

บทความวิจัย

การเตรียมและศึกษาการปลดปล่อยแบบควบคุมของยา อะม็อกซิซิลลินจากบีดแอลจิเนต - ไคโตซาน

นลินา ประไพรัชสิทธิ์* และ พรรรมา งามศิริ

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันการรักษาโรคแผลในกระเพาะอาหาร (peptic ulcer) ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้มีการนำยาปฏิชีวนะ เช่น อะม็อกซิซิลลินมาใช้ในการรักษา แต่เนื่องจากยาอะม็อกซิซิลลินมีระยะเวลาคงตัวในกระเพาะอาหารสั้นและสามารถถูกทำลายได้ด้วยกรดทำให้มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคดังกล่าวต่ำ ดังนั้นวัตถุประสงค์ในงานวิจัยนี้คือเพื่อหาองค์ประกอบที่เหมาะสมในการเตรียมบีดจากสูตรผสมของแอลจิเนตและไคโตซานสำหรับปลดปล่อยยาอะม็อกซิซิลลินภายใต้สภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร (pH 1.2 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส) โดยเตรียมบีดแอลจิเนต-ไคโตซาน 3 สูตรผสมคือ บีดแอลจิเนต - 0.25% ไคโตซาน บีดแอลจิเนต - 0.5% ไคโตซาน และบีดแอลจิเนต - 1% ไคโตซาน แล้วนำมาทดสอบคุณสมบัติด้านต่างๆ ผลการทดลองพบว่า บีดทั้ง 3 สูตรผสมมีประสิทธิภาพการกักเก็บยามากกว่า 98% บีดมีการบวมตัวเล็กน้อย การบวมตัวของบีดทั้ง 3 สูตรผสมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและบีดไม่มีการแตกเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ที่นาที่ที่ 10 บีดแอลจิเนต - 0.25% ไคโตซานปลดปล่อยยาได้ $80.51 \pm 3.40\%$ บีดแอลจิเนต - 0.5% ไคโตซานปลดปล่อยยาได้ $73.79 \pm 2.10\%$ และบีดแอลจิเนต $\pm 1\%$ ไคโตซานปลดปล่อยยาได้ $89.49 \pm 1.71\%$ ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าบีดแอลจิเนต - 0.5% ไคโตซานสามารถหน่วงการปลดปล่อยยาได้ดีที่สุด ส่วนประสิทธิภาพในการยึดเกาะเยื่อเมือกพบว่าเปอร์เซ็นต์ที่บีดแอลจิเนต - 0.25% ไคโตซานสามารถยึดเกาะเยื่อเมือกมีค่าเท่ากับ $74.33 \pm 5.0\%$, บีดแอลจิเนต - 0.5% ไคโตซานมีค่าเท่ากับ $80.33 \pm 2.2\%$ และบีดแอลจิเนต - 1% ไคโตซานมีค่าเท่ากับ $82.33 \pm 1.5\%$ ดังนั้นเมื่อพิจารณาคุณสมบัติในด้านต่างๆ ประกอบกันสรุปได้ว่าบีดแอลจิเนต-ไคโตซาน 0.5% มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นระบบนำส่งยาอะม็อกซิซิลลินเพื่อใช้ในการรักษาโรคแผลในกระเพาะอาหาร

คำสำคัญ: แผลในกระเพาะอาหาร อะม็อกซิซิลลิน ไคโตซาน *Helicobacter pylori*

Preparation and Study of the Controlled Release of Amoxicillin from Alginate - Chitosan Beads

Nalena Praphairaksit* and Pornrumpa Ngamsiri

ABSTRACT

Until recently, peptic ulcer which originated from *Helicobacter pylori* is treated by antibiotic such as amoxicillin. However, due to the short gastric retention time and the degradation of drug in acid, the drug effectiveness decreases. Therefore the aim of this study was to develop alginate-chitosan bead for controlled release of amoxicillin in the gastric condition (pH 1.2, temperature 37 °C). Three formulations of alginate - chitosan bead (0.25%, 0.5% and 1% chitosan) were used in this study. The results showed that all beads had encapsulation efficiency of more than 98%. The beads swelled but did not show sign of erosion in 24 hours. At 10 minutes, the percentage of drug release from alginate - 0.25% chitosan was $80.51 \pm 3.40\%$ alginate- 0.5% chitosan bead was $73.79 \pm 2.10\%$ and alginate - 1% chitosan bead was $89.49 \pm 1.71\%$. Therefore the 0.5% chitosan bead was the best controlled - drug release. The study of mucoadhesive properties revealed that alginate - 0.25% chitosan bead remained attached to the gastric mucosa $74.33 \pm 5.0\%$, alginate-0.5% chitosan bead was $80.33 \pm 2.2\%$ and alginate - 1% chitosan bead was $82.33 \pm 1.5\%$. In conclusion, among the tested formulations, the alginate - 0.5% chitosan provided the best controlled delivery of amoxicillin in order to treat peptic ulcer.

Keywords: peptic ulcer, amoxicillin, chitosan, *Helicobacter pylori*

บทนำ

อะม็อกซิซิลลิน (amoxicillin) เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มเพนนิซิลลิน (penicillin) สามารถใช้กำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างกว้างขวางทั้งชนิดแกรมบวก (Gram-positive) และแกรมลบ (Gram-negative) ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายสำหรับรักษาโรคแผลในกระเพาะอาหาร (peptic ulcer) ซึ่งแต่เดิมเชื่อว่ากรดในกระเพาะอาหารเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร แต่ความก้าวหน้าของการแพทย์ในปัจจุบันทำให้ทราบว่าแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* ซึ่งอาศัยอยู่ในเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารมีส่วนสำคัญทำให้เกิดแผลในกระเพาะ

Helicobacter pylori เป็นเชื้อบาซิลลัสไมโครแอโรฟิลิกชนิดแกรมลบซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น โดยเชื้อนี้จะเข้าสู่กระเพาะโดยการรับประทานอาหารและน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อนี้และการติดต่อจากบุคคลหนึ่งไปสู่อีกคนหนึ่งทางน้ำลาย [1] หลังจากเชื้อเข้าสู่กระเพาะจะเข้าไปฝังตัวในส่วนลึกของเยื่อเมือก (mucus) และเหนือเยื่อ (epithelial cell) ในกระเพาะอาหารซึ่งจะปล่อยน้ำย่อยและสารพิษออกมาทำลายและกระตุ้นให้มีการอักเสบของผนังกระเพาะอาหาร ด้วยกลไกนี้ร่วมกับกรดที่หลั่งออกมาจากเซลล์ของกระเพาะอาหารจะร่วมกันทำลายผนังกระเพาะให้เป็นแผลและมีการอักเสบได้ในที่สุด ตามข้อมูลในประเทศไทยเชื้อแบคทีเรียนี้มีส่วนทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหารประมาณร้อยละ 50-70 [2] ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีการใช้อะม็อกซิซิลลินในการกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* โดยวิธีการรักษานี้เรียกว่า triple therapy โดยเป็นการใช้ยา 3 ชนิด คือยาลดกรด 1 ชนิดร่วมกับยาปฏิชีวนะอีก 2 ชนิด พบว่าให้ผลดีในการรักษา แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการรักษาด้วยวิธีนี้ไม่สามารถกำจัดเชื้อ *Helicobacter pylori* ได้หมด เหตุผลแรกก็คือช่วงเวลาที่ยาคงตัวในกระเพาะนั้นสั้นเกินไป อีกเหตุผลหนึ่งคืออะม็อกซิซิลลินจะถูกทำลายโดยกรดทำให้ประสิทธิภาพด้อยลง [3-5]

เพื่อให้ประสิทธิภาพในการรักษาของยาอะม็อกซิซิลลินดีขึ้นจึงจำเป็นต้องปรับปรุงระบบนำส่งยาโดยมุ่งเน้นให้ยามีระยะเวลาคงตัวในกระเพาะอาหารนานขึ้นและจะต้องถูกปลดปล่อยออกมาอย่างช้าๆ และต่อเนื่องในปริมาณที่เหมาะสมภายในช่วงเวลาที่ต้องการได้ ซึ่งการนำพอลิเมอร์มาใช้ควบคุมระบบนำส่งยาจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง โดยพอลิเมอร์ที่จะนำมาใช้นั้นต้องมีคุณสมบัติคือไม่เป็นพิษและเข้ากันได้ดีกับร่างกาย สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ราคาไม่แพง และที่สำคัญจะต้องสามารถเกาะติดกับเยื่อเมือกหรือเยื่อในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นได้ดี ซึ่งมีพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ มากมายที่ถูกนำมาใช้เพื่อควบคุมระบบนำส่งยาทั้งพอลิเมอร์ที่สกัดได้จากธรรมชาติและพอลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์ อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติจะมีความปลอดภัยมากกว่า ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะเลือกใช้พอลิเมอร์ที่สกัดได้จากธรรมชาติมาควบคุมระบบนำส่งยาโดยจะเลือกใช้แอลจินต (alginate) และไคโตซาน (chitosan) มาทำการศึกษาเพื่อควบคุมระบบนำส่งยา

แอลจินตจัดเป็นพอลิเมอร์ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีน้ำตาล มีลักษณะโครงสร้างเป็นโคพอลิเมอร์ (copolymer) ที่ประกอบด้วยกรดกลูโรนิก (guluronic acid) และกรดแมนูโรนิก (manuronic acid) จึงเป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุเป็นลบ (polyanionic polymer) ซึ่งสามารถเกิดการเชื่อมขวางได้โดยการเติมสารที่มีประจุบวกชนิด

ไควาเลนท์ลงไป ทำให้มีคุณสมบัติด้าน encapsulation สูงขึ้นและยังหวังเหนี่ยวการปลดปล่อยยาให้นานขึ้นอีกด้วย [6, 7]

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง กระดองปู รวมถึงคิวติเคิล (cuticle) ของแมลงและเชื้อรา ไคโตซานมีลักษณะเป็นพอลิเมอร์ประจุบวกจึงสามารถเกิดการเชื่อมขวางกับสารที่มีประจุลบชนิดไควาเลนท์เช่นแอลจินเตได้ ซึ่งการเชื่อมขวางดังกล่าวจะทำให้ได้โครงสร้างเป็น polymeric complex สามารถหน่วงการปลดปล่อยยาให้นานขึ้นและการที่ไคโตซานเป็น polycationic polymer จึงทำให้มีคุณสมบัติด้านการยึดเกาะกับเยื่อเมือก (mucoadhesive) ที่ดีอีกด้วย [8]

ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาลักษณะทางกายภาพของบีด ประสิทธิภาพในการกักเก็บยาของบีดที่เตรียมได้ อัตราการปลดปล่อยยาในสภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร การบวมของเม็ดบีดเมื่อแช่ในสารละลายกรด และสมบัติด้านการยึดเกาะกับเยื่อเมือกของบีดที่เตรียมได้ โดยมีวัตถุประสงค์ในการทดลองเพื่อหาค่าประกอบที่เหมาะสมในการเตรียมบีดจากสูตรผสมของแอลจินเตและไคโตซานสำหรับปล่อยยาอะมิออกซิซิลลิน ภายใต้สภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร โดยมุ่งเน้นให้การปลดปล่อยยาในกระเพาะอาหารได้นานและต่อเนื่องเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาและลดจำนวนครั้งในการรับประทานยา

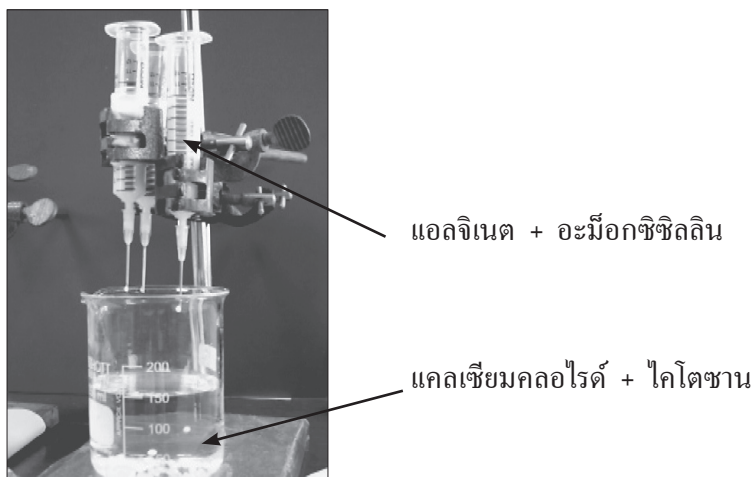
วิธีการทดลอง

การเตรียมบีดแอลจินเต-ไคโตซาน

ในการวิจัยนี้จะเตรียมบีดแอลจินเต-ไคโตซาน 3 สูตรคือ บีดแอลจินเต - 0.25% ไคโตซาน บีดแอลจินเต - 0.5% ไคโตซาน และบีดแอลจินเต - 1% ไคโตซาน

โดยในขั้นตอนแรกจะนำผงแอลจินเต 3 กรัม (Fluka, Switzerland) มาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 150 มิลลิลิตร นำไปคนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้แอลจินเตละลายหมดจากนั้นใส่ผงอะมิออกซิซิลลิน (Chumohon Pharmaceutical, Thailand) 3 กรัม ลงในสารละลายแอลจินเต 150 มิลลิลิตร คนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อให้แอลจินเตและอะมิออกซิซิลลินละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

เตรียมสารละลายไคโตซาน (chitosan, food grade, Lot No. 496212, M.W. 50,000-300,000, deacetylation 90% (Bonafides, Thailand)) ความเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยละลายไคโตซาน 1 กรัมใน 1% (ปริมาตรต่อปริมาตร) กรดอะซิติก 1 มิลลิลิตร (Merck, Germany) ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารละลายไคโตซานมาผสมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (Fluka, Switzerland) ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ในสัดส่วนต่างๆ กัน เพื่อเตรียมเป็น coagulation fluid โดยสารละลายไคโตซานและแคลเซียมคลอไรด์ถูกนำมาผสมกันก่อนใช้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการหยดบีดโดยนำสารละลายแอลจินเตและอะมิออกซิซิลลินที่เป็นเนื้อเดียวกันแล้วมาใส่ในไซริงค์ขนาด 10 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบเข้ากับเข็มฉีดยาเบอร์ 18 ปล่อยให้สารละลายดังกล่าวหยดลงใน coagulation fluid จากนั้นแช่บีดไว้ใน coagulation fluid เป็นเวลา 15 นาที แล้วตากบีดให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง (air-dried)



รูปที่ 1 ภาพแสดงการเตรียมบีดแอลจินต - ไคโตซาน

วิธีการศึกษาลักษณะทางกายภาพของบีด

ศึกษาลักษณะพื้นผิวด้านนอกของเม็ดบีดและด้านในจากภาคตัดขวาง (cross - section) ของเม็ดบีด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Jeol, JSM-5800LV)

การหาประสิทธิภาพในการกักเก็บยา (% encapsulation) จากบีดที่เตรียมได้

นำบีด 0.1 กรัม มาบดให้ละเอียดเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตรแล้วใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปโซนิเคตเป็นเวลา 150 นาที จากนั้นนำมาปรับปริมาตรโดยเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร วัดปริมาณของอะม็อกซิซิลลินด้วยเทคนิค UV-Vis spectrophotometry ที่ความยาวคลื่น 272 นาโนเมตร และคำนวณหาประสิทธิภาพในการกักเก็บยา (% encapsulation) ตามสมการ

$$\% \text{ encapsulation} = \frac{\text{ปริมาณยาที่มีจริงในบีด}}{\text{ปริมาณยาทางทฤษฎี}} \times 100$$

การศึกษาการปลดปล่อยยาอะม็อกซิซิลลินจากบีดที่เตรียมได้ในสภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร

นำบีดมา 0.1 กรัม ใส่ในขวดรูปกรวยแล้วเติมกรดไฮโดรคลอริก (Merck, Germany) pH 1.2 ปริมาตร 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปตั้งไว้ใน shaking water bath (Lab-line instrument, 3575-1) ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ตั้งค่าการเขย่า 100 รอบต่อนาที ทำการวัดการปลดปล่อยยาโดยดูดสารละลายมา 3 มิลลิลิตรแล้วนำมาวัดหาปริมาณยาอะม็อกซิซิลลินด้วยเทคนิค UV-Vis spectrophotometry (Milton Roy, Spectronic 601) ที่ความยาวคลื่น 272 นาโนเมตร ทำการวัดในช่วง 5, 10, 15, 30 นาที และ 1, 2, 3, 4, 5, 6 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วน blank จะใช้บีดที่เตรียมโดยปราศจากอะม็อกซิซิลลินแล้วทำการทดสอบด้วยวิธีเดียวกับข้างต้น

การศึกษาการบวมของบีด

การศึกษาการบวมของบีดเป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเส้นผ่าศูนย์กลางของบีด โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบีด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ (compound microscope) ที่มี ocular micrometer และ stage micrometer โดยนำบีดมาซูดละ 3 เม็ดจากนั้นนำมาแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.1 N pH 1.2 แล้ว ทำการวัดขนาดของบีดที่เวลา 5 นาที 30 นาที, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ

อัตราส่วนของการบวมของบีดที่เวลา t สามารถคำนวณได้ดังสมการ [9]

$$S_w = D_t / D_0$$

S_w คือ อัตราส่วนการบวมตัวของบีดที่เวลา t
 D_t คือ เส้นผ่าศูนย์กลางของบีดที่เวลา t
 D_0 คือ เส้นผ่าศูนย์กลางของบีดที่เวลา 0

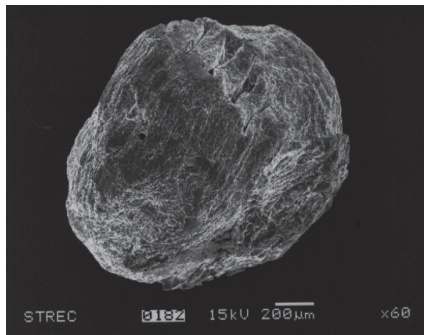
วิธีการศึกษาสมบัติด้านเยื่อเมือกของบีดที่เตรียมได้และความสามารถในการดูดซึมของยาเข้าสู่กระเพาะหนู

นำกระเพาะหนูมาตัดเป็นแผ่นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 10 x 10 เซนติเมตร ล้างด้านในของกระเพาะด้วยสารละลายน้ำเกลือ นำบีดจำนวน 100 เม็ดของแต่ละชุดมาวางบนกระเพาะด้าน gastric mucosa โดยให้กระจายในรูปแบบเดียวกัน จากนั้นนำไปวางในเครื่องอบที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 93% และมีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำแผ่นกระเพาะออกมาวางบนแท่นที่ทำมุม 45 องศา แล้วปล่อยให้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก pH 1.2 ไหลผ่านด้วยอัตราเร็ว 300 มิลลิลิตรต่อนาที แล้วนับจำนวนบีดที่ยังคงอยู่บนด้าน gastric mucosa แล้วนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์ของบีดที่ยังคงเกาะค้างอยู่

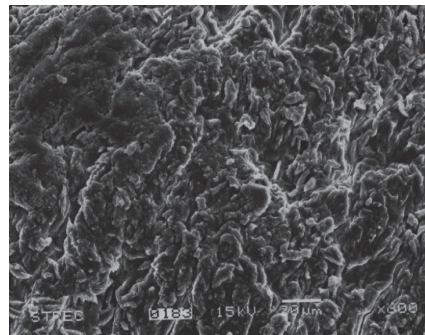
ผลการทดลอง

ลักษณะทางกายภาพของบีด

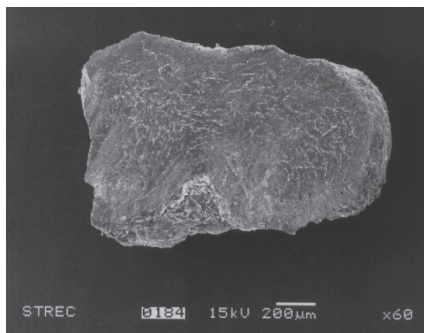
บีดแอลจินेट-ไคโตซานที่เตรียมได้ในงานวิจัยนี้มีรูปร่างของเม็ดบีดเป็นทรงกลม ขนาดของเม็ดบีดโดยเฉลี่ย 100 ไมโครเมตร ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) แสดงลักษณะพื้นผิวด้านนอกของเม็ดบีดที่ความเข้มข้น 0.25%, 0.5% และ 1% ไคโตซาน พบว่า บีดแอลจินेट - 1% ไคโตซาน จะมีลักษณะขรุขระมากที่สุดและค่อยๆ ลดลงตามความเข้มข้นของไคโตซานคือ บีดแอลจินेट-0.5% ไคโตซานและบีดแอลจินेट - 0.25% ไคโตซานตามลำดับ (รูปที่ 1, 2 และ 3) จากภาพตัดขวางของบีดทั้ง 3 ความเข้มข้นพบว่า บีดแอลจินेट - 1% ไคโตซานมีรอยแตกภายในบีดมากกว่าบีดแอลจินेट-0.5% ไคโตซานและบีดแอลจินेट - 0.25% ไคโตซาน



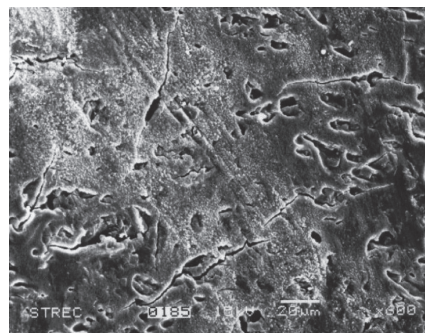
A



B



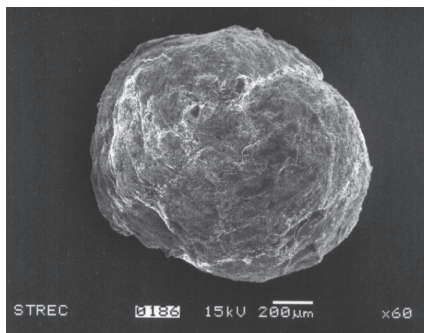
C



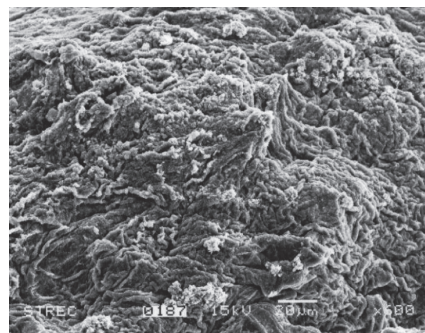
D

รูปที่ 2 แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของบีดแอลจินेट - 0.25% ไคโตซาน

- A: รูปร่างลักษณะของบีด
- B: พื้นผิวภายนอกของบีด
- C: ภาพตัดตามขวางของบีด
- D: ลักษณะภายในของบีด



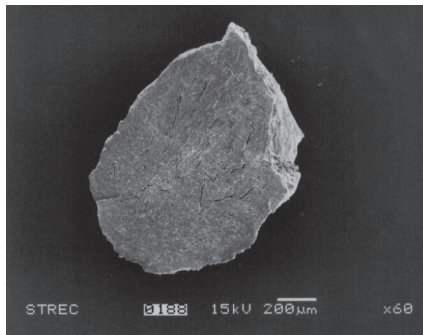
A



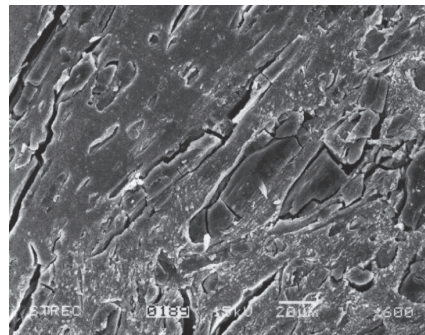
B

รูปที่ 3 แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของบีดแอลจินेट - 0.5% ไคโตซาน

- A: รูปร่างลักษณะของบีด
- B: พื้นผิวภายนอกของบีด



C

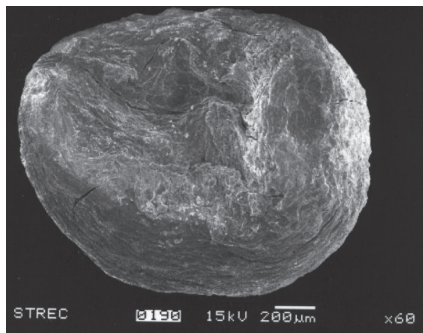


D

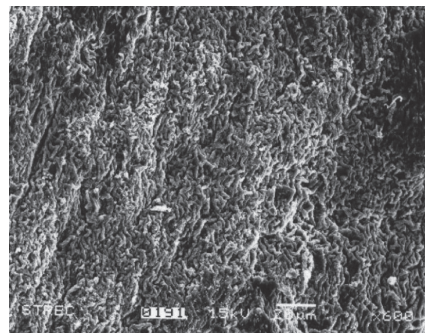
รูปที่ 3 (ต่อ) แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของบีดแอลจินเนต - 0.5% ไคโตซาน

C: ภาพตัดตามขวางของบีด

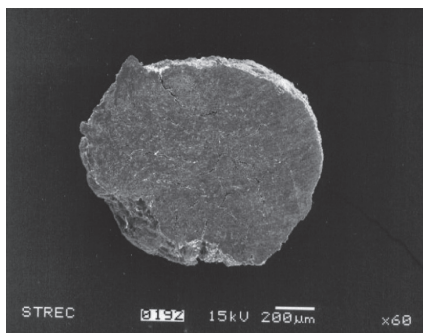
D: ลักษณะภายในของบีด



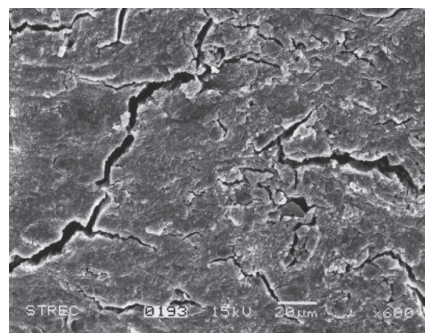
A



B



C



D

รูปที่ 4 แสดงภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของบีดแอลจินเนต - 1% ไคโตซาน

A: รูปร่างลักษณะของบีด

B: พื้นผิวภายนอกของบีด

C: ภาพตัดตามขวางของบีด

D: ลักษณะภายในของบีด

ประสิทธิภาพในการกักเก็บยา (% encapsulation)

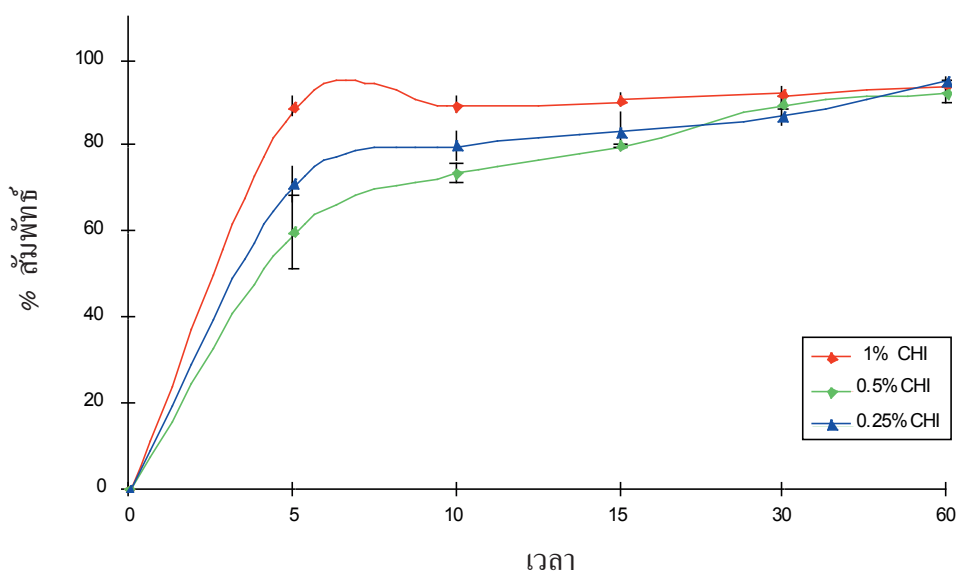
ความเข้มข้นของไคโตซานมีผลต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บยาของบีดแอลจินตไคโตซาน โดยที่ประสิทธิภาพในการกักเก็บยาจะแสดงในรูปเปอร์เซ็นต์ของยาอะม็อกซิซิลลินทั้งหมดในบีดที่สามารถหาได้จากผลการทดลองพบว่าในบีดที่มีเปอร์เซ็นต์ของไคโตซานมากที่สุด (บีดแอลจินต - 1% ไคโตซาน) จะมีประสิทธิภาพในการกักเก็บยาได้มากที่สุดคือ $99.86\% \pm 2.01\%$ รองลงมาคือบีดที่มีไคโตซาน 0.5%, 0.25% โดยมี % encapsulation อยู่ที่ $99.75\% \pm 3.62\%$ และ $98.81\% \pm 3.18\%$ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงประสิทธิภาพในการกักเก็บยา (% encapsulation)

บีด	% encapsulation
แอลจินต - 0.25% ไคโตซาน	98.81 ± 3.18
แอลจินต - 0.5% ไคโตซาน	99.75 ± 3.62
แอลจินต - 1% ไคโตซาน	99.86 ± 2.01

การปลดปล่อยยาอะม็อกซิซิลลินจากบีดที่เตรียมได้ในสภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหาร

บีดแอลจินต-ไคโตซานถูกนำมาศึกษาการปลดปล่อยยาที่สภาวะเลียนแบบกระเพาะอาหารเป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าที่นาที่ 10 บีดแอลจินต - 0.25% ไคโตซาน มีการปลดปล่อยยาอะม็อกซิซิลลิน

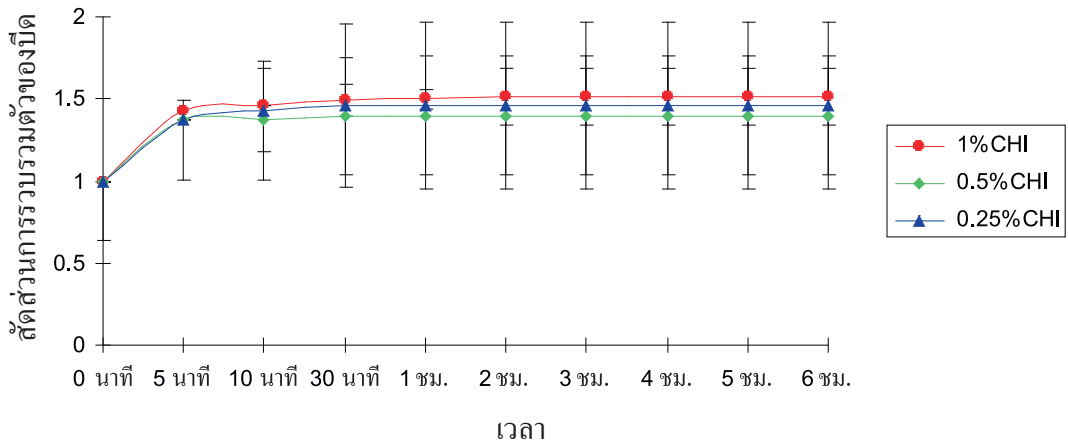


รูปที่ 5 แสดงกราฟเปอร์เซ็นต์สัมพัทธ์ของยาอะม็อกซิซิลลินที่เวลาต่างๆ

(เปอร์เซ็นต์สัมพัทธ์) $80.51\% \pm 3.40\%$ บิดแอลจินेट - 0.5% ไคโตซาน ปลดปล่อย $73.79\% \pm 2.10\%$ และบิดแอลจินेट - 1% ไคโตซาน มีการปลดปล่อย $89.49\% \pm 1.71\%$ ณ เวลาเดียวกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าบิดแอลจินेट - 0.5% ไคโตซานมีการหน่วงการปลดปล่อยยาได้ดีที่สุดที่เวลาเดียวกันดังรูปที่ 4 นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อทำการทดลองต่อบิดแอลจินेट-ไคโตซานทั้ง 3 ความเข้มข้นมีการปลดปล่อยอย่างต่อเนื่องตลอด 6 ชั่วโมงที่ทำการทดลอง โดยที่เวลา 6 ชั่วโมง บิดแอลจินेट - 0.5% ไคโตซานและบิดแอลจินेट - 1% ไคโตซานมีการปลดปล่อยยา 100% ส่วน บิดแอลจินेट - 0.25% ไคโตซานมีการปลดปล่อยยา 99.33%

การบวมตัวของบีด

บีดมีการบวมตัวเพิ่มขึ้นมากในช่วง 5-10 นาทีแรกโดยมีขนาดเพิ่มขึ้นเกือบ 50 เปอร์เซ็นต์ และหลังจากนั้นขนาดของบีดเริ่มคงที่และไม่มีการบวมตัวอีกต่อไป โดยที่ลักษณะการบวมตัวของบีดแต่ละความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยค่าสัดส่วนการบวมตัวของบีดอยู่ในช่วง 1.37-1.51 โดยที่คุณสมบัติของไคโตซานคือการที่มีรูพรุนนั้น เมื่อโดนกรดจะทำให้รูพรุนขยายทำให้ยาสามารถค่อยๆ ถูกปลดปล่อยออกมาตามรูพรุน



รูปที่ 6 แสดงอัตราการบวมตัวของบีดที่เวลาต่างๆ

สมบัติด้านการยึดเกาะกับเยื่อเมือกของบีดที่เตรียมได้ในกระเพาะหมู

การทดสอบสมบัติด้านการยึดเกาะของเยื่อเมือกของบีดจะแสดงในรูปเปอร์เซ็นต์ของบีดแอลจินेट-ไคโตซานที่ยังคงอยู่บนด้าน gastric mucosa จากตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์ของบีดที่ยังคงอยู่บนกระเพาะหมูด้านเยื่อเมือก โดยพบว่าบีดแอลจินेट - 1% ไคโตซาน มีเปอร์เซ็นต์สูงที่สุด ($82\% \pm 1.5\%$) รองลงมาคือบีดแอลจินेट - 0.5% ไคโตซาน ($80.33\% \pm 2.2\%$) และบีดแอลจินेट - 0.25% ไคโตซาน ($74.33\% \pm 5.0\%$) โดยการที่บีดที่มีเปอร์เซ็นต์ของไคโตซานมากที่สุดสามารถยึดเกาะกับด้านเยื่อเมือกของกระเพาะได้ดีที่สุด สันนิษฐานได้ว่าไคโตซานเป็นตัวช่วยในการยึดเกาะบีดกับ

ผนังด้านเยื่อเมือกของกระเพาะอาหาร เนื่องจากคุณสมบัติความเป็น polycationic polymer ของ ไคโตซานซึ่งจะยึดเกาะกับด้านเยื่อเมือกของกระเพาะอาหารที่มีประจุลบด้วยแรง electrostatic interaction

ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์ของบีดที่ยังคงอยู่บนเยื่อเมือกของกระเพาะอาหาร

บีด	สมบัติด้านการยึดเกาะกับเยื่อเมือก (%)
แอลจินेट - 0.25% ไคโตซาน	74.33 ± 5.0
แอลจินेट - 0.5% ไคโตซาน	80.33 ± 2.2
แอลจินेट - 1% ไคโตซาน	82.33 ± 1.5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การหาลูกประคบที่เหมาะสมในการเตรียมบีดแอลจินेट - ไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ (0.25%, 0.5%, 1% ไคโตซาน) เพื่อใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยยาอะม็อกซิซิลลินในกระเพาะอาหารได้นานและต่อเนื่องเป็นประเด็นสำคัญในการใช้ยาอะม็อกซิซิลลินรักษาโรคแผลในกระเพาะอาหาร เนื่องจากในความเป็นจริงมีรายงานว่ายาปฏิชีวนะ เช่น อิริโทรมัยซินมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดเชื้อ *H. pylori* แต่ให้ผลต่ำกว่าสัตว์ทดลอง (*in vivo*) โดยที่เหตุผลหนึ่งเนื่องมาจากการไม่คงตัวของยาอิริโทรมัยซินในสภาวะที่เป็นกรด [10] ส่วนอะม็อกซิซิลลินก็มีรายงานเช่นกันว่าไม่คงตัวที่ pH ต่ำกว่า 2 [11-13] และสามารถถูกดูดซึมได้อย่างรวดเร็วดังนั้นจึงทำให้มีระยะเวลาคงตัวในกระเพาะสั้น [4] แต่เมื่อเตรียมอะม็อกซิซิลลินในรูปของบีดพบว่าอะม็อกซิซิลลินที่ถูกกักเก็บอยู่ในบีดจะคงตัวและสามารถคงตัวอยู่ในกระเพาะอาหารได้นานขึ้น [5]

จากการศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่าบีดแอลจินेट - ไคโตซาน ทั้ง 3 ความเข้มข้น มีพื้นที่ผิวขรุขระและรอยหยักมาก ซึ่งลักษณะขรุขระของเม็ดบีดนี้จะมีผลต่อการยึดเกาะระหว่างบีดกับผนังด้าน mucosa ของกระเพาะอาหารโดยการที่เม็ดบีดมีพื้นที่ผิวขรุขระจะทำให้เม็ดบีดเกาะติดกับเยื่อเมือกในกระเพาะอาหารได้ดีโดยที่เปอร์เซ็นต์ไคโตซานที่สูงขึ้นจะมีคุณสมบัติการยึดเกาะกับเยื่อเมือกกระเพาะอาหารดีขึ้น เนื่องจากเยื่อเมือกกระเพาะอาหารมีลักษณะเป็นประจุลบและสามารถดึงดูดกับสารที่เป็นประจุบวกได้ดี [14, 15] และเมื่อตัดตามขวางเพื่อดูลักษณะโครงสร้างภายในของเม็ดบีดก็พบว่าโครงสร้างภายในมีการอัดแน่นและก็มีรอยแตกอยู่บ้าง ซึ่งการที่เม็ดบีดมีรอยแตกเนื่องจากวิธีการทำให้บีดแห้งโดยวิธี air-dried ทำให้หน้าค่อยๆ แพร่ออกมาเป็นสาเหตุทำให้เม็ดบีดแตก

ประสิทธิภาพในการกักเก็บยาของเม็ดบีดจะสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไคโตซานเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการ cross-link ระหว่างหมู่คาร์บอกซิเลตของแอลจินेटกับหมู่เอมีนของไคโตซานซึ่งจะมีผลทำให้ลดการสูญเสียยาอะม็อกซิซิลลินในขณะที่เตรียมบีดและความหนาแน่นที่พื้นผิวของบีดก็

เกิดจากการเชื่อมกันด้วยพันธะไอออนิกของแอลจินेटและไคโตซาน [16] ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการกักเก็บยาของบีดทั้ง 3 ความเข้มข้นไม่แตกต่างกัน

จากการศึกษาการบวมตัวของบีดพบว่าบีดมีการบวมตัว 50 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงแรกหลังจากนั้นขนาดของเม็ดบีดจะคงที่และการบวมตัวไม่แตกต่างกัน 3 ความเข้มข้น เมื่อแช่บีดไว้ในสารละลายกรดเป็นเวลา 24 ชั่วโมงก็จะพบว่าบีดจะไม่มีการแตกออก ซึ่งการที่บีดไม่มีการแตกออกชี้ให้เห็นว่าบีดมีการปลดปล่อยยาออกมาโดยการแพร่

การปลดปล่อยยาอะม็อกซิซิลลินจากบีดแอลจินेट - ไคโตซานพบว่าบีดแอลจินेट - 0.5% ไคโตซาน สามารถหน่วงการปลดปล่อยยาได้มากที่สุดรองลงมาคือบีด 0.25% ไคโตซาน และบีด 1% ไคโตซาน การปลดปล่อยยาของบีดทั้ง 3 ความเข้มข้นมีการปลดปล่อยยาอย่างสม่ำเสมอและต่อเนื่องตลอดเวลาที่ทำการทดลอง โดยทั้ง 3 ความเข้มข้นมีการปลดปล่อยยาอย่างรวดเร็วในช่วงแรกเนื่องจากปรากฏการ burst effect ที่มีการปลดปล่อยยาออกจากยาที่ถูกกักเก็บไว้ที่ผิวของบีด [17] ซึ่งจะให้มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ *H. pylori* [5, 15] การที่บีดแอลจินेट - 0.5% ไคโตซาน สามารถหน่วงการปลดปล่อยยาได้มากที่สุดแสดงให้เห็นว่ามีการ cross-link ระหว่างหมู่คาร์บอกซิเลตของแอลจินेटกับหมู่เอมีนของไคโตซานหนาแน่นมากซึ่งจะทำให้เกิดรูที่มีขนาดเล็กมากบนผิวของเม็ดบีดจึงทำให้บีดค่อยๆ ปลดปล่อยยาออกมา แสดงให้เห็นว่าบีดแอลจินेट - ไคโตซาน 0.5% มีคุณสมบัติในด้านการปลดปล่อยยาที่ดีคือมีการค่อยๆ ปลดปล่อยยาออกมาอย่างต่อเนื่องและสม่ำเสมอ ถึงแม้ว่าบีดแอลจินेट - 1% ไคโตซานมีปริมาณไคโตซานที่สูงกว่า แต่จากผลของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าบีดแอลจินेट - 1% ไคโตซานมีรอยแตกภายในบีดมากกว่าบีดแอลจินेट - 0.5% ไคโตซานและบีดแอลจินेट - 0.25% ไคโตซานทำให้ยาปลดปล่อยออกมาได้อย่างรวดเร็วจึงไม่สามารถหน่วงการปลดปล่อยยาได้ ดังนั้นเมื่อพิจารณาคุณสมบัติในด้านต่างๆ ของบีดพบว่าบีดแอลจินेट - 0.5% ไคโตซาน เป็นบีดที่ดีที่สุดในการนำมาใช้เป็นระบบนำส่งยาเนื่องจากบีดสามารถเกาะกับเยื่อเมือกได้ดีทำให้คงอยู่ในกระเพาะอาหารได้นาน การที่บีดไม่แตกออกจะทำให้เพิ่มระยะเวลาคงตัวของยาในกระเพาะอาหารและการปลดปล่อยยาอย่างช้าๆ และต่อเนื่องทำให้มีปริมาณยาที่ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *H. pylori* ที่กระเพาะอาหารได้เหมาะสมในช่วงเวลาที่ต้องการและสามารถลดจำนวนครั้งและปริมาณยาที่ต้องรับประทานเพื่อรักษาโรคได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากทุนวิจัยงบประมาณรายได้คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประจำปี 2548

เอกสารอ้างอิง

1. Lee, D. 2006. *Helicobacter pylori*. Available from URL: http://www.medicinenet.com/helicobacter_pylori/article.htm. 1 December 2006.
2. พิศาล ไม้เรียง. 2541. ฆ่าเชื้อวิธีกำราบโรคกระเพาะให้หายขาด. ได้จาก <http://www.geocities.com/tokyo/harbor/2093/doctors/med-pu1.html>. 1 ธันวาคม 2549.

3. Atherton, J. C., Cockayne, A., Balsitis, M., Kirk, G. E., Hamley, C. J. and Spiller, R. C. 1995. Detection of Intra-gastric Sites at which *Helicobacter pylori* Evades Treatment with Amoxicillin and Cimetidine. *Gut* 36: 670-674.
4. Cooreman, M. P., Krausgrill, P. and Hengels, K. J. 1993. Local Gastric and Serum Amoxicillin Concentrations after Different Oral Application Form. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 37: 1506-1509.
5. Liu, Z., Lu, W., Qian, L., Zhang, X., Zeng, P. and Pan, J. 2005. *In vitro* and *in vivo* Studies on Mucoadhesive Microspheres of Amoxicillin. *Journal of Controlled Release* 102: 135-144.
6. Huguet, M. L., Neufeld, R. J. and Dellacherie, E. 1996. Calcium-Alginate Beads Coated with Polycationic Polymers: Comparison of Chitosan and DEAE-Dextran. *Process Biochemistry*. 31: 347-353.
7. Almeida, P. F. and Almeida, A. J. 2004. Cross-Linked Alginate-Gelatin Beads: A New Matrix for Controlled Release of Pindolol. *Journal of Controlled Release* 97: 431-439.
8. He, P., Davis, S. S. and Illum, L. 1998. *In vitro* Evaluation of the Mucoadhesive Properties of Chitosan Microspheres. *International Journal of Pharmaceutics* 166: 75-88.
9. Shu, X. Z. and Zhu, K. J. 2002. Controlled Drug Release Properties of Ionically Cross-Link Chitosan Beads: Influence of Anion Structure. *International Journal of Pharmaceutics* 233: 217-225.
10. Ogwal, S. and Xide, T. U. 2001. Bioavailability and Stability of Erythromycin Delayed Release Tablets. *African Health Sciences* 2: 90-96.
11. Chadha, R., Kashid, N. and Jain, D. V. 2003. Kinetic Studies of the Degradation of an Aminopenicillin Antibiotic (Amoxicillin Trihydrate) in Aqueous Solution Using Heat Conduction Microcalorimetry. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology* 55 (11): 1495-1503.
12. Erah, P. O., Goddard, A. F., Barrett, D. A., Shaw, P. N. and Spiller, R. C. 1997. The Stability of Amoxicillin, Clarithromycin and Metronidazole in Gastric Juice: Relevance to the Treatment of *Helicobacter pylori* Infection. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 39 (1): 5-12.
13. Mascher, H. J. 1998. Determination of Amoxicillin in Human Serum and Plasma by High-Performance Liquid Chromatography and On-Line Post Column Derivatisation. *Journal of Chromatography A* 812: 221-226.

14. Gershanik, T., Benzeno, S. and Benita, S. 1998. Interaction of a Self-Emulsifying Lipid Drug Delivery System with the Everted Rat Intestinal Mucosa as Function of Droplet Size and Surface Charge. *Pharmaceutical Research* 15: 863-869.
15. Jubeh, T., Barenholz, Y. and Rubinstein, A. 2004. Differential Adhesion of Normal and Inflamed Rat Colonic Mucosa by Charged Liposomes. *Pharmaceutical Research* 21: 447-453.
16. Steven, W. 2005. Chitosan-Alginate Multilayer Beads for Controlled Release of Ampicillin. *International Journal of Pharmaceutics* 290: 45-54.
17. Whitehead, L., Collett, J. H. and Fell, J. T. 2002. Amoxicillin Release from a Floating Dosage Form Based on Alginates. *International Journal of Pharmaceutics* 210: 45-49.

ได้รับบทความวันที่ 29 มีนาคม 2550

ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 21 พฤษภาคม 2550