

วท

ภ. 30-22/ย. 1/รายงานฉบับที่ 4

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

การศึกษาประสิทธิภาพการปลดปล่อยของน้ำมันไพลจากครีมไพลขนาด วท.

โดย

**ทวีศักดิ์ สุนทรธนาศาสตร์
ภัทรา อะหะมะดี พีระชะหีด
ศศิธร วสุวัต
ศรินทร์ จันทร**

รายงานฉบับนี้ได้รับการอนุมัติให้พิมพ์โดย
ผู้ว่าการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



(ดร.สันทัต โรจนสุนทร)

ผู้ว่าการ

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



วท

โครงการวิจัยที่ ภ.30-22

โครงการวิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมยาจากสมุนไพร ระยะที่ 2

โครงการย่อยที่ 1

งานวิจัยและพัฒนาครีมสมุนไพรแก้ปวดบวมจากไพล

รายงานฉบับที่ 4

การศึกษาประสิทธิภาพการปลดปล่อยของน้ำมันไพลจากครีมไพลจีซาล วท.

โดย

ทวิศักดิ์ สุนทรธนาศาสตร์

ภัทรา อะหะมะคี พีระชะหีด

ศศิธร วสุวัต

ศิรินันท์ จันทร

บรรณาธิการ

วัลย์ลดา หงส์ทอง

นฤมล รื่นไวย

วท., กรุงเทพฯ 2533

สงวนลิขสิทธิ์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) ที่เอื้อเฟื้อ cellophane membrane และเครื่อง gas chromatography; กองคอมพิวเตอร์, วท.ที่ร่วมมือศึกษา regression analysis ของข้อมูล.

IN VITRO STUDY OF PHLAI OIL RELEASING FROM PLYGESAL CREAM

By Taweesak Suntornanasat, Pattra Ahmadi P., Sasithorn Wasuwat
and Sirinan Chanthon

ABSTRACT

Pharmaceutical and Natural Products Department (PNPD) of Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) had conducted a research on Thai medicinal plant "phlai" (*Zingiber cassumunar* Roxb.) and developed Plygesal cream since 1977 to be used for antiinflammatory, muscular pain, bruise and sprain.

The pharmacokinetics of phlai oil releasing from Plygesal cream to the skin was studied in this experiment, according to Plakogiannis M.F.'s method, by using cellophane membrane (cut off point 1,000) to substitute human skin. The result revealed that the release of phlai oil varied with time. It was found that within 6-hour period, 1.1644 g (or 25.65%) of phlai oil was released from 32.4600 g of Plygesal cream (14%) which contained 4.54 g of phlai oil.

การศึกษาประสิทธิภาพการปลดปล่อยของน้ำมันไพลจากครีมไพลจีซาล วท.
โดย ทวีศักดิ์ สุนทรณศาสตร์*, ภัทรา อะหมะดี พีระชะทีค*, ศศิธร วสุวัต*,
และ ศิรินันท์ จันทร์*

บทคัดย่อ

สาขาวิจัยอุตสาหกรรมเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (สวภ.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) ได้วิจัยและพัฒนาครีมไพลจีซาลมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2520 ซึ่งมีผลทางเภสัชวิทยาการปวดบวมของกล้ามเนื้อ และอาการเคล็ดขัดยอกจากพืชสมุนไพร ไพล (*Zingiber cassumunar*, Roxb.). รายงานฉบับนี้เป็นการศึกษาผลทางเภสัชจลนศาสตร์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของครีมไพลจีซาล ในการปลดปล่อยน้ำมันไพลเข้าสู่ผิวหนัง. ได้ทำการทดลองตามวิธีการของ Plakogiannis M.F. และคณะ (1987) โดยใช้ cellophane membrane (cut off point 1,000) แทนผิวหนังมนุษย์. พบว่าการถูกปลดปล่อยของน้ำมันไพลแปรผันโดยตรงต่อเวลา. จากการศึกษาในเวลาประมาณ 6 ชั่วโมง พบว่ามีน้ำมันไพลถูกปลดปล่อย 1.1644 กรัม, คิดเป็น 25.65% ของน้ำมันไพล 4.54 กรัม จากครีมไพลจีซาล 32.4600 กรัม.

* สาขาวิจัยอุตสาหกรรมเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

บทนำ

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) ของยาเตรียมทาชนิดภายนอก (topical preparation) เพื่อให้ทราบถึงผลการปลดปล่อยตัวยาสำคัญผ่านผิวหนังเข้าสู่ receptor site เป็นการประเมินผลทางเภสัชชีวสมมูลย์ (bioavailability) ของยาเตรียมนั้น ๆ. นักวิทยาศาสตร์ได้พยายามสร้างรูปแบบการทดลอง (model) ต่าง ๆ เพื่อให้สามารถประเมินเปรียบเทียบค่าการปลดปล่อยของตัวยาสำคัญออกจากตัวยาพื้น (base) ผ่านผิวหนัง, โดยนักวิทยาศาสตร์ได้ศึกษานำ artificial membrane มาใช้แทนผิวหนังของมนุษย์. ในปี ค.ศ. 1983 Hekimoglu และคณะ (1983) ใช้ dialysis membrane ในการเปรียบเทียบการปลดปล่อยของ caffeine จากยาพื้นต่าง ๆ. ปี ค.ศ. 1984-1987 Plakogiannis และคณะ (1984, 1986, 1987) ได้นำ cellophane membrane (cut off point 1,000) ทดสอบหาค่าการปลดปล่อยของอินโดเมทาซิน (Indomethacin), เทสโตสเตอโรน (Testosterone) และพิริอกซิแคม (Piroxicam) จากยาพื้นหลายชนิดโดยเปรียบเทียบกับ *in vivo* ในกระต่าย. ในปี 1987 Friedman และ Benita (1987) ได้นำ nuclepore membrane มาใช้ และกล่าวว่า model นี้เหมาะสมที่จะนำมาใช้หาค่าการปลดปล่อยของตัวยาได้. ในปีเดียวกัน Muynck และ Remon (1987) ได้ใช้ hydrophilic cellulose acetate membrane (0.04 μm) ในการหาค่าการปลดปล่อยของ Metronidazole จากยาพื้น 5 ชนิด, และ Bannon และคณะ (1987) ใช้ cellophane membrane หาค่าความสัมพันธ์เส้นตรง (linear relationship) ระหว่างปริมาณของยาที่ถูกปลดปล่อย กับรากที่สองของเวลาที่ยาถูกปลดปล่อย โดยการใช้กระแสไฟฟ้าร่วมด้วย. พบว่าอัตราการปลดปล่อยของตัวยาจะแปรผันโดยตรงกับเวลา, และเพิ่มขึ้นตามความแรงของกระแสไฟฟ้า.

ปี ค.ศ. 1989 Babar และคณะ (1989) ได้ทดลองใช้ cellophane membrane หาค่าการปลดปล่อยของเทสโตสเตอโรน (Testosterone) จากยาพื้นต่าง ๆ 6 ชนิด, พบว่าให้ผลที่สัมพันธ์กับ *in vivo* เมื่อให้กับผู้ป่วยเพศชาย. Rekkas และคณะ (1989) ได้ศึกษาการปลดปล่อยยาเบตาเมธาโซน (Betamethasone-17-valerate) จากยาพื้นกึ่งแข็งตัว (semi-solid solid) ได้แก่พวกเจล (gels), ขี้ผึ้ง (ointment), ครีม (cream), โลชั่น (lotion) และอื่น ๆ เพื่อประเมินผลให้กับแพทย์ผิวหนังเลือกใช้. นอกจากนี้ Provost และคณะ (1989) ได้ใช้ cellulose membrane ในการเปรียบเทียบการปลดปล่อยของตัวยาสำคัญชนิด o/w gel กับยาพื้นชนิดต่าง ๆ แต่ก็ยังสรุปผลได้ไม่แน่ชัด.

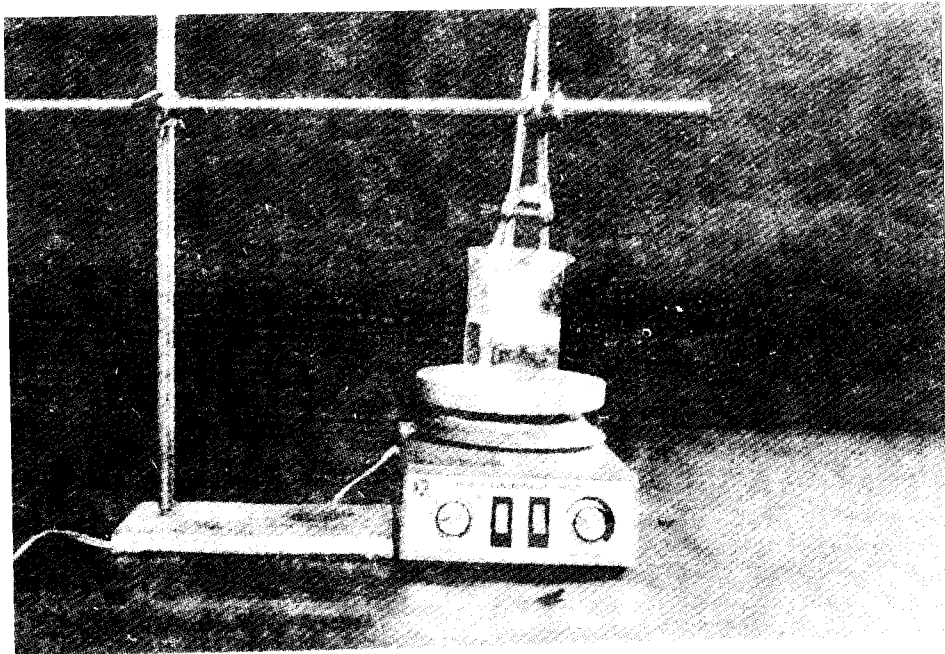
สาขาวิจัยอุตสาหกรรมเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (สวภ.), สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.) ได้วิจัยและพัฒนาครีมโพลีจีซาลจากสมุนไพรโพลี เพื่อรักษาอาการปวด, เคล็ด, ยอก มาตั้งแต่ พ.ศ. 2520. การศึกษาในครั้งนี้เป็นการทดสอบประสิทธิภาพการปลดปล่อยของน้ำมันโพลีจากครีมโพลีจีซาล วท. โดยใช้ cellophane membrane แทนผิวหนังมนุษย์ เป็นการทดสอบผลการดูดซึมเบื้องต้น เพื่อประเมินผลทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) ของครีมโพลีจีซาล ซึ่งผลจากการศึกษานี้จะสามารถนำไปปรับปรุงพัฒนาสูตรต่อไป.

วัสดุ, อุปกรณ์ และสารเคมี

- 1) ครีมโพลีจีซาล สวภ. วท. ที่มีน้ำมันโพลี 14%.
- 2) น้ำกลั่น 3 ครั้ง ขององค์การเภสัชกรรม.
- 3) Magnetic stirrer, magnetic bar.
- 4) Beaker ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.0 ซม. ที่ตัดขอบให้สม่ำเสมอ.
- 5) Test tube.
- 6) เครื่องปั่น Vortex.
- 7) Volumetric flask ขนาด 5 มล.
- 8) Pipet
- 9) Potassium phosphate monobasic (KH_2PO_4) ของ บ. Merck.
- 10) Sodium hydroxide (NaOH) AR grade ของ บ. Merck.
- 11) Chloroform HPLC grade ของ บ. J.T. Baker.
- 12) Anhydrous sodium sulphate ($\text{anh. Na}_2\text{SO}_4$) ของ บ. Merck.
- 13) ฝ้ายสีขาว.
- 14) Cellophane membrane (cut off point 1,000) ของ บ. Nakarai Chemicals, Ltd. Japan.
- 15) Gas chromatography ของ บ. United Technologies Packard Model 4384 โดยใช้:
 - flame ionization detector
 - 10% SE 30 on chromosorb WHP 6 ft.
 - Recorder ของ Water 74°C.

วิธีการทดลอง

1. ชั่งครีมโพลีซาล (วท.) ให้เต็ม beaker ที่มีหน้าตัดที่สม่ำเสมอ เป็นผืนผ้าศูนย์กลางประมาณ 3 ซม. ประมาณ 30 กรัม.
2. หุ้มปาก beaker ด้วย cellophane membrane และผูกด้วยด้ายสีขาว โดยไม่ให้เกิดช่องอากาศบริเวณหน้าครีม.
3. นำ beaker ที่บรรจุครีมโพลีคว้านแขวนใน beaker ที่มี phosphate buffer (pH 6) บรรจุอยู่ 100 มล. (ตั้งรูป) ให้ปาก beaker ที่บรรจุครีมโพลีจุ่มลงไปประมาณ 1 ซม. จากผิวน้ำของ buffer ที่คั่นอยู่ด้วย magnetic bar.
4. Pipet buffer solution 5 มล. จาก beaker ในข้อ 3 ใส่ลงใน test tube เมื่อครบ 5, 10, 15, 25, 40, 70, 100, 160, 220, 280 และ 340 นาที และให้ pipet phosphate buffer (pH 6) เติมลงไปทดแทน 5 มล. ทุกครั้งที่ pipet ออกตามเวลาที่กำหนด.



รูปแสดงวิธีการทดลองตามข้อ 3.

การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ด้วย gas chromatography

1. เติม chloroform 2 มล. ลงในแต่ละหลอดทดลอง บั่นด้วย vortex นาน 30 วินาที และตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น.
2. แยกเอาชั้น aqueous (buffer) ซะล้างชั้น chloroform โดยเติมน้ำกลั่น 1 มล. แล้วถ่ายชั้น chloroform ลงใน volumetric flask ขนาด 5 มล.
3. ปรับปริมาตร 5 มล. ด้วย chloroform และเติม anh. Na_2SO_4 0.5 กรัม.
4. ฉีดเข้า gas chromatography.
5. เตรียมกราฟมาตรฐานของ Terpinen-4-ol จากน้ำมันไพล ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 5.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ฉีดเข้า gas chromatography.

ตารางที่ 1. ผลจาก gas chromatography
ของ Terpinen-4-ol จากน้ำมันไพล (กราฟรูปที่ 1)

ความเข้มข้นน้ำมันไพล ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	พื้นที่ของ Terpinen-4-ol ($R_t = 12.8$ นาที)
0.5	2.08×10^5
1.0	3.85×10^5
1.5	5.17×10^5
2.0	7.28×10^5
5.0	18.19×10^5

ตารางที่ 2. ผลจาก gas chromatography
ของ Terpinen-4-ol จากตัวอย่างในครีมไพลจีซาล

ตัวอย่าง	เวลา (นาที)	$\sqrt{\text{เวลา (นาที)}}$	พื้นที่ของ Terpinen-4-ol ($R_t = 12.8$ นาที)
C ₁	5	2.24	3.48×10^5
C ₂	10	3.16	4.53×10^5
C ₃	15	3.87	5.27×10^5
C ₄	25	5.0	6.2×10^5
C ₅	40	6.32	6.59×10^5
C ₆	70	8.37	7.09×10^5
C ₇	100	10	7.16×10^5
C ₈	160	12.64	8.10×10^5
C ₉	220	14.8	9.5×10^5
C ₁₀	280	16.73	9.72×10^5
C ₁₁	340	18.24	10.7×10^5

ตารางที่ 3. ปริมาณของ Terpinen-4-ol ที่ปลดปล่อยเมื่อคำนวณจากกราฟมาตรฐาน

ตัวอย่าง	เวลา (นาที)	$\sqrt{\text{เวลา}}$ (นาที)	ปริมาณ Terpinen-4-ol ที่ปลดปล่อย (มก.)	ปริมาณน้ำมันไพล* ที่ปลดปล่อย (มก.)
C ₁	5	2.24	97	291
C ₂	10	3.16	129.84	389.52
C ₃	15	3.87	156.09	468.27
C ₄	25	5.0	188.34	565.02
C ₅	40	6.32	208.84	626.52
C ₆	70	8.39	230.94	692.82
C ₇	100	10	243.19	729.57
C ₈	160	12.64	278.07	834.21
C ₉	220	14.8	327.7	983.1
C ₁₀	280	16.73	347.25	1041.75
C ₁₁	340	18.24	388.13	1164.39

*น้ำมันไพลมี Terpinen-4-ol 24.5-41.5%

จากการทำ regression analysis ของข้อมูลจากรายที่ 3

จาก $y = a + bx$

พบว่า coefficients

$a = 262.164$

$b = 48.36112$

Coefficient of determination (R^2) = 0.976324

จากสมการได้ $y = 262.164 + 48.36112 (x)$

เมื่อ $x = \sqrt{\text{เวลา (นาที)}}$

$y = \text{ปริมาณน้ำมันไหลที่ถูกปลดปล่อย (มก.)}$

$x = \sqrt{\text{เวลา (นาที)}}$	$y = \text{ปริมาณน้ำมันไหลที่ถูกปลดปล่อย (มก.)}$
$x_1 = 2.24$	$y_1 = 370.49$
$x_2 = 3.16$	$y_2 = 414.99$
$x_3 = 3.87$	$y_3 = 449.32$
$x_4 = 5$	$y_4 = 503.97$
$x_5 = 6.23$	$y_5 = 567.81$
$x_6 = 8.37$	$y_6 = 666.95$
$x_7 = 10$	$y_7 = 745.78$
$x_8 = 12.64$	$y_8 = 873.45$
$x_9 = 14.8$	$y_9 = 977.91$
$x_{10} = 16.73$	$y_{10} = 1071.25$
$x_{11} = 18.24$	$y_{11} = 1044.27$

ผลการทดลอง

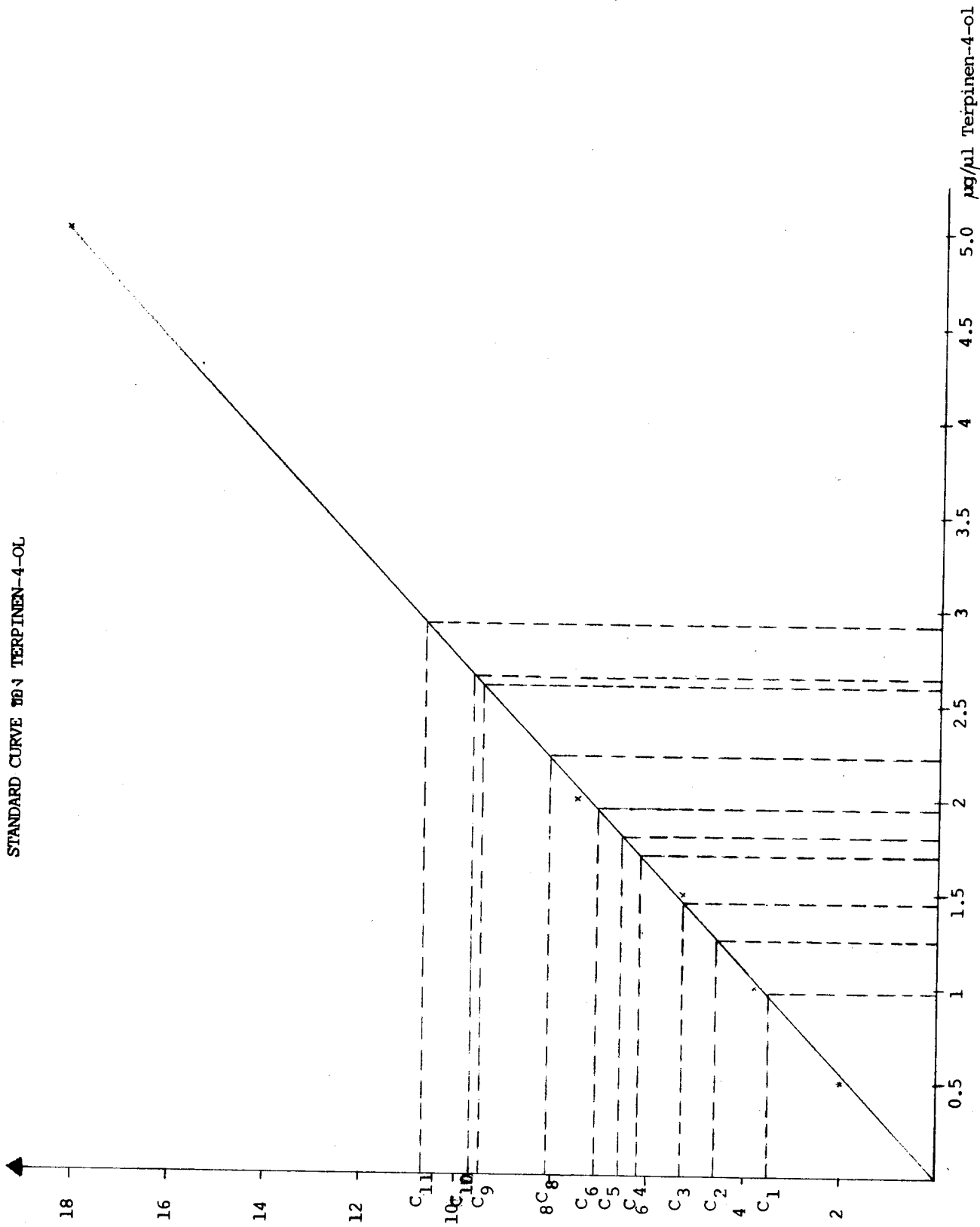
จากการศึกษาการปลดปล่อยน้ำมันไพลจากครีมไพลจีซาล (วท.) ที่มีน้ำมันไพลเป็นองค์ประกอบ 14% เพื่อทราบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในการปลดปล่อยน้ำมันไพล เข้าสู่ผิวหนังของผู้ใช้ยา, โดยศึกษาจากปริมาณ Terpinen-4-ol ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ โดยทั่วไป พบอยู่เป็นปริมาณ 25.4-41.5% ในน้ำมันไพล. จากผลของ Terpinen-4-ol ทำให้การคำนวณค่าของน้ำมันไพลที่ถูกปลดปล่อย ออกมาจากครีมไพลจีซาล โดยผ่าน cellophane membrane พบว่าการปลดปล่อยน้ำมันไพลแปรผัน โดยตรงต่อเวลา (ตารางที่ 3). จากการศึกษาในเวลาประมาณ 6 ชั่วโมง พบว่ามีน้ำมันไพลถูกปลดปล่อย 1.1644 กรัม คิดเป็น 25.65% ของน้ำมันไพล 4.54 กรัม จากครีมไพลจีซาล 32.4600 กรัม.

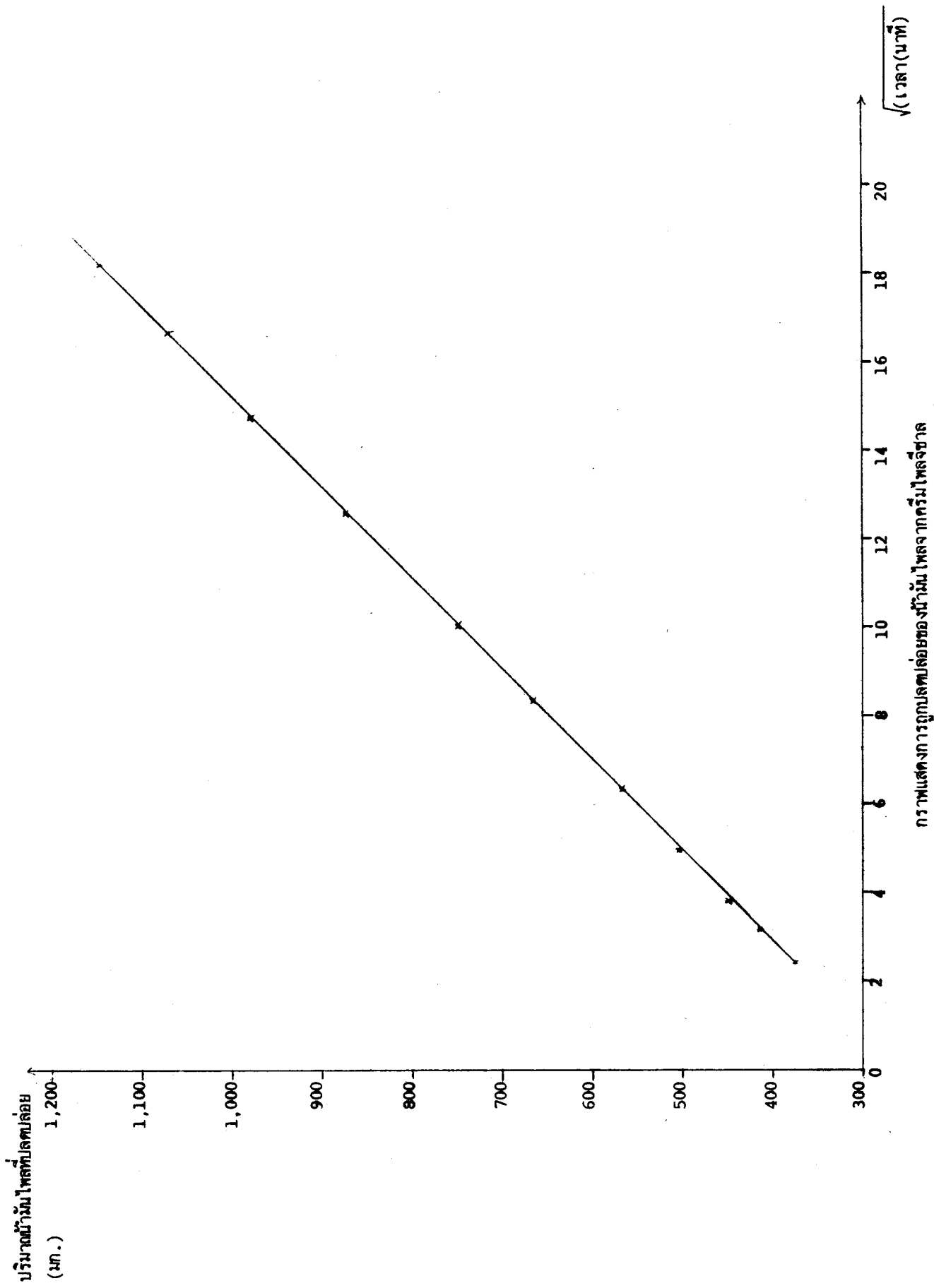
วิจารณ์และเสนอแนะ

การศึกษาเบื้องต้นนี้ ให้นำรูปแบบการทดลองศึกษาการปลดปล่อยของยาของ Plakogiannis และคณะ (1984, 1986, 1987) ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง และยอมรับในด้านของการศึกษาเบื้องต้นของยาทาภายนอก. วิธีการดังกล่าวใกล้เคียงกับธรรมชาติ โดยนำ cellophane membrane (cut off point 1,000) มาใช้ทดลองแทนผิวหนังของมนุษย์ ทำให้พบว่าน้ำมันไพลที่ถูกปลดปล่อยจะสัมพันธ์โดยตรงกับเวลาการทดลองยาดังกล่าวนี้. ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ได้พัฒนา คิดค้นนำผิวหนังของหนูถีบจักร หนูแรท กระต่าย ลิงและผิวหนังลูกหมูแรกเกิด มาใช้แทน cellophane membrane เพื่อให้ได้ผลทางเภสัชจลนศาสตร์ที่ใกล้เคียงกับผิวหนังมนุษย์มากขึ้น. อย่างไรก็ตามถ้าใช้ผิวหนังมนุษย์ในการทดลองจะให้ได้ผลที่ดี และชัดเจนกว่าการใช้ผิวหนังของสัตว์ทดลองต่าง ๆ และ cellophane membrane.

Area x 10⁵

STANDARD CURVE FOR TERPINEN-4-OL





เอกสารอ้างอิง

- Babar, A. and co-workers. 1987. Diadermatic dose forms of testosterone: *In-vitro* release studies and *in vivo* absorption in a human male. Drug Development and Industrial Pharmacy. 15 (9) : 1405-1422.
- Bannon, B.Y., Corish, J. and Corrigan, I.O. 1987. Iontophoretic transport of model compounds from a gel matrix across a cellophane membrane. Drug Development and Industrial Pharmacy. 13 (14) : 2617-2630.
- Friedman, D. and Benita, S. 1987. A mathematical model for drug release from o/w emulsion: Application to controlled release morphine emulsion. Drug Development and Industrial Pharmacy. 13 (9-11) : 2067-2085.
- Hekimoglu, K.S., Kislalioglu and Hincal, A.A. 1983. *In vitro* release properties of caffeine I. Effect of concentration and type of ointment base. Drug Development and Industrial Pharmacy. 9 (8) : 1513-1535.
- Muynck, D.C. and Remon, P.J. 1987. Stability, *in vitro* and *in vivo* release studies from metronidazole ointment. Drug Development and Industrial Pharmacy. 13 (8) : 1483-1492.
- Plakogiannis, M.F. and co-workers. 1984. Medicament release from ointment bases: I. Indomethacin: *In vitro* and *in vivo* release studies. Drug Development and Industrial Pharmacy. 10 (7) : 1071-1083.
- Plakogiannis, M.F., Babar, A. and Parikh, H.N. 1986. Medicament release from ointment bases II : Testosterone : *In vitro* release and effects of additives on its release. Drug Development and Industrial Pharmacy. 12 (14) : 2493-2509.
- Plakogiannis, M.F. and co-workers. 1987. Medicament release from ointment bases : IV : Piroxicam : *In vitro* release and *in vivo* absorption in rabbits. Drug Development and Industrial Pharmacy 13 (8) : 1371-1397.

Provost, L.C. and co-workers. 1989. The *in-vitro* penetration of hydrophilic and lipophilic drugs from transparent oil-water gels through excised human epidermis : A comparative study with other dermatological vehicles. Drug Development and Industrial Pharmacy. 15 (1) : 25-49.

Rekkas, M.D. and co-workers. 1989. *In-vitro* release of betamethasone-17-valerate from various dermatological bases. Drug Development and Industrial Pharmacy. 15 (11) : 1881-1888.

พฤกษ์, คุ้มวงศ์ และคณะ. 2533. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางผิวหนัง. พิมพ์ครั้งที่ 1, หจก. ก.การพิมพ์.

