สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร แบบ สว.วด 3

แบบรายงานผลความก้าวหน้าโครงการวิจัย รอบ 6 เดือน

1. ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) การหาสูตรตำรับที่เหมาะสมที่สุดของสารสกัดพริกบรรจุในตัวพาชนิดใหม่: ลิโพโซม ไมโครอิมัลชัน อนุภาคนาโนชนิดไขมันแข็ง เพื่อเพิ่มการนำส่งทางผิวหนัง

(ภาษาอังกฤษ) Optimization of capsaicin extract loaded in novel colloidal carriers: liposomes, microemulsions, solid lipid nanoparticles for transdermal delivery enhancement

2. รายนามคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ นายธนะเศรษฐ์ ง้าวหิรัญพัฒน์ (สัดส่วนที่ทำวิจัย 50%)
Mr.TANASAIT NGAWHIRUNPAT
ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
เลขที่ 6 ถ.ราชมรรคาใน อ.เมือง จ.นครปฐม 73000
โทรศัพท์ 0-3425-5800 โทรสาร 0-3425-5801
Email: ngawhirunpan.t@su.ac.th

ผู้ร่วมวิจัย นางสาวปราณีต โอปณะโสภิต (สัดส่วนที่ทำวิจัย 30%)
Miss PRANEET OPANASOPIT
ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
เลขที่ 6 ถ.ราชมรรคาใน อ.เมือง จ.นครปฐม 73000
โทรศัพท์ 0-3425-5800 โทรสาร 0-3425-5801
Email: opanasopit.p@su.ac.th

ผู้ร่วมวิจัย นางสาวสุรีวัลย์ ดวงจิตต์ (สัดส่วนที่ทำวิจัย 20%)
Miss SUREEWAN DUANGJIT
กลุ่มวิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
เลขที่ 85 ถ.สถลมาร์ค อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190
โทรศัพท์ 0-4535-3632 โทรสาร 0-4535-3626
Email: sureewan.d@ubu.ac.th

3. ได้รับอนุมัติจัดสรรงบประมาณของหน่วยงานประจำปี 2558 จำนวนเงิน 731,600 บาท (เป็นปีแรกของงบประมาณ 2 ปี)

4. เริ่มทำการวิจัยเมื่อ 16 มีนาคม 2558 ถึง 15 มีนาคม 2559

5. รายงานผลครั้งที่ 1: 16 มีนาคม 2558 ถึง 15 กันยายน 2558 (6 เดือน)
   รายงานผลครั้งที่ 2: 15 กันยายน 2558 ถึง 15 กันยายน 2559 (12 เดือน)

6. งบประมาณที่ได้รับ และใช้จ่ายไปแล้วนับตั้งแต่เริ่มดำเนินการ
   งบประมาณที่ได้รับ 731,600 บาท และใช้จ่ายไป = 331,600 บาท

7. รายละเอียดเกี่ยวกับผลงานความก้าวหน้าของการวิจัย

7.1 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1) เพื่อพัฒนาสูตรตำรับที่เป็นตัวพาชนิดใหม่สำหรับบรรจุสารสกัดพริก ได้แก่ ลิโพโซม ไมโครอิมัลชัน และอนุภาคนาโนชนิดไขมันแข็ง โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ช่วยคำนวณหาสูตรตำรับที่เหมาะสมที่สุด

2) เพื่อประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี (ได้แก่ ขนาด ประจุ การนำไฟฟ้า ความเป็นกรดด่าง ความสามารถในการกักเก็บยา) การปลดปล่อยตัวยา และความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังของสูตรตำรับที่เป็นตัวพาชนิดใหม่สำหรับบรรจุสารสกัดพริก

3) เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังของสูตรตำรับที่เป็นตัวพาชนิดใหม่สำหรับนำส่งสารสกัดพริกทางผิวหนังได้อย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสมที่สุด

ได้ดำเนินงานตามวัตถุประสงค์ที่กำหนด

7.2 การดำเนินงานวิจัยตามที่เสนอไว้ในโครงการวิจัยกับงานวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้วพร้อมหลักฐานหรือข้อมูลแสดงประกอบ

กิจกรรมที่วางแผนไว้

เดือนที่ 1-6

- รวบรวมข้อมูลและจัดซื้อสารเคมี
- การศึกษาก่อนตั้งตำรับไมโครอิมัลชัน ลิโพโซม และอนุภาคนาโนชนิดไขมันแข็งด้วยวิธีการทดลองจริง เพื่อหาความเข้มข้นสูงสุดและต่ำสุดของสารช่วยในตำรับ
- เตรียมสูตรตำรับไมโครอิมัลชันและการศึกษาคุณลักษณะต่างๆ ของไมโครอิมัลชัน ได้แก่ ขนาด การกระจายขนาด ประจุ การนำไฟฟ้า การกักเก็บยา ความเป็นกรดด่าง ความสามารถในการกักเก็บยา และการซึมผ่านผิวหนัง

รายละเอียดกิจกรรม	ความก้าวหน้าของโครงการ / เดือน											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.รวบรวมข้อมูลและจัดซื้อสารเคมี	←——→											
	←- - - -

3.2 เตรียมสูตรตำรับไมโครอิมัลชันเพื่อใช้เป็นสูตรตำรับต้นแบบ (model formulation) สำหรับการหาสูตรตำรับที่เหมาะสมที่สุด (optimal microemulsions)

เปรียบเทียบแผนภาพวัฏภาคตติยภูมิที่สัดส่วน 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:1
เพื่อหาระบบของผสมที่ให้พื้นที่ระบบไมโครอิมัลชันกว้างที่สุด

↓

ใช้โปรแกรม Design Expert เพื่อกำหนดสัดส่วน
น้ำมัน: น้ำ: สารผสมสารลดแรงตึงผิว สำหรับเป็นสูตรตำรับต้นแบบ

↓

ชั่งและผสมน้ำมัน น้ำและสารผสมสารลดแรงตึงผิวตามสูตรตำรับต้นแบบ และเติม
0.15% capsaicin ลงในระบบโครอิมัลชันทุกระบบ

↓

ปั่นของผสมตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมงในสภาวะอุณหภูมิห้องและป้องกันแสง

4. การศึกษาคุณลักษณะต่าง ๆ ของไมโครอิมัลชัน

4.1 การวัดขนาด การกระจายขนาด และประจุของไมโครอิมัลชัน

ปิเปตสูตรตำรับไมโครอิมัลชัน 900 ไมโครลิตรและบรรจุลงใน cuvette
สำหรับวัดขนาดและประจุ (ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ)

↓

นำ cuvette ใส่ลงในช่องสำหรับวางตัวอย่างและวัดค่าขนาด การกระจายขนาด
และประจุ ด้วยเครื่อง Zetasizer Nano Series

↓

อ่านค่าและบันทึกผล

↓

ทำการวัดซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง ในแต่ละตัวอย่าง

4.2 การวัดค่าการนำไฟฟ้า

ปิเปตสูตรตำรับไมโครอิมัลชันอย่างน้อย 1000 ไมโครลิตร
บรรจุลงในช่องสำหรับใส่ตัวอย่างของเครื่อง conductivity meter

↓

อ่านค่าและบันทึกผล

↓

ทำการวัดซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง ในแต่ละตัวอย่าง

4.3 การวัดค่าความเป็นกรดด่าง

ปิเปตสูตรตำรับไมโครอิมัลชันอย่างน้อย 1000 ไมโครลิตร
บรรจุลงในช่องสำหรับใส่ตัวอย่างของเครื่อง pH meter

↓

อ่านค่าและบันทึกผล

↓

ทำการวัดซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง ในแต่ละตัวอย่าง

4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณยาที่กักเก็บในตำรับ

ผสมไมโครอิมัลชันและ methanol ในสัดส่วน 1:1

↓

นำของผสมไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm
อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

↓

นำสารละลายส่วนใสด้านบนไปกรองด้วย syringe filer
ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

↓

นำตัวอย่างที่ได้วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC
(Ultra-performance liquid chromatography)

4.5 การศึกษาการซึมผ่านทางผิวหนัง

วางผิวหนังต้นแบบระหว่างเซลล์ศึกษาการซึมผ่าน
ด้านให้ (donor chamber) และด้านรับ (receiver chamber)

↓

เตรียมระบบเซลล์ศึกษาการซึมผ่านโดยมีอ่างควบคุม

อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

↓

ปิเปตไมโครอิมัลชัน 2 กรัมลงในเซลล์ซึมผ่านด้านให้ และ

↓

เติมสารละลายตัวรับ (receiver medium) ที่เป็น phosphate buffer pH 7.4
ปริมาตร 6 มิลลิลิตรลงในในเซลล์ซึมผ่านด้านรับ

↓

สุ่มตัวอย่างตัวยาที่ซึมผ่านผิวหนังออกสู่สารละลายตัวรับจำนวน 0.7 มิลลิลิตร
ทุก 1 ชั่วโมง เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

↓

นำตัวอย่างที่ได้วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC

↓

คำนวณและนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณยาสะสมที่ซึม
ผ่านผิวหนังต่อหน่วยพื้นที่ (แกน Y) กับเวลา (แกน X)

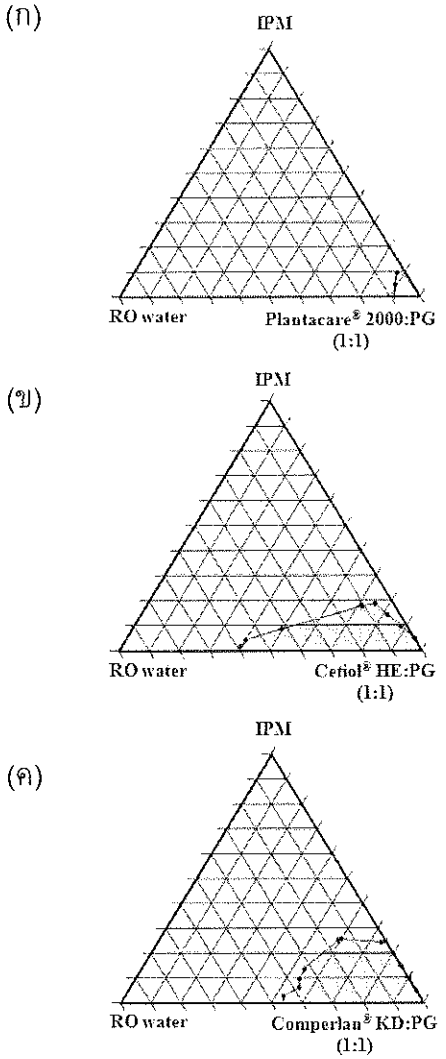
ผลการทดลอง

1. การศึกษาก่อนตั้งตำรับไมโครอิมัลชัน ลิโพโซม และอนุภาคนาโนชนิดไขมันแข็ง

1.1 สร้างแผนภาพวัฏภาคตติยภูมิ (ternary phase diagram)

1.1.1 การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการระบบไมโครอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิว

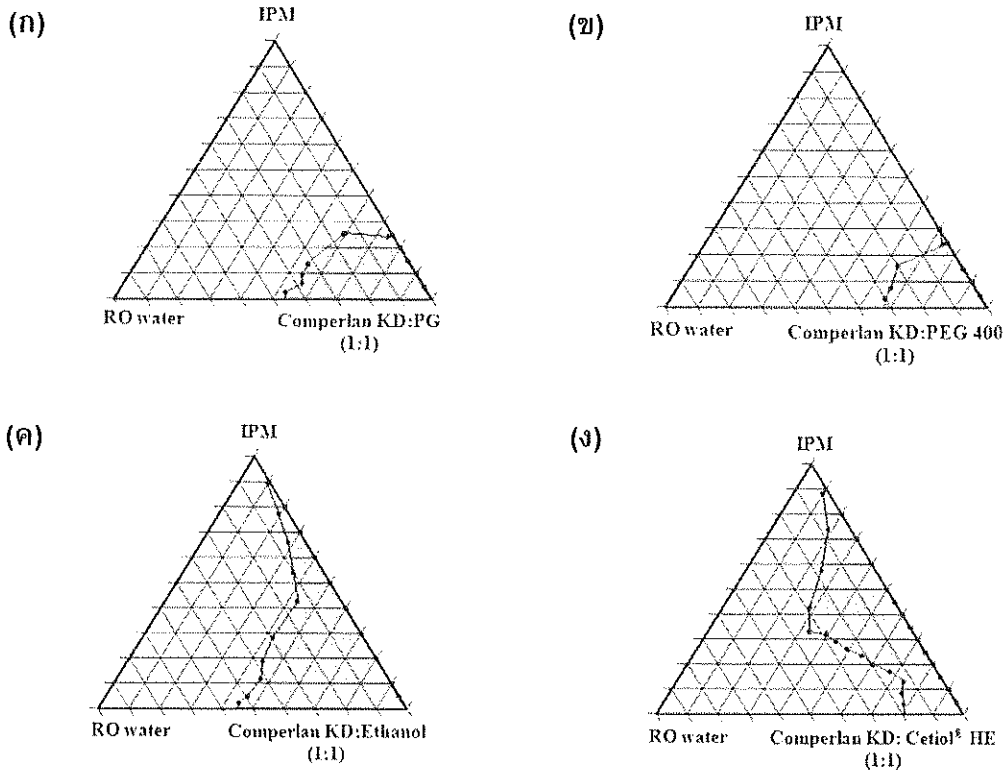
การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเกิดระบบไมโครอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิว ได้แก่ Plantacare® 2000, Cetiol®HE และ Comperlan® KD พบว่า Comperlan® KD มีความสามารถในการเกิดระบบไมโครอิมัลชันดีที่สุด โดยพิจารณาจากพื้นที่แผนภาพวัฏภาคตติยภูมิที่มีพื้นที่มากที่สุด ดังนั้นจึงเลือก Comperlan® KD เพื่อทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 1 แผนภาพวัฏภาคตติยภูมิของสารลดแรงตึงผิว (ก) Plantacare® 2000, (ข) Cetiol®HE และ (ค) Comperlan® KD

1.1.2 การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการระบบไมโครอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวร่วม

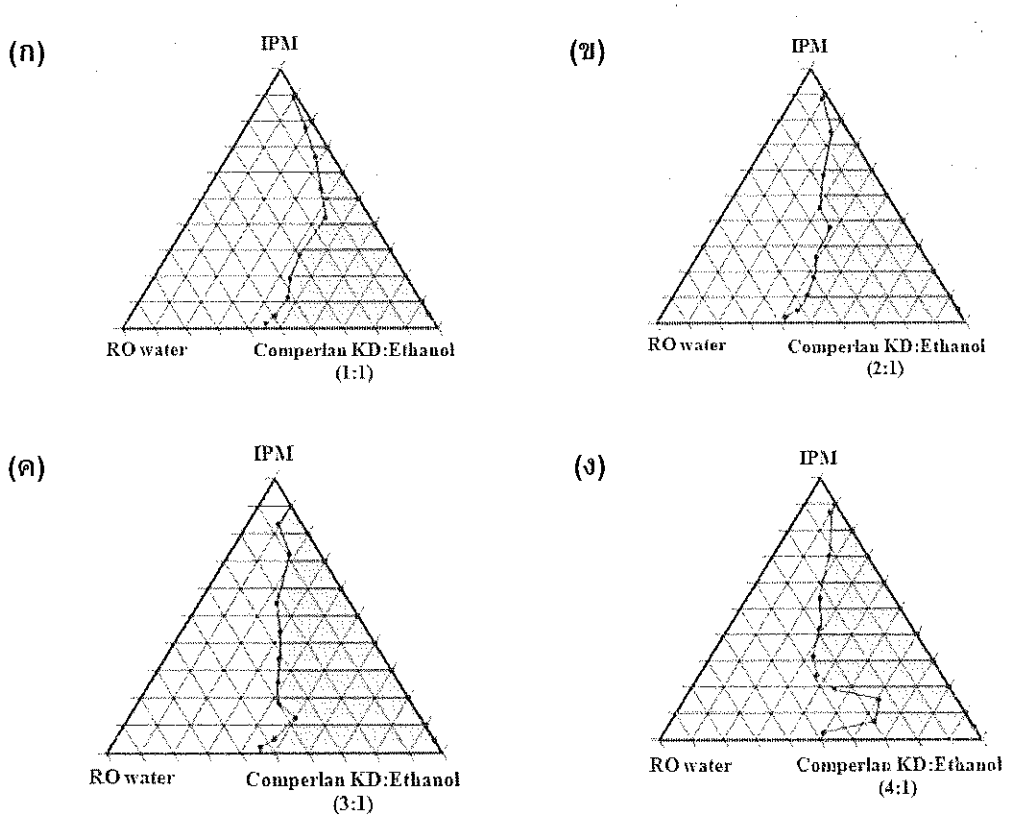
การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเกิดระบบไมโครอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวร่วมได้แก่ propylene glycol (PG), polyethylene glycol (PEG 400), Ethanol และ Cetiol® HE พบว่า Ethanol มีความสามารถในการเกิดระบบไมโครอิมัลชันดีที่สุด โดยพิจารณาจากพื้นที่แผนภาพวัฏภาคติยภูมิที่มีพื้นที่มากที่สุด ดังนั้นจึงเลือก Ethanol เพื่อทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 2 แผนภาพวัฏภาคติยภูมิของสารลดแรงตึงผิวร่วม (ก) propylene glycol (PG), (ข) polyethylene glycol (PEG 400), (ค) Ethanol และ (ง) Cetiol® HE

1.1.3 การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการระบบไมโครอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมที่สัดส่วนต่างๆ

การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการเกิดระบบไมโครอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมที่สัดส่วนต่างๆ ดังนี้ 1:1, 2:1, 3:1 และ 4:1 พบว่า สัดส่วน 2:1 มีความสามารถในการเกิดระบบไมโครอิมัลชันดีที่สุด โดยพิจารณาจากพื้นที่แผนภาพวัฏภาคตติยภูมิที่มีพื้นที่มากที่สุด ดังนั้นจึงเลือกไมโครอิมัลชันที่มีสัดส่วนของสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วม (2:1) เพื่อทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 3 แผนภาพวัฏภาคตติยภูมิของสารลดแรงตึงผิวและสารลดแรงตึงผิวร่วมที่สัดส่วนต่างๆ (ก) 1:1 (ข) 2:1 (ค) 3:1 และ (ง) 4:1

1.2 เตรียมสูตรตำรับไมโครอิมัลชันเพื่อใช้เป็นสูตรตำรับต้นแบบ (model formulation)

จากการศึกษาก่อนการตั้งตำรับพบว่า สูตรตำรับที่คำนวณได้จากโปรแกรมคอมพิวเตอร์เป็นดังนี้

ตารางที่ 1 สูตรตำรับต้นแบบของไมโครอิมัลชัน

สูตรตำรับ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
น้ำมัน (%)	40	30	20	10	20	20	20	20	30	50	60
สารลดแรงตึงผิว (%)	50	50	50	50	45	55	65	70	60	40	30
น้ำ (%)	10	20	30	40	35	25	15	10	10	10	10

2. การศึกษาคุณลักษณะต่าง ๆ ของไมโครอิมัลชัน

2.1 การวัดขนาด การกระจายขนาด การนำไฟฟ้า และความเป็นกรดด่าง

พบว่าค่าขนาด การกระจายขนาด การนำไฟฟ้า ดวามเป็นกรดด่างของไมโคอิมัลชันต้นแบบแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าขนาด การกระจายขนาด การนำไฟฟ้า ดวามเป็นกรดด่างของไมโคอิมัลชันต้นแบบ

สูตรตำรับ	ขนาด	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	การกระจายขนาด	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	การนำไฟฟ้า	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ดวามเป็นกรดด่าง	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
1	25.66	0.49	0.32	0.10	39.20	0.20	10.32	0.01
2	17.20	0.64	0.13	0.04	106.30	0.20	9.97	0.01
3	14.52	0.76	0.23	0.02	201.00	1.00	9.84	0.00
4	18.30	1.35	0.47	0.09	288.33	0.58	9.83	0.01
5	13.81	0.45	0.19	0.02	210.00	2.00	9.83	0.01
6	25.55	0.85	0.18	0.06	134.57	0.70	10.00	0.01
7	19.19	5.32	0.08	0.01	67.40	0.20	10.22	0.01
8	22.79	2.83	0.09	0.02	41.80	0.26	10.41	0.01
9	15.76	1.53	0.25	0.12	36.07	0.12	10.42	0.01
10	26.20	1.51	0.45	0.05	23.07	0.21	10.26	0.01
11	24.18	1.71	0.36	0.09	18.44	0.06	10.11	0.01

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณยาที่กักเก็บในตำรับ

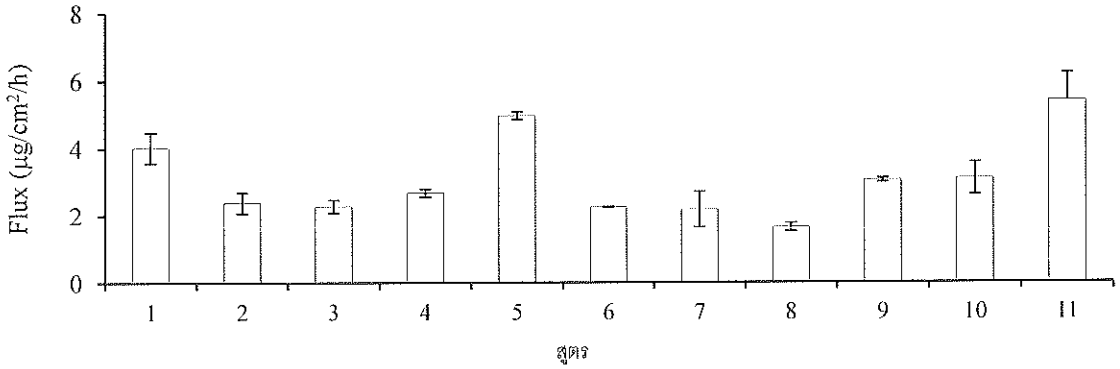
พบว่าค่าขนาด การกระจายขนาด การนำไฟฟ้า ดวามเป็นกรดด่างของไมโคอิมัลชันต้นแบบแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3

สูตรตำรับ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ค่าเฉลี่ยปริมาณยาในตำรับ	1.55	1.60	1.61	1.69	1.55	1.54	1.52	1.51	1.52	1.49	1.49
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.0021	0.0047	0.0137	0.0032	0.0067	0.0220	0.0026	0.0120	0.0098	0.0103	0.0103

2.3 การศึกษาการซึมผ่านทางผิวหนัง

การศึกษาการซึมผ่านทางผิวหนังของไมโครอิมัลชันต้นแบบแสดงดังรูปที่ 4 พบว่า สูตรตำรับที่มีความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังได้ดีที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ สูตรตำรับที่ 11 สูตรตำรับที่ 5 และ สูตรตำรับที่ 1 ตามลำดับ



รูปที่ 4 ความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังของสูตรตำรับไมโครอิมัลชันต้นแบบ

7.3 รายละเอียดเพิ่มเติมของการวิจัยที่ได้ดำเนินการไปแล้ว โดยให้แนบบทความเกี่ยวกับผลงานความก้าวหน้าทางวิชาการของแผนงานวิจัยหรือชุดโครงการวิจัยระหว่างดำเนินการที่เคยพิมพ์ในวารสารทาง วิชาการแล้ว หรือบทความที่จะนำเผยแพร่ทางสื่อมวลชนได้) (ถ้ามี)

Sureewan Duangjit, Wisuta Chairat, Praneet Opanasopit, Theerasak Rojanarata, Tanasait Ngawhirunpat. Application of Design Expert for the investigation of capsaicin-loaded microemulsions for transdermal delivery. Pharmaceutical Development and Technology (2015). Accepted manuscript.

7.4 ข้อค้นพบใหม่/สิ่งที่เกิดขึ้นใหม่โดยไม่คาดหมายระหว่างดำเนินการวิจัย

ไม่มี

7.5 ปัญหาและอุปสรรคของการบริหารจัดการที่เกิดขึ้นระหว่างดำเนินการวิจัย

ไม่มี

7.6 งานตามแผนงานวิจัยที่จะทำต่อไป

- การออกแบบและพัฒนาสูตรตำรับลิโพโซมและการศึกษาคุณลักษณะของลิโพโซม

7.7 อื่นๆ โปรดระบุ ไม่มี

(ลายเซ็น).....

(รองศาสตราจารย์ ดร. ธนะเศรษฐ์ ง้าวหิรัญพัฒน์)

หัวหน้าโครงการวิจัย

วันที่ 3 เดือน กันยายน พ.ศ. 2558