

รายงานการวิจัย

เรื่อง



การเตรียม Sulfamethoxazole/

Trimethoprim ในรูป pellets

ผู้จัดทำ: อดิการ วิวัฒน์ปฐพี

ผู้ตรวจ: อีระพล ศรีชนะ

ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม,
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์,

150 ๖๔ ชุด ซักฟานเพร็อกซาโซล ๘x ๖๖ ม
60 ๖๔๘๓ ไตรเมโทพริม ๘x ๖๖ ม

SA
KNO

เลขที่	RM 666 5836 ๗36
เลขที่ประเมิน	2539
ปี พ.ศ.	253๐ /

Order Key	116215
BIB Key	116215 ✓

บทคัดย่อ

การเตรียม Sulfamethoxazole/Trimethoprim pellets นี้มีปัจจัยที่สำคัญคือ สารที่นำมาเตรียมต้องสามารถอัดเป็นเส้นได้เช่นเดียวกับ Microcrystalline cellulose จากการทดลองพบว่าสามารถนำกากมะพร้าวอบแห้งมาทดแทน cellulose ได้ และการปรับปรุงให้ส่วนประกอบใน pellets ยึดเกาะกันดีรวมทั้ง pellets มีลักษณะเรียบขึ้นทำโดยใช้ Bentonite นอกจากนี้กากมะพร้าวอบแห้งและ Hydrogenated vegetable oil ยังทำให้ pellets สามารถลอยน้ำได้ เพื่อเป็นอาหารที่ควาน้ำ ส่วน Lactose เป็นสารที่ละลายน้ำได้ดีจะช่วยให้การปลดปล่อยตัวยาดีขึ้น ส่วนที่เหมาะสมของสูตรตำรับคือ Bentonite 40 กรัม Hydrogenated vegetable oil 30 กรัม Lactose 70 กรัม กากมะพร้าว 50 กรัม Sulfamethoxazole 40 กรัม Trimethoprim 8 กรัม และน้ำ 160 กรัม โดยปริมาณยาที่ถูกปลดปล่อยในเวลา 60 นาที คือ Sulfamethoxazole $104 \pm 6.1\%$ และ Trimethoprim $53 \pm 5.7\%$

Abstract

The formulations of Sulfamethoxazole /Trimethoprim pellets were prepared by extrusion and spheronization. Bentonite, Hydrogenated vegetable oil, Dried coconut meat and Lactose were used as ingredients in various proportions. The proper formulation composed of Bentonite 40 g., Hydrogenated vegetable oil 30 g., Lactose 70 g., Dried coconut meat 50 g., Sulfamethoxazole 40 g., Trimethoprim 8 g. and water 160 g. Dried coconut meat could be used instead of Microcrystalline cellulose which is known as an excellent excipient for pellets production because of its similar properties to cellulose. In addition, Dried coconut meat together with Hydrogenated vegetable oil in the formulation enhanced floating property of pellets. The binding property of the excipients and the smoothness of pellets were increased by Bentonite. The release of medicament was improved by Lactose because of its solubility in water. This formulation released Sulfamethoxazole $104 \pm 6.1\%$ and Trimethoprim $53 \pm 5.7\%$ in 60 minutes.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ข
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ค
สารบัญ	ง
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 สารเคมีและเครื่องมือ	3
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	4
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	6
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	9
บรรณานุกรม	10

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและความเป็นของปัญหา

ในปัจจุบันความจำเป็นในการเพิ่มผลผลิตของโปรตีนมีมากขึ้น การปรับปรุงการผลิตเพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีก็ย่อมมีมากตามไปด้วย ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำก็มีการปรับมาตรฐานไปสู่ระดับอุตสาหกรรม การที่จะผลิตปลาให้ได้จำนวนมากก็ย่อมหมายถึง ปริมาณแหล่งอาหารที่จะบ่อนแก่ปลารวมทั้งการป้องกันโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากในการเพาะเลี้ยงแต่ละครั้งมักเกิดความเสียหายได้ง่ายจากโรคติดเชื้อ โดยเฉพาะในการเลี้ยงปริมาณมาก ๆ การที่มีประชากรหนาแน่นมากทำให้เกิดความเครียดเป็นผลให้การแพร่กระจายของเชื้อโรคมักมีมากขึ้น การหาวิธีบำบัดรักษาที่สามารถช่วยขจัดโรคติดเชื้อได้จะทำให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ จากเหตุดังกล่าวธุรกิจการผลิตอาหารเสริมและยาจึงเจริญอย่างรวดเร็ว (Ratafia 1990) โดยปกติเชื้อที่เป็น pathogen ของปลาจะเป็นพวกแกรมลบ (gram negative) เช่น *Aeromonas*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Enterobacilli* (Rogers 1991, Sugita et al 1990, Stuart 1983, Salmo 1991) โดยทั่วไปการบำบัดโรคจะใช้ยา Tetracycline, Furazolidone, Sulfonamide แต่การใช้ยาปฏิชีวนะที่กระทำอยู่ไม่เหมาะสม เช่น ใช้วิธีละลายยาในน้ำหรือโปรยลงไปหรือเติมยาลงไปในการเลี้ยงสัตว์น้ำในอาหาร ตัวยาเองจะมีผลต่อสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศน์โดยจะทำลายพืชน้ำหรือพวก bacterial filter ต่าง ๆ คณะผู้วิจัยจึงได้มีความพยายามหาวิธีที่เหมาะสมในการให้ยาแก่สัตว์น้ำ โดยเลือกยา Sulfamethoxazole/Trimetroprim เนื่องจากเป็นยาที่มีประสิทธิภาพสูงในการรักษาโรคติดเชื้อในปัจจุบัน (Athanassiou, G.C. et al 1991, Bowser et al 1986)

Fairy shrimp (Anostraca) เป็นสัตว์น้ำชนิดหนึ่งในตระกูล Crustacean ที่มีเปลือกแข็งหุ้ม (chitin) อาศัยอยู่ในน้ำจืด สามารถกินอาหารที่เป็นอนุภาคเล็ก ๆ ที่ลอยอยู่ในน้ำได้ เช่น สาหร่าย (Algae), แบคทีเรีย สัตว์ชนิดนี้สามารถเพาะเลี้ยงได้ในปริมาณมากและทนต่อสภาวะแวดล้อมได้ดี ทั้งสามารถทำให้น้ำมีความสะอาดมากขึ้น สัตว์ชนิดนี้จะมีปริมาณโปรตีนสูง ซึ่งนอกจากใช้เป็นอาหารในปลาที่โตเต็มที่แล้วสามารถใช้เป็นอาหารในลูกปลาได้ โดยตัวอ่อนของ Fairy shrimp ในขั้น Nauplii และ Juvenile เหมาะที่จะใช้เลี้ยงลูกปลาในวัยอ่อน ซึ่งในขั้นนี้โอกาสการรอดชีวิตของลูกปลาจะมีน้อย ดังนั้นความสำคัญในการดูแลเรื่องอาหารเป็นสิ่งจำเป็น การใช้ Fairy shrimp เป็นตัวขนส่งยาไปให้ปลาอีกทอดหนึ่ง น่าจะแก้ปัญหที่เกิดขึ้นดังกล่าวแล้วได้ โดยพัฒนาวิธีการให้ยาที่เหมาะสมในรูปของ pellets ซึ่งเป็นอาหารของ Fairy shrimps แล้ว Fairy shrimps ซึ่งเป็นอาหารของปลาจะเป็นตัวส่งผ่านยาไปยังปลาอีกทอดหนึ่งโดยที่ยาไม่ได้ถูกทำลายภายในตัวของ fairy shrimp ซึ่งพิสูจน์ได้จากการหาปริมาณยาที่เหลืออยู่ในตัวของ Fairy shrimp (Sugita et al, 1990, Hildrew 1985) นอกจากการส่งยาผ่าน Fairy shrimp ไปยังปลาแล้ว อาจส่งยาในรูป pellets นี้ให้ปลากินโดยตรง แม้ว่าปลาที่เป็นโรคติดเชื้อแล้วไม่สามารถกินอาหารได้ตามปกติ แต่รูปแบบยาที่เตรียมขึ้นต้องการไม่ให้เกิดแพร่ระบาดไปยังปลาที่ยังไม่ติดเชื้อ นั่นคือ ปลาที่เหลือจะมีชีวิตรอดอยู่ได้

เป็นการแก้ไขขณะที่มีการระบาดของเชื้อมาก

ในกระบวนการทำ pellets จะต้องมีการเลือกใช้สารที่เหมาะสมคือมีคุณสมบัติที่จะเสียรูปแบบ plastic deformation และสามารถทนต่อแรงเฉือนได้ดีโดยไม่มีการกร่อนหรือแตกออกโดยมีผู้ทำการทดลองศึกษาไว้มากมาย เช่น Benbow 1987, Conine (1970), Pinto et al 1992, Raines 1990 เป็นต้น นอกจากนี้สภาวะที่ใช้ทำการทดลองก็เป็นปัจจัยสำคัญที่จะให้ได้ pellets ที่มีคุณสมบัติที่ดี (Baert et al 1991) การนำ pellets มาให้เป็นอาหารของ fairy shrimp หรือปลาจำเป็นต้องเลือกสารที่ไม่เป็นอันตรายและเหมาะที่จะเป็นอาหาร ได้แก่ bentonite, lactose, Microcrystalline cellulose เป็นต้น (Reinitz, G., 1983) คณะผู้วิจัยเห็นว่าการผลิตยารักษาโรคติดเชื้อในปลาโดยเฉพาะการใช้ sulfamethoxazole/trimetoprim ซึ่งทำในรูป pellets เพื่อใช้เป็นอาหารของ fairy shrimp และใช้สัตว์ชนิดนี้เป็นอาหารของปลาอีกทอดหนึ่ง หรือให้แก่ปลาโดยตรงสามารถช่วยแก้ไขปัญหาระบบนิเวศวิทยาและสิ่งแวดล้อมได้ โดย pellets ส่วนที่เหลือจากการกินจะลอยน้ำอยู่สามารถใส่ตะแกรงตักไปทิ้งได้ และจะทำให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษาโรคติดเชื้อในปลาในปัจจุบัน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาวิธีที่เหมาะสมในการทำ Sulfamethoxazole/Trimetoprim ในรูป pellets ที่ลอยตัวในน้ำได้เพื่อนำไปใช้เป็นอาหารของ fairy shrimp หรือเป็นตัวส่งผ่านยาไปยังปลา
2. เพื่อพัฒนาระบบในการให้ยาเพื่อรักษาโรคติดเชื้อในปลาอย่างมีประสิทธิภาพ
3. เพื่อแก้ปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นจากวิธีการให้ยาที่ไม่เหมาะสม

ประโยชน์ที่จะได้รับ

การใช้ pellets ส่งผ่านยาจะเป็นขั้นตอนสำคัญที่จะก้าวไปข้างหน้าในระบบการส่งผ่านยา โดยเฉพาะการพัฒนาในแง่การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและการประมง ทำให้สามารถที่จะลดค่าใช้จ่ายของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในการซื้อยาและเวชภัณฑ์เพื่อการรักษาโรคระบาด ดังนั้นโครงการวิจัยสามารถช่วยให้มีการพัฒนาโดยเชิงสภาวะทางเศรษฐกิจสังคมของเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อีกทั้งการพัฒนาการเกษตรในประเทศไทยยังล้ำหลัง การปรับปรุงรูปแบบการให้ยาจะช่วยลดปัญหาที่เกิดจากการใช้ยาที่ไม่ถูกต้องและเกินความจำเป็นได้ ทำให้การทำลายระบบนิเวศน์โดยรวมลดลง เป็นการรักษาสภาพสิ่งแวดล้อมทางหนึ่งด้วย นอกจากนี้ยังสามารถแนะแนวทางที่ได้ไปประยุกต์ใช้เตรียมยาอื่นต่อไป เช่น Norfloxacin, Tetracycline เป็นต้น

บทที่ 2

สารเคมีและเครื่องมือ

สารเคมี

Bentonite

Lactose

Hydrogenated vegetable oil(HVO)

กามมะพร้าวอบแห้งผ่านแรง ขนาด 2 มม.

Microcrystalline cellulose (Avicel PH 101)

Sulfamethoxazole

Trimetroprim

Acetonitrile

Conc. Hydrochloric acid

Phosphate buffer pH 7

เครื่องมือ

Mixer (Kenwood)

Extruder (National)

Spheronizer(Pan Drives Co.,LTD)

Incubator (Mettler)

Dissolution tester (Hanson Research)

High Pressure Liquid Chromatography (Water)

Sieve (Fritsch)

Friabilator (K.S.L.Engineering Co.,LTD)

pH meter SA 520 (Orion)

Vernier Calipers (Kanon)

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

1. การเตรียม Sulfamethoxazole/Trimethoprim pellets

1.1 การชั่งและผสมผงยา

- ชั่ง Sulfamethoxazole 40 กรัม Trimethoprim 8 กรัม (อัตราส่วน 5:1) สำหรับทุกตำรับและชั่งสารประกอบอื่นในตำรับได้แก่ Bentonite, Hydrogenated vegetable oil, กากมะพร้าวอบแห้ง, Lactose, Microcrystalline cellulose โดยใช้สารแต่ละชนิดเพียงอย่างเดียว และใช้สารหลายชนิดผสมกันในอัตราส่วนต่าง ๆ กันสำหรับแต่ละตำรับ

- ผสมผงยาใน mixer เป็นเวลา 6 นาที เติมน้ำเป็นสารยึดเกาะให้ผงยาเปียกพอเหมาะแล้วผสมเปียกเป็นเวลา 3 นาที

1.2 การรีดเป็นเส้น

นำผงยาเปียกที่ผสมกันแล้ว เข้าเครื่อง Extruder ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของรู 2 มม. รีดผงยาเปียกออกเป็นเส้น

1.3 การทำ pellets

- ชั่งผงยาเปียกที่เป็นเส้น จำนวน 100 กรัม

- นำไปเข้าเครื่อง Spheronizer โดยให้หมุนด้วยความเร็ว 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 3 นาที จะได้ pellets

- นำ pellets ที่ได้ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.4 การปรับปรุงสูตรตำรับ

- ปรับปรุงอัตราส่วนของสารประกอบชนิดต่าง ๆ เพื่อให้ได้ตำรับที่เหมาะสม โดยในขั้นตอนการเตรียมต้องมีคุณสมบัติรีดเป็นเส้นได้ดี เมื่อผ่านเครื่อง Spheronizer แล้ว ต้องมีลักษณะกลม ผิวเรียบ ไม่กร่อนหรือแตกกระจายง่าย และสามารถล่อน้ำได้ สูตรตำรับที่เหมาะสมจะนำไปประเมินผลในขั้นต่อไป

2. การประเมินผล pellets

ก่อนนำ pellets ไปประเมินผล ให้ผ่านแรงขนาด 2,000 μ เพื่อกำจัด pellets ที่มีขนาดเล็กเกินไป

2.1 การประเมินผลทางเคมี

การวัดการปลดปล่อยตัวยาสำคัญ

- ชั่ง pellets ใส่ในตะกร้าสำหรับทดสอบการละลายจำนวน 6 ตะกร้า ๆ ละ 2.38 กรัม

- นำไปทดสอบการปลดปล่อยตัวยาในสารละลาย 0.1 N HCl 900 มล. จำนวน 6 flasks โดยใช้เครื่องทดสอบการละลายที่ความเร็ว 75 รอบ/นาทีเป็นเวลา 60 นาที

- ปิเบตสารละลายที่เจือจางแล้วไปวิเคราะห์ปริมาณด้วยยา Sulfamethoxazole และ Trimethoprim ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งใช้ mobile phase คือ phosphate buffer pH 7 : Acetonitrile (80/20) ใช้ Column C18 Reversed phase (Rheodyne) โดยมี flow rate 1 มล./นาที โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

2.2 การประเมินผลทางกายภาพ

2.2.1 การวัดขนาดอนุภาค

สุ่ม pellets จำนวน 50 เม็ด มาจากแต่ละสูตรตัวรับ ใช้เวอร์เนียวัดขนาดอนุภาค คำนวณหาค่าเฉลี่ยของขนาดอนุภาค

2.2.2 การวัดความหนาแน่น (bulk density)

- บรรจุ pellets ในกระบอกตวงขนาด 50 มล. ให้ได้ปริมาตร 50 มล.
- นำ pellets จำนวนดังกล่าวไปชั่งน้ำหนัก
- คำนวณความหนาแน่นจากสูตร $d = \frac{m}{v}$

เมื่อ d คือ ความหนาแน่น (กรัม/มล.)

m คือ มวลสาร (กรัม)

v คือ ปริมาตรของสาร (มล.)

- ทำซ้ำอีกครั้งหนึ่ง หาค่าเฉลี่ย

2.2.3 การวัดความกร่อน

- ชั่ง pellets จำนวน 10 กรัม ใส่ในเครื่อง Friabilator ใส่ลูกเหล็กขนาด 5 มม. จำนวน 20 ลูก
- เปิดเครื่องให้หมุนด้วยความเร็ว 25 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 นาที นำ pellets ที่เหลือมาชั่งน้ำหนัก คำนวณเป็น % ความกร่อนดังนี้

$$\% \text{ ความกร่อน} = \frac{\text{น.น. pellets ก่อนทดสอบ} - \text{น.น. pellets หลังทดสอบ}}{\text{น.น. pellets ก่อนทดสอบ}} \times 100$$

- ทำซ้ำอีกครั้ง หาค่าเฉลี่ย

2.2.4 การวัดความสามารถในการลอย

- นำ pellets ครั้งละ 10 เม็ด ไปรยลงในน้ำ เริ่มจับเวลาตั้งแต่เริ่มสัมผัสน้ำ จนกระทั่ง pellets จม บันทึกเป็นเวลาที่สามารถลอยน้ำได้
- ทำการทดลองทำซ้ำจนครบ 50 pellets หาค่าเฉลี่ยของเวลาที่สามารถลอยน้ำได้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการเตรียม Sulfamethoxazole/Trimethoprim pellets

จากการทดลองโดยใช้สารชนิดต่าง ๆ ได้แก่ Bentonite, กากมะพร้าวอบแห้ง, Hydrogenated vegetable oil, Lactose, Microcrystalline cellulose ผลมกันในอัตราส่วนต่าง ๆ ร่วมกับตัวยาเพื่อเตรียม pellets พบว่าการใช้ชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียวไม่สามารถเตรียมเป็น pellets ได้ ยกเว้น Microcrystalline cellulose ซึ่งเป็นสารที่นิยมใช้ทำ pellets การเกิด pellets ต้องอาศัยคุณสมบัติร่วมกันของสารประกอบหลายชนิดในอัตราส่วนที่พอเหมาะ ผลการทดลองพบว่า Bentonite มีคุณสมบัติทำให้ผงยาเหนียวจับตัวกันได้ดี ไม่แตก่วน Hydrogenated vegetable oil มีน้ำหนักเบาและช่วยทำให้ pellets ลอยน้ำได้ กากมะพร้าวอบแห้งเป็นสารพวกเซลลูโลส (cellulose) ซึ่งมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ Microcrystalline cellulose ช่วยทำให้ผงยาใน pellets จับกันแน่นและจากการที่มีน้ำหนักเบาจึงช่วยให้ pellets ลอยน้ำด้วย Lactose มีคุณสมบัติละลายน้ำได้จึงช่วยให้ pellets แยกกระจายตัวในน้ำและปลดปล่อยตัวยาได้เร็วขึ้น

จากการทดลองเตรียมสูตรตำรับจำนวนมาก ผู้วิจัยได้คัดเลือกสูตรตำรับที่สามารถนำมาเตรียม pellets ได้กลมดีและลอยน้ำได้ 4 สูตรตำรับคือ สูตรที่ 1-4 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงส่วนประกอบของสูตรตำรับ

สารที่ใช้	ปริมาณสารที่ใช้ (กรัม)				
	สูตรที่ 1	2	3	4	5
Bentonite	70	50	50	40	30
HVO	70	50	20	30	40
Lactose	-	40	70	70	70
กากมะพร้าวอบแห้ง	50	50	50	50	50
Sulfamethoxazole	40	40	40	40	40
Trimethoprim	8	8	8	8	8
น้ำ	180	160	160	160	160

2. ผลการประเมิน pellets

2.1 ผลการประเมินคุณสมบัติทางเคมี

จากการวัดการปลดปล่อยตัวยาภายในเวลา 60 นาที ผลการวิเคราะห์ปริมาณโดยเครื่อง HPLC ปรากฏในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณยาที่ถูกปลดปล่อยภายในเวลา 60 นาที ของสูตรตำรับต่าง ๆ

สูตรตำรับที่	ปริมาณยาที่ถูกปลดปล่อยในเวลา 60 นาที (%)	
	Sulfamethoxazole	Trimethoprim
1	22 ± 5.5	16 ± 3.0
2	30 ± 7.2	25 ± 4.2
3	80 ± 7.7	32 ± 5.3
4	104 ± 6.1	53 ± 5.7

ผลการทดลองพบว่า สูตรตำรับที่ 1 มีการปลดปล่อยตัวยาน้อยมากเนื่องจากไม่มีสารช่วยแตกตัวหรือสารที่มีคุณสมบัติละลายน้ำได้เป็นส่วนประกอบอีกทั้งยา Sulfamethoxazole และ Trimethoprim ซึ่งละลายน้ำได้น้อยอยู่แล้วจะถูก Bentonite ซึ่งมีโครงสร้างเป็น magma ที่พองตัวในน้ำยัดจับตัวยาไว้ เมื่อทดลองเพิ่ม Lactose จำนวน 40 กรัม เข้าไปในตำรับที่ 2 โดยลดปริมาณ Bentonite และ HVO ลงพบว่าการปลดปล่อยตัวยาเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ในสูตรตำรับที่ 3 มีการเพิ่มปริมาณ Lactose เป็น 70 กรัม โดยลดปริมาณ HVO ลงและ Bentonite เท่าเดิมพบว่าการปลดปล่อยตัวยาเพิ่มขึ้นอย่างมาก แสดงถึงผลของ Lactose ที่ช่วยเพิ่มการปลดปล่อยตัวยาจาก pellets ในสูตรตำรับที่ 4 ซึ่งต่างจากสูตรตำรับที่ 3 คือ มีการลดปริมาณ Bentonite ลงโดยเพิ่มปริมาณ HVO แทน พบว่าการปลดปล่อยตัวยาได้เพิ่มขึ้นจากสูตรที่ 3 โดยปลดปล่อย Sulfamethoxazole ได้ทั้งหมดและปลดปล่อย Trimethoprim ได้ประมาณครึ่งหนึ่ง ซึ่งแสดงว่า Bentonite ซึ่งมีคุณสมบัติยึดจับตัวยาไว้ทำให้ตัวยาถูกปลดปล่อยได้น้อย เมื่อลดปริมาณ Bentonite ลงจึงทำให้ตัวยาถูกปลดปล่อยได้เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามสูตรตำรับที่ 4 ยังไม่สามารถปลดปล่อย Trimethoprim ได้หมด ผู้วิจัยจึงทดลองลดปริมาณ Bentonite ลงอีกในสูตรตำรับที่ 5 และไปเพิ่มปริมาณ HVO แทน แต่พบว่า Bentonite ปริมาณนี้ไม่เพียงพอในการทำให้เกิดการยึดเกาะกันของผงยา จึงไม่สามารถเตรียมเป็น pellets ได้โดยในขั้นตอนที่ใช้เครื่อง Spheronizer จะแตกกระจายและกำรอนหมด

2.2 ผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ

ตารางที่ 3 แสดงผลการประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ

สูตรตัวรับที่ คุณสมบัติ ทางกายภาพ	1	2	3	4
ขนาดอนุภาคเฉลี่ย (มม.)	2.68 (0.21)*	2.46 (0.19)*	2.60 (0.25)*	2.69 (0.29)*
ความหนาแน่น (กรัม/มล.)	0.95	0.95	0.92	0.90
ความกร่อน (%)	0.50	4.20	6.15	3.95
ความสามารถ ในการลอย (นาที)	>5	>5	>5	>5

หมายเหตุ * เป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการทดลองพบว่า pellets ที่ได้จากสูตรตัวรับ 1-4 มีคุณสมบัติทางกายภาพใกล้เคียงกัน ผลการวัดขนาดอนุภาคเฉลี่ยพบว่าสูตรตัวรับที่ 1, 3 และ 4 มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีขนาดใหญ่มากกว่าอนุภาคของสูตรตัวรับที่ 2 เล็กน้อย ส่วนค่าความหนาแน่นของ pellets ทั้ง 4 สูตรมีค่าใกล้เคียงกัน สำหรับความกร่อนนั้น พบว่าสูตรตัวรับที่ 1 จะมีความกร่อนน้อยมากอาจเนื่องจากมี Bentonite ในตัวรับปริมาณมากทำให้สารต่าง ๆ ใน pellets จับกันได้ดีกว่าสูตรอื่น ๆ ซึ่งลดปริมาณ Bentonite ลง ส่วนความสามารถในการลอยนั้นพบว่า pellets ของทุกตัวรับสามารถลอยน้ำได้นานกว่า 5 นาที

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

การวิจัยเรื่องนี้ทำให้สามารถหาวิธีและสูตรตำรับที่เหมาะสมในการทำ Sulfamethoxazole /Trimethoprim ในรูป pellets ที่ลอยตัวในน้ำได้สำหรับเป็นอาหารและยาแก่ปลาโดยตรงหรือเป็นอาหารของ fairy shrimp ซึ่งเป็นตัวส่งผ่านยาไปยังปลาอีกทอดหนึ่ง การให้ยาแก่ปลาโดยใช้ pellets จะช่วยแก้ปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นจากวิธีการให้ยาที่ไม่เหมาะสมในปัจจุบัน โดยเราสามารถใช้ตะแกรงตัก pellets ส่วนที่เหลือจากการกินทิ้งไปได้

สูตรตำรับที่เหมาะสมในการทำ Sulfamethoxazole/Trimethoprim pellets ประกอบด้วย Bentonite 40 g. Hydrogenated vegetable oil 30 g. Lactose 70 g. กากมะพร้าวอบแห้ง 50 g. Sulfamethoxazole 40 g. Trimethoprim 8 g. และน้ำ 160 g. สารเหล่านี้มีราคาไม่แพงจึงทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำ เนื่องจากใช้กากมะพร้าวทดแทน Microcrystalline cellulose pellets จากสูตรตำรับนี้สามารถลอยตัวในน้ำได้นานมากกว่า 5 นาที และสามารถปลดปล่อยตัวยา Sulfamethoxazole ได้ $104 \pm 6.1\%$ และ Trimethoprim $53 \pm 5.7\%$ ภายในเวลา 60 นาที สาเหตุที่ pellets ปลดปล่อยยา Trimethoprim ได้ไม่หมด อาจเกิดจากยาส่วนหนึ่งถูกยึดจับโดย Bentonite เนื่องจากพบว่าการลดปริมาณ Bentonite ลงทำให้ยาทั้งสองถูกปลดปล่อยมากขึ้น อย่างไรก็ตาม เราไม่สามารถลดปริมาณ bentonite ในตำรับลงได้อีก เนื่องจาก bentonite มีส่วนสำคัญในการทำให้ผงยายึดเกาะกันเป็น pellets ส่วนการเพิ่ม Lactose ในตำรับมากกว่า 70 กรัม จะทำให้ pellets จมเร็วเนื่องจากมีส่วนที่ละลายน้ำมาก

การวิจัยเรื่องนี้เป็นขั้นตอนแรกของแผนงานวิจัย การทดลองในขั้นต่อไป คือ ทดสอบหาความคงตัวของยาใน pellets นำ pellets ไปทดลองกับสัตว์ทั้งสองชนิดคือ Fairy shrimp และปลา และประเมินผลเพื่อหาระดับยาในสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ยังสามารถนำแนวทางที่ได้ไปประยุกต์ใช้เตรียมยาอื่น เช่น Norfloxacin, Tetracycline สำหรับสัตว์น้ำต่อไป

1. Athanassiou, G.C. et al, Development of sulphamethoxazole-trimethoprim spheroidal granules: factors affecting drug release in vitro, *Int. J. Pharm.* 1991 ; 72, 141-147
2. Baert et al, Instrumentation of a gravity feed extruder and the influence of the composition of binary and ternary mixtures on the extrusion forces *J. Pharm. Pharmacol.* (1991) 43:745-749
3. Benbow, J.J. et al , *Chemical Engineering and Science*. Vol.42 No.9 pp. 2151-2162. 1987
4. Bowser, P.R. et al, Potentiated sulfonamide therapy of Aeromonas hydrophila infection in channel catfish, *Progressive Fish Culturist* 1987, 49:3 , 188-191
5. Conine, J.W., Madley, H.R., *D&CI* April 1970
6. Hildrew A.G., A quantitative study of the life history of a fairy shrimp (Branchiopoda; Anostraca) in relation to the temporary nature of its habitat, a Kenyan rainpool. *J. Anim. Ecol.*; Vol. 54, No. 1 pp. 99-110; 1985
7. Hilton, A.K., Deasy, P.B., In vitro and in vivo of evaluation of an oral sustained release floating dosage form of amoxicillin trihydrate *Int. J. Pharm.* , 86(1992) 79-88
8. Ichikawa, M., Watanabe, S., Miyake, Y. A new multiple-Unit Oral Floating Dosage System, Preparation and In Vitro Evaluation of Floating and Sustained-Release Characteristics., *J. Pharm. Sci.* Vol.80, No.11, November 1991
9. Ichikawa, M., et al A New multiple-Unit Oral Floating Dosage System, II: In Vivo Evaluation of Floating and Sustained-Release Characteristics with P-Aminobenzoic Acid and Isosorbide Dinitrate as Model Drugs, *J. Pharm. Sci.* Vol.80, No.12, December 1991
10. Jacobsen, M.D., Withdrawal times of fresh water rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, after treatment with oxolinic acid, oxytetracycline and trimethoprim, *Journal of fish diseases*, 1989, 12:1 29-36

11. Marking, L.L. et al , Toxicity of Erythromycin, Oxytetracycline and tetracycline administered to lake trout in water baths, by injection or by feeding. *Progressive Fish Culturist*. 1988, 50:4 197-201
 12. McCracken, A. et al, An investigation of antibiotic and drug residues in fish, *J. of applied bacteriology* 1976, 40:1, 61-66
 13. Meade, J.W. and Bulkowski-Cummings L, Acceptability of fairy shrimp (*Streptocephalus seali*) as a diet for larval fish. *Prog. Fish-Cult.* ; Vol. 49 No. 3 PP. 217-219 , 1987
 14. Mertens, J. et al, On predatory tendencies in the feeding ecology of the fairy shrimp *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea: Anostraca) *Intrazooplankton predation* ; 1990 pp. 119-123 Vol. 198
 15. Pinto et al, The influence of four selected processing and formulation factors on the production of spheres by extrusion and spheronisation *Int. J. Pharm.* , 83(1992) 187-196
 16. Ragnarson, G. et al, In vitro release characteristics of a membrane coated pellet formulation-influence of drug solubility and particle size, *Int. J. Pharm.*, 79(1992) 223-232
 17. Raines, C.L., The extrusion of various formulations of microcrystalline cellulose, PhD thesis, University of London 1990
 18. Ratafia, M. , Aquaculture growth creates demand for pharmaceuticals *Feedstuffs*, 1990, 62:18, 16-17, 21
 19. Reinitz, G., Evaluation of Sodium bentonite in practical diets for rainbow trout, *Prog. Fish-Cult.*; Vol.45 , No. 2, PP 100-102, 1983
 20. Rogers, C.J., The usage of vaccination and antimicrobial agents for control of *Yersinia ruckeri*, *Journal of Fish Diseases* 1991, 14:291-301
 21. Salmo, S.R., Antibiotic resistance of *Aeromonas salmonicida* isolated from Atlantic salmon, *J. Fish Diseases* 1991, 14 , 353-358
 22. Stradmeyer, L. et al, Effect of food pellet shape and texture on the feeding response of juvenile Atlantic salmon *Aquaculture*; Vol. 73, No. 1-4 , PP. 217-278, 1988
 23. Stuart, N.C., Treatment of fish disease, *The veterinary record* 112, 1983, PP. 173-177
 24. Sugita, H. et al, The daily fluctuation and inter-individual variation of the faecal flora of carp, *Cyprinus carpio* L. *J. Fish Biol.* (1990) 36, 103-105
-