.7	0.2
MC 3	0.1	0.6	0.3
MC 4	0.1	0.5	0.4
MC 5	0.2	0.7	0.1
MC 6	0.2	0.6	0.2
MC 7	0.3	0.6	0.1

4.3 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของไมโครอิมัลชัน

การศึกษาคูณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของไมโครอิมัลชัน

การศึกษาคูณสมบัติไมโครอิมัลชันจะศึกษาทั้งไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคซิบ (Blank microemulsion) และไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคซิบ (Celecoxib loaded microemulsion)

4.3.1 ผลการศึกษากวัดขนาดของอนุภาค

จากการศึกษาขนาดโดยใช้เทคนิค Dynamic Light Scattering (DLS) พบว่าอนุภาคไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคซิบมีขนาดอยู่ในช่วง 40.01-571.68 nm ในขณะที่ไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคซิบมีขนาดอยู่ในช่วง 47.90-268.52 nm โดยพบว่าขนาดของไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคซิบมีขนาดเล็กกว่าไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคซิบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสูตร MC 1, MC 2, MC 3 และ MC 4 สำหรับ MC 5 และ MC 7 นั้นไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคซิบ

นั้นมีขนาดที่ไม่แตกต่างจากไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบ ส่วน MC 6 มีขนาดของไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบใหญ่กว่าไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบอย่างมีนัยสำคัญ

4.3.2 ผลการศึกษาการวัดประจุที่พื้นผิว

ไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบมีค่าศักย์ゼตาในช่วง -0.094 ถึง 0.086 mV ในขณะที่ไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบมีค่าศักย์ゼตาในช่วง -0.111 ถึง 0.25 mV เนื่องจากองค์ประกอบของตำรับไมโครอิมัลชันมีสารลดแรงตึงผิวที่ใช้คือ PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides และ PEG-7 Glyceryl Cocoate ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีประจุ (Non-ionic surfactant) นอกจากนี้เซเลโคชิบยังเป็นยาที่ไม่มีประจุ ดังนั้นในสภาวะของไมโครอิมัลชันที่มีค่า pH เป็นกลาง จึงสรุปว่าอนุภาคไมโครอิมัลชันมีประจุเป็นกลาง (Neutral charge)

4.3.3 ผลการศึกษาการวัดการกระจายขนาด

อนุภาคของไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบมีการกระจายขนาด (PDI) อยู่ระหว่าง 0.36-0.95 ส่วนอนุภาคของไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบมีการกระจายขนาด (PDI) อยู่ระหว่าง 0.41-0.66

อนุภาคของไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบและไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบ มีการกระจายขนาดที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการเติมเซเลโคชิบปริมาณร้อยละ 2 ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการกระจายขนาดไมโครอิมัลชัน

4.3.4 ผลการศึกษาการวัดค่าการนำไฟฟ้า

ค่าการนำไฟฟ้าเป็นสิ่งที่สามารถนำมาใช้บอกถึงชนิดของไมโครอิมัลชันได้ (Oil in water, Water in oil หรือ Bicontinuous microemulsion)

จากรายงานการวิจัยของ Subongkot และ Ngawhirunpat [30] ได้สรุปว่าไมโครอิมัลชันที่อัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมากกว่าวัฏภาคน้ำมัน และมีค่า Conductivity มากกว่า 52.5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ จะจัดเป็น Oil in water microemulsion (O/W) แต่ถ้ามีค่า Conductivity น้อยกว่า 52.5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ จะจัดเป็น Bicontinuous microemulsion ส่วนไมโครอิมัลชันที่อัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมันมากกว่าวัฏภาคน้ำ จะจัดเป็น Water in oil microemulsion (W/O)

ดังนั้นสูตร ME 3 และ ME 4 จึงจัดเป็น Oil in water microemulsion (O/W) เนื่องจากมีอัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมากกว่าวัฏภาคน้ำมันและมีค่า Conductivity เท่ากับ 63.85 และ 117.83 ตามลำดับ ส่วนสูตร MC 1, MC 2 และ MC 6 จัดเป็น Bicontinuous microemulsion เนื่องจากมีอัตราส่วนของวัฏภาคน้ำมากกว่าหรือเท่ากับวัฏภาคน้ำมันและมีค่า Conductivity เท่ากับ 8.99, 23.15 และ 21.15 ตามลำดับ ส่วนสูตร ME 5 และ ME 7 จัดเป็น Water in oil microemulsion (W/O) เนื่องจากมีปริมาณของวัฏภาคน้ำมันมากกว่าน้ำและมีค่า Conductivity เท่ากับ 18.63 และ 11.21 ตามลำดับ

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาค การกระจายของขนาด ประจุพื้นผิวและค่าการนำไฟฟ้าของ ไมโครอิมัลชันสูตรต่างๆ

Formulation number	Particle size (nm)		Polydispersity index (PDI)		Zeta potential (mV)		Conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
	Blank micro emulsion	Celecoxib loaded micro emulsion	Blank micro emulsion	Celecoxib loaded micro emulsion	Blank micro emulsion	Celecoxib loaded micro emulsion	Blank micro emulsion	Celecoxib loaded micro emulsion
MC 1	571.68 ± 199.97	178.68 $\pm 83.76^*$	0.57 ± 0.14	0.66 ± 0.299	0.086 ± 0.595	0.064 ± 0.135	3.68 ± 30.05	8.99 ± 6.82
MC 2	249.27 ± 33.91	229.5 ± 86.71	0.36 ± 0.03	0.49 ± 0.141	0.007 ± 0.393	-0.111 ± 0.062	27.45 ± 1.48	23.15 $\pm 1.35^*$
MC 3	115.32 ± 14.32	77.88 $\pm 10.73^*$	0.37 ± 0.16	0.55 ± 0.061	-0.094 ± 0.224	0.09997 ± 0.362	71.08 ± 2.47	63.85 $\pm 2.74^*$
MC 4	40.01 ± 4.02	47.90 $\pm 2.95^*$	0.95 ± 0.07	0.64 $\pm 0.146^*$	-0.014 ± 0.217	-0.0029 ± 0.209	133.33 ± 2.25	117.83 $\pm 1.94^*$
MC 5	245.97 ± 121.93	213.65 ± 18.03	0.42 ± 0.11	0.43 ± 0.158	-0.001 ± 0.260	0.033 ± 0.209	7.00 ± 1.22	18.63 $\pm 5.42^*$
MC 6	128.08 ± 32.06	268.52 $\pm 49.51^*$	0.45 ± 0.13	0.41 ± 0.081	-0.086 ± 0.246	0.00013 ± 0.355	39.08 ± 2.80	21.15 $\pm 5.09^*$
MC 7	120.20 ± 25.10	109.87 ± 11.03	0.48 ± 0.15	0.47 ± 0.061	-0.017 ± 0.272	0.25 ± 0.456	19.58 ± 6.18	11.21 $\pm 2.59^*$

Each value represents mean $\pm$ SD (n=3)

* คือ Significant เมื่อเทียบกับ Control (p-value < 0.05)

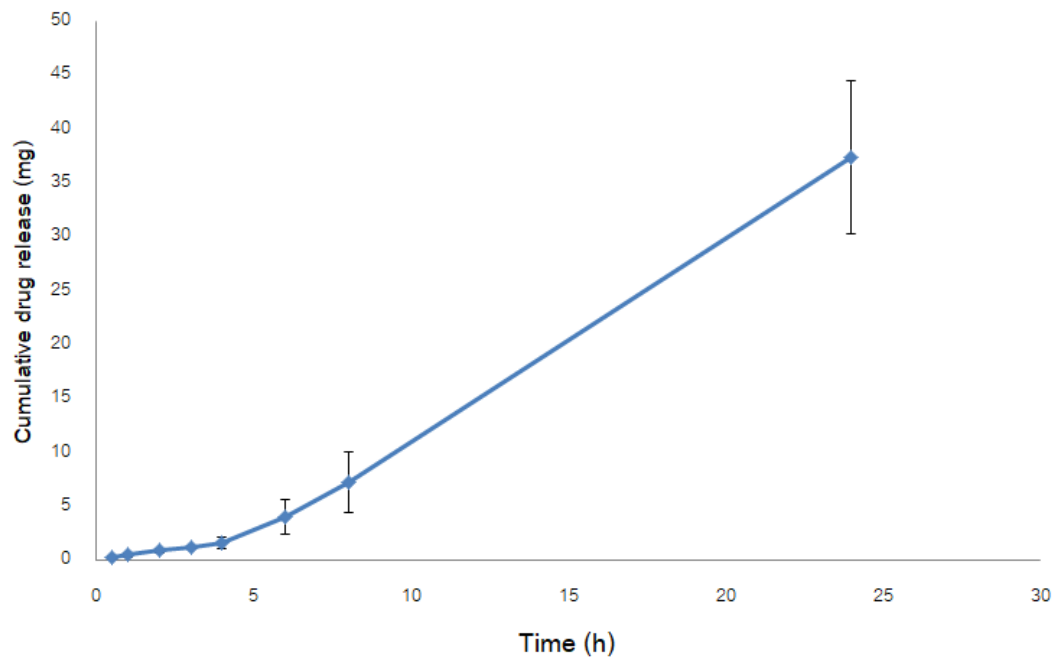
จากข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 4 จึงเลือกสูตร MC 1, MC 3, MC 4, MC 5 และ MC 7 มาเตรียมเป็น 2% w/w Celecoxib loaded microemulsion เนื่องจากมีขนาดอนุภาคไม่เกิน 200 นาโนเมตรและมีความคงตัวดี จากนั้นจึงศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของ Celecoxib loaded MC 1, MC 3, MC 4, MC 5 และ MC 7 ได้ข้อมูลดังตารางที่ 4

4.4 การศึกษาการปลดปล่อยยาแบบภายนอกร่างกาย (*In vitro* drug release studies)

จากการทดสอบการปลดปล่อยเซเลโคซิบจาก MC 3 พบว่ารูปแบบการปลดปล่อย เซเลโคซิบจาก MC 3 เป็นจลนศาสตร์อันดับศูนย์ ดังแสดงในตารางที่ 5 และ รูปที่ 7

ตารางที่ 5 จลนศาสตร์ของการปลดปล่อยเซเลโคซิบจาก MC 3

Release kinetic	MC 3
Zero order R^2	0.9724
First order R^2	0.8630
Higushi R^2	0.8459
Release rate (h^{-1})	1.6238



รูปที่ 7 กราฟแสดงการปลดปล่อยเซเลโคซิบสะสมของ MC 3

4.5 การศึกษาการแพร่ผ่านผิวหนังแบบภายนอกร่างกาย (*In vitro* skin penetration studies)

จากการทดสอบการแพร่ผ่านเซเลโคซิบผ่านผิวหนังแบบภายนอกร่างกายของไมโครอิมัลชัน สูตร MC 1, MC 3, MC 4, MC 5, MC 7 และสูตรควบคุม แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณเซเลโคชิบที่แพร่ผ่านผิวหนังของสูตรควบคุมและสูตรไมโครอิมัลชัน

Formulation code	Stratum corneum ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Viable epidermis + dermis ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Receiver medium ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
Control	50.45 $\pm$ 28.10	18.13 $\pm$ 10.80	ND
MC 1	36.73 $\pm$ 15.92	24.54 $\pm$ 24.54	2.13 $\pm$ 1.17
MC 3	97.58 $\pm$ 51.24*	160.44 $\pm$ 33.32*	1954.24 $\pm$ 3272.39
MC 4	16.60 $\pm$ 7.56	20.62 $\pm$ 5.65	0.72 $\pm$ 0.44
MC 5	40.48 $\pm$ 18.19	15.28 $\pm$ 5.28	0.27 $\pm$ 1.46
MC 7	65.59 $\pm$ 17.61	21.06 $\pm$ 12.73	ND

Each value represents mean $\pm$ SD (n=3)

* คือ Significant เมื่อเทียบกับ Control (p-value < 0.05)

ND คือ ไม่สามารถวัดปริมาณสารได้ (Non-detect)

สูตรควบคุมมีปริมาณยาในชั้น Stratum corneum อยู่ที่ 50.45 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ส่วนสูตรไมโครอิมัลชันมีค่าอยู่ระหว่าง 16.60 ถึง 97.58 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

โดยสูตรควบคุมมีปริมาณยาในผิวหนังชั้น Viable epidermis และ Dermis อยู่ที่ 18.13 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ขณะที่สูตรไมโครอิมัลชันมีค่าอยู่ระหว่าง 15.28 ถึง 160.44 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

ส่วนใน Receiver medium นั้นสูตรควบคุมไม่พบปริมาณเซเลโคชิบ ส่วนสูตรไมโครอิมัลชันมีทั้งที่ไม่สามารถตรวจพบและตรวจพบปริมาณเซเลโคชิบได้ โดยสูตรไมโครอิมัลชันที่ตรวจพบปริมาณยาใน Receiver medium มีค่าอยู่ระหว่าง 0.27 ถึง 1954.24 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

แต่การทดสอบการแพร่ผ่านผิวหนังนั้นจะพิจารณาปริมาณเซเลโคชิบในผิวหนังชั้น Viable epidermis และ Dermis เท่านั้น เนื่องจากเป็นชั้นผิวหนังที่มีเส้นเลือดสามารถเกิดการแพร่ผ่าน

ของเซลล์โคชิบเข้าสู่กระแสเลือดได้ พบว่ามีเฉพาะสูตร MC 3 เท่านั้นที่มีปริมาณยาในผิวหนังชั้น Viable epidermis และ Dermis มากกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกสูตร MC 3 ไปศึกษาต่อ

4.6 การศึกษาสภาวะของไซโนไฟบริสที่เพิ่มการแพร่ผ่านของเซลล์โคชิบ

การศึกษาสภาวะของไซโนไฟบริสที่เพิ่มการแพร่ผ่านของเซลล์โคชิบที่มากที่สุด โดยการเปรียบเทียบพลังงานของไซโนไฟบริสที่ให้กับผิวหนัง

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณเซลล์โคชิบที่แพร่ผ่านผิวหนังของสภาวะไฮโปเฟรซิสต่างๆ

Formulation number	Stratum corneum ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Viable epidermis + Dermis ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Receiver medium ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
Control	50.45 $\pm$ 28.10	18.13 $\pm$ 10.80	ND
6 watt/cm ²	20.38 $\pm$ 4.90*	5.24 $\pm$ 0.33	13.70 $\pm$ 0.64
8 watt/cm ²	26.11 $\pm$ 14.72	6.40 $\pm$ 2.60	ND
10 watt/cm ²	33.43 $\pm$ 20.82	10.47 $\pm$ 5.83	132.11 $\pm$ 171.62*
15 watt/cm ²	23.27 $\pm$ 13.45*	21.15 $\pm$ 25.82	9.80 $\pm$ 15.36
30 watt/cm ²	34.77 $\pm$ 6.75	45.72 $\pm$ 27.50*	3.21 $\pm$ 1.05
60 watt/cm ²	59.87 $\pm$ 25.50	37.22 $\pm$ 15.95	11.88 $\pm$ 12.57
90 watt/cm ²	29.76 $\pm$ 13.39	24.07 $\pm$ 13.18	16.26 $\pm$ 25.11
120 watt/cm ²	27.76 $\pm$ 8.18	32.79 $\pm$ 4.13	1.69 $\pm$ 1.42

Each value represents mean $\pm$ SD (n=3)

* คือ Significant เมื่อเทียบกับ Control (p-value < 0.05)

ND คือ ไม่สามารถวัดปริมาณสารได้ (Non-detect)

สูตรควบคุมมีปริมาณยาในชั้น Stratum corneum อยู่ที่ 50.45 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ส่วนการใช้ไฮโปเฟรซิสมีค่าอยู่ระหว่าง 20.38 ถึง 34.77 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

โดยสูตรควบคุมมีปริมาณยาในผิวหนังชั้น Viable epidermis และ Dermis อยู่ที่ 18.13 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ขณะที่การใช้ไฮโปเฟรซิสมีค่าอยู่ระหว่าง 5.24 ถึง 45.72 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

ส่วนใน Receiver medium นั้นในสูตรควบคุมไม่พบปริมาณเซเลโคชิบ ส่วนการใช้โซโนโฟเรซิสมีทั้งที่ไม่สามารถตรวจพบและตรวจพบปริมาณเซเลโคชิบได้ โดยการใช้โซโนโฟเรซิสที่ตรวจพบปริมาณยาใน Receiver medium มีค่าอยู่ระหว่าง 1.69 ถึง 132.11 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

การใช้โซโนโฟเรซิสจะมีการให้พลังงานเป็นตัวแปรที่มีผลต่อการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบมาก โดยพบว่าการใช้โซโนโฟเรซิสที่พลังงานเท่ากับ 30 watt/cm^2 พบการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบมากที่สุด โดยในชั้น Viable epidermis และ Dermis มีปริมาณยาเท่ากับ 45.72 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ซึ่งมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$)

4.7 การศึกษาผลร่วมระหว่างไมโครอิมัลชันและโซโนโฟเรซิส

การศึกษาผลร่วมของไมโครอิมัลชันและโซโนโฟเรซิสต่อการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบ โดยใช้สูตรไมโครอิมัลชันและสภาวะของโซโนโฟเรซิสที่เพิ่มการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบที่มากที่สุดมาศึกษาร่วมกัน ซึ่งจากขั้นตอนที่ 4.5 สูตรไมโครอิมัลชันที่ให้การแพร่ผ่านมากที่สุด คือ สูตร MC 3 และจากขั้นตอนที่ 4.6 สภาวะโซโนโฟเรซิสที่ให้การแพร่ผ่านของเซเลโคชิบมากที่สุด คือ พลังงาน 30 watt/cm^2 จึงใช้สภาวะดังกล่าวในการทดลอง

โดยเป็นการเปรียบเทียบปริมาณเซเลโคชิบในผิวชั้น Stratum corneum, Receiver medium, Viable epidermis และ Dermis ของสูตรไมโครอิมัลชันร่วมกับโซโนโฟเรซิสเทียบกับสูตรควบคุม ไมโครอิมัลชันสูตร MC 3 และ โซโนโฟเรซิสพลังงาน 30 watt/cm^2

ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบผลรวมการแพร่ผ่านของเซเลโคชิบโดยใช้ไมโครอิมัลชันร่วมกับ
ไฮโนโฟเรซิส

Formulation number	Stratum corneum ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Viable epidermis + dermis ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Receiver medium ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
Control	50.45 $\pm$ 28.10	18.13 $\pm$ 10.80	ND
MC 3	97.58 $\pm$ 51.24	160.44 $\pm$ 33.32	1954.24 $\pm$ 3272.39
Sonophoresis 30 watt/cm ²	34.77 $\pm$ 6.75	45.72 $\pm$ 27.50	3.21 $\pm$ 1.05
MC 3 + Sonophoresis 30 watt/cm ²	60.35 $\pm$ 27.48	65.97 $\pm$ 6.01*	2.33 $\pm$ 3.10

Each value represents mean $\pm$ SD (n=3)

* คือ Significant เมื่อเทียบกับ Control (p-value < 0.05)

ND คือ ไม่สามารถวัดปริมาณสารได้ (Non-detect)

Sonophoresis 30 watt/cm² คือ สภาวะไฮโนโฟเรซิสที่ได้จากขั้นตอนที่ 4.6

ประสิทธิภาพของวิธีการเพิ่มการแพร่ผ่านผิวหนังแต่ละวิธีนั้น พิจารณาจากปริมาณยาที่พบในชั้น Viable epidermis และ Dermis ดังแสดงในตารางที่ 8

พบว่าผลรวมของการใช้ไฮโนโฟเรซิสกับไมโครอิมัลชันมีปริมาณของเซเลโคชิบในผิวหนังชั้น Viable epidermis และ Dermis เท่ากับ 65.97 $\pm$ 6.01 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ซึ่งมากกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value < 0.05)

ผลรวมของการใช้ไฮโนโฟเรซิสกับไมโครอิมัลชันมีปริมาณยาในผิวหนังชั้น Viable epidermis และ Dermis ไม่แตกต่างกับการใช้ไฮโนโฟเรซิสเพียงอย่างเดียว

แต่เมื่อเปรียบเทียบผลรวมของการใช้โซโนโฟเรซิสกับการใช้ไมโครอิมัลชันกับการใช้ไมโครอิมัลชันเพียงอย่างเดียว (MC 3) พบว่ามีปริมาณยาที่พบในผิวหนังชั้น Viable epidermis และ Dermis ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการเพิ่มการแพร่ผ่านผิวหนังโดยใช้วิธีโซโนโฟเรซิสร่วมกับไมโครอิมัลชัน มีประสิทธิภาพน้อยกว่าการใช้ไมโครอิมัลชัน (MC 3) เพียงอย่างเดียว

จากงานวิจัยของ Rangsimawong และคณะ ที่ได้ศึกษาการใช้ Sonophoresis ร่วมกับ Liposomes (Sodium fluorescein-loaded PEGylated liposomes และ d-limonene) พบว่าโซโนโฟเรซิสทำให้รูขุมขน (Hair follicle) [31] บางส่วนอุดตันและลดการดูดซึมผ่านทางรูขุมขน ดังนั้นการที่ผลรวมของโซโนโฟเรซิสและไมโครอิมัลชันมีปริมาณยาในผิวหนังน้อยกว่าการใช้ไมโครอิมัลชันเพียงอย่างเดียว อาจเกิดจากการที่อนุภาคไมโครอิมัลชันมีการแพร่ผ่านผิวหนังโดยทาง Transfollicular pathway เป็นหลัก แต่การใช้โซโนโฟเรซิสทำให้รูขุมขนเกิดการอุดตัน อนุภาคไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซเลโคชิบจึงผ่านผิวหนังได้ลดลง ทำให้ปริมาณยาที่พบในผิวหนังชั้น Viable epidermis และ Dermis ลดลง

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

งานวิจัยนี้สามารถเตรียมไมโครอิมัลชันชนิดใหม่ขึ้นมาได้ โดยมี Isopropyl myristate เป็นวัฏภาคน้ำมัน มี PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides เป็นสารลดแรงตึงผิว มี PEG-7 glyceryl cocoate เป็นสารลดแรงตึงผิวร่วม (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 glyceryl cocoate เท่ากับ 1:1) และ water เป็นวัฏภาคน้ำ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการใช้ PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides ในการเตรียมไมโครอิมัลชันมาก่อน ระบบไมโครอิมัลชันที่เตรียมได้นี้สามารถเพิ่มค่าการละลายของเซเลโคชิบและสามารถเพิ่มการแพร่ผ่านผิวหนังของ เซเลโคชิบได้มากกว่ากลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามการใช้ไมโครอิมัลชันร่วมกับโซโนโฟเรซิสไม่สามารถเพิ่มการแพร่ผ่านผิวหนังของเซเลโคชิบได้ โดยอาจมีสาเหตุจากโซโนโฟเรซิสทำให้รูขุมขนเกิดการอุดตัน ยาเซเลโคชิบจึงแพร่ผ่านรูขุมขนเข้าสู่ผิวหนังได้น้อยลง

เอกสารอ้างอิง

- [1] Nongpimol N. The epidemiological situation and risk assessment of knee osteoarthritis among thai people. JRTAN. 2014;15(3):185-93.
- [2] MIMS thailand. Celecoxib [Online]. 2017 [cited 2017 Mar 10]; Available from: URL:<https://www.mims.com/thailand/drug/info/celebrex/?type=brief>.
- [3] National center for biotechnology information. Celecoxib [Online]. 2017 [cited 2017 Feb 7]. Available from: URL:<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2662>.
- [4] Lacy CF, Armstrong LL, Lance LL, Goldman MP. Drug information handbook international. 24th ed. Ohio: Lexi-Comp Inc; 2015.
- [5] El Hajj II, Malik SM, Alwakeel HR, Shaikh OS, Sasatomi E, Kandil HM. Celecoxib-induced cholestatic liver failure requiring orthotopic liver transplantation. World J Gastroenterol. 2009;15(31):3937-9.
- [6] Horl WH. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and the Kidney. Pharmaceuticals (Basel). 2010;3(7):2291-321.
- [7] Tanwar H and Sachdeva R. Transdermal drug delivery system: A review. Int J Pharm Sci Res. 2016;2274-90.
- [8] Naik A, Kalia YN, Guy RH. Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. Pharm Sci Technolo Today. 2000;3(9):318-26.
- [9] Menon GK, Cleary GW, Lane ME. The structure and function of the stratum corneum. Int J Pharm. 2012;435(1):3-9.
- [10] Wermeling DP, Banks SL, Hudson DA, Gill HS, Gupta J, Prausnitz MR, et al. Microneedles permit transdermal delivery of a skin-impermeant medication to humans. Proc Natl Acad Sci USA. 2008;105(6):2058-63.
- [11] Dhote V, Bhatnagar P, Mishra PK, Mahajan SC, Mishra DK. Iontophoresis: a potential emergence of a transdermal drug delivery system. Sci Pharm. 2012;80(1):1-28.

- [12] Mitragotri S and Kost J. Low-frequency sonophoresis: a review. *Adv Drug Deliv Rev.* 2004;56(5):89-601i8,.
- [13] Zorec B, Becker S, Rebersek M, Miklavcic D, Pavselj N. Skin electroporation for transdermal drug delivery: the influence of the order of different square wave electric pulses. *Int J Pharm.* 2013;457(1):214-23.
- [14] Kwon SS, Kim SY, Kong BJ, Kim KJ, Noh GY, Im NR, et al. Cell penetrating peptide conjugated liposomes as transdermal delivery system of *Polygonum aviculare* L.extract. *Int J Pharm.* 2015;483(1-2):26-37.
- [15] Manikkath J, Hegde AR, Kalthur G, Parekh HS, Mutalik S. Influence of peptide dendrimers and sonophoresis on the transdermal delivery of ketoprofen. *Int J Pharm.* 2017;521(1-2):110-9.
- [16] Mura P, Bragagni M, Mennini N, Cirri M, Maestrelli F. Development of liposomal and microemulsion formulations for transdermal delivery of clonazepam: effect of randomly methylated beta-cyclodextrin. *Int J Pharm.* 2014;475(1-2):306-14.
- [17] Pakpayat N, Yotsawimonwat S, Boonme P. Green Microemulsions for Cosmetics. *Thai Pharm Health Sci J.* 2011;6(4):260-8.
- [18] Ghosh PK and Murthy RS. Microemulsions: a potential drug delivery system. *Curr Drug Deliv.* 2006;3(2):167-80.
- [19] พนิดา อัครพิชญนต์. โซโนโฟเรซิส: ระบบช่วยนำส่งยาผ่านผิวหนังโดยใช้คลื่นเหนือเสียง. *วารสารไทย ไกษณนิพนธ์.* 2006:1-11.
- [20] Lavon I and Kost J. Ultrasound and transdermal drug delivery. *Drug Discov Today.* 2004;9(15):670-6.
- [21] Park D, Park H, Seo J, Lee S. Sonophoresis in transdermal drug deliverys. *Ultrasonics.* 2014;(54):56-65.

- [22] Soliman SM, Abdel Malak NS, El-Gazayerly ON, Abdel Rehim AA. Formulation of microemulsion gel systems for transdermal delivery of celecoxib: In vitro permeation, antiinflammatory activity and skin irritation tests. *Drug Discov Ther.* 2010;4(6):459-71.
- [23] Baboota S SF, Ahuja A, Ali J, Shafiq S. Design, development and evaluation of novel nanoemulsion formulations for transdermal potential of celecoxib. *Acta Pharm.* 2007;57(3):315-32.
- [24] Tavakoli N, Minaiyan M, Heshmatipour M, Musavinasab R. Transdermal iontophoretic delivery of celecoxib from gel formulation. *Res Pharm Sci.* 2015;10(5):419-28.
- [25] Geannynne VR, Amador CP, Silvia RM, Saul SCK, Pilar PCM, Yolotzin RHL, et al. Celecoxib 2% Cream in acute soft tissue injuries: randomized, doubleblind, placebo-controlled clinical trial. *Clin Res Foot Ankle.* 2017;5(1):1-6.
- [26] Herwadkar A, Sachdeva V, Taylor LF, Silver H, Banga AK. Low frequency sonophoresis mediated transdermal and intradermal delivery of ketoprofen. *Int J Pharm.* 2012;423(2):289-96.
- [27] Sintov CA. Transdermal delivery of curcumin via microemulsion. *Int J Pharm.* 2015;481(1-2):97–103.
- [28].PEG Caprylic/Capric Glycerides [Online]. 2012 [cited 2017 Nov 2]; Available from: URL:<http://www.saapedia.org/en/saa/?type=detail&id=3400>.
- [29] Safety Assessment of PEGylated Alkyl Glycerides as Used in Cosmetics [Online]. 2014 [cited 2017 Oct 15]; Available from:URL: <https://www.cir-safety.org/sites/default/files/PEGalk062014SLR.pdf>.
- [30] Subongkot T, Ngawhirunpat T. Development of a novel microemulsion for oral absorption enhancement of all-trans retinoic acid. *International Journal of Nanomedicine.* 2017;12:5585-99.

[31] Rangsimawong W, Opanasopit P, Rojanarata T, Ngawhirunpat T. Int J

Nanomedicine. 2015;10:7413-23.

[32] Oliesia GQ, Hilton AMS, Daniel MK, A'lvare L, Alexandre SP, Marcelo P. In vitro and in vivo influence of penetration enhancers in the topical application of celecoxib. Drug

Dev Ind Pharm, 2014;40(9):1180-9.

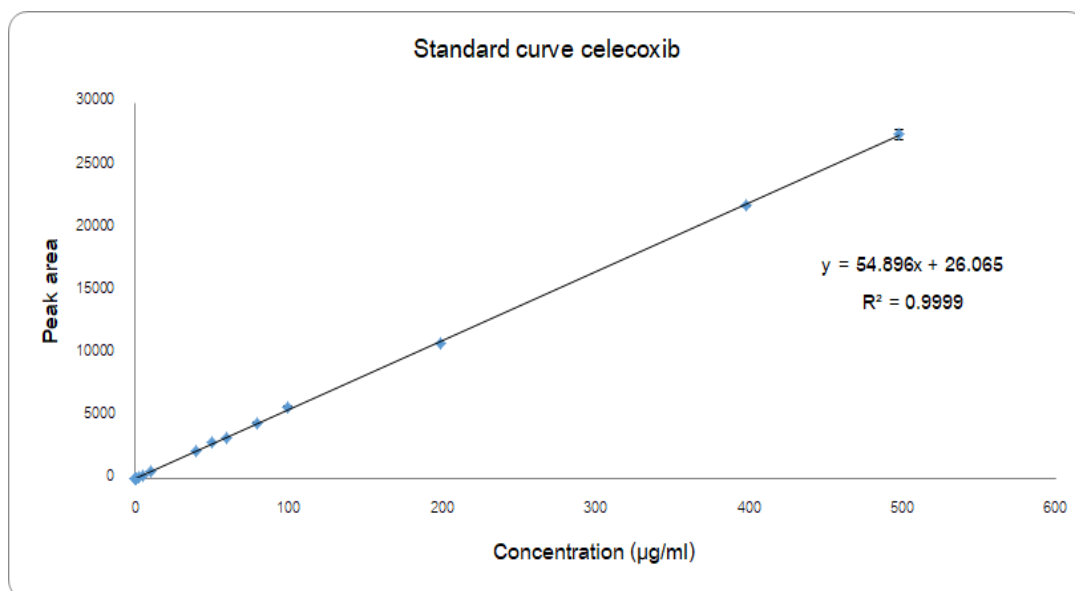
ภาคผนวก

1. การเตรียมกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ของเซเลโคซิบ

ตารางที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยของ peak area กับความเข้มข้นของเซเลโคซิบ
ในช่วง 0.1- 500 µg/ml

ความเข้มข้น (µg/ml)	Average peak area±SD
0.09964	6.17±0.55
0.19928	13.13±0.46
0.4982	33.83±1.79
0.9964	60.07±0.9
1.9928	131.2±4.01
4.982	263.8±2.96
9.964	544.7±1.3
39.856	2205.97±3.75
49.82	2880.9±15.44
59.784	3239.33±6.93
79.712	4455.93±24.13
99.64	5745.03±26.81
199.28	10792.53±16.13
398.56	21785.13±53.34
498.2	27480.1±433.42

นำค่าที่ได้มาพลอตกราฟหาความสัมพันธ์สมการเส้นตรงของ peak area กับ ความเข้มข้นของเซเลโคซิบ



รูปที่ 8 แสดงกราฟมาตรฐานของเซเลโคซิบในช่วงความเข้มข้น 0.1- 500 µg/ml

โดยจากการสร้างกราฟมาตรฐานของเซเลโคซิบ ได้สมการ $y = 54.896x + 26.065$

2. การเตรียมไมโครอิมัลชัน

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณ Isopropyl myristate, Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-35 Castor oil เท่ากับ 1:1) และ Water ในอัตราส่วนต่างๆ สำหรับสร้าง pseudo-ternary phase diagram

อัตราส่วน Isopropyl myristate : Mixture of surfactant	ปริมาณ Isopropyl myristate	Mixture of surfactant	ปริมาณ Water
1:9	0.2	1.8	1.25
2:8	0.4	1.6	0.95
3:7	0.6	1.4	0.85
4:6	0.8	1.2	0.5
5:5	1.0	1.0	0.15

ตารางที่ 11 แสดงปริมาณ Isopropyl myristate, Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate เท่ากับ 1:1) และ Water ในอัตราส่วนต่างๆ สำหรับสร้าง pseudo-ternary phase diagram

อัตราส่วน Isopropyl myristate : Mixture of surfactant	ปริมาณ Isopropyl myristate	Mixture of surfactant	ปริมาณ Water
1:19	0.1	1.9	∞
1:9	0.2	1.8	∞
2:8	0.4	1.6	2.75
3:7	0.6	1.4	0.9
4:6	0.8	1.2	0.4
5:5	1.0	1.0	0.25

ตารางที่ 12 แสดงปริมาณ Isopropyl myristate, Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate เท่ากับ 2:1) และ Water ในอัตราส่วนต่างๆ สำหรับสร้าง pseudo-ternary phase diagram

อัตราส่วน Isopropyl myristate : Mixture of surfactant	ปริมาณ Isopropyl myristate	Mixture of surfactant	ปริมาณ Water
1:19	0.25	4.75	∞
1:9	0.5	4.5	∞
2:8	1.0	4.0	4.7
3:7	1.5	3.5	1.9
4:6	2.0	3.0	0.9
5:5	2.5	2.5	0.2
5:5	2.5	2.5	0.4

ตารางที่ 13 แสดงปริมาณ Isopropyl myristate, Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate เท่ากับ 3:1) และ Water ในอัตราส่วนต่างๆ สำหรับสร้าง pseudo-ternary phase diagram

อัตราส่วน Isopropyl myristate : Mixture of surfactant	ปริมาณ Isopropyl myristate	Mixture of surfactant	ปริมาณ Water
1:19	0.25	4.75	∞
1:9	0.5	4.5	∞
2:8	1.0	4.0	3.75
3:7	1.5	3.5	1.55
4:6	2.0	3.0	1.05
5:5	2.5	2.5	0.2
5:5	2.5	2.5	0.25

ตารางที่ 14 แสดงปริมาณ Isopropyl myristate, Mixture of surfactant (อัตราส่วน PEG-6 Caprylic/Capric Glycerides : PEG-7 Glyceryl Cocoate เท่ากับ 4:1) และ Water ในอัตราส่วนต่างๆ สำหรับสร้าง pseudo-ternary phase diagram

อัตราส่วน Isopropyl myristate : Mixture of surfactant	ปริมาณ Isopropyl myristate	Mixture of surfactant	ปริมาณ Water
1:19	0.25	4.75	∞
1:9	0.2	4.5	∞
2:8	1.0	4.0	3.6
3:7	1.5	3.5	1.5
4:6	2.0	3.0	0.8

3. การศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีของไมโครอิมัลชัน

ตารางที่ 15 แสดงขนาดอนุภาคไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบ

Formulation code	Particle size (nm)					
	N1	N2	N3	N4	N5	N6
MC 1	456.4	367.6	421.9	699.6	897.2	587.4
MC 2	273.7	227.5	291.5	272.8	214.7	215.4
MC 3	107.1	121.4	131.2	115	91.6	125.6
MC 4	37.23	41.31	33.84	44.24	43.94	39.96
MC 5	467.8	200.3	127.6	238.9	158.6	282.6
MC 6	88.57	100.3	120.9	172.9	130.5	155.3
MC 7	135.1	150.1	104.8	112.4	81.99	136.8

ตารางที่ 16 แสดงขนาดอนุภาคไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซลล์โคชิบ

Formulation code	Particle size (nm)					
	N1	N2	N3	N4	N5	N6
MC 1	166.3	183.7	234	178.7	156.2	153.2
MC 2	209.5	309.4	354.1	214.2	164.1	125.7
MC 3	107.1	121.4	131.2	115	91.6	125.6
MC 4	37.23	41.31	33.84	45.84	53.37	49
MC 5	467.8	200.3	127.6	238.9	158.6	282.6
MC 6	88.57	100.3	120.9	172.9	130.5	155.3
MC 7	135.1	150.1	104.8	112.4	81.99	136.8

ตารางที่ 17 แสดงการกระจายอนุภาคไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซลล์โคชิบ

Formulation code	Polydispersity index (PDI)					
	N1	N2	N3	N4	N5	N6
MC 1	0.43	0.459	0.458	0.674	0.743	0.665
MC 2	0.343	0.384	0.331	0.368	0.33	0.407
MC 3	0.352	0.296	0.245	0.372	0.687	0.283
MC 4	0.896	0.824	0.98	1	1	1
MC 5	0.506	0.446	0.317	0.288	0.575	0.39
MC 6	0.542	0.589	0.364	0.33	0.547	0.305
MC 7	0.479	0.529	0.62	0.43	0.613	0.209

ตารางที่ 18 แสดงการกระจายอนุภาคไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซลล์โคชิบ

Formulation code	Polydispersity index (PDI)					
	N1	N2	N3	N4	N5	N6
MC 1	0.132	0.859	0.99	0.556	0.756	0.679
MC 2	0.285	0.36	0.533	0.653	0.526	0.592
MC 3	0.572	0.512	0.524	0.532	0.51	0.67
MC 4	0.57	0.587	0.571	0.936	0.566	0.611
MC 5	0.675	0.529	0.49	0.342	0.282	0.28
MC 6	0.413	0.439	0.526	0.323	0.309	0.437
MC 7	0.415	0.446	0.435	0.533	0.522	0.456

ตารางที่ 19 แสดงศักย์เซตาไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบ

Formulation code	Zeta potential (mV)					
	N1	N2	N3	N4	N5	N6
MC 1	-0.16	1.09	-0.726	0.223	0.141	-0.0498
MC 2	-0.487	0.659	-0.222	0.0643	-0.143	0.168
MC 3	0.0954	0.167	-0.0136	-0.165	-0.448	-0.199
MC 4	0.177	-0.212	0.0143	-0.0689	-0.278	0.281
MC 5	0.477	0.0332	-0.302	-0.0571	-0.111	-0.0454
MC 6	-0.187	-0.0207	-0.438	0.135	0.223	-0.226
MC 7	0.0055	0.113	0.241	-0.373	-0.325	0.239

ตารางที่ 20 แสดงศักย์ซีตาไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซลล์โคชิบ

Formulation code	Zeta potential (mV)					
	N1	N2	N3	N4	N5	N6
MC 1	0.0765	-0.11	0.0866	0.1	-0.0508	0.279
MC 2	-0.0806	-0.119	-0.144	-0.208	-0.085	-0.027
MC 3	0.438	0.513	0.075	-0.476	-0.088	0.138
MC 4	-0.0657	-0.0714	0.0133	0.303	-0.202	0.005
MC 5	-0.275	0.0673	0.126	0.333	0.155	-0.0966
MC 6	-0.315	-0.506	-0.0212	0.407	0.305	0.131
MC 7	0.748	0.147	-0.184	0.642	0.52	-0.356

ตารางที่ 21 แสดงการนำไฟฟ้าของไมโครอิมัลชันที่ไม่บรรจุเซเลโคชิบ

Formulation code	Conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$)					
	N1	N2	N3	N4	N5	N6
MC 1	14.6	14.3	-0.56.93	12.7	12.5	24.9
MC 2	26.3	29.5	26.6	26.4	29.2	26.7
MC 3	70.4	71.6	71.6	68	75.3	69.6
MC 4	131	135	135	130	134	135
MC 5	6.17	6.56	9.23	6.23	7.59	6.2
MC 6	38.4	41.9	38.8	36	36.5	42.9
MC 7	27.1	26.8	18.89	18.2	13.3	13.2

ตารางที่ 22 แสดงการนำไฟฟ้าของไมโครอิมัลชันที่บรรจุเซลล์โคชิบ

Formulation code	Conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$)					
	N1	N2	N3	N4	N5	N6
MC 1	6.62	6.64	5.91	5.94	22.9	5.92
MC 2	22.5	25.9	22.6	22.7	22.7	22.5
MC 3	62.2	69.3	63.2	61.9	63.5	63
MC 4	115	120	119	116	118	119
MC 5	17.8	16.2	16.2	16	29.6	16
MC 6	18.4	30.8	18.3	18.2	23	18.2
MC 7	9.48	14.8	9.14	14.1	9.03	10.7

4. การศึกษาการปลดปล่อยยาแบบภายนอกร่างกาย (*In vitro* drug release study)

ตารางที่ 23 แสดงความสัมพันธ์พื้นที่การปลดปล่อยยาระหว่างปริมาณยาสะสมกับเวลา

เวลา (h)	N1	N2	N3	ค่าเฉลี่ยปริมาณยา สะสม±ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (mg)
0.5	0.40	0.50	0.21	0.37±0.15
1	0.72	0.60	0.35	0.55±0.19
2	1.12	1.04	0.73	0.97±0.20
3	1.44	1.25	1.09	1.26±0.17
4	2.22	1.15	1.54	1.64±0.55
6	5.95	2.87	3.60	4.14±1.61
8	10.45	5.29	6.07	7.27±2.78
24	44.32	30.13	37.87	37.44±7.10

5. การศึกษาการแพร่ผ่านผิวหนังแบบภายนอกร่างกาย (*In vitro* skin penetration studies)

ตารางที่ 24 แสดงปริมาณเซเลโคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน receiver medium

Formulation code	N1	N2	N3
Control	0.26	-0.12	-0.77
MC 1	0.81	2.54	3.05
MC 3	131.47	5732.09	-0.84
MC 4	1.15	0.72	0.28
MC 5	-0.85	-0.27	1.93
MC 7	0.33	-0.63	-0.52

ตารางที่ 25 แสดงปริมาณเชื้อโคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน strip

Formulation code	N1	N2	N3
Control	67.77	39.58	43.99
MC 1	53.75	34.21	22.21
MC 3	152.12	90.16	50.45
MC 4	7.89	21.48	20.42
MC 5	32.57	27.59	61.28
MC 7	74.01	77.40	45.35

ตารางที่ 26 แสดงปริมาณเซลล์โคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน viable epidermis และ dermis

Formulation code	N1	N2	N3
Control	23.19	5.74	25.48
MC 1	66.21	18.60	32.10
MC 3	145.69	137.03	198.59
MC 4	27.14	21.48	20.45
MC 5	9.24	18.96	17.66
MC 7	34.23	20.13	8.81

6. การศึกษาสภาวะของโซโนโฟเรซิสที่เพิ่มการแพร่ผ่านของเซลล์โคชิบ

ตารางที่ 27 แสดงปริมาณเซลล์โคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน receiver medium

Formulation code	N1	N2	N3
Control	0.26	-0.12	-0.77
6 watt/cm ²	13.35	14.43	13.31
8 watt/cm ²	-1.05	-1.79	-1.26
10 watt/cm ²	309.47	12.85	11.57
15 watt/cm ²	3.04	-1.01	27.37
30 watt/cm ²	2.50	2.72	4.42
60 watt/cm ²	9.32	25.54	-2.21
90 watt/cm ²	1.70	1.82	45.26
120 watt/cm ²	1.95	2.96	0.15

ตารางที่ 28 แสดงปริมาณเซเลโคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน strip

Formulation code	N1	N2	N3
Control	67.77	39.58	43.99
6 watt/cm ²	15.62	20.12	25.40
8 watt/cm ²	41.59	24.44	12.29
10 watt/cm ²	35.69	11.57	53.03
15 watt/cm ²	38.68	17.20	13.93
30 watt/cm ²	42.08	33.46	28.76
60 watt/cm ²	46.13	44.19	-1.78
90 watt/cm ²	24.64	44.95	19.68
120 watt/cm ²	35.92	19.58	27.77

ตารางที่ 29 แสดงปริมาณเซลล์โคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน viable epidermis และ dermis

Formulation code	N1	N2	N3
Control	23.19	5.74	25.48
6 watt/cm ²	4.88	5.50	5.35
8 watt/cm ²	9.06	6.30	3.86
10 watt/cm ²	17.11	8.06	6.23
15 watt/cm ²	50.65	2.67	10.12
30 watt/cm ²	47.61	72.22	17.32
60 watt/cm ²	41.00	50.94	19.71
90 watt/cm ²	38.98	19.27	13.96
120 watt/cm ²	36.08	28.16	34.14

7. การศึกษาผลร่วมระหว่างไมโครอิมัลชันและโซโนโฟเรซิส

ตารางที่ 30 แสดงปริมาณเซลล์โคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน receiver medium

Formulation code	N1	N2	N3
Control	0.26	-0.12	-0.77
MC 3	131.47	5732.09	-0.84
Sonophoresis 30 watt/cm ²	2.50	2.72	4.42
MC 3 + Sonophoresis 30 watt/cm ²	0.79	5.90	0.29

ตารางที่ 31 แสดงปริมาณเซลล์โคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน strip

Formulation code	N1	N2	N3
Control	67.77	39.58	43.99
MC 3	152.12	90.16	50.45
Sonophoresis 30 watt/cm ²	42.08	33.46	28.76
MC 3 + Sonophoresis 30 watt/cm ²	89.33	34.68	57.03

ตารางที่ 32 แสดงปริมาณเซลล์โคชิบต่อพื้นที่ผิว ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ที่พบใน viable epidermis และ dermis

Formulation code	N1	N2	N3
Control	23.19	5.74	25.48
MC 3	145.69	137.03	198.59
Sonophoresis 30 watt/cm ²	47.61	72.22	17.32
MC 3 + Sonophoresis 30 watt/cm ²	71.02	67.59	59.32