



การพัฒนาโคลloidไมโครพาร์ติเคิลสำหรับยาหยอดหู
DEVELOPMENT OF CLOTRIMAZOLE MICROPARTICLES
FOR OTIC PREPARATION



สายสุนีย์ รัตนกรุณา

การพัฒนาโคลไตรมาไซลไมโครพาร์ทิเคิลสำหรับยาหยอดหู



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

DEVELOPMENT OF CLOTRIMAZOLE MICROPARTICLES
FOR OTIC PREPARATION



SAISUNEE RATTANAKARUNA

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF SCIENCE
(Pharmaceutical Product Development)
Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University

2021

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์
เรื่อง
การพัฒนาโคลไตรมาโซลไมโครพาร์ติเคิลสำหรับยาหยอดหู
ของ
สายสุนีย์ รัตนกรุณา

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการเภสัชภัณฑ์
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภิมิน ตันวิเชียร)	(รองศาสตราจารย์ ดร.ชุติมา จิตตสุโข)
..... ที่ปรึกษาร่วม กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ดวงรัตน์ ชูวิสิฐกุล)	(อาจารย์ ดร.วิภาพร เสรีเด่นชัย)

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาโคไลไตรมาไซลไมโครพาร์ทิเคิลสำหรับยาหยอดหู
ผู้วิจัย	สายสุนีย์ รัตนกรณา
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2564
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภิมัน ตันวิเชียร
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร. ดวงรัตน์ ชูวิสิษฐกุล

ในปัจจุบันการรักษาเชื้อราในช่องหูด้วยโคไลไตรมาไซลในรูปแบบยาหยอดหูจำเป็นต้องให้ยาบ่อยและเป็นเวลานาน การพัฒนายาในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิลสามารถปลดปล่อยแบบเน้นเพื่อลดความถี่ในการใช้ได้ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาตำรับโคไลไตรมาไซลไมโครพาร์ทิเคิลโดยใช้ poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) เป็นพอลิเมอร์ และเติมสารช่วยทางเภสัชกรรม ได้แก่ poly(ethylene glycol) (PEG) 400, propylene glycol (PG) ลงในวัฏภาคภายในและเติม sodium chloride (NaCl) ลงในวัฏภาคภายนอก เตรียมไมโครพาร์ทิเคิลโดยใช้เทคนิค single emulsion solvent evaporation จากการศึกษาขนาดของไมโครพาร์ทิเคิล พบว่าพาร์ทิเคิลทุกตำรับมีขนาดเฉลี่ยไม่เกิน 10 ไมโครเมตร มีรูปร่างกลม มีรูพรุนบนพื้นผิวและมีผลึกของโคไลไตรมาไซลที่ไม่ถูกกักเก็บเกาะอยู่บนพื้นผิวของอนุภาค การเติม PEG 400 และ PG ลงในวัฏภาคภายในมีแนวโน้มทำให้ผลึกบริเวณพื้นผิวของโคไลไตรมาไซลลดลง ประสิทธิภาพการกักเก็บและร้อยละการบรรจุยาเพิ่มขึ้น ไมโครพาร์ทิเคิลปลดปล่อยยาได้สม่ำเสมอมากขึ้น และการเติม NaCl ลงในวัฏภาคภายนอก ส่งผลให้ประสิทธิภาพการกักเก็บและร้อยละการบรรจุยาเพิ่มขึ้นเช่นกัน ความเป็นรูพรุนของพื้นผิวลดลง ลดการเกิด initial burst release ได้ เมื่อเปรียบเทียบการปลดปล่อยยาในตัวกลางการละลายที่จำลองสภาวะสารขบน้ำมันในช่องหู พบการละลายที่ต่ำมากเนื่องจากปริมาณน้ำในตัวกลางการละลายต่ำ จึงทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราด้วยวิธี agar well diffusion พบปลดปล่อยยาแบบออกฤทธิ์เนิ่น และตำรับไมโครพาร์ทิเคิลสามารถต้านเชื้อราได้ดี ดังนั้นไมโครพาร์ทิเคิลบรรจุโคไลไตรมาไซล จะมีสมบัติดีขึ้นเมื่อเตรียมโดยใช้ NaCl เติมลงในวัฏภาคภายนอก และเติม PEG400 หรือ PG ผสมใน PLGA สามารถนำไมโครพาร์ทิเคิลไปพัฒนาต่อยอดเพื่อการรักษาการติดเชื้อราในช่องหูได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : โคไลไตรมาไซล, ไมโครพาร์ทิเคิล, พอลิ(แลคไทด์-โค-ไกลโคไลด์)

Title	DEVELOPMENT OF CLOTRIMAZOLE MICROPARTICLES FOR OTIC PREPARATION
Author	SAISUNEE RATTANAKARUNA
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2021
Thesis Advisor	Sujimon Tunvichien , Ph.D.
Co Advisor	Duangratana Shuwisitkul

The treatment of ear infection with clotrimazole ear drops requires frequent administration. The development of microparticles can help control drug release to reduce the frequency of drug use. This research aims to develop clotrimazole microparticles using poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) as a carrier. Poly (ethylene glycol) (PEG) 400 and propylene glycol (PG) were added to the internal phase and sodium chloride (NaCl) was added to the external phase to study the effects of excipients. Microparticles were prepared using a single emulsion solvent evaporation. All obtained microparticle size was less than 10 μm and spherical in shape. The surfaces were porous and there were unincorporated clotrimazole crystals on the surfaces. The addition of PEG 400 and PG decreased crystalline clotrimazole on the surface and increased encapsulation efficiency and drug loading. Microparticles with PEG 400 and PG consistently released the drug. When adding NaCl in the external phase, the encapsulation efficiency and drug loading were also increased. The porous surface of the microparticles was reduced, thus decreasing the initial burst release. The drug release varied in dissolution media that simulates an ear fluid-like environment was compared. The very low release was found due to low water content in the media. Therefore, antifungal activity was confirmed by the agar well diffusion method. The microparticles showed good antifungal activity and sustained drug release. In conclusion, antifungal microparticles containing clotrimazole were successfully obtained. The properties were improved when adding NaCl in the external phase and adding PEG400 or PG to PLGA. The microparticles could be further developed for the effective treatment of fungal infections in the ear.

Keyword : PLGA, Clotrimazole, microparticle

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความกรุณาอย่างยิ่งจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิน ตันวิเชียร อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และอาจารย์ ดร.ดวงรัตน์ ชูวิสิษฐกุล ที่ให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษาพร้อม ซึ่งทุกท่านได้เสียสละเวลาให้คำแนะนำ ชี้แนะ รวมถึงดูแลเอาใจใส่ในการดำเนินการวิจัยทุกขั้นตอน นับตั้งแต่เริ่มดำเนินการจนสำเร็จเป็นปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัวทุกท่านที่ให้การสนับสนุนทางการศึกษาและให้คำแนะนำ รวมทั้งเป็นกำลังใจแก่ผู้วิจัยมาโดยตลอดจนสำเร็จการศึกษา

สายสุนีย์ รัตนกรุณา



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง	1
ความมุ่งหมายของงานวิจัย.....	2
ความสำคัญของงานวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ตัวแปรที่ศึกษา.....	2
กรอบแนวคิดในงานวิจัย.....	3
สมมุติฐาน.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
อวัยวะ “หู”	5
โครงสร้างและหน้าที่ของหู.....	5
การรักษา.....	7
โคลไตรมาโซล (Clotrimazole)	8
ไมโครพาร์ติเคิล (Microparticles).....	9

PLGA-based microparticles	10
การเตรียมไมโครพาร์ติเคิล	11
ปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพของไมโครพาร์ติเคิล.....	11
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	15
อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	15
สารเคมีที่ใช้.....	16
วิธีการทดลอง	17
1. การเตรียม PLGA ไมโครพาร์ติเคิล	17
2. การศึกษาขนาดและรูปร่างของไมโครพาร์ติเคิล	18
3. การหาปริมาณยาโคลไตรมาโซลด้วย UV-Vis spectroscopy.....	18
4. การหาปริมาณยาโคลไตรมาโซลด้วยวิธี HPLC.....	19
5. การประเมินประสิทธิภาพการกักเก็บยา (Encapsulation Efficiency; %EE) และร้อยละการบรรจุยา (Drug Loading; %DL)	19
6. การศึกษาประสิทธิภาพในการยึดเกาะกับผิวหนัง (bioadhesiveness)	20
7. ศึกษาการปลดปล่อยยาโคลไตรมาโซลออกจากไมโครพาร์ติเคิลในตัวอย่าง phosphate buffer, emulsion และ ointment	21
8. การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ <i>C. albicans</i> ด้วย Agar well diffusion	21
บทที่ 4 ผลและอภิปรายผลการทดลอง.....	23
การศึกษาขนาดและรูปร่างของไมโครพาร์ติเคิล.....	23
การประเมินประสิทธิภาพการกักเก็บยา (Encapsulation Efficiency) และร้อยละการบรรจุยา (Drug Loading)	26
การศึกษาประสิทธิภาพในการยึดเกาะกับผิวหนัง (bioadhesiveness)	28
การปลดปล่อยยาโคลไตรมาโซลจากไมโครพาร์ติเคิล	28

การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของโคลไตรมาโซลไมโครพาร์ทิเคิล	31
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....	33
ข้อเสนอแนะ	33
บรรณานุกรม	35
ภาคผนวก.....	39
ประวัติผู้เขียน.....	43



สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 ยาและช่องทางบริหารยาที่ใช้ในการรักษาโรคทางหู	7
ตาราง 2 ลักษณะของ SKL-2020 PLGA microparticles ในแต่ละตำรับที่มีความเข้มข้นของ PVA แตกต่างกัน.....	14
ตาราง 3 แสดงสูตรตำรับของโครโตรมาโซลไมโครพาร์ทิเคิล	18
ตาราง 4 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC	19
ตาราง 5 แสดงขนาดอนุภาคของไมโครพาร์ทิเคิลในแต่ละตำรับ.....	24
ตาราง 6 แสดงประสิทธิภาพการกักเก็บยา (Encapsulation Efficiency; %EE) และร้อยละการ บรรจุยา (Drug Loading; %DL) ของตำรับ.....	27
ตาราง 7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ C. albicans ของตำรับ.....	32

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของหู.....	6
ภาพประกอบ 2 ลักษณะภายในช่องหูของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ <i>Aspergillus niger</i>	6
ภาพประกอบ 3 โครงสร้างทางเคมีของโพลีไตรมาไซล 8	8
ภาพประกอบ 4 ลักษณะของไมโครพาร์ทิเคิลแบบ microcapsules (A) และ microspheres (B)	10
ภาพประกอบ 5 ปริมาณ lidocaine ที่ถูกปลดปล่อยจากไมโครพาร์ทิเคิล ในช่วงเวลา 1 ชั่วโมง - 21 วัน.....	13
ภาพประกอบ 6 ปริมาณ lidocaine ที่ปลดปล่อยจากไมโครพาร์ทิเคิลในช่วงเวลา 13	13
ภาพประกอบ 7 แสดงโพลีไตรมาไซลไมโครพาร์ทิเคิลดำรับที่ 1-6 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 1,500 และ 5,000 เท่า 25	25
ภาพประกอบ 8 แสดงร้อยละการยึดเกาะกับผิวหนัง (bioadhesiveness) ของ 28	28
ภาพประกอบ 9 แสดงการปลดปล่อยยาโพลีไตรมาไซลออกจากไมโครพาร์ทิเคิลในตัวกลาง ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 29	29
ภาพประกอบ 10 แสดงการปลดปล่อยยาโพลีไตรมาไซลออกจากไมโครพาร์ทิเคิลในตัวกลาง อิมัลชัน.....	30

บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

การติดเชื้อราในช่องหู (Otomycosis) เป็นโรคที่พบได้บ่อยและเกิดซ้ำได้สูง โดยผู้ป่วยจะมีอาการคันหู มีน้ำไหลจากหู หูอื้อ แน่นในหู ปวดหู การได้ยินลดลงและอาจมีเสียงดังในหูร่วมด้วย การติดเชื้อราในช่องหูเมื่อตรวจหูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (otomicroscopy) จะพบลักษณะของหูชั้นนอกบวมแดง และมีสีขาว เทาหรือดำของเชื้อรา โดยเชื้อราที่พบได้บ่อย ได้แก่ *Aspergillus* และ *Candida*^(1, 2)

Clotrimazole เป็นยาในกลุ่ม azoles มีฤทธิ์ต้านเชื้อราแบบออกฤทธิ์กว้าง (broad spectrum) โดยรบกวนการสังเคราะห์ ergosterol ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์เชื้อรา ทำให้เชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้ บัญชียาหลักแห่งชาติระบุให้ใช้ยา clotrimazole ear drop ในการรักษาการติดเชื้อราในหู ยาหยอดหูนี้มีตัวยาสำคัญที่มีความแรง 1% w/v clotrimazole⁽³⁾ ยาหยอดหูนี้อยู่ในรูปแบบยาน้ำใส โดยตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ propylene glycol เนื่องจากสามารถละลายยาได้ดี มีสมบัติในการดูดซับน้ำและความชื้น (hygroscopicity) จึงช่วยดูดความชื้นในช่องหูทำให้สภาพแวดล้อมในหูไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเชื้อรา⁽⁴⁾ และเนื่องจากโคลไตรมาโซลมีค่าครึ่งชีวิตสั้น ในการรักษาจึงต้องหยอดหู 4-5 หยด วันละ 3-4 ครั้ง การใช้ยาหลายครั้งต่อวัน มักส่งผลต่อความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วย จนอาจส่งผลให้ผู้ป่วยได้รับยาไม่สม่ำเสมอและการติดเชื้อราในช่องหูไม่หายหรือเป็นซ้ำได้

เพื่อเพิ่มความร่วมมือในการใช้ยาโคลไตรมาโซลในรูปแบบยาหยอดหู จึงได้พัฒนาสูตรตำรับเพื่อลดจำนวนครั้งในการหยดยาต่อวัน โดยเตรียมยาโคลไตรมาโซลในรูปแบบไมโครพาร์ติเคิล โดยงานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาการพัฒนาไมโครพาร์ติเคิล เพื่อกักเก็บและควบคุมการปลดปล่อยยาโคลไตรมาโซลจากพอลิเมอร์ poly(D,L-lactide-co-glycolide)(PLGA) เพื่อให้ได้ตำรับไมโครพาร์ติเคิล บรรจุยาโคลไตรมาโซลที่ออกฤทธิ์เน้นที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นระบบนำส่งยาโคลไตรมาโซลในรูปแบบยาแขวนตะกอน (suspension) สำหรับหยอดหูรักษาการติดเชื้อราในช่องหูอย่างมีประสิทธิภาพ

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ตั้งความมุ่งหมายไว้ดังนี้

1. เพื่อพัฒนาตำรับไมโครพาร์ทิเคิลของโคลไตรมาไซล
2. เพื่อศึกษาการนำส่งยาโคลไตรมาไซลจากไมโครพาร์ทิเคิลในตัวอย่างจำลองสภาวะไขมันในหูเพื่อปลดปล่อยยาแบบออกฤทธิ์เนิ่น
3. เพื่อพัฒนาสมบัติของไมโครพาร์ทิเคิลให้เกิดการเกาะติดกับผิวหนังของหูชั้นนอกได้ดีขึ้น

ความสำคัญของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาและพัฒนาตำรับยาโคลไตรมาไซลในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิลที่ออกฤทธิ์เนิ่น เหมาะสมต่อการนำส่งในรูปแบบยาแขวนตะกอนสำหรับหยอดหูรักษาการติดเชื้อรา เพื่อลดข้อด้อยของยาหยอดหูรูปแบบเดิม เป็นทางเลือกใหม่ในการบริหารยา

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วน ดังนี้

1. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมไมโครพาร์ทิเคิลโดยใช้ PLGA ด้วยวิธี solvent evaporation เปรียบเทียบลักษณะของไมโครพาร์ทิเคิลที่เติม propylene glycol (PG) หรือ polyethylene glycol (PEG) ความเข้มข้น 10% ลงในวัฏภาคภายใน จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณโคลไตรมาไซลที่ถูกกักเก็บในไมโครพาร์ทิเคิลด้วย UV-Vis spectroscopy รวมทั้งศึกษาลักษณะภายนอก ขนาดของอนุภาค ประสิทธิภาพในการกักเก็บยาและความสามารถในการเกาะกับผิวหนังของไมโครพาร์ทิเคิล
2. ศึกษาการปลดปล่อยยาโคลไตรมาไซลจากไมโครพาร์ทิเคิล โดยเติมไมโครพาร์ทิเคิลลงในตัวอย่างที่เป็น phosphate buffer, emulsion หรือ ointment จากนั้นศึกษาการปลดปล่อยยาในระยะเวลา 1-5 วัน และวิเคราะห์ปริมาณโคลไตรมาไซลโดยใช้ HPLC

ตัวแปรที่ศึกษา

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมไมโครพาร์ทิเคิล

ตัวแปรต้น : ชนิดของ PEG400, PG ในวัฏภาคภายใน และ NaCl ในวัฏภาค

ภายนอก

ตัวแปรตาม: ลักษณะภายนอก, ขนาดของอนุภาค, ประสิทธิภาพการกักเก็บยา (% EE), ร้อยละการบรรจุยา (%DL) และประสิทธิภาพในการยึดเกาะกับผิวผนัง

ส่วนที่ 2 การศึกษาการปลดปล่อยยา

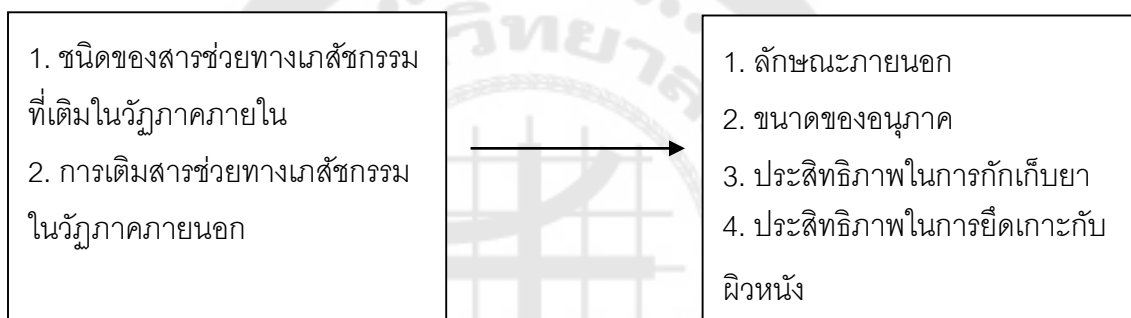
ตัวแปรต้น : ชนิดตัวกลางที่ใช้ในการปลดปล่อยยา

ตัวแปรตาม: ปริมาณยาที่ปลดปล่อยออกมาในเวลา 1-5 วัน

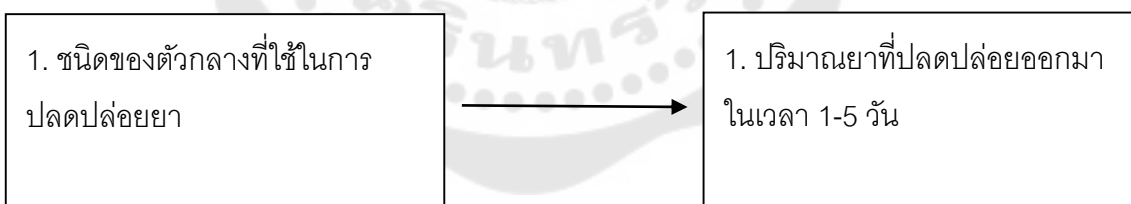
กรอบแนวคิดในงานวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองเป็น 2 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมไมโครพาร์ทิเคิล



ส่วนที่ 2 การศึกษาการปลดปล่อยยา



สมมุติฐาน

1. ยาโคลไตรมาโซลที่เตรียมในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิลถูกปลดปล่อยแบบเนิ่นในชนิดของตัวกลางการละลายที่เหมาะสม

2. การเติม PG หรือ PEG สามารถเพิ่มการยึดเกาะกับผิวผนังได้ดีขึ้น

3. ในตัวกลางที่ขบไซมันจะเกิดการปลดปล่อยยาที่แตกต่างกับบัฟเฟอร์ ซึ่งการใช้ตัวกลางที่ขบไซมันจะจำลองสภาวะในหูได้ใกล้เคียงกว่าการใช้บัฟเฟอร์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ไมโครพาร์ทิเคิลที่พัฒนาขึ้นสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาโคลไตรมาโซลแบบเนิ่นได้ เพื่อลดจำนวนครั้งในการบริหารยาต่อวัน และเป็นทางเลือกใหม่ในการเตรียมยาหยอดหูเพื่อรักษา เชื้อราในช่องหู



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยเพื่อการพัฒนาตำรารับมือโคโรนาไวรัสที่เคิลควบคุมการปลดปล่อยยาโคเลไตรมาไซลครั้งนี้ ได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำมาเสนอตามหัวข้อดังต่อไปนี้

1. หูและการติดเชื้อในช่องหู
2. ยาโคเลไตรมาไซล
3. ไมโครพาร์ทิเคิล
4. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อวัยวะ “หู”

โครงสร้างและหน้าที่ของหู

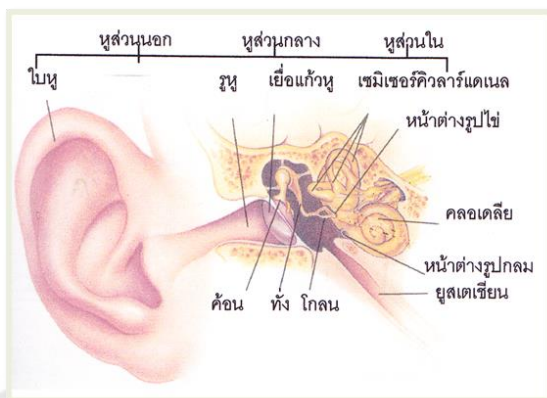
หู เป็นอวัยวะที่สำคัญในการได้ยินและการทรงตัว แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ หูชั้นนอก หูชั้นกลาง และหูชั้นใน^(5,6)

1. หูชั้นนอก (external ear) ประกอบด้วย ใบหู (auricle หรือ pinna) รูหู (ear canal) และเยื่อแก้วหู (tympanic membrane) ในหูที่สุขภาพดีจะมี pH อยู่ระหว่าง 5.0 ถึง 5.7 ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ โดยใบหู เป็นกระดูกอ่อนที่หุ้มด้วยผิวหนังบาง ๆ ทำหน้าที่ดักและรับเสียงเข้าสู่รูหู ซึ่งรูหูมีลักษณะเป็นท่อลึกประมาณ 2.5 ซม. ผนังของรูหูบุด้วยเยื่อบางซึ่งมีต่อมน้ำมันอยู่ภายใต้เยื่อบางทำหน้าที่ขั้บไขมันเหนียวและเหลว มาหล่อเลี้ยงรูหู ไขมันเหล่านี้เมื่อรวมกับสิ่งสกปรกก็จะกลายเป็นขี้หู และที่ปลายท่อของรูหูเป็นเยื่อแก้วหู มีลักษณะเป็นเยื่อบาง ๆ กันอยู่ระหว่างหูชั้นนอกและหูชั้นกลาง ทำหน้าที่รับแรงสั่นสะเทือนของคลื่นเสียงที่เดินทางเข้ามาทางรูหู

2. หูชั้นกลาง (middle ear) ประกอบด้วยกระดูก 3 ชิ้นติดกัน (ossicular chain) คือ กระดูกค้อน (malleus) อยู่ติดกับเยื่อแก้วหู กระดูกทั่ง (incus) อยู่ตรงกลาง และกระดูกโกลน (stapes) อยู่ติดกับหูชั้นใน ส่วนล่างของโพรงอากาศตอนปลายของหูชั้นกลางจะมีท่อยูสเตเชียน (Eustachian tube) ทำหน้าที่ปรับความดันอากาศภายในโพรงหูชั้นกลางให้สมดุล

3. หูชั้นใน (inner ear) ประกอบด้วย คลอเคลีย (cochlea) ลักษณะคล้ายกังหันหอย มีโครงสร้างหลักเรียกว่า อวัยวะของคอร์ตี (organ of Corti) ทำหน้าที่เป็นหน่วยรับเสียง (phonoreceptor) และ เซมิเซอร์คิวลาร์แคนเนล (semicircular canal) มีหน้าที่ในการทรงตัว มีลักษณะเป็นหลอดครึ่งวงกลม 3 หลอด วางตั้งฉากกัน ปลายหลอดโป่งเป็นกระเปาะ เรียกว่า

แอมพูลลา (ampulla) ภายในของหลอดและกระเปาะมีเซลล์ขนทำหน้าที่เป็นอวัยวะทรงตัว (statoreceptor)

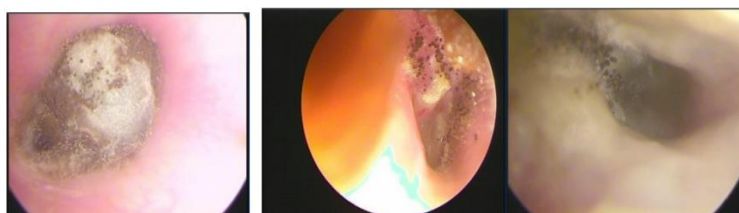


ภาพประกอบ 1 โครงสร้างของหู

ที่มา : http://119.46.166.126/self_all/selfaccess11/m5/biology5_1/lesson4/content1.php

การติดเชื้อราในช่องหู (Otomycosis)

Otomycosis คือ การที่เชื้อราที่ทำให้เกิดการอักเสบในช่องหูชั้นนอก (Otitis externa) และมักพบร่วมกับโรคหูชั้นกลางอักเสบ⁽⁷⁾ พบบ่อยในประเทศเขตร้อนและในผู้ป่วยที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะ (antibiotic ear drop) ในการรักษาหูอักเสบจากการติดเชื้อแบคทีเรีย การติดเชื้อส่วนใหญ่มักเกิดขึ้นที่ stratum corneum ซึ่งอยู่ชั้นบนของผิวหนัง อาการแสดงคือ มีอาการคันหู หูอื้อ แน่นในหู เสียงดังในหู อาการเจ็บมักพบได้น้อย ยกเว้นเมื่อมีการอักเสบเนื่องจากการติดเชื้อแบคทีเรียร่วมด้วย^(2, 4, 8) เชื้อราที่พบได้บ่อยอยู่ในกลุ่ม *Aspergillus* และ *Candida*



ภาพประกอบ 2 ลักษณะภายในช่องหูของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Aspergillus niger*

ที่มา : <https://med.mahidol.ac.th/ent/sites/default/files/public/pdf/AbstractPornsillINAL%20otomycosis...pdf>

การตรวจหูผ่านกล้องจุลทรรศน์โดยทั่วไปแล้วพบลักษณะของหูชั้นนอกบวมแดง และมีสีขาว เทา หรือ ดำของเชื้อรา และถ้าไม่ได้รับการรักษามีโอกาสเกิดภาวะแทรกซ้อนที่พบได้ เช่น น้ำในหูชั้นกลาง (serous otitis media) แก้วหูทะลุ (tympanic membrane perforation) และกระดูกหูชั้นนอกอักเสบ (external auditory canal otitis)⁽¹⁾

การรักษา

การรักษาเชื้อราในหูหลักการสำคัญคือต้องขจัดเชื้อราออกให้หมด โดยเริ่มจากทำความสะอาดหู ในรายที่พบว่ามียาหนองปกคลุมหรือเชื้อราคลุมอยู่บนหนอง ควรใช้ดูดเชื้อราและหนองออกให้หมดแล้วใช้ยาต้านเชื้อราหยอดหู^(1, 4) โดยผลิตภัณฑ์ที่นำมาใช้รักษาโรคเชื้อราในช่องหูมีหลายรูปแบบด้วยกัน คือ ครีม (cream) สารละลาย (solution) และแบบแขวนตะกอน (suspension) ในบัญชียาหลักแห่งชาติ ตำรับยาที่ใช้รักษาเชื้อราในช่องหูมีเพียงยาในรูปแบบ solution เท่านั้นที่ระบุไว้⁽³⁾ สำหรับยาในรูปแบบ solution จะมีส่วนประกอบหลัก คือ 1% w/v clotrimazole โดยแนวทางการรักษาอาการต่าง ๆ ในช่องหูมีรายละเอียดดังตาราง 1

ตาราง 1 ยาและช่องทางการบริหารยาที่ใช้ในการรักษาโรคทางหู

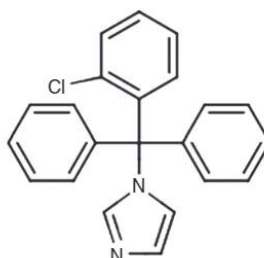
Type	Molecule	Diseases	Route of administration
Antibiotics	Amoxicillin	Acute otitis externa otitis media	Systemic/local
	Ciprofloxacin		
	Neomycin		
Antifungal	Clotrimazole	Otitis externa	Systemic/local
	Tolnaftate		
Antiviral	Acyclovir	Hearing loss due to viral infection Meniere's disease	Local
	Cidofovir		
	Ganciclovir		
Anesthetic agents	Benzocaine	Pain from otitis	Local
	Lidocaine		
Steroids	Dexamethasone	Otitis	Local
	Methylprednisolone	Hearing loss	
	Prednisone	Meniere's disease	

ตาราง 1 (ต่อ)

Type	Molecule	Diseases	Route of administration
		Tinnitus	Local
		Autoimmune inner ear disease	
aminoglycoside	Gentamicin Streptomycin Kanamycin	Meniere's disease	Local
Antioxidants	D-methionine Thiourea n-Acetyl cysteine	Hearing loss	Local
Apoptosis inhibitors	AM 111 (JNK inhibitor)	Hearing loss	Local
NMDA inhibitors	Gacyclidine Ifenprodil Esketmine	Tinnitus	Local
Gene stem cells	Atonal homolog 1 (Atoh 1)	Hearing loss	Local

ที่มา: Liu Xu et al. (2018)

โคลไตรมาโซล (Clotrimazole)



ภาพประกอบ 3 โครงสร้างทางเคมีของโคลไตรมาโซล

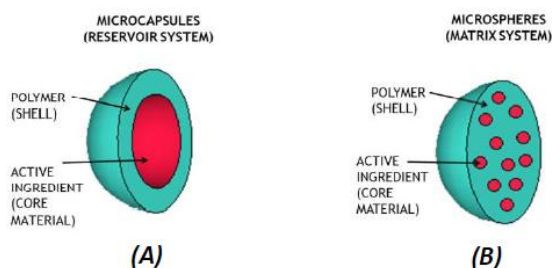
ที่มา: Helen Gallagher et al. (2014)

โคลไตรมาโซล (1-[(2-chlorophenyl)diphenylmethyl]-1H-imidazole) มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{22}H_{17}ClN_2$ น้ำหนักโมเลกุล 344.8 g/mol มีจุดหลอมเหลวอยู่ที่ $148.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ละลายได้เล็กน้อยในน้ำ, benzene, toluene, ether ละลายได้ใน acetone, chloroform, ethyl acetate, polyethylene glycol 400, propylene glycol และเอทานอล โคลไตรมาโซลเป็นยาต้านเชื้อราในกลุ่ม azole ซึ่งออกฤทธิ์แบบกว้าง (broad spectrum) โดยขัดขวางการสร้าง ergosterol ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของผนังเซลล์ของรา ทำให้ผนังเซลล์รั่วและสารภายในเซลล์ไหลออกทำให้เชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้^(9, 10) ในการนำโคลไตรมาโซลมาใช้ในการรักษาเชื้อราในหูเนื่องจากไม่เป็นพิษต่อหู (ototoxicity) และมีการดื้อยาของเชื้อราต่ำ โดยมีตัวยาโคลไตรมาโซล 1% w/v ในตำรับ ระยะเวลาที่ใช้ในการรักษาอยู่ในช่วง 7-10 วัน วันละ 3-4 ครั้ง^(1, 11)

ไมโครพาร์ติเคิล (Microparticles)

ไมโครพาร์ติเคิล (Microparticles) คือ ระบบนำส่งยาชนิดหนึ่งที่มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงประมาณ 1-1000 ไมโครเมตร โดยกักเก็บตัวยาที่ต้องการไว้ในไมโครพาร์ติเคิลแมทริกซ์ ซึ่งเตรียมได้จากพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ หรือพอลิเมอร์สังเคราะห์ ไมโครพาร์ติเคิลมีประโยชน์ในการนำส่งยาทั้งในด้านควบคุมการปลดปล่อยยาให้นานขึ้น และด้านการปกป้องตัวยาสำคัญ เช่น ตัวยาที่มีความคงสภาพต่ำ ไม่เข้ากับสารช่วยในตำรับ ไม่ละลายน้ำ เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่ม bioavailability ป้องกันอาการไม่พึงประสงค์ของยา และบดบังสี กลิ่น หรือรสชาติอันไม่พึงประสงค์ของยาได้อีกด้วย⁽¹²⁾ ไมโครพาร์ติเคิล แบ่งได้ 2 แบบ คือ ไมโครแคปซูล (microcapsule) และไมโครสเฟียร์ (microspheres) โดยไมโครแคปซูลแกนกลางจะเป็นสารสำคัญและจะมีพอลิเมอร์หุ้มเป็นผนังอยู่อีกครั้งหนึ่ง ดังนั้นจึงทำให้สารสำคัญและผนังหุ้มแยกจากกันอย่างชัดเจน ส่วนไมโครสเฟียร์สารสำคัญจะกระจายตัวแทรกอยู่ในสารห่อหุ้ม โดยที่สารสำคัญไม่สามารถแยกตัวกับสารห่อหุ้มได้ อย่างชัดเจน ซึ่งสารห่อหุ้มที่ใช้ในไมโครพาร์ติเคิลทำจากพอลิเมอร์^(13, 14) ดังภาพประกอบ 4

ข้อดีของไมโครพาร์ติเคิล คือ สามารถใช้ได้ทั้งกับสารที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ ป้องกันตัวยาเสื่อมสลายจากสภาวะแวดล้อมภายนอก ควบคุมการปลดปล่อยยาหรือสารสำคัญ (controlled release) และสามารถออกแบบเปลือกหุ้มให้ขนส่งสารไปยังบริเวณที่ต้องการได้ ส่วนข้อจำกัดของไมโครพาร์ติเคิลคือ มีขนาดเล็กและมีผิวสัมผัสมากทำให้อนุภาคจับตัวกันแน่น กักเก็บยาได้ในปริมาณจำกัดและเกิดการปลดปล่อยยาอย่างรวดเร็วในช่วงแรก (Initial burst release)⁽¹⁵⁾



ภาพประกอบ 4 ลักษณะของไมโครพาร์ทิเคิลแบบ microcapsules (A) และ microspheres (B)

ที่มา: Filipa Paulo & Lúcia Santos (2017)

PLGA-based microparticles

PLGA หรือ poly(lactic-co-glycolic acid) เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์ 2 ชนิดคือ lactic acid (LA) และ glycolic acid (GA) เป็นพอลิเมอร์ที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (USFDA) และอีกหลายประเทศ รับรองเพื่อใช้ในการรักษาในการเตรียมตำรับยาใช้ภายใน โดยเฉพาะยาฉีด เนื่องจากเป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradability) มีความเข้ากันได้กับสารในร่างกาย และไม่เป็นพิษ^(16, 17)

พารามิเตอร์ที่มีผลต่อสมบัติของ PLGA ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้⁽¹⁸⁾

1. molecular weight (MW) อัตราการเสื่อมสลายจะช้าลงเมื่อ MW เพิ่มขึ้น
2. อัตราส่วนระหว่าง GA ต่อ LA: ถ้า LA สูงจะมีสมบัติความชอบน้ำ (hydrophilic) น้อย จึงเสื่อมสลายได้ช้า เนื่องจากการมี methyl group ของ LA ทำให้มีสมบัติความไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) มากกว่า GA
3. Glass transition temperature (Tg) ของ PLGA โดยพอลิเมอร์อัตราส่วนต่างๆจะมีค่า Tg แตกต่างกัน โดยค่า Tg จะลดลงเมื่อปริมาณ LA ลดลงเนื่องจากมีมวลโมเลกุล (molecular weight, MW) ลดลง
4. พอลิเมอร์ที่มีส่วนปลายเป็น ester จะมีค่าครึ่งชีวิตที่ยาวนานกว่าพอลิเมอร์ที่มีส่วนปลายเป็นกรดคาร์บอกซิลิก และพอลิเมอร์ที่มีส่วนปลายเป็นคาร์บอกซิลิกเพิ่มความชอบน้ำของพอลิเมอร์
5. PEG (poly(ethylene glycol)) เมื่อเติมเข้าไปทำให้ละลายได้ดีขึ้นเนื่องจาก PEG เพิ่มความชอบน้ำของพอลิเมอร์

การเตรียมไมโครพาร์ทิเคิล

วิธีการเตรียมไมโครพาร์ทิเคิล สามารถเตรียมได้ด้วย 3 วิธีหลัก คือ วิธี solvent evaporation, coacervation และ spray drying

Spray drying technique เทคนิค Spray drying หรือการพ่นแห้ง เป็นเทคนิคที่ใช้การพ่นสารละลายพอลิเมอร์ที่มีสารแก่นหรือสารสำคัญกระจายหรือละลายอยู่ ลงในส่วนทำแห้ง (drying chamber) เพื่อให้เกิดการระเหยของตัวทำละลายจากความร้อนในส่วนทำแห้ง (spray drying) ส่งผลให้สารสำคัญถูกหุ้มไว้ในสารเคลือบ จากนั้นไมโครพาร์ทิเคิลจะถูกอากาศพัดและตกลงในส่วนเก็บผลิตภัณฑ์ (collector) ข้อดีของเทคนิคนี้คือสามารถใช้กับสารที่ไม่คงสภาพได้ เนื่องจากระยะเวลาในการทำไมโครเอนแคปซูลสั้นเร็ว โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อลักษณะของไมโครพาร์ทิเคิลคือ ความหนืดของสารที่ถูกพ่น อุณหภูมิในส่วนทำแห้ง ความเร็วในการฉีดพ่นและแรงดันอากาศ⁽¹⁹⁾

Solvent evaporation technique เป็นเทคนิคที่ใช้หลักการการระเหยของตัวทำละลายส่งผลให้สารเคลือบแข็งตัวและหุ้มสารสำคัญ โดยที่สารเคลือบจะอยู่คนละวัฏภาคกับสารแก่น สารเคลือบมักเป็นพอลิเมอร์ที่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ส่วนสารแก่นอาจอยู่ในรูปของเหลว ผงแห้ง หรือสารแขวนตะกอนก็ได้ ในขบวนการระเหยจำเป็นต้องมีการให้แรงบันดาลใจหรือแรงสั่นสะเทือนเพื่อให้วัฏภาคภายในมีขนาดเล็กและไม่เกาะตัวกัน⁽¹⁹⁾

Phase separation หรือ Coacervation technique หลักการของวิธีนี้คือการเปลี่ยนแปลงสภาวะการละลายของระบบคอลลอยด์ซึ่งประกอบด้วยสองวัฏภาค ได้แก่วัฏภาคของสารแก่น (ตัวยา) และวัฏภาคของสารหุ้ม (พอลิเมอร์) จากนั้นใส่สารที่ลดการละลายของพอลิเมอร์ในตัวทำละลาย ตัวยาและพอลิเมอร์จะจับตัวกันแล้วตกตะกอนเป็นไมโครพาร์ทิเคิล^(19, 20)

ปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพของไมโครพาร์ทิเคิล

ปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพของไมโครพาร์ทิเคิลแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ

1. ปัจจัยด้านส่วนประกอบของไมโครพาร์ทิเคิล⁽²¹⁾

1.1 ความหนืดของวัฏภาคภายใน (dispersed phase) เมื่อความหนืดเพิ่มขึ้นส่งผลให้ขนาดของไมโครพาร์ทิเคิลใหญ่ขึ้น พื้นผิวเรียบมากขึ้นทำให้ ประสิทธิภาพการกักเก็บยา (Encapsulation Efficiency; %EE) เพิ่มขึ้นและอัตราเร็วในการปลดปล่อยยาลดลง

1.2 สัดส่วนของปริมาณวัฏภาคภายในต่อวัฏภาคภายนอก (continuous phase) เมื่อเพิ่มมากขึ้นอาจส่งผลให้ขนาดของไมโครพาร์ทิเคิลลดลง และ %EE เพิ่มขึ้น

1.3 ปริมาณของยาในวัฏภาคภายในที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้รูพรุนในไมโครพาร์ทิเคิลเพิ่มขึ้น รูปร่างของไมโครพาร์ทิเคิลไม่เป็นทรงกลม ทำให้พื้นที่กักเก็บยาน้อยลง %EE จึงลดลง

1.4 ความเข้มข้นของ surfactant ที่เพิ่มมากขึ้นจะทำให้ขนาดของไมโครพาร์ทิเคิลเล็กลง

1.5 ความเข้มข้นของ porosigen ที่เพิ่มมากขึ้นจะทำให้ขนาดของไมโครพาร์ทิเคิลเล็กลง เกิดรูขนาดใหญ่บนพื้นผิวของไมโครพาร์ทิเคิล

2. ปัจจัยด้านการเตรียมไมโครพาร์ทิเคิล⁽²¹⁾

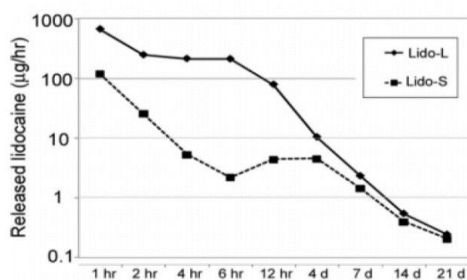
2.1 อัตราเร็วการคนผสม เมื่ออัตราเร็วในการคนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ขนาดของไมโครพาร์ทิเคิลเล็กลงและสม่ำเสมอ

2.2 อุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ขนาดของไมโครพาร์ทิเคิลใหญ่ขึ้น พื้นผิวขรุขระมากขึ้น และ %EE ลดลง เนื่องจากเกิดการระเหย solvent เร็วเกินไป ทำให้พาร์ทิเคิลก่อตัวไม่สมบูรณ์

2.3 ความดัน ในสถานะที่ความดันต่ำกว่าความดันบรรยากาศ จะส่งผลให้ขนาดของไมโครพาร์ทิเคิลเล็กลง ลักษณะพื้นผิวเรียบมากขึ้น %EE เพิ่มขึ้น และอัตราเร็วในการปลดปล่อยยาลดลง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

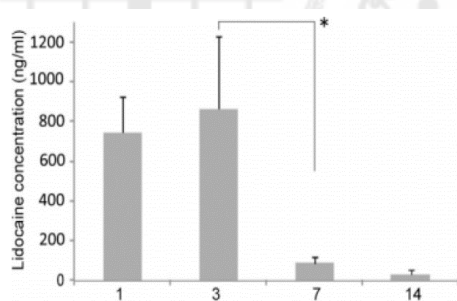
มีการเตรียม PLGA ไมโครพาร์ทิเคิลสำหรับนำส่งยา Lidocaine ไปยังหูชั้นในบริเวณ cochlea เพื่อให้เกิดการปลดปล่อยยาแบบเนิ่นเพื่อรักษา โรคเสียงอื้อในหู (tinnitus) โดย PLGA ที่ใช้มีอัตราส่วน LA/GA 70:30 และเตรียมไมโครพาร์ทิเคิลด้วยวิธี o/w emulsion solvent evaporation โดยใช้ตัวยาที่แตกต่างกัน 2 ชนิดคือ Lido-L และ Lido-S ในการศึกษา release profile ในหลอดทดลองพบว่าในช่วงแรกเกิด initial burst release ทั้ง 2 ตัวรับ แต่เมื่อเวลาผ่านไปถึง 12 ชั่วโมงพบว่า Lido-L มีการปลดปล่อยยาที่สม่ำเสมอ⁽²²⁾ ดังภาพประกอบ 5



ภาพประกอบ 5 ปริมาณ lidocaine ที่ถูกปลดปล่อยจากไมโครพาร์ทิเคิล ในช่วงเวลา 1 ชั่วโมง - 21 วัน

ที่มา: Horie Rie et al. (2009)

เมื่อนำ Lido-L ไปทำการทดลองในสัตว์ทดลอง (Hartley guinea pigs) พบว่าหลังจากให้ยาไปในวันที่ 1 และ วันที่ 3 ความเข้มข้นของ lidocaine เท่ากับ 744.0 ± 176.9 ng/mL และ 863.3 ± 366.3 ng/mL ตามลำดับ จากนั้นลดลงเหลือ 87.2 ± 27.2 ng/mL และมีปริมาณ 30.3 ± 13.6 ในวันที่ 14 ดังภาพประกอบ 6 จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าตำรับไมโครพาร์ทิเคิลที่ได้สามารถรักษาระดับของ lidocaine ได้เป็นเวลา 3 วัน และไม่พบการอักเสบในหูชั้นกลาง⁽²²⁾



ภาพประกอบ 6 ปริมาณ lidocaine ที่ปลดปล่อยจากไมโครพาร์ทิเคิลในช่วงเวลา 1-14 วัน

ที่มา: Horie Rie et al. (2009)

นอกจากนี้ยังมีการพัฒนา PLGA ไมโครพาร์ทิเคิล ที่บรรจุยา SKL-2020 เพื่อศึกษาความแตกต่างในการปลดปล่อยยาในแต่ละตำรับ โดยใช้ PLGA (RG504H, 50:50) เป็นพอลิเมอร์ และใช้ polyvinyl alcohol (PVA) เป็น surfactant และ stabilizer ที่ความเข้มข้น 0.2, 2 และ

0.5% จากการศึกษาพบว่าเมื่อความเข้มข้นของ PVA เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ % final drug content, %EE และ ขนาดของอนุภาคลดลง แต่ทำให้เกิด Burst release เพิ่มขึ้น ดังตาราง 2⁽²³⁾

ตาราง 2 ลักษณะของ SKL-2020 PLGA microparticles ในแต่ละตำรับที่มีความเข้มข้นของ PVA แตกต่างกัน

PVA conc. (w/v)	Final drug content (%)	E.E. (%)	Mean size (μm)	Burst (%)
0.2%	2.15	45.17	48.02	19.68
2%	1.83	38.49	16.95	29.57
5%	1.63	34.19	10.63	58.62

ที่มา: Yeon-Soon Choi et al. (2011)

เพื่อลดจำนวนครั้งในการบริหารยา มีศึกษาการใช้โคเลไตรมาโซลวันละครั้งเพียงพอที่จะรักษาเชื้อราในช่องหูในรูปแบบครีม โดยทำการศึกษาในผู้ป่วย 40 คนที่มีช่องหูอักเสบจากเชื้อราในการรักษาผู้ป่วยจะได้รับการทำความสะอาดช่องหูและให้ยาครีม 1% โคเลไตรมาโซล หลังจากนั้นผู้วิจัยได้ติดตามการรักษาในวันที่ 7, 15 และ 45 ซึ่งพบว่าหลังได้รับการรักษาผู้ป่วยมีช่องหูที่สะอาดขึ้น อาการเจ็บหู หูอื้อ และอาการคันลดลง ข้อดีในการให้ยาครีมโคเลไตรมาโซลวันละ 1 ครั้งทำได้ง่าย คุ่มค่าและมีประสิทธิภาพ แต่มีข้อเสียคือใช้เวลาในการรักษานาน⁽²⁴⁾

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. Cellulose nitrate filter (Sartorius stedim biotech GmbH, Goettingen, Germany)
2. Electronic balance (XS205 Dual range, Mettler Toledo, Ohio, United States)
3. Fume hood (Super flow, Major scientific product co.,Ltd., Thailand)
4. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Agilent 1200 Infinity Series, Agilent Technologies, United States)
5. เครื่อง High speed centrifuge (3-30KS, Sigma, Osterode am Harz, Germany)
6. Homogenizer (Ultra-Turrax T8T, IKA-Werke, Germany)
7. HPLC certified syringe filter (Sartorius stedim biotech GmbH, Goettingen, Germany)
8. Jupiter C8, Phenomenex[®], HPLC column (150 x 4.6 mm, 5 um)
9. UV-vis spectroscopy (UV-1601, Shimadzu[®], Japan)
10. Incubator shaker (KS 4000 i control, IKA[®], Selangor, Malaysia)
11. Magnetic stirrer (WiseStir[®] MSH-20D, Witeg, Germany)
12. Membrane filter (Whatman No.1)
13. Needle no. 18 (Nipro[®], Thailand)
14. Optical microscope (OLYMPUS BX 53, Tokyo, Japan)
15. Scanning electron microscope
16. Vacuum drying oven (Mettler[®] VO400, Germany)
17. Vacuum filtration set

สารเคมีที่ใช้

1. Absolute ethanol (EMSURE®, Merck KGaA, Darmstadt, Germany)
2. Acetonitrile (LiChrosolv®, Merck KGaA, Darmstadt, Germany)
3. Cetyl alcohol (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
4. Clotrimazole (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
5. Isopropyl palmitate (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
6. Poly(D,L-lactide-co-glycolide) (PLGA) (Resomer® 502, Sigma-Aldrich and Merck KGaA, Darmstadt, Germany)
7. Polyethylene 400 (PEG 400) (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
8. Propylene glycol (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
9. Polyvinyl alcohol (PVA) (Sigma-Aldrich and Merck KGaA, Darmstadt, Germany)
10. Propyl paraben (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
11. Dichloromethane (Fisher Scientific, Leicestershire, England)
12. 95% Ethanol (EMSURE®, Merck KGaA, Darmstadt, Germany)
13. Methanol (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
14. Methyl paraben (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
15. Sodium dihydrogen orthophosphate (UNIVAR, Ajax Finechem, Australia)
16. Sodium hydrogen phosphate (UNIVAR, Ajax Finechem, Australia)
17. Stearic acid (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
18. Sodium hydroxide (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
19. Sodium lauryl sulfate (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
20. Triethanolamine (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)
21. White petrolatum (P.C. Drug Center Co.ltd., Bangkok, Thailand)

วิธีการทดลอง

1. การเตรียม PLGA ไมโครพาร์ทิเคิล

เตรียมตำรับ PLGA ไมโครพาร์ทิเคิลด้วยวิธี solvent evaporation (ตาราง 3) ด้วยขั้นตอนดังนี้

1.1 ละลาย PLGA 300 มิลลิกรัม ใน Dichloromethane (DCM) 5 มิลลิลิตร จะได้วุ้นภาคภายใน ปิดด้วยพาราฟิล์มและกวนให้ละลายด้วย magnetic stirrer (200 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 10 นาที

1.2 เติมโคลไตรมาไซล (CTM) และสารช่วยทางเภสัชกรรม (PG หรือ PEG) ลงในวุ้นภาคภายใน ผสมให้เข้ากันด้วย magnetic stirrer (200 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 10 นาที

1.3 หยดสารที่ได้จากข้อ 2 ลงในวุ้นภาคภายนอก (W) (สารละลาย 0.25% PVA และ NaCl 0.5 โมลาร์) ปริมาตร 400 มิลลิลิตร โดยใช้ needle 21 G ขณะ homogenized เป็นเวลา 30 วินาที และใช้ magnetic stirrer หมุนด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที จะได้อิมัลชัน (O/W)

1.4 ระเหย DCM ออกจากอิมัลชัน (O/W) ที่เตรียมได้โดยใช้ magnetic stirrer ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ใน fume hood เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

1.5 นำสารที่ได้มากรองด้วย Glass filtration set ผ่าน cellulose nitrate filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร เพื่อเก็บอนุภาคไมโครพาร์ทิเคิล

1.6 นำไมโครพาร์ทิเคิลบนกระดาษกรองมาทำให้แห้งด้วย Vacuum drying oven ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไมโครพาร์ทิเคิลที่ได้เก็บไว้ในที่ 4-8 องศาเซลเซียส ใน desiccator

ตาราง 3 แสดงสูตรตำรับของโคโรไตรมาไซลไมโครพาร์ทิเคิล

ส่วนประกอบ	ตำรับ					
	1	2	3	4	5	6
วัฏภาคภายใน						
CTM (mg)	300	300	300	300	300	300
PLGA (mg)	300	300	300	300	300	300
PEG 400 (%)	-	10	-	-	10	-
PG (%)	-	-	10	-	-	10
DCM (ml)	5	5	5	5	5	5
วัฏภาคภายนอก						
NaCl (M)	-	-	-	0.5	0.5	0.5
PVA (%)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Water (ml)	400	400	400	400	400	400

2. การศึกษาขนาดและรูปร่างของไมโครพาร์ทิเคิล

2.1 นำตัวอย่างอนุภาควางบนกระจกสไลด์แล้ววัดขนาดด้วย Optical microscope ที่กำลังขยาย 400 เท่า (10x40) วัดขนาดอนุภาคด้วยโปรแกรม Cellsens™ ตำรับละ 300 อนุภาค แล้วหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และทดสอบสถิติ โดยโปรแกรม IBM SPSS Statistic Base 24 ด้วย One Way ANOVA test ($p > 0.05$)

2.2 ส่งดูลักษณะและขนาด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) กำลังขยาย 1,500 และ 5,000 เท่า แล้วบันทึกภาพ

3. การหาปริมาณยาโคโรไตรมาไซลด้วย UV-Vis spectroscopy

3.1 เตรียมตัวอย่างยาโคโรไตรมาไซลที่ความเข้มข้น 10, 20, 40, 80, 100, 200, 300 และ 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายใน 5N NaOH และ 95% เอทานอล อัตราส่วน 1:1

3.2 นำสารละลายโคลไตรมาโซลมาวัดการดูดกลืนแสง (absorbance) ด้วย UV-Vis spectroscopy ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร⁽²⁵⁾ แล้วสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสง

3.3 นำตัวอย่างที่ได้จากการศึกษาการปลดปล่อยยา มาวัดด้วย UV spectroscopy และหาความเข้มข้นของตัวอย่างโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4. การหาปริมาณยาโคลไตรมาโซลด้วยวิธี HPLC

4.1 เตรียมตัวอย่างโคลไตรมาโซลที่ความเข้มข้น 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, 100 และ 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายใน acetonitrile และ น้ำ อัตราส่วน 55:45

4.2 นำสารละลายโคลไตรมาโซลมาฉีด HPLC แล้วสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้พีค

4.3 นำตัวอย่างที่ได้จากการศึกษาการปลดปล่อยยา มาฉีด HPLC และหาความเข้มข้นโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

ตาราง 4 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC

คอลัมน์	Jupiter C8, Phenomenex [®] (250 x 4.6 mm, 5 μ m)
เฟสเคลื่อนที่	acetonitrile:water (55:45)
ปริมาตรที่ใช้ในการฉีด	20 μ l
อัตราการไหล	1.0 ml/min
ตัวตรวจวัดสัญญาณ	UV detector 229 nm

ที่มา: บุญยวีร์ วงษ์ภัทรโรจน์และสุปราณี แก้วอาษา (2019)

5. การประเมินประสิทธิภาพการกักเก็บยา (Encapsulation Efficiency; %EE) และ ร้อยละการบรรจุยา (Drug Loading; %DL)

5.1 นำสารละลายที่ผ่านการกรอง (filtrate) จากขั้นตอนการเตรียมไมโครพาร์ทิเคิลมาวิเคราะห์ปริมาณยาที่ไม่ถูกกักเก็บด้วย UV-Vis spectroscopy ในข้อ 3 และคำนวณหาความเข้มข้นของยา จากนั้นคำนวณ %EE และ %DL ดังสมการที่ 1 และ 2

5.2 นำไมโครพาร์ทิเคิลที่เตรียมได้มาล้างด้วย absolute ethanol 20 มิลลิลิตร เพื่อละลายผลึกยาที่เกาะอยู่ที่ผิวของไมโครพาร์ทิเคิลออกและนำไปอบแห้งใน vacuum drying oven เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไมโครพาร์ทิเคิล 5 mg ละลายในตัวทำละลายผสม (5N NaOH และ 95% ethanol ในอัตราส่วน 1:1) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพื่อละลายส่วนที่ห่อหุ้ม แล้วนำไปกรอง จากนั้นนำส่วนใสที่ผ่านการกรองมาวิเคราะห์หาปริมาณยาที่ถูกกักเก็บไว้ภายในไมโครพาร์ทิเคิล ด้วยวิธี UV-Vis spectroscopy ในข้อ 3 และคำนวณหาความเข้มข้นของยา จากนั้นคำนวณ %EE และ %DL จากปริมาณยาที่ถูกกักเก็บดังสมการที่ 3 และ 4

$$\% EE = \frac{\text{ปริมาณตัวยาทั้งหมด} - \text{ปริมาณตัวยาที่ไม่ถูกกักเก็บ}}{\text{ปริมาณตัวยาทั้งหมด}} \times 100 \quad (1)$$

$$\% DL = \frac{\text{ปริมาณตัวยาทั้งหมด} - \text{ปริมาณตัวยาที่ไม่ถูกกักเก็บ}}{\text{ปริมาณตัวยาทั้งหมด} - \text{ปริมาณตัวยาที่ไม่ถูกกักเก็บ} + \text{ปริมาณพอลิเมอร์ทั้งหมด}} \times 100 \quad (2)$$

$$\% EE = \frac{\text{ปริมาณยาในไมโครพาร์ทิเคิลที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ปริมาณตัวยาทั้งหมด}} \times 100 \quad (3)$$

$$\% DL = \frac{\text{ปริมาณยาในไมโครพาร์ทิเคิลที่วิเคราะห์ได้}}{\text{น้ำหนักไมโครพาร์ทิเคิล}} \times 100 \quad (4)$$

6. การศึกษาประสิทธิภาพในการยึดเกาะกับผิวหนัง (bioadhesiveness)

ตัดหนังหมูให้มีขนาด 5x5 เซนติเมตร ซึ่งนำหนังหมู และซึ่งหนังหมูให้ตั้ง เรียบ บนกระดาษลาดเอียง 45 องศา จากนั้นนำไมโครพาร์ทิเคิล จำนวน 20 มิลลิกรัม กระจายในน้ำมันมะกอก (เติม 0.01% Tween 80) 2 มิลลิลิตรแล้วกระจายให้เป็น suspension และนำ suspension ที่ได้เทลงบนหนังหมู แล้วนำหนังหมูไปชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบน้ำหนักก่อนและหลังเท suspension เพื่อหาน้ำหนักของไมโครพาร์ทิเคิลที่ติดอยู่บนผิวหนัง และหา %adhesiveness ดังสมการ 5

$$\% \text{ adhesiveness} = \frac{\text{น้ำหนักหลังเท suspension} - \text{น้ำหนักก่อนเท suspension}}{\text{น้ำหนักไมโครพาร์ทิเคิล}} \times 100 \quad (5)$$

7. ศึกษาการปลดปล่อยยาโคลไตรมาโซลออกจากไมโครพาร์ทิเคิลในตัวอย่าง phosphate buffer, emulsion และ ointment

7.1 การปลดปล่อยยาในบัฟเฟอร์

นำไมโครพาร์ทิเคิลจำนวน 25 มิลลิกรัม ใส่ลงใน 0.02 M phosphate buffer pH 6.1 ปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Incubator shaker ที่อุณหภูมิ 37 ± 0.5 องศาเซลเซียส ความเร็ว 50 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน สุ่มตัวอย่างโดยเปิดสารละลายปริมาณ 3 มิลลิลิตร ที่เวลา 1, 2, และ 3 วัน นำมาวิเคราะห์ปริมาณยาโคลไตรมาโซลด้วยวิธี HPCL ในข้อ 4

7.2 การปลดปล่อยยาในอิมัลชันและ ointment

นำไมโครพาร์ทิเคิลจำนวน 25 มิลลิกรัม ใส่ลงในอิมัลชันหรือ ointment 40 มิลลิกรัม แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่อง Incubator shaker ที่อุณหภูมิ 37 ± 0.5 องศาเซลเซียส ความเร็ว 50 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน โดยสุ่มตัวอย่างโดยเปิดตัวอย่างปริมาณ 3 มิลลิกรัม ที่เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน จากนั้นนำตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม เติมนลงใน acetonitrile 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและ sonicate เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงโดยใช้เครื่อง High speed centrifuge (12,000 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 30 นาที แล้วดูสัดส่วนมาวิเคราะห์ปริมาณยาโคลไตรมาโซลด้วยวิธี HPLC ในข้อ 4

8. การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *C. albicans* ด้วย Agar well diffusion

8.1 การเตรียม control

เตรียม positive control โดยนำผงยาโคลไตรมาโซล 10 มิลลิกรัม ละลายด้วย PG ปรับปริมาตรจนครบ 5 มิลลิลิตร จะได้โคลไตรมาโซล 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และเตรียม negative control โดยชั่ง PLGA ไมโครพาร์ทิเคิลที่ไม่มียาโคลไตรมาโซล 4 มิลลิกรัม กระจายใน PG 1 มิลลิลิตร

8.2 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างโคลไตรมาโซลไมโครพาร์ทิเคิลในแต่ละตำรับ ให้มีปริมาณโคลไตรมาโซล 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรกระจายใน PG 1 มิลลิลิตร

8.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียม Nutrient agar 9.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 400 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่อง Autoclave อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที จากนั้นนำมาเทลงจานเพาะเชื้อ ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อจานเพาะเชื้อ

8.4 การเตรียมเชื้อ *C. albicans*

เพาะเลี้ยงเชื้อ *C. albicans* ใน Tryptic Soy Broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-18 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเจือจางลงในน้ำกลั่น 5 เท่า

8.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *C. albicans*

นำไม้พันทันสำลีจุ่มเชื้อจากข้อ 8.4 และนำมาป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่ว ผิวนอาหาร เจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร บนอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 5 หลุม แล้วเติมสารตัวอย่างปริมาตร 40 ไมโครลิตรลงในหลุมที่เจาะเอาไว้ และเติมหลุมควบคุมด้วยโคเล ไตรมาโซลและ PLGA ไมโครพาร์ทิเคิลในปริมาตรที่เท่ากัน จากนั้นนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และอ่านผลด้วยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Inhibition zone ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง



บทที่ 4

ผลและอภิปรายผลการทดลอง

โพลีไตรมาไซลเป็นยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราแบบกว้าง สามารถบริหารยาได้ในหลายรูปแบบทั้งรูปแบบการรับประทานและการใช้ภายนอก สำหรับผู้ป่วยที่ติดเชื้อที่หูชั้นนอกมีข้อบ่งชี้ยาในรูปแบบยาหยอดหูเพื่อรักษาการติดเชื้อรา^(3, 4) ในการศึกษาวิจัยนี้จึงทำการพัฒนาตำรับยาโพลีไตรมาไซลในรูปแบบไมโครพาร์ทิเคิลสำหรับยาหยอดหู และศึกษาขนาดและรูปร่าง รวมทั้งประเมินประสิทธิภาพการกักเก็บยา (Encapsulation Efficiency; %EE) และร้อยละการบรรจุยา (Drug Loading; %DL) ของโพลีไตรมาไซลไมโครพาร์ทิเคิลในแต่ละตำรับ ตลอดจนศึกษาความสามารถในการปลดปล่อยยาออกจากพาร์ทิเคิล ประสิทธิภาพในการยึดเกาะผิวหนัง และฤทธิ์การต้านเชื้อ *C. albicans*

การศึกษาขนาดและรูปร่างของไมโครพาร์ทิเคิล

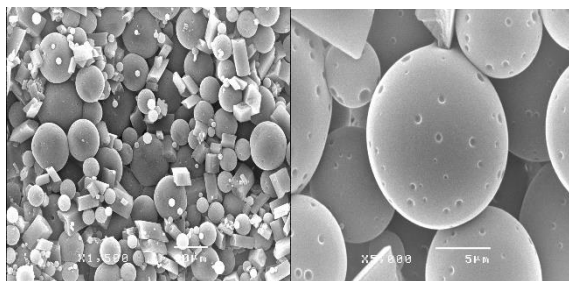
ตำรับโพลีไตรมาไซลไมโครพาร์ทิเคิลสำหรับยาหยอดหูโดยใช้ PLGA เป็นพอลิเมอร์ และเติมสารช่วยทางเภสัชกรรม ได้แก่ PEG 400 และ PG ในวัฏภาคภายใน และเติม NaCl ในวัฏภาคภายนอก โดยมีการเตรียมตำรับที่แตกต่างกันทั้งหมด 6 ตำรับ (ตาราง 3) เมื่อทำการศึกษขนาดเฉลี่ยของไมโครพาร์ทิเคิลในทุกตำรับพบว่า พาร์ทิเคิลที่ยังไม่ผ่านการทำให้แห้งด้วย vacuum dry oven มีขนาดใหญ่กว่าพาร์ทิเคิลที่ผ่านการทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ตาราง 5) การเติม PEG 400 และ PG ลงในวัฏภาคภายในส่งผลให้ขนาดเฉลี่ยของพาร์ทิเคิลแห้งมีขนาดใหญ่ขึ้นเล็กน้อยในสูตรตำรับที่ไม่เติม NaCl ในวัฏภาคภายนอก ในขณะที่การเติม PEG 400 และ PG ลงในวัฏภาคภายในส่งผลให้ขนาดเฉลี่ยของพาร์ทิเคิลแห้งมีขนาดเล็กลงเล็กน้อย เมื่อเติม NaCl ในวัฏภาคภายนอก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อความหนืดในวัฏภาคภายในลดลงจะส่งผลให้ขนาดของพาร์ทิเคิลลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Keohane และคณะ (2014) ที่พบว่าเมื่อความหนืดของ PLGA ในวัฏภาคภายในลดลง ขนาดของไมโครพาร์ทิเคิลจะลดลงด้วย⁽²⁷⁾ แต่ความแตกต่างที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05

ตาราง 5 แสดงขนาดอนุภาคของไมโครพาร์ติเคิลในแต่ละตำรับ

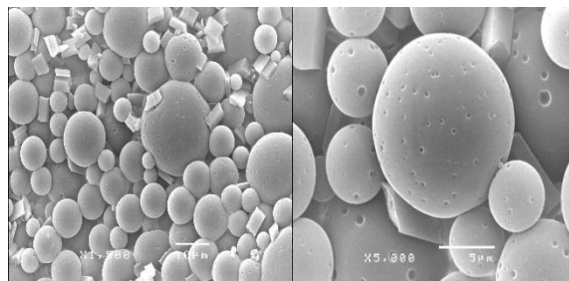
ตำรับ	PEG 400	PG	NaCl ในวัฏภาค ภายนอก	Size	ไมโครพาร์ติเคิลเปียก (µm)		ไมโครพาร์ติเคิลแห้ง (µm)	
					Batch 1	Batch 2	Batch 1	Batch 2
1	-	-	-	Mean size	11.4±4.02	11.07±4.11	6.51±2.75*	7.41±2.59*
				Size range	5.26-25.79	4.79-27.36	2.73-17.57	3.06-17.36
2	+	-	-	Mean size	9.31±4.73	10.17±3.84	7.46±3.68*	9.02±3.64*
				Size range	4.17-29.59	4.78-24.42	3.22-21.38	3.72-22.65
3	-	+	-	Mean size	10.42±1.95	10.90±3.74	6.69±3.29*	8.09±3.31*
				Size range	4.71-21.30	4.84-23.62	2.54-20.13	3.39-21.65
4	-	-	+	Mean size	11.02±3.49	10.68±3.34	9.05±3.40*	7.90±3.18*
				Size range	5.70-23.71	5.26-24.20	3.72-23.06	3.80-23.65
5	+	-	+	Mean size	9.76±3.49	9.88±2.88	8.80±3.27*	7.76±2.80*
				Size range	4.49-23.48	5.00-23.11	3.25-21.23	3.46-20.44
6	-	+	+	Mean size	8.95±3.46	10.52±3.52	7.82±3.65*	7.44±2.60*
				Size range	3.19-24.60	4.78-24.15	3.19-21.62	3.19-19.61

*มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

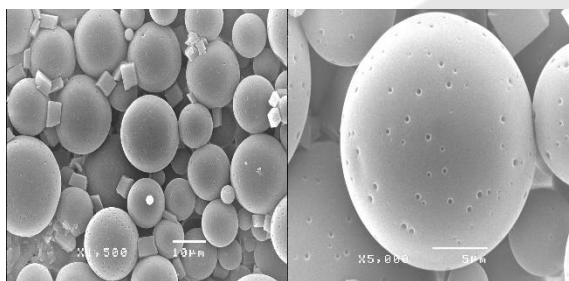
1) PLGA



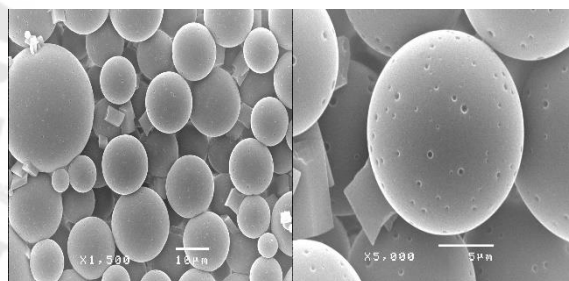
(4) PLGA (เติม NaCl ในวัฏภาคภายนอก)



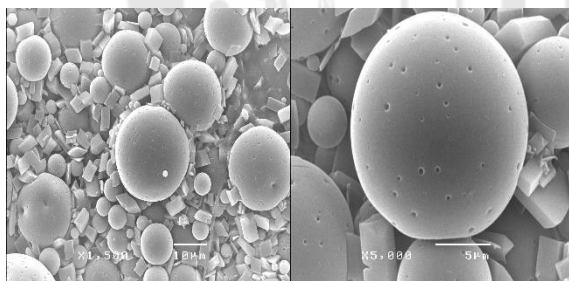
(2) PLGA+PEG 400



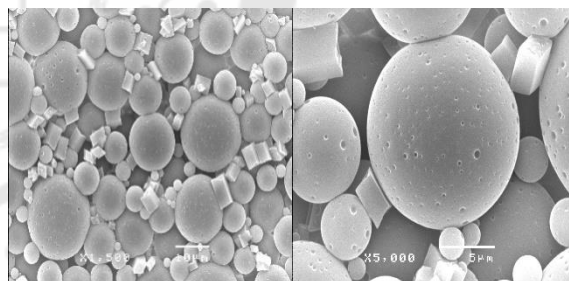
(5) PLGA+PEG 400 (เติม NaCl ในวัฏภาคภายนอก)



(3) PLGA+PG



(6) PLGA+PG (เติม NaCl ในวัฏภาคภายนอก)



ภาพประกอบ 7 แสดงโคลไตรมาไซลไมโครพาร์ติเคิลตำรับที่ 1-6 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 1,500 และ 5,000 เท่า

เมื่อศึกษาลักษณะภายนอกและรูปร่างของพาร์ติเคิลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พาร์ติเคิลในทุกตำรับมีลักษณะกลม มีรูพรุนบนพื้นผิว มีผลึกของโคลไตรมาไซลที่ไม่ถูกกักเก็บอยู่บริเวณภายนอกของพาร์ติเคิล โดยผลึกของโคลไตรมาไซลมีลักษณะเป็นผลึกทรงสี่เหลี่ยมกระจายปะปนกับไมโครพาร์ติเคิล (ภาพประกอบ 7) เนื่องจากขณะที่ไมโครพาร์ติเคิลกำลังก่อตัว ตัวทำละลาย (DCM) ในวัฏภาคภายในจะเคลื่อนที่ออกมาจากพาร์ติเคิลในขณะที่พาร์ติเคิลกำลังแข็งตัว (solidification phase) ซึ่งระหว่างนี้จะมีการระเหยตัวทำละลาย (solvent

evaporation) ส่งผลให้ผิวของพาร์ทิเคิลมีลักษณะเป็นรูพรุน(28, 29) การเติม PEG 400 และ PG ทำให้รูพรุนบนผิวมีแนวโน้มที่จะขนาดเล็กลง เนื่องจาก PEG 400 และ PG มีผลทำให้อุณหภูมิของไมโครพาร์ทิเคิลแข็งตัวเร็วขึ้น⁽³⁰⁾ จึงส่งผลให้ขนาดของรูมีแนวโน้มที่จะเล็กลงกว่าตำรับที่ไม่เติมนอกจากนี้การเติม NaCl ในวัฏภาคภายนอก ทำให้พบผลึกของผลึกของโคลไตรมาไซลลดลงเนื่องจาก NaCl ช่วยเพิ่มความสามารถในการกักเก็บยาของพาร์ทิเคิลได้ จึงทำให้พบผลึกยาบนพื้นผิวน้อยกว่าตำรับที่ไม่เติม NaCl ในวัฏภาคภายนอก นอกจากนี้การเติม NaCl ในวัฏภาคนอกยังทำให้ DCM กระจายหรือละลายออกมายังวัฏภาคภายนอกข้างล่าง จึงส่งเสริมให้รูบนพื้นผิวพาร์ทิเคิลเล็กลงด้วย⁽³¹⁾

การประเมินประสิทธิภาพการกักเก็บยา (Encapsulation Efficiency) และร้อยละการบรรจุยา (Drug Loading)

การวัดประสิทธิภาพการกักเก็บยาและร้อยละการบรรจุยาในพาร์ทิเคิลโดยวัดจากวัฏภาคภายนอกที่เหลือจากการกรองเพื่อเก็บพาร์ทิเคิลซึ่งเป็นการวัดแบบทางอ้อม (indirect method) โดยนำวัฏภาคภายนอกที่เหลือจากการเตรียมไมโครพาร์ทิเคิลมาวัดปริมาณโคลไตรมาไซลที่เหลืออยู่ พบว่าในทุกตำรับมีประสิทธิภาพการกักเก็บยาเกือบ 100% ที่ทำให้มีร้อยละการบรรจุยาประมาณ 49% (ตาราง 6) แต่เมื่อล้างไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเอทานอล และละลายไมโครพาร์ทิเคิลด้วย 5N NaOH และ 95% เอทานอล (อัตราส่วน 1:1) แล้วนำไปวัดปริมาณโคลไตรมาไซลที่ถูกกักเก็บโดยตรง (direct method) พบว่าประสิทธิภาพการกักเก็บยาและร้อยละการบรรจุยาในทุกตำรับลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ indirect method เนื่องด้วยการวัดแบบ indirect method นั้นไม่สามารถวัดโคลไตรมาไซลที่ไม่สามารถละลายในน้ำ (ค่าการละลายของโคลไตรมาไซลในน้ำเท่ากับ 0.49 mg/L)(32, 33) ซึ่งเป็นวัฏภาคภายนอกได้ ยาที่ไม่ถูกกักเก็บจะตกผลึกอยู่ในวัฏภาคภายนอก (ตาราง 6) ส่งผลให้พบโคลไตรมาไซลที่ละลายในวัฏภาคภายนอกปริมาณน้อยทำให้คำนวณโดยวิธีทางอ้อมได้ประสิทธิภาพการกักเก็บยาและร้อยละการบรรจุยามากกว่าความเป็นจริง การล้างไมโครพาร์ทิเคิลด้วยเอทานอลทำให้ผลึกของโคลไตรมาไซลที่ไม่ถูกกักเก็บและเกาะติดบนผิวละลายในเอทานอล (ค่าการละลายของโคลไตรมาไซลในเอทานอลเท่ากับ 128.15 ± 12.43 g/L)(33) เมื่อวัดด้วยวิธี direct method จึงได้ค่าที่ตรงกับการกักเก็บยาจริงของ PLGA ไมโครพาร์ทิเคิล

เมื่อเติม NaCl ลงในวัฏภาคภายนอก พบว่าประสิทธิภาพการกักเก็บยาเพิ่มขึ้น ทั้งตำรับที่เติม PEG 400, PG และตำรับที่ไม่เติมสารช่วยทางเภสัชกรรมในตำรับ ส่งผลให้ร้อยละการบรรจุ

ยาเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน การเติม NaCl ลงในวัสดุภาคภายนอกสามารถลดการแพร่ออกของยาจากวัสดุภาคภายในออกสู่วัสดุภาคภายนอกในขณะที่พอลิเมอร์กำลังก่อตัวเป็นไมโครพาร์ติเคิล ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการกักเก็บยา เนื่องจาก NaCl ในวัสดุภาคภายนอกจะเพิ่มแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ส่งผลให้พาร์ติเคิลก่อตัวแน่นขึ้น และลดการสูญเสียยาในระหว่างที่ไมโครพาร์ติเคิลกำลังก่อตัว มีการศึกษาในการเตรียม Leuprolide acetate ไมโครพาร์ติเคิล โดยเติม NaCl 0.05 - 0.5 โมลาร์ และการเตรียม Somatostatin ไมโครพาร์ติเคิลโดยเติม NaCl 0.38 โมลาร์ ก็ทำให้ประสิทธิภาพการกักเก็บยาเพิ่มขึ้นเช่นกัน^(31, 34)

การเติม PEG 400 และ PG ทำให้ประสิทธิภาพการกักเก็บยาและร้อยละการบรรจุยาเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีไม่เติมสารช่วยทางเภสัชกรรมลงในวัสดุภาคภายในของการเตรียม PLGA ไมโครพาร์ติเคิล และการเติม PG ให้ประสิทธิภาพในการกักเก็บยาและร้อยละการบรรจุยามากกว่าการเติม PEG 400 เนื่องจากเมื่อเติม PEG 400 และ PG ทำหน้าที่เป็น plasticizer ทำให้ Glass transition temperature (Tg) ลดลง ส่งผลให้ความหนืดในวัสดุภาคภายในลดลง พาร์ติเคิลแข็งตัว (solidified) เร็วขึ้นทำให้ลดการสูญเสียยาในขณะที่พาร์ติเคิลกำลังก่อตัว จึงทำให้สามารถกักเก็บยาได้เพิ่มขึ้น^(35, 36) และการเติม PG ทำให้ PLGA แข็งตัว ได้เร็วกว่า PEG 400 จึงทำให้ตำรับที่เติม PG กักเก็บยาได้มากกว่า⁽³⁰⁾ นอกจากนี้ PEG400 และ PG ยังทำหน้าที่เป็น surfactant จึงทำให้โคลไตรมาโซลละลายได้ดียิ่งขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการกักเก็บยาเพิ่มขึ้นได้เช่นกัน⁽³⁷⁾

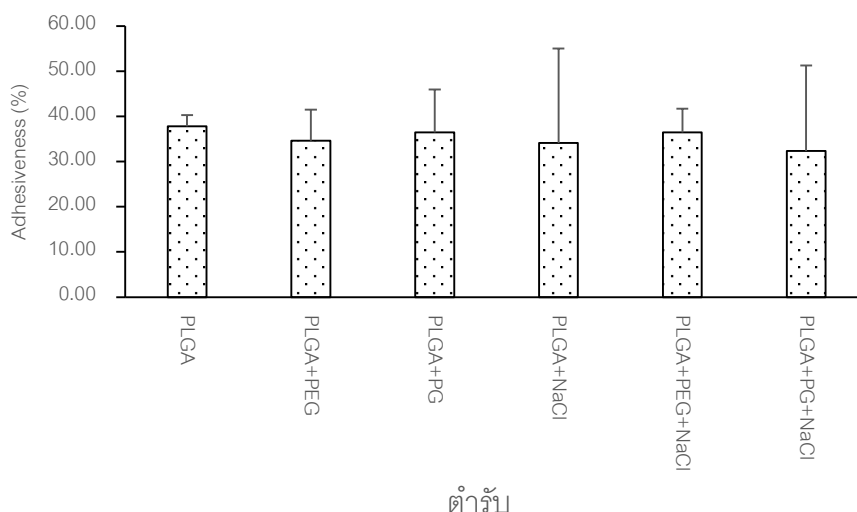
ตาราง 6 แสดงประสิทธิภาพการกักเก็บยา (Encapsulation Efficiency; %EE) และร้อยละการบรรจุยา (Drug Loading; %DL) ของตำรับ

ตำรับ	Encapsulation efficiency (%)		Drug loading (%)	
	Indirect method	Direct method	Indirect method	Direct method
1	97.80±1.22	56.94±1.06	49.44±0.33	28.06±1.11
2	98.14±1.12	60.72±2.86	49.50±0.33	29.75±0.57
3	98.09±1.34	67.74±1.63	49.53±0.30	33.04±0.11
4	99.18±0.93	69.54±6.29	49.78±0.20	33.76±3.05
5	99.17±0.19	75.62±1.24	49.76±0.04	35.50±0.35
6	99.01±0.31	77.74±2.12	49.76±0.07	38.29±0.25

การศึกษาประสิทธิภาพในการยึดเกาะกับผิวหนัง (bioadhesiveness)

การศึกษาประสิทธิภาพในการยึดเกาะกับผิวหนังโดยใช้ผิวหนังหมูพบว่าในทุกตัวรับมีความสามารถในการยึดเกาะกับผิวหนังได้ไม่แตกต่างกัน (ภาพประกอบ 8) และในการทดลองพบว่าพาร์ทิเคิลไม่กระจายตัวเป็นอนุภาคเดี่ยวใน suspension ทำให้น้ำหนักของพาร์ทิเคิลบนหนังหมูในที่สุดที่ได้ในแต่ละครั้งมีความแตกต่างกันมาก ส่งผลให้มีค่า standard deviation (SD) สูง ทำให้ประสิทธิภาพในการยึดเกาะกับผิวหนังมีช่วงความคลาดเคลื่อนกว้าง

การยึดเกาะผิวหนังมีความสำคัญกับตำรับยาที่ใช้หยอดหู เนื่องจากโคลไตรมาไซลไมโครพาร์ทิเคิลที่จะใช้เตรียมในตำรับยาหยอดหูจำเป็นต้องเกาะติดกับผิวหนังในช่องหูได้ดี เพื่อที่จะได้เกิดการปลดปล่อยยาได้อย่างสม่ำเสมอและปริมาณของยาเพียงพอในการรักษาหูอักเสบจากเชื้อรา



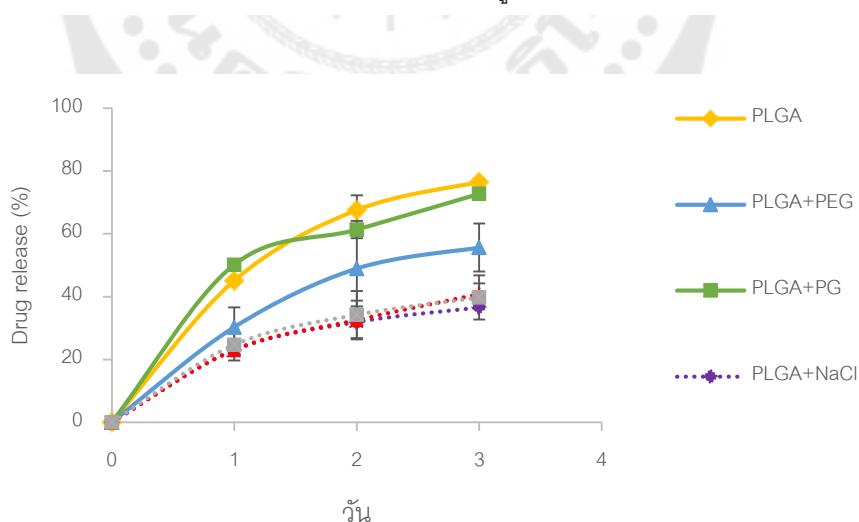
ภาพประกอบ 8 แสดงร้อยละการยึดเกาะกับผิวหนัง (bioadhesiveness) ของโคลไตรมาไซลไมโครพาร์ทิเคิลในตำรับ

การปลดปล่อยยาโคลไตรมาไซลจากไมโครพาร์ทิเคิล

การศึกษาการปลดปล่อยยาโคลไตรมาไซลออกจากไมโครพาร์ทิเคิลในตัวกลางฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยตัวยาโคลไตรมาไซลจะถูกปลดปล่อยออกมาเมื่อน้ำที่อยู่ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์จะแพร่เข้าไปภายในพาร์ทิเคิลส่งผลให้พาร์ทิเคิลเกิดการพองตัวเล็กน้อย (swelling) ทำให้แรงดันออสโมติกและรูพรุนภายในอนุภาคเพิ่มขึ้น ตัวยาโคลไตรมาไซลแพร่ (diffuse) ผ่านพอลิเมอร์ หรือ

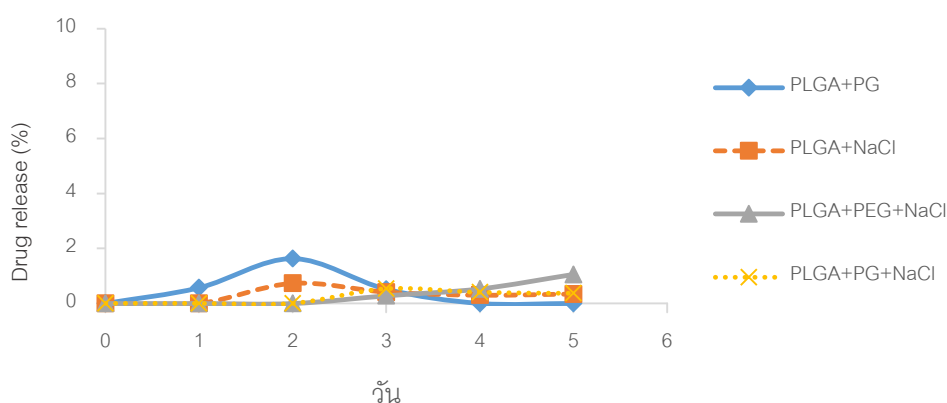
ปลดปล่อยผ่านรูพรุนออกสู่ภายนอก⁽³⁸⁾ เมื่อผ่านไป 1 วัน พบว่าในทุกตำรับมีการปลดปล่อยยาในปริมาณ 20 – 50% ดังภาพประกอบ 9 จากนั้นจะปลดปล่อยออกมาเพิ่มแต่ในปริมาณที่น้อยกว่าในวันแรก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิด initial burst release^(31, 35) โดยตำรับที่ไม่เติม NaCl (ตำรับ 1- 3) มีการปลดปล่อยยาในวันแรกที่ปริมาณสูงกว่าตำรับที่เติม NaCl (ตำรับ 4 - 6) เมื่อเปรียบเทียบการปลดปล่อยในวันที่ 2-5 พบว่า ตำรับที่ 1- 3 ยังมีการปลดปล่อยยาเพิ่มขึ้นในปริมาณ 10-20% แต่ตำรับที่ 4- 6 มีการปลดปล่อยยาเพียง 7-8% และปริมาณยายังคงเพิ่มขึ้นในปริมาณที่สม่ำเสมอจนถึงวันที่ 5 ทั้งนี้เนื่องมาจาก เมื่อเติม NaCl ในตำรับช่วยควบคุมให้เกิด initial burst release ลดลงและสามารถควบคุมการปลดปล่อยยาได้ดีขึ้น อาจเนื่องมาจากเมื่อเติม NaCl จะส่งผลให้ภายในอนุภาคของพาร์ทิเคิลมีความแน่นขึ้น รูพรุนของพื้นผิวลดลง ส่งผลให้ยาออกมาสู่ตัวกลางฟอสเฟตบัฟเฟอร์ได้น้อย จึงทำให้เกิด initial burst release น้อยกว่าตำรับที่ไม่เติม NaCl⁽³¹⁾

การเติม PEG 400 ทำให้การปลดปล่อยยาปริมาณมากในช่วงแรกนั้นเมื่อผ่านไป 3 วัน ปริมาณยาเพิ่มขึ้นในปริมาณที่สม่ำเสมอ ซึ่งการเติม PEG 400 ที่ทำหน้าที่เป็น plasticizer ลงในตำรับพบว่ามีส่วนช่วยให้ควบคุมการปลดปล่อยยาได้ดีขึ้น⁽³⁹⁾ แม้ว่า PG ก็เป็น plasticizer ของ PLGA^(36, 40) เช่นเดียวกับ PEG 400 แต่ด้วย drug loading สูงกว่าทำให้การปลดปล่อยจากไมโครพาร์ทิเคิลที่เติม PG ในช่วงแรกมากกว่า⁽³¹⁾ กราฟการปลดปล่อยยาจึงสูงกว่าไมโครพาร์ทิเคิลที่เติม PEG 400



ภาพประกอบ 9 แสดงการปลดปล่อยยาโคลไตรมาไซลออกจากไมโครพาร์ทิเคิลในตัวกลางฟอสเฟตบัฟเฟอร์

การปลดปล่อยยาโคลไตรมาโซลออกจากไมโครพาร์ทิเคิลในตุ๊กกลางอิมัลชัน เนื่องจากอิมัลชันมีส่วนที่เป็นไขมันในตำรับ และโคลไตรมาโซลมีโครงสร้างที่ไม่ชอบน้ำ สามารถละลายในไขมันได้มากกว่าในน้ำ และ PLGA ซึ่งเป็น hydrophobic polymer ซึ่งคาดว่าตัวยาคะปลดปล่อยได้ดีในตุ๊กกลางอิมัลชัน แต่จากผลการทดลองพบว่าการปลดปล่อยยาโคลไตรมาโซลไม่เกิน 1.6% และในตำรับที่ 1 และ 2 ไม่สามารถตรวจวัดความเข้มข้นของยาได้เลย จึงไม่แสดงผลในภาพประกอบ 10 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากตุ๊กกลางอิมัลชันนั้นมีความหนืดมากและมีน้ำในปริมาณน้อยกว่าบัฟเฟอร์ ทำให้ยาปลดปล่อยออกมาช้า โดยการปลดปล่อยยาทั่วไปจะขึ้นกับปริมาณน้ำหรือตัวทำละลายที่ยาสามารถละลายได้ การใช้อิมัลชันทำให้มีปริมาณน้ำที่ละลายตัวยาน้อยร่วมกับความหนืดที่สูงดังกล่าวทำให้การปลดปล่อยในตุ๊กกลางนี้ต่ำมาก



ภาพประกอบ 10 แสดงการปลดปล่อยยาโคลไตรมาโซลออกจากไมโครพาร์ทิเคิลในตุ๊กกลางอิมัลชัน

นอกจากตุ๊กกลางการละลายที่เป็นบัฟเฟอร์และอิมัลชันแล้ว ยังทำการศึกษาการปลดปล่อยยาในตุ๊กกลางที่เป็น ointment แต่ไม่พบว่ามีโคลไตรมาโซลในตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์เลย อาจเนื่องมาจาก ointment นั้นมีมีน้ำในปริมาณน้อยและมีความหนืดมากกว่าตุ๊กกลางที่เป็นบัฟเฟอร์และอิมัลชันมาก ทำให้ยาปลดปล่อยออกมาได้ช้าและมีปริมาณน้อย ทำให้ยาที่ปลดปล่อยมาไม่มีการแพร่กระจาย จึงทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ผลการปลดปล่อยในตุ๊กกลาง ointment ได้ นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากวิธีที่ใช้ในการสกัดตัวยานำมาวิเคราะห์ด้วย HPLC ไม่สามารถสกัดยาออกมาจาก ointment จึงทำให้ไม่พบโคลไตรมาโซลในตุ๊กกลาง ointment สาเหตุที่นำ ointment มาเป็นตุ๊กกลางในการทดลอง เนื่องจากต้องการจำลองสภาวะการปลดปล่อยยาให้

ใกล้เคียงกับสภาวะในหู ซึ่งบนพื้นผิวภายในรูหูจะเคลือบด้วยขี้หู (earwax) ซึ่งประกอบด้วยไขมัน จำพวก กรดไขมัน แอลกอฮอล์, squalene และคอเลสเตอรอล⁽⁴¹⁾ และ ointment มีความเป็น ไขมันลักษณะคล้ายคลึงกับขี้หู จึงนำมาใช้ศึกษาการปลดปล่อยยาจากโกลไตรมาโซลไมโครพาร์ทิเคิล

การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของโกลไตรมาโซลไมโครพาร์ทิเคิล

แม้จะไม่พบการปลดปล่อยยาในตัวกลางที่มีความชอบไขมันเช่นเดียวกับแวกในหู ซึ่ง อาจเนื่องจากตัวยาที่ปลดปล่อยยาไม่สามารถแพร่ผ่านไปในตัวกลางดังกล่าวได้ดี จึงไม่สามารถ ตรวจวัดปริมาณได้ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางเคมี เพื่อเป็นการยืนยันผลในการออกฤทธิ์การทดสอบ ฤทธิ์ต้านเชื้อราของตำรับไมโครพาร์ทิเคิล จึงทำการทดสอบฤทธิ์โดยให้ไมโครพาร์ทิเคิลสัมผัสกับ เชื้อราโดยตรงด้วยวิธี agar well diffusion เมื่อเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใส (clear zone) ในแต่ละตำรับโกลไตรมาโซลพบว่าทุกตำรับ สามารถยับยั้งเชื้อราได้ เช่นเดียวกับ positive control (ตาราง 7) เมื่อผ่านไป 48 และ 72 ชั่วโมง ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสมีขนาดคงที่ หรือลดลงน้อยกว่าโซนใสจาก positive control ด้วยไมโครพาร์ทิเคิลปลดปล่อยยาแบบออกฤทธิ์ เน้นได้ จึงทำให้ยาสามารถยับยั้งเชื้อราจนเกิดโซนใสได้คงที่จนถึงเวลา 3 วัน

การเติม PEG 400 หรือ PG ร่วมกับการใช้วัสดุภาคภายนอกที่มี NaCl ทำให้เกิดโซนใสที่ มากขึ้นในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง (ตาราง 7) แสดงถึงการปลดปล่อยยาที่คงที่และมากขึ้นในช่วงเวลา ระหว่าง 24-48 ชั่วโมง ตำรับสามารถควบคุมการปลดปล่อยได้ดีจากการเติม PEG 400 หรือ PG ร่วมกับการใช้วัสดุภาคภายนอกที่มี NaCl ด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากทั้งสองตำรับนี้เกิด initial burst release ต่ำกว่าตำรับอื่นใน 24 ชั่วโมงแรก ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองการปลดปล่อยยา ในบัฟเฟอร์ พบว่าตำรับที่มีการเติม NaCl และ PEG 400 หรือ PG มีการเกิด initial burst release ต่ำ และค่อย ๆ ปลดปล่อยยาเพิ่มขึ้นหลังผ่านไป 48 ชั่วโมง

ตาราง 7 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. albicans* ของตำรับ

ตำรับ	เส้นผ่านศูนย์กลางโซนใสของการต้านเชื้อ (mm) n=3		
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
Negative control	0	0	0
Positive control	34.33 ± 6.56	33.62 ± 7.25	31.83 ± 5.27
1	31.00 ± 3.61	30.67 ± 3.06	30.33 ± 4.51
2	29.67 ± 0.58	29.33 ± 1.15	29.33 ± 1.15
3	30.33 ± 1.53	29.00 ± 0.00	29.00 ± 0.00
4	30.33 ± 0.58	29.33 ± 0.58	29.00 ± 0.00
5	30.67 ± 0.58	32.33 ± 2.31	31.00 ± 2.00
6	29.67 ± 0.58	33.33 ± 2.08	32.67 ± 1.53

Positive control = Clotrimazole 80 µg, Negative control = PLGA microparticles in PG

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

การพัฒนาโคไลโตรมาโซลไมโครพาร์ติเคิลสำหรับยาหยอดหู ได้ไมโครพาร์ติเคิลทุกตัวรับมีรูปร่างกลม มีรูพรุนบนพื้นผิวและมีผลึกของโคไลโตรมาโซลที่ไม่ถูกกักเก็บเกาะอยู่บนพื้นผิวของอนุภาค และพบว่าตัวรับที่เติม PEG 400 และ PG มีแนวโน้มที่ผลึกบริเวณพื้นผิวของโคไลโตรมาโซลลดลง และมีขนาดใหญ่ขึ้นเล็กน้อย มีผลให้ประสิทธิภาพการกักเก็บและร้อยละการบรรจุยาเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการเติม NaCl ลงในวัฏภาคภายนอก สามารถทำให้การกักเก็บยาได้ดียิ่งขึ้น ดังนั้นการเติมสารช่วยทางเภสัชกรรมทั้งในวัฏภาคภายในและวัฏภาคภายนอก มีผลทำให้พาร์ติเคิลสามารถกักเก็บยาได้ดีขึ้น แต่การเติม NaCl มีแนวโน้มประสิทธิภาพในการยึดเกาะกับผิวหนังแย่งกว่าตัวรับที่ไม่เติม NaCl ในวัฏภาคภายนอก

เมื่อเติม PEG 400 และ PG ลงในวัฏภาคภายในช่วยให้ไมโครพาร์ติเคิลปลดปล่อยยาได้สม่ำเสมอขึ้น และเมื่อเติม NaCl ลงในวัฏภาคภายนอกช่วยลดการเกิด initial burst release การศึกษาการปลดปล่อยในตัวกลางอิมัลชันและ ointment พบยาในปริมาณน้อยมากเลย เนื่องจากตัวกลางมีความหนืดมากทำให้ยาแพร่ผ่านตัวกลางได้น้อย จึงไม่เหมาะในการนำมาจำลองการปลดปล่อยภายในช่องรูหู แม้ยาจะไม่ปลดปล่อยในตัวกลางที่มีความชอบน้ำมัน ไมโครพาร์ติเคิลทุกตัวรับมีออกฤทธิ์ด้านเชื้อราได้ดี และยังสามารถปลดปล่อยยาแบบออกฤทธิ์เนิ่นได้ ดังนั้นตัวรับที่เติม PEG 400 หรือ PG ลงในวัฏภาคภายใน และเติม NaCl ลงในวัฏภาคภายนอก จึงเป็นตัวรับที่เหมาะสมในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับยาหยอดหูต่อไป

ตัวรับที่ 5 และ 6 ที่มีการเติม PEG400 หรือ PG ลงในวัฏภาคภายในและ NaCl ในวัฏภาคภายนอกเป็นตัวรับที่เหมาะสมในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับยาหยอดหูเนื่องจากมี % EE และ % DL สูงกว่าตัวรับอื่น เกิด initial burst release ต่ำ รวมทั้งมีการควบคุมการปลดปล่อยยาได้ดีในบัฟเฟอร์และในการทดสอบฤทธิ์ด้านเชื้อรา

ข้อเสนอแนะ

ในการทดสอบการปลดปล่อยยาในตัวกลางอิมัลชันและ Ointment อาจทำการทดลองโดยใช้ Franze cell แทน ส่วนวิธีการทดสอบความสามารถในการยึดเกาะผิวหนังของไมโครพาร์ติเคิลอาจเพิ่มปริมาณหรือเปลี่ยนชนิดของ surfactant เพื่อลดการเกาะกลุ่มกันของพาร์ติเคิลในการ

ทดสอบความสามารถในการยัดเกาะผิวหนัง และการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราด้วยวิธี Agar well diffusion ควรเพิ่มปริมาณเชื้อและลดความเข้มข้นของโคลไตรมาโซล เพื่อให้วัดโซนใสได้ชัดเจนยิ่งขึ้น



บรรณานุกรม

1. เปรียบเทียบการรักษาเชื้อราในหูโดยใช้ Tincture merthiolate และ 3% Boric acid Efficacy of Tincture merthiolate vs 3% Boric acid in treatment of otomycosis [database on the Internet] [cited 12 พฤศจิกายน 2562]. Available from: <https://med.mahidol.ac.th/ent/sites/default/files/public/pdf/AbstractPornsillINAL%20otomycosis...pdf>.
2. Lee A, Tysome JR, Saeed SR. Topical azole treatments for otomycosis. Cochrane Database Syst Rev. 2011; 2011(9): CD009289.
3. ปัญชียาหลักแห่งชาติ [database on the Internet] [cited 12 พฤศจิกายน 2562]. Available from: www.fda.moph.go.th/sites/drug/Shared%20Documents/New/nlem2561.PDF.
4. ยาหยอดหู [database on the Internet] [cited 12 พฤศจิกายน 2562]. Available from: https://www.rcot.org/data_detail.php?op=knowledge&id=17.
5. กายวิภาค และสรีรวิทยาของจมูกและโพรงอากาศข้างจมูก [database on the Internet] [cited 12 พฤศจิกายน 2562]. Available from: http://www.rcot.org/pdf/Anatomy_Physiology.pdf.
6. อวัยวะรับรู้ความรู้สึก [database on the Internet] [cited 12 พฤศจิกายน 2562]. Available from: http://119.46.166.126/self_all/selfaccess11/m5/biology5_1/lesson4/content1.php.
7. Prasad SC, Kotigadde S, Shekhar M, Thada ND, Prabhu P, D'Souza T, et al. Primary otomycosis in the Indian subcontinent: predisposing factors, microbiology, and classification. International journal of microbiology. 2014; 2014.
8. Liu X, Li M, Smyth H, Zhang F. Otic drug delivery systems: formulation principles and recent developments. Drug development and industrial pharmacy. 2018; 44(9): 1395-408.
9. Crowley P, Gallagher H. Clotrimazole as a pharmaceutical: past, present and future. Journal of applied microbiology. 2014; 117(3): 611-7.
10. Clotrimazole [database on the Internet] [cited 12 November 2019]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.g> Crowley, PD; & Gallagher, HC.

(2014)ov/compound/clotrimazole# section=InChI-Key.

11. Mishra P, Sachdeva S, Kaushik M, Agrawal D. Otomycosis treatment: Topical Drops versus Cream–A prospective randomized study. *Arch Otolaryngol Rhinol.* 2017; 3(3): 106-8.
12. พอลิเมอร์กับระบบนำส่งยา [database on the Internet] [cited 15 กุมภาพันธ์ 2561]. Available from: [http://www .material.chula.ac.th/RADIO45/February /radio2-4.htm](http://www.material.chula.ac.th/RADIO45/February /radio2-4.htm).
13. Patel A, Cholkar K, Mitra AK. Recent developments in protein and peptide parenteral delivery approaches. *Therapeutic delivery.* 2014; 5(3): 337-65.
14. Paulo F, Santos L. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. *Materials Science and Engineering: C.* 2017; 77: 1327-40.
15. Review article on microparticles [database on the Internet] [cited 15 February 2019]. Available from: http://www.ijpar.com/sites/default/files/articles/IJPAR-15%20SHIVANI_302-309.pdf.
16. Mundargi RC, Babu VR, Rangaswamy V, Patel P, Aminabhavi TM. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly (D, L-lactide-co-glycolide) and its derivatives. *Journal of Controlled Release.* 2008; 125(3): 193-209.
17. Makadia HK, Siegel SJ. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *Polymers.* 2011; 3(3): 1377-97.
18. Wan F, Yang M. Design of PLGA-based depot delivery systems for biopharmaceuticals prepared by spray drying. *International journal of pharmaceutics.* 2016; 498(1-2): 82-95.
19. การใช้ประยุกต์ใช้ไมโครแคปซูลในทางเภสัชกรรม [database on the Internet] [cited 15 กุมภาพันธ์ 2561]. Available from: <http://ccpe.pharmacycouncil.org/showfile.php?file=238>
20. Jyothi NVN, Prasanna PM, Sakarkar SN, Prabha KS, Ramaiah PS, Srawan G. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of microencapsulation.* 2010; 27(3): 187-97.
21. Li M, Rouaud O, Poncelet D. Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. *International Journal of pharmaceutics.* 2008; 363(1-2): 26-39.

22. Horie RT, Sakamoto T, Nakagawa T, Tabata Y, Okamura N, Tomiyama N, et al. Sustained delivery of lidocaine into the cochlea using poly lactic/glycolic acid microparticles. *The Laryngoscope*. 2010; 120(2): 377-83.
23. Choi Y-S, Joo J-R, Hong A, Park J-S. Development of drug-loaded PLGA microparticles with different release patterns for prolonged drug delivery. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2011; 32(3): 867-72.
24. Dundar R, İyner İ. Single Dose Topical Application of Clotrimazole for the Treatment of Otomycosis: Is This Enough? *Journal of audiology & otology*. 2019; 23(1): 15.
25. Abdel-Moety EM, Khattab FI, Kelani KM, AbouAl-Alamein A. Chromatographic determination of clotrimazole, ketoconazole and fluconazole in pharmaceutical formulations. *Il Farmaco*. 2002; 57(11): 931-8.
26. บุญยวีร์ วงษ์ภัทรโรจน์ ส. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ยาโคลไตรมาโซลที่ปลดปล่อยจากไมโครพาร์ติเคิลสู่ตัวกลางอิมัลชัน. 2019.
27. Keohane K, Brennan D, Galvin P, Griffin BT. Silicon microfluidic flow focusing devices for the production of size-controlled PLGA based drug loaded microparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014; 467(1-2): 60-9.
28. Mazzara JM. Self-Encapsulation of Vaccine Antigens in PLGA Microparticles and Microneedles. 2016.
29. Hua Y, Su Y, Zhang H, Liu N, Wang Z, Gao X, et al. Poly (lactic-co-glycolic acid) microsphere production based on quality by design: a review. *Drug Delivery*. 2021; 28(1): 1342-55.
30. Fabien V, Minh-Quan L, Michelle S, Guillaume B, Van-Thanh T, Marie-Claire V-J. Development of prilling process for biodegradable microspheres through experimental designs. *International journal of pharmaceutics*. 2016; 498(1-2): 96-109.
31. Luan X, Skupin M, Siepmann J, Bodmeier R. Key parameters affecting the initial release (burst) and encapsulation efficiency of peptide-containing poly (lactide-co-glycolide) microparticles. *International journal of pharmaceutics*. 2006; 324(2): 168-75.
32. Balata G, Mahdi M, Bakera RA. Improvement of solubility and dissolution

properties of clotrimazole by solid dispersions and inclusion complexes. *Indian journal of pharmaceutical sciences*. 2011; 73(5): 517.

33. Tonglairoum P, Ngawhirunpat T, Rojanarata T, Kaomongkolgit R, Opanasopit P. Fast-acting clotrimazole composited PVP/HP β CD nanofibers for oral candidiasis application. *Pharmaceutical research*. 2014; 31(8): 1893-906.
34. Hermann J, Bodmeier R. The effect of particle micro structure on the somatostatin release from poly (lactide) microspheres prepared by aw/o/w solvent evaporation method. *J Control Release*. 1995; 36: 63-71.
35. Liu G, McEnnis K. Glass Transition Temperature of PLGA Particles and the Influence on Drug Delivery Applications. *Polymers*. 2022; 14(5): 993.
36. Snejdrova E, Dittrich M. Pharmaceutical applications of plasticized polymers. *Recent advances in plasticizers*. 2012; 159: 23-34.
37. El-Houssieny BM, Hamouda HM. Formulation and evaluation of clotrimazole from pluronic F 127 gels. *Drug Discoveries & Therapeutics*. 2010; 4(1).
38. Asmatulu R, Fakhari A, Wamocha H, Chu H, Chen Y, Eltabey M, et al. Drug-carrying magnetic nanocomposite particles for potential drug delivery systems. *Journal of Nanotechnology*. 2009; 2009.
39. Kim Y, Beck-Broichsitter M, Banga AK. Design and evaluation of a poly (lactide-co-glycolide)-based in situ film-forming system for topical delivery of trolamine salicylate. *Pharmaceutics*. 2019; 11(8): 409.
40. Věříš A. Characterization of PLGA-based film forming systems. 2021.
41. Okuda I, Bingham B, Stoney P, Hawke M. The organic composition of earwax. *The Journal of otolaryngology*. 1991; 20(3): 212-5.



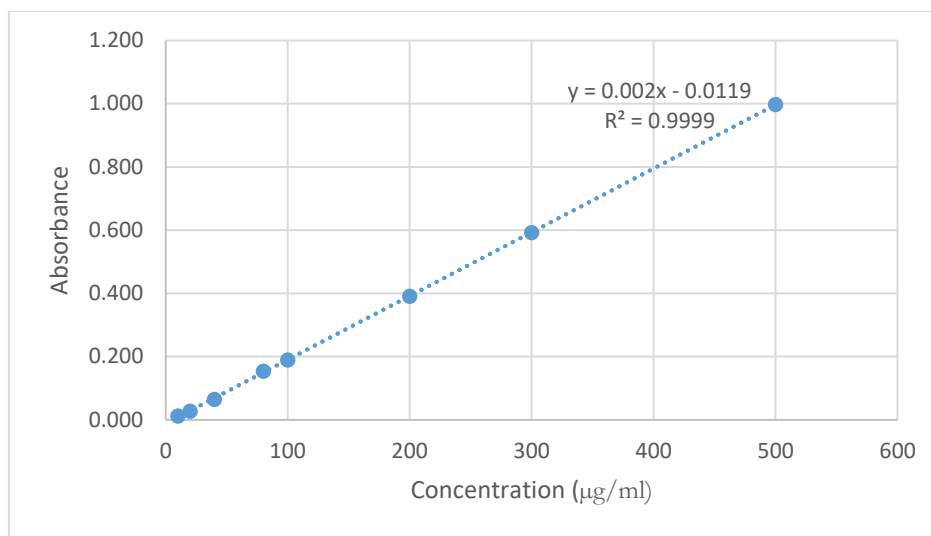
ภาคผนวก

สูตรตำรับอิมัลชัน

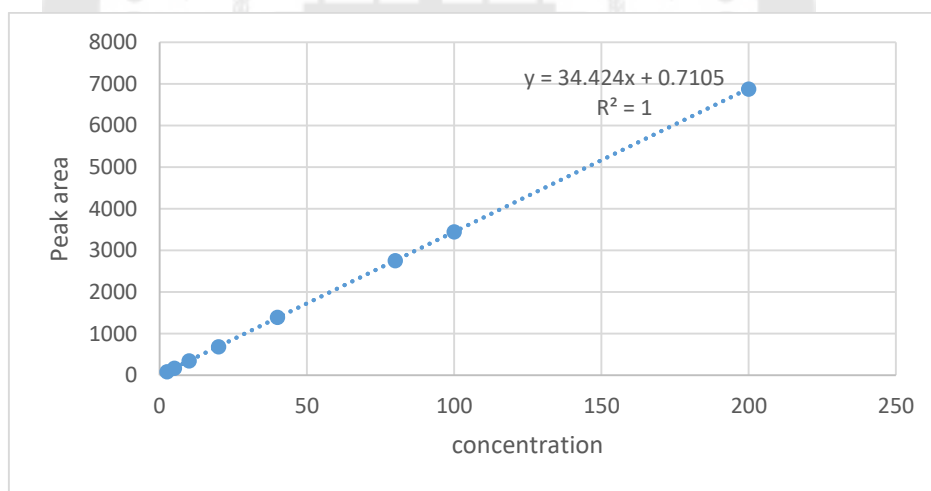
<u>สารเคมี</u>	<u>ปริมาณ</u>
Stearic acid	140 g
Cetyl alcohol	10 g
Isopropyl palmitate	10 g
Triethanolamine (TEA)	14 g
Methyl paraben	1 g
Propyl paraben	0.5 g
Purified water	824.5 g

สูตรตำรับ ointment

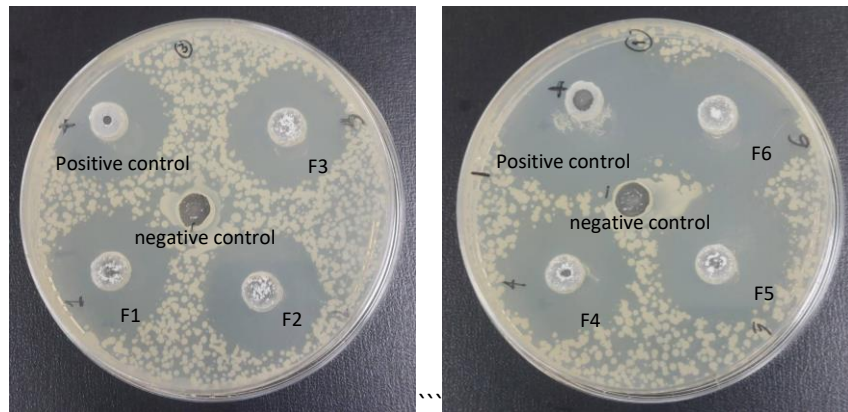
<u>สารเคมี</u>	<u>ปริมาณ</u>
Stearyl alcohol	250 g
White petrolatum	250 g
Sodium lauryl sulfate	10 g
Propylene glycol	120 g
Methyl paraben	0.25 g
Propyl paraben	0.15 g
Purified water	370 g



ภาพประกอบ 11 กราฟมาตรฐานโคลไตรมาโซลที่ความเข้มข้น 10-500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วัดด้วย UV-Vis spectroscopy



ภาพประกอบ 12 กราฟมาตรฐานโคลไตรมาโซลที่ความเข้มข้น 2.5-200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วัดด้วย HPLC



ภาพประกอบ 13 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *C. albicans* ของตำรับ



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	สายสุนีย์ รัตนกรุณา
วัน เดือน ปี เกิด	26 ตุลาคม 2525
สถานที่เกิด	สมุทรปราการ
วุฒิการศึกษา	พ.ศ.2548 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.ม.) สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยนเรศวร
ที่อยู่ปัจจุบัน	473/36 ม. 3 ต.บ้านคลองสวน อ.พระสมุทรเจดีย์ จ. สมุทรปราการ

