

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของไฮดรอกซีโพรพิลเบต้าไซโคลเด็กซ์ทรินต่อการละลายและความ
คงตัวของนอร์ฟลอกซาซินในรูปผงแห้งและสารละลายในน้ำ

Effect of Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin on Norfloxacin
Solubility and Stability in the Solid State and Aqueous
Solution

วริษฐา ศิลาอ่อน และคณะ
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ 2541

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย ม.อบ. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สามารถดำเนินการให้บรรลุตามวัตถุประสงค์ และจัดทำรูปเล่มจนสำเร็จ เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ได้ให้การสนับสนุนทางด้านงบประมาณในการทำวิจัย ขอขอบพระคุณภาควิชาเคมีและภาควิชาฟิสิกส์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ได้เอื้อเพื่อการใช้เครื่อง FTIR Spectroscopy และ Powder X-Ray Diffraction ตามลำดับ ขอขอบพระคุณคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ได้อนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองทำให้งานสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

บทสรุปผู้บริหาร

นอร์ฟลอกซาซินเป็นยาต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม fluoroquinolone มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยยับยั้งเอนไซม์ DNA gyrase (Topoisomerase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จำเป็นในการสร้าง DNA ของแบคทีเรีย เป็นยาที่ออกฤทธิ์กว้างสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ นอร์ฟลอกซาซินเป็นยาที่ละลายน้ำได้น้อย ส่วนไฮดรอกซีโพรพิลเบต้าไซโคลเด็กซ์ทริน เป็นอนุพันธ์ของไซโคลเด็กซ์ทริน มีค่าการละลายในน้ำสูงมาก มีความเป็นพิษต่ำ ที่สำคัญคือสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (inclusion complex) กับตัวยาได้ ดังนั้นโครงการวิจัยเรื่อง “ผลของไฮดรอกซีโพรพิลเบต้าไซโคลเด็กซ์ทริน ต่อการละลายและความคงตัวของนอร์ฟลอกซาซินในรูปผงแห้งและสารละลายในน้ำ” มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบสารประกอบเชิงซ้อนที่ได้จากวิธีการทำแห้งด้วยวิธีต่าง ๆ ที่เหมาะสมที่สุดในการเพิ่มการละลายยา โดยเน้นการเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนให้อยู่ในรูปผงแห้ง โดยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying) และการพ่นแห้ง (spray drying) การหาสัดส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างยานอร์ฟลอกซาซินและไฮดรอกซีโพรพิลเบต้าไซโคลเด็กซ์ทริน ใช้วิธี phase solubility diagram พบว่ารูปแบบการละลายเป็นชนิด A_L ได้สารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายน้ำ เมื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของสารประกอบเชิงซ้อนพบว่าการจัดเรียงตัวของรูปผลึกเป็นแบบอสัณฐาน (amorphous) ซึ่งแตกต่างจากยานอร์ฟลอกซาซินที่มีการจัดเรียงรูปผลึกแบบสัณฐาน (crystalline) ช่วยเพิ่มการละลายน้ำของยานอร์ฟลอกซาซินได้เนื่องจากตัวยายอยู่ในโครงสร้างของไฮดรอกซีโพรพิลเบต้าไซโคลเด็กซ์ทริน อย่างไรก็ตามรูปผลึกอสัณฐานทำให้ไวต่อความชื้น ดังนั้นควรศึกษาด้านความคงตัวของสารประกอบเชิงซ้อนก่อนเพื่อนำมาเตรียมเป็นรูปแบบยา (dosage forms) ที่เหมาะสมต่อไป

สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทสรุปผู้บริหาร	II
บทคัดย่อ	III
Abstract	IV
บทนำ	1
ทบทวนวรรณกรรม	3
ระเบียบวิธีวิจัย	21
ผลการทดลองและอภิปรายผล	25
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	32
เอกสารอ้างอิง	33
ประวัตินักวิจัย	35
ภาคผนวก	38

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
ตารางที่ 1	แสดงค่าการละลายของนอร์ฟลอกซาซิน ที่ 25 °C	3
ตารางที่ 2	Pharmacokinetic properties of Norfloxacin	5
ตารางที่ 3	Pharmacological distribution of Norfloxacin in humans	5
ตารางที่ 4	คุณสมบัติของ cyclodextrin และอนุพันธ์	8
ตารางที่ 5	การประยุกต์ใช้ cyclodextrin ในการเพิ่มค่าการละลายของยา	15
ตารางที่ 6	ผลของ cyclodextrin ต่อความคงตัวของยา	17
ตารางที่ 7	ผลิตภัณฑ์ยาที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ cyclodextrin ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด	19
ตารางที่ 8	ค่าการละลายของ Norfloxacin และสารประกอบเชิงซ้อน Norfloxacin กับ HP- β -CD ที่อุณหภูมิ 25 \pm 1 °C (n=2)	25

สารบัญภาพ

รูป		หน้า
รูปที่ 1	สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Norfloxacin	3
รูปที่ 2	แสดง pH-solubility Profile ของนอร์ฟลอกซาซิน ที่อุณหภูมิ 25 °C	4
รูปที่ 3	โครงสร้างของ α -, β - และ γ -Cyclodextrin	7
รูปที่ 4	โครงสร้างของ A: Heptakis (2, 6-O-dimethyl)- β -cyclodextrin และ B: Hydroxypropyl- β -cyclodextrin	9
รูปที่ 5	โครงสร้างของ cyclodextrin และการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน	10
รูปที่ 6	Phase solubility diagram	11
รูปที่ 7	Phase solubility diagram ของ Norfloxacin ในสารละลาย Hydroxypropyl- β -cyclodextrin	26
รูปที่ 8	Powder X-Ray Diffraction Patterns ของ HP- β -CD, Norfloxacin, Physical mixture และสารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมโดยวิธี spray drying และ freeze drying	28
รูปที่ 9	FTIR Spectrum ของ HP- β -CD, Norfloxacin, Physical mixture และสารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมโดยวิธี spray drying และ freeze drying	30
รูปที่ 10	เปรียบเทียบค่าการละลายของ Norfloxacin (pure drug), physical mixture และสารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมโดยเทคนิค freeze drying และ spray drying	31
รูปที่ 11	FTIR Spectra of Hydroxypropyl- β -cyclodextrin	40
รูปที่ 12	FTIR Spectra of Norfloxacin	41
รูปที่ 13	FTIR Spectra of Physical mixture	42
รูปที่ 14	FTIR Spectra of Spray dried powder	43
รูปที่ 15	FTIR Spectra of freeze dried powder	44
รูปที่ 16	Powder X-Ray Diffraction pattern of Hydroxypropyl- β -cyclodextrin	45
รูปที่ 17	Powder X-Ray Diffraction pattern of Norfloxacin	46
รูปที่ 18	Powder X-Ray Diffraction pattern of Physical mixture	47
รูปที่ 19	Powder X-Ray Diffraction pattern of spray dried powder	48
รูปที่ 20	Powder X-Ray Diffraction pattern of Freeze dried powder	49

คำอธิบายสัญลักษณ์

μg	Microgram
mg	Milligram
mL	Milliliter
L	Liter
μm	Micrometer
nm	Nanometer
mg/mL	Milligram per milliliter
$\mu\text{g/mL}$	Microgram per milliliter
$^{\circ}\text{C}$	Degree Celsius
rpm	Revolutions per minute
CD	Cyclodextrin
α -CD	Alpha-Cyclodextrin
β -CD	Beta-Cyclodextrin
γ -CD	Gamma-Cyclodextrin
HP- β -cyclodextrin HP- β -CD	Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin
HP- γ -cyclodextrin	Hydroxypropyl - γ -cyclodextrin
DM- β -cyclodextrin	Dimethyl- β -cyclodextrin
SBE- β -cyclodextrin	Sulfobutylether- β -cyclodextrin
RM- β -cyclodextrin	Randomly methylated- β -cyclodextrin

บทที่ 1

บทนำ

(Introduction)

ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

นอร์ฟลอกซาซิน (Norfloxacin) เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Fluoroquinolone มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยยับยั้งเอนไซม์ DNA gyrase (topoisomerase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จำเป็นในการสร้าง DNA ของแบคทีเรีย ออกฤทธิ์กว้างสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบเช่น *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.* เป็นต้น Norfloxacin ใช้ได้ผลดีในการรักษาโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินปัสสาวะ ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง ปัจจุบันรูปแบบยารับประทานที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมีเฉพาะยาเม็ดขนาด 100, 200, 400 และ 800 mg ยังไม่พบในรูปแบบสารละลายเนื่องจาก Norfloxacin ละลายน้ำได้น้อยมาก และมีปัญหาเรื่องความคงตัวเมื่ออยู่ในรูปสารละลายในน้ำ สำหรับ Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin (HP- β -CD) เป็นอนุพันธ์ของ cyclodextrins มีค่าการละลายในน้ำสูงมาก ความเป็นพิษต่ำ ที่สำคัญคือสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (inclusion complex) กับตัวยาได้ จึงนำมาใช้เป็นสารช่วยเพิ่มการละลายและความคงตัวของยาที่มีปัญหาในเรื่องการละลายและความคงตัว ซึ่งจะทำให้เป็นแนวทางในการพัฒนาตำรับยานอร์ฟลอกซาซินในรูปแบบสารละลายต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบวิธีการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน โดยวิธีต่าง ๆ เพื่อหาวิธีและสัดส่วนที่เหมาะสมในการเพิ่มการละลายและความคงตัวของ Norfloxacin
2. เพื่อศึกษาความคงตัวของสารประกอบเชิงซ้อนในรูปผงแห้งและสารละลายในน้ำ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับและหน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

เมื่อทราบถึงผลของ Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin (HP- β -CD) ต่อการละลายและความคงตัวของ Norfloxacin แล้ว สามารถนำมาเป็นแนวทางในการพัฒนาเป็นยาเตรียมประเภทสารละลายได้เช่น ยาน้ำใส ยาน้ำเชื่อม หรือผงแห้งชนิดน้ำเชื่อม ซึ่งการเตรียมยาในรูปแบบสารละลายนั้นจะทำให้ตัวยากกระจายตัวสม่ำเสมอตัวยากออกฤทธิ์ได้เร็วเนื่องจากยาอยู่ในสภาพที่ละลายอยู่แล้ว การเตรียมในรูปแบบสารละลายเหมาะกับผู้ป่วยเด็กหรือผู้ป่วยที่ไม่สามารถกลืนยาเม็ดหรือยาแคปซูลได้ นอกจากนี้สามารถนำเทคนิคการเพิ่มการละลายประยุกต์ใช้ในตำรับยาฉีดนอร์ฟลอกซาซิน HP- β -CD ไม่เป็นพิษต่อร่างกายเมื่อให้ในรูปยาฉีดเข้าเส้น

หน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ได้แก่คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ฝ่ายวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สถานผลิตยาแผนปัจจุบันทั้งภาครัฐและเอกชน และสถาบันวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาเภสัชภัณฑ์รูปแบบต่าง ๆ

ขอบเขตของการวิจัย

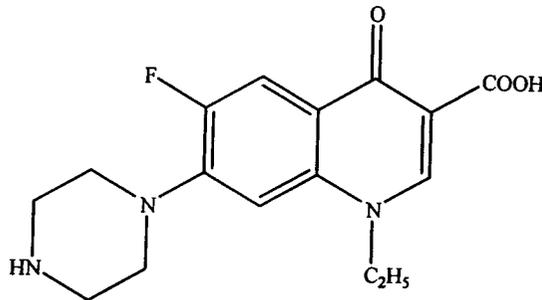
1. ทหาการละลายของยานอร์ฟลอกซาซินในสารละลาย Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25 °C เพื่อหาสัดส่วนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างนอร์ฟลอกซาซินและ Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin
2. เตรียมสารประกอบเชิงซ้อนในรูปผงแห้งโดยใช้เทคนิค Physical mixing, Freeze drying และ Spray drying
3. ตรวจสอบสมบัติของสารประกอบเชิงซ้อนด้วยวิธี X-ray diffraction, IR-Spectrophotometry และหาค่าการละลายโดยใช้เครื่อง Dissolution Apparatus

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม (Literature Review)

ทบทวนวรรณกรรมของนอร์ฟลอกซาซิน (Norfloxacin)

นอร์ฟลอกซาซิน (Norfloxacin) เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม fluoroquinolone ออกฤทธิ์กว้าง สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ จึงใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อในท่อทางเดินปัสสาวะ ต่อมลูกหมาก โรคหนองในและทางเดินอาหาร โดยจะยับยั้งการสร้าง deoxyribonucleic acid



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Norfloxacin

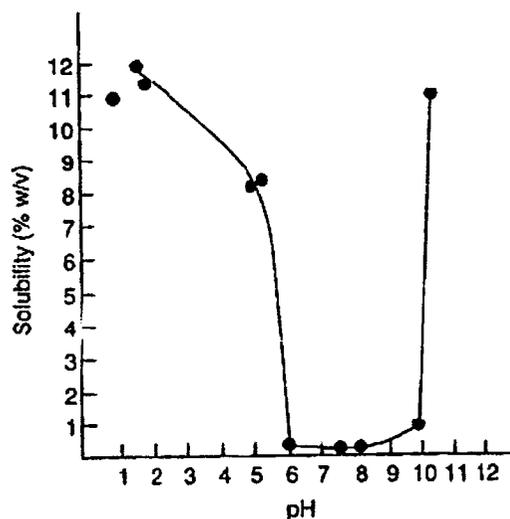
คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของ Norfloxacin [1]

นอร์ฟลอกซาซินมีลักษณะเป็นผงสีขาวหรือเหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่น มีรสขม มีน้ำหนักโมเลกุล 319.34 ค่า $pK_{a1} = 6.34 \pm 0.06$ (carboxylic acid) และ $pK_{a2} = 8.75 \pm 0.07$ (protonated piperazine nitrogen) ขีดการละลาย (solubility) ของนอร์ฟลอกซาซินแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่าการละลายของนอร์ฟลอกซาซิน ที่ 25 °C [1]

ตัวทำละลาย	ขีดการละลาย (mg/mL)	ตัวทำละลาย	ขีดการละลาย (mg/mL)
น้ำ	0.28	Ethyl acetate	0.94
Methanol	0.98	Chloroform	5.50
Ethanol	1.90	Diethyl ether	0.01
Acetone	5.10	Benzene	0.15
Chloroform	5.50	Ethyl acetate	0.94
Diethyl ether	0.01	Glacial acetic acid	340.00
Benzene	0.15	Octyl alcohol	5.10

การละลายของนอร์ฟลอกซาซินในน้ำขึ้นอยู่กับค่า pH ถ้า pH ต่ำกว่า 5 หรือสูงกว่า 10 ซีดการละลายจะสูงขึ้น แต่ในช่วง pH 6-10 ซีดการละลายลดลง ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดง pH-solubility Profile ของนอร์ฟลอกซาซิน ที่อุณหภูมิ 25 °C [1]

สัมประสิทธิ์การแบ่งภาค (Partition coefficient) ของนอร์ฟลอกซาซิน ที่อุณหภูมิ 25 °C มีค่าแตกต่างกันขึ้นกับตัวกลางที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำที่ใช้ เมื่อใช้น้ำร่วมกับ octyl alcohol, 0.1 M pH 7.0 phosphate buffer ร่วมกับ chloroform หรือ 0.1 M pH 7.0 phosphate buffer ร่วมกับ octyl alcohol ในสัดส่วนที่เท่ากัน ได้ค่า partition coefficient เท่ากับ 0.46, 1.94 และ 0.43 ตามลำดับ [1]

ความคงตัวของนอร์ฟลอกซาซิน

ผงแห้งนอร์ฟลอกซาซินมีความคงตัวเมื่อเก็บในภาชนะที่ป้องกันแสง มีความคงตัวเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 40 °C นาน 24 เดือนหรือ 50-60 °C นาน 12 เดือน และไม่พบการเสื่อมสลายเมื่อเก็บผงแห้งนอร์ฟลอกซาซินที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 8 ชั่วโมง และมีความคงตัวต่อความชื้น อย่างไรก็ตามผงแห้งนอร์ฟลอกซาซินมีความไวต่อแสง

เมื่อทดสอบความคงตัวของสารละลายนอร์ฟลอกซาซินใน 2 N hydrochloric acid และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C จะเกิดการสลายตัว แต่ไม่เกิดการสลายตัวเมื่อทดสอบใน 1 N Sodium hydroxide ที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 15 นาที และเมื่อเตรียมสารละลายนอร์ฟลอกซาซินให้มี pH 5.2 พบว่ามีความคงตัวอย่างน้อย 36 เดือนเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 23 และ 30 °C นอกจากนี้สารละลายนอร์ฟลอกซาซินสามารถ autoclave (121 °C นาน 15 นาที) ได้โดยไม่สลายตัว ถ้าต้องการ

เตรียมสารละลายนอร์ฟลอกซาซินให้มีความคงตัวมากที่สุดควรเตรียมให้สารละลายมี pH 5.5, ionic strength 0.2

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของนอร์ฟลอกซาซิน

นอร์ฟลอกซาซินเป็นยาต้านเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Fluoroquinolone ออกฤทธิ์กว้าง ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ทางเดินปัสสาวะ ระบบน้ำดีและระบบทางเดินหายใจ จากสูตรโครงสร้างของนอร์ฟลอกซาซินที่เป็น quinolone carboxylic acid มี Fluorine (F) ที่ตำแหน่งที่ 6 และ piperazine ที่ตำแหน่งที่ 7 ทำให้มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ

กลไกการออกฤทธิ์

จากโครงสร้างของนอร์ฟลอกซาซินมีหมู่ carboxylic acid และ ketone จึงมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericidal) และถ้ามีหมู่ substituent ที่ตำแหน่ง 6 และ 7 ทำให้มีประสิทธิภาพและความแรงมากขึ้น โดยนอร์ฟลอกซาซินมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA gyrase หรือ topoisomerase-II ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยน negative superhelic เป็น duplex DNA ทำให้ไม่เกิดการสร้าง DNA ในแบคทีเรีย

Pharmacokinetics

เมื่อให้นอร์ฟลอกซาซินขนาด 200-400 mg โดยการรับประทาน (single dose) ระดับยาในเลือดเฉลี่ยมีค่า 0.8 ± 0.3 และ 1.5 ± 0.6 mg/L ตามลำดับ ภายใน 60-90 นาที และอาหารมีผลต่อการดูดซึมยา ยาไม่ถูกขับทางน้ำนม แต่ถูกขับออกทางไต น้ำดี elimination half life ประมาณ 3 ชั่วโมง ข้อมูล Pharmacokinetics ของนอร์ฟลอกซาซินแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 Pharmacokinetic properties of Norfloxacin [2]

Half - life (h)	Oral bioavailability (%)	Peak serum concentrations ($\mu\text{g/mL}$)	Oral dose (mg)	Primary route of excretion
3.5-5	80	1.5	400	Renal

ตารางที่ 3 Pharmacological distribution of Norfloxacin in humans [3]

Dose (mg)	Route	Serum			Urine			Blister fluid	
		C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	$t_{1/2}$ (h)	AUC ($\mu\text{g/h/mL}$)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery (%)	V_d (L)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	% of serum
400	p.o.	1.5	3-4	5-6	98-114	28	NA	1.0	67

หมายเหตุ:

p.o. = Perorally

C_{max} = Maximum concentration in designated fluid

$t_{1/2}$ = Terminal half-life of elimination from serum

AUC = Area under the curve of a plot of serum concentration versus time

V_d = Volume of distribution

NA = Data not available

Metabolism

Metabolism ของนอร์ฟลอกซาซินเกิดขึ้นที่ตับโดยเอนไซม์ P450 และขับออกทางไตประมาณ 30% โดยเกิดที่ตำแหน่ง amino nitrogen ของ piperazine ring ได้เป็น formyl และ acetyl derivatives หรือเกิดออกซิเดชันที่คาร์บอนอะตอมเกิดเป็น oxo derivative

ข้อบ่งใช้

นอร์ฟลอกซาซินใช้รักษาอาการติดเชื้อที่ระบบทางเดินปัสสาวะ เช่นท่อปัสสาวะอักเสบที่เกิดจากเชื้อ *Neisseria gonorrhoea* และมดลูกอักเสบ นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพในการรักษาการติดเชื้อที่ระบบทางเดินอาหารที่เกิดจากเชื้อ *E-coli* หรือ *Shigella species* โดยรับประทานขนาด 400 mg วันละ 2-3 ครั้ง นาน 5 วัน [4] ส่วนการรักษาไขไทฟอยด์ ให้รับประทาน 400 mg วันละ 3 ครั้งนาน 14 วัน

อาการไม่พึงประสงค์

ได้แก่คลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร วิงเวียน ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย นอนไม่หลับ ซึ่งอาการเหล่านี้จะหายไปเมื่อหยุดยา [5]

ทบทวนวรรณกรรมของ Cyclodextrins และอนุพันธ์

Cyclodextrin เป็น cyclic oligosaccharide มี glucopyranose เป็นหน่วยย่อย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -(1,4) มีชื่ออื่นๆ ที่รู้จักกัน ได้แก่ cycloamylose, cyclomaltose และ Schardinger dextrin ซึ่ง cyclodextrin ได้จากการย่อยแป้งโดยเอนไซม์ cyclodextrin glucanotransferase (CGTase)

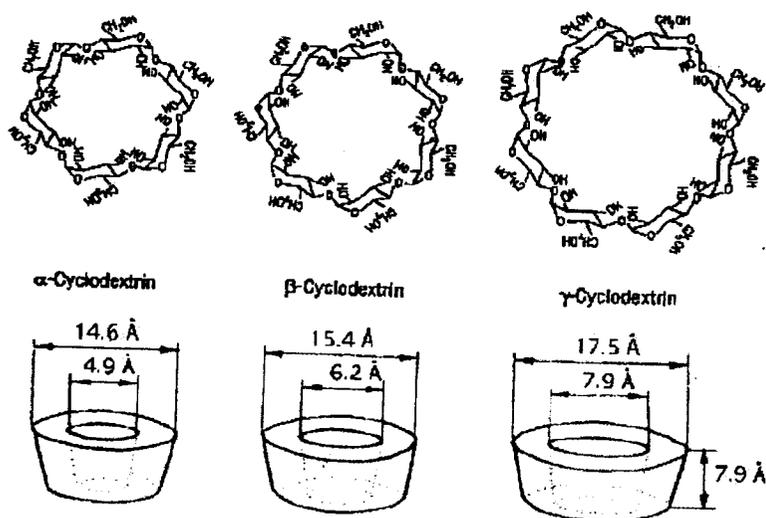
มีการค้นพบ cyclodextrin ตั้งแต่ปีค.ศ. 1891 โดย Villiers เมื่อเขาสามารถแยกผลึกปริมาณ 3 กรัม จากการใช้แบคทีเรียย่อยแป้ง 1,000 กรัม เพื่อสังเคราะห์ dextrin จาก *Bacillus amylobacter* แต่พบว่าผลึกที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากเชื้อที่ปนเปื้อนคือ *Bacillus macerans* ซึ่งสูตรเคมีของผลึกนี้คือ $(C_6H_{10}O_5)_3 \cdot 3H_2O$ และเขาเรียกผลึกที่แยกได้ว่า 'Cellulosine' ต่อมาในปีค.ศ.1903 Schardinger สามารถแยก Cellulosine ได้เป็น dextrin A และ B แต่จากการหมักด้วยเชื้อดังกล่าวได้ผลที่ไม่แน่นอน

ในปีค.ศ. 1935 มีการค้นพบ γ -cyclodextrin โดย Freudenberg และ Jacobi แต่ยังไม่มีการทราบโครงสร้างที่แน่นอนของ cyclodextrin จนกระทั่งปีค.ศ. 1942 สามารถระบุโครงสร้างของ α และ β -cyclodextrin ได้โดยใช้ X-ray Crystallography ในปีค.ศ. 1948 พบโครงสร้างของ γ -cyclodextrin และพบว่า cyclodextrin สามารถเกิด inclusion complex ได้

สิ่งที่ทำให้ cyclodextrin น่าสนใจ คือสามารถทำให้เกิด inclusion complex ได้ มีช่องว่างที่เป็น hydrophobic และมีขอบรอบนอกที่เป็น hydrophilic ทำให้สามารถละลายน้ำได้ จึงมีการประยุกต์ใช้ cyclodextrin อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมยาและอาหาร

โครงสร้างและคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Structure and Physicochemical Properties)

Cyclodextrins (CDs) เป็น cyclic oligosaccharides แบ่งได้ 3 ประเภทคือ α -cyclodextrin, β -cyclodextrin และ γ -cyclodextrin ซึ่งแต่ละประเภทแตกต่างกันที่จำนวน glucopyranose units ซึ่งต่อกันที่ตำแหน่ง α -(1,4) ซึ่ง α -, β - และ γ -cyclodextrin มีจำนวน glucopyranose units 6, 7 และ 8 ตามลำดับ ดังรูปที่ 3 cyclodextrins เป็นสารที่ช่วยเพิ่มการละลายและความคงตัวของยาที่ละลายน้ำยากโดยเฉพาะอย่างยิ่ง β -cyclodextrin ได้รับการยอมรับและแพร่หลายในเภสัชตำรับของอเมริกา [6] และยุโรป [7] ส่วน 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin เป็นอนุพันธ์ของ β -cyclodextrin นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในเภสัชตำรับของอเมริกา คุณสมบัติของ cyclodextrin ประเภทต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 4



รูปที่ 3 โครงสร้างของ α -, β - และ γ -Cyclodextrin

ตารางที่ 4 คุณสมบัติของ cyclodextrin และอนุพันธ์ [8]

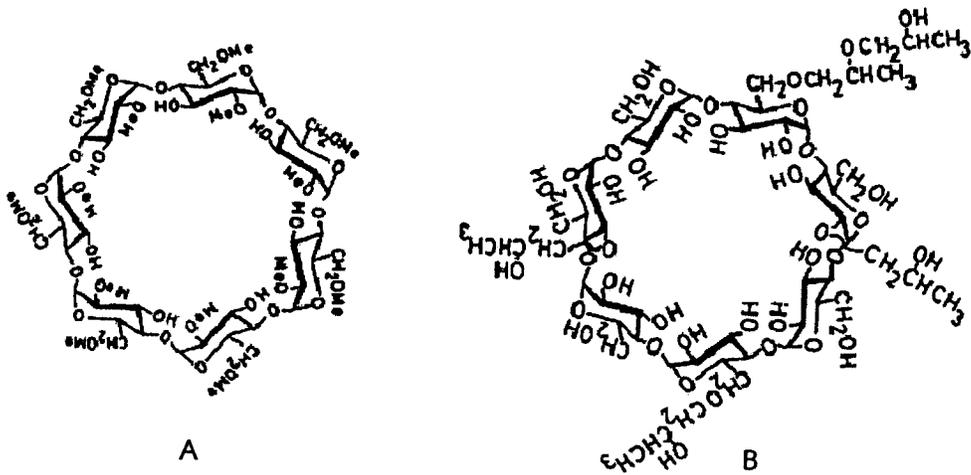
คุณสมบัติ	α - cyclodextrin	β - cyclodextrin	γ - cyclodextrin	DM- β ¹	HP- β ²
Number of glucopyranose units	6	7	8	7	7
Molecular weight (g/mol)	972	1135	1297	1331	± 1300
Solubility in water at 25°C (% w/v)	14.5	1.85	23.2	57	>50
Melting range (°C)	255-260	255-265	240-245	295-	-
Outer diameter (Å°)	14.6	15.4	17.5	300	-
Cavity diameter (Å°)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3	-	6
Height of torus (Å°)	7.9	7.9	7.9	6	-
Cavity volume (Å°)	174	262	427	10	-

¹ Heptakis-2,6,-di-O-methyl- β -cyclodextrin

² 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin

β -cyclodextrin มีขีดการละลายในน้ำต่ำ เนื่องจากในโมเลกุลเกิด intramolecular hydrogen bonding จำนวนมากระหว่าง C2-OH group ของ glucopyranose unit กับ C3-OH group ของ glucopyranose unit ที่อยู่ใกล้เคียงกันทำให้โครงสร้างมีความแข็งแรงเป็นผลให้เกิด hydration กับโมเลกุลของน้ำยากขึ้น ดังนั้นจึงพัฒนาโครงสร้างของ β -cyclodextrin โดยการแทนที่หมู่ hydroxyl ด้วยหมู่ที่ไม่ชอบน้ำเช่น methoxy และ ethoxy เพื่อลดการเกิด intramolecular hydrogen bonding ทำให้การละลายน้ำดีขึ้น ตัวอย่างเช่น heptakis (2,6-O-dimethyl)- β -cyclodextrin (รูปที่ 4) นอกจากนี้ การเกิดปฏิกิริยา alkylation หรือ hydroxyalkylation ของหมู่ hydroxyl ของ β -cyclodextrin (รูปที่ 4) อนุพันธ์ที่ได้จะเปลี่ยนรูปผลึกจาก crystalline เป็น amorphous ทำให้การละลายน้ำสูงกว่า β -cyclodextrin เช่น Hydroxypropyl- β -cyclodextrin มีค่าการละลายน้ำสูงถึง 60%w/w

Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) นิยมใช้กันมากทางเภสัชกรรม เนื่องจากมีค่าการละลายน้ำมาก (มากกว่า 50 g/100 ml ที่อุณหภูมิ 25°C) HP- β -CD มีการจัดโครงสร้างผลึกเป็น amorphous สามารถใช้ในยาฉีดได้โดยไม่เกิดพิษต่อไต



รูปที่ 4 โครงสร้างของ A: Heptakis (2, 6-O-dimethyl)- β -cyclodextrin และ
B: Hydroxypropyl- β -cyclodextrin [9]

ความเป็นพิษของ Cyclodextrin [10]

cyclodextrin มีความปลอดภัยสูงเนื่องจากดูดซึมได้น้อยทางระบบทางเดินอาหาร และพบว่า γ -cyclodextrin, 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin, sulphobutylether β -cyclodextrin, sulphated β -cyclodextrin และ maltosyl β -cyclodextrin สามารถให้โดยการฉีดได้โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย แต่ถ้าเป็น α -cyclodextrin, β -cyclodextrin และ methylated β -cyclodextrin ไม่เหมาะเมื่อให้โดยการฉีด

α -cyclodextrin ทำให้เกิดการระคายเคืองเมื่อให้โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ก่อให้เกิดการระคายเคืองตา LD50 oral และ i.v. เมื่อทดสอบในหนู มีค่า > 10000 mg/kg และ 500-750 mg/kg ตามลำดับ ส่วน β -cyclodextrin เกิดการระคายเคืองน้อยกว่า α -cyclodextrin เมื่อให้โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ LD50 oral และ i.v. เมื่อทดสอบในหนู มีค่า > 5000 mg/kg และ 450-790 mg/kg ตามลำดับ γ -cyclodextrin ทำให้เกิดการระคายเคืองเมื่อให้โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อและเกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็ว โดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร มีค่า LD50 oral และ i.v. เมื่อทดสอบในหนู >> 8000 mg/kg และ 4000 mg/kg ตามลำดับ

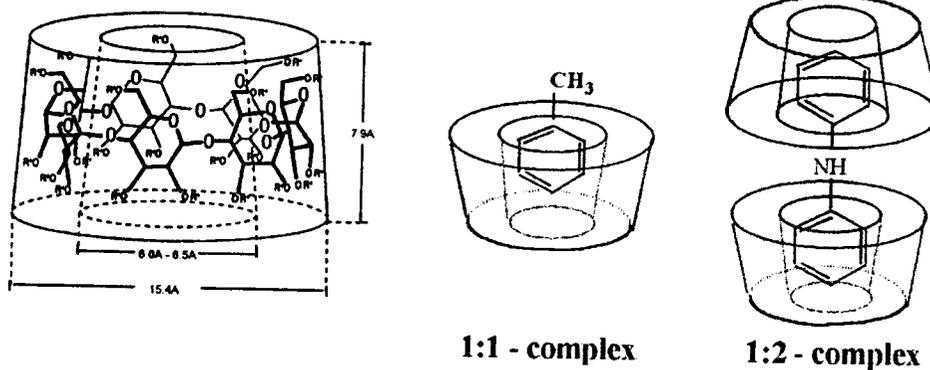
Cyclodextrins inclusion complex

Cyclodextrin สามารถเกิดประกอบเชิงซ้อนได้กับสารหลายชนิด โดยการจับกับโครงสร้างภายในของ cyclodextrin (host) ซึ่งโมเลกุลของสาร (guest molecules) ต้องมีขนาดพอเหมาะที่จะถูกจับเข้าไปในโมเลกุลของ cyclodextrin ถ้าโมเลกุลยามีขนาดเล็กกว่าช่องว่างภายในของ cyclodextrin จะทำให้ความคงตัวของสารประกอบเชิงซ้อนไม่ดีเนื่องจากโมเลกุลของยาสามารถหลุดออกมาจากโครงสร้างภายในของ cyclodextrin ได้ นอกจาก stereochemistry ของตัวยาแล้ว ความมีขั้วของโมเลกุลของตัวยาก็มีผลต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน โดยทั่วไป hydrophobic molecule สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแบบ inclusion ได้ดีกว่าตัวยาที่เป็น hydrophilic molecule หรือตัวยาที่แตกตัวเป็นไอออน

แรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของตัวยากับ cyclodextrins ได้แก่

- Van der Waals ซึ่งประกอบด้วย induced dipole-dipole interaction และ London dispersion forces
- Hydrogen bonding
- แรงดึงดูดที่เกิดจากการปลดปล่อยพลังงานของน้ำระหว่างการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง cyclodextrin และ guest molecule แสดงดังรูปที่ 5 เมื่อโมเลกุลของยาถูกจับอยู่ในโครงสร้างของ cyclodextrin จะช่วยป้องกันการสลายตัวโดยปฏิกิริยา hydrolysis, oxidation, racemization, photo degradation และ enzymatic decomposition



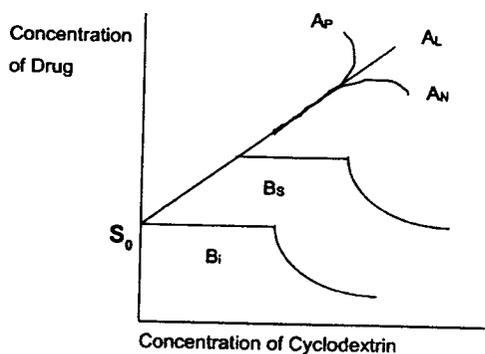
รูปที่ 5 โครงสร้างของ cyclodextrin และการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

สมดุลของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างยากับ cyclodextrin [10]

การหาค่าคงที่สมดุล (K_c) หรือค่าคงที่การแตกตัว (K_d) ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างยากับ cyclodextrin เป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของ

สารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นได้ วิธีที่นิยมใช้หาค่าคงที่ (K) คือติดตามการเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางเคมีกายภาพของสารที่นำมาทำสารประกอบเชิงซ้อน ได้แก่ โมเลกุลของยา และ cyclodextrin คุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่สนใจศึกษาได้แก่ ค่าการละลาย ปฏิริยาเคมี molar absorptivity และสมบัติทางแสง (เช่น optical rotation dispersion) การวัด phase solubility, nuclear magnetic resonance chemical shift, pH-metric method, calorimetric titration, freezing point depression และ liquid chromatography chromatographic retention time

วิธีการหาค่าคงที่สมดุลที่นิยมคือ Phase-solubility method [11] มีขั้นตอนในการทดลองคือใส่ยาหรือสารตั้งต้น (Substance; S) ในปริมาณที่มากเกินพอลงใน vial หรือภาชนะที่เหมาะสม จากนั้นก็สารละลายความเข้มข้นต่าง ๆ ของ cyclodextrin หรือ ligand (L) ลงใน vial เขย่าหรือผสมที่อุณหภูมิคงที่เพื่อให้ยาและ cyclodextrin สัมผัสกันอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งเข้าสู่ภาวะสมดุล (โดยมากใช้เวลาประมาณ 1 สัปดาห์) จากนั้นกรองและวิเคราะห์ความเข้มข้นของยาในสารละลาย สร้าง Phase-solubility diagram โดยการพลอตความเข้มข้นของยาในหน่วย molarity (แกน y) และความเข้มข้นต่างๆ ของ cyclodextrin (แกน x)

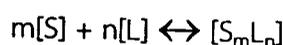


รูปที่ 6 Phase solubility diagram [10]

Phase-solubility diagram แบ่งได้เป็นสองแบบคือ A-type และ B-type กราฟ A-type เป็น inclusion complex ที่ละลายน้ำได้ ส่วน B-type เป็นชนิดที่ละลายน้ำได้น้อย แบบ B_s -type มีการละลายได้จำกัด ส่วน B_i -type เป็นชนิดที่ไม่ละลายน้ำเลย A-type สามารถแบ่งย่อยออกได้เป็น A_L มีการเพิ่มการละลายเป็นเส้นตรงตามความเข้มข้นของ cyclodextrin, A_p เป็นแบบ positively deviation ส่วน A_n เป็น negatively deviation

Phase-solubility diagram ของ β -cyclodextrin จะเป็นแบบ B เนื่องจาก β -cyclodextrin ละลายน้ำได้น้อย อนุพันธ์ของ cyclodextrin เช่น HP- β -CD และ SBE- β -CD จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายน้ำจึงได้เป็นกราฟแบบ A

การประยุกต์ใช้ Phase-solubility เพื่อหาค่าคงที่สมดุลของสารประกอบเชิงซ้อน แสดงดังสมการต่อไปนี้



$$K = [S_mL_n]/[S]^m[L]^n$$

เมื่อ

$$[S] = S_0$$

$$[S]_t = S_0 + m[S_mL_n]$$

$$[L]_t = [L] + n[S_mL_n]$$

ดังนั้นค่าของ $[S_mL_n]$, $[S]$ และ $[L]$ เป็นดังนี้

$$[S] = S_0$$

$$[S_mL_n] = [S]_t - S_0/m$$

$$[L] = [L]_t - n[S_mL_n]$$

เมื่อ S_0 คือค่าการละลายที่สมดุลของยา (เมื่อไม่มีสารช่วยเพิ่มการละลาย) $[S]_t$ เป็นความเข้มข้นทั้งหมดของยา (ทั้งที่เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนและไม่เป็นสารประกอบเชิงซ้อน) และ $[L]_t$ เป็นความเข้มข้นทั้งหมดของ cyclodextrin สำหรับ Phase-solubility ที่เป็น first order ที่แปรผันตาม cyclodextrin ($n=1$) จะได้สมการดังนี้

$$[S]_t = \frac{mKS_0^m[L]_t}{1 + KS_0^m} + S_0$$

เมื่อพลอต $[S]_t$ กับ $[L]_t$ จะได้กราฟเส้นตรง ที่จุดตัดแกน y จะเป็นค่า S_0 และความชัน (slope) จะมีค่าดังนี้

$$\text{slope} = \frac{mKS_0^m}{1 + KS_0^m}$$

เมื่อรู้ค่า m ก็จะสามารถคำนวณหาค่า K ได้ ถ้า $m=1$ (กรณีที่ drug : cyclodextrin เป็น 1:1) จะได้สมการดังนี้

$$K_{1:1} = \frac{\text{slope}}{S_0(1 - \text{slope})}$$

วิธีการเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนของ cyclodextrins

โดยทั่วไปสารประกอบเชิงซ้อนของยากับ cyclodextrins สามารถเตรียมได้โดยนำตัวยาปริมาณที่มากเกินไปมาละลายในสารละลายของ cyclodextrins ในน้ำ แล้วนำมาคนหรือเขย่าโดยต้องควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ จนกว่าจะเกิดภาวะสมดุล ซึ่งอาจต้องใช้เวลาเป็นวันหรือสัปดาห์ ขึ้นกับชนิดของตัวยา จากนั้นนำมากรองหรือ centrifuge เพื่อให้ได้สารละลายของสารประกอบเชิงซ้อนที่ใส แล้วนำสารละลายดังกล่าวมาจัดน้ำออกโดยการระเหยหรือระเหิดเพื่อให้ได้สารประกอบเชิงซ้อนที่เป็นของแข็ง โดยใช้เทคนิค spray drying, freeze-drying, kneading, co-precipitation, neutralization, grinding และ heating ในภาวะที่ปิดสนิท [12] หรือเตรียมสารละลายอิมัลชันของตัวยาแล้วนำมา sonicate และตกตะกอนที่อุณหภูมิหนึ่ง ๆ [13] รายละเอียดของการเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนแบบ inclusion ของ cyclodextrin และยา มีดังนี้ [10]

- Co-precipitation

วิธีนี้ใช้มากในระดับห้องทดลอง โดยการนำ cyclodextrin ละลายในน้ำ แล้วเติมยาลงไป คนอย่างต่อเนื่อง เมื่อใช้ความเข้มข้นที่สูง การละลายของ cyclodextrin-drug complex จะมากขึ้นจนอิมัลชันและเกิดการตกตะกอนขึ้น (อาจใช้การลดอุณหภูมิเพื่อทำให้ตกตะกอน) การเก็บตะกอนที่ได้สามารถทำได้โดยการทำให้ decanting, centrifugation หรือ filtration ซึ่งอาจมีการล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำปริมาณเล็กน้อย หรือตัวทำละลายอื่นที่เข้าได้กับน้ำ เช่น เอทานอล การล้างนี้อาจทำให้มีการสูญเสียสารประกอบเชิงซ้อนได้

ข้อจำกัดของวิธีการนี้ คือการขยายขนาดการผลิต เนื่องจากการละลายที่จำกัดของ cyclodextrin ทำให้ต้องใช้น้ำในปริมาณมาก ขนาดถังเตรียมต้องใหญ่ขึ้น การให้ความร้อนและการลดอุณหภูมิ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลต่อต้นทุนการผลิตได้

- Slurry complexation

ไม่มีความจำเป็นที่ต้องทำให้ cyclodextrin ละลายสมบูรณ์เพื่อที่จะทำให้เกิด complex สามารถเติมผง cyclodextrin มากถึงร้อยละ 50-60 แล้วคน จะได้สารละลาย cyclodextrin อิมัลชัน ยาหรือสารที่เติมลงไปจะไปเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ cyclodextrin ในสารละลาย ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นนี้จะตกตะกอน จากนั้นผง cyclodextrin จะละลายเพิ่มขึ้นทำให้สารละลายอิมัลชันอีกครั้ง

ตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อนที่ได้สามารถแยกออกจากสารละลายได้โดยวิธีการเดียวกับ Co-precipitation

เวลาที่ใช้ในการทำวิธีการนี้ขึ้นกับยาที่นำมาทำสารประกอบเชิงซ้อน อุณหภูมิมีผลต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน เพราะการเพิ่มอุณหภูมิเป็นการเร่งให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน แต่อาจทำให้สารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่เสถียรหรือเกิดได้ไม่สมบูรณ์และอาจทำให้ยาเสื่อมสลายได้ ข้อเด่นของวิธีการนี้คือการลดปริมาณน้ำในการเตรียม และลดขนาดของอุปกรณ์การเตรียม

- Paste complexation

วิธีการนี้เป็นรูปแบบหนึ่งของ Slurry complexation แต่ใช้น้ำเพียงเล็กน้อยในการทำให้เกิด paste จากนั้นก็ผสมในโถรง หรือถ้าผลิตจำนวนมากก็ใช้เครื่องนวดผสม (Kneader) ส่วนเวลาที่ใช้ก็ขึ้นกับชนิดของยาที่นำมาเตรียม สารประกอบเชิงซ้อนที่ได้สามารถนำมาทำให้แห้งได้ทันทีหรืออาจล้างด้วยน้ำเล็กน้อยแล้วเก็บโดยการกรองหรือปั่นเหวี่ยง (centrifuge) วิธีนี้อาจทำให้ paste แห้งเกิดเป็นก้อนแข็ง ทั้งนี้ก็ขึ้นกับชนิดสารและปริมาณน้ำ โดยทั่วไปแล้วก้อนแข็งที่เกิดขึ้นสามารถทำให้แห้งแล้วนำไปบดได้

- Damp mixing and heating

วิธีการนี้ใช้น้ำน้อยมากหรือแทบจะไม่ใช่เลย โดยน้ำทั้งหมดที่ใช้มีประมาณร้อยละ 20-25 ของน้ำหนักผงแห้งทั้งหมด ซึ่งปริมาณน้ำขนาดนี้พบได้จากตะกอนสารประกอบเชิงซ้อนที่กรองได้จากวิธี Co-precipitation หรือ Slurry complexation วิธีนี้ทำได้โดยการผสมยาและ cyclodextrin ให้เข้ากันบรรจุในภาชนะที่ปิดสนิท และให้ความร้อนประมาณ 100°C จากนั้นก็นำออกจากภาชนะและทำให้แห้ง ปริมาณน้ำที่ใช้ เวลาในการผสม และเวลาให้ความร้อนขึ้นกับสภาวะที่เหมาะสมของยาแต่ละชนิดและต้องระวังเรื่องการเสื่อมสลายของยาเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง

- Extrusion

Extrusion เป็นรูปแบบหนึ่งของวิธี damp mixing and heating เป็นวิธีที่สามารถทำได้ต่อเนื่องทำโดยผสมยา cyclodextrin และน้ำ จากนั้นเติมของผสมลงใน extruder ปัจจัยที่ไหลได้แก่ ความร้อนที่ให้อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการ extrude สารประกอบเชิงซ้อนที่ได้อาจแห้งในกระบวนการ extrusion หรือต้องนำไปอบแห้งต่อขึ้นกับปริมาณน้ำที่ใช้ วิธีการนี้มีจุดเด่นคือเป็นระบบที่ต่อเนื่อง และใช้น้ำในปริมาณน้อยมาก แต่เนื่องจากวิธีนี้ต้องใช้ความร้อน จึงไม่เหมาะกับยาที่ไม่ทนความร้อน

- Dry mixing

สารบางชนิดสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ cyclodextrin ได้เพียงการผสมสารทั้งสองเข้าด้วยกัน วิธีการนี้เหมาะกับสารที่เป็นน้ำมันหรือของเหลว เวลาที่ใช้ก็ขึ้นกับชนิดของสาร วิธีนี้สามารถเตรียมได้ที่อุณหภูมิห้อง และเป็นรูปแบบหนึ่งของ paste complexation จุดเด่นของวิธีการนี้ คือไม่ต้องใช้น้ำ ไม่มีขั้นตอนการล้างสารประกอบเชิงซ้อน แต่มีข้อเสียอาจเกิด caking เมื่อเตรียมปริมาณมาก หากการผสมไม่มีประสิทธิภาพเพียงพออาจเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่สมบูรณ์และใช้เวลานานในการเตรียม

การประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารประกอบเชิงซ้อน

คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของตัวยามีการเปลี่ยนแปลงเมื่อตัวยาเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแบบ inclusion กับ cyclodextrins ซึ่งการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติสามารถตรวจสอบได้หลายวิธีเช่น phase solubility, nuclear magnetic resonance spectroscopy, x-ray diffractometry, differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry, differential thermal analysis (DTA), infrared spectroscopy (IR) เป็นต้น

การประยุกต์ใช้ cyclodextrins และอนุพันธ์ทางเภสัชกรรม

ปัจจุบันมีการนำ Cyclodextrins และอนุพันธ์ มาใช้ในทางเภสัชกรรมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างยากับ cyclodextrin ทำให้คุณสมบัติบางประการของตัวยาดีขึ้นเช่นการละลาย ความคงตัว และ bioavailability การนำ cyclodextrin มาใช้ในทางเภสัชกรรมมีดังต่อไปนี้

1. เพิ่มการละลายของยาที่ละลายน้ำยาก
2. เพิ่มชีวประสิทธิผล (bioavailability) ของยา
3. เพิ่มความคงตัวทางเคมีและทางกายภาพของยา
4. ใช้ในระบบนำส่งยา



1. เพิ่มการละลายของยาที่ละลายน้ำยาก

อนุพันธ์ของ cyclodextrins เช่น Hydroxypropyl- β -cyclodextrins ช่วยเพิ่มการละลายน้ำของยาที่ละลายน้ำยากได้ดี เช่น famotidine, ketoprofen, danazol [12-14] เป็นต้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มการละลายของยาที่ละลายน้ำยากโดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ cyclodextrin นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการเช่น degree of substitution ของ cyclodextrin ถ้าเป็นอนุพันธ์ชนิดเดียวกัน อนุพันธ์ที่มีค่า degree of substitution ต่ำจะช่วยเพิ่มการละลายได้ดีกว่าอนุพันธ์ที่มีค่าสูง ตัวยาที่มีประจุตรงข้ามกับ cyclodextrin จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้ดีกว่าตัวยาที่มีประจุเดียวกับ cyclodextrin นอกจากนี้ยาที่อยู่ในรูปที่แตกตัวจะมีค่า stability constant ต่ำกว่ายาที่อยู่ในรูปไม่แตกตัว

ตารางที่ 5 การประยุกต์ใช้ cyclodextrin ในการเพิ่มค่าการละลายของยา [15]

Cyclodextrin	ยา
β -cyclodextrin	Nimesulide, Sulfomethiazole, Lorazepam, Ketoprofen, Griseofulvin, Praziquantel, Chlorthalidone, Etodolac, Piroxicam, Itraconazole, Ibuprofen

Cyclodextrin	ยา
α -Cyclodextrin	Praziquantel
γ -Cyclodextrin	Praziquantel, Omeprazole, Digoxin
HP- β -cyclodextrin	Albendazole, Levemopramil HCL, Sulfomethiazole, Ketoprofen, Griseofulvin, Itraconazole, Carbamazepine, Zolpidem, Phenytoin, Rutin
DM- β -cyclodextrin	Naproxen, Camptothecin
SBE- β -cyclodextrin	Danazol, Fluaterone, Spiranolactone
RM- β -cyclodextrin	Tacrolimus
Randomly acetylated amorphous- β -cyclodextrin (AC- β -cyclodextrin)	Naproxen

2. เพิ่มชีวประสิทธิผล (bioavailability) ของยา

ยาที่มีชีวประสิทธิผลต่ำมักเป็นยาที่มีขีดการละลายในน้ำต่ำหรือเป็นผลึกสัณฐาน (crystalline) ในโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนส่วนที่ไม่ชอบน้ำของโมเลกุลยาจะอยู่ภายในช่องของ cyclodextrin ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำแล้ว ส่วนที่ชอบน้ำของโมเลกุล cyclodextrin จะหันเข้าหาน้ำ ทำให้สารประกอบเชิงซ้อนของยาที่ละลายน้ำยากละลายน้ำได้มากขึ้น นอกจากนี้การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนทำให้เกิดผลึกแบบอสัณฐาน (amorphous)

3. การเพิ่มความคงตัวทางเคมีและทางกายภาพของยา

ยาที่สลายตัวโดยปฏิกิริยา hydrolysis, oxidation, racemization, photodecomposition, polymerization หรือ enzymatic decomposition เมื่อเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ cyclodextrin โดยโมเลกุลของยาอยู่ในโครงสร้างโมเลกุลของ cyclodextrin จะช่วยลดปฏิกิริยาการสลายตัวได้ เช่น ตัวยา chlorambucil, melphalan [16] และ famotidine [13] เมื่อเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ HP- β -CD จะช่วยเพิ่มความคงตัวได้ถึง 19 เท่า, 5 เท่าและ 10 เท่า ตามลำดับเมื่อเทียบกับสารละลายของตัวยาในน้ำหรือสารละลายบัฟเฟอร์

ตารางที่ 6 แสดงผลต่อความคงตัวของยากับ cyclodextrin มีรายงานว่า cyclodextrin เพิ่มความคงตัวของยาอาจเป็นผลมาจากการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาระหว่างยากับปัจจัยที่ทำให้ยาสลายตัว

โดย molecular shield complex ที่เกิดขึ้นช่วยป้องกันยาจากปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำให้ยาสลายตัว พบว่า SBE- β -cyclodextrin สามารถเพิ่มความคงตัวให้กับยามากที่สุด

การเพิ่มความคงตัวของ cyclodextrin ขึ้นกับธรรมชาติและสมบัติของหมู่แทนที่และปัจจัยที่ทำให้ยาสลายตัว HP- β -cyclodextrin สามารถลดการสลายตัวเมื่อถูกแสงของ 2-ethyl hexyl p-dimethyl aminobenzoate ในสารละลายได้ดีกว่าในอิมัลชัน สารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง trimeprazine หรือ Promethazine กับ cyclodextrin มีความคงตัวต่อแสงมากกว่ายาเดี่ยว

ตารางที่ 6 ผลของ cyclodextrin ต่อความคงตัวของยา

ผลที่เกิดขึ้น	ยา	Cyclodextrin
เพิ่มความคงตัวต่อแสง	Promethazine	HP- β -cyclodextrin DM- β -cyclodextrin
	2-ethyl hexyl p-dimethyl aminobenzoate	HP- β -cyclodextrin
เพิ่ม shelf life เป็น 4 ปีโดยไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการละลาย	Glibenclamide	β -cyclodextrin
เพิ่มความคงตัวต่ออุณหภูมิในรูปแบบของแข็ง	Diclofenac sodium	β -cyclodextrin
เพิ่มความคงตัวต่อ acid hydrolysis และ photodecomposition	Doxorubicin	HP- β -cyclodextrin HP- γ -cyclodextrin
เพิ่มความคงตัวต่อ hydrolysis	Acyl ester prodrugs of Ganciclovir	HP- β -cyclodextrin
	Digoxin	γ -cyclodextrin
	Rutin	HP- β -cyclodextrin
	Camptothecin	RDM- β -cyclodextrin
	Melphalan Carmustine Paclitaxel	SBE- β -cyclodextrin HP- β -cyclodextrin
เพิ่มความไวต่อแสง	Flutamide	β -cyclodextrin

4. ช่วยควบคุมการปลดปล่อยยา

เนื่องจาก cyclodextrin ช่วยเพิ่มอัตราการละลายของยาที่ละลายน้ำยาก ดังนั้นจึงทำให้ bioavailability ของยาเพิ่มขึ้นด้วย ตัวอย่างเช่นการใช้ hydrophilic cyclodextrin ช่วยเพิ่มการละลายของยากลุ่ม steroids, NSAIDs, cardiac glycosides, antiepileptics, benzodiazepines, antidiabetics, vasodilators เป็นต้น ส่วนการใช้ Hydrophobic cyclodextrin เช่น DE- β -CD และ TE- β -CD จะช่วยให้ยาออกฤทธิ์เนิ่น เพื่อลดความถี่ในการให้ยา คนไข้ให้ความร่วมมือในการรับประทานยามากขึ้น เช่นการใช้ยา diltiazem เป็นต้น

5. การนำ cyclodextrin มาใช้ในระบบนำส่งยา

ระบบนำส่งยาทางตา

ยาหยอดตาที่ใช้โดยทั่วไปเป็นการให้ยาที่มีฤทธิ์เฉพาะที่เช่นยาหยอดตาแบบสารละลายใส ยาแว่นตาคอนแทคต์ หรือ ocular insert ซึ่งรูปแบบยาเหล่านี้มีชีวประสิทธิผลต่ำ เนื่องจากดูดซึมผ่านกระจกตาได้น้อยและถูกขจัดออกจากตาได้ง่ายจากการกระพริบตาเช่นยาตาในรูปแบบสารละลายใส หรือก่อให้เกิดการระคายเคืองตาเช่นยาตาในรูปแบบยาแว่นตาคอนแทคต์หรือทำให้มอดภาพไม่ชัดในกรณีเมื่อใช้ยาขี้ผึ้งป้ายตา ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนายาตาเพื่อให้ดูดซึมผ่านกระจกตาได้มากขึ้นโดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับสารที่ละลายได้ดีในน้ำมันเช่น cholesterol และ phospholipids อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้ใช้ได้กับยาที่ละลายในน้ำมัน แต่ดูดซึมผ่านชั้น stroma ของกระจกตาได้ยากเพราะชั้นนี้มีโครงสร้างที่ขรุขระ ทำให้การใช้สารประเภทไขมันไม่ค่อยได้ผลเท่าที่ควร ต่อมามีการใช้ HP- β -CD และ SBE4- β -CD ร่วมกันใน pilocarpine prodrug และ cetirizine พบว่าช่วยลดการระคายเคืองตาได้เพราะตัวยาค่อย ๆ ถูกปลดปล่อยออกมาจากโครงสร้างของ cyclodextrin นอกจากนี้การใช้ cyclodextrin ช่วยเพิ่มความคงตัวให้กับยาได้เช่นตัวยาดipivefrine เป็น prodrug ของยา epinephrine ใช้ในการรักษาต้อหิน ตัวยาดipivefrine มีขีดการละลายน้ำน้อยแต่ละลายได้ดีในสารละลาย pH 2.5-3.5 ซึ่ง pH นี้ก่อให้เกิดการระคายเคืองตาได้ แต่เมื่อเตรียมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ SBE4- β -CD ที่ pH 7.4 จะช่วยเพิ่มการละลายของยา dipivefrine ได้ 20-200 เท่า โดยไม่เกิดการระคายเคืองตา

อย่างไรก็ตามตำรับยาตาที่เป็น multi-dose container จำเป็นต้องใส่สารกันเสีย (preservative) เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อเมื่อเปิดใช้และระหว่างการเก็บรักษา การใช้ cyclodextrin อาจลดประสิทธิภาพของสารกันเสียกลุ่มที่ละลายน้ำยากเช่นกลุ่ม *p*-hydroxy benzoic acid esters แต่ไม่มีผลต่อสารกันเสียกลุ่มที่ละลายน้ำดีเช่น thimerosal, bronopol, benzalkonium chloride และ chlorohexidine gluconate

ระบบนำส่งยาทางเยื่อจมูก

อนุพันธ์ของ cyclodextrin เช่น methylated cyclodextrin, HP- β -CD, dimethyl- β -CD ซึ่งเป็น solubilizer ที่ดีของยาที่ละลายน้ำยาก ช่วยเพิ่มการดูดซึมผ่านทางเนื้อเยื่อจมูกได้ดี และช่วยเพิ่มความคงตัวให้กับตัวยาทัวอย่างยาที่มีการดูดซึมทางเนื้อเยื่อจมูกโดยเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับอนุพันธ์ของ cyclodextrin ได้แก่ estradiol, morphine HCl, midazolam, dihydroergotamine การใช้ methylated- β -cyclodextrin และ dimethyl- β -cyclodextrin ในยาที่ขบน้ำและมีโครงสร้างขนาดใหญ่เช่น busserelin, leuprolide, calcitonin, glucagons และ insulin จะช่วยเพิ่มการดูดซึมยาดังกล่าวทางจมูกได้ดีกว่าการให้ยาโดยการฉีดได้ผิวหนัง

ตารางที่ 7 ผลิตภัณฑ์ยาที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ cyclodextrin ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

Component	Trade name	Company	Country	Formulation
PGE ₁ / α -CD	Prostandin	Ono	Japan	Infusion
	500			
	Prostvasin Viridal	Schwarz Pharma	Germany	
PGE ₂ / β -CD	Prostarmon E	Ono	Japan	Sublingual tablets
Piroxicam/ β -CD	Brexin	Chiesi	Italy, Belgium	Tablets Suppositories
	Brexidol		The Netherlands, Switzerland	
		Robapharm	France	
		Promedica		
		Nycomed Lauder	Scandinavia Germany	
OP-1206/ γ -CD	Opamon	Ono	Japan	Tablets
Benexate/ β -CD	Ulgut	Teikoku	Japan	Capsules
	Lonmiel	Shionogi	Japan	
Iodine/ β -CD	Mena-Gargle	Kyushin	Japan	Gargling solution

Component	Trade name	Company	Country	Formulation
Dexamethasone/ β -CD	Glymesason	Fujinaga	Japan	Ointment
Nitroglycerin/ β - CD	Nitropen	Nippon Kayaku	Japan	Sublingual tablets
Cefotiam/ α -CD	Pansporin T	Takeda	Japan	Tablets
New oral cephalosporin (ME 1207)/ β -CD	Meiact	Meiji Seika Roussel- Maestretti	Japan Italy	Tablets
Nimesulide/ β -CD	Nimedex	Novartis, Italfarmaco, Boehringer Mann.	Italy, Switzerland	Tablets
Diphenhydramine HCl + chlortheophyllin e/ β -CD	Stada Travel	Stada	Germany	Chewable tablets
Chlordiazepoxide / β -CD	Transilium	Gador	Argentina	Tablets
Miconazole/HP- β -CD	Sporanox	Janssen	Belgium	Solutions
Hydrocortisone/H P- β -CD	Dexacort		Israel	Solutions

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

(Methodology)

วัสดุและอุปกรณ์

- | | |
|--|----------------|
| 1. UV-visible scanning spectrophotometer | Shimadzu |
| 2. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง | Mettler Toledo |
| 3. pump | Gast |
| 4. Sonicator | Branson |
| 5. water bath shaker | |
| 6. Freeze dryer | |
| 7. Spray dryer | |
| 8. cellulose acetate filter (0.22 μm) | Sartorius |
| 9. quartz cell | Shimadzu |
| 10. กระจาดกรอง ขนาด 0.45 μm for organic solvent | Millipore |
| 11. กระจาดกรอง ขนาด 0.45 μm for aqueous | Millipore |
| 12. micropipette ขนาด 20, 200 และ 1000 μL | Genex Beta |
| 13. Thermometer | |
| 14. magnetic stirrer | |
| 15. บีกเกอร์ | |
| 16. กระจกตวง | |
| 17. Erlenmeyer flask ขนาด 25 mL | |
| 18. Volumetric flask ขนาด 10, 25 และ 50 mL | |
| 19. แท่งแก้วคน | |

สารเคมี

1. Norfloxacin
2. Hydroxypropyl- β -cyclodextrin
3. 95% Ethanol
4. Deionized water

วิธีการวิจัย

1. การศึกษาหา phase solubility diagram ของ Norfloxacin
 - 1.1. เตรียมสารละลายของ Hydroxypropyl- β -cyclodextrin ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160 และ 180 mg/mL
 - 1.2. เติมผงยา Norfloxacin ในปริมาณที่มากเกินไปใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 25 mL จากนั้นเติมน้ำและสารละลายของ Hydroxypropyl- β -cyclodextrin ความเข้มข้นต่าง ๆ ในปริมาตร 10 mL โดยทำการทดลอง $n=2$
 - 1.3. นำ Erlenmeyer flask ใส่ในเครื่องเขย่าที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (Temperature control water bath shaker) โดยเขย่าที่อุณหภูมิ 25 ± 1 °C นาน 7 วัน
 - 1.4. นำสารละลายอิมิตัวของ Norfloxacin ในตัวทำละลายต่าง ๆ มากกรองให้ได้สารละลายใส โดยใช้ Nylon syringe filter ขนาด 0.45 μm
 - 1.5. เจือจางด้วยน้ำ ให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ Norfloxacin ที่ละลายในตัวทำละลายต่าง ๆ โดยใช้เครื่อง UV-Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 271 nm ใช้น้ำกลั่นเป็น blank
 - 1.6. คำนวณหาความเข้มข้นของ Norfloxacin (mg/mL) ที่ละลายในน้ำและในสารละลายของ Hydroxypropyl- β -cyclodextrin ความเข้มข้นต่าง ๆ จากกราฟมาตรฐาน
 - 1.7. สร้างกราฟของ phase diagram โดยแกน x เป็นสารละลายของ Hydroxypropyl- β -cyclodextrin ความเข้มข้นต่าง ๆ (mg/mL) ส่วนแกน y เป็นความเข้มข้นของ Norfloxacin (mg/mL)
2. การเตรียมสารประกอบเชิงซ้อนชนิดที่เป็นของแข็ง
 - 2.1 วิธี Physical mixing โดยผสมผงแห้ง Norfloxacin และ Hydroxypropyl- β -cyclodextrin อัตราส่วน 1:1 ในโถร่ง
 - 2.2 ละลาย Norfloxacin และ Hydroxypropyl- β -cyclodextrin อัตราส่วน 1:1 ในน้ำปริมาตร 50 mL คนนาน 24 ชั่วโมง โดยใช้ magnetic stirrer ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C
 - 2.3 นำสารละลายข้อ 2.2 มาทำให้แห้ง โดยเทคนิค
 - 2.3.1 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze drying หรือ Lyophilization) ทำโดยการแช่แข็งสารละลายที่อุณหภูมิ -70 °C นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำให้แห้งโดยใช้เครื่อง freeze dryer นาน 48 ชั่วโมง
 - 2.3.2 การพ่นแห้ง (Spray drying) มีสภาวะการทำแห้งดังนี้
 - อัตราการไหลของสารละลาย (feed rate) 3 rpm

- ความดัน (pressure) 1 bar
 - อุณหภูมิลมภายในเครื่อง (inlet air temperature) 125 °C
 - อุณหภูมิลมออก (outlet air temperature) 65 °C
3. การตรวจสอบการเกิด inclusion complex ระหว่าง Norfloxacin และ Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (Norfloxacin:HP- β -CD inclusion complex) โดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของ Norfloxacin, Hydroxypropyl- β -cyclodextrin, physical mixture และสารประกอบเชิงซ้อนที่อยู่ในรูป freeze dried powder และ spray dried powder ตรวจสอบโดยใช้เทคนิคดังนี้
- 3.1 Powder X-Ray Diffraction
- 3.2 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR Spectroscopy)
4. ทดสอบการละลายของ Norfloxacin และ Norfloxacin:HP- β -CD inclusion complex
- 4.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน
- เตรียม Stock solution Norfloxacin ให้มีความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/mL}$
 - เตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้นในช่วง 1-5 $\mu\text{g/mL}$
 - นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 271 nm
 - สร้างกราฟมาตรฐานโดยแกน y เป็นค่าการดูดกลืนแสง แกน x เป็นความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Norfloxacin ($\mu\text{g/mL}$)
- 4.2 การเตรียมตัวอย่าง
- ซึ่งผงยา Norfloxacin, Physical mixture และสารประกอบเชิงซ้อนที่ทำให้แห้งด้วยวิธี Freeze drying และ Spray drying โดยให้มีปริมาณตัวยา Norfloxacin 10 mg
- 4.3 สภาวะการทดสอบค่าการละลาย โดยใช้เครื่อง Dissolution Apparatus 2 (Paddle)
- Medium : น้ำกลั่น 1000 mL
 - Temperature : 37 °C \pm 1 °C
 - Paddle speed : 200 rpm
- 4.4 สุ่มตัวอย่างที่เวลา 5 นาที และทุก ๆ 10 นาที เป็นเวลา 60 นาที โดยสุ่มมา 10 mL กรองสารละลายด้วย nylon membrane syringe ขนาด 0.45 μm และเติม medium กลับคืนในปริมาตรที่เท่ากับสุ่มออกมา

4.5 วิเคราะห์หาปริมาณตัวยาที่ละลายออกมาที่เวลาต่าง ๆ ด้วยวิธี UV-spectrophotometry ที่ความยาวคลื่น 271 nm

4.6 คำนวณปริมาณยา Norfloxacin ที่ละลายออกมาที่เวลาต่าง ๆ จากกราฟมาตรฐาน

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล
(Results and Discussion)

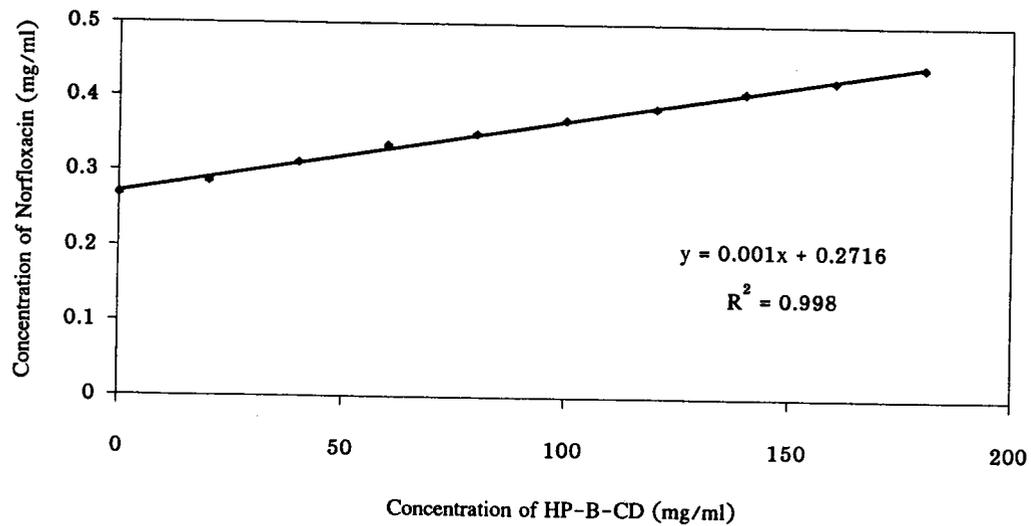
1. การศึกษาหา phase diagram ของ Norfloxacin

Phase solubility diagram ของสารประกอบเชิงซ้อน Norfloxacin กับ HP- β -CD ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 °C แสดงในตารางที่ 8

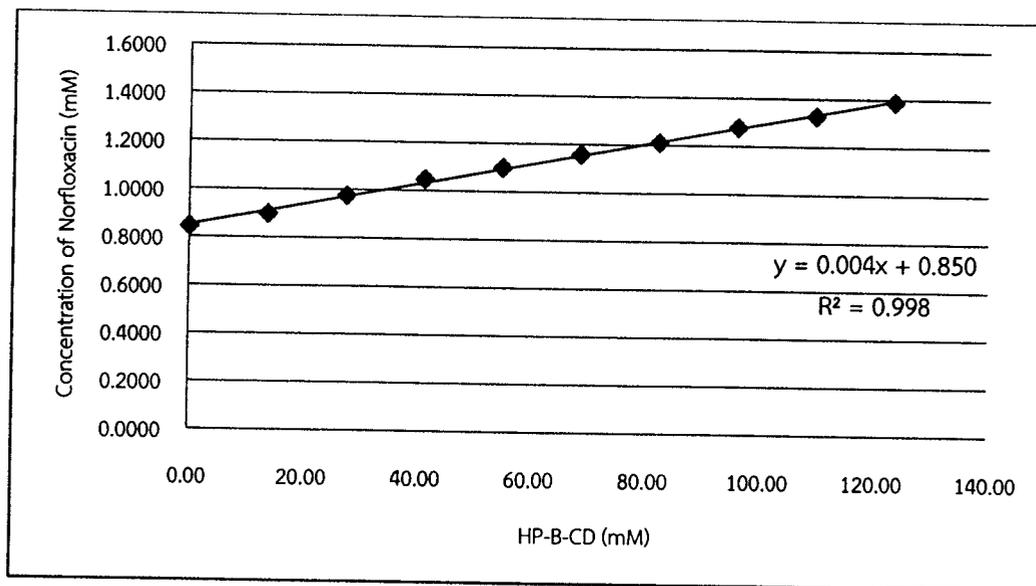
ตารางที่ 8 ค่าการละลายของ Norfloxacin และสารประกอบเชิงซ้อน Norfloxacin กับ HP- β -CD ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 °C (n=2)

ความเข้มข้นของ HP- β -CD (mg/ml)	ความเข้มข้นของ HP- β -CD (mM)	ค่าการละลายของ Norfloxacin ใน สารละลาย HP- β -CD ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 °C (mg/mL)		ค่าการละลายของ Norfloxacin (mg/mL) Mean \pm SD	ค่าการละลายของ Norfloxacin (mM)
		n ₁	n ₂		
0	0.00	0.2707	0.2683	0.2695 \pm 0.0017	0.844
20	13.70	0.2883	0.2851	0.2867 \pm 0.0023	0.898
40	27.40	0.3107	0.3123	0.3115 \pm 0.0011	0.975
60	41.10	0.3331	0.3355	0.3343 \pm 0.0017	1.047
80	54.79	0.3515	0.3499	0.3507 \pm 0.0011	1.098
100	68.49	0.3691	0.3699	0.3695 \pm 0.0006	1.157
120	82.19	0.3851	0.3875	0.3863 \pm 0.0017	1.210
140	95.89	0.4067	0.4091	0.4079 \pm 0.0017	1.277
160	109.59	0.4235	0.4243	0.4239 \pm 0.0006	1.327
180	123.29	0.4427	0.4443	0.4435 \pm 0.0011	1.389

จากนั้นนำค่าการละลายของ Norfloxacin ในสารละลาย Hydroxypropyl- β -cyclodextrin ความเข้มข้นต่าง ๆ มาสร้าง phase solubility diagram จะได้กราฟรูปที่ 7



A



B

รูปที่ 7 Phase solubility diagram ของ Norfloxacin ในสารละลาย Hydroxypropyl- β -cyclodextrin

จากการทดลองพบว่า ค่าการละลายของ Norfloxacin ในน้ำที่อุณหภูมิ 25 °C มีค่าประมาณ 0.27 mg/mL หรือ 0.85 mM เมื่อเปรียบเทียบกับค่าการละลายของ Norfloxacin ในสถานะต่าง ๆ พบว่ามีค่าต่ำกว่าเล็กน้อย โดยที่ Guyot และคณะ [17] และ Ross และ Riley [18] ได้ศึกษาหาค่าการละลายของ Norfloxacin ที่ pH 7±0.1 อุณหภูมิ 25 °C พบว่ามีค่า 0.377 และ 0.40 mg/ml ตามลำดับขณะที่ Swanson และคณะ [19] ทดลองที่ pH 7.5 ที่อุณหภูมิเดียวกัน พบว่ามีค่า 0.45 mg/mL

จากรูปที่ 7A แสดงว่าค่าการละลายของ Norfloxacin เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ HP- β -CD เพิ่มขึ้น และได้กราฟเส้นตรงแสดงว่าการละลายของ Norfloxacin ในสารละลาย HP- β -CD เป็นชนิด A_L ตามทฤษฎีการละลายของ Higuchi และ Connors [11] การละลายที่เพิ่มขึ้นของ Norfloxacin เนื่องจากเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ HP- β -CD และ HP- β -CD มีค่าการละลายในน้ำที่สูงมาก (> 50 %w/v) ที่ 25 °C [8]

จากรูปที่ 7A พบว่า slope ของกราฟมีค่าน้อยกว่า 1 (0.004) แสดงว่า Norfloxacin เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ HP- β -CD ในสัดส่วน 1:1 และมีค่า apparent complex constant, $K_{1:1} = 4.72 \times 10^{-3} \text{ mM}^{-1}$ แสดงว่าเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีความคงตัวต่ำ ค่า K_c สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$K_{1:1} = \frac{\text{slope}}{\text{Intercept (1-slope)}}$$

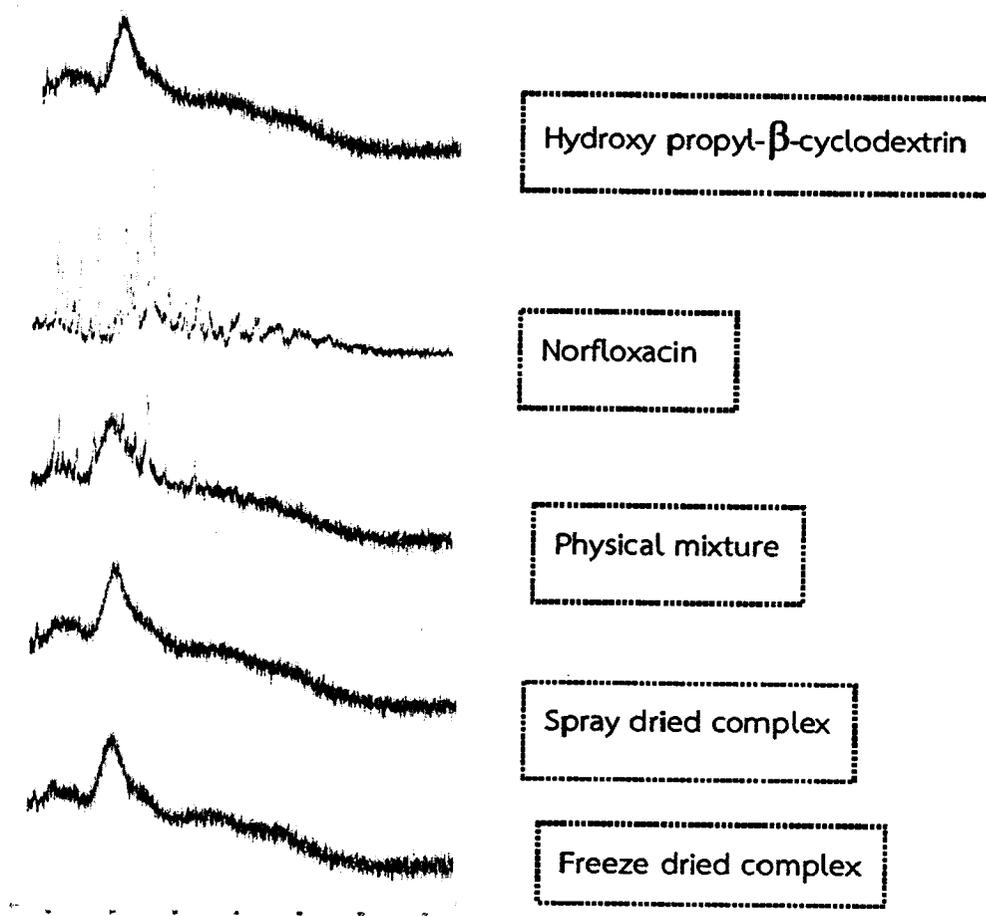
สารประกอบเชิงซ้อนที่ได้เป็นชนิดที่ละลายในน้ำ ดังนั้นในการทดสอบเพื่อยืนยันว่าเกิดสารประกอบเชิงซ้อนจริง ๆ นั้น วิธีที่เหมาะสมที่สุดคือต้องเตรียมให้อยู่ในรูปของแข็งก่อน โดยใช้เทคนิค Freeze drying หรือ Spray drying จากนั้นจึงนำไปทดสอบโดยวิธีการต่าง ๆ เช่น Powder X-Ray Diffraction และ FT-IR Spectrophotometry

2. การตรวจสอบการเกิด inclusion complex ระหว่าง Norfloxacin และ Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (Norfloxacin:HP- β -CD inclusion complex)

2.1 Powder X-ray diffraction

รูปที่ 8 แสดง Powder X-ray diffraction pattern ของ HP- β -CD, Norfloxacin, Physical mixture และ Norfloxacin:HP- β -CD inclusion complex ที่เตรียมโดยวิธี spray drying และ freeze drying พบว่า HP- β -CD และ inclusion complex ที่เตรียมได้จาก 2 วิธี แสดงการจัดเรียงรูปผลึกแบบอสัณฐาน (amorphous) ขณะที่ยาเดี่ยว Norfloxacin แสดงพีคที่ชัดเจนแสดงถึงการจัดเรียงรูปผลึกอย่างเป็นระเบียบ (crystalline) ส่วน physical mixture พบพีคของ Norfloxacin แสดงว่าการผสมแห้งไม่สามารถเกิด inclusion complex ที่สมบูรณ์ได้

จากผลการทดลองแสดงว่า Norfloxacin เกิดการเปลี่ยนแปลงการจัดเรียงรูปผลึกจาก crystalline form เป็น amorphous form เมื่อเกิด inclusion complex กับ HP- β -CD ซึ่งการเกิด amorphous form เป็นการยืนยันว่ายาโมเลกุลของ Norfloxacin กระจายในโครงสร้างของ HP- β -CD อย่างสมบูรณ์ [20]



รูปที่ 8 Powder X-Ray Diffraction Patterns ของ HP- β -CD, Norfloxacin, Physical mixture และสารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมโดยวิธี spray drying และ freeze drying

2.2 FT-IR Spectrophotometry

รูปที่ 9 แสดง FT-IR spectra ของ HP- β -CD, Norfloxacin, Physical mixture และ Norfloxacin:HP- β -CD inclusion complex ที่เตรียมโดยวิธี spray drying และ freeze drying

Spectrum ของ Physical mixture สามารถพบพีคของทั้ง HP- β -CD และ Norfloxacin ส่วน Spectrum ของ inclusion complex ที่เตรียมโดยวิธี spray drying และ freeze drying ไม่พบพีคของ Norfloxacin เช่นไม่พบพีคประมาณ 1700 cm^{-1} แสดงถึง functional group COOH ใน inclusion complex, wavenumber (cm^{-1}) ของแต่ละตัวอย่าง มีดังนี้

HP- β -CD: $2930.99, 1456.23, 1376.94\text{ cm}^{-1}$

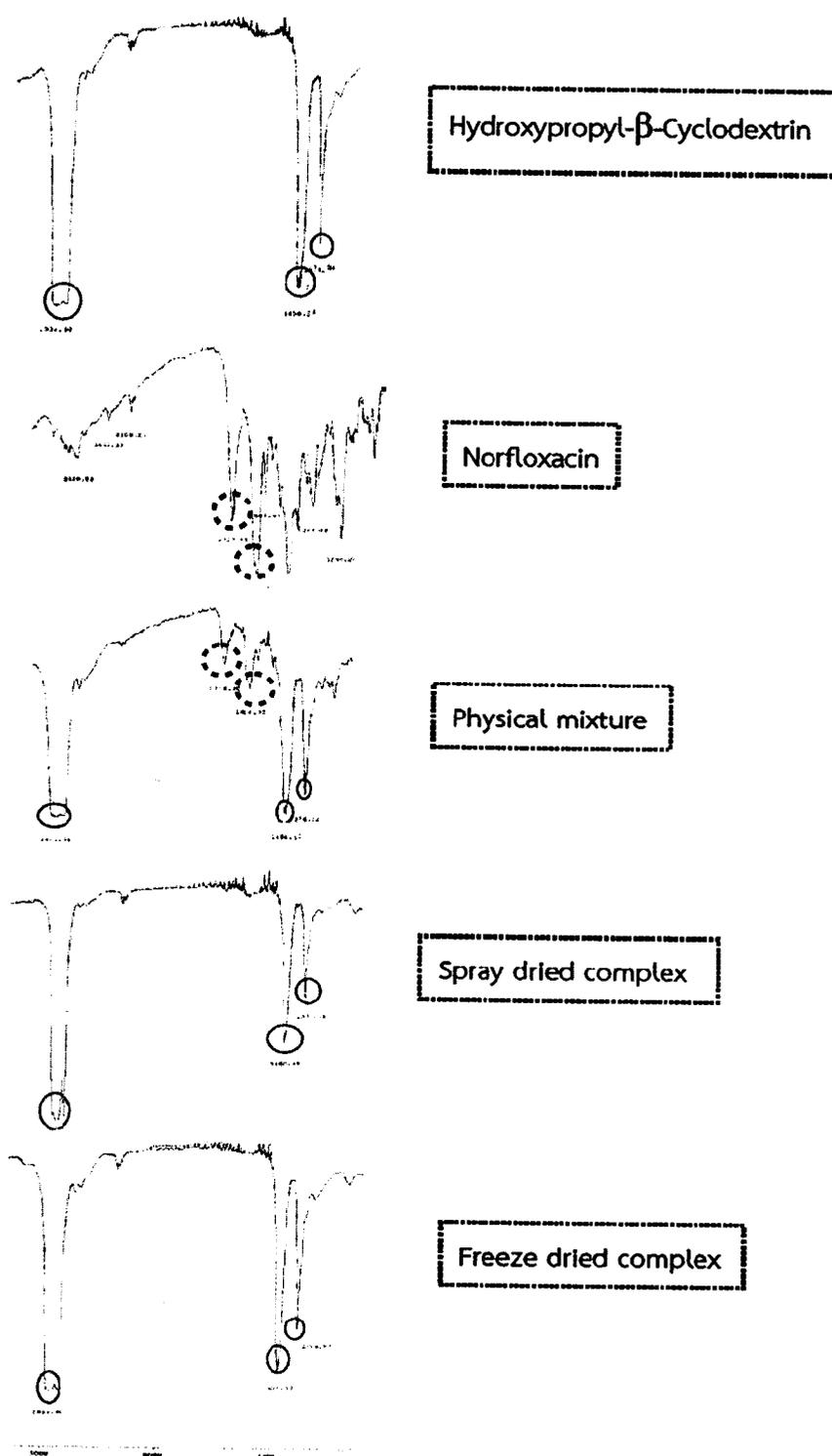
Norfloxacin: $1727.71, 1623.27, 1481\text{ cm}^{-1}$

Physical mixture: $2922.34, 1728, 1614.92, 1456.10, 1376.72\text{ cm}^{-1}$

Spray dried powder: $2920, 1460.65, 1377.08\text{ cm}^{-1}$

Freeze dried powder: $2935.96, 1456.12, 1376\text{ cm}^{-1}$

จากผลการทดลองแสดงว่า carboxylic ของ Norfloxacin เป็นส่วนหลักที่อยู่ในช่องว่างของ HP- β -CD ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่มีขั้ว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hatanaka ที่ศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ para-boronophenylalanine กับ cyclodextrin [21]

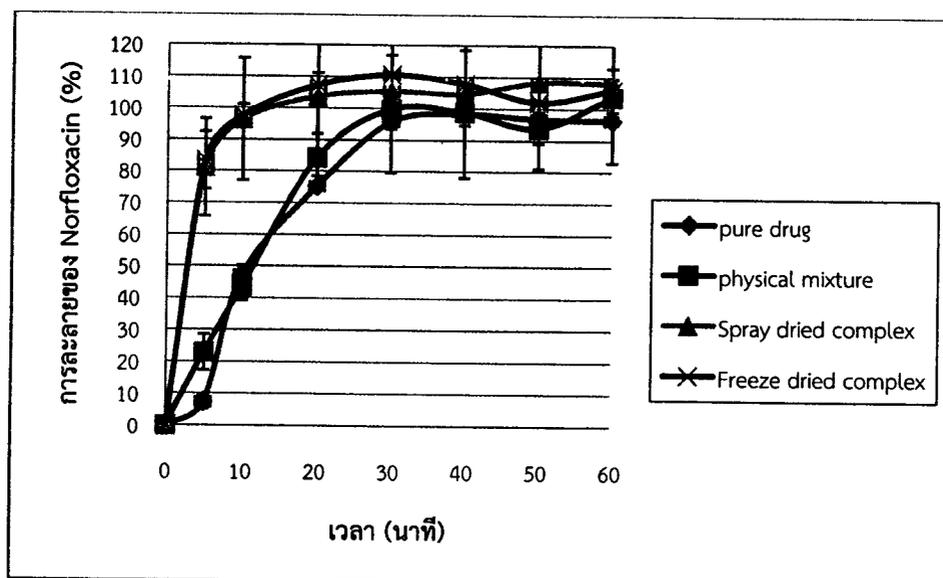


รูปที่ 9 FTIR Spectrum ของ HP- β -CD, Norfloxacin, Physical mixture และสารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมโดยวิธี spray drying และ freeze drying

3. การทดสอบการละลายของ Norfloxacin และ Norfloxacin:HP- β -CD inclusion complex เปรียบเทียบค่าการละลายของ Norfloxacin, Physical mixture และ Norfloxacin:HP- β -CD inclusion complex ในน้ำที่อุณหภูมิ 37 °C

รูปที่ 10 แสดงกราฟการละลายของ Norfloxacin, Physical mixture และ Norfloxacin:HP- β -CD inclusion complex ในน้ำที่อุณหภูมิ 37 °C พบว่า Norfloxacin:HP- β -CD inclusion complex มีอัตราการละลายที่เร็วมากเมื่อเทียบกับ physical mixture และยาเดี่ยว การละลายของ Norfloxacin:HP- β -CD inclusion complex สมบูรณ์ภายใน 10 นาที ขณะที่ physical mixture และยาเดี่ยวละลายได้สมบูรณ์ภายใน 30 นาที

Norfloxacin:HP- β -CD inclusion complex ที่เตรียมโดยวิธี spray drying และ freeze drying มีการละลายที่มากกว่ายาเดี่ยวประมาณ 2 เท่า เนื่องจากโครงสร้างของ inclusion complex ที่ได้เป็น amorphous form มีความพรุนสูง มีขนาดเล็ก สัมผัสกับน้ำได้ง่ายจึงละลายน้ำได้ดี อัตราเร็วของการละลายจึงสูงเมื่อเทียบกับยาเดี่ยว นอกจากนี้ cyclodextrin และอนุพันธ์ยังมีคุณสมบัติคล้ายสารลดแรงตึงผิว จึงช่วยลดแรงตึงระหว่างผิวระหว่างผงยาและน้ำ ทำให้ inclusion complex เปียกน้ำได้ง่ายขึ้น ยาจึงละลายได้ดี [22, 23]



รูปที่ 10 เปรียบเทียบค่าการละลายของ Norfloxacin (pure drug), physical mixture และสารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมโดยเทคนิค freeze drying และ spray drying

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ (Conclusion and Suggestion)

Norfloxacin เป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม Fluoroquinolone carboxylic acid ซึ่งนิยมใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่ท่อทางเดินปัสสาวะ เนื่องจาก Norfloxacin มีขีดการละลายในน้ำต่ำ จากการทดลองพบว่า ค่าการละลายของ Norfloxacin ในน้ำที่อุณหภูมิ 25 °C มีค่าประมาณ 0.27 mg/mL เมื่อเตรียม Norfloxacin ให้อยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนกับ HP- β -CD แบบ inclusion อัตราส่วน 1: 1 และทำให้แห้งด้วยวิธี spray drying และ freeze drying พบว่า อัตราการละลายของ Norfloxacin สูงมากเมื่อเทียบกับยาเดี่ยว (ประมาณ 2 เท่า) เนื่องจากคุณสมบัติบางประการของสารประกอบเชิงซ้อนที่ได้เปลี่ยนแปลงจากเดิม เช่นการจัดเรียงตัวของรูปผลึก โดยเปลี่ยนจาก crystalline form เป็น amorphous form อัตราการละลายน้ำจึงเพิ่มมากขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาความคงตัวของผงแห้งเนื่องจาก inclusion complex ที่ได้เป็น amorphous form ผงแห้งอาจไวต่อความชื้น อาจมีปัญหาเรื่องความคงตัวในระหว่างกระบวนการผลิตยาหรือการเก็บรักษาได้
2. การพัฒนารูปแบบยาที่เหมาะสมในการใช้ผงแห้งของสารประกอบเชิงซ้อนนี้

ข้อเสนอแนะจากผู้ทรงคุณวุฒิ

1. ควรนำผลที่ได้นี้ไปพัฒนาต่อให้เป็นตำรับ เช่น ยาน้ำ ยาเม็ด เพื่อที่จะใช้ได้จริงในคนไข้
2. นำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำมาใช้งานจริง ซึ่งรวมถึงการตั้งตำรับ ความคงตัว การออกฤทธิ์ในร่างกาย
3. นำไปประยุกต์ใช้กับยาชนิดอื่น ๆ ที่มีปัญหาในลักษณะคล้ายคลึงกัน อย่างไรก็ตามเป็นงานวิจัยที่น่าสนใจและมีประโยชน์ต่อวิชาชีพเภสัชกรรมเป็นอย่างยิ่ง

เอกสารอ้างอิง (References)

1. Mazuel, C., *Norfloxacin*, in *Analytical Profiles of Drug Substances*, K. Florey, Editor. 1991, Academic Press, Inc.: California. p. 557-600.
2. Katzung, B.G., *Basic and Clinical Pharmacology*. Vol. 9. 2004, TX: Mcgraw Hill.
3. Hooper, D.C. and J.S. Wolfson, *The fluoroquinolones: pharmacology, clinical uses, and toxicities in humans*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1985. **28**(5): p. 716-721.
4. Bhattacharya, S.K., et al., *Double-blind, randomized, controlled clinical trial of norfloxacin for cholera*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1990. **34**: p. 939-940.
5. Hooper, D.C. and J.S. Wolfson, *Norfloxacin, ciprofloxacin, and ofloxacin: current clinical roles*. *Curr Clin Top Infect Dis*, 1989. **10**: p. 194-240.
6. *The Official Compendia of Standards: United State Pharmacopoeia (USP 23, NF18)*. 1995, MD: The United States Pharmacopoeial Convention, Inc.
7. *European pharmacopoeia*. 1997: Strasbourg: Council of Europe.
8. Loftsson T, D.D., *Cyclodextrin and their pharmaceutical applications*. *Int J Pharm*, 2007. **329**: p. 1-11.
9. Labandeira, J.J.T. and J.L.V.J. . *Proceedings of the Ninth International Symposium on Cyclodextrins*. 1998, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
10. Valle, M.D., *Cyclodextrins and their uses: a review*. *Process Biochem*, 2004. **39**: p. 1033-1046.
11. Higuchi, T. and K.A. Connors, *Phase-solubility techniques* *Adv Anal Chem Instrum*, 1965. **4**: p. 117-212.
12. Loftsson, T. and M.E. Brewster, *Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization*. *J Pharm Sci*, 1996. **85**(10): p. 1017-25.
13. Islam, M.S. and M.M. Narurkar, *The effect of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the solubility, stability and dissolution rate of famotidine*. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 1991. **17**(9): p. 1229-1239.
14. Nagarsenkar, M.S. and H. Shenai, *Influence of Hydroxypropyl β -Cyclodextrin on Solubility and Dissolution Profile of Ketoprofen in Its Solid Dispersions*. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 1996. **22**(9-10): p. 987-992.
15. Challa, R., et al., *Cyclodextrins in drug delivery: an update review*. *AAPS PharmSci Tech*, 2005. **6**(2): p. E329-E357.

16. Badawy, S.I.F., et al., *A Study of the Complexation Between Danazol and Hydrophilic Cyclodextrin Derivatives*. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 1996. **22**(9-10): p. 959-966.
17. Guyot, M., et al., *Physicochemical characterization and dissolution of norfloxacin/cyclodextrin inclusion compounds and PEG solid dispersions*. *Int.J.Pharm*, 1995. **123**(1): p. 53-63.
18. Ross, D.L. and C.M. Riley, *Aqueous solubilities of some variously substituted quinolone antimicrobials*. *Int.J.Pharm*, 1990. **63**(3): p. 237-250.
19. Swanson, B., et al., *Norfloxacin disposition after sequentially increasing oral doses*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1983. **23**: p. 284-288.
20. Nakai, Y., et al., *Study of the interaction of clobazam with cyclodextrins in solution and in solid state*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1990. **38**(3): p. 728-732.
21. Hatanaka, H., et al., *Improve bioavailability of para-boronophenylalanine by cyclodextrin complexation*. *J.Pharm.Sci*, 1993. **82**(10): p. 1054-1057.
22. Yazan, Y. and M. Sumnu, *Improvement in the dissolution properties of theophylline with B-cyclodextrin*. *STP Pharm. Sci.*, 1994. **4**: p. 128-132.
23. Lin, S.Y. and Y.H. Kao, *Solid particulates of drug B-cyclodextrin inclusion complexes directly prepared by a spray-drying technique*. *Int. J. Pharm.*, 1989. **56**: p. 249-259.

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) น.ส. วริษฐา นามสกุล ศิลลาอ่อน
(ภาษาอังกฤษ) Ms. Warisada Sila-on
2. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
3. สาขาที่ทำกรวิจัย สาขาวิทยาศาสตร์เคมีและเภสัช
4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ และโทรสาร
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ
จังหวัดอุบลราชธานี 34190
โทรศัพท์ 045-353672 โทรสาร 045-288384
E-mail address: phwarisi@ubu.ac.th, warisada@yahoo.com
5. ผลงานตีพิมพ์
 1. Warisada Sila-on, Jatuporn Pratoomted, Utsana Puapermpoonsiri, Chaiwute Vudjung, and Wiwat Pichayakorn, Thermal and Mechanical Properties of Natural Rubber/Rice Starch Interpenetrating Network Hydrogel, Adv. Mat. Res. 844: 77-80, 2014.
 2. Utsana Puapermpoonsiri, Jatuporn Pratoomted, Warisada Sila-on and Chaiwute Vudjung, Water Absorption and Swelling Property of Interpenetrating Network Hydrogel from Crosslinked Natural Rubber and Modified Rice Starch, Adv. Mat. Res. 844: 73-76, 2014.
 3. Praneet Opanasopit, Warisada Sila-on, Theerasak Rojanarata and Tanasait Ngawhirunpat, Fabrication and properties of capsicum extract-loaded PVA and CA nanofiber patches Pharmaceutical Development and Technology, 18(5): 1140-1147, 2013.
 4. Wipada Samprasit, Theerasak Rojanarata, Prasert Akkaramongkolporn, Tanasade Ngawhirunpat and Praneet Opanasopit, Improvement of drug loading onto ion exchange resin by cyclodextrin inclusion complex Drug Dev. Ind. Pharm. 39(11): 1672-1680, 2013
 5. ทรงพร จึงมั่นคง, สาลินี ณ ระนอง, สิริลักษณ์ รักษรอด, สาโรจน์ อ่อนละอ และวริษฐา ศิลลาอ่อน. การศึกษาความคงตัวในสภาวะเร่งของยาเตรียมเฉพาะครารูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน

- และผงแห้งผสมกระสายยาก่อนใช้สำหรับยาน้ำแขวนตะกอนของยาอะซีตาโซลามาายด์และยาฟูโรซีมาายด์. *Isan J.Pharm.Sci.* 9(1): 32-39, 2013.
6. Akhayachatra Chinsriwongkul, , Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Warisada Sila-on, Uracha Ruktanonchai and Praneet Opanasopit. Nanostructured Lipid Carriers (NLC) for Parenteral Delivery of an Anticancer Drug. *AAPS Pharm Sci Tech.* 13(1): 150-158, 2012.
 7. Akhayachatra Chinsriwongkul, Praneet Opanasopit, Tanasait Ngawhirunpat, Theerasak Rojanarata, Warisada Sila-on, and Uracha Ruktanonchai. Oleic Acid Enhances All-*trans* Retinoic Acid loading in Nano-Lipid Emulsions. *PDA J. Pharm. Sci. and Tech.* 64:113-123, 2010.
 8. วรัชฎา ศิลาอ่อน. เทคโนโลยีการผลิตและการประยุกต์ใช้ลิปิดอิมัลชันทางเภสัชกรรม. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal.* 4(3) Jul-Sep.:397-408, 2009.
 9. Nanthida Wonglertnirant, Praneet Opanasopit , Theerasak Rojanarata, Tanasait Ngawhirunpat, Uracha Ruktanonchai and Warisada Sila-on. Development of Lipid Emulsion Formulations for Camptothecin. The 2nd Thailand Nanotechnology Conference (TNC) Nanomaterials for Health, Energy and Environment.13-15 August 2008, Phuket Graceland Resort&Spa, Patong, Phuket, Thailand.
 10. Akhayachatra Chinsriwongkul, Praneet Opanasopit , Tanasait Ngawhirunpat, Warisada Sila-on, and Uracha Ruktanonchai. Oleic acid Enhances all-*trans* Retinoic Acid loaded in Nano-Lipid Emulsions. The 2nd Thailand Nanotechnology Conference (TNC) Nanomaterials for Health, Energy and Environment.13-15 August 2008, Phuket Graceland Resort&Spa, Patong, Phuket, Thailand.
 11. Sila-on W., Sungkapat S., Anansuchartkul J. and Wattanawong W. Physical and Chemical Stability Study of Morphine Sulfate Syrup. *Isan J.Pharm.Sci.* 4(2): 134-139, 2008.
 12. Wantong S., Sublee P., Tepchan S., Sila-on W., Ruktanonchai U. and Rungseevijitprapa W. Ion Pair Complex for Drug Delivery System. *Isan J.Pharm.Sci.* 4(2): 140-150, 2008.
 13. Sila-on W., Vardhanabhuti N., Ongpipattanakul B. and Kulvanich P. Influence of Incorporation Methods on Partitioning Behavior of Lipophilic Drugs into Various

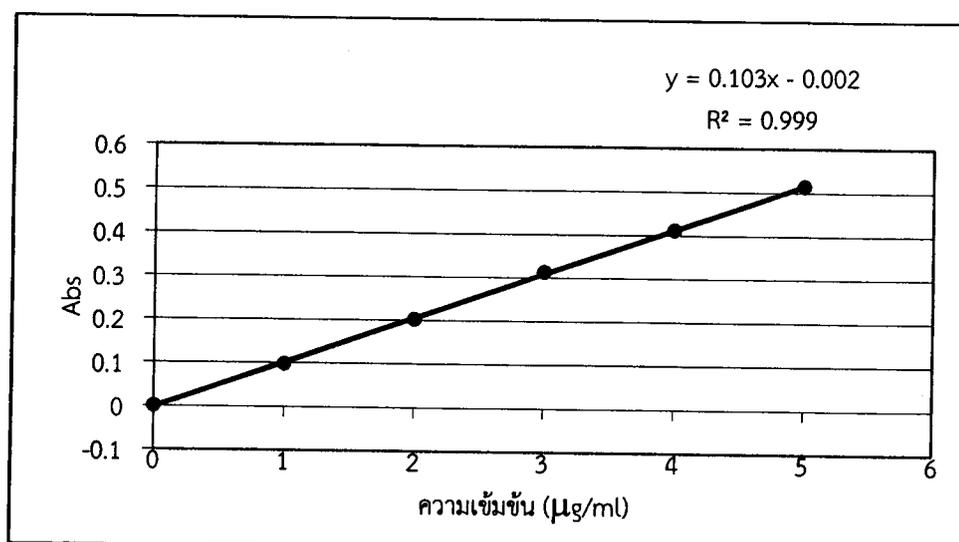
- Phases of a Parenteral Lipid Emulsion. AAPS Pharm Sci Tech. 2008 Published on line. DOI: 10.1208/s12249-008-9089-x.
14. Chinsriwongkul A., Opanasopit P., Ngawhirunpat T., Chareansriwilaiwat N., Sila-on W. and Ruktanonchai U. Physicochemical Properties of Lipid Emulsions Formulated With High Loaded All-Trans Retinoic Acid. *PDA J. Pharm. Sci Tech.* 61 (6): 461-471, 2007.
 15. Yingngam B., Phimpanit Y., Wongkasemchai N., Sila-on W., Rungseevijitprapa W. Encapsulation of Rice Bran Oil in Solid Lipid Nanoparticles (SLN) for Skin Hydration and Viscoelasticity. *Isan J. Pharm. Sci.* 3(2): 8-22, 2007.
 16. Sila-on W., Vardhanabhuti N., Ongpipattanakul B. and Kulvanich P. The Influence of Physicochemical Properties of Preservative Compounds on Their Distribution into Various Phases of O/W Submicron Emulsion. *PDA J. Pharm. Sci. Tech.* 60 (3): 172-181, 2006.
 17. A.Chinsriwongkul, P. Opanasopit, T. Ngawhirunpat , W. Sila-on, U. Rungsardthong. High loading and stability of lipid emulsions formulation for all-trans retinoic acid. The 5th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Geneva Switzerland March 27-30, 2006.
 18. Sila-on W., Vardhanabhuti N., Ongpipattanakul B. and Kulvanich P. Effect of incorporated methods on the distribution of diazepam in various phases of submicron emulsion. International Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Nuremberg, Germany 15-18 March, 611-612, 2004.
 19. Sila-on W., Thanakatpaisarn O., Homhual S., Srijangwang J., Chalermrum P., Sripanidkulchai B. Antibacterial activity of extracts from *Andrographis paniculata*. *Ubonratchathani University J.* 5(1): 37-44, 2003.
 20. Thanaketpaisarn O, Sila-on W, Homhual S, Juksupa N, Im-aimsap W, Sripanidkulchai B. Formulation of *Andrographis paniculata* gel for antibacterial activity. *KKU Res J* 7(2): Jul-Dec, 2002.

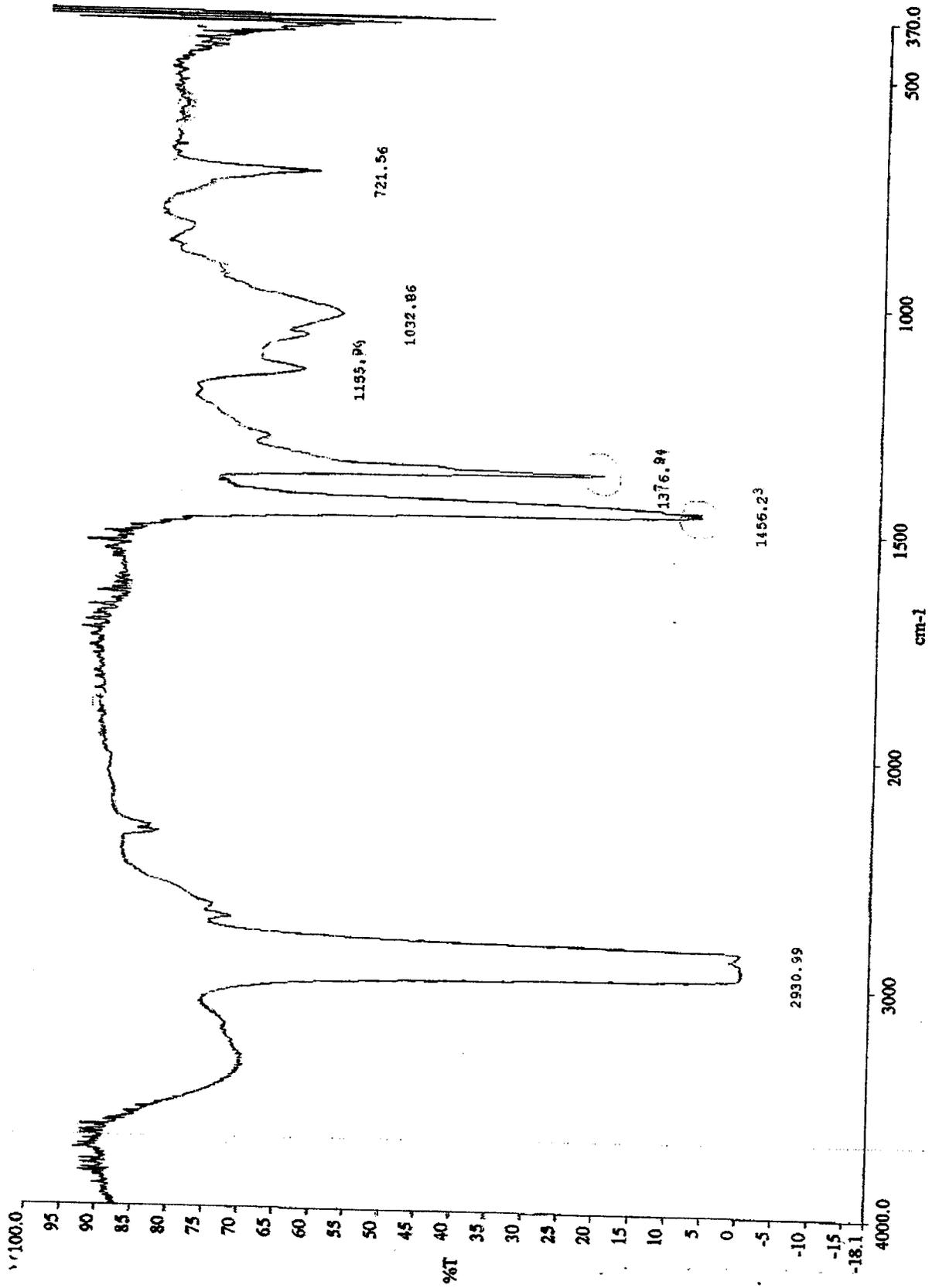
ภาคผนวก

การเตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลาย Norfloxacin โดยใช้วิธี UV-Spectrophotometry

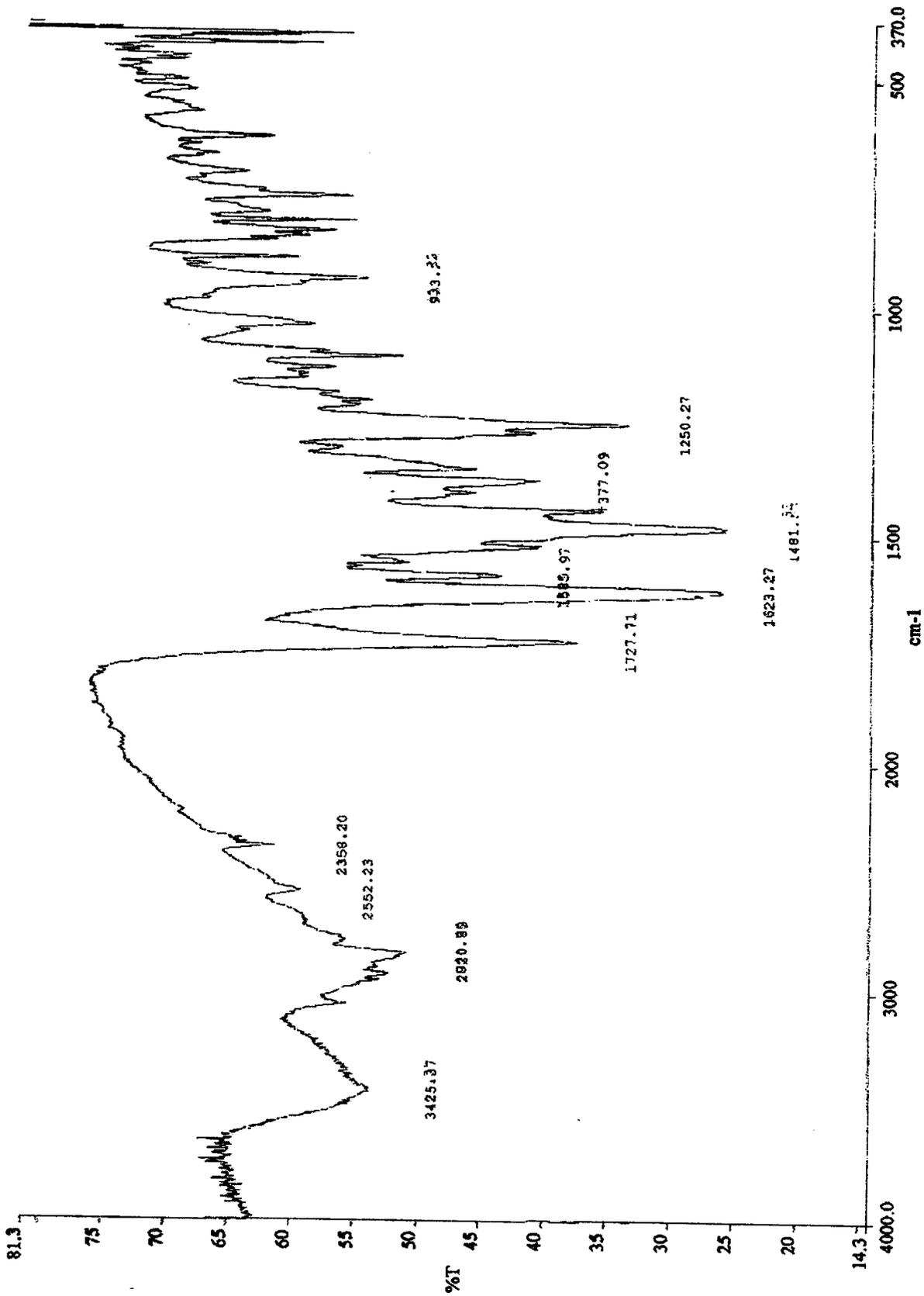
1. การเตรียม stock solution ของ Norfloxacin ในน้ำ
ชั่ง Norfloxacin 0.0100 กรัม ละลาย และปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วยน้ำ (ใช้ sonicator bath ช่วยทำให้ Norfloxacin ละลายได้ง่ายขึ้น) จะให้ความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/ml}$
2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ Norfloxacin
ปิเปต stock solution มา 100, 200, 300, 400 และ 500 μl ปรับปริมาตรให้ครบ 10 ml ด้วยน้ำ จะได้สารละลายความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ
3. หาค่า Absorbance ของสารละลายมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 271 nm โดยใช้ น้ำกลั่น เป็น Blank
4. สร้างกราฟมาตรฐานซึ่งเป็นความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Norfloxacin (แกน x) และค่า Absorbance (แกน y)

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbance
0	0.000
1	0.098
2	0.202
3	0.313
4	0.412
5	0.515

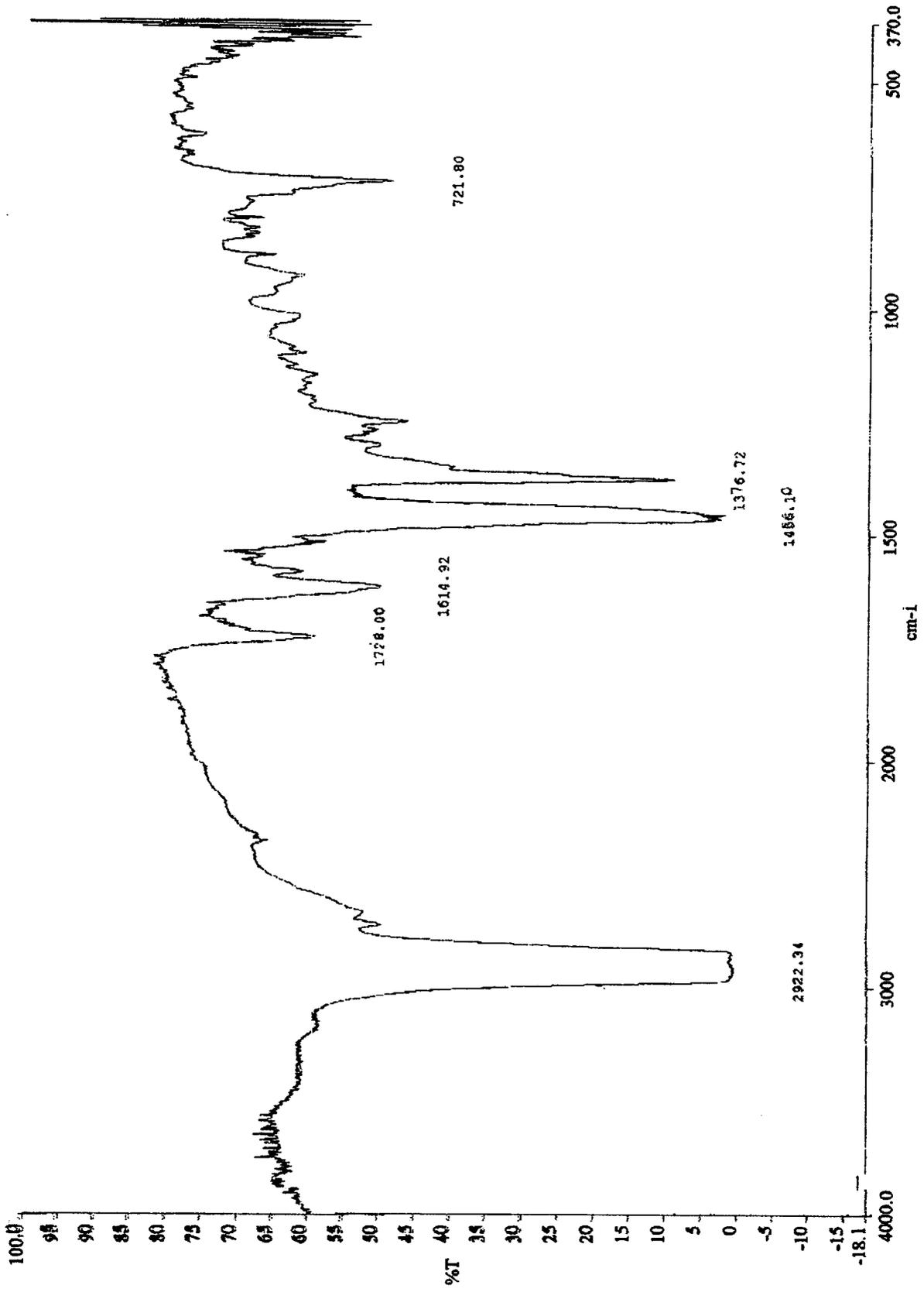




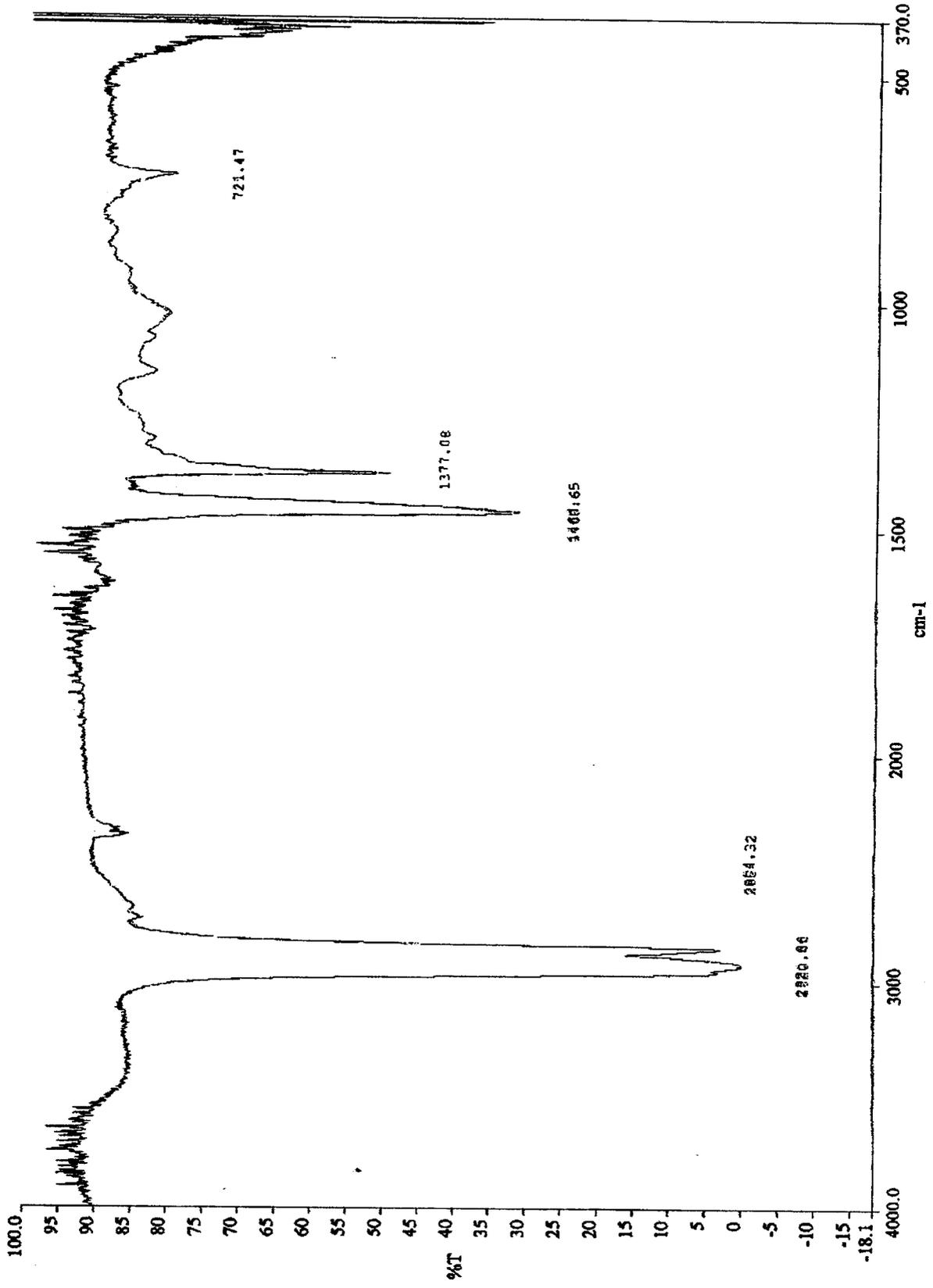
รูปที่ 11 FTIR Spectra of Hydroxypropyl-β-cyclodextrin

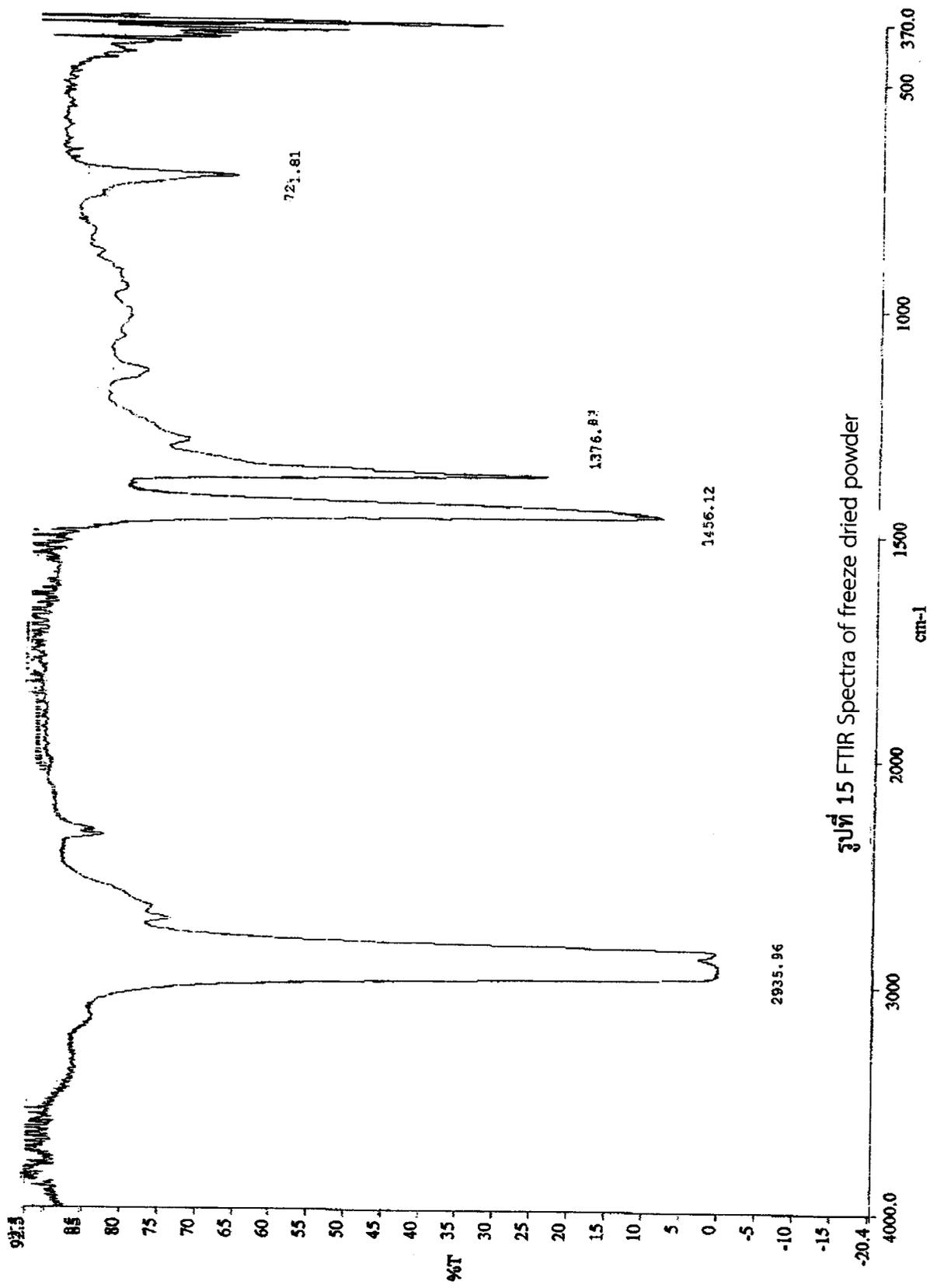


รูปที่ 12 FTIR Spectra of Norfloxacin



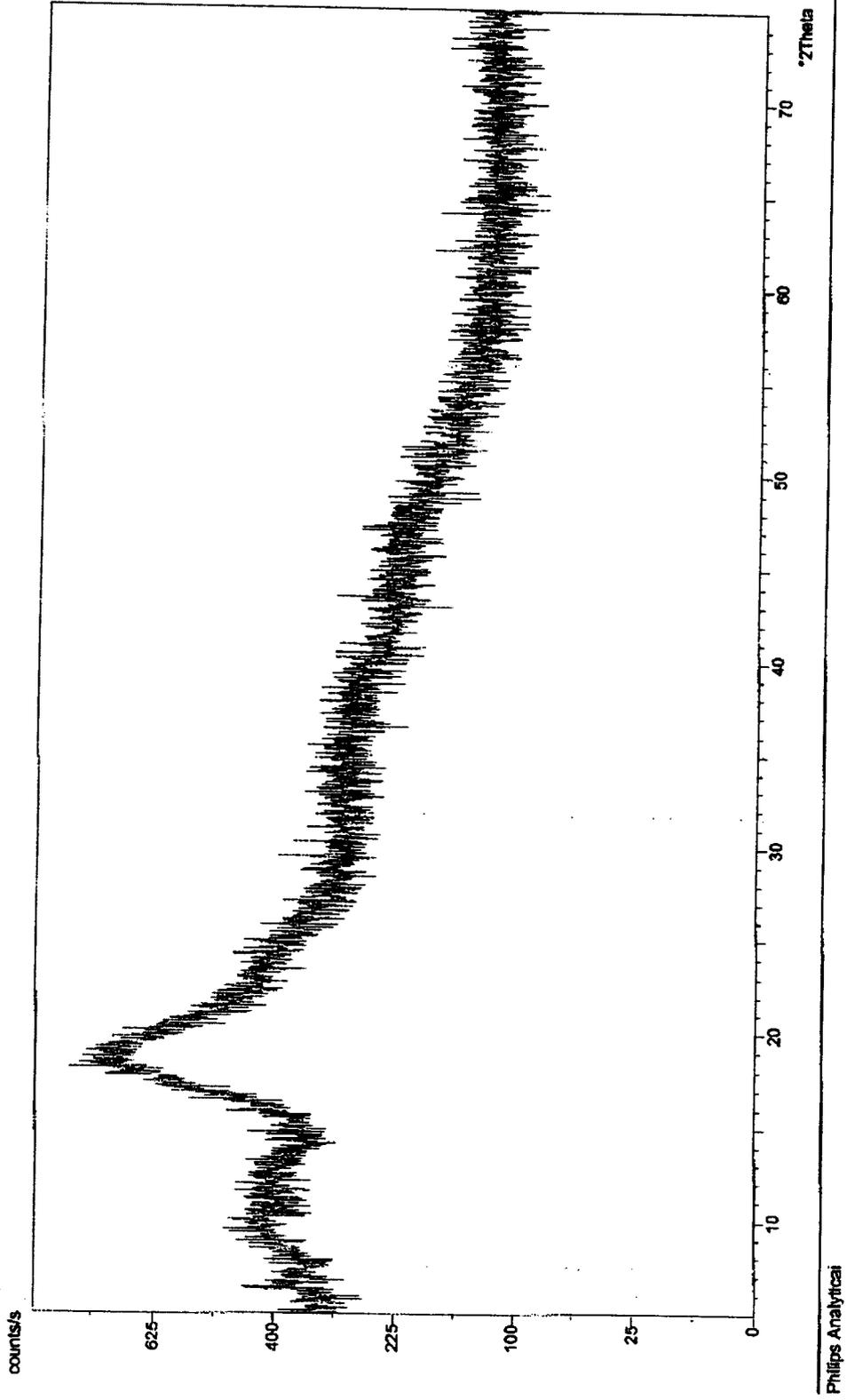
รูปที่ 13 FTIR Spectra of Physical mixture



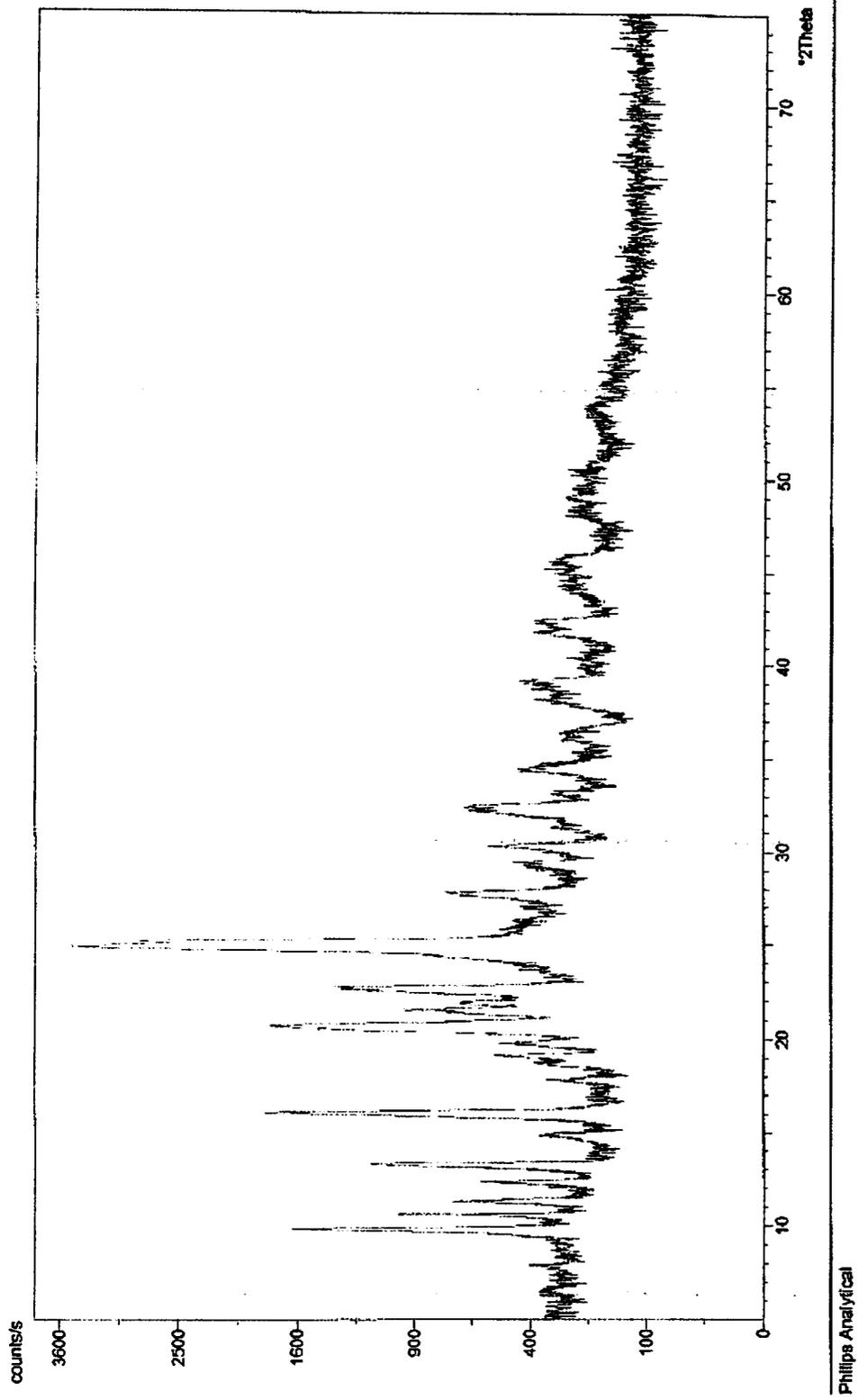


รูปที่ 15 FTIR Spectra of freeze dried powder

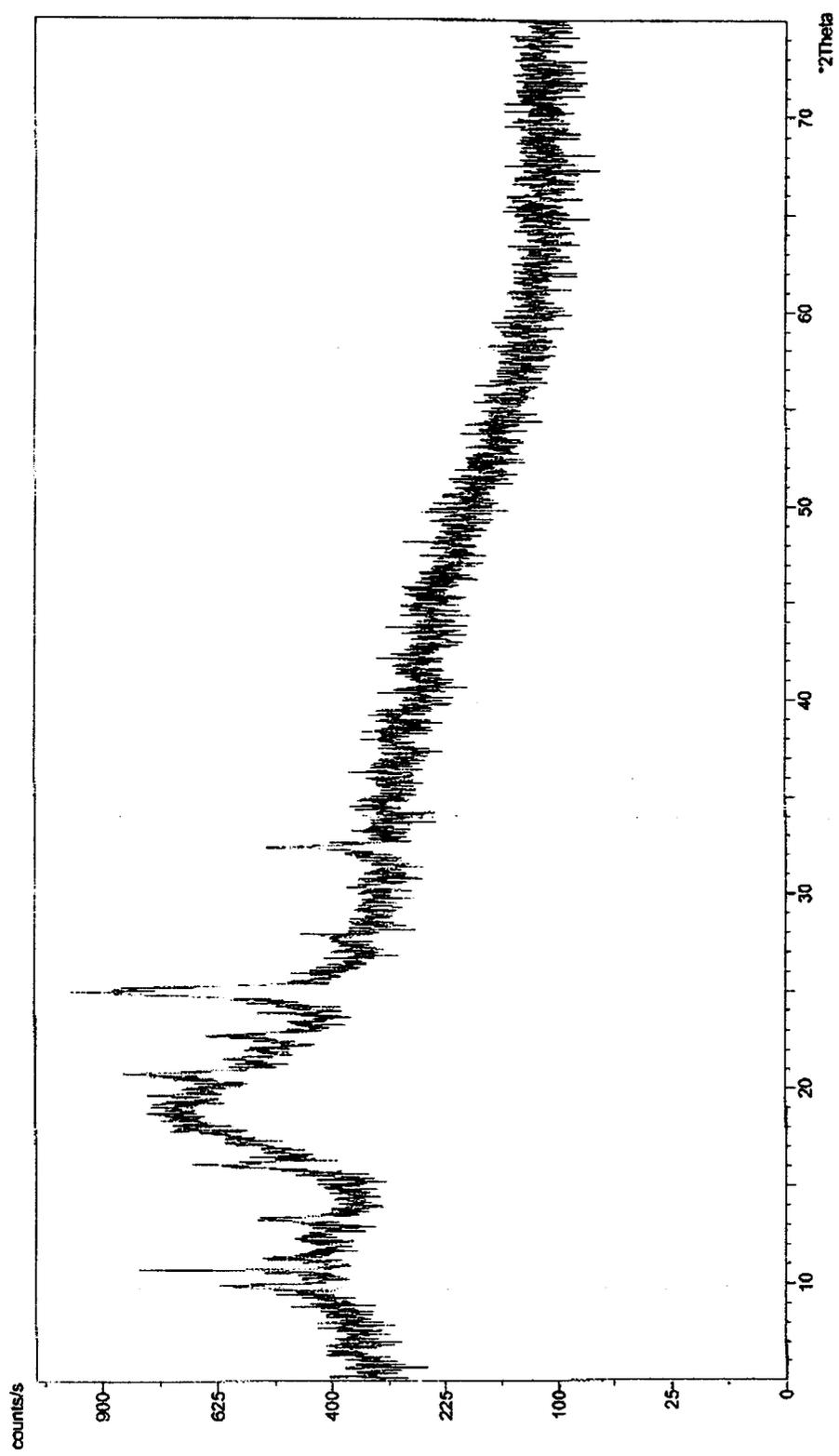
รูปที่ 14 FTIR Spectra of Spray dried powder



รูปที่ 16 Powder X-Ray Diffraction pattern of Hydroxypropyl- β -cyclodextrin

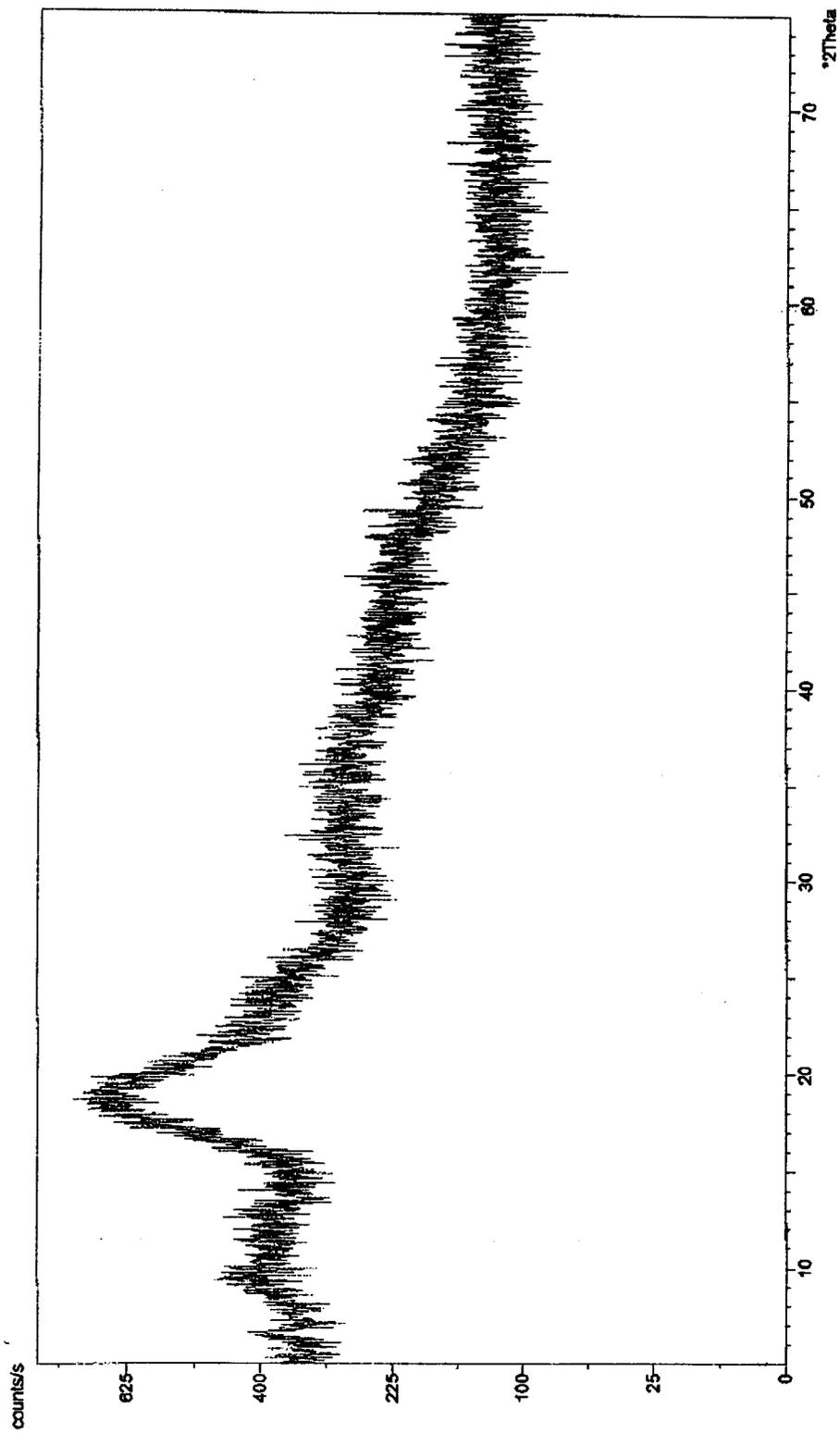


รูปที่ 17 Powder X-Ray Diffraction pattern of Norfloxacin



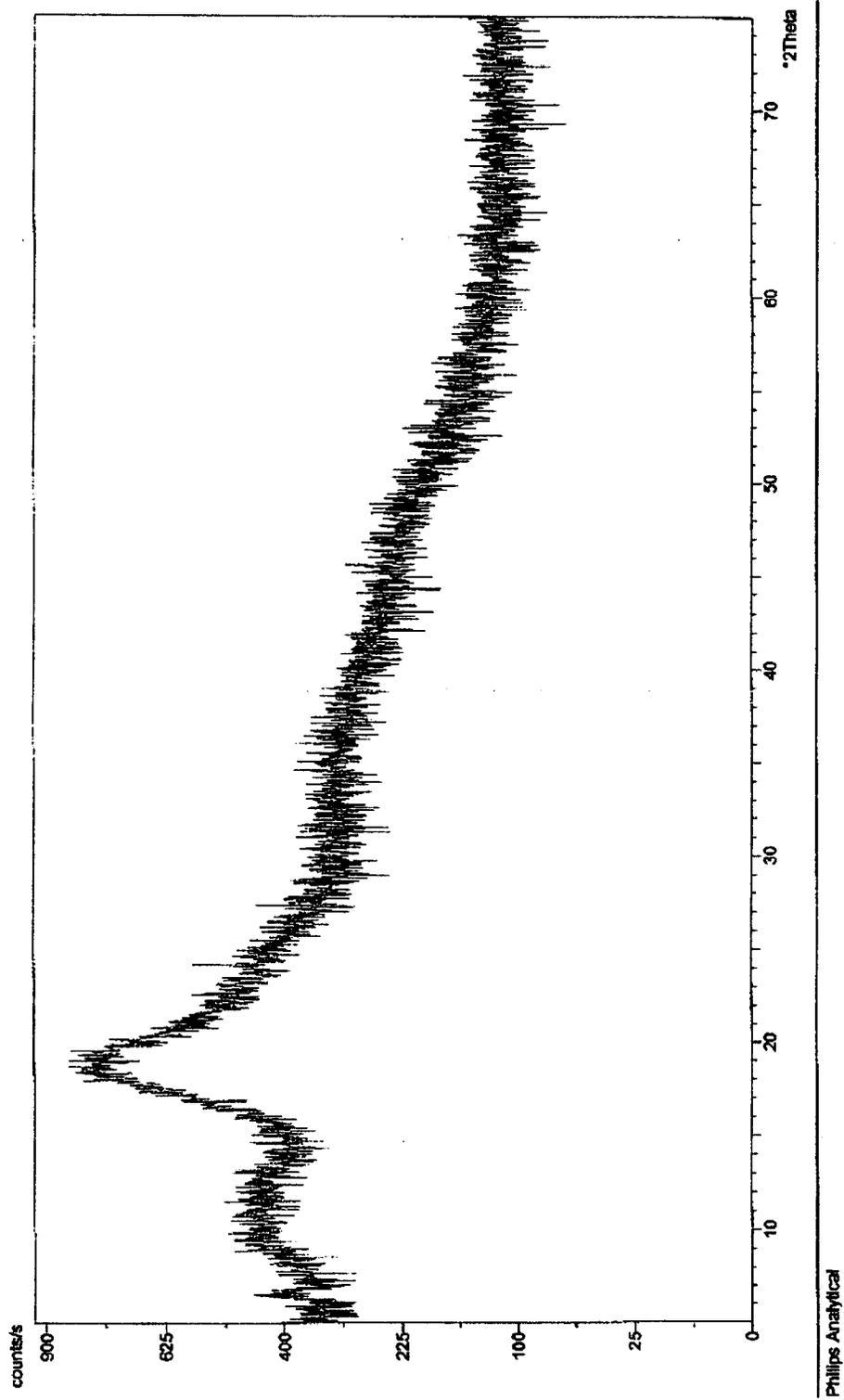
Phillips Analytical

Figure 18 Powder X-Ray Diffraction pattern of Physical mixture



Phillips Analytical

รูปที่ 19 Powder X-Ray Diffraction pattern of spray dried powder



รูปที่ 20 Powder X-Ray Diffraction pattern of Freeze dried powder