

ยาแคปซูลและปัจจัยด้านการละลาย

ภญ. ปัทมา มณีสถิตย์

วัตถุประสงค์

- เพื่อให้ความรู้เกี่ยวกับลักษณะทั่วไปของยาแคปซูล
- เพื่อให้ความรู้เกี่ยวกับการแบ่งประเภทของยาแคปซูล
- เพื่อให้ความรู้เกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อการควบคุมคุณภาพด้านการละลายของตัวยาของยาแคปซูล

บทนำ

ยาแคปซูล (Capsules) คือ ยารูปแบบของแข็ง (Solid Dosage Form) ที่มีรูปร่างเฉพาะ มีหลายสี และหลายขนาด ยาแคปซูลได้รับความนิยมสูง มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย สามารถพบเห็นได้ตามร้านขายยาทั่วไป ภายในแคปซูลประกอบด้วยตัวยาสำคัญ (Active Pharmaceutical Ingredient, API) อย่างน้อยหนึ่งชนิดที่ออกฤทธิ์ในการรักษาโรค นอกจากตัวยาสำคัญแล้ว ภายในแคปซูลมีวัสดุชนิดอื่นที่ไม่ใช่ยาเป็นองค์ประกอบด้วย สารดังกล่าวอาจถูกเรียกว่า สารช่วย (Inactive Excipient Materials) สารช่วยที่ใส่ผสมลงไปแคปซูลมีหลายชนิด และแต่ละชนิดถูกใส่ผสมเข้าไปด้วยเหตุผลที่แตกต่างกัน เช่น เพื่อให้กระบวนการผลิตมีประสิทธิภาพมากขึ้น เพื่อช่วยเพิ่มการกระจายตัวของตัวยาสำคัญ และเพื่อควบคุมรูปแบบของการปลดปล่อยตัวยา เป็นต้น ปัจจุบันมีหลายเทคนิควิธีที่ใช้ในการผลิตยาแคปซูล ส่วนประกอบทั้งหมดจะผ่านขั้นตอนต่างๆ หลายขั้นตอนในกระบวนการผลิตตามเทคนิควิธีที่เหมาะสมเพื่อบรรจุลงในแคปซูล ดังนั้นชนิดและปริมาณของวัตถุดิบ รวมถึงขั้นตอนในการผลิตที่แตกต่างกัน ล้วนส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ยาแคปซูลมีความหลากหลาย และมีมากมายหลายชนิด

การควบคุมคุณภาพยาแคปซูลมีความสำคัญ ทั้งนี้เพื่อให้ผู้ป่วยแน่ใจว่ายาค่าแคปซูลที่จะต้องรับประทานนั้น มีคุณภาพเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน และมีความเหมาะสมเพียงพอที่จะนำมาใช้เพื่อรักษา หรือบรรเทาอาการจากโรค ดังนั้นตำรายาของสหรัฐอเมริกา (The United States Pharmacopeia, USP) และตำรายาของอังกฤษ (British Pharmacopoeia, BP) จึงมีการกำหนดหัวข้อในการทดสอบทางเคมีและฟิสิกส์หลายหัวข้อ ซึ่งนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาแคปซูลในด้านต่างๆ ตัวอย่างการทดสอบ เช่น การทดสอบความสม่ำเสมอของน้ำหนัก (Weight Variation) การทดสอบหาปริมาณตัวยาสำคัญ (Content of Active Ingredients) การทดสอบความสม่ำเสมอของตัวยา (Content Uniformity) การทดสอบหาเวลาในการกระจายตัว (Disintegration Time) และการทดสอบการละลายของตัวยา (Dissolution Tests) เป็นต้น

การทดสอบการละลายของตัวยา นับว่าเป็นการทดสอบที่มีความสำคัญ เพราะทำให้ทราบถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยาแคปซูลนั้นทางด้านการละลายของตัวยา ผลการทดสอบสามารถช่วยประเมินการเอื้อประโยชน์ของยาที่มีต่อร่างกาย หรือประสิทธิภาพของยาในการรักษาโรค หากผลิตภัณฑ์ยา

แคปซูลที่ผู้ป่วยรับประทานผ่านมาตรฐานการทดสอบดังกล่าว ก็สามารถมั่นใจได้ว่าแคปซูลยานั้นสามารถแตกตัว ปลดปล่อยตัวยา และตัวยาสามารถละลายได้ตามเกณฑ์ที่กำหนด ทำให้ตัวยามีโอกาสถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทางกระแสเลือด จนกระทั่งออกฤทธิ์ในการรักษา อย่างไรก็ตามมีหลายปัจจัยที่อาจส่งผลกระทบต่อ การทดสอบการละลายของตัวยา โดยเฉพาะปัญหาของการเกิด Cross-Linking ที่นับว่าเป็นปัญหาใหญ่ที่มีผลกระทบต่อ การละลายของแคปซูลบางชนิด ปัญหาดังกล่าวส่งผลกระทบต่ออย่างมากต่อผลการทดสอบการละลายของตัวยา ดังนั้น การศึกษาทำความเข้าใจให้ทราบถึงสาเหตุของปัญหา พร้อมทั้งการหาแนวทางแก้ไข ย่อมเป็นผลดีต่อการควบคุมคุณภาพด้านการละลายของตัวยาในผลิตภัณฑ์ยาแคปซูล

ยาแคปซูล

ยาแคปซูล คือ ยารูปแบบของแข็งซึ่งมีลักษณะเป็นเปลือกสำหรับบรรจุส่วนผสมของตัวยาและสารช่วยอยู่ภายใน ยาแคปซูลส่วนใหญ่ใช้รับประทาน เมื่อรับประทานสามารถกลืนได้ง่าย เพราะแคปซูลโดยมากมีผิวเรียบ และรูปร่างมีส่วนโค้งมน ในกรณีที่ตัวยามีรสขม ผงของเปลือกแคปซูลยังช่วยป้องกันการสัมผัสรสขมของตัวยาได้ด้วย ยาแคปซูลเมื่อถูกรับประทานเข้าไปในร่างกายสักระยะหนึ่ง ผงแคปซูลจะค่อยๆละลาย หรือแตกออก เพื่อปลดปล่อยตัวยาออกมา ตัวยาจะต้องเกิดกระบวนการละลายก่อนที่จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด เพื่อออกฤทธิ์ในการรักษาโรค ยาแคปซูลที่พบเห็นโดยทั่วไปนั้นมีหลายแบบ หลายสี และหลายขนาด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะของผงแคปซูล และสิ่งที่บรรจุอยู่ภายในแคปซูล

ประเภทของยาแคปซูล

ยาแคปซูลแบ่งตามลักษณะทางกายภาพของผงแคปซูลได้ เป็น 2 ประเภท ดังนี้

1. แคปซูลชนิดแข็ง (Hard Capsules)

แคปซูลชนิดแข็งนั้น ผงแคปซูลมีความบาง และแข็งมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแคปซูลชนิดนิ่ม แคปซูลชนิดแข็งมีหลายขนาด แต่มักมีรูปทรงเดียว คือ เป็นรูปทรงของแคปซูล ซึ่งมีลักษณะคล้ายหลอดขนาดเล็ก 2 ชิ้นซ้อนกัน แล้วมีส่วนโค้งปิดด้านหัวและด้านท้าย ส่วนที่ใหญ่กว่า อาจเรียกว่าตัวแคปซูล ส่วนนี้ใช้บรรจุยา หรือของผสมระหว่างยากับสารช่วยอื่นที่ไม่ใช่ยา (Additive) ส่วนที่เล็กกว่า อาจเรียกว่าฝาแคปซูล ใช้สวมทับส่วนตัวแคปซูล (ฝาแคปซูลจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางภายในกว้างกว่าตัวแคปซูลเล็กน้อย) ภายในแคปซูลสามารถบรรจุยาที่เป็นของแข็งหรือกึ่งแข็งได้ ส่วนใหญ่มักบรรจุยาที่มีลักษณะเป็น ผง แกรนูล หรือ เม็ด กรณีที่บรรจุยาที่เป็นของเหลว อาจทำได้หากมีการเชื่อมต่อฝาและตัวของแคปซูลให้สนิทติดกัน



ภาพที่ 1 แคปซูลชนิดแข็ง

2. แคปซูลชนิดนิ่ม (Soft Capsules)

แคปซูลชนิดนิ่มนั้น ผนังแคปซูลมีความหนา และมีความยืดหยุ่นมากกว่าแคปซูลชนิดแข็ง เนื่องจากในผนังแคปซูลมีการใส่สารเพิ่มความยืดหยุ่น (Plasticizer) ลงไปเป็นส่วนประกอบด้วย ผนังของแคปซูลชนิดนิ่มจะมี 2 ชั้นที่เชื่อมสนิทติดกันจนเป็นชั้นเดียวจึงไม่สามารถเปิดแยกออกจากกันได้เหมือนแคปซูลชนิดแข็ง แคปซูลชนิดนิ่มมีหลายขนาด และมีหลายรูปทรง เช่น ทรงกลม ทรงรี ทรงยาวปลายมน เป็นต้น ภายในแคปซูลชนิดนิ่มสามารถบรรจุยาที่เป็นของเหลวหรือกึ่งเหลวได้ จากลักษณะความหนาของผนังแคปซูล แคปซูลชนิดนิ่มจะใช้เวลาในการแตกเพื่อปลดปล่อยตัวยา มากกว่าแคปซูลชนิดแข็ง



ภาพที่ 2 แคปซูลชนิดนิ่ม

แคปซูลนอกจากจะแบ่งตามชนิดของผนังแคปซูลแล้ว บางครั้งแคปซูลอาจถูกแบ่งตามคุณสมบัติทางเคมีและคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของสารที่บรรจุภายในแคปซูลนั้นด้วย

คุณสมบัติของสารที่บรรจุในแคปซูล

สารที่บรรจุในแคปซูล (Fill Materials) สามารถแบ่งประเภทโดยใช้คุณสมบัติทางฟิสิกส์ และคุณสมบัติทางเคมีได้ดังต่อไปนี้

คุณสมบัติทางฟิสิกส์

สารที่บรรจุในแคปซูล สามารถแบ่งตามคุณสมบัติทางฟิสิกส์ได้ดังนี้

1. Solution คือ สารที่เป็นพวกสารละลาย
2. Dispersion คือ สารที่กระจายตัวอยู่ในสารอื่น
3. Solid คือ สารที่เป็นของแข็ง เช่น ของผสมของตัวยาและสารช่วยที่มีลักษณะเป็นผง เป็นต้น

คุณสมบัติทางเคมี

สารที่บรรจุในแคปซูล สามารถแบ่งตามคุณสมบัติทางเคมีได้ดังนี้

1. **Hydrophilic-base** คือ สารที่ชอบน้ำ หรือละลายได้ในน้ำ สามารถแบ่งย่อยได้ดังนี้
 - 1.1 Hydrophilic Solutions คือ ของเหลว หรือยาที่ละลายอยู่ในตัวกลางที่ชอบน้ำ
 - 1.2 Hydrophilic Dispersions/Suspensions คือ ยาที่กระจายตัวหรือแขวนตัวอยู่ในตัวกลางที่ชอบน้ำ เช่น Polyethylene Glycol
 - 1.3 Hydrophilic Solid คือ ของผสมระหว่างสารช่วยและตัวยาสำคัญที่ละลายได้ในน้ำ ซึ่งอยู่ในรูปของแข็ง เช่น ผง แกรนูล หรือเม็ด เป็นต้น

2. Hydrophobic-base คือ สารที่ชอบ หรือละลายในน้ำมัน หรือ ไขมัน สามารถแบ่งย่อยได้ดังนี้

- 2.1 Hydrophobic Solution คือ สารละลายน้ำมัน ซึ่งอาจจะเป็นน้ำมัน (Neat oil) หรือยาที่ละลายอยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำมัน
- 2.2 Hydrophobic Dispersion คือ ยาที่กระจายตัว หรือแขวนตัวอยู่ในตัวกลางที่เป็นน้ำมัน หรือในของผสมระหว่างน้ำมันและแว็กซ์ (Oil-Wax Mixtures) ซึ่งเป็นสารกึ่งแข็ง (Semisolid)
- 2.3 Hydrophobic Solid คือ ของผสมระหว่างสารช่วยและตัวยาสำคัญที่ละลายได้ในน้ำมัน ที่อยู่ในรูปของแข็ง เช่น ผง แกรนูล หรือเม็ด เป็นต้น

ข้อดีของแคปซูลต่อคุณภาพยา

แคปซูลที่มีคุณภาพดีนั้น ผนังแคปซูลสามารถช่วยปกป้องตัวยาที่บรรจุอยู่ภายในให้มีคุณภาพในการรักษาไปได้ตลอดอายุการใช้งาน ปกติกายใต้สภาวะของอุณหภูมิห้อง ผนังแคปซูลสามารถป้องกันตัวยาที่จากออกซิเจน และผลอันเกิดจากออกซิเจนได้ หากผนังแคปซูลมีองค์ประกอบของสารทึบแสง เช่น Titanium Oxide ความทึบแสงของผนังแคปซูลก็จะช่วยป้องกันตัวยาจากการสลายตัวอันเกิดจากแสงแดดด้วย นอกจากนี้ความแข็งของผนังแคปซูลยังช่วยป้องกันตัวยาภายในจากการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยีสต์ และราได้เป็นอย่างดี เพราะปกติผนังแคปซูลมีค่า ความแรงของน้ำ (water activity, a_w) น้อยกว่า 0.40 ในขณะที่แบคทีเรีย ยีสต์ และรา ต้องการค่า a_w มากกว่า 80 ในการเจริญเติบโต

องค์ประกอบของผนังแคปซูล

ผนังของแคปซูลชนิดแข็ง และแคปซูลชนิดนิ่ม มีองค์ประกอบคล้ายคลึงกันดังนี้

1. สารพอลิเมอร์

สารพอลิเมอร์ (Polymer) เช่น เจลาติน (Gelatin) แป้ง (Starch) หรือ อนุพันธ์ของเซลลูโลส (Cellulose derivative) อย่างเช่น ไฮโพรเมโลส (Hypromellose, HPMC) เป็นต้น

เจลาติน

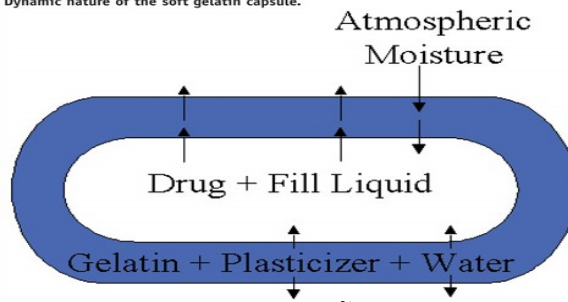
เจลาติน คือ โปรตีนชนิดหนึ่ง ซึ่งได้มาจากปฏิกิริยาเติมน้ำของโมเลกุล Collagen ส่วน Collagen เป็นโปรตีนที่ได้มาจากสัตว์ ซึ่งปกติ Collagen ในท้องตลาดได้มาจาก กระดูกของวัว และหนังของหมู คุณสมบัติทางเคมีของเจลาติน คือ การก่อเจล จึงอาจเรียกว่าเจลาตินเป็น สารก่อเจล ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวนี้ ทำให้เจลาตินถูกนำมาใช้ในหลายอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมยา คุณสมบัติของเจลที่เกิดขึ้นทำให้เจลาตินมีหลายเกรด โดยเจลาตินถูกให้เกรดตามความแข็งของเจล ความแข็งของเจลถูกวัดออกมาเป็นค่า Bloom Strength ซึ่งเป็นการวัดความแข็งของเจลที่เกิดขึ้นต่อความเข้มข้นในน้ำของเจลาตินภายใต้สภาวะที่กำหนด การวัดความแข็งของเจลทำได้โดยการวัดแรงต้านต่อแรงกดของเจล ค่าที่ได้จึงมีหน่วยเป็น กรัม หรือ Bloom-grams ค่า Bloom Strength ของเจลาตินอาจมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุล ความเข้มข้น และความเป็นกรด-ด่างของเจลาติน ดังนั้นกระบวนการผลิต และแหล่งที่มาของเจลาติน หากมี

ความแตกต่างกันนั้น ก็อาจส่งผลให้เจลาตินมีคุณภาพไม่เหมือนกัน ในบางครั้งยังพบว่า เจลาตินที่มาจากแหล่งเดียวกัน แต่ต่างกันที่รุ่นการผลิตอาจมีคุณภาพแตกต่างกันด้วย เจลาตินที่มีค่า Bloom-Strength สูงจะมีราคาแพง แต่ในทางกลับกันเจลาตินที่ให้ค่า Bloom-Strength สูง จะยิ่งทำให้เกิดเจลที่ละลายน้ำได้ยาก นอกจากนี้ค่า Bloom-Strength ยังมีผลต่อความใสของผนังแคปซูล รวมถึงมีผลต่อปริมาณที่ใช้ในการทำให้เกิดสีของผนังแคปซูลด้วย โดยเจลาตินที่มีค่า Bloom-Strength สูงนั้น จะใช้ปริมาณเจลาตินต่ำในการเกิดเจล ทำให้ผนังแคปซูลที่ได้มีความใสมากกว่า จึงใช้ปริมาณสีในการทำให้เกิดความเข้มของสีในระดับเดียวกัน ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับเจลาตินที่มีค่า Bloom-strength ต่ำ โดยปกติเจลาตินสามารถให้ค่า Bloom-Strength ตั้งแต่ 20 ถึง 300 กรัม แต่เจลาตินที่ใช้ผลิตผนังแคปซูลสำหรับบรรจุของเหลวก็มีค่า Bloom-Strength ประมาณ 150 ถึง 200 และ 220 ถึง 280 กรัม สำหรับแคปซูลชนิดนิ่ม และแคปซูลชนิดแข็ง ตามลำดับ



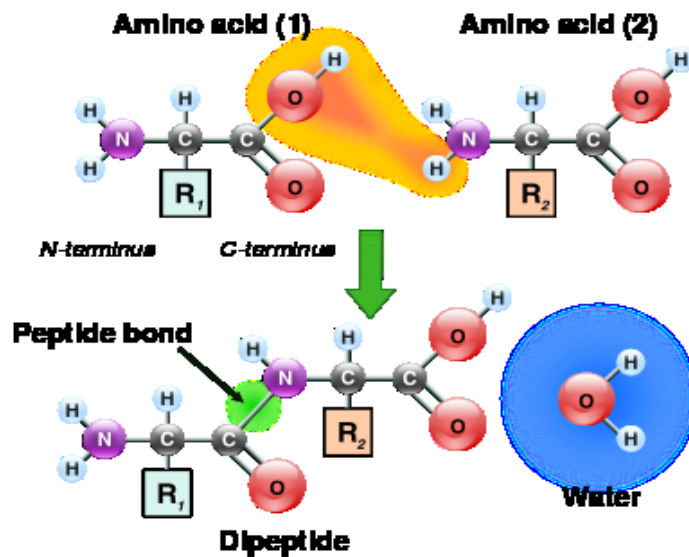
ภาพที่ 3 เครื่องวัดค่า Bloom-Strength

นอกจากคุณสมบัติในการก่อเจลแล้ว เจลาตินยังมีคุณสมบัติอีกอย่างหนึ่งคือ คุณสมบัติในการดูดน้ำหรือดูดความชื้น (Hygroscopic) ปริมาณความชื้นหรือปริมาณน้ำในผนังแคปซูลจะมีผลต่อคุณสมบัติและคุณภาพของเปลือกแคปซูล โดยปกติการถ่ายเทน้ำหรือความชื้นสามารถเกิดขึ้นและถ่ายเทไปมาได้ระหว่างผนังแคปซูลกับสิ่งแวดล้อมภายนอก แต่หากสารที่บรรจุภายในแคปซูลมีคุณสมบัติดูดความชื้น ย่อมทำให้เกิดการถ่ายเทของน้ำไปมาระหว่างผนังแคปซูลและสารที่บรรจุอยู่ภายในด้วย ปริมาณน้ำในผนังแคปซูลหากน้อยเกินไปอาจทำให้ผนังแคปซูลแห้งจนกรอบแตก ในทางกลับกันปริมาณน้ำในผนังแคปซูลหากมากเกินไปมักทำให้ผนังแคปซูลมีอาการบวมน้ำ ยืดเหนียว และอาจละลายน้ำได้น้อยลง ผนังแคปซูลในสภาวะที่เหมาะสมนั้น ปกติจะมีปริมาณน้ำอยู่ร้อยละ 13 ถึงร้อยละ 16 (อย่างไรก็ตามปริมาณน้ำตามปกติที่มีอยู่ในผนังแคปซูลนี้อาจส่งผลกระทบต่อหากสารที่บรรจุภายในแคปซูลนั้นเป็นสารที่ไวต่อความชื้น) สรุปได้ว่าปริมาณน้ำที่เปลี่ยนไปของผนังแคปซูลจะมีผลต่อคุณสมบัติทางเคมีและคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของเปลือกแคปซูล และอาจมีผลต่อการทดสอบการละลายของตัวยา ส่งผลต่อคุณภาพและอายุของเปลือกแคปซูลในที่สุด



ภาพที่ 4 การถ่ายเทความชื้นของผนังแคปซูล

นอกจากนี้ เนื่องจากเจลาตินเป็นโปรตีนที่มีลักษณะเป็นสายโซ่ยาว สายโซ่โปรตีนเหล่านี้มีความไวต่อปฏิกิริยา อาจเกิดปฏิกิริยาชนิดผันกลับไม่ได้ภายในสายโซ่ของโมเลกุลตัวเอง จนทำให้สายโซ่เกิดการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะทางเคมีจนขดเป็นเกลียว หรืออาจเกิดปฏิกิริยาชนิดผันกลับไม่ได้ระหว่างสายโซ่ของเจลาตินโมเลกุลหนึ่งกับสายโซ่ของเจลาตินอีกโมเลกุลหนึ่ง ซึ่งทำให้เกิดการเชื่อมต่อกันระหว่างโมเลกุลด้วยพันธะทางเคมีเช่นกัน ซึ่งลักษณะการยึดเกาะกันด้วยพันธะทางเคมีนี้ เรียกว่าการเกิด Cross-Linking



ภาพที่ 5 ปฏิกิริยา Cross-Linking

เมื่อเกิด Cross-Linking เจลาตินจะมีคุณสมบัติเปลี่ยนไป โดยกลายเป็นเยื่อบางที่มีความเหนียวไม่ละลายน้ำ หากเยื่อดังกล่าวนี้มีมากขึ้นจนสังเกตได้ด้วยตาเปล่า เราจะเรียกเยื่อบางเหนียวนี้ว่า Pellicle ปัญหาการเกิด Pellicle ถือเป็นปัญหาใหญ่ของเจลาตินแคปซูล เพราะผนังแคปซูลจะกลายเป็นเยื่อเหนียวที่ไม่ละลายน้ำ และไม่สามารถปลดปล่อยยาออกมาจากแคปซูลได้ การเกิดอันตรกิริยาระหว่างเจลาตินกับสิ่งแวดล้อมหรือกับสารบางชนิดเป็นปัจจัยเบื้องต้นที่กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา Cross-Linking ได้ เช่น การเกิดอันตรกิริยาระหว่างเจลาตินกับสารที่บรรจุภายในแคปซูล การเกิดอันตรกิริยาระหว่างเจลาตินกับสารที่เป็นองค์ประกอบของสิ่งบรรจุหีบห่อ รวมถึงการเกิดอันตรกิริยากับปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอกอื่นๆ

โพลีเมอร์อื่น

สารโพลีเมอร์อื่นที่นอกเหนือจากเจลาติน เมื่อนำมาทำเป็นองค์ประกอบของเปลือกแคปซูลพบว่า มีข้อดีกว่าหลายประการ เช่น ไม่ทำให้เกิด Cross-linking ทนความเป็นกรด-ด่างได้ในช่วงกว้าง ทนต่ออุณหภูมิขณะบรรจุแคปซูลซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูง สามารถใช้บรรจุตัวยาสำคัญที่มีคาร์บอนิลเป็นหมู่ฟังก์ชัน สารโพลีเมอร์ในกลุ่มนี้ เช่น คาร์ราจีแนน สารพวกเซลลูโลส แป้งข้าวโพด แป้งมันฝรั่ง และแป้งถั่ว เป็นต้น

คาร์ราจีแนน

คาร์ราจีแนนเป็นสารสกัดประเภทโพลีแซคคาไรด์จากสาหร่ายทะเล (Sea Weeds) สามารถให้เจลที่มีลักษณะคล้ายเจลาติน คาร์ราจีแนนที่นำมาใช้ในการทำเปลือกแคปซูล ได้แก่ โลตา และ เคปปาคาร์ราจีแนน ส่วนใหญ่โลตาคาร์ราจีแนนใช้ผลิตเปลือกแคปซูลชนิดแข็ง และเคปปาคาร์ราจีแนนใช้ผลิตเปลือกแคปซูลชนิดนิ่ม คาร์ราจีแนนเทียบกับเจลาตินแล้วพบว่า มีข้อดีกว่าหลายประการ เช่น ไม่ทำให้เกิด Cross-linking ทนความเป็นกรด-ด่างได้ในช่วงกว้าง และทนต่ออุณหภูมิขณะบรรจุแคปซูลซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูง

ไฮโปรมเมอร์โลส

ไฮโปรมเมอร์โลส (HPMC) เป็นโพลีเมอร์ประเภทเซลลูโลสที่ได้มาจากพืชซึ่งไม่มีสภาวะของการเกิด Cross-Linking จึงนิยมนำมาใช้ทดแทนเจลาติน โดยส่วนใหญ่นำมาใช้ผลิตเปลือกแคปซูลชนิดแข็ง อย่างไรก็ตามเมื่อเทียบกับเจลาติน ไฮโปรมเมอร์โลสมีราคาสูง ตัวแทนจำหน่ายมีไม่มาก และความรู้เกี่ยวกับไฮโปรมเมอร์โลสยังมีน้อย

2. สารเพิ่มความยืดหยุ่น

สารเพิ่มความยืดหยุ่น (Plasticizer) สารนี้จะเป็นองค์ประกอบของเปลือกแคปซูลชนิดนิ่ม ซึ่งส่วนใหญ่คือสารประเภท Polyols ที่มีจุดเดือดสูง (High-Boiling-Point Polyols) เช่น กลีเซอรอล (Glycerol) หรือ Sorbitol เป็นต้น

3. น้ำ

น้ำ (Water) น้ำเป็นองค์ประกอบในเปลือกแคปซูลทั้ง 2 ชนิด สำหรับแคปซูลชนิดแข็งที่ไม่ได้ใส่สารเพิ่มความยืดหยุ่นนั้น น้ำในเปลือกแคปซูลจะทำหน้าที่เสมือนสารเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับเปลือกแคปซูลชนิดแข็ง

4. สารอื่นๆ

สารอื่นที่นำมาเป็นองค์ประกอบของเปลือกแคปซูลนั้น จะถูกนำมาใส่ด้วยวัตถุประสงค์ต่าง ๆ กัน เช่น สารแต่งกลิ่น สารแต่งสี สารทึบแสง สารเพิ่มความคงตัว และสารที่เป็นบัฟเฟอร์ เป็นต้น

กระบวนการผลิตยาแคปซูล

กระบวนการผลิตยาแคปซูลชนิดแข็ง มี 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการผลิตแคปซูลเปล่า และ ขั้นตอนการบรรจุและปิดผนึกแคปซูล ซึ่งเป็นขั้นตอนบรรจุยาและสารช่วยลงไปในตัวแคปซูลก่อนทำการปิดผนึกด้วยฝาแคปซูล ทั้งนี้กระบวนการทั้งสองอาจแยกผู้ผลิตดำเนินการได้ เครื่องบรรจุแคปซูลที่ทันสมัยสามารถทำการบรรจุยาของแข็งได้หลายลักษณะ เช่น ผง แกรนูล เพลเล็ต และเม็ด รวมถึงสามารถบรรจุของเหลวร้อน หรือเย็นลงไปในแคปซูลชนิดแข็ง ได้อย่างถูกต้องแม่นยำ สำหรับการบรรจุของเหลวลงไปในแคปซูลชนิดแข็งนั้นสามารถทำได้ ถ้าตัวและฝาของแคปซูลมีการเชื่อมให้สนิทติดกัน ดังนั้นขั้นตอนการปิดผนึกแคปซูลจึงถือเป็นขั้นตอนที่สำคัญ

กระบวนการผลิตแคปซูลชนิดนิ่ม ประกอบด้วย ขั้นตอนการผลิตเปลือกแคปซูล ขั้นตอนการบรรจุยาและสารช่วยลงไปในแคปซูล และขั้นตอนการปิดผนึกแคปซูล โดยกระบวนการเหล่านี้จะเกิดขึ้นต่อเนื่องกันเหมือนเป็นขั้นตอนเดียว สิ่งสำคัญที่ต้องควบคุมให้มีความสม่ำเสมอ คือ ความหนาของเปลือกแคปซูล น้ำหนักของแคปซูล น้ำหนักของตัวยา และน้ำหนักของสารช่วยที่บรรจุในแคปซูล รวมถึงคุณภาพของรอยตะเข็บในการปิดผนึกเปลือกแคปซูลด้วย

คุณภาพของเปลือกแคปซูล

คุณภาพของเปลือกแคปซูลทั้ง 2 ชนิด ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบและคุณสมบัติของสารที่เป็นองค์ประกอบของผนังแคปซูล คุณภาพของเปลือกแคปซูลขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมีและทางฟิสิกส์ของผนังแคปซูลนั้น ซึ่งมีปัจจัยหลายอย่างที่อาจส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติดังกล่าว ยกตัวอย่างเช่น สัดส่วนของสารพลาสติกไซเซอร์ต่อสารที่เป็นโพลิเมอร์ที่อยู่ในองค์ประกอบของเปลือกแคปซูลนั้น สามารถชี้บ่งถึงคุณสมบัติบางอย่างของเปลือกแคปซูลได้ เช่น คุณสมบัติด้านความแข็ง คุณสมบัติด้านการแตกหัก และคุณสมบัติด้านการละลายของเปลือกแคปซูล เป็นต้น ตามปกติแล้วเปลือกแคปซูลถูกเตรียมขึ้นจากเจลาติน ซึ่งเจลาตินที่ใช้ผลิตเปลือกแคปซูลชนิดแข็งนั้น ประกอบด้วยเจลาตินหรือโพลิเมอร์อื่น และน้ำ ซึ่งส่วนประกอบดังกล่าวโดยปกติไม่มีการเปลี่ยนแปลงตามขนาดของแคปซูล ส่วนเจลาตินที่ใช้ผลิตแคปซูลชนิดนิ่มนั้น ประกอบด้วยเจลาติน และสารเพิ่มความยืดหยุ่นที่ละลายอยู่ในตัวทำละลาย ซึ่งอัตราส่วนระหว่างโพลิเมอร์ต่อสารเพิ่มความยืดหยุ่นจะปรับเปลี่ยนไปตามขนาดแคปซูล และส่วนประกอบของสารที่บรรจุในแคปซูลชนิดนิ่มนั้น อย่างไรก็ตาม เปลือกแคปซูลทั้ง 2 ชนิดอาจมีการเติมสารที่เป็นองค์ประกอบอื่นที่รองลงไปด้วย เช่น สารแต่งสี สารแต่งกลิ่น สารกันเสีย บัฟเฟอร์ และสารทำให้ทึบแสง ซึ่งสารทุกชนิดที่เป็นองค์ประกอบของเปลือกแคปซูล ล้วนมีผลต่อคุณภาพของเปลือกแคปซูล

ปกติสภาวะในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ยาแคปซูลเป็นไปได้ตั้งแต่ การเก็บรักษาภายใต้ อุณหภูมิของตู้เย็นไปจนถึงเก็บที่อุณหภูมิห้องตามมาตรฐาน ซึ่งทั้งนี้ควรเก็บผลิตภัณฑ์ยาแคปซูลในสภาวะตามที่ระบุบนฉลากของตัวยานั้นๆ การเก็บแคปซูลนอกช่วงสภาวะที่เหมาะสม ควรได้รับการศึกษาและประเมินว่ามีผลกระทบอย่างไรบ้างต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยาแคปซูลนั้น อย่างไรก็ตาม เปลือกแคปซูลเปล่าที่ยังไม่ได้นำมาบรรจุยาควรถูกเก็บรักษาในสภาวะและช่วงเวลาที่เหมาะสมด้วย โดยเก็บในสภาวะที่เหมาะสมเช่นเดียวกับแคปซูลที่บรรจุยา เพื่อเป็นการรักษาคุณภาพของเปลือกแคปซูลเปล่าให้พร้อมนำมาใช้บรรจุยาต่อไป

กระบวนการละลายของแคปซูลยา

เมื่อแคปซูลเข้าสู่ตัวกลางทำละลายที่มีน้ำเป็นหลัก (Aqueous Medium) จะเกิดกระบวนการละลาย ดังนี้

1. น้ำแทรกซึมเข้าสู่ผนังแคปซูล
2. โมเลกุลน้ำถูกดึงเข้าไปในโครงสร้างของโพลิเมอร์ และโพลิเมอร์เกิดการบวมน้ำ
3. ผนังแคปซูลเปลี่ยนเป็นอ่อนนิ่มมากขึ้น ยุ่ย และเริ่มละลาย เพื่อปลดปล่อยตัวยาออกมา
4. ตัวยาสำคัญเริ่มละลาย และถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายเพื่อออกฤทธิ์ในการรักษา

เวลาที่ใช้ในการแทรกซึมของน้ำเพื่อเข้าไปในผนังของเปลือกแคปซูลแต่ละชนิดอาจแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและธรรมชาติของสารที่เป็นองค์ประกอบของเปลือกแคปซูลนั้น โดยทั่วไปน้ำใช้เวลาประมาณ 40 วินาทีโดยเฉลี่ยในการแทรกซึมผนังเจลาตินแคปซูล และใช้เวลาประมาณ 3 นาที โดยเฉลี่ยในการแทรกซึมผนังแคปซูลที่ทำจาก HPMC ระยะเวลาในการแทรกซึมของน้ำที่ต่างกันนี้ มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อผลการทดสอบการละลายของแคปซูลชนิดที่ออกฤทธิ์ทันที (Immediate-Release Capsules) แต่ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อผลการทดสอบการละลายของแคปซูลชนิดที่ออกฤทธิ์เนิ่น (Modified-Release Capsules)

ปัจจัยที่มีผลต่อการละลายของแคปซูล

พฤติกรรมการละลายของแคปซูลมีความสำคัญ เพราะมีผลต่อการปลดปล่อยยาเพื่อการออกฤทธิ์ในการรักษา ปัจจัยที่มีผลต่อพฤติกรรมการละลายของแคปซูลมีดังนี้

1. คุณสมบัติของเปลือกแคปซูล

คุณสมบัติของเปลือกแคปซูลย่อมส่งผลโดยตรงต่อการละลายของยาแคปซูล เช่น ความหนาบาง รวมถึงชนิดและสัดส่วนของวัตถุดิบที่ใช้เป็นองค์ประกอบภายในเปลือกแคปซูลตามที่ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อองค์ประกอบของเปลือกแคปซูลนั้น ล้วนเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการละลายของแคปซูล

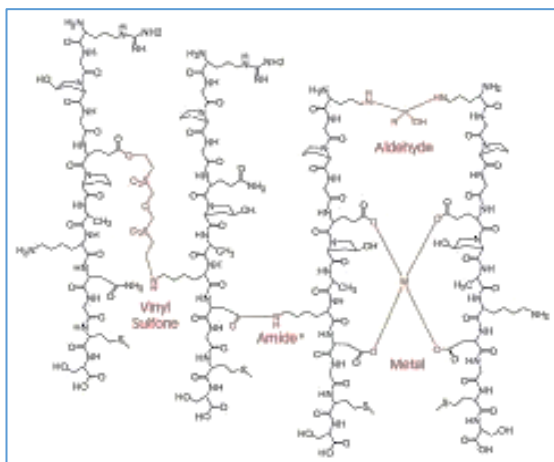
2. คุณสมบัติของสารที่บรรจุในแคปซูล

คุณสมบัติของสารที่บรรจุในแคปซูลนั้น มีหลากหลายชนิด และหลายสถานะ ซึ่งได้กล่าวไว้แล้วเช่นกันในหัวข้อคุณสมบัติของสารที่บรรจุในแคปซูล คุณสมบัติทางด้านสถานะของสาร และคุณสมบัติในการชอบน้ำ นับว่าเป็นคุณสมบัติที่สำคัญและย่อมมีผลต่อการละลายของแคปซูล

3. อันตรกิริยาระหว่างเปลือกแคปซูลและสารอื่น

อันตรกิริยาระหว่างเปลือกแคปซูลกับสารเคมีบางชนิด อาจเป็นอีกปัจจัยสำคัญหนึ่งที่มีผลต่อการละลายของแคปซูล ผลจากอันตรกิริยาที่สำคัญและเห็นได้ชัดประการหนึ่ง คือ การกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา Cross-Linking ของเจลาตินแคปซูล ปฏิกิริยานี้เริ่มจากการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเจลาตินกับสารเคมีบางชนิดที่บรรจุในแคปซูลนั้น และ/หรือสารเคมีที่อยู่ในสิ่งที่บรรจุหีบห่อ รวมถึงการเกิดอันตรกิริยาเจลาตินกับปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม เช่น ความชื้น และอุณหภูมิ เป็นต้น อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นจะกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา Cross-Linking ขึ้น ผลของการเกิด Cross-Linking ทำให้คุณสมบัติของผนังเจลาตินแคปซูลเปลี่ยนไป โดยผนังแคปซูลจะก่อเกิดเป็นเยื่อบาง เหนียว ไม่ละลายน้ำ ซึ่งเรียกว่า Pellicle ซึ่งส่งผลต่อความสามารถในการละลายของแคปซูล

Cross-Linking คือ ปฏิกิริยาทางเคมีผันกลับไม่ได้ที่เกิดขึ้นระหว่างสายเจลาติน ตามปกติเจลาตินมีลักษณะเป็นสายโซ่โปรตีนยาวและไวต่อปฏิกิริยา ด้วยเหตุนี้สายโซ่เจลาตินจึงมักเกิดปฏิกิริยาภายในสายโซ่ตัวเองทำให้สายโซ่เกิดการเชื่อมต้อแล้วขดเป็นเกลียว หรือเกิดการเชื่อมต่อกันระหว่างสายโซ่ของเจลาตินโมเลกุลหนึ่ง กับเจลาตินอีกโมเลกุลหนึ่งด้วยพันธะทางเคมี ซึ่งการเกิดพันธะยึดเกาะกันระหว่างสายโซ่นี้ เรียกว่าการเกิด Cross-Linking ซึ่งจะเกิดขึ้นได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของอันตรกิริยาที่ส่งเสริมนั้น



รูปที่ 4 Cross-Linking

Pellicle คือ เยื่อของโปรตีนที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า มีลักษณะบาง แต่เหนียว และไม่ละลายน้ำ ซึ่งเป็นผลของปฏิกิริยา Cross-Linking ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเชื่อมต่อกันของสายโซ่โปรตีน หลักการเกิดปฏิกิริยาผนังเจลาตินแคปซูลจะค่อยๆ เปลี่ยนไป โดยก่อตัวเป็นเยื่อบางๆ หากการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นมากจนเห็นได้ด้วยตาเปล่า ก็จะเรียกสิ่งที่เห็นนั้นว่า Pellicle ปกติ Pellicle ถูกพบที่ผนังด้านในของแคปซูลมากกว่าผนังด้านนอก แต่ไม่ว่าจะปรากฏอยู่ด้านในหรือด้านนอกของผนังแคปซูล Pellicle ก็นับเป็นอุปสรรคสำคัญต่อการละลายและการปลดปล่อยตัวยาออกจากแคปซูล ส่วนหลักฐานการเกิด Cross-Linking นอกจากการมองเห็นด้วยตาเปล่าแล้ว อาจอาศัยความสามารถของเครื่องมือและเทคนิคต่างๆ ในการตรวจจับ ตัวอย่างเครื่องมือสามารถนำมาใช้ในการตรวจจับ Cross-Linking ได้แก่ C13-NMR, FTIR, MRI เป็นต้น นอกจากนี้การเปรียบเทียบผลการทดสอบการละลายของเจลาตินแคปซูลที่สงสัยกับผลทดสอบการละลายของเจลาตินแคปซูลชนิดและขนาดเดียวกัน แต่มีอายุน้อยกว่า ก็อาจทำให้พอทราบได้คร่าวๆ ว่าเจลาตินแคปซูลนั้นมี Cross-Linking เกิดขึ้นหรือไม่



รูปที่ 5 Pellicle

ลักษณะพันธะทางเคมีของ Cross-Linking

พันธะทางเคมี คือ แรงการยึดเกาะทางเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างสายโซ่โปรตีนของเจลาตินในกระบวนการเกิดปฏิกิริยา Cross-Linking พันธะทางเคมีดังกล่าวนี้มีหลายแบบ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

พันธะโควาเลนต์ (Covalent Bonding)

ตามปกติพันธะโควาเลนต์จะแข็งแรงกว่าพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen Bonding) และพันธะไอออนิก (Ionic Bonding) พันธะโควาเลนต์ ดังกล่าวนี้อาจเกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่างหมู่เอมีน (Amine Group) ที่อยู่บนสายโซ่กรดอะมิโนที่ชื่อว่าไลซีน (Lysine) ของเจลาตินแคปซูลโมเลกุลหนึ่ง กับหมู่เอมีนบนสายโซ่กรดอะมิโนไลซีนของเจลาตินแคปซูลอีกโมเลกุลหนึ่ง ปฏิกิริยาดังกล่าวนี้อาจเกิดขึ้นเนื่องจากมีสารที่ส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาอยู่ในระบบ ส่วนใหญ่เป็นสารพวกอัลดีไฮด์ การมีสารพวกอัลดีไฮด์เพียงปริมาณเล็กน้อยในระบบก็สามารถส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยานี้ได้ สารพวกอัลดีไฮด์ที่ถือว่าเป็นสารที่ก่อให้เกิด Cross-Linking มีหลายชนิด เช่น Formaldehyde Glutaraldehyde Glyoxal และ Reducing Sugar สารเหล่านี้มักพบเป็นองค์ประกอบของสารที่บรรจุในแคปซูล ดังนั้นจึงมักพบ Pellicle ที่ผิวด้านในของเปลือกแคปซูลมากกว่าด้านนอกอย่างเห็นได้ชัด แต่บางครั้งอาจพบ Pellicle ที่ผิวด้านนอกของแคปซูลด้วยแม้ว่าจะพบไม่มาก ทั้งนี้เป็นเพราะเจลาตินในเปลือกแคปซูลทำปฏิกิริยากับสารบางชนิดที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์ชั้นในสุด ซึ่งสัมผัสกับเปลือกแคปซูลด้านนอกนั่นเอง อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาการเกิดพันธะชนิดโควาเลนต์ของ Cross-Linking ชนิดนี้ เป็นปฏิกิริยาของโปรตีนที่ผันกลับไม่ได้ ดังนั้นหากต้องการทำลายพันธะดังกล่าวต้องใช้เอนไซม์ในการสลายพันธะโปรตีนเท่านั้น

พันธะไอออนิก (Ionic Bonding)

พันธะไอออนิก เป็นพันธะที่เกิดจากปฏิกิริยาการเหนี่ยวนำระหว่างประจุบวกของหมู่แอมโมเนียม และประจุลบของหมู่คาร์บอกซิเลทที่ในโครงสร้างกรดอะมิโนตัวหนึ่งกับกรดอะมิโนอีกตัวหนึ่ง ที่ต่างประกอบอยู่ในสายโซ่เปปไทด์ เกิดเป็น Ionic Cross-Linking หรือสะพานเกลือ (Salt Bridge) ปกติแล้วพันธะไอออนิกมีความแข็งแรงน้อยกว่าพันธะโควาเลนต์ อย่างไรก็ตามแม้ว่าพันธะชนิดนี้จะแข็งแรงน้อยกว่าพันธะโควาเลนต์ แต่ Ionic Cross-Linking ที่เกิดขึ้นนี้ก็อาจขัดขวางการละลายของเปลือกเจลาตินแคปซูลได้ ปฏิกิริยานี้อาจถูกรบกวนด้วยการปรับเปลี่ยนค่า Ionic strength หรือค่า pH ของตัวกลางทำละลาย หรือการใช้เอนไซม์ในการทำลายพันธะเช่นเดียวกับการทำลายพันธะโควาเลนต์

นอกจากนี้ Cross-Linking ที่มีความแข็งแรงน้อยกว่าพันธะโควาเลนต์และพันธะไอออนิก อาจเกิดจากการเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อน (Complexation) ระหว่างหมู่กรด Carboxylic อิสระในโครงสร้างเจลาติน 2 โมเลกุล โดยมีตัวเชื่อมเป็นไอออนของโลหะที่มีประจุ 3+ เช่น Fe^{3+} และ Al^{3+} เป็นต้น ซึ่งไอออนเหล่านี้สามารถพบได้ในส่วนผสมอาหารที่ทำให้เกิดสีของเปลือกแคปซูล หรืออาจพบได้ในปริมาณต่างๆ โดยการปนเปื้อนมากับสารช่วยอื่นๆ ปฏิกิริยานี้อาจถูกรบกวนด้วยการปรับเปลี่ยนค่า Ionic strength หรือค่า pH ของตัวกลางทำละลาย หรือการใช้เอนไซม์ในการทำลายพันธะเช่นเดียวกับการทำลายพันธะโควาเลนต์

ปัจจัยการเกิด Cross-Linking

ปัจจัยการเกิด Cross-Linking ก็คืออันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเจลาตินกับสารเคมี หรือระหว่างเจลาตินกับสภาวะของสิ่งแวดล้อม แล้วมีผลไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยา Cross-Linking ปัจจัยดังกล่าวสามารถแบ่งได้เป็นปัจจัยทางด้านสารเคมี (สารก่อ Cross-Linking) และปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม ดังนี้

1. ปัจจัยทางด้านสารเคมี หรือ สารก่อ Cross-Link

สารเคมีที่สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา Cross-Linking อาจเป็นสารที่บรรจุอยู่ในแคปซูล อาจเป็นองค์ประกอบของเปลือกแคปซูลเอง อาจเป็นสารหล่อลื่นที่จับอยู่ทั้งสองด้านของแผ่นเจลาติน รับประทานก่อนเข้าสู่กระบวนการผลิตแคปซูลชนิดนี้ หรืออาจเป็นองค์ประกอบของตัววัสดุหีบห่อ

1.1 สารพวกอัลดีไฮด์ หรือ คีโตน

ตามที่กล่าวแล้ว เนื่องจากปฏิกิริยาการเกิด Cross-Linking เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับหมู่เอมีน ในโมเลกุลของเจลาติน ดังนั้นสารที่มีหมู่เอมีน เช่น สารพวกอัลดีไฮด์ สามารถส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยานี้ได้แม้มีปริมาณเพียงเล็กน้อย สารพวกอัลดีไฮด์ที่พบบ่อยได้แก่ Formaldehyde, Glutaraldehyde, Glyoxal และ Reducing Sugars เป็นต้น สารอัลดีไฮด์อาจเป็นส่วนประกอบอยู่ในตัวยาสำคัญ สารช่วย และในบรรจุภัณฑ์ นอกจากนี้สารพวกอัลดีไฮด์อาจเกิดจากการสลายตัวของตัวยาสำคัญหรือสารช่วย ซึ่งการสลายตัวจะมากขึ้นเมื่อมีการเพิ่มของอุณหภูมิ อิทธิพลของสารพวกอัลดีไฮด์ควรได้รับการตรวจสอบ ในระหว่างที่มีการพัฒนาสูตรตำรับ โดยผ่านกระบวนการศึกษาความคงตัวของตำรับ ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้ทำนายพฤติกรรมของแคปซูลนั้นได้

1.2 ตัวยาสำคัญที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็นหมู่คาร์บอนิล

ตัวยาสำคัญที่บรรจุในแคปซูลนั้น หากมีหมู่ฟังก์ชันเป็นหมู่คาร์บอนิล หมู่ฟังก์ชันดังกล่าวจะสามารถเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นหมู่อัลดีไฮด์ได้

1.3 โลหะหนัก

โลหะหนักปริมาณเพียงเล็กน้อยในระบบอาจเร่งหรือส่งเสริมปฏิกิริยาการเกิด Cross-Link ได้

2. ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม

2.1 ความชื้น ทำให้เกิดการบวมตัวของผนังเจลาตินแคปซูลและเกิดเป็น Cross-Linking

2.2 ความร้อน ช่วยส่งเสริม และเร่งปฏิกิริยาการเกิด Cross-Linking

2.3 แสงยูวี ช่วยเร่งปฏิกิริยาการเกิด Cross-Linking ในสภาวะความร้อนและความชื้นสูง

การทดสอบการละลายของตัวยาของยาแคปซูล

การทดสอบการละลายของตัวยา (Dissolution Test) เป็นการทดสอบที่สำคัญในการควบคุมคุณภาพยาแคปซูลเช่นเดียวกับยาเม็ด เนื่องจากเป็นการประเมินประสิทธิภาพ หรือประเมินการเอื้อประโยชน์ของยาที่มีต่อร่างกาย เพื่อให้แน่ใจว่ายาคapsuleที่เรารับประทานเข้าไปนั้นสามารถปลดปล่อยตัวยา และตัวยาสามารถละลายได้ตามเกณฑ์ที่กำหนด เพื่อถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทางเส้นเลือด และออกฤทธิ์ในการรักษา

การทดสอบการละลายของตัวยาในห้องปฏิบัติการ เป็นการทดสอบโดยทำการวัดปริมาณตัวยาสำคัญที่ละลายออกมาในช่วงเวลาและสภาวะที่กำหนด ซึ่งเป็นสภาวะที่จำลองสภาวะการละลายของตัวยาในร่างกาย โดยใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่เรียกว่าเครื่องทดสอบการละลาย (Dissolution Apparatus)

วิธีการทดสอบ และรายละเอียดของเครื่องมือทดสอบการละลายของตัวยาได้ถูกกำหนดขึ้นเป็นครั้งแรกในตำรายาของสหรัฐอเมริกา (USP) เล่มที่ 13 ในปี ค.ศ. 1970 ซึ่งปัจจุบันจากความร่วมมือระหว่างประเทศ ทำให้การทดสอบการละลายของตัวยานั้นมีมาตรฐานของเครื่องมือทดสอบ วิธีการทดสอบ และเกณฑ์การทดสอบที่ตัดสินคุณภาพด้านการละลายของตัวยาที่เป็นมาตรฐานเดียวกันทั่วโลก



รูปที่ 6 เครื่องทดสอบการละลายของตัวยา

ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบการละลายของยาแคปซูล

1. กระบวนการผลิต และการบรรจุแคปซูล

อัตราการทำให้เย็น และอัตราการทำให้แห้งในกระบวนการผลิตแคปซูล อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ลักษณะการปลดปล่อยตัวยาสำคัญออกจากแคปซูล โดยเฉพาะแคปซูลชนิดนิ่มชนิดที่เปลือกแคปซูลทำมาจากเจลาติน อาจส่งผลต่อการทดสอบการละลาย ซึ่งความเป็นไปได้นี้ควรได้รับการตรวจสอบ

2. คุณภาพของเปลือกแคปซูล

คุณภาพของเปลือกแคปซูลอาจขึ้นอยู่กับสภาวะในการเก็บรักษา ดังนั้นการบรรจุหีบห่อและสภาวะในการเก็บที่เหมาะสมจะช่วยป้องกันผลเสียที่อาจส่งผลกระทบต่อคุณภาพของเปลือกแคปซูล การซึมผ่านของความชื้น และ/หรือ ออกซิเจน เข้ามาในสิ่งบรรจุหีบห่อ และซึมผ่านเข้าไปยังเปลือกแคปซูลสามารถไปมีผลต่ออายุของผลิตภัณฑ์ยาประเภทแคปซูลได้ ในบางกรณี หากความชื้นทำให้ปริมาณน้ำในเปลือกแคปซูลมากเกินไป เวลาในการละลายของผลิตภัณฑ์ยาจะลดลง เพราะผลิตภัณฑ์ยาที่ชื้นอาจทำให้เกิดการบวมตัวของโพลิเมอร์เป็นเยื่อเหนียวขัดขวางการปลดปล่อยตัวยา ทำให้ผลการทดสอบการ

ละลายของตัวยาลดลง นอกจากนี้เปลือกแคปซูลที่เป็นเจลาติน ซึ่งมักจะมีปริมาณน้ำประกอบอยู่ในเปลือกสูง ปริมาณน้ำนี้อาจส่งผลต่อความคงตัวของตัวยาสำคัญที่ไวต่อความชื้นด้วย

เมื่อแคปซูลจมลงในตัวกลางที่เป็นน้ำ น้ำจะแทรกซึมผ่านผนังแคปซูล สารโพลีเมอร์ที่ผนังแคปซูลจะอมน้ำและบวม เมื่อมีการอมน้ำเต็มที่เปลือกแคปซูลจะเริ่มละลาย ระยะเวลาที่ใช้ในการแทรกซึมของน้ำเข้าสู่ผนังแคปซูลแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของเปลือกแคปซูลนั้นและอีกหลาย ๆ ปัจจัย เวลาโดยประมาณสำหรับการแทรกซึมของน้ำของเปลือกแคปซูลชนิดเจลาติน คือ 40 วินาที และ 3 นาที สำหรับเปลือกแคปซูลที่เป็นสารโพลีเมอร์ HPMC ซึ่งระยะเวลาดังกล่าวนี้จะมีผลให้การละลายล่าช้าอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะกับการทดสอบการละลายของตัวยาแคปซูลชนิดปลดปล่อยตัวยาทันที แต่อาจมีผลน้อยหรือไม่มีผลต่อการทดสอบการละลายของแคปซูลชนิดที่มีการปรับการปลดปล่อยยา

3. ผลกระทบของ Cross-Linking

เนื่องจาก Cross-Linking ทำให้เกิด Pellicle ที่มีลักษณะเป็นเยื่อเหนียวและไม่ละลายน้ำ ดังนั้น Pellicle จึงเป็นอุปสรรคต่อการปลดปล่อยยาออกจากแคปซูล เมื่อการทดสอบการละลายของตัวยาแคปซูลยาที่เกิด Cross-Linking จะปลดปล่อยยาได้ช้า บางทีอาจไม่สามารถปลดปล่อยยาออกมาได้เลย และมีบ้างแต่น้อยมากที่ยาถูกปลดปล่อยออกมาจากทางตะเข็บแคปซูลที่แตกออก ทำให้ดูเหมือนไม่ได้รับผลกระทบจาก Pellicle นอกจากนี้ระดับการเกิด Cross-Linking มีความไม่เท่ากันในแต่ละแคปซูล ส่งผลให้ผลการทดสอบการละลายของตัวยามีความผันแปรสูง กล่าวคือผลการทดสอบแต่ละครั้งจะให้ผลที่ไม่เหมือนกัน ผลกระทบดังกล่าวทำให้ผลการทดสอบการละลายยาดำกว่าที่ควรจะเป็น ความจริงยานั้นเมื่ออยู่ในร่างกายมนุษย์อาจสามารถละลายหรือปลดปล่อยตัวยาออกมาได้ตามที่ควรจะเป็น เพราะในร่างกายมนุษย์มีน้ำย่อยหรือเอนไซม์ ซึ่งสามารถย่อยทำลายพันธะที่ทำให้เกิด Cross-Link หรือทำลาย Pellicle ที่เกิดขึ้นได้นั่นเอง ดังนั้นเพื่อให้การทดสอบมีความใกล้เคียงกับสภาวะจริงของร่างกายมนุษย์ USP กำหนดให้เติมเอนไซม์ลงไปในตัวกลางทำละลายที่ใช้ในการทดสอบการละลายของตัวยา

การแก้ปัญหาผลกระทบจาก Cross-Linking

ปฏิกิริยาการเกิด Cross-Linking เป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้ ดังนั้น Pellicle ที่เป็นผลมาจากการเกิด Cross-Linking จะถูกทำลายก็ต่อเมื่อมีการทำลายพันธะโควาเลนต์ที่ทำให้เกิด Cross-Linking สารที่สามารถทำลายพันธะดังกล่าวนี้ได้คือ เอนไซม์ย่อยโปรตีน ซึ่งเอนไซม์ย่อยโปรตีนนั้นคือสารที่สามารถย่อยพันธะเปปไทด์ (Peptide Bond) บนสายโซ่โปรตีนได้ ซึ่งก็คือพันธะโควาเลนต์นั่นเอง ในการทดสอบการละลายของตัวยา หากสังเกตเห็นเปลือกแคปซูลเกิดเป็น Pellicle ขึ้น สามารถทำนายได้ว่าผลของ Pellicle นั้น ต้องรบกวนการทดสอบอย่างแน่นอน อาจไม่จำเป็นต้องดำเนินการทดสอบต่อไป จนกระทั่งจบกระบวนการ แต่ควรดำเนินการทดสอบดังกล่าวใหม่ โดยเติมเอนไซม์ที่เหมาะสมลงไปในตัวกลางทำละลายที่ใช้ ชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่จะนำมาใส่ผสมในตัวกลางทำละลายต้องขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของพันธะของ Cross-Link นั้น ซึ่งในช่วงที่มีการพัฒนาสูตรตำรับ อาจทดลองทำให้เจลาตินแคปซูลเกิด Cross-Link โดยใช้วิธีเติมสารก่อ Cross-Link บางชนิด เช่น Formaldehyde หรือใช้วิธีให้เจลาตินแคปซูลอยู่ในสภาวะความชื้นสูง จากลักษณะของ Cross-Link ที่เกิดขึ้น สามารถนำมาพิจารณาการเลือกใช้เอนไซม์เพื่อย่อยสลาย Cross-Link ต่อไป

การเติมเอนไซม์ในตัวกลางทำละลาย

สำหรับการทดสอบการละลาย ผลการทดสอบที่มีผลกระทบจาก Cross-Linking หรือมีหลักฐานการเกิด Cross-Link ในกระบวนการทดสอบการละลาย USP กำหนดให้สามารถแก้ปัญหาดังกล่าวด้วยการเติมเอนไซม์ลงไปในตัวกลางทำละลายได้ โดยเอนไซม์ที่นำมาเติมในตัวกลางทำละลาย ได้แก่

Pepsin

Pepsin เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนซึ่งตามปกติแล้ว pepsin มักได้มาจากกระเพาะหมู Pepsin สามารถทำงานได้ดีที่สุดที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.5 และทำงานได้ดีที่สุดที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 2 pepsin สามารถย่อย Pellicle ซึ่งเกิดจากการเกิด Cross-Link ได้ในระดับน้อยถึงปานกลาง

Pancreatin

Pancreatin เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีน ซึ่งปกติได้มาจากเซลล์ของตับอ่อน ลักษณะเป็นของผสมเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีนได้หลายชนิด สามารถทำงานได้ดีในช่วงความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6-8 แต่สามารถทำงานได้ดีที่สุดที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.8 Pancreatin ไม่สามารถย่อยโปรตีนได้ดีเท่า Pepsin ดังนั้นจึงสามารถย่อย Pellicle ซึ่งเกิดจากการเกิด Cross-Link ได้ในระดับน้อยๆเท่านั้น

การเติมเอนไซม์ทั้งสองลงในตัวกลางทำละลาย ให้พิจารณาจากตัวกลางทำละลายเดิม ดังนี้

1. หากตัวกลางทำละลายเดิมเป็นน้ำ หรือเป็นตัวกลางทำละลายที่มีความเป็นกรด-ด่าง น้อยกว่า 6.8 ให้เติมเอนไซม์บริสุทธิ์ที่ชื่อ Pepsin ลงในตัวกลางทำละลายนั้น โดยปริมาณเอนไซม์ที่ใส่เข้าไป ต้องมีความแรงไม่เกิน 750,000 Activity-units ต่อตัวกลางทำละลาย 1000 มิลลิลิตร
2. หากตัวกลางทำละลายเดิมมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.8 หรือมากกว่า ให้เติมเอนไซม์อีกตัวหนึ่งที่ชื่อ Pancreatin ลงในตัวกลางทำละลายนั้น โดยปริมาณเอนไซม์ที่ใส่เข้าไป ต้องมีความแรงไม่เกิน 1750 USP-units ต่อตัวกลางทำละลาย 1000 มิลลิลิตร

ข้อจำกัดของการเติมเอนไซม์

อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะมีการเติมเอนไซม์ลงในตัวกลางทำละลาย เพื่อแก้ปัญหา Cross-Link แต่การเติมเอนไซม์ก็ยังมีข้อจำกัดบางประการ คือ ความแรงในการทำงานของเอนไซม์ Pancreatin ที่วัดได้ ยังน้อยเกินไปแม้ว่าจะใส่เติมลงไปปริมาณมากแล้ว โดยเฉพาะในช่วงความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4-6.8 นั้น ทั้งเอนไซม์ Pepsin และ Pancreatin แทบจะไม่สามารถทำงานได้เลย นอกจากนี้ยังมีปัญหาเรื่องความไม่เข้ากันของเอนไซม์กับสารลดแรงตึงผิวที่อาจเป็นองค์ประกอบของตัวกลางทำละลายเดิมของยาหลายตัว โดยฤทธิ์ของเอนไซม์จะถูกทำลายเมื่อมีสารลดแรงตึงผิว เช่น Sodium Lauryl Sulfate (SLS) เป็นองค์ประกอบอยู่ในระบบของตัวกลางทำละลาย

การลดข้อจำกัดของการเติมเอนไซม์

1. การเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ Pancreatin

การเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ Pancreatin ที่ใส่เติมลงไปในตัวกลางทำละลาย จาก 1750 USP-units ต่อตัวกลางทำละลาย 1000 มิลลิลิตร เป็น 2000 USP-units ต่อตัวกลางทำละลาย 1000 มิลลิลิตร เพื่อเพิ่มความแรงในการทำงานของเอนไซม์ Pancreatin

2. การใช้เอนไซม์อื่นเพิ่มเติม

การหาเอนไซม์ตัวอื่นที่สามารถทำงานได้ดีในช่วงความเป็นกรด-ด่าง 4-6.8 มาใส่เพิ่มเติม ได้แก่ เอนไซม์ Papain และ เอนไซม์ Bromilain

Papain

Papain เป็นเอนไซม์ที่ได้จากผลมะละกอดิบ ซึ่งก่อนหน้านี้ Papain เป็นองค์ประกอบอย่างหนึ่งในอาหารเสริมทั่วไป Papain มีความแรงในการย่อยโปรตีนสูงกว่า Pancreatin ออกฤทธิ์ย่อยโปรตีนทั่วไปได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่าง 4-7 และออกฤทธิ์ย่อยโปรตีนสำหรับเจลาตินได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 Papain ในรูปแบบผงสามารถเก็บได้เป็นเวลา 2 ปี ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

Bromilain

Bromilain เป็นเอนไซม์ที่ได้จากลำต้นของสับปะรด มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ Bromilain มีความแรงในการย่อยโปรตีนสูงกว่า Pancreatin เช่นเดียวกับ Papain ซึ่ง Bromilain สามารถออกฤทธิ์ย่อยโปรตีนทั่วไปได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.5-7.5 และออกฤทธิ์ย่อยโปรตีนสำหรับเจลาตินได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.5 Bromilain ในรูปแบบผงสามารถเก็บได้เป็นเวลา 1.5-3 ปี ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 8 องศาเซลเซียส

การเติมเอนไซม์ทั้งสองลงในตัวกลางทำละลาย มีแนวทาง 2 แนวทาง ดังต่อไปนี้

1. ตัวกลางทำละลายที่มีความเป็นกรด-ด่าง ในช่วง 4-6.8 ให้เติมเอนไซม์ Papain ลงไปในตัวกลางทำละลายนั้น โดยปริมาณเอนไซม์ที่ใส่เข้าไป ต้องมีความแรงไม่เกิน 550,000 Activity-units ต่อตัวกลางทำละลาย 1000 มิลลิลิตร

2. ตัวกลางทำละลายที่มีความเป็นกรด-ด่าง ในช่วง 4-6.8 ให้เติมเอนไซม์ Bromilain ลงไปในตัวกลางทำละลายนั้น โดยปริมาณเอนไซม์ที่ใส่เข้าไป ต้องมีความแรงไม่เกิน 30 gelatin-digesting units (GDU) ต่อตัวกลางทำละลาย 1000 มิลลิลิตร

3. เพิ่มความระมัดระวังในการใช้เอนไซม์

ข้อควรระมัดระวังในการใช้เอนไซม์คือ ต้องทราบว่าเอนไซม์ส่วนใหญ่ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ดังนั้นเมื่อเอนไซม์อยู่ในตัวกลางทำละลายความคงตัวของเอนไซม์จะลดลง ดังนั้นตัวกลางทำละลายที่มีการเติมเอนไซม์ควรถูกนำไปใช้ภายในเวลา 4 ชั่วโมง เวลาเตรียมเอนไซม์ต้องเตรียมด้วยความระมัดระวัง และอาจต้องใช้สารละลายบัฟเฟอร์ช่วยในการรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย เพื่อรักษาความคงตัวของเอนไซม์ อย่างไรก็ตาม สารละลายที่มีเอนไซม์เป็นองค์ประกอบควรเตรียมและใช้ในวันเดียวกัน

4. การทำ Pre-treatment with Enzyme

ตัวกลางทำละลายบางชนิดมีองค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิว เช่น Sodium Lauryl Sulfate เพื่อทำหน้าที่ในการช่วยละลายหรือกระจายตัวของสารช่วยหรือตัวยาสำคัญที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ การเติมเอนไซม์ลงในตัวกลางทำละลายที่มีองค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวนั้น อาจทำให้เกิดปัญหาความไม่เข้ากันของเอนไซม์กับสารลดแรงตึงผิวดังกล่าว โดยสารลดแรงตึงผิวทำให้เอนไซม์สูญเสียคุณสมบัติในการย่อยโปรตีน การสูญเสียคุณสมบัติของเอนไซม์จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวนั้น ดังนั้นการเติมเอนไซม์ลงในตัวกลางทำละลายดังกล่าว จึงต้องมีขั้นตอนการทำ Pre-treatment with Enzyme ซึ่งมีหลักการดังต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 ใช้ตัวกลางทำละลายเดิมโดยยังไม่ต้องใส่สารลดแรงตึงผิว แต่ใส่เอนไซม์ที่เหมาะสมต่อช่วงความเป็นกรด-ด่างนั้นเพิ่มลงไป เพื่อทำละลายเปลือกแคปซูลและ Pellicle ก่อน ปริมาตรของตัวกลางทำละลายในขั้นตอนนี้จะต้องน้อยกว่าปริมาตรของตัวกลางทำละลายที่กำหนดให้ใช้สำหรับทดสอบการละลายของตัวยานั้น จากนั้นให้ดำเนินการทดสอบการละลายของตัวยาด้วยตัวกลางทำละลายนั้นภายใต้สภาวะที่กำหนด เป็นเวลาน้อยที่สุด ซึ่งไม่ควรเกิน 15 นาที (เวลานี้รวมเป็นส่วนหนึ่งของเวลาที่ใช้ทดสอบการละลายทั้งหมด)

ขั้นตอนที่ 2 จะมีการเปลี่ยนตัวทำละลายไปเป็นตัวทำละลายที่มีสารลดแรงตึงผิวผสมอยู่ หรือมีการเติมตัวกลางทำละลายที่มีสารลดแรงตึงผิวลงไป จนได้ปริมาตรเท่ากับปริมาตรที่กำหนดสำหรับทดสอบการละลาย แล้วดำเนินการทดสอบการละลายของตัวยาต่อจนครบเวลาที่กำหนด สารลดแรงตึงผิวจะช่วยละลายตัวยาสำคัญในตำรับนั้นๆ

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าได้มีการใช้เอนไซม์ในการแก้ปัญหาการทดสอบการละลายของตัวยาอันเกิดจากปัญหา Cross-Link แล้ว แต่ก็เป็นไปได้ที่ผลการทดสอบการละลายของตัวยาจะยังคงต่ำจนผิดมาตรฐาน หากผลการทดสอบการละลายของตัวยายังคงผิดมาตรฐาน ก็ต้องถือว่าผลการทดสอบนั้นผิดมาตรฐานจริง จะไม่มีการใส่เอนไซม์เพิ่มเติมลงไปทดสอบอีก หรือในบางกรณีอาจต้องพัฒนาวิธีการทดสอบการละลายของตัวยาวิธีอื่นที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีแล้ว เพื่อมาใช้ทดแทนวิธีทดสอบที่เดิมที่ยังคงมีประเด็นปัญหาอยู่

การป้องกันผลิตภัณฑ์ยาจาก Cross-Linking

1. การพัฒนาสูตรตำรับ โดยเลือกแหล่งที่มาของ collagen ที่มีคุณภาพ ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตเจลาตินแคปซูล ทำให้สามารถลดการเกิดปฏิกิริยาการเกิด Cross-Linking ได้
2. การทำให้เจลาตินเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีบางอย่าง เช่น การเติมหมู่กรด Succinic ที่สายโซ่ของกรดอะมิโนชื่อไลซีน สามารถทำให้ป้องกันการเกิด Cross-Linking ได้
3. เลือกใช้แคปซูลที่ผลิตจากวัตถุดิบอื่นที่ไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาที่เกิด Cross-Linking
4. พัฒนาระบบการผลิตเพื่อหลีกเลี่ยงปัจจัยที่สามารถกระตุ้นปฏิกิริยาการเกิด Cross-Linking

5. เลือกบรรจุภัณฑ์ที่สามารถป้องกันปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม เช่น แสง ความชื้น และ อนุภาคมูลอิสระ ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นปฏิกิริยาการเกิด Cross-Linking ผลิตภัณฑ์ยาที่บรรจุในขวดแก้วทรงแสงหรือขวดพลาสติก ขวดที่ปิดสนิทสามารถช่วยปกป้องยาจาก ความชื้น ออกซิเจน และแสง แต่การเปิดขวดบ่อยครั้งอาจทำให้ผลิตภัณฑ์ยาถูกรบกวนด้วยปัจจัยของสิ่งแวดล้อมดังกล่าว การบรรจุผลิตภัณฑ์ยาร่วมกับถุงบรรจุสารดูดความชื้น จะช่วยให้ป้องกันผลิตภัณฑ์ยาจากความชื้นได้ดีขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม ขวดบรรจุยามักใส่ฟองน้ำหรือล่ำลิ่งไปที่ด้านบนเพื่อกันกระแทก สำหรับการใส่ล่ำลิ่งกันกระแทกนั้น ต้องระมัดระวังเพราะล่ำลิ่งนั้นสามารถปลดปล่อยสารพวก Furfural (Heterocyclic aldehyde) ซึ่งเป็นสารก่อ Cross-Linking ได้ อย่างไรก็ตามบรรจุภัณฑ์แบบแผงพลาสติกที่มีความหนาของแผงเหมาะสม นับว่าเป็นบรรจุภัณฑ์ที่สามารถช่วยปกป้องผลิตภัณฑ์ยาจากปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมอย่างมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในปัจจุบัน

เอกสารอ้างอิง

The United States Pharmacopeia-National Formulary. USP 43-NF 38. Volume 1. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2019. Dissolution testing and related quality attributes.