

การพัฒนาไลโปโซมจากของเหลือใช้ในกระบวนการแปรรูปปลาน้ำจืดสำหรับการนำส่งยา Celecoxib
ในการรักษาโรคข้อเข่าอักเสบ

Development of liposome from freshwater fish processing wastes for delivery of
the anti-inflammatory drug celecoxib in the treatment of osteoarthritis.

ขวัญสุตา พรหมดี นราธิป พ่วงบุญใหญ่

วิภา อาสิงสมานันท์¹ นิศารณ ยอดสนินท์²

¹โรงเรียนวิทยาศาสตร์จุฬารามราชวิทยาลัย พิชญโลก ตำบลมะขามสูง อำเภอเมืองพิชญโลก จังหวัดพิชญโลก 65000

²สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

*Email: wipa.arsing@gmail.com

บทคัดย่อ

ภาวะข้อเข่าอักเสบเรื้อรังในผู้สูงอายุและผู้ป่วยโรคอ้วน นิยมรักษาด้วยยา NSAIDs อย่าง Celecoxib ซึ่งหากใช้ต่อเนื่องอาจส่งผลเสียต่อระบบหัวใจและทางเดินอาหาร งานวิจัยนี้จึงพัฒนานาโนลิโปโซมกักเก็บยา เพื่อเพิ่มฤทธิ์ด้านการอักเสบของยา โดยใช้ฟอสโฟลิพิดจากวัสดุเหลือทิ้งของปลาอุกบักอูย เมื่อศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันที่มีโอเมก้า 3 พบว่าการใช้เอนไซม์ Alcalase ให้ค่าไอโอดีนสูงถึง 76.5 ซึ่งรักษาความสมบูรณ์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้ดีกว่าวิธี Reflux จากการนำฟอสโฟลิพิดที่สกัดได้มาพัฒนาสูตรลิโปโซมร่วมกับคอเลสเทอรอล วิเคราะห์ขนาดอนุภาคด้วย Zeta Nano Sizer ทดสอบการปลดปล่อยยาในหลอดทดลอง พบว่าสูตรที่เหมาะสมที่สุดคือสูตรที่มีปริมาณไขมัน 50 มิลลิกรัม ได้อนุภาคขนาด 296.5 นาโนเมตร ค่าดัชนีการกระจายตัว (PDI) 0.265 และมีการปลดปล่อยยาสูงที่สุดที่ร้อยละ 14.58 ± 1.3 ใน 6 ชั่วโมง สำหรับการวัดประสิทธิภาพการต้านการอักเสบ ทดสอบด้วยวิธี Egg Albumin Anti-inflammatory Assay พบว่าสามารถยับยั้งการเสียหายของโปรตีนได้ถึงร้อยละ 67.19 ± 6.07 ซึ่งสูงกว่ายา Celecoxib รูปแบบปกติ ผลการศึกษา In vitro นี้พบว่า นาโนลิโปโซมกักเก็บยาที่พัฒนาขึ้น มีศักยภาพในการเพิ่มฤทธิ์ด้านการอักเสบ และสามารถลดความเสี่ยงผลข้างเคียงจากยาได้

คำสำคัญ: ลิโปโซม, ระบบนำส่งยา, ฤทธิ์ด้านการอักเสบ, Celecoxib, ปลาอุกบักอูย, โรคข้อเข่าอักเสบ

1. บทนำ

โรคข้อเข่าอักเสบเรื้อรังถือเป็นปัญหาทางสุขภาพระดับโลกที่ทวีความรุนแรงขึ้นตามการก้าวเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุและภาวะโรคอ้วน ส่งผลให้เกิดความเสื่อมของข้อเข่าและอาการปวดเรื้อรังที่บั่นทอนคุณภาพชีวิต (Marta, Joana, & Nuno, 2025) แม้ว่ายาต้านการอักเสบกลุ่มที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) โดยเฉพาะ Celecoxib ซึ่งเป็นยับยั้งเอนไซม์ COX-2 จะมีประสิทธิภาพสูงในการระงับปวด แต่การใช้ยาต่อเนื่องในระยะยาวกลับส่งผลกระทบต่อข้างเคียงที่อันตรายต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด (Marta et al., 2025) ด้วยเหตุนี้

เทคโนโลยีพอลิเมอร์นาโนจึงก้าวเข้ามาเป็นบทบาทสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพการละลายและควบคุมการปลดปล่อยยาไปยังเป้าหมายเพื่อลดผลข้างเคียง (Begum et al., 2022) ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการพัฒนาระบบนำส่งยาจากแหล่งฟอสโฟลิพิดทางเลือกใหม่ที่มีศักยภาพในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะน้ำมันจากปลาอุกบักอูย (Hybrid Catfish) ซึ่งอุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 ทั้ง EPA และ DHA ที่มีคุณสมบัติด้านการอักเสบ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 ศึกษาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 และทดสอบประสิทธิภาพการต้านการอักเสบ เพื่อ

ศึกษาแนวทางการสกัดที่เหมาะสมและทดสอบประสิทธิภาพในการด้านการอักเสบ เพื่อเป็นรากฐานสำคัญในการพัฒนาระบบนำส่งยาอัจฉริยะที่ยั่งยืนและปลอดภัยในอนาคต

2. วิธีการดำเนินงาน

2.1 การศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันที่มีโอเมก้า-3 จากของเหลือใช้ปลาตูกบักอูย

ของเหลือจากการแปรรูปปลาตูกบักอูย ได้แก่ ไขมันส่วนท้อง หัวปลา เครื่องใน และเนื้อปลาบางส่วน ถูกอบแห้ง บดละเอียด และนำไปสกัด น้ำมันด้วย 2 วิธี คือ วิธี Reflux ร่วมกับ Rotary Evaporation โดยใช้อัตราส่วนวัตถุดิบต่อเอทานอล 1:5 ที่อุณหภูมิ 70–80 °C และวิธีการสกัดด้วยเอนไซม์ Alcalase ที่อุณหภูมิ 55 °C pH 8.0 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง น้ำมันที่ได้จากทั้งสองวิธีถูกวัดปริมาณไขมันและประเมินคุณภาพเบื้องต้นด้วยการวัดค่าไอโอดีน (Iodine Value; IV) ด้วยวิธี Wijs Method เพื่อคัดเลือกวิธีสกัดที่เหมาะสมที่สุด

2.2 การคัดเลือกสูตรลิโปโซมบรรจุยา Celecoxib

น้ำมันที่ได้จากวิธีที่คัดเลือกถูกนำมาพัฒนาลิโปโซมร่วมกับ phosphatidylcholine (PC), cholesterol และยา Celecoxib โดยปรับปริมาณ น้ำมันเป็น 5 ระดับ (10, 30, 50, 70 และ 100 mg)

สารทั้งหมดถูกละลายในตัวทำละลาย chloroform:methanol (9:1) และระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator จนเกิดฟิล์มบาง จากนั้นเติมสารละลาย PBS pH 7.4 และทำให้อนุภาคแตกตัวด้วย ultrasonic homogenizer ลิโปโซมที่ได้ถูกตรวจสอบลักษณะด้วยกล้องจุลทรรศน์ และวัดขนาดอนุภาคและการกระจายตัวด้วยเครื่อง Zeta Nano Sizer เพื่อหาสูตรที่เหมาะสม

2.3 การทดสอบการปลดปล่อยยาและประสิทธิภาพการด้านการอักเสบของลิโปโซม

การทดสอบการปลดปล่อยยาในหลอดทดลองดำเนินการโดยกวนลิโปโซมในสารละลาย PBS pH 7.4 ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และวัดความเข้มข้นของยา Celecoxib ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 275 nm สำหรับการประเมินฤทธิ์ด้านการอักเสบ ใช้วิธีการยับยั้งการเสียหายของไซโตลูมินโดยเปรียบเทียบระหว่างชุดทดสอบ และชุดมาตรฐาน Celecoxib วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 nm และคำนวณร้อยละการยับยั้งการเสียหายโปรตีน

3. ผลการทดลอง

3.1 ศึกษาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันที่มีโอเมก้า 3

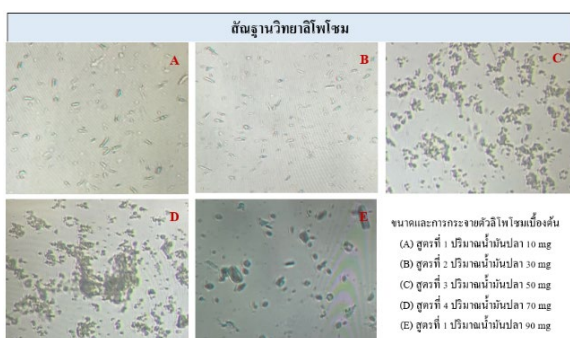
ผลการศึกษาการสกัดน้ำมันที่มีโอเมก้า 3 จากของเหลือใช้ปลาตูกบักอูย โดยใช้วิธีที่ต่างกันได้ผลดังตาราง **ตารางที่ 1** ผลการศึกษาปริมาณน้ำมันปลาต่อขนาดอนุภาค การกระจายตัว และการตกตะกอนของยาในการขึ้นรูปลิโปโซมเบื้องต้น

วิธีที่ใช้	ค่าเฉลี่ยร้อยละน้ำมันที่ได้	ค่าไอโอดีนเฉลี่ย	การแปลผลกรดไขมันไม่อิ่มตัว
วิธีที่ 1	21.50±5.15%	58.4±1.21	++
วิธีที่ 2	14.37±3.24%*	76.5±2.43*	++

หมายเหตุ: + มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวน้อย, ++ มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวปานกลาง, +++ มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวมาก

จากตารางที่ 1 พบว่าวิธี Reflux ร่วมกับ Rotary Evaporation ให้ปริมาณน้ำมันสูงสุดเฉลี่ยร้อยละ 21.50 ± 5.15 ขณะที่การสกัดด้วยเอนไซม์ Alcalase ให้ค่าไอโอดีน สูงที่สุดถึง 76.5

3.2 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารสกัดไขมัน, phosphatidylcholine (PC), cholesterol และปริมาณยา celecoxib ในอัตราส่วนที่ต่างกันที่มีผลต่อคุณลักษณะลิโปโซม



รูปที่ 1 ผลการศึกษาปริมาณน้ำมันปลาต่อขนาดอนุภาค การกระจายตัว และการตกตะกอนของยาในการขึ้นรูปลิโปโซมเบื้องต้น

จากรูปที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบสัณฐานวิทยาของลิโปโซมแต่ละสูตรโดยใช้กล้องจุลทรรศน์เพื่อส่องดูและพิจารณาขนาดอนุภาค การกระจายตัว และการตกตะกอนของยาเบื้องต้น และเลือกสูตรที่มีการตกตะกอนของยาน้อยที่สุดและมีการกระจายตัวของอนุภาคที่ไม่เกาะกลุ่ม นั่นคือสูตรที่ B (ปริมาณน้ำมันปลา 30 mg.) และ C (ปริมาณน้ำมันปลา 50 mg.) การพิจารณาขนาดจากโมเลกุลลักษณะกลม เล็ก แต่ไม่สามารถทราบค่าขนาดอย่างละเอียดได้จากการส่องกล้องจุลทรรศน์เนื่องจากลิโปโซมมีอนุภาคที่เล็กมาก เมื่อได้สูตรที่เหมาะสม จากนั้นนำไปตรวจวัดขนาดอนุภาคและค่าการกระจายตัวแบบละเอียดโดยใช้เครื่อง Zeta nano sizer

3.2 ผลการศึกษาปริมาณของน้ำมันที่สกัดจากของเหลือทิ้งปลาตุ๋นที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปลิโปโซม

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาปริมาณของน้ำมันที่สกัดจากของเหลือทิ้งปลาตุ๋นที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปลิโปโซม

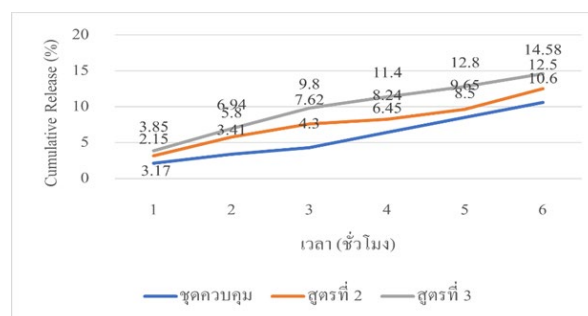
สูตร	ปริมาณน้ำมันปลา (MG.)	ขนาด (NM.)	ค่าการกระจายตัว (PDI)
2	30	215.42	0.29
3	50	296.51	0.26
ชุดควบคุม	ไม่ใส่	168.74*	0.21

หมายเหตุ : *P ≤ 0.05

จากผลการทดลองพบว่า ชุดควบคุม (ไม่ใส่น้ำมัน) มีขนาดอนุภาคเล็กที่สุดเท่ากับ 168.74 นาโน

เมตร ในขณะที่สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3 มีขนาดเพิ่มขึ้นเป็น 215.42 และ 296.51 นาโนเมตร ตามลำดับ จากการตรวจสอบลักษณะการตกตะกอนของยา พบว่าสูตรที่ 2 และ 3 เป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากพบการตกผลึกของยาน้อยกว่าสูตรอื่นๆ สำหรับค่าดัชนีการกระจายตัว พบว่าทุกสูตรมีค่าต่ำกว่า 0.3

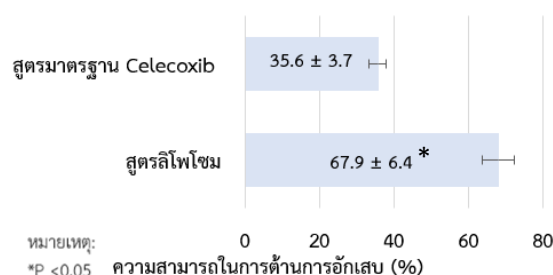
3.3 ผลการทดสอบการปลดปล่อยยาและประสิทธิภาพการต้านการอักเสบของลิโปโซม



รูปที่ 2 กราฟแสดงผลทดสอบประสิทธิภาพการปลดปล่อยยาในหลอดทดลองอย่างง่าย

จากรูปที่ 2 พบว่าสูตรที่ 3 มีการปลดปล่อยยาสูงที่สุด คือร้อยละ 14.58 ± 1.3 เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีอัตราการปลดปล่อยยาต่ำกว่า

3.4 ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการอักเสบระหว่างสูตรลิโปโซมและสูตรมาตรฐาน



รูปที่ 3 ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งการอักเสบระหว่างสูตรลิโปโซมและสูตรมาตรฐาน

จากรูปที่ 3 พบว่าสูตรลิโปโซมให้ค่าอัตราการยับยั้งการอักเสบสูงที่สุดเท่ากับ $67.9 \pm 6.4\%$ ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน สูตรลิโปโซม จึงถือเป็นสูตรที่มีศักยภาพสูงในการนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบต่อไป

4. สรุปและอภิปรายผล

4.1 อภิปรายผลการทดลอง

จากการทดสอบปริมาณน้ำมันปลาต่อขนาดอนุภาค การกระจายตัว และการตกตะกอนของยาในการขึ้นรูปลิโปโซมเบื้องต้น พบว่าวิธีที่ 1 ได้ปริมาณน้ำมันสูงกว่า เนื่องจากตัวสารละลายอินทรีย์และความร้อนช่วยทำลายผนังเซลล์ไขมันและเนื้อเยื่อของปลา (ณัฐภูมิ และคณะ, 2565) ทำให้สามารถสกัดไขมันออกมาจากโครงสร้างเซลล์ได้มากกว่าการใช้เอนไซม์ แต่วิธีที่ใช้เอนไซม์รักษาคุณภาพของกรดไขมันได้ดีกว่า ซึ่งวิเคราะห์ผลเบื้องต้นโดยใช้ค่าไอโอดีน ค่าไอโอดีนที่สูงกว่าแสดงถึงปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่ยังไม่ออกซิไดส์และเสื่อมสภาพ ซึ่งการสกัดให้ได้ปริมาณกรดไขมันที่มีคุณภาพเป็นวัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการทำลิโปโซมในตอนต่อไป

จากการวิเคราะห์อัตราส่วนที่เหมาะสมของสารสกัดไขมันที่สกัดได้, phosphatidylcholine (PC), cholesterol และปริมาณยา celecoxib ในอัตราส่วนที่ต่างกันที่มีผลต่อคุณลักษณะลิโปโซม พบว่าสูตรที่ 2 และ 3 มีการตกตะกอนของยาน้อย เหมาะสมต่อการนำไปศึกษาพื้นฐานวิทยาอย่างละเอียดในขั้นตอนถัดไป ด้วยเหตุผลผลึกยาที่ใหญ่และตกตะกอนมากเกินไป แสดงให้เห็นว่าลิโปโซมมีคุณสมบัติกักเก็บยาได้ดีและอนุภาคไม่เสถียร

จากการเปรียบเทียบเทียบผลการกระจายตัวและขนาดอนุภาคลิโปโซมระหว่างลิโปโซมควบคุมและลิโปโซมที่พัฒนาขึ้น พบว่า ลิโปโซมที่พัฒนาขึ้นมีขนาดอนุภาคมากกว่า และมีการกระจายตัวที่ดี มีความสม่ำเสมอของอนุภาคมากกว่าชุดควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้สาร

สกัดไขมันนี้เป็นองค์ประกอบของลิโปโซมทำให้อนุภาคช่วยละลายให้ยากระจายตัวอยู่ในชั้นไขมันหรือแกนกลางอนุภาคได้ดีขึ้น และช่วยลดภาวะการอุดตันและการแยกชั้นของยาที่นำไปสู่การตกผลึก (Haru และคณะ, 2024)

จากการทดสอบความสามารถในการปลดปล่อยยา Celecoxib ของ liposome ในหลอดทดลองเบื้องต้น พบว่าลิโปโซมที่พัฒนาขึ้นปลดปล่อยยาช้ากว่าลิโปโซมควบคุม แสดงให้เห็นว่าสารสกัดไขมันช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการกักเก็บยาและชะลอลิโปโซมให้อยู่ในสภาพแวดล้อมนั้นได้นานขึ้น

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการอักเสบระหว่างสูตรควบคุมและสูตรลิโปโซมที่พัฒนาขึ้น พบว่าสูตรที่พัฒนาขึ้นมีอัตราการยับยั้งการอักเสบสูงที่สุด เนื่องจากองค์ประกอบของลิโปโซมที่มีสารสกัดไขมันและอัตราส่วนองค์ประกอบที่เหมาะสมสามารถยับยั้งการเสียสภาพของโปรตีนได้จริง

4.2 สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่า การพัฒนาลิโปโซมจากของเหลือใช้ในกระบวนการแปรรูปปลาน้ำจืดสำหรับการนำส่งยา Celecoxib ในการรักษาโรคข้อเข่าอักเสบ จากการศึกษาในตอนต่อไป เพื่อหาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันที่มีกรดไขมันโอเมก้า 3 พบว่าวิธี Reflux ร่วมกับ Rotary Evaporation ให้ปริมาณน้ำมันสูงสุดเฉลี่ยร้อยละ 21.50 ± 5.15 ขณะที่การสกัดด้วยเอนไซม์ Alcalase ให้ค่าไอโอดีน สูงที่สุดถึง 76.5 ซึ่งบ่งชี้ถึงปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่ยังคงสภาพความสมบูรณ์ได้มากกว่า ดังนั้นวิธีการสกัดด้วยเอนไซม์ Alcalase จึงเป็นวิธีที่มีความเหมาะสมที่สุดในการดำเนินการอักเสบ ในตอนที่ 2 เป็นการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสารสกัดไขมัน Phosphatidylcholine (PC) และ Cholesterol ต่อปริมาณยา Celecoxib ที่มีผลต่อคุณลักษณะของลิโปโซม พบว่าสูตรที่เหมาะสมที่สุดคือสูตรที่มีปริมาณไขมัน 100 มิลลิกรัม ซึ่งให้อนุภาคขนาด 296.51 นาโนเมตร และมีค่าดัชนีการกระจายตัว (PDI) อยู่ที่ 0.26 สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพการต้านการอักเสบในตอนต่อไป พบว่าลิโปโซมที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเสียสภาพ

ของโปรตีนได้สูงถึงร้อยละ 67.19 ± 6.07 ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน ผลการศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าระบบการนำส่งยาในรูปแบบลิโปโซมมีประสิทธิภาพเหนือกว่าการใช้ยาในรูปแบบปกติ

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการทดสอบในสัตว์เพิ่มเติม เพื่อศึกษาความสามารถในการต้านการอักเสบและการเข้ากันได้ของเซลล์เบื้องต้นในการตรวจสอบว่าลิโปโซมที่พัฒนาการได้ต่อกับร่างกายมนุษย์อย่างปลอดภัย ศึกษาปัจจัยเพิ่มเติมที่อาจส่งผลกระทบต่อส่งยาเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย และควรมีการใช้เครื่องมือทดสอบที่มีความละเอียดแม่นยำสูงเพื่อยืนยันผลการทดสอบเพื่อนำข้อมูลไปพัฒนาต่อในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร.วิภา อาสังสมานันท์ และ ดร.นิศากร ยอดสนธิ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ผู้ให้ทั้งความรู้ ความช่วยเหลือชี้แนะ รวมทั้งให้หลักการและข้อคิดเห็นต่างๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อผู้วิจัย

เอกสารอ้างอิง

Marta, G., Joana, I., & Nuno, M. (2025).

Fishroosomes show intrinsic anti-inflammatory bioactivity and ability as celecoxib carriers in vivo.

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. (207): 114587

Mendanha, D., Casanova, M. R., Gimondi, S.,

Ferreira, H., & Neves, N. M. (2024, 7

Aug). **Microfluidic-derived**

docosahexaenoic acid liposomes for targeting glioblastoma and its inflammatory microenvironment.

ACS Applied Materials & Interfaces.

16(31): 40543–40554.

Nina, F., Jiayi, P., Satya, S., & Vladimir, P. (2020,

December). **Recent advancements in**

liposome technology. Advanced

Drug Delivery Reviews. 156: 4–22.

Umbarkar, M., Thakare, S., Surushe, T., Giri, A.,

& Chopade. (2021, 15 Jan).

Formulation and evaluation of

liposome by thin film Hydration

method. Journal of Drug delivery &

Therapeutics. 11(1): 72-6

15(2): 37–52.